

CSCs标志物在结直肠癌发生、发展中的研究

于思雨¹, 荣光宏^{2*}

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²广东医科大学附属东莞第一医院消化内科, 广东 东莞

收稿日期: 2022年3月26日; 录用日期: 2022年4月21日; 发布日期: 2022年4月28日

摘要

CRC是全球最常见的癌症之一, 目前CRC患者预后较差, 其死亡与肿瘤侵袭和远处转移有着密切关系, 寻找CRC治疗的新思路是亟待解决的问题。CSCs是恶性肿瘤中自我更新、具有多向分化潜能的细胞群, 与恶性肿瘤的复发、转移、耐药等生物学行为密切相关; CSCs标志物的发现对结直肠癌的早发现、早诊治及预后评估具有重要意义。本文基于近年来国内外相关文献, 就CSCs标志物在结直肠癌发生、发展过程中的研究进展作一综述, 旨在为结直肠癌的靶向治疗提供参考。

关键词

结直肠癌, 肿瘤干细胞, 标志物, 靶向治疗

The Study on Cancer Stem Cell Markers in the Occurrence and Development of Colorectal Cancer

Siyu Yu¹, Guanghong Rong^{2*}

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Gastroenterology, The First Dongguan Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Dongguan Guangdong

Received: Mar. 26th, 2022; accepted: Apr. 21st, 2022; published: Apr. 28th, 2022

Abstract

Colorectal cancer is one of the most common cancers in the world. At present, the prognosis of co-

*通讯作者。

colorectal cancer patients is poor. Its death is closely related to tumor invasion and distant metastasis. It is an urgent problem to find new ideas for the treatment of colorectal cancer. Cancer stem cells are self-renewal cells with multidirectional differentiation potential in malignant tumors, which are closely related to the biological behaviors of malignant tumors, such as recurrence, metastasis and drug resistance; The discovery of tumor stem cell markers is of great significance for the early detection, early diagnosis, treatment and prognosis of colorectal cancer. Based on the relevant literature at home and abroad in recent years, this paper reviews the research progress of tumor stem cell markers in the occurrence and development of colorectal cancer, in order to provide reference for the targeted treatment of colorectal cancer.

Keywords

Colorectal Cancer, Cancer Stem Cells, Markers, Targeted Therapy

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是结肠癌和直肠癌的简称, 是常见的消化系统恶性肿瘤。结直肠癌的发生与癌基因过度激活、抑癌基因失活、凋亡与抗凋亡基因的表达失衡等多种因素有关, 是一个慢性演变过程。据 2020 年世界癌症统计指出, 在全球癌症新发病例为 1930 万, 其中死亡病例近 1000 万; 在 36 种常见癌症中, CRC 新发病例超过 190 万, 死亡人数 93.5 万, 约占癌症病例和死亡人数的十分之一, 其发病率排名第三位, 死亡率排名第二[1]。在过去三十多年里, 尽管 CRC 的死亡率呈下降趋势, 但其发病率呈上升趋势, 并且在青壮年中, CRC 发病率增加的最明显。结直肠癌患病年龄趋于年轻化, 且预后较差, 其死亡原因与肿瘤侵袭、复发及远处转移等密切相关, 寻找结直肠癌治疗的新思路是亟待解决的问题。肿瘤干细胞(Cancer stem cell, CSCs)是近些年的研究热点, 有研究发现肿瘤干细胞或癌干细胞是恶性肿瘤中具有自我更新和多向分化潜能的细胞群, 与恶性肿瘤的生物学行为密切相关, 如肿瘤复发、转移及耐药等。越来越多的研究表明肿瘤干细胞标志物的发现对结直肠癌的早发现、早诊治及预后评估具有重要意义。本文基于近年来国内外相关文献, 就 CSCs 标志物在结直肠癌发生、发展过程中的研究进展作一综述, 旨在为结直肠癌的靶向治疗提供参考依据。

2. CSCs 的定义及特征

肿瘤干细胞的概念最早在血液系统恶性肿瘤中被提出, 它是肿瘤组织内一小部分具有自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞。肿瘤干细胞数目极其稀少, 但却具有极强的致瘤能力, 具有独特的分子表达、表面标志物、干性相关信号通路和代谢模式等特征, 是肿瘤发生及发展的基础。肿瘤干细胞因其高致瘤、高转移、高治疗抵抗性, 致使传统的放疗和化疗并不能将其彻底清除, 是肿瘤复发、转移和耐药等生物学行为的重要因素[2] [3]。越来越多的研究表明, CSCs 使正常干细胞自我更新的信号传导通路发生异常传导, 使细胞发生恶性增殖, 从而形成肿瘤。此外, 研究[4]表明肿瘤干细胞中 DNA 错配修复功能的缺失, 导致突变基因的积累和微卫星不稳定, 使结肠上皮细胞增殖和凋亡失衡, 从而导致肿瘤的发生。CSCs 的发现使得人们对肿瘤生物学行为、发生发展机制及预后的认识有了进一步提高, 深入研究肿瘤干细胞标志物有助于为肿瘤的治疗提供更有效的方案, 提高治疗效率。

3. CRC 中 CSCs 标志物

3.1. Lgr5

富含亮氨酸重复单位的 G 蛋白耦联受体 5 (leucine rich repeat containing G protein coupled receptor 5, Lgr5) 又被称为 GPR49、GPR67、HG38, 是 G 蛋白耦联受体家族成员之一, 是由 17 个富含亮氨酸重复序列和 7 次 α 螺旋跨膜区组成的大分子糖蛋白。研究表明, Lgr5 可在人体很多正常组织中表达, 如生殖道、乳腺、脑组织等, 但其在 CRC 中显著高表达。Lgr5 是结肠肿瘤干细胞表面标志物, 其参与肿瘤的形成、转移、复发和治疗抵抗[5] [6]。Wnt/ β -catenin 信号通路与肿瘤的发生和发展密切相关。Lgr5 是最新发现的 Wnt 信号传导的靶基因, 其过度表达可增强 Wnt/ β -catenin 信号转导, 从而促进 CRC 的发生[7]。肠道胆汁酸(BAs)水平升高是 CRC 的一个危险因素, 最近研究发现, 高脂肪饮食和 Wnt 信号传导失调改变了 BA 谱, 拮抗肠道胆汁酸受体 FXR, 驱动 Lgr5⁺表达, 促进腺瘤向腺癌的恶性转化[8]。Gzil 等[9]通过研究发现 Lgr5 与血管浸润、淋巴结转移和低生存率密切相关, 其在 CRC 组织中高表达与肿瘤侵袭性有关, 这表明 Lgr5 可能是 CRC 预后的一个不利因素, 我们可以通过 Lgr5 在 CRC 中的高水平, 为生存期较短的患者的精确治疗进行指导。Xu 等[10]通过 Western blot 检测 98 例结直肠癌患者的肿瘤及癌旁组织和 50 例健康受试者的肠粘膜组织中 Lgr5 的表达水平, 得出结果 Lgr5 在结直肠癌诊断中的敏感性为 90.00%, 特异性为 79.59%, 这表明 Lgr5 在结直肠癌的诊断中具有较好的应用价值。此外, 在早期结直肠癌中即可检测出 Lgr5 过度表达, 这使得 Lgr5 在结直肠癌的早期诊断中发挥作用成为可能。以上研究表明, Lgr5 的高表达促进了 CRC 的发生发展, 可以推测 Lgr5 可能是 CRC 治疗的新靶点, 以及预测 CRC 治疗预后的指标。也有研究[11]表明 Lgr5 过度表达通过降低 DLD1 细胞(人结直肠腺癌细胞)中 ERK (细胞外信号调节激酶)磷酸化以及降低集落形成和迁移能力来抑制肿瘤生长, 这提示 Lgr5 在 CRC 的发展中有潜在的抑癌功能。因此目前 Lgr5 在 CRC 中的作用存在争议, 但可以肯定的是, 在肿瘤恶性转化过程中, Lgr5 的表达在介导肿瘤存活和(或)增殖中起着关键作用。

3.2. Sox2

Sox (sry-related high mobility group box containing) 基因家族最早在 Y 染色体缺失的小鼠中发现, 是一类与发育相关的基因, 主要参与早期胚胎发育、神经发育和晶状体发育等。Sox2 是 Sox 基因家族的一员, 参与调控多个器官的形成及保持各种干细胞的特性。越来越多的研究表明, Sox2 是潜在的结直肠癌肿瘤干细胞标志物, Sox2 的表达和肿瘤侵袭、转移具有密切联系。Sox2 异常表达于多种肿瘤组织中, 如肺癌、胃癌、食管癌和乳腺癌等, 提示 Sox2 对肿瘤的发生发展有重要意义。相关研究报道, Sox2 可通过不同的信号传导通路来参与结直肠癌的进展过程。首先, Sox2 可激活 Wnt/ β -catenin 信号传导通路的下游分子或调控因子促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 从而促进癌细胞转移。Zheng 等[12]认为 Sox2 表达升高, 激活 Rho-ROCK 信号通路, 改变细胞形态, 促进细胞迁移和进展, 即促进结直肠癌的进展。此外 Zhu 等[13]报道了一种新的机制, 即 Sox2- β -catenin/Beclin1/自噬信号轴可调节 CRC 中的化学耐药性、CSCs 特性和 EMT, 为 CRC 的发生、发展提供新的见解。Sox2 在肿瘤组织中高表达使细胞生长加快、细胞凋亡减少, 肿瘤细胞的侵袭和迁移能力提高, 从而促进远处转移。郑媛媛等[14]探讨了 Sox2 在 CRC 组织中的表达及其与临床病理特征的关系, 得出结论 Sox2 在 CRC 组织中表达阳性率较癌旁组织和大肠腺瘤组织中高, 并认为 Sox2 高表达与 CRC 的分化程度、肿瘤发病部位、性别等无关, 而与淋巴结转移及临床分期有明显相关性, 即 Sox2 在 CRC 淋巴结转移组织及临床晚期患者中表达增高, 这与多数研究结果一致。这提示 Sox2 可以应用于临床作为预测 CRC 患者有无转移的标志物, 也预示着 Sox2 阳性表达可能是 CRC 患者预后不良的标志。

3.3. EpCAM

上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)又称为白细胞分化抗原 326、膜糖基化蛋白、上皮特异抗原(epithelial surface antigen, ESA)。EpCAM 具有多种生物学功能, 可通过调节细胞增殖、分化及免疫逃逸等促进肿瘤的发生和发展。相关研究表明, EpCAM 具有自我更新、遗传稳定性及强致瘤性, 可作为干细胞筛选的细胞表面分子标志物, 其参与调控 Wnt/ β -catenin 信号通路, 进而促进肿瘤的发生发展[15]。王利康等[16]通过对 5396 例结直肠癌患者进行 meta 分析, 推测 EpCAM 可能参与调节生物过程, 其表达水平与肿瘤的恶性程度呈正相关, 高表达可能预示 CRC 预后较差。另外有文献报道, EpCAM 的单克隆抗体在临床肿瘤治疗中取得一定的疗效, 抗 EpCAM 毒素结合抗体也已在不同的临床试验中获得良好结果, 这说明 EpCAM 有可能成为治疗肿瘤的潜在而有力的靶点[17] [18] [19]。目前 EpCAM 在 CRC 的形成及发展中的机制和作用有待进一步研究, 但是越来越多的证据表明 EpCAM 与 CRC 具有相关性, 可作为肿瘤干细胞标志物用于结直肠癌的早期诊断及治疗。因此, EpCAM 有可能成为早期预测 CRC 的指标, 并有助于评估预后及提供新的 CRC 治疗方向。

3.4. Bmi1

B 细胞特异性莫洛尼鼠白血病病毒整合位点 1 (B cell-specific moloney murine leukemia virus integration site 1, Bmi1)是第一个被发现的多梳基因家族(polycomb group gene, PcG)成员, 它是一种转录抑制因子, 也是一种促癌基因。近年来, Bmi1 被发现在多种恶性肿瘤中过表达, 如非小细胞肺癌、食管鳞状细胞癌、结直肠癌等。Bmi1 能够参与干细胞的维持和自噬过程, 激活 Wnt 信号通路, 调控 PI3K/AKT 信号通路和 Notch 信号通路, 从而导致恶性肿瘤的发生。Yu 等[20]通过免疫组织化学染色法检测 Bmi1 在结肠癌组织及癌旁正常组织中的表达情况, 发现 Bmi1 在结肠癌组织中高表达于癌旁正常组织, 并且与肿瘤分期及远处转移密切相关, 这提示 Bmi1 表达越高, 肿瘤发生远处转移的可能越大, 肿瘤的分期越晚, 患者的预后就越差。此外, 有研究显示, 下调结肠癌细胞系 HCT116 中 Bmi1 基因的表达后, 肿瘤干细胞的侵袭和迁移能力均明显降低[21]。卢敏等[22]研究发现, Bmi1 的表达水平与 CRC 患者生存预后之间存在相关性, 高表达的患者总体病死率较高, 预后较差; 并发现敲除 Bmi1 基因后, 促使细胞周期中 G1 期的停滞和 S 期的缩短, 因此认为敲除 Bmi1 可通过抑制肿瘤细胞的细胞周期从而抑制肿瘤细胞增殖。以上结论可表明 Bmi1 可作为判断 CRC 恶性程度、预测生存期和预后的重要指标, 是潜在的 CRC 肿瘤干细胞治疗靶点。目前对于 Bmi1 研究较少, Bmi1 促进 CRC 发生的机制及其功能和作用尚不明确。

4. CSCs 标志物在 CRC 治疗中的意义

目前 CRC 以手术治疗为主, 放疗和化疗为辅。由于 CSCs 对常规放化疗具有内在抗性, 推动肿瘤进展和转移, 进而导致肿瘤治疗后复发, 因此传统的治疗方法不足以根除 CRC, 结直肠癌患者的预后仍然较差, 患者生存质量降低及死亡率升高[23]。CSCs 标志物的靶向治疗具有潜在的清除肿瘤干细胞的作用, 精准的靶向杀伤肿瘤干细胞且对正常细胞不会造成伤害, 将有利于 CRC 的治疗。目前, 靶向 Lgr5 治疗 CRC 的研究主要以抗体偶联药物(antibody-drug conjugates, ADCs)为主, ADCs 药物通常由肿瘤细胞上特异性表达抗原的单克隆抗体、偶联链和细胞毒性小分子药物组成, 它能准确的识别肿瘤细胞靶点, 提高局部药效, 并减少毒副作用[24]。Azhdarinia 等[25]对靶向 Lgr5 的两种单克隆抗体 89Zr-DFO-8F2 和 89Zr-DFO-9G5 的结合、特异性和内化进行比较, 发现前者的肿瘤摄取明显高于后者, 这说明通过 8F2 靶向 Lgr5 设计 ADCs 药物, 治疗 Lgr5 高表达的 CRC 更高效。员亚晶等[26]首次报告了 Sox2 与结直肠癌细胞的耐药性相关, 沉默 Sox2 后能够逆转结直肠癌细胞 SW620 对化疗药物 5-FU 的耐受性。也有文献报道 EpCAM 的单克隆抗体在临床肿瘤治疗中取得一定的疗效, 抗 EpCAM 毒素结合抗体也已在不同的临

床试验中获得良好结果。以上研究为临床上研制抗肿瘤药物和制定治疗方案提供了新思路, 监测靶向 CSCs 标志物治疗结直肠癌患者的治疗效果, 可以进一步提高靶向治疗的精准性。肿瘤干细胞学说对于理解肿瘤发生发展的生物学行为以及发展新的肿瘤预防策略和治疗方案具有重要意义, 因此, 确定结直肠癌 CSCs 标志物的存在对于 CRC 的治疗至关重要, 免疫靶向肿瘤干细胞代表着克服肿瘤治疗耐药性的新方向。

5. 小结与展望

恶性肿瘤细胞的发生主要表现在细胞凋亡受阻和细胞增殖过快, 传统的治疗方式不足以遏制肿瘤细胞的发生, 以手术及放化疗治疗 CRC 后, CSCs 是肿瘤复发及转移的根源, 根除肿瘤可能需要靶向和消除肿瘤干细胞。由于 CSCs 推动肿瘤进展和转移, 癌症治疗的长期效益可能取决于其有效靶向 CSCs 的能力[27]。肿瘤细胞具有高度异质性, 并且 CSCs 表面标志物的特异性较差, 目前尚不能准确识别结直肠癌肿瘤干细胞标志物。结直肠癌的发病机制目前尚不明确, 临床上 CRC 患者在发现时已呈中晚期, 为治疗带来了极大的挑战, 使得患者预后较差, 生存率明显降低, 因此, 深入了解结直肠癌 CSCs 标志物对 CSCs 生物学行为的影响及探索新的肿瘤干细胞标志物有助于确定 CRC 潜在的治疗靶点, 并为 CRC 的诊断、治疗及预后评估提供更多分子生物学的理论基础。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] 李聪, 徐兵河. 肿瘤干细胞临床应用研究进展[J]. 中国癌症防治杂志, 2021, 13(1): 1-6.
- [3] 杨婷, 冉宇靓. 靶向肿瘤干细胞治疗肿瘤[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(7): 651-658.
- [4] 丁博月, 韩春. 结直肠癌干细胞表面标志物和信号通路研究进展[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(1): 133-137.
- [5] Kuhlmann, J.D., Hein, L., Kurth, I., *et al.* (2016) Targeting Cancer Stem Cells Promises and Challenges. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **16**, 38-58.
- [6] Chang, J.C. (2016) Cancer Stem Cells: Role in Tumor Growth, Recurrence, Metastasis, and Treatment Resistance. *Medicine*, **95**, S20-S25. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004766>
- [7] 张家媛, 李楚莽, 黄淑敏, 等. 富亮氨酸重复结构在结直肠癌发病机制中作用的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2020, 40(4): 227-230.
- [8] Fu, T., Coulter, S., Yoshihara, E., *et al.* (2019) FXR Regulates Intestinal Cancer Stem Cell Proliferation. *Cell*, **176**, 1098-1112. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.036>
- [9] Arkadiusz, G., Izabela, Z., Damian, J., *et al.* (2020) The Prognostic Value of Leucine-Rich Repeat-Containing G-Protein (Lgr5) and Its Impact on Clinicopathological Features of Colorectal Cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **146**, 2547-2557.
- [10] Xu, N., Gao, K., Luo, H., *et al.* (2021) Correlation of Lgr5 Expression with Clinicopathological Features of Colorectal Cancer and Its Diagnostic and Prognostic Values. *Journal of BUON*, **26**, 87-92.
- [11] Jang, B.G., Kim, H.S., Chang, W.Y., *et al.* (2018) Expression Profile of LGR5 and Its Prognostic Significance in Colorectal Cancer Progression. *The American Journal of Pathology*, **188**, 2236-2250. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.06.012>
- [12] Zheng, J.H., Xu, L.X., Pan, Y.B., *et al.* (2017) Sox2 Modulates Motility and Enhances Progression of Colorectal Cancer via the Rho-ROCK Signaling Pathway. *Oncotarget*, **8**, 98635-98645. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21709>
- [13] Zhu, Y., Huang, S.M., Chen, S.Y., *et al.* (2021) Sox2 Promotes Chemoresistance, Cancer Stem Cells Properties, and Epithelial-Mesenchymal Transition by β -Catenin and Beclin1/Autophagy Signaling in Colorectal Cancer. *Cell Death & Disease*, **12**, Article No. 449. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03733-5>
- [14] 郑媛媛, 陈黎, 谭海花, 等. Sox2 在结直肠癌组织中的表达及其临床特征的 Meta 分析[J]. 海南医学, 2020, 31(11): 1481-1485.
- [15] Hoskovec, D. (2014) Perioperative Chemotherapy in Gastric Cancer Treatment—The Surgeons View. *Casopis Lékařů*

Ceských, **153**, 227-230.

- [16] 王利康, 姜雷, 王军, 等. EpCAM 与结直肠癌临床病理特征关系的 meta 分析[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2021, 28(5): 571-579.
- [17] Eyvazi, S., Farajnia, S., Dastmalchi, S., *et al.* (2018) Antibody Based EpCAM Targeted Therapy of Cancer, Review and Update. *Current Cancer Drug Targets*, **18**, 857-868. <https://doi.org/10.2174/1568009618666180102102311>
- [18] Liao, M.Y., Lai, J.K., Kuo, M.Y., *et al.* (2015) An Anti-EpCAM Antibody EpAb2-6 for the Treatment of Colon Cancer. *Oncotarget*, **6**, 24947-24968. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4453>
- [19] Dirix, L., Rüttinger, D., Schuler, M., Reinhardt, C., *et al.* (2010) An Open-Label, Randomized Phase II Study of Adecatumumab, a Fully Human Anti-EpCAM Antibody, as Monotherapy in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Annals of Oncology*, **21**, 275-282. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp314>
- [20] Yu, F., Zhou, C., Zeng, H., *et al.* (2018) BMI1 Activates WNT Signaling in Colon Cancer by Negatively Regulating the WNT Antagonist IDAX. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **496**, 468-474. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.01.063>
- [21] Zhang, Z., Bu, X., Chen, H., *et al.* (2016) Bmi-1 Promotes the Invasion and Migration of Colon Cancer Stem Cells through the Downregulation of E-Cadherin. *International Journal of Molecular Medicine*, **38**, 1199-1207. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2730>
- [22] 卢敏, 郑相涛, 毛华, 等. 基于 GEO 数据库对结肠癌 BMI1 基因筛选及其对人结肠癌细胞增殖及侵袭迁移机制研究[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(10): 1292-1298.
- [23] Zhang, J., Li, Q. and Chang, A.E. (2019) Immunologic Targeting of Cancer Stem Cells. *Surgical Oncology Clinics*, **28**, 431-445. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2019.02.010>
- [24] 彭立雄, 常江, 张博威, 等. LGR5 在结直肠癌中的作用机制及靶向治疗研究进展[J]. 生命科学, 2021, 33(10): 1231-1238.
- [25] Azhdarinia, A., Voss, J., Ghosh, S.C., *et al.* (2018) Evaluation of Anti-LGR5 Antibodies by ImmunoPET for Imaging Colorectal Tumors and Development of Antibody-Drug Conjugates. *Molecular Pharmaceutics*, **15**, 2448-2554. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00275>
- [26] 员亚晶, 徐利晓, 孙斌, 等. RNAi 沉默 Sox2 表达对结直肠癌细胞 5-氟尿嘧啶的增敏作用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2020, 30(1): 7-11+17.
- [27] Pan, Q., Li, Q., Liu, S., *et al.* (2015) Concise Review: Targeting Cancer Stem Cells Using Immunologic Approaches. *Stem Cells*, **33**, 2085-2092. <https://doi.org/10.1002/stem.2039>