

· 综述 ·

慢性粒细胞白血病干细胞生物学特性研究进展*

张贵丽 综述, 孙成铭[△] 审校

(青岛大学附属烟台毓璜顶医院, 山东烟台 264000)

关键词: 慢性粒细胞白血病; 白血病干细胞; 表面分子; 分子信号通路**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.045**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2015)02-0247-03

慢性粒细胞白血病(CML)是一种造血干细胞(HSC)恶性克隆性疾病,其典型特征是费城染色体阳性(Ph^+)并表达具有强酪氨酸激酶活性的BCR/ABL融合蛋白。近年来,BCR/ABL酪氨酸激酶的信号转导抑制剂甲磺酸伊马替尼在CML治疗中的成功应用,开辟了CML靶向治疗的新途径。然而,甲磺酸伊马替尼不能根除白血病细胞克隆,容易出现耐药与复发。大量临床和实验研究结果显示,CML出现耐药和复发的主要根源是患者体内持续存在一群微量的白血病干细胞(LSC)。因此,对LSC的生物学特性进行相关的研究与分析,为治疗白血病提供新的思路与方法有着十分重要的意义。本文对CML干细胞的生物学特性综述如下。

1 CML 干细胞的来源

近年来,随着CML患者的耐药与复发现象逐渐加重,大量的研究已证实了CML患者体内确实存在少量的LSC。目前,关于LSC的来源主要有以下几种观点。

1.1 血液血管干细胞 2005年,Zheng等^[1]成功找到了人CML干细胞,并证实了CML癌基因突变发生在比HSC更为原始的干细胞水平上,即血液血管干细胞。并在单细胞水平上证实了血液血管干细胞具有生成血管内皮细胞和造血的潜能,且可在健康小鼠体内复制出CML。这提示CML肿瘤干细胞源于CML患者骨髓中分离出的表型为血液血管干细胞群体。

1.2 粒巨噬祖细胞(GMP) CML急变期或对伊马替尼耐药的患者体内,GMP细胞池是扩大的,并且与正常骨髓的GMP相比, β -链蛋白(β -catenin)呈高表达,使其获得异常的自我更新潜能与集落形成能力,演变成LSC,继而分裂增生为白血病细胞^[2]。动物实验表明,将CML急变期患者的GMP移植于免疫缺陷的小鼠可致白血病^[3]。以上研究均说明GMP在一定的条件下可充当LSC的角色。

1.3 HSC 相关研究用转导了BCR/ABL的反转录病毒感染野生型小鼠的骨髓细胞,然后进一步实验分析,得出了BCR/ABL⁺Lin-c-Kit⁺Sca-1⁺HSC在CML慢性期作为LSC发挥功能的结论^[4]。Chen等^[5]也提出,表达BCR/ABL的HSC在CML中充当了LSC的角色,并对BCR/ABL酪氨酸激酶抑制剂有抵抗作用。

2 LSC 的表面分子

LSC有许多与HSC相同的表面分子标志,但还有一些自身特征性的表型特征。目前已知的LSC表面标志有CD34⁺、CD90⁺、CD133⁺、CD123⁺、CD96⁺、CD38⁻、CD71⁻、HLA-DR⁻、CD117⁻、CD45RA⁻等。其中,CD34⁺/CD38⁻是LSC表面标志的金标准。而CD123在急性髓细胞白血病、CML和其他一些髓性恶性肿瘤中的LSC细胞群中呈现较高的表达状

态。但是,在HSC中未检测到CD123的表达。最新研究发现,在BCR/ABL⁺CML的CD34⁺/CD38⁻LSC检测到CD26的表达,CML急变、BCR/ABL_{p210}⁺的急淋中也有CD26的表达,但在其他髓系、淋系和正常骨髓HSC中几乎不表达^[6-7]。因此,CD26以后有可能作为治疗CML的靶向分子。

3 CML 干细胞生存的微环境

与正常的HSC一样,LSC要完成自我更新与增殖,引起疾病的恶化、耐药、复发等一系列活动,均离不开特定造血微环境的支持。用小鼠进行转基因研究发现,成骨祖细胞中缺失Dicer1基因会破坏小鼠的体内平衡,引起骨髓增生异常的表现^[8]。将野生型小鼠正常的HSC移植入Dicer1缺失的小鼠体内,仍然会引起受体小鼠发生骨髓增生异常。这就提示骨造血微环境的异常在血液病的发生中起着关键调控。另一组实验人员对CML的研究发现,接受伊马替尼治疗的CML中,CML祖细胞在炎症趋化因子受体的介导作用下发生迁移,这会促使骨髓微环境中静止的LSC得以存活^[9],从而逃避了伊马替尼的杀伤作用。

4 CML 干细胞的分子调控机制

4.1 Wnt 信号通路 Wnt信号通路主要包括3条途径:(1)Wnt经典信号转导途径,即Wnt/ β -catenin信号通路;(2)Wnt-Ca²⁺信号通路;(3)JNK信号通路。其中经典的Wnt/ β -catenin信号通路有着比较重要的生物学意义。在该通路中, β -catenin是主要的效应分子,Wnt与其受体Frizzled和LRP6结合后,可致 β -catenin稳定和核易位,进一步发挥其相应的生物学作用。Jamieson等^[2]用共焦荧光显微镜分析法检测到了急变期CML患者体内Wnt/ β -catenin信号的异常活化,可激活LSC,并导致其过度的自我更新与增殖。 β -catenin在CML干细胞中过表达的原因目前尚不清楚,但可能与BCR/ABL下游的糖原合酶激酶(GSK3 β)的失活有关。GSK3 β 是 β -catenin重要的负性调节因子,靶向RNA测序显示,GSK3 β 反复的拼接错误和功能缺失在GMP细胞群中占主导地位,导致 β -catenin的活化和GMP的自我更新增加,使GMP转化为LSC,从而导致白细胞异常增殖^[2]。另外,CD27与CD70相互作用也可引起 β -catenin的高表达^[10]。CD27是一种肿瘤坏死因子(TNF)受体,与其配体CD70结合可以诱导Wnt基因过度表达,导致CML干细胞过度增殖与分化。阻断CML小鼠CD27与CD70的相互作用,可以延缓CML的发展进程,并延长小鼠的存活时间^[10]。

4.2 MNK-eIF4E 信号通路 Lim等^[11]发现MAP激酶相互

* 基金项目:山东省优秀中青年科学家科研奖励金支持项目(BS2011YY064)。 作者简介:张贵丽,女,在读硕士,主要从事白血病发病机制研究。 △ 通讯作者,E-mail:sunzhuokai@yahoo.com.cn。

作用的丝氨酸/苏氨酸激酶(MNK)-真核生物翻译起始因子4(eIF4E)信号轴在CML急变期GMP中存在过度表达,而在正常的HSC中却无此现象。eIF4E是帽依赖mRNA翻译的关键因子,大多数哺乳动物的mRNA翻译都需要eIF4E的调控。在肿瘤中,eIF4E的表达和活性是增高的,并与预后不良有关^[12]。MNK可以磷酸化eIF4E的第209个丝氨酸使其活化,活化后的eIF4E又可以增强β-catenin的mRNA的翻译能力,使β-catenin的蛋白合成增加并增强其核易位,从而激活β-catenin^[11]。在CML急变期,通过这一途径激活GMP中的β-catenin,使其获得异常的自我更新和增殖能力,向LSC转化。

4.3 PI3K-AKT/FOXO信号通路 叉头转录因子O型(FOXO)主要包括FOXO1、FOXO3a、FOXO4、FOXO6,有多个苏氨酸和丝氨酸磷酸化位点,位于PI3K-AKT通路的下游,参与造血细胞分化、细胞周期、细胞凋亡等方面的调控^[13]。FOXO3a具有明显的肿瘤抑制作用,其主要靶分子有细胞死亡调节因子(如Bim)、细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子(如P27kip1)和FasL^[14]。FOXO3a通过激活Bim和FasL诱导细胞凋亡,诱导P27kip1调控细胞周期阻滞。在CML中,BCR/ABL酪氨酸激酶活化PI3K-AKT后,继续作用于其下游转录因子FOXO家族,AKT可以直接磷酸化FOXO3a,使FOXO3a从核内输出,在胞质中降解,导致FOXO3a失活,对FOXO3a起到负向调节的作用。相反,FOXO3a在细胞核内定位时,又可以减少LSC中的AKT磷酸化。CML移植的相关实验结果显示,如果LSCs的FOXO3a严重缺失,会影响LSCs的功能,不能诱导CML的形成^[15]。

4.4 早幼粒细胞白血病蛋白(PML)信号通路 PML作为肿瘤抑制因子,在HSC维持、凋亡、增殖、衰亡中起重要作用^[16]。Pandolfi等^[17]发现高表达PML的CML患者不容易获得分子或细胞遗传学缓解,进一步动物实验表明,在受体小鼠体内,PML-的CML干细胞逐渐失去了产生CML样疾病的能力。不管是体内还是体外实验,PML的抑制剂As2O3可以在很大程度上减少CML干细胞的数量。这种结果好像与PML作为一种肿瘤抑制因子不符。国内研究人员吴洁等^[18]发现PML在CML患者中为低表达,PML过度表达能明显抑制K562细胞增殖,引起细胞周期G0/G1期阻滞。PML稳定表达的K562细胞中,c-myc的mRNA和蛋白表达水平降低,p27的mRNA和蛋白表达水平升高,因此,PML可能通过调节c-myc和p27的表达从而抑制白血病细胞的增殖。可见,PML的具体功能与作用机制还不是十分明确,有待进一步研究。

4.5 刺猬(Hh)基因信号通路 Hh基因,编码高度保守的分泌性糖蛋白,具有自我催化加工的能力。在哺乳动物中至少发现3种同源基因,包括Sonic HH(SHH)、Indian HH(IHH)和Desert HH(DHH),分别编码Shh、Ihh和Dhh蛋白。Hh信号通路是调节干细胞功能相对保守的通路,在胚胎形成中发挥重要作用,也可在多种恶性血液肿瘤中被激活。Patched(Ptch)是Hh信号传递中靶细胞膜上的受体,可对跨膜蛋白Smoothened(Smo)进行负调控。当Hh蛋白与Ptch结合后,Smo就会从Ptch结合区释放出来,继续活化其下游转录因子Gli,从而进一步调节细胞的增殖与存活^[19]。相关研究表明,在CML中Hh异常活化,并调节BCR/ABL的活性^[20]。与健康人相比,CML患者体内Hh通路中的SHH、Smo等蛋白及其下游效应分子的表达都是上调的,而且这些蛋白在CML急变期比慢性期表达量更高^[21]。因此,Hh信号通路有可能是CML急变的一个关键信号传导通路。Zhao等^[22]用Smo抑制

剂治疗的小鼠作为研究对象,发现接受BCR/ABL+HSC移植的小鼠体内CML干细胞的数量减少,而且小鼠的存活时间延长。这表明中断Hh信号通路,就会抑制CML干细胞的增殖,减缓CML的发展进程。

4.6 脂氧合酶-5(Alox5)信号通路 脂类代谢在CML干细胞的维持中扮演着重要角色。对CML小鼠的LSC进行基因微阵列分析发现,Alox5在CML干细胞中是上调的,而且伊马替尼治疗并不能减少Alox5的表达,敲除小鼠LSC中的Alox5基因,就不能发展成CML^[23],这表明Alox5在CML的形成中起着重要作用。而缺失Alox5的HSC仍具有正常的功能,说明Alox5对正常HSC的影响不大,主要是在LSC中起作用。

4.7 Fbxw7 c-Myc信号通路 日本学者用CML的模型鼠进行基因敲除实验,使肿瘤干细胞无法产生泛素连接酶(Fbxw7),然后用伊马替尼进行治疗,发现敲除基因后的小鼠对伊马替尼更敏感,且复发率低,此研究提示,Fbxw7对CML白血病起始细胞(LIC)维持静息状态起重要作用,可通过下调c-Myc来遏制细胞分裂^[24]。c-Myc转录因子半衰期较短,可对细胞周期进行正调控,诱导细胞进入增殖周期。Fbxw7缺失,对c-Myc的抑制作用消失,c-Myc可以高表达,使CML肿瘤干细胞进入分裂周期,从而对伊马替尼较敏感,因此在用伊马替尼治疗后,可以高效地杀伤肿瘤细胞。另外,Fbxw7缺失除了引起c-Myc过度表达外,还可诱导P53介导的细胞凋亡,并最终抑制肿瘤的发展^[25-26]。c-Myc蛋白表达减少或P53量的衰减均可导致CML的LIC活化和疾病恶化。

5 抗LSC的治疗

目前,针对LSC的治疗药物有的已用于临床,有的还在试验阶段。抗LSC的治疗,主要是针对LSC的特性采用相应的抑制剂或促进剂。主要有以下方面:(1)调节LSC细胞周期,使处于静止期的LSC进入分裂期,对化疗药物更敏感。(2)干扰LSC的微环境,阻断与CML干细胞有关的微环境内的各种信号途径,可以增强LSC对伊马替尼的敏感度,彻底杀灭CML干细胞。(3)针对LSC表面抗原,选择只表达于LSC特异性抗原作为靶向治疗的目标。(4)针对LSC的分子信号通路,如上文提到的应用Hh抑制剂阻滞Hh信号通路,可以减少CML干细胞的数量。另外,β-catenin的抑制剂、PML抑制剂等都可干扰LSC的自我更新和增殖,减少LSC的数量。

6 小结

一直以来,彻底治愈白血病是临床医生面临的一个难题,也是学者们研究的一个热点。自从伊马替尼问世后,CML的治疗取得了突破性的进展,但是耐药与复发现象增加了CML的治疗难度。现已证实白血病复发的根源是LSC的存在,因此只有彻底清除患者体内的LSC才可能达到治愈白血病的目的。对LSC进行研究,充分了解其生物学特性,根据其生物学特性制定新的治疗策略来清除LSC,而不会对正常的HSC造成损伤,则治愈CML将成为可能。

参考文献

- [1] Zheng C, Liao L, Fang B, et al. Identification of human chronic myelogenous leukemia progenitor cells with hemangioblastic characteristics[J]. Blood, 2005, 105(7): 2733-2748.
- [2] Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML [J]. N Engl J Med, 2004, 351(7): 657-667.
- [3] Helgason GV, Young GR, Holyoake TL. Targeting chronic mye-

- loid leukemia stem cells[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2013, 8(1): 14-21.
- [4] Hu Y, Swerdlow S, Duffy TM, et al. Targeting multiple kinase pathways in leukemic progenitors and stem cells is essential for improved treatment of Ph⁺ leukemia in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(45): 16870-16875.
- [5] Chen YY, Li SG. Molecular signatures of chronic myeloid leukemia stem cells[J]. Biomark Res, 2013, 1(1): 21-26.
- [6] Cerny-Reiterer S, Blatt K, Herrmann HA, et al. Phenotyping of leukemic stem cells in Ph plus ALL and Ph-ALL reveals unique profiles of markers and targets in distinct disease variants[J]. Blood, 2013, 122(21): 1654.
- [7] Herrmann H, Sadovnik I, Cerny-Reiterer SA, et al. Dipeptidylpeptidase IV (CD26) defines leukemic stem cells (LSC) in chronic myeloid leukemia[J]. Blood, 2014, 123(25): 3951-3962.
- [8] Raaijmakers MH, Mukherjee S, Guo S, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukemia[J]. Nature, 2010, 464(7290): 852-857.
- [9] Jin LH, Tabe Y, Konoplev S, et al. CXCR4 up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia (CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival of quiescent CML cells[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(1): 48-58.
- [10] Schürch C, Riether C, Matter MS, et al. CD27 signaling on chronic myelogenous leukemia stem cells activates Wnt target genes and promotes disease progression[J]. J Clin Invest, 2012, 122(2): 624-638.
- [11] Lim S, Saw TY, Zhang M, et al. Targeting of the MNK-eIF4E axis in blast crisis chronic myeloid leukemia inhibits leukemia stem cell function[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(25): 2298-2307.
- [12] Pettersson F, Del RS, Miller WJ. Eukaryotic translation initiation factor 4E as a novel therapeutic target in hematological malignancies and beyond[J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(9): 1035-1048.
- [13] Miyamoto K, Araki KY, Naka K, et al. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(1): 101-112.
- [14] Hui RC, Gomes AR, Constantinidou DA, et al. The forkhead transcription factor FOXO3a increases phosphoinositide-3 kinase/Akt activity in drug-resistant leukemic cells through induction of PIK3CA expression[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(19): 5886-5898.
- [15] Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, et al. TGF-beta-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukemia[J]. Nature, 2010, 463(7281): 676-680.
- [16] Fumio Nakahara CN, Ito K. The role of PML in hematopoietic and leukemic stem cell maintenance[J]. Int J Hematol, 2014, 100(1): 18-26.
- [17] Pandolfi K, Bernardi R, Morotti A, et al. PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells[J]. Nature, 2008, 453(7198): 1072-1078.
- [18] 吴洁, 邱玲, 程倩, 等. 早幼粒细胞白血病蛋白在髓系白血病细胞中的表达及对细胞增殖的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 5(36): 395-399.
- [19] Jagani Z, Dorsch M, Warmuth M. hedgehog pathway activation in chronic myeloid leukemia: a promise for a novel combination therapeutic approach[J]. Cell Cycle, 2010, 9(17): 3449-3456.
- [20] Liao HF, Su YC, Zheng ZY, et al. Sonic hedgehog signaling regulates Bcr-Abl expression in human chronic myeloid leukemia cells [J]. Biomed Pharmacother, 2012, 66(5): 378-383.
- [21] Long B, Zhu H, Zhu C, et al. Activation of the hedgehog pathway in chronic myelogenous leukemia patients[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30(1): 8.
- [22] Zhao C, Chen AL, Jamieson CH, et al. Hedgehog signalling is essential for maintenance of Cancer stem cells in myeloid leukaemia [J]. Nature, 2009, 458(7239): 776-U117.
- [23] Chen Y, Hu Y, Zhang H, et al. Loss of the Alox5 gene impairs leukemia stem cells and prevents chronic myeloid leukemia[J]. Nat Genet, 2009, 41(7): 783-792.
- [24] Takeishi S, Matsumoto A, Onoyama I, et al. Ablation of Fbxw7 eliminates Leukemia-Initiating cells by preventing quiescence[J]. Cancer Cell, 2013, 23(3): 347-361.
- [25] Reavie L, Buckley SM, Loizou E, et al. Regulation of c-Myc ubiquitination controls chronic myelogenous leukemia initiation and progression[J]. Cancer Cell, 2013, 23(3): 362-375.
- [26] King B, Trimarchi T, Reavie L, et al. The ubiquitin ligase FBXW7 modulates Leukemia-Initiating cell activity by regulating MYC stability[J]. Cell, 2013, 153(7): 1552-1566.

(收稿日期:2014-11-18)

· 综述 ·

半乳糖凝集素 3 在心力衰竭中的研究进展

陈琼 综述, 张秀明 审校

(广东省中山市人民医院检验科, 广东中山 528403)

关键词: 半乳糖凝集素 3; 心力衰竭; 作用机制; 临床应用**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.046**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2015)02-0249-03

半乳糖凝集素 3(Gal-3)是一种可溶性的 β-半乳糖苷结合蛋白, 相对分子质量为(29~35)×10³, 可与细胞外基质、细胞内糖蛋白和细胞表面分子相互作用, 存在于多种细胞的细胞质、细胞核、细胞表面以及细胞外基质, 参与细胞黏附、增殖、活

化、凋亡等, 介导许多炎症性疾病的免疫应答状态。Gal-3 能介导心肌中的巨噬细胞、肥大细胞浸润, 增加心肌间质、血管周围纤维化及心脏胶原沉积, 引起心肌肥厚、心肌顺应性减弱, 而导致心力衰竭(HF)的发生。在动物模型中, 连续心包灌注低剂