

子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响

郑丽红 胡晓丽 朱雪琼

摘要 间充质干细胞可从子宫相关组织中获得,如羊水、脐带、蜕膜、子宫内膜等。间充质干细胞可影响恶性肿瘤的生物学行为,包括妇科恶性肿瘤。然而,子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响报道不一。本文就子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响进行综述。

关键词 间充质干细胞 宫颈癌 卵巢癌 子宫内膜癌 生物学行为

中图分类号 R71 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.03.004

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是具有趋化肿瘤能力的多能干祖细胞,可从子宫相关组织中获得,如脐带、蜕膜、子宫内膜等^[1~4]。近年来研究表明,间充质干细胞可作为载体携带抗肿瘤药物或者各种基因来靶向治疗恶性肿瘤,但是,间充质干细胞会影响恶性肿瘤的生物学行为,包括妇科恶性肿瘤^[5~20]。目前国内外关于子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤细胞生物学行为的影响报道不一^[5~16]。本文就子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响进行综述。

一、脐带 MSC 对妇科恶性肿瘤的影响

1. 脐带 MSC 对妇科恶性肿瘤增殖的影响

(1)乳腺癌:韩丽鑫等^[5]构建荷瘤乳腺癌细胞 MCF-7 裸鼠模型,待肿瘤生长至 50mm^3 时,经尾静脉注射人脐带 MSC 4×10^4 个/毫升(低剂量)、 2×10^5 个/毫升(中剂量)、 1×10^6 个/毫升(高剂量),对照组注射生理盐水。连续观察 6 周发现, MSC 各剂量组肿瘤增长速度与对照组相比均减慢,但差异无统计学意义;6 周后剥离肿瘤,称重后发现,各剂量组的肿瘤重量与对照组相比也有下降趋势,但差异无统计学意义。提示脐带 MSC 对乳腺癌的在体生长无明显影响。有研究者与韩丽鑫等^[5]持相同观点,认为脐带 MSC 对乳腺癌的生长没有影响^[6]。Di 等^[7]将乳腺癌细胞 MDA-MB-231、MCF-7 无血清培养 24h 后,

分别更换为老化的人脐带 MSC (H_2O_2 诱导、第 45 代)培养基上清液、正常的人脐带 MSC(第 5 代)培养基上清液或普通培养基培养 48h,发现老化 MSC 培养基上清液组中 MDA-MB-231 和 MCF-7 的细胞数均较普通培养基组明显增加,而正常 MSC 组与普通培养基组之间比较,差异无统计学意义;将 MDA-MB-231 单独注射或分别和正常 MSC、老化 MSC 共同注射至裸鼠皮下,每组 8 只裸鼠,在注射第 3 天,老化 MSC 组 8 只裸鼠均可见明显结节,而正常 MSC 组仅 4 只看到明显结节,肿瘤细胞单独注射组仅 3 只观察到结节。6 周后测量肿瘤体积和重量发现,老化 MSC 组的肿瘤体积和重量明显高于正常 MSC 组与普通培养基组,而正常 MSC 组与普通培养基组之间比较,差异则无统计学意义,提示正常脐带 MSC 对乳腺癌细胞的增殖无明显影响,而老化脐带 MSC 在体内、体外均能促进乳腺癌细胞的增殖。

也有研究者发现脐带 MSC 能够促进乳腺癌细胞的增殖。吴晓东等^[8]将细胞或基质胶混悬液注射到 NOD/SCID 小鼠第 4 个乳腺的脂肪垫下,空白组单独注射 MCF-7,试验组 1 注射 MCF-7 和基质胶混悬液,试验组 2 注射人脐带 MSC、MCF-7 和基质胶混悬液,8 周后发现空白组成瘤率低且体积小($3.0 \pm 0.5\text{mm}^3$),试验组 1 肿瘤体积稍增大($5.0 \pm 0.6\text{mm}^3$),而试验组 2 的肿瘤体积明显增大($9.0 \pm 0.6\text{mm}^3$),提示脐带 MSC 能促进乳腺癌细胞 MCF-7 增殖。左伟敏等^[9]将 Luminal B 型乳腺癌细胞 BT474 与人脐带 MSC 共培养 72h,对照组单独培养肿瘤细胞,发现共培养组细胞密度明显增加,进一步通过细胞生长增殖分析实验发现共培养组细胞存活比例是对照组的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81671809);温州市科技计划项目(Y20160123)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院妇产科

通讯作者:朱雪琼,教授,博士生导师,电子信箱:zjwzzxq@163.com

148.06%,提示脐带 MSC 促进乳腺癌细胞 BT474 增殖。

然而,有研究者却发现脐带 MSC 能够抑制乳腺癌细胞的增殖。Ma 等^[10]将乳腺肿瘤干细胞(MDA-MB-231、MCF-7 及原代乳腺癌细胞来源)分别和成纤维细胞、人脐带 MSC 共培养,发现 3 种乳腺肿瘤干细胞与 MSC 共培养后克隆形成数均较肿瘤细胞单独培养组明显减少,而成纤维细胞对肿瘤细胞克隆形成无明显影响;同时也发现当 MSC 与肿瘤细胞的比例为 1:4 和 1:2 时,肿瘤细胞数均明显减少;通过在体实验表明,低剂量(0.5×10^6 个/毫升)的 MSC 对乳腺肿瘤干细胞的生长没有影响,而中剂量(1×10^6 个/毫升)及高剂量(3×10^6 个/毫升)的 MSC 显著抑制乳腺肿瘤干细胞的生长。说明一定数量的脐带 MSC 能够抑制乳腺肿瘤干细胞的增殖。Gauthaman 等^[11]用 50%、70%、100% 的人脐带 MSC 培养基上清液培养乳腺癌细胞系 MDA-MB-231,对照组为普通培养基培养,72h 后采用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)检测,结果显示细胞生长抑制率分别为 16.39%、20.73%、22.96%,3 种不同比例的脐带 MSC 培养基上清液均能够显著抑制 MDA-MB-231 细胞生长;同时,该研究将蛋白含量为 5、10、15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的脐带 MSC 细胞裂解液加入乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中,与对照组(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组)相比,发现三者的细胞生长抑制率分别是 39.66%、46.36% 和 49.10%,3 个不同浓度的脐带 MSC 细胞裂解液均显著抑制乳腺癌细胞的生长。通过 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-Bromo-2-deoxyuridine, BrdU)检测发现,50% 的 MSC 培养基上清液和蛋白含量为 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MSC 细胞裂解液对肿瘤细胞生长抑制率达 13.64%、40.91%。因此,脐带 MSC 培养基上清液和 MSC 细胞裂解液均可抑制乳腺癌细胞的增殖,且脐带 MSC 细胞裂解液对乳腺癌细胞增殖的抑制更明显。

(2) 宫颈癌:林琳等^[12]将人脐带 MSC 与宫颈癌细胞 HeLa 在体外共培养 48h 后,发现共培养组的细胞增殖力(A_{450} 值: 1.191 ± 0.058)与 HeLa 细胞单独培养组的细胞增殖力(A_{450} 值: 1.172 ± 0.069)无明显差异。此外,将人脐带 MSC(1×10^5 个/毫升)与 HeLa 细胞(1×10^6 个/毫升)按 1:10 混合后接种于裸鼠皮下,18 天后观察发现混合接种 MSC、HeLa 细胞组的肿瘤体积($1.46 \pm 0.10 \text{mm}^3$)和重量($1.80 \pm 0.12 \text{g}$)均显著高于单纯接种 HeLa 细胞组的体积($0.850 \pm$

0.043mm^3)和重量($1.10 \pm 0.05 \text{g}$),提示人脐带 MSC 对体外 HeLa 细胞的增殖虽然没有影响,但是可以促进 HeLa 细胞在体内的生长。

然而,有学者却持有不同观点。刘华等^[13]将人脐带 MSC 或其 MSC 培养基上清液与宫颈癌细胞 HeLa 共培养 72h,对照组为普通培养基培养的 HeLa 细胞,发现 HeLa 细胞增殖力随着 MSC 比例(1/9、1/5、1/3、1/2、2/3、3/4)或 MSC 培养基浓度(5%、10%、20%、40%、60%)的增加而逐渐下降。进一步通过集落形成实验结果显示,MSC 条件培养液可抑制 HeLa 细胞集落形成能力。认为 MSC 在体外可以抑制 HeLa 细胞增殖。刘世凯等^[14]的研究也有类似的发现。因此,脐带 MSC 对 HeLa 细胞增殖的影响可能和脐带 MSC 的浓度以及共培养时间有关,尚待进一步研究。

(3) 卵巢癌:杨园园等^[15]将绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记的人脐带 MSC 与红色荧光蛋白 mcherry 标记的卵巢癌细胞 OVCAR-3、SKOV-3 按 3:2 共培养,在第 3、5、7 天计数红色和绿色荧光,发现红色荧光标记的卵巢癌细胞数分别为 36.1%、38.1%、73.3%,肿瘤细胞比例逐渐上升,说明人脐带 MSC 促进卵巢癌细胞的增殖。

然而,也有研究发现脐带 MSC 会抑制卵巢癌细胞的增殖。向江东等^[16]用人脐带 MSC 培养基上清液培养 SKOV-3 细胞 24、48 和 72h,对照组用普通培养基,发现 SKOV-3 细胞增殖活力随条件培养基作用时间增加而显著下降,细胞增殖的抑制率分别为 17.08%、35.36%、46.83%。提示脐带 MSC 抑制卵巢癌细胞的增殖。Gauthaman 等^[11]用 50%、70%、100% 的脐带来源 MSC 培养基上清液培养卵巢癌细胞系 TOV-112D,通过 MTT 法检测发现,细胞生长抑制率分别为 2.05%、3.44%、8.67%;将蛋白含量为 5、10、15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的脐带 MSC 细胞裂解液加入卵巢癌细胞 TOV-112D 中,发现三者的细胞生长抑制率分别是 36.84%、56.84% 和 60.00%;通过 BrdU 方法比较发现,50% 的 MSC 培养基上清液和蛋白含量为 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MSC 细胞裂解液对肿瘤细胞生长抑制率达 8.33%、34.33%,提示脐带 MSC 抑制卵巢癌细胞的增殖,尤其是脐带 MSC 细胞裂解液的抑制作用更著。

2. 脐带 MSC 对妇科恶性肿瘤凋亡的影响

(1) 乳腺癌:Ma 等^[10]分别将 3 种不同来源的乳腺肿瘤干细胞(分别来源于 MDA-MB-231、MCF-7 及原代乳腺癌细胞)和人脐带 MSC 共培养,通过流式细胞仪检测细胞周期发现,乳腺癌干细胞和 MSC

共培养组中 MDA - MB - 231、MCF - 7 及原代乳腺癌细胞来源的肿瘤干细胞其 G₂/M 期的比例分别从乳腺癌干细胞单独培养组的 6.20% ± 2.00%、7.06% ± 1.95% 和 4.86% ± 1.60% 增长至 14.31% ± 2.60%、12.35% ± 3.07% 和 15.39% ± 3.34%。检测细胞凋亡发现,3 种细胞的凋亡率均明显增加,其凋亡率分别增长为 26.55% ± 5.97%、25.80% ± 4.28% 和 29.10% ± 4.10%,均较乳腺肿瘤干细胞单独培养组的凋亡率(<5%)显著增长,说明脐带 MSC 能够通过阻滞乳腺癌细胞周期,从而促进乳腺癌细胞的凋亡。Gauthaman 等^[11]将 50% 的人脐带 MSC 培养基上清液和蛋白含量为 15 μg/ml 的 MSC 细胞裂解液加入到乳腺癌细胞 MDA - MB - 231 中,发现其凋亡率分别较对照组(普通培养基)增加了 13.35%、17.52%,说明脐带 MSC 培养基的上清液和细胞裂解液均能促进乳腺癌细胞凋亡。

(2) 宫颈癌:刘华等^[13]将人脐带 MSC 或其条件培养基与宫颈癌细胞 HeLa 共培养,发现 MSC 条件培养基上调 HeLa 细胞中促凋亡分子 P53、Bax 及 caspase - 3 基因表达,下调凋亡抑制因子 Bcl - 2 及 survivin 表达,提示脐带 MSC 可以促进宫颈癌细胞的凋亡。

(3) 卵巢癌:向江东等^[16]用人脐带 MSC 培养基上清液培养 SKOV - 3 细胞 24、48 以及 72h,对照组用普通培养基,通过碘化丙啶(propidium iodide, PI)染色发现与对照组相比,SKOV - 3 细胞随条件培养基作用时间的增加凋亡细胞逐渐增多。提示脐带 MSC 促进卵巢癌细胞的凋亡。Gauthaman 等^[11]也发现人脐带 MSC 能够促进卵巢癌细胞的凋亡。

综上可知,脐带 MSC 能促进乳腺癌、宫颈癌和卵巢癌等肿瘤细胞的凋亡。

3. 脐带 MSC 对妇科恶性肿瘤侵袭和迁移的影响

(1) 乳腺癌:Gauthaman 等^[11]用 50% 的人脐带 MSC 培养基的上清液和蛋白含量为 15 μg/ml 的 MSC 细胞裂解液处理乳腺癌细胞 MDA - MB - 231 发现,肿瘤细胞的迁移率分别下降 21.14%、32.97%,可见脐带 MSC 培养基的上清液和细胞裂解液均可明显抑制乳腺癌细胞的迁移。

但是,有研究却发现脐带 MSC 促进乳腺癌的迁移。韩丽鑫等^[5]构建荷瘤乳腺癌细胞 MCF - 7 裸鼠,待肿瘤生长至 50mm³ 时,经尾静脉注射人脐带 MSC 4 × 10⁴ 个/毫升(低剂量组)、2 × 10⁵ 个/毫升(中剂量组)、1 × 10⁶ 个/毫升(高剂量组),对照组注射生理盐

水。6 周后发现中高剂量组各有 1 只动物出现肺转移,提示脐带间充质干细胞可促进乳腺癌的转移。Di 等^[7]将老化的人脐带 MSC 培养基上清液、正常的人脐带 MSC 培养基上清液或普通培养基和 MDA - MB - 231 间接共培养一定时间,发现各组细胞迁移数分别为 346.7 ± 6.8、159.2 ± 3.7 和 84.4 ± 5.4,提示脐带 MSC 培养基上清液能够促进乳腺癌细胞的迁移,尤其是老化的脐带 MSC。

(2) 卵巢癌:Gauthaman 等^[11]还发现人脐带 MSC 可抑制卵巢癌细胞的迁移。将 50% 的脐带来源 MSC 培养基上清液和蛋白含量为 15 μg/ml 的 MSC 细胞裂解液加入到卵巢癌细胞 TOV - 112D 中,其迁移率较对照组(普通培养基)分别下降了 26.08%、38.93%。

有关脐带 MSC 对妇科恶性肿瘤侵袭和迁移的影响的研究尚少,仍有待进一步研究。

二、蜕膜 MSC 对妇科恶性肿瘤的影响

1. 蜕膜 MSC 对妇科恶性肿瘤增殖的影响

乳腺癌:Vegh 等^[17]用甲基亚硝基脲(N - nitroso - N - methylurea, NMU)诱导小鼠形成乳腺癌,通过尾静脉每周注射人蜕膜 MSC 1.5 × 10⁶ 个/毫升,持续注射 5 周,对照组注射培养基,第 10 周处死并分析肿瘤数量及原发肿瘤体积、重量发现,MSC 组形成的肿瘤数量较对照组明显减少,原发肿瘤体积、重量亦较对照组明显减小,提示蜕膜 MSC 能抑制乳腺肿瘤的形成及生长。

2. 蜕膜 MSC 对妇科恶性肿瘤侵袭和迁移的影响

(1) 卵巢癌:So 等^[18]将人蜕膜 MSC 与卵巢癌细胞 IGROV - 1、SKOV - 3 按 1:1 共培养 1 周,通过细胞因子芯片分析,发现共培养组的培养基中 IL - 6 的分泌增加。进一步研究发现,用 IL - 6 处理卵巢癌细胞后,通过 Western blot 法及 RT - PCR 检测发现,处理组的 MMP - 2、MMP - 9 的表达较未处理组明显增加,Snail 表达增加、E - cadherin 表达下降,通过划痕实验和侵袭实验发现,细胞的迁移和侵袭能力也明显增加,提示蜕膜 MSC 通过 IL - 6 促进卵巢癌细胞的上皮间质转化,从而促进其侵袭和转移。

(2) 子宫内膜癌:So 等^[18]也发现人蜕膜 MSC 可以通过 IL - 6 促进子宫内膜癌细胞 Ishikawa 的上皮间质转化,从而促进其侵袭和转移。

三、其他 MSC 对妇科恶性肿瘤的影响

有研究发现,羊水和子宫内膜来源 MSC 也能够抑制妇科恶性肿瘤的增殖。Ghafarzadeh 等^[19]将人羊水 MSC 与乳腺癌细胞 T47D 共培养 5 天,发现共培养

组较肿瘤细胞单独培养组的细胞增殖活性明显下降,提示羊水 MSC 抑制乳腺癌细胞的增殖。Bu 等^[20]用人月经血来源的子宫内膜 MSC 培养基上清液处理卵巢癌细胞 SKOV-3、HO-8910,发现随着 MSC 培养基浓度(0、50%、100%)的增加,细胞增殖力逐渐下降,并呈现浓度依赖;将 SKOV-3 和人子宫内膜 MSC 混合后注射到裸鼠皮下,以单独注射卵巢癌细胞作为对照组。在注射后的第 14、28 天,发现混合注射组的肿瘤体积明显小于对照组,同时也发现混合注射组的肿瘤重量明显小于对照组,故推测人子宫内膜 MSC 在体内和体外均能抑制卵巢癌细胞的增殖。

四、展 望

近年来,MSC 的肿瘤靶向性使其成为细胞治疗研究的一大热点。研究发现,间充质干细胞可作为载体细胞携带 TRAIL、IL-21、IFN- β 等因子靶向治疗肿瘤^[5-7]。然而,MSC 会影响恶性肿瘤的生物学行为,包括妇科恶性肿瘤。并且,子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响报道不一。因此,本文就子宫来源间充质干细胞对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响进行综述。笔者研究发现,脐带 MSC 能促进乳腺癌、宫颈癌和卵巢癌细胞的凋亡,但是脐带 MSC 对乳腺癌、宫颈癌和卵巢癌细胞增殖的影响尚无定论;蜕膜 MSC 抑制乳腺癌的生长、促进卵巢癌和子宫内膜癌的侵袭和迁移;羊水 MSC 抑制乳腺癌的增殖;子宫内膜 MSC 抑制卵巢癌细胞的增殖。子宫来源 MSC 对妇科恶性肿瘤确实有作用,并且可能和 MSC 的作用浓度和作用时间相关,但是 MSC 对妇科恶性肿瘤生物学行为的影响尚无定论。因此,无论选取何种组织来源的间充质干细胞作为靶向载体治疗妇科恶性肿瘤时,其生物安全性问题都有待于进一步研究。

参考文献

- Kuhn NZ, Tuan RS. Regulation of stemness and stem cell niche of mesenchymal stem cells: implications in tumorigenesis and metastasis [J]. J Cell Physiol, 2010, 222(2): 268-277
- Zhang W, Wang Y, Kong J, et al. Therapeutic efficacy of neural stem cells originating from umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in diabetic retinopathy[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 408
- Paris JL, de la Torre P, Manzano M, et al. Decidua-derived mesenchymal stem cells as carriers of mesoporous silica nanoparticles. In vitro and in vivo evaluation on mammary tumors[J]. Acta Biomater, 2016, 33: 275-282
- Ebrahimi-Barough S, Hoveizi E, Yazdankhah M, et al. Inhibitor of PI3K/Akt signaling pathway small molecule promotes motor neuron differentiation of human endometrial stem cells cultured on electrospun biocomposite polycaprolactone/collagen scaffolds[J]. Mol Neurobiol,

- 2017, 54(4): 2547-2554
- 韩丽鑫,韩之波,耿洁,等. 脐带间充质干细胞对乳腺癌细胞系 MCF-7 裸鼠移植瘤生长的影响[J]. 中国组织工程研究,2015,19(19):2986-2992
- Ma F, Chen D, Chen F, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells promote breast cancer metastasis by interleukin-8- and interleukin-6-dependent induction of CD44(+)/CD24(-) cells [J]. Cell Transplant, 2015, 24(12): 2585-2599
- Di GH, Liu Y, Lu Y, et al. IL-6 secreted from senescent mesenchymal stem cells promotes proliferation and migration of breast cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e113572
- 吴晓东,杨永朝,宋献美,等. 人脐带间充质干细胞对 NOD/SCID 小鼠乳腺原位移植人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖分化的影响[J]. 肿瘤基础与临床,2013,26(5):2986-2992
- 左伟敏,祝玲,林婷婷,等. 间充质干细胞促进 Luminal B 型乳腺癌细胞生长增殖及其分子机制[J]. 中华细胞与干细胞杂志,2016,6(4):228-235
- Ma Y, Hao X, Zhang S, et al. The in vitro and in vivo effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on the growth of breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 133(2): 473-485
- Gauthaman K, Yee FC, Cheyyatraivendran S, et al. Human umbilical cord Wharton's jelly stem cell (hWJSC) extracts inhibit cancer cell growth in vitro[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(6): 2027-2039
- 林琳,孙雯,王丽双. 间充质干细胞对人 HeLa 宫颈癌细胞生长的影响[J]. 中华医学杂志,2015,95(15):1175-1178
- 刘华,陈亚娜,郑燕,等. 人脐带间充质干细胞对宫颈癌 HeLa 细胞增殖的影响[J]. 山东大学学报:医学版,2013,51(6):29-33
- 刘世凯,宋莉莉,曾赛田,等. 人脐带间充质干细胞对宫颈癌 Hela 细胞增殖特性的影响[J]. 中国组织工程研究,2015,19(45):7274-7278
- 杨园园,樊伯珍,童晓文. 人类间充质干细胞与卵巢癌细胞间的相互作用研究[J]. 中华医学杂志,2015,95(23):1849-1853
- 向江东,周莉娜,李林霞. 人脐带间充质干细胞抑制卵巢癌的初步研究[J]. 现代生物医学进展,2016,16(23):4406-4409
- Vegh I, Grau M, Gracia M, et al. Decidua mesenchymal stem cells migrated toward mammary tumors in vitro and in vivo affecting tumor growth and tumor development[J]. Cancer Gene Ther, 2013, 20(1): 8-16
- So KA, Min KJ, Hong JH, et al. Interleukin-6 expression by interactions between gynecologic cancer cells and human mesenchymal stem cells promotes epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Oncol, 2015, 47(4): 1451-1459
- Ghafarzadeh M, Eatemadi A, Fakhravar Z. Human amniotic fluid derived mesenchymal stem cells cause an anti-cancer effect on breast cancer cell line in vitro[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2016, 62(6): 102-106
- Bu S, Wang Q, Zhang Q, et al. Human endometrial mesenchymal stem cells exhibit intrinsic anti-tumor properties on human epithelial ovarian cancer cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 37019

(收稿日期:2018-05-08)

(修回日期:2018-05-24)