

## 综述

## 肿瘤干细胞代谢在肿瘤发展中作用的研究进展

郑诗凡<sup>1</sup>, 马 皎<sup>2</sup>

1. 上海交通大学医学院, 上海 200025; 2. 上海交通大学基础医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海 200025

**[摘要]** 无法彻底清除肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 被认为是肿瘤治疗过程中的一个巨大障碍。CSCs是一群存在于异质性肿瘤组织中的细胞亚群, 它们具有自我更新和分化的潜能。作为一个功能性的概念, CSCs能够表现出启动肿瘤发生、抵抗放射治疗与化学治疗 (化疗) 以及导致肿瘤复发等恶性行为。有关CSCs多方面的研究已被陆续开展, 包括特异性的细胞表面标志、自我更新信号通路以及表观遗传调控等, 然而CSCs代谢却未得到足够的关注。基于现有的相关研究, 该文综述了CSCs的能量和物质代谢特性, 并从代谢角度探讨了CSCs在导致肿瘤治疗抗性与复发中的作用, 同时还阐述了CSCs代谢与表观遗传调控的密切联系, 并强调靶向CSCs代谢在肿瘤治疗中具有巨大的潜在价值。

**[关键词]** 肿瘤干细胞; 代谢; 治疗抗性; 肿瘤复发; 表观遗传调控; 肿瘤治疗

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2022.06.019 **[中图分类号]** R730.23 **[文献标志码]** A

## Research progress in the role of cancer stem cell metabolism in tumor development

ZHENG Shifan<sup>1</sup>, MA Jiao<sup>2</sup>

1. Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Science, Shanghai 200025, China

**[Abstract]** The inability to fully eradicate cancer stem cells (CSCs) is considered to be a huge obstacle in tumor therapy. CSCs can be defined as a subpopulation of cells within heterogeneous tumors that have the potential for self-renewal and differentiation. They can also drive malignant behaviors, such as tumor initiation, resistance to chemotherapy and radiotherapy, and tumor relapse. Multiple aspects of CSCs have been studied, including specific cell surface markers, self-renewal pathways and epigenetic regulation. However, relatively little attention has yet been directed towards to the metabolism of CSCs. Based on the relevant research we currently know, here we review the properties of the energy and substance metabolism in CSCs, and we also discuss the role of CSCs in therapy resistance and tumor relapse from a metabolic perspective. In addition, we describe the linkage between CSCs metabolism and epigenetic regulation. Therefore, we highlight the huge therapeutic potential of targeting CSCs metabolism in tumor therapy.

**[Key words]** cancer stem cell (CSC); metabolism; therapy resistance; tumor relapse; epigenetic regulation; tumor therapy

近年来, 恶性肿瘤已成为严重威胁人类生命健康的疾病, 无法彻底清除肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 被认为是肿瘤治疗过程中的一个巨大障碍<sup>[1]</sup>。20世纪90年代, 研究者首次在严重联合免疫缺陷小鼠中证实了具有急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 起始作用的白血病干细胞 (leukemic stem cells, LSCs) 的存在, 并发现这些细胞具有共同的表面标志 CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup><sup>[2-3]</sup>。AL-HAJJ

等<sup>[4]</sup>首次在实体瘤中发现了乳腺癌CSCs, 之后越来越多的研究<sup>[5-10]</sup>陆续报道了实体瘤中CSCs的存在, 包括脑肿瘤、结肠癌、胰腺癌、肺癌、肝癌和前列腺癌等。

肿瘤的传统治疗效果有限, 这与肿瘤的转移、复发、治疗抗性以及免疫逃逸等生物学特性息息相关。CSCs是一群存在于异质性肿瘤组织中的细胞亚群, 作为一个功能性的概念, 它们能够表现出启动肿瘤发生、

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (81700134); 上海交通大学医学院 2021 年度 RBL 项目 (2021RBL-B-010)。

**[作者简介]** 郑诗凡 (1998—), 女, 硕士生; 电子信箱: zhengshifan@sjtu.edu.cn。

**[通信作者]** 马 皎, 电子信箱: drjiaoma@shsmu.edu.cn。

**[Funding Information]** National Natural Science Foundation of China (81700134); Research Based Learning Project of Shanghai Jiao Tong University School of Medicine in 2021 (2021RBL-B-010).

**[Corresponding Author]** MA Jiao, E-mail: drjiaoma@shsmu.edu.cn.

抵抗放射治疗和化学治疗 (化疗)、导致肿瘤复发等恶性行为<sup>[11-12]</sup>, 因此, 彻底清除 CSCs 有望提升肿瘤治疗的效果。有研究认为靶向 CSCs 的治疗可使疾病达到临床缓解, 并产生持久的应答, 甚至治愈疾病<sup>[13]</sup>。

基于 CSCs 可作为潜在的治疗靶点, 有关其多方面的研究被陆续开展, 包括 CSCs 特异的细胞表面抗原、自我更新信号通路以及表观遗传调控等<sup>[14-15]</sup>。然而, CSCs 的代谢特性却未得到足够的关注, 许多研究忽略了肿瘤组织内部的异质性以及疾病的进展对肿瘤细胞代谢模式的影响。寻找 CSCs 的代谢弱点 (vulnerability) 并以此为靶标, 有望为肿瘤治疗提供新的思路。本文拟对近年来有关 CSCs 的代谢特性及其在肿瘤发展中的作用研究进行相关综述。

## 1 肿瘤干细胞的能量代谢特性

糖酵解和氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 是细胞能量代谢的 2 条主要途径。WARBURG<sup>[16]</sup>发现, 相比于正常分化的细胞, 肿瘤细胞高度依赖糖酵解, 即使在有氧条件下, 依旧主要通过糖酵解的方式利用葡萄糖, 这被称为“Warburg 效应”。在许多实体瘤中, CSCs 也高度依赖糖酵解, 这些 CSCs 高表达糖酵解相关因子, 包括葡萄糖转运体、己糖激酶和丙酮酸脱氢酶激酶等, 抑制糖酵解过程中的关键酶活性或相关基因的表达将显著减少 CSCs 的数量, 并使肿瘤生长受损<sup>[17-20]</sup>。随着研究的进展, 肿瘤的异质性提示 CSCs 与其他肿瘤细胞在能量代谢方面存在差异, CSCs 的能量代谢模式并非固定不变。能量代谢的灵活性不仅为细胞应对外环境的变化创造条件, 还与细胞内氧化还原稳态的调控息息相关。

### 1.1 OXPHOS

尽管糖酵解作为 CSCs 的重要能量代谢途径已在许多研究中得到证实, 越来越多的研究关注到 OXPHOS 对 CSCs 的生存及其发挥作用至关重要。在一系列线粒体内膜蛋白质复合物的参与下, 电子和  $H^+$  从供体还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 或还原型黄素腺嘌呤二核苷酸 (reduced flavin adenine dinucleotide,  $FADH_2$ ) 传递至受体  $O_2$ , 同时释放能量驱动 ATP 的生成。

LAGADINOU 等<sup>[21]</sup>发现富集了 LSCs 的低水平

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的 AML 细胞高表达 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 这一具有调控线粒体作用的抗凋亡蛋白, 抑制 Bcl-2 能够阻断细胞的 OXPHOS 并迅速降低 LSCs 中 ATP 的产量, 高水平 ROS 的 AML 细胞和正常的  $CD34^+$  细胞可通过上调糖酵解代偿细胞对能量的需求, 而 LSCs 的备用糖酵解能力 (reserve glycolytic capacity) 则明显不足, LSCs 这一独特的能量代谢弱点有望成为临床上选择性清除 LSCs 的靶点。在慢性髓系白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 中, 研究者通过同位素示踪联合代谢组学的方法证实, LSCs 相比于其他 CML 细胞可更高效地将软脂酸和葡萄糖转化为三羧酸循环的中间产物, 并高度依赖 OXPHOS; 在离体和异种移植模型中, 联合应用具有抑制线粒体翻译功能的四环素和酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼的化疗方法能够靶向清除 CML LSCs, 从而减少肿瘤复发和获得性耐药的产生<sup>[22]</sup>。

OXPHOS 对 CSCs 的重要作用在实体瘤中依旧存在。胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs) 比分化的瘤细胞具有更高的氧化代谢和 ATP 水平, 抑制 OXPHOS 而非糖酵解将大大损伤 GSCs 成瘤和异种移植存活能力<sup>[23]</sup>。GSCs 的 OXPHOS 受内源性胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2 (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2, IMP2) 的调控, IMP2 负责向线粒体运送编码呼吸链相关成分的 mRNA, 并通过辅助呼吸链复合物的组装来维持 OXPHOS<sup>[24]</sup>。另有研究根据胰腺癌 CSCs 的能量代谢特性, 在离体条件下通过转变碳源, 即以半乳糖代替葡萄糖, 促使胰腺癌细胞更多地进行 OXPHOS, 并以此来富集胰腺癌 CSCs; 这些富集得到的细胞表现出上调表达的 CSCs 表面抗原、增强的致瘤能力和免疫逃逸等特性<sup>[25]</sup>。LEE 等<sup>[26]</sup>揭示了在三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 中, 原癌基因编码的转录因子 MYC 和抗凋亡蛋白 MCL1 可协同增强 CSCs 中 OXPHOS, 并诱导维持 CSCs 的化疗抗性。此外, 相关研究还报道了卵巢癌、结直肠癌和胆管癌等实体瘤的 CSCs 也表现出类似的能量代谢特性<sup>[27-30]</sup>。

CSCs 对 OXPHOS 的特殊需求使得线粒体电子传递链有望成为临床治疗的突破点。如前所述, 四环素被研究用于靶向清除 LSCs, 因其能够抑制线粒体蛋白质的翻译从而阻断 OXPHOS 并使细胞功能受损<sup>[22,31]</sup>。直接针对电子传递链复合物 I 的小分子抑

制剂 IACS-010759 目前正在 AML 和实体瘤中进行 I 期临床试验;在之前的研究中发现该抑制剂能够有效抑制肿瘤生长并诱导肿瘤细胞凋亡,该小分子抑制剂不仅能够损害 CSCs 中的能量代谢,还可阻断细胞生物合成所必需的大分子的生成<sup>[32]</sup>。在实体瘤中,二甲双胍被作为 OXPHOS 的抑制剂应用于卵巢癌和胰腺癌的研究与治疗中。一项 II 期临床试验的结果表明二甲双胍能够有效减少卵巢癌 CSCs 的数量并增强肿瘤对顺铂的敏感性<sup>[33]</sup>,然而二甲双胍对改善晚期胰腺癌的治疗效果并不理想<sup>[34]</sup>。尽管胰腺癌 CSCs 被认为高度依赖 OXPHOS,但仍旧发现在初始治疗前即已存在一小部分抵抗二甲双胍的 CSCs 亚群,这些细胞通常具有相同的分子标志 CD133<sup>+</sup>/Mito<sup>low</sup>,它们表现出一种中间过渡状态的代谢表型,从而使得这些细胞能够免受二甲双胍带来的治疗压力<sup>[35]</sup>。

## 1.2 能量代谢适应性

有关 CSCs 主要的能量代谢途径仍旧存在争议。不同肿瘤来源 CSCs 的能量代谢存在一定的差异,且随着疾病的进展和肿瘤微环境的改变,CSCs 的代谢表型将发生改变,即出现代谢适应性。

如前所述,糖酵解和 OXPHOS 对 GSCs 维持其生物学功能均有重要的作用<sup>[20,23]</sup>。较新的研究发现,分别以糖酵解或 OXPHOS 为主要能量代谢途径的 GSCs 可在同一肿瘤组织中被找到,后者被称为线粒体型 GSCs,应用呼吸链抑制剂寡霉素可使线粒体型 GSCs 转变能量代谢模式,从而增加糖酵解相关代谢酶的表达并提高乳酸的产量<sup>[36]</sup>。与之类似的是,在卵巢癌的小鼠模型中,卵巢癌干细胞(ovarian cancer stem cells, OCSCs)能够加快糖酵解的速率以应对寡霉素的产能抑制,又可在解偶联时提升细胞对氧气的摄取率,从而维持呼吸链的质子动力势能<sup>[37]</sup>。乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)通常具有 2 种不同表型的细胞亚群,上皮样(epithelial-like, E) BCSCs 高表达乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)并处于增殖状态,而间充质样(mesenchymal-like, M) BCSCs 的细胞周期通常是静息的,其具有明显的侵袭性<sup>[38]</sup>。LUO 等<sup>[39]</sup>发现 E-BCSCs 和 M-BCSCs 的代谢特性具有显著差异:E-BCSCs 中的 OXPHOS 更为活跃,因而具有较高的 ROS 水平;而 M-BCSCs 高度依赖糖酵解,其 ROS 水平较低,由缺氧或糖酵解抑制剤造成的氧化应激可使

BCSCs 发生间充质样到上皮样的转变,从而改变细胞的能量代谢模式与细胞内 ROS 水平。在 AML 的相关研究中,研究者利用细胞内 ROS 水平的差异富集 LSCs,无论是新发还是复发的病例,其 LSCs 普遍呈现出相对较低的 ROS 水平<sup>[21,40]</sup>,这与低水平 ROS 对维持 LSCs 的干性具有重要作用有关<sup>[41]</sup>。

上述研究充分体现了 CSCs 灵活的能量代谢特性。CSCs 中主导的能量代谢途径究竟是糖酵解还是 OXPHOS 与肿瘤类别、肿瘤微环境、CSCs 的不同亚群以及细胞所处的氧化应激状态等有着密切的联系。

## 2 肿瘤干细胞的物质代谢特性

OXPHOS 的上游环节涉及多种物质的合成与分解代谢,包括葡萄糖、氨基酸和脂质等,这些物质可转化为三羧酸循环的中间产物进而生成 NADH 或 FADH<sub>2</sub>,为 OXPHOS 提供原料。物质代谢为 CSCs 的能量代谢提供原料,同时也对维持 CSCs 的生物学特征起关键作用。

### 2.1 不灵活的氨基酸代谢

对底物的选择性依赖抑或协调利用可反映 CSCs 物质代谢的灵活度。已有临床试验结果表明,联合应用 Bcl-2 抑制剂维奈托克(venetoclax)和去甲基化药物阿扎胞苷(azacitidine)在不适用传统化疗的新发老年 AML 病例中取得了非常可观的治疗效果<sup>[42]</sup>。JONES 等<sup>[43]</sup>进一步探索了该化疗方案的潜在作用机制,在新发 AML 病例中,LSCs 选择性依赖氨基酸的分解代谢驱动 OXPHOS,而其他底物如葡萄糖、谷氨酰胺和脂质的缺失并未对 LSCs 的 OXPHOS 造成较大影响;该化疗方案通过抑制 LSCs 对氨基酸的摄取来削弱细胞内氨基酸代谢水平,进而导致 OXPHOS 驱动不足,从而达到靶向清除 LSCs 的目的。与 LSCs 不同的是,高水平 ROS 的 AML 细胞可通过加强糖酵解和脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)应对由氨基酸缺失导致的细胞产能不足<sup>[43]</sup>,这一现象在前人的研究中也得到验证<sup>[21]</sup>。LSCs 对氨基酸的独特需求反映出其代谢的不灵活性(metabolic inflexibility)。研究者敏锐地捕捉到了以该代谢弱点为靶标的潜在治疗价值,并推进向临床应用转化。

然而,关于 LSCs 氨基酸代谢不灵活性的形成原因仍有待阐明。一种解释是 LSCs 已经发挥了自身最

大的底物代谢能力,而无法再对细胞产能不足做出进一步的代偿<sup>[44]</sup>。值得注意的是,联合应用维奈托克和阿扎胞苷对复发AML病例的治疗效果并不理想<sup>[45]</sup>,进一步研究表明复发的LSCs可通过增强FAO来应对联合化疗造成的细胞内氨基酸水平不足<sup>[43]</sup>。复发LSCs相较于新发LSCs具有更加灵活的代谢表型,这提示CSCs的代谢特性随疾病的进展发生了改变。

LSCs氨基酸代谢的不灵活性为肿瘤治疗提供了新的窗口,选择性针对CSCs的代谢弱点而避免造成对其他正常细胞的伤害有望显著改善肿瘤治疗效果并降低肿瘤复发率。

## 2.2 活跃的脂代谢

越来越多的研究发现,CSCs中活跃的脂代谢对维持CSCs的生物学特征具有重要作用。异常活跃的脂肪酸从头合成是CSCs脂代谢的显著特征,该过程中关键的限速酶乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN),以及重要的转录因子(sterol regulatory element-binding proteins, SREBPs)在CSCs中高度表达<sup>[46-48]</sup>。药物抑制FASN将使GSCs失去干性标志,并阻碍GSCs的生长与侵袭<sup>[47]</sup>。

脂肪酸的不饱和化在CSCs中显著增加。研究<sup>[49-51]</sup>发现,卵巢癌、结直肠癌和前列腺癌来源的CSCs对不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acids, UFAs)具有较大的需求,且硬脂酰辅酶A去饱和酶1(stearoyl-CoA desaturase 1, SCD1)在这些CSCs中存在过表达的现象。UFAs是磷脂、三酰甘油和胆固醇酯等脂质化合物的合成底物,能够维持细胞膜的流动性。ZHANG等<sup>[52]</sup>在卵巢癌研究中发现,高表达的SCD1能够加速CSCs中脂肪酸不饱和化的过程,并缓解内质网应激,从而表现出对CSCs的保护作用,进而促进肿瘤的发展与转移。从机制上来看,SCD1通过增加细胞内UFAs的含量激活由核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)介导的信号通路,该信号转导途径又反过来调节相关基因的表达进一步促进脂肪酸去饱和。这一脂肪酸不饱和化的正反馈调控过程对维持CSCs的干性具有重要作用,有望成为临床治疗CSCs的有效靶点<sup>[49]</sup>。活跃的胆固醇合成也是CSCs脂代谢的一大特点。快速增殖的肿瘤细胞需要更多的胆固醇合成细胞膜,同时,胆固醇作为脂筏的

重要组成部分在介导细胞信号转导中发挥重要作用。蛋白质组学研究显示,胆固醇从头合成过程中的关键酶在BCSCs中高度表达,大样本的乳腺癌病例队列研究结果<sup>[53]</sup>提示,异常活跃的胆固醇合成代谢与TNBC的不良预后相关,辛伐他汀(simvastatin)和小干扰RNA均能通过阻断CSCs的胆固醇合成抑制肿瘤生长。此外,过表达特异性调控胆固醇合成的转录因子SREBP2能够促进前列腺癌CSCs的增殖,而基因沉默SREBP2则显著削弱了CSCs的异种移植成瘤能力<sup>[54]</sup>。

## 3 肿瘤干细胞代谢与肿瘤的治疗抗性 & 复发

CSCs与其他肿瘤细胞在能量和物质代谢等方面均存在差异,这加剧了肿瘤内异质性(intra-tumor heterogeneity)的演进。由一小部分具有自我更新和分化能力的CSCs起始,并衍生出不同的子代细胞,通过遗传、代谢以及肿瘤微环境等多因素的共同作用维持肿瘤发生发展,从而形成特定的层级(hierarchy)结构<sup>[55]</sup>。肿瘤发生发展的过程伴随肿瘤内异质性的不断演进,并可造成肿瘤的治疗抗性与复发。

### 3.1 肿瘤干细胞在治疗压力下的代谢重编程

新发与复发AML样本的全基因组组成对深度测序结果<sup>[56]</sup>提示,肿瘤的复发与LSCs密切相关,部分LSCs在初诊时即已存在,这些具有治疗抗性的LSCs是克隆演变与治疗压力共同选择的结果。如前所述,尽管联合应用维奈托克和阿扎胞苷为AML的治疗带来了希望,但仍存在部分难治和复发的病例在接受该化疗方案后无法达到临床上的完全缓解<sup>[45]</sup>,这使得进一步探索肿瘤抵抗靶向CSCs代谢治疗的机制变得尤为重要。

复发LSCs中显著增强的FAO可能成为细胞拯救由氨基酸代谢缺损导致的产能不足的核心环节<sup>[43]</sup>。STEVENS等<sup>[57]</sup>在此基础上进一步探究了LSCs上调脂代谢的代偿机制:脂肪酸的总含量在不同治疗敏感性的细胞内并未表现出显著差异,然而辅助脂肪酸转运进入线粒体内的相关物质(乙酰肉碱等),在具有治疗抗性的LSCs中显著增加;进一步通过同位素示踪实验证实,脂肪酸转运这一环节在LSCs抵抗联合化疗时具有重要作用。据此,研究者设计了靶向脂肪

酸转运的治疗方案,无论是应用CD36抑制剂SSO抑制细胞对脂肪酸的摄取<sup>[43]</sup>,还是通过基因敲除或药物抑制肉碱酯酰转移酶(carnitine palmitoyl transferase, CPT)来阻断脂肪酸进入线粒体<sup>[57]</sup>,均能在保护正常造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)功能的前提下,恢复LSCs对联化疗方案的敏感性。与之类似的是,FAO在乳腺癌应对治疗压力时,对BCSCs维持自我更新和诱导化疗抗性具有重要作用。乳腺脂肪组织来源的瘦素(leptin)能够通过Janus激酶/信号转导与转录激活子3(Janus kinase/signal transduction and transcriptional activator 3, JAK/STAT3)信号通路促进CPT1B的表达进而增强BCSCs中的FAO。在乳腺癌的小鼠模型中,抑制leptin-JAK/STAT3-CPT1B轴能够恢复BCSCs的化疗敏感性,进而起到抑制肿瘤的效果<sup>[58]</sup>。

鉴于部分难治或复发病例中CSCs的代谢灵活性,寻找更加上游的调控靶点从而多通路阻断CSCs为应对治疗压力而发生的代谢重编程具有重要的研究价值。JONES等<sup>[59]</sup>研究发现,复发LSCs可通过增强烟碱代谢提高细胞内NAD<sup>+</sup>的水平,进而促进由NAD<sup>+</sup>介导的细胞中氨基酸和脂肪酸代谢,从而驱动并维持细胞的OXPHOS;抑制烟碱代谢过程中重要的限速酶烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribo-syltransferase, NAMPT)能够显著降低异种移植模型中的肿瘤负荷和LSCs的数量。

### 3.2 肿瘤微环境通过影响CSCs代谢增强治疗抵抗

值得注意的是,除了治疗压力直接导致CSCs代谢发生改变,肿瘤微环境通过与CSCs互作影响其代谢表型,进而增强CSCs的治疗抵抗能力。在CML动物模型中,研究者证实性腺脂肪组织(gonadal adipose tissue, GAT)是LSCs除造血器官外重要的储蓄池(reservoir),GAT中的LSCs具有明显的促炎表型,它们能够上调分泌多种促炎因子和趋化因子,其中部分细胞因子[如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\alpha$ (interleukin-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、集落刺激因子2(colony stimulating factor 2, CSF2)]具有促进GAT脂肪动员与分解的作用,GAT的脂解作用又可反过来增强激活CD36<sup>+</sup>LSCs中的FAO,从而使GAT中的LSCs获得比骨髓LSCs更强大的治疗抗性<sup>[60]</sup>。对于晚期胃癌,肿瘤组织中的间充质干细胞通过分泌大量

的转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)诱导长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)MACC1-AS1的表达,进而增强由FAO介导的CSCs自我更新与治疗抵抗<sup>[61]</sup>。此外,胰腺癌CSCs对吉西他滨的获得性耐药已成为晚期胰腺癌治疗过程中的一个巨大障碍。研究发现缺氧微环境通过蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)/Notch1介导的信号级联反应进一步增强胰腺癌CSCs的化疗抗性<sup>[62]</sup>;在小鼠模型中,应用靶向固醇调节元件结合蛋白1(sterol regulatory element binding protein-1, SREBP1)的白藜芦醇能够通过抑制脂代谢恢复吉西他滨对胰腺癌CSCs的治疗作用<sup>[48]</sup>。

## 4 肿瘤干细胞代谢与表观遗传调控

CSCs代谢为肿瘤发展提供了必需的能量和生物合成所需的物质,相关代谢产物还可通过直接参与表观遗传调控影响细胞的信号转导和基因表达等过程,显著改变肿瘤的生物学特征。

多项肿瘤研究<sup>[63-67]</sup>发现支链氨基酸(branched-chain amino acid, BCAA)代谢及高表达的BCAA转氨酶1(branched chain amino acid transaminase 1, BCAT1)与肿瘤的恶性行为密切相关。胞质中的BCAT1介导BCAA上的 $\alpha$ -氨基转移至 $\alpha$ -酮戊二酸盐( $\alpha$ -ketoglutarate,  $\alpha$ KG),从而生成相应的产物,因而BCAT1是细胞内维持 $\alpha$ KG稳态的重要调控因子。 $\alpha$ KG除了作为三羧酸循环的中间产物参与细胞的能量和物质代谢,还是去甲基化酶TET家族的重要辅因子<sup>[68]</sup>。在AML中,BCAT1的高表达水平与患者显著缩短的生存时间密切相关;在复发病例中BCAT1的含量显著升高,过表达BCAT1可通过降低细胞内 $\alpha$ KG的水平削弱去甲基化酶TET甲基胞嘧啶双加氧酶2(tet methylcytosine dioxygenase 2, TET2)的活性,从而造成LSCs中DNA高甲基化状态,并阻碍基因表达;转录组学分析进一步证实了BCAT1对维持LSCs干性的作用<sup>[69]</sup>。通过限制细胞内 $\alpha$ KG的含量,BCAT1将BCAA代谢与细胞的表观遗传调控紧密连接,因而BCAA-BCAT1- $\alpha$ KG轴有望为肿瘤治疗提供新的靶点。

DNA高甲基化状态同样存在于携带有编码异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)基因突变的AML病例中<sup>[70]</sup>。野生型IDH作为三羧酸循环中

重要的代谢酶催化异柠檬酸转变为  $\alpha$ KG, 突变的 *IDH* 可进一步将  $\alpha$ KG 还原为癌代谢物 2-羟基戊二酸 (2-hydroxyglutarate, 2-HG), 2-HG 竞争性抑制  $\alpha$ KG 依赖的去甲基化酶 TET2, 因而 *IDH* 突变将间接造成细胞内 DNA 高甲基化状态, 从而阻碍细胞分化, 促进肿瘤起始和进展<sup>[71-72]</sup>。15%~20% 的 AML 病例携带着 *IDH* 基因突变, 且该突变在白血病发生早期即可存在, 并持续伴随着肿瘤的发展<sup>[73]</sup>。分别针对突变 *IDH1* 和 *IDH2* 的小分子抑制剂艾伏尼布 (ivosidenib) 和恩西地平 (enasidenib) 在多项研究中已被证实可通过降低细胞内 2-HG 的含量缓解 DNA 高甲基化状态, 从而诱导白血病细胞分化<sup>[74-76]</sup>。

在实体瘤研究中, CSCs 代谢对表观遗传调控的重要作用仍旧存在。WANG 等<sup>[77]</sup> 发现甲硫氨酸循环在非小细胞肺癌 CSCs 中异常活跃, 使用药物短暂地抑制甲硫氨酸循环中的代谢酶甲硫氨酸腺苷转移酶 2A (methionine adenosyltransferase 2A, MAT2A) 即可使细胞内的 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM) 几乎完全丧失, 从而显著降低组蛋白甲基化水平, 并严重损伤 CSCs 的肿瘤起始功能。这一研究结果提示, 短暂改变的物质代谢可通过长效的表观遗传调控对肿瘤的生物学特征产生显著影响。因而, 进一步探索 CSCs 代谢与表观遗传调控的联系有望为肿瘤治疗提供新的思路。

## 5 问题与展望

自首次在恶性血液肿瘤中发现 CSCs 后, 近 30 年来人们对于 CSCs 的研究取得了突破性的进展。利用特异的表面标志物对细胞进行筛选进而进行异种移植

实验被认为是鉴定和分选功能性 CSCs 的金标准。然而此过程涉及细胞脱离体内原始环境, 附加操作是否改变了 CSCs 并使其表现出不同于原始状态下的生物学特征仍旧存在着争议<sup>[55]</sup>。因此更加准确地定义、分选甚至原位鉴别 CSCs 对后续研究的开展具有十分重要的意义。

越来越多的研究揭示了 CSCs 在异质性肿瘤组织中独特的代谢特征及其在肿瘤发展中的重要作用, CSCs 不同于正常细胞的代谢弱点为肿瘤的靶向治疗提供了有利的窗口。然而, 我们仍应充分认识到疾病的进展和肿瘤内异质性的演进对 CSCs 代谢产生的影响, 因此深入探究 CSCs 的代谢机制从而靶向其代谢弱点有望为肿瘤治疗带来新的希望。此外, 目前的治疗方法仍旧难以完全克服肿瘤的治疗抗性与复发, 进一步挖掘抵抗靶向 CSCs 代谢治疗的发生机制将会极大地推动安全且高效的肿瘤治疗策略的研发。

### 利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

### 作者贡献/Authors' Contributions

郑诗凡参与论文的撰写; 郑诗凡和马皎参与论文修改。所有作者均阅读并同意最终稿件的提交。

The manuscript was drafted by ZHENG Shifan, and was revised by ZHENG Shifan and MA Jiao. All the authors have read the last version of paper and consented for submission.

- Received: 2022-03-02
- Accepted: 2022-06-01
- Published online: 2022-06-28

## 参 · 考 · 文 · 献

- [1] KRESO A, DICK J E. Evolution of the cancer stem cell model[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(3): 275-291.
- [2] LAPIDOT T, SIRARD C, VORMOOR J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice[J]. Nature, 1994, 367(6464): 645-648.
- [3] BONNET D, DICK J E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell[J]. Nat Med, 1997, 3(7): 730-737.
- [4] AL-HAJJ M, WICHA M S, BENITO-HERNANDEZ A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [5] LATHIA J D, MACK S C, MULKEARNS-HUBERT E E, et al. Cancer stem cells in glioblastoma[J]. Genes Dev, 2015, 29(12): 1203-1217.
- [6] O'BRIEN C A, POLLETT A, GALLINGER S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice[J]. Nature, 2007, 445(7123): 106-110.
- [7] LI C, HEIDT D G, DALERBA P, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(3): 1030-1037.
- [8] KIM C F, JACKSON E L, WOOLFENDEN A E, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer[J]. Cell, 2005, 121(6): 823-835.
- [9] MA S, CHAN K W, HU L, et al. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells[J]. Gastroenterology, 2007, 132(7): 2542-2556.
- [10] HURT E M, KAWASAKI B T, KLARMANN G J, et al. CD44<sup>+</sup>

- CD24<sup>+</sup> prostate cells are early cancer progenitor/stem cells that provide a model for patients with poor prognosis[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(4): 756-765.
- [11] BATLLE E, CLEVERS H. Cancer stem cells revisited[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1124-1134.
  - [12] PRAGER B C, BHARGAVA S, MAHADEV V, et al. Glioblastoma stem cells: driving resilience through chaos[J]. *Trends cancer*, 2020, 6(3): 223-235.
  - [13] POLLYEA D A, JORDAN C T. Therapeutic targeting of acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Blood*, 2017, 129(12): 1627-1635.
  - [14] YANG L, SHI P, ZHAO G, et al. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 8.
  - [15] TOH T B, LIM J J, CHOW E K. Epigenetics in cancer stem cells[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 29.
  - [16] WARBURG O. On the origin of cancer cells[J]. *Science*, 1956, 123(3191): 309-314.
  - [17] PENG F, WANG J H, FAN W J, et al. Glycolysis gatekeeper PDK1 reprograms breast cancer stem cells under hypoxia[J]. *Oncogene*, 2018, 37(8): 1062-1074.
  - [18] HUR W, RYU J Y, KIM H U, et al. Systems approach to characterize the metabolism of liver cancer stem cells expressing CD133[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45557.
  - [19] LIU P P, LIAO J, TANG Z J, et al. Metabolic regulation of cancer cell side population by glucose through activation of the Akt pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(1): 124-135.
  - [20] ZHOU Y, ZHOU Y, SHINGU T, et al. Metabolic alterations in highly tumorigenic glioblastoma cells: preference for hypoxia and high dependency on glycolysis[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(37): 32843-32853.
  - [21] LAGADINOU E D, SACH A, CALLAHAN K, et al. BCL-2 inhibition targets oxidative phosphorylation and selectively eradicates quiescent human leukemia stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(3): 329-341.
  - [22] KUNTZ E M, BAQUERO P, MICHIE A M, et al. Targeting mitochondrial oxidative phosphorylation eradicates therapy-resistant chronic myeloid leukemia stem cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1234-1240.
  - [23] VLASHI E, LAGADEC C, VERGNES L, et al. Metabolic state of glioma stem cells and nontumorigenic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(38):16062-16067. DOI: 10.1073/pnas.1106704108.
  - [24] JANISZEWSKA M, SUVÀ M L, RIGGI N, et al. Imp2 controls oxidative phosphorylation and is crucial for preserving glioblastoma cancer stem cells[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(17): 1926-1944.
  - [25] VALLE S, ALCALÁ S, MARTIN-HIJANO L, et al. Exploiting oxidative phosphorylation to promote the stem and immunoevasive properties of pancreatic cancer stem cells[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5265.
  - [26] LEE K M, GILTANE J M, BALKO J M, et al. MYC and MCL1 cooperatively promote chemotherapy-resistant breast cancer stem cells via regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation[J]. *Cell Metab*, 2017, 26(4): 633-647.
  - [27] PASTÒ A, BELLIO C, PILOTTO G, et al. Cancer stem cells from epithelial ovarian cancer patients privilege oxidative phosphorylation, and resist glucose deprivation[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(12): 4305-4319.
  - [28] GUO B, HAN X, TKACH D, et al. AMPK promotes the survival of colorectal cancer stem cells[J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(2): 134-142.
  - [29] VELLINGA T T, BOROVSKI T, DE B V C, et al. SIRT1/PGC1 $\alpha$ -dependent increase in oxidative phosphorylation supports chemotherapy resistance of colon cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(12): 2870-2879.
  - [30] RAGGI C, TADDEI M L, SACCO E, et al. Mitochondrial oxidative metabolism contributes to a cancer stem cell phenotype in cholangiocarcinoma[J]. *J Hepatol*, 2021, 74(6): 1373-1385.
  - [31] SKRTIĆ M, SRISKANTHADEVAN S, JHAS B, et al. Inhibition of mitochondrial translation as a therapeutic strategy for human acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(5): 674-688.
  - [32] MOLINA J R, SUN Y, PROTOPOPOVA M, et al. An inhibitor of oxidative phosphorylation exploits cancer vulnerability[J]. *Nat Med*, 2018, 24(7): 1036-1046.
  - [33] BROWN J R, CHAN D K, SHANK J J, et al. Phase II clinical trial of metformin as a cancer stem cell-targeting agent in ovarian cancer[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(11): e133247.
  - [34] KORDES S, POLLAK M N, ZWINDERMAN A H, et al. Metformin in patients with advanced pancreatic cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(7): 839-847.
  - [35] SANCHEZ P, BURGOS-RAMOS E, TAVERA A, et al. MYC/PGC-1 $\alpha$  balance determines the metabolic phenotype and plasticity of pancreatic cancer stem cells[J]. *Cell Metab*, 2015, 22(4): 590-605.
  - [36] SHIBAO S, MINAMI N, KOIKE N, et al. Metabolic heterogeneity and plasticity of glioma stem cells in a mouse glioblastoma model[J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(3): 343-354.
  - [37] ANDERSON A S, ROBERTS P C, FRISARD M I, et al. Ovarian tumor-initiating cells display a flexible metabolism[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 328(1): 44-57.
  - [38] LIU S, CONG Y, WANG D, et al. Breast cancer stem cells transition between epithelial and mesenchymal states reflective of their normal counterparts[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(1): 78-91.
  - [39] LUO M, SHANG L, BROOKS M D, et al. Targeting breast cancer stem cell state equilibrium through modulation of redox signaling[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(1): 69-86. e6.
  - [40] PEI S, MINHAJUDDIN M, ADANE B, et al. AMPK/FIS1-mediated mitophagy is required for self-renewal of human AML stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(1): 86-100. e6.
  - [41] ADANE B, YE H, KHAN N, et al. The hematopoietic oxidase NOX2 regulates self-renewal of leukemic stem cells[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(1): 238-254. e6.
  - [42] DINARDO C D, PRATZ K W, LETAI A, et al. Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(2): 216-228.
  - [43] JONES C L, STEVENS B M, D'ALESSANDRO A, et al. Inhibition of amino acid metabolism selectively targets human leukemia stem cells[J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(5): 724-740. e4.
  - [44] NACHMIAS B, SCHIMMER A D. Metabolic flexibility in leukemia-adapt or die[J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(5): 695-696.
  - [45] DINARDO C D, RAUSCH C R, BENTON C, et al. Clinical experience with the BCL2-inhibitor venetoclax in combination therapy for relapsed and refractory acute myeloid leukemia and related myeloid malignancies[J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(3): 401-407.
  - [46] YI M, LI J, CHEN S, et al. Emerging role of lipid metabolism alterations in cancer stem cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 118.
  - [47] YASUMOTO Y, MIYAZAKI H, VAIDYAN L K, et al. Inhibition of fatty acid synthase decreases expression of stemness markers in glioma stem cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147717.
  - [48] ZHOU C, QIAN W, MA J, et al. Resveratrol enhances the chemotherapeutic response and reverses the stemness induced by gemcitabine in pancreatic cancer cells via targeting SREBP1[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(1): e12514.
  - [49] LI J, CONDELLO S, THOMES-PEPIN J, et al. Lipid desaturation is a metabolic marker and therapeutic target of ovarian cancer stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(3): 303-314. e5.
  - [50] CHEN L, REN J, YANG L, et al. Stearoyl-CoA desaturase-1 mediated cell apoptosis in colorectal cancer by promoting ceramide synthesis[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19665.
  - [51] GALBRAITH L, LEUNG H Y, AHMAD I. Lipid pathway deregulation in advanced prostate cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 131: 177-184.
  - [52] ZHANG Q, YU S, LAM M M T, et al. Angiotensin II promotes ovarian

- cancer spheroid formation and metastasis by upregulation of lipid desaturation and suppression of endoplasmic reticulum stress[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 116.
- [53] EHMSSEN S, PEDERSEN M H, WANG G, et al. Increased cholesterol biosynthesis is a key characteristic of breast cancer stem cells influencing patient outcome[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(13): 3927-3938. e6.
- [54] LI X, WU J B, LI Q, et al. SREBP-2 promotes stem cell-like properties and metastasis by transcriptional activation of c-Myc in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12869-12884.
- [55] PRASETYANTI P R, MEDEMA J P. Intra-tumor heterogeneity from a cancer stem cell perspective[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 41.
- [56] SHLUSH L I, MITCHELL A, HEISLER L, et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells[J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 104-108.
- [57] STEVENS B M, JONES C L, POLLYEA D A, et al. Fatty acid metabolism underlies venetoclax resistance in acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(12): 1176-1187.
- [58] WANG T, FAHRMANN J F, LEE H, et al. JAK/STAT3-regulated fatty acid  $\beta$ -oxidation is critical for breast cancer stem cell self-renewal and chemoresistance[J]. *Cell Metab*, 2018, 27(1): 136-150. e5.
- [59] JONES C L, STEVENS B M, POLLYEA D A, et al. Nicotinamide metabolism mediates resistance to venetoclax in relapsed acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(5): 748-764. e4.
- [60] YE H, ADANE B, KHAN N, et al. Leukemic stem cells evade chemotherapy by metabolic adaptation to an adipose tissue niche[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(1): 23-37.
- [61] HE W, LIANG B, WANG C, et al. MSC-regulated lncRNA *MCC1-AS1* promotes stemness and chemoresistance through fatty acid oxidation in gastric cancer[J]. *Oncogene*, 2019, 38(23): 4637-4654.
- [62] ZHANG Z, HAN H, RONG Y, et al. Hypoxia potentiates gemcitabine-induced stemness in pancreatic cancer cells through AKT/Notch1 signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 291.
- [63] TÖNJES M, BARBUS S, PARK Y J, et al. BCAT1 promotes cell proliferation through amino acid catabolism in gliomas carrying wild-type IDH1[J]. *Nat Med*, 2013, 19(7): 901-908.
- [64] WANG Z Q, FADDAOUI A, BACHVAROVA M, et al. BCAT1 expression associates with ovarian cancer progression: possible implications in altered disease metabolism[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 31522-31543.
- [65] THEWES V, SIMON R, HLEVNJAK M, et al. The branched-chain amino acid transaminase 1 sustains growth of antiestrogen-resistant and ER $\alpha$ -negative breast cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(29): 4124-4134.
- [66] MAYERS J R, TORRENCE M E, DANAI L V, et al. Tissue of origin dictates branched-chain amino acid metabolism in mutant Kras-driven cancers[J]. *Science*, 2016, 353(6304): 1161-1165.
- [67] HATTORI A, TSUNODA M, KONUMA T, et al. Cancer progression by reprogrammed BCAA metabolism in myeloid leukaemia[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 500-504.
- [68] TAHILIANI M, KOH K P, SHEN Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1[J]. *Science*, 2009, 324(5929): 930-935.
- [69] RAFFEL S, FALCONE M, KNEISEL N, et al. BCAT1 restricts  $\alpha$ KG levels in AML stem cells leading to IDHmut-like DNA hypermethylation[J]. *Nature*, 2017, 551(7680): 384-388.
- [70] FIGUEROA M E, ABDEL-WAHAB O, LU C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation[J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(6): 553-567.
- [71] XU W, YANG H, LIU Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of  $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenases[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(1): 17-30.
- [72] LOSMAN J A, LOOPER R E, KOIVUNEN P, et al. (R)-2-hydroxyglutarate is sufficient to promote leukemogenesis and its effects are reversible[J]. *Science*, 2013, 339(6127): 1621-1625.
- [73] PASCHKA P, SCHLENK R F, GAIDZIK V I, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(22): 3636-3643.
- [74] YEN K, TRAVINS J, WANG F, et al. AG-221, a first-in-class therapy targeting acute myeloid leukemia harboring oncogenic IDH2 mutations[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(5): 478-493.
- [75] SHIH A H, MEYDAN C, SHANK K, et al. Combination targeted therapy to disrupt aberrant oncogenic signaling and reverse epigenetic dysfunction in IDH2- and TET2-mutant acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(5): 494-505.
- [76] DINARDO C D, STEIN E M, DE B S, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(25): 2386-2398.
- [77] WANG Z, YIP L Y, LEE J H J, et al. Methionine is a metabolic dependency of tumor-initiating cells[J]. *Nat Med*, 2019, 25(5): 825-837.

[本文编辑] 张慧俊