

## · 综述 ·

## 骨髓间充质干细胞在肺癌发生发展中的研究进展

刘仁旺<sup>1</sup> 徐婷婷<sup>2</sup> 武毅<sup>1</sup> 郭丽丽<sup>3</sup> 陈军<sup>1</sup> 徐嵩<sup>1</sup>

肺癌是世界范围内发病率及死亡率最高的肿瘤之一。虽然近年来关于肺癌致病原因及新型治疗模式的研究取得了较大的进展,但其仍是一种不可治愈的疾病。肺癌主要分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)两种类型。肺癌的高危因素与吸烟和空气污染有关,其病因可能与自身基因的改变及各种微环境因子的调控密切相关<sup>[1]</sup>。大量研究证明<sup>[2-3]</sup>,肿瘤微环境中的基质细胞、生长因子、细胞趋化因子等可以促进肺癌细胞的生长、转移和耐药。

作为成体干细胞的一种,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)具有分化为不同类型间质细胞的能力。MSC 最早在骨髓中发现,而后大量实验证实, MSC 在脐带血、外周血、输卵管、胚胎肝和肺组织中也广泛存在。通过对骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)的研究发现,这些干细胞在免疫调节治疗(包括移植物抗宿主病的预防和克罗恩病的治疗)和骨、软骨等间充质组织的细胞替代疗法等临床实践中具有重要意义和作用<sup>[4-5]</sup>。有研究表明,作为大部分基质细胞的前体细胞, BM-MSCs 与许多肿瘤的发生发展密切相关,其中也包括肺癌<sup>[6]</sup>。研究和探索肺癌与肿瘤微环境中间质细胞的相互关系对理解肺癌发生发展的过程具有重要意义。为此,本文通过对近年来 BM-MSCs 在肺癌中的研究进行梳理,探讨其对肺癌发生发展、转移及耐药的作用。

## 一、BM-MSCs 的培养

1968 年, Friedenstein 等<sup>[7]</sup>最先从骨髓中提取和培养出 BM-MSCs, 并对 BM-MSCs 的特性进行

描述,认为该种细胞呈成纤维细胞样并具有多向分化潜能。分离培养 BM-MSCs 的方法是:无菌条件下采集骨髓,用培养液稀释后制成细胞悬液,轻轻叠加到相对密度为 1.073 的 Percoll 分离液上,离心取单核细胞层,加入 PBS 制成单细胞悬液,离心洗涤以适当的密度接种于塑料培养皿,添加 BM-MSCs 专用培养基,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。培养 3 d 后,更换培养基,弃掉未贴壁细胞,而后每 3 d 换液一次。起初 BM-MSCs 散在存在,呈梭形,随着细胞密度的增加,呈旋涡状生长。细胞长到 80% 融合时用胰蛋白酶消化传代,以一定的密度接种于传代培养瓶中进行扩增培养。根据成纤维细胞样形态,免疫表型(CD<sub>14</sub><sup>-</sup>, CD<sub>34</sub><sup>-</sup>, CD<sub>45</sub><sup>-</sup>, CD<sub>73</sub><sup>+</sup>, CD<sub>90</sub><sup>+</sup>, CD<sub>105</sub><sup>+</sup>)以及体外具有向脂肪、成骨和软骨分化的能力,就可以鉴定 BM-MSCs,基本上培养 1~2 代之后 BM-MSCs 的纯度就可以达到 95% 以上。而这种培养方法可以稳定传 20 代以上且保持其原有的生物学特性不变。这种依据 BM-MSCs 贴壁生长特性而创建的体外分离和培养 BM-MSCs 的方法简便可行,适用于人、犬、兔、大鼠和禽类等物种培养 BM-MSCs<sup>[8-13]</sup>。但是,对小鼠的 BM-MSCs 的培养更困难,因为很多造血来源的混杂细胞长期“污染” BM-MSCs 而造成 BM-MSCs 的纯度很低。长期培养和反复传代可以去除这些混杂细胞,但是 BM-MSCs 的分化潜能会明显降低,而且研究发现,长期体外培养小鼠 BM-MSCs 有向肉瘤恶性转化的可能<sup>[14-17]</sup>。目前,有一些方法用于培养和纯化小鼠 BM-MSCs,包括应用低密度培养法,频繁换液法和磁珠分离法等<sup>[18-25]</sup>。为了提高小鼠 BM-MSCs 产量和纯度,笔者提出了一种改良的分离和培养方法。在分离过程中,用培养液冲洗小鼠骨髓腔后,将小鼠股骨、腓骨和脊椎骨碾碎,并用胶原酶消化。同时在培养 1 代之后,应用 CD<sub>11b</sub><sup>-</sup>、CD<sub>45</sub><sup>-</sup> 和 CD<sub>34</sub><sup>-</sup> 磁珠做阴性分离。这样处理后,原始小鼠骨髓 BM-MSCs 的产量增加 70%,而且 BM-MSCs 纯度在传代两次时已经达到 95% 以上,可以用于各种实验研究<sup>[26]</sup>。

## 二、BM-MSCs 在肺癌生长的作用

肿瘤由肿瘤细胞(种子)和非肿瘤组织(土壤)构成。这些非肿瘤组织包括细胞外基质、免疫及炎

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-0263.2015.02.010

基金项目:国家自然科学基金(81301812、81172233);教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20131202120004、20131202110004);教育部留学回国人员科研启动基金、天津市高等学校科技发展基金计划项目(20120117);天津市科技支撑重点抗癌重大专项(No.12ZCDZSY16100)

作者单位:300052 天津医科大学总医院肺部肿瘤外科<sup>1</sup>;300070 天津医科大学肿瘤医院<sup>2</sup>;300052 天津市肺癌研究所<sup>3</sup>

通讯作者:徐嵩, Email: xusong198@hotmail.com

症细胞、结缔组织和其他间充质成分。它们与肿瘤的发生发展密切相关。有研究表明<sup>[6]</sup>，作为大多数基质细胞的前体细胞，BM-MSCs 在肿瘤相关基质的形成和肿瘤细胞的生长中起着重要作用。然而，BM-MSCs 对肺癌细胞发生发展的作用尚无定论，我们就其对肺癌细胞的作用进行初步探讨（图 1）。

MSC 可以通过上调斯钙素 - 1（stanniocalcin-1, STC-1）和 ADAM12 的表达促进肺癌细胞的生长和血管生成，亦可通过下调肺

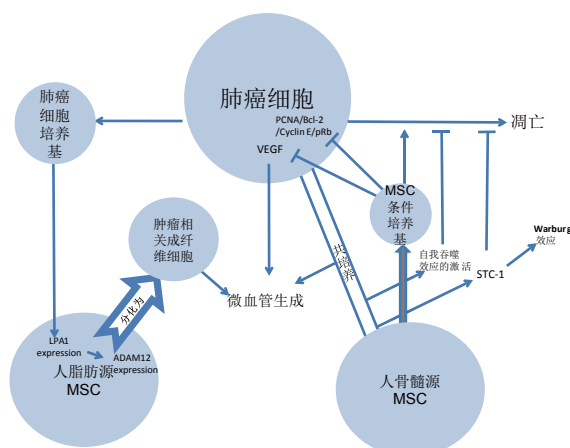


图 1 MSC 在肺癌生长中双重作用的图解模型

癌细胞中 PCNA, Bcl-2, 可以诱导肺癌细胞发生 EMT, 上调肺癌细胞表达波形蛋白、 $\alpha$ -SMA 和纤连蛋白, 同时下调 E 钙黏素及细胞角蛋白的表达而促进其远处转移。

### （一）BM-MSCs 可以促进肺癌的生长

越来越多的实验证明，BM-MSCs 具有抑制肺癌细胞凋亡，促进肿瘤生长的作用。有研究表明，将饥饿预处理的 A549 肺癌细胞与 BM-MSCs 分层共培养发现，A549 细胞的生存能力明显提高，同时凋亡明显减少<sup>[27]</sup>。在动物实验中，将 BM-MSCs 与 Lewis 肺癌细胞（Lewis lung carcinoma, LLC）一同注射到 C57BL/6 小鼠中发现，肿瘤生长速度较对照组（即肿瘤细胞单独注射组）明显加快，并初步证实了 MSC 可能通过增加血管形成而促进肿瘤的生长<sup>[28]</sup>。此外，BM-MSCs 还可以上调 STC1，导致 Warburg 效应增强、细胞内活性氧（reactive oxygen species, ROS）明显减少，从而抑制了肺癌细胞的凋亡<sup>[29]</sup>。另有研究表明，脂肪来源的间充质干细胞（adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ASCs）也可以明显促进肺癌细胞的增殖和生长<sup>[30]</sup>，将 ASCs 与肺癌细胞同时注射入小鼠后发现，ASCs 可以明显促进肿瘤的发生和血管的形成<sup>[31]</sup>。

### （二）BM-MSCs 对肺癌生长的抑制作用

如前所述，许多研究表明 BM-MSCs 对肺癌的生长有着促进作用。然而，亦有许多研究表明，BM-MSCs 可以抑制肺癌的生长。国内学者曾报道，BM-MSCs 可能通过下调增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen, PCNA）和滤泡型 B 细胞淋巴瘤 / 白血病 -2（B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2）的表达，并通过减少细胞周期依赖性激酶 2（cyclin E-cyclin-dependent kinase 2, CDK2）复合物的形成来抑制 A549 细胞的生长并诱导其凋亡<sup>[32]</sup>。另有文献报道，BM-MSCs 可以抑制 A549 细胞及 SK-MES-1 细胞的生长并诱导其凋亡<sup>[33]</sup>。而在这两组实验中，均是应用 BM-MSCs 条件培养基与肿瘤细胞培养的方式进行研究。因此，他们还推断 BM-MSCs 条件培养基可能通过下调血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）的表达来抑制肺癌组织的血管生成，从而抑制肺癌的生长。另外，国外学者亦有报道，BM-MSCs 还可以抑制乳腺癌肺转移患者的肺部转移瘤的生长<sup>[34]</sup>。

### （三）BM-MSCs 促进及抑制肺癌生长的主要原因

1. 血管生成的影响：血管生成是一个非常复杂的过程，其在肿瘤的生长中起着至关重要的作用。有研究证实，BM-MSCs 与肺癌细胞同时注入活体内时，相对单纯注射肺癌细胞而言，其肿瘤位点附近的血管生成明显增多，证明了 BM-MSCs 可能是通过促进新生血管的形成而刺激肺癌的生长<sup>[28]</sup>。然而，BM-MSCs 在某种特定的情况下也可以抑制毛细血管的生长。国内学者研究发现，BM-MSCs 的条件培养基可以下调肿瘤组织中 VEGF 的表达，从而抑制肺癌的生长<sup>[33]</sup>。

2. 肿瘤相关成纤维细胞：BM-MSCs 可以作用于肺癌细胞，影响其发生发展。同时，肺癌细胞亦可以刺激 BM-MSCs 分化为肿瘤相关成纤维细胞（carcinoma-associated fibroblasts, CAFs），后者反过来可以刺激肺癌细胞的生长和肿瘤的形成<sup>[31-35]</sup>。Do 等<sup>[36]</sup>通过研究发现，肺癌细胞 A549 条件培养基可以通过刺激 LPA/LPA 受体 1 信号轴诱导 ASC 表达解整合素金属蛋白酶 12（disintegrin and metalloprotease 12, ADAM12）。ADAM12 隶属黏附蛋白和金属酶蛋白家族，其在肺癌中常过表达，且与肺癌预后息息相关<sup>[37-38]</sup>。其中，小分子生物活性磷脂溶血磷脂酸（lysophosphatidic acid, LPA）在肺癌细胞诱导 ADAM12 的表达中起着至关重要的作用<sup>[39-40]</sup>。研究表明，ADAM12 可以刺激 ASC 分化为 CAF，从而刺激肺癌的生长<sup>[36]</sup>。Do 等另将

应用 LPA 受体抑制剂 Ki16425 预处理的 ASC 与肺癌细胞相互作用, 发现 ADAM12<sup>[36]</sup> 的表达明显减少, 从而证明了 LPA/LPA 受体 1 信号轴在 ASC 刺激肺癌细胞生长中的重要作用。因此, 在与 MSC 共培养时发现, 肺癌细胞可以通过刺激 LPA/LPA 受体 1 信号轴来上调 ADAM12 的表达, 从而刺激 MSC 分化为 CAF, 进而通过 CAF 来刺激自身的生长, 形成了一种自我增殖的模式。尽管这些研究是应用 ASCs, 但是应该同样适用于 BM-MSCs。

3. 研究方法的不同: 导致 BM-MSCs 对肺癌发生发展的作用不相同的原因及机制已如上所述。同时, 不同的研究方法也可能是导致这种悖论产生的

原因。BM-MSCs 与肺癌细胞接触的时机可能是导致矛盾结论的主要原因。其他可能的原因还包括: BM-MSCs 细胞与肿瘤细胞的比例、肿瘤细胞株及动物模型的差异等。因此, 笔者总结了目前所有关于 BM-MSCs 对肺癌细胞生长的研究, 仔细记录了所有实验的详细细节, 旨在发现不同研究方法是否是导致这一相互矛盾结果的原因, 见表 1。笔者发现, 在体外和体内混合培养或混合注射的实验中, BM-MSCs 细胞比例高的时候, 对于肺癌生长促进的报道更多, 提示 BM-MSCs 细胞与肿瘤细胞的比例是导致 BM-MSCs 对肺癌生长产生不同作用的重要原因之一。

表 1 MSC 在肺癌发生发展中的作用

作者	MSC 来源	肿瘤细胞	动物模型	MSC/ 肿瘤细胞比及混合时间		结果	
				体外	体内	体外	体内
Tian 等 <sup>[32]</sup>	人骨髓 MSC	A549	BALB/c 裸鼠, 雌性, 6 周	1 : 1, 24 h 或 48 h	单纯 5×10 <sup>6</sup> A549 或与 1×10 <sup>6</sup> hMSCs 混合, 单次皮下注射	MSC 抑制 A549 细胞的生长和侵袭, 同时促进其凋亡	MSC 刺激肿瘤的生长同时促进肿瘤血管的形成
Kéramidas 等 <sup>[34]</sup>	人骨髓 MSC	TSA-pGL3 细胞株	NMRI 裸鼠, 6~8 周, 雌性, 肺转移瘤模型	无	1.0×10 <sup>5</sup> TSA-pGL3 细胞, 静脉注射, MSCs 第 4 天, 静脉注射, 第 10 天测量大小	无	MSC 抑制肺转移瘤的生长
Zhang 等 <sup>[27]</sup>	人骨髓 MSC	A549 及 SPC-1 细胞株	NOD/SCID 鼠, 4~6 周, 雄性	1 : 2, 孵育 6 h, 而后转为无 FBS 的 DF-12 培养基孵育 24 h	24 h 1.0×10 <sup>6</sup> 肺癌细胞饥饿处理后, 单纯或混入 5.0×10 <sup>5</sup> MSC 中, 皮下注射, 第 30 天处死	MSC 抑制肺癌细胞的凋亡	MSC 刺激肺癌细胞的发生发展
Block 等 <sup>[29]</sup>	人骨髓 MSC	A549 细胞株		1 : 10, A549 细胞单独培养 24 h, 或与 MSC 在 1% O <sub>2</sub> , 5% CO <sub>2</sub> , 94% N <sub>2</sub> 的环境中培养 24 h	无	MSC 抑制 A549 细胞的凋亡, 同时在缺氧环境中, MSC 可以增加 A549 的 STC-1 的表达	无
Suzuki 等 <sup>[28]</sup>	C57BL/6 鼠骨髓 MSCs	Lewis 肺癌细胞	C57BL/6 鼠, 6~8 周	无	0.2 : 1, 1 : 1 和 5 : 1, 皮下注射, 5 d 后每 2 d 测量 1 次	无	MSC 促进血管生成, 促进肿瘤生长
Li 等 <sup>[33]</sup>	人骨髓 MSC	SK-MES-1 和 A549 细胞株	BALB/c 裸鼠, 6 周, 雌性	1 : 1, 所有组均培养 48 h; 肺癌细胞分别培养于 RPMI 640 培养基、MSCs 条件培养基 (1 : 1) 和 MSC 生长培养基 (1 : 1)	分别培养 24 h 后, 皮下注射, 每 5 d 测量移植瘤大小	MSC 抑制肺癌细胞的生长, MSC 条件培养基促进肺癌细胞的凋亡	在 MSC 条件培养基中的肺癌细胞成瘤率更低, 移植瘤更小, 且 VEGF 下调明显
Jeon 等 <sup>[31]</sup>	人脂肪源性 MSC	A549 细胞株	BALB/c-nu/nu 鼠	无	1.0×10 <sup>6</sup> h ASCs 与 1.0×10 <sup>6</sup> A549 细胞, 皮下注射, 每周测量 2 次, 4 周后处死	无	hASC 可以促进血管生成, 同时促进肿瘤生长

### 三、BM-MSCs 与肺癌远处转移的关系

肺癌常在初诊时就发现远处广泛转移,这可能与肺癌的原发肿瘤细胞在远处转移位点具有较强的生存能力有关<sup>[41]</sup>。在肺癌远处转移的过程中,从原发部位播散的肿瘤细胞需要较强的自我更新能力才可以在远处肿瘤微环境中生存<sup>[42]</sup>。最近研究表明,BM-MSCs 可以自发的与 NSCLC 细胞杂合,使其获得上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)和干细胞样的能力<sup>[43]</sup>。肺癌细胞的 EMT 及干细胞样表型可以通过上调波形蛋白、 $\alpha$ -SMA 和纤连蛋白、下调钙黏素 E 和细胞角蛋白等方式来提高自身的自我更新能力,从而促进其在远处转移部位的存活和发展。另外,如前所述,肺癌细胞可以促进 BM-MSCs 向 CAF 分化,CAF 亦可以通过诱导 EMT,上调  $\alpha$ -SMA、成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein, FAP)、SMAD3 及激活 hedgehog 信号通路等方式提高非小细胞肺癌的转移能力<sup>[44]</sup>。综上所述,BM-MSCs 可能具有促进肺癌的远处转移的能力,见图 2。

MSC 直接或者通过分化为 CAF 可以诱导肺癌细胞发生 EMT,上调肺癌细胞表达波形蛋白, $\alpha$ -SMA 和纤连蛋白,同时下调 E 钙黏素及细胞角蛋白的表达而促进其远处转移。

### 四、BM-MSCs 在肺癌耐药中的作用

肿瘤微环境相关因子包括生长因子、细胞因子、粘附分子等,这些因子都与肿瘤的耐药密切相关。大量实验表明,BM-MSCs 可以通过直接增强肿瘤细胞的耐药能力和间接调控肿瘤微环境相关因子

等方式,为肿瘤细胞的耐药创造有利条件<sup>[45-46]</sup>。关于 BM-MSCs 促进肺癌细胞耐药的文献报道相对少见。Bergfeld 等<sup>[47]</sup>通过研究发现,BM-MSCs 可以被肺癌细胞吸引至肿瘤微环境中,并减少紫杉醇或阿霉素诱导的肺癌细胞的凋亡,从而介导其耐药的发生。亦有实验证明,BM-MSCs 可以明显减轻顺铂对 LLC 的毒性作用<sup>[48]</sup>。此外,有文献报道 CAF 在肺癌靶向药物表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)吉非替尼的耐药中起着至关重要的作用<sup>[49]</sup>。鉴于 BM-MSCs 具有分化为 CAF 的能力,推测 BM-MSCs 可能也能够减少 EGFR-TKI 对肺癌细胞的杀伤作用<sup>[31]</sup>。

### 五、BM-MSCs 在肺癌溶骨性骨转移疾病中的作用

约有 1/3 的肺癌患者最终会发生骨转移,骨转移一旦发生,预后较差,5 年生存率不足 10%<sup>[50]</sup>。骨转移可以导致骨痛、病理性骨折、神经压迫症状和高钙血症等并发症,严重影响患者的生活质量。肺癌骨转移多呈现溶骨性改变。正常骨代谢是通过成骨细胞和破骨细胞的骨吸收作用进行调解,以保持一种平衡状态。BM-MSC 是成骨细胞的前体细胞,而有研究显示肿瘤性骨病的发生,是由于肿瘤细胞参与下的 BM-MSC 向成骨细胞分化能力减低和破骨细胞功能增强有关<sup>[51]</sup>。在乳腺癌,前列腺癌,骨髓瘤中,对于 BM-MSC 异常骨分化的研究很多。但是在肺癌中研究较少。Fernández Vallone 等<sup>[52]</sup>发现肺癌来源的 BM-MSC 体外向成骨细胞分化的能力明显低于健康捐献者,而且肺癌患者血清 DKK1 的表达显著高于健康捐献者。DKK1 是 WNT 通路的抑制因子,而 WNT 通路对于 BM-MSC 向成骨细胞分化具有重要作用<sup>[52]</sup>。此外,研究还发现 miR-139-5p 可以通过靶向 Notch1 促进 BM-MSC 的成骨分化,但是肺癌细胞可以抑制 BM-MSC miR-139-5p 的表达,削弱其向成骨细胞分化的能力,从而造成溶骨性改变<sup>[53]</sup>。靶向这些异常,可以一定程度上逆转异常受损的 BM-MSC 骨分化能力,或者预防肺癌溶骨性骨转移的发生。

### 六、总结

综上所述,大量研究表明,作为绝大多数骨髓基质细胞的前体,BM-MSCs 与肺癌的生长、转移、耐药以及溶骨性骨转移疾病的发生密切相关。探讨 BM-MSCs 与肺癌细胞的相关作用可以为研究肺癌和肿瘤微环境中其他基质细胞的作用,提供一个良

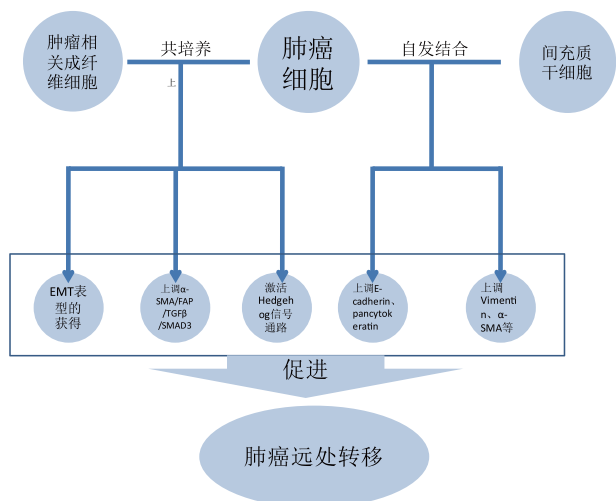


图 2 MSC 促进肺癌远处转移的机制

好的范例。然而,关于 BM-MSCs 对肺癌的生长作用尚无定论,其中的机制尚不明确。后续研究将着重于明确 BM-MSCs 在肺癌的发生发展、转移、耐药和骨病中的作用,旨在为后期临床实践提供指导依据。

## 参 考 文 献

- 1 Walter FM, Rubin G, Bankhead C, et al. Symptoms and other factors associated with time to diagnosis and stage of lung cancer: a prospective cohort study [J]. Br J Cancer, 2015, 112(Suppl 1): S6-S13.
- 2 Li H, Fan X, Houghton J. 2007. Tumor microenvironment: The role of the tumor stroma in cancer [J]. J Cell Biochem, 2007, 101: 805-815.
- 3 Hall B, Andreeff M, Marini F. The participation of mesenchymal stem cells in tumor stroma formation and their application as targeted-gene delivery vehicles. Handb Exp Pharmacol 2007: 263-283.
- 4 Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. Blood, 2005, 105(4): 1815-1822.
- 5 Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease [J]. Transplantation, 2006, 81(10): 1390-1397.
- 6 Zhu W, Xu W, Jiang R, et al. Mesenchymal stem cells derived from bone marrow favor tumor cell growth in vivo [J]. Exp Mol Pathol, 2006, 80(3): 267-274.
- 7 Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells [J]. Cell Tissue Kinet, 1970, 3(4): 393-403.
- 8 Caterson EJ, Nesti LJ, Danielson KG, et al. Human marrow-derived mesenchymal progenitor cells: isolation, culture expansion, and analysis of differentiation [J]. Mol Biotechnol, 2002, 20(3): 245-256.
- 9 Martin DR, Cox NR, Hathcock TL, et al. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow [J]. Exp Hematol, 2002, 30(8): 879-886.
- 10 Kadiyala S, Young RG, Thiede MA, et al. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro [J]. Cell Transplant, 1997, 6(2): 125-134.
- 11 Lennon DP, Caplan AI. Isolation of rat marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Exp Hematol, 2006, 34(11): 1606-1607.
- 12 Jessop HL, Noble BS, Cryer A. The differentiation of a potential mesenchymal stem cell population within ovine bone marrow [J]. Biochem Soc Trans, 1994, 22(3): 248S.
- 13 Izadpanah R, Joswig T, Tsien F, et al. Characterization of multipotent mesenchymal stem cells from the bone marrow of rhesus macaques [J]. Stem Cells Dev, 2005, 14(4): 440-451.
- 14 Tolar J, Nauta AJ, Osborn MJ, et al. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells [J]. Stem Cells, 2007, 25(2): 371-379.
- 15 Aguilar S, Nye E, Chan J, et al. Murine but not human mesenchymal stem cells generate osteosarcoma-like lesions in the lung [J]. Stem Cells, 2007, 25(6): 1586-94.
- 16 Li H, Fan X, Kovi RC, et al. Spontaneous expression of embryonic factors and p53 point mutations in aged mesenchymal stem cells: a model of age-related tumorigenesis in mice [J]. Cancer Res, 2007, 67(22): 10889-10898.
- 17 Xu S, De Becker A, De Raeve H, et al. In vitro expanded bone marrow-derived murine (C57Bl/KaLwRij) mesenchymal stem cells can acquire CD34 expression and induce sarcoma formation in vivo [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 424(3): 391-397.
- 18 Eslaminejad MB, Nikmahzar A, Taghiyar L, et al. Murine mesenchymal stem cells isolated by low density primary culture system [J]. Dev Growth Differ, 2006, 48(6): 361-370.
- 19 Soleimani M, Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 102-106.
- 20 Nadri S, Soleimani M. Isolation murine mesenchymal stem cells by positive selection [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2007, 43(8/9): 276-282.
- 21 Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(19): 10711-10716.
- 22 Baddoo M, Hill K, Wilkinson R, et al. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from murine bone marrow by negative selection [J]. J Cell Biochem, 2003, 89(6): 1235-1249.
- 23 Eslaminejad MB, Nadri S. Murine mesenchymal stem cell isolated and expanded in low and high density culture system: surface antigen expression and osteogenic culture mineralization [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2009, 45(8): 451-459.
- 24 Morikawa S, Mabuchi Y, Kubota Y, et al. Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow [J]. J Exp Med, 2009, 206(11): 2483-2496.
- 25 Short BJ, Brouard N, Simmons PJ. Prospective isolation of mesenchymal stem cells from mouse compact bone [J]. Methods Mol Biol, 2009, 482: 259-268.
- 26 Xu S, De Becker A, Van Camp B, et al. An improved harvest and in vitro expansion protocol for murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. J Biomed Biotechnol. 2010:105940.
- 27 Zhang MH, Hu YD, Xu Y, et al. Human mesenchymal stem cells enhance autophagy of lung carcinoma cells against apoptosis during serum deprivation [J]. Int J Oncol, 2013, 42(4): 1390-1398.
- 28 Suzuki K, Sun R, Origuchi M, et al. Mesenchymal stromal cells promote tumor growth through the enhancement of neovascularization [J]. Mol Med, 2011, 17(7/8): 579-587.
- 29 Block GJ, Ohkouchi S, Fung F, et al. Multipotent stromal cells are activated to reduce apoptosis in part by upregulation and secretion of stanniocalcin-1 [J]. Stem Cells, 2009, 27(3): 670-681.
- 30 Zhang Y, Daquinag A, Traktuev DO, et al. White adipose tissue cells are recruited by experimental tumors and promote cancer progression in mouse models [J]. Cancer Res, 2009, 69(12): 5259-5266.
- 31 Jeon ES, Lee IH, Heo SC, et al. Mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis in a murine xenograft model of A549 human adenocarcinoma through an LPA1 receptor-dependent mechanism [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1801(11): 1205-1213.
- 32 Tian LL, Yue W, Zhu F, et al. Human mesenchymal stem cells play a dual role on tumor cell growth in vitro and in vivo [J]. J Cell Physiol, 2011, 226(7): 1860-1867.
- 33 Li L, Tian H, Chen Z, et al. Inhibition of lung cancer cell proliferation mediated by human mesenchymal stem cells [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2011, 43(2): 143-148.
- 34 Kéramidas M, De Fraipont F, Karageorgis A, et al. The dual effect of mesenchymal stem cells on tumour growth and tumour angiogenesis [J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4(2): 41.

- 35 Bremnes RM, Dønnem T, Al-Saad S, et al. The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(1): 209-217.
  - 36 Do EK, Kim YM, Heo SC, et al. Lysophosphatidic acid-induced Adam12 expression mediates human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell-stimulated tumor growth [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(11): 2069-2076.
  - 37 Jacobsen J, Wewer UM. Targeting ADAM12 in human disease: head, body or tail [J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(20): 2300-2310.
  - 38 Mino N, Miyahara R, Nakayama E, et al. A disintegrin and metalloprotease 12 (Adam12) is a prognostic factor in resected pathological stage I lung adenocarcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2009, 100(3): 267-272.
  - 39 Mills GB, Moolenaar WH. The emerging role of lysophosphatidic acid in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(8): 582-591.
  - 40 Jeon ES, Moon HJ, Lee MJ, et al. Cancer-derived lysophosphatidic acid stimulates differentiation of human mesenchymal stem cells to myofibroblast-like cells [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(3): 789-797.
  - 41 Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 274-284.
  - 42 Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms [J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292.
  - 43 Xu MH, Gao X, Luo D, et al. EMT and acquisition of stem cell-like properties are involved in spontaneous formation of tumorigenic hybrids between lung cancer and bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e87893.
  - 44 Choe C, Shin YS, Kim SH, et al. Tumor-stromal interactions with direct cell contacts enhance motility of non-small cell lung cancer cells through the hedgehog signaling pathway [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(9): 3715-3723.
  - 45 Guan J, Chen J. Mesenchymal stem cells in the tumor microenvironment [J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(4): 517-521.
  - 46 Konopleva M, Konoplev S, Hu W, et al. Stromal cells prevent apoptosis of AML cells by up-regulation of anti-apoptotic proteins [J]. *Leukemia*, 2002, 16(9): 1713-1724.
  - 47 Bergfeld SA, Blavier L, Declerck YA. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote survival and drug resistance in tumor cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4): 962-975.
  - 48 Roodhart JM, Daenen LG, Stigter EC, et al. Mesenchymal stem cells induce resistance to chemotherapy through the release of platinum-induced fatty acids [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(3): 370-383.
  - 49 Mink SR, Vashistha S, Zhang W, et al. Cancer-associated fibroblasts derived from EGFR-TKI-resistant tumors reverse EGFR pathway inhibition by EGFR-TKIs [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(6): 809-820.
  - 50 Oyewumi MO, Alazizi A, Wehrung D, et al. Emerging lung cancer therapeutic targets based on the pathogenesis of bone metastases [J]. *Int J Cell Biol*, 2014: 236246.
  - 51 Giuliani N, Morandi F, Tagliaferri S, et al. Production of Wnt inhibitors by myeloma cells: potential effects on canonical Wnt pathway in the bone microenvironment [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(16): 7665-7674.
  - 52 Fernández Vallone VB, Hofer EL, Choi H, et al. Behaviour of mesenchymal stem cells from bone marrow of untreated advanced breast and lung cancer patients without bone osteolytic metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2013, 30(3): 317-332.
  - 53 Song Xu, Yi Wu, Renwang Liu, et al. Serum microRNA-139-5p is a biomarker of bone metastasis in lung cancer patient [J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(2): S389.
- (收稿日期: 2015-1-3)  
(本文编辑: 吕红芝)

刘仁旺, 徐婷婷, 武毅, 等. 骨髓间充质干细胞在肺癌发生发展中的研究进展 [J/CD]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2015, 1(2): 53-58.