

胶质母细胞瘤的分子生物学研究进展

任铭新,王可心,方一帆,刘 聪,符 辉,常连生
(武汉大学基础医学院,湖北 武汉 430071)

摘要:胶质母细胞瘤是最常见、恶性程度最高的浸润性脑胶质瘤,具有形态学、遗传学和基因表达异质性,目前标准的治疗方法是最大程度的手术切除并辅以放疗和化疗。由于异质性的存在,大多数肿瘤会对治疗产生抗性并在短时间内复发。随着遗传分子学的研究进展对胶质母细胞瘤的分类以及病理生理学有了更多的理解。全文对胶质母细胞瘤的组织病理学分类、分子分类、病理生理学、临床相关的遗传分子的改变以及可能的发病机制进行综述。

关键词:胶质母细胞瘤;EGFR;基因突变;肿瘤干细胞

中图分类号:R739.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2017)10-0863-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2017.10.B006

Advances in Molecular Biology of Glioblastoma

REN Ming-xin, WANG Ke-xin, FANG Yi-fan, et al.

(Wuhan University School of Basic Medical Sciences, Wuhan 430071, China)

Abstract: Glioblastoma is regarded as the most common and the most malignant form of brain tumor, with the heterogeneity of morphology, genetics and gene expression. Currently its standard treatment is extensive surgical resection, followed by adjuvant radiotherapy and chemotherapy. However, most of glioblastoma will recur in a short time and become resistant to the treatment due to its heterogeneity. Based on recent progress of genetic and molecular mechanisms, we have a better understanding of the pathophysiology and classification of glioblastoma. This review highlights its pathophysiology, histopathological classification, molecular classification, clinically relevant genetic changes and possible pathogenesis.

Subject words: glioblastoma; EGFR; gene mutation; cancer stem cells

胶质母细胞瘤是最常见的原发性恶性肿瘤,占颅内肿瘤的12%~15%,占星形胶质细胞瘤的50%~60%,年发病率5.26/10万,每年新增患者17 000例^[1]。胶质母细胞瘤中位发病年龄约为54岁(30~80岁),且男性占多数^[2]。虽然胶质母细胞瘤发病率不高,但恶性程度高、预后极差,5年生存率仅5%。目前临床上主要治疗方法是最大程度的手术切除并辅以放疗和替莫唑胺化疗。目前,遗传分子学的研究进展让我们对胶质母细胞瘤的病理生理学有了更好的理解,广泛的多平台基因组特征提供了该疾病分子改变的高分辨率图谱,也对胶质母细胞瘤有了新的认识:胶质母细胞瘤代表了几种在组织结构上相似而分子异质性的疾病,这影响了分类学的分类系统,预后和治疗

决策^[3]。本文对胶质母细胞瘤的病理生理学、临床相关的遗传分子的改变以及未来药物研发的主要靶点进行介绍。

1 组织病理学和分类

胶质瘤起源于胶质细胞,尤其以星形胶质细胞和少突胶质细胞居多。根据肿瘤的生长方式,可以将胶质瘤分为局限性胶质瘤和弥漫性胶质瘤。根据2016年世界卫生组织(WHO)中枢神经系统肿瘤分类,局限性胶质瘤为I级,弥漫性胶质瘤可以分为II级、III级、IV级。局限性胶质瘤包括青少年纤维性星形细胞瘤,多形性黄色星形细胞瘤,室管膜下的巨细胞星形细胞瘤,其恶性程度较低,生长有特异的定位,可以通过手术完全切除。弥漫性胶质瘤则有很高的浸润性,肿瘤细胞可以沿着神经纤维网结构迁移,因此与周围组织没有明确的界限,手术不可能完全

基金项目:2015年大学生创新创业训练计划项目(201510486098);
2015年武汉大学医学部大学生创新实验项目(MS2015026)

通讯作者:常连生,讲师,武汉大学博士研究生在读;武汉大学基础医学院人体解剖与组织胚胎学教学系,湖北省武汉市武昌区东湖路185号(430071),E-mail:107607915@qq.com

收稿日期:2016-09-20;**修回日期:**2017-01-19

切除,故而残留的肿瘤组织可能导致该疾病快速的复发。WHO-II级胶质瘤通常具有浸润的特性,尽管只有较低水平的增生能力,但易复发,也可出现间变。WHO-III级(间变性胶质瘤)具有组织病理学恶性表现,包括核异型性和活跃的核分裂,多数情况下,手术后应接受放疗和化疗。WHO-IV级(胶质母细胞瘤)具有细胞学恶性表现,核分裂活跃,具有坏死倾向,发展速度很快。在弥漫性胶质瘤中,胶质母细胞瘤浸润性最强,有微血管增生,以此与坏死组织进行区别。胶质母细胞瘤占有胶质瘤的一半以上,5年生存率低于5%。此外根据有无前期病变,胶质母细胞瘤可以分为原发性胶质母细胞瘤和继发性胶质母细胞瘤。原发性胶质母细胞瘤是最常见的亚型,占90%~95%,在50岁以上的中老年人中比较普遍。继发性胶质母细胞瘤是由低级别的星形细胞瘤发展而来^[4],占5%~10%,在年轻人中比较常见。

2 胶质母细胞瘤的分子分类

胶质瘤传统上通过形态学进行分类和分级。但越来越多的研究显示,基于形态学的病理分类并不能很好的反映某些胶质瘤的生物学特征。例如,部分胶质瘤对放化疗特别敏感,而相同级别的其他胶质瘤却对放化疗无效;有些病理上诊断为低级别的胶质瘤短期内复发与恶化,而有些高级别的胶质瘤却可以长期保持稳定^[5,6]。随着分子生物学的深入发展,目前可以从分子水平对胶质瘤进行分类,并且发现了一些能够预测胶质瘤患者预后及治疗疗效的分子标记。

尽管很多科研团队通过胶质母细胞瘤的表达图谱^[7,8]对其进行分类,但是仅有两项研究为胶质母细胞瘤的分子分类提供了基础^[9,10]。Verhaak等分析了癌症基因组图谱计划(The Cancer Genome Atlas,TCGA)中202例胶质母细胞瘤的表达图谱后,将胶质母细胞瘤分为四个亚型:前神经元型、神经元型、经典型和间质型。前神经元型的发生率较低,有少突胶质细胞的特性,主要发生在继发性胶质母细胞瘤年轻患者中。神经元型包括星形细胞和少突细胞,表现为表达神经元相关基因,其主要特点是表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)扩增,它的表达模式和正常脑组织

是最相似的。经典型表达神经前体细胞和干细胞的标志物,具有星形细胞的特性。间质型具有培养的星形细胞瘤的特点。Phillips等在一项107例胶质瘤(WHO III级和IV级)样本的研究中,将胶质瘤分为三个亚型:前神经元型,增殖型和间质型。前神经元型表达神经发生相关的基因,常发生在40岁左右的人群中,预后较好。增殖型和间质型肿瘤分别表达细胞增殖和血管生成/间质相关的基因,常发生在年龄稍大(>50岁)的人群中,预后不良。中国脑胶质瘤基因组图谱计划(chinese glioma genome atlas,CGGA)利用225例脑胶质瘤的样本,将脑胶质瘤分为三个亚型(G₁,G₂和G₃),G₁亚型主要见于年轻的患者,预后较好;而G₃亚型主要见于年老的患者,预后较差;G₂亚型的临床特点介于G₁和G₃亚型之间。

3 胶质母细胞瘤中主要的分子损伤

在群体水平,胶质母细胞瘤中最多发的遗传学改变是10q杂合性缺失(69%),其次是EGFR扩增(34%),TP53突变(31%),p16INK4a纯合性缺失(31%),磷酸酯酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten,PTEN)突变(24%)。在原发性胶质母细胞瘤中遗传学改变与之相似。而继发性胶质母细胞瘤中,10q杂合性缺失和TP53突变率较高(分别为63%和65%),而其他遗传学改变的发生率较低(4%~19%)^[10]。原发性胶质母细胞瘤和继发性胶质母细胞瘤的遗传途径见Table 1。

Table 1 Some common mutations in glioblastomas

Genetic alterations	Primary glioblastoma (%)	Secondary glioblastoma (%)
LOH 10q Mutation ^[8]	70	63
EGFR Amplification ^[8]	35	8
TP53 Mutation ^[8]	30	65
PTEN Mutation ^[8]	25	4
IDH Mutation ^[18]	5	80
MGMT promoter methylation ^[22]	42	79

LOH:loss of heterozygosity,EGFR:epidermal growth factor receptor,TP53:tumor protein 53,PTH:phosphatase and tensin homolog,IDH:isocitrate dehydrogenase,MGMT:O6-methyl guanine-DNA (deoxyribonucleic acid] methyltransferase.

3.1 EGFR 扩增和 EGFRv III 重排

EGFR 基因定位于染色体 7p12, 编码一种跨膜的酪氨酸激酶受体。EGFR 编码蛋白有三个功能结

构域:胞外的氨基酸结合区、跨膜区和胞内的酪氨酸激酶区。配体与 EGFR 结合后,EGFR 发生磷酸化被激活,进一步激活下游信号通路,从而促进细胞增殖、迁移。大约 50%的原发性胶质母细胞瘤发生了 EGFR 基因的扩增^[11-12]。EGFR 基因在许多肿瘤中并不发生扩增,而在胶质瘤中有很高的发生率。间变性星形细胞瘤中 EGFR 扩增的发生率为 17%,在胶质母细胞瘤中的发生率为 50%~60%,在 TCGA 经典型与 Phillips 增殖型和间质型的发生率高达 94%。一般存在 EGFR 扩增的细胞通常伴随 EGFR 基因其他形式的突变,最常见的是第 2~7 号外显子缺失形成的 EGFRvIII 重排。EGFRvIII 重排使激酶降解减少和活性增加,从而激活下游信号通路。表达重排的 EGFR 比表达野生型的 EGFR 有更差的预后^[13,14]。至今 EGFR 的靶向治疗还没有明显疗效,但多个临床试验已经发现针对 EGFRvIII 重排的疫苗能够改善患者的预后。

3.2 IDH 突变

异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)是三羧酸循环中的一种限速酶,催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -酮戊二酸和还原性辅酶 II (NADPH)^[15]。IDH 基因家族有三种异构酶:IDH1、IDH2 和 IDH3。在弥漫性胶质瘤中 IDH1 和 IDH2 发生了突变,其中 IDH1 突变占 90%以上^[16],其余为 IDH2 突变,至今还尚未发现 IDH3 发生突变。IDH1/IDH2 突变发生在胶质瘤形成的早期,随后星形胶质细胞伴随 TP53 基因突变或少突胶质细胞伴随 1p/19q 杂合性缺失。对 IDH1 突变型蛋白的表达,新兴研究结果表明其酶活性的代谢物 neomorphic 催化 2-羟基戊二酸二乙酯的生产,并影响一系列影响表观基因的细胞程序,增强恶性胶质瘤的增殖。它同时表明, IDH1 基因突变在绝大多数继发性胶质母细胞瘤存在,而在原发胶质母细胞瘤几乎是不存在的,这种特殊的突变具有很高的临床和预后价值^[17]。

3.3 MGMT 启动子甲基化

O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)定位于 10q26,编码一种修复 O6-甲基鸟嘌呤的酶。该基因启动子区缺少 TATA 盒和 CAT 盒,但含有 97 个 CG 二核苷酸的 CpG 岛。CpG 位点甲基化会导致染色质结构改变,从而阻止转录因子结合、导致基因沉默,并最终影响 DNA 修复^[18]。MGMT 蛋白主要分布

于细胞质,DNA 损伤后才转移到细胞核。在细胞核中,MGMT 可以使烷化剂作用下形成的 O6 位甲基化鸟嘌呤去甲基化,有效地修复 DNA 损伤,同时自身不可逆失活为烷基化 MGMT。因此,MGMT 被称为“自杀”酶^[19]。G-CIMP 以 CpG 位点甲基化增加为特征并且似乎受到 IDH 突变的影响^[20]。与胶质母细胞瘤相比,G-CIMP 这一表型通常发生在低级别的胶质瘤,年轻人居多,预后较好。在确诊的胶质母细胞瘤中,大约 50%发生了 MGMT 启动子的甲基化^[21],并且在继发性的胶质母细胞瘤中更为常见^[22,23]。MGMT 启动子发生了甲基化的胶质瘤患者对放疗、化疗敏感,生存期较长^[24,25]。在胶质母细胞瘤的老年患者中,MGMT 启动子甲基化发生率较高,单纯放疗联合化疗可以延长生存期,而 MGMT 启动子没有发生甲基化的老年患者辅助化疗不能延长生存期。

3.4 PTEN 基因突变

PTEN 定位于染色体 10q23.3,是蛋白酪氨酸磷酸酶基因家族成员。PTEN 是重要的抑癌基因,PTEN 蛋白使蛋白质去磷酸化而发挥作用。PTEN 可以抑制细胞转移、细胞与周围基质的粘附和血管的发生,还参与信号通路的转导,在细胞生长、分裂不受控制时,能够调控细胞分裂周期并诱导凋亡,这些功能可以阻止细胞的过度生长进而限制肿瘤的形成。86%的胶质母细胞瘤患者会有 PTEN 基因缺失和 RTK/PI3K 信号通路的改变。在原发性的胶质母细胞瘤中 PTEN 的点突变率为 26%~34%,在间变性星形细胞瘤中的突变率为 18%,明显少于胶质母细胞瘤。有 PTEN 突变的胶质瘤患者往往预后较差。

3.5 NF1 基因突变和缺失

NF1 基因编码神经纤维瘤蛋白,它是一种潜在的肿瘤抑制因子。在星形胶质细胞中负调控 Ras 和 mTOR 信号通路。在胶质瘤中已经发现 NF1 基因失活导致了蛋白酶体的过度降解^[16,26]。NF1 突变在胶质母细胞瘤的间质亚型中比较常见^[9]。利用 NF1 敲除的原代小鼠星形胶质细胞实验发现 NF1 的缺失导致细胞的增殖和迁移明显升高,这依赖于 Ras 介导的 mTOR 的超活化。NF1 潜在的下游靶基因还包括 Stat3,它是通过利用 NF1 缺失的恶性周围神经鞘肿瘤细胞的化学库筛选找到的^[27]。在 NF1 基因突变或缺失情况下,Stat3 由 mTORC1 和 Rac1 调控,周期蛋白 D1 的表达水平升高。基因工程小鼠模型已经

证明在星形胶质细胞中敲除 *NF1* 基因,在体内和体外实验都能够促进细胞的生长,但不足以诱导胶质瘤的形成^[28]。有趣的是,*NF1*^{-/-}星形胶质细胞发展成胶质瘤需要 *NF1*^{-/+}的脑环境^[29],且部分需要透明质酸酶等旁分泌因子。此外,最新的研究表明,*NF1* 基因的缺失在 GBM 中仅占 7%,多发生于弥漫性胶质瘤的一个亚群^[30]。这些结果值得我们进一步探讨。

4 胶质母细胞瘤可能的发病机制

4.1 胶质母细胞瘤发生的血管闭塞模型

肿瘤的遗传学改变引起形态学改变,进而导致细胞快速增殖、肿瘤生长和血管生成的生物学行为。血栓状态的形成这一形态学改变引发了胶质母细胞瘤的血管闭塞模型的形成。血栓状态由癌细胞分泌促凝血蛋白引起,可导致低氧,这使得部分肿瘤细胞发生假栅栏样坏死的适应性改变。假栅栏样细胞过表达低氧诱导因子(HIF-1 α),HIF-1 α 与血管内皮生长因子基因(VEGF)的启动子区结合,并上调 VEGF 转录。此外,假栅栏样细胞可以表达和活化一些蛋白来发挥使胶质母细胞瘤远离损伤血管的调节作用。肿瘤细胞在迁移过程中会分泌促进血管形成的凝血因子(VEGF、IL-8),来刺激肿瘤向新生血管扩增。

4.2 肿瘤干细胞模型

目前,一些研究已经证明了在胶质母细胞瘤中存在一小部分肿瘤干细胞^[31,32],对患者的生存有影响:如果患者的肿瘤干细胞增殖数目升高,患者的总体生存期和无进展生存期就会缩短。肿瘤干细胞具有自我更新,多能性,表达干细胞的标志物(如 CD133、巢蛋白等)和在体内促进肿瘤生长的特征^[33]。肿瘤干细胞的前体细胞尚不明确,它们可能来自正常的神经干细胞^[34]或者成熟的发生了遗传学改变进而获得了一种更为原始表型的神经细胞。除了遗传学的改变,肿瘤微环境在胶质瘤的发生、信号转导以及调控肿瘤干细胞表型方面均起到重要的作用^[35]。肿瘤干细胞对目前的治疗方法有抗性^[36-38],可能是由于这些细胞导致了肿瘤的复发。

近 20 多年对胶质母细胞瘤的研究让我们对胶质母细胞瘤有了更深的了解,同时也提出了更多具有挑战性和争议性的问题。对于胶质母细胞瘤复杂的瘤间和瘤内异质性的解释为我们提供了肿瘤行为

的重要信息,同时也为将来的治疗提供了方法。肿瘤干细胞及其微环境是如何致使胶质母细胞瘤发生、发展和对治疗的反应是未来研究的重点。目前治疗方式的效果在很大程度上受到这些因素的影响,优化针对不同生存机制的靶向治疗将有益于提升治疗效果。

参考文献:

- [1] Veliz I, Loo Y, Castillo O, et al. Advances and challenges in the molecular biology and treatment of glioblastoma-is there any hope for the future? [J]. *Ann Transl Med*, 2015, 3(1):7.
- [2] Ellsworth S, Ye X, Grossman SA. Clinical, radiographic, and pathologic findings in patients undergoing reoperation following radiation therapy and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma[J]. *Am J Clin Oncol*, 2014 Oct 21. [Epub ahead of print]
- [3] Dunn GP, Rinne ML, Wykosky J, et al. Emerging insights into the molecular and cellular basis of glioblastoma[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(8):756-784.
- [4] Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, et al. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas [J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(4): 1149-1153.
- [5] Ohgaki H, Kleihues P. Genetic profile of astrocytic and oligodendroglial gliomas [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2011, 28(3): 177-183.
- [6] Brennan C. Genomic profiles of glioma [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2011, 11(3):291-297.
- [7] Huse JT, Phillips HS, Brennan CW. Molecular subclassification of diffuse gliomas: seeing order in the chaos[J]. *Glia*, 2011, 59(8):1190-1199.
- [8] Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1[J]. *Cancer Cell*, 2010, 17(1):98-110.
- [9] Agnihotri S, Aldape KD, Zadeh G. Isocitrate dehydrogenase status and molecular subclasses of glioma and glioblastoma[J]. *Neurosurg Focus*, 2014, 37(6):E13.
- [10] Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64(6):479-489.
- [11] Schlegel J, Stumm G, Brandel K, et al. Amplification and differential expression of members of the erbB-gene family in human glioblastoma[J]. *J Neurooncol*, 1994, 22(3):201-207.
- [12] Jaros E, Perry RH, Adam L, et al. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-

- 67 labelling in brain tumours[J]. *Br J Cancer*, 1992, 66(2): 373–385.
- [13] Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, et al. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(4): 1462–1466.
- [14] Shinojima N, Tada K, Shiraishi S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (20): 6962–6970.
- [15] Ichimura K. Molecular pathogenesis of IDH mutations in gliomas[J]. *Brain Tumor Pathol*, 2012, 29(3): 131–139.
- [16] Meyer M, Reimand J, Lan X, et al. Single cell-derived clonal analysis of human glioblastoma links functional and genomic heterogeneity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(3): 851–856.
- [17] Liu A, Hou C, Chen H, et al. Genetics and Epigenetics of Glioblastoma: Applications and Overall Incidence of IDH1 Mutation[J]. *Front Oncol*, 2016, 6: 16.
- [18] Nakagawachi T, Soejima H, Urano T, et al. Silencing effect of CpG island hypermethylation and histone modifications on O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene expression in human cancer [J]. *Oncogene*, 2003, 22 (55): 8835–8844.
- [19] Kaina B, Christmann M, Naumann S, et al. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2007, 6(8): 1079–1099.
- [20] Turcan S, Rohle D, Goenka A, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype [J]. *Nature*, 2012, 483(7390): 479–483.
- [21] Kishida Y, Natsume A, Toda H, et al. Correlation between quantified promoter methylation and enzymatic activity of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in glioblastomas[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(2): 373–381.
- [22] Mellai M, Monzeglio O, Piazzini A, et al. MGMT promoter hypermethylation and its associations with genetic alterations in a series of 350 brain tumors [J]. *J Neurooncol*, 2012, 107(3): 617–631.
- [23] Nakamura M, Watanabe T, Yonekawa Y, et al. Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G:C → A:T mutations of the TP53 tumor suppressor gene[J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22(10): 1715–1719.
- [24] Olson RA, Brastianos PK, Palma DA. Prognostic and predictive value of epigenetic silencing of MGMT in patients with high grade gliomas: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Neurooncol*, 2011, 105(2): 325–335.
- [25] Rapkins RW, Wang F, Nguyen HN, et al. The MGMT promoter SNP rs16906252 is a risk factor for MGMT methylation in glioblastoma and is predictive of response to temozolomide[J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(12): 1589–1598.
- [26] McGillicuddy LT, Fromm JA, Hollstein PE, et al. Proteasomal and genetic inactivation of the NF1 tumor suppressor in gliomagenesis[J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(1): 44–54.
- [27] Banerjee S, Byrd JN, Gianino SM, et al. The neurofibromatosis type 1 tumor suppressor controls cell growth by regulating signal transducer and activator of transcription-3 activity in vitro and in vivo[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(4): 1356–1366.
- [28] Bajenaru ML, Zhu Y, Hedrick NM, et al. Astrocyte-specific inactivation of the neurofibromatosis 1 gene (NF1) is insufficient for astrocytoma formation [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(14): 5100–5113.
- [29] Bajenaru ML, Hernandez MR, Perry A, et al. Optic nerve glioma in mice requires astrocyte NF1 gene inactivation and Nf1 brain heterozygosity [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (24): 8573–8577.
- [30] Vizcaino MA, Shah S, Eberhart CG, et al. Clinicopathologic implications of NF1 gene alterations in diffuse gliomas [J]. *Hum Pathol*, 2015, 46(9): 1323–1330.
- [31] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [J]. *Nature*, 2004, 432 (7015): 396–401.
- [32] Ignatova TN, Kukekov VG, Laywell ED, et al. Human cortical glial tumors contain neural stem-like cells expressing astroglial and neuronal markers in vitro[J]. *Glia*, 2002, 39 (3): 193–206.
- [33] Lathia JD, Gallagher J, Myers JT, et al. Direct in vivo evidence for tumor propagation by glioblastoma cancer stem cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24807.
- [34] Alcantara LS, Chen J, Kwon CH, et al. Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(1): 45–56.
- [35] Lathia JD, Heddleston JM, Venere M, et al. Deadly teamwork: neural cancer stem cells and the tumor microenvironment[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(5): 482–485.
- [36] Zhou BB, Zhang H, Damelin M, et al. Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(10): 806–823.
- [37] Beier D, Schulz JB, Beier CP. Chemoresistance of glioblastoma cancer stem cells—much more complex than expected[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 128.
- [38] Liebelt BD, Shingu T, Zhou X, et al. Glioma Stem Cells: Signaling, Microenvironment, and Therapy [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 7849890.