



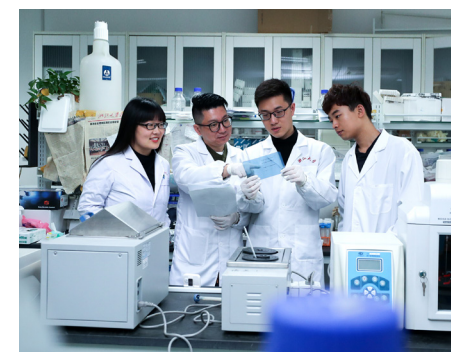
探秘“闻”出来的肿瘤

医学院 刘冲

令人闻之色变的胶质瘤

脑胶质瘤是最常见的恶性原发性颅内肿瘤，年发病率约为 3-8 人 /10 万人，从发现疾病到死亡，患者中位生存期仅 15 个月。患者需要接受手术、放化疗、免疫治疗等多模式治疗。然而，现有的治疗手段对于患者的生存时间的延长十分有限。因此，领域内迫切地希望更加深入的了解胶质瘤基本特征，包括肿瘤如何发生的，以及如何恶化的，进而帮助设计更加有效的治疗手段。

自从 2015 年回国加入浙江大学医学院，刘冲组建团队，并从事神经系统疾病，尤其是神经系统恶性肿瘤的发生机制及相应的临床转化研究。运用发育生物学研究理念，发展前沿的基因修饰小鼠遗传学方法，模拟和追踪自发状态下的疾病产生过程；发挥多学科交叉优势，结合生物化学、分子生物学、细胞生物学、神经生物学、光遗传与化学遗传学、单分子原位测序、多能干细胞体外分化与 3D 类人脑器官培养等技术，从多个层面解析癌症及退行性疾病的产生机制，并以恶性胶质细胞瘤为模型力求回答领域内一系列重要的基础理论问题。同时，团队紧密结合临床，通过对动物模型、患者样本、干细胞体外培养、PDX 模型等的对比性研究筛选关键性治病基因，发掘特异性的新型药物靶点和有效的治疗途径。

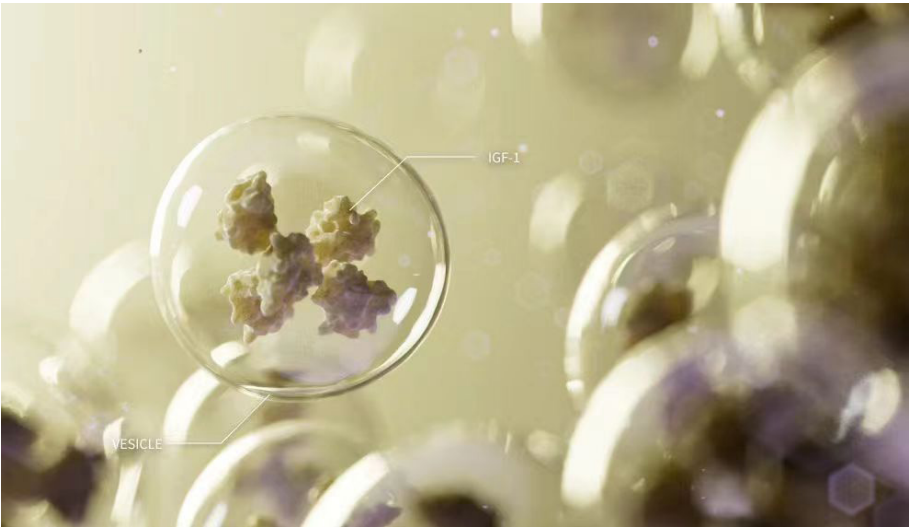


挖掘创新性高效靶点

在十数年的研究中，刘冲一直在探寻，希望挖掘胶质瘤治疗的原创性高效治疗位点。“我的挖掘思路其实非常简单直接，就是对肿瘤细胞进行生长因子以及相应抑制剂的刺激，进而筛选出肿瘤细胞高度敏感的生长因子信号通路”，刘冲介绍道，“令我惊讶的是，胶质瘤细胞只高度敏感于受体酪氨酸激酶家族中的胰岛素样生长因子信号通路（Insulin-like growth factor signaling），而不敏感于其他受体酪氨酸激酶信号通路。一般来说肿瘤细胞在特性受体信号阻断的情况下，会代偿性的利用其它受体来感受微环境，进而滋养自身，这种对于单个信号通路的高度依赖性在肿瘤研究中是非常少见的。因此胶质瘤细胞高度依赖于胰岛素样生长因子信号通路的现象，不仅是一个非常有意思的生物学问题，而且可以针对该现象设计高效的特异性治疗靶点！”

针对治疗靶点的鉴定，领域内大量的实验还是仅限于针对体外细胞培养模型进行筛选鉴定，因此在逐渐推向体内实验，推向临床实验的过程中，研究人员发现非常多的靶点的效果实际上非常有限。因此，针对胰岛素样生长因子信号通路，刘冲系统性地设计了体内实验对该靶点进行验证，包括多种不同的小鼠胶质瘤遗传学模型，脑肿瘤类器官培养，以及胶质瘤患者来源的肿瘤细胞小鼠原位移植模型，在不同的模型体系中验证了该信号通路对于胶质瘤细胞是不可或缺的，这对于下一步该靶点的利用提供了夯实的基础。知其然，知其所以然。针对明确的科学现象，好奇心驱使着刘冲进一步思考着，胶质瘤细胞为什么会依赖于胰岛素样生长因子信号通路呢？刘冲带领团队利用不同的下游信号通路抑制剂，明确了其依赖特定信号通路的原因。

为了让该靶点的鉴定更加具有实际临床价值，刘冲还和合作者一起，设计了高效靶向的胰岛素样生长因子信号通路抑制剂。这并不是一个简单的工作：我们的大脑组织被一层特殊的名为“血脑屏障”结构所保护着。顾名思义，这层屏障两端分别是血液循环系统以及大脑组织，只有小分子的营养物质可以穿过该屏障从血液进入大脑，阻隔了有害物质对大脑的侵袭。然而当我们希望递送药物进入大脑进而进行靶向治疗时，血脑屏障的存在反而成为了阻碍，限制了绝大部分药物进入大脑。



因此针对靶向大脑的药物设计，血脑屏障通过性是必须要考虑的性质。经过对大量小分子突变体的筛选分析，团队设计出了高靶向性，高血脑屏障通过性的胰岛素样生长因子受体抑制剂，并在细胞培养模型以及体内患者来源肿瘤细胞原位移植瘤模型中进行了抑制剂效果的验证。

因此，针对胰岛素样生长因子信号通路，刘冲从靶点验证，到机制探究，再而临床应用的探索，进行了全面而且细致的研究。

脑洞大开，嗅觉刺激诱发胶质瘤产生

肿瘤是如何产生的？一直是横亘于科学工作者面前的一个难题。针对于胶质瘤，目前认为，其病因包括先天的遗传高危因素和后天环境中的致癌因素，两者相互作用促进了胶质瘤的发生发展。但是，具体哪些外界环境刺激与疾病关联目前尚不清楚。

在十三年前的一个晚上，美国弗吉尼亚州大学一个昏暗的显微镜室中，彼时还是博士后研究员的刘冲独自观察分析着最新收集的肿瘤组织样本。这是一批来自新



建立的胶质瘤小鼠遗传学模型的组织样本。传统的肿瘤模型分析，以及患者的肿瘤组织分析，只能帮助我们理解肿瘤产生之后肿瘤组织的特征。而新建立的遗传学模型可以模拟肿瘤从正常细胞获得基因突变，再而逐渐成为肿瘤是整个癌变过程。通过对模型在不同时间点的分析，可以对肿瘤发生过程中的突变肿瘤细胞的性质特点进行描述，这是传统的模型无法探寻的“知识盲区”。在分析组织的过程中，刘冲敏锐地发现了一个现象：突变的肿瘤细胞总是紧密地围绕在神经元胞体的周围！这种三维空间位置上的紧密联系高度指向了一种可能性：肿瘤的发生中，神经元提供了某种积极的促肿瘤信号，促使神经元在空间上吸引着肿瘤细胞。

当时，对于肿瘤的研究更集中于肿瘤本身信号通路的变化。而实际上，肿瘤细胞的增殖恶化，必然会与周围的正常细胞进行密切的交流，进行传递信息。对于胶质瘤而言，在胶质瘤所处的器官——大脑中，神经元是其最基本的功能单位，神经元通过电活动和化学活动实现细胞间的交流，构成大脑正常生理活动的基础。“有工作表明，大脑神经元的活动可以促进正常胶质细胞的增殖。因此，当时的我非常

好奇，大脑中神经元的正常生理活动是否会影响胶质细胞的恶化，也就是胶质瘤的产生呢？”刘冲介绍。

而且，在初步的分析中，该模型中的肿瘤总是偏好发生于与嗅觉信息处理相关的脑区——嗅球中。“既然嗅觉脑区是胶质瘤的好发部位，那么，正常生理性的嗅觉感知是否会影响胶质瘤的发生呢？”然而面对刘冲的这个突如其来的“脑洞大开”，周围的人并不看好，认为这是“太过疯狂的想法”，“不可能完成的实验”。

面对质疑，刘冲并不气馁。回国建立独立实验室后，刘冲就着手验证这个大胆猜想。首先，团队先构建了模拟人类大脑中胶质瘤的产生过程的可靠动物模型。通过严谨细致的肿瘤发生前期、小肿瘤期和大肿瘤期的多时间点分析，团队发现在模型中，肿瘤主要自发产生于嗅球脑区的突触小球层，也就是嗅觉环路第一级神经元（嗅觉感受神经元）和第二级神经元（称为僧帽/簇状细胞）的信息交流区域，然后逐渐扩散到其他脑区。

为了验证嗅觉活动对肿瘤的影响，刘冲利用前沿的化学遗传学干预手段制备转基因小鼠，在嗅觉感受神经元中表达特定的受体，而受体可以在口服药物的刺激下，精确地抑制或者激活小鼠嗅觉感受神经元活动。基于该小鼠模型，研究人员发现，抑制嗅觉感受神经元活动后，肿瘤体积显著下降；而激活其活动后，肿瘤体积增加。结果证实来了嗅觉环路神经元的兴奋性活动是胶质瘤产生的根源。

为了验证上述结论，团队进一步通过精准的物理阻断方式，利用一个小塞子，塞入小鼠的单侧鼻腔，进而阻断小鼠单侧嗅觉输入。直接封闭小鼠单侧嗅觉输入后，研究人员发现，封闭侧大脑嗅球中肿瘤的体积缩小，充分证明了嗅觉刺激可以调控胶质瘤发生。“该研究首次通过物理手段干预自发胶质瘤生成，也验证了嗅觉神经环路在胶质瘤生成中的地位。”刘冲说。

以上实验，首次将嗅觉感知与胶质瘤发生联系了起来。让我们重视：正常的大脑活动也是有可能去调控肿瘤发生的。刘冲表示，这一成果为后续进一步探究不同感知觉刺激（例如视觉、听觉、味觉、触觉等），大脑的运动控制环路，学习环路的神经元活动，甚至是情绪应激和异常神经功能相关疾病，是否也会影响肿瘤发生提供了无限思考空间。

追根溯源，一条电波穿起了肿瘤发生

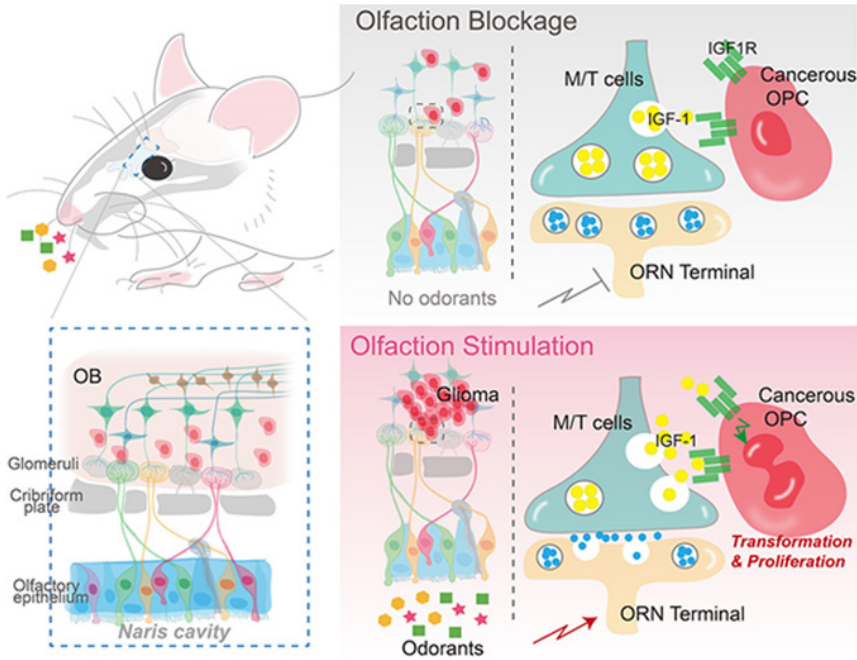
明确了诱发胶质瘤产生的嗅觉神经环路，下一步要做的就是追根溯源，搞清楚背后的机制是什么？

刘冲团队通过对嗅觉剥夺小鼠的两侧嗅觉进行测序分析，筛选出 17 个基因在嗅觉剥夺侧显著的降低，其中包括了胰岛素样生长因子，说明该基因是一个潜在的重要效应因子。这与团队之前针对胰岛素样生长因子信号通路的研究相互呼应！在成千上万的基因中，筛选出了团队之前鉴定的胶质瘤关键信号通路，这让刘冲十分兴奋。迫不及待地，团队迅速投入下一步的研究中。

在嗅球中，胰岛素样生长因子主要表达在嗅觉环路第二级神经元僧帽 / 簇状细胞中。基于上述发现，团队构建了一个全新的小鼠模型，可以同时模拟胶质瘤发生和去除僧帽 / 簇状细胞特异性来源的胰岛素样生长因子。结果显示，敲除了僧帽 / 簇状细胞中的胰岛素样生长因子后，肿瘤体积显著降低。随后，团队在此小鼠肿瘤模型上，同时激活嗅觉感受神经元和阻断胰岛素样生长因子信号通路，发现嗅觉激活导致的促瘤作用被完全消除。因此，利用清晰的证据链，证明了嗅觉活动主要是通过神经元来源的胰岛素样生长因子信号通路调控胶质瘤的发生。

刘冲介绍，“在整个胶质瘤发生的环路中，嗅觉环路中的僧帽 / 簇状细胞受到嗅觉刺激分泌出胰岛素样生长因子，相当于电波发射塔发出了生长信号。而这个信号被肿瘤细胞上的生长因子受体接收，这就好像电波被天线接收，进而传递到肿瘤细胞内，启动细胞恶变和增殖的程序。”

这里还有一个插曲，领域内关注神经元与胶质瘤的互相作用关系时，更多的集中于神经递质信号通路。“领域内的热点领域往往意味着更容易发表工作，我并不想追逐领域内所谓的热点。我一直认为，面对科学问题，一定要有自己的独立思考。我始终相信，只有自己通过详实的实验筛选得到的，自己挖掘的数据和靶点，才是最有意义的，也是我一直所践行的”，刘冲说道，“当时为了回应部分审稿人的疑问，我们也在我们的模型体系中测试了神经递质信号通路，发现抑制神经递质信号并不会影响肿瘤的进展，可见别人的工作，不一定就是真理，而需要批判性的学习”。



科学研究需要夯实的基础、求真求是的勇气和开拓创新的方向。多年来，刘冲一直关注神经系统肿瘤细胞起源、肿瘤演进机制和个性化治疗策略的研发。一系列成果的发表，开创性地揭示外部感觉（嗅觉刺激）、特定信号通路对于胶质瘤发生的重要影响。基于此研究的深入探索，可以帮助人们更好的理解肿瘤发生本质这一基本生物学问题，并为胶质瘤的预防、早期干预及治疗提供新的方向。