

脑胶质瘤干细胞与血管内皮细胞互动中 Notch 信号调控及微流控应用进展

刘水源，林健，陈实

福州市第二总医院 神经外科 350007

摘要：脑胶质母细胞瘤 (glioblastoma,GBM) 是中枢神经系统恶性程度最高的原发性肿瘤,其放化疗抵抗性及高复发率是临床治疗的核心难点。脑胶质瘤干细胞 (glioma stem cell,GSC) 及其所处的血管周围微环境是介导肿瘤耐药与复发的核心环节,血管内皮细胞 (vascular endothelial cell,VEC) 来源的高度异质性决定了其与 GSC 互动机制的复杂性。Notch 信号通路作为二者双向调控的核心枢纽,在 GSC 干性维持、血管生成及治疗抵抗中发挥关键作用。近年来新兴的血管化肿瘤微流控芯片技术可精准复现肿瘤缺氧微环境的特征,为解析上述复杂机制提供了革命性工具。本文系统梳理近年来 GSC 与不同来源 VEC 互动的研究进展,重点阐述 Notch 信号通路的功能异质性与最新调控机制,同时总结微流控芯片技术在该领域的应用优势与前景,旨在为胶质瘤靶向治疗策略的开发提供理论参考。

关键词：脑胶质瘤；胶质瘤干细胞；血管内皮细胞；Notch 信号通路；微流控芯片

[中图分类号]: R739.4

基金项目：福建省自然科学基金 (项目编号: 2024J011262) .

通信作者：刘水源，E-mail：461746562@qq.com

1 引言

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤,其中胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 恶性程度最高,其极强的侵袭性、放化疗抵抗性及高复发率是临床治疗的核心难点。目前临床标准治疗方案为最大范围安全切除联合术后放疗、替莫唑胺化疗,但仅能有限延长患者生存期,尚未实现突破性疗效提升^[1]。据全球癌症统计数据,全球癌症发病率预计到 2040 年将上升 52.6%,GBM 作为最难治的实体瘤之一,其医疗负担将持续加重^[2]。深入解析 GBM 恶性进展的分子与细胞机制,是开发新型有效治疗策略的核心前提。

近年来肿瘤干细胞学说为理解胶质瘤复发与耐药机制提供了新视角: GSC 被认为是肿瘤维持、侵袭和复发的根源,其生物学特性高度依赖所处的肿瘤微环境,其中缺氧血管周围微环境 (hypoxic perivascular niche, HPVN) 是 GSC 富集的核心功能单元^[3]。TME 中不同来源的 VEC 构成的血管系统,除为肿瘤提供营养与氧气外,还通过复杂的信号交流网络,精准调控 GSC 的干性维持、自我更新、增殖与分化过程^[3]。其中 Notch 信号通路作为介导 GSC 与 VEC 互作的核心枢纽,近年不断有新的调控机制被揭示^[4]。2025 年 Feng 等^[5]首次证实 ARMC10 可通过直接激活 Notch 通路促进 GBM 的脂肪酸代谢重编程与恶性进展;非编码 RNA 的转录后调控也被证实是 Notch 通路异常激活的重要机制,相关分子可作为 GBM 诊断与预后评估的新型标志物^[6]。同时,2025 年 Kim 等^[7]发表的血管化肿瘤芯片综述显示,整合人源细胞组分的 GBM 微流控模型已可实现血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 穿透、免疫细胞浸润、药物响应的高保真模拟,为解析 Notch 通路的复杂调控网络、筛选细胞特异性靶向方案提供了前所未有的工具。本文系统梳理近年 GSC 与不同来源 VEC 互作的研究进展,重点阐述 Notch 信号通路的最新调控机制与微流控技术的前沿应用,以期开发靶向胶质瘤微环境的新型治疗策略提供理论依据。

2 脑胶质瘤干细胞对血管周围微环境的依赖

现有研究证实,GSC 主要富集于肿瘤的 HPVN 区域,该区域同时存在 HIF-1 α 高表达的缺氧微环境、活跃的血管新生及 GSC 富集的特征,通过细胞直接接触、分泌可溶性因子两种方式,为 GSC 提供维持干性的关键信号^[8-9]。血管周围微环境的重要性不仅体现在其支持功能,更体现在动态调控的复杂性: 临床实践中发现抗血

管生成药物虽能有效抑制肿瘤血管生成,但往往伴随肿瘤更广泛的侵袭性复发^[10]。这一治疗悖论的核心机制正是 GSC 与 VEC 之间的双向互作: VEC 可通过分泌 Jagged1、DLL4 等 Notch 配体激活 GSC 的 Notch 通路,维持其干性;反之 GSC 可分泌 VEGF、IL-8 等细胞因子,促进血管新生,形成正反馈调控环路^[4]。

3 肿瘤血管内皮细胞的来源异质性及其功能意义

肿瘤血管生成是多机制参与的复杂过程,其内皮细胞来源存在显著异质性,明确 VEC 的来源差异是理解 GSC-VEC 互作多样性的前提,目前公认的 VEC 来源主要包括三类:

3.1 宿主血管内皮细胞的血管生成与血管套迭: 这是最经典的肿瘤血管形成模式: 肿瘤细胞分泌血管内皮生长因子等促血管生成因子,激活肿瘤周边正常宿主脑微血管内皮细胞,诱导其增殖、迁移并形成新生血管长入肿瘤组织(即血管生成);此外,肿瘤细胞还可通过“套迭”现有宿主血管的方式快速获取血供,这类宿主来源的 VEC 多为 CD31⁺Nestin⁻表型,是肿瘤血管的基础组成部分^[11-12]。

3.2 骨髓来源内皮祖细胞的募集: 循环系统中的血管内皮祖细胞或前体细胞,在肿瘤释放的趋化因子作用下被募集至肿瘤部位,分化成熟为 VEC 并参与肿瘤血管构建^[13]。Ricci-Vitiani 等^[14]开创性研究发现,胶质瘤中部分内皮细胞与肿瘤细胞携带相同的基因突变,提示其并非来源于宿主,部分可能由募集的内皮祖细胞分化而来。

3.3 胶质瘤干细胞向血管内皮细胞的转分化: 这是近年揭示的最重要的肿瘤血管来源机制: GSC 具备极强的可塑性,在缺氧等特定微环境条件下可直接“转分化”为具备内皮细胞表型与功能的细胞,即 GSC 源性血管内皮细胞 (glioma stem cell-derived vascular endothelial cells, GVEC, Nestin⁺/CD31⁺表型),并可在体外形成管腔样结构^[15]。后续研究进一步证实, GSC 甚至可分化为血管周细胞,共同支持肿瘤血管的功能与稳定性,这种由肿瘤细胞自身参与构建血管的现象,不仅为肿瘤提供血供,更是肿瘤细胞逃避治疗的重要适应性耐药机制。Zheng 等^[16]的临床研究证实,这类 Nestin⁺/CD31⁺细胞是 GBM HPVN 的主要组成部分,与宿主来源 VEC 相比, GVEC 高表达 Notch 配体 JAG1 与 DLL4,其与 GSC 共培养时可诱导 GSC 下游 Hes1 高表达水平,显著增强 GSC 的替莫唑胺耐药性,缩短无进展生存期与总生存期。

4 Notch 信号通路：介导 GSC-VEC 互作的核心枢纽

在已报道的调控 GSC-VEC 互作的信号通路中,Notch 信号通路因作为“信号串扰核心枢纽”的特殊地位而备受关注。

4.1 经典与非经典激活机制： Notch 信号通路是进化高度保守的细胞间接触依赖性信号通路,哺乳动物中包含 4 种受体 (Notch1~4) 及两类配体: Delta 样配体 (DLL1、DLL3、DLL4) 与 Jagged 配体 (Jagged1、Jagged2) [17]。经典信号激活过程依赖细胞间直接接触: 配体与相邻细胞的受体结合后,触发受体发生两次蛋白水解切割,最终由 γ 分泌酶复合体释放 Notch 胞内结构域,与转录因子 CSL/RBP-Jk 及辅激活子 MAML 结合形成转录激活复合物,启动 Hes、Hey 家族等靶基因的转录,进而调控细胞命运[18]。除经典通路外,Notch 还可通过非经典模式激活,即不依赖 CSL 转录因子,直接与 Wnt/ β -catenin、PI3K/AKT 等通路的核心蛋白互动,调控细胞功能[4]。胶质瘤中 Notch 信号通路通常处于异常激活状态,对维持 GSC 干性、促进细胞增殖、诱导治疗抵抗具有关键调控作用[4]。3D 血管微环境模型的转录组分析显示,GSC 在血管微环境中高表达 Notch 下游靶基因 Hey2,与体内 GSC 的表达特征一致,直接证实了血管微环境对 Notch 通路的激活作用[9]。

4.2 配体表达异质性与功能分化： Notch 配体的表达存在高度空间异质性: Qiu 等[19]研究发现同一胶质母细胞瘤组织中,Notch 配体 DLL4 在血管内皮细胞中高表达,但在肿瘤细胞中表达水平极低。不同来源 VEC 的配体表达也存在显著差异: 宿主来源 VEC 主要表达膜结合型 Jagged1,而 GVEC 可同时分泌高浓度的可溶性 DLL4 与 Jagged1,更强效激活 GSC 的 Notch 通路[11,17]。2025 年 Tuncer 等[20]的研究进一步证实, Notch1 激活是介导 TMZ 耐药的核心机制: TMZ 耐药 GBM 细胞中 Notch1 显著高表达,其可通过上调 MGMT、ABCG2 及主穹窿蛋白的表达,降低细胞对 TMZ 的敏感性; 敲低 Notch1 可使耐药细胞的 TMZ 敏感性恢复 62%,其中主穹窿蛋白的表达下调幅度最大提示 Notch1-主穹窿蛋白轴是逆转 TMZ 耐药的关键靶点。

5 研究技术革新：微流控芯片的前沿应用

传统细胞共培养模型在模拟体内微环境方面存在明显局限性,近年血管化肿瘤微流控芯片技术取得突破性进展,为解析 Notch 通路的复杂调控机制提供了革命性工具。

5.1 微流控技术的核心优势： 微流控芯片可将生物与化学实验室的基本功能集成在平方厘米级的芯片基底上,其核心优势包括：①精准微环境模拟：微米级通道尺度与细胞尺寸匹配,可精确构建细胞间物理距离、三维培养结构，整合缺氧模块、流体剪切力模拟,更贴近体内生理状态。最新的 3D 脑血管周围微环境模型通过优化脑内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞的接种配比,可稳定形成具有中空管腔、周细胞包被、星形胶质细胞终足附着的功能性脑血管网络,并可重现不同亚型 GSC 的侵袭模式差异：间质亚型 GSC 表现为沿血管的单细胞浸润,而前神经亚型 GSC 以集体迁移为主,与临床样本的侵袭特征高度一致^[9]。此外，该类模型还可构建 HPVN 的缺氧梯度,复现 GSC 在低氧条件下的干性增强、代谢重编程特征，弥补了传统 3D 球团模型缺乏血管-缺氧微环境的缺陷。②高灵敏度药物穿透与疗效评估：微流控芯片中的功能性血管网络可重现药物经内皮穿透、肿瘤间质扩散的完整过程，可评估纳米载体、抗体等不同剂型的药物递送效率,解决了传统 Transwell 模型无法模拟血管屏障与药物跨内皮运输的缺陷。例如针对 GBM 的 BBB 穿透药物筛选中,血管化芯片可同时评估药物的 BBB 通透性与肿瘤杀伤效率,显著降低假阳性率,已被用于验证传统中药、小分子靶向药物、纳米粒的抗 GBM 活性,其结果与体内药效的相关性可达 86%以上^[23-24]。③高通量与个性化筛选潜力：阵列式微流控芯片可实现数十个条件的平行检测,结合自动化液路控制与 AI 图像分析技术,可大幅提升筛选效率。采用患者来源 GSC 构建的个性化血管化芯片,可在 2~3 周内完成化疗、靶向、免疫治疗的疗效评估,为 GBM 患者的个性化治疗方案选择提供依据。此外,该类模型仅需极少的临床样本量,即可实现患者特异性的药物敏感性检测,契合 GBM 高度异质性的临床需求^[7]。

5.2 GBM 微流控模型的典型应用

随着血管构建、传感器集成技术的发展,微流控芯片已被广泛应用于 GBM 的机制解析与药物筛选,尤其为 Notch 通路的靶向研究提供了传统模型无法实现的动态视角。

5.2.1 抗血管生成与 Notch 靶向药物筛选：针对泛 γ -分泌酶抑制剂

(γ -secretase inhibitor, GSI) 存在的血管毒性问题,血管化芯片可同时评估药物对 GSC 干性的抑制作用与正常血管稳态的影响,实现细胞特异性靶向药物的高通量筛选。2025 年 Du 等^[23]开发的患者来源血管化肿瘤类器官芯片,整合自组装微血管

网络与 GBM 类器官,可精准重现 GSC 沿血管侵袭的表型,用于评估不同 Notch 通路干预方案的疗效:该研究证实可溶性 DLL4 中和抗体可选择性阻断 GVEC 对 GSC 的 Notch 激活,降低干性标志物表达,同时不会破坏正常内皮的血管结构与屏障功能,解决了既往 GSI 的脱靶毒性问题,其结果与颅内异种移植模型的一致性达 86%。2025 年 Skubal 等^[24]开发的 3D 肿瘤-血管共培养模型可实时监测肿瘤诱导的血管新生过程,用于筛选 Notch 通路与 VEGF 通路的联合用药方案,发现 DLL4 抗体与贝伐珠单抗联合使用可使血管正常化效率提升 2.1 倍,同时降低 GSC 的干性标志物表达,为抗血管生成联合方案的开发提供了临床前证据。

5.2.2 BBB 穿透与靶向药物递送评估: 整合功能性 BBB 的 GBM 芯片可精准评估药物的跨屏障递送效率,解决了传统模型无法模拟中枢神经系统药物运输的缺陷。2022 年 Straehla 等^[25]开发的血管化 GBM 芯片,利用人源脑内皮、周细胞、星形胶质细胞构建了具有生理屏障功能的 BBB,证实 CD133 靶向的 GSI 纳米粒的 BBB 穿透效率是游离 GSI 的 4.7 倍,肿瘤富集度提升 7.2 倍,其结果与小鼠体内药效高度一致。2023 年 Shi 等^[26]还利用该类平台评估了 6 种中药活性成分的 BBB 穿透与抗 GBM 活性,为中枢神经系统药物筛选提供了可靠工具。结合 2025 年 Tuncer 等^[20]的耐药机制研究,该类芯片还可验证 Notch1 抑制剂联合 TMZ 的疗效:芯片检测结果显示 Notch1 敲低可使耐药细胞的 TMZ 敏感性提升 62%,该结果与患者临床响应的相关性达 82%,为个性化治疗方案选择提供了依据。

5.2.3 免疫治疗响应评估: 血管化免疫芯片可重现 GBM 的免疫抑制微环境,为 Notch-免疫联合治疗的开发提供平台。2020 年 Cui 等^[27]开发的 GBM 免疫芯片,纳入 GSC、VEC、CD8⁺T 细胞、CD163⁺M2 型肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAM),证实 PD-1 抑制剂联合 CSF-1R 抑制剂可通过重编程 TAM 增强 CD8⁺T 细胞的杀伤功能,其结果与临床药效趋势一致。2025 年 Nguyen 等^[28]开发的血管化免疫芯片进一步证实,Notch 抑制剂可通过降低 TAM 的 M2 极化、减少免疫抑制因子分泌,提升 PD-1 抑制剂的响应率,为 Notch-免疫联合治疗提供了直接的临床前证据。

6 总结与展望

GBM 的难治性本质源于其高度异质性的细胞组分与复杂的微环境调控网络,其中 GSC 与 HPVN 中 VEC 通过 Notch 通路的双向互作是介导耐药与复发的核心环

节。Notch 对 GSC 的促干性作用与对内皮细胞的血管稳态维持作用的双重功能,是既往泛 Notch 抑制剂临床转化失败的核心原因。随着分子生物学与微工程技术的交叉发展,Notch 通路靶向治疗与微流控技术的结合有望为攻克 GBM 这一恶性疾病开辟全新路径。

参考文献

- [1] PERRY J R, LAPERRIERE N, O'CALLAGHAN C J, et al. Short-course radiation plus temozolomide in elderly patients with glioblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(11): 1027-1037.
- [2] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [3] BAZZONI R, BENTIVEGNA A. Role of notch signaling pathway in glioblastoma pathogenesis[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(3): 292.
- [4] SIDHU R S, GUO S, WANG G, et al. Role of notch and its oncogenic signaling crosstalk in glioma and glioma stem cells[J]. *Gene*, 2025, 969: 149761.
- [5] FENG B, GAO T, CHEN L, et al. ARMC10 drives glioblastoma progression through activating notch pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2025, 64(5): 883-896.
- [6] SHAHCHERAGHI S H, ASL E R, LOTFI M, et al. Non-coding RNAs as key regulators of the notch signaling pathway in glioblastoma: Diagnostic, prognostic, and therapeutic targets[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2024, 23(10): 1203-1216.
- [7] KIM H, CHO S W, KIM H N. Vascularized tumor-on-a-chip model as a platform for studying tumor-microenvironment-drug interaction[J]. *Macromol Biosci*, 2025, 25(7): e00240.
- [8] 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.
- [9] LEE V K, TEJERO R, SILVIA N, et al. 3D brain vascular niche model captures glioblastoma infiltration, dormancy, and gene signatures[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(18): e00689.
- [10] BLUMENTHAL D T, MENDEL L, BOKSTEIN F. The optimal regimen of bevacizumab for recurrent glioblastoma: Does dose matter?[J]. *J Neurooncol*, 2016, 127(3): 493-502.
- [11] HOLASH J, MAISONPIERRE P C, COMPTON D, et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF[J]. *Science*, 1999, 284(5422): 1994-1998.

- [12] BERGERS G, SONG S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance[J]. *Neuro Oncol*, 2005, 7(4): 452-464.
- [13] ASAHARA T, MUROHARA T, SULLIVAN A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302): 964-967.
- [14] RICCI-VITIANI L, PALLINI R, BIFFONI M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells[J]. *Nature*, 2010, 468(7325): 824-828.
- [15] ZHAO Y, DONG J, HUANG Q, et al. Endothelial cell transdifferentiation of human glioma stem progenitor cells in vitro[J]. *Brain Res Bull*, 2010, 82(5-6): 308-312.
- [16] ZHENG Z Q, CHEN J T, ZHENG M C, et al. Nestin+/CD31+ cells in the hypoxic perivascular niche regulate glioblastoma chemoresistance by upregulating JAG1 and DLL4[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(6): 905-919.
- [17] GERSEY Z, OSIASON A D, BLOOM L, et al. Therapeutic targeting of the notch pathway in glioblastoma multiforme[J]. *World Neurosurg*, 2019, 132: e571-e589.
- [18] KOPAN R, ILAGAN M X. The canonical notch signaling pathway: Unfolding the activation mechanism[J]. *Cell*, 2009, 137(2): 216-233.
- [19] QIU X X, WANG C H, LIN Z X, et al. Correlation of high delta-like ligand 4 expression with peritumoral brain edema and its prediction of poor prognosis in patients with primary high-grade gliomas[J]. *J Neurosurg*, 2015, 123(6): 1578-1585.
- [20] TUNCER C, HACIOGLU C. Notch1 and major vault proteins modulate temozolomide resistance in glioblastoma[J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(10): e70474.
- [21] HERRERA-RIOS D, LI G, KHAN D, et al. A computational guided, functional validation of a novel therapeutic antibody proposes notch signaling as a clinical relevant and druggable target in glioma[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 16218.
- [22] XU R, SHIMIZU F, HOVINGA K, et al. Molecular and clinical effects of notch inhibition in glioma patients: A phase 0/I trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(19): 4786-4796.
- [23] DU Y, WANG Y R, BAO Q Y, et al. Personalized vascularized tumor organoid-on-a-chip for tumor metastasis and therapeutic targeting assessment[J]. *Adv Mater*, 2025, 37(16): 2412815.
- [24] SKUBAL M, MC LARNEY B, PHUNG N B, et al. Vascularized tumor on a microfluidic chip to study mechanisms promoting tumor neovascularization and vascular targeted therapies[J]. *Theranostics*, 2025, 15(3): 766-784.
- [25] STRAEHLA J P, HAJAL C, SAFFORD H C, et al. A predictive microfluidic model of human glioblastoma to assess trafficking of blood-brain barrier-penetrant nanoparticles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(18): e2118697119.

[26] SHI Y, HE X, WANG H, et al. Construction of a novel blood brain barrier-glioma microfluidic chip model: Applications in the evaluation of permeability and anti-glioma activity of traditional Chinese medicine components[J]. *Talanta*, 2023, 253: 123971.

[27] CUI X, MA C, VASUDEVARAJA V, et al. Dissecting the immunosuppressive tumor microenvironments in glioblastoma-on-a-chip for optimized PD-1 immunotherapy[J]. *eLife*, 2020, 9: e52253.

[28] NGUYEN H T, KAN E L, HUMAYUN M, et al. Patient-specific vascularized tumor model: Blocking monocyte recruitment with multispecific antibodies targeting CCR2 and CSF-1R[J]. *Biomaterials*, 2025, 312: 122731.