

## 微环境中间质细胞通过趋化因子对乳腺癌生长和转移的影响

### Stroma cells facilitate the growth and metastasis of breast cancer *via* chemokines and chemokine receptors in the microenvironment

李 静, 欧周罗, 邵志敏(复旦大学肿瘤医院乳腺癌研究所, 上海 200032)

**[摘要]** 大量研究表明,微环境中的多种间质细胞对肿瘤细胞的生长和转移具有多方面的影响,而在此过程中趋化因子及其受体则发挥着至关重要的作用。乳腺癌中的肿瘤相关性巨噬细胞在趋化因子 CCL2 及其受体 CCR2 作用下向肿瘤部位大量聚集,发挥促肿瘤血管形成的作用;癌症相关性成纤维细胞通过 CXCL12/CXCR4 生物轴作用于乳腺癌细胞,促进肿瘤生长和转移;间充质干细胞以旁分泌的方式分泌 CCL5,作用于 CCR5 阳性的乳腺癌细胞,增强肿瘤细胞的运动、浸润和转移能力。除此之外,骨髓来源的细胞、造血前驱细胞、肿瘤浸润性树突状细胞、肿瘤浸润性淋巴细胞以及其他白细胞也能借助趋化因子及其受体在肿瘤微环境中发挥着重要作用。由此可见,对肿瘤微环境中间质细胞及趋化因子的深入研究,可能为肿瘤的生物治疗提供新的靶点。

**[关键词]** 肿瘤微环境;间质细胞;乳腺癌;趋化因子

**[中图分类号]** R73.7      **[文献标志码]** A      **[文章编号]** 1007-385X(2008)05-0494-03

Bissell 等<sup>[1]</sup>曾提出应把肿瘤放在微环境中进行研究,乃因肿瘤细胞、周围微环境以及机体内环境之间的相互作用提供了一个利于肿瘤细胞生长和逃逸免疫攻击的背景。近年来,人们逐渐认识到肿瘤的生长、侵袭和转移并不是由肿瘤细胞独立完成的,其中有趋化因子网络作用体系对肿瘤细胞的协同作用<sup>[2]</sup>,如缺氧因素对肿瘤发展的促进作用,微环境中间质细胞如间充质干细胞、肿瘤相关性巨噬细胞、癌症相关性成纤维细胞等对肿瘤发展的促进作用等。本文通过对乳腺癌微环境中的重要细胞及趋化因子研究进展的回顾,解析肿瘤细胞与间质细胞之间通过趋化因子而实现互动的网络作用模式。

#### 1 肿瘤相关性巨噬细胞与 CCL2/CCR2 轴

肿瘤相关性巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAMs)在处于缺氧状态的肿瘤微环境中聚集,进而合成并分泌促血管生成性趋化因子,上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其他一些促血管生成因子如基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)<sup>[3,4]</sup>。观察表明,在肿瘤组织中 TAMs 似乎更倾向于在肿瘤中心或肿瘤坏死部位等缺氧区聚集<sup>[5]</sup>,且与肿瘤生长率和肿瘤血管形成程度也有显著的相关性。在乳腺癌患者中,肿块内 TAMs 的大量聚集也与肿瘤血管形成、不良预后、高复发率和较低的总生存率相关<sup>[6-8]</sup>。

微环境当中 VEGF 增多或处于短暂的缺氧状态时,微环境中的血管内皮细胞和成纤维细胞即可迅速合成并分泌 CCL2(chemokine C-C motif ligand 2;亦称

单核细胞趋化蛋白-1, monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1),鉴于单核细胞表面表达其受体 CCR2(chemokine C-C motif receptor 2),因而通过配基-受体的相互作用,CCL2 便可招募大量外周循环中的单核细胞至肿瘤部位。随后在巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、白介素(interleukin, 如 IL-4、IL-13、IL-10)、免疫抑制素(如肾上腺皮质激素)、维生素 D3 和前列腺素等的作用下,来自血液中的单核细胞进而转化成 TAMs,参与促进肿瘤血管的形成。CCL2 的浓度与 TAMs 的聚集数量以及肿瘤的恶性程度相关,这在人黑素瘤、卡波希肉瘤和乳腺癌的研究中已得到证实<sup>[9]</sup>。

考虑到 TAMs 在肿瘤血管形成过程中的中心地位,可将其作为未来抗肿瘤血管形成的治疗靶点,具体策略包括开发药物来抑制巨噬细胞分泌促血管生成成分,或是用药物来抑制巨噬细胞向肿瘤部位的募集,抑或是直接抑制肿瘤相关性巨噬细胞的功能。近期有研究人员在 CCR2 表达缺陷的宫颈癌小鼠模型中发现,虽然在肿瘤部位 TAMs 的聚集减少,但仅造成肿瘤形成的适度延迟,并不影响末期肿瘤发生率和肿瘤负荷;相反,仍能观察到大量持续的 MMP-9 的作用,这要归

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(No. 30570695);国家重点基础研究发展计划(973)课题(No. 2006CB910501)。Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 30570695); the Major National Basic Research Development Program of China(No. 2006CB910501)

**[作者简介]** 李 静(1982-),女,湖北省襄樊市人,硕士研究生,主要从事趋化因子在乳腺癌中的作用、机制及相关药物的研究

\* Corresponding author. E-mail: ouzhouluo@yahoo.com.cn

因于同样分泌 MMP-9 的白细胞向肿瘤部位的富集。同时在离体实验中发现, TAMs 能分泌某种抑制中性粒细胞的可溶性因子。可能的机制是 CCL2/CCR2 之间的趋化作用在招募 TAMs 达到肿瘤部位的同时也抑制了中性粒细胞的浸润, 然而一旦 TAMs 的募集被阻断, 同样能表达 MMP-9 的中性粒细胞则作为替补被招募到肿瘤微环境中, 发挥促进肿瘤进展和新生血管形成的作用。该现象是否在乳腺癌中存在, 尚无相关实验数据证实<sup>[10]</sup>。

## 2 癌症相关性成纤维细胞与 CXCL12/CXCR4 轴

肿瘤微环境中存在大量的成纤维细胞, 即癌症相关性成纤维细胞 (carcinoma associated fibroblasts, CAFs), 它们不仅参与形成微环境的物理架构, 对于形成肿瘤微环境生化特性也发挥着作用<sup>[11]</sup>。通过比较从 12 例乳腺癌患者体内分离的 CAFs 和从健康人体内分离的正常乳腺成纤维细胞 (normal breast fibroblasts, NBFs), 研究人员发现 CAFs 具有成纤维细胞的特点, 显示肿瘤相关特质, 且这两种细胞之间呈现不同的蛋白质组学特点, 很多蛋白的表达存在着明显差异<sup>[12]</sup>。从人类乳腺癌微环境中提取的 CAFs 比来自于同一患者正常乳腺部位的成纤维细胞更能促进乳腺癌细胞的生长。研究证实 CAFs 能够分泌间质细胞衍生因子 (stroma derived factor-1, SDF-1; 也称 CXCL12), 通过与肿瘤细胞上的受体 CXCR4 (CXC chemokine receptor-4) 的相互作用, 促进肿瘤细胞的生长<sup>[13]</sup>。而 CXCL12 与 CXCR4 之间的相互作用, 也能减少细胞的坏死并介导肿瘤细胞的远处转移, 与肿瘤的恶性行为密切相关, 这与高表达 CXCR4 的乳腺癌细胞向高表达 CXCL12 的淋巴结、肺、骨髓等的远处转移相对应<sup>[14]</sup>。CXCL12 能够以旁分泌方式作用于乳腺癌细胞, 激活 Akt 基因和蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 的表达, 上调 VEGF 的表达<sup>[15-16]</sup>。除此之外, CAFs 也能募集内皮祖细胞 (Endothelial progenitor cells, EPCs) 到达肿瘤部位, 促进肿瘤血管形成, 此过程也部分地受 CXCL12 调节。显然, 在浸润性乳腺癌中 CAFs 在很大程度上是依赖于 CXCL12/CXCR4 轴而促进肿瘤进展的<sup>[13]</sup>。值得注意的是既往认为 CXCL12 特异性受体是 CXCR4。但近期有研究显示, 在前列腺癌中 CXCR7 也能结合 CXCL12, 在肿瘤细胞的远处转移中发挥作用<sup>[17]</sup>, 但目前暂无乳腺癌中的相关研究。

鉴于 CXCL12/CXCR4 在乳腺癌转移过程中的重要地位, 研究人员设计并合成了针对 CXCR4 的人工 miRNA 前体。在离体实验中成功下调 MDA-MB-231 乳腺癌细胞中 CXCR4 的表达和功能, 随后在建立的动物模型中观察到转染 CXCR4-miRNA 的乳腺癌细胞与

对照组相比, 在裸鼠中较少发生肺部转移<sup>[18]</sup>。

## 3 间充质干细胞与 CCL5/CCR5 轴

研究表明, 骨髓来源的间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 可在进展期的肿瘤组织间质中大量聚集。通过皮下接种人乳腺癌细胞株 MCF-7 或 MDA-MB-231 建立小鼠移植瘤模型, 再经静脉注入用绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 标记的间充质干细胞至其循环系统中, 可见 MSCs 明显向乳腺癌组织中募集, 而在其他部位如双侧肾脏、肝和脾中均无显现。这一观察结果与其他一些实验不谋而合, 即经循环系统注入 MSCs, 观察其在植入其他恶性肿瘤组织 (神经胶质瘤、结肠癌、卵巢癌、卡波西肉瘤、黑色素瘤等) 的小鼠体内的募集, 情形也是如此<sup>[19]</sup>。体外实验显示, MDA-MB-231 能诱导微环境内 MSCs 过表达趋化因子 RANTES (CCL5), 该趋化因子随后以旁分泌的方式作用于乳腺癌细胞表面的受体 CCR5, 转导强化信号, 从而可逆地增强肿瘤细胞的运动、浸润和转移能力。通过 shRNA 下调 CCR5 表达后, MSCs 协助 MDA-MB-231 细胞株转移的能力也随之降低; 通过注入单克隆抗体对 CCL5 进行中和, 也能达到同样的效果<sup>[20]</sup>。由此可见, MSCs 是通过 CCL5 以旁分泌的方式作用于乳腺癌细胞而增强其转移能力的。

另一方面, 乳腺癌细胞自身也高表达 CCL5, 而正常乳腺组织细胞则很少表达 CCL5<sup>[21]</sup>。临床研究观察到乳腺癌患者血浆中的 CCL5 水平与疾病严重程度相关; 与导管原位癌或乳腺良性肿块相比, 浸润性乳腺癌病灶局部的 CCL5 蛋白表达明显升高<sup>[22-23]</sup>。但在 CCL5 过表达的乳腺癌细胞株, 其产生的 CCL5 对 TAMs 并无募集作用, 也不直接参与肿瘤细胞的上皮-间质转化过程, 对于肿瘤细胞增殖和抗肿瘤细胞凋亡均无明显影响。与此相对, 由微环境中 MSCs 大量分泌的 CCL5, 通过与乳腺癌细胞上的 CCR5 结合, 启动 Akt 磷酸化的信号转导途径, 介导肿瘤细胞的生长和从微血管向转移灶的渗出与移动, 从而可能加强肿瘤细胞在肺部定植的能力<sup>[20]</sup>。近期, 另一组研究<sup>[24]</sup>发现在 MSCs 和乳腺癌细胞间也存在 SDF-1 $\alpha$ -CXCR4 相互作用, 通过这个环路 MSCs 在乳腺癌细胞向骨髓早期转移过程中发挥作用。

## 4 微环境中其他细胞对肿瘤细胞的影响及与趋化因子的关系

尽管以往的研究揭示趋化因子及其受体的相互作用共同参与了肿瘤器官特异性的转移过程, 但肿瘤微环境中的各种间质细胞对转移的作用也是必不可少的, 且很多间质细胞是通过趋化因子及其受体在肿瘤

生长和转移过程中发挥作用。事实上,在远处器官尚未形成肿瘤转移灶前已经能够观察到器官局部微环境的改变,如早期持续的炎性反应、基质的重建、活性氧分子以及其他有活性的致癌分子的增加,表明局部器官的微环境对于肿瘤特异性的转移进行着有条不紊的准备工作<sup>[25]</sup>。实验发现一些骨髓来源的细胞,在肿瘤细胞出现在特定转移器官前率先到达。原发肿瘤可通过分泌某些可溶性介质(如 TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  或 VEGF-A)上调肺部内皮细胞对趋化性介质 S100A8 和 S100A9 的表达,借此招募 Mac1<sup>+</sup>(methyl acrylate<sup>+</sup>, 丙烯酸甲酯阳性)骨髓来源细胞至肺部转移前微环境中,为肿瘤细胞在该处定植做好准备。骨髓来源细胞进一步分泌 MMP-9 以及 S100A8/S100A9 等因子, S100A8 和 S100A9 通过 P38 调节肿瘤细胞形成伪足样结构,增强循环中肿瘤细胞的迁移能力<sup>[26-27]</sup>。造血前驱细胞(hemopoietic precursor cells, HPCs)以及相关基质细胞的共同作用使器官局部微环境发生改变,进而促发其他整联蛋白或趋化因子如 CXCL12 的表达,介导肿瘤细胞在该转移部位的黏附、适应和生长<sup>[25]</sup>。CCL21 通常在淋巴结中表达,能够有效地趋化表达 CCR7 的细胞,如树突状细胞。肿瘤浸润性树突状细胞(tumor-infiltrating dendritic cells, TIDCs)在 MHC I 类和 MHC II 类分子的存在下能够提呈肿瘤相关性抗原,进而激活杀伤性 T 细胞和 T 辅助细胞,发挥抗肿瘤作用。有研究显示,转染 CCL21 的 MCF-7 乳腺癌细胞株除了对 TIDCs 有趋化作用之外,还能强化 TIDCs 抗原提呈功能和 T 细胞激活功能,阻止 TIDCs 自身凋亡,这能部分解释 CCL21 的抗肿瘤作用<sup>[28]</sup>。另外肌上皮细胞、肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor-infiltration lymphocyte, TIL)以及其他白细胞各自以其相关分子机制在肿瘤微环境中也发挥着重要作用,但对这些细胞和趋化因子之间的关系所知甚少。

## 5 结 语

在肿瘤原发瘤部位及转移瘤周围或早或晚都会形成独特的肿瘤微环境,其中趋化因子在招募骨髓来源细胞来构建适宜微环境方面发挥着枢纽性的作用。在肿瘤的生长和转移过程中,既存的周围环境是不能满足肿瘤细胞不断的变化和生长需要的,因此需要其他来源的间质细胞和分子的辅助,如间充质干细胞、肿瘤相关性巨噬细胞、癌症相关性成纤维细胞等以及这些细胞分泌的重要趋化因子。这些间质细胞与肿瘤细胞之间通过趋化因子以旁分泌的方式作用于肿瘤细胞,参与肿瘤细胞基因型和表型的改变,促进肿瘤细胞的生长并减少其凋亡、诱导其浸润和转移。尤其重要的趋化因子-趋化因子生物学轴有 CXCL12/CXCR4、

CCL5/CCR5、CCL2/CCR2 以及 CCL21/CCR7 等。因此,未来肿瘤的生物治疗模式可以从两个方面来考虑:一是阻断处于关键地位的趋化因子-趋化因子受体之间的信号转导;二是阻断肿瘤转移前微环境中间质细胞的募集与活化。

## [参 考 文 献]

- [1] Bissell MJ, Radisky D. Putting tumours in context [J]. *Nat Rev Cancer*, 2001, 1(1): 46-54.
- [2] Balkwill F. Cancer and the chemokine network [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(7): 540-550.
- [3] Zhao T, Xia WH, Zheng MQ, *et al*. Surgical excision promotes tumor growth and metastasis by promoting expression of MMP-9 and VEGF in a breast cancer model [J]. *Exp Oncol*, 2008, 30(1): 60-64.
- [4] Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, *et al*. Macrophage infiltration and its prognostic implications in breast cancer: the relationship with VEGF expression and microvessel density [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(2): 425-431.
- [5] Bingle L, Lewis CE, Corke KP, *et al*. Macrophages promote angiogenesis in human breast tumour spheroids *in vivo* [J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(1): 101-107.
- [6] Bolat F, Kayaselcuk F, Nursal TZ, *et al*. Microvessel density, VEGF expression, and tumor-associated macrophages in breast tumors: correlations with prognostic parameters [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2006, 25(3): 365-372.
- [7] Leek RD, Harris AL. Tumor-associated macrophages in breast cancer [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2002, 7(2): 177-189.
- [8] Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, *et al*. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(20): 4625-4629.
- [9] Ribatti D, Nico B, Crivellato E, *et al*. Macrophages and tumor angiogenesis [J]. *Leukemia*, 2007, 21(10): 2085-2089.
- [10] Pahler JC, Tazzyman S, Erez N, *et al*. Plasticity in tumor-promoting inflammation: impairment of macrophage recruitment evokes a compensatory neutrophil response [J]. *Neoplasia*, 2008, 10(4): 329-340.
- [11] Baglioni CJ, Ray DM, Bernstein SH, *et al*. More than structural cells, fibroblasts create and orchestrate the tumor microenvironment [J]. *Immunol Invest*, 2006, 35(3-4): 297-325.
- [12] Hawsawi NM, Ghebeh H, Hendrayani SF, *et al*. Breast carcinoma-associated fibroblasts and their counterparts display neoplastic-specific changes [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2717-2725.
- [13] Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, *et al*. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion [J]. *Cell*, 2005, 121(3): 335-348.
- [14] Dewan MZ, Ahmed S, Iwasaki Y, *et al*. Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2006, 60(6): 273-276.