

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.001

· 专家论坛 ·

## 炎症——肿瘤恶性演进的推手

郭靓, 钱露<sup>△</sup>, 郭宁(军事医学科学院基础医学研究所病理生理学研究室, 北京 100850)



郭宁, 研究员、博士生导师, 军事医学科学院基础医学研究所病理生理学研究室主任, 北京市免疫学会常务理事、中国免疫学会肿瘤生物治疗专业委员会委员、军事医学科学院免疫学专业委员会主任委员, 《生物工程学报》、《中华微生物与免疫学杂志》、《中国实验血液学杂志》、《中国药理毒理学杂志》、《西安交通大学学报(医学版)》编委。1990年赴澳大利亚 Macfarland Burnet 医学研究中心进修分子病毒学, 1997-1999 年在美国 UCSD 分子遗传学中心作博士后研究。长期从事与乳腺癌相关的肿瘤分子生物学研究及分子靶向药物的应用基础研究, 主要研究成果以第一作者或通信作者身份于 *Nat Biotechnol*、*J Pathol*、*J Immunol*、*Oncogene*、*Cancer Metast Rev* 等杂志发表 SCI 收录论文 57 篇, 参编专著、译著 6 部, 获国家发明专利授权 5 项。E-mail: ningguo@nic.bmi.ac.cn

**[摘要]** 越来越多的证据表明, 炎性微环境在肿瘤的发生、发展中发挥着重要的促进作用, 炎性因子介导的信号通路参与了肿瘤细胞的恶性演进。细胞上皮-间质转型(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤恶性演进过程中的关键机制, 炎性细胞因子(白细胞介素、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 等)、EMT的关键转录因子[锌指E盒结合同源蛋白(zinc finger E-box-binding homeobox, ZEB)、Snail和Twist等]及某些miRNA(let-7、miR-200等)共同构成复杂的调控网络, 调控肿瘤细胞的表型转化、药物抗性的产生、肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)的增殖及自我更新。本文将重点讨论炎症及相关信号通路在肿瘤发生、发展以及CSC形成过程中的调控机制。

**[关键词]** 肿瘤; 炎症; 肿瘤干细胞; 细胞上皮-间质转型; STAT3; NF- $\kappa$ B

**[中图分类号]** R730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)03-0259-07

## Inflammation: A promoter in malignant progression of tumor

Guo Liang, Qian Lu<sup>△</sup>, Guo Ning (Department of Pathophysiology, Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

**[Abstract]** Increasing evidence indicated that tumor inflammatory microenvironment plays an important role in cancer initiation and development. The signaling pathways mediated by inflammatory cytokines participate in malignant transformation of tumor cells. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a critical mechanism underlying transformation of tumor cells. A network composed by inflammatory cytokines (interleukin, TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ ), key transcription factors of EMT, including zinc finger E-box-binding homeobox (ZEB), Snail and Twist, and some miRNAs (let-7 and miR-200) regulates malignant transformation of tumor, generation of drug resistance and the proliferation and the self-renewal of cancer stem cell (CSC). This article reviews the recent studies on the molecular mechanisms, by which inflammation and related signaling pathways regulate tumor initiation, development and CSC formation.

**[Key words]** tumor; inflammation; cancer stem cell; epithelial-mesenchymal transition (EMT); STAT3; NF- $\kappa$ B

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(3): 259-265]

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2010CB911904); 国家自然科学基金资助项目(No. 31271440, No. 81272232, No. 30972690)。Project supported by the National Key Basic Research Development Program (973 Program) of China (No. 2010CB911904), and the National Natural Science Foundation of China (No. 31271440, No. 81272232, No. 30972690)

**[作者简介]** 郭靓(1984-), 女, 河北省石家庄市人, 博士生, 主要从事肿瘤炎性微环境与肿瘤恶性转化分子机制方面的研究; E-mail: guoliang840820@163.com。钱露(1978-), 女, 江苏省常州市人, 副研究员, 主要从事肿瘤炎性微环境与肿瘤恶性转化分子机制方面的研究; E-mail: qianlubj@sohu.com。<sup>△</sup>并列第一作者

**[通信作者]** 郭宁(Guo Ning, corresponding author), E-mail: ningguo@nic.bmi.ac.cn

**[网络出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130605.0922.002.html>

炎症与肿瘤之间存在着密切的关系。早在1863年, Virchow等<sup>[1]</sup>首先注意到肿瘤组织中有大量的白细胞浸润现象, 并提出炎症与肿瘤发生、发展相关的假设。近年来, 通过大量的流行病学、遗传学和分子生物学研究, 已获得了有力的证据证实炎症与肿瘤之间存在病原/病因学关系。炎症细胞的长期浸润犹如肿瘤微环境中炎症介质的微型加工厂, 源源不断地产生活性氧、活性氮等物质, 诱导正常上皮细胞发生恶性转化。同时, 炎症细胞又通过分泌多种不同的生长因子、炎性因子, 不仅可促进肿瘤细胞生长, 并使肿瘤成为“永不愈合的创伤”; 炎症细胞和(或)肿瘤细胞分泌的某些炎症介质还可诱导细胞上皮-间质转型(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 增强肿瘤细胞的侵袭、迁移能力。因此, 肿瘤炎性微环境的维持在启动及促进肿瘤恶性演进的过程中发挥十分关键的作用。

## 1 EMT: 影响肿瘤恶性演进的关键机制

EMT是指具有极性的上皮细胞在某种因素的刺激下, 失去上皮细胞的特性, 转化成为具有间质表型细胞的过程。EMT在胚胎及器官发育过程中发挥重要作用, 而这一机制亦常常活跃于肿瘤的侵袭前缘, 参与调控肿瘤的侵袭及转移, 是肿瘤恶性转化过程中的关键环节。在肿瘤微环境中, 炎症细胞与肿瘤细胞相互作用, 释放大量的炎性因子, 直接诱导肿瘤细胞的表型及生物学行为改变。近几年来, 炎性细胞因子对EMT的诱导作用已成为肿瘤研究领域的热点。

在EMT转化过程中, 上皮细胞的形态发生明显的改变, 由相互紧密接触的鹅卵石样形态转变为缺乏细胞间联系的梭形或多突起的间质样细胞的形态, 伴有上皮钙黏蛋白(epithelial cadherin, E-cadherin)、紧密连接蛋白-1(zona occludens-1, ZO-1)等上皮细胞的标志性分子表达减弱或丧失, 而神经钙黏蛋白(neural cadherin, N-cadherin)、波形蛋白、纤维连接蛋白等表达则明显增强, 同时细胞获得了较强的迁移和侵袭能力。炎性细胞因子是EMT的强力诱导分子, 炎性细胞因子的刺激可能唤醒“沉睡的”EMT程序。在肿瘤微环境中, 炎性细胞因子如TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、白细胞介素、趋化因子12[chemokine (C-C motif) ligand 12, CCL12]等可通过各自独特的或共同的信号通路, 活化调控EMT的关键转录因子, 如锌指E盒结合同源盒蛋白1(zinc finger E-box-binding homeobox, ZEB1)、ZEB2、锌指蛋白Snail/Slug、螺旋环螺旋转录因子Twist等, 从而启动EMT程序。转录因子ZEB

和Snail是E-cadherin表达的抑制分子, 而Twist则可下调E-cadherin表达, 并诱导N-cadherin表达, 从而使上皮细胞丧失极性, 细胞的运动能力增强, 促进肿瘤细胞的迁移及侵袭<sup>[2]</sup>。

TNF- $\alpha$ 是重要的炎性细胞因子, 局部高浓度的TNF- $\alpha$ 具有抗肿瘤活性, 但是, TNF- $\alpha$ 慢性刺激则可促进肿瘤细胞的生长及转移。研究<sup>[3]</sup>发现, TNF- $\alpha$ 基因缺失型小鼠能抵抗皮肤癌的发生; TNF- $\alpha$ 刺激可通过活化胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号通路, 诱导肠癌细胞中基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase, MMP-9)表达, 促进肿瘤的肝、肺转移<sup>[4]</sup>。临床资料<sup>[5]</sup>显示, 血清中高水平的TNF- $\alpha$ 可作为鼻咽癌患者骨转移、术后远端转移以及5年生存率降低的预测指标。以卵巢癌为模型的研究<sup>[6]</sup>揭示, TNF- $\alpha$ 自分泌可刺激由细胞因子、促血管生成因子及趋化因子组成的“自分泌细胞因子网络”或“TNF网络”活化, 从而诱导血管形成、髓系细胞浸润及Notch信号通路激活。研究<sup>[7]</sup>揭示, NF- $\kappa$ B/Snail调节环路在诱导EMT及促进肿瘤侵袭、转移中发挥重要的作用。TNF- $\alpha$ 通过活化NF- $\kappa$ B诱导COP9信号复合体2(COP9 signalosome 2, CSN2)表达, 抑制Snail泛素化降解, 从而诱导EMT的发生<sup>[7]</sup>。此外, 以正常乳腺上皮细胞MCF-10A为细胞模型的研究<sup>[8]</sup>证实, P65可直接结合于ZEB1的启动子, 激活其转录, 导致E-cadherin表达下调及细胞间质样改变。NF- $\kappa$ B亦能调控Twist转录激活, 诱导正常乳腺上皮细胞发生EMT, 并增强乳腺细胞的侵袭及转移能力<sup>[8]</sup>。

TGF- $\beta$ 在肿瘤侵袭、转移中的作用已得到大量研究的证实。研究<sup>[9]</sup>结果显示, TGF- $\beta$ 可直接诱导血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)表达或通过上调MMP-2和MMP-9表达, 促进肿瘤血管生成、肿瘤侵袭及远端转移<sup>[10]</sup>。临床资料<sup>[11-14]</sup>显示, 结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌及胃癌患者血清中TGF- $\beta$ 高表达与肿瘤转移密切相关。TGF- $\beta$ 主要通过激活胞内蛋白Smad诱导高迁移率族蛋白A2(high mobility group A2, HMGA2)、Snail及ZEB表达, 从而开启EMT程序<sup>[15-17]</sup>。研究<sup>[17]</sup>显示, 在侵袭性乳腺癌中存在着活跃的TGF- $\beta$ /miR-200/ZEB环路, 调控乳腺细胞上皮及间质表型的互换。持续性的TGF- $\beta$ 自分泌可诱导miR-200基因的甲基化, 导致miR-200表达下调及ZEB表达上调, 诱导EMT的发生; 而TGF- $\beta$ 信号又受ZEB/miR-200负反馈环路的调控, 过表达miR-200及敲低ZEB1均可导致TGF- $\beta$ 水平下调,

抑制其诱导的 EMT。另一项研究<sup>[18]</sup>证实,在小鼠正常乳腺细胞 NMUMG 中,TGF- $\beta$  可通过诱导其靶基因 miR-99a 及 miR99-b 表达上调而促进 Smad3 磷酸化,抑制 E-cadherin 和 ZO-1 表达,增强 NMUMG 细胞的迁移、黏附及增殖活性,但其分子机制尚不清楚。TGF- $\beta$  亦可通过 ZEB1 诱导上皮细胞剪切调控蛋白(epithelial splicing regulatory protein, ESRP)表达,调控 CD44 的选择性剪切,导致乳腺癌细胞中上皮型的 CD44v 分子转变为间质型的 CD44s 分子,从而诱导 EMT 的发生<sup>[19-20]</sup>。

白细胞介素是另一类存在于肿瘤微环境中的重要炎性细胞因子。在乳腺癌 MCF-7 细胞中稳定表达 IL-6,可通过激活信号转导与激活转录因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3),诱导 Twist 表达上调,导致 EMT 的发生<sup>[21]</sup>。另一项研究<sup>[22]</sup>显示,非受体型酪氨酸激酶家族癌基因 Src 通过激活 NF- $\kappa$ B 诱导正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 发生转化,而 IL-6 在此过程中发挥重要的调控作用。在过表达转录因子 Brachyury 的细胞中,IL-8 通过激活 Brachyury 促进细胞间质表型的形成及维持,并使细胞获得侵袭能力<sup>[23]</sup>。最近研究<sup>[24]</sup>发现,IL-6 家族另一成员抑瘤素(oncostatin M, OSM)以 STAT3 依赖的方式抑制 miR-200 和 miRNA let-7 家族成员表达,导致其调控的转录因子及癌基因表达变化,诱导乳腺癌细胞间质表型形成、侵袭能力增强及乳腺癌移植瘤自发性肺转移。在 OSM 诱导下,活化的 STAT3 与 RNA 结合蛋白 Lin-28B 基因的启动子区结合,激活其转录,从而抑制 let-7 成熟,导致 let-7 靶基因 HMG2 表达上调。此外,OSM 刺激可导致 miR-200 表达持续性下调以及 EMT 的重要调控分子表达上调。研究<sup>[24]</sup>结果提示,let-7 和 miR-200 表达下调后分别起始并维持 OSM 诱导的 EMT 表型转换,HMG2 在 EMT 过程中可能发挥开关的作用,而 STAT3 通过调控 Lin-28B/let-7/HMG2 和 miR-200/ZEB1 两条关键的通路,从而调节炎性细胞因子诱导的 EMT 过程。

上述研究结果均表明,肿瘤组织中的炎性因子通过不同的信号通路触发 EMT 调控网络,改变肿瘤细胞的表型及生物学行为,从而在肿瘤侵袭、转移中起推波助澜的作用。揭示肿瘤恶性演进过程中的 EMT 调控网络的核心炎性因子及相关信号通路中的关键分子,将为临床肿瘤患者病情预测、预后判断及肿瘤分子靶向药物的研发提供线索。

## 2 STAT3 和 NF- $\kappa$ B:炎-癌链中的关键分子

NF- $\kappa$ B 和 STAT3 在炎症与肿瘤中的重要地位

已得到大量研究的证实,两者可能是调控肿瘤细胞与炎性细胞交互作用的核心分子,而且还可能存在协同作用。大多数肿瘤的高危因素同时也是慢性炎症的诱因(如肥胖、吸烟、嗜酒、感染、辐射及环境污染等),炎症信号通路激活可导致 NF- $\kappa$ B 与 STAT3 的活化,而在多种肿瘤(如肝细胞癌、神经胶质瘤、胃癌、骨髓瘤、结肠癌等)组织中 NF- $\kappa$ B 和 STAT3 组成性共激活亦很常见。NF- $\kappa$ B 和 STAT3 是多条信号通路的枢纽分子,调控一系列细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ )的表达,从而维持炎性微环境,炎性细胞因子又可进一步诱导 NF- $\kappa$ B 和 STAT3 持续性活化。

作为关键的转录调控因子,NF- $\kappa$ B 和 STAT3 通过调控其靶基因的表达而发挥作用,而众多靶基因的表达又可正反馈增强 NF- $\kappa$ B 和 STAT3 的活化,进一步放大其在肿瘤发生、发展中的作用,形成炎症-癌症正反馈的恶性循环。NF- $\kappa$ B 与 STAT3 作用的靶基因广泛且相互重叠,其功能涉及炎症(TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6)、细胞周期(cyclin D/B、c-Myc)、免疫抑制(IL-6、IL-10)、抗凋亡(Bcl-xl、Bcl-2、cIAP1/2、cFLIP)、EMT(E-cadherin、Twist、Snail)、血管生成(VEGF、bFGF、CXCL1、CXCL8、HIF1 $\alpha$ )、肿瘤转移及侵袭(MMP-2、MMP-9、COX-2)等,这些靶基因的广泛活化决定了肿瘤的恶性进展。

在与炎症密切相关的肿瘤发生过程中,NF- $\kappa$ B 与 STAT3 的活动往往紧密协同,并相互调控。在二乙基亚硝酸胺(diethylnitrosamine, DEN)诱导的小鼠肝细胞癌模型中,NF- $\kappa$ B 的活化能诱导肝 Kupffer 细胞分泌一系列细胞因子(特别是 IL-6),导致 STAT3 活化,加速肝细胞癌的发生<sup>[25]</sup>。在结肠癌及肝癌细胞中,活化的 NF- $\kappa$ B 亦通过 IL-6 激活 STAT3<sup>[26-27]</sup>。另一方面,活化的 STAT3 能与细胞核中的 RelA/p65 结合,同时招募乙酰转移酶 p300,诱导 p65 乙酰化、入核及持续激活<sup>[28]</sup>。利用与小鼠结肠炎相关的肠癌模型的体内实验<sup>[26,29-30]</sup>证实,敲低肠上皮细胞中的 NF- $\kappa$ B 或 STAT3,能明显抑制肿瘤的生长,并可增强肿瘤对药物的敏感性。

迄今为止,与炎症和肿瘤相关的研究大多集中于以 NF- $\kappa$ B 和 STAT3 为核心的调控网络。然而,炎症究竟如何诱导并维持细胞的恶性转化? 新近研究<sup>[22,31]</sup>发现,它莫西芬(4-hydroxy tamoxifen, 4OH-TAM)刺激 MCF-10A 细胞诱导原癌基因 Src 瞬时激活,可通过 NF- $\kappa$ B/let-7/IL-6/NF- $\kappa$ B 通路控制 EMT 程序的开启,并通过 IL-6 诱导的 STAT3 活化,上调 miR-21 和 miR-181b-1 表达,抑制同源性磷酸酶张力

蛋白(phosphatase and tensin homolog, *PTEN*)/*AKT*及去泛素化酶圆柱瘤基因(cylindromatosis, *CYLD*)的表达,持续增强 *NF-κB* 的活性,从而维持转化表型<sup>[22,31]</sup>。另一项研究<sup>[32]</sup>结果证明,瞬时激活 *MEK/ERK*(extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase)及 *IKK/NF-κB* 信号通路,可触发单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein-1, *MCP-1*)诱导的乳腺上皮细胞转化,而恶性表型的维持则依赖组成性激活的 *miR-200c/p65/JNK2*(c-Jun N-terminal kinase-2)/热激因子蛋白1(heat shock factor protein-1, *HSF-1*)/*IL-6* 正反馈调控环路。作者将此过程形象地比喻为“汽车点火(car-ignition)”,即炎症细胞因子触发的信号通路好比汽车的电池,一旦“汽车”(即细胞恶性转化程序)被点火发动,便不再需要电池的工作,而肿瘤恶性表型的维持主要依赖炎症细胞因子/*miRNA*/*EMT* 转录调控分子环路的持续激活(图1)。这一概念进一步丰富了炎症诱导肿瘤发生的“多次打击”(multiple hit)理论,亦与最新的研究<sup>[24]</sup>结果相吻合:在 *OSM* 诱导下,激活的 *STAT3* 启动 *Lin-28B/let-7/HMGA2* 通路, *HMGA2* 的瞬时表达开启了 *EMT* 的开关,而 *miR-200/ZEB1* 通路则维持细胞的间质表型。

新药研发、疾病治疗谱的拓宽及个体化治疗策略的建立是十分必要的。

### 3 肿瘤炎症微环境“孕育”肿瘤干细胞

肿瘤干细胞(cancer stem cell, *CSC*)是存在于肿瘤中的一群数量极少(0.5%~3%)但具有高度致瘤性的细胞群体,它们表达某些特殊的干细胞表面标志物,具有干细胞无限增殖及自我更新的生物学特性。这类特殊的肿瘤细胞决定着肿瘤的发生、增殖及转移,且常对传统的放、化疗不敏感。研究<sup>[33-38]</sup>证实,血液系统及实体器官来源的肿瘤包括乳腺癌、脑癌、前列腺癌、结肠癌、胰腺癌等均存在 *CSC* 或肿瘤干细胞样细胞。

*CSC* 受自身及微环境中多条信号通路(*MAPK/ERK*、*PI3K/AKT*、*JAK/STAT*、*NF-κB*、*Notch*、*Wnt* 及 *TGF-β* 等)的调控。肿瘤微环境中炎症细胞因子(如 *IL-1*、*IL-6*、*IL-8*、*IL-17* 等)的交互作用,可导致与炎症相关的信号通路激活(如 *STAT3/NF-κB*)<sup>[39]</sup>,并进一步刺激炎症细胞因子的产生,从而触发 *CSC* 自我更新的正反馈环路。值得注意的是,调控 *CSC* 自我更新与慢性炎症及伤口愈合过程中活化的信号通路相似,提示炎症相关的信号通路参与炎-癌链的形成。

多项研究<sup>[40-44]</sup>结果均提示, *IL-6/STAT3* 及 *NF-κB* 可独立或协同调控 *CSC* 的形成。用浸润性乳腺癌转移灶和原发癌组织来源的肿瘤细胞进行微球体(mammosphere)悬浮培养,发现转移灶的肿瘤细胞产生的微球体可表达更高水平的 *IL-6*<sup>[40]</sup>。对乳腺癌临床组织标本的研究<sup>[40]</sup>表明,在具有干细胞特性的乳腺癌基底细胞样亚型(basal-like breast carcinoma)的肿瘤组织中可检测到 *IL-6* mRNA 的高表达;用 *IL-6* 处理乳腺癌细胞,可促进 *MCF-7* 细胞微球体形成并诱导低氧抗性的侵袭表型,揭示了 *IL-6* 在诱导乳腺癌干/祖细胞恶性表型中的作用。另一项研究<sup>[41]</sup>发现, *IL-6* 可诱导乳腺癌及前列腺癌细胞系中的非干细胞群体转化为 *CSC*,并可维持 *CSC* 与非干细胞群体之间的平衡,以及通过激活 *STAT3* 直接调控乳腺癌 *CSC* 的自我更新。在过表达人表皮细胞生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, *HER2*)的乳腺癌细胞中敲低 *PTEN*,可通过激活 *IL-6* 炎症调控环路,导致 *CSC* 扩增。值得注意的是,用乳腺癌分子靶向药物曲妥珠单抗(trastuzumab,商品名赫赛汀)处理细胞,则可高度富集 *CSC*;这些 *CSC* 分泌 *IL-6* 的水平比亲本细胞提高100倍以上,而此效应可被 *IL-6* 受体的特异性抗体阻断,提示 *IL-6* 炎症环路可维持 *CSC* 的自我

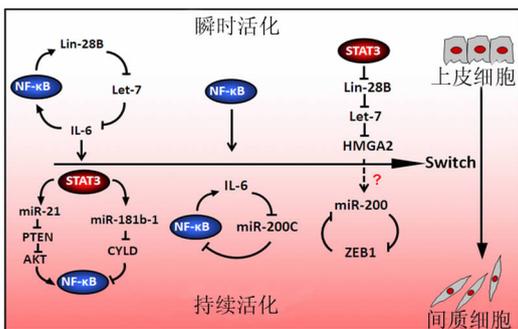


图1 炎症促进肿瘤细胞恶性转化的“汽车点火(car-ignition)”理论示意图

炎症细胞因子瞬时激活相关信号通路后,导致细胞恶性转化程序的开启,此后肿瘤细胞主要依赖炎症细胞因子/*miRNA*/*EMT* 转录调控因子正反馈环路维持转化的表型<sup>[22,24,31-32]</sup>

鉴于 *NF-κB* 和 *STAT3* 在多种肿瘤发生、发展中的重要作用,已有多家研究机构及制药业开发了以 *STAT3* 和 *NF-κB* 为靶点的抑制剂,然而其效果并不肯定甚至不满意。根据表观调控开关机制,在不同类型肿瘤发展的不同阶段,参与调控的启动分子及信号通路可能是极为复杂而独特的。彻底揭示肿瘤恶性演进中复杂的调控网络、机制及规律,对于未来

更新,介导乳腺癌细胞对曲妥珠单抗的抗性<sup>[42]</sup>。最近的研究<sup>[43]</sup>揭示,*IL-6/STAT3* 信号通路可协同 *NF-κB* 依赖的炎症信号,进一步诱导包括 *IL-6* 在内的一系列细胞因子的表达,从而以正反馈调控的方式促进 CSC 的形成。可诱导性敲低 *NF-κB* 的小鼠模型的研究<sup>[44]</sup>亦证实,*NF-κB* 在 *HER2* 高表达乳腺癌的发生、招募肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)及 CSC 增殖等过程中均发挥决定性的作用。抑制 *NF-κB* 通路可在体内、外抑制乳腺癌干细胞标志物(Nanog 和 Sox2)的表达,抑制肿瘤细胞在动物体内的生长,提示 *NF-κB* 信号通路参与乳腺癌干细胞的扩增。

TAM 分泌的生长因子及炎症细胞因子 MFG-E8 和 *IL-6* 等,通过激活多条信号通路,调控 CSC 的成瘤能力、侵袭能力和药物抗性<sup>[43]</sup>。CSC 产生的透明质酸则能诱导 TAM 分泌大量的 PDGF-BB,进而促进 CSC 的增殖和自我更新。TAM 与 CSC 相互作用可导致肿瘤转移、药物抗性及其复发(图 2)<sup>[45-46]</sup>。

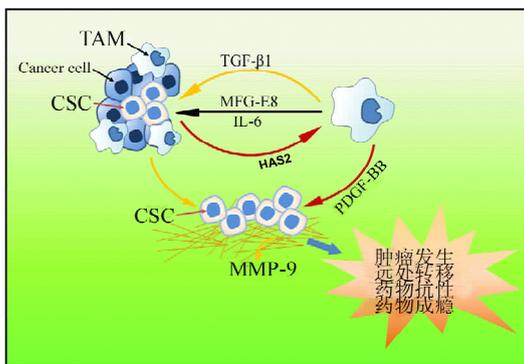


图 2 TAM 与 CSC 相互作用示意图

研究<sup>[43-45]</sup>提示,TAM 可能是 CSC 形成的重要介导者。对人恶性胶质瘤组织切片的观察发现,肿瘤侵袭前缘浸润的 *CD68<sup>+</sup>* 或 *CD11b<sup>+</sup>* 巨噬细胞的数量与 *CD133<sup>+</sup>* 胶质瘤干细胞样细胞(glioma stem-like cell, GSLC)的数量具有极强的相关性,这一现象在小鼠胶质瘤模型中亦得到了证实<sup>[45]</sup>。TAM 常产生高水平的 *TGF-β1*,将移植瘤组织中分离的 GSLC 与 TAM 共培养或用 *TGF-β1* 处理 GSLC 后,可显著增强 GSLC 的侵袭能力;而用 *TGF-β* 受体(*TGFBR2*)特异性的短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)敲低 *TGFBR2*,则可抑制 GSLC 的侵袭能力。同时,TAM 分泌的 *TGF-β1* 作用于 GSLC 可促使其分泌高水平的 *MMP-9*。有趣的是, *CD133<sup>+</sup>* GSLC 表面 *TGFBR2* 的表达明显高于 *CD133<sup>-</sup>* 细胞,提示 GSLC 可能对炎症因子的刺激更敏感<sup>[45]</sup>。

具有高转移潜能的 *CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/ESA<sup>+</sup>* 乳腺癌 CSC 常高表达透明质酸合成酶 2(hyaluronic acid synthetase, HAS2),不同乳腺癌细胞系来源的 *CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/ESA<sup>+</sup>* CSC 中,HAS2 表达均显著上调<sup>[46]</sup>。CSC 细胞表面透明质酸的表达亦明显增高,而 TAM 表达透明质酸受体 *CD44*,提示透明质酸可能是 CSC 与 TAM 发生相互作用的重要分子基础。体外共培养 TAM 和 CSC,可诱导 TAM 分泌高水平的小血小板衍生生长因子-BB(platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB),后者则可刺激基质细胞分泌成纤维细胞生长因子-7(fibroblast growth factor-7, FGF7)和 FGF9,两者又可促进 CSC 的增殖和自我更新能力。在小鼠胫骨内共注射 TAM 和 CSC 可明显促进肿瘤的生长,提示 TAM 为 CSC 在骨组织内的生长提供了适宜的小环境(niche)。阻断 HAS2 抑制透明质酸合成可在模型动物中抑制乳腺癌 CSC 骨转移<sup>[46]</sup>。此外,TAM 可分泌大量的乳脂球-上皮细胞生长因子-8(milk-fat globule-epidermal growth factor-VIII, MFG-E8)和 *IL-6*,导致 *STAT3* 及音猬因子(sonic hedgehog)信号通路激活,诱导 CSC 形成,增强 CSC 的成瘤能力和化疗抗性<sup>[43]</sup>。

最近的研究<sup>[47-48]</sup>发现,miRNA 可调控 CSC 的自我更新。对乳腺癌细胞 miRNA 表达谱分析结果表明,在具有自我更新能力的肿瘤起始细胞(tumor initiating cell)中,*let-7* 的表达水平明显降低<sup>[47]</sup>;外源过表达 *let-7* 则可抑制乳腺癌肿瘤起始细胞的增殖和微球体形成,并可在动物体内抑制肿瘤起始细胞的成瘤能力及转移;而 *let-7* 的抑制剂可在体外增强非肿瘤起始细胞的自我更新潜能。另一项研究<sup>[48]</sup>发现,在乳腺癌干细胞中,miR-200c-141 及 miR-200b-200a-429 表达下调。体外实验证实,miR-200c 可抑制乳腺癌细胞的克隆扩增。这些研究提示,*let-7* 和 miR-200 家族除参与肿瘤 EMT 调控外,还可能在 CSC 形成中发挥重要的调控功能。

炎症细胞因子及其诱导的炎症信号通路在肿瘤干细胞中作用的研究是肿瘤研究领域的新热点,目前发表的研究报道尚少。深入阐明炎症信号通路对肿瘤干细胞表型形成及生物学行为的调控,有助于丰富人们对肿瘤干细胞自我更新及分化调控的了解,对于未来靶向肿瘤干细胞治疗策略的开拓具有重要的意义。

#### 4 展 望

越来越多的证据表明,炎症已成为危害人类健康的秘密杀手。肿瘤炎症微环境的维持对于肿瘤的恶

性演进具有重要的促进作用,而炎症因子及其介导的信号通路则构成了控制肿瘤演进的复杂分子网络,调控肿瘤细胞 EMT 表型转换、肿瘤干细胞形成及自我更新,成为肿瘤转移、复发及耐药的重要推手。

目前,针对 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MFG-E8、STAT3、NF- $\kappa$ B 等的分子靶向药物已在动物模型研究中获得了成功,一些药物已进入临床试验阶段或临床应用<sup>[49-51]</sup>。例如,抗 IL-6 的中和抗体已应用于淋巴瘤等肿瘤的治疗<sup>[49]</sup>,NF- $\kappa$ B 抑制剂银胶菊内酯(parthenolide)亦将用于白血病及骨髓瘤的临床试验<sup>[50-51]</sup>。另一方面,靶向肿瘤干细胞治疗策略的探索正在成为肿瘤治疗研究的重要方向。但是,肿瘤微环境中炎症信号通路调控机制的复杂性远远超过了想象,进一步深入剖析肿瘤炎症微环境,才能逐步深化对肿瘤发生、发展机制的认识,并为未来肿瘤的预防、肿瘤早期诊断标志物的鉴定以及新型药物设计靶点的发现提供新的契机,亦可能为肿瘤个体化治疗方案的建立提供理论依据。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to virchow? [ J ]. *Lancet*, 2001, 357( 9255 ): 539-545.
- [ 2 ] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *J Clin Invest*, 2009, 119( 6 ): 1420-1428.
- [ 3 ] Moore RJ, Owens DM, Stamp G, et al. Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis [ J ]. *Nat Med*, 1999, 5( 7 ): 828-831.
- [ 4 ] Choo MK, Sakurai H, Koizumi K, et al. Stimulation of cultured colon 26 cells with TNF-alpha promotes lung metastasis through the extracellular signal-regulated kinase pathway [ J ]. *Cancer Lett*, 2005, 230( 1 ): 47-56.
- [ 5 ] Lu X, Qian CN, Mu YG, et al. Serum CCL2 and serum TNF-alpha—two new biomarkers predict bone invasion, post-treatment distant metastasis and poor overall survival in nasopharyngeal carcinoma [ J ]. *Eur J Cancer*, 2011, 47( 3 ): 339-346.
- [ 6 ] Kulbe H, Chakravarty P, Leinster DA, et al. A dynamic inflammatory cytokine network in the human ovarian cancer micro-environment [ J ]. *Cancer Res*, 2012, 72( 1 ): 66-75.
- [ 7 ] Wu Y, Deng J, Rychahou PG, et al. Stabilization of Snail by NF-kappaB is required for inflammation-induced cell migration and invasion [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 5 ): 416-428.
- [ 8 ] Chua HL, Bhat-Nakshatri P, Clare SE, et al. NF-kappaB represses E-cadherin expression and enhances epithelial to mesenchymal transition of mammary epithelial cells: Potential involvement of ZEB-1 and ZEB-2 [ J ]. *Oncogene*, 2007, 26( 5 ): 711-724.
- [ 9 ] Jeon SH, Chae BC, Kim HA, et al. Mechanisms underlying TGF-beta1-induced expression of VEGF and Flk-1 in mouse macrophages and their implications for angiogenesis [ J ]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81( 2 ): 557-566.
- [ 10 ] Kim ES, Kim MS, Moon A. TGF-beta-induced upregulation of MMP-2 and MMP-9 depends on p38 MAPK, but not ERK signaling in MCF10A human breast epithelial cells [ J ]. *Int J Oncol*, 2004, 25( 5 ): 1375-1382.
- [ 11 ] Tsushima H, Ito N, Tamura S, et al. Circulating transforming growth factor beta 1 as a predictor of liver metastasis after resection in colorectal cancer [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7( 5 ): 1258-1262.
- [ 12 ] Sheen-Chen SM, Chen HS, Sheen CW, et al. Serum levels of transforming growth factor beta1 in patients with breast cancer [ J ]. *Arch Surg*, 2001, 136( 8 ): 937-940.
- [ 13 ] Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, et al. Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in patients with metastatic prostatic carcinoma [ J ]. *J Urol*, 1999, 161( 1 ): 182-187.
- [ 14 ] Saito H, Tsujitani S, Oka S, et al. An elevated serum level of transforming growth factor-beta 1 ( TGF-beta 1 ) significantly correlated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric carcinoma [ J ]. *Anticancer Res*, 2000, 20( 6B ): 4489-4493.
- [ 15 ] Thuault S, Valcourt U, Petersen M, et al. Transforming growth factor-beta employs HMGA2 to elicit epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *J Cell Biol*, 2006, 174( 2 ): 175-183.
- [ 16 ] Thuault S, Tan EJ, Peinado H, et al. HMGA2 and Smads co-regulate SNAIL1 expression during induction of epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *J Biol Chem*, 2008, 283( 48 ): 33437-33446.
- [ 17 ] Gregory PA, Bracken CP, Smith E, et al. An autocrine TGF-beta/ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22( 10 ): 1686-1698.
- [ 18 ] Turcotel G, Rubin N, El-Hashash A, et al. MIR-99a and MIR-99b modulate TGF-beta induced epithelial to mesenchymal plasticity in normal murine mammary gland cells [ J ]. *PLoS One*, 2012, 7( 1 ): e31032-e31045.
- [ 19 ] Horiguchi K, Sakamoto K, Koinuma D, et al. TGF-beta drives epithelial-mesenchymal transition through deltaEF1-mediated downregulation of ESRP [ J ]. *Oncogene*, 2012, 31( 26 ): 3190-3201.
- [ 20 ] Brown RL, Reinke LM, Damerow MS, et al. CD44 splice isoform switching in human and mouse epithelium is essential for epithelial-mesenchymal transition and breast cancer progression [ J ]. *J Clin Invest*, 2011, 121( 3 ): 1064-1074.
- [ 21 ] Sullivan NJ, Sasser AK, Axel AE, et al. Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells [ J ]. *Oncogene*, 2009, 28( 33 ): 2940-2947.
- [ 22 ] Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF-kappaB, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL-6 links inflammation to cell transformation [ J ]. *Cell*, 2009, 139( 4 ): 693-706.
- [ 23 ] Fernando RI, Castillo MD, Litzinger M, et al. IL-8 signaling plays a critical role in the epithelial-mesenchymal transition of human carcinoma cells [ J ]. *Cancer Res*, 2011, 71( 15 ): 5296-

- 5306.
- [ 24 ] Guo L, Chen C, Shi M, et al. Stat3-coordinated Lin-28-let-7-HMGA2 and miR-200-ZEB1 circuits initiate and maintain oncogenic M-driven epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *Oncogene*, 2013 [ Epub ahead of print ].
- [ 25 ] Maeda S, Kamata H, Luo JL, et al. IKKbeta couples hepatocyte death to cytokine-driven compensatory proliferation that promotes chemical hepatocarcinogenesis [ J ]. *Cell*, 2005, 121( 7 ): 977-990.
- [ 26 ] Grivennikov S, Karin E, Terzic J, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 2 ): 103-113.
- [ 27 ] He G, Karin M. NF-kappaB and STAT3 – key players in liver inflammation and cancer [ J ]. *Cell Res*, 2011, 21( 1 ): 159-168.
- [ 28 ] Lee H, Herrmann A, Deng JH, et al. Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 4 ): 283-293.
- [ 29 ] Bollrath J, Pesse TJ, von Burstin VA, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 2 ): 91-102.
- [ 30 ] Greten FR, Eckmann L, Greten TF, et al. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer [ J ]. *Cell*, 2004, 118( 3 ): 285-296.
- [ 31 ] Iliopoulos D, Jaeger SA, Hirsch HA, et al. STAT3 activation of miR-21 and miR-181b-1 via PTEN and CYLD are part of the epigenetic switch linking inflammation to cancer [ J ]. *Mol Cell*, 2010, 39( 4 ): 493-506.
- [ 32 ] Rokavec M, Wu W, Luo JL. IL-6-mediated suppression of miR-200c directs constitutive activation of inflammatory signaling circuit driving transformation and tumorigenesis [ J ]. *Mol Cell*, 2012, 45( 6 ): 777-789.
- [ 33 ] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [ J ]. *Nature*, 1994, 367( 6464 ): 645-648.
- [ 34 ] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100( 7 ): 3983-3988.
- [ 35 ] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [ J ]. *Nature*, 2004, 432( 7015 ): 396-401.
- [ 36 ] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice [ J ]. *Nature*, 2007, 445( 7123 ): 106-110.
- [ 37 ] Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, et al. Highly purified CD44<sup>+</sup> prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells [ J ]. *Oncogene*, 2006, 25( 12 ): 1696-1708.
- [ 38 ] Li C, Heidt DG, Dalerba P, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 3 ): 1030-1037.
- [ 39 ] Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Regulation of cancer stem cells by cytokine networks: Attacking cancer's inflammatory roots [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17( 19 ): 6125-6129.
- [ 40 ] Sansone P, Storci G, Tavolari S, et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland [ J ]. *J Clin Invest*, 2007, 117( 12 ): 3988-4002.
- [ 41 ] Iliopoulos D, Hirsch HA, Wang G, et al. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL-6 secretion [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108( 4 ): 1397-1402.
- [ 42 ] Korkaya H, Kim GI, Davis A, et al. Activation of an IL-6 inflammatory loop mediates trastuzumab resistance in HER2<sup>+</sup> breast cancer by expanding the cancer stem cell population [ J ]. *Mol Cell*, 2012, 47( 4 ): 570-584.
- [ 43 ] Jinushi M, Chiba S, Yoshiyama H, et al. Tumor-associated macrophages regulate tumorigenicity and anticancer drug responses of cancer stem/initiating cells [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108( 30 ): 12425-12430.
- [ 44 ] Liu M, Sakamaki T, Casimiro MC, et al. The canonical NF-kappaB pathway governs mammary tumorigenesis in transgenic mice and tumor stem cell expansion [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70( 24 ): 10464-10473.
- [ 45 ] Ye XZ, Xu SL, Xin YH, et al. Tumor-associated microglia/macrophages enhance the invasion of glioma stem-like cells via TGF-beta1 signaling pathway [ J ]. *J Immunol*, 2012, 189( 1 ): 444-453.
- [ 46 ] Okuda H, Kobayashi A, Xia B, et al. Hyaluronan synthase HAS2 promotes tumor progression in bone by stimulating the interaction of breast cancer stem-like cells with macrophages and stromal cells [ J ]. *Cancer Res*, 2012, 72( 2 ): 537-547.
- [ 47 ] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells [ J ]. *Cell*, 2007, 131( 6 ): 1109-1123.
- [ 48 ] Shimono Y, Zabala M, Cho RW, et al. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells [ J ]. *Cell*, 2009, 138( 3 ): 592-603.
- [ 49 ] Trikha M, Corringham R, Klein B, et al. Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: A review of the rationale and clinical evidence [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9( 13 ): 4653-4665.
- [ 50 ] Gunn EJ, Williams JT, Huynh DT, et al. The natural products parthenolide and andrographolide exhibit anti-cancer stem cell activity in multiple myeloma [ J ]. *Leuk Lymphoma*, 2011, 52( 6 ): 1085-1097.
- [ 51 ] Guzman ML, Rossi RM, Karnischky L, et al. The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells [ J ]. *Blood*, 2005, 105( 11 ): 4163-4169.