

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.017

· 综述 ·

富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白与巨噬细胞相互作用对肿瘤进展的影响

Effects of interactions between cysteine-rich acidic secreted protein and macrophages on tumor progression

胡建文 综述; 马永琛, 陈国卫 审阅(北京大学第一医院 普外三科, 北京 100034)

[摘要] 肿瘤微环境对肿瘤的发生、发展具有重要的调节作用。富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(cysteine-rich acidic secreted protein, SPARC)和巨噬细胞作为肿瘤微环境重要基质成分, 不仅对肿瘤细胞有直接的调节作用, 两者的相互作用也可以影响肿瘤的各种生物学行为变化。SPARC通过维持细胞外基质紧密结构, 减少巨噬细胞等免疫细胞向肿瘤区域的浸润, 或通过减少巨噬细胞向M2功能表型方向转换, 抑制肿瘤进展; 另一方面, M2型巨噬细胞可以通过吞噬SPARC, 从而消除SPARC对肿瘤的抑制作用。此外, 巨噬细胞还可通过自身分泌的SPARC抑制肿瘤增殖和迁移等生物学行为。本文将就SPARC维持细胞外基质紧密结构, 减少巨噬细胞等免疫细胞向肿瘤区域的浸润; 抑制巨噬细胞向M2功能表型方向转换, 从而发挥抑瘤作用; M2可以通过吞噬SPARC, 消除SPARC对肿瘤的抑制作用; 巨噬细胞来源SPARC决定细胞外基质沉积, 抑制肿瘤迁移和增殖; SPARC与巨噬细胞相互作用在肿瘤免疫治疗的应用5个方面进行综述, 为巨噬细胞来源SPARC对肿瘤不同生物学行为的调节的作用深入研究提供借鉴。

[关键词] 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(SPARC); 巨噬细胞; 肿瘤; 微环境

[中图分类号] R730.2; R392.32 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)03-0351-05

肿瘤发生通常被视为涉及细胞遗传转化的自主过程, 但是“种子与土壤学说”提出以来, 人们越来越认识到肿瘤微环境是调节肿瘤进展并对治疗产生抗性的必要因素^[1]。其中作为肿瘤微环境重要基质成分的巨噬细胞和富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(cysteine-rich acidic secreted protei, SPARC)对肿瘤发生、增殖、迁移、侵袭、凋亡等多种生物学行为均有重要影响。巨噬细胞在肿瘤的进展中, 其表型和功能受周围环境的调节, 通常存在2个不同的亚型^[2]: (1)经典激活(classically activated)或M1型巨噬细胞(简称M1), 可由脂多糖及Th1相关细胞因子, 如IFN- γ 、M-CSF和GM-CSF单独或联合刺激初始激活状态M0型巨噬细胞(简称M0)分化而来, 并合成分泌TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12B、IL-23A、NOS2^[3-4]等因子, 其表面标志物为HLA-DR、NOS2^[5]; (2)选择性活化(alternatively activated)或M2型巨噬细胞(简称M2), 可由Th2相关细胞因子, 如IL-4、IL-13、IL-10及糖皮质激素单独或联合刺激M0分化为多种亚型(M2a、M2b、M2c、M2d)^[4, 6-7], 并合成分泌TGF- β 、CCL14、CCL22、IL-10、Arg1等分子, 其表面标志有CD206、CD204、CD163、Stabilin-1等^[6-8]。M1产生促炎细胞因子, 对抗致病性感染, 发挥抑瘤作用; 相反, M2产生的各种抗炎因子, 不仅可以抑制免疫系统, 还可以促进肿瘤血管生成、侵袭和转移, 并因其作为肿瘤组织中主要巨噬细胞亚型且参与到肿瘤发展

的各个环节而被称之为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)^[8-10]。SPARC是一种相对分子质量32 000的细胞外非结构分泌基质糖蛋白, 也曾称为骨连接蛋白、BM-40或43K蛋白, 最早由美国TERMINE等^[11]于1981年在人和胎牛骨中分离提纯。SPARC通过调节细胞和细胞外基质的相互作用, 在改变细胞活性和肿瘤微环境中发挥重要作用, 其功能具有肿瘤特异性^[12]。近些年来, 研究人员逐渐重视研究肿瘤微环境各组分间的相互作用对微环境改变和肿瘤本身生物学变化的影响。SPARC可以减少巨噬细胞向肿瘤组织浸润, 限制巨噬细胞向M2功能表型转换; 同时巨噬细胞可以吞噬和分泌SPARC, 介导肿瘤生物学行为的调节。

1 SPARC通过维持细胞外基质紧密结构减少巨噬细胞等免疫细胞向肿瘤区域的浸润

免疫细胞的浸润大多数是肿瘤恶性进展的标志。TAM是免疫系统和肿瘤之间复杂相互作用的关键调节因子, 也是重要的肿瘤临床预后标志物^[13-14]。

[作者简介] 胡建文(1993 -), 男, 硕士生, 主要从事胃与结肠肿瘤相关疾病的研究, E-mail: jianwen_hu@bjmu.edu.cn

[通信作者] 陈国卫(CHEN Guowei, corresponding author), 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事胃与结肠肿瘤的研究, E-mail: guoweichen@263.net

TAM在肿瘤区域的浸润程度往往和肿瘤预后呈负相关^[15-16]。肿瘤区域的巨噬细胞多数源于外周血单核细胞^[17],单核细胞在肿瘤区域的浸润会导致较差的预后^[18]。抑制单核细胞募集到肿瘤组织,已成为目前免疫治疗的一大策略^[19]。SPARC作为一种重要的细胞外分泌型基质糖蛋白,可以调节细胞外基质结构变化^[20]。有研究^[21-22]显示,SPARC-null小鼠中细胞外基质胶原沉积和纤维形成减少,为单核巨噬细胞提供了浸润条件,导致肿瘤相关巨噬细胞分布改变,并减少肿瘤细胞凋亡,促进生长。SPARC的存在有利于维持基质正常结构,进而抑制单核巨噬细胞往肿瘤区域的浸润。上述研究显示,SPARC通过减少单核巨噬细胞募集浸润到肿瘤部位,防止单核巨噬细胞因肿瘤微环境的“驯化”发挥促瘤作用,但没有深入到分子机制层次进行探讨。

2 SPARC通过抑制巨噬细胞向M2功能表型方向转换而发挥抑瘤作用

很多临床和实验证据表明某些巨噬细胞亚型可促进癌症的发生、肿瘤细胞外渗、异位定植及生长,特别是TAM(肿瘤区域浸润的M2型巨噬细胞),可以抑制CD8⁺T细胞和NK细胞的功能,被视为提高免疫疗法功效的关键目标之一^[14,23]。靶向TAM的耗竭或其作为抗肿瘤效应物的再极化正在进行临床研究,并且有望帮助常规抗癌治疗的成功^[10,25],可能成为未来肿瘤免疫研究的一大发展方向^[24]。有研究^[26]已表明,肿瘤微环境中许多物质可以影响到巨噬细胞表型的转化,如胃癌细胞高表达骨桥蛋白(osteopontin, OPN)可以促进U937细胞(一种用于研究单核巨噬细胞的模式细胞)向M2方向转化;使用经典组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂可以调节巨噬细胞极化和功能^[27]。TOBA等^[28]研究显示,SPARC可以增加M1相关标志物的表达,同时降低M2相关标志物的表达,这提示SPARC在部分肿瘤中,可能通过抑制巨噬细胞向M2亚型方向转变,间接提高肿瘤免疫炎症反应,发挥抑瘤作用,同时也提示SPARC可能成为免疫治疗的一个作用靶点。但是,SPARC对巨噬细胞表型调节的研究以及SPARC是否在不同肿瘤中对巨噬细胞表型调节发挥异质性作用,有待于未来多肿瘤机制验证。

3 M2可以通过吞噬SPARC,消除SPARC对肿瘤的抑制作用

JULIA等^[29]鉴定出Stabilin-1是SPARC的受体,证明M2可以通过Stabilin-1受体介导溶酶体降解的经典内吞途径靶向SPARC摄取、内体运输和溶酶体

降解,降低肿瘤微环境中SPARC浓度。上文中已经提到,SPARC在部分肿瘤细胞增殖、凋亡、血管生成等各个环节发挥着重要的抑制作用,而M2在肿瘤各种生物学行为中发挥着的促进作用,据此有人猜想,M2可能通过吞噬SPARC促进肿瘤进展。这一猜想在一些研究中被证明,如RIABOV等^[30]研究表明,Stabilin-1介导的细胞外肿瘤生长抑制因子(例如SPARC)的沉默或清除是M2诱导乳腺癌细胞生长的机制。另一方面,因为SPARC功能具有肿瘤异质性,在部分肿瘤发挥促瘤作用^[32]。如在胶质瘤中,随着肿瘤进展表达Stabilin-1的M2型巨噬细胞会瞬时群体性消失,同时实验显示,使用siRNA降低SPARC表达可降低肿瘤侵袭性和存活率,因此推测Stabilin-1表达阳性M2瞬时消失减少SPARC吞噬可能是胶质瘤恶化的原因^[31]。但该项研究和公认的M2具有的促瘤作用相矛盾。以上研究表明,M2吞噬SPARC发挥的作用,可能因SPARC在不同肿瘤中发挥的异质性作用而具有肿瘤异质性。

4 巨噬细胞来源SPARC通过促进细胞外基质沉积抑制肿瘤迁移、增殖

有研究^[18,35]显示,肿瘤细胞来源SPARC和成纤维细胞来源SPARC对不同肿瘤发生、增殖、迁移、血管生成、凋亡等生物学行为的异质性影响。但巨噬细胞来源SPARC对不同肿瘤生物学行为影响的研究较少。SABINA等^[36-37]研究显示,巨噬细胞来源SPARC可以通过 $\alpha_5\beta_1$ 整合素增强癌细胞迁移到其他细胞外基质蛋白;可通过促进乳腺癌基质和IV型胶原沉积,阻止白细胞浸润,抑制肿瘤增殖。当前的研究主要表明巨噬细胞来源SPARC对肿瘤细胞增殖和迁移两个表型的抑制作用,而且并未深入到机制层次进行阐述。未来的研究可能会更加关注巨噬细胞来源SPARC对不同肿瘤细胞侵袭、凋亡、血管新生等生物学行为的影响。本课题组在胃癌组织的免疫组化染色结果(未发表)和部分文献^[38]显示,肿瘤组织中多数巨噬细胞SPARC染色强阳性,即巨噬细胞可能是细胞外SPARC的重要来源,笔者课题组将就巨噬细胞来源SPARC对肿瘤不同生物学行为调节作用进行深入研究。

5 SPARC与巨噬细胞相互作用在肿瘤免疫治疗的应用

TAM是肿瘤微环境中主要成分。从促瘤的M2到抑瘤M1功能表型的极化不仅可以解除肿瘤微环境中免疫抑制,并引发细胞毒性T细胞免疫,还可以增强化疗效力。Stabilin-1受体介导的SPARC吞噬

作用可参与针对巨噬细胞表型转换抗肿瘤免疫药物的摄取和治疗。SPARC是一种白蛋白结合蛋白,其在肿瘤细胞(如神经胶质瘤)和与瘤形成相关的肿瘤血管内皮细胞中过表达,可以促进白蛋白纳米颗粒药物结合和摄取。M2吞噬SPARC的同时也会吞噬与SPARC结合的白蛋白纳米颗粒药物,这就为针对M2到M1表型转化的靶向药物的高效摄取提供了可能^[38]。同时巨噬细胞Stabilin-1受体介导的SPARC吞噬可能会限制某些非巨噬细胞为靶点的SPARC依赖性抗肿瘤药物功效的发挥,如巨噬细胞对SPARC依赖性紫杉醇的摄取,会降低肿瘤微环境中紫杉醇的药物浓度,从而抵抗紫杉醇的抗癌功效^[33]。M2对SPARC的靶向吞噬作用使得SPARC分子成为免疫靶向TAM治疗药物递送分子的候选者^[34]。前文中提到巨噬细胞也可以分泌SPARC,这也为白蛋白纳米颗粒药物提供了足够的结合靶点,有利于白蛋白依赖性抗肿瘤药物的应用。总之,SPARC与巨噬细胞相互作用关系的阐明为肿瘤免疫治疗提供了重要的理论基础。

6 结 语

越来越多的证据支持肿瘤微环境在恶性肿瘤发生、发展中起到了重要作用,SPARC和巨噬细胞正是肿瘤微环境中影响肿瘤进程的重要基质成分。以往研究中,比较重视SPARC和巨噬细胞对肿瘤的生成、增殖、迁移、凋亡、血管生成等生物学行为的直接影响,但其相互作用使肿瘤微环境重塑,进而对肿瘤进程的影响以及在肿瘤免疫治疗中的应用目前尚处于探索阶段。未来应关注SPARC与巨噬细胞乃至整个肿瘤免疫微环境间更深入的相互作用机制研究,为肿瘤免疫治疗的发展提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674. DOI: 10.1007/978-1-4614-4732-0_1
- [2] POLLARD J W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(1): 71-78. DOI:10.1038/nrc1256.
- [3] BARDI G T, SMITH M A, HOOD J L. Melanoma exosomes promote mixed M1 and M2 macrophage polarization[J]. *Cytokine*, 2018, 105(1): 63-72. DOI:10.1016/j.cyto.2018.02.002.
- [4] MURRAY P J, ALLEN J E, BISWAS S K, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines[J]. *Immunity*, 2014, 41(1): 14-20. DOI:10.1016/j.immuni.2014.06.008.
- [5] SHAIKH S, NOSHIRWANI A, WEST N, et al. Can macrophages within the microenvironment of locally invasive rectal cancers predict response to radiotherapy?[J]. *Lancet*, 2015, 385(Sup 1): S87-S87. DOI:10.1016/S0140-6736(15)60402-0.
- [6] MARTINEZ F O, GORDON S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment[J/OL]. *F1000prime Rep*, 2014, 6: 13[2018-11-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/>. DOI:10.12703/P6-13.
- [7] PARISI L, GINI E, BACI D, et al. Macrophage polarization in chronic inflammatory diseases: killers or builders?[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018(12): 1-25. DOI:10.1155/2018/8917804.
- [8] JAGUIN M, HOULBERT N, FARDEL O, et al. Polarization profiles of human M-CSF-generated macrophages and comparison of M1-markers in classically activated macrophages from GM-CSF and M-CSF origin[J]. *Cell Immunol*, 2013, 281(1): 51-61. DOI:10.1016/j.cellimm.2013.01.010.
- [9] POLLARD J W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(1): 71-78. DOI:10.1038/nrc1256.
- [10] TAMURA R, TANAKA T, YAMAMOTO Y, et al. Dual role of macrophage in tumor immunity[J]. *Immunotherapy*, 2018, 10(10): 899-909. DOI:10.2217/imt-2018-0006.
- [11] TERMINE J D, KLEINMAN H K, WHITSON S W, et al. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen[J]. *Cell*, 1981, 26(1): 99-105. DOI:10.1016/0092-8674(81)90037-4.
- [12] NAGARAJU G P, DONTULA R, ELRAYES B F, et al. Molecular mechanisms underlying the divergent roles of SPARC in human carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(5): 967-973. DOI:10.1093/carcin/bgu072.
- [13] GRIGORE A, ALBULESCU A, ALBULESCU R. Current methods for tumor-associated macrophages investigation[J]. *Immunoassay Immunochem*, 2018, 39(2): 119-135. DOI: 10.1080 / 15321819.2018.1488727.
- [14] OSTUNI R, KRATOCHVILL F, MURRAY P J, et al. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4): 229-239. DOI:10.1016/j.it.2015.02.004.
- [15] WEN J, KE L, GUO Q, et al. Tumor-infiltrating immune cells and prognosis in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 62312-62329. DOI:10.18632/oncotarget.17602.
- [16] ALGARS A, IRJALA H, VAITTINEN S, et al. Type and location of tumor-infiltrating macrophages and lymphatic vessels predict survival of colorectal cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(4): 864-873. DOI:10.1002/ijc.26457.
- [17] OSTUNI R, KRATOCHVILL F, MURRAY P J, et al. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4): 229-239. DOI:10.1016/j.it.2015.02.004.
- [18] COFFELT S B, TAL A O, SCHOLZ A, et al. Angiotensin-2 regulates gene expression in TIE2-expressing monocytes and augments their inherent proangiogenic functions[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(13): 5270-5280. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0012.
- [19] NGAMBENJAWONG C, GUSTAFSON HH, PUN S H. Progress in tumor-associated macrophage (TAM)-targeted therapeutics[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 114(3): 206-221. DOI: 10.1016 / j. adr.2017.04.010 .
- [20] NAGARAJU G P, DONTULA R, ELRAYES B F, et al. Molecular mechanisms underlying the divergent roles of SPARC in human carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(5): 967-973. DOI:10.1093/carcin/bgu072.

- [21] PUOLAKKAINEN P A, BREKKEN R A, MUNEEER S, et al. Enhanced growth of pancreatic tumors in SPARC-null mice is associated with decreased deposition of extracellular matrix and reduced tumor cell apoptosis[J]. *Mol Cancer Res*, 2004, 2(4): 215-224. DOI: 10.1091/mbc.E03-12-0862.
- [22] BREKKEN R A, PUOLAKKAINEN P, GRAVES D C, et al. Enhanced growth of tumors in SPARC null mice is associated with changes in the ECM[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(4): 487-495. DOI: 10.1172/JCI16804.
- [23] CASSETTA L, KITAMURA T. Macrophage targeting: opening new possibilities for cancer immunotherapy[J]. *Immunology*, 2018, 155(3): 285-293. DOI:10.1111/imm.12976.
- [24] GORDON S, GORDON S. Alternative activation of macrophages [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(1): 23-35. DOI:10.1038/nri978.
- [25] BACHIREDDY P, RAKHRA K, FELSHER D W. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: multiple roles for the immune system in oncogene addiction[J]. *Nature*, 2012, 167(2): 188-194. DOI:10.1111/j.1365-2249.2011.04514.x.
- [26] LIN C N, WANG C J, CHAO Y J, et al. The significance of the co-existence of osteopontin and tumor-associated macrophages in gastric cancer progression[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 128-131. DOI: 10.1186/s12885-015-1114-3.
- [27] MOHAMMADI A, SHARIFI A, POURPAKNIA R, et al. Manipulating macrophage polarization and function using classical HDAC inhibitors: implications for autoimmunity and inflammation[J]. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 2018, 128(1): 1-18. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.05.009.
- [28] TOBA H, LE D C B, BAICU C F, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteine facilitates age-related cardiac inflammation and macrophage M1 polarization.[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 308(12): 972-982. DOI:10.1152/ajpcell.00402.2014.
- [29] ULIA K, GAIL W, MARINA C V, et al. Novel function of alternatively activated macrophages: stabilin-1-mediated clearance of SPARC[J]. *Immunology*, 2006, 176(10): 5825-5832. DOI: 10.4049/jimmunol.176.10.5825.
- [30] RIABOV V, YIN S, SONG B, et al. Stabilin-1 is expressed in human breast cancer and supports tumor growth in mammary adenocarcinoma mouse model[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 31097-31110. DOI:10.18632/oncotarget.8857.
- [31] DAVID C, NANCE J P, HUBBARD J, et al. Stabilin-1 Expression in tumor associated macrophages[J]. *Brain Res*, 2012, 1481(30): 71-78. DOI:10.1016/j.brainres.2012.08.048.
- [32] HORIE K, TSUCHIHARA M, NAKATSURA T. Silencing of secreted protein acidic and rich in cysteine inhibits the growth of human melanoma cells with G 1, arrest induction[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(4): 913-919. DOI:10.1111/j.1349-7006.2009.01476.x.
- [33] ZHEN Z, YANG K, YE L, et al. Decorin gene upregulation mediated by an adeno-associated virus vector increases intratumoral uptake of nab-paclitaxel in neuroblastoma via inhibition of Stabilin-1 [J]. *Invest N Drug*, 2017, 35(26): 1-10. DOI: 10.1007/s10637-017-0477-5.
- [34] RIABOV V, YIN S, SONG B, et al. Stabilin-1 is expressed in human breast cancer and supports tumor growth in mammary adenocarcinoma mouse model[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 31097-31110. DOI:10.18632/oncotarget.8857.
- [35] MAZZIERI R, PUCCI F, MOI D, et al. Targeting the ANG2/TIE2 Axis inhibits tumor growth and metastasis by impairing angiogenesis and disabling rebounds of proangiogenic myeloid cells[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(4): 512-526. DOI:10.1016/j.ccr.2011.02.005.
- [36] SABINA S, ANTONELLA S, CRISTIANA G, et al. Leukocyte, rather than tumor-produced SPARC, determines stroma and collagen type IV deposition in mammary carcinoma[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(10): 1475-1485. DOI:10.1084/jem.20030202.
- [37] SANGALETTI S, DI C E, GARIBOLDI S, et al. Macrophage-derived SPARC bridges tumor cell-extracellular matrix interactions toward metastasis[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(21): 9050-9059. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1327.
- [38] ZHAO P, WANG Y, KANG X, et al. Dual-targeting biomimetic delivery for anti-glioma activity via remodeling the tumor microenvironment and directing macrophage-mediated immunotherapy[J]. *Chem Sci*, 2018, 9(10): 2674-2689. DOI:10.1039/C7SC04853J.

[收稿日期] 2018-12-17

[修回日期] 2019-02-10

[本文编辑] 王映红