

肿瘤微环境中的成纤维细胞^{*}

李 涵^{1,2}, 谌志筠² 综述, 张永健^{1△}, 刘 颖^{2▲} 审校

(1. 河北医科大学基础医学院, 河北石家庄 050017; 2. 国家纳米科学中心, 北京 100190)

关键词: 癌相关成纤维细胞; 肿瘤微环境; 治疗**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.11.025**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2013)11-1402-03

近年来,随着人们认识的逐步深入,肿瘤微环境日益成为研究热点。在实体肿瘤的微环境中,成纤维细胞是最丰富一类细胞,尤其是在乳腺癌、胰腺癌、结肠癌和前列腺癌中^[1]。在肿瘤微环境中,成纤维细胞获得一种活化表型,表现为:丧失原有的长梭形,表达大量 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA),获得 I 型胶原蛋白、弹力蛋白 C 和基质金属蛋白酶等更强的细胞外基质沉积能力^[2],并能分泌大量生长因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子(TGF- β)、肝细胞生长因子(HGF)等^[3]。这种活化的成纤维细胞也被称为癌相关成纤维细胞(CAFs)。CAFs 可以促进肿瘤的生长和扩散,通过其产生的多种生长因子以及趋化因子影响肿瘤细胞的各个方面^[4]。

1 肿瘤微环境中 CAFs 的来源

肿瘤微环境中 CAFs 来源于上皮或内皮间质转化(EMT 或 EndMT),间充质干细胞(MSCs)的募集,以及周围组织中静止态成纤维细胞的激活。

EMT 过程可使极化的上皮细胞获得间充质细胞样表型,并具有迁移、侵袭能力强和细胞外基质蛋白表达增加等特征^[5]。许多因素,包括 HGF、表皮生长因子(EGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)和 TGF- β 等均可激活 EMT 诱导转录因子(如 Snail、Slug 和 Twist),从而引发 EMT^[5-7]。

内皮细胞通过 EndMT 过程获得间充质细胞样表型。在此过程中,细胞失去内皮细胞标志物,如 CD31;表达间充质细胞标志物,如 α -SMA;随后细胞通过基底膜侵入^[8-9]。研究发现,高达 40% 内皮起源的 CAFs 产生自 EndMT^[8]。TGF- β 是 EndMT 的一个重要驱动因素^[10]。然而详细的分子机制和信号转导通路仍需进一步探讨。

MSCs 最初在骨髓中发现,因其具有多向分化潜能、免疫调控和自我复制等特点而日益受到人们的关注^[11]。在体外,由不同类型的肿瘤细胞系得到的条件培养基对 MSCs 具有趋化作用,长期暴露于该条件培养基下 MSCs 将获得 CAFs 的表型,表现为表达 α -SMA、成纤维细胞特异性蛋白 1(FSP-1)和波形蛋白,且基质细胞衍生因子-1(SDF-1)表达上调,并且在体内能促进肿瘤的生长^[12]。这些数据表明,肿瘤细胞分泌的因子募集 CAFs,骨髓源性干细胞是该募集作用的重要细胞来源。

肿瘤细胞表达高水平的生长因子,如 TGF- β 、PDGF 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),在体外能激活正常的成纤维细胞,表现为 α -SMA 表达上调,以及细胞增殖和细胞外基质分泌的增加^[13]。

2 CAFs 的特异性标志物

CAFs 的特异性标志物包括 α -SMA、成纤维细胞激活蛋白

(FAP)、Thy-1 等。 α -SMA 的高表达导致细胞骨架结构的改变,增强细胞的收缩力^[14]。据报道,在侵袭性的乳腺癌临床标本中,癌细胞周围组织中成纤维细胞 α -SMA 表达水平较高^[15]。FAP 属于丝氨酸蛋白酶家族,具有胶原酶和二肽基肽酶活性,有助于降解细胞外基质^[16]。Chesa 等证实,超过 90% 的人上皮癌 CAFs 过量表达 FAP^[17]。Thy-1 属于糖蛋白家族,仅有 Thy-1 阳性的成纤维细胞能在 TGF- β 1 处理后分化为 CAFs^[18]。此外,在大多数情况下,CAFs 不表达角蛋白和 CD31 等上皮或内皮细胞标志物,且层黏连蛋白(其功能是维持基底膜完整性)的表达量较低^[19]。因此,上述标志物能将 CAFs 与正常成纤维细胞区分开来。

3 肿瘤细胞与 CAFs 间的分子介导

作为肿瘤微环境的一部分,成纤维细胞与肿瘤细胞和其他肿瘤微环境中的细胞间传递着多种分子信号。一些肿瘤来源的趋化因子能够引起成纤维细胞的募集和表型变化,从而促进肿瘤的发生、发展和转移。

TGF- β 和 PDGF 是两种研究得较为充分的重要的癌细胞来源分子,研究证实它们能将基质微环境向有利于肿瘤细胞的方向改造。TGF- β 是癌细胞产生的一种细胞因子,它可将成纤维细胞直接转化为 CAFs^[20]。最初的一项体外实验在正常来源乳腺成纤维细胞中加入 TGF- β 可致 α -SMA 的表达。除此之外,TGF- β 还是一种强效的 EMT 诱导剂^[21]。在许多癌以及癌衍生的细胞系中,TGF- β 的表达上调^[22-24]。

大量的研究表明,PDGF 也可以通过旁分泌信号途径募集 CAFs 至肿瘤细胞附近,从而促进肿瘤的发生和发展。特别是肿瘤衍生的 PDGF-AA,它被证明是主要的 CAFs 趋化因子和有丝分裂原^[25]。此外,作为一种代偿机制,不产生 VEGF 的肿瘤细胞会通过分泌 PDGF-AA 吸引基质成纤维细胞。通过给予可溶性 PDGF-IgG 阻断肿瘤细胞和基质成纤维细胞之间的旁分泌 PDGF α 信号,可导致肿瘤生长的减缓^[26]。这些数据表明,PDGF α 信号对基质成纤维细胞的募集十分重要,并为 VEGF 缺陷的肿瘤细胞提供了一条代偿途径。通过人黑色素瘤的裸鼠移植模型证实,PDGF-BB 对肿瘤基质的形成也起着重要的作用^[27]。将异位表达 PDGF-BB 的永生化非致瘤性人角蛋白细胞与成纤维细胞体外共培养,会导致体系内成纤维细胞的增殖率上升;而在体内实验中,则会通过激活基质细胞产生致瘤性^[28]。肿瘤细胞产生的 PDGF-CC 可促进小鼠黑色素瘤模型肿瘤的生长,其机制可能与 CAFs 的募集相关,主要由 PDGF-CC 的旁分泌信号与 CAFs 所表达的 PDGF α 所介导^[29]。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(21001034)。 作者简介:李涵,女,硕士研究生,主要从事肿瘤药理学研究。 $\triangle$ 通讯作者,E-mail:zhangyijlm@163.com。 $\blacktriangle$ 通讯作者,E-mail:liuy@nanoctr.cn。

在炎症部位,亮氨酸 37(LL-37)作为增殖信号和促血管生成因子在肿瘤发展的过程中同样起着重要作用^[30-31]。溶血磷脂酸(LPA)是一种小分子磷脂衍生物,具有多种生物活性,可诱导人体脂肪组织来源的间充质干细胞(hADSCs)表达 α -SMA 和 SDF-1,这表明 LPA 诱导 hADSCs 分化为 CAFs^[32]。

4 CAFs 在肿瘤的发生、发展和转移过程中所起的作用

CAFs 与肿瘤微环境中的许多成分发生相互作用,包括肿瘤细胞、内皮细胞和浸润的炎性细胞等,从而促进肿瘤的发生、发展和转移。Olumi 等^[33]证实,在体内,前列腺上皮细胞单独接种或与正常的成纤维细胞联合接种时均不致瘤,但是当与 CAFs 联合接种时,就能够形成实体瘤。

成纤维细胞与侵入性黑色素瘤细胞进行共培养时,可显著上调成纤维细胞内 IL-1 β 、IL-6、IL-8 以及 CCL2/MCP1,而 IL-1 β 的上调会增加黑色素瘤的侵袭性^[34]。此外,临床治疗中,抗 VEGF 型肿瘤细胞的耐药性也由 CAFs 介导。从具有抗 VEGF 特性的肿瘤中分离出成纤维细胞,能将自身的抗药性转移给原本对 VEGF 敏感的肿瘤细胞,该作用主要由 PDGF α 所介导^[29]。

FSP-1 缺陷小鼠接种乳腺癌细胞 CSML100 后,肺转移被完全抑制,而将 CSML100 肿瘤细胞和小鼠胚胎成纤维细胞进行共移植,可部分还原转移功能。上述结果都证实,转移的形成和 CAFs 相关联^[35]。

在遗传学方面,CAFs 往往携带突变的肿瘤抑制基因,如 PTEN 和 p53 等^[36-37]。在实验小鼠模型中,CAFs 内 PTEN 的失活将加速肿瘤的发生、发展和恶性转化。另据报道,PTEN 在人类乳腺癌标本的肿瘤间质中高表达^[38]。到目前为止,关于 CAFs 的研究大多采用的是乳腺癌细胞,采用其他癌细胞系进行相关研究也是很有必要的。

5 成纤维细胞可以作为抗肿瘤治疗的新靶点

成纤维细胞与肿瘤微环境中其他部分间的多种交联表明,该类细胞在介导直接促癌作用、调节肿瘤发展、以及促血管生成和调控免疫信号等方面起核心作用。成纤维细胞靶向的肿瘤治疗旨在对成纤维细胞进行特异性生物学干扰,同时抑制其在肿瘤发生发展各方面的介导作用,而成纤维细胞的多样性和异质性使得这种靶向治疗变得异常困难。然而,成纤维细胞靶向的抗肿瘤方法具有干扰肿瘤进展和转移的潜力,可用以克服 CAFs 介导的抗 VEGF 型肿瘤细胞的耐药性。也可利用肿瘤间充质干细胞的归巢能力,专门针对肿瘤的抑癌基因和促凋亡基因进行治疗。在肿瘤模型中,表达 IL-12 的 MSCs 能够抑制肾细胞癌和黑色素瘤的生长^[39-40]。同样,注入表达凋亡诱导蛋白 TRAIL 的 MSCs 可普遍抑制原发性皮下肿瘤以及肺转移灶的生长^[41-42]。抗 FAP 的 DNA 疫苗能抑制鼠结肠癌和乳腺癌细胞的生长及转移^[43]。此外,CAFs 的减少能增加化疗药物的摄取,因此能提高肿瘤化疗的效果^[44]。目前,针对二肽基肽酶(包括 FAP)的小分子抑制剂 Talabostat 正在进行多项临床试验。然而,迄今为止进行的 II 期临床试验进展较慢^[45-46]。因此,开展深入的研究,了解间充质细胞复杂的生物学特性,寻找 CAFs 特异性表达的新靶点是很有必要的。

6 总结与展望

CAFs 能够影响肿瘤微环境中的肿瘤细胞、内皮细胞、炎性细胞等。CAFs 通过分泌促血管生成因子和基质金属蛋白酶促进肿瘤血管生成;通过分泌促/抗-炎性趋化因子调节免疫系统;通过介导对肿瘤细胞的直接作用,促进肿瘤细胞的增殖

和侵袭。因此,对 CAFs 进行生物学干扰具有抗肿瘤治疗的潜力。许多针对肿瘤微环境中的 CAFs 的靶向治疗能够抑制实验肿瘤的生长和/或迁移,但临床数据仍十分有限,且研究进展缓慢。因此,确定介导 CAFs 募集过程的特异性新标志物和信号转导通路,以及发现新的由 CAFs 产生的自分泌或旁分泌因子是非常重要的。

参考文献

- [1] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(5): 392-401.
- [2] Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression[J]. Nature, 2004, 432(7015): 332-337.
- [3] Li G, Satyamoorthy K, Meier F, et al. Function and regulation of melanoma-stromal fibroblast interactions: when seeds meet soil[J]. Oncogene, 2003, 22(20): 3162-3171.
- [4] Aye MM, Ma C, Lin H, et al. Ethanol-induced in vitro invasion of breast cancer cells: the contribution of MMP-2 by fibroblasts[J]. Int J Cancer, 2004, 112(5): 738-746.
- [5] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1420-1428.
- [6] Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus[J]. Cell, 2003, 113(6): 685-700.
- [7] Medici D, Hay ED, Olsen BR. Snail and Slug promote epithelial-mesenchymal transition through beta-catenin-T-cell factor-4-dependent expression of transforming growth factor-beta 3[J]. Mol Biol Cell, 2008, 19: 4875-4887.
- [8] Zeisberg EM, Potenta S, Xie L, et al. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts[J]. Cancer Res, 2007, 67(21): 10123-10128.
- [9] Potenta S, Zeisberg E, Kalluri R. The role of endothelial-to-mesenchymal transition in cancer progression[J]. Br J Cancer, 2008, 99(9): 1375-1379.
- [10] Nakajima Y, Yamagishi T, Hokari S, et al. Mechanisms involved in valvuloseptal endocardial cushion formation in early cardiogenesis: roles of transforming growth factor (TGF)-beta and bone morphogenetic protein (BMP) [J]. Anat Rec, 2000, 258(2): 119-127.
- [11] Wu S, Ju GQ, Du T, et al. Microvesicles derived from human umbilical cord wharton's jelly mesenchymal stem cells attenuate bladder tumor cell growth in vitro and in vivo[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61366.
- [12] Mishra PJ, Humeniuk R, Medina DJ, et al. Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(11): 4331-4339.
- [13] Denk PO, Hoppe J, Hoppe V, et al. Effect of growth factors on the activation of human Tenon's capsule fibroblasts[J]. Curr Eye Res, 2003, 27(1): 35-44.
- [14] Ronnov-Jessen L, Petersen OW. A function for filamentous alpha-smooth muscle actin: retardation of motility in fibroblasts[J]. Cell Biol, 1996, 134(1): 67-80.
- [15] Cheng JD, Valianou M, Canutescu AA, et al. Abrogation of fibroblast activation protein enzymatic activity attenuates tumor growth[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(3): 351-360.
- [16] Huang S, Fang R, Xu J, et al. Evaluation of the tumor targeting of a FAP α -based doxorubicin prodrug[J]. Drug Target, 2011, 19(7): 487-496.

- [17] Garin-Chesa P, Old LJ, Rettig WJ. Cell surface glycoprotein of reactive stromal fibroblasts as a potential antibody target in human epithelial cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(18): 7235-7239.
- [18] Hagood JS, Prabhakaran P, Kumbla P, et al. Loss of fibroblast Thy-1 expression correlates with lung fibrogenesis [J]. *Am J Pathol*, 2005, 167(2): 365-379.
- [19] Tlsty TD. Stromal cells can contribute oncogenic signals[J]. *Semin Cancer Biol*, 2001, 11(2): 97-104.
- [20] Scharpfenecker M, Floot B, Nicola S, et al. The TGF-beta co-receptor endoglin regulates macrophage infiltration and cytokine production in the irradiated mouse kidney[J]. *Radiother Oncol*, 2012, 105(3): 313-320.
- [21] Derynck R, Akhurst RJ. Differentiation plasticity regulated by TGF-beta family proteins in development and disease[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(9): 1000-1004.
- [22] Chen H, Lan X, Liu M, et al. Direct TGF-beta1 signaling between activated platelets and pancreatic cancer cells primes cisplatin insensitivity[J]. *Cell Bio Int*, 2013, 37(5): 478-484.
- [23] Cheng KH, Su HT, Weng CC, et al. Stem cell marker Nestin is critical for TGF beta1-mediated tumor progression in pancreatic cancer[J]. *Mol Cancer Res*. <http://mcr.aacrjournals.org/content/early/2013/04/03/1541-7786.MCR-12-0511>. long. [2013-4-3].
- [24] Li Z, Pan D, Li Y. Effect of TGF-beta on Gli2 expression in HL-60 and U937 cell lines[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(5): 1245-1250.
- [25] Tejada ML, Yu L, Dong J, et al. Tumor-driven paracrine platelet-derived growth factor receptor alpha signaling is a key determinant of stromal cell recruitment in a model of human lung carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(9): 2676-2688.
- [26] Dong J, Grunstein J, Tejada M, et al. VEGF-null cells require PDGFR alpha signaling-mediated stromal fibroblast recruitment for tumorigenesis[J]. *EMBO*, 2004, 23(14): 2800-2810.
- [27] Forsberg K, Valyi-Nagy I, Heldin CH, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF) in oncogenesis: development of a vascular connective tissue stroma in xenotransplanted human melanoma producing PDGF-BB[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(2): 393-397.
- [28] Skobe M, Fusenig NE. Tumorigenic conversion of immortal human keratinocytes through stromal cell activation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(3): 1050-1055.
- [29] Anderberg C, Li H, Fredriksson L, et al. Paracrine signaling by platelet-derived growth factor-CC promotes tumor growth by recruitment of cancer-associated fibroblasts[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 369-378.
- [30] Shaykhiev R, Beisswenger C, Kandler K, et al. Human endogenous antibiotic LL-37 stimulates airway epithelial cell proliferation and wound closure[J]. *Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(5): 842-848.
- [31] Coffelt SB, Marini FC, Watson K, et al. The pro-inflammatory peptide LL-37 promotes ovarian tumor progression through recruitment of multipotent mesenchymal stromal cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(10): 3806-3811.
- [32] Jeon ES, Moon HJ, Lee MJ, et al. Cancer-derived lysophosphatidic acid stimulates differentiation of human mesenchymal stem cells to myofibroblast-like cells[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(3): 789-797.
- [33] Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW, et al. Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(19): 5002-5011.
- [34] Li L, Dragulev B, Zigrino P, et al. The invasive potential of human melanoma cell lines correlates with their ability to alter fibroblast gene expression in vitro and the stromal microenvironment in vivo [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(8): 1796-1804.
- [35] Grum-Schwensen B, Klingelhofer J, Berg CH, et al. Suppression of tumor development and metastasis formation in mice lacking the S100A4(mts1) gene[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(9): 3772-3780.
- [36] Lafkas D, Trimis G, Papavassiliou AG, et al. P53 mutations in stromal fibroblasts sensitize tumors against chemotherapy[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(4): 967-971.
- [37] Kurose K, Gilley K, Matsumoto S, et al. Frequent somatic mutations in PTEN and TP53 are mutually exclusive in the stroma of breast carcinomas[J]. *Nat Genet*, 2002, 32(3): 355-357.
- [38] Trimboli JA, Cantemir-Stone CZ, Li F, et al. Pten in stromal fibroblasts suppresses mammary epithelial tumours[J]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1084-1091.
- [39] Gao P, Ding Q, Wu Z, et al. Therapeutic potential of human mesenchymal stem cells producing IL-12 in a mouse xenograft model of renal cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2010, 290(2): 157-166.
- [40] Elzaouk L, Moelling K, Pavlovic J. Anti-tumor activity of mesenchymal stem cells producing IL-12 in a mouse melanoma model [J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(11): 865-874.
- [41] Loebinger MR, Eddaoudi A, Davies D, et al. Mesenchymal stem cell delivery of TRAIL can eliminate metastatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(10): 4134-4142.
- [42] Kim SM, Lim JY, Park SI, et al. Gene therapy using TRAIL-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells against intracranial glioma[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9614-9623.
- [43] Yi YM, Zhang G, Zeng J, et al. A new tumor vaccine: FAP τ -MT elicits effective antitumor response by targeting indoleamine 2,3-dioxygenase in antigen presenting cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(10): 866-873.
- [44] Loeffler M, Kruger JA, Niethammer AG, et al. Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake[J]. *Clin Invest*, 2006, 116(7): 1955-1962.
- [45] Eager RM, Cunningham CC, Senzer N, et al. Phase II trial of talabostat and docetaxel in advanced non-small cell lung cancer[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2009, 21(6): 464-472.
- [46] Eager RM, Cunningham CC, Senzer NN, et al. Phase II assessment of talabostat and cisplatin in second-line stage IV melanoma [J]. *BMC Cancer*, 2009, 9(1): 263.

(收稿日期: 2013-04-28)

国内纯检验医学类核心期刊影响因子排名: 1. 国际检验医学杂志 0.854; 2. 中华检验医学杂志 0.744; 3. 临床检验杂志 0.574。