

Research Progress on Cancer-Promoting Mechanism and Therapeutic Drugs of Cancer Associated Fibroblasts

Yue Cao Na Lu

China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China

Abstract

Cancer associated fibroblasts (CAFs) is an important component of the microenvironment of most solid tumors, which promote cancer progression by supporting tumor cell growth, extracellular matrix remodeling, promoting angiogenesis and mediating inflammation. CAFs can also promote tumor immune escape through a variety of mechanisms, including secretion of a variety of cytokines and chemokines as well as mediating the recruitment and functional differentiation of innate and adaptive immune cells. At present, there are certain limitations of tumor chemotherapy including it cannot eradicate tumor cells and make them continue to proliferate and produce metastatic site. In order to treat cancer properly, there are some new therapeutic methods that target both tumor cells and CAFs or CAFs have been revealed. This paper focuses on the latest research advances in CAFs cancer-promoting mechanisms and treatment methods for CAFs, with a view to integrating preclinical and clinical findings into new treatment strategies that inhibit the tumor support function of CAFs.

Keywords

tumor-associated fibroblasts; microenvironment; tumors; anti-cancer drugs; research progress

肿瘤相关成纤维细胞的促癌机制及治疗药物研究进展

曹越 卢娜

中国药科大学, 中国·江苏·南京 210000

摘要

肿瘤相关成纤维细胞 (Cancer Associated Fibroblasts, CAFs) 是大多数实体肿瘤微环境的重要组成部分, 通过支持肿瘤细胞生长、细胞外基质重塑、促进血管生成和介导炎症反应等途径促进癌症进展。CAFs 还可以通过多种机制促进肿瘤的免疫逃逸, 包括多种细胞因子和趋化因子的分泌以及介导先天和适应性免疫细胞募集和功能分化。目前, 针对肿瘤细胞的化疗存在一定局限性, 其不能根除肿瘤细胞并使其继续增殖及产生转移灶。同时存在一些同时靶向肿瘤细胞及 CAFs 或者单独靶向 CAFs 的治疗方式。论文重点介绍了 CAFs 促癌机制的最新研究进展, 以及针对 CAFs 的治疗方法, 以期将临床前及临床发现整合到抑制 CAFs 的肿瘤支持功能的新治疗策略中。

关键词

肿瘤相关成纤维细胞; 微环境; 肿瘤; 抗癌药物; 研究进展

1 肿瘤相关成纤维细胞概述

肿瘤是一个复杂的多细胞系统, 该系统存在肿瘤细胞和肿瘤微环境 (Tumor Microenvironment, TME) 之间的多种相互作用。TME 由细胞外基质和各种细胞类型组成, 包括免疫细胞、内皮细胞、周细胞和成纤维细胞等, 在肿瘤发生、发展和转移的所有阶段均发挥着重要作用。早在 1889 年, Stephen Paget 便提出一种理论: “种子” (即肿瘤细胞) 优先生长在选定器官的有益“土壤” (即微环境) 中^[1]。迄今为止, 肿瘤细胞和 TME 之间的相互交流已经被证明在肿瘤生长和转移中发挥了重要作用。

在实体肿瘤的 TME 中主要细胞类型为成纤维细胞, 也称为肿瘤相关成纤维细胞 (Cancer Associated Fibroblasts, CAFs)。成纤维细胞属于结缔组织, 负责支持组织功能、调节细胞外基质、炎症和上皮细胞的增殖分化。在正常组织的基质中, 成纤维细胞主要是静止的, 在收到外界刺激时会暂时性获得组织重塑和修复的能力, 如伤口修复。已激活的成纤维细胞最终将会凋亡或恢复到休眠状态, 然而在长期的病理状况下如组织纤维化、慢性炎症和癌症, 成纤维细胞可能被过度激活。肿瘤细胞周围的 CAFs 与 TME 的其他元素一起, 可以与肿瘤上皮细胞进行相互联系, 以最大限度地提高肿瘤细胞的适应性。

来自身体各个部位和器官的成纤维细胞群可能具有明显不同的特性,包括对细胞表型以及与其邻近上皮细胞和免疫细胞的相互作用。CAFs具有多种来源,包括成纤维细胞,骨髓源性间充质干细胞,造血干细胞,上皮细胞(通过上皮-间质转化)和内皮细胞(通过内皮-间质转化)。尽管如此,研究报道所有的CAFs都具有与成纤维细胞相似的生物标志物,例如 α -平滑肌肌动蛋白(Smooth Muscle Actin, α -SMA),成纤维细胞活化蛋白(Fibroblast Activation Protein, FAP)和血小板源性生长因子受体(Platelet-Derived Growth Factor, PDGFR)等。CAFs可以分泌多种生长因子、细胞因子、趋化因子和基质蛋白酶从而发挥肿瘤促进作用,除此之外CAFs还可以分泌H₂O₂来影响细胞外基质,使上皮细胞发生癌变并增加肿瘤细胞的侵袭性。研究显示CAFs或其条件培养基也显著促进了肿瘤耐药性的发展和肿瘤干细胞的增殖。因此,针对CAFs进行治疗不仅可以减慢肿瘤的生长,而且会打破肿瘤病灶扩展转移的恶性循环。

2 肿瘤相关成纤维细胞在肿瘤中发挥作用的机制

2.1 肿瘤相关成纤维细胞与肿瘤细胞

CAFs对肿瘤生长的最主要贡献是其产生的一系列高水平生长因子,包括表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、血小板衍生生长因子- α/β 、血管内皮生长因子等,以及各种细胞因子和趋化因子,包括白细胞介素家族和CCL家族等。这些分泌因子刺激附近表达同源受体的肿瘤细胞的增殖,最终促进肿瘤生长并可能导致血管和淋巴的扩散。

除此之外,CAFs还可引起TME中的代谢重编程,通过营造酸性和缺氧环境促进肿瘤进展。代谢重编程主要由尼克酰胺转甲基酶介导,作为一种表观遗传酶它耗尽腺苷甲硫氨酸,并在肿瘤基质中引起广泛的蛋白质组变化,最终构成的肿瘤促表型。CAFs分泌的细胞因子还可以促进肿瘤细胞糖原分解和糖酵解,最终促进肿瘤生长和转移。同时,肿瘤细胞和CAFs之间的代谢信号传递是双向的,肿瘤细胞的代谢物也可以影响CAFs的行为,如通过施加与伤口愈合过程非常相似的刺激,保持CAFs的活化状态^[2]。

2.2 肿瘤相关成纤维细胞与细胞外基质

研究显示,肿瘤细胞和相邻的基质都具有纤维化特征,

并且与正常组织相比硬度显著增加。同时,肿瘤周围坚硬的基质可以通过整合素依赖的粘附信号促进肿瘤细胞内生存和迁移相关信号通路的激活,其在肿瘤细胞获得耐药性的过程中也起着关键作用。

过量结缔组织的产生和沉积通常被称为纤维化,也可以促进肿瘤的发展。各种细胞外基质成分可以刺激癌细胞的增殖,并且可以通过形成支架给恶性细胞在三维空间中建立立足点,从而抵消肿瘤细胞的失巢凋亡并支持球形生长。此外,进行性纤维化最终导致组织硬化,这会损害血管网络以降低抗癌药物的灌注。研究显示,CAFs限制肿瘤内化疗药物的摄取,如阿霉素和5-氟尿嘧啶。CAFs还可以通过分泌基质金属蛋白酶积极重塑细胞外基质,从而导致基质硬化。此外,CAFs还可以通过非蛋白酶的途径参与基底膜的破裂。因此,CAFs可以为肿瘤转移铺平道路。

2.3 肿瘤相关成纤维细胞与肿瘤干细胞

肿瘤干细胞(Cancer Stem Cells, CSCs)是肿瘤中的一个小型具有自我更新能力的细胞群,与再生和致癌能力有限的已分化癌细胞相比,其具有广泛的增殖潜能,可形成原发性肿瘤和转移性肿瘤。在肿瘤发展过程中,遗传和表观遗传变化导致正常干细胞,甚至已分化的细胞转化为肿瘤干细胞,这些突变的肿瘤干细胞具有促进肿瘤生长、免疫逃避、转移、化疗和放疗抗性的广泛能力,从而导致癌症进展和临床治疗的失败。此外,包括CAFs所产生的刺激在内的TME中的多种细胞因子可以诱导干细胞的增殖和致瘤活性,激活的途径包括WNT/ β -catenin, MEK, Notch, Hedgehog, phosphoinositide 3 kinase (PI3K)/AKT以及转化生长因子(Transforming Growth Factor, TGF- β)^[3]等。

肿瘤细胞和基质细胞之间的相互活化影响了癌症细胞表型,而只有当受到来自癌细胞或微环境中特定的信号通路刺激时,CAFs才能获得维持癌症干性的表型。研究表明,来自乳腺癌细胞BT474和MDA361的培养上清,可以激活CAFs中的信号转导和转录激活因子(Signal Transduction and Transcriptional Activators, STAT3),进而诱导趋化因子CCL2的产生,这对于调节癌细胞的干性至关重要^[4]。

2.4 肿瘤相关成纤维细胞与免疫细胞

作为TME的重要组成部分,CAFs可以通过旁分泌方式分泌各种可溶性细胞因子与其他细胞相互作用。除了CAFs以

外,免疫细胞例如T淋巴细胞,巨噬细胞和自然杀伤(Natural Killer, NK)细胞,在TME中也起着重要的作用。与正常的成纤维细胞相比,CAFs表达高水平的白细胞介素6(Interleukin 6, IL-6),趋化因子配体8(CXCL8),肿瘤坏死因子和血管内皮生长因子并更强烈地抑制免疫细胞增殖。

大量研究表明CAFs和巨噬细胞相互作用会促进癌症的发展,结果显示巨噬细胞在TME的积聚与患者的不良预后相关。研究表明,CAFs驱动癌细胞上皮间质转化,并与具有促瘤作用的M2型巨噬细胞相互作用,以促进恶性肿瘤的发生和进展。在肿瘤组织中的同一区域经常检测到肿瘤相关巨噬细胞和CAFs。CAFs不仅可以通过单核细胞趋化蛋白-1和基质细胞衍生因子-1募集单核细胞,还可以将单核细胞分化为白介素-10表达较高的M2巨噬细胞,从而在乳腺癌中发挥免疫抑制作用。NK细胞在肿瘤免疫中起着重要作用。CAFs抑制NK受体,穿孔素和颗粒酶B的表达,并抑制肿瘤坏死因子- α 和干扰素- γ 的分泌,这表明CAFs对NK细胞的抑制作用可以通过不同方式促进肿瘤生长^[5]。CD8+T细胞通常称为细胞毒性T细胞,在激活后进一步分化并增殖为效应细胞。细胞毒性T淋巴细胞是一种特殊的T细胞,可以杀死带有特殊抗原的病毒和癌细胞,并与NK细胞形成抵抗外界侵害的重要防御线。CAFs通过细胞程序性死亡蛋白配体2和凋亡相关因子配体抑制CD8+T细胞。将CAFs与肠癌细胞共培养可增加调节性T细胞的表达,而降低CD8+T细胞的表达。

3 针对肿瘤相关成纤维细胞的治疗方法

肿瘤的药物化疗长期以来一直通过使用抗增殖药物如细胞毒性或细胞抑制化疗药物。化学疗法具有一定效果但是对健康组织显著毒性,其经常对造血系统和胃肠道产生毒性并造成严重不良反应,这经常导致化疗的中断^[6,7]。化疗的另一个局限性是其不能根除肿瘤内的肿瘤干细胞,其在原发和继发性部位都能持续增殖。因此近年来出现一些同时靶向肿瘤细胞或者单独针对肿瘤相关成纤维细胞及周围基质的治疗方法。根据作用机制的区别,主要可以分为以下几种:

3.1 靶向肿瘤相关成纤维细胞的标志蛋白

α -SMA及FAP是治疗中常用的CAFs生物标志物。然而,研究表明在自发性胰腺癌小鼠模型中, α -SMA+CAFs的选择性耗竭不仅增强肿瘤缺氧、上皮间质转化和CSC表型,而且

增加具有抑制肿瘤免疫功能的Treg细胞的肿瘤浸润,因此靶向 α -SMA+CAFs可能不是癌症治疗的正确策略^[8]。

然后,在多个临床前研究显示,通过不同策略耗尽FAP+CAFs却具有期望抗肿瘤效果。使用小分子二肽基肽酶抑制剂PT100抑制FAP+CAFs可以增强奥沙利铂在小鼠结肠癌模型中的癌症治疗效果,结果表明FAP+CAFs的直接耗竭可导致与化疗耐药性相关的CSCs的减少。此外,FAP的基因敲除或者靶向治疗可以降低胰腺癌小鼠模型以及结肠直肠癌、肺癌和乳腺癌中的肿瘤生长^[9,10]。此外,FAP还可以作为抗原受体T细胞免疫疗法(Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy, CAR-T)疗法的靶标。

3.2 将CAFs重新编程为静止的成纤维细胞

由于完全耗尽CAFs可能会产生不利影响,近些年研究者开始将注意力转移到将CAFs重新编程为静止的成纤维细胞上,以阻止肿瘤的发展并提高其他药物的疗效。全反式维甲酸可以实现对CAFs的重新编程,热休克蛋白47是胶原特异性分子伴侣。用聚乙二醇接枝聚乙烯亚胺包被的载有全反式维甲酸和热休克蛋白47的金纳米颗粒处理活化的胰腺星状细胞,可以诱导其成为静止状态,并且将细胞外基质产生量降低到正常水平。两种药物联合可以逆转促结缔组织增生反应,并在体外和体内均显示出抗肿瘤活性。全反式维甲酸疗法也能增强T细胞的浸润,从而延长自发性胰腺癌小鼠的存活时间^[11]。

CAFs的重编程也可以通过维生素D或钙泊三醇(维生素D的一种合成形式)来实现。与全反式维甲酸相似,其通过刺激维生素D受体来逆转CAFs的活化状态,减少胰腺癌的炎症反应和纤维化^[12]。雷公藤甲素是一种植物来源的二萜环氧化物,其前药Minnelide可以通过减少TGF- β 信号传导,使CAFs进入静止的状态^[13]。这种治疗可以使胰腺肿瘤基质中胶原和透明质酸沉积减少,同时由于肿瘤中间质压力的降低而增加了血管的开放性进而改善药物递送。脂氧素A4(LXA4)是一种与肾和肺的抗纤维化相关的生物活性脂质,能恢复胰腺CAFs的肌纤维母细胞状态而不影响其生存能力。在体外和体内中发现,LXA4可以限制癌细胞和CAFs之间的相互交流,导致癌细胞的生长能力降低^[14]。

Rho相关蛋白激酶(Rho-Associated Protein Kinase, ROCK)是一种调节细胞收缩的GTP酶,通常在胰腺导管癌

中上调。法舒地尔是一种有效的 ROCK 抑制剂,能抑制胰腺导管癌小鼠模型的胰腺星状细胞的激活,并导致细胞外基质中的胶原沉积减少,增加吉西他滨的释放量从而提高小鼠的存活率。小分子抑制剂 AT13148 抑制可以在胰腺导管癌的体外和体内模型中都表现出抗肿瘤作用^[15]。

吡非尼酮是一种抗纤维化药物,它通过抑制 CAFs 增殖和 TGF- β 介导的细胞外基质产生。临床前研究显示,吡非尼酮治疗后,小鼠乳腺癌模型中胶原和透明质酸水平降低^[16]。同时有证据表明,经过吡非尼酮治疗的肺纤维化患者具有更低的患肺癌风险。

3.3 影响肿瘤相关成纤维细胞相关信号通路

肿瘤细胞产生的 IL-6 具有激活 CAFs 中 STAT3 途径的能力,进而诱导 CAFs 分泌基质金属蛋白酶来维持 CAFs 的 CSC 刺激表型。此外,CAF 也具有自分泌 IL-6 的功能。临床前研究显示,用抑制剂阻断 IL-6/IL-6R/STAT3 信号可降低乳腺中肿瘤干细胞的密度。抑制该信号传导的药物也在临床前研究中显示出抗肿瘤功效,其中一些抑制剂正在进行早期临床试验。

在乳腺癌和胃癌中的研究显示,由 TGF- β 和 CXCL12 介导的自分泌信号维持和促进支持癌症干细胞的 CAF 表型。CAF 衍生的 CXCL12 通过与其受体 CXCR4 的结合在癌症进展中发挥作用。临床前研究显示,抗 TGF- β 1 中和抗体或 TGF- β R 抑制剂 (Ki26894) 和 CXCR4 拮抗剂 AMD3100 (plerixafor) 阻断 CXCL12/CXCR4 信号可以显著抑制乳腺癌、结肠癌或肾癌细胞中的肿瘤干细胞群^[17]。

4 展望

肿瘤微环境是一个由多种类型细胞、细胞因子及细胞外基质构成的复杂系统,作为其中的主要组成部分,肿瘤相关成纤维细胞通过促进血管生成、肿瘤生长转移、肿瘤免疫逃逸等途径促进肿瘤进展。因此,针对成纤维细胞的肿瘤治疗策略显得尤为重要。其具有许多优势:由于不同肿瘤类型中基质结构模式较为保守,具有广泛的适用性;由于靶细胞的基因组完整性,产生耐药性较少。并且靶向 CAFs 治疗能够与已经建立的免疫治疗相协同作用,如免疫检查点抑制剂, CAR-T 疗法等。

但是实体肿瘤中 CAFs 存在一定异质性,在临床治疗时

应在时间和空间上对 CAFs 的特性和功能进行精确描述。扩大对 CAF 异质性的认识将有助于开发更个性化的癌症治疗方法,其中基因突变状态和间质特征可用来对患者进行更有效的分级。未来应该将更多的研究经历放在证实 CAFs 的前体细胞,以及这些前体的身份是否能够决定激活时的表型、功能和药物靶向性。

参考文献

- [1] Paget, S., The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. 1989.
- [2] Collier, H.A.J.T.i.C.B., Fibroblasts Prompt Tumors to Mobilize Their Glycogen Reserves. 2019.
- [3] Xu, L.J.F.i.B., Cancer stem cell in the progression and therapy of pancreatic cancer. 2013. 18(3): p. 795–802.
- [4] Tsuyada, A., et al., CCL2 Mediates Cross-talk between Cancer Cells and Stromal Fibroblasts That Regulates Breast Cancer Stem Cells. 2012. 72(11): p. 2768–2779.
- [5] Li, T., et al., Colorectal carcinoma-derived fibroblasts modulate natural killer cell phenotype and antitumor cytotoxicity. 30(3): p. 663.
- [6] Cairo, M.S.J.O., Dose reductions and delays: limitations of myelosuppressive chemotherapy. 2000. 14(9 Suppl 8): p. 21–31.
- [7] Mitchell, E.P., Gastrointestinal toxicity of chemotherapeutic agents. 2006. 33(1): p. 106–120.
- [8] Ozdemir, B.C., et al., Depletion of Carcinoma-Associated Fibroblasts and Fibrosis Induces Immunosuppression and Accelerates Pancreas Cancer with Reduced Survival. *Cancer Cell*, 2015. 28(6): p. 831–833.
- [9] Glentis, A., et al., Cancer-associated fibroblasts induce metalloprotease-independent cancer cell invasion of the basement membrane. 2017. 8(924): p. 924.
- [10] Welt, S., et al., Antibody targeting in metastatic colon cancer: a phase I study of monoclonal antibody F19 against a cell-surface protein of reactive tumor stromal fibroblasts. 12(6): p. 1193–1203.
- [11] Ene-Obong, A., et al., Activated Pancreatic Stellate Cells Sequester CD8+ T Cells to Reduce Their Infiltration of the Juxtatumoral Compartment of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. 145(5): p. 1121–1132.
- [12] Sherman, M., et al., Vitamin D Receptor-Mediated Stromal Reprogramming Suppresses Pancreatitis and Enhances Pancreatic

- Cancer Therapy. *Cell*, 2014. 159(1): p. 80–93.
- [13] Dauer, P., et al., Inactivation of Cancer–Associated–Fibroblasts Disrupts Oncogenic Signaling in Pancreatic Cancer Cells and Promotes Its Regression. *Cancer Res*, 2018. 78(5): p. 1321–1333.
- [14] Schnittert, J., et al., Reprogramming tumor stroma using an endogenous lipid lipoxin A4 to treat pancreatic cancer. 420: p. 247–258.
- [15] Rath, N., et al., Rho Kinase Inhibition by AT13148 Blocks Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Invasion and Tumor Growth. *pancreas*.1339,2017.
- [16] Polydorou, C., et al., Pirfenidone normalizes the tumor microenvironment to improve chemotherapy. *Oncotarget*, 2017. 8(15): p. 24506–24517.
- [17] Xiao, W., et al., Notch signaling plays a crucial role in cancer stem–like cells maintaining stemness and mediating chemotaxis in renal cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017. 36(1): p. 41.