

从细胞因子角度看肿瘤微环境对免疫细胞及肿瘤细胞的影响

王 珊¹, 郑金华², 孟 琰¹, 孙长生¹, 王 鑫¹, 苏艳国¹, 赵尔杨¹

(1. 哈尔滨医科大学第一临床医学院, 口腔医学院, 口腔病理教研室, 黑龙江 哈尔滨 150001;

2. 哈尔滨医科大学基础医学院解剖教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘 要:近年来,肿瘤微环境对肿瘤细胞影响的研究逐渐深入,肿瘤微环境可以通过多种途径影响肿瘤细胞的变化,此变化过程与细胞因子密切相关。细胞因子来自肿瘤微环境中的免疫细胞和肿瘤细胞,在体内通过多种方式参与肿瘤的演进转归过程,发挥协同或拮抗效应。尽管它们自身并不具备明确的抗癌或者抑瘤能力,但却是肿瘤微环境与肿瘤细胞信息交换的桥梁。因此针对细胞因子的合理引导可能是抗肿瘤免疫治疗的重要环节。文章就细胞因子影响微环境中免疫细胞变化以及加强肿瘤细胞遗传不稳定性并破坏肿瘤细胞 DNA 的机制进行综述。

主题词:免疫细胞;肿瘤细胞;肿瘤微环境;细胞因子

中图分类号:R730 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2015)03-0237-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2015.03.B015

Impact of Tumor Microenvironment on Immune Cells and Cancer Cells from Cytokines Perspective

WANG Shan¹, ZHENG Jin-hua², MENG Yan¹, et al.

(1. Department of Oral Pathology, Stomatological Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150001, China; 2. Department of Anatomy, Basic Medical Science College, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: The research on the impact of the tumor microenvironment on the tumor cells has been gradually deepened recently. The microenvironment can influence the cancer cells through various ways, which is associated with variation of cytokines. Cytokines are secreted from cancer cells or immune cells in the tumor microenvironment and take part in the development of tumor through various ways with the mechanisms of synergism and antagonism. Although cytokines do not exert remarkably anti-cancer effect in the tumor progression, they are recognized as a link between cancer cells and tumor microenvironment. A rational neutralization or modulation in the cytokines of tumor may be important in anti-tumor immunotherapy. This review will focus on the mechanisms of cytokines affect the immune cells in the tumor environment and enhance genomic instability of cancer cells and DNA damage associated with cytokines.

Subject words: immune cells; cancer cells; tumor microenvironment; cytokines

1 细胞因子概述

细胞因子是免疫原、丝裂原或其他刺激剂诱导多种细胞产生的低分子量可溶性蛋白质,具有调节血细胞生成、细胞生长以及损伤组织修复等多种功能。细胞因子可被分为白细胞介素、干扰素、肿瘤坏

死因子超家族、集落刺激因子、趋化因子、生长因子等。众多细胞因子在体内通过旁分泌、自分泌或内分泌等方式发挥作用,具有多效性、重叠性、拮抗性、协同性等多种生理特性,形成了十分复杂的细胞因子调节网络,参与人体多种重要的生理病理变化。

肿瘤微环境是一个复杂的综合系统,它由许多的基质细胞组成,包括免疫细胞、脂肪细胞、成纤维细胞基质细胞、平滑肌细胞以及充斥于其中起到肿瘤细胞与微环境相互信息传递的细胞因子^[1]。目前

通讯作者:赵尔杨,主任,副所长,教授,硕士生导师,硕士;哈尔滨医科大学口腔医学院口腔组织病理教研室,黑龙江省哈尔滨市邮政街 23 号(150001); E-mail: luckymy999@aliyun.com
收稿日期:2014-01-03; **修回日期:**2014-03-14

的研究显示许多恶性肿瘤的肿瘤微环境中都伴有慢性的炎症反应过程,作为参与炎症反应的重要组成部分,细胞因子和肿瘤微环境中的免疫细胞在肿瘤的演进过程中发挥着重要作用。本文将从细胞因子角度阐释其对肿瘤微环境的免疫细胞及肿瘤细胞自身基因不稳定性的影响。

2 细胞因子对肿瘤微环境中的免疫细胞影响

肿瘤微环境因多数长期与慢性炎症相伴,受肿瘤微环境影响的主要为巨噬细胞、树突状细胞、T淋巴细胞。肿瘤微环境中的免疫细胞和肿瘤细胞是细胞因子的主要来源,这种现象存在于许多人体恶性肿瘤中^[2,3]。这些细胞因子不仅作为免疫细胞的产物,也作为肿瘤与免疫细胞之间的信息载体影响着肿瘤免疫细胞的自身特性的变化。

2.1 肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAMs)

TAMs 是肿瘤组织主要的浸润细胞,主要特征是它的异质性与可塑性。TAM 来源于血管中的单核细胞,在趋化因子的作用下被募集到肿瘤组织周围。它们在微环境各种细胞因子的作用下呈现连续变化的功能状态。Mantvani 等^[4]根据巨噬细胞极化时表型分子的表达规律将 TAM 分为两型 M1 型与 M2 型。M1 细胞的表型特点是高表达 IL-12、IL-23,低表达 IL-10 等,大量产生活性氧、氮氧中间介质和炎症细胞因子包括 IL-1、IL-6、TNF- α 。M1 细胞作为诱导和效应细胞参与极化的 Th1 反应,参与抗肿瘤免疫的发生。M2 型巨噬细胞主要特点为低表达 IL-12、IL-23,高表达 IL-10。M1 型巨噬细胞可以产生大量的前炎症性因子并具有杀伤微生物和肿瘤细胞能力。相比较而言,M2 型细胞则调节炎症反应和 TH2 的适应性免疫,排除碎屑和促进血管生成,组织重塑与修复^[4]。

在 M1 型巨噬细胞与 M2 型巨噬细胞的动态变化中,细胞因子起着重要作用。IFN- γ 是参与 M1 型巨噬细胞激活的重要因子,而抗炎因子 IL-4、IL-13 和 IL-10 则参与到 M2 型巨噬细胞的诱导。这些细胞因子之间是存在拮抗作用的。例如 IFN- γ 诱导趋化因子 CXCL10 和 CXCL9 的能力可被 IL-4 和

IL-10 抑制^[5,6]。而 IFN- γ 又能选择性地抑制 IL-10 诱导的 CCL24、CCL18 和 CCL22 的作用^[7,8]。而这些趋化因子的变化是影响 T 细胞激活的关键因素。CXCL10 和 CXCL9 参与吸引 Th1 细胞而 CCL22 则参与 Th2 细胞与调节性 T 细胞的激活。

炎症环境对于 TAMs 影响可能潜移默化而又又是决定性的。Mohamed 等^[9]发现炎症性乳腺癌的环境中巨噬细胞数量明显多于非炎症性乳腺癌,并伴有 TNF- α 、单核趋化因子蛋白-1/CC 趋化因子配体 2 及 IL-8 和 IL10 的大量分泌。这些细胞因子的出现显著地增加了炎症性乳腺癌的侵袭性。

2.2 肿瘤相关树突状细胞(tumor associated dendritic cell)

树突状细胞(dendritic cell, DC)在激活肿瘤特异性免疫和维持免疫耐受方面起重要作用,是连接固有免疫与获得性免疫的桥梁。研究发现,肿瘤存在树突状细胞的浸润。这种细胞通常表现为不成熟表型,无法激活 T 淋巴细胞。而细胞因子是导致此种不成熟状态出现的始作俑者。多数肿瘤都会产生 IL-10、IL-6、TGF- β 和 M-CSF,这些细胞因子能够抑制 DC 向成熟状态分化^[10,11]。黑色素来源的 IL-10 可通过产生免疫耐受诱导肿瘤特异性无应答。如果阻断 IL-10 与 CpG 寡核苷酸结合能够逆转 DC 功能麻木的状态并激活 T 淋巴细胞实现抗肿瘤反应的发生^[12]。更为重要的是,不成熟的单核细胞来源的 DC 和巨噬细胞具有极大的可塑性,在分化成熟之前,细胞之间具备相互转化的可能。因此细胞因子所营造的环境以及相应的刺激信号是 DC 或者 TAM 前体细胞获得 DC 或巨噬细胞特征和功能的决定性因素。如 IL-6 介导加强向巨噬细胞分化趋势, TNF- α 介导加强 DC 的发育。乳腺癌细胞分泌的 IL-6、IL-10 则会促进向 TAM 转化而不是 DC^[10]。

Lindenberg 等^[13]发现,IL-10 作为一个明确的肿瘤相关性的免疫抑制细胞因子,能够诱导非成熟型的树突细胞亚型的迁移并伴有低水平的协同刺激分子出现,并能够上调 PD-L1 的表达和 M2 肿瘤相关性巨噬细胞细胞的表达。值得关注的是成熟 DC 亚型的迁移与 IL-12p70 释放相关,这也会刺激有效的 Th1 细胞与 CD8⁺T 细胞的增殖和功能的延展。而 IL-10 的高表达则利于调节性 T 细胞的增殖。因此 IL-10 能够显著地影响皮肤的 DC 亚型的变化,并支持

非成熟型 DC 的功能和 T 细胞耐受的发生^[13]。

2.3 淋巴细胞

肿瘤浸润的淋巴细胞主要为 T 细胞亚群具有记忆细胞表型。其中受细胞因子影响较大,且会发生较大的功能波动的为 CD4⁺T 细胞。CD4⁺辅助性 T 细胞具有多种亚型,能够分泌多种细胞因子参与肿瘤的演进。例如调节性 T 细胞(Tregs)是 Th 细胞的抑制亚型,它能够抑制 CD8⁺T 细胞的细胞毒杀伤能力。尽管 Th1 细胞的存在是利于抗肿瘤免疫的发生的,但有研究显示 IFN- γ 能够促进程序性死亡配体 PDL-1 的表达,这会阻断细胞毒性 T 细胞的激活信号。并且 IFN- γ 的选择压使得肿瘤细胞实现克隆选择优化而利于肿瘤的生存与发展^[14],而 Th17 细胞在细胞因子的影响下更会表现出两面性。一方面 Th17 细胞能够合成 IFN- γ 从而诱导肿瘤细胞分泌 CXCL9 和 CXCL10 募集杀伤性 T 细胞^[15]。另一方面促进肿瘤血管的新生。上述的介绍中发现,T 细胞的亚群的变化与固有免疫中的诸多细胞成分和细胞因子的变化息息相关。作为肿瘤适应性免疫的代表,如何发挥 CD8⁺T 细胞的杀伤能力和免疫记忆能力是肿瘤个性化治疗的重要环节。无论是以放化疗为主的传统治疗方式还是一些靶向肿瘤生物学治疗药物都面临着肿瘤耐药性的挑战。深入研究细胞因子调节下的 CD8⁺T 细胞快速识别肿瘤细胞与对肿瘤细胞免疫记忆是临床治疗肿瘤与降低肿瘤复发率的有力手段。

3 细胞因子对肿瘤细胞遗传不稳定性的影响

细胞因子能够调节细胞的生长信号通路和生长压力,这种特性影响到肿瘤细胞自身的,尤其是肿瘤细胞自身的不稳定性。研究显示肿瘤的基因不稳定性是肿瘤进化过程中的重要特征^[16,17]。肿瘤细胞的基因不稳定性包括染色体的不稳定即染色体的结构和数量出现改变(chromosomal instability,CIN)和由于 DNA 的错配修复基因异常导致的微卫星不稳定现象(microsatellite instability,MIN or MSI)^[18]。基因不稳定现象出现在癌症发展的早期阶段甚至早在癌症细胞出现前^[18]。CIN 在人类癌症中较 MIN 更为普遍,因为癌基因引导的 DNA 损伤模型中即 DNA 双

链损伤(double-strand breaks,DSBs)早在癌前病变和癌症中就都有出现^[20]。

事实上细胞因子对肿瘤细胞遗传不稳定性的影响主要是通过上调生长信号通路实现的。在真核生物中,上调生长信号途径后能够影响细胞的进程,主要表现为可以引起氧化性 DNA 的损伤和 DNA 复制压力的改变^[21]。一些细胞因子具有生长因子的活力,它们包括 EGF、PDGF、FGF、TGF- α 、TGF- β 、IGF-1、IGF-2、IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、TNF- α 、TNF- β 、INF- γ 和 colony stimulating factors (CSFs)。在慢性炎症的背景下,炎症与癌症基因的演进能够通过促进生长的细胞因子得以传递。通过腺病毒转染细胞因子进入人皮肤移植瘤可以引起普通型脆性位点的等位基因失衡,这说明复制压力的改变能够引起 DNA 双链损伤,并且这个过程是由细胞因子参与的^[19]。事实上,细胞因子的长期异常变化加强了复制压力的改变和接下来可能产生的 DSBs。另有研究证实:IGF-1 或 IGF-2 加入与博来霉素共孵育的外周血淋巴细胞后能够加强 p53 的表达,增加染色的畸变能力。以上研究说明细胞因子可能通过影响 DNA 的复制压力诱导 DNA 的发生损伤,导致肿瘤遗传不稳定性加剧^[20-22]。

4 细胞因子参与氧氮自由基的产生对肿瘤细胞的影响

反应性氧与氮 (reactive Oxygen and Nitrogen species,RONS)是氧气和氮气的自由基产物。RONS 在炎症的刺激下可由免疫细胞释放,吞噬细胞可以直接释放,非吞噬细胞可在细胞因子的引导下释放。IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 能引导非吞噬细胞中产生活性氧(reactive Oxygen species,ROS)^[23]。IFN- γ 、TNF- α 和 IL-1 β 在结肠上皮细胞中诱导 NOX1 促进 ROS 的产生^[24,25],IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 等前炎症细胞因子刺激 iNOS 的产生,它可以促进巨噬细胞表达并利于 NO 和 RONS 的产生^[26,27]。总之无论是前炎症因子或者是抗炎因子都有利于 RONS 的产生,那么细胞因子,自由基诱导的压力与癌症的形成之间又是何种关系呢?

细胞因子参与诱导的 ROS 产生可以通过直接与间接两个途径来诱导肿瘤形成^[26]。直接效应包括 DNA 双链的损伤导致癌基因变异以及抑癌基因的

失活和基因不稳定性的出现^[22,24,28]。大量的氧自由基能够直接引起 DNA 破碎同时也能引起嘌呤、嘧啶和脱氧核糖的直接损伤。此外,通过 ROS 调节的信号通路可被激活,自由基在炎症性细胞因子的刺激下可以间接地促进肿瘤的形成。氧化应激效应能够激活转录因子 NF- κ B,此因子表现出明确的促肿瘤形成作用。值得注意的是只有低水平的 ROS 才可以引起 NF- κ B 的表达,因为一定水平 H₂O₂ 能够降解 I κ -B α 亚型,而高水平的氧化应激作用却能够抑制 NF- κ B 的表达^[29,30]。这恰恰说明慢性的炎症环境是肿瘤生长的温床。另有研究显示:前炎症因子 TNF 和 IL-1 与 ROS 联合作用也可激活 NF- κ B^[23]。Leibovich-Rivkin 等^[31]发现 TNF- α 与 IL-1 β 能够诱导非转化乳腺癌上皮的播散和重新种植,这与乳腺癌的复发具有密切关系。这说明在癌症的发生、发展与演进过程中细胞因子的作用是贯穿始终的。可能在不同的发展阶段表现不同的生理病理学作用。

细胞因子参与影响免疫细胞与肿瘤细胞之间的多重病理变化,细胞因子不仅可以由免疫细胞产生也可以由肿瘤细胞产生,它们本身参与自由基的产生,从而影响 NF- κ B 的激活,NF- κ B 激活后又会进一步加强肿瘤细胞的变异能力及遗传不稳定性。而发生变化后的肿瘤细胞又进一步影响细胞因子和免疫细胞的变化。此过程形成一个正反馈的循环。此外,氧化应激压力又能够通过降低酶的活性和 DNA 错配修复基因的表达式来加强微卫星不稳定性^[22,32]。例如氧化应激压力可使错配修复基因为 homologs 2 和 6 发生变异。自由基还能加强 DNA 甲基转移酶类的过度表达来实现 hMLH1 的超甲基化,从而沉默 DNA 错修复基因。

5 总 结

从时间和空角度讲,细胞因子具有从抵抗肿瘤发展到促进肿瘤的演进的多向性行为特征。从其对于肿瘤微环境中的免疫细胞的影响到肿瘤细胞自身的影响中,我们可以发现慢性炎症特征是其促进癌症演进的关键因素。慢性炎症过程中,细胞因子的数量和比例均会发生改变。而此种改变则会在慢性炎症环境中形成细胞因子、自由基和肿瘤细胞三者相关的正向反馈环加速肿瘤发展进程,而对细胞因子的

合理性中和或者引导则可成为抗肿瘤免疫治疗的新切入点。

参考文献:

- [1] Sung SY, Hsieh CL, Wu D, et al. Tumor microenvironment promotes cancer progression, metastasis, and therapeutic resistance [J]. *Curr Probl Cancer*, 2007, 31(2): 36-100.
- [2] Chung HW, Lim JB. Role of the tumor microenvironment in the pathogenesis of gastric carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(7): 1667-1680.
- [3] Chawla A, Alatrash G, Wu Y, et al. Immune aspects of the breast tumor microenvironment [J]. *Breast Cancer Manag*, 2013, 2(3): 231-244.
- [4] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, et al. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11): 549-555.
- [5] Mantovani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs [J]. *Immunol Today*, 1999, 20(6): 254-257.
- [6] Watanabe K, Jose PJ, Rankin SM. Eotaxin-2 generation is differentially regulated by lipopolysaccharide and IL-4 in monocytes and macrophages [J]. *J Immunol*, 2002, 168(4): 1911-1918.
- [7] Bonecchi R, Sozzani S, Stine JT, et al. Divergent effects of interleukin-4 and interferon-gamma on macrophage-derived chemokine production: an amplification circuit of polarized T helper 2 responses [J]. *Blood*, 1998, 92(8): 2668-2671.
- [8] Kodolija V, Müller C, Politz O, et al. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern [J]. *J Immunol*, 1998, 160(3): 1411-1418.
- [9] Mohamed MM, El-Ghonaimy EA, Nouh MA, et al. Cytokines secreted by macrophages isolated from tumor microenvironment of inflammatory breast cancer patients possess chemotactic properties [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 46: 138-147.
- [10] Allavena P, Sica A, Vecchi A, et al. The chemokine receptor switch paradigm and dendritic cell migration: its significance in tumor tissues [J]. *Immunol Rev*, 2000, 177: 141-149.
- [11] Menetrier-Caux C, Montmain G, Dieu MC, et al. Inhibition of the differentiation of dendritic cells from CD34 (+) progenitors by tumor cells: role of interleukin-6 and macrophage

- colony-stimulating factor [J]. *Blood*, 1998, 92 (12): 4778–4791.
- [12] Vicari AP, Chiodoni C, Vaure C, et al. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody[J]. *J Exp Med*, 2002, 196(4): 541–549.
- [13] Lindenberg JJ, Oosterhoff D, Sombroek CC, et al. IL-10 conditioning of human skin affects the distribution of migratory dendritic cell subsets and functional T cell differentiation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70237.
- [14] Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting[J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 400–404.
- [15] Wei S, Zhao E, Kryczek I, et al. Th17 cells have stem cell-like features and promote long-term immunity[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(4): 516–519.
- [16] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646–674.
- [17] Aivaliotis IL, Pateras IS, Papaioannou M, et al. How do cytokines trigger genomic instability? [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 536761.
- [18] Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD. Genomic instability—an evolving hallmark of cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(3): 220–228.
- [19] Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P, et al. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions [J]. *Nature*, 2005, 434 (7035): 907–913.
- [20] Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development [J]. *Science*, 2008, 319(5868): 1352–1355.
- [21] Burhans WC, Weinberger M. DNA replication stress, genome instability and aging [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(22): 7545–7556.
- [22] Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(1): 37–49.
- [23] Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(4): 276–285.
- [24] Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer [J]. *Chem Biol Interact*, 2006, 160(1): 1–40.
- [25] Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases [J]. *J Clin Periodontol*, 1997, 24(5): 287–296.
- [26] Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(11): 1603–1616.
- [27] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1): 44–84.
- [28] Visconti R, Grieco D. New insights on oxidative stress in cancer [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009, 12 (2): 240–245.
- [29] Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(11): 1493–1505.
- [30] Drüge W. Free radicals in the physiological control of cell function [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82(1): 47–95.
- [31] Leibovich-Rivkin T, Liubomirski Y, Bernstein B, et al. Inflammatory factors of the tumor microenvironment induce plasticity in nontransformed breast epithelial cells: EMT, invasion, and collapse of normally organized breast textures [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(12): 1330–1346.
- [32] Balkwill FR. The chemokine system and cancer [J]. *J Pathol*, 2012, 226(2): 148–157.