

癌相关成纤维细胞在肿瘤疗效预测和预后判断中的应用价值

李莹歌,宋启斌,姚 颐,董 熠

(武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北 武汉 430060)

摘 要:癌相关成纤维细胞(CAF)是肿瘤微环境中重要的细胞成分,不仅为肿瘤的发生、发展提供条件,还帮助癌细胞侵袭、转移、形成耐药性和产生放射抗性等,因此有人提出 CAF 可作为抗肿瘤治疗的新靶标。研究发现,CAF 及其相关蛋白和基因检测指标,还可作为恶性肿瘤药物疗效预测以及患者预后判断的重要参考。全文就癌相关成纤维细胞在肿瘤疗效预测和预后判断中的应用价值作一综述。

主题词:癌相关成纤维细胞;标记物;基因;肿瘤间质;预测;预后

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2017)03-0233-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2017.03.B015

Cancer Associated Fibroblast and its Application in Therapeutic Effect Evaluation and Prognosis in Malignant Tumor

LI Ying-ge, SONG Qi-bin, YAO Yi, et al.

(Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Cancer associated fibroblast (CAF), as an important cell component in tumor microenvironment, is involved in cancer generation, progression, invasion and metastasis of malignant tumors, it also enhance the resistance of cancer cells to the chemotherapy and radiotherapy. Therefore, CAF might be used as a new target in the tumor therapy. Recent studies show that CAF and CAF-related proteins and genes can be used as biomarkers for therapeutic effect evaluation and prognosis of malignant tumor. In this article we discuss cancer-related CAF and its potential application in clinical management of malignant tumor.

Subject words: cancer associated fibroblast; biomarker; gene; tumor stroma; prediction; prognosis

肿瘤微环境为肿瘤的生长、发育和转移提供了条件。癌相关成纤维细胞(cancer associated fibroblast, CAF)是肿瘤微环境中重要的细胞成分,来源广泛,是癌细胞执行多种恶性生物学行为的帮凶^[1]。近年来,人们不仅深入探索了 CAF 促恶性行为的分子机制,更发现了 CAF 及其相关指标在肿瘤药物疗效预测及预后判断中的应用前景。全文就 CAF 及其相关指标在肿瘤药物疗效预测与预后判断中的作用作一综述。

基金项目:国家自然科学基金(81372407)

通讯作者:宋启斌,主任医师,博士;武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北省武汉市武昌张之洞路 99 号(430060);E-mail: qibinsong@163.com;

姚颐,副主任医师,博士;武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北省武汉市武昌张之洞路 99 号(430060);E-mail: yiyawhu@qq.com

收稿日期:2016-11-08; **修回日期:**2017-01-06

1 癌相关成纤维细胞概述

癌相关成纤维细胞(CAF)又称瘤旁成纤维细胞、肿瘤相关间充质细胞,是存在于肿瘤间质中活化的成纤维细胞。该类细胞形态相似,但功能多样,具有异质性,主要来源分化为正常的成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞、骨髓干细胞以及脂肪干细胞。光镜下,CAF 胞体呈大小不均的纺锤形,胞质突触少,富含应力纤维,排列无方向性,癌细胞镶嵌在由 CAF、血管壁细胞、免疫细胞以及细胞外基质所构成的网络中^[2]。电镜下,CAF 与肌成纤维细胞相似^[3,4]:①细胞核长而不规则,呈卵圆形,表面有切迹;胞质中含丰富而扩张的粗面内质网、聚集成束的肌动蛋白微丝;细胞膜内表面含由超成熟粘着斑组成的纤维连接复合

体,介导细胞与胞外基质间联系;胞外基质中有肌动蛋白微丝沉积;②免疫电镜可见胞内近细胞膜处微丝中表达较多 α -SMA,胞外表达较多纤维连接蛋白;③细胞间粘附连接多见。

CAF 表达的生物标记物主要有: α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein,FAP)、波形蛋白、podoplanin 蛋白、成纤维细胞特异性蛋白(fibroblast specific protein,FSP)-1、纤连蛋白等,其中 α -SMA、FAP 和波形蛋白应用较为广泛^[5]。现已证实,CAF 在促进肿瘤的增殖、侵袭、转移、放射抵抗、血管生成、耐药性产生^[6-8]和免疫逃逸等过程中都有重要作用^[9],故近年来作为抗癌治疗的新靶点而受到广泛关注^[10,11]。

2 CAF 在肿瘤药物疗效预测中的作用

临床上,肿瘤疗效出现个体差异十分常见,在治疗前即对抗癌药物疗效作出预测,是精准医学追求的目标。研究显示了 CAF 及其相关指标在这方面的应用价值。

2.1 CAF 在乳腺癌疗效预测中的研究

众所周知,乳腺癌组织中雌激素、孕激素受体的表达,是预测非固醇类抗雌激素药物(如他莫昔芬)疗效的重要指标。而 Bush 等^[12]的研究则发现,尽管绝经前乳腺癌患者瘤体中雌激素受体表达阳性,若 CAF 表面磷酸化的胞外信号调节激酶(p-ERK)表达过低,则仍预示着他莫昔芬的疗效欠佳。同时还发现 CAF 标志物 α -SMA 的表达虽与患者预后相关,但对他莫昔芬的疗效预测意义不大。

2.2 CAF 在肺癌疗效预测中的研究

EGFR-TKI 被誉为人类抗癌斗争史上的里程碑,然而目前关于肿瘤(尤其是肺癌)对 TKI 耐药机制的研究仍存在着巨大挑战。Yoshida 等^[13]探索了阳性表达 podoplanin 分子的 CAF($podoplanin^{+}$ CAF)与 EGFR 基因突变肺腺癌患者对 TKI 原发耐药之间的关系。他们发现将 EGFR-TKI 敏感的肺腺癌细胞同 $podoplanin^{+}$ CAF 共培养后,癌细胞逐渐出现 TKI 耐药。而抑制 CAF 的 podoplanin 表达后,共培养的癌细胞的耐药性随之消失。临床数据也显示,对比手术标本中 $podoplanin^{+}$ CAF 表达与无表达者,总的 TKI 敏感率分别

为 53% 和 83%。因此提出,EGFR 突变的肺腺癌中的 $podoplanin^{+}$ CAF 可用于预测 TKI 的疗效。Koriyama 等^[14]则分析了 $podoplanin^{+}$ CAF 与肺腺癌术后复发患者接受以铂类为基础的化疗后 PFS 之间的关系。结果发现与对照组($podoplanin^{-}$ CAF)相比, $podoplanin^{+}$ CAF 患者的 PFS 明显缩短(7.8 月 vs 5.1 月, $P=0.028$)。综上,瘤体高表达 $podoplanin^{+}$ CAF 不仅预测 EGFR-TKI 的疗效不良,还预测了以铂类为基础的化疗疗效同样不佳。

2.3 CAF 在胰腺癌疗效预测中的研究

一项随机三期临床研究(CONKO-001)前瞻性的观察了 162 例胰腺癌患者瘤体中 α -SMA 表达、肿瘤间质密度与术后吉西他滨化疗疗效之间的关系,结果提示瘤体中肿瘤间质密度高的患者比间质密度中、低患者拥有更长的无病生存期(DFS)(29.0 月 vs 8.5 月 vs 12.8 月, $P=0.001$)和 OS(46.0 月 vs 18.5 月 vs 28.0 月, $P=0.001$);而 α -SMA 的表达水平则与 DFS 和总生存(OS)似乎并没有相关性^[15]。

3 CAF 与肿瘤预后的相关性

近年来有研究发现,某些与 CAF 相关的指标在肿瘤患者的预后判断中具有潜在的应用价值,包括 CAF 标记物、CAF 相关基因和肿瘤间质含量等。

3.1 CAF 标记物与肿瘤预后

CAF 标记物与肿瘤的预后关系密切,目前研究主要集中在食管癌、肺癌、结肠癌、胰腺癌和口腔癌等。

3.1.1 食管癌

Ha 等^[16]选择了 FAP、 α -SMA、FSP1、PDGFR α 和 PDGFR β 5 种标记物,并分析了他们的表达与食管癌患者预后的关系。结果发现,上述标记物在邻近肿瘤细胞的间质中均有高表达,而且各标记物在不同样本中的表达规律各异。结合临床随访资料显示,低分化癌组织中 CAF 标记物表达水平较高,其中 α -SMA、FSP1 和 PDGFR α 较适宜作为食管癌预后不良的指标。

3.1.2 结直肠癌

Herrera 等^[17]探讨了 α -SMA、FSP1 及 FAP 与结肠癌患者预后之间的关系。同时,他们还纳入了另一种重要的“促恶性”细胞——M2 巨噬细胞的标记物 CD163。结果显示,CD163、 α -SMA、FSP1 及 FAP 的

表达越高,结肠癌患者的 OS 和 DFS 越短。而共表达分析发现,同时有较高的 CAF 和 M2 标记物的表达提示结肠癌患者预后不良。

CAF 的另一标记物 FAP 也被发现与结直肠癌预后相关。Wikberg 等^[18]将 449 例手术标本进行了 FAP 标记染色,并对其在肿瘤中央和边缘的分布进行了评分。结果表明肿瘤中央 FAP 的高表达与预后不良明显相关。深入研究发现,肿瘤中央的 FAP 表达多见于微卫星不稳定(MSI)阳性和高 CpG 岛甲基化表型(CIMP)的瘤体,并证实 FAP 可作为独立的预后指标。

3.1.3 肺 癌

Ito 等^[19]研究了 podoplanin+CAF 与肺癌手术患者预后的关系,结果显示 I 期肺腺癌患者中,podoplanin+CAF 者与 podoplanin-CAF 者的 5 年无复发生存率分别为 71.5%和 94.4%($P<0.001$)。多因素分析发现,podoplanin+CAF、脏层胸膜侵犯、肿瘤内血管侵犯可作为独立危险因素判断预后,其中 podoplanin+CAF 拥有最高危险比,可作为 I 期肺腺癌预后判断最重要的指标。Ono 等^[20]则研究了 podoplanin 与肺鳞癌患者预后的关系。他们选取了 104 例 I 期肺鳞癌患者,分别采用 E-钙黏蛋白和 podoplanin 为癌细胞和 CAF 的标志物,结果发现 E-钙黏蛋白低表达或 podoplanin 高表达的患者预后均较差,而这两种情况兼具者预后更差。因此提出该指标可作为患者总生存期的独立预后因子。

3.1.4 胰腺癌

Shindo 等^[21]研究了 podoplanin 在胰腺癌患者预后判断中的应用价值。该小组检测了 105 例胰腺浸润性导管癌手术标本中 podoplanin 的水平,发现肿瘤间质中 podoplanin 的表达与肿瘤的淋巴管侵犯、血管侵犯、肿瘤直径、组织学分级、UICC 的 T 分期以及生存时间等明显相关。在体外共培养实验中,发现胰腺癌细胞株(PANC-1、SUIT-2)的迁移和侵袭能力与 CAF 的 podoplanin 表达呈正相关。以此提出,podoplanin+CAF 也可作为胰腺癌患者预后判断不良的指标。

3.1.5 口腔癌

Marsh 等^[22]回顾性分析了肿瘤间质 α -SMA 的表达与口腔癌患者预后的关系。结果发现, α -SMA 水平比癌细胞本身更适合作为独立的危险因子;其

中间质 α -SMA 中、高表达者与低表达者相比,疾病风险高出 2~3 倍。单因素分析提示,高表达组中位生存时间(MST)为 22 个月,中表达组为 93 个月,而低表达组则更长,因而证实了 α -SMA 对口腔癌患者预后判断的价值。后续研究还发现,该预后判断价值不受肿瘤分期、侵袭范围和是否转移的影响。

另一项关于口腔鳞癌的研究也是通过标记 CAF 上的 α -SMA 分子,再按切片染色强度(即 CAF 含量)分为 0~3 级,结果发现评分为 2 级的组织中 CD163⁺巨噬细胞数量(与患者预后不良相关)明显高于 0/1 级者,而评分为 3 级者与 2 级者则无差异^[23]。

3.2 CAF 相关基因与肿瘤预后

肿瘤的发生、发展与基因变异密切相关,其基因信息不仅来自癌细胞,还来自毗邻的基质细胞,所以 CAF 相关的基因信息在多种肿瘤的预后判断中也极具应用前景^[24],以下重点介绍在结肠癌和乳腺癌中的应用。

3.2.1 结直肠癌

研究表明,CAF 相关基因的表达与结肠癌复发存在线性关系^[25]。Jasen 等^[26]将结肠癌患者按基因表达情况分为 CCS1(染色体不稳定)、CCS2(微卫星不稳定)和 CCS3(微卫星稳定,含有较多 CpG 甲基化岛)三组。结果发现 CCS3 组患者有关基质重建及上皮-间质转化的基因显著上调,其 DFS 明显较 CCS1、CCS2 组短,预后极差。Isella 等^[27]根据基因组学研究结果推测,肿瘤组织中的 stem/serrated/mesenchymal 转录复合体(简称 SSM)可能与结直肠癌预后不良有关。随后通过动物实验证实 SSM 主要由基质中 CAF 细胞表达;而来自临床的数据也证明,间质中较高的 CAF 含量与结直肠癌患者的不良预后显著相关,且该相关性在术后未行辅助治疗的患者中表现更为明显。此外,该小组还证明了 CAF 的高含量与直肠癌的放疗不敏感性也有密切关系。

3.2.2 乳腺癌

Finak 等^[28]使用激光显微切割技术从 53 例乳腺癌组织中分离出间质,用基因芯片技术分析了间质基因与患者预后的关系。结果提示不同预后的人群,其肿瘤间质的基因谱差异明显。例如,有明显低复发率和 RFS 长的患者多表达 *CD48*、*PLEK*、*HLA-A*、*HLA-F* 等基因。而复发率高、RFS 短的患者多表达 *IL-4I1*、*AQP9*、*CLEC4E*、*HIST1H1C* 等基因。因此提

出,可根据 CAF 的基因信息判断癌症患者的预后,进而指导临床治疗。

3.3 肿瘤间质含量与肿瘤预后

越来越多的证据表明,肿瘤间质含量也是重要的独立预后因子。肿瘤间质含量是应用组织学染色(HE 或免疫组化),在光镜下分辨出肿瘤间质成分,以此计算间质细胞与肿瘤细胞的比例,是一种半定量指标。我们知道,CAF 基本包含于肿瘤间质中,而在某些癌种,肿瘤间质含量对患者预后判断的价值甚至高于 CAF 本身^[29]。

一项关于卵巢癌的回顾性研究中,就间质比例按每 10% 为一级进行了细分,并比较了每个界值上下患者生存期的差异。分析认为,肿瘤间质比例 50% 可作为最适界值,高者为富间质肿瘤,低者为乏间质肿瘤。两组间 FIGO 分期、淋巴结转移情况以及复发率差异显著。Cox 比例风险模型显示,富间质可作为 PFS 的独立危险因素;生存分析提示富间质肿瘤患者拥有更差的 PFS(29 月 vs 39 月, $P < 0.001$) 和 OS(50 月 vs 58 月, $P < 0.001$)^[30]。该结果在食管癌^[31]、结肠癌^[32]、乳腺癌^[33,34]患者中也得到了证实。而且在结肠癌患者中发现,T 分期越高者,富间质肿瘤占比越大。

综上所述,CAF 及其标记物和基因信息、肿瘤间质含量指标等在恶性肿瘤疗效预测和预后判断中的应用价值令人憧憬。但是 CAF(或其相关指标)与肿瘤疗效及患者预后是否呈绝对负相关?这种结论是否适用于所有癌种?尚存争议。如在前列腺癌组织中,雌激素受体 α 表达阳性的 CAF 就可通过抑制巨噬细胞的迁移、减少趋化因子的分泌,从而减少癌细胞向临近组织的侵袭^[35],因而提示该 CAF 标记物的高表达预示了患者良好的预后。

因此,要在临床上广泛使用 CAF 及其相关指标预测肿瘤疗效、判断患者预后,还有许多问题需要深入探讨。不仅如此,是否还有更好的预测和预后指标,如何将其应用于临床,指导临床医师更好的治疗肿瘤患者也是需要继续思考和探索的问题。

参考文献:

[1] Gascard P, Tlsty TD. Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy[J]. Genes Dev,

2016, 30(9): 1002–1019.

- [2] Shiga K, Hara M, Nagasaki T, et al. Cancer-associated fibroblasts; their characteristics and their roles in tumor growth[J]. Cancers, 2015, 7(4): 2443–2458.
- [3] Karvonen HM, Lehtonen ST, Sormunen RT, et al. Myofibroblasts in interstitial lung diseases show diverse electron microscopic and invasive features[J]. Lab Invest, 2012, 92(9): 1270–1284.
- [4] Eyden B. The myofibroblast: phenotypic characterization as a prerequisite to understanding its functions in translational medicine[J]. J Cell Mol Med, 2008, 12(1): 22–37.
- [5] De Wever O, Mareel M. Role of myofibroblasts at the invasion front[J]. Biol Chem, 2002, 383(1): 55–67.
- [6] Choe C, Shin YS, Kim C, et al. Crosstalk with cancer-associated fibroblasts induces resistance of non-small cell lung cancer cells to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibition[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8: 3665–3678.
- [7] Tao L, Huang G, Wang R, et al. Cancer-associated fibroblasts treated with cisplatin facilitates chemoresistance of lung adenocarcinoma through IL-11/IL-11R/STAT3 signaling pathway[J]. Sci Rep, 2016, 6: 38408.
- [8] Teng F, Tian WY, Wang YM, et al. Cancer-associated fibroblasts promote the progression of endometrial cancer via the SDF-1/CXCR4 axis[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9: 8.
- [9] Tommelein J, Verset L, Boterberg T, et al. Cancer-associated fibroblasts connect metastasis-promoting communication in colorectal cancer[J]. Front Oncol, 2015, 5: 63.
- [10] Li M, Li M, Yin T, et al. Targeting of cancer associated fibroblasts enhances the efficacy of cancer chemotherapy by regulating the tumor microenvironment [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(3): 2476–2484.
- [11] Togo S, Polanska UM, Horimoto Y, et al. Carcinoma-associated fibroblasts are a promising therapeutic target [J]. Cancers (Basel), 2013, 5(1): 149–169.
- [12] Busch S, Rydén L, Stål O, et al. Low ERK phosphorylation in cancer-associated fibroblasts is associated with tamoxifen resistance in pre-menopausal breast cancer [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45669.
- [13] Yoshida T, Ishii G, Goto K, et al. Podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment induce primary resistance to EGFR-TKIs in lung adenocarcinoma with EGFR mutation [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(3): 642–651.
- [14] Koriyama H, Ishii G, Yoh K, et al. Presence of podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts in surgically resected primary lung adenocarcinoma predicts a

- shorter progression-free survival period in patients with recurrences who received platinum-based chemotherapy [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141(7):1163–1170.
- [15] Sinn M, Denkert C, Striefler JK, et al. α -Smooth muscle actin expression and desmoplastic stromal reaction in pancreatic cancer; results from the CONKO-001 study [J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(10):1917–1923.
- [16] Ha SY, Yeo SY, Xuan YH, et al. The prognostic significance of cancer-associated fibroblasts in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e99955.
- [17] Herrera M, Herrera A, Domínguez G, et al. Cancer-associated fibroblast and M2 macrophage markers together predict outcome in colorectal cancer patients [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(4):437–444.
- [18] Wikberg ML, Edin S, Lundberg IV, et al. High intratumoral expression of fibroblast activation protein (FAP) in colon cancer is associated with poorer patient prognosis [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(2):1013–1020.
- [19] Ito M, Ishii G, Nagai K, et al. Prognostic impact of cancer-associated stromal cells in patients with stage I lung adenocarcinoma [J]. *Chest*, 2012, 142(1):151–158.
- [20] Ono S, Ishii G, Nagai K, et al. Podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts could have prognostic value independent of cancer cell phenotype in stage I lung squamous cell carcinoma; usefulness of combining analysis of both cancer cell phenotype and cancer-associated fibroblast phenotype [J]. *Chest*, 2013, 143(4):963–970.
- [21] Shindo K, Aishima S, Ohuchida K, et al. Podoplanin expression in cancer-associated fibroblasts enhances tumor progression of invasive ductal carcinoma of the pancreas [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12(1):168.
- [22] Marsh D, Suchak K, Moutasim KA, et al. Stromal features are predictive of disease mortality in oral cancer patients [J]. *J Pathol*, 2011, 223(4):470–481.
- [23] Fujii N, Shomori K, Shiomi T, et al. Cancer-associated fibroblasts and CD163-positive macrophages in oral squamous cell carcinoma: their clinicopathological and prognostic significance [J]. *J Oral Pathol Med*, 2012, 41(6):444–451.
- [24] Marisa L, de Reyniès A, Duval A, et al. Gene expression classification of colon cancer into molecular subtypes: characterization, validation, and prognostic value [J]. *PLoS Med*, 2013, 10(5):e1001453.
- [25] Calon A, Lonardo E, Berenguer-Llergo A, et al. Stromal gene expression defines poor-prognosis subtypes in colorectal cancer [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(4):320–329.
- [26] De Sousa E Melo F, Wang X, Jansen M, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions [J]. *Nat Med*, 2013, 19(5):614–618.
- [27] Isella C, Terrasi A, Bellomo SE, et al. Stromal contribution to the colorectal cancer transcriptome [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(4):312–319.
- [28] Finak G, Bertos N, Pepin F, et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer [J]. *Nat Med*, 2008, 14(5):518–527.
- [29] Bello IO, Vered M, Dayan D, et al. Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer [J]. *Oral Oncol*, 2011, 47(1):33–38.
- [30] Chen Y, Zhang L, Liu W, et al. Prognostic significance of the tumor-stroma ratio in epithelial ovarian cancer [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:589301.
- [31] Huijbers A, Tollenaar RA, v PGW, et al. The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients; validation in the VICTOR trial [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(1):179–185.
- [32] Moorman AM, Vink R, Heijmans HJ, et al. The prognostic value of tumour-stroma ratio in triple-negative breast cancer [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(4):307–313.
- [33] Courrech SEF, Wouters MW, van Sandick JW, et al. The stromal part of adenocarcinomas of the oesophagus; does it conceal targets for therapy? [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(4):720–728.
- [34] de Kruijf EM, van Nes JG, van de Velde CJ, et al. Tumor-stroma ratio in the primary tumor is a prognostic factor in early breast cancer patients, especially in triple-negative carcinoma patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 125(3):687–696.
- [35] Yeh CR, Slavin S, Da J, et al. Estrogen receptor α in cancer associated fibroblasts suppresses prostate cancer invasion via reducing CCL5, IL6 and macrophage infiltration in the tumor microenvironment [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15:7.