

肿瘤相关成纤维细胞在胃癌侵袭和转移中的作用研究进展

张吉发

(上海市奉贤区中心医院,上海 201499)

摘要:肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是包括胃癌在内的多种肿瘤的重要组成部分,主要通过细胞外基质沉积、血管形成、代谢重编程和耐药性等方式在肿瘤侵袭和转移过程中发挥关键作用。然而,CAF在胃癌侵袭和转移中的作用机制尚不明确,相关报道主要集中在考察 CAFs 中 miRNA 或细胞因子的变化上。miRNA 是一种非编码小 RNA 分子,不仅在 CAFs 中控制多个目标基因的表达,而且在肿瘤细胞与 CAFs 的信号通路中具有重要作用。CAF 分泌的某些细胞活性因子也可促进肿瘤的发生、发展和转移。全文对 CAFs 中 miRNA、细胞因子在胃癌侵袭和转移中的作用以及相关的信号通路进行概述,以期寻找胃癌治疗的新靶点提供理论依据。

关键词:肿瘤相关成纤维细胞;胃肿瘤;侵袭;转移

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2018)02-0109-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2018.02.B006

Research Progress on the Role of Cancer-associated Fibroblasts in Invasion and Metastasis of Gastric Cancer

ZHANG Ji-fa

(Central Hospital of Shanghai Fengxian District, Shanghai 201499, China)

Abstract: As a main component of many cancers including gastric cancer, cancer-associated fibroblasts (CAFs) play a pivotal role in tumor invasion and metastasis via extracellular matrix precipitation, angiogenesis, metabolic reprogramming and drug resistance. Nevertheless, the mechanism of CAFs affecting gastric cancer invasion and metastasis remains unclear, and related studies mainly focus on the roles of miRNA and cytokines in CAFs. MiRNA, which is a non-coding small RNA molecule, not only controls the expression of multiple target genes in CAFs, but also plays a key role in signaling pathways between tumor cells and CAFs. Several cytokines over-expressed in CAFs may also promote cancer occurrence, progression and metastasis. This paper sketches an overview of the role of miRNA and cytokines in CAFs in gastric cancer invasion and metastasis as well as the related signaling pathways, in an attempt to provide theoretical evidence for identifying new targets for gastric cancer therapy.

Subject words: CAFs; gastric cancer; invasion; metastasis

胃癌是世界范围内第二大高致死率的癌症。超过 70% 的胃癌患者发生在亚洲,中国胃癌的发病率呈逐年上升的态势^[1]。胃癌由发生到进展期最后至晚期需要经历多个阶段,并且受多因素的影响,其中最重要的一个因素是肿瘤细胞和肿瘤微环境(TME)的双向作用^[2]。肿瘤微环境是一个复杂的组织环境,主要包含细胞外基质和多种类型的基质细胞,如肿

瘤相关成纤维细胞(CAFs)、巨噬细胞、炎症细胞以及间质干细胞^[3]。本文就对 CAFs 中 miRNA、细胞因子在胃癌侵袭、转移中的作用及相关的信号通路的最新研究成果进行总结,从而为胃癌的治疗提供参考依据。

1 CAFs 的基本特征和来源

与正常的成纤维细胞相比,CAF 显示较高的体外增殖和迁移活性,并具有多个特定的标志蛋白,报道较多的高表达蛋白主要有 α 平滑肌肌动蛋白(α -

基金项目:上海市奉贤区科委医学重点(奉科 20131101)

通讯作者:张吉发,战略发展部部长,副主任医师,硕士;上海市奉贤区中心医院普外科,上海市奉贤区南奉公路 6600 号(201499);
E-mail:498239683@qq.com

收稿日期:2017-03-20; **修回日期:**2017-07-23

SMA)、纤维母细胞表面蛋白(FSP1)、成纤维激动蛋白(FAP)等,低表达蛋白主要是微囊蛋白-1(Cav-1)^[4,5]。同时,CAFs可产生和分泌多种细胞外基质蛋白(胶原I、III、IV)、蛋白聚糖(纤连蛋白、层连蛋白、固生蛋白)、细胞因子(IL-6、IL-8等)及其它促进肿瘤血管新生的因子(VEGF、SDF-1、MMPs、TGF- β 、EGF、HGF等),这些因子对于增加肿瘤血管新生、促进肿瘤细胞增殖和转移、增强肿瘤耐药性等起到关键作用^[6]。

CAFs是梭形细胞,可通过多种方式由普通细胞分化而来,其中间充质干细胞(MSCs)是CAFs的主要来源^[6]。研究表明,胃癌间充质干细胞激活的中性粒细胞可以诱导MSCs逐渐分化为CAFs^[7],胃癌细胞可以激活人脐带来源的MSCs并且通过刺激TGF- β /Smad通路诱导它们分化为CAFs^[8]。另有研究证实,肿瘤相关的内皮细胞从血管脱落并形成具有多种分化可能性的MSCs,进而在内皮间充质转化(EndMT)中形成CAFs^[3]。此外,增加微环境中TGF- β 的水平可以诱导组织中正常的成纤维细胞转化为CAFs样细胞,说明成纤维细胞也可能是CAFs的来源^[4]。

2 CAFs中miRNA在胃癌侵袭和转移中的作用

miRNAs是一种长约22个核苷酸的非编码RNA分子,主要是调节目标基因的表达,可在肿瘤的侵袭和转移过程中发挥重要作用,近年来已经成为肿瘤学中研究的热点,尤其某些miRNAs已经作为癌症的新型诊断指标和潜在的治疗靶点^[9]。与CAFs-胃癌相互作用相关的miRNA有miRNA-106b、miRNA-143、miRNA-145、miRNA-200b等。

2.1 miRNA-106b

miRNA-106b为miRNA-106b~25基因簇中的一员,在进化过程中高度保守,可通过潜在的促进增殖、抗凋亡、加速细胞周期等作用促进肿瘤的形成。miRNA-106b在所有的胃癌细胞株中均高表达。一项大规模研究证实,胃癌患者血浆miRNA-106b浓度明显高于正常人,并且术后患者的miRNA-106b浓度显著低于术前患者^[10]。此外,miRNA-106b也在CAFs中过表达。Yang等^[11]研究证实,与患者的正常成纤维细胞相比,miRNA-106b水平在患者的CAFs

中明显增加。同时,通过增加同源性磷酸酶-张力蛋白(PTEN)的表达的方式降低CAFs中miRNA-106b的表达,可抑制胃癌细胞的迁移和侵袭。

扭曲蛋白(Twist)是包括Twist-1和Twist-2两种扭曲样蛋白的螺旋转录因子。其中,Twist-1为肿瘤细胞侵袭和转移中的一种主要调节因子,其调节的机制为诱导上皮间质转化。在胃癌CAFs中,Twist-1的表达上调,从而促进胃癌的进展,并导致预后较差。通过基因敲除鼠脉络丛上皮细胞系Z310中的Twist-1能显著降低肿瘤细胞的增殖和侵袭^[12]。但有研究显示^[13],miRNA-106b可通过与Twist-1 mRNA在3'-UTR的直接相互作用下调Twist-1的表达,从而抑制上皮间质转化相关的子宫内膜肿瘤细胞侵袭。同样,miRNA-106b在肾细胞癌组织中过表达,但在出现转移的患者肿瘤中却显著降低^[14]。因此,miRNA-106b可能具有复杂的作用机制,在不同肿瘤细胞中的作用不同。

2.2 miRNA-143和miRNA-145

miRNA-143与miRNA-145都是典型的肿瘤抑制因子,在胃癌患者癌症组织中的表达均明显低于正常组织^[15,16]。miR-143/miR-145的表达与促血管生成素2、聚束蛋白(FSCN1)呈负相关,推测miR-143/miR-145可能通过这两个靶分子分别影响肿瘤血管生成、细胞骨架及相关信号通路,从而抑制胃癌的转移。miRNA-143也可抑制环氧化酶-2(COX-2),COX-2与VEGF相互作用可诱导局部血管生成及促进肿瘤发生和转移,COX-2的下调能促进人胃癌细胞的凋亡,并抑制其增殖、迁移及侵袭。

不过,miRNA-143是一把双刃剑,其在肿瘤基质细胞中的表达也可能促进肿瘤的发展。Naito等^[17]研究发现,miRNA-143在胃硬化型癌的CAFs中的表达高于非硬化型,且miRNA-143的表达与癌症相关的死亡率呈正相关。III型胶原为软组织肿瘤中的一种细胞外基质蛋白,可剂量依耐性地促进肿瘤细胞的迁移和侵袭。在间质细胞中,miRNA-143通过激活TGF- β /Smad通路上调正常胃成纤维细胞和CAFs中的III型胶原,从而增加胃癌细胞对间质细胞的黏着力并促进胃癌细胞向腹膜转移。

2.3 miRNA-200b

CAFs不仅通过自身表达miRNAs促进肿瘤细胞的恶化和转移扩散,还可以调节周围肿瘤细胞中

miRNAs 的表达。miRNA-200b 为 microRNA-200 家族成员,在抑制胃癌细胞的增殖和迁移中发挥重要作用^[18,19]。体外研究证实,CAFs 可通过改变 miRNA-200b 启动子的表观遗传学特征而显著促进 NUGC3 胃癌细胞的侵袭和迁移。miRNA-200b 的低表达能使 ZEB 表达上调及 CDH1 表达下调,进而诱导胃癌细胞的侵袭及向腹膜的扩散。在胃癌组织样本中,miRNA-200b 的表达与 CAFs 的活化标志蛋白 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达呈负相关,而且低表达 miRNA-200b 的患者预后明显较差,其 5 年生存率显著低于高表达 miRNA-200b 的患者^[20]。

3 CAFs 中细胞因子对胃癌侵袭和转移的影响

多种细胞因子如半乳凝素-1、成纤维细胞活化蛋白、Agr2 等参与 CAFs 与胃癌细胞的相互作用过程,是促进肿瘤快速发展的重要因素。

3.1 半乳凝素-1(Galectin-1)

Galectin-1 为 β 半乳糖苷结合蛋白中半乳凝素家族的成员,是一个 14kD 亚单位的二聚体,占有 2 个 β 半乳糖苷结合位点。Galectin-1 具有多种生物功能,包括辅助肿瘤细胞侵袭和转移、促进肿瘤血管生成及保护肿瘤逃避宿主的免疫应答。研究表明, Galectin-1 在胃癌 CAFs 中高表达,并与肿瘤侵袭、进展及短生存期相关,并在血管生成中起重要作用。在体外胃癌细胞共孵育中, Galectin-1 在 CAFs 中高表达,增加了 HUVEC 细胞的增殖、迁移、血管形成及 VEGFR2 的磷酸化,并增加了胃癌细胞中 VEGF 的表达^[21]。

3.2 成纤维细胞活化蛋白(FAP)

FAP 属于丝氨酸蛋白酶家族的 II 型完整膜糖蛋白,该蛋白已经成为 CAFs 的特殊标记。FAP 在实体瘤的 CAFs 中过表达。Wang 等^[22]通过研究胃癌患者手术样本中 FAP 的表达水平发现, FAP 在 CAFs 中过表达,而在正常成纤维细胞中未见表达。FAP 在 CAFs 中的表达水平与 Lauren 分型、分化的程度、肿瘤侵袭的深度及 TNM 分期相关,而与胃癌患者的年龄和性别无关。

3.3 Agr2

Agr2 是一种位于内质网的二硫化物异构酶,它

在生理学方面调节蛋白折叠并间接抵抗内质网应激。Agr2 在胃癌中高表达。作为前致癌蛋白, Agr2 在多种器官中参与致瘤性转化和转移。有研究证实,细胞外的 Agr2 能激活 CAFs 并促进 Agr2 高表达的胃印戒细胞瘤(SRCC)中纤维母细胞相关肿瘤的侵袭。另外,作者认为 Agr2 通过旁分泌的方式作用于肿瘤微环境中的 CAFs,同时增加 SRCC 细胞增长及对氧化应激和低氧应激的抵抗力,从而促进胃 SRCC 进展^[23]。

4 CAFs 影响胃癌侵袭和转移的主要信号通路

肿瘤的进展和转移与多种细胞内信号通路密切相关,例如 TGF- β /Smad 通路、RAS/RAF/MEK/ERK 通路、JAK/STAT 通路、NF- κ B 通路等,其中, CAFs 与胃癌相互作用的研究主要集中在缺氧相关的信号通路上。

与正常组织相比,缺氧是包括胃肠道肿瘤在内的各种肿瘤的普遍现象^[24]。缺氧可引起参与肿瘤进展、侵袭、转移的多种基因的表达,并直接参与相关的多个信号通路,其中最重要的缺氧应激蛋白是缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)。在常氧条件下, HIF-1 α 是通过与脯氨酰羟化酶(PHDs)和肿瘤抑制因子 VHL 蛋白(von hippel-lindau)的相互作用来泛素化和降解的。而在缺氧条件下,该过程被抑制从而导致 HIF-1 α 蓄积^[25]。HIF-1 α 可激活 EGFR/STAT 和 TGF- β /smad 信号通路,增加其下游目标基因的表达,从而提高细胞的增殖及上皮间质转化^[26]。研究表明^[24], HIF-1 α 通路可能参与胃癌的形成;与胃癌发展相关的幽门螺旋杆菌产生的活性氧有稳定 HIF-1 α 的作用,而能够减小胃癌发生风险的非甾体抗炎药可减少 HIF-1 α 的表达,动物实验也证实靶向抑制 HIF-1 α 后可抑制胃肿瘤的生长。因此,可以认为缺氧是胃癌发生和发展的重要机制, HIF-1 α 在该过程中发挥关键作用。

在缺氧条件下,弥漫型胃癌细胞的 HIF-1 α mRNA 表达显著增加,而以 siRNA 抑制该基因的表达时可明显抑制胃癌细胞中 CXCR4 趋化因子受体 4(CXCR4)的表达及 CAFs 中缺氧诱导的基质细胞衍生因子 1(SDF1)的生成,从而减少 CAFs 对胃癌细

胞的增殖诱导活性^[27]。另有研究表明,缺氧条件可通过激活 HIF-1 α 来上调 CXCR4 和 SDF1 的表达^[28,29]。这些发现说明,在缺氧条件下 CAFs 激活 HIF-1 α 通路产生 CXCR4、SDF1 等细胞因子,从而促进胃癌细胞的增殖。

此外,缺氧是控制 CAFs 能量代谢重编程的关键指标^[30]。HIF-1 α 诱导 CAFs 上调一元羧酸载体-4 (MCT4) 的表达、下调小窝蛋白-1 (Cav-1) 的表达,从而释放大量的能量代谢物(如 L-乳酸和酮类)来促进肿瘤细胞的生长。

由上可知,缺氧信号通路是肿瘤细胞和 CAFs 相互作用的关键通路,与此通路相关的基因如 HIF-1 α 可能成为治疗胃癌的新靶点。

5 小 结

CAFs 分泌的多种细胞因子、生长因子和趋化因子组成了肿瘤的微环境,这种微环境能够诱导和促进肿瘤的生长、侵袭和转移。CAFs 相关的 miRNA 和信号通路的研究正逐渐成为肿瘤学领域的热点,但目前我们对 CAFs 的理解是有限的,因而有必要建立多种特定的动物模型,用以研究其作用机制和信号通路。随着研究的深入,将来可能会明确与 CAFs 相关的特定基因或细胞因子,抑制 CAFs 的这些基因或细胞因子可能会为胃癌治疗提供新的方向和思路。

参考文献:

- [1] Montori G, Cocolini F, Ceresoli M, et al. The treatment of peritoneal carcinomatosis in advanced gastric cancer: state of the art[J]. *Int J Surg Oncol*, 2014, 2014: 912418.
- [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] Baranyi M, Lippai M, Szatmári Z. Role of the stroma in the initiation and progression of tumors [J]. *Orv Hetil*, 2015, 156(45): 1816–1823.
- [4] Calon A, Tauriello DV, Batlle E. TGF-beta in CAF-mediated tumor growth and metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 25: 15–22.
- [5] Wang RF, Zhang LH, Shan LH, et al. Effects of the fibroblast activation protein on the invasion and migration of gastric cancer[J]. *Exp Mol Pathol*, 2013, 95(3): 350–356.
- [6] Valcz G, Sipos F, Tulassay Z, et al. Republished: Importance of carcinoma-associated fibroblast-derived proteins in clinical oncology [J]. *Postgrad Med J*, 2015, 91(1075): 1026–1031.
- [7] Zhu Q, Zhang X, Zhang L, et al. The IL-6-STAT3 axis mediates a reciprocal crosstalk between cancer-derived mesenchymal stem cells and neutrophils to synergistically prompt gastric cancer progression [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(6): e1295.
- [8] Gu J, Qian H, Shen L, et al. Gastric cancer exosomes trigger differentiation of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to carcinoma-associated fibroblasts through TGF- β /Smad pathway [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52465.
- [9] Gyparakis MT, Basdra EK, Papavassiliou AG. MicroRNAs as regulatory elements in triple negative breast cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 354(1): 1–4.
- [10] Li G, Shen Q, Li C, et al. Identification of circulating MicroRNAs as novel potential biomarkers for hepatocellular carcinoma detection: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17(9): 684–693.
- [11] Yang TS, Yang XH, Chen X, et al. MicroRNA-106b in cancer-associated fibroblasts from gastric cancer promotes cell migration and invasion by targeting PTEN [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(13): 2162–2169.
- [12] Lee KW, Yeo SY, Sung CO, et al. Twist1 is a key regulator of cancer-associated fibroblasts [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(1): 73–85.
- [13] Dong P, Kaneuchi M, Watari H, et al. MicroRNA-106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53: 349–359.
- [14] Slaby O, Jancovicova J, Lakomy R, et al. Expression of miRNA-106b in conventional renal cell carcinoma is a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 90.
- [15] Sun XB, Zhang X, Zhao J, et al. The expression of miR-143 and miR-145 in human gastric cancer and its clinical significance [J]. *Acta Academiae Medicinae Xuzhou*, 2015, 35(10): 657–659. [孙兴邦, 张玄, 赵晶, 等. miR-143 和 miR-145 在胃癌中的表达和临床意义[J]. *徐州医学院学报*, 2015, 35(10): 657–659.]
- [16] Xing XF, Li ZY. Expression of miR-143 and miR-145 and their functional study in gastric carcinoma [J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2015, 18(1): 50–53. [邢晓芳, 李子禹. miR-143 和 miR-145 在胃癌中的表达及功能研究[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2015, 18(1): 50–53.]

- [17] Naito Y, Sakamoto N, Oue N, et al. MicroRNA-143 regulates collagen type III expression in stromal fibroblasts of scirrhous type gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(2): 228–235.
- [18] Guo R, Ning XH, Jiang K, et al. Methylation of miR-200b and its effects on proliferation, invasion of gastric cancer cell line MGC-803[J]. *Tianjin Medical Journal*, 43(4): 340–344. [郭蓉, 宁向红, 姜葵, 等. 甲基化调节 miR-200b 的表达及其对胃癌 MGC-803 细胞增殖侵袭能力的影响[J]. *天津医药*, 2015, 43(4): 340–344.]
- [19] Wang C, Zhong Y, Li T, et al. miR-200b overexpression down-regulates Bcl-2 expression and inhibits cell proliferation in human gastric cancer cell line MGC-803[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2010, 18(20): 2077–2083. [王驰, 钟鹰, 栗滔, 等. miR-200b 对胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响以及对 Bcl-2 表达的调节[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(20): 2077–2083.]
- [20] Kurashige J, Mima K, Sawada G, et al. Epigenetic modulation and repression of miR-200b by cancer-associated fibroblasts contribute to cancer invasion and peritoneal dissemination in gastric cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(1): 133–141.
- [21] Tang D, Gao J, Wang S, et al. Cancer-associated fibroblasts promote angiogenesis in gastric cancer through galectin-1 expression[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2): 1889–1899.
- [22] Wang RF, Zhang LH, Shan LH, et al. Effects of the fibroblast activation protein on the invasion and migration of gastric cancer[J]. *Exp Mol Pathol*, 2013, 95(3): 350–356.
- [23] Tsuji T, Satoyoshi R, Aiba N, et al. Agr2 mediates paracrine effects on stromal fibroblasts that promote invasion by gastric signet-ring carcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(2): 356–366.
- [24] Griffiths EA, Pritchard SA, Welch IM, et al. Is the hypoxia-inducible factor pathway important in gastric cancer? [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(18): 2792–2805.
- [25] Koh MY, Powis G. HIF: the new player in oxygen-independent HIF-1 α degradation [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(9): 1359–1366.
- [26] Kannan A, Krishnan A, Ali M, et al. Caveolin-1 promotes gastric cancer progression by up-regulating epithelial to mesenchymal transition by crosstalk of signalling mechanisms under hypoxic condition [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(1): 204–215.
- [27] Kinoshita H, Yashiro M, Fukuoka T, et al. Diffuse-type gastric cancer cells switch their driver pathways from FGFR2 signaling to SDF1/CXCR4 axis in hypoxic tumor microenvironments[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(12): 1511–1520.
- [28] Oh YS, Kim HY, Song IC, et al. Hypoxia induces CXCR4 expression and biological activity in gastric cancer cells through activation of hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(6): 2239–2246.
- [29] Lombardi L, Tavano F, Morelli F, et al. Chemokine receptor CXCR4: role in gastrointestinal cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013, 88(3): 696–705.
- [30] Martinez-Outschoorn UE, Lisanti MP, Sotgia F. Catabolic cancer-associated fibroblasts transfer energy and biomass to anabolic cancer cells, fueling tumor growth [J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 25: 47–60.