

# 转移前微环境在乳腺癌肺转移中的相关机制研究进展

李 翊 沈国双 李自涛 周雪莹 崔家咏  
青海大学附属肿瘤医院 青海西宁 810001

**摘要:** 乳腺癌目前仍然是全球发病率最高,病情严重的疾病之一,远处肿瘤转移也往往将导致这些患者的最终癌症死亡。而血管远处细胞转移也是另外一个同样非常复杂重要的生理过程,其中血管转移的前体微生态环境因子(pre-metastatic niches, PMNs)则是一个极其重要的生物环节因子之一,主要影响包括了血管外渗漏、通透性的增强、基质细胞的激活、细浆胞外基质体(extracellular matrix, ECM)功能的重塑以及免疫功能细胞的募集等。远处转移最常见部位为肺组织,越来越多的学者开始详细地探究乳腺癌肺PMN形成的机制。目前未进行系统总结,本综述通过检索相关文献系统阐述肺PMN的变化,旨在为乳腺癌的肺转移治疗提供更多的临床依据。

**关键词:** 肺转移前微环境; 乳腺癌; 迁移; 定植; 机制

## 引言

乳房癌一直是危害世界各地女人健康最普遍常见的一组恶性肿瘤,2018年的世界各地女人乳腺癌发病率和肿瘤死亡率预计分别大约为约46.3/105和约13.0/105,且二者均已呈缓慢上升趋势。2000年—2018年的世界各地女人乳癌年发病平均人数也急剧地上升,从在2000年末的平均105万人上升到至在2018年时的约209万,但是其死亡平均人数有所的降低,2000年的世界各地女人乳癌的死亡总人数估计为约37万,2012年则增至到约为52万,2018年则死亡平均人数将减少至大约31万。最新研究数据报告显示,2018年以来全世界累计新查确诊的女性乳腺癌患者数目约有209万,死亡的人数约达63万,居所有女子胸部恶性肿瘤个案死亡数目的排行榜首位<sup>[1]</sup>。肺是乳腺癌最常转移的部位之一,患有肺转移的乳腺癌患者的中位总生存期仅22个月,60—70%最终死亡的转移性乳腺癌患者被诊断为肺转移。

乳腺癌肺转移患者现主要有两种治疗方式,一是局部治疗即手术治疗、放疗、射频消融治疗,二是全身治疗,分为化学治疗及靶向药物治疗、内分泌治疗、中医药治疗等。手术后治疗术中,在局部原发支气管肿瘤全部切除手术后,局部肺外转移性病灶同样可以被切除,转移癌灶全切除术后,中位生存期为32—96.6个月,5年生存率为30.8%—54.4%<sup>[2]</sup>。为系统地探讨乳腺癌肺切除术化疗对肺部转移性的乳腺癌患者远期预后产生的重大影响,有美国一项前瞻性研究报告采用多学科机构数据库回顾性方法分析整理了中国1982年至2017年共253例乳腺癌肺转移治疗患者资料的相关临床文献资料,该系列

研究一致认为乳腺癌肺切除术放疗在远期乳腺癌患者治疗预后中的疗效极其有限,应同时考虑其作为治疗乳腺癌肺转移早期的最佳可选的治疗方案<sup>[3]</sup>。尽管近年来对早期乳腺癌病人应用射频介入消融术的效果研究较多,但因研究实践中所普遍使用到的设备技术和适应证条件不同,导致消融率差异也随之不等且差距较大。绝大部分研究设计还保留着射频消融手术切除,尚无完全替代手术的单独射频消融治疗的循证医学证据<sup>[2]</sup>。在对晚期的乳腺癌病人的药物治疗方案中,仅有的少数抗癌药物就可以直接带来的总体的生存收益。

以上这些治疗方式都具有纳入的一定标准,并非全部乳腺癌肺转移的患者都可以进行以上治疗。就晚期乳腺癌肺淋巴结转移期患者乳腺癌治疗选择方面,治疗乳腺癌方案原则上应是比较个体化原则的,应该尽可能综合根据患者意愿情况及临床病情变化选择出最优化的综合治疗的方案。使癌症患者真正得到比较良好确切的综合疗效评估和实现最大范围的远期临床康复获益。有许多学者一直认为是肿瘤微环境、肺基质组织和肿瘤免疫微生物相互作用而共同作用促进造成了恶性乳腺癌肺转移,而且事实上这三者均是动态相互作用的,并会根据微环境的刺激变化以及肿瘤微环境及其与肺继发肿瘤部位内的肺基质细胞发生相互作用过程而进行转化,最后会一致地将恶性肺微环境组织转变为癌细胞的栖息地<sup>[4]</sup>,三者过程中的肿瘤微环境组织的联合形成也被普遍认为将是间接导致肺乳腺癌患者进行转移的关键影响因素,支持了肿瘤细胞的进一步向外侵袭、定植化和转移性生长。因此肺PMN是一个很好的治疗靶点及有良好的临床价值。

## 一、转移前微环境 (PMNs)

1889年,皮吉特的种子土壤假说阐明了肿瘤转移依赖,依赖于土壤的相互促进作用,种子即肿瘤细胞,土壤即宿主微环境(microservatory)。随后,陆续也有其他学者据此发表其不同的观点,1928年,肿瘤细胞转移定植仅完全依赖作用于肿瘤血液动力学过程的观点最先被杰梅塞温提出,而到1976年由IsaiahFidler首次使用的静脉外注射和内皮下注射两种模型进一步表明,循环肿瘤中细胞的转移及定植程度不仅只取决于其血液动力学性质的影响因素,而且由于肿瘤干细胞本身即具有其一定程度的细胞转移的倾向性<sup>[5]</sup>。

肿瘤细胞与宿主微环境因子在癌细胞转移增殖过程中也有这种互相协同促进凋亡的共同作用,其协同作用机制分别是由于什么引起?直到在2005年,Kaplan等<sup>[6]</sup>首次公开提出了PMNs的有关概念,他们第一次观察记录到含有VEGFR1+的骨髓来源的造血祖细胞能比使肿瘤癌细胞率先植入到肺脏,并可以使肿瘤肺腔内的微细血管结构异常化,从而也提供起了另外一个更加有利的定植条件,以便进行转移。同时,当他们使用与LLC细胞共孵育后的条件培养基注射到小鼠体内时,LLC就转移肿瘤转移器官倾向性中肿瘤来源的发挥的重要作用,而这正是LLC转移到小鼠体内后常见的转移部位。

与此相背吻合的一点是,近十几年来的临床大量相关研究已经表明,PMNs对形成肿瘤过程中肿瘤来源的胞外泌体,包括肿瘤细胞的外显囊泡等的有重要保护作用。但是,肿瘤细胞衍生因子(tumor-derived secreted factors,简称TDSFs)还需要在肿瘤形成PMNs细胞的发育过程中,与其目标器官系统中产生的多种肿瘤细胞之间进行各种复杂形式的细胞相互作用,从而逐渐建立起PMNs,使某些原本结构正常的目标器官组织发生实质性病变。PMNs还可具有抑制炎症、免疫活性抑制、血管内渗漏减少等的6个大特点。TDSF还可以通过加强对肿瘤骨髓来源细胞的募集,促进骨髓血管通透性进一步增强,并且减少转化的目标器官血中存在的炎症信息的介导,为转化之后存活的骨髓肿瘤细胞增殖提供了一个比较有利的定植环境。但是癌症的种类不同,靶器官转移导致PMNs的成分也不一样,这也决定了PMNs的形成机理是不一样的。所以PMNs的形成机制还在继续研究当中。

## 二、乳腺癌肺转移前微环境形成的机制

### (一) 肿瘤衍生的分泌因子

TDSFs在肿瘤PMNs形成中起关键作用。恶性肿瘤细菌在到达移动靶脏器之前,会自动解释表现出的若干免

疫因子,某些免疫因子将会通过直接效应作用分布于移动靶脏器,使周围微环境参数发生一定改变,以确保适宜的移动靶瘤细胞可以存活下去和停止增殖发育;而当某些免疫因子排放在体外到达移动靶脏器附近后,会进一步诱发移动靶脏器中的瘤间质细胞放出其他某些恶性肿瘤细胞因子,以间接促使该恶性肿瘤细菌成功定植。研究还发现了<sup>[7]</sup>,原发于癌症细胞肿瘤组织坏死因子 $\alpha$ (tumor necroSiS fActor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化红细胞生长原因 $\beta$ (trAnsforming growth fActor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )、血管内皮组织生长因素A(vAscular enDothelial growth factor a, VEGF-a)可以高度特殊地诱发人肺部炎症蛋白质s100a8和s100a9的过高的表达,紧接着Toll样受体蛋白质4(Toll-like receptor 4,TLR4)的信息通道就被特异的活化,生成炎症基因应答,在人体肺部表面建立炎症微环境,因而最利于肿瘤细胞的早期迁移增殖与定植。此外,在PMNs形成过程中,发挥重要作用的另一肿瘤衍生因子是CCL2。CCL2是趋化因子CC亚家族重要的一员,在许多原发性肿瘤中,CCL2过表达与患者预后差存在相关性。研究显示<sup>[8]</sup>,乳腺癌细胞分泌的CCL2,一方面使破骨细胞分化功能增强,有效促进骨转移,另一方面通过促进巨噬细胞的浸润,调节肺部早期PMNs的形成<sup>[9]</sup>。

### (二) 血管屏障破坏: 血管渗漏

肺部是人体血液正常流经器官的第一个重要生理枢纽,因此肺部为预防乳腺癌患者的乳腺癌转移治疗提供创造了较为便利可靠的条件。PMNs形成初始阶段的重要标志是血管发生渗漏、通透性增强。由于肿瘤组织胞内的微血管基质组成不甚完全,如肿瘤血管壁表面平滑肌组织少、血管壁质薄、通透性甚好,使得从恶性肿瘤细菌所衍生下来的坏死因子等较易透过渗漏流至肿瘤血管内皮细胞间隙,促使局部恶性肿瘤细胞发生内流渗,增强恶性肿瘤其细胞转移愈合能力。研究也发现,恶性肿瘤细菌分泌因子如VEGF和肺血管内生成素样蛋白因子4(angioipoetin-like protein 4, ANGPTL4)等,由于能激活毛细血管黏着小斑激酶,打破与内皮细胞的接触,增强恶性肿瘤肺微血管系统的细胞膜通透性,促进肺部肿瘤的转化<sup>[10]</sup>。此外,乳腺癌细胞内表达的表皮毛细血管生长因子及其受体、表皮免疫调节抑制素、环氧合酶抑制剂2、MMP-受体1等和MMP受体-抑制剂2也相互或协同,增加表皮血管通透性,使肺循环内肿瘤细胞抗原(circulating tumor cell, CTC)迅速外渗,以达到促进恶性肿瘤肺脏转化目的<sup>[11]</sup>。MMP家族中的另一个主要成员分子MMP-9也在密切的参与着调节PMNs系统中机体的

周围血管完整性,最近有一系列实验研究已经证明,癌症细菌未抵达靶脏器表面以前,CD11b+/Gr-1+髓系细菌可直接透过分解MMP-9等作用,降低冠周细胞覆盖面,打破了血管内皮表面的VE-钙黏蛋白的联系,导致了血管壁的高渗透性<sup>[12]</sup>。由于癌症细菌迅速移散出毛细血管,并最终和肿瘤髓系细菌及其活动中的血小板共同聚集或成团,因而可为PMNs的快速生成和阻止癌症细菌的靶向性迁移提供创造了一种有利条件。

### (三) 基底细胞的激活

血管内皮细胞组织功能方面的特殊也就是在PMNs的进化形成过程中产生的其中一种结构改变,一些相关基底细菌,如肿瘤相关的巨噬细胞颗粒(tumor-associated macrophages, TAMs)细菌、恶性肿瘤的相关基底成纤维细胞颗粒(如cancer-associated fibroblasts, CAFs)等也同样会自动被激活,从而大大有利于PMNs的建立。TAMs目前也已开始被大量报道透过多种作用机制来促进乳腺癌肺转移<sup>[13-14]</sup>,巨噬细胞在肺癌PMNs过程中介导的免疫细胞抑制反应可能是由于巨噬细胞介导的表型的改变,在诱导乳腺癌的肺PMNs的形成的过程中,CYP4A+TAMs可透过极化成M2表型并诱导释放出TGF- $\beta$ , VEGF和SDF-1增强的VEGFR1+骨髓来源细胞在肺细胞中的活动和成肌纤维细胞中的活化<sup>[15]</sup>。所以,透过改变肺泡巨噬细胞的细胞表型也同样可能看作是有效抑制肿瘤PMNs细胞形成并有效抑制向癌症远端病灶转移癌症的一种治疗新策略。此外,癌症细菌也利用诱导分泌的TGF- $\beta$ 和PDGF等各种细菌因素,激活病变组织基质内功能正常增生的成体纤维细胞,使之融合成为一种CAF,继而结合原位恶性肿瘤炎症细胞、CAF所产生出来的一些细菌因素,还有一些同ECM细胞重塑相关作用的基因,共同构建起以恶性肿瘤炎症细胞多糖为主要结构成分的PMNs<sup>[16]</sup>。

### (四) 重塑ECM

在形成PMNs蛋白的一个复杂进化过程中,ECM序列发生存在着一个明显的变化,而发生这种明显变化通常可考虑通过下列两种反应机制进行实现,即形成ECM蛋白后的蛋白质表达的水平分布与分子相对位置组成上的显著改变,以及ECM蛋白质空间中拓扑的结构与刚性结构等一系列物理学性质发生的改变。近年来,肿瘤微环境中ECM纤维生成备受关注。TGF $\beta$ 能通过阻断JNK、p38、ERK、Akt等信号通路,激活肿瘤细胞核基质内的转录调控因子,促进ECM纤维蛋白的生成,从而更利于肿瘤PMNs蛋白构建,介导肿瘤蛋白转移<sup>[17]</sup>。此外,非

细胞因素如组织缺氧,也与PMNs的形成息息相关。人源性肿瘤细胞长期缺氧应激时,可选择性分泌一种赖氨酸氧化酶(lysyl oxidase, LOX)酶,其机制与胶原蛋白合成和弹性蛋白交叉连接损伤有关。研究资料表明<sup>[18]</sup>,LOX与LOXL2受体的较高选择性表达,促进减少了肿瘤细胞膜中的胶原蛋白质的过度沉积,增强了肿瘤ECM蛋白的硬度,并明显促进了乳腺癌早期与原发性肺癌晚期的早期侵袭生长与早期转移扩散;因此而明显抑制了LOX/LOXL2中的酪氨酸氧化酶的活力,减缓了癌组织早期的浸润纤维化进程与中晚期肿瘤纤维化的发生。不仅如此,LOX家族也是TGF- $\beta$ 所依赖的蛋白质,骨膜素生成可通过增强Wnt信号传导,从而维持起始转移细胞的浸润。

### (五) 系统性变化: 免疫细胞募集

免疫细胞参与了从肿瘤细胞开始启动侵袭,到PMNs形成的各个环节。原发肿瘤细胞还携带不同类型的免疫细胞,导致其在PMNs中的异常分化和累积。淋巴细胞、MDSCs、巨噬细胞和树突状细胞,这些免疫细胞的功能失调和破坏,帮助肿瘤细胞免疫逃逸。MDSCs抑制 $\gamma$ 干扰素(interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )介导免疫应答,同时诱导促炎细胞因子,如白介素和基质细胞衍生因子1(SDF1)的表达,通过募集BMDCs,产生促炎症免疫抑制性PMNs<sup>[19]</sup>。此外,中性粒细胞在PMNs中的作用也不容小觑。研究数据显示,中性粒细胞可直接在由肿瘤细胞所分泌产生的中性粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、外溢液体因子及由基质细胞来源形成的因子SDF1等的间接介导刺激下,在肿瘤转移性器官组织中扩增至<sup>[20]</sup>。中性粒细胞产生的白三烯可通过选择性富集肿瘤干细胞,促使肿瘤远处转移。而通过特定技术手段抑制肿瘤PMNs中的中性粒细胞聚集,可以阻止肿瘤转移的发生。

### 总结

总之,自PMNs首次被描述以来,专家们在PMNs的形成和演化方面取得了显著的进展。2005年Kaplan博士首次提出PMNs以来,肺PMNs是一种新的迁移前宿主肺部组织为乳癌细胞创造的适宜生存的环境,并认识到在大转移发生之前发生的病理过程需要大家去更好的理解。这一点至关重要,尤其是在患者中,肺PMNs不仅可能在肺部组织中建立,而且可能在肺的大迁移病灶附近形成。肿瘤分泌因子对肺PMNs的原发性肿瘤定向诱导可以决定转移负担和分布,未来PMNs的细胞组成依然值得进一步探索。PMNs的研究可以受益于肺部小

环境的数字化建模，从而能够系统地剖析肺PMNs的细胞和ECM成分。这将需要创新、精心设计的临床试验，具有（潜在的）替代终点和手段来检测肺PMNs并评估其治疗后的生存能力。鉴于乳腺癌肺转移治疗需要改进和进一步发展，该领域可能确实已经准备好迈出这一步。

### 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Macherey S, Mallmann P, Malter W, et al. Lung metastasectomy for pulmonary metastatic breast carcinoma[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2017, 77(6): 645-650.
- [3] Endoh M, Shiono S, Yamauchi Y, et al. Pulmonary metastasectomy for pulmonary metastasis of breast cancer has a limited prognostic impact: a multi-institutional retrospective analysis[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(11): 6552-6562.
- [4] Li R, Qi Y, Han M, et al. Computed tomography reveals microenvironment changes in premetastatic lung[J]. *Eur Radiol*, 2020, 11(21): 1-10.
- [5] Ye Q, Han XW, Wu ZS. Bioinformatics analysis to screen key prognostic genes in the breast cancer tumor microenvironment[J]. *Bioengineered*, 2020, 11(1): 1280-1300.
- [6] Peinado H, Zhang H, Matei IR, et al. Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(5): 302-17.
- [7] Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche[J]. *Nature*, 2005, 438(7069): 820-7.
- [8] Seike T, Fujita K, Yamakawa Y, et al. Interaction between lung cancer cells and astrocytes via specific inflammatory cytokines in the microenvironment of brain metastasis[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, 28(1): 13-25.
- [9] Wolf M J, Hoos A, Bauer J, et al. Endothelial CCR2 signaling induced by colon carcinoma cells enables extravasation via the JAK2-Stat5 and p38MAPK pathway[J]. *Cancer Cell*, 2013, 22(2): 91-105.
- [10] Lu X, Kang Y. Chemokine (C-C motif) ligand 2 engages CCR2 + stromal cells of monocytic origin to promote breast cancer metastasis to lung and bone[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(42): 29087-96.
- [11] Hiratsuka S, Goel S, Kamoun W S, et al. Endothelial focal adhesion kinase mediates cancer cell homing to discrete regions of the lungs via E-selectin up-regulation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(9): 3725-30.
- [12] Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, et al. Mediators of vascular remodeling co-opted for sequential steps in lung metastasis[J]. *Nature*, 2007, 446(7137): 765-70.
- [13] 魏华民, 花宝金. 髓源性抑制细胞在构筑PMN促肿瘤转移中的作用[J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(6): 516-20.
- [14] Su S, Liu Q, Chen J, et al. A positive feedback loop between mesenchymal-like cancer cells and macrophages is essential to breast cancer metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5): 605-20.
- [15] Zou W, Zhang TT, Cao YZ, et al. Research progress of microenvironment formation mechanism before tumor metastasis[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2018, 34(10): 1348-52.
- [16] Chen XW, Yu TJ, Zhang J, et al. CYP4A in tumor-associated macrophages promotes pre-metastatic niche formation and metastasis[J]. *Oncogene*, 2017, 36(35): 5045-57.
- [17] 沈培亮, 刘兆国, 王旭, 等. 肿瘤ECM纤维生成与肿瘤转移进展[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(11): 1485-8.
- [18] Canesin G, Cuevas EP, Santos V, et al. Lysyl oxidase-like 2 (LOXL2) and E47 EMT factor: novel partners in E-cadherin repression and early metastasis colonization[J]. *Oncogene*, 2015, 34(8): 951-64.
- [19] Yan HH, Pickup M, Pang Y, et al. Gr-1 + CD11b + myeloid cells tip the balance of immune protection to tumor promotion in the premetastatic lung[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6139-49.
- [20] Granot Z, Henke E, Comen EA, et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(3): 300-14.