

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.02.033

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190809.1054.030.html>(2019-08-09)

白血病髓外浸润前微环境改变的研究进展*

王丽兰,刘莲清 综述,申政磊[△] 审校

(昆明医科大学第三附属医院血液科,昆明 650100)

[摘要] 肿瘤转移是肿瘤细胞及其分泌的各种因子和宿主细胞间发生一系列相互作用的复杂过程,这些因子通过多种复杂的机制在特定器官中形成一个适合原发性肿瘤生长繁殖的转移前微环境促进肿瘤转移。这一理论在白血病中同样存在,白血病常发生脾脏、颅脑、睾丸、淋巴结等髓外部位,这些浸润部位在转移前其微环境会发生骨髓来源细胞招募、血管通透性增加、慢性炎症等适应性的变化,为循环中的白血病细胞提供适宜的生存环境,但具体的机制尚不能阐述。现就白血病髓外浸润部位微环境改变的研究进展作一综述,以期提高白血病的诊断及预后。

[关键词] 肿瘤;肿瘤微环境;白血病;分泌因子

[中图分类号] R733.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)02-0306-04

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Advances in changes of microenvironment before leukemic extramedullary infiltration*

WANG Lilan, LIU Lianqing, SHEN Zhenglei[△]

(Department of Hematology, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650100, China)

[Abstract] Tumor metastasis is a complex process of a series of interactions among tumor cells, various factors and host cells, these factors through a variety of complex mechanism formed in specific organs to grow for a primary tumor before the transfer of microenvironment to promote tumor metastasis. This theory also exists in leukemia, leukemia often occurs in the spleen, brain, testis, lymph nodes and other pulp external potential infiltration, the microenvironment of these infiltrating sites has undergone adaptive changes such as bone marrow-derived cell recruitment, increased vascular permeability, and chronic inflammation before metastasis, so as to provide an appropriate living environment for circulating leukemia cells, but the specific mechanism is not elaboration. This article reviews the research progress of the microenvironment changes in the infiltration site of leukemia extramedullary infiltration, in order to improve the treatment and prognosis of leukemia.

[Key words] neoplasms; tumor microenvironment; leukemia; secretory factor

恶性肿瘤的治疗依然是当今社会亟待解决的一大难题,而肿瘤转移仍然是致死的主要原因,尽管可以选择的治疗方法很多,但随着对肿瘤逐步深入的研究,才发现其复杂远远超过了当前的研究成果。肿瘤转移的过程不仅由肿瘤细胞自身异质性及肿瘤组织

微环境的变化决定,还取决于远端转移器官微环境的特异性。关于肿瘤细胞与转移前微环境形成之间的关系已经成为肿瘤研究的热点和难点。在白血病中,骨髓中白血病细胞生存的地方与远处浸润器官浸润前微环境有着密切的联系,这种关系的阐明对白血病

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81360089);云南省科技厅应用基础研究[2015FB072, 2017FE468(-204)];云南省教育厅项目(2018J5229)。 作者简介:王丽兰(1992-),在读硕士研究生,主要从事血液系统疾病研究。 [△] 通信作者, E-mail: szl1020@163.com。

的病程变化、临床诊治、造血调控、长期生存无疑具有重要意义。

1 肿瘤转移前微环境概述

肿瘤的转移及其转移前微环境的最初阐释是由 PAGET 提出的“种子和土壤”假说,他认为转移器官并不是偶然的、随机的选择,而是有目的性的,只有特定的组织器官(土壤)供给的环境适合肿瘤细胞(种子)生长,这样才会形成继发转移瘤,这个假说为之后的研究奠定了理论基础。后来由 KAPLAN 等学者拓展了“种子与土壤”学说,提出了肿瘤转移前微环境这个概念,即原发肿瘤来源的分泌因子在转移前特异性地到达远处待转移组织器官中,通过相互作用适应性的改变其微环境,从而构建一个适合原发肿瘤转移的生长环境,诱使循环中漂浮的原发肿瘤细胞在此处定植、聚集、增殖,最终产生转移病灶。这个过程相关的机制较复杂,其中肿瘤细胞可分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF),其诱导表达血管内皮生长因受体 R1(VEGFR1)的造血祖细胞(hemopoietic progenitor cells, HPCs)向待转移器官招募、聚集,这些 HPCs 则分化为多种干细胞发挥不同作用;且肿瘤特异性生长因子能够上调靶器官中成纤维细胞中的纤维连接素,其实就是一种 $\alpha 4\beta 1$ 整联蛋白(VLA-4)配体,它与表达 VLA-4 的 HPCs 结合,进行重新编码后促进肿瘤发生转移。其次肿瘤分泌的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)9 能够为趋化性细胞因子受体 4^+ (chemokine cytokine receptors 4^+ , CXCR4⁺)的肿瘤细胞提供适宜的转移前微环境。总而言之,肿瘤来源的分泌因子(secretory factors of tumor derived, TDSFs)在转移前微环境形成中起到了非常重要的作用^[1-2]。

2 肿瘤发生特定部位转移及转移前微环境形成的机制

肿瘤发生特定组织器官的转移及转移前微环境形成,其相关发生机制及关键因素包括以下几点。

2.1 器官特异性转移

原发肿瘤发生转移并不是简单、随机的,进入血液循环的肿瘤细胞(种子)能够特异性地在远端器官(土壤)中定植、增殖和生长。这是因为在肿瘤细胞到达之前“土壤”的微环境发生了一系列复杂的变化,最终构建出适宜其生存的微环境。肿瘤之所以会发生特异性器官的转移,主要是由其分泌的 TDSFs 决定

和驱使的,他们会招募骨髓来源细胞(bone marrow derived dendritic cells, BMDCs)向靶器官聚集,并与靶器官的细胞间发生复杂的反应而促使形成适宜的转移前微环境。TDSFs 包括粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、S100 钙结合蛋白 A8/A9(S100 calcium binding protein A8/A9, S100A8/A9)、MMP9 及脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)等,在 TDSFs 的作用下,会招募 $Ly6G^+/Ly6C^+$ 的骨髓源细胞($CD11^+/Gr-1^+$)至转移前微环境中,且在低氧环境中会招募 $CD11b^+/Ly6G^+/Ly6C^{med}$ 粒细胞至靶器官,这就营造了一个具有明显免疫抑制性的转移前微环境;TDSFs 不仅诱导 BMDCs 向靶器官招募、聚集,同时还会对 BMDCs 的分化产生影响^[1,3-8]。

2.2 肿瘤转移前微环境中的 BMDCs

根据目前的相关研究,有关 BMDCs 的定义和分类还无统一的标准,但其中研究较多、相对透彻的是一类由髓系祖细胞和未成熟髓系细胞分化而来的髓系细胞异质群即髓性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs),他们具有明显的免疫抑制特性,出现在早期的转移前微环境中,且存在易变性,其分子表达水平常随着环境的变化而变化,多个实验证据已表明 MDSCs 与 TDSFs 相互作用是转移前微环境形成的关键因素。研究显示,转移前微环境中的 $CD11b^+/Gr-1^+/Ly6C^{high}$ MDSCs 通过分泌蛋白聚糖类促进转移前环境中肿瘤细胞的间质上皮转化,从而促进转移灶的形成;同时激活 $CD11b^+/Gr-1^+$ 骨髓细胞诱导其产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),这类细胞因子能够提高肿瘤细胞生存能力,从而诱导淋巴细胞向转移前微环境中募集^[2,4,9-10]。因此,转移前微环境中 BMDCs 的招募、聚集、增殖及分化受多方面的影响,同时在转移前微环境的形成中起重要作用。

2.3 肿瘤前转移微环境中血管通透性的变化

已有研究表明血管通透性的改变发生在肿瘤发生特定器官转移之前,这种变化与 TDSFs 是密不可分的,这些因子使待转移器官微环境中血管通透性升高,促进游离肿瘤细胞向转移器官招募、聚集,进而形成继发转移灶。肿瘤细胞来源的 MMP1 及表皮调节素等通过协同作用,促使血管通透性增强;MMP9 等分泌因子可减少血管内皮中钙黏蛋白的连接,从而增强血管通透性。虽然目前对血管通透性增加的相关机制有了结论,但很多机制尚不明确,还需要进行更加深入而详细的研究^[1,11-15]。

2.4 肿瘤转移前微环境形成的分子机制

通过构建不同肿瘤模型,已经探索出了许多促成

肿瘤转移前微环境形成的 TDSFs, 包括 VEGF、G-CSF、S100A8/A9、PLGF、TNF- α 、纤连蛋白、干扰素 γ 、蛋白聚糖和外泌体及外泌体中相关的 microRNAs (miR), 如 miR-105、miR-542-3p 等, 这些 TDSFs 在转移前微环境形成中都发挥重要作用, 尽管现在已经探讨了许多 TDSFs 促进转移前微环境形成的有关分子机制, 然而导致这些 TDSFs 表达上调的机制尚未研究清楚, 还需要进一步深入研究^[4,16-20]。

2.5 慢性炎症

这也是促进肿瘤转移的关键要素之一, 已有研究表明炎性转移前微环境的形成在肿瘤转移中起到重要作用, 主要是通过多种分泌因子及信号通路来调节免疫细胞功能、促进炎症形成、促进肿瘤生长和转移。VEGF、TNF- α 及 TGF- β 可以特异性介导炎性蛋白 S100A8/A9 在靶器官高表达并异常激活 Toll 样受体-4(Toll-like receptor 4, TLR-4) 信号通路, 促进营造出适合转移的炎性微环境; S100A4 能够通过 TLR 等信号通路诱导 SAA1 和 SAA3 在靶器官中形成, 而 SAA 可以作为炎性反应与肿瘤在转移前微环境中的连接, 促使形成炎性转移前微环境; 在 TDSFs 作用下招募和聚集在转移前微环境中的中性粒细胞引起的免疫应答也促进了肿瘤转移, 同时微环境在低氧时也能够将免疫细胞转化为促瘤型诱发炎性反应而促进肿瘤转移。因此, 在肿瘤细胞到达待转移部位之前, 在靶器官中形成炎性微环境有助于肿瘤细胞在此微环境定植、存活、增殖, 从而促进肿瘤转移^[15,21-24]。

3 白血病中转移前微环境的研究现状

与实体瘤不同, 目前白血病中有关转移前微环境的研究主要集中在白血病骨髓造血细胞生存的“龕”, 而有关转移前微环境的研究甚少, 查阅提出转移前微环境概念的文献发现, 在 2012 年有国外学者对多发性骨髓瘤进行有关微环境综述时提到转移前微环境概念^[25]。在 2014 年有学者探索了淋巴结微环境在发生分子特征性改变后为慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL) 细胞提供了适宜的生存环境, 但其中的机制尚未明确。之后在 2015 年提出了已发生白血病浸润的组织器官中的肿瘤相关巨噬细胞可能参与转移, 但其中的机制尚不能阐述。显而易见, 白血病在转移前已形成适宜的转移前微环境, 因此需要更加深入地研究白血病与转移前微环境变化的关系。关于白血病中转移前微环境的研究甚少, 分析其中的因素可能有以下几个: (1) 白血病起源于骨髓, 累及部位分布广泛, 而且原发部位与远处转移部位区分不明显。(2) 白血病, 尤其是急性白血病, 白

血病细胞倍增时间短, 病情进展快, 且与其他实体瘤早、晚分期明显不同。(3) 白血病中构建转移前微环境的动物模型相对困难。(4) “种子和土壤”假说在血液疾病中一直占据经典地位, 但研究中心始终放在骨髓“龕”上。(5) 白血病是干(祖)细胞疾病, 一直以来都认为肿瘤的转移能力取决于肿瘤细胞遗传、表型等方面的特征, 而在肿瘤发生特异性器官转移中微环境的变化对转移的关键作用未得到重视。但显然转移前微环境形成对白血病同样具有重要价值, 单从治疗角度而言, 白血病常规治疗包括髓外白血病的防治, 顾名思义脾脏、颅脑等浸润部位常是白血病细胞的“庇护所”, 其导致白血病易复发或转变为难治性白血病, 因此髓外部位白血病细胞的生存环境与骨髓“龕”是不同的, 这是需要进一步深入研讨的问题。

通过目前的相关研究, 笔者认为: (1) 白血病中骨髓“龕”是白血病细胞赖以生存的环境, 其对髓外部位白血病细胞的生长具有重要影响, 但不能与髓外白血病的微环境等同。(2) 从转移前微环境角度来说, 白血病的转移同其他实体瘤一样都具有器官特异性, 髓外部位就是白血病细胞的特定侵犯的靶器官及组织, 包括脾脏、颅脑、睾丸、淋巴结等。(3) 髓外部位在白血病细胞发生转移前理论上存在 BMDCs 招募、血管通透性增加、纤维粘连蛋白产生增加等转移前微环境形成过程中的特征性变化。(4) 髓外部位白血病细胞受累与骨髓原发病灶间存在时间上的差异, 尤其是脑、睾丸等, 这个特点有助于构建白血病转移前微环境模型。(5) 鉴于表观遗传学作为联系疾病与正常内环境间的“桥梁”, 在研究转移前微环境的复杂性时可检测与转移前微环境相关的 miRNA/LncRNA, 这样可能更容易甚至在更早期就找到转移过程中规律性的调控靶位。

4 小结和展望

原发肿瘤通过分泌多种因子在特定转移部位形成转移前微环境协助完成转移, 这一理论在很多实体瘤中有了很深的认识。由于白血病和其他实体瘤存在差别, 相关研究甚少, 因此可研究白血病发生髓外转移部位转移前微环境的特点来帮助治疗及判定预后。白血病中慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML) 常发生脾脏转移, 尤其在慢性期, 90% 以上病例以脾肿大最为显著特征, 这为选择转移前微环境的靶器官提供了最合理的目标; 而且 CML 中有特定的 BCR/ABL 融合基因, 为论证转移前微环境模型与转移模型提供了准确的分子生物学指标, 急性淋巴细胞白血病可表达 pH 染色体, 该病病程进展

快、预后差,常由髓外侵犯颅内,这可为 CML 提供最好的参照。从体外实验手段考虑,采用尽可能反映体内微环境的模型,3D 培养无疑比传统培养具有优势;且本课题组之前的相关研究可以为实验提供很好的技术支持。因此建立白血病转移前微环境的模型有可行性,而且有一定的必要性。目前就此提出猜想和展望,相关结论需进行实验才能得出。

目前白血病的治疗仍然是需要解决的重要难题,白血病易发生髓外浸润,其治疗也包括浸润部位的治疗,且髓外部位的治疗与疗效及预后都息息相关,通过研究白血病髓外浸润部位微环境的变化,相信会在一定程度上提高白血病的治疗效果并改善预后。

参考文献

- [1] WU S, ZHENG Q, XING X, et al. Matrix stiffness-upregulated LOXL2 promotes fibronectin production, MMP9 and CXCL12 expression and BMDCs recruitment to assist pre-metastatic niche formation [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 99.
- [2] PEINADO H, ZHANG H, MATEI I R, et al. Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(5): 302-317.
- [3] WU C F, ANDZINSKI L, KASNITZ N, et al. The lack of type I interferon induces neutrophil-mediated pre-metastatic niche formation in the mouse lung [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(4): 837-847.
- [4] WANG Y, DING Y, GUO N, et al. MDSCs: key criminals of tumor pre-metastatic niche formation [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 172.
- [5] SCENEAY J, CHOW M T, CHEN A, et al. Primary tumor hypoxia recruits CD11b⁺/Ly6C^{med}/Ly6G⁺ immune suppressor cells and compromises NK cell cytotoxicity in the premetastatic niche [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 3906-3911.
- [6] SHAO B, ZHAO X, LIU T, et al. LOXL2 promotes vasculogenic mimicry and tumour aggressiveness in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(2): 1363-1374.
- [7] 魏华民, 花宝金. 髓源性抑制细胞在构筑转移前微环境促肿瘤转移中的作用 [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(6): 516-520.
- [8] LIU Y, CAO X. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(5): 668-681.
- [9] YAN H H, 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): 6139-6149.
- [10] SAFARZADEH E, ORANGI M, MOHAMMADI H, et al. Myeloid-derived suppressor cells: Important contributors to tumor progression and metastasis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(4): 3024-3036.
- [11] LOBB R J, LIMA L G, MÖLLER A. Exosomes: key mediators of metastasis and pre-metastatic niche formation [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 67: 3-10.
- [12] PAIDI S K, RIZWAN A, ZHENG C, et al. Label-free raman spectroscopy detects stromal adaptations in premetastatic lungs primed by breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(2): 247-256.
- [13] SEMENZA G L. The hypoxic tumor microenvironment: a driving force for breast cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(3): 382-391.
- [14] JIAN J, PANG Y, YAN H H, et al. Platelet factor 4 is produced by subsets of myeloid cells in premetastatic lung and inhibits tumor metastasis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 27725-27739.
- [15] XU B, ZHOU M, QIU W, et al. CCR7 mediates human breast cancer cell invasion, migration by inducing epithelial-mesenchymal transition and suppressing apoptosis through AKT pathway [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(5): 1062-1071.
- [16] LIU Y, GU Y, HAN Y, et al. Tumor exosomal RNAs promote lung pre-metastatic niche formation by activating alveolar epithelial TLR3 to recruit neutrophils [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(2): 243-256.
- [17] SKERENOVA M, MIKULOVA V, CAPOUN O, et al. Circulating tumor cells and serum levels of MMP-2, MMP-9 and VEGF as markers of the metastatic process in patients with high risk of metastatic progression [J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2017, 161(3): 272-280.

- et al. Early enrichment and restitution of the peripheral blood treg pool is associated with rejection-free stable immunosuppression after liver transplantation [J]. *Transplantation*, 2016, 100(7):e39-40.
- [22] SAFINIA N, VAIKUNTHANATHAN T, FRASER H, et al. Successful expansion of functional and stable regulatory T cells for immunotherapy in liver transplantation [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(7): 7563-7577.
- [23] WHITEHOUSE G P, HOPE A, SANCHEZ-FUEYO A. Regulatory T-cell therapy in liver transplantation [J]. *Transpl Int*, 2017, 30(8): 776-784.
- [24] GHAZAL K, STENARD F, DAHLQVIST, et al. Treatment with mTOR inhibitors after liver transplantation enables a sustained increase in regulatory T-cells while preserving their suppressive capacity [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2018, 42(3):237-244.
- [25] 唐茂明, 徐雪松, 赖星, 等. CTLA4Ig 与 IDO 基因共转染对大鼠肝移植后免疫耐受的影响 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(22):2892-2895.
- [26] ZHOU Y, YANG X, ZHANG H, et al. The roles of T helper type 17/regulatory T cells in acute rejection after liver transplantation in rats [J]. *Transplantation*, 2015, 99(6):1126-1131.
- [27] WONG Y C, MCCAUGHAN G W, BOWEN D G, et al. The CD8 T-cell response during tolerance induction in liver transplantation [J]. *Clin Transl Immunol*, 2016, 5(10):e102.
- [28] LI Z, GU J, ZHU Q, et al. Obese donor mice splenocytes aggravated the pathogenesis of acute graft-versus-host disease via regulating differentiation of Tregs and CD4(+) T cell induced-type I inflammation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43):74880-74896.
- [29] 范伟, 张莹, 郭江富, 等. mdr-1 基因骨髓造血干细胞移植诱导大鼠肝移植免疫耐受 [J]. *重庆医学*, 2011, 40(11):1046-1048.
- [30] FENG S, BUCUVALAS J. Tolerance after liver transplantation: where are we? [J]. *Liver Transpl*, 2017, 23(12):1601-1614.
- [31] BEHNAM S K, SAWITZKI B. Immune monitoring as prerequisite for transplantation tolerance trials [J]. *Clin Exp Immunol*, 2017, 189(2):158-170.
- (收稿日期:2019-03-18 修回日期:2019-06-02)
-
- (上接第 309 页)
- [18] BARBAZCN J, ALONSO-ALCONADA L, ELK HATIB N, et al. Liver metastasis is facilitated by the adherence of circulating tumor cells to vascular fibronectin deposits [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13): 3431-3441.
- [19] STEINBICHLER T B, DUDCS J, RIECHELMANN H, et al. The role of exosomes in cancer metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 44: 170-181.
- [20] SYN N, WANG L, SETHI G, et al. Exosome-mediated metastasis: from epithelial-mesenchymal transition to escape from immunosurveillance [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37(7): 606-617.
- [21] LOYHER P L, HAMON P, LAVIRON M, et al. Macrophages of distinct origins contribute to tumor development in the lung [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(10):2536-2553.
- [22] LI Y C, ZOU J M, LUO C, et al. Circulating tumor cells promote the metastatic colonization of disseminated carcinoma cells by inducing systemic inflammation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17):28418-28430.
- [23] SZEBENI G J, VIZLER C, KITAJKA K, et al. Inflammation and cancer: extra- and intracellular determinants of tumor-associated macrophages as tumor promoters [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017:9294018.
- [24] SFANOS K S, YEGNASUBRAMANIAN S, NELSON W G, et al. The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development [J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15(1):11-24.
- [25] MANIER S, SACCO A, LELEU X, et al. Bone marrow microenvironment in multiple myeloma progression [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012:157496.
- (收稿日期:2019-04-02 修回日期:2019-07-21)