

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.15.031

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210406.1741.005.html\(2021-04-07\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210406.1741.005.html(2021-04-07))

肺癌相关成纤维细胞的异质性及研究进展*

谢志丹¹, 梁亚奇¹综述, 徐芹芹^{2△} 审校

(1. 青海大学, 西宁 810016; 2. 青海省人民医院肿瘤内科, 西宁 810007)

[摘要] 癌相关成纤维细胞(CAFs)是构成肿瘤微环境的主要细胞成分之一,具有促进肿瘤的血管新生、肿瘤浸润和侵袭、肿瘤上皮间质转化等作用。近年来单细胞转录组学、细胞代谢和重编程等技术更加深入地阐明了 CAFs 异质性及调节肿瘤细胞的机制。本文就 CAFs 的异质性特点、炎症及代谢紊乱特征,以及靶向 TME 治疗等领域的进展作一综述,旨在介绍肺癌 TME CAFs 研究的最新进展,从而为肺癌治疗提供新的理论基础。

[关键词] 肺肿瘤;癌相关成纤维细胞;肿瘤微环境;异质性

[中图法分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)15-2665-05

Lung carcinoma-associated fibroblast heterogeneity and its research progress*

XIE Zhidan¹, LIANG Yaqi¹, XU Qinqin^{2△}

(1. Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China; 2. Department of Oncology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai 810007, China)

[Abstract] Carcinoma-associated fibroblasts (CAFs) is one of tumor microenvironment (TME) main cellular composition, has the roles in promoting tumor angiogenesis, tumor infiltration and invasion, tumor epithelial-mesenchymal transition. In recent years, the technologies such as single-cell transcriptome, cell metabolism and reprogram have well clarified the heterogeneous features of CAFs and its regulation on tumor cells. This article reviewed the progresses in the fields of heterogeneity characteristics of CAFs, characteristics of inflammation and metabolic disorder as well as targeted TME therapy, thus to provide a new theoretical basis for lung cancer therapy.

[Key words] lung neoplasm; carcinoma-associated fibroblasts; tumor microenvironment; heterogeneity

肺癌是全球发病率和病死率位居第一位的癌症,其治疗依赖于病理诊断及分子病理诊断。肺癌根据组织学特征可分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC)两种类型,NSCLC又主要分为腺癌和鳞癌,腺癌中最常见的驱动基因是表皮生长因子受体(EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(ALK)、c-ros 原癌基因 1 酪氨酸激酶(ROS1)等基因。对于没有驱动基因突变的肺癌,标准治疗方案以铂二联为基础联合抗血管生成或免疫检查点抑制剂。对于存在驱动基因突变的肺癌,标准治疗方案为小分子酪氨酸激酶抑制剂,耐药后根据相应的分子病理特征选择后续治疗方案;但是无论靶向治疗、化疗,还是化疗联合免疫治疗,耐药机制一直是困扰临床诊治的难题。近期有研究发现肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是影

响临床治疗效果的重要因素^[1],阐明 TME 的成分及其肿瘤调控机制将有助于解决肺癌治疗耐药这一重大难题。

TME 是由细胞外基质细胞、多种细胞成分、细胞因子、生长因子、趋化因子等构成,其成分通过多种方式与肿瘤细胞相互依存、相互作用,参与肿瘤的发生、发展和转移^[2]。癌相关成纤维细胞(carcinoma-associated fibroblasts, CAFs)是构成 TME 的主要细胞成分之一,也是促进肿瘤发生和发展的主要基质细胞成分。以往系列研究阐明了 CAFs 的细胞特征,证明了其具有促进肿瘤的血管新生、肿瘤浸润和侵袭、肿瘤上皮间质转化等作用^[3]。并开始尝试研究靶向 CAFs 对肿瘤治疗效果的影响。近年来多组学技术的发展,尤其单细胞转录组学、细胞代谢和重编程等领域的进

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81760529);青海省科技厅项目(2017-ZJ-942Q)。 作者简介:谢志丹(1996-),在读硕士研究生,主要从事肺癌微环境、能量代谢、靶向耐药方面的研究。 △ 通信作者, E-mail:13997075521@163.com。

展,使医学界对 CAFs 异质性、代谢紊乱及炎症调节等新机制有了更深入的认识。随着对外泌体、细胞融合及线粒体转运机制的阐明,医学界对 CAFs 与肿瘤细胞的相互作用也有了全新的认识,颠覆着靶向肺癌治疗的方向。本文主要就近年来 CAFs 异质性及靶向 TME 治疗的进展作一概述。

1 多组学技术揭示 CAFs 异质性本质

CAFs 已经从多种肿瘤如脑肿瘤、肾肿瘤、卵巢肿瘤及消化道肿瘤和肺癌等组织中分离出来。以往众多研究阐明了 CAFs 的细胞特征,如特异性表达 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)、血小板源性生长因子受体- β (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR- β)、成纤维细胞特异性蛋白-1(fibroblast specific protein-1, FSP-1)等标志物。CAFs 生物学特性研究表明,其通过直接或间接机制调控肿瘤耐药、侵袭转移、血管生成、上皮间质转化及代谢紊乱等^[4-6]。在动物实验中,临床肿瘤标本分离的 CAFs 与癌细胞混合后植入裸鼠皮下,可明显加速肿瘤形成^[5]。CAFs 促进肿瘤生长的可能机制还包括旁分泌及趋化内皮祖细胞和单核细胞等。

CAFs 代表一类异质性非常强和多来源性细胞,被描述为纺锤样细胞并不表达上皮、内皮及白细胞表型的一类细胞。CAFs 来源可能由肿瘤基质中正常成纤维细胞(normal fibroblasts, NFs)分化而来,也可能是在肿瘤细胞刺激下重编程所致^[7]。阐明 CAFs 的异质性及激活机制是其靶向治疗的关键。以往研究只是从细胞表型和功能特点阐述了 CAFs 的异质性。近年来随着单细胞转录组学及空间转录组学等新技术的发展,从基因层面更明确了 CAFs 转录特征,结合细胞代谢及重编程特点,从全新角度了解 CAFs 的异质性及功能差别。

利用多组学技术,包括单细胞转录组学、基因组学、表观遗传学、蛋白质组学等数据的整合,有效阐明了 TME 中 CAFs 的细胞类型和功能,并为靶向 CAFs 治疗提供了基础^[8]。在肺癌单细胞转录组学研究中,肿瘤 CAFs 存在众多不同的细胞亚群,部分 CAFs 具有类似纤维母细胞特性,部分亚群则更加类似前血管细胞的特征,有些则高表达细胞生长因子和免疫调节分子,从而在形态特征、空间关系、功能特征及细胞外基质方面阐明 CAFs 的异质性。为针对性靶向 CAFs 细胞亚群干预肿瘤提供了理论基础。LAMBRECHTS 等^[9]分析了 5 例肺腺癌或鳞状上皮癌患者肿瘤标本的 52 698 个细胞单细胞转录序列,鉴定出了 52 种 CAFs,在这 52 种 CAFs 亚型中,尽管都

归类为纤维母细胞,但在表达谱、代谢特征和细胞表型方面体现出巨大的差别,有的克隆非常类似成纤维细胞,有的克隆具有非常强的上皮间质转化特性,能分泌众多的细胞外基质蛋白,部分克隆高表达平滑肌肌动蛋白 $\alpha 2$ (ACTA2)和高分泌转化生长因子 β (TGF- β)。对来自患者的肺癌、结直肠癌、卵巢癌和乳腺癌等多种肿瘤基质细胞异质性进行单细胞 RNA 和蛋白质组分析,确定了共同特征的 68 个基质细胞亚群,每个亚群在标记基因、转录因子、代谢活动和组织表达均存在差异。其中,46 个亚群是所有癌症共有的,其余 22 个亚群是每种肿瘤特异性的^[10]。利用整合的单细胞表达谱及多组学分析还能够确定肺癌内皮细胞的异质性及调节血管生成的候选基因。单细胞转录组还阐明肿瘤中内皮细胞异质性,发现了以前未被认识的内皮细胞表型,包括参与调节免疫监视功能^[11]。对肿瘤基质细胞的精细分类和细胞间空间关联注释,将提高对 TME 异质性的理解,并有助于针对不同亚群研发靶向肿瘤治疗的策略^[12]。

2 肿瘤 CAFs 激活及其代谢异常的机制

CAFs 激活的原因和机制是探索其干预措施的基础。癌细胞对邻近 CAFs 的活化作用主要通过外分泌的细胞因子,包括 TGF- β 、肝细胞生长因子(HGF)^[13]、血小板衍生生长因子(PDGF)、表皮生长因子(EGF)、胰岛素样生长因子(IGF)^[13-15]均已被证明对 CAFs 具有活化作用,其机制与核因子- κ B(NF- κ B)、TGF- β /Smad、Janus 蛋白酪氨酸激酶/信号转导子及转录激活因子-3(JAK/STAT3)等通路有关。癌细胞还可以通过趋化和刺激肿瘤相关巨噬细胞等分泌炎症介质,如白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 IL-6 等进而间接活化 CAFs。此外,TME 的缺氧状态亦可通过激活 G 蛋白偶联受体信号诱导 CAFs 的活化^[16]。

CAFs 活化是导致 TME 代谢异常和炎症环境的重要因素。大量的单细胞转录组学分析表明 NSCLC 的高葡萄糖吸收与增殖和侵袭特性密切相关。在 TGF- β 及其他信号刺激下,NFs 向 CAFs 的转化过程中会诱导谷氨酰胺-果糖-6-磷酸转氨酶 2(GFPT2)表达并导致 CAFs 的糖代谢异常,从而改变糖酵解、磷酸戊糖途径、柠檬酸循环途径^[17]。因此,GFPT2 及其他关键酶也成为肿瘤组织 CAFs 的标志,并可能发展为潜在的肺腺癌治疗靶标^[18]。CAFs 的异常代谢产物可能影响肿瘤细胞进行重编程和自噬,成为区别 NFs 的重要特征^[18]。

3 CAFs 调节肺癌细胞生物学特性的机制

3.1 CAFs 提供炎症 TME

CAFs 炎症信号通路激活并分泌各种炎症因子,使 TME 呈现炎症状态。肺癌 CAFs 中环氧化酶-2 (COX2)和前列腺素 E2(PGE2)-整合素信号轴过度激活,从而促进肿瘤的发展。靶向抑制 COX2 可有效减少细胞因子的分泌并减低鳞状细胞癌恶化^[19]。大数据发掘发现, COL1A1 与 NSCLC 复发有关联。总体而言,炎症环境是 CAFs 和鳞状细胞癌相互作用紊乱的基础。靶向 COX2 和 SRC 激酶可能是一个有效预防肺癌进展的策略^[19]。

3.2 外泌体微 RNA(miRNA)和长链非编码 RNA(lncRNA)

CAFs 除了分泌细胞因子、趋化因子等机制调节肿瘤细胞外,还通过外泌体放射调控肺癌细胞生物学特性。细胞外泌体是包含了复杂 RNA 和蛋白质的小膜泡,直径在 40~100 nm。CAFs 释放外泌体是 CAFs 调控肿瘤细胞特征的重要方式。miRNA 是外泌体中的主要成分之一,也是外泌体发挥生物学作用的主要机制。如 miR-210 在转移肺癌细胞外泌体中是促血管新生的因素,通过调节 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(JAK2)/STAT3 通路影响肿瘤细胞的生物学特性^[20]。肿瘤来源的外泌体 miR-1247-3p 诱发 CAFs 激活促进肝癌肺转移^[21]。除了分泌促血管生长因子之外,CAFs 分泌的外泌体也参与转移灶的 TME 形成。另外,外泌体中 CAFs 相关分子也可能成为诊断的靶标,如血液中整合素 $\beta 1$ 微粒可以预测肿瘤转移^[22]。CAFs 外泌体已经成为肿瘤诊断的标志物和肿瘤治疗的靶分子。因此,针对 CAFs 的干涉策略对防止肿瘤细胞转移很有意义。

3.3 CAFs 的生物活性物质传递

CAFs 合成生物大分子介导了 CAFs 对肿瘤细胞的调控。中期因子(midkine)是一个肝素结合生长因子,介导 CAFs 诱导肿瘤细胞的耐药性。CAFs 高表达 midkine 抑制顺铂诱导的细胞凋亡,可能是肿瘤顺铂耐药性机制之一^[23]。肾小球足细胞膜黏蛋白(podoplanin)是一种淋巴管内皮标志物的跨膜唾液酸糖蛋白, podoplanin 阳性 CAFs 在 EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)耐药中扮演着重要的角色,有可能是一个理想的治疗靶标^[24]。另外,IL-6 家族细胞因子抑瘤素 M(OSM)是诱导 EMT 表型的关键分子,并通过 Janus 蛋白酪氨酸激酶 1(JAK1)/STAT3 通路调控靶向治疗耐药诱导的细胞凋亡^[25]。NSCLC 细胞和 CAFs 之间的相互作用主要通过激活 OSM/STAT3 通路,并通过旁分泌机制抑制靶向药物的敏感性。

3.4 线粒体转移

CAFs 除了影响细胞代谢重编程外,线粒体转移

也是 CAFs 调控肿瘤细胞特性的重要机制之一。通过细胞间的桥梁可以传递 CAFs 来源线粒体。肿瘤 CAFs 线粒体作为能量传感器,将 CAFs 代谢重编程和细胞线粒体依赖性传递给肿瘤细胞^[26]。

4 靶向 CAFs 治疗肺癌策略

CAFs 作为最重要的 TME 的细胞成分,在肿瘤发展过程中发挥重要的角色。针对 CAFs 的靶向整合治疗策略有可能突破 TME 对肿瘤细胞的保护作用,具有非常好的前景。

4.1 靶向 CAFs 解除 TME 对免疫细胞的抑制作用

TME 对免疫细胞具有明显抑制作用,靶向 TME 的 CAFs 可以增强系统性抗肿瘤免疫反应,包括多种类型的细胞毒性 CD8⁺ T 淋巴细胞反应、自然杀伤细胞(NK 细胞)活性等^[27]。这为肿瘤免疫治疗联合靶向 CAFs 提供了一个新的免疫治疗策略。

4.2 靶向 CAFs 的活性氧(ROS)信号抑制炎症 TME

针对 CAFs 异质性可以开发新的治疗策略。纤维母细胞向 CAFs 转化需要依赖于 ROS,ROS 是通过 NADPH 氧化酶 4(NOX4)产生的。因此抑制 NOX4 的药物可能靶向 CAFs 的转化,从而对多种肿瘤有广泛的适用性。另外,CAFs 还通过 ROS 促进免疫抑制及骨髓源性抑制细胞(MDSCs)向肺鳞状细胞癌发展。

4.3 靶向 CAFs 抑制肿瘤细胞自噬

靶向 CAFs 调控的肿瘤细胞自噬是肿瘤治疗的重要途径之一。CAFs 分泌 IGF1/2、趋化因子 CX-CL12 和 β -羟丁酸(β -hydroxybutyrate)等物质能够诱导肿瘤细胞自噬,从而保护肿瘤细胞免于放射或药物杀伤^[28]。CAFs 调节肿瘤自噬机制与 ROS 产生、蛋白磷酸酶 2A(PP2A)活性及抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)激活有关。靶向肿瘤 CAFs 的自噬调节通路可能是一种有前途的增加放疗敏感性的策略^[29]。

4.4 CAFs 的靶向策略

CAFs 及间充质细胞容易进入肿瘤组织,经过工程化改造的基质细胞可以摧毁 TME^[30]。CAFs 表达多个特异标志物,如富含亮氨酸重复蛋白 15(LRRC15)表达在肺癌和多种实体肿瘤的 CAFs 上。LRRC15 通过 TGF- β 诱导激活成纤维细胞和间充质干细胞表达 α -平滑肌动蛋白(α -SMA)。靶向 LRRC15 阳性 CAFs 已经证明是一种有效的肿瘤治疗策略^[31]。CD44 是 CAFs 的功能性分子并在 TME 中维持肿瘤干细胞数量和干性。利用 CD44 抗体药物可以靶向 CAFs 起到治疗作用^[31]。

总之,随着对 CAFs 异质性、代谢紊乱及炎症环境新调节机制的认识,将指导发展新的靶向 TME 的治疗策略,从而提高肺癌及其他肿瘤的临床治疗效果。

参考文献

- [1] SANTANIELLO A, NAPOLITANO F, SERVETTO A, et al. Tumour microenvironment and immune evasion in EGFR addicted NSCLC: hurdles and possibilities [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(10):1419.
- [2] ISHII G, ISHII T. Review of cancer-associated fibroblasts and their microenvironment in post-chemotherapy recurrence [J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4):938-945.
- [3] JIN M Z, JIN W L. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 166.
- [4] YI Y, ZENG S, WANG Z T, et al. Cancer-associated fibroblasts promote epithelial-mesenchymal transition and EGFR-TKI resistance of non-small cell lung cancers via HGF/IGF-1/ANXA2 signaling [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(3):793-803.
- [5] ITOH G, CHIDA S, YANAGIHARA K, et al. Cancer-associated fibroblasts induce cancer cell apoptosis that regulates invasion mode of tumours [J]. *Oncogene*, 2017, 36 (31): 4434-4444.
- [6] ORIMO A, GUPTA P B, SGROI D C, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion [J]. *Cell*, 2005, 121(3):335-348.
- [7] MICKE P, OSTMAN A. Tumour-stroma interaction: cancer-associated fibroblasts as novel targets in anti-cancer therapy? [J]. *Lung Cancer*, 2004, 45(Suppl2):S163-175.
- [8] DE VRIES N L, MAHFOUZ A, KONING F, et al. Unraveling the complexity of the cancer microenvironment with multidimensional genomic and cytometric technologies [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:1254.
- [9] LAMBRECHTS D, WAUTERS E, BOECKX B, et al. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment [J]. *Nat Med*, 2018, 24(8):1277-1289.
- [10] QIAN J, OLBRECHT S, BOECKX B, et al. A pan-cancer blueprint of the heterogeneous tumor microenvironment revealed by single-cell profiling [J]. *Cell Res*, 2020, 30(9):745-762.
- [11] GOVEIA J, ROHLENOVA K, TAVERNA F, et al. An integrated gene expression landscape profiling approach to identify lung tumor endothelial cell heterogeneity and angiogenic candidates [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3):421.
- [12] TONG Y Q, LIU Y. Metabolic heterogeneity in cancer: an overview and therapeutic implications [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874(2):188421.
- [13] DENYS H, DERYCKE L, HENDRIX A, et al. Differential impact of TGF- β and EGF on fibroblast differentiation and invasion reciprocally promotes colon cancer cell invasion [J]. *Cancer Lett*, 2008, 266(2):263-274.
- [14] BHOWMICK N A, NEILSON E G, MOSES H L. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression [J]. *Nature*, 2004, 432(7015):332-337.
- [15] WU X, CHEN X, ZHOU Q, et al. Hepatocyte growth factor activates tumor stromal fibroblasts to promote tumorigenesis in gastric cancer [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1):128-135.
- [16] STENMARK K R, GERASIMOVSKAYA E, NEMENOFF R A, et al. Hypoxic activation of adventitial fibroblasts: role in vascular remodeling [J]. *Chest*, 2002, 122(6 Suppl):326S-334.
- [17] ZHANG W, BOUCHARD G, YU A, et al. GFPT2-expressing cancer-associated fibroblasts mediate metabolic reprogramming in human lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13):3445-3457.
- [18] CHAUDHRI V K, SALZLER G G, DICK S A, et al. Metabolic alterations in lung cancer-associated fibroblasts correlated with increased glycolytic metabolism of the tumor [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(6):579-592.
- [19] CHO J, LEE H J, HWANG S J, et al. The in-

- terplay between slow-cycling, chemoresistant cancer cells and fibroblasts creates a proinflammatory niche for tumor progression[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(11):2257-2272.
- [20] FAN J, XU G, CHANG Z, et al. miR-210 transferred by lung cancer cell-derived exosomes May act as proangiogenic factor in cancer-associated fibroblasts by modulating JAK2/STAT3 pathway[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(7): 807-825.
- [21] FANG T, LV H, LV G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):191.
- [22] KONG J, TIAN H, ZHANG F, et al. Extracellular vesicles of carcinoma-associated fibroblasts creates a pre-metastatic niche in the lung through activating fibroblasts[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):175.
- [23] ZHANG D, DING L, LI Y, et al. Midkine derived from cancer-associated fibroblasts promotes cisplatin-resistance via up-regulation of the expression of lncRNA ANRIL in tumour cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):16231.
- [24] YOSHIDA T, ISHII G, GOTO K, et al. Podo- planin-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.
- [25] SHIEN K, PAPANIMITRAKOPOULOU V A, RUDER D, et al. JAK1/STAT3 activation through a proinflammatory cytokine pathway leads to resistance to molecularly targeted therapy in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(10):2234-2245.
- [26] IPPOLITO L, MORANDI A, TADDEI M L, et al. Cancer-associated fibroblasts promote prostate cancer malignancy via metabolic rewiring and mitochondrial transfer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(27):5339-5355.
- [27] OHSHIO Y, TERAMOTO K, HANAOKA J, et al. Cancer-associated fibroblast-targeted strategy enhances antitumor immune responses in dendritic cell-based vaccine [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(2):134-142.
- [28] HANLEY C J, MELLONE M, FORD K, et al. Targeting the myofibroblastic cancer-associated fibroblast phenotype through inhibition of NOX4[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(1): 109-120.
- [29] WANG Y, GAN G, WANG B, et al. Cancer-associated fibroblasts promote irradiated cancer cell recovery through autophagy[J]. *EBioMedicine*, 2017, 17:45-56.
- [30] DZOBO K, SENTHEBANE D A, GANZ C, et al. Advances in therapeutic targeting of cancer stem cells within the tumor microenvironment; an updated review[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1896.
- [31] PURCELL J W, TANLIMCO S G, HICKSON J, et al. LRRC15 is a novel mesenchymal protein and stromal target for antibody-drug conjugates[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(14): 4059-4072.

(收稿日期:2020-11-18 修回日期:2021-03-22)