

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.13.033

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220325.1839.006.html\(2022-03-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220325.1839.006.html(2022-03-28))

乳腺癌中循环肿瘤细胞侵袭及转移中枢神经系统研究进展*

唐 静 综述, 刘 燕, 农 丽[△] 审校

(广西医科大学附属肿瘤医院乳腺骨、软组织肿瘤内科, 南宁 530021)

[摘要] 乳腺癌中枢神经系统转移是乳腺癌患者死亡的主要原因之一。外周血循环肿瘤细胞(CTC)是肿瘤血行转移的“种子”,与乳腺癌中枢神经系统转移密切相关。CTC可通过分泌细胞因子适应肿瘤微环境及逃避免疫监视破坏血脑屏障等方式定植于中枢神经系统中。检测 CTC 分子的分型可能可预测中枢神经系统转移瘤的性激素受体及人类表皮生长因子受体的表达情况。乳腺癌 CTC 与中枢神经系统转移分子分型的差异研究可能可用于临床抗肿瘤治疗,有望为乳腺癌中枢神经转移患者提供精准的个体化治疗。该文主要从外周 CTC 与乳腺癌中枢神经系统转移的发生、发展进行综述。

[关键词] 乳腺癌;中枢神经系统侵袭及转移;循环肿瘤细胞;综述

[中图分类号] R73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)13-2321-05

Research progress on invasion and metastasis of circulating tumor cells in breast cancer to central nervous system*

TANG Jing, LIU Yan, NONG Li[△]

(Department of Breast and Bone Soft Tissue Tumor, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

[Abstract] Central nervous system metastasis of breast cancer is one of the main causes of death in the patients with breast cancer. Peripheral blood circulating tumor cell (CTC) is the “seed” of tumor hematogenous metastasis, which is closely related to the central nervous system metastasis of breast cancer. CTC can be colonized in the central nervous system by secreting the cytokines to adapt to tumor microenvironment, evading the immune surveillance and destroying the blood-brain barrier. Detecting the CTC molecular typing may be able to predict the expression of sex hormone receptor and human epidermal growth factor receptor in metastatic tumors of central nervous system. The study of difference between CTC and molecular typing of metastasis in central nervous system may be applied to clinical anti-tumor treatment, which is expected to provide the precise and individualized treatment for the patients with breast cancer complicating central nervous system metastasis. This article mainly reviews the occurrence and development of peripheral CTC and central nervous system metastasis of breast cancer.

[Key words] breast cancer; invasion and metastasis of central nervous system; CTC; review literature

近年来,威胁全球女性生命安全最常见的肿瘤之一乳腺癌的发病率呈逐年上升趋势^[1]。由于我国女性的人口基数大,乳腺癌患者数居全球首位^[2-3]。虽然目前治疗乳腺癌的新药层出不穷,并且取得了相对可观的疗效,但仍有 30% 的患者会出现复发、转移^[4-5]。乳腺癌患者出现复发、转移后中位生存时间仅 3~5 年^[6],影响患者生存时间的因素有乳腺癌亚

型和转移部位^[7]。乳腺癌常见转移部位为淋巴结、骨、肺、肝、中枢神经系统等。在所有常见乳腺癌转移部位中,转移至中枢神经系统患者中位生存时间最短。乳腺癌中枢神经系统转移不仅降低了患者的生活质量,而且致其疗效也不佳^[8]。据统计,乳腺癌患者发生中枢神经系统转移后自然中位生存时间仅为 1 个月。即使给予其积极、正规的治疗,其中位生存期

* 基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(81960477);广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费课题(Z20170446)。 作者简介:唐静(1987—),主治医师,硕士,主要从事乳腺癌规范化治疗的研究。 [△] 通信作者, E-mail:175139200@qq.com。

也不超过 1 年^[9-10]。乳腺癌中枢神经系统转移机制很复杂,病因及具体机制尚不清楚。在既往中枢神经系统转移的假说中,最经典的假说为“种子和土壤”理论。此理论的机制包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cell,CTC)的形成及免疫逃避,血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的破坏以及 CTC 在中枢神经系统中的定植。至今仍未找到有效的治疗方法控制乳腺癌中枢神经系统转移,表明人们对乳腺癌中枢神经系统转移尚缺乏认识,了解其发生的生物学机制具有重要临床意义。现将 CTC 的形成及免疫逃避、BBB 的破坏、CTC 在中枢神经系统中的定植及不同亚型乳腺癌 CTC 侵袭、转移中神经系统的特点 5 个方面的研究进展综述如下,希望为乳腺癌中枢神经系统侵袭、转移的治疗提供新思路。

1 乳腺癌 CTC 的形成

CTC 顾名思义指的是存在于外周血液循环中的肿瘤细胞,是肿瘤发生血行转移的“种子”^[11]。肿瘤上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)指的是肿瘤在增殖过程中瘤细胞产生异常分泌物或代谢产物,下调表达上皮标志物,使瘤细胞与瘤细胞的粘连下降,上调表达间质标志物,增加蛋白水解酶的活性^[12]。原发肿瘤病灶通过 EMT 使原发病灶的肿瘤细胞粘连性下降悬浮于血液中,并分泌相关细胞因子增加血管内皮通透性从而进入血液循环中^[13]。李伟等^[14]收集 2007—2010 年 136 例晚期乳腺癌患者外周血进行 CTC 检测及 CT 检查,以评价每 3 个周期化疗的疗效,结果显示,化疗后 CTC 数目上升者预后较差,化疗后 CTC 数目不变或下降者预后较好。JANNI 等^[15]对 3 173 例 I~III 期乳腺癌患者进行了 10 年随访研究,结果显示,乳腺癌患者血液中存在 CTC 会缩短患者无病生存时间及总生存时间,是乳腺癌复发、转移的高危因素。但 CTC 是否也是乳腺癌中枢神经系统转移的高危因素目前尚未有直接证据。

2 乳腺癌 CTC 的免疫逃避

CTC 进入血液循环中失去细胞外基质的营养和保护,并受到机体的免疫监视及血液流变学的影响,大部分会迅速死亡^[16]。而只有少部分 CTC 通过形成能自我营养并表达细胞程序死亡配体 1 的 CTC 簇逃避免疫监视,减少血液流变学的影响避免凋亡^[17-19]。

ACETO 等^[20]在动物实验中分别将乳腺癌患者中的 CTC 簇和单个 CTC 用荧光标记蛋白和荧光素标记后注射入裸鼠肺内,并注射示踪剂观察肿瘤细胞生长情况,结果显示,注射单个 CTC 的小鼠肺内肿瘤有 57% 大量凋亡,而注射 CTC 簇的小鼠肺内肿瘤仅有 2% 出现凋亡情况。也就是说注射 CTC 簇小鼠发

生肺内肿瘤凋亡的情况远低于注射单个 CTC 小鼠。PAOLETTI 等^[21]在临床研究中使用细胞因子细胞搜索法检测三阴性乳腺癌 CTC 计数和细胞凋亡,结果共检测出 9 336 个 CTC,其中 943 个细胞聚集成簇,成为 194 个细胞群,这些 CTC 簇中只有 4 个 CTC 簇发生了凋亡,凋亡率为 0.4%。而剩余的 8 393 个单个 CTC 中 1 674 个细胞发生凋亡,凋亡率为 20%,远高于聚集成簇的三阴性乳腺癌细胞。表明乳腺癌 CTC 通过聚集成簇的方式逃避免疫监视,而这些逃避免疫监视有活性的 CTC 簇就是肿瘤侵袭中枢神经系统的“种子”。

3 CTC 分泌外泌体破坏 BBB

BBB 指的是由内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞及神经元末端和其他细胞相互紧密连接的薄膜形成的选择性屏障^[22]。BBB 将血液循环与脑和脑脊液循环分开。CTC 需通过一层小胶质细胞形成的神经血管单元才能进入脑脊液循环。CTC 可分泌外泌体引起 BBB 的神经炎性反应或 CTC 分泌蛋白水解酶直接破坏 BBB,从而使 BBB 细胞之间的连接不稳定,促进肿瘤转移、侵袭神经中枢系统^[23]。

CAMACHO 等^[24]从乳腺癌嗜脑细胞系及非嗜脑细胞系细胞中分离了外泌体,并进行微小 RNA(micro RNA, miRNA)-PCR 阵列分析,在这些外泌体中鉴定出 miR-210 上调,并分析了从这个细胞系中分离的细胞和外泌体的蛋白质组学含量,检测出与细胞通讯、细胞周期,以及与癌症侵袭和转移途径相关的关键蛋白质的高表达,miR-210 能通过外泌体的内化有效地将货物运输至细胞中,从而增加细胞黏附力和侵袭力。ZHOU 等^[25]发现,内皮生存因子通过刺激 CTC 的 miR-105 表达上调蛋白 ZO-1 的表达,从而导致 BBB 内皮细胞紧密连接疏松,破坏 BBB 的完整性,促进 CTC 迁移至中枢神经系统内。TOMINAGA 等^[26]将携带有 miR-181c 外泌体的人乳腺癌细胞 BMD2a 及其他人乳腺癌细胞经尾静脉注入裸鼠体内,并用示踪剂观察裸鼠 BBB 变化情况,结果显示,含 miR-181c 的人乳腺癌细胞 BMD2a 能更多地转移入裸鼠中枢神经系统内。其进一步研究结果显示,是外泌体中携带的 miR-181c 通过下调靶基因 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 的表达,使内皮细胞中肌动蛋白异常定位,导致 BBB 的破坏。表明 CTC 分泌的外泌体可能通过介导肿瘤细胞与内皮细胞间物质的交换影响 BBB 通透性,从而增加发生乳腺癌脑转移的风险。

4 CTC 表达一些特殊蛋白参与其在中枢神经系统中的定植

CTC 穿过 BBB 后进入中枢神经系统,肿瘤细胞

需适应大脑微环境中氧分压、葡萄糖代谢和胶原蛋白,并与神经元竞争营养物质、氧气进而定植于中枢神经系统中^[27]。肿瘤细胞也可能会因微环境的改变达到增殖和凋亡的平衡,从而进入休眠状态。其在平衡和凋亡平衡的状态中肿瘤细胞继续积累遗传变异。当肿瘤细胞一旦适应中枢神经系统微环境,就会从休眠状态中苏醒并开始定植^[28]。

一些学者认为,CTC 表达一些特殊的蛋白信号会促进乳腺癌中枢神经系统转移的形成。KLOTZ 等^[29]通过体外培养乳腺癌患者 CTC,用荧光素标记后经心内注射入裸鼠中,结果显示,部分患者 CTC 有中枢神经系统转移的倾向;为探索这种倾向的原因,将有这种中枢神经系统转移倾向的乳腺癌 CTC 进行全基因组测序。结果显示,谷胱甘酸氧化酶 1 细胞因子是肿瘤细胞适应活化脑微环境的重要因子。EBRIGHT 等^[30]通过体外培养乳腺癌患者 CTC,用 GFP 和荧光素标记后经右额叶注射入裸鼠颅内,并注射示踪剂观察肿瘤细胞生长情况,结果显示,生长速度各有不同,快速生长的 CTC 系均来源于采血时已发生脑转移的患者。为寻找促进乳腺癌 CTC 在脑组织中增殖的机制,对 CTC 进行了 RNA 测序,并通过生物信息学分析寻找与脑适应性表达相关的信号通路。结果显示,生长迅速的细胞系同时富集的基因集有 3 个,即缺氧、鼠类肉瘤病毒癌基因(KRAS)通路和肿瘤坏死因子 α 通路。而缺氧基因是富集最显著的基因之一。EBRIGHT 等^[30]将上述结果扩展至临床样本中,结果显示,乳腺癌脑转移瘤样本中缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)蛋白表达显著增加,CTC 中 HIF-1 α 高表达的患者总生存期降低。在体外培养中构建了对照和敲除 HIF-1 α 的 CTC 细胞系注入脑组织中,结果显示,HIF-1 α 是乳腺癌 CTC 在脑微环境中优先生长的必需因素。

5 不同亚型乳腺癌 CTC 侵袭、转移中枢神经系统的特点

乳腺癌是一种复杂的异质性疾病,具有多种分子标志物。根据不同分子标志物可将乳腺癌分为不同亚型。各种亚型乳腺癌患者其预后、治疗均有很大的区别。常用的乳腺癌分子标志物有雌激素受体、孕激素受体、人表皮生长因子-2(human epidermal growth factor-2, HER-2)。根据这 3 种分子标志物可将乳腺癌分为 Luminal 型、HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌 3 种亚型^[31]。不同亚型乳腺癌发生中枢神经系统侵犯的概率各不相同。有研究表明,HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌 2 种表型发生中枢神经系统侵袭、转移的概率高于 Luminal 型乳腺癌^[32-34]。

尽管乳腺癌 CTC 是发源于原发性肿瘤中的部分细胞,但在血液转移及中枢神经系统侵袭、转移病灶形成过程中会随着微环境的改变发生基因和表型的改变。因此,造成原发病灶和复发、转移病灶的分子标志物表达也不相同。JAKABOVA 等^[35]筛选出乳腺癌患者,并分别采集患者手术前后外周血,将 CTC 阳性患者的 CTC 进行细胞培养后使用免疫组织化学分析其分子亚型,分析肿瘤相关基因表达水平与原发灶的差异。结果显示,50%的患者从原发病灶 HER-2 阳性变为 CTC 中 HER 阴性,而且 33%的患者原发病灶中 HER-2 阴性变为 HER-2 阳性。那么在经典的“种子-土壤”理论中“种子”的分子分型发生了改变,而经过 BBB 及定植于中枢神经系统的转移病灶的分子分型又会如何?是否会又发生改变呢? NEAGU 等^[36]通过免疫组织化学检测了乳腺癌原发病灶与转移病灶的 HER-2 及激素受体,并进行比较发现,16%~22%的原发病灶为 HER-2 阴性乳腺癌患者的脑转移组织中 HER-2 发生扩增和(或)突变,50%的乳腺癌患者激素受体表达阳性,并在脑转移组织出现了激素受体表达的缺失。

由此可见,乳腺癌原发病灶、乳腺癌 CTC 及乳腺癌中枢神经系统转移病灶均具有很大的异质性。故而很难从乳腺癌原发灶分子分型中判断乳腺癌中枢神经系统转移病灶的分子分型。此种异质性的存在给乳腺癌中枢神经系统转移的治疗带来更大的困难。因中枢神经系统不同于其他器官,目前,仅能通过外科手术获得组织进行病理检测,手术风险高,创伤大,仅有小部分患者能通过手术取得乳腺癌中枢神经系统转移瘤的病理组织,并进行分子分型检测,而乳腺癌转移病灶分子亚型的再评估是选择治疗药物的重要依据,与患者预后密切相关。

6 小结与展望

乳腺癌患者常发生中枢神经系统侵袭与转移,也是乳腺癌患者的主要致死原因之一。目前,尚无明确的生物标志物用于乳腺癌中枢神经系统转移的风险预测、早期诊断等,也没有明确的治疗靶点对乳腺癌中枢神经系统转移进行治疗。因乳腺癌的异质性特点很难从原发灶分子分型判断乳腺癌中枢神经系统转移病灶的分子分型。乳腺癌中枢神经系统转移患者中仅小部分患者能通过手术取得乳腺癌中枢神经系统转移瘤的病理组织,并进行分子分型检测,这给乳腺癌中枢神经系统转移的治疗带来更大的困难。

乳腺癌 CTC 的研究为乳腺癌中枢神经系统转移的诊治提供了新的理论依据,部分揭示了乳腺癌及其中枢神经系统转移相关的 CTC 生物学机制;但目前

尚未有相关研究表明乳腺癌 CTC 分子分型与中枢神经系统转移病灶分子分型的差异。后续进行乳腺癌 CTC 与中枢神经系统转移分子分型之间的大样本差异研究可能有望找到针对乳腺癌中枢神经系统转移瘤的新的无创液体活检方法,从而对乳腺癌中枢神经系统转移患者进行更加精准的个体化治疗。

参考文献

- [1] World Health Organization Global Cancer Observatory (GCO): Cancer Today [EB/OL]. [2020-04-01]. <http://GCO.iarc.fr/today/home>.
- [2] FENG R M, ZONG Y N, CAO S M, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39(1): 22.
- [3] WU C, LI M, MENG H, et al. Analysis of status and countermeasures of cancer incidence and mortality in China [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(5): 640-647.
- [4] VAN UDEN D J P, VAN MAAREN M C, STROBBE L J A, et al. Metastatic behavior and overall survival according to breast cancer subtypes in stage IV inflammatory breast cancer [J]. *Breast cancer Res*, 2019, 21(1): 113.
- [5] VAN MECHELEN M, VAN HERCK A, PUNIE K, et al. Behavior of metastatic breast cancer according to subtype [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2020, 181(1): 115-125.
- [6] ZHAO W, SUN L, DONG G, et al. Receptor conversion impacts outcomes of different molecular subtypes of primary breast cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2021, 13: 17588359211012982.
- [7] TESHOME M. Role of operative management in stage IV breast cancer [J]. *Surg Clin North Am*, 2018, 98(4): 859-868.
- [8] QUIGLEY M R, FUKUI O, CHEW B, et al. The shifting landscape of metastatic breast cancer to the CNS [J]. *Neurosurg Rev*, 2013, 36(3): 377-382.
- [9] HOSONAGA M, SAYA H, ARIMA Y. Molecular and cellular mechanisms underlying brain metastasis of breast cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2020, 39(3): 711-720.
- [10] CROZIER J A, CORNELL L F, RAWAL B, et al. Breast cancer brain metastases: Molecular subtype, treatment and survival [J]. *Breast Dis*, 2016, 36(4): 133-141.
- [11] CASTRO-GINER F, ACETO N. Tracking cancer progression: from circulating tumor cells to metastasis [J]. *Genome Med*, 2020, 12(1): 31.
- [12] DERYNCK R, WEINBERG R A. EMT and cancer: more than meets the eye [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 313-316.
- [13] GUAN X, MA F, LIU S, et al. Analysis of the hormone receptor status of circulating tumor cell subpopulations based on epithelial-mesenchymal transition: a proof-of-principle study on the heterogeneity of circulating tumor cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65993-66002.
- [14] 李伟, 马德亮, 李燕, 等. 转移性乳腺癌循环肿瘤细胞检测对化疗疗效的评价 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(24): 1889-1893.
- [15] JANNI W J, RACK B, TERSTAPPEN L W, et al. Pooled analysis of the prognostic relevance of circulating tumor cells in primary breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(10): 2583-2593.
- [16] SPILIOTAKI M, MAVROUDIS D, KAPRANOU K, et al. Evaluation of proliferation and apoptosis markers in circulating tumor cells of women with early breast cancer who are candidates for tumor dormancy [J]. *Breast cancer Res*, 2014, 16(6): 485.
- [17] STEINERT G, Schölch S, NIEMIETZ T, et al. Immune escape and survival mechanisms in circulating tumor cells of colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1694-1704.
- [18] FABISIEWICZ A, GRZYBOWSKA E. CTC clusters in cancer progression and metastasis [J]. *Med Oncol*, 2017, 34(1): 12.
- [19] WEI R R, SUN D N, YANG H, et al. CTC clusters induced by heparanase enhance breast cancer metastasis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(8): 1326-1337.
- [20] ACETO N, BARDIA A, MIYAMOTO D T, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis [J]. *Cell*, 2014, 158(5): 1110-1122.
- [21] PAOLETTI C, LI Y, MUÑIZ M C, et al. Sig-

- nificance of circulating tumor cells in metastatic triple-negative breast cancer patients within a randomized, phase II trial; TBCRC 019[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(12):2771-2779.
- [22] OBERMEIER B, VERMA A, RANSOHOFF R M. The blood-brain barrier [J]. *Handb Clin Neurol*, 2016, 133(1):39-59.
- [23] JASSAM S A, MAHERALLY Z, ASHKAN K, et al. Fucosyltransferase 4 and 7 mediates adhesion of non-small cell lung cancer cells to brain-derived endothelial cells and results in modification of the blood-brain-barrier; in vitro investigation of CD15 and CD15s in lung-to-brain metastasis[J]. *J Neurooncol*, 2019, 143(3):405-415.
- [24] CAMACHO L, GUERRERO P, MARCHETTI D. MicroRNA and protein profiling of brain metastasis competent cell-derived exosomes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e73790.
- [25] ZHOU W, FONG M Y, MIN Y, et al. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(4):501-515.
- [26] TOMINAGA N, KOSAKA N, ONO M, et al. Brain metastatic cancer cells release microRNA-181c-containing extracellular vesicles capable of destructing blood-brain barrier[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:6716.
- [27] Pietilä M, IVASKA J, MANI S A. Whom to blame for metastasis, the epithelial-mesenchymal transition or the tumor microenvironment? [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(1):359-368.
- [28] YE H A C, RAMASWAMY S. Mechanisms of cancer cell dormancy-another hallmark of cancer? [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(23):5014-5022.
- [29] KLOTZ R, THOMAS A, TENG T, et al. Circulating tumor cells exhibit metastatic tropism and reveal brain metastasis drivers[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1):86-103.
- [30] EBRIGHT R Y, ZACHARIAH M A, MICALIZZI D S, et al. HIF1 α signaling selectively supports proliferation of breast cancer in the brain [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):6311.
- [31] MOOTS A R, DOGAN B E. Imaging of triple-negative breast cancer[J]. *Annals Oncol*, 2018, 23(6):9-23.
- [32] ARCIERO C A, GUO Y, JIANG R, et al. ER (+)/HER2 (+) breast cancer has different metastatic patterns and better survival than ER (-)/HER2 (+) breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer*, 2019, 19(4):236-245.
- [33] WU Q, LI J, ZHU S, et al. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases; a SEER based study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17):27990-27996.
- [34] XIAO W, ZHENG S, YANG A, et al. Breast cancer subtypes and the risk of distant metastasis at initial diagnosis: a population-based study [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10:5329-5338.
- [35] JAKABOVA A, BIELCIKOVA Z, POSPISILOVA E, et al. Molecular characterization and heterogeneity of circulating tumor cells in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 166(3):695-700.
- [36] NEAGU M R, GILL C M, BATCHELOR T T, et al. Genomic profiling of brain metastases; current knowledge and new frontiers[J]. *Chin Clin Oncol*, 2015, 4(2):22.

(收稿日期:2021-09-28 修回日期:2022-02-08)