



· 专家述评与论著 ·



季红斌，中国科学院分子细胞科学卓越创新中心上海生化与细胞所研究员。长期从事肺癌发病分子机理研究，在肺癌驱动基因的鉴定以及肺腺鳞癌转分化方面作出卓越贡献。在*Nature*、*Cancer Cell*、*J Clin Oncol*、PNAS等期刊发表论文140余篇，被引12 000余次。获得奖励包括中科院“百人计划”（2007年）；上海市“浦江人才计划”（2008年）；上海医学科技二等奖（2011年）；中科院上海分院系统杰出青年科技创新人才（2012年）；上海市科技进步二等奖（2013年）；国家杰出青年基金（2013年）；第七届上海青年科技英才基础类（2014年）；上海市优秀学术带头人（2014年）；万人计划中青年科技创新领军人才（2017年）。任*J Genet Genomics* 副主编，*Br J Cancer*、*Acta Biochim Biophys Sin*、*Thorac Cancer*、《中华

肿瘤杂志》、《中国肺癌杂志》、《生命的化学》编委，中国抗癌协会肺癌专业委员会、肿瘤转移专业委员会委员。

## 肺癌发病分子机理研究新进展：从基础到临床

金宇娟，胡 良，季红斌

中国科学院分子细胞科学卓越创新中心，上海 200031

**[摘要]** 肺癌在全球范围内具有非常高的发病率和致死率，严重威胁人类健康。影响肺癌发生、发展及转移的因素十分复杂，可大致分为肿瘤细胞自身因素和肿瘤微环境因素：一方面，肿瘤细胞内基因组、蛋白质组水平的改变，在一定程度上决定了肺癌的特征；另一方面，肿瘤微环境包括免疫微环境和非免疫微环境，显著地影响肺癌的发生、发展。因此，深入研究肺癌自身及其微环境将有助于加深人们对肺癌发病分子机理的认识，并为改进肺癌的临床诊疗手段奠定重要的理论基础，帮助提高肺癌患者的生活质量及生存时间。对肺癌基础研究的现状进行综述，重点回顾肺癌基因组、蛋白质组、表型可塑性及肺癌微环境领域的相关研究进展，并讨论肺癌临床治疗的新策略。

**[关键词]** 肺癌；基因组学；蛋白质组学；肿瘤可塑性；肿瘤微环境

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.10.006

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2020)10-0759-11

**Advances in molecular mechanism of lung cancer: from rational to practice** JIN Yujuan, HU Liang, JI Hongbin (Chinese Academy of Sciences Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai 200031, China)

Correspondence to: JI Hongbin E-mail: hbji@sibcb.ac.cn

**[Abstract]** Lung cancer is one of the most malignant carcinomas worldwide, with extremely high incidence and mortality. The factors that affect lung cancer initiation, progression and metastasis are complicated, which could be roughly divided into two parts, from either cancer cells themselves or tumor-associated microenvironment. On the one hand, genomic and proteomic alterations in cancer cells determinate their characteristics. On the other hand, tumor microenvironment, including both immune and non-immune microenvironments, significantly affect tumorigenesis and malignant progression. Studies in lung cancer and its microenvironment help improve the understanding of molecular mechanisms, and lay an important theoretical foundation to the clinical diagnosis and therapy. In this review, we summarized recent progress of lung cancer genomics, proteomics, phenotypic plasticity and microenvironment, and discussed potential therapeutic strategies for clinical treatment.

**[Key words]** Lung cancer; Genomics; Proteomics; Tumor plasticity; Tumor microenvironment

肺癌是最常见的原发性恶性肿瘤，严重威胁着人类健康。据统计，25%~30%癌症导致的死

亡病例都来自于肺癌，肺癌患者的5年存活率仅为20%左右<sup>[1-2]</sup>。绝大多数肺癌来源于肺上皮细

胞, 是由上皮细胞病变导致细胞增殖失去控制的一种疾病。肺癌严重时会发生转移, 侵入胸腔、肺门淋巴结及远隔器官, 如大脑、肝脏、肾等。现有研究表明, 吸烟是肺癌的主要致病因素。近年来, 由于吸烟人群的持续增长以及环境的严重污染, 肺癌已经成为中国发病率最高的癌症, 严重威胁着国民的生命健康<sup>[1]</sup>。

根据组织学差异, 肺癌可分为小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 和非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 两大类。其中, NSCLC占肺癌的85%左右, 可进一步分为腺癌、鳞状细胞癌和大细胞癌。其中最常见的类型是腺癌, 通常起始于外周肺组织; 其次为鳞状细胞癌, 多起始于气管部位, 在肿瘤中常见空腔和细胞凋亡<sup>[3]</sup>; 大细胞癌的发生率相对较低, 是一种未分化癌, 细胞较大, 故又称大细胞未分化癌<sup>[3]</sup>。

SCLC, 又称为“燕麦细胞癌”, 约占肺癌的15%。在组织病理学上, SCLC呈现细胞体积小, 细胞质少, 核染色质成微颗粒状, 核仁不显著或缺失, 核分裂及核异型多见等特点。由于其生长迅速、恶性程度高、侵袭能力强且极易产生放化疗耐受等特点, SCLC是所有肺癌中致死率最高的亚型。在不给予治疗的情况下, SCLC患者的平均生存期只有2~4个月<sup>[4]</sup>。现有研究发现, SCLC主要起源于肺部的神经内分泌细胞群。因此, 根据其细胞起源, SCLC又被称为肺神经内分泌肿瘤 (lung neuroendocrine carcinoma, LNEC)。

除了临床获取的肿瘤样本外, 动物模型也是癌症研究必需的重要体系。对于晚期的NSCLC患者或广泛期的SCLC患者而言, 由于肿瘤转移广泛, 手术切除通常不是首选的治疗方案。因此, 这类患者的样本很难获取, 也就很难利用临床肿瘤样本进行科研工作。所以, 建立可真实反映这些晚期肺癌发生、发展过程的动物模型显得尤为重要。近几十年来, 一系列基因工程改造的小鼠肺癌模型已经建立, 包括NSCLC模型*Kras*<sup>G12D</sup> (*KRAS*)、*Kras*<sup>G12D</sup>/*Trp53*<sup>lox/lox</sup> (KP) 和*Kras*<sup>G12D</sup>/*Lkb1*<sup>lox/lox</sup> (KL), 以及SCLC模型*Rbl*<sup>lox/lox</sup>/*Trp53*<sup>lox/lox</sup> (RP)、*Rbl*<sup>lox/lox</sup>/*Rb2*<sup>lox/lox</sup>/*Trp53*<sup>lox/lox</sup> (RRP) 和*Rbl*<sup>lox/lox</sup>

/*Trp53*<sup>lox/lox</sup>/*Pten*<sup>lox/lox</sup> (RPT) 等。这些小鼠模型能够比较真实地模拟临床肺癌的发生、发展及转移等过程, 大大推动了肺癌的基础研究<sup>[5-7]</sup>。本文将从基因组学、蛋白质组学、肿瘤可塑性及肿瘤微环境等不同角度对目前肺癌研究领域的相关进展进行回顾性总结, 并提出潜在的靶向治疗新策略。

## 1 肺癌基因组学研究进展

肺癌与吸烟密切相关, 是突变负荷较高的少数几类肿瘤之一。对肺癌中相关基因变异的正确解读, 有助于人们更加深入了解这一致命疾病。全外显子组测序结果显示, 以百万碱基对计算, 吸烟的肺癌患者有8.0~10.0个突变, 而不吸烟患者仅有0.8~1.0个突变<sup>[8]</sup>。肺癌基因组的复杂性还体现在大量的染色体拷贝数变异与基因重排。现代高通量测序技术可以准确地鉴定出基因组中单个碱基对的变异。

NSCLC患者的基因突变包括致癌基因的激活突变和抑癌基因的失活突变<sup>[9-11]</sup>。其中, 常见的致癌基因突变往往发生在大鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*, *KRAS*) 基因、表皮生长因子受体 (*epidermal growth factor receptor*, *EGFR*) 基因、小鼠肉瘤病毒癌基因同源物B (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B*, *BRAF*) 基因、磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚基 $\alpha$  (*phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha*, *PIK3CA*) 基因、*MET*基因等<sup>[9-11]</sup>。抑癌基因失活突变往往发生在肿瘤蛋白53 (*tumor protein 53*, *TP53*) 基因、肝激酶B1 (*liver kinase B1*, *LKB1*) 基因、Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白 (*kelch-like ECH-associated protein*, *KEAP*) 基因、1型神经纤维瘤抗体 (*neurofibromin 1*, *NF1*) 基因、视网膜母细胞瘤1型 (*retinoblastoma 1*, *RB1*) 基因、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A (*cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*, *CDKN2A*) 基因等<sup>[9-11]</sup>。此外, 一些具有染色质修饰功能的基因包括SET结构域蛋白2 (*SET domain containing 2*, *SETD2*) 基因、AT丰富结构域1A (*AT rich interactive domain 1A*, *ARID1A*) 基因、SWI/SNF相关基质关联肌动蛋白依赖染色质调控因子亚家族4 (*SWI/*

SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 4, SMARCA4) 基因以及RNA剪切基因RNA结合基序蛋白10 (RNA binding motif protein 10, RBM10) 基因和U2小核RNA辅助因子1 (U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1, U2AF1) 基因等也经常会发生突变<sup>[9-11]</sup>。致癌基因突变往往对于肿瘤细胞的存活至关重要, 因此可以作为分子靶标应用于临床靶向治疗, 其中最著名的例子为EGFR突变。第一代EGFR酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) 通过内源性配体竞争性结合EGFR, 抑制酪氨酸激酶的活化, 进而阻断EGFR信号转导通路, 包括吉非替尼 (gefitinib)、厄洛替尼 (erlotinib) 及埃克替尼 (icotinib)。阿法替尼 (afatinib) 和达克替尼 (dacomitinib) 是第二代的EGFR-TKI, 比一代药物具有更加持续且广谱的活性。然而, 绝大部分肺癌患者在一代、二代EGFR-TKI治疗后会产生耐药, 并产生继发性耐药突变T790M<sup>[12]</sup>。随后, 具有高选择性、有效对抗T790M耐药突变的第三代EGFR-TKI应运而生, 包括AZD9291 (osimertinib) 和CO-1686 (rociletinib), 为克服EGFR-TKI获得性耐药开启了全新的篇章<sup>[13]</sup>。

SCLC患者较常见的突变为RB1和TP53。超过90%的SCLC临床样本中存在这两个基因共同失活<sup>[14]</sup>。通过模拟Rb1和Trp53基因的共失活, Anton Berns实验室在2003年成功构建了SCLC小鼠模型 ( $Rb1^{lox/lox}/Trp53^{lox/lox}$ , RP), 比较真实地重现了临床SCLC发生、发展及转移的过程<sup>[7]</sup>。这些小鼠肿瘤往往会继发产生与人SCLC相似的基因变异, 包括10号染色体上缺失的磷酸酶-张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 基因缺失、NOTCH基因失活突变或MYCL原癌基因 (MYCL proto-oncogene, L-MYC) 扩增<sup>[14-15]</sup>。与此对应的, 在RP小鼠中敲除抑癌因子PTEN或P130 (RB2) 会明显加速肿瘤的恶性进展<sup>[15-16]</sup>。此外, Hedgehog通路的异常激活或核因子 I B (nuclear factor I B, NF I B) 过表达也会促进SCLC的生长或转移<sup>[17-18]</sup>。研究

还发现, RNA调控基因5'-3'核糖核酸外切酶 (5'-3'exoribonuclease 1, XRN1) 基因, 编码G蛋白偶联受体通路分子的基因G蛋白信号转导调节因子7 (regulator of G protein signaling 7, RGS7) 和甲酰胺受体1 (formyl peptide receptor 1, FPR1), 以及中心体调控基因纺锤体微管组装因子 (assembly factor for spindle microtubules, ASPM) 基因和ALMS1中心体和基底相关蛋白 (ALMS1 centrosome and basal body associated protein, ALMS1) 基因也经常发生在SCLC中发生失活突变<sup>[19]</sup>, 提示这些基因也可能在SCLC的发生、发展过程中发挥作用。

人类基因组计划的完成, 为癌症基因组学研究奠定了坚实基础。

## 2 蛋白质组学研究进展

在1994年, Marc Wikins首先提出了蛋白质组学 (proteomics) 的概念。蛋白质组学是以蛋白质为研究对象, 系统地研究细胞、组织或生物体中所有蛋白质的组成及其变化规律的科学。近年来, 蛋白质组技术在临床肿瘤领域的应用取得飞速发展。蛋白质组学分析为我们揭示了许多基因无法识别的信息, 包括蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态以及蛋白质之间的相互作用等。随着蛋白质组学技术的发展, 许多蛋白质分子已被建议为肺癌的分子标志物, 其中一些蛋白及其相关的信号通路是已知的肺癌恶性进展的关键驱动因素。

肺癌的分子标志物在早期诊断中具有非常重要的作用, 其准确率和灵敏度决定临床诊断的可靠性。因此, 寻找灵敏度高、特异度好的生物标志物已成为现阶段肺癌研究的首要任务。其中, NSCLC诊断的潜在分子标志物包括: 亲环素A、巨噬细胞移动抑制因子、聚免疫球蛋白受体、14-3-3 $\eta$ 、胸腺素 $\beta$ 4、泛素、酰基辅酶A结合蛋白、半胱氨酸蛋白酶抑制剂A、细胞色素C<sup>[20-22]</sup>。SCLC诊断的潜在分子标志物包括: Coactosin样蛋白-1、肌动蛋白 $\gamma$ 1 (actin gamma 1, ACTG1)、 $\alpha$ -微管蛋白、层黏连蛋白B、泛素缀合酶E2、碳酸酐酶1、 $\beta$ -微管蛋白、热激蛋白73 (heat shock protein 73, HSP73)、热激蛋白90 (heat shock protein 90, HSP90)、

核纤层蛋白B、增殖细胞核抗原、钙结合蛋白(S100A6)<sup>[23-25]</sup>。

目前,蛋白质组学技术已经可以在微小癌组织和癌旁组织中找到大部分蛋白,并实现对磷酸化蛋白及乙酰化蛋白的检测。通过临床肿瘤样本的高通量蛋白质组学和转录组的整合性分析,鉴定出肺癌相关的标志物,并发现潜在精准治疗靶标,可为未来癌症的临床诊断和治疗奠定了基础。最近有3项研究对肺腺癌样本进行了大规模的蛋白质组学分析。通过对103例中国人群肺腺癌样本的整合性分析发现,肺腺癌可基于蛋白质组层面的分子特征分为3个亚型,并且这些亚型与临床预后密切相关<sup>[26]</sup>,该研究还提出血液中HSP90 $\beta$ 可以作为肺腺癌的潜在预后标志物。另外一项研究主要围绕女性非吸烟的东亚肺癌临床样本展开分析,揭示了肺癌早期的临床特征和进展中的分子标志物<sup>[27]</sup>。该研究基于蛋白质组学的分型可以区分出携带EGFR突变的早期患者的特征,对早期非吸烟患者的诊治具有重要的临床意义<sup>[27]</sup>。还有一项研究对110例不同人种和吸烟状态的肺癌患者的临床样本和配对的癌旁组织开展了多组学整合分析<sup>[28]</sup>,揭示了拷贝数、体细胞突变等基因层面改变的下游生物学功能,并鉴定出与KRAS、EGFR及ALK相关的潜在治疗靶标<sup>[28]</sup>。该研究还通过免疫分型分析揭示了LKB1及中性粒细胞脱颗粒的免疫抑制作用<sup>[28]</sup>。由此可见,包括蛋白质组学与基因组学在内的多组学整合分析是未来疾病研究的趋势,能帮助我们更全面地认识肿瘤,为未来肺癌的临床精准治疗提供新的思路和方向。

### 3 肺癌可塑性

肺癌具有高度异质性和可塑性。肺癌异质性既包括不同病理学类型肺癌之间的差异,也包括同一病灶内部不同肿瘤细胞之间的异质性。近年的基础和临床研究还证实,肺癌细胞具有很强的可塑性,可在一定条件下发生表型甚至病理学类型的转变,比如NSCLC或SCLC内不同亚型之间的转变,以及NSCLC与SCLC之间的相互转变。

#### 3.1 NSCLC可塑性

腺鳞癌是临床上常见混合型肿瘤,占有混合型肺癌的60%~75%<sup>[29-30]</sup>。多项研究表明,腺

鳞癌混合肿瘤内的腺癌和鳞癌部分往往具有同样的遗传变异<sup>[31-32]</sup>,提示表型转变的可能性。并且,临床上肺腺癌到肺鳞癌的表型转变往往与患者的肿瘤耐药相关<sup>[33-34]</sup>。小鼠肺癌模型的研究发现,在KRAS小鼠中敲除LKB1基因不仅显著地加速肺腺癌的发生、发展,还导致了不同类型肿瘤的产生,包括肺腺癌、肺鳞癌和肺腺鳞癌混合型肿瘤<sup>[35-36]</sup>。相比较而言,KRAS和KP小鼠模型则只会产生肺腺癌<sup>[5]</sup>。将人支气管上皮细胞过表达激活KRAS并下调LKB1后,接种至裸小鼠皮下也会形成腺鳞癌混合型肿瘤<sup>[37]</sup>,提示LKB1在腺鳞癌转分化(adenocarcinoma to squamous cell carcinoma transdifferentiation, AST)过程中发挥着重要作用<sup>[35-36]</sup>。机制研究进一步发现,LKB1的失活会抑制腺苷酸激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)-乙酰辅酶A羧化酶 $\alpha$ (acetyl-CoA carboxylase alpha, ACC)信号轴及下游脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)通路的激活。这样,肿瘤细胞就无法有效地清除因戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway, PPP)失调引起的ROS累积,从而导致氧化还原失衡,最终使得肺腺癌向肺腺鳞癌转分化<sup>[38]</sup>。一些靶向细胞代谢的临床前药物如piperlongumine和phenformin等通过刺激ROS的异常积累来促进细胞凋亡和肿瘤的消退,而ROS的积累可能促使部分KL肺腺癌转分化为肺鳞癌并产生药物耐受。由此推测,临床上LKB1失活的肺腺癌有可能通过转分化为肺鳞癌来逃脱某些靶向肿瘤代谢的药物治疗。

人肺鳞癌中常见Y染色体性别决定区(sex determining region Y-box 2, SOX2)的扩增<sup>[10]</sup>。研究发现,在LKB1缺失的小鼠肺上皮细胞中过表达SOX2会产生肺腺癌,这些腺癌会表达鳞癌的标志物转化相关蛋白63(transformation-related protein 63, Trp63)、细胞角蛋白5(cytokeratin-5, K5)和细胞角蛋白14(cytokeratin-14, K14)<sup>[39]</sup>,提示SOX2也有可能在腺鳞癌转分化中发挥作用。另一项研究发现在Pten<sup>-/-</sup>/Cdhkn2ab<sup>-/-</sup>的小鼠多种肺部细胞(包括基质细胞和II型肺泡上皮细胞等)中过表达SOX2,也可产生肺鳞癌,进一步证实了SOX2在

腺鳞癌转分化中的重要作用<sup>[40]</sup>。腺鳞癌转分化在临床样本中也被进一步证实,约3%的鳞癌样本同时表达肺腺癌分子标志物甲状腺转录因子1(thyroid transcription factor 1, TTF1)和肺鳞癌分子标志物TP63<sup>[41]</sup>。其他的临床研究也发现了类似的现象,部分肺腺癌和肺鳞癌样本中同时表达这两种肺癌亚型的分子标志物<sup>[42]</sup>。

EGFR突变是肺腺癌中常见的突变,接近50%的亚裔患者样本中检测到了EGFR突变<sup>[43]</sup>。因此,针对EGFR突变的TKI被广泛应用于临床。虽然第三代EGFR-TKI已被开发出来,并成功地应用于第一代和第二代药物耐受的肺腺癌患者的临床治疗,部分患者仍然不可避免地出现继发性突变和药物耐受。这些肺腺癌患者在接受EGFR-TKI治疗后复发,再次活检时发现肺鳞癌,并且这些肺鳞癌与最初诊断出的肺腺癌具有相同的EGFR突变,说明肺腺鳞癌转分化是EGFR-TKI耐药的潜在机制<sup>[45-47]</sup>。

小鼠模型和临床试验结果都证实了肺腺鳞癌转分化的存在,并且这种转分化往往与腺癌临床治疗后出现的继发性药物耐受相关。在未来的临床治疗中,需要充分考虑这些因素,设计更合理的治疗策略,提高临床治疗效果。

### 3.2 NSCLC与SCLC之间的转分化

近年来,临床上出现了NSCLC患者的肿瘤转变为SCLC的案例<sup>[48-50]</sup>。部分EGFR突变的肺腺癌患者接受EGFR-TKI治疗后复发并耐药,再次活检发现部分肿瘤表达SCLC的分子标志物,提示病理学类型的转变。与肺腺鳞癌转分化一样,这种转变也与肺腺癌的EGFR-TKI治疗失败密切相关,进一步充实了人们对于EGFR-TKI的耐药机制的认识<sup>[51-52]</sup>。此外,临床上还观察到鳞癌向SCLC转变的病例<sup>[53]</sup>。EGFR-TKI耐药后转变为SCLC的临床样本及建立的细胞系的分析发现,转变后的样本中都出现了RB1基因的缺失<sup>[54]</sup>,在一定程度上阐释了NSCLC向SCLC转变的机制。

临床样本分析发现大约有1/3的原先认为“纯”的SCLC中含有NSCLC形态特征的细胞,有些肿瘤病灶甚至完全被NSCLC样的细胞代替<sup>[55-56]</sup>。这些转变常见于接受放化疗后的SCLC

患者,提示放化疗导致了肺癌细胞的表型变化。体外细胞培养实验也证实了放化疗对SCLC到NSCLC转变的影响<sup>[57-58]</sup>。这些结果提示临床上NSCLC和SCLC之间的表型转变与药物响应及耐药有关,为未来更加精准的临床治疗提出新的挑战。

### 3.3 SCLC可塑性

早期的研究将SCLC分为经典型(classic SCLC)和变异型(variant SCLC),后者又分为化学变异和形态变异两类<sup>[59-60]</sup>。其中,化学变异型的SCLC细胞丢失或降低了多巴脱羧酶(dopa decarboxylase, DDC)、神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)、神经细胞黏附分子1(neural cell adhesion molecule 1, NCAM)等神经内分泌标志物的表达<sup>[59-61]</sup>。形态变异型的SCLC往往会发生MYC基因的拷贝数或表达水平的增加,并且在体外细胞培养中贴壁生长<sup>[59]</sup>。相比而言,经典型SCLC和化学变异型SCLC在体外细胞培养中都呈悬浮生长。在经典型的SCLC细胞系H209中过表达MYC,可以使原本呈悬浮生长的紧密球体变为线性开放的贴壁生长模式,促进经典型SCLC向变异型SCLC的转变<sup>[62]</sup>。

随着SCLC小鼠模型的深入研究,多种SCLC亚型被陆续鉴定出来。2011年的报道称SCLC中存在神经内分泌型(neuroendocrine, NE)和非神经内分泌型(non-neuroendocrine, non-NE)两种不同的细胞亚群<sup>[63]</sup>。NE细胞亚群通常高表达神经内分泌相关的分子标志,包括NCAM、突触素(synaptophysin, SYP)和无刚毛鳞甲复合体同源物样1(achaete-scute complex homolog-like 1, ASCL1)。Non-NE细胞亚群则表达基质细胞相关分子标志物,包括波形蛋白(vimentin)和CD44。并且,non-NE亚群可以辅助NE亚群进行远处转移<sup>[63]</sup>。随后的研究发现,NOTCH信号通路的激活可以促进NE亚群向non-NE亚群的转变,并产生化疗抵抗<sup>[64]</sup>。这种转变可能是由ASCL1的降解或表达抑制<sup>[65-66]</sup>,或神经内分泌抑制性转录因子(RE1 silencing transcription factor, REST)的表达上调导致的<sup>[64]</sup>。

此外,研究还发现转录因子NFIB在RP小

鼠SCLC中差异表达, 高表达NFIB的SCLC亚群具有更强的转移能力<sup>[17, 67]</sup>。机制研究发现, NFIB通过增加染色质开放性上调了具有促转移作用的神经相关基因的表达, 进而促进SCLC的转移<sup>[68]</sup>。研究还发现, SCLC中CD24<sup>hi</sup>CD44<sup>lo</sup>EpCAM<sup>hi</sup>的细胞亚群具有长期增殖的能力<sup>[69]</sup>。这些结果提示不同SCLC亚群具有不同的增殖及转移能力, 可能在SCLC发展的不同阶段发挥特异性的功能。最近SCLC肿瘤和细胞系的大规模分析将SCLC依据关键转录因子的表达情况分为4个亚群, 即ASCL1、神经元样细胞分化1 (neural differentiation 1, NEUROD1)、yes相关转录调节因子1 (yes1 associated transcriptional regulator, YAP1)、POU2F3 (POU class 2 homeobox 3) 亚群<sup>[70]</sup>。这4个不同的亚群可能代表着SCLC进展的不同阶段, 而MYC可以促进上述这4个亚群间的时序性进化<sup>[71]</sup>。

综上所述, 肺癌细胞具有高度的异质性和表型可塑性。整合生物学功能验证、单细胞分析及谱系示踪等多种手段来精确地鉴别肺癌的亚群, 可以深化对肺癌发生、发展及转移机制的理解, 并为临床治疗提供更可靠的指导依据。

#### 4 肺癌微环境

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 主要由肿瘤细胞、肿瘤周围血管、细胞外基质、成纤维细胞、免疫细胞以及各种细胞因子和趋化因子组成。肿瘤微环境可以分成以免疫细胞为主的免疫微环境和成纤维细胞为主的非免疫微环境。肿瘤与微环境之间的关系类似于种子与土壤的关系。肺癌细胞的成功增殖并最终发生转移, 不仅仅由细胞的内部因素决定, 肿瘤微环境也发挥非常重要的作用<sup>[72]</sup>。

##### 4.1 肺癌免疫微环境

肿瘤免疫微环境主要由浸润到肿瘤内的免疫细胞及其分泌的因子组成, 包括T细胞、B细胞、自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞、发挥抗原呈递作用的树突状细胞 (dendritic cell, DC)、中性粒细胞 (neutrophil)、巨噬细胞 (macrophage) 以及骨髓来源的抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) 等。流式细胞术分析发现, NSCLC

患者肿瘤组织中免疫细胞的组成复杂多样, 其中T细胞约占到一半 (CD4<sup>+</sup> T细胞占26.0%, CD8<sup>+</sup> T细胞占22.0%), B细胞占16.0%, 巨噬细胞占4.7%, NK细胞约占4.5%, DC约占2.1%, 中性粒细胞约占8.6%<sup>[73]</sup>。单细胞测序技术的应用证实NSCLC中还存在巨噬细胞和骨髓来源的抑制性细胞<sup>[73]</sup>。在正常的生理情况下, 免疫系统在机体中发挥重要的防御功能, 但在肿瘤微环境中部分免疫细胞及其分泌因子有可能反过来促进肿瘤的恶性进展<sup>[74-75]</sup>。

肺癌的遗传突变比例非常高, 导致大量肿瘤新抗原的产生, 这样就会被肿瘤浸润T细胞识别。肿瘤浸润CD8<sup>+</sup> T淋巴细胞可以通过直接杀伤作用来抑制肿瘤的恶性发展<sup>[76]</sup>, 而调节性T细胞 (regulatory T cell, Treg) 则通过抑制机体的免疫反应来促进肿瘤的恶性进展<sup>[77]</sup>。在肿瘤微环境中, Treg通过接触依赖或非接触依赖的机制实现免疫抑制的功能: 其接触依赖性免疫抑制主要通过上调细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA-4)、程序性死亡 [蛋白] -1 (programmed death-1, PD-1)/程序性死亡 [蛋白] 配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1)、LAG-3 (lymphocyte-activation gene 3)、外切核酸酶CD39/73和神经菌毛素1 (neuropilin 1, NRP1) 的表达来实现; 而非接触依赖性免疫抑制则主要是通过促进白细胞介素-2 (interleukin 2, IL-2) 或者免疫抑制分子白细胞介素-10 (interleukin 10, IL-10)、转化生长因子β (transforming growth factor beta, TGF-β)、前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2) 等的分泌来实现<sup>[77-78]</sup>。大量研究证实, 包括肺癌在内的多种肿瘤微环境中Treg的累积会显著抑制免疫反应, 从而促进肿瘤的恶性进展<sup>[79-80]</sup>。

多项研究表明, 肺癌样本中的肿瘤浸润B细胞, 在肺癌发生、发展过程中也发挥着重要的作用。成熟B细胞的存在往往与肺腺癌患者的良好预后相关<sup>[81]</sup>。进一步研究发现, 肿瘤浸润B细胞在NSCLC中可以发挥抗原呈递的功能, 将肿瘤特异性抗原呈递给CD4<sup>+</sup> T细胞<sup>[82]</sup>。肺癌浸润的激活型B细胞 (CD19<sup>+</sup>CD20<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD21<sup>+</sup>) 可以促进效应T细胞的功能, 而耗竭型B细胞

(CD19<sup>+</sup>CD20<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>CD21<sup>-</sup>)则抑制T细胞的功能<sup>[82]</sup>。另外,调节型B细胞(regulatory B cell, Breg)会分泌调节性细胞因子IL-10、TGF- $\beta$ 等来抑制T细胞或自身反应性B细胞的功能<sup>[83]</sup>。临床分析还发现,相对于正常对照,Breg在肺癌患者临床样本中的数量显著增加<sup>[84]</sup>,提示Breg也可能发挥着重要作用。

NK细胞是人体抵抗癌细胞和病毒感染的第一道防线,可非特异性地直接杀伤肿瘤细胞。多种实体肿瘤良好的预后与这些免疫细胞的大量存在有关<sup>[85]</sup>。因此,解除NK细胞的免疫抑制或激活NK细胞成为针对NK细胞的主要治疗策略。迄今为止,已经有多种基于NK细胞功能激活的免疫治疗策略正在进行临床试验,并显示出较好的疗效,可不同程度地延长肺癌患者的生存期<sup>[86]</sup>。此外,NK细胞治疗还可显著提高PD-1抗体(帕博利珠单抗)的临床疗效,提高NSCLC患者的生存率<sup>[87]</sup>。值得注意的是,NK细胞治疗在SCLC中也取得了较好的疗效。小鼠模型研究发现,通过上调IL-15或TGF- $\beta$ 信号通路来激活NK细胞可以显著抑制SCLC转移,而且,联合抗PD1治疗可增强NK细胞治疗的效果<sup>[88]</sup>,这为未来在SCLC临床治疗中进一步探索NK细胞治疗的效果提供了理论依据。

DC在机体的免疫反应中发挥抗原呈递的作用。最近的研究发现了一群新的DC,会共表达免疫调节相关基因和DC成熟相关基因,被命名为富含免疫调节分子的成熟树突状细胞(mature DC enriched in immunoregulatory molecules, mregDC)<sup>[89]</sup>。这群特殊的DC可以通过上调免疫调节相关基因来抑制经典的抗原呈递DC细胞的功能<sup>[89]</sup>。此外,阻断IL-4可以促进mregDC分泌IL-12,增加肿瘤浸润的效应T细胞数量,从而实现了对肺癌恶性进展的遏制<sup>[89]</sup>。

中性粒细胞坏死或凋亡后可以形成胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NET),由包裹着颗粒蛋白的染色质DNA细丝结构所组成,被中性粒细胞释放来诱捕微生物并执行其杀菌功能。有研究发现,癌细胞可以通过与NET-DNA结合来实现其远处转移<sup>[90]</sup>。中性粒细胞在肿瘤恶性进展及转移中的功能与肿瘤微环境密切相

关<sup>[91]</sup>。巨噬细胞可分为M1型和M2型,M1型巨噬细胞分泌促炎因子,参与抗原呈递,具有抗肿瘤的功能<sup>[92]</sup>。然而,肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)多为M2型,可分泌多种细胞因子支持肿瘤血管生成和侵袭,促进肿瘤的恶性进展<sup>[93-94]</sup>。

MDSC是DC、巨噬细胞和粒细胞的免疫抑制前体,主要通过干扰DC的抗原呈递、T细胞活化和NK细胞的细胞毒性来促进肿瘤进展。一方面,MDSC通过诱导Treg的产生,实现其对T细胞活性的抑制<sup>[95-96]</sup>。另一方面,MDSC通过抑制B细胞的功能实现其促进肿瘤恶性进程的作用。白细胞介素7(interleukin 7, IL-7)-信号转导和转录激活因子5(signal transducer and activator of transcription 5, STAT5)信号轴对于B淋巴细胞的成熟至关重要。该信号轴的破坏会导致B细胞滞留在pro-B细胞阶段,不能分化成熟<sup>[96]</sup>。MDSC正是通过干扰IL7-STAT5信号轴,阻止B淋巴细胞的成熟,促进NSCLC的恶性进展<sup>[97]</sup>。

总之,肺癌微环境中的免疫细胞既可以通过清除或杀伤肿瘤细胞来抑制肿瘤发生、发展,也可以通过抑制机体的免疫功能来促进肿瘤恶性进展。部分肿瘤浸润淋巴细胞组成了抑制性的免疫微环境,帮助肿瘤细胞实现免疫逃逸,从而促进肺癌的发生、发展。深入解析免疫细胞在肺癌发生、发展不同阶段中的功能将有助于设计出更加有效的临床免疫治疗方案。

#### 4.2 肿瘤非免疫微环境

肿瘤细胞外基质、成纤维细胞、血管内皮细胞等构成了肿瘤的非免疫微环境。单细胞测序技术的运用成功绘制了NSCLC肿瘤微环境的基质细胞图谱,并进一步证实了肿瘤微环境中细胞的多样性<sup>[98]</sup>。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是非免疫微环境中的重要组成部分,由胶原、非胶原糖蛋白、氨基聚糖与蛋白聚糖、弹性蛋白等构成。既往的研究一直认为ECM只是一类支撑细胞的简单物理结构,随着研究的不断深入,ECM被证明调控着诸多的细胞活动,包括细胞黏附、迁移、增殖和分化<sup>[99]</sup>。而且,ECM也可以被肿瘤微环境中的巨噬细胞、成纤维细胞等

重塑,使其更有利于肿瘤转移<sup>[100]</sup>。另外,ECM的异常纤维化会形成更加致密的物理屏障,阻止药物进入肿瘤内部从而导致治疗失败。

肿瘤相关的成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)可以通过重塑微环境,形成适合肿瘤细胞的生态来促进其恶性进展。肺腺癌细胞在与表达podoplanin的CAF共培养后会产生EGFR-TKI的耐药性<sup>[101]</sup>。肺癌微环境中CAF多种多样,其中CD10<sup>+</sup> GPR77<sup>+</sup>的CAF通过分泌IL-6、IL-8维持肺癌肿瘤干细胞干性,从而导致肿瘤化疗耐药<sup>[102]</sup>。研究还表明,CAF可以通过干预ECM的沉积重塑肿瘤微环境来影响肿瘤侵袭及转移<sup>[103]</sup>。此外,CAF还具有免疫调节功能,并通过调控血管生成、药物摄取和治疗反应来发挥作用<sup>[104]</sup>。这些研究结果表明,CAF在肺癌存活、转移、耐药及免疫微环境的调节等方面都发挥着重要的作用,可作为未来肺癌治疗的潜在靶细胞。

肿瘤的恶性进展离不开血管提供的养分补给。因此,抑制肿瘤血管新生一度成为癌症治疗的热点。大量抗肿瘤血管新生药物陆续问世,VEGF及其下游信号通路都成为NSCLC治疗的靶标,临床试验结果也证实了靶向肿瘤血管新生的疗效<sup>[105]</sup>。然而,研究也发现低剂量的整联蛋白抑制剂cilengitide和钙通道阻断剂verapamil可以刺激血管新生,从而增强NSCLC化疗药物吉西他滨的递送,最终提高该化疗药物的疗效<sup>[106]</sup>。肿瘤新生血管也有可能促进化疗药物进入肿瘤内部的效率从而提高治疗效果。因此,临床治疗中是否采取促进还是抑制血管新生策略还需要更多的基础转化研究来提供指导。

越来越多的研究发现,肿瘤微环境在肺癌免疫抑制、侵袭、转移及耐药等进程中发挥着重要的作用,并证实靶向肿瘤微环境能有效地抑制癌症的恶性进展。值得注意的是,目前一些临床治疗有可能引起肿瘤微环境的重塑,例如放射治疗有可能引起强烈的炎性反应,进而增加肿瘤细胞中免疫细胞的浸润。综合考虑肿瘤及其微环境的因素将有助于完善肺癌患者的临床治疗方案。

## 5 结语

迄今为止,人们在肺癌研究领域投入了大量

的人力物力,也取得了前所未有的科研进展。尽管如此,目前对于肺癌发生、发展、转移及耐药分子机制的认知仍然十分有限。晚期肺癌患者的主要治疗方法仍然局限于经典的放化疗,这些治疗手段不良反应大,费用昂贵且疗效不佳。因此,加强对肺癌发病分子机理的研究不仅能深化人们对该疾病的认识,而且有助于寻找在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用的关键分子,为肺癌治疗提供新的靶标。

多组学整合分析证实肺癌在基因组和蛋白质组水平存在高度的异质性,并表现出高度的表型可塑性。肺癌细胞可以通过表型转变,获得更强的转移能力并产生药物耐受,加速肿瘤恶性进展。同时,肺癌及其微环境之间存在密切的相互作用。一方面,肺癌细胞可以直接招募非肿瘤细胞形成其特有的微环境;另一方面,肿瘤细胞还可根据自身发展需要重塑肿瘤微环境。大量研究证实,肿瘤微环境参与肿瘤发生、发展、转移及耐药等各个阶段。肿瘤微环境对于包括肺癌在内的多种癌症临床治疗效果具有显著的影响。同时靶向肿瘤和肿瘤微环境的联合治疗策略,有可能提高肺癌患者的临床疗效。因此,不断加强对肺癌自身及其微环境的研究,深化对其相关分子机制的理解,将有助于为临床治疗提供可靠的理论依据,为肺癌患者带来新的希望。

## [参 考 文 献]

- [1] CHENW, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [3] HONG W K, American Association for Cancer Research. *Holland Frei cancer medicine 8* [M]. 8th ed, People's Medical Pub. House, 2010.
- [4] SIMON G R, TURRISI A, American College of Chest Physicians. *Management of small cell lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition)* [J]. *Chest*, 2007, 132(suppl 3): 324-339.
- [5] JI H B, RAMSEY M R, HAYES D N, et al. LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis [J]. *Nature*, 2007, 448(7155): 807-810.
- [6] FARAGO A F, SNYDER E L, JACKS T. SnapShot: lung cancer models [J]. *Cell*, 2012, 149(1): 246-246.
- [7] MEUWISSEN R, LINN S C, LINNOILA R I, et al. Induction of small cell lung cancer by somatic inactivation of both *Trp53* and *Rb1* in a conditional mouse model [J]. *Cancer Cell*, 2003,

- 4(3): 181–189.
- [ 8 ] SWANTON C, GOVINDAN R. Clinical implications of genomic discoveries in lung cancer [ J ] . *N Engl J Med*, 2016, 374(19): 1864–1873.
- [ 9 ] GOVINDAN R, DING L, GRIFFITH M, et al. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers [ J ] . *Cell*, 2012, 150(6): 1121–1134.
- [ 10 ] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers [ J ] . *Nature*, 2012, 489(7417): 519–525.
- [ 11 ] KIM Y, HAMMERMAN P S, KIM J, et al. Integrative and comparative genomic analysis of lung squamous cell carcinomas in East Asian patients [ J ] . *J Clin Oncol*, 2014, 32(2): 121–128.
- [ 12 ] WESTOVER D, ZUGAZAGOITIA J, CHO B C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first- and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors [ J ] . *Ann Oncol*, 2018, 29(suppl 1): i10–i19.
- [ 13 ] TAN C S, KUMARAKULASINGHE N B, HUANG Y Q, et al. Third generation EGFR TKIs: current data and future directions [ J ] . *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 29.
- [ 14 ] GEORGE J, LIM J S, JANG S J, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer [ J ] . *Nature*, 2015, 524(7563): 47–53.
- [ 15 ] MCFADDEN D G, PAPAGIANNAKOPOULOS T, TAYLOR-WEINER A, et al. Genetic and clonal dissection of murine small cell lung carcinoma progression by genome sequencing [ J ] . *Cell*, 2014, 156(6): 1298–1311.
- [ 16 ] CUI M, AUGERT A, RONGIONE M, et al. PTEN is a potent suppressor of small cell lung cancer [ J ] . *Mol Cancer Res*, 2014, 12(5): 654–659.
- [ 17 ] WU N, JIA D, IBRAHIM A H, et al. NFIB overexpression cooperates with Rb/p53 deletion to promote small cell lung cancer [ J ] . *Oncotarget*, 2016, 7(36): 57514–57524.
- [ 18 ] PARK K S, MARTELOTTO L G, PEIFER M, et al. A crucial requirement for Hedgehog signaling in small cell lung cancer [ J ] . *Nat Med*, 2011, 17(11): 1504–1508.
- [ 19 ] IWAKAWA R, KOHNO T, TOTOKI Y, et al. Expression and clinical significance of genes frequently mutated in small cell lung cancers defined by whole exome/RNA sequencing [ J ] . *Carcinogenesis*, 2015, 36(6): 616–621.
- [ 20 ] CAMPA M J, WANG M Z, HOWARD B, et al. Protein expression profiling identifies macrophage migration inhibitory factor and cyclophilin A as potential molecular targets in non-small cell lung cancer [ J ] . *Cancer Res*, 2003, 63(7): 1652–1656.
- [ 21 ] XIAO T, YING W, LI L, et al. An approach to studying lung cancer-related proteins in human blood [ J ] . *Mol Cell Proteomics*, 2005, 4(10): 1480–1486.
- [ 22 ] RAHMAN S M, GONZALEZ A L, LI M, et al. Lung cancer diagnosis from proteomic analysis of preinvasive lesions [ J ] . *Cancer Res*, 2011, 71(8): 3009–3017.
- [ 23 ] JEONG H C, KIM G I, CHO S H, et al. Proteomic analysis of human small cell lung cancer tissues: up-regulation of coactosin-like protein-1 [ J ] . *J Proteome Res*, 2011, 10(1): 269–276.
- [ 24 ] OKUZAWA K, FRANZÉN B, LINDHOLM J, et al. Characterization of gene expression in clinical lung cancer materials by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis [ J ] . *Electrophoresis*, 1994, 15(3–4): 382–390.
- [ 25 ] LEE H S, PARK J W, CHERTOV O, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry reveals decreased calcylin expression in small cell lung cancer [ J ] . *Pathol Int*, 2012, 62(1): 28–35.
- [ 26 ] XU J Y, ZHANG C, WANG X, et al. Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma [ J ] . *Cell*, 2020, 182(1): 245–261.
- [ 27 ] CHEN Y J, ROUMELIOTIS T I, CHANG Y H, et al. Proteogenomics of non-smoking lung cancer in east asia delineates molecular signatures of pathogenesis and progression [ J ] . *Cell*, 2020, 182(1): 226–244.
- [ 28 ] GILLETTE M A, SATPATHY S, CAO S, et al. Proteogenomic characterization reveals therapeutic vulnerabilities in lung adenocarcinoma [ J ] . *Cell*, 2020, 182(1): 200–225.
- [ 29 ] RUFFINI E, RENA O, OLIARO A, et al. Lung tumors with mixed histologic pattern. Clinico-pathologic characteristics and prognostic significance [ J ] . *Eur J Cardiothorac Surg*, 2002, 22(5): 701–707.
- [ 30 ] DENG P, HU C, ZHOU L, et al. Clinical characteristics and prognostic significance of 92 cases of patients with primary mixed-histology lung cancer [ J ] . *Mol Clin Oncol*, 2013, 1(5): 863–868.
- [ 31 ] JIA X L, CHEN G. *EGFR* and *KRAS* mutations in Chinese patients with adenosquamous carcinoma of the lung [ J ] . *Lung Cancer*, 2011, 74(3): 396–400.
- [ 32 ] TOCHIGI N, DACIC S, NIKIFOROVA M, et al. Adenosquamous carcinoma of the lung: a microdissection study of *KRAS* and *EGFR* mutational and amplification status in a western patient population [ J ] . *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(5): 783–789.
- [ 33 ] CHEN Y, TANG W Y, TONG X, et al. Pathological transition as the arising mechanism for drug resistance in lung cancer [ J ] . *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39(1): 53.
- [ 34 ] HOU S, HAN X, JI H. Squamous transition of lung adenocarcinoma and drug resistance [ J ] . *Trends Cancer*, 2016, 2(9): 463–466.
- [ 35 ] GAO Y, ZHANG W, HAN X, et al. YAP inhibits squamous transdifferentiation of Lkb1-deficient lung adenocarcinoma through ZEB2-dependent DNp63 repression [ J ] . *Nat Commun*, 2014, 5: 4629.
- [ 36 ] HAN X, LI F, FANG Z, et al. Transdifferentiation of lung adenocarcinoma in mice with Lkb1 deficiency to squamous cell carcinoma [ J ] . *Nat Commun*, 2014, 5: 3261.
- [ 37 ] KIM H S, MENDIRATTA S, KIM J, et al. Systematic identification of molecular subtype-selective vulnerabilities in non-small cell lung cancer [ J ] . *Cell*, 2013, 155(3): 552–566.
- [ 38 ] LI F, HAN X, WANG R, et al. LKB1 inactivation elicits a redox imbalance to modulate non-small cell lung cancer plasticity and therapeutic response [ J ] . *Cancer Cell*, 2015, 27(5): 698–711.
- [ 39 ] MUKHOPADHYAY A, BERRETT K C, KC U, et al. Sox2 cooperates with Lkb1 loss in a mouse model of squamous cell lung cancer [ J ] . *Cell Rep*, 2014, 8(1): 40–49.
- [ 40 ] FERONE G, SONG J Y, SUTHERLAND K D, et al. SOX2 is the determining oncogenic switch in promoting lung squamous cell carcinoma from different cells of origin [ J ] . *Cancer Cell*,

- 2016, 30(4): 519–532.
- [41] REKHTMAN N, ANG D C, SIMA C S, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens [J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(10): 1348–1359.
- [42] KIM M J, SHIN H C, SHIN K C, et al. Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2013, 17(1): 85–90.
- [43] SHI Y, LI J, ZHANG S, et al. Molecular epidemiology of *EGFR* mutations in asian patients with advanced non-small cell lung cancer of adenocarcinoma histology-mainland china subset analysis of the PIONEER study [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143515.
- [44] HARATANI K, HAYASHI H, WATANABE S, et al. Two cases of *EGFR* mutation-positive lung adenocarcinoma that transformed into squamous cell carcinoma: successful treatment of one case with rociletinib [J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(1): 200–202.
- [45] HSIEH M S, JHUANG J Y, HUA S F, et al. Histologic evolution from adenocarcinoma to squamous cell carcinoma after gefitinib treatment [J]. *Ann Thorac Surg*, 2015, 99(1): 316–319.
- [46] JUKNA A, MONTANARI G, MENGOLI M C, et al. Squamous cell carcinoma “transformation” concurrent with secondary *T790M* mutation in resistant *EGFR*-mutated adenocarcinomas [J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(4): e49–51.
- [47] KUIPERS J L, RONDEN M I, BECKER A, et al. Transformation to a squamous cell carcinoma phenotype of an *EGFR*-mutated NSCLC patient after treatment with an *EGFR*-tyrosine kinase inhibitor [J]. *J Clin Pathol*, 2015, 68(4): 320–321.
- [48] ZAKOWSKI M F, LADANYI M, KRIS M G, et al. *EGFR* mutations in small-cell lung cancers in patients who have never smoked [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(2): 213–215.
- [49] MORINAGA R, OKAMOTO I, FURUTA K, et al. Sequential occurrence of non-small cell and small cell lung cancer with the same *EGFR* mutation [J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(3): 411–413.
- [50] ALAM N, GUSTAFSON K S, LADANYI M, et al. Small-cell carcinoma with an epidermal growth factor receptor mutation in a never-smoker with gefitinib-responsive adenocarcinoma of the lung [J]. *Clin Lung Cancer*, 2010, 11(5): E1–E4.
- [51] POPAT S, WOTHERSPOON A, NUTTING C M, et al. Transformation to “high grade” neuroendocrine carcinoma as an acquired drug resistance mechanism in *EGFR*-mutant lung adenocarcinoma [J]. *Lung Cancer*, 2013, 80(1): 1–4.
- [52] ZHANG Y, LI X Y, TANG Y, et al. Rapid increase of serum neuron specific enolase level and tachyphylaxis of *EGFR*-tyrosine kinase inhibitor indicate small cell lung cancer transformation from *EGFR* positive lung adenocarcinoma? [J]. *Lung Cancer*, 2013, 81(2): 302–305.
- [53] AHMED T, VIAL M R, OST D, et al. Non-small cell lung cancer transdifferentiation into small cell lung cancer: a case series [J]. *Lung Cancer*, 2018, 122: 220–223.
- [54] NIEDERST M J, SEQUIST L V, POIRIER J T, et al. RB loss in resistant *EGFR* mutant lung adenocarcinomas that transform to small cell lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6377.
- [55] ABELOFF M D, EGGLESTON J C, MENDELSON G, et al. Changes in morphologic and biochemical characteristics of small cell carcinoma of the lung. A clinicopathologic study [J]. *Am J Med*, 1979, 66(5): 757–764.
- [56] BRERETON H D, MATHEWS M M, COSTA J, et al. Mixed anaplastic small-cell and squamous-cell carcinoma of the lung [J]. *Ann Intern Med*, 1978, 88(6): 805–806.
- [57] GAZDAR A F, ZWEIG M H, CARNEY D N, et al. Levels of creatine kinase and its BB isoenzyme in lung cancer specimens and cultures [J]. *Cancer Res*, 1981, 41(7): 2773–2777.
- [58] TISCHLER A S. Small cell carcinoma of the lung: cellular origin and relationship to other neoplasms [J]. *Semin Oncol*, 1978, 5(3): 244–252.
- [59] GAZDAR A F, CARNEY D N, NAU M M, et al. Characterization of variant subclasses of cell lines derived from small cell lung cancer having distinctive biochemical, morphological, and growth properties [J]. 1985, *Cancer Res*, 45(6): 2924–2930.
- [60] CARNEY D N, GAZDAR A F, BEPLER G, et al. Establishment and identification of small cell lung cancer cell lines having classic and variant features [J]. *Cancer Res*, 1985, 45(6): 2913–2923.
- [61] DOYLE L A, BORGES M, HUSSAIN A, et al. An adherent subline of a unique small-cell lung cancer cell line downregulates antigens of the neural cell adhesion molecule [J]. *J Clin Invest*, 1990, 86(6): 1848–1854.
- [62] JOHNSON B E, BATTEY J, LINNOILA I, et al. Changes in the phenotype of human small cell lung cancer cell lines after transfection and expression of the *c-myc* proto-oncogene [J]. *J Clin Invest*, 1986, 78(2): 525–532.
- [63] CALBO J, VAN MONTFORT E, PROOST N, et al. A functional role for tumor cell heterogeneity in a mouse model of small cell lung cancer [J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(2): 244–256.
- [64] LIM J S, IBASETA A, FISCHER M M, et al. Intratumoural heterogeneity generated by Notch signalling promotes small-cell lung cancer [J]. *Nature*, 2017, 545(7654): 360–364.
- [65] SRIURANPONG V, BORGES M W, STROCK C L, et al. Notch signaling induces rapid degradation of achaete-scute homolog 1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(9): 3129–3139.
- [66] CHEN H, THIAGALINGAM A, CHOPRA H, et al. Conservation of the *Drosophila* lateral inhibition pathway in human lung cancer: a hairy-related protein (HES-1) directly represses achaete-scute homolog-1 expression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(10): 5355–5360.
- [67] DOOLEY A L, WINSLOW M M, CHIANG D Y, et al. Nuclear factor *I/B* is an oncogene in small cell lung cancer [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(14): 1470–1475.
- [68] DENNY S K, YANG D, CHUANG C H, et al. Nfib promotes metastasis through a widespread increase in chromatin accessibility [J]. *Cell*, 2016, 166(2): 328–342.
- [69] JAHCHAN N S, LIM J S, BOLA B, et al. Identification and targeting of long-term tumor-propagating cells in small cell lung cancer [J]. *Cell Rep*, 2016, 16(3): 644–656.
- [70] RUDIN C M, POIRIER J T, BYERS L A, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(5): 289–297.

- [ 71 ] IRELAND A S, MICINSKI A M, KASTNER D W, et al. MYC drives temporal evolution of small cell lung cancer subtypes by reprogramming neuroendocrine fate [ J ] . *Cancer Cell*, 2020, 38(1): 60–78.
- [ 72 ] JUNTTILA M R, DE SAUVAGE F J. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response [ J ] . *Nature*, 2013, 501(7467): 346–354.
- [ 73 ] LAVIN Y, KOBAYASHI S, LEADER A, et al. Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses [ J ] . *Cell*, 2017, 169(4): 750–765.e717.
- [ 74 ] GAJEWSKI T F, SCHREIBER H, FU Y X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment [ J ] . *Nat Immunol*, 2013, 14(10): 1014–1022.
- [ 75 ] ZAMARRON B F, CHEN W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression [ J ] . *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5): 651–658.
- [ 76 ] RESTIFO N P, DUDLEY M E, ROSENBERG S A. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response [ J ] . *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4): 269–281.
- [ 77 ] MARSHALL E A, NG K W, KUNG S H, et al. Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis [ J ] . *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 67.
- [ 78 ] VIGNALI D A, COLLISON L W, WORKMAN C J. How regulatory T cells work [ J ] . *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(7): 523–532.
- [ 79 ] BEYER M, SCHULTZE J L. Regulatory T cells in cancer [ J ] . *Blood*, 2006, 108(3): 804–811.
- [ 80 ] SAVAGE P A, MALCHOW S, LEVENTHAL D S. Basic principles of tumor-associated regulatory T cell biology [ J ] . *Trends Immunol*, 2013, 34(1): 33–40.
- [ 81 ] GENTLES A J, NEWMAN A M, LIU C L, et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers [ J ] . *Nat Med*, 2015, 21(8): 938–945.
- [ 82 ] BRUNO T C, EBNER P J, MOORE B L, et al. Antigen-presenting intratumoral B cells affect CD4<sup>+</sup> TIL phenotypes in non-small cell lung cancer patients [ J ] . *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(10): 898–907.
- [ 83 ] VITALE G, MION F, PUCILLO C. Regulatory B cells: evidence, developmental origin and population diversity [ J ] . *Mol Immunol*, 2010, 48(1–3): 1–8.
- [ 84 ] ZHOU J, MIN Z, ZHANG D, et al. Enhanced frequency and potential mechanism of B regulatory cells in patients with lung cancer [ J ] . *J Transl Med*, 2014, 12: 304.
- [ 85 ] FRIDMAN W H, PAGÈS F, SAUTÈS-FRIDMAN C. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome [ J ] . *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 298–306.
- [ 86 ] MINETTO P, GUOLO F, PESCE S, et al. Harnessing NK cells for cancer treatment [ J ] . *Front Immunol*, 2019, 10: 2836.
- [ 87 ] LIN M, LUO H, LIANG S, et al. Pembrolizumab plus allogeneic NK cells in advanced non-small cell lung cancer patients [ J ] . *J Clin Invest*, 2020, 130(5): 2560–2569.
- [ 88 ] BEST S A, HESS J B, SOUZA-FONSECA-GUIMARAES F, et al. Harnessing natural killer immunity in metastatic SCLC [ J ] . *J Thorac Oncol*, 2020, 15(9): 1507–1521.
- [ 89 ] MAIER B, LEADER A M, CHEN S T, et al. A conserved dendritic-cell regulatory program limits antitumour immunity [ J ] . *Nature*, 2020, 580(7802): 257–262.
- [ 90 ] YANG L, LIU Q, ZHANG X, et al. DNA of neutrophil extracellular traps promotes cancer metastasis via CCDC25 [ J ] . *Nature*, 2020, 583(7814): 133–138.
- [ 91 ] KOYAMA S, AKBAY E A, LI Y Y, et al. STK11/LKB1 deficiency promotes neutrophil recruitment and proinflammatory cytokine production to suppress T-cell activity in the lung tumor microenvironment [ J ] . *Cancer Res*, 2016, 76(5): 999–1008.
- [ 92 ] BISWAS S K, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm [ J ] . *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 889–896.
- [ 93 ] RUFFELL B, COUSSENS L M. Macrophages and therapeutic resistance in cancer [ J ] . *Cancer Cell*, 2015, 27(4): 462–472.
- [ 94 ] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis [ J ] . *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423–1437.
- [ 95 ] HUANG B, PAN P Y, LI Q, et al. Gr-1<sup>+</sup>CD115<sup>+</sup> immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host [ J ] . *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1123–1131.
- [ 96 ] CORFE S A, PAIGE C J. The many roles of IL-7 in B cell development; mediator of survival, proliferation and differentiation [ J ] . *Semin Immunol*, 2012, 24(3): 198–208.
- [ 97 ] WANG Y, SCHAFER C C, HOUGH K P, et al. Myeloid-derived suppressor cells impair B cell responses in lung cancer through IL-7 and STAT5 [ J ] . *J Immunol*, 2018, 201(1): 278–295.
- [ 98 ] 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.
- [ 99 ] BONNANS C, CHOU J, WERB Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease [ J ] . *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(12): 786–801.
- [ 100 ] PAOLILLO M, SCHINELLI S. Extracellular matrix alterations in metastatic processes [ J ] . *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4947.
- [ 101 ] YOSHIDA T, ISHII G, GOTO K, et al. Podoplanin-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.
- [ 102 ] SU S, CHEN J, YAO H, et al. CD10<sup>+</sup> GPR77<sup>+</sup> cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness [ J ] . *Cell*, 2018, 172(4): 841–856.e16.
- [ 103 ] LIU T, ZHOU L, LI D, et al. Cancer-associated fibroblasts build and secure the tumor microenvironment [ J ] . *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 60.
- [ 104 ] SAHAI E, ASTSATUROV I, CUKIERMAN E, et al. A framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts [ J ] . *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(3): 174–186.
- [ 105 ] GIACCONE G. The potential of antiangiogenic therapy in non-small cell lung cancer [ J ] . *Clin Cancer Res*, 2007, 13(7): 1961–1970.
- [ 106 ] WONG P P, DEMIRCIOGLU F, GHAZALY E, et al. Dual-action combination therapy enhances angiogenesis while reducing tumor growth and spread [ J ] . *Cancer Cell*, 2015, 27(1): 123–137.

(收稿日期: 2020-08-30 修回日期: 2020-09-15)