

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

魏华民¹ 综述, 花宝金² 审校

1. 首都医科大学附属北京友谊医院中医科, 北京 100050;
2. 中国中医科学院广安门医院肿瘤科, 北京 100053

[摘要] 肿瘤细胞持续存活是肿瘤转移过程中的主要限速环节。与肿瘤微环境类似, 转移前器官的局部微环境(转移前微环境)为肿瘤细胞的存活提供了适宜的环境, 是肿瘤细胞在远端器官持续存活、增殖的重要条件。髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是这一环境中的关键成分, 其构筑的促增殖、炎症、免疫抑制及血管重塑的转移前微环境在肿瘤细胞的种植、转移灶的形成过程中具有重要作用, 是抗肿瘤转移治疗的潜在靶点。该研究主要介绍MDSCs构筑转移前微环境的机制及相关信号通路, 为干预转移前微环境的抗肿瘤转移研究提供参考。

[关键词] 髓源性抑制细胞; 转移前微环境; 肿瘤转移

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.06.020

中图分类号: R73-37 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)06-0516-05

Role of myeloid-derived suppressor cells in premetastatic niche formation and tumor metastasis promotion WEI Huamin¹, HUA Baojin² (1. Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Department of Oncology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medicine Sciences, Beijing 100053, China)

Correspondence to: HUA Baojin E-mail: huabaojin@sohu.com

[Abstract] Sustaining survival of tumor cells is the main limiting step of tumor metastasis. Similar to tumor microenvironment, local environment in premetastatic organ (premetastatic niche) also provides a favorable condition for surviving of tumor cell and is the premise of tumor cell survival and proliferation in distant organ. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are the key component of the niche and play an important role in tumor cell implantation and metastasis formation through fabricating a proliferative, inflammatory, immunosuppressive and vascular remodeling premetastatic niche. MDSCs may also serve as potential therapeutic target for anti-metastasis therapy. Here, this study focused on the mechanisms of MDSCs in premetastatic niche formation and associated signal pathway, moreover, provided reference to study on anti-metastasis therapy through interfering with the formation of premetastatic niche.

[Key words] Myeloid-derived suppressor cells; Premetastatic niche; Tumor metastasis

荷瘤机体骨髓组织在肿瘤细胞分泌的多种肿瘤源性分泌因子作用下, 骨髓源性细胞(bone marrow-derived cells, BMDCs)大量扩增并动员入血作用于远端靶器官, 于肿瘤细胞到达之前在靶器官局部形成适宜肿瘤生长的微环境即为转移前微环境。目前, 转移前微环境的研究模型以

肺为主, 近期的研究表明, 构成BMDCs的重要亚群髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是转移前微环境的关键细胞群, MDSCs先于肿瘤细胞到达转移前肺脏并大量聚集, 不仅通过介导免疫抑制发挥促肿瘤转移效应, 还在转移前微环境的炎症微环境形成、血管

基金项目: 国家科技部重点领域创新团队(RA20134022); 国家自然科学基金(81273718, 81102719);

中国中医科学院肿瘤扶正培本创新团队(YS1305)。

通信作者: 花宝金 E-mail: huabaojin@sohu.com

高渗、肿瘤细胞种植及转移灶形成过程中发挥重要的生物学效应,在转移前微环境构筑中发挥了不可替代的作用^[1-5]。

1 荷瘤机体MDSCs的动员及亚群

转移前微环境中MDSCs来源主要有两方面:①造血干/祖细胞介导的MDSCs迁移。造血干/祖细胞在肿瘤转移前微环境中扮演了启动因子的角色。在小鼠Lewis肺癌模型中发现,表达血管内皮生长因子受体1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1)的BMDCs回巢到特异的转移前位点,并同时高表达整联蛋白 $\alpha 4\beta 1$,特异性的与靶器官纤维连接蛋白表位结合,在靶器官中聚集为BMDCs簇,不仅形成一个对于播散肿瘤细胞(disseminated tumor cells, DTCs)强有力的“停泊位点”^[6],而且特异性的诱导肺实质内炎性蛋白S100A8/A9和铃蟾多样性肽8(Bombina variegata peptide, Bv8)的表达,从而进一步诱导MDSCs迁移共同构建转移前微环境^[7-9]。而其迁移的来源可能与荷瘤机体MDSCs受粒细胞集落刺激因子、Bv8或前动力蛋白2等因子刺激,在骨髓、脾脏及外周血中大量扩增有关^[10]。②由造血干/祖细胞分化而来。最新的研究证实,转移前微环境中MDSCs由荷瘤机体骨髓中造血干/祖细胞分化而来,在原位肿瘤生长的同时,骨髓造血干/祖细胞扩增并动员入血,在转移前微环境中分化为MDSCs^[11]。

MDSCs是一群处于不同分化阶段的异质表型未成熟髓样细胞,包括尚未完全成熟的粒细胞、单核细胞及树突状细胞的骨髓祖细胞。按照表面标志物不同,小鼠MDSCs主要分为Gr1和CD11b两种亚群,并根据表达不同的Gr1表位,分为粒细胞亚群(G-MDSCs)和单细胞亚群(M-MDSCs),其表型分别为 $CD11b^+Gr-1^+$ [$Ly6G^+Ly6C^{low/med/+}$]和 $CD11b^+Gr-1^+$ [$Ly6C^{high/+}Ly6G^-$]^[7]。人MDSCs表现出更强的异质性,通常认为 $lin^-CD11b^+CD33^+HLADR^-$ 细胞、 $CD14^-CD15^+CD66b^+$ 嗜中性粒细胞表型和 $CD14^+CD15^-CD66b^-$ 单核细胞表型均属于MDSCs^[12]。

2 MDSCs在转移前微环境中持续增殖与1-磷酸鞘氨醇受体(sphingosine-1-phosphate receptor 1, S1PR1)-信号传导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路激活相关

MDSCs进入到转移前微环境之后,需要在转移前微环境中持续生存并进一步扩增,这样才能起到促进肿瘤转移的作用,S1PR1-STAT3是促进转移前微环境中MDSCs持续扩增的重要信号通路。

STAT3是S1PR1基因的转录因子,是与MDSCs扩增最为相关的转录因子^[13-14]。研究数据显示,荷瘤小鼠中的STAT3磷酸化水平明显高于野生型小鼠,敲除荷瘤小鼠体内STAT3或选择性地抑制STAT3表达能够显著地下调的MDSCs聚集而增强细胞的免疫应答,STAT3的活化能够延长BMDCs的存活时间并促进其增殖,其机制可能与上调细胞周期蛋白D1、MYC和BCL-XL有关^[13,15-16]。因此,STAT3的持续活化能够抑制BMDCs向成熟的髓系细胞分化,进而促进MDSCs的扩增。

S1PR1是溶血磷脂1-磷酸鞘氨醇的G蛋白偶联受体,在STAT3阳性的肿瘤中表达升高。S1pr1基因表达上调可激活STAT3,促进肿瘤生长及转移,而在肿瘤细胞或免疫细胞中沉默S1pr1基因可抑制肿瘤STAT3的活性,进一步抑制肿瘤的生长和转移。有研究表明,S1PR1是导致STAT3持续激活的因子,而STAT3又可以诱导S1pr1基因的表达,两者相互促进导致肿瘤细胞持续表达STAT3,对肿瘤进展起到重要作用^[17]。肿瘤细胞中S1PR1-STAT3表达上调可产生一系列生物活性因子,进一步激活转移前器官中多种细胞S1PR1-STAT3信号通路,从而形成转移前微环境。在肺转移前微环境中MDSCs的扩增和累积依赖于S1PR1-STAT3信号通路的持续激活,无论针对髓系细胞表达的S1PR1还是STAT3进行干预,都可破坏已存在的转移前微环境,减少转移的发生。

S1PR1-STAT3信号通路对转移前微环境中的MDSCs具有维持长期生存及增殖的重要作

用, 对MDSCs向循环系统渗入和转移前微环境溢出也有促进作用^[18]。有研究证实, 在荷瘤小鼠模型中, MDSCs的S1PR1-STAT3信号通路激活可以增强其穿透内皮细胞进行迁移的能力, 还可以产生一些因子如IL-6、IL-10对远端器官的STAT3及纤连蛋白表达进行调控, 也可通过过表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和低氧诱导因子1 α mRNA及提高分泌型VEGF的水平起到促肿瘤转移作用。而MDSCs的S1PR1-STAT3信号通路激活可能通过自分泌刺激作用使MDSCs分泌更多的SA1008/9复合体, 促进MDSCs的进一步分化并增强其免疫抑制功能^[19]。综上, MDSCs在肺转移前微环境中大量扩增和持续生存依赖于S1PR1-STAT3的持续激活。当然, 从现代分子生物学的发展来看, 人体的调控是一个复杂的信号网络, MDSCs在转移前微环境中的生存涉及到复杂环境网络调控, 而不是单一的信号通路, 这需要更多的研究证实。

此外, 持续激活的MDSCs还可通过多种途径, 改变转移前微环境炎症及免疫组分, 促进肿瘤细胞种植及转移灶形成。

3 MDSCs对转移前微环境中炎症/免疫组分的作用

荷瘤小鼠模型中转移前微环境中MDSCs的数量随着肿瘤时间增长而不断增加, 在形成转移灶时高达50%, 而肺转移前微环境中MDSCs的数量也已达到30%^[20]。MDSCs通过抑制免疫应答和分泌炎症因子改变荷瘤机体转移前器官的宿主炎症和免疫抑制微环境, 以利于DTCs的黏附、生存和增殖^[21-22]。

3.1 MDSCs介导的转移前微环境中的炎症组分改变

转移前微环境中MDSCs亚型不同其功能亦存在差异, CD11b⁺Gr-1⁺(Ly6G⁺ Ly6C⁺)由粒细胞集落刺激因子从骨髓动员迁移至转移靶器官, 并分泌MMP9、S100A8、S100A9和趋化因子Bv8, 这些因子可以促进肿瘤细胞归巢和CD11b⁺Gr-1⁺(Ly6G⁺ Ly6C⁺)的募集, 另外S100A8/9还可以在转移前肺脏中诱导SAA3,

进一步通过TLR-4依赖的方式激活NF- κ B信号通路, 从而构建局部炎症微环境^[9,23]。CD11b⁺Gr-1⁺细胞还可分泌一些促炎因子如IL-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1、基质细胞衍生因子-1及巨噬细胞趋化因子等共同营造炎症微环境^[3]。

3.2 MDSCs介导的转移前微环境中的免疫抑制组分改变

MDSC抑制免疫细胞功能主要有4个机制: ① 消耗淋巴细胞所需的氨基酸; ② 通过产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)及活性氮而诱发的氧化应激反应; ③ 干扰淋巴细胞的迁移及生存; ④ 激活并使调节性T细胞扩增^[24]。单核细胞和粒细胞MDSCs亚群有不同的免疫抑制功能, 粒细胞MDSC可通过产生ROS而抑制CD8⁺T细胞功能, 而单核细胞MDSC则通过产生精氨酸酶1、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和ROS抑制淋巴细胞的激活。基于目前的研究结果, 转移前器官的免疫监视功能显著降低可能与降低自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)细胞毒作用、抑制T细胞增殖及分泌免疫抑制相关因子、减少巨噬细胞分泌IFN- γ 有关。

CD11b⁺/Ly6C^{med}/Ly6G⁺粒细胞亚型的髓系细胞是构成转移前微环境的主要髓系细胞, 可通过抑制穿孔素依赖的NK细胞毒作用而抑制抗肿瘤免疫, 增加肺脏转移^[25]。转移前微环境中MDSC抑制NK细胞的具体机制尚不明确, 可能和接触性抑制有关, 既往通过构建腺病毒载体进行的粒细胞MDSC的免疫治疗研究显示, 粒细胞MDSC可通过产生ROS而抑制NK细胞; 而荷瘤机体的MDSC可通过抑制IL-2激活和减少穿孔素的产生而抑制NK细胞活性^[26-27]。

无论在转移灶还是转移前微环境中, MDSCs对T细胞均有抑制作用。在肺的微转移灶中存在CD3⁺T细胞和CD11b⁺/Gr-1⁺细胞簇, 通过转移前微环境中STAT3抑制而降低髓系细胞功能后, CD3⁺T细胞发生增殖^[22,28], 间接证实了MDSC对T细胞增殖的抑制作用。有研究证实, MDSCs对T细胞有直接抑制作用, 通过从转移前微环境中分选出CD11b⁺Gr-1⁺的髓

系细胞和T细胞共培养,发现MDSCs有较强的免疫抑制功能,对anti-CD3/anti-CD28激活的T细胞增殖抑制率高达50%,其机制可能与iNOS有关^[11]。

关于MDSCs是否在转移前微环境中通过Treg起到免疫抑制的作用存在争议,部分研究并未发现转移前微环境中Treg细胞数目变化^[3,11],但是基于肿瘤微环境中MDSCs可促进Treg细胞的扩增,使初始CD4⁺T细胞转化为Treg细胞,有学者推测转移前微环境中MDSCs的聚集也可能间接的通过Treg细胞的功能而抑制T及NK细胞的功能^[29]。

此外,MDSCs通过对转移前微环境中细胞因子的影响,也起到一定的免疫抑制作用,有研究通过对比分析正常肺脏和荷瘤14天肺脏,发现转移前微环境中Th2细胞因子白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-5、IL-9和IL-10均显著升高,由于这些因子具有免疫抑制的作用,认为和IFN- γ 的减少共同营造了转移前免疫抑制微环境^[3]。

关于肝脏转移前微环境的研究显示,肝脏浸润的MDSCs可通过上调阴性T细胞共刺激分子程序性死亡受体-配体1的表达或抑制T细胞的增殖而导致转移前微环境的免疫抑制;也可导致肝脏的轻微损伤,从而导致一些因子的释放和肝细胞的凋亡从而促进肝脏转移。

综上,MDSCs受到肿瘤分泌因子的作用,动员并招募到靶器官,通过分泌相关因子和蛋白,构筑了炎性和免疫抑制的转移前微环境。另外,MDSCs对转移前微环境中血管成分也有一定作用。

4 MDSCs对转移前微环境中血管的作用

有研究发现,肿瘤细胞到达靶器官之前,CD11b⁺/Gr-1⁺髓系细胞可通过分泌MMP9等因子减少周细胞覆盖,破坏血管内皮的VE-钙黏蛋白连接,造成转移前微环境中血管的高渗透性^[3]。这可能为肿瘤细胞的靶向性转移提供条件,因为其可以促使肿瘤细胞移出血管并和髓系细胞及活化的血小板聚集成团,促进转移灶形成^[6]。

5 MDSCs在转移前微环境中聚集促进肿瘤细胞黏附、增殖及生存

在肿瘤细胞招募方面,CD11b⁺/Gr-1⁺髓系细胞中表面标记为Ly6G⁺/Ly6C⁺的粒细胞亚群可通过分泌MMP9、S100A8、S100A9及趋化因子Bv8,增加肿瘤细胞的迁移和归巢,同时也可进一步正反馈促使更多的Ly6G⁺/Ly6C⁺细胞向转移前微环境聚集形成恶性循环,进而招募更多的肿瘤细胞^[8]。

此外,MDSCs在转移前微环境中获得内皮细胞特性,可通过高表达特定基因或分泌某些蛋白促进肿瘤细胞在转移前微环境中的生存。一方面,CD11b⁺/Gr-1⁺髓系细胞可在肿瘤细胞分泌的多功能蛋白聚糖刺激下产生TNF α ,招募白细胞形成促炎的转移前微环境,从而提高肿瘤细胞的生存^[22],一方面,CD11b⁺/Gr-1⁺髓系细胞的CD11b⁺/Ly6C^{high}单核成分还可通过分泌多功能蛋白聚糖减弱Smad2的磷酸化水平,促进转移前微环境中肿瘤细胞的间质-上皮转化,促进肿瘤细胞的增殖,加速转移^[20]。最近的研究证实,转移前微环境中CD11b⁺/Gr-1⁺髓系细胞TGF β 通路激活,高表达CCL9,促进了肿瘤细胞在转移微环境中的生存,为转移灶的形成提供基础^[34]。而既往的研究证实,TGF β 是一个双效性分子,具有抑制肿瘤或促肿瘤转移作用^[20,34],说明不同的环境中,TGF β 的激活对肿瘤细胞有不同的作用,提示我们在转移前微环境的研究中,应明确不同分子的作用,不能把肿瘤微环境中的信号通路简单的套用在转移前微环境中。

6 结论

MDSCs在肿瘤细胞分泌的多种因子作用下,本身S1PR1-STAT3、TGF β 等信号通路激活并被招募至转移前微环境,分泌多种促增殖、促炎及免疫抑制因子并使得局部血管高渗透以构筑转移前微环境,促进肿瘤细胞的招募、种植及扩增,为转移灶的形成提供条件。干预MDSCs在转移前微环境中的聚集可抑制早期肿瘤转移,这是肿瘤治疗理念及手段的创新,对肿瘤患者的长期生存有重大意义。

[参 考 文 献]

- [1] OTSUBO D, YAMASHITA K, FUJITA M, et al. Early-phase treatment by low-dose 5-fluorouracil or primary tumor resection inhibits MDSC-mediated lung metastasis formation [J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(8): 4425-4431.
- [2] HORLAD H, FUJIWARA Y, TAKEMURA K, et al. Corosolic acid impairs tumor development and lung metastasis by inhibiting the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressor cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(6): 1046-1054.
- [3] 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.
- [4] CONDAMINE T, RAMACHANDRAN I, YOUN J I, et al. Regulation of tumor metastasis by myeloid-derived suppressor cells [J]. *Annu Rev Med*, 2015, 66: 97-110.
- [5] TALMADGE J E, GABRILOVICH D I. History of myeloid-derived suppressor cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(10): 739-752.
- [6] PSAILA B, LYDEN D. The metastatic niche: adapting the foreign soil [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 285-293.
- [7] SCENEAY J, SMYTH M J, MOLLER A. The pre-metastatic niche: finding common ground [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2013, 32(3-4): 449-464.
- [8] KOWANETZ M, WU X, LEE J, et al. Granulocyte-colony stimulating factor promotes lung metastasis through mobilization of Ly6G⁺Ly6C⁺ granulocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(50): 21248-21255.
- [9] HIRATSUKA S, WATANABE A, ABURATANI H, et al. Tumour-mediated upregulation of chemoattractants and recruitment of myeloid cells predetermines lung metastasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(12): 1369-1375.
- [10] YANG L, DEBUSK L M, FUKUDA K, et al. Expansion of myeloid immune suppressor Gr⁺CD11b⁺ cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis [J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(4): 409-421.
- [11] GILES A J, REID C M, EVANS J D, et al. Activation of hematopoietic stem/progenitor cells promotes immunosuppression within the premetastatic niche [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6): 1335-1347.
- [12] ZHANG H, MARIC I, DIPRIMA M J, et al. Fibrocytes represent a novel MDSC subset circulating in patients with metastatic cancer [J]. *Blood*, 2013, 122(7): 1105-1113.
- [13] KUJAWSKI M, KORTYLEWSKI M, LEE H, et al. Stat3 mediates myeloid cell-dependent tumor angiogenesis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(10): 3367-3377.
- [14] VASQUEZ D D, PAN F, ZENG Q, et al. STAT3 regulates arginase-I in myeloid-derived suppressor cells from cancer patients [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(4): 1580-1589.
- [15] LEE H, PAL S K, RECKAMP K, et al. STAT3: a target to enhance antitumor immune response [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2011, 344: 41-59.
- [16] ABAD C, NOBUTA H, LI J, et al. Targeted STAT3 disruption in myeloid cells alters immunosuppressor cell abundance in a murine model of spontaneous medulloblastoma [J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95(2): 357-367.
- [17] WENDT M K, BALANIS N, CARLIN C R, et al. STAT3 and epithelial-mesenchymal transitions in carcinomas [J]. *JAKSTAT*, 2014, 3(1): e28975.
- [18] LEE H, DENG J, KUJAWSKI M, et al. STAT3-induced SIPR1 expression is crucial for persistent STAT3 activation in tumors [J]. *Nat Med*, 2010, 16(12): 1421-1428.
- [19] SIDO J M, YANG X, NAGARKATTI P S, et al. Δ9-Tetrahydrocannabinol-mediated epigenetic modifications elicit myeloid-derived suppressor cell activation via STAT3/S100A8 [J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 97(4): 677-688.
- [20] GAO D, JOSHI N, CHOI H, et al. Myeloid progenitor cells in the premetastatic lung promote metastases by inducing mesenchymal to epithelial transition [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(6): 1384-1394.
- [21] CHAFE S C, LOU Y, SCENEAY J, et al. Carbonic anhydrase IX promotes myeloid-derived suppressor cell mobilization and establishment of a metastatic niche by stimulating G-CSF production [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(6): 996-1008.
- [22] KIM S, TAKAHASHI H, LIN W W, et al. Carcinoma-produced factors activate myeloid cells through TLR2 to stimulate metastasis [J]. *Nature*, 2009, 457(7225): 102-106.
- [23] HIRATSUKA S, WATANABE A, SAKURAI Y, et al. The S100A8-serum amyloid A3-TLR4 paracrine cascade establishes a pre-metastatic phase [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(11): 1349-1355.
- [24] GABRILOVICH D I, OSTRAND R S, BRONTE V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4): 253-268.
- [25] MAUTI L A, LEBITOUX M A, BAUMER K, et al. Myeloid-derived suppressor cells are implicated in regulating permissiveness for tumor metastasis during mouse gestation [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2794-2807.
- [26] ZHU J, HUANG X, YANG Y. Myeloid-derived suppressor cells regulate natural killer cell response to adenovirus-mediated gene transfer [J]. *J Virol*, 2012, 86(24): 13689-13696.
- [27] LIU C, YU S, KAPPES J, et al. Expansion of spleen myeloid suppressor cells represses NK cell cytotoxicity in tumor-bearing host [J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4336-4342.
- [28] LI H, HAN Y, GUO Q, et al. Cancer-expanded myeloid-derived suppressor cells induce anergy of NK cells through membrane-bound TGF-β1 [J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 240-249.
- [29] KESKINOV A A, SHURIN M R. Myeloid regulatory cells in tumor spreading and metastasis [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(2): 236-242.
- [30] YAN H H, JIANG J, PANG Y, et al. CCL9 induced by TGFβ signaling in myeloid cells enhances tumor cell survival in the premetastatic organ [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(24): 5283-5298.