



· 综述 ·

腹膜转移癌的肿瘤微环境研究进展

陈 铃 综述, 湛先保 审校

海军军医大学(第二军医大学)长海医院肿瘤科, 上海 200433

[摘要] 癌症患者肿瘤出现腹膜转移通常预示预后较差, 目前常规的治疗方法是细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗(cytoreductive surgery/hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, CRS/HIPEC), 但是仅适用于少数具备手术条件的患者。现有的研究表明, 腹膜转移癌的生物学特征已发生显著改变, 腹膜局部免疫微环境也有明显异常, 腹膜脂质更是腹膜转移癌微环境中的特殊组分。针对腹膜转移癌局部微环境的深入研究, 将有助于揭示腹膜转移的机制, 并为开拓新型治疗方法提供有益地探索。

[关键词] 肿瘤; 腹膜转移; 腹水; 免疫微环境; 免疫细胞; 脂肪组织

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.04.010

中图分类号: R73-37 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2020)04-0305-05

Advances in immune microenvironment of peritoneal metastatic carcinoma CHEN Ling, ZHAN Xianbao [Department of Oncology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China]

Correspondence to: ZHAN Xianbao E-mail: zhanxianbao@csc.org.cn

[Abstract] The prognose of cancer patient with peritoneal metastatic carcinoma remains poor. A combined treatment approach of cytoreductive surgery (CRS) and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC), a standard remedy for peritoneal metastatic carcinoma, is only applicable to a handful of patients. Relevant research so far has shown that the biological features and local immune microenvironment of peritoneal metastatic carcinoma undergo significant changes. Besides, the lipid of the peritoneum is a special and important component of the microenvironment of peritoneal metastatic tumor. Further study of the local microenvironment of peritoneal metastatic carcinoma will help to reveal the mechanisms of peritoneal metastasis and provide beneficial exploration for the development of new treatments.

[Key words] Neoplasm; Peritoneal metastasis; Ascites; Immune microenvironment; Immune cells; Adipose tissue

腹膜是卵巢癌、胃癌和结直肠癌等腹膜腔附近的癌症常见的转移部位, 据统计, 约75%的卵巢癌患者、50%的胃癌患者和15%的结直肠癌患者在肿瘤发展过程中可出现腹膜转移^[1-2]。癌症患者肿瘤出现腹膜转移通常预示预后极差, 目前常规的治疗方法是细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗(cytoreductive surgery/hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, CRS/HIPEC), 但是仅适用于少数具备手术条件的患者。近年来, 随着肿瘤微环境在肿瘤发生、转移过程中的重要性逐渐被人们所认识, 腹水和腹膜局部微环境在癌症腹膜转移

中的病理生理学意义也逐渐被重视, 已有多篇相关的研究报告陆续发表。本文对肿瘤腹膜转移过程中肿瘤细胞、腹膜转移癌免疫微环境以及腹膜本身发生的改变进行综述。

1 腹膜转移癌相关的生物学机制

目前认为肿瘤细胞在腹膜转移过程中发生了一系列生物学改变, 并有助于其在腹水中存活及腹膜侵袭。癌细胞能以单个细胞或多细胞球体(multicellular sphere, MCS)的形式从原发癌灶分离进入腹腔^[3]。与单个癌细胞相比, MCS可克服单个癌细胞的失巢凋亡现象, 且能产生代

谢物密度梯度, 化疗药物难以接触球体内部的细胞, 因此更容易对化疗药物产生耐药, 其迁移和侵袭能力也明显增强^[2, 4]。MCS的这些生物学特征显著促进癌细胞生长、转移和耐药, 这可能是肿瘤细胞为了在转移部位存活而发生的适应性改变。MCS的形成与多种因素有关。研究发现血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 可显著提高卵巢癌细胞系的MCS形成、生长和侵袭能力, 促进腹膜转移, 其机制系通过直接激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) /细胞外调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 通路和由表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 介导实现^[5]。Gao等^[6]研究发现, 肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblast, CAF) 能促使腹水中的癌细胞包绕在其周围, 形成特殊的MCS。CAF位于MCS的中心, 通过分泌表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 促进肿瘤细胞增殖和腹膜侵袭。虽然MCS的拷贝数改变 (copy number alteration, CNA) 和单核苷酸变异 (single-nucleotide variant, SNV) 与原发灶相比有所差异^[7], 但是仍能反映原发肿瘤92.3%~100.0%的突变情况, 能有效预测原发肿瘤的生物学特征以及对化疗药物的反应性^[8]。

临床常见到某些肿瘤更倾向于转移到某些特定部位的现象, 其背后的机制尚未深入阐明, 可能与某些肿瘤相关基因的异常改变有关^[9]。已有多项研究提示, 肿瘤腹膜转移具有特异的基因表达异常倾向。Kleivi等^[10]研究发现, 结直肠癌肝转移灶与腹膜转移灶发生DNA拷贝数变化所在的染色体位置有所差别, 转录谱特征也有所不同。Varghese等^[11]分析发现, 结肠癌和阑尾癌发生肝转移灶和腹膜转移灶的基因表达谱存在差异, 而且进一步发现结肠癌腹膜转移灶与阑尾癌腹膜转移灶之间具有相似的基因表达谱特征。Yong等^[12]提出依据结直肠癌原发肿瘤部位和KRAS基因突变等参数, 有助于预测肿瘤发生腹膜转移、肝转移或肺转移的风险。这些研究结果均提示癌症向不同部位的转移可能存在不同的机制。研究癌细胞在腹膜转移过程中的生物学机

制, 有助于确立更具针对性的靶向治疗策略。

2 腹膜转移癌局部免疫微环境的影响

腹膜覆盖于腹腔脏器表面, 主要由内脏脂肪组织 (visceral adipose tissue, VAT) 组成, 其上分布的不透明斑点称为乳斑, 乳斑中存在巨噬细胞、T细胞、B细胞等多种免疫细胞, 这些免疫细胞部分本就存在于腹腔内, 部分通过高内皮细胞微静脉 (又称高内皮微静脉、高内皮静脉, high endothelial venules, HEV) 从外周血中招募而来, 且能从乳斑自由地移动到腹腔并回到乳斑^[13]。临床实践中, 时常存在经免疫治疗后, 即使部分患者肿瘤未消退, 腹水却消失明显的现象, 推测可能是因为免疫疗法改善了腹水的局部微环境, 活化了腹水中包括CD8⁺ T细胞在内的多种免疫细胞, 从而使堵塞了腹膜淋巴管的癌细胞被杀灭后再通, 腹水回流通畅所致。目前的研究表明, T细胞、巨噬细胞和中性粒细胞能促进肿瘤细胞在腹膜的侵袭和增殖。

2.1 T淋巴细胞杀伤肿瘤功能受到抑制

T淋巴细胞是主要的抗肿瘤免疫细胞之一, 其中CD8⁺ T细胞是发挥杀伤效应的主要亚群, 多种免疫治疗通过对CD8⁺ T细胞的激活、改造而发挥作用。在卵巢癌腹膜转移的患者中, 腹水T淋巴细胞的存在, 尤其是CD8⁺ T细胞的存在, 与总体生存率呈正相关, T淋巴细胞的缺失与治疗失败相关^[14]。Nakano等^[15]对胃癌患者腹水和外周血T淋巴细胞进行比较, 发现腹水CD8⁺ T细胞中程序性死亡 [蛋白] -1 (programmed death-1, PD-1)⁺ T细胞和TIM-3⁺ T细胞所占比例高于外周血, 且CD8⁺ T细胞中PD-1⁺、TIM-3⁺细胞比例较高的患者预后较差。除了免疫检查点分子表达升高之外, T细胞代谢功能也受到抑制。卵巢癌腹水中的癌细胞通过诱导T细胞内质网应激, 抑制T细胞线粒体呼吸功能, 从而抑制T细胞毒性^[16]。CD8⁺ T细胞是腹水中极有潜力的免疫效应细胞, 腹水中的T细胞在分离后, 通过一定的刺激也可以提高其增殖及分泌细胞因子的能力, 恢复其杀伤肿瘤细胞的能力^[17]。小鼠体外实验中, 组成性分泌白细胞介素 (interleukin, IL) -2的嵌合抗原受体T细胞 (chimeric antigen receptor

T-cell, CAR-T)能克服免疫抑制性的腹水微环境,有效抑制卵巢癌^[18]。探索CD8⁺ T细胞在腹水中的活化状态、设法提高腹水CD8⁺ T细胞的杀伤活性,值得进一步探索研究。

2.2 肿瘤相关巨噬细胞促进癌症腹膜侵袭

巨噬细胞是腹水中含量最为丰富的免疫细胞,占腹水细胞成分的45%~60%^[19]。巨噬细胞在不同的环境刺激下产生不同的表型,包括经典活化的M1型巨噬细胞和选择性活化的M2型巨噬细胞。M1型巨噬细胞产生IL-12、IL-23和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等促炎性的细胞因子,可清除病原体和肿瘤等抗原成分。而M2型巨噬细胞分泌转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β),血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF),促进伤口愈合和清除细胞碎片,发挥抑制炎症的作用。腹水微环境中的巨噬细胞与肿瘤细胞相互作用,表型逐渐发生变化,被称为肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM),多呈M2型。TAM促使肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC)围绕在其周围形成MCS,通过分泌IL-6和激活WNT信号通路以维持CSC的干性,促进MCS耐药和腹膜侵袭^[20]。除作用于肿瘤细胞外,TAM还抑制腹水中T细胞功能、抑制T细胞向肿瘤微环境浸润,促进调节性T细胞形成,抑制免疫系统对肿瘤细胞的清除。抑制巨噬细胞在腹膜转移癌微环境中的聚集、减少巨噬细胞数量、激活巨噬细胞的抗肿瘤功能是目前正在探索的靶向巨噬细胞的免疫治疗手段。

2.3 中性粒细胞创造有利于肿瘤转移的微环境

中性粒细胞来源于骨髓,是机体应对病原体或组织损伤的第一道防线,构成炎症的重要参与者,正常情况下,在腹水细胞成分中含量小于1%^[19]。在腹膜出现抗原刺激时,中性粒细胞主要通过大网膜乳斑中的HEV进入腹腔。中性粒细胞能释放细胞因子、趋化因子和颗粒蛋白,为肿瘤的生长创造有利的微环境^[21]。在小鼠腹腔注射卵巢癌细胞后,中性粒细胞主要聚集

在网膜乳斑HEV周围,之后卵巢癌细胞便出现在此处,而用抗体抑制中性粒细胞之后,卵巢癌细胞的聚集明显减少^[19]。在适宜的刺激下,中性粒细胞释放颗粒蛋白和染色质,形成胞外杀菌网络 (neutrophil extracellular trap, NET),结合并杀死病原体,这是中性粒细胞特有的作用形式^[22]。在小鼠腹膜处诱导中性粒细胞NET能引起广泛的网膜转移。肽酰基赖氨酸脱亚氨酶4 (peptidylarginine deiminase 4, PAD4)对NET形成至关重要^[23],敲除中性粒细胞PAD4,能抑制NET形成,减少腹膜转移。腹水中细胞裂解形成的线粒体DNA激活中性粒细胞,促进NET的产生,与更差的预后有关^[24]。以上研究说明中性粒细胞能诱导癌细胞在腹膜上定植,NET的形成可能在其中发挥部分作用。此外,研究者发现中性粒细胞产生的白三烯能选择性地扩增高致瘤性的癌细胞亚群,有助于癌细胞在远处组织的定植。抑制白三烯生成酶—花生四烯酸5脂氧合酶能抑制中性粒细胞的促肿瘤转移效果^[25]。活化的中性粒细胞通过产生H₂O₂抑制T细胞产生细胞因子的能力^[26],并通过表达精氨酸酶1 (arginase-1, ARG1)消耗细胞外L-精氨酸从而抑制T细胞增殖^[27]。由于其在腹膜转移癌中的促进作用,抑制中性粒细胞功能是目前值得探索的治疗方向。

3 腹膜脂质成分为癌细胞代谢提供能量

腹膜富含脂肪,脂肪细胞是其重要组成成分,也是腹腔脂质、细胞因子和脂肪因子的主要来源,研究表明脂肪细胞也参与癌症的转移^[28]。癌细胞生长旺盛,需要大量能量,而肿瘤微环境缺氧、呈酸性,抑制丙酮酸进入三羧酸循环,抑制线粒体功能,迫使癌细胞改变代谢模式,转而通过脂肪酸的 β 氧化获得能量^[28]。在大多数癌症中,癌细胞脂肪酸合成增加,而卵巢癌细胞脂肪酸合成减少,但 β 氧化却增加^[29],提示卵巢癌细胞可能利用了外源性脂肪。卵巢癌腹膜转移灶的癌细胞中含有丰富的脂滴,研究者利用荧光染色证实脂滴来源于腹膜脂肪细胞,说明肿瘤细胞可以“吸收”腹膜脂肪细胞的脂滴。如果不加以干预,该“吸收”过程会导致富含脂

肪的网膜转变为几乎没有脂肪细胞的实体肿瘤, 即“饼状网膜”^[29]。脂肪酸结合蛋白4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4) 是一种脂质伴侣蛋白, 在长链脂肪酸的摄取、转运及代谢调节中发挥重要作用。研究发现, FABP4在原发性卵巢肿瘤中表达较低, 而在卵巢癌腹膜转移肿瘤中, 尤其是在肿瘤-脂肪细胞交界处表达上调^[29]。FABP4也存在于内皮细胞中, 调节内皮细胞增殖, 促进血管生成^[30]。抑制FABP4后, 癌细胞内的脂质积聚减少, 增殖能力下降, 腹膜侵袭能力降低, 肿瘤微血管密度也降低^[29]。抑制肿瘤细胞利用腹膜脂肪的能量, 是抑制腹膜转移癌极具前景的研究方向。

4 展望

腹膜转移癌是临床常见的难题, 目前的CRS/HIPEC只适用于少数具备手术条件的患者, 大多数患者仍然缺乏有效的治疗手段。随着免疫治疗取得重大突破, 癌性腹水的免疫功能也逐渐被重视起来, 腹膜转移癌的局部微环境逐渐被众多学者关注和研究。现有的研究结果表明, 腹膜转移癌的生物特征发生了显著改变, 腹膜局部免疫微环境也有明显异常, 腹膜脂质更是腹膜转移癌微环境中的特殊组分, 针对腹膜转移癌的局部微环境的深入研究, 将有助于揭示腹膜转移的机制, 并为开拓新型治疗方法提供重要的线索。

[参 考 文 献]

- [1] STRÖHLEIN M A, HEISS M M, JAUCH K-W. The current status of immunotherapy in peritoneal carcinomatosis [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2016, 16(10): 1019-1027.
- [2] YANG Y, LI S, SUN Y, et al. Reversing platinum resistance in ovarian cancer multicellular spheroids by targeting Bcl-2 [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 897-906.
- [3] AL HABYAN S, KALOS C, SZYMBORSKI J, et al. Multicellular detachment generates metastatic spheroids during intra-abdominal dissemination in epithelial ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2018, 37(37): 5127-5135.
- [4] XU S, YANG Y, DONG L, et al. Construction and characteristics of an E-cadherin-related three-dimensional suspension growth model of ovarian cancer [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5646.
- [5] ZHANG Q, YU S, LAM M M T, et al. Angiotensin II promotes ovarian cancer spheroid formation and metastasis by upregulation of lipid desaturation and suppression of endoplasmic reticulum stress [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 116.
- [6] GAO Q, YANG Z, XU S, et al. Heterotypic CAF-tumor spheroids promote early peritoneal metastasis of ovarian cancer [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(3): 688-703.
- [7] KIM S, KIM S, KIM J, et al. Evaluating tumor evolution via genomic profiling of individual tumor spheroids in a malignant ascites [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12724.
- [8] CHOI Y J, RHEE J K, HUR S Y, et al. Intraindividual genomic heterogeneity of high-grade serous carcinoma of the ovary and clinical utility of ascitic cancer cells for mutation profiling [J]. *J Pathol*, 2017, 241(1): 57-66.
- [9] LI F, HUANG Q, LUSTER T A, et al. *In vivo* epigenetic CRISPR screen identifies Asf1a as an immunotherapeutic target in *Kras*-mutant lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(2): 270-287.
- [10] KLEIVI K, LIND G E, DIEP C B, et al. Gene expression profiles of primary colorectal carcinomas, liver metastases, and carcinomatoses [J]. *Mol Cancer*, 2007, 6: 2.
- [11] VARGHESE S, BURNES M, XU H, et al. Site-specific gene expression profiles and novel molecular prognostic factors in patients with lower gastrointestinal adenocarcinoma diffusely metastatic to liver or peritoneum [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(12): 3460-3471.
- [12] YONG Z Z, CHING G T H, CHING M T C. Metastatic profile of colorectal cancer: interplay between primary tumor location and *KRAS* status [J]. *J Surg Res*, 2020, 246: 325-334.
- [13] MEBIUS R E. Lymphoid organs for peritoneal cavity immune response: milky spots [J]. *Immunity*, 2009, 30(5): 670-672.
- [14] WOUTERS M C, KOMDEUR F L, WORKEL H H, et al. Treatment regimen, surgical outcome, and T-cell differentiation influence prognostic benefit of tumor-infiltrating lymphocytes in high-grade serous ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(3): 714-724.
- [15] NAKANO M, ITO M, TANAKA R, et al. PD-1+ TIM-3+ T cells in malignant ascites predict prognosis of gastrointestinal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(9): 2986-2992.
- [16] SONG M, SANDOVAL T A, CHAE C S, et al. IRE1α-XBP1 controls T cell function in ovarian cancer by regulating mitochondrial activity [J]. *Nature*, 2018, 562(7727): 423-428.
- [17] XU Q, SHAO J, SU S, et al. Activation and propagation of tumor-infiltrating lymphocytes from malignant pleural effusion and ascites with engineered cells for costimulatory enhancement [J]. *Cell Immunol*, 2018, 331: 1-8.
- [18] YEKU O O, PURDON T J, KONERU M, et al. Armored CAR T cells enhance antitumor efficacy and overcome the tumor microenvironment [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10541.
- [19] LEE W, KO S Y, MOHAMED M S, et al. Neutrophils facilitate ovarian cancer premetastatic niche formation in the omentum [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(1): 176-194.
- [20] RAGHAVAN S, MEHTA P, XIE Y, et al. Ovarian cancer stem cells and macrophages reciprocally interact through the WNT pathway to promote pro-tumoral and malignant phenotypes in

- 3D engineered microenvironments [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 190.
- [21] RULAND J. Colon cancer: epithelial notch signaling recruits neutrophils to drive metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(3): 213–214.
- [22] BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532–1535.
- [23] LI P, LI M, LINDBERG M R, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(9): 1853–1862.
- [24] SINGEL K L, GRZANKOWSKI K S, KHAN A, et al. Mitochondrial DNA in the tumour microenvironment activates neutrophils and is associated with worse outcomes in patients with advanced epithelial ovarian cancer [J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(2): 207–217.
- [25] WCULEK S K, MALANCHI I. Neutrophils support lung colonization of metastasis-initiating breast cancer cells [J]. *Nature*, 2015, 528(7582): 413–417.
- [26] FINN J S J. Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of T-cell function in advanced cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4756–4760.
- [27] ROTONDO R, BERTOLOTTO M, BARISIONE G, et al. Exocytosis of azurophil and arginase 1-containing granules by activated polymorphonuclear neutrophils is required to inhibit T lymphocyte proliferation [J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 89(5): 721–727.
- [28] SCHULZE A, HARRIS A L. How cancer metabolism is tuned for proliferation and vulnerable to disruption [J]. *Nature*, 2012, 491(7424): 364–373.
- [29] NIEMAN K M, KENNY H A, PENICKA C V, et al. Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1498–1503.
- [30] CATALTEPE O, ARIKAN M C, GHELFI E, et al. Fatty acid binding protein 4 is expressed in distinct endothelial and non-endothelial cell populations in glioblastoma [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2012, 38(5): 400–410.

(收稿日期: 2020-01-04 修回日期: 2020-03-18)

《中国癌症杂志》2020年征订启事

《中国癌症杂志》是由中华人民共和国教育部主管、复旦大学附属肿瘤医院主办的全国性肿瘤学术期刊, 读者对象为从事肿瘤基础、临床防治研究的中高级工作者。主要报道内容: 国内外研究前沿的快速报道、专家述评、肿瘤临床研究、基础研究、文献综述、学术讨论、临床病理讨论、病例报道、讲座和简讯等。《中国癌症杂志》已入选中文核心期刊、中国科技核心期刊及全国肿瘤类核心期刊, 并为中国科技论文统计源期刊, 先后被“中国期刊网”、“万方数据——数字化期刊群”和“解放军医学图书馆数据库(CMCC)”等收录。

《中国癌症杂志》为月刊, 大16开, 80页铜版纸(随文彩图), 每月30日出版, 单价15元, 全年180元。国际标准连续出版物号1007-3639, 国内统一连续出版物号CN 31-1727/R, 邮发代号4-575, 读者可在当地邮局订阅。

主 编: 沈镇宙

联系地址: 上海市东安路270号复旦大学附属肿瘤医院内

《中国癌症杂志》编辑部

邮 编: 200032

电 话: 021-64188274; 021-64175590-83574

网 址: www.china-oncology.com

电子邮箱: zgazzz@163.com

《中国癌症杂志》编辑部