

肿瘤脑转移机制研究进展

张繁荣 金娇悦 应莉莎 苏丹

摘要 脑转移瘤是临床上最常见的脑部肿瘤,也是大多数肿瘤患者晚期症状,其预后极差。对肿瘤脑转移发生、发展机制的深入研究对脑转移的诊疗具有重要意义。本文就肿瘤细胞与脑部微环境的相互作用、肿瘤细胞穿越血-脑脊液屏障及脑部克隆形成的机制研究进展做综述。

关键词 脑转移 肿瘤微环境 血-脑脊液屏障 研究进展

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.03.002

脑转移瘤是临床上最常见的脑部肿瘤之一,美国每年预计新发病例超过 25 万,是脑原发肿瘤的 10 倍多^[1,2]。据统计约 10% 的恶性肿瘤患者在进展过程中会发生脑转移^[3]。脑转移最常见的原发肿瘤为肺癌,最新资料表明 40%~50% 的脑转移来源于肺癌,15%~20% 来源于乳腺癌,15%~20% 来源于黑色素瘤^[4]。脑转移的发生率呈逐年上升的趋势,其可能原因是随着肿瘤诊疗手段的飞速发展,患者的生存期越来越长,也就有越来越多的晚期患者发生脑转移;也有部分原因是近年来磁共振检查技术的推广,有更多的潜在脑转移被发现^[5]。脑转移的发生严重影响着肿瘤患者的生存质量以及预后,患者一旦发生脑转移,其治疗手段十分有限,中位生存期仅 4~8 个月^[4]。肿瘤若要发生脑转移必须要完成一系列步骤,包括从原发部位脱离、侵入周边组织及血管、血行播散、穿越血-脑脊液屏障、脑部克隆生长等^[6,7]。

一、肿瘤细胞与肿瘤微环境

脑转移与其他器官转移类似的地方在于脑转移也是一个高度选择性、非随机、多步骤发生的过程,一些特定的肿瘤比如肺癌、乳腺癌、黑色素瘤比较容易转移到脑^[3,4]。Stephen Paget 早在 1889 年提出的“种子和土壤”学说中就阐明了类似的器官特异性转移观点,他认为肿瘤细胞是导致转移发生的“种子”,转移器官的微环境是导致转移发生的“土壤”。一方面,“种子”即肿瘤细胞在遗传上和生物学行为上都存在异质性,每个原发肿瘤包含许多转移潜能不同的

亚克隆,只有侵袭能力强、能穿过血-脑脊液屏障并在脑内克隆生长的亚克隆才能导致脑转移的发生^[8,9]。另一方面,“土壤”还要适合“种子”生长,大脑为肿瘤细胞提供了与其他组织器官截然不同的微环境,包括基质细胞如星形胶质细胞、细胞因子、血管网络以及一些代谢成分等,这种微环境既能促进也能抑制肿瘤脑转移的发生、发展^[10]。

研究显示,当血行播散的肿瘤细胞停留在直径接近且流速较慢的脑部毛细血管分支处,一旦与脑部微血管内皮细胞接触就开始分泌细胞因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)等物质影响大脑微环境,逐渐形成适合自己生长的肿瘤微环境促进自身增殖和侵袭^[6,11]。另外,最近有学者提出“种子”即肿瘤细胞能带着自身“土壤”即一些基质成分包括活化的肿瘤相关成纤维细胞发生转移,这些基质细胞也参与了转移灶肿瘤微环境的形成,为肿瘤细胞在脑部生存、增殖以及早期转移灶的形成提供帮助^[12]。肿瘤细胞和大脑微环境复杂的相互作用最终导致了脑转移灶的迅速增大和不可逆转。

二、血-脑脊液屏障

1. 血-脑脊液屏障:脑转移与其他器官靶向转移最关键的区分是肿瘤细胞需要穿越血-脑脊液屏障^[11]。血-脑脊液屏障是一个位于血液和脑组织之间的选择性通透屏障,严格控制着血脑两侧的物质转运从而保证中枢神经系统内环境的稳态。人类大脑血-脑脊液屏障主要由脑微血管内皮细胞、基膜和星形胶质细胞终足等成分构成,而脑微血管内皮细胞的紧密连接是维持血-脑脊液屏障完整性最关键的结构。咬合蛋白(occludin)、闭合蛋白(claudin)、闭合小环蛋白 1(zonula occludens-1, ZO-1)以及连接黏

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472203)

作者单位:310022 杭州,浙江省肿瘤医院、浙江省肿瘤研究所、浙江省胸部肿瘤(肺、食管)诊治技术研究重点实验室

通讯作者:苏丹,研究员,电子信箱:sudan@zjcc.org.cn

附分子 (junctional adhesion molecules, JAMs) 等紧密连接蛋白在紧密连接的形成和维持中发挥了不可替代的作用,其表达或活性的改变将严重影响血-脑脊液屏障的通透性。

2. 紧密连接的破坏:血-脑脊液屏障紧密连接的存在使大部分在脑部停留的肿瘤细胞不能穿过血-脑脊液屏障,小部分肿瘤细胞以及伴随着肿瘤细胞的基质细胞能通过释放一些物质如细胞因子影响紧密连接的稳定性。

VEGF 是一种在脑局部缺氧或缺血时释放的具有极强诱导血管生成能力的细胞因子,但其在血供丰富的时候具有增强脑内皮通透性的作用,肿瘤微环境基质细胞能通过释放 VEGF 影响血-脑脊液屏障。胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF) 是 VEGF 家族成员之一, Li 等^[11] 研究发现血清 PLGF 含量高的患者更容易发生脑转移,进一步研究表明来自肿瘤细胞的 PLGF 能通过 VEGFR1-Rho-ERK1/2 通路影响紧密连接蛋白 occludin 和 ZO-1 的分布从而增强血-脑脊液屏障的通透性,下调肿瘤细胞 PLGF 的表达能显著抑制肿瘤脑转移的发生。

MMP 是一组钙依赖含锌的蛋白水解酶,具有重塑组织以及降解多种细胞外基质成份的功能,越来越多的证据表明 MMP 具有破坏紧密连接、促进肿瘤脑转移的作用^[13]。在脑缺血发生时, MMP2、MMP9 能被激活并降解脑微血管内皮细胞的 claudin-5、occludin 和 ZO-1 等紧密连接蛋白,增强血-脑脊液屏障的通透性,引起脑水肿和出血^[14]。Ishihara 等^[15] 研究发现恶性胶质瘤在破坏血-脑脊液屏障时能够通过转化生长因子 β_2 诱导内皮细胞 MMP-2 高表达,引起血-脑脊液屏障 claudin-1 表达降低导致紧密连接失调。Feng 等^[16] 发现白血病细胞能够分泌 MMP2 与 MMP9 促进紧密连接蛋白包括 occludin、claudin-5 和 ZO-1 连接中断,增强血-脑脊液屏障渗透性从而导致神经系统白血病的发生。Wu 等^[17] 发现乳腺癌细胞能通过上调 COX2 表达促进 MMP2 释放,引起紧密连接蛋白 occludin 和 claudin-5 降解促使脑转移发生。Sevenich 等^[18] 的研究表明肿瘤细胞及其基质细胞都能通过产生组织蛋白酶 S (cathepsin S) 水解紧密连接相关蛋白 JAM-B,影响紧密连接的稳定从而增强血-脑脊液屏障的通透性,利用药物抑制 cathepsin S 能显著减少肿瘤脑转移的发生。

3. 肿瘤细胞穿越血-脑脊液屏障:肿瘤细胞如何穿越血-脑脊液屏障以及包含在这个过程的具体分

子机制尚不明朗。目前学界认为黏附于脑微血管壁上的肿瘤细胞能通过其细胞局部的骨架变化,像炎症反应中的白细胞一样伸出伪足,穿过紧密连接并渗出血管,而这种细胞骨架的动态变化依赖于肿瘤细胞局部肌动蛋白不断地发生重排;在此过程中被黏附的血管内皮细胞会发生不可逆的损伤,且大多也会发生细胞骨架重排从而引起内皮细胞收缩^[19,20]。

三、脑内克隆生长

到达脑部的少数肿瘤细胞即使通过各种机制穿过了血-脑脊液屏障,其中大部分细胞也将自身发生凋亡或者被脑部胶质细胞杀死,仅有极少数肿瘤细胞能幸存下来继续生长并形成转移灶^[6]。

1. 血管生成:研究表明,穿过血-脑脊液屏障后的肿瘤细胞早期必须靠近血管生长,一旦远离血管,即使形成微转移灶也会逐渐衰退,充分的血液供应是转移灶形成的必要条件^[6]。肿瘤细胞在脑部可以通过多种不同的机制获得血液供应,包括肿瘤细胞沿着已经存在的血管生长、从已有的毛细血管或毛细血管后静脉以类似出芽的方式发展形成新的血管(血管生成)、由内皮细胞前期细胞或者血管母细胞形成新的血管(血管发生)、通过将柱状间质组织插入已有血管使血管重塑和扩大(血管套叠)等^[21]。原发部位不同的肿瘤细胞进入脑组织后获得血供的方式也不同,如肺癌细胞通过血管生成机制获得血供而黑色素瘤细胞通过环绕血管生长机制^[6]。

促进血管生成的机制多种多样,目前认为由肿瘤细胞和肿瘤微环境基质细胞释放的 VEGF 是主导肿瘤血管生成的细胞因子,它与受体 VEGFR2 是肿瘤治疗中抗血管生成药物的主要靶点。在脑转移瘤中, VEGF 分泌量也显著升高;抑制 VEGF 的表达或者利用 VEGF 反义寡核苷酸链都能减少脑转移瘤的发生、降低转移瘤体积^[22]。Kienast 等^[6] 对颈内动脉注射肿瘤细胞 1 天后的裸鼠使用 VEGF-A 抑制剂贝伐单抗 (bevacizumab) 后进行实时观察,发现贝伐单抗完全抑制了脑部转移肺癌细胞的血管生成,已形成的微转移灶则进入了一种慢性休眠的状态;血管生成受到抑制后,肺癌细胞不再通过血管生成的方式获取营养,转而在脑部血管内增殖,并逐渐环绕血管壁生长以获取营养。

2. 星形胶质细胞的作用:星形胶质细胞在肿瘤脑转移形成过程中发挥的作用是近年来研究的热点。(1) 星形胶质细胞能抑制穿过血-脑脊液屏障的肿瘤细胞形成克隆。研究表明,星形胶质细胞能释放纤

溶酶原激活物,激活神经元细胞释放的纤溶酶原使其转化为纤溶酶,纤溶酶能切割降解肿瘤黏附包绕血管依赖分子 L1 细胞黏附分子(L1 cell adhesion molecule, L1CAM),使肿瘤细胞脱离血管壁;纤溶酶还能切割并激活星形胶质细胞释放的 FasL,释放 sFasL 与肿瘤细胞 Fas 受体结合激活 Fas 相关死亡域蛋白(Fas-associated with death domain protein, FADD)通路引起肿瘤细胞凋亡^[23]。成功在脑部形成转移的肿瘤细胞能释放丝氨酸蛋白酶抑制星形胶质细胞释放的纤溶酶原激活物^[23]。(2)星形胶质细胞能促进肿瘤细胞在脑部的增殖。Zhang 等^[24]的研究表明,星形胶质细胞能释放含有靶向 PTEN 这个抑癌基因 microRNA 的外泌体,转移给到达脑部的肿瘤细胞使其 PTEN 下调,从而促进肿瘤细胞在脑部的增殖且抑制其凋亡。此外,Chen 等^[25]的研究表明,肿瘤细胞在穿过血-脑脊液屏障后能表达原钙黏附蛋白 7 并与脑部星形胶质细胞形成缝隙连接;肿瘤细胞通过这些连接释放第 2 信使 cGAMP 激活星形胶质细胞的 STING 通路促进其释放一些炎症细胞因子如 IFN- α 、TNF,这些细胞因子能促进肿瘤细胞增殖并增强其对化疗药物的耐受性。一些其他研究也阐述了类似的肿瘤细胞和星形胶质细胞相互作用的现象^[17]。

四、展 望

肿瘤脑转移的发生、发展是一个多基因参与多阶段多步骤的极其复杂的生物学过程,现今热点研究方向主要集中于以下几个方面:筛选能够预测脑转移风险及疗效的生物标志物及建立相应预测模型,筛选和验证新的脑转移相关基因并对其功能进行分析,对肿瘤细胞穿越血脑屏障的具体机制以及脑部微环境如星形胶质细胞在肿瘤脑转移形成过程中发挥的作用展开研究,开发和筛选能够穿过血-脑脊液屏障且能克服肿瘤细胞耐药的化合物,探索和改良肿瘤脑转移的预防方法等。但目前肿瘤脑转移的很多具体机制并不明了,仍处于探索阶段,开展脑转移研究存在较大难度;具体难点在于相应模型的建立,如体内裸鼠脑转移模型需要通过裸鼠颈动脉注射实现,体外血-脑脊液屏障模型通常要利用原代星形胶质细胞及原代血管内皮细胞实现,都存在较大的技术难度。

肿瘤脑转移机制的探索对脑转移患者的诊疗、生存时间和生活质量的提高等方面具有重要意义,尚需开展更深入的研究来挖掘肿瘤脑转移发生、发展过程中重要的分子通路,发现更多关键的治疗靶点,最终使患者受益。

参考文献

- 1 Fox BD, Cheung VJ, Patel AJ, *et al.* Epidemiology of metastatic brain tumors[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2011, 22(1): 1-6
- 2 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30
- 3 Barnholtz-Sloan JS, Sloan AE, Davis FG, *et al.* Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(14): 2865-2872
- 4 Berghoff AS, Schur S, Fureder LM, *et al.* Descriptive statistical analysis of a real life cohort of 2419 patients with brain metastases of solid cancers[J]. *ESMO Open*, 2016, 1(2): e000024
- 5 Pécoux CL, Sun A, Slotman BJ, *et al.* Prophylactic cranial irradiation for patients with lung cancer[J]. *The Lancet Oncology*, 2016, 17(7): e277-e293
- 6 Kienast Y, von Baumgarten L, Fuhrmann M, *et al.* Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation[J]. *Nat Med*, 2010, 16(1): 116-122
- 7 Fidler IJ, Kripke ML. The challenge of targeting metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2015, 34(4): 635-641
- 8 Talmadge JE, Fidler IJ. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14): 5649-5669
- 9 Langley RR, Fidler IJ. The biology of brain metastasis[J]. *Clin Chem*, 2013, 59(1): 180-189
- 10 Lorgier M. Tumor microenvironment in the brain[J]. *Cancers (Basel)*, 2012, 4(1): 218-243
- 11 Li B, Wang C, Zhang Y, *et al.* Elevated PLGF contributes to small-cell lung cancer brain metastasis[J]. *Oncogene*, 2013, 32(24): 2952-2962
- 12 Duda DG, Duyverman AM, Kohno M, *et al.* Malignant cells facilitate lung metastasis by bringing their own soil[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(50): 21677-21682
- 13 Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q) SARs[J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(6): 2223-2268
- 14 Dejonckheere E, Vandenbroucke RE, Libert C. Matrix metalloproteinases as drug targets in ischemia/reperfusion injury[J]. *Drug Discov Today*, 2011, 16(17-18): 762-778
- 15 Ishihara H, Kubota H, Lindberg RL, *et al.* Endothelial cell barrier impairment induced by glioblastomas and transforming growth factor beta2 involves matrix metalloproteinases and tight junction proteins[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2008, 67(5): 435-448
- 16 Feng S, Cen J, Huang Y, *et al.* Matrix metalloproteinase-2 and -9 secreted by leukemic cells increase the permeability of blood-brain barrier by disrupting tight junction proteins[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e20599
- 17 Wu K, Fukuda K, Xing F, *et al.* Roles of the cyclooxygenase 2 matrix metalloproteinase 1 pathway in brain metastasis of breast cancer[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(15): 9842-9854

基质中的 TGF- β 大量释放又反过来促进乳腺癌细胞分泌 PTHrP, 以期以此“恶性循环”为靶点的骨改良药物的研究开发提供参考, 相信从传统中药里寻找以此“恶性循环”为作用靶点的药物前景很大, 希望能有传统中药制剂应用于临床延缓乳腺癌溶骨性转移的进程。

参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012 [J]. Cancer J Clini, 2015, 65(2): 87-108
- 2 Kang Y. Dissecting tumor-stromal interactions in breast cancer bone metastasis[J]. Endocrinol Metab, 2016, 31(2):206-212
- 3 Sathiakumar N, Delzell E, Morrisey M A, *et al.* Mortality following bone metastasis and skeletal-related events among women with breast cancer: a population-based analysis of US Medicare beneficiaries, 1999-2006 [J]. Breast Cancer Res Treatment, 2012, 131(1): 231-238
- 4 Yardley DA. Pharmacologic management of bone-related complications and bone metastases in postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer[J]. Breast Cancer, 2016, 8:73-82
- 5 Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast [J]. The Lancet, 1889, 133(3421): 571-573
- 6 Ben-Baruch A. Breast Cancer Progression: A “Vicious Cycle” of Pro-Malignancy Activities is Mediated by Inflammatory Cells, Chemokines and Cytokines [M]// Integration/Interaction of Oncologic Growth. Springer Netherlands, 2005:569-576
- 7 仲蕾蕾, 杨冰, 黄晓斌, 等. OPG/RANKL/RANK 系统在成骨细胞和破骨细胞相互调节中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(11): 1010-1013
- 8 李子怡, 李玉坤. OPG/RANK/RANKL 信号通路在骨质疏松症中的研究进展和应用[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2017, 3(2): 124-128
- 9 黎彦龙, 何明, 陈秉雄, 等. OPG-RANKL-RANK 信号系统是调节破骨细胞及骨质疏松症的重要途径[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(24): 3894-3898
- 10 Li XJ, Zhu Z, Han SL, *et al.* Bergapten exerts inhibitory effects on diabetes-related osteoporosis via the regulation of the PI₃K/AKT, JNK/MAPK and NF- κ B signaling pathways in osteoprotegerin knockout mice[J]. Int J Mol Med, 2016, 38(6):1661-1672
- 11 Goswami S, Sharmawalia N. Osteoprotegerin rich tumor microenvironment: implications in breast cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(27):

42777-42791

- 12 Kiesel L, Kohl A. Role of the RANK/RANKL pathway in breast cancer[J]. Maturitas, 2016, 86: 10-16
- 13 仲蕾蕾, 杨冰, 黄晓斌, 等. OPG/RANKL/RANK 系统在成骨细胞和破骨细胞相互调节中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(11):1010-1013
- 14 阎影. 骨转移癌溶骨性损害的分子基础与临床[J]. 中国骨与关节杂志, 2002, 1(1):23-26
- 15 Chew CK, Clarke BL. Abaloparatide: Recombinant human PTHrP (1-34) anabolic therapy for osteoporosis[J]. Maturitas, 2017, 97: 53-60
- 16 Zong JC, Wang X, Zhou X, *et al.* Gut-derived serotonin induced by depression promotes breast cancer bone metastasis through the RUNX2/PTHrP/RANKL pathway in mice[J]. Oncol Rep, 2016, 35(2): 739-748
- 17 金成日, 姜奥, 杨芳. 中医不同治法对绝经后骨质疏松症大鼠骨骼、骨骼肌甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)含量影响的比较研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(1):93-96
- 18 Martin TJ. Parathyroid hormone-related protein, its regulation of cartilage and bone development, and role in treating bone diseases [J]. Physiol Rev, 2016, 96(3): 831-871
- 19 陈明霞, 李蕾. PTHrP 在乳腺癌及其骨转移中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(2):285-287
- 20 鲁光平, 殷咏梅, 周雪峰, 等. 乳腺癌骨转移机制与靶向治疗进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(2):314-318
- 21 孙凤丹, 张金子, 崔演, 等. TGF β 1/Smads 信号通路相关蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报:医学版, 2012, 38(1):93-95
- 22 Fu J, Ke X, Tan S, *et al.* The natural compound codonolactone attenuates TGF- β 1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition and motility of breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 117-126
- 23 Yan X, Ke XX, Zhao H, *et al.* Triptolide inhibits cell proliferation and tumorigenicity of human neuroblastoma cells[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(2):791-796
- 24 孙春晓, 王简, 黄香, 等. 乳腺癌骨转移药物治疗的现状和进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2016,9: 844-848
- 25 王如良, 江泽飞. 骨改良药物在乳腺癌骨转移治疗中的应用进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2016, 21(5):458-461

(收稿日期:2017-07-02)

(修回日期:2017-07-05)

(上接第5页)

- 18 Sevenich L, Bowman RL, Mason SD, *et al.* Analysis of tumour-stroma-supplied proteolytic networks reveals a brain-metastasis-promoting role for cathepsin S[J]. Nat Cell Biol, 2014, 16(9): 876-888
- 19 Kumar S, Weaver VM. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell[J]. Cancer Metastasis Rev, 2009, 28(1-2): 113-127
- 20 Miles FL, Pruitt FL, van Golen KL, *et al.* Stepping out of the flow: capillary extravasation in cancer metastasis[J]. Clin Exp Metastasis, 2008, 25(4): 305-324
- 21 Jain RK, di Tomaso E, Duda DG, *et al.* Angiogenesis in brain tumours[J]. Nat Rev Neurosci, 2007, 8(8): 610-622

- 22 Kim LS, Huang S, Lu W, *et al.* Vascular endothelial growth factor expression promotes the growth of breast cancer brain metastases in nude mice[J]. Clin Exp Metastasis, 2004, 21(2): 107-118
- 23 Valiente M, Obenaus AC, Jin X, *et al.* Serpins promote cancer cell survival and vascular co-option in brain metastasis[J]. Cell, 2014, 156(5): 1002-1016
- 24 Zhang L, Zhang S, Yao J, *et al.* Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth[J]. Nature, 2015, 527(7576): 100-104
- 25 Chen Q, Boire A, Jin X, *et al.* Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer[J]. Nature, 2016, 533(7604): 493-498

(收稿日期:2017-03-04)

(修回日期:2017-03-20)