

癌相关成纤维细胞在胰腺导管腺癌中的研究现状

刘杰 雍桃 卢彧 周成亮 樊勇

摘要 胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)的发生率和病死率在现阶段居高不下,且治疗策略有限,长期存活率低。癌相关成纤维细胞(cancer associated fibroblasts, CAF)是胰腺肿瘤微环境的关键组成部分,维持细胞外基质,同时也参与浸润性免疫细胞的复杂串扰。因此,它们是开发抗 PDAC 治疗策略的潜在目标。而近年来研究表明,在 PDAC 肿瘤微环境中,CAF 在功能表型方面存在显著的异质性。本文主要阐述 CAF 的功能及其异质性在 PDAC 的增殖侵袭、血管生成、免疫抑制等过程中发挥的作用,并总结近年来靶向 CAF 在 PDAC 治疗中的研究现状。

关键词 胰腺导管腺癌 癌相关成纤维细胞 异质性 靶向治疗

中图分类号 R730.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.01.003

胰腺癌是一种致命的恶性肿瘤,而大约 85% 的胰腺癌病例以胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)为特征。既往研究表明,肿瘤微环境中的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分在 PDAC 的进展中起重要作用。癌相关成纤维细胞(cancer associated fibroblast, CAF)是肿瘤微环境中的重要成分,这类细胞聚集激活后可以重塑 ECM,导致其沉积并使肿瘤组织的一些表型如增殖浸润、血管生成及免疫反应发生改变,最终使 PDAC 结缔组织增生并纤维化。因此,CAF 在 PDAC 的进展中发挥着重要作用^[1]。

一、CAF 的功能及异质性

CAF 来源于间充质干细胞、内皮细胞和骨髓源性干细胞,而在胰腺癌中,CAF 最常见的细胞前体是胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC),当其在肿瘤环境中被激活时,诱发 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达,从而促使 CAF 参与免疫抑制并重塑细胞外基质^[2]。现阶段研究认为, α -SMA、成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein, FAP)、血小板生长因子受体 α 或 β (platelet-derived growth factor receptors α/β , PDGFR α/β)以及肿瘤相关平足蛋白可作为 CAF 的标志而进一步探索其亚群^[3]。

1. CAF 的功能:CAF 通过多种机制促进肿瘤生长。PDAC 的特征是由 CAF 介导的富含胶原蛋白

(COL1A1、COL1A2)、糖蛋白和蛋白多糖的 ECM 沉积引起的结缔组织增生反应。随着癌症转移,CAF 有利于通过产生 ECM 成分、促进免疫排斥来促进肿瘤生长。此外,CAF 可以促使血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)释放,并上调其表达,以促进肿瘤组织生成血管。另外有研究发现,CAF 释放的白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)同样也能促进血管生成,改善肿瘤缺氧环境^[4]。据相关报道,CAF 通过分泌生物分子建立免疫抑制环境,如 IL-6、CXC 趋化因子配体 12(chemokine CXC motif ligand 12, CXCL12)、生长转化因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、生长停滞特异性蛋白 6(growth arrest-specific protein 6, GAS6)、成纤维细胞生长因子-5(fibroblast growth factor-5, FGF-5)、生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF),促进癌细胞的侵袭和增殖行为^[5]。CAF 通过分泌或上调 IL-6、CXCL9 和 TGF- β , 抑制 CD8⁺T 细胞、调节性 T 细胞(T-regulatory cell, Treg)和巨噬细胞的分化或浸润从而达到免疫抑制的作用。此外,CAF 还能招募免疫抑制细胞群,比如髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)和中性粒细胞^[6]。因此,在之前的研究中大都确定 CAF 具有促进肿瘤微环境形成,并在肿瘤细胞生长、血管生成、侵袭转移和免疫抑制方面有促进作用。

2. CAF 的异质性:肿瘤微环境中,靶向基质和 CAF 已被评估为改善 PDAC 的策略;在动物实验中,将 PDAC 中肿瘤微环境分化的 CAF 注入胰腺尾部,

基金项目:甘肃省科技计划项目重点研发计划项目(20YF3FA033)

作者单位:730000 兰州大学第二医院普通外科

通信作者:樊勇,电子邮箱:ery_fany@lzu.edu.com

这样联合注射导致的肿瘤较单独注射癌细胞显著增大^[7]。FAP可以促进组织修复和肿瘤细胞增殖、浸润,在移植的胰腺癌模型中,白喉毒素受体(diphtheria toxin receptor, DTR)介导的FAP阳性细胞耗竭降低了肿瘤负担,缓解了免疫抑制^[8]。但相反地,Ozdemir等^[9]研究显示,胰腺癌中 α -SMA和CAF的缺失导致了肿瘤的发生,同时增加了肿瘤干细胞的数量。Lee等^[10]在PDAC小鼠模型中尝试删除一种促结缔组织增生基质音猬因子(sonic hedgehog, SHH)时发现,抑制SHH可以导致肿瘤生长减少,结缔组织增生减少。Steele等^[11]进一步研究发现,SHH似乎与PDAC中CAF的异质性有关,在SHH信号得到抑制时,炎性CAF(inflammatory CAF, iCAF)信号同样得到了抑制,但肌纤维母细胞CAF(myo-fibroblastic CAF, myCAF)的表达较前上调。这使得针对CAF的研究需要进一步细化。

此前有研究者确定了两种类型的CAF,myCAFs和iCAFs。myCAF具有收缩表型,通常以 α -SMA的高表达为特征,具有ECM性质;而iCAF具有炎症表型,发现了IL-6的高表达和 α -SMA的低表达^[12]。进一步研究显示,癌细胞分泌TGF- β 和IL-1似乎有助于CAF的异质性^[13]。IL-1通过核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)和IL-6发挥作用,诱导白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)的表达,并激活下游Janus激酶/信号转导子和转录激活子(JAK/STAT)生成iCAF;相反,TGF- β 通过抑制IL-1受体IL-1R1来拮抗这一过程,并促进向肌成纤维细胞的分化。总之,IL-1/JAK-STAT3和TGF- β /SMAD2/3蛋白分别是诱导iCAF或myCAF形成的两条相反的信号通路。这两种形式的CAF在体外是可相互转化的,细胞特异性转录特征表明,myCAF有助于肿瘤微环境中的促结缔组织增生基质,而iCAF是炎性细胞因子的来源。使用Janus激酶(Janus kinase, JAK)抑制剂抑制IL-1/NF- κ B信号通路会导致肿瘤生长减少,同时iCAF转化为myCAF,这表明iCAF可能具有促肿瘤特性。另一方面,myCAF可能具有肿瘤抑制作用,这可以通过靶向类似于该亚型的CAF而增强肿瘤的侵袭性来证明^[14]。

进一步研究还发现,除myCAF和iCAF之外的新CAF群体,称为抗原递呈CAF(antigen-presenting CAF, apCAF),它可以限制CD4⁺T细胞的能力;其表达的主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex-II, MHC-II)可能作为诱饵受体,分

离CD4⁺T细胞,阻止其克隆性增殖,从而导致T淋巴细胞无能或分化为Treg,达到免疫抑制的效果^[15]。此外,随着单细胞测序的进一步发展,近年来有研究发现,在低结缔组织增生型PDAC中,存在着一种代谢高度活跃的CAF亚型,称为meCAF;它可以为肿瘤细胞提供活跃的糖酵解过程,而在进一步的临床试验中发现表达更高的meCAF虽然使PDAC对免疫治疗更敏感,但同时代表了更高的转移风险和更差的预后^[16]。

二、CAF作为PDAC的治疗靶点

1. 基于CAF作为有效药物传递屏障的功能以及耐药性的因素:研究表明,CAF可以在胰腺癌肿瘤周围构建笼状结构,使其对化疗产生耐药性而干扰CAF后发现,如TGF- β 、SHH及血管紧张素II(angiotensin II, Ang-II)受体,可以促进细胞外基质的减少并且增强药物对肿瘤的传递。例如,在SHH信号受到抑制后可以增强吉西他滨诱导的肿瘤内药物沉积,提高胰腺癌的疗效^[17]。此外有研究表明,使用生长抑素类似物抑制胰腺CAF中的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)途径以增强胰腺肿瘤的药物敏感度,另外会导致CAF介导IL-6减少,弱化了肿瘤细胞的化疗抵抗^[18]。CAF分泌的ECM也会增加PDAC中肿瘤微环境的间质压力,从而导致血管塌陷,阻碍血液流动,从而阻止药物作用和免疫细胞浸润。研究人员减少间质压力来恢复血管的功能,并且增加吉西他滨作为实验对照药物,但结果显示在PDAC晚期治疗中与标准化疗没有差异^[19]。此外还研究了血管紧张素受体阻滞剂(angiotensin receptor blocker, ARB)类抗高血压药物缬沙坦通过抑制TGF- β 信号转导,减轻CAF引起的胶原和透明质酸沉积,可以改善肿瘤血供以及药物输送效率,同时降低激活的 α -SMA和CAF的密度。结果显示,缬沙坦联合放疗和FOLFIRINOX(亚叶酸钙+5-氟尿嘧啶+奥沙利铂+伊立替康)化疗方案进行的新辅助治疗可达到有效治疗,在研究中使86%的患者有手术机会,61%的患者实现了R0切除^[20]。所有这些研究的数据为临床试验提供了强有力的理论依据。

2. 基于CAF作为抑制免疫应答和免疫监视的因素:动物试验中,FAP基因缺失导致肿瘤生长减少,免疫监测得到改善,并与抗PD-1和抗CTLA-4治疗产生协同作用,这种效果是由于CAF所介导的CX-CL12分泌减少所致。另一项研究发现,在临床前PDAC模型中,FAP缺失也可导致肿瘤侵袭和转移减

少^[21]。因此,研究人员采用了基于免疫疗法的方法来靶向抑制 FAP 和 CAF,在胰腺癌、结肠癌和肺癌中得到了正向的反馈。近年来研究还发现,在 CAF 上表达的轴突生长诱导因子 G1 (Netrin G1) 能够通过其突触后受体相互作用来支持 PDAC 细胞,基因切除或药理学对 Netrin G1 的抑制不仅能够延缓肿瘤生长,还能恢复自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞介导的肿瘤检测来去除肿瘤微环境的免疫抑制^[22]。多项研究表明,CAF 可以促进 PDAC 肿瘤微环境的形成,进一步达到免疫抑制和逃避免疫监视。主要表现为抑制 ECM 中沉积的成纤维细胞、巨噬细胞、髓源性抑制细胞和调节性 T 细胞,并排除了细胞毒性 CD8⁺ 以及 NK 细胞和 T 淋巴细胞。iCAF 分泌大量促肿瘤细胞因子,如 IL-6 和 CXCL12^[23]。Feig 等^[24] 研究还表明,FAP+ 成纤维细胞对 CXCL12 的抑制可与细胞程序性死亡配体-1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1) 阻断协同作用,以改善针对 PDAC 的免疫治疗。

3. 基于 CAF 异质性的治疗方向:据前所述,根据 CAs 的异质性,改变 PDAC 肿瘤微环境中的 CAF 表型是一种潜在的 PDAC 治疗方法,Sherman 等^[25] 研究发现,人 PDAC 中 CAF 高度表达维生素 D 受体,用钙泊三醇治疗这些 CAF 可诱导静态表型,导致脂滴积聚和 α -SMA 表达降低。这种治疗还导致 CAF 条件培养基中肿瘤促进因子的分泌减少。目前,这一策略正在 PDAC 手术指征方面的临床试验中评估。此外,可能有机会将 CAF 表型从 iCAF 转变为 myCAF^[26]。另有研究表明,myCAF 对癌症的抑制作用更强,而 iCAF 对癌症的促进作用更强。值得注意的是,这些表型在体外是可逆的,体外条件培养的 myCAF 在暴露于癌症条件培养基后转化为 iCAF,反之亦然^[27]。体内对 JAK 信号的抑制是 IL-1R 介导的 CAF 转化为 iCAF 所必需的,它不仅能够减弱肿瘤进展,还能减少 iCAF,同时增加小鼠肿瘤中的 myCAF^[13]。因此,试图将 CAF 从 iCAF 表型转换为 myCAF 表型似乎是一种可行的 PDAC 治疗方法。例如,在一项小鼠研究中发现,姜黄素并不消耗 CAF,而是会将 CAF 恢复到更正常的状态,却可以抑制 CAF 诱导的胰腺癌细胞迁移和侵袭,此研究虽然提供了一个方向,但需确定姜黄素的治疗效果是否出自于 CAF 的异质性改变^[28]。

4 基于其他促进肿瘤发展的因素:此外有研究表明,在某些人群中通过上调致癌细胞中趋化因子配体

5,可以将免疫抑制的 MDSC 吸引到 PDAC 的肿瘤微环境中,加强了胰腺癌肿瘤微环境中 CAF 的异质性而起到抑制其生长的作用^[29]。此外,全反式维甲酸可以通过维甲酸受体 β 介导,使 PSC 活化并且运动性降低,阻止 CAF 基质重塑,同时中断 Wnt 信号轴,导致肿瘤生长减少,目前此方法正在 PDAC 患者中与联合化疗进行评估^[30]。因此在靶向 CAF 治疗的研究过程中,根据其异质性对肿瘤生长、增殖、迁移、浸润和免疫抑制等方面仍有进一步探索的空间。

三、展 望

PDAC 仍然是一种具有挑战性的人类疾病,它的晚期检测和独特的基质有助于治疗抵抗,但也有助于肿瘤控制。CAF 是 PDAC 中基质形成和肿瘤进展的核心。在肿瘤进展和转移中起着重要作用。一些 CAF 可以作为原癌基因,而另一些 CAF 可以作为抗肿瘤基因,因此,它们在实体恶性肿瘤中的靶向性需要其彻底的表征。阐明这种异质性是由 CAF 的不同来源引起的,还是由肿瘤微环境中自分泌和旁分泌信号的变化引起的。既往研究表明,iCAF 和 apCAF 是有吸引力的目标,可以重新编程,转化为静态 CAF。本文讨论了 CAF 的经典研究、近年来发现的 CAF 异质性以及临床研究进展,然而,许多问题仍未得到解答,例如,不同 CAF 群体的细胞起源仍然未知;不同 CAF 群体更全面的生物学功能也并不详尽。总之,对 PDAC 中 CAF 生物学的进一步研究将能够为这种具有挑战性的疾病开发有效的 CAF 靶向治疗。

参考文献

- Geng X, Chen H, Zhao L, *et al.* Cancer-associated fibroblast (CAF) heterogeneity and targeting therapy of CAFs in pancreatic cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 655152
- Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Ragulan C, *et al.* Inter- and intra-tumoural heterogeneity in cancer-associated fibroblasts of human pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Pathol*, 2019, 248 (1): 51-65
- Vennin C, Melenc P, Rouet R, *et al.* CAF hierarchy driven by pancreatic cancer cell p53-status creates a pro-metastatic and chemoresistant environment via perlecan [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 3637
- Nagasaki T, Hara M, Nakanishi H, *et al.* Interleukin-6 released by colon cancer-associated fibroblasts is critical for tumour angiogenesis: anti-interleukin-6 receptor antibody suppressed angiogenesis and inhibited tumour-stroma interaction [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(2): 469-478
- 孙雪梅, 樊文哲, 吴德全. 癌相关成纤维细胞在乳腺癌侵袭转移及耐药中的作用研究进展 [J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29 (5): 618-624
- Monteran L, Erez N. The dark side of fibroblasts: cancer-associated fibroblasts as mediators of immunosuppression in the tumor microenvi-

- ronment[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1835
- 7 Vaish U, Jain T, Are AC, *et al.* Cancer – associated fibroblasts in pancreatic ductal adenocarcinoma: an update on heterogeneity and therapeutic targeting[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13408
 - 8 谈静, 杨玉婷, 孙文杰, 等. 癌相关成纤维细胞的功能异质性与来源多样性[J]. *中华病理学杂志*, 2020, 49(7): 764 – 767
 - 9 Ozdemir BC, Pentcheva – Hoang T, Carstens JL, *et al.* Depletion of carcinoma – associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(6): 719 – 734
 - 10 Lee JJ, Perera RM, Wang H, *et al.* Stromal response to Hedgehog signaling restrains pancreatic cancer progression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(30): E3091 – 3100
 - 11 Steele NG, Biffi G, Kemp SB, *et al.* Inhibition of Hedgehog signaling alters fibroblast composition in pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(7): 2023 – 2037
 - 12 Ohlund D, Handly – Santana A, Biffi G, *et al.* Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer [J]. *J Exp Med*, 2017, 214(3): 579 – 596
 - 13 Biffi G, Oni TE, Spielman B, *et al.* IL1 – induced JAK/STAT signaling is antagonized by TGFbeta to shape CAF heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(2): 282 – 301
 - 14 Hosein AN, Brekken RA, Maitra A. Pancreatic cancer stroma: an update on therapeutic targeting strategies[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 487 – 505
 - 15 Elyada E, Bolisetty M, Laise P, *et al.* Cross – species single – cell analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma reveals antigen – presenting cancer – associated fibroblasts[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(8): 1102 – 1123
 - 16 Wang Y, Liang Y, Xu H, *et al.* Single – cell analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma identifies a novel fibroblast subtype associated with poor prognosis but better immunotherapy response[J]. *Cell Discov*, 2021, 7(1): 36
 - 17 Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, *et al.* Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer[J]. *Science*, 2009, 324(5933): 1457 – 1461
 - 18 Duluc C, Moatassim – Billah S, Chalabi – Dchar M, *et al.* Pharmacological targeting of the protein synthesis mTOR/4E – Bp1 pathway in cancer – associated fibroblasts abrogates pancreatic tumour chemoresistance[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(6): 735 – 753
 - 19 Chen Y, McAndrews KM, Kalluri R. Clinical and therapeutic relevance of cancer – associated fibroblasts [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(12): 792 – 804
 - 20 Murphy JE, Wo JY, Ryan DP, *et al.* Total neoadjuvant therapy with FOLFIRINOX in combination with losartan followed by chemoradiotherapy for locally advanced pancreatic cancer: a phase 2 clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(7): 1020 – 1027
 - 21 Kadera BE, Li L, Toste PA, *et al.* MicroRNA – 21 in pancreatic ductal adenocarcinoma tumor – associated fibroblasts promotes metastasis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71978
 - 22 Francescone R, Barbosa Vendramini – Costa D, Franco – Barraza J, *et al.* Netrin G1 promotes pancreatic tumorigenesis through cancer – associated fibroblast – driven nutritional support and immunosuppression[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 446 – 479
 - 23 Miyai Y, Esaki N, Takahashi M, *et al.* Cancer – associated fibroblasts that restrain cancer progression: hypotheses and perspectives [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(4): 1047 – 1057
 - 24 Feig C, Jones JO, Kraman M, *et al.* Targeting CXCL12 from FAP – expressing carcinoma – associated fibroblasts synergizes with anti – PD – L1 immunotherapy in pancreatic cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(50): 20212 – 20217
 - 25 Sherman MH, Yu RT, Engle DD, *et al.* Vitamin D receptor – mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy[J]. *Cell*, 2014, 159(1): 80 – 93
 - 26 Norton J, Foster D, Chinta M, *et al.* Pancreatic cancer associated fibroblasts (CAF): under – explored target for pancreatic cancer treatment[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(5): 1347
 - 27 Sousa CM, Biancur DE, Wang X, *et al.* Pancreatic stellate cells support tumour metabolism through autophagic alanine secretion[J]. *Nature*, 2016, 536(7617): 479 – 483
 - 28 Qu C, Wang Q, Meng Z, *et al.* Cancer – associated fibroblasts in pancreatic cancer: should they be deleted or reeducated? [J]. *Integr Cancer Ther*, 2018, 17(4): 1016 – 1019
 - 29 Yang X, Lin Y, Shi Y, *et al.* FAP promotes immunosuppression by cancer – associated fibroblasts in the tumor microenvironment via STAT3 – CCL2 signaling[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(14): 4124 – 4135
 - 30 Kocher HM, Basu B, Froeling FEM, *et al.* Phase I clinical trial repurposing all – trans retinoic acid as a stromal targeting agent for pancreatic cancer[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4841

(收稿日期: 2022 – 04 – 02)

(修回日期: 2022 – 04 – 21)

(上接第 7 页)

- 17 Samuel E, Lie G, Balasubramanian A, *et al.* Impact of radiotherapy on the efficacy and toxicity of anti – PD – 1 inhibitors in metastatic NSCLC[J]. *Clin Lung Cancer*, 2021, 22(3): e425 – e430
- 18 Welsh JW, Tang C, de Groot P, *et al.* Phase II trial of ipilimumab with stereotactic radiation therapy for metastatic disease: outcomes, toxicities, and low – dose radiation – related abscopal responses[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(12): 1903 – 1909
- 19 Gemzell – Danielsson K, Heikinheimo O, Zatik J, *et al.* Efficacy and safety of vilaprisan in women with uterine fibroids: data from the phase 2b randomized controlled trial ASTEROID 2[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020, 252: 7 – 14
- 20 Elia G, Ferrari SM, Galdiero MR, *et al.* New insight in endocrine – related adverse events associated to immune checkpoint blockade[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2020, 34(1): 101370
- 21 Tian S, Switchenko JM, Buchwald ZS, *et al.* Lung stereotactic body radiation therapy and concurrent immunotherapy: a multicenter safety and toxicity analysis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(1): 304 – 313
- 22 Perna M, Scotti V, Ciammella P, *et al.* The NIPRO study: an observational, retrospective, multicenter study on the safety of the radiotherapy and immunotherapy combination for advanced – stage NSCLC [J]. *Clin Lung Cancer*, 2021, 22(5): e767 – e773

(收稿日期: 2022 – 04 – 27)

(修回日期: 2022 – 05 – 08)