· 综述 ·

Research progresses on non-cancer-cell component of tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma and prospect of interventional therapy

LIN Letao, ZOU Yinghua*

(Department of Interventional Radiology and Vascular Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

[**Abstract**] The non-cancer-cell component of the tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma (HCC) has drawn the attention of the researchers because of its relative stability of the genome. The composition and characteristics of the tumor microenvironment and the composition of the tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma were introduced in this article. Besides, the recent studies about the non-cancer-cell component of the tumor microenvironment in HCC were reviewed from three aspects: The exosomes, the chemokines and the local conditions without biological activity. The application of non-cancer-cell in interventional treatment in the future was also discussed.

[**Key words**] Tumor microenvironment; Exosome; Chemokine; Local condition; Interventional therapy

DOI: 10.13929/j.1672-8475.201702022

肝癌肿瘤微环境中非癌细胞成分的研究进展与介入治疗展望

林乐涛　综述，邹英华*　审校

（北京大学第一医院介入血管外科，北京　100034）

[**摘　要**] 肝癌肿瘤微环境中的非癌细胞成分，因其基因组的相对稳定性而受到关注。本文从肿瘤微环境的组成及其特点、肝癌肿瘤微环境的组成出发，对肝癌肿瘤微环境中非癌细胞成分的 3 个研究新的热点（外泌体、趋化因子及无生物活性条件的局部调节）进行综述，并对其在介入治疗方面的应用进行展望。

[**关键词**] 肿瘤微环境；外泌体；趋化因子；局部条件；介入治疗

[**中图分类号**] R735.7；R816　[**文献标识码**] A　[**文章编号**] 1672-8475(2017)06-0378-04

肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）是恶性度较高的消化系统肿瘤，在所有恶性肿瘤中发病率居第 3 位，肿瘤相关死亡率居第 3 位[1]。我国是乙型肝炎高发国家，随着老龄化社会的到来，肝癌患者数量持续增长。肿瘤不仅由癌细胞组成，还包括癌细胞周围复杂的微环境。肝癌细胞以外的肿瘤微环境成分研究已成为目前的热点，其与肝癌的介入治疗联合应用的探索也不断深入。本文就 HCC 肿瘤微环境中非癌细胞成分的特点和研究进展做一综述，并展望其研究成果在介入治疗中的应用方向。

1　肿瘤微环境及其特性

肿瘤微环境是肿瘤发生、发展和转移过程中所处的内环境，包括 5 个方面：癌细胞及肿瘤干细胞、促肿瘤炎症细胞、肿瘤相关成纤维细胞、肿瘤相关血管细胞、细胞外基质与无生物学活性液体微环境。其中，后四者为肿瘤微环境中的非癌细胞成分。有学者[2]总结肿瘤的十大生物学特性，这十大特性在肿瘤微环境中

[**第一作者**] 林乐涛（1992—），男，广东汕头人，博士，医师。研究方向：介入放射学。E-mail: LLT1379@126.com

[**通信作者**] 邹英华，北京大学第一医院介入血管外科，100034。E-mail: yinghzou@139.com

[**收稿日期**] 2017-02-02　[**修回日期**] 2017-03-26

得到集中表现,包括:持续的增殖信号、逃避生长抑制、抵抗细胞死亡、无限复制潜能、诱导血管生成、组织浸润和转移、细胞内能量异常、避免免疫攻击、基因组不稳定和突变、促进肿瘤相关炎症。

既往对肿瘤的研究重点一直集中于癌细胞本身或肿瘤干细胞,但由于癌细胞及肿瘤干细胞的基因组具有不稳定性,患者对新研发的药物易产生耐药性。而肿瘤微环境中的非癌细胞成分的基因组相对稳定。因此,近年对肿瘤微环境中的免疫细胞、血管生成、成纤维细胞及液体微环境的研究日益受到重视,相关的药物临床试验也不断展开[3]。

2 HCC 肿瘤微环境

HCC 作为实体肿瘤,其微环境同样由上述五大成分组成,即肝癌细胞及肝癌肿瘤干细胞、促肿瘤炎症细胞(如星形细胞、Kupffer 细胞、树突状细胞、Treg 细胞)、肿瘤相关成纤维细胞、细胞外基质及各类细胞因子等。其中有几类较为重要的特殊细胞:①肿瘤相关巨噬细胞,是起源于循环的单核细胞,通过肿瘤性信号如趋化因子 CCL2 聚集于肿瘤周围,由 M1 表型转化为 M2 表型,增强肿瘤的干细胞特性,促进肿瘤生长[4];②肿瘤相关成纤维细胞,是肿瘤间质内突出的细胞类型,入侵共培养实验[5]表明,肝癌细胞转移过程中游走在前面的细胞总是肿瘤相关成纤维细胞,故其与肝癌细胞转移扩散密切相关;③星形细胞,又称窦周细胞,是肝脏中合成胶原的主要细胞类型,将星形细胞和肝癌细胞共同植入裸鼠体内,星形细胞可刺激肝癌的增长和侵袭,并抑制凋亡[6]。

3 HCC 微环境非癌细胞成分的研究进展

HCC 微环境中非癌细胞成分的研究近年来取得了较多成果,如发现肿瘤相关巨噬细胞、Treg 细胞的高表达与患者的不良预后相关[7],IL-2 和 IL-15 的高表达,能减少肝癌的肝内转移,延长整体生存期[8]等。以下简要介绍近期 HCC 肿瘤微环境中非癌细胞成分的研究热点。

3.1 HCC 与外泌体 外泌体是由各类细胞分泌的由膜分子包被的细小信使,包括蛋白质、信使 RNA(messenger RNA, mRNA)或微小 RNA(microRNA, miRNA)等[9]。其被分泌后存在于各类体液中,在细胞间传递各类生物学信号。由于外泌体在血液、尿液、胆汁等体液中均可被检测,取材方便,因此,其作为早期诊断和指导后续治疗的生物学标志物具有巨大前景。对 HCC 微环境中外泌体的研究也是近年的研究热点,尤其在 miRNAs 方面有较多发现,如 miR-143、miR-215、miR-221、miR-21 等在 HCC 患者体内呈高表达,而 miR-101、miR-122 则在 HCC 患者体内呈低表达[10]。其中,miR-122、miR-21、miR-192 的分子机制研究相对较多。体外实验[11]发现,在 miR-122 被敲除的肝癌细胞系,癌细胞的凋亡会受到抑制,从而促进肝癌细胞的生长活性,表明 miR-122 可通过维持凋亡抑制肝癌细胞的生长。miR-21 目前被认为与 miR-122 具有相反的作用,miR-21 在肝癌患者体内的表达水平明显高于正常人群,其敲除反而会促进癌细胞的凋亡[12]。miR-192 则被证明通过调节癌基因 SLC39A6 能够抑制肝癌细胞的转移[13]。此外,肝脏自身的干细胞也能分泌 miRNA,从而发挥肿瘤抑制效应[14],而这一效应的产生,依赖于肝脏干细胞释放的多种 miRNA,包括 miR451,miR223,miR24,miR31,miR214 和 miR122,通过多重耐药基因 1(multidrug resistance-1, MDR-1),巨噬细胞移动抑制因子基因(macrophage migration inhibitory factor, MIF),RAB14 基因及转录因子 E2F-2 的下调来实现[15]。目前,尚有许多外泌体相关的 miRNA 的分子生物学机制仍不清楚,有待进一步研究;而对外泌体的靶向药物的局部介入治疗也将是未来研究的方向。

3.2 趋化因子的局部调节 趋化因子是一类具有趋化作用的分泌型小分子蛋白质,能够诱导各种类型的细胞定向迁移。趋化因子结构相似,多数趋化因子有 4 个保守的半胱氨酸,根据靠近 N 端的前两个半胱氨酸的相对位置,可分为 C、CC、CXC 和 CX3C4 这 4 个亚族[16]。在肝癌微环境各组成间的相互作用中,趋化因子扮演着重要的角色。在 CXC 家族中,趋化因子 CXCL8 能够募集中性粒细胞,并使其分泌基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9),从而促进癌细胞的浸润。此外,CXCL8 还能直接刺激肝癌细胞的生长,并调节肝癌微环境的血管生成。CXCL12 也能促进肿瘤的生长、转移。而 CC 家族的趋化因子,如 CCL2、CCL3、CCL5、CCL20 等,主要募集各种白细胞,其中 $CD8^+$ T 细胞和 NK 细胞主要发挥抗肿瘤效应,而 Treg 细胞和肿瘤相关的巨噬细胞则可介导免疫逃逸[17]。然而,以上述趋化因子或趋化因子受体为靶点的新药临床试验大部分以失败告终[18],原因主要在于趋化因子与受体相互作用的冗余性,即 1 个趋化因子有多个受体,而 1 个趋化因子受体又对应多种趋化因子。因此,破坏局部趋化因子的浓度梯度成为一种新的思路。趋化因子发挥趋化作用,依赖于以趋化因子释放点为中心、向四周递减的浓度梯度。Weber

等[19]发现，趋化因子 CCL21 需附着于细胞外基质中的糖胺聚糖，才可形成稳定的浓度梯度，当局部注射类肝素破坏糖胺聚糖后，CCL21 的浓度梯度则被破坏，无法趋化树突状细胞等细胞至肿瘤微环境之中。但这一结论有待进一步在其他趋化因子中加以印证，并向肝癌的局部介入治疗推广。

3.3 无生物活性条件的局部调节 肿瘤微环境中的局部无生物学活性条件，如酸碱度、含氧量等，在近年得到了重视。其中，靶向肿瘤内乳酸阴离子和氢离子的动脉导管化疗栓塞术（targeting-intratumoral-lactic-acidosis TACE，TILA-TACE）为调节局部酸碱条件的一大临床突破。肿瘤中含有大量乳酸，乳酸解离成乳酸阴离子和氢离子，两者能够提高肿瘤细对葡萄糖的利用率，在葡萄糖含量较少时，仅利用微量葡萄糖即可维持生存。将这一发现与目前肿瘤介入治疗中比较成熟的经导管动脉化疗栓塞术（transcatheter arterial chemoembolization，TACE）相结合，先局部灌注碳酸氢钠以中和乳酸和氢离子，再栓塞肝癌的供应血管，可减少营养物质的供应，从而达到治疗肿瘤的目的。有学者[20]对 40 例原发性 HCC 患者行 TILA-TACE 治疗，发现其客观反应率高达 100%，患者累计中位生存期超过 3.5 年。此外，含氧量的研究也是一个研究关注点，尤其在 TACE 治疗中受到广泛关注。TACE 治疗中栓塞血管在切断肿瘤的营养供应同时，也制造了一个缺氧环境，而缺氧会促进肿瘤的生长，这一特点在肝癌中表现尤为明显，低氧诱导因子-1（hypoxia inducible factor-1，HIF-1）在其中发挥了重要作用，能够促进血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）依赖的肿瘤血管的生成，而 HIF-1α 是决定 HIF-1 活性的重要亚单位[21]。动物实验[22]表明，联合穿刺瘤内注射 HIF-1α 的 RNA 干扰病毒与 TACE 治疗，HIF-1α 的 RNA 干扰通过抑制 TACE 诱导的 HIF-1α，VEGF 的升高来抑制肿瘤的生长，延长生存期，降低肺转移，从而改善 TACE 治疗肝癌的疗效，其后续临床应用方面，将会有更进一步的探索。

4 介入治疗展望

HCC 肿瘤微环境中的非癌细胞组分，由于其基因组的相对稳定性，具有较好的研究前景。但对肿瘤微环境中非癌细胞成分的调控也存在一个明显的问题，即静脉或口服用药的全身作用。以抑制血管生成、调节肿瘤免疫的治疗为例，如全身给药，则不可避免地会影响全身的血管、免疫状态，出现比较明显的不良反应。其中，血管生成类药物的不良反应包括消化系出血、血栓栓塞、高血压等。研究[23]报道，因严重的出血，舒尼替尼与索拉非尼药效对比的第 3 期临床试验不得不中止。而介入方法的局部针对性治疗，在该方面研究的临床转化上具有明显的优势，未来在介入治疗的研究中可注意以下几个方面。

4.1 注重相关药物动脉给药剂型的研发 未来应注重针对肝癌肿瘤微环境中非癌细胞组分的药物的动脉剂型研发，展开肝癌局部介入治疗的临床试验，明确其疗效。同时，应对比静脉给药剂型，监测其不良反应。还可进一步结合载药微球等形式，探索药物的局部持续给药效果。

4.2 联合治疗 针对肿瘤微环境的多个特性，在介入治疗上应该多管齐下，增强肝癌的治疗效果。TILA-TACE 治疗便是从血管和液体两个肿瘤微环境特点入手进行治疗，在联合治疗方面给出了很好的示范[20]。未来可在 TACE 治疗中探究多种针对肿瘤微环境的药物联合应用的疗效，还可结合射频消融、微波消融、肝动脉放疗栓塞等多种介入治疗方式，探索疗效更好的治疗方案。

4.3 避免诱导新变异 Rozhok 等[24]研究发现，癌症更多是变异细胞适应环境的进化产物。尽管将治疗目标锁定在肿瘤细胞周围的成分，其基因组较为稳定，不易产生耐药性，但如肿瘤周围环境急剧改变，仍可能会造成肿瘤细胞中能适应这一微环境的突变亚群成为优势亚群，进而继续增长。因此，在针对微环境的介入治疗过程中不宜操之过急，尤其对晚期肝癌患者，严格控制对药物敏感的癌细胞和耐药癌细胞之间的平衡，可能是一种更好的治疗策略[7]。

4.4 挖掘介入疗效预测指标 在 TACE、射频消融等局部介入治疗后，HCC 肿瘤微环境中的非细胞组分必然受到影响，并可反映在相关的分子上。后续可在介入治疗前后，检测肝癌相关外泌体等肿瘤微环境非细胞组分子的表达变化，挖掘与疗效关系密切的分子，找到更好地监测疗效的参考指标，并进一步明确肝癌介入治疗的最佳获益群体。

[参考文献]

[1] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Cancer incidence and mortality in China in 2013: An analysis based on urbanization level. Chin J Cancer Res, 2017, 29(1): 1-10.

[2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. Cell, 2011, 144(5): 646-674.

[3] Hernandez-Gea V, Toffanin S, Friedman SL, et al. Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology, 2013,144(3):512-527.

[4] Fan QM, Jing YY, sYu GF, et al. Tumor-associated macrophages promote cancer stem cell-like properties via transforming growth factor-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. Cancer Lett, 2014,352(2):160-168.

[5] 李晓鹏,崔东来.肿瘤微环境在肝细胞癌中的作用.世界华人消化杂志,2014,22(9):1219-1225.

[6] 刘志磊,孙薇,贺福初,等.肝细胞癌的微环境研究进展.生物化学与生物物理进展,2012,39(5):416-422.

[7] Willyard C. Cancer therapy: An evolved approach. Nature, 2016,532(7598):166-168.

[8] Zhou H, Huang H, Shi J, et al. Prognostic value of interleukin 2 and interleukin 15 in peritumoral hepatic tissues for patients with hepatitis B-related hepatocellular carcinoma after curative resection. Gut, 2010,59(12):1699-1708.

[9] Lemoinne S, Thabut D, Housset C, et al. The emerging roles of microvesicles in liver diseases. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014,11(6):350-361.

[10] Sato K, Meng F, Glaser S, et al. Exosomes in liver pathology. J Hepatol, 2016,65(1):213-221.

[11] Wu X, Wu S, Tong L, et al. miR-122 affects the viability and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. Scand J Gastroenterol, 2009,44(11):1332-1339.

[12] Najafi Z, Sharifi M, Javadi G. Degradation of miR-21 induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. Cancer Gene Ther, 2015,22(11):530-535.

[13] Lian J, Jing Y, Dong Q, et al. miR-192, a prognostic indicator, targets the SLC39A6/SNAIL pathway to reduce tumor metastasis in human hepatocellular carcinoma. Oncotarget, 2016,7(3):2672-2683.

[14] Fonsato V, Collino F, Herrera MB, et al. Human liver stem cell-derived microvesicles inhibit hepatoma growth in SCID mice by delivering antitumor microRNAs. Stem Cells, 2012,30(9):1985-1998.

[15] Tu T, Budzinska MA, Maczurek AE, et al. Novel aspects of the liver microenvironment in hepatocellular carcinoma pathogenesis and development. Int J Mol Sci, 2014,15(6):9422-9458.

[16] Viola A, Luster AD. Chemokines and their receptors: Drug targets in immunity and inflammation. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2008,48(1):171.

[17] Marra F, Tacke F. Roles for chemokines in liver disease. Gastroenterology, 2014,147(3):577-594.

[18] Moreno JA, Moreno S, Rubio-Navarro A, et al. Role of chemokines in proteinuric kidney disorders. Expert Rev Mol Med, 2014,16:e3.

[19] Weber M, Hauschild R, Schwarz J, et al. Interstitial dendritic cell guidance by haptotactic chemokine gradients. Science, 2013,339(6117):328-332.

[20] Chao M, Wu H, Jin K, et al. A nonrandomized cohort and a randomized study of local control of large hepatocarcinoma by targeting intratumoral lactic acidosis. Elife, 2016,5:e15691.

[21] Lin D, Wu J. Hypoxia inducible factor in hepatocellular carcinoma: A therapeutic target. World J Gastroenterol, 2015,21(42):12171-12178.

[22] 陈呈世.缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)的 RNA 干扰联合经动脉化疗栓塞治疗肝癌的实验研究.上海:复旦大学,2012:9-13.

[23] Zhu AX, Duda DG, Sahani DV, et al. HCC and angiogenesis: Possible targets and future directions. Nat Rev Clin Oncol, 2011,8(5):292-301.

[24] Rozhok AI, DeGregori J. Toward an evolutionary model of cancer: Considering the mechanisms that govern the fate of somatic mutations. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015,112(29):8914-8921.

消　息

《中国介入影像与治疗学》网站的域名为 www.cjiit.com,作者投稿请登录本刊网站(www.cjiit.com)主页,点击左上角“作者登录”进入,第一次投稿需完成作者注册;专家审稿请点击“审稿登录”进入。

为了便于广大作者、读者查阅本刊文献,本站提供从 2004 年起的过刊和现刊的全文检索。