

巨噬细胞在溃疡性结肠炎癌变中的作用

王玮¹, 周艳宏^{2,3}, 李夏雨^{1,3}, 沈守荣^{1,3}

(中南大学 1. 湘雅三医院消化内科, 长沙 410013; 2. 肿瘤研究所, 长沙 410078;
3. 湖南省非可控性炎症与肿瘤重点实验室, 长沙 410078)

[摘要] 溃疡性结肠炎是病因不明的肠道非特异性炎症, 其癌变风险呈逐年上升的趋势。巨噬细胞是机体免疫系统的重要组成部分, 在炎症时发挥积极的免疫作用; 但在肿瘤微环境中出现表型及功能的改变, 其释放的大量细胞因子作用于结肠癌细胞, 能促进结肠癌细胞增殖、抑制其凋亡、促进血管生成等。受肿瘤影响的巨噬细胞, 还通过与其他炎症细胞相互作用, 改变机体的免疫功能, 形成免疫抑制。故巨噬细胞的改变与溃疡性结肠炎癌变的过程密不可分。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 癌变; 巨噬细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2012.06.017

Effect of macrophages on ulcerative colitis-associated carcinogenesis

WANG Wei¹, ZHOU Yanhong^{2,3}, LI Xiayu^{1,3}, SHEN Shourong^{1,3}

(1. Department of Gastroenterology, Third Xiangya Hospital, Changsha 410013; 2. Institute of Cancer Research, Changsha 410078;
3. Hunan Key Laboratory of Nonresolving Inflammation and Cancer, Central South University, Changsha 410078, China)

ABSTRACT

Ulcerative colitis is a non-specific colorectal inflammation of unknown causes. It is now known to complicate the dangers of colorectal cancer more than was previously thought. Macrophages are an important part of immune system and play a positive role in immune reaction. But it has been shown that the phenotype and the function of macrophages change in the tumor microenvironment. Through their interaction with colorectal cancer cells and by releasing large quantities of cytokines, macrophages promote colorectal cancer cells by inhibiting angiogenesis and inhibit apoptosis. But the macrophages are also affected by cancer, interact with other inflammatory cells, and become immune suppressed. Thus the changes of macrophages are inseparable with colitis-associated colorectal carcinogenesis.

KEY WORDS

ulcerative colitis; carcinogenesis; macrophages

收稿日期 (Date of reception): 2011-08-05

作者简介 (Biography): 王玮, 博士研究生, 主要从事结肠癌发生、发展的机制研究。

通信作者 (Corresponding author): 沈守荣, Email: ssr-35403@163.com

基金项目 (Foundation items): 国家自然科学基金 (81172300); 湖南省博士科研创新项目 (71131110015); 中南大学 2011 年度米塔尔学生创新创业项目 (11MX25)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81172300), Hunan Provincial Innovation Foundation for Postgraduate (71131110015), and Mittal Student Innovation Project of Central South University, P.R. China (11MX25).

2011年,炎症被列为癌症的八大特征之一,非可控性炎症是肿瘤发生、发展的重要过程,大量炎症细胞在肿瘤增殖、生长及转移中有不可或缺的作用^[1]。巨噬细胞是炎症的重要组成,正常时发挥监控感染、调节细胞更新、创伤修复和组织重构等作用^[2]。在肿瘤微环境中,巨噬细胞通过分泌大量细胞因子、生长因子等作用于肿瘤的不同部位发挥不同作用,如在肿瘤侵袭区域促进肿瘤细胞增殖及迁移,在基质及血管周围促进肿瘤转移,在缺氧部位则促进血管生成等^[3-4]。受肿瘤组织影响、在表型及功能上发生改变、与肿瘤发生和发展密切相关的巨噬细胞,被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM),但缺乏明确且公认的定义^[5-6]。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是病因不明的结直肠非特异性炎症。病变主要位于结肠的黏膜和黏膜下层,呈连续性弥漫性分布。临床以腹泻、腹痛和黏液脓血便为特征,可伴虹膜炎、关节炎等肠外表现。UC患者比一般人群发生结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的危险性高20~30倍^[7]。2008年报道,北美及西欧地区UC患者10, 20及30年发生CRC的累计危险性分别为2%, 8%及18%^[8]。2012年,多中心研究显示,我国UC患者10, 20及30年发生CRC的累计危险性为1.15%, 3.56%及14.36%^[9]。UC相关性CRC与长期慢性炎症过程相关,经历了正常上皮组织、炎症、不典型增生及癌变的过程,具体发病机制仍不明确,可能涉及遗传易感性、免疫系统功能异常、肠道微环境失调等^[10]。目前已证实巨噬细胞与UC癌变之间存在密切联系,笔者从巨噬细胞及其相关因子与UC癌变之间的关系进行综述。

1 巨噬细胞及其分类

根据功能特征,传统上巨噬细胞主要被分为2个亚型:1)经典活化的巨噬细胞,又称M1型巨噬细胞,主要作用为提呈抗原,分泌大量细胞因子,参与NK细胞介导的先天免疫反应及CD8⁺T细胞、Th1型免疫应答,杀伤感染机体的病原体;2)替代性活化的巨噬细胞,又称M2型巨噬细胞,抗原提呈能力较差,抑制T细胞的增殖与活化,参与粒细胞介导的先天免疫反应及Th2型免疫应答^[11]。TAM在细胞毒性及炎症因子表达方面的特征,与M2型巨噬细胞极为相似^[12]。2008年Mosser等^[13]提出巨噬细胞的新分类,根据宿主防御反应、伤口愈合程度及免疫调节分为3类:1)经典活化的巨噬

细胞,表达杀菌活性;2)伤口愈合型巨噬细胞,主要参与组织修复;3)调节型巨噬细胞,受免疫复合物、前列腺素等诱导表达抗炎活性。目前认为,鉴定巨噬细胞及其亚型,必须根据其在单核-巨噬细胞系中的分化程度及其与微环境信号间的复杂作用,而不能单纯依据功能^[14]。肠黏膜单核细胞在炎症性肠病中分化为不同类型,包括树突状细胞及巨噬细胞。巨噬细胞在UC癌变过程中聚集明显增加,表明其与UC癌变过程密切相关^[15]。

2 巨噬细胞相关因子在结肠炎癌变中的作用

巨噬细胞能分泌多种细胞因子,包括白介素家族、趋化因子家族、血管生长因子、基质金属蛋白酶、肿瘤坏死因子、环氧合酶等,参与免疫应答、血管生长、基质分解等过程。单核-巨噬细胞释放的大量因子与炎症性肠病及CRC的发生、发展密切相关^[16]。其释放的活跃因子通过不同的途径,如调控配体与受体的相互作用、调控相关基因表达、促进炎症进程等,在炎症相关性癌变中发挥重要作用。

IL-6是由单核-巨噬细胞产生的多功能细胞因子,通过多条信号通路,包括NK- κ B/信号转导及转录活化子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)/IL-6及IL-6/STAT3/细胞因子信号转导负调控因子3(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS3),在UC癌变中发挥作用^[17]。肠道固有层巨噬细胞分泌的IL-6能促使肠上皮癌变细胞逃避正常凋亡;转录因子STAT3维持IL-6表达水平,促使肠上皮癌变细胞增殖及存活;巨噬细胞源性IL-6能调控结肠癌细胞的黏蛋白表达,营造有利于肿瘤细胞扩散的环境^[18-19]。肿瘤坏死因子(TNF- α)亦主要由激活的单核-巨噬细胞产生,它作为诱导趋化因子,使中性粒细胞聚集在结肠黏膜炎症区域。在UC癌变过程中,TNF- α 在结肠固有层及黏膜下的表达明显上调。TNF- α 表达缺失能减轻肠黏膜损害及巨噬细胞的浸润程度,明显减少结肠肿瘤的数量及缩小肿瘤体积。微生物调节剂,如乳杆菌代谢产物,通过抑制结肠巨噬细胞IL-6及TNF- α 释放,减轻肠道炎症及癌变的概率^[20]。这表明IL-6, TNF- α 的表达增加与巨噬细胞的浸润密切相关,一定程度上促进结肠炎癌变的进程。

巨噬细胞释放的趋化因子在结肠炎相关性癌中也发挥重要作用。在UC癌变过程中,结肠上皮细胞趋化因子配体2(chemokine ligand 2, CCL2)表达水平随着巨噬细胞的浸润程度的加重而升高,并促进环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)释放

增加。而 CCL2 表达降低, 能降低巨噬细胞浸润及 COX-2 的表达, 抑制血管新生及延缓结肠癌的进展^[21]。正常情况下, Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 与配体作用可抑制肠道炎症的持续, 但在 UC 中, TLR4 功能缺陷, 巨噬细胞与其配体发生作用, 导致大量促炎因子释放^[22]。而且, 结肠上皮细胞的 TLR4 信号通路能激活结直肠巨噬细胞增加 COX-2, CCL2 表达, 促进不典型增生灶的形成^[23]。巨噬细胞在 CRC 部分的浸润明显多于正常部位, 其程度与 CCL2 表达水平、肿瘤分期均密切相关^[24]。但有学者通过 COX-2 基因敲除小鼠, 发现结肠癌部位出现 COX-2 表达升高及巨噬细胞浸润增加, 认为在 UC 癌变中环氧化酶-前列腺素通路无明显作用^[25]。巨噬细胞与趋化因子在 UC 癌变中的关系有待进一步研究。

3 巨噬细胞与结肠炎相关性癌细胞增殖、凋亡抑制及转移密切相关

巨噬细胞在炎症癌变中有重要的调控作用; 即肿瘤微环境能塑造巨噬细胞的表型及功能, 反之, 巨噬细胞分泌、吞噬等功能的改变, 促进血管生成及形成免疫抑制, 并促进肿瘤生长^[26]。在 UC 癌变中, 结肠癌细胞与巨噬细胞关系密切。巨噬细胞释放 IL-6, 集落刺激因子 1 (colony-stimulating factor 1, CSF-1)、VEGF 等因子增多, 刺激结肠癌细胞通过多种途径进一步分泌相关因子, 招募更多巨噬细胞到结肠癌变部位, 并使巨噬细胞发生功能改变, 促进癌细胞增殖及新血管生成^[27-28]。被招募到炎症癌变区的巨噬细胞主要定位在结肠癌侵袭区域, 促进结肠癌细胞增殖及转移^[29]。而且, 巨噬细胞释放 IL-1 β 、阻断肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 介导的线粒体膜电位崩溃及 Caspases 激活等, 抑制结肠癌细胞发生凋亡^[30]。

巨噬细胞在 CRC 的浸润部位及程度与 CRC 的恶性程度及患者预后密切相关。Forssell 等^[31]学者通过对 446 例结肠癌手术患者的随访, 发现术后生存率随巨噬细胞的浸润程度加重而提高, 认为巨噬细胞的高度浸润有术后抗肿瘤的作用。Zhou 等^[32]也有相似的结果, 并发现巨噬细胞在侵袭区域高度浸润, 能明显减少术后复发, 并降低肝转移的概率。这表明巨噬细胞在结肠癌转移中起一定程度的保护作用。然而, 有学者提出相反意见: Siveen 等^[33]发现在多种肿瘤的癌灶中巨噬细胞浸润程度越高, 尤其 M2 型巨噬细胞越多, 则肿瘤恶性程度越高、预后越差。两种截然不同的结果, 是否因为 M1/M2

型巨噬细胞浸润在肿瘤预后中的作用所致, 有待扩大样本进一步研究。

4 巨噬细胞与其他炎症细胞在结肠炎癌变中的相互作用

在 UC 癌变时, 大量炎症细胞被招募到病变部位, 包括巨噬细胞、淋巴细胞、粒细胞等, 其相互作用在一定程度上形成免疫抑制, 促进非可控性炎症癌变的进程。肠黏膜巨噬细胞释放的大量细胞因子, 与 T 淋巴细胞定向分化为 Th1, Th2, Th17 及 T 调节细胞有密切关系^[34]。在 UC 中, 肠上皮巨噬细胞表达增高, 则固有层 T 淋巴细胞表达降低, 表明两者呈负调控表达^[35]。结肠癌细胞及 T 淋巴细胞释放的 IFN 能活化 CD11b⁺ 巨噬细胞, 促进其释放 IL-13、IFN 等因子, 触发下游的信号分子抑制 CD8⁺T 淋巴细胞的抗原激活, 在肿瘤微环境中形成免疫抑制^[36]。巨噬细胞在结肠癌中也通过释放活性氧及过氧化亚硝酸盐, 作用于杀伤性 T 淋巴细胞的 TCR/CD8, 以抑制其免疫功能^[37]。而且, 巨噬细胞招募调节性 T 细胞, 通过上调趋化因子配体 20 (chemokine ligand 20, CCL20) 表达, 促进肿瘤生长^[38]。但是, 有学者发现在结肠炎癌变早期, 巨噬细胞发挥积极的促炎作用, 通过分泌趋化因子, 招募并激活 Th1 型淋巴细胞, 从而参与抗肿瘤免疫应答^[39]。这些研究表明巨噬细胞与其他炎症细胞在结肠炎癌变中有着重要的相互作用, 但他们之间的作用机制如何? 是否存在免疫抑制及促癌作用? 有待进一步研究。

5 巨噬细胞在结肠炎癌变中的缺氧诱导

巨噬细胞在缺氧条件下能表达缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIF), 而 HIF 的过表达与 UC 癌变的恶性程度及预后密切相关。巨噬细胞在缺氧条件下能使结肠癌细胞 CSF-1 表达下调, 并减少其在癌灶中的迁移及聚集^[28]。研究发现, HIF-2 α 缺失使巨噬细胞在 UC 癌变中的浸润程度明显减轻, 且癌细胞增殖及迁移速度减慢。HIF-2 α 通过调节巨噬细胞集落刺激因子受体 (macrophage colony-stimulating factor receptor, M-CSFR) 及趋化因子受体 4 (chemokine receptor 4, CXCR4) 来影响巨噬细胞在癌灶区域聚集, 而不受 ATP 水平影响^[40]。但是, 有学者发现, 巨噬细胞在 CRC 侵袭区域的浸润明显多于原发灶及癌旁黏膜, 提出巨噬细胞在结肠炎癌变中被招募到癌灶侵袭性强的部位, 而不是缺氧明显部位^[29, 40]。巨噬细胞在缺氧条件下对炎症癌变的确切作用及其相关机制, 有待进一步的实验证实。

6 结 语

巨噬细胞与 UC 癌变密切相关, 在癌变过程中发挥重要作用, 在炎症时发挥积极的免疫应答作用, 在肿瘤微环境出现表型转化及功能改变中, 通过释放大量细胞因子、与癌细胞间密切相互作用、形成免疫抑制等促进结肠癌细胞增殖、凋亡抑制及转移。目前许多实验出现了不同的结果, 巨噬细胞是否促进 UC 癌变进程、巨噬细胞在肿瘤微环境中释放细胞因子的机制、巨噬细胞与 UC 癌变的预后关系、巨噬细胞与其他炎症细胞如何在 UC 癌变时形成免疫抑制、巨噬细胞在 UC 癌变缺氧部位的作用等问题, 有待进一步研究。

参考文献

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 605-612.
- Mantovani A. Inflammation and cancer: the macrophage connection[J]. *Medicina*, 2007, 67 (Supl II): 32-34.
- Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis[J]. *Cell*, 2006, 124(2): 263-266.
- Mantovani A. Tumor-associated macrophages in cancer-related inflammation[J]. *Immunotherapy*, 2011, 3(4 Suppl 1): 21-22.
- Solinas G, Germano G, Mantovani A, et al. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(5): 1065-1073.
- Lakatos L, Mester G, Erdelyi Z, et al. Risk factors for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in a Hungarian cohort of patients with ulcerative colitis: results of a population-based study[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12(3): 205-211.
- Lakatos PL, Lakatos L. Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: changes, causes and management strategies[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(25): 3937-3947.
- Gong W, Lv N, Wang B, et al. Risk of ulcerative colitis-associated colorectal cancer in China: a multi-center retrospective study[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(2): 503-507.
- Xie J, Itzkowitz SH. Cancer in inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(3): 378-389.
- Martinez FO, Sica A, Mantovani A, et al. Macrophage activation and polarization[J]. *Front Biosci*, 2008, 1(13): 453-461.
- Sica A, Schioppa T, Mantovani A, et al. Tumor associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumor progression: potential targets of anti-cancer therapy[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(6): 717-727.
- Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(12): 958-769.
- Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(11):750-761.
- Bar-On L, Zsigmond E, Jung S. Management of gut inflammation through the manipulation of intestinal dendritic cells and macrophages?[J]. *Semin Immunol*, 2011, 23(1): 58-64.
- Szkaradkiewicz A, Marciniak R, Chudzicka-Strugala I, et al. Proinflammatory cytokines and IL-10 in inflammatory bowel disease and colorectal cancer patients[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2009, 57(4): 291-294.
- Li Y, de Haar C, Chen M, et al. Disease-related expression of the IL6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis[J]. *Gut*, 2010, 59(2):227-235.
- Grivnennikov S, Karin E, Terzic J, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 103-113.
- Matsumoto S, Hara T, Mitsuyama K, et al. Essential roles of IL-6 trans-signaling in colonic epithelial cells, induced by the IL-6/soluble-IL-6 receptor derived from lamina propria macrophages, on the development of colitis-associated premalignant cancer in a murine model[J]. *J Immunol*, 2010, 184(3): 1543-1551.
- Chon H, Choi B, Lee E, et al. Immunomodulatory effects of specific bacterial components of *Lactobacillus plantarum* KFCC11389P on the murine macrophage cell line RAW 264.7[J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 107(5): 1588-1597.
- Popivanova BK, Kostadinova FI, Furuichi K, et al. Blockade of a chemokine, CCL2, reduces chronic colitis-associated carcinogenesis in mice[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7884-7892.
- Rahman FZ, Smith AM, Hayee B, et al. Delayed resolution of acute inflammation in ulcerative colitis is associated with elevated cytokine release downstream of TLR4[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9891.
- Fukata M, Hernandez Y, Conduah D, et al. Innate immune signaling by Toll-like receptor-4 (TLR4) shapes the inflammatory microenvironment in colitis-associated tumors[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15(7): 997-1006.
- Bailey C, Negus R, Morris A, et al. Chemokine expression is associated with the accumulation of tumour associated macrophages (TAMs) and progression in human colorectal cancer[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2007, 24(2):121-130.
- Ishikawa TO, Herschman HR. Tumor formation in a mouse model

- of colitis-associated colon cancer does not require COX-1 or COX-2 expression[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(4): 729–736.
26. Sica A, Allavena P, Mantovani A. Cancer related inflammation: the macrophage connection[J]. *Cancer Lett*, 2008, 267(2): 204–215.
27. Zins K, Abraham D, Sioud M, et al. Colon cancer cell-derived tumor necrosis factor-alpha mediates the tumor growth-promoting response in macrophages by up-regulating the colony-stimulating factor-1 pathway[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 1038–1045.
28. Li YY, Hsieh LL, Tang RP, et al. Interleukin-6(IL-6) released by macrophages induces IL-6 secretion in the human colon cancer HT-29 cell line[J]. *Hum Immunol*, 2009, 70(3): 151–158.
29. Green CE, Liu T, Montel V, et al. Chemoattractant signaling between tumor cells and macrophages regulates cancer cell migration, metastasis and neovascularization[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6713.
30. Kaler P, Galea V, Augenlicht L, et al. Tumor associated macrophages protect colon cancer cells from TRAIL-induced apoptosis through IL-1beta-dependent stabilization of Snail in tumor cells[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11700.
31. Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, et al. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(5): 1472–1429.
32. Zhou Q, Peng R, Wu X, et al. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer[J]. *J Transl Med*, 2010, 8(8): 13.
33. Siveen KS, Kuttan G. Role of macrophages in tumour progression[J]. *Immunol Lett*, 2009, 123(2): 97–102.
34. Sanchez-Munoz F, Dominguez-Lopez A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(27): 4280–4288.
35. Carlsen HS, Yamanaka T, Scott H, et al. The proportion of CD40⁺ mucosal macrophages is increased in inflammatory bowel disease whereas CD40 ligand (CD154)⁺ T cells are relatively decreased, suggesting differential modulation of these costimulatory molecules in human gut lamina propria[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12(11): 1013–1024.
36. Gallina G, Dolcetti L, Seratini P, et al. Tumors induce a subset of inflammatory monocytes with immunosuppressive activity on CD8⁺ T cells[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(10): 2777–2790.
37. Nagaraj S, Gupta K, Pisarev V, et al. Altered recognition of antigen is a mechanism of CD8⁺ T cell tolerance in cancer[J]. *Nat Med*, 2007, 13(7): 828–835.
38. Ong SM, Tan YC, Beretta O, et al. Macrophages in human colorectal cancer are pro-inflammatory and prime T cells towards an anti-tumour type-1 inflammatory response[J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42(1):89-100.
39. Liu J, Zhang N, Li Q, et al. Tumor-associated macrophages recruit CCR6⁺ regulatory T cells and promote the development of colorectal cancer via enhancing CCL20 production in mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19495.
40. Imtiyaz HZ, Williams EP, Hickey MM, et al. Hypoxia-inducible factor 2alpha regulates macrophage function in mouse models of acute and tumor inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(8): 2699–2714.

(本文编辑 陈丽文)