

肿瘤相关巨噬细胞在结直肠癌中的研究进展

崔云龙 综述 李强 审校

摘要 肿瘤的进展和转移不仅与肿瘤自身的特性有关,还与肿瘤所处的微环境密不可分。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是肿瘤微环境中数量最多的肿瘤相关炎性细胞,在不同的信号刺激下可分化成抗肿瘤M1型巨噬细胞或促肿瘤的M2型巨噬细胞。在许多恶性肿瘤中,TAMs被证实参与了肿瘤的进展和转移,M2型巨噬细胞较多。然而在结直肠癌中,大部分研究却得出了相反的结论,认为TAMs促进了炎症的发展,抑制了肿瘤的进展和转移。但一些体内和体外实验却发现TAMs促进了结肠癌的增殖和转移,M2型巨噬细胞居多。此外,还有研究发现在结直肠癌中TAMs的功能随位置、肿瘤分期的不同而变化,而且并不以单纯的M1或M2形式存在,往往同时表现出M1和M2的一些特点。本文就TAMs在结直肠癌中的研究现状做一综述,以期全面了解TAMs在结直肠癌中的作用,为进一步深入研究二者的关系提供线索。

关键词 结直肠癌 肿瘤相关巨噬细胞 M1型巨噬细胞 M2型巨噬细胞

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.24.034

Research Progress of Tumor-associated Macrophages in Colorectal Cancer

Yunlong CUI, Qiang LI

Correspondence to: Qiang Li; E-mail: jinhpj@163.com

Department of Hepatobiliary Surgery, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment of Tianjin Municipality, Tianjin 300060, China

This work was supported by grants from the Scientific Project of Tianjin Medical University (No. 2008KY34)

Abstract It has become increasingly apparent that cancer progression and outcome is not solely dependent on the characteristics of the tumor but on the tumor microenvironment as well. Tumor-associated macrophages (TAMs), which constitute a significant part of the tumor-infiltrating immune cells, are "educated" towards an anti-tumor M1 phenotype or pro-tumor M2 phenotype by different signals of the tumour microenvironment. Whereas the vast majority of studies with numerous tumor types show that the presence of TAMs in the tumor microenvironment is associated with a worse prognosis, which suggests polarization of TAMs towards the M2 phenotypes, most studies in colorectal cancer claim the opposite, suggesting the polarization of TAMs towards the M1 phenotype. Meanwhile, some in vivo and in vitro experiments have found that TAMs promote the proliferation and metastasis of colorectal cancer. Some other studies have found that tumor microenvironment can induce the functional polarization of macrophages toward a mixed M1/M2 phenotype, and that the function of TAMs could be changed with their location and stage of tumor. In this review, we summarize the different and controversial effects that TAMs play in colorectal cancer.

Keywords Colorectal cancer; Tumor-associated macrophages; M1 phenotype; M2 phenotype

结直肠癌是世界范围内常见的恶性肿瘤,其发病率居于恶性肿瘤的第3位,死亡率居于第4位。越来越多的研究发现,结直肠癌的发展及预后不仅与肿瘤本身的特性有关,还与肿瘤相关的炎症反应有关。肿瘤相关巨噬细胞是肿瘤组织中数量最多的免疫细胞,在肿瘤的发生、发展及转移中扮演了重要的角色,在绝大多数肿瘤中,TAMs起到了促进肿瘤进展的作用。但到目前为止,大部分临床研究发现TAMs抑制了结直肠癌的进展,但在部分细胞实验或动物模型中却得出了相反的结论。本文仅就TAMs在结直肠癌中的研究现状做一综述,以期全面了解

TAMs在结直肠癌中的作用,为进一步深入研究二者的关系提供线索。

1 TAMs

1.1 TAMs来源

TAMs来源于血液中的单核细胞,通过瘤细胞或间质细胞产生的化学因子、细胞因子、生长因子等招募到肿瘤处^[1],进一步分化为巨噬细胞,由于该种细胞与肿瘤的发生、生长、浸润、转移等均有密切的关系,因此被称为肿瘤相关巨噬细胞。绝大多数恶性实体瘤均含有大量TAMs,TAMs还能吸引更多的TAMs浸润到肿瘤中,同时也产生许多生长因子、蛋

白酶和细胞因子来使微环境更有利于肿瘤。

1.2 TAMs的功能及亚型

TAMs具有双面功能,它除了有促进肿瘤的一面,还有抗肿瘤的一面。TAMs功能分化主要依赖于肿瘤微环境中的促瘤或抑瘤信号。因此,巨噬细胞对肿瘤的作用不仅依赖于TAMs的数量,还依赖于TAMs不同的功能亚型。按照Th1/Th2二分法,大体上可分为两种主要的类型。M1型巨噬细胞(经典活化细胞)源于IFN- γ 和微生物如LPS的刺激,以高表达IL-12和IL-23,激活I型T细胞反应为特点,对病原微生物和瘤细胞具有细胞毒性作用,表达高水平的ROI,是功能良好的APC细胞。总之,M1型巨噬细胞像战士:它们抵御病毒和微生物的感染、抵抗肿瘤、产生大量炎症因子、激活免疫反应^[2]。另一方面,当刺激物不同时可产生不同的M2型巨噬细胞:当刺激物为IL-4和IL-13时为M2a,当刺激物为免疫复合物/TLR配体时为M2b,当刺激物为IL-10和糖皮质激素时为M2c。M2型巨噬细胞(非经典活化细胞)特征是IL-10^{high} IL-12^{low} IL-1 α ^{high} IL-1 decoyR^{high},分泌CCL17和CCL22,高表达甘露糖、清道夫和半乳糖型受体,可促进伤口愈合但抗原呈递能力差。M2型巨噬细胞像工人,加速清除降解产物,促进血管生成、组织塑型和修复伤口及组织损伤。值得一提的是,M2型巨噬细胞是通过下调M1型巨噬细胞介导的功能来控制炎症反应的^[2-3]。

1.3 TAMs与肿瘤的关系

虽然在早期的体外实验中发现适当的刺激巨噬细胞可使其具有杀伤肿瘤的能力,但现在普遍认为TAMs表现了多种促肿瘤功能,而且多种分子对其均有明显的趋化作用,如CCL2、CCL5、VEGF、TGF- β 、GM-CSF和M-CSF等^[4]。单核细胞被这些分子趋化到肿瘤处并根据肿瘤微环境中的不同信号分化成熟为不同功能亚型的TAMs。TGF- β 、PGE2、IL-6、IL-10和M-CSF可使单核细胞分化成M2型巨噬细胞^[5]。TAMs促肿瘤的功能主要是可以产生一系列生长因子来促进肿瘤的生长、血管的生成,如EGF、TGF- β 和VEGF^[6]。另外,TAMs产生多种蛋白水解酶,如MMPs和组织蛋白酶,这些酶可以降解细胞外基质蛋白,从而利于肿瘤的扩增、移动和侵犯^[7]。此外,TAMs是另一个重要的促肿瘤功能是抑制适应性免疫反应。因此,在大多数肿瘤中,TAMs的数量往往与预后呈负相关。

2 TAMs与结直肠癌的关系

大多数临床研究发现TAMs在结直肠癌中具有抗肿瘤作用,但在部分体外细胞学实验及动物模型中却证实TAMs与肿瘤增殖、进展和转移相关。此外

还有研究发现TAMs对结直肠癌的作用随肿瘤的分期、TAMs在肿瘤中的位置不同而异。

2.1 TAMs在结直肠癌中的抗肿瘤作用

一些研究发现TAMs在结直肠癌中表现出M1型巨噬细胞的特点,通过激活I型T细胞反应发挥抗肿瘤作用。Ong等^[8]在结直肠癌模型中发现TAMs分泌趋化因子趋化T细胞并促进T细胞增殖,激活I型T细胞反应发挥抗肿瘤作用。另外,他们在结直肠肿瘤标本中发现肿瘤浸润T细胞的数量与TAMs的数量呈正相关,进一步证实TAMs在体内扮演了促进炎症反应的角色,通过趋化T细胞并在T细胞的辅助下发挥抗肿瘤的作用。Kinouchi等^[9]研究了52例结直肠癌患者的标本,发现标本中CD14⁺的巨噬细胞主要分布于肿瘤的浸润前缘,CD14⁺的巨噬细胞数量高的患者患者5年生存率更高,因此认为肿瘤浸润前缘大量的CD14⁺的巨噬细胞浸润是预后良好的指标,而且CD14⁺的巨噬细胞是通过激活I型T细胞反应发挥抗肿瘤作用的。

M1型巨噬细胞为经典活化巨噬细胞,可以对肿瘤发挥直接的细胞毒性作用。Forsell等^[10]观察了446例结直肠癌标本,发现肿瘤浸润前缘TAMs的密度与结肠癌患者生存期呈明显正相关。在多因素分析中,TAMs的密度是结肠癌患者的独立预后因素。通过U937结肠癌细胞系在体外进行研究发现,TAMs通过细胞-细胞的接触抑制了肿瘤细胞的生长。

TAMs表型的转化依赖于肿瘤微环境中的促瘤或抑瘤信号,由于微环境中往往既存在促瘤信号又存在抑瘤信号,因此,TAMs也往往呈现出混杂表型。Caras等^[11]的研究发现肿瘤细胞培养上清液可以使巨噬细胞表型发生转化,但是为M1/M2混合型。Zhou等^[12]对结肠癌标本中TAMs亚型进行研究,发现TAMs同时表达了M1和M2的标志物,因此认为结直肠癌中的TAMs既不是单纯的M1,也不是单纯的M2,而是兼而有之。通过多因素分析及单因素分析发现这种表型混杂的TAMs密度是III B期结肠癌独立的预后因素。TAMs密度高的患者根治术后5年生存率达81.0%,而密度低的患者只有48.6%。另外,TAMs密度高的患者较密度低的患者出现肝转移的比例明显减少,根治术后出现肝转移的时间亦明显延长。因此作者认为肿瘤浸润前缘TAMs不仅可以抑制结肠癌肝转移的发生,还可以延长患者的生存期。

2.2 TAMs在结直肠癌中的促肿瘤作用

虽然多数的临床研究发现TAMs抑制结直肠癌的进展,但在体外的细胞学实验及动物模型中却更多的证实TAMs促进了结直肠癌发生、发展和转移,更倾向于发挥M2型巨噬细胞的功能。

Schafer等^[13]发现当巨噬细胞与肠上皮细胞共培养时,可增强肠上皮细胞的迁移性和抗凋亡能力,因此认为巨噬细胞在慢性结肠炎癌变中起到重要的作用。Jedinak等^[14]发现在含有激活巨噬细胞的介质中存在多种细胞因子,诸如IL-1、IL-6、TNF- α 等可明显诱导结肠癌细胞的增殖和迁移。另外,还可以激活NF- κ B并诱导结肠癌细胞产生VEGF进而促进血管生成和肿瘤的进展及转移。Pander等^[15]研究发现在结直肠癌肿瘤中具有大量M2型巨噬细胞,M2型巨噬细胞通过分泌IL-10和VEGF促进肿瘤进展。Liu等^[16]发现TAMs和结肠癌细胞均可分泌大量的CCL20,当将合成的CCL20注入肿瘤处时,可见肿瘤增长明显加快并伴有明显增多的调节T细胞的聚集,但当清除巨噬细胞后发现CCL20明显减少,调节T细胞趋化受到了阻断,肿瘤的生长受到了抑制,因此他们认为TAMs通过分泌CCL20趋化调节T细胞,进而促进肿瘤进展。

Green等^[17]通过模型直接研究CT-26结直肠癌细胞与RAW 264.7巨噬细胞间的细胞因子信号系统。他们发现CT-26与RAW 264.7相互吸引,而且RAW 264.7在CT-26的培养下变得具有高度迁移能力和前伸表型,并且更倾向于M2型巨噬细胞。炎症基因的序列检测和功能检测发现肿瘤来源的M-CSF是RAW 264.7主要的趋化因子。在鸡胚胎转移模型中,CT-26通过分泌M-CSF趋化巨噬细胞浸润到肿瘤组织,并诱导巨噬细胞向M2型巨噬细胞分化,聚集并分化成M2的巨噬细胞再通过分泌化学因子来促进转移的形成。Tai等^[18]发现诱饵受体3(decoy receptor 3, DcR3)可使巨噬细胞向M2型转化。当他们将DcR3转染到结肠癌细胞系CT26后,肿瘤生长明显增快且伴有更多的TAMs浸润。从DcR3转基因小鼠分离出的巨噬细胞可表达更高水平的IL-10、IL-1ra、Ym1以及精氨酸酶的活性,而IL-12、TNF- α 、IL-6、NO等的表达明显下调。同时,DcR3转基因小鼠体内肿瘤生长及扩散明显增快,而这种趋势可以通过精氨酸酶抑制剂消除。这些结果表明,DcR3是通过趋化巨噬细胞并将其诱导为M2型TAMs介导肿瘤进展的。

Kang等^[19]通过免疫组化的方法对结直肠癌的标本进行研究,结果发现瘤内TAMs的数量与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及肿瘤分期明显相关。MMP-2和MMP-9的表达与淋巴结转移及肿瘤分期明显相关。而MMP-2和MMP-9的表达与瘤内TAMs的数量呈明显正相关。当与TAMs共培养时,结直肠癌细胞则表现出更高的侵袭能力及转移能力,同时MMP-2和MMP-9的表达明显升高。因此作者认为肿瘤内

TAMs可增强结直肠癌细胞的侵袭能力,并推测这种能力的获得是TAMs上调了肿瘤细胞MMP-2、MMP-9表达的结果。

2.3 TAMs在结直肠癌中的双重作用

Algars等^[20]研究了159例原发性结直肠癌,发现结直肠癌瘤周M2型巨噬细胞数量与生存期呈正相关,但在IV期结直肠癌中,瘤周M2型巨噬细胞数量与无病生存期呈负相关。另外,瘤内M2型巨噬细胞比例高者较比例低者更容易出现远处转移和复发,因此作者认为TAMs对结直肠癌的作用取决于TAMs的类型、在肿瘤中的位置及肿瘤的分期。Imano等^[21]对41例II期和III期结直肠癌标本进行研究,他们发现肿瘤中心区域的TAMs可促进结直肠癌肝转移的发生,而肿瘤浸润前缘的TAMs可抑制结直肠癌肝转移的发生。究其原因可能是瘤周的巨噬细胞暴露于较少的肿瘤源性细胞因子和相对不乏氧的区域,因此,它们更容易分化成抗肿瘤作用的巨噬细胞,而肿瘤中心区域的TAMs暴露于较多的肿瘤源性细胞因子和相对乏氧的区域,更容易分化成促进血管生成及肿瘤转移的巨噬细胞。

3 小结

尽管TAMs在多种肿瘤中已证实可促进肿瘤的进展和转移,但在大部分结直肠癌的研究中却认为TAMs抑制了肿瘤的进展。但是,临床研究与部分体外细胞学实验和动物模型间还存在一定分歧,可能与TAMs所处肿瘤局部微环境的不同有关。另外,一些研究发现结直肠癌中的TAMs并非是单纯的M1型或M2型,而是兼而有之。因此,研究TAMs对结直肠癌的作用需要综合评定,如TAMs的位置、亚型的数量及比例、肿瘤分期等。总之,TAMs在结直肠癌肿瘤微环境中扮演了重要的角色,但二者的关系还需要我们深化研究进一步证实。

参考文献

- 1 Allavena P, Sica A, Garlanda C, et al. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance[J]. *Immunol Rev*, 2008, 222:155-161.
- 2 Martinez FO, Helming L, Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective[J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27:451-483.
- 3 Pollard JW. Trophic macrophages in development and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(4):259-270.
- 4 Allavena P, Sica A, Solinas G, et al. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2008, 66(1):1-9.
- 5 Laoui D, Movahedi K, Van Overmeire E, et al. Tumor-associated macrophages in breast cancer: distinct subsets, distinct functions[J]. *Int J Dev Biol*, 2011, 55(7-9):861-867.
- 6 Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. *Nature*, 2008, 454(7203):436-444.

- 7 DeNardo DG, Johansson M, Coussens LM. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2008,27(1): 11-18.
- 8 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.
- 9 Kinouchi M, Miura K, Mizoi T, et al. Infiltration of CD14-positive macrophages at the invasive front indicates a favorable prognosis in colorectal cancer patients with lymph node metastasis[J]. *Hepatology*, 2011, 58(106):352-358.
- 10 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):1472-1479.
- 11 Caras I, Tucureanu C, Lerescu L, et al. Influence of tumor cell culture supernatants on macrophage functional polarization: in vitro models of macrophage-tumor environment interaction[J]. *Tumori*, 2011, 97(5):647-654.
- 12 Zhou Q, Peng RQ, Wu XJ, et al. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer[J]. *J Transl Med*, 2010, 8:13.
- 13 Schafer H, Struck B, Feldmann EM, et al. TGF-beta1-dependent L1CAM expression has an essential role in macrophage-induced apoptosis resistance and cell migration of human intestinal epithelial cells.L1D-10.1038/onc.2012.44 [doi] [J]. *Oncogene*, 2012.[Epub ahead of print]
- 14 Jedinak A, Dudhgaonkar S, Sliva D. Activated macrophages induce metastatic behavior of colon cancer cells[J]. *Immunobiology*, 2010, 215(3):242-249.
- 15 Pander J, Heusinkveld M, der Straaten T v, et al. Activation of tumor-promoting type 2 macrophages by EGFR-targeting antibody cetuximab[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(17):5668-5673.
- 16 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.
- 17 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.
- 18 Tai SK, Chang HC, Lan KL, et al. Decoy receptor 3 enhances tumor progression via induction of tumor-associated macrophages[J]. *J Immunol*, 2012, 188(5):2464-2471.
- 19 Kang JC, Chen JS, Lee CH, et al. Intratumoral macrophage counts correlate with tumor progression in colorectal cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2010, 102(3):242-248.
- 20 Algars A, Irjala H, Vaitinen S, et al. Type and location of tumor-infiltrating macrophages and lymphatic vessels predict survival of colorectal cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(4):864-873.
- 21 Imano M, Okuno K, Itoh T, et al. Osteopontin induced by macrophages contribute to metachronous liver metastases incolorectal cancer[J]. *Am Surg*, 2011, 77(11):1515-1520.

(2012-04-09收稿)

(2012-12-18修回)

(本文编辑:王展宏)

· 简 讯 ·

欢迎订阅《白血病·淋巴瘤》杂志

《白血病·淋巴瘤》是由中华人民共和国卫生部主管,中华医学会、山西省肿瘤研究所、山西省肿瘤医院主办的国内唯一专门针对血液系统恶性肿瘤的学术期刊,是中华医学会系列杂志之一,被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等国际著名检索期刊及国内各大检索数据库收录,为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国生物医学核心期刊、中国肿瘤学类核心期刊。主要栏目:专论、基础研究、临床研究、临床经验、讲座、综述、标准与指南、短篇及个案报告、消息等。

《白血病·淋巴瘤》为月刊,大16开,64页,随文插印彩图,每月25日出版。每期定价6元,全年72元。本刊刊号 ISSN 1009-9921 CN 11-5356/R 邮发代号:22-107,国外发行代号 BM4754(中国国际图书贸易集团有限公司),全国各地邮局(所)均可订阅。如邮局订阅延误,可直接汇款至编辑部补订。

联系地址:山西省太原市职工新街3号

邮编:030013

联系电话:0351-4650389,4650386

传真:0351-4651415

E-mail: bxbllbl@163.com、bxbllbl@sina.com

网址: http://www.bxbllbl.com.cn