PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2012, 39(5): 416~422
www.pibb.ac.cn

肝细胞癌的微环境研究进展 *

刘志磊[1, 2)] 孙 薇[1, 2)] 贺福初[2)] 丛宪玲[3)**] 姜 颖[1, 2)**]

([1)] 安徽医科大学研究生学院，合肥 230032；[2)] 军事医学科学院放射与辐射医学研究所，北京蛋白质组研究中心，蛋白质组学国家重点实验室，北京 102206；[3)] 吉林大学中日联谊医院，长春 130031)

摘要 越来越多的研究表明，肿瘤细胞与其周围微环境的交互作用是肿瘤发生、上皮间质转化、肿瘤浸润和转移的关键调节因素．肝细胞癌的微环境可以分为细胞组分和非细胞组分．主要的细胞组分包含：肝星形细胞、肿瘤相关的纤维母细胞、免疫细胞和肝窦内皮细胞等．非细胞组分包含：胞外基质蛋白、酶类、各种生长因子和炎症因子等．综述了近年来肝细胞癌的微环境研究进展，分别从细胞组分和非细胞组分及其之间的相互作用角度对肝细胞癌微环境作一介绍．

关键词 肝细胞癌，肿瘤微环境，组织间隙液
学科分类号 Q5，Q7，R73 **DOI**: 10.3724/SP.J.1206.2011.00383

原发性肝癌是世界上第七种常见的恶性肿瘤，全球癌症死亡率居第三位，在我国为第二位的癌症死因[1-2]．尽管目前在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma，HCC)的诊断和治疗方面有了些新的进展，但它仍然是一个高致死率的慢性疾病．临床上肝细胞癌病人的主要死因是在肿瘤发生发展中伴随着癌细胞的扩散与转移．目前，对于肿瘤发生发展及转移的确切机制仍然未知[2]．

当对于肿瘤细胞自身的研究已经不能阐述肿瘤发生发展和转移的确切机制时，人们把目光放在了肿瘤微环境研究，开始关注由众多非肿瘤细胞及因子组成的微环境对肿瘤发生发展的影响．早在1889年，Stephen Paget提出的“种子与土壤”假说就为肿瘤微环境概念的提出奠定了基础，2003年，Filder在解释癌症转移机制时再次将这一重要概念提出[3]．微环境对于肿瘤细胞而言，是一把双刃剑，正常状态下，组织有自稳性能抑制癌症的发展．癌前期，微环境受到癌细胞分泌的细胞因子等影响，原有的信号通路被破坏，向利于肿瘤细胞生长的方向发展[4]，微环境和肿瘤细胞相互影响，处于动态平衡．因此，研究肿瘤微环境与研究肿瘤细胞同样重要．美国国立癌症研究所(NCI)分别于2004年和2007年发布了两项与肿瘤微环境相关的文件，启动和强化对肿瘤微环境的研究，便于更快地揭示肿瘤与微环境相互作用的特征，达到早日控制肿瘤的目的[5]．通过监测肿瘤微环境成分的变化来监测细胞的动态，对于癌症的预防和靶向治疗是非常重要的手段[6]．本文主要从微环境的角度讨论各个组分对肝细胞癌发生发展的影响，同时考虑了基质细胞与肿瘤细胞之间的双向作用．

1 肝细胞癌微环境的组成

在肝癌的发生、发展和转移过程中，肿瘤细胞所处的微环境发挥了十分重要的作用，并影响着治疗效应[7-8]．肝细胞癌所处的微环境有别于其他肿瘤，是个极其复杂的综合系统，包含数种细胞类型(肿瘤实质细胞、肿瘤相关的成纤维母细胞、肝星形细胞、肝窦内皮细胞和炎症细胞等，图1)，细胞外基质，各种细胞因子(如EGF、VEGF、FGF、TGF-β等)以及其他化学分子[9]，它们的协同作用利于肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移．

* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2011CB910601, 2011CB910700), 国家自然科学基金资助项目(30972909).
** 通讯联系人.
姜 颖. Tel: 010-80725299, E-mail: jiangying304@hotmail.com
丛宪玲. Tel: 0431-89876628, E-mail: congxl888@hotmail.com
收稿日期：2011-08-20，接受日期：2011-12-19

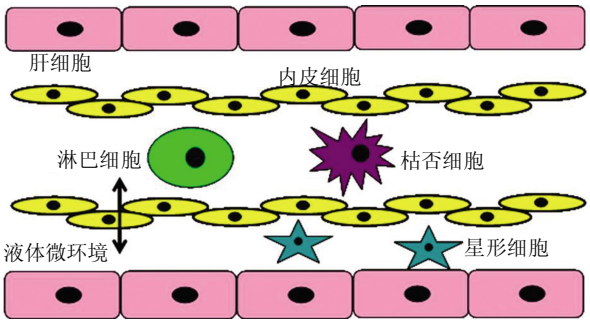

图 1 肝脏组织微环境示意图

Fig. 1 The microenvironment of liver tissue

1.1 微环境中的基质细胞

1.1.1 肿瘤相关的纤维母细胞.

肿瘤相关的纤维母细胞(tumor-associated fibroblasts，TAFs)是多种肿瘤基质中数量较多、分布较广、生物性状已改变了的成纤维细胞，并且在肿瘤与周围基质的相互作用过程中扮演着十分重要的角色，如决定上皮细胞的命运、促进上皮细胞的恶性转变等[10-12]. TAFs 受 TGF-β 的活化，负责细胞外基质中各种蛋白质的合成、降解和重构. 在肿瘤的形成过程中，会伴随炎症细胞浸润、血管密度增加、结缔组织增多及出现活化的成纤维细胞等情况. 在此过程中，正常的纤维母细胞就被诱导为 TAFs[13].

TAFs 发挥作用主要通过细胞因子实现. 不同肿瘤微环境 TAFs 表达的细胞因子也不同，存在于肝细胞癌微环境中的 TAFs 表达的肝细胞生长因子(HGF)[14]，被认为是肿瘤基质相互作用的介导者，通过肌成纤维细胞提高 HCC 细胞的增殖和侵入[15]. HCC 细胞的生长、转移性扩散都依赖于 TAFs 的存在，Fransvea 等[16]发现 HCC 细胞交互性刺激 TAFs 细胞的增殖，证明 TAFs 在肝癌细胞与基质相互作用的过程中发挥重要作用.

1.1.2 肝星形细胞.

肝星形细胞(hepatic stellate cells，HSCs)又称伊藤细胞或窦周细胞，是肝脏中合成胶原的主要细胞类型[17]. 在正常的情况下，肝星形细胞处于休眠状态，在肝受损时被激活，并且定向分化成肌成纤维样细胞，如果肝脏的损伤持续，后果则是导致肝纤维化的形成[18]. 活化的肝星形细胞衰老则限制肝纤维化的发生[19]. 在肝纤维化形成过程中，活化的肝星形细胞会产生大量的胞外基质(ECM)蛋白(包括 a-SMA 等)[20-21]，并且能够浸润肝肿瘤周围的基质，围绕窦状腺形成一个纤维网络[22].

在肝细胞癌形成过程中，癌细胞与 HSCs 之间的交互作用已经被证实. Faouzi 等[23]通过实验证明，HSCs 的募集和活化是在肝癌细胞的控制下发生的，因为鼠肝癌细胞的条件培养基可以介导鼠 HSCs 细胞的活化. HSCs 一旦活化，又能反过来促进 HCC 细胞的增殖，Amann 等[24]发现，培养过 HSCs 的条件培养基能够使 HCC 细胞发生增殖和转移. 此外，将 HSCs 和 HCC 细胞共同植入裸鼠体内，HSCs 能刺激肿瘤的增长和侵入，并抑制凋亡.

1.1.3 肿瘤相关的免疫细胞：淋巴细胞(lymphocytes)和枯否细胞(kuffer cells，KCs).

炎症免疫微环境是肿瘤发生发展的重要调节因素，其微环境中存在多种免疫细胞及抑制因子. 就 HCC 而言，炎症免疫微环境能够通过肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte，TILs)的活化和增殖控制 HCC 的发生发展. 在 HCC 不同的 TNM 时期，调节性 T(Treg)细胞的频繁增加可能在调节 HCC 的免疫反应中起重要作用[25]，其分泌到微环境中的产物，能够募集 CD4+CD25+ Treg 细胞到肿瘤的部位，促进 HCC 细胞生长，提高 HCC 生存率[26]. 另外，Li 等[27]研究发现，CD4+CD25hi Treg 细胞在 HCC 组织中浓度很高，表明 HCC 局部肿瘤微环境可能通过抑制 DC 细胞的分化和成熟，促进 Treg 细胞的产生. NKT 细胞的密度增高也与 HCC 细胞的凋亡和增殖速率降低相关[25].

在肝细胞癌的肿瘤微环境中，另一种比较重要的免疫细胞当数 KCs. KCs 可被看作是定居于肝脏的清道夫细胞，属于一类特殊的巨噬细胞，可通过吞噬及分泌细胞因子等形式在肿瘤免疫中发挥积极作用. KCs 在肝脏损伤或炎症时被激活，释放大量超氧化物，对肝细胞及其基因能产生毒性，也能够产生 IL-6，导致肝细胞的损伤和补偿性增殖，从而刺激 HCC 的产生和发展[28]. 肝肿瘤微环境中的 KCs 属于肿瘤相关的巨噬细胞(tumor-associated macrophages，TAMs)，KCs 能分泌肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor，TNF)，实现对肿瘤细胞的杀伤作用[29]. 肝肿瘤微环境中的 KCs 在位置上与肝实质细胞毗邻，体外研究发现，有肝细胞存在时，KCs 杀伤肿瘤细胞的能力比其单独存在时大大增强. 将肝细胞与 KCs 共同培养，上清液中所含 TNF 的量增加[30]，提示肝细胞能促进 KCs 释放 TNF.

1.1.4 肝窦内皮细胞.

肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells，LSECs)是一种特殊的上皮细胞，是肝脏中除 KCs 及 DCs 外，第三种抗原递呈细胞．在 HCC 组织和正常的肝组织中，内皮细胞存在分子表型和功能上的差异，肿瘤相关的内皮细胞能够快速地循环、活力增强、迁移、参与肝癌中窦壁毛细血管化的形成，并且高表达 CD105 和 TGF-β1，促进肿瘤的发生[31]．有报道称内皮细胞中的血小板衍生生长因子受体 α (platelet-derived growth factor receptor α，PDGFRα)的表达与肝细胞癌发展和转移相关[32-33]．肝损伤或癌变时，上皮间质转化(epithelial mesenchymal transitions，EMT)会作为病理学反应发生[34]，EMT 是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程．肝细胞可以通过 EMT 形成成纤维细胞．对转基因小鼠的谱系追踪表明，肝细胞在 CCL_4 介导的肝纤维化过程中也经历 EMT 过程[35]，来自肝硬化的细胞也呈现 EMT 的特征，暗示其可能参与 HCC 的发生过程[36]．

HCC 细胞可导致其微环境理化性质、成分构成等发生改变，形成一个有利于其生长的微环境．微环境也可反过来影响 HCC 从发生到转移的全过程，二者相互作用贯穿 HCC 细胞生长的始终，这种动态平衡构成了整个微环境的基础[37]．

1.2 肝细胞癌微环境中的非细胞成分

1.2.1 胞外基质.

胞外基质(extracellular matrix，ECM)是由细胞分泌于胞外空间的蛋白质和多糖等大分子所构成的错综复杂的网络．ECM 属于结缔组织，为细胞的生存及活动提供适宜的场所．ECM 大致由胶原蛋白、蛋白聚糖、黏连蛋白和整合素等四大类分子组成，ECM 对 HCC 发生发展的影响体现在这四类分子的表达上面．胶原蛋白作为 ECM 中最丰富的蛋白质，对细胞提供结构性支持的同时，也能促进 HCC 细胞的迁移和增殖，例如， Let-7g(一个抑制肿瘤的 miRNA)能够下调Ⅰ型胶原 α2 链(COL1A2)的表达，抑制 HCC 细胞的迁移和生长[38]．蛋白聚糖的重要作用是维持组织的结构框架，在胞外基质中储存生长因子．肝素(heparin)、硫酸软骨素(chondroitin sulfate)和硫酸角质素(keratan sulfate)是 ECM 中主要的蛋白聚糖类型．PI-88 是硫酸肝素的一种，它能够通过抑制血管生长而抑制 HCC 细胞生长及转移，用于切除后 HCC 的治疗，目前已经进入二期临床研究[39]．层黏连蛋白(laminin，Ln)是 ECM 中的细胞黏附蛋白．Ln-5 表达在 HCC 的病灶区，它的表达与 HCC 的转移正相关[40]，Ln-5 也能辅助于整合素 α3β1 和 α6β4 介导的 HCC 细胞的黏附、增殖、转移[41]．整合素是细胞表面受体蛋白，过表达的 β1 整合素有抑制 HCC 细胞增殖和促进凋亡的作用[42]，而 α3β1 整合素的过表达与 HCC 细胞的迁移和侵入正相关[41].

肝脏细胞通过 ECM 行使多种功能，两者相互依存，打破了人们一直认为的细胞外基质只是作为结缔组织细胞支架的看法．如上论述，如果 ECM 的结构和功能异常，会导致组织和器官的纤维化、肿瘤恶变等，因此，ECM 和细胞同样重要[43].

1.2.2 液体微环境.

胞外液体又被分为间隙液和外周血液，可以分别被定义为微环境(microenvironment)和大环境(macroenvironment)．狭义上讲，微环境局限在间隙液中，即围绕和浸润组织的液体环境．肿瘤细胞存在于体液外环境和细胞外环境之中，形成了自己特有的液体微环境(tissue interstitial fluid，TIF)，并通过 TIF 与周围细胞和血液等循环外液之间进行物质和信息交换[44]．如果肝脏中有癌变，肝癌细胞分泌或脱落，癌症相关的蛋白质就会进入 TIF 中[45]，故 TIF 中组织特异性蛋白的浓度相当高，所以关注 TIF 不仅会对肿瘤的发生机制提供有益的信息，还为肿瘤标志物的寻找提供了新的思路，有较好的结合前景.

目前对于 TIF 的研究还处于初级阶段，除肝细胞癌[46]外，在其他肿瘤[47]方面也有研究报道．肝肿瘤微环境的非细胞组分，即在 ECM 和液体微环境中，包含生长因子、蛋白酶类、免疫因子等多种细胞因子，它们在 HCC 发生发展转移过程中发挥了关键性的作用．下面简要介绍几种重要的分子.

转化生长因子 β(transforming growth factor-β，TGF-β)在肿瘤中的过表达与肿瘤的发生、转移、血管生成紧密相关[48-49]．正常情况下，TGF-β 潜藏在 ECM 中，经 MMP-2、MMP-9 活化，肝纤维化时 TGF-β 的表达量显著性提高，诱导肝星形细胞的增殖和胶原的产生[35]．TGF-β 也能通过活化 PDGF 信号通路，利于 EMT 过程[50]．有趣的是，TGF-β 在 HCC 发病过程中起双重作用，恶化前期抑制细胞的增殖并激发凋亡信号，后期促进肝肿瘤发展[51].

在众多生长因子中，研究最多的是血管内皮生

长因子(vascular endothelial growth factor，VEGF)，肝肿瘤微环境中的 VEGF 是由癌细胞分泌，表达定位在肝癌细胞胞浆内，并且通过旁分泌方式作用于内皮细胞，促进内皮细胞增长．在炎症条件下，NF-κB 信号通路被活化，进而提高 VEGF 的表达．VEGF 的过表达还可能与低氧的肿瘤微环境有关[52]，VEGF 和 VEGFR 分别在 HCC 细胞系、组织及 HCC 病人血清中被发现[53]．此外，VEGF 高表达在肝硬化和发育异常的肝组织中，表明在肝细胞癌发生时，VEGF 可能介导血管发生[54]．

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase，MMP)及其抑制剂(TIMP)共同调节细胞外基质和肿瘤微环境，MMPs 能导致组织重构、炎症反应及肿瘤细胞的生长、迁移、浸润和转移，也是肿瘤微环境的主要调节者，在 HCC 肿瘤发生中起了十分重要的作用[55]．MMP-9 高表达在 HCC 中，促进 HCC 细胞的血管发生[56]，其高表达与 PI3K/PTEN/AKT/mTOR 信号通路有关[57]，同时抑制 HCC 细胞中的凋亡信号．其实 MMPs 对血管生成的作用是双重的，MMP2、MMP9 能正向调节血管生成，这两种基质金属蛋白酶是肿瘤血管生成的关键[58]．

由慢性肝损伤造成的炎症环境对肝纤维化乃至 HCC 的形成具有促进作用，炎症因子如 TNF-α、IL 家族某些成员(IL-6，-17)是 HCC 发生的很好的介导者，TNF-α 的表达量增高与肝炎症反应、组织坏死密切相关[59]．IL-12 高表达于 HCC 中，提示 IL-12 可能在 HCC 发生过程中发挥重要作用, IL-12 基因的过表达被视为 HCC 的预后标志物[60-61]．IL-17 在肿瘤内累积，通过引起血管发生而促进肿瘤的发展，IL-17 同样可以被看作是 HCC 的一个潜在的预后标志物和新的治疗靶点[62]．

2 肝细胞癌易转移的微环境与转移关系

靶器官的微环境对肿瘤转移灶的形成是至关重要的．越来越多的证据表明，EMT 过程是肿瘤侵袭和转移早期的重要过程，可以说是 EMT 赋予了癌细胞转移能力，这是一个允许细胞获得运动的发育过程，使癌细胞离开初始肿瘤，内渗到血管中生存．

Kaplan 等[63]提出“转移前环境 (pre-metastatic niche)假说”，认为癌细胞到达靶器官之前，首先会释放若干因子，来激活含血管内皮生长因子受体 1 (VEGFR1)的造血干细胞(hematopoietic progenitor cells，HPCs)，癌细胞再释放出 VEGF 等因子，指挥 HPCs 先于癌细胞到达靶器官，营造一个适宜癌细胞转移灶生存及增殖的微环境[64]．由于扩散的肿瘤细胞与特定部位微环境之间的相互作用，使得恶性肿瘤在第二器官发展为转移灶．转移的部位是有器官特异性的，这可能与器官本身的特性或一些与细胞移动及黏附相关的蛋白质相关[63-64]．肿瘤“转移前环境”假说的提出非常有助于揭示癌症转移的机制，也为肿瘤转移的临床治疗提供了新的思路[65]．

不同肿瘤的转移对不同靶器官的亲和力不同，肝细胞癌由于其组织结构的特点，容易发生早期转移，常先有肝内播散，然后出现肝外转移．肝内转移通常为门静脉癌栓、肝静脉癌栓、胆管内生长等，肝外转移通常至肺、骨、颅内等部位．Budhu 等[66]证明了一个与转移性肝癌患者的癌旁肝组织相关的独有的炎症 / 免疫反应相关信号，这个信号是有别于肝肿瘤本身的．大量的 Th1/Th2 样的细胞因子转入静脉转移相关的肝脏微环境中，同时伴随着巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor，CSF1)的高表达．此外，从相关的信号中筛选出 17 个基因，仅仅通过检查癌旁肝组织中 17 个基因的表达就能够区分有 HCC 静脉转移的病人．同时他们也对这 17 个基因进行了验证，成为很好的肝癌静脉转移的预测物．Zheng 等[67]研究发现，HCC 的肝内转移非常依赖于其所处的微环境．转移抑制基因 nm23-H1 mRNA 的下调表达，暗示 nm23- 阴性的有高转移潜能的 HCC 细胞会优先增殖，这样就能更好地适应微环境．针对肝细胞癌转移相关微环境的研究报道不是很多，未来将仍是研究的热点．

3 展　望

目前，针对微环境的肿瘤预防和治疗也是研究热点[68-69]．整体来讲，人们对于肝细胞癌微环境的认识还相当不够，在肝细胞癌微环境中，何种细胞分泌哪类蛋白质，在如此庞大的微环境网络中发挥怎样的作用，并不是十分透彻．目前，国际上虽已建立了 3-D 体外拟生态培养系统[70-71]，但仍无法将体内整个微环境的变化情况精确地反映出来，研究多集中在两种细胞的相互作用上．通过系统生物学的手段，寻找 HCC 发生发展过程中的特异蛋白质及其之间的相互作用，有利于解开这些难点，促使肝细胞癌的发生发展机制的研究更加清晰．

参 考 文 献

[1] Parkin D M, Bray F, Ferlay J, *et al*. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin, 2005, **55**(2):74-108

[2] Yang J D, Roberts L R. Hepatocellular carcinoma: A global view. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010, **7**(8): 448-458

[3] Fidler I J. The pathogenesis of cancer metastasis: The 'seed and soil' hypothesis revisited. Nat Rev Cancer, 2003, **3**(6): 453-458

[4] Bissell M J, Hines W C. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. Nat Med, 2011, **17**(3): 320-329

[5] Sogn J A, Anton-Culver H, Singer D S. Meeting report: NCI think tanks in cancer biology. Cancer Res, 2005, **65**(20): 9117-9120

[6] Mbeunkui F, Johann D J, Jr. Cancer and the tumor microenvironment: A review of an essential relationship. Cancer Chemother Pharmacol, 2009, **63**(4): 571-582

[7] Liotta L A, Kohn E C. The microenvironment of the tumour-host interface. Nature, 2001, **411**(6835): 375-379

[8] Joyce J A, Pollard J W. Microenvironmental regulation of metastasis. Nat Rev Cancer, 2009, **9**(4): 239-252

[9] Hede K. Environmental protection: studies highlight importance of tumor microenvironment. J Natl Cancer Inst, 2004, **96**(15): 1120-1121

[10] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer, 2006, **6**(5): 392-401

[11] Xing F, Saidou J, Watabe K. Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. Front Biosci, 2010, **15**: 166-179

[12] Overall C M, Kleifeld O. Tumour microenvironment - opinion: validating matrix metalloproteinases as drug targets and anti-targets for cancer therapy. Nat Rev Cancer, 2006, **6**(3): 227-239

[13] Coussens L M, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature, 2002, **420**(6917): 860-867

[14] Pietras K, Ostman A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. Exp Cell Res, 2010, **316**(8): 1324-1331

[15] Neaud V, Faouzi S, Guirouilh J, *et al*. Human hepatic myofibroblasts increase invasiveness of hepatocellular carcinoma cells: evidence for a role of hepatocyte growth factor. Hepatology, 1997, **26**(6): 1458-1466

[16] Fransvea E, Mazzocca A, Antonaci S, *et al*. Targeting transforming growth factor (TGF)-betaRI inhibits activation of beta1 integrin and blocks vascular invasion in hepatocellular carcinoma. Hepatology, 2009, **49**(3): 839-850

[17] Friedman S L, Roll F J, Boyles J, *et al*. Hepatic lipocytes: The principal collagen-producing cells of normal rat liver. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, **82**(24): 8681-8685

[18] Wynn T A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. J Pathol, 2008, **214**(2): 199-210

[19] Krizhanovsky V, Yon M, Dickins R A, *et al*. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. Cell, 2008, **134**(4): 657-667

[20] Friedman S L. Liver fibrosis——from bench to bedside. J Hepatol, 2003, **38**(Suppl 1): S38-53

[21] Sokolovic A, Sokolovic M, Boers W, *et al*. Insulin-like growth factor binding protein 5 enhances survival of LX2 human hepatic stellate cells. Fibrogenesis Tissue Repair, 2010, **3**: 3

[22] Dubuisson L, Lepreux S, Bioulac-Sage P, *et al*. Expression and cellular localization of fibrillin-1 in normal and pathological human liver. J Hepatol, 2001, **34**(4): 514-522

[23] Faouzi S, Lepreux S, Bedin C, *et al*. Activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes. Lab Invest, 1999, **79**(4): 485-493

[24] Amann T, Bataille F, Spruss T, *et al*. Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. Cancer Sci, 2009, **100**(4): 646-653

[25] Chew V, Tow C, Teo M, *et al*. Inflammatory tumour microenvironment is associated with superior survival in hepatocellular carcinoma patients. J Hepatol, 2010, **52**(3): 370-379

[26] Shen X, Li N, Li H, *et al*. Increased prevalence of regulatory T cells in the tumor microenvironment and its correlation with TNM stage of hepatocellular carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, **136**(11): 1745-1754

[27] Li L, Li S P, Min J, *et al*. Hepatoma cells inhibit the differentiation and maturation of dendritic cells and increase the production of regulatory T cells. Immunol Lett, 2007, **114**(1): 38-45

[28] Roberts R A, Ganey P E, Ju C, *et al*. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. Toxicol Sci, 2007, **96**(1): 2-15

[29] Karck U, Peters T, Decker K. The release of tumor necrosis factor from endotoxin-stimulated rat Kupffer cells is regulated by prostaglandin E2 and dexamethasone. J Hepatol, 1988, **7**(3): 352-361

[30] Lysz T W, Billiar T R, Curran R D, *et al*. Kupffer cell-hepatocyte interactions and the changes in 1-14C-arachidonate incorporation in response to endotoxin *in vitro*. Prostaglandins, 1990, **39**(5): 497-514

[31] Benetti A, Berenzi A, Gambarotti M, *et al*. Transforming growth factor-beta1 and CD105 promote the migration of hepatocellular carcinoma-derived endothelium. Cancer Res, 2008, **68**(20): 8626-8634

[32] Zhang T, Sun H C, Xu Y, *et al*. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in endothelial cells of hepatocellular carcinoma associated with high metastatic potential. Clin Cancer Res, 2005, **11**(24 Pt 1): 8557-8563

[33] Oseini A M, Roberts L R. PDGFRalpha: A new therapeutic target in the treatment of hepatocellular carcinoma?. Expert Opin Ther Targets, 2009, **13**(4): 443-454

[34] Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, *et al*. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. Cell, 2009, **139**(5): 871-890

[35] Nitta T, Kim J S, Mohuczy D, *et al*. Murine cirrhosis induces hepatocyte epithelial mesenchymal transition and alterations in survival signaling pathways. Hepatology, 2008, **48**(3): 909-919

[36] Zeisberg M, Bottiglio C, Kumar N, *et al*. Bone morphogenic protein-7 inhibits progression of chronic renal fibrosis associated

with two genetic mouse models. Am J Physiol Renal Physiol, 2003, **285**(6): F1060−1067

[37] Yang J D, Nakamura I, Roberts L R. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: Current status and therapeutic targets. Semin Cancer Biol, 2011, **21**(1): 35−43

[38] Ji J, Zhao L, Budhu A, *et al*. Let-7g targets collagen type I alpha2 and inhibits cell migration in hepatocellular carcinoma. J Hepatol, 2010, **52**(5): 690−697

[39] Liu C J, Lee P H, Lin D Y, *et al*. Heparanase inhibitor PI-88 as adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma after curative resection: A randomized phase Ⅱ trial for safety and optimal dosage. J Hepatol, 2009, **50**(5): 958−968

[40] Giannelli G, Fransvea E, Bergamini C, *et al*. Laminin-5 chains are expressed differentially in metastatic and nonmetastatic hepatocellular carcinoma. Clin Cancer Res, 2003, **9**(10 Pt 1): 3684−3691

[41] Mizuno H, Ogura M, Saito Y, *et al*. Changes in adhesive and migratory characteristics of hepatocellular carcinoma (HCC) cells induced by expression of alpha3beta1 integrin. Biochim Biophys Acta, 2008, **1780**(3): 564−570

[42] Wu Y, Zuo J, Ji G, *et al*. Proapoptotic function of integrin beta(3) in human hepatocellular carcinoma cells. Clin Cancer Res, 2009, **15**(1): 60−69

[43] 宋今丹, 杨 怡, 李 丰. 医学细胞生物学(第三版). 人民卫生出版社, 北京: 2004: 88−92
Song J D, Yang Y, Li F. Medical Cell Biology (3th edition). Beijing: People Health Press, 2004: 88−92

[44] Wiig H, Tenstad O, Iversen P O, *et al*. Interstitial fluid: The overlooked component of the tumor microenvironment?. Fibrogenesis Tissue Repair, 2010, **3**: 12

[45] Celis J E, Gromov P, Cabezon T, *et al*. Proteomic characterization of the interstitial fluid perfusing the breast tumor microenvironment: A novel resource for biomarker and therapeutic target discovery. Mol Cell Proteomics, 2004, **3**(4): 327−344

[46] Sun W, Ma J, Wu S, *et al*. Characterization of the liver tissue interstitial fluid (TIF) proteome indicates potential for application in liver disease biomarker discovery. J Proteome Res, 2010, **9**(2): 1020−1031

[47] Teng P N, Bateman N W, Hood B L, *et al*. Advances in proximal fluid proteomics for disease biomarker discovery. J Proteome Res, 2010, **9**(12): 6091−6100

[48] Bacon A L, Farrington S M, Dunlop M G. Mutation frequency in coding and non-coding repeat sequences in mismatch repair deficient cells derived from normal human tissue. Oncogene, 2001, **20**(51): 7464−7471

[49] Ikushima H, Miyazono K. TGFbeta signalling: A complex web in cancer progression. Nat Rev Cancer, 2010, **10**(6): 415−424

[50] van Zijl F, Mair M, Csiszar A, *et al*. Hepatic tumor-stroma crosstalk guides epithelial to mesenchymal transition at the tumor edge. Oncogene, 2009, **28**(45): 4022−4033

[51] Yang L, Pang Y, Moses H L. TGF-beta and immune cells: An important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. Trends Immunol, 2010, **31**(6): 220−227

[52] Bangoura G, Liu Z S, Qian Q, *et al*. Prognostic significance of HIF-2alpha/EPAS1 expression in hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol, 2007, **13**(23): 3176−3182

[53] Poon R T, Ho J W, Tong C S, *et al*. Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with hepatocellular carcinoma. Br J Surg, 2004, **91**(10): 1354−1360

[54] El-Assal O N, Yamanoi A, Soda Y, *et al*. Clinical significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: Possible involvement of vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of cirrhotic liver. Hepatology, 1998, **27** (6): 1554−1562

[55] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. Cell, 2010, **141**(1): 52−67

[56] Bergers G, Brekken R, McMahon G, *et al*. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. Nat Cell Biol, 2000, **2**(10): 737−744

[57] Chen J S, Wang Q, Fu X H, *et al*. Involvement of PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway in invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma: Association with MMP-9. Hepatol Res, 2009, **39** (2): 177−186

[58] Masson V, de la Ballina L R, Munaut C, *et al*. Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes. FASEB J, 2005, **19**(2): 234−236

[59] Sato T, Asanuma Y, Masaki Y, *et al*. Changes in tumor necrosis factor-a and interleukin-1 beta production following liver surgery on cirrhotic patients. Hepatogastroenterology, 1996, **43**(11): 1148−1153

[60] Ikeguchi M, Hirooka Y. Interleukin-2 gene expression is a new biological prognostic marker in hepatocellular carcinomas. Onkologie, 2005, **28**(5): 255−259

[61] Budhu A, Wang X W. The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. J Leukoc Biol, 2006, **80**(6): 1197−1213

[62] Zhang J P, Yan J, Xu J, *et al*. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. J Hepatol, 2009, **50**(5): 980−989

[63] Kaplan R N, Riba R D, Zacharoulis S, *et al*. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. Nature, 2005, **438**(7069): 820−827

[64] Kaplan R N, Psaila B, Lyden D. Bone marrow cells in the 'pre-metastatic niche': within bone and beyond. Cancer Metastasis Rev, 2006, **25**(4): 521−529

[65] 齐菲菲, 贺福初, 姜 颖. 肿瘤转移研究的现状与趋势. 生物化学与生物物理进展, 2009, **36**(10): 1244−1251
Qi F F, He F C, Jiang Y. Prog Biochem Biophys, 2009, **36** (10): 1244−1251

[66] Budhu A, Forgues M, Ye Q H, *et al*. Prediction of venous metastases, recurrence, and prognosis in hepatocellular carcinoma based on a unique immune response signature of the liver microenvironment. Cancer Cell, 2006, **10**(2): 99−111

[67] 郑晓男, 林芷英, 刘银坤. 原位微环境与 nm23-H1、H-ras mRNA 量及肝癌内转移的关系. 中华肿瘤杂志, 1998, **20**(1): 15-17
Zheng X N, Lin Z, Liu Y. Chin J Oncology, 1998, **20**(1): 15-17
[68] Albini A, Sporn M B. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. Nat Rev Cancer, 2007, **7**(2): 139-147
[69] Antonaci S, Giannelli G. Rationale for new drugs targeting the tissue microenvironment in patients with HCC. Curr Pharm Des, 2007, **13**(32): 3288-3291
[70] Liu T, Lin B, Qin J. Carcinoma-associated fibroblasts promoted tumor spheroid invasion on a microfluidic 3D co-culture device. Lab Chip, 2010, **10**(13): 1671-1677
[71] Fischbach C, Chen R, Matsumoto T, *et al*. Engineering tumors with 3D scaffolds. Nat Methods, 2007, **4**(10): 855-860

Status and Development of The Tumor Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma*

LIU Zhi-Lei[1,2], SUN Wei[1,2], HE Fu-Chu[2], CONG Xian-Ling[3)**], JIANG Ying[1,2)**]

([1] *Anhui Medicial University Graduate Department, Heifei* 230032, China;
[2] *State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing* 102206, China;
[3] *China-Japan Union Hospital, Jilin University, Changchun* 130031, China)

Abstract A large quantity of literature highlights the interaction between tumor cells and the surrounding microenvironment which is a very important modulator of the processes in hepatocarcinogenesis. The microenvironment of hepatocellular carcinoma (HCC) can be obviously classified into cellular and produced non-cellular components, including hepatic stellate cells, tumor associated fibroblasts, immune cells and sinusoidal endothelial cells, extracellular matrix (ECM) proteins, growth factors and inflammatory cytokines which play an important role in the development and metastasis of HCC. In this review, we discuss the current cross-talk about the tumor microenvironment and tumor cells in pathogenesis of HCC.

Key words hepatocellucar carcinoma, tumor microenvironment, tissue interstitial fluid (TIF)
DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00383

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2011CB910601, 2011CB910700) and The National Natural Science Foundation of China (30972909).
**Corresponding author.
Jiang Ying. Tel: 86-10-8072529, E-mail: jiangying304@hotmail.com
Cong Xian-Ling. Tel: 86-431-89876628, E-mail: congxl888@hotmail.com
Received: August 20, 2011 Accepted: December 19, 2011