

浸润性中性粒细胞在促进肿瘤进展中的作用*

武庆¹⁾ 周海梦^{1, 2)} 李旭辉^{2)**}

(¹⁾ 浙江工业大学, 杭州 310000; ²⁾ 浙江清华长三角研究院, 嘉兴 314006)

摘要 中性粒细胞是机体外周血中数量最多的白细胞, 在人体非特异性免疫系统中发挥着十分重要的作用。早期的研究认为, 中性粒细胞能通过分泌细胞因子和产生活性氧等物质杀伤肿瘤。然而随着研究的深入, 发现肿瘤微环境中的中性粒细胞对肿瘤的发展起到促进的作用。浸润性中性粒细胞产生的细胞因子和趋化因子能影响肿瘤微环境中炎症细胞的招募和激活, 为肿瘤的发展提供良好的免疫抑制微环境, 调控肿瘤的生长、转移和血管生成, 还在肿瘤患者预后评估方面发挥着重要的作用。

关键词 肿瘤微环境, 肿瘤浸润性中性粒细胞, 肿瘤转移, 血管生成

学科分类号 R73/Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0003

1 中性粒细胞简介

中性粒细胞由骨髓造血干细胞产生, 在骨髓中分化发育, 进入血液或组织中, 是机体外周血中数量最多的白细胞, 占外周血白细胞数量的 50%~70%。中性粒细胞直径为 10~12 μm 。细胞核呈弯曲杆状(马蹄铁形)或分叶状, 染色较深, 分叶核一般 2~5 叶, 叶间常有纤细的缩窄, 所以也常被称为多形核白细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)。中性粒细胞是人体主要的抵御病原体入侵的免疫细胞, 在非特异性免疫系统中发挥着重要作用。

当感染发生时, 中性粒细胞能够清除入侵机体的病原微生物, 并处于机体抵御微生物病原体特别是化脓性细菌入侵的第一线。中性粒细胞中含有众多溶酶体酶, 能够把吞噬入细胞中的细菌和组织碎片分解, 将被细菌感染的细胞局限在局部组织, 通过消灭病原微生物和防止病原微生物在机体内扩散起到抗感染的作用^[1]。

除了在抗感染中起到的重要防御作用外, 中性粒细胞还能引起感染部位的炎症反应。当机体发生炎症时, 中性粒细胞被趋化性物质吸引至炎症部位, 通过糖酵解途径获得能量使其能够在血流不畅、缺氧等炎症部位生存, 并在此发挥细胞毒性作

用。中性粒细胞的细胞膜能释放一种不饱和脂肪酸——花生四烯酸。花生四烯酸在酶的作用下继续生成旁分泌激素物质, 如前列腺素和血栓素等, 这类物质除调节血管口径和通透性之外, 还能引起炎症反应和疼痛, 影响血液凝固。

此外, 中性粒细胞对许多趋化性介质(如组织损伤释放物、细菌内毒素、IL-8 等)非常敏感。在此类物质的作用下, 中性粒细胞从血管中迅速渗出, 进入到机体的各部位, 利用其吞噬和细胞毒性作用来清除有害微生物, 同时释放细胞因子来增强机体抗感染能力, 起到免疫监视的作用^[2]。中性粒细胞还参与寄生虫感染引发的变态反应, 引起机体的免疫病理损伤。

近年来的研究表明, 除了在人体的非特异性免疫系统中发挥作用外, 中性粒细胞对肿瘤发展也起到一定的促进作用。中性粒细胞在被肿瘤微环境招募后, 在肿瘤微环境所释放的细胞因子和趋化因子

* 国家自然科学基金(31170732, 31270854), 浙江省自然科学基金(LY14C060002), 嘉兴市科技计划(2014AY21022), 浙江省高校生物学重中之重学科开放基金和萧山区科技项目(2012121)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0573-82586633, E-mail: lixuhui_2013@tsinghua.org.cn

收稿日期: 2015-01-04, 接受日期: 2015-04-14

的作用下, 其特性会发生改变, 释放细胞因子和酶类物质影响肿瘤微环境中炎症细胞的招募和激活, 为肿瘤发展创造一个良好的免疫抑制微环境, 促进肿瘤生长、转移和血管生成, 在肿瘤患者预后评估方面也发挥着重要的作用。

2 肿瘤微环境和肿瘤浸润性中性粒细胞

2.1 肿瘤微环境

对于多数实体肿瘤来说, 肿瘤组织中的肿瘤细胞与多种间质细胞共存, 这些间质细胞甚至可能占据肿瘤组织的大多数。早在 1889 年, 英国外科医生 Steven Paget^[3]就提出, 乳腺癌与其所处的微环境关系如同“种子和土壤”。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)可分为两部分: 癌细胞和它周围的基质, 后者由包括免疫细胞、微血管细胞、淋巴内皮细胞和成纤维细胞在内的多种细胞和可溶性因子、信号分子以及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等组成^[4-9]。肿瘤的发展不仅仅取决于肿瘤细胞本身, 它与肿瘤细胞所处的环境密切相关, 肿瘤微环境与肿瘤细胞相互作用, 形成内稳态, 为肿瘤提供生存、增殖的土壤。肿瘤微环境也可控制肿瘤细胞的进展, 使之处于休眠状态; 为了适应肿瘤微环境的变化, 肿瘤细胞也需要进行遗传和适应性改变。因此, 肿瘤的发生发展并非由上皮细胞或肿瘤微环境单方面决定, 而是由二者相互作用所构成的肿瘤——宿主界面微环境的平衡状态所决定。TME 中肿瘤相关的免疫作用由多种免疫细胞互作来实现, 如 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞以及包括巨噬细胞、肥大细胞在内的髓细胞^[10-11]。免疫系统在肿瘤发生发展中发挥双重作用: 一方面攻击肿瘤细胞抑制肿瘤生长; 另一方面, 可以筛选适应肿瘤微环境的细胞, 或在肿瘤细胞的“驯化”下逐渐建立起适宜的肿瘤微环境, 促进肿瘤发展^[12]。

然而早期对于肿瘤的研究主要集中于遗传变异等肿瘤细胞固有的特性上, 忽略了 TME 对于肿瘤发展的影响。2011 年 11 月, 美国癌症研究联合会(American Association for Cancer Research, AACR)召开会议, 对 TME 做出新的定义并明确提出 TME 能促进恶性肿瘤的形成, 促进肿瘤生长和侵袭, 保护肿瘤细胞免受机体免疫系统的损伤^[13-14]。此外, 还有研究指出, TME 参与实体瘤对化疗的抗性过程^[15-18]。通常肿瘤对抗癌药物的抗性被归因于肿瘤细胞自身功能性基因突变、基因扩增和表观遗传学变异等, 这些变化影响基因编码蛋白的表达, 进而

影响单个细胞对药物的吸收、代谢和输出, 却忽略了由于 TME 中存在的异质性造成各类细胞在增殖速率上和缺氧、酸度等条件上的差异, 导致肿瘤细胞对于药物敏感性的不同。总的来说, 肿瘤的发展不仅是癌细胞内源性的变化, 同时也包括肿瘤所处微环境所赋予的改变。

2.2 肿瘤浸润性中性粒细胞

作为人外周血中数量最多的淋巴细胞, 中性粒细胞在抵御病原体入侵方面发挥重要作用。由于其细胞寿命短、终端分化等原因, 它在肿瘤相关炎症方面的作用一直未得到足够的重视。在肿瘤发展的过程中, 肿瘤微环境会发生一系列复杂的变化, 其中包括免疫应答反应和多种免疫细胞的浸润, 尤其是占很大比例的中性粒细胞, 影响着肿瘤的起始和发展进程^[19-20]。

中性粒细胞主要浸润于上皮肿瘤中。根据王婷婷等^[21]的研究, 胃癌患者外周血中中性粒细胞比例显著高于健康成人, 肿瘤浸润性中性粒细胞(tumor infiltrating neutrophils, TINs)数量也高于癌旁组织和健康组织。他们还发现, 胃癌患者的外周血及多种类型的胃癌组织中 TINs 主要表现为 CD16^{Bright}、CD62L^{bright}, 这表明胃癌患者外周血及癌变胃组织中 TINs 主要为成熟的分叶核粒细胞。根据 Trellakis 等^[22]的研究, 在头部和颈部的癌变组织中, 有大量的中性粒细胞浸润, 并且大量的中性粒细胞浸润与癌症患者的不良预后有关。而 Reid 等^[23]在有关胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)的研究中指出, 中性粒细胞的浸润在 PDAC 中并不显著, 它通常发生在预后较差的微乳头状或尚未分化的胰腺癌中。肿瘤浸润性中性粒细胞在神经内分泌肿瘤、浆液性囊腺瘤、囊泡细胞癌和实体假乳头状肿瘤中都不显著。

在肿瘤微环境中, TINs 经肿瘤刺激后会分化为不同表型, 对肿瘤的发展起到促进或抑制的作用。与巨噬细胞类似, TINs 受到转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 信号调控分为两种表型: N1 型和 N2 型^[24-27]。其中 N1 型为抑瘤中性粒细胞, 通过促进免疫反应激活相关的细胞因子和趋化因子的表达, 抑制免疫抑制相关的分子如精氨酸酶的表达, 对肿瘤的发展起到抑制作用; N2 型为促瘤中性粒细胞, 它能够分泌血管生成因子和基质降解酶^[28-29], 抑制机体的抗肿瘤免疫反应, 对肿瘤的发展起到促进作用。

3.1 TINs 促进肿瘤细胞增殖

肿瘤的发生受到体内原癌基因、抑癌基因表达的调控. 其中原癌基因有促使肿瘤发生的作用, 抑癌基因则能抑制肿瘤细胞的过度生长、增殖, 遏制体内肿瘤形成. 在健康机体内, 调控细胞生长的原癌基因和抑癌基因协调表达, 共同维持机体稳态. 而当原癌基因过度激活或抑癌基因功能丧失时, 就会导致肿瘤发生. 有研究发现, 活化的中性粒细胞能通过上调诱导型一氧化氮合成酶的表达, 促进活性氧的释放, 破坏细胞遗传物质 DNA, 使机体某些分化中的细胞生长与分裂失控, 细胞无限增殖, 脱离了衰老和死亡的正常途径, 致使肿瘤发生^[36].

Hattar 等^[37]在研究中性粒细胞与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的关系时, 将非小细胞肺癌细胞系 A549 与中性粒细胞共培养, 发现 A549 细胞增殖速率增加, 这种作用会随着中性粒细胞与 A549 比例的增加而增加. 进一步探究发现, 中性粒细胞释放的弹性蛋白酶能诱导 A549 细胞的增殖, 促进非小细胞肺癌的进程.

关于浸润性中性粒细胞促进肿瘤细胞增殖, 目前主要有以下三个观点: a. 中性粒细胞释放的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)具有抗肿瘤作用, 当它过量释放时, 会引起组织损伤, 破坏癌周组织, 为肿瘤的扩散提供有利条件; 同时, 过量的碱性磷酸酶会降解机体内的免疫球蛋白、补体和受体, 阻断肿瘤坏死因子介导的细胞凋亡途径, 对肿瘤细胞增殖起到促进作用. b. 根据 Houghton 等^[38]的研究, 中性粒细胞分泌弹性蛋白酶能分解肿瘤细胞内胰岛素底物受体(insulin receptor substrate 1, IRS-1), 增强磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)和血小板源性生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)的相互作用, 直接作用于小鼠及人的癌细胞, 诱导其增殖. c. 2002 年 Aarbiou 等发现肿瘤组织中的中性粒细胞能够分泌防御素(defensin)促进癌细胞增殖, 这表明中性粒细胞分泌的防御素是促进肿瘤细胞增殖的细胞因子之一.

3.2 TINs 促进肿瘤侵袭、转移

早在 30 年前, 就有动物实验数据表明, TINs 能够促进肿瘤细胞与上皮单分子层的黏附作用, 促进肿瘤细胞的转移^[39-40]. 目前为止, TINs 促进肿瘤转移的作用机制虽仍未明确, 但已有证据表明, TINs 与肿瘤细胞相互作用, 为肿瘤转移创造温床^[41-43].

据报道, 血管内皮细胞表达的选择素与肿瘤细胞表达的选择素配体结合, 共同参与肿瘤细胞转移的过程^[44-45]. 在肺癌 H-59 细胞系中, 将内皮细胞选择素或肿瘤细胞选择素受体破坏, 肿瘤细胞肝转移的概率显著降低. 中性粒细胞经脂多糖激活后, 肿瘤细胞在肝血窦中的黏附活性明显增强. 利用共聚焦显微镜可以观察到浸润的中性粒细胞与肝内转移肺癌细胞存在于同一区域, 在药物的作用下去除中性粒细胞可明显降低 H-59 肺癌细胞的黏附活性. 这一研究结果证实了 TINs 可加速内皮细胞表达的选择素与肿瘤细胞表达的选择素配体的结合, 促进肿瘤细胞的转移. 进一步研究发现, Mac-1/ICAM-1 介导肿瘤细胞直接黏附在滞留的中性粒细胞上, 使中性粒细胞成为连接肿瘤细胞和肝实质之间的桥梁^[46].

Grosse-Steffen 等在有关胰腺导管腺癌的研究中发现, TINs 能促进上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生和肿瘤的浸润性生长^[47-48]. 胰腺导管腺癌通常与促结缔组织增生基质中的纤维变性和大量的炎症细胞的浸润有关, 它呈现出的微乳头状生长模式也与肿瘤组织中中性粒细胞的浸润密切相关. 为了探究胰腺导管腺癌中浸润的炎症细胞, 了解浸润性中性粒细胞与肿瘤细胞转移之间的关系, 作者用胰腺导管腺癌患者的活体组织切片分析了中性粒细胞的浸润和 EMT 标记分子 β -catenin、ZEB1 的表达. 在组织切片中可以观察到密集的中性粒细胞浸润和 EMT 标记分子的累积. 为了进一步探究 TINs 与 EMT 之间的关系, 作者从健康供体中提取中性粒细胞, 将其与胰腺癌细胞在单分子膜上共培养. 很快地, 共培养系统中的胰腺癌细胞发生了异常黏附. 进一步研究发现, 中性粒细胞释放的弹性蛋白酶能诱导黏附因子 E-Cadherin 的降解. 除此之外, Grosse-Steffen 等还发现胰腺癌细胞中的转录因子 Twist 表达上调, β -catenin 移位至核仁中, ZEB1 也出现在了核仁中, 角蛋白类表达下调. 这表明, 浸润性中性粒细胞释放的弹性蛋白酶, 降低了肿瘤细胞间的接触和黏附作用, 促进了 EMT 的发生, 并有助于肿瘤的浸润性生长. 还有研究表明, 肿瘤条件培养基(tumor-conditioned medium, TCM)培养的中性粒细胞毒性功能下降, 凋亡推迟, 黏附分子的表达量增加^[49]. 由此看出, TINs 能帮助胰腺癌细胞越过上皮细胞单分子层的障碍, 向血管外侵袭.

3.3 TINs 促进肿瘤血管生成

血管生成是恶性肿瘤的标志之一。肿瘤的生长和转移需要新生血管为其提供必要的氧气和养料,肿瘤的发展与血管生成密切相关。体内血管状态的改变依赖于“血管生成开关”,它受到肿瘤细胞和肿瘤微环境相互作用的调控^[50]。早在 40 多年前 Judah Folkman 就提出了以血管生成为作用靶点是癌症治疗过程中一个独特的干预治疗机会。全世界有超过 1000 例的抗血管生成药的临床试验。Queen 等^[51]发现肿瘤细胞能够刺激中性粒细胞产生致癌素 M(oncostatin-M), oncostatin-M 又反过来促进肿瘤细胞释放 VEGF,促进血管新生。Zijlstra 等^[52]研究黏液纤维肉瘤患者的肿瘤组织发现,在肿瘤发生转移的患者体内,血管密度明显增高,中性粒细胞含量也显著增加。

目前,对于 TINs 促进肿瘤血管生成的机制主要有以下三种解释:a. 肿瘤在发展过程中招募淋巴细胞和髓细胞,包括巨噬细胞和中性粒细胞,尤其是中性粒细胞,被认为是基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)主要来源的细胞^[53]。浸润性的中性粒细胞释放 MMP-9,其不与金属蛋白酶抑制剂结合,能破坏和改变 ECM,调控血管生成开关,促进肿瘤血管生成。此外,ECM 释放的蛋白水解酶,能激活主要的促血管生成因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGF)、碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF),引起上皮细胞下游 MMP-9 促血管生成信号的应答^[54]。b. 中性粒细胞经活化后分泌促血管形成因子,能够诱导肿瘤血管的生成。早在 2000 年 Van den Steen 等已经证实,CXCL8 刺激中性粒细胞释放 MMP-9,有活性的 MMP-9 能将 CXCL8 的氨基端切除,促进其趋化能力。这种作用的结果使得中性粒细胞越来越多地聚集在肿瘤周围,促进肿瘤血管生成和肿瘤发展。c. Ardi 等^[55]的体外实验表明,将中性粒细胞与内皮细胞共培养,细胞中的血管密度会显著增加,这表明中性粒细胞可通过直接与内皮细胞接触促进血管生成。Queen 等^[51]将中性粒细胞与乳腺癌细胞体外共培养,发现中性粒细胞释放的 oncostatin-M 能促进与其共培养的肿瘤细胞中血管内皮生长因子的释放,对肿瘤细胞的增殖也起到一定的促进作用。然而,对于中性粒细胞促进肿瘤血管生成的机制仍有待于进一步研究。

3.4 TINs 与肿瘤相关巨噬细胞在促进肿瘤进展中的关系

中性粒细胞通过直接细胞接触或可溶性分子与巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAMs)、树突状细胞等免疫细胞相互作用,形成免疫网络,维持机体稳态^[56-58]。中性粒细胞与其他免疫细胞尤其是巨噬细胞的相互作用贯穿于炎症应答的始终。在炎症应答的消退期,巨噬细胞会吞噬凋亡的中性粒细胞以减少自身 IL-23 的产生,从而增加 T 细胞分泌的 IL-17 水平,增加 G-CSF 和中性粒细胞的产生。此外,巨噬细胞吞噬凋亡的中性粒细胞后能上调自身 IL-10 的分泌产生,下调 IL-12 的水平,促使其向 M2 型巨噬细胞转变^[59]。

在肿瘤微环境中,TAMs 表达介质分子(如 TGF- β 、VEGF-A、VEGF-C、PDGF、MMP-9、TP)和化学因子(如 CXCL8、IL-8)等,直接或间接参与新生血管形成,促进肿瘤进展^[60]。这些作用都受到胞内信号通路的调控,其中尤为重要是 STAT3 信号通路。据报道,中性粒细胞中,IL-6 和 G-CSF 协同调控激活 STAT3 信号通路,改变肿瘤相关基因的表达,减缓中性粒细胞的去颗粒化,增强中性粒细胞的促肿瘤能力。而在巨噬细胞中,STAT3 信号通路除了受到 IL-6 调控外,还受到 IFN- β 和雄激素受体水平的影响^[62-63]。由此可见,肿瘤微环境中中性粒细胞与巨噬细胞可通过多种途径协同作用,促进肿瘤进展。

4 TINs 与患者预后的关系

预后(prognosis)是指疾病发生后根据临床实际进程和转归状况,对疾病病程发展为不同后果和结局的预测,包括好转、痊愈、复发、恶化、伤残、并发症和死亡等。对疾病预后的研究至少包括两个方面:a. 对“率”的估计,它包括治愈率、复发率、死亡率等。b. 影响预后因素的研究,它根据疾病不同亚型和一些临床指标,判断疾病的预后,以及筛选影响预后的指标。为了统计癌症病人的生存率,比较各种治疗方法的优点,专家们认为采用大部分患者预后比较明确的情况作为指标,即使用 5 年生存率最为合适。所以癌症患者的 5 年生存率是癌症治疗预后评估的重要指标。

Graeme 等^[61]在来自 10 个不同国家的超过 8500 位患者中做了 15 项调查,结果显示在恶性程度较高的癌症患者和晚期癌症患者体内中性粒细胞与淋

巴细胞比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)显著增高, 肿瘤或宿主来源的因子能够调控患者机体炎症应答, 尤其是 NLR.

在大量的恶性上皮肿瘤中, 中性粒细胞数量的增高或中性粒细胞与淋巴细胞比例的增高, 通常会引发全身性炎症反应, 它能够通过抑制肿瘤细胞凋亡、促进血管新生和诱发 DNA 损伤, 促进肿瘤细胞的增殖和转移^[64-65]. 胃癌研究者分析了大量的临床胃癌组织样本, 以 CD15 作为 TINs 的分子标记进行免疫组织化学分析, 探究 TINs 与胃癌患者预后的关系. 结果表明, 在恶性胃癌组织中 CD15⁺TINs 与胃癌恶性程度和不良预后正相关, CD15⁺TINs 可作为恶性胃癌患者新的预后评估指标^[66]. 2014 年, 有研究者用 Meta 分析法分析了 TINs 在肿瘤患者预后评估中的作用^[67]. 研究结果表明, 患者术后复发率和 5 年生存率与患者体内 TINs 增多有关, 且与 CD15⁺相比, CD66⁺更具有预后评估价值. 此外, 在肝癌、肾癌、胃癌、直肠癌等研究中也表明, NLR 的变化与癌症患者术后复发及 5 年生存率密切相关^[68-73]. 然而, Carus 等^[74]在关于非小细胞肺癌的研究中提出, 肿瘤相关巨噬细胞和中性粒细胞与非小细胞肺癌患者的预后无直接关系. 由此可见, 中性粒细胞的浸润与肿瘤患者预后的关系仍有待于进一步研究^[75].

5 结 语

肿瘤的形成过程往往伴随着有序的炎症反应, 包括大量免疫细胞的招募和种类众多的免疫因子的释放, 因此肿瘤也被称为“永不愈合的伤口”. 近年来, 随着人们对肿瘤组织中的免疫细胞功能和作用机制的研究不断深入, 肿瘤免疫逐渐显示其重要的临床应用价值. 肿瘤细胞如何逃避免疫监视? 免疫细胞如何被肿瘤细胞驯化成为“帮凶”? 驯化的免疫细胞如何为肿瘤细胞的生长和转移提供帮助? 对这些问题的研究不仅可以加深我们对肿瘤发生发展的病理机制的理解, 而且可能为开发新的肿瘤免疫治疗方法指引方向. 目前在抗肿瘤药物市场上, 以 PD-1 抗体为代表的肿瘤免疫药物炙手可热, 阻断 PD-1 的抗肿瘤药物在临床实验中不断给人们带来惊喜^[76-77]. 中性粒细胞在肿瘤浸润性免疫细胞中占有相当大的比例, 也在多个方面影响肿瘤的发生发展. 虽然关于肿瘤浸润性中性粒细胞的研究正在引起人们更多的关注, 但其功能和调控机制还很不清楚, 以下两个方面的问题需要进一步研究:

a. 中性粒细胞影响肿瘤发生发展的分子机制. 越来越多的临床研究表明, 肿瘤组织中有大量的中性粒细胞, 而且这些中性粒细胞与患者的不良预后相关^[78-79]. 这些中性粒细胞通过与肿瘤细胞的相互作用影响彼此的特性和行为. 中性粒细胞可能通过释放免疫因子促进肿瘤的形成, 提高肿瘤的运动能力, 在肿瘤细胞的转移过程中中性粒细胞同样可以发挥作用. 因此, 我们迫切希望通过研究揭示中性粒细胞发挥上述作用的分子机制. 通过与中性粒细胞的“交谈”, 肿瘤细胞的哪些基因表达水平发生特异性改变? 又有哪些表观遗传学的变化? 这些获得性的变化如何影响肿瘤细胞的特性和行为? 对这些问题的解答将加深我们对肿瘤及其微环境交互作用的理解.

b. 中性粒细胞被驯化的分子机制以及抑制中性粒细胞的驯化在免疫治疗中的作用. 肿瘤微环境中有大量浸润性中性粒细胞. 这些中性粒细胞如何被招募到肿瘤组织? 如何被肿瘤组织驯化为成为“帮凶”, 进而促进肿瘤的进展? 这些问题亟需解答. 此外, 针对肿瘤免疫应答方面的临床研究进展也提示我们, 如果中性粒细胞的驯化过程被阻断, 或者调控肿瘤微环境中的中性粒细胞由 N2 型向 N1 型转变, 那么很多促进肿瘤进展的免疫因子的释放将显著减少, 中性粒细胞也有可能进一步发挥抑制、杀伤肿瘤的作用. 这方面的进展可能成为抗肿瘤治疗的一个发展方向.

随着分子生物学和系统生物学技术的发展, 我们已经可以在多个水平开展系统研究, 包括质谱分析、基因芯片检测、非编码 RNA 芯片检测、外显子组测序、基因组测序等, 较为全面地揭示肿瘤浸润性中性粒细胞特性的改变, 以及中性粒细胞影响肿瘤进展的分子机制. 这些研究很可能改变我们对肿瘤微环境中这类重要免疫细胞功能的认识, 并指导我们在肿瘤治疗方面开发新的策略.

参 考 文 献

- [1] Pham C T. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2006, **6**(7): 541-550
- [2] Smith J A. Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *J Leukoc Biol*, 1994, **56**(6): 672-686
- [3] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*, 1889, **133**(3421): 571-573
- [4] Joyce J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell*, 2005, **7**(6): 513-520
- [5] Coussens L M, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*, 2002, **420**(6917): 860-867

- [6] McCarthy N. Tumour microenvironment: the same, but different. *Nat Rev Cancer*, 2011, **11**(4): 232
- [7] McCarthy N. Tumor microenvironment: More than just a mutagen. *Nat Rev Cancer*, 2014, **14**(4): 213
- [8] Swartz M A, Iida N, Roberts E W, *et al.* Tumor microenvironment complexity: emerging roles in cancer therapy. *Cancer Res*, 2012, **72**(10): 2473–2480
- [9] Sounni N E, Noel A. Targeting the tumor microenvironment for Cancer therapy. *Clin Chem*, 2013, **59**(1): 85–93
- [10] Gajewski T F, Meng Y, Blank C, *et al.* Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment. *Immunol Rev*, 2006, **213**(1): 131–145
- [11] Elinav E, Nowarski R, Thaïss C A, *et al.* Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*, 2013, **13**(11): 759–771
- [12] Schreiber R D, Old L J, Smyth M J. Cancer immunoediting: integrating immunity roles in cancer suppression and promotion. *Science*, 2011, **331**(6024): 1565–1570
- [13] Allinen M, Beroukhi R, Cai L, *et al.* Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell*, 2004, **6**(1): 17–32
- [14] Korkaya H, Liu S, Wicha M S. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J Clin Invest*, 2011, **121**(10): 3804–3809
- [15] Brown J M. Tumor microenvironment and the response to anticancer therapy. *Cancer Biol Ther*, 2014, **1**(5): 453–458
- [16] Trédan O, Galmarini C M, Patel K, *et al.* Drug resistance and the solid tumor microenvironment. *J Natl Cancer Inst*, 2007, **99**(19): 1441–1454
- [17] 陈 斐, 齐心一, 戴 悦, 等. 肿瘤微环境与肿瘤耐药的研究进展. *生命科学*, 2014, **26**(10): 991–997
Chen F, Qi X Y, Dai Y, *et al.* *Chin Bull Life Sci*, 2014, **26**(10): 991–997
- [18] Borriello L, DeClerck Y A. Tumor microenvironment and therapeutic resistance process. *Med Sci (Paris)*, 2014, **30**(4): 445–451
- [19] Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis. *Nature*, 2009, **457**(7225): 36–37
- [20] Jensen H K, Donskov F, Marcussen N, *et al.* Presence of intratumoral neutrophils is an independent prognostic factor in localized renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2009, **27**(28): 4709–4717
- [21] 王婷婷, 庄 园, 陈 娜, 等. 肿瘤相关中性粒细胞在胃癌中的分布、表型及其免疫抑制功能研究. *第三军医大学学报*, 2014, **36**(6): 587–591
Wang T T, Zhuang Y, Chen N, *et al.* *J Third Mil Med Univ*, 2014, **36**(6): 587–591
- [22] Trellakis S, Farjah H, Bruderek K, *et al.* Peripheral blood neutrophil granulocytes from patients with head and neck squamous cell carcinoma functionally differ from their counterparts in healthy donors. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, **24**(3): 683–693
- [23] Reid M D, Basturk O, Thirabanasak D, *et al.* Tumor-infiltrating neutrophils in pancreatic neoplasia. *Mod Pathol*, 2011, **24**(12): 1612–1619
- [24] Hao N B, Lü M H, Fan Y H, *et al.* Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors. *Clin Dev Immunol*, 2012, **2012**(2012): 948–959
- [25] Gregory A D, Houghton A M. Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy. *Cancer Res*, 2011, **71**(7): 2411–2416
- [26] Fridlender Z G, Sun J, Kim S, *et al.* Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*, 2009, **16**(3): 183–194
- [27] Pang Y, Gara S K, Achyut B R, *et al.* TGF- β signaling in myeloid cells is required for tumor metastasis. *Cancer Discovery*, 2013, **3**(8): 936–951
- [28] Shojaei F, Singh M, Thompson J D, *et al.* Role of Bv8 in neutrophil-dependent angiogenesis in a transgenic model of cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(7): 2640–2645
- [29] Piccard H, Muschel R J, Opdenakker G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, **82**(3): 296–309
- [30] Laura R, Raffaella F, Daniela M, *et al.* The oxysterol-CXCR2 axis plays a key role in the recruitment of tumor-promoting neutrophils. *J Exp Med*, 2013, **210**(9): 1711–1728
- [31] Ai S, Cheng X W, Inoue A, *et al.* Angiogenic activity of bFGF and VEGF suppressed by proteolytic cleavage by neutrophil elastase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **364**(2): 395–401
- [32] Tecchio C, Scapini P, Pizzolo G, *et al.* On the cytokines produced by human neutrophils in tumors. *Semin Cancer Biol*, 2013, **23**(3): 159–170
- [33] Gungor N, Knaapen A M, Munnia A, *et al.* Genotoxic effects of neutrophils and hypochlorous acid. *Mutagenesis*, 2010, **25**(2): 149–154
- [34] 徐阿曼, 朱 亮. 中性粒细胞与恶性肿瘤关系的研究进展. *新医学*, 2012, **43**(6): 427–429
Xu A M, Zhu L. *Journal New Medicine*, 2012, **43**(6): 427–429
- [35] Mishalian I, Bayuh R, Levy L, *et al.* Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, **62**(11): 1745–1756
- [36] 王韞秀, 刘 璇, 张继红, 等. 伴有 JAK2 V617F 突变的慢性中性粒细胞白血病 1 例并文献复习. *现代肿瘤医学*, 2012, **20**(5): 1017–1019
Wang W X, Liu X, Zhang J H, *et al.* *J Modern Oncol*, 2012, **20**(5): 1017–1019
- [37] Hattar K, Franz K, Ludwig M, *et al.* Interactions between neutrophils and non-small cell lung cancer cells: enhancement of tumor proliferation and inflammatory mediator synthesis. *Cancer Immunol Immunother*, 2014
- [38] Houghton A M, Rzymkiewicz D M, Ji H, *et al.* Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med*, 2010, **16**(2): 219–223
- [39] Starkey J R, Liggitt H D, Jones W, *et al.* Influence of migratory blood cells on the attachment of tumor cells to vascular

- endothelium. *Int J Cancer*, 1984, **34**(4): 535–543
- [40] Welch D R, Schissel D J, Howrey R P, *et al.* Tumor- elicited polymorphonuclear cells, in contrast to "normal" circulating polymorphonuclear cells, stimulate invasive and metastatic potentials of rat mammary adenocarcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**(15): 5859–5863
- [41] Huh S J, Liang S, Sharma A, *et al.* Transiently entrapped circulating tumor cells interact with neutrophils to facilitate lung metastasis development. *Cancer Res*, 2010, **70**(14): 6071–6082
- [42] Kowanetz M, Wu X, Lee J, *et al.* Granulocyte-colony stimulating factor promotes lung metastasis through mobilization of Ly6G+Ly6C+ granulocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(50): 21248–21255
- [43] Jonathan C L, Jonathan S, Braedon M, *et al.* Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest*, 2013, **123**(8): 3446–3458
- [44] Witz I P. The selectin-selectin ligand axis in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, **27**(1): 19–30
- [45] McDonald B, Spicer J, Giannais B, *et al.* Systemic inflammation increases cancer cell adhesion to hepatic sinusoids by neutrophil mediated mechanisms. *Int J Cancer*, 2009, **125**(6): 1298–1305
- [46] Spicer J D, McDonald B, Cools-Lartigue J J, *et al.* Neutrophils promote liver metastasis *via* Mac-1-mediated interactions with circulating tumor cells. *Cancer Res*, 2012, **72**(16): 3919–3927
- [47] Grosse-Steffen T, Giese T, Giese N, *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma and pancreatic tumor cell lines: the role of neutrophils and neutrophil-derived elastase. *Clin Dev Immunol*, 2012, **2012**(2012): 720768
- [48] Gaida M M, Steffen T G, Günther F, *et al.* Polymorphonuclear neutrophils promote dyshesion of tumor cells and elastase-mediated degradation of E-cadherin in pancreatic tumors. *Eur J Immunol*, 2012, **42**(12): 3369–3380
- [49] Wu Q D, Wang J H, Condron C, *et al.* Human neutrophils facilitate tumor cell transendothelial migration. *Am J Cell Physiol*, 2001, **280**(4): 814–822
- [50] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646–674
- [51] Queen M M, Ryan R E, Holzer R G, *et al.* Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. *Cancer Res*, 2005, **65** (19): 8896–8904
- [52] Zijlstra A, Seandel M, Kupriyanova T A, *et al.* Proangiogenic role of neutrophil-like inflammatory heterophils during neovascularization induced by growth factors and human tumor cells. *Blood*, 2006, **107**(1): 317–327
- [53] Bekes E M, Schweighofer B, Kupriyanova T A, *et al.* Tumor-recruited neutrophils and neutrophil TIMP-free MMP-9 regulate coordinately the levels of tumor angiogenesis and efficiency of malignant cell intravasation. *Am J Pathol*, 2011, **179**(3): 1455–1470
- [54] Dumitru C A, Fechner M K, Hoffmann T K, *et al.* A novel p38-MAPK signaling axis modulates neutrophil biology in head and neck cancer. *J Leukoc Biol*, 2012, **91**(4): 591–598
- [55] Ardi V C, Kupriyanova T A, Deryugina E L, *et al.* Human neutrophils uniquely release TIMP-free MMP-9 to provide a potent catalytic stimulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(51): 20262–20267
- [56] Mantovani A, Cassatella M A, Costantini C, *et al.* Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 2011, **11**(8): 519–531
- [57] Amulic B, Cazalet C, Hayes G L, *et al.* Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol*, 2012, **30**(1): 459–489
- [58] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2013, **13**(3): 159–175
- [59] Tanya N, Mayadas, Xavier C, *et al.* The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annu Rev Pathol*, 2014, **9**(9): 181–218
- [60] Galdieroa M R, Bonavita E, Barajonc I, *et al.* Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*, 2013, **218** (2013): 1402–1410
- [61] Graeme J K, Guthrie, Kellie A, *et al.* The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Oncology hematology*, 2013, **88**(1): 218–230
- [62] Kuang D M, Zhao Q, Wu Y, *et al.* Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2011, **54**(5): 948–955
- [63] Yan B, Wei J J, Yuan Y, *et al.* IL-6 Cooperates with G-CSF to induce protumor function of neutrophils in bone marrow by enhancing STAT3 activation. *The Journal of Immunology*, 2013, **190**(11): 5882–5893
- [64] Wang J, Yibin J, Nana W, *et al.* The clinical significance of tumor-infiltrating neutrophils and neutrophil-to-CD8+ lymphocyte ratio in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Translational Medicine*, 2014, **12**: 7
- [65] Fang L Y, Kouji Izumi, Kou P L, *et al.* Infiltrating macrophages promote prostate tumorigenesis *via* modulating androgen receptor-mediated CCL4-STAT3 Signaling. *Cancer Res*, 2013, **73** (18): 5633–5646
- [66] Caruso R A, Bellocchio R, Pagano M, *et al.* Prognostic value of intratumoral neutrophils in advanced gastric carcinoma in a high-risk area in northern Italy. *Mod Pathol*, 2002, **15**(8): 831–837
- [67] Shen M X, Hu P P, Donskov F, *et al.* Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 2014, **9**(6): e98259
- [68] Daniel R. Perez M D, Raymond E. *et al.* Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio is prognostic in gastrointestinal stromal tumor. 2013, **20**(2): 593–599
- [69] Dumitru C A, Bankfalvi A, Gu X, *et al.* Neutrophils activate tumoral CORTACTIN to enhance progression of oropharynx carcinoma. *Front Immunol*, 2013, **4**: 33
- [70] Ohtani H. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human colorectal cancer. *Cancer Immun*, 2007, **7**: 4
- [71] Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, *et al.* High preoperative

- neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*, 2010, **13**(3): 170–176
- [72] Halazun K J, Aldoori A, Malik H Z, *et al.* Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol*, 2008, **34**(1): 55–60
- [73] Liao W, Zhang J, Zhu Q, *et al.* Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a new prognostic marker in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Transl Oncol*, 2014, **7** (2): 248–25
- [74] Carus A, Ladekarl M, Hager H, *et al.* Tumor-associated neutrophils and macrophages in non-small cell lung cancer: No immediate impact on patient outcome. *Lung Cancer*, 2013, **81**(1): 130–137
- [75] Donskov F. Immunomonitoring and prognostic relevance of neutrophils in clinical trials. *Semin Cancer Biol*, 2013, **23** (3): 200–207
- [76] Topalian S L, Hodi F S, Brahmer J R, *et al.* Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*, 2012, **366**(26): 2443–2454
- [77] Hamid O, Robert C, Daud A, *et al.* Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*, 2013, **369**(2): 134–144
- [78] Reid M D, Basturk O, Thirabanjasak D, *et al.* Tumor-infiltrating neutrophils in pancreatic neoplasia. *Mod Pathol*, 2011, **24** (12): 1612–1619
- [79] Zhao J J, Pan K, Wang W, *et al.* The prognostic value of tumor-infiltrating neutrophils in gastric adenocarcinoma after resection. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33655

The Effect of Tumor Infiltrating Neutrophils on Promoting Tumor Progression*

WU Qing¹⁾, ZHOU Hai-Meng^{1,2)}, LI Xu-Hui^{2)**}

¹⁾ Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310000, China;

²⁾ Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China)

Abstract Neutrophils account for the largest proportion of white cells in peripheral blood, and play important roles in human nonspecific immunity. Previous studies have shown that neutrophils kill tumor cells through secreting cytokines and reactive oxygen species. However, further studies provide compelling evidence that neutrophils in tumor microenvironment could promote tumor progression. Tumor infiltrating neutrophils produce cytokines and chemokines that provide an immunosuppressive microenvironment for tumor progression and regulate the growth and metastasis of tumor cells and angiogenesis by influencing the recruitment and activation of inflammatory cells in tumor microenvironment. Tumor infiltrating neutrophils is also essential for prognosis of patients with malignant tumor.

Key words tumor microenvironment, tumor infiltrating neutrophils, metastasis, angiogenesis

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0003

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(31170732, 31270854), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY14C060002), The Fund from the Science and Technology Bureau of Jiaxing (2014AY21022), the Zhejiang Provincial Top Key Discipline of Biology Open Foundation, and the Fund from Science and Technology of Xiaoshan District (2012121).

**Corresponding author.

Tel: 86-573-82586633, E-mail: lixuhui_2013@tsinghua.org.cn

Received: January 4, 2015 Accepted: April 14, 2015