

细胞外基质与肿瘤相关成纤维细胞*

高媛 武越歆 韩莹莹 葛高翔**

(中国科学院分子细胞科学卓越中心, 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所,
细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 肿瘤的发生发展是一个肿瘤细胞与其微环境相互促进, 共同演化的动态过程。实体肿瘤的发生发展过程伴随细胞外基质的过量沉积及其组织形式的异常以及成纤维细胞的活化和富集。细胞外基质与肿瘤相关成纤维细胞不仅是实体肿瘤的重要病理特征, 同时也是恶性肿瘤发展的重要驱动力量。细胞外基质与肿瘤相关成纤维细胞通过多种机制促进了肿瘤的发生、发展和转移。针对细胞外基质与肿瘤相关成纤维细胞进行肿瘤治疗, 可以为肿瘤的临床治疗提供新的思路。

关键词 肿瘤, 微环境, 结缔组织生成, 肿瘤相关成纤维细胞, 细胞外基质

学科分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0251

恶性肿瘤是细胞的遗传性状发生改变所引起的一种复杂性疾病^[1], 肿瘤细胞同时表现出表观遗传修饰的异常改变^[2]。当遗传、表观遗传修饰改变累积到一定程度时, 细胞丧失正常的细胞周期调控而发生异常增殖, 最终导致肿瘤的产生^[1-2]。肿瘤的发生发展同时与其所处的微环境(成纤维细胞、炎症细胞、血管内皮细胞等间质细胞及其分泌的细胞外基质蛋白、细胞因子)息息相关^[1, 3-6]。肿瘤发展过程中, 肿瘤微环境发生适应性的改变, 并促进了肿瘤的发展和转移^[1, 3-7]。肿瘤的发生发展是一个肿瘤细胞与其微环境相互促进, 共同演化的动态过程^[8]。实体肿瘤的发生发展过程伴随结缔组织的增生(desmoplasia)与纤维化, 表现为细胞外基质的过量沉积及其组织形式的异常、成纤维细胞的活化和富集, 以及炎症细胞的浸润^[9-10]。结缔组织增生与纤维化不仅是实体肿瘤的重要特征性病理变化, 同时也是恶性肿瘤发展的重要驱动力量。纤维化的组织发生肿瘤的几率大大增加^[11-12]。结缔组织增生、组织纤维化与肿瘤的发展及预后密切相关^[11-12]。本文将围绕细胞外基质与成纤维细胞这两个关键微环境因子, 着重介绍这些微环境因子在结缔组织增生及肿瘤发展过程中的动态改变及其对肿瘤发生、发展、转移的调控功能与作用机制。

1 细胞外基质

1.1 细胞外基质网络的动态变化是肿瘤的基本特征之一

细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 是由细胞合成、分泌的生物大分子在细胞表面或细胞之间构成的复杂网络结构^[13-14]。经典意义上的细胞外基质包括胶原蛋白、弹性蛋白、氨基聚糖与蛋白聚糖及非胶原糖蛋白^[13-14]。多数细胞外基质蛋白经历了复杂的糖基化、剪切、共价交联等翻译后修饰^[13-14]。除此之外, 赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)等负责细胞外基质蛋白翻译后加工的调控分子(酶)及细胞外基质结合的细胞因子也常被认为是细胞外基质的组成成分^[13-14]。

胶原、弹性蛋白等结构蛋白和蛋白聚糖作为基本骨架在细胞表面形成细胞外基质纤维网状复合物, 并通过纤黏连蛋白或层黏连蛋白以及其他连接

* 国家自然科学基金(81430067, 31371408)和中国科学院先导专项(XDA12010100)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 021-54921102, E-mail: gxge@sibcb.ac.cn

收稿日期: 2017-07-03, 接受日期: 2017-07-04

分子直接或间接与细胞表面受体连接。细胞外基质的重塑始终受到严密调控。在肿瘤中, 细胞外基质蛋白的表达谱显著区别于正常组织。实体肿瘤的发生发展过程伴随结缔组织的增生与纤维化^[9-10]。肝纤维化是肝癌发生的高风险因素^[11]。I 型胶原蛋白、纤黏连蛋白等多种细胞外基质蛋白在乳腺癌中表达上调^[15-16]。多种胶原蛋白与非胶原糖蛋白、蛋白聚糖的表达水平在肝癌中表达升高^[17]。不同乳腺癌病理类型有着各自特征性的细胞外基质蛋白表达谱, 并与乳腺癌预后相关^[16], 提示细胞外基质表达谱的改变在肿瘤细胞命运决定及肿瘤发展中发挥决定性的作用。细胞外基质蛋白的翻译后加工在细胞外基质重塑中发挥关键调控功能。在肿瘤缺氧微环境诱导下, 转录因子 HIF-1 α 与 HIF-2 α 上调了肿瘤细胞中胶原蛋白羟化酶 P4H、PLOD2 及氧化酶 LOX 的表达, 进而促进了肿瘤中胶原蛋白的沉积与肿瘤转移^[18-21]。

肿瘤中细胞外基质的动态改变不仅体现在细胞外基质蛋白的表达水平与相对组成的改变, 同时还表现为细胞外基质空间拓扑结构与刚性等物理学性质的改变^[22-23]。肿瘤组织的硬度显著高于正常组织^[22,24]。正常组织中的 I 型胶原蛋白形成松散的网络结构, 而肿瘤组织中的胶原蛋白纤维具有更加一致的方向性^[25]。LOX 家族氧化酶介导了胶原蛋白的共价交联^[21, 24, 26]。LOX 与 LOXL2 的高表达促进了肿瘤中胶原蛋白的沉积, 增强了细胞外基质的硬度, 并促进乳腺癌与肺癌的侵袭与转移, 而抑制 LOX/LOXL2 的氧化酶活力缓解了组织的纤维化与肿瘤的发生^[21, 27]。

1.2 细胞外基质受体与信号转导

1.2.1 细胞外基质受体

细胞外基质不仅作为组织、器官的结构支撑, 同时也作为信号分子通过细胞膜表面受体传递信号, 进而调控细胞增殖、迁移等基本细胞行为, 以及肿瘤的发展和转移。整合素(integrin)是由 α 亚基与 β 亚基形成的异源二聚体。含有 α V 亚基或 β 1 亚基的整合素分子是细胞外基质蛋白的主要受体^[13]。整合素介导了细胞与细胞外基质之间的双向信号传导, 激活 FAK、Src 等一系列下游信号分子与信号通路, 并调控整合素的构象变化及其与配体的亲和性^[28]。细胞外基质蛋白还通过 DDRs(discoindin domain receptors)、CD44 等受体传递信号。受体酪氨酸激酶 DDR 是主要的非整合素胶原蛋白受体^[29]。哺乳动物基因组编码两种 DDR 受体, 即上皮细胞

表达的 DDR1 和基质细胞表达的 DDR2^[29]。DDRs 与胶原蛋白的结合依赖于胶原蛋白的三股螺旋结构, 并进而激活下游 MARK、Akt 等信号通路^[29]。

CD44 是一个广泛表达的细胞膜蛋白, 其胞外区的选择性剪接形成多种剪接变异体^[30]。透明质酸是 CD44 的主要配体^[30]。低分子质量透明质酸促进细胞迁移与血管生成^[31], 而高分子质量透明质酸抑制乳腺癌细胞侵袭和血管生成^[32]。除了透明质酸, CD44 剪接变异体也可以作为骨桥蛋白(osteopontin)、纤连蛋白(fibronectin)、胶原蛋白等细胞外基质蛋白的受体。细胞癌变过程中, 细胞外基质受体表达水平发生改变。 α 3 β 1 整合素在肺癌、卵巢癌、乳腺癌中低表达, 而 α v β 3、 α v β 6 和 α 6 β 4 整合素在肿瘤细胞中高表达^[33]。磷酸化蛋白质组学工作发现 DDR1 受体磷酸化水平在肺癌中极为显著上调^[34]。DDR2 是肺鳞癌可能的驱动基因^[35]。CD44 可以作为乳腺癌、结肠癌等多种恶性肿瘤肿瘤干细胞的表面标志物, 在肿瘤干细胞干性维持、肿瘤发生中发挥重要功能^[30]。

1.2.2 细胞外基质调控生长因子信号

除了自身作为信号分子外, 细胞外基质还调控生长因子与细胞因子的信号转导。一方面, 细胞外基质可以作为生长因子、细胞因子的储存场所。这些细胞外基质结合的生长因子、细胞因子或不能与其受体接触, 或维持在非活性状态。在特定的生理、病理条件下, 这些细胞外基质结合的生长因子、细胞因子被释放, 在局部激活特定细胞的下游信号, 发挥功能。TGF- β 过度表达或活化促进组织纤维化的形成, 并在肿瘤转移中起到至关重要的作用^[36]。TGF- β 在体内以非活性复合物形式储存于细胞外基质中。细胞外金属蛋白酶剪切 TGF- β 复合物, 释放细胞外基质结合的 TGF- β , 从而完全活化 TGF- β ^[37]。TGF- β 也可以与血小板应答蛋白(thrombospondin)^[38]或 α v β 6 整合素^[39]相互作用释放活性形式的 TGF- β 。另一方面, 细胞外基质通过与生长因子、细胞因子的结合, 作为组织中心调控其下游信号。FGF、VEGF 等与串珠蛋白聚糖(perlecan)、黏结蛋白聚糖(syndecan)等蛋白聚糖硫酸乙酰肝素侧链的结合增强其与受体的亲和力, 从而促进了血管新生等过程^[40]。Wnt 与 perlecan 的结合增强了肿瘤干细胞中的 Wnt 信号, 从而促进乳腺癌的转移^[41]。细胞外基质的这些调控机制保证了生长因子、细胞因子时空特异性的适度活化, 其调控异常与肿瘤的发生与转移密切相关。

1.2.3 细胞外基质的机械信号转导

细胞外基质网络的几何结构、空间拓扑结构及硬度等物理学特性可以作为机械信号调控细胞胞内信号转导、功能及命运决定。在 LOX 和 MMPs 等作用下, 细胞外基质发生动态重塑, 肿瘤微环境中细胞外基质的结构也发生了改变, 导致其刚性增强^[21-22, 24], 促进了肿瘤的生长、侵袭和转移^[21-22, 27]。与之一致的是, 组织刚性的增加是肝癌、乳腺癌等恶性肿瘤发生的高危因素^[11]。细胞外基质刚性的增强诱导整合素的聚集并激活下游 FAK 信号通路^[21-22, 24]。阻断 $\beta 1$ 整合素-FAK 信号通路可以抑制 ECM 刚性引起的细胞恶性转化^[21-22, 24]。微环境刚性的改变最终影响了核内的转录。刚性微环境使得 Hippo 信号通路的 YAP/TAZ 转录因子蛋白稳定性增强, 并在核内起始基因转录^[42-43]。

2 肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)

2.1 CAFs 的异质性

肿瘤的异质性是恶性肿瘤的重要特征之一。肿瘤异质性不仅体现在肿瘤细胞中癌基因突变谱与肿瘤细胞行为的差异性, 而且体现在肿瘤微环境的组成和功能的多样性。肿瘤相关成纤维细胞是一种激活形式的成纤维细胞。在肿瘤发展过程中, CAFs 伴随肿瘤的发展动态变化, 具有高度异质性。CAFs 的异质性首先体现在其来源的多样性, 包括组织自身成纤维细胞(resident fibroblasts)的激活和增殖、骨髓来源干细胞的分化及周细胞等其他类型细胞的转分化。肿瘤细胞通过分泌 TGF- β 和血小板衍生生长因子(PDGF)等细胞因子, 激活组织内的正常成纤维细胞使之成为 CAFs^[44]。肿瘤可以招募骨髓来源的前体细胞或间充质干细胞, 使之分化成 CAFs^[45]。星状细胞(周细胞)的转分化是肝脏、胰腺中 CAFs 的主要来源, 在肝癌和胰腺癌发展中发挥重要调控作用^[46]。细胞谱系追踪实验研究表明, 在组织纤维化过程中, 只有很少量的上皮(肿瘤)细胞或内皮细胞通过上皮或内皮-间质转化转变为活化的成纤维细胞^[47]。CAFs 基因组较为稳定, 并没有发现肿瘤细胞中常见的癌基因或抑癌基因的突变^[48], 提示肿瘤细胞的 EMT 过程并非是 CAFs 的主要来源。其次, CAFs 表达 α -SMA (α -smooth muscle actin)、FAP (fibroblast activation protein)、Vimentin、Desmin、FSP1 (fibroblast-specific protein-1)、DDR2、 $\alpha 1 \beta 1$ integrin、Prolyl

4-hydroxylase、COL1A2 等多种间质细胞特异性蛋白^[6, 49]。这些蛋白质被认为可以作为活化的成纤维细胞的标志物。与其来源多样性一致的是, 没有任何一个蛋白质可以标记所有的 CAFs, 而 CAFs 也并不表达所有的这些标志物蛋白^[50]。CAFs 的异质性还体现在其功能上的异质性。在肿瘤发生的早期增生(hyperplasia)阶段, 成纤维细胞可能起到抑制肿瘤的作用; 随着肿瘤的发展, CAFs 可以通过多种机制促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 并促进炎症反应和血管生成^[6, 49]。除了其广泛报道的促肿瘤功能外, CAFs 也可以抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和转移。CAFs 负调控胰腺导管腺癌免疫抑制性微环境的建立^[51]。周细胞促进原位肿瘤生长, 但抑制肿瘤的转移^[52]。CAFs 合成、分泌大量的细胞外基质蛋白、金属蛋白酶、细胞因子, 调控肿瘤细胞增殖与迁移、细胞外基质重塑、免疫细胞招募、肿瘤血管新生等多个方面。在原位肿瘤与转移灶, 及肿瘤发展、转移的不同阶段, CAFs 可能分泌不同类型的活性介质, 选择性地调控肿瘤细胞、肿瘤微环境的不同方面。与巨噬细胞的不同亚型类似, CAFs 也可能依据其基因表达谱与功能的差异分为不同的亚型^[6]。

2.2 CAFs 的激活

肿瘤细胞分泌的各种因子中, TGF- β 、PDGF 和 FGF2 是 CAFs 激活的主要诱导因子^[6, 49]。TGF- β 是组织纤维化的主要调控因子, 诱导成纤维细胞激活及细胞外基质蛋白的表达^[53]。CAFs 的招募、增殖与侵袭均依赖于肿瘤微环境中的 TGF- β 。PDGF 可以诱导成纤维细胞的增殖和分化^[54]。肝细胞中表达 PDGF-C 导致肝纤维化和肝癌的发生^[55-56]。FGF2 可以促进成纤维细胞的增殖^[57]。CAFs 处于低氧、低 pH 等微环境中。HIF-1 α 、XBP-1 是 CAFs 激活及其活化状态维持中的重要转录因子^[58-59]。维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)拮抗 Smad 信号, 1,25(OH)₂D3 或其衍生物 calcipotriol 抑制肝星状细胞的活化^[60-61]。VDR 的缺失促进肝纤维化和肝癌的发生^[60-61]。肿瘤微环境物理学性质的改变, 特别是其刚性的增强常常与预后不良和转移有关^[15-16, 23]。在组织纤维化及恶性肿瘤发生过程中, 组织刚性的增强早于组织纤维化和肿瘤的发生^[62]。微环境的机械信号直接参与调控成纤维细胞的活化。刚性微环境信号下游的主要效应分子 YAP 在核内的累积导致成纤维细胞的活化及 CAFs 状态的维持, 并进一步促进了肿瘤微环境细胞外基质的重塑及刚性微环

境, 形成一个正反馈的调节环路^[42, 63]. CAFs 有着独特的表观遗传修饰的改变^[64]. 5- 氮杂 -2'- 脱氧胞

苷处理活化的成纤维细胞, 抑制其快速增殖及 α -SMA、I 型胶原蛋白的表达(图 1)^[65].

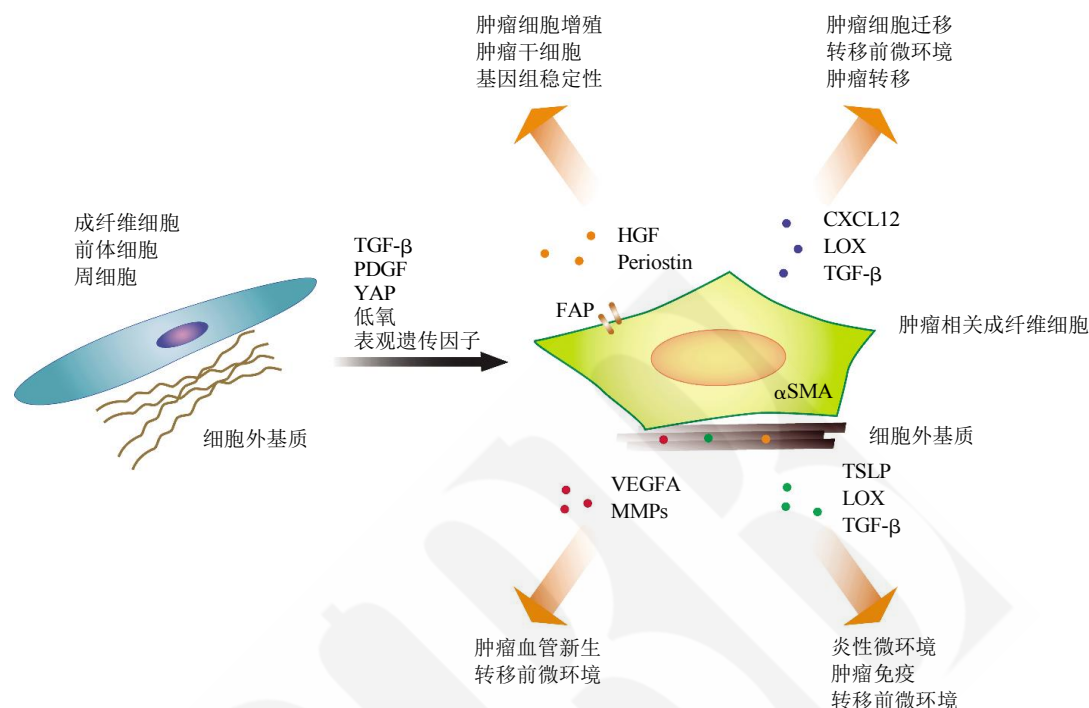


Fig. 1 Cancer-associated fibroblasts (CAFs) and extracellular matrix (ECM) regulate tumor progression and metastasis

图 1 CAFs 和细胞外基质促进肿瘤发展、转移

肿瘤中的 TGF- β 、PDGF、YAP 等信号诱导组织自身成纤维细胞、前体细胞或周细胞的激活, 表观遗传修饰的改变也参与肿瘤相关成纤维细胞活化过程的调控. 肿瘤发生发展过程中, CAFs 与细胞外基质交互调控. CAFs 通过其分泌的细胞因子与细胞外基质影响肿瘤的发生与肿瘤干细胞的维持、肿瘤的增殖与迁移、预转移微环境的建立与肿瘤转移, 以及肿瘤血管新生与炎症微环境. CAFs 分泌的细胞因子与细胞外基质参与多个方面的调控.

3 CAFs 和细胞外基质促进肿瘤发展、转移

肿瘤发生发展过程中, CAFs 与细胞外基质交互调控. CAFs 是细胞外基质蛋白的主要来源, 是细胞外基质重塑的主要驱动力. 细胞外基质影响 CAFs 的活化及其功能的发挥. 同时, CAFs 与细胞外基质协同发挥功能, 在多个层面上调控了肿瘤的发展、转移. CAFs 与细胞外基质不仅影响肿瘤的发生与肿瘤干细胞, 而且影响肿瘤的发展、预转移微环境的建立与肿瘤转移, 不仅直接调控肿瘤细胞的增殖、迁移与侵袭, 而且通过影响肿瘤血管新生、炎症微环境间接调控肿瘤的发展与转移(图 1).

3.1 肿瘤发生与肿瘤干细胞

组织纤维化是多种实体瘤发生的高风险因素. 成纤维细胞的活化与细胞外基质的异常沉积如何导

致恶性肿瘤的发生目前仍知之甚少. CAFs、细胞外基质蛋白增强了肿瘤细胞体外增殖以及体内成瘤的能力. 细胞外基质下游信号与生长因子信号的协同使得肿瘤细胞获得了无限增殖与抗凋亡的能力. CAFs、细胞外基质蛋白对细胞周期、细胞增殖与细胞凋亡的调控可能是转化细胞快速增殖, 形成肿瘤的外部条件. 除了对肿瘤细胞这种支撑性的作用外, CAFs、细胞外基质蛋白可能主动参与了细胞的恶性转化与肿瘤的发生. 癌前病变的细胞只有在 CAFs 存在条件下才能在小鼠体内形成肿瘤^[66]. 这些癌前病变细胞由此获得不依赖于 CAFs 的成瘤能力^[67]. 成纤维细胞中敲除 TGF- β 受体的小鼠自发前列腺肿瘤与胃癌^[68]. WAP-MMP3 转基因小鼠乳腺上皮细胞中发生染色体拷贝数变异, 并自发形成乳腺肿瘤^[69]. 这些工作提示微环境中 CAFs、细

胞外基质的改变,可以诱导正常的上皮细胞或癌前病变细胞累积足够的基因突变或表观遗传改变,从而获得无限增殖和形成肿瘤的能力。

大部分的肿瘤细胞并不具有体内成瘤能力,其中具有自我更新和体内成瘤潜能的细胞亚群称之为肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)或肿瘤起始细胞(tumor initiating cells, TICs)。与胚胎干细胞或成体干细胞相似,微环境对 CSCs 性状的维持及肿瘤的发生与转移至关重要。乳腺癌中, CAFs 分泌的 periostin 增强了 CSCs 中的 Wnt 信号,从而促进乳腺癌的转移^[41]。在结直肠癌中, CAFs 分泌 HGF,激活了临近 CSCs 中的 β -catenin 信号通路,并维持了其干性特征^[70]。CD44 等细胞外基质蛋白受体被认为是肿瘤干细胞的分子标记物,并在肿瘤的发生中发挥重要功能^[71]。

3.2 肿瘤细胞侵袭、预转移微环境与肿瘤转移

肿瘤的转移是一个多因素、多步骤协同作用的演变过程。肿瘤细胞-微环境的交互作用在肿瘤转移的各个步骤均发挥重要调控作用。原位肿瘤微环境影响了肿瘤细胞的局部浸润与侵袭;原位肿瘤转移前在转移靶器官诱导形成有利于肿瘤细胞转移的微环境,即预转移微环境(premetastatic niche);肿瘤细胞在靶器官定植(colonization)后,大部分处于休眠(dormancy)状态,转移靶器官微环境为转移肿瘤细胞从休眠状态向快速增殖状态转变并形成大的转移灶(macrometastasis)提供保障。在原位肿瘤中, CAFs 分泌细胞因子如 CXCL12,增强了肿瘤细胞迁移与侵袭的能力^[72]。CAFs 分泌的外泌体增强了乳腺癌细胞 Wnt 平面细胞极性信号通路,促进其迁移与转移^[73]。CAFs 介导的细胞外基质重塑及刚性的增强使得肿瘤细胞获得更强的运动与侵袭能力^[21, 24]。原位肿瘤的肿瘤细胞、CAFs 分泌细胞因子和细胞外基质重塑相关蛋白,帮助在转移位点建立了细胞外基质、炎症细胞作为主要组分的预转移微环境。肿瘤细胞、CAFs 分泌 LOX 介导肺部 IV 型胶原蛋白的共价交联,并招募骨髓来源的 CD11b 阳性髓系细胞,或分泌 VEGFA 诱导肺部的血管新生,从而形成预转移微环境^[74-75]。肿瘤细胞在转移靶器官定植后,可长期维持在休眠状态^[76]。微环境的平衡决定了肿瘤细胞是否脱离休眠,起始快速增殖过程^[76]。在休眠微环境和转移微环境中,细胞外基质蛋白的表达有着很大的差异^[77]。稳定微脉管系统作为休眠微环境通过 thrombospondin-1 抑制乳腺癌细胞生长,使之维持在休眠状态,而新生

血管中表达的 TGF- β 1 和 periostin 将休眠微环境转变为转移微环境,允许并促进了乳腺癌细胞的生长^[77]。肝纤维化和活化的肝星状细胞表达的 periostin 是胰腺癌肝转移的先决条件^[78]。Tenascin-C 激活肿瘤细胞中的 Notch 和 Wnt 信号通路^[79],而 Coco 抑制 BMP 信号通路^[80],从而激活休眠的肿瘤细胞。细胞外基质蛋白空间结构的改变在肿瘤细胞休眠中也发挥调控作用。LOX 参与招募巨噬细胞,并促进肺部 I 型胶原蛋白的共价交联和纤维化,继而促进了乳腺癌的肺转移^[81-82]。

3.3 肿瘤血管新生

肿瘤的血管新生是一个高度复杂的动态过程^[83]。血管内皮细胞是血管系统的主要组成部分。CAFs 不仅通过分泌 VEGF^[84]、CXCL12^[85]、CTGF^[86]等细胞因子诱导血管新生,而且通过细胞外基质重塑调控肿瘤血管新生过程。肿瘤微环境中 I 型胶原蛋白与 fibronectin 的过量沉积诱导了肿瘤血管新生过程^[87],而 thrombospondin-1 则抑制血管生成^[77]。在 VEGF、FGF、PDGF 等细胞因子刺激下,血管内皮细胞及肿瘤细胞、CAFs 分泌的 MMPs 降解了血管内皮细胞的基底膜结构,并释放与细胞外基质结合的 VEGF,起始血管生成过程^[88]。血管生成依赖于血管内皮细胞的基底膜。低氧诱导 LOXL2 的表达,并进而通过交联基底膜中的 IV 型胶原蛋白促进血管生成^[89]。抑制 LOX 家族氧化酶活力则抑制了肿瘤血管新生^[90]。IV 型胶原蛋白包含 3 种高度相似的胶原蛋白前体,即 $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ (IV)、 $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$ (IV)和 $\alpha 5\alpha 5\alpha 6$ (IV)。不同类型的 IV 型胶原蛋白在肿瘤血管新生过程中的作用不尽相同。IV 型胶原蛋白 $\alpha 3$ 链的敲除促进了肿瘤血管新生^[91],而 $\alpha 5$ 链的敲除则抑制了肿瘤血管新生^[92]。结构高度相似的 IV 型胶原蛋白分子通过不同的细胞表面受体与胞内信号通路发挥功能。 $\alpha 5$ 的缺失导致胶原蛋白受体 DDR1 表达的下调及下游 ERK 信号的失活,而 $\alpha 1$ 的缺失则不影响 DDR1 信号通路^[92]。血管生成过程是正调控与负调控因子平衡作用的结果。许多整合于细胞外基质网络中的细胞外基质蛋白(solid state)促进血管的生成,而这些细胞外基质蛋白游离的剪切片段(soluble state)则作为血管生成抑制因子发挥功能。MMP-9 剪切 IV 型胶原蛋白 $\alpha 3$ 链产生的抑瘤蛋白(tumstatin)^[91]及多种 MMPs 剪切 XVIII 型胶原蛋白产生的内皮细胞抑制素(endostatin)^[93]抑制了血管生成过程。Perlecan、syndecan 等蛋白聚糖的氨基聚糖侧链与 VEGF、FGF 的结合增强了其下游信号转导和

血管新生^[94-95]。与正常的血管不同的是, 在肿瘤血管形成过程中, 血管内皮细胞并不形成一个致密的结构, 而是形成一个结构松散、具有高通透性的血管。VEGFA 不仅诱导血管内皮细胞的增殖、迁移和血管新生, 而且升高了血管的通透性^[96]。血管的通透性与肿瘤内部缺氧微环境、肿瘤的转移与肿瘤对药物的响应密切相关^[83]。

3.4 炎性微环境与肿瘤免疫

总体上, 肿瘤处于免疫抑制性的微环境中。肿瘤相关巨噬细胞具有 M2 类型的特征, 在肿瘤细胞存活、浸润、血管新生、肿瘤免疫调控等多个方面促进肿瘤发展^[97-98]。CAFs 分泌的 CXCL12、IL-6 等细胞因子调控巨噬细胞的招募及其向促肿瘤的 M2 类型的分化^[97-98]。除了影响固有免疫外, CAFs 还调控适应性免疫。FAP 阳性 CAFs 抑制了抗肿瘤免疫^[99]。CAFs 表达 CXCL12, 导致肿瘤中 T 细胞的排斥^[100]。CAFs 的清除或 CXCR4 拮抗剂导致肿瘤内部 T 细胞的浸润, 并增强了 PD-L1 抗体免疫治疗的效率^[100]。CAFs 表达胸腺基质淋巴细胞生成素 (thymic stromal lymphopoietin), 并通过树突状细胞促进 T 细胞的 Th2 极化^[101]。肿瘤中 FOXP3 阳性调节性 T 细胞的比例大大升高, 从而抑制了 CD8 阳性杀伤性 T 细胞的活化^[97]。TGF- β 在 CAFs 中高表达。除了通过自分泌方式进一步调控 CAFs 的活化状态外, TGF- β 诱导杀伤性 T 细胞的凋亡^[102], 促进调节性 T 细胞的存活^[103], 抑制 Th1 T 细胞的分化^[104], 从而调控肿瘤炎性微环境与肿瘤免疫。细胞外基质通过调控免疫细胞的迁移重塑肿瘤炎性微环境与肿瘤免疫。肺癌组织的实时成像发现 T 细胞在松散的胶原蛋白、fibronectin 纤维网络中快速迁移, 而在致密的细胞外基质网络中迁移能力大幅减弱, 导致 T 细胞在细胞外基质中的滞留^[105]。MMPs 介导的细胞外基质蛋白的降解产物具有趋化因子样的功能。MMP8 或 MMP9 降解 I 型胶原蛋白产生的乙酰化 Pro-Gly-Pro 肽可以介导嗜中性粒细胞的趋化反应^[106]。弹性蛋白的 MMP12 降解产物介导单核细胞的趋化运动^[107]。MMPs 降解胞外基质同时释放或活化大量与胞外基质结合的细胞因子和趋化因子, 在另一个层面影响了炎症细胞向肿瘤的浸润。

4 CAFs、细胞外基质与肿瘤治疗

4.1 肿瘤耐药

微环境是肿瘤耐药的一个重要调控机制。一方

面, CAFs 与细胞外基质影响药物在肿瘤中的富集与药效发挥。CAFs 调控肿瘤血管新生过程。肿瘤中新生血管的高渗透性使得肿瘤内部有着较高的组织液压(interstitial fluid pressure), 降低了药物在肿瘤中的富集与应用^[108]。靶向 FAP 的 DNA 疫苗清除肿瘤中的 CAFs, 并提高了化疗药物在肿瘤中的富集, 增强了多药耐受的结直肠癌和乳腺癌对化疗药物的响应^[109]。另一方面, CAFs 分泌的生长因子、细胞因子、趋化因子等可溶性因子、肿瘤细胞与细胞外基质的黏附介导可以诱导肿瘤耐药的产生。CAFs 来源的 IL-6 拮抗化疗引起的 DNA 损伤、氧化应激及肿瘤细胞凋亡^[110]。CAFs 分泌肝细胞生长因子(HGF), 激活肿瘤细胞中的 c-Met 受体。CAFs 来源的 HGF 信号是 BRAF V600E 突变黑色素瘤对 RAF 抑制剂 PLX4720^[111]及 EGFR 突变非小细胞肺癌对 EGFR 抑制剂 gefitinib^[112]耐受的主要机制。CAFs 中 sFRP2 的表达抑制了黑色素瘤中的 β -catenin 信号, 最终导致黑色素瘤对 B-Raf 抑制剂 vemurafenib 的耐受^[113]。CAFs 中 PDGF-C 表达的上调与 VEGF-A 抗体抗肿瘤血管新生治疗耐受相关^[114]。肿瘤间质的特征性基因表达谱与乳腺癌对化疗及内分泌治疗的响应与预后密切相关^[114-116]。这些特征性基因表达谱主要由细胞外基质蛋白组成^[114-116], 提示细胞外基质在肿瘤耐药中发挥关键调控功能。细胞外基质蛋白介导小细胞肺癌对化疗药物的耐受^[117]。细胞外基质蛋白诱导的肿瘤耐药依赖于整合素及其下游信号通路的激活^[117]。I 型胶原蛋白等细胞外基质蛋白诱导肿瘤细胞发生上皮-间质转化, 增强了其迁移能力, 降低了对药物的敏感性。有意思的是, 上皮-间质转化引起的细胞迁移能力的改变与肿瘤耐药是两个独立过程。Snail、Slug 等转录因子上调 EGFR 的表达并激活其下游 MAPK 信号通路, 从而诱导雌激素受体阳性乳腺癌细胞产生对他莫昔芬的耐受, 这一过程不依赖于经典的上皮-间质转化^[118]。

4.2 靶向 CAFs、细胞外基质的肿瘤治疗

现有的肿瘤治疗临床药物大多针对肿瘤细胞快速增殖的特性, 如细胞毒类的化疗药物, 或肿瘤细胞基因组变异(基因突变、基因融合、基因扩增等), 如靶向 EGFR、HER2 等。近年来, 随着肿瘤微环境在肿瘤发生、发展、转移中的重要性及其作用机制的深入了解, 靶向肿瘤微环境的药物研发和治疗策略的发展取得了长足进展。其中突出的代表是靶向 VEGFR 的抗肿瘤血管新生的药物^[83]及

PD-1/PD-L1 抗体的肿瘤免疫治疗^[119]。靶向 CAFs、细胞外基质的肿瘤治疗也已经取得一定进展，主要集中在靶向 CAFs、肿瘤细胞、炎症细胞分泌的细胞因子、细胞外基质重塑相关酶等可溶性因子、肿瘤细胞与细胞外基质黏附及 CAFs 自身这三个方面(图 2)。CAFs 分泌的 HGF 是 RAF 抑制剂耐受的主要机制^[111]。c-Met 中和性抗体或其抑制剂 crizotinib 可以逆转 BRAF V600E 突变黑色素瘤对 RAF 抑制剂的耐受^[111]。LOX 家族成员 LOXL2 主要由 CAFs 表达，并在肿瘤细胞外基质重塑、胶原蛋白过量沉积中发挥至关重要的功能。LOXL2 中和性抗体可以抑制肿瘤中的胶原蛋白沉积、CAFs 活化及肿瘤的生长^[27]，并已进入临床试验。肿瘤细胞通过整合素等黏附分子与细胞外基质结合，并进而促进肿瘤细胞存活、增殖、迁移与侵袭。 $\beta 1$ 整合素中和性抗体在动物模型中有很好的抑制肿瘤生长的活性^[120]，但靶向 $\beta 1$ 整合素的抗体药物在临床试验中的安全性及有效性还有待进一步研究。靶向整合素下游信号分子 FAK 的小分子抑制剂在临床试验中已

经取得较好效果^[121]。CAFs 标志物 FAP 是一个潜在的肿瘤治疗靶标。利用 DNA 疫苗治疗^[109]或 FAP 特异性抗体的 CAR-T 治疗^[122]清除 FAP 阳性的 CAFs，在动物模型上都取得了较好的抑制肿瘤生长、转移的效果。对抗血管新生肿瘤治疗的回顾性研究提出血管的正常化(normalization)比单纯抑制肿瘤血管新生具有更加重要的临床意义^[83]。与之相似，CAFs 及细胞外基质的正常化是靶向 CAFs、细胞外基质的肿瘤治疗非常重要的研究方向。PDGF 信号激活 CAFs，抑制 PDGF 信号通路可以使得 CAFs 逆转成为正常组织成纤维细胞，并抑制了肿瘤生长^[123]。CAFs 中 VDR 的表达水平与结直肠癌预后负相关，激活 VDR 信号可以逆转 CAFs 表型^[124]。这些工作提示 CAFs 及细胞外基质的正常化是肿瘤治疗非常有前景的方向。

靶向 CAFs、细胞外基质的药物与现有化疗、靶向药物可以以多种机制协同发挥作用。一方面，靶向 CAFs、细胞外基质可以调控肿瘤内部的组织液压，提高了药物在肿瘤中的富集利用。FAK 抑

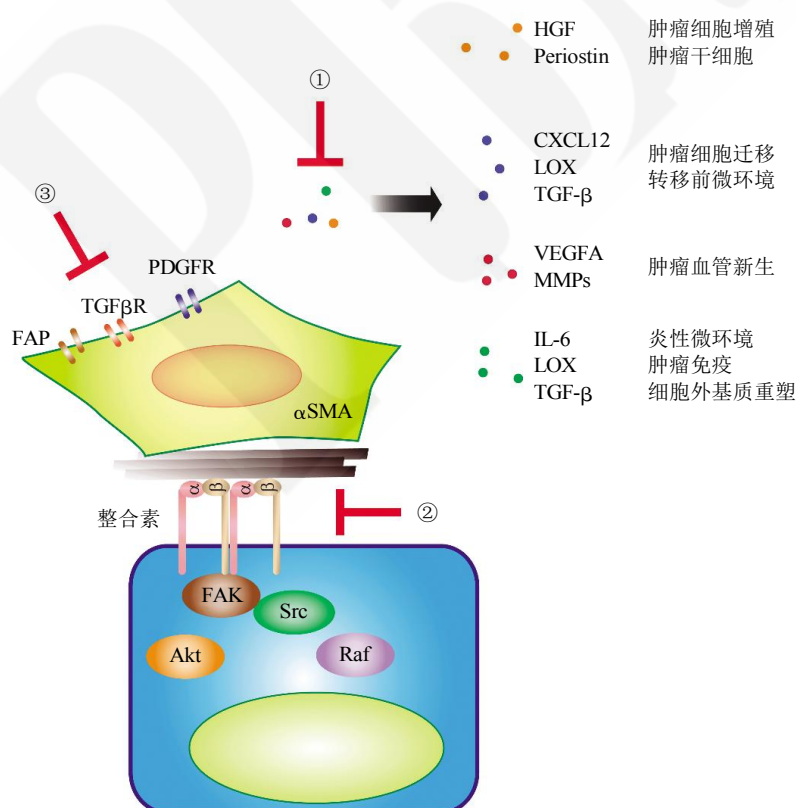


Fig. 2 Cancer therapeutics targeting cancer-associated fibroblasts (CAFs) and extracellular matrix (ECM)

图 2 靶向肿瘤相关成纤维细胞与细胞外基质的肿瘤治疗

靶向肿瘤相关成纤维细胞与细胞外基质的肿瘤治疗包括：① 靶向 CAFs、肿瘤细胞、炎症细胞分泌的细胞因子、细胞外基质重塑相关酶等可溶性因子，如 HGF、LOXL2、VEGFA、IL-6、TGF- β 等，进而抑制肿瘤发展与转移；② 肿瘤细胞与细胞外基质黏附，如整合素受体及其下游 FAK 信号通路等；③ 抑制肿瘤相关成纤维细胞的活化或逆转其成为正常组织成纤维细胞。靶向肿瘤相关成纤维细胞与细胞外基质的药物可以与现有药物开展多药的联合治疗。

制剂与 Paclitaxel、Gemcitabine 等化疗药物、MEK 抑制剂 Trametinib 的联合治疗均已进入临床试验阶段。另一方面, CAFs、细胞外基质使得肿瘤微环境维持在免疫抑制的状态, 从而极大程度上限制了肿瘤免疫治疗的效果。CXCL12 引起的抑制性免疫微环境可能是胰腺癌中 PD-L1 抗体疗效不佳的原因, 其受体 CXCR4 的抑制剂 AMD3100 与 PD-L1 抗体的联合用药很好地缓解了小鼠模型中胰腺癌的发展^[100]。FAK 抑制剂等与 PD-L1 抗体的联合治疗也已进入临床试验阶段。

5 展 望

CAFs、细胞外基质作为肿瘤微环境的重要组成部分, 在肿瘤发生、发展、转移及其对药物的响应等方面均发挥重要调控功能。虽然这个领域的研究已经取得了很好的进展, 但是关于 CAFs、细胞外基质还有许多重要的科学问题没有得到解决。实体肿瘤的发生发展过程伴随结缔组织的增生与纤维化。成纤维细胞的活化、细胞外基质的异常(过度)沉积及组织纤维化是多种实体瘤发生的高风险因素。组织的纤维化与肿瘤发生之间是否存在因果关系是一个长期未能回答的重大科学问题。肿瘤的发生发展是一个肿瘤细胞与其微环境相互促进, 共同演化的动态过程。在肿瘤发生发展的不同阶段及原发位点与转移灶之间, CAFs、细胞外基质发生了怎样的特征性改变? 不同病理亚型的肿瘤中 CAFs、细胞外基质有何异同? 不同组织来源肿瘤中 CAFs、细胞外基质有何异同? 包括 CAFs、细胞外基质在内的肿瘤微环境的组成和功能的多样性是肿瘤异质性的一个重要方面。CAFs、细胞外基质的特征性改变不仅包含基因表达谱的特征性改变, 而且还体现在 CAFs 来源与表型的差异、细胞外基质组织形式、拓扑结构和物理性质的多样性。与之紧密联系的是, 哪些外界信号引起了这些特征性的改变? 肿瘤细胞致病基因谱与 CAFs、细胞外基质的特征性改变有何内在联系? 这些特征性的改变又如何调控肿瘤细胞及微环境其他组分(如血管内皮细胞、免疫细胞)的行为? CAFs、细胞外基质特征性改变中是否可以发现新的、有效的肿瘤早期诊断分子标志物与治疗靶标? 对这些重要科学问题的研究将为肿瘤的临床治疗提供新的思路和新的治疗靶标。

参 考 文 献

[1] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next

- generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646–674
- [2] Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*, 2008, **358**(11): 1148–1159
- [3] Tlsty T D, Coussens L M. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol*, 2006, **1**: 119–150
- [4] Lu P, Weaver V M, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol*, 2012, **196**(4): 395–406
- [5] Gilkes D M, Semenza G L, Wirtz D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2014, **14**(6): 430–439
- [6] Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2016, **16**(9): 582–598
- [7] Polyak K, Kalluri R. The role of the microenvironment in mammary gland development and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, **2**(11): a003244
- [8] Polyak K, Haviv I, Campbell I G. Co-evolution of tumor cells and their microenvironment. *Trends Genet*, 2009, **25**(1): 30–38
- [9] Ohlund D, Elyada E, Tuveson D. Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *J Exp Med*, 2014, **211**(8): 1503–1523
- [10] Schafer M, Werner S. Cancer as an overheating wound: an old hypothesis revisited. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**(8): 628–638
- [11] Neglia J P, FitzSimmons S C, Maisonneuve P, *et al.* The risk of cancer among patients with cystic fibrosis. *Cystic Fibrosis and Cancer Study Group. N Engl J Med*, 1995, **332**(8): 494–499
- [12] Boyd N F, Guo H, Martin L J, *et al.* Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *N Engl J Med*, 2007, **356**(3): 227–236
- [13] Hynes R O, Naba A. Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, **4**(1): a004903
- [14] Mouw J K, Ou G, Weaver V M. Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, **15**(12): 771–785
- [15] Emery L A, Tripathi A, King C, *et al.* Early dysregulation of cell adhesion and extracellular matrix pathways in breast cancer progression. *Am J Pathol*, 2009, **175**(3): 1292–1302
- [16] Bergamaschi A, Tagliabue E, Sorlie T, *et al.* Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol*, 2008, **214**(3): 357–367
- [17] Lai K K, Shang S, Lohia N, *et al.* Extracellular matrix dynamics in hepatocarcinogenesis: a comparative proteomics study of PDGFC transgenic and Pten null mouse models. *PLoS Genet*, 2011, **7**(6): e1002147
- [18] Eisinger-Mathason T S, Zhang M, Qiu Q, *et al.* Hypoxia-dependent modification of collagen networks promotes sarcoma metastasis. *Cancer Discov*, 2013, **3**(10): 1190–1205
- [19] Gilkes D M, Chaturvedi P, Bajpai S, *et al.* Collagen prolyl hydroxylases are essential for breast cancer metastasis. *Cancer Res*, 2013, **73**(11): 3285–3296
- [20] Erler J T, Bennewith K L, Nicolau M, *et al.* Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. *Nature*, 2006, **440**(7088): 1222–1226

- [21] Gao Y, Xiao Q, Ma H, *et al.* LKB1 inhibits lung cancer progression through lysyl oxidase and extracellular matrix remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(44): 18892–18897
- [22] Paszek M J, Zahir N, Johnson K R, *et al.* Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell*, 2005, **8**(3): 241–254
- [23] Butcher D T, Alliston T, Weaver V M. A tense situation: forcing tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(2): 108–122
- [24] Levental K R, Yu H, Kass L, *et al.* Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*, 2009, **139**(5): 891–906
- [25] Provenzano P P, Inman D R, Eliceiri K W, *et al.* Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression. *BMC Med*, 2008, **6**: 11
- [26] Xiao Q, Ge G. Lysyl Oxidase, Extracellular matrix remodeling and cancer metastasis. *Cancer Microenviron*, 2012, **5**(3): 261–273
- [27] Barry-Hamilton V, Spangler R, Marshall D, *et al.* Allosteric inhibition of lysyl oxidase-like-2 impedes the development of a pathologic microenvironment. *Nat Med*, 2010, **16**(9): 1009–1017
- [28] Campbell I D, Humphries M J. Integrin structure, activation, and interactions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, **3**(3): a004994
- [29] Valiathan R R, Marco M, Leitinger B, *et al.* Discoidin domain receptor tyrosine kinases: new players in cancer progression. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, **31**(1–2): 295–321
- [30] Karousou E, Misra S, Ghatak S, *et al.* Roles and targeting of the HAS/hyaluronan/CD44 molecular system in cancer. *Matrix Biol*, 2017, **59**: 3–22
- [31] West D C, Hampson I N, Arnold F, *et al.* Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science*, 1985, **228**(4705): 1324–1326
- [32] Feinberg R N, Beebe D C. Hyaluronate in vasculogenesis. *Science*, 1983, **220**(4602): 1177–1179
- [33] Cabodi S, del Pilar Camacho-Leal M, Di Stefano P, *et al.* Integrin signalling adaptors: not only figurants in the cancer story. *Nat Rev Cancer*, 2010, **10**(12): 858–870
- [34] Rikova K, Guo A, Zeng Q, *et al.* Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*, 2007, **131**(6): 1190–1203
- [35] Hammerman P S, Sos M L, Ramos A H, *et al.* Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov*, 2011, **1**(1): 78–89
- [36] Bierie B, Moses H L. Tumour microenvironment: TGFbeta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(7): 506–520
- [37] Ge G, Greenspan D S. BMP1 controls TGFbeta1 activation via cleavage of latent TGFbeta-binding protein. *J Cell Biol*, 2006, **175**(1): 111–120
- [38] Crawford S E, Stellmach V, Murphy-Ullrich J E, *et al.* Thrombospondin-1 is a major activator of TGF-beta1 *in vivo*. *Cell*, 1998, **93**(7): 1159–1170
- [39] Munger J S, Huang X, Kawakatsu H, *et al.* The integrin alpha v beta 6 binds and activates latent TGF beta 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis. *Cell*, 1999, **96**(3): 319–328
- [40] Multhaupt H A, Leitinger B, Gullberg D, *et al.* Extracellular matrix component signaling in cancer. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, **97**: 28–40
- [41] Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, *et al.* Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature*, 2012, **481**(7379): 85–89
- [42] Calvo F, Ege N, Grande-Garcia A, *et al.* Mechanotransduction and YAP-dependent matrix remodelling is required for the generation and maintenance of cancer-associated fibroblasts. *Nat Cell Biol*, 2013, **15**(6): 637–646
- [43] Dupont S, Morsut L, Aragona M, *et al.* Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, **474**(7350): 179–183
- [44] Mueller M M, Fusenig N E. Friends or foes - bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2004, **4**(11): 839–849
- [45] Bergfeld S A, DeClerck Y A. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, **29**(2): 249–261
- [46] Affo S, Yu L X, Schwabe R F. The role of cancer-associated fibroblasts and fibrosis in liver cancer. *Annu Rev Pathol*, 2017, **12**: 153–186
- [47] Lebleu V S, Taduri G, O'Connell J, *et al.* Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Nat Med*, 2013, **19**(8): 1047–1053
- [48] Qiu W, Hu M, Sridhar A, *et al.* No evidence of clonal somatic genetic alterations in cancer-associated fibroblasts from human breast and ovarian carcinomas. *Nat Genet*, 2008, **40**(5): 650–655
- [49] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(5): 392–401
- [50] Sugimoto H, Mundel T M, Kieran M W, *et al.* Identification of fibroblast heterogeneity in the tumor microenvironment. *Cancer Biol Ther*, 2006, **5**(12): 1640–1646
- [51] Ozdemir B C, Pentcheva-Hoang T, Carstens J L, *et al.* Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*, 2014, **25**(6): 719–734
- [52] Cooke V G, LeBleu V S, Keskin D, *et al.* Pericyte depletion results in hypoxia-associated epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis mediated by met signaling pathway. *Cancer Cell*, 2012, **21**(1): 66–81
- [53] Lohr M, Schmidt C, Ringel J, *et al.* Transforming growth factor-beta1 induces desmoplasia in an experimental model of human pancreatic carcinoma. *Cancer Res*, 2001, **61**(2): 550–555
- [54] Shao Z M, Nguyen M, Barsky S H. Human breast carcinoma desmoplasia is PDGF initiated. *Oncogene*, 2000, **19**(38): 4337–4345
- [55] Crawford Y, Kasman I, Yu L, *et al.* PDGF-C mediates the angiogenic and tumorigenic properties of fibroblasts associated with tumors refractory to anti-VEGF treatment. *Cancer Cell*, 2009, **15**(1): 21–34
- [56] Campbell J S, Hughes S D, Gilbertson D G, *et al.* Platelet-derived growth factor C induces liver fibrosis, steatosis, and hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(9): 3389–3394
- [57] Strutz F, Zeisberg M, Hemmerlein B, *et al.* Basic fibroblast growth

- factor expression is increased in human renal fibrogenesis and may mediate autocrine fibroblast proliferation. *Kidney International*, 2000, **57**(4): 1521–1538
- [58] Hernandez-Gea V, Hilscher M, Rozenfeld R, *et al.* Endoplasmic reticulum stress induces fibrogenic activity in hepatic stellate cells through autophagy. *J Hepatol*, 2013, **59**(1): 98–104
- [59] Madsen C D, Pedersen J T, Venning F A, *et al.* Hypoxia and loss of PHD2 inactivate stromal fibroblasts to decrease tumour stiffness and metastasis. *EMBO Rep*, 2015, **16**(10): 1394–1408
- [60] Ding N, Yu R T, Subramaniam N, *et al.* A vitamin D receptor/SMAD genomic circuit gates hepatic fibrotic response. *Cell*, 2013, **153**(3): 601–613
- [61] Duran A, Hernandez E D, Reina-Campos M, *et al.* p62/SQSTM1 by binding to vitamin D receptor inhibits hepatic stellate cell activity, fibrosis, and liver cancer. *Cancer Cell*, 2016, **30**(4): 595–609
- [62] Georges P C, Hui J J, Gombos Z, *et al.* Increased stiffness of the rat liver precedes matrix deposition: implications for fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, **293**(6): G1147–1154
- [63] Machado M V, Michelotti G A, Pereira T A, *et al.* Accumulation of duct cells with activated YAP parallels fibrosis progression in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2015, **63**(4): 962–970
- [64] Hu M, Yao J, Cai L, *et al.* Distinct epigenetic changes in the stromal cells of breast cancers. *Nat Genet*, 2005, **37**(8): 899–905
- [65] Bechtel W, McGookan S, Zeisberg E M, *et al.* Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med*, 2010, **16**(5): 544–550
- [66] Olumi A F, Grossfeld G D, Hayward S W, *et al.* Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res*, 1999, **59**(19): 5002–5011
- [67] Hayward S W, Wang Y, Cao M, *et al.* Malignant transformation in a nontumorigenic human prostatic epithelial cell line. *Cancer Res*, 2001, **61**(22): 8135–8142
- [68] Bhowmick N A, Chytil A, Plieth D, *et al.* TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science*, 2004, **303**(5659): 848–851
- [69] Sternlicht M D, Lochter A, Sympon C J, *et al.* The stromal proteinase MMP3/stromelysin-1 promotes mammary carcinogenesis. *Cell*, 1999, **98**(2): 137–146
- [70] Vermeulen L, De Sousa E M F, van der Heijden M, *et al.* Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(5): 468–476
- [71] Todaro M, Gaggiani M, Catalano V, *et al.* CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(3): 342–356
- [72] Allinen M, Beroukhim R, Cai L, *et al.* Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell*, 2004, **6**(1): 17–32
- [73] Luga V, Zhang L, Vitoria-Petit A M, *et al.* Exosomes mediate stromal mobilization of autocrine Wnt-PCP signaling in breast cancer cell migration. *Cell*, 2012, **151**(7): 1542–1556
- [74] Erler J T, Bennewith K L, Cox T R, *et al.* Hypoxia-induced lysyl oxidase is a critical mediator of bone marrow cell recruitment to form the premetastatic niche. *Cancer Cell*, 2009, **15**(1): 35–44
- [75] O'Connell J T, Sugimoto H, Cooke V G, *et al.* VEGF-A and Tenascin-C produced by S100A4+ stromal cells are important for metastatic colonization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(38): 16002–16007
- [76] Aguirre-Ghiso J A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat Rev Cancer*, 2007, **7**(11): 834–846
- [77] Ghajar C M, Peinado H, Mori H, *et al.* The perivascular niche regulates breast tumour dormancy. *Nat Cell Biol*, 2013, **15**(7): 807–817
- [78] Nielsen S R, Quaranta V, Linford A, *et al.* Macrophage-secreted granulin supports pancreatic cancer metastasis by inducing liver fibrosis. *Nat Cell Biol*, 2016, **18**(5): 549–560
- [79] Oskarsson T, Acharyya S, Zhang X H, *et al.* Breast cancer cells produce tenascin C as a metastatic niche component to colonize the lungs. *Nat Med*, 2011, **17**(7): 867–874
- [80] Gao H, Chakraborty G, Lee-Lim A P, *et al.* The BMP inhibitor coco reactivates breast cancer cells at lung metastatic sites. *Cell*, 2012, **150**(4): 764–779
- [81] Cheng T, Liu Q, Zhang R, *et al.* Lysyl oxidase promotes bleomycin-induced lung fibrosis through modulating inflammation. *J Mol Cell Biol*, 2014, **6**(6): 506–515
- [82] Barkan D, El Touny L H, Michalowski A M, *et al.* Metastatic growth from dormant cells induced by a col-I-enriched fibrotic environment. *Cancer Res*, 2010, **70**(14): 5706–5716
- [83] Jain R K. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia. *Cancer Cell*, 2014, **26**(5): 605–622
- [84] Kim J W, Evans C, Weidemann A, *et al.* Loss of fibroblast HIF-1alpha accelerates tumorigenesis. *Cancer Res*, 2012, **72**(13): 3187–3195
- [85] Orimo A, Gupta P B, Sgroi D C, *et al.* Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell*, 2005, **121**(3): 335–348
- [86] Yang F, Tuxhorn J A, Ressler S J, *et al.* Stromal expression of connective tissue growth factor promotes angiogenesis and prostate cancer tumorigenesis. *Cancer Res*, 2005, **65**(19): 8887–8895
- [87] Brown L F, Guidi A J, Schnitt S J, *et al.* Vascular stroma formation in carcinoma *in situ*, invasive carcinoma, and metastatic carcinoma of the breast. *Clin Cancer Res*, 1999, **5**(5): 1041–1056
- [88] 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
- [89] Bignon M, Pichol-Thievend C, Hardouin J, *et al.* Lysyl oxidase-like protein-2 regulates sprouting angiogenesis and type IV collagen assembly in the endothelial basement membrane. *Blood*, 2011, **118**(14): 3979–3989
- [90] Ingber D, Folkman J. Inhibition of angiogenesis through modulation of collagen metabolism. *Lab Invest*, 1988, **59**(1): 44–51
- [91] Hamano Y, Zeisberg M, Sugimoto H, *et al.* Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by

- MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis *via* α V β 3 integrin. *Cancer Cell*, 2003, **3**(6): 589–601
- [92] Xiao Q, Jiang Y, Liu Q, *et al.* Minor type IV collagen α 5 chain promotes cancer progression through discoidin domain receptor-1. *PLoS Genet*, 2015, **11**(5): e1005249
- [93] Heljasvaara R, Nyberg P, Luostarinen J, *et al.* Generation of biologically active endostatin fragments from human collagen XVIII by distinct matrix metalloproteases. *Exp Cell Res*, 2005, **307**(2): 292–304
- [94] Maeda T, Desouky J, Friedl A. Syndecan-1 expression by stromal fibroblasts promotes breast carcinoma growth *in vivo* and stimulates tumor angiogenesis. *Oncogene*, 2006, **25**(9): 1408–1412
- [95] Aviezer D, Hecht D, Safran M, *et al.* Perlecan, basal lamina proteoglycan, promotes basic fibroblast growth factor-receptor binding, mitogenesis, and angiogenesis. *Cell*, 1994, **79**(6): 1005–1013
- [96] Dvorak H F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol*, 2002, **20**(21): 4368–4380
- [97] Joyce J A, Pollard J W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(4): 239–252
- [98] Ruffell B, Coussens L M. Macrophages and therapeutic resistance in cancer. *Cancer Cell*, 2015, **27**(4): 462–472
- [99] Kraman M, Bambrough P J, Arnold J N, *et al.* Suppression of antitumor immunity by stromal cells expressing fibroblast activation protein- α . *Science*, 2010, **330**(6005): 827–830
- [100] Feig C, Jones J O, Kraman M, *et al.* Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(50): 20212–20217
- [101] De Monte L, Reni M, Tassi E, *et al.* Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer. *J Exp Med*, 2011, **208**(3): 469–478
- [102] Sanjabi S, Mosaheb M M, Flavell R A. Opposing effects of TGF- β and IL-15 cytokines control the number of short-lived effector CD8⁺ T cells. *Immunity*, 2009, **31**(1): 131–144
- [103] Ouyang W, Beckett O, Ma Q, *et al.* Transforming growth factor- β signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development. *Immunity*, 2010, **32**(5): 642–653
- [104] Laouar Y, Sutterwala F S, Gorelik L, *et al.* Transforming growth factor- β controls T helper type 1 cell development through regulation of natural killer cell interferon- γ . *Nat Immunol*, 2005, **6**(6): 600–607
- [105] Salmon H, Franciszkievicz K, Damotte D, *et al.* Matrix architecture defines the preferential localization and migration of T cells into the stroma of human lung tumors. *J Clin Invest*, 2012, **122**(3): 899–910
- [106] Weathington N M, van Houwelingen A H, Noerager B D, *et al.* A novel peptide CXCR ligand derived from extracellular matrix degradation during airway inflammation. *Nat Med*, 2006, **12**(3): 317–323
- [107] Houghton A M, Quintero P A, Perkins D L, *et al.* Elastin fragments drive disease progression in a murine model of emphysema. *J Clin Invest*, 2006, **116**(3): 753–759
- [108] Dittmer J, Leyh B. The impact of tumor stroma on drug response in breast cancer. *Semin Cancer Biol*, 2015, **31**: 3–15
- [109] Loeffler M, Kruger J A, Niethammer A G, *et al.* Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake. *J Clin Invest*, 2006, **116**(7): 1955–1962
- [110] Kumari N, Dwarakanath B S, Das A, *et al.* Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumour Biol*, 2016, **37**(9): 11553–11572
- [111] Straussman R, Morikawa T, Shee K, *et al.* Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature*, 2012, **487**(7408): 500–504
- [112] Wang W, Li Q, Yamada T, *et al.* Crosstalk to stromal fibroblasts induces resistance of lung cancer to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res*, 2009, **15**(21): 6630–6638
- [113] Kaur A, Webster M R, Marchbank K, *et al.* sFRP2 in the aged microenvironment drives melanoma metastasis and therapy resistance. *Nature*, 2016, **532**(7598): 250–254
- [114] Helleman J, Jansen M P, Ruigrok-Ritstier K, *et al.* Association of an extracellular matrix gene cluster with breast cancer prognosis and endocrine therapy response. *Clin Cancer Res*, 2008, **14**(17): 5555–5564
- [115] Farmer P, Bonnefoi H, Anderle P, *et al.* A stroma-related gene signature predicts resistance to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Nat Med*, 2009, **15**(1): 68–74
- [116] Iseri O D, Kars M D, Arpacı F, *et al.* Gene expression analysis of drug-resistant MCF-7 cells: implications for relation to extracellular matrix proteins. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, **65**(3): 447–455
- [117] Sethi T, Rintoul R C, Moore S M, *et al.* Extracellular matrix proteins protect small cell lung cancer cells against apoptosis: a mechanism for small cell lung cancer growth and drug resistance *in vivo*. *Nat Med*, 1999, **5**(6): 662–668
- [118] Jiang Y, Zhao X, Xiao Q, *et al.* Snail and Slug mediate tamoxifen resistance in breast cancer cells through activation of EGFR-ERK independent of epithelial-mesenchymal transition. *J Mol Cell Biol*, 2014, **6**(4): 352–354
- [119] Topalian S L, Drake C G, Pardoll D M. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell*, 2015, **27**(4): 450–461
- [120] Park C C, Zhang H, Pallavicini M, *et al.* Beta1 integrin inhibitory antibody induces apoptosis of breast cancer cells, inhibits growth, and distinguishes malignant from normal phenotype in three dimensional cultures and *in vivo*. *Cancer Res*, 2006, **66**(3): 1526–1535
- [121] Lee B Y, Timpson P, Horvath L G, *et al.* FAK signaling in human cancer as a target for therapeutics. *Pharmacol Ther*, 2015,

- 146: 132–149
- [122]Lo A, Wang L C, Scholler J, *et al.* Tumor-promoting desmoplasia is disrupted by depleting FAP-expressing stromal cells. *Cancer Res*, 2015, **75**(14): 2800–2810
- [123]Pietras K, Pahler J, Bergers G, *et al.* Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. *PLoS Med*, 2008, **5**(1): e19
- [124]Ferrer-Mayorga G, Gomez-Lopez G, Barbachano A, *et al.* Vitamin D receptor expression and associated gene signature in tumour stromal fibroblasts predict clinical outcome in colorectal cancer. *Gut*, 2016[Epub ahead of print](DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310977)

Extracellular Matrix and Cancer-associated Fibroblasts*

GAO Yuan, WU Yue-Xin, HAN Ying-Ying, GE Gao-Xiang**

(CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Cancer progression and metastasis are the result of reciprocal interaction between cancer cells and the surrounding stromal components. Tumor stroma features with activation of fibroblasts to cancer-associated fibroblasts (CAFs) and active remodeling of extracellular matrix (ECM) in most solid tumors. CAFs and ECM remodeling are not only characteristics of malignant tumors, but also actively promote tumor progression and metastasis through multiple mechanisms. Strategies targeting CAFs and ECM remodeling may provide novel and powerful approaches in cancer therapeutics.

Key words cancer, microenvironment, desmoplasia, cancer-associated fibroblasts, extracellular matrix

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0251

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81430067, 31371408) and Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA12010100).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-54921102, E-mail: gxge@sibcb.ac.cn

Received: July 3, 2017 Accepted: July 4, 2017