

文章编号: 1004-0374(2010)08-0806-05

髓样细胞在肿瘤血管生成过程中的作用

华 荣, 袁志刚, 丁 晔, 许淑茹, 舒 伟*

(广西医科大学基础医学院, 南宁 530021)

摘 要: 肿瘤血管生成在肿瘤的发展过程中起着关键作用。外周循环血中存在的一些髓样细胞, 如巨噬细胞、中性粒细胞、酸性粒细胞、肥大细胞和树突状细胞等具有多方面的能力, 被募集到肿瘤组织中, 在肿瘤微环境中促进肿瘤的血管生成。这些髓样细胞在肿瘤血管生成过程中起重要的作用。该文对这些不同类型细胞促进肿瘤血管生成的作用进行了论述。

关键词: 肿瘤血管生成; 髓样细胞; 肿瘤微环境

中图分类号: R730.23 **文献标识码:** A

The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis

HUA Rong, YUAN Zhi-gang, DING Ye, XU Shu-ru, SHU Wei *

(School of Pre-clinical Science, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Tumour angiogenesis is a crucial step in tumour development. Bone marrow-derived myeloid cells, such as macrophages, neutrophils, eosinophils, mast cells and dendritic cells, have an important role in regulating the formation and maintenance of blood vessels in the tumour microenvironment. In this review the evidence for each of these cell types driving tumour angiogenesis is outlined, along with the mechanisms regulating their recruitment and activation by the tumour.

Key words: Tumour angiogenesis; myeloid cells; tumour microenvironment

越来越多的临床和实验研究表明, 慢性炎症和癌症发生之间有着密切的联系。近年来, 人们更进一步认识到, 炎症介导的一些髓样细胞对肿瘤的生长和恶化起着显著的促进作用^[1]。在肿瘤发展的过程中, 必须不断地产生血管来供应肿瘤细胞快速增殖所需要的营养物质, 肿瘤血管生成在肿瘤生长和恶化过程中起着关键作用。一些外周循环血中存在的髓样细胞, 如肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)、表达 *Tie2* 基因的单核细胞(*Tie2*-expressing monocytes, TEM)、中性粒细胞(neutrophils)、嗜酸性粒细胞(eosinophils)、肥大细胞(mast cell, MC)和树突状细胞(dendritic cell, DC)等, 被肿瘤分泌的一些化学信号和细胞因子募集到肿瘤组织中, 通过分泌促血管生成的细胞因子或者参与血管的构成等方式来促进肿瘤血管的生成^[2,3]。这些髓样细胞在肿瘤血管生成过程中起重要的作用。

1 肿瘤相关巨噬细胞

肿瘤组织中的巨噬细胞通常称为肿瘤相关巨噬细胞(TAM)。TAM 来源于外周循环血中的单核细胞, 被一些炎症因子募集到肿瘤组织后分化而形成巨噬细胞。TAM 并不是一类抵抗肿瘤的免疫细胞, 而是一类参与促进肿瘤发生、生长和转移过程的细胞^[4,5]。

TAM 出现在肿瘤中的数量比周围临近的正常组织要高得多^[6]。TAM 表达单核细胞趋化因子 2 受体(CCR2), 被单核细胞趋化因子 2(CCL2) 募集渗透到

收稿日期: 2010-01-05; 修回日期: 2010-02-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30860125)

*通讯作者: E-mail: shuwei7866@126.com; Tel: 0771-5358242

肿瘤组织中。在人类肿瘤中发现, CCL2 表达与肿瘤生长、转移和临床预后有密切的关系^[7]。Nesbit 等^[7]认为, 低水平的 CCL2 对肿瘤的形成和生长起着重要作用, 高表达的 CCL2 则促进肿瘤浸润和转移。募集到肿瘤组织中的 TAM 分泌血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、肿瘤坏死因子 α (TNF α) 和白细胞介素 1β (IL 1β) 等一系列的细胞因子促进肿瘤血管生成, 从而促进了肿瘤发展^[8]。在人类的一些肿瘤中发现, TAM 在肿瘤中的数量与肿瘤微血管的密度和肿瘤的发展程度呈正相关^[9]。在 PymT (polyoma middle T) 转基因小鼠乳腺癌模型的研究中发现, 阻止 TAMs 渗透到肿瘤中去, 会导致肿瘤血管密度减少约 50%, 能明显地阻止肿瘤的生长和转移; 而导入巨噬细胞后, 肿瘤血管密度却大量增加, 促进了肿瘤的生长^[10]。同时, 研究也表明, 在恶性肿瘤的缺氧区域, TAM 对肿瘤血管生成起着十分重要的作用。巨噬细胞被组织缺氧的信号诱导后, 表达缺氧诱导转录因子(hypoxia-inducible factor, HIF), 从而启动许多调节细胞增殖、代谢和血管生成相关基因的转录^[11]。

2 表达 *Tie2* 基因的单核细胞

Venneri 等^[12]在小鼠和人的外周血中都发现了一类表达 *Tie2* 基因的单核细胞(TEM)。*Tie2* 基因只在血管内皮细胞和造血干细胞中表达。TEM 表达造血干细胞的标志蛋白 CD45 和 TIE2, 通过促血管生成素 2 (ANGPT2) 和组织缺氧的化学信号被募集到肿瘤组织中, 旁分泌一些细胞因子促进肿瘤血管的形成^[13]。TEM 是一类新发现的, 在肿瘤血管形成过程中起着重要促进作用的细胞。

在人的肿瘤标本中, TEM 在肿瘤炎症细胞中数量很少, 大部分炎症细胞是 TAM 和粒细胞。TEM 只是作为血管生成的一些调控细胞, 不是血管的构成部分。通过 Ang-2 和组织缺氧的化学信号, TEM 被募集到肿瘤组织后分泌一些细胞因子调控血管的生成。TEM 对血管的发展、成熟起着重要的调控作用。TEM 不表达 CCR2, 这提示 TEM 通过一种不依赖 CCR2-CCL2 的途径被募集到肿瘤组织中。TEM 在肿瘤中的数量相对于 TAM 是少量的, 可以通过其表面标志蛋白(TIE2⁺Sca1⁺CD11b⁺CCR2⁻) 与 TAM 相区别^[13]。

更重要的是, TEM 普遍存在于小鼠和人类的肾脏肿瘤、直肠肿瘤、胰腺肿瘤以及肺部肿瘤等常

见肿瘤中, 但在肿瘤周围临近的正常组织中却没有发现这种细胞。与 EPC 不同的是, TEM 只在肿瘤血管形成过程中起作用; 而 EPC 不仅在肿瘤血管形成中起重要作用, 在正常的血管和新生血管形成中也起作用。由于 TEM 在肿瘤组织中的特异性存在, 人们可以利用 TEM 为载体, 靶向肿瘤递送药物。大剂量化疗后辅助自体移植造血干细胞治疗肿瘤在临床上被越来越多的应用^[14]。在移植造血干细胞中表达以 *Tie2* 基因启动子驱动的抗肿瘤药物, 如 IFN- α ; 而 Tie2-IFN- α 只是在移植造血干细胞中的一类 TEM 细胞中表达, 这样避免了大剂量 IFN- α 对机体的伤害。TEM 被特异的募集到肿瘤组织中去, 靶向递送 IFN- α 到肿瘤组织, 杀死肿瘤细胞或者抑制肿瘤细胞生长。这种治疗策略在小鼠实验中被证明是安全的, 而且取得令人鼓舞的效果^[15]。

3 嗜中性粒细胞

鉴定人类肿瘤的中性粒细胞主要依靠胞质的过氧化物酶染色反应和细胞形态学观察。CD66B 也被认为是人类中性粒细胞的特异表达标志物。胃癌和结肠癌的患者中可观察到中性粒细胞的数量升高, 特别是在结肠癌肿瘤的浸润区域和溃疡区域, 中性粒细胞的数量更多^[16]。在肿瘤活检和细支气管肺泡灌洗液中都可以发现嗜中性粒细胞数量的增加。趋化因子 8 (CXCL8) 在多种肿瘤组织和肿瘤细胞系中表达量大大提高^[17]。一些炎症细胞因子、NO 以及肿瘤微环境(缺氧过酸和高血糖), 可以上调 CXCL8 的表达。Bellocq 等^[18]的研究表明, 支气管癌症患者的 CXCL8 表达水平与肿瘤组织中的中性粒细胞成正相关, 肿瘤组织可能是通过分泌 CXCL8 来招募中性粒细胞的。

嗜中性粒细胞可直接分泌大量的可溶性促血管生成因子来影响肿瘤血管生成。用肿瘤坏死因子刺激中性粒细胞可诱导其分泌 VEGF, 分泌的 VEGF 将诱导内皮细胞增殖而促进血管生成^[19]。此外, 体外培养的乳腺癌细胞也可以刺激中性粒细胞分泌抑瘤素 M (oncostatin M)。抑瘤素 M 诱导乳腺癌细胞分泌 VEGF 从而促进血管生成^[20]。在肿瘤微环境中, 中性粒细胞分泌的一些细胞因子可能会协同肿瘤细胞和其他基质细胞分泌的细胞因子共同促进肿瘤血管生成。例如, CXCL8 刺激中性粒细胞分泌 MMP9, MMP9 切断 CXCL8 氨基酸末端产生一种蛋白, 这种蛋白导致正反馈效应, 招募更多的中性粒细胞到肿

瘤中，刺激血管的进一步发展^[21]。

4 嗜酸性粒细胞

酸性粒细胞的标志蛋白为 CD125、CCR3 和细胞质内的碱性蛋白颗粒。在人类鼻咽癌、口腔鳞状细胞癌、胃肠癌和 Hodgkin 淋巴瘤等多种肿瘤组织中，研究者都发现了嗜酸性粒细胞的数量增多^[22]。嗜酸性粒细胞表面存在 CCR3 受体和特异性的识别趋化因子 CCL11。人们认为，至少有部分嗜酸性粒细胞是通过趋化因子 CCL11 招募到肿瘤组织中的^[23]。

受到肿瘤坏死因子刺激后，嗜酸性粒细胞分泌促血管生成因子，如 bFGF、IL6、CXCL8、GM-CSF 和 MMP9 等^[24]。体外试验也表明，嗜酸性粒细胞能够直接影响血管生成。用新鲜的人体血液嗜酸性粒细胞或体外培养的嗜酸性粒细胞上清液能诱导体外培养的血管内皮细胞增殖^[25]。但是，在体内试验中人们却得到相反的结果。在高表达 IL5 的转基因小鼠中，人们发现，IL5 虽然可以刺激嗜酸性粒细胞分泌更多的 VEGF，但激活的嗜酸性粒细胞对肿瘤血管生成和肿瘤发展却有抑制作用^[26]。尽管如此，人们仍然推测嗜酸性粒细胞在体内可能具有促进血管生成的作用。

5 其他类型髓样细胞

此外，人们还发现肥大细胞(mast cells, MC)、树突细胞(dendritic cells, DC)、髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)以及一种命名为 Hemangiocytes 的髓样细胞也与肿瘤的血管形成相关。

在人类的很多肿瘤中，MC 在肿瘤组织中的数量与肿瘤组织微血管密度成正相关^[27]。大量的实验动物模型也表明了 MC 在肿瘤血管生成过程中起重要作用。Starkey 等^[28]发现在 MC 缺陷的小鼠中植入黑色素瘤，肿瘤血管生成被延迟，而且血管密度比野生型的小鼠明显的减少。此外，骨髓移植修复 MC 缺陷可以恢复血管生成。Evan 等^[29]研究表明 MC 的招募对于早期生长的胰腺癌是必不可少的。

DC 细胞与肿瘤相关的研究较多，但主要集中在其免疫调节的功能。进一步研究发现，在肿瘤组织中存在一类不成熟 DC 细胞(immature DC, iDC)。iDC 在肿瘤组织中的数量远远超过周围正常组织^[30]。iDC 通过释放一系列的细胞因子促进肿瘤血管生成，

并且它们有能力在肿瘤组织中转分化为血管内皮细胞的前体细胞而构成血管的一部分^[31]。iDC 也能释放 CXCL1、CXCL2、CXCL3 和 CXCL5 等，这些趋化因子可以通过招募其他髓样细胞进入肿瘤组织而间接的促进血管生成^[32]。

Hemangiocytes 这个词由 Rafii 和他的同事首次提出，用于描述一群异质混合的小鼠髓样细胞，这些细胞都表达 VEGFR1 和 CXCR4，但具有一定分化差异。小鼠实验表明，这类细胞在体内具有较大的促血管生成作用。Hemangiocytes 还表达 TIE2 和各种前体细胞的标记如 SCA1 和 CD117^[33]。但是，Hemangiocytes 在人类肿瘤组织中是否具有促进血管生成的作用还有待证实。

MDSC 是另一种混杂的细胞群，由未成熟的中性粒细胞、单核细胞和 DC 细胞组成^[34]。在小鼠体内，MDSC 定义为 CD11b⁺ Gr1⁺ 细胞。在多种癌症患者的外周血及肿瘤组织中都存在 MDSC 数量增高的现象^[35]。Diaz-Montero 等^[36]发现多种癌症患者体内的外周血中 MDSC 水平与临床分期密切相关。

6 小结与展望

随着研究的深入，髓样细胞在肿瘤血管生成中的作用已经逐步被人们认识。早期，人们就已经从大量的临床病例研究中发现，一些髓样细胞在肿瘤中的数量与肿瘤的发展和恶化程度呈正相关。随着转基因小鼠模型的应用，人们可以通过基因工程技术清除小鼠体内的不同种类的髓样细胞，然后研究细胞缺陷型小鼠对接入肿瘤的生长、发展以及恶化的情况。大量转基因小鼠实验研究表明，髓样细胞被募集到肿瘤组织中，在促进肿瘤的血管生成方面起重要的作用(图1)。

在髓样细胞促进肿瘤血管生成的过程中，细胞之间分泌的化学信号和细胞因子及其信号转导起着十分重要的作用，从这个复杂的信号网络中找到关键的信号分子将有助于人们对肿瘤发展和恶化机制的深入了解，也将有助于开发新的肿瘤治疗靶点。同时，人们在这些髓样细胞中也发现了一些特异性募集到肿瘤组织中的细胞。TEM 就是一类肿瘤组织特异性募集的细胞，在周围临近的正常组织中没有发现其存在。人们也可以利用这些组织特异性细胞为载体，靶向递送抗肿瘤药物到肿瘤组织中，从而开辟一条新的肿瘤靶向治疗的途径。

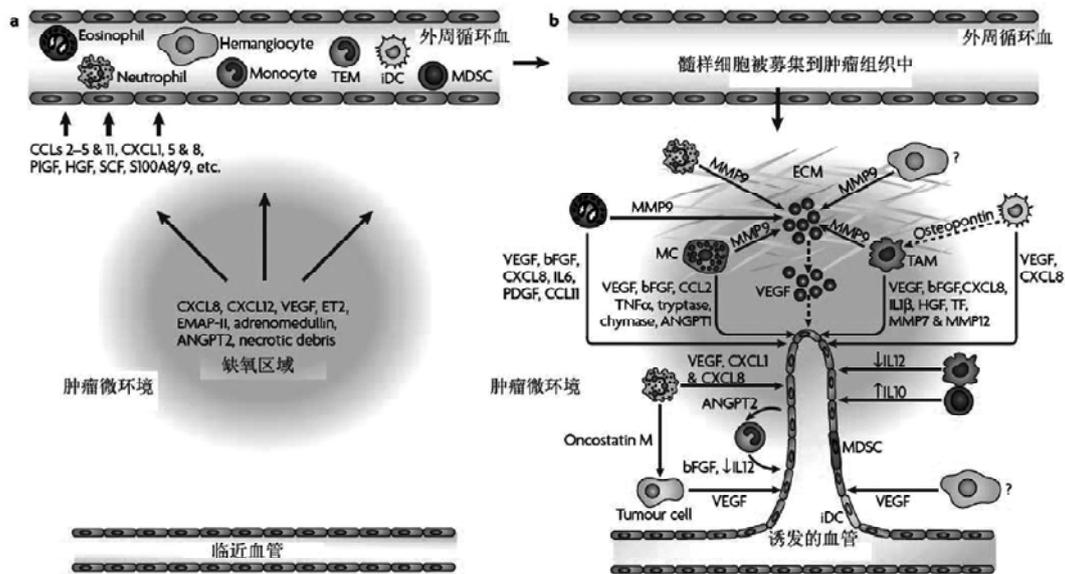


图1 髓样细胞在肿瘤血管生成过程中的作用^[2]

a: 肿瘤微环境中的一些细胞分泌趋化因子如 CCLs 2-5 和 CXCL1、5 等招募外周循环血中的髓样细胞到肿瘤组织中; 肿瘤微环境中的缺氧区域分泌更高水平的趋化因子和细胞因子招募髓样细胞到肿瘤组织中的缺氧区域。b: 髓样细胞促进肿瘤血管的生成。髓样细胞被招募进肿瘤组织中后, 肥大细胞、酸性粒细胞、TAM、中性粒细胞在缺氧区域分泌 MMP9 降解细胞外基质 (ECM), 同时分泌 VEGF 等细胞因子促进血管生成。TEM 通过 Ang-2 和组织缺氧的化学信号被募集到血管结构后, 通过分泌一些细胞因子调控血管的生成。MDSC 和 iDC 能够转分化成血管内皮样细胞构成血管的一部分

[参 考 文 献]

[1] de Visser KE, Eichten A, Coussens LM, et al. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(1): 24-37

[2] Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, et al. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(8): 618-31

[3] Dome B, Timar J, Ladanyi A, et al. Circulating endothelial cells, bonemarrow-derived endothelial progenitor cells and proangiogenic hematopoietic cells in cancer: From biology to therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2009, 69(2): 108-24

[4] Solinas G, Germano G, Mantovani A, et al. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(5): 1065-73

[5] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Tumor-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population role in tumour progression. *Eur J Cancer*, 2004, 40(11): 1660-7

[6] Bingle L, Brown NJ, Lewis CE, et al. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol*, 2002, 196(3): 254-65

[7] Nesbit M, Schaidler H, Miller TH, et al. Low-level monocyte chemoattractant protein-1 stimulation of monocyte leads to tumor formation in nontumorigenic melanoma cells. *J Immunol*, 2001, 166(11): 6483-90

[8] Dirkx AE, Oude Egbrink MG, Wagstaff J, Griffioen AW. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. *J Leukoc Biol*, 2006, 80(6): 1183-96

[9] Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res*, 1996, 56(20): 4625-9

[10] Lin EY, Li JF, Gnatovskiy L, et al. Macrophages regulate the angiogenic switch in a mouse model of breast cancer. *Cancer Res*, 2006, 66(23): 11238-46

[11] Kimura YN, Watari K, Fotovati A. Inflammatory stimuli from macrophages and cancer cells synergistically promote tumor growth and angiogenesis. *Cancer Sci*, 2007, 98(12): 2009-18

[12] Venneri MA, De Palma M, Ponzoni M, et al. Identification of proangiogenic TIE2-expressing monocytes (TEM) in human peripheral blood and cancer. *Blood*, 2007, 109(12): 5276-85

[13] De Palma M, Venneri MA, Galli R, et al. Tie2 identifies a hematopoietic lineage of proangiogenic monocytes required for tumor vessel formation and a mesenchymal population of pericyte progenitors. *Cancer Cells*, 2005, 8(3): 211-26

[14] Fuchs EJ, Whartenby KA. Hematopoietic stem cell transplant as a platform for tumor immunotherapy. *Curr Opin Mol Ther*, 2004, 6(1): 48-53

[15] De Palma M, Mazzieri R, Politi LS, et al. Tumor-targeted interferon- α delivery by Tie2-expressing monocytes inhibits tumor growth and metastasis. *Cancer Cell*, 2008, 14(4): 299-311

[16] Eck M, Schmausser B, Scheller K, et al. Pleiotropic effects of CXC chemokines in gastric carcinoma: differences in CXCL8 and CXCL1 expression between diffuse and intestinal types of gastric carcinoma. *Clin Exp Immunol*, 2003, 134(3): 508-15

- [17] Nielsen BS, Timshel S, Kjeldsen L, et al. 92 kDa type IV collagenase (MMP-9) is expressed in neutrophils and macrophages but not in malignant epithelial cells in human colon cancer. *Int J Cancer*, 1996, 65(1): 57-62
- [18] Bellocq A, Antoine M, Flahault A, et al. Neutrophil alveolitis in bronchioloalveolar carcinoma: induction by tumor derived interleukin-8 and relation to clinical outcome. *Am J Pathol*, 1998, 152(1): 83-92
- [19] McCourt M, Wang JH, Sookhai S, et al. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil directed angiogenesis. *Arch Surg*, 1999, 134(12): 1325-32
- [20] Queen MM, Ryan RE, Holzer RG, et al. Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. *Cancer Res*, 2005, 65(19): 8896-904
- [21] Van den Steen PE, Proost P, Wuyts A, et al. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- α and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood*, 2000, 96(8): 2673-81
- [22] Teruya-Feldstein J, Jaffe ES, Burd PR, et al. Differential chemokine expression in tissues involved by Hodgkin's disease: direct correlation of eotaxin expression and tissue eosinophilia. *Blood*, 1999, 93(8): 2463-70
- [23] Daugherty BL, Siciliano SJ, DeMartino JA, et al. Cloning, expression, and characterization of the human eosinophil eotaxin receptor. *J Exp Med*, 1996, 183(5): 2349-54
- [24] Munitz A, Levi-Schaffer F. Eosinophils: 'new' roles for 'old' cells. *Allergy*, 2004, 59(3): 268-75
- [25] Puxeddu I, Alian A, Piliponsky AM, et al. Human peripheral blood eosinophils induce angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(3): 628-36
- [26] Simson L, Ellyard JJ, Dent LA, et al. Regulation of carcinogenesis by IL-5 and CCL11: a potential role for eosinophils in tumor immune surveillance. *J Immunol*, 2007, 178(7): 4222-9
- [27] Ribatti D, Vacca A, Nico B, et al. The role of mast cells in tumour angiogenesis. *Br J Haematol*, 2001, 115(3): 514-21
- [28] Starkey JR, Crowle PK, Taubenberger S. Mast cell-deficient W/Wv mice exhibit a decreased rate of tumor angiogenesis. *Int J Cancer*, 1988, 42(1): 48-52
- [29] Soucek L, Lawlor ER, Soto D, et al. Mast cells are required for angiogenesis and macroscopic expansion of Myc induced pancreatic islet tumors. *Nat Med*, 2007, 13(10): 1211-8
- [30] Troy AJ, Summers KL, Davidson PJ, et al. Minimal recruitment and activation of dendritic cells within renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(3): 585-93
- [31] Curiel TJ, Cheng P, Mottram P, et al. Dendritic cell subsets differentially regulate angiogenesis in human ovarian cancer. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5535-8
- [32] Scimone ML, Lutzky VP, Zittermann SI, et al. Migration of polymorphonuclear leucocytes is influenced by dendritic cells. *Immunology*, 2005, 114(3): 375-85
- [33] Jin DK, Shido K, Kopp HG, et al. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4⁺ hemangiocytes. *Nat Med*, 2006, 12(5): 557-67
- [34] Yang L, DeBusk LM, Fukuda K, et al. Expansion of myeloid immune suppressor Gr⁺CD11b⁺ cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 2004, 6(4): 409-21
- [35] Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, et al. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells. *Gastroenterology*, 2008, 135(1): 234-43
- [36] Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, et al. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(1): 49-59