

脑胶质瘤的微环境

李欣龙, 曾山 综述 彭里磊, 陈礼刚 审校

西南医科大学附属医院神经外科, 四川 泸州 646000

摘要: 胶质瘤是最常见的中枢神经系统肿瘤, 因中枢神经系统存在血脑屏障、不同的组织构成等, 造成了不同于其他器官的组织环境, 而这些环境似与胶质瘤的发生、发展密不可分。为了改善胶质瘤治疗前景, 了解胶质瘤与其所处环境的关系是十分重要的。本文旨在通过介绍胶质瘤与常见的免疫细胞、血脑屏障等的关系以及部分机制, 阐明胶质瘤所在环境对胶质瘤生长具有促进作用, 为临床提供更多针对抑制胶质瘤发展的靶点, 为胶质瘤的治疗提供更多的方向。

关键词: 胶质瘤; 微环境; 免疫细胞

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.05.015

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 尤以胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 发病率及恶性程度最高^[1]。不做任何干预的 GBM 患者, 中位生存期低于 6 个月, 经过规范化综合治疗 (手术联合放化疗) 后, 也仅延长了 8.6 个月的中位生存期^[2]。尽管有关胶质瘤的研究已获得很多进展, 但治疗效果仍不理想。本文就胶质瘤所处的微环境做一综述, 通过描述微环境构成, 进而扩大对这致命性疾病的治疗范围, 而不仅仅是针对于肿瘤细胞的本身。

1 脑胶质瘤微环境中常见的免疫细胞

1.1 肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs)

脑微环境中的 TAMs 包括组织内小胶质细胞和骨髓巨噬细胞, 他们可占到肿瘤组织体积的 30% 左右^[3], 且细胞数与肿瘤分级呈正相关, 与患者复发生存率呈负相关^[4]。同为 TAMs, 他们的功能是否相同仍存在争议。目前可以通过两种细胞表面标记物 (Tmem119、Cx3cr1、Siglec-H、嘌呤能受体 P2ry12 是小胶质细胞特异性标记物, CD49D/ITGA4 被认为是骨髓巨噬细胞标记物) 对两种细胞进行区分, 进一步了解其在胶质瘤发生、发展中的作用是否一致^[5]。尽管肿瘤内 TAMs 数量与胶质瘤恶性程度呈正相关, 但这些细胞是否具有抗癌活性或成瘤性仍存在争议。例如, TAMs 的缺失可使胶质瘤体积增加 33%, 提示这些细胞可能参与抗肿

瘤反应。相反, TAMs 的药理学激活导致胶质瘤体积增大, 表明这些细胞可能促进肿瘤生长和侵袭。就目前而言, 更倾向于 TAMs 促进肿瘤发生、发展^[6]。靶向减少 CD11b 小胶质细胞和巨噬细胞可抑制胶质瘤的生长。小胶质细胞合成和释放的应诱导蛋白 1, 它是细胞肌蛋白配体, 这个配体可以促进胶质母细胞瘤在体内外的增殖和迁移; 小胶质细胞释放的 TGF- β , 也可增加胶质瘤细胞的迁移^[7]。

1.2 树突状细胞 (DC)

DC 从事抗原提呈, 它可将肿瘤抗原提呈给主要组织相容性复合物, 形成 MHC-抗原复合物而被 T 细胞识别, 进而形成肿瘤免疫。但脑实质中缺少 DC。针对 DC 的研究多是研究 DC 疫苗主动免疫治疗胶质瘤。DC 疫苗在治疗 GBM 的 I/II 期临床实验中, 其可行性和有效性都得到了证实, 大量以 DC 为基础的临床实验仍在开展中^[8]。关于 DC 疫苗研究主要集中在如何提高 DC 疫苗的免疫效力上, 例如通过不同的抗原修饰、炎症刺激预处理、联合治疗等。

1.3 中性粒细胞

在人脑胶质瘤中, 循环和浸润中性粒细胞的数量与胶质瘤分级有关。在临床前胶质瘤模型中, 中性粒细胞促进肿瘤生长, 浸润中性粒细胞数与获得性抗血管内皮生长因子治疗耐药有关。在循环中,

基金项目: 四川省科技支撑计划项目, 2013SZZ002; 泸州市政府 - 西南医科大学联合科研专项资金计划项目, 14ZC0071-LH09; 泸州市政府 - 西南医科大学联合科研专项资金计划项目, 2016LZXNYD-G03; 西南医科大学青年基金项目, 2013ZRQN068; 四川省卫生和计划生育委员会科研课题 (普及应用项目), 16PJ557; 泸州市科技计划项目

收稿日期: 2018-06-06; **修回日期:** 2018-08-23

作者简介: 李欣龙 (1994-), 男, 西南医科大学在读研究生, 研究方向: 立体定向及功能神经外科。

通信作者: 陈礼刚 (1966-), 男, 博士, 教授, 主任医师, 主要从事脑肿瘤的基础研究及临床研究。E-mail: chengligang.cool@163.com。

中性粒细胞产生精氨酸酶 I 诱导免疫抑制而促进肿瘤生长;在肿瘤部位中,中性粒细胞分泌弹性蛋白酶,协助胶质瘤浸润,并可产生 S100a4 直接诱导 GBM 起始细胞的增殖。然而,最近的实验表明,在其他肿瘤中,中性粒细胞可以被激活直接杀死肿瘤细胞或协调抗肿瘤反应,提高目前抗肿瘤抗体和检查点抑制剂等治疗的效率,笔者认为如何将此作用发挥至胶质瘤中,将会是很好的研究方向^[9,10]。

1.4 淋巴细胞

由于中枢神经系统存在血脑屏障使抗原难以提呈,T 细胞、抗体等进入受限,限制了免疫功能。目前通过疫苗的方式,人为帮助 T 细胞获取抗原,增加克隆程度,针对胶质瘤的疫苗策略取得了可喜的成绩,但也存在明显的局限性,尤其是它们不能重复和有效地扩增肿瘤抗原特异性 T 细胞。个体化改良的疫苗仍是很有前途的治疗方法。在胶质瘤中,尚存在一种免疫抑制亚群 Tregs 细胞,阻断 Tregs 细胞具有良好的前景,例如用 CD25 中和抗体治疗小鼠,消除 Tregs 的抑制作用,从而增强 T 细胞的抗肿瘤作用^[7]。肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 是被认为能够识别和响应特定肿瘤抗原的效应细胞,但近期的研究表明体外扩张 TILs 治疗恶性胶质瘤的临床益处可能有限。另外,过继 T 细胞转移治疗也被认为是胶质瘤治疗的希望。对于胶质瘤来说,肿瘤已经进化出许多机制来逃避先天免疫和适应性免疫,如 MHC 抗原和共刺激分子的调控,调控 Fas 配体和其他凋亡分子在细胞表面的表达,抑制性分子 (TGF- β 和 IL-10 等) 的产生,Tregs 细胞的募集等^[11]。这对胶质瘤的治疗造成了很大的阻碍,但以上的阻碍机制在理论上都可以成为潜在治疗的靶点。

2 星形胶质细胞

星形胶质细胞是胶质瘤微环境中最丰富的胶质细胞,对中枢神经系统的发育、动态平衡和防御十分重要,但其在胶质瘤微环境中的作用尚不明确^[12,13]。Chen 等将人脑星形胶质细胞与人脑胶质瘤细胞株 U251 和 A172 在体外传代系统中进行共培养,发现星形胶质细胞显著增加 U251 和 A172 细胞的迁移和侵袭,分析认为星形胶质细胞分泌 IL-6 诱导 MMP 14 产生,从而促进胶质瘤细胞的侵袭^[13]。另外,Hong 等通过使用间隙连接抑制因子 siRNAs 和一个显性负连接蛋白突变体操纵间隙连接,发现胶质瘤和星形胶质细胞间隙连接促进胶质

瘤侵袭^[14]。阻断星形胶质细胞与胶质瘤细胞之间联系是否有益,还需要就一步研究。

3 胶质瘤干细胞 (GSCs)

GSCs 被认为是具有自我更新、形成神经球、表达干细胞标志物、多向分化、较高侵袭力、放化疗抵抗等特性的一类胶质瘤细胞。目前越来越多的研究者把胶质瘤干细胞作为胶质瘤治疗的重要靶点。Mehta 等人进一步深入了解星形胶质细胞和细胞外基质因子在通过 Jak/STAT 途径促进 GSCs 侵袭和迁移中的作用^[15]。我们认为了解 GSCs 与其所处的血管周围微环境以及缺氧、坏死性微环境的关系以及如何促进胶质瘤干细胞分化,打破胶质瘤干细胞干性,将会是 GSCs 一个研究方向。

4 脑血管

4.1 血脑屏障 (BBB)

BBB 的功能主要有以下方面:①控制分子的交通,使大脑免于感染和毒物的侵袭;②保证传导神经信号的离子稳态;③维持中枢神经系统低蛋白环境,限制增殖,保证神经连接;④将中枢和外周神经递质池分开,减少相互影响;⑤允许免疫监测和反应,将炎症和细胞损伤最小化^[16]。由于 BBB 的存在,限制了很多药物进入脑组织,使治疗疗效欠佳^[7]。在低级别胶质瘤中,此时的 BBB 与正常 BBB 相似,无太大变化,在高级别胶质瘤中,正如增强 MRI 时钆渗漏的那样,BBB 功能出现了改变,这被认为是高级别胶质瘤的高代谢需求导致低氧区,引起血管内皮生长因子和血管生成的增加,导致异常血管的形成和功能失调的 BBB 出现^[17]。但是,这种局部渗漏又不太可能使药物渗透达到有意义的浓度。如何规避或克服 BBB,研究者们在各方面都做出了努力:①动脉内注入甘露醇高渗溶液,导致内皮细胞暂时收缩,随后短暂打开紧密连接;②缓激肽受体介导的 BBB 的开放;③抑制药物外排转运蛋白的作用;④利用受体介导的转运系统;⑤绕开 BBB,直接进行瘤腔给药或脑室内给药^[18]。虽然上述尝试取得了部分成果,但仍存在亟待解决的问题,或是效果欠佳或是副作用明显。

4.2 血管生成

胶质母细胞瘤 (GBM),是高度血管生成的肿瘤,增生的血管较正常血管大为不同,表现为血管组织异常、结构完整性差。肿瘤的血供是维持发展和侵袭的必要条件,鉴于 GBM 高度血管生成特性,阻止血管生成成为靶点的治疗应运而生,但却没能取

得预期成功^[19]。Gilbert 等^[20]对新诊断的 GBM 患者进行贝伐单抗随机临床试验结果显示,与安慰剂对照组相比,无进展生存率略有增加,总体存活率并无差别,而使用贝伐单抗治疗的并发症却严重影响了患者生活质量,包括高血压、血栓形成、中性粒细胞减少等。通过使胶质瘤新生血管正常化,调节肿瘤血管,减少缺氧,改善灌注和药物传递的实验也在开展,例如对复发性 GBM 患者进行西地拉尼单药实验,MRI 显示西地拉尼能迅速使血管大小和通透性正常化,减轻脑水肿^[21]。上述两种治疗方式似乎存在冲突,这都源于我们对肿瘤灌注机制了解太少,它可能比我们认识到的要复杂得多。

5 淋巴系统

淋巴系统具有免疫防御、调节组织压力、维持内环境稳定等重要功能。并在炎症反应、组织水肿、肿瘤转移等多种病理过程中发挥关键作用^[22]。既往认为大脑缺少淋巴系统。但是,最近的研究表明,大脑有自己独特的淋巴系统,且由两部分构成。一部分是经典的淋巴系统,即由真正的淋巴管组成的结构,在小鼠身上进行的研究显示,存在着与脑窦平行的淋巴管,表达经典的淋巴管内皮标记物 PROX1、趋化因子 CCL21、淋巴管内皮透明质酸受体 1 等,并且在脑池中注入的染料 30 分钟后在脑淋巴管中出现,随后又在颈深淋巴结中显示证明了淋巴系统的存在;另一个被称为 Glymphatic system,它被认为是在星形胶质细胞水通道-4 基础上,使间质液从动脉周围向静脉周围空间流动,动脉搏动似乎是驱动脑脊液血管周围流动的一种重要力量^[23,24]。目前大脑淋巴系统被认为可能在许多神经退行性疾病中起着重要作用,它与胶质瘤之间关系,有待我们去揭示。

6 神经元

神经元作为高度分化的细胞,是大脑功能的承载者。但神经元似乎对胶质瘤的生长和进展起到了某些促进作用:①对大脑皮层神经元活动的光遗传学操作导致儿童皮质 GBM 细胞移植到小鼠皮层的增殖速度增加^[25];②对皮质切片的光刺激导致条件培养液中各种细胞因子出现活性依赖性分泌,用该培养液培养胶质瘤细胞,大部分高级别胶质瘤细胞表现出广泛的有丝分裂,神经连接素-3 被认为是主要因素^[25]。③体外研究中脑源性神经营养因子通过高亲和力 TrkB (NTRK 2) 受体促进高级别胶质瘤细胞的增殖和迁移^[26]。④GBM 近端脑组织

中胞外谷氨酸含量增加,谷氨酸通过钙内流介导的 PI3K-AKT 信号通路通过 AMPA 受体促进胶质母细胞瘤细胞的生长和迁移^[27]。⑤胶质瘤的进展和肿瘤细胞行为的发展导致皮质兴奋性提高,这种兴奋性的提高与胶质瘤细胞的迁移行为增强有关^[27]。关于神经元与胶质瘤的关系我们还需进一步研究。

7 细胞外基质 (ECM)

脑 ECM 与其他组织不同,仅占组织体积的 20% 左右,脑 ECM 主要由糖胺聚糖透明质酸 (HA)、蛋白多糖和一些连接蛋白构成的^[28]。这些物质维持组织的稳态、结构、生物力学完整性。在恶性肿瘤中,HA 常增加,并向细胞质传递信号,从而增强肿瘤细胞的增殖、运动和侵袭能力,并通过开辟肿瘤迁移空间和与 HA 结合分子相互作用来促进肿瘤的生长、粘附、迁移^[29]。蛋白多糖是由含糖胺聚糖侧链的蛋白质核心、硫酸乙酰肝素 (Hs)、硫酸软骨素或角蛋白/硫酸皮素组成的。Hs 蛋白多糖可介导胶质瘤细胞与血管之间的通讯。凝集素家族是脑蛋白多糖的一个重要家族,在胶质瘤中,该家族中 Brevican 被上调,其表达与胶质瘤的侵袭性相关^[30]。基质中细胞因子也通过复杂机制促进胶质瘤的发生发展,例如 TGF- β 、IL-10 等。细胞外基质与胶质瘤关系复杂,继续深入研究其各种机制以及相互联系,可帮助我们更深入了解胶质瘤,另外试图使用某些抑制剂和/或确定更精确的靶点来阻止胶质瘤浸润的前景也十分丰富,但这仍然是一个巨大的挑战。

8 展望

胶质瘤的微环境,与胶质瘤发生、发展密切相关,目前针对胶质瘤微环境的治疗进展缓慢。因此,在针对胶质瘤本身的同时,改善或打破它的温床似乎是必要的。面对复杂的微环境内容,本文所综述的内容,仅仅是一部分,我们仍需将研究深入下去,相信会有更多有益的发现,为进一步干预胶质瘤带来更好的方向与前景。

参 考 文 献

- [1] Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005 - 2009 [J]. Neuro-Oncology, 2012, 14 Suppl 5: v1-49.
- [2] 储以微. 脑胶质瘤免疫微环境的研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21 (05): 485-492.
- [3] Bowman RL, Klemm F, Akkari L, et al. Macrophage ontogeny

- underlies differences in tumor-specific education in brain malignancies [J]. *Cell Rep*, 2016, 17(9): 2445-2459.
- [4] Komohara Y, Ohnishi K, Kuratsu J, et al. Possible involvement of the M2 anti-inflammatory macrophage phenotype in growth of human gliomas [J]. *J Pathol*, 2010, 216(1): 15-24.
 - [5] Quail DF, Joyce JA. The microenvironmental landscape of brain tumors [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 326-341.
 - [6] Wei J, Gabrusiewicz K, Heimberger A. The controversial role of microglia in malignant gliomas [J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013(4): 285246.
 - [7] Yin J, Valin KL, Dixon ML, et al. The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity, and Cancer [J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 5150678.
 - [8] 易立, 陶震楠, 杨学军. 胶质瘤免疫治疗新进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(18): 931-934.
 - [9] Massara M, Persico P, Bonavita O, et al. Neutrophils in Gliomas [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1349.
 - [10] Rahbar A, Cederarv M, Wolmer-Solberg N, et al. Enhanced neutrophil activity is associated with shorter time to tumor progression in glioblastoma patients [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(2): e1075693.
 - [11] Chung DS, Shin HJ, Hong YK. A new hope in immunotherapy for malignant gliomas: adoptive T cell transfer therapy [J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014(3): 326545.
 - [12] Verkhratsky A, Matteoli M, Parpura V, et al. Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion [J]. *EMBO J*, 2016, 35(3): 239-257.
 - [13] Chen WL, Xia TL, Wang DH, et al. Human astrocytes secrete IL-6 to promote glioma migration and invasion through upregulation of cytomembrane MMP14 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 62425-62438.
 - [14] Hong X, Sin WC, Harris AL, et al. Gap junctions modulate glioma invasion by direct transfer of microRNA [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17): 15566-15577.
 - [15] Mehta S. Editorial: The Role of Microenvironment in the Homing, Maintenance, and Release of Glioma Stem-Like Cells [J]. *Fron Oncol*, 2018, 8: 7.
 - [16] Abbott NJ. Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery [J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2013, 36(3): 437.
 - [17] Plate KH, Scholz A, Dumont DJ, et al. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 124(6): 47-56.
 - [18] van Tellingen O, Yetkin-Arik B, de Gooijer MC, et al. Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment [J]. *Drug Resist Updat*, 2015, 19(10): 1-12.
 - [19] Mao JM, Liu J, Guo G, et al. Glioblastoma vasculogenic mimicry: signaling pathways progression and potential anti-angiogenesis targets [J]. *Biomark Res*, 2015, 3(1): 1-10.
 - [20] Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(8): 699-708.
 - [21] Batchelor TT, Duda DG, di Tomaso E, et al. Phase II study of cediranib, an oral pan-vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(17): 2817-2823.
 - [22] 曹俊国, 王闯, 黄海燕, 等. 中枢神经系统淋巴循环的研究进展 [J]. *中华神经医学杂志*, 2016, (8): 860-864.
 - [23] Simka M. Recent advances in understanding the lymphatic and glymphatic systems of the brain [J]. *Przegląd Flebologiczny*, 2016, 3: 69-71.
 - [24] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels [J]. *Nature*, 2015, 523(7560): 337-341.
 - [25] Venkatesh HS, Johung TB, Caretti V, et al. Neuronal activity promotes glioma growth through neuroligin-3 secretion [J]. *Cell*, 2015, 161(4): 803-816.
 - [26] Lawn S, Krishna N, Pisklakova A, et al. Neurotrophin signaling via TrkB and TrkC receptors promotes the growth of brain tumor-initiating cells [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(6): 3814-24.
 - [27] Johung T, Monje M. Neuronal activity in the glioma microenvironment [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, 47: 156.
 - [28] Ferrer VP, Moura Neto V, Mentlein R. Glioma infiltration and extracellular matrix: key players and modulators [J]. *Glia*, 2018, Feb 21. doi: 10.1002/glia.23309. [Epub ahead of print]
 - [29] Karousou E, Misra S, Ghatak S. Roles and targeting of the HAS/hyaluronan/CD44 molecular system in cancer [J]. *Matrix Biol*, 2017, 59: 3-22.
 - [30] Maeda N. Proteoglycans and neuronal migration in the cerebral cortex during development and disease [J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 98.