

肿瘤相关巨噬细胞起源的研究进展

白帅 综述,赵钢 审校

(天津医科大学肿瘤医院胃肠肿瘤生物学实验室,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市“肿瘤防治重点实验室,天津市恶性肿瘤临床医学研究中心,天津 300060)

摘要 肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及免疫抑制微环境和血管的生成等方面发挥重要作用。近年来的研究提示,TAMs并非单一起源于骨髓单核细胞。但在不同肿瘤中,其起源、表型与功能仍存在争议。对TAMs的起源及其与M1/M2型巨噬细胞的关系和TAMs作为治疗靶点的相关研究进行综述,有助于进一步理解TAMs亚群及其在免疫治疗中意义。

关键词 肿瘤微环境;肿瘤相关巨噬细胞;起源

中图分类号 R730.3

文献标志码 A

肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移以及免疫抑制微环境和血管的生成等方面发挥重要作用^[1]。多年来,人们一直认为TAMs仅起源于单核细胞,即外周循环的单核细胞经血管内皮细胞浸润到肿瘤组织内,随后在肿瘤微环境的作用下发育为TAMs。近年来对TAMs起源的深入研究发现,在肿瘤微环境中,除单核细胞源性的TAMs外,还存在胚胎起源的TAMs。但在不同肿瘤中,其起源、表型与功能仍存在争议。本文对TAMs的起源及其与M1/M2型巨噬细胞的关系和TAMs作为治疗靶点的相关研究进行了综述。

1 TAMs的起源

TAMs是肿瘤微环境中数量最多的免疫细胞之一^[2],并被认为是骨髓单核细胞起源。在外周单核细胞进入肿瘤组织的过程中,趋化因子CCL2及其受体CCR2发挥了关键作用,并且阻断CCL2/CCR2信号会导致TAMs的数量大幅减少,这支持了单核细胞起源的观点。但是删除CCR2并不能完全清除巨噬细胞,提示可能存在TAMs起源的异质性,即非单核细胞起源。

1.1 肺TAMs的起源 肺癌相关巨噬细胞同时存在单核细胞来源和胚胎来源。过去的研究认为,肺癌相关巨噬细胞仅起源于单核细胞。因为在非小细胞肺癌的Lewis肺癌模型中发现被标记的单核细胞分化为TAMs。如在Kras^{LSL-G12D/+}p53^{fl/fl}遗传小鼠模型中,荧光标记的单核细胞前体细胞在肿瘤进展过程中分化为巨噬细胞。但后来的研究发现,除单核细胞来源外,也存在胚胎起源^[3]。正常肺组织常驻巨噬细胞包括间质巨噬细胞(IMs)和肺泡巨噬细胞(AMs)。

在肿瘤微环境中,AMs随肿瘤进展逐渐减少,并最终局限于癌旁的正常组织中;但IMs(Ly6C^{high}CD64⁺FLT1⁺VCAM1⁺)以不依赖CCR2的方式,在肿瘤组织中逐渐增多。除肿瘤组织外,IMs还主要分布于大气道与胸膜附近的正常肺组织中,提示其分布依赖解剖部位。谱系示踪实验进一步提示IMs由红系髓系祖细胞(EMPs)发育而来,并在胚胎期迁移到肺组织中,所以IMs即为肺癌中胚胎起源的TAMs。单核细胞来源的TAMs以依赖CCR2的方式,逐渐募集单核细胞到肿瘤微环境中,并发育为TAMs(Ly6C^{low}CD64⁺FLT1⁺)。在肿瘤后期,单核细胞来源的TAMs逐渐成为数量最多的TAMs亚群。不同起源的TAMs功能是有差异的。单核细胞来源的TAMs可以促进肿瘤的扩散,而胚胎来源的TAMs会促进肿瘤的生长,但是经过化学治疗药物(环磷酰胺)清除这两个来源的TAMs后,新浸润的单核细胞来源的TAMs可以发挥清除肿瘤细胞的作用^[4]。

1.2 脑TAMs的起源 脑恶性肿瘤的研究主要集中在最常见的神经胶质瘤。目前的研究结果提示,神经胶质瘤中的TAMs是双重起源,包括单核细胞源性的TAMs和小胶质细胞源性的TAMs,但此前有彼此相矛盾的研究结果。过去的研究认为,脑肿瘤中的TAMs仅为单核细胞来源,或仅为小胶质细胞衍生而来。这种矛盾的结果可能是由于实验方法所致。因为过去为避免血-脑屏障的影响,所采用的区分小胶质细胞和单核细胞源性TAMs的方法是,先使用射线破坏受体的骨髓造血系统,再将被标记的骨髓造血细胞移植到受体中,进而观察被标记的单核细胞在脑部肿瘤组织中的浸润情况^[5-6]。但射线照射会破坏小鼠的血-脑屏障,并造成免疫系统的紊乱,以及脑组织中免疫细胞的非特异性浸润,进而影响实验的准确

作者简介 白帅(1991-),男,硕士在读,研究方向:肿瘤学;通信作者:赵钢,E-mail:gang_zhao1986@126.com。

性。随着实验技术的不断发展,Bowman 团队利用谱系示踪技术和神经胶质瘤小鼠模型,在没有辐射的情况下,证实了 TAMs 并非单一起源,而是包括小胶质细胞和单核细胞起源的 TAMs。要指出的是,小胶质细胞起源于胚胎期祖细胞,而单核细胞起源于造血干细胞。这两群 TAMs 的转录谱和表观遗传景观差异明显,并可以 CD49d 作为区分的标志物^[7]。在此基础上,Müller 团队进一步对患者的神经胶质瘤标本进行单细胞测序研究,结果发现,在肿瘤微环境中存在两个 TAMs 亚群:小胶质细胞来源的巨噬细胞、来自外周血的单核细胞源性的 TAMs。单核细胞源性的 TAMs 分泌更多的免疫抑制细胞因子,并主要分布于血管和肿瘤坏死灶附近,且与低级别神经胶质瘤的总体生存率不佳显著相关。小胶质细胞源性的 TAMs 分布于肿瘤浸润的前缘,并与预后无关。这提示单核细胞源性的 TAMs 可能是潜在的免疫治疗靶点^[8]。

1.3 胰腺 TAMs 的起源 胰腺恶性肿瘤中的 TAMs 包括单核细胞与胚胎期祖细胞双重起源。有研究利用 p48-CRE⁺Lox-Stop-Lox (LSL)-Kras^{G12D}p53^{flv/+}胰腺癌小鼠模型以及谱系示踪和转录测序技术,观察了胰腺癌相关巨噬细胞的起源与功能^[9]。其结果分析发现,胰腺癌组织中同时稳定存在单核细胞起源和胚胎起源的 TAMs,而且在肿瘤进展过程中两群细胞数量均会增加。单核细胞来源的 TAMs 与抗原呈递作用更相关。胚胎来源的 TAMs 具有更强的增殖活性,并可通过沉积和重塑细胞外基质来促进胰腺癌的间质纤维化。间质纤维化不仅是胰腺癌的显著特征,也是化学治疗药物渗透效率低下的主要原因。此外,不同来源的巨噬细胞对胰腺癌进展的影响不同,当耗竭单核细胞起源的巨噬细胞后,肿瘤进展不会受影响;而当耗竭胚胎来源的组织巨噬细胞后,肿瘤的进展被显著抑制。

1.4 乳腺 TAMs 的起源 在 MMTV-PyMT 自发性乳腺癌小鼠模型中,肿瘤微环境中的巨噬细胞存在两个亚群,分别是 MHCII^{high}CD11b^{low}TAMs 以及 MHCII^{high}-CD11b^{high} 乳腺组织巨噬细胞(mammary tissue macrophages, MTMs),这两群细胞均源于外周 CCR2⁺单核细胞,并且其分化为 TAMs 依赖 Notch 信号通路^[10]。此外,随着肿瘤的进展,越来越多的 TAMs 通过增殖来扩大细胞数量,而 MTMs 因增殖活性较低,其比例并随着肿瘤的进展而逐渐降低。该研究提示,在肿瘤进展过程中,单核细胞的浸润和 TAMs 的原位增殖均发挥维持巨噬细胞数量的作用。在另一种自发性乳腺癌模型 MMTV-Neu 中,也发现了两个 TAMs 亚群(CD11b^{high}F4/80^{low}MHCII^{high} 和 CD11b^{low}F4/

80^{high}MHCII^{low}),而且均来自单核细胞,其中 CD11b^{low}F4/80^{high}MHCII^{low} 依赖增殖维持细胞数量^[11],这与 MMTV-PyMT 模型中的发现相似。此外,在乳腺癌患者中也发现 TAMs 具备增殖能力,并且其数量与 CCL2(CCR2 的配体)水平显著相关,表明 TAMs 在人乳腺癌中同时依赖原位增殖和单核细胞浸润^[12]。

2 TAMs 起源于 M1/M2 型巨噬细胞的关系

组织中的巨噬细胞具有很强的可塑性,在不同微环境中可表现出明显的功能差异。目前普遍认为,巨噬细胞主要分为 M1 型即经典活化的巨噬细胞,和 M2 型即替代性活化的巨噬细胞。M1 型巨噬细胞具有很强的抗原提呈功能,并且可以通过分泌白细胞介素(IL)-2、IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子及 CCL2、CXCL9 等趋化因子激活辅助性 T 细胞 1 型免疫反应。因此,M1 型巨噬细胞是机体内发挥免疫防御功能的效应细胞。M2 型巨噬细胞具有 IL-12 低表达(IL-12^{low})、IL-10 高表达(IL-10^{high})、IL-1 受体拮抗剂高表达(IL-1ra^{high})、IL-1 假受体高表达(IL-1decoyR^{high})的表型特征,并分泌趋化因子 CCL17、CCL22,其抗原提呈功能低下,并会抑制机体获得性免疫反应,但同时具有促进组织修复及血管生成的作用^[13]。TAMs 低表达主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ类分子,高表达免疫抑制细胞因子,如 IL-10、转化生长因子-β(TGF-β)等,并且抗原提呈功能低下,因此通常认为 TAMs 与 M2 型巨噬细胞具有相似的表型特征及功能特点^[14]。随着对 TAMs 起源的深入研究,发现了更多不同标记特征的 TAMs^[15]。在肺癌小鼠模型中,不论是胚胎起源的 TAMs(Ly6C^{high}CD64⁺FLT1⁺VCAM1⁺)还是单核细胞起源的 TAMs(Ly6C^{low}CD64⁺FLT1⁺),均不能定义为单一的 M1 或 M2 型巨噬细胞,而可能是 M1 或 M2 型的混合体^[16]。神经胶质瘤中,单核细胞与小胶质细胞起源的 TAMs 均有很大比例的 TAMs 同时表达 M1 和 M2 型的特征分子。但单核细胞来源的 TAMs 免疫抑制基因表达水平更高,并且其细胞代谢依赖三羧酸循环,因此更接近 M2 型巨噬细胞^[8]。在胰腺癌小鼠模型中,胚胎起源的 TAMs 低表达 MHC Ⅱ类分子,并会促进肿瘤进展,提示与 M2 型巨噬细胞类似;而单核细胞来源的 TAMs 高表达 MHC Ⅱ类分子,提示更接近 M1 型巨噬细胞^[17]。在自发性乳腺癌模型(MMTV-Neu)中,单核细胞起源的 CD11b^{low}F4/80^{high}MHCII^{low}TAMs 与 M2 型巨噬细胞有相似的基因表达谱,但尚不清楚其功能特点^[11]。在 MMTV-PyMT 乳腺癌小鼠模型中,MHCII^{high}CD11b^{low}TAMs 可以促进肿瘤的生长,但却不表达 M2 型巨噬细胞的特征分子(如 CD206)。

3 TAMs 作为肿瘤治疗的靶点

鉴于 TAMs 在肿瘤进展中起着至关重要的促进作用,靶向 TAMs 已成为新的抗肿瘤治疗策略(见表 1)。循环单核细胞的浸润高度依赖 CCL2-CCR2 信号,因此抑制该信号可以减少 TAMs 的细胞数量。目前 CCR2 抑制剂已进入临床试验,如 CCX872-B、PF-04136309、MLN1202 和 BMS-813160 等^[18]。在一项胰腺癌的 I b 期临床试验(NCT01413022)中,CCR2 抑制剂(PF-04136309)与 FOLFIRINOX(奥沙利铂、伊立替康、亚叶酸钙蛋白和氟尿嘧啶组成的化学治疗方案)联合方案,可以将患者的化学治疗反应率提高 40%^[9]。集落刺激因子 1 受体(CSF1R)对巨噬细胞的生长、分

化至关重要,因此成为最早开发的靶点之一。在小鼠动物模型中,CSF1R 抑制剂与放疗或化学治疗相结合可改善 T 细胞的免疫反应^[19]。CSF1R 拮抗剂可以高效清除人和小鼠肿瘤中的 TAMs,但可能因为存在代偿机制,其临床疗效非常有限^[17]。在一项关于晚期胰腺癌患者的 2 期临床试验中,CSF1R 单克隆抗体(cabiralizumab)、纳武利尤单抗克隆抗体(nivolumab)及化学治疗的联合方案与单独化学治疗相比,并没有改善患者的无进展生存期(NCT03336216)。CD 47 在肿瘤中广泛表达,当与巨噬细胞表面的信号调节蛋白 α (SIRP α)结合,可以抑制巨噬细胞的吞噬功能。目前靶向 CD47-SIRP α 的多项临床试验正在

表 1 巨噬细胞靶向治疗的临床试验汇总

靶点	药物名称	临床阶段	肿瘤类型	临床试验编号
CSF1R	Pexidartinib	I	Advanced pancreatic cancer or CRC	NCT02777710
CSF1R	ARRY-382	I/II	Solid tumors, melanoma, NSCLC	NCT02880371
CSF1R	BLZ945	I/II	Solid tumors	NCT02829723
CSF1R	IMC-CS4	I	Pancreatic cancer	NCT03153410
CSF1R	Emactuzumab	I	Solid tumors	NCT02323191
CSF1R	Emactuzumab	I	Advanced solid tumors	NCT02760797
CSF1R	Cabiralizumab	II	Resectablebiopsiable BTC	NCT03768531
CSF1R	Cabiralizumab	II	Advanced HCC	NCT04050462
CSF1R	Cabiralizumab	II	Pancreatic cancer	NCT03336216
CSF1R	Cabiralizumab	I	Solid tumors	NCT02526017
CSF1R	AMG820	I/II	Advanced solid tumors	NCT02713529
CCR2/5	BMS-813160	II	NSCLC and HCC	NCT04123379
CCR2/5	BMS-813160	I/II	Locally advanced PDAC	NCT03767582
CCR2/5	BMS-813160	I/II	Locally advanced PDAC	NCT03496662
CCR2/5	BMS-813160	II	Advanced RCC	NCT02996110
CCR2	PF-04136309	I	Pancreatic cancer	NCT01413022
CD47	Hu5F9-G4	I	Solid tumors and ovarian cancer	NCT03558139
CD47	Hu5F9-G4	I/II	Urothelial Carcinoma	NCT03869190
SIRP α	TTI-621	I/II	Solid tumors	NCT02890368
SIRP α	TTI-621	I	Hematologic Malignancies and solid tumors	NCT02663518
CD40	CP-870,893	I	Recurrent or stage IV melanoma	NCT01103635
CD40	APX005M	I	NSCLC and metastatic melanoma	NCT03123783
CD40	Selicrelumab	I	Solid tumors	NCT02304393
TLR7	DSP-0509	I/II	Neoplasms	NCT03416335
TLR7	BNT411	I/II	Solid tumors and extensive SCLC	NCT04101357
TLR7	LHC165	I	Solid tumors	NCT03301896
TLR7	Imiquimod	I	Solid tumors	NCT04116320
TLR7/8	Resiquimod	I	Tumors	NCT00821652
TLR7/8	NKTR-262	I/II	Solid tumors	NCT03435640
CXCR4	BL-8040	II	Metastatic pancreatic adenocarcinoma	NCT02826486
CXCR4	BL-8040	I	Metastatic, recurrent or stage IV PDAC	NCT02907099
CXCR4	AMD3100	II	HNSCC	NCT04058145
PI3K δ	Duvelisib	I/II	HNSCC	NCT04193293
PI3K γ r	IPI-549	I	Advanced Solid Tumors	NCT02637531

进行中^[20]。Magrolimab 亦称 Hu5F9-G4,是抗人 CD47 单克隆抗体。在一项 Magrolimab 与化学治疗药物阿扎胞苷(Azacitidine)联合的 I b 期临床试验中,高危骨髓增生异常综合征(MDS)的客观缓解率(objective response rate,ORR)高达 92%,而急性髓系白血病(AML)患者的 ORR 也可达到 64%。神经胶质瘤小鼠模型在应用 CD47 抑制剂后,小胶质细胞衍生的 TAMs 介导的不良反应较轻,且其吞噬效率比单核来源的 TAMs 更高。提示 CD47 与单核来源 TAMs 的联合靶向治疗是潜在有效的治疗策略^[21]。此外,有研究证实,TAMs 表面的程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)表达水平随肿瘤生长而增加,并且 PD-1⁺的 TAMs 主要是单核细胞来源的。因此 PD-1 可能是靶向 TAMs 的潜在靶点^[7]。靶向 TAMs 将是抗肿瘤综合治疗的重要一环,但目前仍面临许多挑战,比如治疗有效性与不良反应之间如何平衡?如何找到更有效的特异性靶点等。因此多角度、多层次深入地了解 TAMs 的特征,如起源、功能、时空分布等,可以为精准治疗提供重要线索。

4 结语与展望

现有的研究结果已可以证实肿瘤微环境中巨噬细胞的起源、表型与功能存在异质性,但对 TAMs 起源与发育的研究仍处在初步阶段,因为仍有许多的未知需要探索,如除上述外的其他类型肿瘤中巨噬细胞的起源及维持细胞亚群的机制,不同起源的巨噬细胞亚群之间特异性的谱系标志物和功能标志物,不同亚群在肿瘤组织内的时空分布以及对化学治疗、放射治疗、免疫治疗的影响,不同亚群在肿瘤原发部位与转移部位之间的差异等。尽管如此,目前的研究结果已经提示,以不同起源 TAMs 为基础,开发临床预测模型,并制定针对性的免疫治疗策略是有希望的。因此,深入研究 TAMs 的起源,不仅对理解免疫系统的复杂性有重要意义,而且将为肿瘤的基础与临床研究奠定更坚实的基础。

参考文献:

- [1] SHU Y, CHENG P. Targeting tumor-associated macrophages for cancer immunotherapy[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874 (2): 188434
- [2] CHEN Y, SONG Y, DU W, et al. Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression[J]. *J Biomed Sci*, 2019, 26(1): 78
- [3] MANTOVANI A, MARCHESE F, JAILLON S, et al. Tumor-associated myeloid cells: diversity and therapeutic targeting[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18 (3): 566
- [4] WU K, LIN K, LI X, et al. Redefining tumor-associated macrophage subpopulations and functions in the tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2020, 11(1731): 1
- [5] QI Y, LIU B, SUN Q, et al. Immune checkpoint targeted therapy in glioma: status and hopes[J]. *Front Immunol*, 2020, 11(578877): 1
- [6] DE LEO A, UGOLINI A, Veglia F. Myeloid cells in glioblastoma microenvironment[J]. *Cells*, 2020, 10 (1): 18
- [7] LAVIRON M, BOISSONNAS A. Ontogeny of tumor-associated macrophages[J]. *Front Immunol*, 2019, 10 (1799): 1
- [8] OCHOCKA N, SEGIT P, WALENTYNOWICZ K A, et al. Single-cell RNA sequencing reveals functional heterogeneity of glioma-associated brain macrophages[J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 1151
- [9] YANG S, LIU Q, LIAO Q. Tumor-associated macrophages in pancreatic ductal adenocarcinoma: origin, polarization, function, and reprogramming[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8 (607209): 1
- [10] WANG N, WANG S, WANG X, et al. Research trends in pharmacological modulation of tumor-associated macrophages [J]. *Clin Translat Med*, 2021, 11 (1): 288
- [11] ZHOU J, TANG Z, GAO S, et al. Tumor-associated macrophages: recent insights and therapies[J]. *Front Oncol*, 2020, 10 (188): 1
- [12] LARIONOVA I, TUGUZBAEVA G, PONOMARYOVA A, et al. Tumor-associated macrophages in human breast, colorectal, lung, ovarian and prostate cancers[J]. *Front Oncol*, 2020, 10 (566511): 1
- [13] YUNNA C, MENGURU H, LEI W, et al. Macrophage M1/M2 polarization[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 877 (173090): 1
- [14] MEHRAJ U, QAYOOM H, MIR M A. Prognostic significance and targeting tumor-associated macrophages in cancer: new insights and future perspectives[J]. *Breast cancer*, 2021, 28 (3): 1
- [15] 孙凤环, 陈健, 张鹏. 单细胞测序在肿瘤基因检测中的研究进展[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2019, 40 (1): 123
- [16] LIU Y, WANG R. Immunotherapy targeting tumor-associated macrophages[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7 (583708): 1
- [17] XIANG X, WANG J, LU D, et al. Targeting tumor-associated macrophages to synergize tumor immunotherapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1): 75
- [18] PATHRIA P, LOUIS T L, Varner J A. Targeting tumor-associated macrophages in cancer[J]. *Trends Immunol*, 2019, 40 (4): 310
- [19] GARCIA-ORTIZ A, RODRIGUEZ-GARCIA Y, ENCINAS J, et al. The role of tumor microenvironment in multiple myeloma development and progression[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13 (2): 217
- [20] JALIL A R, ANDRECHAK J C, DISCHER D E. Macrophage checkpoint blockade: results from initial clinical trials, binding analyses, and CD47-SIRPα structure-function[J]. *Antib Ther*, 2020, 3(2): 80
- [21] HUTTER G, THERUVATH J, GRAEF C M, et al. Microglia are effector cells of CD47-SIRPα antiphagocytic axis disruption against glioblastoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116 (3): 997

(2021-02-04 收稿)