

·述评·

# 转化医学研究对恶性肿瘤转移浸润的探讨

郑树



【摘要】 恶性肿瘤治疗失败 90% 的原因是由于治疗后转移复发。Paget 早在 1889 年就提出了“种子与土壤”的学说; Ewing 于 1928 年又提出了肿瘤转移的“流体动力学”的学术观点; 均为肿瘤转移相关的基本理论。分子生物学技术的不断发展和转化医学研究的逐渐深入, 为临床研究提供了可供筛选、易致肿瘤转移复发的“种子”——肿瘤干细胞或具干性细胞。近些年对肿瘤细胞产生的外排囊泡(tumor derived exosome)的研究, 提出了形成前转移壁龛(premetastatic niche)及转移的趋向性的概念, 建立了识别这类外排囊泡的方法, 均为临床筛选、临床预测与个体诊治提供了可行的手段, 并已有临床的报道, 是转化医学研究领域进一步干预阻断肿瘤复发转移的新课题。

【关键词】 转化医学; 肿瘤; 复发; 转移

**Exploration of translational medicine research in metastasis and invasion of malignant tumors** Zheng Shu. Cancer Institute (Key Laboratory of Cancer Prevention and Intervention, China National Ministry of Education), The Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China  
Email: zhengshu@zju.edu.cn

**Abstract** Ninety percent of malignant tumor treatment failure is due to post-operative metastasis and recurrence. Paget's “seed and soil” in 1889 and Ewing's “tumor metastatic fluid dynamics” in 1928 are the basic scientific concepts of metastasis. With the advanced molecular biological technology combined with the translational medicine research, possible or potential metastatic “seed”-tumor stem cells or stemness cells can be screened. In recent years, study on the “tumor derived exosome” raised the concept of pre-metastatic niche and progenitor metastasis. On the other hand, associated

methodology and technology for screening and detection of the exosome had been established, which provides feasible methods for screening, prediction and individual therapy. It will be the new era for cancer prevention and intervention in translational medicine area.

**【Key words】** Translational medicine; Neoplasm; Metastasis; Relapse

恶性肿瘤的诊断与治疗经历长期基础研究和临床实践, 国内外已经形成了渐趋一致的共识, 但仍存在诸多基础和临床问题需要解决。恶性肿瘤治疗失败的主要原因有 90% 是由于转移浸润与复发, 其预测与干预阻断治疗急需对策。这些也就是当前转化医学研究涉及的重要内容。转化医学研究是以患者为中心、以临床问题为导向、以成果应用为目标而进行的基础研究, 是多层次、多学科交叉融合的系统研究工程。从恶性肿瘤发生发展机制中寻找诊治靶点及寻找转移复发的关键分子事件, 需要经历发掘(discovery)、鉴定(identification)、证实(verification)以及最后临床确认(validation)的过程, 包括单中心及多中心临床试验应用。现对恶性肿瘤转移浸润与复发方面的转化医学研究进行探讨。

## 一、对恶性肿瘤转移基础的再认识

1889 年, Paget<sup>[1]</sup>提出了“种子与土壤”学说。从目前分子生物学的水平理解, 种子为肿瘤细胞及干细胞性的肿瘤细胞, 土壤为肿瘤微环境。肿瘤微环境中存在肿瘤细胞、间质及细胞外基质, 各种分子交互形成肿瘤独特的微环境(土壤)。种子与土壤两者之间的作用机制核心为上皮间质转化(epithelial mesenchymal transitions) 和间质上皮转化(mesenchymal epithelial transitions)。与胚胎发育相似, 均为从干细胞或具干性(stemness)的肿瘤细胞经历失极性、分化、去分化、黏附、去黏附、抗外源损伤(如抗放、化疗)以及抗凋亡与促增生。胚胎发育形成三胚层个体, 但肿瘤细胞在此过程中经历遗传突变及表观遗传突变, 结合微环境中的变异, 形成对各层面的异常调控与蛋白质修饰等, 而促使肿瘤发生发展<sup>[2]</sup>。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2014.01.001

作者单位: 310009 杭州, 浙江大学肿瘤研究所 浙江大学医学院附属第二医院恶性肿瘤预警与干预教育部重点实验室

Email: zhengshu@zju.edu.cn

Ewing<sup>[3]</sup>于 1928 年发表的“转移流体动力学 (flow dynamics)”学说,提出了远处转移流体动力的趋动靶向性的问题。近些年,随着分子生物学研究的进展,引起了科学家更多关注。对细胞“外排囊泡(exosome)”的研究,促成了对肿瘤转移探讨的新领域。外排囊泡是由不同细胞的内囊泡聚集向细胞外排而形成的,直径为 30~100 nm,见图 1<sup>[4]</sup>。各细胞引导出的外排囊泡,包含了引导细胞的生物特征,如蛋白质、RNA 或 DNA 等<sup>[5]</sup>。排出细胞外的外排囊泡可出现在体液,如血液、尿液或胸腹水等,并可停留于不同的组织或器官。如肿瘤细胞可分泌多种因子,包括生长因子、趋化因子、细胞外基质、蛋白微颗粒及外排体等。该类分泌因子可随血流或体液在体内移动或转移,可能在某些转移部位或器官形成前转移龛 (pre-metastatic niche),成为转移趋向性的基础<sup>[6]</sup>。循环的肿瘤细胞为“种子”,前转移龛为相应的“土壤”。这些外排囊泡具有其相应功能,包括凝结、促血管壁裂开、促炎性反应及免疫反应和分泌细胞外基质等。这些因子均有可能成为前转移龛的组成部分,进而可理解炎性反应在肿瘤发生发展中的作用与意义。

2012 年,Peinado 等<sup>[7]</sup>对恶性黑色素瘤的转移趋向性进行研究,认为恶性黑色素瘤易转移到肺及骨髓是由于恶性黑色素瘤产生的外排囊泡先趋向达到转移器官,并“教育”靶器官,从而引导恶性黑色素瘤细胞转移。从图 2 可见发自各种因子结成的血块

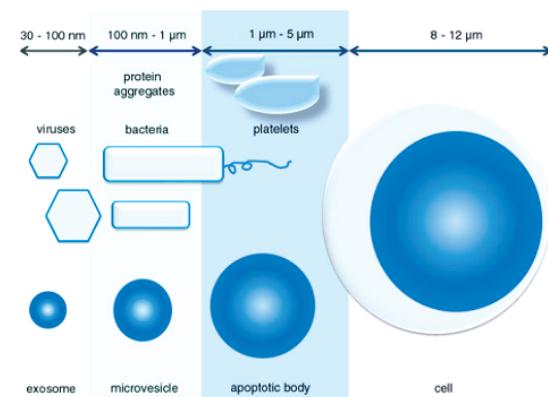


图 1 外排囊泡大小模式图<sup>[4]</sup>

样结构中,包括凝血块及肿瘤来源的外排囊泡等,先分布到各靶器官形成前转移灶 (niche),作为器官趋向因子 (organotropic factors)<sup>[6]</sup>。该现象可理解为 Ewing<sup>[3]</sup>的转移流体动力学的内涵部分。概括而言,对肿瘤转移的认识与研究,应该从 Paget<sup>[1]</sup>的种子与土壤(微环境)学说及 Ewing<sup>[3]</sup>的肿瘤流体动力学说两个理论的汇集。

肿瘤细胞形成的外排囊泡源于肿瘤细胞,可伴有该肿瘤的相应的分子特征,如可表达 CEA、EGFRV III、HER2 和 MelanA 等 RNA、DNA 和 miRNA,也可应用这些微小囊泡所可能具有的抗体 CD63、CD81、LAMP1 和 TSG101(Caveolin 1)等进行分选<sup>[8]</sup>。这些游走在体液(血、尿、胸水和腹水等)的微小囊泡形成了新的标志物,通过分子生物技术如超速离心或相应抗体

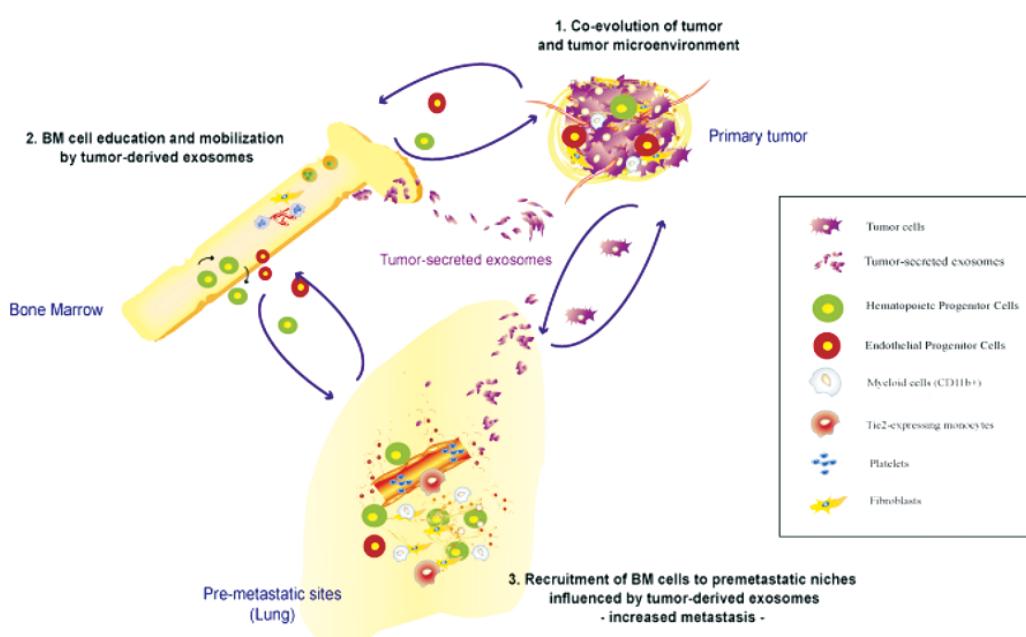


图 2 肿瘤外排囊泡(exosomes)和前转移龛(niche)及器官趋向因子<sup>[6]</sup>

技术分选捕获肿瘤细胞的外排囊泡,可用于筛选、早诊、监测个体化治疗以及预测预后等,现已有肺腺癌、神经胶质母细胞瘤及卵巢癌、前列腺癌等相关报道<sup>[9-11]</sup>。其诊断前列腺癌的特异性及敏感性分别达 83% 及 90%<sup>[12]</sup>; 在结直肠癌亦可达 85% 及 85%<sup>[13]</sup>。这些均显示了该技术具有的良好应用前景。

## 二、对恶性肿瘤复发基础的再认识

临幊上常可见到肿瘤根治性治疗后间隔一段时间(数年、十数年或 20 年),会出现远处转移。显然是肿瘤自原发灶经由扩散的肿瘤细胞在其某个适当部位,如骨髓、肝、肺或脑等,潜伏或冬眠,由其微环境决定其复苏。这些冬眠细胞(种子)的再发由全身或局部环境而催生。近几年的循环肿瘤细胞的研究深化了对肿瘤复发的理解。2012 年 Chen 等<sup>[14]</sup>从人胃癌组织及周围血分离到 CD44<sup>+</sup>CD54<sup>+</sup>的胃癌细胞,发现其具有再生性,能在体外形成克隆球,接种裸鼠后发现可生长出与人胃癌相类同的腺癌,见图 3;经体内与体外实验证实,这些细胞有自我再生能力。该研究说明,周围血中存在的胃癌干细胞是潜在肿瘤复发的基础。Chen 等<sup>[14]</sup>进一步应用 CD44 及 CD54 抗体对 18 例患者周围血循环肿瘤细胞(CTC)进行临床筛选,CD44<sup>+</sup>CD54<sup>+</sup>的细胞筛选出率为 0.1%~19.7%,可助判断潜在复发的概率,指导进一步干预阻断。

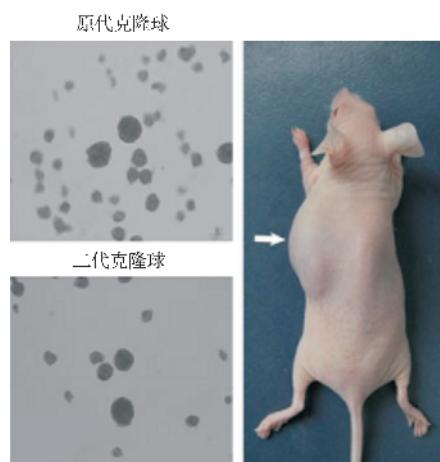


图 3 从 6 例胃癌患者周围血分选出 CD44<sup>+</sup>CD54<sup>+</sup>体外培养见原代及二代克隆球,并可在裸鼠体内成瘤<sup>[14]</sup>

在其他肿瘤的研究中,结合不同肿瘤的干细胞标志,如 CD133、CD34、CD117 和 Lgr5 等,均有可能成为在临幊中通过周围血筛选肿瘤的相应标志,进一步的应用性研究可为肿瘤患者判断预后、监测疗效及个体化治疗提供帮助。比如在可切除结直肠癌

的病例中,有 15%~20% 的患者已发现肝转移,有 50% 的病例根治术后 2 年内会出现肝转移。因此,寻找预测转移特异的标志物,对诊治和干预阻断肝转移更显重要。

## 三、结直肠癌标志物与预后预测

在发掘与结直肠癌转移及增殖相关基因的研究中,越来越多地应用分子生物学技术表达谱-转录组学。近些年来,我们的研究团队从基因发掘开始,先验证其在结直肠癌的表达状况,再逐一进行体内外实验研究,证实其对肿瘤转移浸润的促进或抑制功能,继而从临幊资源进行验证,最终从单个中心小样验证扩大到多中心大样本,如 SPARC L1<sup>[15]</sup> 和 SOX2<sup>[16]</sup> 等。但肿瘤的发展是多基因作用的结果,单一基因虽能提供预测但并不全面。如 Yu 等<sup>[17]</sup> 应用生物信息学技术,对结直肠癌核心信号传导通路中的核心基因进行筛选,发现最佳结合的 P53 与 SPARC L1 两基因的预后预测效果明显优于单一基因的预测结果;在 P53(-)-SPARC L1(+)低危组与 P53(+)-SPARC L1(-)高危组 3 年生存率分别为 88.30% 和 37.84%。但单中心的验证尚难以被临幊接受与实践,还应进行多中心大样本的证实。近几年,浙江大学(ZJU)与美国 City of Hope(COH)共同联合,进行了数个基因的发掘、鉴定、验证直至多中心验证,如基因 RRM2、RRM2B(RRP53R2) 和 HMGA2 等<sup>[18-19]</sup>。经其功能研究发现,尽管 RRM2 与 RRM2B 均为核糖核苷酸双磷酸还原酶家族的 2 个小亚基,但其功能恰好相反。前者低表达时肿瘤增生浸润均受抑制,后者则相反,与肿瘤增生浸润转移呈负相关。而且,RRM2B 高表达提示患者生存率较高,尤其肿瘤Ⅲ期及Ⅳ期者较早期结直肠癌更明显。RRM2 则相反,如高表达其 HRS 分别为 1.88(COH) 及 2.06(ZJU),见图 4<sup>[18]</sup>。

基础研究从肿瘤发生发展机制、进而认识其生物学特征。“种子与土壤”包含冬眠肿瘤干细胞及外排囊泡,与转移流体动力学说相结合,为转化医学研究提供了新的思路,为进一步提高临幊诊治效果开创了新的研究领域。

## 参 考 文 献

- [1] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889[J]. Cancer Metastasis Rev, 1989, 8: 98-101.
- [2] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. Cell, 2008, 133: 704-715.

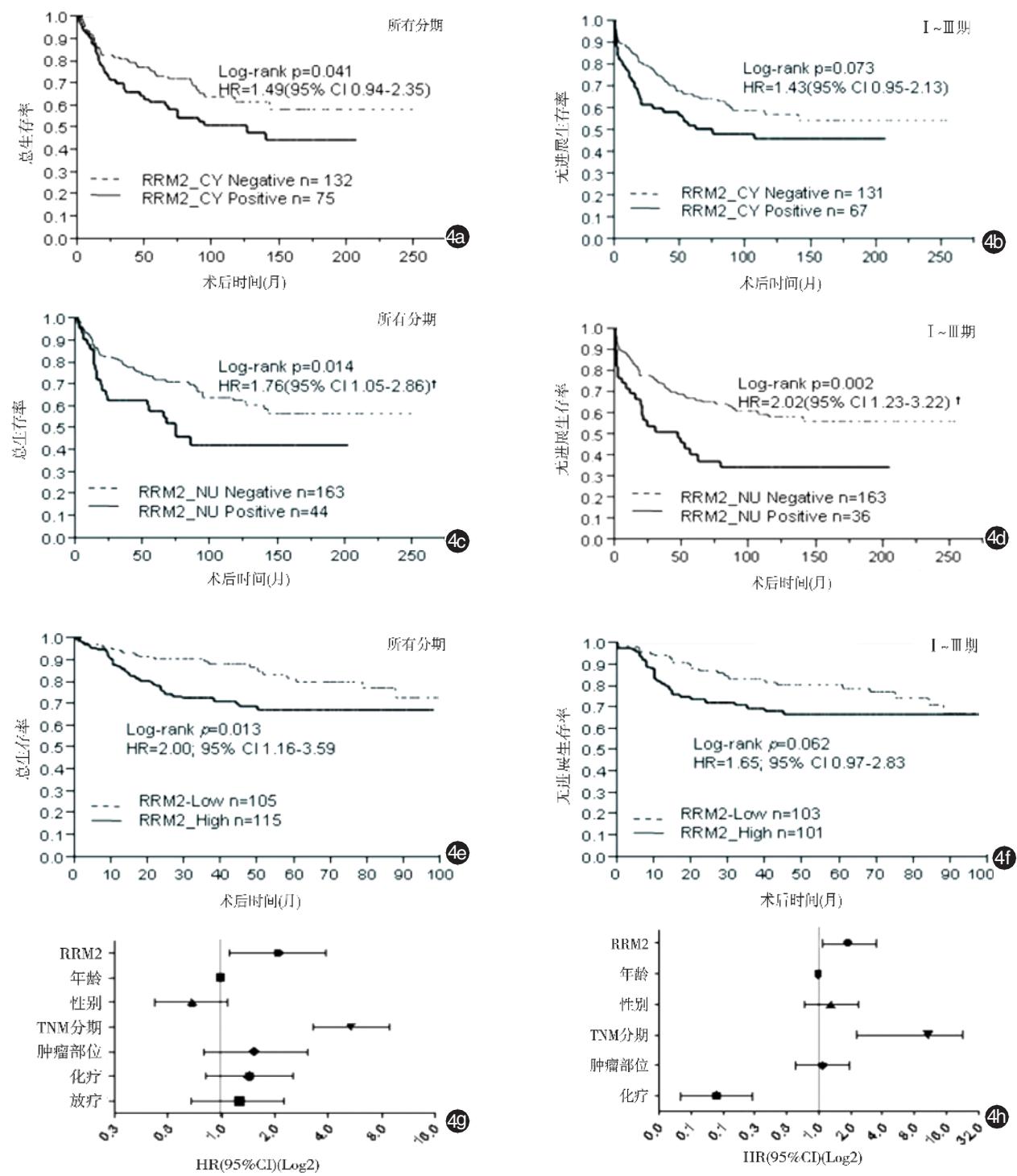


图4 不同RRM2表达水平结直肠患者的生存分析 4a至4d及4g为美国希望城(COH)资料,4e、4f及4h为浙江大学资料(ZJU)资料<sup>[18]</sup>

- [3] Ewing J. Neoplastic diseases: a treatise on tumors [M]. Philadelphia: WB Saunders, 1928;74-83.
- [4] György B, Szabó TG, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles [J]. Cell Mol Life Sci, 2011,68:2667-2688.
- [5] Théry C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes. Selective accumulation of the heat shock protein hsc73 [J]. J Cell Biol, 1999,147:599-610.
- [6] Peinado H, Lavotshkin S, Lyden D. The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts [J]. Semin Cancer Biol, 2011,21:139-146.
- [7] Peinado H, Aleckovic M, Lavotshkin S, et al. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET [J]. Nat Med, 2012,18:883-891.

- [8] Ji H, Greening DW, Barnes TW, et al. Proteome profiling of exosomes derived from human primary and metastatic colorectal cancer cells reveal differential expression of key metastatic factors and signal transduction components [J]. *Proteomics*, 2013, 13;1672-1686.
- [9] Cazzoli R, Buttitta F, Di Nicola M, et al. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8:1156-1162.
- [10] Noerholm M, Balaj L, Limperg T, et al. RNA expression patterns in serum microvesicles from patients with glioblastoma multiforme and controls [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12:22.
- [11] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110:13-21.
- [12] Spetzler D, Tinder T, Kankipati S, et al. A circulating microvesicle-based biosignature for the detection of colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(suppl 4):abstr373.
- [13] Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100:1603-1607.
- [14] Chen T, Yang K, Yu J, et al. Identification and expansion of cancer stem cells in tumor tissues and peripheral blood derived from gastric adenocarcinoma patients [J]. *Cell Res*, 2012, 22:248-258.
- [15] Hu H, Zhang H, Ge W, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteines-like 1 suppresses aggressiveness and predicts better survival in colorectal cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18:5438-5448.
- [16] Fang X, Yu W, Li L, et al. ChIP-seq and functional analysis of the SOX2 gene in colorectal cancers [J]. *OMICS*, 2010, 14:369-384.
- [17] Yu SJ, Yu JK, Ge WT, et al. SPARCL1, Shp2, MSH2, E-cadherin, p53, ADCY-2 and MAPK are prognosis-related in colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17:2028-2036.
- [18] Liu X, Zhang H, Lai L, et al. Ribonucleotide reductase small subunit M2 serves as a prognostic biomarker and predicts poor survival of colorectal cancers [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124:567-578.
- [19] Wang X, Liu X, Li AY, et al. Overexpression of HMGA2 promotes metastasis and impacts survival of colorectal cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17:2570-2580.

(收稿日期:2013-10-18)

## ·编者·作者·读者·

### 关于中华医学会系列杂志投稿网址及论文二次发表的声明

为维护广大读者和作者的权益以及中华医学会系列杂志的声誉,防止非法网站假冒我方网站诱导作者投稿、并通过骗取相关费用非法获利,现将中华医学系列杂志稿件管理系统网址公布如下,请广大作者加以甄别。

1. “稿件远程管理系统”网址:中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)首页的“业务中心”栏目、中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页的“稿件远程管理系统”以及各中华医学会系列杂志官方网站接受投稿。作者可随时查阅到稿件处理情况。

2. 编辑部信息获取:登录中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页,在《中华医学会系列杂志一览表》中可查阅系列杂志名称、编辑部地址、联系电话等信息。

3. 费用支付:中华医学会系列杂志视杂志具体情况,按照有关规定,酌情收取稿件处理费和版面费。稿件处理费作者在投稿时支付;版面费为该稿件通过专家审稿并决定刊用后才收取。

根据国际惯例(参考《向生物医学期刊投稿的统一要求》)和我国的实际情况,某些由政府机构和专业组织制定的指南以及作者用其他语言文字发表的科研成果,需要让更多的读者了解,凡符合下列条件并提供相应材料,中华医学会系列杂志允许或接受论文用同一种语言或另一种语言的二次发表。

1. 作者须征得相关期刊的同意,首次发表论文的期刊和准备二次发表的期刊均无异议。作者需向二次发表的期刊提供首次发表该论文期刊的同意书、论文首次发表的时间和论文复印件及单行本或原稿。

2. 尊重首次发表的权益,二次发表至少在首次发表 1 周之后。

特此声明。