

骨微环境在骨转移瘤形成早期的作用

许克寒 肖建如

摘要 骨是多种实体肿瘤的常见转移部位之一,肿瘤细胞与骨细胞之间关系密切且相互作用复杂。近期研究发现肿瘤细胞在肿瘤形成早期即可到达骨组织并定植,经长期休眠后少数肿瘤细胞会发展成为骨转移瘤。因此,可将骨转移瘤的形成分为定植、休眠、再活化和增殖4个阶段,但目前对骨转移瘤形成早期的定植、休眠和再活化阶段知之甚少。该文就骨细胞在骨转移瘤形成早期的作用和分子机制作一综述。

关键词 骨微环境;转移瘤细胞;休眠;成骨细胞;破骨细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2018.01.010

骨转移瘤在肿瘤患者中多见,65%~75%前列腺癌和乳腺癌患者、30%~40%肺癌患者及7%~20%甲状腺癌患者会发生骨转移^[1]。骨转移瘤常见症状有骨痛、脊髓受压、高钙血症及病理性骨折等^[2],严重影响患者生活质量。骨转移瘤的形成分为定植、休眠、再活化和增殖4个阶段^[3]。骨转移瘤增殖机制为骨内肿瘤细胞通过分泌甲状旁腺激素相关肽(PTHrP)等细胞因子刺激成骨细胞高表达核因子- κ B受体活化因子配体(RANKL),RANKL与破骨细胞表面核因子- κ B受体活化因子(RANK)结合以激活破骨细胞。活化的破骨细胞降解骨基质,导致骨基质内转化生长因子(TGF)- β 和多种生长因子释放增多,反向促进肿瘤细胞生长,形成“恶性循环”^[4]。目前对骨转移瘤定植、休眠和再活化的认识仍十分有限。来源于不同组织的肿瘤,虽然细胞谱系不同,但它们具有相似的特点及分子细胞机制。本文将综合分析骨微环境在骨转移瘤形成早期的作用和分子机制。

1 骨骼是常见转移部位

骨代谢平衡依赖于成骨细胞和破骨细胞活性的动态平衡。破骨细胞源自髓系造血干细胞,是高度特异的多核巨细胞,也是唯一能进行骨吸收的细胞。成骨细胞则由原始骨干细胞增殖分化形成的成骨前体细胞进一步分化而成^[5]。

骨骼容受性较强,但排斥肿瘤转移灶形成。在乳腺癌、前列腺癌及多发性骨髓瘤动物实验模型中发现,骨骼中存在大量转移瘤细胞,但最终仅有少数

肿瘤细胞可形成骨转移灶^[6]。骨微环境中多种骨细胞并存且不断变换,只有适应骨微环境的调控,肿瘤细胞才能生存^[7]。

Andersen等^[8]发现铁蛋白可出现在骨重塑隔室冠层中,提示肿瘤细胞通过毛细血管直接转移到骨重塑隔室微环境中,对骨内肿瘤的形成起着重要作用。骨重塑隔室富含生长因子的微环境会促进肿瘤细胞生长,而那些到达骨内膜静息表面的肿瘤细胞则处于休眠状态。近年研究表明,成骨细胞谱系细胞与造血干细胞相互作用的微环境有利于肿瘤细胞在骨内膜定植^[9-10]。

2 肿瘤细胞在骨内定植

肿瘤细胞定植于骨微环境不仅受原发灶及骨微环境调控,也受肿瘤细胞本身特性影响。肿瘤细胞离开原发灶后,可由上皮表型转为间充质表型^[11],使肿瘤细胞更好地适应外部环境,并可分化为不同类型的肿瘤细胞,为定植于不同远隔器官做准备^[12]。转移肿瘤细胞到达远隔器官后,从间充质表型变回上皮表型,上皮表型的肿瘤细胞可通过表达多种黏附分子更好地定植于转移器官^[13]。

研究表明造血干细胞生态位有助于转移肿瘤细胞定植于骨内。造血干细胞生态位由成骨细胞、间充质干细胞及微血管系统等构成。其中血窦内径长且容量大,能降低血流速度,利于转移肿瘤细胞定植于骨内造血干细胞生态位^[14]。同时,骨内脉管系统分泌大量趋化因子配体(CXCL)12,使造血干细胞存留于骨髓微环境,并吸引产生趋化因子受体(CXCR)4的肿瘤细胞趋向骨面,进而促使微循环中肿瘤细胞定位于骨微环境^[15]。

骨内膜表达大量肿瘤细胞趋化因子如钙离子(Ca^{2+})、CXCL12、RANKL、N-钙黏蛋白及膜联蛋白

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(Grant2016YFC0902100)

作者单位: 200003, 上海长征医院骨肿瘤科

通信作者: 肖建如 E-mail: jianruxiao83@smmu.edu.cn

II 等。骨微环境中高浓度 Ca^{2+} 通过与肿瘤细胞表达的钙敏受体(CaSP)结合,诱导肿瘤细胞定植于造血干细胞生态位。转移肿瘤细胞与造血干细胞都表达 CXCR4,竞争结合骨内膜表面 CXCL12。肿瘤细胞还可通过 N-钙黏蛋白、膜联蛋白 II 受体及 RANKL 结合到骨内膜,从而完成定植。

进入骨微环境的肿瘤细胞通过表达整合素、N-钙黏蛋白等多种分子以锚定于骨髓。整合素可连接多种细胞基质因子以介导肿瘤细胞锚定,如整合素 $\alpha\nu\beta 3$ 和 $\alpha\nu\beta 5$ 与骨桥蛋白(OPN)、骨涎蛋白(BSP)、玻连蛋白及 E-钙黏蛋白结合可促进肿瘤细胞定植^[16]。乳腺癌患者骨内 BSP 与整合素 $\alpha\nu\beta 3$ 和 $\alpha\nu\beta 5$ 结合,可调控乳腺癌细胞黏附、迁移和增殖过程,BSP 表达减少可降低乳腺癌骨转移发生率^[17]。相反,多发性骨髓瘤表达的整合素 $\alpha 4\beta 1$ 通过血管细胞黏附分子(VCAM)-1 与骨细胞发生作用。用整合素 $\alpha 4\beta 1$ 抗体处理携带 5TGM1 多发性骨髓瘤细胞的小鼠可抑制肿瘤生长,提示整合素 $\alpha 4\beta 1$ 在定植过程中起着关键作用。

3 骨细胞调控休眠期肿瘤细胞

进入骨内的肿瘤细胞不会立即生长,而是先进入休眠期以逃脱免疫系统及药物治疗的清除。休眠期肿瘤细胞可能不会发展为骨转移瘤,也可能多年后形成骨转移灶。Lawson 等^[18]研究表明,转移肿瘤细胞定植于成骨细胞系微环境后,成骨细胞系会调控其处于长期休眠状态以使其存活。⁵¹Cr 标记的多发性骨髓瘤细胞在 5T 小鼠体内示踪显示,肿瘤细胞仅部分存活于肝脏和脾脏,却能全部存活于骨内^[19]。活体成像技术证实,大量肿瘤细胞可定植于骨表面,粘附于表达 I 型胶原的成骨细胞,并维持在休眠状态。有研究表明,成骨细胞系可表达白细胞介素(IL)-6、骨形态发生蛋白(BMP)、Wnt 蛋白、Wnt 拮抗剂、核心蛋白聚糖、膜黏附分子、膜联蛋白 II 和生长停滞特异性蛋白(GAS)6 等多种细胞因子,从而使多发性骨髓瘤细胞维持在休眠状态,减缓肿瘤细胞活化。膜联蛋白 II 受体和 GAS6 可分别结合肿瘤细胞膜联蛋白 II 和酪氨酸激酶受体 AXL,该通路抑制肿瘤细胞生长,促使肿瘤细胞休眠。前列腺癌细胞和多发性骨髓瘤细胞表达的膜联蛋白 II 受体与成骨细胞表达的膜联蛋白 II 结合,使肿瘤细胞维持休眠状态^[20]。在前列腺癌模型中发现成骨细胞表达的 GAS6 与肿瘤细胞表面酪氨酸激酶受体 AXL、TYRO3 及 MER 作用,促进转移前列腺癌

细胞在骨内休眠^[21]。GAS6 与 AXL 的表达平衡可能是调控肿瘤细胞休眠状态的关键因素。近年研究表明,异型黏附分子介导乳腺癌转移瘤细胞生态位交联,N-钙黏蛋白在调控肿瘤细胞休眠方面发挥重要作用^[22]。

除成骨细胞外,血管周细胞也具有调控肿瘤细胞生存与休眠的能力^[23]。Shiozawa 等^[24]研究发现,在前列腺癌小鼠体内前列腺癌细胞与造血干细胞竞争造血干细胞生态位。Ghajar 等^[25]研究发现,扩散的乳腺癌细胞与转移部位脉管系统有关。上皮细胞表达血小板反应蛋白(TSP)1 有助于维持转移乳腺癌细胞处于休眠状态,而新生血管系统则具有激活休眠期肿瘤细胞和促进乳腺癌细胞生长的作用。成骨细胞通过表达 TGF- β ,进而促进乳腺癌细胞生长及转移,而新生脉管系统内皮末梢细胞释放骨膜素以促进小鼠内肿瘤细胞生长^[26]。

4 休眠期肿瘤细胞再活化

休眠期肿瘤细胞再活化过程复杂,可能受肿瘤细胞和骨微环境双重调控。转移肿瘤细胞具有许多类似于肿瘤干细胞的特性,但大量休眠期肿瘤细胞中仅少量细胞可被活化,表明休眠期肿瘤细胞具有异质性,当这些细胞进入骨微环境生态位时,部分具有增殖潜质的肿瘤细胞保有这些特性。骨微环境的改变可破除肿瘤细胞休眠状态,这可能是休眠期肿瘤细胞再活化的另一关键性因素。

研究发现,低钙饮食会促进破骨细胞骨吸收及肿瘤生长,但对成骨细胞没有影响,表明破骨细胞可能介导肿瘤细胞再活化^[27]。破骨细胞通过改变骨内膜生态位释放休眠期肿瘤细胞,促使肿瘤细胞活化成实体肿瘤。但并非所有休眠期肿瘤细胞都可以再活化表明这一过程不是同步的,与个体差异有关。目前认为破骨细胞介导休眠期肿瘤细胞再活化是一个随机事件,该过程由定植于骨内膜休眠期肿瘤细胞数量及骨吸收率决定,吸收率越高,破骨细胞活化休眠期肿瘤细胞可能性越大。临床和基础研究均表明,加速破骨细胞骨吸收的因素可促进肿瘤骨转移,而抑制骨吸收的因素则会减慢骨内肿瘤生长^[3]。

肿瘤细胞分泌 PTHrP 等细胞因子,促进骨微环境中 RANKL 等因子表达及骨破坏进程,有利于骨基质中 TGF- β 等蛋白释放以进一步促进肿瘤生长。但休眠期肿瘤细胞活化原因及肿瘤与破骨细胞相互作用机制仍尚未明确。近期研究表明,可能是破骨细胞先打破成骨细胞对肿瘤细胞的休眠作用,

从而启动上述“恶性循环”。研究发现,前列腺癌中重组人粒细胞集落刺激因子(GCSF)和 RANKL 可有效刺激位于骨内膜生态位的肿瘤细胞,减少休眠期肿瘤细胞数量^[28]。通过活体成像技术示踪成骨细胞生态位的肿瘤细胞,发现 RANKL 能显著增加破骨细胞数量,并减少骨内膜生态位中肿瘤细胞数量^[18]。这些研究都说明破骨细胞先改变骨内膜生态位,从而释放并活化休眠期肿瘤细胞。

5 结语

骨内膜表面的成骨细胞促进转移肿瘤细胞长期处于休眠状态,而破骨细胞可改变骨内膜造血干细胞生态位并释放休眠期肿瘤细胞,导致肿瘤细胞再活化。目前认为破骨细胞是肿瘤细胞再活化并形成转移瘤的始作俑者,而成骨细胞维持肿瘤细胞长期休眠状态可能导致肿瘤耐药。对肿瘤细胞在骨微环境中休眠和再活化机制的深入认识可能为骨转移瘤的治疗提供新思路 and 药物靶点。

参 考 文 献

- [1] Bonetto R, Tallet A, Melot A, et al. The management of bone metastasis[J]. *Bull Cancer*, 2017, 104(6): 585-592.
- [2] Coleman RE. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies[J]. *Cancer Treat Rev*, 2001, 27(3): 165-176.
- [3] Croucher PI, McDonald MM, Martin TJ. Bone metastasis: the importance of the neighbourhood[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(6): 373-386.
- [4] Futakuchi M, Fukamachi K, Suzui M. Heterogeneity of tumor cells in the bone microenvironment: mechanisms and therapeutic targets for bone metastasis of prostate or breast cancer[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 99(Pt B): 206-211.
- [5] Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation[J]. *Nature*, 2003, 423(6937): 337-342.
- [6] Ottewill PD, Wang N, Brown HK, et al. Zoledronic acid has differential antitumor activity in the pre- and postmenopausal bone microenvironment in vivo[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(11): 2922-2932.
- [7] Buenrostro D, Mulcrone PL, Owens P. The bone microenvironment: a fertile soil for tumor growth[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2016, 14(4): 151-158.
- [8] Andersen TL, Sondergaard TE, Skorzynska KE, et al. A physical mechanism for coupling bone resorption and formation in adult human bone[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(1): 239-247.
- [9] Kusumbe AP. Vascular niches for disseminated tumour cells in bone[J]. *J Bone Oncol*, 2016, 5(3): 112-116.
- [10] Jeong HM, Cho SW, Park SI. Osteoblasts are the centerpiece of the metastatic bone microenvironment [J].

- Endocrinol Metab (Seoul)*, 2016, 31(4): 485-492.
- [11] Greenbaum A, Hsu YM, Day RB, et al. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance[J]. *Nature*, 2013, 495(7440): 227-230.
- [12] Croset M, Goehrig D, Frackowiak A, et al. TWIST1 expression in breast cancer cells facilitates bone metastasis formation[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(8): 1886-1899.
- [13] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196.
- [14] Mu LL, Ke F, Guo XL, et al. Neoplasms in the bone marrow niches: disturbance of the microecosystem[J]. *Int J Hematol*, 2017, 105(5): 558-565.
- [15] Scala S. Molecular pathways: targeting the CXCR4-CXCL12 axis: untapped potential in the tumor microenvironment[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(19): 4278-4285.
- [16] Boulefour W, Juignet L, Bouet G, et al. The role of the SIBLING, bone sialoprotein in skeletal biology: contribution of mouse experimental genetics[J]. *Matrix Biol*, 2016, 52-54: 60-77.
- [17] Lamour V, Nokin MJ, Henry A, et al. SIBLING proteins: molecular tools for tumor progression and angiogenesis[J]. *Med Sci (Paris)*, 2013, 29(11): 1018-1025.
- [18] Lawson MA, McDonald MM, Kovacic N, et al. Osteoclasts control reactivation of dormant myeloma cells by remodelling the endosteal niche[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8983.
- [19] Vanderkerken K, De Greef C, Asosingh K, et al. Selective initial in vivo homing pattern of 5T2 multiple myeloma cells in the C57BL/KalwRij mouse[J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(4): 953-959.
- [20] Shiozawa Y, Pedersen EA, Havens AM, et al. Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1298-1312.
- [21] Yumoto K, Eber MR, Wang J, et al. Axl is required for TGF- β 2-induced dormancy of prostate cancer cells in the bone marrow[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36520.
- [22] Wang H, Yu C, Gao X, et al. The osteogenic niche promotes early-stage bone colonization of disseminated breast cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(2): 193-210.
- [23] Ghajar CM. Metastasis prevention by targeting the dormant niche[J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(4): 238-247.
- [24] Shiozawa Y, Eber MR, Berry JE, et al. Bone marrow as a metastatic niche for disseminated tumor cells from solid tumors[J]. *Bonekey Rep*, 2015, 4: 689.
- [25] Ghajar CM, Peinado H, Mori H, et al. The perivascular niche regulates breast tumour dormancy[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7): 807-817.
- [26] Casimiro S, Ferreira AR, Mansinho A, et al. Molecular mechanisms of bone metastasis: which targets came from the bench to the bedside?[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1411-

1418.

- [27] Yu Z, Hong Z, Fong-Yee C, et al. Bone resorption increases tumour growth in a mouse model of osteosclerotic breast cancer metastasis[J]. Clin Exp Metastasis, 2008, 25(5): 559-567.
- [28] Kavitha CV, Deep G, Gangar SC, et al. Silibinin inhibits

prostate cancer cells- and RANKL-induced osteoclastogenesis by targeting NFATc1, NF- κ B, and AP-1 activation in RAW264.7 cells[J]. Mol Carcinog, 2014, 53(3): 169-180.

(初稿:2017-07-14;修回:2017-10-15)

(本文编辑:王妮)

《国际骨科学杂志》稿约

《国际骨科学杂志》是国家级医学学术类期刊(双月刊),入编中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、中国学术期刊统计源期刊、中国期刊全文数据库收录期刊等,由国家卫生和计划生育委员会、上海市卫生和计划生育委员会主管,上海市医学科学技术情报研究所主办。本刊以广大骨科及相关临床医师、教学人员和研究人员为读者对象,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的办刊宗旨,主要介绍国内外骨科领域的临床和基础研究的新理论、新方法、新技术和新成果。栏目设置包括述评、综述、论著、专题报告、学术争鸣、专利介绍、病例报告、新技术新概念、国外来访者报告及信息报道等。

来稿要求如下:

1. 来稿应突出科学性、创新性、导向性和实用性。文稿应资料真实、数据准确、论点鲜明、层次清晰、文字精炼、格式规范。中文题名一般不宜超过 20 个汉字,英文题名不宜超过 10 个实词,中、英文题名含义应一致。每篇文章均需摘要和关键词。作者姓名以中、英文两种形式在文题下按序排列并需注明作者单位、邮政编码、通信作者及其电子邮件地址,署名先后顺序应在投稿前由全体作者共同讨论确定,在编排过程中不应再做改动。

综述主要参考近 5 年(近 3 年应占 2/3)公开发表的国内外文献,经过归纳、分析、总结,全面反映所选命题最新发展状况及趋势。正文一般不超过 4 000 字,文前需附 300 字左右的中文摘要及 3~8 个关键词。

论著一般不超过 5 000 字。须附中英文结构式摘要,包括目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)、结论(Conclusion),用第三人称撰写,还应包括中英文题名、作者姓名、单位名称、所在城市名、邮政编码及国名。中文摘要一般不超过 400 个汉字,英文摘要为 250 个实词左右,关键词 3~5 个。图表应按其在正文中出现的先后次序连续编排并冠有图(表)题,说明性文字置于图(表)下方。本刊采用三线表(顶线、表头、底线),表内数据要求同一指标有效数字位数一致。图表中如有引自他刊者,应予注明出处。当试验以人为研究对象时,作者应该说明其遵循的程序是否符合负责人体试验的委员会的批准,是否得到受试对象的知情同意。

新技术新概念、国外来访者报告、专利介绍等体裁不限,篇幅视具体情况而定,一般不超过 3 000 字。

2. 参考文献按 GB 7714-87《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。尽量避免引用文摘作为参考文献。文献类型标识为:专著[M]、论文集[C]、报纸文章[N]、期刊文章[J]、学位论文[D]、报告[R]、标准[S]、专利[P]、数据库/网上[DB/OL]、计算机程序[CP]、电子公告/网上[EB/OL]。书写格式举例:

期刊:[序号]作者(3 人以内全部列出,3 人以上仅列前 3 人,后加 et al.) 题目[J]. 刊名,出版年,卷号(期号):起页-止页。

3. 医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。文中尽量少用缩略语。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长、在文中多次出现者,若为中文可于文中第一次出现时写出全称,在圆括号内写出缩略语;若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语。

4. 投稿可发送电子版(Word 格式)文稿至我刊电子邮箱或登录官方网站注册后投稿。投稿时需在文末另页提供作者简介(出生年月、性别、学位、技术职称、研究方向)和联系方式(详细地址和邮编、手机号码、电子邮箱)。来稿必须附单位推荐信(声明无一稿两投、不涉及保密、署名无争议等)并加盖公章。来稿涉及的课题如取得国家或省、部级以上基金项目,应注明基金项目名称及编号,并附相关证书复印件,本刊将优先录用发表。

5. 作者在接到本刊电子回执 2 个月内,如未接到本刊处理意见,表明稿件仍在审理中;如欲投他刊,请事先与编辑部联系,切勿一稿两投。修改稿超过 40 天未回复者,视为自动撤稿。来稿刊登后,作者著作权使用费与稿酬一次性付给并赠当期杂志,如作者不同意将文章收录数据库,请来信声明,编辑部将另行处理。本刊对不采用的稿件一般不予退还,请作者自留底稿。

《国际骨科学杂志》编辑部地址:200031 上海市建国西路 602 号

电话:021-33262056 传真:021-33262069

电子邮箱:intjorthop@163.com

官方网站:http://gjgkx.paperopen.com