

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH250331

肝内胆管癌间质-免疫微环境内成分及其相互作用

张秋露¹, 李卓², 刘从容¹, 郭丽梅¹

1 北京大学第三医院病理科/北京大学医学部病理系, 北京 100191

2 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院病理科, 北京 100021

通信作者: 郭丽梅, guolimei@bjmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-0430-2914)

摘要: 肝内胆管癌(ICC)是一种高度恶性的肝脏肿瘤,由于早期无明显症状并缺乏有效的治疗手段,患者5年生存率极低。肿瘤间质-免疫微环境(TSIME)是肿瘤发生与演进过程中局部所处的一个动态变化的复杂生态系统,由多种细胞成分和非细胞成分共同组成,在ICC的发生、增殖、侵袭与进展过程中起着重要的作用,在一定程度上也决定了ICC的异质性及恶性程度。本文就ICC-TSIME内的T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、髓源性抑制细胞等多种细胞成分,趋化因子、细胞因子等非细胞成分,以及其与肿瘤细胞间复杂多变的相互作用机制进行综述,同时对免疫细胞与肿瘤细胞的空间相互作用关系进行综述,以期为ICC的免疫治疗提供潜在的研究方向,为未来更高效、更精确的ICC治疗带来新思路。

关键词: 胆管上皮癌; 肿瘤微环境; 淋巴细胞

Components of tumor stroma-immune microenvironment and their interactions in intrahepatic cholangiocarcinoma

ZHANG Qiulu¹, LI Zhuo², LIU Congrong¹, GUO Limei¹

1. Department of Pathology, Peking University Third Hospital/Department of Pathology, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China; 2. National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Department of Pathology, Cancer Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Corresponding author: GUO Limei, guolimei@bjmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-0430-2914)

Abstract: Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) is a highly malignant liver tumor, and due to the absence of symptoms in its early stage and the lack of effective treatment measures, patients tend to have an extremely low 5-year survival rate. The tumor stroma-immune microenvironment (TSIME) is a complex ecosystem that changes dynamically during tumorigenesis and evolution and consists of a variety of cellular and non-cellular components, and it plays an important role in the development, proliferation, invasion, and progression of ICC and determines the heterogeneity and malignancy of ICC to a certain degree. This article reviews the cellular components (such as T cells, B cells, natural killer cells, dendritic cells, neutrophils, macrophages, myeloid-derived suppressor cells) and non-cellular components (such as chemokines and cytokines) within the ICC TSIME, as well as the complex mechanisms of interaction between these components, and it also reviews the spatial interactions between immune cells and tumor cells, in order to provide potential research directions for ICC immunotherapy and new ideas for the effective and precise treatment of ICC in the future.

Key words: Cholangiocarcinoma; Tumor Microenvironment; Lymphocytes

1 概述

肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是肝内第二常见的恶性肿瘤,占原发性肝癌的10%~15%^[1]。近年来,在全球范围内,ICC的发病率和死亡率均呈现上升趋势^[2]。ICC是指肝内二级胆管至肝内最小胆管分支

的衬覆上皮及其胆管周围腺体起源的恶性肿瘤^[3-4]。患者早期常无明显不适,随着病情进展,可出现腹痛、发热、黄疸等症状,约70%的ICC患者在确诊时已处于疾病进展期,失去了接受根治性手术的机会^[5]。即使有机会接受根治性手术,ICC患者的平均5年生存率也不足10%^[6]。90%以上ICC的病理组织学类型为腺癌,包括大胆管

型及小胆管型两种主要亚型,两者的间质都有明显纤维化^[3]。

肿瘤间质-免疫微环境(tumor stroma-immune micro-environment, TSIME)是指肿瘤发生与演进过程中,局部所处的动态变化的复杂生态系统,主要由免疫细胞、间质细胞、细胞外基质及多种细胞因子和介质等构成。其中,癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)是细胞外基质的重要组成成分,具有高度的异质性和转化特征。TSIME中的各种成分可相互作用,影响着肿瘤的生长、增殖、浸润及转移^[7-8]。研究提示,ICC对放化疗均不敏感,可能与TSIME抑制性有关,表现为间质高度纤维化、浸润的免疫细胞少等特点^[7,9]。因此,靶向TSIME的免疫治疗,可能为ICC的治疗提供希望。

无论肝脏是否存在慢性病毒性肝炎,都可能发生ICC。当ICC发生于非病毒性肝炎或无肝炎的肝脏时,肝脏特有的Kupffer细胞和肝相关淋巴细胞是ICC间质高度纤维化和免疫反应的细胞基础^[10]。肝相关淋巴细胞具有自然杀伤细胞(NK细胞)活性。肝Kupffer细胞是一种特化的巨噬细胞,在肝细胞损伤后,启动早期细胞因子等活性物质释放,激活肝星状细胞,逐步引起显著的纤维组织增生,最终参与构成ICC特有的TSIME;间质高度纤维组织增生、免疫细胞含量低^[9]。在慢性病毒性肝炎基础上发生ICC时,T淋巴细胞、B淋巴细胞及NK细胞是免疫环境中的主要反应性细胞^[11]。综上,TSIME

中的细胞性及非细胞性成分均有可能促进ICC的生长和进展,抑制化疗药物吸收扩散,引起放疗抵抗,并最终导致ICC的不良预后。本文就ICC的TSIME主要组成成分及特点进行综述。

2 TSIME的构成

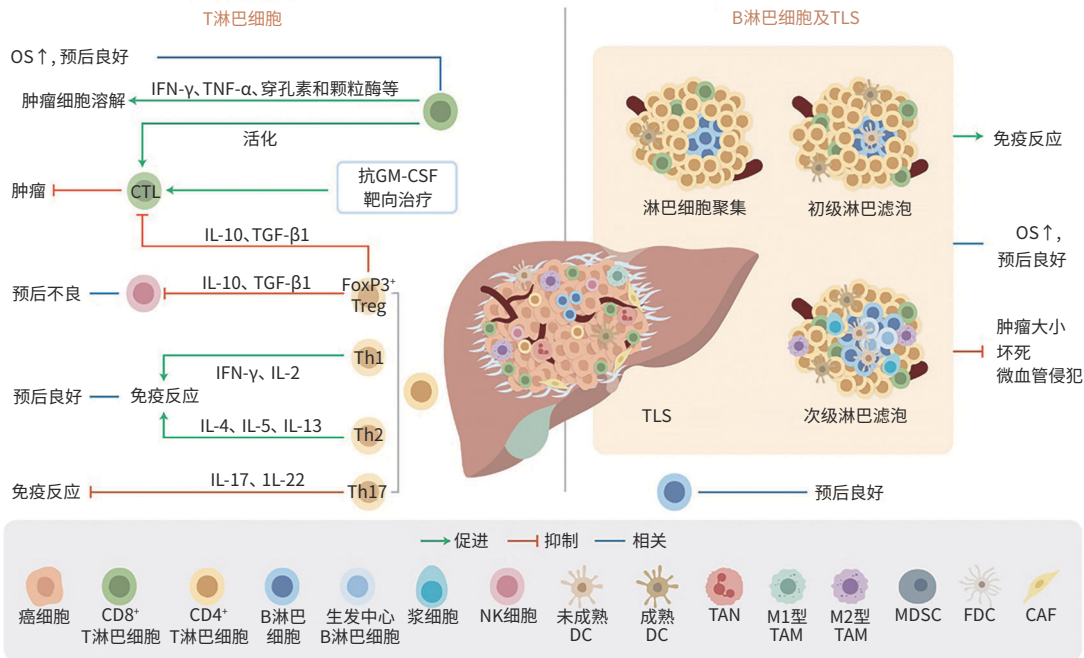
2.1 肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)

TIL是一组异质性免疫细胞,包括T淋巴细胞、B淋巴细胞等成分,存在于多种恶性肿瘤(包括ICC)组织内,细胞数量不等,空间分布各异(图1)。

2.1.1 T淋巴细胞 T淋巴细胞的主要亚型包括CTL、效应性T淋巴细胞、Th及Treg等。

肝脏中CD8⁺T淋巴细胞比例较高,是抗肿瘤免疫的最重要效应性免疫细胞,通过Fas配体诱导细胞凋亡。CD8⁺T淋巴细胞的数量与肿瘤预后具有明显相关性。当CD8⁺T淋巴细胞被主要组织相容性复合体(MHC)-I类激活后,可产生并分泌抗肿瘤细胞因子和细胞毒分子,如IFN- γ 、TNF- α 、穿孔素和颗粒酶等促炎因子,进而诱导细胞溶解。同时,CD8⁺T淋巴细胞在活化后成为CTL,能够特异性杀伤肿瘤细胞,发挥抗肿瘤免疫功能。

CD8⁺效应性T淋巴细胞主要分布于肿瘤浸润前沿及肿瘤周围的正常肝组织内,在肿瘤中心区分布较少^[12]。



注:CAF,癌相关成纤维细胞;CTL,细胞毒性T淋巴细胞;DC,树突状细胞;FDC,滤泡树突细胞;GM-CSF,巨噬细胞集落刺激因子;MDSC,髓源性抑制细胞;OS,总生存期;TAM,肿瘤相关巨噬细胞;TAN,肿瘤相关中性粒细胞;Th,辅助性T淋巴细胞;TLS,三级淋巴结构;Treg,调节性T淋巴细胞。

图1 TSIME中TIL间的相互作用
Figure 1 Interaction between TIL in TSIME

肿瘤边缘的CD8⁺T淋巴细胞数量多,与患者总生存期的延长相关^[13]。多项研究均表明,在ICC患者中,Granzyme-B⁺CD8⁺效应性T淋巴细胞与更长的OS及无病生存期显著相关^[14]。研究发现,超过85%的PD-1⁺EOMES⁺CD8⁺效应性T淋巴细胞密度较高的ICC,与长期生存相关,但需要注意的是,只有肿瘤内这些细胞的密度,才具有预后意义^[14]。

CD4⁺T淋巴细胞是Th的主要成分,部分呈现CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺的Treg免疫表型^[15]。Treg可诱导针对NK细胞和CTL的免疫抑制,在ICC中与预后不良显著相关^[14]。Treg过表达FoxP3, FoxP3是一种与细胞表面CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4)上调相关的转录因子。CTLA-4可与抗原递呈细胞(APC)表面表达的CD80结合,并抑制CTL细胞活化^[15]。研究发现,Treg可表达白细胞关联免疫球蛋白样受体2,而其与TSIME中T淋巴细胞的衰竭相关^[16]。但也有研究发现,肿瘤浸润性CD4⁺T淋巴细胞的增加与患者生存期的延长有关^[11]。因肝脏特有的微环境特点,利于局部和全身免疫耐受,CD4⁺T淋巴细胞通过与APC相互作用的方式决定了T淋巴细胞向Th1、Th2或Th17等细胞的不同分化方向。而上述各不同亚类CD4⁺T淋巴细胞分泌的IFN- γ 、TNF- α 、IL-10和TGF- β 等,将直接或通过调控DC功能,发挥不同的促进或抑制肿瘤免疫的功能^[17]。

2.1.2 B淋巴细胞及TLS 在肝脏固有的淋巴细胞群中,B淋巴细胞只占很小的一部分,其数量增多往往与自身免疫性肝脏、胆道疾病相关。近年来,多项研究发现,体液免疫介导的TLS的形成,是B淋巴细胞参与肿瘤免疫的证据之一。

TLS是在慢性炎症及肿瘤等部位的非淋巴组织中发育的淋巴器官,其形态及功能均类似于人体的次级淋巴器官^[18],包括脾、淋巴结、皮肤免疫系统及黏膜免疫系统。TLS可存在于肿瘤的间质、浸润前沿和/或肿瘤中心,包括富含T淋巴细胞的区域(内含成熟DC等APC),及与之相邻的具有生发中心特征的、由B淋巴细胞组成的淋巴滤泡,周围伴有或不伴有浆细胞及巨噬细胞浸润,附近有高内皮静脉,可允许淋巴细胞进入TLS^[18]。同时,TLS的存在也可能促进ICC内的静脉形成,促进肿瘤内免疫反应,同时与更好的预后相关^[19]。

根据细胞的分布与活化特征,TLS可分为3种状态,即淋巴细胞聚集、初级淋巴滤泡和次级淋巴滤泡^[20]。TLS是DC向T淋巴细胞递呈邻近肿瘤抗原的场所,同时也是T淋巴细胞和B淋巴细胞的激活、增殖和分化,以及产生CTL、Th、记忆性B淋巴细胞和浆细胞的场所^[18]。目前,已在多种肿瘤中证实,TLS影响患者预后。在ICC

相关研究中,评估了癌内及癌周肝组织中TLS的空间分布、密度及发展状态,对患者预后的影响^[20],结果提示,癌内的TLS与更长的生存期相关,同时与肿瘤大小、坏死和微血管侵犯呈负相关,淋巴滤泡的形成可明显延长患者生存期;而癌周的TLS则具有相反的作用,与淋巴结转移、更高的血清GGT和糖类抗原19-9(CA19-9)水平相关。此外,与癌周的TLS相比,癌内的TLS中CD4⁺BCL6⁺滤泡辅助性T淋巴细胞和CD4⁺Foxp3⁺Treg细胞的密度和数量都明显增加^[20]。

CD20⁺B淋巴细胞在ICC的TIL总数中虽然只占很小的比例,但其存在与预后的显著改善相关^[11,16]。最近一项研究发现,前痛敏肽可作为评估胆管癌免疫浸润的生物标志物,并与患者更好的预后相关。前痛敏肽由胆管癌中浸润的活化B淋巴细胞、浆细胞和幼稚B淋巴细胞表达^[16]。上述证据支持活化B淋巴细胞在胆管癌抗肿瘤免疫过程中可能发挥积极作用。

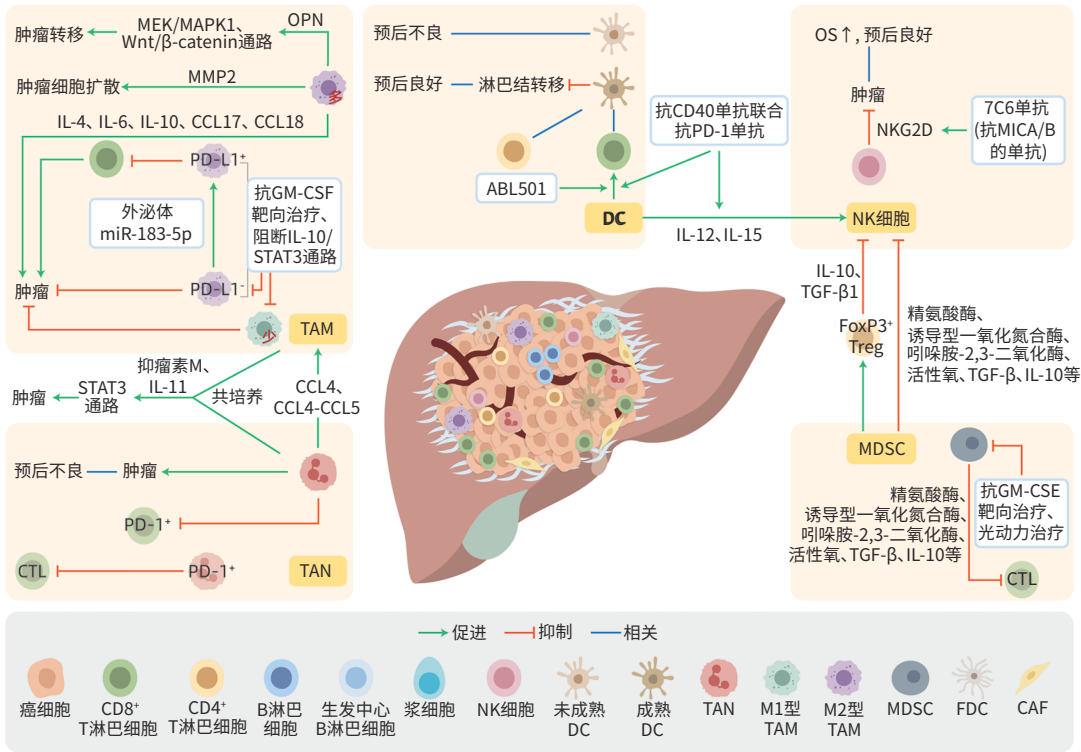
2.2 TSIME中的固有免疫细胞

固有免疫细胞包括NK细胞、DC、TAN、TAM和MDSC等,通过释放多种细胞因子,在调控肿瘤生长过程中发挥重要作用(图2)。

2.2.1 NK细胞 NK细胞是机体内一种重要的固有免疫细胞,能够识别并自发地清除包括癌细胞在内的异常细胞^[8]。肝血窦内含有NK细胞,表面有CD1和MHC-I类/II类,在生理状态下具有免疫监视功能。研究证实,胆管癌患者的外周血NK细胞比例升高提示总生存期更长^[21]。自然杀伤细胞家族2成员D(NKG2D)是一种激活的NK细胞受体,NK细胞对靶细胞的杀伤作用主要由NKG2D介导^[9]。遗憾的是,NK细胞的NKG2D表达水平,在ICC中常低于癌周围肝组织及正常人肝组织^[22]。NKG2D的配体包括MHC-I类链相关蛋白A(MHC-I chain-related protein A, MICA)和MHC-I类链相关蛋白B(MICB)等^[22]。研究发现,在ICC中,7C6单抗(抗MICA/B的单抗)可抑制肿瘤细胞表面MICA和MICB的裂解,促进NKG2D介导的NK细胞杀伤^[22];在胆管癌中,NKG2D配体的高表达与患者无病生存期和OS的提高相关,并且,NKG2D多种配体的协同共表达是生存率提高的独立预后指标^[23]。上述研究均提示NK细胞在ICC发生发展过程中发挥重要功能。

2.2.2 树突状细胞(DC) DC也是肝脏固有免疫的重要组成部分,是一类APC,对激活机体适应性免疫反应至关重要。DC可通过释放细胞因子及抗原递呈功能发挥作用。研究表明,与B淋巴细胞相似,肿瘤中DC的存在与患者更好的预后显著相关^[10],靶向DC的药物可增强免疫检查点抑制剂单药的治疗效果^[24]。

DC根据成熟状态分为未成熟和成熟两种。虽然



注: CCL, 趋化因子配体; MICA/B, MHC- I 类链相关蛋白 A/B; MMP, 基质金属蛋白酶; NKG2D, 自然杀伤细胞家族 2 成员 D; OPN, 骨桥蛋白; PD-1, 程序性细胞死亡受体 1; PD-L1, 程序性细胞死亡配体 1; STAT3, 信号转导和转录激活因子 3。

图2 TSIME 中国有免疫细胞间的相互作用
Figure 2 Interaction between innate immune cells in TSIME

CD83是成熟DC的主要特征性标志,但未成熟DC细胞内也可检出CD83蛋白。研究表明,CD83⁺DC与CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞在肿瘤前沿的浸润有关;此外,与缺乏CD83⁺DC的患者相比,肿瘤浸润前沿CD83⁺DC数量增加的患者,淋巴结转移的发生率较低,总体预后较好^[10]。与之相对应,未成熟DC则与更差的预后相关^[11]。DC可通过释放炎症因子(如IL-12、IL-15),和/或直接的细胞间接触,促进NK细胞增殖、分泌细胞因子并诱导其细胞毒活性,增加NK细胞的抗肿瘤效应^[25]。

另有研究显示,通过抑制DC上的IL-10和TGF-β受体,可以明显提高IFN-γ的水平和效应性T淋巴细胞对人胆管癌细胞株的细胞溶解活性^[13]。小鼠实验中,在抗PD-1单抗单药基础上,联合抗CD40单抗治疗,通过CD40介导的MHC-II⁺DC、CD86⁺TAM等APC激活,可促进TAM、NK细胞、CD44⁺CD62L⁺CD4⁺效应性记忆性T淋巴细胞和CD8⁺T淋巴细胞在肿瘤局部的浸润、增殖和激活,并最终增强小鼠ICC对免疫检查点抑制剂的反应^[24]。淋巴细胞活化基因3(lymphocyte-activation gene 3,LAG-3)是一种新发现的参与T淋巴细胞耗竭和肿瘤免疫逃逸的抑制性免疫检查点受体,靶向LAG-3和PD-1的双特异性抗体ABL501,可通过促进DC活化和肿瘤细胞与T淋巴细胞的结合,促进产生有效的CD8⁺T淋巴细胞反应^[26]。最新

研究表明,新型治疗手段如光动力治疗可促进DC成熟,下调肿瘤细胞PD-L1表达,抑制MDSC的干扰素基因刺激因子通路,重塑胆管癌微环境,激活CTL免疫功能,发挥抗肿瘤作用^[27]。

2.2.3 肿瘤相关中性粒细胞(TAN) TAN在肿瘤免疫中也具有重要意义。既往研究认为,TAN与ICC患者更差的预后相关^[11,28]。最近一项关于TAN在原发性肝肿瘤中作用的研究提示,TAN可通过分泌CCL4及CCL4-CCR5机制募集TAM^[28]。利用小鼠模型,研究者们发现CCL4⁺TAN可招募TAM,而PD-L1⁺TAN可抑制T淋巴细胞的细胞毒作用^[28]。通过消除肿瘤中部分亚型的TAN,可以减弱TAM的募集和T淋巴细胞的抑制,从而抑制肿瘤生长^[28]。体外实验表明,肿瘤中TAN的耗竭与肿瘤体积的缩小及肿瘤中PD-1⁺CD8⁺T淋巴细胞耗竭的缓解相关^[28]。此外,还有研究发现,ICC肿瘤组织中,TAN和TAM的浸润与磷酸化的STAT3的表达水平相关,且TAN和TAM在体外共培养状态下,可通过产生更高水平的抑瘤素M和IL-11相互作用,激活STAT3通路,并促进ICC的进展^[29]。

患者术前外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值升高是ICC的不良预后因素^[8]。有研究发现,ICC中TAN的浸润与患者外周血中的中性粒细胞绝对值呈正相关,并与患者复发率的升高相关^[30]。

2.2.4 肿瘤相关巨噬细胞(TAM) 肝内的巨噬细胞有两种来源,一类为肝血窦内的Kupffer细胞,是人体内最大的巨噬细胞固定群体;另一类则来源于循环血中的单核细胞。

根据TAM对肿瘤的影响,可初步将其分为M1型和M2型两大类,M1型TAM可通过产生促炎症因子和抗肿瘤的细胞因子,进而促进炎症和抑制肿瘤的发展,而M2型TAM则相反,M2型TAM可支持炎症消退,从而导致肿瘤的进展^[9]。一些研究者认为,ICC中的TAM以M2型为主,主要来源于循环的单核细胞,而不是Kupffer细胞^[31],并常在肿瘤浸润前沿及血管周聚集^[32],提示了这些TAM可能会促进肿瘤内新生血管的产生及肿瘤的转移^[33]。但也有研究认为,在ICC中,仅PD-L1阴性的M2型TAM可能具有抗肿瘤作用,而PD-L1⁺TAM可能通过促进T淋巴细胞耗竭来发挥其免疫抑制功能,据此提出,靶向PD-L1⁺TAM作为ICC免疫治疗的可能^[10,14]。

在TSIME中,TAM可通过促进肿瘤细胞增殖、血管生成、基质代谢和抑制机体适应性免疫等方面,在癌症相关的炎症中起到关键性作用^[34];同时,TAM可通过分泌各类细胞因子(如IL-4、IL-6、IL-10等)、趋化因子(如CCL17、CCL18等)等物质促进ICC的侵袭生长^[34]。因此,较高的TAM浸润密度常与胆管癌患者更差的预后相关^[12],且CD163⁺TAM的水平随肿瘤分级的升高而升高,并与血清标志物CA19-9水平显著相关^[35]。此外,循环中CD14⁺/CD16⁺单核细胞的水平与TAM浸润和肿瘤内血管生成相关,并与不良预后相关^[36]。研究发现,ICC中的TAM可以上调PD-L1的表达水平,且PD-L1⁺TAM在肿瘤组织内的增加显著地抑制了T淋巴细胞的免疫,并与患者更差的预后相关^[37]。

2.2.5 髓源性抑制细胞(MDSC) MDSC是未成熟骨髓细胞的一个亚群,具有强大的免疫抑制功能,其在TSIME中的聚集可增强肿瘤的免疫逃避和对免疫治疗的抗性^[38]。MDSC可促进Treg的发育、促进CD8⁺T淋巴细胞的耗竭和抑制NK细胞的细胞毒性^[10]。此外,还有研究发现,MDSC可在ICC成纤维细胞的调节下增强肿瘤细胞的干性,这也是肿瘤侵袭性和化疗耐药性的驱动作用^[39]。

2.3 TSIME中的其他细胞类型 与正常组织中的成纤维细胞间质不同,ICC-TSIME的细胞外基质中含有肿瘤细胞及肿瘤微环境中各类细胞分泌的多种可溶性介质,具有促进肿瘤细胞恶性转化、增殖及侵袭的作用。ICC肿瘤细胞与CAF之间具有动态适应过程,两者协同作用,促进组织重塑,分泌细胞因子、趋化因子、外泌体等,促进肿瘤间质血管生成,调控细胞外基质变化的关键通路,发挥促癌功能^[40]。

与其他促纤维增生性肿瘤一样,ICC的特点是通过合成新的成分,如过分泌I型胶原蛋白、透明质酸、骨膜蛋白、腱糖蛋白-C和OPN等,影响肿瘤微环境。此外,ICC肿瘤细胞还可分泌多种MMP,对TSIME进行重塑,形成具有显著促纤维增生特点的肿瘤间质,促进肿瘤细胞的移动和浸润^[32,35]。研究发现,TAM也可释放OPN、纤连蛋白和MMP2等^[32,35]。其中OPN还能通过激活MEK/MAPK1通路及Wnt/ β -catenin通路的方式促进胆管癌转移^[41]。

肝窦内皮细胞与其他血管内皮相比,具有更高的内吞活性。因此,在Kupffer细胞缺失状态下,可吞噬较大的颗粒,保护肝血窦环境的稳定。此外,肝窦内皮细胞还可合成分泌IL-1等多种促炎因子,参与肝固有免疫^[42]。

肝星状细胞位于Disse间隙内,在肝损伤再生及肿瘤发生过程中发挥促纤维结缔组织增生、调节肝脏微血管张力及抗原递呈等功能^[43]。在ICC发生发展过程中,肝星状细胞可促进肿瘤间质纤维化,但其功能是促癌还是抑癌的辩论仍在继续^[43]。

2.4 TSIME的其他成分 各类趋化因子可募集上述多种类型细胞,以创造并形成更有利于肿瘤生长的TSIME。例如,单核细胞趋化蛋白-1、血管内皮生长因子A、IL-1 β 、IL-10、IL-13、IL-4及IL-34等因子,可促进TAM从循环系统中迁移至肿瘤部位^[15,31]。GM-CSF是促进骨髓造血、募集和极化TAM的中枢性介质^[12],ICC中GM-CSF水平明显升高,与患者肿瘤切除后的总体生存率降低相关,而使用单克隆抗体阻断GM-CSF,可抑制肿瘤的生长和扩散。在小鼠体内使用抗GM-CSF靶向治疗原位肿瘤后,显示免疫抑制性TAM和MDSC的再极化,并促进了CTL反应和肿瘤消退^[12]。

TSIME中的多种细胞也可通过彼此分泌的细胞外基质成分相互作用。Treg可产生IL-10和TGF- β 1,诱导针对NK细胞和CTL的免疫抑制^[9]。TAM分泌的IL-10可通过STAT3通路刺激ICC肿瘤细胞生长,且阻断IL-10/STAT3通路可在一定程度上挽救肿瘤抑制性TAM的作用^[44]。MDSC可通过多种抗原特异性及非特异性机制,包括产生精氨酸酶、诱导型一氧化氮合酶、吲哚胺-2,3-二氧化酶、活性氧和免疫抑制性细胞因子(包括TGF- β 和IL-10等),从而抑制CTL、NK细胞和其他亚群细胞的功能^[10]。研究显示,源自ICC肿瘤细胞的外泌体中miR-183-5p水平增加,可抑制PTEN的表达,使TAM中磷酸化蛋白激酶B(AKT)和PD-L1表达升高。在体内试验及体外实验中,使用ICC肿瘤细胞产生的外泌体处理巨噬细胞均有助于体内ICC的生长和进展,但这一效果可通过PD-L1阻断剂逆转^[37]。Treg可与IL-2结合,使这种细胞因子在TSIME中无法与其他细胞结合,从而阻止其他免疫细胞的激活^[9]。

3 ICC-TSIME 中免疫细胞与肿瘤细胞的空间相互作用关系

ICC 各区域肿瘤间存在较大的异质性,不仅导致了 ICC 患者对多种治疗的反应不一,同时也造成其肿瘤内 TSIME 复杂且多变。目前,已有多项根据肿瘤内的亚区域细分 TSIME 亚型的研究。研究发现,不同 TSIME 亚型预后不同,这些亚型的区分可用于对患者预后进行分层^[45-46]。

TSIME 中,免疫细胞的分布受肿瘤细胞空间分布及两者相互作用的影响^[47]。研究发现,在 ICC 中,TAM 在肿瘤细胞密集、间质稀少区分布较多,而在肿瘤细胞稀疏、间质丰富的区域分布较少,提示肿瘤细胞可通过多种途径,如高表达花生四烯酸 5-脂氧合酶,经 PI3K/AKT 轴,招募 TAM (尤其是 M2 型 TAM),以促进肿瘤的进展^[48]。而另一项研究则发现,肿瘤内的免疫细胞具有聚集区,在这些区域内具有大量 CD3⁺T 淋巴细胞和 TAM 等,以及丰富的各类趋化因子(如 CXCL9、CXCL10、CXCL11 等)^[46]。这些免疫细胞丰富的区域内也具有更多的 CD8⁺T 淋巴细胞、高 IFN- γ 水平及更强的肿瘤细胞溶解反应^[46]。此外,不同病因所致的 ICC,其 TSIME 的构成也不同。在合并华支睾吸虫感染的 ICC 内,有更多的脂肪酸合成、TAM,以及 CD8⁺T 淋巴细胞细胞毒活性和衰竭特征^[49]。同时,空间转录组研究显示,存在华支睾吸虫感染的 ICC 内,TAM 位点与 CD8⁺T 淋巴细胞衰竭位点毗邻,提示肿瘤细胞、TAM 和 CD8⁺T 淋巴细胞之间可能频繁相互作用并形成免疫抑制微环境^[49]。同时,肿瘤内多样化的 TSIME 也会影响与之相邻的肿瘤细胞,并最终影响患者的预后。研究发现,肿瘤内免疫细胞丰富的区域具有更高的肿瘤突变负荷以及肿瘤新抗原负荷^[46]。多重免疫组化研究显示,当免疫细胞主要位于肿瘤浸润前沿或者肿瘤周围的肝组织内时,患者的预后明显差于肿瘤内部有丰富免疫细胞者^[45]。

因此,各类免疫细胞之间,以及免疫细胞及肿瘤细胞之间都可相互作用,共同构成错综复杂的关系网络。

4 小结

综上,ICC-TSIME 具有显著的促纤维增生、低免疫细胞浸润活性的特点,含有更加丰富的免疫抑制成分。TSIME 内的各种细胞成分和非细胞成分及肿瘤细胞间复杂多变的相互作用机制,在增殖、侵袭和进展过程中起着重要的作用,在一定程度上决定了 ICC 的异质性及恶性程度,并为 ICC 的免疫治疗提供了潜在的研究方向。在未来的研究中,仍需更全面、细致地探索 ICC-TSIME 的作用机制,为更高效、更精准治疗 ICC 患者带来新的希望与突破。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 张秋露负责查找文献、撰写论文;李卓负责论文修改;郭丽梅、刘从容负责拟定写作思路,指导文章撰写、论文修改并最后定稿。

参考文献:

- [1] BRINDLEY PJ, BACHINI M, ILYAS SI, et al. Cholangiocarcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 65. DOI: 10.1038/s41572-021-00300-2.
- [2] RUMGAY H, ARNOLD M, FERLAY J, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040[J]. J Hepatol, 2022, 77(6): 1598-1606. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.08.021.
- [3] Expert Committee of Expert Consensus on Pathological Diagnosis of Intrahepatic Cholangiocarcinoma (2022 version). Expert consensus on pathological diagnosis of intrahepatic cholangiocarcinoma (2022 version)[J]. Chin J Pathol, 2022, 51(9): 819-827. DOI: 10.3760/cma.j.cn112151-20220517-00423.
- [4] WANG GY, HE CH. Progress in liver transplantation for intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Organ Transplantation, 2023, 14(6): 789-796. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023144.
- [5] MORIS D, PALTA M, KIM C, et al. Advances in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: An overview of the current and future therapeutic landscape for clinicians[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(2): 198-222. DOI: 10.3322/caac.21759.
- [6] KOSHIOI J, YU BB, KABADI SM, et al. Epidemiologic patterns of biliary tract cancer in the United States: 2001-2015[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 1178. DOI: 10.1186/s12885-022-10286-z.
- [7] JIN MZ, JIN WL. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 166. DOI: 10.1038/s41392-020-00280-x.
- [8] FABRIS L, PERUGORRIA MJ, MERTENS J, et al. The tumour microenvironment and immune milieu of cholangiocarcinoma[J]. Liver Int, 2019, 39(Suppl 1): 63-78. DOI: 10.1111/liv.14098.
- [9] GENTILINI A, PASTORE M, MARRA F, et al. The role of stroma in cholangiocarcinoma: The intriguing interplay between fibroblastic component, immune cell subsets and tumor epithelium[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 2885. DOI: 10.3390/ijms19102885.
- [10] LOEUILLARD E, CONBOY CB, GORES GJ, et al. Immunobiology of cholangiocarcinoma[J]. JHEP Rep, 2019, 1(4): 297-311. DOI: 10.1016/j.jhepr.2019.06.003.
- [11] LIN J, DAI YT, SANG C, et al. Multimodule characterization of immune subgroups in intrahepatic cholangiocarcinoma reveals distinct therapeutic vulnerabilities[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(7): e004892. DOI: 10.1136/jitc-2022-004892.
- [12] RUFFOLO LI, JACKSON KM, KUHLERS PC, et al. GM-CSF drives myelopoiesis, recruitment and polarisation of tumour-associated macrophages in cholangiocarcinoma and systemic blockade facilitates antitumour immunity[J]. Gut, 2022, 71(7): 1386-1398. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-324109.
- [13] LIU D, HEIJ LR, CZIGANY Z, et al. The role of tumor-infiltrating lymphocytes in cholangiocarcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 127. DOI: 10.1186/s13046-022-02340-2.
- [14] XIA T, LI KY, NIU N, et al. Immune cell atlas of cholangiocarcinomas reveals distinct tumor microenvironments and associated prognoses[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 37. DOI: 10.1186/s13045-022-01253-z.
- [15] FABRIS L, SATO K, ALPINI G, et al. The tumor microenvironment in cholangiocarcinoma progression[J]. Hepatology, 2021, 73(Suppl 1): 75-85. DOI: 10.1002/hep.31410.
- [16] CHEN Z, YU MC, YAN JL, et al. PNOC expressed by B cells in cholangiocarcinoma was survival related and LAIR2 could be a T cell exhaustion biomarker in tumor microenvironment: Characterization of immune microenvironment combining single-cell and bulk sequenc-

- ing technology[J]. Front Immunol, 2021, 12: 647209. DOI: 10.3389/fimmu.2021.647209.
- [17] THEPMALEE C, PANYA A, JUNKING M, et al. Inhibition of IL-10 and TGF- β receptors on dendritic cells enhances activation of effector T-cells to kill cholangiocarcinoma cells[J]. Hum Vaccin Immunother, 2018, 14(6): 1423-1431. DOI: 10.1080/21645515.2018.1431598.
- [18] SAUTÈS-FRIDMAN C, PETITPREZ F, CALDERARO J, et al. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(6): 307-325. DOI: 10.1038/s41568-019-0144-6.
- [19] DOI N, INO Y, FUSE M, et al. Correlation of vein-rich tumor microenvironment of intrahepatic cholangiocarcinoma with tertiary lymphoid structures and patient outcome[J]. Mod Pathol, 2024, 37(2): 100401. DOI: 10.1016/j.modpat.2023.100401.
- [20] DING GY, MA JQ, YUN JP, et al. Distribution and density of tertiary lymphoid structures predict clinical outcome in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2022, 76(3): 608-618. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.10.030.
- [21] SHI HN, LI ZS, ZHU MC. Circulating immune cells predict prognosis and clinical response to chemotherapy in cholangiocarcinoma[J]. Curr Med Chem, 2024. DOI: 10.2174/0109298673296618240424095548. [Online ahead of print]
- [22] OLIVIERO B, VARCHETTA S, MELE D, et al. MICA/B-targeted antibody promotes NK cell-driven tumor immunity in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Oncoimmunology, 2022, 11(1): 2035919. DOI: 10.1080/2162402X.2022.2035919.
- [23] VITA F, OLAIZOLA I, AMATO F, et al. Heterogeneity of cholangiocarcinoma immune biology[J]. Cells, 2023, 12(6): 846. DOI: 10.3390/cells12060846.
- [24] DIGGS LP, RUF B, MA C, et al. CD40-mediated immune cell activation enhances response to anti-PD-1 in murine intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2021, 74(5): 1145-1154. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.11.037.
- [25] CAZZETTA V, FRANZESE S, CARENZA C, et al. Natural killer-dendritic cell interactions in liver cancer: Implications for immunotherapy[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(9): 2184. DOI: 10.3390/cancers13092184.
- [26] SUNG E, KO M, WON JY, et al. LAG-3xPD-L1 bispecific antibody potentiates antitumor responses of T cells through dendritic cell activation[J]. Mol Ther, 2022, 30(8): 2800-2816. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.05.003.
- [27] WANG WM, GAO Y, XU JJ, et al. A NRF2 regulated and the immunosuppressive microenvironment reversed nanoplatfor for cholangiocarcinoma photodynamic-gas therapy[J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(14): e2307143. DOI: 10.1002/advs.202307143.
- [28] XUE RD, ZHANG QM, CAO Q, et al. Liver tumour immune microenvironment subtypes and neutrophil heterogeneity[J]. Nature, 2022, 612(7938): 141-147. DOI: 10.1038/s41586-022-05400-x.
- [29] ZHOU ZJ, WANG PC, SUN RQ, et al. Tumor-associated neutrophils and macrophages interaction contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma progression by activating STAT3[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(3): e001946. DOI: 10.1136/jitc-2020-001946.
- [30] WATANABE A, HARIMOTO N, ARAKI K, et al. Absolute neutrophil count predicts postoperative prognosis in mass-forming intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Anticancer Res, 2019, 39(2): 941-947. DOI: 10.21873/anticancerres.13197.
- [31] ZHOU MH, WANG CQ, LU SN, et al. Tumor-associated macrophages in cholangiocarcinoma: Complex interplay and potential therapeutic target[J]. EBioMedicine, 2021, 67: 103375. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103375.
- [32] ZENG JH, LIU ZK, SUN SW, et al. Tumor-associated macrophages recruited by periostin in intrahepatic cholangiocarcinoma stem cells[J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 8681-8686. DOI: 10.3892/ol.2018.8372.
- [33] SUN DL, LUO TC, DONG PP, et al. M2-polarized tumor-associated macrophages promote epithelial-mesenchymal transition via activation of the AKT3/PRAS40 signaling pathway in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(4): 2828-2838. DOI: 10.1002/jcb.29514.
- [34] CHENG K, CAI N, ZHU JH, et al. Tumor-associated macrophages in liver cancer: From mechanisms to therapy[J]. Cancer Commun (Lond), 2022, 42(11): 1112-1140. DOI: 10.1002/cac2.12345.
- [35] RAGGI C, CORRENTI M, SICA A, et al. Cholangiocarcinoma stem-like subset shapes tumor-initiating niche by educating associated macrophages[J]. J Hepatol, 2017, 66(1): 102-115. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.08.012.
- [36] QUARANTA V, BALLARÒ C, GIANNELLI G. Macrophages orchestrate the liver tumor microenvironment[J]. Cancers (Basel), 2024, 16(9): 1772. DOI: 10.3390/cancers16091772.
- [37] LUO CB, XIN HY, ZHOU ZJ, et al. Tumor-derived exosomes induce immunosuppressive macrophages to foster intrahepatic cholangiocarcinoma progression[J]. Hepatology, 2022, 76(4): 982-999. DOI: 10.1002/hep.32387.
- [38] TOMLINSON JL, VALLE JW, ILYAS SI. Immunobiology of cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2023, 79(3): 867-875. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.05.010.
- [39] LIN YL, CAI Q, CHEN Y, et al. CAFs shape myeloid-derived suppressor cells to promote stemness of intrahepatic cholangiocarcinoma through 5-lipoxygenase[J]. Hepatology, 2022, 75(1): 28-42. DOI: 10.1002/hep.32099.
- [40] AFFO S, YU LX, SCHWABE RF. The role of cancer-associated fibroblasts and fibrosis in liver cancer[J]. Annu Rev Pathol, 2017, 12: 153-186. DOI: 10.1146/annurev-pathol-052016-100322.
- [41] ZHENG Y, ZHOU C, YU XX, et al. Osteopontin promotes metastasis of intrahepatic cholangiocarcinoma through recruiting MAPK1 and mediating Ser675 phosphorylation of β -Catenin[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 179. DOI: 10.1038/s41419-017-0226-x.
- [42] GRACIA-SANCHO J, CAPARRÓS E, FERNÁNDEZ-IGLESIAS A, et al. Role of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(6): 411-431. DOI: 10.1038/s41575-020-00411-3.
- [43] COGLIATI B, YASHASWINI CN, WANG S, et al. Friend or foe? The elusive role of hepatic stellate cells in liver cancer[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(10): 647-661. DOI: 10.1038/s41575-023-00821-z.
- [44] YUAN H, LIN ZL, LIU YJ, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma induced M2-polarized tumor-associated macrophages facilitate tumor growth and invasiveness[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1): 586. DOI: 10.1186/s12935-020-01687-w.
- [45] ZHU CB, MA JQ, ZHU K, et al. Spatial immunophenotypes predict clinical outcome in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. JHEP Rep, 2023, 5(8): 100762. DOI: 10.1016/j.jhepr.2023.100762.
- [46] LIN YP, PENG LH, DONG LQ, et al. Geospatial immune heterogeneity reflects the diverse tumor-immune interactions in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Cancer Discov, 2022, 12(10): 2350-2371. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1640.
- [47] HONG JH, YONG CH, HENG H, et al. Integrative multiomics enhancer activity profiling identifies therapeutic vulnerabilities in cholangiocarcinoma of different etiologies[J]. Gut, 2024, 73(6): 966-984. DOI: 10.1136/gutjnl-2023-330483.
- [48] CHEN JL, TANG Y, QIN DL, et al. ALOX5 acts as a key role in regulating the immune microenvironment in intrahepatic cholangiocarcinoma, recruiting tumor-associated macrophages through PI3K pathway[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 923. DOI: 10.1186/s12967-023-04804-1.
- [49] XU LX, ZHANG Y, LIN ZL, et al. FASN-mediated fatty acid biosynthesis remodels immune environment in *Clonorchis sinensis* infection-related intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2024, 81(2): 265-277. DOI: 10.1016/j.jhep.2024.03.016.

收稿日期: 2024-06-25; 录用日期: 2024-08-15

本文编辑: 王莹

引证本文: ZHANG QL, LI Z, LIU CR, et al. Components of tumor stroma-immune microenvironment and their interactions in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(3): 594-600.

张秋露, 李卓, 刘从容, 等. 肝内胆管癌间质-免疫微环境内成分及其相互作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(3): 594-600.