

综述

肿瘤微环境介导黑色素瘤靶向治疗的耐药性

刘可微¹, 李建华¹, 郝玉琴^{2*}¹内蒙古自治区第三医院心身健康体检保健中心, 呼和浩特 010000; ²北京大学第三医院皮肤科, 北京 100000)

摘要: 黑色素瘤是恶性程度极高的皮肤肿瘤, 发病率在全球内不断上升。尽管近年来靶向治疗得到了长足发展, 但耐药性仍是重大障碍, 是急需解决的一大难题。越来越多的研究表明, 肿瘤微环境通过各种机制参与黑色素瘤发生、发展, 为介导黑色素瘤耐药提供了有利条件。因此, 研究相关机制有助于寻找逆转黑色素瘤耐药的方案。本文就肿瘤微环境中成纤维细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、角质形成细胞、脂肪细胞、树突状细胞等对黑色素瘤靶向治疗耐药性的相关作用机制展开综述。

关键词: 肿瘤微环境; 黑色素瘤; 靶向治疗耐药性

Tumor microenvironment-mediated drug resistance in targeted treatment of melanoma

LIU Kewei¹, LI Jianhua¹, HAO Yuqin^{2*}¹Psychosomatic Health Examination and Health Care Center, Third Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010000, China; ²Department of Dermatology, Third Hospital of Peking University, Beijing 100000, China)

Abstract: Melanoma is a highly malignant skin tumor, and its incidence rate is rising all over the world. Despite the rapid development of targeted therapy in recent years, drug resistance is still a major obstacle and a major problem to be solved urgently. More and more studies have shown that tumor microenvironment participates in the occurrence and development of melanoma through various mechanisms, providing favorable conditions for mediating melanoma drug resistance. Therefore, the study of relevant mechanisms is helpful to find a plan to reverse melanoma drug resistance. This paper reviews the mechanism of action of fibroblasts, lymphocytes, macrophages, keratinocytes, fat cells, dendritic cells, etc. on drug resistance in targeted therapy for melanoma in the tumor microenvironment.

Key Words: tumor microenvironment; melanoma; targeted drug resistance

黑色素瘤是一种恶性程度极高的肿瘤, 多发生于皮肤, 占皮肤癌死亡人数的80%以上, 是所有皮肤癌中临床症状最重、死亡率最高的肿瘤^[1]。从1990年到2019年, 全球黑色素瘤的发病率增加了170%, 死亡人数增加了90%, 伤残调整寿命年增加了67%^[2]。根据GLOBOCAN的数据, 2020年全球估计有325 000例新病例, 皮肤黑色素瘤占全球

癌症诊断的1.7%^[3]。

黑色素细胞产生的黑色素通过促氧化作用导致基因突变, 使各种细胞信号通路过度激活, 并导致特定细胞类型增殖、去分化和永生化^[4]。近年来, 放化疗、靶向治疗、免疫治疗等提高了黑色素瘤患者的生存率, 特别是针对丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号

收稿日期: 2023-06-26

第一作者: E-mail: 2454786277@qq.com

*通信作者: E-mail: haoyuqin0472@163.com

通路途径的靶向治疗方案,如鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B(V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF)抑制剂单独治疗、BRAF与促分裂原活化的细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)抑制剂联合治疗等都进一步改善了患者的预后(图1)。近年来,虽不断开发出了更高效的药物,但大多数患者最终都不可避免地产生耐药性^[5]。因此,目前迫切需要更深入地了解黑色素瘤的耐药机制,以更好地解决其耐药性。越来越多的证据表明,在影响黑色素瘤治疗效果的因素中,肿瘤微环境起着至关重要的作用。

肿瘤微环境(tumor micro-environment, TME)指肿瘤中存在的非癌细胞和成分,它们为癌细胞增殖提供了肥沃的土壤^[6,7]。肿瘤与肿瘤微环境之间的相互作用对疾病发生、发展、转移和治疗起着决定性的作用(图2)。TME的一个重要作用是介导细胞串扰和细胞与细胞外基质通信,这种相互作用导致免疫逃避和细胞外基质重塑的可溶性因子释放,从而诱发治疗耐药性^[7]。本综述旨在总结TME在黑色素瘤靶向治疗耐药性发展中的作用及机制。

1 TEM相关细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

1.1 成纤维细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

成纤维细胞是一种高异质性的可塑细胞群,可调节结缔组织的稳态、炎症反应以及病理反应。从肿瘤早期开始,由于转化细胞连续旁分泌刺激,诱导周围成纤维细胞启动表型、分子和生化转变,从而转化为癌症相关的成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)^[8]。CAFs作为TME的主要成分已被广泛探索,并且参与了各种细胞过程,包括细胞分化、增殖、干性、细胞外基质重塑以及细胞迁移和凋亡,这些都在肿瘤的发生、发展、能量代谢、免疫、血管生成、复发和转移等过程中起到关键作用^[9]。CAFs通过不同的机制参与黑色素瘤耐药性,如通过肝细胞生长因子、神经质凝素1(neuregulin 1, NRG1)、V-erb-b2红细胞白血病病毒致癌基因同源物3(禽)(V-erb-b2 avian

erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 3, ErbB3)、转化生长因子 β 1、平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等^[10-14]。在黑色素瘤中,由于黑色素细胞普遍存在于表皮和真皮交界处,真皮成纤维细胞被认为是CAFs的主要来源,因此也称其为黑色素瘤相关成纤维细胞(melanoma-associated fibroblasts, MAFs),MAFs在黑色素瘤耐药性中的作用是目前癌症研究的一个新兴热门领域^[8]。

早在2012年, Strausman等^[10]就强调了肝细胞生长因子在BRAF抑制剂治疗中赋予黑色素瘤细胞耐药表型。细胞共培养和蛋白质组学数据分析表明,MAFs分泌的肝细胞生长因子与黑色素瘤间质表皮转化因子相互作用,诱导下游MAPK信号通路和磷脂酰肌醇3激酶和蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路的激活,从而促进对BRAF突变黑色素瘤靶向治疗药物BRAF抑制剂的抵抗力。同时, BRAF和间质表皮转化因子的双重抑制可导致耐药性的逆转,并且已被提议作为治疗BRAF突变黑色素瘤的可行治疗方法。该报道也进一步证实,在体内接受BRAF抑制剂靶向治疗的BRAF突变黑色素瘤患者的基质细胞中肝细胞生长因子表达增加,导致预后不良和对治疗的反应降低。NRG1是另一种MAFs旁分泌因子,是ErbB3的配体,用BRAF抑制剂处理后在黑色素瘤细胞中上调。使用ErbB3/ErbB2抗体可恢复这些药物在BRAF突变黑色素瘤细胞系中的细胞毒活性。该研究表明,MAFs通过NRG1影响黑色素瘤对MAPK抑制剂的作用(图3)^[11]。Hirata等^[12]证明,在用BRAF抑制剂PLX4720处理后,MAFs通过黏附依赖性 β 1-整合素-黏附激酶-Src信号传导导致黑色素瘤细胞中的细胞外信号调节激酶再激活和细胞存活,消除了BRAF抑制剂的抗肿瘤作用。这种保护性信号传导使BRAF突变的黑色素瘤细胞对BRAF抑制剂治疗产生耐药性。

还有研究分析了MAFs(治疗前分离)以及接受BRAF抑制剂治疗的同一供体自体对照成纤维细胞(治疗后分离)中结构和功能标志物的表达,之后进行了基因转录分析以及DNA甲基化状态分析。结果显示,MAFs中SMA的表达呈阳性,SMA不仅是

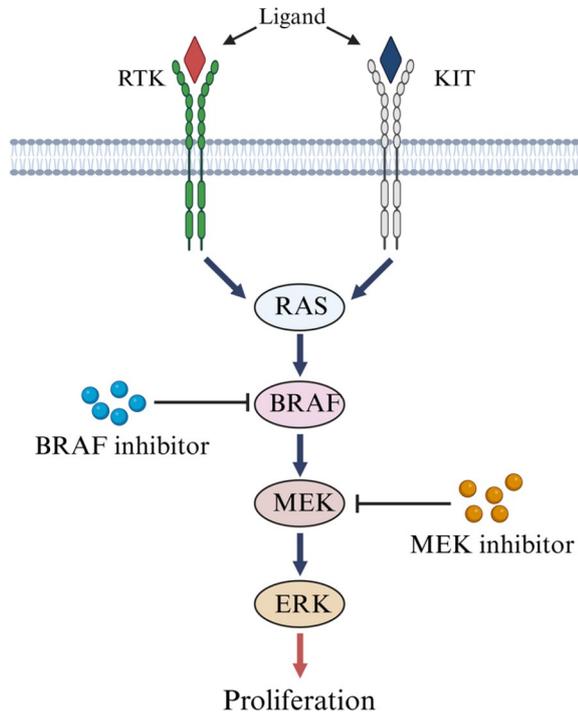


图1 黑色素瘤主要靶向治疗方案

肌成纤维细胞的标志物，也是癌症的标志物，而自体对照成纤维细胞组中SMA同样明显表达^[13]。基因转录分析和DNA甲基化状态分析中也存在显著差异，自体对照成纤维细胞组中SMA在蛋白质和转录水平上调^[13]。2021年，有团队研究比较了在黑色素瘤2D单层培养及3D立体体外共培养人皮

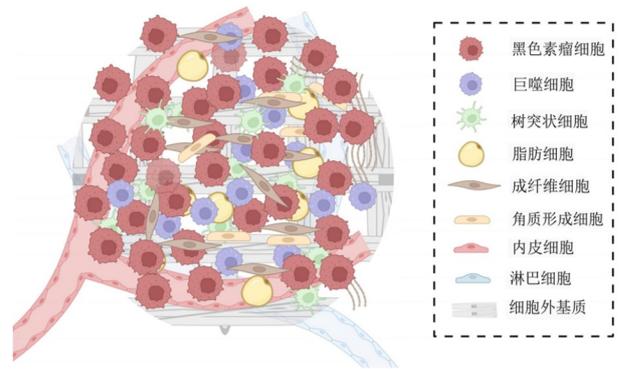


图2 肿瘤微环境

肤黑色素瘤细胞SK-MEL-2模型中健康的成纤维细胞与CAF的不同作用，实验结果表明，两者之间存在不同的分泌谱^[14]。健康的成纤维细胞在2D和3D模型中分泌的IL-6保持低水平，并且在治疗期间持续不变，而CAF分泌的IL-6高达120 pg/10⁵，比健康的成纤维细胞多12倍，特别是以3D模型配置培养时更高。IL-6是一种众所周知的促炎因子，在血清中经常上调，与肿瘤进展有关，也经常在不同类型癌症中的CAF过度产生，刺激癌细胞增殖、存活，产生侵袭性和耐药性^[14]。

综上所述，一直以来关于CAF对黑色素瘤耐药性的研究众多，大多数以BRAF抑制剂的耐药为研究基点展开实验，通过各类模型充分阐述了二

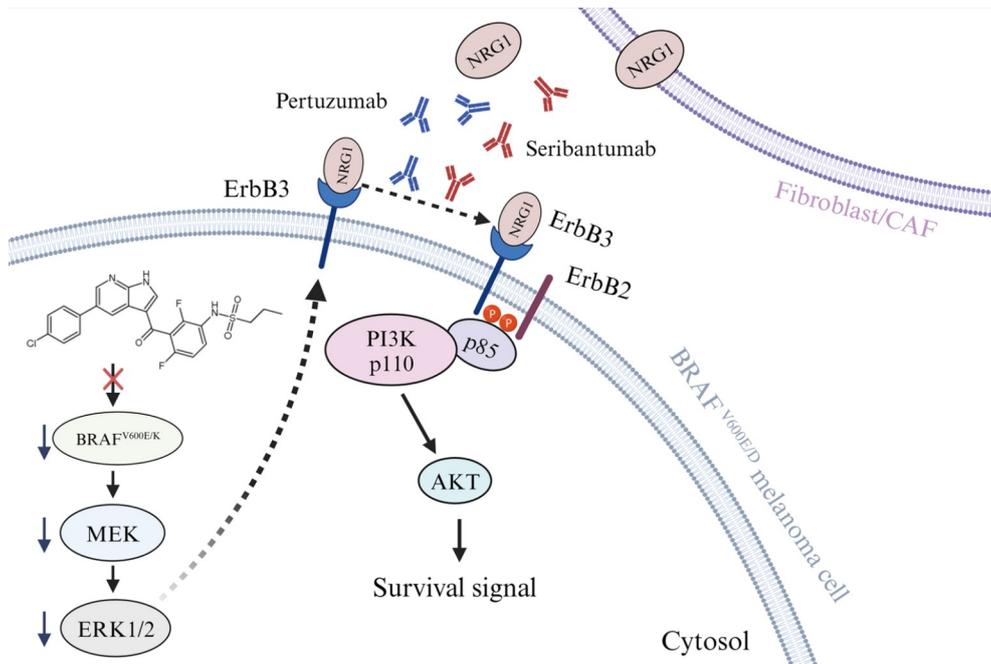


图3 NRG1、ErbB3在黑色素瘤细胞中示意图^[11]

者之间紧密的关联性,对CAFs相关因子、产物或相关基因位点进行干预可能成为逆转耐药性的突破口。

1.2 淋巴细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

肿瘤浸润淋巴细胞在肿瘤进展中起重要作用,虽然T细胞的作用已经得到广泛研究,但B细胞在肿瘤中的具体功能机制仍然定义不清。B淋巴细胞是负责体液和获得性免疫的细胞,其主要功能是产生针对外来抗原的特异性抗体,也参与维持免疫记忆。B细胞对肿瘤或任何免疫威胁的反应是一个精心调节的过程,通过趋化因子和趋化因子受体表达的调节来平衡,以确保免疫细胞在组织中的迁移和定位准确。趋化因子和趋化因子受体的表达通过引导B细胞迁移到肿瘤部位来介导肿瘤相关免疫,这种迁移介导的结果因环境而异。有证据表明,B细胞是各种实体瘤中浸润免疫细胞的关键组成部分,包括乳腺癌和黑色素瘤,占总浸润淋巴细胞群的一半^[15]。

在黑色素瘤中,肿瘤相关B细胞(tumor-associated B-cells, TAB)占TME免疫细胞的33%,并通过促进血管生成和慢性炎症参与对靶向治疗的抵抗。此外,TAB与黑色素瘤细胞转移能力增加和患者总生存期降低有关(图4)^[16]。2017年,一项研究分析了黑色素瘤细胞与TAB之间的串扰,并确定了肿瘤对不同药物反应的特定刺激因素。在黑色素瘤治疗中,不论是接受BRAF抑制剂单药治疗还是与MEK抑制剂联合治疗,患者组织活检都检

测到胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)和成纤维细胞生长因子受体-3(fibroblast growth factor receptor-3, FGFR-3)水平较高。TAB和肿瘤细胞共培养中,中和IGF-1或用shRNA干扰FGFR-3的表达后,黑色素瘤细胞恢复了对BRAF抑制剂和MEK抑制剂的敏感性。该实验表明,黑色素瘤分泌的成纤维细胞生长因子2与FGFR-3结合后激活TAB,并促进IGF-1释放,从而诱导肿瘤细胞的增殖和耐药性^[16]。

NK细胞是淋巴细胞的重要亚类,参与识别和消除病毒感染和转化细胞,通过直接的细胞毒性作用产生快速免疫反应,而无需抗原处理和呈递来杀伤肿瘤细胞^[17]。NK细胞能通过相关受体-配体的相互作用对不同的靶标做出反应,其积聚于黑色素瘤侵袭的淋巴结中,激活细胞因子靶向裂解黑色素瘤细胞,同时下调主要组织相容性复合体I类分子增强相关进程。在小鼠模型中也已证明,NK细胞在BRAF抑制导致的黑色素瘤转移中起重要作用。López-Cobo等^[18]的研究表明,BRAF抑制剂有助于肿瘤从NK细胞反应中逃避,导致靶向治疗的耐药性。该实验用靶向药物维莫非尼处理黑色素瘤细胞,NK细胞活性虽不受影响,但识别率下降,这很可能是由于黑色素瘤细胞上配体的激活减少所致,原因包括主要组织相容性复合体I类分子的上调、主要组织相容性复合体I无法产生抑制信号、NK细胞脱颗粒减少等。根据以上两个实验,我们得出结论,TAB被FGFR-3结合体激活后释放IGF-1从而对BRAF抑制剂及MEK抑制剂产生耐药。同时,BRAF抑制剂的使用还影响了NK细胞的识别率,在两类淋巴细胞的双重作用下,大大降低了靶向药物的效能。

1.3 巨噬细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

巨噬细胞是参与吞噬作用、促炎细胞因子产生和特异性免疫的免疫细胞。在TME中发现的巨噬细胞通常被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM),在肿瘤细胞和其他微环境成分的影响下,TAM可能是肿瘤发生过程的启动子或抑制因子。TAM极化为M1和M2两种类型,M1样巨噬细胞对于炎症反应的早期阶段非常重要,M2样巨噬细胞则在TME中占主导地位,

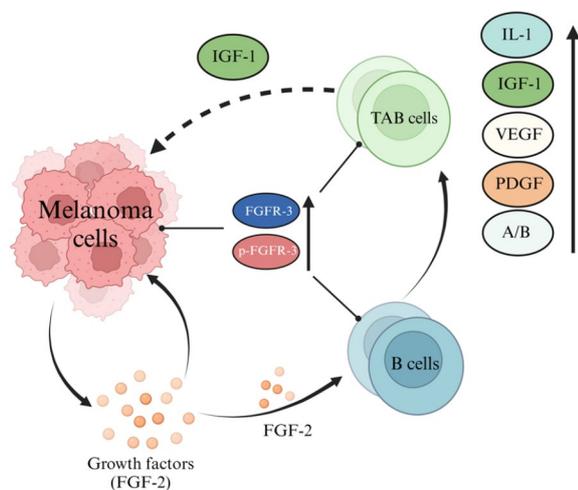


图4 黑色素瘤与TAB之间的串扰^[16]

与肿瘤进展相关。在肿瘤的原发部位, TAM要么通过促进血管生成直接增强肿瘤的细胞生长, 要么间接诱导TME内免疫细胞相互作用的功能障碍^[19]。肿瘤坏死因子 α 是体内黑色素瘤细胞生长所必需的, 不仅可在体外刺激黑色素瘤细胞的增殖, 并且能够诱导黑色素瘤生存因子小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)激活。前期研究已阐述了MITF在对MAPK途径抑制剂治疗的耐药性方面的相关性, 即BRAF抑制剂和MEK抑制剂在单一和联合治疗中的耐药性。这种MITF依赖性增加的生存率可能是由于其调节多个抗凋亡基因如*Bcl-2*和*ML-IAP*的核心作用。体内黑色素瘤模型实验证明, MAPK靶向药物通过TAM诱导肿瘤坏死因子 α 的产生, 核因子 κ B途径被激活, 从而提高MITF的表达, TAM通过肿瘤坏死因子 α 和MITF介导黑色素瘤对MAPK抑制剂的耐药性^[20]。

有报道指出, 接受MAPK抑制剂治疗后的黑色素瘤患者的TME中TAM丰度较高, 促进了肿瘤坏死因子的产生, 再次证明了TAM不仅对黑色素瘤的生长和侵袭很重要, 还有促进MAPK抑制剂的耐受性^[21]。该团队还进一步确定了TAM与黑色素瘤靶向治疗耐药性的关系, 由TAM和成纤维细胞组成的炎症龛位通过涉及巨噬细胞衍生的白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和成纤维细胞衍生的趋化因子受体2(CXC receptor 2, CXCR2)配体的细胞因子信号传导网络导致了治疗耐受。黑色素瘤细胞诱导TAM产生IL-1 β , IL-1 β 活化的成纤维细胞通过核因子- κ B途径和B细胞淋巴瘤2对BRAF/MEK抑制剂联合治疗产生耐受性, 同时成纤维细胞通过IL-1 β 来产生CXCR2配体来抵消MAKP抑制剂的治疗效果; 反之, 干扰CXCR2信号传导可有效地改善黑色素瘤细胞对MAPK抑制剂治疗的反应^[21]。还有报道称, 在BRAF抑制剂的影响下, TAM的MAPK途径被激活, 促血管生成因子的产生增加, 并且对治疗产生耐药性^[22]。

2022年, Qu等^[23]报道了TAM以不同的机制促进肿瘤的发展, 首先可通过产生基质金属蛋白酶、组织蛋白酶和血管生成生长因子促进肿瘤血管生成, 其次可通过促进上皮-间充质转化来促进肿瘤转移。TAM还可以与TME内多种类型的免疫

细胞相互作用, 包括抑制CD8⁺ T细胞, 诱导NK细胞和NK T细胞功能障碍, 并通过扩增T调节细胞, 减少抗肿瘤免疫细胞的数量以加速肿瘤发生。

TAM通过多种方式影响黑色素瘤耐药性的产生, 血管生成、免疫细胞相互作用、上调肿瘤坏死因子 α 以及细胞因子信号传导网络等都参与其中, 但大多为早期理论。由于涉及的调控通路多、影响因素多、实验研究较为复杂, 也是难以产出应对相关耐药机制方案的原因之一。

1.4 角质形成细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

角质形成细胞是表皮最重要的细胞, 为人类提供机械防御, 维持皮肤完整性。近年来有证据表明, 角质形成细胞还起着补充作用, 在某些刺激下它可以通过旁分泌调节相关信号通路来参与疾病的启动和调节^[24]。有报道称, 角质形成细胞分泌的内皮素1(endothelin 1, EDN1)可通过两条途径诱导黑色素瘤靶向治疗耐药性^[25-27], 实验分析了已规范治疗2周后分离出的黑色素瘤样本, 其中EDN1及内皮素受体B均在实验组显著增加。EDN1通过内皮素受体B保护MITF的高表达, 机制可能是通过内皮素受体旁分泌信号传导, 而MITF可在BRAF抑制剂治疗中诱导耐药性^[27]。

另一途径则是受体酪氨酸激酶AXL高表达相关耐药。近年有单细胞实验分析发现, 黑色素瘤中AXL高表达, 现已普遍认为, AXL高表达与MAPK抑制剂治疗耐药性有关。角质形成细胞来源的EDN1是AXL诱导耐药所必需的。EDN1通过上调内皮素受体A来调节AXL高表达, 同时, 在BRAF抑制剂单药或BRAF/MEK抑制剂联合治疗中AXL的耐药性无差异^[27]。使用内皮素受体拮抗剂可抑制AXL的高表达, 细胞恢复对BRAF抑制剂的敏感性。靶向内皮素受体可抑制AXL细胞群聚集, 从而增强BRAF抑制剂在体内的功效, 进一步验证了角质形成细胞来源EDN1相关受体对黑色素瘤靶向治疗的耐药机制(图5)^[27]。

1.5 脂肪细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

脂肪组织是机体重要的代谢器官, 脂肪细胞根据其特征不同可以分为3类: 白色脂肪细胞、棕色脂肪细胞和米色脂肪细胞^[28]。已有报道, 脂肪细

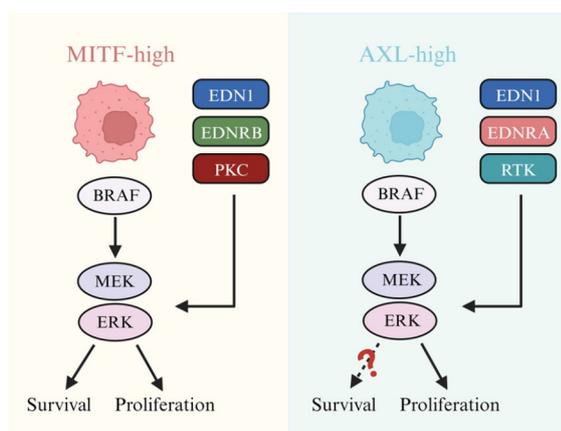


图5 EDN1介导的旁分泌保护模型^[27]

胞对多数肿瘤具有促进作用，可导致恶性黑色素瘤发病率和侵袭性的增加，并造成预后不良，同时来自肥胖个体的脂肪细胞比来自纤瘦个体的脂肪细胞具有更强的作用^[29]。

早期，Chi等^[30]报道了人类脂肪细胞促进黑色素瘤细胞对各种治疗剂的耐药性，称用脂肪细胞培养基培养能促进细胞增殖并降低黑色素瘤细胞对多种药物诱导的细胞凋亡的敏感性，包括DNA损伤药物顺铂、微管靶向剂多西他赛和组蛋白去乙酰化酶抑制剂SAHA，机制可能与PI3K/AKT和MEK/细胞外信号调节激酶信号传导的激活增加有关，并且用PI3K或MEK抑制剂可削减这种耐药性。实验结果进一步表示，脂肪细胞促进了黑色素瘤细胞对靶向PI3K/AKT和MEK/细胞外信号调节激酶通路药物治疗的耐药性，同时，抑制瘦素及OB-Rb系统可能有助于提高黑色素瘤的疗效。

近年来有研究发现，在出现耐药性之前，MAPK抑制剂可促进脂肪酸氧化，从而导致黑色素瘤细胞凋亡减少，而富含脂肪酸的脂肪细胞衍生外泌体可以促进脂肪酸氧化。实验表示，使用MAPK抑制剂、脂肪酸氧化抑制剂和糖酵解抑制剂的三联疗法可被视为一种新的治疗方案，以防止BRAF突变黑色素瘤产生获得性耐药^[31,32]。还有人指出，肿瘤相关脂肪细胞在肿瘤内募集循环单核细胞并促进它们分化为巨噬细胞，本文先前的已讨论过巨噬细胞相关黑色素瘤靶向治疗的耐药机制^[19]。

脂肪细胞与黑色素瘤靶向治疗耐药性的相关研究提示，多种抑制剂的联合使用可以多途径对抗耐药性，但三联或更多药物的联合是否会激活其

他通路或因药物间的相互作用从而产生更大的潜在风险还有待进一步研究验证。

1.6 树突状细胞对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

树突状细胞(dendritic cell, DC)是1973年Steiman和Cohn从脾脏中分离出的一类与粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞形态和功能都不同的白细胞，在诱导免疫反应和耐受性方面至关重要。它们具有模式识别受体，能识别出病原体相关分子模式或损伤相关分子模式，是最有效的抗原呈递细胞。通过抗原呈递和细胞因子分泌，DC可以决定幼稚T细胞的命运并诱导促炎反应或免疫抑制，还能够推动T细胞识别抗原，若是危险性抗原则攻击；若是非危险性抗原则产生耐受性表型^[33]。

与其他免疫细胞不同，DC在靶向治疗中促进耐药性的产生主要与该类型细胞的肿瘤浸润缺失有关。2020年，一项研究表明，黑色素瘤靶向药物达沙替尼(酪氨酸激酶抑制剂)通过降低吡啶胺-2,3-双加氧酶诱导的色氨酸的磷酸化和代谢，从而诱导同种异体T细胞的活化。其中，吡啶胺-2,3-双加氧酶是肿瘤微环境中诱导耐受性DC的关键酶之一。该药物在一定程度上调节了DC的免疫原性活性，并在今后可能应用于DC相关的癌症治疗^[34]。此外，有研究指出，RAF激酶抑制剂可以通过影响DC的分化和活化来诱导获得性耐药性。在人类和小鼠DC细胞中进行的临床前实验中，用RAF激酶抑制剂处理后的DC招募T细胞的能力降低或缺乏。因此，考虑到泛RAF抑制剂对免疫应答调节的负面影响，该实验也为黑色素瘤开辟了可能的新治疗方案^[35]。

2 TEM细胞外基质对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

2.1 胶原蛋白对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

由交联排列的胶原纤维组成僵硬的细胞外基质(extracellularmatrix, ECM)是实体瘤的主要特征。有证据表明，肿瘤相关ECM的生物物理特性促进细胞转化，影响肿瘤转换状态并改变血管生成以促进转移并降低治疗效率。肿瘤相关性纤维化伴有ECM沉积和僵硬，促进炎症信号传导，在多种

肿瘤中促进肿瘤侵袭性^[36]。近十年, 已有研究证明, ECM在黑色素瘤治疗耐药性的获得和进展中起关键作用。

胶原蛋白是存在于细胞外基质的一类功能性蛋白, 临床上的许多实体瘤, 如结直肠癌、乳腺癌、骨癌等都可以观察到癌组织硬度的增加, 这主要是由于胶原蛋白的合成和交联增加引起的肿瘤组织纤维化的改变。不仅如此, 胶原蛋白还与不良预后有关, 其通过与不同因子作用、参与不同信号通路促进上皮-间质转化, 从而促进肿瘤细胞增殖、侵袭、转移及耐药等^[37]。

2022年, Popovic等^[38]发现, 由TME中的胶原蛋白丰度和交联引起的ECM僵硬和排列已被证明可通过诱导机械信号传导激活黑色素瘤细胞表型切换和治疗耐药性。这些可以改变细胞行为以促进机械敏感和耐药间充质样表型。胶原蛋白丰度和硬度可以促进YES相关蛋白的核定位, YES相关蛋白通过MITF的表达调节黑色素瘤细胞色素沉着和分化。此外, 当MITF在黑色素瘤细胞中被敲低时, ECM以及局灶黏附基因上调, 导致BRAF抑制剂治疗的耐药性。

2.2 纤连蛋白对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

纤连蛋白是一种高相对分子质量的非胶原性糖蛋白, 在调控细胞黏附、迁移、生长、增殖和分化中起着非常关键的作用, 并与许多癌症息息相关。有研究表明, 纤连蛋白在癌细胞迁移、生长和转移以及耐药性中起着关键作用, 通过激活信号通路级联反应参与细胞增殖和侵袭, 从而诱导耐药性的产生, 而纤连蛋白网络的形成也会影响癌细胞迁移的方向^[39]。

早年, 有实验探讨了ECM与BRAF抑制剂耐药性产生的相关机制并提出了可行的解决方案。众所周知, BRAF抑制剂治疗BRAF突变和抑癌基因PTEN缺失的黑色素瘤时, MAPK和PI3K途径的再激活是产生耐药性的主要原因。对BRAF突变黑色素瘤细胞系进行的磷酸化蛋白质组学分析显示, 在用维罗非尼治疗或使BRAF基因沉默后, 仅在PTEN缺失的情况下ECM纤连蛋白的表达增加。此外, 临床数据证实, PTEN缺失黑色素瘤患者组织中ECM纤连蛋白的表达较高。纤连蛋白与其受体

整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 之间的相互作用导致蛋白激酶B磷酸化, 并由于骨髓性白血病细胞蛋白1的活性增高而降低黑色素瘤细胞的凋亡能力。因此, BRAF抑制促进黑色素瘤微环境的重塑, 从而导致肿瘤细胞逃逸。该研究进一步提出了BRAF/PI3K抑制剂组合作为克服BRAF靶向药物继发耐药的替代方法^[40]。

2.3 成纤维细胞介导细胞外基质对黑色素瘤靶向治疗耐药性的作用及机制

2022年, 有研究指出, 黑色素瘤细胞在肿瘤相关ECM上培养后可造成MAFs沉积以及胶原蛋白和纤连蛋白僵硬排列, 进而逃逸BRAF/MEK抑制剂的治疗。这种基质介导的耐药性属于盘状结构域受体-1和盘状结构域受体-2依赖性, 并通过NIK/IKK α /NF- κ B2信号通路促进黑色素瘤细胞存活(图6)^[41]。

还有研究证明, 基质细胞可通过释放可溶性生长因子、炎症因子、细胞间接触以及沉积失调的ECM来降低癌细胞对药物的敏感性, ECM可以通过募集和/或激活成纤维细胞进而促进CAFs的形成, 先前已讨论过CAFs相关黑色素瘤靶向治疗耐药性的机制^[42]。

成纤维细胞分泌细胞外基质相关蛋白, 不仅为细胞提供连结、支持, 同时还具有信号传导功能。而细胞外基质又反向调控细胞的生长及迁移。胶原蛋白、纤连蛋白、层黏连蛋白等早已被证实与肿瘤的浸润相关。近年来也有越来越多实验深入研究了细胞外基质与肿瘤耐药的关系, 不论从源头CAFs等分泌细胞着手, 还是以细胞外基质反向指挥, 均是黑色素瘤靶向治疗耐药研究的切入点。

3 结语

黑色素瘤的治疗在过去的十年中取得了开创性的进步, 但是为何还具有如此严重的侵略性? 治疗仍具有挑战性? 特异性靶向治疗是目前黑色素瘤治疗的关键点及热点, 但随着治疗中耐药性的迅速发展, 治疗效果也不尽如人意, 因此将研究重点放在耐药机制上尤为重要。近年来的研究成果证明了TME在肿瘤的发展中起关键作用, 包括成纤维细胞、各种免疫细胞以及细胞外基质中的胶原

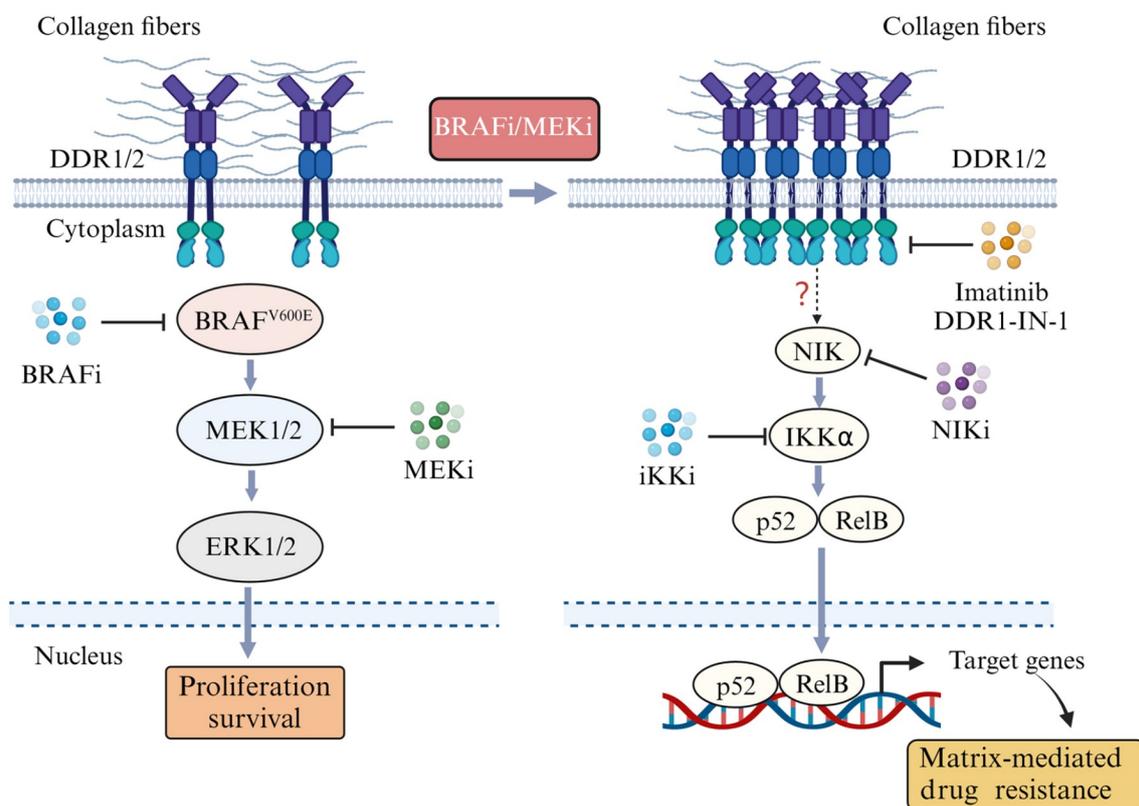


图6 黑色素瘤中盘状结构域受体对MAPK靶向治疗的耐药性模型^[41]

蛋白、纤连蛋白等，揭示了肿瘤与TME之间存在错综复杂的互连网络，也在不同程度上影响肿瘤的治疗耐药性^[43]。根据本综述讨论的分子机制，我们可以看出，TME中的成纤维细胞、淋巴细胞、巨噬细胞等在靶向治疗耐药的发展中的关键作用，据此深入系统地研究能更有针对性地解决肿瘤耐药问题。同时，随着对TME更进一步的研究，也将为黑色素瘤靶向治疗耐药的机制和解决方案提供新思路。

参考文献

- [1] Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, et al. Epidemiology of melanoma. *Med Sci (Basel)*, 2021, 9(4): 63
- [2] Li Z, Fang Y, Chen H, et al. Spatiotemporal trends of the global burden of melanoma in 204 countries and territories from 1990 to 2019: results from the 2019 global burden of disease study. *Neoplasia*, 2022, 24(1): 12-21
- [3] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249
- [4] Strashilov S, Yordanov A. Aetiology and pathogenesis of cutaneous melanoma: current concepts and advances. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6395
- [5] Kim JY, Cho H, Yoo J, et al. HDAC8 deacetylates HIF-1α and enhances its protein stability to promote tumor growth and migration in melanoma. *Cancers*, 2023, 15(4): 1123
- [6] Kumari S, Advani D, Sharma S, et al. Combinatorial therapy in tumor microenvironment: where do we stand? *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(2): 188585
- [7] Khalaf K, Hana D, Chou JTT, et al. Aspects of the tumor microenvironment involved in immune resistance and drug resistance. *Front Immunol*, 2021, 12: 656364
- [8] Bellei B, Migliano E, Picardo M. A framework of major tumor-promoting signal transduction pathways implicated in melanoma-fibroblast dialogue. *Cancers*, 2020, 12(11): 3400
- [9] Wu F, Yang J, Liu J, et al. Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and targeted therapy for cancer. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 218
- [10] Straussman R, Morikawa T, Shee K, et al. Tumour microenvironment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature*, 2012, 487(7408): 500-504
- [11] Capparelli C, Rosenbaum S, Berger AC, et al. Fibroblast-derived neuregulin 1 promotes compensatory ErbB3 receptor signaling in mutant BRAF melanoma. *J Biol*

- Chem*, 2015, 290(40): 24267-24277
- [12] Hirata E, Girotti MR, Viros A, et al. Intravital imaging reveals how BRAF inhibition generates drug-tolerant microenvironments with high integrin β 1/FAK signaling. *Cancer Cell*, 2015, 27(4): 574-588
- [13] Kodet O, Dvořánková B, Bendlová B, et al. Microenvironment-driven resistance to B-Raf inhibition in a melanoma patient is accompanied by broad changes of gene methylation and expression in distal fibroblasts. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5): 2687-2703
- [14] Morales D, Vigneron P, Ferreira I, et al. Fibroblasts influence metastatic melanoma cell sensitivity to combined BRAF and MEK inhibition. *Cancers*, 2021, 13(19): 4761
- [15] Leong TL, Bryant VL. B cells in lung cancer—not just a bystander cell: a literature review. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10(6): 2830-2841
- [16] Somasundaram R, Zhang G, Fukunaga-Kalabis M, et al. Tumor-associated B-cells induce tumor heterogeneity and therapy resistance. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 607
- [17] Vyas M, Peigney D, Demehri S. Extracellular matrix-natural killer cell interactome: an uncharted territory in health and disease. *Curr Opin Immunol*, 2022, 78: 102246
- [18] López-Cobo S, Pieper N, Campos-Silva C, et al. Impaired NK cell recognition of vemurafenib-treated melanoma cells is overcome by simultaneous application of histone deacetylase inhibitors. *OncoImmunology*, 2018, 7(2): e1392426
- [19] Yahaya MAF, Lila MAM, Ismail S, et al. Tumour-associated macrophages (TAMs) in colon cancer and how to reeducate them. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 1-9
- [20] Smith MP, Sanchez-Laorden B, O'Brien K, et al. The immune microenvironment confers resistance to MAPK pathway inhibitors through macrophage-derived TNF α . *Cancer Discov*, 2014, 4(10): 1214-1229
- [21] Young HL, Rowling EJ, Bugatti M, et al. An adaptive signaling network in melanoma inflammatory niches confers tolerance to MAPK signaling inhibition. *J Exp Med*, 2017, 214(6): 1691-1710
- [22] Wang T, Xiao M, Ge Y, et al. BRAF inhibition stimulates melanoma-associated macrophages to drive tumor growth. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(7): 1652-1664
- [23] Qu X, Zhao X, Lin K, et al. M2-like tumor-associated macrophage-related biomarkers to construct a novel prognostic signature, reveal the immune landscape, and screen drugs in hepatocellular carcinoma. *Front Immunol*, 2022, 13: 994019
- [24] Gratton R, Del Vecchio C, Zupin L, et al. Unraveling the role of sex hormones on keratinocyte functions in human inflammatory skin diseases. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(6): 3132
- [25] Mazurkiewicz J, Simiczyjew A, Dratkiewicz E, et al. Stromal cells present in the melanoma niche affect tumor invasiveness and its resistance to therapy. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 529
- [26] Swope VB, Starner RJ, Rauck C, et al. Endothelin-1 and α -melanocortin have redundant effects on global genome repair in UV-irradiated human melanocytes despite distinct signaling pathways. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2020, 33(2): 293-304
- [27] Smith MP, Rowling EJ, Miskolczi Z, et al. Targeting endothelin receptor signalling overcomes heterogeneity driven therapy failure. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(8): 1011-1029
- [28] 季学涛, 张许, 刘谨, 等. 脂肪组织中自噬影响肥胖发病机制的研究进展. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2023, 43(2): 275-282
- [29] Lazar I, Clement E, Carrié L, et al. Adipocyte extracellular vesicles decrease p16INK4A in melanoma: an additional link between obesity and cancer. *J Invest Dermatol*, 2022, 142(9): 2488-2498
- [30] Chi M, Chen J, Ye Y, et al. Adipocytes contribute to resistance of human melanoma cells to chemotherapy and targeted therapy. *Curr Med Chem*, 2014, 21(10): 1255-1267
- [31] Aloia A, Müllhaupt D, Chabbert CD, et al. A fatty acid oxidation-dependent metabolic shift regulates the adaptation of BRAF-mutated melanoma to MAPK inhibitors. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(22): 6852-6867
- [32] Lazar I, Clement E, Dauvillier S, et al. Adipocyte exosomes promote melanoma aggressiveness through fatty acid oxidation: a novel mechanism linking obesity and cancer. *Cancer Res*, 2016, 76(14): 4051-4057
- [33] Chan L, Mehrani Y, Minott JA, et al. The potential of dendritic-cell-based vaccines to modulate type 3 innate lymphoid cell populations. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2403
- [34] Chu CL, Lee YP, Pang CY, et al. Tyrosine kinase inhibitors modulate dendritic cell activity via confining c-Kit signaling and tryptophan metabolism. *Int Immunopharmacol*, 2020, 82: 106357
- [35] Riegel K, Schlöder J, Sobczak M, et al. RAF kinases are stabilized and required for dendritic cell differentiation and function. *Cell Death Differ*, 2020, 27(4): 1300-1315
- [36] Diazi S, Tartare-Deckert S, Deckert M. The mechanical phenotypic plasticity of melanoma cell: an emerging driver of therapy cross-resistance. *Oncogenesis*, 2023, 12(1): 7
- [37] 杨瑾, 贾晓琼. 胶原蛋白在消化系统肿瘤中的研究进展. *癌症进展*, 2022, 20(8): 771-774

- [38] Popovic A, Tartare-Deckert S. Role of extracellular matrix architecture and signaling in melanoma therapeutic resistance. *Front Oncol*, 2022, 12: 924553
- [39] Su MC, Nethi SK, Dhanyamraju PK, et al. Nanomedicine strategies for targeting tumor stroma. *Cancers*, 2023, 15 (16): 4145
- [40] Fedorenko IV, Abel EV, Koomen JM, et al. Fibronectin induction abrogates the BRAF inhibitor response of BRAF V600E/PTEN-null melanoma cells. *Oncogene*, 2016, 35(10): 1225-1235
- [41] Berestjuk I, Lecacheur M, Carminati A, et al. Targeting discoidin domain receptors DDR1 and DDR2 overcomes matrix-mediated tumor cell adaptation and tolerance to BRAF-targeted therapy in melanoma. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(2): e11814
- [42] Diazzi S, Tartare-Deckert S, Deckert M. Bad neighborhood: fibrotic stroma as a new player in melanoma resistance to targeted therapies. *Cancers*, 2020, 12(6): 1364
- [43] Hossain SM, Eccles MR. Phenotype switching and the melanoma microenvironment; impact on immunotherapy and drug resistance. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1601