

胃肠道肿瘤发生及免疫应答的细胞信号机制

张慧¹, 聂平平², 焦石^{1*}, 周兆才^{1,3*}

(¹复旦大学生命科学学院, 遗传工程国家重点实验室, 上海 200438;

²中国科学院分子细胞科学卓越创新中心, 中国科学院大学, 上海 200031;

³南京医科大学公共卫生学院, 肿瘤个性化医学省部共建协同创新中心, 南京 211166)

摘要: 胃肠道是机体从外界获取营养和能量的重要组织器官, 其稳态维持对机体健康以及生理机能的发挥至关重要。在遗传因素与外界环境交互作用下, 胃肠道上皮细胞特别是干细胞及祖细胞会发生基因突变并累积, 进而导致胃肠道肿瘤的发生。本文概述了胃肠道相关稳态维持、肿瘤发生及免疫应答的最新研究进展, 阐释了其中的关键细胞类型与调控模式, 重点解析从生理稳态到病理异常转变过程中干细胞、神经内分泌细胞、免疫细胞等发挥调控作用的分子信号机制, 试图为胃肠道肿瘤的精准诊疗提供参考, 并从细胞互作角度为下一步深入研究理清线索和方向。

关键词: 胃肠道稳态; 干细胞; 胃肠道肿瘤; 免疫应答; 细胞互作

Cellular signaling mechanisms of gastrointestinal tumorigenesis and immune response

ZHANG Hui¹, NIE Pingping², JIAO Shi^{1*}, ZHOU Zhaocai^{1,3*}

(¹State Key Laboratory of Genetic Engineering, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China;

²Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; ³Collaborative Innovation Center for Cancer Personalized Medicine, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

Abstract: Gastrointestinal tract is essential for the body to obtain nutrition and energy from the outside environment. Maintenance of the gastrointestinal homeostasis is vital for health and normal physiology. Regulated by both genetics and environment, gastrointestinal stem cells and/or progenitor cells can accumulate gene mutations that may eventually lead to the occurrence of tumors. Here, we summarize recent research progress in gastrointestinal homeostasis, tumorigenesis and related immune responses, elucidating key cellular types and regulatory machineries with a special focus on signaling mechanisms of stem cells, neuroendocrine cells and immune cells. This review aims to provide references for precise diagnosis and treatment of gastrointestinal tumors, as well as offer clues and directions for future studies from a perspective of cell-cell interaction and communication.

Key Words: gastrointestinal homeostasis; stem cell; gastrointestinal tumor; immune response; cell-cell interaction

收稿日期: 2021-10-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFA0803200, 2017YFA0504504); 国家自然科学基金项目(81725014, 81822035); 上海市科委基础重点项目(19J1415600); 中国科学院青年创新促进会

第一作者: E-mail: fd_zhanghui@fudan.edu.cn

*通信作者: 周兆才, E-mail: zhouzhaocai@fudan.edu.cn; 焦石, E-mail: jiaoshi@fudan.edu.cn

胃肠道是一类与外界直接接触的组织器官, 负责消化吸收食糜, 为机体提供营养和能量。面对外界病原微生物的刺激, 胃肠道组织中的干细胞、免疫细胞及终末端分化的功能细胞相互协作, 修复受损的细胞/组织, 维持胃肠道组织稳态。而当胃肠道组织中的干细胞以及祖细胞在受到外界刺激时, 发生原癌基因或抑癌基因突变, 则可能导致胃肠道肿瘤的发生。这与调控细胞生长增殖相关的信号通路如Wnt、Hippo、Notch、Hedgehog及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)通路的异常密切相关。同时, 微生物和脂类代谢在胃肠道组织稳态维持和肿瘤发生中也具有重要调控作用。

胃肠道肿瘤是一类常见的高发恶性肿瘤, 且早期诊断率低, 病程进展快, 患者5年生存期短, 生存质量差。虽然胃肠道肿瘤的分子分型日益明确, 但不同类型胃肠道肿瘤发生进程中的关键细胞类型及调控机制仍未完全明晰。此外, 胃肠道肿瘤发生发展过程中, 瘤内免疫细胞的具体类型及调控其活性的具体分子机制也亟待明确。因此, 本文旨在总结胃肠道稳态维持的关键细胞类型、具体功能及调控机制, 明确胃肠道肿瘤发生过程中发挥作用的关键细胞类型和分子信号机制以及浸润的关键免疫细胞类型和调控机理, 进而为绘制胃肠道肿瘤发生过程中的细胞互作网络提供线索。

1 胃肠道稳态

胃肠道组织的主要功能是对水、电解质及营养物质的运输和吸收, 从而维持机体生理功能的正常运转。为达到这一目的, 从纵轴方向来讲, 胃肠道组织由管腔和胃肠道上皮组织构成^[1]。胃肠道管腔与外界环境直接接触, 感知外界环境刺激, 同时也直接暴露在外界微生物中。胃肠道上皮组织由黏液层、黏液下层、肌肉层及浆膜层构成^[2]: 黏液层由各类胃肠道上皮细胞组成, 主要完成对营养物质等的消化、吸收; 黏液下层是神经、血管及固有免疫细胞定植和发挥功能的场所, 可用于传递信息、营养物质及阻断外来微生物的入侵; 肌肉层可维持胃肠道组织的基本结构, 促进胃肠道蠕动及管腔中营养物质等的运

输; 浆膜层则是外界微生物入侵胃肠道组织的最后一道屏障, 用于维持胃肠道组织的结构完整性。在胃肠道组织中, 各细胞间协同作用共同维持胃肠道稳态, 实现胃肠道组织对机体必需营养物质的消化、运输及吸收, 从而维持机体的各项生物学机能。

1.1 胃肠道组织稳态

1.1.1 胃组织稳态

胃的主要功能是消化和运输来自食管的食糜。人的胃上皮组织可分为两部分: 胃体和胃窦。胃体与食管相连, 由多种类型、不同功能的细胞组成。由腔体向外依次为顶细胞、峡部活跃的干细胞、颈细胞、基底部分泌胃蛋白酶原的主细胞以及贯穿其中分泌胃酸的壁细胞和神经内分泌细胞, 构成胃上皮组织的一个完整单元^[3], 发挥胃消化运输的生物学功能。

成熟的顶细胞与管腔的外界环境直接接触, 可在1~3天完成一次自我更新, 由峡部干细胞向上分化而来, 是胃组织抵御外界微生物的第一道屏障。壁细胞由峡部干细胞向上向下分化而来, 受神经内分泌细胞调控, 可分泌胃酸、提供酸性环境、消化食糜、抑制微生物的生长增殖^[4]。神经内分泌细胞由胚胎期神经系统发育而来, 包括分泌组胺的肠嗜铬样细胞(enterochromaffin cell, ECL)、分泌生长激素抑制素的D细胞、分泌胰高血糖素的A细胞以及分泌胃饥饿素的X细胞, 与中枢神经系统相互调控, 因此被称为“第二个大脑”^[5,6]。主细胞可分泌胃蛋白酶原, 保护胃上皮组织免受胃酸侵蚀。有研究却发现, 位于基底部的干细胞中存在静息干细胞, 即Mist1⁺、Troy⁺以及Lgr5⁺细胞, 在胃组织受到损伤时, 可迅速增殖分化为各类胃上皮细胞, 包括位于峡部的干细胞, 从而修复胃组织结构、维持胃组织稳态^[7-9]。

相较于胃体来说, 胃窦细胞类型相对单一, 主要由分泌黏液的细胞、分泌组胺的神经内分泌细胞以及干细胞构成。由此可见, 胃窦的主要功能是通过分泌组胺调节胃酸的分泌, 同时分泌黏液蛋白保护胃上皮组织免受胃酸腐蚀^[10]。

1.1.2 肠道组织稳态

肠道组织从结构以及功能上可分为小肠和结肠组织。小肠主要由肠吸收细胞、高脚杯细胞、

神经内分泌细胞、潘氏细胞及干细胞组成,形成褶皱,被称为肠绒毛,是肠上皮组织的最小单元^[11]。肠绒毛可显著增加肠上皮与管腔的接触面积,促进小肠对营养物质的吸收。而结肠上皮组织则没有绒毛结构,是平滑的结构,因此结肠的主要功能是促进粪便的排出^[10]。

肠上皮细胞可在3~5天完成一次自我更新,这是由位于基底部的肠干细胞即Lgr5⁺、Bmi1⁺、CD133⁺、Olfm4⁺、Sox9⁺细胞驱动的^[12-16]。肠干细胞可增殖分化产生TA(transit amplifying)细胞,TA细胞紧接着迅速分化为肠上皮细胞。这些细胞可逐步迁移至绒毛顶端发挥功能,而潘氏细胞则向下迁移至绒毛基底部,与干细胞形成干细胞巢,维持干细胞的功能^[17]。肠干细胞在肠稳态维持及损伤修复中扮演重要角色。

1.2 胃肠道免疫稳态

胃肠道组织是与外界环境直接接触的组织器官,会受到多种微生物的入侵,包括病毒、细菌、真菌及原生生物,数量上约有100万亿^[18]。有研究定义了胃肠道组织存在有益微生物和有害微生物^[19]。这些微生物与胃肠道组织中的免疫系统相互协同/制衡,维持胃肠道微环境的稳态。有益微生物即共生菌可促进食物的消化吸收,维持机体能量稳定;还能够产生大量的短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)调控肠道蠕动、葡萄糖稳态以及炎症反应^[20]。同时,胃肠道微生物在机体免疫系统发育过程中也扮演了重要的角色。例如:研究发现,肠道组织中树突状细胞(DCs)的功能是由肠道微生物耐受反应来调节的,同时还可以抑制Th17的抗炎症反应。

胃肠道组织中的有害菌群则使胃肠道组织长期处于癌症相关的慢性炎症中,进而诱导肿瘤的发生。如当胃组织受到*Helicobacter pylori*(*H. pylori*)感染时,*H. pylori*可产生CagA蛋白,作用于胃上皮细胞,从而诱导该细胞去极化;同时也可以通过TLRs信号通路激活免疫反应,产生慢性炎症,最终增加胃癌发生的敏感性^[21]。同时研究发现,肠道组织中的慢性炎症:如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎(UC)以及克罗恩氏病(CD)均是由于有害菌群的长期感染,同时这也是结直肠癌发生的重要环境因素^[22]。

2 胃肠道肿瘤发生

在病原微生物入侵胃肠道组织造成组织损伤时,胃肠道上皮存在迅速增殖分化的干细胞,可修复胃肠道的损伤,维持胃肠道组织稳态。然而在外界病原微生物等恶劣环境的不断刺激下以及迅速增殖分化的胃肠道组织细胞自身突变的不断累积,可导致胃肠道组织中的能量代谢途径及免疫微环境等发生改变,进而诱发胃肠道肿瘤。而胃肠道肿瘤是一类高发的恶性肿瘤,是全球第三大常见癌症,是全球第二大肿瘤死亡原因^[23]。在中国其发病率分别排第二位和第五位,致死率分别为第二位和第五位,仅次于肺癌、肝癌以及食管癌^[24]。且胃肠道肿瘤发现时多为中晚期且化疗效果不佳,导致病人的五年生存期较短。解决这一难题的关键是深入剖析胃肠道肿瘤的发病机理和分子机制,结合肿瘤分子分型、肿瘤起始细胞类型及细胞互作网络等特征,发现不同分型肿瘤的诊疗靶标,为肿瘤精准治疗提供理论指导与干预手段。

2.1 胃癌发生的细胞信号机制

胃癌目前可分为EBV感染型、微卫星不稳定型、基因组稳定型以及染色质不稳定型四类分子亚型^[25,26]。根据Lauren分类方法,胃癌分为弥漫型胃癌、肠型胃癌以及居于两者中间的胃癌。弥漫型胃癌中肿瘤细胞是低分化的,胃癌组织没有固定形态,没有腺体产生;而肠型胃癌中多是中等分化的肿瘤细胞,具有腺体结构,类似结直肠癌肿瘤组织^[27]。从胃癌的发生诱因上来讲,*H. pylori*感染是远端胃癌发生的主要原因之一^[28]。由于*H. pylori*感染导致胃组织产生慢性炎症,进而出现炎症引发的上皮细胞异常增殖,最终导致胃癌的发生^[29]。另一个诱发胃癌的主要因素为EB病毒感染,这类胃癌80%伴有淋巴转移^[30]。同时原癌基因*KRAS*及抑癌基因*TP53*、*APC*的突变均可导致胃腺癌的发生^[31,32],而*CDH1*基因的突变是弥漫型胃癌的主要诱因^[33]。

在细胞水平,胃上皮组织由多种不同种类、不同功能的细胞组成,细胞间相互协调,发挥消化吸收的功能。而在胃癌发生过程中,不同细胞中发生突变的类型不同,所导致胃癌的分子特征

也不尽相同。在信号机制方面, 研究表明, Wnt、Hippo、Notch、Hedgehog、EGFR及TGF- β 信号通路在胃癌的发生发展中发挥重要作用^[7,34-37]。如: Hippo通路中的关键蛋白YAP/TAZ在胃癌组织中高表达。通过介导YAP蛋白的出入核, 可调控胃癌的发生发展^[38,39]; 而设计小分子多肽靶向YAP-TEADs的结合, 可显著抑制胃癌的发生发展^[40]。因此明晰不同类型细胞发生突变的分子特征, 阐明导致胃癌的具体信号机理, 将有助于进一步明确胃癌类型, 为胃癌的精准诊疗奠定理论基础。

2.1.1 胃癌发生过程中干细胞来源的信号机制

干细胞具有自我更新和增殖的能力, 可增殖分化为具有功能的终末端细胞, 在组织稳态维持和损伤修复中扮演着重要的角色^[10]。而肿瘤组织中也有一小部分细胞可通过迅速增殖来促进肿瘤的发展恶化, 这部分细胞被定义为肿瘤干细胞^[41]。研究发现, 胃上皮组织中的干细胞可作为肿瘤干细胞的来源在肿瘤发生中发挥重要作用。例如: 胃底部Lgr5⁺干细胞中原癌基因*KRAS*突变可诱发胃癌^[8]; 胃峡部Mist1⁺干细胞中*CDHI*基因的缺失可诱导弥漫型胃癌的发生^[7], 并伴有慢性炎症; 另外, Villin⁺细胞作为胃上皮祖细胞, 当*PPARD1/2*过表达时, 可上调CCL20和CXCL1的表达, 导致免疫细胞过度浸润, 产生慢性炎症, 最终诱发胃癌^[42](图1)。

2.1.2 胃癌发生过程中神经内分泌细胞来源的信号机制

胃上皮组织中存在各类神经内分泌细胞, 能够响应神经传导信号, 调控胃酸的分泌, 同时也能够将饥饿等信号传递到大脑皮层^[43]。而神经内分泌细胞的异常可导致胃癌的发生。胃癌中神经内分泌肿瘤多由肠嗜铬细胞样分泌组胺的细胞组成^[44]。*MEN1*突变是诱发胃组织中神经内分泌肿瘤的主要因素^[45](图1), 而1型/2型糖尿病则是导致该神经内分泌肿瘤的关键诱因^[46]。

2.1.3 胃癌发生过程中其他细胞来源的信号机制

在胃上皮组织中仍存在一大类细胞, 即胃壁细胞, 约占胃上皮细胞总数的1/3。胃壁细胞的主要功能是分泌胃酸, 维持胃组织的酸性环境, 抑制病原微生物的入侵^[47]。而研究发现, 胃壁细胞中敲入原癌基因*KRAS*或敲除抑癌基因*TP53*、*SHH*

可导致肠型胃癌的发生^[32,48,49]; 同时胃壁细胞中敲除*CDHI*, 则可诱发弥漫型胃癌^[50](图1)。

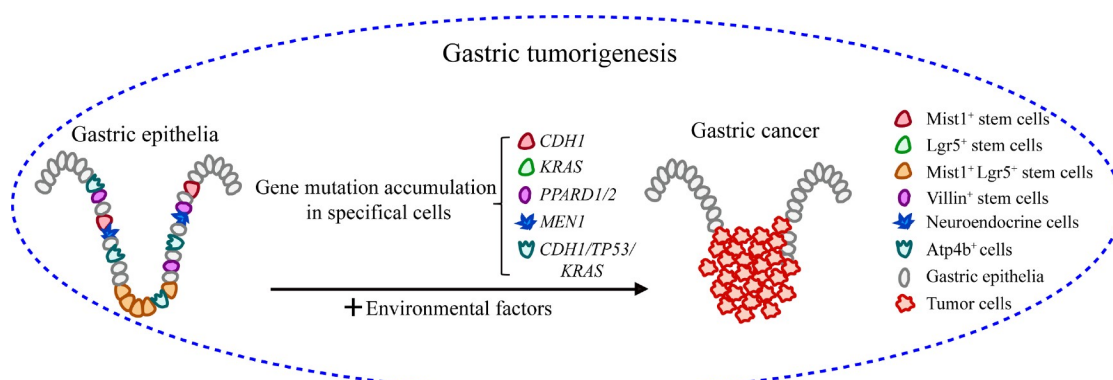
总而言之, 在细胞水平, 胃上皮组织中的基底干细胞、峡部干细胞、神经内分泌细胞及壁细胞中特定基因发生突变, 均可导致胃癌的发生。而不同细胞发生不同基因突变, 则会诱发不同类型的胃癌。因此, 在明晰特定基因突变导致不同类型胃癌发生的同时, 阐明肿瘤来源的具体细胞类型及诱发机制, 将进一步揭示胃癌发生过程中的细胞信号机制, 进而有力推动胃癌的精准诊疗。

2.2 肠道肿瘤发生

结直肠癌是一类异质性极高、分子特征复杂的肿瘤, 因而其致死率高、复发率高。结直肠癌可分为四大亚型: CMS1亚型, 即微卫星不稳定型, 约占癌症总数的14%; CMS2亚型, 多为Wnt和MYC信号通路异常激活型, 约占37%; CMS3亚型, 多为代谢失调型, 约占13%; 以及CMS4亚型, 即TGF- β 异常激活型, 约占13%^[51]。多项研究表明, 微生物与结直肠癌的发生发展密切相关, *Fusobacterium nucleatum*(*Fn*, 革兰氏阴性菌)在结直肠癌样本中明显富集^[52]。*Fn*可通过介导TLR4-MyD88信号通路促进结直肠癌的化疗耐受和复发; 另一方面, *Fn*的FadA蛋白可通过结合E-cadherin, 激活E-cadherin/ β -catenin信号通路, 促进肿瘤细胞增殖和侵袭^[53]。在信号机制方面, Wnt信号通路的异常激活是导致肠癌发生的主要诱因, 如Wnt通路中的*CTNNB1*、*APC*及*AXIN2*突变可导致 β -catenin的入核增加, 进而诱导结直肠癌的发生^[54]; 同时研究发现, Hippo、TGF- β 及NF- κ B信号通路的异常均可诱发结直肠癌^[55-57]。

2.2.1 肠癌发生过程中干细胞来源的信号机制

肠上皮细胞较为简单, 主要由位于肠上皮基底隐窝处的肠干细胞迅速增殖分化为终末端细胞, 发挥消化吸收的功能。研究表明, Lgr5⁺肠干细胞中敲除*APC*、*TP53*或敲入*CTNNB1*、*KRAS*突变体, 可诱导肠癌的发生^[58,59], 而当在Lgr5⁺细胞中敲除*APC*的同时敲除*YAP*则可抑制肠癌的发生发展^[55]; CD133⁺细胞中敲入*CTNNB1*突变体时可诱导弥漫型小肠癌的发生^[14]; 同时Olfm4在结直肠癌样本中高表达^[15]。此外, Dclk1(静息干细胞/Tuft细胞



在胃癌发生过程中, 胃上皮细胞扮演了重要角色。如: $Mist1^+$ 干细胞中 $CDH1$ 缺失; $Lgr5^+$ 干细胞中 $KRAS$ 突变; $Villin^+$ 干细胞中 $PPARD1/2$ 过表达; 神经内分泌细胞中 $MEN1$ 突变; $Atp4b^+$ 细胞中 $CDH1/TP53$ 缺失或 $KRAS$ 突变, 以及与周围细胞、环境的相互作用共同促进了胃癌的发生

图1 胃癌发生过程中的细胞信号机制

分子标志)在炎症诱导的结直肠癌组织中高表达, 而且在DSS诱导的条件下, $Dcl1^+$ 细胞中敲除 APC 可诱导结直肠癌的发生^[60](图2)。因此, 在外界恶劣环境刺激下, 肠干细胞中敲入原癌基因或敲除抑癌基因均可诱发结直肠癌。

2.2.2 肠癌发生过程中神经内分泌细胞来源的信号机制

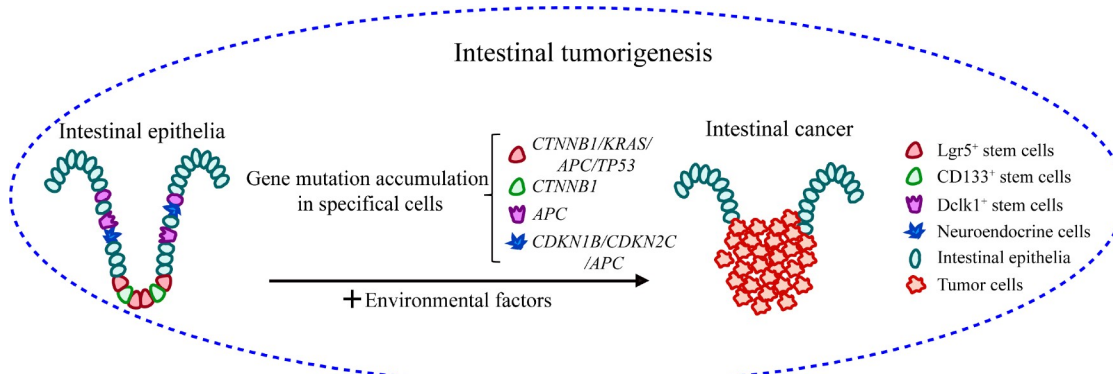
肠上皮细胞中存在多种神经内分泌细胞, 可调控胃酸的分泌, 进而维持肠道稳态。而产生胃泌素、生长激素抑制素及胰高血糖素的神经内分泌细胞是肠道神经内分泌肿瘤的重要细胞类型^[44]。神经内分泌细胞中mTOR信号通路的异常、 $CDKN1B/CDKN2C$ 突变或 APC 敲除均可诱导神经内分泌肿瘤的发生^[61,62](图2)。吸烟、喝酒则是肠道神经内分泌肿瘤的重要诱因^[46]。

综上所述, 不同细胞来源的肠癌分子类型不同, 诱发的分子机制亦不同。因此, 明确肠癌发生进程中的肿瘤细胞来源、演变轨迹及具体信号机制, 阐明瘤内细胞间的互作方式及调控机制, 将为肠癌的精准诊疗提供理论指导。

3 胃肠道肿瘤发生的免疫微环境

3.1 肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)免疫应答

*H. pylori*感染目前被认为是引起慢性胃炎的主要原因, 并被归类为胃癌致病因素。多项研究发现, 巨噬细胞在*H. pylori*感染引起的胃部病变中起到重要作用。C57BL/6小鼠*H. pylori*感染早期, 删除巨噬细胞不影响胃内细菌负荷, 但可减少胃部病变, 表明巨噬细胞对*H. pylori*感染诱导的胃炎发挥重要作用^[63]。被*H. pylori*感染激活的巨噬细胞产



在肠癌发生过程中, 肠干细胞发挥了重要作用。如: $Lgr5^+$ 细胞中 $CTNNB1/KRAS$ 突变或敲除 $APC/TP53$; $CD133^+$ 细胞中 $CTNNB1$ 突变; $Dcl1^+$ 细胞中 APC 缺失以及与环境因素的相互作用可诱发肠癌, 同时神经内分泌细胞中的 $CDKN1B/CDKN2C$ 突变或 APC 缺失均可导致肠癌的发生

图2 肠癌发生进程中的细胞信号机制

生NO, 导致上皮细胞中与肿瘤抑制相关基因的甲基化。用NO特异性抑制剂治疗可以逆转*H. pylori*诱导的上皮细胞甲基化^[64]。同时, 在胃上皮细胞中表达环氧合酶-2(COX-2)和微粒体前列腺素E合成酶(mPGES)-1, 导致胃内出现上皮化生、增生和肿瘤生长, 并伴随着巨噬细胞大量浸润。*H. pylori*感染可上调上皮细胞PGE₂的产生, 提示COX-2/mPGES-1通路可能参与了幽门螺杆菌感染相关的胃癌发生^[65]。

TAMs的组织浸润与多种肿瘤的不良预后呈正相关。TAMs主要通过分泌炎症因子和生长因子促进肿瘤进展^[66]。在肿瘤组织中, 大部分巨噬细胞极化为M2。利用腹膜巨噬细胞的研究表明, M1和M2巨噬细胞可分别产生促炎和抗炎细胞因子, 包括TNF- α 、IL-33、TGF- β 和IL-10^[67,68]。TNF- α 通过抑制糖原合酶激酶3 β (GSK3 β)促进肿瘤细胞中的Wnt/ β -catenin信号通路, 促进肿瘤的发展^[69]; 对表达解痉多肽生化(SPEM)造模小鼠的巨噬细胞进行转录组测序, 发现IL-33的表达在晚期SPEM相关的巨噬细胞中显著上调。IL-33和IL-33受体缺失小鼠中诱变剂对胃上皮则无化生诱导作用; TGF- β 在胃癌模型中可通过激活肿瘤相关成纤维细胞(CAF)和促进纤维化促进肿瘤进展^[70]; IL-10上调TAMs上的T细胞抑制受体PD-L1, 抑制肿瘤特异性T细胞免疫^[71]。对巨噬细胞中EGFR活化对M2极化和胃肠道肿瘤发展的影响研究发现, 巨噬细胞中表皮生长因子受体的激活可抑制M2极化和胃肠道肿瘤的生长^[72]。

除分泌细胞因子之外, TAMs与肿瘤微环境中其他细胞相互作用, 抑制宿主免疫应答, 导致免疫逃逸进而促进肿瘤细胞生长。肿瘤来源的IL-33可激活肥大细胞, 进一步募集和促进巨噬细胞二型极化, 促进肿瘤生长。肥大细胞的删除或失活抑制了肿瘤相关巨噬细胞的积聚, 减少了肿瘤细胞增殖和血管生成, 并减少了肿瘤负荷^[73]。

巨噬细胞在胃癌转移过程中也有重要作用。有腹膜转移的胃癌患者与无腹膜转移的患者相比, 腹膜内的巨噬细胞增加, 且主要为M2(CD68⁺CD163⁺或CD68⁺CD204⁺)表型^[70]。胃癌患者腹膜巨噬细胞通过产生表皮生长因子(EGF)和血管生成因子(VEGF)促进血管生成, 从而对腹膜转移起促进作用。因

此, 腹腔内TAMs有望成为治疗胃癌腹膜转移的靶点^[74]。

3.2 骨髓来源抑制细胞免疫应答

骨髓源性抑制细胞(MDSCs)包括髓系祖细胞和未成熟髓系细胞。MDSCs通过Arg-1、iNOS和ROS发挥抑制宿主免疫反应的功能。MDSCs也可通过表达PD-L1和CTLA-4抑制CD8⁺ T细胞功能从而促进肿瘤进展。免疫检查点抑制剂可以阻断MDSCs对CD8⁺ T细胞的抑制作用, 在各种小鼠肿瘤模型中展示出抗肿瘤活性^[75](图3)。小鼠胃特异性表达人源IL-1 β 会引发自发的胃炎和胃癌, 这与胃部骨髓源性抑制细胞(MDSCs)早期募集相关。IL-1 β 通过IL-1RI/NF- κ B信号通路激活MDSCs。拮抗IL-1受体信号抑制了MDSCs的募集, 并抑制了胃癌发展^[76]。

在小鼠胃肠肿瘤模型中, 肿瘤微环境中的炎性细胞因子如IL-1 β 、TNF- α 、DKK-1和IL-8募集并激活MDSCs^[77,78]。除了炎性因子, 迷走神经也参与了MDSCs的调节。迷走神经调节记忆T细胞分泌抗炎肽TFF2, 通过CXCR4抑制MDSCs的募集, 从而抑制癌症(图3)。脾脏去神经支配阻断了抗炎肽分泌, 导致MDSCs扩张和结直肠癌发展。MDSCs在胃癌中是否受迷走神经调节需要进一步验证^[79]。明确MDSCs的多种调节机制可为靶向MDSCs激活宿主肿瘤免疫提供新方法。

3.3 淋巴细胞免疫应答

肿瘤浸润淋巴细胞由T细胞、B细胞和自然杀伤细胞组成, T细胞介导的适应性免疫在抗肿瘤免疫中起主要作用。T细胞亚群包括CD8⁺毒性T细胞、CD4⁺ T辅助细胞、FOXP3⁺调节性T细胞、记忆性T细胞和NK细胞。肿瘤浸润的淋巴细胞调节宿主对肿瘤细胞的免疫应答, 而PD-L1或CTLA-4在肿瘤微环境中的表达会抑制T细胞介导的抗肿瘤免疫反应。研究表明, NF- κ B1在上皮细胞和造血细胞中均有抑制肿瘤的作用。NF- κ B1缺失导致JAK-STAT信号通路上调, 进一步导致炎症因子、抗原呈递和免疫检查点PD-L1上调。NF- κ B1全身缺失小鼠3~5月龄时胃中的TCR β ⁺CD4⁺ T细胞和CD11b⁺髓系细胞数量增加, 并进一步自发侵袭性肠型胃癌^[80]。

在人类胃癌中, 肿瘤组织中T淋巴细胞的高密

度浸润与高生存率相关,而PD-L1表达与总生存率缩短相关^[81]。最近的基因组测序研究表明,免疫检查点抑制剂的良好响应率与Epstein-Barr病毒(EBV)和微卫星不稳定(MSI)肿瘤分子亚型有关^[82]。并且,PD-L1阳性率与TCGA鉴定的主要免疫相关亚型(MSI-H或EBV阳性)之间具有高度相关性。高突变负荷(MSI-H)或EBV(+)的胃癌患者对免疫检查点抑制剂治疗的应答率最高。表明除了PD-L1外,MSI-H和EBV(+)也是可靠的胃癌免疫治疗生物标志物。进一步对T细胞的亚群研究发现,肿瘤内具有效应记忆特征的干细胞样CXCR5⁺CD8⁺ T细胞浸润程度与胃癌患者预后呈正相关^[83]。肿瘤内CXCR5⁺CD8⁺ T细胞浸润较高的胃癌患者对辅助化疗的响应更好,且MSI-H和EBV(+)患者肿瘤组织中CXCR5⁺CD8⁺ T细胞富集更高。

4 展望

成体胃肠道组织中的干细胞具有迅速增殖分化为功能细胞的能力,且作为肿瘤干细胞的来源之一,在胃肠道肿瘤发生发展过程中发挥关键性作用。胃肠道组织与外界环境直接接触,在受到恶劣环境刺激时,位于胃肠道上皮组织中的干细胞可迅速增殖分化为各类功能细胞,进而修复受损的胃肠道组织,从而维持胃肠道稳态。而当干细胞中的原癌基因发生突变或抑癌基因缺失时,则可在特定环境刺激下诱发肿瘤。此外,胃肠道组织中存在多种神经内分泌细胞,能够感知大脑的信号,从而通过旁分泌的方式调控胃肠道上皮细胞的作用和功能。但当特定类型的神经内分泌细胞中的某类基因发生突变时可诱导胃肠道神经内分泌肿瘤的发生。如位于胃上皮组织的肠嗜铬细胞样细胞中*MEN1*发生突变则可诱发胃神经内分泌肿瘤的发生。然而,不同类型干细胞或神经内分泌细胞中基因突变类型不同或所受外界环境刺激不同,所产生的胃肠道肿瘤亚型不同,其免疫微环境特别是杀伤性T细胞的类型及作用方式也相去甚远,因而分子标记物及诊疗指标也完全不同。

值得注意的是,胃肠道稳态维持过程中,需要多种胃肠道上皮细胞协同作用;而胃肠道肿瘤发生过程中同样伴随着多种细胞间的互作网络,

并由此导致复杂的肿瘤异质性。例如,除肿瘤(干)细胞和各类免疫细胞之外,肿瘤组织中还存在肿瘤相关成纤维细胞、内皮细胞及血管生成细胞等。肿瘤细胞与微环境中其他细胞通过物理接触或旁分泌途径产生相互作用,协同促进肿瘤发生发展。然而,这些细胞在胃肠道肿瘤发生进程中扮演的角色及功能作用仍未完全明确,而且特定类型胃肠道肿瘤中,肿瘤干细胞的具体演变轨迹、调控机制及与周围细胞的作用方式仍不清晰。因而明晰不同亚型胃肠道肿瘤中肿瘤起始细胞类型,阐释肿瘤微环境中调控肿瘤起始细胞恶性增殖的分子信号机制,揭示胃肠道肿瘤发生进程中肿瘤(干)细胞-免疫细胞-基质细胞-内皮细胞作用方式及分子信号,绘制胃肠道肿瘤发生过程中细胞互作网络,将有助于为胃肠道肿瘤的精准诊疗提供理论基础和分子靶标。为此,可充分利用谱系示踪的方法,构建小鼠胃肠道肿瘤模型,明确不同类型细胞在肿瘤发生进程中的演变轨迹和调控方式;同时运用单细胞测序技术及空间转录组等分析手段,明确调控肿瘤发生的分子机制,解析关键细胞的互作方式;结合TurboID^[84]和MetRS^[85]等生物大分子标记技术,阐述胃肠道肿瘤发生过程中不同阶段与肿瘤细胞互作的细胞类型,及对互作细胞功能的影响,明确不同阶段肿瘤细胞的分泌谱与作用对象。最后,运用基因改造的方式结合胃肠道组织类器官培养等技术手段,确定调控细胞间互作的信号机制,最终为胃肠道肿瘤的精准诊疗奠定理论基础。

参考文献

- [1] Shen L. Functional morphology of the gastrointestinal tract. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009, 337: 1-35
- [2] Min S, Kim S, Cho SW. Gastrointestinal tract modeling using organoids engineered with cellular and microbiota niches. *Exp Mol Med*, 2020, 52(2): 227-237
- [3] Karam SM, Leblond CP. Identifying and counting epithelial cell types in the "corpus" of the mouse stomach. *Anat Rec*, 1992, 232(2): 231-246
- [4] Yao X, Smolka AJ. Gastric parietal cell physiology and helicobacter pylori-induced disease. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2158-2173
- [5] Grin A, Streutker CJ. Neuroendocrine tumors of the luminal gastrointestinal tract. *Arch Pathol Laboratory*

- Med, 2015, 139(6): 750-756
- [6] Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9(5): 286-294
- [7] Hayakawa Y, Ariyama H, Stancikova J, et al. Mist1 expressing gastric stem cells maintain the normal and neoplastic gastric epithelium and are supported by a perivascular stem cell niche. *Cancer Cell*, 2015, 28(6): 800-814
- [8] Leushacke M, Tan SH, Wong A, et al. Lgr5-expressing chief cells drive epithelial regeneration and cancer in the oxyntic stomach. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(7): 774-786
- [9] Stange DE, Koo BK, Huch M, et al. Differentiated Troy^+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium. *Cell*, 2013, 155(2): 357-368
- [10] Lin SA, Barker N. Gastrointestinal stem cells in self-renewal and cancer. *J Gastroenterol*, 2011, 46(9): 1039-1055
- [11] Barker N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(1): 19-33
- [12] Metcalfe C, Kljavin NM, Ybarra R, et al. Lgr5⁺ stem cells are indispensable for radiation-induced intestinal regeneration. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(2): 149-159
- [13] Sangiorgi E, Capecchi MR. Bmi1 is expressed *in vivo* in intestinal stem cells. *Nat Genet*, 2008, 40(7): 915-920
- [14] Zhu L, Gibson P, Currle DS, et al. Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation. *Nature*, 2009, 457(7229): 603-607
- [15] van der Flier LG, Haegebarth A, Stange DE, et al. OLFM4 is a robust marker for stem cells in human intestine and marks a subset of colorectal cancer cells. *Gastroenterology*, 2009, 137(1): 15-17
- [16] Mori-Akiyama Y, van den Born M, van Es JH, et al. SOX9 is required for the differentiation of paneth cells in the intestinal epithelium. *Gastroenterology*, 2007, 133(2): 539-546
- [17] Vries RGJ, Huch M, Clevers H. Stem cells and cancer of the stomach and intestine. *Mol Oncol*, 2010, 4(5): 373-384
- [18] LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, et al. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*, 2013, 24(2): 160-168
- [19] Gareau MG, Sherman PM, Walker WA. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, 7(9): 503-514
- [20] Larsbrink J, Rogers TE, Hemsworth GR, et al. A discrete genetic locus confers xyloglucan metabolism in select human gut Bacteroidetes. *Nature*, 2014, 506(7489): 498-502
- [21] Peek Jr. RM, Fiske C, Wilson KT. Role of Innate Immunity in *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Malignancy. *Physiol Rev*, 2010, 90(3): 831-858
- [22] Kamada N, Seo SU, Chen GY, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(5): 321-335
- [23] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA-Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- [24] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA-Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132
- [25] Wang K, Yuen ST, Xu J, et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat Genet*, 2014, 46(6): 573-582
- [26] Liu Y, Sethi NS, Hinoue T, et al. Comparative molecular analysis of gastrointestinal adenocarcinomas. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 721-735
- [27] Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 1965, 64(1): 31-49
- [28] Bornschein J, Selgrad M, Warnecke M, et al. *H. pylori* infection is a key risk factor for proximal gastric cancer. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(11): 3124-3131
- [29] Wang F, Meng W, Wang B, et al. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett*, 2014, 345(2): 196-202
- [30] Wu MS, Shun CT, Wu CC, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas: relation to *H. pylori* infection and genetic alterations. *Gastroenterology*, 2000, 118(6): 1031-1038
- [31] Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, et al. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *Lancet Oncol*, 2015, 16(2): e60-e70
- [32] Till JE, Yoon C, Kim BJ, et al. Oncogenic KRAS and p53 loss drive gastric tumorigenesis in mice that can be attenuated by E-cadherin expression. *Cancer Res*, 2017, 77(19): 5349-5359
- [33] Shimada S, Mimata A, Sekine M, et al. Synergistic tumour suppressor activity of E-cadherin and p53 in a conditional mouse model for metastatic diffuse-type gastric cancer. *Gut*, 2012, 61(3): 344-353
- [34] Hayakawa Y, Fox JG, Wang TC. Isthmus stem cells are the origins of metaplasia in the gastric corpus. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2017, 4(1): 89-94
- [35] Kunze B, Wein F, Fang HY, et al. Notch signaling mediates differentiation in barrett's esophagus and promotes progression to adenocarcinoma. *Gastroenterology*,

- 2020, 159(2): 575-590
- [36] Saqui-Salces M, Merchant JL. Hedgehog signaling and gastrointestinal cancer. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Cell Res*, 2010, 1803(7): 786-795
- [37] Wu WKK, Cho CH, Lee CW, et al. Dysregulation of cellular signaling in gastric cancer. *Cancer Lett*, 2010, 295(2): 144-153
- [38] Jiao S, Guan J, Chen M, et al. Targeting IRF3 as a YAP agonist therapy against gastric cancer. *J Exp Med*, 2018, 215(2): 699-718
- [39] Tang Y, Fang G, Guo F, et al. Selective inhibition of STRN3-containing PP2A phosphatase restores Hippo tumor-suppressor activity in gastric cancer. *Cancer Cell*, 2020, 38(1): 115-128, e9
- [40] Jiao S, Wang H, Shi Z, et al. A peptide mimicking VGLL4 function acts as a YAP antagonist therapy against gastric cancer. *Cancer Cell*, 2014, 25(2): 166-180
- [41] Takaishi S, Okumura T, Wang TC. Gastric cancer stem cells. *J Clin Oncol*, 2008, 26(17): 2876-2882
- [42] Zuo X, Deguchi Y, Xu W, et al. PPARD and interferon gamma promote transformation of gastric progenitor cells and tumorigenesis in mice. *Gastroenterology*, 2019, 157(1): 163-178
- [43] Schonhoff SE, Giel-Moloney M, Leiter AB. Neurogenin 3-expressing progenitor cells in the gastrointestinal tract differentiate into both endocrine and non-endocrine cell types. *Dev Biol*, 2004, 270(2): 443-454
- [44] Rindi G, Wiedenmann B. Neuroendocrine neoplasms of the gut and pancreas: new insights. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 8(1): 54-64
- [45] Anlauf M, Perren A, Henopp T, et al. Allelic deletion of the MEN1 gene in duodenal gastrin and somatostatin cell neoplasms and their precursor lesions. *Gut*, 2007, 56(5): 637-644
- [46] Leoncini E, Carioli G, La Vecchia C, et al. Risk factors for neuroendocrine neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*, 2016, 27(1): 68-81
- [47] Yarze JC. Physiology of gastric-acid secretion. *Lancet*, 1997, 350(9075): 446-447
- [48] Xiao C, Ogle SA, Schumacher MA, et al. Loss of parietal cell expression of Sonic hedgehog induces hypergastrinemia and hyperproliferation of surface mucous cells. *Gastroenterology*, 2010, 138(2): 550-561, e8
- [49] Yoon C, Till J, Cho SJ, et al. KRAS activation in gastric adenocarcinoma stimulates epithelial-to-mesenchymal transition to cancer stem-like cells and promotes metastasis. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(9): 1945-1957
- [50] Mimata A, Fukamachi H, Eishi Y, et al. Loss of E-cadherin in mouse gastric epithelial cells induces signet ring-like cells, a possible precursor lesion of diffuse gastric cancer. *Cancer Sci*, 2011, 102(5): 942-950
- [51] Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1350-1356
- [52] Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res*, 2012, 22(2): 299-306
- [53] Yu TC, Guo F, Yu Y, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell*, 2017, 170(3): 548-563, e16
- [54] Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 2017, 36(11): 1461-1473
- [55] Gregorieff A, Liu Y, Inanlou MR, et al. Yap-dependent reprogramming of Lgr5⁺ stem cells drives intestinal regeneration and cancer. *Nature*, 2015, 526(7575): 715-718
- [56] Derynck R, Muthusamy BP, Saetern KY. Signaling pathway cooperation in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 31: 56-66
- [57] Schwitalla S, Fingerle AA, Cammareri P, et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell*, 2013, 152(1-2): 25-38
- [58] de Sousa e Melo F, Kurtova AV, Harnoss JM, et al. A distinct role for Lgr5⁺ stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature*, 2017, 543(7647): 676-680
- [59] Fujii M, Sato T. Defining the role of Lgr5⁺ stem cells in colorectal cancer: from basic research to clinical applications. *Genome Med*, 2017, 9(1): 66
- [60] Nakanishi Y, Seno H, Fukuoka A, et al. Dclk1 distinguishes between tumor and normal stem cells in the intestine. *Nat Genet*, 2013, 45(1): 98-103
- [61] Scarpa A, Chang DK, Nones K, et al. Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours. *Nature*, 2017, 543(7643): 65-71
- [62] Francis JM, Kiezun A, Ramos AH, et al. Somatic mutation of CDKN1B in small intestine neuroendocrine tumors. *Nat Genet*, 2013, 45(12): 1483-1486
- [63] Kaparakis M, Walduck AK, Price JD, et al. Macrophages are mediators of gastritis in acute *Helicobacter pylori* infection in C57BL/6 mice. *Infect Immun*, 2008, 76(5): 2235-2239
- [64] Lee K, Hwang H, Nam KT. Immune response and the tumor microenvironment: how they communicate to regulate gastric cancer. *Gut Liver*, 2014, 8(2): 131-139
- [65] Oshima H, Oshima M, Inaba K, et al. Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice. *EMBO J*, 2004, 23(7): 1669-1678
- [66] DeNardo DG, Ruffell B. Macrophages as regulators of tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*,

- 2019, 19(6): 369-382
- [67] Oishi S, Takano R, Tamura S, et al. M2 polarization of murine peritoneal macrophages induces regulatory cytokine production and suppresses T-cell proliferation. *Immunology*, 2016, 149(3): 320-328
- [68] Petersen CP, Meyer AR, De Salvo C, et al. A signaling cascade of IL-33 to IL-13 regulates metaplasia in the mouse stomach. *Gut*, 2018, 67(5): 805-817
- [69] Oguma K, Oshima H, Aoki M, et al. Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor- α in gastric tumour cells. *EMBO J*, 2008, 27(12): 1671-1681
- [70] Yamaguchi T, Fushida S, Yamamoto Y, et al. Tumor-associated macrophages of the M2 phenotype contribute to progression in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer*, 2016, 19(4): 1052-1065
- [71] Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 889-896
- [72] Zhao G, Liu L, Peek Jr. RM, et al. Activation of epidermal growth factor receptor in macrophages mediates feedback inhibition of M2 polarization and gastrointestinal tumor cell growth. *J Biol Chem*, 2016, 291(39): 20462-20472
- [73] Eissmann MF, Dijkstra C, Jarnicki A, et al. IL-33-mediated mast cell activation promotes gastric cancer through macrophage mobilization. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2735
- [74] Song H, Wang T, Tian L, et al. Macrophages on the peritoneum are involved in gastric cancer peritoneal metastasis. *J Cancer*, 2019, 10(22): 5377-5387
- [75] Baumann T, Dunkel A, Schmid C, et al. Regulatory myeloid cells paralyze T cells through cell-cell transfer of the metabolite methylglyoxal. *Nat Immunol*, 2020, 21(5): 555-566
- [76] Tu S, Bhagat G, Cui G, et al. Overexpression of interleukin-1 β induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell*, 2008, 14(5): 408-419
- [77] Sade-Feldman M, Kanterman J, Ish-Shalom E, et al. Tumor necrosis factor- α blocks differentiation and enhances suppressive activity of immature myeloid cells during chronic inflammation. *Immunity*, 2013, 38(3): 541-554
- [78] Asfaha S, Dubeykovskiy AN, Tomita H, et al. Mice that express human interleukin-8 have increased mobilization of immature myeloid cells, which exacerbates inflammation and accelerates colon carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2013, 144(1): 155-166
- [79] Dubeykovskaya Z, Si Y, Chen X, et al. Neural innervation stimulates splenic TFF2 to arrest myeloid cell expansion and cancer. *Nat Commun*, 2016, 7(1): 10517
- [80] O'Reilly LA, Putoczki TL, Mielke LA, et al. Loss of NF- κ B1 causes gastric cancer with aberrant inflammation and expression of immune checkpoint regulators in a STAT-1-dependent manner. *Immunity*, 2018, 48(3): 570-583, e8
- [81] Ju X, Shen R, Huang P, et al. Predictive relevance of PD-L1 expression with pre-existing TILs in gastric cancer. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99372-99381
- [82] Kim ST, Cristescu R, Bass AJ, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1449-1458
- [83] Wang J, Li R, Cao Y, et al. Intratumoral CXCR5⁺CD8⁺T associates with favorable clinical outcomes and immunogenic contexture in gastric cancer. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3080
- [84] Qin W, Cho KF, Cavanagh PE, et al. Deciphering molecular interactions by proximity labeling. *Nat Methods*, 2021, 18(2): 133-143
- [85] Azizian NG, Sullivan DK, Nie L, et al. Selective labeling and identification of the tumor cell proteome of pancreatic cancer *in vivo*. *J Proteome Res*, 2021, 20(1): 858-866