

综述



薛婧, 博士, 上海交通大学医学院附属仁济医院及肿瘤系统医学全国重点实验室研究员, 博士生导师。2010年6月毕业于中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所, 获博士学位。2010年10月赴美留学, 在美国斯坦福大学医学院从事博士后研究。2015年9月回国加入上海交通大学医学院。课题组主要聚焦胰腺肿瘤和炎症, 从免疫调控、表观调控等方面展开相关病理机制研究。近几年研究成果发表于*Gastroenterology*、*Gut*、*Advanced Science*和*Cancer Research*等杂志。获得国家优秀青年科学基金、上海市东方学者、上海市青年拔尖人才等项目资助。现任中国生理学会基础生物学会分会委员, 中华医学会肿瘤学分会青年委员。

胰腺肿瘤相关成纤维细胞的研究进展

许君怡[#], 郁菲儿[#], 牛宁宁^{*}, 薛婧^{*}

(上海交通大学医学院附属仁济医院, 肿瘤系统医学全国重点实验室, 上海 200127)

摘要: 胰腺癌是恶性程度极高的消化道肿瘤之一。由于早诊困难、治疗手段有限, 胰腺癌患者预后极差。胰腺癌以间质高度纤维化为典型特征, 其中肿瘤相关成纤维细胞(CAF)的激活起到关键作用。CAF是胰腺肿瘤微环境中最丰富的细胞, 具有高度的可塑性, 通过与肿瘤细胞和微环境中其他细胞相互串扰, 参与肿瘤发生发展的各个过程, 对肿瘤的起始、进展、转移和耐药起到关键作用。本文将重点介绍CAF的起源、异质性和调控因素, 及其在胰腺癌中发挥的功能和作用机制, 以期胰腺癌临床诊疗提供理论基础和探索方向。

关键词: 胰腺癌; 间质纤维化; 肿瘤相关成纤维细胞; 异质性

Cancer-associated fibroblast in pancreatic cancer

XU Junyi[#], YU Feier[#], NIU Ningning^{*}, XUE Jing^{*}

(State Key Laboratory of Systems Medicine for Cancer, Ren Ji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China)

Abstract: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most aggressive solid tumors with poor prognosis, owing to the difficulty of early diagnosis and the lack of therapeutic regimens. Extensive fibrosis is a typical histopathological feature of pancreatic cancer, in which cancer-associated fibroblasts (CAF) play a crucial role. CAF, the predominant cell type in the tumor microenvironment (TME), has multiple cellular origins and highly plasticity. CAF have been shown to crosstalk with pancreatic tumor cells and other cells in TME, which participate in all stages of tumor progression and contributes to tumorigenesis, metastasis and drug resistance. This work not only focuses on the origin and phenotypic heterogeneity, but also on the

收稿日期: 2023-05-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(81970553, 81770628, 82022049, 82073105)

[#]共同第一作者: 许君怡, E-mail: xujunyi0509@sjtu.edu.cn; 郁菲儿, E-mail: yfe.shjdyxylcwn@sjtu.edu.cn

^{*}通信作者: 通信作者: 薛婧, E-mail: jingxue@sjtu.edu.cn; 牛宁宁, E-mail: niuningning@shsmu.edu.cn

function and underlying mechanism of CAF in pancreatic TME. In-depth understanding the role and function of CAF will provide theoretical basis and possibilities for the clinical therapies of PDAC.

Key Words: pancreatic ductal adenocarcinoma; fibrosis; cancer-associated fibroblasts; heterogeneity

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC, 以下简称胰腺肿瘤或者胰腺癌)是胰腺癌中最常见的病理类型, 五年生存率仅约为10%^[1]。胰腺癌较差的预后一方面是由于胰腺器官位置较为隐蔽且疾病早期临床症状不明显, 导致早期诊断困难; 另一方面则是因为目前缺乏有效的治疗手段, 手术切除是唯一可能的治愈手段, 然而只有少数患者具有手术机会。以吉西他滨为基础的化疗是胰腺癌一线治疗方案, 但无法显著改善多数患者的总生存期^[2]。胰腺癌又被称作“硬癌”, 其中活跃的结缔组织增生造就了致密的肿瘤间质, 包裹肿瘤细胞, 导致药物递送困难, 也成为胰腺癌预后差的原因之一^[3]。

肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF)是胰腺癌间质中最丰富的细胞, 并能产生大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分促进间质纤维化, 是胰腺癌致密组织结构的重要来源^[4]。胰腺癌CAF细胞来源、表型及功能多种多样, 随着肿瘤进展而动态变化^[4]。有研究表明, CAF和肿瘤细胞及基质的其他细胞存在广泛且复杂的相互作用, 并因此主动参与到肿瘤的恶性进程中^[5]。本文将介绍在胰腺癌发生发展过程中CAF多样化的来源及表型, 并进一步讨论CAF在肿瘤发生发展不同阶段中发挥的功能及潜在的分子机制。探索CAF的异质性及其生物学功能将有助于加深我们对胰腺癌发生发展分子机理的理解, 并为疾病诊断和治疗提供新的可能性。

1 胰腺星状细胞及功能

1.1 胰腺星状细胞

成纤维细胞是生物结缔组织中的主要细胞类型, 在器官发育、稳态维持、组织修复和疾病过程中发挥重要功能^[6]。成纤维细胞最被描述为“一种独特的细胞类型, 即结缔组织的纺锤形细胞”^[7]。“成纤维细胞”这一术语最初在描述伤口愈合时产生的新结缔组织的细胞时首次被提出^[8]。

健康组织中的静止成纤维细胞的细胞质与核糖体较少, 且表现出染色质浓缩, 表明其转录活性和蛋白质合成水平较低^[6]。当组织受到损伤或刺激时, 成纤维细胞活化, 产生大量ECM成分, 并通过共价交联、蛋白质糖基化、分泌修饰酶、调控蛋白水解来积极重塑ECM结构。此外, 成纤维细胞还能通过分泌细胞因子、脂肪因子和生长因子, 与周围细胞产生交互作用, 在维持组织正常更新和损伤修复中都起到重要作用^[8]。

胰腺中的驻留型成纤维细胞通常被称为胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs)^[9,10]。在正常人胰腺中, PSCs占实质细胞的4%~7%^[11]。静止时期的PSCs存在于腺泡周围间隙, 或围绕在血管和导管周围^[11-13]。1998年, 两个团队分别成功分离了PSCs细胞, 为PSCs后续的相关研究奠定了基础。PSCs与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)有许多共同特征, 如细胞形态、静止时期胞质富含维生素A的脂滴等^[13,14]。在正常生理条件下, PSCs通过表达胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、Desmin、巢蛋白Nestin、波形蛋白Vimentin等来维持其静止状态, 也可以作为静止期PSCs的标志物。此外, 类视黄醇有时以棕榈酸视黄酯的形式存在于静止期PSCs的胞质液滴中。这些类视黄醇可用作标记物, 将它们与正常成纤维细胞区分开来^[13]。静止期PSCs的细胞功能在很大程度上仍然未知, 因其特殊的定位提示可能在维持腺泡细胞稳态、调节导管和血管功能等方面发挥重要功能^[14]。另外, 静止期PSCs可能还与类视黄醇储存、刺激淀粉酶分泌、吞噬和免疫调节功能相关^[13]。当胰腺受到损伤或炎症刺激时, 静止期的PSCs会受到一系列调控, 经历形态和功能的变化, 成为活化PSCs, 在胰腺外分泌病理(如急性、慢性胰腺炎和胰腺癌)过程中均发挥重要作用。概括来说, 各种细胞, 如腺泡细胞、炎症细胞、血小板、导管细胞、内皮细胞、癌细胞和PSCs本身均能分泌许多生长因子和

细胞因子, 以旁分泌或自分泌的方式介导PSCs的活化。活化的PSCs主要表现为脂滴丢失、收缩性、增殖和迁移能力增强、产生大量ECM成分以及分泌大量细胞因子等。

1.2 PSCs的功能

胰腺损伤是急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的触发因素, 而后的病理过程包括间质水肿、实质细胞坏死、胰蛋白酶活化、炎性细胞浸润以及PSCs的活化和增殖。AP小鼠模型研究表明, 实质坏死和炎症先于PSCs激活, 因此表明, 坏死、炎症过程是激活PSCs的先决条件^[12]。PSCs对AP的作用主要表现在以下几方面。(1)促纤维化作用: 胰腺炎症激活了PSCs, 同时, PSCs的激活也能够促进其自身增殖、迁移, 并增加ECM沉积, 在修复组织的同时也可能导致纤维化或ECM重塑。多种实验性胰腺炎动物模型也表明, 胰腺炎症伴随着PSCs的激活与纤维化的发展, 且激活的PSCs是胰腺纤维化期间胶原蛋白的主要来源。(2) ECM重塑: PSCs可以通过产生基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)及其抑制剂(the tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)来调节胰腺组织修复过程中的ECM重塑。(3)促炎作用: 活化的PSCs还能够通过分泌细胞因子或趋化因子参与到胰腺炎症的调控。相较于急性胰腺炎, PSCs在慢性胰腺炎中发挥更加重要的作用。当出现反复的胰腺损伤或组织修复机制失调时, 极易导致慢性炎症, 从而持续激活PSCs, 造成PSCs过度增殖, 分泌大量ECM, 最终导致组织纤维化。因此, PSCs在慢性胰腺炎的广泛组织纤维化中起着关键作用, 并最终导致胰腺外分泌功能丧失, 而这种慢性损伤导致活化的PSCs表型持续存在。此外, 慢性胰腺炎时, PSCs会减少MMP的产生, 这可能有助于促进和维持纤维化表型。

PSCs激活后, 可能会有两种命运, 如果炎症和损伤持续或反复, PSCs活化会持续存在, 导致胰腺纤维化的发展。相反, 如果炎症和损伤有限, PSCs可能会经历凋亡或恢复成静止状态^[14,15]。关于活化的PSCs的来源, 除了目前公认的由静止期的PSCs激活而来(而静止期的PSCs有一部分来自骨髓)外, 也有研究表明, 一部分活化的PSCs是骨髓来源的, 还有一部分活化的PSCs来自内皮细胞-

间充质细胞转变、上皮细胞-间充质细胞转变等^[14]。

一般来说, 实体肿瘤微环境中的活化成纤维细胞, 其表型、功能或位置与静止成纤维细胞不同, 被称为肿瘤相关成纤维细胞CAF。CAF的特点是起源不同, 除了组织常驻成纤维细胞, 还有脂肪细胞、周细胞、单核细胞、内皮细胞和骨髓来源或脂肪来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)也可以分化为CAF, 另外还可以通过上皮-间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)形成CAF^[16]。在胰腺导管腺癌中, PSCs是胰腺癌CAF的最重要的来源, 也是肿瘤基质中胶原蛋白的主要来源^[17]。另外, 上皮-间充质转化来源的CAF和间充质干细胞衍生的肿瘤相关成纤维细胞(mesenchymal stem cell-derived cancer-associated fibroblasts, mscCAF)也是PDAC中CAF的重要来源^[18-20]。mscCAF从骨髓中募集, 并在肿瘤微环境中局部产生粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), 诱导巨噬细胞向免疫抑制表型极化, 并减弱抗肿瘤免疫^[17,21]。近年来, 随着单细胞测序技术的发展, CAF的异质性及其不同的功能逐渐被广泛认可, 基于CAF的研究和靶向也随之发展到新的高度。

2 肿瘤相关成纤维细胞的异质性

随着研究的不断深入, 肿瘤相关成纤维细胞的异质性得到了普遍认可, 而这也可能部分归因于上述提及的CAF的复杂细胞来源。传统认为, CAF可以促进胰腺癌的发生发展, 但越来越多的研究表明CAF也具有抑制肿瘤的作用。一项基于小鼠胰腺癌模型的研究表明, 阻断Hedgehog通路消耗胰腺癌间质可以增加胰腺肿瘤内血管的密度和化疗药物吉西他滨的浓度, 稳定病程^[22], 但之后进行的多中心 I b期/随机 II 期临床试验, 吉西他滨联合SHH拮抗剂vismodegib并没有改善转移性胰腺癌患者的治疗效果, 也没有延长总体生存期和无进展生存期^[23]。和应用SHH拮抗剂不同, 随后的研究中, 利用基因编辑技术直接消融小鼠胰腺肿瘤内的 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α SMA)阳性的 α SMA⁺ CAF细胞, 但这群CAF的去

除却意外增强了肿瘤细胞的上皮-间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和干性表型,促进了肿瘤侵袭。同时,吉西他滨药效并未得到增强,小鼠生存期也无改善^[24]。CAF潜在的抑制肿瘤进展的功能进一步说明了其在肿瘤微环境中的异质性和可塑性。

CAF的分类一直以来都是一个有争议的话题,常见的用来定义胰腺癌CAF的特殊表面分子标记物包括 α SMA、成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein, FAP)和平足蛋白(podoplanin, PDPN)等,但并非所有分子都会表达在所有CAF细胞上,且表达的丰度也各有不同。更为重要的是,这些表面标志物都不是特异性的,如PDPN在淋巴内皮细胞上表达, α SMA可以由周细胞表达,FAP在骨的间充质细胞上表达,所以仅根据某种分子特征尚不足以定义CAF及不同亚群,更深入地了解肿瘤微环境中CAF的转录组特征对于进一步阐述CAF的分型及来源乃至功能是至关重要的。目前在胰腺癌中鉴定出的CAF亚型主要有以下几类。

2.1 myCAF和iCAF

胰腺癌中CAF群体的亚型一直未得到精确表征,直到2017年,首先定义了两群空间分布和功能截然不同的CAF亚群^[25]。肌成纤维细胞(myofibroblast, myCAF)表达高水平的 α SMA和低水平的炎症介质,靠近肿瘤病灶。与肿瘤细胞的相互作用可能是myCAF形成的必要条件。炎症性CAF(inflammatory fibroblast, iCAF)低表达 α SMA和高表达的炎症介质,如白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、白细胞介素-11(interleukin-11, IL-11)和白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)距离肿瘤更远,有可能是由癌细胞分泌的细胞因子诱导产生的。进一步比较二者的转录组学特征发现,myCAF高表达 α SMA和转化生长因子 β (transforming growth factors β , TGF β)下游基因,如 α 1-1型胶原蛋白(type I collagen, alpha 1, *Colla1*); iCAF中上调最显著的通路是JAK/STAT,趋化因子(C-X-C基序)配体1[chemokine(C-X-C motif) ligand 1, *Cxcl1*]和*Cxcl2*,也在iCAF中特异性上调。在CAF的体外培养中,进一步显示了亚群的可塑性和不稳定性。CAF亚群在一定的空间或生态位的情况下可以相互转化。如单层培养的iCAF

能够转变为myCAF表型,并获得myCAF标记物,同时作者报道了一小群共同表达iCAF和myCAF标记的CAF,这些都表明myCAF和iCAF并不是分化的终点。由此关于CAF的研究进入了亚型及功能探究的新阶段。得益于单细胞测序技术的发展,我们对CAF的异质性有了直观和精准的认识。通过对不同进展阶段的小鼠胰腺肿瘤模型进行单细胞测序分析,在正常胰腺和早期病变组织定义出FB1、FB2和FB3三群CAF细胞。随着疾病进展,FB2在晚期阶段消失,FB1高表达细胞因子和趋化因子基因(包括*Il6*、趋化因子*Cxcl12*)和iCAF表型一致。FB3高表达 α SMA和肌成纤维细胞相关的基因,具有myCAF的特征^[26]。

2.2 抗原递呈样CAF

2019年,定义了myCAF和iCAF的同一团队通过人和小鼠的胰腺肿瘤组织单细胞转录组测序分析,再次鉴定出新的CAF亚型,即抗原递呈样CAF(antigen-presenting cancer associated fibroblast, apCAF)^[27]。其中,apCAF不表达经典的共刺激分子,但表达主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC II)类和CD74等抗原递呈相关分子,具有显著激活CD4⁺ T细胞、促使其向调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)极化并抑制CD8⁺ T细胞增殖的能力,以上结果证实了该亚群细胞潜在的免疫调节能力。在单细胞研究的拟时序分析中提出了apCAF可以由正常间皮细胞转化而来,主要基于间皮细胞和apCAF具有类似的基因表达模式,进一步通过小鼠模型验证了apCAF间充质来源的可能,以及其促肿瘤发生的功能^[27]。该亚群处于一个不稳定的状态,来自胰腺肿瘤小鼠模型KPC(*Pdx^{cre}*; *LSL-Kras^{G12D}*; *Trp53^{R172H}*)的apCAF细胞在体外培养时丢失MHC II的表达,且上调myCAF相关的基因。相较于其它CAF亚型,高apCAF丰度与较低的效应性T细胞(effector T cell, Teff)/Treg比值相关,支持CAF比值在抗肿瘤免疫调节中的关键作用^[28-30]。

2.3 其他CAF亚型

随着单细胞测序技术和多组学分析的不断发

群, 其中已经鉴定出了多种pCAF分子标志物, 但是rCAF的特异性标记蛋白尚不明确。研究发现, Meflin是抑制肿瘤进展CAF亚群的分子标记。Meflin阳性CAF细胞的含量与胰腺癌患者的良好结局相关, Meflin过表达的CAF细胞可显著抑制异种移植瘤的生长, 而通过基因消融方式去除Meflin阳性CAF细胞则会显著抑制肿瘤的分化程度^[31]。

肿瘤进展过程中微环境的变化可能影响了组织驻留成纤维细胞的表型, 进而演进为多个CAF亚群。在一项对小鼠胰腺肿瘤、非恶性邻近组织及正常组织的间质细胞进行单细胞测序的研究中发现, 存在一群由TGF- β 驱动的高表达亮氨酸重复序列蛋白15(leucine rich repeat containing 15, LRRC15)的CAF亚群。这群细胞在正常胰腺中不存在, 在晚期肿瘤组织中占主导地位。LRRC15⁺ CAF抑制CD8⁺ T细胞的杀伤性功能, 并发现LRRC15⁺ CAF的高表达与肿瘤抗PD-L1治疗的差响应性相关^[32]。

另一项研究通过单细胞转录组测序解析了不同程度结缔组织增生胰腺癌的瘤间异质性。研究发现, 肿瘤间CAF的丰度没有差异, 但在低结缔组织增生的肿瘤内存在一群代谢活跃的CAF, 并被定义为meCAF。这群meCAF高表达磷酸酶A2家族成员2A(phospholipase A2 group 2A, PLA2G2A), 糖酵解过程活跃, meCAF和肿瘤细胞交互作用促使肿瘤细胞以氧化磷酸化为主的代谢模式。同时meCAF的含量也与微环境中免疫细胞CD8⁺ T细胞的比例相关。具有丰富meCAFs的胰腺癌患者转移风险较高, 预后较差, 但对免疫治疗的反应更好^[33]。

而另一项研究中, 利用质谱流式技术(cytometry by time of flight, cyTOF)绘制了18个小鼠组织和5个自发性肿瘤模型的基质组成图, 揭示了组织和肿瘤间广泛的间质异质性, 重点描述了胰腺导管腺癌的间充质细胞状态和谱系。根据CD105的表达区分了两种具有不同功能的CAF亚群, 即CD105^{pos}和CD105^{neg}。在体内模型中, CD105^{pos}CAF显著促进肿瘤生长, 而CD105^{neg} CAF则以依赖适应性免疫的方式限制肿瘤生长^[28]。这两群细胞都可以表达myCAF和iCAF标记物, 而apCAF标志物只表达在CD105^{neg}这一亚群中。

CD105^{neg}MHC II^{pos}CD74^{pos}的CAF亚群与多种T细胞亚群的增殖呈正相关, 而CD105^{pos}aSMA^{high}亚群则与T细胞亚型增殖负相关。进一步研究发现, 这两群细胞起源不同, 通过对肿瘤微环境内部调控信号的不同响应而分化为不同谱系。

3 CAF的主要功能及作用机制

CAF除了参与胰腺癌的发生^[34], 也与转移、耐药和免疫逃逸等密切相关^[17,35-37]。根据促进或者抑制肿瘤的发生发展可以将CAF在肿瘤中发挥的作用分为两个大方向。CAF细胞通过不同的作用途径或方式发挥促进或抑制胰腺肿瘤的功能, 主要包括: (1)分泌基质相关蛋白; (2)分泌细胞因子和趋化因子; (3)代谢产物等。

3.1 分泌基质相关蛋白及其参与信号转导

胰腺癌的一个显著组织学特征是广泛的间质纤维化, 胰腺癌细胞外基质主要由I、III和IV型胶原, 纤维连接蛋白, 透明质酸和活性物质(如酶)等组成, 维持着组织的结构和生化稳定性。在人的原发性肿瘤和转移灶中, 胶原蛋白和透明质酸的含量都很高, 并且患者的生存率和细胞外基质沉积之间存在显著的负相关性, 即原发肿瘤中胶原蛋白I和透明质酸高表达的患者, 中位生存期更低^[3,38]。

CAF作为胰腺癌组织中最主要的间质成分之一, 在间质纤维化中发挥了重要的作用。在与肿瘤细胞和基质中其他细胞相互作用的过程中, CAF合成和分泌高水平的ECM成分、可溶性因子和基质降解酶, 促进基质沉积, 增加间质压力, 挤压血管造成乏氧乏营养的状态, 从而阻止免疫细胞的浸润, 并限制了化疗药物的递送^[39-42]。在一项测量肿瘤组织间液压力(interstitial fluid pressure, IFPs)的研究中, 胰腺癌的IFPs比已知的其他肿瘤类型的IFPs都要高, 诱导血管塌陷, 对小分子治疗剂的灌注、扩散和对流形成实质性障碍。而这主要是由基质中的透明质酸决定的, 全身性应用透明质酸酶20(PEGylated recombinant human hyaluronidase 20, PEGPH20)可以消除小鼠自发胰腺癌基质中的透明质酸, 使IFPs正常化并重新扩张微血管系统。联合标准化疗药物吉西他滨, 可以显著抑制肿瘤生长, 延长小鼠生存期^[40,43]。

除了作为结构支架, CAF及其分泌的基质蛋白也可以作为信号分子主动参与细胞间的通讯交流。胶原蛋白对癌细胞的增殖、存活和转移有直接影响, 基质中胶原蛋白含量高的患者生存率更低。如IV型胶原在体内靠近癌细胞表达, 在癌细胞表面形成基底膜状结构, 与整合素受体共定位, 这有利于癌细胞的持续生长, 维持迁移表型和避免凋亡^[44,45]。CAF分泌的I型胶原也有两种存在形式, 分别为金属蛋白酶切割形式(matrix-metalloprotease-cleaved Col 1, cCol1)和未切割形式(intact Col1, iCol1)。肿瘤基质内的MMPs(matrix metalloproteinases)可以识别iCol1上的特定氨基酸序列并将其切割为cCol1形式。研究报道, CAF产生的iCol1可以下调肿瘤细胞DDR1(discoidin domain receptor tyrosine kinase 1)及其下游信号NF- κ B-p62-NRF2, 进而减少肿瘤细胞的巨噬细胞和线粒体数量, 最终抑制肿瘤进展, 延长病人生存期^[46]。

整合素是肿瘤细胞表面的一个跨膜受体家族, 它介导肿瘤细胞与ECM蛋白的相互作用^[47], 从而影响癌细胞存活、迁移和侵袭^[48]。在细胞黏附测定中, 胰腺癌细胞中b1整合素亚基的敲除, 降低了细胞对I型和IV型胶原蛋白、层粘连蛋白的黏附, 并进一步限制了癌细胞的增殖和迁移, 体内肿瘤的生长明显受限^[49]。近年来也逐渐发现了一些新的ECM蛋白如Asporin, 在胰腺癌的ECM中高表达。研究发现, CAF分泌的Asporin作用于胰腺癌细胞的CD44受体, 通过下游的NF- κ B通路促进胰腺癌细胞的侵袭和转移^[50]。

3.2 分泌细胞因子和趋化因子

除了直接分泌细胞外基质相关的蛋白质外, CAF也可以分泌细胞因子和趋化因子, 不仅影响肿瘤细胞的生物学行为, 也参与重塑其他细胞, 进而改变肿瘤细胞所处的微环境。虽然癌细胞可以产生TGF- β 激活PSC, 但是也有研究报道胰腺癌细胞和CAF共培养时癌细胞EMT及干性表型增强, 进一步发现CAF可以分泌TGF- β , 拮抗TGF- β 可逆转CAF诱导的胰腺癌的耐药和EMT^[51-53]。越来越多的研究提出, IL-6介导了CAF对胰腺癌细胞EMT和侵袭转移的促进作用。在活化PSC与胰腺癌细胞共培养的3D体系中, 胰腺癌细胞的EMT及干性表型增强。通过蛋白质组学分析共培养的条件培养

基, 鉴定出由PSC分泌的多种细胞因子(如IL-6等)介导了这一功能^[54]。维甲酸处理的CAF, 分泌的IL-6减少, 而这间接抑制了胰腺癌细胞的EMT和迁移^[55]。另一项研究发现, 在 α SMA⁺CAF中, 蛋白质合成调节途径mTOR/4E-BP1通路高度活跃, SOM230类似物Pasireotide激活生长激素抑制素Somatostatin受体从而抑制mTOR/4E-BP1通路, 导致CAF合成分泌蛋白质的能力下降(包括IL-6), 进而与吉西他滨联合处理时耐药性下降, 肿瘤生长显著被抑制^[56]。该研究提出了阻止CAF蛋白质合成和分泌联合化疗的靶向策略。肿瘤间质中IL1 β -IRAK4回路是驱动胰腺癌纤维化、化疗耐药性和不良预后的关键机制。虽然胰腺癌中IL1 β 主要来源于肿瘤细胞和肿瘤浸润性髓系细胞, 但实验证明, CAF也可以分泌IL1 β 。IL1 β 激活肿瘤细胞和CAF本身的IL1R, 进而通过IRAK4持续激活NF- κ B引起IL1 β 持续表达, 形成一个正反馈信号放大作用, 最终支持胰腺癌细胞的增殖、存活和化疗耐药性^[57]。研究表明, 胞内环状RNA(circular RNA, circRNA)也影响CAF分泌细胞因子的水平。在筛选CAF特异的circRNA时, 发现circFARP1和CAV1(caveolin 1)直接结合, 抑制其水解, 以此增强LIF的释放。同时, circFARP1还可以拮抗miR-660-3p促进LIF的表达, 最后LIF激活胰腺癌细胞STAT3磷酸化以诱导其对吉西他滨的抗性^[58,59]。

CAF可以和微环境中几乎所有免疫细胞发生相互作用从而促进肿瘤内抑制性免疫微环境的形成。例如, CAF分泌的细胞因子和趋化因子可以通过招募免疫抑制细胞如Treg和髓系细胞, 上调杀伤性T细胞上的免疫检查点分子等。在胰腺癌发生发展中, 骨髓来源的抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)和免疫抑制性的M2型肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)的逐渐积累伴随着杀伤性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和辅助性T细胞(helper T cell, Th)的动态减少。在体外研究中, CAF分泌的IL-6和M-CSF可直接促进巨噬细胞M2型极化^[60,61]。Mace等^[62]的研究表明, 胰腺癌中CAF释放的IL-6通过激活STAT3诱导外周血单核细胞分化为功能性的MDSCs, 进而抑制T细胞增殖。CAF可分泌高水平的IL-33, 募集ST2⁺单核细胞并将其

转化为M2型的TAM。TAM被IL-33激活后, 通过NF- κ B促进MMP9表达上调, 而MMP9可降解血管外基质的层黏连蛋白为肿瘤细胞转移提供有利环境^[63]。

胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)在受到炎症相关细胞因子的激活后可以由CAF释放, 并进一步调节表达TSLP受体的树突状细胞(dendritic cell, DC), 促进幼稚CD4⁺ T细胞的Th2型分化, 进一步研究发现, 胰腺肿瘤细胞释放的IL-1 α 和IL-1 β 是诱导CAF产生TSLP的关键因子。胰腺肿瘤细胞分泌的IL-1已被证明能够组成性地激活NF- κ B信号通路, 并增加与侵袭转移相关的基因的表达和化疗耐药性。通过Anakinra靶向IL-1R可显著延缓肿瘤的生长^[64]。

趋化因子是一类具有化学吸附能力的低相对分子质量蛋白质, 作用于相应的受体后, 调节微环境中免疫细胞的定位和浸润。CXCL12在阻止免疫细胞进入肿瘤中心位置的过程中发挥了重要作用。CXCL12作用于CXCR4(C-X-C motif chemokine receptor 4)后抑制了T细胞向其他趋化因子(包括CXCL10和CXCL16)的定向迁移, 因而将T细胞限制在基质的外围^[65,66]。FAP⁺ CAF分泌的CXCL12可介导胰腺癌的免疫逃逸, 利用抑制剂AMD3100拮抗CXCL12受体CXCR4后, 肿瘤细胞周围浸润T细胞显著增多, 并且可与 α PD-L1协同抑制肿瘤生长^[67]。CAF分泌的CCL2(C-C motif chemokine ligand 2)和CXCL1趋化因子也分别通过作用于CCR2(C-C motif chemokine receptor 2)和CXCR2促进了髓系细胞在肿瘤中的浸润。在小鼠胰腺肿瘤模型中, 联合阻断CCR2和CXCR2, 有效阻止了CCR2⁺巨噬细胞和CXCR2⁺中性粒细胞进入肿瘤, 从而提高了抗肿瘤免疫和对化疗药物的应答^[68]。

3.3 分泌代谢产物

肿瘤的快速生长需要旺盛的代谢作为支撑, 但胰腺癌具有血管生成不良和间质高压的特征, 不良的血液灌注不仅无法供应足够的氧气, 还可能导致包括葡萄糖和游离氨基酸在内的营养物质的不足。这种情况下, 一方面基质中的其他细胞包括CAF可以分泌多种代谢物质为肿瘤细胞的生长提供能量来源和信号分子; 另一方面肿瘤细胞也

会重塑自身获取营养物质的途径或利用营养物质的方式来维持生长。

3.3.1 糖代谢相关产物

KRAS突变见于90%以上的胰腺癌患者中, 致癌KRAS突变促进葡萄糖代谢, 为肿瘤细胞提供腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine 5'-triphosphate, ATP)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced, NADPH)和核苷前体。CAF也具有促进胰腺癌细胞糖代谢的能力, CAF-1缺陷的CAF表现出myCAF的特征, 上调糖酵解相关基因并通过分泌乳酸和丙酮酸的方式为肿瘤细胞供能。肿瘤细胞利用乳酸和丙酮酸, 主要以氧化磷酸化形式产生能量, 以满足自身增殖和分化等需求。研究发现, CAF通过高表达缺氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor 1 subunit alpha, HIF1 α), 从而促进单羧酸转运体4(monocarboxylate transporter 4, MCT4)上调, 并主动、有效地将乳酸运送到肿瘤细胞中, 以增加肿瘤细胞ATP的产生^[69]。

3.3.2 脂代谢相关产物

正常胰腺组织进展到胰腺癌的过程中, 胰腺星状细胞也随之激活, 伴随着胞内脂滴的消失, 而这部分脂质的去向还未得到阐明。CAF可以分泌脂质, 如溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholines, LPC)等。胰腺肿瘤细胞可分泌一种溶血磷脂酶, 即自分泌运动因子(autotaxin, ATX), ATX可以将来源于CAF的LPC水解成溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)。LPA反过来促进肿瘤细胞的增殖和迁移。ATX的抑制剂能逆转该过程, 可能是一种治疗胰腺癌的潜在药物^[70]。在人的原发性胰腺癌中, 另一种脂类物质前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)也可以由CAF分泌, 并且抑制T细胞的增殖。同时, CAF可促进T细胞的TIM-3(T cell immunoglobulin mucin 3)、PD-1(programmed cell death protein 1)、CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4)和LAG-3(lymphocyte activating 3)等分子的表达, 在阻断PGE2活性后, 可部分恢复CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞的增殖能力^[71]。

3.3.3 氨基酸核苷酸代谢等产物

当肿瘤细胞面对营养压力时, 如缺乏葡萄糖和脂类物质, 肿瘤细胞会转而优先利用氨基酸衍

生的碳源。CAF分泌的丙氨酸可以被胰腺肿瘤细胞吸收,在丙氨酸进入线粒体三羧酸循环,生成的柠檬酸盐又为脂质的生物合成提供原料,而这使葡萄糖能够用于额外的生物合成功能,如丝氨酸生物合成途径。以上保证了肿瘤细胞的各个生物合成过程得以顺利进行。更为有趣的是,胰腺肿瘤细胞通过释放信号,诱导CAF发生自噬并释放丙氨酸,这种“交叉喂养”的方式最终促进了肿瘤的增殖。进一步的研究发现,CAF和肿瘤细胞之间的丙氨酸串扰是通过利用特定的转运蛋白来介导的。CAF利用SLC1A4(solute carrier family 1 member 4)和其他转运蛋白快速交换和维持环境中丙氨酸浓度,同时肿瘤细胞上调SLC38A2(solute carrier family 38 member 2)以满足其增加的丙氨酸需求^[72,73]。已有研究报道,致癌KRAS突变可以促使胰腺肿瘤细胞通过巨胞饮摄取胞外蛋白。譬如,胰腺肿瘤细胞通过巨胞作用吸收CAF来源的胶原蛋白I和IV,并通过表达脯氨酸代谢酶获得游离脯氨酸进入TCA循环代谢^[73]。此外,另一项有趣的研究发现,CAF分泌的核苷酸会直接影响吉西他滨耐药^[74]。CAF条件培养基不影响吉西他滨进入胰腺肿瘤,却可以保护胰腺肿瘤细胞免受吉西他滨和其他核苷类似物药物的毒性作用。进一步分析发现,CAF分泌的脱氧胞苷在其中起了关键作用,可能与脱氧胞苷激酶等下游加工酶的竞争有关^[74]。

4 CAF的多重调控机制

在PDAC的发生发展过程中,本身处于静止期的常驻胰腺星状细胞会被一些危险因素(如乙醇及其代谢物、慢性炎症、吸烟)、环境应激(如低灌注、缺氧、氧化应激)、细胞因子(如IL-1、IL-6、TGF β)和分子信号通路(如SHH信号、NF- κ B信号)激活,然后转化为活化的成纤维细胞。活化的PSC会丢失细胞中的脂滴,并表达成纤维细胞活化蛋白,如 α SMA和FAP^[15]。CAF的异质性激活与许多因素有关,如自身基因、肿瘤细胞对其的影响,以及肿瘤微环境对CAF的多重活化作用等。

4.1 CAF自身基因对其活化的影响

2022年,Elizabeth等^[9]发现,Rho效应蛋白激酶N2(Rho effector protein kinase N2, PKN2)对PSC向myCAF分化至关重要。PKN2的缺失造成PSC增

殖减慢、收缩力下降、 α -SMA表达降低。当PSC与胰腺肿瘤类器官共培养时,PKN2的缺失可减少肿瘤细胞的侵袭,反之则促进侵袭性癌细胞生长。体外和体内实验均表明,PKN2缺失会诱导PSC从myCAF到iCAF的转换^[75]。此外,胰腺基质中PKN2的缺失会使原位胰腺肿瘤更具有侵袭性以及造成更差的预后。另外,研究者在体内模型中证明了CAF特异性地抑制MEK1/STAT3信号通路能够减少iCAF和myCAF极化,使之向间充质干细胞样细胞转变,并且这种CAF的表型变化能够显著降低抑制性免疫细胞的浸润,并增强杀伤性T细胞的功能^[75]。

4.2 肿瘤相关的细胞因子与信号通路对CAF不同亚型的分化作用

(1) IL-1。肿瘤细胞来源的IL-1 α 有助于iCAF的产生。用重组IL-1 α 处理小鼠和人源PSC会导致iCAF特征基因表达的增加,myCAF相关基因(如Acta2和Ctgf)的下调。具体来说,IL-1 α 能够诱导PSC中的LIF上调,进而激活JAK-STAT信号传导并促进通过STAT3信号的转导维持对iCAF表型的诱导。用LIF中和抗体处理阻断了JAK-STAT激活,从而降低了iCAF表型的减少。用JAK抑制剂治疗的KPC小鼠,表现出肿瘤体积的减小和癌细胞增殖的减慢,并伴有 α SMA⁺ CAF的增加^[76]。当IL-1受体(IL-1R)被IL-1配体激活时,IL-1受体相关激酶4(IL-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4)也被激活,进而激活IKK β -NF- κ B通路,促进了iCAF表型的产生和维持。通过抑制剂或基因敲除iCAF中的IL-1R-IRAK4通路可以使胰腺肿瘤对吉西他滨治疗更加敏感。综上,肿瘤细胞来源的IL-1 α 能够通过上调PSC中的LIF,激活JAK-STAT通路促进iCAF表型的产生。此外,iCAF还能够直接被肿瘤细胞产生的IL-1 β 激活NF- κ B通路,进而促进iCAF表型的产生^[21]。

(2) TGF β 。与iCAF相反,myCAF表现出SMAD2和SMAD3磷酸化的增加,这是TGF β 信号转导的特征。当用重组TGF β 1处理PSC时,可被诱导为典型的myCAF表型,同时也导致了IL-1受体(IL-1R)的负向调节和iCAF表型的减弱^[21,76]。TGF β 可由癌细胞和基质细胞分泌^[17,77],此外组织损伤导致组织完整性丧失,产生的机械应力也会促进活

性TGF β 的释放, 诱导PSC向myCAF转变^[78]。

4.2.1 LIF

除了前文提到的肿瘤细胞可产生IL-1来诱导PSC中LIF的表达并通过下游JAK/STAT信号通路来产生iCAF以外, 肿瘤细胞也可直接产生LIF。LIF作为一种促炎因子, 介导PSC的激活并促进基质重塑^[79]。

4.2.2 Shh信号通路

所有 α SMA⁺ CAF均表现出活跃的Sonic Hedgehog(Shh)信号转导。肿瘤细胞中Shh的特异性敲除导致 α SMA⁺ CAF消失, 该实验充分证明了旁分泌Shh信号与 α SMA⁺ CAF之间的相关性^[80]。胰腺肿瘤来源的Shh信号能够驱动基质纤维增生, 在KPC小鼠中通过抑制剂或肿瘤特异性敲除Shh通路, 导致肿瘤基质中的CAF细胞减少, 最终导致肿瘤分化程度降低, 血管生成增加和侵袭转移增强^[81]。而体内给予Shh激动剂则诱导CAF细胞数量增加, 肿瘤增殖受限^[21, 82]。还有研究发现, 与iCAF相比, Shh信号在myCAF细胞中被特异性激活。抑制Shh信号会减少myCAF数量并增加iCAF数量, 进而促进了细胞毒性T细胞的减少和调节性T细胞的增加, 最终增强了胰腺肿瘤的免疫抑制性微环境^[83]。

4.2.3 NF- κ B信号通路

有研究发现, 将PSC与来源于KPC小鼠肿瘤细胞的条件培养基或类器官共培养后, PSC被诱导为类似iCAF的转录表达谱, 并伴随着p65蛋白的快速磷酸化^[21]。NF- κ B信号通路的小分子抑制剂可减弱iCAF相关基因表达, 说明胰腺肿瘤中iCAF对NF- κ B信号转导的依赖性。

4.3 肿瘤细胞突变对CAF的重塑作用

在胰腺癌中, 在80%~90%的患者样本中发现了KRAS致癌突变, 其中最常见的是致癌型KRAS^{G12D}等位基因突变^[84]。由Kras^{G12D}驱动的小鼠胰腺肿瘤模型已经证明了导管上皮细胞中的致癌信号与成纤维细胞活化之间的联系, 即致癌KRAS信号的消失会导致基质成纤维细胞活化大幅度减少^[85]。带有致癌信号KRAS的导管上皮细胞能够分泌细胞因子来调控PSC活化为CAF细胞, 并增强其ECM合成能力, 反过来这些活化的CAF细胞可促进KRAS突变细胞的增殖, 并通过IGF1R/AXL-AKT

(insulin like growth factor 1 receptor/AXL receptor tyrosine kinase-AKT)轴增加其线粒体容量^[86, 87]。来自KRAS突变的肿瘤细胞分泌的PAI-1(plasminogen activator inhibitor 1)可以通过PAI-1/LRP-1(LDL receptor related protein 1)信号轴来激活PSC, 增加其 α -SMA表达和基质成分的产生^[88]。

TP53是人类癌症中最常见的抑癌基因之一, 该基因的突变与包括胰腺癌在内的多种肿瘤的不良预后相关^[89-91]。研究人员通过对比来源于TP53不同突变形式的胰腺肿瘤小鼠模型的CAF, 探究肿瘤异质性对于CAF表型的影响。研究包括p53缺失型的KP^{fl}C小鼠(*Pdx1*^{Cre}; LSL-*Kras*^{G12D/+}; LSL-*Tp53*^{fl/+})和含有p53获得性突变的KPC小鼠(*Pdx1*^{Cre}; LSL-*Kras*^{G12D/+}; LSL-*Tp53*^{R172H/+})。结果表明, 虽然来自两种小鼠胰腺肿瘤模型的肿瘤细胞都能够积极重塑CAF胶原蛋白, 但与KP^{fl}C肿瘤来源的CAF相比, 从KPC肿瘤中分离出的CAF分泌的基质收缩程度更高、胶原密度更高, 具有更强的刚性特征。此外, 从KPC肿瘤中分离出的CAF表达更高水平的收缩力相关蛋白pMLC(phospho-myosin light chain)、pMYPT1(phospho-myosin phosphatase targeting subunit 1)和ACTA2等。进一步的研究表明, 由KPC肿瘤细胞分泌的可溶性因子可以促进KP^{fl}C肿瘤来源CAF产生更高的胶原密度和基质重塑, 进一步说明, 肿瘤细胞的内在异质性对于CAF重塑能力的差异^[92]。

4.4 肿瘤微环境对CAF的调控作用

胰腺肿瘤微环境(tumour microenvironment, TME)包括CAF、免疫细胞、血管上皮细胞, 以及非细胞成分如细胞外基质和可溶性因子等。大量研究表明, 肿瘤微环境中的各组分也会参与CAF表型和功能的调控。胰腺肿瘤典型的组织病理学特征是纤维增生, 主要是由过量的成纤维细胞和大量的ECM沉积引起的。ECM包括纤维蛋白、透明质酸、纤维连接蛋白、金属蛋白酶及其抑制分子家族蛋白等^[21]。这些基质成分的产生对维持CAF的活化状态和功能至关重要。CAF产生的基质成分对自身造成的机械张力促使CAF中YAP(yes1 associated transcriptional regulator)的激活, 而YAP通路激活能够进一步促进CAF产生骨架蛋白, 形成

一个正反馈循环,进一步加强肿瘤微环境中的基质重塑^[17,93]。

此外,免疫细胞可以通过旁分泌机制诱导各种细胞因子和生长因子的产生,从而导致PSC活化^[94]。在胰腺肿瘤中,巨噬细胞通过IL-33-ST2-MYC信号轴增加CXCL3分泌,其受体CXCR2在PSC上特异性高表达,CXCL3通过激活CXCR2诱导PSC向myCAF转变,伴随 α SMA和Ⅲ型胶原蛋白产生的增加,促进了肿瘤的转移^[95]。胰腺肿瘤细胞和PSC都能够刺激肥大细胞活化,而肥大细胞来源的IL-13和类胰蛋白酶也能够反过来刺激PSC增殖^[96]。

5 靶向CAF的临床应用前景

5.1 诊断和预后判断潜能

在对CAF的分型及功能深入解析的同时,一些用于临床诊断和治疗的相关方法也应运而生。有文献报道,Ⅳ型胶原可以作为血清生物标志物,预测胰腺癌术后病人生存^[97]。此外,肿瘤基质比(tumor-stroma ratio, STR)也可用于病人的预后判断。成纤维细胞激活蛋白(FAP)在具有明显结缔组织增生的癌组织中特异性高表达,其中也包括胰腺癌。近年来,新型PET/CT FAPI(positron emission tomography imaging of FAP inhibitor)在胰腺癌诊治中的优势也日渐凸显,因此FAP抑制剂(FAPIs)标记放射性核素,如⁶⁸Ga-FAPIs,也可用于肿瘤的诊断分期和治疗^[98-100]。

5.2 靶向CAF细胞的治疗潜能

CAF在肿瘤进展中发挥着多样性作用,靶向CAF也成为癌症治疗的方向之一。过去十年已经出现了很多靶向CAF治疗的研究和临床试验,目前主要集中在以下几个方向。

靶向CAF来源的基质蛋白或其他的基质成分,改善胰腺癌纤维结缔组织增生的情况。例如,PEGPH20可以降解基质中透明质酸成分,降低肿瘤的间质液压力,增加药物递送效率。PEGPH20、吉西他滨和白蛋白-紫杉醇联合治疗的Ⅰ期临床试验显示,富含透明质酸的间质患者从该治疗中获益最大,显著延长生存期^[101,102]。但改变基质成分的治疗方式需要谨慎考虑,在PEGPH20的Ⅲ期临床试验中,患者总体生存率并

没有明显改善,而这可能是由于缺乏对基质整体情况包括免疫细胞浸润情况的评估导致的^[103]。

利用CAF的分子标志 α SMA和FAP可以直接消融胰腺癌中的大部分CAF。在小鼠模型中靶向消融FAP⁺ CAF可显著抑制肿瘤进展,针对FAP特异性抗体也正处于临床试验阶段^[67,104]。同时针对FAP特异性嵌合抗原受体T(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)细胞,可以有效诱导对FAP⁺细胞的免疫反应,同时减少胰腺癌和肺癌的进展^[81,105]。但在另一项实验中,消耗 α SMA⁺细胞导致肿瘤分化程度更低,促进肿瘤细胞转移,增强了免疫抑制调节性T细胞(Treg)的浸润,最终降低了生存率^[24]。

重塑CAF的状态可能是更为精准和有效的方法。一项基于胰腺肿瘤小鼠模型的研究发现,维生素D及其类似物可以使胰腺肿瘤中CAF恢复到静息状态,并促进吉西他滨的递送效率^[106]。相关的单药及联合化疗药物的一系列临床试验也在进行中^[107]。此外,将CAF从促肿瘤表型逆转到抑肿瘤表型也是策略之一。Am80是一种合成的非天然维甲酸酯,能有效诱导Meflin在CAF中表达。Am80的使用逆转了CAF表型,提高了胰腺肿瘤对化疗药物的敏感性,并伴随着肿瘤血管面积和瘤内药物输送的增加。基于AM80联合吉西他滨和白蛋白紫杉醇的一项开放标签Ⅰ/Ⅱ期临床试验目前也在进行中^[108,109]。

6 展望

胰腺肿瘤是基质异常丰富的肿瘤类型,因而在胰腺肿瘤领域聚焦CAF的研究尤为重要。反之,胰腺肿瘤也是CAF研究领域很好的肿瘤模型。伴随着正常胰腺组织进展为恶性肿瘤,静止的成纤维细胞(星状细胞)被活化为肿瘤相关成纤维细胞。由于来源、表型和功能的异质性,CAF在肿瘤发生发展中的作用也远比我们预想的更加复杂。近些年,得益于单细胞转录组测序技术的发展,大大推进了我们对CAF异质性的认识和理解。我们相信随着单细胞层面表观组学、蛋白组学以及代谢组学的发展,一定会进一步推进我们对CAF的认知和理解。

关于CAF异质性的形成、调控机制和功能仍

是本领域的研究难点, 其中由于来源/祖细胞不同、肿瘤不同突变造成的异质性以及响应肿瘤微环境中多重信号等都可能促进CAF异质性的最终形成。胰腺癌不同患者肿瘤间的异质性研究将有助于制定个性化治疗策略。此外, 同一患者肿瘤内CAF也存在时空的异质性, 即在病理进程的不同阶段, 以及同一病理阶段的不同空间位置也存在显著异质性。CAF时空异质性、患者瘤间异质性的存在要求研究者针对CAF的研究具有更加系统和动态的思维, 这样才能有望更加精准地靶向CAF。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33
- [2] Giovannetti E, van der Borden CL, Frampton AE, et al. Never let it go: Stopping key mechanisms underlying metastasis to fight pancreatic cancer. *Semin Cancer Biol*, 2017, 44: 43-59
- [3] Whatcott CJ, Diep CH, Jiang P, et al. Desmoplasia in primary tumors and metastatic lesions of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(15): 3561-3568
- [4] Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Ragulan C, et al. Inter- and intra-tumoural heterogeneity in cancer-associated fibroblasts of human pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Pathol*, 2019, 248(1): 51-65
- [5] Pothula SP, Xu Z, Goldstein D, et al. Key role of pancreatic stellate cells in pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 2016, 381(1): 194-200
- [6] Lendahl U, Muhl L, Betsholtz C. Identification, discrimination and heterogeneity of fibroblasts. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3409
- [7] Molenaar JC. Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2003, 147(45): 2236-2244
- [8] Plikus MV, Wang X, Sinha S, et al. Fibroblasts: origins, definitions, and functions in health and disease. *Cell*, 2021, 184(15): 3852-3872
- [9] Murray ER, Menezes S, Henry JC, et al. Disruption of pancreatic stellate cell myofibroblast phenotype promotes pancreatic tumor invasion. *Cell Rep*, 2022, 38(4): 110227
- [10] Apte MV, Haber PS, Applegate TL, et al. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut*, 1998, 43(1): 128-133
- [11] Ramakrishnan P, Loh WM, Gopinath SCB, et al. Selective phytochemicals targeting pancreatic stellate cells as new anti-fibrotic agents for chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Acta Pharmaceutica Sin B*, 2020, 10(3): 399-413
- [12] Omary MB, Lugea A, Lowe AW, et al. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *J Clin Invest*, 2007, 117(1): 50-59
- [13] Fu Y, Liu S, Zeng S, et al. The critical roles of activated stellate cells-mediated paracrine signaling, metabolism and onco-immunology in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 62
- [14] Masamune A, Watanabe T, Kikuta K, et al. Roles of pancreatic stellate cells in pancreatic inflammation and fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009, 7(11): S48-S54
- [15] Sherman MH. Stellate cells in tissue repair, inflammation, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2018, 34(1): 333-355
- [16] Sunami Y, Häußler J, Kleeff J. Cellular heterogeneity of pancreatic stellate cells, mesenchymal stem cells, and cancer-associated fibroblasts in pancreatic cancer. *Cancers*, 2020, 12(12): 3770
- [17] Sun Q, Zhang B, Hu Q, et al. The impact of cancer-associated fibroblasts on major hallmarks of pancreatic cancer. *Theranostics*, 2018, 8(18): 5072-5087
- [18] Direkze NC, Hodiwalla-Dilke K, Jeffery R, et al. Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res*, 2004, 64(23): 8492-8495
- [19] Quante M, Tu SP, Tomita H, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth. *Cancer Cell*, 2011, 19(2): 257-272
- [20] Spaeth EL, Dembinski JL, Sasser AK, et al. Mesenchymal stem cell transition to tumor-associated fibroblasts contributes to fibrovascular network expansion and tumor progression. *PLoS One*, 2009, 4(4): e4992
- [21] Hosein AN, Brekken RA, Maitra A. Pancreatic cancer stroma: an update on therapeutic targeting strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 487-505
- [22] Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 2009, 324(5933): 1457-1461
- [23] Catenacci DVT, Junttila MR, Karrison T, et al. Randomized phase Ib/II study of gemcitabine plus placebo or vismodegib, a hedgehog pathway inhibitor, in patients with metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol*, 2015, 33(36): 4284-4292
- [24] Özdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, et al. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*, 2014, 25(6): 599-611

- 719-734
- [25] Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med*, 2017, 214(3): 579-596
- [26] Hosein AN, Huang H, Wang Z, et al. Cellular heterogeneity during mouse pancreatic ductal adenocarcinoma progression at single-cell resolution. *JCI Insight*, 2019, 5(16): e129212
- [27] Elyada E, Bolisetty M, Laise P, et al. Cross-species single-cell analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma reveals antigen-presenting cancer-associated fibroblasts. *Cancer Discov*, 2019, 9(8): 1102-1123
- [28] Hutton C, Heider F, Blanco-Gomez A, et al. Single-cell analysis defines a pancreatic fibroblast lineage that supports anti-tumor immunity. *Cancer Cell*, 2021, 39(9): 1227-1244
- [29] Lee JJ, Bernard V, Semaan A, et al. Elucidation of tumor-stromal heterogeneity and the ligand-receptor interactome by single-cell transcriptomics in real-world pancreatic cancer biopsies. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(21): 5912-5921
- [30] Huang H, Wang Z, Zhang Y, et al. Mesothelial cell-derived antigen-presenting cancer-associated fibroblasts induce expansion of regulatory T cells in pancreatic cancer. *Cancer Cell*, 2022, 40(6): 656-673
- [31] Mizutani Y, Kobayashi H, Iida T, et al. Meflin-positive cancer-associated fibroblasts inhibit pancreatic carcinogenesis. *Cancer Res*, 2019, 79(20): 5367-5381
- [32] Dominguez CX, Müller S, Keerthivasan S, et al. Single-cell RNA sequencing reveals stromal evolution into LRRRC15+ myofibroblasts as a determinant of patient response to cancer immunotherapy. *Cancer Discov*, 2020, 10(2): 232-253
- [33] Wang Y, Liang Y, Xu H, et al. Single-cell analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma identifies a novel fibroblast subtype associated with poor prognosis but better immunotherapy response. *Cell Discov*, 2021, 7(1): 36
- [34] Chan TS, Shaked Y, Tsai KK. Targeting the interplay between cancer fibroblasts, mesenchymal stem cells, and cancer stem cells in desmoplastic cancers. *Front Oncol*, 2019, 9: 688
- [35] von Bernstorff W, Voss M, Freichel S, et al. Systemic and local immunosuppression in pancreatic cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(3 Suppl): 925s-932s
- [36] Erdogan B, Ao M, White LM, et al. Cancer-associated fibroblasts promote directional cancer cell migration by aligning fibronectin. *J Cell Biol*, 2017, 216(11): 3799-3816
- [37] Liu T, Zhou L, Li D, et al. Cancer-associated fibroblasts build and secure the tumor microenvironment. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 60
- [38] Mollenhauer J, Roether I, Kern HF. Distribution of extracellular matrix proteins in pancreatic ductal adenocarcinoma and its influence on tumor cell proliferation *in vitro*. *Pancreas*, 1987, 2(1): 14-24
- [39] Diop-Frimpong B, Chauhan VP, Krane S, et al. Losartan inhibits collagen I synthesis and improves the distribution and efficacy of nanotherapeutics in tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(7): 2909-2914
- [40] Provenzano PP, Cuevas C, Chang AE, et al. Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 2012, 21(3): 418-429
- [41] Nagathihalli NS, Castellanos JA, Shi C, et al. Signal transducer and activator of transcription 3, mediated remodeling of the tumor microenvironment results in enhanced tumor drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1932-1943.e9
- [42] Amrutkar M, Aasrum M, Verbeke CS, et al. Secretion of fibronectin by human pancreatic stellate cells promotes chemoresistance to gemcitabine in pancreatic cancer cells. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 596
- [43] Jacobetz MA, Chan DS, Neece A, et al. Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer. *Gut*, 2013, 62(1): 112-120
- [44] Armstrong T, Packham G, Murphy LB, et al. Type I collagen promotes the malignant phenotype of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(21): 7427-7437
- [45] Öhlund D, Franklin O, Lundberg E, et al. Type IV collagen stimulates pancreatic cancer cell proliferation, migration, and inhibits apoptosis through an autocrine loop. *BMC Cancer*, 2013, 13(1): 154
- [46] Su H, Yang F, Fu R, et al. Collagenolysis-dependent DDR1 signalling dictates pancreatic cancer outcome. *Nature*, 2022, 610(7931): 366-372
- [47] Tulla M, Pentikäinen OT, Viitasalo T, et al. Selective binding of collagen subtypes by integrin $\alpha 1I$, $\alpha 2I$, and $\alpha 10I$ domains. *J Biol Chem*, 2001, 276(51): 48206-48212
- [48] Zeltz C, Primac I, Erusappan P, et al. Cancer-associated fibroblasts in desmoplastic tumors: emerging role of integrins. *Semin Cancer Biol*, 2020, 62: 166-181
- [49] Grzesiak JJ, Cao HST, Burton DW, et al. Knockdown of the $\beta 1$ integrin subunit reduces primary tumor growth and inhibits pancreatic cancer metastasis. *Int J Cancer*, 2011, 129(12): 2905-2915

- [50] Wang L, Wu H, Wang L, et al. Asporin promotes pancreatic cancer cell invasion and migration by regulating the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) through both autocrine and paracrine mechanisms. *Cancer Lett*, 2017, 398: 24-36
- [51] Al-Assar O, Demiciorglu F, Lunardi S, et al. Contextual regulation of pancreatic cancer stem cell phenotype and radioresistance by pancreatic stellate cells. *Radioher Oncol*, 2014, 111(2): 243-251
- [52] Ligorio M, Sil S, Malagon-Lopez J, et al. Stromal microenvironment shapes the intratumoral architecture of pancreatic cancer. *Cell*, 2019, 178(1): 160-175.e27
- [53] Principe DR, DeCant B, Mascariñas E, et al. TGFβ signaling in the pancreatic tumor microenvironment promotes fibrosis and immune evasion to facilitate tumorigenesis. *Cancer Res*, 2016, 76(9): 2525-2539
- [54] Hwang HJ, Oh MS, Lee DW, et al. Multiplex quantitative analysis of stroma-mediated cancer cell invasion, matrix remodeling, and drug response in a 3D co-culture model of pancreatic tumor spheroids and stellate cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 258
- [55] Guan J, Zhang H, Wen Z, et al. Retinoic acid inhibits pancreatic cancer cell migration and EMT through the downregulation of IL-6 in cancer associated fibroblast cells. *Cancer Lett*, 2014, 345(1): 132-139
- [56] Duluc C, Moatassim-Billah S, Chalabi-Dchar M, et al. Pharmacological targeting of the protein synthesis^{mTOR}/4E-^{BP} 1 pathway in cancer-associated fibroblasts abrogates pancreatic tumour chemoresistance. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(6): 735-753
- [57] Zhang D, Li L, Jiang H, et al. Tumor-stroma IL1β-IRAK4 feedforward circuitry drives tumor fibrosis, chemoresistance, and poor prognosis in pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2018, 78(7): 1700-1712
- [58] Shi Y, Gao W, Lytle NK, et al. Targeting LIF-mediated paracrine interaction for pancreatic cancer therapy and monitoring. *Nature*, 2019, 569(7754): 131-135
- [59] Hu C, Xia R, Zhang X, et al. circFARP1 enables cancer-associated fibroblasts to promote gemcitabine resistance in pancreatic cancer via the LIF/STAT3 axis. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 24
- [60] Kuen J, Darowski D, Kluge T, et al. Pancreatic cancer cell/fibroblast co-culture induces M2 like macrophages that influence therapeutic response in a 3D model. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0182039
- [61] Zhang A, Qian Y, Ye Z, et al. Cancer-associated fibroblasts promote M2 polarization of macrophages in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Med*, 2017, 6(2): 463-470
- [62] Mace TA, Ameen Z, Collins A, et al. Pancreatic cancer-associated stellate cells promote differentiation of myeloid-derived suppressor cells in a STAT3-dependent manner. *Cancer Res*, 2013, 73(10): 3007-3018
- [63] Liu Q, Li Y, Niu Z, et al. Atorvastatin (Lipitor) attenuates the effects of aspirin on pancreatic cancerogenesis and the chemotherapeutic efficacy of gemcitabine on pancreatic cancer by promoting M2 polarized tumor associated macrophages. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 33
- [64] De Monte L, Reni M, Tassi E, et al. Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer. *J Exp Med*, 2011, 208(3): 469-478
- [65] Biasci D, Smoragiewicz M, Connell CM, et al. CXCR4 inhibition in human pancreatic and colorectal cancers induces an integrated immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(46): 28960-28970
- [66] Ene-Obong A, Clear AJ, Watt J, et al. Activated pancreatic stellate cells sequester CD8⁺ T cells to reduce their infiltration of the juxtatumoral compartment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*, 2013, 145(5): 1121-1132
- [67] Feig C, Jones JO, Kraman M, et al. Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(50): 20212-20217
- [68] Nywening TM, Belt BA, Cullinan DR, et al. Targeting both tumour-associated CXCR2⁺ neutrophils and CCR2⁺ macrophages disrupts myeloid recruitment and improves chemotherapeutic responses in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gut*, 2018, 67(6): 1112-1123
- [69] Pavlides S, Whitaker-Menezes D, Castello-Cros R, et al. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle*, 2009, 8(23): 3984-4001
- [70] Auciello FR, Bulusu V, Oon C, et al. A Stromal lysolipid-autotaxin signaling axis promotes pancreatic tumor progression. *Cancer Discov*, 2019, 9(5): 617-627
- [71] Sousa CM, Biancur DE, Wang X, et al. Pancreatic stellate cells support tumour metabolism through autophagic alanine secretion. *Nature*, 2016, 536(7617): 479-483
- [72] Parker SJ, Amendola CR, Hollinshead KER, et al. Selective alanine transporter utilization creates a targetable metabolic niche in pancreatic cancer. *Cancer Discov*, 2020, 10(7): 1018-1037
- [73] Olivares O, Mayers JR, Gouirand V, et al. Collagen-derived proline promotes pancreatic ductal adenocarci-

- noma cell survival under nutrient limited conditions. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 16031
- [74] Dalin S, Sullivan MR, Lau AN, et al. Deoxycytidine release from pancreatic stellate cells promotes gemcitabine resistance. *Cancer Res*, 2019, 79(22): 5723-5733
- [75] Datta J, Dai X, Bianchi A, et al. Combined MEK and STAT3 inhibition uncovers stromal plasticity by enriching for cancer-associated fibroblasts with mesenchymal stem cell-like features to overcome immunotherapy resistance in pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2022, 163(6): 1593-1612
- [76] Biffi G, Oni TE, Spielman B, et al. IL1-induced JAK/STAT signaling is antagonized by TGF β to shape CAF heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Discov*, 2019, 9(2): 282-301
- [77] Stylianou A, Gkretsi V, Stylianopoulos T. Transforming growth factor- β modulates pancreatic cancer associated fibroblasts cell shape, stiffness and invasion. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1862(7): 1537-1546
- [78] Caligiuri G, Tuveson DA. Activated fibroblasts in cancer: Perspectives and challenges. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 434-449
- [79] Albregues J, Bourget I, Pons C, et al. LIF mediates proinvasive activation of stromal fibroblasts in cancer. *Cell Rep*, 2014, 7(5): 1664-1678
- [80] Bailey JM, Swanson BJ, Hamada T, et al. Sonic Hedgehog promotes desmoplasia in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(19): 5995-6004
- [81] Rhim AD, Oberstein PE, Thomas DH, et al. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 2014, 25(6): 735-747
- [82] Lee JJ, Perera RM, Wang H, et al. Stromal response to Hedgehog signaling restrains pancreatic cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(30): E3091-3100
- [83] Steele NG, Biffi G, Kemp SB, et al. Inhibition of Hedgehog signaling alters fibroblast composition in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(7): 2023-2037
- [84] Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*, 2001, 25(5): 579-586
- [85] Collins MA, Bednar F, Zhang Y, et al. Oncogenic Kras is required for both the initiation and maintenance of pancreatic cancer in mice. *J Clin Invest*, 2012, 122(2): 639-653
- [86] Tape CJ, Ling S, Dimitriadi M, et al. Oncogenic KRAS regulates tumor cell signaling via stromal reciprocation. *Cell*, 2016, 165(4): 910-920
- [87] Helms E, Onate MK, Sherman MH. Fibroblast heterogeneity in the pancreatic tumor microenvironment. *Cancer Discov*, 2020, 10(5): 648-656
- [88] Wang HC, Lin YL, Hsu CC, et al. Pancreatic stellate cells activated by mutant KRAS-mediated PAI-1 upregulation foster pancreatic cancer progression via IL-8. *Theranostics*, 2019, 9(24): 7168-7183
- [89] Muller PAJ, Vousden KH. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer Cell*, 2014, 25(3): 304-317
- [90] Bailey P, Chang DK, Nones K, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*, 2016, 531(7592): 47-52
- [91] Kandath C, McLellan MD, Vandin F, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 2013, 502(7471): 333-339
- [92] Vennin C, Méléne P, Rouet R, et al. CAF hierarchy driven by pancreatic cancer cell p53-status creates a prometastatic and chemoresistant environment via perlecan. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3637
- [93] Calvo F, Ege N, Grande-Garcia A, et al. Mechanotransduction and YAP-dependent matrix remodelling is required for the generation and maintenance of cancer-associated fibroblasts. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 637-646
- [94] Farran B, Nagaraju GP. The dynamic interactions between the stroma, pancreatic stellate cells and pancreatic tumor development: novel therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2019, 48: 11-23
- [95] Sun X, He X, Zhang Y, et al. Inflammatory cell-derived CXCL3 promotes pancreatic cancer metastasis through a novel myofibroblast-hijacked cancer escape mechanism. *Gut*, 2022, 71(1): 129-147
- [96] Ma Y, Hwang RF, Logsdon CD, et al. Dynamic mast cell-stromal cell interactions promote growth of pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2013, 73(13): 3927-3937
- [97] Öhlund D, Lundin C, Ardnor B, et al. Type IV collagen is a tumour stroma-derived biomarker for pancreas cancer. *Br J Cancer*, 2009, 101(1): 91-97
- [98] Watabe T, Liu Y, Kaneda-Nakashima K, et al. Theranostics targeting fibroblast activation protein in the tumor stroma: $^{64}\text{Cu}^-$ and $^{225}\text{Ac}^-$ -labeled FAPI-04 in pancreatic cancer xenograft mouse models. *J Nucl Med*, 2020, 61(4): 563-569
- [99] Luo Y, Pan Q, Zhang W, et al. Intense FAPI uptake in inflammation may mask the tumor activity of pancreatic cancer in ^{68}Ga -FAPI PET/CT. *Clin Nucl Med*, 2020, 45(4): 310-311
- [100] Hathi DK, Jones EF. ^{68}Ga FAPI PET/CT: tracer uptake in 28 different kinds of cancer. *Radiol Imag Cancer*,

- 2019, 1(1): e194003
- [101] Hingorani SR, Harris WP, Beck JT, et al. Phase Ib study of PEGylated recombinant human hyaluronidase and gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(12): 2848-2854
- [102] Provenzano PP, Hingorani SR. Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer. *Br J Cancer*, 2013, 108(1): 1-8
- [103] Van Cutsem E, Tempero MA, Sigal D, et al. Randomized phase III trial of pegvorhyaluronidase alfa with nab-paclitaxel plus gemcitabine for patients with hyaluronan-high metastatic pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol*, 2020, 38(27): 3185-3194
- [104] Loeffler M. Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake. *J Clin Invest*, 2006, 116(7): 1955-1962
- [105] Duperret EK, Trautz A, Ammons D, et al. Alteration of the tumor stroma using a consensus DNA vaccine targeting fibroblast activation protein (FAP) synergizes with antitumor vaccine therapy in mice. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(5): 1190-1201
- [106] Sherman MH, Yu RT, Engle DD, et al. Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell*, 2014, 159(1): 80-93
- [107] Kocher HM, Basu B, Froeling FEM, et al. Phase I clinical trial repurposing all-trans retinoic acid as a stromal targeting agent for pancreatic cancer. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4841
- [108] Mizutani Y, Iida T, Ohno E, et al. Safety and efficacy of MIKE-1 in patients with advanced pancreatic cancer: a study protocol for an open-label phase I/II investigator-initiated clinical trial based on a drug repositioning approach that reprograms the tumour stroma. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 205
- [109] Iida T, Mizutani Y, Esaki N, et al. Pharmacologic conversion of cancer-associated fibroblasts from a protumor phenotype to an antitumor phenotype improves the sensitivity of pancreatic cancer to chemotherapeutics. *Oncogene*, 2022, 41(19): 2764-2777