

细胞外基质刚度在肝细胞癌中的研究进展

魏佳赞^{1,2}, 姚佳^{1,2}, 李汛^{1,2,3,4,5}

1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省生物治疗与再生医学重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 3. 兰州大学第一医院普外科, 甘肃 兰州 730000; 4. 兰州大学医学院肿瘤防治中心, 甘肃 兰州 730000; 5. 甘肃省肝胆胰外科研究所, 甘肃 兰州 730000

【摘要】肿瘤微环境在肿瘤的发生发展中起着重要的作用,其主要的组成部分是细胞外基质,这是一个复杂的大分子网络,具有独特的物理、生化和生物力学特性。越来越多的证据表明刚度作为细胞外基质的重要生物力学属性,对肝癌细胞的生物学行为产生重要影响。具体表现在高基质刚度增强肝癌细胞的化疗耐药性、增殖及侵袭转移的能力,但是低基质刚度促进肝癌细胞干性相关标志物的表达,并且增强化疗后细胞克隆启动能力。了解基质刚度是如何影响肿瘤进展有助于开发针对肿瘤微环境的治疗干预手段。

【关键词】细胞外基质; 基质刚度; 肝细胞癌; 综述

【中图分类号】R34

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2021)06-0770-03

Advances of research on extracellular matrix stiffness in hepatocellular carcinoma

WEI Jiayun^{1,2}, YAO Jia^{1,2}, LI Xun^{1,2,3,4,5}

1. the First Clinical Medical School, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Biotherapy and Regenerative Medicine of Gansu Province, Lanzhou 730000, China; 3. Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 4. Center for Cancer Prevention and Treatment, School of Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 5. Gansu Provincial Institute of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Lanzhou 730000, China

Abstract: Tumor microenvironment plays an important role in tumorigenesis and development of cancer, and its main component is extracellular matrix which is a complex macromolecular network with unique physical, biochemical and biomechanical properties. More and more evidences show that stiffness, as an important biomechanical property of extracellular matrix, has a significant effect on the biological behavior of hepatocellular carcinoma cells. Specifically, high matrix stiffness enhances the chemotherapy-resistance, proliferation, invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells, while low matrix stiffness promotes the expression of stemness-related markers and improves the ability of cell cloning initiation after chemotherapy. Understanding how matrix stiffness affects cancer progression helps to develop new therapeutic interventions for tumor microenvironments.

Keywords: extracellular matrix; matrix stiffness; hepatocellular carcinoma; review

前言

细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)是细胞微环境的重要组成部分,长期以来一直被认为是一种稳定的结构,在维持组织形态方面起着重要的支持作用,但是随着研究的不断深入,发现其具有惊人的活力和

多样性,影响着细胞的多种生物学活动^[1]。ECM由大量的蛋白质、糖蛋白、蛋白多糖和多糖组成^[2],在正常生理状况下,这些成分以有序的方式组合在一起,赋予基质独特的物理、生化和生物力学特性,这些特性对调节细胞行为至关重要。在大多数实体肿瘤的发生发展中,ECM会发生大量的蛋白沉积和交联,导致基质刚度的增加。越来越多的研究证明基质刚度对癌细胞的生长、增殖、运动、代谢和侵袭等生物学行为产生重要影响^[3-6]。

肝癌是全球第4大癌症相关的死亡原因,其中肝细胞癌(Hepatocellular Carcinoma, HCC)占原发性肝癌的75%~85%^[7]。绝大多数(80%)的HCC发生在严重肝纤维化或肝硬化的基础上,肝硬化是HCC发展的最重要的风险因素^[8]。肝纤维化-肝硬化-肝癌过程中细胞微环

【收稿日期】2021-02-03

【基金项目】国家自然科学基金(31570509, 81872578); 甘肃省科技重大专项(1602FKDA001); 城关区科技局项目(2017SHFZ0014)

【作者简介】魏佳赞, 博士在读, 研究方向: 肝胆外科, E-mail: weijy18@lzu.edu.cn

【通信作者】李汛, 博士, 教授, 研究方向: 肝胆外科及内镜外科, E-mail: lxd21@126.com

境发生典型的物理、生化和生物力学性质的变化。基质刚度在肝癌的进程中变化明显,了解基质刚度的变化是如何影响肝癌进展可能有助于开发针对肿瘤微环境的新的治疗干预手段,本文拟就现阶段研究进展进行综述。

1 基质刚度的定义

ECM的物理性质包括基质刚度、孔隙率、不可溶解性、空间排布和取向(拓扑结构)及其他特征,这些特征共同决定了其维持组织结构完整的功能特性,并直接影响细胞的生物学行为及其对细胞微环境改变的响应^[9]。刚度是ECM最重要的生物力学属性,是指ECM在受力时抵抗变形的能力,即引起其变形难易程度的表征^[10],通常用弹性模量来衡量。基质刚度在不同的组织中差异很大,如脑组织的刚度(<1 kPa)明显低于骨组织(约100 kPa)^[11]。

2 基质刚度对HCC发生发展的影响

2.1 基质刚度与HCC细胞的增殖

Zhang等^[12]发现热消融不足会加快HCC进展,与热消融术后局部肝脏硬度增加有关。进一步实验证实基质刚度增高通过调控刚度依赖性ERK磷酸化,促进残余HCC细胞增殖。Schrader等^[13]的研究结果表明基质刚度增加促进了HCC细胞增殖,加强了Integrin- β 1和磷酸化FAK的表达,并且提高了ERK和PKB/Akt的表达及STAT3的磷酸化水平,这证实了在高刚度基质上,HCC细胞cyclin-D水平的上调和ERK介导的有丝分裂信号通路的增加。刘秋萍等^[14]也验证了在高刚度基质上生长的HepG2细胞增殖能力增强,并且进一步证实这一过程依赖其糖酵解的活性。

2.2 基质刚度与HCC血管生成

血管生成不仅是生长发育的生理过程,也参与肿瘤的恶性转化、扩散和转移。血管生成使内皮细胞表面扩张,导致更多的肿瘤细胞进入循环中^[15-16],并分泌更多基质降解蛋白酶/生长因子促进转移^[17-18]。肿瘤血管生成是复杂的,受内源性血管生成刺激因子和抑制因子的平衡密切调控^[19]。血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)是血管生成的主要调节因子^[20]。Dong等^[21]研究发现高刚度的基质通过Integrin- β 1/PI3K/Akt通路上调HCC细胞中VEGF表达,揭示了基质刚度在HCC血管生成中的作用。

2.3 基质刚度与HCC细胞的侵袭、转移

骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)又称分泌磷蛋白1,参与细胞附着、迁移、侵袭、增殖、组织重塑、骨形成、炎症等一系列生理病理过程^[22]。OPN过表达与HCC肝内转移^[23]、早期复发^[24]和预后较差^[25]密切相关,被认为

是HCC一种潜在的预测预后的生物标志物。You等^[26]研究表明高刚度的基质通过Integrin- β 1/GSK3 β / β -catenin信号通路介导OPN在HCC细胞中的表达增加,从而促进HCC的发展。上皮-间质转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)常发生于肿瘤侵袭转移的起始阶段。可溶性因子、ECM成分和缺氧均可诱导肿瘤细胞从上皮状态向间质状态转化,进而驱动转移的发生^[27]。Dong等^[28]研究表明较高的基质刚度可以独立触发HCC细胞的EMT,这一病理过程可通过3条信号通路(Integrin诱导S100A11膜易位、eIF4E磷酸化、TGF β 1自分泌)作用于Snail分子,促进其高表达,最终促使HCC细胞完成EMT;这项工作强调了生物力学信号在触发EMT和促进HCC侵袭和转移中的重要作用。

肿瘤转移前生态位的形成发生在远处的靶器官/组织,是肿瘤转移后期的关键分子事件,决定了远处转移的发生。通常,转移前的生态位类似于肥沃的土壤,帮助循环的肿瘤细胞在目标器官/组织中沉降,促进肿瘤的远处转移^[29]。Wu等^[30]发现高基质刚度通过Integrin- β 1/ α 5/JNK/c-JUN信号通路上调HCC细胞分泌LOXL2的水平,LOXL2促进纤连蛋白的产生,进一步提高MMP9和CXCL12的表达以及骨髓来源细胞的聚集,从而帮助转移前生态位的形成。

2.4 基质刚度与HCC细胞的干性相关标志物表达

具有干细胞特性的肝癌细胞(Liver Cancer Stem Cells, LCSCs)占HCC细胞的一小部分。与非LCSCs相比,LCSCs具有更强的自我更新和转移潜能。此外,LCSCs对药物和放疗不敏感,在HCC的转移和复发中起关键作用^[31]。LCSCs通常具有可塑性,这意味着LCSCs和非LCSCs可以进行可逆转化。低刚度的基质增加了HCC细胞的干细胞相关标志物的表达,这说明较少的生物力学刺激有利于维持细胞的干性,甚至有利于普通HCC细胞向LCSCs的转化。当HCC细胞培养在低刚度的基质上时,细胞扩散及增殖能力较差,细胞要生存,就必须高表达干细胞相关标志物,并通过诱导细胞进入G0-G1期而抑制增殖。因此,当HCC细胞转移到一些刚度较低的部位(如骨髓)时,它们被诱导表达干性相关标志物,并且进入休眠,随着组织基质刚度的增加(可能与炎症、手术或肿瘤间质反应有关),休眠细胞被激活并分化为更多的癌细胞,促进肿瘤的发展^[13,32]。

2.5 基质刚度与HCC细胞的耐药性

HCC的预后较差(中位生存期小于12个月),这反映了其缺乏早期诊断标准及有效的治疗方法^[33-34]。化疗耐药性高是晚期肝癌治疗的主要障碍,确定这种耐药性的机制有可能为这类患者提供新的治疗方案。Schrader等^[13]提供的证据表明在高刚度的基质上培养的HCC细胞可以减少化疗诱导的细胞凋亡;然而,在低

刚度的条件下,化疗后HCC细胞克隆启动能力增加,与此同时,肿瘤干细胞标志物(CD44、CD133、c-kit、CXCR-4、OCT4和NANOG)阳性细胞数量增加^[13,32]。这为化疗后在较软基质的环境(如骨髓)中播散的肿瘤细胞的长期生存和克隆启动提供了一种潜在的机制。

3 结 论

ECM作为肿瘤微环境中最丰富的非细胞固态成分,不仅维持了肿瘤细胞/组织的三维形态结构,而且产生影响肿瘤细胞生物学功能的生化或生物力学信号。目前,基质对肿瘤细胞生物学行为的生物化学作用已被广泛报道,但其生物力学作用研究较少。基质硬化是实体瘤最显著的物理特征,其主要原因是ECM蛋白的过度沉积和交联。现阶段的肿瘤研究中,细胞培养通常是在硬的玻璃或塑料平面,但是在体内,细胞粘附在周围ECM或者相邻细胞上,这就造成体外实验结果与体内环境下的结果产生比较大的差异。所以在今后针对微环境对肿瘤发生发展的影响的实验中,应尽量模拟体内环境(如3D培养、类器官),使体外实验结果更贴近体内情况。另一方面,基质刚度能独立调控HCC细胞的生物学行为,高基质刚度增强HCC细胞的化疗耐药性、增殖及侵袭转移的能力,但是低基质刚度促进HCC细胞干性相关标志物的表达,并且增强化疗后细胞克隆启动能力。具体的调控机制仍需要更深入的研究,且逆转这种刚度的变化是否会延缓HCC的进展,甚至是成为HCC治疗新的靶点,仍然是一个重要的研究领域。

【参考文献】

- [1] HYNES R O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils[J]. Science, 2009, 326(5957): 1216-1219.
- [2] OZBEK S, BALASUBRAMANIAN P G, CHIQUET-EHRISMANN R, et al. The evolution of extracellular matrix[J]. Molecul Biol Cell, 2010, 21(24): 4300-4305.
- [3] LEVENTAL K R, YU H, KASS L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling[J]. Cell, 2009, 139(5): 906.
- [4] ULRICH T A, DE JUAN PARDO E M, KUMAR S. The mechanical rigidity of the extracellular matrix regulates the structure, motility, and proliferation of glioma cells[J]. Cancer Res, 2009, 69(10): 4167-4174.
- [5] TILGHMAN R W, BLAIS E M, COWAN C R, et al. Matrix rigidity regulates cancer cell growth by modulating cellular metabolism and protein synthesis[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37231.
- [6] MOUW J K, YUI Y, DAMIANO L, et al. Tissue mechanics modulate microRNA-dependent PTEN expression to regulate malignant progression[J]. Nat Med, 2014, 20(4): 360-367.
- [7] 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[J]. CA: Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [8] FATTOVICH G, STROFFOLINI T, ZAGNI I, et al. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors[J]. Gastroenterology, 2004, 127(5): S35-S50.
- [9] 李艺, 耿力. 基质刚度在女性生殖系统和乳腺肿瘤中的研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(12): 954-956.
LI Y, GENG L. Advances in the study of matrix stiffness in the female reproductive system and breast tumors[J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2018, 27(12): 954-956.
- [10] JENNIFER L, YOUNG ANDREW W, HOLLE JOACHIM P, et al. Nanoscale and mechanical properties of the physiological cell-ECM microenvironment[J]. Experiment Cell Res, 2016, 343(1): 3-6.
- [11] FUNG Y C, SKALAK R. Biomechanics: mechanical properties of living tissues[M]. New York: Springer-Verlag, 1981.
- [12] ZHANG R, MA M, DONG G, et al. Increased matrix stiffness promotes tumor progression of residual hepatocellular carcinoma after insufficient heat treatment[J]. Cancer Sci, 2017, 108(9): 1778-1786.
- [13] SCHRADER J, TIMOTHY T, GORDON W, et al. Matrix stiffness modulates proliferation, chemotherapeutic response, and dormancy in hepatocellular carcinoma cells[J]. Hepatology, 2011, 53(4): 1192-1205.
- [14] 刘秋萍, 田博仁, 宋关斌. 基质刚度对肝癌细胞增殖及糖代谢的影响[J]. 医用生物力学, 2019, 34(2): 133-138.
LIU Q P, TIAN B R, SONG G B. Effects of matrix stiffness on proliferation and glucose metabolism of hepatocellular carcinoma cells[J]. Journal of Medical Biomechanics, 2019, 34(2): 133-138.
- [15] AZNAVOORIAN S, MURPHY A N, STETLER-STEVENSON W G, et al. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis[J]. Cancer, 1993, 71(4): 1368-1383.
- [16] RIBATTI D, VACCA A, NICO B, et al. Angiogenesis and anti-angiogenesis in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Treat Rev, 2006, 32(6): 437-444.
- [17] MIGNATTI P, RIFKIN D B. Biology and biochemistry of proteinases in tumor invasion[J]. Physiol Rev, 1993, 73(1): 161-195.
- [18] WANG Y, DONG Y, CUI J, et al. Vascular endothelial cells facilitated HCC invasion and metastasis through the AKT and NF- κ B pathways induced by paracrine cytokines[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2013, 26(2): 32-51.
- [19] HANAHAN D, FOLKMAN J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell, 1996, 86(3): 353-364.
- [20] FOLKMAN J. Proceedings: tumor angiogenesis factor[J]. Cancer Res, 1974, 34(8): 2109-2113.
- [21] DONG Y, XIE X, CUI J, et al. Increasing matrix stiffness upregulates vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma cells mediated by integrin β 1[J]. Biochem Bioph Res Commun, 2014, 444(3): 427-432.
- [22] EL-TANANI M K. Role of osteopontin in cellular signaling and metastatic phenotype[J]. Front Biosci, 2008, 13: 4276-4284.
- [23] WEBER G F, LETT G S, HAUBEIN N C. Osteopontin is a marker for cancer aggressiveness and patient survival[J]. Brit J Cancer, 2010, 103(6): 861-869.
- [24] QIN L X, TANG Z Y, LI Y, et al. Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning[J]. Nat Med, 2003, 9(4): 416-423.
- [25] YE Q H, SUN H C, ZHANG H, et al. The prognostic significance of preoperative plasma levels of osteopontin in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2006, 132(11): 709-717.
- [26] YOU Y, ZHENG Q, REN Z, et al. Higher matrix stiffness upregulates osteopontin expression in hepatocellular carcinoma cells mediated by integrin β 1/GSK3 β - β -catenin signaling pathway[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0134243.
- [27] O'CONNOR J W, GOMEZ E W. Biomechanics of TGF β -induced epithelial-mesenchymal transition: implications for fibrosis and cancer[J]. Clin Transl Med, 2014, 3(1): 23.
- [28] DONG Y, ZHENG Q, CUI J, et al. Higher matrix stiffness as an independent initiator triggers epithelial-mesenchymal transition and facilitates HCC metastasis[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 795.
- [29] LIU Y, CAO X. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche[J]. Cancer Cell, 2016, 30(5): 668-681.
- [30] WU S, ZHENG Q, CUI J, et al. Matrix stiffness-upregulated LOXL2 Promotes fibronectin production, MMP9 and CXCL12 expression and BMDCs recruitment to assist pre-metastatic niche formation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 761.
- [31] SUN J, LUO Q, SONG G, et al. Liver cancer stem cell markers: Progression and therapeutic implications[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(13): 3547-3557.
- [32] TIAN B, LUO Q, SONG G, et al. A soft matrix enhances the cancer stem cell phenotype of HCC cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 2831.
- [33] NOWAK A K, CHOW P K, FINDLAY M. Systemic therapy for advanced hepatocellular carcinoma: a review[J]. Eur J Cancer, 2004, 40(10): 1484.
- [34] FONG Z V, TANABE K K. The clinical management of hepatocellular carcinoma in the United States, Europe, and Asia: a comprehensive and evidence-based comparison and review[J]. Cancer, 2014, 120(18): 2824-2838.

(编辑:谭斯允)