

中国科学家揭示： 癌症转移 如何“生根发芽”

肿瘤切除几年后,其他器官却又出现了新的病灶。让医生困惑的是,即便患同一癌种、临床分期相近的患者,术后走向也可能截然不同。有人5年没有复发,有人却出现广泛转移;有些肿瘤体积较小,患者预后却不好,有些体积较大的肿瘤完整切除后反而长期不复发。

这表明,决定肿瘤转移风险的不只是原发肿瘤的大小和临床分期。而这个问题也不应简单地用“个体差异”来解释。

如今,复旦大学附属中山医院(以下简称中山医院)樊嘉院士、周俭院士和副主任医师孙云帆团队与合作者,在一定程度上解答了这个问题。联合团队构建了覆盖9个连续时间点的小鼠肝癌肺转移时空图谱,追踪了肿瘤细胞从播散、休眠、复苏增殖到宏转移的过程,并系统阐明了肿瘤细胞与肺部微环境在时空维度上的协同演化规律。

7月30日,相关研究成果发表于《科学》。审稿人评价称:“这是一项令人印象深刻的工作,其中有许多非常有趣的发现。”“这是一项技术上的杰出成就,同时结合了在多种肝细胞癌小鼠模型中的机制性研究。”

种子和土壤

肿瘤转移是临床上长期悬而未决的难题。以肝细胞癌(以下简称肝癌)为例,约25%至56%的患者发生肝外转移,其中肺是最常累及的远处靶器官。

为解释这个现象,早在1889年,英国外科医生斯蒂芬·佩吉特就提出了肿瘤转移的“种子和土壤”学说。癌细胞如同“种子”,远端组织的组织环境如同“土壤”,只有二者相互适配,转移灶才可能形成。

这里“种子”被称为播散肿瘤细胞(DTC)。在肝癌患者体内,DTC进入肺循环后,很快被固有免疫系统识别并清除,但仍有极少数休眠细胞侥幸存活,逐步形成微转移灶,并最终演变为致命性宏转移。

但人们无法解释该过程发生的机制。DTC如何躲过早期免疫清除?“种子”又是如何在“土壤”中生根发芽的?

这项研究发现,DTC“生根发芽”的过程是一个肿瘤细胞与微环境持续博弈的过程。团队将该过程划分为四大时序阶段,分别为肿瘤细胞抵达肺部的早期播种阶段、先天免疫细胞集中攻击的固有免疫清除期、少数幸存细胞进入静息状态的休眠检查点,以及肿瘤细胞恢复增殖并形成宏转移灶的转移扩增期。

具体而言,肿瘤细胞刚进入肺部,迎接它们的并不是一片现成的“沃土”。中性粒细胞迅速聚集,NK细胞、单核细胞和树突状细胞等接踵而至,绝大多数DTC在最初12小时内被各类先天免疫细胞消灭。

然而,仍有约0.5%的DTC活了下来。“就像人们进入森林里,穿上与周围环境相近的迷彩服隐藏自己。”樊嘉解释,在肺部微环境的影响下,这些癌细胞会短暂进入“休眠”状态,不再释放“我是肿瘤细胞”的信号。

该阶段起关键作用的是磷酸甘油酸脱氢酶(PHGDH)。DTC周围短暂富集的肺泡Ⅱ型上皮细胞会诱导其阶段性高表达PHGDH,进而使得病灶周围的免疫细胞大幅减少。

研究团队推测,作为丝氨酸合成通路限速酶,PHGDH可能通过促进S-腺苷甲硫氨酸介导的甲基化,限制DTC表达能够招募免疫细胞的趋化因子。由此,免疫细胞难以在其周围聚集,DTC得以躲过“追杀”,形成局部免疫“荒漠”生态位。

这些把自己藏起来的DTC则伺机而动。随着周围免疫细胞组成逐渐改变,DTC等到了再次苏醒的机会。此时,DTC开始分泌分趋化因子CX3CL1,进而招募高表达其受体CX3CR1的间质巨噬细胞。

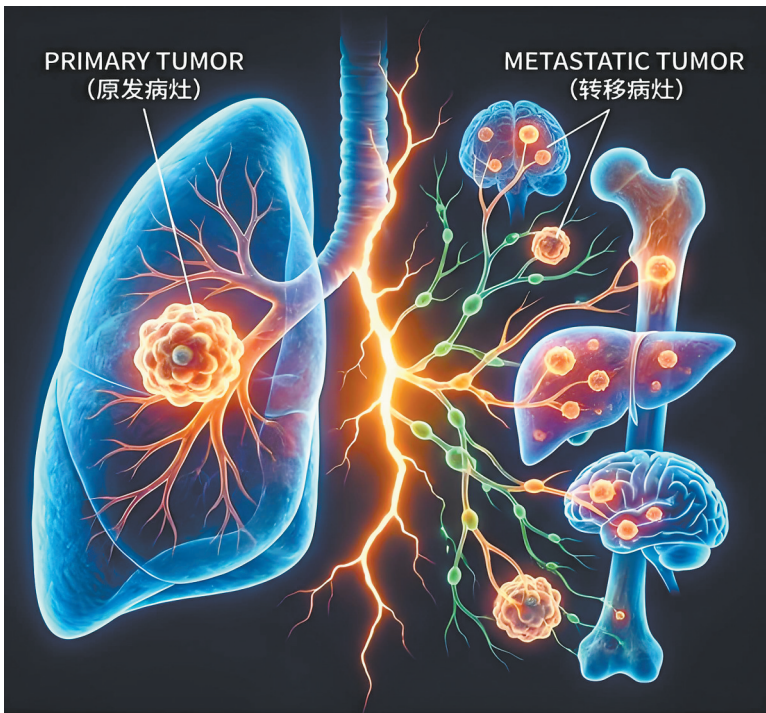
樊嘉将这类巨噬细胞形容为施工队。它们一方面招募免疫抑制性的调节性T细胞、中性粒细胞和肺泡巨噬细胞,进一步为转移灶生长提供有利“土壤”;另一方面“唤醒”休眠的DTC,使肿瘤细胞重新开始增殖。

至此,团队系统描述了“种子”和“土壤”互相影响的肿瘤转移定植流程。肿瘤细胞会“自我改造”以适应局部环境,也会反过来利用正常组织细胞和免疫细胞塑造有利于自身存活和生长的生态系统。

技术和视野

这项工作打破了“肿瘤主动进攻、微环境被动应答”的传统框架,将转移定植重新定义为一场多细胞参与、时序精确的生态演化事件。团队能够“情景再现”肿瘤细胞转移定植的全过程,离不开技术的发展。

周俭指出:“肿瘤复发转移的‘种子’可能在手术前后已存在于患者体内。由于数量极少、体积很小,甚至处于静息状态,常规影像



学无法发现这些DTC,导致临床上难以及时干预。”

此外,肿瘤细胞周围存在各种不同细胞和物质,有些可能帮助它生长,有些则会攻击或限制它。换言之,仅关注肿瘤细胞自身状态,无法全面解释肿瘤转移的原因。

而团队要做的就是接近单细胞的尺度上,观察肿瘤细胞及其周围“邻居”的位置和分子状态,“拍摄”下肿瘤细胞和微环境“对话”的完整流程。

2019年,中山医院开始整合院内多个科室力量,并与华大生命科学研究院研究员吴靓、徐讯团队,上海顿慧医疗首席技术官彭海翔团队,上海科技大学教授仓勇团队合作,向这一癌症转移领域的“黑箱”问题进发。

工欲善其事,必先利其器。团队整合了高精度空间转录组技术Stereo-seq、单细胞RNA测序、单核染色质可及性测序以及多重免疫荧光等技术,从不同维度描绘肿瘤细胞及其周围环境。

孙云帆打比方说:“在肿瘤研究中,传统测序方法像把不同水果打成一杯混合果汁,只能看到平均信号;单细胞测序像把水果一一分开,能够识别不同细胞类型;空间转录组技术进一步保留了水果在盘子中的位置,能够说明哪些细胞彼此相邻、在什么位置发生交流。”

有了这套“组合拳”,团队不仅能够捕获原本诊断方法无法发现的微转移阶段肿瘤细胞,还首次将连续时间序列与空间微环境邻域作为独立的核心变量,纳入系统性分析框架。

由此,团队能够用更全面的视野观察并记录肿瘤转移的全流程。团队构建了免疫功能完整的肝癌小鼠模型,并选取了9个时间点,其中7个处于肉眼可见的宏转移灶形成之前。时间跨度从经尾静脉注射肿瘤细胞后15分钟到第35天,全面覆盖了最初播种到晚期扩增的转移进程。“如同拍电影一样,我们能够在连续时间点上观察单个肿瘤细胞和周围生态系统的变化。”孙云帆说。

在樊嘉看来,研究使用的技术

和策略代表了肿瘤研究范式的转变。传统癌症研究主要基于“还原论”思维展开,往往从已经形成的转移灶中寻找某个差异基因或某条信号通路。这项工作提示,未来研究者可以考虑共同纳入时间、空间、细胞状态和细胞互作的动态框架。

时机和靶点

对于这个由临床医生主导的团队而言,发表论文、解决基础科学问题固然值得欣喜,但最终落脚点仍是临床。“由于对转移定植动态规律认识不足,目前临床上还没有被充分证实能够普遍预防肝癌转移复发的方案,迄今开展的相关多中心临床研究也没有成功转化落地的案例。”樊嘉表示,“我们的发现提示,临床干预的时机和靶点同样重要。”

根据小鼠模型的结果,团队推测,抗转移治疗存在两个潜在的“适应性窗口期”——在微转移阶段靶向DTC表观遗传调控以逆转“荒漠”生态位,或者在微转移向宏转移过渡期清除巨噬细胞,均能显著抑制转移的发生,而在其他阶段干预则效果甚微。

“这为肝癌术后转移复发的预警与预防提供了全新的理论框架和干预靶点。”周俭表示,“过去往往等转移灶出现后再用手术、化疗等方法治疗。未来或许能够从血液等样本中找到与肿瘤细胞状态和微环境变化相关的预警信号,从而在影像学发现转移灶之前识别高风险患者,并进行精准干预。”

“我们在人类肝癌、乳腺癌、肺癌、结直肠癌等多个癌症的转移标本中进行了验证,表明这项工作揭示的部分规律对理解其他癌种的转移定植也有启发。”樊嘉说。

团队强调,这项研究目前仍处于动物实验阶段,距离临床应用还有很长的路要走。“我们相信,随着研究不断深入,以及学界对肿瘤转移复发机制的持续探索,未来有望总结出可用于理解人类肿瘤转移复发规律的机制,并为临床防控提供指导。”樊嘉表示。

江庆龄