

## 领域前沿 · 中国



柳素玲, 复旦大学生物医学研究院和肿瘤医院双聘、二级教授, 博士研究生导师。中组部海外高层次人才引进计划青年项目获得者, 国家“优秀青年”科学基金获得者, 科技部中青年科技创新领军人才获得者, 国家万人计划获得者。获中国科学技术大学生物系学士学位, 美国俄亥俄州立大学博士学位; 博士毕业后加入美国密歇根大学癌症研究中心从事博士后研究工作, 随后被聘为研究助理教授。2005至2008年获美国苏珊-库门癌症基金会博士后奖, 2006年获美国癌症协会默克学者奖, 2010年获美国癌症协会苏珊-库门学者奖, 2014年获USCACA-NFCR学术奖, 2018年获得中国肿瘤青年科学家奖, 2019年获上海市医学领军人才称号, 2020年入选复旦大学“卓越2025”卓识人才计划, 2020年获上海市科技创新行动计划优秀学术带头人称号, 2020年获药明康德生命化学研究奖, 2020年获上海市领军人才称号。作为通讯或共同通讯作者在*Nature Cell Biology*、*Advanced Science*、*Nature Communications*、*Science Advances*、*Cancer Research*、*Clinical Cancer Research*、*Molecular Cancer*等国际杂志上共发表论文29篇。共发表SCI论文81篇, 论文总他引超过18 000次。共获得国际专利5项、申请中国专利5项(2项已获批)。课题组长期从事乳腺癌干细胞异质性调控分子机制和精准靶向研究。近期在*Cancer Research*发表的研究揭示了ALDH1A1依赖其酶活性对乳腺癌免疫微环境的重塑和促癌作用及其具体分子机制, 帮助我们更好地阐明了干细胞标志物ALDH1A1对乳腺癌发生发展的影响, 为恶性乳腺癌的临床治疗提供了新的思路。

## 肿瘤干细胞标志物ALDH1A1通过重塑免疫微环境 促进乳腺癌进展

刘翠翠 张立行 柳素玲\*

(复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所&生物医学研究院, 上海医学院, 上海市乳腺肿瘤重点实验室, 上海 200032)

**摘要** 醛脱氢酶1A1(ALDH1A1)是包括乳腺癌在内的多种癌症中肿瘤干细胞的功能性标志物, 在肿瘤发生发展过程中扮演了重要角色。但是, ALDH1A1对肿瘤免疫微环境的影响及其调控机制尚不明确。该研究发现, ALDH1A1依赖于其酶活性促进乳腺肿瘤干细胞的自我更新以及肿瘤生长, 同时肿瘤细胞中具有酶活性的ALDH1A1还可以促进肿瘤微环境中骨髓来源的免疫抑制细胞(MDSCs)的富集并抑制抗肿瘤免疫细胞活性。机制上, 该团队发现具有酶活性的ALDH1A1可以通过降低肿瘤细胞内的pH值来激活TAK1-NF $\kappa$ B信号通路, 激活的TAK1-NF $\kappa$ B信号通路通过上调粒细胞巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)的分泌增加MDSCs在乳腺癌免疫微环境中的富集比例以及增强对杀伤性T细胞增殖和活化的抑制作用, 从而促进肿瘤的生长。针对这一调控机制, 该团队设计了具有MDSCs清除作用的化疗药物吉西他滨和ALDH1A1酶活性抑制剂双硫仑的联合治疗

\*通讯作者。Tel/Fax: 021-34774409, E-mail: suling@fudan.edu.cn

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-21-34774409, E-mail: suling@fudan.edu.cn

思路。免疫健全小鼠体内实验结果显示,二者联合可以更好地抑制乳腺癌的生长。这些研究结果进一步阐明了肿瘤干细胞标志物ALDH1A1对乳腺癌发生发展的影响及其发挥作用的具体分子机制,并揭示了ALDH<sup>+</sup>乳腺肿瘤干细胞对MDSCs富集的调控作用,为乳腺癌的临床治疗提供了新的思路。

**关键词** 乳腺癌; 肿瘤干细胞; ALDH1A1; 骨髓来源的免疫抑制细胞; 细胞内pH; TAK1; NFκB; GM-CSF

## ALDH1A1 Activity in Cancer Stem Cells Remodels Immune-Microenvironment to Promote Breast Cancer Progression

LIU Cuicui, ZHANG Lixing, LIU Suling\*

(Fudan University Shanghai Cancer Center & Institutes of Biomedical Sciences, Key Laboratory of Breast Cancer in Shanghai, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract** CSCs (cancer stem cells) are associated with tumor initiation, growth, metastasis and recurrence. ALDH1A1 (Aldehyde dehydrogenase 1A1) is a CSC marker in many cancers, including breast cancer, however the molecular mechanisms of ALDH1A1 functioning in solid tumors remain largely unknown. Here, the studies by LIU and colleagues demonstrate that ALDH1A1, solely relying on its enzymatic activity, decrease the intracellular pH of breast cancer cells to promote the phosphorylation of TAK1 and activate NFκB signaling pathway and then increase the secretion of GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor), which lead to MDSCs (myeloid derived suppressor cells) expansion and anti-tumor immunity suppression to facilitate breast tumor growth. Furthermore, the combination of ALDH1A1 inhibitor DSF (disulfiram) and chemotherapeutic agent GEM (gemcitabine) could cooperatively inhibit breast tumor growth and tumorigenesis by purging ALDH<sup>+</sup> breast CSCs and activating T cell immunity. These findings elucidate the mechanisms of how active ALDH1A1 modulates tumor immunity to promote tumor development, which will shed light on new therapeutic strategies for malignant breast tumor.

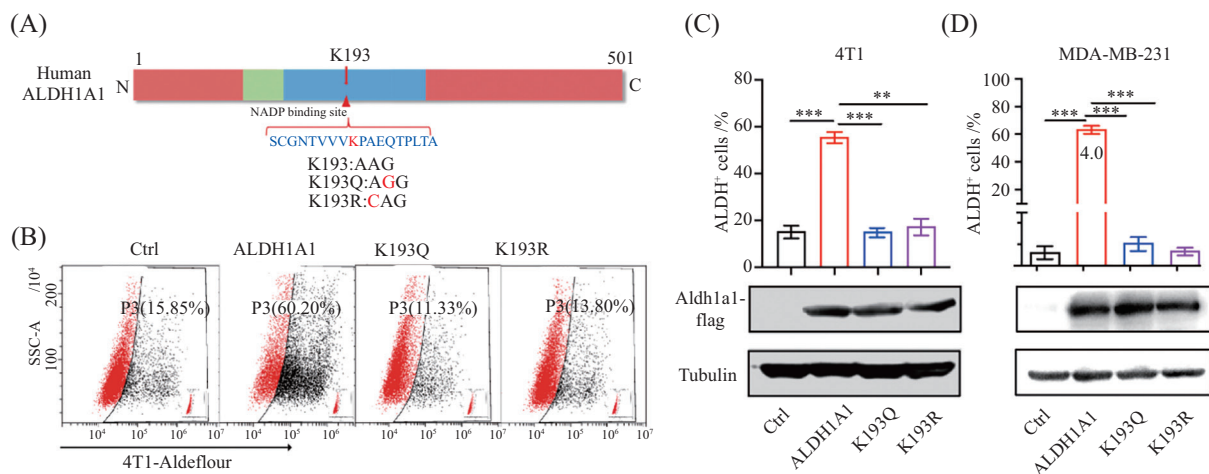
**Keywords** breast tumor; cancer stem cell; ALDH1A1; myeloid-derived suppressor cell; intracellular pH; TAK1; NFκB; GM-CSF

### 1 乳腺肿瘤干细胞与ALDH1A1的研究背景

肿瘤治疗后的复发和转移仍然是目前为止恶性肿瘤患者需要面对的严峻问题,给肿瘤的临床治疗带来了极大的困难和挑战。常规的治疗手段如手术切除和放疗等,都不可完全消灭肿瘤细胞。研究表明,在肿瘤组织内存在一小部分致瘤能力特别强、分化程度极低的细胞,它们具有干细胞的自我更新及多向分化特性,称为“肿瘤干细胞”<sup>[1]</sup>。我们和国内外众多研究小组的研究均表明,乳腺癌组织中也存在这么一小群具有肿瘤生成能力、可以自我更新、分化程度较低的肿瘤干细胞,即乳腺肿瘤干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs),它们是乳腺癌治

疗耐受、复发和转移的关键因素<sup>[2]</sup>。

醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)是一组依赖烟酰胺腺嘌呤核苷酸磷酸(NADP)作为辅酶的催化酶,其生理功能是将内源性和外源性醛类物质氧化为相应的羧酸类物质。现在,研究者们也通过检测肿瘤细胞内ALDH酶的活性来标志BCSCs<sup>[3]</sup>。人体总共有19种不同的ALDH同工酶,但是乳腺癌中只有少数几种ALDH同工酶具有生物化学功能,其中ALDH1A1是BCSCs中ALDH酶活性的主要承担者<sup>[4-5]</sup>;过去的研究已经发现ALDH1A1在乳腺癌的发生、转移和耐药方面均发挥十分重要的促进作用<sup>[6]</sup>。同时,高表达ALDH1A1的三阴性乳腺癌



A: K193是ALDH1A1的重要酶活性位点, 可与NADP<sup>+</sup>形成化学键(氢键), 通过碱基突变将193位点的赖氨酸残基K突变为谷氨酰胺或精氨酸(Q/R), 从而只丢失ALDH1A1酶活性而不影响其蛋白表达水平; B~D: 建立过表达Aldh1a1/ALDH1A1突变体(K193Q/R) 4T1和MDA-MB-231稳定细胞系, 通过Western blot验证ALDH1A1及其突变体的过表达效果, 通过ALDEFLUOR实验和流式分析检测各组肿瘤细胞ALDH酶活性。所有结果统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用One-Way ANOVA检验, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: K193 is a vital enzyme activity site for ALDH1A1 which could form chemical bond (hydrogen bond) with NADP<sup>+</sup>. Then, K was mutated to Q/R at 193 residue to lose ALDH1A1 enzyme activity but not protein expression. B-D: 4T1 and MDA-MB-231 stable cell lines were established with the overexpression of Aldh1a1/ALDH1A1 wild-type or mutants (K193Q/R). The ALDH enzyme activity was determined by ALDEFLUOR assay and FACS. Data were presented as  $\bar{x} \pm s$ , One-Way ANOVA test was utilized, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

图1 ALDH1A1酶活缺失突变体构建策略(根据参考文献[10]修改)

Fig.1 The strategy to construct ALDH1A1 mutations in K193Q/R (modified from reference [10])

组织中PD-L1阳性细胞也更多<sup>[7]</sup>, 而抗原递呈相关蛋白(TAP1和TAP2)和共刺激分子CD80在ALDH<sup>+</sup>乳腺癌细胞中则呈现低表达<sup>[8]</sup>, 这种表达模式也使得ALDH<sup>+</sup>乳腺癌细胞更容易逃逸机体的免疫杀伤<sup>[9]</sup>。因此, ALDH1A1分子不仅是BCSCs的标志物, 同时也是乳腺癌发生发展和不良预后的预测分子。虽然关于ALDH1A1在乳腺癌细胞中的生物学功能已经有很多报道, 然而ALDH1A1促进乳腺癌发生进展是否与其酶活性有关以及ALDH1A1调控乳腺癌免疫抑制微环境的具体作用机制尚不明确, 解决以上问题将为我们未来靶向抑制肿瘤干细胞及其免疫抑制微环境带来新的希望。

## 2 ALDH1A1酶活性乳腺癌细胞和小鼠模型的设计和构建

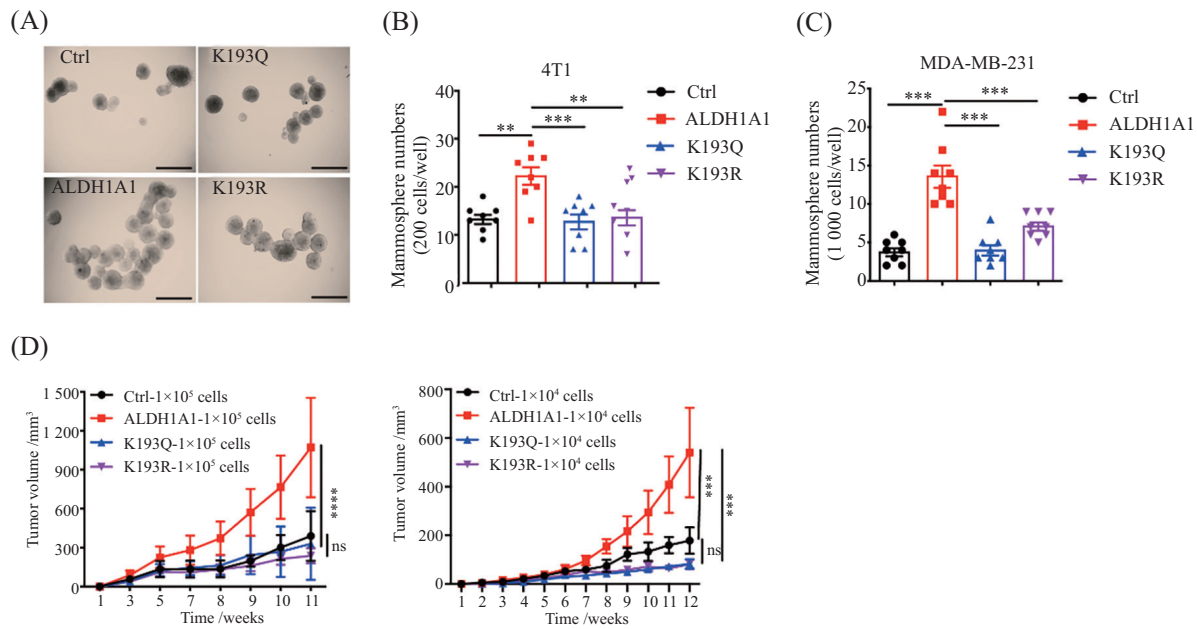
我们在之前的研究中已经发现, 从过表达了ALDH1A1的乳腺癌细胞系中分离出的ALDH<sup>+</sup>肿瘤细胞群虽然具有较强的致瘤能力, 但是相对于ALDH<sup>-</sup>肿瘤细胞群, 两群细胞中的ALDH1A1 mRNA和蛋白表达水平均无明显差异, 提示ALDH1A1促进ALDH<sup>+</sup>BCSCs富集及肿瘤发生的作用可能不仅依赖于其表达水平, 而且与其ALDH酶活性密切相关。为了

验证上述猜想, 我们构建了过表达ALDH1A1野生型和K193Q/R突变体的慢病毒载体, 其中K193位点是ALDH1A1与其发挥酶活性必需的辅酶NADP结合的关键位点之一。实验结果显示, 相较于对照组, ALDH酶活性在ALDH1A1野生型组明显上升, 而在K193Q/R突变体组无明显变化; 同时, 过表达ALDH1A1野生型和K193Q/R突变体组的肿瘤细胞中ALDH1A1蛋白表达水平并没有显著差异。因此, 我们得到了仅改变ALDH1A1的酶活性而不影响其蛋白表达的细胞模型(图1)。

## 3 ALDH1A1依赖其酶活性促进肿瘤干细胞自我更新和乳腺癌的生长

我们利用构建的ALDH1A1野生型和K193Q/R突变体模型探究了ALDH1A1酶活性对BCSCs干性的调控作用。肿瘤微球形成实验结果显示, 相较于对照组, ALDH1A1野生型组肿瘤细胞的自我更新能力明显增强, 而在K193Q/R突变体组未看到类似现象; 同时, 有限梯度稀释成瘤实验结果显示, ALDH1A1依赖其酶活性促进了原位移植瘤起始能力和肿瘤生长(图2和表1)。这些实验结果均提示了ALDH1A1对BCSCs干性的维持作用依赖ALDH1A1酶活性。





A~C: 乳腺癌细胞微球形成实验检测过表达ALDH1A1/Aldh1a1及突变体K193Q/R对4T1( $2 \times 10^2$ 细胞/孔)和MDA-MB-231( $1 \times 10^3$ 细胞/孔)细胞自我更新能力的影响, A图为4T1细胞微球形成的代表性图片, B、C图分别为肿瘤细胞微球形成数目的统计分析柱状图; D: 使用不同数量( $1 \times 10^4$ 或 $1 \times 10^5$ 细胞/位点)的过表达ALDH1A1及突变体K193Q/R MDA-MB-231细胞进行乳腺异种原位移植瘤实验( $n=6-8$ /组), 4周后测定肿瘤发生数目, 每周检测肿瘤生长并计算肿瘤体积。所有结果统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用One/Two-Way ANOVA检验, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ 。A~C: mammosphere formation assay was conducted with control, Aldh1a1/ALDH1A1 and K193Q/R mutant 4T1 cells ( $2 \times 10^2$  cells/well) or MDA-MB-231 ( $1 \times 10^3$  cells/well) in mammosphere medium. Representative images randomly selected from 4T1 cells were shown (A), and bar graph showed the sphere numbers (B, C). D: the xenografted tumor assay was performed using serial dilutions ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^4$  cells/fat pad) with ALDH1A1 or K193Q/R mutant MDA-MB-231 cells ( $n=6-8$ /group). Tumorigenesis was determined after 4 weeks. Tumor growth was monitored, and tumor volume were measured. Data were presented as  $\bar{x} \pm s$ , One/Two-Way ANOVA test was utilized, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ .

图2 ALDH1A1依赖其酶活性促进ALDH<sup>+</sup>BCSCs的自我更新和肿瘤形成(根据参考文献[10]修改)  
Fig.2 ALDH1A1 increased ALDH<sup>+</sup> BCSCs self-renewal and promoted breast tumor growth relying on its enzyme activity (modified from reference [10])

表1 使用有限梯度稀释方法分析计算每组移植瘤中BCSCs的频率

分组	估值	置信区间
Group	Estimate	Confidence intervals
Ctrl	1/61 471	1/133 572-1/28 290
ALDH1A1	1/5 582	1/15 150-1/2 057
K193Q	1/30 065	1/78 630-1/11 496
K193R	1/44 788	1/10 9684-1/18 288

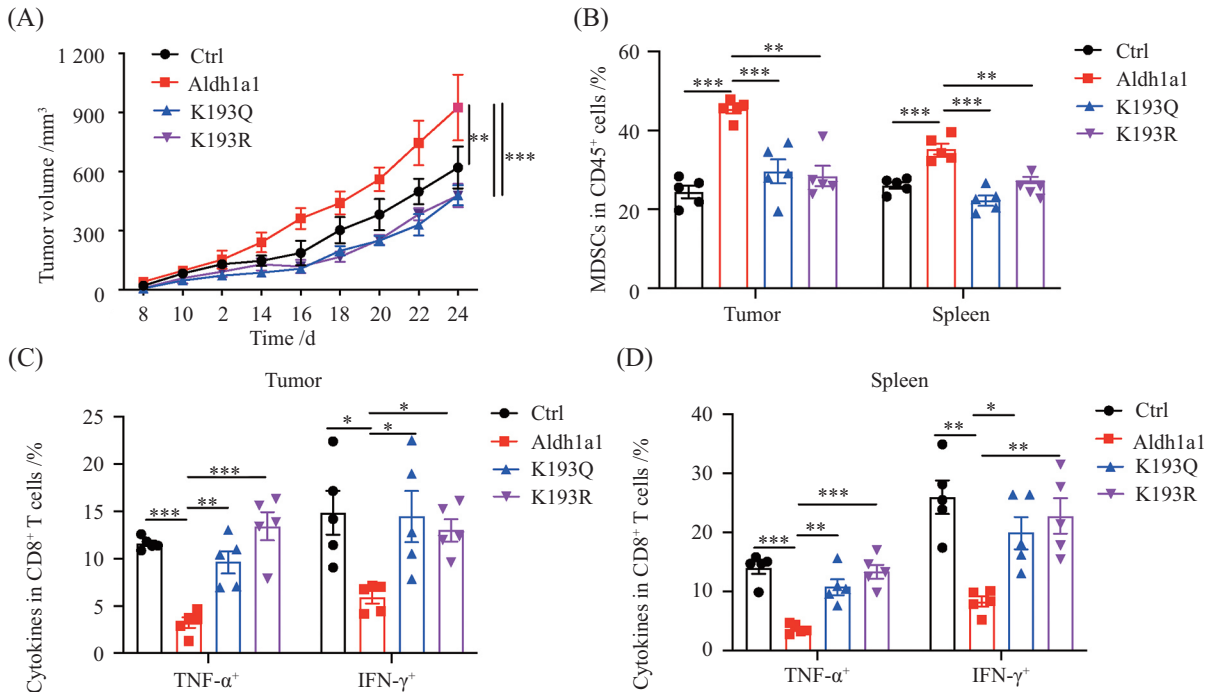
所有结果统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用One/Two-Way ANOVA检验。ALDH1A1组与Ctrl组、K193Q组和K193R组相比,  $P$ 分别为0.000 50、0.014 20、0.003 21。

Data were presented as  $\bar{x} \pm s$ , One/Two-Way ANOVA test was utilized. ALDH1A1 group compared with Ctrl, K193Q and K193R group,  $P$  values were 0.000 50, 0.014 20 and 0.003 21, respectively.

#### 4 ALDH1A1依赖其酶活性诱导了肿瘤免疫抑制细胞MDSCs的富集

为了解析ALDH1A1对乳腺癌免疫微环境的重塑作用, 我们利用小鼠Basal-like乳腺癌4T1-Aldh1a1和K193Q/R突变体细胞在免疫健全小鼠Balb/c上构建了乳腺原位同种异体移植瘤模型, 并利用多色流

式细胞技术对移植瘤中多种免疫细胞的富集情况进行了分析。分析结果显示, 肿瘤免疫微环境中MDSCs占主要成分且其浸润比例发生了明显变化, 相比于对照组, MDSCs在Aldh1a1野生型组肿瘤组织和脾脏中的富集比例明显增加, 而在K193Q/R组无明显变化; 同时, 我们还检测了MDSCs对杀伤性



A: 将4T1( $5 \times 10^4$ 细胞/位点)细胞种植到Balb/c雌性小鼠乳腺脂肪垫中, 每2天测量4T1肿瘤大小, 计算肿瘤体积( $n=10$ /组); B: 终止实验, 使用免疫细胞标记物对肿瘤和脾脏中的MDSCs进行染色和流式分析; 相较于对照组, Aldh1a1组的肿瘤组织和脾脏组织中MDSCs比例明显增加, 而在K193Q/R突变体中未观察到类似的现象( $n=5$ /组); C、D: 在移植瘤模型中, 与对照组相比, Aldh1a1组移植瘤组织和脾脏组织中IFN- $\gamma^+$ CD8 $^+$ 和TNF- $\alpha^+$ CD8 $^+$ T细胞的浸润比例明显下降, 这种降低的趋势在K193Q/R突变体组被逆转( $n=5$ /组)。所有结果统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用One/Two-Way ANOVA检验, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: 4T1 ( $5 \times 10^4$ ) cells were transplanted orthotopically into Balb/c mice. Tumor size was measured every 2 days, and the tumor volume was calculated ( $n=10$ /group); B: compared with control group, MDSCs were observably increased in Aldh1a1 tumors and host spleens, but not seen in K193Q/R-mutant ( $n=5$ /group); C,D: active CD8 $^+$  T cells were markedly decreased in Aldh1a1 tumors and spleens compared with control group, which was recovered by K193Q/R mutants ( $n=5$ /group). Data were presented as  $\bar{x} \pm s$ , One/Two-way ANOVA test was utilized, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图3 ALDH1A1依赖其酶活性促进肿瘤微环境中MDSCs的富集和抑制CD8 $^+$ T细胞的浸润(根据参考文献[10]修改)

Fig.3 ALDH1A1 increased MDSCs and suppressed T cell immunity relying on its enzyme activity (modified from reference [10])

CD8 $^+$ T细胞的抑制性, 实验结果显示, IFN- $\gamma^+$ CD8 $^+$ 和TNF- $\alpha^+$ CD8 $^+$ T细胞在Aldh1a1组免疫微环境中的浸润比例明显下降, 而在K193Q/R组中无类似现象(图3)。与此相反, 应用ALDH酶活抑制剂或者敲低乳腺癌细胞中Aldh1a1表达都展示出了其对微环境中MDSCs富集的抑制效果。这些研究结果揭示了ALDH $^+$ BCSCs生物标志物Aldh1a1对乳腺癌免疫微环境中MDSCs的富集和对杀伤性CD8 $^+$ T细胞的抑制作用。

## 5 ALDH1A1依赖其酶活性降低肿瘤细胞pH值并促进TAK1-NF $\kappa$ B信号通路激活

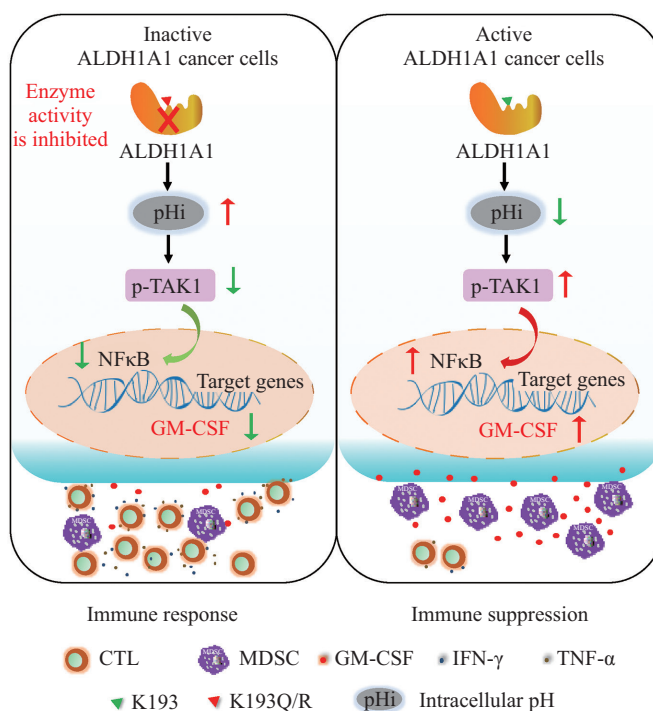
为了深入剖析ALDH1A1重塑乳腺癌免疫微环境的分子调控机制, 我们使用MDA-MB-231-ALDH1A1野生型和K193Q/R突变体肿瘤细胞进行了RNAseq测序和GSEA分析等实验, 结果显示, ALDH1A1通过激活NF $\kappa$ B信号通路来上调肿瘤细胞内

GM-CSF分泌水平; 进一步, 磷酸激酶芯片实验结果显示, ALDH1A1依赖其酶活性通过上调TAK1的磷酸化水平激活NF $\kappa$ B信号通路。另外, 研究发现, ALDH1A1依赖其酶活性明显降低了肿瘤细胞内的pH值; 而且, 活体移植瘤的核磁共振成像实验结果也证实了ALDH1A1对乳腺癌组织pH值的调控作用; 同时, 我们也通过实验证实了肿瘤细胞内pH值的变化对TAK1磷酸化水平的调控作用。根据以上实验结果, 我们得出结论: ALDH1A1依赖其酶活性通过降低肿瘤细胞内pH值来激活TAK1-NF $\kappa$ B信号通路, 进而上调肿瘤细胞GM-CSF表达, 促进肿瘤免疫微环境中MDSCs的富集和抑制抗肿瘤T细胞免疫应答, 从而促进乳腺癌的进展(图4)。

## 6 ALDH抑制剂双硫仑和具有MDSCs清除作用的化疗药物吉西他滨联合治疗乳腺癌

针对ALDH1A1促进乳腺癌进展的调控机制,

## Graphical abstract



ALDH1A1依赖于酶活性降低乳腺癌细胞内pH以激活TAK1-NFκB信号通路,进而导致GM-CSF分泌水平增加,继而诱导MDSCs扩增并降低抗肿瘤免疫,从而促进乳腺癌的发展。

ALDH1A1, relying on its enzyme activity, decreased the pHi (intracellular pH) of breast cancer cells to promote the phosphorylation of TAK1 and activate NFκB signaling pathway and then increased the secretion of GM-CSF, which led to MDSCs expansion and immunosuppression to facilitate breast tumor growth.

图4 ALDH1A1重塑免疫微环境促进肿瘤生长的分子机制模式图(根据参考文献[10]修改)

Fig.4 The molecular mechanisms of ALDH1A1 on remodeling tumor immune-microenvironment in breast tumor (modified from reference [10])

我们设计了一种联合治疗思路以更高效地靶向治疗恶性乳腺癌,使用可以清除MDSCs的化疗药物吉西他滨(gemcitabin, GEM)和ALDH1A1酶活性的抑制剂双硫仑(disulfiram, DSF)单独或联合治疗免疫功能健全小鼠乳腺原位移植瘤,结果显示,DSF和GEM的联合治疗显著抑制了移植瘤的生长,而且联合治疗效果优于任何一个单药治疗效果。有趣的是,DSF或GEM单一处理均可以抑制ALDH<sup>+</sup> BCSCs在移植瘤组织内的富集,而且这种抑制效应在联合治疗中得到了明显增强;同时,结果显示GEM确实有效清除了肿瘤免疫微环境中的MDSCs,并增加了其中TNF-α<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>和IFN-γ<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T细胞的浸润比例,这些效应均在DSF和GEM联合治疗中得到增强。

为了进一步证明DSF是通过抑制肿瘤细胞内ALDH1A1酶活性来发挥作用的,我们在NOD-SCID免疫缺陷鼠上构建了三阴性乳腺癌的PDX(patient-derived xenograft)模型USTC11,并使用DSF和GEM

进行单独或联合治疗。结果显示,DSF或GEM的单药治疗均可显著抑制PDX移植瘤的生长和ALDH<sup>+</sup> BCSCs的富集;然而,DSF和GEM的联合治疗并未明显增强任何一个单药治疗效果。我们猜测,这可能是由于NOD-SCID免疫缺陷鼠体内缺乏MDSCs可靶向的免疫细胞,尤其是缺乏具有抗肿瘤活性的杀伤性CD8<sup>+</sup> T细胞所导致的。

## 7 总结与展望

总体上,本研究发现ALDH1A1依赖其酶活性降低了乳腺癌细胞内pH激活了TAK1-NFκB信号通路,进而诱导了肿瘤细胞GM-CSF分泌水平的增加,继而促进了肿瘤免疫微环境中MDSC的扩增并抑制了抗肿瘤免疫活性,从而促进了乳腺癌的发展。这些研究结果进一步阐明了BCSCs标志物ALDH1A1对乳腺癌发生发展的影响及其分子调控机制,为ALDH<sup>+</sup> BCSCs和MDSCs相互调控作用提供了直接

证据, 为乳腺癌的临床治疗提供了新的有效治疗靶点。

MDSCs是一群造血干细胞分化来源的未成熟的早期髓系细胞。研究人员普遍认为, 在正常生理条件下, 骨髓中的MDSCs快速终末分化为成熟的单核细胞或者中性粒细胞被释放入外周循环系统; 在某些病理条件下, 如肿瘤的发生, 这群未成熟的髓系细胞, 受肿瘤细胞分泌的细胞因子等因素刺激, 将大大扩增并停止进一步的分化, 然后在肿瘤免疫微环境中大量浸润, 并产生高度免疫抑制活性<sup>[11-12]</sup>。在小鼠中, 这群细胞具有CD11b<sup>+</sup>Gr1<sup>+</sup>的特异性表面分子表达, 而在人体中, 它们的表型为Lin<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>或CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>。人肿瘤组织中MDSCs的一个重要特征是它们与机体外周血中性粒细胞非常相似, 因此, 浸润到肿瘤微环境的MDSCs似乎是一种可以发挥免疫抑制活性的变异“中性粒细胞”<sup>[13-16]</sup>。

在人和小鼠多种肿瘤中均可以观察到肿瘤微环境和全身性的MDSCs的积累, 而且肿瘤组织内和外周循环中MDSCs的富集与多种肿瘤的不良预后密切相关<sup>[17-18]</sup>。因此, 理论上诱导MDSCs耗竭或者逆转其免疫抑制活性可以在一定程度上重建机体的肿瘤免疫监视功能, 从而使其与各种治疗策略配合以控制肿瘤的进展。目前研究发现, 肿瘤可以通过多个机制促进肿瘤微环境中MDSCs的扩增和招募从而调控肿瘤的进展, 其中就包括与肿瘤干细胞相关的调控机制<sup>[19-20]</sup>。值得注意的是, MDSCs也可以通过多种途径促进肿瘤干细胞的干性<sup>[13]</sup>, 因此, 这样就会形成一个恶性循环, 即肿瘤干细胞招募MDSCs, MDSCs反过来促进肿瘤干细胞干性, 最终共同促进肿瘤病人的治疗耐受、肿瘤复发和转移。该项研究为打破这一恶性循环提供了新视角, MDSCs和BCSCs之间恶性循环的打破重塑了机体对乳腺肿瘤干细胞的免疫监视, 从而控制了肿瘤的进展; 另外, 此项研究对肿瘤的临床免疫治疗具有重要的启示性意义, 打破MDSCs和BCSCs之间恶性循环可以提高机体的抗肿瘤免疫活性, 从而为后续免疫治疗的成功提供可能。

### 参考文献 (References)

- [1] CLARKE M F, DICK J E, DIRKS P B, et al. Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(19): 9339-44.
- [2] AL-HAJJ M, WICHA M S, BENITO-HERNANDEZ A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(7): 3983-8.
- [3] GINESTIER C, HUR M H, CHARAFE-JAUFFRET E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(5): 555-67.
- [4] ARFAOUI A, RIOUALEN C, AZZONI V, et al. A genome-wide RNAi screen reveals essential therapeutic targets of breast cancer stem cells [J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(10): e9930.
- [5] ZHOU L, SHENG D, WANG D, et al. Identification of cancer-type specific expression patterns for active aldehyde dehydrogenase (ALDH) isoforms in ALDEFLUOR assay [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2019, 35(2): 161-77.
- [6] SLADEK N E. Human aldehyde dehydrogenases: potential pathological, pharmacological, and toxicological impact [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003, 17(1): 7-23.
- [7] CASTAGNOLI L, CANCELILA V, CORDOBA-ROMERO S L, et al. WNT signaling modulates PD-L1 expression in the stem cell compartment of triple-negative breast cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(21): 4047-60.
- [8] SULTAN M, VIDOVIC D, PAINE A S, et al. Epigenetic silencing of TAP1 in Aldefluor<sup>+</sup> breast cancer stem cells contributes to their enhanced immune evasion [J]. *Stem Cells*, 2018, 36(5): 641-54.
- [9] VAHIDIAN F, DUIJF P H G, SAFARZADEH E, et al. Interactions between cancer stem cells, immune system and some environmental components: friends or foes [J]? *Immunol Lett*, 2019, 208: 19-29.
- [10] LIU C, QIANG J, DENG Q, et al. ALDH1A1 activity in tumor-initiating cells remodels myeloid-derived suppressor cells to promote breast cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(23): 5919-34.
- [11] MELZER C, VON DER OHE J, LEHNERT H, et al. Cancer stem cell niche models and contribution by mesenchymal stroma/stem cells [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 28.
- [12] SASIDHARAN NAIR V, SALEH R, TOOR S M, et al. Transcriptomic profiling disclosed the role of DNA methylation and histone modifications in tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cell subsets in colorectal cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1): 13.
- [13] PENG D, TANIKAWA T, LI W, et al. Myeloid-derived suppressor cells endow stem-like qualities to breast cancer cells through IL6/STAT3 and NO/NOTCH cross-talk signaling [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(11): 3156-65.
- [14] RAYCHAUDHURI B, RAYMAN P, HUANG P, et al. Myeloid derived suppressor cell infiltration of murine and human gliomas is associated with reduction of tumor infiltrating lymphocytes [J]. *J Neurooncol*, 2015, 122(2): 293-301.
- [15] ELLIOTT L A, DOHERTY G A, KIERAN S, et al. Human tumor-infiltrating myeloid cells: phenotypic and functional diversity [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 86.
- [16] SAFARZADEH E, ORANGI M, MOHAMMADI H, et al. Myeloid-derived suppressor cells: important contributors to tumor progression and metastasis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(4): 3024-36.



- [17] GROVER A, SANSEVIERO E, TIMOSENKO E, et al. Myeloid-derived suppressor cells: a propitious road to clinic [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(11): 2693-706.
- [18] JIMENEZ-CORTEGANA C, PALAZON-CARRION N, MARTIN GARCIA-SANCHO A, et al. Circulating myeloid-derived suppressor cells and regulatory T cells as immunological biomarkers in refractory/relapsed diffuse large B-cell lymphoma: translational results from the R2-GDP-GOTEL trial [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(6): e002323.
- [19] BAYIK D, LATHIA J D. Cancer stem cell-immune cell crosstalk in tumour progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(8): 526-36.
- [20] CLARA J A, MONGE C, YANG Y, et al. Targeting signalling pathways and the immune microenvironment of cancer stem cells: a clinical update [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(4): 204-32.