

· 论 著 ·

# 靶向抑制骨髓源性肌成纤维细胞来源的 TGF- $\beta$ 和 STAT3 信号抑制结直肠肿瘤生长的作用及其机制研究\*

程 鑫<sup>#</sup> 何丽娜 成小姣 涂水平<sup>\*</sup>  
上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科(200127)

**背景:**骨髓源性肌成纤维细胞(BMFs)在结直肠癌发生、发展和肿瘤耐药中起重要作用,但目前尚缺乏特异性抑制 BMFs 的药物。**目的:**探索靶向抑制 BMFs 来源的转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )和信号转导及转录活化因子 3(STAT3)信号对结直肠癌生长的影响。**方法:**将结肠癌细胞株 MC38 与 BMFs 共培养,体外观察 BMFs 对 MC38 细胞生长的影响。构建 MC38 细胞与 BMFs 混合细胞小鼠皮下移植瘤模型,研究 BMFs 对 MC38 细胞体内皮下移植瘤生长的影响。以转录组测序和免疫组化技术分析 BMFs 来源的 TGF- $\beta$ 、STAT3 信号通路在结直肠癌生长中的作用。应用 TGF- $\beta$  和 STAT3 特异性抑制剂治疗 BMF+MC38 混合细胞皮下移植瘤,探索靶向 BMFs 来源的 TGF- $\beta$  和 STAT3 信号以抑制 BMFs 对结直肠癌促生长作用的疗效和安全性。**结果:**体外共培养实验显示 BMFs 能显著促进 MC38 细胞增殖和生长( $P<0.01$ )。小鼠皮下移植瘤实验结果显示,BMFs 能显著促进体内 MC38 细胞移植瘤生长( $P<0.001$ )。免疫组化结果证实,BMF+MC38 混合细胞移植瘤中的 TGF- $\beta$ 1 和 p-STAT3 表达显著高于 MC38 细胞移植瘤( $P$ 均 $<0.01$ );转录组测序进一步显示,混合移植瘤中组织发育、细胞外基质组成以及趋化因子/白细胞介素(IL)-17 信号通路相关基因表达发生显著改变,提示 BMFs 来源的 TGF- $\beta$  和 STAT3 可促进结直肠癌生长。联合 TGF- $\beta$  和 STAT3 信号特异性小分子抑制剂治疗 BMF+MC38 混合移植瘤,可显著抑制混合细胞皮下移植瘤生长( $P<0.0001$ ),未见明显毒性反应。**结论:**BMFs 能显著促进 MC38 细胞的体内外生长,靶向抑制 TGF- $\beta$  和 STAT3 信号能显著抑制 BMFs 介导的促结直肠癌生长作用。

**关键词** 结直肠肿瘤; 骨髓源性肌成纤维细胞; 转化生长因子 $\beta$ ; 信号转导及转录活化因子 3

**Role and Mechanism of Targeted Inhibition of TGF- $\beta$  and STAT3 Signaling Derived From Bone Marrow-derived Myofibroblasts in Suppressing Colorectal Tumor Growth** CHENG Xin, HE Lina, CHENG Xiaojiao, TU Shuiping.  
Department of Oncology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai (200127)

**Correspondence to:** TU Shuiping, Email: tushuiping1966@126.com

**Background:** Bone marrow - derived myofibroblasts (BMFs) play a significant role in colorectal tumorigenesis, progression, and drug resistance. However, specific drugs to inhibit BMFs are currently lacking. **Aims:** To investigate the impact of targeted inhibition of transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling derived from BMFs on colorectal cancer growth. **Methods:** The effect of BMFs on the growth of colon cancer cell line MC38 was observed *in vitro* using a co-culture system of MC38 cells and BMFs. A mouse subcutaneous xenograft model with mixed MC38 cells and BMFs was established to study the effect of BMFs on *in vivo* subcutaneous xenografts growth of MC38 cells. Transcriptome sequencing and immunohistochemistry were employed to analyze the role of signaling pathways such as TGF- $\beta$  and STAT3 derived from BMFs in colorectal cancer growth. Specific inhibitors of TGF- $\beta$  and STAT3 were used to treat subcutaneous xenografts formed from BMF+MC38 mixed cells, to explore the efficacy and safety of targeting BMF-derived TGF- $\beta$  and STAT3 signaling in inhibiting the tumor-promoting effect of BMFs on colorectal cancer. **Results:** *In vitro* co-culture experiments showed that BMFs significantly promoted the proliferation and growth of MC38 cells ( $P<0.01$ ). Mouse subcutaneous xenograft experiments indicated that BMFs significantly promoted the

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2025.11.001

\*基金项目:上海市 2022 年度“科技创新行动计划”自然科学基金项目(22ZR1438300)

<sup>#</sup>Email: cx15926725353@163.com

<sup>\*</sup>本文通信作者, Email: tushuiping1966@126.com

growth of MC38 cell xenografts *in vivo* ( $P < 0.001$ ). Immunohistochemical results confirmed that the levels of TGF- $\beta$ 1 and p-STAT3 were significantly higher in BMF+MC38 mixed cell xenografts compared to MC38 cell xenografts (all  $P < 0.01$ ); transcriptome sequencing further revealed significant alterations in the expression of genes associated with tissue development, extracellular matrix composition, as well as chemokine and interleukin (IL)-17 signaling pathways in the mixed xenografts, suggesting that BMF-derived TGF- $\beta$  and STAT3 promoted colorectal cancer growth. Treatment of BMF+MC38 mixed subcutaneous xenografts with specific small molecule inhibitors of TGF- $\beta$  and STAT3 signaling significantly inhibited the growth of the mixed-cell subcutaneous xenografts ( $P < 0.0001$ ) with no apparent toxic reactions observed.

**Conclusions:** BMFs significantly enhance the growth of MC38 cells both *in vitro* and *in vivo*. Targeted inhibition of TGF- $\beta$  and STAT3 signaling significantly suppresses the BMF-mediated promoting effect of colorectal cancer growth.

**Key words** Colorectal Neoplasms; Bone Marrow-Derived Myofibroblasts; Transforming Growth Factor-beta; Signal Transducer and Activator of Transcription 3

结直肠癌(colorectal cancer)是全球范围内的重大公共卫生问题,年发病和死亡人数持续居高不下<sup>[1]</sup>。结直肠癌的发生、发展是多基因参与、多步骤演进的复杂过程,受遗传变异与环境因素共同调控<sup>[2]</sup>。不同信号通路之间如何协同驱动肿瘤进展,其潜在分子网络尚待进一步阐明。

肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是肿瘤微环境中含量最为丰富的间质细胞组分,广泛参与结直肠癌细胞的增殖、干性维持、血管生成、细胞外基质重塑、转移等多种恶性进程<sup>[3-4]</sup>。肿瘤相关肌成纤维细胞(cancer-associated myofibroblasts, mCAFs)作为CAFs中一个高度活化的亚群,以高表达 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)并具备强收缩和分泌功能为特征,在构建和维持免疫抑制性微环境中发挥核心作用<sup>[5]</sup>。本团队先前的研究已揭示,骨髓源性肌成纤维细胞(bone marrow-derived myofibroblasts, BMFs)能促进结直肠癌细胞生长和转移<sup>[6-8]</sup>,但目前尚缺乏靶向抑制BMFs以阻断结直肠癌生长作用的研究。

转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )是一类多效性细胞因子,在调控细胞增殖、凋亡、分化、免疫应答以及细胞外基质合成中起关键作用<sup>[9-11]</sup>。TGF- $\beta$ 信号与mCAFs的活化和功能之间存在密切的正反馈循环:TGF- $\beta$ 是诱导mCAFs分化的主要因子之一,而活化的mCAFs又可大量分泌TGF- $\beta$ ,进一步维持肿瘤微环境的促纤维化和免疫抑制状态<sup>[12-14]</sup>。同时,信号转导及转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)作为肿瘤学研究中最受关注的STAT家族成员,与肿瘤增殖、凋亡逃逸、侵袭转移、血管生成等过程密切相关<sup>[15]</sup>。现有大量证据表明,STAT3通路

在mCAFs的活化及其介导的肿瘤微环境重塑中亦扮演重要角色<sup>[16-18]</sup>。但靶向抑制TGF- $\beta$ 和STAT3信号以阻断BMFs对结直肠癌的促生长作用,目前尚缺乏相关报道。

基于上述背景,本研究构建BMFs与结肠癌细胞株MC38混合移植的小鼠皮下移植瘤模型,发现TGF- $\beta$ 和STAT3信号在混合移植瘤中显著被激活,TGF- $\beta$ 抑制剂与STAT3抑制剂联合治疗可显著抑制混合移植瘤生长,初步证明了联合靶向抑制TGF- $\beta$ 和STAT3信号治疗结直肠癌的可能性,为结直肠癌的治疗提供了新思路。

## 材料与方法

### 一、细胞株、实验动物和主要试剂

小鼠结肠癌细胞株MC38购自美国典型培养物保藏中心(ATCC)。稳定表达增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)的BMFs(BMF-EGFP)为本团队前期从EGFP阳性骨髓移植小鼠的肿瘤组织中分离培养所得<sup>[15]</sup>。6周龄雄性C57BL/6野生型小鼠购自上海吉辉实验动物饲养有限公司。DMEM培养基、胎牛血清(Gibco公司);胰蛋白酶、青霉素-链霉素双抗(江苏凯基生物技术股份有限公司);RNA提取试剂、逆转录试剂、RT-qPCR试剂(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;HE染色试剂盒(武汉皮诺飞生物科技有限公司);小分子抑制剂TGF $\beta$ 1-IN-1(抑制TGF- $\beta$ )和napabucasin(抑制STAT3)(MedChemExpress);TGF- $\beta$ 1、Ki-67、 $\alpha$ -SMA抗体(Abcam公司);磷酸化STAT3(p-STAT3)(Cell Signaling Technology);HRP和CY3标记的二抗(武汉爱博泰克生物科技有限公司)。

## 二、方法

1. 小鼠皮下移植瘤模型构建: 将  $1 \times 10^6$  个 MC38 细胞单独或与等量 BMFs 混合, 皮下接种于小鼠右侧背部。每 3 d 测量一次肿瘤体积和小鼠体质量, 接种 24 d 后处死小鼠, 收集肿瘤组织。治疗实验部分: 待肿瘤体积生长至  $50 \sim 80 \text{ mm}^3$  时, 将荷瘤小鼠随机分为 4 组, 每组各 5 只, 分别接受以下处理。①溶剂对照组 (0.5% CMC-Na 腹腔注射, 每 3 d 1 次); ② TGF $\beta$ 1-IN-1 单药组<sup>[19]</sup> (30 mg/kg, 溶于 0.5% CMC-Na, 每日灌胃 1 次); ③ Napabucasin 单药组<sup>[20]</sup> (40 mg/kg, 溶于 0.5% CMC-Na 腹腔注射, 每 3 d 1 次); ④ TGF $\beta$ 1-IN-1 与 napabucasin 联合用药组 (给药方案同单药组)。治疗结束后处死小鼠, 称取肿瘤质量并留存组织用于后续分析。同时采集肺、心、肝、脾、肾等主要脏器, 评估药物安全性。肿瘤体积 = (长径  $\times$  短径<sup>2</sup>) / 2。

2. 转录组测序分析: 使用 BIOZOL 试剂提取肿瘤组织总 RNA, NanoDrop 2000 分光光度计测定浓度, Qubit 4.0 评估质量, 1% 琼脂糖凝胶电泳 (上样量 500 ng) 验证完整性。文库构建 (包括 mRNA 分离、片段化、双链 cDNA 合成、PCR 富集和文库定量) 由和元生物技术 (上海) 股份有限公司完成。测序在 Illumina NovaseqXplus 平台上进行。进一步对原始测序数据进行 GO 功能注释、KEGG 通路富集和蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析。

3. 细胞共培养实验: ① 实时动态观察实验。将等量 MC38 细胞单独或与 BMFs 共培养于活细胞成像系统中, 每 6 h 统计细胞数量, 持续 72 h。每组设 3 个复孔 (12 孔板), 每孔选取 5 个视野, 利用配套分析软件计数细胞。② 共培养后分选实验。将 BMFs 与 MC38 细胞共培养 36 h 后, 基于 BMFs 的 EGFP 荧光, 使用流式细胞仪分选获得共培养后的 MC38 细胞和 BMFs, 用于后续 RNA 提取和检测。

4. RNA 提取和 RT-qPCR: 使用 RNA 提取试剂盒从共培养前后的 BMFs 中提取总 RNA, 随后进行反转录合成 cDNA; 采用 SYBR Green qPCR 预混液, 在 QuantStudio 7 Flex 实时荧光定量 PCR 系统中进行扩增反应。

5. 免疫组化染色: 石蜡切片经脱蜡、水化后, 于 pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液中煮沸 20 min 进行抗原修复; 以 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  阻断内源性过氧化物酶, 室温下以含 5% BSA、0.1% Triton X-100 的 PBS 封闭 1 h; 切片与

一抗 TGF- $\beta$ 1 (工作浓度 1:1 000)、p-STAT3 (工作浓度 1:400) 或 Ki-67 (工作浓度 1:200) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜; PBS 洗涤后, 以 HRP 标记的二抗 (工作浓度 1:200) 室温孵育 1 h, DAB 显色, 苏木精复染, 脱水封片。使用玻片扫描仪采集图像, Image J 软件进行定量分析。

6. 免疫荧光染色: 切片前处理步骤同免疫组化染色 (无需  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理)。与  $\alpha$ -SMA 一抗 (工作浓度 1:2 000) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, PBS 洗涤后, 避光条件下与 CY3 标记的二抗室温孵育 1 h; 再次洗涤后, 使用含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂封片, 玻片扫描仪采集图像。

7. HE 染色: 将重要脏器组织固定、脱水、石蜡包埋后切片, 脱蜡水化。按 HE 染色试剂盒说明依次使用染液 1 (5 min)、染液 2 (5 s)、染液 3 (5 s) 进行染色, 每个步骤后以去离子水轻柔冲洗。染色完成后脱水、封片, 玻片扫描仪观察。

## 三、统计学分析

应用 GraphPad Prism 9.5.0 软件进行统计分析。所得的实验数据以  $\bar{x} \pm s$  描述, 两组间比较采用独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素或双因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 法。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、BMFs 体外促进肿瘤细胞生长

将 MC38 细胞与绿色荧光标记的 BMFs 进行体外混合培养并动态监测细胞生长情况, 发现与 BMFs 混合培养的 MC38 细胞比单独培养时生长速度显著加快 (图 1A)。于培养 66 h 时对 MC38 细胞进行计数, 与 BMFs 混合培养的 MC38 细胞数量较单独培养显著增多 (图 1B)。将与 MC38 细胞混合培养的 BMFs 分选后, 再与单独培养的 BMFs 行生长因子 mRNA 表达水平检测, 结果显示混合培养后的 BMFs 表达表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 等 mRNA 表达水平显著增加 (图 1C), 这些生长因子的表达改变可能是 BMFs 促进 MC38 细胞体外增殖的可能原因。

### 二、BMFs 体内促进肿瘤生长

本研究分离的 BMFs 具有肌成纤维细胞特性, 如高表达  $\alpha$ -SMA (图 2A)。同时, 癌症基因集分析 (Gene Set Cancer Analysis, GSCA) 结直肠癌数据库分析显示<sup>[21]</sup>,  $\alpha$ -SMA 编码基因 ACTA2 高表达与结直肠

癌较低的生存率相关(图2B)。本研究分别构建MC38细胞和MC38+BMF混合细胞小鼠皮下移植瘤,在相同环境下检测两组肿瘤生长情况(图2C),结果显示MC38+BMF混合细胞小鼠皮下移植瘤的生长速度显著快于MC38细胞皮下移植瘤(图2D-2F)。上述结果表明,在体内与MC38细胞混合注射构建皮下移植瘤时,BMFs可促进MC38细胞皮下移植瘤生长。

### 三、MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤相对于MC38细胞皮下移植瘤的差异表达基因

提取MC38细胞和MC38+BMF混合细胞小鼠皮下移植瘤组织的RNA行Bulk RNA测序分析,结果显示有众多基因发生改变;表达显著上调的基因有Cdh19、Ankrd35、Per1等,表达显著下调的基因有

Ccr2、Sema5b、Cfd等(图3A)。对差异表达基因行GO分析,结果显示相对于MC38细胞皮下移植瘤,MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤的组织发育、中性粒细胞聚集等生物学过程,细胞外基质组成、钙离子结合等分子功能,以及胶原蛋白相关细胞成分发生显著改变(图3B)。对差异表达基因行KEGG通路富集分析,结果显示MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤组织在蛋白质消化吸收、趋化因子信号通路、白细胞介素(interleukin, IL)-17信号通路等通路中的相关基因表达发生显著改变(图3C)。PPI网络分析显示MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤组织存在众多差异表达基因相关的蛋白质相互作用(图3D)。上述结果表明构建MC38细胞皮下移植瘤时混合

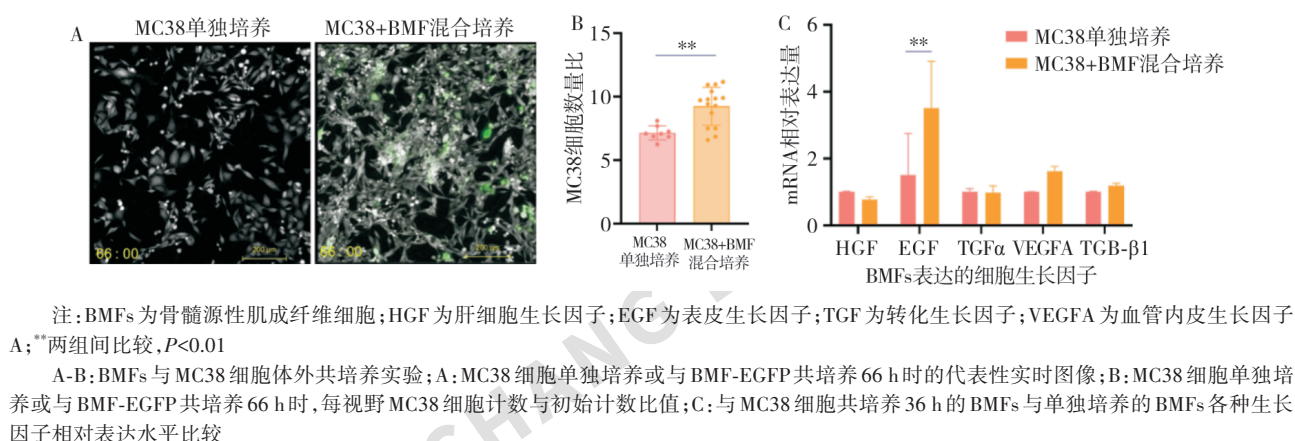


图1 BMFs体外促进肿瘤细胞生长

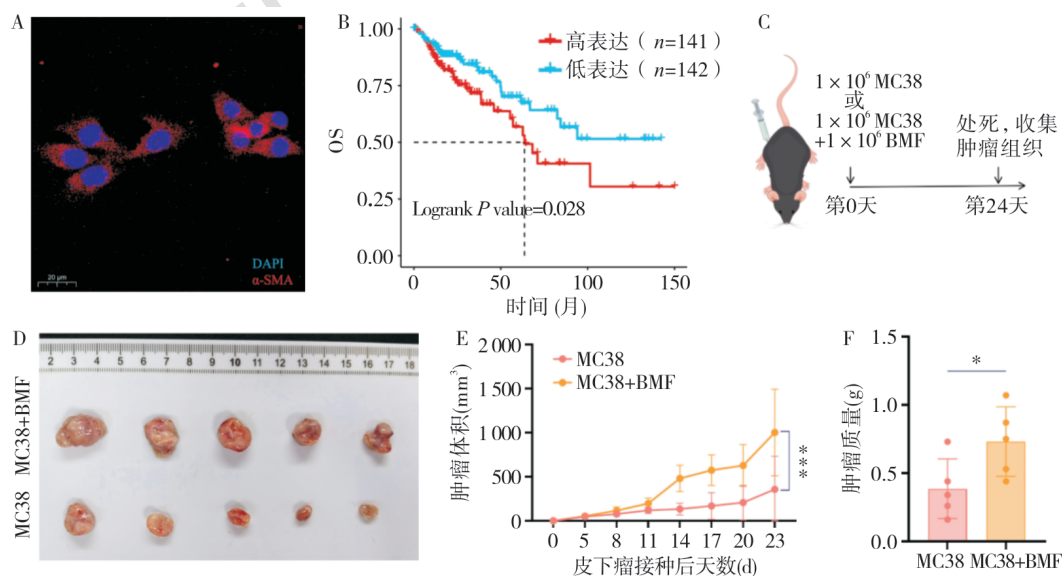


图2 BMFs体内促进肿瘤生长

BMFs 可对肿瘤微环境中的众多重要信号通路和生理过程产生显著影响,从而影响肿瘤表型。

#### 四、MC38+BMF 混合细胞皮下移植瘤中 TGF- $\beta$ 信号和 STAT3 信号增强

对 MC38 细胞和 MC38+BMF 混合细胞小鼠皮下移植瘤组织石蜡切片行 TGF- $\beta$ 1 和 p-STAT3 免疫组化染色,结果显示 MC38+BMF 混合细胞小鼠皮下移植瘤中 TGF- $\beta$ 1 和 p-STAT3 表达均显著增强( $P$ 均 $<0.01$ ;图 4A-4D)。TGF- $\beta$ 1 作为 TGF- $\beta$  信号通路家族中的重要分子, p-STAT3 作为 STAT3 信号通路中 STAT3 的活化产物,两者表达增强提示 TGF- $\beta$  信号和 STAT3 信号增强可能是 BMFs 体内促进 MC38 细胞皮下移植瘤生长的原因。

### 五、同时抑制 TGF- $\beta$ 和 STAT3 信号通路能显著抑制 MC38+BMF 混合细胞皮下移植瘤生长

构建 MC38+BMF 混合细胞小鼠皮下移植瘤,并予 TGF- $\beta$  信号通路抑制剂 TGF $\beta$ 1-IN-1 和 STAT3 信号通路抑制剂 napabucasin 治疗(图 5A),结果显示 TGF $\beta$ 1-IN-1 可有效抑制肿瘤生长,联合 napabucasin 可进一步抑制肿瘤生长,单独使用 napabucasin 则无

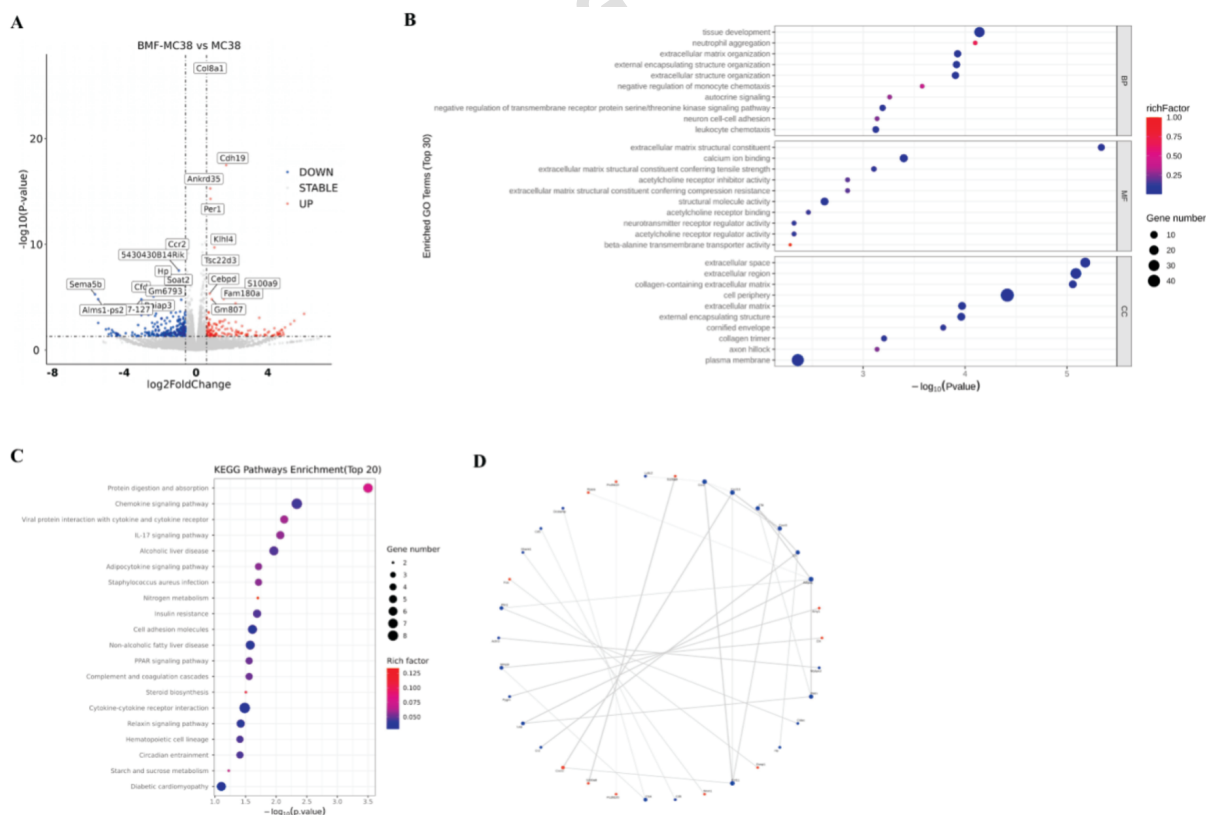
显著抑瘤效果(图5B-5D)。进一步对肿瘤组织石蜡切片行Ki-67免疫组化染色,结果显示经TGF $\beta$ 1-IN-1联合napabucasin治疗,肿瘤组织中Ki-67表达显著降低(图5E-5F),表明该联合疗法可有效抑制该肿瘤模型中的肿瘤细胞生长和增殖。上述结果进一步证明,在体内,BMFs可通过增强TGF- $\beta$ 和STAT3信号通路发挥对MC38皮下移植瘤的促肿瘤效应。

## 六、TGF $\beta$ 1-IN-1 与 napabucasin 联合治疗的安全性

对接受 TGF $\beta$ 1-IN-1 与 napabucasin 单独或联合治疗和对照治疗小鼠的心、肝、脾、肺、肾组织石蜡切片行 HE 染色,结果显示联合治疗组上述重要脏器的病理表型与对照组相似,无明显异常病理改变(图 6),证实规定剂量的 TGF $\beta$ 1-IN-1 与 napabucasin 联合治疗对小鼠重要脏器无明显损伤。

## 讨论

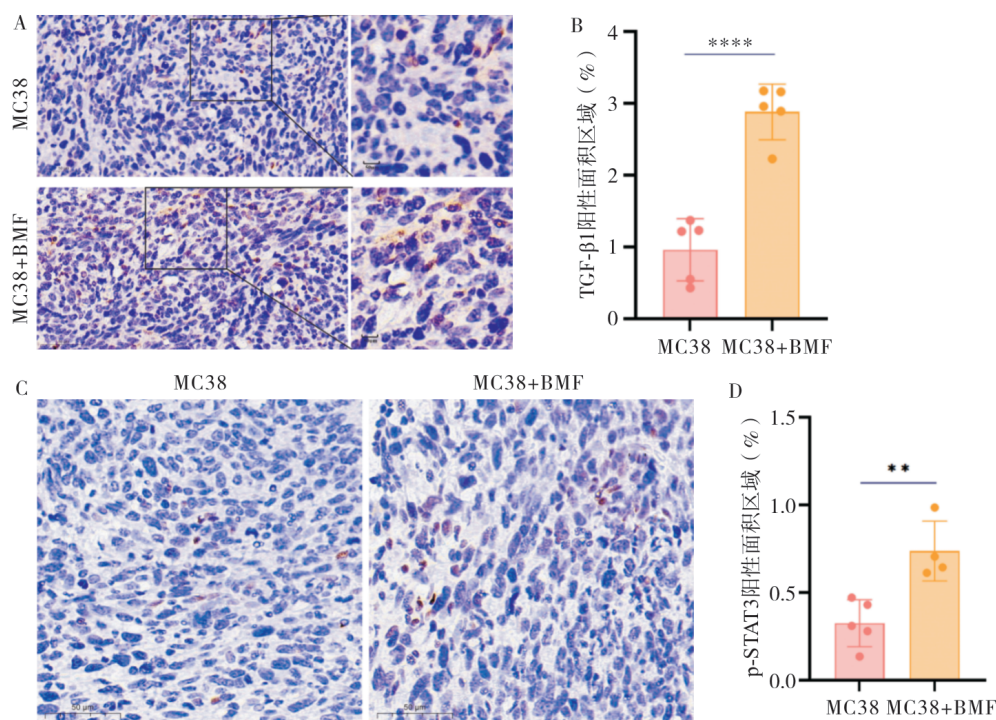
近年来,随着生活方式的改变,结直肠癌的全球发病率持续上升,且发病年龄呈现年轻化趋势,



注:BMFs为骨髓源性肌成纤维细胞

A:差异表达基因火山图;B:差异表达基因在生物学过程、分子功能和细胞组分三个层面的GO分析;C:差异表达基因的KEGG通路富集分析(前20条通路);D:差异表达基因的蛋白质-蛋白质相互作用网络分析

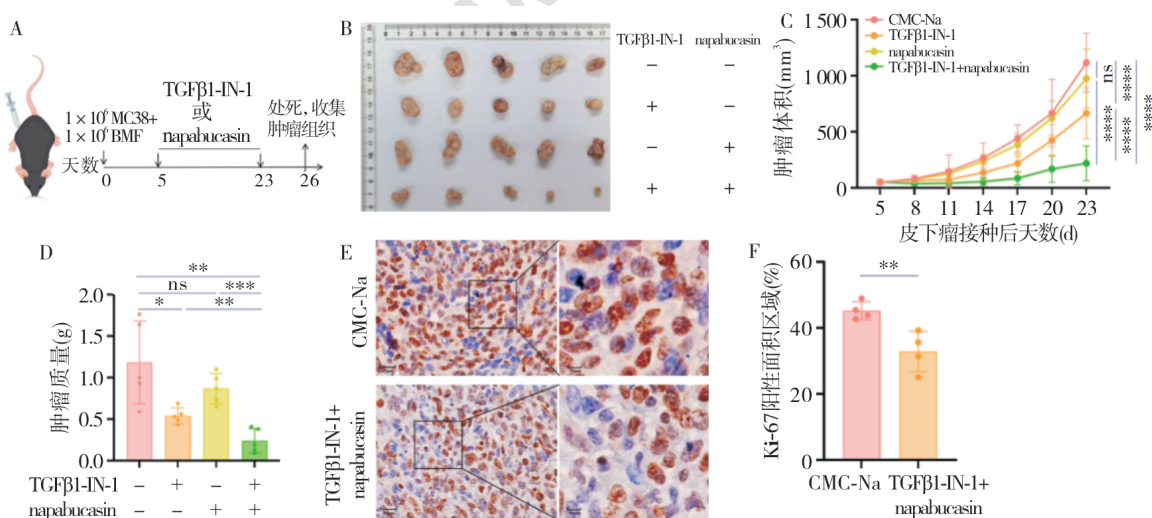
图3 MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤相对于MC38细胞皮下移植瘤的差异表达基因



注:BMFs为骨髓源性肌成纤维细胞;TGF-β1为转化生长因子-β1;p-STAT3为磷酸化信号转导及转录活化因子3;两组间比较,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\*\* $P<0.0001$

A-B:TGF-β1免疫组化染色;A:代表性图片(左侧:×100;右侧:×200);B:TGF-β1阳性面积百分比分析;C-D:p-STAT3免疫组化染色;C:代表性图片(×200);D:p-STAT3阳性面积百分比分析

图4 MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤中TGF-β和STAT3信号增强



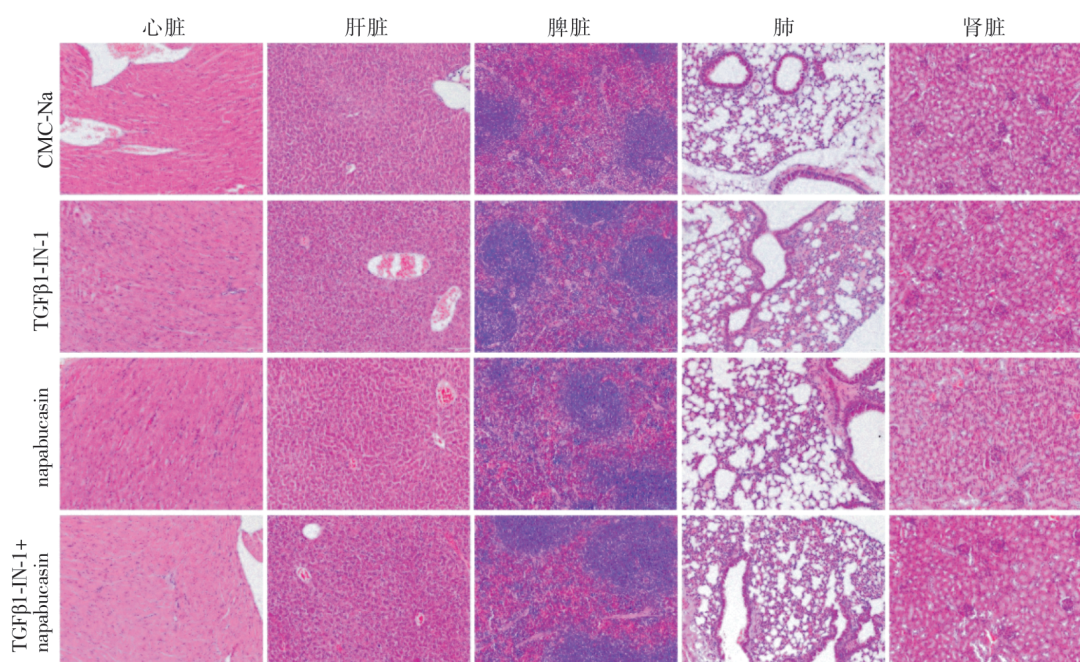
注:BMFs为骨髓源性肌成纤维细胞;TGFβ1-IN-1为转化生长因子-β(TGF-β)信号通路抑制剂;napabucasin为信号转导及转录活化因子3(STAT3)信号通路抑制剂;两组间比较,ns为差异无统计学意义,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ,\*\*\*\* $P<0.0001$

A-D:MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤治疗实验;A:将10<sup>6</sup>个MC38细胞与10<sup>6</sup>个BMFs混合皮下注射至C57BL/6小鼠体内,肿瘤细胞植入后第5天起,每3d给予1次TGFβ1-IN-1或napabucasin治疗,每3d记录1次肿瘤体积,并于第24天收集肿瘤组织(每组5只小鼠);B:肿瘤图片;C:肿瘤细胞植入后肿瘤体积变化;D:第24天肿瘤质量;E-F:Ki-67免疫组化染色;E:代表性图片(左侧:×100;右侧:×200);F:Ki-67阳性面积百分比分析

图5 同时抑制TGF-β和STAT3信号通路能显著抑制MC38+BMF混合细胞皮下移植瘤生长

对公众健康的威胁日益严峻。在治疗方面,结肠息肉和早期结直肠癌可通过内镜下切除或外科手术实现根治,患者预后良好。然而,一旦疾病进展至

晚期或发生转移(即转移性结直肠癌),治疗将变得极为棘手。尽管系统化疗(如FOLFOX、FOLFIRI方案)、靶向治疗[如抗表皮生长因子受体(epidermal



注:TGFβ1-IN-1 为转化生长因子-β(TGF-β)信号通路抑制剂;napabucasin 为信号转导及转录活化因子 3(STAT3)信号通路抑制剂  
图6 TGFβ1-IN-1 与 napabucasin 联合治疗的安全性(HE 染色, × 100)

growth factor receptor, EGFR)、抗血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物]以及免疫治疗[如抗程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)抗体]不断发展,多学科诊疗体系也日益完善,但转移性结直肠癌患者的预后仍然较差,长期生存率始终处于低位<sup>[22]</sup>。因此,探寻新的有效治疗策略迫在眉睫。

CAFs 在肿瘤微环境中的功能一直是肿瘤研究领域的热点。本研究聚焦于肿瘤微环境中的 BMFs,通过构建 BMFs 与 MC38 细胞混合移植的小鼠皮下移植瘤模型,并结合体外共培养实验,探讨该类骨髓来源的 mCAF 特殊亚型与肿瘤细胞之间的相互作用及其对肿瘤微环境的影响。实验结果表明,与单独接种 MC38 细胞相比,BMFs 与 MC38 细胞混合移植的小鼠皮下移植瘤生长更快;体外共培养体系进一步证实 BMFs 能促进 MC38 细胞增殖。这些发现与本团队此前在多种肿瘤模型中的研究结果一致<sup>[6-8]</sup>。

为进一步探究其机制,本研究对混合移植瘤组织进行转录组测序分析和免疫组化检测,结果表明在 MC38 皮下移植瘤中混合注入 BMFs 可显著影响肿瘤微环境中的多种信号通路和相关生物学过程,尤其是 TGF-β 和 STAT3 信号通路被明显激活。这一结果提示,BMFs 促进肿瘤生长可能依赖于 TGF-β 和 STAT3 信号通路。随后,本研究对该皮下移植瘤

模型进行 TGF-β 与 STAT3 信号通路抑制剂联合干预,发现联合用药可显著抑制混合移植瘤生长,从而进一步证实 TGF-β 和 STAT3 信号通路在 BMFs 介导的促肿瘤生长过程中发挥关键作用。

此外,本研究对联合用药的安全性进行了初步评估,HE 染色结果显示,规定剂量的 TGFβ1-IN-1 与 napabucasin 联合治疗未对小鼠心、肝、脾、肺、肾等重要脏器造成明显病理损伤,提示该联合方案在有效抑瘤的同时具有良好的安全性,为其后续临床转化提供了实验依据。

综上所述,本研究通过体内外实验证实 BMFs 能促进 MC38 细胞及其移植瘤生长,并明确了 TGF-β 和 STAT3 信号通路在此过程中的关键作用。这一发现不仅揭示了 BMFs 作为重要 CAF 亚型在肿瘤微环境塑造中的作用,也为结直肠癌的治疗提供了新的潜在靶点,并进一步拓展了肿瘤治疗策略的研发思路。

**利益冲突:**所有作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] FILHO A M, LAVERSANNE M, FERLAY J, et al. The GLOBOCAN 2022 cancer estimates: data sources, methods, and a snapshot of the cancer burden worldwide [J]. Int J Cancer, 2025, 156 (7): 1336-1346.

- [ 2 ] LI Q, GENG S, LUO H, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer: pathogenesis and targeted therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1): 266.
- [ 3 ] LAVIE D, BEN - SHMUEL A, EREZ N, et al. Cancer-associated fibroblasts in the single-cell era[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3 (7): 793-807.
- [ 4 ] KOLIARAKI V, PALLANGYO C K, GRETEN F R, et al. Mesenchymal cells in colon cancer[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152 (5): 964-979.
- [ 5 ] QUANTE M, TU S P, TOMITA H, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19 (2): 257-272.
- [ 6 ] HUANG T, LI F, CHENG X, et al. Wnt inhibition sensitizes PD-L1 blockade therapy by overcoming bone marrow-derived myofibroblasts-mediated immune resistance in tumors[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 619209.
- [ 7 ] ZHU L, CHENG X, SHI J, et al. Crosstalk between bone marrow-derived myofibroblasts and gastric cancer cells regulates cancer stemness and promotes tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2016, 35 (41): 5388-5399.
- [ 8 ] ZHU L, CHENG X, DING Y, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts promote colon tumorigenesis through the IL-6/JAK2/STAT3 pathway[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343 (1): 80-89.
- [ 9 ] IKUSHIMA H, MIYAZONO K. TGF $\beta$  signalling: a complex web in cancer progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10 (6): 415-424.
- [10] DERYNCK R, ZHANG Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- $\beta$  family signalling[J]. *Nature*, 2003, 425 (6958): 577-584.
- [11] XU J, LAMOUILLE S, DERYNCK R. TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Cell Res*, 2009, 19 (2): 156-172.
- [12] PENG D, FU M, WANG M, et al. Targeting TGF- $\beta$  signal transduction for fibrosis and cancer therapy[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1): 104.
- [13] VUKOTIĆ M, KAPOR S, DRAGOJEVIĆ T, et al. Inhibition of proinflammatory signaling impairs fibrosis of bone marrow mesenchymal stromal cells in myeloproliferative neoplasms[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54 (3): 273-284.
- [14] ÖHLUND D, HANDLY - SANTANA A, BIFFI G, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer[J]. *J Exp Med*, 2017, 214 (3): 579-596.
- [15] HU Y, DONG Z, LIU K. Unraveling the complexity of STAT3 in cancer: molecular understanding and drug discovery[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43 (1): 23.
- [16] JIN X, DENG Q, YE S, et al. Cancer-associated fibroblast-derived periostin promotes papillary thyroid tumor growth through integrin-FAK-STAT3 signaling[J]. *Theranostics*, 2024, 14 (7): 3014-3028.
- [17] MACE T A, AMEEN Z, COLLINS A, et al. Pancreatic cancer-associated stellate cells promote differentiation of myeloid-derived suppressor cells in a STAT3-dependent manner[J]. *Cancer Res*, 2013, 73 (10): 3007-3018.
- [18] HAMADA S, MASAMUNE A, YOSHIDA N, et al. IL-6/STAT3 plays a regulatory role in the interaction between pancreatic stellate cells and cancer cells[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61 (6): 1561-1571.
- [19] YUE L, XUE T, SU X, et al. Discovery and evaluation of phenacrylanilide derivatives as novel potential anti-liver fibrosis agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 242: 114685.
- [20] ZHANG Y, JIN Z, ZHOU H, et al. Suppression of prostate cancer progression by cancer cell stemness inhibitor napabucasin[J]. *Cancer Med*, 2016, 5 (6): 1251-1258.
- [21] LIU C J, HU F F, XIA M X, et al. GSCALite: a web server for gene set cancer analysis[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34 (21): 3771-3772.
- [22] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2019, 394 (10207): 1467-1480.

(2025-10-09收稿;2025-11-04修回)

(本文编辑:袁春英)