

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.16.009

肿瘤相关成纤维细胞对非小细胞肺癌恶性生物学行为影响*

王 竞 孙 茜 封 冰 陈巍魏 褚晓源[△]

(中国人民解放军东部战区总医院 肿瘤科 江苏 南京 210000)

摘要 目的:探讨肿瘤相关成纤维细胞(Tancer Associated Fibroblast, TAF)对非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC)恶性生物学行为的影响。**方法:**选取在本院肿瘤科住院手术的非小细胞肺癌患者,收集术后肺癌标本,马松三色染色(Masson Trichrome Stain)和天狼星红染色(Sirius Red Stain)观察肺癌组织(Lung Cancer Tissue, LCT)、癌旁组织(Pericarcinomatous Tissue, PCT)和正常组织(Normal Tissue, NT)中 TAF 的表达情况;体外将非小细胞肺癌细胞 A549 与非小细胞肺癌成纤维细胞 P-gp 共培养, CCK-8 检测共培养前后 A549 细胞增殖能力;细胞划痕和 Trans-well 实验分别检测 A549 细胞迁移和侵袭能力; qRT-PCR 和 Western blot 检测 A549 细胞上皮间质转化(Epithelial Mesenchymal Transition, EMT)标志蛋白 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 的表达。**结果:**Masson 和 Sirius 染色结果显示:肺癌组织中纤维的表达明显高于癌旁组织;与 P-gp 共培养的 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力及上皮间质转化相关蛋白 N-cadherin 和 Vimentin 表达均明显高于阴性对照组($P<0.05$),而 E-cadherin 的表达明显降低($P<0.05$)。**结论:**TAF 可能通过诱导非小细胞肺癌细胞 EMT 的发生从而促进非小细胞肺癌的增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为。

关键词:肿瘤相关成纤维细胞;非小细胞肺癌;增殖;迁移;侵袭;上皮间质转化

中图分类号:R-33;R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)16-3049-06

Effect of Tumor Associated Fibroblasts on the Malignant Biological Behavior of Non-small Cell Lung Cancer*

WANG Jing, SUN Qian, FENG Bing, CHEN Wei-wei, CHU Xiao-yuan[△]

(Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu, 210000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of tumor-associated fibroblast (TAF) on the malignant biological behavior of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Patients with non-small cell lung cancer who were hospitalized in our oncology department were enrolled. Postoperative lung cancer specimens, Masson trichrome stain and sirius red stain were used to observe the lung cancer tissue (Lung Cancer Tissue, Expression of TAF in LCT), Pericarcinomatous tissue (PCT) and normal tissue (NT); the non-small cell lung cancer cell A549 was co-cultured with non-small cell lung cancer fibroblast P-gp *in vitro*, CCK8 was used to detect the proliferation of A549 cells; cell scratch and Trans-well assays were used to detect the migration and invasion of A549 cells; qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of epithelial mesenchymal transition (EMT) markers such as E-cadherin, N-cadherin and Vimentin in A549 cells. **Results:** Masson and Sirius staining showed that the expression of fiber in lung cancer tissues was significantly higher than that in the adjacent tissues. The proliferation, migration and invasion ability of A549 cells co-cultured with P-gp and the expression of N-cadherin and Vimentin were significantly higher than those of the negative control group ($P<0.05$), while the expression of E-cadherin was significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** TAF may promote the malignant biological behaviors such as proliferation, migration and invasion of non-small cell lung cancer by inducing the occurrence of EMT in the non-small cell lung cancer cells.

Key words: TAF; NSCLC; Proliferation; Migration; Invasion; EMT

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R734.2 **Documen code:** A

Article ID:1673-6273(2019)16-3049-06

前言

肺癌死亡率占恶性肿瘤中的 16%, 并且发病率逐年升高, 已成为严重影响人类身心健康和生活质量的疾病^[1,2]。肺癌主要分为小细胞肺癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC)和非小细胞肺

癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC), 并且以非小细胞肺癌患者为主^[3]。研究表明多种因素参与了非小细胞肺癌复杂的发生发展过程, 其高转移性和侵袭性是个多步骤发生的过程。研究表明肿瘤微环境(Tumor Microenvironment, TME)与肺癌的发生发展过程密切相关^[4-6]。肿瘤微环境是指环绕在肿瘤组织周围

* 基金项目: 全军青年人才资助项目(JDB01528-0113-045)

作者简介: 王竞(1989-), 硕士, 主要研究方向: 肺癌及分子机制, E-mail: 947457195@sina.com

[△] 通讯作者: 褚晓源(1968-), 主任医师, 主要研究方向: 肿瘤分子机制, E-mail: 505408436@qq.com, 电话: 17792201089

(收稿日期: 2018-12-07 接受日期: 2018-12-31)

的包括肿瘤细胞、肿瘤相关成纤维细胞、炎症因子和免疫细胞,间充质细胞以及附近区域的间质和浸润在其中的生物分子^[7-9]。其中,肿瘤成纤维细胞(TAF)在肿瘤微环境中起重要的作用,为肿瘤维持稳定的微环境,有利于其增殖以及进行远端转移形成新的病灶^[10]。

上皮间充质转化 (Epithelial Mesenchymal Transformation, EMT)是诱导肿瘤发生转移的重要原因,肿瘤细胞发生 EMT 的同时可以刺激肿瘤细胞表型和特性发生变化,转化成肿瘤干细胞(Cancer Stem Cells CSC),游离至其他部位形成转移灶^[5]。研究表明在胃癌、结肠癌和肝癌等肿瘤组织中,肿瘤成纤维细胞可以诱导 EMT^[9]。肿瘤成纤维细胞能够刺激乳腺癌和结肠癌细胞在 EMT 的调节下去分化转变成 CSC。但是肿瘤成纤维细胞在非小细胞肺癌肿瘤组织中表达情况及其作用尚不完全明确。因此,本研究采用非小细胞肺癌患者肿瘤组织和非小细胞肺癌细胞系 A549,主要探讨了肿瘤成纤维细胞是否通过促进 EMT 相关蛋白表达从而影响非小细胞肺癌恶性生物行为。

1 材料和方法

1.1 组织标本

本研究共纳入肿瘤科 2016 年 6 月 -2018 年 5 月收治的 78 例非小细胞肺癌患者。所有患者均经过病理检验科诊断证实,均未经过任何治疗。实验方法和目的均告知患者和家属,并签署知情同意书,研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 材料

非小细胞肺癌细胞系 A549 和肺癌相关成纤维细胞 P-gp 购自中科院上海细胞库,蛋白定量试剂盒、SDS 凝胶试剂盒、细胞裂解液、结晶紫、高锰酸钾、草酸、冰醋酸和磷钨酸均购自西安科昊生物有限公司,蛋白酶抑制剂购自罗氏试剂生物有限公司,高糖 DMEM 培养基、优级胎牛血清、胰蛋白酶消化液均购自美国 HyClone,青链霉素混合液、4%多聚甲醛、天狼星红染液、苯胺蓝和苏木素均购自北京碧云天有限公司,Actin、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 抗体购自英国 Abcam,ECL 化学发光试剂盒购自美国 Advansta,兔二抗购自英国 Abcam,Trans-well 小室购自康宁。

1.3 方法

1.3.1 马松三色染色 10%福尔马林固定肿瘤组织,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,石蜡切片脱蜡至水洗,高锰酸钾氧化 5 min,PBS 冲洗 2 min,浸入草酸中漂白 5 min,PBS 冲洗后再洗 1 min,0.2%冰醋酸脱洗,0.4%磷钨酸中分化 5 min,弃去废液浸入 2%苯胺蓝染色 5 min,0.2%冰醋酸脱洗,风干后二甲苯封片。

1.3.2 天狼星红染色 10%福尔马林固定肿瘤组织,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,石蜡切片脱蜡至水洗,浸入 0.1%天狼星红染液中 1 h,PBS 洗涤 5 min,苏木素染色 5 min,梯度乙醇脱水,风干后二甲苯封片。

1.3.3 CCK-8 增殖实验 调整 A549 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组 A549 细胞直接铺板,实验组 P-gp 与 A549 细胞 1:1 的比例分别接种于 0.40 μm 的 Trans-well 小室上室和下室,每孔 100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱内培养 12 h、24 h 和 48 h。培养结束后每孔加入 20 μL 的 CCK-8,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱内

培养避光孵育 3 h,室温于摇床震荡 10 min。酶标仪 490 nm 波长测出同一时间点 OD 值,用测得的 OD 值进行细胞增殖影响的分析。

1.3.4 细胞划痕实验 调整 A549 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组 A549 细胞直接铺板,实验组 P-gp 与 A549 细胞 1:1 的比例分别接种于 0.40 μm 的 Trans-well 小室上室和下室,培养箱设定 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 进行培养,每孔 2 mL DMEM 培养液,细胞密度至 80%时,细胞划痕,划痕后更换无血清培养液,各组记为 0 h 并分别拍照,以后 6 h、12 h、24 h 各拍照一次。

1.3.5 Trans-well 侵袭实验 将 20 μL Matrigel BD 胶(1 mg/mL)冰上操作铺于 8 μm Trans-well 小室底部,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱静置 1 h。调整 A549 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组 A549 细胞直接铺板,实验组 P-gp 与 A549 细胞 1:1 的比例分别接种于 0.40 μm 的 Trans-well 小室上室和下室,培养箱设定 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 ,下室 600 μL DMEM 完全培养液,12 h 过后 PBS 洗 3 次,4%多聚甲醛固定 30 min,室温风干,0.1%结晶紫染色 10 min,PBS 洗 3 遍,用棉签轻轻擦去上层未迁移的细胞,33%乙酸脱色,450 nm 读数。

1.3.6 qRT-PCR 调整 A549 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组 A549 细胞直接铺板,实验组 P-gp 与 A549 细胞 1:1 的比例分别接种于 0.40 μm 的 Trans-well 小室上室和下室,培养箱设定 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 进行培养细胞密度 80%时收集细胞,严格按照试剂盒步骤提取、定量、反转录和 PCR 反应。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Sequences of primers

E-cadherin	序列 (5' -3')
Forward	ATTTTCCCTCGACACCCGAT
Reverse	TCCCAGGCGTAGACCAA
N-cadherin	
Forward	AGCCAACCTTAACTGAGGAGT
Reverse	GGCAAGTTGATTGGAGGGATG
Vimentin	
Forward	TGTGACAAGGAATATGTGAGC
Reverse	AGCCCTCAGATTGACCTG
Actin	
Forward	ACCCACTCCTCCACCTTTG
Reverse	CACCACCCTGTTGCTGTAG

1.3.7 Western Blot 调整 A549 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组 A549 细胞直接铺板,实验组 P-gp 与 A549 细胞 1:1 的比例分别接种于 0.40 μm 的 Trans-well 小室上室和下室,培养箱设定 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 进行培养,80%细胞密度时收集细胞,PBS 洗涤 1 min 后加含有蛋白酶抑制剂的裂解液放置冰上裂解,30 min 后高速离心吸抽蛋白。蛋白定量完成后加上样缓冲液,沸水煮 5 min。SDS-PAGE 电泳后进行转膜操作,转膜成功后用脱脂牛奶进行封闭,PBST 清洗,均为 1:1000 稀释一抗,室温孵育 1 h 后 4 度过夜。次日反复清洗条带,加二抗室温孵育 90 min,PBS

反复冲洗,发光拍照。

1.4 统计学分析

所有数据应用 SPSS 17.0 软件进行统计,计量资料均以均值 + 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TAF 在 NSCLC 患者肺癌组织、癌旁组织和正常组织中的表达情况

首先,用 Masson 染色和 Sirius 染色检测 TAF 在 NSCLC 患者不同组织中的表达情况,结果显示 NSCLC 患者肺癌组织中 TAF 的表达显著高于癌旁组织和正常组织,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

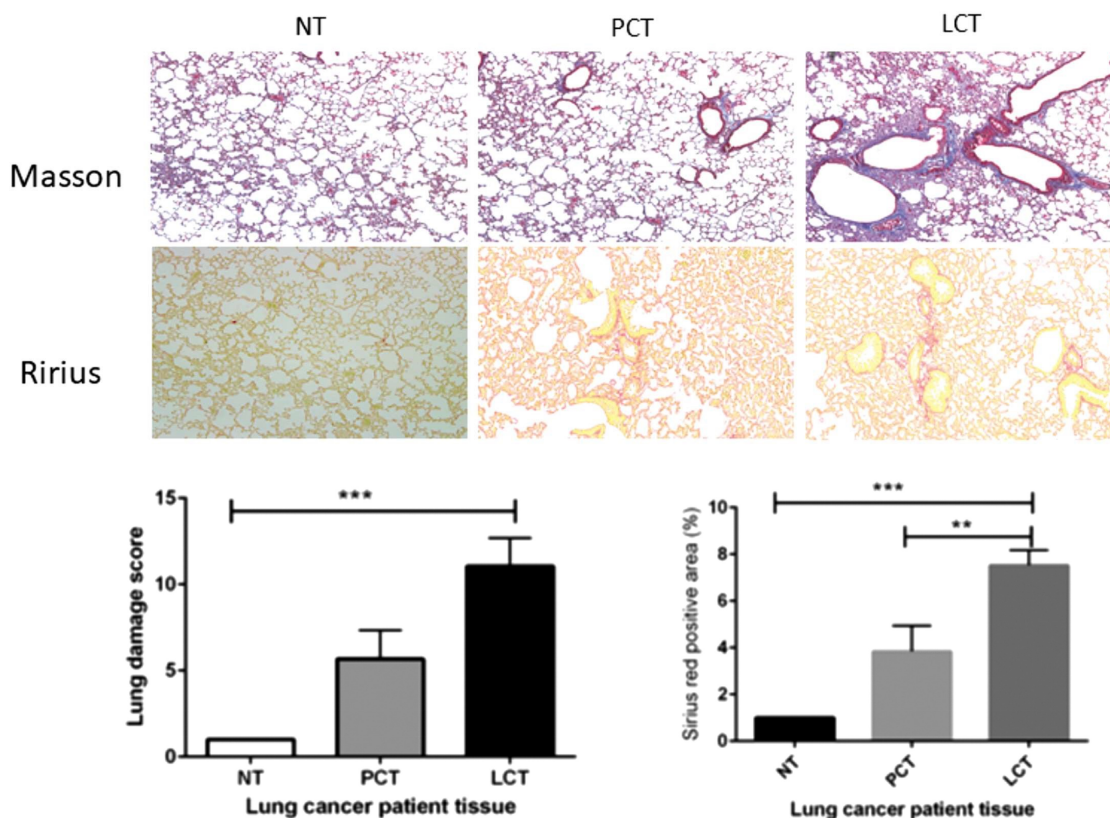


图 1 肿瘤相关成纤维细胞在非小细胞肺癌患者组织中的表达

Fig.1 Expression of tumor-associated fibroblasts in the tissues of patients with non-small cell lung cancer

2.2 P-gp 细胞共培养促进 A549 细胞增殖

CCK-8 结果显示:与 P-gp 细胞分别共培养 12 h、24 h 和 48 h 后,A549 细胞增殖能力显著增强,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

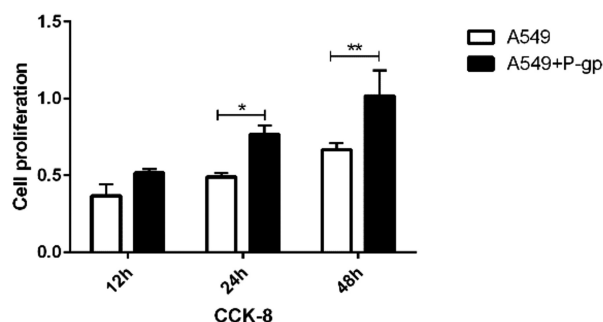


图 2 P-gp 细胞共培养对 A549 细胞增殖能力影响

Fig.2 Effect of P-gp co-culture on the proliferation of A549 cells

2.3 P-gp 细胞共培养后促进 A549 细胞划痕愈合

与 P-gp 细胞共培养后,A549 细胞划痕愈合能力明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

2.4 P-gp 细胞共培养后促进 A549 细胞侵袭

在与 P-gp 细胞共培养后,A549 细胞的侵袭能力明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 4。

2.5 P-gp 细胞共培养后诱导 A549 细胞 EMT

qRT-PCR 和 Western blot 结果显示共培养后,A549 细胞 EMT 标志蛋白 E-cadherin 表达显著下降,而 N-cadherin 和 Vimentin 的表达明显高于对照组 A549 细胞,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 5。

3 讨论

肺癌是目前临床上常见的癌症之一,主要分为小细胞肺癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC),其中非小细胞肺癌治疗难度高,患者手术后复发率高^[1]。非小细胞肺癌肿瘤细胞的增殖、高转移性和侵袭性等恶性生物学行为导致患者被确诊时多已处于中晚期,错过了最佳的手术治疗时期^[13,14]。非小细胞肺癌肿瘤细胞主要扩散远端转移到肝脏形成新的病灶,进一步加重患者的病情。非小细胞肺癌的发生发展是个多基因参与多因素造成的复杂过

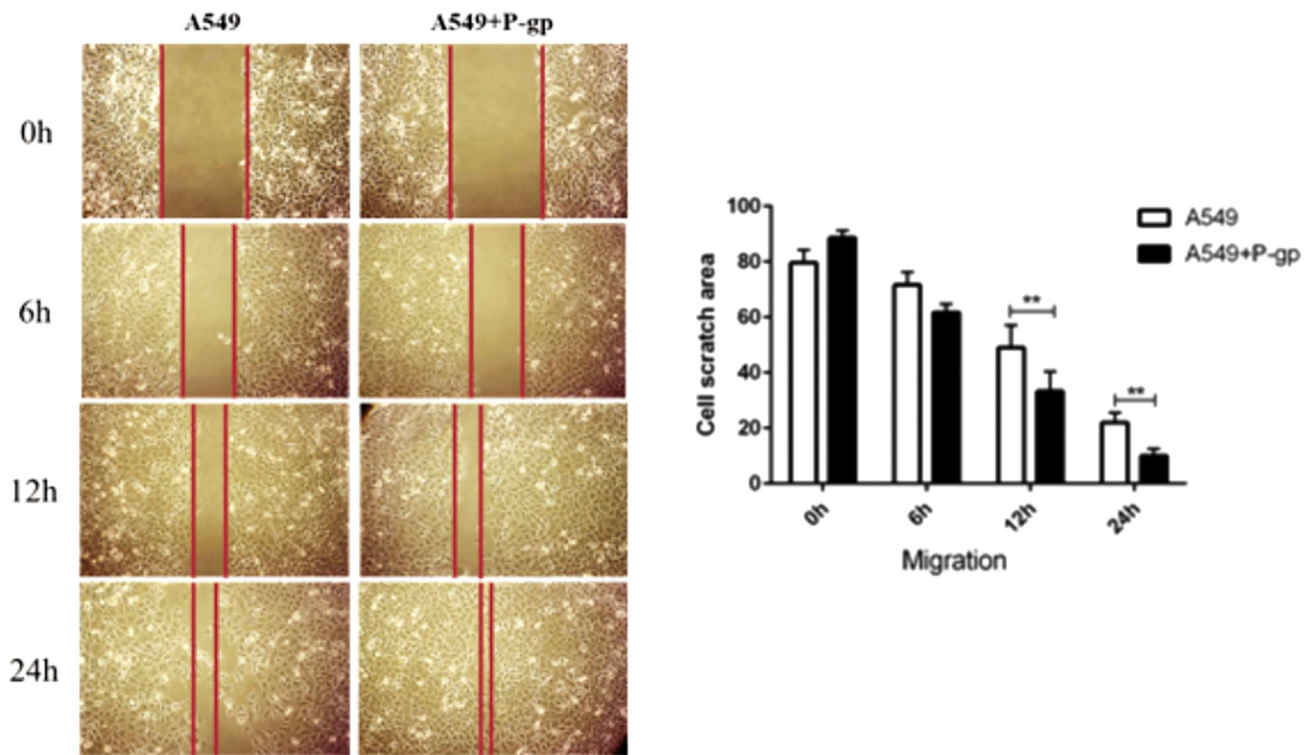


图 3 P-gp 细胞共培养对 A549 细胞划痕愈合能力影响

Fig. 3 Effect of P-gp co-culture on the scratch healing ability on A549 cells

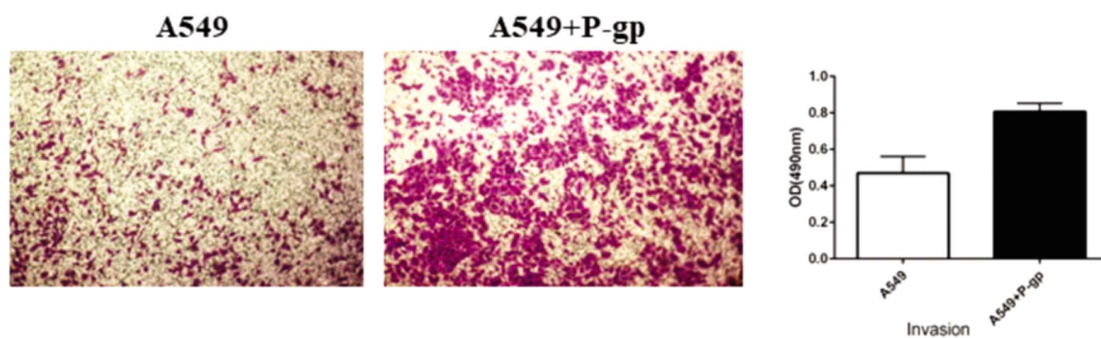


图 4 P-gp 细胞共培养对 A549 细胞侵袭能力影响

Fig. 4 Effect of P-gp co-culture on the invasive ability of A549 cells

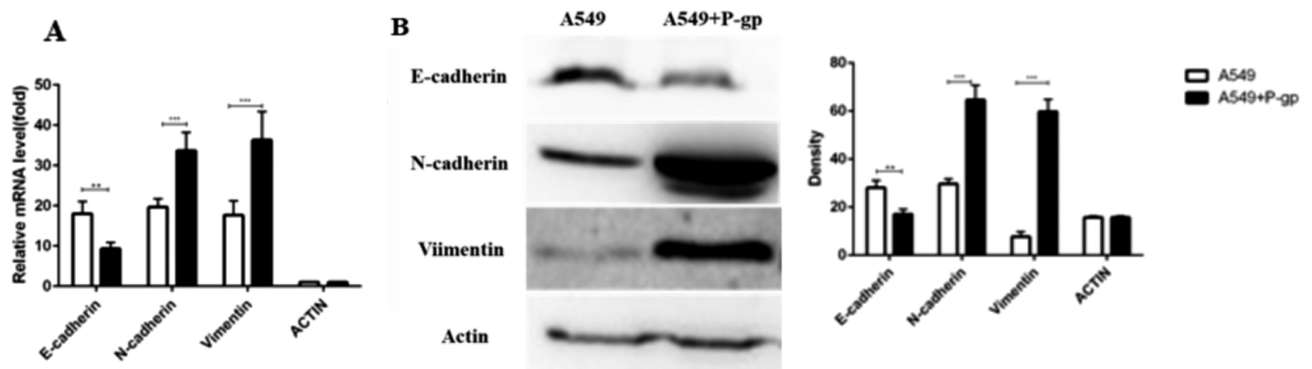


图 5 A: qRT-PCR 检测 P-gp 细胞共培养对 A549 细胞 EMT 标志蛋白变化影响; B: Western blot 检测共 P-gp 细胞培养对 A549 细胞 EMT 标志蛋白变化影响

Fig.5 A: qRT-PCR assay for the effect of P-gp co-culture on the EMT marker protein in A549 cells; B: Western blot analysis of the effect of P-gp co-culture on the EMT marker protein expression in A549 cells

程,目前临床上没有单一的疗法可以控制其增殖转移以及侵袭,因此非小细胞肺癌发生发展的分子机制和治疗新方法一直是研究热点^[15-17]。

肿瘤微环境(TME)是指肿瘤基质中的各种细胞包括普通肿瘤细胞、成纤维细胞、免疫细胞、间充质细胞以及附近区域的间质和浸润在其中的生物分子等组成的胞外环境^[18,19]。肿瘤微环境为肿瘤细胞提供了有力的生存环境,导致肿瘤细胞逃脱免疫系统攻击,在体内随着淋巴液、血液等转移到其他器官形成新的病灶^[20,21]。其中,成纤维细胞在肿瘤微环境中起到重要的作用,有研究表明在结肠癌组织中的肿瘤相关成纤维细胞分泌的肝细胞生长因子(Hepatocyte Growth Factor, HGF)能够刺激结肠癌细胞转变成成为肿瘤干细胞(Cancer Stem Cells, CSC),从而促进结肠癌细胞的增殖、转移和侵袭性^[22-24]。此外,有研究证实在胃癌组织中肿瘤相关成纤维细胞可以分泌骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)和干细胞衍生因子(Stem Cell Derived Factor 1, SDF1),两种因子均可增加胃癌细胞的恶性生物学行为^[25,26]。

肿瘤细胞微环境中同时存在肿瘤成纤维细胞分泌胶原的生理过程。肿瘤成纤维细胞分泌的胶原会促进肿瘤的生成和进展。脯氨酰羟化酶、赖氨酰氧化酶可以促进乳腺肿瘤中的成纤维细胞分泌胶原,导致肿瘤微环境中胶原沉积^[17]。基质金属蛋白酶可以促进肿瘤相关成纤维细胞的胶原分泌,因此抑制基质金属蛋白酶的活性和表达可作为一个抑癌的直接作用靶点,比如,MAKP 信号通路就是通过刺激金属蛋白酶活性从而促进肿瘤相关成纤维细胞分泌胶原来促进胰腺癌的发生发展^[22]。甲硫氨酸 tRNA 可以通过刺激成纤维细胞胶原的分泌,进而促进卵巢癌的生长和肿瘤内血管的生成。乳腺癌中,成纤维细胞通过分泌胶原促进黏附、侵袭和转移等过程导致肿瘤发生转移,体内外试验表明成纤维细胞缺乏均可以抑制肿瘤细胞增殖,减少肿瘤细胞凋亡^[19]。结直肠癌肝转移与IV型胶原蛋白的增高密切相关,发生肝转移的结直肠癌原发灶基质中IV型胶原蛋白高表达。肿瘤相关成纤维细胞重塑一个富含胶原蛋白的基质,胶原密度增加使得基质增厚和硬化,促进细胞迁移、肿瘤转移^[25]。另外在子宫内膜癌组织中,肿瘤成纤维细胞可以通过分泌 IL-17 增强其对化疗的抵抗^[13]。事实上,肿瘤成纤维细胞在多种肿瘤组织诱导了 M2 型巨噬细胞的活化和上皮间充质转化(EMT)^[23,27]。

EMT 是肿瘤细胞发生转移侵袭的经典分子机制,是指在特定的生理和病理情况下,具有极性的上皮细胞向具有迁移能力的间充质细胞发生转化的现象。发生 EMT 后,标志蛋白 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达量下调,E-cadherin 的缺失使得上皮细胞从原发性肿瘤分离脱落并且获得能动性,但是在发生 EMT 时 N-cadherin 表达量增加,促进 EMT 的发生并促使血管再生,增加肿瘤细胞的侵袭和转移能力^[27]。EMT 是肿瘤转移和形成远端病灶的主要原因。E-cadherin 介导的细胞黏附结构丧失,使肿瘤细胞获得能动性,因而被认为是肿瘤发生发展中的重要因素^[28,29]。肿瘤细胞 EMT 被激活时,E-cadherin 可以使肿瘤细胞之间的相互作用和极性丧失,从而使肿瘤细胞获得侵袭和迁移的能力,同时使得波形蛋白(Vimentin)和 N-钙粘蛋白(N-cadherin)在内的间充质蛋白分子的表达增加。越来越多的研

究证明肿瘤相关成纤维细胞可通过调控上皮-间质转化在肿瘤转移的过程中发挥重要作用^[30]。但是肿瘤相关成纤维细胞对非小细胞肺癌的增殖、转移和侵袭影响以及对非小细胞肺癌发生 EMT 时的作用尚不完全明确。

本研究结果显示肿瘤相关成纤维细胞在非小细胞肺癌患者肿瘤组织中的表达高于癌旁组织和正常组织,提示非小细胞肺癌的发生发展和肿瘤相关成纤维细胞表达有着密切的关系。体外细胞实验表明肿瘤相关成纤维细胞能够促进非小细胞肺癌 A549 细胞的增殖能力、细胞迁移和侵袭能力,与肿瘤组织中成纤维细胞表达检测结果一致,说明肿瘤相关成纤维细胞促进了非小细胞肺癌的转移和形成远端病灶的能力。此外,肿瘤相关成纤维细胞和非小细胞肺癌细胞共培养后 E-cadherin 表达显著下降,而 N-cadherin 和 Vimentin 的表达明显增高,提示肿瘤成纤维细胞很可能通过抑制 EMT 的标志蛋白 E-cadherin,上调 N-cadherin 和 Vimentin 表达,激活 EMT 发生从而增强非小细胞肺癌的增殖、转移和形成远端病灶。

综上所述,肿瘤相关成纤维细胞可能通过抑制 E-cadherin 表达,上调 N-cadherin 和 Vimentin 表达激活了非小细胞肺癌 EMT,从而促进非小细胞肺癌形成转移病灶。而非小细胞肺癌患者体内肿瘤相关成纤维细胞来源何处,其通过分泌何种细胞因子来调控非小细胞肺癌的发生发展均有待于进一步的研究证实。

参考文献(References)

- [1] 郭寒菲,丁筱,崔久宽. 肺癌免疫治疗的研究进展 [J]. 山东医药, 2018, (12): 101-104
- [2] 臧瑜,于虹,李妍,等. 肺癌患者症状群的调查研究 [J]. 中华护理杂志, 2016, (03): 316-320
- [3] Prabhu V V, Elangovan P, Devaraj S N, et al. Targeting apoptosis by 1,2-diazole through regulation of EGFR, Bcl-2 and CDK-2 mediated signaling pathway in human non-small cell lung carcinoma A549 cells[J]. Gene, 2018[Epub ahead of print]
- [4] 周新,陈佳骏,肖前仁,等. 肿瘤相关巨噬细胞促进尤文肉瘤细胞增殖、侵袭及血管拟态形成[J]. 肿瘤, 2018, (04): 283-290
- [5] Yao W, Yan L, Han L, et al. The CDR1as/miR-7/TGFBR2 axis modulates EMT in silica-induced pulmonary fibrosis [J]. Toxicol Sci, 2018[Epub ahead of print]
- [6] Chen Y, Luo X S, Zhao Z, et al. Summer-winter differences of PM2.5 toxicity to human alveolar epithelial cells (A549) and the roles of transition metals[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2018, 165: 505-509
- [7] Seyed Z, Hashemzadeh M R, Colagar A H, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 downregulation in J774A.1 cell line as a model of M2 macrophages in tumor microenvironment[J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(5): 1121-1125
- [8] 肖培,叶英楠,宁俊雅,等. IL-8 诱导的肿瘤相关巨噬细胞对肝细胞肝癌侵袭转移的影响[J]. 中国肿瘤临床, 2018, (02): 55-62
- [9] Jeong J H, Jang H J, Kwak S, et al. Novel TGF-beta1 inhibitor antagonizes TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in human A549 lung cancer cells[J]. J Cell Biochem, 2018[Epub ahead of print]
- [10] 朱军辉,金明,邱浩,等. Calreticulin 通过诱导细胞 EMT 促进鼻咽癌迁移和侵袭[J]. 中国病理生理杂志, 2018, (05): 925-929

- [11] Zhang J, Cai H, Sun L, et al. LGR5, a novel functional glioma stem cell marker, promotes EMT by activating the Wnt/beta-catenin pathway and predicts poor survival of glioma patients [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 225
- [12] Li K, Wei L, Huang Y, et al. Leptin promotes breast cancer cell migration and invasion via IL-18 expression and secretion [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(6): 2479-2487
- [13] 罗敏, 吴爱祥, 郑林龙, 等. 自噬在熊果酸抑制人肺癌 PC9 细胞增殖中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, (03): 464-468
- [14] 陈亚楠, 杨如, 许芝山, 等. 过表达 IL-18 抑制人结肠癌细胞 HCT-116 的增殖[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, (02): 142-147
- [15] Xiao Q, Zheng F, Tang Q, et al. Repression of PDK1- and LncRNA HOTAIR-Mediated EZH2 Gene Expression Contributes to the Enhancement of Atractylenolide 1 and Erlotinib in the Inhibition of Human Lung Cancer Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(4): 1615-1632
- [16] Pawar V K, Singh Y, Sharma K, et al. Improved chemotherapy against breast cancer through immunotherapeutic activity of fucoidan decorated electrostatically assembled nanoparticles bearing doxorubicin[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018[Epub ahead of print]
- [17] Shen Z, Seppanen H, Vainionpaa S, et al. IL10, IL11, IL18 are differently expressed in CD14⁺ TAMs and play different role in regulating the invasion of gastric cancer cells under hypoxia [J]. *Cytokine*, 2012, 59(2): 352-357
- [18] Krishnaswamy S, Bukhari I, Mohammed A K, et al. Identification of the splice variants of Recepteur d'Origine nantais (RON) in lung cancer cell lines[J]. *Gene*, 2018[Epub ahead of print]
- [19] Zhao X, Qu J, Liu X, et al. Baicalein suppress EMT of breast cancer by mediating tumor-associated macrophages polarization [J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(8): 1528-1540
- [20] Weimbs T. Are Cyst-Associated Macrophages in Polycystic Kidney Disease the Equivalent to TAMs in Cancer? [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018[Epub ahead of print]
- [21] van Rooijen J M, Qiu S Q, Timmer-Bosscha H, et al. Androgen receptor expression inversely correlates with immune cell infiltration in human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2018, 103: 52-60
- [22] 李程豪, 骆亚莉, 刘永琦, 等. 肿瘤微环境与中性粒细胞相互作用关系的研究进展[J]. *中国肿瘤*, 2018, (11): 847-850
- [23] 蔡莉, 胡金晨, 姜蕾, 等. 成纤维细胞活化蛋白和成纤维细胞特异性蛋白 -1 在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义[J]. *滨州医学院学报*, 2018, (05): 339-342
- [24] 马博昭, 王小东, 王金森, 等. 吡非尼酮抑制肿瘤相关成纤维细胞促进结肠癌细胞系 HT29 上皮间质转化的作用及机制 [J]. *天津医科大学学报*, 2018, (05): 399-403
- [25] 李莹歌, 姚颀, 宋启斌, 等. 肿瘤免疫治疗不容忽视的微环境: 癌相关成纤维细胞[J]. *肿瘤学杂志*, 2018, (11): 1060-1064
- [26] 孙祖刚, 刘硕, 王哲, 等. 炎症细胞和促炎性细胞因子在膀胱肿瘤炎症微环境中的作用概述 [J]. *湖北科技学院学报 (医学版)*, 2018, (05): 451-454
- [27] 彭娜, 康马飞. 上皮细胞-间充质转化与非小细胞肺癌预后和耐药关系研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2018, (21): 3327-3330
- [28] 修秉波, 吴刚, 孙培春, 等. 肿瘤相关成纤维细胞激活 Thy-1 调控胃癌细胞发生间质转化及迁移能力的研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, (07): 996-1000
- [29] 周丹, 许鹏程, 张敏, 等. 色素上皮衍生因子通过调控上皮间质转化抑制乳腺癌细胞侵袭和转移[J]. *南方医科大学学报*, 2018, (01): 1-7
- [30] 学峰, 乌新林. 癌相关成纤维细胞与 EMT 关系的研究进展 [J]. *内蒙古医科大学学报*, 2018, (04): 417-422

(上接第 3032 页)

- [21] Wang X, Jin T, Chang S, et al. In vitro differentiation and mineralization of dental pulp stem cells on enamel-like fluorapatite surfaces[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2012, 18(11): 821-830
- [22] Wang YY, Zhu NX, Zhao YM, et al. Mineralisation Influence of Betamethasone on Lipopolysaccharide-Stimulated Dental Pulp Cells [J]. *Chin J Dent Res*, 2019, 22(2): 123-129
- [23] Di Benedetto A, Brunetti G, Posa F, et al. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from dental bud: Role of integrins and cadherins[J]. *Stem Cell Res*, 2015, 15(3): 618-628
- [24] Xiao J, Cao P, Wang C, et al. The Forkhead Box C1, a Novel Negative Regulator of Osteogenesis, Plays a Crucial Role in Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells [J]. *Cell Reprogram*, 2018, 20(5): 312-319
- [25] Jin GZ, Kim HW. Co-culture of Human Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells Using Porous Biopolymer Microcarriers: A Feasibility Study for Bone Tissue Engineering [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2017, 14(4): 393-401
- [26] Fan X, Teng Y, Ye Z, et al. The effect of gap junction-mediated transfer of miR-200b on osteogenesis and angiogenesis in a co-culture of MSCs and HUVECs[J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(13): 216135
- [27] Peters EB. Endothelial Progenitor Cells for the Vascularization of Engineered Tissues[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2018, 24(1): 1-24
- [28] H. Chopra, M. K. Hung, D. L. Kwong, et al. Insights into Endothelial Progenitor Cells: Origin, Classification, Potentials, and Prospects[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 9847015
- [29] Yadav M, Agrawal H, Pandey M, et al. Three-dimensional culture of buffalo granulosa cells in hanging drop mimics the preovulatory follicle stage[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 1959-1970
- [30] Sueyama Y, Kaneko T, Ito T, et al. Implantation of Endothelial Cells with Mesenchymal Stem Cells Accelerates Dental Pulp Tissue Regeneration/Healing in Pulpotomized Rat Molars[J]. *J Endod*, 2017, 43(6): 943-948