

缺氧微环境中胰腺星状细胞通过 CCL7/CCR5 轴促进胰腺癌侵袭

吴 颢^{1,2,3}, 刘东方^{1,3}, 张 纯⁴, 陆子鹏^{1,2,3}, 彭云鹏^{1,3}, 蔡宝宝^{1,2,3}, 吴鹏飞^{1,2,3}, 田 蕾^{1,2,3}, 钱 栋^{1,3}, 袁 昊^{1,3}, 时国东^{1,3}, 朱 毅^{1,2,3}, 张静静^{1,2,3}, 蒋奎荣^{1,2,3*}

(¹南京医科大学胰腺研究所, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学第一附属医院胰腺中心, ³普外科肿瘤实验室, 江苏 南京 210029; ⁴南京医科大学附属上海松江中心医院消化内科, 上海 201600)

[摘要] 目的:探讨缺氧状态下胰腺星状细胞的单核细胞趋化因子 7(C-C motif chemokine ligand 7, CCL7)表达情况及其对胰腺癌侵袭的影响。方法:通过组织块外植法获得人肿瘤相关胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs),于常氧(20% O₂)、缺氧(1% O₂)下培养,并通过人趋化因子抗体芯片技术分析其上清液中多种趋化因子的表达差异;通过加入不同浓度外源性人重组蛋白 CCL7(0、1、10、100 ng/mL)研究趋化因子 CCL7 与胰腺癌细胞侵袭之间的浓度依赖关系;使用慢病毒转染、Transwell 等技术着重分析缺氧 PSCs 过表达的 CCL7 促胰腺癌侵袭的作用。结果:相较于常氧培养 PSCs,缺氧培养 PSCs 的条件培养基可显著增强胰腺癌侵袭能力($P < 0.05$);缺氧培养下 PSCs 上清液中 CCL7 相较于常氧培养显著高表达(fold change=2.38);外源性重组 CCL7 蛋白(0、1、10、100 ng/mL)可显著增加胰腺癌细胞(Miapaca-2、Colo357)侵袭能力,且呈浓度依赖关系。流式细胞术检测 CCL7 受体(CCR1、CCR2、CCR3、CCR5)表达,显示胰腺癌细胞(Miapaca-2、Colo357)仅有 CCR5 高表达。Western blot 印迹显示,缺氧诱导 PSCs 高表达 CCL7 并促胰腺癌侵袭的过程中存在 EMT 改变,即 E-cadherin 表达下降, Vimentin、N-cadherin 表达上升。结论:缺氧可诱导 PSCs 高表达 CCL7,并通过 CCL7/CCR5 轴促进胰腺癌细胞迁移和侵袭,其机制可能与诱导胰腺癌上皮间质化有关。

[关键词] 缺氧;胰腺星状细胞;胰腺癌;CCL7;CCR5;上皮间质化

[中图分类号] R735.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)05-0521-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20170501

Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma induce cancer cell migration and invasion via CCL7/CCR5 axis

Wu Yang^{1,2,3}, Liu Dongfang^{1,3}, Zhang Chun⁴, Lu Zipeng^{1,2,3}, Peng Yunpeng^{1,3}, Cai Baobao^{1,2,3}, Wu Pengfei^{1,2,3}, Tian Lei^{1,2,3}, Qian Dong^{1,3}, Yuan Hao^{1,3}, Shi Guodong^{1,3}, Zhu Yi^{1,2,3}, Zhang Jingjing^{1,2,3}, Jiang Kuirong^{1,2,3*}

(¹Pancreas Institute of NJMU, Nanjing 210029; ²Pancreas Center, ³Lab for Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ⁴Department of Digestive, Songjiang Branch Hospital Affiliated to NJMU, Shanghai 201600, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the influence of motif chemokine ligand 7 (CCL7) on pancreatic cell migration and invasion under hypoxic condition. **Methods:** We isolated cancer-associated pancreatic stellate cells (PSCs) by an outgrowth method, and analyzed the differences of chemokine expression in PSCs between hypoxia (1%) and normoxia (21%) by conducting a chemokine antibody array. By adding different concentration of recombinant protein CCL7 (0 ng/mL, 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL) to the lower chamber containing 0.1% FBS DMEM, cell invasion assays were performed to determine the dose-dependent manner between CCL7 and invasion of pancreatic cancer cell (PCCs). By conducting Transwell invasion assays and lentiviral transfection, we were able to show that hypoxia induced secretion of CCL7 in PSCs, leading to increased invasion of PSCs. **Results:** Conditioned media from hypoxic PSCs enhanced PCCs invasiveness more intensely than that from normoxic PSCs ($P < 0.05$). Among various chemokines, which were related to invasiveness, CCL7 was one of the overexpressed molecules in supernatant of hypoxic PSCs. CCL7 recombinant protein (0 ng/mL, 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL) induced pancreatic cells migration in a dose-dependent manner. Pancreatic cells were shown to express CCR5 receptors for CCL7 detected by flow cytometry ($P < 0.05$). PSCs (Miapaca-2, Colo357), which were cul-

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81272382);江苏省六大人才高峰(2014-WSW-006)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jiangkuirong@njmu.edu.cn

tured with PSCs supernatant, were involved an epithelial mesenchymal transition (EMT) cascade. Furthermore, the inhibition of CCL7 by lentiviral transfection suppressed the EMT. **Conclusion:** Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma induce PCCs invasion via CCL7/CCR5 axis, of which the mechanism might included an epithelial mesenchymal transition (EMT) process.

[Key words] hypoxia; pancreatic stellate cell; pancreatic ductal adenocarcinoma; CCL7; CCR5; EMT

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(05): 521-525, 543]

胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 是一种恶性程度极高的肿瘤, 5 年生存率仅 8%, 在世界范围肿瘤相关致死因素中排第 7 位^[1], 在我国和发达国家中则分别排第 6 位^[2]和第 4 位^[3]。其预后较差的主要原因是早期诊断方法匮乏及癌症复发转移^[4]。缺氧微环境是实体恶性肿瘤的显著生理学特征之一, 表现为肿瘤坏死灶周边不同程度缺氧。缺氧微环境可促进上皮间质化、细胞外基质产生、基底膜降解、肿瘤细胞运动能力增加、肿瘤血管新生等, 在癌细胞侵袭转移过程中发挥重要作用^[5]。已有研究证实, 极度缺氧是胰腺癌微环境的显著特征之一, 它与胰腺癌周边致密的纤维结缔组织相关, 是导致胰腺癌恶性程度增加、化疗抵抗及癌症转移的重要因素, 胰腺星状细胞 (pancreatic stellate cells, PSCs) 则在间质纤维化及微环境缺氧中扮演着关键角色^[6]。缺氧状态下 PSCs 能够分泌多种细胞因子影响胰腺癌细胞微环境, 促进胰腺癌的发生发展^[7]。本研究旨在探讨缺氧微环境中 PSCs 通过 CCL7/CCR5 轴在胰腺癌细胞侵袭中发挥的作用及其可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人胰腺癌组织由南京医科大学第一附属医院胰腺中心 PDAC 患者行手术切除获得, 所有病例均经病理报告确定诊断。所有标本获取及细胞培养过程, 均已经患者知情同意并获得南京医科大学第一附属医院伦理协会审核通过。

人胰腺癌细胞株 Miapaca-2、Colo357 购自中科院上海细胞库, 由本实验室保存。DMEM 培养基、DMEM/F12 培养基、胎牛血清 (Gibico 公司, 美国); 引物 (南京 Realgene 公司); Transwell 小室 (Millipore 公司, 美国); Matrigel 胶 (BD Biosciences 公司, 美国); 兔抗人 E-cadherin 抗体 (CST 公司, 美国); 鼠抗人 N-cadherin 抗体 (Abcam 公司, 英国); 鼠抗人 Vimentin 抗体 (Abnova 公司, 美国); 兔抗人 CCL7 抗体 (Sigma 公司, 美国); 鼠抗人 β -actin 抗体、羊抗鼠第二抗体 (南京诺唯赞公司); CCL7 慢病毒载体 (上海吉玛公司); CCR1、CCR2、CCR3、CCR5 流式抗体 (Biole-

gend 公司, 美国); 人重组 CCL7 蛋白 (R&D 公司, 美国); 双抗母液 (青霉素 100 U/mL, 链霉素 100 μ g/mL, Thermo Scientific 公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 激活态的人 PSCs 提取

将无菌条件下留取手术切除的胰腺癌组织移至超净台, 生理盐水洗涤 3 次后放入玻璃皿, 切除脂肪部分后将剩余组织切成 1 mm \times 1 mm \times 1 mm 小块; 用镊子将小组织块贴入 6 孔板底, 每孔 6~8 块。置入 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱中 2 h 后取出, 每孔加 2 mL 含 20% FBS 的 DMEM/F12 培养液, 放回培养箱培养^[8]。取状态最佳的 3~7 代 PSCs 用于本实验。

1.2.2 细胞培养

PSCs 用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养, 人胰腺癌细胞系 (Miapaca-2、Colo357) 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养, 培养条件为 37 $^{\circ}$ C, 饱和湿度为 5% CO₂。PSCs 常氧 (normoxia, NO) 培养条件为 20% O₂、5% CO₂、74% N₂, 缺氧 (hypoxia, HO) 培养条件为 1% O₂、5% CO₂、94% N₂。

1.2.3 CCL7 沉默慢病毒转染 PSCs (sh-CCL7 PSCs)

CCL7 沉默慢病毒由上海吉玛公司设计合成, 并按照使用说明对 PSCs 进行转染。通过实时定量 PCR 和 Western blot 对沉默效率进行评估并选取转染效率最高的慢病毒载体。CCL7 沉默慢病毒序列 (RFP 标记): 5'-GAAAGCCTCTGCAGCACTTCT-3', 空载慢病毒序列 (RFP 标记): 5'-TTCTCCGAACGT-GTCACGT-3'。

1.2.4 Western blot 印迹

用 RIPA 裂解液加 1% PMSF 提取细胞总蛋白, BCA 法蛋白浓度定量试剂盒检测浓度, 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白质并转移至 PVDF 膜上, 在 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液中封闭 2 h, CCL7、Vimentin、N-cadherin、E-cadherin、 β -actin 抗体孵育过夜, 兔抗鼠二抗、鼠抗兔二抗孵育 1.5 h, ECL 发光试剂盒显影。

1.2.5 细胞侵袭能力检测

以 Matrigel 胶与 DMEM 以 1:6 稀释后, 取 100 μ L 加到 Transwell 上层小室中, 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h。取胰

腺癌细胞 Miapaca-2、Colo357 消化成单细胞悬液,用无血清 DMEM 重悬,按 5×10^4 个 /L 的浓度 $200 \mu\text{L}$ 接种于上室,下室加入无血清培养的 PSCs 上清液。 37°C 培养 48 h 后取出上室,棉签擦去上室中未能穿过膜的细胞。用 0.1% 结晶紫染色 30 min,倒置显微镜 100 倍下随机观察并计 3 个视野内穿过聚碳酸酯膜的细胞数,重复 3 次。

1.2.6 流式细胞术检测细胞膜蛋白

CCL7 的受体有 CCR1、CCR2、CCR3、CCR5,通过流式细胞术检测胰腺癌细胞系 (Miapaca-2、Colo357) 中 CCL7 各趋化因子受体的表达。胰腺癌细胞分管后在悬液中分别加入 CCR1-Alexa Fluor、CCR2-PerCP/Cy5.5、CCR3-PE、CCR5-APC 进行细胞膜表面分子染色,避光孵育后洗去多余抗体,分别进行避光染色,PBS 洗涤后上机检测,CCR1、CCR2、CCR3、CCR5 表达水平以荧光强度表示。

1.2.7 RNA 提取及实时定量 PCR

TRIzol 提取总 RNA。测定 RNA 浓度,取 $1 \mu\text{L}$ 总 RNA 进行反转录。定量 RT-PCR 采用 TaKaRa SYBR green 试剂盒,选择 β -actin 作为标准化内参。荧光定量 PCR 引物如下: β -actin 正义链:5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3',反义链 5'-CTGG-AAGGTGGACAGCGAG-3';CCL7 正义链 5'-GAGA-TCTGTGCTGACCCAC-3',反义链 5'-CCACTCTG-AGAAAGGACAGGG-3'。

1.2.8 外源性人重组蛋白 CCL7 的复原、存放及使用

外源性人重组 CCL7 蛋白根据使用说明操作,使用含 0.1% 牛血清白蛋白(BSA)的 PBS 溶液复原产品至 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$, -20°C 冷藏保存。Transwell 侵袭实验中以不同浓度 CCL7 (0、1、10、 $100 \text{ ng}/\text{mL}$) 作为干预条件分别加入相应 Transwell 下室 (下室内为 600 mL 含 0.1% FBS 的 DMEM)。

1.3 统计学方法

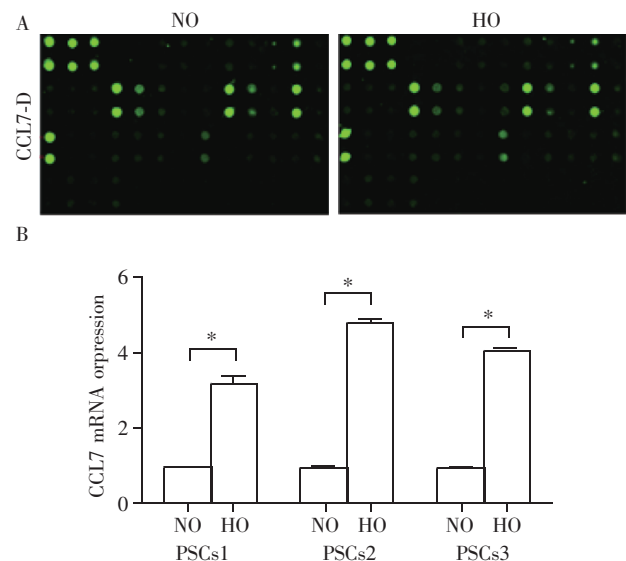
采用 SPSS11.0 进行统计分析,计量资料以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t*-test 与 LSD 法分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。每组实验独立重复 3 次以上。

2 结果

2.1 缺氧培养 PSCs 的 CCL7 表达较常氧培养显著增加

人趋化因子抗体芯片显示,原代分离并分别缺氧、常氧培养 24 h 的 3 株 PSCs 上清液中,缺氧培养 PSCs 的 CCL7 荧光强度显著增高,即 CCL7 分泌量

显著增加 (图 1A, fold change=2.38)。mRNA 表达水平,亦显著增高 (图 1B, $P < 0.05$)。



A: 人趋化因子抗体芯片分别检测 NO、HO PSCs 上清液,结果显示后者 CCL7 分泌量显著高于前者 (fold change=2.38); B: 原代培养 3 株 PSCs 的 RT-PCR 显示,缺氧状态下 PSCs 的 CCL7 mRNA 表达量显著高于常氧 PSCs, $*P < 0.05 (n=3)$ 。

图 1 缺氧诱导 PSCs 高表达 CCL7

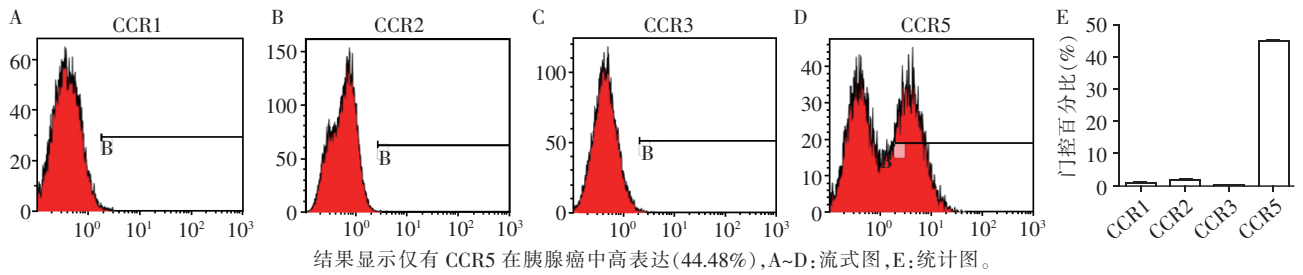
Figure 1 High expression of CCL7 in PSCs induced by hypoxia

2.2 CCL7 受体 (CCR1、CCR2、CCR3、CCR5) 在胰腺癌细胞中的表达情况

流式细胞术检测 Miapaca-2、Colo357 中 CCL7 各受体 (CCR1、CCR2、CCR3、CCR5) 荧光强度,结果显示在上述胰腺癌细胞株中仅有 CCR5 高表达 (图 2)。

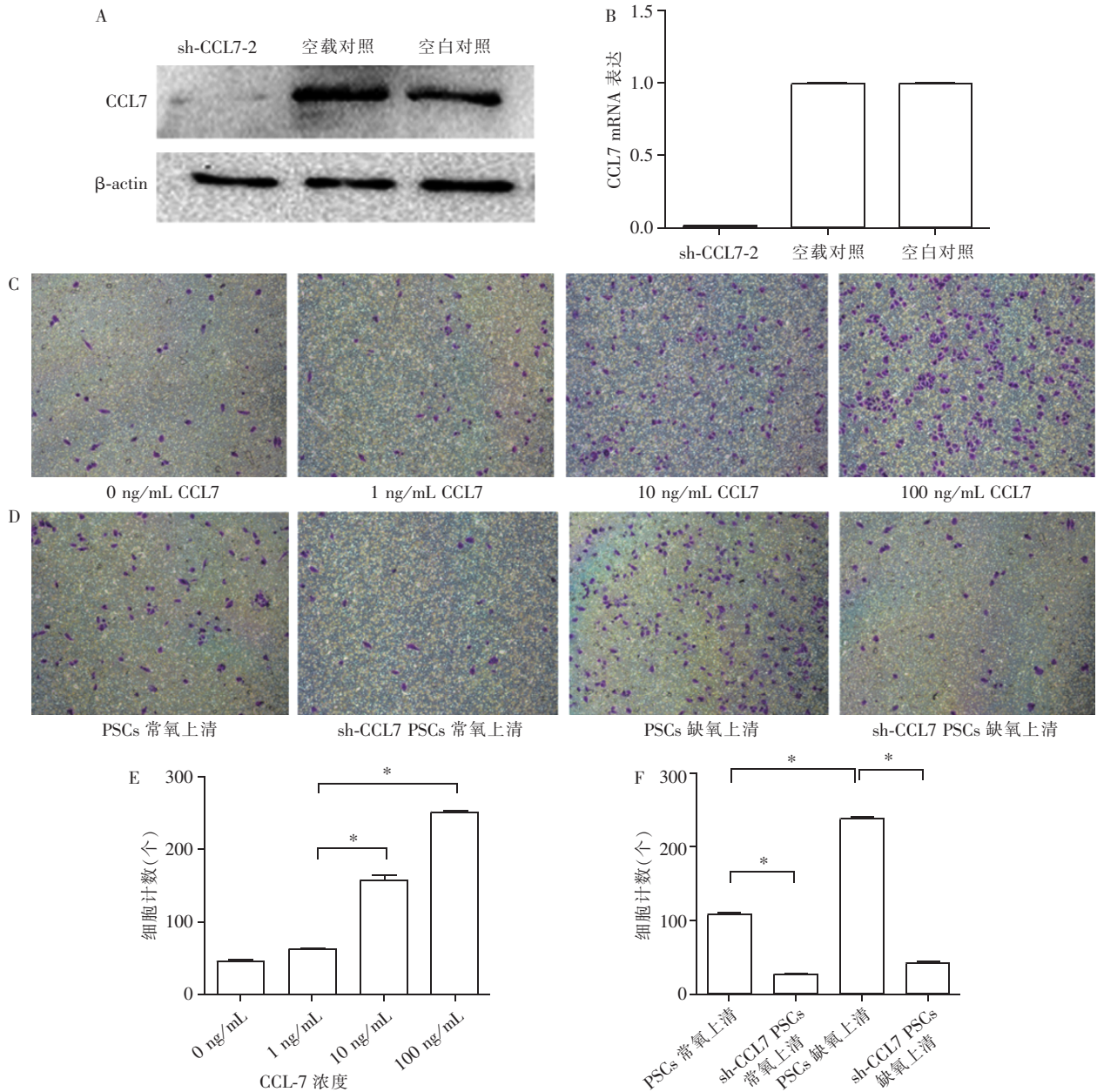
2.3 PSCs 的 CCL7 表达对胰腺癌细胞侵袭能力的影响

通过实时定量 PCR、Western blot 对沉默效率进行评估并选取转染效率最高的慢病毒载体 sh-CCL7-2 (图 3A、B),以下实验均采用 sh-CCL7-2 慢病毒。将胰腺癌细胞 (Miapaca-2、Colo357) 与含不同浓度的人重组 CCL7 蛋白 (0 $\text{ ng}/\text{ mL}$ 、1 $\text{ ng}/\text{ mL}$ 、10 $\text{ ng}/\text{ mL}$ 、100 $\text{ ng}/\text{ mL}$) 的无血清培养基分别加入 Transwell 小室上下层,48 h 后观察穿过 Matrigel 胶及微孔的癌细胞数,结果显示胰腺癌细胞侵袭能力随 CCL7 浓度增高而增强 (图 3C、E)。将胰腺癌细胞分别与以下 PSCs 上清共培养:①PSCs 常氧上清;②CCL7 沉默 PSCs 常氧上清;③PSCs 缺氧上清;④CCL7 沉默 PSCs 缺氧上清,结果显示:CCL7 沉默组较未沉默组的胰腺癌细胞侵袭能力显著下降,缺氧组较常氧组胰腺癌细胞侵袭能力显著上升 (图 3D、F)。



结果显示仅有 CCR5 在胰腺癌中高表达(44.48%),A~D:流式图,E:统计图。

图 2 流式细胞术检测 CCL7 受体 CCR1、CCR2、CCR3、CCR5 在胰腺癌细胞株 (Miapaca-2、Colo357) 中的表达
Figure 2 The expression of CCL7 receptors (CCR1、CCR2、CCR3、CCR5) in pancreatic cancer cells (Miapaca-2、Colo357)



A、B:通过实时定量 PCR、Western blot 对沉默效率进行评估并选取转染效率最高的慢病毒载体 sh-CCL7-2。C、E:Miapaca-2 细胞 3×10^5 个加入上室,下室加入不同浓度(0 ng/mL、1 ng/mL、10 ng/mL、100 ng/mL)的人重组 CCL7 蛋白,结果显示 CCL7 促进胰腺癌侵袭能力增强呈浓度依赖关系, * $P < 0.05$;D、F:Miapaca-2 细胞 3×10^5 个加入上室,下室加入不同条件培养基,结果显示在常氧和缺氧 PSCs 中 CCL7 沉默后,其促进胰腺癌侵袭能力均显著下降, * $P < 0.05$ ($n=3$)。

图 3 CCL7 促进胰腺癌侵袭能力增强,且呈浓度依赖关系
Figure 3 Dose-dependent invasion of pancreatic cancer cells induced by CCL7

2.4 缺氧微环境中 PSCs 通过 CCL7/CCR5 轴诱导胰腺癌细胞 EMT 并促进侵袭

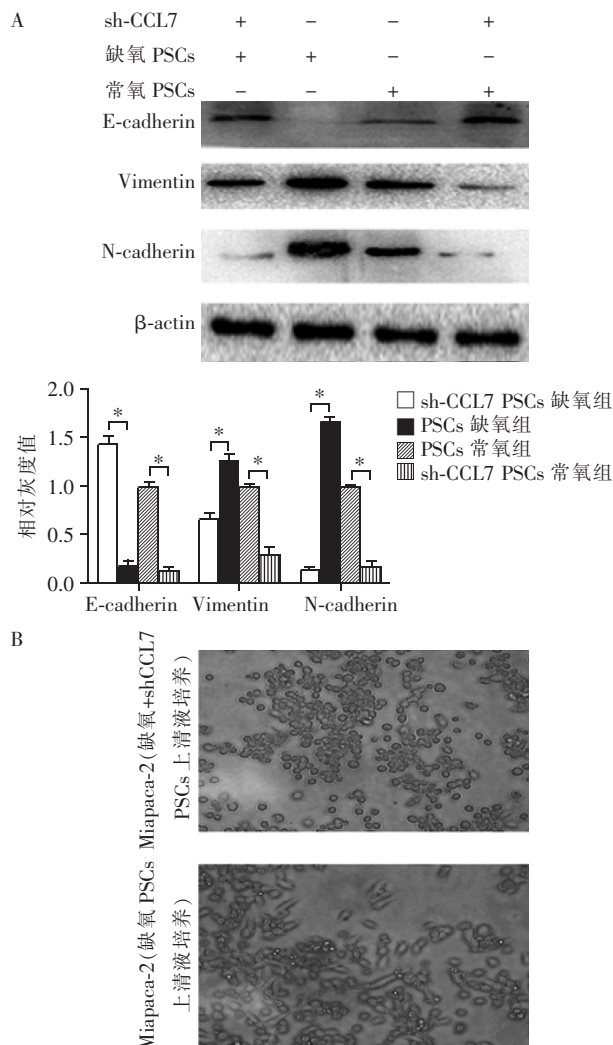
将上述各组 PSCs 的培养上清液等比加入胰腺癌细胞的培养基中,继续培养 24 h 后收集各组胰腺癌细胞,提取蛋白后 Western blot 检测上皮间质化指标,发现缺氧培养组较常氧培养组上皮标志物 E-cadherin 表达明显下降,而间质化指标 Vimentin、N-cadherin 表达则显著升高;干扰 PSCs 中 CCL7 的表达后,其诱导胰腺癌细胞 EMT 改变显著下降,说明缺氧诱导 PSCs CCL7 蛋白过表达并通过影响胰腺癌细胞的 EMT 过程促肿瘤侵袭能力增强(图 4)。

3 讨 论

作为目前研究恶性肿瘤生物学特性的热点之一,肿瘤微环境在癌症发生发展中的作用及针对微环境的治疗新策略已受到越来越多的重视^[5]。微环境—肿瘤交互作用及缺氧微环境则是近年肿瘤微环境研究的重点。微环境细胞分泌的趋化因子不仅在炎症和免疫反应中扮演着重要角色,还在多种恶性肿瘤(如黑色素瘤、肺癌、前列腺癌)中起着关键作用^[9]。此外肿瘤细胞也能表达一些趋化因子的受体,在微环境其他基质细胞合成趋化因子的作用下,引导肿瘤细胞向靶器官转移,促使肿瘤生长和向远处转移^[10]。目前的研究表明,在胰腺癌组织中,除了常见的巨噬细胞、成纤维细胞等微环境细胞,PSCs 能直接影响癌变过程,胰腺癌细胞与 PSCs 有相互促进的关系,其作用机制复杂。胰腺癌微环境中的 PSCs 可通过分泌大量细胞因子、趋化因子及生长因子,促进胰腺癌恶性程度增加^[11]。

CCL7 属于 CC 类趋化因子,主要在成纤维细胞、单核细胞、肿瘤细胞中表达,于内质网中修饰成熟后分泌至胞外,其受体为 CCR1、CCR2、CCR3、CCR5 等,在募集单核细胞、引发钙离子内流、肿瘤转移等生物效应中起重要作用。胃癌中 CCL7 高表达与淋巴结转移及预后差相关^[12];在肾癌脑转移、结肠癌肝转移中,CCL7 及其受体高表达与癌症转移相关^[13-14];在前列腺癌中,癌周脂肪细胞通过 CCL7/CCR3 轴促进前列腺癌侵袭能力增强^[15]。

在本次研究中,发现缺氧诱导 PSCs 显著过表达趋化因子 CCL7,将 PSCs 与高表达 CCR5 的胰腺癌细胞共培养发现,胰腺癌细胞的侵袭能力大大加强,而这一效应在慢病毒沉默 PSCs 中 CCL7 时被明显逆转,说明 CCL7/CCR5 轴在胰腺癌的侵袭过程



A: 缺氧培养组较常氧培养组上皮标志物 E-cadherin 表达明显下降,而间质化指标 Vimentin、N-cadherin 表达则显著升高;干扰胰腺星状细胞中 CCL7 的表达后,其诱导胰腺癌细胞 EMT 改变显著下降, * $P < 0.05$ ($n=3$); B: 使用 shCCL7 缺氧 PSCs 上清培养未表现出明显的细胞形态改变,而使用未沉默 CCL7 的缺氧 PSCs 上清培养的 Miapaca-2 产生显著 EMT 变化,即失去原有球形的上皮细胞形状,变为间质细胞的梭形或不规则形态。

图 4 缺氧诱导 PSCs 分泌 CCL7 促胰腺癌侵袭的过程有 EMT 的参与

Figure 4 Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma induce carcinoma cells invasion via CCL7, of which the mechanism might involve EMT of cancer cells

中发挥作用。进一步研究其可能的机制表明缺氧状态下的 PSCs 能使胰腺癌细胞的上皮标志蛋白 E-cadherin 明显表达下调,间质蛋白 Vimentin、N-cadherin 表达增加,说明其加快胰腺癌细胞的上皮间质化过程,而这一影响与 CCL7 的表达密切相关。

综上所述,缺氧诱导 PSCs,并通过分泌趋化因

(下转第 543 页)

- Mol Med,2014,34(2):499-506
- [4] Halestrap AP.The monocarboxylate transporter family-Structure and functional characterization[J].IUBMB Life,2012,64(1):1-9
- [5] Halestrap AP.The SLC16 gene family-structure,role and regulation in health and disease [J].Mol Aspects Med,2013,34(2-3):337-349
- [6] Xu J,Xu X,Si L,et al.Intracellular lactate signaling cascade in atrial remodeling of mitral valvular patients with atrial fibrillation[J].J Cardiothorac Surg,2013,8:34
- [7] Zhu Y,Wu J,Yuan SY.MCT1 and MCT4 expression during myocardial ischemic-reperfusion injury in the isolated rat heart[J].Cell Physiol Biochem,2013,32(3):663-674
- [8] Hashimoto T,Brooks GA.Mitochondrial lactate oxidation complex and an adaptive role for lactate production [J].Med Sci Sports Exerc,2008,40(3):486-494
- [9] Cooper MP.Interplay of mitochondrial biogenesis and oxidative stress in heart failure [J].Circulation,2013,127(19):1932-1934
- [10] Marunouchi T,Tanonaka K.Cell death in the cardiac myocyte[J].Biol Pharm Bull,2015,38(8):1094-1097
- [11] Si L,Xu J,Yi C,et al.Asiaic acid attenuates the progression of left ventricular hypertrophy and heart failure induced by pressure overload by inhibiting myocardial remodeling in mice [J].J Cardiovasc Pharmacol,2015,66(6):558-568
- [12] Hashimoto T,Hussien R,Oommen S,et al.Lactate sensitive transcription factor network in L6 cells:activation of MCT1 and mitochondrial biogenesis [J].FASEB J,2007,21(10):2602-2612
- [13] Jeong D,Kim TS, Lee JW,et al.Blocking of acidosis-mediated apoptosis by a reduction of lactate dehydrogenase activity through antisense mRNA expression[J].Biochem Biophys Res Commun,2001,289(5):1141-1149
- [收稿日期] 2016-12-17

(上接第 525 页)

子 CCL7 与 CCL7 与胰腺癌细胞上 CCR5 结合后激活 EMT 过程,最终导致胰腺癌细胞侵袭能力的增强。本研究有助于阐明胰腺癌缺氧微环境与胰腺癌进展之间的关系,并为胰腺癌治疗提供新的靶点。

[参考文献]

- [1] Torre LA,Bray F,Siegel RL,et al. Global cancer statistics,2012 [J]. CA Cancer J Clin,2015,65(2):87-108
- [2] Wanqing C,Rongshou Z,Peter DB,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132
- [3] Siegel RL,Miller KD,Jemal A,et al. Cancer statistics,2016[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(1):7-30
- [4] Kamisawa T,Wood LD,Itoi T,et al. Pancreatic cancer [J]. Lancet,2016,388(10039):73
- [5] Akhil Patel,Shilpa Sant. Hypoxic tumor microenvironment:Opportunities to develop targeted therapies [J]. Biotechnol Adv,2016,34(5):803-812
- [6] Duffy JP,Eibl G,Reber HA,et al. Influence of hypoxia and neoangiogenesis on the growth of pancreatic cancer[J]. Mol Cancer,2003,2:12
- [7] Eguchi D,Ikenaga N,Ohuchida K,et al. Hypoxia enhances the interaction between pancreatic stellate cells and cancer cells via increased secretion of connective tissue growth factor[J]. The Journal of Surgical Research,2013,181(2):225-233
- [8] Strobel O,Dadabaeva N,Felix K,et al. Isolation and culture of primary human pancreatic stellate cells that reflect the context of their tissue of origin [J]. Langenbecks Arch Surg,2016;401(1):89-97
- [9] Balkwill F. Cancer and the chemokine network [J]. Nature Reviews Cancer,2004,4(7):540-550
- [10] Leonardi GC,Candido S,Cervello M,et al. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma [J]. Int J Oncol,2012,4:1733-1747
- [11] Apte MV,Park S,Phillips PA,et al. Desmoplastic reaction in pancreatic cancer:role of pancreatic stellate cells[J]. Pancreas,2004,29:179
- [12] Hwang TL,Lee LY,Wang CC,et al. CCL7 and CCL21 overexpression in gastric cancer is associated with lymph node metastasis and poor prognosis[J]. World J Gastroenterol,2012,18(11):1249-1256
- [13] Wyler L,Napoli CU,Ingold B,et al. Brain metastasis in renal cancer patients:metastatic pattern,tumour-associated macrophages and chemokine/chemoreceptor expression[J]. Br J Cancer,2014,110(3):686-694
- [14] Cho YB,Lee WY,Choi SJ,et al. CC chemokine ligand 7 expression in liver metastasis of colorectal cancer [J]. Oncol Rep,2012,28(2):689-694
- [15] Laurent V,Guérard A,Mazerolles C,et al. Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity[J]. Nat Commun,2016,7:10230
- [收稿日期] 2016-05-17