

· 基础研究 ·

胃癌间质干细胞来源 HGF 对胃癌细胞生物学特性的影响

丛春晖¹, 陈斌¹, 孙丽¹, 陈志红², 赵媛媛¹, 朱伟^{1*}

¹江苏大学医学院检验系, 江苏 镇江 212013; ²江苏大学附属人民医院普外科, 江苏 镇江 212001

[摘要] 目的: 观察胃癌间质干细胞(gastric cancer mesenchymal stem cell, GC-MS C)来源的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)在胃癌细胞增殖、迁移及肿瘤形成中的作用。方法: 采用CCK8实验检测胃癌细胞增殖活性; 克隆形成实验检测胃癌细胞克隆形成能力; Transwell 和细胞划痕实验检测胃癌细胞迁移能力; Western blot 和流式细胞术检测胃癌细胞或癌组织的程序性死亡受体-配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)表达水平; 构建BALB/c 裸鼠皮下成瘤模型, 观察体内肿瘤形成情况; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清及细胞培养上清中HGF水平; 免疫组织化学染色(IHC)检测胃癌患者组织中HGF表达水平。结果: GC-MS C培养上清(culture medium of gastric cancer mesenchymal stem cell, GC-MS C-CM)中的HGF含量明显高于骨髓间质干细胞上清(culture medium of bone marrow mesenchymal stem cell, BM-MS C-CM)($P < 0.05$)。GC-MS C-CM能够促进胃癌细胞增殖、迁移及克隆形成, 并且这种促进作用能被HGF中和抗体明显抑制。GC-MS C-CM还明显促进胃癌细胞PD-L1表达, 且能被HGF中和抗体抑制。此外, 外源性的HGF也可以促进胃癌细胞增殖及PD-L1表达。临床胃癌患者治疗前血清HGF含量明显高于健康人血清HGF水平($P < 0.05$)。结论: GC-MS C-CM来源的HGF在促胃癌细胞增殖、迁移、克隆形成以及PD-L1表达和肿瘤形成中发挥重要作用, 其有可能成为胃癌防治的潜在分子靶标。

[关键词] 胃癌; 间充质干细胞; 肝细胞生长因子; 程序性死亡受体-配体1

[中图分类号] R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)02-185-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20200207

Effects of HGF derived from gastric cancer mesenchymal stem cells on the biological characteristics of gastric cancer cells

CONG Chunhui¹, CHEN Bin¹, SUN Li¹, CHEN Zhihong², ZHAO Yuanyuan¹, ZHU Wei^{1*}

¹School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013; ²Department of General Surgery, People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to observe the role of hepatocyte growth factor (HGF) derived from gastric cancer mesenchymal stem cells (GC-MS C) in the proliferation, migration and tumor formation of gastric cancer cells. **Methods:** The proliferation activity of gastric cancer cells was detected with CCK8 assay. The colony forming ability of gastric cancer cells was analyzed via colony formation assay. Transwell assay and cell wound scratch assay were used to measure the migration ability of gastric cancers. By methods of Western blot and flow cytometry, we detected the expression of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in gastric cancer cells or cancer tissues. BALB/c nu/nu subcutaneous tumor model was constructed to observe tumor formation *in vivo*. The expression levels of HGF in serum and culture media were determined by ELISA, and protein levels of HGF in tissues of gastric cancer patients and healthy people were detected by immunohistochemistry. **Results:** The content of HGF in culture medium of gastric cancer mesenchymal stem cells (GC-MS C-CM) was significantly higher than that in culture medium of bone marrow mesenchymal stem cell (BM-MS C-CM) ($P < 0.05$). GC-MS C-CM treatment enhanced the proliferation, migration and colony formation of gastric cancer cells, and the promoting effect could be inhibited by HGF blockade. GC-MS C-CM could also promote the expression of PD-L1 in gastric cancer cell lines, and the proportion of PD-L1 positive cells decreased after HGF inhibition. In addition, exogenous HGF could also promote proliferation and PD-L1 expression of gastric cancer cells. The serum HGF levels in gastric cancer patients before therapy were significantly higher than those in healthy people ($P < 0.05$). **Conclusion:** GC-MS C-CM-derived HGF plays an important role in

[基金项目] 国家自然科学基金(81472334); 江苏省社会发展重大研发项目(BE2017694)

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

promoting gastric cancer cells proliferation, migration, colony formation, PD-L1 expression and tumor formation, which may become a potential molecular target for gastric cancer prevention and treatment.

[Key words] gastric cancer; mesenchymal stem cells; hepatocyte growth factor; PD-L1

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(02): 185-190, 204]

已知在肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中除肿瘤细胞外还包括癌症相关成纤维细胞、免疫细胞、间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 等, 这些基质细胞具有促进肿瘤生长、迁移和血管生成的作用^[1]。我们前期实验结果表明胃癌组织来源 MSC (gastric cancer mesenchymal stem cell, GC-MS-C) 对肿瘤生长及转移有促进作用, 但具体机制还不清楚。肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 是酪氨酸激酶受体间充质上皮转换因子 (cellular-mesenchymal to epithelial transition factor, c-Met) 的配体, 两者结合后能够诱导致癌途径激活、促进血管生成及肿瘤转移^[2]。程序性死亡受体-1 (programmed cell death-1, PD-1) 的配体是程序性死亡受体-配体 1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1), 它在多种实体瘤中高表达, 肿瘤细胞利用 PD-1/PD-L1 途径抑制 T 细胞效应, 逃避免疫系统监视^[3]。有研究表明, HGF 受体 c-Met 能够上调 PD-L1 表达, 导致免疫细胞对肾细胞癌细胞的杀伤作用受到抑制^[4]。但 GC-MS-C 中 HGF 的表达及在胃癌生长中的作用还不清楚。

本研究检测 GC-MS-C 分泌 HGF 水平, 观察 GC-MS-C 来源 HGF 对胃癌细胞增殖、迁移、PD-L1 表达及肿瘤形成等生物学特性的影响, 为探究 GC-MS-C 在胃癌微环境中的作用机制及胃癌防治提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料

人胃癌细胞株 SGC-7901 和 MGC-803 购于中国医学科学院上海细胞生物研究所, GC-MS-C 的获得按照本课题组前期的方法分离培养得到^[5]。4~6 周龄雄性 BALB/c 裸鼠 (南京大学动物中心), 实验期间饲养于江苏大学实验动物中心。

低糖 DMEM 培养液、高糖 DMEM 培养液、RPMI1640 培养液 (Gibco 公司, 美国), 胎牛血清 (Bovogen 公司, 澳大利亚), 人 HGF ELISA 试剂盒 (杭州联科生物公司), 中和抗体 anti-HGF 及对照 IgG (R&D 公司, 美国), 工作浓度均为 250 ng/mL; 重组人 HGF (Peprotech 公司, 美国), 工作浓度为 50 ng/mL;

CCK8 试剂盒 (上海碧云天生物公司), 总蛋白提取试剂盒 (南京凯基生物公司), GAPDH 单克隆抗体、PD-L1 单克隆抗体 (CST 公司, 美国), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗鼠抗体、羊抗兔抗体 (南京爱必梦生物公司), PD-L1 流式抗体 (BD 公司, 美国), anti-HGF 免疫组化抗体 (上海 Abcam 公司), 免疫组化试剂盒 (武汉博士德公司)。

1.2 方法

1.2.1 GC-MS-C 的制备

3~6 代的 GC-MS-C 在 25 cm² 的培养瓶中生长至 80% 融合时更换新鲜的含 10% 胎牛血清低糖 DMEM 培养液 4 mL, 5% CO₂ 培养箱培养 48 h, 收集细胞培养上清, 用 0.22 μm 的无菌滤膜过滤。

1.2.2 CCK8 检测细胞增殖活性

将处于对数生长期的 SGC-7901 或 MGC-803 接种于 96 孔细胞板, 1 000 个/孔, 含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 或高糖 DMEM 细胞培养液作为空白对照组, 每组设置 6 个复孔, 待细胞过夜贴壁后, 分别用 100 μL 不同的处理介质替换原有培养液 (对照组: 含有 10% 胎牛血清的细胞培养液; GC-MS-C 组: 细胞培养液和 GC-MS-C 各 50 μL; GC-MS-C+IgG 组: 细胞培养液和 IgG 预处理的 GC-MS-C 各 50 μL; GC-MS-C+anti-HGF 组: 细胞培养液和 anti-HGF 预处理的 GC-MS-C 各 50 μL; HGF 组: 加入重组人 HGF 的细胞培养液), 每 48 h 换液 1 次, 在 5% CO₂ 培养箱中培养 4 d, 每孔加入 10 μL CCK8 试剂, 培养箱中孵育 2 h, 检测其吸光度值。

1.2.3 细胞克隆形成实验

将 SGC-7901 接种于 35 mm 的细胞培养皿中, 1 000 个/皿, 过夜贴壁, 次日将营养液更换为相应处理因素 (对照组、GC-MS-C 组、GC-MS-C+IgG 组、GC-MS-C+anti-HGF 组), 每 48 h 换液 1 次, 每日观察细胞克隆形成情况至每个克隆达到 50~100 个细胞, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 结晶紫染色 10 min, PBS 洗去残余结晶紫。

1.2.4 Transwell 细胞迁移实验

首先在 6 孔细胞板中按照上述处理因素 (对照组、GC-MS-C 组、GC-MS-C+IgG 组、GC-MS-C-

CM+anti-HGF组)培养SGC-7901 24 h,Transwell下室为含10%胎牛血清的RPMI1640培养液,上室接种 4×10^6 个预处理的肿瘤细胞株,培养10 h,用棉签轻轻拭去小室内侧未迁移的细胞,4%多聚甲醛固定30 min;结晶紫染色9 min;随机选取6个高倍镜视野计数。

1.2.5 细胞划痕实验

用黑色笔在6孔板的背面均匀地划3条横向直线,线与线之间作为划痕的观察点。将MGC-803接种在6孔板中, 4×10^5 个/孔,过夜贴壁,次日细胞密度达到80%~90%。用200 μ L枪头垂直于细胞表面划线,使划线垂直于背面的横线,吸弃原有培养液,PBS润洗3次,各孔加入各自的处理因素(对照组、GC-MS-CM组、GC-MS-CM+IgG组、GC-MS-CM+anti-HGF组),每48 h换1次液,分别在0、12、24、36 h于倒置显微镜下观察细胞迁移情况。

1.2.6 Western blot

在6孔板中接种SGC-7901或MGC-803;数量为 2×10^5 个/孔或 1.8×10^5 个/孔,过夜贴壁,换成相应处理因素(对照组、GC-MS-CM组、GC-MS-CM+IgG组、GC-MS-CM+anti-HGF组),培养24 h,使用RIPA蛋白裂解液提取细胞总蛋白。采用超声法提取裸鼠肿瘤组织蛋白。蛋白上样30 μ g进行电泳,350 mA恒定电流将蛋白转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1.5 h;GAPDH单克隆抗体(用TBST按1:3 000稀释)和PD-L1单克隆抗体(用TBST按1:1 000稀释)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,次日TBST洗膜(10 min/次,洗3次),HRP标记的羊抗鼠抗体(用TBST按1:10 000稀释)和羊抗兔抗体(用TBST按1:3 000稀释)37 $^{\circ}$ C孵育1 h,TBST洗膜(15 min/次,洗4次),凝胶成像仪曝光,用Image J软件分析蛋白表达量。

1.2.7 流式细胞术

将SGC-7901接种于6孔板中, 2×10^5 个/孔,贴壁后换成相应处理因素(对照组、GC-MS-CM组、GC-MS-CM+IgG组、GC-MS-CM+anti-HGF组、HGF组),培养24 h,800 g离心5 min,PBS洗1遍,用PE标记的PD-L1抗体4 $^{\circ}$ C避光染色30 min;800 g离心5 min,PBS洗1遍,用滤膜过滤,流式细胞仪检测细胞PD-L1表达水平,采用FlowJo软件分析。

1.2.8 BALB/c裸鼠皮下成瘤模型建立

将20只4~6周龄的雄性BALB/c裸鼠随机分为4组,每组5只,注射处于对数生长期的SGC-7901于裸鼠背部皮下, 1×10^6 个/只。2周后,分别在小鼠瘤周注射200 μ L相应处理因素(对照组:10%胎牛血

清RPMI1640;GC-MS-CM组:GC-MS-CM;GC-MS-CM+IgG组:IgG预处理的GC-MS-CM;GC-MS-CM+anti-HGF组:HGF抗体预处理的GC-MS-CM),每48 h注射1次,同时用游标卡尺测量肿瘤体积[体积=(长 \times 宽 2)/2],共注射7次,将裸鼠安乐死后解剖取出肿瘤组织。

1.2.9 免疫组织化学染色

胃癌肿瘤组织石蜡切片来自江苏省肿瘤医院,经脱蜡、去二甲苯、去酒精、灭活内源性酶、热修复抗原、BSA封闭后,HGF免疫组化抗体(5 μ g/mL)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,PBS洗3次,生物素化的羊抗兔抗体(用TBST按1:3 000稀释)37 $^{\circ}$ C孵育20 min,SABC 37 $^{\circ}$ C孵育20 min,DAB显色液显色,苏木素染液染细胞核,脱水,封片。

1.3 统计学方法

相关实验均重复3次,使用GraphPad Prism5.0进行统计学分析,两组间比较采用两样本 t 检验,多组间比较采用完全随机设计资料的方差分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

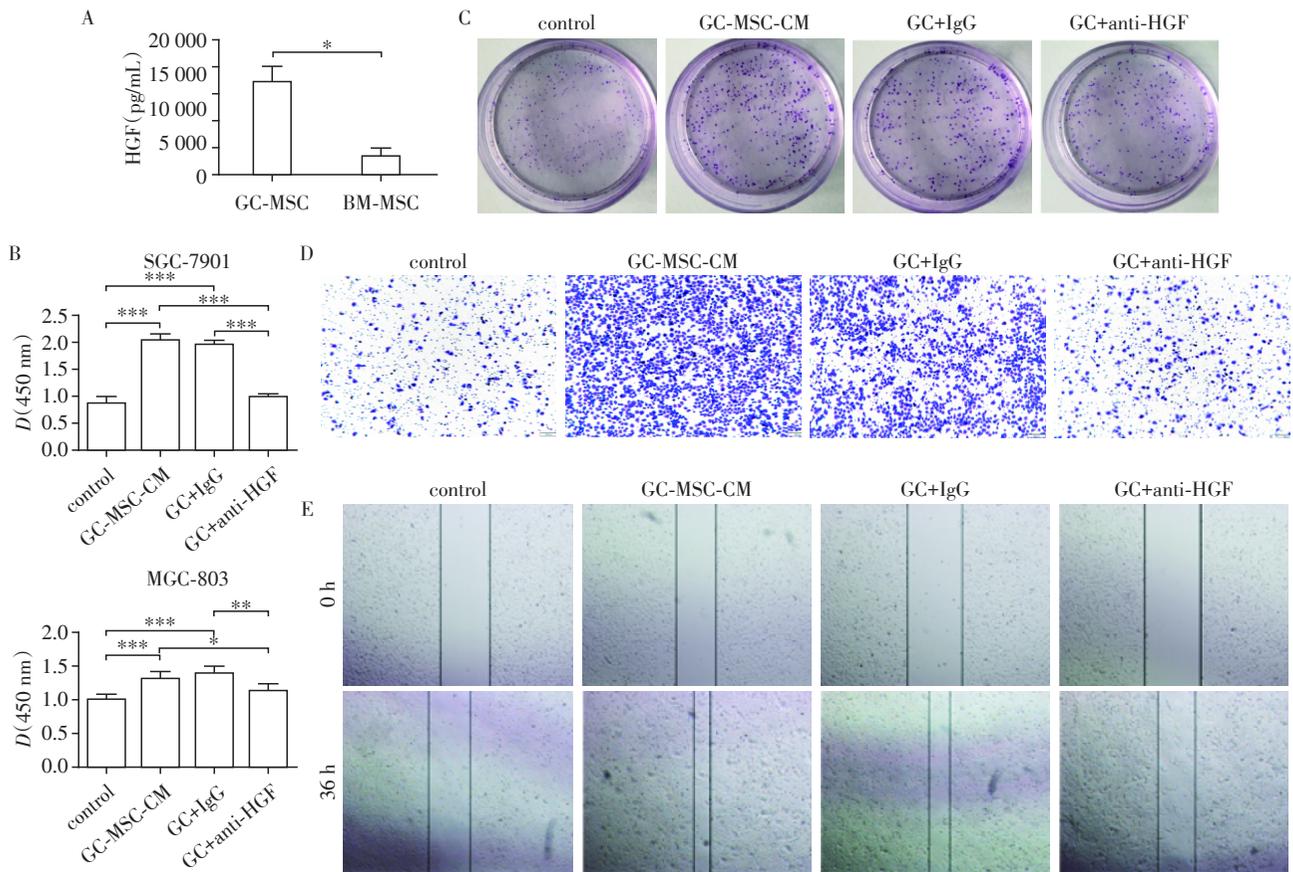
2 结果

2.1 GC-MS-CM来源的HGF促进胃癌细胞增殖、迁移

ELISA检测GC-MS-CM及BM-MS-CM中HGF的含量发现,GC-MS-CM中HGF的含量明显高于BM-MS-CM(图1A)。为了探究GC-MS-CM来源的HGF对胃癌细胞增殖、迁移等的影响,利用CCK8试剂检测胃癌细胞株的增殖活性,结果显示,GC-MS-CM中HGF具有促进SGC-7901和MGC-803胃癌细胞株增殖的作用,且能被HGF中和抗体抑制(图1B)。平板克隆形成实验显示GC-MS-CM中HGF明显促进SGC-7901细胞克隆形成(图1C)。Transwell小室及划痕实验检测SGC-7901和MGC-803的迁移能力显示,GC-MS-CM可以明显增强SGC-7901的迁移能力,但加入HGF中和抗体后,SGC-7901的迁移能力减弱(图1D、E)。以上结果表明,GC-MS-CM来源HGF具有促进胃癌细胞株增殖、迁移的作用。

2.2 GC-MS-CM来源的HGF促进胃癌细胞株表达PD-L1

将SGC-7901及MGC-803用GC-MS-CM(加或不加入HGF中和抗体)培养24 h,使用RIPA裂解液提取胃癌细胞蛋白质,Western blot检测细胞PD-L1蛋白表达,并利用流式细胞术检测细胞表面PD-L1表达水平。两种实验均表明,GC-MS-CM能够上调SGC-7901及MGC-803 PD-L1表达,且中和HGF后PD-L1表达下调(图2)。说明GC-MS-CM来源的HGF



A: ELISA 检测 GC-MSC-CM 和 BM-MSC-CM 中 HGF 水平; B: CCK8 检测不同处理条件下 SGC-7901 和 MGC-803 增殖; C: 不同处理条件下 SGC-7901 平板克隆; D: Transwell 检测不同处理条件下 SGC-7901 迁移($\times 200$); E: 不同处理条件下 MGC-803 在 0 h 和 36 h 划痕实验结果($\times 200$)。两组比较, $P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$ 。

图1 GC-MSC 来源的 HGF 促进胃癌细胞增殖、迁移

Figure 1 HGF derived from GC-MSC promotes proliferation and migration of gastric cancer cells

具有促进胃癌细胞表达 PD-L1 的作用。

2.3 外源性 HGF 促进胃癌细胞株增殖并上调其 PD-L1 表达

通过在正常细胞培养液中加入重组人 HGF, 探究外源性 HGF 对胃癌细胞生物学特性的影响。利用 CCK8 试剂检测胃癌细胞株的增殖活性, 结果显示, 加入外源性 HGF 明显促进 SGC-7901 增殖(图 3A), 此外, 流式检测结果证明外源性 HGF 也促进了 SGC-7901 PD-L1 表达(图 3B)。

2.4 GC-MSC 来源 HGF 促进 BALB/c 裸鼠皮下肿瘤生长并上调肿瘤组织 PD-L1 表达

为了探究 GC-MSC 来源 HGF 在体内对肿瘤生长的影响, 本研究选择 BALB/c 裸鼠进行体内实验。结果显示, GC-MSC-CM 组小鼠肿瘤体积显著增大, 然而, 在此基础上加入 HGF 中和抗体后, 小鼠的肿瘤体积反而减小(图 4A)。绘制各组小鼠肿瘤的生长曲线可以观察到肿瘤的生长趋势(图 4B)。对于 HGF 是否能够促进小鼠肿瘤组织的 PD-L1 表达,

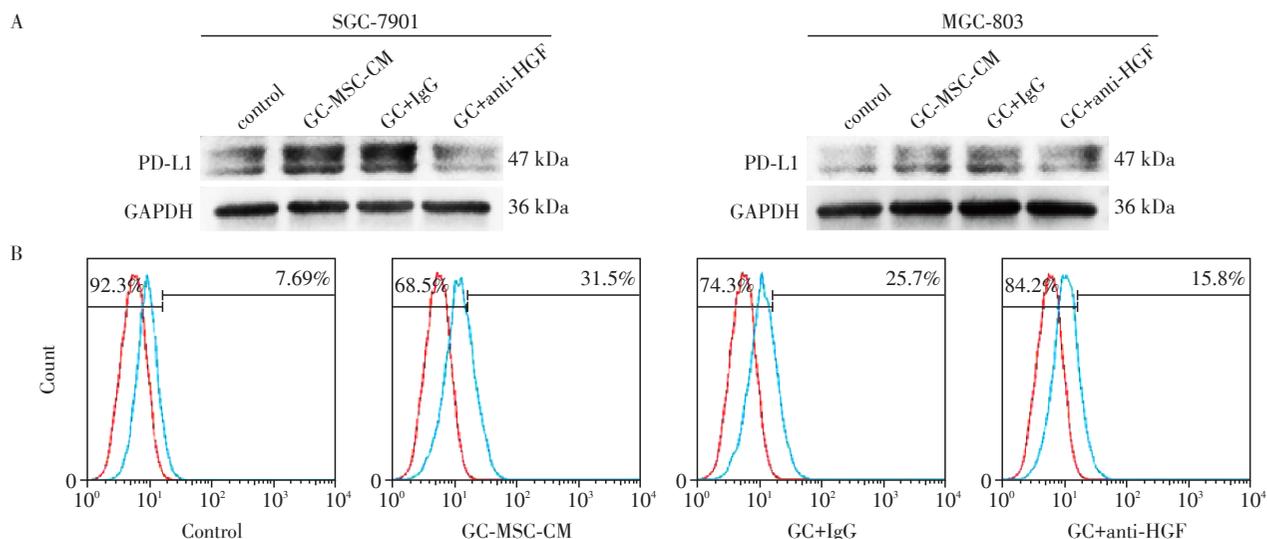
通过 Western blot 检测了肿瘤组织中 PD-L1 的蛋白表达水平, 得到了与体外实验相一致的结果(图 4C), 即 GC-MSC 来源 HGF 在上调肿瘤组织 PD-L1 表达中发挥关键作用。

2.5 胃癌患者血清及胃癌组织中 HGF 表达水平

为了验证 HGF 在人胃癌标本中的表达情况, 收集了 28 例治疗前胃癌患者的血清和 10 例健康人血清, ELISA 检测其 HGF 表达水平。结果显示患者血清中 HGF 浓度显著高于健康人(图 5A)。除此之外, 收集了 PD-L1 阳性表达和 PD-L1 阴性表达的胃癌组织各 10 例, 通过免疫组织化学染色检测 HGF 表达情况, 但并未发现显著差异(图 5B)。

3 讨论

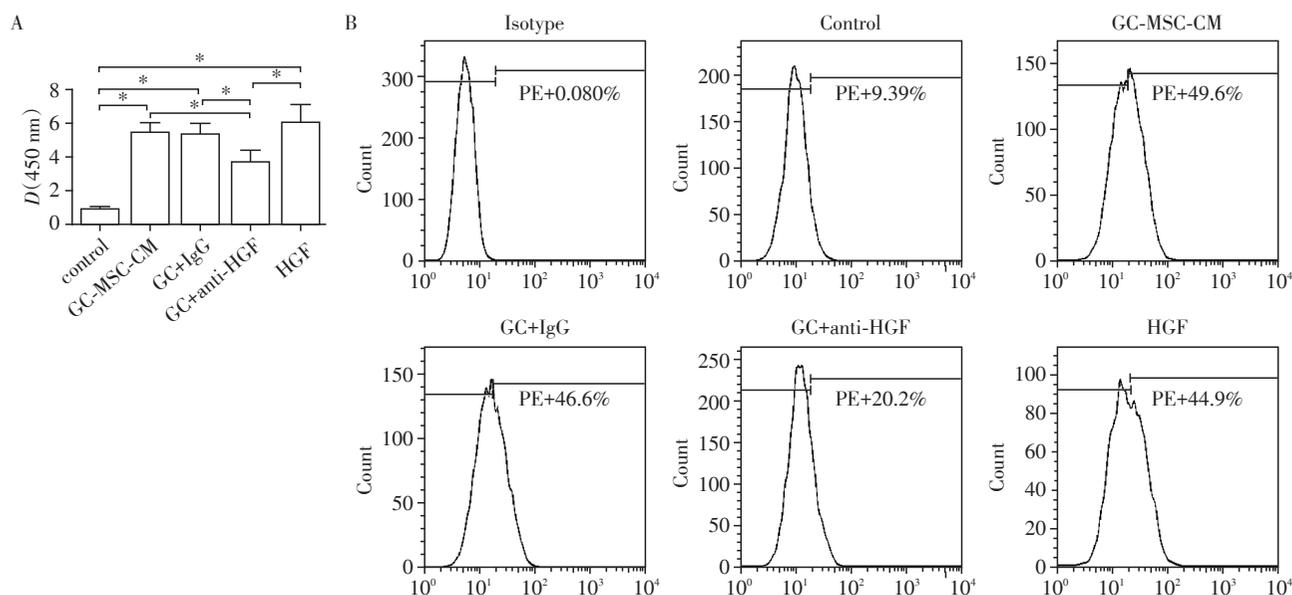
MSC 是一种成纤维细胞样形态的异质细胞群, 可以从许多组织中获得, 如骨髓、脐带、胎盘、脂肪、肺、肝脏和皮肤, 具有自我更新能力和多向分化潜能, 在体外形成集落并可分化成骨、软骨和脂肪细



A:不同处理条件下 Western blot检测SGC-7901和MGC-803的PD-L1蛋白表达结果;B:不同处理条件下流式细胞术检测SGC-7901的PD-L1表达水平。

图2 GC-MSC来源的HGF促进胃癌细胞株表达PD-L1

Figure 2 HGF derived from GC-MSC promotes the expression of PD-L1 in gastric cancer cells



A: CCK8检测不同处理条件下SGC-7901增殖,两组比较, $P < 0.05$; B: 流式细胞术检测不同处理条件下SGC-7901 PD-L1表达水平。

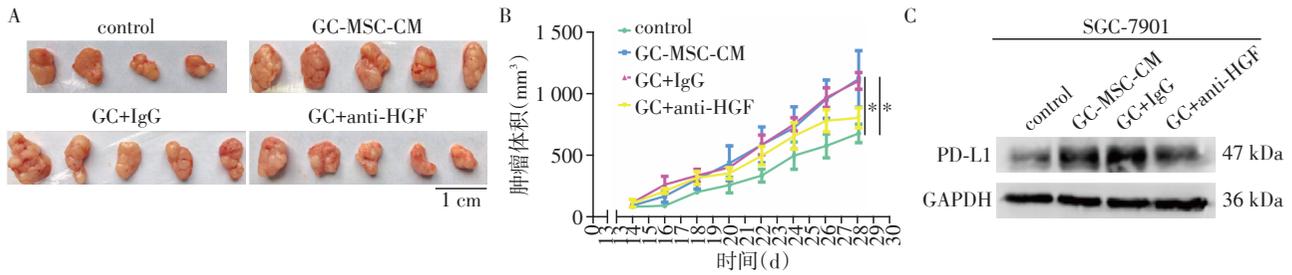
图3 外源性的HGF促进胃癌细胞株增殖并上调其PD-L1表达

Figure 3 Recombinant human HGF promotes proliferation of gastric cancer cells and up-regulates PD-L1 expression

胞^[6]。作为TME的重要组成部分, MSC能够通过肿瘤细胞相互作用,促进肿瘤进展。研究发现,乳腺癌相关的MSC可以通过胶原蛋白受体盘状结构域受体2(discoidin domain receptor 2, DDR2)增加胶原沉积,进而促进乳腺癌转移^[7]。本课题组前期研究发现, MSC能通过旁分泌外泌体(exosomes)促进肿瘤生长^[8],考虑是某种细胞因子在其中发挥重要作用。从胃癌组织中分离出GC-MSC,并证实了GC-

MSC-CM能够促进胃癌的发生发展^[9],但具体是哪一种细胞因子在GC-MSC-CM中发挥关键作用有待进一步明确。

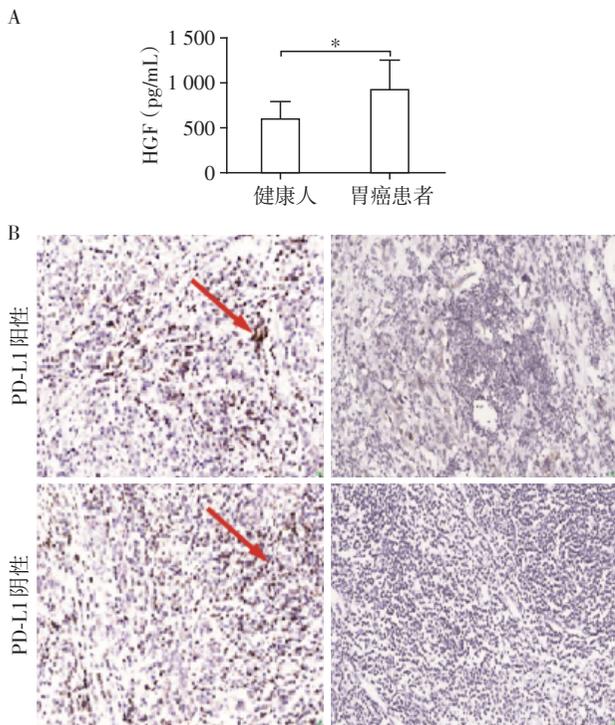
有研究证实, HGF能够促进胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及血管形成,并与胃癌患者的存活率相关^[10]。本研究通过ELISA检测发现, GC-MSC-CM中HGF水平明显高于BM-MSC-CM。此外,利用HGF抗体中和GC-MSC-CM中的HGF后, GC-MSC-



A: 肿瘤组织图片; B: 肿瘤生长曲线图, GC-MSCs-CM 组与 GC+anti-HGF 组、GC-IgG 组与 GC+anti-HGF 组之间的差异有统计学意义, $P < 0.05$; C: Western blot 检测小鼠肿瘤组织中 PD-L1 蛋白表达水平。

图4 GC-MSC 来源的 HGF 促进 BALB/c 裸鼠皮下肿瘤生长并上调肿瘤组织 PD-L1 表达

Figure 4 GC-MSC- derived HGF promotes subcutaneous tumor growth in BALB/c nu/nu mice and up-regulates PD-L1 expression in tumor tissues



A: 健康人和胃癌患者血清 HGF 水平, 两组比较, $P < 0.01$; B: PD-L1 阳性表达及阴性表达患者胃癌组织的 HGF 免疫组织化学染色($\times 100$, 箭头处为 HGF 表达阳性)。

图5 胃癌患者血清及胃癌组织中 HGF 表达水平

Figure 5 Expression of HGF in serum and cancer tissues of patients with gastric carcinoma

CM 对胃癌细胞的增殖、迁移及肿瘤形成的促进作用明显减弱, 说明 HGF 是 GC-MSC-CM 中起重要作用的物质。

癌症免疫疗法已经越来越多地应用于晚期恶性肿瘤的治疗, 而 PD-1 作为关键的免疫检查点, 表达于 T 细胞和 B 细胞表面, 参与激活 T 细胞介导的免疫机制。PD-L1 是 PD-1 的配体, 在多种肿瘤中均有表达, 通过与 PD-1 结合, 调节免疫激活或抑制^[11]。

PD-L1 表达受多种促炎因子及细胞因子的调控, 经 TME 中这些因素诱导 PD-L1 表达增高从而可以促进免疫抑制的发生^[12]。因此, 阻断 PD-1/PD-L1 是一种有前景的治疗方法, 已经应用于胃肠道恶性肿瘤, 并在晚期和难治性胃癌患者中表现出临床益处^[13]。本研究在体外通过 Western blot 和流式细胞术发现 GC-MSC 来源的 HGF 能够上调胃癌细胞 PD-L1 表达。已知 HGF 能够通过上调 PD-L1 抑制肿瘤细胞凋亡^[4], 考虑 HGF 上调 PD-L1 是促进胃癌进展的重要机制。有研究发现 IL-6 和 PD-L1 的联合阻断能减缓胰腺癌小鼠模型的肿瘤进展^[14]。因此提出, 同时靶向阻断 GC-MSC-CM 上调胃癌细胞 PD-L1 的关键分子有望提高 PD-1/PD-L1 抗体临床治疗的有效性。

本实验尚有许多方面需要完善, 对胃癌组织进行免疫组织化学染色时, 虽然 HGF 表达水平在 PD-L1 阳性和 PD-L1 阴性的组织中无明显差别, 但由于样本例数较少, 并不足以说明在胃癌组织中 HGF 与 PD-L1 表达不具有相关性。我们验证了外源性 HGF 对胃癌细胞的影响, 但本研究没有涉及其他来源的 HGF 对肿瘤细胞的作用。除此之外, HGF 上调胃癌细胞 PD-L1 表达的具体机制尚不明确, 有待本课题组将来进一步探究。

[参考文献]

[1] SHI Y, DU L, LIN L, et al. Tumour-associated mesenchymal stem/stromal cells: emerging therapeutic targets [J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(1): 35-52

[2] ZHANG H, WANG Y, BAI M, et al. Exosomes serve as nanoparticles to suppress tumor growth and angiogenesis in gastric cancer by delivering hepatocyte growth factor siRNA [J]. Cancer Sci, 2018, 109(3): 629-641

[3] LI J, JIE H B, LEI Y, et al. PD-1/SHP-2 inhibits Tc1/Th1 phenotypic responses and the activation of T cells in the (下转第 204 页)

[9] JIANG S S, FANG W T, HOU Y H, et al. Upregulation of SOX9 in lung adenocarcinoma and its involvement in the regulation of cell growth and tumorigenicity[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(17):4363-4373

[10] WANG H, HE L, MA F, et al. SOX9 regulates low density lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6) and T-cell factor 4 (TCF4) expression and Wnt/ β -catenin activation in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2013, 288(9):6478-6487

[11] VEGA O A, LUCERO C M J, ARAYA H F, et al. Wnt/ β -catenin signaling activates expression of the bone-related transcription factor RUNX2 in select human osteosarcoma cell types[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(11):3662-3674

[12] HACHEM F A, CHEN S, EVANS H G, et al. FAM129B, a protein that promotes cancer cell invasion, forms a complex with KEAP1 [J]. FASEB J, 2013, 27(1 Supplement):lb200-lb200

[13] MANCIKOVA V, CASTELBLANCO E, PINEIRO-YANEZ E, et al. MicroRNA deep-sequencing reveals master regulators of follicular and papillary thyroid tumors [J]. Modern Pathol, 2015, 28(6):748-757

[收稿日期] 2018-02-23

(上接第190页)

tumor microenvironment [J]. Cancer Res, 2015, 75(3):508-518

[4] BALAN M, MIER Y, TERAN E, et al. Novel roles of c-Met in the survival of renal cancer cells through the regulation of HO-1 and PD-L1 expression [J]. J Biol Chem, 2015, 290(13):8110-8120

[5] LI W, ZHOU Y, YANG J, et al. Gastric cancer-derived mesenchymal stem cells prompt gastric cancer progression through secretion of interleukin-8 [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34:52

[6] HORWITZ E M, LE BLANC K, DOMIMICHI M, et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. Cytotherapy, 2005, 7(5):393-395

[7] GONZALEZ M E, MARTIN E E, ANWAR T, et al. Mesenchymal stem cell-induced DDR2 mediates stromal-breast cancer interactions and metastasis growth [J]. Cell Rep, 2017, 18(5):1215-1228

[8] ZHU W, HUANG L, LI Y, et al. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth *in vivo* [J]. Cancer Lett, 2012, 315(1):28-37

[9] HUANG F, WANG M, YANG T, et al. Gastric cancer-derived MSC-secreted PDGF-DD promotes gastric cancer progression [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(11):1835-1848

[10] DING X, JI J, JIANG J, et al. HGF-mediated crosstalk between cancer-associated fibroblasts and MET-unamplified gastric cancer cells activates coordinated tumorigenesis and metastasis [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(9):867

[11] LU C, REDD P S, LEE J R, et al. The expression profiles and regulation of PD-L1 in tumor-induced myeloid-derived suppressor cells [J]. Oncoimmunology, 2016, 5(12):e1247135

[12] SZNOL M, CHEN L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(5):1021-1034

[13] LOTE H, CAFFERKEY C, CHAU I. PD-1 and PD-L1 blockade in gastrointestinal malignancies [J]. Cancer Treat Rev, 2015, 41(10):893-903

[14] MACE T A, SHARKYA R, PITARRRESI J R, et al. IL-6 and PD-L1 antibody blockade combination therapy reduces tumour progression in murine models of pancreatic cancer [J]. Gut, 2018, 67(2):320-332

[收稿日期] 2019-06-17