

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.007

· 基础研究 ·

## 肿瘤相关巨噬细胞对胃癌 MGC-803 细胞恶性生物学行为的影响

张升瑞, 曾宪东, 隋春阳, 赵连和(沈阳医学院附属中心医院 普外科, 辽宁 沈阳 110024)

**[摘要]** **目的:** 探讨肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)对胃癌 MGC-803 细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡的影响及其可能的作用机制。**方法:** 体外培养人单核细胞株 THP-1, 加入佛波酯(PMA)和 IL-4 后, 用 ELISA 法检测细胞培养上清液中 IL-12、IL-10 的水平。取对数生长期 MGC-803 细胞和 M2 型 TAM, 根据培养方式不同分为单独细胞培养组、非接触共培养组和接触共培养组, 用 MTT 法、Transwell 小室法分别检测 MGC-803 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 用 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测 MGC-803 细胞的凋亡和细胞周期变化, 用 qPCR、Western blotting 分别检测 MGC-803 细胞中 MMP-9、MMP-2 mRNA 和蛋白的表达水平。**结果:** 与 PMA 组相比, PMA+IL-4 组细胞上清液中 IL-12 水平显著降低、IL-10 水平显著升高(均  $P < 0.05$ ), 成功将 THP-1 细胞诱导分化为 M2 型 TAM。与单独细胞培养组相比, 非接触共培养组、接触共培养组: (1) MGC-803 细胞的增殖率显著升高(均  $P < 0.05$ ); (2) 细胞的迁移、侵袭数量升高(均  $P < 0.05$ ); (3) 细胞凋亡率显著降低(均  $P < 0.05$ ); (4) S、G2 期细胞的数量升高、G1 期数量降低(均  $P < 0.05$ ); (5) 细胞中 MMP-9、MMP-2 mRNA 和蛋白的表达水平均显著升高(均  $P < 0.05$ )。**结论:** TAM 可促进胃癌 MGC-803 细胞增殖、迁移和侵袭, 解除细胞 G1 期阻滞, 减少细胞凋亡, 其机制可能与上调胃癌细胞 MMP-9、MMP-2 表达有关。

**[关键词]** 胃癌; 肿瘤相关巨噬细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡

**[中图分类号]** R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)01-0036-06

## Effect of tumor-associated macrophages on malignant biological behaviors of gastric cancer MGC-803 cells

ZHANG Shengrui, ZENG Xiangdong, SUI Chunyang, ZHAO Lianhe (Department of General Surgery, Center Hospital Affiliated to Shenyang Medical College, Shenyang 110024, Liaoning, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of tumor-associated macrophages (TAM) on proliferation, migration, invasion and apoptosis of gastric cancer MGC-803 cells and the possible mechanisms. **Methods:** Human monocyte THP-1 was cultured *in vitro*. After being added with PMA and IL-4, the levels of interleukin-12 (IL-12) and interleukin-10 (IL-10) in cell supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). MGC-803 cells at logarithmic phase and M2-type TAM cells were divided into single cell culture group, non-contact co-culture group and contact co-culture group according to different culture methods. MTT assay was used to detect the proliferation of MGC-803 cells, Transwell assay was used to detect cell migration and invasion, and Annexin V-FITC/PI staining flow cytometry was used to examine the apoptosis and cell cycle changes of MGC-803 cells; In addition, the mRNA and protein expressions of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and MMP-2 were detected by Real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) and Western blotting. **Results:** Compared with PMA group, the level of IL-12 in cell supernatant of PMA+IL-4 group decreased significantly while the level of IL-10 increased significantly (all  $P < 0.05$ ), indicating THP-1 cells were successfully induced to differentiate into M2-type TAM. Compared with the single cell culture group, the non-contact co-culture group and the contact co-culture group exhibited: (1) significantly increased proliferation rate of MGC-803 cells ( $P < 0.05$ ); (2) increased number of migrated and invaded cells (all  $P < 0.05$ ); (3) significantly decreased apoptotic rate ( $P < 0.05$ ); (4) increased proportion of S, G2 phase cells and decreased proportion of G1 phase cells (all  $P < 0.05$ ); and (5) significantly increased mRNA and protein expressions of MMP-9 and MMP-2 (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** TAM can promote the proliferation, migration and invasion of gastric cancer MGC-803 cells, relieve G1 phase arrest and reduce cell apoptosis, which may be related to the up-regulation of MMP-9 and MMP-2 expression in gastric cancer cells.

**[Key words]** gastric cancer; tumor-associated macrophage; proliferation; invasion; migration; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(1): 36-41. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.01.007]

**[基金项目]** 辽宁省科学技术计划资助项目(No. 2015020377)。Project supported by the Science and Technology Plan of Liaoning Province (No.2015020377)

**[作者简介]** 张升瑞(1973-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床研究, E-mail: sinobi@163.com

**[通信作者]** 曾宪东(ZENG Xiangdong, corresponding author), 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事消化系统肿瘤的临床研究, E-mail: aitony777@126.com

胃癌是常见消化道恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在所有恶性肿瘤中位居第2位,高转移性、高侵袭性是导致患者死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。目前,临床主要采用手术和化疗治疗胃癌,但疗效并不理想,探究胃癌发生机制对于寻找其治疗靶点具有十分重要的意义<sup>[2]</sup>。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)与肿瘤的发生、发展密切相关,在肿瘤细胞的增殖中扮演抑癌或促癌的角色<sup>[3]</sup>。以往的研究<sup>[4]</sup>显示,TAM可促进胃癌细胞的浸润和转移,进而促进EMT过程,但是否影响胃癌细胞的增殖、迁移、侵袭与凋亡,目前尚不清楚。本研究通过建立TAM和胃癌细胞共培养体系,观察TAM对胃癌细胞增殖、凋亡和迁移的影响,旨在探究TAM对胃癌细胞恶性生物学行为的影响及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系、主要试剂与仪器

人单核细胞株 THP-1、胃癌 MGC-803 细胞购于中科院上海细胞研究所。胎牛血清(FBS)、青霉素/链霉素、RPMI-1640 培养基购于 Gibco 公司,佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)购于 Sigma 公司,胰酶、RAPI 裂解液购于杭州碧云天生物研究所,Transwell 小室系统购于美国 BD 公司,TRIzol 试剂购于 Invitrogen 公司,蛋白提取试剂盒购自大连 TaKaRa 公司,二联喹啉酸(BCA)蛋白检测试剂盒购于美国 Thermo 公司,鼠抗人 MMP-9、MMP-2、 $\beta$ -actin 抗体购于美国 Santa Cruz 公司,PDVF 膜购于上海生工生物工程公司。荧光显微镜购于 Olympus 公司,凝胶成像仪购自于美国 Bio-Red 公司。

### 1.2 细胞培养及分组

将人单核细胞株 THP-1、胃癌 MGC-803 细胞 37 °C 解冻后置于含 10%FBS 的 RPMI 1640 培养基中,于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱内中培养,当细胞汇合度达 80% 时,添加胰酶进行消化,将培养至第 3 代的细胞用于后续研究。

取对数生长期 THP-1 细胞,调整细胞密度为  $2 \times 10^5$  个/ml,接种于细胞培养板内,添加 10  $\mu$ g/L PMA 培养 48 h 后,添加 20 nmol/L IL-4 继续培养 18 h,将 THP-1 细胞诱导分化为 M2 型 TAM。置于光学显微镜下观察 THP-1 细胞形态变化,流式细胞仪检测细胞表面标志物 CD68 抗原的表达。

非接触式共培养体系建立:取对数生长期 MGC-803 细胞用胰酶消化后,添加培养基重悬,细胞密度调整为  $1 \times 10^5$  个/ml。取对数生长期 M2 型 TAM,添加培养基重悬后细胞密度调整为  $5 \times 10^5$  个/ml,将细胞分为 3 组:(1)单独培养组,仅培养 MGC-803 细胞;(2)

非接触共培养组,将 M2 型 TAM 接种在 Transwell 小室上室内,MGC-803 细胞接种在下室;(3)接触共培养,将 MGC-803 细胞接种在 M2 型 TAM 培养液中混合培养。

### 1.3 ELISA 法检测 M2 型 TAM 上清中 IL-12、IL-10 水平

以正常 THP-1 细胞作为未诱导组,收集未诱导组、诱导组细胞上清液后,添加标准品梯度稀释液,置于 37 °C 孵育 60 min,清洗后甩干,添加生物素标记 IL-12、IL-10 抗体(1:500),37 °C 孵育 60 min,PBS 洗涤后,添加 TBS 工作液孵育 30 min,随后加入显色液,避光孵育 30 min,添加终止液终止反应,每组设定 3 个重复实验,在酶标仪中测定波长在 450 nm 处的光密度(D)值,绘制标准曲线,计算样品浓度。

### 1.4 MTT 法检测 M2 型 TAM 对 MGC-803 细胞增殖的影响

以上 3 组细胞置于培养箱内分别培养 24、48、72 和 96 h 后,每组设定 3 个重复实验,单独培养组、接触共培养组添加 50  $\mu$ l MTT 液,非接触共培养组于 Transwell 小室下室内添加 50  $\mu$ l MTT 液,继续培养 4 h,离心后保留下层细胞添加 DMSO 避光孵育 15 min,置于酶标仪中检测波长在 570 nm 处的 D 值,计算细胞的增殖抑制率。细胞增殖抑制率(%)=(1-实验组 D 值/对照组 D 值)×100%。实验重复 3 次

### 1.5 Transwell 小室法检测 M2 型 TAM 对 MGC-803 细胞迁移的影响

收集细胞后在不含 FBS 的培养基内培养 24 h,制备单细胞悬液,细胞密度调整为  $1 \times 10^5$  个/ml,接种 200  $\mu$ l 不同途径培养的 MGC-803 细胞,10% 胎牛血清培养液添加至下室,37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h 后,舍弃 Transwell 小室培养液,取出下室清洗,用棉签将未穿透细胞清理干净,风干后添加多聚甲醛固定 30 min,于结晶紫染液中染色 15 min,PBS 清洗后置于光学显微镜下计数。实验重复 3 次。

### 1.6 Transwell 小室法检测 M2 型 TAM 对 MGC-803 细胞侵袭的影响

Transwell 小室上室包被 matrigel 稀释液(matrigel 胶:培养基=1:4),晾干呈凝胶状态。接种 200  $\mu$ l 不同途径培养的 MGC-803 细胞,10% 胎牛血清培养液添加至下室,染色步骤同迁移实验,在显微镜下统计穿膜细胞数。实验重复 3 次。

### 1.7 AnnexinV-FITC/PI 染色流式细胞术检测 M2 型 TAM 对 MGC-803 细胞凋亡及细胞周期的影响

收集各组细胞,加入 0.2% 胰酶溶液消化细胞,将细胞密度调整为  $1 \times 10^6$  个/ml,预冷 PBS 清洗后,加入 200  $\mu$ l 结合缓冲液重悬,随后添加 10  $\mu$ l AnnexinV-

FITC液,置于4℃冰箱中避光条件下孵育10 min,继续添加10 μl PI避光条件下孵育10 min,置于流式细胞仪中检测细胞凋亡及其细胞周期的变化。实验重复3次。

### 1.8 qPCR法检测MGC-803细胞中MMP-9、MMP-2 mRNA表达

按照RNA提取试剂盒提取细胞RNA,逆转录为cDNA。qPCR中MMP-9、MMP-2引物序列见表1。qPCR反应体系为20 μl: SYBR Premix 10 μl, cDNA模板1 μl,上下游引物各0.5 μl,加H<sub>2</sub>O 8 μl,每个样本均设置3个重复。反应程序设定:95℃预变性5 min,95℃变性10 s、60℃退火20 s,72℃30 s,共35个循环,72℃延伸10 min。以β-actin作为内参基因,根据2<sup>-ΔΔCt</sup>法分析MMP-9、MMP-2 mRNA相对表达水平。实验重复3次。

表1 引物序列

Tab.1 Primer sequences

Gene	Sequence
MMP-9	F:5'-GTGCTGGGCTGCTGCTTTGCTG-3' R:5'-GTCGCCCTCAAAGGTTTGAAT-3'
MMP-2	F:5'-TGATCTTGACCAGAATACCATCGA-3' R:5'-GGCTTGCGAGGGAAGAAGTT-3'
β-actin	F:5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3' R:5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3'

### 1.9 Western blotting检测MGC-803细胞中MMP-9、

### MMP-2蛋白的表达

收集MGC-803细胞,采用TRIzol法提取细胞总蛋白,BCA法检测蛋白浓度,SDS-PAGE分离蛋白、转至PVD膜,5%脱脂牛奶封闭后添加MMP-9、MMP-2、β-actin一抗(1:500)4℃孵育过夜,加入HRP标记IgG二抗(1:5000),室温下孵育1 h,以β-actin作为内参蛋白,采用凝胶成像仪Image软件评估MMP-9、MMP-2蛋白的表达水平。实验重复3次。

### 1.10 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行t检验,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较采用snk-q检验。以P<0.05或P<0.01表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 培养成功的M2型TAM的形态

THP-1单核细胞起始为悬浮细胞,用PMA诱导后,细胞贴壁生长,细胞形态出现较大变化,体积明显增大,伸出梭形伪足符合巨噬细胞的形态特征(图1)。

流式细胞术检测结果(图2)显示,M2型TAM表面CD68表达水平显著高于阴性对照组和未诱导组( $t=52.634, P<0.05$ )。结果表明,成功培养的M2型TAM可用于后续实验。

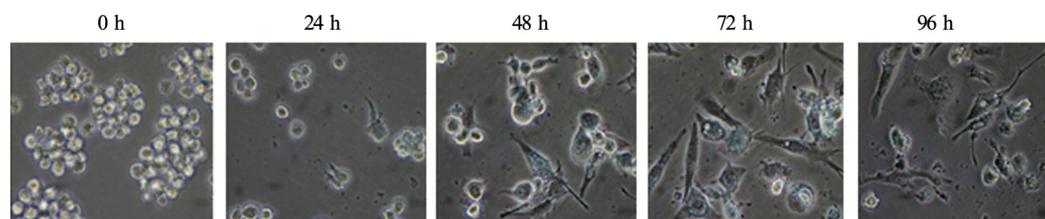
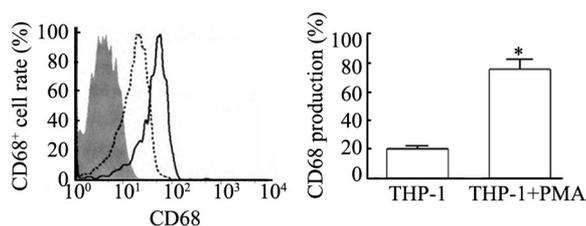


图1 诱导分化的THP-1细胞的形态(×200)

Fig.1 Morphology of differentiated THP-1 cells(×200)



\*P<0.05 vs THP-1 group

Gray areas were negative controls; The dotted line was the un-induced group; The solid line was the PMA induction group

图2 M2型TAM表面CD68高表达

Fig.2 High expression of CD68 on the surface of M2-type TAM

### 2.2 M2型TAM上清液中IL-12和IL-10表达

ELISA法检测结果显示,与PMA组相比,PMA+IL-4组细胞上清液中IL-12水平显著降低[(6.21±1.03) vs (8.26±0.62)pg/ml,  $t=4.177, P<0.05$ ],IL-10水平显著升高[(1.92±0.23) vs (1.21±0.14)ng/ml,  $t=6.549, P<0.05$ ]

### 2.3 M2型TAM促进胃癌MGC-803细胞的增殖

MTT法检测结果(图3)显示,随着培养时间的延长,各组细胞增殖率逐渐升高,与单独细胞培养组相比,非接触共培养组、接触共培养组不同时间点细胞增殖率均显著升高( $F=74.461, 11.784, 10.160, 30.769$ ;均 $P<0.05$ )。结果表明,M2型TAM促进胃癌

MGC-803细胞增殖。

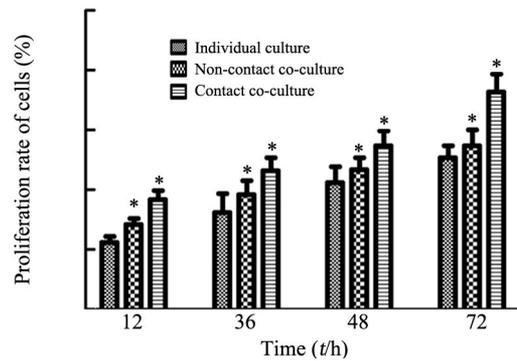
0.05]。

### 2.4 M2型TAM促进胃癌MGC-803细胞的迁移和侵袭

Transwell小室法检测结果(图4)显示,非接触共培养组、接触共培养组细胞迁移、侵袭数目均显著高于单独细胞培养组[(81.12±9.76)、(126.73±10.32) vs (53.64±6.89)个,  $F=98.433, P<0.05$ ; 侵袭:(123.52±18.55)、(187.46±10.28) vs (87.46±7.28)个,  $F=91.821, P<0.05$ ]。结果表明,M2型TAM促进胃癌MGC-803细胞的迁移和侵袭。

### 2.5 M2型TAM降低胃癌MGC-803细胞的凋亡率

Annexin V-FITC/PI染色流式细胞术检测结果(图5)显示,非接触共培养组、接触共培养组细胞的凋亡率显著低于单独细胞培养组[(28.62±2.56)%、(18.58±3.29)% vs (38.03±1.42)% ,  $F=87.808, P<$



\* $P<0.05$  vs Individual culture group

图3 M2型TAM对胃癌MGC-803细胞增殖的影响  
Fig.3 Effect of M2-type TAM on proliferation of gastric cancer MGC-803 cells

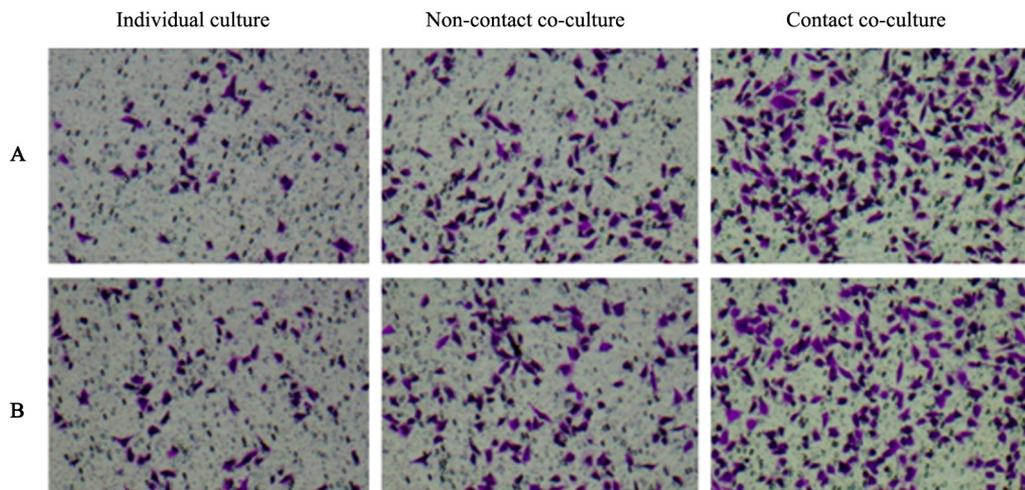


图4 M2型TAM对胃癌MGC-803细胞迁移(A)、侵袭(B)的影响(结晶紫染色,×200)

Fig.4 Effect of M2-type TAM on migration (A) and invasion (B) of gastric cancer MGC-803 cells (Crystal violet staining, ×200)

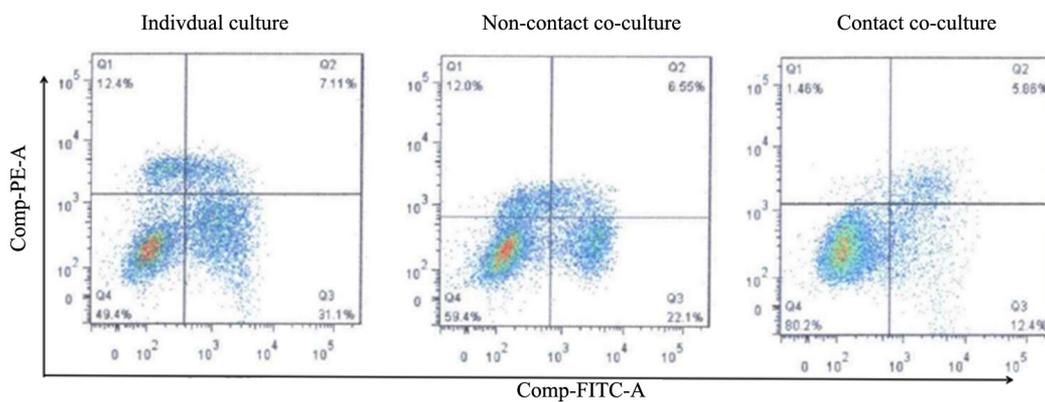


图5 M2型TAM对胃癌MGC-803细胞凋亡率的影响

Fig.5 Effect of M2-type TAM on apoptosis rate of gastric cancer MGC-803 cells

### 2.6 M2型TAM对胃癌MGC-803细胞周期的影响

流式细胞术检测结果(图6)显示,与单独细胞培

养组相比,非接触共培养组、接触共培养组MGC-803细胞G1期数量显著降低( $F=9.352, P<0.05$ ),S、G2期

数量均显著升高( $F=4.094, 39.258$ ; 均 $P<0.05$ )。

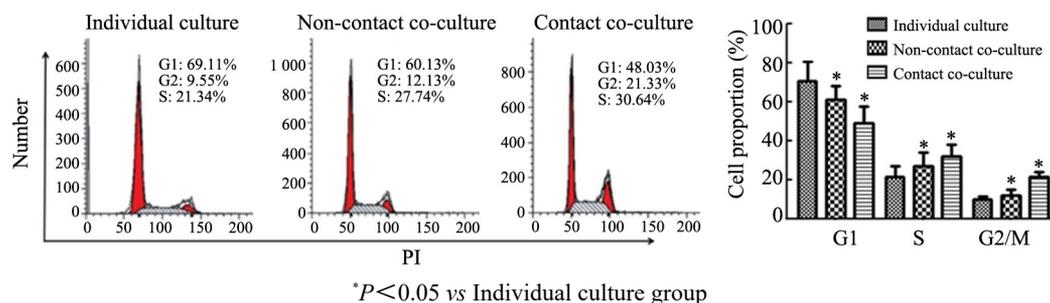


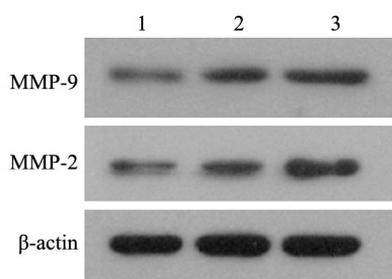
图6 M2型TAM对胃癌MGC-803细胞周期的影响

Fig.6 Effect of M2-type TAM on cell cycle of gastric cancer MGC-803 cells

### 2.7 胃癌MGC-803细胞中MMP-9、MMP-2 mRNA和蛋白高表达

qPCR检测结果显示,非接触共培养组、接触共培养组MGC-803细胞中MMP-9、MMP-2 mRNA表达水平显著高于单独细胞培养组[MMP-9:( $1.35 \pm 0.12$ )、( $1.69 \pm 0.07$ ) vs ( $1.06 \pm 0.14$ ),  $F=46.100$ ,  $P<0.05$ ; MMP-2:( $1.36 \pm 0.12$ )、( $1.80 \pm 0.17$ ) vs ( $1.02 \pm 0.08$ ),  $F=55.388$ ,  $P<0.05$ ].

Western blotting检测结果(图7)显示,非接触共培养组、接触共培养组MGC-803细胞中MMP-9、MMP-2蛋白表达水平显著高于单独细胞培养组[MMP-9:( $0.46 \pm 0.06$ )、( $0.68 \pm 0.07$ ) vs ( $0.31 \pm 0.04$ ),  $F=61.723$ ,  $P<0.05$ ; MMP-2:( $0.38 \pm 0.07$ )、( $0.88 \pm 0.09$ ) vs ( $0.27 \pm 0.03$ ),  $F=136.878$ ,  $P<0.05$ ].



1: Individual culture group; 2: Non-contact co-culture group; 3: Contact co-culture group

图7 各组MGC-803细胞中MMP-9和MMP-2蛋白的表达

Fig.7 Expressions of MMP-9 and MMP-2 protein in MGC-803 cells of each group

### 3 讨论

胃癌是临床常见恶性肿瘤之一,其高侵袭性、高转移性是导致患者治疗失败以及远期不良预后的重要因素,探讨胃癌侵袭、转移的分子机制并以此寻找有效的治疗靶点,是目前研究的重要任务<sup>[5]</sup>。肿瘤微

环境由成纤维细胞、基质细胞、免疫细胞相互作用、影响共同构成。近期研究<sup>[6]</sup>证实,肿瘤的发生发展、转移与肿瘤微环境中细胞成分密切相关,肿瘤组织内存在的高密度单核巨噬细胞主要为M2型TAM,且其比例越高往往预示患者不良预后。因此,研究M2型TAM对胃癌细胞恶性生物学行为的影响,对于寻找胃癌治疗新的靶点具有十分重要的意义。

通常采用PMA体外诱导THP-1单核细胞作为巨噬细胞培养细胞模型,其具有巨噬细胞的特征如黏附及吞噬作用,多用于体外模拟肿瘤微环境<sup>[7]</sup>。本研究体外培养结果显示,THP-1单核细胞起始为悬浮细胞,PMA诱导24h后,细胞贴壁生长,体积明显增大,伸出梭形伪足,以上均符合巨噬细胞的形态特征<sup>[8]</sup>。CD68为巨噬细胞的表面标志物,本研究显示诱导后的巨噬细胞表面CD68高表达,结合形态学检测结果表明体外巨噬细胞诱导培养成功。巨噬细胞经不同极化后能够产生不同类型细胞,脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)极化后可产生M1型TAM,IL-4极化后可产生M2型TAM,可通过极化前后细胞中IL-10、IL-12水平变化情况来区分<sup>[9]</sup>。IL-12一般是由巨噬细胞产生并分泌到细胞外,能够促进机体炎症反应,为抗肿瘤细胞因子,对NK细胞有细胞毒性作用<sup>[10]</sup>。IL-10属于II型细胞因子,其具有较强抗细胞免疫活性、抗炎活性,为促癌细胞因子<sup>[11]</sup>。MAKITA等<sup>[12]</sup>研究显示,M2型TAM分泌高水平IL-10、低水平的IL-12。本研究结果显示,与PMA组相比,PMA+IL-4组细胞上清液中IL-12水平显著降低、IL-10水平显著升高,提示M2型TAM诱导成功。

多项研究<sup>[13-14]</sup>证实,M2型TAM可通过生长因子、MMP、趋化因子的表达肿瘤促进血管形成和癌细胞转移,发挥促癌功能,如在肺癌、肝癌中等。在卵巢癌中研究<sup>[15]</sup>显示,巨噬细胞能够促进卵巢癌SKOV3细胞增殖、迁移和侵袭。本研究结果显示与单独细胞培养组相比,非接触共培养组、接触共培养

组胃癌细胞的增殖率、迁移及侵袭数量明显升高,提示胃癌细胞与M2型TAM不管是否为接触培养均可相互作用,促进胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移。

细胞凋亡和细胞周期失调是影响肿瘤细胞增殖的重要因素,而在此期间外源巨噬细胞的刺激也会影响细胞周期进展以及细胞凋亡。目前已经发现在胃癌细胞中,M1型TAM可促进胃癌细胞凋亡,而M2型TAM可抑制胃癌细胞的凋亡<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,与单独细胞培养组相比,非接触共培养组、接触共培养组细胞凋亡率显著降低,提示M2型TAM可抑制胃癌细胞的凋亡。在肝癌中的研究<sup>[17]</sup>发现,M2型TAM可通过上调miR-16使肝癌细胞阻滞在G1期。本研究显示与单独细胞培养组相比,非接触共培养组、接触共培养组胃癌细胞G1期细胞明显降低,S、G2期细胞比例明显升高,提示M2型TAM可解除胃癌细胞细胞周期阻滞,进而促进其增殖,降低细胞凋亡,发挥促癌作用。

MMP属于广泛参与细胞外基质降解的重要蛋白酶,胃癌细胞自身能够分泌MMP-9、MMP-2降解基底膜以及细胞外基质,进而破坏细胞屏障,促进癌细胞转移、侵袭。郑海燕等<sup>[18]</sup>研究认为,巨噬细胞在趋化因子刺激后可大量合成MMP,使细胞外基质降解,进而导致肿瘤细胞脱落,加速细胞转移。冯稳等<sup>[19]</sup>研究显示,将巨噬细胞与食管癌细胞共培养后,食管癌细胞降解基质能力以及迁移能力均提高,且细胞中MMP-9、MMP-2水平均升高。本研究显示与单独细胞培养组相比,非接触共培养组、接触共培养组胃癌细胞中MMP-9、MMP-2表达均升高,提示M2型TAM通过上调MMP-9、MMP-2引发基质降解,促进肿瘤细胞转移。

综上所述,M2型TAM能够上调胃癌细胞中MMP-2、MMP-9表达,提高胃癌细胞增殖活性,促进其侵袭与迁移,减少其凋亡。然而胃癌细胞转移机制较复杂,本研究仅以胃癌细胞MGC-803为研究对象,探究M2型TAM对其恶性生物学行为的影响,所涉及其他机制还有待深入探究。

## [参考文献]

- [1] 左婷婷,郑荣寿,曾红梅,等. 中国胃癌流行病学现状[J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(1): 52-58. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2017.01.881.
- [2] 张子龙,曾放,庞典付,等. 胃癌术后化疗联合自体肿瘤细胞抗原致敏DC-CIK细胞治疗的疗效[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(6): 660-664. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.015.
- [3] 郭秋均,李杰. 肿瘤相关巨噬细胞在重塑肿瘤免疫微环境中的作用[J]. 肿瘤, 2013, 33(10): 128-130. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2013.10.014.
- [4] 齐蕾,许欣,巩翠珂,等. 肿瘤相关巨噬细胞促进胃癌上皮-间质转化的机制[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(4): 241-243. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2018.04.006.
- [5] 刘婕,唐世孝. EBV相关性胃癌发病机制的研究进展[J]. 重庆医学, 2013, 42(31): 3836-3838. DOI:3969/j.issn.1671-8348.2013.31.044.
- [6] 李育刚,韩扬,史阳,等. 非小细胞肺癌中M2型巨噬细胞对临床预后的影响[J]. 肿瘤, 2014, 34(4): 349-356. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2014.04.009.
- [7] 章述军,雷青松,李麟,等. 两种PMA诱导方案对THP-1巨噬细胞M1和M2亚型相关基因表达的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(6): 765-771. DOI:10.11844/cjcb.2017.06.0372.
- [8] 韩宇,王化泉,付蓉,等. 骨髓增生异常综合征患者单个核细胞诱导的巨噬细胞的特征及功能[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(8): 258-260. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.08.011.
- [9] 陈汜尘,陈广洁,陈红. M1/M2型巨噬细胞与心血管疾病关系的研究进展[J]. 现代免疫学, 2015, 35(6): 507-510. DOI:1001-2478.2015.06
- [10] RUFFELL B, CHANG-STRACHAN D, CHAN V, et al. Macrophage IL-10 blocks CD8(+) T cell-dependent responses to chemotherapy by suppressing IL-12 expression in intratumoral dendritic cells[J]. Cancer Cell, 2014, 26(5): 623-637. DOI:10.1016/j.ccell.2014.09.006.
- [11] BEI Z, BAILEY W M, BRAUN K J, et al. Age decreases macrophage IL-10 expression: implications for functional recovery and tissue repair in spinal cord injury[J/OL]. Exp Neurol, 2015, 273: 83-91[2018-09-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4644435/>. DOI:10.1016/j.expneurol.2015.08.001.
- [12] MAKITA N, HIZUKURI Y, YAMASHIRO K, et al. IL-10 enhances the phenotype of M2 macrophages induced by IL-4 and confers the ability to increase eosinophil migration[J]. Int Immunol, 2015, 27(3): 131-141. DOI:10.1093/intimm/dxu090.
- [13] 李亚,陈思成,王静,等. 肿瘤相关M2型巨噬细胞通过上调VEGFR3的表达促进肺腺癌A549细胞的迁移和侵袭[J]. 肿瘤, 2016, 36(8): 846-856. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2016.11.319.
- [14] 杜恒,戴德坚,郭晓雷,等. HBX蛋白与M2巨噬细胞介导肝癌细胞上皮间质转化的实验研究[J]. 中华普通外科杂志, 2016, 31(6): 497-500. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2016.06.018.
- [15] 杨闯,柯星,张淑平,等. THP-1源性巨噬细胞对卵巢癌SKOV3细胞Toll样受体mRNA表达的影响[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(4): 277-280. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2014.04.10.
- [16] 傅余相. M1型和M2型巨噬细胞对胃癌SGC-7901不同作用的实验研究[D]. 青岛大学, 2012.
- [17] 花晨. miR-16在M2型巨噬细胞选择性激活中的作用研究[D]. 扬州大学, 2014.
- [18] 郑海燕,王兴芬,潘彦珞,等. 胃癌组织中MCP-1、MMP-9的表达与间质中TAMs浸润的关系[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(3): 218-221. DOI:10.3969/j.issn.1009-0460.2010.03.007.
- [19] 冯稳,陈奎生,于庆凯,等. 肿瘤相关巨噬细胞、基质金属蛋白酶-9与食管鳞癌浸润、转移的关系[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(2): 235-238. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2016.02.020.

[收稿日期] 2018-09-03

[修回日期] 2018-12-02

[本文编辑] 党瑞山