doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.17.005

肿瘤相关巨噬细胞对肾透明细胞癌增殖作用及其分子机制的影响*

张 磊 樊扬威 胡 媛 井佳瑜 师 煜 李恩孝△

（西安交通大学 肿瘤内科 陕西 西安 715300）

摘要 目的:探讨肿瘤相关巨噬细胞(Tumor Associated Macrophages, TAMs)对肾透明细胞癌的增殖影响及其分子机制。**方法:**将单核细胞系(THP-1)细胞诱导为 TAMs,同时采用细胞共培养方法将 TAMs 和肾透明细胞癌 ACHN 共培养,共培养前后舒尼替尼给药处理;CCK-8 和克隆形成实验检测共培养前后 ACHN 细胞增殖能力;TAMs 和 ACHN 细胞共培养，采用皮下接种方法建立裸鼠皮下移植瘤模型,舒尼替尼给药处理,观察裸鼠皮下成瘤能力及肿瘤体积大小;Western Blot 检测共培养前后磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (Phosphoinositol Dependent Protein Kinase 1,PDPK1)介导磷酸甘油酸激酶 1(Phosphoglycerate Kinase 1, PKG1)的磷酸化作用的影响。**结果:**显微镜观察结果显示肿瘤相关巨噬细胞促进了 ACHN 细胞增殖作,而舒尼替尼可以抑制其促增殖作用;CCK-8 和克隆形成实验表明 TAMs 促进了 ACHN 克隆形成能力，但是其克隆形成能力可以被舒尼替尼抑制；动物实验证明 TAMs 促进裸鼠皮下成瘤能力和移植瘤的成长;肿瘤相关巨噬细胞可以通过分泌 IL-6 促进 PDPK1 介导 PKG1 的磷酸化。**结论:**肿瘤相关巨噬细胞通过分泌 IL-6 促进 PDPK1 介导 PKG1 的磷酸化作用,从而促进了肾透明细胞癌的增殖作用。

关键词:巨噬细胞;透明细胞癌;IL-6;PDPK1;PKG1

中图分类号:R-33;R737.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)17-3225-05

Sunitinib inhibits PDPK1-mediated PKG1 Phosphorylation and Inhibits Proliferation of Renal Clear Cell Carcinoma by Inhibiting Macrophage Secretion of IL-6*

ZHANG Lei, FAN Yang-wei, HU Yuan, JING Jia-yu, SHI Yu, LI En-xiao△

(Department of Onalogy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 715300, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Tumor Associated Macrophages (TAMs) on the proliferation of renal clear cell carcinoma (RCCC) and its molecular mechanism. **Methods:** Monocyte line (THP-1) cells were induced into TAMs, and TAMs and ACHN were co-cultured with clear cell carcinoma of kidney (RCC) by cell co-culture method, then treated with sunitinib before and after co-culture; CCK-8 and clone formation assay were used to detect the proliferation of ACHN cells before and after co-culture; TAMs and ACHN cells were co-cultured with subcutaneous inoculation method to establish subcutaneous transplanted tumor model in nude mice, where sunitinib was administered. Western Blot was used to detect the effect of Phosphoinositol Dependent Protein Kinase 1 (PDPK1) on phosphorylation of Phosphoglycerate Kinase 1 (PKG1) before and after co-culture. **Results:** Microscopic observation showed that tumor-related macrophages promoted the proliferation of ACHN cells, while sunitinib inhibited the proliferation of ACHN cells; CCK-8 and clonogenesis experiments showed that TAMs promoted the clonogenic ability of ACHN, but its clonogenic ability could be inhibited by sunitinib; animal experiments showed that TAMs promoted the growth of subcutaneous tumors and transplanted tumors in nude mice. Tumor-related macrophages can promote the phosphorylation of PKG1 mediated by PDPK1 by secreting IL-6. **Conclusion:** Tumor-related macrophages promote the phosphorylation of PKG1 mediated by PDPK1 through secreting IL-6, thus promoting the proliferation of renal clear cell carcinoma.

Key words: Macrophages; Clear cell carcinoma; IL-6; PDPK1; PKG1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.11 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2019)17-3225-05

前言

肾透明细胞癌（renal cell carcinoma,RCC)是源于肾小管上皮恶性程度较高的肿瘤，是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,肾透明细胞癌约占原发性肾恶性肿瘤 80%～95%[1-3],因其具有多耐药基因等原因，肾透明细胞癌对放化疗均不敏感,多为手术切除治疗[4]。2005 年,首个靶向治疗肾细胞癌药物索拉非尼(sorafenib)经美国食品药品管理局批准之后上市,舒尼替

* 基金项目:陕西省自然科学基金项目(2017SZ3428JGF0)

作者简介:张磊,硕士,主要研究方向:肿瘤的靶向治疗,E-mail: 2814617272@qq.com

△ 通讯作者:李恩孝,主任医师,教授,主要研究方向:肿瘤分子机制,E-mail: 18663925461@163.com,电话:18663925461

(收稿日期:2018-03-21 接受日期:2018-04-18)

尼(Sunitinib)则是最具典型的代表性药物,在临床治疗中多和手术切除联合治疗,对肾细胞癌晚期患者的术后生存期有明显延长作用[5,6]。现有研究可知舒尼替尼通过作用于血管内皮生长因子受体、血小板衍生内皮生长因子受体和 IL-6 等靶点,可以直接抑制肿瘤生长,又能够通过抑制肿瘤新生血管生成而间接抑制肿瘤生长[7]。肿瘤微环境是肿瘤细胞赖以生存的的复杂环境,主要由多种不同的细胞外基质和基质细胞组成[8]。肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-associated macrophages, TAMs)是侵润在肿瘤组织中的巨噬细胞,是肿瘤微环境中最多的免疫细胞,对肿瘤的发生进展起到积极的作用[9]。但是巨噬细胞对肾透明细胞癌作用的分子机制仍然鲜有报道。

本实验研究了肾透明细胞癌 ACHN 和肿瘤相关巨噬细胞共培养下对其增殖作用的影响以及分子机制的研究,为临床治疗肾透明细胞癌提供新的依据,同时发现潜在的肾透明细胞癌新的作用靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

苹果酸舒尼替尼肾透明细胞癌细胞系 ACHN 和单核细胞 THP-1 细胞购自中科院上海细胞库,蛋白定量试剂盒、SDS 凝胶试剂盒、细胞裂解液均购自武汉碧天根生物有限公司,蛋白酶抑制剂购自罗氏试剂生物有限公司,高糖 DMEM、RPMI-1640 培养基、优级胎牛血清、胰蛋白酶消化液均购自美国 HyClone,青链霉素混合液购自北京碧云天有限公司,CD206、白介素 6(Interleukin 6,IL-6)、PDPK1、PKG1 和 P-PKG1 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,游标卡尺购自哈尔滨量具刃具有限责任公司,4%多聚甲醛购自西安科昊生物技术有限公司,裸鼠由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 TAMs 和 AHCN 细胞共培养 在 6 孔板中用 50 μg/L PMA 刺激培养 THP-1,加入 10% FCS 的 RPMI-1640 培养液培养 48 h,获得 TAMs。将 TAMs 和 AHCN 共培养在 6 孔板中。

1.2.2 CCK-8 测细胞增殖 待细胞长满后调整细胞浓度为 5× 10^4 cells/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μL,37℃,5% CO_2 培养箱内培养 48 h 后在每孔加入 20 μL 的 CCK-8,37℃,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。

1.2.3 细胞克隆形成实验 将对数生长期 ACHN 和 TAMs 细胞消化,调整密度为 300 个 / 孔,接种至 6 孔板,每孔加 2 mL 10%胎牛血清 DMEM 培养液。细胞接种 5 d 后每孔各加 500 μL 胎牛血清继续培养。贴壁生长 15 d 后,PBS 洗 3 次,4%多聚甲醛固定 15 min。固定后用 0.1%结晶紫溶液染色 15 min,PBS 轻轻冲洗细胞,室温风干后计数多于 50 个细胞的克隆。根据公式计算克隆形成率:克隆形成率(%)= 克隆数 /300× 100%。

1.2.4 WB 检测 IL-6、PDPK1 、PKG1 和 P-PKG1 蛋白表达水平 细胞计数以 1× 10^6 个细胞 /mL 的细胞数种到 6 孔板中,设 3 个复孔。细胞贴壁取出 6 孔板,弃掉上清;PBS 清洗 1 min 后加含有蛋白酶抑制剂的裂解液并吹打细胞团,后放置冰上裂解,30 min 后用细胞刮将细胞刮下来转移至 1.5 mL 试管中,高速离心并抽取上清,即为所提蛋白。蛋白定量完成后加上样缓冲液,沸水煮 5 min,样品可冻于 -80 ℃保存。SDS-PACE 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,裁剪条带并分别加入 IL-6、PDPK1、PKG1、P-PKG1 和 β-actin 抗体,均为 1:1000 稀释,室温孵育 1 h 后 4℃过夜。次日反复清洗条带,加二抗室温孵育 90 min,PBS 反复冲洗,然后加 ECL 发光液,化学发光仪检测并拍照。

1.2.5 舒尼替尼抑制裸鼠皮下成瘤实验 出生 3 周雄性裸鼠,随机进行分组,对照组和实验组各 3 只,7 天后胰蛋白酶消化液消化对数生长期 ACHN 细胞,调整密度 5× 10^6 个 /200 μL,充分混匀在无血清 DMEM 培养液中,分别接种至对照组和实验组裸鼠皮下。7 天后裸鼠皮下成瘤,舒尼替尼给药 20 mg/kg/d,每 3 d 游标卡尺测 1 次移植瘤长径(a)和短径(b),计算肿瘤体积(V):肿瘤体积 $=\frac{ab^2}{2}$,并绘制肿瘤生长曲线。裸鼠实验遵循动物保护和做好动物福利相关规定,并经室验动物伦理委员会批准。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行数据分析,计量资料数据用均数± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用 F 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 显微镜下观察 TAMs 对 ACHN 细胞的促增殖作用

肾透明癌细胞 ACHN 和肿瘤相关巨噬细胞 TAMs 共培养 48 h,显微镜下观察拍照结果表明 ACHN+TAMs 组细胞增殖明显能力明显强于 ACHN 组($P<0.05$),加入舒尼替尼 8 μm/L 干预 12 h 后,ACHN+TAMs+Sun 组细胞增殖速度明显减慢同 ACHN+TAMs 相比($P<0.05$)。

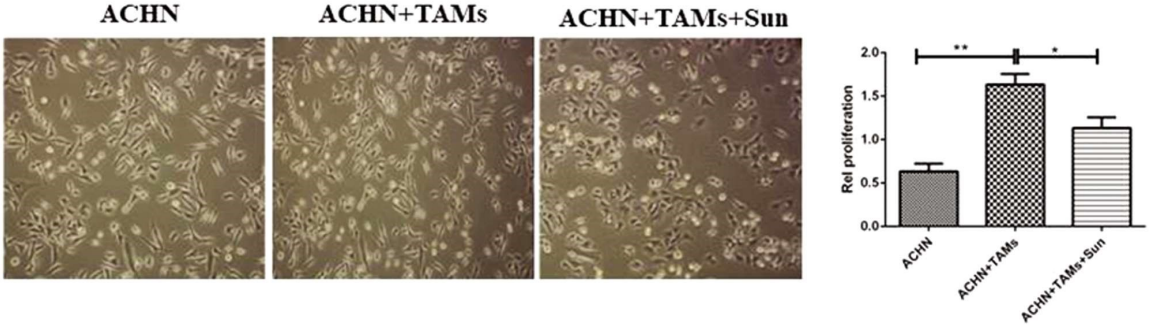


图 1 A:显微镜(10× 40 μm)下观察 TAMs 对 ACHN 细胞的促增殖情况

Fig.1 A: Proliferation of ACHN cells induced by TAMs was observed under a microscope (10× 40 um)

2.2 CCK-8 实验结果 TAMs 可以促进 ACHN 细胞增殖能力

CCK-8 结果表明 ACHN 组细胞增殖能力与 ACHN+TAMs 组比明显较弱(P<0.05)但是强于 ACHN+Sun 组,加入舒尼替尼 8 μm/L 干预 12 h 后,ACHN+TAMs+Sun 组细胞增殖能力明显低于 ACHN+TAMs 组(P<0.05)

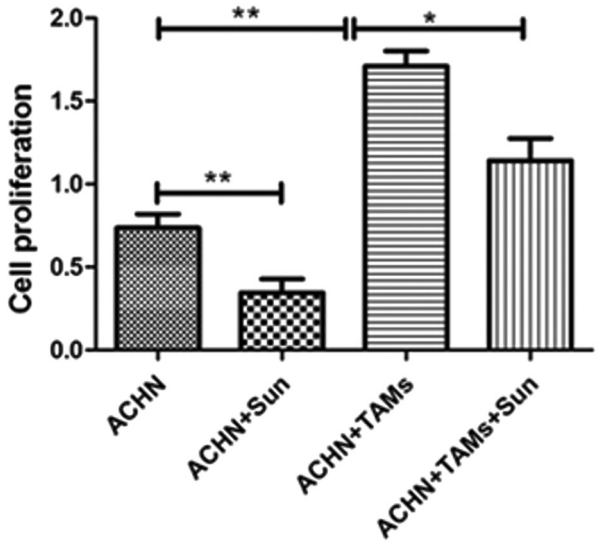


图 2 CCK-8 检测 ACHN、ACHN+Sun、ACHN+TAMs 和 ACHN+TAMs+Sun 四组细胞的增殖能力

Fig.2 CCK-8 detects the proliferative capacity of four groups of ACHN, ACHN+Sun, ACHN+TAMs and ACHN+TAMs+Sun cells

2.3 克隆形成结果表明 TAMs 促进 ACHN 细胞增殖能力

克隆形成实验结果表明 ACHN 组细胞克隆形成与 ACHN+TAMs 组比明显较弱(P<0.05)。但是强于 ACHN+Sun 组，加入舒尼替尼 8 μm/L 干预 12 h 后,ACHN+TAMs+Sun 组细胞克隆形成能力明显低于 ACHN+TAMs 组(P<0.05)。

2.4 动物实验证明 TAMs 可以促进裸鼠皮下成瘤能力和移植瘤的成长

皮下接种 TAMs 共培养后 ACHN 细胞,7 d 后成瘤，随后 ACHN+Sun 组腹腔注射舒尼替尼,20 mg/kg/d。随着时间的增加,药物干预组肿瘤生长明显较慢,结果表明舒尼替尼显著抑制了裸鼠皮下成瘤能力和移植瘤的成长(P<0.05)。

2.5 肿瘤相关巨噬细胞分泌 IL-6 抑制 PDPK1 介导 PKG1 的磷酸化

3 讨论

肿瘤微环境是指肿瘤基质中的各种细胞包括普通肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞、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[10]。肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-associated macrophages, TAMs)是侵润在肿瘤组织中的巨噬细胞，是存在肿瘤微环境中最多的免疫细胞,对肿瘤的发生进展起到积极的作用[11,12]。肾透明细胞癌的增殖、转移和侵袭过程同样和肿瘤相关巨噬细胞密不可分。肿瘤细胞的增殖是如何受浸润巨噬细胞的调控,以及是否受其调控导致癌症进展的因素仍然难以定论。研究表明,来自巨噬细胞的 IL-6

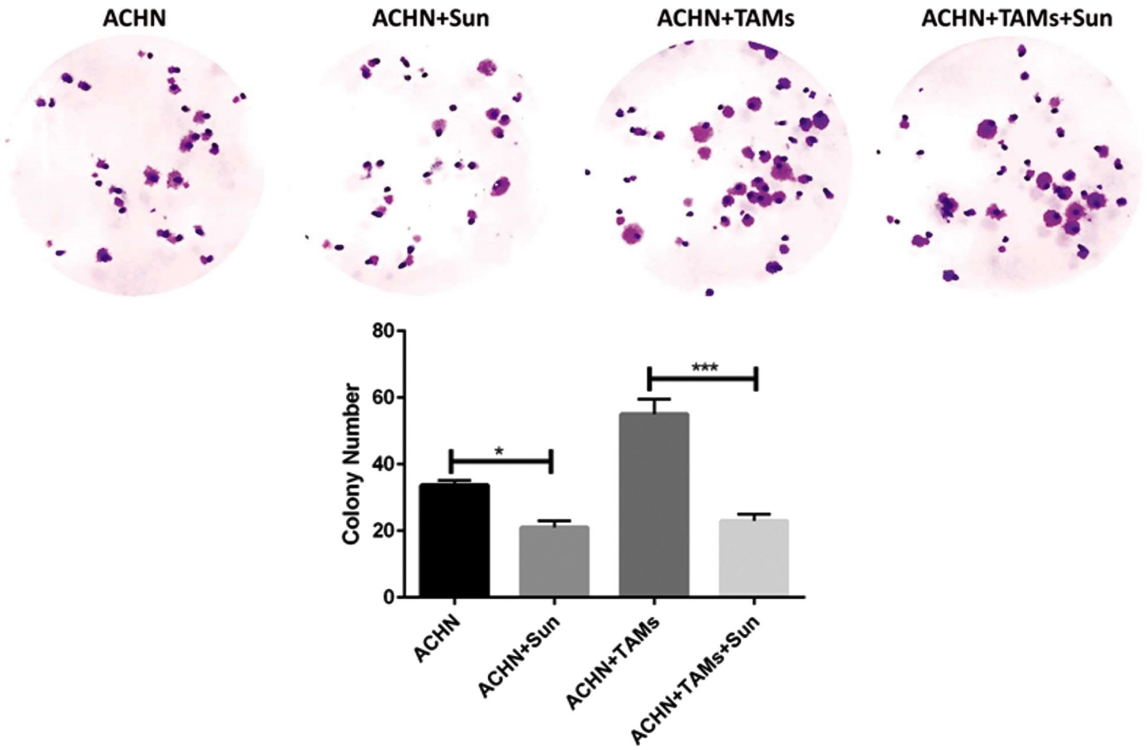


图 3 TAMs 促进 ACHN 细胞克隆形成能力(10× 40 μm)

Fig.3 TAMs Promote ACHN Cell Clone Formation Ability (10× 40 μm)

能诱导 GSK3b 磷酸化以稳定 b-catenin 增强 T 细胞因子(TCF)依赖性基因激活肿瘤细胞[13]。Il-6 也可以增强炎症反应促进肝细胞肝癌(HCC)通过激活 STAT3 和它发展下游抗凋亡促增殖基因[14,15]。

肿瘤微环境是肿瘤细胞赖以生存的的重要环境,由多种不同的细胞外基质和基质细胞组成[16,17]。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[18]。其中，肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤微环境中起到重要的作用，有研究表明在乳腺癌组织中的肿瘤相关巨噬细胞分泌的白介素 12 (Interleukin 12，IL12)能够刺激结乳腺癌细胞转变成为肿瘤干细胞，从而促进结乳腺癌细胞的增殖、转移和侵袭性[19,20]。

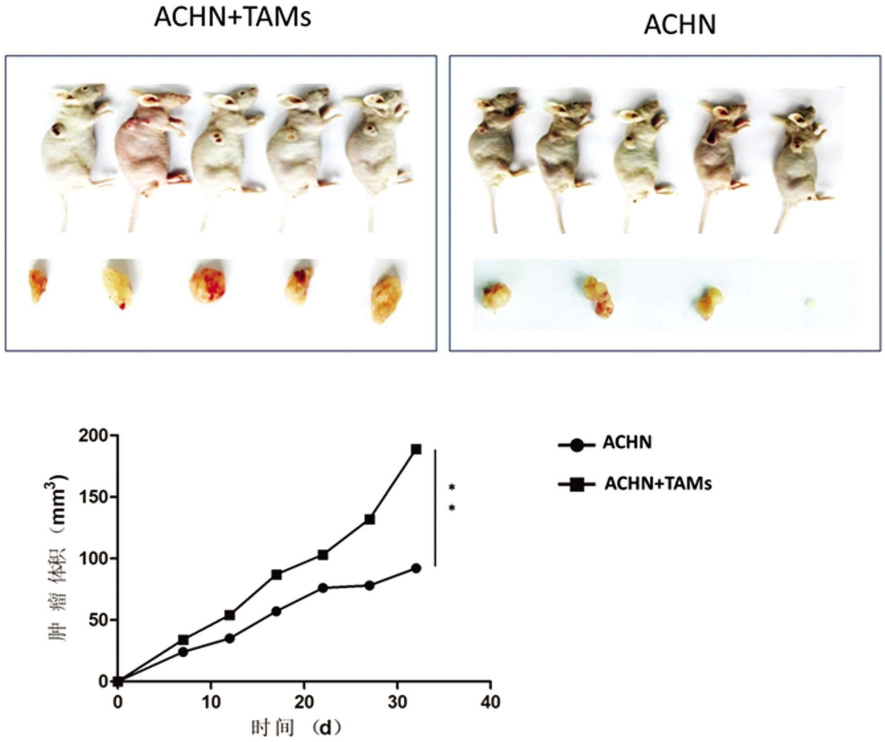


图 4 TAMs 促进裸鼠皮下成瘤能力和移植瘤的成长

Fig.4 TAMs promote subcutaneous tumorigenesis and growth of transplanted tumors in nude mice

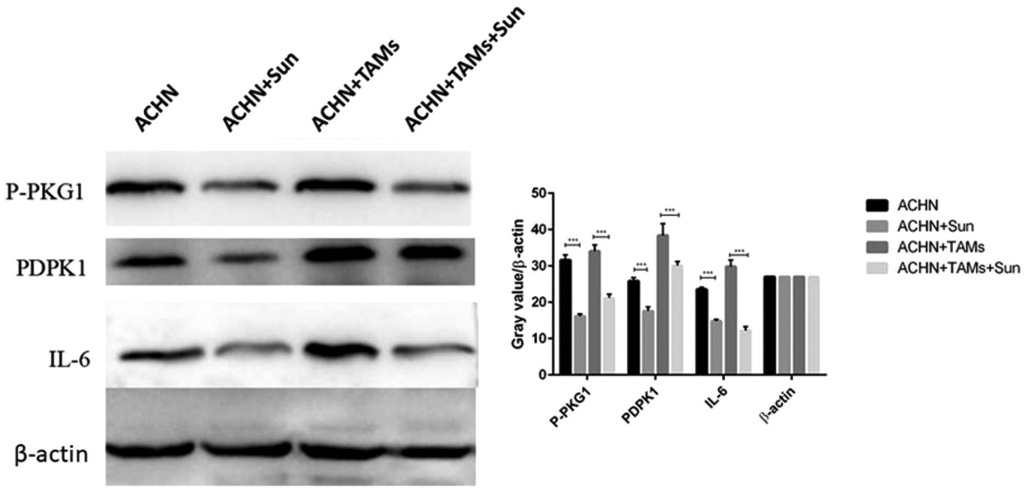


图 5 TAMs 分泌 IL-6 促进 PDPK1 介导 PKG1 的磷酸化

Fig.5 Interleukin-6 secreted by TAMs promotes phosphorylation of PKG1 mediated by PDPK1

肿瘤细胞微环境中同时存在肿瘤相关巨噬细胞由 M1 型转化为 M2 型的生理过程，M2 型巨噬细胞会促进肿瘤的生成和进展[21]。M2 型巨噬细胞可以促进基质金属蛋白酶的分泌，从而促进肿瘤相关成纤维细胞的胶原分泌，因此抑制 M2 型巨噬细胞的活性可作为一个抑癌的作用靶点[22]，比如，MAKP 信号通路就是通过刺激肿瘤相关巨噬细胞由 M1 型转化为 M2 型转化促进金属蛋白酶活性从而引发肿瘤相关成纤维细胞分泌胶原来促进结肠癌的发生发展[23]。肺癌肝转移与 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的增高密切相关，发生肝转移的肺癌癌原发灶基质中 M2 型肿瘤相关巨噬细胞高表达。肿瘤相关巨噬细胞重塑一个富含炎性因子的基质，促进细胞迁移、肿瘤转移[24]。另外在子宫内膜癌组织中，肿瘤相关巨噬细胞可以通过分泌 IL-17 增强其对化疗的抵抗[25]。事实上，肿瘤相关巨噬细胞在多种肿瘤组织诱导了炎性因子的活化和上皮间充质转化 (Epithelial Mesenchymal Transformation，EMT)[26]。

肾透明细胞癌的增殖过程同样和其周围肿瘤微环境中的肿瘤相关巨噬细胞密不可分。舒尼替尼作为治疗肾透明细癌的药物，其可以有效延长晚期肾细胞癌患者的术后生存期[27,28]。舒尼替尼通过作用于血管内皮生长因子受体、血小板衍生内皮生长因子受体等靶点，既可以直接抑制肿瘤生长，又能够通过抑

制肿瘤新生血管生成而间接抑制肿瘤生长[29,30]。

因此本研究中,我们首次将肾透明细胞癌和肿瘤相关巨噬细胞共培养,使用舒尼替尼来给药处理,在此基础上肿瘤相关巨噬细胞对肾透明细胞癌的增殖及其分子机制的研究。首先我们将肾透明癌细胞 ACHN 和肿瘤相关巨噬细胞 TAMs 共培养 48 h,然后显微镜下拍照记录观察,结果发现 TAMs 促进了 ACHN 细胞增殖能力,而舒尼替尼可以抑制这种作用,随后的 CCK-8 和克隆形成实验也同样证实了这一结果。紧接着体外裸鼠实验说明,TAMs 促进了裸鼠的皮下成瘤能力和肿瘤生长曲线。以上结果均证明 TAMs 可以有效促进肾透明细胞癌的增殖作用,但其是通过那种分子途径来实现的尚补明确。

有研究表明,磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(PDPK1)活化与 IL-6 表达和巨噬细胞浸润相关,PDPK1 活化可以引起 PKG1,T243 位点的磷酸化,PGK1/T243 的磷酸化与胶质母细胞瘤的增殖、转移和侵袭作用密不可分[27]。在肾透明细胞癌中,巨噬细胞也是否可以通过分泌 IL-6 增强 PDPK1 介导的 PKG1 的磷酸化从而促进了其增殖作用[31]。我们用 WB 检测了 IL-6、PDPK1 和 P- PKG1 在各组的蛋白表达,发现舒尼替尼显著的抑制了 IL-6、PDPK1 和 P- PKG1 三种蛋白的表达,免疫组化结果显示舒尼替尼抑制了 CD206 和 IL-6 在肿瘤组织中的表达。

综上所述我们研究结果发现了肾透明细胞癌增殖的新机制,即肿瘤相关巨噬细胞通过分泌 IL-6 引起 PGK1/T243 的磷酸化增强肾透明细胞癌增殖能力。提示通过抑制 IL-6 的分泌阻断 PDPK1 的活化抑制 PKG1 磷酸化为临床治疗肾透明细胞癌提供新的作用靶点和治疗思路。同时我们发现了舒尼替尼的新的作用靶点,可以抑制肿瘤相关巨噬细胞活动性,降低其对肾透明细胞癌的影响,为临床上舒尼替尼的治疗用药提供有力的依据。但是肿瘤相关巨噬细胞其上游诱导分子机制如何,将会是我们下一步研究重点。

参考文献(References)

[1] 潘成云, 许娜, 刘晓力, 等. 肿瘤相关成纤维细胞在血液系统恶性肿瘤中的潜在价值[J].中国实验血液学杂志, 2018, 12(06): 1872-1875

[2] 丁祺, 常玉清, 袁晓琪, 等. 透明细胞乳头状肾细胞癌 7 例报告并文献复习[J].中国癌症杂志, 2018, 9(11): 847-851

[3] 王秀超, 李鑫, 郝继辉. 调节性 T 细胞参与胰腺癌免疫微环境重塑的基础与转化研究进展[J].中国肿瘤临床, 2018, 13(18): 964-968

[4] 朱合欢, 赵虎, 林智文, 等. 肾透明细胞癌差异表达基因的筛选及其核心基因相应 miRNA 和 lncRNA 预测分析[J].中山大学学报(医学版), 2018, 23(05): 771-779

[5] Wen Z F, Liu H, Gao R, et al. Tumor cell-released autophagosomes (TRAPs) promote immunosuppression through induction of M2-like macrophages with increased expression of PD-L1 [J]. J Immunother Cancer, 2018, 6(1): 151

[6] Choi S, Park M, Kim J, et al. TNF-alpha elicits phenotypic and functional alterations of vascular smooth muscle cells by miR-155-5p-dependent down-regulation of cGMP-dependent kinase 1 [J]. J Biol Chem, 2018, 293(38): 14812-14822

[7] Ferguson J F, Xue C, Gao Y, et al. Tissue-Specific Differential Expression of Novel Genes and Long Intergenic Noncoding RNAs in Humans With Extreme Response to Evoked Endotoxemia [J]. Circ Genom Precis Med, 2018, 11(11): e1907

[8] Sild M, Van Horn M R, Schohl A, et al. Neural Activity-Dependent Regulation of Radial Glial Filopodial Motility Is Mediated by Glial cGMP-Dependent Protein Kinase 1 and Contributes to Synapse Maturation in the Developing Visual System [J]. J Neurosci, 2016, 36(19): 5279-5288

[9] Ding Y, Yao P, Hong T, et al. The NO-cGMP-PKG signal transduction pathway is involved in the analgesic effect of early hyperbaric oxygen treatment of neuropathic pain[J]. J Headache Pain, 2017, 18(1): 51

[10] Zhang D, Qiu X, Li J, et al. TGF-beta secreted by tumor-associated macrophages promotes proliferation and invasion of colorectal cancer via miR-34a-VEGF axis[J]. Cell Cycle, 2018, 24(13): 234-237

[11] 倪博, 曹晖, 张子臻. EB 病毒相关性胃癌肿瘤免疫微环境研究进展[J]. 中国实用外科杂志, 2018, 16(10): 1201-1204

[12] 洪正东, 朱安义, 王艳华, 等. FBP1 在肾透明细胞癌组织中的表达变化及意义[J]. 重庆医学, 2018, 23(14): 1878-1881

[13] 周丹丹, 余娇娇, 花芳, 等. 巨噬细胞迁移抑制因子, 连接炎症和肿瘤的关键蛋白[J]. 药学学报, 2018, 43(11): 1761-1769

[14] 王静, 杨立宏. 白细胞介素 35 在肾癌中的表达水平及其与临床病理特征的相关性研究[J]. 重庆医学, 2018, 18(12): 1678-1680

[15] 魏智民, 孙玉发, 李刚, 等. 癌症相关性炎症与肿瘤微环境相关研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 34(21): 1117-1121

[16] 蒙浩, 张辉, 陈铭. 乳腺癌 1 号基因相关蛋白在肾透明细胞癌中的表达及与临床特征及预后的关系 [J]. 广东医学, 2018, 21(22): 3335-3338

[17] 杨林, 熊波. 肾透明细胞癌尿液中锌指蛋白转录因子 4 的表达及临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 33(12): 1-4

[18] Rego F D, Fradico J, Teixeira-Carvalho A, et al. Molecular variants of Leishmania (Viannia) braziliensis trigger distinct patterns of cytokines and chemokines expression in golden hamster [J]. Mol Immunol, 2018, 106(23): 36-45

[19] Wang X, Qi M. miR-718 is involved in malignancy of papillary thyroid cancer through repression of PDPK1 [J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(11): 1787-1793

[20] 李春龙, 周洁, 曹炬, 等. IL-27 诱导人成纤维样滑膜细胞产生 IL-6 的免疫机制[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 10(06): 824-828

[21] Wang W, Liu Y, Guo J, et al. miR-100 maintains phenotype of tumor-associated macrophages by targeting mTOR to promote tumor metastasis via Stat5a/IL-1ra pathway in mouse breast cancer[J]. Oncogenesis, 2018, 7(12): 97

[22] Guo G L, Sun L Q, Sun M H, et al. LncRNA SLC8A1-AS1 protects against myocardial damage through activation of cGMP-PKG signaling pathway by inhibiting SLC8A1 in mice models of myocardial infarction[J]. J Cell Physiol, 2018, 21(16): 256-259

[23] 胡琼丹, 胡柯琴, 樊均明. miR-216b 通过 FGFR1 调节肾透明细胞癌细胞增殖和侵袭研究[J]. 重庆医学, 2018, 21(25): 3245-3248

[24] Cioni B, Jordanova E S, Hooijberg E, et al. HLA class II expression on tumor cells and low numbers of tumor-associated macrophages predict clinical outcome in oropharyngeal cancer [J]. Head Neck, 2018, 34(9): 123-125

[25] 李刚, 刘莹, 种铁, 等. eIF4E 在肾透明细胞癌组织中的表达及意义[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2018, 18(23): 1-6

(下转第 3350 页)

486-496

[5] Khan A, Zahoor S, Ahmed H, et al. A Retrospective Analysis on the Cystic Echinococcosis Cases Occured in Northeastern Punjab Province, Pakistan[J]. Korean J Parasitol, 2018, 56(4): 385-390

[6] 罗金辉. 肝囊型包虫病两种不同术式的疗效评价 [J]. 中国医师进修杂志, 2014, 37(14): 33-35

[7] 杨立财, 穆忠麒, 李昭宇, 等. 289 例囊性肝包虫病外科手术治疗体会[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(12): 1385-1386

[8] Amano T, Hayashi S, Nishida T, et al. Alveolar Echinococcosis Mimicking a Hepatic Neoplasm with Lymph Node Metastasis: A Case Report[J]. Case Rep Gastroenterol, 2018, 12(3): 587-596

[9] Aji T, Dong JH, Shao YM, et al. Ex vivo liver resection and autotransplantation as alternative to allotransplantation for end-stagehepatic alveolar echinococcosis[J]. J Hepatol, 2018, 69(5): 1037-1046

[10] 复旦大学上海医学院.《实用内科学》第 13 版[J]. 中国医刊, 2009, 44(12): 43-43

[11] Chen X, Zhang R, Aji T, et al. Novel Interventional Management of Hepatic Hydatid Cyst with Nanosecond Pulses on Experimental Mouse Model[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4491

[12] Krafft MR, Cassis P, Hsueh W, et al. Interventional cholangioscopy and management of hepatic cystic echinococcosis complicated by cystobiliary fistula[J]. VideoGIE, 2018, 3(5): 166-168

[13] Kawakami Y, Suzuki K, Miyake T, et al. Hepatobiliary and Pancreatic: Hepatic alveolar echinococcosis mimics cholangiocarcinoma: Role of EUS-FNA[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2018, 33(12): 1941

[14] 龙爽, 朱鹏, 宋旭彤, 等. 泡型肝包虫病的治疗进展[J]. 实用医院临床杂志, 2017, 14(1): 132-133, 134

[15] Vola A, Tamarozzi F, Noordin R, et al. Preliminary assessment of the diagnostic performances of a new rapid diagnostic test for the serodiagnosis of human cystic echinococcosis [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2018, 92(1): 31-33

[16] 邹海波, 罗兰云, 王冠, 等. 腹腔镜肝包虫外囊切除术治疗囊型肝包虫病疗效分析[J]. 腹腔镜外科杂志, 2016(5): 340-343

[17] Fathi S, Jalousian F, Hosseini SH, et al. Design and construction of a new recombinant fusion protein (2b2t+EPC1) and its assessment for serodiagnosis of cystic?echinococcosis [J]. APMIS, 2018, 126 (5): 428-439

[18] Detry O, Meurisse N, Delwaide J, et al. Hepatic alveolar echinococcosis[J]. Acta Chir Belg, 2018, 118(6): 402-403

[19] Ramia JM, Serrablo A, Serradilla M, et al. Major hepatectomies in liver cystic echinococcosis: A bi-centric experience. Retrospective cohort study[J]. Int J Surg, 2018, 54(Pt A): 182-186

[20] Díaz de la Torre MI, Suǵrez Ferrer C, Olveira Martín A. Portosystemic venous shunt: portocaval fistula in a patient with biliary cirrhosis secondary to a righthepatectomy for hydatidosis [J]. Rev Esp Enferm Dig, 2018, 110(4): 268-269

[21] 母齐鸣, 贺伟, 侯桂敏, 等. 腹腔镜分别联合肝包虫内囊摘除术与解剖性肝切除治疗肝包虫病的临床疗效分析[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(3): 58-60

[22] Chen KF, Tang YY, Wang R, et al. The choose of different surgical therapies of hepatic alveolar echinococcosis: A single-center retrospective case-control study [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(8): e0033

[23] 王琦, 段键, 林杰, 等. 应用不同手术方式治疗肝囊型包虫病疗效评价[J]. 中国实用外科杂志, 2016, 36(6): 656-659

[24] Du L, Zhang LQ, Hou LZ, et al. Combined resection of the right liver lobe and retrohepatic inferior vena cava to treat hepaticalveolar echinococcosis:A case report[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(38): e8097

[25] Zou H, Luo L, Xue H, et al. Preliminary experience in laparoscopic resection of hepatic hydatidectocyst with the Da Vinci Surgical System (DVSS): a case report[J]. BMC Surg, 2017, 17(1): 98

[26] Fukami Y, Kaneoka Y, Maeda A, et al. Postoperative complications following aggressive repeat hepatectomy for colorectal liver metastasis have adverse oncological outcomes [J]. Surg Today, 2017, 47(1): 99-107

[27] Joliat GR, Labgaa I, Demartines N, et al. Preoperative albumin level is a marker of alveolar echinococcosis recurrence after hepatectomy [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(5): 853-858

[28] Akhan O, Salik AE, Ciftci T, et al. Comparison of Long-Term Results of Percutaneous Treatment Techniques for Hepatic CysticEchinococcosis Types 2 and 3b [J]. AJR Am J Roentgenol, 2017, 208(4): 878-884

[29] Kobryń K, Paluszkiewicz R, Dudek K, et al. Good outcome following liver transplantation using pericardial-peritoneum window for hepato-atrial anastomosis to overcome advanced?hepatic?alveolar? echinococcosis and secondary Budd-Chiari Syndrome - a case report [J]. BMC Surg, 2017, 17(1): 5

[30] Hillenbrand A, Gruener B, Kratzer W, et al. Impact of Safe Distance on Long-Term Outcome After Surgical Therapy of AlveolarEchinococcosis[J]. World J Surg, 2017, 41(4): 1012-1018

(上接第 3229 页)

[26] Hooda J, Novak M, Salomon M P, et al. Early loss of Histone H2B monoubiquitylation alters chromatin accessibility and activates ke y immune pathways that facilitate progression of ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2018, 21(23): 256-259

[27] Liang C, Zhang N, Tan Q, et al. CT-707 Overcomes Resistance of crizotinib through activating PDPK1-AKT1 pathway by targeting FAK[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2018, 32(25): 89-92

[28] Zhou Y, Zheng X, Xu B, et al. Circular RNA hsa_circ_0004015 regulates the proliferation, invasion, and TKI drug resistance of non-small cell lung cancer by miR-1183/PDPK1 signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 56(32): 32-36

[29] Gu S, Ni T, Wang J, et al. CD47 Blockade Inhibits Tumor Progression through Promoting Phagocytosis of Tumor Cells by M2 Polarized Macrophages in Endometrial Cancer [J]. J Immunol Res, 2018, 12(18): 615-617

[30] Mucha B E, Banka S, Ajeawung N F, et al. A new microdeletion syndrome involving TBC1D24, ATP6V0C, and PDPK1 causes epilepsy, microcephaly, and developmental delay[J]. Genet Med, 2018, 23(17): 235-238

[31] Kong B, Wang X, He B, et al. 8:2 fluorotelomer alcohol inhibited proliferation and disturbed the expression of pro-inflammatory cytokines and antigen-presenting genes in murine macrophages [J]. Chemosphere, 2018, 23(17): 251-257