

妇科肿瘤专题

• 基础研究 •

肿瘤相关成纤维细胞对卵巢癌细胞增殖作用影响的研究*

赵宗霞, 苏玉强, 曾娟, 双婷, 陈必良[△]

710038 西安, 西安医学院第二附属医院 妇产科(赵宗霞、曾娟), 麻醉科(苏玉强); 710032 西安, 第四军医大学西京医院 妇产科(赵宗霞、陈必良); 710000 西安, 西安交通大学第一附属医院 妇产科(双婷)

[摘要] 目的: 探讨肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)分泌的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖作用的影响。方法: 选取在本院手术的卵巢癌患者及其他妇科疾病同时切除正常卵巢手术患者, 收集卵巢癌组织、癌旁组织和正常组织, 免疫组化观察卵巢癌组织、癌旁组织和正常组织中 CAF 标志蛋白 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)和 I 型胶原蛋白表达情况; 用卵巢癌相关成纤维细胞(human endometrial carcinoma-1A cell, HEC-1A)培养 48 小时后的培养上清, 培养卵巢癌细胞 SKOV3 行细胞计数试剂盒-8(Cell Counting Kit-8, CCK-8)增殖实验、克隆形成实验和倒置显微镜观察检测使用 HEC-1A 培养上清后 SKOV3 细胞增殖能力变化; 酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测 HEC-1A 与 SKOV3 细胞共培养 48 小时后的培养上清中 HGF 的表达。结果: 免疫组化结果显示, 卵巢癌组织中 α -SMA 和 I 型胶原蛋白的表达要明显高于癌旁组织和正常组织; CCK-8 增殖实验和克隆形成实验结果显示 HEC-1A 培养上清处理后的 SKOV3 细胞的增殖能力显著增强; 细胞形态学和免疫荧光结果提示 HEC-1A 促进 SKOV3 上皮样细胞增多; ELISA 结果显示 HEC-1A 与 SKOV3 细胞共培养 48 小时后的培养上清中 HGF 的表达明显升高。结论: 肿瘤相关成纤维细胞可能通过分泌 HGF 诱导因子促进卵巢癌细胞的增殖作用。

[关键词] 肿瘤相关成纤维细胞; 卵巢癌; 肝细胞生长因子; 增殖

[中图分类号] R737.31; R730.2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.05.002

引文格式: Zhao ZX, Su YQ, Zeng J, et al. Cancer-associated fibroblasts promote proliferation of ovarian cancer cells[J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(5): 383-388. [赵宗霞, 苏玉强, 曾娟, 等. 肿瘤相关成纤维细胞对卵巢癌细胞增殖作用影响的研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(5): 383-388.]

Cancer-Associated Fibroblasts Promote Proliferation of Ovarian Cancer Cells

Zhao Zongxia, Su Yuqiang, Zeng Juan, Shuang Ting, Chen Biliang

Department of Gynecology and Obstetrics, Second Hospital Affiliated to Xi'an Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi, China (Zhao Zongxia, Zeng Juan); Department of Gynecology and Obstetrics, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China (Zhao Zongxia, Chen Biliang); Department of Anesthesiology, Second Hospital Affiliated to Xi'an Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi, China (Su Yuqiang); Department of Gynecology and Obstetrics, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiao Tong University, Xi'an 710000, Shaanxi, China (Shuang Ting)

Corresponding author: Chen Biliang, E-mail: cblxjh@fmmu.edu.cn

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (NO. 81702555).

[收稿日期] 2019-11-15 **[修回日期]** 2020-02-11

[基金项目] * 国家自然科学基金项目(编号:81702555)

[通讯作者] [△] 陈必良, E-mail: cblxjh@fmmu.edu.cn

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of hepatocyte growth factor (HGF) secreted by cancer-associated fibroblast (CAF) on the proliferation of ovarian cancer SKOV3

cells. **Methods:** Patients with ovarian cancer or other gynecological diseases undergoing oophorectomy in our hospital were selected. Ovarian cancer tissue, paracancer tissue and normal ovarian tissue were collected. Immunohistochemical staining was used to analyze the expression of α -SMA and Collagen I, CAF-specific markers, in ovarian cancer tissue, paracancer tissue and normal ovarian tissue. Ovarian cancer SKOV3 cells cultured by the supernatant of HEC-1A, a CAF, were used for Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay and colony formation assay. Inverted microscope was used to detect the proliferation of HEC-1A supernatant-cultured SKOV3 cells. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression of HGF in the supernatant of HEC-1A co-cultured with SKOV3 for 48 hours. **Results:** Results of immunohistochemistry showed that the expression of α -SMA and Collagen I in ovarian cancer tissue was significantly higher than that in adjacent tissue and normal ovarian tissue. Results of CCK-8 assay and clone formation assay showed that the proliferation of HEC-1A supernatant-cultured SKOV3 cells significantly enhanced. Results of cytomorphology and immunofluorescence suggested that HEC-1A promotes proliferation of epithelial-like SKOV3. ELISA results showed that HGF-1A expression significantly increased in the supernatant of HEC-1A co-cultured with SKOV3 for 48 hours. **Conclusion:** CAF may promote the proliferation of ovarian cancer cells by secreting HGF-inducing factors.

[Key words] Cancer-associated fibroblasts; Ovarian cancer; Hepatocyte growth factor; Proliferation

卵巢癌是一种严重威胁全球妇女健康的恶性肿瘤。虽然其发病率低于宫颈癌和子宫内膜癌,但其死亡率在女性妇科肿瘤中最高^[1]。卵巢癌在发病早期缺乏特异性的临床表现,导致大部分患者在诊断时就已处晚期并出现转移,导致预后极差^[2]。研究表明,卵巢癌的发生发展是一个多因素影响的复杂病理过程,其中卵巢癌细胞的高转移性和侵袭性导致卵巢癌发生转移^[3],而肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)在卵巢恶性肿瘤的发生发展中发挥重要的促进作用^[4]。TME 是指由环绕在肿瘤组织周围的肿瘤细胞及相关成纤维细胞、巨噬细胞、间充质细胞及炎症相关因子等组成的生物环境^[5]。卵巢癌具体的发病机制尚不完全明确,研究显示肝癌、结肠癌和胃癌等肿瘤组织中,肿瘤相关的成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)可以分泌细胞基质衍生因子、骨桥蛋白和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等细胞因子促进肿瘤细胞的增殖和迁移。HGF 是一种可以促进肝细胞生长的细胞因子,有文献报道其在多种肿瘤组织中都异常高表达,促进肿瘤的发生发展^[6],但是 HGF 在卵巢癌中的表达及与卵巢癌发生发展的关系尚不明确。因此,本研究采用卵巢癌患者肿瘤组织、癌旁组织和正常卵巢组织及卵巢癌细胞系 SKOV3 细胞,探讨肿瘤相关成纤维细胞分泌的 HGF 与卵巢癌细胞增殖是否相关。

1 材料和方法

1.1 组织标本

本次研究共纳入本院妇产科 2017 年 5 月至 2018 年 10 月收治的 49 例卵巢癌患者及需妇科手术治疗的非卵巢癌患者 40 例。纳入标准:1)所有

卵巢癌患者的临床表现和病理学检查结果均符合卵巢癌的诊断(依据《妇产科学》第 8 版);2)卵巢癌患者均于我院首诊,且术前未经任何放化疗;3)病历资料完整。排除标准:1)依从性差;2)其他系统合并症;3)有绝对手术禁忌证。49 例卵巢癌患者的年龄为 32 ~ 69 岁,平均年龄(41.82 ± 7.35)岁。40 例非卵巢癌患者年龄为 31 ~ 71 岁,平均年龄(45.28 ± 5.91)岁。

1.2 材料

卵巢癌相关成纤维细胞(human endometrial carcinoma-1A cell, HEC-1A)、卵巢癌细胞 SKOV3 均购自中国科学院上海细胞典藏库;磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)、聚丙烯酰胺凝胶、结晶紫固体粉末购自广州科维生物技术有限公司;蛋白定量试剂盒购自美国 Thermo Scientific 公司;DMEM 培养液、胰蛋白酶及胎牛血清购自美国 HyClone 公司;双抗及 4% 多聚甲醛购自西安科昊有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化染色 本研究中收集的卵巢癌组织 49 例、癌旁组织(距肿瘤 ≥ 1 cm 的正常卵巢组织)49 例以及正常组织 40 例进行石蜡包埋切块。随后进行脱蜡和水化处理,抗原修复后滴加封闭液;1:500 稀释 HGF 一抗孵育;孵育结束后用 PBS 进行冲洗,加生物素标记的二抗进行孵育;PBS 再次冲洗,滴加亲和素-过氧化酶溶液孵育。次日二氨基联苯胺显色液显色,苏木素染液复染,中性树胶固封;PBS 作为一抗阴性对照组,结果判断采用半定量分析^[7]。

1.3.2 CCK-8 增殖实验 体外增殖实验分对照组和实验组;对照组:用 RPMI-1640 培养基调整 SK-

OV3 细胞浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$, 取 200 μL 细胞悬液加入 96 孔板; 实验组, 收集 HEC-1A 细胞培养 48 小时后的培养上清 2 mL 重悬 SKOV3 细胞, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$, 取 200 μL 细胞悬液加入 96 孔板, 每组 6 复孔, 培养箱内分别培养 12 h、36 h 和 48 h 后加入 CCK-8 溶液 10 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1~4 小时后在酶联免疫仪上选择 450 nm 波长测定吸光度值, 计算每组浓度复孔的平均值。

1.3.3 平板克隆形成实验 取对数生长期的细胞, 常规消化离心收集细胞沉淀, 重悬细胞沉淀, 进行细胞计数, 调整 SKOV3 细胞浓度为 $1 \times 10^3/\text{mL}$, 取 150 μL 细胞悬液 (即 150 个细胞) 接种至培养皿, 补加培养基至 10 mL, 作为对照组。实验组收集 HEC-1A 细胞培养 48 小时后的培养上清 2 mL, 重悬 SKOV3 细胞, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^3/\text{mL}$, 取 150 μL 细胞悬液接种至培养皿, 补加 HEC-1A 培养上清至 10 mL, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、95% 湿度、5% CO_2 培养箱培养 15 天, 弃培养液, 加入 5 mL PBS 洗剂 2 次, 弃 PBS, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 弃固定液, 0.1% 结晶紫染色 20 min, 自来水冲洗, 空气干燥, 计算肉眼可见的克隆数。

1.3.4 细胞形态学和免疫荧光 取对数生长期 SKOV3 细胞, 胰蛋白酶消化, 细胞计数, 调整细胞密度为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 每孔 2 mL 细胞混悬液, 直接接种至 6 孔板, 作为对照组。实验组 HEC-1A 细胞与 SKOV3 细胞按 1:1 的比例接种于 Transwell 小室上室, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、95% 湿度、5% CO_2 培养箱培养 48 h 后

在倒置显微镜下观察 SKOV3 细胞形态变化, 并进一步通过免疫荧光检测两组上皮细胞标志物上皮-钙粘素的表达。

1.3.5 酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 取对数生长期 SKOV3 细胞, 胰蛋白酶消化, 细胞计数, 调整细胞密度为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 每孔 2 mL 细胞混悬液, 直接接种至 6 孔板, 作为对照组。实验组 HEC-1A 细胞与 SKOV3 细胞按 1:1 的比例接种于 Transwell 上室, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、95% 湿度、5% CO_2 的培养箱培养 48 h 后收集两组细胞培养液, 低温离心, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤, 检测培养液中 HGF 的含量。

1.4 统计学分析

所有实验结果应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 α 平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和 I 型胶原蛋白 (Collagen I) 在卵巢癌组织、癌旁组织和正常组织中的表达情况

首先, 免疫组织化学染色检测 CAF 标志蛋白 α -SMA 和 Collagen I 在卵巢癌患者 3 种不同组织中的表达情况, 结果显示 α -SMA 和 Collagen I 在卵巢癌中的表达明显高于癌旁组织和正常组织 ($*** P < 0.001$) (图 1)。

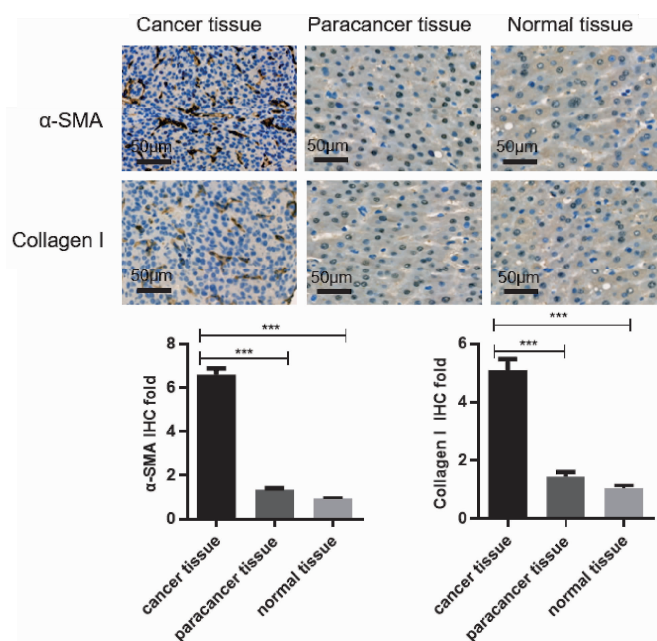


图 1 肿瘤相关成纤维细胞标志蛋白 α -SMA 和 Collagen I 在卵巢癌患者组织中的表达

Figure 1. Expression of α -SMA and Collagen I in Tissue of Patients with Ovarian Cancer

2.2 HEC-1A 细胞培养上清促进 SKOV3 细胞增殖

为了体外验证肿瘤相关成纤维细胞是否对卵巢癌起到促癌作用,体外我们将卵巢癌相关成纤维细胞 HEC-1A 培养 48 小时后的培养上清孵育卵巢癌细胞 SKOV3。结果表明用 HEC-1A 细胞培养上清处理后的 SKOV3 细胞培养 36 h 和 48 h 后,增殖能力显著增强 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)(图 2)。

2.3 HEC-1A 细胞培养上清促进 SKOV3 细胞克隆形成能力

为了进一步验证肿瘤相关成纤维细胞对卵巢癌的促癌作用。我们用克隆形成实验检测了 HEC-1A 细胞培养上清培养 SKOV3 细胞后克隆形成能力的变化。结果显示 HEC-1A 培养上清培养后,SKOV3 细胞克隆形成能力明显增强,差异具有统计学意义

(** $P < 0.001$)(图 3)。肿瘤成纤维细胞可以促进卵巢癌细胞的增殖作用。

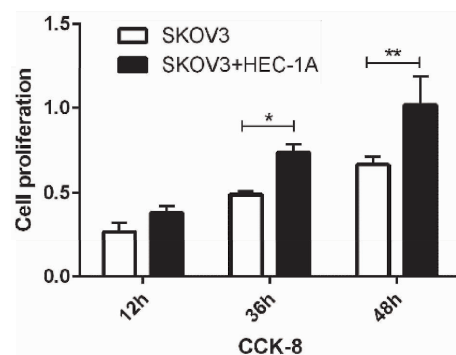


图 2 HEC-1A 培养上清对 SKOV3 细胞增殖能力影响
Figure 2. Effect of HEC-1A Supernatant on the Proliferation of SKOV3 Cells

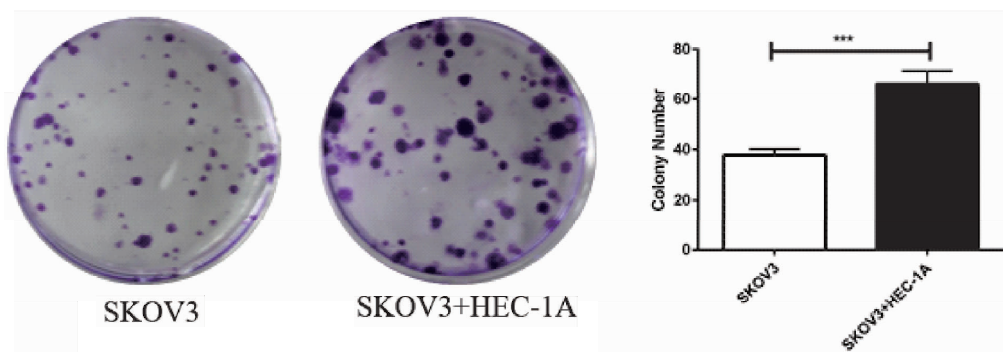


图 3 HEC-1A 细胞培养上清对 SKOV3 细胞克隆形成能力影响
Figure 3. Effect of HEC-1A Supernatant on Clone Formation Ability of SKOV3 Cells

2.4 HEC-1A 细胞共培养后促进 SKOV3 上皮样细胞增多

肿瘤相关成纤维细胞分泌的相关因子,对肿瘤细胞的形态具有一定的诱导作用,具体表现为肿瘤细胞上皮样细胞增多,从而导致其增殖和迁移能力增强。为了观察肿瘤相关成纤维细胞对卵巢癌细胞形态变化的影响,将 SKOV3 细胞与 HEC-1A 细胞共培养后,在倒置显微镜下观察 SKOV3 细胞的形态变

化,结果发现共培养后卵巢癌 SKOV3 细胞呈上皮样细胞形态明显增多,并聚集成簇(图 4)。并进一步通过免疫荧光检测了两组上皮细胞标志物上皮-钙粘素的表达,结果显示 HEC-1A 培养上清处理组细胞的表达明显高于未处理组 ($P < 0.01$)(图 5),这说明肿瘤相关成纤维细胞可以激活卵巢癌细胞的增殖和迁移能力。

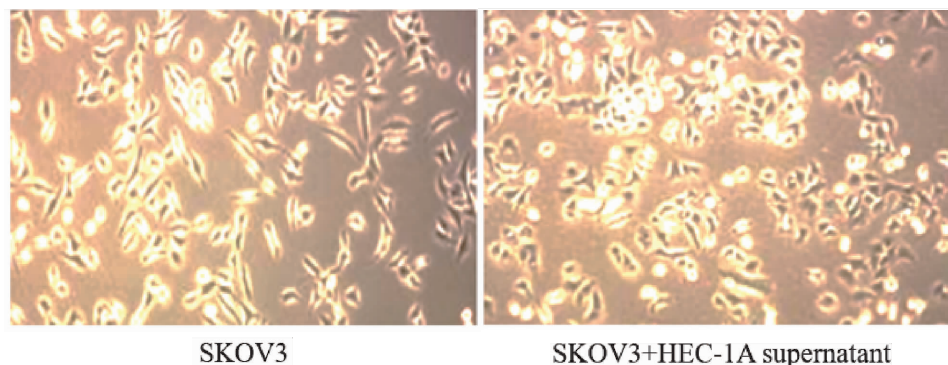


图 4 HEC-1A 细胞共培养对 SKOV3 细胞形态变化影响

Figure 4. Effect of HEC-1A Co-Cultured with SKOV3 on Morphological Changes of SKOV3 Cells

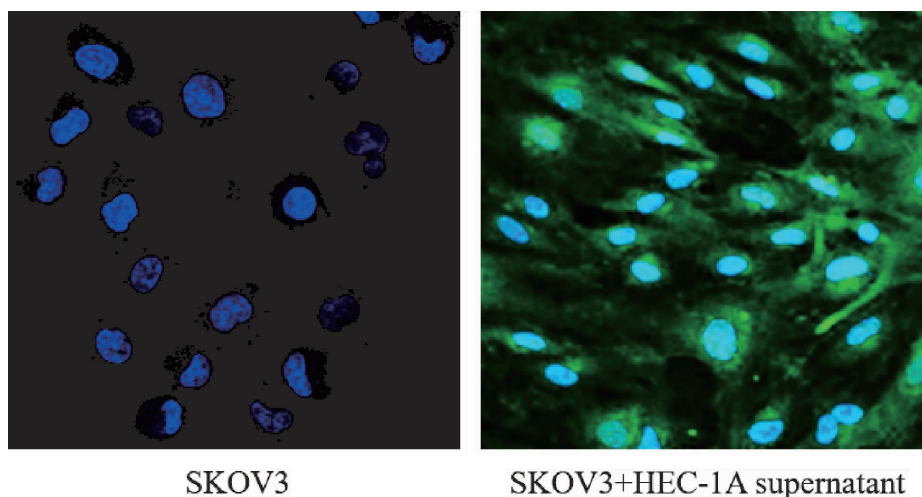


图 5 E-cadherin 在 HEC-1A 培养上清处理组和未处理组 SKOV3 细胞中的表达

Figure 5. Expression of E-cadherin in HEC-1A Supernatant Treated and Untreated SKOV3 Cells

2.5 HEC-1A 细胞共培养后 SKOV3 细胞培养液 HGF 表达明显增高

为了研究肿瘤相关成纤维细胞是否通过分泌 HGF 来促进卵巢癌细胞的增殖能力, ELISA 检测了共培养前后 SKOV3 细胞培养液 HGF 的表达情况。结果显示共培养后 SKOV3 细胞培养液 HGF 表达明显高于对照组 SKOV3 细胞, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$) (图 6)。说明肿瘤相关成纤维细胞可能通过分泌 HGF 促进了卵巢癌的增殖作用。

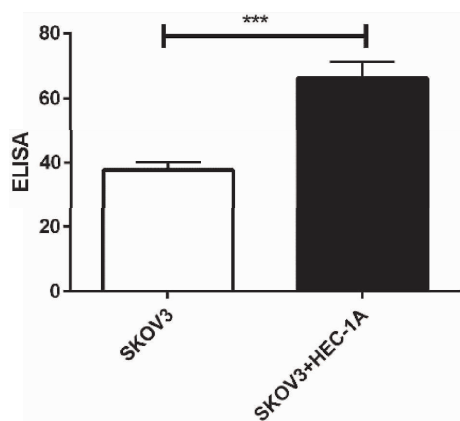


图 6 Elisa 检测 HEC-1A 细胞共培养后 SKOV3 细胞培养液中 HGF 表达变化

Figure 6. Changes of HGF Expression in the Supernatant of HEC-1A Co-Cultured with SKOV3 Detected by Enzyme Linked Immunosorbent Assay

3 讨论

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率居妇科肿瘤相关死亡第一位。卵巢癌早期由于缺乏特异性的临床表现和诊断方法, 导致诊断时已处于晚期并合并其他脏器的转移, 5 年生存率

约 40%, 复发率约 80%, 预后差^[8-9]。癌转移是死亡的重要原因, 高复发率和高耐药率是导致该疾病高死亡率的最重要原因。因此, 探究卵巢癌发生机制及如何改善早期卵巢癌检测的筛查方法就显得尤为重要。

尽管对癌细胞进行了广泛的研究, 但目前研究表明癌症的进展主要取决于个体的生物学行为, 这些行为是通过癌细胞与 TME 之间的相互作用来调节的^[10]。大量研究表明, TME 在不同肿瘤进展中具有关键作用^[11-13]。TME 本质上是异质性的, 包含周围的细胞外基质和几种不同类型的细胞, 包括 CAF、内皮细胞、免疫细胞、局部和骨髓来源的基质干细胞和祖细胞^[14]。几种因素介导 CAF 的分化, 某些标记物包括 α -SMA、成纤维细胞活化蛋白和血小板衍生生长因子受体 α/β , 已被用于区分 CAF 和其他类型的成纤维细胞^[15-17]。

有研究报道肿瘤相关成纤维细胞可以分泌骨桥蛋白和肝细胞生长因子从而促进胃癌细胞的增殖和转移^[18]。同时有文献报道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能够刺激结肠癌细胞衍生为肿瘤干细胞, 导致其促进了结肠癌细胞的增殖、转移和侵袭能力^[19]。HGF 是一种生理状态下由间质细胞产生的具有多功能的细胞生长因子, 与其特异性受体酪氨酸蛋白激酶 Met 结合后可以发挥多种生物学功能, 例如: 促进恶性肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 并促进肿瘤组织血管和淋巴管的生成等^[20]。

本研究首先通过检测肿瘤相关成纤维细胞标志蛋白 α -SMA 和 Collagen I 在卵巢癌组织、癌旁组织及正常卵巢组织中的表达, 发现其在肿瘤组织中的

表达显著高于癌旁组织和正常卵巢组织,表明肿瘤相关成纤维细胞可能与卵巢癌的发生发展关系密切。随后通过体外 CCK-8 实验和克隆形成实验显示肿瘤相关成纤维细胞促进 SKOV3 细胞的增殖能力。此外,肿瘤相关成纤维细胞和卵巢癌细胞共培养后 SKOV3 细胞培养液中 HGF 的表达明显增高,进一步说明卵巢癌相关成纤维细胞可能通过分泌 HGF 促进了卵巢癌细胞的增殖能力。

综上所述,肿瘤相关成纤维细胞可能通过分泌 HGF 促进卵巢癌细胞增殖能力,与卵巢癌的发生发展相关。而卵巢癌患者体内肿瘤相关成纤维细胞来源何处,HGF 是否还有下游调控因子来调控卵巢癌的发生发展均有待于进一步的研究证实。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Li YT, Lee WL, Tsui KH. Endometrial thickness still presents a best reference to predict endometrial cancer[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2016, 55(1): 148-149.
- [2] Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: A review[J]. Cancer Biol Med, 2017, 14(1): 9-32.
- [3] Klymenko Y, Nephew KP. Epigenetic crosstalk between the tumor microenvironment and ovarian cancer cells: A therapeutic road less traveled[J]. Cancers (Basel), 2018, 10(9): 295.
- [4] Sceneay J, Griessinger CM, Hoffmann S, et al. Tracking the fate of adoptively transferred myeloid-derived suppressor cells in the primary breast tumor microenvironment[J]. PLoS One, 2018, 13(4): e0196040.
- [5] Trivedi S, Rosen CA, Ferris RL. Current understanding of the tumor microenvironment of laryngeal dysplasia and progression to invasive cancer[J]. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 2016, 24(2): 121-127.
- [6] Czyz M. HGF/c-MET signaling in melanocytes and melanoma[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 3844.
- [7] Li W, Wang YQ, Tan SB, et al. Overexpression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and HER-2 in bladder carcinoma and its association with patients' clinical features[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 7178-7185.
- [8] Doherty JA, Peres LC, Wang C, et al. Challenges and opportunities in studying the epidemiology of ovarian cancer subtypes[J]. Curr Epidemiol Rep, 2017, 4(3): 211-220.
- [9] Matulonis UA, Sood AK, Fallowfield L, et al. Ovarian cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2: 16061.
- [10] Suzuki HI, Katsura A, Matsuyama H, et al. MicroRNA regulons in tumor microenvironment[J]. Oncogene, 2015, 34(24): 3085-3094.
- [11] Peng CW, Tian Q, Yang GF, et al. Quantum-dots based simultaneous detection of multiple biomarkers of tumor stromal features to predict clinical outcomes in gastric cancer[J]. Biomaterials, 2012, (33): 5742-5752.
- [12] Lee K, Hwang H, Nam KT. Immune response and the tumor microenvironment: How they communicate to regulate gastric cancer[J]. Gut Liver, 2014, 8(2): 131-139.
- [13] Kim JW, Nam KH, Ahn SH, et al. Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2016, 19(1): 42-52.
- [14] Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification[J]. Acta Pathol Microbiol Scand, 1965, 64: 31-49.
- [15] Kanamaru A, Yamamoto K, Kawaguchi M, et al. Deregulated matrilysin activity in oral squamous cell carcinoma promotes the infiltration of cancer-associated fibroblasts by paracrine activation of protease-activated receptor 2[J]. Int J Cancer, 2017, 140(1): 130-141.
- [16] Räsänen K, Vaheri A. Activation of fibroblasts in cancer stroma[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(17): 2713-2722.
- [17] Xia Q, Zhang FF, Geng F, et al. Improvement of anti-tumor immunity of fibroblast activation protein α based vaccines by combination with cyclophosphamide in a murine model of breast cancer[J]. Cell Immunol, 2016, 310: 89-98.
- [18] Maacha S, Bhat AA, Jimenez L, et al. Extracellular vesicles-mediated intercellular communication: Roles in the tumor microenvironment and anti-cancer drug resistance[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 55.
- [19] Zhang W, Chen L, Ma K, et al. Polarization of macrophages in the tumor microenvironment is influenced by EGFR signaling within colon cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(46): 75366-75378.
- [20] Konstorum A, Lowengrub JS. Activation of the HGF/c-Met axis in the tumor microenvironment: A multispecies model[J]. J Theor Biol, 2018, 439: 86-99.