

癌相关成纤维细胞通过Gro- α 激活 NF- κ B核转位和VEGF表达促进 卵巢癌的生长

任春霞¹ 徐娜¹ 宋亚琴¹ 赵敏² 陈亚萍³ 吕蓓¹ 杨恭^{4,5}

1. 江苏省无锡市人民医院妇产科, 江苏 无锡 214023 ;
2. 山东省交通医院妇产科, 山东 济南 250031 ;
3. 复旦大学附属上海市第五人民医院妇产科, 复旦大学上海医学院妇产科学系, 上海 200240 ;
4. 复旦大学附属上海市第五人民医院中心实验室, 复旦大学上海医学院妇产科学系, 上海 200240 ;
5. 复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

[摘要] 背景与目的: 卵巢癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF)促进上皮肿瘤的发生, 其分泌的趋化因子即生长调节致癌基因 α (growth-regulated oncogene alpha, *Gro- α*)蛋白在肿瘤间质微环境中促进上皮卵巢癌的发生, 但其作用机制并不清楚。本研究拟测定Gro- α 蛋白是否通过激活间质成纤维细胞中NF- κ B核转位和VEGF表达, 促进卵巢癌的生长。方法: 本研究采用ELISA法测定了两株卵巢癌CAF和两株正常卵巢组织成纤维细胞(normal fibroblasts, NF)条件培养基(conditioned medium, CM)中Gro- α 的表达; 用CAF-CM或Gro- α 分别处理NF, 并以NF- κ B抑制剂处理作为对照; 用蛋白质印迹法(Western blot)测定样品处理前后NF- κ B和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等分子的变化; 然后用CAF或NF分别与卵巢癌细胞系OVCA429混合接种BALB/c裸小鼠, 或在有、无NF- κ B抑制剂PS1145处理的NF中, 用CAF-CM或Gro- α 处理后, 分别与OVCA429混合接种动物, 观察和比较动物移植瘤生长及移植瘤组织中微血管形成情况。结果: Gro- α 在CAF中比在NF中高5~6倍; 与对照组相比, 用CAF条件培养基或Gro- α 处理的NF中NF- κ B p65的核转位升高, 且VEGF上升, 但血管生成抑制因子-血小板反应蛋白1下降; 用NF- κ B抑制剂同时处理NF, 可以逆转其VEGF和TSP-1的表达水平; 动物试验结果发现CAF要比NF更易促进肿瘤生长, 而CAF-CM或Gro- α 处理的NF细胞可以促进动物移植瘤的快速增长和移植瘤组织中微血管的生成, 但用NF- κ B抑制剂处理的NF则抑制肿瘤生长和血管形成能力。结论: 卵巢癌CAF在肿瘤微环境中通过自分泌Gro- α , 激活NF- κ B核转位和VEGF表达, 促进卵巢癌组织血管增生和肿瘤的生长。

[关键词] 癌相关成纤维细胞; 生长调节致癌基因 α ; NF- κ B核转位; 血管内皮细胞生长因子; 卵巢癌

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2014.05.001

中图分类号: R737.31 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2014)05-0321-08

Promotion of ovarian tumorigenesis by cancer-associated fibroblasts through Gro- α activated NF- κ B nuclear translocation and high expression of VEGF REN Chun-xia¹, XU Na¹, SONG Ya-qin¹, ZHAO Min², CHEN Ya-ping³, LV Bei¹, YANG Gong^{4,5} (1.Department of Gynecology and Obstetrics, The People's Hospital of Wuxi, Wuxi Jiangsu 214023, China; 2.Department of Gynecology and Obstetrics, Shandong Jiao Tong Hospital, Jinan Shandong 250031, China; 3.Department of Gynecology and Obstetrics, The Fifth People's Hospital of Shanghai, Fudan University; Department of Gynecology and Obstetrics, Shanghai Medical College, Fudan University Shanghai 200240, China; 4.Central Laboratory, The Fifth People's Hospital of Shanghai, Fudan University; Department of Gynecology and Obstetrics, Shanghai Medical College, Fudan University Shanghai 200240, China; 5.Cancer Institute, Fudan University Shanghai Cancer

Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: LV Bei E-mail: lvbei@wuxiph.com

[Abstract] **Background and purpose:** Ovarian cancer-associated fibroblasts (CAF) are known to promote epithelial malignancy. The chemoattractant cytokine growth-regulated oncogene alpha (Gro- α) secreted from CAF has been reported to mediate the stroma-epithelia interaction in tumor microenvironment, leading to the development of epithelial ovarian cancer, however, the detailed mechanism is unknown. This study was to determine whether Gro- α could promote ovarian tumorigenesis through activating NF- κ B nuclear translocation and VEGF expression in stromal fibroblasts. **Methods:** ELISA was used to measure the levels of Gro- α in two cancer-associated fibroblasts (CAF) and normal fibroblasts (NF) isolated from high-grade serous ovarian cancer or normal ovarian tissues. CAF conditioned medium (CM) or Gro- α was used to treat NF, while PS1145, the inhibitor of NF- κ B, was used as control. NF- κ B subunit p65 and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by Western blot in cells after treatment. Xenograft tumors from nude mice were generated by injection of CAF, NF, or OVCA429 alone or OVCA429 mixed with CAF or NF, and by injection of OVCA429 mixed with NF cells that were treated with or without CAF-CM or Gro- α , or with NF cells that were treated with CAF-CM or Gro- α plus PS1145. The tumor growth curve was measured and the blood vessel density in xenograft tumor tissues was examined by histopathological analysis. **Results:** The levels of Gro- α were 5-6 folds higher in CAF than in NF. Treatment of NF with CAF-CM or Gro- α stimulated the nuclear translocation of NF- κ B subunit p65, and the expression of VEGF, but suppressed the expression of thrombospondin 1, the anti-angiogenesis factor, compared with control cells. However, treatment of NF with the NF- κ B inhibitor PS1145 reversed these results. The animal assay revealed that CAF stimulated tumor growth stronger than NF, and NF treated with CAF-CM or Gro- α , but not along with PS1145, enhanced xenograft tumor growth through promoting angiogenesis. **Conclusion:** Ovarian CAF promotes the nuclear translocation of NF- κ B and the expression of VEGF through Gro- α autocrine in tumor microenvironment to facilitate angiogenesis and ovarian cancer development.

[Key words] Cancer-associated fibroblasts; Gro- α ; NF- κ B nuclear translocation; Vascular endothelial growth factor; Ovarian cancer

肿瘤间质微环境对肿瘤的发生、发展具有重要的作用, 其中癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF)对上皮类肿瘤的发生影响尤为显著^[1]。因此, 近年来CAF调节肿瘤发生、发展的机制越来越受到关注和深入的研究。例如CAF作为肿瘤微环境中的主要间质细胞, 其通过Hedgehog信号对前列腺癌具有重要的促进作用^[2]。另有报道发现, CAF通过HOXA9调节卵巢癌的生长^[3]。此外, CAF可能通过AKT1介导的对乳腺上皮细胞中半胱氨酸蛋白酶抑制剂的表观遗传学沉默来促进乳腺癌的发生^[4]。

血管生成对肿瘤的形成异常重要, 是肿瘤细胞获得营养和进行细胞生长、分裂、侵袭和转移的主要动力^[5]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是调节肿瘤血管形成的主要因子之一, VEGF与上皮膜蛋白2一起促进子宫内膜癌的血管生成和肿瘤生长^[6]; 此外, VEGF与内皮细胞特异性分子Endocan相互作用, 促进膀胱癌的发生^[7]。因

此, 靶向VEGF及其受体的药物开发早已是肿瘤治疗的首选策略之一^[8]。

生长调节致癌基因 α (growth-regulated oncogene alpha, Gro- α)蛋白, 是由107个氨基酸组成的相对分子质量约为 11.3×10^3 的细胞因子, 其受体主要是与IL-8共用的CXCR2^[9]。我们早期的研究发现, 趋化因子Gro- α 蛋白可以使永生化的卵巢上皮细胞转化为癌细胞, 而且Gro- α 可以诱导卵巢间质成纤维细胞的衰老, 进而促进卵巢上皮细胞的恶性转化, 在卵巢癌患者的血液和临床标本中均可检测到上升的Gro- α ^[10]。有其他研究表明, 凝血酶可以通过上调Gro- α 促进血管生成^[11]。在多发性骨髓瘤中, Gro- α 等分子与肿瘤血管形成和疾病的预后密切相关^[12]。此外, 有报道发现Gro- α 在结肠癌肝转移的细胞中诱导的信号转导通路主要与NF- κ B及AKT相关^[13]。然而, Gro- α 是否通过激活NF- κ B诱导成纤维细胞衰老和促进血管形成, 目前鲜见报道。本研究利用体外细胞学实验和体内动物实验发现Gro- α 可能是

通过激活NF- κ B和肿瘤血管形成促进卵巢癌发生的。

1 材料和方法

1.1 细胞系和培养基

卵巢癌细胞系OVCA429由美国M.D. Anderson癌症中心赠与, 具有体外软琼脂单独生长形成克隆特性和裸鼠体内致瘤活性。培养基为含10%胎牛血清、1 mmol/L非必需氨基酸、2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/mL青霉素及100 μ g/mL链霉素的RPMI-1640(购自Gibco公司), 培养环境为37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的恒温培养箱。

CAF和正常卵巢组织成纤维细胞(normal fibroblasts, NF)来源于无锡市人民医院妇产科2012年9月—2013年6月收治的5例卵巢癌患者。所有患者均为初治患者, 术前均未接受任何治疗。CAF取自高级别浆液性卵巢癌组织5例; NF取自乳腺癌患者行去势的正常卵巢组织3例。标本获取前均与患者签署知情同意书, 获得患者许可。成纤维细胞分离的方法详见文献[10, 14], 基本过程如下: 将组织块用含10%双抗的PBS温和的清洗3次, 每次5 min, 然后用培养基清洗1次, 最后把组织置于新的含有15%胎牛血清、2 mmol/L L-谷氨酰胺和10%双抗的细胞培养基中, 用无菌手术刀片切开组织, 温和地刮取切面细胞, 也可用刀背钝性刮取, 之后将细胞在37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的培养箱中培养3~5 d之后更换1次培养基, 以后每隔3 d更换1次培养基。14 d后, 细胞长满培养皿。当细胞密度长到80%~90%时, 用胰酶消化并以1:3进行细胞传代。如果成纤维细胞中掺杂有上皮细胞, 可以采用以下方法移除: 将培养基吸弃, 加入PBS温和洗涤细胞2次, 加入0.5 mL 0.05%的胰酶(含EDTA), 在室温下处理并用显微镜持续观察, 大约60 s后, 成纤维细胞脱壁而上皮细胞仍然贴壁, 此时立即用培养基中和, 把培养基中成纤维细胞移至另外一个新的培养皿中, 从而将成纤维细胞和上皮细胞分开, 成纤维细胞传代2~3次就可以得

到纯化的成纤维细胞。如果不纯, 可以用胰酶反复消化处理。目前已经成功分离和构建到生长良好的5株CAF和3株NF, 实验中使用CAF和NF分别为体外第3次和第5次传代细胞群, 无明显衰老表型, 在软琼脂中不能独立生长形成克隆, 而卵巢癌细胞系OVCA429可以在软琼脂中形成克隆。

1.2 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)

试验对生长传代较好的2株CAF(第3代)和2株NF(第5代)培养基中的Gro- α 进行了测定。细胞培养基的收集见2.3, 培养基中Gro- α 的测定按试剂盒(购自美国R&D System公司)操作说明。检测步骤如下: ①用PBS稀释一抗(Gro- α Ab)到0.25 μ g/mL, 迅速加入100 μ L到每个孔中, 室温温育过夜。②吸出液体, 每孔用300 μ L缓冲液洗板4次。最后1次洗完后在纸上翻转板, 除去残余的缓冲液。③每孔中加300 μ L的封闭液, 在室温下至少温育1 h。洗板4次, 方法同上。④然后将Gro- α 标准品(1、0.75、0.5、0.25、0.125及0 ng/mL)进行稀释, 加100 μ L的标准品或者条件培养基(conditioned medium, CM)到每个孔中, 设3个复孔, 在室温中至少温育2 h。⑤洗板4次, 稀释检测抗体到1.0 μ g/mL, 每孔加100 μ L。在室温温育30 min。⑥洗板4次, 以1:2 000稀释Avidin-HRP第二抗体, 每孔加100 μ L, 室温温育30 min。之后洗板4次, 每孔加100 μ L显色剂, 室温下温育, 观察颜色变化。⑦最后每孔加入终止液50 μ L, 用(650 nm波长)酶标仪读取A值, 按标准曲线计算出Gro- α 相对浓度。

1.3 条件培养基或Gro- α 处理NF

1.3.1 CM的收集

将CAF(第3代)在100 mm培养皿中进行正常单层培养至75%的密度, 然后更换无血清培养基继续培养48 h后收集的培养基即为CAF-CM。

1.3.2 细胞处理

将NF(第5代)在35 mm培养皿中正常培养至

75%的密度, 然后用CAF-CM或300 ng/mL的人重组Gro- α (购自美国R&D System公司)、Gro- α +Gro- α 中和抗体(购自美国R&D System公司)或Gro- α +PS1145(NF- κ B抑制剂, 购自美国Sigma公司, 20 μ mol/L)处理NF 48 h, 收集0、24和48 h处理的细胞样品, 用PBS或无血清培养基处理48 h的细胞作为对照。细胞的蛋白组分用下述方法进行提取。

1.3.3 细胞核与细胞质蛋白的分离

用细胞核与细胞质蛋白抽提试剂盒(购自上海碧云天生物科技有限公司, 货号P0027)对上述处理的细胞进行细胞核与细胞质蛋白的分离和提取, 最后用BCA法分别测定蛋白浓度。用蛋白质印迹法(Western blot)进行NF- κ B和VEGF、血小板反应蛋白1的检测。细胞核蛋白以TF II B作为加样对照, 细胞质蛋白用 β -actin作为对照。

1.4 Western blot法检测蛋白表达

检测用抗体购自美国Santa Cruz Biotechnology公司。裂解蛋白用6 \times 的SDS加样缓冲液(125 mmol/L Tris-HCl pH为6.8、2% SDS、20%甘油、0.2%的溴酚蓝)制备成统一适当浓度的样品。样品分离前, 用100 $^{\circ}$ C的水浴处理样品3~5 min。每种样品取25 μ g, 用10%的SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样品。之后将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF membrane)上, 并用10%的脱脂奶粉(Bio-Rad)封闭2 h(室温或4 $^{\circ}$ C)。此后依次加入一抗和HRP(辣根氧化物酶)-偶联的二抗(依一抗而定)。期间用含1%吐温-20的TBS(Tris-HCl, pH为7.5)洗涤3次。蛋白-抗体复合物用化学发光底物(ECL购自Millipore公司)进行显色后, 用LAS4000化学发光成像分析仪曝光显色。

1.5 动物试验

动物试验分为2组, 第1组分别将CAF19(第3代)、NF23(第5代)、OVCA429单独接种, 或将CAF19和NF23分别与OVCA429混合接种(1:50), 观察动物成瘤率和瘤体增长体积; 第2组以NF23与OVCA429细胞混合接种为基础, 同时设用CAF-CM或Gro- α 处理的NF23细胞组,

以及用CAF-CM或Gro- α 处理NF23时加入PS1145以抑制NF23中NF- κ B的活性, 接种时NF23与卵巢癌细胞系OVCA429也按1:50的比例混合。所有动物为6~8周龄BALB/c裸小鼠(购自上海斯莱克公司)。每个细胞系接种5只裸鼠, 接种方法为每只动物皮下两侧各接种1个点, 共10个点; 每个点接种的细胞总数为500万。移植瘤体积(V)用 $ab^2 \times 0.52$ 公式计算, 其中a为肿瘤长径, b为短径, 0.52是一个经验常数^[15]。动物实验在复旦大学实验动物科学部进行, 通过了相关伦理委员会的审查。动物移植瘤组织的病理学染色和检测见文献。

2 结 果

2.1 Gro- α 分泌水平

本试验测定了两株卵巢癌CAF(CAF19和CAF46)和两株正常卵巢NF(NF23和NF65)CM中Gro- α 的水平, 发现CAF条件培养基中Gro- α >820 pg/mL, 而NF条件培养基中Gro- α 浓度<210 pg/mL; 卵巢癌细胞OVCA429条件培养基中Gro- α 的浓度为298 \pm 43 pg/mL(图1)。在后续的实验中我们主要使用CAF19的CM或人重组Gro- α (浓度为300 ng/mL)处理NF23, 同时以无血清培养基等作为对照处理细胞。

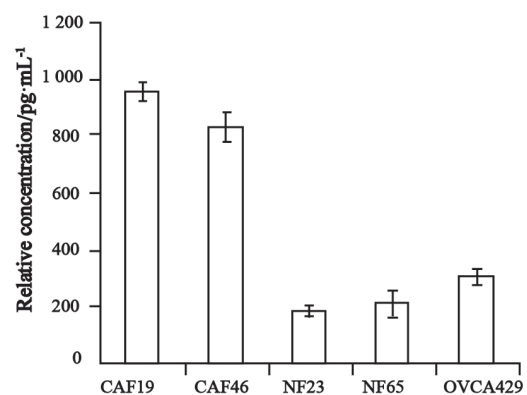


图1 用ELISA法测定CAF、NF和OVCA429细胞培养基中Gro- α 的相对浓度

Fig. 1 Relative concentrations of Gro- α measured by ELISA in medium collected from culture of CAF, NF and OVCA429 cells

2.2 Gro- α 激活NF- κ B核转位

本研究检测了CAF19和NF23细胞核与细胞质中NF- κ B p65亚基的表达,发现CAF细胞核中p65表达比其细胞质中的表达高5倍以上(图2A)。随后本研究采用含CAF19的CM处理了NF23,分别收集0、12和24 h处理的细胞,采用Western blot测定了细胞核和细胞质蛋白组分的p65水平。结果发现,与无血清培养基处理的细

胞相比,p65核转位随处理时间延长而增高(图2B)。但用Gro- α 中和抗体(购自美国R&D System公司)处理的细胞中,NF- κ B的核转位降低(图2B)。之后,本研究发现用Gro- α 处理的细胞也有NF- κ B p65亚基的核转位,而加入Gro- α 中和抗体则抑制NF- κ B的核转位(图2C)。说明卵巢癌间质成纤维细胞因其自分泌的Gro- α 进行信号转导,激活了NF- κ B的核转位;而Gro- α 处理的正

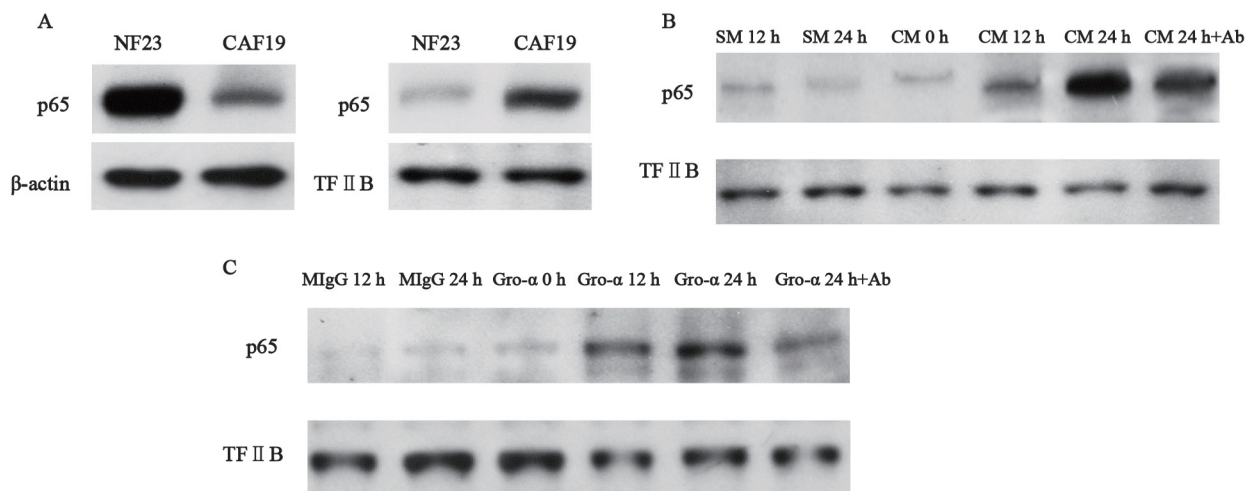


图2 用Western blot法测定的细胞核和细胞质中p65的变化

Fig. 2 Detection of NF- κ B p65 expression in nucleus and cytosol of cells by Western blot

A: p65 expression in CAF19 and NF23; B: p65 expression in NF23 treated with CAF19 CM or CM+Ab; C: p65 expression in NF23 treated with Gro- α or Gro- α +Ab; SM: Serum-free medium; CM: Conditioned medium; Ab: Antibody of Gro- α . MigG: Mouse IgG. 0, 12 and 24 h were treatment hours. TF II B was used as a loading control for proteins isolated from nucleus, while β -actin was used as a loading control for proteins from cytosol.

常间质细胞中,也可以激活NF- κ B核转位,进而启动下游相关基因的表达。

2.3 Gro- α 通过NF- κ B促进VEGF表达,但抑制TSP-1表达

Gro- α 介导的细胞信号可能主要通过其与受体CXCR2结合激活NF- κ B通路,启动下游分子的转录。VEGF是肿瘤血管生成的主要刺激因子,因此我们测定了Gro- α 是否通过激活NF- κ B促进VEGF表达。结果发现,用Gro- α 处理的NF23细胞质中VEGF升高,而血管生成抑制因子TSP-1(血小板反应蛋白1)的表达降低,但是用PS1145处理细胞可见NF- κ B核转位下降,细胞质中VEGF下降,而TSP-1升高(图3)。由此可见,Gro- α 诱导的间质成纤维细胞,可能通过激活NF- κ B促使VEGF升高,而抑制TSP-1降低,进而调节肿瘤组织的血管形成和肿瘤生长能力。

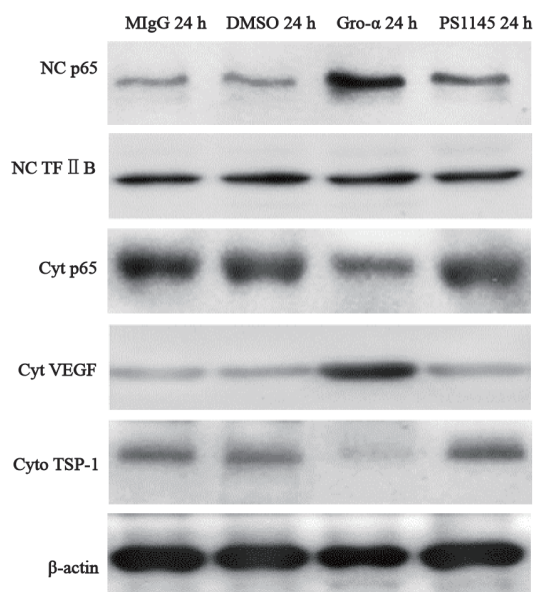


图3 Gro- α 通过激活NF- κ B上调VEGF下调TSP-1

Fig. 3 Up-regulation of VEGF and down-regulation of TSP-1 through the activation of NF- κ B by Gro- α

TF II B and β -actin was used as a loading control for nuclear and cytosolic proteins.

2.4 Gro- α 处理的NF通过促进血管生成, 加速卵巢癌细胞的肿瘤生长能力

为了检测Gro- α 诱导的NF- κ B活化和VEGF的表达是否促进上皮卵巢癌细胞的肿瘤形成和生长能力, 本研究单独接种CAF19、NF23或OVCA429, 或将CAF19或NF23分别以1:50的比例与卵巢癌细胞系OVCA429混合接种裸鼠(图4A); 或用不同组合处理的NF23与卵巢癌细胞系OVCA429混合接种裸鼠(图4B)。结果发现CAF19和NF23单独接种的动物不成瘤, 而OVCA429作为卵巢癌细胞系可以单独成瘤;

将CAF19或NF23与OVCA429混合后接种, 发现CAF比NF能显著促进肿瘤的生长(图4A); 用CAF-CM或Gro- α 处理的NF23比未处理或同时用NF- κ B抑制剂PS1145处理的细胞更能促进肿瘤的生长(图4B); 试验代表性移植瘤的肿瘤组织及荷瘤动物图见图4C和4D。最后, 我们对移植瘤组织分别进行组织学HE染色和血管内皮细胞特异抗原CD34的免疫组化分析, 发现Gro- α 水平的升高会促进肿瘤组织中微血管的增加(图4E、F)。

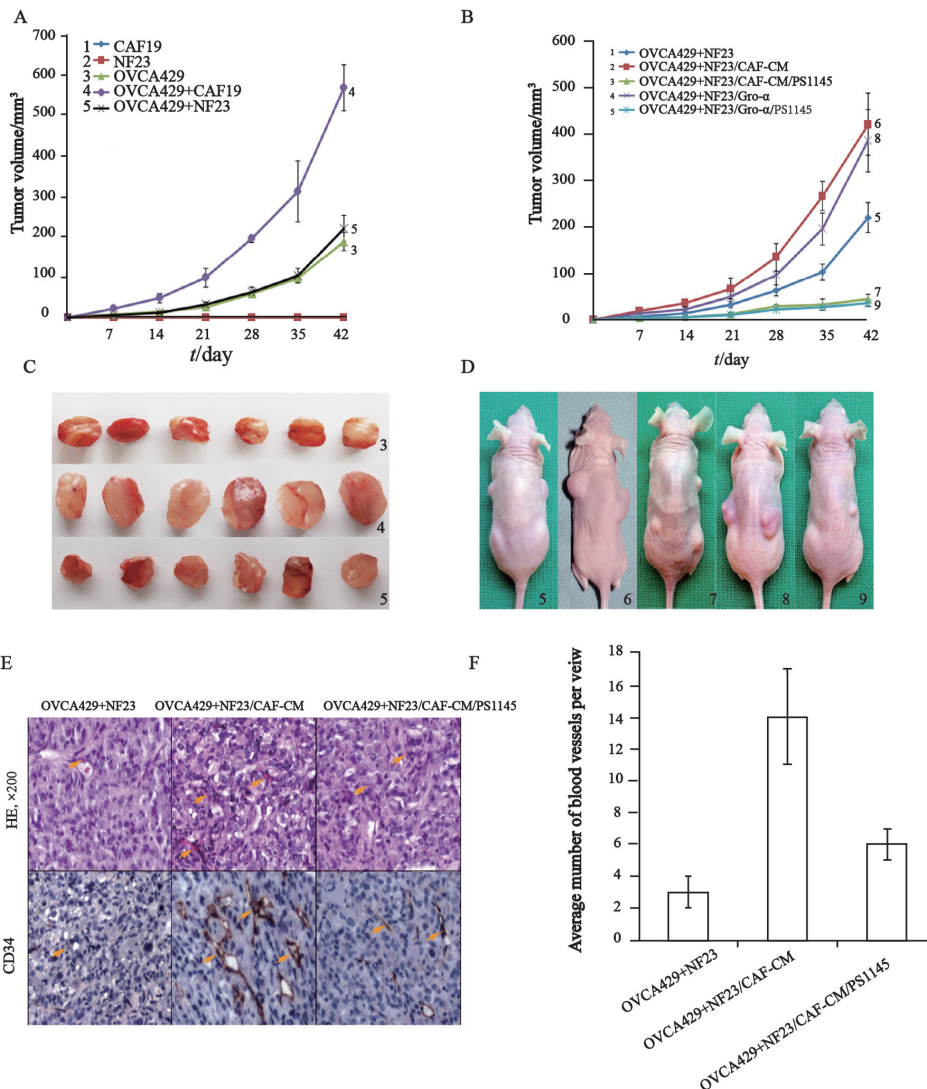


图4 动物移植瘤生长曲线以及移植瘤组织中微血管密度检测

Fig.4 Growth curves of animal xenograft tumors and detection of micro-blood vessel density in xenograft tumor tissues

A: The growth curves of tumors in animals injected with CAF19, NF23, or OVCA429 cells alone, or with CAF19 and NF23 cells mixed with OVCA429, respectively; B: The growth curves of tumors in animals injected with OVCA429 cells mixed with NF23 cells that were either treated with or without CAF-CM, Gro- α , CAF-CM+PS1145, or Gro- α +PS1145; C: Tumor tissues from xenograft mice; D: Xenograft mice; E: Blood vessel was stained with HE staining (upper) or with CD34 (lower); F: The average number of blood vessels counted from 10 microscopic views(\times 100).

这些结果均表明, 卵巢癌CAF中Gro- α 可能以激活间质成纤维细胞NF- κ B的核转位的方式, 促进VEGF过量分泌, 诱导肿瘤血管形成, 加速肿瘤的生长。

3 讨 论

本试验利用人体卵巢癌和正常卵巢组织标本中分离的CAF和NF进行对比性研究, 发现其自分泌的Gro- α 主要通过激活NF- κ B核转位, 提高细胞分泌VEGF和降低TSP-1表达, 促进卵巢癌血管生成和肿瘤的生长。

近年来研究发现, CAF可能在肿瘤微环境中对上皮肿瘤的发生、发展具有重要作用^[16-17]。有研究发现, CAF中IL-8可能通过激活NF- κ B, 诱导结肠癌肝转移^[18]。NF- κ B作为炎症反应相关转录因子, 在乳腺癌中对IL-8和VEGF表达具有重要的启动作用^[19]。此外, 在胰腺癌中, NF- κ B的活化也与IL-8和VEGF的升高密切相关^[20]。另外, 以前也有研究发现, Gro- α 可能通过激活NF- κ B进行细胞内信号传导^[21]。本研究结果表明, CAF通过自分泌Gro- α 激活NF- κ B, 使其分泌大量的VEGF, 促进血管生成, 对卵巢癌细胞的快速增生十分重要。

与NF相比, 癌相关CAF具有体外传代次数少和快速衰老的特征, 因此CAF衰老可能是组织微环境中细胞从炎症反应向恶性转化的特征。我们曾报道Gro- α 可以促进NF衰老, 衰老的NF产生更多细胞因子包括Gro- α , 在动物体内可以诱导永生化上皮细胞形成肿瘤^[10]。本研究揭示肿瘤血管生成的主要作用机制之一: 即间质成纤维细胞由于NF- κ B的激活而产生VEGF, 其原动力之一可能是来自CAF分泌的Gro- α 。本研究结果对于深入阐明肿瘤微环境中血管形成的机制和寻找以血管形成为靶点的药物或诊断分子可能具有一定的理论和临床意义。

[参 考 文 献]

[1] XING F, SAIDOU J, WATABE K. Cancer associated

fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2010, 15: 166-179.

- [2] WILKINSON S E, FURIC L, BUCHANAN G, et al. Hedgehog signaling is active in human prostate cancer stroma and regulates proliferation and differentiation of adjacent epithelium [J]. *Prostate*, 2013, 73(16): 1810-1823.
- [3] KO S Y, BARENGO N, LADANYI A, et al. HOXA9 promotes ovarian cancer growth by stimulating cancer-associated fibroblasts [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(10): 3603-3617.
- [4] LIN H J, ZUO T, LIN C H, et al. Breast cancer-associated fibroblasts confer AKT1-mediated epigenetic silencing of cystatin M in epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(24): 10257-10266.
- [5] CARMELIET P, JAIN R K. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 249-257.
- [6] GORDON L K, KIYOHARA M, FU M, et al. EMP2 regulates angiogenesis in endometrial cancer cells through induction of VEGF [J]. *Oncogene*, 2013, 32(46): 5369-5376.
- [7] ROUDNICKY F, POYET C, WILD P, et al. Endocan is upregulated on tumor vessels in invasive bladder cancer where it mediates VEGF-A-induced angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(3): 1097-1106.
- [8] KOH Y J, KIM H Z, HWANG S I, et al. Double antiangiogenic protein, DAAP, targeting VEGF-A and angiopoietins in tumor angiogenesis, metastasis, and vascular leakage [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(2): 171-184.
- [9] 徐晗, 狄根红, 杨恭. 趋化因子受体CXCR2及其配基GRO α 、IL-8与肿瘤关系的研究进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2013, 23(1): 69-74.
- [10] YANG G, ROSEN D G, ZHANG Z, et al. The chemokine growth-regulated oncogene 1 (Gro-1) links RAS signaling to the senescence of stromal fibroblasts and ovarian tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(44): 16472-16477.
- [11] CAUNT M, HU L, TANG T, et al. Growth-regulated oncogene is pivotal in thrombin-induced angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 4125-4132.
- [12] PAPPA C A, TSIRAKIS G, KANELLOU P, et al. Monitoring serum levels ELR+ CXC chemokines and the relationship between microvessel density and angiogenic growth factors in multiple myeloma [J]. *Cytokine*, 2011, 56(3): 616-620.
- [13] BANDAPALLI O R, EHRMANN F, EHEMANN V, et al. Down-regulation of CXCL1 inhibits tumor growth in colorectal liver metastasis [J]. *Cytokine*, 2012, 57(1): 46-53.
- [14] REN C, CHENG X, LU B, et al. Activation of interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 by human papillomavirus early proteins 6 induces fibroblast senescence to promote cervical tumorigenesis through autocrine and paracrine pathways in tumour microenvironment [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(18): 3889-3899.
- [15] YANG G, ROSEN D G, LIU G, et al. CXCR2 promotes ovarian cancer growth through dysregulated cell cycle,

- diminished apoptosis, and enhanced angiogenesis [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(15): 3875-3886.
- [16] YU S, XIA S, YANG D, et al. Androgen receptor in human prostate cancer-associated fibroblasts promotes prostate cancer epithelial cell growth and invasion [J]. Med Oncol 2013, 30(3): 674.
- [17] LIAO C P, ADISETIYO H, LIANG M, et al. Cancer-associated fibroblasts enhance the gland-forming capability of prostate cancer stem cells [J]. Cancer Res, 2010, 70(18): 7294-7303.
- [18] MUELLER L, GOUMAS F A, AFFELDT M, et al. Stromal fibroblasts in colorectal liver metastases originate from resident fibroblasts and generate an inflammatory microenvironment [J]. Am J Pathol, 2007, 171(5): 1608-1618.
- [19] LEREBOURS F, VACHER S, ANDRIEU C, et al. NF- κ B genes have a major role in inflammatory breast cancer [J]. BMC Cancer, 2008, 8: 41.
- [20] FUJIOKA S, SCLABAS G M, SCHMIDT C, et al. Inhibition of constitutive NF- κ B activity by I kappa B alpha M suppresses tumorigenesis [J]. Oncogene, 2003, 22(9): 1365-1370.
- [21] KAI K, NISHIMURA R, MATSUDA M, et al. P53 overexpression is a significant factor in predicting resistance to 3rd generation aromatase inhibitors (AIs) in hormone-sensitive recurrent or advanced breast cancer [J]. J Clin Oncol (Meeting Abstracts), 2005, 23(Suppl 16): 715.
- [22] BOBROVNIKOVA-MARJON E V, MARJON P L, BARBASH O, et al. Expression of angiogenic factors vascular endothelial growth factor and interleukin-8/CXCL8 is highly responsive to ambient glutamine availability: role of nuclear factor- κ B and activating protein-1 [J]. Cancer Res, 2004, 64(14): 4858-4869.
- (收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-04-11)

第53届国际粒子放射治疗大会 (PTCOG 53) 会议通知

国际粒子放射治疗大会系由国际粒子治疗协作委员会 (PTCOG) 主办的国际性学术会议, 是全球范围内该领域最高学术水平的年会。

第53届国际粒子放射治疗大会 (PTCOG 53) 由上海市质子重离子医院及复旦大学附属肿瘤医院共同承办。将于2014年6月8—14日在上海国际会议中心召开。预计参会人数为1 000人。本届大会分为教育课程 (6月9—11日) 和科学会议 (6月12—14日) 两部分, 其中6月11日下午将组织参观上海市质子重离子医院。教育课程将集中介绍粒子放疗的放射物理、放射生物基础和最新的临床研究进展; 科学会议将集中讨论图像引导的粒子治疗、运动靶区和重离子放射生物学内容。PTCOG 53是一次国际粒子放射治疗交流的盛会, PTCOG 53欢迎您参会!

了解更多大会信息, 请登录www.ptcog53.org或联系大会秘书处。

会议注册方式: 登录大会官方网站www.ptcog53.org

大会秘书处: 万怡会展 Healife PCO

联系地址: 上海市徐汇区肇嘉浜路333号亚太企业大厦605-606室

邮政编码: 200032

联系电话: +86-21-64150355 64730337

传真号码: +86-21-64150358

E-mail: congress_china@ptcog53.org