

IL-4 激活的巨噬细胞通过分泌 CCL18 促进 Hela 细胞侵袭和迁移

韩洁¹, 李舜颖², 李倩², 刘玉洁²

(1. 上海市第八人民医院妇产科, 上海 200235; 2. 中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学部, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究 IL-4 激活的巨噬细胞对宫颈癌 Hela 细胞的侵袭、转移作用及其机制。【方法】细胞形态观察、流式细胞术及 ELISA 检测巨噬细胞的激活状态。Transwell 法观察 Hela 细胞的侵袭转移能力。Western blot 检测 NF- κ B 信号蛋白的激活状况及转移相关基因的表达。【结果】①IL-4 激活的巨噬细胞表现为免疫抑制的 M2 型表型; ②IL-4 激活的巨噬细胞显著促进 Hela 细胞的侵袭、迁移, 而未激活的巨噬细胞没有这种能力 ($P < 0.001$); ③IL-4 激活的巨噬细胞上清中加入 CCL18 中和抗体而不是同型 IgG 对照能削弱 M2 型巨噬细胞的作用 ($P < 0.001$); ④IL-4 激活的巨噬细胞上清能促进共培养肿瘤细胞中 NF- κ B 信号蛋白的激活和 vimentin 的表达; ⑤直接应用 CCL18 也可以促进 Hela 细胞的侵袭转移, NF- κ B 信号蛋白的激活和 vimentin 的表达。【结论】IL-4 激活的巨噬细胞可以促进宫颈癌细胞的侵袭转移, 其作用机制为释放 CCL18 作用于肿瘤细胞的 NF- κ B 通路, 进而促进转移相关基因的表达。

关键词: 宫颈癌; IL-4 激活的巨噬细胞; CCL18; NF- κ B; 侵袭; 转移

中图分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)01-0049-07

IL-4 Activated Macrophages Promote Hela Cell Migration and Invasion by Producing CCL18

HAN Jie¹, LI Shun-ying², LI Qian², LIU Yu-jie²

(1. Department of Gynecological Oncology, Shanghai eighth People's hospital, Shanghai 200235, China; 2. Breast Tumor Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Guangzhou 510120, China)

Corresponding to: LIU Yu-jie, E-mail: liuyujie554@163.com

Abstract: 【Objective】To investigate the roles of IL-4 activated macrophages on Hela cells migration and invasion and the underlying mechanism. 【Methods】The phenotype of IL-4 activated macrophage was assayed by morphology, flow cytometry and Elisa. The ability of Hela cell migration and invasion was evaluated by transwell assay. The signaling proteins expression was displayed by Western blot. 【Results】IL-4 activated macrophage had the phenotype of CD206^{high}/HLA-DR^{low}, and highly expressed IL-10 and CCL18, and decreased the expression of IL-12. The activated macrophages significantly promoted the migration and invasion of Hela cells, while the unactivated macrophages did not had this effect. Applying anti-CCL18 antibody but not isotype IgG in the supernatant of IL-4 activated macrophage inhibited Hela cells motility. Furthermore, activated macrophages phosphorylated IKK and I κ B and induced the translocation of p65 to nucleus, eventually increased the expression of vimentin. Treatment of Hela cells with CCL18 also enhanced tumor cells migration and invasion, as well as the NF- κ B activation and vimentin expression. 【Conclusion】IL-4 activated macrophages promoted Hela cells motility by secreting CCL18 and the following activation of NF- κ B signaling proteins.

Key words: cervical cancer; IL-4 activated macrophages; CCL18; NF- κ B; migration; invasion

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(1): 49-55]

收稿日期: 2016-10-09

基金项目: 高校基本科研业务费中山大学青年教师培育项目(14ykpy20); 高等学校博士学科点专项科研基金(新教师类)(20110171120082)

作者简介: 韩洁, 硕士, 主治医师; 刘玉洁, 通信作者, 博士, 助理研究员, E-mail: liuyujie554@163.com

宫颈癌是影响女性健康的最常见的恶性肿瘤之一。在世界范围内其发病率居于女性恶性肿瘤第二位,病死率在发展中国家中居于第三位,分别占新发肿瘤的10%和肿瘤死亡的8%^[1]。肿瘤转移是宫颈癌患者死亡的主要原因,早期宫颈癌或者局部晚期宫颈癌患者经过传统的手术、化疗或放射治疗后,5年生存率为91.5%。而对于发生远处转移的宫颈癌患者,由于其转移肿瘤的异质性,目前还没有标准的治疗方式,其5年生存率为16.5%,平均生存时间仅有8~13个月^[2]。目前,宫颈癌发生转移的机制还未完全阐明。

近年来,越来越多的研究证明肿瘤的进展有赖于肿瘤细胞与其所处微环境中间质细胞的相互作用。在实体肿瘤中巨噬细胞的浸润常常与肿瘤的不良预后相关^[3-4]。多种肿瘤细胞产物,包括单核细胞趋化因子如CCL2和集落刺激因子CSF-1等,通过一些目前尚未完全明了的途径,促进外周血单核细胞的浸润并在肿瘤部位分化成为肿瘤相关巨噬细胞。根据局部组织微环境中存在的因子的不同而呈现不同的表型和激活状态^[5]。细菌产物或干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)可诱导巨噬细胞的“经典激活”,呈现M1表型,表达高水平的促炎因子和MHC II,能够杀死微生物和肿瘤细胞。而Th2类细胞因子,例如白介素-4(interleukin 4, IL-4)、IL-10和IL-13,促进巨噬细胞进入“选择性激活”途径,呈现M2表型,分泌抗炎因子,促进血管生成和组织重构以及清除细胞碎片。总体说来,M1型巨噬细胞(IL-12^{high}, IL-10^{low})通过激活调节性免疫系统,发挥抗肿瘤的作用;而M2型巨噬细胞(IL-12^{low}, IL-10^{high})则通过产生血管生成因子,基质分解因子和下调抗肿瘤免疫反应从而促进肿瘤的发展^[6-7]。

我们前期的研究结果显示侵袭性乳腺癌组织中的肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAM)和IL-4激活的来源于单核细胞的巨噬细胞(monocyte-derived macrophages, MDM)大量表达一种“选择性激活”的巨噬细胞特异性表达的趋化因子CCL18,促进肿瘤细胞的侵袭转移^[8]。在宫颈癌中巨噬细胞是否通过分泌CCL18与肿瘤细胞相互作用,从而促进肿瘤的转移目前尚未有研究。因此,本论文旨在探讨巨噬细胞对宫颈癌细胞的侵袭、转移作用并探索其机制。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

人宫颈癌细胞株Hela细胞购自中国科学院上海生科院细胞资源中心;RPMI-1640培养基、2.5 g/L胰酶、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自Life Technology;淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物;ELISA试剂盒购于Ebioscience公司;CD206-FITC、HLA-DR-PE及其同型抗体购于BD公司;CCL18中和抗体及同型IgG购自R&D公司;IKK β , I κ B α ,及其磷酸化抗体,vimentin、p65、GAPDH、Lamin B1、抗兔/鼠二抗购自Cell Signaling Technology (CST)或Abcam公司;8 μ m transwell小室购自Corning;Matrigel购于BD公司。

1.2 实验方法

1.2.1 人外周血单核细胞分离并活化 人外周血单个核细胞分离方法参考之前文献报道^[9]。简单来说,人外周血与等体积PBS混合后,以2:1的比例缓慢加入到淋巴细胞分离液上,450 \times g室温离心15 min后吸出白膜细胞层,PBS洗三遍后,重悬于无血清RPMI-1640培养基中,以 5×10^6 细胞/孔的密度种于24孔板中,1 h后去掉悬浮细胞,加入RPMI-1640完全培养基。未激活的单核细胞来源的巨噬细胞(unactivated MDMs, Ua)继续用RPMI-1640完全培养基培养,IL-4激活的巨噬细胞(IL-4)则在培养基中加入IL-4 (45 ng/mL),培养4 d后检测表型变化。

1.2.2 Transwell细胞迁移和侵袭 Hela细胞培养在含10% FBS的RPMI-1640培养基中,置于37 $^{\circ}$ C含5% CO₂的培养箱中。细胞80%融合后胰酶消化,PBS冲洗后将100 μ L无血清RPMI-1640重悬 1×10^5 细胞,并置于Transwell上室,同时下室加入500 μ L不同处理组巨噬细胞上清作为趋化剂来诱导细胞迁移。每组设置三个复孔。对于侵袭实验,transwell小室上预先铺上matrigel(1:5)。继续培养12 h(迁移实验)或24 h(侵袭实验)后,擦掉小室上层细胞,PBS冲洗掉细胞碎片后,用4%多聚甲醛溶液固定20 min,然后0.1%结晶紫染色,200倍光学显微镜下拍照并随机取10个视野计数。实验独立重复3次。

1.2.3 ELISA IL-10、IL-12及CCL18的表达通过ELISA实验检测。实验操作参考试剂盒说明书。

细胞因子的绝对浓度通过绘制标准曲线计算。实验独立重复3次。

1.2.4 流式细胞术 巨噬细胞表面标记物的表达情况通过流式细胞术检测。巨噬通过不同处理后,消化收集细胞沉淀,冷PBS冲洗后离心,50 μ L PBS重悬并加入5 μ L相应抗体,冰上孵育30 min后,PBS洗两遍,流式细胞仪检测平均荧光密度。

1.2.5 Western Blot 细胞种于60 mm培养皿中,加入不同处理巨噬细胞上清或加入50 ng/mL CCL18作用4 d后,采用RIPA裂解细胞,提取蛋白变性后跑10%聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离的蛋白转移到PVDF膜上,并孵育相应的一抗、二抗,最后ECL发光,胶片显示蛋白条带。

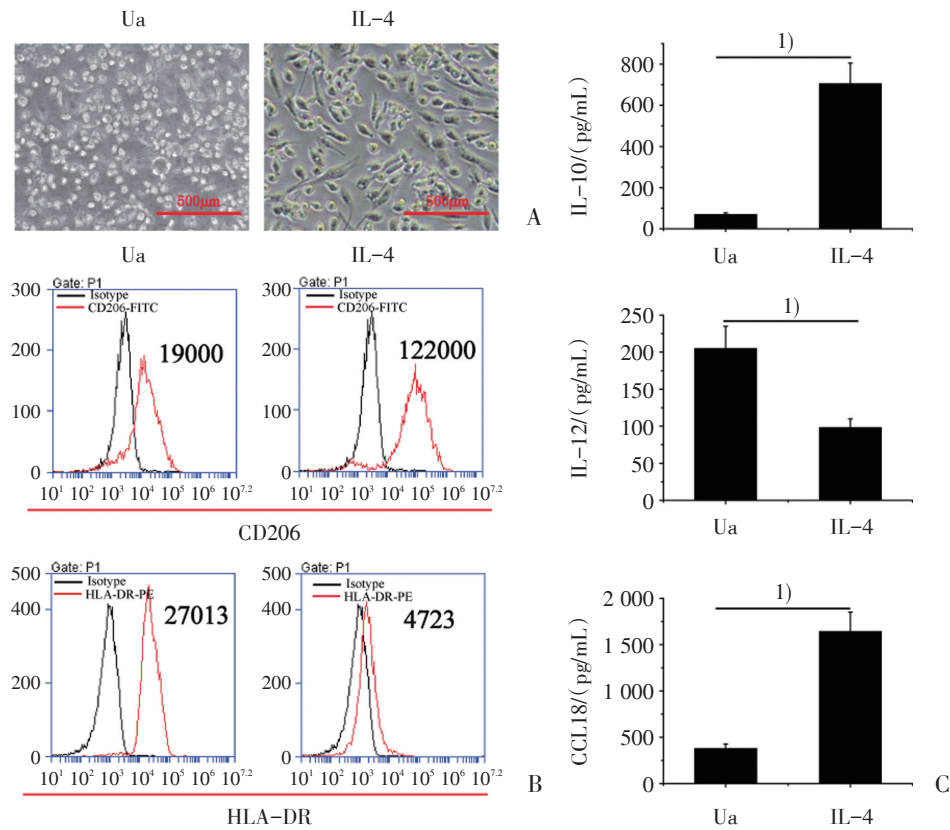
1.3 统计与绘图

Originlab 7.5软件处理数据,样本间差异采用*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。Originlab 7.5及Adobe Illustrator CS2软件进行绘图。所有实验均最少进行3次独立重复。

2 结果

2.1 IL-4激活巨噬细胞成为M2的免疫抑制表型

我们将新鲜分离的人外周血单核细胞分为两组,一组不做处理,一组加入45 ng/mL IL-4作用4 d。我们的结果发现IL-4处理4 d后,巨噬细胞显著拉长成为激活状态,而未处理细胞仍为圆形(图1A)。检测CD206及HLA-DR表达发现,IL-4处理的巨噬细胞高表达CD206,并低表达HLA-DR,这种表型与免疫抑制表型相关(图1B)。相应的,IL-4处理的巨噬细胞IL-10的分泌量是未处理组的约10倍,而IL-12的表达较未激活组低。同时我们检测M2型巨噬细胞特异分泌的细胞因子CCL18的表达,发现CCL18的表达在IL-4激活组较未激活组升高约4倍。这些结果提示我们用IL-4处理外周血单核细胞可以诱导免疫抑制的巨噬细胞表型。



A: bright field images of macrophage morphology. 200 \times ; B: Expression of CD206 and HLA-DR assayed by Flow cytometry, data indicates mean fluorescence intensity; C: Concentration of IL-10, IL-12 and CCL18 assayed by ELISA. 1) $P < 0.01$

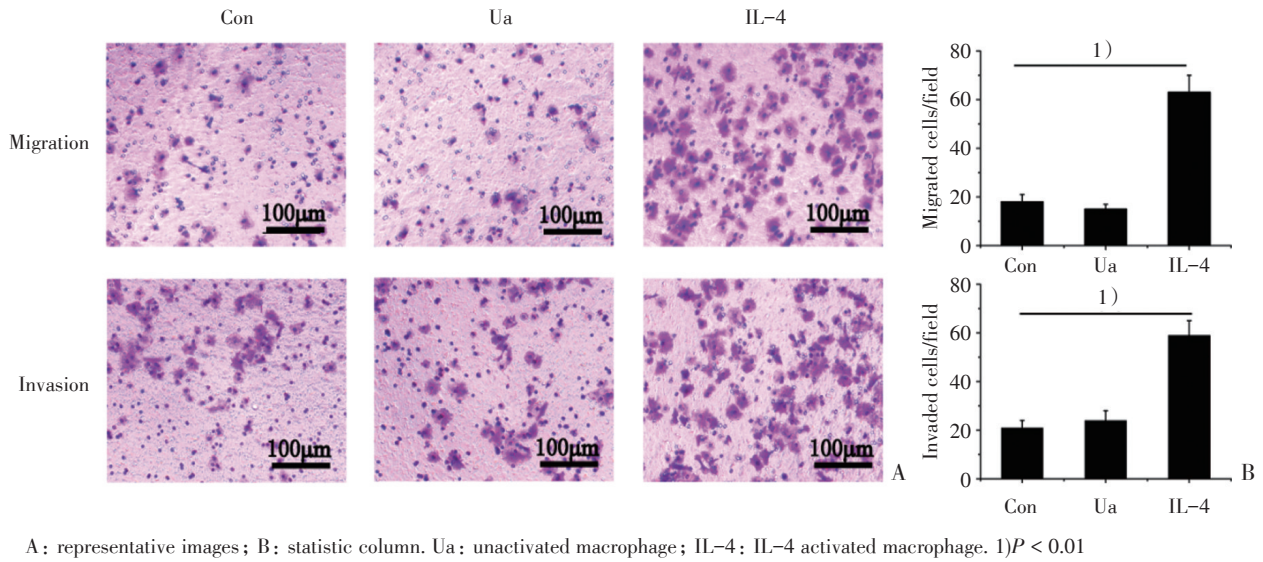
图1 IL-4激活巨噬细胞成为M2表型

Fig.1 IL-4 activated macrophage to a M2 phenotype

2.2 IL-4 激活的巨噬细胞促进 Hela 细胞侵袭和迁移

我们分别在 transwell 下室中加入 RPMI-1640 完全培养基、未激活巨噬细胞上清及 IL-4 激活的巨噬细胞上清, 12 h 后及 24 h 后分别检测 transwell 小室上层 Hela 细胞的转移、侵袭情况。我们的结

果发现未激活的巨噬细胞上清没有增加 Hela 细胞侵袭、迁移的能力, 而 IL-4 激活的巨噬细胞上清显著促进了宫颈癌细胞的侵袭和迁移(图 2)。结果提示 IL-4 激活的巨噬细胞上清而不是未激活的巨噬细胞上清中有促进 Hela 细胞侵袭、转移的趋化因子。



A: representative images; B: statistic column. Ua: unactivated macrophage; IL-4: IL-4 activated macrophage. 1) $P < 0.01$

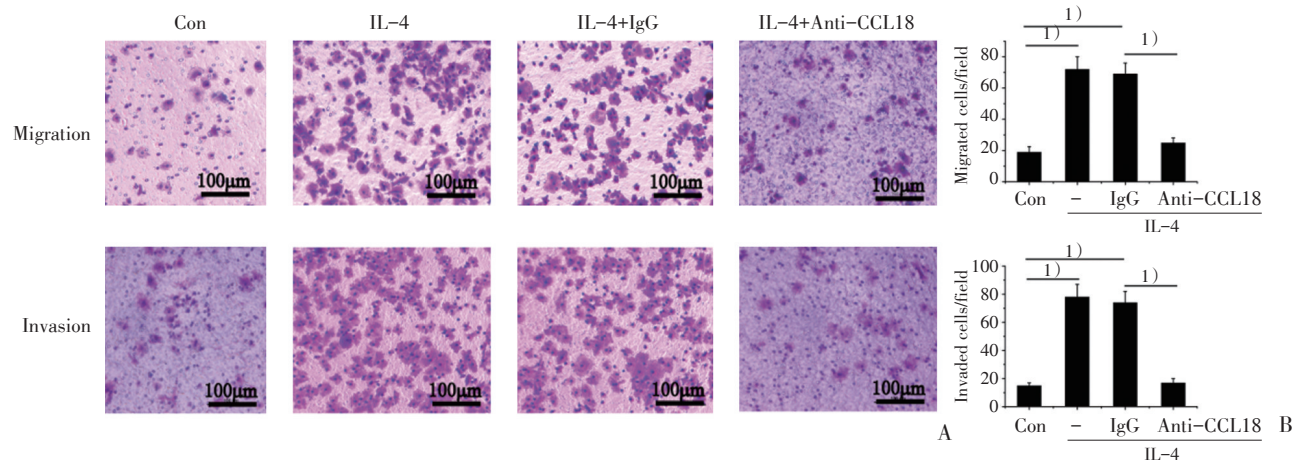
图2 IL-4 激活的巨噬细胞促进 Hela 细胞侵袭、迁移

Fig.2 IL-4 activated macrophages promote Hela cells migration and invasion

2.3 IL-4 激活的巨噬细胞通过分泌 CCL18 促进 Hela 细胞侵袭、迁移

我们之前在乳腺癌细胞中的研究发现, M2 型激活的巨噬细胞通过分泌 CCL18 促进肿瘤细胞的侵袭、转移^[8]。在本研究中 IL-4 激活的巨噬细胞 CCL18 分泌增高, 因此, 我们进一步探索是否 CCL18 是 IL-4 激活的巨噬细胞促进宫颈癌细胞转

移的主要因素。我们的研究发现 IL-4 激活的巨噬细胞上清较未处理组显著增加细胞的侵袭、迁移能力。当在 IL-4 激活的巨噬细胞上清中加入 10 $\mu\text{g/mL}$ anti-CCL18 中和抗体而不是同型 IgG 对照, 显著抑制了 Hela 细胞的侵袭、迁移能力到未处理组的水平(图 3)。这些结果提示 CCL18 是 IL-4 激活巨噬细胞促进肿瘤细胞转移的主要因素。



A: representative images; B: statistic column. 1) $P < 0.01$

图3 CCL18 中和抗体抑制 IL-4 激活的巨噬细胞促进的 Hela 细胞侵袭、转移

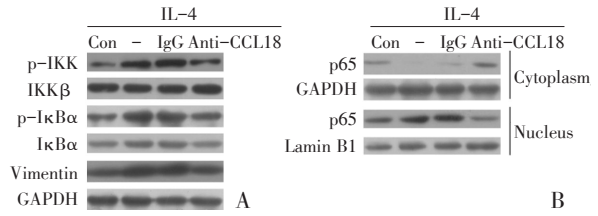
Fig.3 Anti-CCL18 antibody inhibited IL-4 activated macrophages induced Hela cells migration and invasion

2.4 NF-κB 信号通路介导了 CCL18 促进的 Hela 细胞迁移

我们进一步检测 IL-4 激活的巨噬细胞上清对 NF-κB 信号的激活状况,发现 IL-4 激活的巨噬细胞上清处理的 Hela 细胞中磷酸化 IKK 表达增高,进而促进 IκB 的磷酸化,而整体 IKK、IκB 的表达没有影响(图 4A)。IκB 的磷酸化使得 NF-κB 异二聚体(p50/p65)入核(图 4B),并启动肿瘤促进相关基因的转录。我们的研究发现 IL-4 激活巨噬细胞上清处理组的 vimentin 表达水平显著升高(图 4A)。加入 CCL18 的中和抗体后,完全逆转了 NF-κB 信号通路的激活和 vimentin 的表达,而加入同型 IgG 对照没有这个作用。

2.5 CCL18 直接促进 NF-κB 信号通路的激活和 Hela 细胞侵袭、迁移

为了进一步验证是否 CCL18 是介导 IL-4 激活的巨噬细胞促进肿瘤转移的关键因素,我们检测 CCL18 本身对宫颈癌细胞转移的影响。我们的结果发现 CCL18 可以显著促进 Hela 细胞的侵袭和迁移(图 5A, B)。进一步检测 NF-κB 信号通路激活情况发现, CCL18 促进 IKK 和 IκB 的磷酸化,而对整体 IKK、IκB 的表达没有影响(图 5C)。



A: Expression of NF-κB signaling proteins performed by Western blot. B: Expression of p65 in cytoplasm and nucleus performed by Western blot.

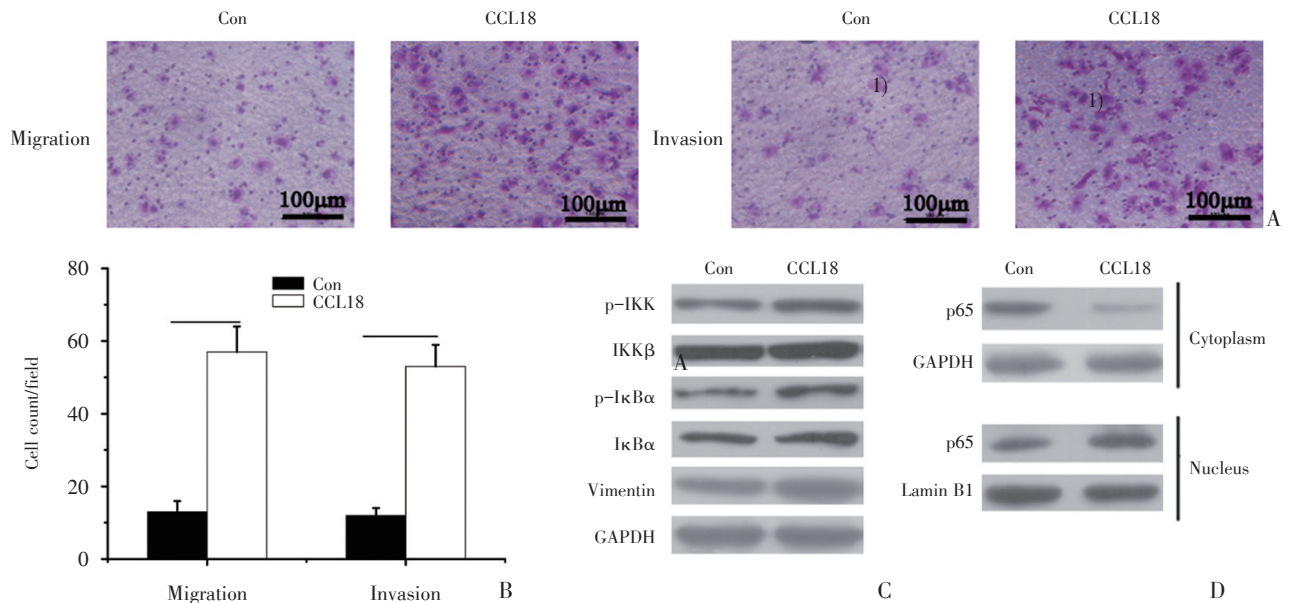
图4 NF-κB 信号通路介导了 CCL18 促进的细胞迁移

Fig.4 NF-κB signaling proteins mediate CCL18 enhanced cell migration and invasion

并且 CCL18 促进 p65 的入核(图 5D)和 vimentin 的表达(图 5C)。这些结果提示 IL-4 激活的巨噬细胞通过分泌 CCL18 激活 NF-κB 信号通路,并促进 vimentin 的表达来影响肿瘤细胞的移动能力。

3 讨论

近年来越来越多的研究发现肿瘤的发生和进展不仅与自身癌基因/抑癌基因的变异有关,也与



A: representative cell migration and invasion images (200×). B: statistical column. 1)P < 0.01. C: Expression of NF-κB signaling proteins performed by Western blot. D: Expression of p65 in cytoplasm and nucleus performed by Western blot.

图5 CCL18 直接促进 NF-κB 信号通路的激活和细胞迁移

Fig.5 CCL18 directly increases the activation of NF-κB signaling pathway and cell migration and invasion

肿瘤周围的微环境密切相关^[10-14]。TAM在多项研究中发现具有抑制免疫的表型特征,与肿瘤的不良预后相关。在宫颈癌中PD-L1⁺的M2型巨噬细胞的聚集与转移之间有很强的相关性,提示转移的肿瘤细胞能够募集单核细胞并将之激活为M2型巨噬细胞^[15]。这些M2型巨噬细胞反过来可能辅助肿瘤细胞侵袭。在本研究中,我们通过流式细胞术检测发现IL-4激活的巨噬细胞具有CD206^{high}/HLA-DR^{low}的表型,并且大量分泌促肿瘤的细胞因子IL-10^[16],同时低分泌抗肿瘤的IL-12。这些结果显示IL-4激活的巨噬细胞表现出类似TAM的M2表型。进一步采用不同培养的巨噬细胞上清处理Hela肿瘤细胞发现,IL-4处理的巨噬细胞上清显著促进宫颈癌细胞的侵袭和迁移。这与之前在乳腺癌、肺癌、食管癌等肿瘤中的结果一致^[8,17-18]。

很多研究发现M2型巨噬细胞可能通过释放多种细胞因子促进血管淋巴管生成、基质降解、免疫抑制,进而影响肿瘤细胞的侵袭^[19]。Chen等^[8]之前的研究发现TAM和IL-4激活的MDMs具有类似的细胞因子mRNA表达谱,其中CCL18的表达量最高,TAM或IL-4激活的MDMs通过特异性分泌CCL18促进乳腺癌细胞的侵袭、转移。血浆或组织中的高CCL18水平与患者的不良预后相关。同时,CCL18促进肿瘤细胞迁移的现象也在卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肺癌、肝癌等得到证实^[20-22]。我们的结果也发现IL-4激活的巨噬细胞高分分泌CCL18。为了探索是否CCL18介导了IL-4激活的巨噬细胞的促迁移作用,我们在IL-4激活的巨噬细胞上清中同时加入10 μg/mL的CCL18中和抗体,发现阻断CCL18的作用后,IL-4激活的巨噬细胞上清不能促进Hela细胞的侵袭、转移。而直接应用50 ng/mL的CCL18到培养基中也可以促进Hela细胞的侵袭、转移。这些结果说明CCL18是介导巨噬细胞促肿瘤细胞迁移的主要因素。

NFκB为一个转录因子蛋白家族,包括5个亚单位:Rel、p65、RelB和p50、p52。通常情况下NFκB与IκB结合,以失活的状态存在胞浆中,一旦接受刺激信号,磷酸化的IKK促进IκB磷酸化,启动其泛素化降解,进而释放NFκB亚单位p65/p50入核,并与核内特定的DNA序列结合,启动下游基因转录^[23]。目前已有许多研究报道NFκB对于触

发和维持肿瘤细胞的上皮间质转化以及侵袭转移非常重要,其机制之一为转录调控迁移相关基因的表达^[12]。我们研究IL-4激活的巨噬细胞促肿瘤转移的机制发现,M2型巨噬细胞上清和直接应用CCL18能促进NFκB信号的激活,表现为IKK的磷酸化,进而激活下游IκB的磷酸化,以及p65的入核和vimentin的表达增高。在多项研究中发现NFκB的入核也可以调控E-cadherin的表达降低,结合vimentin的表达上调,从而调控细胞的EMT过程^[24]。在本研究中Hela细胞在接受IL-4激活的巨噬细胞上清或直接CCL18处理后vimentin的表达变化较大,而E-cadherin变化不明显,可能与其本身处于较低的表达水平有关(数据未显示)。Vimentin是迁移细胞的标志,其在细胞迁移中的作用被认为与多种机制有关,如决定细胞的极性,调节细胞连接形成,排列及输出与细胞运动有关的信号蛋白等^[25]。而在IL-4激活的巨噬细胞上清中加入CCL18中和抗体后阻碍了NFκB信号的激活和vimentin的表达,这与中和抗体对细胞迁移的作用一致。这些结果提示IL-4激活的巨噬细胞通过分泌CCL18作用到肿瘤细胞,进而激活肿瘤细胞的NFκB信号通路,促进迁移相关蛋白如vimentin的表达来影响Hela细胞侵袭转移。

综上所述,我们通过体外IL-4激活的巨噬细胞模型模拟晚期肿瘤进展过程中的TAM状态,揭示了肿瘤微环境中的巨噬细胞可以通过分泌趋化因子CCL18促进肿瘤的侵袭、转移。并且提示NFκB信号作为重要的炎性信号通路在宫颈癌的侵袭、转移中发挥重要作用,是重要的治疗靶点。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Kanavos P. The rising burden of cancer in the developing world[J]. Ann Oncol, 2006, 17 Suppl 8: viii15-viii23.
- [3] Sica A, Larghi P, Mancino A, et al. Macrophage polarization in tumour progression [J]. Semin Cancer Biol, 2008, 18(5): 349-355.
- [4] Hansen BD, Schmidt H, von der Maase H, et al. Tumour-associated macrophages are related to progression in patients with metastatic melanoma following interleukin-2 based immunotherapy [J]. Acta oncologica, 2006, 45

- (4):400-405.
- [5] Denardo DG, Johansson M, Coussens LM. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27(1): 11-18.
- [6] Van Ginderachter JA, Movahedi K, Hassanzadeh Ghassabeh G, et al. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: picking the best of both worlds for tumor promotion [J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8):487-501.
- [7] Mantovani A, Sica A, Locati M. Macrophage polarization comes of age [J]. *Immunity*, 2005, 23(4): 344-346.
- [8] Chen J, Yao Y, Gong C, et al. CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via PITPNM3 [J]. *Cancer cell*, 2011, 19(4): 541-555.
- [9] Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g [J]. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 1968, 97:77-89.
- [10] DeNardo DG, Barreto JB, Andreu P, et al. CD4(+) T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages [J]. *Cancer cell*, 2009, 16(2): 91-102.
- [11] Ruland J. Return to homeostasis: downregulation of NF-kappaB responses [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(8): 709-714.
- [12] Huber MA, Beug H, Wirth T. Epithelial-mesenchymal transition: NF-kappaB takes center stage [J]. *Cell cycle*, 2004, 3(12): 1477-1480.
- [13] Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6): 453-458.
- [14] Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth [J]. *Oncogene*, 2008, 27(45): 5904-5912.
- [15] Heeren AM, Koster BD, Samuels S, et al. High and interrelated rates of PD-L1 + CD14+ antigen-presenting cells and regulatory T cells mark the microenvironment of metastatic lymph nodes from patients with cervical cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(1): 48-58.
- [16] Mocellin S, Panelli MC, Wang E, et al. The dual role of IL-10 [J]. *Trends Immunol*, 2003, 24(1): 36-43.
- [17] 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.
- [18] Trikha P, Sharma N, Pena C, et al. E2f3 in tumor macrophages promotes lung metastasis [J]. *Oncogene*, 2016, 35(28): 3636-3646.
- [19] Solinas G, Marchesi F, Garlanda C, et al. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(2): 243-248.
- [20] Lane D, Matte I, Laplante C, et al. CCL18 from ascites promotes ovarian cancer cell migration through proline-rich tyrosine kinase 2 signaling [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 58.
- [21] Shi L, Zhang B, Sun X, et al. CC chemokine ligand 18 (CCL18) promotes migration and invasion of lung cancer cells by binding to Nir1 through Nir1-ELMO1/DOC180 signaling pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(12): 2051-2062.
- [22] Lin X, Chen L, Yao Y, et al. CCL18-mediated down-regulation of miR98 and miR27b promotes breast cancer metastasis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24): 20485-20499.
- [23] Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB [J]. *Gene Dev*, 2004, 18(18): 2195-2224.
- [24] Huang W, Cui X, Chen J, et al. Long non-coding RNA NKILA inhibits migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma cells via suppressing epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2016.
- [25] Chernouvanenko IS, Minin AA, Minin AA. Role of vimentin in cell migration [J]. *Ontogenez*, 2013, 44(3): 186-202.

(编辑 孙慧兰)