

骨肉瘤细胞外泌体调控 JAK2/STAT3 信号通路影响成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞转化^{*}

折胜利¹ 宋兴华² 周杨¹ 何园¹ 贾晶¹ 刘彦博³ 王良华⁴

(1. 西北工业大学医院骨科, 陕西 西安 710012; 2. 新疆医科大学第一附属医院骨病/骨肿瘤科, 新疆 乌鲁木齐 830054;

3. 陕西省新安中心医院骨科, 陕西 西安 710048; 4. 新疆医科大学基础医学院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

【摘要】 目的 探讨骨肉瘤外泌体对肿瘤相关成纤维细胞转化的影响及机制。**方法** 提取并鉴定骨肉瘤细胞 U2-OS、MG-63、人成骨细胞 hFoB1. 19 外泌体, 将 PBS、hFoB1. 19、U2-OS、MG-63 外泌体与人肺成纤维细胞 MRC-5 共孵育, CCK8 法检测 MRC-5 增殖能力, Transwell 小室法检测 MRC-5 迁移和侵袭能力, qRT-PCR 检测 MRC-5 细胞中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达, Western blot 检测 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达, JAK2/STAT3 信号通路的激活。**结果** 透射电镜和 Western blot 鉴定所提取的外泌体符合其结构特征; 与 U2-OS、MG-63 外泌体共孵育后, MRC-5 增殖、迁移和侵袭能力显著增加, MRC-5 中 IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达显著增加, α -SMA、Vimentin、FAP 表达显著增加, JAK2 和 STAT3 磷酸化水平显著增加(均 $P < 0.001$)。**结论** 骨肉瘤细胞外泌体通过激活 JAK2/STAT3 信号通路而促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞转化。

【关键词】 骨肉瘤; 外泌体; 肿瘤相关成纤维细胞; JAK2/STAT3 信号通路

【中图分类号】 R738 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2021. 08. 002

Osteosarcoma cell exosomes regulate JAK2/STAT3 signaling pathway to affect the transformation of fibroblasts into tumor-associated fibroblasts

ZHE Shengli¹, SONG Xinghua², ZHOU Yang¹, HE Yuan¹, JIA Jing¹, LIU Yanbo³, WANG Lianghua⁴

(1. Department of Orthopedics, Northwestern Polytechnical University Hospital, Xi'an 710012, China;

2. Department of Osteopathy/Bone Oncology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China;

3. Department of Orthopedics, Xinnan Central Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 710048, China;

4. School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of osteosarcoma exosomes on tumor-associated fibroblast transformation. **Methods** The exosomes of osteosarcoma cells U2-OS, Mg-63 and human osteoblasts hFOB1. 19 were extracted and identified. The exosomes of PBS, hFOB1. 19, U2-OS and Mg-63 were incubated with human lung fibroblasts MRC-5. The proliferation ability of MRC-5 was detected by CCK8 method, the migration and invasion ability of MRC-5 was detected by Transwell chamber method, and the inflammatory factor IL-1 in MRC-5 cells was detected by QRT-PCR- β . The expression of IL-6 and IL-8 was detected by Western blot α The expression of SMA, vimentin and FAP, and the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway. **Results** he exosomes were identified by transmission electron microscope and Western blot. When CO incubated with U2-OS and Mg-63 exosomes, the proliferation, migration and invasion of MRC 5 increased significantly; IL-1 β , IL-6 and IL-8 in MRC 5 increased significantly; the expressions of α -SMA, vimentin and FAP were significantly increased, and the phosphorylation levels of JAK2 and STAT3 were significantly increased (all $P < 0.001$). **Conclusion** Osteosarcoma cell exosomes promote the transformation of fibroblasts into tumor-associated fibroblasts by activating JAK2/STAT3 signaling pathway.

【Key words】 Osteosarcoma; Exosomes; Tumor-associated fibroblasts; JAK2 / STAT3 signaling pathway

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(81860394/

H0607)

通信作者: 贾晶, 副主任医师, E-mail: jiajing@nwpu.edu.cn

骨肉瘤是常见的骨原发性恶性肿瘤, 多发病于青少年, 表现为成骨细胞分化并产生恶性类骨质, 具有易转移、易复发、侵袭性高等特点, 容易发生远端转移^[1-2]。骨肉瘤的治疗主要是根治性肿瘤切除和新辅

助化疗的结合,虽然新辅助化疗能够对骨肉瘤起到明显的治疗效果,但是治疗后患者的生存率低于 20%^[3-5],所以研究更多用于骨肉瘤治疗的靶点对于其临床治疗至关重要。

外泌体是一类由多数活细胞分泌的纳米级囊泡,粒径约 50~100 nm,内含多种 RNA、蛋白质、脂质等物质,可随体液转移至靶组织和靶器官而发挥调控作用^[6-7]。研究表明,肿瘤细胞分泌的外泌体可携带肿瘤细胞的遗传物质,而调控肿瘤细胞的生长、转移、血管新生、免疫逃逸等过程^[8-10]。已有研究表明,肝癌细胞外泌体可调控肿瘤相关成纤维细胞的激活而促进肿瘤的转移^[9],但骨肉瘤细胞外泌体是否具有此作用尚无明确报道。本研究通过骨肉瘤细胞外泌体对成纤维细胞转化的影响,旨在为骨肉瘤的临床治疗和研究提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料 人骨肉瘤细胞 U2-OS、MG-63,人成骨细胞 hFoB1. 19(中科院上海细胞库);人肺成纤维细胞 MRC-5(普诺赛生物技术有限公司);cDNA 合成试剂盒、qRT-PCR 试剂盒(福麦斯生物技术有限公司),p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3、GAPDH(武汉三鹰生物技术有限公司),Transwell 小室(福麦斯生物技术有限公司),无外泌体胎牛血清(爱必信生物科技有限公司)。

1.2 细胞培养 U2-OS、MG-63、hFoB1. 19 细胞培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中,MRC-5 细胞培养于含 10%胎牛血清及 1%非必需氨基酸的 MEM 培养基中,所有细胞均在 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养至细胞汇合率达 70%~80%时,使用胰蛋白酶溶液消化并传代,取对数生长期的细胞进行后续研究。

1.3 外泌体的提取 差速离心法提取 hFoB1. 19、U2-OS、MG-63 细胞外泌体,具体步骤为:将细胞接种至细胞培养皿中,用含 10%无外泌体胎牛血清的 DMEM 培养基培养 48 h 后收集细胞培养上清,然后将上清液 3000×g、4℃离心 15 min;收集上清液 6000×g 离心 40 min;收集上清液 10000×g 离心 1 h,取上清;100000×g 离心 1 h,收集沉淀即为外泌体,用 400 μL PBS 重悬外泌体,并放在-80℃保存。

1.4 外泌体的鉴定 透射电镜观察外泌体的结构,主要步骤为:取透射电镜专用的铜网,滴加 20 μL 外泌体溶液,使用红外灯烘烤铜网 10 min,继续向铜网滴加 2 滴磷钨酸,继续使用红外灯下烘烤 10 min,用滤纸吸取多余的液体,在透射电镜下拍照,并观察外泌体的结构。

1.5 细胞增殖 将 MRC-5 细胞稀释至 50000 个/mL,将上述细胞接种至 96 孔板,每孔 100 μL,每组 3 个复孔,每孔加入外泌体,使外泌体终浓度为 10 μg/mL,在培养箱中共孵育,分别于 24、48、72 h 取出对应的细胞培养板,每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,于培养箱中孵育 4 h 后,使用酶标仪检测各孔 450 nm 处的吸光度,OD 值越大,细胞增殖能力越强。

1.6 细胞迁移 用 DMEM 空白培养基重悬 MRC-5 细胞,细胞接种至 Transwell 小室中,每孔 1×10⁴ 个细胞,体积为 200 μL,每孔加入外泌体,使其终浓度为 10 μg/mL,小室放置于 24 孔板,24 孔板每孔加入 600 μL DMEM 完全培养基,然后将 24 孔板置于细胞培养箱中 24 h,Transwell 小室底部用结晶紫染色 10 min,然后在显微镜下观察并拍照,比较各组细胞迁移数。

1.7 细胞侵袭 用 Transwell 小室法检测细胞侵袭能力,主要步骤为:取 Matrigel 胶融化后,20 μL 平铺于 Transwell 小室中,小室置于 37℃培养箱中 1 h,使 Matrigel 胶充分凝固,用 DMEM 空白培养基重悬 MRC-5 细胞,细胞接种至 Transwell 小室中,每孔 1×10⁴ 个细胞,体积为 200 μL,每孔加入外泌体,使其终浓度为 10 μg/mL,小室放置于 24 孔板,24 孔板每孔加入 600 μL DMEM 完全培养基,然后将 24 孔板置于细胞培养箱中 24 h,Transwell 小室底部用结晶紫染色 10 min,然后在显微镜下观察并拍照,比较各组细胞侵袭数。

1.8 qRT-PCR 将 MRC-5 细胞接种于 6 孔板中,每孔加入外泌体,使其终浓度为 10 μg/mL,共孵育 24 h 后,使用 TRIzol 试剂盒提取各组细胞的 RNA,使用核酸定量仪定量后,根据 cDNA 试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,然后使用 qRT-PCR 试剂盒进行反应,以 GAPDH 为内参,使用 2^{-ΔΔCT} 法计算基因相对表达量。所用引物序列见表 1。

表 1 IL-1β、IL-6、IL-8、GAPDH 引物序列

Table 1 Primer sequence of IL-1β, IL-6, IL-8 and GAPDH	
基因	引物序列
IL-1β	Forward: ATGATGGCTTATTACAGTGGCAA
	Reverse: GTCGGAGATTCGTAGCTGGA
IL-6	Forward: ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG
	Reverse: CCATCTTTGGAAGGTTCAAGTTG
IL-8	Forward: TTTTGCCAAGGAGTGCTAAAGA
	Reverse: AACCTCTGCACCCAGTTTTTC
GAPDH	Forward: AGAAGGCTGGGGCTCATTTG
	Reverse: AGGGGCCATCCACAGTCTTC

1.9 Western blot 取与外泌体共孵育 24 h 后的 MRC-5 细胞 1×10⁷ 个消化于离心管中,使用 RIPA 蛋

白提取试剂盒提取细胞总蛋白,根据 BCA 蛋白定量试剂盒定量,然后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,每孔上样量为 10 μ g,转膜,用 5% BSA 封闭 2 h,然后以 1:1000 比例稀释后的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜后二抗室温孵育 1.5 h,再用 TBST 洗膜后按照 ECL 试剂盒说明书配置发光液,并将 PVDF 膜浸入发光液中反应半分钟,曝光并拍照,用 Image J 软件对曝光结果进行定量分析。

1.10 统计学分析 数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间差异

使用方差分析(one-way ANOVA),多组间比较采用 LSD 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体鉴定结果 透射电镜鉴定外泌体结果显示,差速离心法提取到的外泌体具有双层膜结构,形态呈“杯托”样,粒径约为 50~100 nm,符合外泌体的形态特征,见图 1。Western blot 检测外泌体标志结果显示,差速离心法提取到的外泌体表达外泌体标志蛋白 TSG101、HSP70、CD63、CD9,符合外泌体生物学特征,可用于后续研究,见图 2。

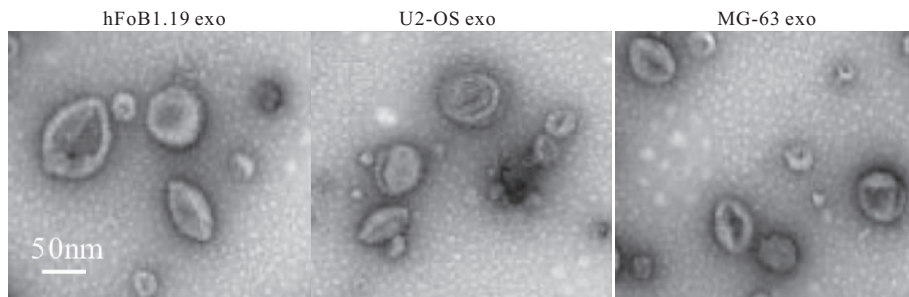


图 1 透射电镜观察外泌体形态结果

Figure 1 Transmission electron microscope is used to observe the morphology of exosomes

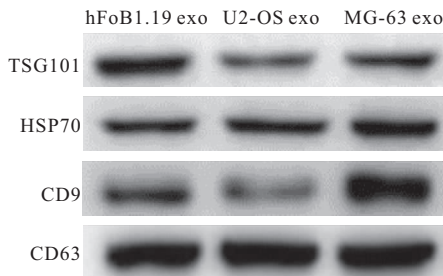


图 2 Western blot 检测外泌体标志蛋白结果

Figure 2 Western blot is used to detect the exosomal marker proteins

2.2 骨肉瘤外泌体促进 MRC-5 细胞增殖能力 CCK8 检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞增殖能力,结果显示,与 PBS 组相比,hFoB1.19 exo 组细胞的增殖能力无显著变化($P>0.05$),U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞增殖能力显著增加($P<0.01$),说明骨肉瘤外泌体能够显著促进 MRC-5 细胞的增殖能力,见图 3。

2.3 骨肉瘤外泌体促进 MRC-5 细胞迁移能力 Transwell 小室法检测细胞迁移结果显示,与 PBS 组相比,hFoB1.19 exo 组细胞迁移数无显著变化($P>0.05$),U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞迁移数目显著高于 PBS 组($P<0.001$),说明 U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞迁移能力显著增加,提示骨肉瘤外泌体可显著促进 MRC-5 细胞迁移能力,见图 4。

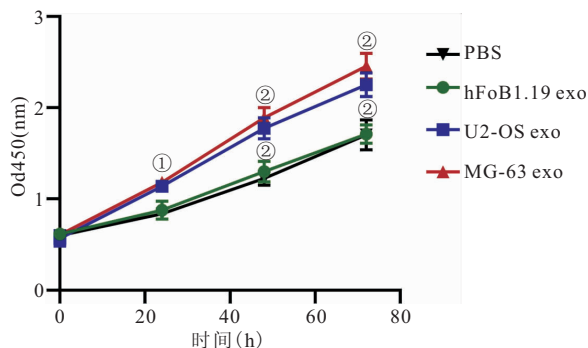


图 3 CCK8 法检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞增殖能力的影响

Figure 3 The CCK8 method is used to detect the effect of osteosarcoma exosomes on the proliferation of MRC-5 cells

注:与 PBS 组相比,① $P<0.01$,② $P<0.001$

2.4 骨肉瘤外泌体促进 MRC-5 细胞侵袭能力 细胞侵袭实验检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞侵袭能力,结果显示,与 PBS 组相比,hFoB1.19 exo 组细胞侵袭数无显著变化($P>0.05$),U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞侵袭能力显著增加($P<0.001$),提示骨肉瘤外泌体可显著促进 MRC-5 细胞侵袭能力,见图 5。

2.5 骨肉瘤外泌体促进 MRC-5 细胞 IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达 QRT-PCR 检测与外泌体共孵育后 MRC-5 细胞中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达,结果显示,与 hFoB1.19 细胞外泌体共孵育后,MRC-5 细胞中 IL-1 β 、IL-6、IL-8 的表达与 PBS 组相比无显著差异($P>0.05$),

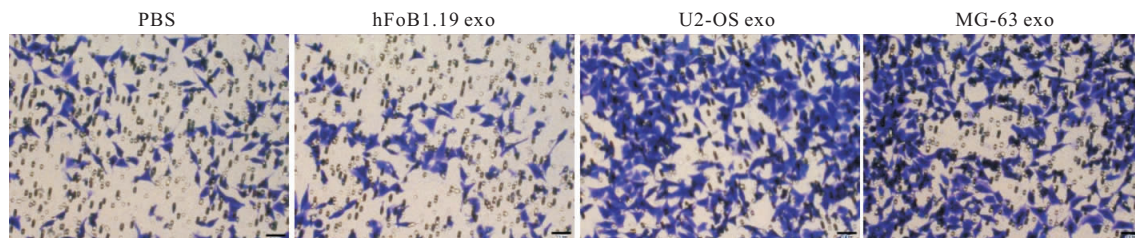


图 4 Transwell 小室法检测骨肉瘤外泌体对细胞迁移能力影响结果(20×)

Figure 4 Transwell is used to detect the effect of osteosarcoma exosomes on cell migration

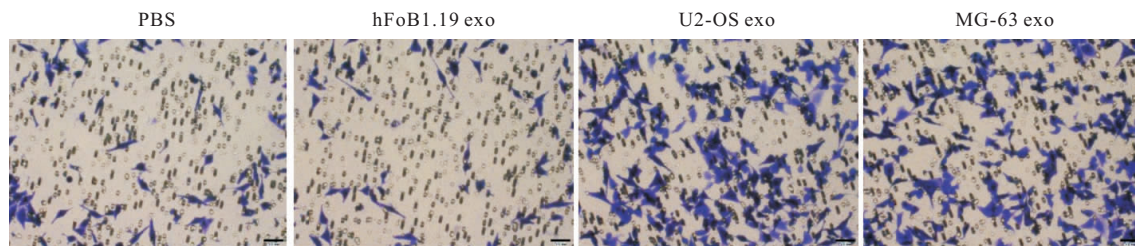


图 5 细胞侵袭实验检测骨肉瘤外泌体对细胞侵袭能力影响结果(20×)

Figure 5 Cell invasion test is used to detect the effect of osteosarcoma exosomes on cell invasion

与 U2-OS 和 MG-63 细胞分泌的外泌体共孵育后, MRC-5 细胞中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达显著增加($P<0.001$),说明骨肉瘤外泌体能够促进成纤维细胞中炎症因子的表达,即骨肉瘤外泌体促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化,见图 6。

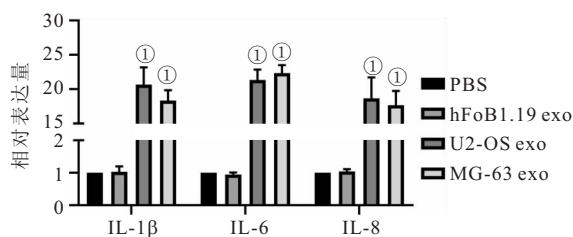
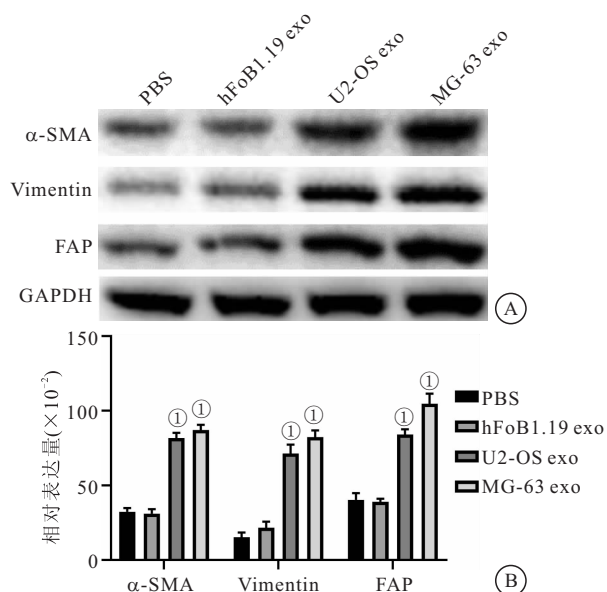


图 6 qRT-PCR 检测骨肉瘤细胞外泌体对 MRC-5 细胞中炎症因子表达的影响

Figure 6 qRT-PCR was used to detect the effect of osteosarcoma exosomes on the expression of inflammatory factors in MRC-5 cells

注:与 PBS 组相比,① $P<0.001$

2.6 骨肉瘤外泌体促进 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达 Western blot 检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达的影响,结果显示,与 PBS 组相比,hFoB1.19 exo 组 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达无显著变化($P>0.05$),U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达显著增加($P<0.001$),见图 7。 α -SMA、Vimentin、FAP 是肿瘤相关成纤维细胞标志蛋白,说明骨肉瘤外泌体能够促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化。

图 7 Western blot 检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞 α -SMA、Vimentin、FAP 表达的影响Figure 7 Western blot was used to detect the effects of osteosarcoma exosomes on the expression of α -SMA, Vimentin and FAP in MRC-5 cells注:A. 蛋白印迹检测蛋白表达结果图,B. 各组蛋白定量结果;与 PBS 组相比,① $P<0.001$

2.7 骨肉瘤外泌体激活 JAK2/STAT3 信号通路 Western blot 检测骨肉瘤外泌体对 MRC-5 细胞 JAK2/STAT3 信号通路的影响,结果(图 8)显示,相比于 PBS 组,hFoB1.19 exo 组 MRC-5 细胞 JAK-2 和 STAT3 磷酸化水平无显著变化($P>0.05$),U2-OS exo 和 MG-63 exo 组 MRC-5 细胞 JAK-2 和 STAT3

磷酸化水平显著增加($P<0.001$),说明骨肉瘤外泌体能够显著激活 MRC-5 细胞 JAK2/STAT3 信号通路,

提示骨肉瘤外泌体能够激活 JAK2/STAT3 信号通路而促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞转化。

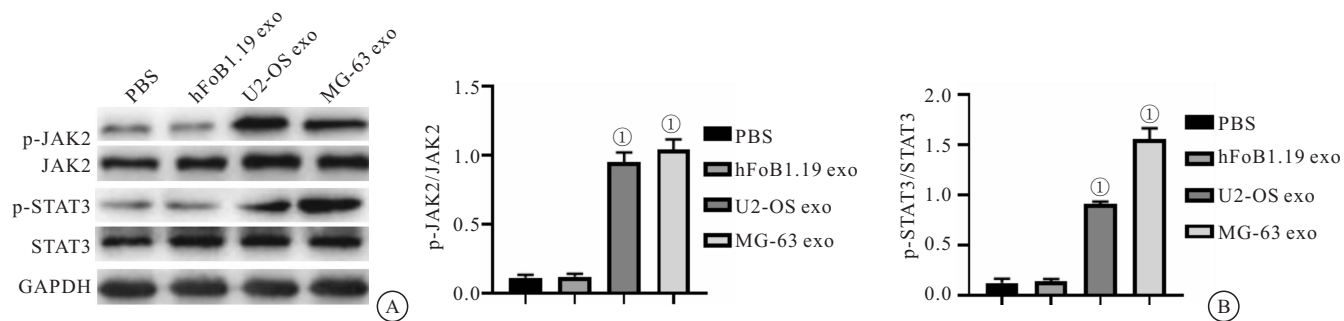


图 8 Western blot 检测骨肉瘤外泌体对 JAK2/STAT3 信号通路激活的影响

Figure 8 Western blot was used to detect the effect of osteosarcoma exosomes on the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway

注: A. 蛋白印迹检测蛋白表达结果图, B. JAK2 和 STAT3 磷酸化定量结果; 与 PBS 组相比, ① $P<0.001$

3 讨论

肿瘤相关成纤维细胞是肿瘤微环境中的重要组成部分,在肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用。研究表明,肿瘤相关成纤维细胞并非独立存在,而是伴随在肿瘤微环境中,调控肿瘤的生长与存活,并且可维持肿瘤的恶性倾向^[11]。而大多数的肿瘤相关成纤维细胞是由局部组织固有的成纤维细胞转化而来,肿瘤相关成纤维细胞的转化受肿瘤微环境调控^[12-14]。肿瘤细胞可将外泌体分泌至肿瘤微环境,并且可通过外泌体将肿瘤自身的遗传信息转移至肿瘤微环境中的其他细胞,进而促进肿瘤的发生、发展^[15-16]。研究表明,肿瘤相关成纤维细胞的激活受肿瘤外泌体的调控^[17-18],如肺癌细胞外泌体可通过激活 NF- κ B 信号通路促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化,肝癌细胞亦通过外泌体促进肿瘤相关成纤维细胞的转化,进而促进肿瘤的转移。本研究主要探讨了骨肉瘤外泌体对肿瘤相关成纤维细胞转化的影响。

本研究发现,将骨肉瘤细胞分泌的外泌体和成骨细胞分泌的外泌体分别与成纤维细胞共孵育后,骨肉瘤细胞外泌体能够显著促进成纤维细胞增殖、迁移和侵袭能力,而成骨细胞外泌体则无此功能,说明骨肉瘤细胞外泌体具有调控成纤维细胞的功能。

肿瘤相关成纤维细胞可通过分泌 IL-1 β 、IL-6、IL-8 而调控肿瘤微环境中的免疫反应。 α -SMA、Vimentin、FAP 是表达于肿瘤相关成纤维细胞中的标志蛋白。为了探讨骨肉瘤细胞外泌体是否能调控成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化,将外泌体分别与成纤维细胞共孵育后检测成纤维细胞 IL-1 β 、IL-6、IL-8 的表达和 α -SMA、Vimentin、FAP 的表达,结果显示,骨肉瘤细胞外泌体可显著上调成纤维细胞中 IL-1 β 、IL-6、IL-8 的表达和标志蛋白 α -SMA、Vimentin、

FAP 的表达,这说明骨肉瘤外泌体可促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化。

JAK/STAT 信号通路是众多细胞因子信号转导的共同途径,广泛参与细胞增殖、分化、凋亡以及炎症等过程,JAK2 蛋白的激活触发 STAT3 的磷酸化。磷酸化的 STAT3 二聚化并转移至细胞核,然后与靶基因分子结合并激活特定的基因翻译^[19-22]。JAK/STAT 信号通路的激活可促进肿瘤相关成纤维细胞的激活,进而促进黑色素瘤血管新生。本研究发现,骨肉瘤细胞外泌体可促进成纤维细胞中 JAK 和 STAT 的磷酸化,即激活 JAK/STAT 信号通路。

4 结论

骨肉瘤细胞外泌体能够通过激活 JAK/STAT 信号通路,促进成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞的转化,但外泌体中何种物质发挥作用,还需进一步研究。

【参考文献】

- [1] XIE L, JI T, GUO W. Anti-angiogenesis target therapy for advanced osteosarcoma[J]. Oncol Rep, 2017, 38(2): 625-636.
- [2] ZHANG Y, YANG J, ZHAO N, *et al*. Progress in the chemotherapeutic treatment of osteosarcoma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(5): 6228-6237.
- [3] HAMEED M, MANDELKER D. Tumor Syndromes Predisposing to Osteosarcoma[J]. Adv Anat Pathol, 2018, 25(4): 217-222.
- [4] LINDSEY BA, MARKEL JE, KLEINERMAN ES. Osteosarcoma Overview[J]. Rheumatol Ther, 2017, 4(1): 25-43.
- [5] 廖健宏, 秦琼. 骨肉瘤发病相关因素的研究进展[J]. 癌症进展, 2020, 18(14): 1413-1416.
- [6] HE C, ZHENG S, LUO Y, *et al*. Exosome Therapeutics: Biology and Translational Medicine[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237-255.
- [7] HESSVIK NP, LLORENTE A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(2): 193-208.

- inhibition of tumor growth and angiogenesis[J]. *Oncogene*, 2016, 35(30): 3919.
- [14] HOLDT L M, STAHRINGER A, SASS K, *et al.* Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429.
- [15] ERRICHELLI L, DINI MODIGLIANI S, LANEVE P. FUS affects circular RNA expression in murine embryonic stem cell-derived motor neurons [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14741.
- [16] HUANG R, ZHANG Y, HAN B, *et al.* Circular RNA HIPK2 regulates astrocyte activation via cooperation of autophagy and ER stress by targeting MIR124-2HG [J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1722.
- [17] DU W W, FANG L, YANG W, *et al.* Induction of tumor apoptosis through a circular RNA enhancing Foxo3 activity [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2): 357.
- [18] 王家立, 叶孟. 环状 RNA 的功能及其在结直肠癌中的作用[J]. 生命的化学, 2020, 40, (4): 520-527.
- [19] 姚敏, 杨婕, 姚登福. 环状 RNA 在肝癌进展中的作用及其潜在价值[J]. 南通大学学报(医学版), 2020; 40(3): 197-201.
- [20] 汪志兵, 张振玉. 环状 RNA 在胃癌中的功能研究及潜在应用价值[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2020, 29(5): 481-484.
- [21] YANG Y, GAO X, ZHANG M, *et al.* Novel Role of FBXW7 Circular RNA in Repressing Glioma Tumorigenesis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 111(4): 435.
- [22] FANG L, DU W W, AWAN F M, *et al.* The circular RNA circ-Ccnb1 dissociates Ccnb1/Cdk1 complex suppressing cell invasion and tumorigenesis [J]. *Cancer Lett*, 2019, 459: 216.
- [23] 李丽, 李雪婷, 张振华, 等. 食管癌变过程中 CyclinB1、CDK1 及细胞周期调控因子 p53、Rb 的表达及意义[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(31): 4968.

(收稿日期: 2020-06-05; 修回日期: 2021-01-26; 编辑: 郭翠)

(上接第 1100 页)

- [8] MENG W, HAO Y, HE C, *et al.* Exosome-orchestrated hypoxic tumor microenvironment [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 57-70.
- [9] WU Q, ZHOU L, LV D, *et al.* Exosome-mediated communication in the tumor microenvironment contributes to hepatocellular carcinoma development and progression [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 53-63.
- [10] 郑玉军, 姜巍, 陈东妍, 等. 外泌体在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(8): 689-694.
- [11] ZHOU Y, REN H, DAI B, *et al.* Hepatocellular carcinoma-derived exosomal miRNA-21 contributes to tumor progression by converting hepatocyte stellate cells to cancer-associated fibroblasts [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 324-341.
- [12] LOKTEV A, LINDNER T, MIER W, *et al.* A Tumor-Imaging Method Targeting Cancer-Associated Fibroblasts [J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(9): 1423-1429.
- [13] FIORI ME, DI FRANCO S, VILLANOVA L, *et al.* Cancer-associated fibroblasts as abettors of tumor progression at the crossroads of EMT and therapy resistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 70-85.
- [14] SANDBERG TP, STUART MPME, OOSTING J, *et al.* Increased expression of cancer-associated fibroblast markers at the invasive front and its association with tumor-stroma ratio in colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 284.
- [15] WORTZEL I, DROR S, KENIFIC CM. Exosome-Mediated Metastasis: Communication from a Distance [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 347-360.
- [16] 胡雅茹, 刘朝阳, 李文博, 等. 肿瘤源性外泌体诱导的免疫抑制及其对肿瘤免疫疗法的影响 [J]. 现代免疫学, 2020, 40(5): 428-431.
- [17] BU L, BABA H, YOSHIDA N, *et al.* Biological heterogeneity and versatility of cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment [J]. *Oncogene*, 2019, 38(25): 4887-4901.
- [18] FANG T, LV H, LV G, *et al.* Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 191-203.
- [19] ZHANG C, LIU J, YUAN C, *et al.* JAK2/STAT3 is associated with the inflammatory process in periapical granuloma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(1): 190-197.
- [20] ZHOU X, YAN T, HUANG C, *et al.* Melanoma cell-secreted exosomal miR-155-5p induce proangiogenic switch of cancer-associated fibroblasts via SOCS1/JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 242-256.
- [21] 张锦锦, 唐慧. JAK/STAT3 信号通路调控肿瘤及其相关生物功能的研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2017, 37(10): 1456-1460.
- [22] 彭娜, 卢美君, 康马飞, 等. rhIL-11 通过激活 JAK/STAT3/HIF-1 α /EMT 通路促进肺腺癌 A549 细胞转移机制 [J]. 西部医学, 2020, 32(1): 24-28.

(收稿日期: 2020-08-12; 修回日期: 2021-04-12; 编辑: 郭翠)