

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00727

· 论 著 ·

趋化因子 CCL19 在结直肠癌中的表达和作用

陆军^{1,2}, 赵敬坤¹, 陆爱国^{1*}, 冯浩³, 王蒲雄志¹, 马君俊¹, 宗雅萍¹, 冯波¹, 刘炳亚², 郑民华¹

1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院微创外科, 上海 200025

2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院上海市消化外科研究所, 上海 200025

3. 慕尼黑大学医学院, 慕尼黑 80539

[摘要] **目的** 观察趋化因子 CCL19 在结直肠癌组织中的表达, 探讨其对结直肠癌细胞的增殖、迁移、侵袭能力的影响。**方法** 收集确诊为结直肠恶性肿瘤并手术切除患者($n=85$)的肿瘤组织及癌旁正常组织, 运用实时定量 PCR 和组织微阵列免疫组化技术检测 CCL19 的表达水平; 以实时定量 PCR、蛋白质印迹技术筛选高表达 CCL19 受体 CCR7 的人结直肠癌细胞株 SW620 细胞作为研究对象, 并给予重组人 CCL19(rh-CCL19)刺激, 通过细胞增殖实验、划痕实验、Transwell 实验来检测 SW620 细胞的增殖、迁移和侵袭能力的变化。**结果** 结直肠癌组织中的 CCL19 表达要明显低于癌旁正常组织($P<0.05$), 且 CCL19 表达量与肿瘤大小和浸润深度有关($P<0.01$)。在 CCR7 高表达的 SW620 细胞中, 加入 rh-CCL19 后, 其细胞增殖、迁移及侵袭能力下降($P<0.05$)。**结论** CCL19 在结直肠癌组织中的表达量低于癌旁正常组织, 且与肿瘤大小和浸润深度有关; CCL19 可抑制人结直肠癌细胞株 SW620 细胞增殖、迁移和侵袭能力, 提示 CCL19 具有抑制结直肠癌的作用。

[关键词] 结直肠肿瘤; 趋化因子 CCL19; CCR7 受体; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞侵袭

[中图分类号] R735.34 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)07-0727-07

Expression of chemokine CCL19 and its role in colorectal carcinoma

LU Jun^{1,2}, ZHAO Jing-kun¹, LU Ai-guo^{1*}, FENG Hao³, WANGPU Xiong-zhi¹, MA Jun-jun¹, ZONG Ya-ping¹, FENG Bo¹, LIU Bing-ya², ZHENG Min-hua¹

1. Department of Minimally Invasive Surgery, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

2. Shanghai Institute of Digestive Surgery, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

3. University of Munich School of Medicine, Munich 80539, Germany

[Abstract] **Objective** To observe the expression of CCL19 in colorectal carcinoma tissues and to investigate its effect on proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells. **Methods** The expression of CCL19 in 85 confirmed colorectal carcinoma tissues and the corresponding adjacent normal tissues was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and immunohistochemistry of tissue microarray. SW620 cell line highly expressing CCR7(CCL19 receptor) as screened by qRT-PCR and Western blotting analysis was stimulated by different concentrations of rh-CCL19 (0, 10, and 100 ng/mL). Then the cell proliferation, migration and invasion capacity were examined by CCK-8, wound healing assay, and Transwell assay, respectively. **Results** Immunohistochemistry and qRT-PCR results demonstrated that CCL19 expression was significantly lower in the colorectal carcinoma tissues than in the normal tissues ($P<0.05$). CCL19 expression was associated with tumor size and invasion depth ($P<0.01$). Treatment with rh-CCL19 significantly decreased the proliferation, migration and invasion capacity of SW620 cells($P<0.05$). **Conclusion** CCL19 expression in colorectal cancer tissues is lower than that in the adjacent normal tissues, and the expression is associated with tumor size and invasion depth. CCL19 can inhibit the proliferation, migration and

[收稿日期] 2014-03-02 **[接受日期]** 2014-03-26

[基金项目] 国家自然科学基金(81201625), 上海市科委医学引导基金(124119a0900). Supported by National Natural Science Foundation of China (81201625) and Medical Guide Program of Shanghai Science and Technology Commission (124119a0900).

[作者简介] 陆军, 硕士生. E-mail: 13788989913@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-64370045, E-mail: adams_lu66@aliyun.com

invasion capacity of SW620 cells.

[Key words] colorectal neoplasms; chemokine CCL19; CCR7 receptors; cell proliferation; cell migration; cell invasion
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(7): 727-733]

趋化因子是一类具有吸引免疫细胞移行到感染部位的一类低分子蛋白,依据其分子的N端半胱氨酸的位置和数量可分为4个家族:CXC、CC、CX3C和C(X代表氨基酸残基)。近年来,随着对肿瘤免疫治疗和肿瘤微环境认识的深化,关于趋化因子和肿瘤的关系的研究越来越深入和全面。多种趋化因子被证实可以促进肿瘤侵袭与转移^[1-2],但也有部分趋化因子在肿瘤的发展中起着抑制作用^[3-6]。趋化因子抑制肿瘤的机制通常可以分为两方面:一是通过趋化抑癌免疫细胞,杀灭肿瘤细胞^[6];二是直接刺激肿瘤细胞,通过影响一系列信号通路而达到抑制肿瘤的作用^[3]。

CCL19是趋化因子CC家族的成员,又称巨噬细胞炎症蛋白3 β (macrophage inflammatory protein-3 β , MIP-3 β)、EB病毒诱导分子1(Epstein-Barr-virus-induced molecule 1 ligand chemokine, ELC),而它的特异性受体CCR7是一种主要分布于细胞表面的7次跨膜蛋白。近年来,国内外陆续报道CCL19在体内可以抑制一系列实体肿瘤,包括肺癌、卵巢癌、纤维肉瘤等^[7-10]。CCL19体外被证实可以通过CCL19/CCR7途径下调 β -catenin蛋白表达^[11],而 β -catenin是众所周知的一种经典促癌蛋白,因此我们推测CCL19亦可在体外直接抑制肿瘤细胞。然而,CCL19和结直肠癌之间的关系国内外却鲜有报道。本研究采用实时定量PCR、组织微阵列免疫组化技术研究CCL19在结直肠癌组织中的表达情况,并与临床病理资料相结合,分析研究CCL19与结直肠癌的关系;同时通过不同浓度重组人CCL19(rh-CCL19)刺激高表达CCR7受体的人结直肠癌细胞株,研究CCL19在体外对结直肠癌细胞的增殖、迁移、侵袭能力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009年至2012年在上海交通大学医学院附属瑞金医院确诊为结直肠恶性肿瘤并手术切除患者($n=85$)的肿瘤组织及癌旁正常组织,其

中男性53例,女性32例,年龄32~86岁,中位年龄61岁。本研究通过上海交通大学医学院附属瑞金医院医学伦理委员会批准,纳入本研究的所有患者均知情同意,并签署知情同意书。所有组织标本均用浓度为37%的甲醛溶液固定,由上海芯超公司行石蜡包埋并制作成组织微阵列芯片。7株人结直肠癌细胞系(SW1116、HCT116、SW480、HT29、SW620、Caco2、LoVo)购自美国ATCC公司,并由上海市消化外科研究所培养、传代,HCT116、HT29和Caco2以含10%小牛血清的RPMI 1640培养液培养,SW480、SW620和SW1116以含10%小牛血清的L-15培养液培养,LoVo以含10%小牛血清的F-12K培养液培养,培养条件均为37℃、5%CO₂;RPMI 1640、Leibovitz's L-15和F-12K培养液以及小牛血清购自杭州吉诺生物有限公司。TRIzol试剂购自上海碧云天生物技术有限公司;反转录试剂盒及SYBRGreen购自美国DBI Bioscience公司;单克隆鼠抗人CCL19抗体及rh-CCL19细胞因子购自美国R&D公司;兔抗人CCR7单克隆抗体购自英国Abcam公司;CCK-8试剂盒购自日本Dojindo公司;免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司;Transwell小室及Matrigel胶购自美国Corning公司。

1.2 免疫组织化学检测结直肠癌组织中CCL19蛋白表达 对结肠癌组织微阵列按芯片标准步骤进行免疫组化染色。步骤依次为60℃烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化,3%双氧水阻断内源性过氧化物酶,以柠檬酸盐抗原修复液行抗原修复;加入非免疫动物血清封闭,再加入鼠抗人CCL19单克隆抗体(10 μ g/mL)后4℃过夜孵育;然后依次滴加生物素标记二抗、链霉素抗生物素、过氧化物酶溶液,并用30%过氧化氢稀释的DAB溶液显色,苏木精复染。梯度乙醇脱水并封片,于显微镜200倍视野下观察染色结果。由2名不知悉病理资料的病理医师对每个染色位点进行评分。评分内容包括阳性细胞数评分和染色强度评分。(1)阳性细胞数评分标准:阳性细胞

数 $\leq 10\%$ 计0分, $11\% \sim 50\%$ 计1分, $51\% \sim 80\%$ 计2分, $> 80\%$ 计3分。(2)染色强度计分标准:无染色计0分,染色略高于背景计1分,染色明显高于背景计2分,强染、着色很深计3分。将两部分得分相加得到总分, 0~2分者为阴性(-), 3~5分者为弱阳性至阳性(+), 6~7分者为强阳性(++)。

1.3 实时定量 PCR 检测 CCL19 mRNA 表达

CCL19 上游引物: 5'-GTG ACC TGC ATT AAC TCT TTA CTT GC-3'; 下游引物: 5'-TAT GGC TCT GGC TCT ACT GGT TG-3'。CCR7 上游引物: 5'-AGA TGA GGT CAC GGA CGA TTA CA-3'; 下游引物: 5'-ATG ATA GGG AGG AAC CAG GCT TT-3'。内参 GAPDH 上游引物: 5'-GGA CCT GAC CTG CCG TCT AG-3'; 下游引物: 5'-GTA GCC CAG GAT GCC CTF GA-3'。使用 TRIzol 试剂抽提 7 株结直肠癌细胞和 20 对结直肠肿瘤组织总 RNA 后, 以分光光度计测定浓度。并以 DEPC 水调整各组 RNA 至同一浓度后, 各取 1 μL RNA 反转录生成 cDNA。取 1 μL cDNA 混合上下游引物及 SYBR Green PCR Master Mix 在实时定量 PCR 仪中进行反应。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 68 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 共 40 个循环。mRNA 表达量以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算 (ΔCt 为同一样本中目的基因与内参基因 Ct 值之差)。

1.4 蛋白质印迹检测 CCR7 蛋白表达

于 6 孔板内每孔细胞加 80 μL 细胞强效裂解液后收集细胞。经超声裂解后置冰上 30 min, 16 000 $\times g$ 离心 15 min, 取上清液行蛋白浓度测定。将提取的蛋白行高温煮沸以暴露抗原决定簇, 并以每孔 60 μg 的上样量加入电泳孔中。恒压电泳(积层胶 80 V, 分离胶 110 V), 转膜(300 mA, 2 h), 加入脱脂牛奶室温摇床封闭 2 h, 加入 1:1 000 稀释的兔抗人 CCR7 单克隆抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 12 h。用 TBST 溶液漂洗硝酸纤维素薄膜 3 次, 每次 5 min。加入 1:20 000 稀释的荧光二抗后室温避光孵育 2 h, 用 TBST 溶液漂洗膜 3 次, 每次 5 min。最后行红外荧光扫描仪扫描成像。

1.5 细胞增殖实验检测肿瘤细胞增殖情况

在 96 孔板中均匀铺上 5×10^3 个/孔的结直肠癌细胞, 并分为 3 个组: 阴性对照组培养条件为无血清培养液, 处理组培养条件为含 rh-CCL19 (10 ng/mL, 100

ng/mL) 的无血清培养液。每组设 6 个平行孔, 每 24 h 为 1 个监测点, 直至 120 h, 每个监测点每孔加入 10 μL CCK-8 溶液后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱孵育 3 h, 全光谱微孔板分光光度计测 450 nm 处的光密度值。以光密度值的大小来反映细胞增殖能力。

1.6 细胞划痕实验检测肿瘤细胞迁移能力

SW620 细胞以 6×10^4 个/孔均匀接种于 6 孔板中, 待细胞融合完全后, 以 20 μL 枪头在每孔细胞上轻画纵横 4 条均匀划痕, 保持划痕宽度一致, 形成细胞伤痕模型。划痕后 PBS 清洗脱落细胞。实验分组如下: 阴性对照组加无血清培养液; CCL19 处理组加含 rh-CCL19 (100 ng/mL, 10 ng/mL) 的无血清培养液。继续培养, 于 24 h 时观测划痕愈合情况。用标尺在原始图片上测量 0 h 和 24 h 各组 3 个同一相对位置的划痕距离以对比各组划痕愈合差异。

1.7 细胞侵袭实验检测肿瘤细胞侵袭能力

Transwell 小室经过 PBS 水化 12 h 后, 将 1:8 倍稀释的 Matrigel 胶(每孔 50 μL) 均匀铺于小室聚碳酸酯膜的内表面, 上室各加入 100 μL 密度为 5×10^5 个/mL 的经过不同浓度 rh-CCL19 刺激 48 h 后的 SW620 细胞悬液, 下室加入含 20% 小牛血清的 L-15 培养液, 在第 1 组的上室加入经 100 ng/mL rh-CCL19 刺激后的 SW620, 第 2 组上室加入经 10 ng/mL rh-CCL19 刺激后的 SW620, 第 3 组为对照组。每组设 3 个平行小室, 孵育 24 h 后棉签擦去上室细胞, 甲醇固定 15 min, 1% 结晶紫染色 25 min, PBS 清洗。100 倍显微镜下计数侵袭的细胞数, 随机取 5 个视野计数, 并进行统计分析, 以侵袭细胞的相对数目评估肿瘤细胞的侵袭能力。

1.8 统计学处理

采用 SAS 9.3 统计软件对数据进行分析。以 χ^2 检验及 Fisher 确切概率法分析 CCL19 在结直肠肿瘤的表达与临床病理资料的关系; 以配对秩和检验分析组织定量 PCR 结果; 细胞增殖实验、划痕实验、Transwell 细胞侵袭实验结果分析采用单因素方差分析进行统计, 组间两两比较采用 Bonferroni's Multiple Comparison Test 法。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 结肠癌组织中 CCL19 蛋白表达情况

组织芯

片免疫组化染色结果显示,CCL19 主要分布于细胞胞质,细胞外间质也有少量分布(图 1)。CCL19 蛋白在癌旁正常组织中的表达高于肿瘤组织,差异有统计学意义($P<0.001$,表 1)。

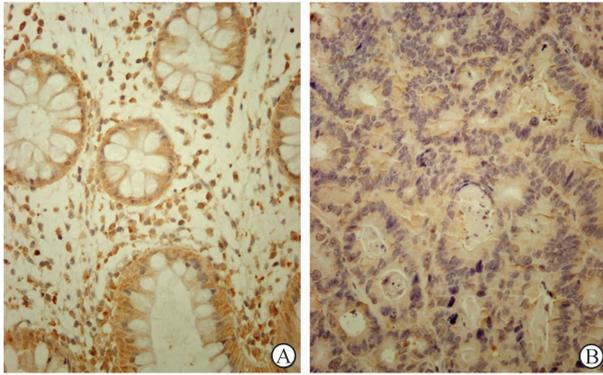


图 1 结肠癌及癌旁组织 CCL19 免疫组化染色结果

Fig 1 Immunohistochemistry detection of CCL19 protein expression in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues

A: Highly expressed (normal tissues); B: Weakly expressed (tumor tissues). Original magnification: $\times 200$

表 1 CCL19 在结肠癌组织及癌旁正常组织中的表达

Tab 1 Expression of CCL19 in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues

Tissue type	CCL19		
	-	+	++
Normal	11	28	46
Tumor**	49	27	9

** $P<0.001$ vs normal tissue

2.2 CCL19 表达与临床病理特征分析 免疫组化结果显示 CCL19 表达量与肿瘤大小和浸润深度有关($P<0.01$),而与性别、年龄、淋巴结转移、远处转移等指标无关,见表 2。

2.3 CCL19 mRNA 表达情况 20 对结肠癌组织实时定量 PCR 结果显示肿瘤组织 CCL19 mRNA 表达量低于癌旁正常组织,两者表达差异有统计学意义($P<0.01$),见图 2。

2.4 7 株结肠癌细胞系 CCR7 mRNA 和蛋白表达量 实时定量 PCR 检测及蛋白质免疫印迹法检测结果基本吻合(图 3),均显示 CCR7 在 SW620 中表达最高,表明该细胞内分布 CCR7 受体最多。因此选取 SW620 细胞作为后续研究的细胞株。

表 2 结肠直肠癌组织中 CCL19 表达与临床病理特征的关系
Tab 2 Relationship between CCL19 expression in colorectal cancer tissues and clinicopathological characteristics

Index	N	CCL19 <i>n</i>			P value
		-	+	++	
Age (year)					0.84
≥ 65	36	21	12	3	
< 65	49	28	15	6	
Gender					0.57
Male	53	29	17	7	
Female	32	20	10	2	
Tumor size					0.003
$\geq 4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$	48	34	13	1	
$< 4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$	37	15	14	8	
Tumor location					0.06
Right colon	16	6	5	5	
Left colon	11	5	5	1	
Sigmoid colon	21	12	7	2	
Rectum	37	26	10	1	
Extent of invasion					0.005
T ₁	6	1	4	1	
T ₂	12	4	4	4	
T ₃	14	7	4	3	
T ₄	53	37	15	1	
Lymphatic metastasis					0.14
N ₀	36	15	16	5	
N ₁	33	22	8	3	
N ₂	16	12	3	1	
Metastasis					0.53
M ₀	80	45	26	9	
M ₁	5	4	1	0	

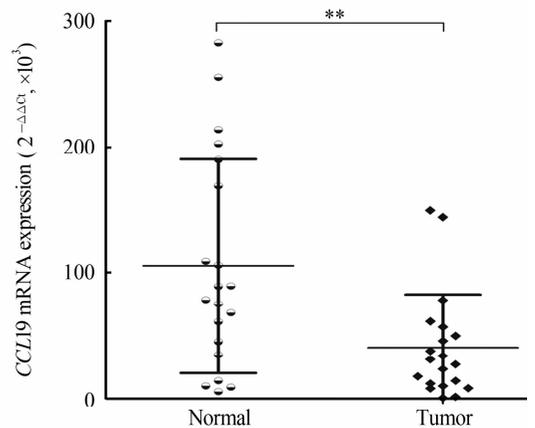


图 2 实时定量 PCR 检测结肠肿瘤及癌旁组织 CCL19 mRNA 表达

Fig 2 Quantitative real-time PCR analysis of CCL19 mRNA in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues

** $P<0.01$, $n=20$

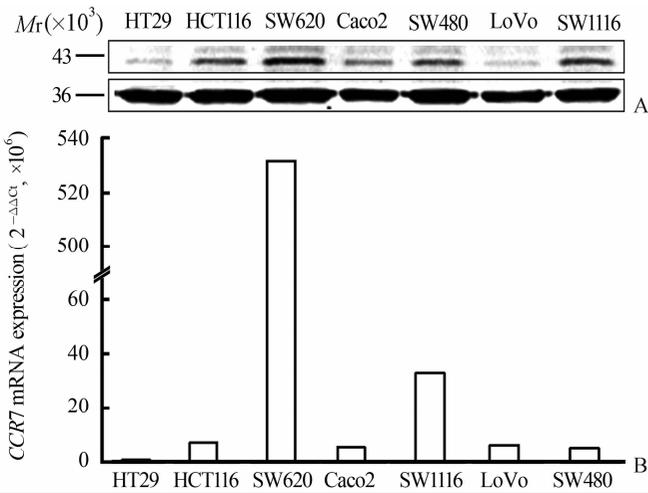


图3 7株结肠癌细胞系 CCR7 mRNA 和蛋白表达量

Fig 3 Expression of CCR7 mRNA and protein in 7 colorectal cancer cell lines

A: CCR7 protein by Western blotting analysis; B: CCR7 mRNA level by qRT-PCR

2.5 CCL19 对 SW620 细胞增殖的影响 CCK-8 细胞增殖实验结果显示, SW620 经过 rh-CCL19 刺激后, 增殖能力在 48~120 h 时较对照组出现显著减弱, 且 rh-CCL19 浓度越高, 减弱越明显(图 4),

3 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。

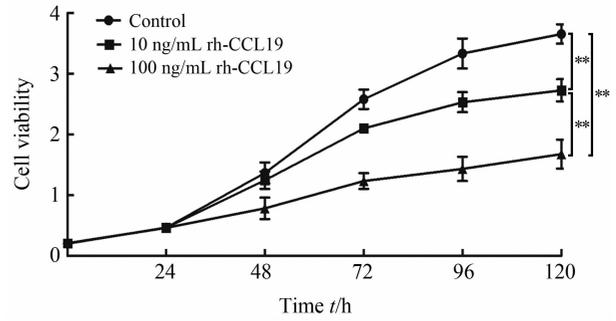


图4 SW620 细胞增殖曲线

Fig 4 Proliferation curve of SW620 cells

** $P < 0.01$; $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

2.6 CCL19 抑制 SW620 细胞迁移能力 划痕实验结果显示加入 rh-CCL19 的 2 组细胞爬行速度明显慢于对照组, 且 rh-CCL19 浓度 100 ng/mL 组的细胞爬行速度慢于 10 ng/mL 组(图 5)。

2.7 CCL19 抑制 SW620 细胞侵袭能力 对照组侵袭细胞数大于 10 ng/mL rh-CCL19, 且 10 ng/mL rh-CCL19 组大于 100 ng/mL rh-CCL19 组, 3 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 6。

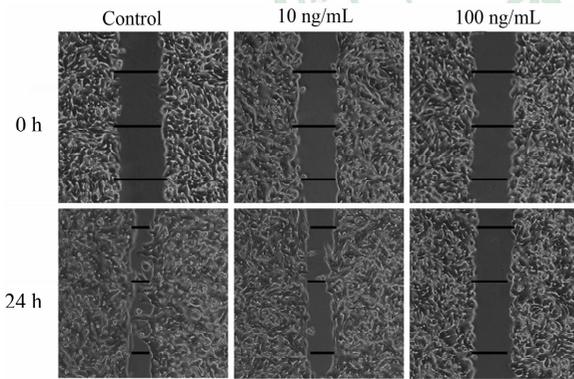


图5 细胞划痕实验验证 CCL19 对 SW620 迁移能力的影响

Fig 5 Wound healing assay of migration ability of SW620 cells

Original magnification: $\times 100$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

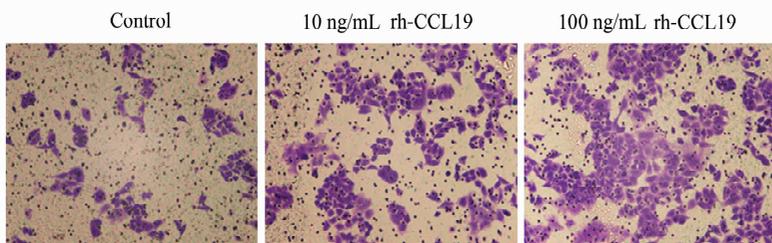
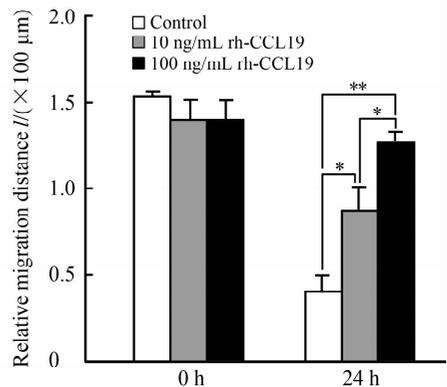
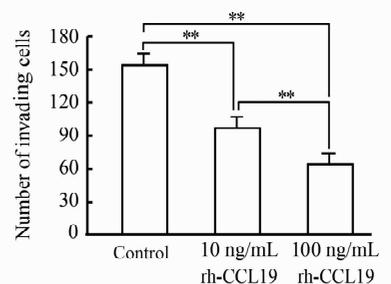


图6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力

Fig 6 Transwell assay of SW620 cell invasion ability

Original magnification: $\times 100$. ** $P < 0.01$; $n = 3$, $\bar{x} \pm s$



3 讨论

国内外众多研究表明,CCL19与多种实体肿瘤的发生、发展关系密切,并且多数为抑癌作用^[7-10]。但CCL19与结直肠癌的相关研究却鲜有报道。因此我们以CCL19为切入点,利用组织定量PCR及组织芯片免疫组化分析CCL19在结直肠癌与正常结肠组织中的表达差异,并结合临床病理资料来分析CCL19在结直肠癌患者中所起的作用。实时定量PCR和免疫组化实验结果证实趋化因子CCL19在结直肠癌肿瘤组织中较癌旁正常组织低表达,结合临床病理资料统计分析表明CCL19表达量与肿瘤大小以及浸润深度有关($P < 0.01$)。因此,我们作出大胆推测,CCL19对于结直肠癌患者可能是一个抑癌因子。

基于以上研究结果,我们以实时定量PCR和蛋白质免疫印迹筛选出SW620细胞相对高表达CCR7受体,并利用不同浓度rh-CCL19对SW620细胞进行刺激,使其与细胞表面的CCR7受体结合。结果显示经过rh-CCL19刺激后的SW620细胞的增殖、迁移以及侵袭能力均受到抑制,且这种抑制作用呈现浓度依赖性。细胞增殖实验中,3组细胞24h内增殖差异不明显,说明rh-CCL19本身并无细胞毒性。而48h后,rh-CCL19处理组抑制细胞增殖作用逐渐显现,且浓度越高,抑制越明显,这说明CCL19具有抑制细胞增殖的作用,且呈浓度依赖性。划痕实验中,加入rh-CCL19的两组细胞爬行速度明显慢于对照组,且100 ng/mL处理组的爬行速度亦明显慢于10 ng/mL组,说明CCL19能显著抑制结肠癌细胞的迁移能力,抑制作用亦呈现浓度依赖性。Transwell细胞侵袭实验同样证实了经rh-CCL19刺激后明显抑制了SW620细胞的侵袭能力,且同样呈浓度依赖性。此外,由于细胞增殖实验在24h时3组细胞增殖能力差异无统计学意义,因此我们认为可以不考虑因细胞增殖而对细胞迁移、侵袭实验结果的影响。基于CCL19对SW620细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑制,结合国内外相关报道^[3, 11],我们推测这些细胞功能的改变原因可能是细胞经rh-CCL19刺激后,通过与CCR7配体结合,从而影响了一系列信号通路,直接抑制细胞增殖、迁移及侵袭能力或者可能改变了细胞内增殖、迁移及

侵袭相关基因表达。

本课题组下一步的研究工作将着重于CCL19的抑癌机制。目前研究表明趋化因子抑制肿瘤有多方面机制,包括驱动抑癌免疫细胞(树突状细胞、T细胞、NK细胞)到达肿瘤原发部位,刺激免疫细胞释放多种抑癌细胞因子(IFN- γ 、IL-12、CD40等^[12]),以及趋化因子直接结合其受体后通过一系列信号通路抑制血管形成、增殖迁移等功能^[3-4]。而根据我们实验结果推测,CCL19体外抑制肿瘤作用是直接结合CCR7受体后通过一系列信号通路直接或者间接影响肿瘤细胞内增殖、迁移、侵袭能力来实现的。但这种抑制作用的分子机制尚不完全清楚,有待进一步用大量实验数据去验证。而CCL19在体内是否也起到抑制结直肠癌发展的作用,则需要进一步动物实验来验证。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Acharyya S, Oskarsson T, Vanharanta S, Malladi S, Kim J, Morris P G, et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis[J]. Cell, 2012, 150: 165-178.
- [2] Facciabene A, Peng X, Hagemann I S, Balint K, Barchetti A, Wang L P, et al. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells[J]. Nature, 2011, 475: 226-230.
- [3] Wang W, Huang P, Zhang L, Wei J, Xie Q, Sun Q, et al. Antitumor efficacy of C-X-C motif chemokine ligand 14 in hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*[J]. Cancer Sci, 2013, 104: 1523-1531.
- [4] Antonicelli F, Lorin J, Kurdykowski S, Gangloff S C, Le Naour R, Sallenave J M, et al. CXCL10 reduces melanoma proliferation and invasiveness *in vitro* and *in vivo*[J]. Br J Dermatol, 2011, 164: 720-728.
- [5] Polimeno M, Napolitano M, Costantini S, Portella L, Esposito A, Capone F, et al. Regulatory T cells, interleukin (IL)-6, IL-8, vascular endothelial growth factor (VEGF), CXCL10, CXCL11, epidermal growth factor (EGF) and hepatocyte growth factor (HGF) as surrogate markers of host immunity in patients with renal cell carcinoma[J]. BJU Int, 2013, 112: 686-696.

- [6] Franciszkievicz K, Boissonnas A, Boutet M, Combadière C, Mami-Chouaib F. Role of chemokines and chemokine receptors in shaping the effector phase of the antitumor immune response[J]. *Cancer Res*, 2012, 72: 6325-6332.
- [7] Zhang Q, Sun L, Yin L, Ming J, Zhang S, Luo W, et al. CCL19/CCR7 upregulates heparanase via specificity protein-1 (Sp1) to promote invasion of cell in lung cancer[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34: 2703-2708.
- [8] Hamanishi J, Mandai M, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Fujii S, et al. Activated local immunity by CC chemokine ligand 19-transduced embryonic endothelial progenitor cells suppresses metastasis of murine ovarian cancer[J]. *Stem Cells*, 2010, 28: 164-173.
- [9] Westermann J, Nguyen-Hoai T, Baldenhofer G, Höpken U E, Lipp M, Dörken B, et al. CCL19 (ELC) as an adjuvant for DNA vaccination; induction of a TH1-type T-cell response and enhancement of antitumor immunity [J]. *Cancer Gene Ther*, 2007, 14: 523-532.
- [10] Itakura M, Terashima Y, Shingyoji M, Yokoi S, Ohira M, Kageyama H, et al. High CC chemokine receptor 7 expression improves postoperative prognosis of lung adenocarcinoma patients [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109: 1100-1108.
- [11] Wu S Y, Shin J, Sepich D S, Solnica-Krezel L. Chemokine GPCR signaling inhibits β -catenin during zebrafish axis formation [J]. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001403.
- [12] Cao M, Deng H X, Zhao J, Fan L Y, Jiang Y, Wen Y J, et al. Antitumour activity of cationic-liposome-conjugated adenovirus containing the CCL19 [chemokine (C-C motif) ligand 19] gene [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2007, 48(Pt 2): 109-116.

[本文编辑] 张建芬, 孙岩

• 书 讯 •

《乳腺肿瘤诊断进展》已出版

《乳腺肿瘤诊断进展》由潘晓华、杜力成、李加美、王强修主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0805-4,定价:48.00元。

该书参考国内外最新文献资料,并结合编者多年的临床实践经验,参照2012年版WHO乳腺肿瘤分类,详细阐述了乳腺肿瘤的诊断技术及方法。全书分上、下两篇,共21章,内容包括了乳腺的解剖及组织学结构特点,WHO(2012)乳腺肿瘤分类解读,乳腺肿瘤的临床诊断与分期,乳腺肿瘤的影像学、细胞学及分子病理学诊断及乳腺肿瘤病理组织学诊断等。

该书适合乳腺外科、肿瘤科、普通外科、病理科及影像科医师阅读参考。

该书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通信地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.cn>