

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.16.004

胃癌微环境中 M2 亚型巨噬细胞对胃癌间充质干细胞促肿瘤作用的影响*

孙召东¹, 张 婷², 霍 娟², 李 伟^{2△}

(江苏省连云港市第一人民医院:1. 检验科;2. 中心实验室 222001)

[摘要] **目的** 探讨胃癌微环境中 M2 亚型巨噬细胞对人胃癌间质干细胞(GC-MSCs)发挥促胃癌作用的影响。**方法** 采用氯磷酸盐脂质体清除 BALB/c 裸鼠体内巨噬细胞,观察并记录巨噬细胞清除前后 GC-MSCs 与胃癌细胞共注射组裸鼠的肿瘤体积和质量。收集各组裸鼠及胃癌患者肿瘤组织,反转录 PCR(RT-PCR)和蛋白质印迹法(Western blot)分别检测 M2 亚型相关基因转录及蛋白表达情况。体外共培养实验验证 GC-MSCs 对巨噬细胞极化的调节作用。**结果** 体内巨噬细胞清除可明显抑制 GC-MSCs 共注射组肿瘤的生长($P=0.009$)。此外,GC-MSCs 共注射组裸鼠及胃癌患者肿瘤组织中 M2 亚型巨噬细胞相关蛋白的转录与表达水平均明显高于对照组或对应癌旁组织。与 GC-MSCs 直接接触培养 72 h 后,THP-1 来源人巨噬细胞中 M2 亚型巨噬细胞相关蛋白表达明显上调。**结论** 胃癌微环境中 M2 亚型巨噬细胞在 GC-MSCs 的促胃癌效应中发挥关键作用。

[关键词] 胃肿瘤;间质干细胞;巨噬细胞;微环境**[中图分类号]** R735.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)16-2126-05

The influence of M2 macrophages on tumor-promoting effect of gastric cancer-derived mesenchymal stem cells in gastric cancer microenvironment*

SUN Zhaodong¹, ZHANG Ting², HUO Juan², LI Wei^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Central Laboratory, the First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of M2 macrophages resident in gastric cancer microenvironment on the tumor-promoting effect of human gastric cancer-derived mesenchymal stem cells (GC-MSCs). **Methods** Macrophages in BALB/c mice were depleted by using clodronate liposomes. The tumor volumes and weights in nude mice co-injected with GC-MSCs and BGC-823 with and without macrophage depletion were recorded. Tumor tissues of nude mice and gastric cancer patients were collected, and M2 macrophage-associated genes and proteins were detected by RT-PCR and western blot. Furthermore, the regulating effect of GC-MSCs on macrophage polarization to M2-subtype was validated in the co-culture experiment in vitro. **Results** Tumor growth in GC-MSCs co-injected mice was significantly inhibited by macrophage depletion ($P=0.009$). Results of RT-PCR and western blot showed that the transcription and expression of M2 macrophage-associated proteins were significantly higher in tumor tissues from GC-MSCs co-injected mice than those in the control group. Moreover, the transcription and expression levels of M2 macrophage-associated proteins were also higher in gastric cancer tissues than those in the corresponding adjacent normal tissues. After co-culture with GC-MSCs directly, the expressions of M2 macrophage-associated proteins were significantly up-regulated in THP-1-derived macrophages. **Conclusion** M2 macrophages in gastric cancer microenvironment might play a critical role in the tumor-promoting effect of GC-MSCs.

[Key words] stomach neoplasms; mesenchymal stem cells; macrophages; microenvironment

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,我国每年新增胃癌患者数量高达 40 多万,其发病率及病死率在肿瘤相关疾病中排第 3 位^[1]。针对胃癌发生、发展机制的研究也因此备受我国学者的关注。目前,肿瘤微环境对胃癌的影响已成为研究热点之一^[2-3]。其中,

间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)与巨噬细胞等微环境细胞之间的相互作用对胃癌发生、发展的影响引起了科学家们的广泛兴趣。笔者前期研究发现,胃癌组织来源的 MSCs(gastric cancer-derived MSCs, GC-MSCs)对胃癌细胞的增殖、迁移及促血管

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81402280);江苏省自然科学基金面上项目(BK20161296);江苏省博士后科研资助计划项目(1501079A);江苏省连云港市第一人民医院青年英才豪森基金(QN140301)。作者简介:孙召东(1980—),副主任技师,在读硕士,主要从事胃癌的病理机制研究。△ 通信作者, E-mail: medical112@126.com。

生成能力具有明显的促进作用,且该作用与非肿瘤组织来源的 MSCs,如胃癌癌旁组织来源的 MSCs (GCN-MSCs)、骨髓来源的 MSCs(BM-MSCs)相比更强^[4]。然而,GC-MSCs 发挥促胃癌作用的机制尚不清楚。大量研究证实,MSCs 具有诱导巨噬细胞极化的作用,而 M2 亚型巨噬细胞已被证实可明显促进肿瘤的生长、侵袭及转移^[5-6]。为此,本研究旨在探讨胃癌发生、发展过程中,肿瘤组织内 M2 亚型巨噬细胞对 GC-MSCs 促胃癌效应的影响,并通过体外研究验证 GC-MSCs 诱导胃癌微环境巨噬细胞向 M2 亚型极化的调节作用,为研究胃癌的发病机制提供更多的理论依据,并为胃癌的临床治疗提供新的靶点和思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 留取本院胃癌切除手术患者新鲜胃癌及癌旁组织(距癌变部位 5 cm 以上,病理检查无癌组织),取材均取得患者家属同意并签署知情同意书。所有患者术前均未接受任何放化疗,术后经病理确诊为胃腺癌。

1.1.2 主要仪器与试剂 L-DMEM 营养液、RPMI1640 营养液、胎牛血清(FBS)、胰蛋白酶和 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司);氯磷酸盐脂质体(clodronate liposome, lipo-MBP)和对照(PBS liposome, lipo-PBS)(荷兰 Nicovan Rooijen 公司);佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA, 美国 Sigma-Aldrich 公司);Transwell 板(美国 Corning 公司);兔抗小鼠 F4/80 抗体和羊抗小鼠 Ki67 抗体(英国 Abcam 公司);RNA 反转录试剂盒(美国 Roche Diagnostics 公司);PCR 试剂盒(日本 Takara 公司);二氧化碳培养箱(日本 Sanyo 公司);NanoDrop-2000 分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司);PCR 仪(Veriti 96)(美国 Applied Biosystems 公司);全自动凝胶成像仪(北京吉诺思科贸公司)。

1.2 方法

1.2.1 巨噬细胞体内清除 lipo-MBP 或 lipo-PBS 分别按照 100 μ L/10 g 小鼠体质量的剂量经尾静脉注射,以清除体内单核/巨噬细胞,每 4 天注射 1 次,直至实验观察期结束(14 d)。

1.2.2 裸鼠皮下致瘤实验 选取 3~4 周龄雌性 BALB/c 裸鼠共 20 只,均购自南京大学-南京生物医药研究院[生产许可证号 SCXK(苏)2015-0001]。所有实验动物均于本院神经医学研究所动物中心饲养,并分为 4 组:lipo-PBS+BGC-823 组、lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组、lipo-MBP+BGC-823 组及 lipo-MBP+BGC-823+GC-MSCs 组。皮下接种细胞 14 d 后,脱颈处死小鼠,剥离肿瘤组织,记录其质量与体积后进行组织学分析。

1.2.3 免疫组织化学法 将裸鼠皮下致瘤瘤体浸泡于中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋切片,经抗原修复处理后,依次加入 Ki67 抗体及生物素标记的二

抗后孵育并显色。倒置显微镜下观察并采集图像。结果判定标准:棕黄色颗粒显像为 Ki67 表达阳性反应。

1.2.4 反转录 PCR(RT-PCR) 法 收集 lipo-PBS+BGC-823 组和 lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组裸鼠致瘤组织 5 对及胃癌患者癌与癌旁组织 3 对,TRIzol 裂解后抽提组织来源总 RNA。此外,采用 20 ng/mL PMA 刺激人单核细胞株 THP-1 分化为巨噬细胞后,将其与 GC-MSCs 进行体外共培养。72 h 后,收集各处理组细胞并以 TRIzol 裂解抽提总 RNA。小鼠 iNOS、Ym-1 和 β -actin 引物,人 iNOS、Ym-1、Fizz-1 和 β -actin 引物采用 Primer Software 软件进行设计(表 1)。利用 NanoDrop-2000 分光光度计对总 RNA 的纯度和含量进行检测。根据试剂盒提供的方案,以 Superscript II 反转录酶在 40 μ L 反应体系内对 3 μ g 总 RNA 进行 cDNA 合成。25 μ L PCR 反应混合体系中分别含有 Premix Ex Taq 12.5 μ L、上下游引物各 1.0 μ L 及 2 μ L cDNA 模板。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s;退火温度(T_m)30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,25~35 个循环;72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增产物经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.2.5 蛋白质印迹法(Western blot)检测 收集小鼠及胃癌患者肿瘤组织,裂解液冰上提取蛋白。此外,将 THP-1 分化来源巨噬细胞与 GC-MSCs 进行 72 h 体外共培养,收集各处理组细胞并以裂解液冰上提取蛋白。取等量蛋白,在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶上电泳进行蛋白分离,湿转法转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,5%(质量/体积)脱脂奶粉室温封闭 1 h。加入一抗[抗 Arginase-1、趋化因子受体-2(CCR-2)和 β -actin]后,4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。加入辣根过氧化物酶标记二抗,室温摇床孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次,加入电化学发光(ECL)试剂显色。全自动化学发光凝胶成像系统检测并分析 Western blot 结果。

1.3 统计学处理 所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用 GraphPad Prism software 6.0 软件分析及绘图。采用 SPSS16.0 统计学软件对数据进行 Mann-Whitney U test 非参数分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 巨噬细胞对 GC-MSCs 促胃癌效应的影响 裸鼠皮下致瘤实验结果表明, lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组肿瘤体积及质量均明显高于 lipo-PBS+BGC-823 组,差异有统计学意义($P=0.009, 0.001$),见图 1。采用 lipo-MBP 清除裸鼠体内单核/巨噬细胞后发现, lipo-MBP+BGC-823+GC-MSCs 组的肿瘤体积及质量与 lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组相比明显减小($P=0.028, 0.009$,图 1),体内清除巨噬细胞显著抑制了 GC-MSCs 的促胃癌效应。然而, lipo-PBS+BGC-823 组和 lipo-MBP+BGC-823 组裸鼠皮下致瘤能力相比,差异无统计学意义($P=0.251, 0.175$,图 1)。

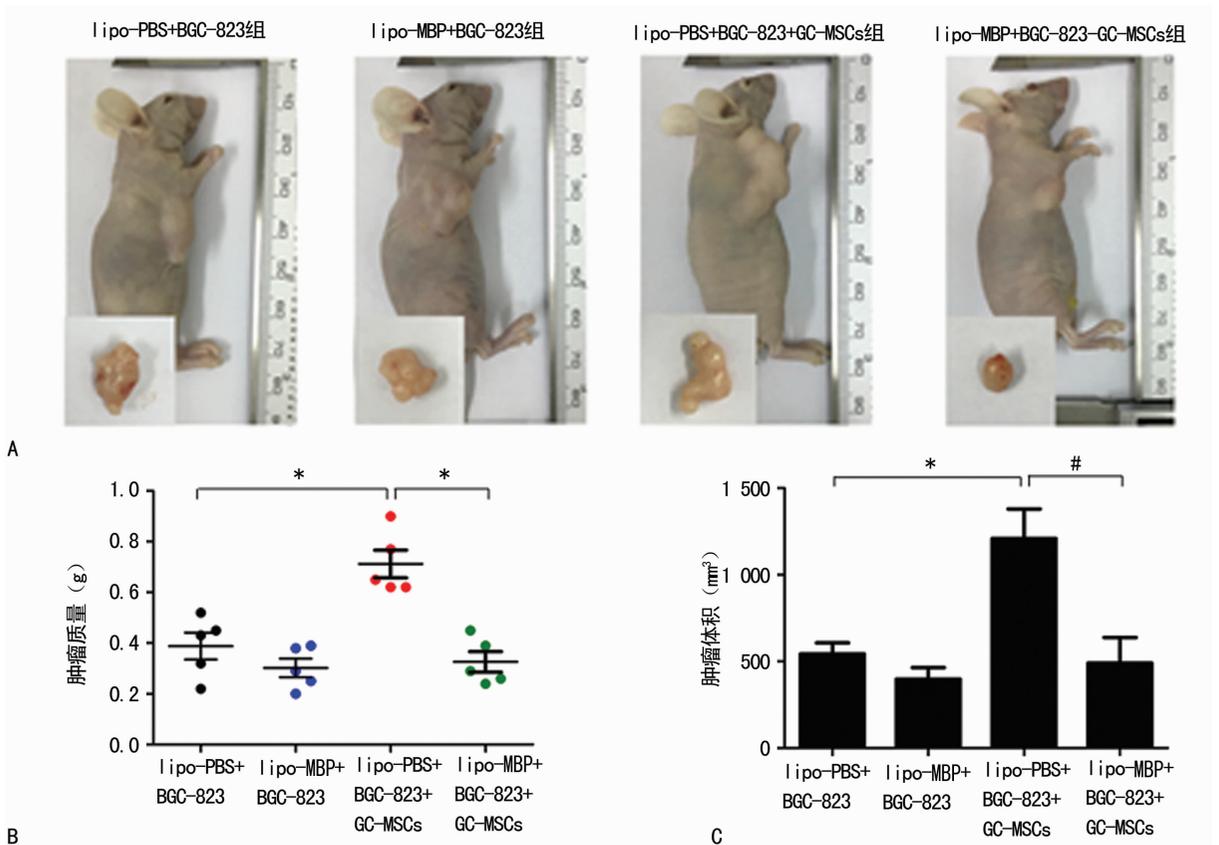
2.2 巨噬细胞对胃癌组织中肿瘤细胞增殖能力的影响 裸鼠肿瘤组织苏木素-伊红(HE)染色结果显示, lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组肿瘤病理组织学恶性程度最高, 而给予巨噬细胞清除的 lipo-MBP+BGC-823+GC-MSCs 组肿瘤恶性程度则明显降低(图 2)。肿瘤组织 Ki67 免疫组织化学结果显示, lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组棕黄色阳性细胞数量明显高于 lipo-PBS+BGC-823 组, 而体内清除巨噬细胞后 lipo-MBP+BGC-823+GC-MSCs 组裸鼠肿瘤组织中 Ki67 阳性增殖细胞数量较 lipo-PBS+BGC-823+GC-MSCs 组明显减少(图 2)。此外, lipo-PBS+BGC-823

组和 lipo-MBP+BGC-823 组胃癌组织中 Ki67 阳性细胞数量并无明显差异, 见图 2。

2.3 裸鼠致瘤组织中 M2 亚型巨噬细胞相关基因转录及表达情况 RT-PCR 检测结果显示, GC-MSCs 共注射组肿瘤组织中 iNOS mRNA 转录水平明显低于 BGC-823 单独注射组; 相反, M2 亚型巨噬细胞相关基因 Ym-1 在 GC-MSCs 共注射组肿瘤组织中显著高表达, 见图 3A。Western blot 检测结果表明, M2 亚型巨噬细胞主要的两种相关蛋白精氨酸酶(Arginase-1)和 CCR-2 在 GC-MSCs 共注射组中的表达水平均明显高于 BGC-823 单独注射组, 见图 3B。

表 1 巨噬细胞 M2 亚型相关基因扩增上下游引物

基因名称	序列(5'-3')	片段长度(bp)	退火温度(°C)
M-iNOS	上游: 5'-ACT GCA AGA GAA CGG AGA AC-3' 下游: 5'-GCC TTG TGG TGA AGA GTG TC-3'	347	59
M-Ym-1	上游: 5'-CCA GTG CTG CTC TGC ATA CA-3' 下游: 5'-ATG CCG TAG AGC GTC ACA TC-3'	189	62
H-iNOS	上游: 5'-TGC CAC CTC CAG TCC AGT GA-3' 下游: 5'-GCA TCC AGC TTG ACC AGA GA-3'	129	62
H-Ym-1	上游: 5'-CCA GTG CTG CTC TGC ATA CA-3' 下游: 5'-ATG CCG TAG AGC GTC ACA TC-3'	189	62
H-Fizz-1	上游: 5'-CGT CCT CTT GCC TCC TTC TC-3' 下游: 5'-ACA AGC ACA GCC AGT GAC AG-3'	227	62
β -actin	上游: 5'-TGG ACT TCG AGC AAG AGA TG-3' 下游: 5'-GGA TGT CCA CGT CAC ACT TC-3'	207	60



A: BGC-823 细胞皮下注射 14 天后裸鼠致瘤情况; B: 不同处理组肿瘤组织质量($n=5$); C: 不同处理组肿瘤组织体积($n=5$); *: $P<0.01$; #: $P<0.05$

图 1 巨噬细胞清除对 GC-MSCs 促胃癌能力的影响

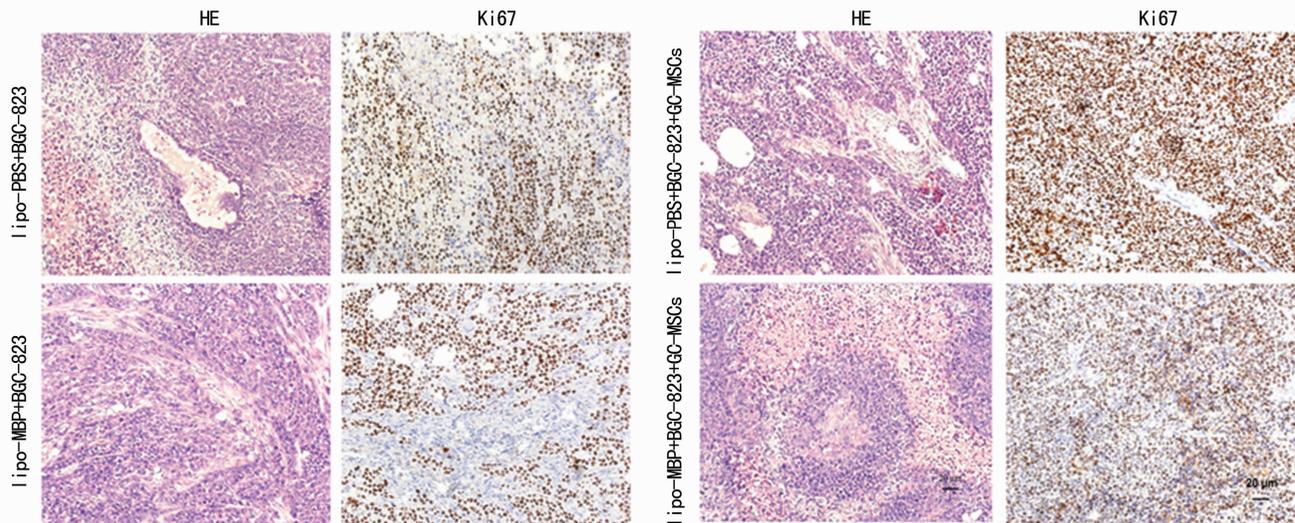
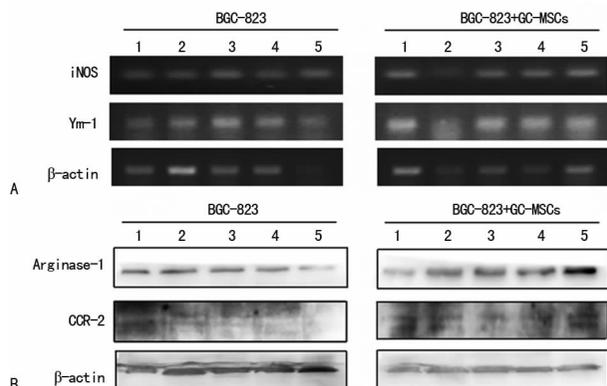


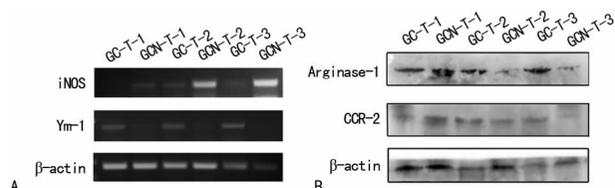
图 2 不同处理组裸鼠致瘤组织 HE 染色及 Ki67 免疫组织化学染色(×200)



A:RT-PCR 检测结果;B:Western blot 检测结果

图 3 M2 亚型巨噬细胞相关基因在裸鼠肿瘤组织中的转录及表达情况

2.4 胃癌患者肿瘤组织中 M2 亚型巨噬细胞相关基因转录及表达情况 本研究选择并观察了 3 例临床胃癌患者癌及对应癌旁组织中 M2 亚型巨噬细胞相关基因的转录、表达情况,由此判断 M2 亚型巨噬细胞与 GC-MSCs 的组织学定位相关性。RT-PCR 结果显示,M1 亚型巨噬细胞相关基因 iNOS 在 3 例患者癌旁组织中的转录水平明显高于癌组织,而 Ym-1 在 3 例癌组织中的转录均明显高于对应癌旁组织,见图 4A。Western blot 检测结果也表明,M2 亚型巨噬细胞相关蛋白 Arginase-1 和 CCR-2 在癌组织中表达水平高于对应癌旁组织,见图 4B。

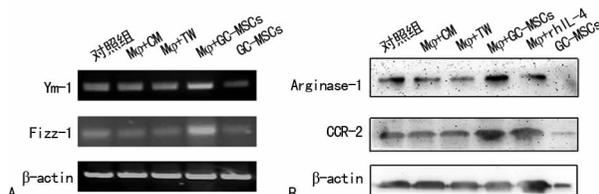


A:RT-PCR 检测结果;B:Western blot 检测结果

图 4 M2 亚型巨噬细胞相关基因在胃癌患者癌及癌旁组织中的转录及表达情况

2.5 GC-MSCs 体外共培养对巨噬细胞向 M2 亚型

转换的影响 本研究分别采用间接与直接接触共培养实验评价了 GC-MSCs 对巨噬细胞亚型转换的调节作用。培养 72 h 后 RT-PCR 结果显示,GC-MSCs 与巨噬细胞直接接触共培养后其 M2 亚型巨噬细胞相关基因 Ym-1、Fizz-1 的 mRNA 转录水平明显高于对照组,见图 5A。此外,巨噬细胞中 Arginase-1 和 CCR-2 蛋白的表达水平在 GC-MSCs 与巨噬细胞直接接触共培养后也明显升高,见图 5B。



A:RT-PCR 检测结果;B:Western blot 检测结果

图 5 GC-MSCs 对巨噬细胞亚型转换的调节作用

3 讨论

大量研究表明,基质细胞通过为肿瘤细胞提供有利微环境而在肿瘤的生长、转移过程中发挥关键作用[7]。HASHIMOTO 等[8] 研究报道,巨噬细胞和 BM-MSCs 可被募集入神经母细胞瘤局部并分别活化为肿瘤相关巨噬细胞及癌相关成纤维细胞,从而为癌症的发生、发展提供有利的微环境。同时, MSCs、巨噬细胞与肿瘤细胞三者之间的相互作用也已被证实多种不同肿瘤的发展进程中发挥重要作用。YANG 等[9] 研究发现,巨噬细胞活化后的 BM-MSCs 可获得促炎表型,且通过核因子-κB(NF-κB)信号通路的活化而促进胃癌细胞增殖与迁移。CHATURVEDI 等[10] 则指出,三阴性乳腺癌细胞与 MSCs 之间可通过缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)依赖的信号通路相互作用,从而促进巨噬细胞向原发性乳腺肿瘤局部的迁移富集。然而,肿瘤微环境局部 MSCs、巨噬细胞与肿瘤细胞之间的相互调节,尤其基质细胞

MSCs 与肿瘤相关巨噬细胞之间的相互作用及其对肿瘤发生、发展的影响尚有待深入研究。

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一,同时也是—类典型的炎症相关性肿瘤。笔者前期研究发现,GC-MSCs 通过分泌大量白细胞介素-8(IL-8)发挥较强的促胃癌作用^[4]。尽管如此,GC-MSCs 促肿瘤作用的机制,尤其是 GC-MSCs 与其他基质细胞之间的相互作用对胃癌发生、发展的影响尚无报道。ZHU 等^[11]研究指出,GC-MSCs 与中性粒细胞之间的相互作用促进了胃癌细胞的侵袭及促血管生成能力,进而促成了癌细胞的转移性播散。本研究发现,巨噬细胞在 GC-MSCs 的体内促胃癌效应中发挥必不可少的作用,清除巨噬细胞后裸鼠体内肿瘤生长明显受到抑制。REN 等^[12]认为,淋巴瘤组织来源的 MSCs (lymphoma-derived MSCs, L-MSCs) 可明显促进肿瘤生长,同时在体内实验中进一步证实了单核/巨噬细胞(而非中性粒细胞)介导了 L-MSCs 的促肿瘤效应。这一结论与本研究是一致的。因此,深入研究肿瘤微环境中 MSCs 与巨噬细胞之间的相互作用将为阐明肿瘤发生、发展机制提供更多的信息。

目前,肿瘤基质中浸润的巨噬细胞已被证实在肿瘤组织维持自身稳定及生长的过程中发挥关键作用^[13]。它们主要分为经典活化的巨噬细胞(M1)及替代活化的巨噬细胞(M2)两种不同亚型。其中,M2 亚型巨噬细胞可促进肿瘤增殖并与多种不同肿瘤的预后不良密切相关。尽管如此,肿瘤组织中 M2 亚型巨噬细胞产生的机制尚不清楚。MATHEW 等^[14]研究了胰腺癌组织来源的 MSCs,并证实该 MSCs 促肿瘤生长的作用与其诱导巨噬细胞向 M2 亚型极化密切相关。本研究中,聚集了 GC-MSCs 细胞的人、小鼠胃癌组织被检测出较高比例的 M2 亚型巨噬细胞。此外,在 GC-MSCs 与巨噬细胞的体外共培养实验中,进一步发现 GC-MSCs 直接接触培养的巨噬细胞中 M2 亚型相关基因 Ym-1、Fizz-1 的 mRNA 转录及 Arginase-1 和 CCR-2 蛋白的表达水平均显著增高,初步证实 GC-MSCs 促进巨噬细胞从 M1 向 M2 亚型转换的调节作用。

综上所述,胃癌微环境中 M2 亚型巨噬细胞参与了 GC-MSCs 的促肿瘤效应。同时,肿瘤基质中 GC-MSCs 对巨噬细胞由 M1 向 M2 亚型的极化过程具有调节作用。可见,GC-MSCs 与巨噬细胞之间的相互作用推进了胃癌发生、发展的进程,有望为临床靶向治疗提供更多的理论指导。

参考文献

[1] WANG K, LI J. Overexpression of ANXA3 is an independent prognostic indicator in gastric cancer and its depletion suppresses cell proliferation and tumor growth [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 86972-86984.

[2] ZHANG W J, CHEN C, ZHOU Z H, et al. Hypoxia-in-

ducible factor-1 alpha correlates with tumor-associated macrophages infiltration, influences survival of gastric cancer patients [J]. *J Cancer*, 2017, 8(10): 1818-1825.

- [3] MAO F Y, KONG H, ZHAO Y L, et al. Increased tumor-infiltrating CD45RA-CCR7- regulatory T-cell subset with immunosuppressive properties foster gastric cancer progress [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e3002.
- [4] LI W, ZHOU Y, YANG J, et al. Gastric cancer-derived mesenchymal stem cells prompt gastric cancer progression through secretion of interleukin-8 [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 52.
- [5] SOUSA S, BRION R, LINTUNEN M, et al. Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status [J]. *Breast Cancer Res*, 2015, 17(1): 101.
- [6] MARTÍNEZ V G, RUBIO C, MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ M, et al. BMP4 induces M2 macrophage polarization and favors tumor progression in bladder cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(23): 7388-7399.
- [7] ZHANG Y, NOWICKA A, SOLLEY T N, et al. Stromal cells derived from visceral and obese adipose tissue promote growth of ovarian cancers [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136361.
- [8] HASHIMOTO O, YOSHIDA M, KOMA Y, et al. Collaboration of cancer-associated fibroblasts and tumour-associated macrophages for neuroblastoma development [J]. *J Pathol*, 2016, 240(2): 211-223.
- [9] YANG T, ZHANG X, WANG M, et al. Activation of mesenchymal stem cells by macrophages prompts human gastric cancer growth through NF- κ B pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97569.
- [10] CHATURVEDI P, GILKES D M, TAKANO N, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent signaling between triple-negative breast cancer cells and mesenchymal stem cells promotes macrophage recruitment [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(20): E2120-2129.
- [11] ZHU Q, ZHANG X, ZHANG L, et al. The IL-6-STAT3 axis mediates a reciprocal crosstalk between cancer-derived mesenchymal stem cells and neutrophils to synergistically prompt gastric cancer progression [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1295.
- [12] REN G W, ZHAO X, WANG Y, et al. CCR2-dependent recruitment of macrophages by tumor educated mesenchymal stromal cells promotes tumor development and is mimicked by TNF-alpha [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 11(6): 812-824.
- [13] CARRON E C, HOMRA S, ROSENBERG J, et al. Macrophages promote the progression of premalignant mammary lesions to invasive cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 50731-50746.
- [14] MATHEW E, BRANNON A L, DEL VECCHIO A, et al. Mesenchymal stem cells promote pancreatic tumor growth by inducing alternative polarization of macrophages [J]. *Neoplasia*, 2016, 18(3): 142-151.