

• 论 著 •

# 低氧条件下结直肠癌外泌体 miR-449 诱导 M2 型巨噬细胞极化的实验研究<sup>\*</sup>

杨 镛<sup>1</sup>, 蔡 枫<sup>2△</sup>, 李小嘉<sup>1</sup>, 李 鹏<sup>3</sup>, 朱煜璋<sup>3</sup>, 李轶琨<sup>3</sup>

上海中医药大学附属市中医医院:1. 肛肠科;2. 检验科, 上海 200071;

3. 上海中医药大学, 上海 201203

**摘 要:****目的** 研究低氧环境中结直肠癌外泌体 miR-449 与巨噬细胞相互作用的分子机制及其促进癌细胞转移的分子机制。**方法** 观察低氧和正常氧浓度(以下简称“常氧”)条件下 SW480 细胞外泌体的分泌水平。用佛波酯(PMA)将 THP-1 细胞诱导成人单核巨噬细胞,分别用 PBS(作为阴性对照)、常氧条件下 SW480 细胞分泌的外泌体(SW480-N-Exo)、低氧条件下 SW480 分泌的外泌体(SW480-H-Exo)和白细胞介素(IL)-4(作为阳性对照)分别孵育诱导成功的巨噬细胞,检测 M2 型巨噬细胞标志蛋白转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )和 IL-10 的表达,以及 M1 型巨噬细胞蛋白标记 IL-1 $\beta$ 。对 SW480-N-Exo 和 SW480-H-Exo 中的小分子 RNA(small RNA)进行测序和生物信息学分析。挑选表达量高、稳定且差异倍数大的 3 个 miRNA 作为候选 miRNA,采用 PCR 进行验证。采用 PCR 检测结直肠癌患者和健康者血清外泌体中 miR-449 的水平;检测外泌体 miR-449 inhibitor 对 M2 和 M1 型巨噬细胞标志蛋白水平的影响。**结果** 低氧条件下 SW480 分泌的外泌体水平高于常氧条件下分泌的外泌体水平( $P < 0.05$ )。SW480-H-Exo 孵育的巨噬细胞中 M2 型蛋白标记(TGF- $\beta$  和 IL-10)的表达水平高于 PBS、SW480-N-Exo、IL-4 孵育的细胞( $P < 0.05$ );差异 miRNA 主要与转运功能相关,从中挑选出 3 个 miRNA 作为候选 miRNA,利用 PCR 进行验证,miR-449 在 SW480-H-Exo 中上调( $P < 0.05$ )。miR-449 在结直肠癌患者血清外泌体中的水平高于健康者( $P < 0.05$ )。miR-449 缺失后会抑制 M2 型巨噬细胞的蛋白标记的表达( $P < 0.05$ )。**结论** 低氧可以促进结直肠癌细胞外泌体的分泌,外泌体中差异表达的 miRNA 主要与转运功能相关,外泌体 miR-449 可以调控 M2 型巨噬细胞的极化。

**关键词:** 低氧; 结直肠癌; 外泌体; 微小 RNA; 巨噬细胞极化

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.04.008

**中图法分类号:**R735.3

**文章编号:**1673-4130(2021)04-0421-05

**文献标志码:**A

## Experimental study on hypoxic tumor-derived exosomal miR-449 induces M2 macrophage polarization<sup>\*</sup>

YANG Yong<sup>1</sup>, CAI Feng<sup>2△</sup>, LI Xiaojia<sup>1</sup>, LI Peng<sup>3</sup>, Zhu Yuzhang<sup>3</sup>, LI Yikun<sup>3</sup>

1. Anorectal Department; 2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

**Abstract: Objective** To study the molecular mechanisms of the interaction of exosomes of colorectal cancer cells transporting miR-449 under hypoxic microenvironment and Macrophage, as well as the molecular mechanisms of this interactions promote colorectal cancer cell metastasis. **Methods** Used phorbol ester (PMA) to induce THP-1 cells into mononuclear macrophages, used PBS (as a negative control), exosomes secreted by SW480 cells under normoxia (SW480-N-Exo), exosomes secreted by SW480 cells under hypoxia (SW480-H-Exo) and interleukin (IL)-4 (as a positive control) were incubated with successfully induced macrophages, and the expression of M2 type macrophage marker protein transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and IL-10, and the M1 type macrophage protein marker IL-1 $\beta$  were detected. Sequencing and bioinformatics analysis of small RNA (small RNA) in SW480-N-Exo and SW480-H-Exo were performed. Three miRNAs

<sup>\*</sup> 基金项目:上海市卫生和计划生育委员会项目(2015HP1124)。

作者简介:杨镛,男,主治医师,主要从事结直肠癌侵袭转移、肠炎、肠道水液代谢障碍的研究。△ 通信作者, E-mail: caifeng51@126.com。

本文引用格式:杨镛,蔡枫,李小嘉,等. 低氧条件下结直肠癌外泌体 miR-449 诱导 M2 型巨噬细胞极化的实验研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(4): 421-425.

with high expression, stable and large difference multiples were selected as candidate miRNAs and verified by PCR. PCR was used to detect the level of miR-449 in serum exosomes of patients with colorectal cancer and healthy individuals; the effect of exosomal miR-449 inhibitor on the levels of M2 and M1 macrophage marker proteins was detected. **Results** The level of exosomes secreted by SW480 under hypoxic conditions was higher than that under normal oxygen conditions ( $P < 0.05$ ). The expression level of M2 protein markers (TGF- $\beta$  and IL-10) in macrophages incubated with SW480-H-Exo was higher than that in cells incubated with PBS, SW480-N-Exo, and IL-4 ( $P < 0.05$ ); miRNA is mainly related to the transport function. Three miRNAs were selected as candidate miRNAs and verified by PCR and miR-449 was up-regulated in SW480-H-Exo ( $P < 0.05$ ). The level of miR-449 in serum exosomes of patients with colorectal cancer was higher than that of healthy individuals ( $P < 0.05$ ). The inhibition of miR-449 will significantly inhibit the expression of protein markers in M2 macrophages ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Hypoxia can promote the secretion of exosomes in colorectal cancer cells. The differentially expressed miRNAs in exosomes are mainly related to the transport function. The exosomes miR-449 can regulate the polarization of M2 macrophages.

**Key words:** hypoxic; colorectal cancer; exosome; microRNA; macrophage polarization

结直肠癌是全球范围内最常见的消化道恶性肿瘤之一。据统计,2018 年全球新增结直肠癌患者 180 万例,每年病死例数约 88 万,其发病率居肿瘤发病率的第 3 位,死亡率居肿瘤死亡率第 2 位<sup>[1]</sup>。近年来,我国结直肠癌发病率和死亡率呈逐年增长的趋势,其发病率和死亡率均居我国恶性肿瘤前 5 位<sup>[2]</sup>。结直肠癌早期缺乏典型的症状与体征,约 40%~50% 的患者在确诊时已属于晚期,且已发生远处转移<sup>[3]</sup>。结直肠癌转移的主要部位是肝、腹膜和肺。目前,结直肠癌的治疗以根治性手术和放化疗为主。尽管最近在新疗法方面取得了进展,但这种恶性肿瘤的 5 年总生存率仍局限于 50% 左右。因此深入研究结直肠癌的发生机制、转移-侵袭机制及干预效应具有重要意义。

## 1 材料与方法

**1.1 实验细胞** 结直肠癌细胞 SW480 细胞、正常状态单核细胞 THP-1 细胞来自上海中医药大学实验中心。

### 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 主要仪器** Himac CPBOW 型超速离心机(日立公司)、生物安全柜(海尔公司)、酶标仪(Thermo 公司)、MR Hei-End 型磁力搅拌器(Heidolph 公司)、垂直电泳仪(Tanon 公司)、化学发光仪(上海勤翔科学仪器有限公司)、匀浆器(上海康华生化仪器)、CBOT 簇生成仪(Illumina 公司)、台式高速冷冻离心机(Thermo 公司)、NanoDrop ONE 型超微量紫外分光光度计(Thermo 公司)、Qubit 3.0 型荧光定量仪(Invitrogen 公司)、电泳仪(中国天能公司)、凝胶成像系统(中国勤翔公司)、漩涡混合仪 vortex-genie2(美林贝尔公司)、移液器(Eppendorf 公司)、-80℃超低温冰箱(Thermo 公司)、4℃/-20℃冰箱(海尔公司)、普通 PCR 仪(Life 公司)、HiSeq X Ten 型高通量测序仪(Illumina 公司)。

**1.2.2 主要试剂** 测序试剂 TruSeq PE Cluster Kit-

cBot, TruSeq SBS Kit(Illumina 公司), RIPA 裂解液(强)、15-150 kDa 型双色预染 maker、Tris-SDS 分离胶缓冲液(pH8.8)、Tris-SDS 浓缩胶缓冲液(pH6.8)、ECL 化学发光液(Thermo 公司), 苯甲基磺酰氟(PMSF, 生工公司)。

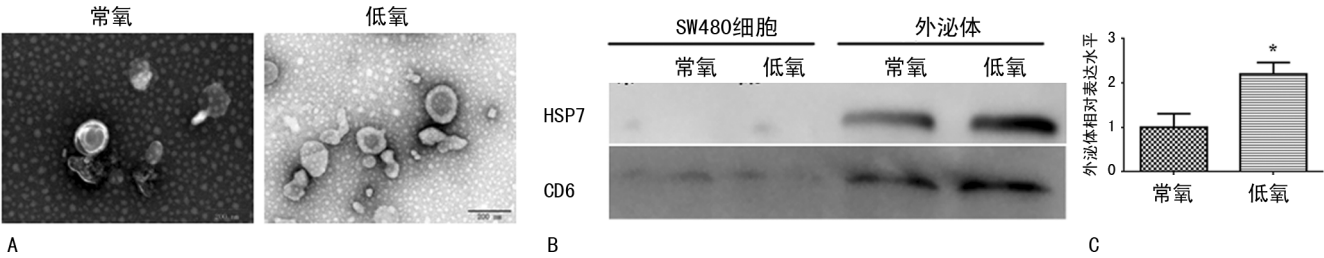
**1.3 方法** (1)电镜观察低氧和正常氧浓度(以下简称“常氧”)条件下 SW480 细胞外泌体的分泌:在常氧和低氧条件下分别接种相同浓度的 SW480 细胞,48 h 后分离外泌体,电镜鉴定外泌体大小和表型;Western blot(WB)检测外泌体标志蛋白 CD63、HSP70;比较低氧和常氧条件下 SW480 细胞外泌体的分泌水平。(2)采用佛波酯(PMA)诱导,将 THP-1 细胞诱导成人单核巨噬细胞,分别用 PBS(作为阴性对照)、常氧条件下 SW480 细胞分泌的外泌体(SW480-N-Exo)、低氧条件下 SW480 分泌的外泌体(SW480-H-Exo)和白细胞介素(IL)-4(可诱导 M2 型极化,作为阳性对照)分别孵育诱导成功的巨噬细胞,PCR 和 WB 分别检测 M2 巨噬细胞标志蛋白 CD68 和 M1 型巨噬细胞标志蛋白:转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )和 IL-10。(3)对 SW480-N-Exo 和 SW480-H-Exo 中的小分子 RNA (small RNA)进行测序,并进行生物信息学分析。(4)根据差异微小 RNA(miRNA)的功能和通路,结合文献,从差异 miRNA 中,挑选表达量高、稳定且差异倍数大的 3 个 miRNA 作为候选 miRNA。PCR 验证测序获得的 SW480-N-Exo 和 SW480-H-Exo 中差异表达的 miRNA;由于本课题组前期工作已发现 miR-449 与结直肠癌远端转移相关,因此挑选 miR-449 进行下一步工作:采用 PCR 检测结直肠癌患者和健康者血清外泌体中 miR-449 的水平,验证 miR-449 inhibitor 的干扰效率并检测外泌体 miR-449 inhibitor 对 M2 和 M1 型巨噬细胞标志蛋白水平的影响。

**1.4 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 软件进行作图和统计学处理,组间计量资料的比较采用  $t$  检

验。生物信息学数据以软件统计图进行分析,包括 GO 功能富集分析图、KEGG 通路富集分析图。

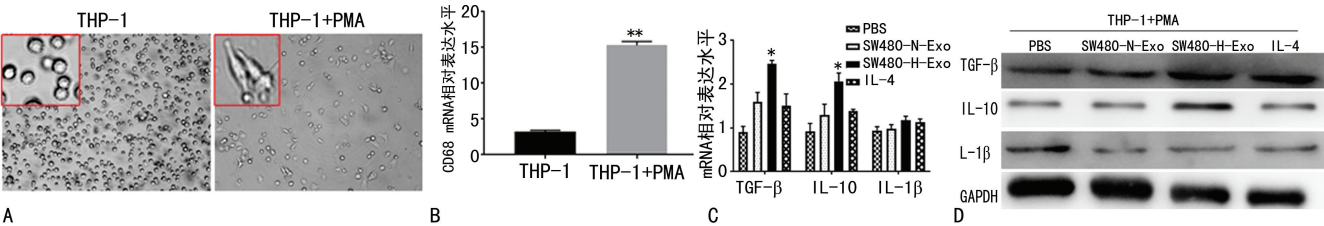
2 结 果

2.1 低氧环境可促进 SW480 细胞的外泌体分泌 电镜显示所获颗粒大小为 50~150 nm,见图 1A;WB 检测显示,所获颗粒特异性表达 CD63,见图 1B,说明获得的颗粒确实为外泌体。此外,低氧条件下 SW480 细胞分泌的外泌体水平高于常氧条件下的水平( $P<0.05$ ),见图 1C,提示低氧可以促进 SW480 细胞外泌体的分泌。



注:A为电镜观察低氧和常氧条件 SW480 细胞分泌的外泌体;B为 WB 检测 SW480 细胞及其分泌的外泌体中外泌体标志物在低氧和常氧条件下的表达水平;C为低氧和常氧条件下 SW480 细胞分泌外泌体相对水平的比较;与常氧组比较,\* $P<0.05$ 。

图 1 低氧和常氧条件下 SW480 细胞分泌外泌体的情况



注:A为 THP-1 细胞经 PMA 诱导,24 h 后出现的巨噬细胞形态;B为 PMA 诱导后,PCR 检测巨噬细胞标志蛋白 CD68,与 THP-1 比较,\* $P<0.01$ ;C为 PCR 检测 M2 型和 M1 型巨噬细胞蛋白标记,与 PBS,SW480-N-Exo、IL-4 孵育的细胞比较,\* $P<0.05$ ;D为 WB 检测 M2 型和 M1 型巨噬细胞蛋白标记。

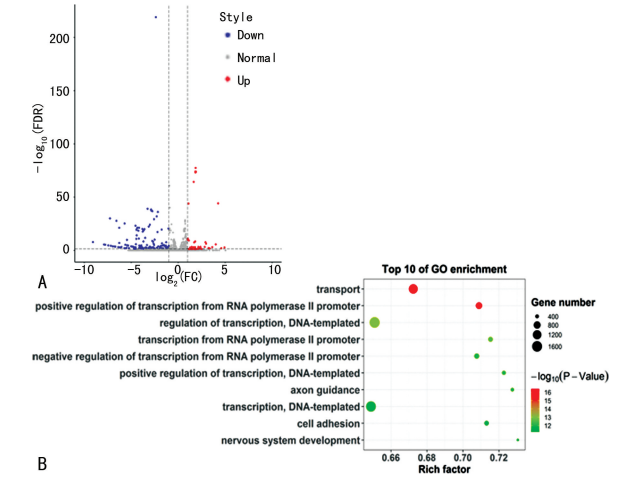
图 2 SW480 细胞外泌体对巨噬细胞的调控作用

2.3 低氧诱导 SW480 细胞的外泌体 miR-449 表达上调 通过测序发现,212 个差异表达的 small RNA,其中差异表达 miRNA 90 个,包括 12 个 miRNA 在 SW480-H-Exo 中上调,78 个在 SW480-H-Exo 中下调,见图 3A。对差异表达的 miRNA 进行靶基因预测并对靶基因进行 GO 分析,这些差异 miRNA 主要与转运功能相关,见图 3B。

2.4 低氧可能诱导外泌体 miR-449 调控巨噬细胞表型 从差异 miRNA 中,挑选出 3 个 miRNA 作为候选 miRNA。利用 PCR 进行验证,miR-449 在 SW480-H-Exo 中上调( $P<0.05$ ),见图 4A。在 10 对结直肠癌患者和健康者血清外泌体中检测 miR-449 的表达,其在结直肠癌患者血清外泌体中的水平高于健康者( $P<0.05$ ),见图 4B。将 miR-449 inhibitor 转染低氧条件下培养的 SW480 细胞,提取外泌体孵育巨噬细胞发现,miR-449 缺失后会抑制 M2 型巨噬细胞的蛋白标记的表达,见图 4C、4D。说明低氧可能诱

2.2 低氧诱导的 SW480 细胞外泌体促进 M2 型巨噬细胞极化 圆形的 THP-1 细胞被成功诱导成椭圆带尾巴的巨噬细胞,见图 2A,并表达巨噬细胞标志蛋白 CD68,见图 2B。用 SW480-N-Exo、SW480-H-Exo、PBS 和 IL-4 分别孵育巨噬细胞,与 SW480-N-Exo、PBS、IL-4 孵育的细胞比较,SW480-H-Exo 孵育的巨噬细胞中 M2 型巨噬细胞蛋白标记 TGF-β 和 IL-10 的表达增加( $P<0.05$ ),M1 型巨噬细胞蛋白标记 IL-1β 差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 2C。这说明 SW480-H-Exo 促进 M2 型巨噬细胞极化。

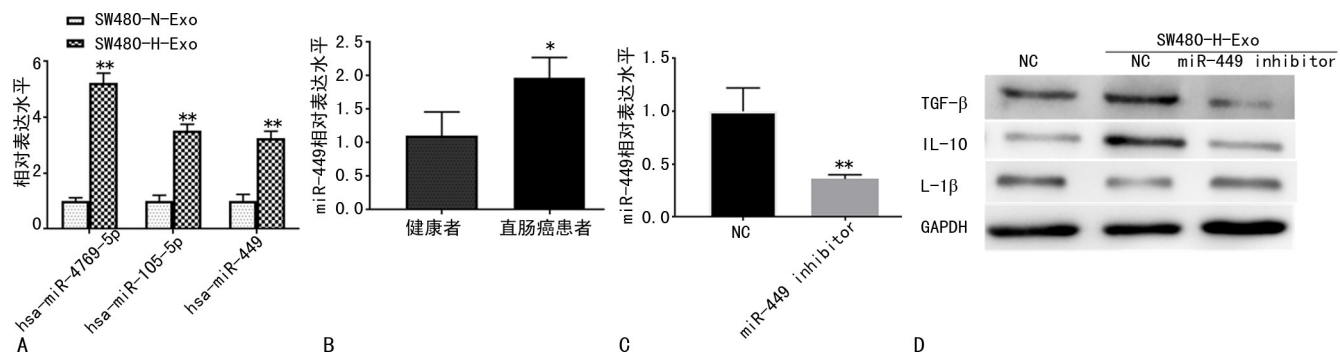
导外泌体 miR-449 调控巨噬细胞表型。



注:A为差异 small RNA 的火山图;B为差异 miRNA 参与的前 10 个主要功能的 GO 富集分析。

图 3 SW480-H-Exo 和 SW480-N-Exo 中的差异 miRNA 鉴定





注: A 为 PCR 验证测序获得的 SW480-N-Exo 和 SW480-H-Exo 中差异表达的 miRNA; B 为 PCR 检测结直肠癌患者和健康者血清外泌体中 miR-449 的表达; C 为 miR-449 inhibitor 干扰效率的 PCR 验证; D 为外泌体 miR-449 inhibitor 对 M2 和 M1 型巨噬细胞标志蛋白表达的影响; NC 表示对照; \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ 。

图 4 低氧诱导的外泌体 miR-449 对巨噬细胞的调控作用

### 3 讨论

在结直肠癌细胞生存的微环境中,缺氧和巨噬细胞等微环境因素对其代谢、侵袭、转移等功能影响重大<sup>[5]</sup>,肿瘤细胞从最初的上皮间质转化(EMT),直至最终的定植转移,缺氧一直是强大驱动力<sup>[6]</sup>,而介导细胞对缺氧反应的主要机制是缺氧诱导因子(HIF)的稳定和激活,特别是 HIF1 $\alpha$  和 HIF2 $\alpha$ ,它们激活一组促进肿瘤生长、血管生成和转移的基因<sup>[7]</sup>。在结直肠癌中,已有报道显示低氧条件下,可通过激活 HIF,诱导结直肠癌细胞产生耐药性<sup>[8]</sup>、侵袭<sup>[9-10]</sup>和 EMT<sup>[11]</sup>等属性。

外泌体是小的脂质双层膜泡,其大小(直径 50~100 nm)、密度(1.13~1.19 g/mL)、形态学(透射电镜下杯形或碟形)和某些蛋白标记(CD63、TSG101、Hsp70)<sup>[12]</sup>为现今学术界研究热点。肿瘤细胞释放过多的外泌体,可能会影响肿瘤自身的起始、生长、进展、转移和耐药性<sup>[13]</sup>。例如,缺氧诱导的胶质瘤细胞可以通过将外泌体 miR-29a 和 miR-92a 转移至骨髓来源的抑制性细胞(MDSCs),刺激功能性 MDSCs 的分化,影响肿瘤中免疫抑制微环境的形成<sup>[14]</sup>。低氧条件下培养的腹水卵巢癌细胞系的外泌体携带更多的致癌蛋白 STAT3 和 FAS,能够显著增加肿瘤的进展/转移和化疗耐受性<sup>[15]</sup>。在低氧条件下,结直肠癌细胞通过外泌体介导的内皮细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号促进血管新生<sup>[16]</sup>。

低氧应激除了改变肿瘤细胞的代谢,同时也在改变巨噬细胞的表型和代谢,以诱导肿瘤促进的重新编程<sup>[17]</sup>。巨噬细胞是肿瘤基质中最丰富的细胞,具有明显的可塑性,在肿瘤微环境中通常被定义为两大类:经典激活的 M1 型巨噬细胞和交替激活的 M2 型巨噬细胞。M1 型是促炎性表型,具有抗肿瘤活性;M2 型是免疫抑制细胞表型,参与肿瘤进展<sup>[18]</sup>。在恶性肿瘤中,肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)主要与 M2 表型相似。研究发现,M2 样 TAMs 通过驱动新生血管形成、介导细胞凋亡抵抗、抑制适应性免疫反应,确保

肿瘤细胞存活、增殖、侵袭和转移,在细胞外基质重构中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。此外,M2 型极化巨噬细胞在肿瘤的缺氧区富集<sup>[20]</sup>。最新研究显示,低氧条件下,癌细胞通过分泌外泌体,促进巨噬细胞极化为 M2 表型。例如,低氧促使肿瘤细胞分泌富含 miR-301a-3p 的外泌体,通过激活 PTEN/PI3K 信号通路诱导巨噬细胞 M2 型极化,从而促进胰腺癌转移<sup>[21]</sup>。在低氧条件下,上皮性卵巢癌细胞来源的外泌体传递 miRNA 诱导 M2 型巨噬细胞极化,促进癌细胞增殖和迁移<sup>[16]</sup>。已有报道显示结肠癌细胞分泌的外泌体,通过 miR-21 促进肝巨噬细胞极化成 M2 型,促进肿瘤肝转移<sup>[22]</sup>。

有报道显示 SPRY2 只有在上调情况下促进结直肠癌 EMT,而正常情况下它在多种癌症,包括结直肠癌中是作为抑癌基因<sup>[23]</sup>。SPRY2 是 p38-MAPK 信号通路的内源性抑制因子<sup>[24]</sup>。最新报道显示,p38/MAPKAP Kinase 2(MK2)能促进肿瘤相关巨噬细胞极化成原癌性、促血管生成的 M2 样巨噬细胞<sup>[25]</sup>。本课题组前期已报道 MAPK1 介导 miR-145 促进结肠癌细胞增殖和迁移<sup>[26]</sup>。

综上所述,本课题组研究了低氧环境中结直肠癌外泌体 miR-449 与巨噬细胞之间的相互作用,发现低氧可以促进结直肠癌细胞外泌体的分泌;低氧诱导结直肠癌细胞的外泌体 miR-449 表达上调;低氧诱导结直肠癌细胞外泌体 miR-449 调控巨噬细胞表型,促使巨噬细胞 M2 型极化。初步验证了缺氧是调控结直肠癌转移的关键微环境因素这一中心观点,能为深入研究结直肠癌的侵袭性、转移机制提供基础性依据,为开发结直肠癌早期检测、预后判断和其他预测型生物标志物,降低临床实践领域中晚期结直肠癌的转移率、病死率提供有力的实验依据。

### 参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of

- incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [3] SIEGEL R, DESANTIS C, JEMAL A. Colorectal cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(2):104-117.
- [4] 杨镛, 明溪, 骆莹滨, 等. 结肠癌远处转移小鼠模型血清 miR-449 表达的实验研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(2):113-115.
- [5] RANKIN E B, GIACCIA A J. Hypoxic control of metastasis[J]. *Science*, 2016, 352(6282):175-180.
- [6] LU X, KANG Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors: master regulators of metastasis [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(24):5928-5935.
- [7] SEMENZA G L. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics[J]. *Oncogene*, 2010, 29(5):625-634.
- [8] TANG Y A, CHEN Y F, et al. Hypoxic tumor microenvironment activates GLI2 via HIF-1 $\alpha$  and TGF- $\beta$ 2 to promote chemoresistance in colorectal cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(26):5990-5999.
- [9] ZHANG J, CHU D, KAWAMURA T, et al. GRIM-19 repressed hypoxia-induced invasion and EMT of colorectal cancer by repressing autophagy through inactivation of STAT3/HIF-1 $\alpha$  signaling axis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8):12800-12808.
- [10] GUZEL R M, OGMEN K, ILIEVA K M, et al. Colorectal cancer invasiveness in vitro: predominant contribution of neonatal Nav1. 5 under normoxia and hypoxia[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):6582-6593.
- [11] KIM E J, KWON K A, LEE Y E, et al. Korean red ginseng extract reduces hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition by repressing NF-kappa B and ERK1/2 pathways in colon cancer[J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(3):288-297.
- [12] ZHANG X, YUAN X, SHI H, et al. Exosomes in cancer: small particle, big player[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8(1):83-85.
- [13] XU R, RAI A, CHEN M S, et al. Extracellular vesicles in cancer: implications for future improvements in cancer care[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(10):617-638.
- [14] GUO X, QIU W, WANG J, et al. Glioma exosomes mediate the expansion and function of myeloid-derived suppressor cells through microRNA-29a/Hbp1 and microRNA-92a/Prkar1a pathways[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(12):3111-3126.
- [15] DORAYAPPAN K D P, WANNER R, WALLBILICH J J, et al. Hypoxia-induced exosomes contribute to a more aggressive and chemoresistant ovarian cancer phenotype: a novel mechanism linking STAT3/Rab proteins[J]. *Oncogene*, 2018, 37(28):3806-3821.
- [16] CHEN X, ZHOU J R, LI X D, et al. Exosomes derived from hypoxic epithelial ovarian cancer cells deliver microRNAs to macrophages and elicit a tumor-promoted phenotype[J]. *Cancer Lett*, 2018, 435(1):80-91.
- [17] DEHNE N, MORA J, NAMGALADZE D, et al. Cancer cell and macrophage cross-talk in the tumor microenvironment[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2017, 35(1):12-19.
- [18] NAJAFI M, HASHEMI GORADEL N, FARHOOD B, et al. Macrophage polarity in cancer: a review [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3):2756-2765.
- [19] BROWN J M, STROBER S. The promise of targeting macrophages in cancer therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(13):3241-3250.
- [20] LAOUI D, VAN OVERMEIRE E, DI CONZA G, et al. Tumor hypoxia does not drive differentiation of tumor-associated macrophages but rather fine-tunes the M2-like macrophage population[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(1):24-30.
- [21] WANG X F, LUO G T, ZHANG K D, et al. Hypoxic tumor-derived exosomal miR-301a mediates M2 macrophage polarization via PTEN/PI3K gamma to promote pancreatic cancer metastasis [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(16):4586-4598.
- [22] SHAO Y, CHEN T, ZHENG X, et al. Colorectal cancer-derived small extracellular vesicles establish an inflammatory premetastatic niche in liver metastasis[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(11):1368-1379.
- [23] BAHREYNI A, REZAEI M, BAHRAMI A, et al. Diagnostic, prognostic, and therapeutic potency of microRNA 21 in the pathogenesis of colon cancer, current status and prospective[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6):8075-8081.
- [24] MENDELL J T, OLSON E N. MicroRNAs in stress signaling and human disease[J]. *Cell*, 2012, 148(6):1172-1187.
- [25] SUAREZ-LOPEZ L, SRIRAM G, KONG Y W, et al. MK2 contributes to tumor progression by promoting M2 macrophage polarization and tumor angiogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(18):E4236-E4244.
- [26] YANG Y, LI X J, LI P, et al. MicroRNA-145 regulates the proliferation, migration and invasion of human primary colon adenocarcinoma cells by targeting MAPK1[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(6):3171-3180.

(收稿日期:2020-04-19 修回日期:2020-11-26)