

肿瘤相关巨噬细胞与骨肉瘤

刘政选 王晓旭 符勇 方松清

摘要 骨肉瘤是发病率最高的骨恶性肿瘤,在儿童及青少年中最为常见。研究发现,肿瘤微环境在骨肉瘤的发生发展中发挥重要功能,其中肿瘤相关巨噬细胞(TAM)广泛参与骨肉瘤生长、血管新生、转移及干细胞样表型表达等。该文对 TAM 与骨肉瘤的研究现状作一综述。

关键词 骨肉瘤;肿瘤相关巨噬细胞;肿瘤微环境

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2016.06.011

骨肉瘤是最常见的骨恶性肿瘤,好发于股骨、胫骨和肱骨等长骨干骺端,以局部侵犯和早期肺部转移为主要特点,患者预后极差^[1]。近几十年来,关于骨肉瘤患者总生存情况的研究一直处于瓶颈状态^[2]。随着研究不断深入,在发现针对骨肉瘤实质细胞的治疗不能对患者预后有明显改善后,越来越多的研究转向肿瘤微环境方面^[3]。既往研究^[4]显示,在常见的恶性肿瘤中,肿瘤微环境与肿瘤恶性表型密切相关,且可促进恶性肿瘤血管新生、局部浸润及转移,是恶性肿瘤进展的危险因素。巨噬细胞作为肿瘤微环境中含量最多的炎性细胞,与人类多种恶性肿瘤密切相关,为影响恶性肿瘤患者预后的独立因素^[5]。

1 肿瘤相关巨噬细胞来源及分型

肿瘤微环境是指由间质细胞、细胞外间质、细胞因子及趋化因子等构成的局部病理环境,它是一个动态变化的整体,可与肿瘤细胞相互作用:一方面,微环境影响肿瘤细胞,为肿瘤生长、血管生成及转移提供条件;另一方面,肿瘤自身也影响着所处微环境的理化状态。肿瘤微环境在骨肉瘤发生发展中起着重要作用,其细胞组成主要包括间充质干细胞(MSC)、破骨细胞、成纤维细胞和炎性细胞,其中巨噬细胞是骨肉瘤微环境中含量最多的炎性细胞。

巨噬细胞来源于单核细胞,可迁移到不同组织中,分化为功能各异的细胞,在组织中起维持平衡、促进炎症反应及调节免疫的作用。与正常组织中的

巨噬细胞相同,肿瘤相关巨噬细胞(TAM)也来源于外周血循环的单核-巨噬细胞,在趋化因子 CCL2、CCL5、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子(TGF)- β 等作用下,单核细胞向肿瘤组织中浸润,继而在局部微环境影响下被诱导极化成 M1 型和 M2 型 TAM。

2 TAM 对肿瘤发生发展的影响

M1 型 TAM(即经典激活的巨噬细胞)由脂多糖(LPS)和干扰素(IFN)- γ 等刺激极化而来,高表达白细胞介素(IL)-1、IL-12、IL-23、活性氧簇(ROS)和一氧化氮(NO),低表达 IL-4 和 IL-10,有较强的抗原提呈能力,主要功能为杀灭被吞噬的细菌、病毒及肿瘤细胞,从而抑制肿瘤的发生发展^[6]。炎症介质 IL-10 或 IL-4 可促进 TAM 向 M2 型极化,M2 型 TAM 高表达 IL-10、清道夫受体 CD163 及甘露糖受体 CD206 等,低表达 IL-12 和 IL-23,抗原提呈能力较弱,在组织修复、免疫抑制和促进肿瘤生长中扮演重要角色^[6]。局部微环境发生变化时,M1 型 TAM 与 M2 型 TAM 可相互转化;激活或阻断 TAM 的 Notch 信号转导通路可使 TAM 向 M1 型或 M2 型极化^[7]。阻断 TAM 的核因子- κ B(NF- κ B)信号转导通路可使 TAM 向 M1 型极化,表现为高表达 IL-12,低表达 IL-10,从而抑制肿瘤的发生发展^[8]。目前研究认为,众多恶性肿瘤如肝癌细胞癌^[9]、胰腺癌^[10]、胃癌^[11]等细胞间质中高度浸润的 TAM 主要表现为 M2 型,可促进肿瘤发生发展,为影响患者预后的危险因素。目前 TAM 在骨肉瘤中的表型尚未明确,其对骨肉瘤的生长、血管新生、转移及干细胞样表型的影响各有不同,甚至存在分歧。

2.1 对骨肉瘤生长的影响

多种信号转导通路、分子与骨肉瘤的生长有关。

基金项目:湖南省教育厅资助项目(15C1215)

作者单位:421000 湖南衡阳, 南华大学附属第二医院骨科(刘政选、王晓旭、符勇);421000 湖南衡阳, 南华大学临床技能中心(方松清)

通信作者:方松清 E-mail: fangsongqing123@163.com

Yang 等^[12]研究发现,通过转染使骨肉瘤中的组蛋白修饰因子 MacroH2A 高表达能下调细胞周期素 D 及细胞周期素依赖性蛋白激酶(CDK)表达,从而抑制骨肉瘤细胞增殖。Ma 等^[13]通过体外实验发现,夹竹桃苷能抑制骨肉瘤中 Wnt/ β -catenin 信号转导通路,同时降低基质金属蛋白酶(MMP)-2 和 MMP-9 的活性,导致骨肉瘤细胞凋亡。Li 等^[14]研究发现,微小 RNA(miRNA)-143 能抑制 B 细胞淋巴瘤基因(Blc)-2 表达,激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3,导致骨肉瘤细胞凋亡。

多数恶性肿瘤中 TAM 呈 M2 型,可通过分泌内皮生长因子(EGF)等生长因子直接或间接促进肿瘤细胞生长^[15]。Hu 等^[16]研究发现,M2 型 TAM 可上调细胞周期蛋白 D1 表达,促进子宫内膜癌细胞增殖。Yang 等^[17]研究发现,M2 型 TAM 能促进 Bcl-2 表达,抑制乳腺癌细胞凋亡。Xiao 等^[18]研究证实,骨肉瘤组织中大量 M2 型 TAM 浸润,与骨肉瘤的增殖密切相关。体内实验^[19]发现,注射氯膦酸盐可减少骨肉瘤小鼠模型中的巨噬细胞数量,使小鼠肿瘤体积显著减小;免疫组化检测显示,骨肉瘤的移植瘤多为 F4/80(一种巨噬细胞标志物)阳性,且移植瘤的 TAM 表现为 M2 型。骨肉瘤细胞高表达 EGF,但骨肉瘤的生长仅受内皮生长因子受体(EGFR)及 TAM 调控,与 EGF 无关。Pahl 等^[15]研究证实,脂质胞壁三肽与 IFN- γ 共同诱导极化的 M1 型 TAM 能抑制骨肉瘤细胞生长;当骨肉瘤细胞株与西妥昔单抗共同培养时,IL-10 诱导极化的 M2 型 TAM 也能抑制骨肉瘤细胞的生长。因此,M2 型 TAM 在某些因素作用下,也可能抑制骨肉瘤的生长。但 TAM 对骨肉瘤生长的影响机制尚待进一步研究。

2.2 对骨肉瘤血管新生的影响

肿瘤血管新生是指在原有血管的基础上,各种因素通过内皮细胞增殖、细胞外基质(ECM)降解及内皮细胞迁移、重构,以出芽的方式形成新的血管,进入肿瘤组织内,为肿瘤发生发展提供必要条件,是肿瘤十大特征之一。促进肿瘤血管新生的因子包括 VEGF、EGF、成纤维细胞生长因子(FGF)及 TGF- β 等,其中以 VEGF 的促血管生成作用最为重要,它能与内皮细胞的特异性受体 flt 和 flt/KDR 结合,促进内皮细胞增殖,刺激新生血管形成^[20]。同时,MMP 能破坏 ECM,诱导内皮细胞迁移,也能促进血管新生^[21]。骨肉瘤的发生发展过程也需要血管。

骨肉瘤中的 VEGF 能激活磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号转导通路,使骨肉瘤微血管密度(MVD)增加,促进血管生成^[22]。大量研究发现,精子相关抗原-9^[23]、骨膜蛋白^[24]及 IL-6^[25]均能通过提高骨肉瘤中 VEGF 的表达促进其血管新生。骨肉瘤组织中高表达的低氧诱导因子(HIF)-1 α 与 MVD 的增加呈正相关,是患者预后不良的重要因素^[26]。

TAM 能分泌各种促血管生成因子(如 VEGF、FGF、MMP-9 等)参与血管新生的每个过程。大量研究^[27]证实,TAM 易聚集在肿瘤组织的低氧部位,而肿瘤组织的低氧环境能促使 TAM 中 HIF-1 α 活性增高,从而分泌大量 VEGF 及 MMP 等促血管生成因子,促进血管新生。研究发现,在多种恶性肿瘤如胶质母细胞瘤^[28]、乳腺癌^[29]及胃癌^[30]等中,TAM 能通过促进肿瘤组织中 VEGF 的表达以促进肿瘤血管新生,是导致患者预后不良的重要因素。Werno 等^[31]研究发现,在敲除 HIF-1 α 基因的乳腺癌中,TAM 向 M2 型极化,肿瘤组织血管再生能力减弱。上述研究结果与一般认为 M2 型 TAM 促进肿瘤血管新生的观点相悖,有待进一步论证。Segaliny 等^[32]研究发现,IL-34 能使巨噬细胞在骨肉瘤组织中聚集,促进骨肉瘤血管新生。因此,VEGF 是骨肉瘤血管新生最重要的影响因素,骨肉瘤组织中浸润的 TAM 可能通过促进 VEGF 表达来诱导骨肉瘤新生血管生成,但具体机制尚需进一步探索。

2.3 抑制骨肉瘤转移

肿瘤转移是指肿瘤从原发灶通过淋巴管、血管或直接蔓延等多种途径到达其他部位继续生长的过程。上皮间质化(EMT)是指在多种因素影响下,上皮细胞黏附能力减弱,而运动能力增强,失去细胞极性,转变为具有转移能力的间充质表型上皮细胞的过程,是肿瘤发生转移的起始阶段。Notch 信号转导通路能激活骨肉瘤 EMT,促进骨肉瘤转移^[33];Wnt 信号转导通路的配体及受体在骨肉瘤细胞株中高表达,能提高骨肉瘤转移的能力^[34]。骨肉瘤组织中的 VEGF^[35]、埃兹蛋白^[36]及趋化因子受体 CXCR3^[37]等水平也与骨肉瘤的转移呈正相关。Cheng 等^[38]研究发现,重楼皂苷Ⅶ能激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号转导通路,下调 MMP-2 及 MMP-9 水平,减少 ECM 降解,抑制骨肉瘤转移。

在肿瘤转移过程中,TAM 既能上调 MMP 水平使 ECM 降解^[39],又能通过激活多种信号转导通路激活 EMT^[40]。Liu 等^[41]研究发现,M2 型 TAM 可通过激活 Toll 样受体(TLR)4/IL-10 信号转导通路促进波形蛋白、上皮细胞钙黏蛋白等间充质细胞标志物表达,提高 MMP-9、MMP-2 的活性,激活 EMT,介导胰腺癌转移。Lee 等^[42]研究发现,M2 型 TAM 可激活 Gas6/Axl-NF- κ B17 信号转导通路,促进 EMT,介导口腔癌转移。Lin 等^[43]研究发现,M2 型 TAM 能分泌趋化因子 CCL18,下调 miRNA-98 和 miRNA-27b 基因表达,激活 EMT,介导乳腺癌转移。

综上所述,多数恶性肿瘤中高度浸润的 TAM 主要表现为 M2 型,可促进肿瘤转移。Buddingh 等^[44]研究发现,在高度恶性的骨肉瘤中,TAM 同时具备 M1 型及 M2 型 TAM 的特点,且 TAM 数量越多,骨肉瘤患者发生转移的概率越低,生存期越长,提示在高度恶性骨肉瘤中,TAM 可能主要表现为 M1 型 TAM 的特点,即抑制骨肉瘤转移,但 TAM 如何抑制骨肉瘤转移尚需进一步研究。

2.4 上调骨肉瘤肿瘤干细胞样表型

肿瘤干细胞(CSC)是恶性肿瘤中一小群具有自我更新能力、高度耐药性及多种分化潜能且增殖迅速的细胞,与肿瘤的发生、复发、转移及耐药密切相关^[45]。Lapidot 等^[46]首次通过实验发现人类急性髓性白血病中存在 CSC,之后学者们陆续从多种实体肿瘤如胰腺癌、肝癌、肺癌及胃癌等中分离出 CSC。Gibbs 等^[47]于 2005 年首次从骨肉瘤中分离出 CSC,其特征为高表达 MSC 特有的表面标志物如 CD133、CD177 和 Sro-1。随着研究的深入,学者们^[48]发现 Oct3/4 和 Nanog 蛋白等也可作为骨肉瘤 CSC 样表型的标志物。TGF- β 1 信号转导通路^[49]、Notch 信号转导通路^[50]能上调骨肉瘤 CSC 样表型,而 Wnt 信号转导通路^[51]能抑制骨肉瘤 CSC 样表型上调。

研究^[52]表明,TAM 能促进 CSC 样表型上调。TAM 能通过激活 TGF- β 1 信号转导通路导致 EMT,促进肝细胞癌 CSC 样表型上调,但 EMT 介导 CSC 样表型上调具体机制尚需进一步研究^[53]。此外,TAM 也可通过调控 EGFR/Stat3/Sox-2 信号转导通路上调 Scal-1 和 ABCG2 等 CSC 样表型^[54]。在大多数恶性肿瘤中,TAM 通过不同信号转导通路上调 CSC 样表型。因此,骨肉瘤中的 TAM 也有

可能通过 TGF- β 1 信号转导通路促进 EMT,上调 CSC 样表型。而 TAM 上调骨肉瘤 CSC 样表型的机制以及骨肉瘤中 CSC 对 TAM 极化的影响,有待进一步研究与探索。

3 结语

TAM 在肿瘤发生发展过程中扮演重要角色。促进 M2 型 TAM 向 M1 型转化,从而抑制肿瘤的发生发展是目前研究的热点。研究^[55]表明,丙酮酸激酶(PK)M2 能促进 TAM 向 M2 型极化。Liu 等^[56]研究发现,PKM2 在骨肉瘤中高表达,其为导致骨肉瘤患者预后不良的重要因素,这或许能为骨肉瘤 TAM 的研究提供新的方向。TAM 在骨肉瘤中的作用研究尚处于初始阶段,存在诸多问题。大多数研究将 CD163 作为 M2 型 TAM 的表型标志物,但 CD163 在树突状细胞等中也有表达^[57]。TAM 在骨肉瘤中主要表现为何种表型可能与骨肉瘤分期及分化程度有关。骨肉瘤微环境如何影响 TAM 表型变化及 TAM 与骨肉瘤相互作用机制,尚需进一步探索。

参考文献

- [1] Morrow JJ, Khanna C. Osteosarcoma genetics and epigenetics: emerging biology and candidate therapies[J]. Crit Rev Oncog, 2015, 20(3-4):173-197.
- [2] Luetke A, Meyers PA2, Lewis I, et al. Osteosarcoma treatment - where do we stand? A state of the art review[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(4):523-532.
- [3] Alfranca A, Martinez-Cruzado L, Tornin J, et al. Bone microenvironment signals in osteosarcoma development[J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(16):3097-3113.
- [4] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. Nat Med, 2013, 19(11):1423-1437.
- [5] Atanasov G, Hau HM, Dietel C, et al. Prognostic significance of macrophage invasion in hilar cholangiocarcinoma [J]. BMC Cancer, 2015, 15:790.
- [6] Xuan W, Qu Q, Zheng B, et al. The chemotaxis of M1 and M2 macrophages is regulated by different chemokines[J]. J Leukoc Biol, 2015, 97(1):61-69.
- [7] Zhang J, Zhou Q, Yuan G, et al. Notch signaling regulates M2 type macrophage polarization during the development of proliferative vitreoretinopathy[J]. Cell Immunol, 2015, 298(1-2):77-82.
- [8] Biswas SK, Lewis CE. NF- κ B as a central regulator of macrophage function in tumors[J]. J Leukoc Biol, 2010, 88(5):877-884.
- [9] Shirabe K, Mano Y, Muto J, et al. Role of tumor-associated macrophages in the progression of hepatocellular carcinoma

- [J]. Surg Today, 2012, 42(1):1-7.
- [10] Kurahara H, Shinchi H, Matak Y, et al. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer[J]. J Surg Res, 2011, 167(2):e211-e219.
- [11] Wu H, Xu JB, He YL, et al. Tumor-associated macrophages promote angiogenesis and lymphangiogenesis of gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2012, 106(4):462-468.
- [12] Yang P, Yin K, Zhong D, et al. Inhibition of osteosarcoma cell progression by MacroH2A via the downregulation of cyclin D and cyclin-dependent kinase genes [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(3):1905-1910.
- [13] Ma Y, Zhu B, Liu X, et al. Inhibition of oleandrin on the proliferation show and invasion of osteosarcoma cells in vitro by suppressing Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34:115.
- [14] Li WH, Wu HJ, Li YX, et al. MicroRNA-143 promotes apoptosis of osteosarcoma cells by caspase-3 activation via targeting Bcl-2[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 80:8-15.
- [15] Klamt C. EGF receptor signalling: the importance of presentation[J]. Curr Biol, 2000, 10(10):R388-R391.
- [16] Hu HL, Bai HS, Pan HX. Correlation between TAMs and proliferation and invasion of type I endometrial carcinoma[J]. Asian Pac J Trop Med, 2015, 8(8):643-650.
- [17] Yang C, He L, He P, et al. Increased drug resistance in breast cancer by tumor-associated macrophages through IL-10/STAT3/bcl-2 signaling pathway [J]. Med Oncol, 2015, 32(2):352.
- [18] Xiao Q, Zhang X, Wu Y, et al. Inhibition of macrophage polarization prohibits growth of human osteosarcoma [J]. Tumour Biol, 2014, 35(8):7611-7616.
- [19] Pahl JH, Kwappenberg KM, Varypataki EM, et al. Macrophages inhibit human osteosarcoma cell growth after activation with the bacterial cell wall derivative liposomal muramyl tripeptide in combination with interferon- γ [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2014, 33:27.
- [20] Belair DG, Miller MJ, Wang S, et al. Differential regulation of angiogenesis using degradable VEGF-binding microspheres [J]. Biomaterials, 2016, 93:27-37.
- [21] Deryugina EI, Quigley JP. Tumor angiogenesis: MMP-mediated induction of intravasation- and metastasis-sustaining neovasculature[J]. Matrix Biol, 2015, 44-46:94-112.
- [22] Peng N, Gao S, Guo X, et al. Silencing of VEGF inhibits human osteosarcoma angiogenesis and promotes cell apoptosis via VEGF/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(2):1005-1015.
- [23] Yang X, Zhou W, Liu S. SPAG9 controls the cell motility, invasion and angiogenesis of human osteosarcoma cells[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(2):637-644.
- [24] Hu F, Shang XF, Wang W, et al. High-level expression of periostin is significantly correlated with tumour angiogenesis and poor prognosis in osteosarcoma[J]. Int J Exp Pathol, 2016, 97(1):86-92.
- [25] Tzeng HE, Tsai CH, Chang ZL, et al. Interleukin-6 induces vascular endothelial growth factor expression and promotes angiogenesis through apoptosis signal-regulating kinase 1 in human osteosarcoma[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(4):531-540.
- [26] Ren HY, Zhang YH, Li HY, et al. Prognostic role of hypoxia-inducible factor-1 α expression in osteosarcoma: a meta-analysis[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9:1477-1487.
- [27] Ribatti D, Nico B, Crivellato E, et al. Macrophages and tumor angiogenesis [J]. Leukemia, 2007, 21 (10):2085-2089.
- [28] Peterson TE, Kirkpatrick ND, Huang Y, et al. Dual inhibition of Ang-2 and VEGF receptors normalizes tumor vasculature and prolongs survival in glioblastoma by altering macrophages[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(16):4470-4475.
- [29] Surendra P, Yulius H, Angelina S, et al. The correlation between TAM, MVD, VEGF and MMP-9 expressions among various histological progression, histological grading and staging of breast cancer[J]. J Med Sci, 2012, 44(1):41-48.
- [30] Wu H, Xu JB, He YL, et al. Tumor-associated macrophages promote angiogenesis and lymphangiogenesis of gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2012, 106(4):462-468.
- [31] Werno C, Menrad H, Weigert A, et al. Knockout of HIF-1 α in tumor-associated macrophages enhances M2 polarization and attenuates their pro-angiogenic responses [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(10):1863-1872.
- [32] Segaliny AI, Mohamadi A, Dizier B, et al. Interleukin-34 promotes tumor progression and metastatic process in osteosarcoma through induction of angiogenesis and macrophage recruitment[J]. Int J Cancer, 2015, 137(1):73-85.
- [33] Ongaro A, Pellati A, Bagheri L, et al. Characterization of notch signaling during osteogenic differentiation in human osteosarcoma cell line MG63[J]. J Cell Physiol, 2016, 231 (12):2652-2663.
- [34] Zhao S, Kurenbekova L, Gao Y, et al. NKD2, a negative regulator of Wnt signaling, suppresses tumor growth and metastasis in osteosarcoma[J]. Oncogene, 2015, 34(39):5069-5079.
- [35] Ohba T, Cates JM, Cole HA, et al. Autocrine VEGF/VEGFR1 signaling in a subpopulation of cells associates with aggressive osteosarcoma[J]. Mol Cancer Res, 2014, 12(8):1100-1111.
- [36] Ren L, Khanna C. Role of ezrin in osteosarcoma metastasis [J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 804:181-201.
- [37] Rao-Bindal K, Zhou Z, Kleinerman E. MS-275 sensitizes osteosarcoma cells to fas ligand-induced cell death by

- increasing the localization of fas in membrane lipid rafts[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3(8):e369.
- [38] Cheng G, Gao F, Sun X, et al. Paris saponin VII suppresses osteosarcoma cell migration and invasion by inhibiting MMP-2/9 production via the p38 MAPK signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4):3199-3205.
- [39] Gao F, Liang B, Reddy ST, et al. Role of inflammation-associated microenvironment in tumorigenesis and metastasis[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2014, 14(1):30-45.
- [40] Zhang F, Wang H, Wang X, et al. TGF- β induces M2-like macrophage polarization via SNAIL-mediated suppression of a pro-inflammatory phenotype[J]. *Oncotarget*, 2016, [Epub ahead of print].
- [41] Liu CY, Xu JY, Shi XY, et al. M2-polarized tumor-associated macrophages promoted epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells, partially through TLR4/IL-10 signaling pathway[J]. *Lab Invest*, 2013, 93(7):844-854.
- [42] Lee CH, Liu SY, Chou KC, et al. Tumor-associated macrophages promote oral cancer progression through activation of the Axl signaling pathway[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(3):1031-1037.
- [43] 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.
- [44] Buddingh EP, Kuijjer ML, Duim RA, et al. Tumor-infiltrating macrophages are associated with metastasis suppression in high-grade osteosarcoma; a rationale for treatment with macrophage activating agents[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2110-2119.
- [45] Tirino V, Desiderio V, Paino F, et al. Cancer stem cells in solid tumors: an overview and new approaches for their isolation and characterization[J]. *FASEB J*, 2013, 27(1):13-24.
- [46] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice[J]. *Nature*, 1994, 367(6464):645-648.
- [47] Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD, et al. Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis [J]. *Neoplasia*, 2005, 7(11):967-976.
- [48] Basu-Roy U, Basilico C, Mansukhani A. Perspectives on cancer stem cells in osteosarcoma[J]. *Cancer Lett*, 2013, 338(1):158-167.
- [49] Zhang H, Wu H, Zheng J, et al. Transforming growth factor β 1 signal is crucial for dedifferentiation of cancer cells to cancer stem cells in osteosarcoma[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(3):433-446.
- [50] Yan GN, Lv YF, Guo QN. Advances in osteosarcoma stem cell research and opportunities for novel therapeutic targets[J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(2):268-274.
- [51] Basu-Roy U, Seo E, Ramanathapuram L, et al. Sox2 maintains self renewal of tumor-initiating cells in osteosarcomas [J]. *Oncogene*, 2012, 31(18):2270-2282.
- [52] Wan S, Zhao E, Kryczek I, et al. Tumor-associated macrophages produce interleukin 6 and signal via STAT3 to promote expansion of human hepatocellular carcinoma stem cells[J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(6):1393-1404.
- [53] Fan QM, Jing YY, Yu GF, et al. Tumor-associated macrophages promote cancer stem cell-like properties via transforming growth factor-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2014, 352(2):160-168.
- [54] Yang J, Liao D, Chen C, et al. Tumor-associated macrophages regulate murine breast cancer stem cells through a novel paracrine EGFR/Stat3/Sox-2 signaling pathway[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(2):248-258.
- [55] Palsson-McDermott EM, Curtis AM, Goel G, et al. Pyruvate kinase M2 regulates Hif-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the warburg effect in LPS-activated macrophages[J]. *Cell Metab*, 2015, 21(1):65-80.
- [56] Liu ZX, Hong L, Fang SQ, et al. Overexpression of pyruvate kinase M2 predicts a poor prognosis for patients with osteosarcoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, [Epub ahead of print].
- [57] O'Keeffe M, Mok WH, Radford KJ. Human dendritic cell subsets and function in health and disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(22):4309-4325.

(收稿:2016-09-15;修回:2016-10-08)

(本文编辑:李圆圆)