

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.06.006

· 基础研究 ·

CCL20 通过 AKT/MMP3 轴而非 EMT 途径诱导结肠癌 SW480 细胞的侵袭和转移

程先硕¹, 杨芳¹, 董坚¹, 李云峰¹, 杨之斌¹, 张洪涛¹, 沈焘¹, 刘萍¹, 殷正丰², 李强¹ (1. 昆明医科大学 第三附属医院暨云南省肿瘤医院 结直肠外科, 云南 昆明 650118; 2. 上海东方肝胆外科医院 分子肿瘤实验室, 上海 200438)

[摘要] **目的:** 探讨趋化因子 CCL20/CCR6 促进结肠癌 SW480 细胞侵袭和迁移的分子机制。 **方法:** 筛选高表达 CCR6 的结肠癌 SW480 细胞, 加入外源性重组人 CCL20 后, 采用 Transwell、划痕愈合实验检测其侵袭和迁移能力, 以免疫荧光、WB 实验检测 SW480 细胞 EMT 标志蛋白、AKT 信号蛋白以及靶标蛋白 MMP3 的表达; 通过 MK2206 阻断实验验证 AKT 信号是其作用机制, 通过 TCGA 数据库资源 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 分析 CCL20 和 MMP3 在结直肠癌组织中的表达水平及其相关性。 **结果:** 趋化因子 CCL20 能够明显促进结肠癌 SW480 细胞侵袭和迁移 (均 $P < 0.01$), 其间并不伴随细胞的 EMT 变化, 而是通过 AKT 信号的激活及下游靶标蛋白 MMP3 表达上调是其诱因之一; 阻断 AKT 信号能够明显抑制 SW480 细胞侵袭和迁移能力, 且下调 MMP3 的表达水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。 TCGA 平台数据提示, 结肠癌组织中 CCL20 和 MMP3 的表达明显高于正常肠黏膜组织, 且两者呈明显正相关 ($r = 0.051$, $P < 0.01$)。 **结论:** 趋化因子 CCL20 通过 AKT/MMP3 信号轴而非 EMT 机制促进结肠癌 SW480 细胞的侵袭和迁移。

[关键词] 结肠癌 SW480 细胞; CCL20; CCR6; 基质金属蛋白酶 3; 上皮间质转化

[中图分类号] R392.12; R735.3*5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)06-0650-06

AKT/MMP3 activation, not EMT pathway, participates in CCL20-induced invasion and migration of colon cancer SW480 cells

CHENG Xianshuo¹, YANG Fang¹, DONG Jian¹, LI Yunfeng¹, YANG Zhibin¹, ZHANG Hongtao¹, SHEN Tao¹, LIU Ping¹, YIN Zheng-feng², LI Qiang¹ (1. Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Tumor Hospital of Yunnan Province, Kunming 650118, Yunnan, China; 2. Molecular Oncology Laboratory, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Shanghai 200438, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the molecular mechanism of chemokine CCL20/CCR6 in promoting invasion and migration of colon cancer SW480 cells. **Methods:** Colorectal cancer SW480 cells with high expression of CCR6 receptor were screened by immunohistochemistry (IHC). After co-culture with recombinant human CCL20, the invasion and migration of SW480 cells were detected by Transwell assay and Wound-Healing assay, respectively. Expressions of EMT markers, AKT signal protein and target protein MMP3 were detected by immunofluorescence (IF) and WB. AKT signaling pathway as the key mechanism was confirmed by MK2206 blocking assay. The expressions of CCL20 and MMP3 in colorectal cancer tissues as well as their correlation were analyzed by TCGA database resources (<https://portal.gdc.cancer.gov/>). **Results:** CCL20 promoted the invasion and migration ability of SW480 cells significantly (all $P < 0.01$), and this was induced by activation of AKT signaling and up-regulation of downstream target protein MMP3, instead of EMT. Blocking AKT signaling could significantly inhibit the invasion and migration of SW480 cells, and down-regulate MMP3 expression ($P < 0.05$). TCGA platform data showed that the expressions of CCL20 and MMP3 in colorectal cancer tissues were significantly higher than those in normal mucosa tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and an evidently positive correlation was found between CCL20 and MMP3 ($r = 0.051$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The chemokine CCL20 promotes the invasion and migration of SW480 cells through AKT/MMP3 signal axis, but not the EMT.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81560472); 云南省卫生厅-昆明医科大学联合专项 [No. 2017FE468(-076)]; 云南省科技厅重点资助项目 (No. 2018FA040); 云南省结直肠肿瘤临床重点专科建设经费资助项目 (No. 2016-0137)。 Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81560472), Department of Health-Kunming Medical University Joint Project of Yunnan Province (No. 2017FE468 [-076]), Department of Science and Technology Key Foundation of Yunnan Province (No. 2018FA040), and the Funds for the Construction of Key Clinical Specialties of Colorectal Cancer in Yunnan Province (No. 2016-0137)

[作者简介] 程先硕 (1986-), 男, 硕士, 医师, 主要从事结直肠肿瘤临床及基础研究, E-mail: chegnxianshuo@sina.com

[通信作者] 李强 (LI Qiang, corresponding author), 硕士, 副主任医师, 主要从事结直肠肿瘤临床及基础研究, E-mail: liqiang1388838@sina.com

[Key words] colorectal cancer; CCL20; CCR6; matrix metalloproteinase 3 (MMP3); epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(6): 650-655. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.06.006]

结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CLM)是一个受多因素调控的、复杂的生物学过程,是结直肠癌患者死亡的主要原因,其发生机制至今仍不甚清楚^[1]。肿瘤微环境的改变^[2]、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生^[3]及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解^[4]等是肿瘤远处转移的重要机制。EMT是一个由上皮细胞向间质细胞转变从而形成间充质细胞的暂时性和可逆性过程。上皮细胞表型标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)表达缺失和间质细胞表型标志物波形蛋白(Vimentin, Vim)表达上调使得细胞丧失极性和细胞间连接、黏附力减弱,从而增强其侵袭和迁移能力^[5-7]。基质金属蛋白酶3(matrix metalloproteinase 3, MMP3)是一种由肿瘤细胞和间质细胞分泌的、可以降解、促使肿瘤细胞侵袭和迁移的蛋白酶。研究^[7]表明,MMP3在结直肠癌组织中表达明显上调,参与其远处转移。CCL20是肿瘤微环境成分中趋化因子家族的一个重要分子,CCR6是其唯一受体^[8-9]。本课题组前期研究^[3]显示,CCL20能够促使结肠腺癌细胞SW480侵袭和迁移,参与结直肠癌肝转移的过程。然而,关于机制探讨不够深入,EMT和MMP3是否参与CCL20诱导的SW480细胞侵袭转移,至今尚不十分明确。本研究选择高表达CCR6受体的SW480细胞,通过细胞和分子水平研究及TCGA数据库数据分析,探讨EMT和MMP3是否参与CCL20诱导的SW480细胞的侵袭和迁移,为明确其中的分子机制提供实验基础。

1 资料与方法

1.1 细胞株与主要试剂

人结肠腺癌细胞株SW480、Caco-2及LoVo细胞均购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。DMEM-F12、RPMI 1640培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和胰蛋白酶均购自Gibco公司,兔抗人CCL20单克隆抗体、小鼠抗人CCR6单克隆抗体、小鼠抗人MMP3抗体均购自Abcam公司,重组人巨噬细胞炎性蛋白3 α (recombinant human recombinant macrophage inflammatory protein-3 α , MIP3 α 或CCL20)购自R&D公司,Matrigel胶购自BD公司,AKT阻断剂MK2206购自Selleck化学制品公司,GAPDH抗体购自康成生物公司。

1.2 细胞培养及分组

SW480、Caco-2和LoVo细胞的培养均使用含青霉素、链霉素及10% FBS的RPMI 1640培养于5%

CO₂、37℃孵箱。实验分组为空白对照组、CCL20组、CCL20+MK2206组和CCL20+Anti-CCR6组。课题组前期研究^[3]提示,CCL20在100 ng/ml时对SW480细胞增殖和侵袭能力的影响最强,1 μ mol/ml的MK2206对SW480细胞侵袭和转移能力无明显影响,但能明显阻断AKT信号。因此,选用100 ng/ml CCL20、1 μ mol/ml MK2206进行本研究。根据说明书,使用10 μ g/ml CCR6抗体进行CCR6特异性阻断实验。

1.3 免疫组化染色检测结肠癌细胞系中CCR6受体表达

按照 2.5×10^5 个/孔细胞密度将各组细胞接种于6孔板中多聚赖氨酸处理后的玻片上,培养24 h。取出玻片,免疫组织化学检测SW480、Caco-2和LoVo细胞CCR6受体的表达。10%中性甲醛固定30 min,0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液抗原修复,过氧化物阻断酶阻断,非免疫动物血清封闭,使用CCR6(1:1 000~1:2 000)抗体孵育,4℃过夜,次日辣根过氧化物酶标记的第二抗体孵育1 h,DAB显色,中性树脂封片并采集图片。CCR6阳性表达呈棕黄色颗粒状,表达定位于细胞膜。依据IRS系统^[10]进行评分:IRS(分)=染色程度(SI)×阳性细胞率(PP)。染色强弱判断标准:0分,阴性;1分,弱阳性;2~3分,中度阳性;4分,强阳性。阳性细胞率判断标准:0分,0%;1分,1%~10%;2分,11%~50%;3分,51%~80%;4分,81%~100%。IRS判断标准:-,0~3分;+,4~6分;++,7~9分;+++ ,10~12分。评分分别由2名人员独立进行。

1.4 划痕愈合实验检测SW480细胞的迁移能力

按照 80×10^5 /孔的细胞密度将SW480细胞种植于Matrigel包被的6孔培养板中。次日,将细胞分为空白对照组、CCL20组、CCL20+MK2206组和CCL20+Anti-CCR6组,使用白色枪头沿着无菌直尺划痕,PBS洗涤3次,除去划下的细胞。置入孵箱培养,且按0、12、24、48 h取样,拍照。图片经Imagine J软件计算迁移率后进行统计分析。

1.5 Transwell实验检测SW480细胞的侵袭能力

用Matrigel胶包被Transwell小室底部膜的上室面;将空白对照组、CCL20组、CCL20+MK2206组和CCL20+Anti-CCR6组的细胞消化制成 50×10^5 /ml细胞密度的细胞悬液,以200 μ l/孔的量加入Transwell小室,下室分别加入500 μ l条件培养基,24 h后取出小室,结晶紫染色,于显微镜下随机取16个视野计数穿至小室底部膜细胞数目。

1.6 WB检测SW480细胞AKT相关信号蛋白及

MMP3 的表达

提取各组细胞的总蛋白,用BCA法检测蛋白浓度后,使用8% SDS-PAGE胶分离蛋白,转膜至PVDF膜;孵育相应抗体(1:1 000~1:2 000),4 °C过夜,次日HRP标记的二抗(1:1 000)室温孵育1 h,经ECL显色,曝光,采集图片。WB数据采用Quantity One软件(Bio-Rad公司)进行灰度分析,以GAPDH为内参。

1.7 通过数据库信息分析结肠癌组织中CCL20和MMP3 mRNA的表达

通过TCGA数据平台(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载结肠癌组织和癌旁组织基因表达数据及其相关的临床数据,其中未检测CCL20和MMP3的病例给予排除,原始数据取log对数值,根据其表达量的中位数将病例分为高表达组和低表达组。

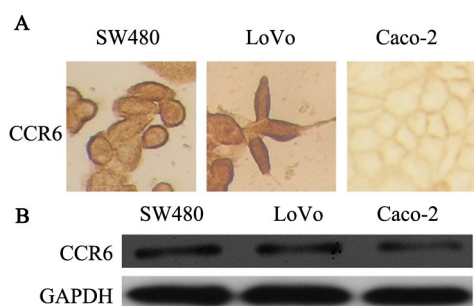
1.8 统计学处理

以上1.3~1.6实验均重复3次,获得的所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS16.0统计学软件进行分析,组间比较采用 t 检验和单因素ANOVA方差分析,相关性分析采用Spearman检验。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌细胞系中CCR6表达差异

免疫组化检测结果(图1A)显示,3株人结肠腺癌细胞SW480、Caco-2和LoVo均不同程度地表达CCR6受体,且均表达定位于细胞膜。WB检测结果(图1B)显示,SW480和LoVo细胞中CCR6的表达水平高于Caco-2细胞(0.41 ± 0.09 、 0.38 ± 0.13 vs 0.21 ± 0.07 ,均 $P<0.01$)。因LoVo细胞形态呈梭形,不便于后续EMT形态学观察,因此,本研究最终选择SW480细胞作为研究对象。



A: Immunohistochemistry ($\times 400$); B: WB

图1 CCR6受体在3株人肠腺癌细胞SW480、Caco-2和LoVo中的表达

Fig.1 Expression of CCR6 receptor in three human intestinal adenocarcinoma cell lines (SW480, Caco-2 and LoVo)

2.2 CCL20促进结肠癌SW480细胞侵袭和迁移

划痕愈合实验检测结果(图2A)显示,在PBS空白对照组中,划痕边缘SW480细胞缓慢向中央爬行,修复缓慢,其迁移率明显低于CCL20处理组[(9.83 ± 4.83)% vs (31.67 ± 7.53)%, $P<0.01$]。Transwell实验检测结果(图2B)显示,PBS对照组穿膜数明显低于CCL20处理组的细胞穿膜数[(27.33 ± 4.04) vs (93.3 ± 3.05)个, $P<0.01$]。结果表明,趋化因子CCL20能明显促进SW480细胞侵袭和迁移。

使用10 $\mu\text{g/ml}$ CCR6中和抗体阻断CCR6受体信号后,划痕愈合实验和Transwell结果分别显示,SW480细胞迁移率为(5.00 ± 2.09)%(图2A)、细胞穿膜数为(35.00 ± 4.58)个/视野(图2B),两者均显著低于CCL20处理组(均 $P<0.01$),而与空白对照组未见明显差别($P>0.05$)。结果表明,CCL20通过CCR6受体促进的结肠癌SW480细胞侵袭和迁移。

使用1 $\mu\text{mol/L}$ MK2206处理结肠癌SW480细胞阻断AKT途径后,划痕愈合实验和Transwell结果分别提示,SW480细胞迁移率为(7.33 ± 4.94)%(图2A),细胞穿膜数为(33.67 ± 3.06)个/视野(图2B),均低于CCL20处理组(均 $P<0.01$),与空白对照组和Anti-CCR6组未见明显差别($P>0.05$)。结果表明,AKT信号活化参与了CCL20诱导的结肠癌SW480细胞的侵袭和迁移。

2.3 趋化因子CCL20不能诱导结肠癌SW480细胞发生EMT

通过倒置显微镜对SW480细胞形态观察发现,经CCL20处理24 h后的细胞形态未见明显变化,仍为圆形、鹅卵石状规则排列。经1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度MK2206预处理后,CCL20同样不能改变SW480细胞的形态。免疫荧光和WB法对EMT标志检测结果提示,CCL20处理24 h后,SW480细胞上皮标志物E-cad和间质标志物Vim表达均无明显变化($P>0.05$)(图3、5)。

2.4 基于TCGA信息分析的结肠癌组织中CCL20和MMP3的表达及其相关性

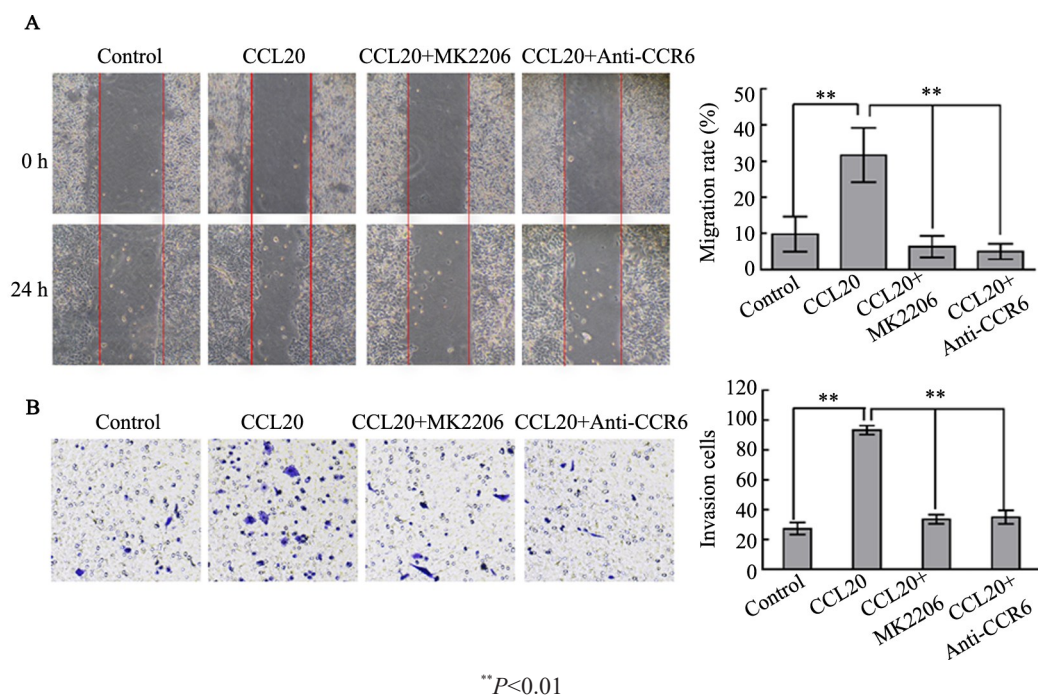
通过TCGA平台共下载51例正常肠黏膜组织和647例结肠癌组织的基因检测数据显示,癌组织中CCL20的表达量明显高于正常肠黏膜组织(10.27 ± 1.73 vs 9.48 ± 1.18 , $t=3.222$, $P<0.01$;图4A)。癌组织中MMP3的表达水平明显高于正常肠黏膜组织(9.38 ± 2.33 vs 5.24 ± 1.62 , $t=12.46$, $P<0.01$;图4B);Spearman分析发现,癌组织中CCL20的表达与MMP3的表达呈明显正相关($r=0.051$, $P<0.01$;图4C)。

2.5 活化AKT上调的MMP3参与CCL20诱导的结肠癌SW480细胞侵袭和迁移

WB结果(图5)显示,CCL20尽管不能改变SW480细胞E-cad和Vim表达,但能明显激活AKT信

号,且伴随MMP3表达上调,经MK2206预处理阻断AKT活化后,CCL20不能促使MMP3的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果表明,CCL20/CCR6通过活化AKT

信号途径、上调MMP3表达而降解ECM,从而促使SW480细胞侵袭和迁移,其中并未激活EMT途径。



A: Wound-healing assay for the migration of colorectal cancer SW480 cells after exposure to CCL20 ($\times 100$);
B: Invasion of SW480 cells after exposure to CCL20 ($\times 200$).

图2 CCL20对SW480细胞侵袭和迁移能力的影响

Fig. 2 Effect of CCL20 on invasion and migration of SW480 cells

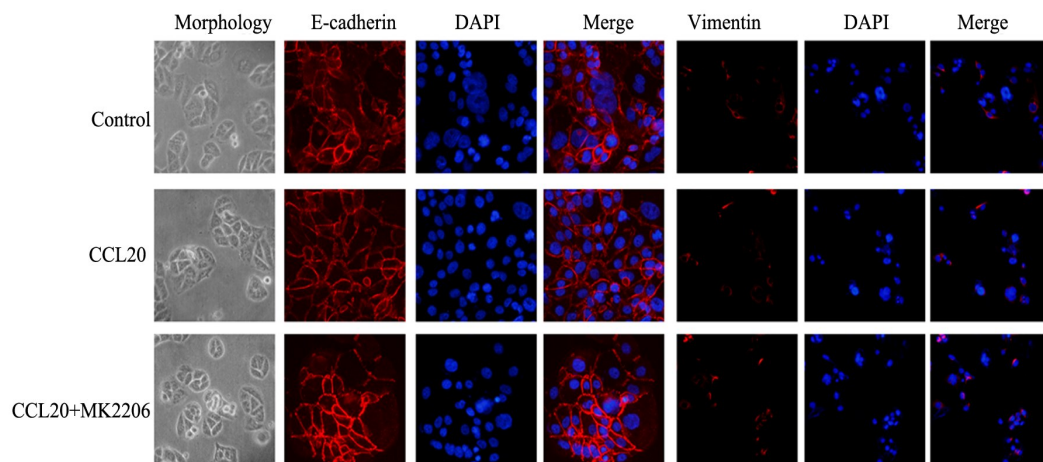


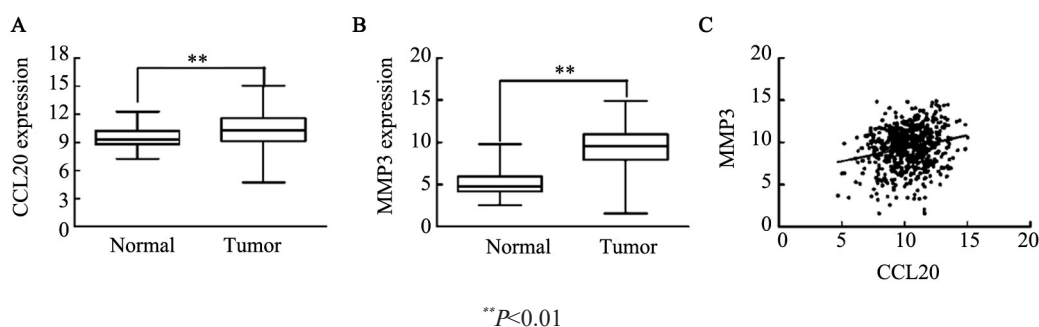
图3 CCL20对SW480细胞EMT相关标志物的影响(免疫荧光染色, $\times 200$)

Fig.3 Effect of CCL20 on EMT-related markers in SW480 cells(Immunofluorescence staining, $\times 200$)

3 讨论

CCL20是CC类趋化因子家族成员之一,可通过其唯一受体CCR6趋使DC、T细胞等免疫细胞定向迁移而发挥较强的募集作用。结肠癌组织中的CCL20可以通过癌细胞自分泌和旁分泌途径参与肝转移^[10]。有研究^[11-13]显示,结肠癌原发灶中CCR6的

表达是正常肠黏膜组织的8倍,结肠癌肝转移灶中CCR6的表达低于原发灶,仅为正常肠黏膜中的4倍;结肠癌组织中CCL20表达则是正常肠黏膜的2.5倍,且与肿瘤分级、分期以及肝脏、淋巴结等远处转移密切相关。本课题组前期研究^[5,14]发现,结肠癌组织中CCL20表达阳性率达到63.9%,与肿瘤大小、肿瘤浸润和肝转移密切相关。



A: Expression of CCL20 in cancer and normal tissues; B: Expression of MMP3 in cancer and normal tissues; C: Analysis of correlation between CCL20 and MMP3

图4 CCL20和MMP3在癌组织和正常组织中表达及其相关性

Fig.4 Expression of and correlation between CCL20 and MMP3 in tumor and normal tissues

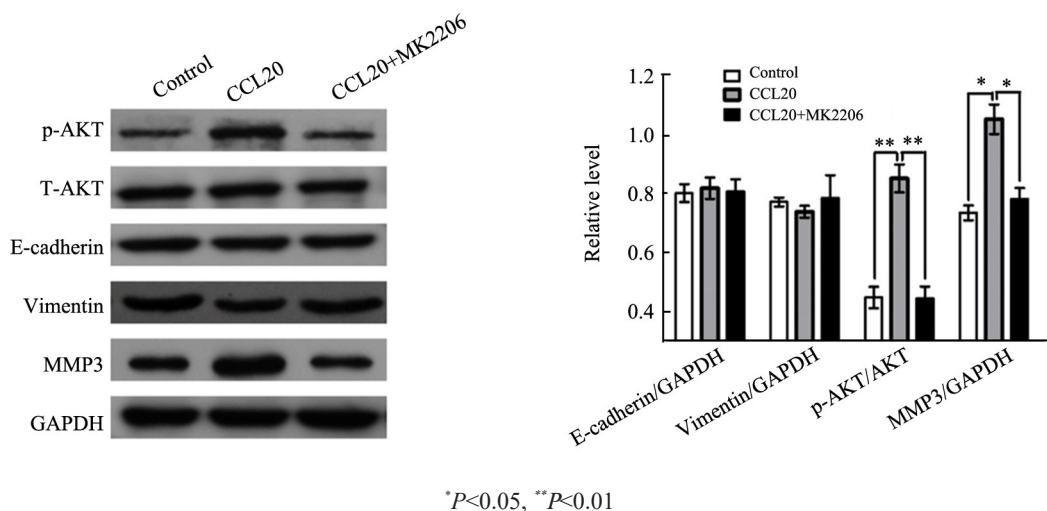


图5 CCL20诱导及MK2206阻断对EMT标志蛋白和AKT通路的影响

Fig.5 Effects of CCL20 inducing and MK2206 blocking on the expression of EMT marker proteins and AKT pathway

有研究^[15-16]表明,CCL20通过与其受体CCR6结合后可以激活ERK1/2、SAPK/JNK和AKT等多条信号转导通路,促进结肠癌及其他肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。本研究发现,100 ng/ml CCL20能有效促进结肠癌SW480细胞侵袭和迁移,阻断CCR6受体后,其侵袭和迁移能力明显受抑制。胞内信号分子检测发现,CCL20能够明显激活AKT信号,在MK2206预处理SW480细胞后,其AKT信号的活化受到显著抑制,同时伴随细胞侵袭转移能力的下降。因此,AKT信号的活化参与CCL20/CCR6诱导的结肠癌SW480细胞侵袭和迁移。

肿瘤上皮细胞可以通过EMT过程“褪去”已分化细胞所具有的细胞间黏附、细胞极性、细胞缺乏运动能力等特点,细胞形态发生明显的梭形等变化,从而获得间质细胞的特征,如迁移、侵袭和抗凋亡能力增强等。因此,EMT被视为肿瘤细胞发生局部浸润及远处转移的一个重要起始步骤^[3]。研究^[17]表明,趋化因子是诱导肿瘤细胞发生EMT的一类重要分子。然

而本研究发现,尽管CCL20提升SW480细胞的侵袭和迁移能力,然而并未诱导SW480细胞形态学及EMT相关标志发生改变。

肿瘤细胞、间质细胞及ECM构建的肿瘤微环境在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[18]。ECM由蛋白多糖、糖胺聚糖以及明胶酶、溶基质素等多种大分子蛋白和蛋白酶构成,并形成一个天然屏障,防止肿瘤细胞侵袭转移^[19]。外界环境改变导致的ECM重塑和降解是肿瘤侵袭和迁移的重要机制。MMP是一类Zn离子依赖蛋白酶家族,几乎能降解ECM中的所有成分^[4]。现有研究^[20]表明,多种细胞因子及其受体作用后可上调MMP表达而水解外周基质。本研究通过TCGA数据库分析发现,结肠癌组织中的CCL20和MMP3的表达明显高于正常肠黏膜组织,且CCL20的表达与MMP3表达呈明显正相关。上述研究提示,CCL20处理后的SW480细胞,其AKT信号活化的同时会伴随MMP3表达的上调,经MK2206预处理阻断AKT活化后,CCL20不能促使MMP3的表

达。因此, AKT信号活化后上调MMP3的表达, 促使ECM的降解是CCL20诱导结肠癌SW480细胞侵袭和迁移的重要机制。

综上所述, 趋化因子CCL20促进结肠癌细胞侵袭转移分子信号机制十分复杂, AKT/MMP3是其重要机制之一, 然而EMT并非其作用机制。该结果将为深入了解CCL20/CCR6轴参与结肠癌肝转移的机制及靶向CCL20/CCR6轴治疗结肠癌肝转移的策略提供实验依据。

[参考文献]

- [1] XU F, TANG B, JIN T Q, et al. Current status of surgical treatment of colorectal liver metastases[J/OL]. *World J Clin Cases*, 2018, 6(14): 716-734[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6264988/>. DOI:10.12998/wjcc.v6.i14.716.
- [2] EMON B, BAUER J, JAIN Y, et al. Biophysics of tumor microenvironment and cancer metastasis-A mini review[J/OL]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2018, 16: 279-287[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6097544/>. DOI: 10.1016/j.csbj.2018.07.003.
- [3] YAN L, XU F, DAI C L. Relationship between epithelial-to-mesenchymal transition and the inflammatory microenvironment of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 203[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6114477/>. DOI:10.1186/s13046-018-0887-z.
- [4] ZHOU H X, ZHU X M. Association between matrix-metalloproteinase polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis and systematic review[J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 5247-5259[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6223342/>. DOI:10.2147/CMAR.S177551.
- [5] CHENG X S, LI Y F, TAN J, et al. CCL20 and CXCL8 synergize to promote progression and poor survival outcome in patients with colorectal cancer by collaborative induction of the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Lett*, 2014, 348(1/2): 77-87. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.03.008.
- [6] SHEN T, YANG Z B, CHENG X S, et al. CXCL8 induces epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(4): 2095-2100. DOI: 10.3892/or.2017.5453.
- [7] 程先硕, 杨之斌, 殷正丰. 基质金属蛋白酶与肿瘤上皮间质转化的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(4): 437-440. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.019.
- [8] FRICK V O, RUBIE C, KEILHOLZ U, et al. Chemokine/chemokine receptor pair CCL20/CCR6 in human colorectal malignancy: An overview[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(2): 833-841[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4716081/>. DOI:10.3748/wjg.v22.i2.833.
- [9] NANDI B, PAI C, HUANG Q, et al. CCR6, the sole receptor for the chemokine CCL20, promotes spontaneous intestinal tumorigenesis[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97566[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4035256/>. DOI:10.1371/journal.pone.0097566.
- [10] GHADJAR P, RUBIE C, AEBERSOLD D M, et al. The chemokine CCL20 and its receptor CCR6 in human malignancy with focus on colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(4): 741-745. DOI: 10.1002/ijc.24468.
- [11] RUBIE C, OLIVEIRA V, KEMPF K, et al. Involvement of chemokine receptor CCR6 in colorectal cancer metastasis[J]. *Tumour Biol*, 2006, 27(3): 166-174. DOI:10.1159/000092777.
- [12] GHADJAR P, COUPLAND S E, NA I K, et al. Chemokine receptor CCR6 expression level and liver metastases in colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(12): 1910-1916. DOI:10.1200/JCO.2005.04.1822.
- [13] KAPUR N, MIR H, CLARK III C E, et al. CCR6 expression in colon cancer is associated with advanced disease and supports epithelial-to-mesenchymal transition[J/OL]. *Br J Cancer*, 2016, 114(12): 1343-1351[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4984452/>. DOI:10.1038/bjc.2016.113.
- [14] 蔡昕怡, 杨之斌, 李云峰. 趋化因子受体CCR6及其配体CCL20的表达与结直肠癌肝转移关系的实验研究[J]. *中国癌症杂志*, 2012, 22(7): 510-516. DOI:10.3969/j.issn.1007-3969.2012.07.006.
- [15] MUSCELLA A, VETRUGNO C, MARSIGLIANTE S. CCL20 promotes migration and invasiveness of human cancerous breast epithelial cells in primary culture[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(11): 2461-2473. DOI:10.1002/mc.22693.
- [16] BRAND S, OLSZAK T, BEIGEL F, et al. Cell differentiation dependent expressed CCR6 mediates ERK-1/2, SAPK/JNK, and Akt signaling resulting in proliferation and migration of colorectal cancer cells[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 97(4): 709-723. DOI: 10.1002/jcb.20672.
- [17] HAN G, WU D W, YANG Y, et al. CrkL mediates CCL20/CCR6-induced EMT in gastric cancer[J]. *Cytokine*, 2015, 76(2): 163-169. DOI:10.1016/j.cyto.2015.05.009.
- [18] NORIEGA-GUERRA H, FREITAS V M. Extracellular matrix influencing HGF/c-MET signaling pathway: impact on cancer progression[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): E3300[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6274944/>. DOI: 10.3390/ijms19113300.
- [19] YUZHANIN A E, LIM S Y, KUTIKHIN A G, et al. Dynamic matrix: ECM remodeling factors licensing cancer progression and metastasis[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2018, 1870(2): 207-228. DOI:10.1016/j.bbcan.2018.09.002.
- [20] 周云松, 温小辉, 张琦, 等. lncRNA SNHG16在结直肠癌组织和细胞中表达及其调控结肠癌细胞中GPAM表达的机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(1): 58-66. 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.01.010.

[收稿日期] 2019-03-25

[修回日期] 2019-05-23

[本文编辑] 王映红