

网络出版时间: 2017-10-16 9:20 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20171016.0920.035.html>

肿瘤相关巨噬细胞在肝癌中的作用及靶向治疗研究进展

吴婧婧^{1,2}, 孙妩弋¹ 综述, 魏伟¹ 审校

摘要 肿瘤相关巨噬细胞(TAM)是肿瘤微环境中浸润的一种重要的免疫细胞。在不同的刺激因素作用下,可以向经典激活型巨噬细胞(M1型)或选择性激活型巨噬细胞(M2型)极化。TAM主要具有M2型巨噬细胞表型,在肝癌的生长及转移中发挥重要作用。本文就TAM在促进肝癌血管生成、浸润转移等过程的相关分子机制及靶向治疗肝癌的研究进展作一综述。

关键词 肿瘤相关巨噬细胞;肝癌;肿瘤血管生成;肿瘤转移中图分类号 R 735.7

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2017)12-1901-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.12.035

原发性肝癌是世界上第5位最常见的恶性肿瘤,预后差,病死率高,为第二常见的引起肿瘤相关性死亡的原因^[1]。原发性肝细胞癌约占原发性肝癌的90%^[2],尽管近年来通过手术切除、微创治疗、肝移植等手段使肝细胞癌的治疗有了一定发展,但是由于较高的复发率和转移率,肝癌患者的预后仍然较差。分子靶向药物索拉菲尼等虽可延长中晚期患者的生存期,但其作用有限。所以,迫切需要新的诊治方案。

肿瘤中浸润的巨噬细胞即肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAM)。巨噬细胞是肿瘤微环境中浸润的一类重要免疫细胞,肿瘤的微环境已被证实在肿瘤的发展方面起到重要的作用。越来越多的证据指出,可以针对TAM进行靶向治疗,其部分原因是TAM介导的免疫抑制和癌症发生。该文就TAM在肝癌中的作用及靶向TAM治疗

肝癌的进展作一综述。

1 TAM的来源和功能

TAM参与了肿瘤的发生、生长、侵袭和转移,其高度浸润与肿瘤的不良预后密切相关^[3]。TAM不仅仅起源于血液中的单核细胞,研究^[4]显示,成体的组织固有巨噬细胞主要来源于长寿命自我更新的胚胎前体,而不是骨髓造血干细胞。在出生前,前体巨噬细胞已种植于相应组织,可发展成组织固有巨噬细胞。其在成体内通过自我更新保持数量稳定^[5]。出生后,巨噬细胞通过肝脏固有巨噬细胞或从外周血中募集的巨噬细胞来维持其数量。新近研究^[6]表明,在同时接受肝移植及骨髓移植的患者中,骨髓来源的单核细胞并未完全更新时,肝脏已经存在递呈细胞并发挥作用。提示肝内固有巨噬细胞或从肝内巨噬细胞的祖细胞分化而来。在老鼠的某些组织(如脑中的小胶质细胞)来源于在胎儿和胚胎期间种植在组织内的前体发展而来,而不是由循环的单核细胞发展^[7]。但源自胚胎前体的组织巨噬细胞是否有助于TAM的数量,位置和多样性仍然是一个悬而未决的问题^[8]。

1.1 肿瘤组织中巨噬细胞的招募 起源于血中单核细胞的TAM通过肿瘤细胞或间质细胞分泌的细胞因子招募至肿瘤处,如趋化因子2(chemokine, CCL2)、CCL5、CCL7和趋化因子1(CXC1)。研究^[9]证明,这些细胞因子中,CCL2在人类肿瘤中最为常见,其表达水平与TAM浸润的数量相关,并且依赖白介素(interleukin, IL)-4介导的核转录因子(nuclear trascripton factor, NF- κ B)和信号传导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)信号通路。除CCL2等外,招募TAM的信号分子还包括巨噬细胞集落刺激因子、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、巨噬细胞转移抑制因子、巨噬细胞炎性蛋白1 α 及血管生成素-2等。研究^[10]表明,随着肝细胞癌细胞膜上磷脂酰肌醇蛋白聚糖3的表达升高,TAM的募集增多,且与HCV感染引起的肝癌患者

2017-07-13 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81673444);安徽医科大学校科研基金(编号:2015xkj015)

作者单位:¹安徽医科大学临床药理研究所,抗炎免疫药物教育部重点实验室,抗炎免疫药物安徽省协同创新中心,合肥 230032

²安徽医科大学第二附属医院肿瘤科,合肥 230601

作者简介:吴婧婧,女,博士研究生;

魏伟,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn

预后不良有关。虽然 TAM 的招募机制尚未完全明了,但是肝癌微环境和细胞因子联合作用在巨噬细胞的招募及 M2 型巨噬细胞极化中发挥了重要作用。

1.2 TAM 分型 巨噬细胞的极化分型是根据其功能划分的。经典的 Th1 细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 单独或是联合微生物组分(如脂多糖)诱导了 M1 型巨噬细胞,其分泌活性氧、氮中间体和炎性细胞因子如 IL-1、TNF- α 、IL-6 等,发挥免疫反应,也会导致机体正常组织的炎症损伤。M2 型巨噬细胞分泌趋化因子如 CCL17、CCL22 和 CCL24 等,参与调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)、Th2 细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的招募,能抑制 Th1 反应,参与炎症消退,对抗寄生虫,发挥组织修复功能。M2 型巨噬细胞可进行如下分类:① M2a:由 IL-4 和 IL-13 诱导产生;② M2b:通过暴露于免疫复合物以及 Toll 样受体(TLR)或 IL-1R 激动剂诱导产生;③ M2c:由 IL-10 和糖皮质激素诱导产生。从表型上说,M1 型巨噬细胞中一氧化氮合酶、人白细胞抗原-DR、CD80、CD86、CD169 和 TLR2/4 表达增强,高表达 IL-12,低表达 IL-10。M2 型巨噬细胞 CD163、CD204、CD206 以及精氨酸酶表达上升,并高表达 IL-10,低表达 IL-12,抗原呈递能力较弱。有报道^[1]显示,IL-4 和 IL-13 能够抑制 M1 型巨噬细胞分泌趋化因子 CXCL9、CXCL10 募集 Th1 淋巴细胞,并诱导巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞极化。研究^[2]表明,TAM 受肿瘤微环境等因素影响,诱导分化为 M2 样表型;当肿瘤组织中的单核细胞暴露于由肿瘤驱动的抗炎因子如 IL-4、IL-10、TGF- β 1 和前列腺素 E2,巨噬细胞就会发生极化,变成 M2 型巨噬细胞。

2 TAM 在肝癌中的作用

在一些肿瘤中,已明确癌症与感染相关,如乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和幽门螺杆菌的感染与肝癌相关。慢性乙肝、丙肝、肝硬化是肝癌发展的主要风险因素。因为乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒被认为是非细胞性病变,所以考虑是抗病毒活动导致了肝细胞死亡,随后激活邻近细胞如巨噬细胞,分泌细胞因子和生长因子,肝细胞生长因子、IL-6 和 TNF 会进一步放大炎症反应,并且驱动存活肝细胞的代偿增殖。而肝细胞死亡再生不断循环会增加自身突

变和 DNA 损伤,最终导致肝癌发生。研究^[3]显示,肝癌患者体内 TAM 大量浸润可预测肝癌术后转移、复发,并与不良预后密切相关。本课题组前期实验中以 CD163 标记 TAM,显示肝癌患者肝癌组织石蜡切片中 TAM 表达明显高于癌旁组织。

2.1 TAM 介导的免疫抑制 巨噬细胞对机体防御起着关键作用,在先天性免疫和获得性免疫应答以及炎症过程中扮演着重要角色。巨噬细胞表达的免疫调节介质,无论是产生于病毒和巨噬细胞相互作用还是炎症反应,都有可能抑制肿瘤特异性的免疫应答。研究^[4]报道,TAM 可降低肿瘤相关抗原提呈、降低 T 细胞的抗肿瘤作用。肝内巨噬细胞表达半乳凝素-9 会引起 CD4⁺、CD8⁺ 和 Tim3⁺ T 细胞的衰老,降低 T 细胞抗肿瘤作用。IL-10 和 TNF 能够刺激巨噬细胞表面程序性死亡受体配体-1 的表达,抑制 CD8⁺ T 细胞活性,协助肿瘤细胞的免疫逃逸。如前所述,TAM 中主要为 M2 型巨噬细胞,可以诱导 Treg 的分化。Treg 能强烈抑制效应 T 细胞和单核细胞等的活性,并与肝癌侵袭性病理特征和临床预后差相关。转录因子 Foxp3⁺ 是天然调节 T 细胞的主要标志分子,有报道^[5]指出,肝癌组织中 Foxp3⁺ Treg 的频率与 TLR4 的表达呈正相关性,表明 TLR4 信号通路可调节 Treg 的募集和增殖,TLR4 控制 Treg 在免疫应答中发挥的免疫抑制功能。Zhou et al^[6]报道,在肝癌细胞内普遍存在的表达 Foxp3⁺ 的 Treg 与 TAM 明显相关。同时,Kuang et al^[7]研究表明,肿瘤周围基质和活化的巨噬细胞表达程序性死亡受体配体-1,并可抑制肿瘤特异性 T 细胞免疫。还有报道表明 TAM 与 Th17 细胞在肿瘤进展中的作用,例如 Kuang et al^[8]研究发现 TAM 能促进 Th17 细胞的扩增。Th17 细胞可通过分泌 IL-17 参与固有免疫和炎症,肝癌中的 IL-17 生成与预后不良相关。这些实验结果提示肝癌 TAM 参与了对肿瘤免疫的抑制。

2.2 TAM 对肝癌血管生成的影响 血管生成在肿瘤进展中发挥重要作用,当肿瘤直径超过 2 mm 时便开始出现新生血管。用包封在小单层脂质体中的氯磷酸盐特异性地清除巨噬细胞,可明显抑制肿瘤血管生成。有临床研究^[9]已经证实了肿瘤中 TAM 与微血管密度有显著关联。TAM 分泌的 TNF- α 可促进血管生成因子如 IL-8、成纤维细胞生长因子、VEGF、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子等因子产

生;可刺激肿瘤细胞表达血管紧张素,使肿瘤细胞促血管生成酶—胸苷磷酸化酶的表达增加。同时,TAM 自身可以分泌蛋白酶,释放许多促血管生成因子,其与蛋白聚糖的肝素硫酸盐、纤维蛋白片段和胶原蛋白结合来诱导血管生成。促进肿瘤血管生成作用最明显的蛋白酶包括基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP 1、2、3、9、12)、纤溶酶、尿激酶型纤溶酶原激活剂及其受体。据研究^[2]报道,小鼠肝肿瘤中 TAM 是 MMP 家族的主要来源,并能合成尿激酶型纤溶酶原激活剂,从而进一步促进肿瘤血管生成。TAM 分泌的 VEGF 在肝癌血管生成中起了关键作用,其对肝癌内皮细胞和表达 VEGF-A 受体的肝癌细胞有促增殖作用。在肝癌细胞系、肝癌组织和肝癌患者的外周血中,VEGF 及其受体 VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3 表达明显增高。VEGF 信号通路的激活与肝癌血管侵袭、肝癌分级、预后和生存相关^[1]。上述与血管生成有关的细胞因子也可由肝癌细胞、内皮细胞等分泌,共同促进肝癌血管生成。

2.3 TAM 在肝癌侵袭转移中的作用 肿瘤的浸润和转移是复杂的、多步骤的。远处转移是恶性肿瘤区别于良性肿瘤的特征之一,也是导致肿瘤患者预后差的重要原因。炎症条件下浸润的巨噬细胞主要来自血液中单核细胞,脂质体包裹的氯磷酸盐可减少外周血中单核细胞数目,明显抑制癌细胞向骨骼和肌肉转移。TAM 可分泌 IL-1、TNF- α 、IL-6 等“转移前特征”,如肝癌患者的 IL-6 水平明显高于正常人群,血清 IL-6 水平可用于区分良性病变、原发或转移性肝癌^[2]。新近研究^[3]表明,单核细胞中 IL-6 基因敲除的小鼠肝脏毒性损伤减少,肝癌发生延迟。外源性加入 IL-6 可影响大鼠肝癌细胞转移潜能。有报道^[4]显示,人肝癌细胞中 IL-6 通过 STAT3 信号通路发挥抗凋亡作用。STAT3 作为介导 TAM 和肿瘤细胞之间相互作用的重要转录因子而受到关注。还有研究^[5]证明肝癌中 STAT3 水平明显升高,且与肝癌的侵袭性和患者不良预后相关,STAT3 可能通过对血管生成和免疫抑制因子的调节来促进肿瘤细胞的增殖、生存和侵袭。虽然介导 STAT3 激活的具体分子机制尚未明确,但可能与 TAM 受 NF- κ B 调节后释放 IL-6,从而导致 STAT3 信号通路的激活有关。

肿瘤局部生长、浸润、转移依赖细胞外基质(ex-

tracellular matrix,ECM) 降解。TAM 可分泌多种蛋白水解酶作用于细胞间连接,促进基底膜降解,从而促进转移,例如 MMP-2、MMP-9、丝氨酸蛋白酶、组织蛋白酶等。其中,MMP 家族是一类以锌为辅助因子的蛋白酶家族,其是分解 ECM 的主要酶,通过 ras 基因激活,降解基底膜、ECM (如 IV 型胶原、层黏连蛋白等),增强肿瘤血管生成作用,促进肝癌细胞浸润、转移,术后复发。将巨噬细胞与卵巢癌、乳腺癌细胞共培养可增强肿瘤细胞侵袭性。巨噬细胞与肿瘤细胞共培养可使肿瘤细胞 TNF- α 表达上升,激活 NF- κ B 和 JNK 信号通路,使细胞外金属蛋白酶诱导因子和促黑素释放抑制因子表达增加,刺激巨噬细胞分泌 MMP,并增强其活性,而 MMP 又可进一步促进肿瘤侵袭和转移^[6]。人信号素 3B 在多种肿瘤中高表达,可以激活 p38 MAPK 通路刺激肿瘤细胞分泌 IL-8 招募 TAM,而 TAM 通过多种机制进一步促进肿瘤转移^[7] (图 1)。

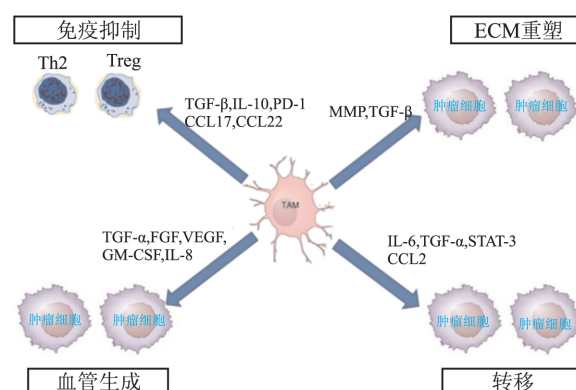


图1 M2型TAM在肝癌中的作用

程序性死亡配体-1 (programmed death-1, PD-1);成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)

3 靶向 TAM 治疗肝癌的研究

以上研究结果提示 TAM 可通过分泌细胞因子、趋化因子、基质蛋白酶等重塑微环境,促进肝癌的生长、侵袭和转移,因而,针对 TAM 设计干预药物治疗肝癌已成为研究热点。根据 TAM 在肝癌中的作用,考虑从以下三个方面进行靶向治疗:① 抑制 TAM 的募集,促使 M2 型巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞转化;② 抑制 TAM 促血管生成和组织重塑能力;③ 抑制 TAM 相关的信号通路。

3.1 抑制 TAM 募集,促使 M2 型 TAM 向 M1 型

TAM 转化 研究^[28]显示,在原发性乳腺癌小鼠中 Arg-1 表达增加,给予异种移植乳腺癌小鼠 1.5 mg/(kg · d) 的信号蛋白磷脂酶 D (signaling protein phospholipase D, PLD) 抑制剂 FIPI (抑制 PLD-1 和 PLD-2) 或 VU0155072-2 (抑制 PLD-2) 4 ~ 5 周,可减少 Arg-1 表达,增加 NOS 表达,表明这些抑制剂增加了 M1 巨噬细胞向肿瘤微环境的募集,并促使 M2 型巨噬细胞向 M1 型转变。还有研究^[29]显示一种新型的免疫调节剂 heat-killed *Mycobacterium indicus pranii* (Mw), 在体外可使 M2 型巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞转化,但在皮下接种黑色素瘤小鼠体内却不能改变巨噬细胞极化状态,不能控制肿瘤生长;而进一步显示,在给予 Mw 治疗的黑色素瘤中 Treg 数量明显增加,并激活 STAT-3 通路,可能是导致治疗失败原因。而糖皮质激素诱导的 TNF 受体抗体 DTA-1 与 Mw 联合用药,可明显抑制肿瘤生长,减少 Treg 数量,使 TAM 表现为 M1 表型。Peng et al^[30] 研究显示,在纤维肉瘤细胞接种于雄性 6 ~ 8 周小鼠尾侧大腿肌肉 3 d 后,给予 TLR7 选择性刺激剂 Gardiquimod 和 TGF- β 抑制剂 SB505124 治疗,可减少 TAM 数量,并促使巨噬细胞向 M1 型极化。CCL2 在 TAM 募集中起到重要作用,已有研究^[31]显示对抗体对 CCL2 特异性抑制可减少肝癌模型中肿瘤细胞的生长和转移,且当与化疗联合使用时,抗体可改善治疗功效。选择性靶向 CCL2 的抗体已进入 I 期和 II 期临床研究,在 I 期试验中抗 CCL2 抗体卡鲁胺 (CNT088) 在晚期实体瘤患者中显示出初步的抗肿瘤活性,并且耐受良好^[32]。

3.2 抑制 TAM 促血管生成和组织重塑能力 阻断 TAM 分泌的 VEGF 等介导的血管生成,可抑制肿瘤细胞生长和转移。如前所述刺激 TLR7、抑制 TGF- β 还可减少促血管生成因子 VEGF 和 CD31 阳性的肿瘤毛细血管数目,增加肿瘤细胞的凋亡,从而抑制肿瘤的增殖侵袭和转移。抗血管生成因子抗体贝伐单抗或酪氨酸激酶抑制剂舒尼替尼等也可减少 TAM 分泌的 VEGF 数目。

3.3 抑制 TAM 信号通路 抑制或阻断 TAM 与肿瘤细胞作用的信号通路也是一种治疗策略。Sica et al^[3] 发现,如果 NF- κ B 信号通路功能恢复后, TAM 对肿瘤细胞产生杀伤作用增强,且表型向 M1 型转变。Liu et al^[33] 应用特异性小分子抑制剂 XZH-5 阻断 STAT-3 信号通路磷酸化过程可引起肝癌细胞凋

亡,并能抑制 STAT-3 下游基因,如低氧诱导因子-1 α 、VEGF、BCL- α L、CyclinD1、survivin 等。阻断低氧诱导因子信号通路可抑制 TAM 的募集、活化,进而减少肿瘤负荷和肿瘤进展。肝癌患者 CCL2 的 mRNA 水平要高于正常人,抑制 Akt/NF- κ B 介导的 CCL2 分泌,可减少肝癌细胞株的侵袭和迁移。靶向抑制 TGF- β 信号通路也是一种有潜力的方法, Fransvea et al^[34] 研究表明, TGF- β 受体 I 激酶抑制剂 LY2109761 与人肝癌细胞系 HLE 和 HLF 在无血清培养基中作用 48 h,浓度为 0.01 ~ 100 nmol/L,可以抑制肝癌细胞的迁移;并在小鼠体内能抑制肝癌的生长,血管浸润和转移。

综上所述, TAM 在肿瘤发展中的许多阶段都发挥着重要作用,包括肿瘤血管生成、抑制抗肿瘤免疫、癌细胞浸润、癌细胞的上皮细胞间质转化等。在肝癌中, TAM 的聚集是加速肝癌进展的一个重要因素。肝癌组织中 TAM 水平与肝癌的侵袭密切相关。因此,需要更深入探讨 TAM 促进肝癌的分子机制,为肝癌治疗提供新线索。

参考文献

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87 - 108.
- [2] Gao J, Xie L, Yang W S, et al. Risk factors of hepatocellular carcinoma—current status and perspectives [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(3): 743 - 52.
- [3] Sica A, Schioppa T, Mantovani A, et al. Tumor-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumor progression: potential targets of anti-cancer therapy [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(6): 717 - 27.
- [4] Varol C, Mildner A, Jung S. Macrophages: development and tissue specialization [J]. Annu Rev Immunol, 2015, 33: 643 - 75.
- [5] Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis [J]. Nat Rev Immunol, 2014, 14(6): 392 - 404.
- [6] 郭世鹏, 张文峰, 龚建平. Kupffer 细胞起源及其免疫学功能的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2016, 47(1): 57 - 60.
- [7] Ginhoux F, Schultze J L, Murray P J, et al. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function [J]. Nat Immunol, 2016, 17(1): 34 - 40.
- [8] Movahedi K, Van Ginderachter J A. The ontogeny and microenvironmental regulation of tumor-associated macrophages [J]. Antioxid Redox Signal, 2016, 25(14): 775 - 91.
- [9] Chen J, Li G, Meng H, et al. Upregulation of B7-H1 expression is associated with macrophage infiltration in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2012, 61(1): 101 - 8.

- [10] Takai H, Kato A, Kato C, et al. The expression profile of glypican-3 and its relation to macrophage population in human hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Int*, 2009, 29(7): 1056–64.
- [11] Gordon S, Taylor P R. Monocyte and macrophage heterogeneity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(12): 953–64.
- [12] Biswas S K, Gangi L, Paul S. A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF- κ B and enhanced IRF-3/STAT1 activation) [J]. *Blood*, 2006, 107(5): 2112–22.
- [13] Zhu X D, Zhang J B, Zhuang P Y, et al. High expression of macrophages colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after curative resection of hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(16): 2707–16.
- [14] Sica A. Role of tumour-associated macrophages in cancer-related inflammation [J]. *Exp Oncol*, 2010, 32(3): 153–8.
- [15] Yang J, Zhang J X, Wang H, et al. Hepatocellular carcinoma and macrophage interaction induced tumor immunosuppression *via* Treg requires TLR4 signaling [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(23): 2938–47.
- [16] Zhou J, Ding T, Pan W, et al. Increased intratumoral regulatory T cells are related to intratumoral macrophages and poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(7): 1640–8.
- [17] Kuang D M, Zhao Q, Peng C, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma foster immune privilege and disease progression through PD-L1 [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(6): 1327–37.
- [18] Kuang D M, Peng C, Zhao Q, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma promote expansion of memory T helper 17 cells [J]. *Hepatology*, 2010, 51(1): 154–64.
- [19] Peng S H, Deng H, Yang J F, et al. Significance and relationship between infiltrating inflammatory cell and tumor angiogenesis in hepatocellular carcinoma tissues [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(41): 6521–4.
- [20] Ding W, You H, Dang H, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition of murine liver tumor cells promotes invasion [J]. *Hepatology*, 2010, 52(3): 945–53.
- [21] Zhu A X, Duda D G, Ancukiewicz M, et al. Exploratory analysis of early toxicity of sunitinib in advanced hepatocellular carcinoma patients: kinetics and potential biomarker value [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(4): 918–27.
- [22] Coskun U, Bukan N, Sancak B, et al. Serum hepatocyte growth factor and interleukin-6 levels can distinguish patients with primary or metastatic liver tumors from those with benign liver lesions [J]. *Neoplasma*, 2004, 51(3): 209–13.
- [23] Kong L, Zhou Y, Bu H, et al. Deletion of interleukin-6 in monocytes/macrophages suppresses the initiation of hepatocellular carcinoma in mice [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 131.
- [24] Liu Y, Fuchs J, Li C, et al. IL-6, a risk factor for hepatocellular carcinoma: FLLL32 inhibits IL-6 induced STAT3 phosphorylation in human hepatocellular cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(17): 3423–7.
- [25] Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(11): 736–46.
- [26] Hagemann T, Wilson J, Kulbe H, et al. Macrophages induce invasiveness of epithelial cancer cells *via* NF- κ B and JNK [J]. *J Immunol*, 2005, 175(2): 1197–205.
- [27] Rolny C, Capparuccia L, Casazza A, et al. The tumor suppressor semaphorin 3B triggers a prometastatic program mediated by interleukin 8 and the tumor microenvironment [J]. *J Exper Med*, 2008, 205(5): 1155–71.
- [28] Henkels K M, Muppani N R, Gomez-Cambronero J. PLD-specific small-molecule inhibitors decrease tumor-associated macrophages and neutrophils infiltration in breast tumors and lung and liver metastases [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166553.
- [29] Banerjee S, Halder K, Ghosh S. The combination of a novel immunomodulator with a regulatory T cell suppressing antibody (DTA-4) regress advanced stage B16F10 solid tumor by repolarizing tumor associated macrophages *in situ* [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(3): 3995559.
- [30] Peng J, Tsang J Y, Li D, et al. Inhibition of TGF- β signaling in combination with TLR7 ligation re-programs a tumoricidal phenotype in tumor-associated macrophages [J]. *Cancer Lett*, 2013, 331(2): 239–49.
- [31] Li X, Yao W, Yuan Y, et al. Targeting of tumour-infiltrating macrophages *via* CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma [J]. *Gut*, 2017, 66(1): 157–67.
- [32] Brana I, Calles A, LoRusso P M, et al. Carlumab, an anti-C-C chemokine ligand 2 monoclonal antibody, in combination with four chemotherapy regimens for the treatment of patients with solid tumors: an open-label, multicenter phase 1b study [J]. *Target Oncol*, 2015, 10(1): 111–23.
- [33] Liu Y, Liu A, Xu Z, et al. XZH-5 inhibits STAT3 phosphorylation and causes apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Apoptosis*, 2011, 16(5): 502–10.
- [34] Fransvea E, Mazzocca A, Santamato A, et al. Kinase activation profile associated with TGF- β -dependent migration of HCC cells: a preclinical study [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68(1): 79–86.