

Toll 样受体在卵巢癌发生发展中作用机制的初步探讨

徐娟,潘世扬,黄珮璐,娄鉴芳,朱胜江,黄蕾,韩月,史新惠,孙瑞红,王芳*

(南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029)

[摘要] **目的:** 观察卵巢癌患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs) mRNA 的表达水平,研究高表达 TLRs 在卵巢癌发病中的可能机制。**方法:** 研究对象包括卵巢癌 24 例、妇科良性疾病 22 例及同期健康体检女性 22 例。采用密度梯度离心法分离 PBMC 后,提取总 RNA,并逆转录为 cDNA,采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)方法检测 TLR1~TLR9 mRNA 的表达水平;选择 mRNA 高表达的 TLRs 的相应激动剂刺激 PBMC,采用 Real-time PCR 检测 PBMC 中前炎症细胞因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-12P40 的 mRNA 表达水平。**结果:** 各组 PBMC 中 TLR1~TLR9 均有表达;卵巢癌组 PBMC 中 TLR2、TLR6 表达量显著高于健康对照组(TLR2: $F = 3.27, P < 0.05$; TLR6: $F = 2.21, P < 0.05$);卵巢癌组 TLR2 的表达量明显高于妇科良性疾病组($F = 3.24, P < 0.05$);良性疾病组 TLRs 表达水平与健康对照组间无显著性差异;各组 PBMC 经 TLR2 的激动剂 HKLM 刺激 24 h 后,卵巢癌组 IL-1 β 、IL-6、IL-12P40 mRNA 表达明显增强,分别为健康对照组的 2.24、2.94、2.35 倍($P < 0.05$),为良性疾病组的 2.02、2.50、2.85 倍($P < 0.05$);良性疾病组与健康对照组比较无显著改变($F = 1.11, F = 1.18, F = 0.82, P > 0.05$)。**结论:** 卵巢癌患者 PBMC 中 TLR2、TLR6 表达水平显著增高,经其介导的炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-12P40 mRNA 表达水平的改变可能在卵巢癌的发生发展中发挥作用。

[关键词] 卵巢癌; Toll 样受体; 细胞因子

[中图分类号] Q786; R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)03-308-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20130304

The mechanism of up-regulated TLRs in ovarian cancer incidence and development

Xu Juan, Pan Shiyang, Huang Peijun, Lou Jianfang, Zhu Shengjiang, Huang Lei, Han Yue, Shi Xinhui, Sun Ruihong, Wang Fang*

(Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of transduction molecules and modulatory factors of signal pathways of Toll-like receptors (TLRs) in ovarian cancer. **Methods:** We collected peripheral blood mononuclear cell (PBMC) from 24 ovarian cancer patients, 22 benign diseases, and 22 healthy females. Total RNA of the PBMCs was extracted, and reverse transcribed into cDNA. Expression levels of TLR1~TLR9 mRNA were then determined by real-time quantitative PCR. PBMCs were then either unstimulated (-) or stimulated with agonists for TLRs and assessed for IL-1 β , IL-6, IL-12P40 by real-time PCR. **Results:** TLR1~TLR9 were all expressed in PBMC of the three groups and the expression levels of TLR2, TLR6 mRNA in patients with ovarian cancer were higher than the healthy controls (TLR2: $F = 3.27, P < 0.05$; TLR6: $F = 2.21, P < 0.05$). Ovarian cancer patients also showed increased TLR2 levels compared to benign diseases group ($F = 3.24, P < 0.05$). The expression of TLRs has no difference between benign diseases group and the healthy controls. After stimulated with HKLM for 24 h, ovarian cancer group demonstrated a significant up-regulation in expression of IL-1 β , IL-6, IL12-P40. The expressions of IL-1 β , IL-6, IL12-P40 at the mRNA level were significantly higher in ovarian cancer group compared to healthy controls ($F = 2.24, P < 0.05$; $F = 2.94, P < 0.05$; $F = 2.35, P < 0.05$) and benign diseases group ($F = 2.02, P < 0.05$; $F = 2.50, P < 0.05$; $F = 2.85, P < 0.05$). Furthermore, the level of IL-1 β , IL-6, IL12-P40 mRNA had no difference between benign diseases group and healthy controls. **Conclusion:** TLR2 and TLR6 were highly expressed in ovarian cancer patients, inflammatory reaction mediated by IL-1 β , IL-6, IL-12P40 may be related to the growth and development of ovarian cancer.

[基金项目] 国家自然科学基金(30901344, 81272324); 江苏省实验诊断学重点实验室基金(XK201114); 国家临床检验重点专科建设单位

*通信作者(Corresponding author), E-mail: shywf74@sina.com

[Key words] ovarian cancer; Toll like receptor; cytokine

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(3): 308-313]

卵巢癌是病死率最高的妇科恶性肿瘤,近年来发病率有上升趋势,严重威胁女性的健康。由于其发病隐匿、进展迅速,70%~80%的卵巢癌患者发现时已为晚期。目前对卵巢癌的发生发展机制尚不明确,因此,研究参与卵巢癌发生发展的相关分子,探索卵巢癌的发病机制,可为其诊断及靶向治疗奠定理论基础^[1]。

慢性炎症和肿瘤的发生发展有着千丝万缕的联系,研究证实卵巢癌的发生发展中炎症细胞因子的表达失调可能起着重要作用:卵巢癌患者腹水中高水平的 IL-6 与卵巢癌细胞的增殖与转移有关^[2]。

Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs 是近年备受关注的一类模式识别受体,它能特异地识别病原相关分子模式(PAMPs)。TLRs 识别内外源性配体后可激活多种信号转导途径,促进细胞因子产生,调节机体免疫应答^[3],在天然免疫中发挥重要的抗感染免疫功能,并能诱导获得性免疫产生^[4]。肿瘤微环境中多种细胞均表达 TLRs, TLRs 可被上皮细胞及肿瘤细胞释放的热休克蛋白等代谢产物激活,通过胞内复杂的级联信号反应,引起炎症细胞因子、趋化因子等炎性介质释放,刺激肿瘤细胞生长,血管和淋巴管生成,肿瘤的浸润和转移^[3]。

本研究对卵巢癌患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中 TLR1~TLR9 mRNA 表达水平进行分析,选择 mRNA 高表达的 TLRs 的相应激动剂刺激活化 PBMC,研究卵巢癌患者 PBMC 中前炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6 及 IL-12P40 mRNA 的表达水平,初步探讨 TLRs 在卵巢癌发生发展中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

卵巢癌患者 24 例,妇科良性疾病患者 22 例,于 2011 年 4 月~2012 年 4 月在南京医科大学第一附属医院就医,并经病理诊断证实,平均年龄分别为(57 \pm 16)岁和(33 \pm 12)岁。良性患者组中包括子宫肌瘤 5 例、卵巢囊肿 17 例。选择同期在南京医科大学第一附属医院收集的健康体检成人女性 22 例为健康对照组,平均年龄为(41 \pm 10)岁。分别采集 3 组研究对象静脉血,EDTA-K₂ 抗凝。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集和处理

用 EDTA-K₂ 抗凝管真空采集静脉血 4 ml,采用淋巴细胞分离液(天津灏洋)分离 PBMC。

1.2.2 RNA 提取及 RT-PCR

采用 miRNeasy Mini Kit (Qiagen 公司,德国)提取 PBMC 的 RNA,用 PrimeScript RT reagent Kit (TaKaRa 公司,日本)逆转录合成 cDNA,以 SYBR Premix Ex TaqTM II 为荧光染料, β -actin 基因为内参照,进行 TLRs 基因实时荧光定量 PCR 检测(ABI 7500 型)。PCR 引物序列见表 1;PCR 反应体系:模板 cDNA 2 μ l, SYBR II 10 μ l,上下游引物各 1.0 μ l,去离子水 6 μ l;扩增程序如下:预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s 1 个循环,95 $^{\circ}$ C 5 s,45 个循环,64 $^{\circ}$ C 延伸 34 s。PCR 得出 Ct 值,通过公式 $C_a/C_b=2^{\Delta C_{t_b}-\Delta C_{t_a}}$ ($\Delta C_t=C_{t_{TLRs}}-C_{t_{\beta-actin}}$) 计算,相对表达量 > 2 倍作为评判标准^[5-6]。

1.2.3 TLRs 激动剂刺激 PBMC

将各组 PBMC 重悬于含 10% 人 AB 血清 RPMI1640 中,以 1×10^5 个/孔培养于 96 孔板,100 μ l/孔,加入 TLR2 激动剂刺激剂 HKLM,终浓度为 10^8 个/ml,同时设立无 TLRs 激动剂刺激组为对照组,每组均设 3 复孔,37 $^{\circ}$ C,5%CO₂ 培养 24 h,收集细胞悬液,1 500 r/min 离心 7 min,弃上清,收集细胞,提取 RNA,置-70 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 实时荧光定量 PCR(real-time PCR)检测炎症细胞因子水平

用 SYBRGreen 试剂盒 (Qiagen 公司,德国)及 ABI7500 荧光定量 PCR 仪,检测 PBMC 中前炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6 及 IL-12 P40 的 mRNA 水平。PCR 引物序列见表 2, β -actin 基因为内参照;PCR 反应体系及扩增程序同 1.2.2 节。

1.3 统计学方法

实验数据采用 SPSS16.0 进行分析。正态分布数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢癌组、妇科良性疾病组、健康对照组 PBMC 中 TLRs mRNA 表达水平比较

表1 各型TLR mRNA检测中引物序列
Table 1 PCR primers used for the detection of human TLRs

基因名称	引物序列(5'→3')	引物长度(bp)	产物大小(bp)
TLR1	上游 GGAGGCAATGCTGCTGTT	20	120
	下游 GCCCAATATGCCTTTGTT ATCCTG	24	
TLR2	上游 TGTGCAAGCAGGATCCAAAG	21	157
	下游 CACAAAGTATGTGGCATTGTCCAG	24	
TLR3	上游 GGAAGTTGAGGCGGGTGT	19	141
	下游 TGTGAACTGCATGATGTACCTTGA	25	
TLR4	上游 AGGATGATGCCAGCATGATGTC	22	198
	下游 TCAGGTCCAGGTTCTTGTTGAG	23	
TLR5	上游 AAGATGTCGGAGCCTCAGATG	21	181
	下游 GGCTCCCTGGTTGTTAAAGACTTC	25	
TLR6	上游 CAGAGTGAGTGGTCCATTACGA	23	138
	下游 AGCCTTCAGCTTGTGCTACTTGTG	25	
TLR7	上游 TCTTCAACCAGACCTCTACATTCCA	25	172
	下游 GGAACATCCAGAGTGACATCACAG	24	
TLR8	上游 GCGCTGCTGCAAGTTACGGA	20	203
	下游 TCGACGATTGCTGCACTCTG	20	
TLR9	上游 GGGACCTCGAGTGTGAAGCA	20	258
	下游 CTGGAGCTCACAGGGTAGGAA	21	
β-actin	上游 TGGCACCCAGCACAATGAA	19	186
	下游 CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA	25	

表2 前炎症因子IL-1β、IL-6及IL-12P40 mRNA检测中引物序列
Table 2 PCR primers used for the detection of IL-1β, IL-6 and IL-12P40

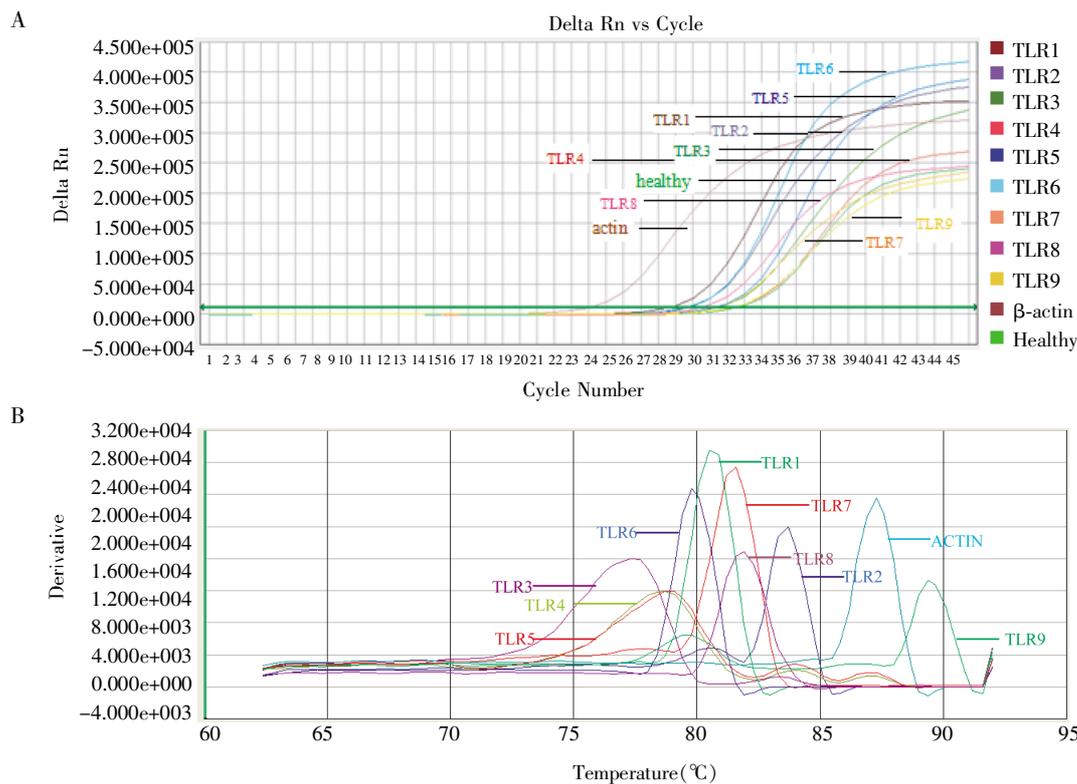
基因名称	引物序列(5'→3')	引物长度(bp)	产物大小(bp)
IL-1β	上游 CACGATGCACCT GTACGATCA	21	120
	下游 GTTGCTCCATATCCTGTCCCT	21	
IL-6	上游 AACCTGAACCTTCCAAAGATGG	22	865
	下游 TCTGGCTTGTTCCTCACTACT	21	
IL-12P40	上游 AAGGAAGATGGAATTTGGTCCACTCCACTC	30	2 799
	下游 GATGATGTCCCTGATGATGAAGAAGCTG	28	
β-actin	上游 TGGCACCCAGCACAATGAA	19	186
	下游 CTA AGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA	25	

卵巢癌组 TLR1~TLR9 mRNA 表达水平分别为健康对照组的 1.63、3.27、0.93、0.77、0.66、2.21、0.25、0.36、0.79 倍,其中 TLR2、TLR6 的表达量为健康对照组 2 倍以上;卵巢癌组 TLR1~TLR9 mRNA 表达水平分别为妇科良性疾病组的 1.81、3.24、1.65、1.43、0.07、1.66、0.26、0.18、0.65 倍,其中 TLR2 的表达量为妇科良性疾病组 2 倍以上;妇科良性疾病组 TLR1~TLR9 mRNA 表达水平分别为健康对照组的 0.90、0.99、0.56、0.54、9.66、1.34、0.96、1.95、1.22 倍。对 3 组 TLR2 相对表达量进行方差分析和两两比较,卵巢癌组 TLR2 mRNA 的相对表达量显著高于良性疾病组及健康对照组,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。荧光定量扩增曲线及熔解曲线见图 1;

各组 TLR1~TLR9 mRNA 表达水平见表 3。

2.2 HKLM 刺激后卵巢癌组 PBMC 中 IL-1β、IL-6、IL-12P40 mRNA 表达上调

各组 PBMC 经 TLR2 激动剂 HKLM 刺激后,卵巢癌组 IL-1β、IL-6、IL-12P40 基因 mRNA 表达水平分别为健康对照组 2.24、2.94、2.35 倍;妇科良性疾病组 IL-1β、IL-6、IL-12P40 基因 mRNA 表达水平为健康对照组 1.11、1.18、0.82 倍;卵巢癌组 IL-1β、IL-6、IL-12P40 基因 mRNA 表达水平为妇科良性疾病组的 2.02、2.50、2.85 倍。卵巢癌组 3 种前炎症因子的相对表达量显著高于健康对照组及良性疾病组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$,表 4)。荧光定量扩增曲线及熔解曲线见图 4。



A:扩增曲线;B:熔解曲线。

图 1 TLRs 荧光定量 PCR 扩增曲线及熔解曲线

Figure 1 Amplification plot and melting curve of TLRs

表 3 卵巢癌组、妇科良性疾病组及健康对照组 PBMC 中 TLRs mRNA 表达水平

Table 3 The differential expression of TLRs mRNA in PBMC of ovarian cancer patients, benign diseases group and healthy controls ($\Delta Ct, \bar{x} \pm s$)

	健康对照组(n=22)	妇科良性疾病组(n=22)	卵巢癌组(n=24)
TLR1	8.25 ± 2.20	8.40 ± 1.91	7.54 ± 1.73
TLR2	10.31 ± 2.51	10.32 ± 0.70	8.60 ± 1.80
TLR3	10.22 ± 1.29	11.05 ± 1.54	10.32 ± 1.80
TLR4	8.74 ± 2.63	9.63 ± 1.82	9.11 ± 2.40
TLR5	12.46 ± 1.45	9.19 ± 1.26	13.07 ± 2.80
TLR6	9.04 ± 1.08	8.62 ± 1.10	7.89 ± 1.23
TLR7	10.05 ± 2.07	10.10 ± 1.30	12.05 ± 2.23
TLR8	8.88 ± 2.30	7.92 ± 0.88	10.36 ± 1.98
TLR9	11.31 ± 2.71	11.02 ± 1.68	11.65 ± 2.57

表 4 卵巢癌组、妇科良性疾病组及健康对照组 PBMC 中 IL-1 β 、IL-6、IL-12P40 mRNA 表达水平

Table 4 The differential expression of IL-1 β , IL-6, IL-12P40 mRNA in PBMC of ovarian cancer patients, benign diseases group and healthy controls ($\Delta Ct, \bar{x} \pm s$)

分组	健康对照组(n=8)	妇科良性疾病组(n=6)	卵巢癌组(n=9)	F 值	P 值
IL-1 β	-0.48 ± 0.82	-0.63 ± 0.28	-1.65 ± 0.56	6.243	0.011
IL-6	2.18 ± 0.98	1.94 ± 0.5	0.62 ± 0.17	24.587	< 0.001
IL-12P40	15.38 ± 2.69	15.66 ± 3.62	14.15 ± 3.44	3.716	0.045

3 讨论

近年来,炎症与肿瘤的研究受到越来越多的关

注^[7],如幽门螺杆菌感染所致的慢性胃炎与胃癌、卵巢子宫内膜异位与卵巢癌、慢性支气管炎与肺癌等^[3]。TLRs 作为 NF- κ B 的潜在激活剂,被认为是

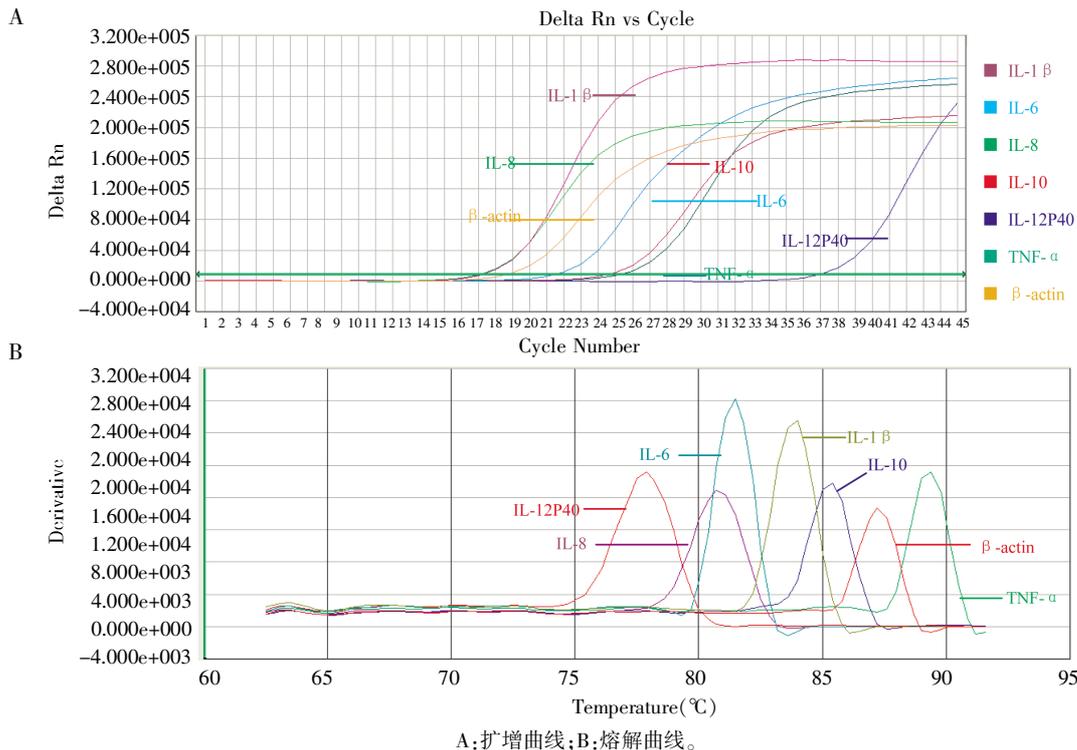


图4 炎症细胞因子 IL-1β、IL-6、IL-12P40 荧光定量 PCR 扩增曲线及溶解曲线
Figure 4 Amplification plot and melting curve of L-1β, IL-6, IL-12P40

联系炎症与肿瘤的桥梁^[8],研究证实 TLR1 和 TLR6 与前列腺癌^[9]、TLR4 与肺癌、TLR2 及 TLR4 与胃癌、TLR9 与宫颈癌^[10]、TLR2 与肝癌^[11]等的发生发展相关^[12]。在本研究中,从 TLRs 介导的免疫炎症因子的角度初步探索 TLRs 在卵巢癌发生发展的作用机制。

本研究结果表明,各组 PBMC 中 TLR1~TLR9 均有表达,与健康对照组比较,卵巢癌组 TLR2、TLR6 mRNA 表达水平显著高于健康对照组,其中 TLR2 显著高于良性疾病组。研究证实 TLR6 需与 TLR2 形成异二聚体后参与识别相关配体^[12],为进一步探索高表达的 TLRs 在卵巢癌发生发展中的作用机制,用 TLR2 激动剂 HKLM 分别刺激培养卵巢癌、妇科良性疾病组及健康对照组的 PBMC,结果发现卵巢癌组 PBMC 经 HKLM 刺激 24h 后,IL-1β、IL-6、IL-12P40 基因 mRNA 表达水平显著高于健康对照组及妇科良性疾病组,而妇科良性疾病组与健康对照组间表达水平无显著性改变。

IL-1β 是抗原递呈细胞所分泌的多效性前炎症细胞因子,它在固有免疫及适应性免疫间起桥梁作用^[14]。在慢性炎症及恶性肿瘤中常检测到 IL-1β 的过量分泌^[15-16],它能促进肿瘤血管形成和某些黏附分子的表达,从而有利于肿瘤细胞的生长及转移^[17]。

IL-1β 还可诱导抑制性免疫细胞至肿瘤部位,抑制抗肿瘤免疫^[18-19]。研究表明,IL-1β 参与卵巢细胞的发育、成熟、排卵及妊娠等生殖调节的诸多环节^[20]。因此卵巢癌患者 PBMC 中上调的 TLRs 所介导的 IL-1β 的高表达可能参与并促进卵巢癌肿瘤微环境的形成,其具体的作用机制有待进一步探索。

IL-6 为抗原递呈细胞或多种非造血细胞所分泌的前炎症细胞因子,当机体处于感染、炎症、自身免疫性疾病以及肿瘤状态时,其分泌水平升高。正常卵巢上皮细胞可持续分泌 IL-6,在上皮性卵巢癌的发生发展中,它作为一种重要的免疫调节性细胞因子,参与上皮性卵巢癌肿瘤微环境的形成,且与卵巢癌患者的腹水形成及卵巢肿瘤细胞的转移关系密切,加速病情的进展,严重影响生存预后^[21-22]。研究还提示高水平的 IL-6 可通过抑制 IL-2 的分泌、T 淋巴细胞的增殖与活化、促进淋巴细胞的凋亡等机制抑制肿瘤免疫^[23-24]。在本研究中,卵巢癌患者 PBMC 在 HKLM 刺激后 IL-6 高水平表达,这可能与卵巢癌肿瘤微环境以及肿瘤免疫抑制相关。

IL-12 主要由抗原递呈细胞所分泌,其分子结构包含两个亚单位:IL-12P35、IL-12P40。研究发现^[25],IL-12P40 可降低 NK 细胞的杀伤活性。本研究中,卵巢癌患者组较健康对照组及良性疾病组呈现 IL-

IL-12P40 mRNA 表达水平升高,高水平的 IL-12P40 导致 NK 细胞不能有效发挥抗肿瘤活性,提示卵巢癌患者的免疫抑制及不良预后。

本研究发现卵巢癌患者 PBMC 中 TLR2、TLR6 mRNA 表达水平显著增高,经其介导的前炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-12P40 mRNA 表达水平的改变可能参与卵巢癌的发生发展,但其具体的作用机制有待进一步探索。

[参考文献]

- [1] Muccioli M, Sprague L, Nandigam H, et al. Toll-Like receptors as novel therapeutic targets for ovarian cancer[J]. *ISRN Oncology*, 2012; 642141
- [2] 鄧玲玲. 细胞因子与卵巢癌 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31(17): 1013-1016
- [3] Chen R, Alvero AB, Silasi DA, et al. Cancers take their Toll—the function and regulation of Toll-like receptors in cancer cells[J]. *Oncogene*, 2008, 27(2): 225-233
- [4] 李慧, 孙颖, 徐艳, 等. Toll样受体 2/4 在人牙龈上皮细胞的表达研究[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2011, 31(10): 1483-1487
- [5] Yao Y, Suo AL, Li ZF, et al. MicroRNA profiling of human gastric cancer [J]. *Mol Med Report*, 2009, 2(6): 963-970
- [6] Chen WS, Hou JN, Guo YB, et al. Bostrycin inhibits proliferation of human lung carcinoma A549 cells via down-regulation of the PI3K/Akt pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 1-7
- [7] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer[J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 860-867
- [8] Huang B, Zhao J, Unkeless JC, et al. TLR signaling by tumor and immune cells: a double-edged sword [J]. *Oncogene*, 2008, 27(2): 218-224
- [9] Sun J, Wiklund F, Zheng SL, et al. Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(7): 525-532
- [10] 曾治民, 何静, 刘安文. Toll样受体信号传导与炎症相关肿瘤的关系 [J]. *中国癌症杂志*, 2011, 21(6): 489-493
- [11] Huang Y, Cai B, Xu M, et al. Gene silencing of toll-like receptor 2 inhibits proliferation of human liver cancer cells and secretion of inflammatory cytokines [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e38890
- [12] Zhou M, McFarland-Mancini MM, Funk HM, et al. Toll-like receptor expression in normal ovary and ovarian tumors [J]. *Cancer Immunol Immunother.*, 2009, 58(9): 1375-1385
- [13] Hornung V, Rothenfusser S, Britsch S, et al. Quantitative expression of Toll-Like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides [J]. *Immunol*, 2002, 168(9): 4531-4537
- [14] Melvyn T, Chow Andreas Möller, Mark J Smyth. Inflammation and immune surveillance in cancer [J]. *Seminars Cancer Biol*, 2012, 22(1): 23-32
- [15] Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(5): 1203-1217
- [16] Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family [J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 519-550
- [17] Nakao S, Kuwano T, Tsutsumi-Miyahara C, et al. Infiltration of COX-2-expressing macrophages is a prerequisite for IL-1 beta-induced neovascularization and tumor growth [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(11): 2979-2991
- [18] Elkabets M, Ribeiro VSG, Dinarello CA, et al. IL-1 β regulates a novel myeloid-derived suppressor cell subset that impairs NK cell development and function [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(12): 3347-3357
- [19] Bunt SK, Sinha P, Clements VK, et al. Inflammation induces myeloid-derived suppressor cells that facilitate tumor progression [J]. *J Immunol*, 2006, 176(1): 284-290
- [20] 许海. 50例卵巢癌患者 IL-1 β 分子生物学表达的相关性研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(3): 593-594
- [21] Lane D, Matte I, Rancourt C, et al. Prognostic significance of IL-6 and IL-8 ascites levels in ovarian cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11(1): 210
- [22] Lo CW, Chen MW, Hsiao M, et al. IL-6 transsignaling in formation and progression of malignant ascites in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(2): 424-434
- [23] Mantovani G, Macciò A, Massa E, et al. Relationships between Fas expression, activation molecule CD25, and functional activity of tumor-associated lymphomonocytes from neoplastic effusions [J]. *Oncol Rep*, 1999, 6(1): 235-239
- [24] Macciò A, Lai P, Santona MC, et al. High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 1998, 69(3): 248-252
- [25] Robinson RT, Khader SA, Locksley RM, et al. Yersinia pestis evades TLR4-dependent induction of IL-12 (p40) 2 by dendritic cells and subsequent cell migration [J]. *J Immunol*, 2008, 181(8): 5560-5567

[收稿日期] 2012-12-07