

卵巢癌患者外周血单个核细胞 Toll 样受体 2 的表达及其诱导的 IL-10 表达

张红梅^{1,2}, 徐娟¹, 姜莹芳¹, 史新惠¹, 黄蕾¹, 孙瑞红¹, 张淑平¹, 柯星¹, 潘世扬¹, 王芳^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学附属江宁医院输血科, 江苏 南京 211100)

[摘要] 目的:观察 Toll 样受体 2(Toll-like receptors 2, TLR2)在卵巢癌患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中的表达及其诱导 IL-10 的表达水平,初步探索 TLR2 在卵巢癌发生发展中的作用机制。方法:收集 20 例卵巢癌患者、20 例妇科良性疾病患者及 20 例同期健康体检女性 EDTA 抗凝外周全血,采用荧光定量 PCR 技术检测 3 组 PBMC 中 TLR2 的表达水平,并比较 3 组表达差异情况。TLR1、TLR2 和 TLR6 相应配体刺激 PBMC,细胞中细胞因子 IL-10 表达水平采用荧光定量 PCR 技术进行检测;流式细胞技术(FACS)检测各组 IL-10 分泌水平。结果:各组 PBMC 中 TLR2 均有表达;卵巢癌组 PBMC 中 TLR2 表达量显著高于良性疾病组和健康对照组($P < 0.05$),良性疾病组 TLR2 表达水平与健康对照组间无显著性差异;各组 PBMC 经 TLR2 的配体 HKLM 刺激 24 h 后,卵巢癌组 IL-10 mRNA 表达明显增强,分别为良性疾病组和健康对照组的 2.25、2.33 倍,妇科良性疾病组 IL-10 mRNA 表达水平与健康对照组间无显著差异;TLR6 配体 FSL-1 刺激后,卵巢癌组 IL-10 mRNA 表达水平分别为良性疾病组和健康对照组的 1.95、2.16 倍,差异具有统计学意义($P < 0.05$),而良性疾病组与健康对照组间无显著差异。FACS 结果显示各组 PBMC 经 TLR1 的配体 Pam3CSK4 刺激 24 h 后,卵巢癌组、良性疾病组及健康对照组 IL-10 分泌水平中位数(M)分别为 46.70、61.53、31.11 pg/ml,差异无统计学意义;经 TLR2 配体 HKLM 刺激 24 h 后,卵巢癌组 IL-10 分泌水平($M = 150.46$ pg/ml)显著高于良性疾病组($M = 38.86$ pg/ml)及健康对照组($M = 44.93$ pg/ml),差异有统计学意义($P < 0.05$),良性疾病组与健康对照组间无显著性改变;TLR6 配体 FSL-1 刺激 24 h 后,卵巢癌组、良性疾病组及健康对照组 IL-10 分泌水平中位数分别为 20.20、31.12、35.48 pg/ml,3 组间无显著差异。结论:卵巢癌患者 PBMC 中 TLR2 表达水平显著增高,经其介导的细胞因子 IL-10 表达水平的改变可能与卵巢癌的免疫抑制相关,在卵巢癌的肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用。

[关键词] 卵巢癌;Toll 样受体 2;外周血单个核细胞;IL-10

[中图分类号] Q786;R734.31

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)04-490-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20140418

IL-10 response in peripheral blood mononuclear cells of ovarian cancer patients through Toll-like receptor-2 pathways

Zhang Hongmei^{1,2}, Xu Juan¹, Lou Jianfang¹, Shi Xinhui¹, Huang Lei¹, Sun Ruihong¹, Zhang Shuping¹, Ke xing¹, Pan Shiyang¹, Wang Fang^{1*}

(¹Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Blood Transfusion, the Affiliated Jiangning Hospital of NJMU, Nanjing 211100, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of Toll-like receptors 2 (TLR2) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients with ovarian cancer, and its role in inducing the expression of IL-10. **Methods:** We collected PBMCs from 20 patients with ovarian cancer, 20 with benign diseases and 20 healthy females. Expression levels of TLR2 mRNA in PBMCs in the 3 groups were determined by real-time quantitative PCR and then compared. PBMCs were then stimulated with TLR1, TLR2 and TLR6 ligands. The expression and secretion levels of IL-10 in each group were assessed by real-time PCR and FACS, respectively. **Results:** TLR2 were all expressed in PBMCs of the three groups, and the expression levels of TLR2 mRNA in PBMCs in patients with ovarian cancer were higher than the benign group and the healthy controls (both $P < 0.05$). There was no significant difference in TLR2 between the benign group and the healthy controls. After stimulated with HKLM (TLR2 ligand) for 24 h, IL-10 mRNA level was significantly

[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)

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

higher in the ovarian cancer group compared to those in the benign controls and the healthy controls (Fold = 2.25, $P < 0.05$; Fold = 2.33, $P < 0.05$). There was no significant difference in IL-10 mRNA level between the benign controls and the healthy controls. Increased expression of IL-10 was also observed upon stimulation by FSL-1 (TLR6 ligand) in ovarian cancer patients compared to those in the benign controls and the healthy controls (Fold = 1.95, $P < 0.05$; Fold = 2.16, $P < 0.05$). No significant difference was found between the benign controls and the healthy controls. Furthermore, there was an observable increased ($P < 0.05$) IL-10 secretion level upon stimulation by TLR2 ligand HKLM for 24 h in ovarian cancer patients (Medium = 150.46) compared to the benign controls (Medium = 38.86 pg/ml) and the healthy controls (Medium = 44.93 pg/ml), while no significant difference was identified between the benign group and the healthy controls. It was particularly noteworthy that PBMCs did not show significant up-regulation of IL-10 production in response to Pam3CSK4 (TLR1 ligand) (M = 46.70, 61.53 and 31.11 pg/ml, respectively) and FSL-1 stimulation (M = 20.20, 31.12 and 35.45 pg/ml, respectively) in the 3 groups. **Conclusion:** TLR2 was highly expressed in PBMCs in ovarian cancer patients. IL-10 may be related to the immune evasion of ovarian cancer, which promotes the tumor progression by tumor immune escape.

[Key words] ovarian cancer; Toll like receptor 2; PBMC; IL-10

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(04): 490-494]

卵巢癌(ovarian cancer)是目前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^[1]。目前,手术切除及术后化疗为卵巢癌患者的普遍治疗手段,但 80% 的患者会出现复发和转移^[2]。卵巢癌的发生、发展机制尚不完全明确,其中异常表达的细胞因子在卵巢癌发生、发展中的作用已受到关注^[3]。相关研究表明,卵巢癌细胞分泌多种免疫抑制分子,可使机体处于肿瘤免疫抑制状态,从而导致肿瘤细胞免疫逃逸^[4]。

免疫抑制性细胞因子分泌增加是肿瘤免疫抑制的主要机制之一^[5-6],IL-10 是活化的 Th2 细胞分泌的,具有多向性生物活性的强免疫抑制性细胞因子,多种肿瘤通过分泌 IL-10 产生肿瘤免疫抑制^[7]。在卵巢癌的肿瘤免疫中,IL-10 亦被认为是参与免疫抑制的重要细胞因子,对卵巢癌的发生、发展及转移产生重要影响^[3]。

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(pathogen associated molecular pattern, 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,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^[8]。已有研究发现人外周血单个核细胞(PBMC)中 TLR2 活化后,可诱导 IL-10 分泌,调节机体免疫应答^[9]。近年来 TLR2 在不同肿瘤中的免疫调节作用受到越来越多的关注^[10],但卵巢癌患者免疫细胞中 TLR2 的表达及功能的研究尚少,因此本课题拟从 TLR2 角度,以卵巢癌患者 PBMC 为研究对象,探索 TLR2 信号通路活化

后卵巢癌患者 IL-10 表达情况,了解卵巢癌患者免疫应答功能,以期能为卵巢癌的免疫治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

Ficoll 淋巴细胞分离液(天津灏洋),miRNeasy Mini Kit(Qiagen 公司,美国),PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa 公司,日本),TLRs 配体(InvivoGen 公司,美国),SYBR Premix Ex Taq™ II (Qiagen 公司,德国)。

收集 2011 年 4 月~2012 年 4 月在南京医科大学第一附属医院河西分院就医,并经病理诊断证实的卵巢癌患者 20 例,平均年龄 53.7 岁。妇科良性疾病患者 20 例,平均年龄 45.3 岁;同期女性健康对照者 20 例,平均年龄 42.5 岁。

1.2 方法

1.2.1 分离 PBMC

无菌抽取 EDTA 抗凝静脉血 4 ml,经 Ficoll 淋巴细胞分离液密度梯度离心法分离 PBMC。

1.2.2 RNA 提取及 RT-PCR

采用 miRNeasy Mini Kit 提取 PBMC 的 RNA,用 PrimeScript RT reagent Kit 逆转录合成 cDNA,以 SYBR Premix Ex Taq™ II 为荧光染料, β -actin 基因为内参照,进行 TLR2 基因实时荧光定量 PCR 检测(ABI 7500 型)。TLR2 引物序列:上游 5'-TGT TG-CAAGCAGGATCCAAAG-3',下游:5'-CACAAA GTATGTGGCATTGTCCAG-3'; β -actin 序列上游:5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3',下游:5'-CTAAGT-

CATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'。PCR 反应体系:模板 cDNA 2 μl,SYBR II 10 μl, 上下游引物各 1.0 μl,去离子水 6 μl;扩增程序如下:预变性 95℃ 30 s 1 个循环,95℃ 5 s,64℃ 延伸 34 s,45 个循环。

1.2.3 TLR1、TLR2 及 TLR6 配体刺激 PBMC 实验

调整 PBMC 细胞浓度为 1×10^6 个/ml,于 10% 人 AB 血清 RPMI-1640 培养基中培养,100 μl/孔,接种于 96 孔板;分别加入 TLR1、TLR2、TLR6 特异性配体 Pam3CSK4、HKLM、FSL-1,终浓度分别为 1 μg/ml、 1×10^8 个/ml、1 μg/ml。37℃,5%CO₂ 培养 24 h;收获培养上清于 1.5 ml EP 管中,100 μl/管,4℃,10 000 r/min × 10 min,分装上层液体至 0.5 ml EP 管,-70℃冻存待测。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 IL-10 mRNA 水平

PCR 反应体系及扩增程序同 1.2.2,引物序列 IL-10 上游:5'-TCAAGGCGCATGTGAACTCC-3',下游:5'-GATGTCAAACCTCACTCATGGCT-3';β-actin 基因为内参照。

1.2.5 FACS 检测 IL-10 分泌水平

前炎症细胞因子 IL-10 检测试剂盒购自德国 BD 公司,检测步骤参照产品说明书。根据标准曲线,计算得到各组 PBMC 在 TLRs 配体刺激前后 IL-10 的分泌水平。

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 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,非正态分布数值以中位数(M)表示。组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 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 TLR2 mRNA 表达水平比较

各组 PBMC 的 RNA,经逆转录及荧光定量 PCR,得出 Ct 值,通过公式 $Ca/Cb=2^{\Delta Ctb-\Delta Cta}$ ($\Delta Ct=Ct_{TLRs}-Ct_{\beta-actin}$) 计算,相对表达量大于 2 倍作为评判标准^[11]。卵巢癌组、妇科良性疾病组及健康对照组 TLR2 mRNA 表达水平分别为: 8.60 ± 1.80 、 10.32 ± 0.70 、 10.31 ± 2.51 。卵巢癌组 TLR2 mRNA 表达水平分别为良性疾病组和健康对照组的 3.27、3.24 倍,妇科良性疾病组 TLR2 mRNA 表达水平为健康对照组的 0.99 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

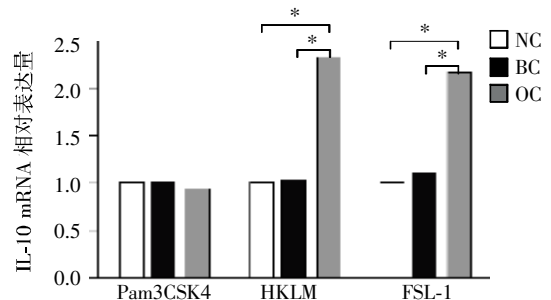
学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 HKLM、FSL-1 刺激后卵巢癌组 PBMC 中 IL-10 mRNA 表达上调

各组 PBMC 经 TLR1 配体 Pam3CSK4 刺激后,卵巢癌组 IL-10 基因 mRNA 表达水平分别为良性疾病组和健康对照组的 0.92、0.94 倍;妇科良性疾病组 IL-10 基因 mRNA 表达水平为健康对照组 1.02 倍(图 1)。

TLR2 配体 HKLM 刺激后,卵巢癌组 IL-10 基因 mRNA 表达水平分别为良性疾病组和健康对照组的 2.25、2.33 倍;妇科良性疾病组 IL-10 基因 mRNA 表达水平为健康对照组 1.03 倍(图 1)。

TLR6 配体 FSL-1 刺激后,卵巢癌组 IL-10 mRNA 的表达水平分别为良性疾病组和健康对照组的 1.95、2.16 倍;妇科良性疾病组 IL-10 基因 mRNA 表达水平为健康对照组 1.11 倍(图 1)。对 3 组 IL-10 mRNA 相对表达量进行方差分析和两两比较, HKLM、FSL-1 刺激后卵巢癌组 IL-10 的相对表达量显著高于良性疾病组及健康对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。



NC: 健康对照组;BC: 妇科良性疾病组;OC: 卵巢癌组。* $P < 0.05$, $n=13$ 。

图 1 real-time PCR 检测 TLRs 配体刺激各组 PBMC 后 IL-10 mRNA 相对表达水平比较

Figure 1 Comparison of expression of IL-10 mRNA in PBMC stimulated with ligands of TLRs between the OC, BC and NC groups

2.3 TLRs 配体诱导卵巢癌患者 PBMC 分泌 IL-1

分别使用 TLR1、TLR2、TLR6 的配体 Pam3CSK4、HKLM、FSL-1 刺激卵巢癌组、妇科良性疾病组及健康对照组 PBMC,利用 FACS 技术检测 3 组 PBMC 在 TLRs 配体刺激前后 IL-10 的分泌水平,结果显示, PBMC 经 TLR1 配体 Pam3CSK4 刺激 24 h 后,各组间 IL-10 分泌水平无显著性改变(表 1)。TLR2 配体 HKLM 刺激 24 h 后,相较于妇科良性疾病组及健康对照组,卵巢癌组 IL-10 分泌水平显著增高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),而妇科良性疾病组与

健康对照组间无显著性差异。TLR6 配体 FSL-1 刺激 24 h 后,各组 IL-10 分泌水平无显著性差异。

表 1 FACS 检测卵巢癌组、妇科良性疾病组及健康对照组 PBMC 中 IL-10 分泌水平

Table 1 The different secretion levels of IL-10 in PBMC of OC, BC and NC by FACS (pg/ml)

分组	NC	BC	OC
例数	20	20	20
Pam3CSK4	31.11 (7.98~87.20)	61.53 (11.70~140.52)	46.7 (7.70~1298.14)
HKLM	44.93 (5.92~67.70)	38.86 (6.20~128.86)	150.46* (34.20~567.30)
FSL-1	35.48 (2.52~87.77)	31.12 (6.40~355.35)	20.20 (1.92~217.54)

NC:健康对照组,BC:妇科良性疾病组,OC:卵巢癌组。与 NC、BC 组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

TLRs 在体内分布广泛,不仅表达于各种上皮和内皮细胞如肠上皮、泌尿生殖道上皮等,还大量表达于各种免疫细胞,包括单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和粒细胞。TLRs 作为 NF- κ B 的潜在激活剂,在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[12]。

本研究结果表明,各组 PBMC 中 TLR2 均有表达,且卵巢癌组 TLR2 mRNA 的表达水平显著高于良性疾病组和健康对照组。TLR2 需与 TLR1、TLR6 形成异二聚体后参与识别相关配体^[13]。为进一步探讨高表达的 TLR2 在卵巢癌发生发展中的作用机制,用 TLR1、TLR2 及 TLR6 配体 Pam3CSK4、HKLM、FSL-1 分别刺激培养卵巢癌组、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 24 h 后,IL-10 mRNA 表达水平显著高于良性疾病组和健康对照组,且其分泌水平较良性疾病组和健康对照组亦有显著增高,而妇科良性疾病组与健康对照组间无显著性改变。另外,卵巢癌组 PBMC 经 FSL-1 刺激 24 h 后,IL-10 mRNA 表达水平较良性疾病组和健康对照组显著增加,而良性疾病组与健康对照组间无显著性改变。由此可见,卵巢癌患者 PBMC 中高表达的 TLR2 在配体 HKLM、FSL-1 的刺激下,可诱导 IL-10 高表达,而 TLR1 配体 Pam3CSK4 作用后并未发现 IL-10 表达水平增高,这可能因为 TLR6 未能与 TLR2 形成异二聚体而影响其功能发挥。

在正常情况下,IL-10 主要由 Th2 细胞、单核-巨噬细胞、B 淋巴细胞和角化细胞等产生,当机体发

生肿瘤时,IL-10 的水平异常升高。这些异常升高的 IL-10 主要有以下几个来源:①异常升高的 Th2 细胞亚群为 IL-10 的主要来源,当机体处于荷瘤状态时,Th1/Th2 平衡向 Th2 漂移;②T 调节性细胞 1(T regulatory cells 1,Tr1)分泌 IL-10;③肿瘤细胞自身分泌 IL-10^[14]。IL-10 具有多种生物活性,IL-10 可抑制抗原递呈细胞(APC)在肿瘤组织的浸润、分化、成熟及对抗原的趋化反应,进而 IL-10 通过功能缺陷型 APC 使细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL)处于免疫无能状态,而这种无能 T 细胞又能产生 TGF- β ,加重免疫抑制状态。另外,IL-10 是通过抑制 APC 表面的 MHC 类分子和共刺激分子的表达,从而抑制 Th1 细胞的分化,降低树突状细胞细胞的抗肿瘤能力^[15-16]。不仅如此,IL-10 可通过抑制 IL-1 和 IL-3、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和 IL-6 削弱 NK 细胞的抗肿瘤活性;还可通过影响肿瘤细胞表面分子的表达改变 NK 细胞对肿瘤细胞的敏感性。IL-10 可抑制巨噬细胞产生活性氧,从而抑制具有抗肿瘤活性的一氧化氮(NO)产生。综上所述,IL-10 可通过多种途径抑制机体的抗肿瘤免疫。

近年来,IL-10 在恶性肿瘤发生、发展中的作用日益受到学者的关注^[17-18]。许多类型的肿瘤细胞均可分泌 IL-10,并可能通过 IL-10 的免疫抑制作用而逃避机体免疫系统的监视。IL-10 还能作为自分泌或旁分泌生长因子促进肿瘤生长,并能抑制细胞凋亡,调节肿瘤微环境。IL-10 在卵巢癌发生、发展中作用亦受到越来越多的重视,有学者研究发现^[19],卵巢癌患者恶性组织中 IL-10 高表达,且在血管内皮生长因子的协同作用下不依赖树突状细胞可诱导调节性 T 细胞(Treg)分化,调节卵巢癌的免疫逃逸。Chen 等^[20]研究发现卵巢癌患者 IL-10 的异常分泌打破了机体免疫平衡,与卵巢癌的进展密切相关。Matte 等^[21]通过对卵巢癌患者腹水研究证实,卵巢癌患者腹水中存在 IL-10 高表达现象,IL-10 可抑制卵巢肿瘤细胞的凋亡,与卵巢癌患者的不良预后密切相关。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-10 mRNA 表达水平及蛋白分泌水平升高现象,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 mRNA 表达水平显著增高,经其介导的免疫抑制因子 IL-10 表达水平的上调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 Oncol*, 2012, 2012: 642141
- [2] Cannistra SA. Cancer of the ovary [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(24): 2519–2529
- [3] 王越. TGF β 和 IL-10 与卵巢癌[J]. *国外医学: 免疫学分册*, 2005, 28(5): 30–34
- [4] 张雯珂, 薛颖, 崔激. 参与卵巢癌免疫逃逸的免疫抑制分子研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2008, 35(1): 47–49
- [5] Elnemr A, Ohta T, Yachie A, et al. Human pancreatic cancer cells express non-functional Fas receptors and counterattack lymphocytes by expressing Fas ligand; a potential mechanism for immune escape[J]. *Int J Oncol*, 2001, 18(1): 33–39
- [6] 张筱茵, 陈咏仪, 刘泳, 等. 胃癌局部细胞因子表达谱分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2002, 24(1): 18–20
- [7] Giuntoli RL, 2nd, Webb TJ, Zoso A, et al. Ovarian cancer-associated ascites demonstrates altered immune environment; implications for antitumor immunity[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(8): 2875–2884
- [8] Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2001, 1(2): 135–145
- [9] Re F, Strominger JL. IL-10 released by concomitant TLR2 stimulation blocks the induction of a subset of Th1 cytokines that are specifically induced by TLR4 or TLR3 in human dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2004, 173(12): 7548–7555
- [10] 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
- [11] 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(2): 17–18
- [12] Gillaux C, Mehats C, Vaiman D, et al. Functional screenin
g of TLRs in human amniotic epithelial cells [J]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2766–2774
- [13] 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
- [14] Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, et al. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1): 234–243
- [15] Kim S, Buchlis G, Fridlender ZG, et al. Systemic blockade of transforming growth factor-beta signaling augments the efficacy of immunogene therapy [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(24): 10247–10256
- [16] Ramos RN, de Moraes CJ, Zelante B, et al. What are the molecules involved in regulatory T-cells induction by dendritic cells in cancer? [J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 806025
- [17] Sung WW, Wang YC, Lin PL, et al. IL-10 promotes tumor aggressiveness via upregulation of CIP2A transcription in lung adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(15): 4092–4103
- [18] Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review [J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(6): e218–228
- [19] Liu CZ, Zhang L, Chang XH, et al. Overexpression and immunosuppressive functions of transforming growth factor 1, vascular endothelial growth factor and interleukin-10 in epithelial ovarian cancer [J]. *Chin J Cancer Res*, 2012, 24(2): 130–137
- [20] Chen YL, Chang MC, Chen CA, et al. Depletion of regulatory T lymphocytes reverses the imbalance between pro and anti-tumor immunities via enhancing antigen-specific T cell immune responses [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47190
- [21] Matte I, Lane D, Laplante C, et al. Profiling of cytokines in human epithelial ovarian cancer ascites [J]. *Am J Cancer Res*, 2012, 2(5): 566–580

[收稿日期] 2013-07-11