

· 基础研究 ·

IL-18诱导的单核细胞THP-1对肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

聂兆超¹, 石 星², 毛海婷^{1*}¹山东大学第二医院检验医学中心, 山东 济南 250000; ²淄博市妇幼保健院检验科, 山东 淄博 255000

[摘要] 目的:探讨外源性白介素18(interleukin 18, IL-18)对单核细胞THP-1的活化作用以及IL-18激活诱导的THP-1对肺癌A549细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法:通过IL-18体外诱导THP-1模拟激活体内肿瘤微环境中的肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)的作用。Transwell法检测IL-18对单核细胞THP-1的趋化作用;外源性IL-18刺激THP-1细胞后流式细胞术检测M1、M2型TAM的比例;IL-18激活诱导的THP-1和肺癌细胞A549共培养,分别以克隆形成实验、细胞划痕实验、细胞侵袭实验检测共培养后A549细胞增殖、迁移和侵袭的变化;扫描电镜观察共培养后A549细胞形态的变化;qRT-PCR和Western blot检测共培养后A549细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)标志蛋白E-cadherin和N-cadherin、Snail以及Slug的表达。结果:IL-18对THP-1细胞具有显著的趋化作用;外源性IL-18刺激THP-1细胞表型向M2 TAM方向分化;IL-18诱导THP-1促进了A549细胞增殖、迁移和侵袭能力;扫描电镜结果显示IL-18诱导THP-1促进A549细胞伪足生长;qRT-PCR和Western blot检测结果显示经IL-18诱导的THP-1抑制A549细胞E-cadherin的表达,促进N-cadherin、Snail以及Slug的表达,说明IL-18诱导THP-1激活A549细胞发生EMT。结论:IL-18可以诱导THP-1并促进其活化,活化后的THP-1通过激活EMT机制促进肺癌A549细胞的增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 肺癌细胞;THP-1;IL-18;EMT**[中图分类号]** R734.2**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2019)10-1430-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20191005

Effects of IL-18-induced mononuclear cell THP-1 on proliferation, migration and invasion of lung cancer cells

Nie Zhaochao¹, Shi Xing², Mao Haiting^{1*}¹Laboratory Medical Center, the Second Hospital of Shandong University, Jinan 250000; ²Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Zibo, Zibo 255000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the activation of monocytes (THP-1) by exogenous interleukin 18 (IL-18) and the proliferation, metastasis and invasion of lung cancer A549 cells by THP-1 induced by IL-18 activation influences. **Methods:** The role of tumor associated macrophages (TAMs) in tumor microenvironment *in vivo* was simulated by IL-18 induced THP-1 *in vitro*. The chemotactic effect of IL-18 on mononuclear cell THP-1 was detected by Transwell method. Exogenous IL-18 stimulated THP-1 cells and detected the proportion of M1 and M2 TAMs; IL-18-activated TAMs and lung cancer cells A549 were co-cultured. The changes of proliferation, migration and invasion of co-cultured A549 cells were detected by cloning experiment, cell scratch test and cell invasion assay. The morphology of A549 cells after co-culture was observed by scanning electron microscope. The expressions of epithelial mesenchymal transition (EMT) marker proteins E-cadherin, N-cadherin, Snail and Slug in A549 cells were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results:** IL-18 had a significant chemotactic effect on THP-1 cells. Exogenous IL-18 stimulated the THP-1 cell phenotype from M2 to TAMs. IL-18 induced THP-1 promoted the proliferation, migration and invasion of A549. Scanning electron microscopy showed that THP-1 promoted the growth of pseudopod of A549 cells. At the same time, the expression of E-cadherin was inhibited, and the expression of N-cadherin, Snail and Slug was promoted, indicating that IL-18 induced THP-1 activated EMT in A549 cells. **Conclusion:** In lung cancer, IL-18 can activate THP-1 and promote their activation. Activated THP-1 promotes the proliferation, migration and invasion of lung cancer A549 cells by activating EMT.

[Key words] lung cancer cells; THP-1; IL-18; EMT

[Acta Univ Med Nanjing, 2019, 39(10): 1430-1436]

[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR201807060425)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: maohaiting@sdu.edu.cn

肺癌作为临床上常见的癌症之一,发病率在逐年上升^[1]。肺癌的发病具有一定隐蔽性,确诊时患者多已处于晚期,且易发生转移^[2],治疗难度大,致死率高。肺癌的发生发展是多因素参与的复杂过程,主要包括外部因素和内部因素。外部因素比如空气污染,经常接触强放射性元素等;内部因素主要有炎症因子的分泌^[3],各种生长因子以及基因突变导致的抑癌基因失活和致癌基因的激活。特别是各种肿瘤细胞因子和促癌物质构成的肿瘤微环境,是引起肺癌增殖、发生转移和侵袭的重要原因^[4]。在肿瘤微环境中炎症因子白介素18(interleukin 18, IL-18)的分泌、肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)的激活,为肿瘤细胞的生长以及免疫逃逸提供了有利的条件^[5]。临床上有研究表明,TAM的浸润与癌症患者的不良预后关系密切^[6],但是在肺癌的肿瘤微环境中,TAM的来源以及作用尚不清楚。

前期研究我们发现IL-18是一种重要的单核细胞趋化因子,其可以促进上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)发生,因此本研究拟通过探讨IL-18对单核细胞THP-1的活化作用及活化后其对肺癌A549细胞EMT发生和细胞增殖、迁移以及侵袭作用的影响,来模拟IL-18激活体内肿瘤微环境中TAM的作用,为临床上肺癌的治疗寻找新靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

单核细胞THP-1和人肺癌细胞A549均购自中科院上海细胞库。DMEM培养基、RPMI1640培养液、青链霉素、胎牛血清、胰蛋白酶(Hyclone公司,美国);IL-18、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、鼠抗人Percp-CD68抗体、APC-CD206抗体、PE-CD163抗体和兔抗人PE-cy7 CCR7抗体、E-cadherin抗体、N-cadherin抗体、Snail抗体以及Slug抗体、兔二抗(Abcam公司,英国);E-cadherin和N-cadherin、Snail以及Slug引物(上海吉凯生物);一抗稀释液、SDS试剂盒(北京碧云天);PBS(西安壮志生物);脱脂奶粉(西安科昊生物);BD胶(Corning公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 IL-18体外刺激THP-1细胞

THP-1细胞在10%胎牛血清和1%青链霉素的DMEM培养液中,37℃、5%CO₂条件下培养。外源

性IL-18(5 ng/mL)刺激THP-1细胞48 h和72 h(后续实验均刺激72 h),刺激组和未刺激组分别与A549细胞共培养。

1.2.2 细胞趋化实验

取对数生长期的THP-1细胞,离心收集后PBS洗涤细胞1次,用DMEM培养液重悬后计数。THP-1和IL-18+THP-1细胞分别加至Transwell上室,每孔4×10⁵个细胞,以DMEM培养液将上室液体补齐至200 μL,Transwell下室每孔加入600 μL含少量MCP-1的DMEM培养液。37℃孵育90 min,吸去上、下室培养液。加入95%乙醇固定细胞15 min,吸去乙醇。下室加入500 μL结晶紫染液,染色10 min,去离子水洗2次,晾干后于显微镜下观察,每孔取5个视野进行细胞计数。

1.2.3 流式细胞术鉴定细胞表型

取对数生长期的THP-1细胞,离心收集细胞,PBS洗涤后细胞计数,调整细胞密度,以每孔约4×10⁵个细胞接种至6孔板中。待细胞密度达到60%左右,加外源性IL-18(5 ng/mL)处理,37℃、5%CO₂继续培养48、72 h。收集至流式管中,PBS洗涤,1 000 r/min×5 min离心后弃上清,管中加入100 μL PBS制成细胞悬液,分别加入5 μL鼠抗人Percp-CD68抗体、APC-CD206抗体、PE-CD163抗体和兔抗人PE-cy7 CCR7抗体,最后1%多聚甲醛固定,上流式细胞仪检测。CD206/CD163为M2型巨噬细胞表型标志物,CD68为巨噬细胞表型标志物,CCR7为单核细胞表型标志物。

1.2.4 克隆形成实验

取对数生长期A549细胞,胰蛋白酶消化,细胞计数,调整细胞密度为150个/mL,接种至6孔板,每孔2 mL,作为未处理组。实验组分别将未经诱导的THP-1细胞或经体外IL-18刺激诱导72 h的THP-1细胞分别与A549细胞按照1:1的比例混合,接种于0.40 μm的Transwell小室上室,培养箱设定37℃、5%CO₂进行培养15 d后,吸去培养液,PBS洗3遍,4%多聚甲醛固定30 min,0.1%结晶紫染色10 min,随后PBS清洗,室温风干,观察细胞克隆形成数。

1.2.5 细胞划痕实验

取对数生长期A549细胞,细胞密度为4×10⁵个/孔,细胞经体外IL-18刺激诱导为THP-1细胞,细胞接种、培养方法同1.2.4。每孔2 mL DMEM培养液,细胞密度至80%时,细胞划痕,划痕后更换无血清培养液,各组记为0 h并分别拍照,以后6、10、24 h拍照记录划痕变化情况。

1.2.6 细胞侵袭实验

将20 μL Matrigel BD胶(1 mg/mL)冰上操作铺于8 μm Transwell小室底部,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱放置1 h,待BD胶凝固。取对数生长期A549细胞,胰蛋白酶消化,细胞计数,调整细胞数 4×10^5 个/孔,直接接种上层小室作为未处理组,下室为培养液;实验组分别将未经诱导的THP-1细胞或经体外IL-18刺激诱导的THP-1细胞分别与A549细胞按照1:1的比例混合,接种于0.40 μm 的Transwell小室下室,上层接种A549细胞,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养,每孔600 μL DMEM培养液,12 h后PBS洗3次,4%多聚甲醛固定30 min,室温风干,0.1%结晶紫染色10 min,PBS洗3遍,用棉签轻轻擦去上层未迁移的细胞,33%乙酸脱色,酶标仪450 nm读数。

1.2.7 扫描电镜

取对数生长期A549细胞,胰蛋白酶消化,细胞计数,调整细胞数 4×10^5 个/孔。细胞诱导、接种、培养同方法1.2.4。用4%戊二醛固定下室细胞,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置6 h,然后乙醇梯度脱水,真空干燥,镀金仪电压1 100 V,电流5 mA,镀金20 min,在1 000倍扫描电镜下观察细胞形态。

1.2.8 qRT-PCR

取对数生长期A549细胞,胰蛋白酶消化,细胞计数, 1×10^6 个/孔接种细胞。细胞诱导、接种、培养同方法1.2.4。严格按照试剂盒步骤提取、定量、反转录和PCR反应。反应在ABI Prime 7300上进行。参数为95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min、95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s和72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s。后3步重复40个循环,在60 $^{\circ}\text{C}$ 进行单点荧光检测(每个样本设3个复孔)。实验数据,以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 进行计算。引物序列如下:E-cadherin上游5'-ATTTTTCCCTCGACACCCGAT-3',下游5'-TCCCAGCGTAGACCAA-3';N-cadherin上游5'-AGCCAACCTTAAGTGGAGGAGT-3',下游5'-GGCAAGTTGATTGGAGGGATG-3';Snail上游5'-TCGGAAGCCTAACTACAGCGA-3',下游5'-AGATGAGCATTGGCAGCGAG-3';Slug上游5'-TGTGA-CAAGGAATATGTGAGC-3',下游5'-AGCCCTCAG-ATTTGACCTG-3';actin上游5'-ACCCACTCCTCCACCTTG-3',下游5'-CACCACCCTGTTGCTGTAG-3'。

1.2.9 Western blot

细胞诱导、接种、培养同方法1.2.4。PBS清洗后加细胞裂解液放置冰上裂解,30 min后离心吸取细胞蛋白。取小鼠肺组织液氮冷冻,随后进行碾磨,裂解液裂解,低温离心吸取组织蛋白。蛋白定量完

成后加上样缓冲液,沸水煮5 min。SDS-PAGE电泳后进行转膜操作,转膜成功后用脱脂牛奶进行封闭,PBST清洗,1:1 000比例稀释一抗(actin、E-cadherin、N-cadherin、Snail和Slug抗体),室温孵育1 h后4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日反复清洗条带,加HRP标记的二抗室温孵育90 min,PBS反复冲洗,加ECL发光液,化学发光仪检测并拍照。

1.3 统计学方法

所有数据应用SPSS17.0软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-18促进THP-1细胞向M2型TAM转化

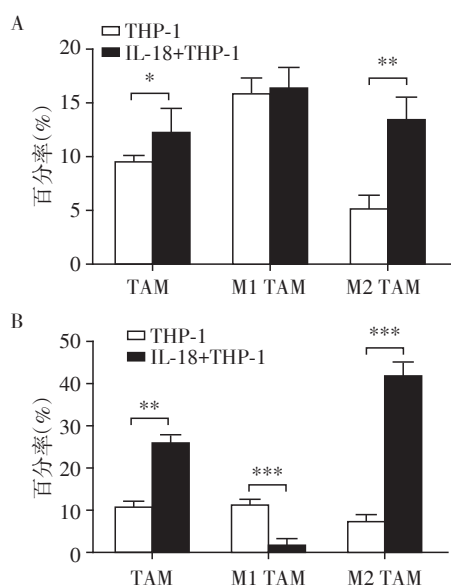
趋化实验结果显示:与未经IL-18刺激组[(73.33 \pm 5.12)个]相比,IL-18+THP-1组穿膜细胞数明显较多[(176.00 \pm 2.66)个],差异具有统计学意义($P < 0.001$),说明IL-18对THP-1细胞具有明显的趋化作用;外源性IL-18(5 ng/mL)刺激THP-1细胞48 h后,CD68⁺细胞的百分比增加,同时CD163⁺CD206⁺双阳性细胞的百分比也增加($P=0.005$),CCR7⁺细胞百分比有降低的趋势,但是差异无统计学意义($P=0.103$,图1A),说明THP-1细胞向M2型TAM转化;刺激72 h后,CD68⁺细胞的百分比增加,同时CD163⁺CD206⁺细胞的百分比明显增加($P=0.006$),而CCR7⁺细胞的百分比降低($P < 0.001$),差异具有统计学意义(图1B)。

2.2 IL-18刺激THP-1促进了A549细胞的克隆形成能力

克隆形成实验显示,3组的克隆形成能力差异有统计学意义($F=332.95$, $P < 0.001$)。组间比较发现:未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组的克隆形成能力差异不具有统计学意义($P=0.497$);而A549细胞和IL-18+THP-1共培养组细胞克隆形成能力明显强于前两组,差异具有统计学意义($P < 0.001$,图2)。

2.3 IL-18刺激THP-1促进了A549细胞的划痕愈合能力

两因素方差分析结果表明,3组在愈合率上有显著差别($F=289.2$, $P < 0.001$),随着时间增加,各组愈合率均增加,差异有统计学意义($P < 0.001$)。单因素方差分析结果显示,0 h($F=0.642$, $P=0.529$)和6 h($F=2.985$, $P=0.236$)3组愈合率无显著统计学差异,而10 h($F=128.03$, $P < 0.001$)和24 h($F=1 984.70$,



A、B:IL-18对THP-1表型分化的影响,48 h(A)和72 h(B)IL-18均可以促进THP-1细胞的表型向M2型TAMs方向转化,但是72 h的作用更明显,两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

图1 IL-18对THP-1细胞趋化作用以及对其表型分化影响
Figure 1 Effect of IL-18 on THP-1 cell chemotaxis and its phenotypic differentiation

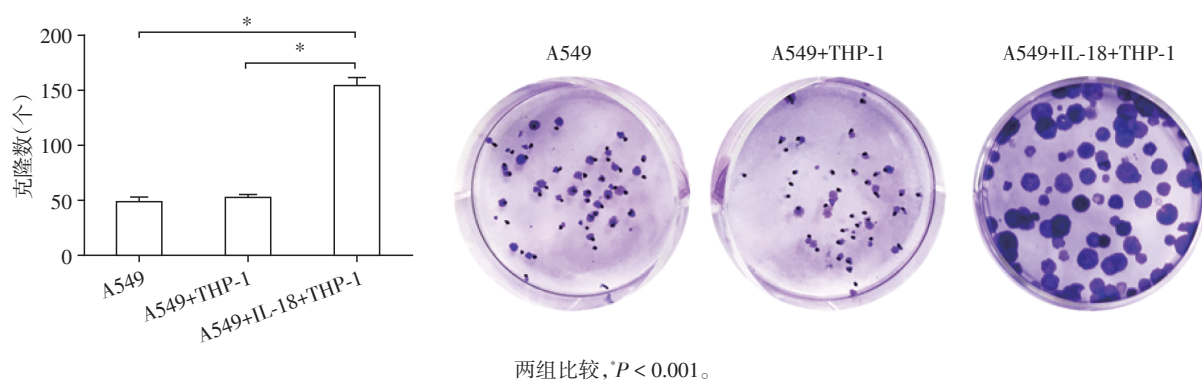


图2 不同处理组A549细胞的克隆形成能力分析

Figure 2 Analysis of clone formation ability of A549 cells in three different groups

2.6 IL-18刺激THP-1激活诱导A549细胞EMT的发生

qRT-PCR和Western blot结果提示,A549细胞和IL-18+THP-1共培养组细胞的E-cadherin($F=145.61, P < 0.001$; $F=1\ 007.99, P < 0.001$)、N-cadherin($F=895.73, P < 0.001$; $F=2\ 933.07, P < 0.001$)、Snail($F=568.54, P < 0.001$; $F=7\ 262.61, P < 0.001$)和Slug($F=851.10, P < 0.001$; $F=3\ 380.19, P < 0.001$)均具有显著统计学差异。其中E-cadherin表达量同未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组相比降低($P < 0.001$);而N-cadherin、Snail和Slug与未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组相比表达增

$P < 0.001$)3组间具有显著统计学差异。其中在10 h和24 h,未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组的划痕愈合能力差异不大,不具有统计学意义($P=0.392, 0.127$);而A549细胞和IL-18+THP-1共培养组细胞划痕愈合能力明显强于前两组,差异具有统计学意义(P 均 < 0.001 ,图3)。

2.4 IL-18刺激THP-1促进了A549细胞的侵袭形成能力

刺激后,3组的侵袭能力具有显著统计学差异($F=27.13, P=0.001$)。组间比较发现:未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组的细胞侵袭能力差异不大,不具有统计学意义($P=0.589$);而A549细胞和IL-18+THP-1共培养组细胞侵袭能力明显强于前两组,差异有统计学意义($P=0.002, 0.001$,图4)。

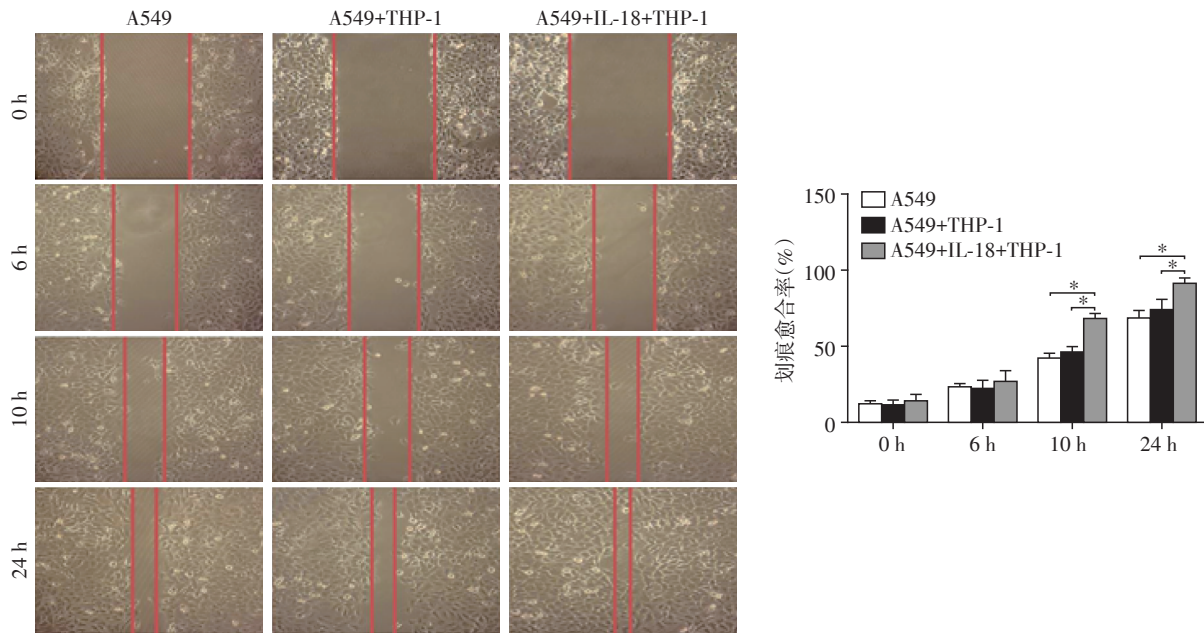
2.5 IL-18刺激THP-1促进了A549细胞伪足的生成

扫描电镜下观察发现,与未处理组A549细胞和A549+THP-1共培养组的细胞相比,A549+IL-18+THP-1共培养组A549细胞伪足多且长(图5)。

高,差异具有统计学意义($P < 0.001$,图6)。

3 讨论

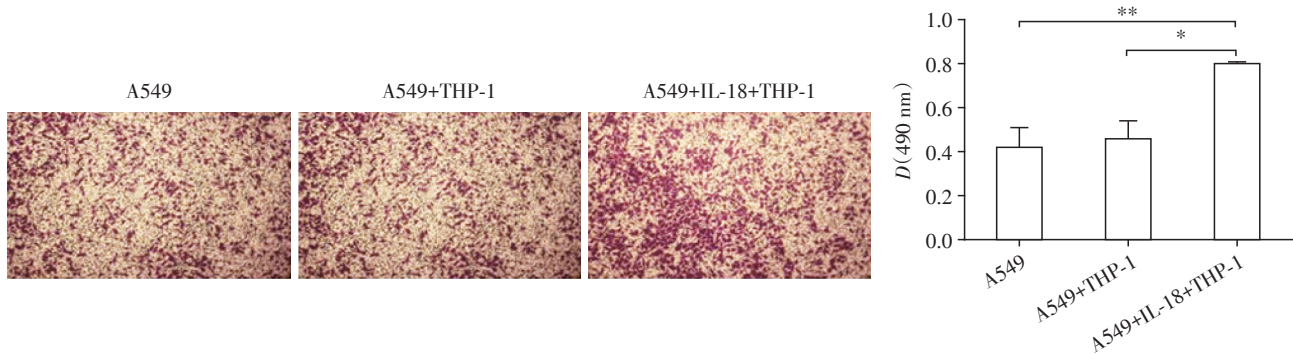
肺癌是临床上常见的癌症之一,主要分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),因肺癌死亡的人数逐年增加^[7]。肺癌发病隐蔽,导致肺癌患者确诊时多已处于中晚期,错过了最佳的手术治疗时期。肺癌的高转移性和侵袭性是其治疗难点,很多患者被诊断出肺癌时,肿瘤细胞已经在体内转移扩散至别的器官如肝脏等形成新的病灶,肺癌作为高转移性肿瘤的致死率远高于原发性肿瘤^[8]。肺癌的



两组比较,* $P < 0.001$ 。

图3 不同处理组A549细胞的划痕愈合能力分析(×40)

Figure 3 Analysis of scratch healing ability of A549 cells in three different groups(×40)



两组比较,* $P < 0.01$,** $P < 0.001$ 。

图4 不同处理组A549细胞的侵袭能力分析(×40)

Figure 4 Invasive ability analysis of A549 cells in three different groups(×40)

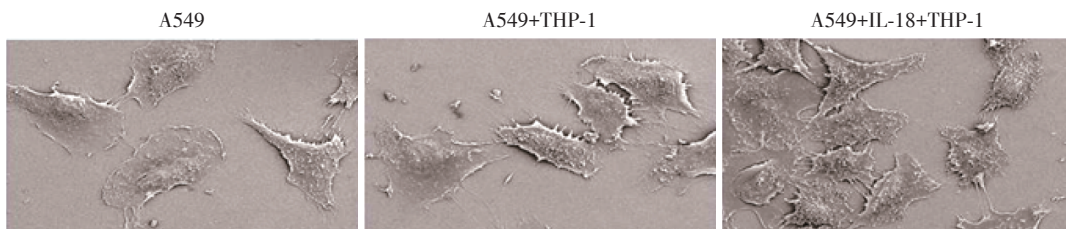
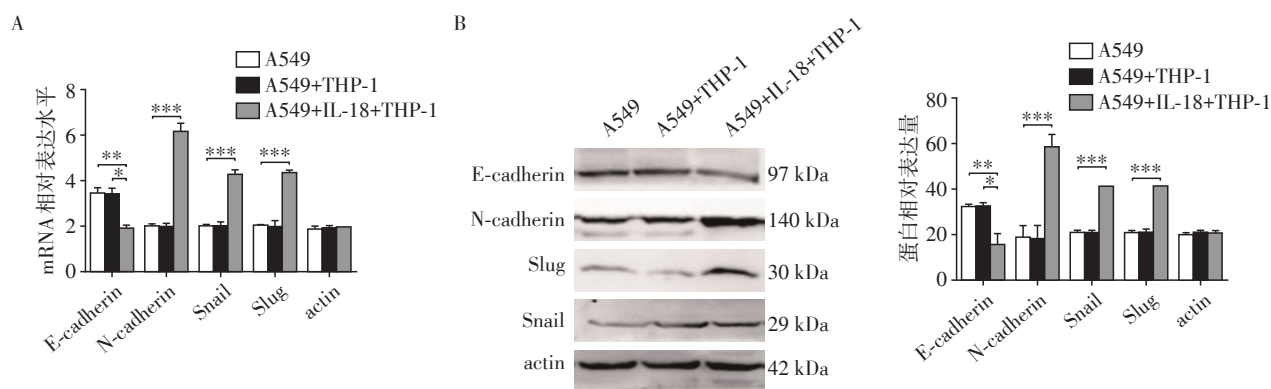


图5 不同处理组A549细胞的扫描电镜结果(×1 000)

Figure 5 Scanning electron microscopy results of A549 cells in three different groups(×1 000)

发生发展是多基因参与多因素造成的复杂过程,目前临床上没有单一疗法可以抑制肺癌的增殖转移以及侵袭^[9],因此目前全世界范围内,对肺癌发生发展的分子机制和肺癌治疗新方法都是研究热点^[10]。

肺癌发生的内部因素主要包括抑癌基因 ING5 的失活、促癌基因 P53 等的激活、IL-18 和 CXCL6/ CXCL12 等趋化因子作用影响^[11]。这些因素对肺癌的发生发展都起到一定作用,同时它们在肺癌细胞



A: qRT-PCR 检测 3 组不同处理组 A549 细胞的 EMT marker 表达情况; B: Western blot 检测 3 组不同处理组 A549 细胞的 EMT marker 表达情况。

图 6 不同处理组 A549 细胞的 EMT marker 表达情况

Figure 6 Expression of EMT markers in three different groups of A549 cells

周围形成的肿瘤微环境有利于肺癌细胞的增殖扩散、转移和产生耐药性^[12]。其中趋化因子 IL-18 主要由巨噬细胞分泌,而其分泌的 IL-18 又可以诱导巨噬细胞分化为单核巨噬细胞以及肝脏 Kupffer 细胞等^[15]。现有研究表明,小鼠的单核细胞、巨噬细胞均可以分泌 IL-18,但是 T 细胞和 B 细胞未见分泌,而人的 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞均检测出 IL-18 的分泌^[5,9]。IL-18 可以促进巨噬细胞的分化,同时诱导多种细胞因子的分泌,比如诱导 Th1 细胞产生 IFN- γ 。

肿瘤微环境与肿瘤细胞之间是通过一个复杂的细胞分子网络来相互联系的。IL-18 作为重要的细胞趋化因子,在肿瘤微环境和肿瘤细胞之间起到重要的纽带作用。目前已有研究表明,卵巢癌、胃癌和结肠癌等肿瘤组织中均发现 IL-18 异常表达,且肿瘤组织中的表达要高于癌旁组织和正常组织,说明肿瘤的发生发展和 IL-18 密切相关^[16]。同时在鳞状上皮食管癌中发现 IL-18 可以促进 CD163⁺ TAM 生成,影响患者的预后生存率,但是肺癌中 IL-18 和 TAM 之间的作用鲜有报道。TAM 就是存在于肿瘤细胞微环境的一种巨噬细胞,TAM 在肿瘤微环境中起到重要的作用,根据细胞表型和功能的不同分为 M1 型(经典活化巨噬细胞)和 M2 型(替代活化巨噬细胞)^[13]。M1 型巨噬细胞主要参与了炎症反应和抗肿瘤免疫作用,M2 型巨噬细胞具有抗炎作用以及修复损伤的功能,但是也可以促进肿瘤生长。TAM 与 M2 型巨噬细胞相近,为肿瘤的发生发展提供微环境^[14],临床上有研究表明,TAM 的浸润性与癌症患者不良预后关系密切,但是在肺癌的肿瘤微环境中,TAM 的作用尚不清楚。本研究发现 IL-18 对单核细胞系 THP-1 细胞具有明显的趋化作用,IL-18 刺

激 THP-1 细胞 48、72 h 后,CD68⁺细胞的比例和 M2 型 TAM CD206⁺CD163⁺细胞的比例增加,但是 48 h 的作用无 72 h 显著,提示 IL-18 在表型方面促进 THP-1 细胞的表型向 M2 型 TAM 方向极化。IL-18 刺激 THP-1 细胞后与 A549 细胞共培养后,显著提高了 A549 细胞的克隆形成能力、划痕愈合能力和细胞侵袭能力,说明 IL-18 刺激 THP-1 可以促进 A549 细胞的增殖和迁移侵袭能力。

EMT 机制是肿瘤细胞发生转移侵袭的经典分子机制^[17],是指在特定的生理和病理情况下,具有极性的上皮细胞向具有迁移能力的间充质细胞发生转化的现象。发生 EMT 后,标志蛋白 E-cadherin 表达量下调,E-cadherin 的缺失使得上皮细胞从原发性肿瘤分离脱落并且获得能动性,但是在发生 EMT 时 N-cadherin 表达量增加,促进 EMT 的发生并促使血管再生,增加肿瘤细胞的侵袭和转移能力^[18]。Snail 和 Twist 在多种肿瘤中都高表达,可以竞争性结合 E-cadherin 启动区的 E-box 序列而抑制 E-cadherin 的表达,从而增加肿瘤细胞的侵袭转移能力^[19]。已经有研究表明在胃癌中 TAM 促进了胃癌 EMT 的发生,从而促进转移和侵袭作用。因此推测 TAM 与 A549 细胞共培养后激活 A549 细胞的 EMT 机制,从而导致了其增殖和迁移侵袭能力的增强。本研究通过 qRT-PCR 和 Western blot 检测,发现 IL-18 刺激 THP-1 细胞与 A549 细胞共培养后抑制了 E-cadherin 的表达,促进了 N-cadherin、Snail 和 Slug 的表达,充分说明 IL-18 刺激 THP-1 激活了 A549 细胞 EMT 的发生。但是 THP-1 只能进行体外模拟 TAM,因此需要临床收集肺癌患者组织,提取 TAM 细胞,进行体内实验加以验证,这将是我们的下一步研究的重点。

综上所述,本研究首次发现通过外源性 IL-18

刺激诱导 THP-1 细胞能够激活肺癌细胞 EMT 机制发生,促进肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭能力,提示 IL-18 可能在肿瘤微环境中诱导 TAM 向 M2 型分化,从而参与促进肿瘤发展的微环境的形成,促进肿瘤细胞转移侵袭能力,因此抑制 IL-18 分泌,阻止 TAM 在肿瘤微环境中的募集,可能会为肺癌的治疗提供新的方案。

[参考文献]

- [1] 臧瑜,于虹,李妍,等.肺癌患者症状群的调查研究[J].中华护理杂志,2016,12(3):316-320
- [2] 陈爱东,魏磊,刘胜平,等.miR-939对非小细胞肺癌侵袭能力及上皮细胞-间充质转化过程的影响[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(5):1054-1058
- [3] Prabhu VV, Elangovan P, Devaraj SN, et al. Targeting apoptosis by 1,2-diazole through regulation of EGFR, Bcl-2 and CDK-2 mediated signaling pathway in human non-small cell lung carcinoma A549 cells[J]. Gene, 2018, 30(679):352-359
- [4] Xiao Q, Zheng F, Tang Q, et al. Repression of PDK1- and lncRNA HOTAIR-mediated EZH2 gene expression contributes to the enhancement of atractylenolide 1 and erlotinib in the inhibition of human lung cancer cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(4):1615-1632
- [5] Shen Z, Seppanen H, Vainionpaa S, et al. IL10, IL11, IL18 are differently expressed in CD14⁺ TAMs and play different role in regulating the invasion of gastric cancer cells under hypoxia[J]. Cytokine, 2012, 59(2):352-357
- [6] Weimbs T. Are cyst-associated macrophages in polycystic kidney disease the equivalent to TAMs in cancer? [J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(10):2447-2448
- [7] Krishnaswamy S, Bukhari I, Mohammed AK, et al. Identification of the splice variants of recepteur d'origine nantais (RON) in lung cancer cell lines [J]. Gene, 2018, 12(23):112-115
- [8] Zhang J, Cai H, Sun L, et al. LGR5, a novel functional glioma stem cell marker, promotes EMT by activating the Wnt/beta-catenin pathway and predicts poor survival of glioma patients[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):225
- [9] Jeong JH, Jang HJ, Kwak S, et al. Novel TGF-beta1 inhibitor antagonizes TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in human A549 lung cancer cells[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(1):977-987
- [10] Chen Y, Luo XS, Zhao Z, et al. Summer-winter differences of PM2.5 toxicity to human alveolar epithelial cells (A549) and the roles of transition metals [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2018, 165(23):505-509
- [11] Li K, Wei L, Huang Y, et al. Leptin promotes breast cancer cell migration and invasion via IL-18 expression and secretion[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6):2479-2487
- [12] Zhao X, Qu J, Liu X, et al. Baicalein suppress EMT of breast cancer by mediating tumor-associated macrophages polarization [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(8):1528-1540
- [13] Seyedi Z, Hashemzadeh MR, Colagar AH, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 downregulation in J774A.1 cell line as a model of M2 macrophages in tumor microenvironment [J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(5):1121-1125
- [14] Pawar VK, Singh Y, Sharma K, et al. Improved chemotherapy against breast cancer through immunotherapeutic activity of fucoidan decorated electrostatically assembled nanoparticles bearing doxorubicin [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 130(18):1817-1818
- [15] van Rooijen JM, Qiu SQ, Timmer-Bosscha H, et al. Androgen receptor expression inversely correlates with immune cell infiltration in human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer [J]. Eur J Cancer, 2018, 103(10):52-60
- [16] 陈亚楠,杨如,许芝山,等.过表达IL-18抑制人结肠癌细胞HCT-116的增殖[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,14(2):142-147
- [17] Yao W, Yan L, Han L, et al. The CDR1as/miR-7/TGFBR2 axis modulates EMT in silica-induced pulmonary fibrosis [J]. Toxicol Sci, 2018, 166(2):465-478
- [18] 李汉倩,可燕.上皮间质转化研究进展[J].中国药理学通报,2017,33(10):1342-1344
- [19] 刘伊扬,钱健,徐爱民,等.长链非编码RNA BX357664对肾透明细胞癌细胞上皮间质转化过程的影响[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(6):25-30

[收稿日期] 2018-10-18