doi:10.11659/jjssx.04E022103

·基础研究·

白介素-24 通过干扰 CXCL12/CXCR4 轴抑制宫颈癌细胞迁移和侵袭的机制研究

吴海芳,张海波,黄素静,韩一栩 (海南医学院第二附属医院产科,海南 海口 570311)

[摘 要] **目的** 探究白介素-24(IL-24)靶向 CXCL12/CXCR4 轴抑制宫颈癌细胞迁移及侵袭的作用机制。**方法** 体外培养正常子宫颈上皮细胞 HcerEpic 及宫颈癌细胞系 Hela、Siha、Caski、C-33A,应用 RT-PCR 与 Western blot 检测上述细胞中 CXCR4 的 mRNA 和蛋白表达水平。将 Hela 细胞分为 Control 组(细胞正常培养,无任何特殊处理)、CXCL12 组(细胞用 100 ng/mL CXCL12 处理)、CXCL12 + LV-NC 组(细胞感染 LV-NC 后使用 100 ng/mL CXCL12 处理)、CXCL12 + LV-IL-24 组(细胞感染 LV-IL-24 后使用 100 ng/mL CXCL12 处理)、CXCL12 + AMD3100 组(联合使用 100 ng/mL CXCL12 及 1 μg/mL AMD3100 处理细胞)、CXCL12 + AMD3100 + LV-IL-24 组(细胞经 LV-IL-24 感染后联合 100 ng/mL CXCL12 与 1 μg/mL AMD3100 处理)。划痕实验、Transwell 侵袭实验分别检测各组宫颈癌细胞的迁移、侵袭能力;Western blot 检测 CXCR4 蛋白表达及 Akt/mTOR 信号通路中 p-AKT、p-mTOR 蛋白表达。**结果** 与 HcerEpic 细胞相比,宫颈癌细胞系中 CXCR4 的 mRNA 和蛋白的表达水平均显著增加($P<0.05$),其中以 Hela 细胞最为明显($P<0.01$)。与细胞正常培养组相比,CXCL12 能够显著提高宫颈癌细胞的迁移与侵袭能力($P<0.05$),而过表达 IL-24 和(或)联合 AMD3100 能明显抑制 CXCL12 的上述促进作用($P<0.05$),其中以过表达 IL-24 联合 AMD3100 效果最为显著($P<0.01$)。Western blot 检测结果显示,与细胞正常培养组相比,CXCL12 能明显促进 Hela 细胞中 CXCR4、p-Akt 及 p-mTOR 蛋白的表达水平($P<0.05$),而过表达 IL-24 和(或)联合 AMD3100 能明显抑制 CXCL12 诱导的 p-Akt 及 p-mTOR 蛋白表达升高现象($P<0.05$),但过表达 IL-24 不影响 CXCL12 诱导的 CXCR4 表达增加($P>0.05$),而联合 AMD3100 能抑制这一现象($P<0.05$)。**结论** 在宫颈癌 Hela 细胞中,过表达 IL-24 能够通过 Akt/mTOR 信号途径破坏 CXCL12/CXCR4 轴诱导的肿瘤细胞侵袭与迁移促进的作用,且联合 CXCR4 抑制剂 AMD3100 效果更为显著。

[关键词] 宫颈癌;白介素-24;CXCL12/CXCR4;Akt/mTOR 信号通路;迁移;侵袭
[中图分类号] R737.33 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-04-25

Mechanism of interleukin-24 inhibiting migration and invasion of cervical cancer cells by interfering CXCL12/CXCR4 axis

WU Hai-fang, ZHANG Hai-bo, HUANG Su-jing, HAN Yi-xu (Department of Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570311, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of interleukin-24 (IL-24) targeting CXCL12/CXCR4 axis to inhibit the migration and invasion of cervical cancer cells. **Methods** Normal cervical epithelial cells HcerEpic and cervical cancer cell lines Hela, Siha, Caski and C-33A were cultured in vitro, and the mRNA and protein expression levels of CXCR4 in the above cells were detected by RT-PCR and Western blot. Hela cells were divided into the Control group (cells cultured without any special treatment), the CXCL12 group (cells treated with 100 ng/mL CXCL12), the CXCL12 + LV-NC group (cells infected with LV-NC and then treated with 100 ng/mL CXCL12), the CXCL12 + LV-IL-24 group (cells infected with LV-IL-24 and then treated with 100 ng/mL CXCL12), the CXCL12 + AMD3100 group (cells treated with 100 ng/mL CXCL12 and 1 μg/mL AMD3100), and the CXCL12 + AMD3100 + LV-IL-24 group (cells infected with LV-IL-24 and then treated with 100 ng/mL CXCL12 and 1 μg/mL AMD3100). Scratch assay and Transwell invasion assay were used to detect the migration

[基金项目] 海南省卫生计生行业科研项目(19A200009)
[通信作者] 吴海芳,E-mail:403660797@qq.com

[2] Sullivan J, Pappas E, Burns J. Role of mechanical factors in the clinical presentation of plantar heel pain: implications for management[J]. Foot (Edinb), 2020, 42: 101636. doi: 10.1016/j.foot.2019.08.007.
[3] Hung CY, Chang KV, Mezian K, et al. Advanced ankle and foot sonoanatomy: imaging beyond the basics[J]. Diagnostics (Basel), 2020, 10(3): 160. doi: 10.3390/diagnostics10030160.
[4] Moroni S, Zwierzina M, Starke V, et al. Clinical-anatomic mapping of the tarsal tunnel with regard to Baxter's neuropathy in recalcitrant heel pain syndrome: part I[J]. Surg Radiol Anat, 2019, 41(1): 29-41. doi: 10.1007/s00276-018-2124-z.
[5] Coles IR, Vieira CL, Gouveia IB, et al. Ultrasound block of first branch of the lateral plantar nerve (baxter nerve): case report of a promising and effective treatment for heel chronic pain[J]. Braz J Anesthesiol, 2021, 71(6): 664-666. doi: 10.1016/j.bjane.2020.11.007.

(编辑:魏 源)

and invasion ability of cervical cancer cells in each group. Western blot was used to detect the expression of CXCR4 protein and p-AKT and p-mTOR proteins in the Akt/mTOR signaling pathway. **Results** Compared with HcerEpic cells, the expression levels of CXCR4 mRNA and protein in cervical cancer cell lines were significantly increased ($P<0.05$), especially in Hela cells ($P<0.01$). Compared with the cell normal culture group, CXCL12 could significantly improve the migration and invasion ability of cervical cancer cells ($P<0.05$), while over-expression of IL-24 and/or combined with AMD3100 could significantly inhibit the above promotion effect of CXCL12 ($P<0.05$), among which over-expression of IL-24 and combined with AMD3100 had the most significant effect ($P<0.01$). The results of Western blot showed that compared with the cell normal culture group, CXCL12 could significantly promote the expression level of CXCR4, p-Akt and p-mTOR proteins in Hela cells ($P<0.05$), while over-expression of IL-24 and/or combined with AMD3100 could significantly inhibit the high expression of p-Akt and p-mTOR proteins induced by CXCL12 ($P<0.05$), but over-expression of IL-24 did not affect the increase of CXCR4 expression induced by CXCL12 ($P>0.05$), while combined with AMD3100 could inhibit this phenomenon ($P<0.05$). **Conclusion** In cervical cancer cells of Hela, over-expression of IL-24 can destroy the promotion of tumor cell invasion and migration induced by CXCL12/CXCR4 axis through Akt/mTOR signaling pathway, and it has more significantly effect when combined with CXCR4 inhibitor AMD3100.

Keywords: cervical cancer; interleukin-24; CXCL12/CXCR4; Akt/mTOR signaling pathway; migration; invasion

宫颈癌是临床上常见的妇科恶性肿瘤,据流行病学统计,我国宫颈癌发病率居女性生殖系统恶性肿瘤首位,病死率占恶性肿瘤第二位[1-2]。尽管人乳头瘤病毒(human papilloma virus,HPV)疫苗能有效预防宫颈癌的发生,但多数女性并未接种或接种延迟,导致宫颈癌的发病率居高不下[2-4]。目前,手术切除联合化疗是临床治疗及改善宫颈癌的主要方式,但对于已发生淋巴结转移或远处转移的患者,其生存率及预后仍不理想[5]。因此,积极探究宫颈癌发生发展的分子机制,寻找潜在的治疗靶点具有重要意义。

众所周知,肿瘤的进展及转移是导致患者死亡的主要原因。趋化因子是一类具有招募-趋化作用的细胞因子,主要通过与细胞表面的相应受体结合,定向趋化靶细胞至炎症、感染或损伤部位。近年来,CXCL12/CXCR4 轴因其在宫颈癌中的特殊作用引起学者的广泛关注,一方面被认为是 HPV 感染的辅助因子[6],另一方面 CXCL12/CXCR4 轴在缺氧时表达显著上调,这预示着其可能与肿瘤的转移、复发及患者生存期缩短具有相关性[6-9]。进一步研究证实,CXCL12/CXCR4 轴的高表达与患者的不良预后呈正相关,靶向 CXCL12/CXCR4 轴能提高宫颈癌患者的治愈率[10]。白介素-24(interleukin-24,IL-24)是一种独特的具有抑瘤作用的细胞因子。内源性 IL-24 可在多种免疫细胞中表达,而在肿瘤细胞中表达缺失,体内外研究证实 IL-24 具有广谱的抗肿瘤发生及转移的作用[11-14]。有学者对肺癌与口腔鳞癌进行研究发现,IL-24 能够通过靶向 CXCL12/CXCR4 轴抑制肿瘤细胞的侵袭及转移,但其在宫颈癌中的作用尚未见相关报道[15-16]。因此,我们通过体外筛选高表达CXCR4的 Hela 细胞进行探究,以期为靶向 CXCL12/CXCR4 轴的宫颈癌治疗提供新的思路及策略。

1 材料与方法

1.1 材料

正常子宫颈上皮细胞 HcerEpic 购自美国 ATCC;宫颈癌细胞系 Hela、Siha、Caski、C-33A 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库;DMEM/HG 培养基、青链霉素双抗购自美国 Hyclone 公司;FBS 购自美国 Gibco 公司;人重组 CXCL12、AMD3100 购自美国 Sigma 公司;TRIzol、反转录试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;嘌呤霉素、含 0.25% 乙二胺四乙酸的胰蛋白酶、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔或兔抗大鼠 IgG 购自武汉博士的生物科技公司;兔抗 CXCR4 单克隆抗体购自美国 Santa CruZ 公司;大鼠抗 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 单克隆抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;SYBR Green RT-PCR Master Mix 购自北京康为世纪科技公司;RT-PCR引物由上海生工合成;携带绿色荧光的过表达 IL-24 慢病毒(LV-IL-24)和阴性对照慢病毒(LV-NC)由上海吉凯生物技术有限公司构建;BCA 蛋白定量试剂盒购自英国 Proteintech 生物公司;Transwell 小室(8 μm) 购自美国 Millpore 公司;酶标仪、PCR 仪、RT-PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司;CO_2 细胞培养箱购自美国 Thermo 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、感染及分组 正常子宫颈上皮细胞 HcerEpic 及宫颈癌细胞系 Hela、Siha、Caski、C-33A 均培养于含 10% FBS 与 1% 双抗的 DMEM/HG 培养液中,在 37 ℃、5% CO_2 的恒湿细胞培养箱中培养。取生长状态良好的 Hela 细胞,0.25% 含 EDTA 的胰蛋白酶常规消化后进行细胞计数,调整细胞密度至 1×10^5 个/孔,接种至 12 孔板中。培养 12 h 后观察细胞生长融合至

50% ~60% 时,更换为含 0.8 μg/mL 聚凝胺的不含 FBS 的新鲜培养基,加入稀释后的 LV-NC 或 LV-IL-24 慢病毒液(病毒感染复数 =15),置于上述条件的培养箱中培养 24 h 后,去除原培养液,更换为含1 μg/mL嘌呤霉素、10% FBS 的 DMEM/HG 培养基继续培养 5 d,以筛选稳定感染的细胞。取感染 72 h 后的 Hela 细胞,置于荧光显微镜下观察感染效率。将 Hela 细胞分为 6 组,其中 Control 组细胞正常培养,无任何特殊处理;CXCL12 组细胞用 100 ng/mL CXCL12 处理;CXCL12 + LV-NC 组细胞感染 LV-NC 后使用 100 ng/mL CXCL12 处理;CXCL12 + LV-IL-24 组细胞感染 LV-IL-24 后使用100 ng/mL CXCL12 处理;CXCL12 + AMD3100 组细胞参考文献[16]方法处理并联合 100 ng/mL CXCL12 及 1 μg/mL AMD3100 处理;CXCL12 + AMD3100 + LV-IL-24组细胞经 LV-IL-24 感染后联合 100 ng/mL CXCL12 与 1 μg/mL AMD3100 处理。上述各组细胞均置于 37 ℃、5% CO_2的恒湿细胞培养箱中培养 24 h 后进行后续相关实验。

1.2.2 实时荧光定量 RT-PCR 取生长状态良好的待测细胞,TRIzol 法提取细胞中的总 RNA,酶标仪检测纯度与质量后,反转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA,随后参考 SYBR Green RT-PCR Master Mix 说明书进行实时荧光定量。RT-PCR 的反应条件为:95 ℃预变性 2 min,95 ℃变性 5 s→60 ℃退火 30 s→72 ℃延伸 15 s,40 个循环周期。RT-PCR 的引物序列为:CXCR4-F,5'-CCACCATCTACTCCATCATCTTC-3',CXCR4-R,5'-ACTTGTCCGTCATGCTTCTC-3';IL-24-F,5'-GCCAAGCTTATGAATTTTCAACAGAGG-3',IL-24-R,5'-GCCGTCGACCTAGAGCTTGTAGAATTT-3';β-actin-F,5'-AAATCTGGCACCACACCTTC-3',β-actin-R,5'-AGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'。以 β-actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析。实验重复 3 次。

1.2.3 划痕实验 取生长状态良好的各组细胞,常规消化后调整细胞密度至 2×10^5个/孔并接种至背面划有相距约 5 mm 的平行水平线的 6 孔板中,培养24 h 后待单层细胞生长融合至 80% 左右时,用 10 μL 的移液器枪头尖端垂直于平行线在培养皿的底部划 2 条平行线,轻轻擦去平行线内部细胞,PBS 冲洗 2 次后,按 1.2.1 项下方法进行分组处理,并更换为相应的不含 FBS 的培养基,置于培养箱中继续培养 24 h,观察细胞的迁移状况。

1.2.4 Transwell 侵袭实验 取生长状态良好的感染 LV-NC、LV-IL-24 或正常未感染的 Hela 细胞,调整细胞密度至 5×10^4个/孔并接种至基质胶包被的 Transwell 小室,按 1.2.1 项下方法将下室更换为含 10% FBS 的不同条件的培养液,共 800 μL,置于细胞培养箱中培养 24 h 后,取出小室,湿棉签擦拭小室上层未穿出细胞,无水乙醇固定后,0.1% 的结晶紫进行染色,PBS 冲洗后,倒置显微镜下观察穿出细胞数,每组随机选取 5 个视野进行计数。实验重复 3 次。

1.2.5 Western blot 检测蛋白表达 取待测细胞,使用 RIPA 裂解液提取细胞中总蛋白,按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明书检测蛋白浓度后,取加热变性的蛋白约 40 μg 在 10% 的 SDS-PAGE 凝胶上于 80 V 恒压下电泳分离不同蛋白条带,随后在电流为 130 mA、电压为 20 V 的条件下将分离后的蛋白条带采用湿转法转移至 PVDF 膜上,5% 的脱脂奶粉进行抗体封闭后,加入一抗 CXCR4(1∶800)、Akt (1∶800)、p-Akt (1∶500)、p-mTOR(1∶500)、mTOR(1∶800)、β-actin (1∶2 000),4 ℃孵育过夜后,加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗(1∶5 000)并于室温下孵育 2 h,滴加发光液进行曝光拍照。Image J 软件测定条带灰度值,以待测蛋白与内参 β-actin 的比值作为其相对表达量。实验重复 3 次。

1.3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 5.0 进行统计学分析及绘制图表。实验数据采用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析(*one-way ANOVA*),组间两两比较应用 *LSD-t* 事后检验法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

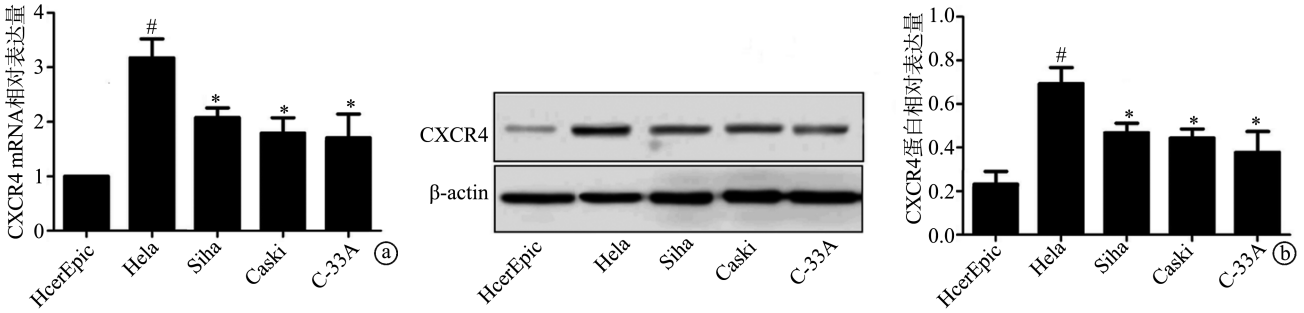
2 结果

2.1 CXCR4 在宫颈癌细胞系中的表达

RT-PCR 与 Western blot 实验结果显示,与正常子宫颈上皮细胞 HcerEpic 相比,宫颈癌细胞系 Hela、Siha、Caski、C-33A 中 CXCR4 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著增加($P<0.05$),其在 Hela 细胞中的表达最为显著($P<0.01$),因此选用 Hela 细胞进行后续相关实验,见图 1。

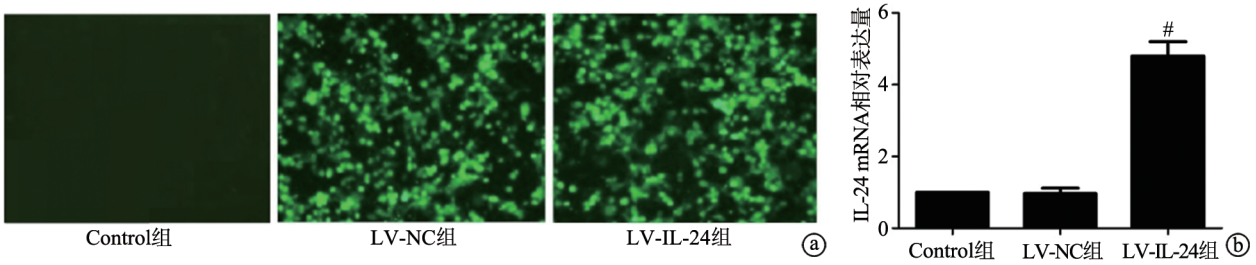
2.2 慢病毒感染后 Hela 细胞中 IL-24 的表达

免疫荧光结果显示,与 Control 组相比,转染 LV-NC与 LV-IL-24 慢病毒的细胞中可见明显绿色荧光;RT-PCR 实验结果显示,与 Control 组相比,转染 LV-IL-24 的细胞中 IL-24 mRNA 表达水平显著增加($P<0.01$),而转染 LV-NC 的细胞中 IL-24 mRNA 无明显变化($P>0.05$),见图 2。



a:RT-PCR 检测宫颈癌细胞系中 CXCR4 mRNA 表达;b:Western blot 检测宫颈癌细胞系中 CXCR4 蛋白表达 *:与 HcerEpic 相比,$P<0.05$;#:与 HcerEpic 相比,$P<0.01$

图 1 CXCR4 在宫颈癌细胞系中的表达

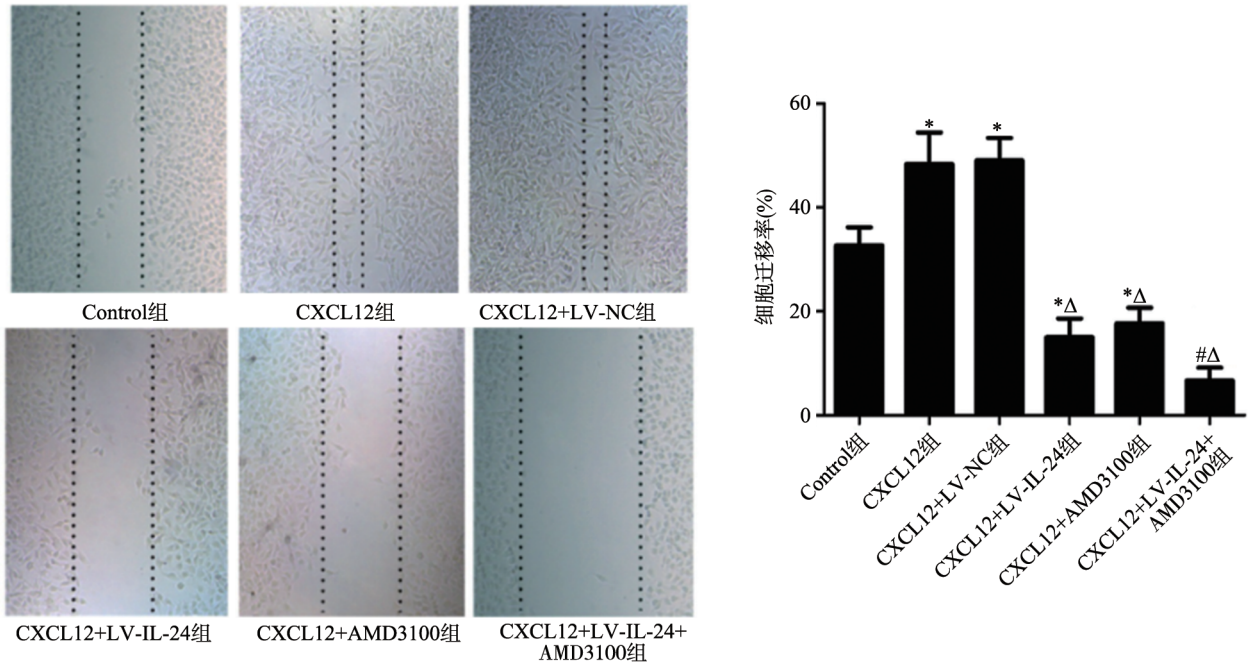


a:免疫荧光观察宫颈癌细胞中慢病毒感染效率(×100);b:RT-PCR 检测宫颈癌细胞中 IL-24 的 mRNA 表达 #:与 Control 组相比,$P<0.01$

图 2 宫颈癌细胞中慢病毒感染效率验证

2.3 过表达 IL-24 对 CXCL12 介导的宫颈癌细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示,与 Control 组相比,CXCL12 组与 CXCL12 + LV-NC 组细胞的迁移率显著增加($P<0.05$),而 CXCL12 + LV-IL-24 组、CXCL12 + AMD3100 组及 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组细胞的迁移率均明显降低($P<0.05$),其中以 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组最为显著($P<0.01$);与 CXCL12 组相比,CXCL12 + LV-IL-24 组、CXCL12 + AMD3100 组及 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组细胞迁移率均明显降低($P<0.01$),CXCL12 + LV-NC 组无明显变化($P>0.05$),见图 3。

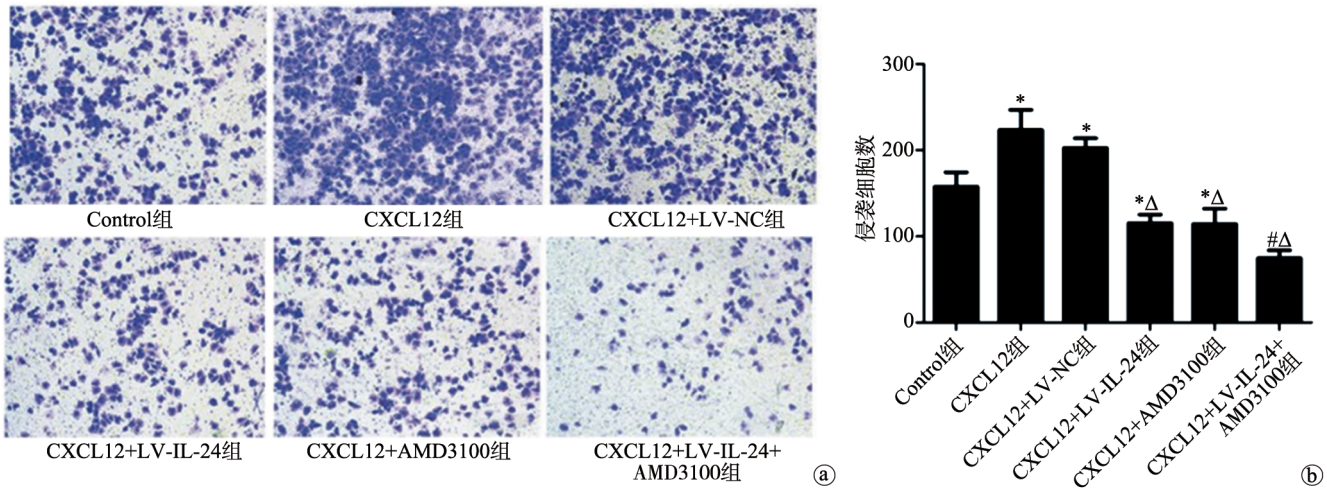


*:与 Control 组相比,$P<0.05$;#:与 Control 组相比,$P<0.01$;△:与 CXCL12 组相比,$P<0.01$

图 3 划痕实验检测各组宫颈癌细胞的迁移能力

2.4 过表达 IL-24 对 CXCL12 介导的宫颈癌细胞侵袭能力的影响

Transwell 实验结果显示，与 Control 组相比，CXCL12组与 CXCL12 + LV-NC 组侵袭细胞数显著增加（$P<0.05$），而 CXCL12 + LV-IL-24 组、CXCL12 + AMD3100 组及 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组侵袭细胞数显著减少（$P<0.05$），且以 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组最为明显（$P<0.01$）；与 CXCL12 组相比，CXCL12 + LV-IL-24 组、CXCL12 + AMD3100 组及 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组侵袭细胞数均明显减少（$P<0.05$），CXCL12 + LV-NC 组无明显变化（$P>0.05$），见图 4。

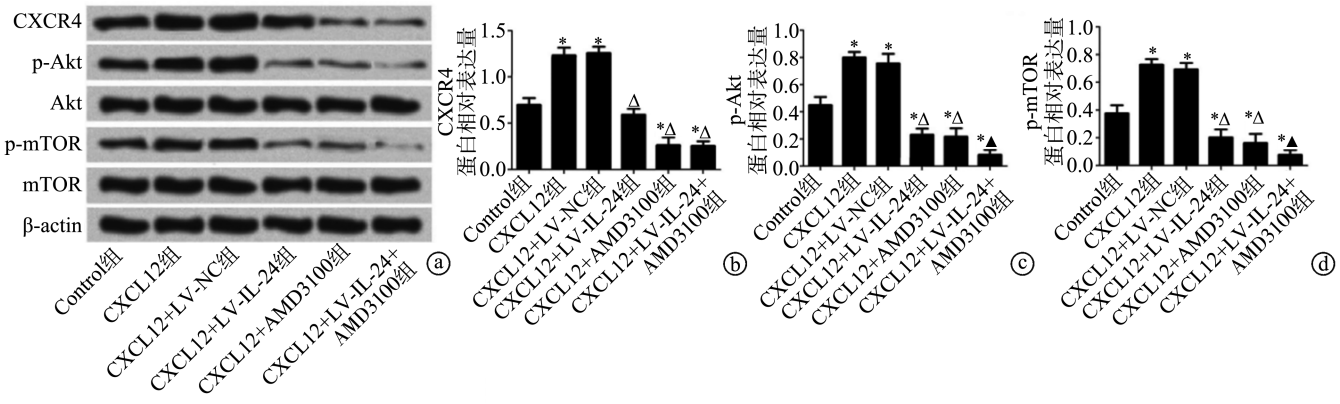


a：Transwell 实验检测宫颈癌细胞的侵袭能力（×100）；b：侵袭细胞数定量图 *：与 Control 组相比，$P<0.05$；#：与 Control 组相比，$P<0.01$；△：与 CXCL12 组相比，$P<0.05$

图 4 Transwell 实验检测各组宫颈癌细胞的侵袭能力

2.5 过表达 IL-24 对 CXCL12 介导的宫颈癌细胞中 Akt/mTOR 途径表达的影响

Western blot 检测结果显示，与 Control 组相比，CXCL12 组、CXCL12 + LV-NC 组细胞中 CXCR4、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白表达水平均显著增加（$P<0.05$），CXCL12 + AMD3100 组和 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组细胞中 CXCR4、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达水平均明显降低（$P<0.05$），CXCL12 + LV-IL-24 组中 CXCR4 蛋白表达无明显变化（$P>0.05$），但 p-Akt、p-mTOR蛋白表达水平均明显降低（$P<0.05$）。与 CXCL12组相比，CXCL12 + LV-IL-24 组、CXCL12 + AMD3100 组和 CXCL12 + LV-IL-24 + AMD3100 组细胞中 CXCR4、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），见图 5。



a：Western blot 检测 CXCR4 及 Akt/mTOR 信号通路中相关蛋白表达；b～d：各蛋白定量图 *：与 Control 组相比，$P<0.05$；△：与 CXCL12 组相比，$P<0.05$；▲：与 CXCL12 组相比，$P<0.01$

图 5 各组细胞中的 CXCR4、p-Akt 与 p-mTOR 蛋白表达

3 讨论

CXCR4 是位于细胞膜上的七次跨膜 G 蛋白偶联受体家族成员之一，而 G 蛋白偶联受体是最为常用的药物靶标[17]。CXCR4 信号通路在胚胎的发育、组织修复、骨髓造血和免疫监控等正常生理过程中起关键

作用[18]。而在肿瘤中,有研究报道 CXCR4 能够直接促进多种癌细胞的形成、增殖和转移等多个过程[19-20]。在小鼠体内,中和 CXCL12/CXCR4 的相互作用可显著抑制乳腺癌细胞向局部淋巴结和肺的转移[21]。同时,位于细胞膜表面的 CXCR4 在 CXCL12 作用下发生内化,不仅促进细胞表面 CXCR4 受体的表达,还放大了上游信号,通过刺激胞内钙离子的释放,进而激活 ERK、Akt/mTOR 信号通路及腺苷环化酶和环磷酸腺苷,而上述信号途径的活化能够直接诱导细胞增殖、存活及蛋白合成,导致肿瘤的发生和转移[22-23]。

AMD3100 是美国食品药品监督管理局批准上市的 CXCR4 抑制剂,其能够有效破坏 CXCL12/CXCR4 轴而发挥抗癌作用[24]。有研究证实,外源重组 CXCL12可通过 CXCR4 诱导 Hela 等多种宫颈癌细胞的迁移、侵袭行为[25]。故本研究首先筛选出高表达 CXCR4 的宫颈癌 Hela 细胞,并对其进行探究,结果表明,外源性 CXCL12 能够显著促宫颈癌细胞的迁移与侵袭,还能通过促进 p-Akt 和 p-mTOR 蛋白的表达,激活 Akt/mTOR 信号通路;而应用 AMD3100 能够有效阻断上述途径,抑制 CXCL12/CXCR4 对宫颈癌细胞侵袭与迁移的促进作用。

IL-24 又称为黑色瘤分化相关基因-7(melanoma differentiation associated gene-7,MDA-7),属于 IL-10 基因家族的一种分泌型细胞因子[11]。尽管 IL-24 早在十几年前就已经被发现,但其在病理生理中的具体作用直到近年来才逐渐明确。研究证实,IL-24 不仅参与正常的免疫过程,其同样在人类其他多种疾病中发挥重要的作用。IL-24 对于黑色素瘤、前列腺癌、肺癌、胶质瘤等多种肿瘤具有抑制作用,此外,IL-24 还能够调控自身免疫系统疾病与炎症感染[12,14,26]。进一步的分子机制研究表明,IL-24 不仅能够抑制肿瘤干细胞增殖,降低干细胞的自我更新能力,还能诱导其凋亡。此外,IL-24 还能直接作用于调控细胞增殖、侵袭与转移的信号通路,如在乳腺癌中,过表达 IL-24 能够通过抑制 Wnt/β-catenin 和 PI3K/Akt/mTOR 等信号通路,抑制裸鼠皮下移植瘤的生长[27]。通过反向蛋白阵列分析野生型与突变型的 IL-24 肺癌细胞裂解物发现,Akt/mTOR 信号通路的相关蛋白表达水平呈现的差异最为显著,且 IL-24 的突变显著降低了 p-Akt 和 p-mTOR 的表达[28]。在宫颈癌中,Shi 等[29]研究发现,过表达 IL-24能够通过下调 MMP-2 的表达,上调 p38 丝裂原活化蛋白激酶,从而在体外抑制宫颈癌细胞 Caski 的迁移与侵袭。还有研究显示,联合应用 IL-24 可能通过降低血管生长因子及其受体与血小板源性生长因子-B 的表达,从而降低裸鼠宫颈癌移植瘤的微血管密度,增强肿瘤对顺铂的化疗敏感性[30]。这说明 IL-24 对抑制宫颈癌的进展及改善其治疗效果具有极大的应用前景。有研究发现,单独使用 AMD3100 控制肿瘤转移的临床疗效欠佳,联合应用 IL-24 与 AMD3100 可能是更好地控制肿瘤进展的有效策略[31]。在肺癌与口腔鳞状细胞癌中的研究均证实,过表达 IL-24 能够明显抑制 CXCL12/CXCR4 轴对肿瘤细胞的增殖、侵袭的促进作用,进一步研究发现,IL-24 可能在转录后水平抑制 CXCR4 的表达[14-15]。本课题组发现过表达 IL-24 同样能够抑制 CXCL12/CXCR4 轴介导的宫颈癌细胞迁移、侵袭与转移,且联合 AMD3100 的作用最为显著,其机制可能为下调 p-Akt 和 p-mTOR 的表达,从而抑制 Akt/mTOR 等信号通路的激活;此外,本研究还观察到过表达 IL-24 能抑制 CXCL12 对 Hela 细胞中 CXCR4 表达的促进作用。这说明联合使用 IL-24 能更好促进 AMD3100 对宫颈癌细胞迁移与侵袭的抑制作用,而这可能是通过 CXCL12/CXCR4 轴发挥作用。

综上,过表达 IL-24 能够通过 Akt/mTOR 信号途径抑制 CXCL12/CXCR4 轴诱导的宫颈癌细胞的侵袭与迁移行为,且联合应用 CXCR4 抑制剂 AMD3100 的效果更为显著。本研究结果为进一步探究 IL-24 结合 CXCL12/CXCR4 对宫颈癌靶向治疗提供了新的思路及策略。

[参考文献]

[1] Szymonowicz KA,Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers[J]. Cancer Biol Med,2020,17(4):864-878. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0370.

[2] Wei W,Zeng H,Zheng R,et al. Cancer registration in China and its role in cancer prevention and control[J]. Lancet Oncol,2020,21(7):e342-e349. doi:10.1016/S1470-2045(20)30073-5.

[3] Zhou X,Sun L,Yao X,et al. Progress in vaccination of prophylactic human papillomavirus vaccine[J]. Front Immunol,2020,11(24):1434-1509. doi:10.3389/fimmu.2020.01434.

[4] 王 景,曹广超,蒋光慧,等. 蛇床子素对宫颈癌 Hela-S3 细胞活性、凋亡及相关信号通路的影响[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(23):2850-2854. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.23.008.

[5] Adiga D,Eswaran S,Pandey D,et al. Molecular landscape of recurrent cervical cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol,2020,7(15):e103178. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103178.

[6] Meuris F,Carthagena L,Jaracz-Ros A,et al. The CXCL12/CXCR4 signaling pathway:a new susceptibility factor in human papillomavirus pathogenesis[J]. PLoS Pathog,2016,12(12):e1006039. doi:10.1371/journal.ppat.1006039.

[7] Schioppa T,Uranchimeg B,Saccani A,et al. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia[J]. J Exp Med,2003,198(9):1391-

1402. doi:10.1084/jem.20030267.

[8] Fyles A, Milosevic M, Hedley D, et al. Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(3): 680 - 687. doi: 10.1200/JCO.2002.20.3.680.

[9] Hockel M, Schlenger K, Aral B, et al. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix[J]. Cancer Res, 1996, 56(19): 4509 - 4515. doi: 10.1054/CR.1996.1266.

[10] Lecavalier-Barsoum M, Chaudary N, Han K, et al. Correction: targeting CXCL12/CXCR4 and myeloid cells to improve the therapeutic ratio in patient-derived cervical cancer models treated with radio-chemotherapy [J]. Br J Cancer, 2019, 121(7): 626 - 641. doi: 10.1038/s41416 - 019 - 0545 - z.

[11] 宋秀婧,杨铁波,王明晖,等. E-cadherin 参与 IL-24 抑制肺癌细胞增殖和侵袭迁移的实验研究[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(1): 63 - 67. doi: 10.3969/j.issn.1000 - 484X.2020.01.012.

[12] Panneerselvam J, Srivastava A, Mehta M, et al. IL-24 inhibits lung cancer growth by suppressing GLI1 and inducing DNA damage[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(12): 1879 - 1892. doi: 10.1186/1750 - 2187 - 8 - 15.

[13] Liao S, Yang Y, Chen S, et al. IL-24 inhibits endometrial cancer cell proliferation by promoting apoptosis through the mitochondrial intrinsic signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 12(40): e109831. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109831.

[14] Panneerselvam J, Jin J, Shanker M, et al. IL-24 inhibits lung cancer cell migration and invasion by disrupting the SDF-1/CXCR4 signaling axis[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0122439. doi: 10.1371/journal.pone.0122439.

[15] 金 松,田立华,苏 勤,等. IL-24 可能通过 CXCL12/CXCR4 信号轴抑制口腔鳞癌细胞迁移及侵袭能力[J]. 口腔医学研究, 2017, 33(5): 482 - 485. doi: 10.13701/j.cnki.kqyxyj.2017.05.005.

[16] 张玮璨. CXCL12-CXCR4 生物轴对 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭能力的影响[D]. 石家庄:河北医科大学, 2016.

[17] Sriram K, Insel PA. G protein-coupled receptors as targets for approved drugs: how many targets and how many drugs? [J]. Mol Pharmacol, 2018, 93(4): 251 - 258. doi: 10.1124/mol.117.111062.

[18] Ma Q, Jones D, Springer TA. The chemokine receptor CXCR4 is required for the retention of B lineage and granulocytic precursors within the bone marrow microenvironment[J]. Immunity, 1999, 10(4): 463 - 471. doi: 10.1016/s1074 - 7613(00)80046 - 1.

[19] Chatterjee S, Behnam Azad B, Nimmagadda S. The intricate role of CXCR4 in cancer[J]. Adv Cancer Res, 2014, 17(124): 31 - 82. doi: 10.1016/B978 - 0 - 12 - 411638 - 2.00002 - 1.

[20] Teixidó J, Martínez-Moreno M, Díaz-Martínez M, et al. The good and bad faces of the CXCR4 chemokine receptor[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 95(17): 121 - 131. doi: 10.1016/j.biocel.2017.12.018.

[21] Müller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410(6824): 50 - 56. doi: 10.1038/35065016.

[22] Luker GD, Yang J, Richmond A, et al. At the bench: pre-clinical evidence for multiple functions of CXCR4 in cancer[J]. J Leukoc Biol, 2020, 14(32): 61 - 74. doi: 10.1002/JLB.2BT1018 - 715RR.

[23] Hitchinson B, Eby JM, Gao X, et al. Biased antagonism of CXCR4 avoids antagonist tolerance[J]. Sci Signal, 2018, 11(552): eaat2214. doi: 10.1126/scisignal.aat2214.

[24] Jiang C, Li R, Ma X, et al. AMD3100 and SDF-1 regulate cellular functions of endothelial progenitor cells and accelerate endothelial regeneration in a rat carotid artery injury model[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(4): 3201 - 3212. doi: 10.3892/mmr.2020.11432.

[25] Yadav SS, Prasad SB, Prasad CB, et al. CXCL12 is a key regulator in tumor microenvironment of cervical cancer: an in vitro study[J]. Clin Exp Metastasis, 2016, 33(5): 431 - 439. doi: 10.1007/s10585 - 016 - 9787 - 9.

[26] Menezes ME, Bhoopathi P, Pradhan AK, et al. Role of MDA-7/IL-24 a multifunction protein in human diseases[J]. Adv Cancer Res, 2018, 38(112): 143 - 182. doi: 10.1016/bs.acr.2018.02.005.

[27] Rasoolian M, Kheirollahi M, Hosseini SY. MDA-7/interleukin 24 (IL-24) in tumor gene therapy: application of tumor penetrating/homing peptides for improvement of the effects[J]. Expert Opin Biol Ther, 2019, 19(3): 211 - 223. doi: 10.1080/14712598.2019.1566453.

[28] Panneerselvam J, Shanker M, Jin J, et al. Phosphorylation of interleukin (IL)-24 is required for mediating its anti-cancer activity [J]. Oncotarget, 2015, 6(18): 16271 - 16286. doi: 10.18632/oncotarget.3977.

[29] Shi H, Wei LL, Yuan CF, et al. Melanoma differentiation-associated gene-7/interleukin 24 inhibits invasion and migration of human cervical cancer cells in vitro[J]. Saudi Med J, 2007, 28(11): 1671 - 1675. doi: 10.1016/j.smj.2007.11.017.

[30] Wang Z, Lv J, Zhang T. Combination of IL-24 and cisplatin inhibits angiogenesis and lymphangiogenesis of cervical cancer xenografts in a nude mouse model by inhibiting VEGF, VEGF-C and PDGF-B[J]. Oncol Rep, 2015, 33(5): 2468 - 2476. doi: 10.3892/or.2015.3853.

[31] Xue J, Li R, Gao D, et al. CXCL12/CXCR4 axis-targeted dual-functional nano-drug delivery system against ovarian cancer[J]. Int J Nanomedicine, 2020, 15(9): 5701 - 5718. doi: 10.2147/IJN.S257527.

(编辑:龙小芬)