

[文章编号] 1007-385X(2007)06-0522-05

***Bcl-XL* siRNA 在 TRAIL 杀伤卵巢癌细胞中的增敏作用**胡静姿¹, 朱洪波^{2*}, 黄学锋², 何超²(1. 南京军区杭州空军疗养院 妇产科, 杭州 310013; 2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院 肛肠外科, 杭州 310016)

[摘 要] 目的: 探讨 *Bcl-XL* siRNA 在肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体(TRAIL)杀伤卵巢癌细胞中的增敏作用。方法: 用 *Bcl-XL* siRNA 转染卵巢癌 SKOV3 细胞, 然后联合应用 TRAIL 蛋白处理该细胞; 通过流式细胞术检测细胞的凋亡率, 通过锥虫蓝染色细胞计数检测细胞存活情况, 通过 Western blotting 检测细胞中各种凋亡相关蛋白的活化情况。结果: 与对照组相比, 经 *Bcl-XL* siRNA 处理后, SKOV3 细胞中 *Bcl-XL* 蛋白的表达显著降低; 该细胞的增殖受到明显抑制, 在处理 96 h 后最为明显, 仅为对照组的 43.9% ($P < 0.05$)。当 *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 蛋白联合处理后, SKOV3 细胞的凋亡率明显增加, 达到 32% 以上 ($P < 0.05$), 而细胞计数结果显示联合处理后 SKOV3 细胞的存活率显著下降, 仅为对照组的 37.8% ($P < 0.05$)。Western blotting 结果显示, *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 蛋白联合处理后凋亡相关蛋白 Caspase-8、Caspase-9、Bid、Caspase-3 和 PARP 明显活化, 细胞色素 C 的释放也显著增加。结论: *Bcl-XL* siRNA 能显著加强 TRAIL 蛋白对卵巢癌细胞的杀伤作用, 其作用机制可能与激活多种凋亡信号蛋白有关。 *Bcl-XL* siRNA 可能成为逆转卵巢癌 TRAIL 耐药的治疗措施。

[关键词] *Bcl-XL* siRNA; 肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体(TRAIL); 卵巢癌细胞; 耐药性; 凋亡

[中图分类号] R737.31 **[文献标志码]** A

***Bcl-XL* siRNA sensitizes ovary cancer cells in TRAIL-induced apoptosis**

HU Jing-zi¹, ZHU Hong-bo², HUANG Xue-feng², HE Chao²(1. Department of Gynecology, Hangzhou Sanitarium of Air-force, PLA Nanjing Military Area Command, Hangzhou 310013, China; 2. Department of Colorectal Surgery, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of *Bcl-XL* siRNA in sensitizing ovary cancer cells for TRAIL-induced apoptosis and the underlying mechanisms. **Methods:** Western blotting analysis was performed to confirm whether *Bcl-XL* siRNA could effectively down-regulate *Bcl-XL* protein after SKOV3 cells were transfected with *Bcl-XL* siRNA and then the cells were treated with TRAIL. Flow cytometry analysis and cell counting were used for assessment of apoptotic rate and survival rate, respectively. Western blotting analysis was performed to determine the changes of apoptosis-related protein in SKOV3 cells. **Results:** Compared with control group, *Bcl-XL* siRNA transfection effectively down-regulated the expression of *Bcl-XL* protein and suppressed the growth of SKOV3 cells; the suppression peaked at 96 h after transfection, being 43.9% that of the control group ($P < 0.05$). The apoptotic rate of SKOV3 cells was above 32% after combination treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein; the survival rate was 37.8% that of the control group after combination treatment ($P < 0.05$). Western blotting analysis demonstrated that Caspase-8, Caspase-9, Bid, Caspase-3, and PARP were obviously activated after combination treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein, and the release of cytochrome C was also increased significantly. **Conclusion:** *Bcl-XL* siRNA can effectively enhance TRAIL-induced apoptosis in human ovary cancer SKOV3 cells, suggesting it might be a new strategy for ovary cancer therapy.

[Key words] *Bcl-XL* small interference RNA; tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; ovary cancer cells; drug-resistance; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(6): 522-526]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30572153); 浙江省自然科学基金资助项目(No. Y205093)。Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30572153); Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y205093)

[作者简介] 胡静姿(1976 -), 女, 浙江省杭州市人, 硕士生, 主要从事肿瘤分子病理与基因治疗方面的研究

* Corresponding author. E-mail: ykzhh@163.com

卵巢癌是目前妇科肿瘤中病死率最高的疾病,其恶性程度高、易复发、易产生多药耐药等特性,使得患者 5 年生存率一直徘徊在 20% ~ 30% 之间^[1]。近年来随着细胞凋亡研究的深入,发现细胞凋亡抑制是卵巢癌产生多药耐药的重要原因之一。

已有研究发现卵巢癌细胞株 SKOV3 对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)蛋白天然耐药性^[2-3],而 TRAIL 蛋白由于其对正常组织的低毒性目前正被广泛用于肿瘤治疗的研究,如能逆转肿瘤细胞对其的耐药,必将扩大其应用的范围。本研究拟应用小 RNA 干扰技术(small interfering RNA, siRNA)下调抑制凋亡蛋白 *Bcl-XL* 的表达,探讨靶向 *Bcl-XL* 的 siRNA 在 TRAIL 杀伤卵巢癌细胞中的增敏作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株和细胞培养

卵巢癌细胞株 SKOV3 为浙江大学医学院附属邵逸夫医院生物治疗中心实验室保存。细胞接种于含 7% 灭活胎牛血清、1% 谷氨酰胺和 $1 \times$ 抗生素抗真菌素混合液的 DMEM 培养液,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中常规培养。

1.2 主要试剂

Bcl-XL siRNA 和荧光素酶(luciferase)siRNA 由美国 Dharmacon 公司合成,序列详见先前的报道^[4];Oligofectamine 和 OPTI-MEM I 为 Invitrogen 公司产品,ECL 试剂盒为 Amersham Bioscience 公司产品;兔抗人多克隆抗体 *Bcl-XL*、Caspase-3、Caspase-9 为 Santa Cruz 公司产品;兔抗人多克隆抗体 Bid、鼠抗人单克隆抗体 Caspase-8、PARP、细胞色素 C、COX-4 和 Smac 为 BD Pharmingen 公司产品,重组人 TRAIL 蛋白为 R & D Systems 公司产品,鼠抗人单克隆抗体、 β -Actin 为 Sigma 公司产品。

1.3 *Bcl-XL* siRNA 转染肿瘤细胞

在 6 孔板上每孔加入 1×10^5 个 SKOV3 细胞,在无抗生素培养液中孵育过夜,再用无血清培养液洗涤 2 次。以每孔加入 2 μ l *Bcl-XL* siRNA 和 183 μ l OPTI-MEM I 配制的混合液,以及 3 μ l Oligofectamine 和 15 μ l OPTI-MEM I 配制的混合液,分别室温孵育 5 min,再将两者混合,室温孵育 30 min,最后以 200 nmol/L 的终浓度加入 SKOV3 细胞培养液中,孵育 24 ~ 96 h 后收集细胞进行检测。具体参照转染试剂盒操作说明。荧光素酶 siRNA(*Luc* siRNA)为对照组。

1.4 转染细胞的细胞质和线粒体提取

收集转染后细胞,经胰酶消化,用冷 PBS 液洗 1 次,加入 100 μ l 地高辛缓冲液(内含 0.02% 地高辛,5 mmol/L EDTA,1 mmol/L PMSF,75 mmol/L 蔗糖,25 mmol/L 氯化钠,2.5 mmol/L Pipes,0.75 mmol/L 六水氯化镁),冰浴 10 min 后离心,收集上清液,即为细胞质成分。线粒体提取方法参照文献^[5]。

1.5 Western blotting 分析凋亡相关蛋白

收集转染后细胞,先用冷 PBS 液洗涤 1 次,再加入 Laemmli's 裂解液,超声匀浆后取等量蛋白,10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转移到 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶和含 0.05% Tween20 的 PBS 液缓冲 1 h,加入一抗室温孵育 1 h 以上或 4 °C 过夜,含 0.05% Tween20 的 PBS 液洗涤 3 次,加入二抗室温孵育 1 h,最后用 ECL 试剂盒进行检测。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡的情况

将处理后的细胞按不同时间点收集。细胞经胰酶消化后,用冷 PBS 液洗 1 次,离心后用 70% 乙醇固定,并 4 °C 过夜。然后在进行流式仪器测定前 30 min,用碘化丙啶溶液进行染色,并加入一定量的 RNAase 在 37 °C 培养箱内孵育 30 min,最后用流式细胞术测定凋亡细胞的百分率。

1.7 细胞增殖活性检测

将处理后的细胞按时间点收集,分别用胰蛋白酶消化后,锥虫蓝染色,最后用血细胞计数器计数存活细胞。

1.8 统计学处理

应用 SPSS11.5 统计软件,组间差异采用 ANOVA 和非配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 *Bcl-XL* siRNA 对 SKOV3 细胞 *Bcl-XL* 蛋白表达的下调及对细胞增殖的抑制作用

分别用 200 nmol/L *Bcl-XL* siRNA 和 *Luc* siRNA 处理 SKOV3 细胞,Western blotting 检测发现,用 *Bcl-XL* siRNA 处理 24 h 后 *Bcl-XL* 蛋白明显下调,随着处理时间延长至 48 h 下调更为明显($P < 0.05$,图 1)。通过细胞增殖活性检测发现,经 *Bcl-XL* siRNA 处理 24 或 48 h 后,SKOV3 细胞的增殖没有发生明显变化,但处理 72 h 后细胞增殖开始受到抑制,在 96 h 后抑制最明显,仅为对照组的 43.9% ($P < 0.05$,图 2)。

2.2 *Bcl-XL* siRNA 对 SKOV3 细胞 TRAIL 耐药的逆转作用

用 200 nmol/L 的 *Bcl-XL* siRNA 处理 SKOV3 细胞 48 h,随后用 20 ng/ml 的 TRAIL 蛋白处理 2 h,形

态学观察发现,TRAIL 蛋白和 *Bcl-XL* siRNA 联合组细胞明显变圆,存活细胞数明显下降,而其他组没有发生明显变化(图 3)。

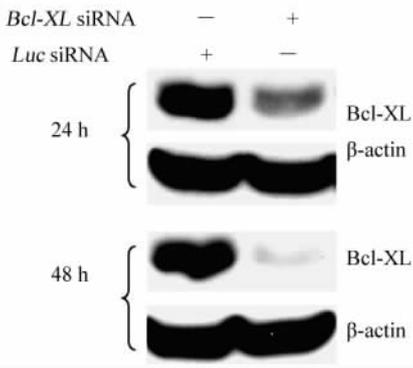


图 1 *Bcl-XL* siRNA 对 SKOV3 细胞 *Bcl-XL* 蛋白的下调作用

Fig. 1 Down-regulation of *Bcl-XL* protein expression in SKOV3 cells by *Bcl-XL* siRNA

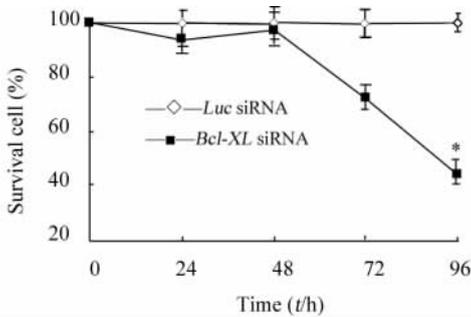


图 2 *Bcl-XL* siRNA 对 SKOV3 细胞增殖的抑制作用

Fig. 2 Inhibitory effects of *Bcl-XL* siRNA on growth of SKOV3 cells

The growth of SKOV3 cells were suppressed by *Bcl-XL* siRNA dramatically. * $P < 0.05$ vs *Luc* siRNA

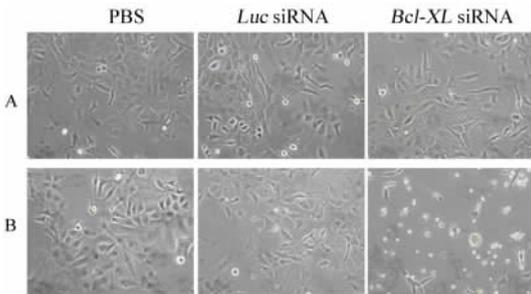


图 3 *Bcl-XL* siRNA 联合 TRAIL 蛋白处理后 SKOV3 细胞形态学改变

Fig. 3 Morphologic changes of SKOV3 cells after combined treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein

There were more round and bright cells after combination treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein, indicating more cell death occurred in combination group.

A: TRAIL(-); B: TRAIL(+)

流式细胞术检测分析发现 TRAIL 蛋白和 *Bcl-XL* siRNA 联合组细胞凋亡百分率明显增高,高达 32.7%,同样处理其他组细胞没有发生明显变化($P < 0.05$,图 4)。另外,细胞计数结果也显示 TRAIL 蛋白和 *Bcl-XL* siRNA 联合处理 24 h 后细胞存活率仅为 37.8%,较其他组显著降低;联合处理 48 h 的结果与 24 h 结果类似($P < 0.05$,图 5)。

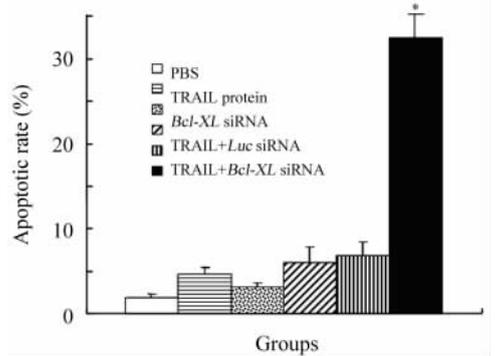


图 4 *Bcl-XL* siRNA 联合 TRAIL 蛋白处理后 SKOV3 细胞的凋亡率

Fig. 4 Apoptotic rate of SKOV3 cells after combined treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein.

The apoptotic rate of SKOV3 cells was about 32.7% after combined treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein.

* $P < 0.05$ vs PBS, TRAIL Protein, Luciferase siRNA, *Bcl-XL* siRNA, TRAIL + *Luc* siRNA

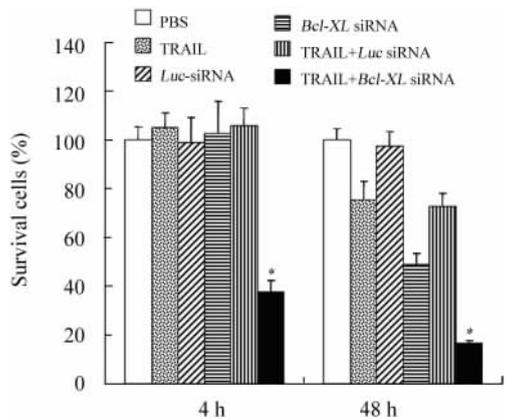


图 5 *Bcl-XL* siRNA 联合 TRAIL 蛋白处理后 SKOV3 细胞的存活率

Fig. 5 Survival rate of cells after combined treatment with *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein

The time points were 4 h and 48 h after combination treatment.

* $P < 0.05$ vs PBS, *Bcl-XL* siRNA, TRAIL Protein, TRAIL + Luciferase siRNA, Luciferase siRNA

2.3 *Bcl-XL* siRNA 与 TRAIL 蛋白联合作用后各种凋亡相关蛋白的改变

Bcl-XL siRNA 处理 SKOV3 细胞 24 h 后用 20 ng/ml 的 TRAIL 蛋白处理 2 h, Western blotting 检测发现, caspase-8、caspase-9、Bid、caspase-3 和 PARP 等蛋白在 *Bcl-XL* siRNA 与 TRAIL 蛋白联合组中明显被活化(图 6A), 这些凋亡信号分子的激活意味着联合治疗极大地放大了凋亡信号, 这或许就是 *Bcl-XL* siRNA 增敏 TRAIL 杀伤作用的机制所在。另外, 在 *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 蛋白单独处理组中细胞色素 C 仅有微量表达, 但两者联合处理组中的表达较高; 而 Smac 蛋白在各组均没有被检测到(图 6B)。结果提示细胞色素 C 可能参与了 *Bcl-XL* siRNA 增敏 TRAIL 杀伤作用的过程, 但不涉及 Smac 蛋白。

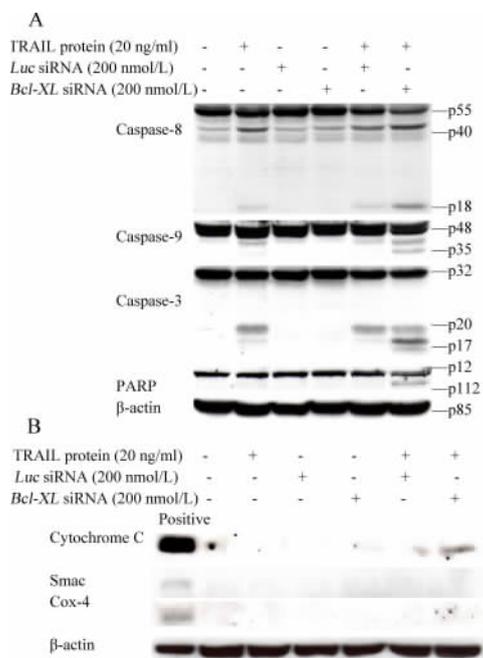


图 6 *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 蛋白联合处理 SKOV3 细胞后凋亡信号分子的活化

Fig. 6 Activation of apoptotic signaling in SKOV3 cells after combination treatment of *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein

(A) Activation of apoptotic related protein after combination treatment; (B) Release of cytochrome C and Smac in SKOV3 cells after combination treatment of *Bcl-XL* siRNA and TRAIL protein. Mitochondrial protein was as positive control and Cox-4 protein was marker of mitochondria

3 讨论

卵巢癌细胞对治疗药物产生多药耐药是卵巢癌治疗失败的主要原因之一。因此探索多药耐药的机制并寻求其中逆转耐药的策略, 对于改善卵巢癌的

治疗效果, 提高患者的预后具有重要的意义。

以往的研究^[6-7]已经表明, TRAIL 蛋白和 *Bcl-XL* 蛋白分别是通过受体和线粒体介导的凋亡途径而起作用, 而且这两条途径可以发生交联, 使得凋亡作用得到放大。例如, 死亡信号通过死亡受体激活 caspase 8 后不仅可以续贯激活其他 caspase 蛋白启动细胞凋亡^[8-9], 还可以导致 Bid 的分裂和激活, 从而引起细胞色素 C 的释放, 导致线粒体途径的激活^[10-11]。*Bcl-XL* 蛋白是线粒体膜蛋白, 能通过调节线粒体中的水电平衡来促进细胞存活^[12-13]; 下调 *Bcl-XL* 蛋白能诱导线粒体途径活化而致使细胞凋亡, 并放大从死亡受体传入的死亡信号^[14]。有研究表明, 高表达 Bax 蛋白可以增强 TRAIL 蛋白介导的肿瘤细胞凋亡, 这是因为 *Bcl-XL*/Bax 比值是决定细胞是否走向凋亡的关键因素^[15], 因此设想下调 *Bcl-XL* 蛋白也会得到与上调 Bax 蛋白类似的结果。正如这种设想, 本研究结果显示, 在 *Bcl-XL* siRNA 与 TRAIL 蛋白联合治疗组中 caspase-8、caspase-9、Bid、caspase-3 以及 PARP 等凋亡信号蛋白明显被活化, 而且细胞色素 C 的释放也明显增加, 这意味着 *Bcl-XL* siRNA 可能通过下调 SKOV3 细胞中 *Bcl-XL* 蛋白的水平, 从而破坏其线粒体膜的稳定性, 造成细胞色素 C 的释放, 致使线粒体凋亡途径的激活, 而后者的活化所造成的其他一些信号分子的释放, 进而放大来自死亡受体的死亡信号, 使得对 TRAIL 耐药的细胞重新对 TRAIL 蛋白敏感, 这或许就是 *Bcl-XL* siRNA 增敏 TRAIL 杀伤作用的机制所在。

由于 TRAIL 蛋白对正常组织毒性低, 目前已被广泛应用于肿瘤治疗的研究, 然而 TRAIL 蛋白的耐药问题同样也限制了其进一步的应用^[16]。本研究结果显示, *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 联合处理 SKOV3 细胞后, caspase-8、caspase-9、Bid、caspase-3 和 PARP 等凋亡信号蛋白明显被活化, 同时细胞色素 C 的释放也明显增加, 这提示联合治疗能够极大地放大凋亡信号。这可能是由 *Bcl-XL* siRNA 和 TRAIL 蛋白共同作用于线粒体, 先激活线粒体途径, 再转而放大来自死亡受体的信号造成的。结果提示, *Bcl-XL* siRNA 能够逆转卵巢癌细胞 SKOV3 对 TRAIL 的原发性耐药, 这将为解决逆转卵巢癌细胞 TRAIL 耐药提供一种新的方法, 同时也将拓展 TRAIL 蛋白治疗性应用的范围。

[参考文献]

- [1] Ozols RF. Challenges for chemotherapy in ovarian cancer[J]. Ann Oncol, 2006, 17(suppl 5):v181-v187.

- [2] Cuello M, Ettenberg SA, Nau MM, *et al.* Synergistic induction of apoptosis by the combination of trail and chemotherapy in chemoresistant ovarian cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 81 (3): 380-390.
- [3] Vignati S, Codegani A, Polato F, *et al.* Trail activity in human ovarian cancer cells: potentiation of the action of cytotoxic drugs [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(1): 177-183.
- [4] 朱洪波,朱玉萍,周 玮,等. *Bcl-XL* siRNA 在结肠癌氟脲嘧啶耐药细胞中的治疗作用[J]. *中华消化杂志*, 2006, 26(4): 272-274.
- [5] Wu S, Zhu H, Gu J, *et al.* Induction of apoptosis and down-regulation of *Bcl-XL* in cancer cells by a novel small molecule, 2 [3-(2,3-dichlorophenoxy)propyl amino]ethanol[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(3): 1110-1113.
- [6] Li H, Zhu H, Xu CJ, *et al.* Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis [J]. *Cell*, 1998, 94(4): 491-501.
- [7] Luo X, Budihardjo I, Zou H, *et al.* Bid, a *Bcl-2* interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors[J]. *Cell*, 1998, 94 (4): 481-490.
- [8] Perez-Cruz I, Carcamo JM, Golde DW. Caspase-8 dependent TRAIL-induced apoptosis in cancer cell lines is inhibited by vitamin C and catalase[J]. *Apoptosis*, 2007, 12(1): 225-234.
- [9] Fulda S, Debatin KM. 5-Aza-2'-deoxycytidine and IFN- γ cooperate to sensitize for TRAIL-induced apoptosis by upregulating caspase-8[J]. *Oncogene*, 2006, 25(37): 5125-5133.
- [10] Kim BM, Chung HW. Hypoxia/reoxygenation induces apoptosis through a ROS-mediated caspase-8/Bid/Bax pathway in human lymphocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363 (3): 745-750.
- [11] Hugarady BM, van der Zee AG, van den Heuvel FA, *et al.* Sensitivity to Fas-mediated apoptosis in high-risk HPV-positive human cervical cancer cells: relationship with Fas, caspase-8, and Bid [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 97(2): 353-364.
- [12] Vander Heiden MG, Chandel NS, Williamson EK, *et al.* *Bcl-XL* regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria[J]. *Cell*, 1997, 91(5): 627-637.
- [13] Gomez-Bougie P, Bataille R, Amiot M. Endogenous association of Bim BH3-only protein with Mcl-1, *Bcl-XL* and *Bcl-2* on mitochondria in human B cells[J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(3): 971-976.
- [14] Medema JP, Scaffidi C, Krammer PH, *et al.* *Bcl-XL* acts downstream of caspase-8 activation by the CD95 death-inducing signaling complex[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(6): 3388-3393.
- [15] Huang X, Lin T, Gu J, *et al.* Combined TRAIL and Bax gene therapy prolonged survival in mice with ovarian cancer xenograft [J]. *Gene Ther*, 2002, 9(20): 1379-1386.
- [16] Hinz S, Trauzold A, Boenicke L, *et al.* *Bcl-XL* protects pancreatic adenocarcinoma cells against CD95- and TRAIL-receptor-mediated apoptosis[J]. *Oncogene*, 2000, 19(48): 5477-5486.
- [收稿日期] 2007 - 09 - 14 [修回日期] 2007 - 11 - 04
- [本文编辑] 郁晓路

· 科技动态 ·

Gr-1⁺CD115⁺非成熟 MSCs 介导 T-regs 的产生和荷瘤小鼠 T 细胞的失能

肿瘤免疫逃逸的机制之一是肿瘤能够诱导免疫抑制性细胞产生,包括髓系抑制性细胞(myeloid suppressor cells, MSCs)和调节性 T 细胞(regulatory T cells, T-regs)等,但是这两类细胞之间是否存在直接的相互作用尚不清楚。早在 20 世纪 80 年代,人们就发现肿瘤患者和荷瘤小鼠体内有 MSCs 聚积。它们来源于骨髓的造血前体细胞,是一类具有异质性的细胞亚群,主要由未成熟的巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞组成,具有免疫抑制功能,主要通过表达诱导型 NO 合成酶、精氨酸酶和 TGF- β 等分子机制抑制 CD4⁺ T 细胞和 CTL 等免疫细胞的抗肿瘤免疫功能。最近,一群被称为 T-regs 的具有免疫抑制功能的 T 细胞亚群备受关注,它们以表达转录因子 Foxp3 为特征,能够通过分泌 IL-10、TGF- β 或者直接接触而抑制 T 细胞的功能。在体外,IL-10、TGF- β 等免疫抑制分子能够诱导调节性 T 细胞的产生,但是在体内尤其是肿瘤条件下,这群细胞是如何产生的还有待进一步研究。

作者通过一系列的实验首次证明了肿瘤招募的 MSCs 能够直接诱导调节性 T 细胞的产生,从而使荷瘤小鼠的 T 细胞失能。以前认为 MSCs 是 Gr-1 和 CD11b 双阳性细胞,但是该双阳性细胞还混杂了其它非 MSCs 细胞,因此作者利用其他的表面标记来界定这群细胞,发现 Gr-1⁺CD115⁺F4/80⁺ MSCs 的抑制功能比经典的 Gr-1⁺CD11b⁺ MSCs 要强,因此将 Gr-1⁺CD115⁺细胞定义为 MSCs;然后,通过共培养实验证明了在体外 MSCs 能够直接诱导调节性 T 细胞的产生,而这个过程是依赖 IFN- γ 和 IL-10 的,但是并不需要 IL-13。虽然既往的研究表明 NKT 细胞分泌的 IL-13 对于精氨酸酶介导的 T 细胞功能是必须的。IFN- γ 和 IL-10 能够上调 MSCs II 类分子和共刺激因子的表达,另外 IFN- γ 作用于 MSCs 促进了 TGF- β 、IL-10 的表达,均能诱导调节性 T 细胞的形成,但是 MSCs 分泌的 NO 并不参与这个过程。

综上所述,作者发现了肿瘤招募的 MSCs 免疫抑制新的机制,即能直接诱导调节性 T 细胞的产生,同时证明肿瘤诱导产生的免疫抑制性细胞亚群之间存在直接的相互作用,进一步加强负向免疫调控的力度。

[陈朱波 摘译,韩岩梅 审阅. Huang B, Pan PY, Li Q, *et al.* *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1123-1131]