

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.012

· 临床研究 ·

IL-6 与 VEGF 在食管鳞状细胞癌中的表达及其临床意义

王洪琰¹, 王郁², 王佳丽², 韩晓楠², 王雪晓², 王森¹, 贾云浣², 刘丽华² (1. 河北医科大学第四医院 胸外科, 河北石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院 生物治疗科, 河北石家庄, 050035)

[摘要] **目的:** 检测食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell cancer, ESCC)患者血清中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和 ESCC 组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达及其两者关系, 并研究两者表达对 ESCC 的临床意义。**方法:** 收集河北医科大学第四医院胸外科于 2014 年 1 月至 2015 年 1 月期间行 ESCC 切除术的患者 52 例, 每例患者均取原发灶组织和癌旁组织标本; 同时在术前抽取患者外周血 5 ml, 再取 52 例健康体检者外周血 5 ml 为血清对照。应用 ELISA 法测定 ESCC 患者血清中 IL-6 的水平, 免疫组化技术检测 VEGF 在 ESCC 组织中的表达, RT-PCR 法检测肿瘤组织中 IL-6 和 VEGF mRNA 的表达情况。**结果:** ESCC 患者血清 IL-6 表达水平为(116.71 ± 25.98) pg/ml, 明显高于健康对照组的[(78.43 ± 9.36) pg/ml] ($P < 0.05$), 血清中 IL-6 的表达水平与患者肿瘤分化程度、TNM 分期、肿瘤浸润深度和淋巴结转移相关($P < 0.05$)。肿瘤组织 VEGF 蛋白阳性表达率明显高于癌旁组织(67.31% vs 32.69%, $P < 0.01$), 且与患者肿瘤分化程度、TNM 分期、肿瘤浸润深度和淋巴结转移相关($P < 0.05$)。肿瘤组织中 IL-6 mRNA 的表达与 VEGF mRNA 的表达呈显著正相关($r = 0.7113, P < 0.05$)。**结论:** ESCC 患者肿瘤组织中 IL-6 和 VEGF 均呈高表达且两者呈正相关, 两者可能在 ESCC 侵袭和转移中发挥重要作用。

[关键词] 食管鳞癌; IL-6; VEGF; 转移

[中图分类号] R735.1; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)05-0619-06

Expression and clinical significance of IL-6 and VEGF in esophageal squamous cell cancer

Wang Hongyan¹, Wang Yu², Wang Jiali², Han Xiaonan², Wang Xuexiao², Wang Miao¹, Jia Yunlong², Liu Lihua² (1. Department of Chest Surgery, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Biotherapy, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To study changes in serum levels of interleukin (IL)-6 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in associations with tumor invasion and lymphatic metastasis in patients with esophageal squamous cell cancer (ESCC). **Methods:** Tumor and peri-tumor tissue specimens and peripheral blood samples were collected from 52 ESCC patients who underwent surgical resection in the Department of Chest Surgery, Hebei Medical University-Affiliated Fourth Hospital between January, 2014 and January, 2015. Blood samples were collected from 52 healthy subjects for the purpose of control. IL-6 levels in the blood samples were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). VEGF protein in the tumor and peri-tumor specimens was assessed by immunohistochemistry. IL-6 and VEGF mRNA abundance was assessed by semi-quantitative RT-PCR. **Results:** Serum levels of IL-6 were significantly higher in ESCC patients (116.71 ± 25.98) pg/ml than in control subjects (78.43 ± 9.36) pg/ml ($P < 0.05$). In ESCC patients, serum levels of IL-6 were associated to patient TNM stage, tumor invasion depth, tumor differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$). VEGF protein was detected in 67.31% of tumor specimens and the intensity of the immunoreactive protein

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81201607); 河北省杰出青年科学基金资助项目(No. H2014206320); 河北省高层次人才资助项目(No. H2012206135)。Projects supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81201607), the Foundation for Distinguished Young Scientists of Hebei Province (No. H2014206320), and the Foundation for High-level Talents of Hebei Province (No. A201401040)

[作者简介] 王洪琰(1977 -), 男, 河北省邢台市人, 博士, 副主任医师, 主要从事肿瘤临床治疗工作, E-mail: wangyu805@126.com

[通信作者] 刘丽华(Liu Lihua, corresponding author), E-mail: lihualiu567@hotmail.com

signal was associated to TNM stage, tumor invasion depth, tumor differentiation and lymph node metastasis. Tumor tissue VEGF was associated to serum level of IL-6 ($P < 0.05$). IL-6 and VEGF mRNA levels were positively correlated in the tumor tissue ($r = 7.113$, $P < 0.05$). **Conclusion:** IL-6 is positively correlated with VEGF in ESCC patients. This finding suggests that IL-6 and VEGF may play key roles ESCC invasion and lymph node metastasis.

[**Key words**] esophageal squamous cell cancer(ESCC); IL-6; VEGF; metastasis

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(5): 619-624]

白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)是一种多功能的细胞因子,在调节炎症和免疫反应中起重要作用。IL-6在体内与其受体结合后通过诱导 gp130 形成同型二聚体,从而激活下游 JAK/STAT3 信号途径发挥作用^[1-2]。在前列腺癌研究^[3]中发现,IL-6 高表达和异常的信号通路通过影响细胞增殖、浸润、血管生成等在肿瘤的发生和发展中起促进作用,且高表达 IL-6 与患者预后不良有关。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell cancer, ESCC)是我国常见的消化道肿瘤,向周围组织侵袭和淋巴结转移是其主要的生物学特性,也是影响患者预后的主要因素之一^[4]。血管生成是肿瘤转移的最重要步骤之一。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是诱导肿瘤血管形成作用最强的细胞因子,具有特异性刺激血管内皮细胞增殖和血管生成等功能^[5]。有学者^[6]报道,在结肠癌中,IL-6 可以促进 VEGF 的产生,从而促进肿瘤血管生成。目前还没有关于 IL-6 与 VEGF 在 ESCC 中的表达及在 ESCC 进展中作用的报道。本课题通过研究 ESCC 中 IL-6 与 VEGF 的表达,探讨两者的相关性及与患者临床病理特征的关系,为深入研究 IL-6 和 VEGF 对 ESCC 发生发展的影响奠定基础。

1 材料与方法

1.1 标本来源及主要试剂

选择河北医科大学第四医院胸外科于 2014 年 1 月至 2015 年 1 月期间行肿瘤切除术,且术后病理学诊断为 ESCC 的患者 52 例,所有患者术前 3 个月内均未进行任何抗肿瘤治疗,术前抽取患者外周血 5 ml。其中男性为 41 例、女性为 11 例,年龄为(34~76)岁,中位年龄为 54 岁,且排除心、肝、肾、糖尿病等疾病。同时取 52 例健康体检者外周血 5 ml 为血清对照。每例患者均取 ESCC 原发灶组织样本,以癌旁组织(距离癌灶边缘 3~5 cm)为组织对照。手术中取材后将标本迅速置于液氮中,一部分标本置于 -80℃ 超低温冰箱中贮存以备提取 RNA,一部分标本用 4% 中性甲醛固定,常规制成蜡块保存,用于免疫组化检测。按照国际抗癌联盟(UICC)第七

版标准进行 TNM 分期,将 ESCC 患者分为: I 期 11 例、II 期 17 例、III 期 23 例、IV 期 1 例。按照世界卫生组织肿瘤的病理学分级标准进行组织学分级:高分化 21 例(41.38%)、中分化 18 例(34.62%)、低分化 13 例(25.00%)。所有标本及临床资料的收集经医院伦理委员会批准,征得患者同意并签署知情同意书。

IL-6 ELISA 检测试剂盒购自上海西唐生物科技公司,总 RNA 提取试剂 TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,反转录试剂盒 K1622 购自加拿大 Fermentas 公司,即用型 Taq 酶 PCR 试剂盒购自上海捷瑞生物工程公司,Marker I DNA Ladder 购自北京索莱宝公司,PCR 引物由上海英骏生物技术公司合成。兔抗人 VEGF 多克隆抗体(Sc-507)、SP 试剂盒和 DAB 试剂盒均购自北京中杉金桥公司产品。Veriti 热循环仪为美国 Applied Biosystems 公司,Photodyne 凝胶成像分析系统为美国 PE 公司产品。

1.2 ELISA 法检测 ESCC 患者及健康体检者血清中 IL-6 的表达

按照 ELISA 检测试剂盒的操作说明对相应样本进行检测,在 450 nm 波长处读取光密度(D)值,求得标准曲线,计算各孔相应 D 值得对应浓度,最终测定计算血清中 IL-6 的水平。

1.3 免疫组化 SP 染色法检测 ESCC 患者肿瘤组织中 VEGF 蛋白的表达

采用免疫组化 SP 二步法染色,由 2 位病理医师分别双盲阅片进行结果判定。阳性划分标准:先在低倍镜下观察 VEGF 表达较强的区域,再在高倍镜下随机选取每张染色片的 5 个视野进行观察,以阳性细胞百分率为判定标准。阳性细胞数 $< 5\%$ 为阴性, $\geq 5\%$ 为阳性。表达强度按阳性细胞数 $< 5\%$ 为(-), $5\% \sim 25\%$ 为(+), $26\% \sim 50\%$ 为(++), $\geq 51\%$ 为(+++), (+)为弱阳性, (++)~(+++)为强阳性。

1.4 RT-PCR 法检测 ESCC 患者肿瘤组织中 IL-6 和 VEGF mRNA 的表达

按 TRIzol 试剂说明书一步法提取总 RNA,然后使用紫外分光光度计测量 RNA 的纯度及浓度,将 RNA 反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板使用 PCR 扩

增 *IL-6* 和 *VEGF*, 同时以扩增的 *GAPDH* 作为内参照。PCR 总体系 20 μl , 其中基因上下游引物各 1 μl (*IL-6*、*VEGF* 和 *GAPDH* 引物均由上海英骏生物技术公司合成, 引物序列见表 1)。cDNA 模板 1 μl , 即用型 Taq 酶 10 μl , 双蒸水 7 μl , 反应条件见表 2。每例标本均行 3 次重复实验, 最终取平均光密度值。为 RT-PCR 的质量控制, 随机选择 10% 标本进行重复实验 5 次, 重复性达到 95% 以上。将 8 μl PCR 产物加入 2% 琼脂糖凝胶板上电泳(120 V, 60 mA, 30 min), 采用 gel-pro analysis 3.1 系统进行照相扫描及 *D* 值分析。以目标基因/内参基因的 *D* 比值作为目标基因的相对表达水平, 比值 > 0.5 为表达阳性。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 血清中 *IL-6* 表达水平的比较采用 *t* 检验, *VEGF* 蛋白阳性表达率的比较采用 χ^2 检验, 不同基因间的

相关性分析采用 McNemar 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

表 1 *IL-6*、*VEGF* 及 *GAPDH* 基因引物序列

Tab. 1 Primer sequences of *IL-6*, *VEGF* and *GAPDH*

Gene	Primer	Product size(bp)
<i>IL-6</i>	F:5'-ATGCAGACTGTCTCTGGCA-3'	212
	R:5'-GCGCCTTTAGCAAAGTGTCC-3'	
<i>VEGF</i>	F:5'-CTAGCACCAGCGCTCTGTC-3'	202
	R:5'-GCCCGATTCAAGTGGGAAT-3'	
<i>GAPDH</i>	F:5'-AATGGCAGCCGTTAGGAAA-3'	168
	R:5'-GCGCCCAATACGACCAAATC-3'	

表 2 *IL-6*、*VEGF* 和 *GAPDH* 基因的 PCR 反应条件

Tab. 2 PCR reaction conditions of *IL-6*, *VEGF* and *GAPDH*

Gene	Initial denaturation	Denaturaion	Annealing	Extension	Cycle	Total extension
<i>IL-6</i>	95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min	95 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	60 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	72 $^{\circ}\text{C}$ 50 s	35	72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min
<i>VEGF</i>	95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min	95 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	62 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	72 $^{\circ}\text{C}$ 50 s	35	72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min
<i>GAPDH</i>	95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min	95 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	57 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	72 $^{\circ}\text{C}$ 50 s	30	72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min

2 结果

2.1 ESCC 患者血清中 *IL-6* 的表达水平显著高于健康对照者

ELISA 法结果显示, 与健康对照组相比, ESCC 患者血清中 *IL-6* 的表达水平显著升高[(116.71 \pm 25.98) vs (78.43 \pm 9.36), $P < 0.05$]。在 52 例食管癌患者血清中 *IL-6* 表达的情况与肿瘤分化程度、TNM 分期、肿瘤浸润深度和淋巴结转移相关, 与患者性别、年龄无关(表 3)。

2.2 ESCC 患者肿瘤组织中 *VEGF* 蛋白的表达

免疫组化检测结果(图 1)显示, *VEGF* 蛋白表达主要定位于细胞胞质, 阳性细胞可见胞质中呈棕黄色。52 位患者肿瘤组织中 35 例(67.31%) *VEGF* 蛋白呈阳性表达, 相应癌旁组织中 17 例(32.69%) *VEGF* 呈阳性表达, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。在 52 例 ESCC 患者中, *VEGF* 表达水平与肿瘤分化程度、TNM 分期、肿瘤浸润深度和淋巴结

转移相关, 与患者性别、年龄无关(表 4)。

2.3 ESCC 肿瘤组织中 *VEGF* 与血清中 *IL-6* 表达水平的关系

免疫组化及 ELISA 法检测结果显示, 35 例 ESCC 组织中 *VEGF* 蛋白表达阳性患者的血清中 *IL-6* 的表达水平显著高于 *VEGF* 蛋白表达阴性的 17 例患者[(129.30 \pm 19.73) vs (88.37 \pm 12.23) pg/ml, $P < 0.001$]。

2.4 ESCC 组织中 *IL-6* 与 *VEGF* mRNA 的表达情况及其相关性

RT-PCR 结果(图 2)表明, 在 ESCC 组织中, *IL-6* mRNA 的表达水平为(0.41 \pm 0.17), *VEGF* mRNA 的表达水平为(0.75 \pm 0.24)。如表 4 所示, 在肿瘤组织中 *IL-6* 和 *VEGF* mRNA 阳性表达率呈显著正相关关系($r = 7.113$, $P < 0.001$); 在癌旁组织中 *IL-6* 和 *VEGF* mRNA 阳性表达率无相关性($r = 3.146$, $P = 0.076$)。

表 3 食管癌患者 IL-6 和 VEGF 表达与患者临床病理特征的关系

Tab. 3 Relationships between the expressions of IL-6, VEGF in ESCC cancer and clinicopathologic features

Feature	N	IL-6			VEGF		
		$\bar{x} \pm s$ [$\rho_B / (\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$]	t	P	n(%)	χ^2	P
Gender							
Male	41	116. 11 ± 26. 72	-0. 695	0. 491	28(68. 29)	0. 085	0. 770
Female	11	118. 94 ± 26. 72			7(63. 64)		
Age(t/a)							
≤60	28	119. 72 ± 23. 00	1. 505	0. 144	24(85. 71)	0. 343	0. 558
>60	24	113. 19 ± 29. 19			11(45. 83)		
Differentiation							
Well + Moderate	39	104. 82 ± 17. 10	-17. 354	0. 001	23(58. 94)	4. 923	0. 026
Poor	13	152. 35 ± 10. 36			12(92. 31)		
TNM Stage							
I + II	28	97. 76 ± 14. 40	-15. 08	0. 001	14(50)	8. 259	0. 004
III + IV	24	138. 81 ± 17. 51			21(87. 5)		
Invasion depth							
T1 + T2	21	93. 04 ± 13. 64	-13. 34	0. 001	10(47. 62)	6. 206	0. 013
T3	31	132. 74 ± 19. 12			25(80. 65)		
Lymph node metastasis							
Positive	33	131. 34 ± 19. 35	-13. 266	0. 001	26(78. 79)	5. 409	0. 020
Negative	19	91. 30 ± 13. 16			9(47. 37)		

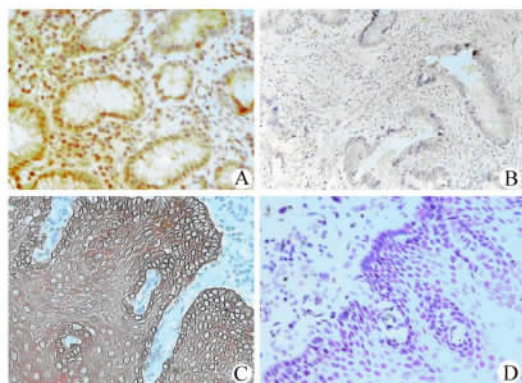


图 1 免疫组织化学法检测 VEGF 蛋白在 ESCC 组织和癌旁组织中的表达

Fig. 1 Expression levels of VEGF in ESCC tissues and para-carcinoma tissues

A: Positive expression in ESCC tissues; B: Negative expression in ESCC tissues; C: Positive expression in para-carcinoma tissues; D: Negative expression in para-carcinoma tissues

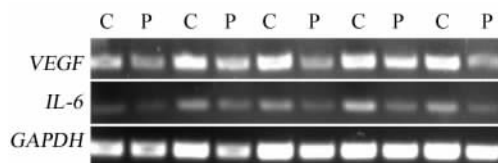


图 2 ESCC 组织和癌旁组织中 IL-6 与 VEGF mRNA 表达情况

Fig. 2 Representative expression status of IL-6 and VEGF mRNA in ESCC tissues

C: Carcinoma tissue; P: Para-carcinoma tissue

3 讨论

侵袭和转移是影响 ESCC 患者预后的重要因素,受到多种原癌基因和抑癌基因的复杂调控,与逃避免疫攻击、诱导新生血管生成和抵抗凋亡等一系列病理生理机制有关^[7]。在 ESCC 的发展中,新生的血管为肿瘤细胞提供营养,同时也是肿瘤细胞转移的通道^[8]。研究^[6]表明,IL-6 不仅通过上调 Treg 表达诱导免疫逃逸,还能够促进肿瘤新生血管形成。因此,深入研究食管癌患者 IL-6 和 VEGF 的关系,

对揭示食管癌侵袭转移和干预治疗有重要意义。

表 4 ESCC 患者肿瘤组织中 IL-6 和 VEGF mRNA 表达的相关性

Tab. 4 Association of mRNA expression between IL-6 and VEGF in tumor tissues and para-carcinoma tissues of ESCC patients

VEGF	IL-6			Spearman's correlation	
	High	Low	Total	r	P
Tumor tissues					
High	24	11	35	7.113	0.008
Low	5	12	17		
Total	29	23	52		
Para-carcinoma tissues					
High	8	9	17	3.146	0.076
Low	8	27	35		
Total	16	36	52		

本实验结果显示,ESCC 患者血清中 IL-6 表达水平显著高于健康对照组,且随着肿瘤分期的增高,IL-6 的表达逐渐升高,同时与淋巴结转移、肿瘤浸润深度、TNM 分期相关,这表明 IL-6 在 ESCC 的侵袭与转移中可能起到重要的作用,且其水平的变化特征可作为 ESCC 恶性程度、病理分期和预后的血清学指标。IL-6 是一种多效应细胞因子,主要由单核细胞、巨噬细胞和一些肿瘤细胞产生。在肿瘤细胞中,IL-6 主要通过可与溶性 IL-6 受体结合,通过诱导 gp130 形成同型二聚体,从而激活下游 JAK/STAT3 信号途径,参与肿瘤细胞增殖、分化、侵袭转移和血管增生等^[1]。研究^[9-11]表明,在肾癌、肝癌、胆管癌、乳腺癌等患者血清中 IL-6 呈异常高表达状态,且与患者预后相关。对膀胱癌的研究^[12-13]表明,IL-6 通过调节 Bcl-2,促进细胞凋亡抑制蛋白升高及增加端粒酶的活性等,在肿瘤细胞逃避凋亡和细胞抗药性中发挥重要作用。另外,IL-6 还可通过募集 MMP-2、MMP-7 和 MMP-9 等细胞因子,在肿瘤侵袭和细胞外基质分化中起重要作用^[14]。对卵巢癌研究^[15]发现,IL-6 可通过 STAT3 途径促进肿瘤血管形成。

VEGF 是最重要的影响肿瘤血管生成的因素。VEGF 在多种肿瘤中呈高表达状态,是患者预后不良的因素之一^[8, 16-17]。本研究发现,在 ESCC 组织中 VEGF 蛋白阳性表达显著高于癌旁组织,且与肿瘤分化程度、淋巴转移、TNM 分期等密切相关。这

一结果与 Terme 和 Galecki 等^[5, 18] 研究结果相同。此外本实验还证实,在肿瘤组织中,IL-6 与 VEGF 的表达在基因水平上呈正相关关系,而在癌旁组织中 IL-6 与 VEGF 的表达水平无相关性,提示 IL-6 促进肿瘤血管生成。Waldner 等^[19] 学者用结肠癌小鼠模型研究发现,在高水平 IL-6 的环境中 VEGF 表达也升高。Middleton 等^[20] 用基因敲除的方法研究发现,当敲除胃癌小鼠模型中的 IL-6 基因时,VEGF 的表达水平降低,从而抑制肿瘤血管生成。以上体外研究结果证明,IL-6 可直接影响 VEGF 的表达水平。本实验通过比较 ESCC 患者 IL-6 和 VEGF 表达水平发现,不仅在 ESCC 中 IL-6 和 VEGF 表达升高,并且与肿瘤分化程度、淋巴转移、TNM 分期等密切相关,IL-6 和 VEGF 表达水平有显著相关性,提示 ESCC 侵袭转移与 IL-6 升高的微环境密切相关。

综上,ESCC 患者血清中 IL-6 与其肿瘤组织中 VEGF 的表达水平呈显著正相关关系,血清中高表达的 IL-6 可能作为预测其肿瘤 VEGF 高表达的指标之一。IL-6 和 VEGF 与 ESCC 的发展密切相关,且两者与 ESCC 的分化程度、TNM 分期及淋巴结转移密切相关。深入研究影响 IL-6 与 VEGF 的因素将有助于揭示 ESCC 侵袭转移的机制并为提高治疗水平奠定基础。

[参考文献]

- [1] Garbers C, Hermanns HM, Schaper F, et al. Plasticity and cross-talk of interleukin 6-type cytokines [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2012, 23(3): 85-97.
- [2] Ertu M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system [J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(1): 1254-1266.
- [3] Erb HH, Langlechner RV, Moser PL, et al. IL-6 sensitizes prostate cancer to the antiproliferative effect of IFNalpha2 through IRF9 [J]. Endocr Relat Cancer, 2013, 20(5): 677-689.
- [4] Baba Y, Watanabe M, Shigaki H, et al. Negative lymph-node count is associated with survival in patients with resected esophageal squamous cell carcinoma [J]. Surgery, 2013, 153(2): 234-241.
- [5] Terme M, Pernot S, Marcheteau E, et al. VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T-cell proliferation in colorectal cancer [J]. Cancer Res, 2013, 73(2): 539-549.
- [6] Nagasaki T, Hara M, Nakanishi, Interleukin-6 released by colon cancer-associated fibroblasts is critical for tumour angiogenesis: Anti-interleukin-6 receptor antibody suppressed angiogenesis and inhibited tumour-stroma interaction [J]. Br J Cancer, 2014, 110(2): 469-478.
- [7] Taniguchi K, Karin M. IL-6 and related cytokines as the critical lymphins between inflammation and cancer [J]. Semin Immunol, 2014, 26(1): 54-74.

- [8] Kammerer PW, Al-Nawas B, Kalkan S, et al. Angiogenesis-related prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma-role of the VEGF + 936 C/T polymorphism [J]. *J Oral Pathol Med*, 2014, 44(6): 429-436.
- [9] Yao X, Huang J, Zhong H. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(2): 125-139.
- [10] Al-Ansari MM. Inhibition of the IL-6-JAK2-STAT3-calprotectin axis as targeted therapy for HR⁺/HER2⁺ Breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 19(15): 1631-1648.
- [11] Ghosh S, Ashcraft K. An IL-6 link between obesity and cancer [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2013, 5(7):461-478.
- [12] Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications [J]. *Int Immunol*, 2010, 22(5): 347-352.
- [13] Ara T, Declerck YA. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(7): 1223-31.
- [14] Guo Y, Xu F, Lu T, et al. Interleukin-6 signaling pathway in targeted therapy for cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(7): 904-910.
- [15] Anglesio MS, George J, Kulbe H, et al. IL6-STAT3-HIF signaling and therapeutic response to the angiogenesis inhibitor sunitinib in ovarian clear cell cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8): 2538-2548.
- [16] Giatromanolaki A, Bates GJ, Koukourakis MI. The presence of tumor-infiltrating FOXP3⁺ lymphocytes correlates with intratumoral angiogenesis in endometrial cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(2): 216-221.
- [17] Zhao Z, Ba C, Wang W, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphisms and colorectal cancer: a meta-analysis of epidemiologic studies [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(12):1390-1394.
- [18] Galecki P, Galecka E, Maes M, et al. Vascular endothelial growth factor gene (VEGFA) polymorphisms may serve as prognostic factors for recurrent depressive disorder development [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2013, 45(12): 117-124.
- [19] Waldner MJ, Wirtz S, Jefremow A, et al. VEGF receptor signaling links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(13): 2855-2868.
- [20] Middleton K, Jones J, Lwin Z, Coward JI. Interleukin-6: an angiogenic target in solid tumours [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2014, 89(1): 129-139.
- [收稿日期] 2015 -04 -22 [修回日期] 2015 -08 -10
[本文编辑] 阮芳铭

· 科技动态 ·

IFN- γ 通过调控细胞代谢和 mRNA 翻译促进巨噬细胞活化

IFN- γ 可增强巨噬细胞对 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)触发的天然免疫反应,但 IFN- γ 如何增强巨噬细胞对 TLR 敏感性的机制研究不多。Ivashkiv 等发现 IFN- γ 可以通过抑制 TLR4 触发的 HES1 和 HEY1 的表达,促进巨噬细胞释放细胞因子。此外,研究还发现,IFN- γ 致敏可以使组蛋白发生乙酰化修饰,进而促进染色体重塑,调控基因的表达。总之该研究提出了一种新型机制:IFN- γ 通过调控细胞代谢和 mRNA 翻译促进 TLR 触发的巨噬细胞活化。

首先,作者用 TLR2 配体 Pam3CSK4 刺激人巨噬细胞,发现 IFN- γ 致敏并不影响 HES1 mRNA 水平的变化,但是却完全抑制了 HES1 的蛋白质表达水平。用蔗糖梯度离心实验发现,IFN- γ 可以选择性地抑制 HES1 mRNA 翻译起始的发生;随后发现,IFN- γ 可以通过 MAPK-MNK-eIF4E 信号通路来部分抑制 HES1 mRNA 翻译的发生。进一步研究证实,IFN- γ 还可通过抑制 mTORC1 下游底物 4E-BP 和 p70S6K 的磷酸化水平来发挥负向调控作用。由于 mTORC1 的活化需要由 Ragulator-Rag 复合体招募其到晚期内体和溶酶体膜,在溶酶体膜发挥功能,而且 mTORC1 可以抑制自噬的发生。进一步研究表明,IFN- γ 致敏以后,巨噬细胞自噬能力增强,并且阻断了 mTOR 的溶酶体膜定位,从而抑制了 mTORC1 活化。mTORC1 的活化受两条信号的调控,一是生长因子-PI3K-Akt-TSC1/2-Rheb 信号通路介导,另一则是由吲哚胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)介导的细胞内色氨酸的降解,从而使得 IFN- γ 抑制 mTORC1 的活性。

该项研究采用了核糖体文库及核糖体移位分析技术,首次揭示了 IFN- γ 可以抑制 mTORC1 依赖的 mRNA 翻译;并且对 mRNA 水平有变化的基因进行信号通路及 GO 分析发现,细胞翻译元件可能为 IFN- γ 的负向调控提供了潜在的靶标。Ivashkiv 教授小组的这项研究重大贡献在于:通过对大量的全基因组翻译文库的分析,揭示了在人巨噬细胞中 IFN- γ 以一种整合的方式调控 mTORC1 和 mRNA 的翻译,这一调控及其与细胞代谢相关的改变均与 IFN- γ 的促炎和自噬作用不可分割。

[王秦兰 摘译,王春梅 审阅. Xiaodi Su, Yingpu Yu, Yi Zhong, et al. *Nature Immunology*, 2015, 16(8): 838-849.]