中国肿瘤生物治疗杂志 http: //www. biother. org
Chin J Cancer Biother, Feb. 2017, Vol. 24, No. 2

DOI:10. 3872/j. issn. 1007-385X. 2017. 02. 016

· 综 述 ·

CXCL8 及其受体与结直肠癌肝转移的关系

Relationship of CXCL8 and its recept with metastasis of colorectal cancer

别雅琴[1]综述;李云峰[1],殷正丰[2]审阅(1. 昆明医科大学第三附属医院 结直肠外科, 云南 昆明 650118; 2. 第二军医大学东方肝胆外科医院 分子肿瘤实验室 ,上海 200438)

[摘 要] CXCL8(又名 IL-8)具有 3 种受体,CXCL8 结合不同受体则产生不同的生物学效应。CXCL8 与多种类型肿瘤的发生发展有关,其中与结直肠癌及其肝转移的关系尤为密切。CXCL8 与其受体相互作用后通过诱导肠癌细胞发生上皮间质转化、抵抗失巢凋亡以及免疫抑制等机制,促进肠癌细胞侵袭、迁移、释放入血形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cells,CTCs),甚至促进 CTCs 存活以及定向趋化,进而在肝内定植形成转移灶。CXCL8 及其受体还可介导肿瘤细胞-免疫细胞之间的相互作用,负向调节机体免疫功能,避免肿瘤细胞或 CTCs 免疫杀伤。本文综述有关 CXCL8 及其受体在结直肠癌进展和肝转移过程中的作用及其机制。

[关键词] CXCL8;结直肠癌;肝转移;循环肿瘤细胞;上皮间质转化
[中图分类号] R735. 3; R730. 2 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2017)02-0194-07

CXCL8 为趋化因子配体 8(chemokine ligand 8),又称为 IL-8,主要由中性粒细胞、单核巨噬细胞、T 细胞、上皮细胞、内皮细胞等产生。作为 ELR 类趋化因子家族最重要的成员之一,CXCL8 在介导炎症反应中起着重要作用,也是第一个被报道为具有血管生成效应的趋化因子[1]。CXCL8 受体主要有 3 种,分别为 CXCR1、CXCR2 和达菲抗原趋化因子受体(duffy antigen receptor for chemokines, DARC)。CXCR1 和 CXCR2 都是 7 次穿膜 G 蛋白偶联受体,同源序列约为 80%,主要表达于中性粒细胞、单核细胞、$CD8^+$ T 细胞、杆状细胞、噬碱性粒细胞、自然杀伤细胞和骨髓抑制细胞等[2]。DARC 是一种能够结合 CXC 族和 CC 亚族趋化因子的非典型性趋化因子受体[3],虽然也是 7 次穿膜型受体,但不与 G 蛋白偶联,主要表达于红细胞、细胞滑膜组织、毛细血管后小静脉内皮细胞和某些神经元等[4-5]。CXCL8 结合不同受体则产生不同的生物学效应。大量的研究[6-12]表明,CXCL8 与多种类型肿瘤的发生发展有关,其中与结直肠癌及其肝转移的关系尤为密切[8]。肝脏是结直肠癌血行转移最主要的靶器官,结直肠癌肝转移是结直肠癌治疗的重点和难点之一。CXCL8 与其受体相互作用通过诱导结直肠癌细胞发生上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)、抵抗失巢凋亡以及免疫抑制等机制,促进肠癌细胞侵袭、迁移、释放入血形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cells,CTCs),甚至促进 CTCs 存活以及定向趋化,进而在肝内定植形成转移灶。CXCL8 及其受体还可介导肿瘤细胞-免疫细胞之间的相互作用,负向调节机体免疫功能,避免肿瘤细胞/CTCs 免疫杀伤。

1 CXCL8 及其受体参与结直肠癌细胞侵袭迁移,促进 CTCs 形成

目前认为,EMT 在肿瘤转移过程中发挥重要作用。当肿瘤细胞发生 EMT 后,通过赋予上皮来源的肿瘤细胞某些间质细胞特性,降低细胞之间黏附力,容易脱离细胞外基质,提高其侵袭迁移能力,并通过外渗作用释放至血液或淋巴液中,形成 CTCs,成为远处转移的潜在“种子”。

1.1 CXCL8 及其受体通过诱导结直肠癌细胞 EMT,促进其侵袭转移

Hwang 等[13]通过微阵列分析 22 例结直肠癌患

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30960445, 81560472);云南省卫生厅-昆明医科大学联合专项资助项目(No. 2013FB166);云南省卫生厅内设机构研究项目(No. 2014NS017, 2014NS018)。Project by supported the National Science Foundation of China (No. 30960445,81560472), the Joint Special of Yunnan Provincial Health Department and Kunming Medical University(No. 2013FB166), and the Research Projects in Internal Institutions of Yunnan Provincial Health Department (No. 2014NS017, 2014NS018)

[作者简介] 别雅琴(1990 -),女,硕士生,主要从事结直肠肿瘤临床及基础方面的研究, E-mail:bieyaqinwust@ 163. com
[通信作者] 李云峰(LI Yunfeng,corresponding author),硕士,主任医师,主要从事结直肠癌的临床与基础研究, E-mail:liyunfeng@ medmail. com. cn;殷正丰(YIN Zhengfeng,corresponding author),博士,博士生导师,研究员,主要从事肝癌的信号通路及分子靶向的研究, E-mail:yinzfk@ aliyun. com

者肠癌组织及肠癌细胞系 HT29 表达 CXCL8、Snail、干细胞相关分子 CD44 以及间质标志物波形蛋白等，发现 Snail 可以通过结合 CXCL8 启动子区域而激活 CXCL8，进而调节肠癌细胞的干细胞活性及 EMT 过程。提示 CXCL8 与 Snail 在诱导肠癌细胞 EMT 及侵袭转移方面具有相互促进作用。有研究[14]发现，CXCL8 处理培养的肠癌细胞系 SW480 可上调间质标志物波形蛋白及 β-catenin 表达，而不影响上皮标志物 E-cadherin 表达，即发生部分 EMT；而用 CXCL8 与另一个趋化因子 CCL20 联合处理，则可诱导完全的 EMT（即上调波形蛋白表达的同时，下调 E-cadherin 表达），并且该过程与 PI3K/Akt-ERK1/2 信号通路激活有关。而发生 EMT 的肠癌细胞可以自分泌 CXCL8，并上调 CXCR1 和 CXCR2 表达，自分泌的 CXCL8 则通过受体介导发生 EMT 的肠癌细胞侵袭、迁移；抗体抑制实验[15]显示，参与作用的受体主要为 CXCR1，而 CXCR2 几乎不参与。此外，Kobayashi 等[16]通过 qRT-PCR 和微阵列分析方法检测结肠癌组织及癌旁组织的基因表达情况，发现与癌组织相比，癌旁组织成倍数高表达包括 CXCL8 在内的 6 个趋化因子、基质金属蛋白酶 7（matrix metalloproteinase7，MMP7）以及 EMT 相关蛋白，而 CXCL8 的癌旁/癌组织表达量比高于后两者，提示 CXCL8 诱导肠癌细胞向远处侵袭转移的作用大于 MMP7、EMT 相关蛋白；而作为肠癌细胞 EMT 相关蛋白，CXCL8[14]与 MMPs[17]在诱导肠癌细胞发生 EMT 以及侵袭转移方面也可能发挥协同效应。可见，CXCL8 可以通过多种途径参与肠癌细胞 EMT 过程，促进肠癌细胞侵袭转移。

1.2 CXCL8 及其受体促进结直肠癌细胞黏附、外渗，形成 CTCs

肿瘤细胞从肿瘤组织外渗的过程与各种间质细胞（如中性粒细胞、内皮细胞）以及血流的剪切力等有关。Aihua 等[18]采用内皮细胞黏附实验检测肠癌细胞 Caco2、KM12C 以及 KM12L4 细胞系，发现在一定浓度范围内，CXCL8 浓度越高，肠癌细胞黏附内皮细胞的数目越多，穿透能力越强，从而证明了 CXCL8 在肠癌细胞与内皮细胞黏附过程中的作用。Liang 等[19]在平板流动实验中发现，不同水流剪切力可以调节肿瘤细胞分泌 CXCL8，后者介导中性粒细胞表达的穿膜受体 β_2 整联蛋白（β_2 integrins）与肿瘤细胞表达的穿膜配体细胞间黏附分子-1（intercellular adhesion molecule-1，ICAM-1）结合，促进肿瘤细胞黏附于内皮细胞，随后肿瘤细胞在某一特定的水流剪切力作用下外渗。这一现象提示，CXCL8 可以介导肿瘤细胞与内皮细胞黏附以及外渗进入血液循环系统的过程。其他类型肿瘤细胞的类似研究也得到类似结果。比如，Sharif 等[20]通过 cDNA 阵列分析及小室迁移试验发现，当人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 处于低密度状态下生长时，可以通过激活 Hippo 信号通路中的 YAP 蛋白上调 CXCL8 表达，在受体 CXCR2 及 Hippo 信号通路的介导下增强肿瘤细胞侵袭血管及外渗入血的能力，并通过建立斑马鱼模型在体内证实了这一过程。因此，当肿瘤细胞脱离细胞外基质处于低密度状态时，CXCL8-CXCR2 信号轴可以促进肿瘤细胞侵犯血管，助其释放入血形成 CTCs。癌旁组织表达 CXCL8 高于癌中心组织的研究[14]结果似乎也佐证这一点。

2 CXCL8 及其受体参与结直肠癌细胞存活的机制

肿瘤细胞能在宿主体内存活下来，一方面需要克服自身巨大的生存压力，另一方面需要抵抗宿主的免疫攻击，当其释放入血形成 CTCs 后，还需要抵抗失巢凋亡。有研究[21]显示，CXCL8 及其受体可以从多方面参与肠癌细胞的存活机制，不仅可以诱导肿瘤细胞抵抗失巢凋亡，而且在肿瘤细胞抵抗免疫杀伤方面发挥作用。

2.1 CXCL8 及其受体促进（循环）肠癌细胞存活和抗（失巢）凋亡

由于大量增殖，肿瘤细胞通常无法获得足够的血供而处于低氧环境中，这种生存压力可以诱导肿瘤细胞分泌 CXCL8[21]。CXCL8 上调一方面可以直接作用于肿瘤细胞，另一方面可以通过促进内皮细胞存活、增殖及迁移而刺激肿瘤微环境中的血管生成[22]，从而为肿瘤细胞提供足够的营养以维持更多肿瘤细胞的存活与生长。

TP53 是一个重要的广谱肿瘤抑制分子。CXCL8-TP53 信号在促进肿瘤进展中的作用也有报道[23]。为了更加全面地分析 CRC 相关基因网，Sonachalam 等[22]将主要包含 CRC 相关基因的两个基因组数据库 MSigDB 和 GeneSigDB 通过蛋白质相互作用（proteinDB 组数据库 PPI）网络连接富集，发现其中的 TP53 子网络和 CXCL8 子网络分别与细胞凋亡和免疫反应有关。提示 CXCL8-TP53 信号通路在肠癌细胞生存机制中可能发挥非常重要的作用。

自噬作为一种特别的凋亡形式在肿瘤细胞的存活机制中发挥着双重作用，一方面肿瘤细胞可以通过提高自噬水平以缓解自身生存压力而抵抗凋亡，另一方面可因自噬过度而引起自噬性的细胞凋亡，这种促凋亡与抗凋亡之间的平衡直接影响肿瘤细胞

的存活,因此,寻找反映自噬水平的标志物,可以更全面地了解肿瘤细胞的生存机制。Kraya 等[24]采用 ELISA 检测黑色素瘤细胞自噬相关基因敲除前后细胞培养液中的几种主要分泌蛋白的水平,发现包括 CXCL8 在内的 5 种蛋白分泌物可作为自噬的候选生物标记,提示 CXCL8 水平可以在一定程度上反映肿瘤细胞的自噬水平。Li 等[25]检测 RNA 干扰技术抑制肠癌细胞 HCT15 细胞系自噬相关基因 Atg7 前后细胞上清液中 CXCL8 表达水平,发现 Atg7 抑制后 CXCL8 表达水平明显下调,提示 CXCL8 可能作为自噬的下游信号通路参与机体的存活机制。

最近笔者研究[26]发现,用特定的无血清培养基诱导肠癌细胞悬浮生长时,肠癌细胞能通过上调自身 CXCL8 的表达,激活 Akt/ERK 信号通路,继而上调 T-LAK 细胞来源的蛋白激酶(T-LAK cell-originated protein kinase,TOPK)的表达,导致失巢凋亡抵抗,提示当循环肠癌细胞在血流中处于失巢状态时,可通过上调 CXCL8 表达来抵抗失巢凋亡。然而,由于分离到的少量循环肠癌细胞无法用于后续实验,而目前 CTCs 培养扩增技术尚不成熟,关于 CXCL8 及其受体如何调节循环肠癌细胞存活及抵抗失巢凋亡的具体机制并没有被阐明。

2.2　CXCL8 及其受体有助于(循环)肠癌细胞逃避免疫监视

Lima 等[27]通过流式细胞术检测不同亚型自然杀伤细胞(NK 细胞)的免疫表型,发现 90% 以上 $CD56^{+low}$NK 细胞可表达 CXCR1 和 CXCR2,并且可以与表达 CXCR1/CXCR2 的中性粒细胞协同参与免疫反应[28]。在 CXCL8 作用下,$CXCR1^{+}/CXCR2^{+}$ $CD56^{+low}$NK 细胞以及中性粒细胞可以迁移至肿瘤部位,多方面参与肿瘤细胞的免疫调控。为了观察 CXCL8 在 DC 细胞向肿瘤组织迁移中的作用,Alfaro 等[29]通过腹膜种植高分泌 CXCL8 的肠癌细胞系 HT29 建立小鼠肠癌模型,再在离肿瘤组织约 5 mm 的皮下注射荧光素标记的 DC 细胞悬液,随机分成 CXCL8 中和抗体处理组与对照组,发现对照组可以趋化荧光素标记的 DC 细胞向肠癌部位大量迁移聚集,而 CXCL8 抑制组的这种聚集作用消失,提示 CXCL8 是趋化 DC 细胞向肠癌部位聚集的关键因素。更重要的是,如果用一定量 CXCL8 预培养 DC 细胞 24 h 后再注入小鼠体内,则同样可以抑制 DC 向肠癌部位大量迁移聚集,提示慢性暴露于 CXCL8 环境中的 DC 细胞会失去向肠癌组织迁移聚集的能力,从而使肠癌细胞逃避免疫杀伤。可见,血清、肿瘤微环境及癌旁组织中升高的 CXCL8 可能有助于肠癌细胞逃避免疫监视。

CTCs 在血液中逃避免疫监视的机制尚未见报道,但有人提出设想[30]:在外周血 CTCs 微癌栓的最外面可能聚集着一层粒细胞源型骨髓衍生抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells,MDSCs),在结构上形成 CTCs 防护墙,避免被免疫杀伤,而 MDSCs 分泌的多种细胞因子(包括 CXCL8)还可以调节防护墙内 CTCs 生长、增殖。这一现象在肿瘤组织中的相关作用早有报道,比如 Katoh 等[31]采用基因敲除的方法分别建立 CXCR2 组与正常对照组小鼠,并用偶氮氧甲烷/葡聚糖硫酸钠处理小鼠诱导结肠癌的发生,发现 CXCR2 组小鼠循环血中 MDSCs 向肿瘤部位的聚集减少,肿瘤发生率也明显降低,而流式细胞术及细胞毒性 T 淋巴细胞实验结果显示,MDSCs 在肿瘤部位的聚集与 $CD8^{+}$T 细胞的数量无关但与其活性相关,提示 MDSCs 可以在 CXCR2 的作用下向肿瘤部位聚集,并抑制 $CD8^{+}$T 细胞的活性。可见,CXCL8 及其受体在肿瘤细胞逃避免疫监视中发挥着“护墙”的作用。癌旁组织 CXCL8 表达高于癌中心组织的研究[16]结果似乎同样佐证这一点。此外,Li 等[25]用先天性免疫反应标志物 Toll 样受体(Toll-like receptors,TLRs)的相关配体脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)孵育或不孵育肠癌细胞系 HCT15,采用 ELISA 方法检测细胞上清液 CXCL8 表达水平,发现 LPS 孵育过的 HCT15 细胞表达更高的 CXCL8。采用 RNA 干扰技术抑制 LPS 处理的 HCT15 细胞表达自噬相关基因 Atg7,细胞上清液中 CXCL8 水平下降,而自噬基因的抑制并不会引起 TLRs 相关配体活性下降,提示自噬可通过 TLRs 的作用上调 CXCL8 表达以发挥先天性免疫作用,而 CXCL8 可能作为自噬的下游信号通路参与机体的先天性免疫反应。

3　CXCL8 及其受体参与趋化循环肠癌细胞向肝脏归巢的过程

近年来,“种子与土壤”学说和炎性微环境理论越来越受到关注。肿瘤细胞能特异性向某个器官转移或在某个器官生长,主要与其能为肿瘤细胞提供适宜的“土壤”,而炎性微环境对于肿瘤发生、发展以及转移过程也具有重要作用。Wculek 等[32]通过小鼠乳腺癌肺转移模型发现,在肿瘤细胞转移至肺之前,其分泌物在预转移灶的大量聚集可以诱导肿瘤细胞向预转移灶转移。CXCL8 作为一种重要的粒细胞趋化因子,很可能在中性粒细胞向预转移灶聚集过程中发挥重要作用,同时聚集的中性粒细胞又可以分泌 CXCL8,形成一种级联放大效应,在预

转移灶逐渐形成一种适宜肿瘤细胞生存的炎性微环境，为肿瘤细胞的归巢做好充分准备（即先筑巢后归巢），而预转移灶聚集的 CXCL8 可能是趋化 CTCs 归巢的关键因素。Kim 等[33]采用小鼠尾静脉注射肿瘤细胞的方法建立 CTCs 模型，研究细胞因子对 CTCs 趋化归巢的作用，发现 CXCL8 可以作为 CTCs 的趋化因子，诱导受体 CXCR1/2 表达阳性的肿瘤细胞向高表达 CXCL8 的部位迁移、定植；在敲除 CXCR1/2 后，肿瘤细胞被趋化归巢的现象几近消失。这些结果提示，CXCL8 可以趋化 CXCR1/2 表达阳性的 CTCs 向原发灶或转移灶归巢。另有研究[19]通过向肠癌细胞培养液中加入一定量的外源性 CXCL8，观察 CXCL8 在介导不同转移潜能肠癌细胞的迁移能力，发现高转移潜能的结肠癌细胞（KM12L4 细胞）与低（KM12C 细胞）或无（Caco2 细胞）转移潜能的结肠癌细胞相比，其迁移能力更强，而 RT-PCR 检测结果显示，KM12L4 细胞表达 CXCR1/2 最高，Caco2 细胞表达最低；抗体抑制实验也支持 CXCR1/2 在肿瘤细胞迁移过程中的关键作用。这些结果说明，CXCL8 及其受体在趋化肠癌 CTCs 归巢过程中具有关键作用，肿瘤细胞表达 CXCR1/2 越高，越容易在 CXCL8 的趋化作用下发生转移。

4 CXCL8 及其受体参与结直肠癌细胞 MET 过程，辅助 CTCs 定植

作为 EMT 的逆向过程，间质-上皮转化（mesenchymal-epithelial transition，MET）可以使已发生间质转化的肿瘤细胞重新转化为上皮细胞，使其易于与组织接触而融入新的器官，形成转移灶。研究[14]结果显示，CXCL8 单独作用于肠癌细胞时，仅能诱导 pEMT。对上皮细胞特性的保留可能有助于这些肿瘤细胞重新恢复上皮细胞特性（即发生 MET），而肿瘤细胞上皮表型-间质表型-上皮表型之间动态转化过程或许受肿瘤微环境中 CXCL8 的调控。

骨桥蛋白（osteopontin，OPN）广泛分布于多种组织和细胞中，参与组织修复、自身代谢等功能，在肿瘤转移过程中也发挥重要作用[34]。现已证明[35]，OPN 与肿瘤细胞 EMT 及 MET 过程均相关，可以通过上调波形蛋白表达参与肿瘤细胞 EMT 过程。梁英超等[36]用慢病毒转染肿瘤细胞分别上调/下调肿瘤细胞 OPN 表达，发现细胞核中表达的 OPN 可以上调钙黏蛋白表达，诱导肿瘤细胞发生 MET，重塑上皮表型，提示肿瘤细胞上皮表型-间质表型-上皮表型这一动态转化过程离不开 OPN 的作用。值得注意的是，CXCL8 与 OPN 之间有着纷繁复杂的关系。Attur 等[37]研究发现，OPN 可以通过整合素受体 a5b1 和 avb3 与 CXCL8 作用，促进细胞运动与存活。Erreni 等[38]采用免疫组织化学方法检测结肠癌患者组织标本 CXCL8 及 OPN 表达情况，发现两者之间呈明显的正相关。这些结果提示，CXCL8 及 OPN 在调节结直肠癌发展过程中可能发挥着协同作用，不仅可能协同调节肠癌细胞运动、塑形以及趋化等，而且可能协同诱导肠癌细胞发生 MET。

外周血中性粒细胞不仅可以在 CXCL8 及 β_2 整联蛋白-ICAM-1 信号轴的作用下促进肿瘤细胞黏附于内皮细胞[18]，促进肿瘤细胞的外渗入血，还可能参与 CTCs 向靶器官的黏附定植。Spicer 等[39]将肝癌细胞种植于小鼠脾，观察其肝转移情况，发现高分泌 CXCL8 细胞的中性粒细胞可以通过 Mac-1/ICAM-1 信号通路促进 CTCs 黏附于肝血窦，促进肿瘤转移，提示 CXCL8 及其受体可能参与 CTCs 的黏附定植过程。

5 CXCL8 及其受体参与结直肠癌原发灶和肝转移

Lee 等[8]的研究结果显示，在 CXCL8 的刺激下，培养的人肠癌细胞系 HCT116 及小鼠肠癌细胞系 CT26 生长、增殖速度更快，靶基因敲除实验进一步证明了受体 CXCR2 在此过程中的作用，提示 CXCL8 可以通过 CXCR2 直接作用于肠癌细胞，促进其生长、增殖。而 Asfaha 等[40]通过基因转导的方法将 CXCL8 基因转入小鼠体内，建立高表达 CXCL8 的小鼠转基因模型，发现 CXCL8 转基因鼠与非转基因鼠相比，更容易在氧化偶氮甲烷及葡聚糖硫酸钠的饲养下形成肠癌，采用流式细胞术、ELISA 等分别检测肠癌组织中的细胞表型及 CXCL8 表达水平，发现肿瘤部位聚集的骨髓源性不成熟衍生细胞（immature myeloid cell，IMC）及其分泌的 CXCL8 是促进肠癌形成与发展的关键因素。敲除内皮细胞 CXCR1/2 后，其增殖、迁移能力也被抑制，提示 CXCL8 同样能通过 CXCR1、2 促进内皮细胞生长、增殖和迁移[8]。上述结果显示，CXCL8 及其受体在调节肠癌细胞生长、增殖及血管生成方面起到促进作用。

CXCL8 不仅在肠癌原发灶呈现高表达状态，在肝转移灶中同样呈高表达。Rubie 等[41]采用 ELISA 检测肠癌肝转移患者结直肠癌原发灶、肝转移灶及其癌旁组织 CXCL8 表达，发现癌组织中 CXCL8 表达量均高于对应的癌旁组织，且肝转移灶 CXCL8 表达量也明显高于对应的结直肠癌原发灶，提示肝转移灶形成后，肿瘤微环境又分泌大量 CXCL8，以适应转移灶的生长需求，并且 CXCL8 在肝转移灶中所

起的作用似乎比在肠癌原发灶更大,而这种浓度差还可能是诱导更多结直肠癌细胞向肝脏转移的关键因素。因此,机体可以在肝转移灶形成后通过上调肿瘤微环境中 CXCL8 及其受体的表达量来促进肝转移灶生长。Varney 等[42]采用小鼠脾内注射结直肠癌细胞建立结直肠癌肝转移模型,研究 CXCR1、2 对转移灶生长状况的影响,发现 CXCR1、2 拮抗剂处理组小鼠肝转移灶内肿瘤细胞凋亡率高于非处理组高,提示 CXCL8-CXCR1、2 信号轴可以促进肝转移灶内肿瘤细胞存活;同时检测各组转移灶内微血管密度,发现处理组微血管密度更低,说明 CXCL8-CXCR1、2 信号轴还可能通过促进肿瘤微环境中新生血管生成。

CXCL8 与结直肠癌患者的不良预后相关。采用免疫组化以及 ELISA 法分别检测结直肠癌患者肿瘤组织及血清中 CXCL8 的表达水平,并与患者临床资料以及预后做相关性分析,发现肠癌患者血清或组织中升高的 CXCL8 水平与患者的分级分期、淋巴结转移、肝转移等不良预后均相关;而生存曲线分析也显示 CXCL8 表达越高的患者,其 DFS 以及 OS 均明显下降[14, 26]。说明 CXCL8 在患者体内的高表达可以促进原发灶和转移灶的生长。

6　靶向 CXCL8 及其受体抑制结直肠癌的新策略

尽管手术切除是目前结直肠癌患者的主要治疗手段,但是仍有部分患者在根治性手术后发生远处转移或复发,因此术前或术后药物治疗对提高患者手术治愈率尤为重要。然而,传统抗肿瘤药物的耐药现象严重,使得这种补救措施意义不大。鉴于 CXCL8 及其受体在结直肠癌进展过程中的作用,靶向 CXCL8 及其受体或许是治疗肠癌及逆转肠癌细胞耐药的一个新策略。

6.1　靶向 CXCL8 及其受体抑制结直肠癌进展的治疗策略

Varney 等[42]通过建立小鼠结直肠癌肝转移模型,发现 CXCL8 受体拮抗剂处理过的小鼠可以降低肿瘤细胞的存活,并抑制肿瘤微环境中新生血管生成,从而控制肿瘤的发展速度,提高患鼠的生存期。鉴于 CXCL8 及其受体拮抗剂/中和抗体的使用还可以有效降低结直肠癌细胞的生长、增殖、迁移侵袭能力,减少 CTCs 的趋化归巢,以及抑制 MDSCs 等免疫细胞在肿瘤部位的聚集等,靶向 CXCL8 及其受体的治疗不仅可以阻断肠癌发展过程中 CXCL8 及其受体的作用,而且可以将血清 CXCL8 水平、肿瘤组织及(循环)肠癌细胞 CXCL8 及其受体的表达水平与其他临床参数进行综合分析,制定 CXCL8 及其受体拮抗剂的单药乃至多药联合的个体化治疗方案,实现结直肠癌精准治疗。

免疫治疗已成为肿瘤治疗领域一大热点,而 CXCL8 及其受体不仅可以影响免疫细胞(如 DC)向肿瘤部位的聚集而辅助肠癌细胞耐受机体的免疫杀伤,还可以诱导肿瘤相关免疫细胞在肿瘤组织的聚集而抑制 $CD8^+$ T 细胞活性从而抵抗机体免疫杀伤[31]。Highfill 等[43]建立小鼠横纹肌肉瘤模型,采用流式细胞术检测早、晚期肿瘤组织中的细胞免疫表型,发现横纹肌肉瘤可以诱导 CXCR2 表达阳性的 MDSCs 在肿瘤部位大量聚集,通过限制免疫检查点封锁,即破坏抑制信号向 T 细胞的传递,影响抗 PD-1 免疫疗法对肿瘤细胞的杀伤效果,在使用 CXCR2 拮抗剂抑制这种聚集后,抗 PD-1 免疫疗法的效果得到显著增强,提示 CXCL8 及其受体拮抗剂或中和抗体联合其他免疫治疗药物(如抗 PD-L1)使用时,或许可以使肠癌的免疫治疗效果更佳。

此外,自噬在肿瘤发生发展中的作用越来越明确,自噬抑制剂/自噬增强剂在肿瘤治疗中的作用已在许多临床前试验中得到认可。自噬-CXCL8 信号轴作为肠癌细胞抵抗凋亡的潜在机制之一,同时靶向该信号轴的两个位点或许可以达到双重抗肿瘤的效果。鉴于自噬在肠癌发生发展中的双重作用,首先明确自噬在肠癌患者体内扮演的角色,再根据患者 CXCL8/受体及自噬的表达水平,适时建立一种包括 CXCL8 或其受体的拮抗剂与自噬抑制剂或自噬增强剂的联合治疗方案,或许可以增强抗肿瘤的效应。

6.2　靶向 CXCL8 及其受体逆转结直肠癌细胞耐药的策略

凋亡耐受是抗肿瘤治疗过程中产生耐药的主要机制。鉴于 CXCL8 及其受体对于结直肠癌细胞抗凋亡的作用,靶向 CXCL8 及其受体或可成为逆转肠癌细胞耐药的策略之一。肿瘤微环境中的低氧环境可以诱导 CXCL8 及 CXCR1/2 的表达,这种压力诱导的 CXCL8 信号使得低氧细胞可以耐受 DNA 损伤化疗药依托泊苷的作用,抑制 CXCL8 表达可以明显增强依托泊苷的药效,提示 CXCL8 可以抵抗凋亡并产生耐药[44]。Dabkeviciene 等[45]用 5-FU 分别处理结直肠癌细胞 HCT116 的普通细胞株和 5-FU 耐受细胞株,采用 RT-PCR 方法检测这两株细胞系 CXCL8 mRNA 的表达情况,发现 5-FU 耐药株表达更高的 CXCL8,提示当肠癌细胞发生耐药后会有 CXCL8 表达的再次上调,而受体阻断剂抑制试验也证明此

过程与受体 CXCR2 旁路有关。Ning 等[7]通过小干扰 RNA 抑制肠癌细胞 CXCL8 的过表达，发现肠癌细胞对奥沙利铂的耐药现象明显好转，提示 CXCL8 的过表达会引起肠癌细胞对奥沙利铂的明显耐受。如果将奥沙利铂与 CXCL8 或其受体的拮抗剂联合使用，则可以大大提高奥沙利铂的疗效，逆转结直肠癌细胞耐药的发生。CXCL8 及其受体表达的上调是结直肠癌细胞对传统化疗药物耐药的关键，如果将 CXCL8 及其受体拮抗剂/中和抗体与临床上正在使用的肠癌化疗药物如奥沙利铂、5-FU、卡培他滨等联合使用，或许可以降低药物用量和抵抗耐药，甚至逆转某些耐药现象。

7 小 结

尽管已知 CXCL8 及其受体在诱导肠癌肝转移的过程中发挥各种各样的作用，但 CXCL8 及其受体在循环结直肠癌细胞抵抗失巢凋亡、免疫耐受，以及趋化肠癌 CTC 向肝脏归巢的具体机制还不是十分清楚，需进一步的研究证实。目前，精准医疗在肿瘤治疗领域得到广泛认可，靶向 CXCL8 及其受体抑制结直肠癌的单药或多药联合治疗策略成为预防或治疗结直肠癌复发及远处转移的重要方向。如今，CXCL8 及其受体的小分子拮抗剂/中和抗体已用于包括结直肠癌在内的多种恶性肿瘤的临床前试验。然而，要真正应用于临床，还需要大量的体内外及临床试验来确定其具体的疗效及治疗标准。

[参 考 文 献]

[1] Baggiolini M. CXCL8- the first chemokine[J/OL]. Front Immunol, 2015, 6:285[2016-07-28]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4459227/. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00285.

[2] RUSSO R C, GARCIA C C, TEIXEIRA M M, et al. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(5):593-619. DOI:10.1586/1744666X.2014.894886.

[3] GRAHAM G J, LOCATI M, MANTOVANI A, et al. The biochemistry and biology of the atypical chemokine receptors[J]. Immunol Lett, 2012, 145(1/2): 30-38. DOI:10.1016/j.imlet.2012.04.004.

[4] HORUK R. The duffy antigen receptor for chemokines DARC/ACKR1[J/OL]. Front Immunol, 2015, 6:279[2016-07-28]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4456859/. DOI:10.3389/fimmu.2015.00279.

[5] FARAWELA H M, EL-GHAMRAWY M, FARHAN M S, et al. Association between duffy antigen receptor expression and disease severity in sickle cell disease patients[J]. Hematology, 2016, 21(8): 474-479. DOI:10.1080/10245332.2015.1111643.

[6] KHAN M N, WANG B, WEI J, et al. CXCR1/2 antagonism with CXCL8/Interleukin-8 analogue CXCL8(3-72)K11R/G31P restricts lung cancer growth by inhibiting tumor cell proliferation and suppressing angiogenesis[J]. Oncotarget, 2015, 6(25):21315-21327. DOI:10.18632/oncotarget.4066.

[7] NING Y, MANEGOLD P C, HONG Y K, et al. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models[J]. Int J Cancer, 2011, 128(9):2038-2049. DOI:10.1002/ijc.25562.

[8] LEE Y S, CHOI I, NING Y, et al. Interleukin-8 and its receptor CXCR2 in the tumour microenvironment promote colon cancer growth, progression and metastasis[J]. Br J Cancer, 2012, 106(11):1833-1841. DOI:10.1038/bjc.2012.177.

[9] WANG Y, XU R C, ZHANG X L, et al. Interleukin-8 secretion by ovarian cancer cells increases anchorage-independent growth, proliferation, angiogenic potential, adhesion and invasion[J]. Cytokine, 2012, 59(1):145-155. DOI:10.1016/j.cyto.2012.04.013.

[10] WANG J, HE Q, SHAO Y G, et al. Chemokines fluctuate in the progression of primary breast cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(5):596-608.

[11] FANG W, YE L, SHEN L, et al. Tumor-associated macrophages promote the metastatic potential of thyroid papillary cancer by releasing CXCL8[J]. Carcinogenesis, 2014, 35(8): 1780-1787. DOI:10.1093/carcin/bgu060.

[12] ARAKI S, OMORI Y, LYN D, et al. Interleukin-8 is a molecular determinant of androgen independence and progression in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2007, 67(14):6854-6862. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-1162.

[13] HWANG W L, YANG M H, TSAI M L, et al. Snail regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells[J]. Gastroenterology, 2011, 141(1):279-291. DOI:10.1053/j.gastro.2011.04.008.

[14] CHENG X S, LI Y F, TAN J, et al. CCL20 and CXCL8 synergize to promote progression and poor survival outcome in patients with colorectal cancer by collaborative induction of the epithelial-mesenchymal transition[J]. Cancer Lett, 2014, 348(1/2): 77-87. DOI:10.1016/j.canlet.2014.03.008.

[15] BATES R C, DELEO M J, MERCURIO A M. The epithelial-mesenchymal transition of colon carcinoma involves expression of IL-8 and CXCR-1-mediated chemotaxis[J]. Exp Cell Res, 2004, 299(2):315-324. DOI:10.1016/j.yexcr.2004.05.033.

[16] SINICROPE F A, REGO R L, FOSTER N R, et al. Association of reduced intraepithelial $CD3^+$/regulatory T-cell ratio with poor outcome in human colon cancers[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(15 Suppl):11023-11031.

[17] XU T, JING C, SHI Y, et al. microRNA-20a enhances the epithelial-to-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by modulating matrix metalloproteinases[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(2): 683-688. DOI:10.3892/etm.2015.2538.

[18] LI A, VARNEY M L, SINGH R K. Expression of interleukin 8 and its receptors in human colon carcinoma cells with different metastatic potentials[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(10):3298-3304.

[19] LIANG S, HOSKINS M, DONG C. Tumor cell extravasation mediated by leukocyte adhesion is shear rate dependent on IL-8 signaling[J]. Mol Cell Biomech, 2010, 7(2):77-91.

[20] SHARIF G M, SCHMIDT M O, YI C, et al. Cell growth density modulates cancer cell vascular invasion via Hippo pathway activity and CXCR2 signaling[J]. Oncogene, 2015, 34(48):5879-5889. DOI:10. 1038/onc. 2015. 44.

[21] JEONG E, KOO J E, YEON S H, et al. PPARδ deficiency disrupts hypoxia-mediated tumorigenic potential of colon cancer cells [J]. Mol Carcinog, 2014, 53(11):926-937. DOI:10. 1002/mc. 22144.

[22] SONACHALAM M, SHEN J, HUANG H, et al. Systems biology approach to identify gene network signatures for colorectal cancer [J/OL]. Front Genet, 2012, 3:80[2016-07-28]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC3354560/. DOI:10. 3389/fgene. 2012. 00080.

[23] LI Z, SUN Y, CHEN X, et al. p53 mutation directs AURKA overexpression via miR-25 and FBXW7 in prostatic small cell neuroendocrine carcinoma[J]. Mol Cancer Res, 2015, 13(3):584-591. DOI:10. 1158/1541-7786. MCR-14-0277-T.

[24] KRAYA A A, PIAO S, XU X, et al. Identification of secreted proteins that reflect autophagy dynamics within tumor cells[J]. Autophagy, 2015, 11(1): 60-74. DOI: 10. 4161/15548627. 2014. 984273.

[25] LI Y Y, ISHIHARA S, AZIZ M M, et al. Autophagy is required for toll-like receptor-mediated interleukin-8 production in intestinal epithelial cells[J]. Int J Mol Med, 2011, 27(3):337-344. DOI: 10. 3892/ijmm. 2011. 596.

[26] XIAO Y C, YANG Z B, CHENG X S, et al. CXCL8, overexpressed in colorectal cancer, enhances the resistance of colorectal cancer cells to anoikis[J]. Cancer Lett, 2015, 361(1):22-32. DOI:10. 1016/j. canlet. 2015. 02. 021.

[27] LIMA M, LEANDER M, SANTOS M, et al. Chemokine receptor expression on normal blood CD56(+) NK-cells elucidates cell partners that comigrate during the innate and adaptive immune responses and identifies a transitional NK-cell population[J/OL]. J Immunol Res, 2015, 2015: 839684[2016-07-28]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC4620293/. DOI: 10. 1155/2015/839684.

[28] COSTANTINI C, CASSATELLA M A. The defensive alliance between neutrophils and NK cells as a novel arm of innate immunity [J]. J Leukoc Biol, 2011, 89(2):221-233. DOI:10. 1189/jlb. 0510250.

[29] ALFARO C, SUÁREZ N, MARTÍNEZ-FORERO I, et al. Carcinoma-derived interleukin-8 disorients dendritic cell migration without impairing T-cell stimulation[J/OL]. PLoS One, 2011, 6(3): e17922[2016-07-28]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC3056721/. DOI:10. 1371/journal. pone. 0017922.

[30] LIU Q, LIAO Q, ZHAO Y. Myeloid-derived suppressor cells (MDSC) facilitate distant metastasis of malignancies by shielding circulating tumor cells (CTC) from immune surveillance[J/OL]. Med Hypotheses, 2016, 87:34-39[2016-07-28]. http://www. medical-hypotheses. com/article/S0306-9877 (15) 00461-2/abstract. DOI:10. 1016/j. mehy. 2015. 12. 007.

[31] KATOH H, WANG D, DAIKOKU T, et al. CXCR2-expressing myeloid-derived suppressor cells are essential to promote colitis-associated tumorigenesis[J]. Cancer Cell, 2013, 24(5): 631-644. DOI:10. 1016/j. ccr. 2013. 10. 009.

[32] WCULEK S K, MALANCHI I. Neutrophils support lung colonization of metastasis-initiating breast cancer cells[J]. Nature, 2015, 528(7582):413-417. DOI:10. 1038/nature16140.

[33] KIM M Y, OSKARSSON T, ACHARYYA S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells[J]. Cell, 2009, 139(7): 1315-1326. DOI:10. 1016/j. cell. 2009. 11. 025.

[34] SHEVDE L A, SAMANT R S. Role of osteopontin in the pathophysiology of cancer[J/OL]. Matrix Biol, 2014, 37: 131-141 [2016-07-28]. http://www. sciencedirect. com/science/article/pii/S0945053X 14000444. DOI:10. 1016/j. matbio. 2014. 03. 001.

[35] WAUGH D . Osteopontin promotes epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma through regulating vimentin[J]. Oncotarget, 2015, 39(16): 7014-7016 . DOI: 10. 18632/oncotarget. 7016.

[36] 梁英超. 骨桥蛋白调节间质-上皮转化促进肝癌转移的研究[D]. 上海. 第二军医大学, 2010.

[37] ATTUR M G, DAVE M N, CLANCY R M, et al. Functional genomic analysis in arthritis-affected cartilage: yin-yang regulation of inflammatory mediators by alpha 5 beta 1 and alpha V beta 3 integrins[J]. J Immunol, 2000, 164(5): 2684-2691. DOI: 10. 4049/jimmunol. 164. 5. 2684.

[38] ERRENI M, BIANCHI P, LAGHI L, et al. Expression of chemokines and chemokine receptors in human colon cancer[J/OL]. Meth Enzymol, 2009, 460:105-121[2016-07-28]. http://www. sciencedirect. com/science/article/pii/S0076687909052057. DOI: 10. 1016/S0076-6879(09)05205-7.

[39] SPICER J D, MCDONALD B, COOLS-LARTIGUE J J, et al. Neutrophils promote liver metastasis via Mac-1-mediated interactions with circulating tumor cells[J]. Cancer Res, 2012, 72 (16):3919-3927. DOI:10. 1158/0008-5472. CAN-11-2393.

[40] ASFAHA S, DUBEYKOVSKIY A N, TOMITA H, et al. Mice that express human interleukin-8 have increased mobilization of immature myeloid cells, which exacerbates inflammation and accelerates colon carcinogenesis[J]. Gastroenterology, 2013, 144(1):155-166. DOI:10. 1053/j. gastro. 2012. 09. 057.

[41] SINGH S, WU S, VARNEY M, et al. CXCR1 and CXCR2 silencing modulates CXCL8-dependent endothelial cell proliferation, migration and capillary-like structure formation[J]. Microvasc Res, 2011, 82(3): 318-325. DOI: 10. 1016/j. mvr. 2011. 06. 011.

[42] VARNEY M L, SINGH S, LI A, et al. Small molecule antagonists for CXCR2 and CXCR1 inhibit human colon cancer liver metastases [J]. Cancer Lett, 2011, 300(2): 180-188. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2010. 10. 004.

[43] HIGHFILL S L, CUI Y, GILES A J, et al. Disruption of CXCR2-mediated MDSC tumor trafficking enhances anti-PD1 efficacy[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(237):237ra67. DOI:10. 1126/scitranslmed. 3007974.

[44] CAMPBELL L, MAXWELL P, WAUGH D. Rationale and means to target pro-inflammatory interleukin-8 (CXCL8) signaling in cancer[J]. Pharmaceuticals, 2013, 6(8): 929-959. DOI: 10. 3390/ph6080929.

[45] DABKEVICIENE D, JONUSIENE V, ZITKUTE V, et al. The role of interleukin-8 (CXCL8) and CXCR2 in acquired chemoresistance of human colorectal carcinoma cells HCT116[J]. Med Oncol, 2015, 32(12): 258-263. DOI:10. 1007/s12032-015-0703-y.

[收稿日期] 2016 - 07 - 23　　[修回日期] 2016 - 10 - 29
[本文编辑] 王映红