

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.006

· 基础研究 ·

下调 IL-8 表达抑制食管鳞状细胞癌 KYSE170 细胞的迁移能力及其相关机制

杨青^a, 张香梅^a, 何明^b, 陈新^b, 赵继东^b, 桑梅香^a, 赵连梅^a, 单保恩^a (河北医科大学第四医院 a. 科研中心, b. 胸五科, 河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 研究白介素8(IL-8)对食管鳞癌细胞株KYSE170迁移能力的影响,并初步探讨其作用机制。**方法:** 体外合成针对IL-8的siRNA,采用脂质体法转染KYSE170细胞,利用Real-time PCR和Western blotting及ELISA法检测沉默效率,镜下观察细胞形态学改变,划痕实验检测细胞迁移能力,CCK-8实验检测细胞增殖能力的变化。Western blotting检测IL-8受体及JAK2-STAT3信号通路相关蛋白的表达。**结果:** 与阴性对照组比较,靶向沉默IL-8处理后的KYSE170细胞,其IL-8基因和蛋白表达水平均明显降低($P<0.01$),IL-8分泌量显著减少($P<0.01$);IL-8基因沉默后,KYSE170细胞迁移能力明显减弱($P<0.01$),而细胞增殖能力无明显变化。IL-8受体2即CXCR2、转移相关蛋白WASF3的表达水平明显降低($P<0.05$),而IL-8受体1即CXCR1的表达水平没有明显变化;JAK2-STAT3信号通路关键蛋白p-JAK2和p-STAT3表达明显降低(均 $P<0.01$)。**结论:** 下调IL-8的表达可以抑制食管癌细胞株KYSE170的迁移能力,其机制可能通过介导CXCR2及其下游JAK2-STAT3信号通路活性的改变相关。

[关键词] 食管鳞状细胞癌;KYSE170细胞;白介素8;迁移

[中图分类号] R730.23; R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0785-06

Inhibition effect and mechanism of IL-8 down-regulation on migration of esophageal squamous cell carcinoma KYSE170 cells

YANG Qin^a, ZHANG Xiangmei^a, HE Ming^b, CHEN Xin^b, ZHAO Jidong^b, SANG Meixiang^a, ZHAO Lianmei^a, SHAN Baoen^a (a. Scientific Research Center; b. Department of Fifth Thoracic Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of interleukin-8 (IL-8) on esophageal cancer cell line KYSE170, and to preliminarily explore its mechanism. **Methods:** siRNA targeting *IL-8* was *in vitro* synthesized and transfected into KYSE170 cells by lipofectamine 2000. The efficiency of silencing was determined by Real-time PCR, Western blotting and ELISA. Morphological changes of KYSE170 cells were observed microscopically. Scratch assay was performed to observe the cell migration ability. CCK-8 assay was used to detect the cell proliferation ability. Western blotting was used to detect the expressions of IL-8 receptor and JAK2-STAT3 signaling pathway related proteins. **Results:** Compared with the negative control group, the mRNA and protein expressions of IL-8 in KYSE170 cells were all significantly decreased after IL-8 silencing ($P<0.01$), and IL-8 secretion was significantly reduced ($P<0.01$). After *IL-8* gene silencing, the migration capacity of KYSE170 cells was significantly weakened ($P<0.01$), while no significant changes in cell proliferation was detected. The expression of IL-8 receptor 2 (CXCR2) and transfer-related protein WASF3 were significantly decreased ($P<0.05$), while the expression of IL-8 receptor 1 (CXCR1) was not significantly changed; the expressions of p-JAK2 and p-STAT3 protein in JAK2-STAT3 signaling pathway were significantly decreased (all $P<0.01$). **Conclusion:** Knock-down of *IL-8* inhibits the migration of esophageal cancer KYSE170 cells, and the mechanism may be related with the alteration of CXCR2 and its downstream JAK2-STAT3 signaling pathway.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma; KYSE170 cells; interleukin-8; migration

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(8): 785-790. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.006]

[基金项目] 河北省科技计划项目资助(No.162777249)。Project supported by the Science and Technology Planning Project of Hebei Province (No.162777249)

[作者简介] 杨青(1993-),女,硕士,主要从事细胞因子在肿瘤发生发展中的作用研究,E-mail:2317230471@qq.com

[通信作者] 单保恩(SHAN baoen, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤免疫学、基因诊断、抗肿瘤中药研究和肿瘤生物治疗,E-mail:baoshan@hbydsy.com

食管癌是常见的消化道肿瘤,2012年全世界约有40万人死于食管癌^[1]。由于其早期症状不明显,多数食管癌病例就诊时已到晚期;同时由于手术切除率低且对化疗不敏感、易转移和复发,患者5年生存率仅23%。中国是世界上食管癌高发地区之一^[2-3],2013年有20.6万人死于食管癌^[4],约占全球死亡人数的50%,防治任务十分严峻。值得注意的是,与西方国家食管腺癌高发不同,中国食管癌的病理类型90%以上为鳞状细胞癌^[5]。因此,开发针对食管鳞癌的诊断和治疗靶点对中国食管癌患者具有重要意义。白介素-8(interleukin-8, IL-8)是趋化因子CXC亚家族成员之一,具有趋化炎症细胞、参与血管形成等作用,也是肿瘤微环境中重要的炎症因子。IL-8在多种肿瘤组织及患者血清中含量显著升高,如乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌等,与患者疾病分期和预后存在显著的相关性^[5-7]。同样,IL-8促进口腔癌的发生发展,研究^[8-9]表明IL-8与IL-6可以作为口腔鳞癌早期诊断的潜在生物标志物,其中IL-8具有单独作为生物标志物的潜力。Oncomine分析结果显示,相比于正常组织IL-8表达最高的4种肿瘤为结肠癌、头颈部肿瘤、胰腺癌和食管癌^[10]。有研究^[11-12]表明,IL-8的过表达与肿瘤细胞的增殖、转移、侵袭存在一定的相关性,而其在癌组织中高表达的原因及具体作用机制仍不明确,尤其在食管鳞癌中的相关报道更为鲜见。本研究旨在探讨IL-8在食管鳞癌细胞株中的作用特点及相关机制,以期对食管鳞癌的临床治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人食管癌细胞株KYSE170、TE13、Eca109,乳腺癌细胞株MDA-MB-231,成纤维细胞(fibroblast, FB),淋巴瘤细胞株OCI-LY3由河北医科大学第四医院科研中心保存。高糖培养基DMEM购自Gibco公司,胎牛血清(FBS)购自Excell公司,Opti-MEM ITM细胞培养液、TRIzol及ELISA试剂盒均购自Invitrogen公司,转染试剂EndoFectinTM-Max及Real-time PCR中所需试剂均购自复能基因,RT-PCR试剂盒购自康为世纪公司,引物由北京赛百胜合成,IL-8 siRNA由上海吉玛基因合成,羊抗兔IgG抗体购自ImmunoWay公司,ECL化学发光试剂盒购自索莱宝公司,兔抗人WASF3抗体、CXCR1抗体、p-JAK2抗体和p-STAT3抗体购自SAB公司,兔抗人JAK2抗体以及鼠抗人IL-8抗体、STAT3抗体均购自Proteintech公司,兔抗人CXCR2购自睿瀛生物。

1.2 细胞培养及IL-8表达的鉴定

用含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基常规培养Eca109、TE13、KYSE170、MDA-MB-231细胞,用15%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基常规培养FB、OCI-LY3细胞,提取对数期生长细胞的RNA,反转得到cDNA,以GAPDH为内参使用RT-PCR检测各细胞株IL-8的表达。实验重复3次。

1.3 KYSE170细胞转染IL-8 siRNA

培养KYSE170细胞至汇合度达70%~80%时,胰酶消化,收集细胞并计数,按照 1.5×10^5 个/孔铺6孔板,继续培养过夜,待细胞汇合度约30%~50%时参照EndoFectinTM-Max说明书进行转染。转染实验分为2组:阴性对照组(Negative control,未转染siRNA)和IL-8 siRNA组。

1.4 Real-time PCR、Western blotting及ELISA实验鉴定IL-8 siRNA转染效果

转染24 h后分别提取两组细胞内RNA并反转录为cDNA,应用Real-time PCR技术,以GAPDH为内参检测细胞内IL-8 mRNA表达情况,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因相对表达量(IL-8引物购自易锦生物HQP009678,GAPDH引物序列:正向为CGCTGAG-TACGTCGTGGAGTC,反向为GCTGATGATCTT-GAGGCTGTTGTC;Real-time PCR反应条件为退火温度60℃,45个循环);转染48 h后裂解细胞,提取总蛋白,Western blotting检测IL-8蛋白的表达,其相对分子质量约35 000;转染48 h后收集培养上清液,按照ELISA试剂盒说明书检测培养上清液中IL-8的含量。实验重复3次。

1.5 细胞划痕实验检测敲低IL-8对KYSE170细胞迁移能力的影响

各转染组培养条件同上,当汇合度达95%时,用10 μ l移液器头在培养孔底部划痕,PBS洗2次。加入无血清DMEM继续培养,0、12、24 h后镜下观察细胞迁移距离并拍照,通过测量多个点划痕宽度,计算平均划痕愈合率。划痕愈合率(%)=[(0 h划痕宽度-12 h划痕宽度)/0 h划痕宽度] \times 100%,24 h同理计算。实验重复3次。

1.6 CCK-8实验检测敲低IL-8对KYSE170细胞增殖能力的影响

转染后消化细胞并制成约 3×10^4 个/ml的细胞悬液,96孔板每孔加入100 μ l细胞悬液,细胞贴壁后加入CCK-8试剂,0、24、48 h后应用INFINITE F50酶标仪在波长450 nm处测光密度(D)值,代表细胞的增殖水平。实验重复3次。

1.7 Western blotting检测敲低IL-8对KYSE170细胞迁移相关蛋白及可能通路蛋白表达的影响

RIPA法分别提取两组总蛋白,BCA试剂盒进行

蛋白定量,以体积比4:1与上样缓冲液混合煮沸5 min,取30 μg 变性蛋白进行SDS-PAGE后转至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭,TBST洗膜,加一抗4 °C过夜,TBST洗后加二抗37 °C孵育1 h,TBST洗膜后曝光。以β-actin为内参,用Image J软件对CXCR1、CXCR2、WASF3、JAK2、STAT3、p-JAK2和p-STAT3条带进行灰度分析,蛋白相对表达量=目的条带灰度值/β-actin灰度值。实验重复3次。

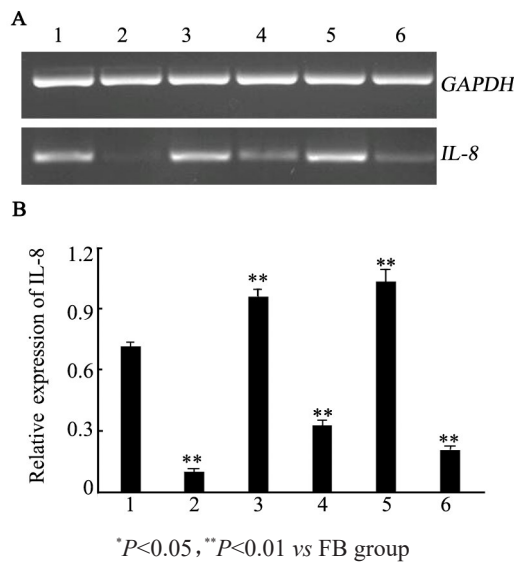
1.8 统计学处理

应用SPSS 21统计软件进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-8高表达细胞系的鉴定

RT-PCR法检测结果(图1)显示,OCI-LY3、TE13、CEA-109细胞中IL-8表达水平均低于FB($P<0.01$),而MDA-MB-231、KYSE170中IL-8表达水平均高于FB($P<0.01$),在所选取的5种癌细胞株中KYSE170的IL-8表达水平最高。各细胞株IL-8表达量分别为FB(0.72 ± 0.12)、OCI-LY3(0.1 ± 0.01)、MDA-MB-231(0.96 ± 0.04)、CEA-109(0.33 ± 0.03)、KYSE170(1.03 ± 0.06)、TE13(0.21 ± 0.01)。



A: The bands of IL-8 and GAPDH in RT-PCR image;
 B: Statistical histograms of IL-8 gene
 1: FB; 2: OCI-LY3; 3: MDA-MB-231;
 4: CEA-109; 5: KYSE170; 6: TE-13
 图1 六种食管癌细胞中IL-8的表达

Fig.1 Gene expression of IL-8 in six cancer cell lines

2.2 KYSE170转染效率检测

Western blotting(图2)和Real-time PCR检测结果显示,与NC组(阴性对照)相比,IL-8 siRNA组细

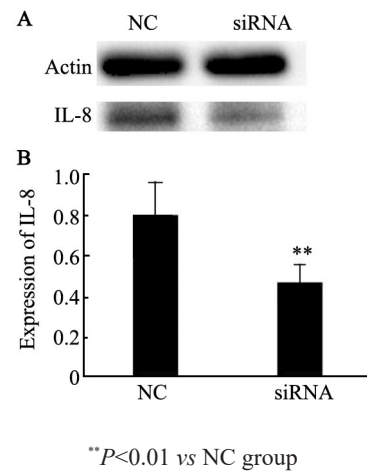
胞中IL-8蛋白表达明显下调[(0.47 ± 0.091) vs (0.80 ± 0.16), $P<0.01$]; IL-8 mRNA表达明显降低[(6.98 ± 0.74) vs (9.30 ± 0.13), $P<0.01$]. ELISA结果显示,与NC组相比,IL-8 siRNA组细胞中IL-8分泌水平明显降低[(1430 ± 16) vs (6429 ± 138) pg/ml, $P<0.01$].

2.3 转染后KYSE170细胞形态未发生明显改变

转染后24 h,倒置显微镜下观察(图3),与对照组相比,敲低IL-8的转染组细胞形态未发现显著变化。

2.4 敲低IL-8表达抑制KYSE170细胞的迁移能力

细胞划痕实验结果(图4)显示,与NC组相比,siRNA转染组划痕愈合率明显降低[12 h时, (17.0 ± 4.2)% vs (34.0 ± 2.9)%; 24 h时, (26.0 ± 8.0)% vs (50.0 ± 9.0)%;均 $P<0.01$].



A: The bands of proteins in Western blotting image;
 B: Statistical histograms of proteins

图2 IL-8 siRNA敲低了IL-8的表达

Fig.2 IL-8 siRNA decreased the expression of IL-8 in KYSE170 cell

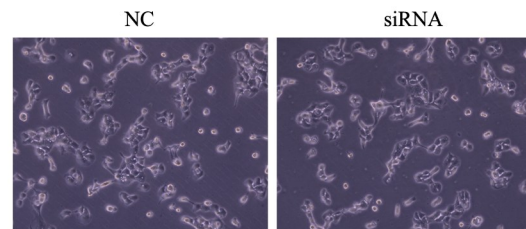


图3 IL-8 siRNA转染24 h后KYSE170细胞形态(×100)

Fig.3 Morphology of KYSE170 cells after IL-8 siRNA transfection for 24 h (×100)

2.5 敲低IL-8表达不影响KYSE170细胞的增殖能力

CCK-8实验结果(图5)表明,敲低IL-8并不影响KYSE170细胞增殖,在各检测时间点两组细胞增殖率差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.6 敲低 *IL-8* 的表达对 KYSE170 细胞中 CXCR1、CXCR2、WASF3 表达的影响

Western blotting 结果(图 6)显示,与对照组相比, *IL-8* 敲低后 WASF3 的表达明显降低[(0.34±0.08) vs (0.62±0.12), $P<0.05$], CXCR2 的表达也明显降低[(0.74±0.11) vs (1.02±0.06), $P<0.05$], 而 CXCR1 表达无明显变化。

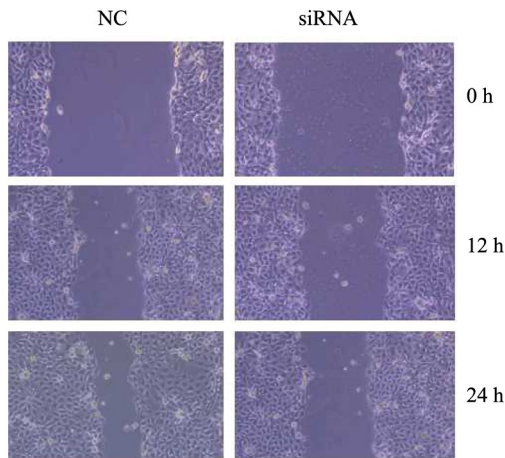


图 4 下调 *IL-8* 表达减弱 KYSE170 细胞迁移的能力(×100)

Fig.4 Down-regulation of *IL-8* reduced migration ability of KYSE170 cells (×100)

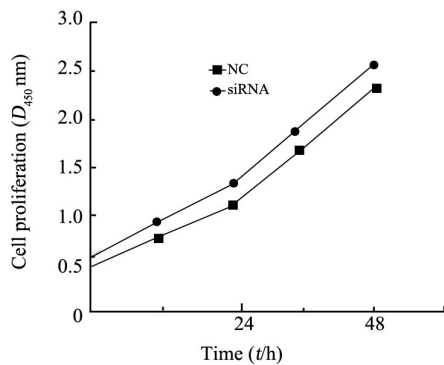


图 5 下调 *IL-8* 表达不影响 KYSE170 细胞的增殖能力

Fig.5 Down-regulation of *IL-8* did not affect proliferation of KYSE170 cells

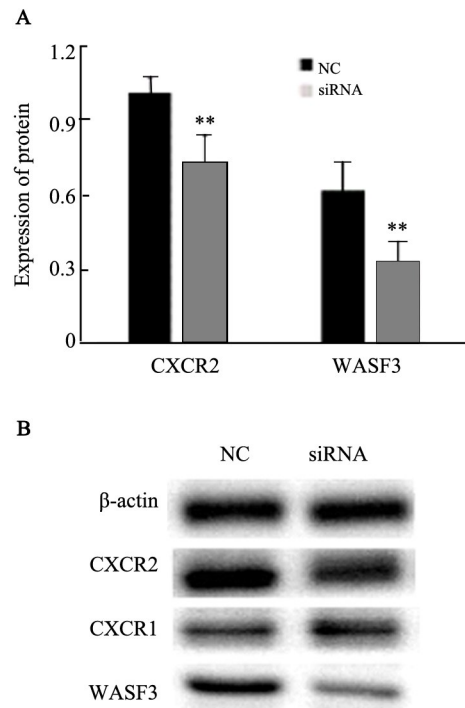
2.7 敲低 *IL-8* 表达对 KYSE170 细胞 JAK2-STAT3 信号通路的影响

Western blotting 结果(图 7)显示, *IL-8* 敲低后 KYSE170 细胞中 JAK2-STAT3 信号通路相关蛋白表达受到抑制, p-JAK2[(0.45±0.09) vs (0.89±0.07), $P<0.01$] 和 p-STAT3[(0.33±0.08) vs (0.79±0.06), $P<0.01$] 表达均明显减少。

3 讨论

炎症反应是肿瘤的重要特征之一,非可控性炎

症与肿瘤发生发展以及侵袭转移密切相关,而 *IL-8* 是一种致癌炎性细胞因子已在多种肿瘤中得到证实,它可以促进多种肿瘤细胞的增殖和转移^[13]。



** $P<0.01$ vs NC group

A: The bands of proteins in western blotting image;

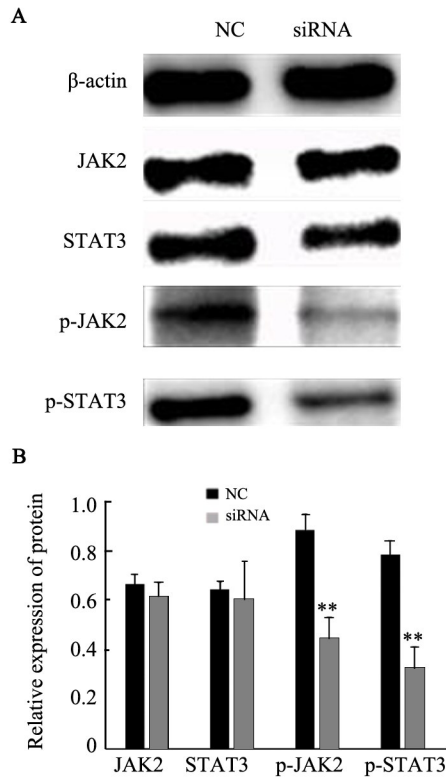
B: Statistical histograms of proteins

图 6 敲低 *IL-8* 对 CXCR2 和 WASF3 蛋白表达的影响

Fig.6 Effect of *IL-8* knockdown on the expression of CXCR2 and WASF3

有研究^[14]显示, *IL-8* 在食管癌变过程中显著过表达,患者血清中也可检测到 *IL-8* 水平升高,因此, *IL-8* 有望成为食管癌的生物标志物之一。在激素非依赖性乳腺癌中, *IL-8* 可以激活 PI3K/AKT 通路,从而激活 NF- κ B, 导致整合素 β 3 表达的上调和乳腺癌细胞的迁移能力增强^[15]。JAYATILAKA 等^[16]研究表明,通过 *IL-6/8* 协同旁分泌信号通路可以直接促进三维培养的转移性人肉瘤细胞和癌细胞的迁移。 *IL-8* 可以激活包括 PI3K/AKT、JAK2-STAT3、NF κ B、MAPK 在内的多种信号通路,这些信号通路形成网络并相互作用,调控蛋白质的翻译和一系列转录因子的活性,进而影响癌细胞的生物学性状;另外 *IL-8* 可以激活小 G 蛋白家族及非受体酪氨酸激酶,诱导细胞骨架重排或改变细胞外连接,以促进细胞转移^[13]。因此,本研究关注于 *IL-8* 对食管癌生物学特性的影响,并初步探讨了其可能的作用机制。结果显示, *IL-8* 的敲低抑制了细胞的迁移运动能力, p-JAK2 和 p-STAT3 两种细胞信号通路蛋白的表达降低,提示 *IL-8* 在该细胞

系中可能通过 JAK2-STAT3 通路影响细胞生物特性,尤其是细胞的迁移能力,但其具体作用机制有待深入研究。已有研究^[17]表明,在肝细胞癌(HCC)中,巨噬细胞产生的 IL-8 可以通过 JAK2-STAT3-Snail 信号转导途径诱导 HCC 细胞发生上皮间质转化,进而促进细胞的迁移和侵袭。这为对 IL-8 在食管鳞癌中作用机制的深入研究提供了方向。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NC group

A: The bands of proteins in Western blotting image;

B: Statistical histograms of proteins

图7 敲低 IL-8 表达影响 JAK2-STAT3 信号通路

Fig.7 Effects of IL-8 knock-down on JAK2-STAT3 signaling pathway

IL-8 需与其特异性受体 CXCR1 和 CXCR2 结合后才能发挥其生物学功能,而靶向 CXCR1 和 CXCR2 的小分子抑制剂是靶向 IL-8/IL-8R 轴有吸引力的治疗方法^[18]。研究^[19]证实, CXCR1 和 CXCR2 在癌症进展和转移中可能发挥着不同的作用,其中 CXCR2 可以与多种配体高效结合,而 CXCR1 仅与 IL-8 高效结合,因此在选择肿瘤治疗的靶向抑制时, CXCR2 比 CXCR1 效果更加显著,甚至超过靶向抑制 IL-8 的作用^[10]。敲除 CXCR2 的表达会减少黑色素瘤、前列腺癌和肾肿瘤的发生^[20-25]。CXCR2 信号通路在骨髓来源的抑制性细胞(MDSC)诱导的免疫逃逸中发挥着重要作用^[26],特别是在胰腺癌的抗 PD1 疗法中证明联

合使用抗 CXCR2 等化疗方案相结合比在单一药剂表现出更好的疗效^[27-28]。同时, CXCR2 也具有诊断价值,血清 CXCR2 检测的诊断灵敏度和准确性以及阴性预测值均高于经典肿瘤标志物,且与 CRP 的组合分析具有最高的诊断灵敏度^[29]。本研究发现,敲低 IL-8 可以显著降低 CXCR2 在食管鳞癌 KYSE170 细胞系中的表达,进一步降低了 IL-8 通过结合 CXCR2 激活下游信号通路进而诱导癌细胞的迁移能力。

WASF3 是 WISKOTT-ALDRICH 综合征蛋白家族成员之一,其可以通过募集 Arp2/3 复合物参与肌动蛋白细胞骨架动力学的调控,使 F-肌动蛋白组装成核并介导细胞迁移所需的树突状突起形成,从而驱动细胞迁移^[30-33]。本研究发现敲低 IL-8 可以降低 WASF3 的表达,这可能是 IL-8 影响食管癌细胞 KYSE170 的重要介质。本研究还发现, JAK2-STAT3 信号通路中的关键蛋白表达下降,表明 IL-8 表达降低可导致该信号通路被抑制,提示在 KYSE170 中 IL-8 可能通过该信号通路影响 WASF3 的表达,从而影响细胞迁移。

本研究通过小 RNA 干扰技术研究 IL-8 对食管癌细胞系 KYSE170 细胞的影响,并初步探索了其作用机制。本研究发现,敲低 IL-8 并不显著影响 KYSE170 细胞增殖能力,但其可能通过与 CXCR2 结合并激活 JAK2-STAT3 信号通路,影响 WASF3 的表达从而影响细胞的迁移能力,此为深入研究 IL-8 在食管鳞状细胞癌侵袭转移及治疗中的作用奠定了实验基础。

[参考文献]

[1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, method and major patterns in globocan2012[J/OL]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E359-E386 [2018-01-20]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ijc.29210>. DOI:10.1002/ijc.29210.

[2] 赫捷, 邵康. 中国食管癌流行病学现状, 诊疗现状及未来对策[J]. 中国癌症杂志, 2011, 21(7): 501-504. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.

[3] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.

[4] 贺宇彤, 李道娟, 梁迪, 等. 2013 年中国食管癌发病和死亡估计[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(4): 315-320. OI: 10.1186/S40880-017-0234-3.

[5] SANGUINETE M M M, OLIVEIRA P H, MARTINS-FILHO A, et al. Serum IL-6 and IL-8 correlate with prognostic factors in ovarian cancer[J]. Immunol Invest, 2017, 46(7): 677-688. DOI: 10.1080/08820139.

[6] MA Y, REN Y, DAI Z J, et al. IL-6, IL-8 and TNF- α levels correlate with disease stage in breast cancer patients [J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(3): 421-426. DOI:10.17219/acem/62120.

- [7] ZHANG G, GOMES-GIACOIA E, DAI Y, et al. Validation and clinicopathologic associations of a urine-based bladder cancer biomarker signature[J/OL]. *Diagn Pathol*, 2014, 9: 200[2018-01-20]. <https://doi.org/10.1186/s13000-014-0200-1>. DOI: 10.1186/s13000-014-0200-1.
- [8] SAHIBZADA H A, KHURSHID Z, KHAN R S, et al. Salivary IL-8, IL-6 and TNF- α as potential diagnostic biomarkers for oral cancer[J/OL]. *Diagnostics (Basel)*, 2017, 7(2): E21[2018-01-20]. <https://doi.org/10.3390/diagnostics7020021>. DOI: 10.3390/diagnostics7020021.
- [9] KHYANI I A M, QURESHI M A, MIRZA T, et al. Detection of interleukins-6 and 8 in saliva as potential biomarkers of oral pre-malignant lesion and oral carcinoma: a breakthrough in salivary diagnostics in Pakistan[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2017, 30(3): 817-823.
- [10] HA H, DEBNATH B, NEAMATI N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases[J]. *Theranostics*, 2017, 7(6):1543-1588. DOI:10.7150/thno.15625.
- [11] CHEN Y, HI M, YU G Z, et al. Interleukin-8, a promising predictor for prognosis of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(10): 1123-1129. DOI: 10.3748/wjg.v18.i10.1123.
- [12] 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.
- [13] WAUGH D J, WILSON C. The interleukin-8 pathway in cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6735-6741. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4843.
- [14] SHRIVASTAVA M S, HUSSAIN Z, GIRICZ O, et al. Targeting chemokine pathways in esophageal adenocarcinoma[J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(21): 3320-3327. DOI: 10.4161/15384101.2014.968426.
- [15] SHAO N, LU Z, HANG Y, et al. Interleukin-8 upregulates integrin β 3 expression and promotes estrogen receptor-negative breast cancer cell invasion by activating the PI3K/Akt/NF- κ B pathway[J]. *Cancer Lett*, 2015, 364(2): 165-72. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.05.009.
- [16] JAYATILAKA H, TYLE P, HEN J J, et al. Synergistic IL-6 and IL-8 paracrine signalling pathway infers a strategy to inhibit tumour cell migration[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8:15584[2018-01-21]. <http://www.nature.com/articles/ncomms15584>. DOI: 10.1038/ncomms15584.
- [17] FU X T, DAI Z, SONG K, et al. Macrophage-secreted IL-8 induces epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells by activating the JAK2/STAT3/Snail pathway[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(2): 587-596. DOI: 10.3892/ijo.2014.2761.
- [18] DAVID J M, DOMINGUEZ C, HAMILTON D H, et al. The IL-8/IL-8R axis: a double agent in tumor immune resistance[J/OL]. *Vaccines (Basel)*, 2016, 4(3): E22[2018-01-21]. <https://doi.org/10.3390/vaccines4030022>. DOI: 10.3390/vaccines4030022.
- [19] ALFARO C, SANMAMED M F, RODRÍGUEZ-RUIZ M E, et al. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up[J/OL]. *Cancer Treat Rev*, 2017, 60: 24-31[2018-01-21]. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.08.004>. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.08.004.
- [20] JAMIESON T, C LARKE M, STEELE C W, et al. Inhibition of CXCR2 profoundly suppresses inflammation-driven and spontaneous tumorigenesis[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(9): 3127-3144. DOI: 10.1172/JCI61067.
- [21] O'HAYER K M, BRADY D C, COUNTER C M. ELR+ CXC chemokines and oncogenic Ras-mediated tumorigenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(11): 1841-1847. DOI: 10.1093/carcin/bgp198.
- [22] CATAISSON C, OHMAN R, PATEL G, et al. Inducible cutaneous inflammation reveals a protumorigenic role for keratinocyte CXCR2 in skin carcinogenesis[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 319-328. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2490.
- [23] SINGH S, VARNEY M, SINGH R K. Host CXCR2-dependent regulation of melanoma growth, angiogenesis, and experimental lung metastasis[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 411-415. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3378.
- [24] SHEN H, SCHUSTER R, LU B, et al. Critical and opposing roles of the chemokine receptors CXCR2 and CXCR3 in prostate tumor growth[J]. *Prostate*, 2006, 66(16): 1721-1728. DOI: 10.1002/pros.20476.
- [25] MESTAS J, BURDICK M D, RECKAMP K, et al. The role of CXCR2/CXCR2 ligand biological axis in renal cell carcinoma[J]. *Immunol*, 2005, 175(8): 5351-5357. DOI: 10.4049/jimmunol.175.8.5351.
- [26] ZHANG H, YE Y L, LI M X, et al. CXCL2/MIF-CXCR2 signaling promotes the recruitment of myeloid-derived suppressor cells and is correlated with prognosis in bladder cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(15): 2095-2104. DOI:10.1038/ncr.2016.367.
- [27] STEELE C W, KARIM S A, LEACH J D G, et al. CXCR2 inhibition profoundly suppresses metastases and augments immunotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(6): 832-845. DOI:10.1016/j.ccell.2016.04.014.
- [28] HIGHFILL S L, CUI Y, GILES A J, et al. Disruption of CXCR2-mediated MDSC tumor trafficking enhances anti-PD1 efficacy[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(237): 237ra67[2018-01-21]. <http://stm.sciencemag.org/content/6/237/237ra67.full>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007974.
- [29] ŁUKASZEWICZ - ZAJĄC M, KULCZYŃSKA - PRZYBIK A, MUSZYŃSKI P, et al. Serum concentrations of receptor for interleukin 8 in patients with esophageal cancer[J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2016, 26(11): 854-861. DOI:10.20452/pamw.3589.
- [30] INSALL R H, MACHESKY L M. Actin dynamics at the leading edge: from simple machinery to complex networks[J]. *Dev Cell*, 2009, 17(3): 310-322. DOI:10.1016/j.devcel.2009.08.012.
- [31] TAKENAWA T, SUETSUGU S. The WASP-WAVE protein network: connecting the membrane to the cytoskeleton[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 37-48. DOI: 10.1038/nrm2069.
- [32] POLLARD T D, BORISY G G. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments[J]. *Cell*, 2003, 112(4):453-465. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00120-X).
- [33] GIRI A, BAJPAI S, TRENTON N, et al. The Arp2/3 complex mediates multigeneration dendritic protrusions for efficient 3-dimensional cancer cell migration[J]. *FASEB J*, 2013, 27(10): 4089-4099. DOI: 10.1096/fj.12-224352.

[收稿日期] 2018-03-05

[修回日期] 2018-05-20

[本文编辑] 黄静怡