

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.05.008

· 基础研究 ·

## 粪肠球菌脂磷壁酸激活 Toll 样受体 2 抑制胰腺导管癌 BxPC-3 细胞的增殖、侵袭和迁移

纪周新<sup>1,2</sup>, 贺德<sup>2</sup> (1. 广东医科大学 研究生院, 广东 湛江 524023; 2. 深圳市宝安区人民医院 普通外科, 广东 深圳 518101)

**[摘要]** **目的:** 探讨粪肠球菌脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA) 对胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA) BxPC3 细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其可能的机制。**方法:** 用 0、5、10、50  $\mu\text{g/ml}$  的 LTA 分别处理 BxPC-3 细胞, 以 0  $\mu\text{g/ml}$  组作为空白对照组, 其余各组作为实验组, 采用 CCK-8 法检测 LTA 对细胞 BxPC-3 增殖的影响; 用 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA 处理 BxPC-3 细胞 48 h, 采用划痕实验和 Transwell 小室实验分别检测其对 BxPC-3 细胞侵袭和迁移的影响, WB 法检测对 BxPC3 细胞中 TLR2、P38、p-P38、NF- $\kappa$ B 和 p-NF- $\kappa$ B 蛋白表达的影响。**结果:** LTA 抑制 BxPC3 细胞的增殖, 且抑制作用随时间和浓度的增加而增强, 与 0  $\mu\text{g/ml}$  组相比, 在 LTA 50  $\mu\text{g/ml}$  干预 48 h 后, BxPC-3 细胞增殖抑制效果最为显著 ( $P < 0.01$ ), 故后续实验组细胞均采用 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA 处理 48 h。与 0  $\mu\text{g/ml}$  组相比, 50  $\mu\text{g/ml}$  组发生侵袭的 BxPC-3 细胞数和迁移率均显著降低 (均  $P < 0.01$ ), 细胞中 TLR2、p-P38、p-NF- $\kappa$ B 蛋白水平均显著升高 (均  $P < 0.01$ )。**结论:** 粪肠球菌 LTA 可抑制 PDA 细胞 BxPC-3 的增殖、侵袭和迁移, 其机制可能与 LTA 激活 TLR2 进而促进 P38 及 NF- $\kappa$ B 磷酸化有关。

**[关键词]** 粪肠球菌; 脂磷壁酸; Toll 样受体 2; 胰腺导管腺癌; 增殖; 侵袭; 迁移

**[中图分类号]** R736.7; R730.54 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)05-0477-05

## *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid activates TLR2 to inhibit the proliferation, invasion and migration of pancreatic ductal cancer BxPC-3 cells

Ji Zhouxin<sup>1,2</sup>, He De<sup>2</sup> (1. Postgraduate College, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, China; 2. Department of General Surgery, People's Hospital of Shenzhen Baoan District, Shenzhen 518101, Guangdong, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid (LTA) on the proliferation, invasion and migration of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA) cell line BxPC-3 and its possible mechanism. **Methods:** BxPC-3 cells were treated with 0, 5, 10 and 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA; the 0  $\mu\text{g/ml}$  group was set as the blank control group, while the other groups were used as the experimental groups. CCK-8 method was used to detect the effect of LTA on the proliferation of BxPC-3 cells. BxPC-3 cells were treated with 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA for 48 h, and the invasion and migration abilities of BxPC-3 cells were detected by the Scratch test and Transwell chamber test, respectively. WB assay was used to detect the effect of LTA on protein expression of TLR2, P38, p-P38, NF- $\kappa$ B and p-NF- $\kappa$ B in BxPC-3 cells. **Results:** LTA inhibited the proliferation of BxPC-3 cells, and the inhibitory effect increased with time and concentration. Compared with the 0  $\mu\text{g/ml}$  group, LTA at 50  $\mu\text{g/ml}$  exhibited the most significant inhibitory effect on proliferation of BxPC-3 cells after 48 h ( $P < 0.01$ ); thus, the subsequent experimental groups were treated with 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA for 48 h. Compared with the 0  $\mu\text{g/ml}$  group, the number of invaded cells and the migration rate of BxPC-3 cells in the 50  $\mu\text{g/ml}$  group were significantly reduced (all  $P < 0.01$ ), and the protein expression levels of TLR2, p-P38 and p-NF- $\kappa$ B were significantly increased (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** *Enterococcus faecalis* LTA can inhibit the proliferation, invasion and migration of pancreatic cancer BxPC-3 cells. The mechanism may be related to the activation of TLR2 by LTA to promote phosphorylation of P38 and NF- $\kappa$ B.

**[Key words]** *Enterococcus faecalis*; lipoteichoic acid (LTA); Toll-like receptor (TLR2); pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA); proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(5): 477-481. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.05.008]

胰腺癌是消化系统中恶性程度极高的肿瘤性疾病, 其中 85% 的病理类型为胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA)<sup>[1]</sup>。因病灶所处解剖位置较深, 发病隐匿, 早期无明显临床特征, 约 80% 的胰腺癌在发现时因伴有远处转移或局部浸润而无法手术切除<sup>[2]</sup>, 5 年存活率只有 8.2%<sup>[3]</sup>。Toll 样受体

**[作者简介]** 纪周新 (1994-), 男, 硕士生, 主要从事消化系统肿瘤的临床与基础研究, E-mail: 675893363@qq.com

**[通信作者]** 贺德 (HE De, corresponding author), 博士, 教授、主任医师, 研究生导师, 主要从事消化系统肿瘤的临床与基础研究, E-mail: hede1965@126.com

(Toll-like receptor, TLR) 是一种模式识别受体, 通过识别内源性降解物或微生物成分发挥免疫应答、增殖调节、促进血管生成和激活炎症反应等作用<sup>[4]</sup>。其中 TLR2 在 70% 的胰腺癌细胞中呈高表达<sup>[5]</sup>。与 PDA 发生相关的危险因素包括肥胖、糖尿病、吸烟和慢性胰腺炎等, 近年来研究<sup>[6]</sup>发现, 肠道菌群在胰腺疾病中也发挥着关键作用。有研究<sup>[7]</sup>在慢性胰腺炎和胰腺癌患者的胰腺组织中检测到粪肠球菌、大肠埃希菌等多种肠道细菌。脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA) 是粪肠球菌的主要致病因子, 也是 TLR2 识别的天然配体, 但有关粪肠球菌 LTA 对 PDA 细胞生长转移影响的研究尚少见报道。本研究拟通过不同浓度的粪肠球菌 LTA 作用于 PDA 细胞 BxPC-3, 探讨其对 PDA 细胞增殖、侵袭和迁移的影响及潜在分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

PDA 细胞 BxPC-3 购自 ATCC 细胞库, 常规培养。粪肠球菌 LTA 购自美国 Sigma 公司, 用 500  $\mu\text{l}$  DMSO 溶解 5 mg LTA 配制 10 mg/ml 储备液, 用以配制含 5、10、50  $\mu\text{g/ml}$  LTA 的完全培养基。RPMI1640 培养基、胎牛血清 (FBS)、胰蛋白酶均购自美国 Hyclone 公司, PBS 购自 Life Technologies 公司, 细胞增殖检测试剂盒 (CCK-8) 购自广州奕元生物技术有限公司, 结晶紫染色剂、多聚甲醛 (PFA) 溶液均购自上海碧云天生物技术有限公司, 兔抗人 TLR2、NF- $\kappa\text{B}$  p65、p-NF- $\kappa\text{B}$  P65、P38、p-P38 多克隆抗体均购自美国 Abcam 公司。

### 1.2 细胞分组与 CCK-8 法检测 LTA 对 BxPC-3 细胞增殖的影响

取对数生长期的 BxPC-3 细胞, 按  $6.0 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板内, 每孔加 100  $\mu\text{l}$  细胞悬液, 置于 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  条件下培养 24 h。实验分为对照组和实验组。对照组使用不含粪肠球菌 LTA 的培养基; 实验组使用含 5、10、50  $\mu\text{g/ml}$  粪肠球菌 LTA 的完全培养基。分别在培养 12、24、48 h 后每孔补加 10  $\mu\text{l}$  CCK-8 溶液, 培养 2 h, 用酶标仪测定在 450 nm 处的光密度 (D) 值, 计算细胞增殖率。

### 1.3 细胞划痕实验检测 LTA 对 BxPC-3 细胞迁移的影响

取对数生长期的 BxPC-3 细胞, 用胰酶消化后接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 用无菌的枪头在长满细胞的孔底划出一条痕迹, PBS 洗去细胞碎片, 按组别更换含粪肠球菌 LTA 0、5、10、50  $\mu\text{g/ml}$  的完全培养基, 培养 48 h, 将培养板放在倒置显微镜下观察划痕愈合的程度并拍照。测量划痕宽度, 计算细

胞迁移率。

### 1.4 Transwell 侵袭实验检测 LTA 对 BxPC-3 细胞侵袭的影响

将经 50  $\mu\text{g/ml}$  粪肠球菌 LTA 处理 48 h 后的细胞用无血清培养基重悬, 按  $3 \times 10^4$  个/孔接种于预铺了基质胶的 Transwell 小室中; 培养板中加入 500  $\mu\text{l}$  含 10% FBS 的完全培养基, 将小室放入板中, 培养 24 h 后将小室取出, 用 PBS 洗去培养基, 结晶紫染色 10 min, 用自来水将表面的结晶紫洗除干净, 用棉签将上室中的细胞擦除干净, 于显微镜下对非细胞接种面拍照, 计数穿膜细胞。

### 1.5 WB 实验检测 LTA 对 BxPC-3 细胞中相关蛋白表达的影响

使用蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白, BCA 法定量总蛋白, 取适量蛋白样品经 SDS-PAGE 分离, 电转移到 PVDF 膜。将电转后的膜用 5% 脱脂奶粉于室温下封闭 1 h, 加入 TLR2、P38、p-P38、NF- $\kappa\text{B}$  P65、p-NF- $\kappa\text{B}$  P65 等兔抗人多克隆抗体 (一抗), 4  $^\circ\text{C}$  孵育过夜, TBST 洗涤液漂洗 3 次, 加入 HRP 标记的二抗孵育 30 min, TBST 洗涤液漂洗 4 次, 将 ECL 化学发光液滴加在 PVDF 膜上, 于暗室中曝光显影, 用 Image J 软件分析目标带的灰度值, 计算蛋白相对表达量。

### 1.6 统计学处理

应用 SPSS 23.0 统计软件分析, 所有实验独立重复 3 次。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。首先检验数据方差的同质性, 在方差齐的情况下采用单因素方差分析, 在方差不齐的情况下采用非参数检验进行分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

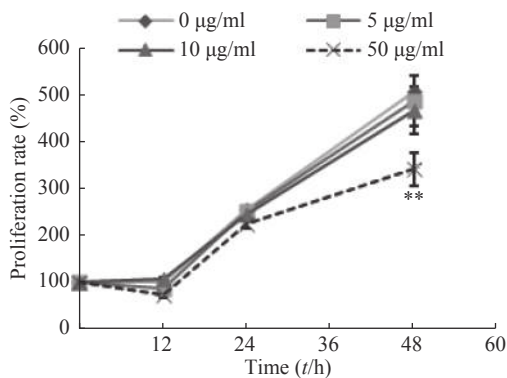
### 2.1 粪肠球菌 LTA 抑制 BxPC-3 细胞的增殖

采用不同浓度的粪肠球菌 LTA (5、10、50  $\mu\text{g/ml}$ ) 对 BxPC-3 细胞处理后继续培养, 分别在 12、24、48 h 进行 CCK-8 检测, 结果 (图 1) 显示, 在 48 h 内粪肠球菌 LTA 对 BxPC-3 细胞增殖的抑制作用呈时间-浓度依赖性, 随 LTA 浓度及干预时间的增加, 细胞增殖抑制作用增强。与 0  $\mu\text{g/ml}$  组相比, 在 50  $\mu\text{g/ml}$  处理 48 h 的条件下, 细胞增殖率降低最为显著 [(342.80 $\pm$ 34.93)% vs (509.43 $\pm$ 34.98)%],  $P < 0.01$ , 故后续实验组均用 50  $\mu\text{g/ml}$  LTA 处理 48 h。

### 2.2 粪肠球菌 LTA 抑制 BxPC-3 细胞的侵袭

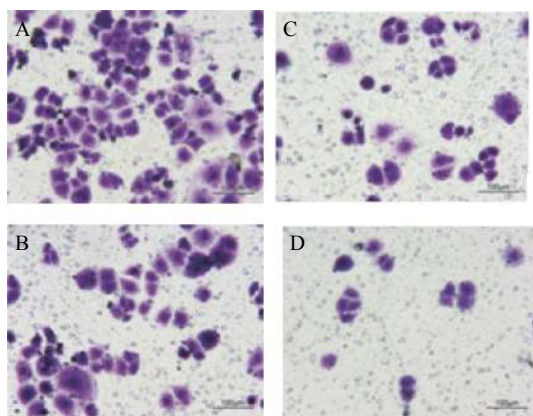
Transwell 侵袭实验检测结果 (图 2) 显示, 随粪肠球菌 LTA 浓度的递增, BxPC-3 侵袭细胞数逐步减少。0、5、10、50  $\mu\text{g/ml}$  组的侵袭细胞数分别为 (144.89 $\pm$ 22.50)、(111.22 $\pm$ 7.73)、(63.22 $\pm$ 7.76) 和

(29.78±11.10)个。10 μg/ml 组侵袭细胞显著少于 0 μg/ml 组 ( $P<0.01$ ), 50 μg/ml 组侵袭细胞数显著少于 0、5 μg/ml 组 (均  $P<0.01$ )。



\*\* $P<0.01$  vs 0 μg/ml group

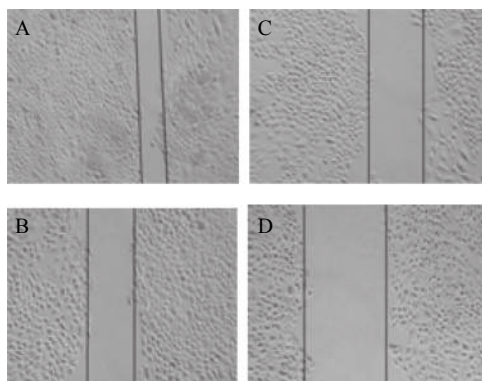
图 1 不同浓度 LTA 对 BxPC-3 细胞增殖活性的影响  
Fig.1 Effects of different concentrations of LTA on the proliferation of BxPC-3 cells *in vitro*



A: 0 μg/ml LTA group; B: 5 μg/ml LTA group; C: 10 μg/ml LTA group; D: 50 μg/ml LTA group

图 2 不同浓度梯度 LTA 对体外培养 BxPC-3 细胞侵袭能力的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of LTA on invasion of BxPC-3 cells *in vitro*



\*\* $P<0.01$  vs 0 μg/ml group;  $\Delta\Delta P<0.01$  vs 5 μg/ml group

A: 0 μg/ml LTA group; B: 5 μg/ml LTA group; C: 10 μg/ml LTA group; D: 50 μg/ml LTA group

图 3 不同浓度梯度 LTA 对体外培养 BxPC-3 细胞侵袭能力的影响

Fig.3 Effect of different concentrations of LTA on invasion ability of BxPC-3 cells *in vitro*

### 2.3 粪肠球菌 LTA 抑制 BxPC-3 细胞的迁移能力

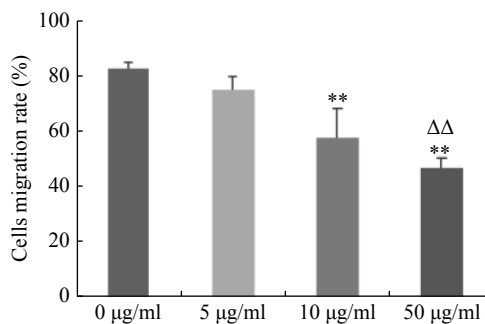
划痕实验检测结果 (图 3) 显示, 随粪肠球菌 LTA 浓度的递增, BxPC-3 细胞迁移率逐步降低, 10、50 μg/ml 组细胞迁移率显著低于 0 μg/ml 组 (均  $P<0.01$ ), 50 μg/ml 组细胞迁移率显著低于 5 μg/ml 组 ( $P<0.01$ )。

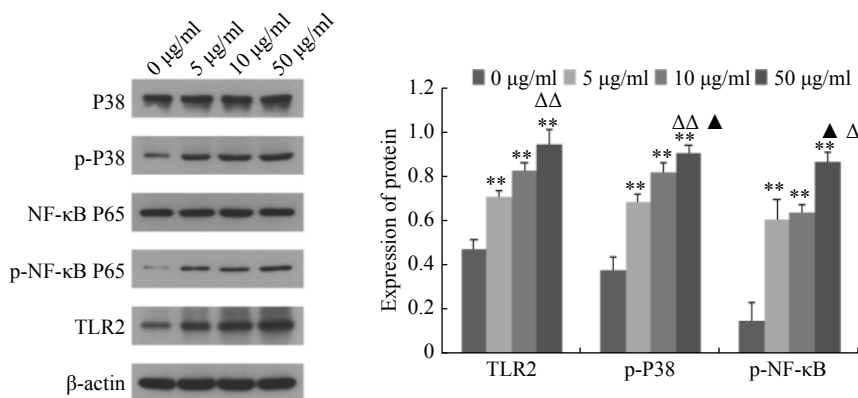
### 2.4 粪肠球菌 LTA 促使 BxPC-3 细胞表达 TLR2、p-P38、p-NF-κB P65

WB 实验检测结果 (图 4) 显示, 随粪肠球菌 LTA 浓度梯度的递增, BxPC-3 细胞中 TLR2、p-P38、p-NF-κB P65 的表达水平逐渐上调。50 μg/ml 组细胞中, TLR2 的表达高于 0、5 μg/ml 组 (均  $P<0.01$ ), p-P38 和 p-NF-κB P65 的表达显著高于 0、5、10 μg/ml 组 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。

## 3 讨论

近年来, 随着高通量测序技术的发展, 研究人员发现, 口腔微生物或肠道菌群可通过十二指肠乳头开口经胰管逆行进入胰腺内, 通过激发炎症反应和免疫系统影响胰腺癌的发生发展。PUSHALKAR 等<sup>[1]</sup>给小鼠喂养带有荧光标记的粪肠球菌和大肠埃希菌, 观察到细菌移位到胰腺, 证明肠道细菌可移位至胰腺内。RIQUELME 等<sup>[7]</sup>通过 16S rRNA 基因测序方法检测胰腺癌组织内菌群, 发现长期生存者的菌群多样性较短期生存者更为丰富, 但并未在胰腺癌组织内发现比例较大或占主导地位的菌种。而 MAEKAWA 等<sup>[8]</sup>在胰腺炎和胰腺癌患者胰液中检测到来源于胃肠道的粪肠球菌和大肠埃希菌。因此认为, 肠道菌群在胰腺癌内复杂的肿瘤内环境扮演着重要的角色, 细化区分各种微生物成分对胰腺癌的作用, 观察肿瘤微环境中的动态联系, 从整体上把握才能研发更好的治疗方案及减少耐药性的发生。





\*\*  $P < 0.01$  vs 0 μg/ml group;  $\Delta$   $P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta$   $P < 0.01$  vs 5 μg/ml group;  $\blacktriangle$   $P < 0.05$  vs 10 μg/ml group

图4 粪肠球菌 LTA 干预对 BxPC-3 细胞中 TLR2、p-P38、p-NF-κB P65 表达的影响

Fig.4 Effect of *Enterococcus faecalis* LTA intervention on the expression of TLR2, p-P38 and p-NF-κB P65 in BxPC-3 cells

TLR 作为一类模式识别受体, 不仅表达于免疫细胞上, 在乳腺癌<sup>[9]</sup>、肺癌<sup>[10]</sup>、胃癌<sup>[11]</sup>、胰腺癌<sup>[12]</sup>等肿瘤细胞上也有表达。在人类细胞中已经发现的人 TLR 家族成员有 TLR1~10<sup>[13]</sup>, 其中以 TLR2 在胰腺癌中表达较为显著<sup>[14]</sup>, TLR2 可识别革兰氏阳性微生物区系的肽聚糖和 LTA、多种病原体的脂蛋白、问号钩端螺旋体和牙龈卟啉单胞菌的脂多糖等, 激活 TLR 可启动下游应答机制, 参与调节肿瘤生长、转移、免疫耐受和血管生成等进程<sup>[4]</sup>。BEVERIS 等<sup>[15]</sup>研究发现, 卡介苗芽孢杆菌可激活 TLR2 促进膀胱癌细胞的凋亡。HATTAR 等<sup>[16]</sup>研究发现, 金黄色葡萄球菌 LTA 可激活 TLR2 促进非小细胞肺癌细胞的增殖。目前已知的多种 TLR2 激动剂均来源于微生物的组成成分, 如 pam3csk4 (模拟细菌脂多糖的酰化氨基端)<sup>[1]</sup>、巨噬细胞活化脂肽-2<sup>[17]</sup>、肽聚糖<sup>[18]</sup>等。本研究采用粪肠球菌 LTA 作为 TLR2 激动剂, 发现粪肠球菌 LTA 可抑制 PDA 细胞 BxPC-3 的增殖、侵袭和迁移, 并且这种抑制效果具有时间-浓度依赖性。

TLR2 属于 I 型穿膜转运蛋白, 通过识别相应的配体后发生构象变化, 形成同源或异源二聚体, 诱导其 TIR 结构域与细胞内适配器分子的 TIR 结构域相互作用, 主要激活依赖于髓系分化初级反应蛋白 88 的途径, 募集了白介素 1 受体相关激酶家族, 激活了肿瘤坏死因子受体相关因子 6, 使转化生长因子 β 泛素化后激活蛋白激酶 1, 进而激活 NF-κB、MAPK 和干扰素途径等信号通路, 促使转录因子进入细胞核, 启动各种靶基因的表达, 包括炎症细胞因子、趋化因子和 I 型干扰素<sup>[19]</sup>。MAPK 信号通路包括 P38、ERK 和 JNK 这 3 个主要的亚组, 参与调控细胞增殖、生长、分化、凋亡和迁移等重要进程<sup>[20]</sup>。根据激活 TLR2 下游信号通路的不同, 可能产生促癌或抑癌的作用。GRIMMIG 等<sup>[14]</sup>研究发现, 金黄色

葡萄球菌脂磷壁酸可激活 TLR2 经 PI3K/Akt/mTOR 通路促进胰腺癌细胞的增殖。PARK 等<sup>[21]</sup>研究发现, 新的肿瘤相关配体 PAUF 可能激活 TLR 介导的 ERK 信号, 从而产生促肿瘤细胞因子, 但它抑制 TLR 介导的 NF-κB 信号, 从而促进肿瘤的生长。为进一步研究粪肠球菌 LTA 对 PDA 作用的分子机制, 本研究通过 WB 检测不同粪肠球菌 LTA 浓度梯度下 TLR2、P38、p-P38、NF-κB P65、p-NF-κB P65 等蛋白的表达, 结果显示, 在粪肠球菌 LTA 干预 48 h 的条件下, TLR2、p-P38、p-NF-κB P65 的蛋白表达量随粪肠球菌 LTA 浓度的增加而增加, 与 BxPC-3 细胞增殖、侵袭和迁移的抑制程度有相同的变化趋势。由此推测, 粪肠球菌 LTA 对 BxPC-3 细胞生长转移的抑制作用可能是通过激活 TLR2, 促使 P38、NF-κB P65 磷酸化后进入细胞核内, 进而诱导相关靶基因转录实现的。

综上所述, 粪肠球菌 LTA 对 PDA 细胞 BxPC-3 的增殖、侵袭和迁移具有抑制作用, 并且呈时间-浓度依赖效应。其作用机制可能是通过激活 TLR2, 促使 P38、NF-κB P65 磷酸化增加, 并诱导相关促癌基因的下调或抑癌基因的上调来实现的。本研究为进一步探索 P38 和 NF-κB 信号通路下游的调控机制提供了实验依据, 后续计划通过体内实验进一步验证粪肠球菌 LTA 对 PDA 的抑制作用。

[参考文献]

[1] PUSHALKAR S, HUNDEYIN M, DALEY D, et al. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by induction of innate and adaptive immune suppression[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(4): 403-416. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1134.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.

[3] MASCITTI M, TOGNI L, TROIANO G, et al. Beyond head and neck cancer: the relationship between oral microbiota and tumour development in distant organs[J]. *Front Cell Infect Microbiol*,

- 2019, 9: 232. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00232.
- [4] VANHOECKE B, STRINGER A. Host-microbe cross talk in cancer therapy[J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2015, 9(2): 174-181. DOI: 10.1097/SPC.000000000000133.
- [5] MORSE D L, BALAGURUNATHAN Y, HOSTETTER G, et al. Identification of novel pancreatic adenocarcinoma cell-surface targets by gene expression profiling and tissue microarray[J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(5): 748-754. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.05.018.
- [6] ZHANG X, LIU Q F, LIAO Q, et al. Pancreatic cancer, gut microbiota, and therapeutic efficacy[J]. *J Cancer*, 2020, 11(10): 2749-2758. DOI: 10.7150/jca.37445.
- [7] RIQUELME E, ZHANG Y, ZHANG L L, et al. Tumor microbiome diversity and composition influence pancreatic cancer outcomes[J/OL]. *Cell*, 2019, 178(4): 795-806.e12[2021-03-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7288240/>. DOI: 10.1016/j.cell.2019.07.008.
- [8] MAEKAWA T, FUKAYA R, TAKAMATSU S, et al. Possible involvement of *Enterococcus* infection in the pathogenesis of chronic pancreatitis and cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(4): 962-969. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.10.169.
- [9] CAI Z Y, SANCHEZ A, SHI Z C, et al. Activation of Toll-like receptor 5 on breast cancer cells by flagellin suppresses cell proliferation and tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2466-2475. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1993.
- [10] ZHANG M, ZHOU Y Y, ZHANG Y L. High Expression of TLR2 in the serum of patients with tuberculosis and lung cancer, and can promote the progression of lung cancer[J]. *Math Biosci Eng*, 2019, 17(3): 1959-1972. DOI: 10.3934/mbe.2020104.
- [11] WEST A C, TANG K, TYE H, et al. Identification of a TLR2-regulated gene signature associated with tumor cell growth in gastric cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(36): 5134-5144. DOI: 10.1038/onc.2017.121.
- [12] LANKI M A, SEPPÄNEN H E, MUSTONEN H K, et al. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 predict favorable prognosis in local pancreatic cancer[J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(9): 1010428318801188. DOI: 10.1177/1010428318801188.
- [13] SŁOTWIŃSKI R, SŁOTWIŃSKA S M. Dysregulation of signaling pathways associated with innate antibacterial immunity in patients with pancreatic cancer[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2016, 41(4): 404-418. DOI: 10.5114/ceji.2016.65140.
- [14] GRIMMIG T, MOENCH R, KRECKEL J, et al. Toll like receptor 2, 4, and 9 signaling promotes autoregulative tumor cell growth and VEGF/PDGF expression in human pancreatic cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): E2060[2021-03-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5187860/>. DOI: 10.3390/ijms17122060.
- [15] BEVERS R F, KURTH K H, SCHAMHART D H. Role of urothelial cells in BCG immunotherapy for superficial bladder cancer[J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(4): 607-612. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602026.
- [16] HATTAR K, REINERT C P, SIBELIUS U, et al. Lipoteichoic acids from *Staphylococcus aureus* stimulate proliferation of human non-small-cell lung cancer cells in vitro[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(6): 799-809. DOI: 10.1007/s00262-017-1980-4.
- [17] KAISER J, COUZIN-FRANKEL J. Cancer immunotherapy sweeps Nobel for medicine[J]. *Science*, 2018, 362(6410): 13. DOI: 10.1126/science.362.6410.13.
- [18] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy[J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1084-1089. DOI: 10.1126/science.aac4255.
- [19] JAVAID N, CHOI S. Toll-like receptors from the perspective of cancer treatment[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(2): E297[2021-03-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7072551/>. DOI: 10.3390/cancers12020297.
- [20] SAHU R P, ZHANG R, BATRA S, et al. Benzyl isothiocyanate-mediated generation of reactive oxygen species causes cell cycle arrest and induces apoptosis via activation of MAPK in human pancreatic cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(10): 1744-1753. DOI: 10.1093/carcin/bgp157.
- [21] PARK H D, LEE Y, OH Y K, et al. Pancreatic adenocarcinoma upregulated factor promotes metastasis by regulating TLR/CXCR4 activation[J]. *Oncogene*, 2011, 30(2): 201-211. DOI: 10.1038/onc.2010.401.

[收稿日期] 2020-12-20

[修回日期] 2021-04-01

[本文编辑] 黄静怡