

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003361

CXCL10/CCL2 信号通路介导肿瘤微环境中宫颈癌的发展

李 昂¹, 张 芳¹, 唐爱琼¹, 阳 丽², 何薇薇¹, 张 珂¹

(1. 湖南省妇幼保健院妇一科, 长沙 410008; 2. 湖南省妇幼保健院盆底专科, 长沙 410008)

【摘要】目的:探讨趋化因子(C-X-C 基序)配体 10(Chemokine(C-X-C motif) ligand 10, CXCL10)/C-C 基元配体 2(CC chemokine ligand 2, CCL2) 信号通路在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中宫颈癌(cervical cancer, CC)发展中的作用。**方法:**体外实验将宫颈癌细胞系 Hela 细胞分别用针对 CXCL10 基因的 shRNA(sh-CXCL10)和 CXCL10 cDNA(CXCL10)转染处理,并通过 EdU 分析试验评估细胞增殖能力,和 Transwell 检测细胞侵袭能力。将 THP-1 细胞用佛波醇 12-肉豆蔻酸 13-乙酸酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)诱导分化,并与转染慢病毒或质粒的 Hela 细胞以 1:4 的比例组合共培养 48 h。通过流式细胞术检测 CD206+巨噬细胞数目和免疫印迹检测 STAT3/NF- κ B 信号表达。**结果:**与 NC 组相比,与 THP-1 细胞共培养的 CXCL10 过表达的 Hela 细胞表现出增殖、迁移能力增强和侵袭细胞数增加($P<0.05$),并且 CD206+巨噬细胞的比率显著增加($P<0.05$),而与 THP-1 细胞共培养的 CXCL10 敲低的 Hela 细胞则显示相反效果。与 NC 组相比, CXCL10 组共培养系统中 p-STAT3、p-NF- κ B 表达和 CCL2 水平显著增加($P<0.05$)。与 sh-NC 相比, sh-CXCL10 共培养系统中 p-STAT3、p-NF- κ B 表达和 CCL2 水平显著减少($P<0.05$)。**结论:**CC 细胞中 CXCL10 上调促进 TME 中巨噬细胞 M2 极化,其机制可能与激活巨噬细胞的 STAT3/NF- κ B/CCL2 信号传导途径有关,导致 CC 细胞增殖、迁移和侵袭能力增强。

【关键词】(C-X-C 基序)配体 10; C-C 基元配体 2; 肿瘤微环境; 宫颈癌; 巨噬细胞**【中图分类号】**R737.33**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2023-04-17

CXCL10/CCL2 signaling pathway mediates the development of cervical cancer in tumor microenvironment

Li Ang¹, Zhang Fang¹, Tang Aiqiong¹, Yang Li², He Weiwei¹, Zhang Ke¹

(1. Department of Gynecology, Hunan Maternal and Child Health Hospital; 2. Department of Pelvic Floor, Hunan Maternal and Child Health Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the role of C-X-C motif chemokine ligand 10(CXCL10)/C-C motif chemokine ligand 2(CCL2) signaling pathway in the development of cervical cancer(CC) in tumor microenvironment. **Methods:** *In vitro* cervical cancer Hela cells were transfected with shRNA(sh-CXCL10) and CXCL10 cDNA(CXCL10) targeting CXCL10 gene, respectively. Cell proliferation was evaluated by EdU analysis and cell invasion was detected by Transwell assay. THP-1 cell differentiation was induced with phorbol 12-myristic acid 13-acetate(PMA). The cells were co-cultured with Hela cells(5×10^6 cells) transfected with the lentivirus or plasmid at a ratio of 1:4 for 48 h. The number of CD206+ macrophages was determined by flow cytometry and STAT3/NF- κ B signal expression was measured by Western blot. **Results:** Compared with the NC group, Hela cells with CXCL10 over-expression co-cultured with THP-1 cells showed increased proliferation, migration, and invasion($P<0.05$), and the ratio of CD206+ macrophages increased significantly($P<0.05$). Hela cells with CXCL10 knock-down co-cultured with THP-1 cells showed the opposite results. Compared with NC group, the CXCL10 co-culture system showed significant increases in the expression of p-STAT3, p-NF- κ B, and CCL2($P<0.05$). Compared with the sh-NC group, the sh-CXCL10 co-culture system showed significant decreases in the expression of p-STAT3, p-NF- κ B, and CCL2($P<0.05$). **Conclusion:** Up-regulation of CXCL10 in CC cells promotes M2 polarization of macrophages in tumor microenvironment. The mechanism may be related to activation of STAT3/NF- κ B/CCL2 signal transduction pathway in macrophages, which leads to the enhancement of proliferation, migration, and invasion of CC cells.

作者介绍: 李 昂, Email: Tony300909@163.com,

研究方向: 盆底疾病的诊治。

基金项目: 湖南省卫生健康委员会科研资助项目(编号:202202231421)。**优先出版:** <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231102.0825.002>

(2023-11-02)

【Key words】C-X-C motif chemokine ligand 10; C-C motif chemokine ligand 2; tumor microenvironment; cervical cancer; macrophage

宫颈癌(cervical cancer, CC)是最常见的妇科恶性肿瘤之一。每年超过 50 万名女性被诊断患有 CC,全球超过 30 万人死于该疾病^[1]。CC 在早期很难被发现,通常在晚期被诊断出来。由于转移和复发,CC 患者预后不良,生存率低^[2]。肿瘤的发生是一个复杂的动态过程,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的生理状态与肿瘤的发生、进展和转移密切相关,尤其在晚期恶性肿瘤的进展中起着重要作用^[3]。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)是 TME 中最丰富的免疫细胞之一^[4]。TAM 具有多样性、可塑性,在微环境的刺激下容易极化。TAM 通常分为 M1 和 M2 两种亚型,在自身免疫性疾病、动脉粥样硬化、肿瘤发生等疾病中发挥不同的免疫功能。目前证据表明, TAM 与非小细胞肺癌和 CC 的疾病进展密切相关^[5]。然而, TAM 在 CC 中的潜在机制需要进一步探讨。趋化因子(C-X-C 基序)配体 10(Chemokine(C-X-C motif) ligand 10, CXCL10)属于 CXC 趋化因子家族成员之一,由多种细胞类型(单核细胞、内皮细胞、成纤维细胞和癌细胞)产生的分泌性蛋白^[6]。在肿瘤学上, CXCL10 促进癌细胞存活、侵袭和转移^[7]。最近研究发现, CXCL10 通过诱导趋化因子 C-C 基元配体 2(CC chemokine ligand 2, CCL2)表达募集巨噬细胞,有助于肿瘤转移前小生境形成并促进肺转移^[8]。因此,本研究旨在探讨 CXCL10/CCL2 信号传导是否促进 M2 样 TAM 极化并参与体外和体内 CC 的进展,这可能为 CC 的治疗提供一个新的视角。

1 材料与方法

1.1 基因表达谱交互式分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA)在线数据库分析

对 GEPIA 在线数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn>) 的 CC 组织中 CXCL10 的相对 mRNA 水平进行分析,包括 306 个 CC 患者和 13 个非癌患者(正常人群,不包括子宫内膜异位症)。从 UCSC XENA (<https://xena.ucsc.edu>) 下载相关资料,对 CXCL10 的 mRNA 表达水平进行 Log2 转换,并使用 R 语言包中的 Surv_cutpoint 函数确定最佳分界点,将 CESC 患者分为 CXCL10 高表达和低表达 2 组,建立总体生存期的 Kaplan-Meier 生存曲线分析。

1.2 细胞培养

宫颈癌细胞系 Hela 购自获自美国典型培养物保藏中心,并且含有 10% 胎牛血清(FBS, 美国 Gibco 公司)和抗生素,包括 100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基或 RPMI1640 培养基(美国 Gibco 公司)中

培养。THP-1 细胞购自中国科学院细胞库。

1.3 细胞转染

阴性对照 shRNA (sh-NC) 和针对 CXCL10 基因的 shRNA (sh-CXCL10#1、sh-CXCL10#2) 是从上海 GenePharma 公司设计和订购。将 CXCL10 cDNA(CXCL10)或阴性对照 cDNA(NC)扩增并克隆到 pcDNA3.1 表达载体中。使用 Lipofectamine 3000(美国 Thermo Fisher 公司)用 100 nmol/L 的 shRNA 或 cDNA 质粒进行瞬时转染。

1.4 巨噬细胞的诱导和生长

将 THP-1 细胞(1×10^6)铺在六孔板中,并在含有 100 ng/mL 佛波醇 12-肉豆蔻酸 13- 乙酸酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)和 0.3% BSA 的无血清高血糖培养基中培养 72 h 以诱导分化。将转染慢病毒或质粒的 Hela 细胞(5×10^6 个细胞)与诱导分化的 THP-1 细胞以 4:1 的比例组合共培养 24 h。

1.5 流式细胞术

为了检测 CD206+巨噬细胞,使用抗 CD206-PC7(美国 BD Biosciences 公司)对细胞进行染色。平行进行同型对照。使用 BD Accuri C6 流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司)进行流式细胞术。

1.6 总 RNA 分离和定量实时 PCR(qRT-PCR)

将细胞直接溶解在 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)中。根据制造商的方案收集总 RNA。定量后,使用随机引物和 iScript cDNA 合成试剂盒(美国 Bio-Rad 公司)进行逆转录反应。使用 SYBR Green Supermixes(美国 Bio-Rad 公司)进行 qRT-PCR。GAPDH 用作标准化的内部对照。一式三份分析每个样品。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析相对表达水平。引物序列如下:白细胞介素 12a(Interleukin-12 subunit alpha, IL-12A): F: 5'-CCTTGCACTTCTGAAGAGATTGA-3', R: 3'-ACAGGGCCATCATAAAAGAGGT-5';肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α): F: 5'-CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG-3', R: 3'-GAGGACCTGGGAGTAGATGAG-5';精氨酸酶(Arginase-1, ARG1): F: 5'-GTGGAACTTGCGATGGAC AAC-3', R: 5'-CTGAAGGCAATGCATTAGGAAGT-3';白细胞介素 10(Interleukin-10, IL-10): F: 5'-GACTTTAAGGGTT ACCTGGGTTG-3', R: 5'-TCACATGCGCCTTGATGTCTG-3';转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF $\beta 1$): F: 5'-GGCCAGATCCTGTCCAAGC-3', R: 5'-GTGGGTTTCCA CCATTAGCAC-3';甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH): F: 5'-AGCCCAAGATGCGCTTCAGT-3', R: 3'-CCGTGTTCTACCCCAATG-5'。

1.7 蛋白质印迹

用 PBS 洗涤细胞,然后在冰上用裂解缓冲液孵育 30 min,将细胞刮下并收获。离心后,收集含有裂解物的上清液并储存在 -80°C 。通过 BCA 检测试剂盒(美国 Bio-Rad 公司)测定蛋白质浓度。将蛋白质样品变性,随后通过 SDS-PAGE 分离,并转移到 PVDF 膜(瑞士 Roche Life Sciences 公司)上。在脱脂牛奶中孵育 1 h 后,使用以下抗体(美国 Cell

Signaling Technology 公司)在 4 °C 下处理膜过夜: CXCL10、IL-10、ARG1、TGFβ1、信号转导和转录激活因子 3 (Signal Transduction and Transcription Activator 3, STAT3)、p-STAT3 (Tyr705)、p-NF-κB p65 (ser 536)、核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB) p65 和 GAPDH 均以 1:1000 稀释度使用。洗涤 3 次后,将膜与山羊抗小鼠或抗兔 HRP 偶联二抗(美国 Cell Signaling Technology 公司)一起孵育。通过 ECL 检测试剂盒(美国 Pierce Biotechnology 公司)检测信号。

1.8 Transwell 检测

使用 Transwell 测定评估细胞迁移和侵袭。将转染后的 HeLa 细胞重悬于不含 FBS 的培养基中并调整细胞密度至 $2 \times 10^5/200 \mu\text{L}$ 。然后,将 100 μL 细胞悬浮液加入 Matrigel 基质胶包被或未包被的 Transwell 室(美国 BD Biosciences 公司)的上室中,并将含有 10% 血清的 500 μL 培养基加入到下室中。在 37 °C 孵育 48 h 后,Transwell 小室用 PBS 洗涤 3 次,细胞用 4% 多聚甲醛室温固定 30 min,然后用结晶紫染色 30 min,用棉签轻轻去除室上表面的基质胶和细胞。在显微镜下计数渗入 Transwell 室膜的肿瘤细胞数。实验重复 3 次。

1.9 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷 (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU) 分析

将 HeLa 细胞或共培养系统接种到 6 孔板中,培养 24 h。加入 EdU 溶液(瑞士 Roche 公司),将细胞培养 2 h。用多聚甲醛固定细胞 30 min,加入甘氨酸溶液 5 min。加入 DAPI 对细胞核进行染色。将细胞固定并在荧光显微镜下拍照。

1.10 动物模型

40 只 4 周龄雄性 BALB/c 无胸腺裸鼠由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,将小鼠随机分为 4 组,每组 10 只: NC 组、CXCL10 组、sh-NC 组和 sh-CXCL10 组。将转染慢病毒或质粒的 HeLa 细胞 (5×10^6 个细胞)与 THP-1 细胞以 4:1 的比例组合。将细胞混合物 (200 μL) 皮下注射到 BALB/c 裸鼠的右腋窝。每周根据公式 ($1/2 \times \text{长} \times \text{宽}^2$) 测量肿瘤体积来监测肿瘤生长。6 周后,对小鼠实施安乐死,切除皮下肿瘤并在甲醛中固定,用于免疫组织化学和免疫荧光分析。实验过程中没有小鼠死亡。

1.11 免疫组织化学和免疫荧光分析

肿瘤组织用石蜡包埋并以 5 μm 切片。切片进行抗原修复。然后,将提取的抗原切片与适当的一抗和二抗一起孵育。根据说明书使用以下抗体: 抗人活性天蛋白酶-3 (Caspase-3) 兔 pAb、抗人增殖细胞的抗原 (Ki67) 兔 pAb、F4/80 和 CD206 (均购自武汉赛维尔生物科技有限公司)。按照标准方案进行免疫组织化学和免疫荧光实验。在 400 倍放大倍数下随机选择 6 个视野,记录染色百分比。

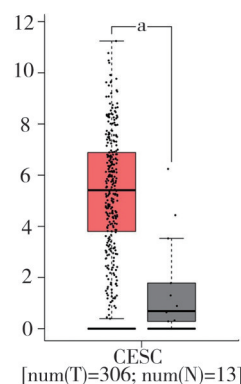
1.12 数据处理

使用 SPSS 22.0 (美国 IBM 公司) 进行统计分析。实验测定的结果均经正态性检验符合正态分布,标示为均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)。多组间的比较采用单向或双向方差分析 (ANOVA), 然后进行事后 Tukey 或 Dunnett 多重比较检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

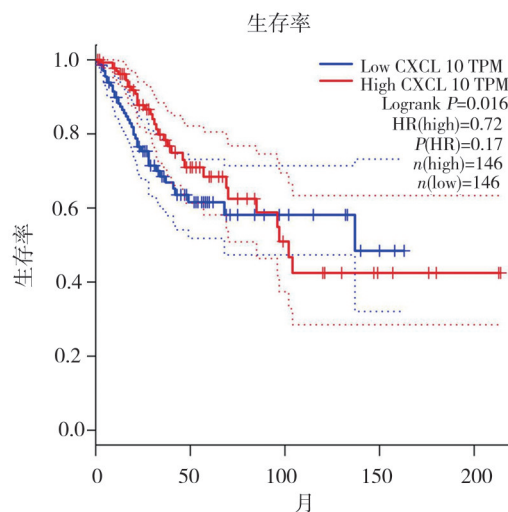
2.1 CXCL10 与 CC 的不良结局相关

通过对 GEPIA 在线数据库分析证明, CXCL10 在 CC 组织中明显高于正常组织。使用 TCGA 数据集分析来自 GEPIA 在线数据库的 306 个 CC 组织和 13 个正常宫颈组织对生存数据的进一步研究揭示, 在宫颈鳞状细胞癌 (cervical squamous cell carcinoma, CESC) 中, CXCL10 的高表达与总体生存期缩短相关。这些结果表明, CXCL10 可能在 CC 的发生和发展中起重要作用 (图 1)。



注: a, $P < 0.05$

A. CXCL10 mRNA 水平



B. 高表达 CXCL10 与 CESC 患者较差的总体生存期相关

图 1 CXCL10 与 CC 的不良结局相关

2.2 CXCL10 敲除对 CC 细胞增殖和转移的影响

为了探索 CXCL10 对 CC 恶性表型的影响, 本课题组研究了 CXCL10 沉默对体外细胞增殖和迁移的影响。将 HeLa 细胞分成 3 组, 1 个阴性对照组 (sh-NC) 和 2 个 CXCL10 敲除组 (sh-CXCL10#1, sh-CXCL10#2), 并通过免疫印迹证实 sh-CXCL10#1、sh-CXCL10#2 敲低 HeLa 细胞中 CXCL10 表达。EDU 分析显示, 与 sh-NC 组细胞相比, sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组的细胞增殖没有差异, 表明 CXCL10 敲除不影

响体外细胞增殖能力。Transwell 试验结果显示 sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组与 sh-NC 组迁移和侵袭细胞数相比没有差异。这些结果表明 CXCL10 敲除对 CC 的迁移和侵袭几乎没有影响(图2)。

2.3 CXCL10 促进 CC 细胞在巨噬细胞微环境中的增殖、侵袭和转移

我们假设 CXCL10 可能在 TME 表现出依赖于巨噬细胞的肿瘤促进功能。为了评估 CXCL10 在巨噬细胞共培养条件下对 CC 细胞增殖、迁移和侵袭的影响,用 CXCL10 过表达或沉默构建体转染的 HeLa 细胞与 THP-1 细胞一起孵育,并进行体外分析。与 NC 组相比,与 THP-1 细胞共培养的 CXCL10 过表达的 HeLa 细胞表现出增殖能力、迁移和侵袭细胞数增加($P<0.05$)。相反,与 THP-1 细胞共培养的 CXCL10 敲低的 HeLa 细胞显示增殖能力、迁移和侵袭细胞数减少($P<0.05$)。因此,当与巨噬细胞共培养时,CXCL10 可能促进 CC 细胞的增殖、侵袭和转移能力(图3)。

2.4 CXCL10 过表达的 HeLa 细胞促进 M2 巨噬细胞极化

流式细胞术分析结果显示,与 NC 组相比,CXCL10 组共培养系统中 CD206+巨噬细胞的比率显著增加($P<0.05$),而 sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组 CD206+巨噬细胞的比率显著低于 sh-NC 组($P<0.05$)。测量一系列极化标记以识别 CC 共培养细胞中巨噬细胞的类型。qRT-PCR 和 Western blot 分析显示,与 NC 组细胞相比,CXCL10 组促进 IL10、ARG1 和 TGF- β 1 表达($P<0.05$),但抑制 IL-12A、TNF- α 表达($P<0.05$)。与 sh-NC 组细胞相比,sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组抑制 IL10、ARG1 和 TGF- β 1 表达($P<0.05$),并

促进 IL-12A、TNF- α 表达($P<0.05$)。这些结果表明 CXCL10 驱动巨噬细胞的 M2 极化(图4)。

2.5 CXCL10 过表达的 HeLa 细胞通过 CCL2/STAT3/NF- κ B 信号传导激活 THP-1 细胞

与 NC 组相比,CXCL10 组共培养系统中 p-STAT3、p-NF- κ B 表达显著增加($P<0.05$)。与 sh-NC 组相比,sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组共培养系统中 p-STAT3、p-NF- κ B 表达显著减少($P<0.05$)。与 NC 组相比,CXCL10 组共培养上清液中 CCL2 水平显著增加($P<0.05$)。与 sh-NC 组相比,sh-CXCL10#1 组、sh-CXCL10#2 组共培养上清液中 CCL2 水平显著降低($P<0.05$)。这些数据表明,CXCL10 可能激活 STAT3/NF- κ B/CCL2 信号传导促进 M2 巨噬细胞极化(图5)。

2.6 体内 CXCL10 促进 CC 细胞在巨噬细胞微环境中生长

使用与 THP-1 细胞混合的 CC 细胞进行皮下肿瘤形成实验。结果表明,与 NC 组相比,CXCL10 组异种移植物的重量、体积和 CCL2 水平均显著增加($P<0.05$)。与 sh-NC 组相比,sh-CXCL10 组异种移植物的重量、体积和 CCL2 水平均显著减少($P<0.05$)。免疫组织化学分析显示,CXCL10 组异种移植植物中 Caspase-3 蛋白表达较 NC 组显著减少($P<0.05$),和 Ki-67 蛋白表达显著增加($P<0.05$)。sh-CXCL10 组异种移植植物中 Caspase-3 蛋白表达较 sh-NC 组显著增加($P<0.05$),和 Ki-67 蛋白表达显著减少($P<0.05$)。免疫荧光检测显示,CXCL10 组异种移植植物中 F4/80+CD206+细胞数显著高于 NC 组($P<0.05$),sh-CXCL10 组异种移植植物中 F4/80+CD206+细胞数显著低于 sh-NC 组($P<0.05$)(图6)。

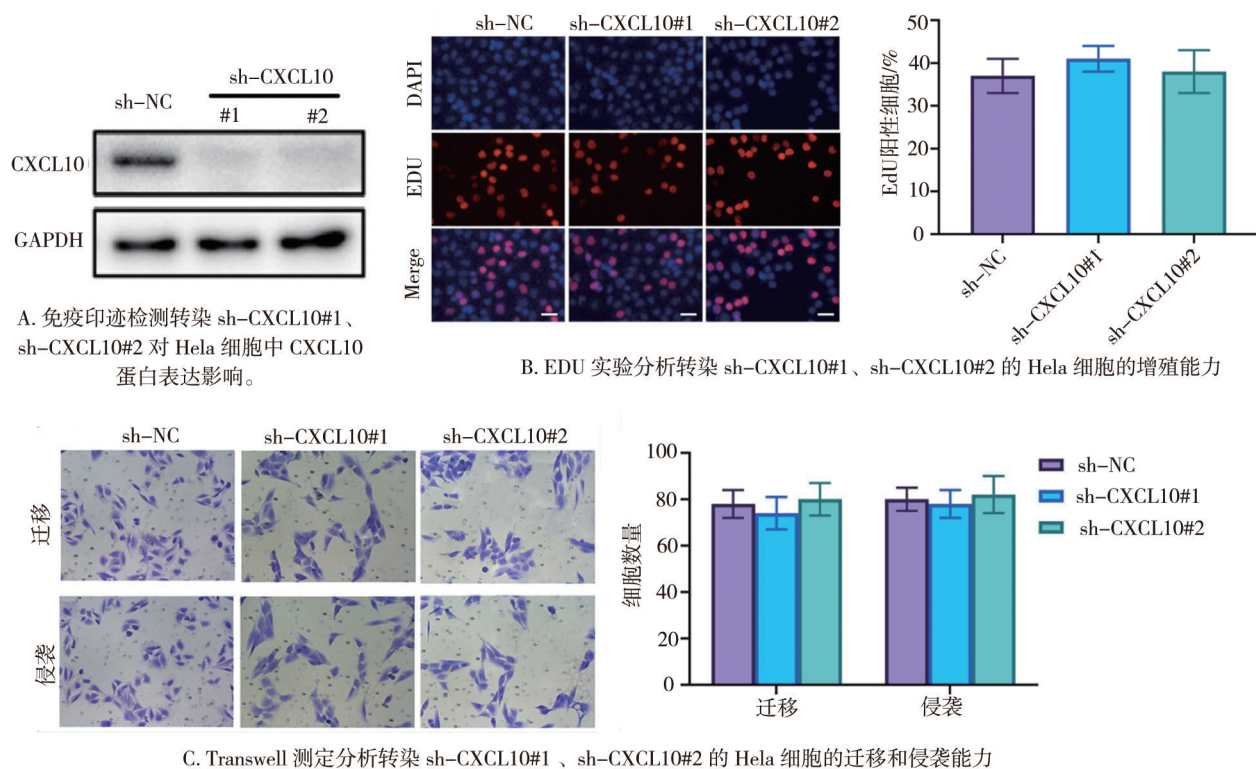
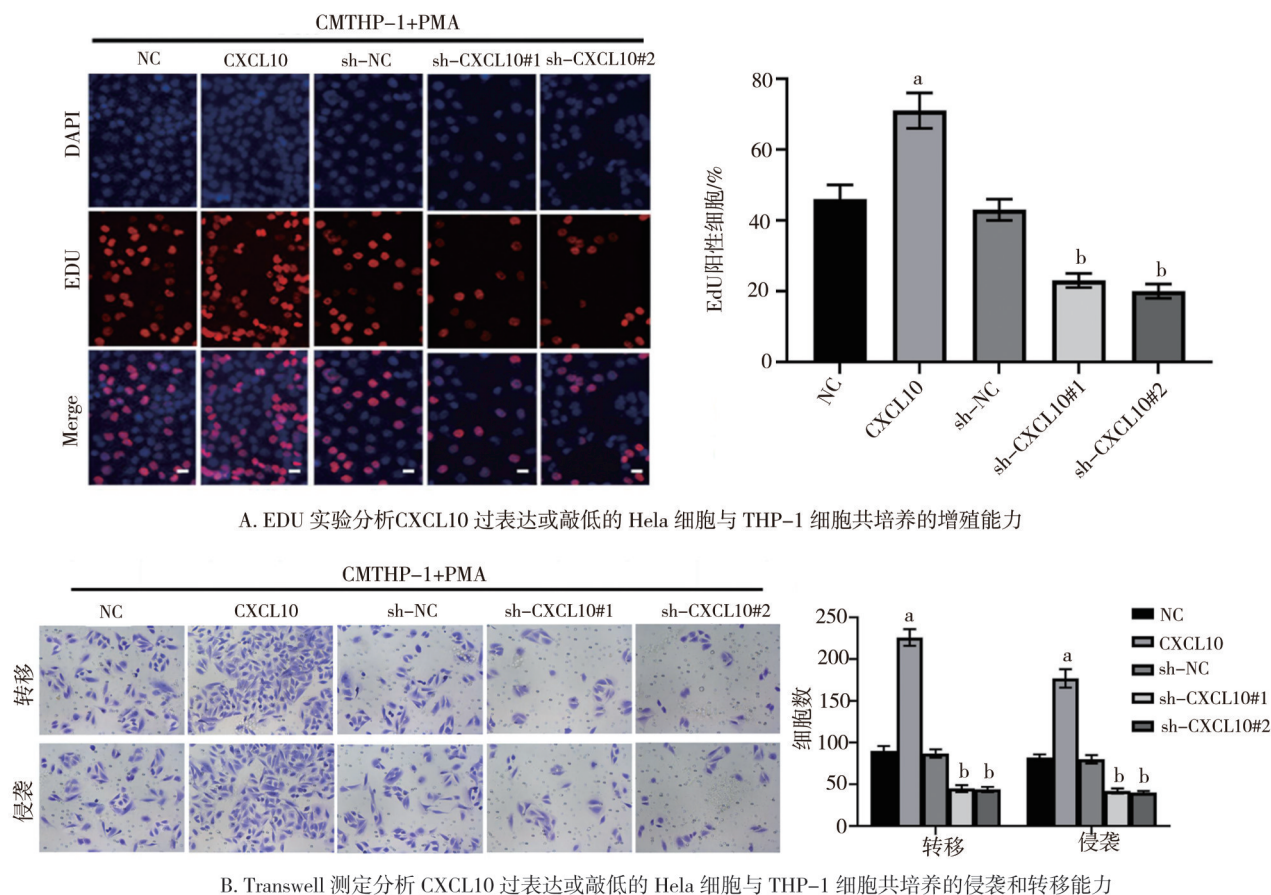
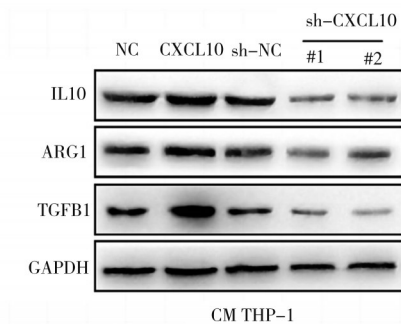
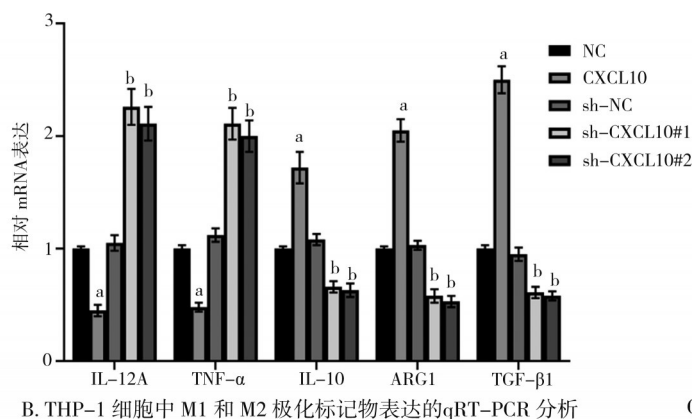
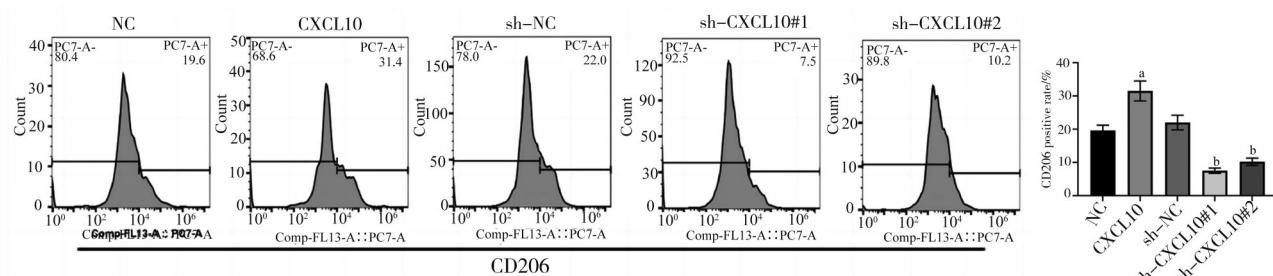


图2 CXCL10 敲除对 CC 细胞增殖和转移的影响



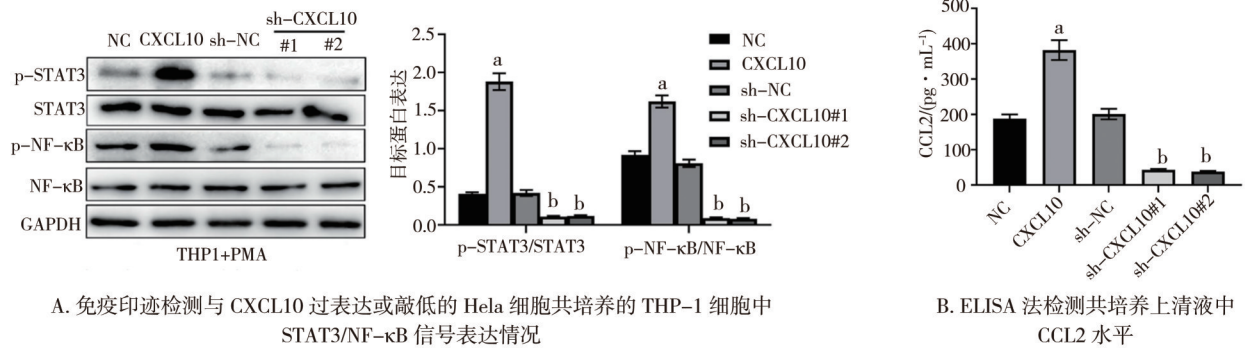
注: a, 与 NC 组相比, $P < 0.05$; b, 与 sh-NC 相比, $P < 0.05$

图 3 CXCL10 促进 CC 细胞在巨噬细胞微环境中的增殖、侵袭和转移



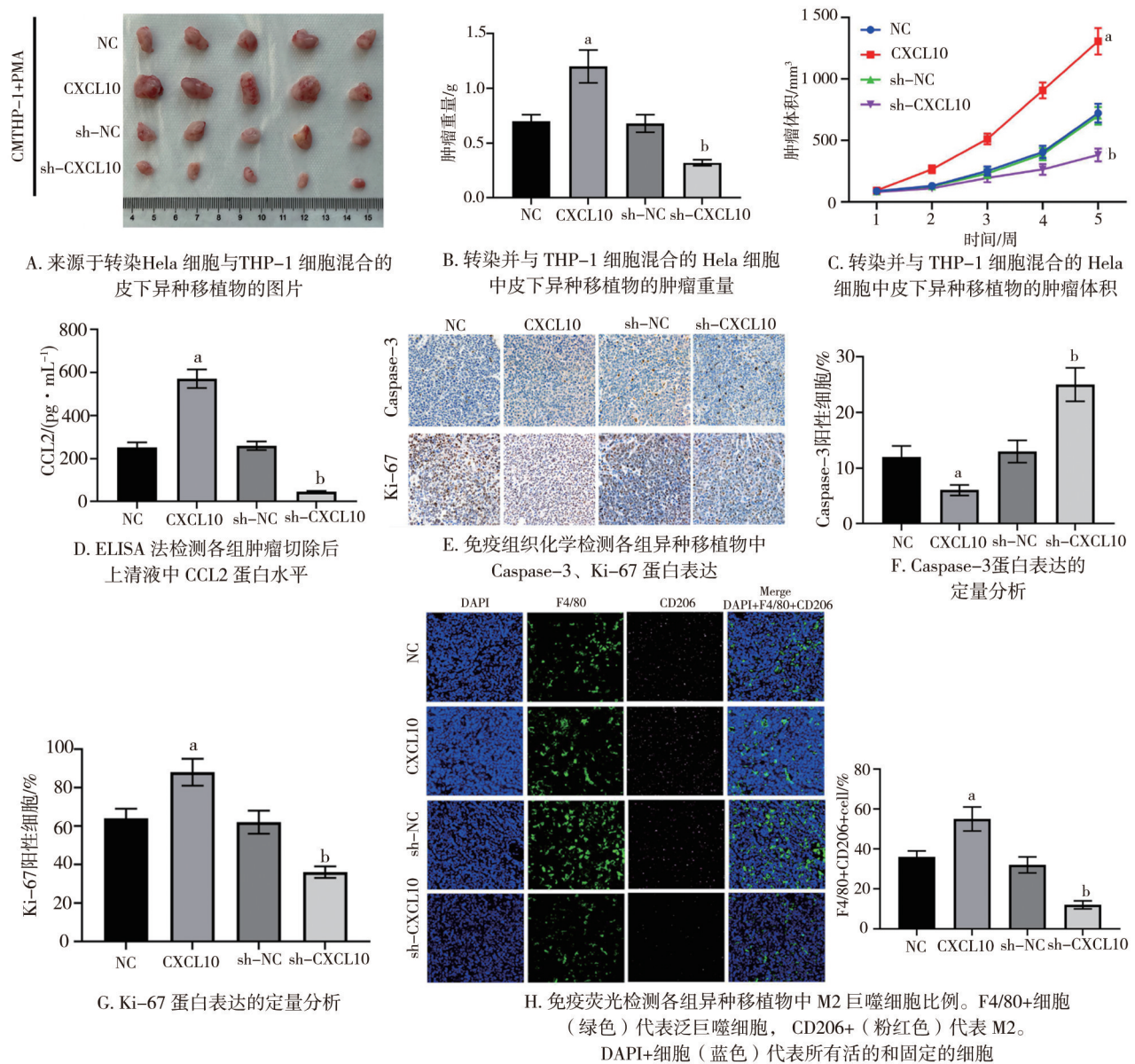
注: a, 与 NC 组相比, $P < 0.05$; b, 与 sh-NC 相比, $P < 0.05$

图 4 当与 CC 细胞和巨噬细胞共培养时 CXCL10 促进巨噬细胞 M2 极化



注:a,与 NC 组相比, $P<0.05$;b:与 sh-NC 相比, $P<0.05$

图 5 CXCL10 过表达的 HeLa 细胞通过 STAT3/NF-κB/CCL2 信号传导激活 THP-1 细胞



注:a,与 NC 组相比, $P<0.05$;b:与 sh-NC 相比, $P<0.05$

图 6 体内 CXCL10 促进 CC 细胞在巨噬细胞微环境中生长

3 讨 论

在 CC 组织中,癌细胞占总细胞的 10%,而剩余的细胞包括免疫细胞、间充质细胞、血管内皮细胞和脂肪细胞^[9]。非肿瘤细胞成分形成与肿瘤细胞相互作用并驱动肿瘤进展和远处转移的动态系统^[10]。肿瘤组织中的细胞因子是 TME 中各种细胞之间通讯的关键信号分子,这种传递过程可以起到促进或抑制癌症的作用^[11]。在众多细胞因子中,趋化因子是由细胞分泌的小细胞因子家族,参与包括细胞迁移、细胞成熟和血管生成在内的多效性功能^[6]。已知 CXCL10 能调节单核细胞/巨噬细胞、T 细胞和 NK 细胞的迁移,在体内引发有效的胸腺依赖性抗肿瘤效应^[12]。以前的研究表明,CXCL10 介导的下游信号转导促进了巨噬细胞和肿瘤细胞之间的相互作用,从而介导了肿瘤发展的恶性进展^[13]。因此,深入探索 CXCL10 下游靶点对于理解 CC 的 TME 和趋化因子促进肿瘤发展的分子机制尤为重要。在目前的研究中,证明了 CXCL10 在 CC 组织中上调,并且 CXCL10 的高表达与 CC 患者的不良预后显著相关。根据本课题组最初的发现,CXCL10 抑制不影响单独培养的 CC 细胞的增殖或转移能力。然而,与巨噬细胞共培养的 CXCL10 过表达或敲除的 CC 细胞显示恶性表型的变化。这些发现表明 CXCL10 仅在肿瘤细胞和巨噬细胞之间的通信期间显示其肿瘤促进活性。

渗入肿瘤的 TAM 主要表现出两种相反的表型。首先,由于干扰素(IFN)- γ 、脂多糖通过 Toll 样受体和粒细胞-单核细胞集落刺激因子激活的 M1 巨噬细胞^[14]。M1 表型的巨噬细胞的特征在于主要组织相容性复合体 II 类和共刺激分子如 CD86/CD80 的高表达,以及 IL-12、IL-23、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、活性氧物质和活性氮物质如一氧化氮的高产生。M1 巨噬细胞的主要功能是杀死细胞内病原体,破坏肿瘤,促进 Th1 免疫反应。第二,由 IL-4、IL-13、IL-10、IL-33 和 IL-21 激活的 M2 巨噬细胞,以 CD163 和 CD206 的表达为特征^[14]。M2 表型的巨噬细胞通过血管内皮生长因子、转化生长因子- β 、吲哚胺 2,3-双加氧酶和程序性死亡配体 1 的表达参与组织重塑、伤口愈合、免疫调节、促进 Th2 免疫应答和肿瘤生长。在各种肿瘤中,M2 巨噬细胞的存

在与不良预后相关^[15-16]。在这项研究中,单独在肿瘤细胞中的 CXCL10 没有显示出促进 CC 的作用,但是过表达 CXCL10 的 HeLa 细胞在与巨噬细胞共培养系统中表现出促癌活性。

为了阐明 CXCL10 促进巨噬细胞 M2 极化的分子机制,本课题组研究了与 CXCL10 可能相互作用的蛋白质,并发现巨噬细胞中 STAT3 可能与 CXCL10 相互作用。乙酰化位点的突变或组蛋白脱乙酰酶活性的抑制抑制了 STAT3 的 DNA 结合和转录调节所需的二聚化,导致核 STAT3 的积累^[17]。因此,假设 CXCL10 作为 STAT3 之间的分子桥梁,从而促进 STAT3 乙酰化和转录活性。其他研究表明,STAT3 乙酰化导致 STAT3/RelA p65 相互作用,导致核定位和转录活性增加^[18]。本研究发现 CXCL10 激活 STAT3/NF- κ B 信号通路,通过促进 STAT3 乙酰化引起巨噬细胞的 M2 极化。值得注意的是,肿瘤环境有助于 M2 巨噬细胞极化,分泌包括 CCL2 在内的趋化因子^[19]。CCL2 是单核细胞最有效的趋化因子,研究发现 CCL2 调节单核细胞募集的变化以及分化的巨噬细胞在小细胞肺癌肿瘤微环境中的作用^[20]。此外,CCL2 趋化因子会吸收到癌细胞中,促进 CXCL10 的表达^[21]。这一过程可能通过维持激活肿瘤恶性能力和巨噬细胞 M2 极化的趋化因子在癌细胞和巨噬细胞中形成正反馈信号。

目前的研究表明,CXCL10 的高表达预示着 CC 的不良预后。CC 细胞中 CXCL10 上调促进 TME 中巨噬细胞 M2 极化,其机制可能与激活巨噬细胞的 STAT3/NF- κ B/CCL2 信号传导途径有关,导致 CC 细胞增殖、迁移和侵袭能力增强。这些发现阐明了 CXCL10 在体外 CC 进展中的调节机制,并表明该轴是 CC 治疗的潜在诊断和治疗靶点。然而,本研究缺少临床标本,未来的研究应收集相关病例,通过免疫组化和蛋白质印迹检测 CXCL10 在 CC 组织中的表达情况,并分析其表达与病理特征和预后的关系,进一步明确 CXCL10 在 CC 发生和发展中的作用。

参 考 文 献

- [1] 周姣月,刘 洋,周红林. 肿瘤相关巨噬细胞在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J]. 重庆医学,2021,50(5):855-859.
Zhou JY, Liu Y, Zhou HL. Research progress of tumor-associated macrophages in gynecological malignant tumors[J]. Chongqing Med, 2021,

50(5):855-859.

[2] 常建苗,王 静,刘晓娟.早期宫颈癌(I a2~ I b2)复发相关因素分析[J].现代妇产科进展,2021,30(10):787-789.

Chang JM, Wang J, Liu XJ. Analysis of factors related to the recurrence of early cervical cancer(I a2~ I b2)[J]. Prog Obstet Gynecol, 2021, 30(10):787-789.

[3] Jiang GY, Wang XQ, Zhou Y, et al. TMTP1-modified, tumor micro-environment responsive nanoparticles co-deliver cisplatin and paclitaxel prodrugs for effective cervical cancer therapy[J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16:4087-4104.

[4] Tan JH, Yang LN, Zhao H, et al. The role of NFATc1/c-myc/PKM2/IL-10 axis in activating cervical cancer tumor-associated M2 macrophage polarization to promote cervical cancer progression[J]. Exp Cell Res, 2022, 413(2):113052.

[5] Sedighzadeh SS, Khoshbin AP, Razi S, et al. A narrative review of tumor-associated macrophages in lung cancer: regulation of macrophage polarization and therapeutic implications[J]. Transl Lung Cancer Res, 2021, 10(4):1889-1916.

[6] 林 锐,温培豪,李晓丽. C-X-C 基序趋化因子 10 表达与肝癌患者预后的关系及其下调对肝癌增殖和侵袭的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(2):332-335.

Lin R, Wen PH, Li XL. Association of C-X-C motif chemokine 10 expression with the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma and the effects of C-X-C motif chemokine 10 downregulation on cell proliferation and invasion[J]. Chin J Exp Surg, 2021, 38(2):332-335.

[7] Limagne E, Nuttin L, Thibaudin M, et al. MEK inhibition overcomes chemoimmunotherapy resistance by inducing CXCL10 in cancer cells[J]. Cancer Cell, 2022, 40(2):136-152.

[8] Shang C, Sun YY, Wang YW, et al. CXCL10 conditions alveolar macrophages within the premetastatic niche to promote metastasis[J]. Cancer Lett, 2022, 537:215667.

[9] Yang MY, Li JP, Gu P, et al. The application of nanoparticles in cancer immunotherapy: targeting tumor microenvironment[J]. Bioact Mater, 2020, 6(7):1973-1987.

[10] Newman AC, Falcone M, Huerta Uribe A, et al. Immune-regulated IDO1-dependent tryptophan metabolism is source of one-carbon units for pancreatic cancer and stellate cells[J]. Mol Cell, 2021, 81(11):2290-2302.

[11] Wang SK, Pang L, Liu ZL, et al. SERPINE1 associated with remodeling of the tumor microenvironment in colon cancer progression; a novel therapeutic target[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1):767.

[12] 周 卫,曾华兴,肖才文. IL-18通过下调 CXCL9/CXCL10 募集

肿瘤相关巨噬细胞促进口腔鳞癌病灶转移[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(10):1221-1225.

Zhou W, Zeng HX, Xiao CW. IL-18 promotes metastasis of oral squamous cell carcinoma by recruiting tumor-associated macrophages and down-regulating CXCL9/CXCL10[J]. Chin J Immunol, 2021, 37(10):1221-1225.

[13] Tsutsumi E, Stricklin J, Peterson EA, et al. Cxcl10 chemokine induces migration of ING4-deficient breast cancer cells via a novel cross talk mechanism between the Cxcr3 and egfr receptors[J]. Mol Cell Biol, 2022, 42(2):e0038221.

[14] Ardighieri L, Missale F, Bugatti M, et al. Infiltration by CXCL10 secreting macrophages is associated with antitumor immunity and response to therapy in ovarian cancer subtypes[J]. Front Immunol, 2021, 12:690201.

[15] 安晓宁,魏兆楠,沈 艳,等. 耗竭巨噬细胞抑制脂多糖诱导小鼠肾脏及全身炎症损伤的作用研究[J]. 诊断学理论与实践, 2021, 20(2):195-200.

An XN, Wei ZN, Shen Y, et al. Effects of macrophages depletion on lipopolysaccharide-induced renal and extra-renal inflammatory response in mice[J]. Journal of Diagnostics Concepts & Practice, 2021, 20(2):195-200.

[16] Li X, Zhang QH, Chen G, et al. Multi-omics analysis showed the clinical value of gene signatures of C1QC⁺ and SPP1⁺ TAMs in cervical cancer[J]. Front Immunol, 2021, 12:694801.

[17] Laudisi F, Cherubini F, Monteleone G, et al. STAT3 interactors as potential therapeutic targets for cancer treatment[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6):1787.

[18] Zhai WL, Ye XJ, Wang YY, et al. CREPT/RPRD1B promotes tumorigenesis through STAT3-driven gene transcription in a p300-dependent manner[J]. Br J Cancer, 2021, 124(8):1437-1448.

[19] Miyamoto T, Murakami R, Hamanishi J, et al. B7-H3 suppresses antitumor immunity via the CCL2-CCR2-M2 macrophage axis and contributes to ovarian cancer progression[J]. Cancer Immunol Res, 2022, 10(1):56-69.

[20] Wang YF, Yu L, Hu ZL, et al. Regulation of CCL2 by EZH2 affects tumor-associated macrophages polarization and infiltration in breast cancer[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(8):748.

[21] Shono K, Yamaguchi I, Mizobuchi Y, et al. Downregulation of the CCL2/CCR2 and CXCL10/CXCR3 axes contributes to antitumor effects in a mouse model of malignant glioma[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):15286.

(责任编辑:周一青)