

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.006

· 基础研究 ·

过表达 *IL-18* 抑制人结直肠癌细胞 HCT-116 的增殖

陈亚楠^{1a}, 杨如^{1a}, 许芝山^{1a}, 吴敏娜², 路平^{1b}, 钟根深^a(新乡医学院 1a. 第一附属医院 生命科学技术研究中心; 1b. 第一附属医院 肿瘤内二科, 河南 卫辉 453100; 2. 基础医学院 微生物学教研室, 河南 新乡 453003)

[摘要] **目的:** 研究过表达 *IL-18* 基因对人结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) HCT-116 细胞体内外增殖的影响及其可能的机制。**方法:** 构建含人 *IL-18* 基因片段的载体, 采用慢病毒转染法获得稳定过表达人 *IL-18* 的 CRC HCT-116 细胞株 HCT-116/*IL-18*, CCK-8 法检测 HCT-116/*IL-18* 细胞与野生型 HCT-116 细胞的增殖, Western blotting 检测两组细胞内 *IL-18*、Cyclin D1、增殖细胞核抗原 (PCNA)、DNA 损伤修复酶 (PARP) 蛋白的表达。将 HCT-116、HCT-116/*IL-18* 细胞分别接种于裸鼠左右两侧腋下, 观察成瘤性及移植瘤的生长情况, 免疫组化法检测移植瘤组织中 *IL-18* 及 PCNA 的表达。**结果:** *IL-18* 基因在 HCT-116 细胞内过表达, 可延缓 HCT-116 的增殖 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 HCT-116 细胞相比, HCT-116/*IL-18* 细胞内 PARP 表达明显增强, PCNA、Cyclin D1 表达减弱 ($P < 0.01$)。HCT-116/*IL-18* 细胞系在裸鼠体内成瘤率明显降低, 成瘤率为 43%, 与对照组比较其移植瘤成瘤时间晚、生长慢、肿块小, 且 HCT-116/*IL-18* 异种移植瘤 PCNA 蛋白表达下调 ($P < 0.01$)。**结论:** 过表达 *IL-18* 基因对 HCT-116 细胞生长增殖具有抑制作用, 其机制可能与 *IL-18* 调控细胞周期和促进 DNA 损伤有关。

[关键词] 结直肠癌; 白介素-18; 细胞增殖; 移植瘤

[中图分类号] R735.3; R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)02-0142-06

IL-18 over-expression inhibits proliferation of human colorectal cancer HCT-116 cells

CHEN Yanan^{1a}, YANG Ru^{1a}, XU Zhishan^{1a}, WU Minna², LU Ping^{1b}, ZHONG Genshen^{1a}(1a. Research Centre of Life Science and Technology; 1b. Department Oncology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan, China; 2. Department of Microbiology, College of Basic Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of interleukin-18 over-expression on the *in vitro* and *in vivo* proliferation of human colorectal cancer (CRC) HCT-116 cells. **Methods:** A recombinant lentivirus vector containing human *IL-18* gene fragment was constructed. Then the CRC HCT-116 cell line stably expressing human *IL-18* (HCT-116/*IL-18*) was obtained by recombinant lentivirus transfection. *In vitro* proliferation of HCT-116/*IL-18* cells and wild-type HCT-116 cells was determined by CCK-8 method. The expressions of *IL-18*, Cyclin D1, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and DNA damage repair enzyme (PARP) were detected by Western blotting. HCT-116 and HCT-116/*IL-18* cells were inoculated into left and right axillas of Balb/c nude mice, respectively. Then the tumorigenicity and the growth of transplanted tumor were observed. The expressions of *IL-18* and PCNA in xenograft tissues were detected by immunohistochemistry analysis. **Results:** *IL-18* gene over-expression in HCT-116 cells could delay the proliferation of HCT-116 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). PARP expression was increased significantly and PCNA, Cyclin D1 expression were decreased in HCT-116/*IL-18* cells as compared to that of HCT-116 cells ($P < 0.01$). The tumorigenicity of HCT-116/*IL-18* cell was significantly decreased in nude mice with a tumor-formation rate of 43%; Compared with control group, HCT-116/*IL-18* cell line had a longer tumorigenesis time, slower growth and smaller tumor volume; moreover, PCNA protein expression was down-regulated in HCT-116/*IL-18* xenograft tissue-

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金资助项目 (No. 81201765); 河南省高校重点科研资助项目 (No. 15A320063, No. 16A310022); 河南省骨干青年教师培养计划 (No. 2016GGJS-105); 新乡医学院研究生科研创新支持计划资助项目 (No. YJSCX201616Y)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81201765), the Key Scientific Research Projects for Higher Education of Henan Province (No. 15A320063, No. 16A310022), the Young Backbone Teachers Training Program of Henan Province (No. 2016GGJS-105), and the Graduate Student Support of Scientific Research Innovation Projects of Xinxiang Medical University (No. YJSCX201616Y)

[作者简介] 陈亚楠 (1989-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤生物治疗的基础及临床研究, E-mail: 18339349969@163.com

[通信作者] 钟根深 (ZHONG Genshen, corresponding author), 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤生物治疗基础及临床的研究, E-mail: zhonggs@xxmu.edu.cn

sas shown by immunohistochemistry analysis ($P < 0.01$). **Conclusion:** IL-18 over-expression inhibited the growth and proliferation of HCT-116 cells both *in vitro* and *in vivo*, and the mechanism might be related with IL-18 regulating cell cycle and promoting DNA damage.

[Keywords] colorectal cancer(CRC); interleukin-18(IL-18); proliferation; transplanted tumor

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(2): 142-147. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.006]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一^[1]。IL-18属于白介素-1家族,是一种促炎细胞因子,主要由抗原提呈细胞(APC)分泌。IL-18能够诱导多种免疫细胞分泌干扰素- γ ^[2-3],刺激T淋巴细胞的增殖及增强NK细胞的细胞毒活性^[4]。已有研究^[5-6]表明,IL-18可直接激活的CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞的作用,是参与细胞免疫反应的重要细胞因子,具有良好的抗肿瘤作用。IL-18的表达对不同基因型个体肿瘤易感性^[7]、不同类型癌症的诊断^[8-9]及某些肿瘤患者的分期^[10]有着重要的作用。IL-18在多种肿瘤细胞中均有表达,如胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌和宫颈癌等,然其过表达对CRC是否有影响,目前少见有相关研究报道。本课题通过构建重组人*IL-18*基因载体,并进行慢病毒包装,利用慢病毒转染法获得过表达*IL-18*的CRC HCT-116细胞稳定株,经过体内和体外实验研究,观察过表达*IL-18*对HCT-116细胞增殖相关的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料

HCT-116细胞由本实验室保存,DH5 α 感受态细胞购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司。人*IL-18*引物序列由华大基因合成,Taq酶、T₄DNA连接酶购自TaKaRa公司,核酸限制性内切酶、胶回收试剂盒、质粒大提试剂盒及质粒小提试剂盒购自天根生化科技有限公司,TurboFect购自Thermo公司,DMEM高糖细胞培养基、胎牛血清购自HyClone公司,Cell counting kit-8(CCK-8)细胞增殖-毒性检测试剂盒购自同仁化学研究所(DOJINDO),兔抗人IL-18单抗、 β -Actin单抗购自Proteintech公司,PARP兔单抗、Cyclin D1、GAPDH鼠单抗购自碧云天生物科技公司,PCNA兔单抗、封闭山羊血清购自博士德生物工程有限公司,免疫组化通用型二抗购自上海基因科技有限公司。6~8周龄雌性裸鼠(BALB/c nu/nu,体质量18~25 g)购买于北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养于新乡医学院实验动物中心的IVC系统中,实验动物合格证号:2017-sw0122。遵照新乡医学院伦理委员会的要求下开展动物实验研究。

1.2 含人*IL-18*基因片段载体的构建

*IL-18*序列引物:正向引物:5'-CCGGAATTCATGGCTGCTGAACCAGTAGA-3'(下划线处为EcoRI酶切位点),反向引物:5'-CGCGGATCCCTAGTCTTC-

GTTTTGAACAGTG-3'(下划线处为BamHI酶切位点);通过PCR法进行*hIL-18*基因片段扩增。琼脂糖凝胶电泳对PCR产物进行检测,采用胶回收试剂盒进行PCR产物回收。37℃ 2 h后,载体质粒pLVX-IRES-ZsGreen和PCR反应胶回收产物经BamHI/EcoRI双酶切。将6 μ l双酶切好的载体质粒和1.5 μ l酶切好的插入片段,加入2.5 μ l的高效T₄DNA连接酶连接试剂中,16℃连接过夜。次日将连接产物转化感受态细胞DH5 α ,将转化的感受态细胞DH5 α 转移到Amp抗性的琼脂糖固体培养基上,室温至液体吸收,倒置平皿,37℃培养箱过夜。挑取单克隆菌株扩增,摇菌,小量抽提质粒DNA,用BamHI和EcoRI双酶切,1%琼脂糖凝胶电泳检测,同时将菌液测序分析以鉴定插入DNA片段的正确性。双酶切和测序结果均显示含有人*IL-18*基因片段的载体构建成功,命名为F2A-hIL-18-zsGreen。

1.3 含人*IL-18*基因的慢病毒载体的包装

接种293T细胞于T25细胞培养瓶中,细胞数为 3×10^6 个。次日观察细胞密度,达70%~80%时,用F2A-hIL-18-zsGreen重组慢病毒载体包装系统共转染293T细胞。重组慢病毒载体的3种质粒分别为psPAX2 2 μ g、pMD2G 2 μ g和F2A-hIL-18-zsGreen 4 μ g,分别于转染24、48和72 h后收集病毒上清,0.45 μ m滤器过滤50 ml离心管中,4℃、2 000 \times g离心10 min,取上清,-80℃冰箱保存。

1.4 慢病毒感染法构建过表达*IL-18*稳定细胞株

复苏HCT-116细胞并接种于T25细胞培养瓶,待细胞汇合度达90%~100%时传代至6孔板,每孔 5×10^5 个细胞。当细胞的汇合度达70%~80%时即用包装后的慢病毒上清进行感染。感染48 h后,荧光显微镜检测绿色荧光,通过单克隆形成法,获取2株阳性细胞,采用Western blotting验证,2株细胞IL-18蛋白表达量明显高于野生型。选取其中1株为实验组(HCT-116/IL-18组),设定野生型细胞为对照组(HCT-116组)。

1.5 CCK-8法检测转入*IL-18*基因后HCT-116细胞增殖情况

取对数生长期的2组细胞,调整细胞密度为 0.3×10^4 个/ml。96孔板中每孔加入100 μ l细胞悬液,每组细胞铺5个平行孔,共铺上述同样的5个96孔板,分别用CCK-8法检测两组细胞24、48、72、96、120 h的增殖情况,用3次重复实验所得数据绘制增殖曲线。

1.6 Western blotting检测两组细胞内IL-18、Cyclin

D1、PCNA 和 PARP 蛋白的表达

接种两组细胞于 60 mm 直径的细胞培养皿中, 每皿 1×10^6 个细胞, 48 h 后收取细胞培养液, 提取两组细胞的总蛋白, 将蛋白浓度调整一致后加入上样缓冲液, 95 °C 变性 5 min 后即可进行蛋白电泳和 Western blotting 进行蛋白表达检测。将转移蛋白的 PVDF 膜用脱脂奶粉封闭 1 h 后, 分别加入 1:1 000 IL-18、1:1 000 Cyclin D、1:1 000 PCNA、1:1 000 PARP 和 1:4 000 β -actin 或 GAPDH 一抗 4 °C 孵育过夜。次日慢摇复温, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 加入 1:6 000 稀释的辣根过氧化物酶(HRP)标记的相应种属 IgG 二抗, 室温摇床慢摇 2 h, 再次 TBST 洗涤后, 按 1:1 加入 AB 显影液(与二抗 HRP 结合), 在 AI600 显影器上显影。然后用 Image-Pro-plus 6.0 分析灰度值, 再计算灰度值比。实验重复 3 次。

1.7 裸鼠移植瘤模型的建立

取对数生长期的两组细胞, 均调整细胞数约为 1×10^7 个/ml。取 7 只雄性 BALB/c nu/nu 裸鼠, 在严格无菌操作条件下于每只裸鼠左侧腋下注射 0.2 ml HCT-116 细胞悬液, 约 2×10^6 个细胞, 右侧腋下注射相同数量的 HCT-116/IL-18 细胞, 所有裸鼠按 SPF 级要求条件下喂养。每周观察 2 次, 观察裸鼠的一般状态, 肿瘤有无出血、破溃, 于第 31 天处死。游标卡尺测量肿瘤体积。肿瘤剥离后称重, 4% 的多聚甲醛进行固定, 用于免疫组织化学分析相关蛋白的表达。

1.8 免疫组织化学方法检测裸鼠移植瘤中 IL-18、PCNA 的表达

取两组移植瘤组织标本制作石蜡切片, 厚度为 3 μ m, 65 °C 烤片, 常规脱蜡处理, 置入柠檬酸钠缓冲液微波加热 15 min 进行抗原修复; 3% H_2O_2 室温 15 min; 封闭山羊血清, 37 °C, 15 min。滴加一抗(一抗工作液浓度均为 1:100)后置入湿盒, 4 °C 冰箱过夜, 次日取出室温复温, 滴加二抗, 37 °C、30 min, DAB 显色, 图像采集。采用 ImagePro Plus6 软件分析 DAB 染色后图片的平均灰度值。

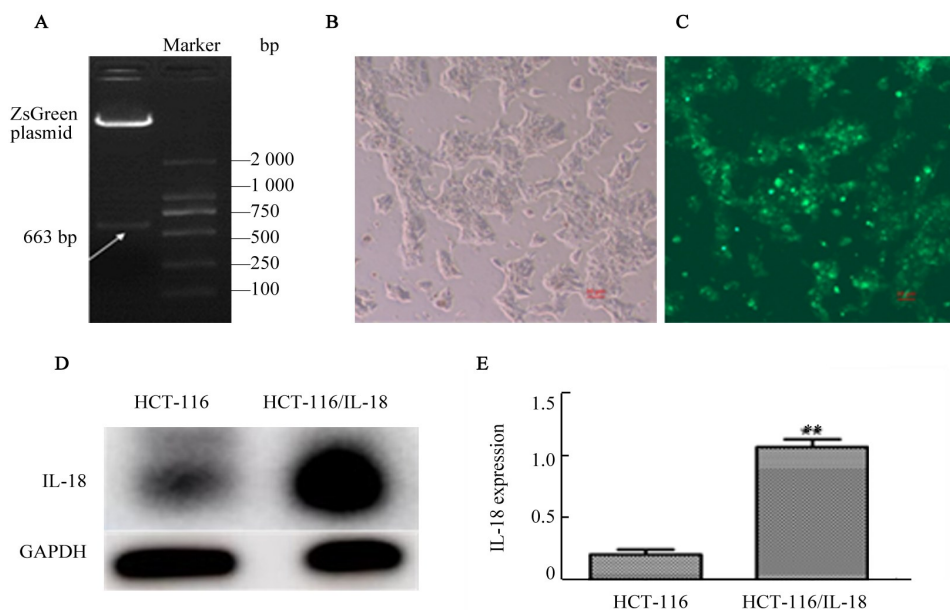
1.9 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计学软件分析, 计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建含人 IL-18 基因片段的慢病毒载体和过表达 IL-18 的稳定细胞株

含有 IL-18 基因的 pLVX-IRES-ZsGreen 载体经 BamH I /EcoR I 双酶切后, 产物经琼脂糖凝胶电泳检测在 Marker 标识的 663 bp 处有明亮的目的条带。采用荧光显微镜观察慢病毒转染结果, 感染效率 > 90%。通过梯度稀释法, 获得表达 IL-18 的 HCT-116 单克隆细胞株, 扩增培养后, Western blotting 检测 IL-18 表达显著高于野生型对照组 ($P < 0.01$, 图 1)。



** $P < 0.01$ vs HCT-116 group

A: hF2A-IL-18 ZsGreen recombinant lentiviral plasmid digested by BamH I/EcoR I; B and C: HCT-116/IL-18 cell observed under white light microscope($\times 100$) and fluorescence microscopy($\times 100$); D: Protein expression of IL-18 in HCT-116 cells and HCT-116/IL-18 cells detected by Western blotting; E: IL-18 expression in HCT-116 and HCT-116/IL-18 cells

图 1 过表达 IL-18 基因细胞株 HCT-116/IL-18 的鉴定

Fig. 1 Identification of HCT-116/IL-18 cell line that stably expressing IL-18

2.2 过表达 *IL-18* 基因延缓 HCT-116 细胞增殖

CCK-8 检测 HCT-116/*IL-18* 和 HCT-116 细胞 24、48、72、96、120 h 的增殖情况, 结果(图 2)显示, HCT-116/*IL-18* 细胞增殖水平明显低于 HCT-116 细胞对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 表明过表达 *IL-18* 可抑制 CRC HCT-116 细胞的增殖能力。

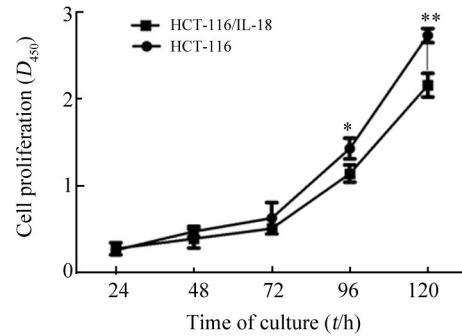
2.3 过表达 *IL-18* 上调 HCT-116 细胞 PARP 蛋白的表达和降低 Cyclin D1、PCNA 蛋白的表达

Western blotting 检测两组细胞内 *IL-18*、Cyclin D1、PCNA 和 PARP 蛋白的表达, 结果(图 3)显示, 与野生型细胞相比, HCT-116/*IL-18* 细胞 *IL-18*、PARP 蛋白表达上调 ($P < 0.01$), Cyclin D1、PCNA 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。

2.4 过表达 *IL-18* 抑制 HCT-116 细胞裸鼠体内成瘤和移植瘤的生长

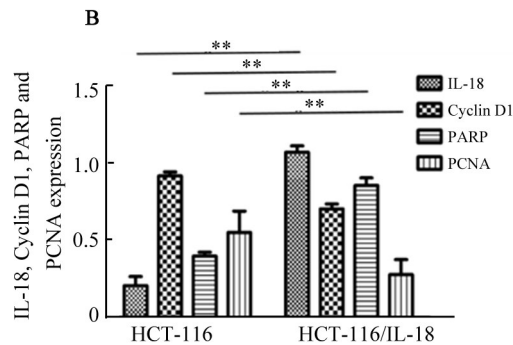
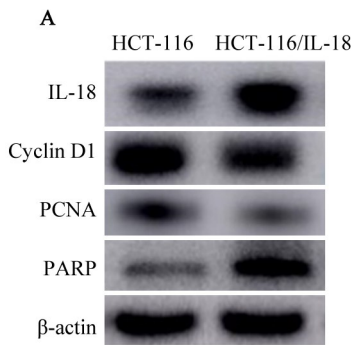
每周 2 次观察裸鼠左右两侧腋下(左侧为 HCT-116 细胞, 右侧为 HCT-116/*IL-18* 细胞)成瘤情况, 结果(表 1)显示, 与左侧腋下成瘤情况比较, 右侧腋下成瘤时间晚、生长慢、成瘤率低, 左侧腋下成瘤率为

100%, 右侧腋下成瘤率为 43%。采用游标卡尺测量移植瘤体积及裸鼠处死后剥出肿瘤并称质量(图 4)显示, HCT-116/*IL-18* 组肿瘤体质量和体积均明显小于 HCT-116 组。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs HCT-116 group

图 2 *IL-18* 过表达对 HCT-116 细胞增殖的抑制作用
Fig.2 Inhibitory effect of *IL-18* over-expression on the proliferation of HCT-116 cell

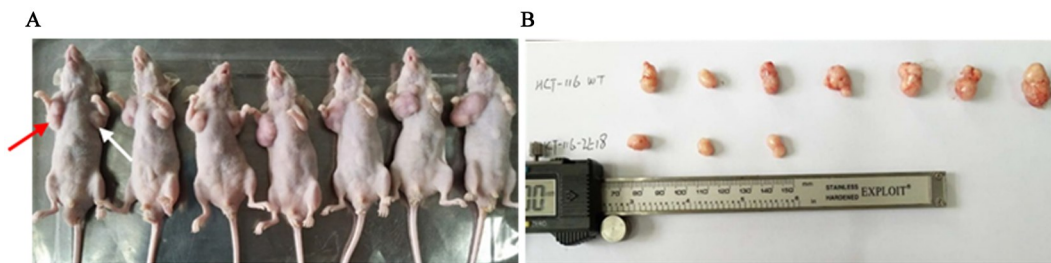


** $P < 0.01$ vs HCT-116 group

A: Protein expression of *IL-18*, Cyclin D1, PCNA and PARP in HCT-116/*IL-18* and HCT-116 cells; B: Relative expression of *IL-18*, Cyclin D1, PCNA and PARP as compared to β -actin in HCT-116/*IL-18* and HCT-116 cells

图 3 HCT-116 和 HCT-116/*IL-18* 细胞中 *IL-18*、Cyclin D1、PCNA 和 PARP 蛋白的表达

Fig.3 Protein expressions of *IL-18*, Cyclin D1, PCNA and PARP in HCT-116 and HCT-116/*IL-18* cells



A: The red arrow indicates wild-type HCT-116 cell transplanted tumor and the white arrow indicates HCT-116/*IL-18* cell transplanted tumor; B: The excised tumors from the BALB/c nude mice.

图 4 HCT-116 和 HCT-116/*IL-18* 细胞裸鼠异位移植瘤的生长情况

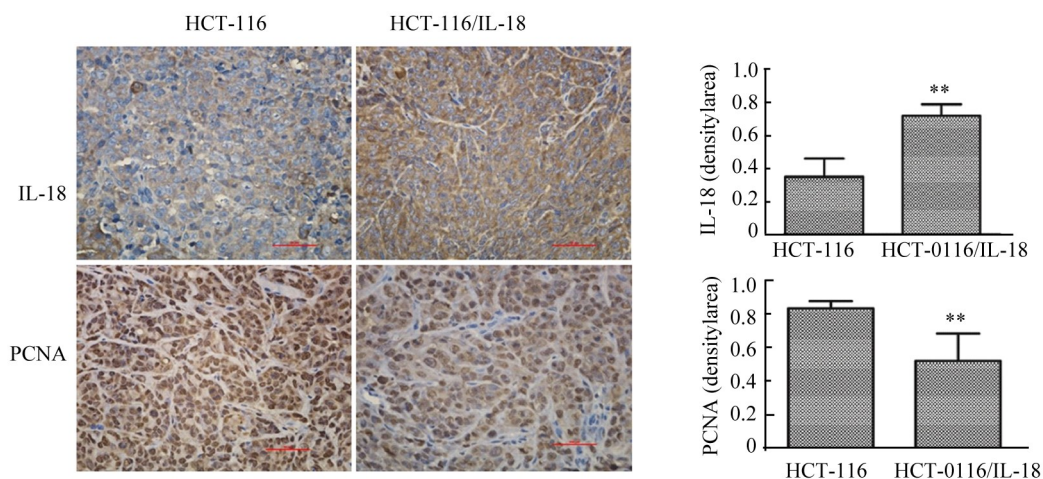
Fig.4 Growth of HCT-116 and HCT-116/*IL-18* cell xenografts in nude mice

表1 HCT-116和HCT/IL-18细胞裸鼠异位移植瘤成瘤率、体质量和体积比较(n=7)

Tab.1 Comparison of tumor formation rate, mass and volume of the HCT-116 and HCT-116/IL-18 cells transplanted tumors in BALB/c nude mice(n=7)

Group	Tumor formation rate(%)	Mass (m/g)	Volume (V/mm ³)
HCT-116	100.0	0.500±0.087	64.73±5.47
HCT-116/IL-18	43.0**	0.340±0.057**	36.69±3.29**

**P<0.01 vs HCT-116 group



*P<0.01 vs HCT-116 group

图5 移植瘤组织中IL-18和PCNA蛋白的表达(×200)

Fig. 5 Expressions of IL-18 and PCNA protein in xenograft tissues (×200)

3 讨论

转基因肿瘤细胞株的建立及其生物学活性研究是肿瘤基因治疗的重要手段。近年来,细胞因子介导的治疗已成为癌症治疗的重要研究领域,也是肿瘤个体化治疗进一步发展的重要方向。IL-18已被证明在肿瘤的发生和发展过程中发挥重要作用。本研究主要探讨IL-18基因在CRCHCT-116细胞中过表达对该肿瘤细胞生长增殖的影响。快速增殖及凋亡受抑制是肿瘤细胞生长的重要特征,本研究发现,过表达IL-18可以抑制HCT-116细胞的生长增殖及在裸鼠体内的成瘤性。同时,Western blotting检测结果显示,IL-18在HCT-116细胞内过表达可以明显下调CyclinD1的表达。Cyclin D1是调控细胞周期G1期的关键蛋白,主要功能是促进细胞增殖。本研究结果表明,IL-18可能是通过抑制Cyclin D1的表达来抑制细胞增殖的,然而其具体的作用机制并不清楚。有研究^[10]报道,miR-338-3p能够靶向调控Cyclin D1的表达,主要通过过表达miR-338-3p从而抑制了Cyclin D1的表达。鉴于miRNA在调控细胞周期、肿瘤发生发展等方面的重要意义,笔者推测IL-18抑制CRC细胞的增殖可能与其影响miRNA的表达有关。

2.5 IL-18基因过表达能减少PCNA的表达

免疫组织化学检测结果(图5)显示,在裸鼠移植瘤组织中,HCT-116/IL-18组IL-18蛋白表达量明显多于HCT-116组(P<0.01),说明IL-18在肿瘤组织过表达;而相应的PCNA蛋白表达却显著下调(P<0.01)。IL-18表达主要定位于细胞间隙,PCNA的表达定位于细胞核。

PCNA主要存在于细胞核中,G0和G1早期没有明显表达,G1晚期迅速增加,S期达到高峰,G2-M期明显下降^[12]。本研究发现在转入IL-18基因后,HCT-116细胞内PCNA表达减少,说明IL-18的表达能够影响PCNA在肿瘤细胞中的表达,且呈负相关。IL-18通过抑制PCNA的表达,从而抑制细胞增殖启动,控制肿瘤细胞增殖。Xu等^[13]报道,在食管鳞状细胞癌细胞中,下调HuR不仅可以显著抑制其增殖,而且能显著上调IL-18的表达,且其表达与IL-18呈负相关。同时该研究也证实外源性IL-18明显抑制食管鳞状细胞癌细胞的转移,且IL-18的3'-UTR存在HuR的结合位点,因此,IL-18抑制HCT-116的增殖也可能与HuR的调控有关。为了进一步揭示过表达IL-18对细胞凋亡的影响,笔者检测了两组细胞内PARP的表达。PARP是一种主要位于真核细胞核内的DNA功能修复酶,其激活主要依赖于DNA受损、断裂,PARP的激活程度与DNA损伤程度成正相关。本研究结果显示,在稳定过表达IL-18基因的HCT-116细胞中PARP的表达显著上调,这也就间接表明转入IL-18后,可能诱导了HCT-116细胞的DNA损伤,进而引起了PARP的表达增强。因此表明IL-18基因可能参与HCT-116细胞的凋亡,并发挥重要的推动细胞凋亡进程的作用。

有研究^[15]发现,将 *IL-18* 基因直接转入乳腺癌细胞中可以降低其肿瘤原性,抑制肿瘤细胞增殖,但其抗肿瘤作用机制具体尚不明确。*IL-18* 基因能够通过 p38 MAPK/JNK 信号通路促进机体的氧化应激反应,从而诱导人肾肿瘤细胞 DNA 错配修复基因 hMSH2 的异位表达,促进 T 细胞介导的肾肿瘤细胞裂解^[16]。综上所述,*IL-18* 基因可以通过不同作用机制来发挥其重要的抗肿瘤作用。然而,对于 *IL-18* 在不同类型的肿瘤细胞中所发挥的确切作用一直是存在争议的。最新研究^[17-20]结果显示,在三阴性乳腺癌患者中血清肿瘤源性 *IL-18* 的表达和患者的不良预后有重要的关系,在三阴性乳腺癌患者体内,肿瘤源性 *IL-18* 能够诱导外周血免疫抑制 CD56^{dim}CD16^{dim}/NK 细胞比例增加,并且诱导此类细胞 PD-1 的表达,降低三阴性乳腺癌患者的生存率。因此可见,*IL-18* 对于不同类型的肿瘤细胞所发挥的作用可能是截然不同的,这就需要针对不同肿瘤细胞类别逐一去验证 *IL-18* 在不同类型的肿瘤细胞系中所发挥的具体作用。

总之,本课题组通过体外及裸鼠体内研究表明,CRC HCT-116 细胞过表达 *IL-18* 能够抑制其细胞增殖,降低其在裸鼠体内的成瘤率和生长速度,其可能的作用机制主要是通过调控肿瘤细胞周期和促进 DNA 损伤来抑制肿瘤生长增殖的。同时,研究结果也说明 *IL-18* 是抑制 CRC HCT-116 细胞增殖的一种重要的细胞因子,为 CRC 的基因治疗以及个体化治疗提供了实验依据。随着对 *IL-18* 抗肿瘤作用研究的进一步深入,*IL-18* 基因可能会成为治疗 CRC 的一个新靶点。

[参 考 文 献]

- ZAKI M H, VOGEL P, BODY-MALAPEL M, et al. IL-18 production downstream of the Nlrp3 inflammasome confers protection against colorectal tumor formation[J]. J Immunol, 2010, 185 (8): 4912-4920. DOI: 10.4049/jimmunol.1002046.
- OKAMURA H, TSUTSI H, KOMATSU T, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells[J]. Nature, 1995, 378(6552): 88-91. DOI: 10.1038/378088a0.
- DAO T, OHASHI K, KAYANO T, et al. Interferon-gamma-inducing factor, a novel cytokine, enhances Fas ligand-mediated cytotoxicity of murine T helper 1 cells[J]. Cell Immunol, 1996, 173 (2): 230-235. DOI:10.1006/cimm.1996.0272.
- TSUTSUI H, NAKANISHI K, MATSUI K, et al. IFN-gamma-inducing factor up-regulates Fas ligand-mediated cytotoxic activity of murine natural killer cell clones[J]. J Immunol, 1996, 157(9):3967-3973.
- AKEDA T, YAMANAKA K, TSUDA K, et al. CD8⁺ T cell granzyme B activates keratinocyte endogenous IL-18[J]. Arch Dermatol Res, 2014, 306(2):125-130. DOI: 10.1007/s00403-013-1382-1.
- YOSHIMURA K, HAZAMA S, IIZUKA N, et al. Successful immunogene therapy using colon cancer cells (colon 26) transfected with plasmid vector containing mature interleukin-18 cDNA and the Ig-kappa leader sequence[J]. Cancer Gene Ther, 2001, 8 (1): 9-16. DOI: 10.1038/sj.cgt.7700277.
- 元涛, 王前, 郑磊, 等. IL-18 基因启动子单核苷酸多态性及血清水平与宫颈癌相关性[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(5): 754-757. DOI:10.3321/j.issn:1673-4254.2008.05.043.
- TAS F, TILGENYASASEVER C, KARABULUT S, et al. Clinical significance of serum interleukin-18 (IL-18) levels in patients with gastric cancer[J/OL]. Biomed Pharmacother, 2015, 70: 19-23[2017-11-14]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322\(15\)00007-4](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322(15)00007-4). DOI: 10.1016/j.biopha.2014.12.040.
- LE PAGE C, OUELLET V, MADORE J, et al. From gene profiling to diagnostic markers: IL-18 and FGF-2 complement CA125 as serum-based markers in epithelial ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2006, 118(11): 1750-1758. DOI: 10.1002/ijc.21521.
- NAUMNIK W, CHYCZEWSKA E, KOVALCHUK O, et al. Serum levels of interleukin-18 (IL-18) and soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) in lung cancer[J]. Rocznik Akad Med Bialymst, 2004, 49:246-251[2017-11-12]. <http://qy3ng8dx8g.search.serialssolutions.com/PubMed/15631351>.
- 符小玉. miR-338-3p 靶向调控 CyclinD1 介导在 HBx 致肝癌恶性转化中的作用及其机制探讨[D]. 中南大学, 2012: 123-129.
- 秦周帅, 张传林, 萧伟. 受 PCNA 翻译后修饰调控的 DNA 损伤耐受机制[J]. 生命科学, 2014, 26(11): 1143-1156. DOI: 10.13376/j.cbls/2014163.
- 许扬梅, 刘巧珍, 刘沁颖, 等. 流式细胞术检测结直肠癌根治术前后循环肿瘤细胞和循环肿瘤干细胞及其临床预测价值[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(4): 35-36. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.004.
- XU X, SONG C, CHEN Z, et al. Downregulation of HuR inhibits the progression of esophageal cancer through interleukin-18[J/OL]. Cancer Res Treat, 2017, 24[2017-11-12]. <https://www.e-crt.org/journal/view.php?doi=10.4143/crt.2017.013>. DOI:10.4143/crt.2017.013.
- LIU X, HU J, SUN S, et al. Mesenchymal stem cells expressing interleukin-18 suppress breast cancer cells in vitro[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(4): 1192-1200. DOI: 10.3892/etm.2015.2286.
- 韩明勇, 刘奇, 唐步坚, 等. IL-18 基因转导乳腺癌细胞肿瘤原性的改变及抗肿瘤作用的研究[J]. 山东大学学报(医学版), 2007, 45(7): 714-717. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7554.2007.07.018.
- 沈文彬, 智佳俊, 姜宏华, 等. 泛素特异性蛋白酶 53 在结直肠癌中的表达及其对 HCT116 细胞的抑制作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(4): 423-428. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.015.
- MO C, DAI Y, KANG N, et al. Ectopic expression of human MutS homologue 2 on renal carcinoma cells is induced by oxidative stress with interleukin-18 promotion via p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) and c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathways[J]. J Biol Chem, 2012, 287(23): 19242-19254. DOI: 10.1074/jbc.M112.349936.
- 陈文彬, 钟文洲. GPX1 在结直肠癌组织中的表达及其对癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(9): 995-1001. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.09.012.
- PARK I H, YANG H N, LEE K J, et al. Tumor-derived IL-18 induces PD-1 expression on immunosuppressive NK cells in triple-negative breast cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(20): 32722-32730. DOI: 10.18632/oncotarget.16281.

[收稿日期] 2017-09-13

[修回日期] 2017-12-11

[本文编辑] 王映红