

- 价[D].福州:福建医科大学,2016.
- [12] LIU Q, GAO LL, DAI YL, et al. Nitrous oxide/oxygen mixture for analgesia in adult cancer patients with breakthrough pain: A randomized, double-blind controlled trial [J]. Eur J Pain, 2018, 22(3):492-500.
- [13] 李玉香,唐洪泰,周万芳,等.稀释氧化亚氮吸入在烧伤患者创面换药中及换药后的镇痛镇静研究[J].中华烧伤杂志,2013,29(6):537-540.
- [14] 潘明园.氧化亚氮临床应用现状及发展[J].重庆医学,2017,46(35):5025-5028.
- [15] 王海霞,李玉香,周茹珍,等.50%笑气/氧气吸入在烧伤儿童换药镇痛中的应用[J].中华现代护理杂志,2015,21(11):1267-1269.
- [16] 王颖,马军,李志清,等.氧化亚氮吸入麻醉在烧伤患者日常创面处理中的安全性观察[J].中华烧伤杂志,2013,29(4):387-389.
- (收稿日期:2019-07-11,修回日期:2019-09-25)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.011

◇临床医学◇

白细胞介素 22 对结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化的影响及作用机制

江旭林,范星,汤俊,陈校力,严伟,罗庆伟,李志红

作者单位:鄂州市中心医院胃肠外科,湖北 鄂州 436000

通信作者:李志红,男,主任医师,研究方向为胃肠肿瘤外科手术治疗及作用机制研究,E-mail:2475568754@qq.com

基金项目:国家自然科学基金项目(81372323)

摘要:目的 探讨白细胞介素 22(IL-22)对结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化(EMT)的影响以及作用机制。方法 收集鄂州市中心医院 2017 年 1 月至 2019 年 1 月接收的经病理诊断为结肠癌的病人 67 例,经手术获取结肠癌组织和正常癌旁组织,免疫组织化学染色检测其中的 IL-22 表达情况;用浓度分别为 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 的重组人 IL-22 处理结肠癌 SW480 细胞,以未经任何处理的 SW480 细胞作为对照组;40 $\mu\text{g/L}$ 的重组人 IL-22 处理 SW480 细胞后再用磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)通路抑制剂 LY294002 处理作为 IL-22+LY294002 组。蛋白质印迹法(Western Blot)检测各组细胞蛋白表达;四甲基偶氮唑盐比色法(MTT)检测细胞增殖率;Transwell 检测细胞侵袭和迁移。结果 相较于癌旁组织,结肠癌组织中 IL-22 阳性细胞表达率升高[(76.12 $\pm$ 8.47)%比(28.35 $\pm$ 4.21)%, $t=41.340$, $P<0.001$];相较于对照组,三个不同浓度 IL-22 处理组结肠癌 SW480 细胞增殖率升高[(36.72 $\pm$ 5.47)%、(115.67 $\pm$ 10.48)%、(166.42 $\pm$ 11.81)%比(0.00 $\pm$ 2.06)%, $F=720.225$, $P<0.001$],Ki67 蛋白表达水平升高[(0.77 $\pm$ 0.08)、(0.84 $\pm$ 0.11)、(0.98 $\pm$ 0.12)比(0.42 $\pm$ 0.05), $F=57.720$, $P<0.001$];迁移细胞数升高[(123.79 $\pm$ 8.64)个、(163.79 $\pm$ 11.85)个、(223.79 $\pm$ 15.72)个比(80.96 $\pm$ 6.53)个, $F=263.230$, $P<0.001$],侵袭细胞数升高[(94.65 $\pm$ 11.13)个、(134.71 $\pm$ 9.54)个、(154.27 $\pm$ 12.78)个比(57.35 $\pm$ 7.83)个, $F=152.287$, $P<0.001$],MMP-2 蛋白表达水平升高[(0.71 $\pm$ 0.06)、(0.94 $\pm$ 0.07)、(1.25 $\pm$ 0.08)比(0.46 $\pm$ 0.03), $F=257.772$, $P<0.001$];磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)蛋白表达水平升高[(0.42 $\pm$ 0.05)、(0.58 $\pm$ 0.06)、(0.66 $\pm$ 0.08)比(0.28 $\pm$ 0.03), $F=76.925$, $P<0.001$];总 AKT(total-AKT)蛋白表达水平升高[(0.63 $\pm$ 0.04)、(0.68 $\pm$ 0.06)、(0.72 $\pm$ 0.05)比(0.56 $\pm$ 0.05), $F=16.794$, $P<0.001$];E-cadherin 表达水平降低[(0.31 $\pm$ 0.04)、(0.19 $\pm$ 0.03)、(0.15 $\pm$ 0.04)比(0.42 $\pm$ 0.05), $F=81.591$, $P<0.001$],Vimentin 表达水平升高[(0.45 $\pm$ 0.05)、(0.61 $\pm$ 0.05)、(0.77 $\pm$ 0.08)比(0.39 $\pm$ 0.03), $F=85.366$, $P<0.001$],N-cadherin 表达水平升高[(0.51 $\pm$ 0.06)、(0.58 $\pm$ 0.07)、(0.71 $\pm$ 0.08)比(0.45 $\pm$ 0.03), $F=28.462$, $P<0.001$]。与 IL-22 组相比,IL-22+LY294002 组结肠癌 SW480 细胞中细胞增殖率降低[(141.69 $\pm$ 13.58)%比(216.64 $\pm$ 17.36)%, $P<0.001$],Ki67 蛋白表达水平降低[(0.68 $\pm$ 0.07)比(0.94 $\pm$ 0.09), $P<0.001$];迁移细胞数降低[(147.64 $\pm$ 12.52)个比(246.19 $\pm$ 18.56)个, $P<0.001$];侵袭细胞数降低[(97.45 $\pm$ 11.68)个比(148.46 $\pm$ 13.48)个, $P<0.001$];MMP-2 蛋白表达水平降低[(0.74 $\pm$ 0.08)比(1.13 $\pm$ 0.11), $P<0.001$];E-cadherin 表达水平升高[(0.33 $\pm$ 0.04)比(0.19 $\pm$ 0.03), $P<0.001$];Vimentin 表达水平降低[(0.54 $\pm$ 0.08)比(0.75 $\pm$ 0.08), $P<0.001$];N-cadherin 表达水平降低[(0.55 $\pm$ 0.06)比(0.68 $\pm$ 0.07), $P<0.001$]。结论 IL-22 可促进结肠癌 SW480 细胞的增殖、迁移、侵袭和 EMT,其机制可能与 PI3K/AKT 通路有关。

关键词:结肠肿瘤; 白细胞介素 22; 蛋白激酶 B; 增殖; 迁移; 侵袭

Effect and mechanism of IL-22 on the proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of colon cancer cells

JIANG Xulin, FAN Xing, TANG Jun, CHEN Xiaoli, YAN Wei, LUO Qingwei, LI Zhihong

Author Affiliation: Department of Gastrointestinal Surgery, Ezhou Central Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of interleukin 22 (IL-22) on the proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of colon cancer cells and its mechanism. **Methods** The colon cancer tissues and adjacent tissues were collected, and the expressions of IL-22 in colon cancer tissues and paracancerous tissues were detected by immunohistochemical staining. SW480 cells were treated with recombinant human IL-22 at the concentrations of 10 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$, and 40 $\mu\text{g/L}$, respectively, with SW480 cells without any treatment as a control group. SW480 cells treated with 40 $\mu\text{g/L}$ recombinant human IL-22 were then treated with the phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/protein kinase B(AKT) pathway inhibitor LY294002, as the IL-22+LY294002 group. Western Blot was used to detect protein expression. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) was used to detect cell proliferation rate and Transwell was used to detect cell invasion and migration. **Results** Compared with adjacent tissues, the expression rate of IL-22 positive cells in colon cancer tissues was increased [(76.12 $\pm$ 8.47)% vs. (28.35 $\pm$ 4.21)%, $t=41.340$, $P<0.001$]. In the three different IL-22 treatment groups, compared with the control group, the proliferation rates of colon cancer SW480 cells were increased [(36.72 $\pm$ 5.47)%, (115.67 $\pm$ 10.48)%, (166.42 $\pm$ 11.81)% vs. (0.00 $\pm$ 2.06)%, $F=720.225$, $P<0.001$], the expression of Ki67 protein was increased [(0.77 $\pm$ 0.08), (0.84 $\pm$ 0.11), (0.98 $\pm$ 0.12) vs. (0.42 $\pm$ 0.05), $F=57.720$, $P<0.001$]; the number of migrating cells was increased [(123.79 $\pm$ 8.64), (163.79 $\pm$ 11.85), (223.79 $\pm$ 15.72) vs. (80.96 $\pm$ 6.53), $F=263.230$, $P<0.001$], the number of invading cells was increased [(94.65 $\pm$ 11.13), (134.71 $\pm$ 9.54), (154.27 $\pm$ 12.78) vs. (57.35 $\pm$ 7.83), $F=152.287$, $P<0.001$]; the expression level of MMP-2 protein was increased [(0.71 $\pm$ 0.06), (0.94 $\pm$ 0.07), (1.25 $\pm$ 0.08) vs. (0.46 $\pm$ 0.03), $F=257.772$, $P<0.001$]; the expression level of phosphorylated protein kinase B (p-AKT) protein was increased [(0.42 $\pm$ 0.05), (0.58 $\pm$ 0.06), (0.66 $\pm$ 0.08) vs. (0.28 $\pm$ 0.03), $F=76.925$, $P<0.001$]; the expression of total AKT protein was increased [(0.63 $\pm$ 0.04), (0.68 $\pm$ 0.06), (0.72 $\pm$ 0.05) vs. (0.56 $\pm$ 0.05), $F=16.794$, $P<0.001$]; E-cadherin expression was decreased [(0.31 $\pm$ 0.04), (0.19 $\pm$ 0.03), (0.15 $\pm$ 0.04) vs. (0.42 $\pm$ 0.05), $F=81.591$, $P<0.001$], the expression of Vimentin was increased [(0.45 $\pm$ 0.05), (0.61 $\pm$ 0.05), (0.77 $\pm$ 0.08) vs. (0.39 $\pm$ 0.03), $F=85.366$, $P<0.001$], and N-cadherin expression was increased [(0.51 $\pm$ 0.06), (0.58 $\pm$ 0.07), (0.71 $\pm$ 0.08) vs. (0.45 $\pm$ 0.03), $F=28.462$, $P<0.001$]. Compared with the IL-22 group, the cell proliferation rate of colon cancer SW480 cells in the IL-22+LY294002 group was reduced [(141.69 $\pm$ 13.58)% vs. (216.64 $\pm$ 17.36)%, $P<0.001$]; the number of migrating cells was decreased [(147.64 $\pm$ 12.52) vs. (246.19 $\pm$ 18.56), $P<0.001$]; the number of invasive cells was decreased [(97.45 $\pm$ 11.68) vs. (148.46 $\pm$ 13.48), $P<0.001$]; MMP-2 protein expression was decreased [(0.74 $\pm$ 0.08) vs. (1.13 $\pm$ 0.11), $P<0.001$]; E-cadherin expression was increased [(0.33 $\pm$ 0.04) vs. (0.19 $\pm$ 0.03), $P<0.001$]; Vimentin expression was decreased [(0.54 $\pm$ 0.08) vs. (0.75 $\pm$ 0.08), $P<0.001$]; N-cadherin expression was decreased [(0.55 $\pm$ 0.06) vs. (0.68 $\pm$ 0.07), $P<0.001$]. **Conclusion** IL-22 can promote the proliferation, migration, invasion and EMT of SW480 cells, and its mechanism may be related to PI3K/AKT pathway.

Key words: Colonic neoplasms; Interleukin 22; Protein kinase B; Proliferation; Migration; Invasion

近年来,结直肠癌发病率呈逐渐增高、年轻化趋势。肝转移是其治疗难点及死亡的主要原因之一,减少转移的发生,有利于提高病人的生活质量和生存率^[1-2]。免疫治疗是结直肠癌的一种治疗方式,其主要是通过调节人免疫细胞来抑制或杀伤肿瘤细胞防止其复发和转移,加快机体恢复^[3]。白细胞介素 22(interleukin 22, IL-22)是由 Th1、Th17、Th22 等多种免疫细胞分泌的细胞因子,研究表明 IL-22 在结肠癌组织及血清中呈现高表达,其介导的相关通路及与结肠癌进展相关^[4]。还有研究发现具核梭杆菌可以增高 IL-22 的表达,它们可协同促进结直肠癌的进展^[5]。有研究报道磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)参与调控结直肠癌的进展, Toll 样受体 2(TLR2)通过 PI3K/AKT 通路促进结肠癌的迁移、侵袭^[6]。五味子乙素通过抑制 PI3K/AKT 信号通路抑制大肠癌细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡^[7]。然而 IL-22 对结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化(EMT)的影响及其机制尚不清楚,本实验旨在研究 IL-22 是否通过 PI3K/AKT 信号通路影响结肠癌的进展,为结直肠癌的免疫治

疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和组织来源 结肠癌 SW480 细胞购于中国科学院上海细胞库。结肠癌组织和正常癌旁组织:收集鄂州市中心医院 2017 年 1 月至 2019 年 1 月接收的经病理诊断为结肠癌的病人 67 例,经手术获取结肠癌组织和正常癌旁组织,组织标本切除后经 10% 甲醛固定,石蜡包埋。所有病人术前均未接受放化疗,均知情且同意。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.1.2 主要试剂 RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司,货号 23400-021);重组人 IL-22(南京赛泓瑞生物科技有限公司,货号 SHR-328);四甲基偶氮唑盐比色法(MTT)试剂盒(美国 ScienCell 公司,货号 8028);BCA 试剂盒(上海吉至生化科技有限公司,货号 PC0020);蛋白提取试剂盒(货号 P0033)与 SDS-PAGE 试剂盒(货号 P0690)均购于碧云天生物技术研究;Transwell 小室(货号 354480)与 Matrigel(货号 354234)均购于美国 BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组 结肠癌 SW480 细胞用 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养;用浓度分别为 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 的重组人 IL-22 处理 SW480 细胞,以未经任何处理的 SW480 细胞作为对照组;40 $\mu\text{g/L}$ 的重组人 IL-22 处理 SW480 细胞后再用 PI3K/AKT 通路抑制剂 LY294002 处理作为 IL-22+LY294002 组。

1.2.2 免疫组织化学染色检测 取正常癌旁组织、结肠癌组织石蜡切片分别进行脱蜡水化、抗原修复,灭活过氧化物酶,然后用磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤;胎牛血清封闭,加入兔抗人 IL-22 一抗孵育 2 h,加入山羊抗兔二抗孵育 30 min;3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐(DAB)染色,苏木素复染,脱水,透明、封片,荧光显微镜观察拍照。IL-22 阳性表达判定以细胞膜呈棕黄色和棕褐色、细胞质呈红色为准。在光学显微镜下计算阳性细胞数占总细胞数的百分比。

1.2.3 蛋白质印迹法(Western Blot)检测蛋白表达 提取各组细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒定量后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF膜)上,经过脱脂牛奶封闭后加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,后加入二抗室温孵育 2 h;暗室中曝光显影,定影;用 Quantity One 凝胶软件检测蛋白条带吸光度(OD),以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参计算目的蛋白表达水平。

1.2.4 MTT 法测定细胞增殖率 取各组培养 48 h 的细胞,按 MTT 试剂盒说明操作,在酶标仪测定 490 nm 处 OD 值。细胞增殖率(%) = $\text{OD}_{\text{实验组}} / \text{OD}_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.2.5 Transwell 检测细胞迁移和侵袭 细胞迁移实验各组细胞无血清培养后接种于 Transwell 小室上室(3×10^3 个/孔),下室加入含血清培养基,培养 24 h 后进行固定、染色,显微镜下拍照并计算迁移细胞数量。细胞侵袭实验:用 Matrigel 包被 Transwell 小室上室,之后同细胞迁移操作。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.00 进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较进行两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD- t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织中 IL-22 的表达 与正常癌旁组织 IL-22 阳性细胞表达率($28.35 \pm 4.21\%$)相比,结肠癌组织中 IL-22 阳性细胞表达率($76.12 \pm 8.47\%$)呈高表达($t = 41.340, P < 0.001$)。

2.2 不同浓度 IL-22 对结肠癌 SW480 细胞增殖的

影响 与对照组相比,不同浓度 IL-22 组结肠癌 SW480 细胞中细胞增殖核抗原 Ki67 表达水平升高,细胞增殖率升高($P < 0.05$)(图 1、表 1)。可见,IL-22 促进结肠癌 SW480 细胞增殖。

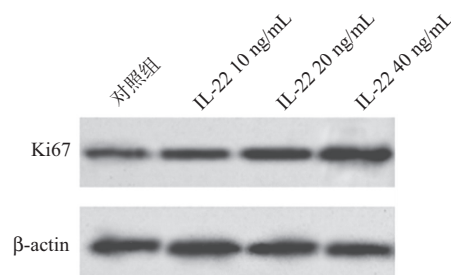


图1 不同浓度白细胞介素22(IL-22)对结肠癌SW480细胞增殖核抗原Ki67蛋白表达的影响

表1 不同浓度白细胞介素22(IL-22)对结肠癌SW480细胞增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	细胞增殖率/%	Ki67
对照组	9	0.00 ± 2.06	0.42 ± 0.05
10 $\mu\text{g/L}$ IL-22 组	9	36.72 ± 5.47^a	0.77 ± 0.08^a
20 $\mu\text{g/L}$ IL-22 组	9	115.67 ± 10.48^a	0.84 ± 0.11^a
40 $\mu\text{g/L}$ IL-22 组	9	166.42 ± 11.81^a	0.98 ± 0.12^a
F 值		720.225	57.720
P 值		< 0.001	< 0.001

注:Ki67 属细胞增殖核抗原。与对照组比较, $^a P < 0.05$

2.3 IL-22 对结肠癌 SW480 细胞迁移、侵袭的影响 与对照组相比,10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 三种不同浓度 IL-22 处理的结肠癌 SW480 细胞中 MMP-2 表达水平升高,细胞迁移和侵袭数升高($P < 0.05$)(图 2、表 2)。可见,IL-22 促进结肠癌 SW480 细胞迁移和侵袭。

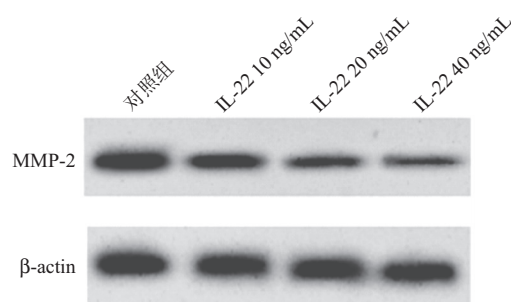


图2 白细胞介素22(IL-22)对各组结肠癌SW480细胞基质金属蛋白酶2(MMP-2)蛋白表达的影响

2.4 IL-22 对结肠癌 SW480 细胞 EMT 的影响 与对照组相比,不同浓度 IL-22 组结肠癌 SW480 细胞中 E-cadherin 表达水平降低,Vimentin、N-cadherin 表达水平升高($P < 0.05$)(图 3、表 3)。可见,IL-22 促进结肠癌 SW480 细胞 EMT。

2.5 IL-22 对结肠癌 SW480 细胞 PI3K/AKT 通路的影响 与对照组相比,不同浓度 IL-22 组结肠癌 SW480 细胞中 p-AKT、total-AKT 表达水平升高($P <$

表2 白细胞介素22(IL-22)对结肠癌SW480细胞迁移、侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	MMP-2
对照组	9	80.96±6.53	57.35±7.83	0.46±0.03
10 μ g/L IL-22 组	9	123.79±8.64 ^a	94.65±11.13 ^a	0.71±0.06 ^a
20 μ g/L IL-22 组	9	163.79±11.85 ^a	134.71±9.54 ^a	0.94±0.07 ^a
40 μ g/L IL-22 组	9	223.79±15.72 ^a	154.27±12.78 ^a	1.25±0.08 ^a
F 值		263.230	152.287	257.772
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:MMP-2为基质金属蛋白酶2。与对照组比较,^a $P < 0.05$

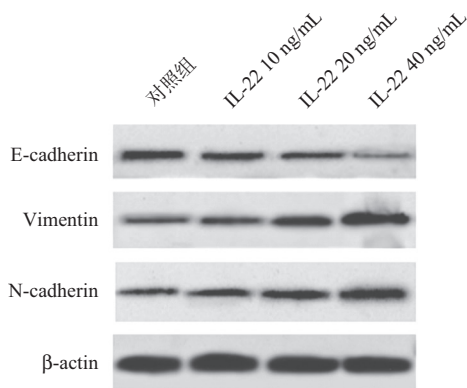


图3 各组结肠癌SW480细胞上皮钙黏附蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、神经钙黏附蛋白(N-cadherin)的表达

表3 白细胞介素22(IL-22)对上皮钙黏附蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、神经钙黏附蛋白(N-cadherin)表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	E-cadherin	Vimentin	N-cadherin
对照组	9	0.42±0.05	0.39±0.03	0.45±0.03
10 μ g/L IL-22 组	9	0.31±0.04 ^a	0.45±0.05 ^a	0.51±0.06 ^a
20 μ g/L IL-22 组	9	0.19±0.03 ^a	0.61±0.05 ^a	0.58±0.07 ^a
40 μ g/L IL-22 组	9	0.15±0.04 ^a	0.77±0.08 ^a	0.71±0.08 ^a
F 值		81.591	85.366	28.462
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

0.05)(图4、表4)。可见,IL-22可激活结肠癌SW480细胞PI3K/AKT信号通路。

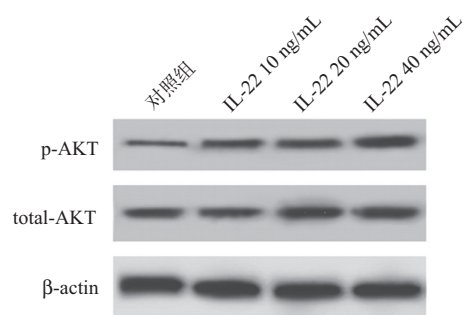


图4 各组结肠癌SW480细胞磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)和总蛋白激酶B(total-AKT)蛋白表达

2.6 LY294002 逆转 IL-22 (40 μ g/L) 对结肠癌SW480细胞迁移、侵袭的影响 与对照组相比,IL-22组结肠癌SW480细胞中Ki67、MMP-2、Vimentin、

N-cadherin 表达水平升高,E-cadherin 表达水平降低,细胞增殖率和迁移、侵袭细胞数升高($P < 0.05$);与IL-22组相比,IL-22+LY294002组结肠癌SW480细胞中Ki67、MMP-2、Vimentin、N-cadherin表达水平降低,E-cadherin表达水平升高,细胞增殖率和迁移、侵袭细胞数降低($P < 0.05$)(图5、表5)。

表4 白细胞介素22(IL-22)对结肠癌SW480细胞磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)通路蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	p-AKT蛋白	total-AKT蛋白
对照组	9	0.28±0.03	0.56±0.05
10 μ g/L IL-22 组	9	0.42±0.05 ^a	0.63±0.04 ^a
20 μ g/L IL-22 组	9	0.58±0.06 ^a	0.68±0.06 ^a
40 μ g/L IL-22 组	9	0.66±0.08 ^a	0.72±0.05 ^a
F 值		76.925	16.794
P 值		<0.001	<0.001

注:p-AKT为磷酸化蛋白激酶B,total-AKT为总蛋白激酶B。与对照组比较,^a $P < 0.05$

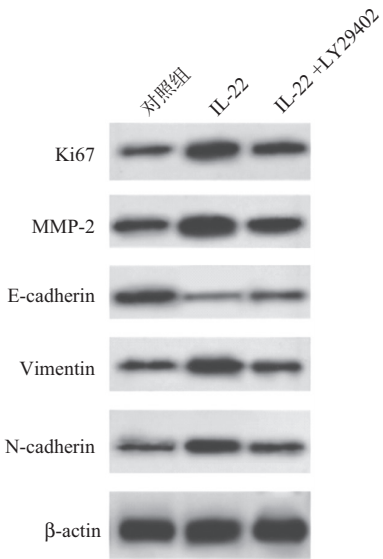


图5 各组结肠癌SW480细胞细胞增殖核抗原Ki67、基质金属蛋白酶2(MMP-2)、上皮钙黏附蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、神经钙黏附蛋白(N-cadherin)的表达

3 讨论

免疫治疗能延缓结肠癌术后肿瘤的复发和转移,可有效提高病人的免疫功能,是结肠癌新的辅助治疗手段^[8]。IL-22是近年来新发现的细胞因子,在恶性肿瘤中发挥重要作用,研究发现Th22细胞通过释放IL-22活化宫颈癌细胞内AKT通路促使其增殖^[9]。IL-22可通过促进神经胶质瘤细胞的增殖而促进小鼠神经胶质瘤的进展^[10]。IL-22还能促进乳头状甲状腺癌细胞的迁移和侵袭^[11]。IL-22通过靶向人类结肠癌细胞中的己糖激酶-2来促进与肿瘤进展相关的需氧糖酵解^[12]。本实验结果显示,结肠癌组织中IL-22表达显著升高,提示IL-22可能参与了结肠癌的发生发展。本实验进一步用不同浓度的IL-22

表5 PI3K/AKT通路抑制剂逆转白细胞介素22(IL-22)(40 μg/L)对结肠癌SW480细胞迁移、侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	细胞增殖率/%	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	Ki67	MMP-2	E-cadherin	Vimentin	N-cadherin
对照组	9	0.00±4.68	93.47±8.34	61.49±7.06	0.45±0.05	0.49±0.05	0.53±0.05	0.41±0.04	0.42±0.05
IL-22 组	9	216.64±17.36 ^a	246.19±18.56 ^a	148.46±13.48 ^a	0.94±0.09 ^a	1.13±0.11 ^a	0.19±0.03 ^a	0.75±0.08 ^a	0.68±0.07 ^a
IL-22+LY294002 组	9	141.69±13.58 ^b	147.64±12.52 ^b	97.45±11.68 ^b	0.68±0.07 ^b	0.74±0.08 ^b	0.33±0.04 ^b	0.54±0.08 ^b	0.55±0.06 ^b
F 值		643.739	283.585	140.132	104.690	133.757	157.680	55.188	41.482
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: MMP-2 为基质金属蛋白酶2, E-cadherin 为上皮钙黏附蛋白, Vimentin 为波形蛋白, N-cadherin 为神经钙黏附蛋白。与对照组比较, ^a*P* < 0.05; 与 IL-22 组比较, ^b*P* < 0.05

处理结肠癌细胞SW480,结果显示,细胞增殖率显著升高,细胞迁移、侵袭数显著升高。表明IL-22可促进结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭。Ki67是一种与细胞周期相关的细胞核增殖相关抗原,与肿瘤细胞的增殖相关^[13]。Vimentin、E-cadherin、N-cadherin均是EMT的标志物,Vimentin、N-cadherin表达上调,E-cadherin表达下调可使细胞获得迁移和侵袭能力^[14-15]。MMP-2是基质金属蛋白酶家族成员之一,下调表达可抑制结肠癌细胞侵袭和迁移^[16]。本实验结果显示IL-22处理的结肠癌细胞中Ki67、MMP-2、Vimentin、N-cadherin表达水平显著升高,E-cadherin表达水平显著降低,进一步表明IL-22可促进结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭。提示,IL-22参与了结肠癌细胞恶性生物学行为,与结肠癌的进展有关。

IL-22还可通过调控多种信号通路影响肿瘤进展。如IL-22通过活化信号转导和转录激活因子3(STAT3)信号通路促进结直肠癌细胞SW480和SW620的增殖^[17];IL-22通过STAT3激活促进骨肉瘤细胞增殖和侵袭^[18]。IL-22通过IL-22受体1(IL-22R1)/STAT3和IL-22R1/AKT信号通路促进肺癌细胞增殖和迁移^[19]。本实验结果显示,IL-22处理的结肠癌细胞中p-AKT和total-AKT表达水平升高,说明IL-22可激活PI3K/AKT信号通路。本实验进一步用PI3K/AKT通路抑制剂LY294002和IL-22共同处理结肠癌SW480细胞,结果显示,细胞增殖率以及细胞迁移、侵袭数显著降低,Ki67、MMP-2、Vimentin、N-cadherin表达水平显著降低,E-cadherin表达水平显著升高。说明抑制PI3K/AKT通路可逆转IL-22对结肠癌SW480细胞增殖、迁移、侵袭的促进作用。提示,IL-22对结肠癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响可能是通过PI3K/AKT信号通路实现的。

综上所述,IL-22可能通过PI3K/AKT通路促进SW480细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT。

参考文献

[1] 邹富年,李柏峰.结肠癌肝转移的治疗进展[J].中华肝胆外科杂志,2017,23(10):716-720.
[2] 徐谊,赵晓牧.年轻人结直肠癌的诊疗进展[J].中国普通外科杂志,2018,27(4):500-505.

[3] 黎华丽,郑勇斌.结直肠癌免疫治疗的研究进展[J].山东医药,2019,59(19):90-93.
[4] 宁钰,叶华,朱宇珍,等.IL-22介导通路在结肠癌发病机制中作用的研究进展[J].山东医药,2017,57(9):97-99.
[5] 陆诗媛,严婷婷,郭方方,等.白介素-22与具核梭杆菌在结直肠癌发生发展中的协同作用[J].中国科学:生命科学,2018,48(6):684-691.
[6] 杨宾,董明,杨得振,等.TLR2通过PI3K/Akt和NF-κB通路促进结肠癌细胞增殖,迁移,侵袭[J].检验医学与临床,2019,16(21):3086-3089.
[7] 王金桥,李靖.五味子乙素调控PI3K/Akt信号通路介导大肠癌细胞SW116凋亡[J].实用药物与临床,2018,21(5):487-490.
[8] 邓敏,白杨,孙梦晗,等.结直肠癌免疫治疗的研究进展及临床现状[J].现代消化及介入诊疗,2019,24(10):1204-1208.
[9] 玄秀云,张月,雷波,等.Th22细胞通过释放IL-22活化宫颈癌细胞AKT通路促进其增殖[J].免疫学杂志,2017,33(10):856-860.
[10] LIU X, YANG J, DENG W. The inflammatory cytokine IL-22 promotes murine gliomas via proliferation [J]. Expe Therap Med, 2017, 13(3):1087-1092.
[11] MEI Z, ZHOU L, ZHU Y, et al. Interleukin-22 promotes papillary thyroid cancer cell migration and invasion through microRNA-595/Sox17 axis [J]. Tumour Biol, 2016, 37(9):11753-11762.
[12] LIU Y, XIANG F, HUANG Y, et al. Interleukin-22 promotes aerobic glycolysis associated with tumor progression via targeting hexokinase-2 in human colon cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(15):25372-25383.
[13] 翁熊,祝顺琴,崔红娟.青蒿琥酯通过阻滞细胞周期抑制胶质母细胞瘤细胞增殖[J].中国中药杂志,2018,43(4):772-778.
[14] 佟岩,韩强,王恩华.WWC3下调Snail和N-cadherin,上调E-cadherin抑制非小细胞肺癌侵袭和转移[J].解剖科学进展,2017,23(4):400-404.
[15] 柳严,张德林,王国良,等.shRNA介导的波形蛋白基因沉默对肝癌细胞迁移,侵袭能力的影响[J].郑州大学学报(医学版),2018,53(6):743-747.
[16] 张军要,梁树才,朱宝安.科罗索酸下调MMP-2、MMP-9抑制结肠癌LoVo细胞的迁移与侵袭[J].河南科技大学学报(医学版),2017,35(1):11-13.
[17] 吴庭玉,崔龙,刘辰莹,等.白介素22活化STAT3信号通路促进结直肠癌细胞的增殖及其可能机制[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2013,20(3):284-288.
[18] LI P, SHI X, XU Y, et al. Interleukin-22 promotes osteosarcoma cell proliferation and invasion via STAT3 activation. [J]. Med Sci Monit, 2018, 24:7802-7808.
[19] BI Y, CAO J, JIN S, et al. Interleukin-22 promotes lung cancer cell proliferation and migration via the IL-22R1/STAT3 and IL-22R1/AKT signaling pathways [J]. Mol Cell Biochem, 2016, 415(1/2):1-11.
(收稿日期:2019-08-15,修回日期:2019-11-17)