

(ST2^{-/-})肿瘤组织中 CD11b⁺ Gr-1⁺ MDSC 的比例,以及 MDSC 增殖和凋亡的水平;检测 IL-33 处理前后 MDSC 存活水平,以及精氨酸酶-1(arginase 1, Arg-1)在 mRNA 水平以及酶活性上的变化;蛋白质印迹法检测 IL-33 处理后 MDSC 相关信号通路分子的变化,并用转录因子抑制剂进行验证,以揭示 IL-33 调控 MDSC 功能的关键转录因子。

【结果】 小鼠 4T1 和人乳腺癌组织中存在大量 IL-33 表达的现象;小鼠和人乳腺癌组织上清液中检测到高水平的 IL-33。在小鼠肿瘤组织中,MDSC 高表达 ST2,其中 45% 的 ST2⁺ 细胞为 MDSC;ST2^{-/-} 小鼠肿瘤组织中 MDSC 的数量比野生型显著减少($P < 0.001$);ST2^{-/-} 小鼠肿瘤组织中的 MDSC 增殖显著减少,凋亡显著增多($P < 0.05$);体外 IL-33 刺激能诱导 MDSC 增殖,减少凋亡;IL-33 处理 24 h 后,Arg-1 的 mRNA 表达及酶活性均显著增高($P < 0.01$)。IL-33 处理后,MDSC 的 NF- κ B 和 ERK 的磷酸化水平明显增加,而加入转录因子抑制剂后,IL-33 诱导 MDSC 上调 Arg-1 表达的效应显著降低($P < 0.01$),表明 NF- κ B 和 ERK 对于 IL-33 调控 MDSC 的功能极其重要。

【结论】 证实肿瘤组织中高水平 IL-33 分泌可诱导 MDSC 增殖,促进其在肿瘤组织中的聚集,并上调 MDSC 表达 Arg-1 而增强其免疫抑制功能,NF- κ B 和 ERK 是 IL-33 作用于 MDSC 通路中至关重要的转录因子。研究结果为揭示肿瘤细胞免疫逃逸的机制提供了新的观点,并可能为肿瘤的免疫治疗提供新的思路。

关键词: 白细胞介素-33;乳腺癌;髓系抑制性细胞(MDSC);ST2^{-/-}小鼠;精氨酸酶-1;NF- κ B;ERK

A-S4-34

Hedgehog 信号通路介导乳腺癌干细胞药物敏感性的研究

赵欣楠¹,高雅²,聂昕时¹,孙子懿³,李英研⁴,周晓丹⁴,田冰⁴;指导教师:魏敏杰,何苗

1. 中国医科大学 2010 级临床医学七年制
2. 中国医科大学 2009 级临床医学七年制
3. 中国医科大学 2011 级临床医学七年制
4. 中国医科大学 2010 级临床药学五年制

【目的】 研究介导乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)药物抵抗的新机制。

【方法】 通过 CCK-8 assay 和球囊形成实验检测 MCF-7 细胞和(或)无血清非粘附悬浮培养得到富集 BCSCs 的 MCF-7 mammosphere(MCF-7 MS)对紫杉醇和盐霉素反应的差异。通过蛋白质印迹、免疫荧光或免疫组化检测 MCF-7 和 MCF-7 MS 细胞及其荷瘤鼠移植瘤中 Hedgehog(Hh)通路主要因子 PTCH、SMO、Gli1 及 Gli2 的表达,及紫杉醇或盐霉素处理后表达的改变。进一步应用 CCK-8 assay 和球囊形成实验考察 Hh 通路主要配体 Shh 或 SMO 抑制剂环巴明对盐霉素或紫杉醇抑制 MCF-7 MS 细胞增殖作用的影响。此外,动物水平也考察了 MCF-7 MS 细胞移植瘤内 Hh 通路活性与荷瘤鼠药物敏感性的关系。而且,在 290 例临床乳腺癌病理组织中,以免疫组化检测及卡方检验分析了 SMO 及 Gli1 的阳性表达与 BCSCs 特异标记物 CD44⁺/CD24⁻表达的相关性。

【结果】 MCF-7 MS 具有 BCSCs 的 CD44⁺/CD24⁻/low 表型、高表达干细胞标记物 OCT4、强的克隆形成能力、强的侵袭迁移能力、强的在体成瘤能力等干细胞特性。MCF-7 MS 对紫杉醇不敏感,而对盐霉素高度敏感,不同于 MCF-7 细胞对紫杉醇敏感,而对盐霉素不敏感。MCF-7 MS 细胞及其荷瘤鼠移植瘤中的 Hh 通路主要因子 PTCH、SMO、Gli1 及 Gli2 的表达均明显高于 MCF-7 细胞。盐霉素可明显抑制 MCF-7 MS 细胞中 Hh 通路这些因子的表达,而紫杉醇未见抑制作用,且盐霉素和紫杉醇均对 MCF-7 细胞中的这些蛋白的表达无抑制作用。进一步发现了 Shh 激活或环巴明抑制 Hh 通路分别下调或上调了 MCF-7 MS 对盐霉素或紫杉醇的敏感性。而且,在荷瘤鼠水平也发现了可抑制 MCF-7 MS 荷瘤鼠移植瘤生长的盐霉素也抑制了 PTCH、SMO、Gli1 及 Gli2 的表达,而对荷瘤鼠移植瘤生长无明显抑制作用的紫杉醇对这些因子的表达也无明显的抑制作用。此外,在临床乳腺癌病理组织中,发现了 SMO 及 Gli1 的阳性表达与 CD44⁺/CD24⁻表达正相关。

【结论】 在细胞、裸鼠移植瘤水平及临床病理组织中,乳腺癌干细胞介导的药物敏感性与 Hh 通路活性改变相关。

关键词: 乳腺癌组织;球囊细胞;CD44⁺/CD24⁻表型;乳腺癌干细胞;药物敏感性;Hedgehog 信号通路