

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.16.006

# 白细胞介素-6 对胰腺癌小鼠癌组织的细胞增殖及上皮间质转化的影响\*

崔彦杰,宋金萍,郝立君,黄国虹<sup>△</sup>

新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心,新疆乌鲁木齐 830001

**摘要:**目的 探讨白细胞介素-6(IL-6)在胰腺癌裸鼠模型癌组织增殖与上皮间质化中的作用,并分析其分子机制。**方法** 将 18 只成功构建胰腺癌细胞荷瘤的 BALB/c 裸鼠模型随机分为模型对照组、IL-6 过表达组和免疫球蛋白 G(IgG)抗体组,每组 6 只。模型对照组于肿瘤部位注射生理盐水进行干预,IL-6 过表达组于肿瘤部位注射 IL-6 过表达质粒进行干预,IgG 抗体组予肿瘤部位注射 IgG 抗体进行干预。3 组均于末次给药 24 h 后处死小鼠,并收集胰腺肿瘤组织。对各组肿瘤组织进行离体称重并计算抑瘤率。通过苏木精-伊红(HE)染色观察胰腺组织的病理学改变。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组裸鼠肿瘤组织中 IL-6、p-STAT3、NF-κB p65 和 VEGF 蛋白的表达水平。采用蛋白质印迹法(Western blot)检测各组肿瘤组织中 E-cadherin、Vimentin、MMP-9 蛋白的表达水平。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测各组 IL-6、p-STAT3、SOCS3 基因的表达水平。**结果** 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的平均瘤重及抑瘤率比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。HE 染色结果显示,模型对照组肿瘤组织细胞体积增大,癌细胞排列呈巢状;IL-6 过表达组可见肿瘤组织轻度纤维化,少量炎症浸润;IgG 抗体组可见核分裂象,大量肿瘤细胞坏死,局灶组织纤维化。IL-6 过表达组 E-cadherin 蛋白、SOCS3 基因表达水平低于模型对照组和 IgG 抗体组,而 Vimentin、MMP-9、IL-6、p-STAT3、NF-κB p65、VEGF 蛋白的表达水平及 IL-6、NF-κB p65 基因的表达水平高于模型对照组和 IgG 抗体组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );IgG 抗体组 Vimentin、MMP-9、IL-6、p-STAT3、NF-κB p65、VEGF 蛋白的表达水平及 IL-6、NF-κB p65 基因的表达水平低于模型对照组,而 E-cadherin 和 SOCS3 基因水平高于模型对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** IL-6 可以通过 p-STAT3 和(NF-κB p65)信号通路调节胰腺癌裸鼠模型肿瘤组织中的相关细胞因子,影响肿瘤组织的增殖及上皮间质化。

**关键词:**白细胞介素-6; 胰腺癌; 裸鼠模型; 增殖; 上皮间质化; 信号通路

**中图法分类号:**R735.9;R446.8      **文献标志码:**A      **文章编号:**1672-9455(2024)16-2328-06

## Influence of interleukin-6 in cell proliferation and epithelial mesenchymal transition in carcinoma tissues in mice with pancreatic cancer\*

CUI Yanjie, SONG Jinping, HAO Lijun, HUANG Guohong<sup>△</sup>

Clinical Laboratory Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur

Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China

**Abstract: Objective** To explore the role of interleukin-6 (IL-6) in the proliferation and epithelial mesenchymal transition of cancerous tissues in a nude mouse model of pancreatic cancer, and to analyze its molecular mechanism. **Methods** Eighteen BALB/c nude mice, who were successfully constructed with pancreatic cancer cell-loaded tumors, were randomly divided into model control group, IL-6 overexpression group and immunoglobulin G (IgG) antibody group, six mice in each group. The control group was injected with saline at the tumor site for intervention, the IL-6 overexpression group was injected with IL-6 overexpression plasmid at the tumor site for intervention and the IgG antibody group was injected with IgG antibody at the tumor site for intervention. The mice in the three groups were executed 24 h after the last intervention, and the pancreatic tumor tissues were collected. The tumor tissues of each group were weighed ex vivo and the tumor inhibition rate was calculated. The pathological changes of pancreatic tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The expression levels of IL-6, p-STAT3, NF-κB p65 and VEGF proteins in the tumor tissues of nude mice in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of E-cadherin, Vimentin, and MMP-9 proteins in tumor tissues of each group were detected by Western blot. The expression levels of IL-6, p-STAT3 and SOCS3 genes in each group were detected by qRT-PCR. **Results** Comparison of the

\* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2021D01C190);新疆维吾尔自治区人民医院科技引进创新项目(20190202)。

作者简介:崔彦杰,男,副主任技师,主要从事免疫学检验方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:huangguohong0127@163.com。

average tumor weight and tumor inhibition rate of pancreatic tumor tissues in the three groups of nude mice showed no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ). HE staining results showed that the tumor tissues were with an increase in the cell volume and the cancer cells were arranged in a nested shape in the model control group; tumor tissues could be seen to be mildly fibrotic, with a small amount of inflammatory cell infiltration in the IL-6 overexpression group; nuclear schizophrenia was seen, with a large number of tumor cells necrotic and focal tissue fibrosis in the IgG antibody group. In the IL-6 overexpression group, the expression levels of E-cadherin protein and SOCS3 gene were lower than those in the model control group and the IgG antibody group, while the expression levels of Vimentin, MMP-9, IL-6, p-STAT3, NF- $\kappa$ B p65 and VEGF proteins, as well as IL-6 and NF- $\kappa$ B p65 genes, were higher than those in the model control group and the IgG antibody group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ); in the IgG antibody group, the expression levels of Vimentin, MMP-9, IL-6, p-STAT3, NF- $\kappa$ B p65, VEGF proteins and the expression levels of IL-6 and NF- $\kappa$ B p65 genes were lower than those in the model control group, while the levels of E-cadherin and SOCS3 genes were higher than those in the model control group, and the differences were all statistically different ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** IL-6 can regulate related cytokines in tumor tissues of nude mouse model of pancreatic cancer through p-STAT3 and/or NF- $\kappa$ B p65 signaling pathway, affecting proliferation and epithelial-mesenchymal transition of tumor tissues.

**Key words:** interleukin-6; pancreatic cancer; nude mouse model; proliferation; metastasis; signaling pathway

胰腺癌是一种高致死率肿瘤,5年生存率仅为9%,其主要特点是局部侵袭性强、早期转移速度快、复发率高和对当前疗法的耐药性高,约90%的胰腺癌患者会表现出远处转移,导致胰腺癌患者的预后较差<sup>[1-3]</sup>。白细胞介素-6(IL-6)是一种多效性细胞因子,可以通过不同的作用机制调节肿瘤细胞的增殖、转移。上皮间质转化(EMT)是指上皮细胞转化为具有间质表型细胞的生物过程,是赋予细胞转移与侵袭能力的启动步骤,多项研究表明胰腺癌转移扩散的分子机制之一是EMT<sup>[4-6]</sup>,本研究拟建立胰腺裸鼠动物模型,进行IL-6的靶向干预,通过检测裸鼠肿瘤组织中的转录激活因子3(p-STAT3)、核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)p65信号通路及下游EMT相关血管内皮生长因子(VEGF)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、基质金属蛋白酶(MMP)-9及细胞因子信号抑制因子3(SOCS3)等相关指标,探讨IL-6通过调控p-STAT3和(或)NF- $\kappa$ B信号通路对胰腺癌EMT相关因子的影响,以期为胰腺癌的诊疗提供潜在的标志物及治疗靶点。现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 4~6周龄BALB/c雌性裸鼠18只,随机分为模型对照组、IL-6过表达组和免疫球蛋白G(IgG)抗体组,每组6只。所有小鼠均给予各12 h的光照/黑暗周期,温度( $22 \pm 1$ )℃,相对湿度(60±5)%,给予自由进食食物和水。适应环境1周后开始造模。本实验所用动物均购自湖南景达斯莱克实验动物有限责任公司[生产许可证号SCXK(湘)2019-0004]。本研究经新疆维吾尔自治区人民医院医学伦理委员会批准(批号:KY20190902502)。

**1.2 主要检测试剂和仪器** E-cadherin抗体(Bioss

公司),MMP-9抗体(Bioss公司),Vimentin(美国Elabscience公司),IL-6、磷酸化信号转导与p-STAT3、NF- $\kappa$ B p65和血管内皮生长因子(VEGF)均购自上海酶联生物科技有限公司,总RNA提取试剂(合肥白鲨生物科技有限公司)、实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)Easy<sup>TM</sup>-SYBR Green I试剂盒(成都福际生物技术有限公司)、反转录试剂盒(上海赛默飞)。LCICA公司PM401石蜡熔蜡箱(德国)、ASKURA5235型组织包埋机(日本)。Bio-Rad Laboratories Bio小型垂直电泳及转印仪、K6600-B酶标仪(北京凯奥科技发展有限公司)、WD-9423C化学发光成像仪(北京六一生物科技有限公司)、T100梯度PCR仪(美国伯乐)、Q2000B荧光定量PCR仪(杭州朗基科学仪器有限公司)、DYPC-31DC琼脂糖水平电泳仪(北京六一生物科技有限公司)、K5800超微量分光光度计(北京凯奥科技发展有限公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 模型构建** 人胰腺癌细胞(PANC-1)购自武汉普诺赛生命科技有限公司(批号:CL-0184),将指数生长期PANC-1加入适量PBS混悬液,调整细胞浓度为 $1 \times 10^{10}/L$ ,取0.2 mL细胞混悬液,注射于裸鼠右腋部皮下,注射一次,2~3 d待有瘤状肿物生成即成功复制胰腺癌细胞荷瘤小鼠模型。

**1.3.2 给药方式** (1)模型对照组:将造模成功的小鼠于肿瘤部位注射等体积的生理盐水,隔天给药1次,共5次,末次给药结束24 h后处死小鼠。(2)IL-6过表达组:在造模成功24 h后于肿瘤部位注射30 μg的IL-6过表达质粒,隔天给药1次,共5次,末次给药结束24 h后处死小鼠。(3)IgG抗体组:将造模成功的小鼠于肿瘤部位注射20 μg的小鼠IgG抗体,隔天

给药 1 次,共 5 次,末次给药结束 24 h 后处死小鼠。

**1.3.3 取材** 每组处死 6 只小鼠,完整切除胰腺肿瘤组织,一部分置于 4% 多聚甲醛中固定,另一部分置于液氮中保存,备用。

**1.3.4 瘤体质量及抑瘤率** 对各组肿瘤组织进行离体称重并计算抑瘤率,抑瘤率=(对照组平均质量-实验组平均质量)/对照组平均质量×100%。

**1.3.5 苏木精-伊红(HE)染色** 首先将肿瘤组织样本进行固定(10% 甲醛浸泡 7 d),然后进行常规的石蜡包埋;肿瘤组织样本脱蜡、水化,组织切片苏木精染色、分化与反蓝,伊红染色与脱水,使用石蜡切片机将组织标本切片后风干,并使用中性树胶封片。通过 HE 染色观察胰腺肿瘤组织的病理学改变情况。

**1.3.6 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测** 用预冷的 PBS 缓冲液(0.01 mol/L, pH 值为 7.4)冲洗组织,去除残留血液(匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果),称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS 缓冲液(按 1:9 的重量体积比,如 1 g 的组织标本对应 9 mL 的 PBS 缓冲液,在 PBS 缓冲液中加入蛋白酶抑制剂)加入预冷的研钵中,于冰上充分研磨。然后 2 000 r/min 离心 20 min,取上清液备用。分装后一份待检测,其余冷冻备用,避免反复冻融。采用 ELISA 检测各组裸鼠肿瘤组织中 IL-6、p-STAT3、NF-κB p65 和 VEGF 蛋白水平。

**1.3.7 蛋白质印迹法(Western blot)检测** 为保证实验重复性,每组选取 3 只裸鼠采用 Western blot 检测肿瘤组织中 E-cadherin、Vimentin、MMP-9 蛋白的表达水平。研磨胰腺肿瘤组织成粉末,加入蛋白 100 μL RIPA 裂解液,提取蛋白并按 BCA 法进行蛋白定量,调整到 1 μg/μL,根据目的蛋白的分子量,选择 10% 配胶试剂盒配胶。调整合适电泳条件,经过转膜、封闭、一抗孵育、洗膜、二抗孵育后加入化学发光剂,成像系统曝光,保存图片。

**1.3.8 qRT-PCR 检测** 采取 qRT-PCR 检测肿瘤组织中 IL-6、NF-κB 及 SOCS3 基因的表达水平,电泳法检测其 RNA 完整性。基本过程包括 RNA 提取、cDNA 反转录、引物设计及合成。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列
β-actin	正向引物: 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3' 反向引物: 5'-TTAATGTCACGACGATTTC-3'
NF-κB	正向引物: 5'-GGCGAGAGGAGCACAGATAC-3' 反向引物: 5'-AGGGGTTGTTGGTCTGG-3'
IL-6	正向引物: 5'-AGAGGCACTGGCAGAAAACA-3' 反向引物: 5'-CAGCTCTGGCTTGTTCTCA-3'
SOCS3	正向引物: 5'-CCTACTGAACCCTCCCTCGA-3' 反向引物: 5'-GTCCAGGAACCTCCGAATGG-3'

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 7.00 统计软件进行数据处理与分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,多组间两两比较采用 LSD-t 检验。计数资料以率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

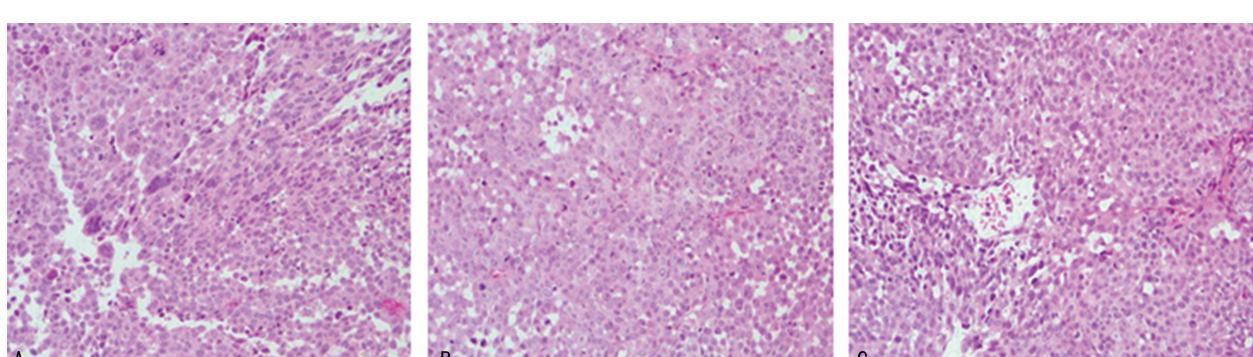
## 2 结 果

**2.1 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的平均瘤重及抑瘤率比较** 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的平均瘤重及抑瘤率比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的平均瘤重与抑瘤率比较

组别	n	平均瘤重 ( $\bar{x} \pm s$ , g)	抑瘤率 (%)
模型对照组	6	0.065±0.029	0.00
IL-6 过表达组	6	0.072±0.031	-10.77
IgG 抗体组	6	0.050±0.028	23.08
F/ $\chi^2$		0.864	1.276
P		0.442	0.308

**2.2 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的病理学改变情况** HE 染色结果显示,模型对照组肿瘤组织细胞体积增大,大小不一,胞质嗜碱性,可见核分裂象,个别细胞呈棱形,癌细胞排列呈巢状;IL-6 过表达组可见肿瘤组织轻度纤维化,少量炎症浸润;IgG 抗体组可见核分裂象,大量肿瘤细胞坏死,个别肿瘤细胞排列呈巢状,可见局灶组织纤维化。见图 1。



注:A 为模型对照组;B 为 IgG 抗体组;C 为 IL-6 过表达组。

图 1 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织情况(HE 染色,  $\times 200$ )

**2.3** 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织 E-cadherin、Vimentin、MMP-9 蛋白的 Western blot 检测结果比较 Western blot 检测结果显示,3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的 E-cadherin、Vimentin、MMP-9 蛋白表达水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组相比,胰腺肿瘤组织 E-cadherin 表达水平在 IL-6 过表达组中降低,在 IgG 抗体组中升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型对照组相比,胰腺肿瘤组织 Vimentin、MMP-9 表达水平在 IL-6 过表达组中升高,在 IgG 抗体组中降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3、图 2。

表 3 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织 E-cadherin、Vimentin、MMP-9 蛋白水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	E-cadherin 蛋白	Vimentin 蛋白	MMP-9 蛋白
模型对照组	3	1.492±0.06	1.339±0.03	1.019±0.05
IL-6 过表达组	3	1.289±0.07 <sup>a</sup>	1.550±0.12 <sup>a</sup>	1.203±0.02 <sup>a</sup>
IgG 抗体组	3	1.784±0.10 <sup>ab</sup>	1.049±0.07 <sup>ab</sup>	0.813±0.02 <sup>ab</sup>
F		30.71	26.72	111.8
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IL-6 过表达组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.4** 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、p-STAT3、NF- $\kappa$ B p65、VEGF 蛋白表达水平比较 ELISA 检测结果显示,3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、p-STAT3、NF-

$\kappa$ B p65、VEGF 蛋白的表达水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组相比,胰腺肿瘤组织 IL-6、p-STAT3、NF- $\kappa$ B p65、VEGF 蛋白表达水平在 IL-6 过表达组中升高,而胰腺肿瘤组织 IL-6、p-STAT3、NF- $\kappa$ B p65 和 VEGF 蛋白表达水平在 IgG 抗体组中降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

**2.5** 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、NF- $\kappa$ B、SOCS3 基因表达水平比较 qRT-PCR 实验结果显示,3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、NF- $\kappa$ B、SOCS3 基因的表达水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组相比,IL-6、NF- $\kappa$ B p65 基因的表达水平在 IL-6 过表达组升高,在 IgG 抗体组中下降,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型对照组相比,SOCS3 基因的表达水平在 IL-6 过表达组中下降,在 IgG 抗体组中升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5。

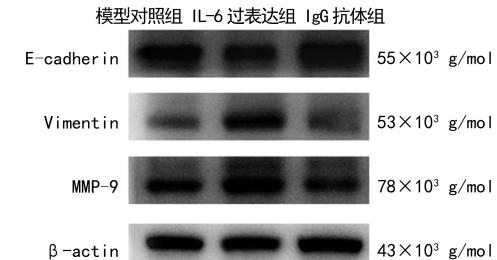


图 2 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织的 Western blot 检测结果

表 4 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、p-STAT3、NF- $\kappa$ B p65、VEGF 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

分组	n	IL-6	p-STAT3	NF- $\kappa$ B p65	VEGF
模型对照组	6	34.92±7.860	34.45±1.291	89.42±3.707	68.86±5.726
IL-6 过表达组	6	77.64±3.954 <sup>a</sup>	60.41±2.286 <sup>a</sup>	126.10±6.135 <sup>a</sup>	123.80±16.04 <sup>a</sup>
IgG 抗体组	6	25.54±2.061 <sup>ab</sup>	31.00±0.495 <sup>ab</sup>	74.08±10.740 <sup>ab</sup>	49.05±5.036 <sup>ab</sup>
F		170.00	652.00	77.15	85.47
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IL-6 过表达组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 5 3 组裸鼠胰腺肿瘤组织中 IL-6、NF- $\kappa$ B、SOCS3 基因的表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-6	NF- $\kappa$ B p65	SOCS3
模型对照组	6	1.031±0.024	1.017±0.032	1.041±0.038
IL-6 过表达组	6	28.489.450±458.230 <sup>a</sup>	1.282±0.180 <sup>a</sup>	0.784±0.066 <sup>a</sup>
IgG 抗体组	6	0.657±0.238 <sup>ab</sup>	0.841±0.088 <sup>ab</sup>	1.176±0.114 <sup>ab</sup>
F		724.95	21.48	37.98
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IL-6 过表达组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨 论

胰腺癌由于早期发病隐匿,缺乏有效的筛查手段,且侵袭、转移性强等特性,导致其预后极差,中位生存期仅为 6 个月,是目前人类所有癌症中预后最差

的肿瘤之一,被称为“癌中之王”<sup>[7-9]</sup>。近年来虽然研究者们针对胰腺癌的早期诊断和治疗做了大量的努力和探索,但胰腺癌的诊疗现状仍未发生明显改善<sup>[10]</sup>。广泛的间质或结缔组织增生是胰腺癌的一个

关键组织学特征,肿瘤细胞和间质细胞之间的相互作用对于胰腺癌的进展及转移至关重要。一旦胰腺癌患者出现明显的临床症状,原发肿瘤可能已经侵入邻近组织和(或)转移到远处器官而变得无法切除,导致患者预后较差。胰腺癌的增殖、转移与肿瘤的微环境密切相关,肿瘤细胞在微环境中产生的免疫因子可促进免疫逃逸、血管的形成及转移,因此明确肿瘤微环境中各种免疫因子的调节机制及肿瘤的转移机制至关重要<sup>[11-12]</sup>。

IL-6 由单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和肿瘤细胞等多种细胞分泌,与造血、炎症、免疫调节和肿瘤发生有关,在多种肿瘤微环境中通过 JAK/STAT、PI3K/AKT、PENT/PI3Kγ 和 NF-κB 等信号通路对肿瘤的发生、发展、转移起着重要的调节作用<sup>[13-15]</sup>。STAT3 是 STAT 家族的重要成员之一,多项研究发现其在包括胰腺癌在内的多种肿瘤细胞中持续激活,与肿瘤细胞的增殖、凋亡、免疫逃避、耐药等生物学行为密切相关<sup>[16-17]</sup>。NF-κB 是一种转录因子蛋白家族,具有多向性转录调节作用,通过启动和调节多种肿瘤相关基因的转录而在细胞内具有促生存的作用,NF-κB 能够被多种因子激活,也能够激活包括细胞因子、生长因子、促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白等多种因子的转录。血管生成对于肿瘤生长至关重要,VEGF 是异常肿瘤血管生成的重要调节因子。UEDA 等<sup>[18]</sup> 研究发现 10Z-Hymenialdisine 可通过抑制胰腺癌细胞系中 NF-κB 和 VEGF 的活性发挥抗血管生成的作用。许多研究表明,EMT 与肿瘤细胞侵袭有关,EMT 发生时,细胞 E-cadherin 等上皮标志物表达减少,同时上调间充质标志物 Vimentin 表达水平升高,促使癌细胞失去其细胞黏附能力并获得迁移和侵袭能力<sup>[19-20]</sup>。除此之外,肿瘤细胞还能通过获得降解基底膜和固有层细胞外基质(ECM)的能力来消除对生长和传播的空间限制。肿瘤的侵袭通过伪足作用介导,侵袭伪足是隔离和分泌 MMP 的细胞突起,MMP 可切割 ECM 蛋白,促进基底膜 ECM 蛋白水解,而 MMP-9 被认为是侵袭的关键驱动因素<sup>[21-22]</sup>。SOCS3 是细胞因子信号传导的负性调节因子,多项研究表明,SOCS3 不但能够抑制 JAK/STAT3,还能够对 IL-6/NF-κB 信号通路产生抑制作用<sup>[23-24]</sup>。本研究中建立胰腺癌小鼠模型,通过对 IL-6 水平的调节,同时检测相关细胞因子的水平,结果发现,IL-6 水平升高时,与细胞转导和转导激活相关的因子(p-STAT3、NF-κB)表达水平升高,与肿瘤 EMT、转移相关的因子(Vimentin、VEGF、MMP-9)表达水平亦升高,而 SOCS3、E-cadherin 负性调节因子表达水平降低;笔者利用 IL-6 抗体中和 IL-6 后,上述细胞因子水平的表达就发生反转。IL-6 可以由前列腺素 E<sub>2</sub> 和转化生长因子直接上调,通过

特定的受体、配体和酶激活某些细胞和组织生物反应的内在分子通路,例如 Janus 激酶信号转导器和翻译激活剂 3(JAK-STAT3)、丝裂原激活蛋白激酶等发挥其生物学作用。IL-6-JAK2-STAT3 级联反应促进了胰腺癌的生长和进展,正常情况下,其作用受 SOCS3 蛋白的抑制,可以通过下调该信号通路阻止细胞增殖。但在肿瘤恶性微环境中,过表达的 IL-6 通过上调 DNA 甲基转移酶 1 活性促进 SOCS3 启动子高度甲基化,阻碍了 SOCS3 的抑制作用,从而促进了胰腺细胞的高致瘤性和癌症进展。本研究利用 Western blot 和 ELISA 检测相关蛋白水平时观察到上述变化,同时利用 qRT-PCR 检测 IL-6 基因、NF-κB p65 基因和 SOCS3 基因表达水平的变化也与上述表现一致。提示 IL-6 能促进胰腺上皮内瘤变,此外,本研究中,与模型对照组相比,IL-6 过表达组中与肿瘤增殖和血管生成相关的 Vimentin、VEGF、MMP-9 蛋白的表达水平增高。表明 IL-6 可以通过 STAT3 和(或)NF-κB 信号通路调节下游相关因子,从而影响胰腺癌裸鼠模型肿瘤组织的增殖及 EMT 过程。因此,后续的临床研究可以尝试检测胰腺癌患者的 IL-6、NF-κB、SOCS3、Vimentin、VEGF、MMP9 等相关因子表达水平诊断或预测胰腺癌患者的预后价值,也可通过中和或补充以上因子作为潜在治疗靶点。

综上所述,本研究通过胰腺癌裸小鼠模型揭示了 IL-6 通过 STAT3 和(或)NF-κB 信号通路调节相关细胞因子进而影响胰腺癌组织的增殖及 EMT 过程,可能为胰腺癌的诊疗提供新的思路。由于肿瘤微环境作用机制异常复杂,肿瘤的生物学效应往往受多种信号通路的影响。此外,本研究是通过对胰腺癌小鼠皮下注射胰腺癌细胞进行造模的,这与人类患者胰腺癌发生的过程有所不同,因此该实验结果可能具有一定的局限性,需要进一步的实验研究和临床验证。

## 参考文献

- [1] LI Y Q, CHEN Y T, LI J J, et al. Co-delivery of microRNA-21 antisense oligonucleotides and gemcitabine using nanomedicine for pancreatic cancer therapy [J]. Cancer Sci, 2017, 108(7): 1493-1503.
- [2] VILA-NAVARRO E, FERNANDEZ-CASTAÑER E, ROVIRA-RIGAU M, et al. MiR-93 is related to poor prognosis in pancreatic cancer and promotes tumor progression by targeting microtubule dynamics [J]. Oncogenesis, 2020, 9(5): 43.
- [3] CHEN R, LAI L A, SULLIVAN Y, et al. Disrupting glutamine metabolic pathways to sensitize gemcitabine-resistant pancreatic cancer [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 7950.
- [4] 范雄伟,王茂军,杨海涛,等.内分泌腺来源的血管内皮生长因子对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].中华肝胆外科杂志,2018,34(10): 731-734.

- 科杂志,2019,25(4):283-287.
- [5] SHI C L, WENG M, ZHU H Y, et al. NUDCD1 knock-down inhibits the proliferation, migration, and invasion of pancreatic cancer via the EMT process[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(14):18298-18309.
- [6] ANTOON R, WANG X H, SALEH A H, et al. Pancreatic cancer growth promoted by bone marrow mesenchymal stromal cell-derived IL-6 is reversed predominantly by IL-6 blockade[J]. Cytotherapy, 2022, 24(7):699-710.
- [7] XU W, ZHANG M, LIU L, et al. Association of mucin family members with prognostic significance in pancreatic cancer patients: a Meta-analysis[J]. PLoS One, 2022, 17(6):e0269612.
- [8] 陈小艳,贾建新.胰腺癌侵袭转移作用机制的研究进展[J].天津医药,2018,46(8):899-904.
- [9] VAN DUIJNEVELDT G, GRIFFIN M D W, PUTOCZKI T L. Emerging roles for the IL-6 family of cytokines in pancreatic cancer[J]. Clin Sci (Lond), 2020, 134(16):2091-2115.
- [10] ZHOU L, LU J, LIANG Z Y, et al. Expression and prognostic value of small mothers against decapentaplegic 7, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Pancreas, 2021, 50(8):1195-1201.
- [11] 袁蒙,阿卜杜海拜尔·萨杜拉,任思谦,等.胰腺癌免疫微环境特点与相关免疫治疗策略[J].中华医学杂志,2021,101(12):831-835.
- [12] WANG W L, CHEN H, GAO W J, et al. Girdin interaction with vimentin induces EMT and promotes the growth and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2020, 44(2):637-649.
- [13] LIN X M, CHEN H, ZHAN X L. MiR-203 regulates JAK-STAT pathway in affecting pancreatic cancer cells proliferation and apoptosis by targeting SOCS3[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(16):6906-6913.
- [14] 李俊,余冬,孔德刚,等. IKBKE 和 NF $\kappa$ B 在胰腺癌中的表达及沉默 IKBKE 对胰腺癌细胞增殖,迁移的影响[J]. 中华肝胆外科杂志,2020,26(4):274-280.
- [15] 张志友,刘文生,李鹰,等. MiR-125b 靶向 A20/NF $\kappa$ B 信
- 号通路促进胰腺癌细胞增殖机制的研究[J].肿瘤学杂志,2021,27(2):110-115.
- [16] MAGNI L, BOUAZZI R, HEREDERO OLMEDILLA H, et al. The P2X7 receptor stimulates IL-6 release from pancreatic stellate cells and tocolizumab prevents activation of STAT3 in pancreatic cancer cells[J]. Cells, 2021, 10(8):1928.
- [17] AL-HETTY H R, ABDULAMEER S J, ALKUBAISY S A, et al. STAT3 signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma: a candidate therapeutic target [J]. Pathol Res Pract, 2023, 245:154425.
- [18] UEDA G, MATSUO Y, MURASE H, et al. 10Z-hymenialdisine inhibits angiogenesis by suppressing NF- $\kappa$ B activation in pancreatic cancer cell lines[J]. Oncol Rep, 2022, 47(3):48.
- [19] XU D F, YUAN H, MENG Z H, et al. Cadherin 13 inhibits its pancreatic cancer progression and epithelial-mesenchymal transition by Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling[J]. J Cancer, 2020, 11(8):2101-2112.
- [20] LAHIJI A S, SAFARI F. Potential therapeutic effects of hAMSCs secretome on Panc1 pancreatic cancer cells through downregulation of SgK269, E-cadherin, vimentin, and snail expression[J]. Biologicals, 2022, 76:24-30.
- [21] ALLEN J L, HAMES R A, MASTROIANNI N M, et al. Evaluation of the matrix metalloproteinase 9 (MMP9) inhibitor andecaliximab as an anti-invasive therapeutic in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2022, 132:106008.
- [22] XIE J H, ZHOU X Z, WANG R, et al. Identification of potential diagnostic biomarkers in MMPs for pancreatic carcinoma[J]. Medicine (Madr), 2021, 100(23):e26135.
- [23] 崔彦杰,宋金萍,徐辉.白细胞介素 6/核因子  $\kappa$ B 信号通路对人胰腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响[J].中国医药,2022,17(7):1034-1038.
- [24] CHEN Y R, MIAO X, XIANG Y W, et al. Qinzu Lian-gxue inhibits IL-6-induced hyperproliferation and inflammation in HaCaT cells by regulating METTL14/SOCS3/STAT3 axis[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 317:116809.

(收稿日期:2023-11-07 修回日期:2024-03-25)

(上接第 2327 页)

- [17] 陈扬波,李娜,王俊,等.连续腹腔内压监测在老年危重症患者中的应用研究[J].中国中西医结合急救杂志,2020,27(3):327-330.
- [18] 成慧昕,李志华,于湘友. ICU 中的急性胃肠损伤[J].中国急救医学,2023,43(4):285-290.
- [19] 程锐,陈文捷.导火汤加味灌肠联合腹部推拿对脓毒症患者胃肠功能障碍的作用观察[J].中国中医药科技,2023,30(3):553-555.

- [20] 赵英培,段丽梅,许志平,等.肌少症指数评估老年危重症患者营养不良及其对预后的影响[J].中国老年学杂志,2023,43(1):70-74.
- [21] 赵荣香,任丹,余静,等.胃肠功能障碍患儿肠内早期营养支持时机选择的临床研究[J].中国急救医学,2016,36(2):80-82.

(收稿日期:2023-12-18 修回日期:2024-03-08)