

知母皂苷B-Ⅱ抑制人肺癌A549细胞增殖和迁移的机制研究

陆文铨^{1*},邱彦²,庞涛¹,陈万生^{1#}(1.上海长征医院药学部,上海 200003;2.解放军第454医院药剂科,南京 210002)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1346-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.15

摘要 目的:研究知母皂苷B-Ⅱ(TB-Ⅱ)抑制人肺癌A549细胞增殖和迁移的机制。方法:使用0(空白对照)、1、10、100 μg/ml的TB-Ⅱ处理A549细胞48 h后,分别提取细胞总RNA及总蛋白,采用实时定量荧光-聚合酶链反应和Western blot法分别检测细胞内白细胞介素18(IL-18)mRNA及蛋白表达;通过转染沉默A549细胞内IL-18基因,比较未转染组、阴性对照组和转染组细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达,然后用10 μg/ml的TB-Ⅱ处理转染后的细胞24、48、72 h,采用CCK-8法检测细胞增殖活性,划线法观察细胞迁移能力变化。结果:与空白对照比较,TB-Ⅱ处理后A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达均增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且与浓度呈正相关。与未转染组比较,转染组细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达均降低($P<0.01$);与TB-Ⅱ处理的未转染细胞比较,TB-Ⅱ处理72 h后的转染细胞增殖活性和迁移能力均增强($P<0.01$)。结论:TB-Ⅱ可通过上调IL-18基因的表达来抑制A549细胞的增殖和迁移。
关键词 知母皂苷B-Ⅱ;人肺癌A549细胞;增殖活性;白细胞介素18;迁移

Study on Inhibitory Mechanism of Timosaponin B-Ⅱ on the Proliferation and Migration of Human Lung Cancer A549 Cells

LU Wenquan¹, QIU Yan², PANG Tao¹, CHEN Wansheng¹(1.Dept. of Pharmacy, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China; 2.Dept. of Pharmacy, No.454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory mechanism of timosaponin B-Ⅱ (TB-Ⅱ) on the proliferation and migration of human lung cancer A549 cells. METHODS: A549 cells were treated with TB-Ⅱ [0 (blank control), 1, 10 and 100 μg/ml] for 48 h, and total RNA and total protein were extracted respectively. Real time fluorescence quantitative-PCR and Western blot were used to detect mRNA and protein levels of IL-18. IL-18 in A549 cells was silenced by transfection; the expression of IL-18 mRNA and protein were compared among untransfection group, negative control group and transfection group; and then human lung cancer A549 cells with silenced gene were treated with 10 μg/ml TB-Ⅱ for 24, 48 and 72 h. The activity of cell proliferation was detected with CCK-8, and the change of cell migration ability was observed by streak method. RESULTS: Compared with blank control, the expression of IL-18 mRNA and protein in A549 cells all increased after treated with TB-Ⅱ ($P<0.05$ or $P<0.01$), and were positively correlated with concentration. Compared with untransfection group, the expression of IL-18 mRNA and protein decreased in transfection group ($P<0.01$). Compared with untransfected cell treated with TB-Ⅱ, the viability and migration ability of A549 cells with transfection gene increased after treated with TB-Ⅱ for 72 h ($P<0.01$). CONCLUSIONS: TB-Ⅱ can inhibit the proliferation and migration of A549 cells by up-regulating IL-18 gene expression.
KEYWORDS Timosaponin B-Ⅱ; Human lung cancer A549 cells; Proliferation activity; IL-18; Migration

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第八卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 737.

[3] 曲永红, 党欢, 王鹏远, 等. 正源方提取物对小鼠的抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用[J]. 中国药房, 2015, 26(7): 901.

[4] Tan W, Yu KQ, Liu YY, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from Radix Rehmanniae Preparata [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50(1): 59.

[5] Xu C, Lv J, Lo YM, et al. Effects of oat β-glucan on endurance exercise and its anti-fatigue properties in trained rats[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(2): 1 159.

[6] Ding JF, Li YY, Xu JJ, et al. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation[J]. *Food Hydrocoll*, 2011, 25(5): 1 350.

[7] Huang LZ, Huang BK, Ye Q, et al. Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of Acanthopanax senticosus[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(1): 213.

[8] 王雪冰, 冯连世. 肌乳酸、细胞内pH值与运动性疲劳研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(1): 119.

[9] Koch AJ, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance exercise[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2014, 14(1): 68.

(收稿日期: 2015-07-10 修回日期: 2015-11-04)
(编辑: 林 静)

* 副主任药师, 博士。研究方向: 中药药理、医院制剂。电话: 021-65307133。E-mail: lwqp@163.com

通信作者: 主任药师, 教授, 博士。研究方向: 医院药学、生药学。电话: 021-65307133。E-mail: chenws126@126.com

知母总皂苷(ATS)具有良好的抗炎活性^[1-2],知母总皂苷片和注射用知母总皂苷已被用于缺血性脑卒中的防治。应用色谱、波谱技术检测的研究结果表明,ATS的主要化学成分为知母皂苷B-Ⅱ(TB-Ⅱ)、知母皂苷E、知母皂苷B,三者含量总和在60%以上;另外还含有少量知母皂苷A-Ⅱ和能促进部分肿瘤细胞凋亡的知母皂苷A-Ⅲ^[3]及其他皂苷成分。笔者前期研究表明,TB-Ⅱ可抑制脑缺血2 h再灌注24 h大鼠的白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) mRNA和蛋白水平表达,这表明TB-Ⅱ可以阻断炎症细胞因子产生,从而抑制脑炎症反应及炎症损伤^[4-5]。最新研究表明,肿瘤与炎症关系密切^[6-7]。炎症是人类疾病中最常见且复杂的病理过程,有大量炎症介质参与其中。炎症部位的细胞因子、趋化因子的持续存在和由其引发的级联反应能够诱导细胞增殖^[8]、趋化炎症细胞聚集、增加活性氧产物的产生,导致DNA氧化损伤。有DNA损伤或发生了基因突变的增殖细胞在富含炎症细胞和多种生物因子的微环境中继续失控性增殖,使修复程序混乱,最终引起癌变^[9]。肿瘤细胞还能通过炎症和肿瘤之间的某些关联,来扩大其宿主体内的克隆性增殖、侵袭和转移^[10]。

鉴于TB-Ⅱ良好的抗炎活性,而炎症与肿瘤之间又有密切的关系,笔者尝试用TB-Ⅱ处理人肺癌A549细胞,观察TB-Ⅱ对肿瘤细胞的增殖及迁移是否产生影响,同时探讨这种影响是否与炎症因子IL-18的表达有关。

1 材料

1.1 仪器

移液器、离心机(德国Eppendorf公司);TP800型定量聚合酶链反应(RT-PCR)仪、TP650型梯度PCR仪(日本Takara公司);VE-180型电泳仪、VE-186型垂直电泳设备(上海天能科技有限公司);Tiskan FC型酶标仪、Helios γ 型紫外分光光度检测仪(美国Thermo公司)。

1.2 药品与试剂

TB-Ⅱ(获赠于第二军医大学药学院生药教研室,批号:20140305,纯度: $\geq 98\%$);RPMI1640培养基(批号:22400-105)、胎牛血清(FBS,批号:1009-141)、0.25%胰蛋白酶(批号:25200-056)、Lipofectamine 2000转染试剂(批号:11668027)、新型总RNA抽提试剂Trizol(批号:15596-018)及反转录试剂盒(批号:AM2043)均购自美国Invitrogen公司;荧光定量试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司];CCK-8细胞增殖检测试剂盒(日本同仁公司);蛋白一抗及二抗(美国CST公司);蛋白提取试剂盒、定量试剂盒及增强化学发光(ECL)试剂盒(美国Pierce公司);细胞培养箱(美国Thermo公司);siRNA合成由上海生工生物工程有限公司进行。

1.3 细胞

人肺癌A549细胞(TCHu150)购于中国科学院上海细胞所。

2 方法

2.1 TB-Ⅱ与IL-18基因表达相关性检测

2.1.1 细胞处理 取对数生长期的A549细胞,胰酶消化法制备细胞悬液,使用含10%FBS的RPMI1640培养基重悬细胞,接种细胞到6孔培养板,每孔2 ml细胞悬液, 1×10^6 个细胞,接种后5%CO₂和37℃条件过夜培养。细胞过夜培养后,加入终质量浓度为0(空白对照)、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ 的TB-Ⅱ到培养基,正常条件下继续培养细胞48 h。

2.1.2 IL-18 mRNA 表达的检测 收集细胞,分别提取细胞总RNA和细胞总蛋白,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,采用RT-PCR法检测细胞内IL-18 mRNA相对表达量。对于每组细胞沉淀,使用4℃预冷的无菌磷酸盐缓冲液(PBS)洗去细胞表面残留的培养液及血清;除去PBS,每孔加入1 ml 4℃预冷的Trizol细胞裂解液,振荡培养板充分裂解细胞,4℃下12 000 $\times g$ 离心5 min,将分层后的溶液上清转移到无菌1.5 ml离心管;酚氯仿法抽提RNA,得到沉淀后用20 μl 焦碳酸二乙酯(DEPC)水溶解,琼脂糖凝胶电泳观察RNA纯度及完整性,紫外分光光度法测定RNA浓度。取2 μg 的总RNA,逆转录制备cDNA,反转录引物为Oligo dT18 Primer。取2 μl 反转录产物作为PCR反应模板,荧光定量法检测IL-18含量, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析定量结果。PCR反应引物序列为:GAPDH上游引物为5'-TTCCAGGAGCGAGATCCCT-3',下游引物为5'-TTGAG-GCTGTTGTCATACTTC-3';IL-18上游引物为5'-AATGAA-ATTTATTGACAATA-3',下游引物为5'-CTATCTTTATACAT-ACTTAT-3'。PCR反应使用20 μl 体系,其中SYBR Premix Ex Taq 10 μl 、引物(20 $\mu\text{mol/L}$)各取0.2 μl 、模板使用量为2 μl ,反应体系用无菌水补足。PCR反应条件:95℃变性10 s;58℃退火10 s;72℃延伸10 s,循环数设置为40。

2.1.3 IL-18蛋白表达的检测 收集细胞,分别提取细胞总RNA和细胞总蛋白,Western blot法检测细胞内IL-18蛋白表达。细胞沉淀中加入1 ml无菌PBS洗细胞2遍,除去PBS,每孔加入0.5 ml细胞裂解液,按照试剂说明书提取细胞总蛋白,BCA法定量细胞总蛋白浓度。定量后的细胞总蛋白,每组10 μl 进行垂直电泳。十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶分离胶浓度为10%,经110 V电压90 min电泳后,丽春红染色观察蛋白条件是否完整;400 mA电流转膜90 min,转膜后5%的脱脂牛奶封闭2 h,4℃一抗过夜孵育,加入IL-18(稀释比为1:300)和GAPDH一抗(稀释比为1:1 000);TBST洗膜3次,加入二抗(稀释比为1:4 000)孵育2 h;TBST洗膜3次,添加ECL反应底物,暗室曝光,扫描曝光底片,统计目的条带光密度值。以目的蛋白光密度值/GAPDH光密度值评价目的蛋白的相对表达量。

2.2 沉默A549细胞中IL-18基因

选取生长状况良好且处于对数生长期的P3代A549细胞,用胰酶消化并制备细胞悬液,使用完全培养基调整细胞密度为 $1 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。将细胞接种到6孔板,每孔加2 ml细胞悬液,在37℃和5%CO₂条件下培养24 h,分为未转染组、阴性对照组和转染组。参照Lipofectmine 2000转染试剂说明书进行质粒转染。siRNA-IL-18序列为5'-GATAGCCAGCCTAGAGGTA-3',阴性对照序列(NC)为5'-ACGAGGACTGCACTGAGAT-3'。转染后48 h,收集细胞,提取细胞总RNA和总蛋白,分别检测细胞内IL-18 mRNA及蛋白的相对表达量。

2.3 细胞增殖活性的检测

取“2.2”项下未转染组和转染组细胞,胰酶消化,收集细胞液沉淀,使用完全培养基制备细胞悬液。接种细胞到96孔细胞培养板,正常条件下培养,细胞培养液中添加质量浓度为10 $\mu\text{g/ml}$ 的TB-Ⅱ,培养24、48、72 h,CCK-8细胞增殖试剂盒检测细胞增殖活性。每孔加入10 μl 的CCK-8溶液,置于37℃和5%CO₂培养箱内继续培养4 h,用酶标仪测定450 nm波长处的吸光度。

2.4 细胞迁移能力的检测

取“2.2”项下未转染组和转染组细胞,胰酶消化,收集细胞液沉淀,使用完全培养基制备细胞悬液。接种细胞到6孔细胞培养板,正常条件下培养24 h,使用无菌1 ml移液器吸头。在孔中划线并做标记,划线完成后使用无血清培养清洗残留细胞2遍,然后加入含有10 μg/ml TB-Ⅱ的完全培养基,培养24、48、72 h后显微镜下观察细胞迁移情况。

2.5 统计学方法

采用SPSS 13.0 统计软件分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用析因分析进行组间差异及组内差异的比较,检验水平为0.05。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 TB-Ⅱ对A549细胞内IL-18基因表达的影响

与空白对照比较,TB-Ⅱ作用后A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白相对表达量升高,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其中10、100 μg/ml的TB-Ⅱ作用48 h后细胞内IL-18 mRNA相对表达量约为空白对照的3.52倍和4.21倍。由此可见,1、10、100 μg/ml的TB-Ⅱ对A549细胞内IL-18表达的影响具有浓度依赖性。不同质量浓度TB-Ⅱ处理后A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白相对表达量的检测结果见表1。

表1 不同质量浓度TB-Ⅱ处理后A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白相对表达量的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Results of the expression of IL-18 mRNA and protein in A549 cells after treated with different concentrations of TB-Ⅱ ($\bar{x} \pm s, n=3$)

TB-Ⅱ质量浓度, μg/ml	IL-18 mRNA/GAPDH	IL-18蛋白/GAPDH
0(空白对照)	1.00±0.15	1.01±0.18
1	1.85±0.22*	1.36±0.68
10	3.46±0.43**	2.74±0.82**
100	3.87±0.49**	3.48±0.87**

注:与空白对照比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$
Note: vs. blank control,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.2 TB-Ⅱ对A549细胞内IL-18基因的沉默效率的影响

与未转染组比较,转染组细胞内IL-18 mRNA和蛋白的相对表达量降低($P<0.01$),分别约为未转染组细胞的23.81%和27.06%;而阴性对照组与未转染组比较,IL-18 mRNA和蛋白表达无明显差异($P>0.05$),说明转染过程本身对A549细胞内IL-18无明显影响。各组细胞内IL-18 mRNA及蛋白相对表达量的检测结果见表2。

表2 各组A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白相对表达量的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Results of the expression of IL-18 mRNA and protein in A549 cells of each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

分组	IL-18 mRNA/GAPDH	IL-18蛋白/GAPDH
未转染组	1.01±0.12	1.01±0.12
阴性对照组	0.98±0.11	1.06±0.17
转染组	0.24±0.03*	0.31±0.07*

注:与未转染组比较,* $P<0.01$
Note: vs. untransfected group,* $P<0.01$

3.3 TB-Ⅱ对细胞增殖活性的影响

与转染组和未转染组比较,经TB-Ⅱ作用72 h的未转染细胞增殖活性降低($P<0.01$)。与经TB-Ⅱ处理的未转染细胞比较,经TB-Ⅱ作用72 h的转染细胞的细胞增殖活性增加($P<$

0.01)。由此说明,IL-18基因沉默后,TB-Ⅱ对A549细胞增殖的抑制作用明显减弱。各组细胞增殖活性的检测结果见表3。

表3 各组A549细胞增殖活性的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 3 Results of cell proliferation activity in A549 cells of each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

分组	作用时间		
	24 h	48 h	72 h
未转染组	0.22±0.01	0.77±0.08	2.12±0.24
转染组	0.19±0.02	0.71±0.06	2.32±0.26
TB-Ⅱ处理的未转染组	0.18±0.01	0.68±0.07	0.31±0.21*
TB-Ⅱ处理的转染组	0.21±0.02	0.69±0.09	1.81±0.18#

注:与未转染组和转染组比较,* $P<0.01$;与TB-Ⅱ处理的未转染组比较,# $P<0.01$

Note: vs. untransfection group and transfection group,* $P<0.01$; vs. TB-Ⅱ treatment untransfection group,# $P<0.01$

3.4 TB-Ⅱ对细胞迁移能力的影响

与转染组和未转染组比较,经TB-Ⅱ作用48、72 h的未转染细胞迁移数减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与经TB-Ⅱ处理的未转染细胞比较,经TB-Ⅱ作用72 h的转染细胞迁移数增加($P<0.01$)。由此说明,IL-18基因沉默可以逆转TB-Ⅱ抑制细胞迁移的效果,可推测TB-Ⅱ抑制A549细胞迁移的作用是通过IL-18来实现的。各组细胞迁移数的检测结果见表4。

表4 各组A549细胞迁移数的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$,个)

Tab 4 Results of A549 cells migration of each group($\bar{x} \pm s, n=3$, number)

分组	作用时间		
	24 h	48 h	72 h
未转染组	1.13±0.12	32.61±5.12	1 422.43±223.26
转染组	1.42±0.21	33.43±6.32	1 322.21±329.33
TB-Ⅱ处理的未转染组	0.88±0.15	10.22±2.91*	482.73±43.12**
TB-Ⅱ处理的转染组	1.14±0.17	28.14±4.53	1 602.32±201.53#

注:与未转染组和转染组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与TB-Ⅱ处理的未转染组比较,# $P<0.01$

Note: vs. untransfection group and transfection group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; vs. TB-Ⅱ treatment untransfection group,# $P<0.01$

4 讨论

肿瘤通常被认为有6个特征:不死性、迁移性、失去接触抑制、生长信号的自给自足、对程序性细胞死亡的逃逸、增长血管的能力^[1]。最新研究表明,肿瘤还具备第7种特征:肿瘤相关性炎症。肿瘤的转移需要依靠肿瘤细胞内在的特征及源自肿瘤微环境的一些因素,例如微环境提供肿瘤内部或周围血管与淋巴管,包括免疫细胞及其分泌产物的炎性环境,以及以细胞外基质形式存在的可提供进一步生长的支架。有研究发现了联系肿瘤微环境的炎症与转移的分子通路^[12]。炎症因子,包括IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)和核因子κB受体活化因子配体(RANKL),可激活炎症并且被认为能够通过作用于细胞播散与在继发部位种植相关的几个步骤从而增加肿瘤细胞的转移能力。

肿瘤的转移与炎性环境密切相关,炎性环境为肿瘤发生、发展及转移的重要启动与维持因素。肺癌的手术过程需要处理大量的血管,这会导致肿瘤周围组织暂时性缺血,进而导致创面处产生炎性反应。虽然手术中会对手术创面作一些处理,局部微炎性环境仍然不可避免,残余的肿瘤细胞在炎性环境中,迁移通路及增殖被激活,肺癌转移随即发生。

免疫治疗是近年来肿瘤治疗研究的热点^[13-14],而细胞因子的基因治疗是肿瘤转基因治疗的重要内容。IL-18是最新发现的具有多种生物学活性的新型多功能细胞因子,可以诱导干扰素7(IFN-7)的产生,增强自然杀伤(NK)细胞的活性,增强辅助性T细胞(Th1)型免疫反应,对肿瘤具有预防和治疗作用^[15]。Osaki T等^[16]用荷瘤小鼠进行体内实验,发现IL-18可以抑制多种移植瘤的生长;在肿瘤移植前给予IL-18,其表现出的抗肿瘤作用更强,甚至可以完全抑制植入肿瘤的生长。

本实验使用TB-Ⅱ处理A549细胞,通过RT-PCR及Western blot法检测TB-Ⅱ对细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达的影响。在此基础上,通过基因沉默的方法敲减A549细胞内IL-18基因,然后使用TB-Ⅱ分别处理转染组及未转染组的细胞,最终通过细胞增殖活性及迁移检测数据说明,TB-Ⅱ是否具有抗肿瘤活性及其抗肿瘤机制是否与IL-18基因相关。研究结果表明,TB-Ⅱ处理A549细胞,细胞内的IL-18基因表达变化明显,即TB-Ⅱ处理可以明显促进细胞内IL-18基因的表达。这说明TB-Ⅱ可能通过上调A549细胞内IL-18的表达来抑制肿瘤细胞的增殖和迁移。TB-Ⅱ对A549细胞的增殖和迁移抑制是否特异地通过IL-18来实现的呢?为了回答这个问题,笔者在A549细胞内先对IL-18基因进行沉默,然后再给予TB-Ⅱ处理。结果,IL-18基因沉默后,TB-Ⅱ对A549细胞增殖及迁移的抑制明显减弱,说明TB-Ⅱ可通过上调IL-18从而抑制肿瘤细胞的增殖和迁移。

参考文献

[1] Huang HL, Chiang WL, Hsiao PC, *et al.* Timosaponin A Ⅲ mediates caspase activation and induces apoptosis through JNK1/2 pathway in human promyelocytic leukemia cells[J]. *Tumour Biol*, 2014, 12(7):525.

[2] Lim SM, Jeong JJ, Kang GD, *et al.* Timosaponin A Ⅲ and its metabolite sarsasapogenin ameliorate colitis in mice by inhibiting NF-κB and MAPK activation and restoring Th17/Treg cell balance[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25(2):493.

[3] 潘会君,莫小辉,冯彦军,等.知母皂苷AⅢ对人脐静脉内皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国药房*, 2014, 25(43): 4 049.

[4] Lu WQ, Qiu Y, Li TJ, *et al.* Timosaponin B-Ⅱ inhibits pro-inflammatory cytokine induction by lipopolysaccharide in BV2 cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(9):1 301.

[5] Cai F, Xu W, Wei H, *et al.* Simultaneous determination of active xanthone glycosides, timosaponins and alkaloids in rat plasma after oral administration of Zi-Shen Pill extract for the pharmacokinetic study by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr*

B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2010, 878(21):1 845.

[6] Bian H, Zhang S, Wu H, *et al.* Interpretation of immunohistochemistry data of tumor should consider microenvironmental factors[J]. *Tumour Biol*, 2015, doi: 10.1007/s13277-015-3088-9.

[7] Libreros S, Garcia-Areas R, Keating P, *et al.* Allergen induced pulmonary inflammation enhances mammary tumor growth and metastasis: role of CHI3L1[J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 97(5):929.

[8] Matsumoto H, Koo SL, Dent R, *et al.* Role of inflammatory infiltrates in triple negative breast cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2015, 68(7):506.

[9] Irwin MR, Olmstead R, Breen EC, *et al.* Tai chi, cellular inflammation, and transcriptome dynamics in breast cancer survivors with insomnia: a randomized controlled trial [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2014, 2014(50):295.

[10] Yang H, Bi Y, Xue L, *et al.* Multifaceted modulation of SIRT1 in cancer and inflammation[J]. *Crit Rev Oncog*, 2015, 20(1/2):49.

[11] Mantovani A. Cancer: inflaming metastasis[J]. *Nature*, 2009, doi:10.1038/457036b.

[12] Smith SG, Koppolu BP, Ravindranathan S, *et al.* Intravesical chitosan/interleukin-12 immunotherapy induces tumor-specific systemic immunity against murine bladder cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(6): 689.

[13] Cao K, Wang G, Li W, *et al.* Histone deacetylase inhibitors prevent activation-induced cell death and promote anti-tumor immunity[J]. *Oncogene*, 2015, doi: 10.1038/onc. 2015.46.

[14] Yang Y, Cheon S, Jung MK, *et al.* Interleukin-18 enhances breast cancer cell migration via down-regulation of claudin-12 and induction of the p38 MAPK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459(3):379.

[15] Fabbi M, Carbotti G, Ferrini S. Context-dependent role of IL-18 in cancer biology and counter-regulation by IL-18BP[J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 97(4):665.

[16] Osaki T, Péron JM, Cai Q, *et al.* IFN-gamma-inducing factor/IL-18 administration mediates IFN-gamma- and IL-12-independent antitumor effects[J]. *J Immunol*, 1998, 160(4):1 742.

(收稿日期:2015-07-11 修回日期:2015-09-22)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅