

DOI:10.13350/j.cjpb.230410

• 论著 •

华支睾吸虫来源的 rCsHscB 对小鼠炎症性结肠癌的治疗效果研究^{*}

张波,董昕,刘曼,王建玲,于倩,李向阳,颜超,郑葵阳^{**}

(徐州医科大学病原生物学与免疫学教研室,江苏省免疫与代谢重点实验室,徐州市感染与免疫重点实验室,江苏徐州 221004)

【摘要】 目的 研究华支睾吸虫来源的分子伴侣(molecular chaperones HscB, CsHscB)对氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)联合葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的小鼠炎症性结肠癌的治疗效果及潜在的分子机制。**方法** C57BL/6小鼠随机分为正常对照组(NC, n=10), rCsHscB组(n=10), 模型组(AOM+DSS, n=15), 干预组(AOM+DSS+rCsHscB, n=15)。模型组和干预组按8 mg/kg体重的剂量经腹腔注射AOM, 1次/d, 连续7 d。然后给予7 d 2% DSS饮水和14 d正常饮水, 共4个循环。在给予DSS饮水的第4 d、7 d, rCsHscB组和干预组小鼠按照1.25 mg/kg体重的剂量经腹腔注射rCsHscB蛋白。记录小鼠体重和生存状况, 第84 d剖杀小鼠, 测量结肠长度, 记录结肠肿瘤个数, HE和Masson染色观察结肠病变, ELISA检测结肠组织中IL-6、MCP-1和IL-10含量, Western blot检测结肠组织中 α -SMA、MMP2、Occludin表达水平和ERK1/2、JNK、P38、AKT、STAT3的磷酸化及非磷酸化水平。**结果** 与正常对照组相比, 模型组71.4%的小鼠结肠中出现肿瘤, 小鼠体重和结肠长度显著降低(均 $P<0.05$), 结肠组织中有大量炎症细胞浸润和纤维化形成。与模型组相比, 干预组小鼠的生存率显著升高($P<0.01$), 体重、结肠长度和炎症纤维化均有所改善, 仅有10%小鼠出现结肠肿瘤($P<0.01$)。与模型组相比, 干预组小鼠结肠组织中IL-6和MCP-1显著降低(均 $P<0.05$), IL-10显著升高($P<0.0501$), α -SMA和MMP2蛋白表达水平降低(均 $P<0.05$), Occludin蛋白表达水平升高($P<0.05$), ERK1/2、JNK、P38、AKT和STAT3蛋白的磷酸化和非磷酸化水平均显著降低(均 $P<0.05$)。**结论** rCsHscB可能通过抑制MAPK和AKT/STAT3信号通路的活化改善AOM/DSS诱导的小鼠炎症性结肠癌。

【关键词】 华支睾吸虫; rCsHscB; 结肠炎; 结肠癌; MAPK信号通路; AKT/STAT3信号通路

【中图分类号】 R383.22

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)04-0421-06

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Apr;18(4):421-426.]

The therapeutic effect of rCsHscB sourced from *Clonorchis sinensis* on colitis-related colorectal cancer in mice

ZHANG Bo, DONG Xin, LIU Man, WANG Jian-ling, YU Qian, LI Xiang-yang, YAN Chao, ZHENG Kui-yang (Department of Pathogenic Biology and Immunology, Jiangsu Key Laboratory of Immunity and Metabolism, Xuzhou Key Laboratory of Infection and Immunity, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu, China)^{***}

【Abstract】 Objective To study the effect and possible mechanism of Molecular chaperones HscB derived from *Clonorchis sinensis* (CsHscB) on colitis-related colorectal cancer induced by Azoxymethane (AOM) and Dextran sodium sulfate (DSS). **Methods** Mice with C57BL/6 background were randomly divided into normal control group (NC group, n=10), rCsHscB group (n=10), model group (AOM+DSS group, n=15), and rCsHscB intervention group (AOM+DSS+rCsHscB group, n=15). The mice in AOM+DSS group and AOM+DSS+rCsHscB group were given 8 mg/kg body weight AOM intraperitoneally once a day for 7 days. Then, mice were given drinking water with 2% DSS for 7 days, and normal drinking water for 14 weeks, which repeated four times. The mice in rCsHscB group and AOM+DSS+rCsHscB group were intraperitoneally injected with 1.25mg/kg body weight rCsHscB protein after four and seven days for 2% DSS drinking water. Body weight and the death of mice in each group were recorded. All mice were killed after 84 days for 2% DSS drinking water, and the length of colon, number of tumors were recorded. HE and Masson staining were used to observe the histopathology of colon. The levels of IL-6, MCP-1 and IL-10 in colon were detected by ELISA. Western Blot were conducted to detect the expression levels of α -SMA, MMP2, Occludin, ERK1/2, p-ERK1/2, JNK, p-

^{*} **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 82172297)。

^{**} **【通讯作者】** 郑葵阳, E-mail: zky@xzhmu.edu.cn

【作者简介】 张波(1990-), 男, 江苏徐州人, 硕士, 实验师, 主要从事病原生物学与免疫学研究。E-mail: 1262179198@qq.com

JNK, P38, p-P38, AKT, p-AKT, STAT3 and p-STAT3 in colon. **Results** Compared with Normal group, the occurrence of colorectal cancer was 71.4%. The body weight and the length of colon in AOM+DSS group decreased significantly ($F=14.136, P<0.05$; $F=60.875, P<0.01$) and inflammatory cells infiltration and fibrosis were more serious in colon. However, compared with the AOM+DSS group, the survival rate in AOM+DSS+rCsHscB group increased significantly ($\chi^2=6.652, P<0.01$); the body weight loss ($F=14.136, P<0.01$), colon shortening ($F=60.875, P<0.01$), inflammation and fibrosis in colon were all improved; the number of colon tumors reduced significantly ($t=3.229, P<0.01$), only 10% of mice developed colon tumor. In addition, IL-6 and MCP-1 in colon also decreased significantly ($F=35.351, P<0.05$; $F=21.118, P<0.01$), while IL-10 increased in this group ($F=27.351, P<0.01$). Western Blot analysis showed that the protein levels of α -SMA and MMP2 decreased ($F=29.361, P<0.01$; $F=83.001, P<0.01$), but the Occludin increased ($F=29.023, P<0.05$) in AOM+DSS+rCsHscB group. Moreover, the levels of p-ERK1/2/ERK1/2 ($F=11.565, P<0.01$), p-JNK/JNK ($F=19.954, P<0.01$), p-P38/P38 ($F=14.725, P<0.01$), p-AKT/AKT ($F=44.02, P<0.01$), p-STAT3/STAT3 ($F=15.411, P<0.05$) were significantly lower than those in the AOM+DSS group. **Conclusion** rCsHscB alleviates AOM/DSS-induced colitis-related colorectal cancer via inhibiting the activation of MAPK and AKT/STAT3 signaling pathways.

【Key words】 *Clonorchis sinensis*; rCsHscB; colonitis; colon cancer; MAPK signaling pathway; AKT/STAT3 signaling pathways

结肠癌是指结肠黏膜上皮在遗传或者环境等多种致癌因素作用下发生的消化道恶性肿瘤^[1],好发于乙状结肠与直肠的交界处^[2]。在我国,结肠癌的发病率和死亡率均呈上升趋势,已成为第四大恶性肿瘤^[3],在全球范围内其发病率和死亡率均位于恶性肿瘤的第三位^[4]。因此,如何预防结肠癌的发生,抑制肿瘤的生长成为目前亟待解决的问题。

研究显示,蠕虫感染可降低自身免疫性疾病和过敏性疾病等的发生风险^[5-6]。除此之外,蠕虫感染与肿瘤的发生发展密切相关,如其可以通过调节宿主免疫系统或者分泌一些活性物质抵抗一些肿瘤的生长、增殖或转移^[7]。一些针对蠕虫和宿主间相互作用蛋白的疫苗不仅可以防止寄生虫的感染,而且有可能预防某些肿瘤的发生^[8]。华支睾吸虫是蠕虫的一种,其成虫寄生在肝胆管内,通过直接接触或通过其排泄-分泌产物(ESPs)可诱导机体产生 I/II 类免疫应答。研究发现, CsHscB 能诱导巨噬细胞产生高水平 IL-10,可显著降低 DSS 诱导慢性溃疡性结肠炎产生的促炎细胞因子 IL-6 和 MCP-1 的含量,进而缓解 DSS 诱导的小鼠慢性溃疡性结肠炎,提示该蛋白具有诱导宿主免疫负调控的功能^[9-10]。然而其是否能够调节炎症性结肠癌发生发展尚不清楚。

本研究通过化学诱导 AOM 联合 DSS 成功诱导小鼠炎症性结肠癌模型,并给与 rCsHscB 治疗,观察 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的小鼠炎症性结肠癌发生发展的影响,为研发新型结肠癌治疗药物提供可靠的实验依据。

材料和方法

1 材料

1.1 实验动物 C57BL/6 小鼠,雄性,29 只,6~8 周(约 20 g),SPF 级,购自北京维通利华公司,动物生产许可证号:SCXK(苏)2020-0011,饲养于徐州医科大学实验动物中心清洁级屏障系统。本研究获徐州医科大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 主要试剂及仪器 重组蛋白 rCsHscB 由本室构建并诱导纯化鉴定^[10],保存于-80℃冰箱。DSS(36~50ku, MP Biomedicals), AOM(上海北诺生物科技有限公司), ELISA 试剂盒(eBioscience), HE 染色试剂盒(碧云天), Masson 染色试剂盒(南京建成), 兔抗鼠 α -SMA、MMP2、Occludin、ERK1/2、JNK、P38、AKT、STAT3 抗体(CST), 羊抗兔 IgG(Affinity), 全波长酶标仪(Synergy 2, Bio-Tek)。

2 方法

2.1 分组及造模 50 只 C57BL/6 小鼠按随机数字表法分为 4 组:正常对照组(Normal 组)、rCsHscB、模型组(AOM+DSS 组)、rCsHscB 干预组(AOM+DSS+rCsHscB 组),其中 Normal 组和 rCsHscB 组每组 10 只, AOM+DSS 组 15 只, rCsHscB 干预组 15 只。适应性饲养 1 周后, AOM+DSS 组和 rCsHscB 干预组小鼠腹腔注射 8 mg/kg AOM, Normal 组和 rCsHscB 组注射等量生理盐水,正常饲养 1 周。继而 Normal 组和 rCsHscB 组给与正常饮用水, AOM+DSS 组以及 rCsHscB 干预组给予含有 2% DSS 的饮用水 7 d,再给予正常高压水饮水两周,此 3 周为一个循环,共 4 个循环。DSS 周的第 4 d、7 d 给予 rCsHscB 组和 rCsHscB 干预组腹腔注射 1.25 mg/kg rCsHscB 蛋白, Normal 组和 AOM+DSS 组腹腔注射等量无内毒素 PBS,于第 84 d 进行剖杀。

2 方法

2.1 样品采集 开始给予 DSS 饮水时,记录每组小鼠生长、体重、存活情况;造模第 84 d 颈椎脱臼处死小鼠,完整取出盲肠和结肠以及小肠,拍照并记录结肠长度、记录肿瘤组织的大小及数量;留取部分结肠组织进行组织包埋、蛋白检测和细胞因子检测。

2.2 HE 和 Masson 染色 取 1 cm 远端结肠,通过固定、脱水、透明后石蜡包埋,切 4 μm 厚度组织片,分别进行 HE 和 Masson 染色,显微镜下观察。

2.3 ELISA 检测细胞因子 称取 100 mg 结肠组织,加入 600 μL 细胞裂解液,充分匀浆,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min(离心半径 24 cm)离心 15 min,收集上清液,ELISA 测定 IL-6、MCP-1 和 IL-10 的含量,按照试剂盒说明书操作。

2.4 Western blot 检测 将结肠组织匀浆,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min(离心半径 24 cm)离心 20 min,取上清加入 loading buffer,混匀煮沸制成电泳样品,每组各取 30 μg 蛋白进行 10% SDS-PAGE,常规转膜,BSA 封闭;加入 ERK1/2、p-ERK1/2、JNK、p-JNK、P38、p-P38、AKT、p-AKT、STAT3、p-STAT3 和 GAPDH 抗体(分别按说明书稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜 3 次;加入二抗(1:2000),室温孵育 2 h,洗膜后加入 ECL 发光液显色成像。使用 Image J 软件对条带进行灰度值分析。

2.5 统计学分析 采用 SPSS16.0 软件进行统计分析,计量资料数据用均数 $\pm$ 标准差表示,资料符合正态分布,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,计数资料以(%,n)表示,采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。统计图使用 GraphPad Prism 7.0 软件绘制。

结 果

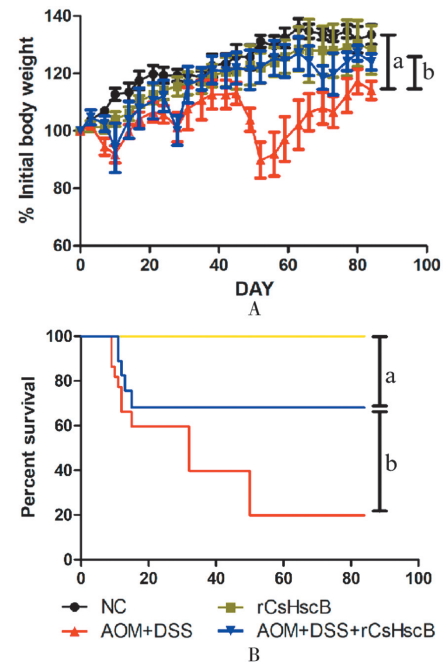
1 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠的体重及存活的影响

随着时间的延长,rCsHscB 组和 NC 组小鼠体重不断升高。与 NC 组相比,AOM+DSS 组小鼠体重下降近 20% ($P<0.01$) (图 1A),AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠体重下降不明显,差异无统计学意义($P>0.05$);与 AOM+DSS 组相比,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠体重下降明显减缓($P<0.01$) (图 1A)。生存分析显示,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠生存率(10/15,66.67%)高于 AOM+DSS 组(3/15,20%) ($P<0.01$) (图 1B)。

2 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠的结肠形态变化的影响

结肠长度比较分析显示,rCsHscB 组小鼠的结肠长度与 NC 组结肠长度基本一致;与 NC 组相比,

AOM+DSS 组小鼠结肠长度显著缩短($P<0.01$) (图 2A,B),而 AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠长度无显著变化($P>0.05$);与 AOM+DSS 组相比,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠长度缩短显著减小($P<0.01$) (图 2A,B)。AOM+DSS 组 71.4% (5/7) 的小鼠出现结肠肿瘤块,AOM+DSS+rCsHscB 组有 10% (1/10) 小鼠出现结肠肿瘤($P<0.01$) (图 2A,C)。

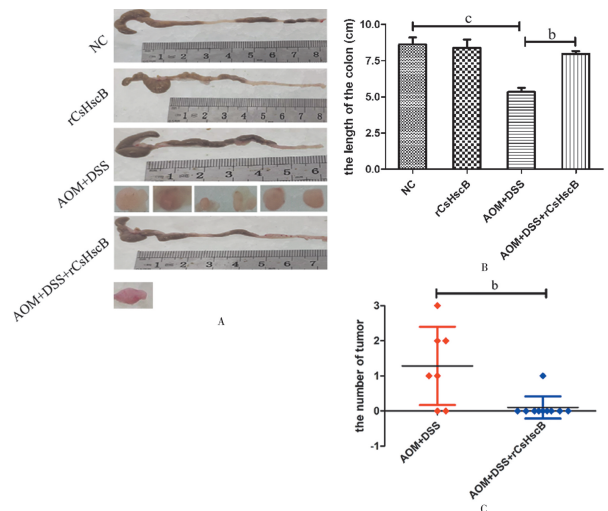


A 小鼠体重变化 B 小鼠生存率变化(与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 AOM+DSS 组比较,^b $P<0.01$)

图 1 小鼠体重及生存率变化

A The body weight in each group B The survival rate in each group(^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$)

Fig. 1 The change of body weight and survival rate in each group



A 小鼠结肠长度测量 B 小鼠结肠长度统计 C 肿瘤个数统计(与 NC 组比较,^c $P<0.01$;与 AOM+DSS 组比较,^b $P<0.01$)。

图 2 小鼠结肠长度变化及肿瘤数量

A The length of colon and tumors in each group B The statistical analysis of colon length in each group C The statistical analysis of the number of tumors in colon(^c $P<0.05$; ^b $P<0.01$)

Fig. 2 The length of colon and number of tumors in each group

3 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠的结肠病理损伤的影响

结肠组织 HE 染色检查显示,NC 组、rCsHscB 组小鼠结肠组织结构完整,无炎症浸润、绒毛层的破坏;AOM+DSS 组结肠组织大量炎症细胞浸润,粘膜下层水肿和绒毛破坏严重,而 AOM+DSS+rCsHscB 组结肠组织炎症细胞浸润和下层水肿以及绒毛破坏现象均显著减轻。Masson 染色显示,NC 组、rCsHscB 组结肠胶原纤维所占比例基本一致;与 NC 组相比,AOM+DSS 组小鼠结肠出现明显的纤维化,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠纤维化明显减轻(图 3)。

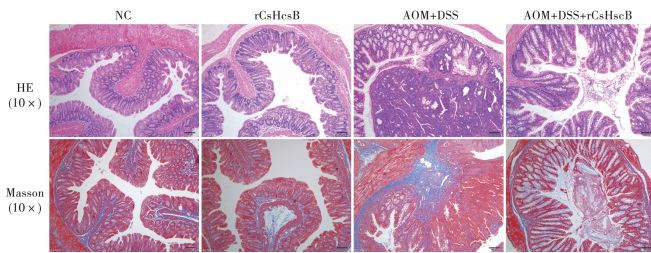


图 3 小鼠结肠组织 HE 染色和 Masson 染色

Fig. 3 HE staining and Masson staining of colon in each group

4 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠的结肠组织 α -SMA、MMP-2 和 Occludin 表达的影响

Western blot 检测显示,与 NC 组相比,rCsHscB 组小鼠结肠组织的 α -SMA、MMP-2 和 Occludin 表达水平无显著变化($P>0.05$),AOM+DSS 组小鼠结肠 α -SMA 和 MMP-2 蛋白表达水平升高($P<0.01$)(图 4B,C),Occludin 蛋白表达水平降低($P<0.01$)(图 4D);与 AOM+DSS 组相比,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠 α -SMA 和 MMP-2 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$)(图 4B,C),Occludin 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)(图 4D)。

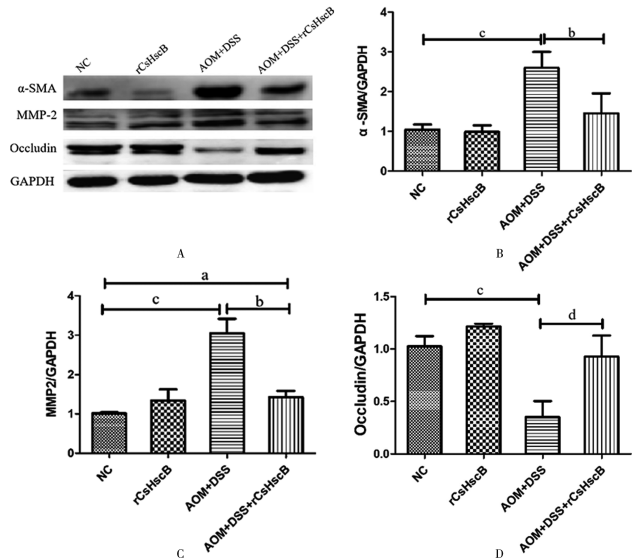
5 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠的结肠组织匀浆上清细胞因子的影响

ELISA 检测结果显示,与 NC 组相比,rCsHscB 组结肠组织 IL-6、MCP-1 和 IL-10 的水平无显著变化(均 $P>0.05$),AOM+DSS 组小鼠结肠组织 IL-6、MCP-1 表达水平增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)(图 5A,B),IL-10 水平无显著变化($P>0.05$);与 AOM+DSS 组相比,AOM+DSS+rCsHscB 组结肠组织 IL-6、MCP-1 水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)(图 5A,B),IL-10 水平显著增高($P<0.01$)(图 5C)。

6 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠结肠组织中 AKT、STAT3 信号通路的影响

Western blot 检测各组小鼠结肠组织中 AKT、STAT3 蛋白的表达水平,结果如图 6。与 NC 组相

比,rCsHscB 组结肠组织 AKT 和 STAT3 的磷酸化水平无显著变化(均 $P>0.05$),AOM+DSS 组小鼠结肠组织 AKT 和 STAT3 的磷酸化水平显著增高(均 $P<0.01$);与 AOM+DSS 组相比,AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠组织 AKT 和 STAT3 的磷酸化水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

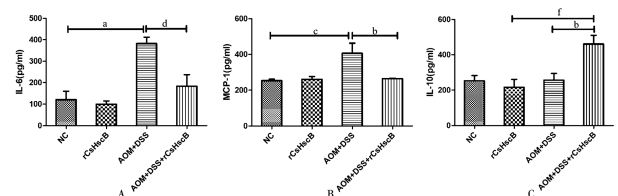


A Western blot 检测 α -SMA、MMP-2 和 Occludin 的蛋白表达水平 B α -SMA 半定量分析 C MMP-2 半定量分析 D Occludin 半定量分析(与 NC 组比较,^a $P<0.05$,^c $P<0.01$;与 AOM+DSS 组比较,^d $P<0.05$,^b $P<0.01$)

图 4 小鼠结肠组织 α -SMA、MMP-2 和 Occludin 的表达情况

A The expression levels of α -SMA, MMP-2 and Occludin were detected by Western blot B The statistical analysis of α -SMA C The statistical analysis of MMP-2 D The statistical analysis of Occludin (^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$; ^c $P<0.01$; ^d $P<0.05$)

Fig. 4 Expression of α -SMA, MMP-2 and Occludin in colon in each group



A IL-6 B MCP-1 C IL-10(与 NC 组比较,^a $P<0.05$,^c $P<0.01$;与 AOM+DSS 组比较,^d $P<0.05$,^b $P<0.01$,与 rCsHscB 组比较,^f $P<0.01$)

图 5 小鼠结肠组织匀浆上清中细胞因子表达情况

A The statistical analysis of IL-6 B The statistical analysis of MCP-1 C The statistical analysis of IL-10(^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$; ^c $P<0.01$; ^d $P<0.05$; ^f $P<0.01$)

Fig. 5 The concentration of cytokines in the homogenate supernatant in each group

7 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌小鼠结肠组织中 MAPK 信号通路的影响

Western blot 检测各组小鼠结肠组织中 MAPK 信号通路相关蛋白的表达水平,结果显示,与 NC 组相比 rCsHscB 组结肠组织 ERK1/2、JNK 和 P38 的磷酸

化水平无显著变化(均 $P > 0.05$), AOM+DSS 组小鼠结肠组织 ERK1/2、JNK 和 P38 的磷酸化水平显著升高(均 $P < 0.01$)(图 7); 与 AOM+DSS 组相比, AOM+DSS+rCsHscB 组小鼠结肠组织 JNK(图 7A、B)、ERK1/2(图 7A、C)、P38(图 7A、D)的磷酸化水平均显著降低(均 $P < 0.01$)。

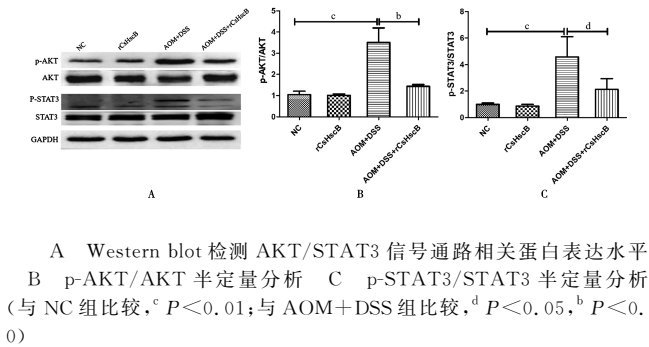


图 6 小鼠结肠组织 AKT/STAT3 信号通路相关蛋白的表达水平
A The expression levels of p-AKT, AKT, p-STAT3 and STAT3 were detected by western blot B The statistical analysis of p-AKT/AKT C The statistical analysis of p-STAT3/STAT3 ($^b P < 0.01$; $^c P < 0.01$; $^d P < 0.05$)

Fig. 6 The expression levels of AKT/STAT3 signaling pathway in colon in each group

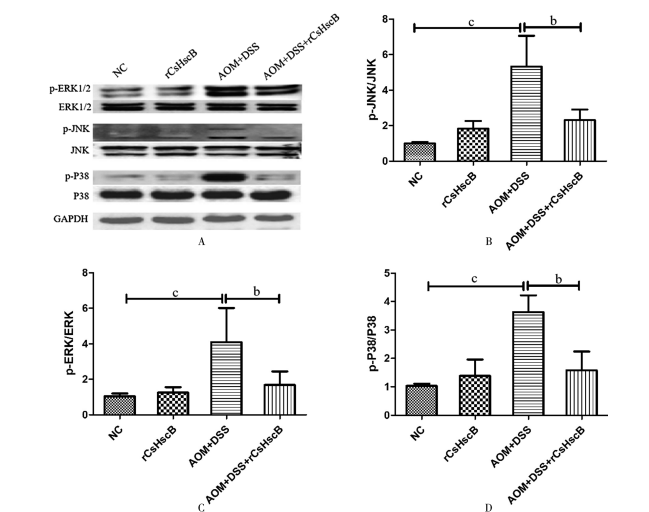


图 7 小鼠结肠组织 MAPK 信号通路相关蛋白的表达水平
A The expression levels of p-ERK, ERK, p-JNK, JNK, p-P38 and P38 were detected by western blot B The statistical analysis of p-ERK/ERK C The statistical analysis of p-JNK/JNK D The statistical analysis of p-P38/P38 ($^b P < 0.01$; $^c P < 0.01$)

Fig. 7 The expression levels of MAPK signaling pathway in colon in each group

讨论

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤^[11], 其发生发展是一个由多种因素共同影响的复杂过程。炎症反应在肿瘤发生的不同阶段起着关键的作用^[12], 如有研究证实胃肠道炎症反应过度的患者更容易发展为结肠

癌^[13]。研究发现, rCsHscB 可抑制 DSS 诱导的小鼠结肠炎症反应^[9]。为了进一步研究 rCsHscB 在结肠癌中的作用, 本研究成功建立 AOM/DSS 诱导的 C57BL/6 小鼠炎症性结肠癌动物模型, 并给与 rCsHscB 干预治疗。结果显示 rCsHscB 干预可明显改善结肠癌小鼠体重下降、结肠长度缩短等症状, 并且抑制肿瘤形成数量, 减轻结肠组织病变, 降低小鼠的死亡率。表明 rCsHscB 对 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌有明显的预防改善作用。

肠道微环境稳态破坏是 AOM/DSS 诱导的结肠癌发生的重要机制, 主要表现为肠道微生物群稳态失衡以及过度的炎症反应^[14]。Occludin 作为紧密连接蛋白, 其表达低下可导致肠上皮屏障的破坏, 与结肠癌的发生、发展密切相关^[15]。MMP-2 是基质金属蛋白酶家族成员之一, 在结肠癌中高表达, 该基因的过表达与肿瘤的淋巴结转移和细胞黏附降低有关, 而且 MMP-2 高表达的结肠癌患者的预后较差^[16]。本研究发现, 在给予 rCsHscB 干预后, 结肠癌小鼠的结肠长度缩短的症状得到显著改善, 结肠组织纤维化病变和组织损伤显著减轻。同时, 结肠组织中的 Occludin 蛋白水平显著增高, α -SMA 和 MMP-2 蛋白水平显著降低。以上结果提示 rCsHscB 能够减缓 AOM/DSS 诱导的结肠上皮屏障破坏以及纤维化病变, 进而维持肠道内环境稳态。

肠道炎症是导致结肠癌最重要的因素之一, 其可通过促进肠上皮细胞的异常增殖进而加剧结肠癌的发生^[17], 结肠组织炎症微环境中的固有免疫细胞如巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞以及适应性免疫细胞 T 细胞和 B 细胞等可分泌大量的促炎因子, 如 IL-6、IL-1 β 和 MCP-1 等, 从而促进结肠癌的进程^[18]。研究证实结肠癌患者血清中 IL-6 含量有所上升^[19], IL-6 可促进结肠癌上皮细胞的生长, 其表达与肿瘤大小呈正相关^[20]。MCP-1 是 β 趋化因子家族中的主要成员, 可诱导单核细胞募集至肿瘤组织周围, 并发生增殖、活化, 从而发挥肿瘤调节作用^[21]。本研究中 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌模型小鼠结肠组织中促炎细胞因子 IL-6、和 MCP-1 含量显著升高, 而 rCsHscB 干预后结肠癌模型小鼠结肠中的 IL-6、MCP-1 水平显著降低, 肿瘤形成个数也显著减少, 表明 rCsHscB 能够抑制促炎因子和趋化因子的表达。此外发现, rCsHscB 能够促进抑炎因子 IL-10 的释放。研究证实, IL-10 是肠道内主要的抗炎细胞因子和必不可少的免疫调节因子^[22], 可抑制 Th1 和 Th17 细胞应答, 进而抑制结肠炎症^[23]。因此, rCsHscB 可通过抑制促炎因子的释放和促进抑炎因子的释放来抑制 AOM/DSS 诱导的结肠癌模型小鼠炎症反应。

结肠癌的发病机制涉及很多因素,与多种信号通路失调相关,这些信号通路异常激活介导的下游靶基因参与了结肠癌的发生发展,通过靶向作用相关基因可以有效的缩小肿瘤,并抑制肿瘤扩散和转移。其中,IL-6/STAT3 信号通路是结肠癌发展的关键信号通路之一。研究表明 IL-6/STAT3 通路激活下游靶基因可抑制肿瘤细胞凋亡,促进结肠癌细胞增殖和迁移^[24],IL-6 与其受体结合还可导致 JAK 磷酸化,进一步通过调控 PI3K/Akt 信号通路导致 Akt 磷酸化水平发生改变,并在肿瘤细胞的生长、增殖、存活、分化、侵袭和转移中发挥关键作用^[25]。另外,MAPK 作为细胞内重要的炎症转化信号通路,主要包括 ERKs、JNKs 和 p38-MAPKs,大量的研究表明 ERKs 和 p38 MAPKs 可调节炎症反应和抗肿瘤免疫,进而促进肿瘤的转移^[26],而抑制 p38 和 ERK/MAPK 信号通路可有效减小移植瘤和 AOM/DSS 诱导的结肠癌的肿瘤体积^[27]。本研究发现,rCsHscB 干预后结肠癌小鼠结肠组织中磷酸化的 STAT3 和 AKT 水平降低,ERK1/2、JNK 和 P38 的磷酸化水平也是降低的,提示 rCsHscB 可能通过抑制 IL-6/STAT3 和 MAPK 信号通路从而抑制结肠癌的发生发展。

综上所述,rCsHscB 可能通过抑制 IL-6、IL-1 β 和 MCP-1 的表达以及 MAPK 和 AKT/STAT3 信号通路的活化改善 AOM/DSS 诱导的炎症性结肠癌,为结肠癌生物治疗及药物研发提供了新思路。

【参考文献】

- [1] Clarke WT, Feuerstein JD. Colorectal cancer surveillance in inflammatory bowel disease: Practice guidelines and recent developments [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(30): 4148-4157.
- [2] Jaswani TS, Hobson EM, Grider DJ. A Complication of Crohn's Disease? [J]. Gastroenterology, 2019, 157(1): 31-33.
- [3] Sun Y, Tian MM, Zhou LX, et al. Value of c-met for predicting progression of precancerous gastric lesions in rural Chinese population [J]. Chin J Cancer Res, 2012, 24(1): 18-22.
- [4] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [5] Sanya RE, Nkurungi G, Andia Biraro I, et al. A life without worms [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2017, 111(1): 3-11.
- [6] 渠铮,张媛媛,金雪敏,等. 蠕虫感染通过固有免疫系统在炎症性肠病中的治疗潜能 [J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(2): 245-248.
- [7] Lustigman S, Prichard RK, Gazzinelli A, et al. A research agenda for helminth diseases of humans: the problem of helminthiasis [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2012, 6(4): e1582.
- [8] 吴银娟,何晴,殷颖璇,等. 蠕虫感染与肿瘤发生关系的研究进展 [J]. 传染病信息, 2022, 35(01): 84-89.
- [9] 华慧,董昕,张雨钊,等. 华支睾吸虫来源的分子伴侣 rCsHscB 对小鼠慢性溃疡性结肠炎有治疗作用 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(5): 664-670.
- [10] Yan C, Fang F, Zhang YZ, et al. Recombinant CsHscB of carcinogenic liver fluke Clonorchis sinensis induces IL-10 production by binding with TLR2 [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2020, 14(10): e0008643.
- [11] Malki A, Elruz RA, Gupta I, et al. Molecular mechanisms of colon cancer progression and metastasis: recent insights and advancements [J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1): 130.
- [12] Maizels RM. Parasitic helminth infections and the control of human allergic and autoimmune disorders [J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(6): 481-486.
- [13] Rogler G. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer [J]. Cancer Lett, 2014, 345(2): 235-241.
- [14] Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease [J]. Nature, 2011, 474(7351): 298-306.
- [15] Bak YK, Lampe JW, Sung MK. Effects of dietary supplementation of glucosamine sulfate on intestinal inflammation in a mouse model of experimental colitis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2014, 29(5): 957-963.
- [16] Pezeshkian Z, Nobili S, Peyravian N, et al. Insights into the role of matrix metalloproteinases in precancerous conditions and in colorectal cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(24): 6226.
- [17] Chen J, Pitmon E, Wang K. Microbiome, inflammation and colorectal cancer [J]. Semin Immunol, 2017(32): 43-53.
- [18] Kikuchi T, Mimura K, Ashizawa M, et al. Characterization of tumor-infiltrating immune cells in relation to microbiota in colorectal cancers [J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(1): 23-32.
- [19] Tarasiuk A, Mosinska P, Fichna J. The mechanisms linking obesity to colon cancer: An overview [J]. Obes Res Clin Pract, 2018, 12(3): 251-259.
- [20] Chalaris A, Schmidt-Arras D, Yamamoto K, et al. Interleukin-6 trans-signaling and colonic cancer associated with inflammatory bowel disease [J]. Dig Dis, 2012, 30(5): 492-499.
- [21] Yoshimura T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? [J]. Cell Mol Immunol, 2018, 15(4): 335-345.
- [22] Wang K, Karin M. Tumor-elicited inflammation and colorectal cancer [J]. Adv Cancer Res, 2015(1280): 173-196.
- [23] Liu B, Tonkonogy SL, Sartor RB. Antigen-presenting cell production of IL-10 inhibits T-helper 1 and 17 cell responses and suppresses colitis in mice [J]. Gastroenterology, 2011, 141(2): 653-662.
- [24] Lin Y, He Z, Ye J, et al. Progress in understanding the IL-6/STAT3 pathway in colorectal cancer [J]. Onco Targets Ther, 2020(13): 13023-13032.
- [25] Ersahin T, Tuncbag N, Cetin-Atalay R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway [J]. Mol Biosyst, 2015, 11(7): 1946-1954.
- [26] Pancione M, Giordano G, Parcesepi P, et al. Emerging insight into MAPK inhibitors and immunotherapy in colorectal cancer [J]. Curr Med Chem, 2017, 24(14): 1383-1402.
- [27] Chiacchiera F, Grossi V, Cappellari M, et al. Blocking p38/ERK crosstalk affects colorectal cancer growth by inducing apoptosis in vitro and in preclinical mouse models [J]. Cancer Lett, 2012, 324(1): 98-108.

【收稿日期】 2022-10-27 【修回日期】 2023-01-19