

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.009

肝癌细胞特异性 IL-1 β 反义 RNA 对小鼠移植肝癌的抑制

刘艳艳, 梁淑娟*, 王焕芹, 张素华, 肖伟玲, 吴慧娜 (潍坊医学院 免疫学教研室, 山东省高校免疫学重点实验室, 山东 潍坊 261042)

[摘要] 目的: 构建肝癌细胞特异性小鼠 IL-1 β 反义 RNA 表达载体, 观察其对 H22 肝癌细胞小鼠移植瘤生长的影响及其相关机制。方法: 构建由 AFP 最小启动子和 CMV 增强子嵌合序列调控的携 IL-1 β 反义 RNA 表达载体 pafpIRES2-antiIL-1 β 1 和 pafpIRES2-antiIL-1 β 2, 经质粒 PCR、限制性酶谱分析、序列测定进行鉴定。反义 RNA 表达载体转染小鼠 H22 肝癌细胞, 分 H22/mock 组、H22/antiIL-1 β 1 组、H22/antiIL-1 β 2 三组, RT-PCR 检测 IL-1 β 的表达水平。以转染后的 H22 细胞皮下接种建立荷肝癌小鼠模型, 观察移植瘤体积和重量, MTT 法检测荷瘤小鼠脾脏中分离的 NK 细胞对 H22 细胞的杀伤活性。结果: 经质粒 PCR、限制性酶谱分析、序列测定证实成功构建能够在肝癌细胞中特异性表达 IL-1 β 反义 RNA 的表达载体 pafpIRES2-antiIL-1 β 1 和 pafpIRES2-antiIL-1 β 2, 转染 H22 细胞后细胞中 IL-1 β 表达水平明显下降, 以 pafpIRES2-antiIL-1 β 2 更为显著。成功建立荷肝癌小鼠模型, 与 H22/mock 组小鼠相比, H22/antiIL-1 β 2 组小鼠移植瘤体积较小, 生长显著减慢 ($P < 0.05$)。H22/antiIL-1 β 1、H22/antiIL-1 β 2 组荷瘤小鼠的 NK 细胞对 H22 细胞的杀伤活性明显增强 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 成功构建的肝癌细胞特异性 IL-1 β 反义 RNA 表达载体可有效抑制小鼠移植肝癌的生长, 其机制与靶向阻断 IL-1 β 表达、上调 NK 细胞的杀伤活性有关。

[关键词] 肝癌; 白细胞介素 1 β ; 反义 RNA; NK 细胞

[中图分类号] R735.7; R735.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)03-0253-05

Hepatocarcinoma specific IL-1 β anti-sense RNA inhibits implanted hepatocarcinoma in mice

LIU Yan-yan, LIANG Shu-juan*, WANG Huan-qin, ZHANG Su-hua, XIAO Wei-ling, WU Hui-na (Department of Immunology, Weifang Medical College; Key Immunology Laboratory of Higher Institution of Shandong Province, Weifang 261042, Shandong, China)

[Abstract] **Objective**: To construct hepatocarcinoma specific IL-1 β anti-sense RNA expression vector and to explore its effect on the growth of implanted hepatocarcinoma H22 cells in mice and the possible mechanism. **Methods**: Murine IL-1 β anti-sense RNA expression vectors pafpIRES2-antiIL-1 β 1 and pafpIRES2-antiIL-1 β 2 under the regulation of minimal alpha-feto protein (AFP) promoter and CMV enhancer were constructed, and further verified by PCR, restriction endonuclease analysis and DNA sequencing. H22 cells transfected with pafpIRES2-antiIL-1 β 1 or pafpIRES2-antiIL-1 β 2 were divided into 3 groups: H22/mock, H22/antiIL-1 β 1 and H22/antiIL-1 β 2 group. Expression of IL-1 β was detected by RT-PCR. Transfected H22 cells were subcutaneously injected into mice to establish tumor implanted mouse model. Tumor volume was measured; the cytotoxicity of spleen NK against H22 cells was detected by MTT. **Results**: Hepatocarcinoma specific IL-1 β anti-sense RNA expression vectors pafpIRES2-antiIL-1 β 1 and pafpIRES2-antiIL-1 β 2 were successfully constructed and were verified by PCR, restriction endonuclease analysis and DNA sequencing. IL-1 β expression in H22 cells was down-regulated after transfected with IL-1 β anti-sense RNA expression vectors, especially with the pafpIRES2-antiIL-1 β 2 vector. Hepatocarcinoma cells implanted mouse model was successfully established. Tumor volume and growth of tumor in H22/antiIL-1 β 2 mice was obviously smaller than that in H22/mock mice, and the cytotoxicity of spleen NK against H22 cells in H22/antiIL-1 β 1 and H22/antiIL-1 β 2 mice was also greatly enhanced. **Conclusion**: Hepatocarcinoma

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30772497); 山东省高层次卫生人才 1020 工程专项基金; 教育部科学技术研究基金重点项目(No. 205090); 山东省科技攻关计划项目(No. 2008GG10002007)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30772497); the "1021" Engineering Foundation of Shandong Public Health System; the Major Science and Technology Project of the Ministry of Education of China (No. 205090); the Science and Technology Research Project of Shandong Province (No. 2008GG100020007)

[作者简介] 刘艳艳(1982-), 女, 山东省昌邑市人, 硕士生, 主要从事抗肿瘤免疫方面的研究

* 通讯作者(Corresponding author). E-mail: liangshj@wfmc.edu.cn

specific IL-1 β anti-sense RNA expression vector pafpIRES2-antiIL-1 β was successfully constructed. It effectively inhibits the growth of implanted hepatocarcinoma in mice probably through specifically blocking expression of IL-1 β and increasing cytotoxicity of spleen NK.

[**Key words**] liver neoplasms; IL-1 β ; anti-sense RNA; NK cell

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(3): 253-257]

在肿瘤的发生发展过程中,肿瘤与周围的宿主体成分形成肿瘤微环境,主要包括肿瘤细胞、宿主细胞、细胞外基质以及大量分泌的细胞因子,其中最重要的是细胞因子。慢性炎症性细胞因子在肿瘤的发生发展中扮演重要角色^[1]。白细胞介素1(interleukin-1 β , IL-1 β)是肿瘤微环境分泌的一种重要的促炎性细胞因子,在乳腺癌、肺癌、结肠癌及黑素瘤中都有较高水平的表达^[2],也有研究^[3]认为IL-1 β 与病毒感染导致的肝细胞癌有关。IL-1 β 通过促进恶性细胞或宿主来源的基质细胞分泌生长因子、血管生成因子、基质金属蛋白酶、乏氧因子和黏附分子促进肿瘤血管的生成并参与肿瘤的生长、局部浸润和远处转移^[4]。以IL-1为靶点的靶向治疗策略呈现出良好的应用前景。

本实验构建能够在肝癌细胞中特异性表达的由AFP最小启动子和CMV增强子嵌合序列调控的小鼠IL-1 β 反义RNA表达载体,观察其对IL-1 β 表达的影响;并以转染反义RNA表达载体的H22肝癌细胞构建皮下荷瘤小鼠模型,观察其对小鼠体内肿瘤生长的影响,为下一步以IL-1 β 为靶点的肝癌治疗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

BALB/c小鼠(6~8周龄)购自北京维通利华实验动物有限公司[合格证号为SCXK(京)2006-0008]。小鼠肝癌细胞H22(购自ATCC公司)培养于DMEM培养基(含10%新生牛血清);小鼠淋巴瘤细胞YAC-1(购自ATU公司)培养于RPMI 1640培养基(含10%新生牛血清);小鼠结肠癌细胞CT-26由本室保存,培养于RPMI 1640完全培养基(含10%新生牛血清)。pIRES2-EGFP由本室保存, M-MLV逆转录酶购自Invitrogen公司, Pfu DNA聚合酶、Taq DNA聚合酶、限制性内切酶EcoR I和Xho I、T4连接酶等均购自MBI公司; jetPEI及淋巴细胞分离液均购自深圳达科为公司。

1.2 肝癌细胞特异性表达载体的构建

首先从pIRES2-EGFP中扩增巨细胞病毒(CMV)增强子(324 bp),引物序列:上游引物5'-

AAT AGG GAC TTT CCA TTG ACG-3',下游引物5'-AAT GTT CTT CAC CAT CAA AAC AAA CTC CCA TTG ACG-3'。从小鼠H22细胞基因组DNA中扩增甲胎蛋白(AFP)最小启动子(229 bp),上游引物5'-ATG GTG AAG AAC ATT TGC AGC-3',下游引物5'-TTG CTA GCT TCG AGC AGT GCT GCT GAA GTC CTT-3',在ECMV的下游引物中含有与AFP启动子互补的15 bp序列。然后利用重叠延伸PCR(SOE-PCR)将上述片段连接,引入pIRES2-EGFP,构建由AFP最小启动子调控的肝癌细胞特异性表达载体pafpIRES2-EGFP。构建的载体经质粒PCR、限制性酶谱分析、DNA序列测定和细胞转染鉴定正确后,用于IL-1 β 反义RNA表达载体的构建。

1.3 小鼠腹腔巨噬细胞的分离及总RNA的提取

分离前1~2 d,小鼠腹腔内注射6%无菌淀粉肉汤1 ml,实验时向小鼠腹腔注入生理盐水2 ml,抽取灌洗液,离心分离腹腔巨噬细胞,2 \times 10⁶/ml细胞加入LPS(5 μ g/ml)培养4 h,收集细胞,按照RNA提取试剂盒说明提取总RNA, -70 $^{\circ}$ C保存备用。

1.4 肝癌细胞特异性IL-1 β 反义RNA表达载体的构建及鉴定

选择两段反义RNA的作用靶点:IL-1 β 1针对IL-1 β 编码序列的-12~234 bp,跨越ATG起始密码子附近区域,是经典的反义RNA靶向位点;IL-1 β 2针对387~671 bp,跨越IL-1 β 转化酶(ICE)的作用位点。所用的PCR引物如下:IL-1 β 1(264 bp)上游引物P1:5'-CCG GAA TTC GTC TGA AGC AGC TAT GGC AAC T-3',下游引物:5'-CCG CTC GAG TGC TCA TGT CCT CAT CCT GG-3'; IL-1 β 2(284 bp)上游引物5'-CCG GAA TTC GCC CAT CCT CTG TGA CTCA-3',下游引物5'-CCG CTC GAG GGT GTG CCG TCT TTC ATT AC-3'。IL-1 β 1和IL-1 β 2的上游引物中引入Xho I,下游引物中加入EcoR I限制性内切酶位点。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性5 min,94 $^{\circ}$ C 30 s,57 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,共30个循环,最后72 $^{\circ}$ C延伸10 min。20 g/L琼脂糖凝胶电泳分析PCR结果,回收并纯化目的基因片段,与pafpIRES2-EGFP表达载体同时进行Xho I和EcoR I双酶切,在T4连接酶作用下反向连接,16 $^{\circ}$ C反应2

h. 反应产物转化 DH5 α , 质粒 PCR 方法初步鉴定后, 最后进行 DNA 测序分析, 获得反义 RNA 表达载体 pafpIRES2-antiIL-1 β 1 和 pafpIRES2-antiIL-1 β 2。

1.5 倒置相差荧光显微镜下观察重组载体在肿瘤细胞中的转染和表达

H22、YAC-1 及 CT-26 细胞培养于完全培养基中, 细胞的转染根据 jetPEI 说明书完成, 转染前 12 h 更换培养液, 将细胞接种于 6 孔培养板, 使转染时细胞汇合达到 85%。按照说明配制好质粒与 jetPEI 混合物, 加到 H22 细胞中, 实验分 3 组: pafpIRES2-antiIL-1 β 1 组 (H22/antiIL-1 β 1)、pafpIRES2-antiIL-1 β 2 组 (H22/antiIL-1 β 2) 和 pafpIRES2-EGFP 对照组 (H22/mock)。同时为证明载体的肝癌特异性, 将载体转染 YAC-1 及 CT-26 细胞。转染 48 h 后, 倒置相差荧光显微镜下观察重组载体在肿瘤细胞中的转染和表达。

1.6 RT-PCR 检测 IL-1 β mRNA 的表达

取 H22/antiIL-1 β 1、H22/antiIL-1 β 2、H22/mock 细胞, 提取细胞总 RNA, 扩增小鼠 IL-1 β 全长基因 (810 bp): 上游引物 5'-CCG GAA TTC ACC ATG GCA ACT GTT CCT GAA-3', 下游引物 5'-CCG CTC GAG TTA GGA AGA CAC AGA TTC-3'。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 57 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。15 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 结果。

1.7 荷瘤小鼠模型的建立及观察 IL-1 β 反义 RNA 对移植瘤生长的影响

调整 H22/anti-IL-1 β 1、H22/anti-IL-1 β 2 及 H22/mock 细胞的密度, 按 2×10^5 /只将细胞接种于 BALB/c 小鼠右侧前肢腋下, 建立皮下荷瘤模型。5 d 后开始观察肿瘤生长状况, 以刚触及肿瘤为成瘤标准, 每隔 2 d 游标卡尺测量 1 次, 并记录最大径和最小径。体积公式: $V = 1/6 \times \pi \times a \times b^2$ (a: 最大径; b: 最小径)。比较各组肿瘤的生长情况。

1.8 MTT 法检测荷瘤小鼠脾脏 NK 细胞杀伤活性

断颈处死荷瘤小鼠, 无菌分离荷瘤小鼠脾脏, 按照淋巴细胞分离液说明书中的方法, 称重后研磨并分离小鼠脾脏淋巴细胞, 重悬于完全 DMEM 培养液, 即得到 NK 细胞杀伤活性中效应细胞。以 H22 细胞为靶细胞, 调整密度为 5×10^4 /ml, 混匀后 100 μ l 靶细胞/孔加入 96 孔板, 培养 24 h 后按 10:1、20:1、40:1 不同效靶比加入效应细胞 100 μ l/孔, 培养 6 h, 加入 MTT (5 mg/ml) 10 μ l/孔, 培养 4 h, 弃 150 μ l 上清, 加入 150 μ l DMSO 溶解 10 min, 测 570 nm 和 630 nm 波长处的光密度值 D , 按照下述的公

式计算杀伤率: 杀伤率 (%) = $[1 - (D_{E+T} - D_E) / D_T] \times 100\%$ 。其中 D_E 为单纯效应细胞; D_T 为单纯靶细胞, D_{E+T} 为效应细胞加靶细胞。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 11.5 统计软件包, 数据的统计学分析采用配对 t 检验的方法, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌细胞特异性表达载体的构建和鉴定

利用 SOE-PCR 获得含有 AFP 启动子和 ECMV 嵌合的 DNA 序列, 然后将获得的 AFP-ECMV 嵌合 DNA 序列引入 pIRES2-EGFP, 构建由 AFP 最小启动子调控的肝癌细胞特异性表达载体, 经质粒 PCR、限制性酶谱分析、DNA 序列测定和细胞转染鉴定正确后将其命名为 pafpIRES2-EGFP (图 1)。

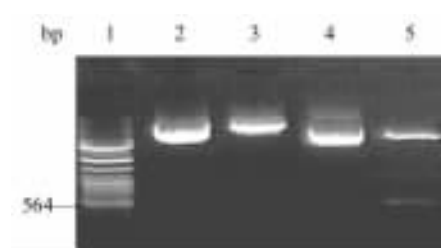


图 1 重组表达载体 pafpIRES2-EGFP 的限制性酶谱分析
Fig. 1 Restriction endonuclease analysis of recombinant expression vector pafpIRES2-EGFP

1: 100 bp GenRuler DNA Marker; 2,4: pafpIRES2-EGFP; 3: pafpIRES2-EGFP + *Nde* I; 5: pafpIRES2-EGFP + *Nde* I/*Nhe* I

2.2 肝癌细胞特异性 IL-1 β 反义 RNA 表达载体的构建及鉴定

RT-PCR 扩增 IL-1 β 1 和 IL-1 β 2 获得两片段长度与预期产物相符, 产物经 *Eco*R I、*Xho* I 双酶切后, 反向插入 pafpIRES2-EGFP 表达载体。PCR 鉴定阳性的质粒利用 *Eco*R I、*Xho* I 进行限制性内切酶谱分析 (图 2)。序列测定证明 IL-1 β 反义 RNA 表达载体构建成功, 获得的重组表达载体含有与预期序列完全一致的基因片段, 分别命名为 pafpIRES2-antiIL-1 β 1 和 pafpRES2-antiIL-1 β 2。

2.3 IL-1 β 反义 RNA 在 H22 细胞的特异性表达

IL-1 β 反义 RNA 表达载体 pafpIRES2-antiIL-1 β 1 和 pafpIRES2-antiIL-1 β 2 转染 48 h 后荧光显微镜下, 可见转染 pafpIRES2-antiIL-1 β 的 H22 肝癌细胞发出明亮绿色荧光, 而 YAC-1 及 CT-26 细胞未见荧光, 证明 IL-1 β 反义 RNA 表达载体转染后肝癌细胞能够高效表达外源基因 (图 3)。

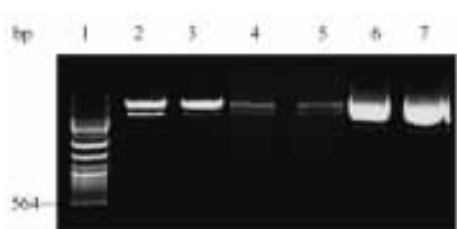


图2 pafpIRES2-EGFP-antiIL-1β反义RNA表达载体的EcoRI、XhoI限制性酶谱分析

Fig. 2 Restriction endonuclease analysis of anti-sense RNA expression vector pafpRES2-antiIL-1β

1: DNA/EcoRI + HindIII Marker; 2,3: pafpIRES2-antiIL-1β2 + EcoRI and XhoI; 4,5: pafpIRES2-antiIL-1β1 + EcoRI and XhoI; 6,7: pafpRES2-EGFP

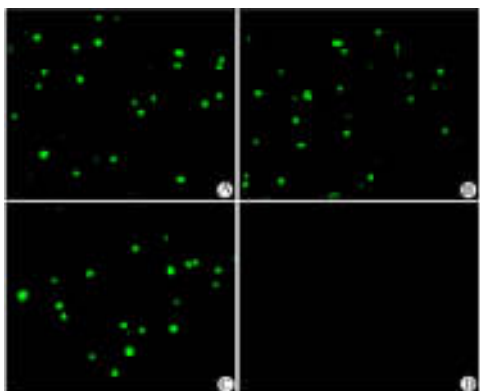


图3 IL-1β1和IL-1β2反义RNA在H22细胞中的表达
Fig. 3 Expression of IL-1β1 and IL-1β2 (×100) anti-sense RNA in H22 cells

A: AntiIL-1β2 transfected H22 cells; B: AntiIL-1β1 transfected H22 cells; C: Mock transfected H22 cells; D: AntiIL-1β2 transfected YAC-1 cells

2.4 IL-1β反义RNA表达载体转染后H22细胞的IL-1β表达水平

取H22/antiIL-1β1、H22/antiIL-1β2、H22/mock细胞,扩增IL-1β全长基因,得到目的基因片段。与H22/mock比较,H22/antiIL-1β1和H22/antiIL-1β2细胞中IL-1β的表达受到抑制,H22/antiIL-1β2中受抑制程度更为明显(图4)。

2.5 IL-1β2反义RNA表达载体对肿瘤生长的影响

用IL-1β反义RNA表达载体转染的H22细胞构建荷瘤小鼠,每隔2d观察肿瘤的形成时间、生长速度等(图5)。H22/antiIL-1β1、H22/antiIL-1β2组与H22/mock组小鼠比较,H22/antiIL-1β2组肿瘤体积较小,生长缓慢,说明IL-1β反义RNA可显著抑制肝癌移植瘤的生长。

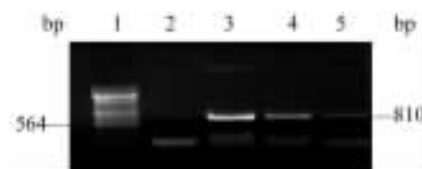


图4 RT-PCR检测转染pafpRES2-antiIL-1β后H22细胞中IL-1β基因的表达

Fig. 4 Expression of IL-1β gene in H22 cells after transfection with pafpRES2-antiIL-1β

1: DNA/EcoRI + HindIII Marker; 2: Negative control; 3: H22/mock cells; 4: H22/antiIL-1β1 cells; 5: H22/antiIL-1β2 cells

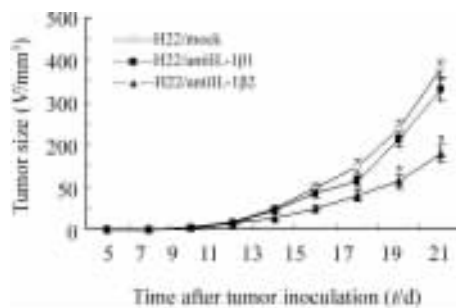


图5 IL-1β反义RNA表达载体对裸鼠移植瘤生长的影响
Fig. 5 Effect of IL-1β anti-sense RNA expression vector on proliferation of implanted tumor in nude mice

* P < 0.05 vs H22/mock group

2.6 IL-1β2反义RNA表达载体对荷瘤小鼠脾脏NK细胞杀伤活性的影响

MTT实验显示,H22/anti-IL-1β1和H22/anti-IL-1β2组与对照组相比,荷瘤小鼠脾脏分离的NK细胞对靶细胞H22的杀伤活性明显提高,其中以H22/anti-IL-1β2组荷瘤小鼠NK细胞的效果更为显著,在效靶比20:1时杀伤率升高了约28.04%,在效靶比40:1时升高了约50.73%(图6)。

3 讨论

研究^[4]表明,全身或局部炎症可以使癌细胞更具有攻击性,慢性炎症产生一种癌前微环境。炎症浸润能产生大量的促炎性因子,如TNF-α、IL-1等。IL-1家族中主要包括IL-1α、IL-1β和IL-1Ra,与肿瘤的发生和发展关系最密切的是IL-1β。研究^[5]表明,IL-1β能增强肿瘤侵袭力,促进肿瘤血管的形成,并能引发机体的免疫抑制。Apte等^[6]认为由微环境或恶性细胞过度表达的IL-1β通过促进局部炎症反应致癌,诱导肿瘤细胞增殖并转移。Saijo等^[7]将IL-1β转染Lewis肺癌细胞(LLC/IL-1β),检测LLC/IL-1β分泌的VEGF和MIP-2生成增多;利用LLC/IL-1β构建的

荷瘤小鼠体内,肿瘤内的 HGF 表达明显增多,用抗血管生成制剂 TNP-470 可以抑制 LLC/IL-1 β 肿瘤细胞的生长。B16 小鼠黑素瘤模型体内,来源于基质的 IL-1 β 可以促进黑素瘤的肝转移,脾内注射 IL-1 β 则能提高肝转移率;而在 IL-1 β 敲除的小鼠体内,肝转移减少;ICE 敲除的小鼠体内,肝转移完全被抑制^[8]。Yamanaka 等^[9]也证实,在胃癌细胞 GCTM-1 中 IL-1 β 能增强细胞的侵袭力。IL-1 β 还能启动纤维肉瘤细胞中的炎症反应,促进细胞的生长^[10]。研究^[3]表明,HBV 感染患者、肝癌患者血清中 IL-1 β 表达水平均明显升高。本研究前期实验^[11]也证实该因子具有促进肝癌细胞生长和行为恶化的作用,提示该因子与肝癌的关系密切。本实验中,为了增加 IL-1 β 表达的组织特异性,首先构建了能够在小鼠肝癌细胞中特异性表达的真核载体,随后建立小鼠体内移植瘤模型,观察靶向阻断 IL-1 β 对肿瘤细胞增殖、浸润和免疫杀伤敏感性影响。

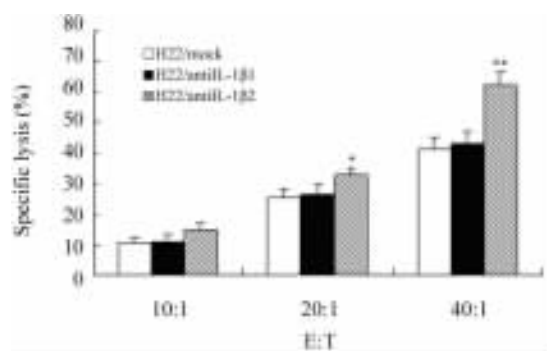


图6 反义 RNA 表达载体对荷瘤鼠脾脏 NK 细胞杀伤活性的影响
Fig. 6 Effect of IL-1 β anti-sense RNA expression vector on cytotoxicity of spleen NK in tumor implanted nude mice
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs H22/mock group

反义 RNA (antisense RNA) 技术就是指利用基因重组技术构建表达载体,使其离体或体内表达能够与靶基因 mRNA 特异结合的反义 RNA,从而达到封闭或抑制靶基因表达,进而实现对基因功能调控的技术。本研究中设计 IL-1 的反义 RNA 时选取了两个潜在靶点:IL-1 β 1 针对 IL-1 β mRNA 的 5'端,跨越 ATG 起始密码子,通过互补结合可抑制 IL-1 β 前体蛋白的翻译;IL-1 β 2 跨越了 ICE 的剪切位点,可以抑制前体蛋白的剪切,阻碍成熟蛋白的分泌。上述片段与构建的肝癌特异性表达载体 pafpIRES2-EGFP 连接后,形成能够在肝癌细胞中特异性表达的重组载体,该载体的优势在于:能够提高目的基因在特定的靶细胞即肝癌细胞中的表达水平,最大程

度地减少对正常组织的毒性作用。研究证明,上述载体转染后,在 H22 细胞中能够高水平表达两段反义 RNA 序列,同时细胞中 IL-1 β 的水平明显下降,尤其以 pafpIRES2-antiIL-1 β 2 组下降更为明显;其转染 H22 细胞之后构建移植瘤小鼠,与 H22/mock 对照组相比,H22/antiIL-1 β 1 和 H22/antiIL-1 β 2 实验组荷瘤小鼠体内 NK 细胞介导的杀伤活性升高,小鼠肿瘤生长减慢,表明构建的载体具有较好的靶向阻断效果,但其确切机制还有待于深究。

[参考文献]

- [1] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer [J]. Nature, 2002, 420(6917): 860-867.
- [2] Elaraj DM, Weinreich DM, Varghese S, et al. The role of interleukin-1 in growth and metastasis of human cancer xenografts [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(4): 1088-1096.
- [3] Hirankarn N, Kimkong I, Kummee P, et al. Interleukin-1 β gene polymorphism associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus infection [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(5): 776-779.
- [4] Nambu A, Nakae S, Iwakura Y. IL-1 beta, but not IL-1 alpha, is required for antigen-specific T cell activation and the induction of local inflammation in the delayed-type hypersensitivity responses [J]. Int Immunol, 2006, 18(5): 701-712.
- [5] Song X, Voronov E, Dvorkin T, et al. Differential effects of IL-1 α and IL-1 β on tumorigenicity patterns and invasiveness [J]. J Immunol, 2003, 171(2): 6448-6456.
- [6] Apte RN, Dotan S, Elkabets M, et al. The involvement of IL-1 β in tumorigenesis, tumor invasiveness, metastasis and tumor-host interactions [J]. Cancer Metastasis Rev, 2006, 25(3): 387-408.
- [7] Saijo Y, Tanaka M, Miki M, et al. Proinflammatory cytokine IL-1 beta promotes tumor growth of Lewis lung carcinoma by induction of angiogenic factors: *in vivo* analysis of tumor-stromal interaction [J]. J Immunol, 2002, 169(1): 469-475.
- [8] Yano S, Nokihara H, Yamamoto A, et al. Multifunctional interleukin-1 β promotes metastasis of human lung cancer cells in SCID mice via enhanced expression of adhesion- κ B, invasion- and angiogenesis-related molecules [J]. Cancer Sci, 2003, 94(3): 244-252.
- [9] Yamanaka N, Morisaki T, Nakashima H, et al. Interleukin-1 β enhances invasive ability of gastric carcinoma through nuclear factor- κ B activation [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(5): 1853-1859.
- [10] Nazarenko I, Marhaba R, Reich E, et al. Tumorigenicity of IL-1 α and IL-1 β -deficient fibrosarcoma cells [J]. Neoplasia, 2008, 10(6): 549-562.
- [11] 肖伟玲,梁淑娟,牟东珍,等. 小鼠 IL-1 β 在 H22 细胞的表达及对 NK 细胞杀伤活性的影响 [J], 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(12): 1130-1132.

[收稿日期] 2009-03-09

[修回日期] 2009-05-11

[本文编辑] 韩丹