

## RNA 干扰 CCR7 表达在肿瘤转移治疗中的作用

王 洋 综述 杨润祥 审校

(昆明医科大学第三附属医院内二科, 云南 昆明 650118)

**[摘要]** 肿瘤侵袭和转移是导致治疗失败的主要原因。目前肿瘤细胞向淋巴结侵袭转移的机制仍然未完全阐明, 研究显示趋化因子受体 CCR7 (CC chemokine receptor7) 在多种免疫细胞上表达, 它及其配体在引导这些细胞向淋巴组织或器官归巢中起主导作用。它在恶性肿瘤细胞中呈现高表达, 并且在肿瘤细胞淋巴道转移过程中起重要作用。因此如何控制肿瘤中 CCR7 的高表达是治疗肿瘤转移的一条可行之路。RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 作为一种转录后基因沉默机制, 已经在各个领域广泛应用, 尤其在肿瘤的治疗领域中。就 RNA 干扰 CCR7 表达在肿瘤转移治疗中的作用作一综述。

**[关键词]** CCR7; RNA 干扰; 肿瘤转移; 肿瘤治疗

**[中图分类号]** R73-37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 07-0164-06

## The Effect of CCR7 Expression Interfered by RNA on Tumor Metastasis and Treatment

WANG Yang, YANG Run-xiang

(The 2nd Dept. of Internal Medicine, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

**[Abstract]** The tumor invasion and metastasis is the leading cause of death in cancer patients. Currently, the mechanism of tumor invasion and metastasis to lymph nodes is still not fully elucidated, the chemokine receptor CCR7 is expressed on a variety of immune cells, itself and its ligand play leading roles in guiding immune cells to lymphoid tissue or organ homing. It's also reported that CCR7 is over-expressed in a variety of malignant cells, and plays important roles in the process of the lymphatic metastasis of the tumor cells. Therefore, suppressing CCR7 expression in cancers provides a feasible way for the treatment of tumor metastasis. RNA interference has been widely used in various fields, especially in the tumor treatment. This review makes an overview focusing on the effect of the CCR7 expression interfered by RNA on tumor metastasis and treatment.

**[Key words]** CCR7; RNA interference; Tumor metastasis; Tumor treatment

肿瘤侵袭与转移是一个多因素、多环节的复杂过程<sup>[1-2]</sup>。大部分肿瘤转移具有器官特异性, 如乳腺癌容易发生淋巴结、骨、肝、肺等器官转移, 结肠癌较易发生淋巴结、肝转移等。既往研究显示, 恶性肿瘤转移的器官选择特异性仅仅用局部解剖结构、肿瘤的血流和淋巴引流途径等无法得出合理的解释<sup>[3-5]</sup>。随着研究的深入, “土壤与种子假说”获

得重新审视, 用以阐释肿瘤侵袭与转移。1889年, 英国医生 Paget 整理恶性肿瘤致死妇女的尸检数据, 试图寻找肿瘤转移的决定因素。结果发现, 不同起源肿瘤的骨转移率存在着显著的差异, 此现象不能单纯用血流动力学来解释。Paget 医生由此提出“种子与土壤假说”, 以此理论来描述有关恶性肿瘤的有序转移; 肿瘤的转移过程不是随机的偶然

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81360393); 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助项目 (2011FB203)

**[作者简介]** 王洋 (1986~), 男, 河南濮阳市人, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤学诊疗工作。

**[通讯作者]** 杨润祥. E-mail: jenny\_yrx@sohu.com

的事件,当具侵袭表型的肿瘤细胞侵入异源性组织器官,该器官必须对侵入肿瘤细胞提供适宜的环境,支持其生长和增殖,才能最终形成肿瘤转移灶<sup>[6-8]</sup>。

鉴于肿瘤的器官选择性转移与趋化因子及其受体介导的免疫细胞运输及淋巴归巢过程存在众多类似的特征,Muller等<sup>[9]</sup>研究了趋化因子及其受体与乳腺癌转移的关系,发现乳腺癌的原发灶及淋巴结,肺和肝脏转移灶中CXCR4和CCR7表达显著高于正常乳腺组织。大量研究亦证明,在多种肿瘤组织及肿瘤细胞均存在CCR7的高表达现象,如黑色素瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌、食管癌、大肠癌等,与肿瘤的转移和预后有关<sup>[10-12]</sup>。

## 1 CCR7在肿瘤中的生物学作用

### 1.1 趋化因子及受体

趋化因子(chemokine)是一类由不同类型细胞分泌的对免疫细胞具有趋化作用,能使细胞发生趋化运动的低分子量(8~12 kD)的细胞因子,在淋巴细胞的定向迁移,造血细胞、免疫细胞的发育和分化,炎症的发生,血管的生成及肿瘤的发生中分别起着不同的作用。趋化因子的功能行使由趋化因子受体(chemokine receptor)介导,趋化因子分为CXC、CC、C、CX3C 4个亚家族,其相应受体称为CC类受体(CCR),CXC类受体(CXCR),C和CX3C受体(CR、CX3CR)<sup>[13]</sup>。

### 1.2 CCR7及配体简介

CCR7是CC类趋化因子受体的成员之一,是以介导趋化因子行使功能的GTP-蛋白偶联的7次跨膜受体,在幼稚T细胞(naive T)、B细胞及树突状细胞(dendritic cells, DC)表面表达,CCR7对免疫细胞发挥重要作用,如树突状细胞的存活、迁移和增殖,淋巴结内B细胞与T细胞的分配以及胸腺细胞的迁移和成熟,CCR7在某些非免疫细胞如肿瘤细胞中亦有表达。次级淋巴组织趋化因子CCL19(ELC),CCL21(SLC)属于CC类趋化因子,是CCR7的配体,CCL21分布于外周免疫器官或组织,尤其是淋巴结的T细胞区,对多种免疫细胞有趋化作用,其趋化的归宿主要是次级淋巴组织或器官(脾脏,淋巴结),另外在淋巴结和派尔氏结(Peyers patches, PPs)的毛细血管后微静脉也表达,CCL21在二级淋巴器官特别是脾脏和淋巴结高表达,对单核细胞及中性粒细胞没有趋化作用,提示它对淋巴细胞具有特异性<sup>[9]</sup>,CCL19主要在二级淋巴器官和胸腺表达,尽管

CCL19和CCL21在淋巴结的表达都很丰富,但比较而言,CCL21在淋巴结的表达量更高,提示CCL21在淋巴细胞的归巢中起更重要的作用,淋巴细胞归巢的实质就是淋巴细胞迁移并黏附到内皮细胞表面<sup>[14]</sup>。

### 1.3 CCR7及配体的肿瘤生物学作用

CCR7在肿瘤发生发展中起到双向作用:从抗肿瘤角度(抑制作用),首先,在肿瘤免疫应答的诱导过程中,CCR7的量逐渐增多,有助于募集和活化树突状细胞(重要的抗原递呈细胞),在诱导树突状细胞的抗肿瘤免疫反应中起重要作用;其次,新生血管形成是肿瘤发生、发展过程中一个重要的特征,而CCR7与其配体之一CCL21相结合,可能通过抑制血管的生成而达到抗肿瘤效应,CCL21是目前唯一具有抗血管形成作用的CC类趋化因子<sup>[15]</sup>。从促肿瘤角度,主要表现在:(1)直接促进:通过肿瘤细胞表面表达趋化因子受体实现的,趋化因子与相应受体结合可引起细胞内肌动蛋白的聚合<sup>[9]</sup>,后者与肿瘤细胞的伪足形成有关,是肿瘤细胞浸润、转移所必需的;肿瘤细胞可能通过CCR7对SLC的趋化作用,向淋巴管或周围淋巴结浸润和迁移;在肿瘤周围淋巴结中,瘤细胞表面CCR7与表达在高内皮静脉上的SLC结合,激活肿瘤细胞质内的G蛋白,加速胞质Ca<sup>2+</sup>动员,诱导蛋白激酶C、鸟苷三磷酸酶等酪氨酸激酶磷酸化,启动细胞信号转导,最终使细胞骨架重新组合而引起靶细胞的变形、运动。虽然不同的肿瘤细胞表面可能有不同的趋化因子受体表达,但肿瘤细胞高表达趋化因子受体主要是CXCR4、CCR7和CXCR3,转移的靶器官可以释放其相应配体,促进定向转移。(2)间接促进:肿瘤细胞可通过其分泌的趋化因子或浸润的白细胞分泌的趋化物吸引白细胞、间质细胞和血管内皮细胞到肿瘤组织,间接影响肿瘤细胞的行为。这些白细胞能产生生长因子刺激肿瘤生长,能产生血管形成因子刺激局部组织血管化,从而刺激肿瘤组织生长,也能释放蛋白酶降解细胞外基质,促进肿瘤细胞的浸润和转移。除了白细胞外,间质成纤维细胞也能释放趋化因子,影响肿瘤生物学行为。综上分析,CCL21/CCL19对肿瘤增殖具有双向性:一方面,CCL21/CCL19引导白细胞分泌生长因子,加速肿瘤细胞增生、移行,促进蛋白水解酶分泌,诱导血管生成促进肿瘤发展。Q Zhang等<sup>[16]</sup>发现CCL19/CCR7通过特异性蛋白1(Sp1)上调乙酰肝素酶可以增强肺癌细胞侵袭能力;另一方面,CCL21/CCL19通过激活免疫活性细胞如T细胞、

NK 细胞、DC 等的迁移, 刺激免疫应答, 或抑制血管生成抑制肿瘤生长发展. 虽然 CCR7 在肿瘤发生发展中起到双向作用, 但是大量研究表明 CCR7 在促进肿瘤的发生发展中起到主体作用.

目前认为 CCL21 是第一个参与体内淋巴细胞归巢的趋化因子<sup>[7]</sup>. 淋巴细胞归巢的实质就是淋巴细胞迁移并黏附到内皮细胞表面. 在淋巴结中 CCL19 和 CCL21 的表达都很丰富, CCL21 的表达量相对更高, 提示 CCL21 在淋巴细胞的归巢中起着更重要的作用. 体外实验显示, 肿瘤细胞表面 CCR7 与淋巴结 T 细胞区 CCL21 结合, 引起细胞内肌动蛋白的聚合, 其聚合与肿瘤细胞伪足形成有关, 伪足是肿瘤细胞浸润和转移必需的, 导致沿淋巴结发生运动浸润继而转移到远处. CCR7 高表达于某些肿瘤细胞, 其配体 CCL21、CCL19 主要表达在淋巴结、非淋巴组织的内皮淋巴导管、T 细胞区等. 配体对受体的吸引可促进表达 CCR7 的肿瘤细胞循配体浓度定向转移<sup>[7]</sup>. CCL21 与 CCR7 共同参与免疫调节及免疫耐受建立<sup>[4]</sup>, 有利于远处转移肿瘤细胞的存活. 在胃癌、大肠癌、乳腺癌等多种肿瘤标本中均证 CCR7/CCL21 的相互作用与肿瘤的淋巴转移呈正相关, 与患者预后呈负相关. 表明 CCL21/CCR7 信号途径在乳腺癌、大肠癌等肿瘤转移中的重要作用.

WILEY 等<sup>[8]</sup>发现使鼠的 B16 黑色素瘤高表达 CCR7, 能显著提高其向区域淋巴结的速度和效率, 而且通过单克隆抗体阻断 CCL21 的作用能够阻止淋巴结转移的发生. 2001 年 Muller 等<sup>[7]</sup>首先报道 CCR7 在乳腺组织中的异常表达与乳腺癌的淋巴结转移相关. 随后大量文献证实乳腺癌以及多种实体肿瘤的淋巴结转移与 CCR7 有关. 特别需要指出的是, 乳腺癌的转移多数是通过淋巴结发生的. 乳腺癌的预后与淋巴结转移密切相关, 淋巴结转移提示预后不良. 这些研究结果提示阻断 CCR7 信号通路有望阻止癌细胞向淋巴结转移.

CCR7 与其配体 CCL21 结合后具体的信号转导途径目前尚不完全清楚. 最近的研究显示, 多个信号蛋白参与了 CCL21/CCR7 介导的肿瘤细胞的转移, Cunningham 等在乳腺癌中发现 CCL21/CCR7 调节  $\beta 1$ -整合素 ( $\beta 1$ -Integrins) 促进细胞粘附和运动, 用抗体封闭  $\beta 1$ -整合素可以抑制 CCL21/CCR7 介导的细胞运动, 但是 CCL21/CCR7 如何调节  $\beta 1$ -整合素以及  $\beta 1$ -整合素的具体角色尚不清楚. Benjamin Berndt 等发现 CCL21 非迁移活跃的乳腺上皮细胞和乳腺癌细胞的融合可以产生具有 CCL21 的迁徙活性的肿瘤杂交细胞系.

CCL21/CCR7 则可能参与细胞融合, 并且与癌细胞的转移起源有关. Kochetkova 等在 MDA-MB-231 细胞模型研究发现 CCR7 可以抑制促凋亡蛋白 Bmf 水平从而增加癌细胞失巢生存, 但是这是否是一个普遍的促转移机制有待进一步证明, 而且很难解释淋巴结转移的特异性问题. 所以, CCL21/CCR7 促进乳腺淋巴结转移通道中具体的机制还亟待深入研究<sup>[9]</sup>.

综上所述, CCR7 及其配体的相互作用可能是介导淋巴结转移和组织浸润的重要机制之一. 由此可见, 如何控制好肿瘤中 CCR7 的高表达, 是目前肿瘤转移治疗中一个急需解决的问题<sup>[20]</sup>.

## 2 RNA 干扰在基因功能研究中的应用

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 也称转录后的基因沉默 (post transcriptional gene silencing, PTGS), 是目前用于基因功能研究的最有效手段之一. RNAi 是最古老的、细胞水平的监督系统, 已经过了千万年的选择和进化, 至今乃广泛存在于从植物、真菌、昆虫、蛙类、鱼类、鼠类、猴类一直到人类的几乎所有生物中. 这些由大自然提呈给人们的证据充分说明了这个细胞水平监督系统的重要性. 通过体外途径来增强和放大细胞内的这一调控系统, 它能更有效地去抑制那些不正常的基因如肿瘤相关基因的表达.

RNAi 是自然界生物体的一种遗传现象, 将外源性或内源性双链 RNA (double stranded RNA, ds-RNA) 导入细胞后能够引起与该段 RNA 同源的 mRNA 产生特异性降解或蛋白质翻译受抑, 它是一种强有效的基因沉默工具. 当外源性或内源性的双链 RNA 进入细胞后, 被 RNase III 蛋白家族成员之一的 Dicer 酶识别并被切割为 21-23 个核苷酸的短双链 RNA, 即小干扰 RNA. siRNA 与 RNA 介导的沉默复合体结合后, 识别并降解同源的 mRNA, 从而特异性抑制目的基因的表达<sup>[21]</sup>. 它是一种强有效的基因表达沉默工具, 是近年发展起来的一种特异性抑制基因表达的新方法. RNAi 是存在于真核细胞中的一种自我保护现象, 既能对抗如病毒基因或人工转入基因所表达的 mRNA 等外源基因的侵入, 又能降解自身异常基因产生的 mRNA. RNA 干扰包括起始, 效应, 放大 3 个阶段.

目前, 抑制基因表达的方法有多种. 如反义核酸法、核酶法、基因敲除法以及 RNA 干扰, 等. RNAi 技术的优点: (1) 高效性: RNA 干扰能在低于反义核酸几个数量级的浓度下, 使目标基因表

达降至极低水平甚至完全剔除,从而产生缺失突变体表型;(2)特异性:与核酶技术不能区别正常的RNA序列和突变的癌基因序列相比,它能够特异地降解与之序列相对应的单个内源性基因mRNA,治疗针对性强,不良反应小;(3)稳定性:以3'端悬垂TT碱基的双链RNA尤为稳定,无须象反义核酸那样进行广泛的化学修饰以提高半衰期。(4)联合靶向性:利用RNAi方法可以产生多个基因同时剔除的表型;(5)遗传性:RNAi干扰效应甚至可以通过生殖系统传递给后代。由于双链小干扰RNA介导的RNA干扰技术设计简单、作用迅速、效果明显,目前已被广泛用于基因功能和重大疾病治疗的研究。尤其为肿瘤治疗提供了一条新途径<sup>[22-24]</sup>。

RNA干扰可以通过两种方式实现:一种是向细胞直接转染人工合成的小干扰RNA;另一种则是以质粒或病毒为载体表达短的发卡RNA。由于人工合成的双链siRNA只能引起瞬时的基因敲除而无法实现稳定可遗传的基因沉默,shRNA模拟内源性发卡结构RNA,实现了人工设计siRNA在体内的自发表达,在科学研究中得到广泛应用。

siRNA是由正义序列和反义序列组成的小片段,干扰起始时,siRNA以反义链作为引物,以靶mRNA为模板合成新的dsRNA,然后由Dicer酶切割产生新的siRNA,新siRNA再去识别新一组mRNA,又产生新siRNA。经过若干次合成一切割循环,沉默信号就会不断放大,甚至穿过细胞界限,在不同细胞间长距离传递和维持。RNAi的特异效应作用是在转录水平、转录后水平、翻译水平等多个不同的水平上实现的。其操作简单和对靶基因表达抑制的高效性成为基因功能研究的手段。与传统基因沉默技术相比,RNAi具有效果强、持续时间长、技术流程简便、周期短以及在细胞内表达稳定、可传递、高效等优势。目前RNAi成为肿瘤基因研究的重要手段<sup>[25]</sup>。其中以(short interfering RNA, siRNA)转录后水平的RNAi研究最为深入,应用最为广泛。siRNA来源于外源性转基因、病毒RNA或是由双向转录形成内源性的RNA退火而成,即siRNA可以是内源性,也可以是外源性。siRNA是RNAi的关键效应分子,目前制备siRNA的方法主要有化学合成法、体内转录法、体外转录法等,但这些体外得到的siRNA进入细胞易被RNA酶降解。质粒或病毒为载体介导的siRNA进入细胞内可克服上述缺陷。目前一些文献报道RNA干扰已应用于乳腺癌研究中。其基本策略为:将具有抑癌作用的siRNA,通

过病毒或脂质体表达系统导入乳腺癌细胞中,从而抑制乳腺癌细胞的生长、分裂和迁移,有望达到治疗乳腺癌的目的。

随着研究的深入,shRNA设计与构建经历了不同的发展阶段。早期shRNA的寡核苷酸序列通常长度为60~70bp,由2段为19bp间隔10~20bp的互补链构成。转录成RNA后即形成典型的茎环结构;近来,模拟内源性Pri-miRNA结构而设计的shRNA受到极大的关注,这种shRNA通常在经典发夹结构的基础上还带有两臂,因此序列一般大于90bp。MiRNA是细胞内源性非编码RNA转录体经过剪切后产生的19~25个核苷酸的单链RNA,通过与靶mRNA完全或不完全配对有效降解或抑制基因的表达。miRNA的成熟可分为4步<sup>[26]</sup>。(1)修剪(Cropping):动物体内miRNA转录体被Pol II转录后,形成带有5'cap和3' PolyA尾的前转录体, Pri-miRNA形成发夹结构。核内Dorsha-DGCR8复合体将Pri-miRNA剪切为大约60~80nt,有21nt左右的互补链形成茎环结构(Stem-loop),3'末端突出2nt。(2)运出核外(export):Pri-miRNA的3'末端2nt被核输出因子Exportin-5识别。由Exportin-5-Ran-GTP复合体通过核孔复合物运送到细胞质内。(3)切丁(Dicing):Pri-miRNA在Dicer(RNase III)的作用下被切割成22bp的RNA双链。(4)选择性降解:RNA介导的基因沉默复合体中的RNA靶向mRNA配对后使其中一条链被降解。剩下22nt的单链进一步诱导mRNA的降解。

RNAi靶点的选择<sup>[27]</sup>,应该遵循以下原则:选择的部位一般在起始密码子50nt至100nt与终止密码子50nt至100nt之间的区域,因为mRNA靠近起始密码子和终止密码子的序列可能有调控蛋白结合,导致siRNA无法接近该部位;GC比例在45%~55%或40%~60%之间,尽量接近50%;避免有3个以上连续的G或C出现;内部不能有超过3个以上连续互补碱基;用BLAST分析目标序列与相应物种的全基因组cDNA序列的同源性,排除那些与其它基因有明显同源的靶点;siRNA作用的mRNA区域不应有复杂的二级结构,最好是单链区域,以便于siRNA与mRNA结合。

### 3 RNA干扰与CCR7的相关研究

最近大量研究发现CCR7在各种肿瘤细胞的趋化现象和转移反应中扮演一个重要角色,包括乳腺癌。首先炎症基因环氧合酶-2(COX-2)可通过

多个途径上调 CCR7 的表达<sup>[28]</sup>. COX-2/PGE2 (也许还有其他类似生长因子的上行信号) 可能刺激 AKT 直接磷酸化 Sp1 以增强 CCR7 的转录. 在肿瘤细胞中增加 CCR7 通过趋化作用以促进细胞向淋巴结迁移, 增强肿瘤细胞向淋巴结转移. 其次促转移因子内皮素 (endothelin) 通过内皮素受体 A 和缺氧诱导因子-1 (HIF-1 $\alpha$ ) 上调 CCR7 的表达<sup>[29]</sup>. 与此相一致的是, CCR7 的表达在缺氧的条件下受到 HIF-1 $\alpha$  和 HIF-2 $\alpha$  的诱导. 最后, microRNA let7 $\alpha$  通过下调 CCR7 抑制乳腺癌细胞迁移和浸润<sup>[30]</sup>. 这些结果提示 CCR7 在多条癌细胞转移信号途径起着至关重要的作用.

最近有学者证明 microRNA let-7a 下调 CCR7 的表达和直接影响乳腺癌细胞的迁移和入侵, let-7a 是最初从秀丽隐杆线虫中分离出来的第一个被确认的 microRNA. let-7a 在乳腺癌细胞系和乳腺癌病人的组织被检测到与 CCR7 的表达呈负相关. 人工合成的 let-7a 和 let-7a 的抑制剂分别地被转染到 MDA-MB-231 和 MCF-7 乳腺癌细胞中完成细胞增殖、迁移及入侵检测. 研究表明, CCR7 的 3' UTR 序列中存在 let-7a 的结合和直接作用位点<sup>[31]</sup>. 一个使用透明的斑马鱼胚胎体内入侵动物模型系统也建立了, 证明 let-7a 抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭. 因此, 他们认为以 CCL21-CCR7 信号通路为治疗靶点, 是一个可靠的乳腺癌治疗途径; 此外, let-7a 作为一个直接调控的信号, 也具有较好的实用性. 此外, 除了传统的临床和病理分期标记之外, let-7a 表达的减少和乳腺癌病人的转移复发之间存在明显的关联, 显示了 let-7a 作为分子标记物在乳腺癌预后分期中的应用潜力.

#### 4 结语

随着 RNAi 技术的不断成熟, 尤其在哺乳动物细胞中应用载体转染 siRNA 成功后, 使肿瘤的研究有了前所未有的突破. 科学家们已经经用 RNAi 技术鉴定了与肿瘤生长相关的关键基因, 对这些靶分子与肿瘤的发生、发展关系进行深入研究, 为发掘新型肿瘤基因药物提供理论基础. 肿瘤细胞中调节细胞增生、凋亡、细胞周期和信号转导等的肿瘤相关基因都可作为肿瘤治疗药物的靶分子. 因此 CCR7 可能成为恶性肿瘤治疗的新靶点, 趋化因子 CCL21/19 及其受体 CCR7 在肿瘤生物治疗和免疫治疗方面的研究已日趋成为热点. 动物试验已发现通过抗 CXCR4 和 CC87 抗体治疗可有效减少恶

性肿瘤播散和转移<sup>[32]</sup>. Yu 等通过体外实验发现, 用抗 CCR7 RNA 干扰技术即沉默 RNA 可明显减弱结肠癌 SW620 细胞系增殖、侵袭力, 并能抑制淋巴管生成和淋巴结转移. 目前有研究结果阐明 AKT, SP1, 和 CCR7 之间有联系, 此外, 该研究的病理学分析表明磷酸化的 AKT, SP1, 和 CCR7 的表达在人乳腺肿瘤组织中有很强的关联. 这些结果表明, 该 AKT/Sp1/CCR7 通路可能是用于乳腺癌转移预防或治疗的有效靶点<sup>[33]</sup>. 细胞因子基因治疗与基因疫苗研制有望成为新的肿瘤治疗策略与手段<sup>[34]</sup>, 一些趋化因子已显示出良好的应用前景, 进一步研究其在肿瘤生长侵袭及淋巴结转移中的作用, 将为肿瘤的治疗开辟新前景.

#### [参考文献]

- [1] HANAHAN D, WEINBERG R A. The hallmarks of cancer [J]. *Cell*, 2000, 100(1):57-70.
- [2] TANG F L, YIN J Q. Application of RNAi to cancer research and therapy [J]. *Front Biosci*, 2005, 10(4):1 946-1 960.
- [3] YEATMAN T, NICOLSON G, EDITORS. Molecular basis of tumor progression: mechanisms of organ-specific tumor metastasis [J]. *Semin Surg Oncol*, 1992, 9(3):256-263.
- [4] RADINSKY R. Modulation of tumor cell gene expression and phenotype by the organspecific metastatic environment [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1995, 14(4):323-338.
- [5] FIDLER I J. Critical factors in the biology of human cancer metastasis: twenty-eighth GHA Clowes memorial award lecture [J]. *Cancer Res*, 1990, 50(19):6 130-6 138.
- [6] PAGET S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889 [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1989, 8(2):98-101.
- [7] CHAMBERS A F, GROOM A C, MACDONALD I C. Metastasis: dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2(8): 563-572.
- [8] FIDLER I J. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3(6):453-458.
- [9] MULLER A, HOMEY B, SOTO H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2001, 410(6 824):50-56.
- [10] BANCALARI E. Bronchopulmonary dysplasia: old problem, new presentation [J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2006, 82(1): 2-3.
- [11] BARALDI E, FILIPPONE M. Chronic lung disease after premature birth [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(19):1 946-1 955.

- [12] STRIETER R M, POLVERINI P J, ARENBERG D A, et al. Role of CXC chemokines as regulators of angiogenesis in lung cancer[J]. *J Leukoc Biol*, 1995, 57(5):752 – 762.
- [13] ROLLINS B J. Chemokines [J]. *Blood*, 1997, 90 (3): 909 – 928.
- [14] FORSTER R, DAVALOS-MISLITZ A C, ROT A. CCR7 and its ligands: balancing immunity and tolerance[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2008, 8(5):362 – 371.
- [15] ERBEL C, SATO K, MEYER F B, et al. Functional profile of activated dendritic cells in unstable atherosclerotic plaque[J]. *Basic Res Cardiol*, 2007, 102(2):123 – 132.
- [16] ZHANG Q, SUN L, YIN L, et al. CCL19/CCR7 upregulates heparanase via specificity protein-1 (Sp1) to promote invasion of cell in lung cancer [J]. *Tumor Biology*, 2013, 34 (5):2 703 – 2 708.
- [17] JANG M H, SOUGAWA N, TANAKA T, et al. CCR7 is critically important for migration of dendritic cells in intestinal lamina propria to mesenteric lymph nodes[J]. *The Journal of Immunology*, 2006, 176(2):803 – 810.
- [18] WILEY H E, GONZALEZ E B, MAKI W, et al. Expression of CC chemokine receptor-7 and regional lymph node metastasis of B16 murine melanoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(21):1 638 – 1 643.
- [19] SHIELDS J D, FLEURY M E, YONG C, et al. Autologous chemotaxis as a mechanism of tumor cell homing to lymphatics via interstitial flow and autocrine CCR7 signaling [J]. *Cancer cell*, 2007, 11(6):526 – 538.
- [20] HE Y, KARPANEN T, ALITALO K. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Reviews on Cancer*, 2004, 1654 (1):3 – 12.
- [21] HANNON G J. RNA interference [J]. *Nature*, 2002, 418 (6 894):244 – 251.
- [22] DEVI G. siRNA-based approaches in cancer therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13(9):819 – 829.
- [23] PAI S, LIN Y, MACAES B, et al. Prospects of RNA interference therapy for cancer [J]. *Gene Ther*, 2005, 13 (6): 464 – 477.
- [24] AGAMI R. RNAi and related mechanisms and their potential use for therapy [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, 6 (6):829 – 834.
- [25] CASTANOTTO D, ROSSI J J. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics [J]. *Nature*, 2009, 457(7 228):426 – 433.
- [26] KIM VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing [J]. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2005, 6 (5):376 – 385.
- [27] YIU S M, WONG P W, LAM T W, et al. Filtering of ineffective siRNAs and improved siRNA design tool [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(2):144 – 151.
- [28] PAN M R, HOU M F, CHANG H C, et al. Cyclooxygenase-2 up-regulates CCR7 via EP2/EP4 receptor signaling pathways to enhance lymphatic invasion of breast cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(17):11 155 – 11 163.
- [29] WILSON J L, BURCHELL J, GRIMSHAW M J. Endothelins induce CCR7 expression by breast tumor cells via endothelin receptor A and hypoxia-inducible factor-1 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24):11 802 – 11 807.
- [30] KIM S J, SHIN J Y, LEE K D, et al. MicroRNA let-7a suppresses breast cancer cell migration and invasion through downregulation of C-C chemokine receptor type 7 [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1):R14.
- [31] JOHNSON S M, GROSSHANS H, SHINGARA J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family [J]. *Cell*, 2005, 120(5):635 – 647.
- [32] GIL M, SESHADRI M, KOMOROWSKI M P, et al. Targeting CXCL12/CXCR4 signaling with oncolytic virotherapy disrupts tumor vasculature and inhibits breast cancer metastases [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(14):E1 291 – E1 300.
- [33] CHUANG C W, PAN M R, HOU M F, et al. Cyclooxygenase 2 up-regulates CCR7 expression via AKT-mediated phosphorylation and activation of Sp1 in breast cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(2):341 – 348.
- [34] ANGELO A L, CAVALCANTE L N, ABE-SANDES K, et al. Myxovirus resistance, osteopontin and suppressor of cytokine signaling 3 polymorphisms predict hepatitis C virus therapy response in an admixed patient population: comparison with IL28B [J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2013, 68 (10):1 325 – 1 332.

(2014-04-12 收稿)