

趋化因子 CCL5 在非小细胞肺癌中的表达 及生物学功能探究*

吴颖 高蔚 张佑扬 翁婷 李晶晶

(徐州医科大学附属宿迁医院·南京鼓楼医院集团宿迁医院呼吸科, 江苏 宿迁 223800)

【摘要】 目的 探讨 CC 基序趋化因子配体 5(CCL5)在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达情况及临床应用价值。方法 收集在徐州医科大学附属宿迁医院首次就诊确诊为 NSCLC 并行手术治疗的 72 例患者癌组织、癌旁组织及其临床资料,用免疫组化法检测癌组织及癌旁组织 CCL5 表达情况;用 Realtime PCR 检测 CCL5mRNA 在 NSCLC 和健康对照者血清中的表达;分析 CCL5 表达情况与患者临床、病理特征之间的相关性及其对预后影响。体外培养肺腺癌 A549 细胞,siRNA-CCL5 转染细胞,观察下调 CCL5 表达后细胞增殖、迁移、侵袭能力的变化。结果 TCGA 数据分析结果显示 CCL5mRNA 表达水平在肺腺癌和鳞癌中明显增加;免疫组化结果显示 CCL5 在 NSCLC 组织表达较癌旁组织明显上调,并且 CCL5 高表达与 NSCLC 患者淋巴结转移情况、TNM 分期存在正相关($P=0.019$, $P=0.033$);而与患者性别、年龄、病理类型无明显相关性;NSCLC 血清中高表达 CCL5mRNA, K-M 分析结果显示血清 CCL5 mRNA 表达的上调与患者无进展生存率(PFS)存在明显的相关性;Cox 多因素比例风险模型评估提示组织中 CCL5 高表达与患者预后有相关性;下调 CCL5 表达后 A549 细胞增殖受到抑制,侵袭、迁移能力下降。结论 CCL5 在 NSCLC 患者中表达水平上调,与淋巴结转移及肿瘤分期存在一定相关性,与 NSCLC 患者的预后相关,体外干扰 CCL5 可降低肺腺癌细胞增殖、迁移功能。CCL5 可能成为 NSCLC 治疗的一个靶点。

【关键词】 CCL5;非小细胞肺癌;临床病理;侵袭转移

【中图分类号】 R743.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.01.004

Expression and clinical significance of CCL5 in non-small cell lung cancer

WU Ying, GAO Wei, ZHANG Youyang, WENG Ting, LI Jingjing

(Department of Respiration, Suqian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Suqian Hospital of Nanjing Drum-Tower Hospital Group, Suqian 223800, Jiangsu, China)

【Abstract】 **Objective** To detect the expression of CCL5 in tissue and serum of patients with NSCLC and explore the clinical significance of expression of CCL5. **Methods** Cancer tissues, adjacent tissues and clinical data of 72 patients with NSCLC who were diagnosed for the first time and underwent surgical treatment in Suqian Hospital of Xuzhou Medical University were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expression of CCL5 in cancer and adjacent tissues. Realtime PCR was used to detect the expression of CCL5mRNA in serum of NSCLC and healthy controls. The correlation between CCL5 expression and clinical and pathological features of patients and its influence on prognosis were analyzed. The lung adenocarcinoma A549 cells, siRNA CCL5 transfection cells were cultivated In vitro. The changes of cell proliferation, migration and invasion after down-regulating CCL5 expression were observed. **Results** The expression of CCL5 in tissue and serum of NSCLC patients was high, CCL5 expression was correlated with the degree of NSCLC differentiation and TNM stage ($P=0.019$, $P=0.033$). The K-M analysis results showed that the upregulation of CCL5 expression was significantly correlated with the decrease of overall survival rate. Silencing CCL5 expression can inhibit the proliferation and invasion of lung adenocarcinoma. **Conclusion** CCL5 expression is elevated in NSCLC and may contribute to the invasion and metastasis of lung cancer, suggesting that CCL5 might be a prognostic factor in lung adenocarcinoma.

基金项目:2020 年度江苏省第五期“333 工程”科研资助项目(BRA2020236)

通讯作者:高蔚, E-mail:267312583@qq.com

引用本文:吴颖,高蔚,张佑扬,等.趋化因子 CCL5 在非小细胞肺癌中的表达及生物学功能探究[J].西部医学,2023,35(1):21-27. DOI:10.

3969/j.issn.1672-3511.2023.01.004

【Key words】 CCL5; Non-small cell lung cancer; Clinical and prognosis significance; Invasion and metastasis

肺癌在我国的发病率有逐年上升的趋势,其早期检出率较前明显增加,治疗手段除了手术切除、放化疗之外,靶向治疗及免疫治疗在临床中也广泛应用,但是中晚期肺癌患者仍然预后不良,5 年存活率仅仅 15.9%,绝大多数患者死于肿瘤的复发与原发病灶的转移^[1],因此尽早阻断肿瘤的转移对改善患者预后很重要。趋化因子是具有诱导趋化活性的一大类细胞因子,在肿瘤的转移过程中发挥了极其重要的作用,一定程度上参与了乳腺癌,肾癌,胃癌等肿瘤的发生与发展^[2-4]。CCL5 又称 RANTES,是 CC 类趋化因子的一种。CCL5 一般由活化的 T 淋巴细胞合成并分泌,对于包括 T 细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞等在内的多种细胞具有复杂而巨大的生物学影响。除趋化效应之外,CCL5 也是一种重要 HIV 抑制因子,可通过与 CCR5 受体结合,减弱人原代巨噬细胞的单核细胞迁移,抑制 HIV-1 病毒体外复制^[5]。CCL5 还能增强肿瘤细胞浸润与转移能力,可能是通过介导免疫细胞定向趋化作用实现的^[6],但其在肺癌中的作用尚未证实。因此,在本研究中我们首先在 TCGA 数据库中筛选出在非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)中高表达的基因-CCL5,同时以原发性 NSCLC 患者为考察对象,利用免疫组化及 RT-PCR 分别检测 NSCLC 患者肿瘤组织及血标本中 CCL5 的表达,并进一步分析其表达与患者临床病理特征和总生存时间相关性,从而阐明其在 NSCLC 中表达及临床意义。此外,通过敲低 CCL5 后探究对肺癌细胞的增殖、迁移能力影响而进一步阐明其可能潜在分子机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 NSCLC 患者肺癌组织取材于徐州医科大学附属宿迁医院 2014~2021 年住院的 72 例肺癌患者,其中男 54 例,女 18 例,年龄 30~75 岁,中位年龄为 59.5 岁,术后病理明确诊断为非小细胞肺癌,手术前未经过放化疗等其它抗肿瘤治疗,无合并疾病。健康对照组 36 例,男 21 例,女 15 例,年龄 37~70 岁,中位年龄 57.1 岁。均为体检中心体检合格的健康人。对 72 例患者进行常规术后随访(采用电话沟通或门诊随访方式),随访截止时间 2021 年 7 月,随访时间 18~162 个月,研究期间死于肺癌相关疾病者为完全数据。纳入标准:①经病理证实的非小细胞肺癌患者。②年龄 \geq 18 岁。③TNM 分期为 I-III 期。④接受手术治疗。⑤患者随诊史及基本资料完整。排

除标准:①其他类型肺癌患者及肺转移癌。②年龄 $<$ 18 岁。③原位癌、IV 期肺癌、未接受手术治疗患者。

1.2 主要的试剂及仪器 CCL5 兔抗人单克隆抗体(上海拜力生物科技有限公司);SP 免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒(中杉金桥科技公司);反转录试剂盒、SYBR 荧光定量试剂(日本 TAKARA 公司);人支气管上皮细胞株 16HBE 和人非小细胞肺癌细胞株 A549、H358(中国科学院上海细胞库);小牛血清、DMEM 培养液(美国 Gibco 公司);Trizol(总 RNA 抽提试剂)、脂质体 Lipofect 3000、实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)试剂盒(美国 Invitrogen 公司);Transwell 培养小室(美国赛默飞公司)。

1.3 免疫组织化学法检测 CCL5 在肺癌组织和癌旁组织中的表达水平 离体组织石蜡切片 4 μ m,脱蜡,水化,热修复;阻断内源性过氧化物酶,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次;滴加鼠抗人 CCL5 单克隆抗体过夜,PBS 冲洗;滴加聚合物辅助剂和辣根酶标记的羊抗兔 IgG 工作液,孵育 30 min(37 $^{\circ}$ C);显色、复染、脱水、树胶封固镜检。应用 PBS 作为阴性对照。在显微镜下仔细观察 CCL5 在组织中的表达。

1.4 CCL5 免疫组织化学染色结果评价 免疫组化结果根据 CCL5 染色强度及细胞阳性比例两方面进行结果的评定。免疫组化定量分数=染色强度分数 \times 阳性细胞比例分数。

1.5 血液中 CCL5 的含量 取血清上清液,依照说明书提取总 RNA,检测 OD 值计算 RNA 浓度,将纯度良好的 RNA 按照试剂盒使用说明逆转录为 cDNA,行 RT-PCR 扩增。以 GAPDH 作为内参基因,进行相关引物序列的设计,分析各基因 Ct 值,计算 CCL5 的相对倍比关系,该实验需要计算 3 次平均值。

1.6 RT-PCR 检测肺腺癌细胞系 A549、H358 及正常人支气管上皮细胞 16HBE 中 CCL5 的表达 人支气管上皮细胞株 16HBE 和人非小细胞肺癌细胞株 A549 均在 37 $^{\circ}$ C,含 5%CO₂ 恒温培养箱中培养,取对数生长期的细胞用于试验。用 RT-PCR 检测 A549、H358 细胞系和人正常支气管上皮细胞中 CCL5 mRNA 的表达。

1.7 RNA 干扰和体外增殖能力检测培养细胞,取生长良好的 A549 细胞用于转染。贴壁后按照 Lipofectamine 3000 说明书进行细胞转染,将 siRNA-NC、siRNA-CCL5 转染至 A549 细胞中,分别作为对照组

(siRNA-NC 组)、实验组 (siRNA-CCL5 组)。转染后将两组细胞放入培养箱中继续培养待后续实验。RT-PCR 法检测两组 CCL5 mRNA 水平, 评估转染效果。取对数生长期两组 A549 细胞, 消化、离心、悬浮, 取出所需细胞的总量接种在 96 孔板中。分别将转染质粒后 24、48、72 h 细胞每孔加入 CCK-8 (10 μ L) + DMEM (90 μ L), 继续在培养箱中培养 2 h, 使用酶标仪测量细胞在 450 nm 处的光密度 (optical density, OD) 值, 并绘制 72 h 生长曲线。

1.8 Transwell 实验检测细胞迁移、侵袭能力 迁移试验: 取对数生长期两组细胞, 胰酶消化, 重悬, 然后以 4×10^4 细胞数置于上室培养, 下室加入含胎牛血清的 DMEM 培养基, 培养 48 h 后擦去未迁移细胞, 用甲醇固定迁移细胞, 并用结晶紫染液染色。随机选择 3 个区域显微镜下计数迁移细胞数目。侵袭试验: 提前用固定浓度的 Matrigel 凝胶包被 Transwell 小室上室底部膜, 其它步骤同迁移实验。

1.9 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理, 采用双侧检验, t 检验确定组间差异是否有统计学差异; CCL5 与临床、病理因素关系的评估采用双侧 t 检验; NSCLC 患者 PFS 与 CCL5 关系的分析采用 Kaplan-Meier 法, Cox 比例风险回归模型进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 预测 NSCLC 中 CCL5 表达差异 本研究应用癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 和 GTEx 数据库中癌症相关数据分析在肺癌中转录过程中 CCL5 表达情况。共纳入肺癌患者 969 例 (483 例肺腺癌样本和 486 例肺鳞癌样本), 女性 427 例, 男性 542 例; 年龄 22~86 岁, 年龄中位数 59 岁。T 分期: T1 期 251 例, T2 期 428 例, T3 期 260 例, T4 期 30 例; N 分期: N0 期 211 例, N1 期 368 例, N2 期 305 例, N3 期 85 例; M 分期, M0 期 832 例, M1 期 137 例。分析结果显示 CCL5 基因 TPM (Transcripts Per Million, 每千个碱基的转录每百万映射读取的 Transcripts) 表达水平在肺癌的腺癌和鳞癌均有增加, 见图 1。

2.2 CCL5 的免疫组化表达情况 结果显示 CCL5 蛋白在肺癌组织中广泛表达, 其中中度阳性和强阳性的 NSCLC 患者 48 例 (66.7%), 弱阳性和阴性表达的患者 24 例 (33.3%), 而癌旁正常组织中度阳性和强阳性的 NSCLC 患者 12 例 (16.7%), 弱阳性和阴性表达的患者 60 例 (83.3%), 两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 2。

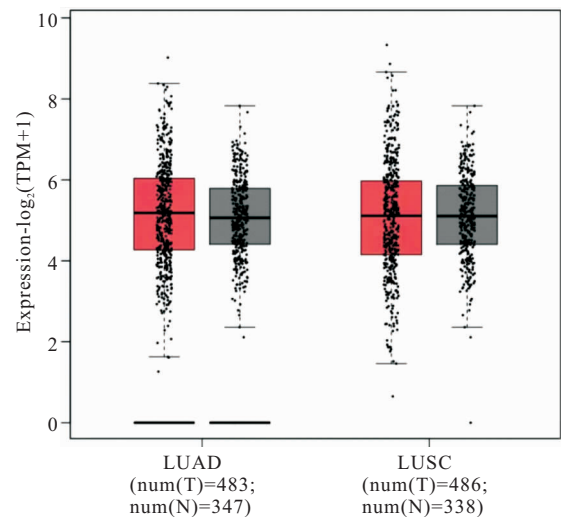


图 1 CCL5 mRNA 表达在肺腺癌和鳞癌中增加

Figure 1 CCL5 mRNA expression was increased in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma

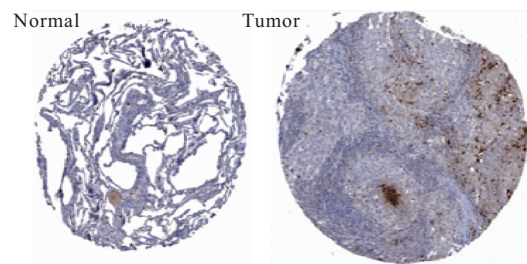


图 2 NSCLC 癌组织和癌旁组织中 CCL5 的显示结果

Figure 2 CCL5 in carcinoma and adjacent tissues of NSCLC

2.3 CCL5 mRNA 在血清中的表达 NSCLC 患者血清中 CCL5 mRNA 的表达量为 (2.07 ± 0.35) , 高于健康对照组的 (1.02 ± 0.81) ($P < 0.01$)。见图 3。

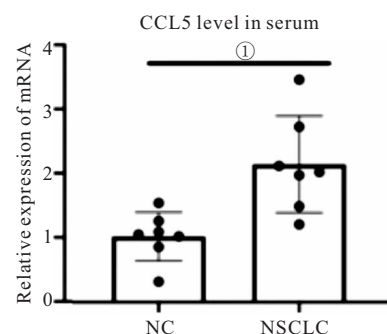


图 3 CCL5 在血浆中的 mRNA 表达水平

Figure 3 Expression of CCL5 mRNA in plasma

注: ①为 $P < 0.05$

2.4 NSCLC 组织中 CCL5 的表达与临床病理特征的关系 根据 CCL5 表达情况, 将 NSCLC 患者分为高表达组 48 例 (66.7%) 和低表达组 24 例 (33.3%), 分析 CCL5 表达水平与 NSCLC 患者临床病理特征的相关性。结果显示, CCL5 高表达与淋巴结转移显著相

关($P=0.019$),同时 CCL5 表达可能与肿瘤临床阶段相关($P=0.033$)。CCL5 表达水平高低与患者性别、年龄、组织分化、病理分型都无相关性(均 $P>0.05$),见表 1。

表 1 NSCLC 患者组织中 CCL5 的表达与患者临床病理特征的关系 [$n, n(\times 10^{-2})$]

Table 1 The relationship between the expression of CCL5 in NSCLC tissues and clinicopathological features of patients

临床资料	n	CCL5 表达		P
		高	低	
病例数	72	48(66.7)	24(33.3)	<0.05
年龄(岁)				0.296
≤60	36	20(55.6)	16(44.4)	
>60	36	22(61.1)	14(38.9)	
性别				0.665
男	54	30(55.6)	24(44.4)	
女	18	12(66.7)	6(33.3)	
分化状态				0.174
高/中	61	40(65.6)	21(34.4)	
低	11	6(54.5)	5(40.7)	
淋巴结浸润				0.019
N0	32	10(31.2)	22(68.7)	
N1	11	3(27.2)	8(72.7)	
N2	22	20(90.9)	2(9.09)	
N3	12	9(75.0)	3(25.0)	
病理类型				0.334
鳞癌	46	25(54.3)	21(45.6)	
腺癌	26	15(57.6)	11(42.3)	
TNM 分期				0.033
早期(<Ⅱ)	28	15(53.6)	13(46.4)	
中晚期(≥Ⅱ)	44	36(81.8)	8(18.2)	

2.5 血清 CCL5mRNA 表达水平与预后的关系 采用 Kaplan Meier 生存曲线分析血清 CCL5mRNA 与 NSCLC 患者预后的相关性。72 例 NSCLC 患者,从高到低排列 CCL5mRNA 表达水平,依据中位数的数值(1.63 以上为高表达)将患者分为高表达组(CCL5 High, $n=47$)低表达组(CCL5 Low, $n=25$)。结果表明,CCL5mRNA 表达与 NSCLC 患者的 PFS 相关($P<0.01$),CCL5 低表达者的 PFS 优于高表达者($P<0.01$),见图 4。

2.6 组织中 CCL5 高表达提示 NSCLC 患者预后不良 采用 Cox 多因素比例风险模型评估组织中 CCL5 表达与临床病理特征对 NSCLC 总生存的预测作用。结果显示,CCL5 表达可作为 NSCLC 的独立预后因素之一,见表 2。

2.7 干扰 CCL5 抑制 A549 细胞的体外增殖、侵袭、迁移 为进一步探究 CCL5 在 NSCLC 中的生物学功能,我们首先在肺癌细胞及气管上皮细胞 HBE 中检

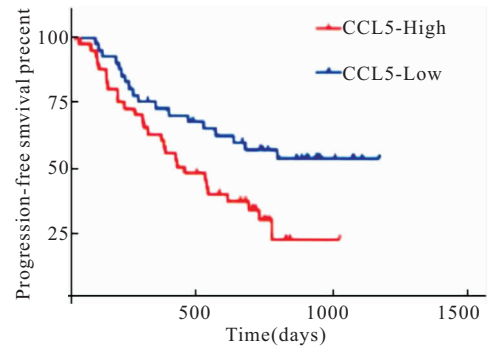


图 4 血清 CCL5mRNA 的表达与患者预后的相关性分析

Figure 4 Correlation analysis of serum CCL5mRNA expression and prognosis of patients

测 CCL5 的 mRNA 表达水平,结果发现 CCL5 在肺癌 A549、H358 中细胞较正常上皮细胞中高表达,见图 5A。同时选取高表达 CCL5 的肺癌细胞株 A549 行干扰质粒 siRNA-CCL5 瞬时转染,同时行质粒的干扰效果验证,与对照组相比,siRNA-CCL5 转染组内 CCL5mRNA 表达水平明显降低[(0.73 ± 0.08) vs (0.21 ± 0.06)]。CCK8 实验提示转染 siRNA-CCL5 的 A549 细胞在 24、48、72 h 时 OD 值小于 siRNA-NC 组,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 5B; Transwell 迁移实验显示,siRNA-CCL5 组迁移平均细胞数为(252 ± 13)个,高于 siRNA-NC 组(105 ± 10)个, $P<0.01$,见图 5C、D。侵袭实验显示对照组侵袭平均细胞数为(198 ± 15)个,高于实验组(98 ± 11)个($P<0.01$),见图 5E、F。上述结果提示 CCL5 敲低后 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力均受到抑制。

3 讨论

随着医学研究领域的发展,识别有效的分子生物标志物对于肺癌的早期诊断和精准治疗具有非常重要意义。趋化因子与肿瘤发生及进展有一定相关性,它可以与靶细胞表面受体结合从而激活下游信号肽,促进肿瘤细胞的迁移和增殖。在肿瘤微环境的稳定、肿瘤血管生成、肿瘤耐药等方面发挥重要作用^[7]。因此正确评估肿瘤微环境中的细胞因子和趋化因子谱,可提高我们对肿瘤免疫应答状态的认识,并极有可能发现癌症早期筛查的生物标志物。在巨噬细胞、单核细胞和特定类型的肿瘤细胞表面均有 CCL5 表达,它可部分调控肿瘤细胞的增殖和凋亡过程,主要通过体内多种基因相互作用^[8-9]。Aldinucci 等^[10]指出在血液系统、消化系统恶性肿瘤的发病中 CCL5-CCR5 通路发挥重要作用,与肿瘤的进展有关;Marjorie 等^[11]研究证实 CCR5/CCL5 轴相互作用影响肿瘤微环境,促进胰腺癌细胞的迁移和侵袭;Naik 等^[12]指出 CCL5 参与了淋巴瘤的进展过程。但 CCL5 蛋白表

表 2 单因素、多因素 Cox 回归模型分析影响 NSCLC 患者生存的临床病理因素

Table 2 Univariate and multivariate Cox regression models were used to analyze the clinicopathological factors affecting survival of NSCLC patients

临床特征	单因素分析			多因素分析		
	风险比	95% 可信区间	P	风险比	95% 可信区间	P
CCL5 表达						
低	1			1		
高	2.387	1.301~3.461	<0.001	2.984	1.320~2.654	<0.001
年龄(岁)						
≤60	1					
>60	0.842	0.365~1.905	0.892			
性别						
男	1					
女	0.686	0.490~1.343	0.567			
吸烟史						
无	1					
有	1.855	0.891~1.965	0.790			
组织学类型						
腺癌	1					
鳞癌	0.765	0.486~1.599	0.298			
其他	0.651	0.546~1.911	0.151			
分化程度						
高分化	1			1		
中低分化	1.665	1.542~2.806	0.230	1.862	1.387~2.901	
T 分期						
T1+T2	1					
T3	1.680	0.905~1.818	0.603			
N 分期						
N0	1			1		
N1+N2	1.765	1.663~2.805	<0.001	1.850	1.551~2.872	0.005
无辅助治疗	1			1		
辅助治疗	0.302	0.166~0.572	<0.001	0.451	0.221~0.921	0.027
辅助治疗	0.052	0.010~0.241	<0.001	0.113	0.022~0.761	0.021

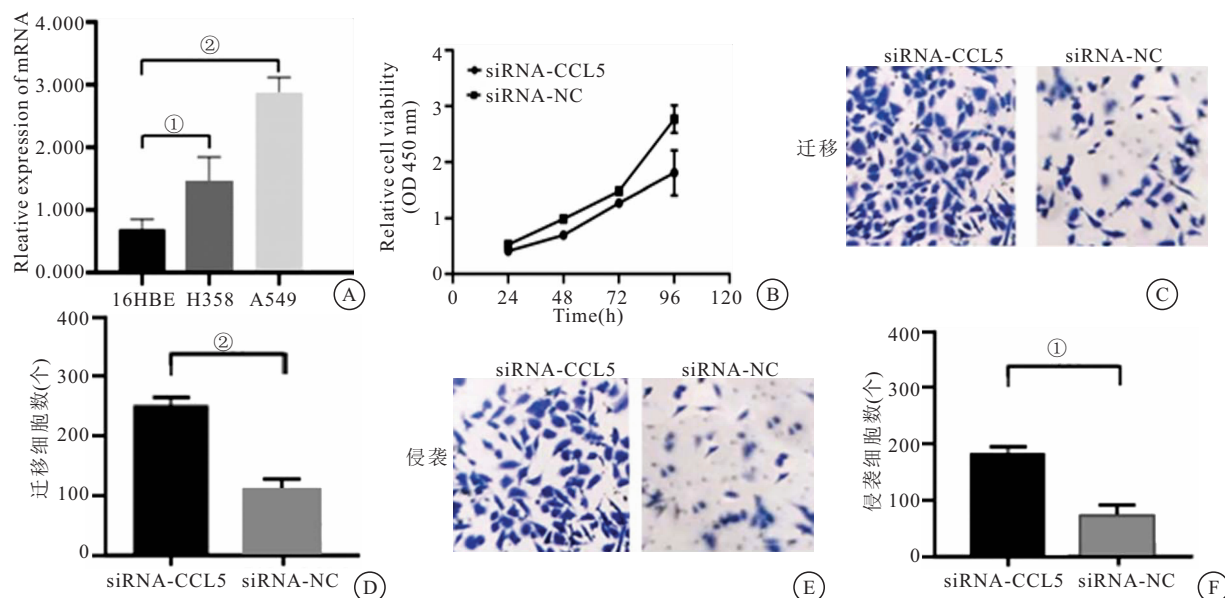


图 5 CCL5 在肺癌 A549 细胞中的生物学功能

Figure 5 Biological function of CCL5 in lung cancer A549 cells

注:①P<0.01,②P<0.05

达在肺癌的研究目前相关研究报道极少。

本研究用免疫组化方法检测 72 例 NSCLC 患者

与 60 例癌旁组织中 CCL5 蛋白表达情况,提示 CCL5 蛋白在肺癌组织中有高水平表达,而在正常组织中仅

为弱阳性,甚至阴性表达。CCL5 高表达与患者年龄、性别、肿瘤分型、大小无关,CCL5 的阳性表达率与淋巴结转移、临床分期有显著相关性,说明 CCL5 与 NSCLC 的生长及侵袭密切相关,可能在 NSCLC 的转移与病情进展中发挥着一定的作用。有研究发现 CCL5 mRNA 在肝癌组织中呈现高表达,与肝癌的进展有关,且同期细胞实验证明巨噬细胞和成纤维细胞分泌 CCL5 促进肿瘤相关细胞的增殖或募集^[13];Mio 等^[14]研究显示乳腺癌患者原发病灶、血液、转移灶、受侵犯的淋巴结中均高表达 CCL5/CCR5,并且 CCL5 高表达与肿瘤侵袭性、患者预后有明显关联,这提示 CCL5 在肝癌和乳腺癌的进展中起着关键性的作用。结合本研究结果,CCL5 在 NSCLC 中也发挥一定作用。

本研究结果提示 NSCLC 患者血清中 CCL5mRNA 的表达量均高于健康对照组,提示其可能在 NSCLC 的发生发展中起一定的促进作用。本文还进行了 CCL5 表达高低与患者预后的 K-M 生存分析,结果显示高表达 CCL5mRNA 患者的生存期更短,预后更差。Cox 多因素比例风险模型评估提示 CCL5 表达可作为 NSCLC 的独立预后因素之一。有研究表明,乳腺癌患者肿瘤组织和血清中 CCL5 的含量是乳腺癌患者的独立预后因子,并且血清中 CCL5 的含量可以作为乳腺癌疾病进展的实验室诊断指标^[15-18],CCL5 或许能成为治疗乳腺癌的靶点,并且前列腺癌患者中,高表达 CCL5 的前列腺癌患者肿瘤的侵袭性明显增强,CCL5 的表达水平可能为判断患者预后的一个指标^[19-21],与本文研究结果一致。

为探讨 CCL5 对肺癌细胞生物学功能的影响,本研究敲低 CCL5 后检测细胞增殖能力,结果发现转染 siRNA-CCL5 后 A549 细胞增殖能力明显降低,侵袭和迁移能力也降低,因此推测下调 CCL5 可抑制 A549 细胞增殖,侵袭,延缓转移,发挥抑癌作用,这与 Gaili 等^[22]研究结果相似,该研究显示在特定类型的乳腺癌中,乳腺癌细胞能够自分泌 CCL5 促进肿瘤细胞的增殖、侵袭,下调 CCR5 和 CCL5 表达水平,可促进乳腺癌细胞的凋亡。部分基础实验也证明巨噬细胞和成纤维细胞分泌 CCL5 能促进肿瘤细胞的增殖,增加侵袭能力^[23-25]。

4 结论

综上所述,本研究证实 CCL5 在 NSCLC 中高表达,并与患者 T 分期、N 分期、M 分期呈正相关,与预后呈负相关,CCL5 可能同样在 NSCLC 发生发展过程中发挥重要的作用,有望成为一种潜在的新型肺癌肿瘤标志物用于临床诊断,并指导临床对 NSCLC 的预

后判断,提高治疗的有效率。其临床意义值得进一步深入研究。

【参考文献】

- [1] CRONIN K A, LAKE A J, SCOTT S, *et al.* Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, part I: National cancer statistics[J]. *Cancer*, 2018, 124(13): 2785-2800.
- [2] STRAZZA M, MOR A. The complexity of targeting chemokines to promote a tumor immune response[J]. *Inflammation*, 2020, 43(4): 1201-1208.
- [3] NAJJAR Y G, RAYMAN P, JIA X, *et al.* Myeloid - Derived Suppressor Cell Subset Accumulation in Renal Cell Carcinoma Parenchyma Is Associated with Intratumoral Expression of IL1 β , IL8, CXCL5, and Mip - 1 α [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9):2346-2355.
- [4] TAO L, LIU S, XIONG J, *et al.* IL-1 β promotes cervical cancer through activating NF- κ B/CCL-2Int [J]. *J Clin Exp Pathol*, 2021, 14(4): 426-433.
- [5] HUANG Q, CHEN L, LUO M, *et al.* HIV-1-Induced miR-146a Attenuates Monocyte Migration by Targeting CCL5 in Human Primary Macrophages[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2018, 34(7):580-589.
- [6] ALDINUCCI D, BORGHESE C, CASAGRANDE N, *et al.* The CCL5/CCR5 Axis in Cancer Progression[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7): 1765.
- [7] VILGELM A E, RICHMOND A. Chemokines Modulate Immune Surveillance in Tumorigenesis, Metastasis, and Response to Immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 333.
- [8] HUFFMAN A P, LIN J H, KIM S I, *et al.* CCL5 mediates CD40-driven CD4+ T cell tumor infiltration and immunity[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(10): e137263.
- [9] ISAIKINA P, TSAI C J, DIETZ N, *et al.* Structural basis of the activation of the CC chemokine receptor 5 by a chemokine agonist[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(25): eabg8685.
- [10] ALDINUCCI D, COLOMBATTI A. The Inflammatory Chemokine CCL5 and Cancer Progression [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 292376.
- [11] SINGH S K, MISHRA M K, ELTOUM I E A, *et al.* CCR5/ CCL5 axis interaction promotes migratory and invasiveness of pancreatic cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):1323.
- [12] CASAGRANDE N, BORGHESE C, VISSER L, *et al.* CCR5 antagonism by maraviroc inhibits Hodgkin lymphoma microenvironment interactions and xenograft growth[J]. *Haematologica*, 2019, 104(3):564-575.
- [13] SINGH S K, MISHRA M K, RIVERS B M, *et al.* Biological and Clinical Significance of the CCR5/CCL5 Axis in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(4): 883.
- [14] YAMAGUCHI M, TAKAGI K, NARITA K, *et al.* Stromal CCL5 Promotes Breast Cancer Progression by Interacting with CCR3 in Tumor Cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1918.
- [15] NIE Y, HUANG H Y, GUO M Y, *et al.* Breast Phyllodes Tumors Recruit and Repolarize Tumor-Associated Macrophages via Secreting CCL5 to Promote Malignant Progression, Which Can Be Inhibited by CCR5 Inhibition Therapy[J]. *Clin Cancer*

- Res, 2019, 25(13):3873-3886.
- [16] YAMAGUCHI M, TAKAGI K, NARITA K, *et al.* Stromal CCL5 Promotes Breast Cancer Progression by Interacting with CCR3 in Tumor Cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1918.
- [17] GAO D, RAHBAR R, FISH E N, *et al.* CCL5 activation of CCR5 regulates cell metabolism to enhance proliferation of breast cancer cells[J]. *Open Biol*, 2016, 6(6): 160122
- [18] CHA Y J, KOO J S. Role of Tumor-Associated Myeloid Cells in Breast Cancer[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1785.
- [19] URATA S, IZUMI K, HIRATSUKA K, *et al.* C - C motif ligand 5 promotes migration of prostate cancer cells in the prostate cancer bone metastasis microenvironment[J]. *Cancer Sci.*, 2018, 109(3): 724-731.
- [20] LUO J, LEE S O, CUI Y, *et al.* Infiltrating bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs) increase prostate cancer cell invasion via altering the CCL5/HIF2 α /androgen receptor signals [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29):27555-27565.
- [21] HUANG R, GUO L, GAO M, *et al.* Research Trends and Regulation of CCL5 in Prostate Cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 1417-1427.
- [22] AN G, WU F, HUANG S, *et al.* Effects of CCL5 on the biological behavior of breast cancer and the mechanisms of its interaction with tumor associated macrophages[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(6):2499-2511.
- [23] HUANG R, QI S, WANG W, *et al.* CCL5 derived from tumor-associated macrophages promotes prostate cancer stem cells and metastasis via activating β -catenin/STAT3 signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4):234.
- [24] BAI S, WU Y, YAN Y, *et al.* The effect of CCL5 on the immune cells infiltration and the prognosis of patients with kidney renal clear cell carcinoma[J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(18): 2917-2925.
- [25] HUANG R, GUO L, GAO M, *et al.* Research Trends and Regulation of CCL5 in Prostate Cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14:1417-1427.
- (收稿日期: 2022-04-17; 修回日期: 2022-05-13; 编辑: 张翰林)

(上接第 20 页)

- [42] 申永春, 万春, 文富强. MicroRNA 在气道炎症性疾病中的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2010, (21): 1336-1340.
- [43] DANG X, QU X, WANG W, *et al.* Bioinformatic analysis of microRNA and mRNA Regulation in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respiratory research*, 2017, 18(1): 4.
- [44] LEUENBERGER C, SCHUOLER C, BYE H, *et al.* MicroRNA-223 controls the expression of histone deacetylase 2: a novel axis in COPD [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(6): 725-734.
- [45] IZZOTTI A, CALIN G A, ARRIGO P, *et al.* Downregulation of microRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke [J]. *FASEB J*, 2009, 23(3): 806-812.
- [46] GU W, YUAN Y, YANG H, *et al.* Role of miR-195 in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 55:49-54.
- [47] SHI L, XIN Q, CHAI R, *et al.* Ectopic expressed miR-203 contributes to chronic obstructive pulmonary disease via targeting TAK1 and PIK3CA [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 10662-10670.
- [48] CHATILA W M, CRINER G J, HANCOCK W W, *et al.* Blunted expression of miR-199a-5p in regulatory T cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease compared to unaffected smokers [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 177(1): 341-352.
- [49] ZENG Z, HE S, LU J, *et al.* MicroRNA-21 aggravates chronic obstructive pulmonary disease by promoting autophagy [J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(2): 89-97.
- [50] SONG Q, CHEN P, LIU X M. The role of cigarette smoke-induced pulmonary vascular endothelial cell apoptosis in COPD [J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 39.
- [51] JIA Q, CHANG J, HONG Q, *et al.* MiR-212-5p exerts a protective effect in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Discov Med*, 2018, 26(144): 173-183.
- [52] SHEN Z, TANG W, GUO J, *et al.* miR-483-5p plays a protective role in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(1): 193-200.
- (收稿日期: 2022-03-31; 修回日期: 2022-04-21; 编辑: 张翰林)