

PKC ϵ 对 CIK 杀伤胰腺癌细胞的影响及作用机制探讨*

张红梅, 王怡人, 杨金河, 冷小红, 王佩佩, 李宗显, 朱彤波 $\triangle$

四川大学华西基础医学与法医学院 免疫学教研室(成都 610041)

【摘要】 目的 研究非典型蛋白激酶 C 异构体 ϵ (protein kinase C, PKC ϵ) 对细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cell, CIK) 作用于胰腺癌细胞的杀伤作用的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 用白介素-2 (IL-2)、干扰素 (IFN)、分化抗原簇三分子单克隆抗体 (CD3 mAb) 等细胞因子诱导健康人外周血中单个核细胞, 制备成 CIK 细胞。将胰腺癌细胞 MiaPaCa、PANC-1 和胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 分为对照组、化学抑制剂硫代苹果酸钠(ATM 组)、与 CIK 共培养组、ATM+CIK 共培养组。采用细胞计数检测各组细胞 1~8 d 的生长情况; 各组细胞培养 48 h 后采用流式仪检测细胞死亡率; 使用针对人 PKC ϵ 的小发夹 RNA (small hairpin RNA, shRNA) 敲低胰腺癌细胞中 PKC ϵ 的表达, 胰腺细胞转染过表达 PKC ϵ 的重组质粒, 分别采用免疫印迹检测 PKC ϵ 蛋白表达和实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 PKC ϵ 对下游信号分子中转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 基因表达的影响; 并在 MiaPaCa 和 PANC-1 与 CIK 共培养中加入不同质量浓度 TGF- β (1、10、20 ng/mL), 48 h 后流式仪检测细胞死亡情况, 以探讨 PKC ϵ 影响 CIK 细胞杀伤活性的相关机制。**结果** ATM 和 CIK 可抑制胰腺癌细胞 MiaPaCa、PANC-1 的生长, 诱导癌细胞凋亡和死亡, ATM 可增强 CIK 对癌细胞的杀伤作用。敲低胰腺癌细胞中 PKC ϵ 的表达, 可下调其下游信号分子 TGF- β 基因的表达, 而胰腺细胞过表达 PKC ϵ , 可上调 TGF- β mRNA 表达, 并且在胰腺癌细胞中加入 TGF- β 10、20 ng/mL, 癌细胞的死亡率较对照组下降 ($P < 0.05$)。**结论** 降低胰腺癌细胞中 PKC ϵ 的表达可以抑制胰腺癌细胞的生长, 增强 CIK 对癌细胞的杀伤作用。PKC ϵ 的作用机制可能是通过调控 TGF- β 水平影响肿瘤细胞的免疫逃逸。

【关键词】 CIK 细胞 胰腺癌 PKC ϵ TGF- β

The Effects of PKC ϵ on Anti-tumor Activity of Cytokine-induced Killer Cells Against Pancreatic Cancer Cells and the Possible Underlying Mechanisms ZHANG Hong-mei, WANG Yi-ren, YANG Jin-he, LENG Xiao-hong, WANG Pei-pei, LI Zong-xian, ZHU Tong-bo $\triangle$. Department of Immunology, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

$\triangle$ Corresponding author, E-mail: tbzhu@163.com

【Abstract】 Objective To study the impact of atypical protein kinase C ϵ (PKC ϵ) isoform PKC on the pancreatic cancer cells towards the tumoricidal effect of cytokine-induced killer (CIK) cells and explore its mechanisms. **Methods** CIK cells were prepared by inducing mononuclear cells isolated from the peripheral blood of healthy people with interleukin-2 (IL-2), interferon (IFN) and CD3 mAb and subsequently co-cultured with pancreatic epithelial cell HPDE6-C7, pancreatic cancer cells MiaPaCa and PANC-1 with or without PKC inhibitor named sodium thiomalate (ATM). All cells were divided into control group, ATM group, co-culture group with CIK and co-culture group with CIK+ATM. Cell count was used to detect the growth of each group from 1 to 8 d. Flow cytometry was used to detect the death rate of the cell lines after 48 h cell culture in each group. The small hairpin RNA (shRNA) was used for PKC ϵ knockdown and the recombinant plasmid transfection was for PKC ϵ overexpression in pancreatic cancer cells. Western blot and real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) were utilized to determine the expression of PKC ϵ protein and the impact on gene expression of transforming growth factor- β (TGF- β), a downstream effector modulated by PKC. Different mass concentrations of TGF- β (1, 10, 20 ng/mL) were added into the co-culture of MiaPaCa and PANC-1 with CIK. The cell death rate was detected by flow cytometry 48 h later, so as to explore the possible mechanisms of the impact of PKC ϵ on the tumoricidal effects of CIK cells. **Results** ATM and CIK were shown to suppress the growth and induce apoptosis or death of pancreatic cancer cells, meanwhile, ATM can enhance the tumoricidal effect of CIK on pancreatic cancer cells. Moreover, we found that PKC ϵ knockdown in pancreatic cancer cells can down-regulate the gene expression of TGF- β . In return, PKC ϵ overexpression in pancreatic cancer cells can increase the gene expression of TGF- β . The death

* 国家自然科学基金(No. 81472555)资助

$\triangle$ 通信作者, E-mail: tbzhu@163.com

rate of cancer cells with 10, 20 ng/mL TGF- β was lower compared with the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** PKC ζ knockdown in pancreatic cancer cells can not only inhibit the growth of pancreatic cancer cells, but also enhance the tumoricidal effects of CIK on cancer cells. The possible mechanism of PKC ζ is to affect the immune escape of tumor cells by regulating the expression of TGF- β .

【Key words】 CIK cells Pancreatic cancer PKC ζ TGF- β

胰腺癌是死亡率极高的恶性肿瘤,不到 6% 的患者存活超过 5 年,具有早期诊断困难、预后差,对放、化疗不敏感等特点,被称为“癌中之王”^[1]。胰腺癌由于缺乏特征性的肿瘤标志物,且对目前的化疗药物有很高的耐药倾向,因此针对肿瘤细胞生长和维持所需的多种途径进行分子靶向干预研究,以及分子信号通路研究对于胰腺癌的治疗至关重要。

非典型蛋白激酶 C (atypical protein kinase C, aPKC) 是磷脂依赖性的丝氨酸/苏氨酸激酶家族——蛋白酶 C 的一个亚类,包括 PKC ζ 和 PKC ς 两种异构体。其中 PKC ζ 能够磷酸化不同底物来触发或调控一系列细胞的信号通路^[2],本课题组前期研究表明,胰腺癌细胞 (MiaPaCa 和 PANC-1) 高表达 PKC ζ ,硫代苹果酸钠 (aurothiomalate, ATM) 可抑制 PKC ζ 高表达,ATM 抑制 PKC ζ 高表达后,体外胰腺癌细胞的生长和体内胰腺肿瘤的形成均受到阻碍,肿瘤血管的形成和转移率也有所降低^[3]。已有研究证明,蛋白激酶 C 参与调控了转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的表达或 TGF- β 相关细胞信号的传导^[4-5]。TGF- β 属于 TGF- β 超家族^[6],在细胞增殖、黏附、运动、凋亡、分化和免疫调节中起到重要作用^[7],对肿瘤生长表现出双向调节,既可通过增加肿瘤细胞的侵袭和转移来促进肿瘤的进展^[8],也可通过诱导生长阻滞和细胞死亡来抑制肿瘤的发生。此外,TGF- β 作为免疫抑制细胞因子,可阻止机体内多种免疫应答的发生,且与肿瘤的免疫逃逸紧密相关,可协助肿瘤细胞躲避免疫细胞的杀伤,逃避机体的免疫监视,加速肿瘤的恶化^[9]。但目前尚未见 PKC ζ 在胰腺肿瘤免疫逃逸中所起的作用、以及对 TGF- β 表达影响的研究报道。

细胞因子诱导的杀伤细胞 (CIK) 是将健康人外周血中分离得到的单个核细胞 (PBMC) 在体外用白介素-2 (IL-2)、干扰素 (IFN)、分化抗原簇三分子单克隆抗体 (CD3 mAb) 等多种细胞因子诱导后获得的一群异质性细胞。在其最终分化的 CD3⁺CD56⁺ 亚群中结合 T 细胞与自然杀伤细胞 (NK 细胞) 表型,表现出强大的、非人类组织相容性复合体

(MHC) 限制性肿瘤杀伤活性^[10]。本研究为探讨 PKC ζ 在胰腺肿瘤免疫逃逸中所起的作用,拟通过体外制备培养 CIK 细胞,和/或与 PKC ζ 抑制剂 ATM+胰腺癌细胞共培养,检测 CIK 对胰腺癌细胞的杀伤活性,研究 PKC ζ 对 CIK 杀伤癌细胞的影响,并进一步分析其相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人胰腺癌细胞株 MiaPaCa、PANC-1 购自美国 ATCC 细胞库。人正常胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 购自上海歌凡技术有限公司。抗体: PKC ζ (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, 正能 ZenBioscience)。RPMI-1640、DMEM 培养基和 YQ 细胞融合用培养基购于成都源泉生物科技有限公司,胎牛血清和 TGF- β 重组蛋白购于成都溶海华康生物科技有限公司,ATM 购自 Sigma 公司。脂质体 Lipofectamine[®] 2000 购于 Invitrogen (Rockville, MD, USA), IL-2、IFN- γ 购自江苏金丝利药业有限公司。凯基测凋亡试剂盒 RT reagent Kit with gDNA Eraser 和 TB Green Premix Ex Taq II 购于成都微克生物技术有限公司。本实验所用引物在上海生工有限公司合成。质粒 pCMV- PKC ζ 为本课题组前期构建的重组质粒^[3]。

1.2 实验方法

1.2.1 CIK 细胞的制备 取健康人全血 100 mL (加入肝素钠抗凝剂), 1 000 $\times g$, 离心 15 min, 吸取上层血浆, 加入生理盐水 1:1 稀释后用吸管将血液混合物沿管壁缓慢地加入 Ficoll 淋巴细胞分离液之上, 650 $\times g$, 离心 20 min。用吸管小心吸取第二层白色云雾状的 PBMC 层到离心管内, 加入生理盐水 1 000 $\times g$, 离心 3 min, 洗涤 2 次后调整细胞浓度 1.0 $\times 10^6$ mL⁻¹。接种于提前包被好 CD3 单抗的 T175 培养瓶, 加入血清、IL-2 (300 IU/mL)、IFN- γ (1 000 IU/mL) 放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% 的 CO₂ 细胞培养箱中^[11]。

1.2.2 细胞生长实验 取对数生长期的 MiaPaCa、PANC-1 及 HPDE6-C7 细胞, 用 DMEM

培养基调整 MiaPaCa、PANC-1 细胞密度,用 RPMI-1640 培养基调整 HPDE6-C7 细胞密度为 $5\times 10^4\text{ mL}^{-1}$,接种于 96 孔板,每孔 100 μL 。每种细胞分别设为 4 组:未处理组(对照组)、0.1 mmol/L ATM 处理组(ATM 组,ATM 浓度参考文献^[3])、与 CIK 共培养组(CIK 组,效靶比为 2 : 1)、0.1 mmol/L ATM 处理并与 CIK 共培养组(ATM+CIK 组,效靶比为 2 : 1)。每组取 3 复孔,各组细胞分组处理后放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% CO_2 培养箱培养 24 h,使用光学显微镜进行细胞计数,共观察 8 d,绘制细胞生长曲线。

1.2.3 Annexin V 细胞死亡/凋亡检测 取对数生长期的 MiaPaCa、PANC-1 细胞,用 DMEM 培养基调整细胞密度为 $3\times 10^6\text{ mL}^{-1}$,接种于 6 孔板,每孔 100 μL 。细胞按 1.2.2 分组处理后放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% CO_2 培养箱培养 48 h,按凋亡检测试剂说明书收样,采用流式细胞仪测细胞死亡/凋亡率。

1.2.4 敲低细胞 PKC ϵ 表达对 TGF- β 基因表达的影响

1.2.4.1 慢病毒的制备 将含有针对人 PKC ϵ 的小干扰 RNA(shRNA)序列的寡核苷酸连接到慢病毒载体 pLentiLox3.7,构建 shRNA-prkci 重组质粒(上海生工合成)。用 YQ 培养基调整 293T 细胞密度为 $5\times 10^6\text{ mL}^{-1}$,接种于 100 mm 培养皿种,培养 12 h 后使用脂质体 Lipofectamine[®] 2000 试剂将重组质粒与包装质粒转入 293T 细胞中,48 h 收上清,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/ min 离心 15 min;用 0.45 μm PVDF 过滤器过滤上清即包装成慢病毒液,分装放入 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.2.4.2 感染细胞 用 DMEM 培养基调整 MiaPaCa、PANC-1 细胞密度为 $5\times 10^6\text{ mL}^{-1}$,接种

于 100 mm 培养皿种,培养 12 h 后弃去细胞培养皿内上清,PBS 洗 1 遍后加入 1 mL 病毒液,加入 10 $\mu\text{g/mL}$ 聚凝胺;感染 8~10 h 换液;感染 36 h 后收样,进行 PKC ϵ 蛋白检测、PKC ϵ 与 TGF- β 基因表达检测。前期实验^[3]证明,PKC ϵ 在 HPDE6-C7 中低表达,因此未做 HPDE6-C7 敲低 PKC ϵ 表达对 TGF- β 基因表达的影响。

1.2.5 PKC ϵ 过表达对胰腺细胞 TGF- β 基因表达的影响 为验证胰腺细胞中 TGF- β 的表达确实受到 PKC ϵ 调控,本研究进一步检测了 HPDE6-C7 中过表达 PKC ϵ 对 TGF- β 表达的影响。过表达 PKC ϵ 的重组质粒的构建如前期实验所述^[3]。HPDE6-C7 细胞培养 12 h 后用 Lipofectamine[®] 2000 将 pCMV-PKC ϵ 质粒转入 HPDE6-C7 细胞中,48 h 收样,检测 PKC ϵ 蛋白表达和 PKC ϵ 与 TGF- β 基因表达。

1.2.6 免疫印迹法(Western blot)检测 PKC ϵ 蛋白表达 用全蛋白提取试剂盒(碧云天)制备细胞裂解液,用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳分离等量蛋白,转移到硝化纤维素膜(Millipore)上,5%脱脂牛奶在室温下封闭 1~2 h,与 PKC ϵ 和 GAPDH 的一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗作用。最后,使用 ECL 化学发光液(博士德生物有限公司),用 Bio-Rad 凝胶成像仪检测免疫反应蛋白条带。

1.2.7 qRT-PCR 检测 PKC ϵ 与 TGF- β 基因表达 采用 Trizol 试剂(Invitrogen)提取总 RNA。逆转录为 cDNA 后,采用 CFX96[™] 实时 PCR 检测系统分析,以 GAPDH 为内参照,检测靶基因 PKC ϵ 与 TGF- β 的表达。计算 ΔCt ,以 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 表示目的基因 mRNA 的相对表达量,并以对照组 mRNA 的表达为 1。其引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 The primers sequences

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
GAPDH	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	GACAAGCTTCCCGTTCTCAG
PKC ϵ	TGGGTTGTCATCCTCAAACA	CATCTGGAGTGAGCTGGACA
TGF- β	ACACTCAGCACAGCAGGGTCCCT	TTGGGACACGCAGCAAGGAGAAG

1.2.8 不同质量浓度 TGF- β 对 CIK 细胞杀伤胰腺癌细胞影响 为证明胰腺癌细胞中 PKC ϵ 对 CIK 细胞活性的影响可能是通过 TGF- β 介导,本实验在 MiaPaCa 和 PANC-1 与 CIK 共培养中加入不同质量浓度 TGF- β (1 ng/mL,10 ng/mL,20 ng/mL),作用 48 h 后测定 MiaPaCa 和 PANC-1 死亡情况。

1.3 统计学方法

计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。使用单因素方差分析(ANOVA), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ATM 和 CIK 对胰腺癌细胞生长的影响

如图 1 所示,与对照组比较,PKC ϵ 抑制剂 ATM 和 CIK 可抑制胰腺癌细胞 MiaPaCa、PANC-

1 的生长 ($P < 0.05$), ATM 可增强 CIK 对 MiaPaCa、PANC-1 的生长抑制作用 ($P < 0.05$), 但 ATM 对正常胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 的生长基本无影响 ($P > 0.05$), 并且不影响 CIK 对 HPDE6-C7 的生长抑制作用。

2.2 ATM 和 CIK 对胰腺癌细胞凋亡和死亡的影响

如图 2 所示, CIK 可杀伤约 10% 的 MiaPaCa 或 PANC-1 细胞; ATM 可使约 26% 的 MiaPaCa 或

7% 的 PANC-1 发生死亡; ATM 可增强 CIK 杀伤 MiaPaCa、PANC-1 细胞作用, 分别使凋亡和死亡升至 55% 和 40% 左右 ($P < 0.05$)。CIK 对正常胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 的生长有抑制作用, 但并无明显的诱导凋亡和死亡作用 ($P > 0.05$)。

2.3 敲低细胞 PKC ϵ 表达对 TGF- β 基因表达的影响

Western blot 及 qRT-PCR 结果显示, shRNA-prkci 可有效降低细胞中 PKC ϵ 蛋白表达 (图 3)。

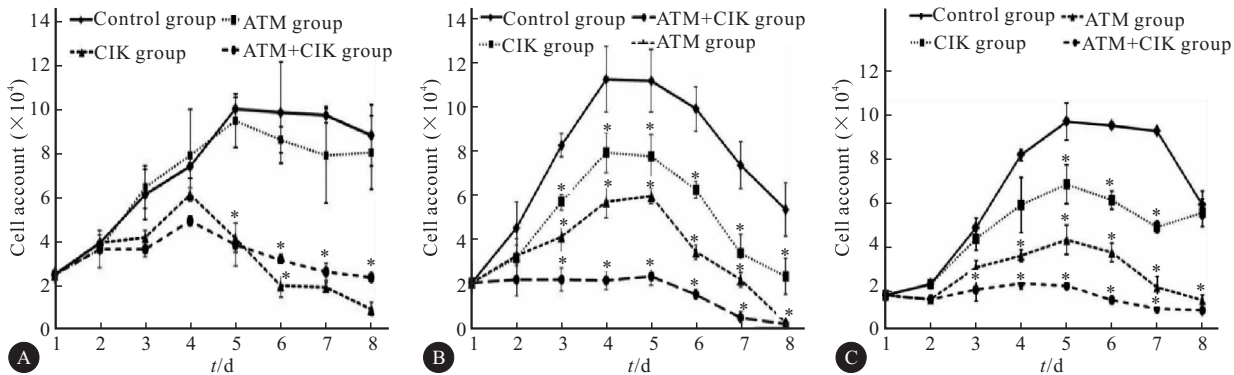


图 1 各组细胞生长曲线

Fig 1 Cell growth curves of each group

A: HPDE6-C7 cells; B :MiaPaCa cells; C: PANC-1 cells. * $P < 0.05$, vs. control group in the same time

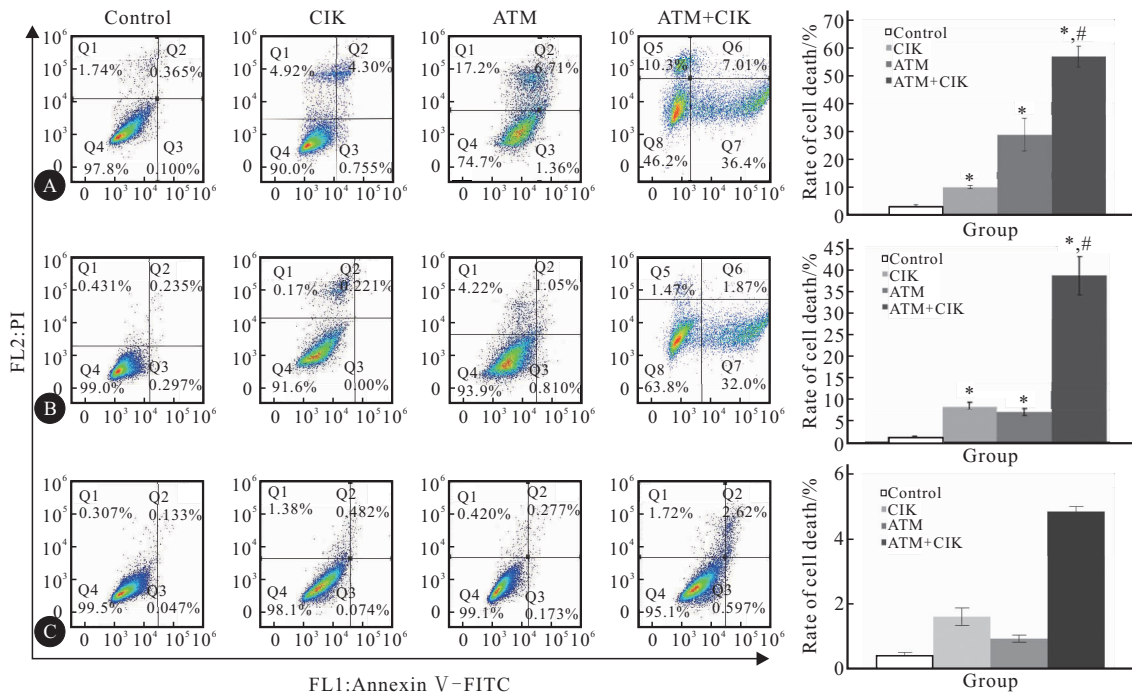


图 2 ATM 和 CIK 对胰腺癌细胞 MiaPaCa 和 PANC-1 以及正常胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 凋亡和死亡的影响 ($n=3$)

Fig 2 Impacts of ATM and CIK on apoptosis and death of pancreatic cancer cells (MiaPaCa and PANC-1) and normal pancreatic epithelial cells (HPDE6-C7) ($n=3$)

A: MiaPaCa cells; B: PANC-1 cells; C: HPDE6-C7 cells. * $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. ATM and CIK groups

qRT-PCR 实验还显示,经 shRNA-prkci 处理的 MiaPaCa 和 PANC-1 细胞,其 PKC ι 、TGF- β mRNA 的表达亦均下调(图 3B)。提示在胰腺癌细胞中, TGF- β mRNA 的表达可能受到 PKC ι 的调控。

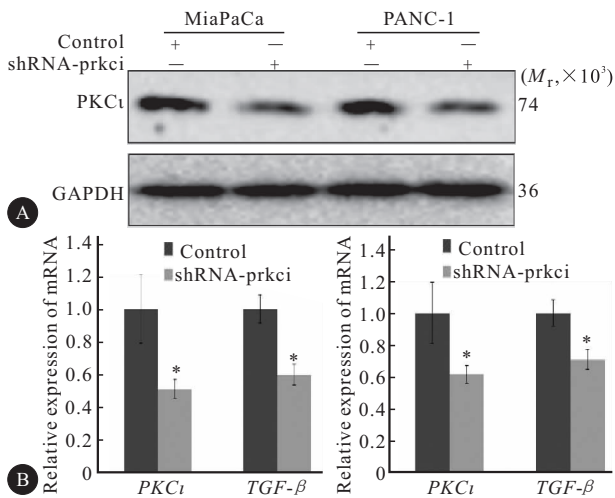


图 3 敲低 PKC ι 表达对 TGF- β mRNA 在胰腺癌细胞 MiaPaCa 和 PANC-1 中表达的影响($n=3$)

Fig 3 Effect of knockdown PKC ι on the expression of TGF- β mRNA in MiaPaCa and PANC-1 cells($n=3$)

2.4 过表达 PKC ι 对胰腺细胞 TGF- β 表达的影响

Western blot 和 qRT-PCR 的结果表明,转染了质粒 pCMV-PKC ι 后的 HPDE6-C7 细胞,PKC ι 蛋白表达明显增加(图 4A)。qRT-PCR 检测结果还显示,转染了 pCMV-PKC ι 的 HPDE6-C7 细胞 PKC ι

和 TGF- β mRNA 的表达上调(图 4B)。进一步证明胰腺细胞中 TGF- β 的表达可能受到 PKC ι 调控。

2.5 不同质量浓度 TGF- β 对 CIK 细胞杀伤胰腺癌细胞的影响

见图 5。结果表明,在 Miapaca 和 PANC-1 细胞,加入 TGF- β 的实验组细胞死亡/凋亡率较对照组(CIK 组)下降,且在 TGF- β 10、20 ng/mL 组下降更低($P<0.05$),对 MiaPaCa 细胞作用更大。

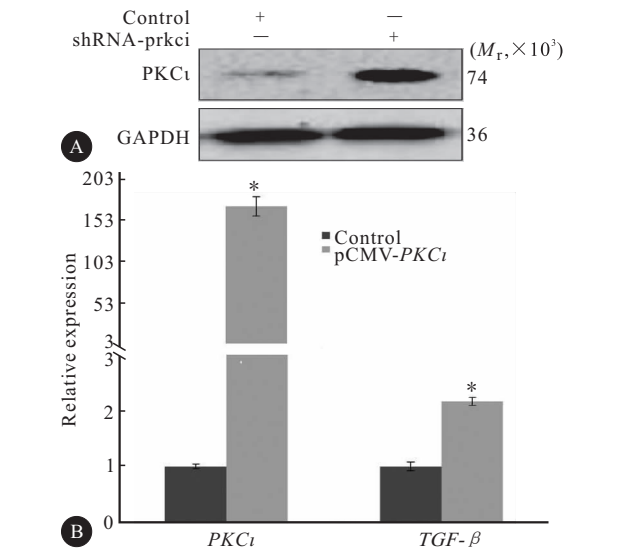


图 4 过表达 PKC ι 对 TGF- β 在胰腺上皮 HPDE6-C7 细胞中表达的影响($n=3$)

Fig 4 Overexpression of PKC ι up-regulates TGF- β in non-transformed HPDE6-C7 cells ($n=3$)

A: Western blot; B: qRT-PCR; * $P<0.05$, vs. control group

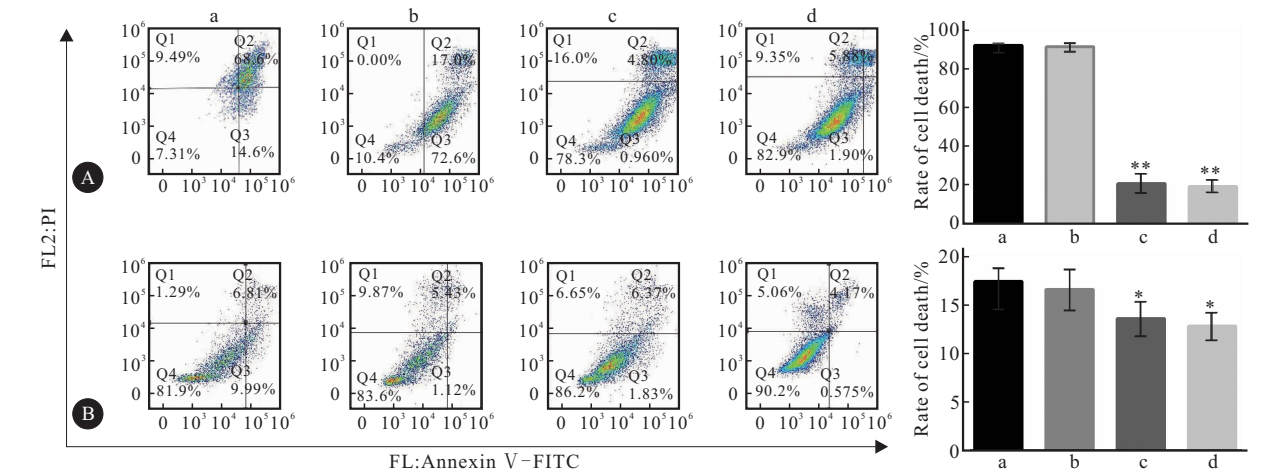


图 5 TGF- β 对 CIK 杀伤胰腺癌细胞的影响($n=3$)

Fig 5 TGF- β inhibits the cytotoxic activity of CIK cells ($n=3$)

A: MiaPaCa; B: PANC-1. a: CIK group; b: CIK+TGF- β 1 mg/mL group; c: CIK+TGF- β 10 mg/mL group; d: CIK+TGF- β 20 mg/mL group. * $P<0.05$, * * $P<0.01$, vs. CIK group

3 讨论

胰腺癌的死亡率极高,且早期诊断困难、预后差,靶向化疗药物十分缺乏。随着免疫治疗技术的发展,CIK 介导的细胞治疗被证明可通过增强人体自身免疫细胞的杀伤活性而排斥肿瘤组织,并具有对肿瘤强细胞毒性和较低毒副作用^[10],为恶性肿瘤的治疗提供了新的手段,也为胰腺癌的临床治疗提供了新的选择。

本研究发现,ATM 和 CIK 均可抑制胰腺癌细胞 MiaPaCa、PANC-1 的生长,诱导癌细胞凋亡和死亡,并且 ATM 可增强 CIK 对其癌细胞的生长抑制、诱导癌细胞凋亡和死亡作用,本课题组的前期研究^[3]表明,ATM 可抑制 PKC ϵ 高表达,结合本研究结果,提示 PKC ϵ 可能是靶向治疗胰腺癌的靶点。为进一步探讨 PKC ϵ 作用于癌细胞的途径,鉴于已有研究报道 PKC ϵ 可调控肾小球系膜细胞中 TGF- β 的表达^[4],或通过调控 TGF- β 受体的表达影响 TGF- β 的信号传导^[5];而 TGF- β 作为抑制性细胞因子,已被反复证明可抑制包括 NK 细胞在内的多种免疫细胞的增殖、细胞毒性和 IFN- γ 分泌^[12],故我们推测,PKC ϵ 对 CIK 抗胰腺癌活性的影响可能与 TGF- β 相关,为此本研究进行了敲低和过表达 PKC ϵ ,观察其对下游信号分子 TGF- β mRNA 的影响,结果显示,敲低 PKC ϵ 表达,可下调 TGF- β 的表达,而过表达 PKC ϵ ,可上调正常胰腺上皮细胞中 TGF- β 的表达,胰腺癌细胞中加入 TGF- β 10、20 ng/mL,癌细胞的死亡率较对照组下降($P < 0.05$),以上结果说明 PKC ϵ 是通过调控 TGF- β 水平,促进胰腺癌细胞的免疫逃逸。

本研究结果显示,CIK 虽然可抑制正常胰腺上皮细胞 HPDE6-C7 的生长,但基本不存在杀伤作用,分析其原因可能是由于存在个体间差异,实验室制备的 CIK 细胞与购买的胰腺癌细胞不是来自同一个体,并且 CIK 细胞为本课题组制备的原代细胞,无法进行传代和长期贮存,故制备一次 CIK 细胞只能保存 1~2 周,因此每一次制备的 CIK 细胞也存在个体差异,导致出现制备的 CIK 细胞对正常胰腺细胞的生长有抑制作用。但尽管如此,虽然每一次制备的 CIK 细胞的杀伤活性不尽相同,但对胰腺癌细胞的杀伤作用趋势一致,实验具有可重复性。

综上所述,本研究探讨了胰腺癌细胞中高表达的 PKC ϵ 可通过 TGF- β 而影响肿瘤免疫逃逸的机

制,证实了 PKC ϵ 抑制剂对 CIK 抗肿瘤活性的增效作用,PKC ϵ 可能是靶向治疗胰腺癌中的一靶点,为开发新型的胰腺癌的临床治疗药物与治疗手段,提供了新的思路与理论依据。

参 考 文 献

- [1] CARPELAN-HOLMSTROM M, NORDLING S, PUKKALA E, *et al.* Does anyone survive pancreatic ductal adenocarcinoma? A nationwide study re-evaluating the data of the Finnish cancer registry. *Gut*, 2005, 54(3):385-387.
- [2] BUTLER A M, SCOTTI BUZHARDT M L, ERDOGAN E, *et al.* A small molecule inhibitor of atypical protein kinase C signaling inhibits pancreatic cancer cell transformed growth and invasion. *Oncotarget*, 2015, 6(17):15297-15310.
- [3] WANG P, WEI D, ZHANG H, *et al.* PKC ϵ and YAP1 are crucial in promoting pancreatic tumorigenesis. *Oncotarget*, 2018, 9(67):32736-32750.
- [4] WU D, PENG F, ZHANG B, *et al.* PKC- β 1 mediates glucose-induced Akt activation and TGF- β 1 upregulation in mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(3):554-566.
- [5] CHUANG L, GUH J, LIU S, *et al.* Regulation of type II transforming-growth-factor-beta receptors by protein kinase C iota. *Biochem J*, 2003, 375(2):385-393.
- [6] TRAVI M A, SHEPPARD D. TGF- β activation and function in immunity. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32:51-82.
- [7] GLASGOW E, MISHRA L. Transforming growth factor-beta signaling and ubiquitinators in cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15(1):59-72.
- [8] ANNA L S, ROBIN T P, FORD H L. Molecular pathways: targeting the TGF- β pathway for cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(17):4514-4521.
- [9] CHEN W, TEN DIJKE P. Immunoregulation by members of the TGF β superfamily. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(12):723-740.
- [10] SCHMEEL L C, SCHMEEL F C, COCH C, *et al.* Cytokine induced killer(CIK) cells in cancer immunotherapy; report of the international registry on CIK cells (IRCC) . *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141(5):839-849.
- [11] HUANG J, LI C, WANG Y, *et al.* Cytokine-induced killer (CIK) cells bound with anti-CD3/anti-CD133 bispecific antibodies target CD133^{high} cancer stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Clin Immunol*, 2013, 149(1):156-168.
- [12] LAOUAR Y, SUTTERWAL F S, GORELIK L, *et al.* Transforming growth factor- β controls T helper type I cell development through regulation of natural killer cell interferon- γ . *Nat Immunol*, 2005, 6(6):600-607.

(2019-04-18 收稿, 2019-07-22 修回)

编辑 沈 进