

LPS 在结直肠癌中的作用机制及研究进展

孟 静, 李云峰

(昆明医科大学第三附属医院/云南省肿瘤医院, 大肠癌临床研究中心, 云南 昆明 650118)

摘要:内毒素脂多糖(lipopolysaccharid, LPS)作为一种重要的炎症诱导因子, 因参与炎症发生的多个环节而被认知, 近年来研究发现 LPS 在肿瘤的生成、转移及药物抵抗等多个方面同样发挥重要作用。大量的革兰阴性细菌在肠道中定植, LPS 作为革兰阴性细菌的主要产物, 如何在结直肠癌中发挥作用引起重视。全文就 LPS 在结直肠癌中的最新研究进展进行综述, 以期对结直肠癌发生发展的机制提供新的研究思路。

关键词:结直肠肿瘤; 内毒素脂多糖; 肠道细菌; 肿瘤微环境

中图分类号:R735.3⁴ **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2020)10-0918-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2020.10.B013

Research Progress of LPS in Colorectal Cancer

MENG Jing, LI Yun-feng

(Colorectal Cancer Clinical Research Center, Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University/
Yunnan Provincial Cancer Hospital, Kunming 650118, China)

Abstract: As an important inflammation-inducing factor, endotoxin lipopolysaccharide (LPS) is involved in many aspects of inflammation. A large number of Gram-negative bacteria are colonized in the intestine, and LPS is their main products, the relationship between LPS and colorectal cancer has attracted attention. Recent studies have revealed that LPS is also involved in tumor development, metastasis and drug resistance. This article will focus on the latest research progress of LPS in colorectal cancer, to provide new research ideas for the mechanism of colorectal cancer development.

Subject words: colorectal cancer; lipopolysaccharide; intestinal bacteria; tumor microenvironment

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 2018 年全球癌症统计结果显示结直肠癌的发病率在所有肿瘤中居第 3 位, 死亡率居第 2 位^[1]。结直肠癌的发生发展是一个多步骤、多阶段演进的复杂过程, 目前的研究表明肿瘤的发生主要是由基因、环境、遗传以及表观遗传学的改变所导致。越来越多的研究发现肠道微生物在结直肠癌的发生发展过程中发挥重要作用^[2]。内毒素脂多糖(lipopolysaccharid, LPS)作为革兰阴性细菌细胞壁的抗原、细菌内毒素的主要成分, 与结直肠癌的发生发展密切相关。

LPS 是一种重要的炎症诱导因子, 可通过产生多种细胞因子、生长因子和炎症介质来诱导炎症的发生, 在宿主-病原体与先天免疫系统的相互作用

中起着关键作用^[3]。新近的研究表明 LPS 在肝癌^[4]、前列腺癌^[5]、乳腺癌^[6]、胰腺癌^[7]、胃癌^[8]等多种肿瘤的发生发展过程中起重要作用; 此外, LPS 还可介导上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程促进肿瘤的侵袭与转移^[9-10]。LPS 在结直肠癌组织中甚至是早期腺瘤组织中表达量显著升高^[11], 但其在结直肠癌发病中的分子机制尚未完全阐明, 因此明确 LPS 促进结直肠癌发生发展的分子机制对于临床患者的早期诊断以及改善预后均有重要意义。本文结合国内外的最新报道对 LPS 在结直肠癌中的研究进展进行综述, 以期对结直肠癌的预防和治疗提供新思路。

1 LPS 概述

LPS 是位于革兰氏阴性细菌细胞壁最外层的一层较厚(8~10nm)的类脂多糖类物质, 由类脂 A、核

基金项目:国家自然科学基金(81560472)

通信作者:李云峰, 教授, 主任医师, 博士生导师, 昆明医科大学第三附属医院结直肠外科, 云南省昆明市西山区昆州路519号(650118); E-mail: Liyunfeng@medmail.com.cn

收稿日期:2019-09-16; **修回日期:**2019-11-02

心多糖和 O-特异侧链 3 部分组成的一个免受抗生素、抗菌肽等有害因子伤害的渗透性屏障,其中类脂 A 的内毒素活性以及核心多糖和 O 抗原对宿主防御机制产生抵抗的能力决定了 LPS 的毒性^[12]。LPS 是一种具有代表性的强炎症刺激物,可与先天免疫细胞膜中的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和髓样分化蛋白-2 (myeloid differential protein-2, MD-2)受体复合物结合诱发信号级联反应刺激核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)转录因子的激活,触发促炎因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等的分泌参与机体内多种疾病的发生发展,其中 NF- κ B 通路的失调、IL-6 的分泌在肿瘤的发生发展中起着至关重要的作用,此外 LPS 还可通过刺激肿瘤微环境中的炎性细胞、调节细胞因子的水平等多个方面与慢性炎症相关联^[13-14]。

2 LPS 在结直肠癌发生发展中的作用

2.1 LPS 与结直肠癌

结直肠是人体重要的消化吸收器官,其内有大量细菌寄生,现有的研究表明细菌的异常富集与结直肠癌的发生发展显著相关。具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, Fn) 是一种革兰阴性厌氧杆菌,富集于肿瘤细胞表面,其细胞壁中的 LPS 通过作用于 TLR4/NF- κ B 信号途径诱导微 RNA-21 (microRNA-21, miR-21) 的表达上调,促进肿瘤细胞增殖^[15]。另外,具核梭杆菌的 LPS 与 TLR4 结合还可激活蛋白激酶 1 (protein 21-activated kinase 1, PAK1), PAK1 的激活使 β -连环蛋白(β -catenin)S675 发生磷酸化,从而提高 β -catenin 的稳定性和转录活性,使 β -catenin 在核内沉积、进而上调其靶基因 *C-myc*、*Cyclin D1* 等的表达,加速肿瘤细胞的增殖与浸润^[16]。

2.2 LPS 与炎性肠病

慢性炎症被认为是肿瘤发生的重要危险因素,大约 20% 的肿瘤与癌前炎症密切相关。与肠道炎症相关的结直肠癌被称为结肠炎相关癌症 (colitis-associated cancer, CAC)。近年来研究表明,在肠道黏膜中异常的细菌 LPS 介导的炎症介质和信号通路在 CAC 的发展中发挥重要作用。相关报道发现在肿瘤细胞表面 TLR4 高表达, LPS 通过膜结合氨基

CD14 与 TLR4/MD-2 受体复合物结合来激活髓样分化因子-88(myeloid differentiation factor-88, MyD88), 诱导表皮生长因子受体、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2) 等的表达和 NF- κ B 的活化,进而增加促炎细胞因子 IL-6、IL-12、TNF- α 等的分泌,促进肿瘤细胞的增殖^[17-18]。另外,还有研究发现 LPS 通过 TLR4/NF- κ B 级联信号的激活下调 *Klotho* 基因的表达、触发胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factors-1, IGF-1) 配体的磷酸化,从而抑制肿瘤细胞的凋亡。而 TLR4、NF- κ B 等在调节炎症相关肿瘤的发生过程中扮演重要角色^[19]。Zou 等^[20]指出 sTLR4/MD-2 复合物可通过靶向 LPS, 阻断 LPS 与 TLR4 的结合,抑制 NF- κ B 的活化和促炎因子的表达,进而影响肿瘤的进展。

炎症可促进肠道黏膜中的中性粒细胞和巨噬细胞浸润,有研究发现肠道共生菌的 LPS 可上调中性粒细胞中 IL-1 β 的分泌,高表达的 IL-1 β 又可刺激巨噬细胞 IL-6 的释放,进一步促进炎症状态下肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IEC)的增殖,介导 CAC 的发生^[21]。此外, LPS 通过刺激丙酮酸激酶亚型 M2(pyruvate kinase isoform M, PKM2) 的表达及其与 STAT3 启动子的结合,引起 STAT3 磷酸化并促进其入核,促进相关癌基因的转录,进而促进 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子的释放^[22]。因此, LPS 可通过多种信号通路使肠上皮细胞长期处于炎性微环境中,促使肿瘤的形成。

2.3 LPS 在结直肠癌转移中的作用

转移是由肿瘤微环境中的非恶性细胞调控的多阶段过程,有研究表明 LPS 在其中发挥着关键作用。Li 等^[8] 研究发现 LPS 促进 CXCR7 表达激活 TLR4/MD-2 通路促进胃癌细胞的增殖及迁移, Jain 等^[5] 研究发现 LPS 可通过激活 NF- κ B 通路促进前列腺癌的转移。转移是结直肠癌患者的突出病理特征和首要死亡原因, LPS 是否与结直肠癌转移相关引起研究者重视。Ying 等^[23] 发现 LPS 激活 TLR4/NF- κ B 信号通路,使其介导的 E-钙黏蛋白(E-cadherin) 的表达减少以及波形蛋白(Vimentin) 的表达上调,促进 EMT 的发生,进而使肿瘤细胞获得较高的迁移、侵袭与降解细胞外基质的能力。另一方面, Cheng 等^[24] 发现 LPS 活化 NF- κ B 信号通路后抑制了结直肠肿瘤细胞中 α -catenin 的表达,其中 α -catenin 的

缺失减弱了细胞与细胞的黏附,使细胞极性发生改变,最终诱导肿瘤细胞的转移。有研究发现 LPS-Nox1 信号轴与肿瘤细胞活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生呈正相关,ROS 的蓄积激活 PI3K/AKT 信号通路,进而促进其下游靶蛋白基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 的表达, MMP 可以降解细胞基底膜及细胞外基质,从而促进结直肠癌的转移及侵袭^[25]。

在肿瘤微环境中,细胞因子等可使肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs) 发生极化,形成 M1 或 M2 表型,其中 M2 型 TAMs 可促进肿瘤的进展和免疫抑制。LPS 与 TLR4 结合后上调肿瘤细胞中组织蛋白酶-K (cathepsin K, CTSK) 的分泌,随后,CTSK 以 mTOR 依赖的形式促进 TAMs 向 M2 型极化,刺激 M2 型 TAMs 分泌细胞因子 IL-10 和 IL-17,细胞因子的分泌又可激活肿瘤细胞的 NF- κ B 信号通路,正向调节肿瘤细胞的侵袭与迁移的能力^[26]。除此之外,LPS 还可通过 TLR4-NF- κ B/JNK 信号通路上调血管内皮生长因子-C (vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C) 的表达,也可通过刺激 NF- κ B 与血管内皮生长因子受体-3 (vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3) 启动子的结合促进 VEGFR-3 的分泌,其中 VEGF-C 和 VEGFR-3 促进淋巴管的生成,在淋巴血管的调节中起重要作用,是淋巴结转移的关键因素^[27]。

2.4 LPS 在结直肠癌耐药中的作用

美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 指南推荐,中晚期结肠癌的患者采取以手术为主,化疗为辅的综合治疗方案,但肿瘤细胞耐药的出现严重影响了患者的治疗及预后。已有研究证明具核梭杆菌的 LPS 通过靶向 TLR4/MYD88 先天免疫信号下调 miR-18a* 和 miR-4802 的表达,激活肿瘤细胞自噬信号通路,从而促进结直肠癌患者的化疗耐药^[28]。另外,有报道指出在用化疗药物处理的肿瘤细胞中,LPS 的刺激可诱导 PI3K 调节的糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 与 NF- κ B p65 亚基的磷酸化,而上调耐药相关基因的表达,抑制肿瘤细胞的凋亡,促进肿瘤的恶性进展^[29]。

2.5 LPS 在结直肠癌免疫治疗中的作用

基于检查点阻断免疫治疗在几种肿瘤类型中的临床成功,肿瘤免疫治疗引起了前所未有的关注。但

是免疫治疗对结直肠癌的疗效有限,肿瘤与周围环境之间复杂的相互作用,包括年龄、肥胖、肠道微生物,都对免疫治疗效果产生影响已有研究证明,肠道微生物群影响抗 PD-L1 单克隆抗体对黑色素瘤和上皮肿瘤的疗效。在结直肠癌肿瘤中,Song 等^[30]发现在结直肠癌原位移植瘤动物模型中,LPS 在癌组织中富集且 LPS 下游因子 pNF- κ B、p65、cox-2、p-STAT3 和相关的促炎因子 IL-1 β 、IL-6、Ptgs2 等显著增多,而趋化因子 CXCL9 和 CXCL10 明显减少,其中趋化因子 CXCL9 和 CXCL10 促进肿瘤浸润淋巴细胞的趋化性募集,肿瘤浸润淋巴细胞在肿瘤内的积累是提高免疫治疗的潜在途径。此外,LPS 的富集与抗 PD-L1 单克隆抗体治疗的低反应有关,靶向 LPS 的抑制剂可明显增强 DCs 的功能,促进 T 细胞的浸润,显著减弱免疫抑制的微环境,提示 LPS 与肿瘤的免疫抑制密切相关。

3 小 结

目前的研究结果表明,LPS 在肿瘤组织中的浓度明显增高,可通过与配体 TLR4 的结合作用于免疫细胞和肿瘤细胞,继而活化多种信号通路形成有利于肿瘤细胞存活与增殖的微环境,促进结直肠癌的发生发展,并在结直肠癌的转移和耐药中发挥重要作用。本文详细介绍了 LPS 在结直肠癌中的研究进展,旨在为结直肠癌防治策略提供一个新的研究方向,这将是未来结直肠癌肿瘤研究中的一个热点。未来或可通过清除肿瘤组织表面的 LPS 抑制肿瘤的发生,靶向 LPS 调节肿瘤的微环境进而抑制肿瘤的进展,改善患者的治疗疗效及预后。然而,有关 LPS 在结直肠癌中的具体机制尚不明确,仍需进一步探究,以期能为结直肠癌的预测提供新的生物标志物和可行的治疗靶点。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Chen J, Pitmon E, Wang K. Microbiome, inflammation and colorectal cancer[J]. *Semin Immunol*, 2017, 32: 43-53.
- [3] Li S, Xu X, Jiang M, et al. Lipopolysaccharide induces in-

- flammation and facilitates lung metastasis in a breast cancer model via the prostaglandin E2-EP2 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6):4454–4462.
- [4] Wang Z, Yan M, Li J, et al. Dual functions of STAT3 in LPS-induced angiogenesis of hepatocellular carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(4):566–574.
- [5] Jain S, Dash P, Minz AP, et al. Lipopolysaccharide (LPS) enhances prostate cancer metastasis potentially through NF- κ B activation and recurrent dexamethasone administration fails to suppress it in vivo [J]. *Prostate*, 2019, 79(2):168–182.
- [6] Seol MA, Park JH, Jeong JH, et al. Role of TOPK in lipopolysaccharide-induced breast cancer cell migration and invasion [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25):40190–40203.
- [7] Beyer K, Partecke LI, Roetz F, et al. LPS promotes resistance to TRAIL-induced apoptosis in pancreatic cancer [J]. *Infect Agent Cancer*, 2017, 12:30.
- [8] Li N, Xu H, Ou Y, et al. LPS-induced CXCR7 expression promotes gastric cancer proliferation and migration via the TLR4/MD-2 pathway [J]. *Diagn Pathol*, 2019, 14(1):3.
- [9] Zhu G, Cheng Z, Lin C, et al. MyD88 regulates LPS-induced NF- κ B/MAPK cytokines and promotes inflammation and malignancy in colorectal cancer cells [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2019, 16(6):409–419.
- [10] Liu WT, Jing YY, Yan F, et al. LPS-induced CXCR4-dependent migratory properties and a mesenchymal-like phenotype of colorectal cancer cells [J]. *Cell Adh Migr*, 2017, 11(1):13–23.
- [11] Zhu G, Huang Q, Zheng W, et al. LPS upregulated VEGFR-3 expression promote migration and invasion in colorectal cancer via a mechanism of increased NF- κ B binding to the promoter of VEGFR-3 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(5):1665–1678.
- [12] Maldonado RF, Sá-Correia, Valvano MA. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2016, 40(4):480–493.
- [13] Rosadini CV, Kagan JC. Early innate immune responses to bacterial [J]. *Curr Opin Immunol*, 2017, 44:14–19.
- [14] Ostareck DH, Ostareck-Lederer A. RNA-binding proteins in the control of LPS-induced macrophage response [J]. *Front Genet*, 2019, 10:31.
- [15] Yang Y, Weng W, Peng J, et al. *Fusobacterium nucleatum* increases proliferation of colorectal cancer cells and tumor development in mice by activating Toll-like receptor 4 signaling to nuclear factor κ B, and up-regulating expression of microRNA-21 [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(4):851–866.
- [16] Chen Y, Peng Y, Yu J, et al. Invasive *Fusobacterium nucleatum* activates beta-catenin signaling in colorectal cancer via a TLR4/P-PAK1 cascade [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19):31802–31814.
- [17] Yao J, Zhao L, Zhao Q, et al. NF- κ B and Nrf2 signaling pathways contribute to wogonin-mediated inhibition of inflammation-associated colorectal carcinogenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5:e1283.
- [18] Kuo WT, Lee TC, Yang HY, et al. LPS receptor subunits have antagonistic roles in epithelial apoptosis and colonic carcinogenesis [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(10):1590–1604.
- [19] Xie B, Nie S, Hu G, et al. The involvement of NF- κ B/Klotho signaling in colorectal cancer cell survival and invasion [J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(4):1553–1565.
- [20] Zou Y, Qin F, Chen J, et al. sTLR4/MD-2 complex inhibits colorectal cancer in vitro and in vivo by targeting LPS [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(32):52032–52044.
- [21] Wang Y, Wang K, Han GC, et al. Neutrophil infiltration favors colitis-associated tumorigenesis by activating the interleukin-1 (IL-1)/IL-6 axis [J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(5):1106–1115.
- [22] Yang P, Li Z, Li H, et al. Pyruvate kinase M2 accelerates pro-inflammatory cytokine secretion and cell proliferation induced by lipopolysaccharide in colorectal cancer [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(7):1525–1532.
- [23] Ying J, Zhou HY, Liu P, et al. Aspirin inhibited the metastasis of colon cancer cells by inhibiting the expression of toll-like receptor 4 [J]. *Cell Biosci*, 2018, 8:1.
- [24] Cheng G, Yang S, Zhang G, et al. Lipopolysaccharide-induced α -catenin downregulation enhances the motility of human colorectal cancer cells in an NF- κ B signaling-dependent manner [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9:7563–7571.
- [25] O’Leary DP, Bhatt L, Woolley JF, et al. TLR-4 signalling accelerates colon cancer cell adhesion via NF- κ B mediated transcriptional up-regulation of Nox-1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e44176.
- [26] Li R, Zhou R, Wang H, et al. Gut microbiota-stimulated cathepsin K secretion mediates TLR4-dependent M2 macrophage polarization and promotes tumor metastasis in colorectal cancer [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11):2447–2463.
- [27] Zhu G, Huang Q, Huang Y, et al. Lipopolysaccharide increases the release of VEGF-C that enhances cell motility and promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis through the TLR4- NF- κ B/JNK pathways in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45):73711–73724.
- [28] Yu T, Guo F, Yu Y, et al. *Fusobacterium nucleatum*, promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy [J]. *Cell*, 2017, 170(3):548–563.
- [29] Chung YH, Kim D. Enhanced TLR4 expression on colon cancer cells after chemotherapy promotes cell survival and Epithelial-mesenchymal transition through phosphorylation of GSK3 β [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(7):3383–3394.
- [30] Song W, Tiruthani K, Wang Y, et al. Trapping of lipopolysaccharide to promote immunotherapy against colorectal cancer and attenuate liver metastasis [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(52):e1805007.