

IL-8 通过激活 PKC/ERK 信号通路促进 肾癌细胞上皮细胞-间质细胞转化*

毕良宽 林天歆 许可慰 韩金利 黄 海
张彩霞 董 文 刘 皓 黄 健**
(中山大学孙逸仙纪念医院泌尿外科, 广州 510120)

摘要 上皮细胞-间质细胞转化(EMT)在肿瘤转移方面起着非常重要的作用。肾癌发生 EMT 的具体分子机制尚不清楚。IL-8 是一个重要的炎症趋化因子, 研究表明肾癌细胞可以分泌 IL-8, 但 IL-8 是否参与肾癌细胞 EMT 的调节目前尚无报道。我们研究发现, IL-8 可以促进肾癌细胞形态发生间质化改变, IL-8 刺激后 E-钙黏蛋白表达水平下降, N-钙黏蛋白表达上调。另外, IL-8 可以促进肾癌细胞侵袭, 但对肾癌细胞增殖的影响并不明显。进一步研究显示, IL-8 通过激活蛋白激酶 C(PKC)引起细胞外调节性激酶(ERK)磷酸化。因此, 我们认为 IL-8 可能通过 PKC/ERK 信号通路促进肾癌细胞发生 EMT, 这可能是肾癌转移的重要机制之一。

关键词 肾癌, IL-8, 上皮细胞-间质细胞转化, 蛋白激酶 C, 细胞外信号调节性激酶(ERK)

学科分类号 R619

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00298

肾癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一, 近年来其发病率逐年增高, 且发病年龄越来越年轻^[1]。肾癌恶性度极高, 约 1/3 患者在初诊时已发生转移。肾癌对常规的放疗及化疗不敏感, 免疫治疗(如 IL-2 和 IFN- α)也仅对约 10%~20% 患者有效^[2], 给治疗带来很大困难。肾癌的转移机制目前尚不清楚, 因此阐明肾癌的转移机制是目前临床上迫切需要解决的医学难题之一。上皮细胞-间质细胞转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)在肿瘤细胞的转移方面发挥着重要的作用^[3]。EMT 是指上皮细胞获得间质细胞所具有的运动性和浸润性, 肿瘤细胞可以通过 EMT 获得侵袭性和潜在的转移能力。研究表明, EMT 在肾癌的发生及转移中起到非常重要的作用^[4], 但其具体分子机制目前尚不清楚。

目前研究发现, 肿瘤细胞可以产生一些细胞因子, 如 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 等, 肿瘤细胞通过自分泌和旁分泌来促使正常间质向致瘤间质转化, 形成适合肿瘤生长和转移的环境^[5-6]。IL-8 是一个重要的炎症趋化因子, 主要由上皮细胞和巨噬细胞分泌, 肿瘤细胞亦可以分泌 IL-8, 其中乳腺癌分泌的

IL-8 和 EMT 过程密切相关^[7]。研究表明, 肾癌细胞亦可以分泌 IL-8, 并可能和其耐药性有关^[8], 但 IL-8 是否可以促进肾癌细胞发生 EMT, 目前尚不清楚。本课题拟通过细胞及分子实验研究 IL-8 是否可以促进肾癌细胞发生 EMT, 明确 IL-8 调节在肾细胞癌 EMT 的具体机制, 希望为阐明肾癌的转移机制提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

786-0 细胞购自美国 ATCC 公司(10801 University Boulevard, Manassas, VA, 20110, USA); IL-8、蛋白激酶 C(PKC)抑制剂和 SuperECL Plus 超敏发光液购于美国 Sigma 公司(Sigma-Aldrich, 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, USA)。磷酸化 PKC、

* 国家自然科学基金资助项目(81101519), 广东省自然科学基金资助项目(S2011040003777)。

** 通讯联系人。

Tel: 020-81332336, E-mail: yehjn@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-08-06, 接受日期: 2012-09-13

PKC 和磷酸化细胞外信号调节性激酶(phospho-ERK) 抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司(Cell Signaling Technology, Inc. 3 Trask Lane, Danvers, MA 01923, USA). ERK (sc-154)、 β 肌动蛋白(β -actin, sc8432)、E- 钙黏着蛋白(E-cadherin)和 N- 钙黏着蛋白(N-cadherin) 抗体 购 于 美 国 Santa Cruz Biotechnology 公司(Santa Cruz Biotechnology, Inc. 2145 Delaware Avenue, Santa Cruz, CA. 95060, USA). DMEM-LG 培养基购于美国 Invitrogen 广州分公司(Hua Yue Enterprise Holdings Ltd. No.483, Nanda road, Panyu District, Guangzhou, 511442). 胎牛血清(fetal bovine serum, FCS)购于美国 Hyclone 公司(2039 McMillan Street, Auburn, AL 36832, USA). 培养板购于美国 Corning 公司(33210 Central Ave. Union City, California 94587, USA). PMSF、牛血清白蛋白成分 V 购于 Genview 中国公司(天津市河东区大桥道 8-5-105). PVDF 膜购于美国 Millipore 公司(290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA). Western 及 IP 细胞裂解液由实验室配制.

1.2 细胞培养

肾癌细胞系 786-0 细胞在含有青链霉素和 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养液中, 于 37℃、5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养.

1.3 IL-8 诱导 EMT

生长状态良好的 786-0 细胞, 生长密度达到 30%~50%, 在含 10% FBS 的 DMEM, 37℃, 5% CO₂ 的条件下培养 24 h, 然后更换为无血清培养基培养 12 h. 再次更换培养基, 实验组加入浓度为 100 μ g/L 的 IL-8 培养基, 对照组用正常培养基培养. 按照实验设计, 培养 48 h, 96 h 后收集细胞用于后续试验.

1.4 细胞侵袭实验

细胞侵袭实验方法参照 BD Biosciences 公司的操作指南. 具体为: 取 100 μ l EMC 稀释液加入到细胞小室的上层小室中, 立即将细胞小室及 EMC 胶置于培养板中, 于 37℃ 孵育 2 h 使 EMC 胶由液体凝成固体. 将生长状态良好的 786-0 细胞用胰酶消化, 细胞计数板进行细胞计数. 之后用无血清的 DMEM 培养基清洗 2 次并重悬, 调整细胞密度至 5×10^5 /ml. 在板孔(下室)中加入含或不含 IL-8, 含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 将小室置于板孔中, 小室底部接触培养基, 在细胞小室的上层加入 1×10^5 细胞. 按照实验设计 37℃ 培养 24 h 和 48 h 后, 取出细胞小室, 移去上层小室. 小室

微孔膜下面的细胞用 5% 戊二醛固定, 染色 10 min, 然后用 1% 结晶紫(2% 乙醇溶解)染色 20 min, 置于显微镜下拍照.

1.5 细胞增殖实验

收集生长良好的 786-0 细胞, 调整细胞悬液浓度至 5×10^4 /ml, 将 96 孔板内每孔加入 200 μ l 细胞悬液铺板, 培养 4 h 后, 待细胞贴壁. 实验组和对照组分别加入含和不含 IL-8 的培养基培养 12、24 及 48 h. 每孔加入 MTT 溶液 20 μ l, 培养 4 h 后终止培养, 小心吸去孔内培养液. 每孔加入 150 μ l DMSO, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解后立即送酶标仪检测.

1.6 Western blotting

收集生长良好的 786-0 细胞, 调整细胞悬液浓度至 1×10^6 /ml, 每孔 3 ml(即 3×10^6 孔)接种 6 孔板中, 无血清培养基培养过夜. IL-8 组加入 IL-8 刺激 15、30、60 min; PKC 抑制组预先加入 PKC 抑制剂培养 30 min 后, 再加入 IL-8 刺激 15、30、60 min. 刺激时间达到后, 用冷磷酸盐缓冲液轻轻冲洗细胞 2 次, 然后把细胞刮至离心管中, 1 800 g 离心 4 min, 弃上清. 加入细胞裂解液 80 μ l, 用吸管轻轻吹散, 冰上静置 15 min, 13 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液 60 μ l, 加入 4 $\times$ SDS 溶液 20 μ l, 混匀, 95℃ 煮 5 min. 以每泳道 50 μ g 蛋白质 12% SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 完毕后蛋白转移到 PVDF 膜. 先用封闭液(1 $\times$ TBS, 5% 脱脂奶粉, 0.05% Tween-20)室温孵育 60 min. 用 1 : 1 000 稀释的相应抗体 4℃ 孵育过夜: 10 ml 一抗稀释液(1 $\times$ TBST 10 ml, 加 BSA 0.5 g)中加 10 μ l 浓度为 1 g/L 的抗体配成 1 : 1 000 稀释液 4℃ 孵育过夜. TBST 洗涤后加入 1 : 5 000 稀释的 HRP- 羊抗兔二抗室温 1 h. TBST 洗涤后, 经 ECL 化学发光试剂孵育, 凝胶成像系统下成像. 同法检测内参 β -actin, 并以检测蛋白与 β -actin 的吸光度比值推测蛋白质表达量变化.

1.7 统计学分析

实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示. 数据输入 SPSS13.0 软件, 由 t 检验进行分析, $P < 0.05$ 被认为有统计学意义.

2 结 果

2.1 IL-8 可以促进肾癌细胞发生 EMT

我们首先体外培养肾癌细胞株 786-0, 所有细胞生长状态良好. 为了观察 IL-8 对肾癌细胞的作用

用, 将 786-0 细胞分为 2 组, 即正常组和 IL-8 组. 如图 1 所示, 正常组 786-0 细胞在常规培养基培养下呈多边形, 相互间紧密连接, 并有成团生长趋势, 而 IL-8 组, 在加入 IL-8 后 786-0 形态已开始发生转变, 由上皮样癌细胞形态向梭形转变, 同时细胞之间变得松散, 呈现分散生长状态. 由此可见, 在 IL-8 作用下, 786-0 细胞可暂时失去细胞极性, 转化为能自由移动的间质细胞样形态, 这种改变符合细胞发生 EMT 所表现的形态, 提示 IL-8 可能促进肾癌细胞发生 EMT.

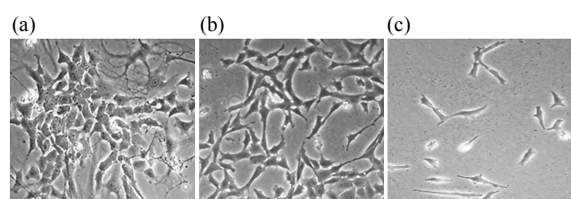


Fig. 1 IL-8 promoted renal cancer cells EMT

Renal carcinoma cell line 786-0 cells were cultured with or without IL-8 for indicated time, cell morphogenesis changes were observed by microscope. (a) Cells cultured without IL-8; (b) Cells cultured with IL-8 for 48 h; (c) Cells cultured with IL-8 for 96 h.

2.2 IL-8 可以促进肾癌细胞间质标志物表达, 降低上皮标记物表达

EMT 是一个形态学和分子水平都发生改变的过程. 在 EMT 过程中, 不仅细胞形态发生了变化, 而且细胞表面的标记物也发生了变化, 表现为上皮标记物表达减少和间质标志物表达增加^[9]. 其中, E-cadherin 表达下降是目前 EMT 最重要的标志性变化. 为了探讨 IL-8 对肾癌细胞的 EMT 作用, 我们运用分子生物学方法观察 IL-8 对肾癌细胞 EMT 相关蛋白表达水平的影响. 如图 2 所示, 正常 786-0 细胞表面表达 E-cadherin, 在 IL-8 刺激以后 E-cadherin 表达水平明显下降, 进一步研究发现 IL-8 刺激后, 间质标志物 N-cadherin 等表达明显

上调. 这说明 IL-8 刺激后, 786-0 细胞表面上皮标记物表达减少, 而间质标志物表达增加, 呈现 EMT 改变.

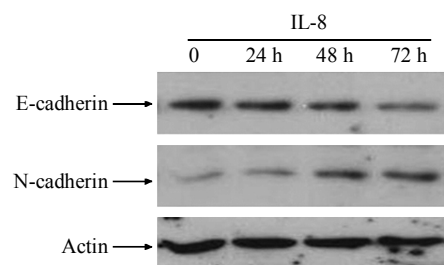


Fig. 2 IL-8 promoted the expression of mesenchymal marker and inhibited epithelial marker expression in renal cell carcinoma

Renal carcinoma cell line 786-0 cells were cultured with or without IL-8 for indicated time, cell were collected for observing the expression of E-cadherin and N-cadherin by Western blotting.

2.3 IL-8 可以促进肾癌细胞转移和侵袭能力, 并不影响增殖能力

肿瘤转移的过程需要多种因素的参与, EMT 可能是促进其中某一环节的重要因素之一. 上皮细胞发生 EMT 后, 细胞丢失了细胞间紧密黏附的极性, 获得了浸润性和游走迁移的能力, 表现为迁移和侵袭能力增强^[10]. 为了探讨 IL-8 对肾癌细胞迁移和侵袭能力的作用, 我们运用肿瘤细胞侵袭试验 (matrigel invasion assay) 观察 IL-8 对肾癌细胞转移和侵袭的影响. 如图 3 所示, 正常组和 IL-8 刺激组均可以透过基质胶, 相比之下, IL-8 刺激 24 h 后透过基质胶的细胞数量明显高于正常组. 与此同时, 我们通过 MTT 实验观察到 IL-8 对肾癌细胞增殖的影响并不明显. 如图 3 所示, 正常组和 IL-8 组细胞生长增殖并无差别. 这说明 IL-8 特异性参与了肾癌细胞转移和侵袭的调节.

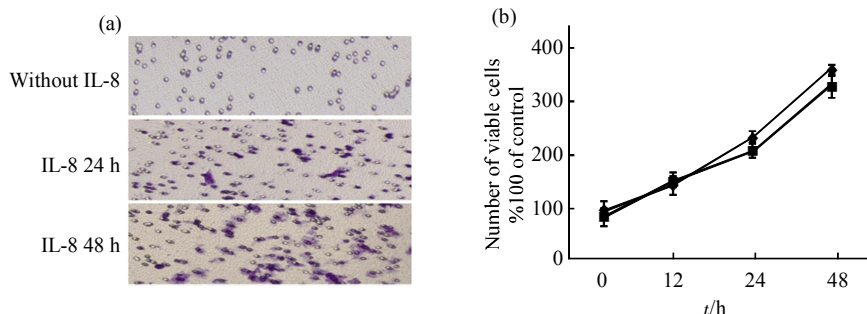


Fig. 3 IL-8 promoted renal cancer cells metastasis, not affect the proliferation

(a) Matrigel invasion assay was performed to observe the role of IL-8 on renal cell carcinoma metastasis. (b) MTT assay was performed to observe the impact of IL-8 on renal cancer cell proliferation. ◆—◆: Cultured with IL-8; ■—■: Cultured without IL-8.

2.4 IL-8 可以促进肾癌细胞内 ERK 的磷酸化水平升高

细胞外信号调节性激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK) 参与调节细胞的增殖、分化和存活, 是多种生长因子的下游蛋白, ERK 和其信号途径在肿瘤侵袭和转移过程中起中介和放大信号的作用^[11]. 而最近研究发现 ERK 参与了细胞 EMT 的调节^[12]. 为了研究 IL-8 促进肾癌 EMT 的机制, 我们用 IL-8 刺激 786-0 细胞, 然后观察 ERK 磷酸化水平. 如图 4a 所示: IL-8 刺激后可以明显

提高 ERK 的磷酸化水平, 这说明 IL-8 可以激活 ERK. 为了进一步探讨不同浓度 IL-8 对肾癌细胞的作用, 我们用不同浓度 IL-8 刺激 786-0 细胞. 如图 4b 所示, 10 $\mu\text{g/L}$ 的 IL-8 对肾癌细胞内 ERK 的激活并不明显, 100 $\mu\text{g/L}$ 及 1 000 $\mu\text{g/L}$ 的 IL-8 均可以明显激活 ERK, 2 个浓度对 ERK 的激活程度无明显差别, 由此可见 100 $\mu\text{g/L}$ 可能是 IL-8 激活 786-0 细胞内 ERK 的最佳浓度. IL-8 对 ERK 的激活可能是其调节肾癌细胞 EMT 的重要机制.

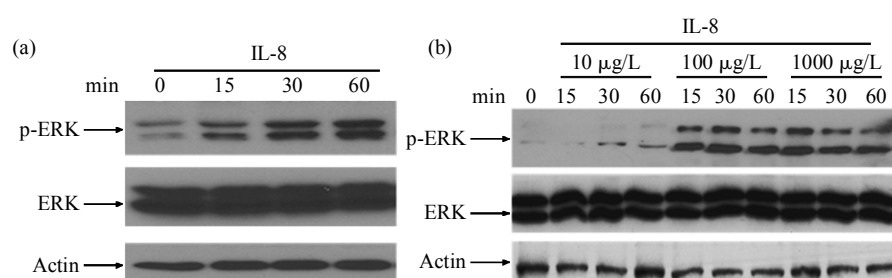


Fig. 4 IL-8 regulated the phosphorylation of ERK in renal cell carcinoma

(a) 786-0 cells were stimulated with IL-8 for indicated time and the phosphorylation level of ERK was observed by Western blotting. (b) 786-0 cells were stimulated with different concentration of IL-8 for indicated time and the phosphorylation level of ERK was observed by Western blotting.

2.5 IL-8 通过 PKC 激活 ERK, 参与肾癌细胞 EMT 的调节

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是细胞内重要的蛋白激酶, 研究表明 IL-8 信号通路可以激活 PKC^[13]. 为了进一步研究 IL-8 促进肾癌 EMT 的机制, 我们用 IL-8 刺激 786-0 细胞, 然后观察 PKC 磷酸化水平. IL-8 刺激后可以明显提高 PKC

的磷酸化水平, 这说明 IL-8 可以激活 PKC(图 5). 加 PKC 抑制剂后可以明显抑制 IL-8 引起的 ERK 磷酸化水平. 这提示 IL-8 通过 PKC 调节肾癌细胞的 ERK 磷酸化水平. 由此可见, IL-8 可以通过 PKC/ERK 信号通路促进肾癌细胞 EMT 的发生, 这可能是肾癌转移的重要机制之一.

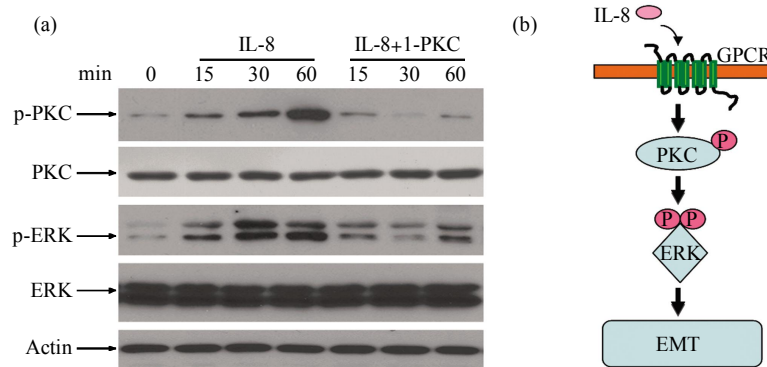


Fig. 5 IL-8 regulated the phosphorylation of ERK through PKC in renal cell carcinoma

(a) 786-0 cells were stimulated with IL-8 with or without PKC inhibitor for indicated time, and the phosphorylation level of PKC and ERK was observed by Western blotting. Actin served as loading control. (b) Proposed model of IL-8 in renal cell carcinoma.

3 讨 论

近年来越来越多的研究表明, 炎症因子在肿瘤发生发展中起到非常重要的作用^[14]. 它们是肿瘤细胞与肿瘤微环境之间重要的连接因子. 肿瘤细胞在所处的微环境中易发生 EMT, 进而发生转移, 在这个过程中炎症因子可能起到非常重要的作用^[15]. 我们在本研究中发现炎症因子 IL-8 可以通过激活 PKC/ERK 信号通路, 促进肾癌细胞发生 EMT, 这可能是肾癌发生转移的起始步骤, 对明确肾癌的转移机制具有重要意义. 肿瘤转移的过程需要多种因素的参与, EMT 可能是促进其中某一环节的重要因素之一.

肿瘤细胞借助 EMT 方式可以增强肿瘤细胞迁移和运动能力, 促进肿瘤的侵袭与转移. 已有的大量研究证据表明, 在多数肿瘤的原位已有 EMT 的发生, 癌细胞通过 EMT 而获得间质细胞表型和侵袭性, 实现对周围组织的侵袭^[16]. Gomes 等^[17]通过细胞划痕实验证明, 发生 EMT 的细胞能更快迁移, 在更短时间内使划痕愈合. 本实验也观察到发生 EMT 的肾癌细胞迁移能力明显增强. 除了体外实验, 对多种肿瘤细胞的体内研究发现, 呈上皮样的肿瘤细胞是非浸润性的, 表达上皮细胞特异性的 E-钙黏着蛋白, 而呈纤维样的癌细胞是浸润性的, 并有 E-钙黏着蛋白丢失现象, 发生明显的 EMT^[18]. 这些均说明 EMT 能使细胞迁移能力增强, 松散的细胞特征也使得转移的机会变大. 我们在本实验中观察到, 在 IL-8 刺激后, 肾癌细胞上皮细胞特异性的 E-钙黏着蛋白表达降低, 而间质标志物 N-钙黏着蛋白等表达明显上调, 与以往报道一致.

ERK 是细胞浆内一类丝/苏氨酸蛋白激酶. 以往研究显示 ERK 是传递丝裂原信号的信号转导蛋白. 一般情况下 ERK 位于胞浆, 当激活后转位至胞核, 调节转录因子活性, 产生细胞效应^[19]. 研究发现, ERK 参与了细胞 EMT 的调节, 许多外界刺激可以通过激活 ERK 来促进细胞发生 EMT^[12], 观察 ERK 激活最经典的指标是观察其磷酸化水平. 我们在本研究中发现, 细胞因子 IL-8 刺激后, 肾癌细胞内磷酸化水平很快上升, 并维持较高水平, 这可能是肾癌细胞发生 EMT 的重要环节. 蛋白激酶 C 是细胞内重要的激酶, 可以通过磷酸化激活下游信号通路, ERK 是其下游重要的靶点之一^[20]. 通过抑制试验我们发现, 抑制 PKC 的活性可以明显抑制 ERK 的磷酸化水平, 这说明 IL-8-PKC/ERK

信号轴参与了肾癌 EMT 的调节.

现已证实, EMT 在肿瘤细胞的侵袭和转移以及新的转移灶的形成过程中扮演了重要的角色. 但是关于 EMT 是引起肿瘤转移的起始因素之一, 还是由肿瘤本身引起的短暂现象, 尚存争论. 研究发现, 原发性乳腺癌细胞表达波形蛋白和 N-cadherin, 不表达 E-cadherin, 但是不发生转移, 一些细胞表达 E-cadherin, 但可以转移. 这提示某些肿瘤细胞的转移能力并不与 EMT 严格相关. 另外, 与 EMT 相关的信号通路很多, 如 NF- κ B 信号通路在 EMT 过程中也起到很重要作用^[21], 已有研究表明 NF- κ B 信号通路的活化与肾癌的转移密切相关^[22]. IL-8 可以激活 NF- κ B^[23], 在以后的研究中, 探讨 NF- κ B 在 IL-8 引起肾癌 EMT 中的作用可能是一项有意义的研究.

参 考 文 献

- [1] Kamo K, Sobue T. Cancer statistics digest. Mortality trend of prostate, breast, uterus, ovary, bladder and "kidney and other urinary tract" cancer in Japan by birth cohort. *Jpn J Clin Oncol*, 2004, **34**(9): 561-563
- [2] Haddad H, Rini B I. Current treatment considerations in metastatic renal cell carcinoma. *Curr Treat Options Oncol*, 2012, **13**(2): 212-229
- [3] Berx G, Raspe E, Christofori G, *et al.* Pre-EMTing metastasis?. Recapitulation of morphogenetic processes in cancer. *Clin Exp Metastasis*, 2007, **24**(8): 587-597
- [4] O'Mahony F C, Faratian D, Varley J, *et al.* The use of automated quantitative analysis to evaluate epithelial-to-mesenchymal transition associated proteins in clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One*, 2012, **7**(2): e31557
- [5] Nannuru K C, Singh R K. Tumor-stromal interactions in bone metastasis. *Curr Osteoporos Rep*, 2010, **8**(2): 105-113
- [6] Sansone P, Storci G, Tavoroli S, *et al.* IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland. *J Clin Invest*, 2007, **117**(12): 3988-4002
- [7] Fernando R I, Castillo M D, Litzinger M, *et al.* IL-8 signaling plays a critical role in the epithelial-mesenchymal transition of human carcinoma cells. *Cancer Res*, 2011, **71**(15): 5296-5306
- [8] Huang D, Ding Y, Zhou M, *et al.* Interleukin-8 mediates resistance to antiangiogenic agent sunitinib in renal cell carcinoma. *Cancer Res*, **70**(3): 1063-1071
- [9] Jing Y, Han Z, Zhang S, *et al.* Epithelial-Mesenchymal Transition in tumor microenvironment. *Cell Biosci*, 2011, **1**: 29
- [10] Wang Y, Zhou B P. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis. *Chin J Cancer*, **30**(9): 603-611
- [11] Montagut C, Settleman J. Targeting the RAF-MEK-ERK pathway in cancer therapy. *Cancer Lett*, 2009, **283**(2): 125-134

- [12] Javle M M, Gibbs J F, Iwata K K, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition (EMT) and activated extracellular signal-regulated kinase (p-Erk) in surgically resected pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol*, 2007, **14**(12): 3527–3533
- [13] Picinich S C, Glod J W, Banerjee D. Protein kinase C zeta regulates interleukin-8-mediated stromal-derived factor-1 expression and migration of human mesenchymal stromal cells. *Exp Cell Res*, **316**(4): 593–602
- [14] Chekhun V F. Inflammation and cancer. *Exp Oncol*, 2009, **31**(4): 190
- [15] Lopez-Novoa J M, Nieto M A. Inflammation and EMT: An alliance towards organ fibrosis and cancer progression. *EMBO Mol Med*, 2009, **1**(6–7): 303–314
- [16] Sethi S, Macoska J, Chen W, *et al.* Molecular signature of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in human prostate cancer bone metastasis. *Am J Transl Res*, **3**(1): 90–99
- [17] Gomes L R, Terra L F, Sogayar M C, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition: implications in cancer progression and metastasis. *Curr Pharm Biotechnol*, **12**(11): 1881–1890
- [18] Janda E, Nevelo M, Lehmann K, *et al.* Raf plus TGFbeta-dependent EMT is initiated by endocytosis and lysosomal degradation of E-cadherin. *Oncogene*, 2006, **25**(54): 7117–7130
- [19] Al-Ayoubi A, Tarcsafalvi A, Zheng H, *et al.* ERK activation and nuclear signaling induced by the loss of cell/matrix adhesion stimulates anchorage-independent growth of ovarian cancer cells. *J Cell Biochem*, 2008, **105**(3): 875–884
- [20] Cote-Velez A, Perez-Martinez L, Charli J L, *et al.* The PKC and ERK/MAPK pathways regulate glucocorticoid action on TRH transcription. *Neurochem Res*, 2008, **33**(8): 1582–1591
- [21] Huber M A, Azoitei N, Baumann B, *et al.* NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest*, 2004, **114**(4): 569–581
- [22] Pantuck A J, An J, Liu H, *et al.* NF-kappaB-dependent plasticity of the epithelial to mesenchymal transition induced by Von Hippel-Lindau inactivation in renal cell carcinomas. *Cancer Res*, **70**(2): 752–761
- [23] Martin D, Galisteo R, Gutkind J S. CXCL8/IL8 stimulates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the autocrine activation of VEGFR2 in endothelial cells by activating NFkappaB through the CBM (Carma3/Bcl10/Malt1) complex. *J Biol Chem*, 2009, **284**(10): 6038–6042

IL-8 Regulates The Epithelial-mesenchymal Transition (EMT) of Renal Cancer Through PKC/ERK Signaling Pathway*

BI Liang-Kuan, LIN Tian-Xin, XU Ke-Wei, HAN Jin-Li, HUANG Hai,
ZHANG Cai-Xia, DONG Wen, LIU Hao, HUANG Jian**

(Department of Urology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is an essential component in tumor metastasis. However, the molecular mechanism of EMT in renal cancer is unclear. IL-8 is an important chemokine in tumor microenvironment. Studies have shown that renal cancer cells can secrete IL-8, whether it could induce EMT in renal cancer cells is unknown. Here we found that IL-8 could induce EMT in renal cancer cells. Upon the stimulation of IL-8, the expression of E-cadherin was up-regulated, while the expression of N-cadherin was down-regulated; IL-8 promoted the invasion of renal cancer cells, but there was no obvious impact on cell proliferation. In addition, IL-8 could activate ERK through PKC. Therefore, we believe that IL-8 may promote renal cancer EMT through PKC / ERK signaling pathway, which may be one of the important mechanisms of renal cancer metastasis.

Key words renal cancer, IL-8, epithelial-mesenchymal transition (EMT), protein kinase C (PKC), extracellular regulated protein kinase (ERK)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00298

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81101519), The Natural Science Foundation of Guangdong (S2011040003777).

**Corresponding author.

Tel: 86-20-91332336, E-mail: yehjn@yahoo.com.cn

Received: August 6, 2012 Accepted: September 13, 2012