

# IL-8对肺腺癌A549细胞迁移的影响及其机制探讨

杨同宁<sup>1</sup> 于超<sup>2</sup> 李佳佳<sup>2</sup> 朱冰<sup>1</sup> 唐云乔<sup>1</sup> 江跃全<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>重庆医科大学第二附属医院胸心外科, 重庆 400010;

<sup>2</sup>重庆医科大学生命科学研究院, 重庆 400016; <sup>3</sup>重庆市肿瘤研究所, 重庆 400030)

**摘要** 探讨IL-8对肺腺癌A549细胞迁移的影响及其可能机制。用MTT法选择了合适的IL-8使用浓度。分别用划痕试验及Transwell试验证明了IL-8可以促进肺腺癌A549细胞的迁移。Western blot结果表明: (1) IL-8可以促进MMP-2蛋白的表达, 而对MMP-9的表达无明显影响; (2) IL-8可促进JNK/SAPK磷酸化蛋白的表达; (3) 抑制剂(SP600125)可以阻断IL-8对MMP-2蛋白表达的影响。划痕试验从反面验证了低表达的MMP-2可以抑制A549细胞的迁移。表明IL-8可通过JNK/SAPK信号通路调控MMP-2蛋白的表达, 进一步促进肺腺癌A549细胞的迁移。

**关键词** IL-8; MMP-2; MMP-9; A549细胞; 细胞迁移

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 肿瘤细胞早期浸润转移是有效治愈肺癌的最大障碍, 也是引起肺癌病人死亡的最主要的原因<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞早期浸润转移与细胞外基质和基底膜的降解与破坏有关, 这个过程需要相应的溶解酶参与, 其中基质金属蛋白酶家族成员<sup>[2-3]</sup>(matrix metalloproteinases, MMPs), 特别是基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2)及基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)在其中发挥着重要作用。白介素-8 (interleukin-8, IL-8)是Yoshimura等<sup>[4]</sup>从由脂多糖和植物血凝素刺激的单核细胞培养液中提取出的一种分子量约为8 kDa的糖蛋白。IL-8作为一种炎症因子, 可以参与免疫与炎症反应, 并与动脉粥样硬化的发生密切相关。另外, IL-8具有趋化作用, 可以促进细胞的迁移。研究表明, IL-8可通过提高细胞表面的CD11b/CD18表达, 促进平滑肌细胞、中性粒细胞的迁移。依据IL-8的促迁移作用, 越来越多的研究表明IL-8与肿瘤的迁移密切相关。在肿瘤的发展过程中, 肿瘤细胞及其周围的淋巴细胞、单核细胞等都可分泌IL-8。研究表明, IL-8与肿瘤血管新生、生长以及肿瘤的侵袭转移有密切关系, 并可促进胰腺癌、恶性间皮瘤、结肠癌、黑色素瘤等的发展。Luca等<sup>[5]</sup>发现IL-8可上调人的黑色素瘤细胞中MMP-2的表达, 进一步促进细胞迁移。Smith等<sup>[6]</sup>发现, 支气管肺癌肿瘤细胞内的IL-8含量较正常组织高4倍。Yatsunami等<sup>[7]</sup>也证明了IL-8可促进非小细胞肺癌的血管

生成。但是IL-8对肺癌细胞迁移的影响及其机制不清。因此, 为了研究IL-8对肺癌的具体影响, 本文以外源性IL-8作用于肺腺癌A549细胞, 探讨IL-8对肺癌细胞迁移的影响及其可能机制, 为肺癌的临床治疗提供有价值的实验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要试剂与药品 RPMI-1640培养基、胰蛋白酶(美国Gibco公司), 胎牛血清(杭州四季清公司), MTT (噻唑蓝)试剂、苏木精染色剂(美国Sigma公司), 抗-MMP-2抗体、抗-MMP-9抗体(美国Bioworld公司), 抗-Phospho-JNK/SAPK抗体(碧云天生物技术研究), 兔抗 $\beta$ -actin抗体(美国CST公司), C-JNK抑制剂(SP600125, 美国Invitrogen公司), 重组人白介素-8 (IL-8, 以色列prospec公司), 其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2 细胞培养 人肺腺癌A549细胞由重庆医科大学生命科学院细胞库提供。以含10%灭活胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 mg/L链霉素的RPMI-1640培养基, 在37 °C、5% CO<sub>2</sub>条件下培养。以0.25%胰蛋白酶(含0.02% EDTA)消化细胞, 2~3 d传代一次,

收稿日期: 2011-03-07 接受日期: 2011-07-06

重庆市自然科学基金重点项目(No.2009BA5083)和重庆医科大学重点基金(No.XBED200806)资助项目

\*通讯作者。Tel: 023-65075659, E-mail: jyq1964@yahoo.com

取对数生长期细胞进行试验。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞生长实验** 取对数生长期A549细胞,以 $1.0 \times 10^4$ /孔细胞量接种于96孔培养板,培养24 h后,改用加入不同浓度的IL-8 (25, 50, 100, 500  $\mu\text{g/L}$ )的培养液(对照组加入相同体积的正常培养液) 120  $\mu\text{L}$ 作用24 h。然后每孔加入20  $\mu\text{L}$  5 mg/mL的MTT, 80  $\mu\text{L}$ 正常培养基, 37  $^\circ\text{C}$ 继续培养3 h。每孔加入100  $\mu\text{L}$  DMSO, 摇床上轻摇10 min, 至蓝色结晶完全溶解, 用酶标仪在492 nm处测吸光度值(D)。每组设置5个复孔, 实验重复3次。按下列公式计算细胞活力值, 筛选出合适的IL-8的使用浓度:

细胞活力值=(实验组平均D值/对照组平均D值) $\times 100\%$

**1.2.2 划痕试验** 取对数生长期A549细胞, 以 $1.0 \times 10^5$ /孔细胞量接种于24孔培养板, 待细胞长到80%~90%后, 用10  $\mu\text{L}$ 的无菌枪头在每个孔的中央划一条直线, 每孔加入400  $\mu\text{L}$ 由无血清的培养基配制的不同浓度的IL-8 (对照组仅加入400  $\mu\text{L}$ 无血清的培养基), 培养24 h后, 在TE2000-U倒置荧光显微镜(日本Nikon公司)下采图, 观察各组细胞由划痕边缘向划痕中央迁移后剩下的距离(mm, 200 $\times$ )。

**1.2.3 Transwell实验** 取对数生长期A549细胞, 用无血清培养基调整细胞浓度为 $1.0 \times 10^5$ /mL, 按100  $\mu\text{L}$ /孔细胞量接种于Transwell小室的上室(聚碳酸酯膜, 膜孔径8  $\mu\text{m}$ ), 下室加入不同浓度的IL-8 600  $\mu\text{L}$  (对照组加入正常培养基600  $\mu\text{L}$ ), 37  $^\circ\text{C}$ 继续培养24 h。用棉签擦去滤膜上层的细胞, PBS洗2遍后, 将上室置于4%多聚甲醛中固定15 min, 苏木精染色20 min后, 倒置荧光显微镜(日本Nikon公司)下对5个不同视野的穿过膜细胞计数, 求平均值。

**1.2.4 Western blot** 收集经药物处理后的细胞, 1 000 r/min离心10 min, 用CST裂解液裂解细胞, 4  $^\circ\text{C}$  12 000 r/min离心15 min, 收集上清液, 用BCA法测蛋白浓度。蛋白样品用5 $\times$ loading buffer稀释后, 在沸水中煮10 min。聚丙烯酰胺凝胶电泳(载70  $\mu\text{g}$ 蛋白), 用0.45  $\mu\text{m}$ 的PVDF膜转膜; 用5%的脱脂奶粉封闭1 h, 在4  $^\circ\text{C}$ , 分别孵MMP-2 (1: 800), MMP-9 (1: 800), p-JNK/SAPK (1: 1 000),  $\beta$ -actin (1: 300) 等一抗过夜, 用PBST漂洗3次后, 孵辣根过氧化物酶偶联的二抗(1: 2 500) 1 h, 漂洗后, 用ECL发光试剂在Chem GelDoc成像仪(Bio-Rad, 美国)分析结果。

**1.2.5 统计学分析** 每个实验至少重复3次, 应用SPSS12.0软件进行统计学分析, 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 $t$ 检验分析。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

## 2 结果

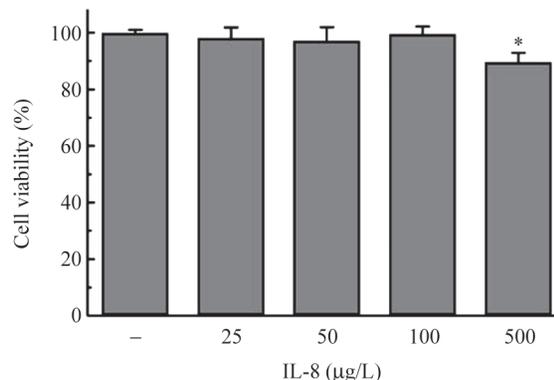
### 2.1 IL-8对肺腺癌A549细胞生长的影响

为了确定实验中IL-8处理细胞的使用浓度, 首先分析了不同浓度IL-8对细胞生长的影响, 结果显示, 不同浓度IL-8 (25, 50, 100, 500  $\mu\text{g/L}$ )作用24 h后, 细胞平均活力值分别为: 98.18%, 97.24%, 99.05%, 89.55% (图1), 与对照组相比, 除500  $\mu\text{g/L}$ 组对细胞生长有明显抑制外( $P < 0.05$ ), 25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ 组对细胞生长无明显影响, 故以下实验选择IL-8作用浓度分别为25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ 。

### 2.2 IL-8对肺腺癌A549细胞迁移能力的影响

为了评价IL-8对肺腺癌A549细胞迁移能力的影响, 细胞划痕后经不同浓度IL-8处理24 h, 对照组及不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )组细胞由划痕边缘向中央迁移后剩下的距离分别为(13 $\pm$ 1.95) mm, (7.3 $\pm$ 1.1) mm, (3.3 $\pm$ 0.5) mm, (4.8 $\pm$ 0.72) mm(图2), 与对照组相比, 不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )组细胞由划痕边缘向中央迁移的距离明显增加( $P < 0.05$ ), 说明了IL-8可以促进肺腺癌A549细胞的迁移。

为了进一步验证IL-8对肺腺癌A549细胞迁移能力的影响, 细胞经相同处理后, 用Transwell实验检测, 结果对照组及不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )组细胞穿过Transwell小室的细胞数分别为(12 $\pm$ 1.8,

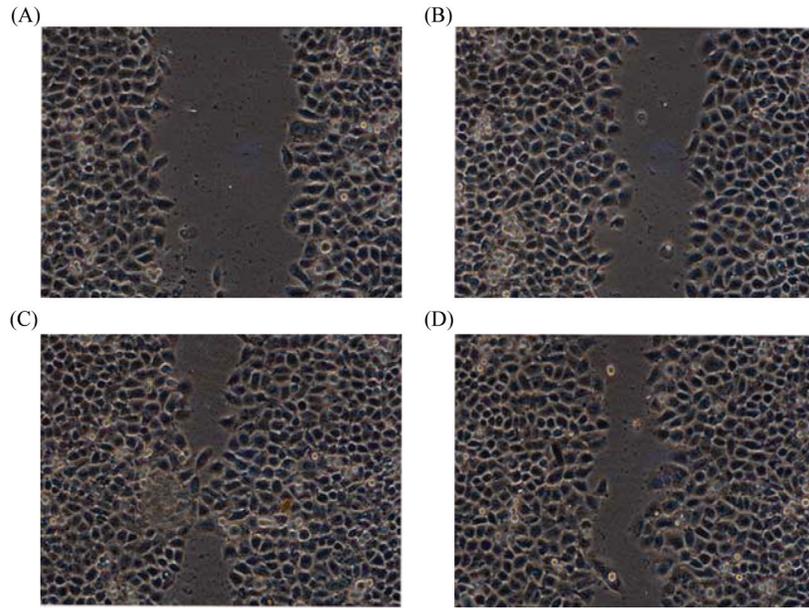


\* $P < 0.05$ , 与对照组相比。

\* $P < 0.05$  vs control group.

图1 IL-8对A549细胞生长的影响

Fig.1 Effect of IL-8 on A549 cells viability



A: 对照组; B: 25 µg/L IL-8 组; C: 50 µg/L IL-8组; D: 100 µg/L IL-8 组。

A: control group; B: 25 µg/L IL-8 group; C: 50 µg/L IL-8 group; D: 100 µg/L IL-8 group.

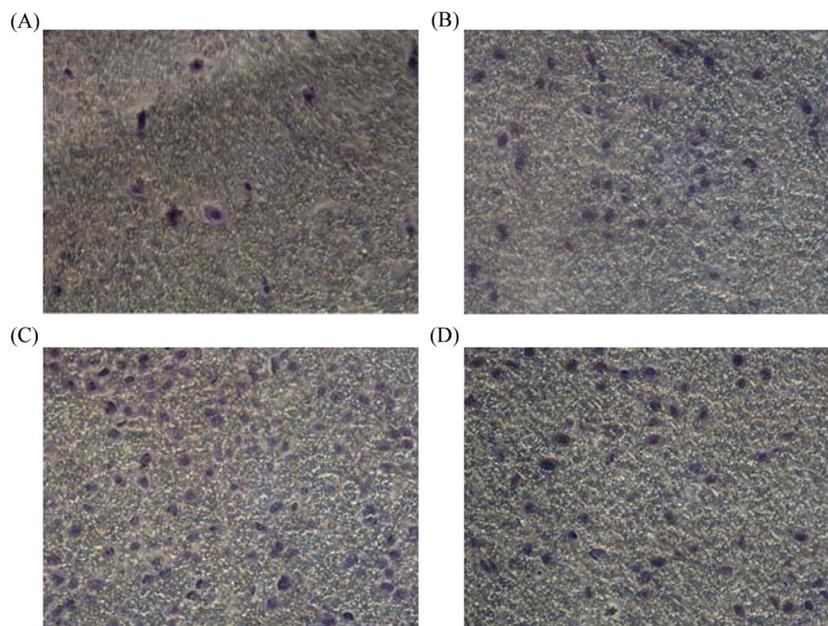
图2 通过划痕试验检测IL-8对A549细胞迁移能力的影响(200×)

Fig.2 Effect of IL-8 on cell migration was measured by wound-healing experiment (200×)

48±7.2, 108±16.2, 60±9个/视野) (图3), 与对照组相比, 不同浓度IL-8组细胞穿过Transwell小室的细胞数明显增多( $P<0.05$ )。这个结果与划痕试验的结果一致, 进一步证明了IL-8可以促进肺腺癌A549细胞的迁移。

### 2.3 IL-8对基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响

肿瘤细胞产生水解酶是肿瘤浸润转移过程中的重要步骤之一。其中MMP-2、MMP-9往往高表达, 并通过降解细胞外基质, 促进肿瘤细胞的迁



A: 对照组; B: 25 µg/L IL-8 组; C: 50 µg/L IL-8组; D: 100 µg/L IL-8 组。

A: control group; B: 25 µg/L IL-8 group; C: 50 µg/L IL-8 group; D: 100 µg/L IL-8 group.

图3 通过Transwell试验检测IL-8对A549细胞迁移能力的影响(200×)

Fig.3 Effect of IL-8 on cell migration was measured by Transwell arrays (200×)

移。为了探讨IL-8引起肺腺癌A549细胞迁移的原因,细胞经不同浓度IL-8处理24 h后,收集蛋白,检测了MMP-2、MMP-9蛋白的表达。经不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )处理后,与对照组相比, MMP-2蛋白的表达明显增加,分别是对照组的1.6, 3.1, 2.4倍 ( $P<0.05$ ), 而且与IL-8对肺腺癌A549细胞迁移能力的影响结果一致。而不同浓度IL-8处理组与对照组相比MMP-9蛋白的表达无明显变化(图4)。说明了IL-8促进肺腺癌A549细胞的迁移可能是由MMP-2表达增加引起的。

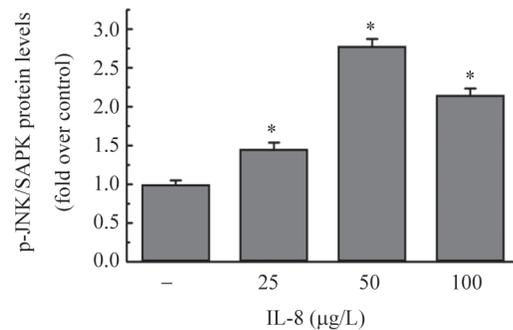
#### 2.4 IL-8对信号通路JNK/SAPK磷酸化蛋白表达的影响

研究表明,核转录因子相关蛋白AP-1可以调控MMPs的表达。而JNK/SAPK作为AP-1的上游信号,是否也可以调控MMPs的表达?细胞经不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )处理24 h后, Western blot结果显示,经不同浓度IL-8 (25, 50, 100  $\mu\text{g/L}$ )处理后,与对照组相比, JNK/SAPK磷酸化蛋白的表达明显增加,分别是对照组的1.5, 2.8, 1.9倍 ( $P<0.05$ ) (图5), 趋势与MMP-2的表达相一致,说明IL-8可能通过调控信号通路JNK/SAPK磷酸化蛋白的表达促进MMP-2的表达。

#### 2.5 C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)对MMP-2蛋白表达的影响

为了进一步验证JNK/SAPK信号通路可以调控

MMP-2的表达。细胞处理如下:对照组不加药物处理。50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组:细胞用50  $\mu\text{g/L}$ 处理24 h。C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)+50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组:细胞经C-JNK/SAPK信号通路抑制剂(SP600125) 20  $\mu\text{mol/L}$ 预处理1 h,然后经IL-8 (50  $\mu\text{g/L}$ )处理24 h。C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)组:细胞经C-JNK/SAPK信号通路抑制剂(SP600125) 20  $\mu\text{mol/L}$ 预处理1 h后,正常培养基培养

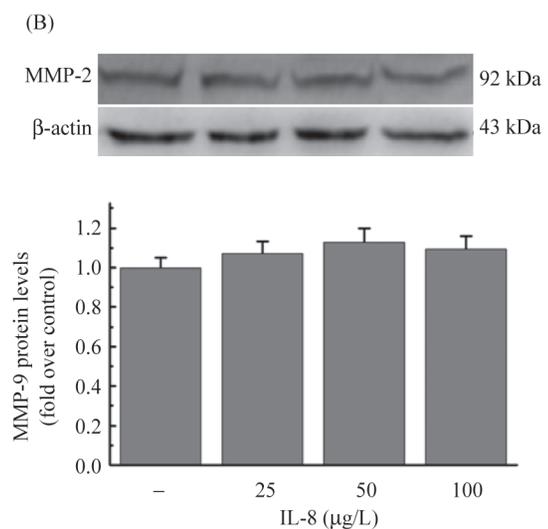
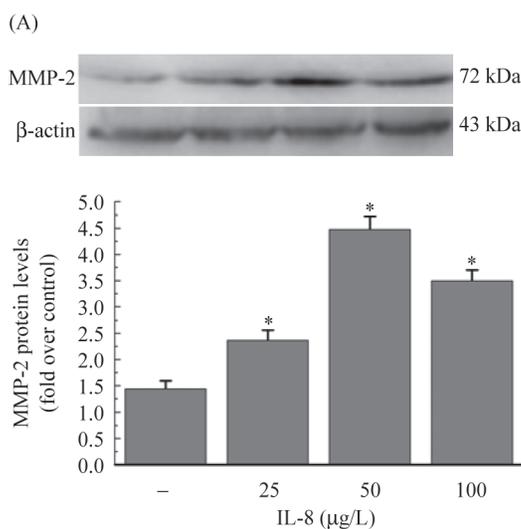


\* $P<0.05$ , 与对照组相比。

\* $P<0.05$  vs control group.

图5 IL-8对JNK/SAPK磷酸化蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of IL-8 on protein expressions of p-JNK/SAPK



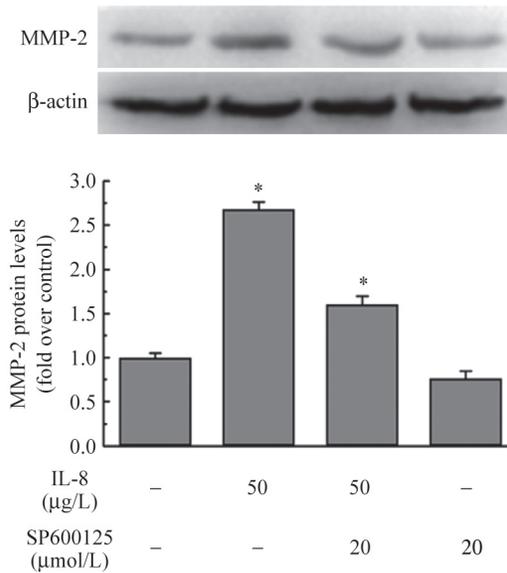
A: MMP-2的表达水平; B: MMP-9的表达水平。\* $P<0.05$ , 与对照组相比。

A: protein expressions of MMP-2; B: protein expressions of MMP-9. \* $P<0.05$  vs control group.

图4 IL-8对基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响

Fig.4 Effects of IL-8 on protein expressions of MMP-2, MMP-9

24 h。Western blot结果显示,与仅用IL-8 (50  $\mu\text{g/L}$ )处理组相比,抑制剂组MMP-2的表达明显降低,仅是IL-8 (50  $\mu\text{g/L}$ )处理组的3/5( $P<0.05$ )(图6),进一步证明了IL-8可通过调控JNK/SAPK磷酸化蛋白的表达



\* $P<0.05$ ,与对照组相比, # $P<0.05$ ,与50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组相比。

\* $P<0.05$  vs control group, # $P<0.05$  vs 50  $\mu\text{g/L}$  IL-8 group.

图6 C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)对MMP-2蛋白表达的影响

Fig.6 Effects of C-JNK/SAPK inhibitor SP600125 on protein expressions of MMP-2

促进MMP-2的表达。

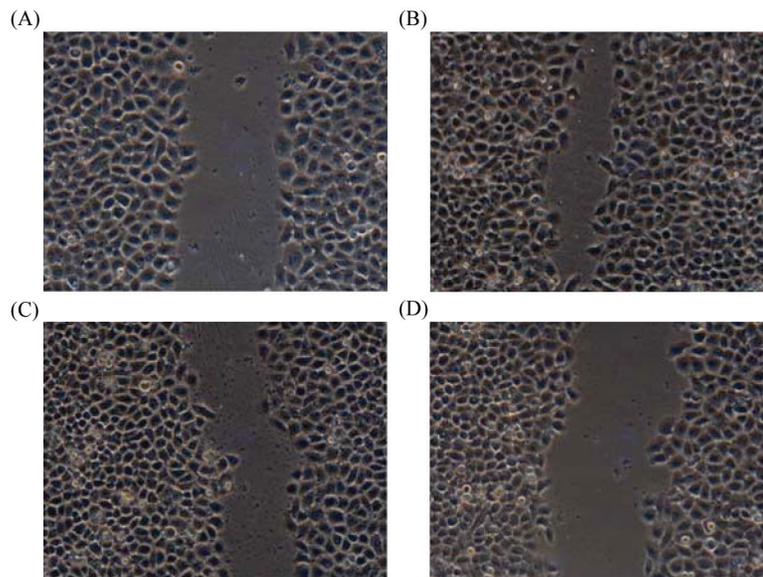
## 2.6 低MMP-2蛋白表达对肺腺癌A549细胞迁移的影响

为了进一步验证MMP-2的蛋白表达与肺腺癌A549细胞迁移的关系,细胞处理同2.5。划痕实验结果显示,各组细胞由划痕边缘向中央迁移后剩下的距离分别为(10.5 $\pm$ 1.575) mm, (4 $\pm$ 0.6) mm, (7.5 $\pm$ 1.125) mm, (12 $\pm$ 1.8) mm,与MMP-2蛋白高表达组(50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组)相比, MMP-2蛋白低表达组(C-JNK/SAPK抑制剂SP600125+50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组)可以明显抑制A549细胞的迁移( $P<0.05$ ) (图7),进一步从反面验证了MMP-2蛋白表达增加可以促进A549细胞的迁移。

## 3 讨论

近年来,我国肺癌的发病率明显上升,在所有因癌症引起的死亡中,肺癌的致死率排第一位。肿瘤细胞早期浸润转移是引起癌症病人死亡的最主要的原因。因此,探讨肿瘤的浸润转移机制有助于肿瘤的防治。本实验以肺腺癌A549细胞为研究对象,首次证明了IL-8可通过JNK/SAPK信号通路调控MMP-2的表达,促进肺腺癌A549细胞的迁移。

在肿瘤的发生发展过程中,肿瘤及其周围环境中的多种细胞,如淋巴细胞、中性粒细胞等都可以分泌IL-8。目前,多项研究表明IL-8作为一种趋化



A: 对照组; B: 50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组; C: C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)+50  $\mu\text{g/L}$  IL-8组; D: C-JNK/SAPK抑制剂(SP600125)组。

A: control group; B: 50  $\mu\text{g/L}$  IL-8 group; C: C-JNK/SAPK inhibitor SP600125+50  $\mu\text{g/L}$  IL-8 group; D: C-JNK/SAPK inhibitor SP600125 group.

图7 通过划痕试验检测MMP-2对A549细胞迁移能力的影响(200 $\times$ )

Fig.7 Effects of lower protein expressions of MMP-2 on cell migration was measured by wound-healing experiment (200 $\times$ )

因子,与肿瘤的血管新生和肿瘤侵袭转移相关。如Akiba等<sup>[8]</sup>报道了IL-8在肝癌组织及肝癌细胞系中高表达,且与向门静脉、胆道转移显著相关。Lin等<sup>[9]</sup>报道了高表达IL-8的乳腺癌细胞与肿瘤侵袭性和血管新生高度相关。Chen等<sup>[10]</sup>报道了在非小细胞肺癌中IL-8 mRNA的高表达与血管新生高度相关。但是IL-8对肺癌细胞迁移的影响仍是不清楚的。本文通过划痕试验及Transwell试验证明了IL-8可以促进肺癌细胞的迁移。

肿瘤的转移是一个复杂的多步骤过程,其中最关键的步骤是细胞外基质的降解。本文研究表明IL-8可以促进肺癌细胞的迁移,这其中是否与MMP-2、MMP-9蛋白的表达有关呢? Western blot结果表明IL-8促进肺癌A549细胞的迁移与MMP-2蛋白表达的增高有关,而与MMP-9的表达无明显相关性。而划痕试验的结果从反面验证了MMP-2蛋白表达增加可以促进A549细胞的迁移。这个结果与Luca等<sup>[5]</sup>及林晓等<sup>[11]</sup>的研究结果相似。

对MMP表达机制的研究,Storz<sup>[12]</sup>认为氧化应激可通过激活Ras或MAPK家族成员(ERK1/2、P38、JNK)促进MMP的表达。Takagi等<sup>[13]</sup>认为AP-1信号通路的激活促进MMP的表达。关于IL-8上调MMP表达的机制,Reich等<sup>[14]</sup>认为IL-8可通过激活磷脂酶D(PLD)介导的信号转导通路诱导MMP-2的产生。而Luca等<sup>[5]</sup>认为IL-8可促进MMP-2启动子与氯霉素乙酰转移酶(CAT)基因的结合,进而增强MMP-2的表达。本文根据以前的研究结果探讨了IL-8对MAPK家族中的JNK/SAPK信号通路的影响,结果证实了IL-8可以通过增加JNK/SAPK磷酸化调控MMP-2的表达。而JNK/SAPK信号通路仅是MAPK信号转导通路中的一条,其他的MAPK信号转导通路,如ERK1/2及P38MAPK信号转导通路在IL-8诱导的MMP-2的表达中发挥着怎样的作用,需做进一步研究。

IL-8既是一种趋化因子,也是一种促血管生成因子<sup>[15]</sup>。多项研究结果表明IL-8可促进肿瘤的血管新生及浸润转移。但在肺癌中,IL-8发挥作用的机制不清,因此探讨IL-8对肺癌的作用机制,可为肺癌的综合治疗提供新的作用靶点。当前研究表明,抗IL-8单克隆抗体可抑制黑色素瘤的生长、血管形成和转移<sup>[16]</sup>。抗IL-8单克隆抗体还可以通过下调MMP及NF- $\kappa$ B的表达,抑制膀胱移植细胞瘤的生长<sup>[17]</sup>。

虽然以IL-8为治疗靶点的研究仍有许多未能解决的问题,但作为新型的辅助免疫综合治疗策略,IL-8发挥作用的靶点及抗IL-8单克隆抗体的应用将可能为肺癌转移的预防与治疗找到新的突破口。

## 参考文献 (References)

- 1 Wardwell NR, Massion PP. Novel strategies for the early detection and prevention of lung cancer. *Semin Oncol* 2005; 32(3): 259-68.
- 2 Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E, *et al.* A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumor cells. *Nature* 1994; 370(6484): 61-5.
- 3 Deryugina EI, Quigley JP. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25(1): 9-34.
- 4 Baggiolini M, Clark-Lewis I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett* 1992(307): 97-101.
- 5 Luca M, Huang S, Gershenwald JE, Singh RK, Reich R, Bar-Eli M. Expression of interleukin-8 by human melanoma cells up-regulates MMP-2 activity and increases tumor growth and metastasis. *Am J Pathol* 1997; 151(4): 1105-13.
- 6 Smith DR, Polverini PJ, Kunkel SL, Orringer MB, Whyte RI, Burdick MD, *et al.* Inhibition of interleukin 8 attenuates angiogenesis in bronchogenic carcinoma. *J Exp Med* 1994; 179(5): 1409-15.
- 7 Yatsunami J, Tsuruta N, Ogata K, Wakamatsu K, Takayama K, Kawasaki M, *et al.* Interleukin-8 participates in angiogenesis in non-small cell, but not small cell carcinoma of the lung. *Cancer Lett* 1997; 120(1): 101-8.
- 8 Akiba J, Yano H, Ogasawara S, Higaki K, Kojiro M. Expression and function of interleukin-8 in human hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2001; 18(2): 257-64.
- 9 Lin Y, Huang R, Chen L, Li S, Shi Q, Jordan C, *et al.* Identification of interleukin-8 as estrogen receptor-regulated factor involved in breast cancer invasion and angiogenesis by protein arrays. *Int J Cancer* 2004; 109(4): 507-15.
- 10 Chen JJ, Yao PL, Yuan A, Hong TM, Shun CT, Kuo ML, *et al.* Up-regulation of tumor interleukin-8 expression by infiltrating macrophages: Its correlation with tumor angiogenesis and patient survival in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9(2): 729-37.
- 11 林晓, 王娅兰. IL-8与胃癌细胞SGC7901 MMP-2和MMP-9表达的关系. *重庆医学* 2005; 34(11): 1657-61.
- 12 Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005; 10: 1881-96.
- 13 Takagi S, Simizu S, Osada H. RECK negatively regulates matrix metalloproteinase-9 transcription. *Cancer Res* 2009; 69(4): 1502-8.
- 14 Reich R, Blumenthal M, Liscovitch M. Role of phospholipase D in laminin-induced production of gelatinase A (MMP-2) in metastatic cells. *Clin Exp Metastasis* 1995; 13(2): 134-40.
- 15 郭艳丽, 宋善俊. IL-8与肿瘤. *国外医学肿瘤学分册* 2004; 31

- (11): 812-4.
- 16 Huang S, Mills L, Mian B, Tellez C, McCarty M, Yang XD, *et al.* Fully humanized neutralizing antibodies to interleukin-8 (ABX-IL8) inhibit angiogenesis, tumor growth, and metastasis of human melanoma. *Am J Pathol* 2002; 161(1): 125-34.
- 17 Mian BM, Dinney CP, Bermejo CE, Sweeney P, Tellez C, Yang XD, *et al.* Fully human anti-interleukin-8 antibody inhibits tumor growth in orthotopic bladder cancer xenografts via down-regulation of matrix metalloproteases and nuclear factor-kappaB. *Clin Cancer Res* 2003; 9(8): 3167-75.

## Effect and Mechanism of IL-8 on the Cell Migration in Lung Adenocarcinoma A549 Cells

Yang Tongning<sup>1</sup>, Yu Chao<sup>2</sup>, Li Jiajia<sup>2</sup>, Zhu Bing<sup>1</sup>, Tang Yunqiao<sup>1</sup>, Jiang Yuequan<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Thoracocardiac Surgery, the Second Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China; <sup>2</sup>Institute of Life Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

<sup>3</sup>Department of Thoracocardiac Surgery, Chongqing Cancer Hospital & Institute, Chongqing 400030, China)

**Abstract** To investigate the effect and mechanism of IL-8 on the cell migration in lung adenocarcinoma A549 cells, the appropriate concentration of IL-8 treated with cells was chosen by MTT arrays. Wound-healing experiment and Transwell arrays were used to prove that IL-8 can promote the migration of lung adenocarcinoma A549 cells. The results of Western blot showed that: (1) IL-8 can promote the expression of MMP-2 protein, but no significant effect on the expression of MMP-9. (2) IL-8 can promote the expression of p-JNK/SAPK. (3) Inhibitor (SP600125) can block the impacts of IL-8 on the expression of MMP-2. Wound-healing experiment proved that lower expression of MMP-2 can inhibit A549 cells migration. IL-8 can regulate the expression of MMP-2 protein and further promote the migration of lung adenocarcinoma A549 cells through the JNK/SAPK signaling pathway.

**Key words** IL-8; MMP-2; MMP-9; A549 cells; cell migration

Received: March 7, 2011 Accepted: July 6, 2011

This work was supported by the Foundation for Key Project of Chongqing Science (No.2009BA5083) and the Foundation of Key Project of Chongqing Medical University (No.XBED200806)

\*Corresponding author. Tel: 86-23-65075659, E-mail: jyq1964@yahoo.com