DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20250310

CXCL8和MMP9在雌二醇诱导的肾透明细胞癌细胞增殖、迁移和侵袭中的作用及机制研究

姜金孝[1]，张玲[2]，王志芳[1]，刘光道[1]*

（1.长江大学附属黄冈市中心医院肾病学科，湖北 黄冈 438021；
2.湖北科技学院黄冈教学医院，湖北 黄冈 438802）

【摘要】目的 明确CXCL8和MMP9在雌二醇（E2）诱导的786-O和Caki-1细胞增殖、迁移和侵袭过程中的关键作用，并探讨其潜在分子机制及临床预后价值。**方法** CCK8实验检测不同浓度（0、10、50、100、500 nmol/L）和不同时间（0、12、24、48、72 h）下E2对786-O和Caki-1细胞增殖的影响。利用Kaplan-Meier Plotter数据库分析CXCL8和MMP9在肾透明细胞癌（ccRCC）患者中的表达水平与生存率的关系。随后，设计特异性siRNA靶向敲低*CXCL8*和*MMP9*基因，实验分组包括Control组（未处理）、E2组（100 nmol/L）、E2+si-NC组（阴性对照）、E2+si-CXCL8组、E2+si-MMP9组及E2+si-CXCL8/si-MMP9组（联合敲低）。采用qRT-PCR和Western blotting检测各组CXCL8和MMP9的表达水平，并通过CCK8和Transwell实验评估细胞增殖、迁移和侵袭能力。**结果** E2在100 nmol/L浓度并作用48 h时显著促进786-O和Caki-1细胞增殖（P<0.000 1），且未见明显细胞毒性。Kaplan-Meier生存分析显示，在ccRCC患者中，高表达CXCL8和MMP9与较差的总生存率相关，也与无病生存率下降显著相关（P<0.05）。qRT-PCR和Western blotting结果显示，E2处理显著上调CXCL8和MMP9的表达水平。敲低*CXCL8*或*MMP9*后，E2诱导的细胞增殖、迁移和侵袭能力均显著下降（P<0.000 1），其中*MMP9*敲低的抑制效果更为明显。联合敲低*CXCL8*和*MMP9*进一步抑制细胞增殖、迁移和侵袭，且抑制效果优于单敲组（P<0.001）。**结论** CXCL8和MMP9在E2诱导的786-O和Caki-1细胞增殖、迁移和侵袭过程中起重要作用，且两者协同影响ccRCC进展。此外，生存分析表明，*CXCL8*和*MMP9*的高表达与ccRCC患者的不良预后相关，提示其可能作为ccRCC预后评估的生物标志物，并为靶向治疗提供新的研究方向。

【关键词】雌二醇；肾透明细胞癌；C-X-C基序趋化因子配体8；基质金属蛋白酶-9；细胞增殖；迁移；侵袭
中图分类号：R737.11，R73-3　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**2096-8965（2025）03-0080-08

Roles and mechanisms of CXCL8 and MMP9 in proliferation, migration, and invasion of clear cell renal cell carcinoma induced by estradiol

Jiang Jinxiao[1], Zhang Ling[2], Wang Zhifang[1], Liu Guangdao[1]*

(1. Department of Nephrology, Huanggang Central Hospital of Yangtze University, Huanggang 438021, Hubei, China;
2. Huanggang Teaching Hospital, Hubei University of Science and Technology, Huanggang 438802, Hubei, China)

【Abstract】Objective To clarify the critical roles of CXCL8 and MMP9 in estradiol (E2) - induced proliferation, migration and invasion of 786-O and Caki-1 cells, and to explore their potential molecular

收稿日期：2025-02-14；**修回日期：**2025-03-28
基金项目：湖北省自然科学基金项目（JCZRLH202501281）；湖北科技学院医学教学基地教研科研专项项目（2023YJDJY12）
通信作者：刘光道（1989.9-），男，湖北黄岗人，主治医师，主要从事肾癌的基础研究。E-mail: 18772500246@163.com

mechanisms and clinical prognostic value. **Methods** The effects of E2 on the proliferation of 786-O and Caki-1 cells were detected by CCK8 assay at different concentrations (0, 10, 50, 100, 500 nmol/L) and different times (0, 12, 24, 48, 72 h). The association between CXCL8 and MMP9 levels and survival outcomes in patients with renal clear cell carcinoma (ccRCC) was evaluated using the Kaplan-Meier Plotter database. Subsequently, specific siRNAs were designed to target knockdown of *CXCL8* and *MMP9* genes, and the experimental subgroups included Control group (untreated), E2 group (100 nmol/L), E2+si-NC group (negative control), E2+si-CXCL8 group, E2+si-MMP9 group, and E2+si-CXCL8/si-MMP9 group (combined knockdown). CXCL8 and MMP9 levels were monitored by qRT-PCR and Western blotting, and cell proliferation, migration and invasion abilities were assessed by CCK8 and Transwell assays. **Results** CCK8 results displayed that E2 promoted the proliferation of 786-O and Caki-1 cells at a concentration of 100 nmol/L for 48 h (P<0.0001), and no significant cytotoxicity was observed. Kaplan-Meier survival analysis showed that, in patients with ccRCC, the high expression of CXCL8 and MMP9 was correlated with a poorer overall survival and significantly associated with decreased disease-free survival (P<0.05). qRT-PCR and Western blotting results revealed that E2 treatment upregulated the expression levels of CXCL8 and MMP9. After knocking down *CXCL8* or *MMP9*, E2-induced cell proliferation, migration and invasion abilities were significantly decreased (P<0.0001), with the inhibitory effect of *MMP9* knockdown being more obvious. Combined knockdown of *CXCL8* and *MMP9* further inhibited cell proliferation, migration and invasion, and the inhibitory effect was superior to that of the single knockdown group (P<0.001). **Conclusion** CXCL8 and MMP9 play important roles in E2-induced proliferation, migration and invasion of 786-O and Caki-1 cells, and they synergistically affect ccRCC progression. Moreover, survival analysis shows that high expression of *CXCL8* and *MMP9* was associated with poor prognosis in ccRCC patients, suggesting that they may serve as biomarkers for prognostic assessment of ccRCC and provide new research directions for targeted therapy.

【**Keywords**】Estradiol; Clear cell renal cell carcinoma; C-X-C motif chemokine ligand 8; Matrix metalloproteinase-9; Cell proliferation; Migration; Invasion

0 引言

雌二醇（Estradiol，E2）作为一种典型的环境内分泌干扰物，能通过激活雌激素受体调控基因表达，对内分泌系统和肿瘤微环境产生显著影响[1-2]。基于文献生物信息学分析发现，C-X-C基序趋化因子配体8（C-X-C Motif Chemokine Ligand 8，CXCL8）和基质金属蛋白酶-9（Matrix Metalloproteinase 9，MMP9）被筛选为E2的关键靶点分子[3]。CXCL8是一种强效促炎趋化因子，通过与CXC趋化因子受体1/CXC趋化因子受体2结合促进肿瘤细胞的转移及炎症反应[4]。此外，CXCL8还能够调控肿瘤微环境中基质降解酶表达，进一步促进肿瘤细胞的侵袭能力[5]。MMP9是一种基质金属蛋白酶[6]，参与肿瘤细胞侵袭和转移[7]。CXCL8和MMP9在多种恶性肿瘤中呈高表达，其表达水平与肿瘤细胞的侵袭性及患者的不良预后相关。E2的致癌效应不局限于单一通路的激活，它还可能通过上调CXCL8与MMP9，破坏肿瘤微环境的稳态，进而促进肿瘤的侵袭与转移。在肾透明细胞癌（Clear Cell Renal Cell Carcinoma，ccRCC）中，尽管CXCL8和MMP9的高表达与肿瘤侵袭性已证实[8-9]，但E2通过调控这两种关键分子促进肿瘤进展的机制尚不清楚。因此，针对E2及其靶点CXCL8和MMP9的功能研究，不仅有助于明确其在ccRCC中的促癌机制，还为靶向治疗提供了新的方向。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

细胞：786-O（BNCC338472，苏州北纳创联生物技术有限公司，中国），Caki-1（BNCC100682，苏州北纳创联生物技术有限公司，中国）。试剂：Dulbecco改良Eagle培养基（11995-065，Thermo Fisher Scientific，美国），胎牛血清（16000-044，Thermo Fisher Scientific，美国），Lipofectamine™ 3000转染试剂（L3000015，Thermo Fisher Scientific，美国），TRIzol（15596018CN，Thermo Fisher Scientific，美国），ECL显色试剂（32134，Thermo Fisher Scientific，美国），TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ（RR820A，TaKaRa，日本），蛋白浓度测定试剂盒（P0012S，碧云天生物技术有限公司，中国），细胞裂解液（P0013B，碧云天生物技术有限

公司，中国），苯甲基磺酰氟（ST2573，碧云天生物技术有限公司，中国），牛血清白蛋白（ST023，碧云天生物技术有限公司，中国），CCK8试剂盒（C0038，碧云天生物技术有限公司，中国），实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应（quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction，qRT-PCR）引物由上海生工生物公司（中国）合成。CXCL8（27095-1-AP，武汉三鹰公司，中国），MMP9（10375-2-AP，武汉三鹰公司，中国），甘油醛-3-磷酸脱氢酶（Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）（10494-1-AP，武汉三鹰公司，中国），Matrigel基质胶（354248，康宁公司，美国）。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与实验分组

786-O和Caki-1细胞在含10%胎牛血清的Dulbecco改良Eagle培养基中，于37°C、5% CO_2的条件下培养。实验分组如下：Control组（未处理）、E2组（100 nmol/L E2）、E2+阴性对照siRNA组（E2+si-NC）、E2+CXCL8敲低组（E2+si-CXCL8）、E2+MMP9敲低组（E2+si-MMP9）及E2+CXCL8与MMP9双敲低组（E2+si-CXCL8/si-MMP9）。

1.2.2 siRNA序列设计与转染

针对*CXCL8*和*MMP9*基因设计特异性siRNA，具体序列见表1。使用Lipofectamine™ 3000转染试剂按照说明书将CXCL8 siRNA和MMP9 siRNA转染至786-O和Caki-1细胞，于24 h后收集细胞用于后续实验。分组包括阴性对照组（si-NC）、*CXCL8*的单独干扰组（si-CXCL8-1、si-CXCL8-2、si-CXCL8-3）、*MMP9*的单独干扰组（si-MMP9-1、si-MMP9-2、si-MMP9-3）及联合干扰组（si-CXCL8/si-MMP9）。

1.2.3 qRT-PCR检测

使用TRIzol提取各组细胞的总RNA，测定其浓度和纯度后，利用逆转录试剂将RNA逆转录为cDNA，作为qRT-PCR扩增的模板。扩增采用TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ，分析*CXCL8*和*MMP9*的mRNA相对表达水平，具体引物信息见表2。

1.2.4 Western blotting检测

利用细胞裂解液提取各组细胞的总蛋白，严格按照试剂操作说明进行裂解和离心。蛋白定量后，进行十二烷基硫酸钠–聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至聚偏二氟乙烯膜。用牛血清白蛋白封闭1 h后，将膜分别置入稀释后的CXCL8、MMP9和GAPDH抗体，于4°C条件下孵育过夜。次日，用Tris-缓冲盐溶液–吐温20清洗膜后，加入稀释后的辣根过氧化物酶标记二抗，室温孵育1 h。清洗后，用ECL试剂观察蛋白条带。

1.2.5 细胞迁移与侵袭检测

收集转染后的细胞，并接种至Transwell上室

表1 针对*CXCL8*和*MMP9*基因设计的siRNA序列

Table 1 siRNA sequences designed for *CXCL8* and *MMP9* genes

靶基因	siRNA名称	正链序列（5'→3'）	反链序列（5'→3'）
阴性对照	si-NC	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT	ACGUGACACGUUCGGAGAATT
CXCL8	si-CXCL8-1	CUUAGAUGUCAGUGCAUAAAG	UUAUGCACUGACAUCUAAGUU
	si-CXCL8-2	GUCAGUGCAUAAAGACAUACU	UAUGUCUUUAUGCACUGACAU
	si-CXCL8-3	GCAUAAAGACAUACUCCAAAC	UUGGAGUAUGUCUUUAUGCAC
MMP9	si-MMP9-1	CGAGCUGACUCGACGGUGAUG	UCACCGUCGAGUCAGCUCGGG
	si-MMP9-2	CGAACUUUGACAGCGACAAGA	UUGUCGCUGUCAAAGUUCGAG
	si-MMP9-3	CGCACGACGUCUUCCAGUACC	UACUGGAAGACGUCGUGCGUG

表2 qRT-PCR扩增引物序列

Table 2 Primer sequences for qRT-PCR

基因	扩增产物长度（bp）	正向引物（5'→3'）	反向引物（5'→3'）
CXCL8	180	ACTCCAAACCTTTCCACCCC	ATGAATTCTCAGCCCTCTTCAA
MMP9	126	GGACAAGCTCTTCGGCTTCT	TCGCTGGTACAGGTCGAGTA
GAPDH	109	ATGGCAAATTCCATGGCACC	TCGCCCCACTTGATTTTGGA

（每孔约5×10⁴细胞），下室加入含10%胎牛血清的Dulbecco改良Eagle培养基。侵袭实验中，上室膜表面预先铺设Matrigel基质胶。培养24 h后，使用磷酸盐缓冲液清洗，以4%多聚甲醛固定并用结晶紫染色。随机选择显微镜下5个视野计数穿膜细胞数量，作为迁移或侵袭能力的指标。

1.2.6 统计分析

数据以平均值±标准差表示，采用SPSS 22.0进行方差分析，组间差异用Tukey检验比较，显著性水平设定为$P<0.05$。

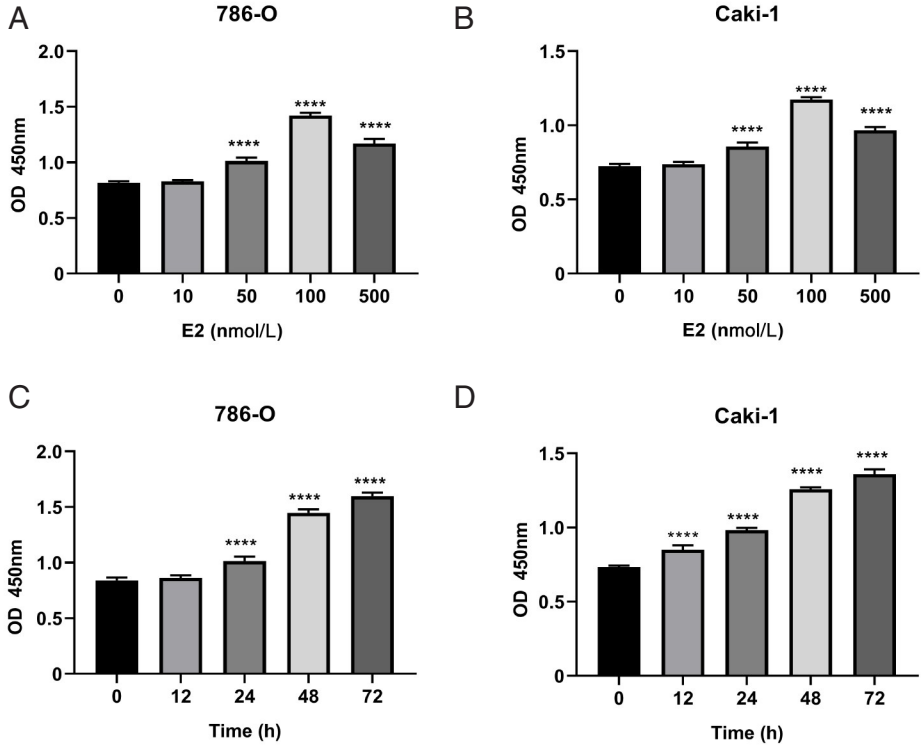
2 结果

2.1 E2对786-O和Caki-1细胞增殖的最佳浓度和作用时间

CCK8检测结果显示，E2在不同浓度和作用时间下均能显著影响786-O和Caki-1细胞的增殖活性。在100 nmol/L和500 nmol/L浓度下，E2均可显著促进细胞增殖（$P<0.000\ 1$），其中以100 nmol/L浓度的促增殖效果最为明显，且在该浓度下未观察到细胞毒性（见图1A、1B）。在固定浓度100 nmol/L条件下，不同时间点的处理显示出时间依赖性增强效果（$P<0.000\ 1$），其中48 h和72 h组的增殖活性显著提高，尤其以48 h组表现更为理想，增殖效果显著且趋于稳定（见图1C、1D）。综合分析，100 nmol/L的E2处理浓度和48 h的处理时间可作为后续实验的最优条件。

2.2 *CXCL8*和*MMP9*高表达与ccRCC患者的不良预后相关

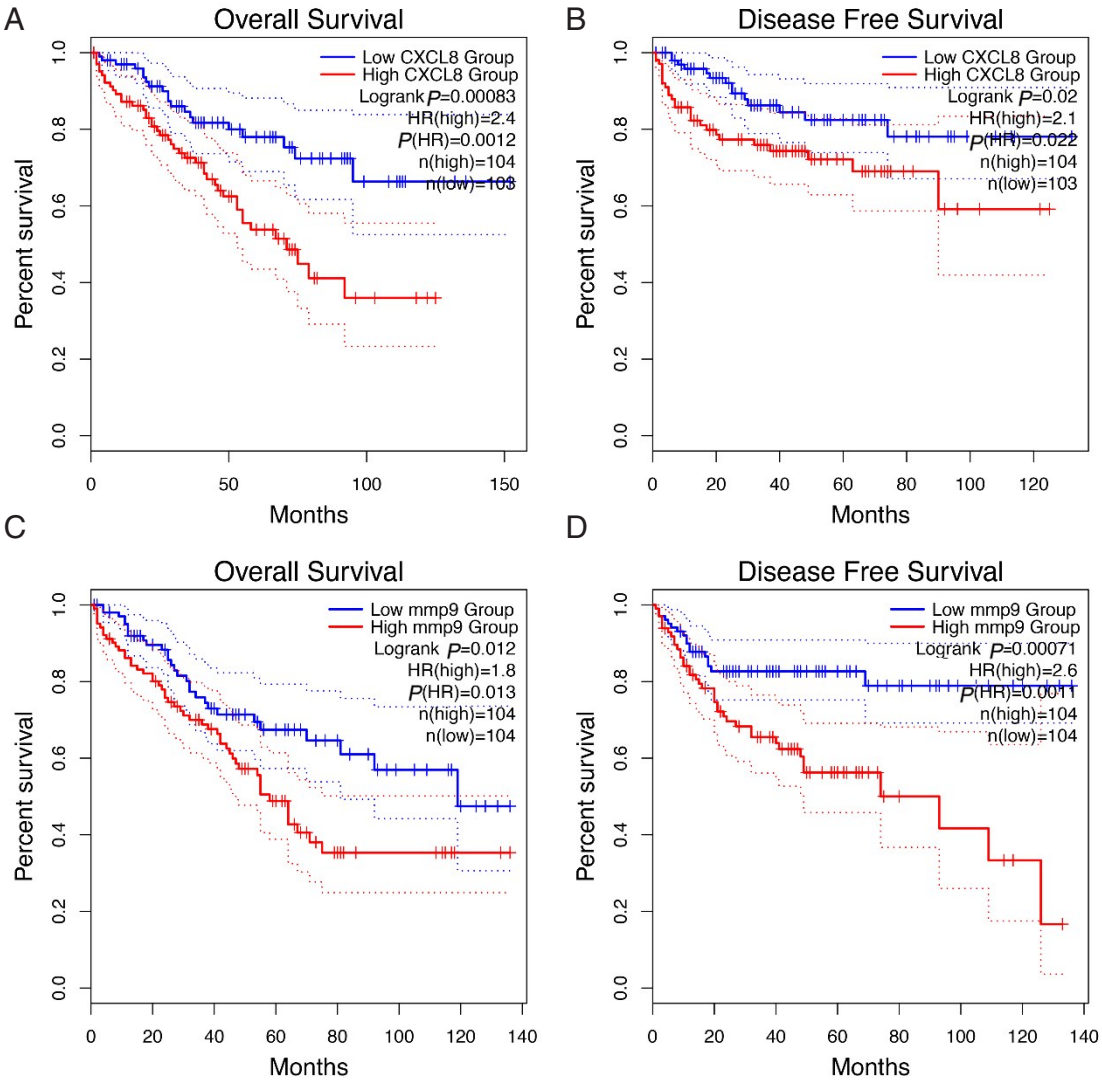
为进一步探讨*CXCL8*和*MMP9*在ccRCC患者中的临床预后价值，我们利用TCGA数据库分析其表达水平与总生存率（Overall Survival，OS）及无病生存率（Disease-Free Survival，DFS）的关系。Kaplan-Meier生存分析结果显示，*CXCL8*高表达患者的OS显著低于低表达组，Log-rank检验$P=0.000\ 83$，风险比（Hazard Ratio，HR）为2.4，P（*HR*）=0.012（图2A）。同时，*CXCL8*高表达组的DFS亦显著下降，Log-rank $P=0.02$，*HR*=2.1，P（*HR*）=0.022（图2B）。*MMP9*的分析结果也具有类似趋势。高表达组的OS显著下降，Log-rank $P=0.012$，*HR*=1.8，P（*HR*）=0.013（见图2C）。而在DFS方面，*MMP9*高表达与显著缩短的无病生存期相关，Log-rank $P=0.000\ 71$，*HR*=2.6，P（*HR*）=0.001（见图2D）。综上所述，*CXCL8*和*MMP9*的高表达均与ccRCC患者不良预后密切相关。



A：786-O细胞经不同浓度E2（0、10、50、100、500 nmol/L）处理48 h后，细胞活性被CCK8试验评估；B：E2（100 nmol/L）处理0、12、24、48、72 h后，CCK8测定细胞活性；C：Caki-1细胞经不同浓度E2（0、10、50、100、500 nmol/L）处理48 h后，细胞活性被CCK8评估；D：E2（100 nmol/L）处理Caki-1细胞0、12、24、48、72 h后，CCK8测定细胞活性。****$P<0.000\ 1$，与Control组相比。

图1 E2对786-O和Caki-1细胞增殖的影响

Figure 1 Effects of E2 on proliferation of 786-O and Caki-1 cells



A：*CXCL8*表达水平与ccRCC患者OS的关系；B：*CXCL8*表达水平与ccRCC患者DFS的关系；C：*MMP9*表达水平与ccRCC患者OS的关系。D：*MMP9*表达水平与ccRCC患者DFS的关系。

图2　*CXCL8*和*MMP9*表达水平与ccRCC患者生存的Kaplan-Meier分析图

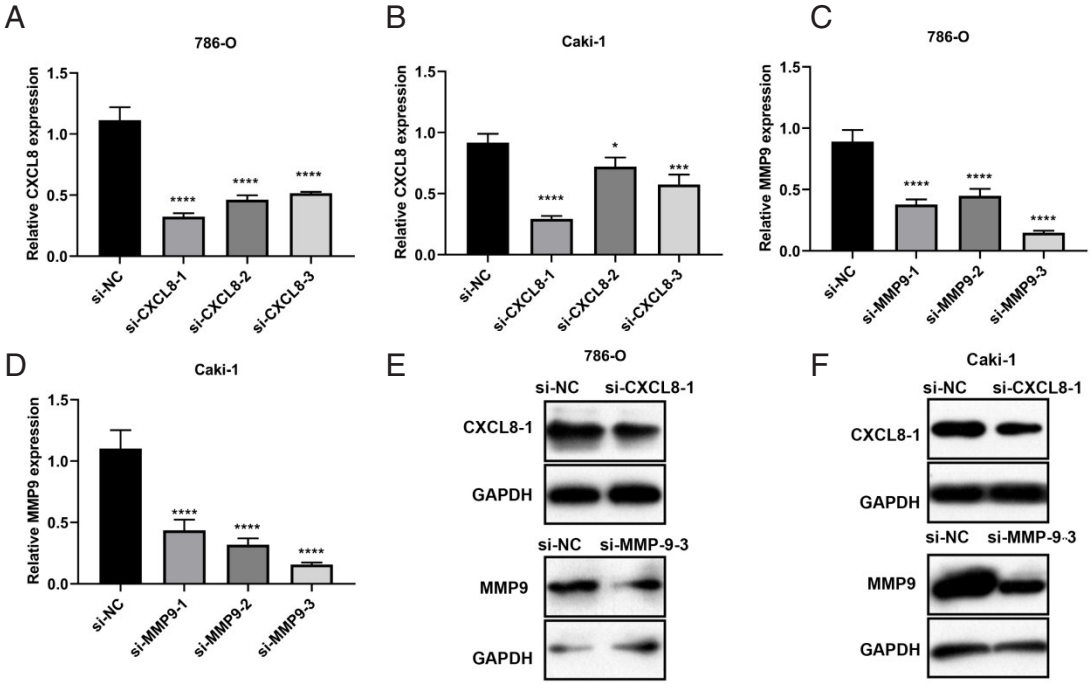
Figure 2　Kaplan-Meier analysis of association between *CXCL8* and *MMP9* expression levels and survival in ccRCC patients

2.3　*CXCL8*和*MMP9*基因敲低显著降低其表达水平

通过qRT-PCR检测发现，针对*CXCL8*的3种特异性siRNA片段均能有效降低其mRNA表达水平。与阴性对照组（si-NC）相比，si-CXCL8-1表现出最高的抑制效率（P<0.000 1），si-CXCL8-2和si-CXCL8-3的干扰效果稍弱但仍显著（P<0.000 1，见图3A、3B）。同样，对于*MMP9*基因，3种特异性siRNA片段（si-MMP9-1、si-MMP9-2、si-MMP9-3）均显著降低了其mRNA表达水平。其中，si-MMP9-3的抑制效果最为显著，其次为si-MMP9-2，而si-MMP9-1的效果相对较低（P<0.000 1，见图3C、3D）。Western blotting分析显示，siRNA处理后显著降低了CXCL8和MMP9蛋白的表达水平，与mRNA表达变化趋势一致（见图3E、3F）。表明，设计的siRNA能够成功抑制CXCL8和MMP9的表达，这为后续研究奠定了基础。

2.4　敲低*CXCL8*和*MMP9*抑制E2诱导的786-O和Caki-1细胞增殖

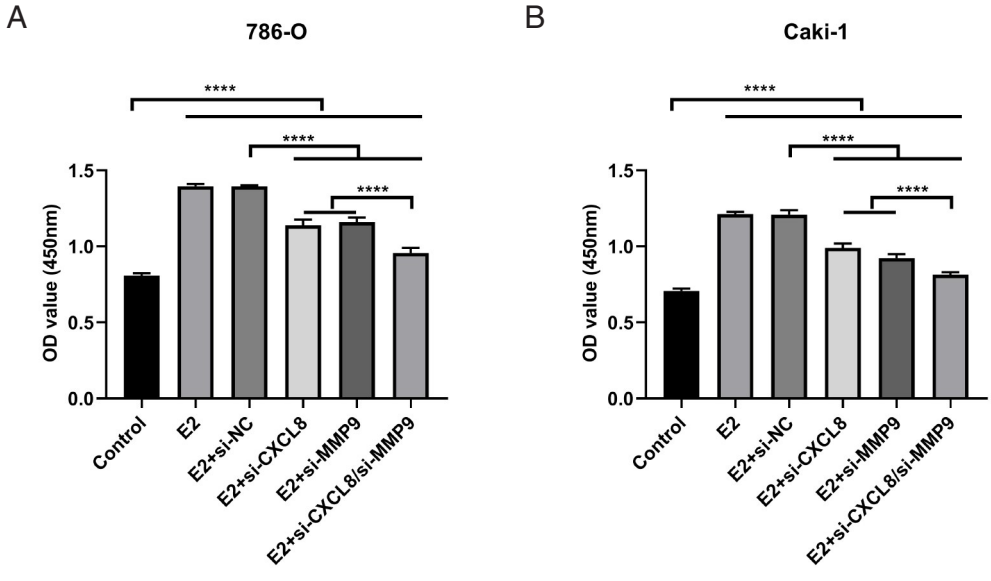
CCK8检测结果显示，E2处理能显著提高786-O和Caki-1细胞增殖（P<0.000 1）。E2联合阴性对照组（E2+si-NC）与单独E2处理组的增殖水平接近，表明阴性对照不干扰E2的促增殖作用。在分别敲低*CXCL8*或*MMP9*的条件下，两种细胞系的增殖能力均显著下降，与E2+si-NC组相比差异具有统计学意义（P<0.000 1）。此外，在*CXCL8*和*MMP9*双敲低组（E2+si-CXCL8/si-MMP9），细胞增殖能力进一步下降，明显低于*CXCL8*或*MMP9*单独敲低组，显示*CXCL8*与*MMP9*在E2诱导细胞增殖中的协同作用（见图4A、4B）。以上结果表明，



A：qRT-PCR 检测 3 种干扰片段（si-CXCL8-1、si-CXCL8-2、si-CXCL8-3）对 786-O 细胞中 *CXCL8* 表达水平的抑制效果；B：qRT-PCR 检测 3 种干扰片段（si-CXCL8-1、si-CXCL8-2、si-CXCL8-3）对 Caki-1 细胞中 *CXCL8* 表达水平的抑制效果；C：qRT-PCR 检测 3 种干扰片段（si-MMP9-1、si-MMP9-2、si-MMP9-3）对 786-O 细胞中 *MMP9* 表达水平的抑制效果；D：qRT-PCR 检测 3 种干扰片段（si-MMP9-1、si-MMP9-2、si-MMP9-3）对 Caki-1 细胞中 *MMP9* 表达水平的抑制效果；E：Western blotting 检测 CXCL8 和 MMP9 在 786-O 细胞中的蛋白表达水平变化；F：Western blotting 检测 CXCL8 和 MMP9 在 Caki-1 细胞中的蛋白表达水平变化。****P<0.000 1，***P<0.001，*P<0.05，与 si-NC 组相比。

图 3　*CXCL8* 和 *MMP9* 基因的 siRNA 干扰效果验证

Figure 3　Validation of siRNA-mediated knockdown efficiency for *CXCL8* and *MMP9*



786-O 和 Caki-1 细胞被 E2（100 nmol/L）处理，并转染 *CXCL8* 和（或）*MMP9* 的 siRNAs。A：CCK8 实验检测不同处理条件下 786-O 细胞的增殖情况；B：CCK8 检测 Caki-1 细胞的增殖情况。****P < 0.000 1。

图 4　*CXCL8* 和 *MMP9* 敲低对 E2 诱导的 786-O 和 Caki-1 细胞增殖的影响

Figure 4　Effects of *CXCL8* and *MMP9* knockdown on E2-induced proliferation of 786-O and Caki-1 cells

*CXCL8*和*MMP9*是E2促进786-O和Caki-1细胞增殖的重要调节因子，双敲低能显著抑制E2的促增殖效应。

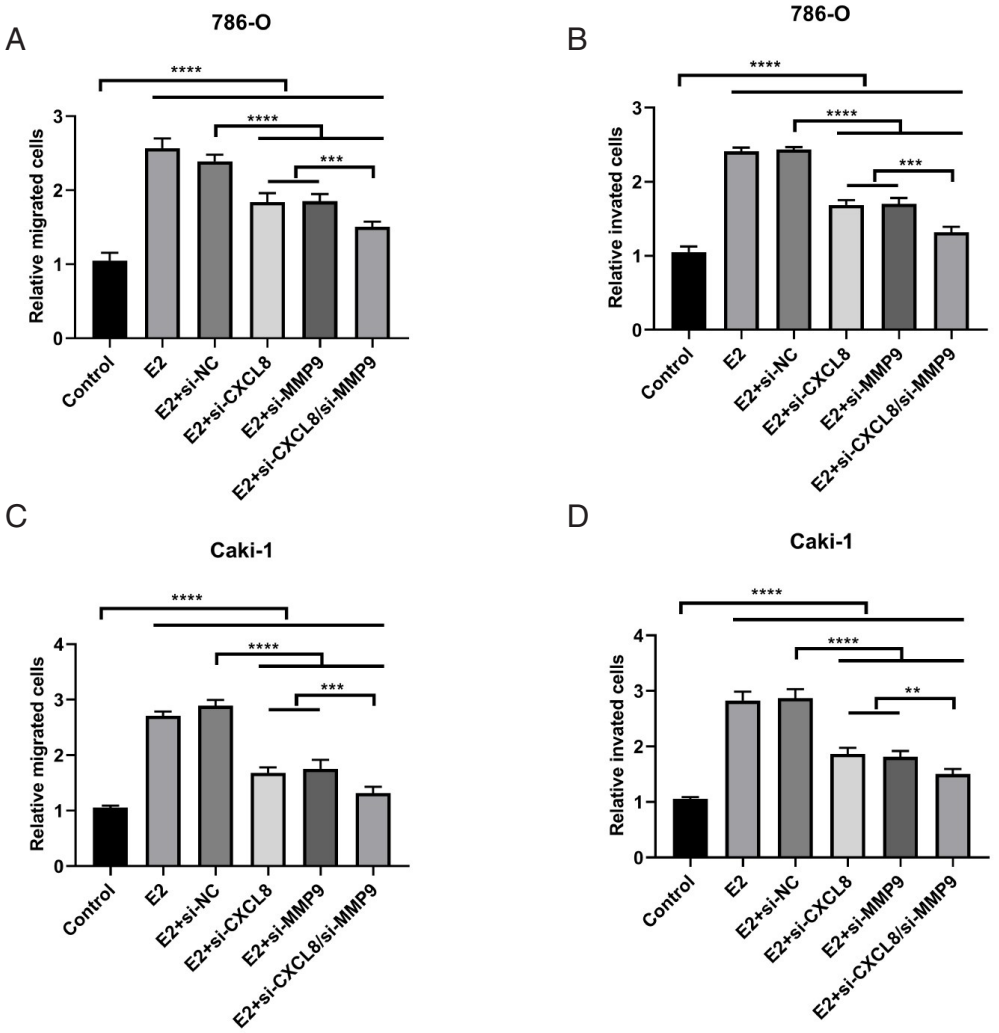
2.5 敲低*CXCL8*和*MMP9*削弱E2诱导的786-O和Caki-1细胞迁移和侵袭能力

Transwell结果显示，经E2处理后，786-O和Caki-1细胞的迁移和侵袭能力显著增强，迁移和侵袭细胞数较Control组明显增加（P<0.000 1）。E2联合阴性对照组（E2+si-NC）的迁移和侵袭能力与E2处理组无明显差异。敲低*CXCL8*或*MMP9*均可显著抑制786-O和Caki-1细胞的迁移和侵袭能力（P<0.001或P<0.000 1）。双敲低*CXCL8*和*MMP9*（E2+si-CXCL8/si-MMP9）组的迁移和侵袭能力进一步下降，显著低于单敲组，显示出*CXCL8*和*MMP9*在E2诱导的细胞迁移和侵袭中的协同促进作用（见图5A-D）。这些结果表明，*CXCL8*和*MMP9*在E2诱导的786-O和Caki-1细胞迁移和侵袭中起重要作用，联合抑制两基因能够有效抑制E2的促迁移和侵袭效应。

3 讨论

E2可通过调控基因表达和蛋白功能参与多种疾病的进展[10-11]。其中，CXCL8和MMP9被明确为E2的关键靶点，且在炎症性疾病和肿瘤微环境中具有重要作用[3]。本研究基于前期文献[3]报道中对E2关键靶点CXCL8和MMP9的生物信息学分析结果，进一步验证了E2在ccRCC中的促癌作用，并探讨了其通过CXCL8/MMP9通路加速肿瘤细胞恶性进程的分子机制。

本研究通过qRT-PCR和Western blotting分析确认E2能够显著促进CXCL8和MMP9的表达，并增强786-O和Caki-1细胞的增殖、迁移和侵袭能力。



A：Transwell评估E2诱导的786-O细胞迁移能力；B：Transwell评估E2诱导的786-O细胞侵袭能力；C：Transwell评估E2诱导的Caki-1细胞迁移能力；D：Transwell评估E2诱导的Caki-1细胞侵袭能力。****P< 0.000 1，***P< 0.001，**P< 0.01。

图5 *CXCL8*和*MMP9*敲低对E2诱导的786-O和Caki-1细胞迁移和侵袭的影响

Figure 5 Effects of *CXCL8* and *MMP9* knockdown on E2-induced migration and invasion of 786-O and Caki-1 cells

敲低 *CXCL8* 或 *MMP9* 后，E2 诱导的细胞恶性行为显著减弱，而联合敲低 *CXCL8* 和 *MMP9* 的抑制效果显著优于单一敲低，提示两者在 E2 作用机制中可能存在协同效应。

CXCL8 作为一种促炎性趋化因子，通过结合 CXC 趋化因子受体 1 和 CXC 趋化因子受体 2，参与肿瘤侵袭过程[12]。已有研究[13-14]表明，E2 可通过激活雌激素受体显著提升 CXCL8 的表达水平，进一步促进肿瘤细胞的迁移和侵袭，提示 CXCL8 可能作为 E2 调控的重要靶点，并通过其促炎特性影响肿瘤微环境，从而增强肿瘤细胞的侵袭能力。尽管已有文献[5]表明 CXCL8 可能通过诱导 MMP9 的表达增强肿瘤细胞的侵袭，但本研究尚未对其调控机制展开实证分析，因此二者之间的分子关联仍待进一步实验阐明。

本研究显示，E2 可显著上调 MMP9 的表达水平，并增强细胞侵袭能力，敲低 *MMP9* 后，细胞侵袭能力明显减弱，提示 *MMP9* 在 E2 诱导的细胞恶性行为中发挥了关键作用。此外，联合敲低 *CXCL8* 和 *MMP9* 后，E2 诱导的细胞迁移和侵袭能力进一步下降，表明两者可能通过共同调控下游信号通路协同作用，推动 E2 的促癌效应。此外，生存分析结果表明，在 ccRCC 患者中，*CXCL8* 和 *MMP9* 的高表达与较短的 OS 和 DFS 相关，进一步证明了其在 ccRCC 进展中的关键作用。值得注意的是，这一发现不仅与体外实验结果相吻合，还提示 CXCL8 和 MMP9 可能作为临床预后评估的潜在生物标志物，并为 ccRCC 的靶向治疗策略提供新的思路。

尽管本研究阐明了 E2 通过 CXCL8/MMP9 通路在 ccRCC 中的促癌作用，然而仍存在一定局限性。本研究仅采用 786-O 和 Caki-1 两种细胞系，尚缺乏多种细胞系的验证及动物模型的数据支持，结果可能存在一定的细胞特异性偏差。E2 在调控 CXCL8 和 MMP9 表达过程中可能涉及更复杂的上游信号通路和表观遗传机制，这些方面尚未在本研究中深入探讨。此外，E2 浓度和暴露时间对其作用效应的动态影响尚需进一步研究。

文献[15]指出，E2 不仅限于单一因子或通路，而是通过改变炎症、氧化应激和基质代谢等多条信号通路共同推动促进肿瘤微环境的恶化。本研究的发现进一步支持了这一观点，验证了 E2 通过上调 CXCL8 和 MMP9 的表达，显著增强 ccRCC 细胞恶性行为的机制。这一结果不仅深化了对 E2 促癌作用的认识，也为 CXCL8 和 MMP9 作为 ccRCC 潜在治疗靶点的后续研究提供了实验基础。

4 结论

本研究揭示了 E2 通过 CXCL8/MMP9 通路显著促进 786-O 和 Caki-1 细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制。CXCL8 和 MMP9 的协同作用在 E2 诱导的肿瘤进展中发挥了关键作用。

参考文献

[1] MINOR B M N, LEMOINE D, SEGER C, et al. Estradiol augments tumor-induced neutrophil production to promote tumor cell actions in lymphangioleiomyomatosis models[J]. Endocrinology, 2023, 164(6): bqad061.

[2] 蒋巍, 应晶晶, 陈瑾. 雌二醇胰岛素样生长因子结合蛋白-3瘦素在中枢性性早熟女童中的表达及与环境内分泌干扰物的相关性[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(24): 4828-4831.

[3] 曹舒清, 张钰婧, 姬晓彤, 等. 基于生物信息学分析研究环境污染物对糖尿病肾病的影响及其分子机制[J]. 环境化学, 2023, 42(9): 2913-2926.

[4] LIU Q, LI A, TIAN Y, et al. The CXCL8-CXCR1 / 2 pathways in cancer[J]. Cytokine and Growth Factor Reviews, 2016, 31: 61-71.

[5] JOVANOVIĆ M, STEFANOSKA I, RADOJCIĆ L, et al. Interleukin-8 (CXCL8) stimulates trophoblast cell migration and invasion by increasing levels of matrix metalloproteinase (MMP)2 and MMP9 and integrins alpha5 and beta1[J]. Reproduction, 2010, 139(4): 789-798.

[6] 杨昊清, 范志朋. 细胞外基质蛋白对先天性牙发育畸形的影响及机制[J]. 生物医学转化, 2023, 4(3): 47-56.

[7] WANG J, CAI H, LIU Q, et al. Cinobufacini inhibits colon cancer invasion and metastasis via suppressing Wnt/β-Catenin signaling pathway and EMT[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2020, 48(3): 703-718.

[8] GREPIN R, GUYOT M, JACQUIN M, et al. Acceleration of clear cell renal cell carcinoma growth in mice following bevacizumab / Avastin treatment: the role of CXCL cytokines[J]. Oncogene, 2012, 31(13): 1683-1694.

[9] LI K, LI D, HAFEZ B, et al. Identifying and validating MMP family members (MMP2, MMP9, MMP12, and MMP16) as therapeutic targets and biomarkers in kidney renal clear cell carcinoma (KIRC) [J]. Oncology Research, 2024, 32(4): 737-752.

[10] CHAUVIN S, COHEN-TANNOUDJI J, GUIGON C J. Estradiol signaling at the heart of folliculogenesis: Its potential deregulation in human ovarian pathologies[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(1): 512-531.

（下转第100页）