



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240612

<http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240612>

China Journal of General Surgery, 2025, 34(11):2380-2388.

· 基础研究 ·

CXCR4/CXCR7与NF-κB通路在三阴性乳腺癌中的关联及功能研究

李佩婷¹, 曾宸², 吴润柳³, 杨萌⁴, 李俊³, 周建大¹, 吴唯³

(中南大学湘雅三医院 1. 整形外科 3. 乳腺外科, 湖南 长沙 410013; 2. 湖南省株洲市中心医院 乳腺外科, 湖南 株洲 412007;
4. 湖南省张家界市人民医院 乳甲外科, 湖南 张家界 427000)

摘要

背景与目的: 三阴性乳腺癌 (TNBC) 具有高度侵袭性, 且缺乏有效的靶向治疗手段。趋化因子受体 CXCR4 和 CXCR7 在 TNBC 中表达升高, 可能通过激活 NF-κB 信号通路促进肿瘤细胞的迁移与侵袭。本研究旨在探讨 CXCR4/CXCR7 及 NF-κB 信号通路在 TNBC 细胞迁移和侵袭中的作用机制。

方法: 在 TNBC MDA-MB-231 细胞中, 采用 CRISPR/Cas9 技术分别或同时敲除 CXCR4 和 CXCR7 基因, 并设立 NF-κB 抑制剂 BAY 11-7082 处理组。通过 Western blot 检测 IκB-α 和 p65 的磷酸化水平评估 NF-κB 通路活性; 使用 CCK-8 实验、划痕实验和 Transwell 实验评估各组细胞的增殖、迁移及侵袭能力。

结果: 在成功构建 CXCR4、CXCR7 单基因敲除及双基因敲除的 MDA-MB-231 细胞株后, Western blot 结果显示, 这些敲除明显降低了 NF-κB 信号通路关键蛋白 IκB-α 与 p65 的磷酸化水平 (均 $P<0.05$), 其中 CXCR4/CXCR7 双敲除组抑制效果较单敲组更明显, 但 NF-κB 通路抑制剂 BAY 11-7082 (5 $\mu\text{mol/L}$, 24 h) 对 IκB-α 与 p65 磷酸化的抑制程度亦优于双基因敲除组 (均 $P<0.05$)。划痕实验和 Transwell 移/侵袭实验结果表明, 无论是基因敲除还是 NF-κB 通路抑制均可降低 TNBC 细胞的迁移和侵袭能力 (均 $P<0.05$)。其中, CXCR4/CXCR7 双敲除组的迁移与侵袭抑制程度明显优于单基因敲除组, 而 BAY 11-7082 处理组表现出最强的抑制效果, 迁移率与侵袭细胞数均明显低于 CXCR4/CXCR7 双敲组 (均 $P<0.05$)。

结论: CXCR4/CXCR7 通过激活 NF-κB 信号通路促进 TNBC 细胞的迁移与侵袭, 提示 NF-κB 信号通路可能是 TNBC 联合免疫治疗的潜在靶点。

关键词

三阴性乳腺癌; 受体, CXCR; NF-κB; 肿瘤浸润

中图分类号: R737.9

Association and functional role of CXCR4/CXCR7 and the NF-κB pathway in triple-negative breast cancer

LI Peiting¹, ZENG Chen², WU Runliu³, YANG Meng⁴, LI Jun³, ZHOU Jianda¹, WU Wei³

(1. Department of Plastic Surgery 3. Department of Breast Surgery, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China; 2. Department of Breast Surgery, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan 412007, China; 4. Department of Breast and Thyroid Surgery, Zhangjiajie People's Hospital, Zhangjiajie, Hunan 427000, China)

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (2018JJ2610); 北京生命绿洲公益服务中心基金资助项目 (cphcf-2023-046)。

收稿日期: 2024-11-25; **修订日期:** 2025-05-17。

作者简介: 李佩婷, 中南大学湘雅三医院住院医师, 主要从事乳房整形及免疫治疗方面的研究 (曾宸为本文共同第一作者)。

通信作者: 吴唯, Email: xy3yywuwei@gmail.com

Abstract

Background and Aims: Triple-negative breast cancer (TNBC) is highly aggressive and lacks effective targeted therapies. The chemokine receptors CXCR4 and CXCR7 are overexpressed in TNBC and may promote tumour cell migration and invasion by activating the NF-κB signalling pathway. This study aimed to investigate the roles of CXCR4/CXCR7 and the NF-κB pathway in regulating the migration and invasion of TNBC cells.

Methods: In the TNBC cell line MDA-MB-231, CRISPR/Cas9 technology was used to individually or in combination knock out the *CXCR4* and *CXCR7* genes. Additionally, a group treated with the NF-κB inhibitor BAY 11-7082 was established. The phosphorylation levels of IκB-α and p65 were assessed by Western blotting to evaluate NF-κB pathway activity. Cell proliferation, migration, and invasion were evaluated using the CCK-8 assay, wound healing assay, and Transwell assay, respectively.

Results: MDA-MB-231 cell lines with *CXCR4*, *CXCR7*, or dual gene knockout were successfully established. Western blot analysis revealed that the phosphorylation levels of IκB-α and p65 were significantly reduced in all knockout groups (all $P<0.05$), with the dual knockout group exhibiting a more substantial inhibitory effect than the single knockouts. However, BAY 11-7082 (5 μmol/L, 24 h) exerted a more pronounced suppression of IκB-α and p65 phosphorylation compared to the dual knockout group (all $P<0.05$). Functional assays demonstrated that both gene knockout and NF-κB inhibition significantly impaired the migration and invasion of TNBC cells (all $P<0.05$). Among all groups, the dual knockout of *CXCR4* and *CXCR7* showed greater inhibitory effects than either single knockout. At the same time, the BAY 11-7082 treatment exhibited the most potent suppression of both migration and invasion (both $P<0.05$).

Conclusion: *CXCR4* and *CXCR7* promote TNBC cell migration and invasion by activating the NF-κB signalling pathway, suggesting that the NF-κB pathway may serve as a potential therapeutic target for combination immunotherapy in TNBC.

Key words

Triple Negative Breast Neoplasms; Receptors, CXCR; NF-κB; Neoplasm Invasiveness

CLC number: R737.9

乳腺癌是全球第二大常见癌症类型，在女性癌症中具有最高的发病率和病死率^[1]。其中，三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 是乳腺癌中预后最差且侵袭性最强的亚型^[2]，约占新诊断乳腺癌病例的 24%。TNBC 缺乏 HER2、雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 和孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 的表达，因而缺乏有效的分子靶向治疗手段，治疗选择有限^[3]，迫切需要探索新的治疗靶点和机制^[4-7]。

在TNBC的发生发展中，趋化因子受体CXCR4和CXCR7作为CXCL12的主要受体，近年来受到广泛关注。研究^[8-9]发现，CXCR4和CXCR7在TNBC中的表达水平显著高于其他乳腺癌亚型，并与患者的不良预后、肿瘤细胞的侵袭和转移密切相关。CXCR4通过与Gα亚基结合，激活多条下游信号通路，调控肿瘤细胞的增殖、存活和运动能力。

CXCR7则促进肿瘤分泌血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)，增强血管生成及细胞对纤维蛋白和内皮细胞的黏附，从而加速肿瘤转移进程^[10-11]。CXCL12/CXCR4/CXCR7信号轴的上调不仅加速了TNBC的恶性进展，还与细胞周期的延迟、迁移及侵袭能力的增强密切相关^[12]。然而，CXCR4和CXCR7在TNBC中的下游信号调控机制仍不完全清楚，亟须进一步阐明。

核因子κB (nuclear factor κ B, NF-κB) 作为调控炎症、增殖和凋亡的重要转录因子，在多种肿瘤的发生发展中发挥核心作用^[13-14]。近年来研究提示，CXCR4和CXCR7的信号激活可通过多种机制促进NF-κB通路的激活，进而调控TNBC细胞的生存、增殖、侵袭和免疫逃逸。例如，CXCR4/CXCR7通过促进NF-κB介导的基因转录，增强肿瘤细胞的抗凋亡能力、促进上皮-间充质转化

(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 及血管生成^[15-16]，并与其他关键信号通路如 PI3K/Akt、Wnt/β-catenin 协同调控 TNBC 的恶性表型^[17-18]。此外，NF-κB 在肿瘤微环境中通过调控炎症反应及免疫调节，进一步推动 TNBC 进展^[19]。已有研究报道，CXCR4/CXCR7 与 NF-κB 通路的协同激活与 TNBC 的不良临床结局密切相关。

综上，CXCR4/CXCR7 通过多途径促进 TNBC 的恶性进展，而 NF-κB 信号通路在此过程中可能发挥关键的中介作用，但其具体调控机制尚未完全明确。本研究采用 CRISPR/Cas9 敲除 CXCR4 和 CXCR7，并结合 NF-κB 抑制剂干预，系统探讨 CXCR4/CXCR7-NF-κB 轴在 TNBC 中的作用及机制，旨在为 TNBC 提供新的治疗靶点和理论基础。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

MDA-MB-231 TNBC 细胞（基因化公司，中国上海）在中南大学中央实验室中使用含有 10% FBS (BioInd，海梅克基布兹，以色列) 的 L-15 培养基（凯杰生物科技，中国南京）进行培养，培养温度为 37 °C，环境湿度为 5% CO₂。

1.2 慢病毒设计

使用在线工具 (<http://zlab.bio/guide-design-resources>) 设计编码针对 CXCR4/CXCR7 特定小向导 RNA (single guide RNA, sgRNA) 的慢病毒载体，靶向 CXCR4 (NM_003467.2) 的外显子 2 和 CXCR7 (NM_020311.3) 的外显子 1。使用的 sgRNA 序列为如下，CXCR4：5'-GTT TCA GCA CAT CAT GGT TG-3'；CXCR7：5'-CAT GAT TGC CAA CTC CGT GG-3'。

1.3 慢病毒转染

使用 Cas9 慢病毒（吉凯基因生物公司，上海，中国）转染 MDA-MB-231 细胞，然后用嘌呤霉素选择出稳定表达 Cas9 的细胞群体。这些细胞随后被转染上述编码 CXCR4 或 CXCR7 特定 sgRNA 的慢病毒（分别显示绿色和红色荧光），以单独敲除 TNBC 细胞中 CXCR4、CXCR7 这两个基因。将 1×10⁹ 的细胞以感染复数 10 与 10 μL 的病毒（病毒滴度：1×10⁸ TU/mL）转染。然后使用单克隆选择方法选择稳定表达 sgCXCR4 (CXCR4-ko) 或 sgCXCR7 (CXCR7-ko) 的细胞，该方法将细胞稀释至 10⁵ 个细胞/mL，然后将 100 μL 的悬液加入 96 孔板

中。在标准条件下培养 10~14 d 后，消化细胞并转移至 24 孔板培养 7~10 d 至 70%~80% 融合，然后转移至 6 孔板直至 80% 融合。为验证敲除，收获细胞并提取 DNA 和蛋白质。

1.4 双基因敲除细胞系的建立

为制备双基因敲除 MDA-MB-231 细胞，将已稳定敲除 CXCR4 的细胞转染 CXCR7 sgRNA 编码的慢病毒，并通过上述单克隆技术选择出 CXCR4 和 CXCR7 (CXCR4+7-ko) 双基因敲除细胞。通过转染编码打乱序列的 sgRNA 制备阴性对照 (sg-negative control, sg-NC) 细胞。以无处理的 MDA-MB-231 细胞作为空白对照 (blank control, BC)。

1.5 CCK-8 细胞增殖-毒性检测

用不同浓度 BAY 11-7082 (0、2、5、8 μmol/L) 处理的 MDA-MB-231 细胞及空白对照组加入 96 孔板 (4 000/孔) 并在 37 °C 分别培养 12、24、36 h。通过加入 10 μL 的 CCK-8 溶液后孵育 2 h 并测量 450 nm 的吸光度进行 CCK-8 实验 (A311-01, 维润赛润，中国)。

1.6 Western blot 检测

使用 RIPA 缓冲液（凯杰生物科技，中国）从 sg-NC、BC、CXCR4-ko、CXCR7-ko、CXCR4+7-ko 和 BC+BAY 11-7082 组细胞中分离蛋白质。蛋白质在 SDS-PAGE 样品加载缓冲液 (BioSharp, 韩国) 中变性后存储在 -80 °C。每个样品使用 10% SDS-PAGE 分离 40 μg 的蛋白质，并转移至 PVDF 膜 (EMD Millipore, 马萨诸塞州, 美国)，用 5% 脱脂奶粉封闭。封闭后用 PBS 洗 3 次 (每次 10 min)，在 4 °C 过夜孵育一抗：小鼠抗 CXCR4 (1:500；Proteintech, 美国)，兔抗 CXCR7 (1:1 000；Abcam, 英国)，兔抗 p-IκB-α，小鼠抗 IκB-α，兔抗 p-P65，兔抗 p-P65 (1:1 000；Cell Signaling Technology, 美国) 或小鼠抗 Tubulin (1:10 000；Proteintech, 美国)。再洗 3 次后，用荧光标记的二抗孵育 1 h，再洗 3 次后，通过使用 Odyssey Clx 系统 (Licor, 内布拉斯加州, 美国) 检测蛋白条带。

1.7 细胞划痕实验

将 BC、CXCR4-ko、CXCR7-ko、CXCR4+7-ko 或 BC+BAY 11-7082 细胞加入 6 孔板 (5×10⁵/孔)，标记有平行水平线。过夜孵育至细胞融合度达到 80%~90%，用 PBS 洗涤，然后加入无血清培养基。通过光学显微镜在 0、12、24、36、48、60 h 成像。使用 Image J 计算迁移面积和速率。

1.8 Transwell实验

为评估细胞迁移,将BC、CXCR4-ko、CXCR7-ko、CXCR4+7-ko或NC+BAY 11-7082细胞加入24孔Transwell插入的上层(孔径8 μm,康宁Costar,美国),每孔加入 2×10^5 个细胞于200 μL无血清L-15培养基中。为促进这些细胞的迁移,向下室中加入700 μL含10% FBS的培养基。细胞培养24~48 h后,用甲醇固定30 min,再用0.1%结晶紫染色30 min。用PBS洗涤后,使用棉签去除未迁移的细胞。通过光学显微镜(奥林巴斯,日本)在5个随机视野中成像,并记录这些视野中的平均细胞数进行分析。侵袭实验在相同条件下进行,只是在加入适当细胞之前,先用Matrigel(BD Biosciences,美国)在37 °C涂覆上层腔室30 min。

1.9 统计学处理

采用SPSS 20.0对数据统计分析,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA analysis);计

数资料以例数(百分比)[n (%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRISPR/Cas9介导的CXCR4和CXCR7的敲除结果

成功使用慢病毒载体对MDA-MB-231细胞系进行转染,使其稳定表达Cas9及针对CXCR4和CXCR7的特异性sgRNA。通过荧光显微镜观察,可识别出单基因或双基因敲除的细胞克隆群体。由于sgCXCR4载体编码eGFP, CXCR4敲除细胞表现出绿色荧光;而CXCR7敲除细胞因sgCXCR7载体表达mCherry而呈现红色荧光(图1)。双基因敲除细胞在合并的荧光图像中同时显示红色和绿色荧光,进一步验证了慢病毒介导的转染成功。

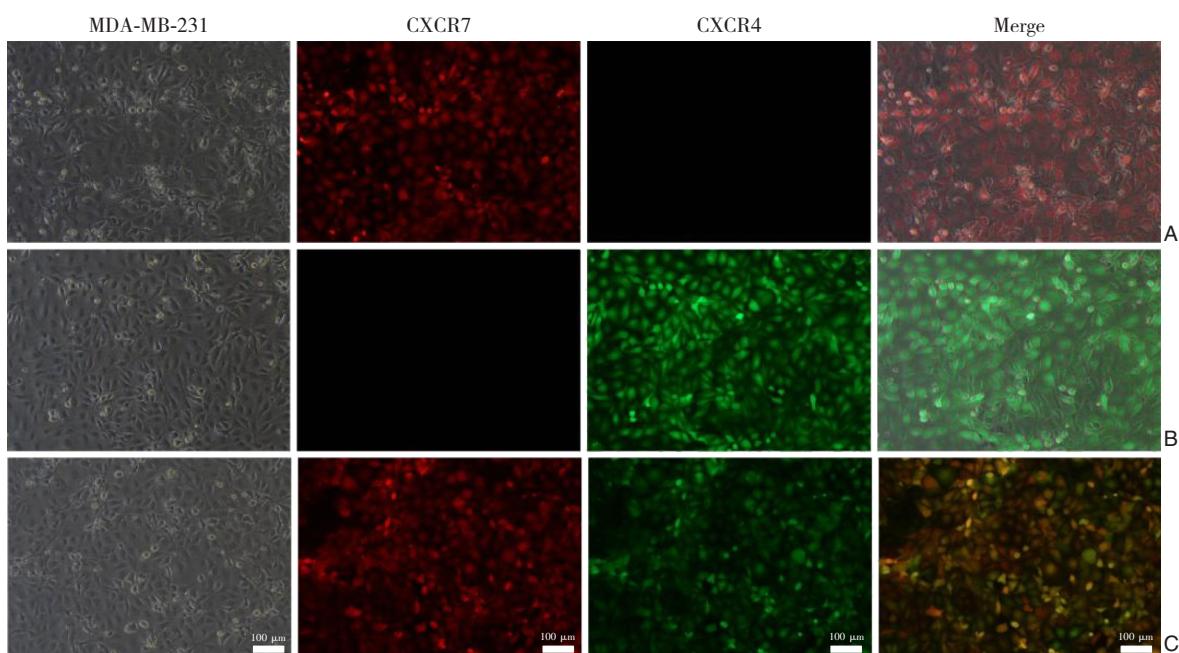


图1 MDA-MB-231细胞CXCR4和CXCR7敲除后的免疫荧光检测(×100) A: 敲除CXCR4细胞中CXCR4蛋白免疫荧光染色; B: 敲除CXCR7细胞中CXCR7蛋白免疫荧光染色; C: CXCR4/CXCR7双敲除细胞中CXCR4和CXCR7蛋白免疫荧光染色

Figure 1 Immunofluorescence detection of CXCR4 and CXCR7 expression in MDA-MB-231 cells following gene knockout (×100) A: Immunofluorescence staining of CXCR4 protein in CXCR4-knockout cells; B: Immunofluorescence staining of CXCR7 protein in CXCR7-knockout cells; C: Dual immunofluorescence staining of CXCR4 and CXCR7 proteins in CXCR4/CXCR7 double-knockout cells

2.2 BAY 11-7082的最佳浓度和处理时间筛选

通过CCK-8实验评估BAY 11-7082对MDA-MB-231细胞增殖的影响,以确定其最佳处理浓度和作

用时间。结果显示,所有处理组细胞在培养时间延长后均出现增殖。处理36 h后,BC组的细胞增殖率最高,而BAY 11-7082(2、5、8 μmol/L)处

理组的增殖活性显著下降（均 $P<0.05$ ），且增殖率随抑制剂剂量增加而逐渐降低（ $P<0.05$ ）（图 2A）。进一步比较3种不同剂量在12、24、36 h时的增殖抑制率发现，5 $\mu\text{mol/L}$ 组和8 $\mu\text{mol/L}$ 组在各时间点

的抑制效果均明显优于2 $\mu\text{mol/L}$ 组（均 $P<0.05$ ），其中在24 h时抑制效果最强，抑制率接近80%（图 2B）。据此，后续实验采用5 $\mu\text{mol/L}$ BAY 11-7082 处理24 h作为实验条件。

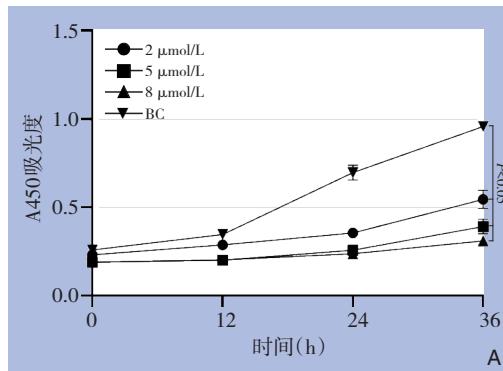
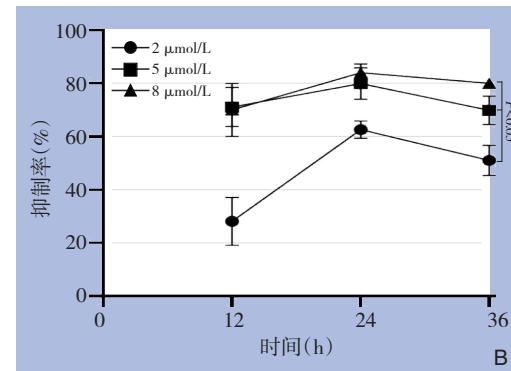


图2 基于CCK-8实验分析BAY 11-7082的最佳剂量和处理时间
在不同时间对MDA-MB-231抑制率

Figure 2 CCK-8 assay-based analysis of the optimal dose and treatment duration of BAY 11-7082 A: Absorbance changes over time in each treatment group; B: Inhibition rates of MDA-MB-231 cells by different concentrations of BAY 11-7082 at various time points

2.3 各组TNBC细胞CXCR4和CXCR7的表达

与BC组比较，sg-NC组的CXCR4和CXCR7蛋白表达水平无明显差异（均 $P>0.05$ ）；CXCR4-ko组CXCR4与CXCR7-ko组CXCR7的表达水平均明显下降（均 $P<0.05$ ）；CXCR4+7-ko组细胞中两种受体蛋



A: 各组随时间变化的吸光度；B: 不同浓度BAY 11-7082

白的表达均明显降低（ $P<0.05$ ）。此外，BC+BAY 11-7082组中CXCR4和CXCR7蛋白的表达水平均较BC组有所下降（均 $P<0.05$ ），但仍明显高于CXCR4+7-ko组（均 $P<0.05$ ）（图3）。

图3 Western blot检测CXCR4和CXCR7蛋白表达
表达水平比较

Figure 3 Western blot analysis of CXCR4 and CXCR7 protein expression A: Protein bands of each group; B: Comparison of CXCR4 expression levels among groups; C: Comparison of CXCR7 expression levels among groups

2.4 各组TNBC细胞中IκB-α和p65磷酸化水平

与BC组比较，CXCR4-ko、CXCR7-ko、CXCR4+7-ko以及BC+BAY 11-7082组中IκB-α的磷酸化水平均明显降低（均 $P<0.05$ ）。其中，CXCR4+7-ko组的磷酸化水平明显低于CXCR4-ko和CXCR7-

ko组，而NC+BAY 11-7082组则较CXCR4+7-ko组进一步下降（均 $P<0.05$ ）。此外，p65磷酸化蛋白的表达在上述各实验组中相较BC组也明显减少，且BC+BAY 11-7082组的p65磷酸化水平低于CXCR4+7-ko组（均 $P<0.05$ ）（图4）。

2.5 各组TNBC细胞迁移和侵袭能力

首先通过细胞划痕实验评估BAY 11-7082处理对TNBC细胞迁移能力的影响(图5A)。结果显示各组的划痕面积均随时间逐渐减少。至120 h, BC组划痕几乎完全愈合,而其余各组的平均剩余面积较大的划痕,差异均有统计学意义(均P<0.05)。其中,BC+BAY 11-7082组的迁移率最低,明显低于CXCR4+7-ko组(P<0.05),提示NF- κ B抑制对细

胞迁移的抑制作用更为明显。随后采用Transwell实验进一步评估BAY 11-7082对TNBC细胞迁移和侵袭能力的影响(图5B-C)。结果与划痕实验一致,CXCR4-ko、CXCR7-ko、CXCR4+7-ko及NC+BAY 11-7082组中迁移及侵袭的细胞数均明显少于BC组(均P<0.05)。此外,CXCR4+7-ko组的迁移能力较CXCR4-ko和CXCR7-ko组明显降低(均P<0.05),但不及BC+BAY 11-7082组的抑制效果(P<0.05)。

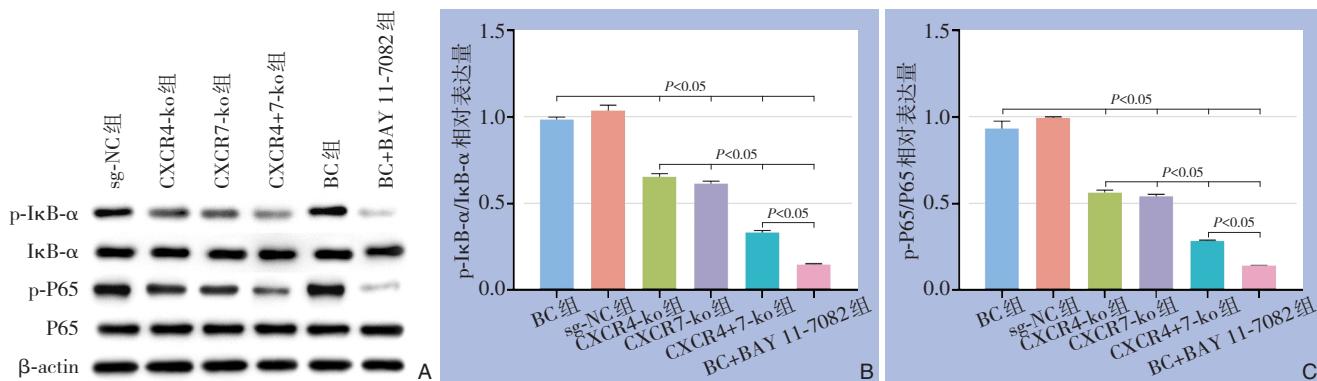


图4 Western blot检测磷酸化I κ B- α 和P65水平
水平比较

A: 各组蛋白条带; B: 各组磷酸化I κ B- α 水平比较; C: 各组磷酸化p65

Figure 4 Western blot analysis of phosphorylated I κ B- α and p65 levels A: Protein bands of each group; B: Comparison of phosphorylated I κ B- α levels among groups; C: Comparison of phosphorylated p65 levels among groups

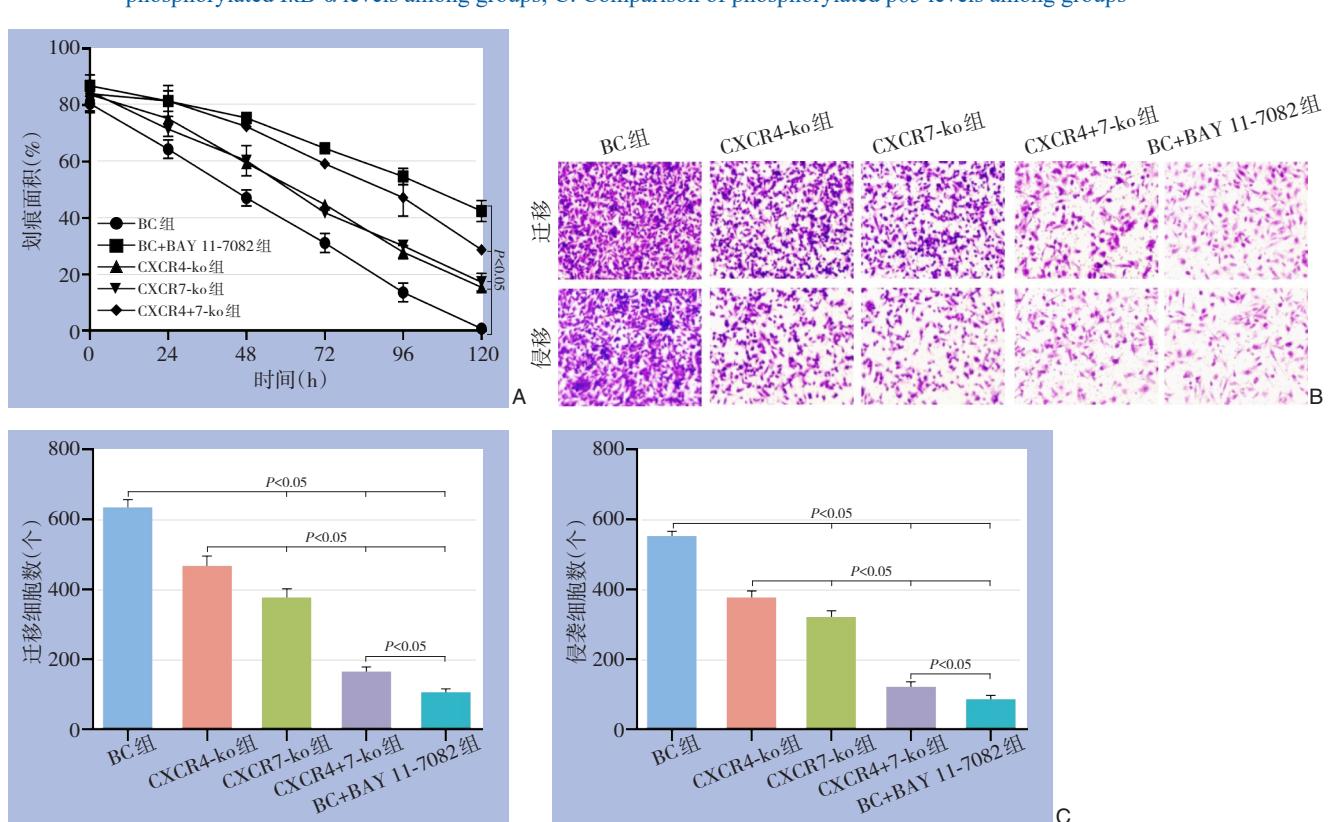


图5 各组TNBC细胞迁移和侵袭能力检测

A: 细胞划痕实验评估各组随时间变化的相对伤口面积; B: Transwell实验迁移/侵袭细胞的代表性图像; C: 各组迁移/侵袭细胞数量比较

Figure 5 Assessment of TNBC cell migration and invasion in each group A: Wound healing assay showing relative wound area over time in each group; B: Representative images of migrated/invasive cells in the Transwell assay; C: Comparison of the number of migrated/invasive cells among groups

3 讨论

探究TNBC的驱动基因及其分子发病机制,对于开发有效的靶向治疗策略具有重要意义。基于笔者^[20]既往研究,本研究提出如下假设: NF-κB信号通路在TNBC细胞中的作用可能依赖于CXCR4/CXCR7轴的活化。为验证该假设,本研究采用

CRISPR/Cas9技术分别或双重敲除TNBC细胞中CXCR4与CXCR7基因,并检测其对NF-κB信号活性的影响。结果显示,CXCR4和CXCR7在NF-κB通路调控TNBC细胞迁移和侵袭中发挥关键作用。这一发现提示,靶向CXCR4/CXCR7的联合治疗策略在TNBC治疗中可能具有潜在价值(图6)。

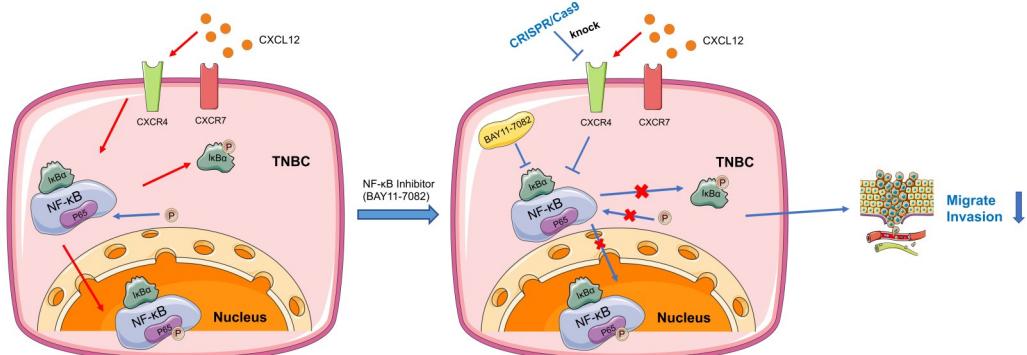


图6 CXCL12-CXCR4/CXCR7轴通过调节非炎症性肿瘤微环境增强TNBC细胞侵袭和转移的机制示意图

Figure 6 Schematic diagram illustrating the mechanism by which the CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis enhances TNBC cell invasion and metastasis by modulating the non-inflamed tumor microenvironment

TNBC具有高度异质性和显著侵袭性,常伴随高化疗耐药性、快速转移及易复发等特点^[5, 21-22],患者远期复发风险高,5年病死率高达40%^[23-24]。其复杂的分子特征使得开发有效靶向治疗方案充满挑战。NF-κB信号通路在多种肿瘤的发生发展中发挥核心调控作用。在生理条件下,NF-κB与IκB结合并滞留于细胞质中,IκB磷酸化后,NF-κB可转移入核,启动下游基因表达^[25-26]。然而,目前关于NF-κB在TNBC中作为调控因子的研究仍有限,尤其是在CXCR4/CXCR7调控TNBC进展中的具体作用尚不明确。为此,本研究采用特异性NF-κB抑制剂BAY 11-7082处理TNBC细胞,并通过p65及IκB-α磷酸化水平评估NF-κB通路活性。CCK-8实验结果表明,使用5 μmol/L BAY 11-7082处理MDA-MB-231细胞24 h可显著抑制其增殖能力。

本研究利用CRISPR/Cas9技术成功构建了CXCR4与CXCR7单独或双重敲除的TNBC细胞系,且慢病毒感染效率超过80%。进一步评估了CXCR4与CXCR7单独或联合敲除对MDA-MB-231细胞中NF-κB通路活性的影响,并将其与BAY 11-7082处理的效果进行比较。结果显示,CXCR4和CXCR7的敲除与p65和IκB-α磷酸化水平的显著下降相关,表明NF-κB通路受到明显抑制。在双重

敲除CXCR4和CXCR7的细胞中,这种抑制作用比单一敲除更为显著。上述结果支持了一个模型,即NF-κB信号通路位于CXCR4/CXCR7信号轴的下游,参与调控TNBC细胞的生物学行为。尽管双重敲除CXCR4和CXCR7增强了对NF-κB通路的抑制,其效果仍不及BAY 11-7082处理,提示可能存在其他上游因子通过NF-κB通路参与TNBC的发病机制。此外,本研究还评估了NF-κB通路抑制对TNBC细胞迁移和侵袭能力的影响。结果显示,BAY 11-7082在伤口愈合实验中显著抑制了细胞迁移能力。在Transwell迁移和侵袭实验中亦观察到类似结果,BAY 11-7082在这两项实验中均有效抑制了TNBC细胞的恶性行为。以上结果支持NF-κB通路抑制可削弱TNBC细胞迁移和侵袭能力的假设。

肿瘤细胞获得增强的迁移能力是肿瘤转移过程中至关重要的一步。多种细胞外刺激可诱导肿瘤细胞从周围组织中脱离^[27],而特定蛋白酶能够降解基底膜中的细胞外基质成分^[28],使癌细胞得以侵入淋巴系统和血管系统,进而扩散至远处并形成转移灶^[29],尽管该过程受到多种因素调控^[30]。本研究结果显示,CXCR4/CXCR7信号可通过NF-κB通路促进TNBC细胞的转移性进展。此外,与单独敲除CXCR4或CXCR7相比,同时敲除这两个基因

更显著抑制TNBC细胞的迁移和侵袭,而BAY 11-7082则展现出最强的抑制效应。这一发现进一步提示,除CXCL12-CXCR4/CXCR7信号轴外,尚有其他因素参与TNBC的转移过程。上述结果亦契合TNBC高度异质性的特点^[31-32],提示其进展过程受到多重调控,具有复杂且渐进的生物学特性。

综上所述,本研究结果有助于进一步探索靶向NF-κB信号通路的抑制剂如何破坏TNBC细胞中CXCR4/CXCR7的异常激活,从而抑制其增殖、侵袭及转移能力。未来在体内模型中验证相关发现,将为临床应用NF-κB通路靶向药物治疗TNBC提供坚实的实验基础。

作者贡献声明:李珮婷和曾宸负责实验设计、起草论文和修改论文;吴唯负责文章审核、协助文章修改;吴润柳、杨萌负责数据获取、整理和分析;周建大、李俊负责数据分析、整理及作图。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3):229-263. doi:10.3322/caac.21834.
- [2] 吴松阳,江一舟,邵志敏.三阴性乳腺癌治疗进展[J].中国普通外科杂志,2021,30(5):510-521. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.2021.05.002.
Wu SY, Jiang YZ, Shao ZM. Advances in treatment of triple-negative breast cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2021, 30(5):510-521. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.05.002.
- [3] 邵笛,余天剑,邵志敏.三阴性乳腺癌精准治疗研究进展[J].中国普通外科杂志,2023,32(11):1629-1638. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.001.
Shao D, Yu TJ, Shao ZM. Advances in precision treatment of triple-negative breast cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(11):1629-1638. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.001.
- [4] Derakhshan F, Reis-Filho JS. Pathogenesis of triple-negative breast cancer[J]. Annu Rev Pathol, 2022, 17: 181-204. doi: 10.1146/annurev-pathol-042420-093238.
- [5] Bianchini G, De Angelis C, Licata L, et al. Treatment landscape of triple-negative breast cancer - expanded options, evolving needs[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(2): 91-113. doi: 10.1038/s41571-021-00565-2.
- [6] Luo SP, Wu QS, Chen H, et al. Validation of the prognostic significance of the prognostic stage group according to the eighth edition of American cancer joint committee on cancer staging system in triple-negative breast cancer: an analysis from surveillance, epidemiology, and end results 18 database[J]. J Surg Res, 2020, 247:211-219. doi:10.1016/j.jss.2019.09.072.
- [7] 李珮婷,吴唯,钱立元,等.早期乳腺癌内分泌治疗进展[J].中南大学学报:医学版,2019,44(11):1268-1274. doi: 10.11817/j. issn.1672-7347.2019.190289.
Li PT, Wu W, Qian LY, et al. Progress in endocrine therapy for early breast cancer[J]. Journal of Central South University:Medical Science, 2019, 44(11): 1268-1274. doi: 10.11817/j. issn. 1672-7347.2019.190289.
- [8] Hao M, Weng X, Wang Y, et al. Targeting CXCR7 improves the efficacy of breast cancer patients with tamoxifen therapy[J]. Biochem Pharmacol, 2018, 147: 128-140. doi: 10.1016/j.bcp.2017.11.013.
- [9] Gupta N, Mohan CD, Shanmugam MK, et al. CXCR4 expression is elevated in TNBC patient derived samples and Z-guggulsterone abrogates tumor progression by targeting CXCL12/CXCR4 signaling axis in preclinical breast cancer model[J]. Environ Res, 2023, 232:116335. doi:10.1016/j.envres.2023.116335.
- [10] Drouillard D, Craig BT, Dwinell MB. Physiology of chemokines in the cancer microenvironment[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2023, 324(1):C167-C182. doi:10.1152/ajpcell.00151.2022.
- [11] Santagata S, Ieranò C, Trotta AM, et al. CXCR4 and CXCR7 signaling pathways: a focus on the cross-talk between cancer cells and tumor microenvironment[J]. Front Oncol, 2021, 11: 591386. doi:10.3389/fonc.2021.591386.
- [12] Masrour M, Moeinafshar A, Poopak A, et al. The role of CXC chemokines and receptors in breast cancer[J]. Clin Exp Med, 2025, 25(1):128. doi:10.1007/s10238-025-01662-7.
- [13] Yu H, Lin L, Zhang Z, et al. Targeting NF-κB pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. Sig Transduct Target Ther, 2020, 5:209. doi:10.1038/s41392-020-00312-6.
- [14] Chaithongyot S, Jantaree P, Sokolova O, et al. NF-κB in gastric cancer development and therapy[J]. Biomedicines, 2021, 9(8):870. doi:10.3390/biomedicines9080870.
- [15] Shi Y, Riese DJ 2nd, Shen JZ. The role of the CXCL12/CXCR4/CXCR7 chemokine axis in cancer[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 574667. doi:10.3389/fphar.2020.574667.
- [16] Garg P, Jallepalli VR, Verma S. Unravelling the CXCL12/CXCR4 axis in breast cancer: insights into metastasis, microenvironment interactions, and therapeutic opportunities[J]. Hum Gene, 2024, 40: 201272. doi:10.1016/j.humgen.2024.201272.
- [17] Pavitra E, Kancharla J, Gupta VK, et al. The role of NF-κB in

- breast cancer initiation, growth, metastasis, and resistance to chemotherapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 163: 114822. doi: [10.1016/j.bioph.2023.114822](https://doi.org/10.1016/j.bioph.2023.114822).
- [18] Zhang T, Ma C, Zhang Z, et al. NF-κB signaling in inflammation and cancer[J]. *MedComm*, 2021, 2(4): 618–653. doi: [10.1002/mco.104](https://doi.org/10.1002/mco.104).
- [19] Ma Q, Hao S, Hong WL, et al. Versatile function of NF-κB in inflammation and cancer[J]. *Exp Hematol Oncol*, 2024, 13(1): 68. doi: [10.1186/s40164-024-00529-z](https://doi.org/10.1186/s40164-024-00529-z).
- [20] Yang M, Zeng C, Li P, et al. Impact of CXCR4 and CXCR7 knockout by CRISPR/Cas9 on the function of triple-negative breast cancer cells[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3849–3858. doi: [10.2147/OTT.S195661](https://doi.org/10.2147/OTT.S195661).
- [21] Yin L, Duan JJ, Bian XW, et al. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress[J]. *Breast Cancer Res*, 2020, 22(1): 61. doi: [10.1186/s13058-020-01296-5](https://doi.org/10.1186/s13058-020-01296-5).
- [22] Li P, Li J, Tong X, et al. Global research trends and prospects related to tumor microenvironment within Triple Negative Breast Cancer: a bibliometric analysis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1261290. doi: [10.3389/fimmu.2023.1261290](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1261290).
- [23] Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, et al. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(11): 674–690. doi: [10.1038/nrclinonc.2016.66](https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.66).
- [24] Gonçalves H Jr, Guerra MR, Cintra JRD, et al. Survival study of triple-negative and non-triple-negative breast cancer in a Brazilian cohort[J]. *Clin Med Insights Oncol*, 2018, 12: 1179554918790563. doi: [10.1177/1179554918790563](https://doi.org/10.1177/1179554918790563).
- [25] Fakhri S, Moradi SZ, Yarmohammadi A, et al. Modulation of TLR/NF-κB/NLRP signaling by bioactive phytocompounds: a promising strategy to augment cancer chemotherapy and immunotherapy[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 834072. doi: [10.3389/fonc.2022.834072](https://doi.org/10.3389/fonc.2022.834072).
- [26] Devanaboyina M, Kaur J, Whiteley E, et al. NF-κB signaling in tumor pathways focusing on breast and ovarian cancer[J]. *Oncol Rev*, 2022, 16: 10568. doi: [10.3389/or.2022.10568](https://doi.org/10.3389/or.2022.10568).
- [27] Prakash J, Shaked Y. The interplay between extracellular matrix remodeling and cancer therapeutics[J]. *Cancer Discov*, 2024, 14(8): 1375–1388. doi: [10.1158/2159-8290.CD-24-0002](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-24-0002).
- [28] Radisky ES. Extracellular proteolysis in cancer: Proteases, substrates, and mechanisms in tumor progression and metastasis[J]. *J Biol Chem*, 2024, 300(6): 107347. doi: [10.1016/j.jbc.2024.107347](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107347).
- [29] Winkler J, Abisoye-Ogunniyan A, Metcalf KJ, et al. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5120. doi: [10.1038/s41467-020-18794-x](https://doi.org/10.1038/s41467-020-18794-x).
- [30] Pfisterer K, Shaw LE, Symmank D, et al. The extracellular matrix in skin inflammation and infection[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 682414. doi: [10.3389/fcell.2021.682414](https://doi.org/10.3389/fcell.2021.682414).
- [31] Asleh K, Riaz N, Nielsen TO. Heterogeneity of triple negative breast cancer: Current advances in subtyping and treatment implications[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 265. doi: [10.1186/s13046-022-02476-1](https://doi.org/10.1186/s13046-022-02476-1).
- [32] So JY, Ohm J, Lipkowitz S, et al. Triple negative breast cancer (TNBC): non-genetic tumor heterogeneity and immune microenvironment: emerging treatment options[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 237: 108253. doi: [10.1016/j.pharmthera.2022.108253](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108253).

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:李珮婷,曾宸,吴润柳,等.CXCR4/CXCR7与NF-κB通路在三阴性乳腺癌中的关联及功能研究[J].中国普通外科杂志,2025,34(11):2380–2388. doi: [10.7659/j.issn.1005-6947.240612](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240612)

Cite this article as: Li PT, Zeng C, Wu RL, et al. Association and functional role of CXCR4/CXCR7 and the NF-κB pathway in triple-negative breast cancer[J]. *Chin J Gen Surg*, 2025, 34(11): 2380–2388. doi: [10.7659/j.issn.1005-6947.240612](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240612)