

## 不同亚细胞定位的巨噬细胞迁移抑制因子促肿瘤功能研究进展

张欢<sup>#</sup>, 杨辰<sup>#</sup>, 尚爽, 吕晓希, 花芳<sup>\*</sup>

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 新药作用机制研究与药效评价北京市重点实验室 (BZ0150), 代谢紊乱和肿瘤发生相关机制和靶点发现重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是一种具有酶活性的多效细胞因子, 在多种免疫细胞和肿瘤细胞中均可见到其表达。MIF 在炎症反应及肿瘤发生发展过程中发挥多重效应, 不但作为细胞因子参与机体免疫反应和炎症病变, 而且与肿瘤细胞增殖、转移等肿瘤生物学特性密切相关, 从多方面影响肿瘤发生和演进。研究显示, MIF 不仅分泌到细胞外以细胞因子的形式发挥作用, 同样也可以定位于细胞浆和细胞核发挥多样化的生物学功能。随着 MIF 促进肿瘤进展的作用日益被人们所认识, 目前基于 MIF 的治疗策略已成为肿瘤学研究的热点。本文对不同亚细胞定位的 MIF 所发挥的促肿瘤功能进行综述, 对 MIF 肿瘤生物学功能的全面理解将为开发新的靶向 MIF 的治疗策略提供更为广阔的视野, 为肿瘤治疗指出更具前景的方向。

**关键词:** 巨噬细胞迁移抑制因子; 亚细胞定位; 肿瘤; 肿瘤微环境; 靶向治疗

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)08-2085-13

## Subcellular localization of macrophage migration inhibitory factor and its diverse biological functions in tumors

ZHANG Huan<sup>#</sup>, YANG Chen<sup>#</sup>, SHANG Shuang, LV Xiao-xi, HUA Fang<sup>\*</sup>

(State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Beijing Key Laboratory of New Drug Mechanisms and Pharmacological Evaluation Study (BZ0150), CAMS Key Laboratory of Molecular Mechanism and Target Discovery of Metabolic Disorder and Tumorigenesis, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is an enzyme-active pleiotropic cytokine that is expressed in various immune cells and tumor cells. MIF plays diverse roles in inflammation and tumor progression. It acts as a cytokine involved in immune response and inflammatory lesions. Additionally, MIF is closely associated with tumor proliferation, metastasis, and other tumor hallmarks, exerting a multifaceted influence on tumor occurrence and progression. MIF not only functions by being secreted into the extracellular space as a cytokine but can also be localized within the cytoplasm and nucleus, exhibiting diverse biological functions. As MIF in promoting tumor progression becomes increasingly recognized, MIF-based therapeutic strategies have become a hot research topic in oncology. Here, we provide a comprehensive review of MIF with different subcellular localization about their pro-tumoral functions. A better understanding of MIF in tumor biology will bring broader perspectives for the development of novel MIF targeting strategies and give promising direction for future tumor treatments.

收稿日期: 2023-05-13; 修回日期: 2023-06-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82273947); 北京市自然科学基金项目 (7232257); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2022-I2M-JB-011); 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费 (2018PT350004); 北京高校卓越青年科学家计划 (BJJWZYJH01201910023028).

<sup>#</sup>共同第一作者.

<sup>\*</sup>通讯作者 Tel: 86-10-83161187, E-mail: huafang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0623

**Key words:** macrophage migration inhibitory factor; subcellular localization; tumor; tumor microenvironment; targeted therapy

巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是一种具有酶活性的多功能细胞因子。自从20世纪90年代初首次被克隆以来, MIF与疾病的关联、功能多样性, 以及其受体、相互作用蛋白和下游信号通路传导一直受到学术界的广泛关注。尽管目前对MIF的认识已经取得一定进展, 但仍有许多未知问题亟待回答。大量证据表明, MIF与肿瘤密切相关, MIF高表达于某些实体肿瘤如结肠癌<sup>[1,2]</sup>、胃癌<sup>[3]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[4]</sup>、卵巢癌<sup>[5]</sup>、胰腺癌<sup>[6]</sup>、黑色素瘤<sup>[7]</sup>和神经母细胞瘤<sup>[8]</sup>等, 并且其表达与高肿瘤负担、转移风险增加和不良预后有关。既往研究已经充分关注到MIF作为分泌型细胞因子所发挥的生物学功能以及其在疾病中的作用, 然而近些年的研究发现, MIF不仅可以以细胞因子的形式分泌到细胞外液, 还可以被包裹在外泌体囊泡内进而递送至内环境中; 此外, MIF还可以作为非分泌型蛋白存在于细胞浆和细胞核。MIF定位的多样性提示其生物学活性和生理、病理功能同样具有多样性<sup>[9-12]</sup>。本综述对定位于不同亚细胞区域的MIF发挥的多样化肿瘤生物学功能及促肿瘤机制进行总结; 并对目前靶向MIF的抗肿瘤药物研发状况进行归纳。以期在全面了解MIF促肿瘤作用及机制前提下, 为寻找更有效的MIF靶向策略提供思路。

## 1 MIF家族及其结构和分布

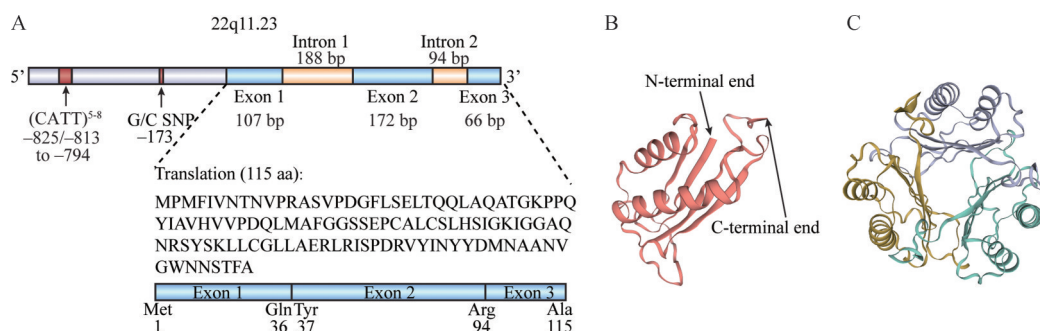
### 1.1 MIF家族

MIF最初发现于1966年, 是迟发型超敏反应中活化的T细胞产生的细胞因子, 当时发现在抗原存在的情况下, 分枝杆菌致敏的动物淋巴组织中炎性细胞的迁移受到抑制, MIF也因此而得名<sup>[13]</sup>。MIF基因位于人类基因组第22号染色体 (22q11.23)

上, 包含3个外显子 (107、172和66 bp) 和2个内含子 (188和94 bp)<sup>[14]</sup> (图1A)。MIF是一种由115个氨基酸组成的12.5 kDa蛋白, 根据X射线晶体学数据显示, MIF由2个反向平行的 $\alpha$ 螺旋和4个 $\beta$ 链形成的一个 $\beta$ 片层组成, 且MIF以同源三聚体的形式发挥生物学功能<sup>[14,15]</sup> (图1B和C)。D-多巴色素互变异构酶 (*D-dopa-chrome tautomerase, D-DT*) 是一种新发现的细胞因子, 是巨噬细胞迁移抑制因子蛋白超家族的第二个成员, 又称为MIF-2, 于1997年被首次发现, *D-DT*与MIF具有34%的氨基酸序列同源性, 也以同源三聚体结构形式发挥生物学功能。多项研究表明, *D-DT*在某些方面与MIF具有相似的生物学活性<sup>[16-18]</sup>。

### 1.2 MIF的细胞表达类型及其多态性

MIF广泛表达于各种类型的细胞, 包括免疫细胞、上皮细胞、内皮细胞、神经细胞、肿瘤细胞, 并在各种炎症疾病、自身免疫性疾病以及肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用<sup>[19-22]</sup>。研究显示, *MIF*等位基因的高表达与这些疾病的发病率和严重程度密切相关, 目前已经发现200余种*MIF*基因多态性, 其中在*MIF*基因启动子区域存在两个重要的与MIF功能相关的基因多态性: *MIF*启动子上游第173位核苷酸存在G/C突变的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP), 以及*MIF*启动子上游第794位存在5~8次CATT微卫星重复序列多态性 (图1A)<sup>[23]</sup>。其中, *MIF*基因启动子存在6~8次CATT微卫星重复序列和第173位核苷酸为C的G/C SNP多态性是MIF高表达相关的基因变异; 而CATT重复5次和第173位核苷酸为G的G/C SNP多态性则是MIF低表达相关的基因变异, 这些多态性与



**Figure 1** The structure of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene and protein. A: The structure of MIF gene and corresponding MIF amino acid (aa) sequence. There are two functional MIF gene polymorphisms: -794 CATT repeats and -173 G/C single nucleotide polymorphism; B: The three-dimensional crystal structure of human MIF. The protein structure model was generated by SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org>); C: Three-dimensional ribbon diagram of human MIF, revealing its homotrimeric subunit structure. The protein structure model was generated by SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org>)

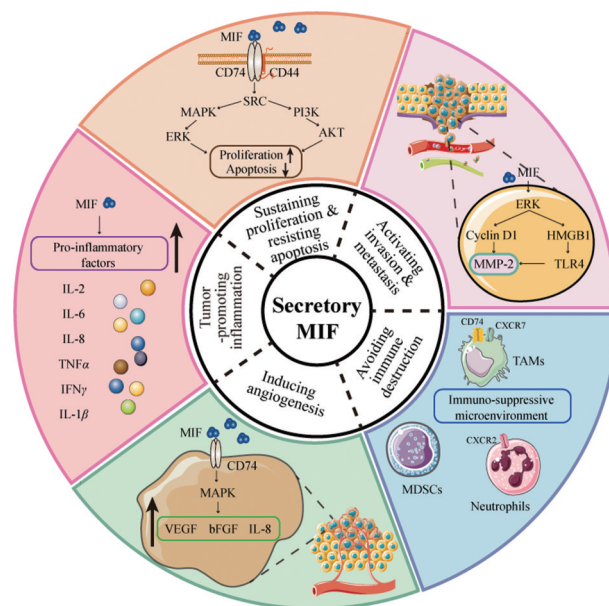
宿主疾病易感性以及疾病严重程度有关。在多数情况下,高表达的 *MIF* 等位基因在炎性疾病、自身免疫病和肿瘤的进展中起着关键作用,有助于促进疾病的发展进程,因此 *MIF* 基因多态性可能成为判断相关疾病严重程度程度的一个有潜力标志物<sup>[24-27]</sup>。

目前已经有证据表明 *MIF* 存在两种免疫学上不同的构象异构体:氧化型 *MIF* (oxidized macrophage migration inhibitory factor, ox*MIF*) 是一种与疾病相关的结构异构体,主要存在于炎症疾病患者的血浆和组织,以及肿瘤组织和相应的转移瘤中;而还原型 *MIF* (reduced macrophage migration inhibitory factor, red-*MIF*) 存在于健康个体的血浆、细胞和组织中<sup>[28]</sup>。这是由于肿瘤和炎症性疾病的微环境中巨噬细胞、中性粒细胞和其他免疫细胞有助于活性氧和促炎介质的产生,在这些氧化条件下,肿瘤细胞以及内皮细胞、上皮细胞和其他免疫细胞分泌的 *MIF* 可以转化为 ox*MIF*<sup>[29]</sup>。与 red*MIF* 相比,ox*MIF* 增加了氧化还原修饰,最主要的修饰位点在 *CALC* 基序远端的第 3 个 Cys (Cys-80),它作为一个开关,通过氧化修饰将 red-*MIF* 转化为 ox*MIF*。抗 ox*MIF* 抗体可以结合 ox*MIF* 亚型三聚体核心通道表位,阻断多条 *MIF* 相关信号通路,有效减少肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭、血管生成等<sup>[30]</sup>。有证据表明抗 ox*MIF* 抗体也能诱导细胞凋亡,改变免疫细胞功能和迁移能力<sup>[31,32]</sup>。ox*MIF* 与健康状态下的不同分布情况对于开发靶向 *MIF* 药物具有重要意义,靶向 ox*MIF* 药物不仅可以起到良好的疾病治疗作用,同时可以避免对正常组织和细胞产生毒性。此外,对于 ox*MIF* 与 red*MIF* 结构的深入分析对于进一步开发靶向 ox*MIF* 药物如小分子抑制剂等具有重要价值。因此,ox*MIF* 作为 *MIF* 的一种可靶向的亚型有望在炎性疾病和癌症中成为潜在的治疗新靶点。

## 2 分泌型 *MIF* 在肿瘤中的作用

大多数细胞因子存在一个 N 端信号肽,通过常规的内质网-高尔基体途径分泌。*MIF* 作为一种独特的细胞因子,其分泌方式区别于其他大部分细胞因子,*MIF* 通过非常规蛋白分泌 (unconventional protein secretion, UPS) 的替代途径释放<sup>[33]</sup>。分泌型 *MIF* 通过多种受体,包括与同源受体 CD74 以及 CXC 型趋化因子受体 2 (C-X-C motif chemokine receptor 2, CXCR2)、CXC 型趋化因子受体 4 (CXCR4)、CXC 型趋化因子受体 7 (CXCR7) 等非同源受体相互作用介导多条信号转导通路,通过促进肿瘤增殖、诱导凋亡抵抗、促进侵袭转移、诱导血管新生、诱发炎症以及维持免疫抑制性微环境等方式促进肿瘤的发生和发展<sup>[34]</sup> (图 2)。

### 2.1 分泌型 *MIF* 促进肿瘤增殖、抵抗细胞死亡 多项



**Figure 2** Hallmarks of cancer linked to the secretory *MIF*. Secretory *MIF* is involved in six core hallmarks of cancer: sustaining cell proliferation, resisting of apoptosis, activating cell invasion and metastasis, avoiding immune destruction, increasing angiogenesis, and inducing tumor-related inflammation

研究表明,分泌型 *MIF* 可以促进胃癌、肝癌、膀胱癌、黑色素瘤等多种肿瘤细胞增殖并抑制其死亡,是肿瘤细胞存活的关键促进因子<sup>[8,35-38]</sup>。这一功能主要由免疫细胞或基质细胞来源的外源性 *MIF* 和肿瘤细胞自分泌的 *MIF* 快速触发丝/苏氨酸蛋白激酶 B (AKT) 信号通路来实现。在这条信号通路中分泌型 *MIF* 首先与肿瘤细胞表面 CD74 受体特异性结合,随后启动共受体 CD44 向细胞膜的募集,引起两种蛋白胞质结构域磷酸化以启动下游信号转导,进而通过蛋白酪氨酸激酶 SRC 和磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K) 引起 AKT 信号通路激活,最终导致促凋亡蛋白 BAD 和 BAX 的磷酸化失活,使细胞能够抵抗凋亡<sup>[35-37]</sup>。分泌型 *MIF* 还可以通过与肿瘤细胞表面 CD74 受体结合引起丝裂原激活蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated protein kinases, MAPK/ERK) 信号通路的激活以及抑制 p53 活性与功能,进而促进肿瘤增殖和抵抗细胞死亡<sup>[8,38]</sup>。鉴于分泌型 *MIF* 通过与 CD74 受体结合介导多种信号转导通路促进多种肿瘤细胞增殖和抵抗细胞死亡,靶向 *MIF*/CD74 信号通路有望成为肿瘤治疗的新策略。

**2.2 分泌型 *MIF* 促进肿瘤侵袭和转移** 外源性 *MIF* 及肿瘤自分泌产生的 *MIF* 还可以促进肿瘤侵袭和转移,这种促转移作用已在胰腺导管腺癌、口腔鳞状细胞

癌、乳腺癌等多种癌症中报道<sup>[6,39,40]</sup>。Wang等<sup>[6]</sup>阐明了MIF/AKT/ERK/cyclin D1/MMP-2信号转导通路驱动胰腺导管腺癌转移的机制。他们发现分泌型MIF通过与肿瘤细胞表面特异性受体CD74结合引起上述信号通路的激活,增强细胞周期蛋白D1(cyclin D1)和基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)的活性和表达来促进肿瘤细胞侵袭和转移。在口腔鳞状细胞癌的一项研究中发现,MIF通过增加MMP-2以及MMP-9的表达促进肿瘤细胞侵袭和转移<sup>[39]</sup>。此外研究还证实,分泌型MIF通过调节高迁移率族蛋白B1/Toll样受体4(high mobility group protein 1/Toll-like receptor 4, HMGB1/TLR4)轴在体内促进乳腺癌细胞迁移和乳腺癌肺转移。分泌型MIF触发肿瘤细胞生成活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)并磷酸化膜蛋白caveolin-1,进而诱导HMGB1由细胞核逐步释放至细胞外基质中,激活肿瘤细胞表面TLR4信号转导通路,引起核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)磷酸化,进而促进MMP-2的表达<sup>[40]</sup>。综上所述,分泌型MIF可以通过增加肿瘤细胞中促肿瘤转移蛋白的表达增强肿瘤细胞的侵袭和转移能力。

**2.3 分泌型MIF促进并维持肿瘤免疫抑制微环境** 研究发现肿瘤来源的分泌型MIF在髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)以及肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)的募集中发挥重要作用<sup>[41]</sup>。在实体瘤中肿瘤分泌的MIF与巨噬细胞表面的CD74和CXCR7受体相互作用激活下游信号通路,有效地使肿瘤微环境中TAMs向免疫抑制、促血管生成和促肿瘤的M2表型极化,促进肿瘤免疫抑制性微环境(tumor microenvironment, TME)的形成<sup>[42,43]</sup>。研究发现,A549R、H460R等顺铂耐药细胞株与TAMs共培养可以通过SRC/CD155/MIF信号转导通路促进肿瘤相关巨噬细胞M2极化,而M2型TAMs反过来又可以增强肿瘤细胞中MIF的表达<sup>[4]</sup>。肿瘤分泌的MIF以CXCR2受体依赖的方式诱导中性粒细胞向肿瘤微环境中募集,促进中性粒细胞向促肿瘤表型发生转化,进而促进并维持肿瘤免疫抑制微环境<sup>[44]</sup>。TAMs、MDSCs及中性粒细胞在肿瘤微环境中的聚集会诱导肿瘤免疫抑制性微环境的形成,减少T细胞的浸润以及抑制T细胞的活化,进而抑制其发挥抗肿瘤生物学功能<sup>[41]</sup>。值得注意的是,最新的一项研究发现CD36<sup>+</sup>肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)也可以分泌MIF为肝癌提供免疫抑制微环境<sup>[45]</sup>。在肝癌中,CD36<sup>+</sup>CAF通过脂质过氧化/p38/CEBPs轴介导MIF表达和分泌,以MIF和CD74依赖的方式招募CD33<sup>+</sup>MDSCs,进而抑制T细

胞介导的肿瘤免疫,促进免疫抑制微环境形成。分泌型MIF在肿瘤免疫抑制微环境形成中发挥的重要作用提示,MIF在肿瘤免疫治疗领域可能有巨大的潜在应用价值。

**2.4 分泌型MIF促进肿瘤血管新生** 大量研究表明,外源性以及肿瘤自分泌MIF通过与特异性受体CD74结合激活MAPK信号通路,刺激肿瘤细胞过度表达多种促血管生成因子包括白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、碱性成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor-basic, bFGF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等促进肿瘤血管新生<sup>[46]</sup>。血管内皮生长因子是目前研究最多的血管生成因子之一,研究表明MIF和VEGF在肝癌患者血清和癌组织中的表达与正常对照组相比均呈显著正相关<sup>[47]</sup>,MIF和VEGF表达之间的这种密切关系在胶质母细胞瘤中也有报道<sup>[48]</sup>。Bucala团队<sup>[49]</sup>证明了MIF和肿瘤血管生成之间更直接的联系,对B细胞淋巴瘤荷瘤小鼠给予抗MIF单克隆抗体与对照组相比,实验组显著减少了肿瘤血管生成数量而且减少了新生血管的直径。分泌型MIF在促肿瘤血管生成中的重要作用进一步丰富了MIF的促肿瘤生物学功能。

**2.5 分泌型MIF诱发炎症促进肿瘤进展** 炎症和癌症之间有着错综复杂的关系,先前大量研究已经表明炎症会促进肿瘤的发生和进展<sup>[50]</sup>。分泌型MIF作为一种促炎细胞因子,可以直接或间接地调节炎性细胞中其他促炎分子如IL-2、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF $\alpha$ )、干扰素 $\gamma$ (interferon gamma, IFN $\gamma$ )和IL-1 $\beta$ 的分泌,这些炎症因子的分泌不仅可以进一步放大炎症,还可以通过受体介导的方式激活NF- $\kappa$ B等信号转导通路,促进癌症的发生和进展<sup>[51,52]</sup>。因此,分泌型MIF的促肿瘤作用在一定程度上依赖于其促进癌症相关慢性炎症的能力。

**2.6 外泌体中的MIF促进肿瘤耐药以及远处转移** 外泌体是一种可由多种细胞分泌、大小为30~150 nm的细胞外囊泡,肿瘤来源的外泌体富含多种生物活性分子包括蛋白质、核酸、脂质等,可以用于细胞通讯并激活靶细胞中的信号转导通路,越来越多的证据表明肿瘤来源的外泌体参与了肿瘤生长、转移和耐药<sup>[53]</sup>。目前,已经发现MIF在替莫唑胺(temozolomide, TMZ)耐药脑胶质瘤细胞外泌体中表达上调。TMZ敏感细胞通过摄取外泌体中MIF下调组织金属蛋白酶抑制因子3(tissue inhibitors of metalloproteinase 3, TIMP3),进一步激活PI3K/AKT信号通路促进敏感细胞增殖和抑制细胞凋亡,从而在脑胶质瘤细胞间传递TMZ耐药特性<sup>[54]</sup>。另有研究显示,人胰腺导管癌细胞释放的外

泌体中高表达 MIF, 其通过血液运输到肝脏, 肝脏 Kupffer 细胞选择性摄取富含 MIF 的外泌体, 引起转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 分泌增加, 通过 TGF- $\beta$  信号转导通路促进肝星形细胞合成连接蛋白, 纤连蛋白的沉积促进 MDSCs 和中性粒细胞在肝脏浸润, 这在肝脏创造出一个转移前生态位, 有利于胰腺导管癌细胞发生肝转移<sup>[10]</sup>。此外, MIF 同样高表达于非小细胞肺癌的外泌体中, 但其在肿瘤中的功能还没有相关报道<sup>[55]</sup>。目前, 关于外泌体中 MIF 如何介导肿瘤细胞增殖、抵抗死亡、转移、侵袭等方面的研究还较少, 尚需进一步的探索。但可以预见的是, 外泌体中存在 MIF 为 MIF 可以进入目的细胞内发挥相应的生物学功能提供了基础。

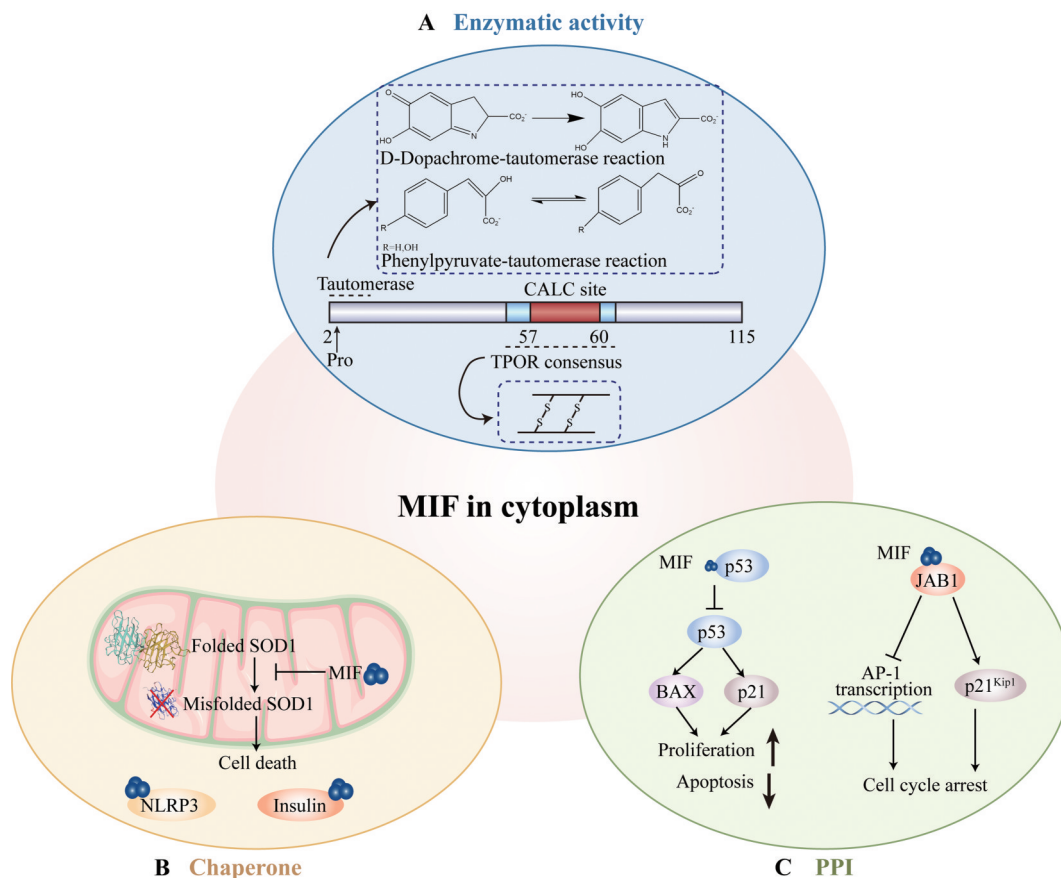
### 3 定位于细胞浆的 MIF 在肿瘤中的作用

与抗原刺激后分泌的其他细胞因子不同, MIF 不断表达并储存在细胞内, 目前研究已经发现细胞内 MIF 同样具有生物学活性并且发挥重要生物学功能, 其中细胞浆内的 MIF 既可以作为酶参与多种物质的催化过程, 而且可以作为分子伴侣调节其他蛋白的结构

和功能, 还可以直接与其他蛋白相互作用激活相应的信号转导通路 (图 3)。

**3.1 定位于细胞浆的 MIF 可发挥多种酶活性** 研究显示, 细胞浆内的 MIF 具有两种进化上保守的酶活性即互变异构酶活性和巯基-蛋白氧化还原酶 (thiol-protein oxidoreductase, TPOR) 活性, 它们由不同的催化中心所介导。MIF 的互变异构酶活性具有催化苯丙酮酸、对羟基苯丙酮酸和 *D*-多巴色素互变异构的能力, 这种活性需要 MIF 的 N 端脯氨酸作为催化残基<sup>[56,57]</sup>。而 TPOR 活性是通过位于 MIF 中心的保守的半胱氨酸 (Cys)-丙氨酸 (Ala)-亮氨酸 (Leu)-半胱氨酸 (Cys) 即 CALC 基序介导的<sup>[58]</sup>。目前, 尚未有研究发现 MIF 两种酶活性与疾病之间的关联, 但不可否认的是, 针对 MIF 酶活性位点设计的小分子抑制剂在肿瘤中显示出一定的治疗效果, 这提示研究者 MIF 酶活性位点对于 MIF 发挥其他生物学活性可能同样具有重要作用。

**3.2 定位于细胞浆的 MIF 可充当分子伴侣** 大量研究表明, MIF 作为分子伴侣参与多种蛋白质的折叠和组装过程, 对于相应蛋白结构和功能的维持发挥重要



**Figure 3** Biological function of MIF in cytoplasm. A: MIF plays enzymatic activity in cytoplasm, including tautomerase activity and TPOR activity; B: Cytoplasmic MIF also provides chaperone function for SOD1, NLRP3, and insulin for their correct folding; C: Cytoplasmic MIF directly interacts with different proteins to exert regulatory function. MIF-JAB1 interaction inhibits AP-1 transcriptional activation, while MIF-p53 interaction induces p53 degradation through promoting the binding of p53 with MDM2

作用<sup>[59]</sup>。细胞浆内 MIF 调节 Cu/Zn 超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 的折叠, 防止错误折叠突变体 SOD1 的积累, MIF 这一功能依赖于其分子伴侣样活性, 且其分子伴侣样活性与其两种酶催化活性无关<sup>[60-62]</sup>。在多发性骨髓瘤细胞的细胞浆内 MIF 以同源三聚体的形式作为 SOD1 的分子伴侣, 防止 SOD1 错误折叠突变体的形成和聚集以维持 SOD1 的正常结构和功能, 进而抑制过量 ROS 的产生以保证线粒体的正常功能活动, 这对于肿瘤细胞抵抗由于过量 ROS 积累所引起的细胞凋亡至关重要<sup>[63]</sup>。MIF 也参与 NLRP3 炎症体的激活过程, 其中 MIF 作为 NLRP3 的分子伴侣稳定蛋白结构和促进 NLRP3 与波形蛋白的相互作用<sup>[11]</sup>。还有文献报道, MIF 可以结合胰岛  $\beta$  细胞分泌颗粒中的胰岛素, 显著增加胰岛素六聚体的比例并且改变胰岛素的生物学活性, 进一步表明 MIF 作为分子伴侣在蛋白质折叠和构象维持中发挥重要作用<sup>[64]</sup>。目前, 尚未有研究明确阐明 MIF 作为分子伴侣在肿瘤发生和发展中的作用, MIF 是否作为分子伴侣影响更多种肿瘤相关蛋白的组装和折叠进而影响肿瘤发生发展进程具有重要研究价值。

**3.3 MIF 在细胞浆内通过蛋白-蛋白相互作用发挥抗肿瘤作用** 细胞浆内 MIF 可通过蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 发挥调控功能。MIF 特异性与细胞内蛋白 Jun 激活区域-连接蛋白 1 (c-Jun activation domain-binding protein-1, JAB1) 相互作用, 通过抑制核转录因子激活蛋白 1 (activator protein 1, AP-1) 的转录激活作用以及促进细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p27<sup>Kip1</sup> 的降解, 促进肿瘤增殖和抵抗细胞死亡<sup>[65]</sup>。此外, 细胞浆内 MIF 可以帮助肿瘤细胞逃避生长抑制因子, 从而促进肿瘤进展, MIF 在细胞浆内直接与 p53 相互作用, 通过稳定 p53 与 E3 泛素连接酶 MDM2 的结合直接降低 p53 水平, 导致细胞凋亡相关蛋白 p21 和 BAX 表达量降低, 从而抑制 p53 所引起的细胞周期阻滞和细胞凋亡, 促进肿瘤细胞增殖和抵抗死亡<sup>[66,67]</sup>。除以上两种蛋白外, MIF 还可以与细胞浆内多种蛋白发生相互作用如核糖体蛋白 S19、硫氧还蛋白互作蛋白等<sup>[68,69]</sup>, 进一步挖掘这些蛋白相互作用在肿瘤中的作用以及寻找更多 MIF 相互作用蛋白仍具有重要意义。

#### 4 定位于细胞核的 MIF 在肿瘤中的作用

在正常生理条件下, MIF 主要位于细胞浆内, 少量位于细胞核。而在一些应激条件下如高水平 DNA 复制应激会诱导 MIF 发生核易位, 研究发现 MIF 乙酰化与其核易位密切相关, MIF 第 78 位赖氨酸 (K78) 乙酰化可以减弱 MIF 与凋亡诱导因子 (apoptosis inducing

factor, AIF) 之间的相互作用, 从而抑制 MIF 核易位, 这一过程受到组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylase 6, HDAC6) 的调节<sup>[70]</sup>。研究表明, 进入细胞核内的 MIF 具有核酸酶活性, 而且可以与一些细胞核内蛋白如 p53 蛋白发生相互作用, 促进肿瘤细胞增殖和抵抗细胞死亡<sup>[71,72]</sup>。

**4.1 MIF 在细胞核内具有核酸酶活性** 2016 年, Wang 等<sup>[12]</sup>发现 MIF 可以作为一种核酸酶在细胞核内发挥生物学功能。MIF 由 AIF 招募到细胞核, 裂解基因组 DNA 以应对氧化应激和细胞 DNA 损伤。值得注意的是, MIF 核酸酶活性位点不同于其互变异构酶和巯基-蛋白氧化还原酶活性位点, MIF 的第一个  $\alpha$  螺旋中的谷氨酸对其核酸酶活性至关重要<sup>[12]</sup>。此前已有文献报道, 甲基硝基亚硝胍可以诱导 MIF 的核易位, 其中甲基硝基亚硝胍本身可以引起细胞 DNA 损伤, 说明 MIF 的核定位与基因组 DNA 损伤密切相关<sup>[73]</sup>。

**4.2 细胞核内 MIF 核酸酶活性介导基因组不稳定性** 和突变促进肿瘤进展 近期一项研究表明, 细胞核定位 MIF 借助其核酸酶活性在乳腺癌细胞应对高水平 DNA 复制应激中发挥关键作用。在 S 期, MIF 进入细胞核, 通过与聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 (poly ADP-ribose polymerase 1, PARP1) 相互作用被募集到 DNA 复制位点, MIF 识别和切割 Y 型 dsDNA 3' 端的错配核苷酸, 以抵抗肿瘤细胞在 S 期遭受的高水平 DNA 复制应激。MIF 核酸酶活性对核酸酶活性缺乏的 DNA 聚合酶介导的 DNA 链延长和保真至关重要, 可以防止肿瘤细胞 DNA 损伤和基因组不稳定, 而 MIF 较不活跃的校对活性还可以产生足够数量的突变以促进肿瘤发展<sup>[72]</sup>。早期研究显示, MIF 纯合缺失增加了 B 细胞淋巴瘤等多种类型肿瘤的发生, 表明 MIF 对正常细胞和癌细胞基因组稳定性的作用可能具有不同的致癌后果, 这与正常细胞中的基因组不稳定性被认为是肿瘤发生的关键驱动因素的观点一致<sup>[74]</sup>。除 DNA 高水平复制、DNA 损伤应激之外是否有其他刺激因素可以引起 MIF 的核易位, MIF 在细胞核内除核酸酶活性以及与核内蛋白发生相互作用外, 是否还有更多的生物学功能具有非常广阔的探索空间。

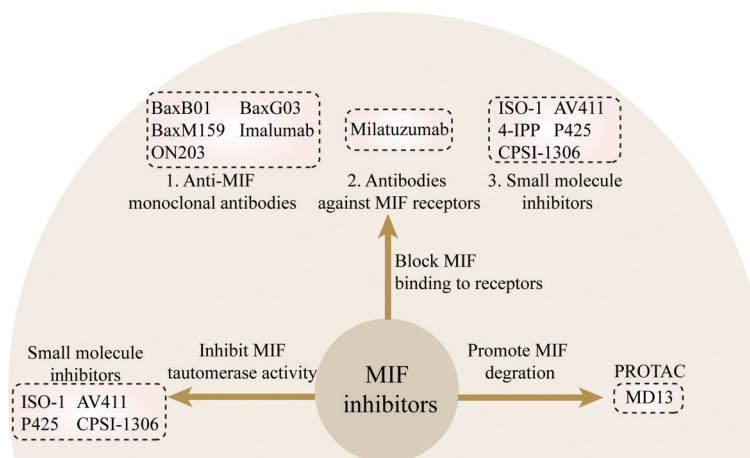
#### 5 靶向 MIF 的抗肿瘤药物研发进展

鉴于 MIF 在肿瘤进展中的病理作用日益被人们所认识, 基于靶向 MIF 的治疗策略已经成为肿瘤学的研究热点。目前, 主要通过 3 种策略对 MIF 进行靶向: ① 通过抗 MIF、抗 MIF 受体的中和抗体, 或小分子化合物抑制 MIF 作为分泌型细胞因子对下游信号的激活作用; ② 通过小分子化合物抑制 MIF 酶活性; ③ 通过 PROTAC 策略, 促进 MIF 降解。基于上述几种策略的

MIF 靶向药物已经在肿瘤等相关疾病中显示出治疗潜力(图4、表1<sup>[32,75-88]</sup>和表2)。

**5.1 靶向MIF的小分子抑制剂** ISO-1是首个MIF小分子拮抗剂,其通过与底物竞争互变异构酶位点来抑制其活性,并抑制MIF与下游信号通路蛋白之间的结合。最近一项研究表明,ISO-1在体外对胰腺癌细胞

的增殖、迁移和侵袭具有明显的抑制作用,且在体内异种移植瘤模型中显示出良好的抑制肿瘤生长的作用<sup>[75]</sup>。异丁司特(AV411)是一种非选择性的变构抗炎药。近期一项研究显示,异丁司特通过阻断MIF和CD74之间的相互作用阻断下游信号通路,并最终导致单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1,



**Figure 4** Schematic diagram for the therapeutic strategies of targeting MIF. Currently, there are three strategies targeting MIF: ① Monoclonal antibodies against MIF and MIF receptors, and small molecule compounds to block MIF binding to receptors; ② Inhibiting MIF enzyme activity by small molecule compounds; ③ Promoting MIF degradation through PROTAC strategy

**Table 1** Common inhibitors of MIF

Classification	Pharmacological approach	Chemical name	Mechanism	Reference
Small molecule inhibitor	ISO-1	( <i>S,R</i> )-3-(4-Hydroxyphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazole acetic acid methyl ester	Competitive inhibitor Binds to the tautomerase region of MIF, leading to structural changes that block MIF-CD74 binding and thus MIF function	[75]
	Ibudilast (also known as AV411)	1, 3-Isobuturyl-2-isopropylpyrazolo (1,5-a) pyridine	Allosteric inhibitor Blocks catalytic (tautomerase activity) and chemotactic functions of MIF	[76]
	4-IPP	4-Iodo-6-phenylpyrimidine	Irreversible inhibitor Covalently adducts MIF at N-terminal proline, altering their structure and preventing function	[77-81]
	P425	6,6'-[(3,3-Dimethoxy[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[4-amino-5-hydroxy-1,3-naphthalenedisulphonic acid] tetrasodium salt	Targets an area at the interface of two MIF trimers and inhibits MIF-CD74 interaction and tautomerase activity	[82]
	CPSI-1306	2-[3-(2,4-Difluorophenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]-1-(4-morpholinyl) ethanone	Competitive inhibitor Binds to the tautomerase region of MIF	[83,84]
PROTAC	IPG1094	Unknown	Unknown	
	MD13	8-((2-(2,6-Dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxoisindolin-4-yl)amino)- <i>N</i> -(4-(7-hydroxy-2-oxo-2 <i>H</i> -benzo[e][1,3]oxazin-3(4 <i>H</i> )-yl)phenyl) octanamide	Induces MIF degradation through binding to E3 ligase cereblon	[85]
Anti-MIF antibody	BaxB01, BaxG03, BaxM159	Anti-MIF monoclonal antibody	Reduced cell growth and viability by inhibiting MIF-induced phosphorylation of the central kinases p44/42 mitogen-activated protein kinase	[86]
	Imalumab (also known as BAX69), ON203	Anti-oxMIF monoclonal antibody	Regulate the steady level of circulating oxMIF and total MIF	[32,87]
Antibody directed against MIF receptors	Milatuzumab	Anti-CD74 monoclonal antibody	Prevents MIF from binding to CD74	[88]

**Table 2** MIF inhibitors in clinical trials. TMZ: Temozolomide; GBM: Glioblastoma multiforme; VEGF: Vascular endothelial growth factor; CLL: Chronic lymphocytic leukemia; GVHD: Graft-versus-host disease; AML: Acute myeloid leukemia; ALL: Acute lymphoblastic leukemia; NSCLC: Non-small cell lung cancer

Title	Status	Condition	Intervention	NCT number
<b>Anti-MIF intervention</b>				
Phase I study of anti-MIF antibody in solid tumors	Completed	· Metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum · Malignant solid tumors	Biological: anti-MIF antibody	NCT01765790
Study to evaluate ibudilast and TMZ combo treatment in newly diagnosed and recurrent glioblastoma	Active, not recruiting	· Glioblastoma · Recurrent glioblastoma · GBM · Newly diagnosed glioblastoma	Drug: MN-166 Drug: temozolomide	NCT03782415
Phase II a study of BAX69 and 5-FU/leucovorin or panitumumab <i>versus</i> standard of care in subjects with metastatic colorectal cancer	Terminated	· Metastatic colorectal cancer	Biological: BAX69 + infusional 5-FU/LV Biological: BAX69 + panitumumab Biological: BAX69 + 5-FU/LV	NCT02448810
Axitinib for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma	Completed	· Hepatocellular carcinoma	Drug: axitinib (AG-013736) Other: best supportive care Drug: placebo	NCT01210495
Cardiorespiratory fitness in children and adolescents after cancer treatment	Recruiting	· All types of ediatric cancer	Behavioral: experimental: moderate to high-intensity exercise	NCT04765020
Phase I/II a two-arm dose-escalation study of BAX69 in subjects with malignant ascites of ovarian cancer	Terminated	· Refractory ovarian cancer with recurrent symptomatic malignant ascites	Biological: BAX69 single-route arm Biological: BAX69 double-route arm	NCT02540356
<b>Anti-CD74 intervention</b>				
Effect of expression of CD74 and VEGF on outcome of treatment in patients with malignant pleural mesothelioma	Unknown	· Malignant pleural mesothelioma	Other: CD74, VEGF detection	NCT02761863
Vascularity impact on the treatment outcome in malignant pleural mesothelioma	Completed	· Malignant pleural mesotheliomas	Other: marker CD74 and VEGF	NCT02603315
Phase I trial of anti-CD74 (hLL1) antibody therapy in B cell malignancies	Completed	· Non-hodgkin lymphoma · CLL	Drug: hLL1	NCT00504972
Phase I/II study of different doses and dose schedules of milatuzumab (hLL1) in CLL	Completed	· CLL	Biological: milatuzumab	NCT00603668
Phase I study of milatuzumab for GVHD	Terminated	· GVHD (acute or chronic) · AML or ALL · Myelodysplastic syndrome	Drug: milatuzumab	NCT01663766
The humanized monoclonal antibody milatuzumab for refractory CLL	Unknown	· CLL	Drug: milatuzumab	NCT00868478
Veltuzumab and milatuzumab in treating patients with relapsed or refractory B-cell non-hodgkin lymphoma	Completed	· Lymphoma	Biological: milatuzumab Biological: veltuzumab Procedure: correlative/special studies	NCT00989586
MIF involvement in AML	Active, not recruiting	· AML	NA	NCT03918655
An open-label, multicenter, phase II study of LDK378 in patients with NSCLC harboring ROS1 rearrangement	Unknown	· NSCLC	Drug: LDK378	NCT01964157
A study of LDK378 in patients with NSCLC harboring ROS1 rearrangement	Unknown	· NSCLC harboring ROS1 rearrangement	Drug: LDK378 (ceritinib)	NCT03399487
A study of hLL1-DOX (milatuzumab-doxorubicin antibody-drug conjugate) in patients with multiple myeloma	Terminated	· Multiple myeloma	Drug: hLL1-DOX	NCT01101594
Phase I/II study of hLL1 in multiple myeloma	Completed	· Multiple myeloma · Myeloma, plasma-cell · Plasmacytoma	Biological: milatuzumab	NCT00421525
Bortezomib, mitoxantrone, etoposide, and cytarabine in relapsed or refractory AML	Completed	· Adult acute megakaryoblastic leukemia (M7) · Adult acute minimally differentiated myeloid leukemia (M0) · Adult acute monoblastic leukemia (M5a)	Drug: bortezomib Drug: mitoxantrone hydrochloride Drug: etoposide	NCT01127009

Continued

Title	Status	Condition	Intervention	NCT number
Ixazomib, mitoxantrone hydrochloride, etoposide, and intermediate-dose cytarabine in relapsed or refractory AML	Completed	· Recurrent adult AML · Refractory AML	Drug: ixazomib Drug: mitoxantrone hydrochloride Drug: etoposide Drug: cytarabine	NCT02070458
MLN 9708 in induction and consolidation for adults with AML $\geq$ 60 years of age	Completed	· AML	Drug: MLN9708 Drug: cytarabine Drug: daunorubicin	NCT02582359
Study of STRO-001, an anti-CD74 antibody drug conjugate, in patients with advanced B-cell malignancies	Active, not recruiting	· B-cell lymphoma · Non-hodgkin lymphoma · Multiple myeloma	Drug: STRO-001	NCT03424603

MCP-1) 分泌减少, 抑制单核细胞和 MDSCs 向肿瘤微环境募集, 阻碍肿瘤免疫抑制微环境形成, 在动物水平显示出抑制神经胶质母细胞瘤增殖的效果<sup>[76]</sup>。4-IPP 是一种不可逆的 MIF 抑制剂, 研究表明 4-IPP 可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 途径显著降低骨肉瘤细胞的增殖和转移<sup>[77]</sup>。在结肠腹膜癌的研究中发现, 4-IPP 通过阻断 MIF/CD74/AMPK 信号转导通路诱导肿瘤细胞死亡<sup>[78]</sup>。也有研究显示, 在体内异种移植瘤模型中, 4-IPP 联合放疗对胶质母细胞瘤具有明显的抑制作用<sup>[79]</sup>。4-IPP 还可以通过阻断 MIF/CXCR4 信号转导通路抑制转移性神经母细胞瘤的增殖以及抑制其向骨髓转移<sup>[80]</sup>。4-IPP 也可以通过阻断 MIF/CD74 内化, 进而激活 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK), 抑制甲状腺肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡<sup>[81]</sup>。P425 是一种新型的碘化偶氮化合物, 通过疏水作用与 MIF 结合, 阻断 MIF/CD74 复合物的形成<sup>[82]</sup>。CPSI-1306 是一种低分子量异恶唑啉, 可以与 MIF 互变异构酶活性位点结合并抑制其活性, CPSI-1306 可以抑制 MIF 介导的血管生成因子表达, 最大限度抑制肿瘤生长和进展, 在膀胱癌中具有一定的治疗意义<sup>[83]</sup>。此外在三阴性乳腺癌的研究中发现, CPSI-1306 在体外对三阴性乳腺癌细胞的生长具有抑制作用。在体内研究中, CPSI-1306 能降低原位小鼠乳腺癌模型中肿瘤生长和转移<sup>[84]</sup>。IPG1094 为全球首款获批临床的靶向 MIF 的小分子抑制剂, 可以阻断髓系细胞上受体 CD74 所介导的下游信号, 在实体瘤中可以有效抑制肿瘤免疫抑制微环境的形成, 促进抗肿瘤免疫反应, 有效抑制肿瘤生长, 目前正在进行成年健康受试者治疗实体肿瘤以及多发性骨髓瘤的 I 期临床试验 (NCT05112159)。

**5.2 靶向 MIF 降解的 PROTAC 分子** MD13 是最近开发的针对 MIF 互变异构酶活性位点设计的靶向 MIF 的 PROTAC, 可以特异性降解肿瘤细胞内的 MIF。在体外细胞实验中, MD13 显著抑制 A549 细胞的增殖, 其机制可能是通过阻断 MAPK 通路, 导致细胞周期阻滞于 G2/M 期, MD13 在体外成球实验中也表现出抗肿

瘤细胞增殖作用<sup>[85]</sup>。

**5.3 抗 MIF 单克隆抗体** BaxG03、BaxB01 和 BaxM159 是抗 MIF 的重组人源化单克隆抗体, BaxB01 与 MIF 的氧化还原酶结构域结合, 而 BaxG03 和 BaxM159 则与 MIF 的 C 端结合, 通过阻断 MIF 与 CD74 的结合抑制下游信号通路发挥抗肿瘤作用, 3 种中和抗体的体内外实验均显示出抑制前列腺癌增殖的能力<sup>[86]</sup>。Imalumab 是一种完全人源化的抗 MIF 单克隆抗体, 特异性与 oxMIF 相互作用。临床前研究已经发现 imalumab 具有显著的组织穿透和凋亡途径激活作用, 已经用于恶性肿瘤如转移性结直肠癌患者的 Ib/IIa 期临床试验, 但因之后研究停滞不前被迫终止<sup>[32]</sup>。ON203 是第二代抗 oxMIF 单抗, 临床前研究显示在前列腺癌小鼠异种移植模型中, ON203 显示出优于 imalumab 的疗效, 其在实体瘤中的治疗潜力值得进一步开展临床评估<sup>[87]</sup>。

**5.4 抗 MIF 受体单克隆抗体** MIF 的同源受体 CD74 在大多数肿瘤中过度表达, 目前已成为肿瘤治疗的重要靶点, milatuzumab 是第一个进入临床试验的抗 CD74 抗体, 目前正在研究用于治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病和多发性骨髓瘤, 临床研究显示 milatuzumab 和硼替佐米联合应用可提高多发性骨髓瘤患者的生存率<sup>[88]</sup>。

## 6 总结与展望

大量研究表明, MIF 与肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移、肿瘤免疫抑制性微环境形成、血管新生以及炎症促肿瘤等密切相关, 从多方面影响肿瘤的发生和演进, 因此, 靶向 MIF 的药物研发对于肿瘤治疗具有重要意义。MIF 既可以作为细胞因子存在于细胞外, 同时又以酶或者分子伴侣的形式存在于细胞浆, 还可以定位于细胞核发挥核酸酶活性, MIF 多样的亚细胞定位与其多样的生物学功能密切相关。然而, 细胞外、细胞浆、细胞核内的 MIF 具有什么内在联系? 细胞内外不同的应激因素在决定 MIF 亚细胞定位方面具有怎么样的作用和生物学意义? 定位于不同亚细胞结构的 MIF 在结构和表型上有什么样的区别? 这些问题都需要进一步的

研究和探索。

鉴于细胞不断产生和释放MIF,如何靶向MIF治疗相关疾病有以下问题值得思考:①用抗MIF中和抗体抑制细胞外MIF对细胞内MIF的产生会有什么影响;②能否在不影响血浆分泌型MIF的前提下开发特定靶向细胞浆或细胞核MIF的药物用于治疗相关疾病;③如果能确定介导MIF发生氧化修饰的酶,是否可从靶向该酶的角度实现对oxMIF的靶向?④鉴于MIF的多样化促肿瘤作用,直接利用PROTAC策略促进MIF降解、降低MIF的总体水平可能是一种更为全面、有效的治疗方向;⑤利用脂质体载体、聚合物载体、无机纳米载体、外泌体等形式将抗MIF抗体递送进入细胞也是MIF靶向药物研发具有潜力的方向。深入理解MIF既是细胞因子又是细胞内效应因子,进而差异化地对MIF特定功能进行靶向,将有助于对肿瘤等疾病设计更精准、有效的治疗策略。

**作者贡献:** 张欢、杨辰负责文献检索、文章撰写和图表绘制;尚爽、吕晓希对文章内容和绘图进行建议和指导;花芳提出文章总体构思,指导文章撰写、并对文章结构、逻辑、文字和图表质量进行最终把关。

**利益冲突:** 所有作者无任何经济利益或版权冲突。

## References

- [1] Klemke L, De Oliveira T, Witt D, et al. Hsp90-stabilized MIF supports tumor progression *via* macrophage recruitment and angiogenesis in colorectal cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12: 155.
- [2] He XX, Chen K, Yang J, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes colorectal cancer [J]. *Mol Med*, 2009, 15: 1-10.
- [3] He XX, Yang J, Ding YW, et al. Increased epithelial and serum expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in gastric cancer: potential role of MIF in gastric carcinogenesis [J]. *Gut*, 2006, 55: 797-802.
- [4] Huang WC, Kuo KT, Wang CH, et al. Cisplatin resistant lung cancer cells promoted M2 polarization of tumor-associated macrophages *via* the SRC/CD155/MIF functional pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38: 180.
- [5] Krockenberger M, Dombrowski Y, Weidler C, et al. Macrophage migration inhibitory factor contributes to the immune escape of ovarian cancer by down-regulating NKG2D [J]. *J Immunol*, 2008, 180: 7338-7348.
- [6] Wang D, Wang R, Huang A, et al. Upregulation of macrophage migration inhibitory factor promotes tumor metastasis and correlates with poor prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40: 2628-2636.
- [7] Yaddanapudi K, Rendon BE, Lamont G, et al. MIF is necessary for late-stage melanoma patient MDSC immune suppression and differentiation [J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4: 101-112.
- [8] Cavalli E, Ciurleo R, Petralia MC, et al. Emerging role of the macrophage migration inhibitory factor family of cytokines in neuroblastoma. Pathogenic effectors and novel therapeutic targets? [J]. *Molecules*, 2020, 25: 1194.
- [9] Morand EF, Leech M, Bernhagen J. MIF: a new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5: 399-410.
- [10] Costa-Silva B, Aiello NM, Ocean AJ, et al. Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 816-826.
- [11] Lang T, Lee JPW, Elgass K, et al. Macrophage migration inhibitory factor is required for NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 2223.
- [12] Wang Y, An R, Umanah GK, et al. A nuclease that mediates cell death induced by DNA damage and poly(ADP-ribose) polymerase-1 [J]. *Science*, 2016, 354: aad6872.
- [13] Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity [J]. *Science*, 1966, 153: 80-82.
- [14] Kang I, Bucala R. The immunobiology of MIF: function, genetics and prospects for precision medicine [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15: 427-437.
- [15] Sun HW, Bernhagen J, Bucala R, et al. Crystal structure at 2.6-Å resolution of human macrophage migration inhibitory factor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93: 5191-5196.
- [16] Mora Barthelmess R, Stijlemans B, Van Ginderachter JA. Hallmarks of cancer affected by the MIF cytokine family [J]. *Cancers*, 2023, 15: 395.
- [17] Merk M, Mitchell RA, Endres S, et al. *D*-Dopachrome tautomerase (*D*-DT or MIF-2): doubling the mif cytokine family [J]. *Cytokine*, 2012, 59: 10-17.
- [18] Merk M, Zierow S, Leng L, et al. The *D*-dopachrome tautomerase (*D*-DT) gene product is a cytokine and functional homolog of macrophage migration inhibitory factor (MIF) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108: E577-E585.
- [19] Lu S, Wei X, Tao L, et al. A novel tRNA-derived fragment TRF-3022b modulates cell apoptosis and M2 macrophage polarization *via* binding to cytokines in colorectal cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15: 176.
- [20] Noe JT, Mitchell RA. MIF-dependent control of tumor immunity [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 609948.
- [21] Park H, Kam TI, Peng H, et al. PAAAN/MIF nuclease inhibition prevents neurodegeneration in Parkinson's disease [J]. *Cell*, 2022, 185: 1943-1959.e21.
- [22] Xie CY, Wang XK, You XF. Research progress in drugs for treating sepsis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 413-420.
- [23] Garcia-Orozco A, Martinez-Magana IA, Riera-Leal A, et al. Macrophage inhibitory factor (MIF) gene polymorphisms are associated with disease susceptibility and with circulating MIF

- levels in active non-segmental vitiligo in patients from Western Mexico [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8: e1416.
- [24] Chuo D, Lin D, Yin M, et al. Genetic variants of the MIF gene and susceptibility of rectal cancer [J]. *Pharmgenomics Pers Med*, 2021, 14: 55-60.
- [25] El-Mahdy RI, Saleem TH, Essam OM, et al. Functional variants in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor rs755622 gene (MIF G173C) among patients with heart failure: association with echocardiographic indices and disease severity [J]. *Heart Lung*, 2021, 50: 92-100.
- [26] Savva A, Brouwer MC, Roger T, et al. Functional polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor as predictors of morbidity and mortality of pneumococcal meningitis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 3597-3602.
- [27] Yao J, Leng L, Sauler M, et al. Transcription factor ICBP90 regulates the MIF promoter and immune susceptibility locus [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126: 732-744.
- [28] Thiele M, Kerschbaumer RJ, Tam FW, et al. Selective targeting of a disease-related conformational isoform of macrophage migration inhibitory factor ameliorates inflammatory conditions [J]. *J Immunol*, 2015, 195: 2343-2352.
- [29] Thiele M, Donnelly SC, Mitchell RA. OxMIF: a druggable isoform of macrophage migration inhibitory factor in cancer and inflammatory diseases [J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10: e005475.
- [30] Skeens E, Gadzik-Shea M, Shah D, et al. Redox-dependent structure and dynamics of macrophage migration inhibitory factor reveal sites of latent allostery [J]. *Structure*, 2022, 30: 840-850.e6.
- [31] Schinagl A, Thiele M, Douillard P, et al. Oxidized macrophage migration inhibitory factor is a potential new tissue marker and drug target in cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 73486-73496.
- [32] Mahalingam D, Patel MR, Sachdev JC, et al. Phase I study of imalumab (bax69), a fully human recombinant antioxidantized macrophage migration inhibitory factor antibody in advanced solid tumours [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2020, 86: 1836-1848.
- [33] Hoffmann A, Bernhagen J. Revisiting the secretion mechanism(s) of macrophage migration inhibitory factor-welcome to the "ups club" [J]. *Immunol Cell Biol*, 2020, 98: 704-708.
- [34] Penticuff JC, Woolbright BL, Sielecki TM, et al. MIF family proteins in genitourinary cancer: tumorigenic roles and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Urol*, 2019, 16: 318-328.
- [35] Li GQ, Xie J, Lei XY, et al. Macrophage migration inhibitory factor regulates proliferation of gastric cancer cells *via* the PI3K/AKT pathway [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 5541-5548.
- [36] Lue H, Thiele M, Franz J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes cell survival by activation of the AKT pathway and role for CSN5/JAB1 in the control of autocrine MIF activity [J]. *Oncogene*, 2007, 26: 5046-5059.
- [37] Oliveira CS, de Bock CE, Molloy TJ, et al. Macrophage migration inhibitory factor engages PI3K/AKT signalling and is a prognostic factor in metastatic melanoma [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 630.
- [38] Lue H, Kapurniotu A, Fingerle-Rowson G, et al. Rapid and transient activation of the ERK MAPK signalling pathway by macrophage migration inhibitory factor (MIF) and dependence on JAB1/CSN5 and SRC kinase activity [J]. *Cell Signal*, 2006, 18: 688-703.
- [39] Wang SS, Zheng M, Pang X, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes the invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma through matrix metalloprotein-2/9 [J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58: 1809-1821.
- [40] Lv W, Chen N, Lin Y, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes breast cancer metastasis *via* activation of HMGB1/TLR4/NFκB axis [J]. *Cancer Lett*, 2016, 375: 245-255.
- [41] Drews-Elger K, Iorns E, Dias A, et al. Infiltrating S100A8<sup>+</sup> myeloid cells promote metastatic spread of human breast cancer and predict poor clinical outcome [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 148: 41-59.
- [42] Zhao J, Li H, Zhao S, et al. Epigenetic silencing of miR-144/451a cluster contributes to HCC progression *via* paracrine HGF/MIF-mediated TAM remodeling [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20: 46.
- [43] Gutierrez-Gonzalez A, Martinez-Moreno M, Samaniego R, et al. Evaluation of the potential therapeutic benefits of macrophage reprogramming in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2016, 128: 2241-2252.
- [44] Dumitru CA, Gholaman H, Trellakis S, et al. Tumor-derived macrophage migration inhibitory factor modulates the biology of head and neck cancer cells *via* neutrophil activation [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129: 859-869.
- [45] Zhu GQ, Tang Z, Huang R, et al. CD36<sup>+</sup> cancer-associated fibroblasts provide immunosuppressive microenvironment for hepatocellular carcinoma *via* secretion of macrophage migration inhibitory factor [J]. *Cell Discov*, 2023, 9: 25.
- [46] Zhang J, Zhang G, Yang S, et al. Macrophage migration inhibitory factor regulating the expression of VEGF-C through MAPK signal pathways in breast cancer MCF-7 cell [J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14: 51.
- [47] Wang D, Luo L, Chen W, et al. Significance of the vascular endothelial growth factor and the macrophage migration inhibitory factor in the progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31: 1199-1204.
- [48] Munaut C, Boniver J, Foidart JM, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression in human glioblastomas correlates with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2002, 28: 452-460.
- [49] Chesney J, Metz C, Bacher M, et al. An essential role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) in angiogenesis and the growth of a murine lymphoma [J]. *Mol Med*, 1999, 5: 181-191.

- [50] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144: 646-674.
- [51] Gunther S, Fagone P, Jalce G, et al. Role of MIF and D-DT in immune-inflammatory, autoimmune, and chronic respiratory diseases: from pathogenic factors to therapeutic targets [J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24: 428-439.
- [52] Karin M. Nuclear factor- $\kappa$ B in cancer development and progression [J]. *Nature*, 2006, 441: 431-436.
- [53] Liu J, Ren L, Li S, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 2783-2797.
- [54] Wei QT, Liu BY, Ji HY, et al. Exosome-mediated transfer of MIF confers temozolomide resistance by regulating TIMP3/PI3K/AKT axis in gliomas [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 22: 114-128.
- [55] Pan D, Chen J, Feng C, et al. Preferential localization of MUC1 glycoprotein in exosomes secreted by non-small cell lung carcinoma cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 323.
- [56] Rosengren E, Aman P, Thelin S, et al. The macrophage migration inhibitory factor MIF is a phenylpyruvate tautomerase [J]. *FEBS Lett*, 1997, 417: 85-88.
- [57] Rosengren E, Bucala R, Aman P, et al. The immunoregulatory mediator macrophage migration inhibitory factor (MIF) catalyzes a tautomerization reaction [J]. *Mol Med*, 1996, 2: 143-149.
- [58] Kleemann R, Kapurniotu A, Frank RW, et al. Disulfide analysis reveals a role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) as thiol-protein oxidoreductase [J]. *J Mol Biol*, 1998, 280: 85-102.
- [59] Harris J, VanPatten S, Deen NS, et al. Rediscovering MIF: new tricks for an old cytokine [J]. *Trends Immunol*, 2019, 40: 447-462.
- [60] Israelson A, Ditsworth D, Sun S, et al. Macrophage migration inhibitory factor as a chaperone inhibiting accumulation of misfolded SOD1 [J]. *Neuron*, 2015, 86: 218-232.
- [61] Leyton-Jaimes MF, Benaim C, Abu-Hamad S, et al. Endogenous macrophage migration inhibitory factor reduces the accumulation and toxicity of misfolded sod1 in a mouse model of ALS [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 10198-10203.
- [62] Shvil N, Banerjee V, Zoltsman G, et al. MIF inhibits the formation and toxicity of misfolded SOD1 amyloid aggregates: implications for familial ALS [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 107.
- [63] Wang Q, Zhao D, Xian M, et al. MIF as a biomarker and therapeutic target for overcoming resistance to proteasome inhibitors in human myeloma [J]. *Blood*, 2020, 136: 2557-2573.
- [64] Vujcic M, Senerovic L, Nikolic I, et al. The critical role of macrophage migration inhibitory factor in insulin activity [J]. *Cytokine*, 2014, 69: 39-46.
- [65] Kleemann R, Hausser A, Geiger G, et al. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through JAB1 [J]. *Nature*, 2000, 408: 211-216.
- [66] Sumaiya K, Langford D, Natarajaseenivasan K, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a multifaceted cytokine regulated by genetic and physiological strategies [J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 233: 108024.
- [67] Jung H, Seong HA, Ha H. Critical role of cysteine residue 81 of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in MIF-induced inhibition of p53 activity [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 20383-20396.
- [68] Filip AM, Klug J, Cayli S, et al. Ribosomal protein S19 interacts with macrophage migration inhibitory factor and attenuates its pro-inflammatory function [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 7977-7985.
- [69] Kim MJ, Kim WS, Kim DO, et al. Macrophage migration inhibitory factor interacts with thioredoxin-interacting protein and induces NF- $\kappa$ B activity [J]. *Cell Signal*, 2017, 34: 110-120.
- [70] Hu JX, Ma WJ, He LY, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) acetylation protects neurons from ischemic injury [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13: 466.
- [71] Fukaya R, Ohta S, Yaguchi T, et al. MIF maintains the tumorigenic capacity of brain tumor-initiating cells by directly inhibiting p53 [J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 2813-2823.
- [72] Wang Y, Chen Y, Wang C, et al. MIF is a 3' flap nuclease that facilitates DNA replication and promotes tumor growth [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 2954.
- [73] Xiao Z, Chen D, Mulder F, et al. 4-Iodopyrimidine labeling reveals nuclear translocation and nuclease activity for both MIF and MIF2 [J]. *Chemistry*, 2022, 28: e202103030.
- [74] Nemajerova A, Mena P, Fingerle-Rowson G, et al. Impaired DNA damage checkpoint response in MIF-deficient mice [J]. *EMBO J*, 2007, 26: 987-997.
- [75] Cheng B, Wang Q, Song Y, et al. MIF inhibitor, ISO-1, attenuates human pancreatic cancer cell proliferation, migration and invasion *in vitro*, and suppresses xenograft tumour growth *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 6741.
- [76] Alban TJ, Bayik D, Otvos B, et al. Glioblastoma myeloid-derived suppressor cell subsets express differential macrophage migration inhibitory factor receptor profiles that can be targeted to reduce immune suppression [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1191.
- [77] Zheng L, Feng Z, Tao S, et al. Destabilization of macrophage migration inhibitory factor by 4-IPP reduces NF- $\kappa$ B/p-TEFB complex-mediated c-MYB transcription to suppress osteosarcoma tumourigenesis [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12: e652.
- [78] Bozzi F, Mogavero A, Varinelli L, et al. MIF/CD74 axis is a target for novel therapies in colon carcinomatosis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36: 16.
- [79] Lee SH, Kwon HJ, Park S, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) inhibitor 4-IPP downregulates stemness phenotype and mesenchymal trans-differentiation after irradiation in glioblastoma multiforme [J]. *PLoS One*, 2021, 16: e0257375.
- [80] Garcia-Gerique L, Garcia M, Garrido-Garcia A, et al. MIF/CXCR4 signaling axis contributes to survival, invasion, and drug resistance of metastatic neuroblastoma cells in the bone marrow microenvironment [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22: 669.
- [81] Varinelli L, Caccia D, Volpi CC, et al. 4-IPP, a selective MIF

- inhibitor, causes mitotic catastrophe in thyroid carcinomas [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22: 759-775.
- [82] Bai F, Asojo OA, Cirillo P, et al. A novel allosteric inhibitor of macrophage migration inhibitory factor (MIF) [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 30653-30663.
- [83] Choudhary S, Hegde P, Pruitt JR, et al. Macrophage migratory inhibitory factor promotes bladder cancer progression *via* increasing proliferation and angiogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 2891-2899.
- [84] Charan M, Das S, Mishra S, et al. Macrophage migration inhibitory factor inhibition as a novel therapeutic approach against triple-negative breast cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 774.
- [85] Xiao Z, Song S, Chen D, et al. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) for macrophage migration inhibitory factor (MIF) has anti-proliferative activity in lung cancer cells [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60: 17514-17521.
- [86] Hussain F, Freissmuth M, Volkel D, et al. Human anti-macrophage migration inhibitory factor antibodies inhibit growth of human prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12: 1223-1234.
- [87] Rossmueller G, Mirkina I, Maurer B, et al. Preclinical evaluation of ON203, a novel bioengineered mAb targeting oxidized macrophage migration inhibitory factor as an anticancer therapeutic [J]. *Mol Cancer Ther*, 2023, 22: 555-569.
- [88] Berkova Z, Tao RH, Samaniego F. Milatuzumab-a promising new immunotherapeutic agent [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19: 141-149.