

下调 TSP1 表达抑制宫颈腺癌 HeLa 细胞生长及促血管生成能力的研究

张花, 潘莹, 何全中

新乡医学院第三附属医院妇产科, 河南 新乡 453000

【摘要】 目的 研究调控血小板反应蛋白 1 (TSP1) 的表达对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、迁移、凋亡、侵袭及促进内皮细胞成血管能力的影响。**方法** 构建表达 TSP1 基因的真核表达载体 pcDNA3.1-TSP1 及 siRNA-TSP1, 转染宫颈癌 HeLa 细胞, 实验共分为 TSP1 基因过表达组 (pcDNA3.1-TSP1 转染组)、TSP1 基因低表达组 (siRNA-TSP1 转染组) 和未转染组 (阴性对照组)。Real-time PCR、Western blot 检测各组细胞 TSP1 的表达, CCK-8、划痕实验、流式细胞术、Transwell 检测各组细胞生长情况, 体外血管形成实验检测各组细胞促血管生成能力。**结果** 与阴性对照组比较, pcDNA3.1-TSP1 组细胞 TSP1 mRNA 及蛋白表达上调, siRNA-TSP1 组细胞 TSP1 mRNA 及蛋白表达下调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); pcDNA3.1-TSP1 组 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭及体外促内皮细胞血管形成能力明显增强, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 但凋亡比例比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 siRNA-TSP1 组 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭及体外促内皮细胞血管形成能力均降低, 凋亡比例增加, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 下调 TSP1 的表达可抑制 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭及促进内皮细胞成血管能力, 促进细胞凋亡。上调 TSP1 则可促进 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭及体外促血管形成能力, 但对细胞凋亡无明显影响。

【关键词】 宫颈癌; 血小板反应蛋白-1; 过表达; 小干扰 RNA; 成血管

【中图分类号】 R737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2023)06-0768-06

Down-regulation of TSP1 expression negatively regulates the biological behavior and angiogenic ability of cervical cancer HeLa cells. ZHANG Hua, PAN Ying, HE Quan-zhong. Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the effect of regulating thrombospondin 1 (TSP1) expression on the proliferation, migration, apoptosis, invasion of cervical cancer HeLa cells and its ability to promote endothelial cell angiogenesis. **Methods** Eukaryotic expression vectors pcDNA3.1-TSP1 and siRNA-TSP1 were constructed. They were used to transfected the cervical cancer HeLa cells. The experiment was divided into TSP1 gene overexpression group (pcDNA3.1-TSP1 transfection group), TSP1 gene under-expression group (siRNA-TSP1 transfection group), and non-transfection group (control group). Real-time PCR and Western blot were used to detect the expression of TSP1 in each group. CCK-8, wound healing assay, flow cytometry, Transwell assay, and matrigel assay were used to determine the changes of biological behavior of each group. **Results** Compared with the control group, the expression of TSP1 mRNA and protein was up-regulated in pcDNA3.1-TSP1 group and down-regulated in siRNA-TSP1 group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the proliferation, migration, and invasion of HeLa cells and the ability to promote endothelial cell angiogenesis *in vitro* were significantly enhanced in pcDNA3.1-TSP1 group ($P < 0.05$); but there was no significant difference in the proportion of apoptosis between the two groups ($P > 0.05$). In the siRNA-TSP1 group, the proliferation, migration, and invasion of HeLa cells, and the ability to promote endothelial cell angiogenesis *in vitro* were sig-

通讯作者:张花(1987—),女,博士,主治医师,主要研究方向为宫颈癌防治研究,E-mail:zhang.hua19871013@163.com。

and LAMC2 in esophagealsquamous cell carcinoma [J].Journal of Baotou Medical College,2021, 37(4): 74-78.

鲁陈陈, 常晨, 刘东播, 等. P53 和多黏连细胞外基质蛋白 LAMC2 在食管鳞癌中的表达相关性研究[J]. 包头医学院学报, 2021, 37 (4): 74-78.

- [21] Zhou QH, Deng CZ, Chen JP, et al. Elevated serum LAMC2 is associated with lymph node metastasis and predicts poor prognosis in penile squamous cell carcinoma [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 2983-2995. doi: 10.2147/CMAR.S171912
- [22] Pei YF, Liu J, Cheng J, et al. Silencing of LAMC2 reverses epithelial-mesenchymal transition and inhibits angiogenesis in cholangiocar-

cinoma via inactivation of the epidermal growth factor receptor signaling pathway [J]. Am J Pathol, 2019, 189(8): 1637-1653.

- [23] Huang L, Wu RL, Xu AM. Epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. Am J Transl Res, 2015, 7(11): 2141-2158.
- [24] Lin H, Weng JY, Mei HT, et al. 5-Lipoxygenase promotes epithelial-mesenchymal transition through the ERK signaling pathway in gastric cancer [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2021, 36(2): 455-466.
- [25] Mao Z, Zhang J, Shi Y, et al. CXCL5 promotes gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition and activating neutrophils [J]. Oncogenesis, 2020, 9(7): 63.

(收稿日期:2022-06-08)

nificantly decreased compared with those in the control group, while apoptosis was increased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** Down-regulation of TSP1 expression can inhibit the proliferation, migration and invasion of HeLa cells, inhibit the ability to promote endothelial cell angiogenesis *in vitro*, and promote cell apoptosis. Up-regulation of TSP1 expression could promote the proliferation, migration and invasion of HeLa cells, improve the ability to promote endothelial cell angiogenesis *in vitro*, but has little effect on the apoptosis of HeLa cells.

【Key words】 Cervical cancer; Thrombospondin 1 (TSP1); Overexpression; siRNA; Angiogenesis

宫颈癌的高发病率及年轻化趋势使其成为一个日益加重的全球负担,是在世界范围内仅次于乳腺癌和结直肠癌的第三大女性恶性肿瘤,据统计,每年约有 56.9 万例新发病例^[1]。虽然随着近年来宫颈癌筛查及 HPV 疫苗的广泛应用,宫颈癌的发病率有所控制,但仍是严重影响全球女性健康的恶性肿瘤之一^[2]。目前临床上宫颈癌的治疗手段主要为手术、放疗、化疗。患者的生活质量尤其是晚期患者的生活质量普遍不高。转移性宫颈癌患者预后均较差,中位生存期为 8~13 个月。因此对于晚期宫颈癌患者急需寻求新的治疗手段来提高患者生存率及生活质量。血管生成是肿瘤进展的关键,在治疗晚期宫颈癌方面有巨大应用前景^[3-4]。

血小板反应蛋白 1 (thrombospondin 1, TSP1) 是一种内源性血管形成抑制因子,是调控血管形成的关键分子之一,在肿瘤微环境中发挥重要作用^[5]。研究发现 TSP1 对肿瘤细胞生物学行为的影响在不同肿瘤中存在差异,在同一种肿瘤不同组织学类型中发挥的作用也可不同^[6-8]。可能与 TSP1 在不同的肿瘤微环境中表达量不同,或与不同的受体结合而产生相反的生物学效应有关^[9]。宫颈癌常见的组织学类型为鳞癌和腺癌。研究者研究证实,在宫颈鳞癌发生发展过程中, TSP-1 的表达逐渐下降,过表达 TSP1 可抑制宫颈癌 SiHa 细胞的生长^[9]。目前 TSP1 在宫颈腺癌方面的作用研究较少。

本研究拟通过调控宫颈腺癌 HeLa 细胞 TSP1 的表达量,从细胞水平研究其对 HeLa 细胞生物学行为的影响,探索 TSP1 在宫颈腺癌方面发挥的作用,为晚期转移性宫颈癌的治疗提供新的靶点。

1 材料与方 法

1.1 主要细胞系与试剂 宫颈癌 HeLa 细胞购自北京协和医学院基础细胞中心,人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 购自武汉 Procell 生命科技有限公司,表达 TSP1 基因的真核表达载体 pcDNA3.1-TSP1、siRNA-TSP1 购自塞默斯生物科技有限公司, Lipofectamine™ 3000 购自 ThermoFisher, 反转录及 qPCR 试剂盒购自 Novoprotein, Annexin V PE/7-AAD 凋亡检测试剂盒购自 Solarbio, 兔抗人 TSP1 抗体购自 Abcam。

1.2 方 法

1.2.1 实验分组 共分为三组,即 TSP1 基因过表达组 (pcDNA3.1-TSP1 转染组)、TSP1 基因低表达组

(siRNA-TSP1 转染组) 和未转染组 (阴性对照组)。

1.2.2 细胞转染 将 Hala 细胞以 5×10^5 细胞/孔的浓度分别接种于 6 孔板, 10% FBS DMEM 培养基 37℃、5% CO₂ 培养 24 h。待细胞融合度达到 80% 进行转染。按照 Lipofectamine™ 3000 试剂说明书, 转染 HeLa 细胞, 孔板内培养基换成 DMEM 基础培养基, 分别配制两组体系: DMEM 基础培养基 125 μL + Lipofectamine™ 3000 3.75 μL、DMEM 基础培养基 125 μL + 质粒 DNA 2.5 μg + P3000 5 μL / DMEM 基础培养基 125 μL + siRNA 2.5 μg, 室温静置 5 min, 两组充分混匀, 室温静置 20 min 后加入孔板继续培养 48 h。

1.2.3 Real-time PCR 检测转染效果 常规消化收集转染 48 h 后的 HeLa 细胞, Total 法提取细胞总 RNA, Real-time PCR 法检测各组细胞中 TSP1 的表达。上游引物: TGGTGATGCCTGTGATGATGA, 下游引物: TGTTGTCTGTGTCTGCCTGAT。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示转染后细胞中 TSP1 mRNA 的相对表达量, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{TSP-1} - Ct_{内参})_{转染后} - (Ct_{TSP-1} - Ct_{内参})_{转染前}$ 。

1.2.4 Western blot 检查转染后 TSP1 蛋白的表达 常规消化收集转染 48 h 后的 HeLa 细胞, 提取细胞总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度, 依次进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、孵育一抗、二抗, 用 BeyoECL Plus 法在暗室中压片显色。兔抗人 TSP1 抗体稀释比例 1 : 1 000, 内参 PTEN 抗体稀释比例 1 : 500。

1.2.5 CCK-8 法检测各组细胞增殖能力 将 Hala 细胞于 1×10^4 细胞/孔的浓度接种 96 孔板。每孔 100 μL 培养基, 同时设空白孔, 按上述体系转染, 37℃、5% CO₂ 培养 48 h。弃去原培养基, PBS 清洗细胞两遍, 每孔加入 100 μL 新培养基和 10 μL CCK-8, 37℃ 培养 2 h。酶标仪测定各孔吸光值 OD₄₅₀。细胞存活率 = [(实验孔 - 空白孔) / (对照孔 - 空白孔)] × 100%。

1.2.6 细胞划痕实验 将 Hala 细胞以 5×10^5 细胞/孔的浓度接种 6 孔板, 按上述体系转染。48 h 后用 200 μL 枪头做划痕。用 PBS 洗细胞 3 次, 去除划下的细胞, 加入无血清培养基。放入 37℃、5% CO₂ 培养箱培养, 于 0 h、6 h、24 h 拍照。

1.2.7 流式细胞术检测调控 TSP1 表达对 HeLa 细胞凋亡的影响 取处于对数生长期 Hala 细胞, 接种于六孔板, 按上述体系转染。48 h 后收集细胞并计数。取 1×10^5 个细胞用 500 μL 稀释的 1 × Binding Buffer 悬

浮细胞。再向管中加入 5 μL Annexin V-PE 和 5 μL 7-AAD 染液。轻柔混匀,室温避光孵育 10 min。在 1 h 内用流式细胞仪检测。

1.2.8 Transwell 法检测各组细胞侵袭能力 在 24 孔板中预先加入 700 μL 含 10% FBS 的 DMEM 培养基,并放入 Transwell 小室,在 Transwell 上室分别接入 200 μL 转染后各组细胞悬液,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 48 h。PBS 清洗小室后用干净的棉球将上室一侧的未迁移的细胞擦干净。经甲醛固定、结晶紫染色后,于显微镜下观察,拍照。

1.2.9 检测各组细胞促 HUVECS 成血管能力 取处于对数生长期 HeLa 细胞,接种于 0.4 μm Transwell 小室内。按前述方法转染 48 h 后将各组细胞的小室分别放入铺有 HUVEC 细胞的 24 孔板内(提前 30 min 取处于对数生长期的 HUVEC 细胞,胰酶消化后改用基础培养基,计数 8×10^4 个细胞,接种于预先铺基质胶的 24 孔板内),同时设置空白对照组,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱共培养。于 4 h 拍照观察下室 HUVEC 细胞成管情况,统计成管节数和成管长度。

1.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 软件进行数据统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组样本均值比较采用单因素方差分析,两样本均值比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞转染效率 经 Real-time PCR 法检测结果显示,pcDNA3.1-TSP1 组 TSP1 的表达明显增加,与阴性对照组比较差异有统计学意义[(2.268 \pm 0.121) vs (1.002 \pm 0.080), $P < 0.05$]; siRNA-TSP1 组 TSP1 的表达明显下调,与阴性对照组比较差异有统计学意义[(0.828 \pm 0.052) vs (1.002 \pm 0.080), $P < 0.05$],见图 1。

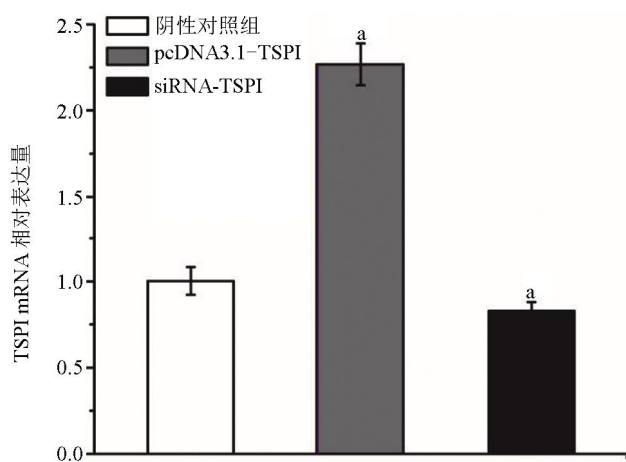


图 1 Real-time PCR 检测各组细胞 TSP1 mRNA 的相对表达量
Figure 1 The relative expression of TSP1 mRNA was detected by Real-time PCR

注:与阴性对照组比较, $^*P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, $^*P < 0.05$.

2.2 细胞转染后 TSP1 蛋白水平的表达 Western blot 法检测结果显示,转染 pcDNA3.1-TSP1 组 TSP1 蛋白的相对表达较阴性对照组增加[(0.373 \pm 0.009) vs (0.194 \pm 0.016)],而转染 siRNA-TSP1 组 TSP1 的表达下降[(0.113 \pm 0.012) vs (0.194 \pm 0.016)],差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

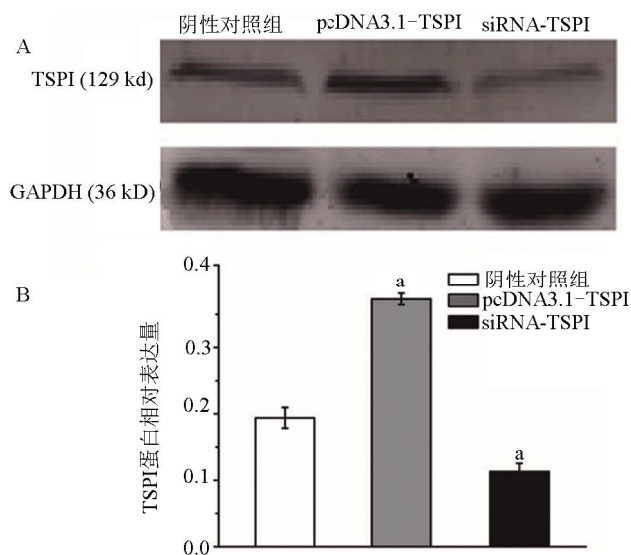


图 2 Western blot 检测各组细胞 TSP1 蛋白相对表达量(TSP1/GAPDH)
Figure 2 The relative expression of TSP1 protein (TSP1/GAPDH) in each group was determined by Western blot

注:A, Western blot 法检测各组细胞 TSP1 蛋白的表达;B, Quantity-one 软件分析目的条带灰度值,计算 TSP1 的相对表达量, TSP1 的相对表达量以 TSP1/GAPDH 表示,与阴性对照组比较, $^*P < 0.05$ 。

Note: A, The expression of TSP1 protein in each group was detected by western blot. B, Quantity-one software was used to analyze the grayscale value of the target strip. The relative expression of TSP1 was expressed as TSP1/GAPDH, $^*P < 0.05$ vs control group.

2.3 细胞增殖能力 CCK-8 法检测结果显示, pcDNA3.1-TSP1 组较阴性对照组细胞生存能力明显增加[(1.348 \pm 0.006) vs (0.828 \pm 0.052)],而 siRNA-TSP1 组较阴性对照组细胞生存能力明显下降[(0.608 \pm 0.014) vs (0.828 \pm 0.052)],差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

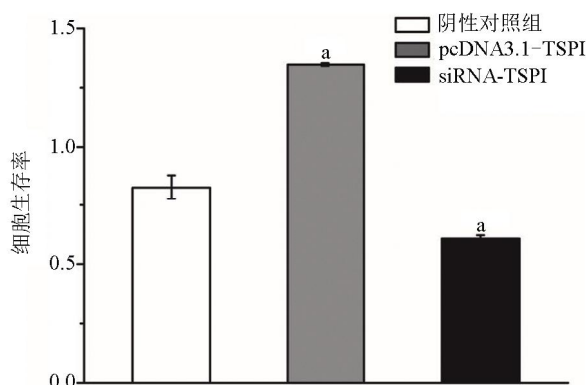


图 3 CCK-8 法检测 TSP1 对 HeLa 细胞增殖的影响
Figure 3 The effect of TSP1 on the proliferation of HeLa cells was detected by CCK-8 assay

注:与阴性对照组比较, $^*P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, $^*P < 0.05$.

2.4 下调TSP1基因表达后的细胞凋亡情况 流式细胞术结果(图4)显示,pcDNA3.1-TSP1组细胞凋亡比例与阴性对照组比较[(0.330±0.031) vs (0.745±0.025), $P>0.05$]差异无统计学意义。siRNA-TSP1组细胞凋亡比例与阴性对照组比较则明显增加[(10.843±0.628) vs (0.745±0.025)],差异有统计学意义($P<0.05$)。

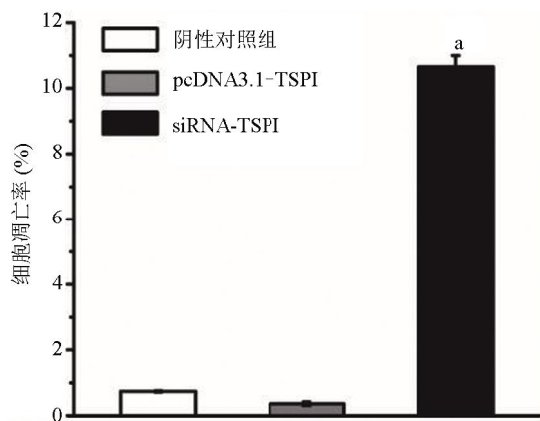


图4 流式细胞术检测各组细胞凋亡率

Figure 4 The apoptosis rate was detected by flow cytometry

注:与阴性对照组比较, $^*P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, $^*P<0.05$.

2.5 下调TSP1基因表达后的细胞迁移能力 细胞划痕实验结果(图5)显示,随时间增加,转染

pcDNA3.1-TSP1组划痕间距比阴性对照组小[6 h: (0.697±0.004) vs (0.769±0.033); 24 h: (0.268±0.014) vs (0.370±0.012)],转染siRNA-TSP1组则较阴性对照组大[6 h: (0.882±0.003) vs (0.769±0.033); 24 h: (0.438±0.016) vs (0.370±0.012)],差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.6 下调TSP1基因表达后的HeLa细胞侵袭能力 Transwell结果(图6)显示,pcDNA3.1-TSP1组迁移和侵袭到Transwell小室下层的细胞数量较阴性对照组多[(854 390.333±60 371.128) vs (542 680.000±31 301.518)],而转染siRNA-TSP1组则少于阴性对照组[(174 924.000±5 639.139) vs (542 680.000±31 301.518)],差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.7 下调TSP1表达后HeLa细胞体外促HUVECs成血管能力 如图7所示,体外成血管实验结果显示,pcDNA3.1-TSP1组细胞与HUVECs共培养后形成血管数目及成管长度较阴性对照组明显增加[成管节数:(36.000±1.000) vs (26.667±2.404);成管长度:(321.667±2.333) vs (264.667±7.535), $P<0.01$],而siRNA-TSP1组细胞与HUVECs共培养后成管节数和成管长度较阴性对照组降低[成管节数:(15.000±1.528) vs (26.667±2.404);成管长度:(203.333±3.930) vs (264.667±7.535), $P<0.01$],差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

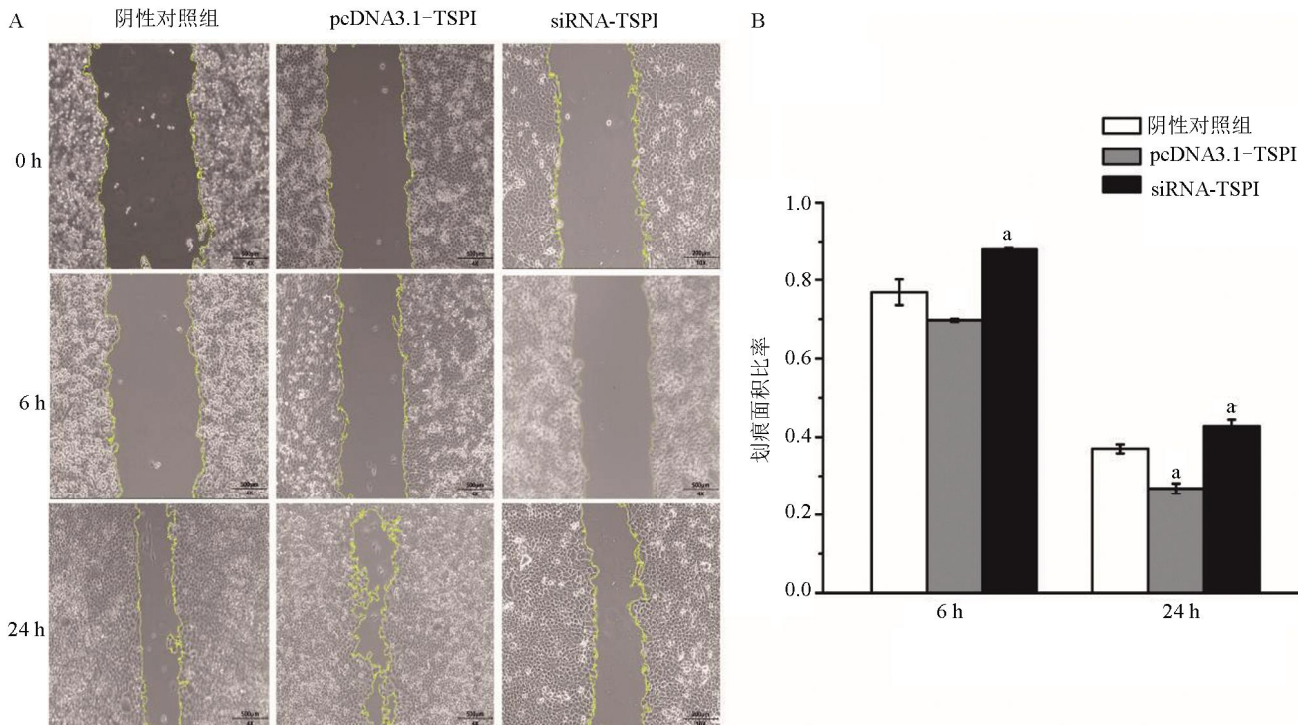


图5 细胞划痕实验结果

Figure 5 The results of cell scratch test

注:A,各组细胞不同时间划痕愈合情况;B,各组细胞不同时间点划痕面积比率,6 h及24 h划痕面积/0 h划痕面积。与阴性对照组比较, $^*P<0.05$ 。

Note: A, Scratch healing ability of cells in each group at different time; B, Ratio of scratch area at different time in each group, 6 h and 24 h scratch area / 0 h scratch area. Compared with the control group, $^*P<0.05$.

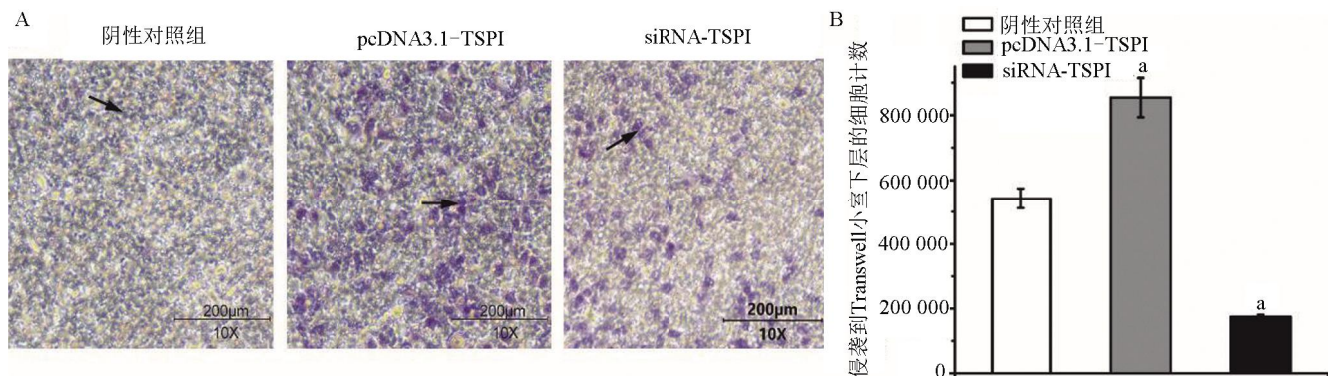


图6 Transwell法检测各组细胞侵袭能力

Figure 6 The cell invasion ability of each group was detected by Transwell method

注:A, Transwell法检测各组细胞侵袭能力;B, 侵袭至 Transwell小室下层细胞计数;与阴性对照组比较, ^aP<0.05。

Note: A, Transwell method was used to detect cell invasion ability of each group; B, Cell count in the substratum of Transwell. Compared with the control group, ^aP<0.05.

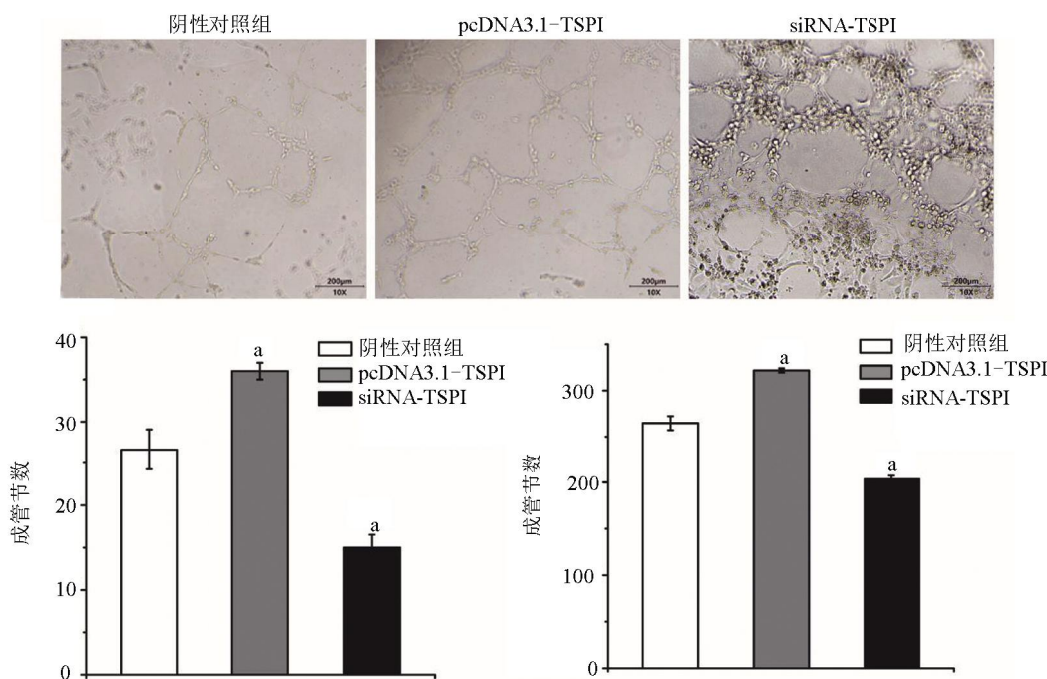


图7 调控 TSP1 表达对 HeLa 细胞体外促进 HUVECs 成血管能力的影响

Figure 7 Effects of regulation of TSP1 expression on HeLa cells' ability to promote angiogenesis of HUVECs in vitro

注:与阴性对照组比较, ^aP<0.05。

Note: Compared with the control group, ^aP<0.05.

3 讨论

目前研究认为肿瘤的发生、发展以及转移均依赖新生血管形成^[10]。肿瘤血管生成是一个复杂的过程。新生血管的调控机制目前尚未完全阐明,目前认为血管新生需要效应细胞与细胞外基质之间相互作用,同时受血管生成因子和抑制因子的双重调节。子宫颈癌患者死亡的主要原因之一就是肿瘤细胞的浸润和转移。而浸润和转移的过程与癌细胞大量增殖后对周围正常细胞进行蛋白水解有关,同时也和肿瘤组织内大量新生血管形成有关。研究结果显示子宫颈癌中存在活跃的血管生成,且随着 TNM 分期的增高,微血管密度逐渐增高。

TSP1 是 1978 年由 Lawler 等^[11]首次报道,是一种分子量为 450 kD 三聚体细胞外基质糖蛋白。多种正常细胞和肿瘤细胞均可分泌 TSP-1。TSP1 具有调节血小板聚集、细胞黏附、运动和生长的功能,能抑制血管内皮生长和运动,减少内皮细胞黏附,减低其形成管状结构的能力,从而发挥抑制血管生成的作用^[12]。

TSP1 与肿瘤细胞的生物学行为的关系在不同肿瘤中存在差异。在一些腺癌中 TSP1 与肿瘤学恶性行为呈正相关,而在如前列腺癌、肝癌等肿瘤则呈现负相关性^[7,13]。而且研究者发现在不同组织类型乳腺癌中 TSP1 的表达也存在差异, TSP1 在侵袭性小叶癌中呈现高表达,而在侵袭性导管癌中则表达较低^[14]。Hu

等^[15]的研究结果显示 TSP1 通过 FAK 依赖途径促进骨肉瘤的细胞迁移、侵袭和肺转移。而 Jian 等^[16]的研究结果显示 TSP1 上调促进了骨肉瘤 MG-63 细胞中血管抑素的表达, TSP1 过表达抑制血管生成和肿瘤生长。

在宫颈癌方面, 常见的组织学类型包括鳞癌和腺癌。有研究者研究不同程度宫颈鳞状上皮病变手术标本中 TSP-1 的表达量, 结果证实在宫颈鳞癌发生发展过程中, TSP-1 的表达逐渐下降^[17]。Wu 等^[9]用表达 TSP1 蛋白的质粒转染宫颈癌 SiHa 细胞, 结果显示上调 TSP1 的表达可抑制 SiHa 细胞体外促进 HUVECs 成血管的能力。动物模型实验也证实上调 TSP1 的表达可抑制严重联合免疫缺陷小鼠的肿瘤的生长。目前 TSP1 在宫颈腺癌方面的作用研究较少。在本研究中, 我们采用基因干扰的方法调控 TSP1 在宫颈腺癌 HeLa 细胞中的表达, 研究 TSP1 对 HeLa 细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡及体外促 HUVECs 成管能力生物学行为的影响。结果显示下调 TSP1 的表达可抑制 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭及促进内皮细胞成血管能力, 促进细胞凋亡。上调 TSP1 则可促进 HeLa 细胞生长及体外促内皮细胞成血管能力, 但对细胞凋亡无明显影响。有关 TSP1 的具体作用机制目前还不明确。目前研究者认为其在肿瘤细胞中的表达及发挥作用的机制受一些生长因子、癌基因和抑癌基因, 如 ras、src、TGF- β 等的影响, 在不同的肿瘤环境中表达量、或受体表达不同, 从而与不同的受体结合而产生相反的生物学效应^[6]。

TSP1 作为肿瘤血管生成重要的调控因子之一, 在肿瘤防治方面有举足轻重的作用。因此, 明确 TSP1 在不同组织学类型宫颈癌发生发展中所起的作用, 有助于我们更好地治疗宫颈癌。本课题研究结果显示特异性抑制 TSP1 的表达有助于抑制宫颈腺癌 HeLa 细胞的生长、转移, 降低其促进内皮细胞形成血管的能力。有望为宫颈腺癌尤其是晚期转移性癌症患者的治疗提供新的靶点。有关 TSP1 在宫颈腺癌细胞中具体参与调控的机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): e191-e203.
- [2] de Martel C, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(4): 664-670.
- [3] Jayson GC, Kerbel R, Ellis LM, et al. Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions [J]. *Lancet*, 2016, 388(10043): 518-529.
- [4] Wu XG, Zhou CF, Zhang YM, et al. Cancer-derived exosomal miR-221-3p promotes angiogenesis by targeting THBS2 in cervical squamous cell carcinoma [J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(3): 397-410.
- [5] de Fraipont F, Nicholson AC, Feige JJ, et al. Thrombospondins and tumor angiogenesis [J]. *Trends Mol Me*, 2001, 7(9): 401-407.
- [6] Jeanne A, Schneider C, Martiny L, et al. Original insights on thrombospondin-1-related antireceptor strategies in cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 252.
- [7] Yang HD, Kim HS, Kim SY, et al. HDAC6 suppresses Let-7i-5p to elicit TSP1/CD47-mediated anti-tumorigenesis and phagocytosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1262-1279.
- [8] Hu C, Wen J, Gong L, et al. Thrombospondin-1 promotes cell migration, invasion and lung metastasis of osteosarcoma through FAK dependent pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 75881-75892.
- [9] Wu MP, Young MJ, Tzeng CC, et al. A novel role of thrombospondin-1 in cervical carcinogenesis: inhibit stroma reaction by inhibiting activated fibroblasts from invading cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(6): 1115-1123.
- [10] Li CH, Li KQ. Mechanisms of tumor microangiogenesis and tumor invasion and metastasis [J]. *Chin J Oncol*, 2000, 22(3): 181-183. 李春海, 李克勤. 肿瘤微血管生成的机制与肿瘤侵袭和转移[J]. *中华肿瘤杂志*, 2000, 22(3): 181-183.
- [11] Lawler JW, Slayter HS, Coligan JE. Isolation and characterization of a high molecular weight glycoprotein from human blood platelets [J]. *J Biol Chem*, 1978, 253(23): 8609-8616.
- [12] Adams JC, Lawler J. Diverse mechanisms for cell attachment to platelet thrombospondin [J]. *J Cell Sci*, 1993, 104(Pt 4): 1061-1071.
- [13] Zhang Y, Zheng D, Zhou T, et al. Androgen deprivation promotes neuroendocrine differentiation and angiogenesis through CREB-EZH2-TSP1 pathway in prostate cancers [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4080.
- [14] Wong SY, Purdie AT, Han P. Thrombospondin and other possible related matrix proteins in malignant and benign breast disease. An immunohistochemical study [J]. *Am J Pathol*, 1992, 140(6): 1473-1482.
- [15] Hu C, Wen J, Gong L, et al. Thrombospondin-1 promotes cell migration, invasion and lung metastasis of osteosarcoma through FAK dependent pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 75881-75892.
- [16] Jian YK, Zhu HY, Wu XL, et al. Thrombospondin 1 Triggers Osteosarcoma Cell Metastasis and Tumor Angiogenesis [J]. *Oncol Res*, 2019, 27(2): 211-218.
- [17] Kodama J, Hashimoto I, Seki N, et al. Thrombospondin-1 and -2 messenger RNA expression in invasive cervical cancer: correlation with angiogenesis and prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(9): 2826-2831.

(收稿日期: 2022-05-05)