

# 血小板反应蛋白-4在肿瘤研究的进展

吴建辉, 刘 谦\*

天津市第一中心医院泌尿外科, 天津

Email: wjh9877@163.com, \*Liuqian7678@126.com

收稿日期: 2020年11月27日; 录用日期: 2020年12月24日; 发布日期: 2020年12月31日

## 摘 要

血小板反应蛋白-4 (Thrombospondin-4, THBS-4/TSP-4)于1993年首次被发现,但在此后的很长时间内对该分子的研究没有深入。近年来, PubMed陆续报告确定了TSP-4在心血管和神经系统,炎症,癌症和骨骼肌中许多意想不到的功能。今年的研究重点关注TSP-4在不同组织的生理和病理反应,主要通过基因表达谱的生物信息学分析和分子生物学方法验证。TSP-4的单个分子可以同时与多个细胞受体和细胞外间质(extracellular matrix, ECM)的配体结合,并组织ECM以及细胞与ECM间的相互作用。TSP-4的促血管生成特性可能解释了它在几种癌症中的高表达的原因。TSP-4在癌症组织中的表达增加与癌症进展有关。总的来说, TSP-4在肿瘤防治研究中有望将TSP-4用作肿瘤治疗性靶标,通过抑制血管生成,阻断肿瘤生长、浸润、转移,并减轻疼痛。

## 关键词

细胞外间质, 血管生成, 肿瘤, 纤维化, 转移, 血小板反应蛋白

# Progress of Thrombospondin-4 in Tumor Research

Jianhui Wu, Qian Liu\*

Tianjin First Central Hospital

Email: wjh9877@163.com, \*Liuqian7678@126.com

Received: Nov. 27<sup>th</sup>, 2020; accepted: Dec. 24<sup>th</sup>, 2020; published: Dec. 31<sup>st</sup>, 2020

## Abstract

Thrombospondin-4 (Thrombospondin-4, THBS-4/TSP-4) was first discovered in 1993, but there has been no in-depth research on this molecule for a long time thereafter. In recent years, PubMed

\*通讯作者。

has successively reported that TSP-4 has many unexpected functions in the cardiovascular and nervous system, inflammation, cancer and skeletal muscle. This year's research focuses on the physiological and pathological responses of TSP-4 in different tissues, and is mainly verified by bioinformatics analysis of gene expression profiles and molecular biology methods. A single molecule of TSP-4 can simultaneously bind to multiple cell receptors and extracellular matrix (ECM) ligands, and organize the ECM and the interaction between cells and ECM. The pro-angiogenic properties of TSP-4 may explain its high expression in several cancers. The increased expression of TSP-4 in cancer tissues is associated with cancer progression. In general, TSP-4 is expected to be used as a tumor therapeutic target in tumor prevention and treatment research, by inhibiting angiogenesis, blocking tumor growth, infiltration, and metastasis, and reducing pain.

## Keywords

Extracellular Matrix (ECM), Angiogenesis, Cancer, Fibrosis, Migration, Thrombospondin

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

血小板反应蛋白家族(Thrombospondins family, THBS)是一组进化保守的, 可以短暂的或长期的与细胞外其他间质发生作用, 需要钙结合的细胞外间质蛋白。他们具有结合细胞外间质分子、细胞因子、配体蛋白以及分子伴侣的特性, 能调节胶原纤维的架构, 也能与一系列的生长因子相互作用。目前发现的THBS一共有5个成员, 分别是Thrombospondin-1, Thrombospondin-2, Thrombospondin-3, Thrombospondin-4和Thrombospondin-5也叫软骨寡聚基质蛋白(cartilage oligomeric matrix protein, COMP)。THBS表达谱的研究主要来源于人和小鼠, 其他物种的研究比较零碎。

1993年LAWLER J [1]等报道, 在非洲爪蛙基因组中发现了一个血小板反应蛋白基因, 并且命名为Thrombospondin-4 (THBS4/TSP-4)。研究发现胚胎中神经系统发育阶段可以检测到TSP-4的表达。近年来, TSP-4在心血管和神经系统、炎症、癌症和心肌骨骼肌等方面发现了许多新的功能, 引起了人们对这种细胞外间质蛋白(extracellular matrix protein)的关注, 深入研究发现TSP-4促进血管生成[2]。随后, 进一步对人类TSP-4进行了测序, 与非洲爪蛙的TSP-4不同, 在成人组织中, 心肌和骨骼肌中TSP-4的表达最高[3]。Tucker等人注意到, TSP-4转录的表达方式明显不同于其他THBS的表达方式[4]。TSP-4作为细胞外间质蛋白的代表日益受到研究者的重视, 对多个肿瘤的研究数据显示它在肿瘤-间质相互作用中起到了一定的作用。另外, 有研究显示TSP-4与肿瘤细胞的侵袭能力有关[5]。肿瘤的生长主要取决于脉管系统, 在癌症中检测到高TSP-4表达, 这与前期研究发现的血管壁中TSP-4表达是一致的。在几种癌症中, TSP-4在大多数上调基因中位居前1%, 例如胃癌, 特别是在乳腺癌中[6]。随着将TSP-4与其他TSP家庭成员区分开来的证据的出现, 我们认为针对TSP-4在肿瘤学方向的深入研究是十分必要的。本文就TSP-4在肿瘤学方面的研究进展做一总结, 关注肿瘤生物学中间质细胞和肿瘤微环境所起作用。

## 2. 神经系统肿瘤

### 纤维性星形细胞瘤

纤维性星形细胞瘤(Pilocytic astrocytoma, PA)约占所有神经胶质瘤的5.1%, 最常见于儿童, 男性患病

率高于女性。多发生于中枢神经部位, 以小脑、视神经、视神经交叉及下视丘等处多见[7]。Rorive [8]等报道I级纤维性星形细胞瘤基因芯片显示6个基因(TIMP4, C1NH, CHAD, TSP-4, IGFBP2, TLE2)特异性高表达, 这区别于正常脑组织、II级纤维性星形细胞瘤和高级别纤维性星形细胞瘤。这些基因的表达可能使纤维性星形细胞瘤获得包膜, 而不像其他星形细胞瘤那样散发并且具有侵袭性。因此, 推测这些基因对抗肿瘤转移起到重要作用。Yang [9]研究发现 TSP-4 与 NG2 细胞的神经元分化有关。当 TSP4 过表达时, NG2 细胞会自发地发生神经元分化, 这是通过在信使 RNA 和蛋白质水平上诱导各种神经元分化标记(例如 NeuN, Tuj1 和 NF200)证明的。相反, TSP4 沉默对 NG2 细胞中神经元分化标记的表达具有相反的作用。接下来, 研究了负责 TSP4 介导的 NG2 细胞分化的信号通路并发现 p38 和 AKT 信号受 TSP4 过表达的影响。此外, 当 ERK 信号被抑制剂 U0126 阻断时, NG2 细胞的神经元标志物表达大大增加。在一起, 这些发现表明 TSP4 通过抑制 ERK/MAPK 信号传导促进 NG2 细胞的神经元分化, 从而揭示了 TSP4 在 NG2 细胞命运方面的新作用。

### 3. 消化系统肿瘤

#### 3.1. 肝癌

最初的研究并没有在肝脏检测到 TSP-4 的表达, 最近的研究发现 TSP-4 与慢性肝脏疾病、肝脏再生、自身免疫性肝炎有关。根据以往研究提示 Thrombospondin-2 和 TSP-4 对肿瘤有抑制作用, Park [10]等研究了 TSP-4 G30275C 基因多态性与肝癌的关系, 其结果显示没有明显相关性。Su [11]等作者通过研究 TCGA 数据库, 发现肝癌标本中 TSP-4 显著高表达, 并且与预后显著相关。进一步研究发现 TSP-4 的高表达是进展行肝癌血行浸润的标志。虽然 TSP-4 的高表达有抑制肿瘤生长作用, 体外研究发现敲除 TSP-4 后的肝癌细胞, 迁移和浸润受到抑制, 同时血管生成也被抑制。随后, 研究发现 miR-142 是肝癌细胞中 TSP-4 的上游调控子。肝癌标本中检测到 miR-142 的表达显著下调, 对应的是 TSP-4 过表达。通过调控 miR-142 高表达可以明显抑制肝癌细胞的血管生成和侵袭, 而再表达 TSP-4 后可以抵消 miR-142 的作用。在肿瘤异种移植模型中稳定表达 miR-142 表现出 TSP-4 表达和肿瘤血管生成都受抑制。TSP-4 过量表达导致 miR-142 表达降低, 进而增强了肝癌细胞的转移和血管生成。因此, 针对 TSP-4 或 miR-142 研发抗肝癌的治疗策略和药物是很有希望的。Wu [12]等对 85 例肝癌和癌旁组织标本进行研究, 发现肝癌组织和癌旁组织存在着显著表达差异, TSP-4 的高表达与血浆谷丙转氨酶显著相关( $P < 0.04$ ), 并且 TSP-4 表达越高, 患者的总生存率越低。多因素分析显示 TSP-4 是肝癌预后的独立风险因素。这项研究提示 TSP-4 与肝癌进展相关, 可以作为独立的预测标志物和治疗靶点。在肝细胞癌中, TSP-4 过度表达并与预后相关, 其敲低抑制了肝细胞癌诱导的血管生成, 迁移和癌细胞侵袭。TSP-4 被认为是基因网络的成员之一, 该基因网络通过控制肝发育过程中成肝细胞的迁移和粘附来调节肝芽的扩张, 并被提议作为研究肝癌发生的候选基因。

#### 3.2. 胃癌

通过对比两种类型胃癌全转录组基因表达谱, 经 RT-PCR 鉴定, 证明散发型胃癌中 TSP-4 高表达, 而肠型胃癌中缺乏表达。免疫组化证实 TSP-4 在蛋白水平高表达并且定位于基质, 主要围绕肿瘤细胞巢。肿瘤细胞越密集, 侵袭性越高 TSP-4 的表达也越高。肠型胃癌和非癌变的胃上皮细胞均不表达 TSP-4。进一步体外培养试验证实肿瘤相关成纤维细胞可以分泌 TSP-4。受到肿瘤细胞刺激的成纤维细胞会使其 TSP-4 转录水平提高[13]。Maran [14]研究发现胃癌前病变可能与幽门螺杆菌易感人群的 rs6878265 (TSP-4) 基因多态性有关。Lin [15]等报道胃癌中 TSP-4 mRNA 表达与肿瘤大小( $P = 0.002$ )和肿瘤 TNM 分期相关, 进一步研究 TSP-4 SNPs 对预后不良风险的影响表明携带(rs77878919 和 rs7736549)这两种基因型患者的预

后不良风险最高。Huang [16]等研究了胃癌中 FGFR2 与 TSP-4 的关系。低 TSP-4 表达与较短的总生存期(OS)和晚期胃癌相关。FGFR2 在胃癌组织中明显过表达,与淋巴结转移、临床晚期和预后不良的高风险相关。相关分析表明 FGFR2 与 TSP-4 呈负相关。体内外实验表明,FGFR2 激活可以下调 TSP-4 的表达,而 TSP-4 在胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移中起重要作用。作者还发现 PI3K-AKT-mTOR 通路参与 FGFR2-TSP4 轴。FGFR2 信号通过 PI3K-AKT-mTOR 途径下调 TSP4,从而促进胃癌进展。Chen [17]等报道 TSP-4 通过靶向 KLF9 促进胃癌的增殖和转移。首先,作者对癌症基因组图谱数据集的生物信息学分析表明,TSP-4 和 KLF9 表达之间可能存在正相关。随后,通过细胞计数,MTT 和软琼脂菌落形成试验分析了 MGC-803 和 BGC-823 细胞的增殖。通过 transwell 迁移和侵袭试验研究了转染的 GC 细胞的迁移和侵袭。QPCR 分析证明,用 TSP-4 过表达质粒转染可增强 GC 细胞中 KLF9 的表达。与非肿瘤胃细胞相比,MGC-803 和 BGC-823 细胞中 TSP-4 mRNA 和蛋白表达上调。KLF9 过表达显著刺激了 MGC-803 和 BGC-823 细胞的增殖和转移。此外,KLF9 siRNA 抑制了 TSP-4 过表达质粒转染引起的 MGC-803 细胞活力,迁移和侵袭增强。Kuroda [18]等通过蛋白质印迹法检查了 TSP-4 在癌症相关的成纤维细胞(CAFs),正常相关的成纤维细胞(NFs)和胃癌细胞系中的表达。在 GC 微环境中,TSP-4 在具有  $\alpha$ SMA 或 Podoplanin 表达的基质细胞上表达,但在具有细胞角蛋白表达的癌细胞上不表达。蛋白质印迹分析结果表明,CAF(而非 NF 和癌细胞)表达 TSP-4。与 TSP-4 低表达状态相比,TSP-4 高表达状态与更高的  $\alpha$ SMA 表达,更高的浸润深度,淋巴结转移,淋巴浸润,腹膜细胞学,腹膜转移,较大的肿瘤大小,镜下弥漫型和扩散浸润型。高 TSP-4 组的 5 年总生存率明显低于低 TSP-4 组。多元分析表明,TSP-4 表达是独立的预后因素。一项旨在研究胃癌生存相关的基因并改善胃癌患者的危险分层的研究将 TSP-4 等 7 个基因进行研究,发现表明,PRICKLE1 表达可能是独立的预后因素,可以与年龄和 TNM 分期相结合,成为能够预测胃癌患者 OS 率的诺模图[19]。

### 3.3. 结肠癌

Greco [20]等将结肠癌组织与正常组织进行对比发现结肠癌中 TSP-4 的表达较低,并且在结肠癌中 TSP-4 出现高度甲基化,因此推测 TSP-4 属于结肠癌的抑癌基因。组蛋白 H3 赖氨酸 9 由乙酰化到甲基化的转变可以使常染色体的某些基因沉默。Kondo [21]等利用染色质免疫沉淀方法比较了同一肿瘤细胞系中 27 个克隆的 H3-K9 Me/Ac 比值,18 个克隆出现了高 H3-K9 Me/Ac 比值,提示结肠癌标本和细胞系中 TSP-4 表现为高度甲基化。TSP-4 由于 DNA 甲基化或组蛋白去乙酰化抑制而沉默。

## 4. 女性生殖系统肿瘤

### 乳腺癌

乳腺癌是由基因和非基因等多种因素引起的疾病。不同的组织类型对治疗的反应性不一样,因此也会有差别迥异的临床结果。乳腺癌存在组织学上的异质性,包含上皮细胞、间质细胞、内皮细胞和淋巴细胞等。许多研究团队期望利用基因表达谱来区分乳腺癌不同的亚组,进而采取有针对性的治疗策略。因此,找到基因组学上的标志基因是关键。经过多个研究小组的基因芯片分析,鉴定出 12 个差异表达基因用以区分侵袭性乳腺小叶癌和乳腺导管癌,他们是 E-CD、survivin、cathepsin B、TPI1、SPRY1、SCYA14、TFAP2B、TSP-4、osteopontin、HLA-G 和 CHC1 [22]。Korkola [23]等认为 TSP-4 与限制肿瘤转移有关。通过 cDNA 芯片等找出了用于区分侵袭性乳腺小叶癌和侵袭性乳腺导管的 8 个差异表达基因,分别是 E-cadherin, survivin, cathepsin B, TPI1, SPRY1, SCYA14, TFAP2B 和 TSP-4。在体外培养中,TSP-4 在成纤维细胞的表达比上皮细胞高。乳腺组织中的表达比体外培养细胞系要高。乳腺小叶癌中 TSP-4 表达较乳腺导管癌高。乳腺导管癌表达大量的骨桥蛋白和组织蛋白酶,下调 TSP-4 的表达,由此来获得侵袭性。

而乳腺小叶癌是通过上调 E-cadherin 表达来获得侵袭性的。McCart Reed [24]利用免疫组化和免疫荧光检测, 结合公共基因组表达数据, 首次阐明 TSP-4 在正常乳腺组织和乳腺癌中的表达。TSP-4 位于乳腺癌大导管和血管的基底膜层, 很少出现在正常的上皮细胞和正常的细胞外间质。在肿瘤相关的间质中高表达, 肿瘤上皮细胞的表达也高于正常上皮细胞。在侵袭性导管癌和侵袭性乳腺小叶癌中的表达没有差异。虽然 TSP-4 mRNA 在不同组织变化较大, 但是相对于正常组织、ER 受体阳性的低级别导管癌, TSP-4 mRNA 在乳腺癌组织都是高表达。TSP-4 基因的基因组学改变很少, 提示乳腺癌中 TSP-4 的表达激活与具有侵袭性的肿瘤细胞和局部微环境中的间质成纤维细胞相互作用有关。TSP-4 在乳腺癌中的表达与细胞外间质转变成被激活的反应性间质有关, 这种转变在肿瘤的进展过程中是必不可少的, 并有利于肿瘤细胞侵袭。在乳腺癌中, TSP-4 表达的增加与对浸润性癌的基质反应有关, 这表明 ECM 中的 TSP-4 有助于肿瘤进展并促进肿瘤细胞的侵袭。在小叶型和导管型乳腺癌中检测到 TSP-4 的差异表达, 表明它可能是特定乳腺癌类型的标志物, 研究其作用对于了解乳腺癌表型差异的基础可能很重要。Tveitarås MK [25]研究表明, 至少在此乳腺癌模型中, 触珠蛋白的变化尤其是纤维蛋白原  $\beta$  链, 血小板反应蛋白 4 和转铁蛋白受体蛋白 1 的变化指示转移, 并且应进一步评估其作为一般的乳腺癌生物标记物。

## 5. 泌尿系统肿瘤

### 5.1. 前列腺癌

Luo [26]等在 2002 年为研究良性前列腺增生(benign prostate hyperplasia, BPH)的分子病因学发生机制, 通过基因芯片分析了 9 例 BPH 和 12 例局限性前列腺癌根治术后非癌变前列腺组织(正常组织)基因表达谱上的差异。最后, 得出 76 个差异表达基因, 经过 RT-PCR 坚定了 8 个差异表达的基因。BPH 与正常腺体组织相比, 表达下调的基因较少, 包括 KLF4 转录因子、TSP-4、一氧化氮合成酶 2、谷氨酰胺转氨酶和人胃泌素释放多肽。上调的基因主要属于生长因子和与其结合的蛋白, 例如: 胰岛素样生长因子 IGF-1 和-2, 转化生长因子 TGF- $\beta$ 3, 骨形态发生蛋白 BMP5, 潜在的转化生长因子结合蛋白, 水解酶, 基质金属蛋白酶 MMP2,  $\alpha$ 2-巨球蛋白, 环氧化酶 COX2 和细胞外基质分子, 如层粘连蛋白, 硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitinsulfateproteoglycan, CSPG)。12 个差异表达基因与前列腺间质细胞或间质成分相关, 大部分基因的转录出现上调, 仅有 TSP-4、蛋白激酶 C 相关的激酶 2 (PRKCL2/PRK2)和 Kruppel 样因子 4 (KLF4)的转录水平下调。实际上, Luo 等的研究比较的是 BPH 与前列腺癌旁组织的基因差异表达谱。Dakhova [27]通过分析前列腺癌反应性间质的基因表达谱发现 3 级反应性间质存在一系列的基因表达和信号转导通路的变化, 其中 TSP-4 出现了高表达。TSP-4 可能介导 TGF- $\beta$ 的阶段特异性作用, 即在肿瘤血管形成良好的后期促进肿瘤生长, ECs 提供足够量的 TSP-4 以支持进一步的血管生成。尽管尚不完全了解针对 TGF- $\beta$ 的 TSP-4 产生调控的细节, 但已报道了 SMAD3 的参与。人们对 TGF- $\beta$ 的细胞和过程特异性作用的潜在机制了解甚少, Muppala [28]等认为 TGF- $\beta$ 是影响多种细胞类型的多功能细胞因子, 与组织重塑过程有关。由于其多种功能和细胞特异性作用, TGF- $\beta$  信号转导的结果是过程和阶段依赖性的, 而且取决于阶段和阶段。因此 TGF- $\beta$ 对疾病的进展有时是发挥相反的作用并不罕见, 疾病中不同阶段表达 TGF- $\beta$ 就会有不同的病理变化。Muppala 等人研究发现在内皮细胞(endothelial cells, EC)中, 血小板反应蛋白(TSP-4)分泌的 ECM 蛋白被上调以响应 TGF- $\beta$ 1, 并介导 TGF- $\beta$ 1 对血管生成的影响。TSP-4 的上调不需要合成新蛋白质, 不是由 TSP-4 的分泌减少引起的, 而是由 SMAD3 的激活介导的。使用 Thbs4<sup>-/-</sup>小鼠和 TSP-4 shRNA, 发现 TSP-4 介导了培养的 EC 中的促血管生成功能和体内对 TGF- $\beta$ 1 的血管生成。实验观察到注射 TGF- $\beta$ 1 的动物的肿瘤块和血管生成标记物水平增加了约 3 倍, 而这些作用在 Thbs4<sup>-/-</sup>动物中没有发生。注射 TGF- $\beta$ 1 信号转导 SB-431542 的抑制剂还可以减轻肿瘤和癌症血管生成的重量。该研究团队从体内血管生成模型和培养的 EC 得出的结果表明, TSP-4 介导 TGF- $\beta$ 1 上调血管生成。尽管抑制了癌细胞的增殖, 但

是促血管生成的 TSP-4 的上调和 TSP-4 对 EC 的选择性作用可能有助于 TGF- $\beta$  刺激肿瘤生长。

Liu [2]等通过研究前列腺癌和癌旁非肿瘤组织发现, TSP-4、lncRNATHBS4003 表达水平明显高于非肿瘤组织标本, Gleason 评分 > 7 的患者 lncRNATHBS4003 表达水平较高。体外试验提示在敲除 PC-3 细胞系 TSP-4 或 lncRNATHBS4003 后, 降低了 PCa 细胞的体外迁移和侵袭能力, 同时也降低了 p38 和基质金属蛋白酶(MMP)的表达水平 [9]。这些结果提示 lncRNATHBS4003 和 TSP-4 参与了 PCa 的发病机制。因此, 沉默 lncRNATHBS4003 或 TSP-4 可能抑制 PCa 细胞的迁移和侵袭, 并通过有丝分裂原活化蛋白激酶信号通路调节 MMP9 的水平。TSP-4 关于前列腺癌的研究仅限在转录水平, 目前还没有进一步研究报道。作者对 5 例前列腺癌和癌旁组织进行差异基因表达 cDNA 基因芯片研究, 探讨 TSP-4 异常表达在前列腺癌浸润和转移中的作用, 研究发现前列腺癌与癌旁组织在基因转录水平上存在显著差异[29]。TSP-4 的表达与 Gleason 评分、病理类型及分期相关。结合 COX 回归分析显示: 前列腺癌组织中 TSP-4 高表达与转移导致的患者生存期下降显著相关。进一步通过 TCGA 数据库验证得到了相同的结论。从 TCGA 下载前列腺癌 level3 的 RNA-seq 数据, 其中 499 个癌组织和 52 个癌旁组织。同时, 从 TCGA 下载前列腺癌的甲基化数据, 其中 503 个癌组织和 50 个癌旁组织。通过 wilcox test 显示 p-value < 0.05, 说明癌症和正常样品间 TSP-4 差异显著, 并且在癌症样品中 TSP-4 高表达。随后, 使用 survival R 包对 TSP-4 做生存分析, 生存分析是 KM 分析, 采用 log-rank 方法。以  $p < 0.05$  作为临界阈值, 判断 TSP-4 的高地表达是否对病人生存产生影响。根据 TSP-4 中位值, 将病人分为高低两组图,  $p = 0.058$ , 说明高低组差异不显著。对 TSP-4 进行癌症分期的相关性分析, 以  $P < 0.05$  作为临界阈值, 判断 TSP-4 的表达与癌症分期是否具有相关性,  $p < 0.05$ , 说明 TSP-4 的表达与癌症分期具有一定的相关性。最后, 对 TSP-4 的甲基化水平进行分析, 通过比较正常样品和癌症样品中 TSP-4 的甲基化程度, 判断 TSP-4 的甲基化水平是否与肿瘤相关。以  $p < 0.05$  作为临界阈值, 判断 TSP-4 的甲基化水平是否与肿瘤相关。  $P < 0.05$ , 说明 TSP-4 的甲基化水平与肿瘤相关。因此, TSP-4 对前列腺癌的进展中发挥显著作用, 相关靶点和标志物的研究有待于进一步深入。转移性前列腺癌可以表现为成骨性特征, TSP-4 在成骨组织中的表达也是得到了证实[6]。在鸡胚中, TSP-4 在成骨初期被发现在骨膨大周围的间充质的成骨组织中, 而在后期则消失。在同一项研究中, 在鸡胚的眼睛中检测到 TSP-4 mRNA, 该基因与后来的骨化结构有关, 在角膜上皮下方的角膜成纤维细胞中也检测到了 TSP-4 mRNA。在斑马鱼眼外肌肌腱连接处也检测到 TSP-4 在人眼表面上皮的基底膜区, 一种特殊的微环境, 在该微环境中, 外部信号会导致干细胞的维持, 自我更新, 活化和增殖。

## 5.2. 肾肿瘤

中胚层肾瘤中胚层肾瘤多发生于新生儿肾脏。它比 Wilms 瘤发病更早。作者分析了中胚层肾瘤基因表达谱, 与 wilms 瘤及其他肾肿瘤比较。中胚层肾瘤具有独特的基因表达谱与 wilms 瘤相近[30]。在两者中上调的基因包括 IGF-2、TSP-4、间叶细胞同源框基因 MEOX1。SHetA2 是维生素 A 类似物, 对多种癌细胞尤其是肾细胞癌具有很好的抗癌活性, 且动物有良好的耐受性。SHetA2 改变 TSP-4 的分泌, 直接抑制 G1 期内皮细胞管状成形和增殖, 但不引起凋亡。SHetA2 通过改变肿瘤细胞血管生成因子的分泌阻断血管生成, 这些效应都体现在内皮细胞上[31]。

## 6. 血液系统肿瘤

### 淋巴瘤

van Doorn [32]等在全基因组范围内分析原发性皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T-cell lymphoma, CTCL)中启动子高甲基化的发生, 对 28 例 CTCL 患者的活检标本中分离的 DNA 进行了研究, 包括侵袭性 CTCL 实体(转化的真菌病真菌和 CD30 阴性大 T 细胞淋巴瘤)和惰性实体(CD30 阳性大 T 细胞淋巴瘤)。对于全

基因组 DNA 甲基化筛选, 应用了使用 CpG 岛微阵列的差异甲基化杂交技术, 该技术可同时检测 8640 个 CpG 岛的甲基化状态。亚硫酸氢盐序列分析用于确认和检测八个选定的肿瘤抑制基因的高甲基化。CTCL 患者的恶性 T 细胞显示出广泛的启动子高甲基化, 与 DNA 修复, 细胞周期和凋亡信号通路中涉及的几种抑癌基因失活有关。该研究发现 CTCL 可能适合用去甲基化剂处理, 皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T-cell lymphoma, CTCL) TSP-4 作为潜在的肿瘤抑制基因, 52%出现了高度甲基化, 其转录水平也被证实下调。

## 7. 总结

TSP-4 的促血管生成特性可能解释了它在几种癌症中的高表达。TSP-4 在癌症组织中的表达增加与癌症进展有关。值得注意的是, 在几种类型的癌症中, TSP-4 已被确定为最上调基因的前 1%。与 TSP-1 一样, TSP-4 在癌症中的作用也很复杂, 提示组织特异性和细胞特异性作用。两者都可促进某些类型的癌症而抑制其他类型的癌症。有必要进一步检查 TSP-4 在癌症中的作用, 以区分 TSP-4 作为肿瘤抑制因子的抑制作用还是作为反馈保护性抗癌机制的抑制作用。TSP-4 对癌细胞的直接作用也是可能的, 尽管在不同的癌细胞中发现了 TSP-4 的相反作用: TSP-4 在结直肠癌菌落中的强制表达引起肿瘤生长的显著抑制, 但是前列腺癌细胞中 TSP-4 的表达缺失显著降低了其迁移和侵袭能力, 并降低了 p38 和基质金属蛋白酶(MMP)-9 的表达水平。我们可以预期, 对 TSP-4 的研究兴趣将呈指数级增长, 甚至可能将 TSP-4 用作治疗性靶标, 以鼓励缺血条件下的血管生成, 抑制各种组织中的肿瘤生长并减轻疼痛。

## 基金项目

1) 天津市卫生局科技基金(2015KZ029): 前列腺癌中血小板反应蛋白 4 异常表达的相关机制研究。

2) 中国临床试验“超选择性前列腺动脉栓塞介入技术治疗前列腺增生症的应用研究”注册号 ChiCTR1800014818。

## 参考文献

- [1] Lawler, J., Duquette, M., Whittaker, C.A., *et al.* (1993) Identification and Characterization of Thrombospondin-4, a New Member of the Thrombospondin Gene Family. *Journal of Cell Biology*, **120**, 1059-1067. <https://doi.org/10.1083/jcb.120.4.1059>
- [2] Liu, J., Cheng, G., Yang, H., *et al.* (2016) Reciprocal Regulation of Long Noncoding RNAs THBS4-003 and THBS4 Control Migration and Invasion in Prostate Cancer Cell Lines. *Molecular Medicine Reports*, **14**, 1451-1458. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5443>
- [3] Lawler, J., McHenry, K., Duquette, M., *et al.* (1995) Characterization of Human Thrombospondin-4. *Journal of Biological Chemistry*, **270**, 2809-2814. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.6.2809>
- [4] Tucker, R.P., Adams, J.C. and Lawler, J. (1995) Thrombospondin-4 Is Expressed by Early Osteogenic Tissues in the Chick Embryo. *Developmental Dynamics*, **203**, 477-490. <https://doi.org/10.1002/aja.1002030410>
- [5] Lee, J.H., Horak, C.E., Khanna, C., *et al.* (2008) Alterations in Gemin5 Expression Contribute to Alternative mRNA Splicing Patterns and Tumor Cell Motility. *Cancer Research*, **68**, 639-644. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-2632>
- [6] Stenina-Adognravi, O. and Plow, E.F. (2019) Thrombospondin-4 in Tissue Remodeling. *Matrix Biology*, **75-76**, 300-313. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.11.006>
- [7] Lavrador, J.P., *et al.* (2017) Adult Pilocytic Astrocytoma of Conus Medullaris: Clinical Considerations and Review of the Literature. *CNS Oncology*, **6**, 107-110. <https://doi.org/10.2217/cns-2016-0030>
- [8] Rorive, S., Maris, C., Debeir, O., *et al.* (2006) Exploring the Distinctive Biological Characteristics of Pilocytic and Low-Grade Diffuse Astrocytomas Using Microarray Gene Expression Profiles. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, **65**, 794-807. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000228203.12292.a1>
- [9] Yang, H.J., Ma, S.P., Ju, F., *et al.* (2016) Thrombospondin-4 Promotes Neuronal Differentiation of NG2 Cells via the ERK/MAPK Pathway. *Journal of Molecular Neuroscience*, **60**, 517-524. <https://doi.org/10.1007/s12031-016-0845-1>
- [10] Park, B.L., Kim, Y.J., Cheong, H.S., *et al.* (2006) Association of Common Promoter Polymorphisms of MCP1 with

- Hepatitis B Virus Clearance. *Experimental & Molecular Medicine*, **38**, 694-702. <https://doi.org/10.1038/emm.2006.82>
- [11] Su, F., Zhao, J., Qin, S., *et al.* (2017) Over-Expression of Thrombospondin 4 Correlates with Loss of miR-142 and Contributes to Migration and Vascular Invasion of Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Oncotarget*, **8**, 23277-23288. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15054>
- [12] Wu, H., Zhang, G., Li, Z., *et al.* (2019) Thrombospondin-4 Expression as a Prognostic Marker in Hepatocellular Carcinoma. *Gene*, **696**, 219-224. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.02.049>
- [13] Forster, S., Gretschel, S., Jons, T., *et al.* (2011) THBS4, a Novel Stromal Molecule of Diffuse-Type Gastric Adenocarcinomas, Identified by Transcriptome-Wide Expression Profiling. *Modern Pathology*, **24**, 1390-1403. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.99>
- [14] Maran, S., Lee, Y.Y., Xu, S., *et al.* (2013) Gastric Precancerous Lesions Are Associated with Gene Variants in *Helicobacter pylori*-Susceptible Ethnic Malays. *World Journal of Gastroenterology*, **19**, 3615-3622. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i23.3615>
- [15] Lin, X., Hu, D., Chen, G., *et al.* (2016) Associations of THBS2 and THBS4 Polymorphisms to Gastric Cancer in a Southeast Chinese Population. *Cancer Genetics*, **209**, 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2016.04.003>
- [16] Huang, T., Liu, D., Wang, Y., *et al.* (2018) FGFR2 Promotes Gastric Cancer Progression by Inhibiting the Expression of Thrombospondin4 via PI3K-Akt-Mtor Pathway. 1421-9778 (Electronic). <https://doi.org/10.1159/000494590>
- [17] Chen, X., Huang, Y., Wang, Y., *et al.* (2019) THBS4 Predicts Poor Outcomes and Promotes Proliferation and Metastasis in Gastric Cancer. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **75**, 117-123. <https://doi.org/10.1007/s13105-019-00665-9>
- [18] Kuroda, K., Yashiro, M., Sera, T., *et al.* (2019) The Clinicopathological Significance of Thrombospondin-4 Expression in the Tumor Microenvironment of Gastric Cancer. *PLoS ONE*, **14**, e0224727. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224727>
- [19] Ding, Y., Chen, Y., Wu, M., *et al.* (2020) Identification of Genes Associated with Gastric Cancer Survival and Construction of a Nomogram to Improve Risk Stratification for Patients with Gastric Cancer. *Oncology Letters*, **20**, 215-225. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11543>
- [20] Greco, S.A., Chia, J., Inglis, K.J., *et al.* (2010) Thrombospondin-4 Is a Putative Tumour-Suppressor Gene in Colorectal Cancer That Exhibits Age-Related Methylation. *BMC Cancer*, **10**, 494. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-494>
- [21] Kondo, Y., Shen, L., Yan, P.S., *et al.* (2004) Chromatin Immunoprecipitation Microarrays for Identification of Genes Silenced by Histone H3 Lysine 9 Methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 7398-7403. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306641101>
- [22] Turashvili, G., Bouchal, J., Burkadze, G., *et al.* (2005) Differentiation of Tumours of Ductal and Lobular Origin: II. Genomics of Invasive Ductal and Lobular Breast Carcinomas. *Biomedical Papers*, **149**, 63-68. <https://doi.org/10.5507/bp.2005.006>
- [23] Korkola, J.E., DeVries, S., Fridlyand, J., *et al.* (2003) Differentiation of Lobular versus Ductal Breast Carcinomas by Expression Microarray Analysis. *Cancer Research*, **63**, 7167-7175.
- [24] McCart Reed, A.E., Song, S., Kutasovic, J.R., *et al.* (2013) Thrombospondin-4 Expression Is Activated during the Stromal Response to Invasive Breast Cancer. *Virchows Archiv*, **463**, 535-545. <https://doi.org/10.1007/s00428-013-1468-3>
- [25] Tveitarås, M.K., Selheim, F., Sortland, K., *et al.* (2019) Protein Expression Profiling of Plasma and Lungs at Different Stages of Metastatic Development in a Human Triple Negative Breast Cancer Xenograft Model. *PLoS ONE*, **14**, e0215909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215909>
- [26] Luo, J., Dunn, T., Ewing, C., *et al.* (2002) Gene Expression Signature of Benign Prostatic Hyperplasia Revealed by cDNA Microarray Analysis. *Prostate*, **51**, 189-200. <https://doi.org/10.1002/pros.10087>
- [27] Dakhova, O., Ozen, M., Creighton, C.J., *et al.* (2009) Global Gene Expression Analysis of Reactive Stroma in Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*, **15**, 3979-3989. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1899>
- [28] Muppala, S., Xiao, R., Krukovets, I., *et al.* (2017) Thrombospondin-4 Mediates TGF- $\beta$ -Induced Angiogenesis. *Oncogene*, **36**, 5189-5198. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.140>
- [29] Wu, J.H., Li, X.M., Luo, F., *et al.* (2020) Screening Key miRNAs and Genes in Prostate Cancer by Microarray Analysis. *Transplantation Proceedings*, **9**, 856-868. <https://doi.org/10.21037/tcr.2019.12.30>
- [30] Sugimura, J., Yang, X.J., Tretiakova, M.S., *et al.* (2004) Gene Expression Profiling of Mesoblastic Nephroma and Wilms Tumors—Comparison and Clinical Implications. *Urology*, **64**, 362-368. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.04.052>
- [31] Myers, T., Chengedza, S., Lightfoot, S., *et al.* (2009) Flexible Heteroarotinoid (Flex-Het) SHetA2 Inhibits Angiogenesis *in Vitro* and *in Vivo*. *Investigational New Drugs*, **27**, 304-318. <https://doi.org/10.1007/s10637-008-9175-7>



- 
- [32] van Doorn, R., Zoutman, W.H., Dijkman, R., *et al.* (2005) Epigenetic Profiling of Cutaneous T-Cell Lymphoma: Promoter Hypermethylation of Multiple Tumor Suppressor Genes Including BCL7a, PTPRG, and p73. *Journal of Clinical Oncology*, **23**, 3886-3896. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.11.353>