

• 消化系统疾病精准诊疗专题 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.21.001

THBS1 调控结直肠癌进展的生物信息学分析及验证^{*}

苗 格^{1,2}, 黄小玉^{1,2}, 张渊慈^{1,2}, 王好甲^{1,2}, 王君澍^{1,2}, 王 新¹, 卢媛媛², 赵晓迪^{2△}

1. 空军军医大学唐都医院消化内科, 陕西西安 710038; 2. 空军军医大学西京医院国家消化系统疾病临床医学研究中心和消化系统肿瘤整合防治全国重点实验室, 陕西西安 710032

摘要:目的 探讨血小板反应蛋白 1 (THBS1) 在调控结直肠癌 (CRC) 进展中的作用。方法 使用 GEPIA2、TGGA、GTEx 数据库分析 THBS1 在 CRC 中的表达与免疫浸润的关系。根据不同转染方式, 将 HCT8 细胞分为转染阴性对照小干扰 RNA (siRNA) 的阴性对照组 (siNC 组)、转染 THBS1 siRNA-1 的敲低组 1 (siTHBS1-1 组) 和转染 THBS1 siRNA-2 的敲低组 2 (siTHBS1-2 组)。采用实时荧光定量聚合酶链反应和蛋白质印迹法检测 THBS1 表达情况。使用 Transwell 实验和 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷实验验证 THBS1 对 HCT8 细胞迁移、侵袭和增殖能力的影响。使用多重免疫荧光染色验证 THBS1 在 CRC 患者的肿瘤组织和癌旁组织中的表达。结果 GEPIA2 数据库分析结果显示, CRC 组织 THBS1 信使 RNA (mRNA) 的中位表达水平低于正常组织。TIMER2.0 在线平台分析结果显示, 结肠腺癌、食管癌、膀胱尿路上皮癌患者癌组织 THBS1 基因表达水平低于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 直肠腺癌患者癌组织 THBS1 基因表达水平有低于癌旁组织的趋势。同时使用 GEPIA2 网站联合 GTEx 数据库分析结果显示, 肾上腺皮质癌、卵巢癌、结肠腺癌和直肠腺癌患者癌组织 THBS1 mRNA 表达水平低于癌旁组织, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。TIMER2.0 在线平台分析结果显示, 结肠腺癌患者 THBS1 mRNA 表达水平与 CD8⁺T 细胞、巨噬细胞/单核细胞、中性粒细胞、髓样树突状细胞的浸润水平呈正相关 ($P < 0.05$)。siTHBS1-1 组和 siTHBS1-2 组迁移和侵袭的细胞数量多于 siNC 组, 细胞增殖率高于 siNC 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。CRC 癌组织中组织学评分低于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P = 0.023$)。结论 THBS1 在 CRC 中低表达, 敲低 THBS1 可以促进 CRC 细胞的迁移、侵袭和增殖。

关键词: 结直肠癌; 血小板反应蛋白 1; 迁移; 侵袭; 增殖

中图法分类号: R735.3+7; R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)21-2881-07

Bioinformatics analysis and validation of THBS1 in the progression of colorectal cancer^{*}

MIAO Ge^{1,2}, HUANG Xiaoyu^{1,2}, ZHANG Yuanci^{1,2}, WANG Haojia^{1,2},
WANG Junshu^{1,2}, WANG Xin¹, LU Yuanyuan², ZHAO Xiaodi^{2△}

1. Department of Gastroenterology, Tangdu Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China; 2. State Key Laboratory of Holistic Integrative Management of Gastrointestinal Cancers and National Clinical Research Center for Digestive Diseases, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

Abstract: **Objective** To investigate the role of thrombospondin-1 (THBS1) in regulating the progression of colorectal cancer (CRC). **Methods** GEPIA2, TGGA and GTEx databases were used to analyze the relationship between the expression of THBS1 in CRC and immune infiltration. According to different transfection methods, HCT8 cells were divided into the negative control group transfected with negative control small interfering RNA (siRNA, siNC group), the knockdown group 1 transfected with THBS1 siRNA-1 (siTHBS1-1 group), and the knockdown group 2 transfected with THBS1 siRNA-2 (siTHBS1-2 group). The expression of THBS1 was detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction and western blotting. Transwell and 5-acetylene-2'-deoxyuridine experiments were used to verify the effect of THBS1 on the migration, invasion and proliferation of HCT8 cells. Multiple immunofluorescence staining was used to verify the

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82573226, 82173256); 国家科技重大专项 (2023ZD0501506); 陕西省重点研发计划 (2024SF-GJHX-04); 消化系统肿瘤整合防治全国重点实验室课题 (CBSKL2022ZZ55)。

作者简介: 苗格, 女, 在读硕士研究生, 主要从事结直肠癌转移的机制方向的研究。△ 通信作者, E-mail: leedyzhao@fmmu.edu.cn。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20251015.0905.002\(2025-10-15\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20251015.0905.002(2025-10-15))

引用格式: 苗格, 黄小玉, 张渊慈, 等. THBS1 调控结直肠癌进展的生物信息学分析及验证[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(21): 2881-2886.

expression of THBS1 in tumor tissues and adjacent tissues of CRC patients. **Results** The results of GEPIA2 database analysis showed that the median expression level of THBS1 message RNA (mRNA) in CRC tissues was lower than that in normal tissues. The results of TIMER2.0 online platform analysis showed that the expression levels of THBS1 gene in cancer tissues of patients with colon adenocarcinoma, esophageal cancer and bladder urothelial cancer were lower than those in adjacent tissues, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and the expression level of THBS1 gene in cancer tissues of patients with rectal adenocarcinoma had a trend of lower than that in adjacent tissues. At the same time, the results of GEPIA2 website combined with GTEx database analysis showed that the expression levels of THBS1 mRNA in cancer tissues of patients with adrenocortical carcinoma, ovarian cancer, colon adenocarcinoma and rectal adenocarcinoma were lower than those in adjacent tissues, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The results of TIMER2.0 online platform showed that the expression level of THBS1 mRNA in patients with colon adenocarcinoma was positively correlated with the infiltration level of CD8⁺ T cells, macrophages/monocytes, neutrophils and myeloid dendritic cells ($P < 0.05$). The number of migrating and invading cells in siTHBS1-1 group and siTHBS1-2 group were more than those in siNC group, and the proliferative cell rate was higher than that in siNC group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The histological score of CRC cancer tissues was lower than that of adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P = 0.023$). **Conclusion** THBS1 is expressed at low levels in colorectal cancer, and its knockdown can promote the migration, invasion, and proliferation of colorectal cancer cells.

Key words: colorectal cancer; thrombospondin-1; migration; invasion; proliferation

2024 年,国际癌症研究机构发布的全球肿瘤负担数据显示,结直肠癌(CRC)的发病率和病死率位列所有恶性肿瘤的前 3 位^[1]。虽然随着免疫治疗和靶向治疗等新型治疗策略的发展,CRC 总体病死率呈下降趋势,但 50 岁以下人群中的早发性 CRC 的发病率却在 全球范围内不断攀升^[2]。我国肿瘤登记中心的数据显示,CRC 已成为我国第 2 大常见恶性肿瘤,同时也是癌症相关死亡的第 4 大病因^[3]。CRC 的高发病率和 高病死率已成为严重威胁全球居民健康的重大 疾病负担。因此,深入研究 CRC 发生、发展的 分子机制,探讨与其进展密切相关的关键分子, 对于提升早期诊断率、改善患者预后和开发新 的治疗靶点具有重大意义。

在肿瘤的发生、发展过程中,肿瘤微环境中的 细胞外基质成分被认为是调控肿瘤进展的重要 因素。血小板反应蛋白亚家族是一类在细胞外基 质中广泛存在的多功能糖蛋白,由 5 个成员组 成^[4]。作为该家族的重要成员,血小板反应蛋白 1 (THBS1)具有高度复杂的结构,由 6 个不同的结 构域组成^[5];包括 N 端的肝素结合结构域、前 胶原同源结构域,以及 3 个串联的 I 型、II 型和 III 型结构域和 C 端的球状细胞结合 结构域。各结构域赋予了 THBS1 多样化的生物 学功能,使 THBS1 在细胞黏附、迁移、增殖、分 化、血管生成及免疫调节等多种生理和病理过 程中发挥重要作用^[6]。CD36 作为 THBS1 的常 见受体之一,与 THBS1 结合可以抑制血管生 成、诱导细胞凋亡、阻断肿瘤微血管内皮细胞 中的血管内皮生长因子受体 2 通路,促进肿瘤 进展^[7-8]。CD47 作为 THBS1 的另一个常见信 号受体,存在于细胞的表面,通过免疫细胞表面 信号调节蛋白 α 发出信号,抑制信号调节蛋白 α 活

性^[9],同时其在多种基本细胞功能中发挥重要 作用,如细胞增殖、分化、死亡等^[10]。

THBS1 在肿瘤领域是研究热点。在口腔鳞 状细胞癌中,THBS1 通过外泌体介导的途径促 进 M1 型肿瘤相关巨噬细胞极化,推动口腔癌 的发生和发展^[11]。有研究发现,在乳腺癌中, THBS1 的表达下调可以促进黏着斑激酶 Y397 位 点的磷酸化,进而促进细胞黏附和侵袭。THBS1 有望作为乳腺癌侵袭和转移的潜在生物标 志物和治疗靶点^[12]。在肝内胆管癌(CHOL) 的研究中,THBS1 一方面增强了肝内 CHOL 细 胞的增殖、黏附、迁移和侵袭能力,另一方面 促进肿瘤相关淋巴管生成,从而促进肝内 CHOL 细胞的转移^[13]。一项胃癌相关研究指出,胃 癌组织 THBS1 表达水平较低,且这与胃癌患 者的不良预后相关。源自胃癌细胞的外泌体 THBS1 以 m6A 甲基化依赖性方式增强 V γ 9V δ 2 T 细胞的功能,减少细胞毒性和抑制 γ 干扰素、肿瘤坏死因子- α 、穿孔素和颗粒酶 B 的产生。靶向外泌体 THBS1 可能对胃癌的免疫治疗具有重要意义^[14]。

从上述研究可以看出,THBS1 在不同肿瘤 中的表现不同。一方面,THBS1 在口腔鳞状细 胞癌、乳腺癌和肝内 CHOL 中主要通过促进肿 瘤细胞的黏附、侵袭及肿瘤相关巨噬细胞极化 等方式导致肿瘤进展,更多地扮演着“促癌因 子”的角色。然而,在胃癌中,THBS1 表达水 平较低且与不良预后相关,其通过增强 V γ 9V δ 2 T 细胞功能抑制肿瘤进展。鉴于 THBS1 在 CRC 中的作用尚不明确,本研究通过生物信息学 分析、分子生物学实验及临床样本验证,系统 探讨 THBS1 在 CRC 发生、发展中的作用,为 筛选 CRC 进展相

关的关键分子提供理论依据。本研究不仅有助于深入理解 THBS1 在 CRC 中的生物学功能,也为临床诊断及靶向治疗策略的制订提供了新的思路和依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从空军军医大学西京医院国家消化系统疾病临床医学研究中心和消化系肿瘤整合防治全国重点实验室生物样本库获取 11 例 CRC 患者的肿瘤组织和癌旁组织。其中男性 5 例,年龄 59~64 岁;女性 6 例,年龄 58~68 岁;结肠中分化腺癌 4 例,直肠中分化腺癌 2 例,结肠中低分化腺癌 1 例,横结肠中分化腺癌 1 例,横结肠中高分化腺癌 1 例,乙状结肠高分化腺癌 1 例,回盲部中分化腺癌 1 例。本研究经空军军医大学西京医院医学伦理委员会批准(KY20253487-1),符合豁免签署知情同意书的伦理审查要求。

1.2 材料 人 CRC 细胞系 HCT8 从美国模式菌种收集中心(ATCC)获得,保存于肿瘤生物学国家重点实验室细胞样本库。实验培养细胞所用杜尔贝科改良伊格尔(DMEM)细胞培养基、胎牛血清、双抗(青霉素+链霉素)、胰酶、磷酸盐缓冲液均购自美国 Gibco 公司。

1.3 仪器与试剂 细胞恒温培养箱购自德国 Thermo 公司;台式低温高速、常温低速离心机均购自美国 Caliper 公司;反转录实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)仪、蛋白质印迹法显影仪均购自美国 Bio-Rad 公司;荧光显微镜购自美国 Akoya 公司。PCR 反应引物购自北京擎科生物公司;RNA 提取试剂盒购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;信使 RNA(mRNA)反转录相关试剂盒购自日本 Takara 公司;蛋白质印迹法所用抗体购自美国 CST 公司(克隆号为 D7E5F,货号为 37879,稀释比例为 1:1 000);Transwell 迁移和侵袭实验小室购自美国 Corning 公司;5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EDU)-488 细胞增殖检测试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司;多重免疫荧光染色所用抗体购自英国 Abcam 公司(克隆号为 EPR22927-54,货号为 ab267388,稀释比例为 1:5 000);多重免疫荧光染色试剂盒购自美国 Akoya 公司;L-谷氨酰胺购自 Gibco 公司,货号为 25030081;非必需氨基酸溶液购自 Gibco 公司,货号为 11140050。

1.4 方法

1.4.1 生物信息学分析 采用 GEPIA2 数据库(<http://gepia2.cancerpku.cn>)查询 THBS1 在 CRC 组织和正常组织中 mRNA 的中位表达水平。采用 TIMER2.0 在线平台(<http://timer.cistrome.org/>)分析 TCGA 数据库内 33 种癌组织[肾上腺皮质癌(ACC)、膀胱尿路上皮癌(BLCA)、浸润性乳腺癌(BRCA)、宫颈鳞状上皮癌(CESC)、CHOL、结肠腺癌(COAD)、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBC)、食管癌(ESCA)、头颈鳞癌(HNSC)、肾细胞癌(KICH)、胶质母细胞瘤(GBM)、肾透明细胞癌(KIRC)、肾乳头状

细胞癌(KIRP)、急性髓系白血病(LAML)、脑低级别胶质瘤(LGG)、肝细胞肝癌(LIHC)、肺腺癌(LUAD)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、间皮瘤(MESO)、胰腺癌(PAAD)、副神经节瘤/嗜铬细胞瘤(PCPG)、卵巢浆液性囊腺瘤(OV)、前列腺癌(PRAD)、直肠腺癌(READ)、肉瘤(SARC)、黑色素瘤(SKCM)、胃腺癌(STAD)、睾丸癌(TGCT)、甲状腺癌(THCA)、胸腺癌(THYM)、子宫癌肉瘤(UCS)、眼部黑色素瘤(UVM)、子宫内膜样癌(UCEC)]及癌旁组织中 THBS1 基因的表达水平。采用 GEPIA2 网站联合 GTEx 数据库分析 THBS1 在 10 种癌组织(ACC、BRCA、COAD、LAML、LGG、OV、READ、SARC、THYM、UCS)及癌旁组织中的 mRNA 表达差异。使用 TIMER2.0 在线平台对 COAD 中 THBS1 mRNA 与主要几种免疫细胞浸润水平的相关性进行评估。

1.4.2 细胞培养 使用 DMEM 培养基培养细胞,并添加 10%胎牛血清、1%双抗(青霉素+链霉素)、1% L-谷氨酰胺、1%非必需氨基酸溶液,培养条件为含 5% CO₂,温度为 37℃,定期换液及传代。

1.4.3 小干扰 RNA(siRNA)瞬时转染 将 HCT8 细胞分为 3 组进行实验:转染阴性对照 siRNA 的阴性对照组(siNC 组)、转染 THBS1 siRNA-1 的敲低组 1(siTHBS1-1 组)和转染 THBS1 siRNA-2 的敲低组 2(siTHBS1-2 组)。设计合成针对 THBS1 的 2 条 siRNA,序列为 siTHBS1-1 5'-AUACAUCACCACUC-UAAUG-3', siTHBS1-2 5'-UGGAAAUUGUCAU-UGACGC-3'和阴性对照。转染过程采用 Jetprime 转染试剂,按照试剂说明书进行操作。首先,将 HCT8 细胞培养至对数生长期,调整细胞密度至 30%~50%,之后将 siRNA 与转染试剂混合,制备转染复合物。将复合物加入细胞培养基中,轻轻摇晃培养皿以确保混合均匀。在转染后的 48~72 h,收集 3 组细胞样本,用于后续的基因表达水平检测、Transwell、EDU 实验分析。

1.4.4 RT-qPCR 检测 THBS1 mRNA 表达水平 对于 1.4.3 方法中所述的获取的 3 组细胞样本,使用 RNA 提取试剂盒,依据试剂盒说明书提取细胞 RNA。具体操作如下,将培养好的细胞洗涤 2 次后加入适量的裂解液,用移液器吹打使细胞充分裂解,去除蛋白质和基因组 DNA,沉淀 RNA 和洗涤 RNA,使用紫外分光光度计检测样本浓度及 260 nm 与 280 nm 处吸光度比值,通过反转录获取互补 DNA(cDNA),条件为 37℃反转录 15 min,85℃灭活,反转录 15 s。反转录后模板用 3 步法程序进行扩增。扩增条件:95℃预变性 5 min;95℃变性 10 s,60℃退火 20 s,72℃延伸 20 s,循环 40 次。THBS1 正向引物为 5'-CAGGAGCAACCTCTACTCCG-3',反向引物为 5'-CAGCAGGGATCCTGTGTGTA-3';GAPDH 正向引物为 5'-AGAAGGCTGGGGCTCAT TTG-3',反

向引物为 5'-AGGGGCCATCCACA GTCTTC-3'。使用 BIORAD CFX 软件进行分析,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算每个样本的 mRNA 表达水平。每个样本重复测量 3 次,最后取平均值。

1.4.5 蛋白质印迹法检测 THBS1 蛋白表达 对于 1.4.3 方法中所述的获取的 3 组细胞样本,采用磷酸盐缓冲液洗涤 2 次后,使用添加有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞 15 min,以 12 000 r/min 离心 15 min,取上清液。采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定 THBS1 蛋白水平,通过 SDS 凝胶电泳后转印到硝酸纤维素膜。用 5%脱脂牛奶封闭 1 h 后,将膜与抗体置于 4℃环境下孵育过夜,次日孵育辣根过氧化物偶联抗体,使用分子成像仪 ChemiDox XRS+成像系统及 Bio-Rad 相关软件进行显影。

1.4.6 体外迁移、侵袭实验 对于 1.4.3 方法中所述的获取的 3 组细胞样本,通过 Transwell 实验评估细胞迁移侵袭能力。对于侵袭实验,将 Corning 基质胶与 DMEM 培养基按照 1:50 的比例混合,加入 Corning 小室中,在含 5% CO₂,温度为 37℃的环境下孵育 2 h。将 2.0×10^5 个细胞接种在小室中,孵育一定时间,使用无水乙醇固定细胞,再用 0.1%结晶紫溶液进行染色,在显微镜下拍照,使用 ImageJ 软件计数以确定其相对数量。每组设置 3 个复孔。

1.4.7 体外细胞增殖实验 对于 1.4.3 方法中所述的获取的 3 组细胞样本,通过 EDU 实验评估细胞增殖能力。将 5.0×10^5 个细胞接种在 24 孔板中,使用 EDU-488 细胞增殖检测试剂盒,按照试剂说明书进行操作。首先,对培养细胞的进行 EDU 标记 2 h,在含 4%多聚甲醛溶液中固定 15 min,使用含 0.5% Triton 溶液通透 15 min,之后进行 EDU 染色及细胞核染色,在荧光显微镜下计数以确定细胞增殖的数量。每组设置 3 个复孔。

1.4.8 多重免疫荧光染色并计算组织学评分 将选取的 CRC 患者的肿瘤组织和癌旁组织制为石蜡切片,置于 65℃条件下烤片 2 h,进行梯度脱水干燥,使用组织固定液固定 20 min,采用含 3%过氧化氢溶液去除髓源性过氧化物酶,并在碱性条件下修复暴露抗原位点,一抗孵育 1 h,二抗孵育 10 min,荧光染料孵育 10 min,最后使用含 4',6-二脒基-2-苯基吡啶染料的抗荧光淬灭剂进行封片,使用荧光显微镜观察。染色结束后,由

2 位独立观察员对染色强度进行评分,评分过程遵循双盲原则,染色强度由低到高为 0~3 分,使用 PerkinElmer Vectra 多光谱载玻片扫描系统计算阳性细胞的占比,得出阳性百分率,以染色强度评分乘以阳性百分率计算组织学评分。

1.5 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.5 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,2 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 生物信息学分析 GEPIA2 数据库分析结果显示,CRC 组织 THBS1 mRNA 的中位表达水平(5.26)低于正常组织(6.20)。TIMER2.0 在线平台分析结果显示,COAD、ESCA、BLCA 患者癌组织 THBS1 基因表达水平低于癌旁组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。READ 患者癌组织 THBS1 基因表达水平有低于癌旁组织的趋势,见图 1A。同时使用 GEPIA2 网站联合 GTEx 数据库分析结果显示,ACC、OV、COAD 和 READ 患者癌组织 THBS1 mRNA 表达水平低于癌旁组织,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 1B。TIMER2.0 在线分析平台分析结果显示,COAD 患者 THBS1 mRNA 表达水平与 CD8⁺T 细胞、巨噬细胞/单核细胞、中性粒细胞、髓样树突状细胞的浸润水平呈正相关($r=0.227,0.599,0.485,0.580$,均 $P<0.05$)。

2.2 THBS1 小干扰敲低效率验证 siTHBS1-1 组和 siTHBS1-2 组的 THBS1 蛋白条带信号均较 siNC 组明显减弱。见图 2。

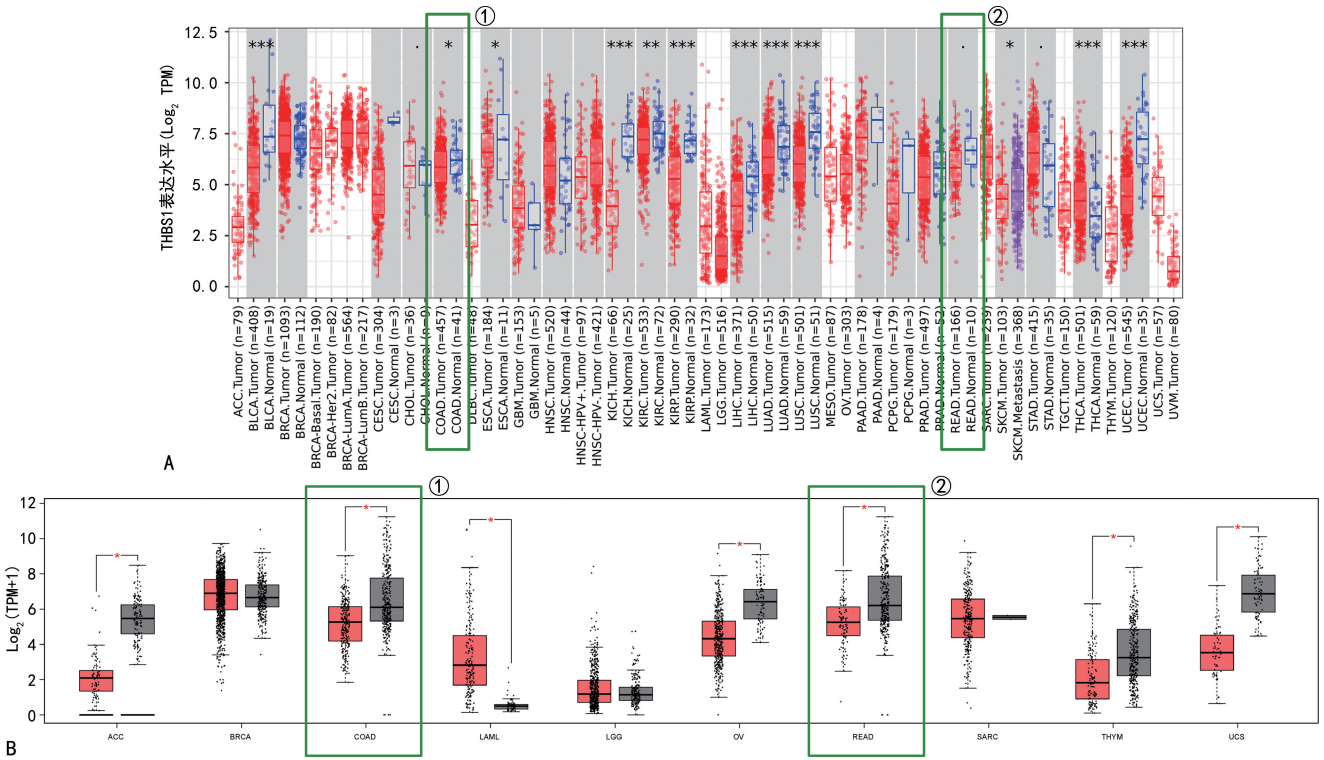
2.3 不同的 CRC 细胞 THBS1 mRNA 表达水平、细胞增殖率及迁移细胞、侵袭细胞数量比较 siTHBS1-1 组和 siTHBS1-2 组迁移和侵袭的细胞数量多于 siNC 组,细胞增殖率高于 siNC 组,THBS1 mRNA 表达水平低于 siNC 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.4 CRC 患者癌组织及癌旁组织的组织学评分比较 CRC 癌组织的组织学评分[1.0(0.3,1.5)分]低于癌旁组织[4.3(1.8,34.1)分],差异有统计学意义($Z=2.281,P=0.023$)。见图 3。

表 1 不同的 CRC 细胞 THBS1mRNA 表达水平、细胞增殖率及迁移细胞、侵袭细胞数量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	THBS1 mRNA	迁移细胞(个)	侵袭细胞(个)	细胞增殖率(%)
siNC 组	3	1.0±0.1	281.0±14.6	156.0±2.1	29.8±0.8
siTHBS1-1 组	3	0.1±0.0*	635.0±4.8*	277.0±5.7*	48.7±1.1*
siTHBS1-2 组	3	0.1±0.0*	674.0±11.7*	306.0±7.0*	49.2±2.1*
<i>F</i>		172.852	379.366	223.834	59.100
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 siNC 组比较,* $P<0.05$ 。



注:A为TCGA数据库中THBS1在33种癌组织及癌旁组织中THBS1基因的表达水平;B为GEPiA2网站联合GTEx数据库分析THBS1 mRNA在10种癌组织及癌旁组织中的表达水平;Tumor表示癌组织;Normal表示癌旁组织;*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$;图A中①表示COAD癌组织及癌旁组织中THBS1基因的表达水平,②表示READ癌组织及癌旁组织中THBS1基因的表达水平;图B中①表示COAD癌组织及癌旁组织THBS1 mRNA的表达水平,②表示READ癌组织及癌旁组织THBS1 mRNA的表达水平。

图1 THBS1在泛癌中癌组织与癌旁组织的表达差异分析

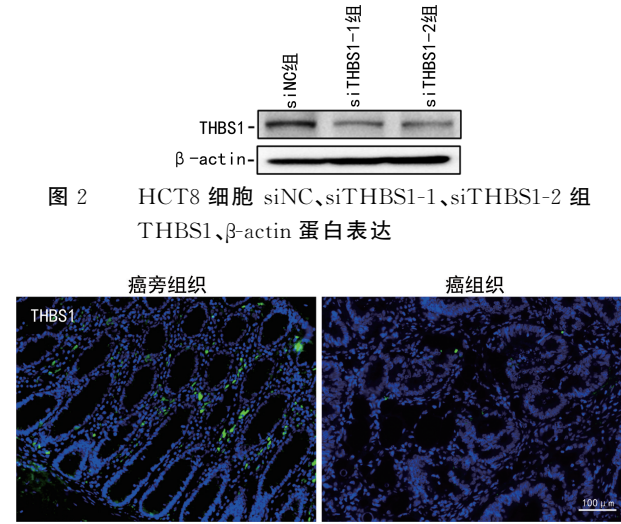


图2 HCT8细胞siNC、siTHBS1-1、siTHBS1-2组THBS1、 β -actin蛋白表达

3 讨论

在肿瘤生物学领域,THBS1被广泛认为是一种内源性抗血管生成因子。它通过抑制新生血管形成,从而限制肿瘤组织的血液供应,进而抑制肿瘤的生长和转移^[15]。THBS1还可以调控多种信号通路,如通过激活转化生长因子- β 信号,调控肿瘤细胞的增殖和分化^[16]。在大多数肿瘤的恶性进展过程中,THBS1的表达通常下调,这与多种分子调控机制密切相关。一方面,肿瘤蛋白P53基因和NME1转移抑制因子1基因等抑癌基因对THBS1具有正向调节作用,但随着肿瘤的进展,这种正调节作用逐渐减弱;另一方面,

大鼠肉瘤病毒癌基因同源物家族基因和禽成髓细胞瘤病毒癌基因同源物基因等致癌基因则通过负调节途径抑制THBS1的表达^[17]。上述调控失衡导致THBS1表达的降低,这一变化与多种癌症的不良预后密切相关。

多项研究表明THBS1具有抑癌作用。例如,在乳腺癌、SARC等肿瘤模型中^[18],THBS1的缺失可促进肿瘤的发生与进展,提示其在肿瘤发生早期可能发挥抑制作用。THBS1低表达与宫颈癌、肺癌和乳腺癌的不良预后相关,低表达往往提示肿瘤更易进展与转移,患者生存率降低^[19]。此外,对喉鳞状细胞癌的研究显示,THBS1表达水平的下调与肿瘤的进展密切相关^[20]。在胃癌患者中,THBS1高表达组的各种免疫细胞类型,如自然杀伤(NK)细胞、单核细胞、巨噬细胞、髓源性树突状细胞、中性粒细胞和内皮细胞MCP-counter评分均高于THBS1低表达组,THBS1的低表达与胃癌患者的预后不良相关^[14]。这些证据均支持THBS1作为肿瘤抑制因子的观点。有研究指出,THBS1通过上调白细胞介素-6/Janus激酶2/信号转导与转录激活因子3通路,可以参与成纤维细胞中的细胞增殖和胶原蛋白I沉积^[21],而基质细胞的增多,如成纤维细胞往往是肿瘤进展的重要因素,提示THBS1参与肿瘤进展的另一可能性。本研究揭示了THBS1在CRC组织中低表达,与患者的不良预后相关,同样认为其在CRC中作为肿瘤抑制因子发挥作用,但其具体调控机制有待探索。

然而,关于 THBS1 在肿瘤进展中的作用,当前研究结果存在一定的矛盾和争议。THBS1 在部分肿瘤中的高表达与肿瘤的侵袭性增强、耐药性上升密切相关。在 SKCM 等具有明显间质活性的肿瘤中,THBS1 的表达和分泌反而显著升高,并参与调控肿瘤细胞的迁移、免疫逃逸及耐药性^[22]。在 GBM 等中枢神经系统肿瘤中,THBS1 不仅调节肿瘤相关血管生成,还可影响肿瘤细胞的侵袭能力,与肿瘤的恶性程度密切相关^[23]。这些结果提示,THBS1 不仅在肿瘤细胞层面影响肿瘤的生物行为,还可能通过调控肿瘤微环境,特别是影响免疫细胞的浸润和功能,进一步影响肿瘤的发展和患者的预后。这表明 THBS1 在不同类型肿瘤、不同阶段及不同微环境下,可能具有双向调节作用,具体作用取决于肿瘤类型、细胞来源及所处微环境等多重因素。

本研究结合大数据生物信息学分析、细胞功能实验及临床样本多重免疫荧光验证,系统探讨了 THBS1 在 CRC 进展中的表达特征及其对肿瘤细胞恶性生物学行为的影响。研究结果显示,THBS1 mRNA 的中位表达水平在 CRC 组织中低于正常组织。体外实验证实,敲低 THBS1 可促进 CRC 细胞的迁移、侵袭与增殖。多重免疫荧光染色结果也显示,患者肿瘤组织中组织学评分低于癌旁组织。这些发现提示 THBS1 可能作为 CRC 进展的抑制因子,其表达下调有助于肿瘤的恶性转化与进展。

尽管本研究提供了 THBS1 在 CRC 中作用的重要线索,但仍存在一些不足之处。首先,本研究主要聚焦于 THBS1 在 CRC 进展中的作用,而未深入探讨其内在机制。THBS1 如何具体影响 CRC 细胞的生物学行为,以及其在肿瘤微环境中的作用机制,尚有待后续研究的继续探索。其次,本研究的临床验证样本量较少,肿瘤异质性对 THBS1 作用的影响未充分挖掘,可能影响结果的普适性和可靠性。后续研究中,计划扩大样本量进行再次验证,以增强 THBS1 在 CRC 组织中低表达的证据,并进一步探讨可能的治疗方案。

综上所述,本研究通过生物信息学分析、细胞功能实验及临床样本验证,明确了 THBS1 在 CRC 组织中呈低表达状态,且其下调可促进肿瘤细胞的迁移、侵袭和增殖。上述结果不仅为 THBS1 作为 CRC 进展相关的关键分子提供了理论依据,也为后续临床诊断及靶向治疗策略的研发提供了新思路 and 潜在靶点。未来,深入解析 THBS1 的分子机制及其在肿瘤微环境中的作用,将有助于揭示 CRC 发生、发展的新机制,并为患者带来更多精准治疗的可能。

参考文献

[1] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1): 12-49.
[2] 石彦科, 颜廷启, 孙伟涛, 等. 血清 CXCL12 及其受体 CXCR4、CXCR7 与结肠癌患者临床病理特征及术后肝转移的关系研究[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(2): 178-183.

[3] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221-231.
[4] VANHOUTTE D, SCHIPS T G, MINERATH R A, et al. THBS1 regulates skeletal muscle mass in a TGFβ-Smad2/3-ATF4-dependent manner[J]. Cell Rep, 2024, 43(5): 114149.
[5] LIU B, YANG H, SONG Y S, et al. Thrombospondin-1 in vascular development, vascular function, and vascular disease[J]. Semin Cell Dev Biol, 2024, 155(Pt B): 32-44.
[6] QI C, LEI L, HU J, et al. Thrombospondin-1 is a prognostic biomarker and is correlated with tumor immune microenvironment in glioblastoma[J]. Oncology letters, 2021, 21(1): 22.
[7] WANG J, LI Y. CD36 tango in cancer: signaling pathways and functions[J]. Theranostics, 2019, 9(17): 4893-4908.
[8] XIA L, ZHOU Z, CHEN X, et al. Ligand-dependent CD36 functions in cancer progression, metastasis, immune response, and drug resistance[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 168: 115834.
[9] MONTERO E, ISENBERG J S. The TSP1-CD47-SIRPα interactome; an immune triangle for the checkpoint era[J]. Cancer Immunol Immunother, 2023, 72(9): 2879-2888.
[10] ZHAO W, SHEN B, CHENG Q, et al. Roles of TSP1-CD47 signaling pathway in senescence of endothelial cells: cell cycle, inflammation and metabolism[J]. Molecular biology reports, 2023, 50(5): 4579-4585.
[11] LI W, ZENG Q, WANG B, et al. Oxidative stress promotes oral carcinogenesis via THBS1-mediated M1-like tumor-associated macrophages polarization[J]. Redox Biol, 2024, 76: 103335.
[12] SHEN J, CAO B, WANG Y, et al. Hippo component YAP promotes focal adhesion and tumour aggressiveness via transcriptionally activating THBS1/FAK signalling in breast cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 175.
[13] CORBELL E, FARA C, COVARELLI F, et al. THBS1 and THBS2 enhance the in vitro proliferation, adhesion, migration and invasion of intrahepatic cholangiocarcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(3): 1782.
[14] LI J, FENG H, ZHU J, et al. Gastric cancer derived exosomal THBS1 enhanced Vγ9Vδ2 T-cell function through activating RIG-I-like receptor signaling pathway in a N6-methyladenosine methylation dependent manner [J]. Cancer Lett, 2023, 576: 216410.
[15] JOSEPH J V, MAGAUT C R, STOREVIK S, et al. TGF-β promotes microtubule formation in glioblastoma through thrombospondin 1[J]. Neuro Oncol, 2022, 24(4): 541-553.
[16] MURPHY-ULLRICH J E, SUTO M J. Thrombospondin-1 regulation of latent TGF-β activation: a therapeutic target for fibrotic disease[J]. Matrix Biol, 2018, 68/69: 28-43.
[17] ISENBERG J S, ROBERTS D D. THBS1 (thrombospondin-1)[J]. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol, 2020, 24(8): 291-299.
[18] KAUR S, BRONSON S M, PAL-NATH D, et al. Functions of thrombospondin-1 in the tumor microenvironment[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4570. (下转第 2891 页)

• 消化系统疾病精准诊疗专题 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.21.002

血清 CD24 mRNA、G-17、Leptin 在早期胃癌中的诊断价值及与病理特征的关系*

张晓丽¹, 陈 恕², 谢巴图白音^{3△}

1. 内蒙古自治区人民医院肿瘤内科, 内蒙古呼和浩特 010010; 2. 北京大学肿瘤医院内蒙古医院介入科, 内蒙古呼和浩特 010020; 3. 北京大学肿瘤医院内蒙古医院腹部肿瘤外科, 内蒙古呼和浩特 010020

摘要:目的 分析血清白细胞分化抗原 24(CD24)信使 RNA(mRNA)、胃泌素-17(G-17)、瘦素(Leptin)在早期胃癌中的诊断价值及与病理特征的关系。方法 选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月内蒙古自治区人民医院收治的 53 例早期胃癌患者作为胃癌组,另选取同期内蒙古自治区人民医院收治的 53 例胃部良性肿瘤患者作为良性病变组。比较 2 组血清 CD24 mRNA、G-17、Leptin 水平,以及不同病理特征早期胃癌患者血清 CD24 mRNA、G-17、Leptin 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 CD24 mRNA、G-17、Leptin 对早期胃癌的诊断价值。结果 胃癌组血清 CD24 mRNA、G-17 和 Leptin 水平高于良性病变组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤分化程度为低分化的早期胃癌患者血清 CD24 mRNA、G-17 水平高于肿瘤分化程度为中高分化的早期胃癌患者,肿瘤浸润深度为 T1b 的早期胃癌患者血清 CD24 mRNA、Leptin 水平高于浸润深度为 T1a 的早期胃癌患者,有淋巴结转移的早期胃癌患者血清 CD24 mRNA、G-17 和 Leptin 水平高于无淋巴结转移的早期胃癌患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 CD24 mRNA、G-17 和 Leptin 单独诊断早期胃癌的曲线下面积(AUC)分别为 0.827、0.812、0.794,3 项指标联合诊断早期胃癌的 AUC 为 0.920,大于血清 CD24 mRNA、G-17 和 Leptin 单独诊断的 AUC($Z=2.650、3.208、3.075, P=0.008、0.001、0.002$)。结论 早期胃癌患者血清 CD24 mRNA、G-17 和 Leptin 水平异常升高,且其水平变化与患者病理特征有关,3 项指标可作为诊断早期胃癌的潜在生物标志物。

关键词:白细胞分化抗原 24; 胃泌素-17; 瘦素; 早期胃癌; 诊断; 病理特征

中图法分类号:R446.1;R735.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)21-2887-05

Diagnostic value of serum CD24 mRNA, G-17 and Leptin in early gastric cancer and their relationship with pathological features*

ZHANG Xiaoli¹, CHEN Shu², XIE Batubaiyin^{3△}

1. Department of Oncology, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China; 2. Department of Interventional Radiology, Inner Mongolia Hospital, Peking University Cancer Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010020, China; 3. Department of Abdominal Surgery, Inner Mongolia Hospital, Peking University Cancer Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010020, China

Abstract: **Objective** To analyze the diagnostic value of serum leukocyte differentiation antigen 24 (CD24) message RNA (mRNA), gastrin-17 (G-17) and Leptin in early gastric cancer and their relationship with pathological features. **Methods** A total of 53 patients with early gastric cancer admitted to the Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital from January 2021 to January 2023 were selected as the gastric cancer group, and 53 patients with benign gastric tumors admitted to the Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital during the same period were selected as the benign lesion group. The serum levels of CD24 mRNA, G-17 and Leptin were compared between the two groups, and the serum levels of CD24 mRNA, G-17 and Leptin in early gastric cancer patients with different pathological characteristics were compared. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of serum CD24 mRNA, G-17 and Leptin in early gastric cancer. **Results** The serum levels of CD24 mRNA, G-17 and Leptin in the gastric cancer group were higher than those in the benign lesion group, and the differences were statistically significant ($P<$

* 基金项目:内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202202222)。

作者简介:张晓丽,女,副主任医师,主要从事胃癌方向的研究。△ 通信作者, E-mail:13948317021@163.com。

引用格式:张晓丽,陈恕,谢巴图白音.血清 CD24 mRNA、G-17、Leptin 在早期胃癌中的诊断价值及与病理特征的关系[J].检验医学与临床,2025,22(21):2887-2891.