DOI:10.16016/j.2097-0927.202303119

小鼠 THBS1 基因敲除改善内脏脂肪免疫微环境并抑制结直肠癌腹腔种植转移

汪 腾[1],高 源[1],赵 昆[1],向远彩[1,2],缪洪明[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)高原军事医学系病理生理学教研室[1];646000 四川 泸州,西南医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室[2]

[摘要] **目的** 探究血小板反应蛋白 1(thrombospondin-1,THBS1)基因敲除对结直肠癌免疫微环境与肿瘤进展的作用。**方法** 构建 THBS1 基因敲除小鼠,经 PCR、琼脂糖凝胶电泳明确小鼠基因型。用 THBS1 基因野生型($THBS1^{+/+}$)与 THBS1 基因敲除($THBS1^{-/-}$)小鼠构建结直肠癌皮下荷瘤与腹腔种植转移模型,观察 THBS1 基因敲除对小鼠肿瘤生长情况的影响。用流式细胞术检测腹腔种植转移模型中 THBS1 基因敲除后对结直肠癌附睾脂肪中免疫细胞的变化。**结果** 与 $THBS1^{+/+}$小鼠相比,$THBS1^{-/-}$小鼠在结肠癌皮下荷瘤模型中肿瘤生长没有差异($P>0.05$),而在腹腔种植转移模型中则显著抑制肿瘤生长($P<0.05$)。流式细胞术检测结果显示,与 $THBS1^{+/+}$小鼠相比,THBS1 基因敲除后腹腔种植转移模型小鼠的附睾脂肪组织中总巨噬细胞比例增高($P<0.01$),其中 M1 型(经典型或促炎型)巨噬细胞比例升高($P<0.01$)、M2 型(替代活化型或抗炎型)巨噬细胞比例下降($P<0.01$);髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells,MDSC)比例下降($P<0.05$),其中 Ly6C 亚群($P<0.01$)比例升高,Ly6G 亚群比例降低($P<0.05$);$CD8^+$ T 细胞比例显著升高($P<0.01$)、$CD4^+$ T 细胞比例降低($P<0.01$)。与 $THBS1^{+/+}$小鼠相比,THBS1 基因敲除小鼠外周血总巨噬细胞、M1 型巨噬细胞、M2 型巨噬细胞比例均无变化($P>0.05$);MDSC 及 ly6C 亚群比例无变化($P>0.05$),ly6G 亚群比例降低($P<0.05$);$CD8^+$ T 细胞比例显著降低($P<0.05$)、$CD4^+$ T 细胞比例无变化($P>0.05$)。**结论** THBS1 基因敲除通过增强肿瘤免疫抑制结直肠癌细胞腹腔种植转移。

[关键词] 血小板反应蛋白 1;结直肠癌;免疫微环境;附睾脂肪
[中图法分类号] R392.32; R394.3; R735.35 [文献标志码] A

Knockout of THBS1 gene improves immune microenvironment of visceral fat and inhibits intraperitoneal implantation and metastasis of colorectal cancer in mice

WANG Teng[1], GAO Yuan[1], ZHAO Kun[1], XIANG Yuancai[1,2], MIAO Hongming[1] [1]Department of Pathophysiology, Faculty of High Altitude Military Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan Province, 646000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of thrombospondin1 (THBS1) gene knockout on immune microenvironment and tumor progression of colorectal cancer. **Methods** THBS1 gene knockout ($THBS1^{-/-}$) mice were constructed and its genotypes were determined by PCR and agarose gel electrophoresis. Subcutaneous tumor bearing and intraperitoneal implantation metastasis models of colorectal cancer were constructed in wild type (WT) and $THBS1^{-/-}$ mice to observe the effect of THBS1 on tumor growth. Immune cells in epididymal adipose of tumor bearing mice of both types were detected by flow cytometry. **Results** Compared with the WT mice, $THBS1^{-/-}$ mice showed no difference in tumor growth in colorectal cancer subcutaneous tumor bearing model ($P>0.05$), but significantly inhibited tumor growth in

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82173134)
[通信作者] 缪洪明,E-mail: hongmingmiao@sina.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

intraperitoneal implantation metastasis model ($P<0.05$). Subsequently, flow cytometry indicated that the proportion of total macrophages in the epididymal adipose tissue was increased in the THBS1$^{-/-}$ mice than the WT mice ($P<0.01$), with the proportion of M1-like macrophages (typical or proinflammatory type) increased ($P<0.01$) and that of M2-like macrophages (alternately activated or anti-inflammatory type) decreased ($P<0.01$). The proportion of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) was decreased ($P<0.05$), that of Ly6C subgroup was increased ($P<0.01$), that of Ly6G subgroup was decreased ($P<0.05$), that of CD8$^+$ T cells was significantly increased ($P<0.01$), and that of CD4$^+$ T cells was decreased ($P<0.01$). There were no changes in the proportions of total macrophages, M1-like macrophages and M2-like macrophages in the peripheral blood of intraperitoneal implantation metastasis model mice ($P>0.05$). The proportions of MDSC and ly6C subgroup were not changed ($P>0.05$), while that of ly6G subgroup were decreased ($P<0.05$). The proportion of CD8$^+$ T cells was significantly decreased ($P<0.05$), while that of CD4$^+$ T cells was not changed ($P>0.05$). **Conclusion** THBS1 gene knockout inhibits the intraperitoneal metastasis of colorectal cancer cells by enhancing tumor immunity.

[**Key words**] thrombospondin-1; colorectal cancer; immune microenvironment; epididymal fat

Supported by the General Program of National Science Foundation of China (82173134). Corresponding author: MIAO Hongming, E-mail: hongmingmiao@sina.com

结直肠癌是全球第三大癌症,每年新增病例超过185万例,且死亡85万例[1]。目前,手术和放化疗仍然是结直肠癌治疗的首选方案。其中,对于局限性的结直肠癌患者,通过接受外科手术切除和术后系统治疗,5年生存率为40%,而发生转移的患者5年生存率则仅约20%[2]。研究表明,结直肠癌初次诊断时,约7%的患者已发生腹腔种植转移,在结直肠癌后续的随访中,高达19%的患者会发生腹腔种植转移,中位生存期仅为5~32个月[3]。因此,亟待揭示结直肠癌进展新的分子机制。

血小板反应蛋白1(thrombospondin-1,THBS1)是一种细胞外基质蛋白,其不同的结构域可与多种细胞表面分子受体结合调节细胞粘附、迁移、增殖、血管生成、炎症等生物学过程[4]。近年来的研究表明,肿瘤细胞中THBS1功能异常在多种肿瘤中发挥着至关重要作用,如抑制肝内胆管癌、胶质细胞瘤等多种肿瘤血管生成[5-6],促进乳腺癌、胶质细胞瘤、口腔鳞癌等肿瘤细胞的粘附、迁移等过程[6-8]。然而,关于THBS1在调控结直肠癌肿瘤免疫方面的作用尚不清楚。因此,本研究通过构建THBS1基因敲除小鼠,利用结直肠癌细胞系MC-38构建皮下荷瘤、腹腔种植转移模型,考察THBS1缺失后对结直肠肿瘤生长以及肿瘤微环境中免疫细胞的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料

1.1.1 细胞 C57BL/6小鼠结直肠癌细胞系MC-38由陆军军医大学高原军事医学系病理生理学教研室缪洪明课题组保存。

1.1.2 动物 自赛业生物科技有限公司购入2只雄性及4只雌性6~8周龄THBS1$^{+/-}$亲本小鼠,体质量为22~24 g,由本课题组进行繁殖,并由陆军军医大学动物实验中心代养。

1.1.3 试剂 DMEM高糖培养基、胎牛血清购自Biological Industries(BI)公司;PBS、0.25%胰酶、青链霉素(100×)、DEPC水、4%多聚甲醛固定液等购自上海碧云天生物技术公司;流式抗体PerCP/Cy5.5-CD45(#103132)、APC/A750-F4/80(#123118)、APC-CD206(#141708)、APC-CD11b(#101212)、PerCP/Cy5.5-Gr1(#108428)、FITC-Ly6C(#128006)、APC/A750-Ly6G(#127624)、AF700-CD45(#147716)、PE-CD3(#100206)、APC/A750-CD4(#100414)、PerCP/Cy5.5-CD8(#100734)均购自BioLegend公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 用含10%胎牛血清(#04-001-1ACS)、1%青链霉素双抗(#C0222)的DMEM高糖培养基(#01-056-1A)于5% CO_2 的37 ℃孵箱中培养MC-38细胞,待细胞生长至90%时传代培养。

1.2.2 小鼠基因型鉴定 实验用Bimake公司的鼠尾鉴定试剂盒(#B45012)鉴定,主要操作如下:用剪刀剪取鼠尾(长度3 mm左右)并置于1.5 mL离心管中,向管中加入100 μL含2%蛋白酶的Buffer L溶液,随即将其转移至干式恒温金属浴中组织消化(55 ℃ 2 h)、酶灭活(95 ℃ 10 min)。高速离心后按照说明书进行PCR扩增反应。取10 μL扩增产物加入琼脂糖凝胶(1.2%)上样孔中,经120 V电泳35 min后,于凝

胶成像仪观察并明确小鼠基因型。鉴定引物如下:F1 5′-TTCCTATTACACTCAGCCTGTTTCA-3′; R1 5′-GAAGGTGTTTGTTTGCTATCTGCT-3′; R2 5′-TTCCAAAGACAAACCTCACATTCTG-3′。

1.2.3　腹腔种植和皮下荷瘤模型的建立　选取 6~8 周龄 THBS1 野生型($THBS1^{+/+}$)、杂合子($THBS1^{+/-}$)和 THBS1 基因敲除纯合子($THBS1^{-/-}$)雄性小鼠(每组 3~4 只),每只小鼠皮下或腹腔注射 1.0×10^6 个 MC-38 肿瘤细胞。2 周后,实验鼠经 0.3%的戊巴比妥钠溶液麻醉后处死,随即取皮下及腹腔肿瘤,观察并统计。

1.2.4　流式细胞术检测附睾脂肪组织及外周血免疫细胞　取 6~8 周龄 $THBS1^{+/+}$、$THBS1^{-/-}$ 雄性小鼠(每组 3~4 只),每只小鼠腹腔注射 1.0×10^6 个 MC-38 细胞。5 d 后取附睾脂肪组织及外周血检测免疫细胞。脂肪免疫细胞提取操作如下:小鼠用剪刀将脂肪剪碎后转移至 50 mL 烧瓶中,加入 20 mL 含胶原酶(1 mg/mL)的 RPMI1640 培养基,37 ℃振荡消化 45 min;将消化液转移至 50 mL 离心管中,700×g 离心 5 min;弃上清,用 PBS 重悬细胞,经 200 目过滤网过滤后,500×g 离心 5 min;弃上清,加入 1 mL PBS 重悬,并转移至 1.5 mL 离心管中,500×g 离心 5 min;弃上清,加入 100 mL PBS 重悬细胞备用。外周血免疫细胞提取操作如下:小鼠麻醉后,用眼科镊摘取眼球,将眼球血收集至含有抗凝剂的采血管中,轻轻摇动采血管,防止血液凝固;向采血管中加入等体积的 PBS,并用移液枪吹打混匀;另取 1 个 15 mL 离心管,加入 3 mL 小鼠淋巴细胞提取液;将 PBS 混匀后的血液沿管壁加入离心管;室温离心(1 000×g,20 min);轻轻吸取淋巴细胞层,并离心(1 000×g,5 min);弃上清,加入 2 mL 红细胞裂解液。室温裂解 5 min 后,加入 5 mL PBS 终止裂解;700×g 离心 5 min,加入 PBS 重悬备用。流式细胞术分析操作如下:在各组样品中加入相应流式抗体,4 ℃孵育 45 min;加入 1 mL PBS,500×g 离心 5 min;弃上清,1 mL PBS 重悬细胞,500×g 离心 5 min;流式上机检测或分选。各类细胞分析标志物如下:总巨噬细胞($CD45^+F4/80^+$)、M1 型(经典型或促炎型)巨噬细胞($CD45^+F4/80^+CD11c^+CD206^-$)、M2 型(替代活化或抗炎型)巨噬细胞($CD45^+F4/80^+CD11c^-CD206^+$)、$CD8^+$ T 淋巴细胞($CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$)、$CD4^+$ T 淋巴细胞($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$)、总髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)($CD11b^+Gr1^+$)、Ly6C-MDSC($CD11b^+Ly6C^{high}Ly6G^-$)、Ly6G-MDSC($CD11b^+Ly6C^{low}Ly6G^+$)。

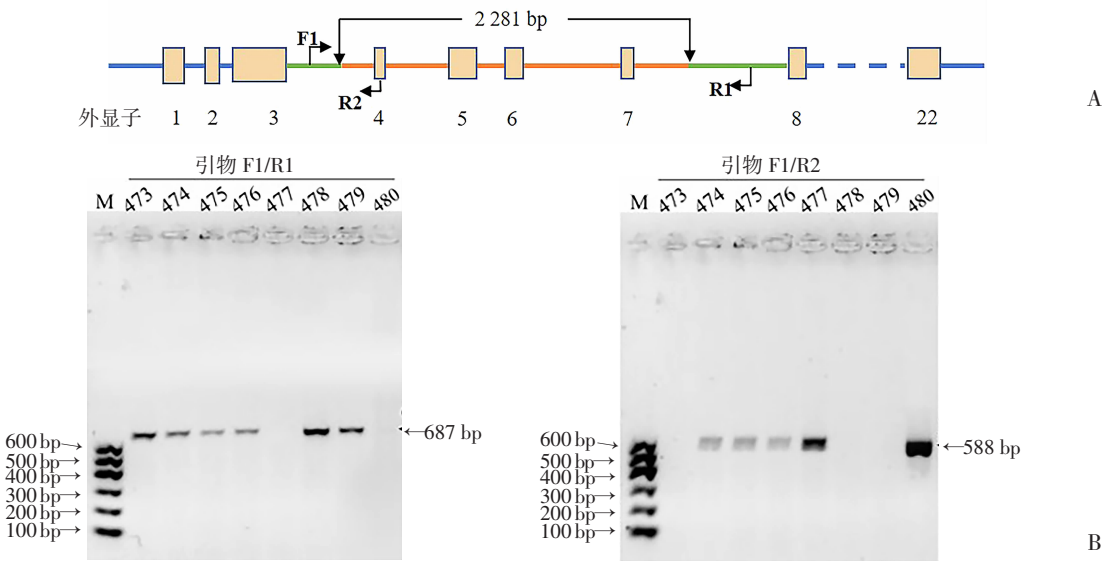
1.3　统计学分析

采用 Graphpad 8.0.1 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用双侧非配对 t 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　小鼠基因型鉴定

小鼠 THBS1 基因共有 22 个外显子,THBS1 基因敲除小鼠主要通过同源重组方法删除包含 4~7 外显子的 2 281 bp(图 1A)。在删除位置附近设置 qPCR 引物,其中引物 F1/R1 产物为 687 bp(代表 THBS1 敲除基因型,图 1B 左),F1/R2 产物片段长度为 588 bp(代表野生型,图 1B 右)。



A:小鼠 THBS1 基因敲除示意图;B:THBS1 基因敲除鼠鼠尾鉴定琼脂糖电泳结果　左侧为敲除引物;右侧+为野生型引物;M:核酸分子量 marker;小鼠编号 473、478、479 基因型为 $THBS1^{-/-}$;474、475、476 基因型为 $THBS1^{+/-}$;477、480 基因型为 $THBS1^{+/+}$

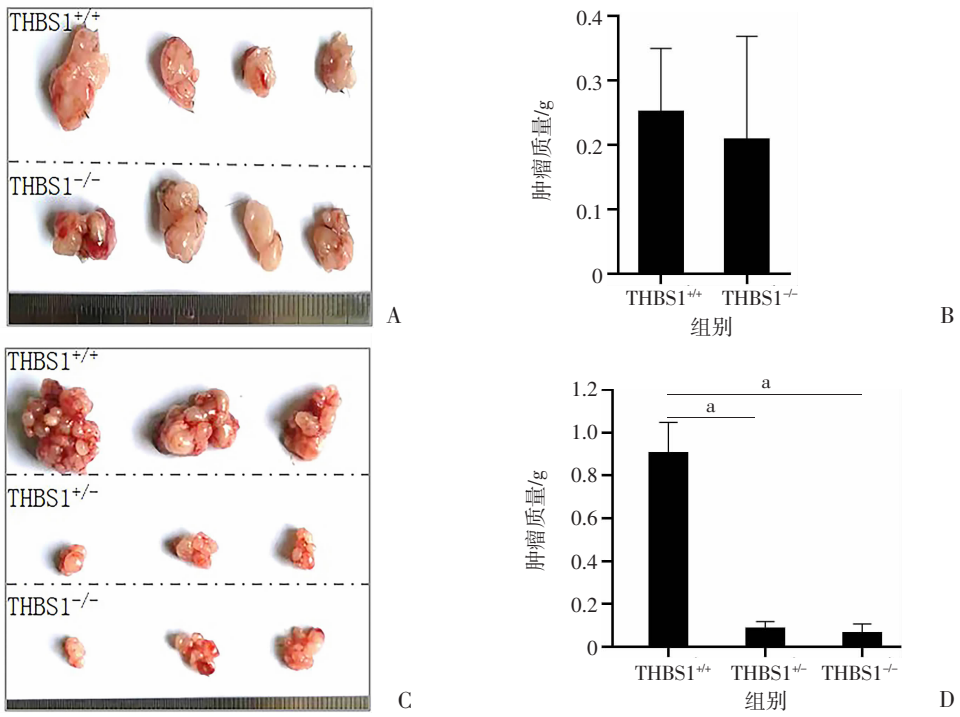
图 1　THBS1 基因敲除小鼠基因型鉴定

2.2 敲除 THBS1 抑制结直肠癌的腹腔种植转移

为明确敲除 THBS1 对结直肠癌恶性进展的影响,在 $THBS1^{+/+}$ 与 $THBS1^{-/-}$ 小鼠中构建结直肠癌皮下荷瘤与腹腔种植转移模型,结果发现,在皮下荷瘤模型中,于接种后 2 周取肿瘤,$THBS1^{+/+}$ 与 $THBS1^{-/-}$ 小鼠中肿瘤大小并无明显变化($P>0.05$,图 2A、B)。在腹腔种植转移模型中,于腹腔注射接种后 2 周取肿瘤,结果发现,$THBS1^{+/+}$、$THBS1^{+/-}$、$THBS1^{-/-}$ 3 组小鼠腹腔内均可见弥漫性播散的肿瘤组织及少量血性腹水,肿瘤呈散发或成簇状分布。肿瘤组织以大网膜脂肪、附睾脂肪、系膜脂肪、肾周及腹膜后脂肪处尤为明显,附睾脂肪组织疑因肿瘤细胞浸润质地变硬,而腹腔内脏器周围未见肉眼可见的定植灶。与 $THBS1^{+/+}$ 小鼠相比,$THBS1^{-/-}$ 小鼠的肿瘤生长显著减慢($P<0.01$,图 2C、D)。

2.3 THBS1 敲除后小鼠附睾脂肪组织及外周血中免疫细胞的改变

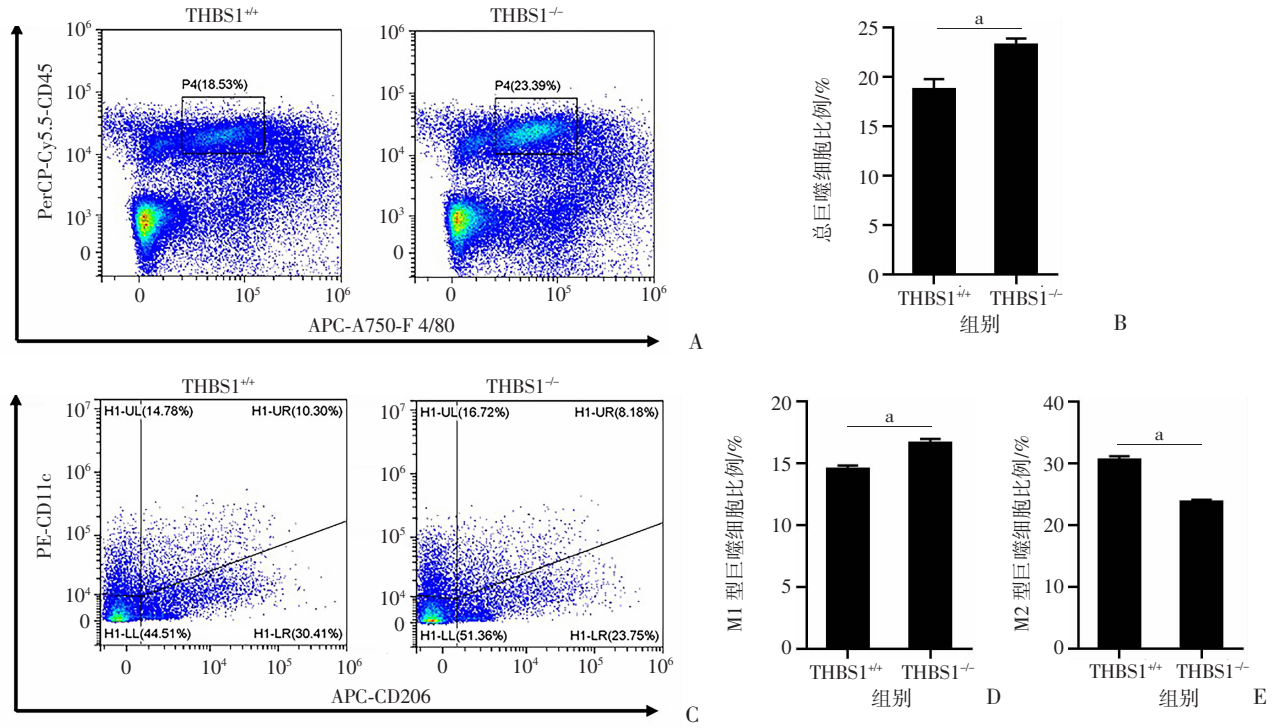
采用流式细胞术检测附睾脂肪组织及外周血中免疫细胞[巨噬细胞、髓源性抑制细胞(MDSC)和 T 淋巴细胞]的变化情况,结果显示,与野生型 $THBS1^{+/+}$ 小鼠相比,THBS1 基因敲除小鼠附睾脂肪组织中肿瘤相关的总巨噬细胞比例增高($P<0.01$,图 3A、B),其中 M1 型巨噬细胞比例升高($P<0.01$,图 3C、D)、M2 型巨噬细胞比例下降($P<0.01$,图 3C、E);MDSC 比例下降($P<0.05$,图 4A、B),其中 ly6C 亚群比例升高($P<0.01$,图 4C、D),ly6G 亚群比例降低($P<0.05$,图 4C、E);$CD8^+$ T 细胞比例显著升高($P<0.01$,图 5A、B)、$CD4^+$ T 细胞比例降低($P<0.01$,图 5A、C)。这一结果在免疫组化染色中也得到证实(未展示)。与野生型 $THBS1^{+/+}$ 小鼠相比,THBS1 基因敲除小鼠外周血中总巨噬细胞、M1 型巨噬细胞、M2 型巨噬细胞比例均无变化($P>0.05$,图 6);MDSC 及 ly6C 亚群比例无变化($P>0.05$,图 7A~D),ly6G 亚群比例降低($P<0.05$,图 7C、E);$CD8^+$ T 淋巴细胞比例显著升高($P<0.01$,图 8A、B)、$CD4^+$ T 细胞比例无变化($P>0.05$,图 8A、C)。



A:THBS1 基因野生型($THBS1^{+/+}$)与 THBS1 基因敲除($THBS1^{-/-}$)小鼠皮下荷瘤模型肿瘤大体观;B:皮下荷瘤模型的肿瘤质量分析;C:$THBS1^{+/+}$、$THBS1^{+/-}$和 $THBS1^{-/-}$ 小鼠腹腔种植转移模型肿瘤大体观;D:腹腔种植转移模型的肿瘤质量分析

a:$P<0.01$

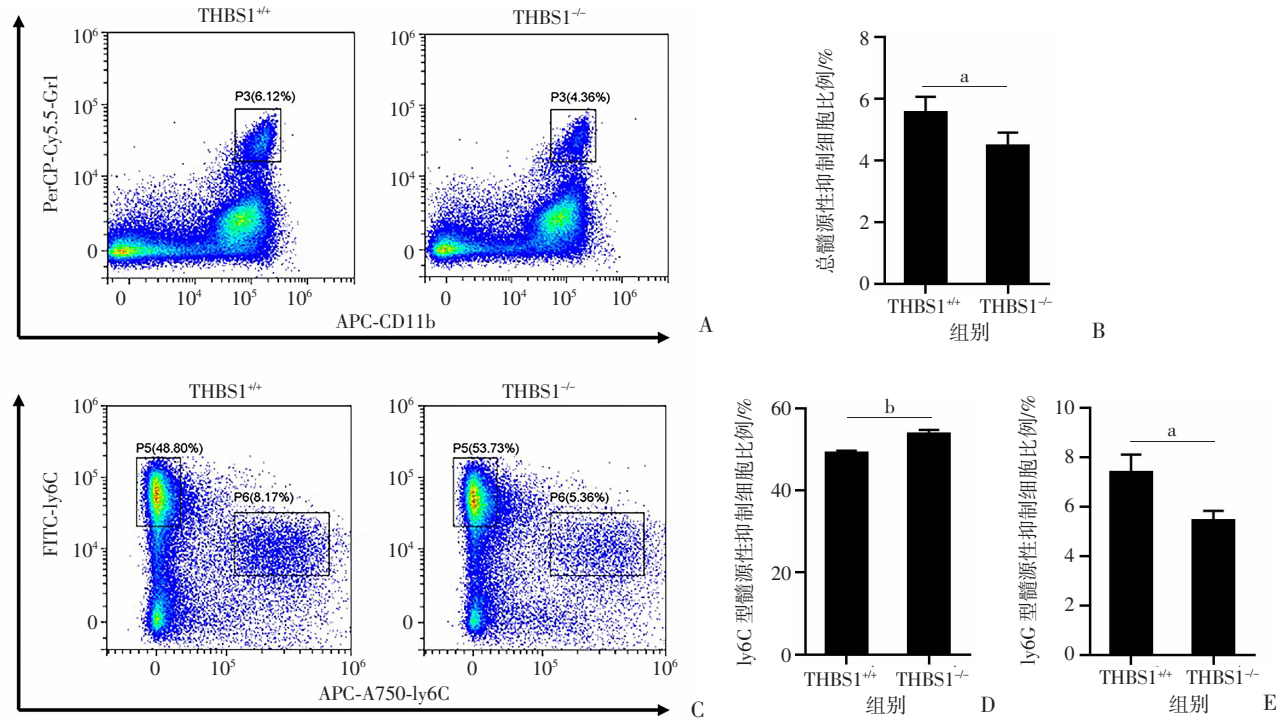
图 2 THBS1 基因敲除抑制 MC-38 腹腔种植转移



a:$P<0.01$

A:流式细胞术检测附睾脂肪总巨噬细胞;B:附睾脂肪总巨噬细胞比例分析;C:流式细胞术检测附睾脂肪 M1、M2 型巨噬细胞;D、E:附睾脂肪 M1、M2 型巨噬细胞比例分析

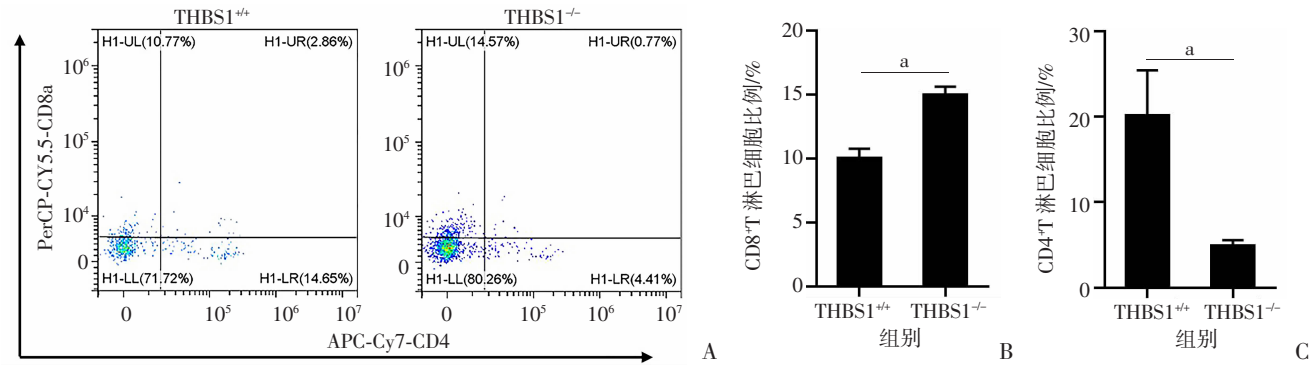
图 3 THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中附睾脂肪巨噬细胞的影响



a:$P<0.05$;b:$P<0.01$

A:流式细胞术检测总髓源性抑制细胞;B:总髓源性抑制细胞的比例分析;C:流式细胞术检测髓源性抑制细胞 ly6C、ly6G 亚群;D:髓源性抑制细胞 ly6C 亚群比例分析;E:髓源性抑制细胞 ly6G 亚群比例分析

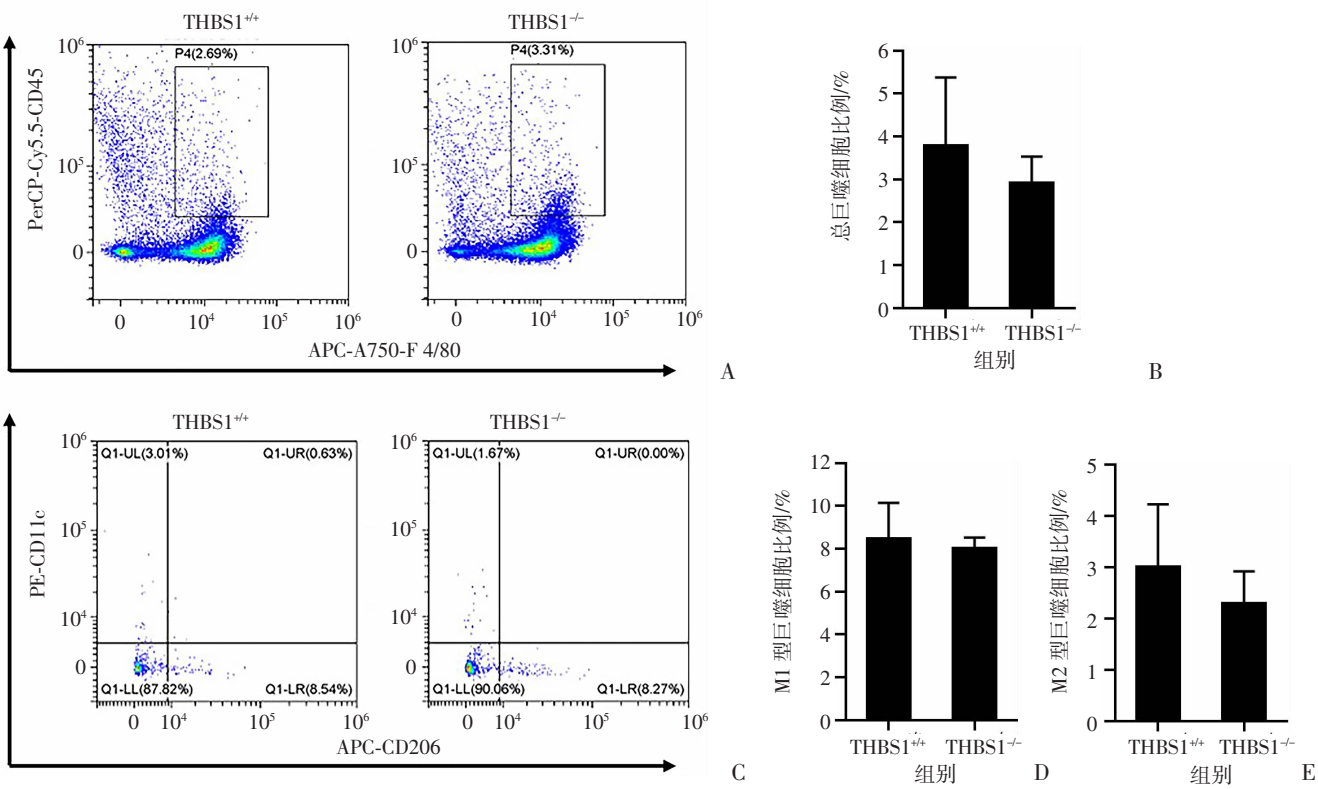
图 4 THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中附睾脂肪组织髓源性抑制细胞的影响



a:$P<0.01$

A:流式细胞术检测 T 淋巴细胞;B:$CD8^+$ T 细胞比例分析;C:$CD4^+$ T 细胞比例分析

图 5 THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中附睾脂肪组织 T 淋巴细胞的影响



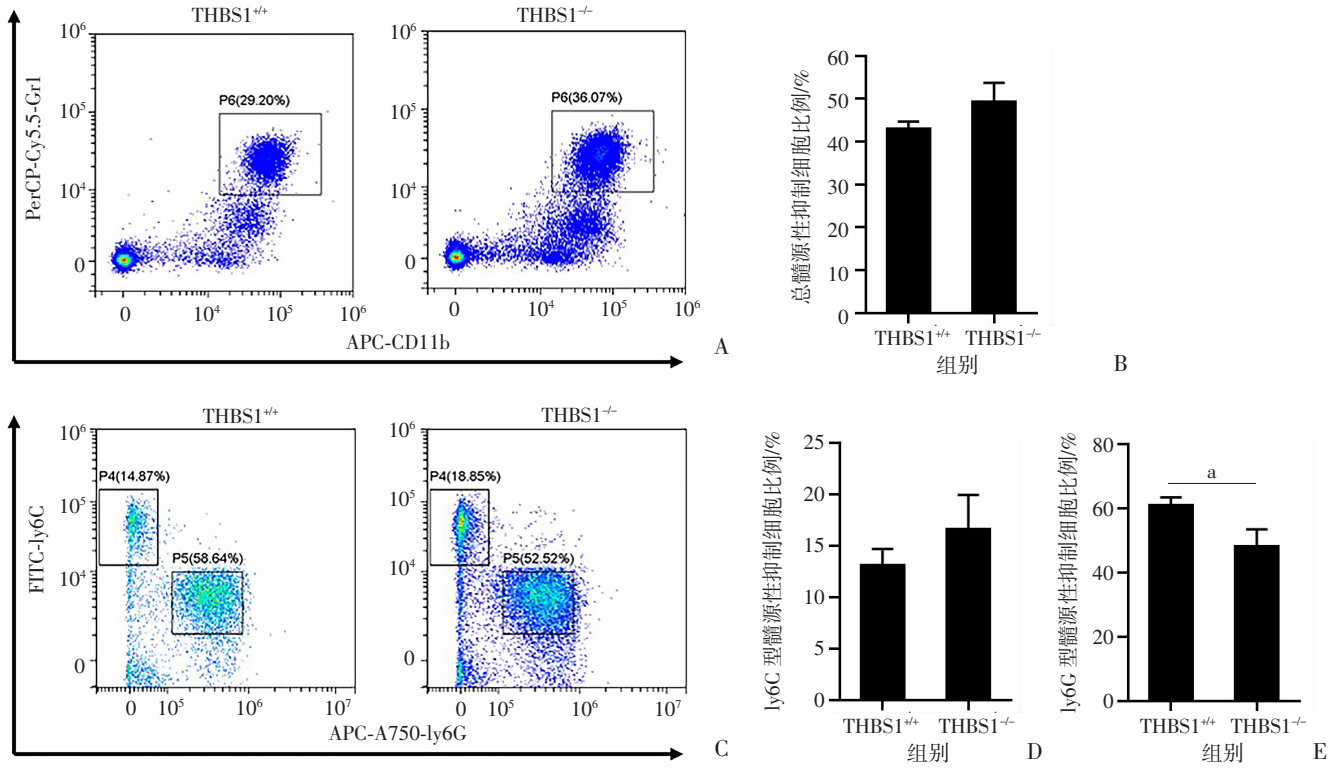
A:流式细胞术检测总巨噬细胞;B:总巨噬细胞比例分析;C:流式细胞术检测 M1、M2 型巨噬细胞;D、E:M1、M2 型巨噬细胞比例分析

图 6 THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中外周血巨噬细胞的影响

3 讨论

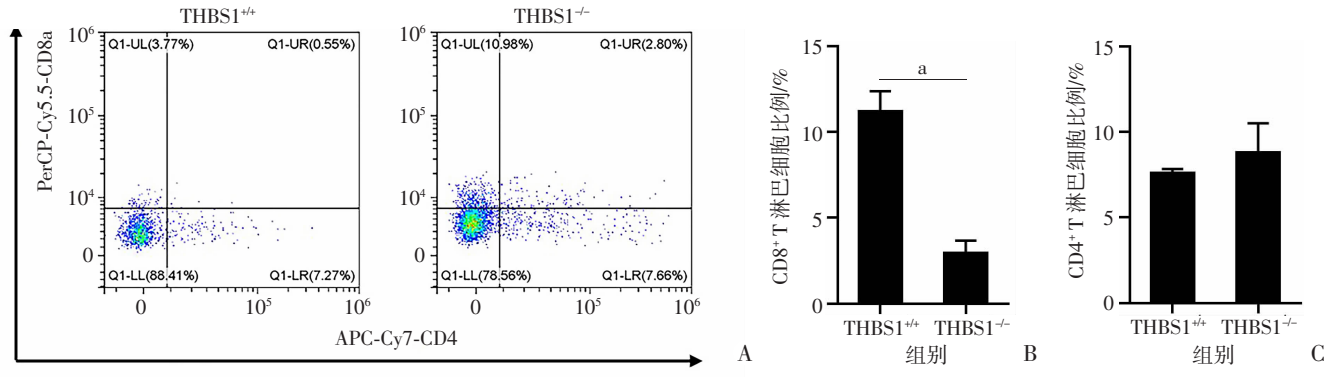
癌症是世界范围内的公共卫生问题。近半个世纪以来,随着发病率和死亡率的增加,癌症已成为疾病导致死亡的主要原因。其中,结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一,发病率近年来有所上升[9]。当前,结直肠癌的临床治疗策略为基于 TNM 分期结合手术、放疗、化疗的综合治疗。手术禁忌证、术后复发等因素限制了当前治疗手段的应用与效果,且肿瘤细胞基因组的不稳定特性,常导致临床肿瘤耐药问题[10]。肿瘤微环境是肿瘤赖以生存发展的微环境,且间质细胞在遗传上更具稳定性,因此靶向肿瘤微环境的治疗策略具有潜在的优势[11]。

研究表明,在小鼠结直肠癌腹腔种植转移模型中,结直肠癌细胞主要侵犯大网膜、肠系膜、附睾脂肪、肾周脂肪等内脏脂肪组织,并营造促瘤免疫微环境[12-13]。



A:流式细胞术检测总髓源性抑制细胞;B:总髓源性抑制细胞比例分析;C:流式细胞术检测 ly6C、ly6G 亚群;D、E: ly6C、ly6G 亚群细胞比例分析　a:$P<0.05$

图 7　THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中外周血髓源性抑制细胞的影响



A:流式细胞术检测 T 淋巴细胞;B:$CD8^+$ T 细胞比例分析　a:$P<0.01$;C:$CD4^+$ T 细胞比例分析

图 8　THBS1 敲除对腹腔种植转移模型中外周血 T 淋巴细胞的影响

因此,内脏脂肪局部微环境在肿瘤进展过程中起重要作用。其中,肿瘤相关巨噬细胞以及髓源性抑制细胞(MDSC)比例较高,是免疫抑制性微环境的重要组成成分。在肿瘤生长过程中,肿瘤细胞通过分泌 CCL2 等趋化因子促进单核细胞向肿瘤浸润,分化成熟为巨噬细胞[14],且在不同因子的作用下进一步向抑瘤的 M1 型和促瘤的 M2 型巨噬细胞极化。巨噬细胞除了直接影响肿瘤生长外,还可通过影响杀伤性 T 淋巴细胞的活性调节肿瘤杀伤效应[15]。此外,与 M2 型巨噬细胞相似,MDSC 可直接接触或通过多种因子(如 Arg1、iNOS、TGFβ 等)间接抑制 $CD8^+$ T 淋巴细胞对肿瘤细胞的识别杀伤[16]。另外,T 淋巴细胞作为肿瘤免疫最重要的效应细胞,除了直接或间接发挥肿瘤杀伤效应外,还可影响巨噬细胞、MDSC 等免疫抑制细胞的活性或数量[17-18]。因此,肿瘤免疫微环境是一个多因素调控的复杂过程。本研究通过构建结直肠癌腹腔种植转移模型,发现 THBS1 基因敲除小鼠的肿瘤进展明显受到抑制;在构建模型 5 d 后,取小鼠内脏脂肪组织

(主要为附睾脂肪)及外周血,经流式细胞术分析发现,THBS1 基因敲除后小鼠附睾脂肪组织中肿瘤相关的具有抑瘤作用的 M1 型巨噬细胞、$CD8^+$ T 淋巴细胞比例明显升高,而发挥促瘤效应的 M2 型巨噬细胞及 MDSC 比例下降,外周血中免疫细胞均未见明显变化。因此,推测 THBS1 基因敲除后,削弱了肿瘤微环境的免疫抑制,促进肿瘤免疫应答,进而抑制结直肠癌的腹腔种植转移。尽管如此,免疫细胞表型转换及比例变化的机制尚不清楚,需后续进一步探索。

值得一提的是,目前的研究发现肿瘤细胞中 THBS1 可通过多种信号调节固有免疫以及适应性免疫,如激活 CD47 信号通路来抑制 T 淋巴细胞的增殖活化以及诱导 T 淋巴细胞凋亡[19]、通过外泌体分泌促进巨噬细胞 M1 型极化[20]、阻碍 NK 细胞的早期增殖与杀伤效应[21]等。本研究采用的小鼠模型为全身敲除模型,无法确定哪一种或者哪几种免疫细胞的 THBS1 对肿瘤免疫微环境起决定作用。因此,THBS1 在免疫细胞中如何调控其功能发挥肿瘤抑制作用有待通过构建条件性敲除小鼠模型加以证实。

此外,本研究显示,在小鼠结直肠癌腹腔种植转移模型中,THBS1 基因敲除后有显著抑瘤效应。然而,在小鼠结直肠癌皮下肿瘤模型中,该基因敲除后并未发现显著的抑瘤效应。猜测可能是 2 种模型中的局部微环境之间的差异所致,因为皮下肿瘤模型系脱离结直肠癌原生环境的异位生长,THBS1 敲除后的抑瘤效应主要依靠基于淋巴细胞的肿瘤免疫,而异位接种的皮下模型因其肿瘤新生血管的不完整性、不连续性导致淋巴细胞不能很好地浸润。这 2 种模型之间的免疫学差异仍有待进一步明确。

本研究表明,全身性 THBS1 敲除后,既可削弱肿瘤相关巨噬细胞以及髓源性抑制细胞的免疫抑制效应,又能提高 $CD8^+$ T 淋巴细胞的浸润。鉴于其在结直肠癌中对免疫细胞调控的广泛作用,靶向 THBS1 可能是一种潜在的结直肠癌治疗策略。总之,本研究结果揭示 THBS1 在结直肠癌腹腔种植转移中具有调节肿瘤免疫和结直肠癌进展的作用,有望为开发结直肠癌的治疗策略提供新的思路。

参考文献:

[1] BILLER L H, SCHRAG D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7): 669-685. DOI: 10.1001/jama.2021.0106.

[2] XIE Y H, CHEN Y X, FANG J Y. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 22. DOI: 10.1038/s41392-020-0116-z.

[3] XIANG W, SHI R C, ZHANG D P, *et al*. Dietary fats suppress the peritoneal seeding of colorectal cancer cells through the TLR4/Cxcl10 axis in adipose tissue macrophages [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 239. DOI: 10.1038/s41392-020-00327-z.

[4] 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. DOI: 10.3390/ijms22094570.

[5] CARPINO G, CARDINALE V, DI GIAMBERARDINO A, *et al*. Thrombospondin 1 and 2 along with PEDF inhibit angiogenesis and promote lymphangiogenesis in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2021, 75(6): 1377-1386. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.07.016.

[6] DAUBON T, LÉON C, CLARKE K, *et al*. Deciphering the complex role of thrombospondin-1 in glioblastoma development [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1146. DOI: 10.1038/s41467-019-08480-y.

[7] PATWARDHAN S, MAHADIK P, SHETTY O, *et al*. ECM stiffness-tuned exosomes drive breast cancer motility through thrombospondin-1[J]. Biomaterials, 2021, 279: 121185. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121185.

[8] 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. DOI: 10.1186/s13046-018-0850-z.

[9] WU CC, LI M N, MENG H B, *et al*. Analysis of status and countermeasures of cancer incidence and mortality in China [J]. Sci China Life Sci, 2019, 62(5): 640-647. DOI: 10.1007/s11427-018-9461-5.

[10] FAN A H, WANG B D, WANG X, *et al*. Immunotherapy in colorectal cancer: current achievements and future perspective[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(14): 3837-3849. DOI: 10.7150/ijbs.64077.

[11] XIAO Y, YU D H. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer[J]. Pharmacol Ther, 2021, 221: 107753. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107753.

[12] SHI R, XIANG W, KANG X, *et al*. Alteration of adaptive immunity in a colorectal peritoneal carcinomatosis model [J]. J Cancer, 2019, 10(2): 367-377. DOI: 10.7150/jca.27947.

[13] 袁静, 缪洪明. 肿瘤相关巨噬细胞 MGLL 缺失促进免疫

抑制和结直肠癌细胞腹腔种植转移[J]. 陆军军医大学学报, 2023,45(6): 530-538. DOI:10.16016/j.2097-0927.202209246.
YUAN J, MIAO H M. MGLL deficiency in tumor-associated macrophages promotes immunosuppression and colorectal peritoneal metastases in mice[J]. J Army Med Univ, 2023, 45(6): 530-538. DOI:10.16016/j.2097-0927.202209246.

[14] LI X G, YAO W B, YUAN Y, *et al*. Targeting of tumour-infiltrating macrophages via CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2017,66(1): 157-167. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310514.

[15] ANDERSON NR, MINUTOLO NG, GILL S, *et al*. Macrophage-based approaches for cancer immunotherapy[J]. Cancer Res, 2021, 81(5): 1201-1208. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2990.

[16] GABRILOVICH D I, OSTRAND-ROSENBERG S, BRONTE V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours[J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(4): 253-268. DOI: 10.1038/nri3175.

[17] TANAKA A, SAKAGUCHI S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy[J]. Cell Res, 2017, 27(1): 109-118. DOI: 10.1038/cr.2016.151.

[18] BORST J, AHRENDS T, BĄABAŁA N,*et al*. $CD4^+$ T cell help in cancer immunology and immunotherapy[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(10): 635-647. DOI: 10.1038/s41577-018-0044-0.

[19] MILLER T W, KAUR S, IVINS-O'KEEFE K, *et al*. Thrombospondin-1 is a CD47-dependent endogenous inhibitor of hydrogen sulfide signaling in T cell activation[J]. Matrix Biol, 2013, 32(6): 316-324. DOI: 10.1016/j.matbio.2013.02.009.

[20] XIAO M, ZHANG JJ, CHEN W J, *et al*. M1-like tumor-associated macrophages activated by exosome-transferred THBS1 promote malignant migration in oral squamous cell carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 143. DOI: 10.1186/s13046-018-0815-2.

[21] NATH P R, PAL-NATH D, MANDAL A, *et al*. Natural killer cell recruitment and activation are regulated by CD47 expression in the tumor microenvironment[J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(9): 1547-1561. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0367.

(收稿:2023-03-20;修回:2023-05-26)
(编辑 汪勤俭)