

血小板反应蛋白2在恶性肿瘤中作用的研究进展

马邦俊延^{1,2}, 芮天楠^{1,2}, 张永胜^{1*}

1. 苏州大学附属第二医院 病理科, 江苏 苏州 215004; 2. 苏州大学 苏州医学院 临床医学系, 江苏 苏州 215123

摘要: 血小板反应蛋白2 (THBS2) 是一种基质细胞钙结合糖蛋白, 能与细胞外基质和细胞表面的多种生长因子、受体、基质分子或蛋白酶等相互作用。THBS2 可在 N⁶-甲基腺苷 RNA 甲基化酶作用下活化, 并通过重塑肿瘤微环境以及参与多条细胞信号通路等方式介导肿瘤增殖、迁移与侵袭。THBS2 可作为多种肿瘤的诊断和预后指标, 并有望成为肿瘤治疗新靶点。

关键词: 血小板反应蛋白; 血小板反应蛋白2; 肿瘤

中图分类号: R730.2 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.12.1881

Research progress on the role of thrombospondin 2 in malignant tumors

MA Jiajunyan^{1,2}, RUI Tiannan^{1,2}, ZHANG Yongsheng^{1*}

1. Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004;

2. Department of Clinical Medicine, Suzhou Medical College, Soochow University, Suzhou 215123, China

Abstract: Thrombospondin 2 (THBS2) is a matrix cell calcium-binding glycoprotein that interacts with a variety of growth factors, receptors, matrix molecules or proteases on the extracellular matrix and cell surface. THBS2 can be activated by N⁶-methyladenosyl RNA methylase, and mediates tumor proliferation, migration and invasion by remodeling the tumor microenvironment and participating in multiple cell signaling pathways. THBS2 could be used as a diagnostic and prognostic indicator for a variety of tumors, and is expected to become a new target for malignant tumor treatment.

Key words: thrombospondin; thrombospondin 2; carcinoma

血小板反应蛋白 (thrombospondins, THBSs) 是一个基质细胞钙结合糖蛋白家族, 由 5 种基质细胞蛋白组成, 分为两个结构亚群, 即三聚体亚组 A (THBS1 和 THBS2) 和五聚体亚组 B (THBS3、THBS4 和 THBS5)。THBSs 能够与细胞外基质和细胞表面的多种生长因子、受体、基质分子或蛋白酶等相互作用, 介导细胞外基质组装、细胞与基质相互作用, 参

与调节多个生物学过程, 包括组织重塑、血管生成、细胞增殖、细胞凋亡和肿瘤发生, 其机制极其复杂^[1]。THBS2 在多种恶性肿瘤的发生、发展和转移中起着非常重要的调控作用, 针对 THBS2 水平的研究对治疗癌具有很大的前景。因此, 本文就 THBS2 在实体瘤中作用的研究进展进行综述, 以期对肿瘤的诊断、治疗及预后提供新的研究思路。

收稿日期: 2023-04-26 修回日期: 2023-09-28

基金项目: 国家自然科学基金 (12275192); 苏州大学学生课外科研项目 (2021YXBKWKY057)

* 通信作者 (corresponding author): shengyongzh@126.com

1 THBS2 概述

人类 THBS2 基因位于第 6 号染色体长臂 2 区 7 带(6q27)上,由 1172 个氨基酸组成。THBS2 以三聚体形式合成和分泌,包括 N 端层黏连蛋白 G 样结构域、vWF 前胶原样结构域、3 个 I 型备解素样重复序列、3 个 EGF 样 II 型重复序列、7 个 III 型重复序列和一个羧基末端凝集素样结构域^[2]。THBS2 在正常成体组织中表达较低,主要存在于真皮、软骨、骨和血管中,对于纤维结缔组织形成、血管生长、软骨再生与分化有着重要作用^[3]。在肿瘤组织中,THBS2 可能是 N⁶-甲基腺苷(m⁶A) RNA 甲基化酶 FTO 的直接靶基因,敲低 FTO 后可抑制癌细胞的体外迁移和侵袭能力^[4]。因此,THBS2 可能通过去甲基化方式活化,继而促进癌细胞的迁移与侵袭。

2 THBS2 在肿瘤中作用的研究进展

在肿瘤细胞中,敲低 THBS2 可抑制 CD47 和 MMP-2 的表达。在基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族中, MMP-2 可促进肿瘤增殖、侵袭以及血管生成^[5]。在癌组织中, CD47 的表达与巨噬细胞浸润相关^[6], 其上调可抑制抗原呈递细胞吞噬作用和肿瘤抗原交叉呈递, 负调节机体抗肿瘤免疫^[7]。因此, THBS2 可能通过影响 CD47 介导的信号通路、增强 MMP 表达, 重塑肿瘤微环境, 以此促进肿瘤增殖、迁移与侵袭。然而, THBS2 除了通过以上方式影响恶性肿瘤进展, 在不同肿瘤中, 还有其特殊的生物学作用及机制。

2.1 结直肠癌

在结直肠癌中, THBS2 的表达上调, 其高表达与 B 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞的免疫浸润显著相关, 并可促进结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移^[8]。THBS2 高表达的结直肠癌患者的总生存期和无病进展期显著缩短, 与肿瘤预后不良相关^[9]。

致病机制方面, THBS2 还可能通过 TLR4/HIF-1 α 、PI3K/AKT、WNT/ β -catenin 等信号通路对结直肠癌的发生发展及侵袭转移进行调控。在 THBS2/TLR4/HIF-1 α 信号通路中, THBS2 可通过与 Toll 样受体 4 (Toll-like receptors 4, TLR4) 相互作用来上调 HIF-1 α 的蛋白质水平以及 GLUT1、HK2、

ALDOA、PKM2 和 LDHA 等基因 mRNA 的表达来增强结直肠癌细胞的糖酵解能力, 而通过 siRNA 阻断 HIF-1 α 能够逆转结直肠癌细胞糖酵解能力并促进糖酵解酶表达上调^[10]。因此, THBS2/TLR4 信号轴可促进 HIF-1 α 衍生的糖酵解, 并最终促进结直肠癌恶性进展。PI3K/AKT 信号通路则是结直肠癌中最常被激活的信号转导通路之一^[11], 研究通过 GO 和 KEGG 分析发现, THBS2 可能在结直肠癌中参与调控 PI3K/AKT 信号通路, 但具体机制并未明晰^[12]。WNT/ β -catenin 通路主要参与细胞发育和再生的控制, 以及组织稳态, 研究通过敲除 THBS2 后 WNT/ β -连环蛋白信号转导的活性降低, 说明 THBS2 可能通过 WNT/ β -catenin 信号通路来实现对结直肠癌的调节^[8]。结合以上研究, THBS2 有望成为结直肠癌研究的方向以及临床治疗的新靶点。

2.2 胰腺癌

在胰腺癌中, THBS2 的表达升高主要局限于基质, 癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)在癌前病变中表达 THBS2, 而且在基因工程小鼠模型中, 其水平随着疾病的进展而逐渐增加, 并与肿瘤的进展和不良预后相关联^[13]。早期诊断方面, THBS2/CA19-9 的联合血浆表达能够准确区分胰腺癌患者与胰腺良性疾病和健康人^[14], 且优于单独使用 CA19-9 进行诊断^[15], 而在转移性胰腺癌的诊断中, 单独的 THBS2 水平升高可以识别出生存期较短的患者^[16]。因此, THBS2 有望成为胰腺癌早期诊断的标志物以及转移性胰腺癌患者的预后生物标志物, 为临床胰腺癌治疗的早期诊断及预后评估提供方向。

致病机制方面, 胰腺癌细胞可通过分泌 TGF- β 1 激活 CAFs, 经 p-Smad2/3 途径诱导 THBS2 表达。CAFs 衍生的 THBS2 与膜受体整合素 $\alpha_v\beta_3$ /CD36 结合, 并激活胰腺癌细胞的 MAPK 途径, 以促进体外和体内的肿瘤生长和黏附, 抑制整合素 $\alpha_v\beta_3$ /CD36、MEK 和 JNK 可以拯救 THBS2 诱导的恶性表型^[13]。以上研究表明, TGF- β 1-THBS2-整合素 $\alpha_v\beta_3$ /CD36-MAPK 级联形成一个复杂的反馈回路, 介导胰腺癌细胞-CAFs 的相互作用, 提示 THBS2 可能作为一个新的治疗靶点来阻断肿瘤-微环境的交流。

2.3 肺癌

在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,

NSCLC)中, THBS2 高表达,并在 NSCLC 的发生和发展中起促癌基因的作用,通过介导免疫细胞浸润加重疾病^[17]。此外,利用 THBS2 稳定敲除的细胞株进行研究,发现 THBS2 敲除可以降低基质金属蛋白酶-13(MMP-13)的表达和肿瘤细胞的迁移和侵袭。同时,免疫组化和 TCGA 数据分析也表明,肺癌标本中 THBS2 mRNA 和蛋白的表达明显升高,而且 THBS2 与 MMP-13 的表达均和肺癌的预后不良密切相关^[18]。以上研究均提示血清 THBS2 可能成为肺癌的一个潜在生物标志物,可用于 NSCLC 的早期诊断。

致病机制方面, THBS2 还可通过整合素 $\alpha_v\beta_3$ /FAK/Akt/NF- κ B、circ_002012/THBS2、circ_0007580/miR-598/THBS2 等多个通路介导肺癌细胞迁移和侵袭。THBS2 可通过介导整合素 $\alpha_v\beta_3$ /FAK/Akt/NF- κ B 信号转导促进 MMP-13 的表达进而促进肺癌细胞迁移和侵袭^[18]。其次, circ_0020123 的下调可抑制 NSCLC 细胞的增殖、迁移和促进凋亡,而 THBS2 可通过上调逆转 circ_0020123 对 NSCLC 细胞的影响。circ_0020123 也可通过下调 miR590-5p 以调控 THBS2 的表达,并以此来增强 NSCLC 细胞的增殖、迁移和抑制凋亡^[19]。此外, miR-598 具有与 THBS2 的 3'UTR 结合位点并且 circ_0007580 可通过抑制 miR-598 调节 THBS2 的表达,以此影响肺癌进展^[20]。此外,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs) 衍生的外泌体可以将 miR-598 递送到 NSCLC 细胞中,其中 miR-598 特异性靶向并结合 THBS2 的 mRNA 以抑制其翻译过程^[21]。因此,含有 miR-598 的 MSCs 衍生外泌体可以抑制 THBS2 对 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭的促进作用,减缓 NSCLC 进展,有望为临床治疗 NSCLC 提供新的思路与方法。因此, THBS2 可能是一个很有前途的治疗肺癌的新靶标。

2.4 胃癌

在胃癌中, THBS2 的表达明显上调,并显著影响胃癌患者的总生存期和无病生存期。而胃癌组织中 THBS2 表达量越高,巨噬细胞、NK 细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞浸润越多, Th17 细胞、T 辅助细胞、NK CD56 Bright 细胞浸润越少^[22],说明 THBS2 与胃癌的不良预后和免疫浸润也密切相关,有望成为今后胃癌早期诊断以及预后评估的新靶点。

致病机制方面, THBS2 还可能通过外泌体途径、VEGF/PI3K/AKT 信号通路以及参与间充质干细胞分化等方式直接或间接促进胃癌的发生发展。外泌体途径中,热休克因子 1(heat shock factor 1, HSF1)可上调抑制素亚基 β A (inhibin subunit beta A, INHBA)和 THBS2, INHBA 和 THBS2 又以 HSF1 依赖性方式被递送至外泌体中,来自 CAFs 的外泌体继而通过向胃癌细胞递送 miRNA 以抑制铁死亡来促进癌,并将 WNT 信号蛋白递送到结直肠癌细胞以诱导癌干性和化学抗性从而促进癌发生^[23]。同时, THBS2 的表达与胃癌患者的转移和错配修复过程密切相关,可能通过调节 VEGF/PI3K/AKT 信号通路来调控胃癌细胞的增殖和迁移^[24]。此外,在慢性幽门螺杆菌感染的小鼠中,绿色荧光蛋白标记的间充质干细胞从浆液层迁移到黏膜层并促进胃癌的发展。MSCs 通过分泌 THBS2 分化为泛角蛋白阳性的上皮细胞和 α -平滑肌肌动蛋白阳性的 CAFs^[25],提示 MSCs 通过调控 THBS2 而分化为胃上皮细胞和 CAFs 参与慢性幽门螺杆菌相关胃癌的发展。因此,在幽门螺杆菌慢性感染早期阶段, THBS2 可能有望成为胃癌的早期诊断标志物,并可能成为胃癌患者预后的潜在标志物,为临床治疗提供新的靶标。

2.5 其他肿瘤

THBS2 除与以上肿瘤的发生、发展有关,还与其它一些恶性肿瘤密切相关。在肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, iCCA)中, THBS2 参与可溶性血管抑制环境的形成,并在过表达下减少 iCCA 血管形成,促进肿瘤相关淋巴管生成,促进肿瘤侵袭与转移,有望为临床治疗 iCCA 提供新的潜在干预措施目标^[26]。THBS2 还与卵巢癌患者预后相关,并可能通过参与 PI3K-AKT 信号通路介导卵巢癌发生发展与转移^[27],为卵巢癌的治疗提供新的思路。然而,不同于其他肿瘤中 THBS2 的高表达,在宫颈癌与卵巢癌中, THBS2 低表达更可能导致肿瘤转移^[1],这表明 THBS2 可能在这两种癌中发挥着其他独特的作用,其具体机制有待进一步探究。

3 问题与展望

THBS2 作为血小板反应蛋白家族的一员,在多种恶性肿瘤的增殖、迁移与侵袭中发挥重要作用。

结直肠癌中, THBS2 与结直肠癌预后不良相关, 并可以通过与 TLR4 相互作用以及 PI3K/AKT 信号通路等方式参与调控癌进展, 为临床提供新的治疗靶标; 胰腺癌中, THBS2 可作为早期诊断以及转移性胰腺癌患者的预后标志物, 并可通过 TGF- β 1-THBS2-整合素 $\alpha_v\beta_3$ /CD36-MAPK 级联形成反馈回路影响癌进展; 肺癌中, THBS2 可作为 NSCLC 的早期诊断标志物, 可通过整合素 $\alpha_v\beta_3$ /FAK/Akt/NF- κ B 信号转导、circ_0020123 以及 circ_0007580 的调控网络促进肺癌细胞迁移和侵袭, 为临床提供肺癌治疗的新靶标; 胃癌中, THBS2 在胃癌组织中高表达, 可通过外泌体途径、VEGF/PI3K/AKT 信号通

路以及调控 MSCs 分化影响胃癌进展, 为临床提供新的治疗靶标。然而, 以上大部分针对 THBS2 在恶性肿瘤上的研究仅停留在数据分析以及实验层面, 并未进行有关以 THBS2 为特异靶点的治疗方法的探索和临床评价, 在这一方面有待继续深入研究。此外, THBS2 并非在所有肿瘤中都表现为上调, 针对部分 THBS2 表达下调的肿瘤, 如卵巢癌、宫颈癌, THBS2 在其中的特殊作用也值得进一步探究。综上所述, THBS2 有望成为多种癌的早期诊断、预后标志物以及多种癌临床治疗的新靶点, 但其在各类肿瘤临床治疗工作中的具体应用及临床评价, 还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Zou S, Li J, Yan J, *et al.* Distribution of serum thrombospondin-2, a novel tumor marker, in general population and cancer patients in China[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 518: 123-127.
- [2] Calabro NE, Kristofik NJ, Kyriakides TR. Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840: 2396-2402.
- [3] Hou CH, Tang CH, Chen PC, *et al.* Thrombospondin 2 promotes IL-6 production in osteoarthritis synovial fibroblasts via the PI3K/AKT/NF- κ B pathway[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 5955-5967.
- [4] Wang W, He Y, Wu L, *et al.* N(6)-methyladenosine RNA demethylase FTO regulates extracellular matrix-related genes and promotes pancreatic cancer cell migration and invasion[J]. *Cancer Med*, 2023, 12: 3731-3743.
- [5] Liao X, Wang W, Yu B, *et al.* Thrombospondin-2 acts as a bridge between tumor extracellular matrix and immune infiltration in pancreatic and stomach adenocarcinomas: an integrative pan-cancer analysis[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22: 213. doi: 10.1186/s12935-022-02622-x.
- [6] Shi M, Gu Y, Jin K, *et al.* CD47 expression in gastric cancer clinical correlates and association with macrophage infiltration[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70: 1831-1840.
- [7] Hsieh RC, Krishnan S, Wu RC, *et al.* ATR-mediated CD47 and PD-L1 up-regulation restricts radiotherapy-induced immune priming and abscopal responses in colorectal cancer[J]. *Sci Immunol*, 2022, 7: eabl9330. doi: 10.1126/sciimmunol.abl9330.
- [8] Qu HL, Hasen GW, Hou YY, *et al.* THBS2 promotes cell migration and invasion in colorectal cancer via modulating Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2022, 38: 469-478.
- [9] Deng B, Liu XP, Wang X. Prognostic and Immunological Role of THBS2 in Colorectal cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 1124985. doi: 10.1155/2021/1124985.
- [10] Xu C, Gu L, Kuerbanjiang M, *et al.* Thrombospondin 2/Toll-Like Receptor 4 Axis Contributes to HIF-1 alpha-Derived Glycolysis in Colorectal Cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 557730. doi: 10.3389/fonc.2020.557730.
- [11] Slattery ML, Mullany LE, Sakoda LC, *et al.* The PI3K/AKT signaling pathway: Associations of miRNAs with dysregulated gene expression in colorectal cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57: 243-261.
- [12] Deng B, Liu XP, Wang X. Prognostic and Immunological Role of THBS2 in Colorectal cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 1124985. doi: 10.1155/2021/1124985.
- [13] Nan P, Dong X, Bai X, *et al.* Tumor-stroma TGF- β 1-THBS2 feedback circuit drives pancreatic ductal adenocarcinoma progression via integrin α 3 β 1/CD36-mediated activation of the MAPK pathway[J]. *Cancer letters*, 2022, 528: 59-75.
- [14] Le Large TYS, Meijer LL, Paleckyte R, *et al.* Combined expression of plasma thrombospondin-2 and CA19-9 for di-

- agnosis of pancreatic cancer and distal cholangiocarcinoma: a proteome approach [J]. *Oncologist*, 2020, 25: e634-e643.
- [15] Byrling J, Hilmersson KS, Ansari D, *et al.* Thrombospondin-2 as a diagnostic biomarker for distal cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24: 297-304.
- [16] Gimotty PA, Till JE, Udgata S, *et al.* THBS2 as a prognostic biomarker for patients diagnosed with metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2021, 12: 2266-2272.
- [17] Bao Y, Yan E, Wang N. Evaluation of GREM1 and THBS2 as prognostic markers in non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149: 7849-7856.
- [18] Liu JF, Lee CW, Tsai MH, *et al.* Thrombospondin 2 promotes tumor metastasis by inducing matrix metalloproteinase-13 production in lung cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 155: 537-546.
- [19] Wang L, Zhao L, Wang Y. Circular RNA circ_0020123 promotes non-small cell lung cancer progression by sponging miR-590-5p to regulate THBS2 [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 387. doi: 10.1186/s12935-020-01444-z.
- [20] Yang Z, Wu H, Zhang K, *et al.* Circ_0007580 knockdown strengthens the radiosensitivity of non-small cell lung cancer via the miR-598-dependent regulation of THBS2 [J]. *Thorac Cancer*, 2022, 13: 678-689.
- [21] Li X, Wu F. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles transfer miR-598 to inhibit the growth and metastasis of non-small-cell lung cancer by targeting THBS2 [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 3. doi: 10.1038/s41420-022-01283-z.
- [22] Wang L, Feng L, Liu L, *et al.* Joint effect of THBS2 and VCAN accelerating the poor prognosis of gastric cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15: 1343-1357.
- [23] Grunberg N, Pevsner-Fischer M, Goshen-Lago T, *et al.* Cancer-associated fibroblasts promote aggressive gastric cancer phenotypes via heat shock factor 1-mediated secretion of extracellular vesicles [J]. *Cancer Res*, 2021, 81: 1639-1653.
- [24] Chu XD, Lin ZB, Huang T, *et al.* Thrombospondin-2 holds prognostic value and is associated with metastasis and the mismatch repair process in gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22: 250. doi: 10.1186/s12885-022-09201-3.
- [25] Shi H, Qi C, Meng L, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote *Helicobacter pylori*-associated gastric cancer progression by secreting thrombospondin-2 [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54: e13114. doi: 10.1111/cpr.13114.
- [26] 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: 1377-1386.
- [27] Carvalho RF, do Canto LM, Abildgaard C, *et al.* Single-cell and bulk RNA sequencing reveal ligands and receptors associated with worse overall survival in serous ovarian cancer [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20: 176. doi: 10.1186/s12964-022-00991-4.