

十溴联苯醚对小鼠宫颈癌皮下移植瘤相关基因及信号通路的影响

祖尼热·吐尔逊, 陈楠, 马英杰, 阿尔娜·恰依马尔旦, 张雪寒, 刘早玲

新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: **目的** 探讨十溴联苯醚 (BDE-209) 对小鼠宫颈癌皮下移植瘤大小、相关基因及信号通路的影响。**方法** 40只雌性 C57BL/6 小鼠腋窝外侧皮下接种小鼠宫颈癌 U14 细胞, 建立小鼠宫颈癌皮下移植瘤模型, 随机分为高剂量组 (500 mg/kg)、中剂量组 (100 mg/kg)、低剂量组 (20 mg/kg) 和对照组 (玉米油), 采用灌胃方式给予相应剂量的 BDE-209 或玉米油。21 d 后取皮下移植瘤组织, 采用高通量转录组测序技术分析皮下移植瘤的差异表达基因, 并进行基因本体论 (GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析; 采用 STRING 数据库进行蛋白相互作用分析, 并筛选关键基因; 采用实时荧光定量 PCR 法测定关键基因 mRNA 的表达。**结果** 与对照组、低剂量组、中剂量组相比, BDE-209 高剂量组小鼠宫颈癌皮下移植瘤质量下降 (均 $P < 0.05$)。转录组测序结果显示, 与对照组相比, 高剂量组 2 011 个基因表达上调, 1 165 个基因表达下调; 中剂量组 960 个基因表达上调, 357 个基因表达下调; 低剂量组 537 个基因表达上调, 262 个基因表达下调 (均 $P < 0.05$); GO 和 KEGG 富集分析结果显示, 高剂量组的差异表达基因主要富集于细胞趋化、NOD 样受体信号通路等; 中剂量组差异表达基因主要富集于细胞趋化、细胞因子-细胞因子受体的相互作用等; 低剂量组差异表达基因主要富集于抗原的处理和呈递、补体和凝血级联信号通路等。与对照组相比, 高剂量组 TLR2、MMP9、IL-6、Fos 和 TNF 的 mRNA 表达上调 (均 $P < 0.05$)。**结论** 高剂量 BDE-209 可能影响 Toll 样受体、NOD 样受体等免疫及炎症相关信号通路及基因, 使小鼠宫颈癌皮下移植瘤质量下降。

关键词: 十溴联苯醚; 宫颈癌; 皮下移植瘤; 信号通路; 关键基因

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2024) 03-0272-05

Effects of decabromodiphenyl ether on genes and signaling pathways related to subcutaneous transplanted tumors of cervical cancer in mice

Zunire Tuerxun, CHEN Nan, MA Yingjie, Aerna Qiayimaerdan, ZHANG Xuehan, LIU Zaoling

School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China

Abstract: Objective To investigate the effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on the size of subcutaneous transplanted tumors, related genes and signaling pathways of cervical cancer in mice. **Methods** Forty female C57BL/6 mice were subcutaneously inoculated with mouse cervical carcinoma U14 cells in the lateral axilla to establish a mouse subcutaneous transplanted tumor model. These mice were randomly divided into a high-dose group (500 mg/kg), a medium-dose group (100 mg/kg), a low-dose group (20 mg/kg) and a control group (corn oil), and were exposed to BDE-209 or corn oil by gavage. Subcutaneous transplanted tumor tissue was taken after 21 days of BDE-209 poisoning, and the differentially expressed genes in the subcutaneous transplanted tumors of cervical cancer among the four groups were analyzed by high-throughput transcriptome sequencing and were subjected to Gene Ontology (GO) annotations and

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.03.022

基金项目: 省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室资助项目 (SKL-HIDCA-2020-ER2); 国家级大学生创新训练计划项目 (202210760014)

作者简介: 祖尼热·吐尔逊, 硕士研究生在读, 流行病与卫生统计学专业

通信作者: 刘早玲, E-mail: zaolingliu@gmail.com

Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis. Protein-protein interactions (PPI) were analyzed using the STRING database, and the mRNA expression of hub genes was determined by real-time fluorescence polymerase chain reaction. **Results** Compared with the control group, low-dose group and medium-dose group, the mass of subcutaneous transplanted tumors in the high-dose group was decreased (all $P<0.05$). Transcriptome sequencing results showed that compared with the control group, 2 011 genes were up-regulated and 1 165 genes were down-regulated in the high-dose group; 960 genes were up-regulated and 357 genes were down-regulated in the medium-dose group; 537 genes were up-regulated and 262 genes were down-regulated in the low-dose group (all $P<0.05$). GO and KEGG analysis showed that the differentially expressed genes in the high-dose group were mainly involved in cell chemotaxis and NOD-like receptor signaling pathway; the differentially expressed genes in the medium-dose group were mainly involved in cell chemotaxis and cytokine-cytokine receptor interactions; and the differentially expressed genes in the medium-dose group were mainly involved in processing and presentation of antigens, and the signaling pathways of the complement and coagulation cascades. Compared with the control group, the mRNA expression of TLR2, MMP9, IL-6, Fos, and TNF was up-regulated in the high-dose group (all $P<0.05$). **Conclusion** High-dose BDE-209 may affect Toll-like receptors, NOD-like receptors, and other immune and inflammatory-related signaling pathways and cancer-related genes, leading to a decrease in the mass of subcutaneous transplanted cervical cancer tumors in mice.

Keywords: decabromodiphenyl ether; cervical cancer; subcutaneous transplantation tumor; signaling pathway; hub gene

宫颈癌是五大恶性肿瘤之一，全球每年有近 50 万人被确诊为宫颈癌，近 30 万人因宫颈癌死亡^[1]。宫颈癌的发生不仅受遗传、生活习惯和生殖因素等传统因素的影响，还与工业化、城市化产生的环境内分泌干扰物 (endocrine disruptors, EDCs) 有关^[2-3]。十溴联苯醚 (deca-bromodiphenyl ether, BDE-209) 是持久性有机污染物多溴联苯醚 (polybrominated diphenyl ethers, PBDEs) 家族中完全被溴化的一种化合物，也是一种 EDCs^[4-5]。BDE-209 的毒性虽较其他同系物低，但极易脱溴产生低溴代联苯醚，危害性不容忽视。近年来，BDE-209 对健康的危害研究集中在其致癌作用，对宫颈癌的研究主要在细胞层面^[6]，缺乏 BDE-209 暴露对宫颈癌进展及肿瘤微环境的体内实验研究。本研究通过建立小鼠宫颈癌皮下移植瘤模型，探讨暴露于不同剂量的 BDE-209，对宫颈癌移植瘤大小、相关基因及信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

生物安全柜 (美国 Thermo Fisher 公司); 细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher 公司); 台式高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 超声破碎仪 (美国 Sonics 公司); 超净台 (美国 Thermo 公司); 实时定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司)。RNA 提取试剂盒 (北京全式金生物技术有限公司); 反转录试剂盒、RT-PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司); 胎牛血清、磷酸盐缓冲溶液 (PBS)、胰蛋白酶、高糖基础培养基和青霉素/链霉素溶液 (上海道鹏生物科技有限公司); 玉米油、纯度为 98% 的 BDE-209 (中

国上海源叶化学品有限公司); 4% 多聚甲醛 (上海白鲨生物科技有限公司)。

1.2 实验细胞与动物

小鼠宫颈癌 U14 细胞株，购自赛百慷 (上海) 生物技术股份有限公司。U14 细胞采用 DMEM 高糖完全培养液 (含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素溶液)，于 37 °C、5%CO₂、95% 相对湿度的细胞培养箱培养。40 只雌性 SPF 级 C57BL/6 小鼠，4~6 周龄，体重 14~16 g，由新疆医科大学动物实验中心提供，实验动物使用许可证：SYXK (新) 2023-0004。实验前小鼠适应性饲养 1 周，饲养温度为 20~26 °C，相对湿度为 40%~70%，采光照明为明暗各 12 h。本研究通过新疆医科大学实验动物伦理委员会审查 (IACUC-20230321-41)。

1.3 方法

1.3.1 小鼠宫颈癌皮下移植瘤模型建立

取对数生长期的 U14 细胞，胰酶消化离心后弃上清，生理盐水重悬细胞，调整细胞浓度为 1×10^7 个/mL。每只小鼠腹腔注射 0.5 mL 细胞悬液，待小鼠腹部呈蛙腹状时进行腹水传代，传代 3 次后，用 5 mL 无菌注射器抽取乳糜色腹水，生理盐水调整细胞浓度为 2×10^7 /mL。禁食过夜后，小鼠右侧腋窝外侧脱毛并消毒皮肤后，皮下接种 U14 细胞悬液 0.1 mL，建立小鼠宫颈癌皮下移植瘤模型。接种 5 d 后皮下可触摸到米粒大小肿块，视为模型建立成功。

1.3.2 实验分组及处理

造模成功小鼠随机分为 4 组：对照组 (玉米油)、高剂量组 (500 mg/kg)、中剂量组 (100 mg/kg) 和低剂量组 (20 mg/kg)。各组小鼠按每 10 g 体重灌胃给

予 0.1 mL 玉米油或 BDE-209, 连续暴露 21 d。禁食过夜后, 小鼠颈椎脱臼处死, 用眼科剪分离宫颈癌皮下移植瘤组织, 称重并记录。各组取 3 只小鼠皮下移植瘤液氮速冻后用于转录组测序, 其余小鼠皮下移植瘤一半用 4% 多聚甲醛固定, 进行 HE 染色; 另一半放入液氮速冻后转移至 -80 °C 冰箱, 用于后续实验。

1.3.3 高通量转录组测序分析

由北京诺禾致源科技股份有限公司提供转录组测序服务, 包括总 RNA 提取及质检、文库构建及上机测序、数据过滤质控和参考基因组比对等生物信息学分析, 测序数据分析在线上平台 (<https://magic.novogene.com>) 完成。采用 DEGseq2 软件, 设定阈值为: $\text{Padj} < 0.05$, $\text{llogFC} \geq 0.5$, 筛选各剂量组与对照组小鼠宫颈癌皮下移植瘤组织的差异表达基因。采用 clusterProfiler 软件对差异基因集进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析。

1.3.4 蛋白相互作用网络构建及关键基因筛选

采用 STRING 数据库 (<http://string-db.org>) 分析差异基因蛋白相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI), 了解基因间是否存在相互作用及其密切程度。采用 degree 算法计算目的基因组中排名前 10 的关键基因 (Hub genes)。

1.3.5 关键基因验证

各剂量组关键基因选取 3 个, 共 9 个。采用动物组织 RNA 提取试剂盒提取小鼠宫颈癌皮下移植瘤组织总 RNA, 反转录为 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 测定关键基因 mRNA 在各组小鼠皮下移植瘤组织中的表达, 验证测序结果的可靠性。扩增条件: 预变性 95 °C, 30s; PCR 循环, 95 °C 变性, 5 s, 退火温度 60 °C, 34 s, 40 次循环。每个样品重复 3 次, 以 GAPDH 为内参, 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 mRNA 的相对表达量。采用 Primer 5 程序设计引物序列, 所有引物由上海生物工程有限公司合成。引物序列见表 1。

1.4 统计分析

采用 SPSS 21.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 检验; 不服从正态分布的采用中位数和四分位数间距 [$M(Q_R)$] 描述, 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

表 1 基因引物序列

Table 1 Sequence of primers for real-time fluorescence quantitative PCR reaction

基因	引物序列 (5' -3')
TLR2	F: TCCCAGATGCITCGTTGTTCCC R: AGTGGTTGTCGCCTGCTCC
HSP90AA1	F: ATCACGAAGCATAACGACGATGAG R: TAACTTTGTTCCACGACCCATTG
HSP90AB1	F: TGGCTGAGGACAAGGAGAAGTAC R: GAGAGGCCGGCTCGGITAG
Fos	F: CGTCTTCCTTTGCTTTCACCTACC R: GCTGCIGCTGCCCTTTCC
TNF	F: CACGCTCTTCTGTCTACTGAACCTC R: CTTGGTGGTTTGTGTGAGTGTGAGG
IL-6	F: ACTTCCATCCAGTTGCCCTTCTTGG R: AGGTCTGTGGGAGTGGTATCCTC
MMP9	F: CCTGTGTGTCCCGTTCATCTTTG R: TTATCCTGGTCATAGTTGGCTGTGG
HCK	F: CAAGAGTGAAGAAGGCAGCAAGC R: CTCAGGTCTCGGTGGATGTAGTTC
CDK1	F: CGAGGTAGTGACGCTGTGGTAC R: TCTCTGAGTCCCGTGGAAAAG
GAPDH	F: ACATCAAGAAGGTGGTGAAGC R: AAGGTGGAAGAGTCCGAGTTG

2 结果

2.1 宫颈癌皮下移植瘤模型建立与肿瘤质量

40 只小鼠皮下接种 U14 细胞悬液 5 d 后, 均可摸到米粒大小的肿块, 经 HE 染色证实为低分化鳞癌, 造模成功率 100%。实验期间小鼠饮食、活动正常, 对照组 1 只小鼠因皮下移植瘤破溃出现死亡, 其余组小鼠未见异常症状和体征。对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组小鼠皮下移植肿瘤质量 $M(Q_R)$ 分别为 0.22 (0.14)、0.19 (0.21)、0.20 (0.14)、0.10 (0.60) g, 差异有统计学意义 ($H=10.309$, $P=0.016$), 两两比较显示, 与对照组、低剂量组、中剂量组相比, 高剂量组小鼠皮下移植肿瘤质量下降 (均 $P < 0.05$)。

2.2 宫颈癌皮下移植瘤组织转录组测序分析

2.2.1 差异表达基因筛选结果

各组样本经质量检测后均符合转录组分析的相关要求。与对照组相比, 高剂量组有 3 176 个差异表达基因, 其中 2 011 个基因表达上调, 1 165 个基因表达下调; 中剂量组有 1 317 个差异表达基因, 其中 960 个基因表达上调, 357 个基因表达下调; 低剂量组有 799 个差异表达基因, 其中 537 个基因表达上调, 262 个基因表达下调 (均 $P < 0.05$)。

2.2.2 差异表达基因功能富集分析

GO 功能注释结果显示, 与对照组相比, 高剂量组差异表达基因主要富集于细胞趋化、调节炎症反应、炎症小体复合物等; 中剂量组差异表达基因主要富集于细胞趋化、细胞外泌体、受体调节剂活性等; 低剂量组差异表达基因主要富集于抗原的处理和呈递、MHC 蛋白复合物、肽酶调节剂活性等。KEGG 富集分析结果显示, 与对照组相比, 高剂量组差异表达基因主要富集于细胞因子-细胞因子受体相互作用、NOD 样受体信号通路、Toll 样受体信号通路和 PI3K-Akt 信号通路等; 中剂量组差异表达基因主要富集于细胞因子-细胞因子受体相互作用、细胞黏附分子和 PPAR 信号通路等; 低剂量组差异表达基因主要富集于补体和凝血级联、细胞黏附分子等。

2.3 关键基因筛选结果

高剂量组排名前 10 的关键基因: Fos、

HSP90AA1、TNF、RACGAP1、CDK1、HSP90AB1、MYC、IL-6、YES1 和 TLR2; 中剂量组排名前 10 的关键基因: TGFB1、CSFLR、YES1、CPS1、HSP90AA1、MMP2、KNG1、Fos、CDH1 和 MMP9; 低剂量组排名前 10 的关键基因: CTSS、NCF2、HSP90AA1、TYROBP、NCF4、YES1、HCK、ACACA、ITAGX 和 CSF1R。

2.4 关键基因 mRNA 表达结果

与对照组相比, 低剂量组 HSP90AB1、CDK1、HCK, 中剂量组 TLR2、CDK1、IL-6、HCK、Fos 和高剂量组 TLR2、MMP9、IL-6、Fos, 以及各剂量组 TNF 的 mRNA 表达均上调; 与低剂量组相比, 高剂量组 HSP90AA1、HSP90AB1 和 CDK1 的 mRNA 表达均下调; 与中剂量组相比, 高剂量组 HSP90AB1 和 CDK1 的 mRNA 表达均下调 ($P<0.05$)。以上基因 mRNA 相对表达量变化与转录组测序结果基本一致。见表 2。

表 2 各组关键基因的 mRNA 相对表达量

Table 2 Relative mRNA expression of hub genes in each group

关键基因	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	F/H 值	P 值
HSP90AA1	1.05±0.39	1.50±0.82	1.19±0.76	0.39±0.31 ^②	3.572	0.032
HSP90AB1	1.01±0.11	3.32±1.91 ^①	2.47±1.51	0.48±0.45 ^{②③}	6.698	0.003
TLR2	1.24±0.74	2.56±1.30	4.40±2.55 ^①	4.40±1.19 ^①	5.644	0.006
CDK1	1.02±0.20	2.53±0.71 ^①	2.06±0.99 ^①	0.91±0.32 ^{②③}	9.331	<0.001
MMP9	1.01 (0.14)	0.38 (1.32)	1.34 (2.21)	3.54 (1.54) ^①	8.382	0.039
IL-6	1.77 (1.68)	2.91 (5.11)	12.02 (10.90) ^①	5.55 (4.61) ^①	10.264	0.016
HCK	0.93 (0.35)	8.75 (5.53) ^①	10.07 (3.71) ^①	1.82 (5.62)	11.713	0.008
Fos	1.00 (0.19)	1.68 (0.66)	2.35 (1.88) ^①	2.98 (1.79) ^①	10.147	0.017
TNF	0.76 (1.44)	8.41 (18.16) ^①	9.56 (12.11) ^①	4.17 (11.07) ^①	14.749	0.002

注: HSP90AA1、HSP90AB1、TLR2 和 CDK1 mRNA 相对表达量采用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 组间比较采用单因素方差分析; 同列其他基因 mRNA 相对表达量采用中位数和四分位数间距 [$M(Q_k)$] 描述, 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。^①表示与对照组比较 $P<0.05$; ^②表示与低剂量组比较 $P<0.05$; ^③表示与中剂量组比较 $P<0.05$ 。

3 讨论

实验结果显示, 高剂量 BDE-209 暴露后, 小鼠宫颈癌皮下移植瘤质量下降; 暴露于不同剂量 BDE-209, 皮下移植瘤质量大小呈倒 U 型, 与其他研究结果^[7]一致。可能与内分泌干扰物的非单调效应有关, 即在一定的剂量范围内存在毒物兴奋效应^[8-9]。由此推测本研究中 500 mg/kg 的 BDE-209 暴露剂量可能对小鼠产生一定程度的毒性兴奋效应, 从而导致皮下移植瘤质量下降。

GO 功能注释、KEGG 富集分析发现, 与对照组相比, 各剂量组差异表达基因主要富集于多个免疫及炎症相关的信号通路中, 其中 NOD 样受体是炎症相

关肿瘤发生的关键调节剂, 激活 NOD 会抑制肿瘤的发生^[10-11]。Toll 样受体是跨膜受体, 在先天免疫反应中起关键作用, 大部分情况下 Toll 样受体会促进肿瘤细胞发生免疫逃逸, 但面对肿瘤合并的感染时会激发获得性免疫, 打破机体对肿瘤的耐受^[12]。在本研究中, 高剂量组小鼠皮下移植瘤质量下降, 可能是 BDE-209 对免疫及炎症相关信号通路的刺激, 影响皮下移植瘤免疫微环境, 导致肿瘤生长受到抑制。

HSP90 是各种恶性肿瘤发展的促进剂, HSP90 表达下调会发挥抑癌作用^[13]。HCK 在髓细胞系和 B 淋巴细胞系的细胞中表达, 抑制 HCK 可直接抑制癌细胞的生长^[14]。结果显示, 与对照组相比, 低剂量组的 HSP90AB1、HCK 等促癌基因表达上调, 但高剂

量组出现下调。MMP 家族是一类依赖金属锌离子的蛋白水解酶家族,在肿瘤的生长、转移过程中均起重要作用^[15]。有研究发现,MMP9 的表达会随着宫颈癌恶性程度和转移侵袭危险度升高而升高^[16]。Fos 基因是调控细胞增殖、分化和凋亡的重要基因^[17],在宫颈鳞癌及宫颈病变组织中均有表达。本研究中 MMP9、Fos 基因 mRNA 相对表达量均随 BDE-209 暴露浓度升高而升高,提示虽然高剂量组小鼠宫颈癌皮下移植瘤有变小趋势,但不排除有转移或恶化的可能。通过验证关键基因 mRNA 表达结果发现 BDE-209 会影响多种恶性肿瘤相关基因的表达,但其具体信号机制还需进一步验证。

综上所述,高剂量 BDE-209 可能刺激 Toll 样受体、NOD 样受体等免疫及炎症相关信号通路和恶性肿瘤相关基因使小鼠宫颈癌皮下移植瘤的质量下降。但本研究暴露时间较短,且只验证了不同剂量组间差异基因的表达情况,其长期暴露情况和具体机制需深入探讨。

参考文献

- [1] COHEN P A, JHINGRAN A, OAKIN A, et al. Cervical cancer [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10167): 169-182.
- [2] BREHM E, FLAWS J A. Transgenerational effects of endocrine-disrupting chemicals on male and female reproduction [J]. *Endocrinology*, 2019, 160 (6): 1421-1435.
- [3] KORSAKOV A V, KRYUKOVA A E, TROSHIN V P, et al. Cervical and endometrial cancer incidence in the female population from the Bryansk Region living in conditions of chemical, radioactive and combined environmental contamination (2000-2020) [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12 (10): 1-19.
- [4] YUAN J W, SUN X M, CHE S Y, et al. AhR-mediated CYP1A1 and ROS overexpression are involved in hepatotoxicity of decabromodiphenyl ether (BDE -209) [J/OL]. *Toxicol Lett*, 2021 [2024-02-22]. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.09.008>.
- [5] DEZIEL N C, ALFONSO-GARRIDO J, WARREN J L, et al. Exposure to polybrominated diphenyl ethers and a polybrominated biphenyl and risk of thyroid cancer in women: single and multi-pollutant approaches [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, 28 (10): 1755-1764.
- [6] LI Z H, LIU X Y, WANG N, et al. Effects of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209) in regulation of growth and apoptosis of breast, ovarian, and cervical cancer cells [J]. *Environ Health Perspect*, 2012, 120 (4): 541-546.
- [7] LIM J S, LEE D H, JACOBS D R Jr. Association of brominated flame retardants with diabetes and metabolic syndrome in the U.S. population, 2003-2004 [J]. *Diabetes Care*, 2008, 31 (9): 1802-1807.
- [8] 王永治, 李美艳, 阿依古丽·阿力木, 等. 限制性立方样条分析乌鲁木齐市孕产妇多溴联苯醚暴露水平与新生儿低出生体重的剂量-反应关系 [J]. *卫生研究*, 2019, 48 (3): 440-445.
- [9] RENZELLI V, GALLO M, MORVIDUCCI L, et al. Polybrominated diphenyl ethers (pbdes) and human health: effects on metabolism, diabetes and cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15 (17): 1-19.
- [10] LIU P, LU Z W, LIU L L, et al. NOD-like receptor signaling in inflammation-associated cancers: from functions to targeted therapies [J/OL]. *Phytomedicine*, 2019, 64 [2024-02-22]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152925>.
- [11] 林巧卫, 张思, 陆维祺. NOD 样受体介导的信号转导通路及其与肿瘤关系的研究进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29 (3): 223-228.
- [12] KESHAVARZ A, POURBAGHERI-SIGAROODI A, ZAFARI P, et al. Toll-like receptors (TLRs) in cancer; with an extensive focus on TLR agonists and antagonists [J]. *IUBMB Life*, 2021, 73 (1): 10-25.
- [13] LIANG W Q, HE Y J, HE W G, et al. Exhausted CD8⁺T cells in the tumor immune microenvironment: new pathways to therapy [J/OL]. *Front Immunol*, 2021 [2024-02-22]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.622509>.
- [14] POH A R, O'DONOGHUE R J, ERNST M. Hematopoietic cell kinase (HCK) as a therapeutic target in immune and cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (18): 15752-15771.
- [15] 钟要红, 何青芳, 李迎君, 等. 基于 GEO 芯片数据库的结肠癌易感基因挖掘 [J]. *预防医学*, 2017, 29 (11): 1094-1097.
- [16] 蒋亚男, 王薇, 吴逢霞. 宫颈癌患者血清及组织 VEGF 及 MMP 的变化 [J]. *海南医学院学报*, 2015, 21 (4): 556-558.
- [17] 张玉芳, 任春丽, 梁爽, 等. 宫颈鳞癌组织中 c-fos 蛋白表达与 HPV 感染的相关性 [J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28 (34): 23-26.

收稿日期: 2023-10-23 修回日期: 2024-02-22 本文编辑: 徐亚慧