

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.08.008

血浆 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平及 HPV 阳性大鼠宫颈癌增殖能力的关系研究 *

许林波¹ 梁丽斯^{2△} 王 蓓³ 邓晓红⁴ 白昌民⁴

(1 西北妇女儿童医院医学检验中心 陕西 西安 710000; 2 西安市第九医院检验科 陕西 西安 710014;

3 西安市儿童医院中心实验室 陕西 西安 710000; 4 西北妇女儿童医院妇科 陕西 西安 710000)

摘要 目的:探究血浆巨噬细胞集落刺激因子(Macrophage colony stimulating factor, M-CSF)、基质金属蛋白酶 9(Matrix metalloproteinase 9, MMP9)及其组织抑制因子 1(tissue inhibitor of the metalloproteinases, TIMP1)水平及人乳头瘤病毒(Human papilloma virus, HPV)阳性大鼠宫颈癌增殖能力的关系。**方法:**20 只健康雌性 Wistar 白化大鼠根据实验目的分为两组:对照组(异种移植时注射 SiHa 细胞作为对照实验, n=10)和观察组(将转染 sh-M-CSF、sh-MMP9 和 sh-TIMP-1 的 SiHa 细胞注射大鼠的子宫颈, n=10)。通过 ELISA 测定大鼠血浆 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的水平。通过 PCR 检测实验大鼠中 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的 mRNA 表达。使用数字游标卡尺分析大异种移植大鼠肿瘤体积生长。第 3、4、5 周分别处死并切除大鼠肿瘤进行称重。通过免疫组织化学分析肿瘤组织中增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、pAKT 和 pSTAT3 的蛋白表达。通过免疫组织化学染色和 TUNEL 染色分别确定 Ki67 阳性细胞数量及凋亡细胞数量。**结果:**观察组较对照组 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的水平降低($P<0.05$)。观察组较对照组 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的 mRNA 表达降低($P<0.05$)。随着时间的增加, 两组大鼠肿瘤体积均增加。1 周和 2 周对照组和观察组大鼠肿瘤体积比较无差异($P>0.05$), 第 3 周、第 4 周和第 5 周, 观察组较对照组大鼠肿瘤体积降低($P<0.05$)。观察组较对照组大鼠体内肿瘤重量减少($P<0.05$)。观察组较对照组 PCNA、pAKT 和 pSTAT3 的蛋白表达量降低($P<0.05$)。观察组较对照组 Ki67 阳性细胞数量降低, 凋亡细胞升高($P<0.05$)。**结论:**降低血浆 M-CSF、MMP2 和 TIMP1 水平可促进 HPV 阳性大鼠宫颈癌细胞凋亡, 有效抑制细胞增殖。

关键词:宫颈癌; HPV; 巨噬细胞集落刺激因子; 基质金属蛋白酶 9; 基质金属蛋白酶组织抑制因子 1; 增殖

中图分类号:R-33; R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)08-1439-05

Study on the Relationship between Plasma Levels of M-CSF, MMP9, TIMP-1 and Cervical Cancer Proliferation in HPV-positive Rats*

XU Lin-bo¹, LIANG Li-si^{2△}, WANG Bei³, DENG Xiao-hong⁴, BAI Chang-min⁴

(1 Medical Laboratory Center, Northwest Women's and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710000, China; 2 Department of Laboratory Medicine, Xi'an Ninth Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710014, China; 3 Central Laboratory of Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710000, China; 4 Department of Gynecology, Northwest Women and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the relationship between the levels of plasma M-CSF, MMP9, TIMP-1 and the proliferation of cervical cancer in HPV-positive rats. **Methods:** Twenty healthy female Wistar albino rats were divided into two groups according to the purpose of the experiment: the control group (injecting SiHa cells during xenotransplantation as a control experiment, n=10) and the observation group (the SiHa cells transfected with sh-M-CSF, sh-MMP9 and sh-TIMP-1) Inject into the cervix of rats, n=10). The plasma levels of M-CSF, MMP9 and TIMP-1 were determined by ELISA. The mRNA expression of M-CSF, MMP9 and TIMP-1 in experimental rats was detected by PCR. The digital vernier caliper was used to analyze the tumor volume growth of large xenograft rats. At the 3rd, 4th, and 5th week, the rats were sacrificed and the tumors were excised and weighed. The protein expression of Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), pAKT and pSTAT3 in tumor tissues was analyzed by immunohistochemistry. The number of Ki67-positive cells and the number of apoptotic cells were determined by immunohistochemical staining and TUNEL staining, respectively. **Results:** Compared with the control group, the observation group had lower levels of M-CSF, MMP9 and TIMP-1 ($P<0.05$). The mRNA expression of M-CSF, MMP9 and TIMP-1 in the observation group was lower than that in the control group ($P<0.05$). With the increase of time, the tumor volume of the two groups of rats increased. There was no difference in tumor volume between the control group and the observation group at 1 week and 2 weeks ($P>0.05$). At the 3rd, 4th and 5th week, the observation group had a lower tumor volume than the control group ($P<0.05$). The observation group had less tumor weight than the control group ($P<0.05$). The protein expression of PCNA, pAKT and pSTAT3 in the observation group was lower than that in the control group ($P<0.05$). Compared with the control group, the number of

* 基金项目:陕西省重点研发计划项目(2018SF-068)

作者简介:许林波(1979-),男,本科,主管检验师,研究方向:医学检验,电话:15309210639, E-mail: xulingbo123456789@163.com

△ 通讯作者:梁丽斯(1986-),女,本科,主管技师,研究方向:生化免疫检验方向,电话:15809215627, E-mail: xulingbo123456789@163.com

(收稿日期:2021-08-24 接受日期:2021-09-20)

Ki67-positive cells in the observation group decreased, and the number of apoptotic cells increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Decreasing the levels of plasma M-CSF, MMP2 and TIMP1 can promote the apoptosis of HPV-positive rat cervical cancer cells and effectively inhibit cell proliferation.

Key words: Cervical cancer; HPV; M-CSF; MMP9; TIMP-1; Proliferation

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)08-1439-05

前言

宫颈癌是一种高发病率的潜在可预防疾病,是女性第二大常见恶性肿瘤^[1,2]。尽管先进的手术技术和放化疗可以提高宫颈癌的治疗率,但由于肿瘤复发及耐药性现象导致死亡率仍然较高^[3-5]。在肿瘤进展过程中,肿瘤细胞获得间充质标志物,如波形蛋白、N-钙粘蛋白和纤连蛋白的表达,以及上皮标志物如 E-钙粘蛋白的丢失,导致上皮间质转化,随后的肿瘤转移,并在远处扩散^[6-8]。研究显示:靶向肿瘤新生血管是癌症治疗的有利策略,多种血管生成抑制剂已被鉴定并正在临床前实验中进行研究^[9]。M-CSF 是一种造血生长因子,在炎症中,M-CSF 诱导巨噬细胞分泌细胞因子和蛋白酶,从而增强巨噬细胞对抗微生物感染的能力^[10-12]。M-CSF 及其受体表达增加与宫颈癌、卵巢癌和前列腺癌的不良预后相关。另外一种肿瘤标志物,尤其是与肿瘤侵袭有关的标志物,例如 MMP^[13,14]。除了 ECM 的降解外, MMP-9 还可以从 ECM 中释放组织结合的成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子,并刺激新血管形成^[15,16]。TIMPs 是内源性抑制剂,可特异性结合并抑制 MMPs 激活。已经确定了四种类型的 TIMP(TIMP 1-4);这些蛋白质共享一个类似的结构,适合 MMP 催化域的活性位点^[17]。例如, TIMP-1 以高亲和力抑制 MMP-9。TIMP-1 已被证明在晚期乳腺癌的原发肿瘤中增加,因此高 TIMP-1 水平与较差的预后相关^[18]。本研究通过异种移植建立宫颈癌大鼠,探讨 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平及 HPV 阳性大鼠宫颈癌增殖能力的关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞 HPV-16 阳性人宫颈癌细胞 SiHa 购自美国典型培养物保藏中心,细胞在 Eagle 培养基中培养(含 10%胎牛血清、2 mM 谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素),温度为 37℃,含 5% CO₂ 的湿润环境。

1.1.2 实验大鼠 20 只健康雌性 Wistar 白化大鼠,饲养于本院实验研究中心的标准条件中(21±2℃,12 小时光/暗周期)。本研究过程中,动物实验均根据动物护理和使用指南进行。

1.1.3 细胞转染 特异性小干扰 RNA (siRNAs) 和阴性对照 (siRNA-NC) 购自上海 GenePharma 公司,特异性抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 的 shRNA 载体 (sh-M-CSF、sh-MMP9、sh-TIMP-1) 和阴性对照载体购自 GeneChem。根据制造商的说明,使用 Lipofectamine 2000 在 Opti-MEM I 还原血清培养基中将 siRNA 或 shRNA 载体转染到 SiHa 细胞中,当细胞达到了 70% 的汇合率用于异种移植。

1.1.4 异种移植研究 大鼠保持在无病原体的环境中,将转染 sh-M-CSF、sh-MMP9、sh-TIMP-1 的 SiHa 细胞(4×10⁶ 个)分散

在 100 μL PBS 和 100 μL Matrigel 中,并直接注射到每只大鼠的子宫中,无需任何手术。对照组大鼠直接注射 SiHa 细胞,定期监测大鼠的肿瘤发展并使用数字游标卡尺从注射后一周开始测量肿瘤体积。肿瘤体积采用椭球体积公式计算:肿瘤体积(mm³)=0.5×L×W×H,其中 L 为长度,W 为宽度,H 为高度。处死大鼠并切除它们的肿瘤并用于称重、组织切片(5 μm)、组织病理学和裂解物制备。

1.1.5 实验分组 实验大鼠分为两组:对照组(异种移植时注射 SiHa 细胞作为对照实验,n=10)和观察组(将转染 sh-M-CSF、sh-MMP9、sh-TIMP-1 的 SiHa 细胞注射大鼠的子宫, n=10)。

1.2 实验方法

1.2.1 血浆 VEGF、M-CSF、MMP-9 和 TIMP-1 水平分析 通过酶联免疫吸附测定 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定大鼠血浆组织中 M-CSF、MMP-9 和 TIMP-1 水平。程序如下:将血浆样品和标准品添加到预涂有单克隆抗体的微孔板中。通过洗涤过程去除酶试剂和任何未结合的抗体后,将底物溶液加入孔中,使用终止溶液终止显色,并使用自动 BioTek 在 450 nm 处测量每个孔中所有参数的颜色强度 ELX800 读卡器。

1.2.2 蛋白质印迹分析 使用 RIPA 裂解缓冲液裂解肿瘤组织匀浆,并使用 Bradford 蛋白质检测试剂盒(贝奥蒂姆生物技术研究所)来定量蛋白质浓度。通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶分离等量的蛋白质(50 μg),在 2 h 内将蛋白质转运至聚偏二氟乙烯膜(PVDF),封闭 1 h。将膜在 TBST 中洗涤 3 次并与一抗孵育:抗 M-CSF、抗 MMP-9、抗 TIMP-1 和抗 β-肌动蛋白。之后将 PVDF 膜与抗兔(1:2000)二抗(美国 Abcam 公司)在室温下孵育 1 h,通过化学发光进行测定。最后,将 PVDF 膜与 ECL 试剂(美国圣克鲁斯生物技术公司)温育进行蛋白质印迹。使用 Image Quant TL 软件测量条带的光密度值。目标的印迹密度被标准化为 β-肌动蛋白。

1.2.3 免疫组织化学 PCNA、pAKT 和 pSTAT3 蛋白的免疫组化分析在福尔马林固定、石蜡包埋的原位异种移植肿瘤(5 μm 切片)上进行。将肿瘤组织脱蜡、再水化、用 0.3% 过氧化氢处理并使用热诱导技术处理抗原修复。处理样品后用 PCNA、pAKT 和 pSTAT3 抗体染色。使用 MACH 4 Universal HRP 聚合物检测试剂盒和 3,9-二氨基联苯胺(DAB)底物试剂盒检测蛋白质的表达。载玻片用苏木精复染,脱水,用 VectaMount 封片剂固定,并使用 Olympus BX 41 显微镜观察。

1.2.4 TUNEL 染色 组织切片在 95℃ 下用 Tris-EDTA 缓冲溶液(pH 9.0)预处理。与一抗孵育 60 min 后,在室温下应用山羊抗兔 IgG 的生物素化免疫球蛋白混合物 30 min。使用聚合物

免疫组织化学检测系统(EnVision 试剂盒;日本 Dako 公司)进行可视化。Ki67 阳性细胞的比率通过在每个样品中计数来确定。使用 APO-BrdUTMTUNEL 检测试剂盒对脱蜡组织切片进行染色。

1.2.5 统计分析 采用 SPSS 20.0 进行数据分析,数据表示为平均值±标准差,通过 t 检验分析两组之间的比较。 $P<0.05$ 被认为表明有统计学显著差异。

2 结果

2.1 抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平降低异种移植肿瘤的重量增长

观察组较对照组 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的水平降低($P<0.05$)。(表 1)。

表 1 血浆 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平分析
Table 1 Analysis of plasma M-CSF, MMP 9, TIMP-1 levels

Groups	M-CSF(pg/mL)	MMP9(ng/mL)	TIMP-1(ng/mL)
Control group	6.89± 0.52	26.38± 1.44	18.45± 1.15
Observation group	1.75± 0.13	9.24± 0.52	11.29± 0.36
t	6.273	11.208	5.317
P	0.014	0.026	0.037

2.2 PCR 分析 M-CSF、MMP9、TIMP-1 mRNA 表达水平

观察组较对照组 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的 mRNA 表

达降低($P<0.05$),M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 的沉默转染成功。

(表 2)。

表 2 M-CSF、MMP9 和 TIMP-1 mRNA 表达水平
Table 2 Expression Level of M-CSF, MMP 9 and TIMP-1 mRNA

Groups	M-CSF	MMP9	TIMP-1
Control group	1.85± 0.12	2.14± 0.19	2.03± 0.18
Observation group	1.02± 0.01	1.15± 0.02	1.07± 0.01
t	6.273	11.208	5.317
P	0.014	0.026	0.037

2.3 抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平降低异种移植肿瘤的体积增长

随着时间的增加,两组大鼠肿瘤体积均增加。第 1~2 周对

照组和观察组大鼠肿瘤体积比较无差异($P>0.05$),第 3~5 周,观察组较对照组大鼠肿瘤体积降低($P<0.05$)。(表 3)。

表 3 异种移植肿瘤的体积增长
Table 3 Volume growth of heterogeneous graft tumors

Groups	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week
Control group	1.31± 0.11	2.83± 0.13	4.72± 0.18	6.53± 0.21	8.47± 0.46
Observation group	1.29± 0.09	2.55± 0.12	3.25± 0.14	3.81± 0.18	4.56± 0.33
t	8.036	5.193	6.028	9.755	5.246
P	0.274	0.638	0.027	0.014	0.005

2.4 抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平降低异种移植肿瘤的重量增长

第 3、4、5 周分别处死并切除大鼠肿瘤进行称重比较,观察组较对照组大鼠体内肿瘤重量减少($P<0.05$)。(表 4)。

表 4 异种移植肿瘤重量检测(g)
Table 4 Weight Detection of heterogeneous graft tumors (g)

Groups	3 week	4 week	5 week
Control group	0.69± 0.04	0.85± 0.07	1.22± 0.14
Observation group	0.34± 0.01	0.52± 0.03	0.63± 0.02
t	5.037	9.221	6.829
P	0.014	0.005	0.018

2.5 免疫组织化学分析

通过免疫组织化学分析肿瘤组织中 PCNA、pAKT 和

pSTAT3 的蛋白表达, 观察组较对照组 PCNA、pAKT 和 pSTAT3 的蛋白降低($P<0.05$)。(表 1)。

表 5 免疫组织化学分析
Table 5 Immunohistochemical analysis

Groups	PCNA	pAKT	pSTAT3
Control group	1.83± 0.14	2.01± 0.19	1.97± 0.17
Observation group	1.14± 0.03	1.35± 0.06	1.16± 0.05
t	5.399	8.204	11.638
P	0.012	0.007	0.025

2.6 Ki67 阳性细胞和凋亡分析

通过免疫组织化学染色和 TUNEL 染色分别确定 Ki67 阳

性细胞数量及凋亡细胞数量, 观察组较对照组 Ki67 阳性细胞数量降低, 凋亡细胞升高($P<0.05$)。(表 6)。

表 6 Ki67 阳性细胞和凋亡分析
Table 6 Analysis of Ki67-positive cells and apoptosis

Groups	Ki67-positive cells	Apoptotic cells
Control group	57.63± 11.25	14.28± 2.37
Observation group	24.19± 6.32	46.35± 7.34
t	6.018	9.732
P	0.011	0.005

3 讨论

M-CSF 是一种分泌性细胞因子, 可调节造血祖细胞的生长和分化, 并在功能上激活成熟的巨噬细胞或中性粒细胞^[19]。相关研究显示: 可在肿瘤患者中检测到 M-CSF 血浆过度表达, 例如子宫内膜癌、卵巢癌和宫颈癌^[20,21]。此外, 一项研究表明, 乳腺癌患者血清中 M-CSF 的水平显著升高, 并在乳腺癌晚期患者的腹水和胸腔积液中检测到最高浓度的 M-CSF, 并且 M-CSF 高水平和不良预后相关^[22]。MMPs 是内肽酶活性降解细胞外基质中的蛋白质, 其表达与癌症进展的不同重要方面有关, 包括增殖、侵袭、转移和血管生成^[23,24]。在肿瘤中, MMP-9 破坏 IV 型肿瘤细胞附近血管基底膜中的胶原蛋白扩散到周围组织并促进转移^[25]。MMPs 和 TIMPs 在 ECM 和基底膜稳态中起着至关重要的作用, TIMP 蛋白家族可抑制 MMPs 的活性, 其中 TIMP-1 的活性最强^[26,27]。一项研究显示, 在生理条件下, MMP: TIMP 比率受到高度调节。这些因素的浓度和活性之间的不平衡可能导致 ECM 成分的产生和降解的干扰。他们还证明了 MMP 和 TIMP 功能障碍可能导致癌症更快的侵袭和转移^[28]。此外 MMP-9: TIMP-1 的高比例表明 MMPs(尤其是明胶酶)在恶性肿瘤中具有很强的蛋白水解能力。

宫颈癌是包括美国在内的全球女性癌症相关死亡的主要原因。HPV 感染是宫颈癌流行的主要危险因素。在所有 HPV 中, HPV-16 和 HPV18 被认为与 70 % 的宫颈癌发病机制有关。尽管放化疗和手术可以治愈 80~95 % 的早期宫颈癌女性, 但复发和转移性疾病仍然是宫颈癌患者死亡的主要原因。几种治疗策略, 例如接种疫苗或使用各种化疗药物组合, 已在预防和治疗宫颈癌方面取得成功。然而, 由于它们的毒性, 接种疫苗和使

用这些化疗药物都有一些局限性。本研究使用 HPV-16 阳性人类宫颈癌细胞 SiHa 作为模型系统, 并通过特异性 siRNAs 抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 的体内表达, 结果表明, 当 M-CSF、MMP9、TIMP-1 的血浆浓度降低时具有抑制宫颈癌肿瘤细胞生长和增殖的潜力, 与 Tarasenko AI 等^[29]关于以上指标在肾细胞癌中的表达相关研究结果一致, 即: 血清 MMP-2 和 MMP-9 是肾细胞癌进展预后不良的标志肾细胞癌患者在各种手术治疗前后血清中 MMP-9 水平的升高反映了患者身体和肿瘤过程的个体特征。因此诱导细胞凋亡是癌症治疗的有效手段, 各种致癌信号分子参与宫颈癌的诱导、进展和转移。

PI3K/AKT 是重要的信号通路之一, 已被证明与宫颈癌的进展和转移有关。研究表明, 抑制宫颈癌细胞中的 PI3K/AKT 信号通路可诱导细胞凋亡^[30]。本研究结果显示: 当 M-CSF、MMP9、TIMP-1 的表达受到抑制后, 肿瘤细胞中 PI3K 和 pAKT-Ser473 蛋白水平降低, 这表明降低血浆 M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平有抑制宫颈癌细胞中 PI3K/AKT 信号通路的潜力, 与 Zhao X^[30]和 Ling W^[31]等相关研究结果相似。STAT3 是调节 PI3K/AKT 信号通路的转录因子之一, 参与宫颈癌的不良预后。一项宫颈癌组织微阵列研究表明, STAT3 的组成型激活与 HPV 阳性宫颈癌的进展相关, 而 PCNA 也在癌细胞的生长起到重要作用。本研究结果表明: 低水平的 M-CSF、MMP9、TIMP-1 可降低肿瘤组织 PCNA 的表达, 且抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 表达的观察组大鼠的肿瘤体积和重量减小, 这进一步表明抑制 M-CSF、MMP9、TIMP-1 可抑制宫颈肿瘤细胞的增殖, 与前文结果相符。本研究免疫组化和 TUNEL 分析检测了 Ki67 阳性细胞数量及细胞凋亡量, 结果发现低水平的 M-CSF、MMP9、TIMP-1 可促进肿瘤细胞的凋亡, 表明血浆

M-CSF、MMP9、TIMP-1 水平及 HPV 阳性大鼠宫颈癌增殖能力及该肿瘤进展密切相关,因此未来实现调控这三个指标水平可能成为宫颈癌治疗的重点步骤。

综上所述,我们结果表明,降低血浆 M-CSF、MMP2 和 TIMP1 水平可促进 HPV 阳性大鼠宫颈癌细胞凋亡,有效抑制细胞增殖,对于宫颈癌临床治疗提供有力证据。

参考文献(References)

- [1] Liu Y, Zhao R, Fang S, et al. Abemaciclib sensitizes HPV-negative cervical cancer to chemotherapy via specifically suppressing CDK4/6-Rb-E2F and mTOR pathways [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, 35(1): 156-164
- [2] 柳俊,陈军,鲍展,等. HSP70、eIF4E、DNMT1 在宫颈癌中的表达及意义[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(20): 3988-3991
- [3] Liu T, Zhao X, Song D, et al. Anticancer activity of Eremanthin against the human cervical cancer cells is due to G2/M phase cell cycle arrest, ROS-mediated necrosis-like cell death and inhibition of PI3K/AKT signalling pathway[J]. *J buon*, 2020, 25(3): 1547-1553
- [4] 颜清,邢舒,钱英净,等. 宫颈癌放疗患者生活质量的影响因素及与应对方式的关系研究[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(4): 659-663
- [5] Liu Y, Zhao R, Fang S, et al. Abemaciclib sensitizes HPV-negative cervical cancer to chemotherapy via specifically suppressing CDK4/6-Rb-E2F and mTOR pathways [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, 35(1): 156-164
- [6] Yu L, Fei L, Liu X, et al. Application of p16/Ki-67 dual-staining cytology in cervical cancers[J]. *J Cancer*, 2019, 10(12): 2654-6260
- [7] Tomihara H, Carbone F, Perelli L, et al. Loss of ARID1A Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition and Sensitizes Pancreatic Tumors to Proteotoxic Stress[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(2): 332-343
- [8] Brčić I, Godschachner TM, Bergovec M, et al. Broadening the spectrum of NTRK rearranged mesenchymal tumors and usefulness of pan-TRK immunohistochemistry for identification of NTRK fusions [J]. *Mod Pathol*, 2021, 34(2): 396-407
- [9] Kim DH, Lee HW, Park HW, et al. Bee venom inhibits the proliferation and migration of cervical-cancer cells in an HPV E6/E7-dependent manner[J]. *BMB Rep*, 2020, 53(8): 419-424
- [10] Stefanowicz-Hajduk J, Gucwa M, Moniuszko-Szajwaj B, et al. Bersaldegennin-1,3,5-orthoacetate induces caspase-independent cell death, DNA damage and cell cycle arrest in human cervical cancer HeLa cells[J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 54-65
- [11] Lu CS, Shiau AL, Su BH, et al. Oct4 promotes M2 macrophage polarization through upregulation of macrophage colony-stimulating factor in lung cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 62
- [12] 王丽敏,于静,张林,等. 小柴胡汤对 CFA 大鼠血清细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、M-CSF 作用的实验研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(1): 23-27
- [13] Yu L, Sun Y, Su J, et al. Bismahanine exerts anticancer effects on human cervical cancer cells by inhibition of growth, migration and invasion via suppression of NF-kB signalling pathway [J]. *J buon*, 2020, 25(1): 93-98
- [14] Zhang J, Wang R, Cheng L, et al. Celastrol inhibit the proliferation, invasion and migration of human cervical HeLa cancer cells through down-regulation of MMP-2 and MMP-9[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(11): 5335-5338
- [15] Hou J, Kan C, Zhu Y, et al. Cinnamolide sesquiterpene lactone suppresses in vitro and in vivo cancer cell growth in cisplatin-resistant human cervical carcinoma cells by inducing mitochondrial mediated apoptosis, caspase activation, loss of MMP and targeting Akt/ β -Catenin signaling pathway[J]. *J buon*, 2020, 25(2): 709-715
- [16] Yoshida T, Saga Y, Urabe M, et al. CRISPR/Cas9-mediated cervical cancer treatment targeting human papillomavirus E6 [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 2197-2206
- [17] Ding X, Jia X, Wang C, et al. A DHX9-lncRNA-MDM2 interaction regulates cell invasion and angiogenesis of cervical cancer [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(9): 1750-1765
- [18] Demir S, Yaman SO, Sener SO, et al. Dorycnium pentaphyllum Extract Has Antiproliferative Effect on Human Cervix and Colon Cancer Cells[J]. *Nutr Cancer*, 2020(3), 72: 504-512
- [19] Du P, Lai YH, Yao DS, et al. Downregulation of microRNA-1246 inhibits tumor growth and promotes apoptosis of cervical cancer cells by targeting thrombospondin-2 [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18 (3): 2491-2499
- [20] Li X, Huang Y, Guo S, et al. Exogenous regucalcin negatively regulates the progression of cervical adenocarcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(1): 609-616
- [21] 王维伊,钟山亮,闫林萍,等. 巨噬细胞集落刺激因子对巨噬细胞极化及卵巢癌细胞侵袭、转移的影响 [J]. *临床检验杂志*, 2019(7): 512-517
- [22] Shimamoto H, Hirota Y, Kashima Y, et al. Granulocyte colony-stimulating factor-producing squamous cell carcinoma of the tongue exhibiting characteristic fluorine-18 deoxyglucose accumulation on positron emission tomography-computed tomography: A case report [J]. *World J Clin Cases*, 2020, 8(9): 1666-1673
- [23] Guccini I, Revandkar A, D'Ambrosio M, et al. Senescence Reprogramming by TIMP1 Deficiency Promotes Prostate Cancer Metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(1): 68-82.e9
- [24] Sun XY, Han XM, Zhao XL, et al. MiR-93-5p promotes cervical cancer progression by targeting THBS2/MMPS signal pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12): 5113-5121
- [25] Che Y, Yang Y, Suo J, et al. Induction of systemic immune responses and reversion of immunosuppression in the tumor microenvironment by a therapeutic vaccine for cervical cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(12): 2651-2664
- [26] Wang A, Zhang Y, Cao P. Inhibition of BAP31 expression inhibits cervical cancer progression by suppressing metastasis and inducing intrinsic and extrinsic apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(2): 499-506
- [27] 孙定军,邢波,陈漠水,等. 髓过氧化物酶对 THP-1 巨噬细胞活性及 MMP-9、TIMP-1 表达的影响 [J]. *新疆医科大学学报*, 2020, 43(4): 425-429
- [28] Tong R, Zhang J, Wang C, et al. Inhibition of miR-574-5p suppresses cell growth and metastasis and enhances chemosensitivity by targeting RNA binding protein QKI in cervical cancer cells [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2020, 393(6): 951-966
- [29] Tarasenko AI, Rossolovskiy AN, Berezinets OL, et al. Predictive value of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 in surgical treatment of localized renal cell cancer [J]. *Research and Practical Medicine Journal*, 2021, 8(2): 62-74
- [30] Zhao X, Song X, Zhao J, et al. Juglone Inhibits Proliferation of HPV-Positive Cervical Cancer Cells Specifically[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(3): 475-480
- [31] Ling W, Yangchun X, Wei W, et al. Knockdown of long non-coding RNA GHET1 suppresses cervical carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(1): 21-32