

miRNA 在卵巢早衰颗粒细胞中的研究进展

梁竞文 历 凯 孙丽英 张宇驰 葛鹏玲

摘 要 miRNA 是一类长度约为 20~24 个核苷酸的小 RNA,在细胞内具有多种重要的调节作用。研究表明,miRNA 在细胞分化、生物发育及疾病的发展过程中发挥着重要作用,在癌症、肿瘤等疾病中也均有表达。卵巢作为雌性动物的重要器官,miRNA 对卵巢基本功能的影响也是多方面的,如类固醇生成、排卵及黄体发育等,其与靶基因之间的关系提示着疾病可能的治疗手段。另外,由于颗粒细胞(granulosa cells,GCs)参与卵泡的形成和发育过程,故研究其在卵巢疾病中的作用尤为重要。并且颗粒细胞加速凋亡提示了卵巢早衰可能的发病机制之一,因此近年来众多学者聚焦于探讨 miRNA 是如何在颗粒细胞中发挥作用导致疾病发生的。本文就 miRNA 在卵巢早衰颗粒细胞中的研究展开论述,以期后续卵巢早衰疾病的发病机制或治疗方案提供参考。

关键词 卵巢早衰 miRNA 颗粒细胞

中图分类号 R711.75

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.03.006

卵巢早衰(premature ovarian failure,POF)是 40 岁以前出现的闭经现象,表现为促性腺激素水平下降、月经不调、闭经、不育和围绝经期综合征,这种情况可能会对生殖、心理健康和生理健康产生不利影响,其与遗传因素、病毒感染、自身免疫性疾病、代谢性疾病、医源性损伤等有关^[1,2]。患者出现围绝经期潮热盗汗、性欲减退、阴道干涩、失眠、月经减少、稀发,甚则不孕的一系列症状,同时伴随体内雌激素(estrogen, E₂)降低,卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)升高,黄体生成素(luteotropic hormone, LH)升高或不变^[3]。现代医学认为 POF 的相关病因复杂,其发病机制尚不明确,因此探寻该病发病机制是目前研究的重点。在治疗方面,激素代替疗法(hormone replacement treatment, HRT)是使用较为广泛的方法,另外还有诱导排卵、卵巢移植或一些联合治疗等,研究表明 HRT 能预防骨质流失并促进心血管健康,但也有资料表明激素治疗中可能存在着一些不良反应,而且可能有增加卵巢癌或其他疾病的风险,这一点仍待考证^[4,5]。

在卵巢中卵泡的发育过程是复杂的,它是由原始卵泡经过初级卵泡、次级卵泡及窦卵泡从而进一步发育成熟直至排卵或闭锁的^[6]。由于颗粒细胞(granulosa cells, GCs)的凋亡导致了卵泡闭锁,因此 GCs 功能障碍也许是 POF 可能的病理特征之一^[7]。GCs 的作用也引发了研究卵巢相关疾病的重要性,加之 miRNA 在组织发育和分化过程中起关键作用,近年来在探讨 POF 发病机制方面开始有学者聚焦于 GCs 中 miRNA 的研究,寻找可以调节 POF 中 GCs 功能障碍的 miRNA 也会为改善 POF 患者提供新的范例。故本文将对 miRNA 在 POF 颗粒细胞中的相关研究进展展开综述。

一、miRNA 在卵巢中的作用

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类小型非编码 RNA,改变其表达水平关联多种病理状况。它们通过与靶基因 3'UTR 中的互补序列结合而引起 mRNA 变性或基因沉默,从而导致基因表达的转录抑制。miRNA 还可能控制了生殖内分泌功能,并在卵母细胞成熟和卵泡形成过程中发挥着重要的作用。在类固醇合成中,miRNA 还与性腺体细胞、颗粒细胞的功能调节有关。据估计,miRNA 可调节 70% 以上蛋白质编码基因的翻译,并参与增殖、分化、凋亡、发育等。在 POF 潜在的机制中,对蛋白质编码遗传因子的研究最为深入,然而,蛋白质编码基因的编码外显子在基因组中的占比非常少,所以基因组的非编码部分在之前的研究中已被认为是表观遗传调控因子,对人体的发育、生理和疾病有至关重要的作用。研究最

基金项目:黑龙江省杰出青年科学基金资助项目(JC2018025);黑龙江中医药大学研究生创新基金资助项目(2018yjcx002);黑龙江中医药大学校级基金科技创新研究平台建设项目(2018pt05);中央支持地方高校青年团队支持项目

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学(梁竞文、孙丽英、张宇驰、葛鹏玲);150016 哈尔滨市食品药品监督管理局(历凯)

通讯作者:葛鹏玲,教授,博士生导师,电子信箱:penglingge@126.com

多的非编码区类别的典型示例即是 miRNA, 并且 miRNA 在卵巢中的研究与探索逐渐增多, 高通量与生物信息学等方法已找寻了大量相关的 miRNAs, 这也揭示了对卵巢基本功能存在的影响。研究揭示了几种 miRNAs 在不同物种卵巢中的表达, 表明它们可能在卵巢功能中发挥重要作用。miR-23a、miR-27a、miR-22-3p、miR-146a、miR-196a、miR-290-295、miR-423 和 miR-608 等都可能与 POF 有关。对哺乳动物卵巢中这些 miRNA 的靶基因进行生物信息学预测、筛选和基因本体论分析也可以确定生物学过程和途径或分子网络, 包括细胞周期、细胞间信号转导、细胞生长增殖等。

miRNA 在卵巢中作用的研究主要是通过 Dicer 进行的, Dicer 是核糖核酸酶 III (RNase III) 家族成员, 其能在 RNA 干扰 (RNAi) 途径中发挥作用, 将长的双链 RNA 切割成小 RNA, 这其中就包括 miRNA。当非编码序列由 RNA 聚合酶 II 和 RNase III 家族成员 Drosha 和 Dicer 处理时, 会生成成熟的 miRNA。Dicer 对于卵母细胞的生长、发育以及对激素信号的响应是必不可少的^[8]。Otsuka 等^[9]研究证明了由于亚型突变导致的 Dicer 表达减少以及由于卵巢血管生成缺陷和黄体功能不全而导致的不孕等现象。但 Dicer 作为 miRNA 生物发生所必需的进化保守的关键因素, 在女性生殖系统对 GCs 等的具体功能尚不清楚。因此, 研究 Dicer 在 GCs 中的功能也许可以深入了解 miRNA 在 GCs 中的作用。

二、颗粒细胞 (GCs) 与卵巢早衰 (POF)

由于 POF 的机制尚未查清, 因此诸多学者致力于研究其机制及可能的延缓方法, 其中值得注意的是原始卵泡的耗竭与成熟卵泡的质量, 二者提示了 POF 可能的机制。在卵泡的发育过程中由于卵母细胞的增大, 使得周围的颗粒细胞由原始卵泡中卵母细胞周围的一层立方状的颗粒细胞分裂成为多层立体状细胞层。由于从原始卵泡到成熟卵泡的转变涉及了 GCs 的分化和功能转化, 因此, GCs 与卵母细胞之间的相互作用对于协调卵母细胞的成熟至关重要。卵母细胞通过一些激活因子的分泌协调 GCs 的增殖和分化, GCs 也为卵母细胞提供营养因子。另外, 卵泡的闭锁主要是由 GCs 凋亡引起的, GCs 还可以通过分泌 AMH、FOXL2 等调控原始卵泡的激活。因此, 抑制颗粒细胞凋亡对于改善 POF 起着重要作用, 在细胞凋亡中, Bcl-2 家族与 caspase 家族的重要性是显著的, 另外 FAS 通路、TNF 通路等都可以介导凋亡, 通

过检测相关蛋白的作用对于疾病的研究也有重要的导向作用。

GCs 中 miRNA 的表达可能对卵泡生成和卵巢类固醇生成中涉及的特定基因的表达具有直接的调节作用。研究表明, miRNA 参与控制了卵巢类固醇 P 和 E₂ 的释放^[10]。miRNA 的表达差异可能解释了异常的卵泡发育, 这也有助于鉴定与该表型有关的途径。

三、miRNAs 在卵巢早衰 (POF) 中对颗粒细胞 (GCs) 调控作用的研究

1. miRNAs 通过参与 GCs 激素途径调控 POF: 在卵巢中, 激素水平的变化可以帮助判定病变情况, 包括雌二醇 (E₂)、黄体激素 (LH)、卵泡刺激素 (FSH) 等。有研究表明, 卵巢中促卵泡激素受体 (FSHR) 仅在 GCs 中表达, 这对于它们的增殖、生长、功能和分化至关重要。经过 FSH 处理可以诱导 GCs 中 100 多个基因的表达^[11,12]。FSH 诱导的 TGF- β 途径调控已在不同哺乳动物物种的 GCs 中得到证实, 例如人和大鼠等。另一方面, TGF- β 信号转导与叉头盒 L2 蛋白 (FOXL2) 共同调节 FSHR, 因而影响了卵泡中 GCs 正常增殖和分化等功能。在卵泡形成过程中, FOXL2 与 TGF- β 超家族成员通过自分泌调节机制发挥了涉及细胞内 FSHR 转录和 GCs 增殖的双向调节作用, 激活素 A 和生长分化因子 9 (growth differentiation factor 9, GDF9) 等^[13]。另外, 在卵泡发育过程中, FSH 还增强了 GCs 细胞中孕酮的产生。Yao 等^[14]证明了在 FSH 诱导的大鼠卵巢 GCs 孕激素分泌过程中, miR-29a 和 miR-30d 显著下调, 这表明它们可能对孕酮的合成有影响。FSH 介导的作用除其他信号级联反应外, 还通过 3', 5'-单磷酸 (cAMP)/蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)/cAMP 反应元件结合蛋白途径完成。由此可见, miRNA 可通过与 GCs 中的 FSH 途径相互作用来调节 GCs 增殖、激素分泌以及分化等。GCs 中 miRNA 的表达也可能对卵泡生成和卵巢类固醇生成中涉及的特定基因的表达具有直接的调节作用。

FOXL2 序列和哺乳动物表达的高度保守性提示了在卵巢发育和功能中可能的关键作用, FOXL2 还参与了炎症、细胞凋亡、活性氧代谢等。叉头 L2 蛋白 (FOXL2) 在卵巢颗粒细胞中表达并通过转录调控靶基因来参与类固醇的发生, 研究发现 miRNA-133b 可以通过靶向 STAR 和 CYP19A1 下调 FOXL2 在颗粒细胞中的表达并且促进了颗粒细胞中雌激素的合

成,这为改善 POF 患者 E_2 激素的下降提供了可能性。

除去促性腺激素、类固醇和其他多种生长因子之间的复杂相互作用外,卵泡的发育还应该受到来自不同细胞的不同信号的调控,GCs 中分泌的激素也受到另外一些 miRNA 的影响,研究表明,miR - 144 通过抑制环氧合酶 2 的表达来抑制前列腺素 E_2 ,前列腺素 E_2 是重要的卵泡内旁分泌调节剂,在排卵过程中具有特殊作用、miR - 375 介导促肾上腺皮质激素释放激素信号通路并抑制卵泡雌二醇合成、miR - 96 靶向 Forkhead box 蛋白 O1 (FOXO1) 以诱导人 GCs 中类固醇的产生^[15-17]。miR - 378 通过靶向猪 GCs 中的芳香化酶来调节卵巢雌二醇的产生。miR - 320 通过在卵泡发育过程中靶向 E2F1 和 SF - 1 来调节类固醇的产生等。这些都在激素途径上起到相关的作用,后续研究也可以引起对这些 miRNA 的重视。

2. miRNAs 通过颗粒细胞凋亡调控 POF: 在构建 POF 模型时,常用化学药物或放射性处理来建立,如 4 - 乙烯基环己烯双环氧化物 (4 - vinylcyclohexene diepoxide, VCD)、环磷酸胺等,其中 VCD 可以特异性地加速小鼠和大鼠中原始卵泡和初级卵泡的闭锁,直至耗尽原始卵泡。另外,顺铂作为一种广泛使用的抗癌药物,其因过度激活原始卵泡的缘故也常被用来诱导 POF 模型^[18]。实验发现从骨髓间充质干细胞 (bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSC) 中收集外泌体可能用于治疗顺铂诱导的 POF 小鼠模型。骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 是具有不同分化潜能的细胞亚群,是干细胞治疗领域的研究热点。干细胞具有自我更新和再生的潜力,干细胞疗法也被认为是潜在修复和恢复受损组织正常功能的潜在替代疗法,这也为 POF 的临床治疗提供了一种新方法。间充质干细胞 (MSCs) 由于其分离、培养和扩增的简便性,被认为是干细胞治疗中最有希望的接种细胞。研究显示,骨髓间充质干细胞可以修复脊髓、心肌和皮肤损伤^[19]。研究表明,骨髓间充质干细胞可以有效恢复大鼠卵巢受损组织的结构和功能,并抑制 GCs 的凋亡^[20]。研究发现,骨髓间充质干细胞可以减慢顺铂诱导的大鼠 GCs 凋亡。虽然 BMSC 的工作机制尚不明确,但有证据表明其衍生的外泌体中的 miRNA 可以影响颗粒细胞的生长,经检测,miR - 664 - 5p 被认为是 BMSC 衍生的外泌体中的主要 RNA,miR - 644 - 5p 在 BMSC 衍生的外泌体中过度表达,并通过靶向 p53 影响卵巢颗粒细胞的功能,另外,

p53、p65 和 TGF - β 之间的转录合作还调节了鼠 GCs 中 miRNA - 224 的转录,miR - 224 的异位表达通过靶向 SMAD4 刺激 TGF - β 1 诱导了小鼠 GCs 增殖,目前虽尚未阐明 p53 在颗粒细胞凋亡中的作用,但这些都都在通路、凋亡相关蛋白和一些相关基因方面为 POF 的治疗提供了新的策略和方向。

近年来随着化学治疗剂的研发和应用,肿瘤患者的存活率不断提高。但相应地,由化学疗法诱发的 POF 的发生率也在增加^[21]。目前,POF 的治疗仍未得到有效的突破,也尚无彻底的疗法可以逆转化疗引起的卵巢结构和功能损害,miR - 21 作为哺乳动物中最早发现的 miRNA 之一,与许多细胞的凋亡调控有关,Fiedler 等^[22]在人绒毛膜促性腺激素处理之前和之后 4h 在小鼠颗粒细胞中鉴定出 13 种差异表达的 miRNA。进一步的研究表明 miR - 21 可以抑制小鼠排卵性颗粒细胞的凋亡。有研究还通过构建 miR - 21 慢病毒载体转染 MSC 并与 GCs 共同培养,表明 miR - 21 在 MSC 中的过表达增强了对化疗诱导的 POF 的疗效,其修复作用的改善可能与靶向 PTEN 和 PDCD4 抑制 GCs 凋亡有关。这为改善临床上化疗过程中可能引起的卵巢功能问题提供了靶向性依据并指明了方向。

半胱天冬酶级联是凋亡的重要途径,caspase - 8 和 caspase - 9 的激活会启动细胞凋亡,这会导致凋亡的执行人 caspase - 3 裂解并降解底物多聚 ADP - 核糖聚合酶 [poly (adp - ribose) polymerase, PARP]。研究表明,miR - 146a 直接靶向 IRAK1 和 TRAF6,通过半胱天冬酶级联反应促进了卵巢颗粒细胞的凋亡^[23]。此外,胱天蛋白酶抑制剂对胱天蛋白酶级联的抑制作用可以减弱 miR - 146a 对卵巢颗粒细胞凋亡的影响。以上的 miRNA 对颗粒细胞的凋亡均具有积极的促进作用。这些结果可能对 POF 的预防或治疗有很大用处,当然关于其深入的机制还有待于进一步研究。

四、展 望

miRNA 作为一类小型非编码 RNA,广泛的参与正常状态和患病状态^[24]。单个 miRNA 可以抑制数百甚至数千个基因,并且单个基因也可以被多个 miRNA 调节^[25]。现在的研究热点也开始聚焦于 miRNA 过表达或沉默及其与相关靶基因或信号通路之间的关系,以期寻找疾病可能的治疗手段。

关于 POF,未来对 miRNA 在生理性和功能性排卵中作用的研究也会为不育和其他卵巢疾病提供新

的诊断和治疗策略,由于颗粒细胞在 POF 机制中的重要性,系统地鉴定 GCs 特异的 miRNA 将有助于研究人员更好地了解与卵巢疾病有关的潜在机制。本文主要描述了 miRNA 在颗粒细胞中的作用,以及 miRNA 在 GCs 中表达的研究,并通过靶向特定分子调节各种信号转导途径(例如 TGF- β 、FSH、激素以及细胞凋亡相关途径等)直接调节卵巢卵泡的正常发育和功能^[26]。许多有关 GCs 在正常卵巢发育中的功能以及生殖系统疾病,例如多囊卵巢综合征(poly-cystic ovary syndrome,PCOS)和卵巢早衰的知识在很大程度上是通过临床研究和临床前动物模型获得的。因此通过这些模型和实验找寻大量相关的 miRNA 进行研究就尤为重要,对 miRNA 靶向性和作用机制的深入了解也将为正常 GCs 发育的机制以及这些具有不同 GCs 表型的疾病的病因和病理生理学研究提供有价值的见解。但尽管如此,调控 POF 期间 miRNA 的表达和单个 miRNA 在颗粒细胞凋亡中的功能的信号通路仍有待阐明。

实际上,miRNA 对 GCs 凋亡的作用应分为两类:正调控的凋亡 miRNA 和负调控的凋亡 miRNA。一方面,本文已主要说明了几种 miRNA 抑制 GCs 凋亡的机制,无论是通过靶向关键蛋白还是激素途径或影响凋亡信号通路等,都可以起到相应的作用。另一方面,也有 miRNA 作为 GCs 凋亡的启动子,例如,miR-4110 通过靶向 SMAD2 诱导 GCs 凋亡,miR-23a 和 miR-27a 通过在 Fas 配体(FasL)-Fas 信号转导途径中靶向 SMAD5 促进 GCs 的凋亡等^[27,28]。以上的 miRNAs 是否影响了对于卵巢早衰中 GCs 的调控作用,又是怎样进行的,这些还需要开展深入研究。

目前,对于各种 miRNA 的筛选及其作用机制的探讨还要更加深入和全面,作用的靶点也对治疗有很重要的意义。文中一些 miRNA 也许能作为 POF 的诊断、治疗或预后标志物,甚至在 POF 的治疗中具有了可能的治疗靶向性,但治疗性干预仍需要深入地了解 miRNA 在调节对卵巢激素的生殖反应中的作用。

参考文献

- Benetti - Pinto CL, de Almeida DM, Makuch MY. Quality of life in women with premature ovarian failure [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2011, 27(9): 645 - 649
- 祝雨田, 张副兴, 丁彩飞. 微小 RNA 在卵巢早衰中的研究概况及应用前景[J]. *中国性科学*, 2016, 25(2): 20 - 22
- 王亚如, 苏健, 狄晓倩, 等. 卵巢早衰的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(19): 3895 - 3899
- Cartwright B, Robinson J, Seed PT, *et al.* Hormone replacement therapy versus the combined oral contraceptive pill in premature ovarian failure: a randomized controlled trial of the effects on bone mineral dens[J]. *J Clin Endocrinol Metabolism*, 2016, 101(9): 3497 - 3505
- Lee AW, Ness RB, Roman LD, *et al.* Association between menopausal estrogen - only therapy and ovarian carcinoma risk[J]. *Obstet Gynecol*, 2016, 127(5): 828 - 836
- Tu J, Cheung AH, Chan CL, *et al.* The role of microRNAs in ovarian granulosa cells in health and disease[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2019, 10: 174
- Liu T, Li Q, Wang S, *et al.* Transplantation of ovarian granulosa-like cells derived from human induced pluripotent stem cells for the treatment of murine premature ovarian failure[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(6): 5053 - 5058
- Song MS, Rossi JJ. Molecular mechanisms of dicer: endonuclease and enzymatic activity[J]. *Biochem J*, 2017, 474(10): 1603 - 1618
- Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, *et al.* Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(5): 1944 - 1954
- 丛晶, 王顺, 张多加, 等. 微小 RNA 在女性生殖中的研究进展[J]. *中国妇幼健康研究*, 2018, 29(8): 1063 - 1066
- Kim D, Johnson AL. Differentiation of the granulosa layer from preantral follicles associated with follicle - stimulating hormone receptor signaling[J]. *Mol Reprod Dev*, 2018, 85(8 - 9): 729 - 737
- Johnson AL, Lee J. Granulosa cell responsiveness to follicle stimulating hormone during early growth of hen ovarian follicles[J]. *Poult Sci*, 2016, 95(1): 108 - 114
- Qin N, Fan XC, Xu XX, *et al.* Cooperative effects of FOXL2 with the members of TGF - β superfamily on FSH receptor mRNA expression and granulosa cell proliferation from hen preantral follicles[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e141062
- Yao N, Yang BQ, Liu Y, *et al.* Follicle - stimulating hormone regulation of microRNA expression on progesterone production in cultured rat granulosa cells[J]. *Endocrine*, 2010, 38(2): 158 - 166
- Zhou J, Lei B, Li H, *et al.* MicroRNA - 144 is regulated by CP2 and decreases COX - 2 expression and PGE2 production in mouse ovarian granulosa cells[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(2): e2597
- Yu CL, Li ML, Wang Y, *et al.* miR - 375 mediates CRH signaling pathway in inhibiting E2 synthesis in porcine ovary[J]. *Reproduction*, 2017, 153(1): 63 - 73
- Mohammed BT, Sontakke SD, Ioannidis J, *et al.* The adequate corpus luteum: miR - 96 promotes luteal cell survival and progesterone production[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(7): 2188 - 2198
- Jang H, Lee OH, Lee Y, *et al.* Melatonin prevents cisplatin - induced primordial follicle loss via suppression of PTEN/AKT/FOXO3a pathway activation in the mouse ovary[J]. *J Pineal Res*, 2016, 60(3): 336 - 347
- Eltorai AE, Susai CJ, Daniels AH. Mesenchymal stromal cells in spinal fusion: current and future applications[J]. *J Orthop*, 2017, 14

(1): 1-3

- 20 Sun B, Ma Y, Wang F, *et al.* miR-644-5p carried by bone mesenchymal stem cell-derived exosomes targets regulation of p53 to inhibit ovarian granulosa cell apoptosis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 360
- 21 Faubion SS, Kuhle CL, Shuster LT, *et al.* Long-term health consequences of premature or early menopause and considerations for management[J]. *Climacteric*, 2015, 18(4): 483-491
- 22 Fiedler SD, Carletti MZ, Hong X, *et al.* Hormonal regulation of MicroRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells[J]. *Biol Reprod*, 2008, 79(6): 1030-1037
- 23 Chen X, Xie M, Liu D, *et al.* Downregulation of microRNA146a inhibits ovarian granulosa cell apoptosis by simultaneously targeting interleukin1 receptor-associated kinase and tumor necrosis factor receptor-associated factor 6[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4): 5155-5162
- 24 Paul P, Chakraborty A, Sarkar D, *et al.* Interplay between miRNAs

and human diseases[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2007-2018

- 25 刘征. 全转录组测序分析机械张力对人皮肤 RNA 表达谱的影响[D]. 北京: 北京协和医学院, 2019
- 26 Tesfaye D, Gebremedhn S, Salilew-Wondim D, *et al.* MicroRNAs: tiny molecules with a significant role in mammalian follicular and oocyte development[J]. *Reproduction*, 2018, 155(3): R121-R135
- 27 An X, Song Y, Hou J, *et al.* Chi-miR-4110 promotes granulosa cell apoptosis by targeting Sma- and Mad-related protein 2 (Smad2) in the caprine ovary[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e181162
- 28 Nie M, Yu S, Peng S, *et al.* miR-23a and miR-27a promote human granulosa cell apoptosis by targeting SMAD5[J]. *Biol Reprod*, 2015, 93(4): 98

(收稿日期: 2020-09-28)

(修回日期: 2020-10-09)

(上接第 21 页)

- 15 Mohamed HT, El-Husseiny N, El-Ghonaimy EA, *et al.* IL-10 correlates with the expression of carboxypeptidase B2 and lymphovascular invasion in inflammatory breast cancer: the potential role of tumor-infiltrated macrophages[J]. *Curr Probl Cancer*, 2018, 42(2): 215-230
- 16 王军, 袁纯辉, 孙红等. 高危型人乳头瘤病毒 16 E6 蛋白通过外泌体传递热休克蛋白 70 调控巨噬细胞介导宫颈癌细胞增殖、侵袭和迁移[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40(7): 538-546
- 17 Mulder R, Banete A, Basta S. Spleen-derived macrophages are readily polarized into classically activated (M1) or alternatively activated (M2) states[J]. *Immunobiology*, 2014, 219(10): 737-745
- 18 Mantovani A, Sozzani S, Locati M, *et al.* Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes[J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11): 549-555
- 19 Yang W, Lu YP, Yang YZ, *et al.* Expressions of programmed death (PD)-1 and PD-1 ligand (PD-L1) in cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinomas are of prognostic value and associated with human papillomavirus status[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2017, 43(10): 1602-1612
- 20 Sierra-Filardi E, Nieto C, Domínguez-Soto A, *et al.* CCL2 shapes macrophage polarization by GM-CSF and M-CSF: identification of CCL2/CCR2-dependent gene expression profile[J]. *J Immunol*, 2014, 192(8): 3858-3867
- 21 Rametse CL, Adefuye AO, Olivier AJ, *et al.* Inflammatory cytokine profiles of semen influence cytokine responses of cervicovaginal epithelial cells[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2721
- 22 Chen XJ, Wu S, Yan RM, *et al.* The role of the hypoxia-Nrp-1 axis in the activation of M2-like tumor-associated macrophages in the

tumor microenvironment of cervical cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(3): 388-397

- 23 江懿佳, 王青青, 刘杨. PD-1 在巨噬细胞中的表达以及对其功能的调控[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(17): 2165-2168
- 24 De Nola R, Menga A, Castegna A, *et al.* The crowded crosstalk between cancer cells and stromal microenvironment in gynecological malignancies: biological pathways and therapeutic implication[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2401
- 25 Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, *et al.* PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 495-499
- 26 Abu-Rustum NR, Yashar CM, Bean S, *et al.* NCCN guidelines insights: cervical cancer, version 1.2020[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2020, 18(6): 660-666
- 27 Krishnan V, Schaar B, Tallapragada S, *et al.* Tumor associated macrophages in gynecologic cancers[J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 149(1): 205-213
- 28 Li Y, Huang G, Zhang S. Associations between intratumoral and peritumoral M2 macrophage counts and cervical squamous cell carcinoma invasion patterns[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2017, 139(3): 346-351
- 29 Kawachi A, Yoshida H, Kitano S, *et al.* Tumor-associated CD204⁺ M2 macrophages are unfavorable prognostic indicators in uterine cervical adenocarcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 863-870
- 30 Saito T, Berens ME, Welander CE. Direct and indirect effects of human recombinant gamma-interferon on tumor cells in a clonogenic assay[J]. *Cancer Res*, 1986, 46(3): 1142-1147

(收稿日期: 2020-09-29)

(修回日期: 2020-10-03)