

血小板活化素在子宮頸癌化過程中扮演抑制腫瘤血管新生及  
基質反應角色之探討

研究生：吳銘斌

指導教授：周振陽教授、吳梨華副教授

2008 年 05 月 05 日

## 中文摘要

血管新生表現型的出現(血管新生作用開關)，是子宮頸癌化過程是必須的步驟。而血管新生作用開關是由血管新生活化因子與抑制因子兩者相互抗衡的所調控。第一型血小板活化素(thrombospondin, TSP-1)是一種內生性血管新生抑制因子，具有多處大分子特殊結構(domains)及多個受體(receptor)。首先，我們探討在子宮頸鱗狀細胞癌化過程中，第一型血小板活化素的表現與人體子宮頸鱗狀細胞癌及其癌前病變之子宮頸檢體中，在時間與空間上的關聯性；以及其與腫瘤血管新生表現型的關聯性。我們的結果顯示：第一型血小板活化素主要表現於正常子宮頸基底上皮細胞層，如柵欄(我們命名為“第一型血小板活化素柵欄”)一般阻止血管新生的出現。當子宮頸上皮細胞由低階鱗狀上皮內病變(LSIL)進入至高階鱗狀上皮內病變(HSIL)時，此柵欄發生崩解，與血管新生表現型的出現是同時發生的。由這樣的結果我們推測，第一型血小板活化素扮演抑制血管新生作用的調控角色。血管新生作用開始於子宮頸癌化過程中的早期，與增殖異常的上皮組織中發生第一型血小板活化素的下調節有相關。

基質作用(stroma reaction)是指腫瘤癌化過程中，基質由本來抑制轉為幫助上皮細胞成長，形成適合腫瘤成長環境的反應。因為，第一型血小板活化素除了已知抑制血管新生的角色外，同時也扮演著影響其他基質細胞(如纖維母細胞等)的生理作用的角色。所以，我們假設第一型血小板活化素可以經由抑制基質反應，進而達到抑制腫瘤成長。可能的作用機轉是經由抑制纖維母細胞的活性(移動性、侵襲性等生物特性)、以及抑制基質標記表現量。在本研究中我們探討：一：在臨床子宮頸癌及其癌前病變檢體中，檢視第一型血小板活化素的表現量與基質標記表現量之相關性；二：藉由免疫不全鼠(SCID mice)的異體腫瘤移植實驗，探討第一型血小板活化素經由抑制血管新生，以及基質反應而達到抗腫瘤成長的能力；三：探討第一型血小板活化素經由抑制肌纖維母細胞(活化型纖維母細胞)的移動力、侵襲力，達到抑制基質反應的能力。實驗結果顯示：一、在臨床病人檢體的免疫組織化學染色中發現，第一型血小板活化素表現量消失，會同時合併兩種基質標記  $\alpha$ -SMA 與 desmin 過度表現。顯示在子宮頸癌化過程中，第一型血小板活化素與基質反應有關連性。

二、經由轉染第一型血小板活化素進入子宮頸癌細胞株(SiHa)，建立第一型血小板活化素過度表現的子宮頸癌細胞株(SiHa-TSP-1)，在體外模式中，具有抑制血管新生作用的生理功能。同時在免疫不全鼠的異體腫瘤移植實驗中，第一型血小板活化素過度表現可以經由降低腫瘤血管生長以及減少基質標記  $\alpha$ -SMA 與 desmin 的表現，達到抑制腫瘤生長的作用。

三、經由轉染建立第一型血小板活化素過度表現的纖維母細胞株(NIH3T3-TSP-1)或是外加純化的第一型血小板活化素至纖維母細胞株(NIH3T3)中，發現第一型血小板活化素並不會直接影響纖維母細胞株(NIH3T3)之  $\alpha$ -SMA 與 desmin 蛋白質的表現量。在乙型變型性成長因子(transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )處理的情況下(乙型變型性成長因子，會增加纖維母細胞的活化作用及其細胞分化及  $\alpha$ -SMA 與 desmin 過度表現)，第一型血小板活化素也沒有抑制作用。相對地，第一型血小板活化素會明顯抑制乙型變型性成長因子處理纖維母細胞株(NIH3T3)後所增加纖維細胞移動力，並抑制金屬蛋白酶-2 (MMP-2)的活性及侵襲癌細胞群的能力。至於作用的細胞種類，不論是經由轉染至子宮頸癌細胞株中(SiHa-TSP-1)或是直接外加純化的第一型血小板活化素至子宮頸癌細胞株中時，對 NIH3T3 細胞株的侵襲癌細胞群的能力沒有影響。相對地，經由轉染至纖維母細胞株(NIH3T3-TSP-1)或是外加純化的第一型血小板活化素至纖維母細胞株(NIH3T3)中，對 NIH3T3 細胞株的侵襲癌細胞群的能力皆有影響。

綜合這些結果，我們發現第一型血小板活化素具有抑制基質反應功能的新角色。第一型血小板活化素會抑制免疫不全鼠異體移植腫瘤形成模式中基質標記的表現，與臨床病人子宮頸病變檢體基質標記的表現相符合。第一型血小板活化素經由抑制肌纖維母細胞(非子宮頸癌細胞)移動力及侵襲能力，達到抑制基質反應並可能回復腫瘤基質反應到正常狀態。在未來，藉由控制腫瘤基質微環境，可能可以提高治療癌症的有效能力。

**關鍵字：**血管新生作用、第一型血小板活化素  $\alpha$ -平滑肌肌動蛋白、肌間線蛋白、子宮頸腫瘤、(肌)纖維母細胞、基底膜、基質作用