siRNA干扰CTHRC1可体外抑制甲状腺乳头状癌TPC-1细胞的增殖并诱导凋亡

唐振宁，丁小云，秦少杰，张朝林
宁夏医科大学总医院肿瘤外三科，宁夏 银川 750004

摘要：目的 探讨胶原三股螺旋重复蛋白1（CTHRC1）甲状腺乳头状癌TPC-1细胞增殖、凋亡的影响。**方法** 成功筛选干扰甲状腺乳头状癌TPC-1细胞CTHRC1表达的siRNA，以脂质体转染法将siRNA转染甲状腺乳头状癌TPC-1细胞，采用real-time PCR和Western blot检测转染后TCP-1细胞中CTHRC1mRNA和蛋白表达的变化。实验分组：将筛选的干扰序列转染TPC-1细胞作为干扰组（si-CTHRC1组），将随机阴性对照序列转染的TPC-1细胞作为阴性对照组（si-NC组），以不做任何处理TPC-1细胞为空白组（WT组）。采用CCK-8实验检测细胞增殖；流式细胞术AV/PI双染观察各组TCP-1细胞凋亡的变化；采用Western blot法检测各组TPC-1细胞中含剪切型半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3（c-Caspase-3）蛋白、剪切型多聚ADP核糖聚合酶1（c-PARP1）蛋白表达水平以及磷酸化细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)表达水平。**结果** 将筛选出明显抑制TPC-1细胞CTHCR1表达的siRNA转染细胞后，TPC-1细胞中CTHRC1 的mRNA和蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。与WT组和si-NC组相比，si-CTHRC1组的细胞活降低（$P<0.05$）；与对照组相比，si-CTHRC1组的TPC-1细胞细胞凋亡率升高，Western blot实验发现：si-CTHRC1组的c-caspase-3、c-PARP1蛋白表达水平均升高（$P<0.05$）；si-CTHRC1组ERK1/2蛋白的磷酸化水平增加。**结论** 干扰CTHRC1能够抑制TPC-1细胞的增殖并诱导凋亡，此过程可能通过激活ERK1/2信号通路介导。

关键词：甲状腺癌；CTHRC1；增殖；凋亡；siRNA干扰

Effects of RNA interference of CTHRC1 on proliferation and apoptosis of thyroid papillary cancer TCP-1 cells *in vitro*

TANG Zhenning, DING Xiaoyun, QIN Shaojie, ZHANG Chaolin
Department of Oncology Surgery, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To explore the role of CTHRC1 in regulating the proliferation and apoptosis of papillary thyroid cancer cells. **Methods** Papillary thyroid cancer TPC-1 cells were transfected with a small interfering RNA (siRNA) targeting CTHRC1, with the cells transfected with a scrambled sequence as the negative control. The changes in cell proliferation and apoptosis were assessed using cell counting kit-8 (CCK-8) and flow cytometry with AV/PI double staining, respectively. The expression of c-caspase-3, c-PARP1 and phosphorylation of ERK1/2 in the cells were examined with Western blotting. **Results** Transfection with the siRNA sequence significantly decreased the mRNA and protein levels of CTHRC1 in TCP-1 cells ($P<0.05$). Compared with blank and negative control cells, TCP-1 cells with RNA interference of CTHRC1 showed significantly lowered proliferative activity and enhanced cell apoptosis ($P<0.05$) with significantly increased expressions of c-caspase-3 and c-PARP1 and phosphorylation of ERK1/2 ($P<0.05$). **Conclusion** RNA interference of CTHRC1 promotes the proliferation and inhibits apoptosis of papillary thyroid cancer cells possibly by activating the ERK1/2 pathway.

Keywords: thyroid carcinoma; CTHRC1; proliferation; apoptosis; siRNA interference

近年来甲状腺癌的发病在世界范围内增加明显，甲状腺乳头状癌（PTC）发病率的增长最为明显[1-2]。虽然PTC作为一种惰性肿瘤的预后通常较好，但颈部淋巴结转移及肺、骨远处器官转移仍然是PTC预后不佳的标志，约有15%的患者存在局部侵犯和治疗耐受[3]。了解并探索PTC发展及转移机制，对PTC尤其是高危PTC患者实施更为精准的治疗是当前亟待解决的问题。胶原三股螺旋重复蛋白1(CTHRC1)最初主要表达于损伤血管的外膜成纤维细胞和平滑肌细胞，通过限制胶原基质沉积和促进细胞迁移来促进血管重构[4-5]。近期研究发现CTHRC1在一些肿瘤的形成和发展过程中表达增加[6]。研究发现CTHRC1参与到前列腺癌[7]、乳腺癌[8]、卵巢癌[9]、胃癌[10]以及肺癌[11]等多种实体肿瘤的增殖、侵袭、转移以及血管生成等过程，是提示预后不良的重要因子。

有研究使用基因探针发现CTHRC1的互补DNA（cDNA）在甲状腺癌组织中表达高于对照正常癌组织[12]。本课题组前期研究通过免疫组化技术，发现CTHRC1蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达水平明

收稿日期：2020-06-07
基金项目：国家自然科学基金（81360390）；宁夏自然科学基金（NZ13161，2019AAC03198）；宁夏医科大学科学研究基金资助重点项目（XZ2015029）
Supported by National Natural Science Foundation of China (81360390).
作者简介：唐振宁，博士，副主任医师，E-mail: tzhn-331@163.com
通信作者：张朝林，主任医师，E-mail: 754358002@qq.com

显高于癌旁正常组织和良性病变组织，提示CTHRC1对甲状腺恶性转化过程中可能具有生物学效应。有研究发现CTHRC1的高表达和肿瘤的恶性程度相关[13]。然而CTHRC1在甲状腺癌中具体的分子作用及机制仍未见报道。本研究通过干扰甲状腺乳头状癌细胞TPC-1中CTHRC1的表达，观察CTHRC1对甲状腺癌细胞中增殖及凋亡的作用，并对机制进行探讨。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器

DMEM培养基(Hyclone)，FBS、胰蛋白酶(Gibco)，Trizol(Invitrogen)，Lipofectamine3000(Thermofisher)；p-ERK1/2(8544s)抗体(Cell Signaling)；CTHRC1抗体(ab85739)、c-Caspase-3抗体(ab2302)、c-PARP-1(ab32064)抗体(Abcam)。CCK-8试剂盒(Dojindo)，Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒(BD)。人甲状腺乳头状癌细胞TPC-1细胞株由南京采卓生物科技有限公司提供。根据CTHRC1mRNA设计4条小干扰RNA(siRNA)寡核苷酸，siRNA及阴性对照(si-NC)，序列见表1。

表1 CTHRC1siRNA干扰序列

Tab.1 Sequences of siRNA of CTHRC1 for cell transfection

siRNA	Sequence (5' → 3')
siRAN1	AGGUCGGGAUGGAUUCAAATT
	UUUGAAUCCAUCCCGACCUTT
siRAN2	GCGUUCAAAUAGUGCUCUATT
	UAGAGCACUAUUUGAACGCTT
siRAN3	GCGGAGUGUACAUUUACAATT
	UUGUAAAUGUACACUCCGCTT
siRAN4	GUCACAUUCUCUCAACCUATT
	UAGGUUGAGAGAAUGUGACTT
si-NC	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	ACGUGACACGUUCGGAGAATT

1.2 细胞培养及转染

细胞用含10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基，在37 ℃、CO_2体积分数为5%的培养箱中常规培养。培养融合度到80%时，用0.25%的胰蛋白酶消化，采用完全培养基传代。转染前1 d 6孔培养板中接种细胞，使转染时细胞密度在70%~80%，培养基为DMEM+10% FBS，按照Lipofectamine3000转染试剂盒说明书进行转染。将筛选的CTHRC1干扰序列转染TPC-1细胞作为干扰组(si-CTHRC1组)，随机阴性对照序列(si-NC)转染的TPC-1细胞作为阴性组(si-NC组)，以不做任何处理TPC-1细胞为空白组(WT组)。

1.3 CCK-8实验

收集各组对数生长期细胞将细胞消化制成单细胞悬液，以2×10^4/孔的密度接种于96孔板，100 μL/孔。分别于培养0、12、24、48 h时进行CCK-8实验，每孔加入10 μL CCK-8溶液，继续培养，测定450 nm处的吸光度$A_{450\,nm}$值。实验重复3次。

1.4 Annexin V/PI双染

分别用胰酶消化各组细胞，制备成单细胞悬液，800 r/min离心5 min后弃去上清液，用PBS缓冲液冲洗2次，再以1000 r/min离心5 min，之后按照Annexin V-FITC/PI试剂盒说明书加入200 μL结合缓冲液，重悬细胞，加入10 μL PI溶液和5 μLAnnexinⅤ，混匀后冰浴避光下室温染色30 min，每管内补足结合缓冲液至500 μL后上流式细胞仪检测。

1.5 Real-time PCR检测

采用TRIzol试剂提取RNA，按照ReverTra Ace qPCR RT Kit反转录试剂盒进行反转录成cDNA，采用SYBR Premix Ex Taq说明书配置PCR反应体系，进行PCR扩增。CHTRC1上游引物5'-AGTGGCTCACTTCGGCTAAA-3'，下游引物5'-CCACAGAAGAAGTGCGATGA-3'。内参上游引物5'-TGGACTTCGAGCAAGAGATG-3'，下游引物5'-GAAGGAAGGCTGGAAGAGTG-3'。最后结果用△△CT表示。每个样本独立重复实验3次。

1.6 Western blot检测

取转染48 h后的TPC-1细胞，加入RIPA裂解液，裂解30 min，12 000/min 4 ℃离心10 min后，收集上清，使用BCA蛋白质浓度测定试剂盒检测样品蛋白浓度，根据样品浓度确定上量，蛋白样品中加入蛋白上样缓冲液，95~100 ℃沸水浴变性5 min，加入至制备好的SDS-PAGE凝胶(5%浓缩胶，10%分离胶)上样孔中，25 μL/孔，按浓缩胶80 V、分离胶120 V进行恒压电泳，至溴酚蓝到达胶板下沿，结束后取出凝胶，4 ℃转膜，采用5%脱脂奶粉封闭PVDF膜1 h，加稀释好的一抗4 ℃过夜，TBST洗膜后加二抗稀释液，室温孵育30 min，用TBST在室温下摇床上洗4次，5 min/次。滴加新鲜配制的ECL显影，采用自动凝胶成像系统采集图像。

1.7 统计学处理

数据分析采用SPSS 22.0统计软件，计量资料以均数±标准差表示，两两比较采用独立样本t检验，多组间比较采用单因素方差分析，以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选CTHRC1siRNA，干扰质粒转染TPC-1细胞后CHTRC1的mRNA和蛋白表达

设置4组针对CTHRC1基因的siRNA，干扰质粒转染TPC-1细胞48 h后，提取总RNA RT-qPCR检测，相比于WT组、si-NC组，siRNA2组的CTHRC1mRNA含量明显被抑制（P<0.01，图1A）。使用siRNA转染染TPC-1细胞48 h后，提取蛋白质进行Western blot的检测，结果显示，siRNA2组的CTHRC1蛋白条带相对灰度值最低，CTHRC1蛋白表达水平被明显抑制（P<0.01，图1B）。Western blot结果与RT-qPCR一致，因此后续以siRNA2进行检测实验。

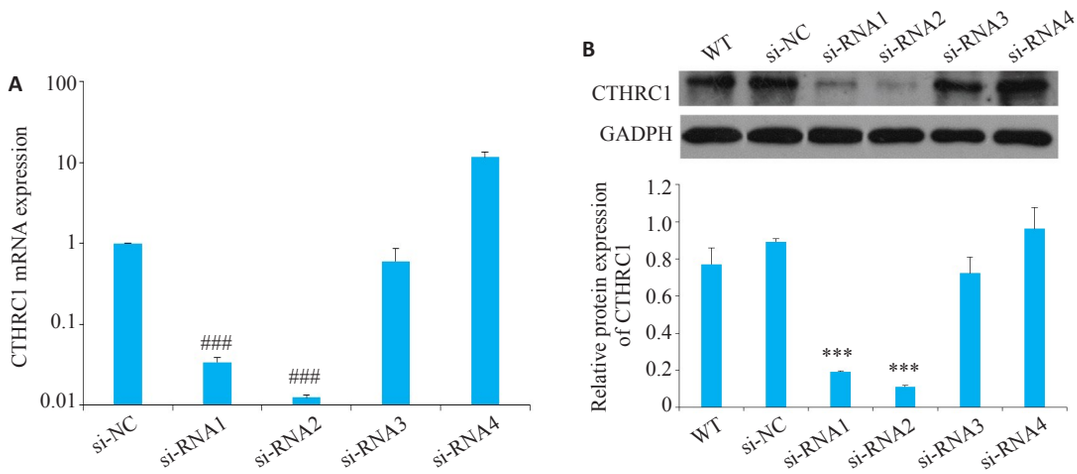

图1 Real-time PCR和Western blot检测不同siRNA转染后细胞中CTHRC1的mRNA和蛋白表达变化

Fig.1 Expression of CTHRC1 at mRNA (**A**) and protein (**B**) levels in TPC-1 cells determined by real-time PCR and Western blotting after transfection with different CTHRC1 siRNA. ***P<0.01 *vs* WT, ###P<0.01 *vs* si-NC.

2.2 CTHRC1对TPC-1细胞增殖影响

干扰质粒转染TPC-1细胞后，分别在0、1、2、3、4 d时检测si-CTHRC1组、si-NC组和WT组在450 nm时的光密度值$A_{450\,nm}$，绘制细胞增殖曲线。CCK8检测实验结果显示，与WT组和si-NC组相比，si-CTHRC1组$A_{450\,nm}$值降低，差异具有统计学意义（P<0.05，图2）。

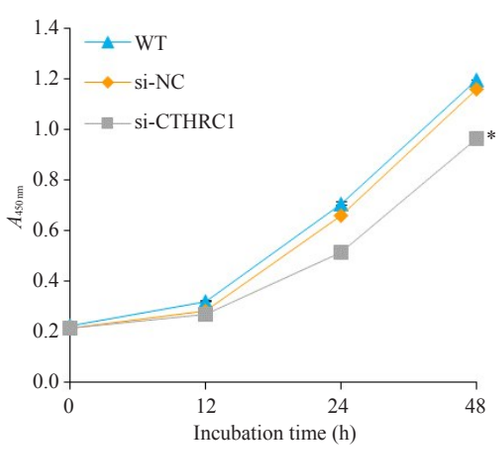

图2 下调CTHRC1表达对TPC-1细胞增殖的抑制作用

Fig.2 Down-regulation of CTHRC1 suppresses the proliferation of TPC-1 cells. *P<0.05 *vs* si-NC.

2.3 CTHRC1对TPC-1细胞凋亡的影响

流式细胞仪分别检测si-CTHRC1组、WT组和si-NC组的细胞凋亡情况。结果显示，与WT组和si-NC组比较，si-CTHRC1组的细胞凋亡率明显增高，差异具有统计学意义（P<0.01，图3）。

2.4 CTHRC1对TCP-1细胞中上凋亡相关蛋白表达的影响

Western blot表明，si-CTHRC1组与WT组和si-NC组相比，凋亡相关蛋白c-caspase-3和c-PARP-1相对表达水平增高，差异均有统计学意义（P<0.05，图4）。

2.5 CTHRC1对TCP-1细胞中ERK通路的影响

Western blot实验表明，与WT组和si-NC组相比，si-CTHRC1组p-ERK1/2表达水平增加，差异均有统计学意义（P<0.05）。

3 讨论

研究显示CTHRC1在实体肿瘤的演进中作用重要，在宫颈癌组织中，CTHRC1过表达与肿瘤的分期、组织学分级、淋巴结转移以及复发呈正相关[14-15]。也有研究发现CTHRC1的高表达与结肠癌[16]、骨肉瘤[17]、乳腺癌[18]、食管癌[19]、胰腺癌[20]、卵巢癌[21]的预后不良相关。本研究团队前期的研究显示PTC细胞组织较正常组织高表达，且甲状腺癌组织中CTHRC1的高表达与淋巴结转移正相关[13]。但对与CTHRC1在PTC发生发展过程中的具体分子生物学作用尚未见相关报道。本研究首次通过siRNA干扰TPC-1细胞CHTRC1的表达，通过干扰CTHRC1观察TCP-1细胞增殖及凋亡情

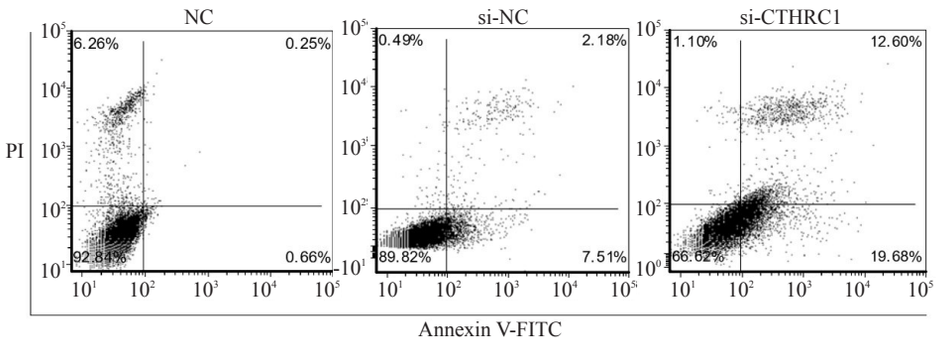

图3 下调CTHRC1表达CTHRC1后对TPC-1细胞凋亡促进作用

Fig.3 Down-regulation of CTHRC1 promotes apoptosis of TPC-1 cells.

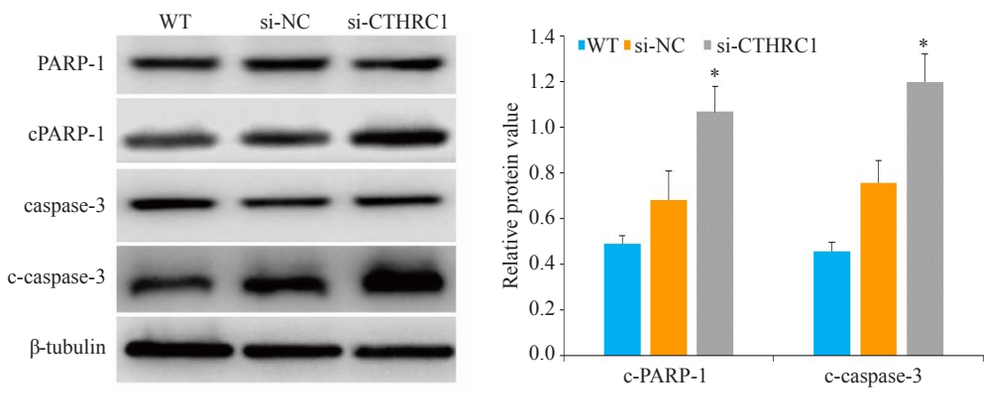

图4 抑制CTHRC1对TPC-1细胞c-Caspase-3、c-PARP-1蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of down-regulation of CTHRC1 expression on the expression of c-caspase-3 and c-PARP-1 in TCP-1 cells. *P<0.05 *vs* si-NC.

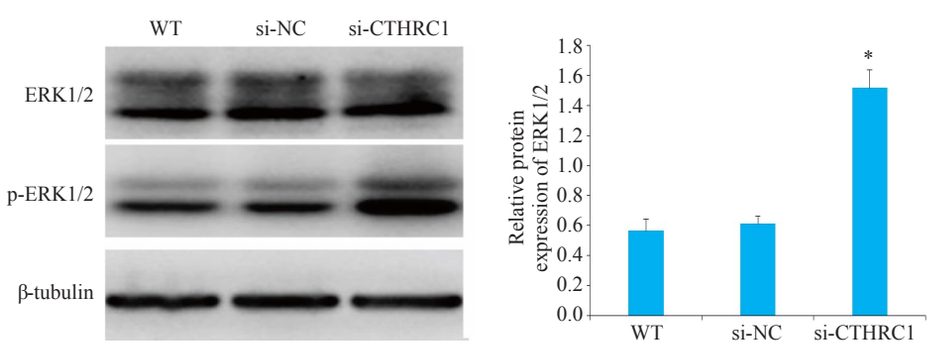

图5 抑制CTHRC1对TPC-1细胞p-ERK1/2蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of down-regulation of CTHRC1 on expression of p-ERK1/2 in TCP-1 cells. *P<0.05 *vs* si-NC.

况的改变，结果显示：通过siRNA干扰TPC-1细胞CTHRC1，TPC-1细胞增殖能力较对照组明显减低。相同的结果在其他实体肿瘤中也有同样发现[22]。有文献报道干扰前列腺癌CTHRC1表达能够抑制前列腺癌细胞的增殖和克隆形成[7]。同样在乳腺癌[8]、肝癌[23-24]、食管癌[19]、骨肉瘤[25]、结肠癌[26]及肾癌[27]的研究中也证实了CTHRC1参与到肿瘤细胞的增殖过程中，CTHRC1能够促进肿瘤细胞增殖。但在关于卵巢癌和宫颈癌的研究中，并没有发现CTHRC1对肿瘤的增殖起作用[21, 28]。因此包括本研究在内多数研究表明CTHRC1能够促进肿瘤细胞的增殖，但仍和肿瘤的具体类型相关。

CTHRC1对肿瘤细胞凋亡作用的研究相对较少，有研究发现过表达CTHRC1能够抑制乳腺癌的凋亡，CTHRC1能够通过Bax/caspase-9/caspase-3调控乳腺

癌细胞的凋亡过程[18]。也有研究发现在肝癌中，干扰CTHRC1后细胞凋亡比率增加，且c-caspase3和c-PRAP的表达增高[23]。而本研究干扰甲状腺癌TPC-1细胞中CTHRC1的表达，采用流式细胞术AV/PI双染检测发现抑制CTHRC1表达后PTC-1细胞凋亡比率增加。Western bolt显示c-caspase-3和c-PARP-1蛋白的表达增加。这一现象提示在甲状腺乳头状癌TCP-1细胞中CTHRC1能够抑制甲状腺乳头状癌细胞的凋亡。

CTHRC1对TPC-1细胞增殖与凋亡影响的信号通路尚未见相关报道。前期研究报道CTHRC1能够通过Wnt/beta-catenin介导了子宫内膜间质细胞的增殖[29]。同样在结肠癌中，CTHRC1能够激活Wnt/PCP通路，促进增殖。作为丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)通路的主要类型，ERK是调节细胞增殖和凋亡的重要通路[30]。ERK通过一系列信号转导作用磷酸化活化，磷酸化的ERK1/2则会进入细胞核，作用于相应的转录因子发挥调节细胞增殖、凋亡、分化等生物学行为的作用[31]。研究报道在关节软骨细胞中CTHRC1通过JNK1/2通路介到了IL-1β诱导的凋亡过程[32]，通过过表达CTHRC1，能够通过MAPK/MEK/ERK通路促进食管鳞癌细胞增殖[19]。有研究也发现在结肠癌中，CTHRC1能够活化ERK1/2介导肿瘤细胞侵袭[33]。目前多数研究认为ERK通路在甲状腺癌尤其是PTC分子生物学过程中作用非常重要，是未来治疗的重要靶点之一[34]。本研究显示抑制CHTRC1能够抑制ERK1/2通路的活化，提示了ERK通路可能参与了CHTRC1对TPC-1细胞增殖和凋亡过程。

综上所述，本结果显示CTHRC1能够促进TPC-1的细胞的增殖、通过caspase-3、PARP-1抑制凋亡，这一机制可能通过ERK通路介导。我们将在今后通过体内实验研究进一步揭示CTHRC1对PTC的生长和转移的影响及机制。

参考文献：

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.

[2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[3] Zhan SH, Luo D, Ge W, et al. Clinicopathological predictors of occult lateral neck lymph node metastasis in papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. Head Neck, 2019, 41(7): 2441-9.

[4] Pyagay P, Heroult M, Wang Q, et al. Collagen triple helix repeat containing 1, a novel secreted protein in injured and diseased arteries, inhibits collagen expression and promotes cell migration [J]. Circ Res, 2005, 96(2): 261-8.

[5] Leclère L, Nir TS, Bazarsky M, et al. Dynamic evolution of the Cthrc1 genes, a newly defined collagen-like family[J]. Genome Biol Evol, 2020, 12(2): 3957-70.

[6] Zhou HF, Su LB, Liu C, et al. CTHRC1 may serve as a prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Oncotargets Ther, 2019, 12: 7823-31.

[7] Ma Z, Chao F, Wang S, et al. CTHRC1 affects malignant tumor cell behavior and regulated by miR-30e-5p in human prostate cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 525(2): 418-24.

[8] Yuan RX, Bao D, Zhang Y. Linc00707 promotes cell proliferation, invasion, and migration *via* the miR-30c/CTHRC1 regulatory loop in breast cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(9): 4863-72.

[9] Li Y, Zhou JH, Wang J, et al. Mir-30b-3p affects the migration and invasion function of ovarian cancer cells by targeting the CTHRC1 gene[J]. Biol Res, 2020, 53(1): 10-8.

[10] Ding XS, Huang RH, Zhong YM, et al. CTHRC1 promotes gastric cancer metastasis *via* HIF-1α/CXCR4 signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 123: 109742-9.

[11] Chen Y, Sun Y, Cui Y, et al. High CTHRC1 expression may be closely associated with angiogenesis and indicates poor prognosis in lung adenocarcinoma patients[J]. Cancer Cell Int, 2019, 19(6): 318-27.

[12] Tang LR, Dai DL, Su MW, et al. Aberrant expression of collagen triple helix repeat containing 1 in human solid cancers[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(12): 3716-22.

[13] 唐振宁, 王玉琛, 刘晓霞, 等. CTHRC1在甲状腺乳头状癌组织中的表达及与E-cadherin和Vimentin表达的相关性分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(8): 595-8.

[14] Wu Q, Yang Q, Sun H. Role of collagen triple helix repeat containing-1 in tumor and inflammatory diseases[J]. J Cancer Res Ther, 2017, 13(4): 621-4.

[15] Li N, Chen L, Liu C, et al. Elevated CTHRC1 expression is an indicator for poor prognosis and lymph node metastasis in cervical squamous cell carcinoma[J]. Hum Pathol, 2019, 85(10): 235-41.

[16] Ni S, Ren F, Xu M, et al. CTHRC1 overexpression predicts poor survival and enhances epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(11): 5643-54.

[17] Liu Y, Abulimiti N, Wang C. Collagen triple helix repeat containing 1 expression in osteosarcoma: a new predictor of prognosis[J]. Ann Clin Lab Sci, 2018, 48(3): 338-44.

[18] Lai YH, Chen J, Wang XP, et al. Collagen triple helix repeat containing-1 negatively regulated by microRNA-30c promotes cell proliferation and metastasis and indicates poor prognosis in breast cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 92-8.

[19] Wang CN, Li ZT, Shao F, et al. High expression of Collagen Triple Helix Repeat Containing 1 (CTHRC1) facilitates progression of oesophageal squamous cell carcinoma through MAPK/MEK/ERK/FRA-1 activation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 1-14.

[20] Liu W, Fu XL, Yang JY, et al. Elevated expression of CTHRC1 predicts unfavorable prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(8): 1820-7.

[21] Ye J, Chen W, Wu ZY, et al. Upregulated CTHRC1 promotes human epithelial ovarian cancer invasion through activating EGFR signaling[J]. Oncol Rep, 2016, 36(6): 3588-96.

[22] Liu J, Li W, Liu S, et al. Knockdown of collagen triple helix repeat containing 1 (CTHRC1) inhibits epithelial-mesenchymal transition

and cellular migration in glioblastoma cells[J]. Oncol Res, 2017, 25 (2): 225-32.

[23] Chen G, Wang DD, Zhao XQ, et al. miR-155-5p modulates malignant behaviors of hepatocellular carcinoma by directly targeting CTHRC1 and indirectly regulating GSK-3β-involved Wnt/β-catenin signaling[J]. Cancer Cell Int, 2017, 17(11): 118-27.

[24] Tameda M, Sugimoto K, Shiraki K, et al. Collagen triple helix repeat containing 1 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and promotes cell proliferation and motility[J]. Int J Oncol, 2014, 45(2): 541-8.

[25] Sang WL, Zhu LB, Ma JZ, et al. Lentivirus-mediated knockdown of CTHRC1 inhibits osteosarcoma cell proliferation and migration[J]. Cancer Biotherapy Radiopharm, 2016, 31(3): 91-8.

[26] Yang XM, You HY, Li Q, et al. CTHRC1 promotes human colorectal cancer cell proliferation and invasiveness by activating Wnt/PCP signaling[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 12793-801.

[27] Jin XF, Li H, Zong S, et al. Knockdown of collagen triple helix repeat containing-1 inhibits the proliferation and epithelial-to-mesenchymal transition in renal cell carcinoma cells[J]. Oncol Res, 2016, 24 (6): 477-85.

[28] Zhang R, Lu H, Lyu YY, et al. E6/E7-P53-POU2F1-CTHRC1 axis promotes cervical cancer metastasis and activates Wnt/PCP pathway [J]. Sci Rep, 2017, 7(3): 44744-51.

[29] Lv Y, Zhang L, Ma J, et al. CTHRC1 overexpression promotes ectopic endometrial stromal cell proliferation, migration and invasion via activation of the Wnt/β-catenin pathway [J]. Reprod Biomed Online, 2020, 40(1): 26-32.

[30] Savoia P, Fava P, Casoni F, et al. Targeting the ERK signaling pathway in melanoma[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 304-12.

[31] 王 帆, 陈锋龙, 胡伟鹏, 等. Mig-7通过MEK/ERK信号通路抑制胶质瘤U251侵袭及血管生成拟态[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(5): 566-71.

[32] Zhang Q, Yin ZS, Zhang FW, et al. CTHRC1 mediates IL1betainduced apoptosis in chondrocytes *via* JNK1/2 signaling[J]. Int J Mol Med, 2018, 41(4): 2270-8.

[33] Kim HC, Kim YS, Oh HW, et al. Collagen triple helix repeat containing 1 (CTHRC1) Acts *via* ERK-dependent induction of MMP9 to promote invasion of colorectal cancer cells [J]. Oncotarget, 2014, 5(2): 519-29.

[34] Tirrò E, Martorana F, Romano C, et al. Molecular alterations in thyroid cancer: from bench to clinical practice [J]. Genes (Basel), 2019, 10(9): 709-17.

（编辑：林 萍）