

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.05.007

基于细胞焦亡的结肠癌预后预测模式

周勇^a, 胡小巧^b(重庆大学附属涪陵医院 a. 肝胆胰外科; b. 肿瘤科, 重庆 408000)

[摘要] **目的:** 采用生物信息学方法探索结肠癌组织中与焦亡相关的基因, 并探讨其与预后的关系, 为结肠癌患者提供新的治疗靶点。 **方法:** 分别从TCGA数据库、GEO数据库中下载结肠癌患者的基因表达、转录数据及临床数据。利用R软件提取出TCGA转录数据中细胞焦亡基因的表达量, 并找到差异表达基因, 构建差异表达基因的蛋白互作网络。采用单因素分析、聚类分析将基因进行分型, 比较两种亚型之间生存差异, 得到预后相关基因。然后通过Lasso回归分析、交叉验证及优化, 得到基因系数(Coef系数), 构建一种结肠癌预后的预测模型。根据该预测模型计算出TCGA样本的中位风险得分, 将样本分为高、低风险组。以GEO样本作为验证组, 分别对TCGA、GEO样本进行生存分析(Kaplan-Meier分析)、绘制ROC曲线、绘制风险曲线、PCA和t-SNE分析。结合模型中的风险评分, 分别采用单因素及多因素分析来寻找结肠癌患者的独立预后因素。对高、低风险组进行GO和KEGG分析。最后行ssGSEA分析, 对每个样本进行免疫细胞及免疫相关功能打分, 得到高、低风险组之间免疫细胞及免疫细胞相关功能的差异。 **结果:** 共鉴定了52个焦亡基因在结肠癌及正常结肠组织中的表达, 筛选出40个差异基因。通过Cox回归和Lasso回归分析, 构建了一个基于15个基因的结肠癌预后风险预测模型, 并将结肠癌患者分为高、低风险两组, 两组之间生存有明显差异($P < 0.001$)。根据预测模型计算出TCGA样本的风险评分, 并得到的中位风险评分, 利用GEO数据库结肠癌患者进行验证, 结果显示高低风险组之间生存率存在明显差异($P = 0.013$)。发现预测模型计算出的风险评分是预测结肠癌患者生存的独立预后因素。对差异基因进行GO富集分析、KEGG富集分析、ssGSEA分析结果显示, 高风险组患者免疫细胞浸润明显减少。 **结论:** 通过生物学信息方法构建了一个基于15个基因的结肠癌患者预后风险预测模型, 这些基因在结肠癌免疫中也发挥重要作用。

[关键词] 结肠癌; 焦亡; 基因; 预后

[中图分类号] R735.3; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)05-0412-12

A pyroptosis-based prognostic prediction model for colon cancer

ZHOU Yong^a, HU Xiaoqiao^b (a. Department of Hepatopancreatobiliary Surgery; b. Department of Oncology, Chongqing University FuLing Hospital, 408000 Chongqing Fuling, China)

[Abstract] Objective: To screen the genes related to pyroptosis in colon cancer (CC) tissues by bioinformatics approach and to explore their relationship with patient prognosis to provide new therapeutic targets for CC patients. **Methods:** Gene expression, transcriptional data and clinical data of CC patients were downloaded from TCGA database and GEO database, respectively. R software was used to extract the expression of pyroptosis-related genes in TCGA transcription data, and the differentially expressed genes (DEGs) were screened out to construct a protein interaction network of the DEGs. The genes were typed by univariate analysis and cluster analysis, and the survival differences between the two subtypes were compared to obtain prognosis-related genes. Then, through Lasso regression analysis, cross-validation and optimization, the gene coefficients (Coef) were obtained to construct a prognosis prediction model for CC. The median risk score of the TCGA samples was calculated according to the prediction model, and the samples were divided into high-and-low risk groups. The GEO samples were used as the validation group, and survival analysis (Kaplan-Meier analysis), ROC curve, risk curve, PCA, and t-SNE analysis were performed on TCGA and GEO samples, respectively. Combined with the risk scores in the model, univariate and multivariate analyses were conducted to find the independent prognostic factors for colon cancer patients. The GO and KEGG analyses were then performed for the high-and-low risk groups. Finally, by ssGSEA analysis, immune cells and immune-related functions were scored for each sample to obtain the difference in immune cells and immune cell-related functions between the high-and-low risk groups. **Results:** A total of 52 pyroptosis genes were identified in colon cancer and normal colon tissues, and 40 DEGs were selected. A prognostic risk prediction model for colon cancer based on 15 genes was constructed by Cox regression and Lasso regression analysis, and the colon cancer patients were divided into high-and-low risk groups, with significant differences in survival between the two groups ($P < 0.001$). The risk score of TCGA samples was calculated according to the prediction model, and the obtained median risk score was verified using the GEO database, which showed a significant

[作者简介] 周勇(1989—), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科及肿瘤综合治疗的研究, E-mail: 157457331@qq.com

[通信作者] 胡小巧, E-mail: 769344895@qq.com

difference in survival between high-and-low risk groups ($P=0.013$). The risk score calculated by the prediction model was found to be an independent prognostic factor for predicting the survival of colon cancer patients. The GO enrichment analysis, KEGG enrichment analysis, and ssGSEA analysis of the DEGs showed a significant reduction in immune cell infiltration in the high-risk group of patients.

Conclusion: A prognostic risk prediction model for colon cancer patients based on 15 genes by a bioinformatic approach was constructed. These genes also play an important role in colon cancer immunity.

[Key words] colon cancer; pyroptosis; gene; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(5): 412-423. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.05.007]

在中国, 结肠癌发病率已上升至第3位^[1], 并且随着患者年龄的增加, 病死率明显上升^[2]。结肠癌的主要治疗手段包括手术、化疗、靶向治疗、免疫治疗。其中手术治疗主要针对分期较早的患者, 而化疗不良反应大, 粒细胞减少作为最常见的不良反应, 是导致结肠癌治疗后死亡的主要原因^[3]。免疫治疗主要针对微卫星不稳定及错配修复基因缺失的患者, 这部分患者占有结直肠癌患者15%^[3], 在转移性结直肠癌患者中仅占4%^[4]。发生转移的结直肠癌, 5年生存率仅为14%^[5]。因此迫切需要寻找新的靶点来提高结肠癌患者的预后。近年来, 有三种基因定义的细胞死亡途径被深入研究: 凋亡、坏死和焦亡^[6]。焦亡为促炎细胞程序性死亡, 与凋亡的程序性细胞死亡及坏死的细胞破裂不同, 焦亡依赖于消化道皮肤素(gasdermin), 包括gasdermin A/B/C/D、gasdermin E(也称作DFNA5)和DFNB59(Pejvakin, PJVK)^[7], 可通过释放IL-1 β 、IL-18^[8]及潜在的炎症因子, 诱导强烈的炎症反应及免疫反应, 在肿瘤的发生发展、化疗、靶向治疗、免疫治疗等方面发挥重要作用^[9]。但是, 针对焦亡基因在结肠癌中表达、预后、功能、通路等的系统性研究较少。本研究利用TCGA及GEO数据库, 探索正常组织与结肠癌组织之间焦亡基因表达的差异, 同时构建预后模型, 验证其预测价值。功能分析显示, 高、低风险组之间的差异表达基因与蛋白质消化吸收、ECM-受体相互作用、焦点黏着、PI3K-Akt信号通路、免疫细胞浸润及通路等相关。其中, 高风险组患者免疫细胞浸润明显减少。为结肠癌的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 数据资料

2021年8月4日, 本课题组从TCGA数据库中下载结肠癌患者的基因表达及转录数据(<https://portal.gdc.cancer.gov/repository>), 其中包括41例正常组织和473例肿瘤组织, 并进行ID到基因的转化。从TCGA中下载452例结肠癌患者临床数据, 包括生存时间、生存状态、年龄、性别、T分期、N分期、M分期及肿瘤分期。2021年8月5日, 从GEO数据库中下载结肠癌患者基因表达、转录数据及临床数据

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>, ID:GSE40967)。

1.2 焦亡基因的提取及差异分析

从文献中提取了52个焦亡基因^[10-13]。使用R软件(R x64 4.1.0)提取出TCGA转录数据中细胞焦亡基因的表达量, 并找到 $P<0.05$ 的差异表达基因, 通过绘制热图来区分上调及下调基因。利用检索基因相互作用的搜索工具(<https://string-db.org/>)构建了差异表达基因的蛋白互作网络(最高相互作用得分=0.9), 设置相关性阈值(cutoff值)=0.3, 绘制共表达网络图。

1.3 基于细胞焦亡差异基因的分型及分析

单因素COX分析及聚类分析将细胞焦亡基因(来自TCGA临床数据样本)进行分型。比较两种亚型之间生存差异。设置LogFC绝对值>0.585且FDR值<0.05进行过滤, 筛选出差异基因。通过绘制热图及卡方检验探索两种亚型之间差异基因及临床特征, 分别得到TCGA、GEO样本数据中的差异因表达量。

1.4 焦亡相关基因预后模型的建立与验证

采用Cox回归分析来探索TCGA样本中基因与生存的关系。设置显著性过滤标准(coxfilter)为0.05, 行单因素分析, 得到预后相关基因并绘制森林图。通过Lasso回归分析, 同时对模型进行交叉验证及优化, 找到误差最小的点及对应基因(即参与模型构建基因), 并得到基因系数(Coef系数), 从而得到风险得分计算公式, 风险得分= $\sum^{15} X_i \times Y_i$ (X : Coef系数, Y : 基因表达量)。根据TCGA样本的中位风险得分将样本分为高、低风险组。以GEO样本作为验证组, 分别对TCGA、GEO样本进行生存分析、PCA和t-SNE分析。

1.5 独立预后分析

结合模型中的风险评分, 分别采用单因素及多因素Cox回归分析来寻找结肠癌患者的独立预后因素。

1.6 免疫功能及通路分析

首先按TCGA样本风险得分中位值, 将样本分为高、低风险组。设定 P 值<0.05, 进行GO和KEGG分析, 行ssGSEA分析, 对每个样本进行免疫细胞及免疫相关功能打分, 得到高、低风险组之间免疫细胞及免疫细胞相关功能的差异。流程图如图1。

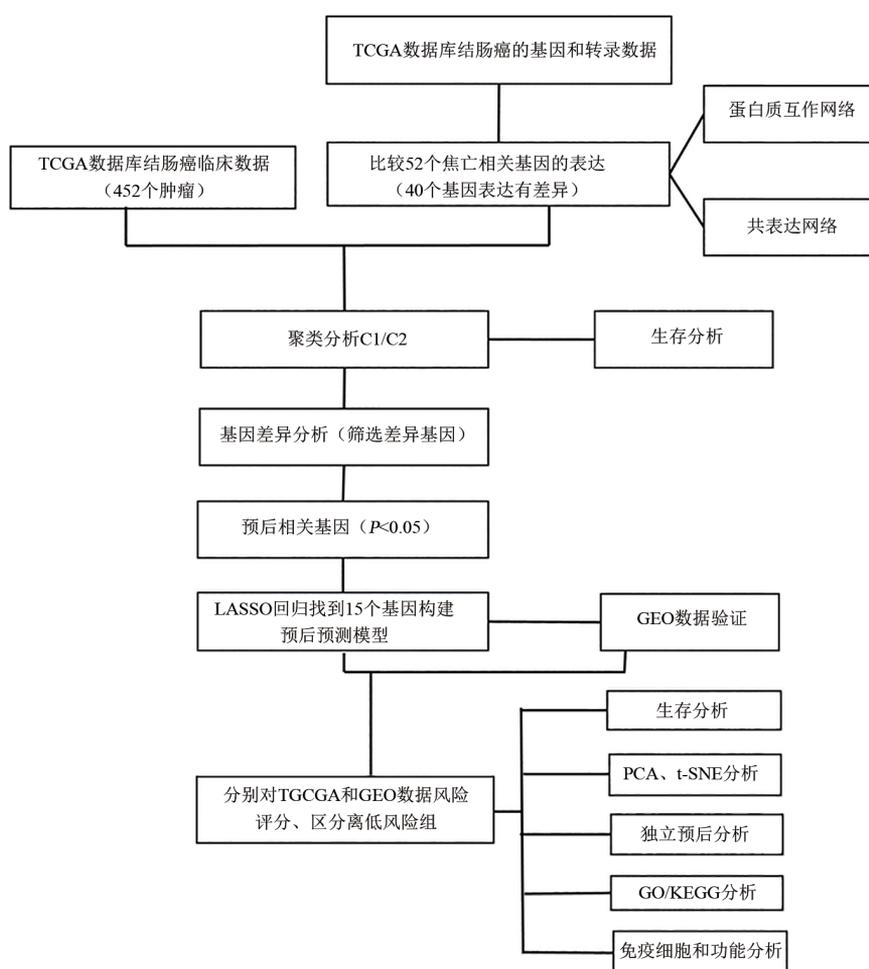


图1 免疫细胞及其功能分析流程图

2 结果

2.1 在癌组织和正常组织间焦亡相关基因表达差异显著

在41例正常样本和473例样本的TCGA数据中,比较了52个焦亡相关基因表达水平,并鉴定出40个差异表达基因(均 $P < 0.001$)。其中有17个在组织中表达上调(BAX、GPX4、PJKV、NOD2、NOD1、PLCG1、CHMP4C、HMGB1、CASP8、GZMB、IL1A、IL1B、GSDMC、IL6、CASP4、GSDMA、TP53)和23个下调(CHMP2A、CHMP6、NLRP2、NLRP7、GZMA、TP63、NLRP1、NLRC4、NLRP3、TIRAP、ELANE、PRKACA、IL18、CASP5、GSDMB、BAK1、CASP9、CHMP3、CHMP2B、CYCS、CASP3、IRF2、CHMP7)。这些基因的RNA水平如图2A所示。

对上述焦亡基因进行蛋白质相互作用网络分析,如图2B所示(highest confidence=0.9),在所有差异表达基因中,CASP5、NOD2、NLRP1、NLRC4、NLRP3、CASP8、GZMB、CASP3、CASP9、CYCS、BAK1、BAX、TP63、TP53、IL18、IL6、CASP4、IL1A、IL1B、HMGB1、TIRAP和IRF2之间有相互作用,

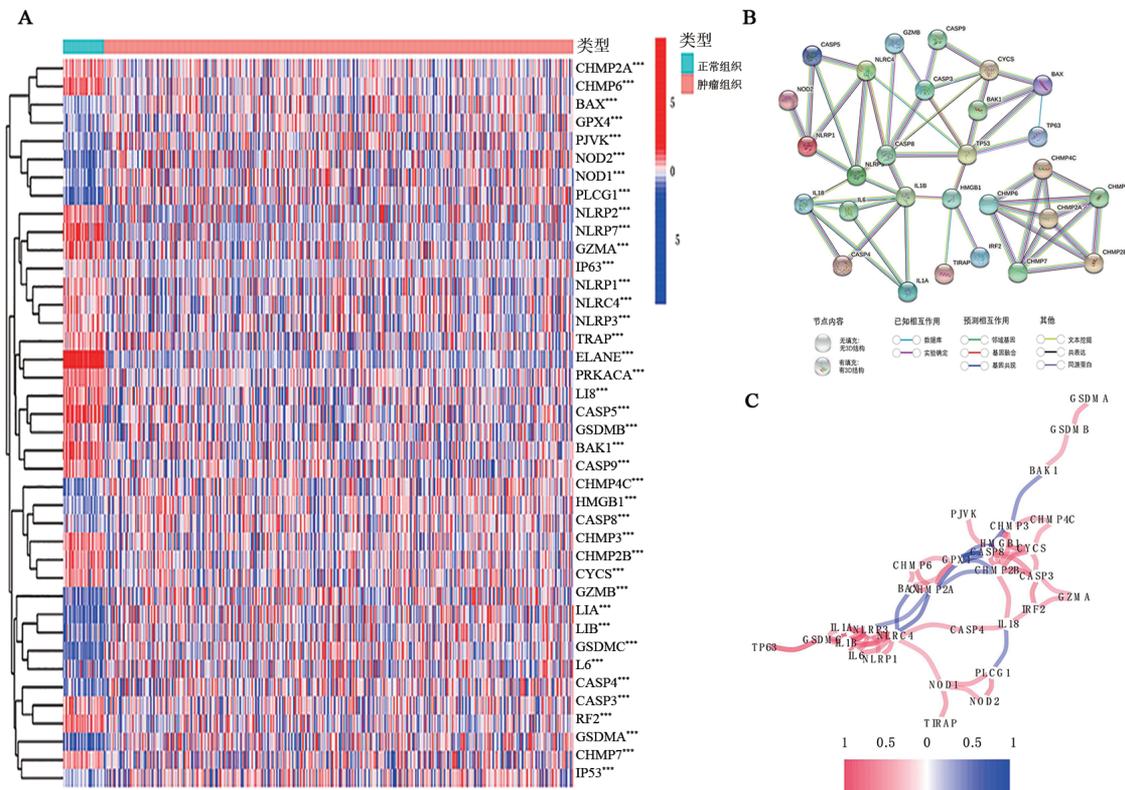
CHMP6、CHMP4C、CHMP3、CHMP2A和CHMP7之间有相互作用。差异表达基因共表达网络如图2C。

2.2 基于细胞焦亡相关差异表达基因的肿瘤分型

提取TCGA样本中细胞焦亡相关差异表达基因的表达量,以及452例结肠癌样本临床数据的生存时间及生存状态,数据合并后进行单因素COX分析找到预后相关基因,行聚类分析(聚类变量K最大为9),结果发现,当K=2时,分型内部相关性最高(蓝色最深),分型之间相关性最弱(蓝色最浅)。结果说明,根据40个差异表达基因,452例结肠癌患者分为两个聚类C1、C2(如图3A)。

对C1、C2两类患者行生存差异分析,结果显示两者生存之间有显著差异($P=0.042$,图3B)。

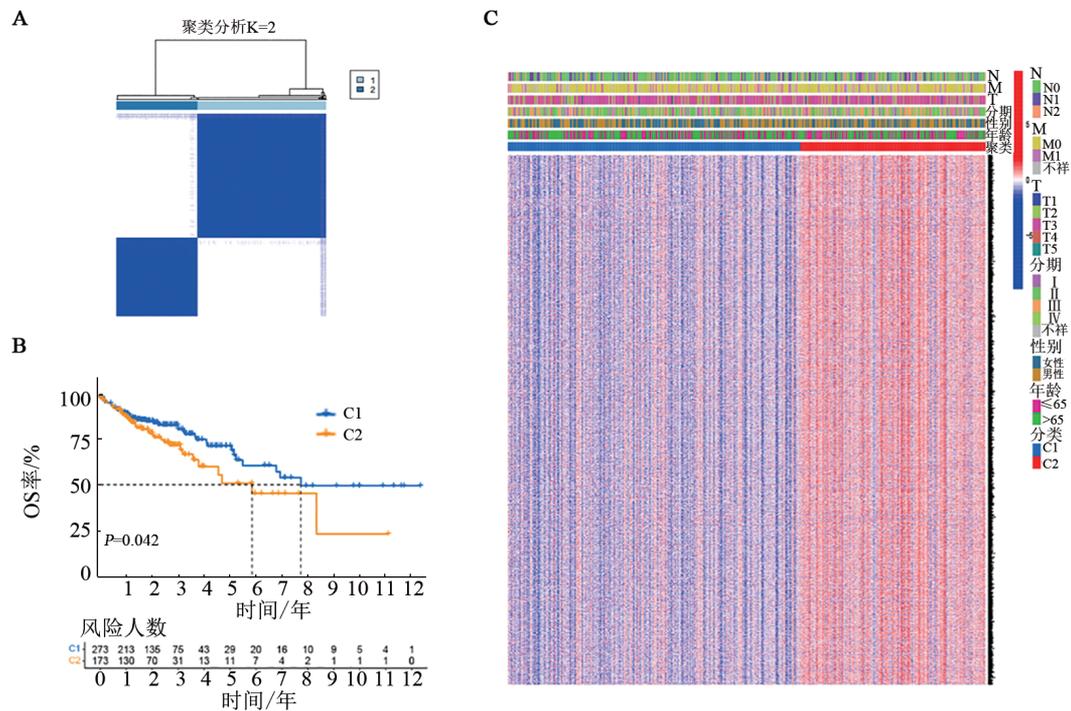
分析C1、C2患者之间的基因差异,通过设置LogFC绝对值 > 0.585 且校正后P值(即FDR) < 0.05 进行过滤,筛选出差异基因。通过卡方检验比较C1、C2分型之间差异基因、临床特征(包括年龄、性别、分期、T、N、M)的差异,从热图中(图3C)可以看出,在临床特征上两者之间无明显差异,大部分差异基因在C1分型呈低表达、C2分型呈高表达。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

A: 40个差异表达基因的RNA水平(正常样本蓝色表示低表达、在肿瘤样本中上调, 正常样本红色表示高表达、在肿瘤样本中下调); B: 差异表达基因蛋白质相互作用网络; C: 差异表达基因共表达网络(红色为正相关, 蓝色为负相关)

图2 正常结肠组织和结肠癌组织之间40个焦亡相关差异表达基因



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

A: 根据40个差异表达基因将452例结肠癌患者分为两个聚类C1、C2(聚类分析K=2); B: 两个聚类C1、C2生存曲线($P=0.042$); C: C1、C2之间基因差异分析, 横坐标左为C1(蓝色)、右为C2(红色), 纵坐标为临床特征及差异基因(蓝色为低表达, 红色为高表达)

图3 452例结肠癌患者的聚类分析(基于40个焦亡相关差异基因)

2.3 结肠癌预后模型的构建

分别对TCGA及GEO分型之间的差异表达基因及生存数据进行合并。采用单因素Cox回归分析对TCGA数据生存相关基因进行筛选。筛选出符合 $P<0.05$ 的预后相关基因162个(图4A), $HR>1$ 的高风险基因(红色)160个, $HR<1$ 的低风险基因(绿色)2个。

通过进行Lasso回归分析(图4B),同时对模型进行交叉验证及优化(图4C),找到误差最小的点及对应基因(即参与模型构建的基因)并得到基因系数(Coef系数),从而得到风险得分计算公式:风险得分=Coef系数×基因表达量,即风险得分=(0.118×MID2exp.)+(0.062×LINGO1exp.)+(0.252×IFITM10exp.)+(0.030×EGFL7exp.)+(0.369×IL20RBexp.)+(0.145×P2RX5exp.)+(0.140×TMPRSS11Eexp.)+(0.010×CALB2exp.)+(0.151×MAPK12exp.)+(0.034×HOXC11exp.)+(0.277×UPK3Bexp.)+(-0.327×CCL22exp.)+(0.256×HEYLexp.)+(0.113×RNF207exp.)+(0.035×TMEM88exp.),见表1。对从TCGA获得的每个样本进行计算风险得分,根据风险得分的中位值,将患者划分为高、低风险组(图4D),且随着风险评分的增加,患者死亡人数增加、生存时间缩短(图4E)。同时,生存分析显示,高低风险组之间存在明显差异($P<0.001$,图4F)。为了检测模型的敏感性和特异性,绘制ROC曲线(图4G),结果显示,1年、3年、5年曲线下面积(AUC)分别为0.782、0.766、0.756。对所得到的参与模型构建基因进行降维处理后行PCA和t-SNE分析,结果显示,模型可以很好地区分高、低风险组病人(图4H、I)。

表1 参与模型构建的基因及其Coef系数

Gene	Coef
MID2	0.118 224
LINGO1	0.061 758
IFITM10	0.252 114
EGFL7	0.029 740
IL20RB	0.368 653
P2RX5	0.145 048
TMPRSS11E	0.139 909
CALB2	0.010 394
MAPK12	0.151 021
HOXC11	0.034 186
UPK3B	0.276 544
CCL22	-0.326 910
HEYL	0.256 190
RNF207	0.112 866
TMEM88	0.035 488

2.4 预后模型的验证

以GEO结肠癌样本作为验证组,先按风险得分计算公式计算出每个患者的风险得分,根据TCGA风险得分的中位值将患者划分为高、低风险组(图5A)。高风险组与低风险组相比,病死率更高、生存时间更短(图5B)。同时,生存分析(Kaplan-Meier分析)结果显示,高、低风险组之间存在明显差异, $P=0.013$ (图5C),提示所构建模型能区分高低风险组病人。GEO样本的ROC曲线显示,1年、3年、5年AUC分别为0.617、0.582、0.618(图5D)。因此,模型具有较高的准确性。同样,对GEO样本行PCA和t-SNE降维分析,结果显示,通过本模型,不同风险的患者可以很好地分为高、低风险组(图5E、F)。

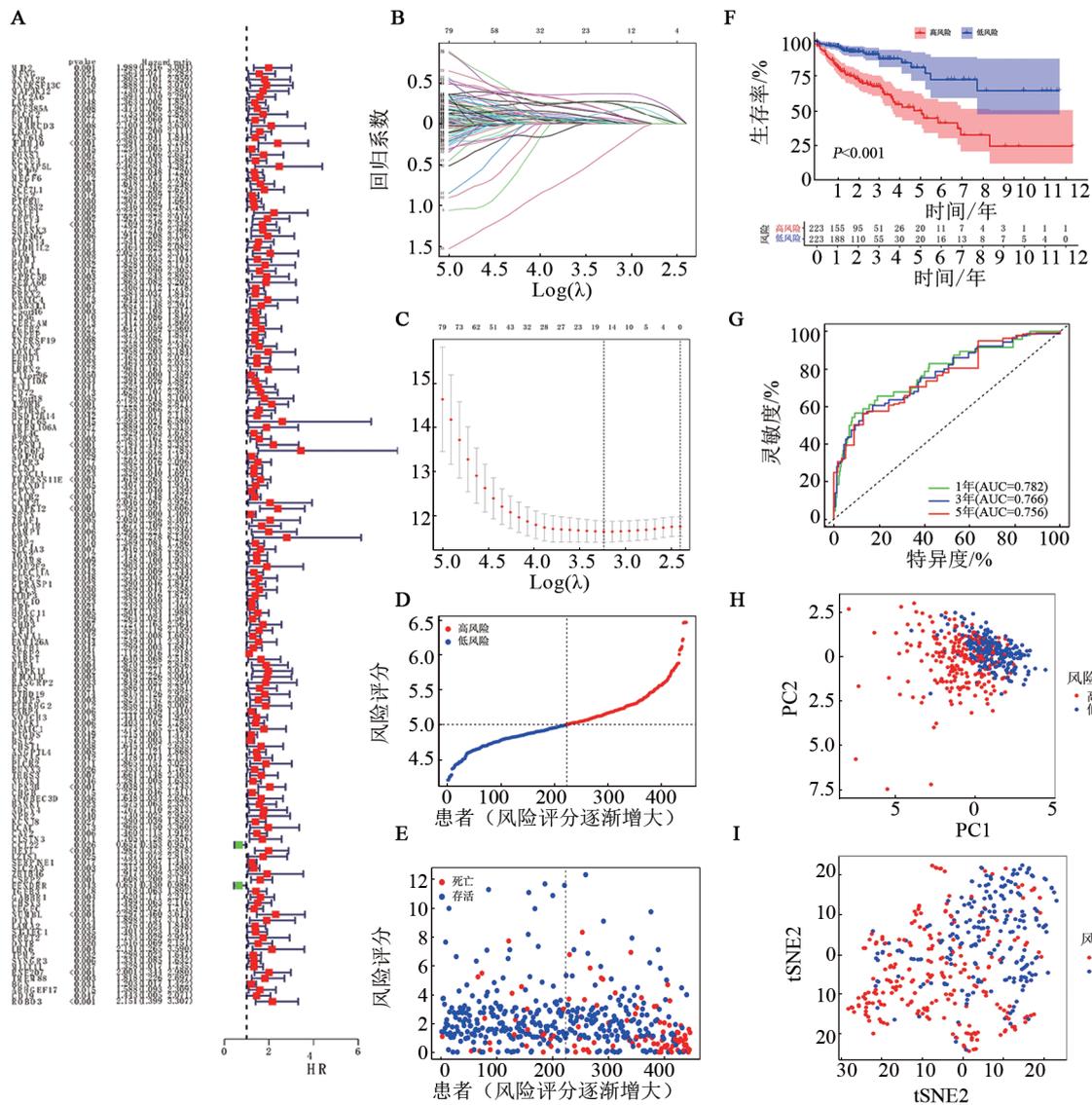
2.5 独立预后分析

分别采用单因素及多因素Cox回归分析来寻找结肠癌患者的独立预后因素。

TCGA样本的单因素Cox回归分析结果(图6A)显示,与预后相关因素有年龄[$P=0.002$, $HR=1.033$, 95%CI(1.012, 1.054)], T分期[$P<0.001$, $HR=2.974$, 95%CI(1.923, 4.598)], M分期[$P<0.001$, $HR=4.409$, 95%CI(2.776, 7.003)], N分期[$P<0.001$, $HR=2.011$, 95%CI(1.551, 2.608)], 风险评分[$P<0.001$, $HR=5.041$, 95%CI(3.646, 6.968)];多因素Cox回归分析结果(图6B)显示,与预后相关的因素有年龄[$P<0.001$, $HR=1.043$, 95%CI(1.021, 1.064)], M分期[$P=0.001$, $HR=2.674$, 95%CI(1.472, 4.855)], 风险评分[$P<0.001$, $HR=3.655$, 95%CI(2.565, 5.209)]。

GEO样本的单因素Cox回归分析结果(图6C)显示,与预后相关因素有性别[$P=0.046$, $HR=1.099$, 95%CI(0.990, 1.028)], M分期[$P<0.001$, $HR=4.783$, 95%CI(2.652, 8.625)], 风险评分[$P=0.021$, $HR=4.783$, 95%CI(1.101, 3.216)];多因素Cox回归分析显示(图6D),与预后相关的因素有性别[$P=0.048$, $HR=1.793$, 95%CI(1.005, 3.198)], M分期[$P<0.001$, $HR=4.512$, 95%CI(2.444, 8.328)], 虽然调整混杂因素后的多因素分析显示风险评分 $P=0.251$,但 $HR=1.342$, 95%CI(0.812, 2.217)。

此外还绘制了TCGA样本风险热图(图6E),发现在高低风险组之间,肿瘤T分期($P<0.001$)、N分期($P<0.001$)、M分期($P<0.01$)存在明显差异。并且,随着患者风险评分增加而表达增加的基因(即高风险基因)有MID2、LINGO1、IFITM10、EGFL7、IL20RB、P2RX5、TMPRSS11E、CALB2、MAPK12、HOXC11、UPK3B、HEYL、RNF207和TMEM88。低风险基因有CCL22。



A: TCGA 样本单因素 Cox 回归分析, $P < 0.05$ 的预后相关基因 162 个, $HR > 1$ 的高风险基因 (红色) 有 160 个, $HR < 1$ 的低风险基因 (绿色) 有 2 个; B: 预后相关差异基因, Lasso 回归分析; C: 对模型进行交叉验证及优化; D: TCGA 样本患者的风险得分由低到高排序; E: 患者生存状态 (虚线左侧为低危人群, 虚线右侧为高危人群); F: 高/低危患者的 Kaplan-Meier 曲线; G: ROC 曲线显示构建模型预测的准确性; H: 基于风险评分的 PCA 图; I: 基于风险评分的 t -SNE 分析

图4 基于TCGA的预测模型构建

2.6 风险差异及富集分析

为了探讨所构建风险模型中高低风险组之间基因功能和通路的差异, 首先按 $\log FC$ 绝对值 > 0.585 且 P 值校正后的 $FDR < 0.05$ 进行过滤, 找到显著差异基因。TCGA 样本中找到 113 个显著差异基因, 其中高风险组有 63 个上调基因 ($\log FC > 0$)、50 个下调基因 ($\log FC < 0$)。同法, 在 GEO 样本中找到 35 个显著差异基因, 其中高风险组有 20 个上调基因、15 个下调基因。

对所找到的显著差异基因分别行 GO 富集分析 (图 7A) 及 KEGG 富集 (图 7B) 分析, 结果显示, TCGA 样本中这些差异基因主要与蛋白质消化吸收、ECM-受体相互作用、焦点黏着、PI3K-Akt 信号通路、HPV 感染等相关。GEO 样本中主要与视黄醇的新陈代

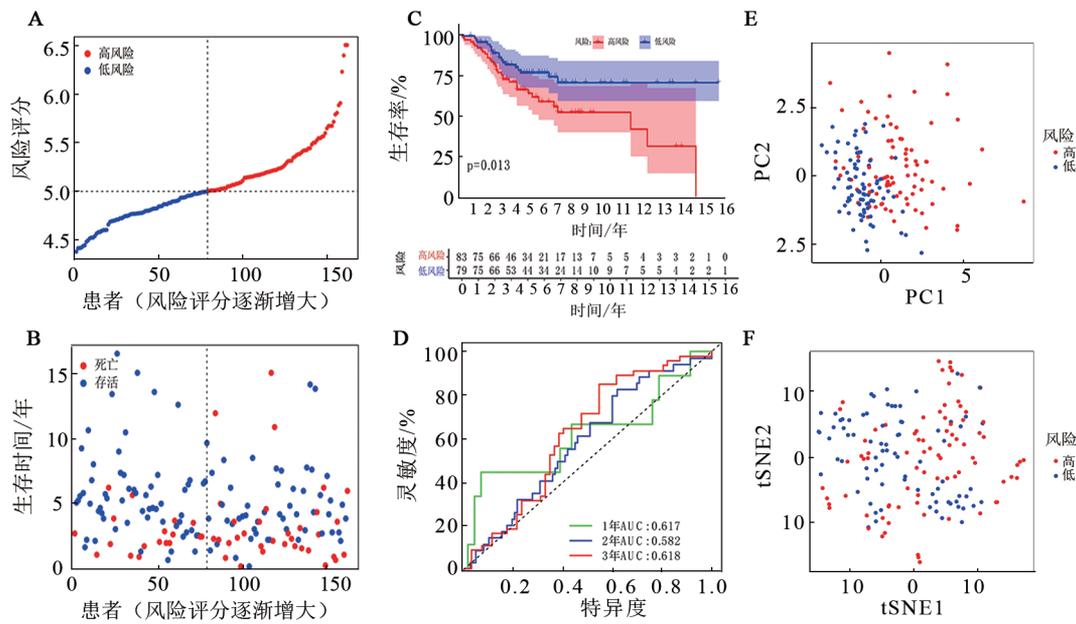
谢、ECM-受体相互作用相关 (图 7C、D)。

2.7 免疫细胞及免疫相关功能分析

为了比较了高低风险组之间免疫细胞及免疫相关功能活性的差异。通过 ssGSEA 分析, 分别对 TCGA 样本、GEO 样本中分型差异表达基因进行免疫细胞及免疫相关功能的打分, 并且对分数进行矫正, 分数越高则表明免疫细胞含量越高或免疫相关功能越活跃。根据免疫打分结果可知哪些免疫细胞或者免疫相关功能在高低风险组之间有差异, 结果显示, TCGA 样本中, 高低风险组之间存在差异的免疫细胞有 DC ($P < 0.01$)、诱导 DC ($P < 0.001$)、巨噬细胞 ($P < 0.01$)、Th2 细胞 ($P < 0.05$)、Treg 细胞 ($P < 0.05$), 其中, 高风险组中除巨噬细胞外, 其余免疫细胞含量均较低 (图 8A)。高风险组中, I 型 IFN 反应通路

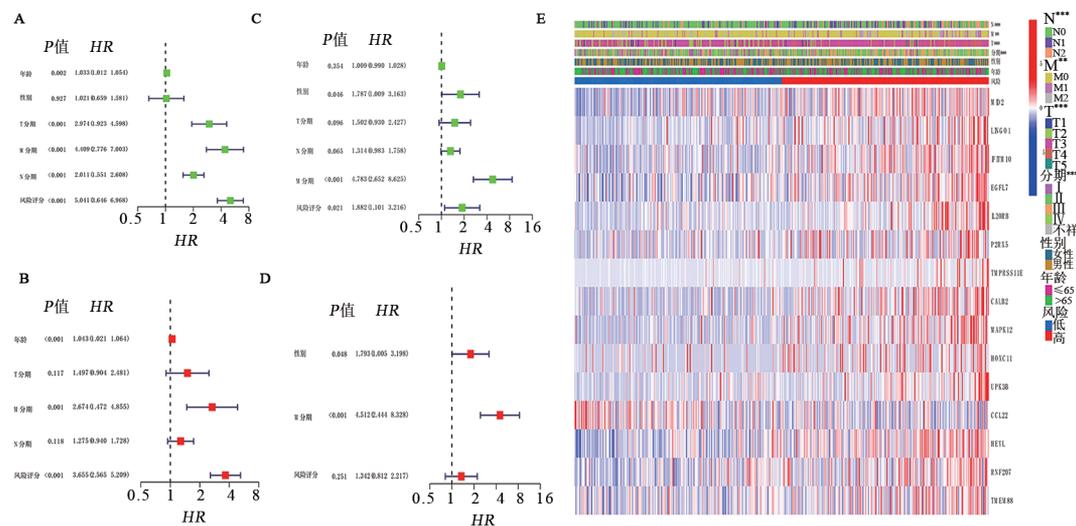
($P < 0.05$) 及 II 型 IFN 反应通路 ($P < 0.01$) 较活跃(图 8B)。而在 GEO 样本中得到了类似的结果(图 8C), 高风险组中诱导 DC ($P < 0.05$)、Th2 细胞

($P < 0.05$)、Treg ($P < 0.01$) 含量均较低。而免疫相关功能方面, 高风险组中 APC_co_stimulatiom ($P < 0.05$) 较活跃(图 8D)。



A: 根据 TCGA 风险得分的中位值, 将 GEO 样本划分为高、低风险组; B: 患者生存状态(低危人群: 虚线左侧, 高危人群: 虚线右侧); C: 高低危患者的 Kaplan-Meier 曲线 ($P=0.013$); D: GEO 样本 ROC 曲线; E: GEO 样本 PCA 分析; F: GEO 样本 t-SNE 降维分析

图 5 基于 GEO 的模型验证



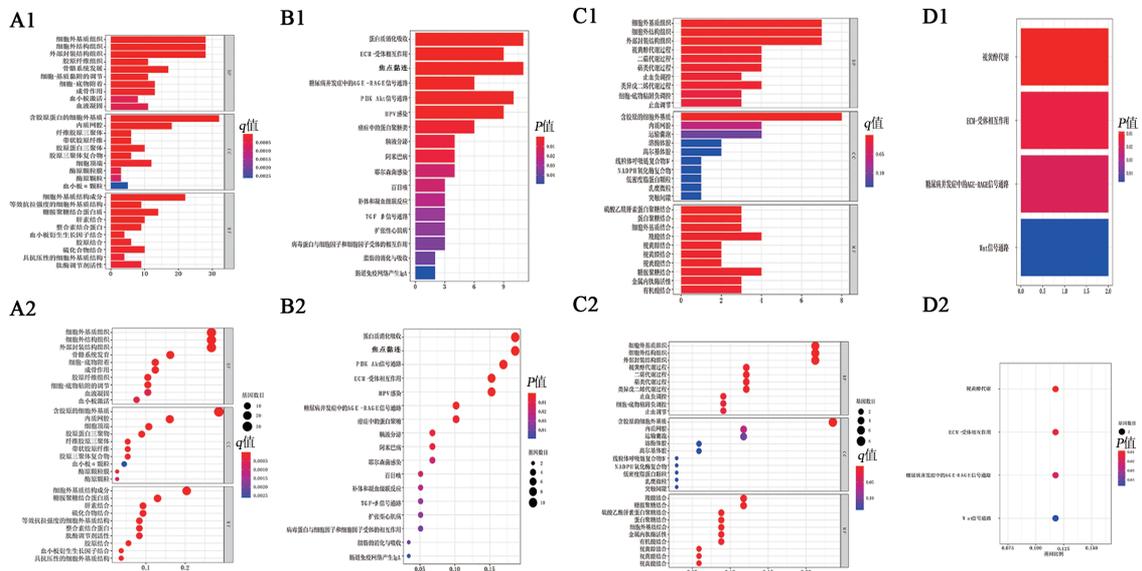
A: TCGA 样本的单因素 Cox 回归分析; B: TCGA 样本的多因素 Cox 回归分析; C: GEO 样本的单因素 Cox 回归分析; D: GEO 样本的多因素 Cox 回归分析; E: TCGA 样本的风险热图(蓝色为低表达, 红色为高表达)

图 6 独立预后分析

3 讨论

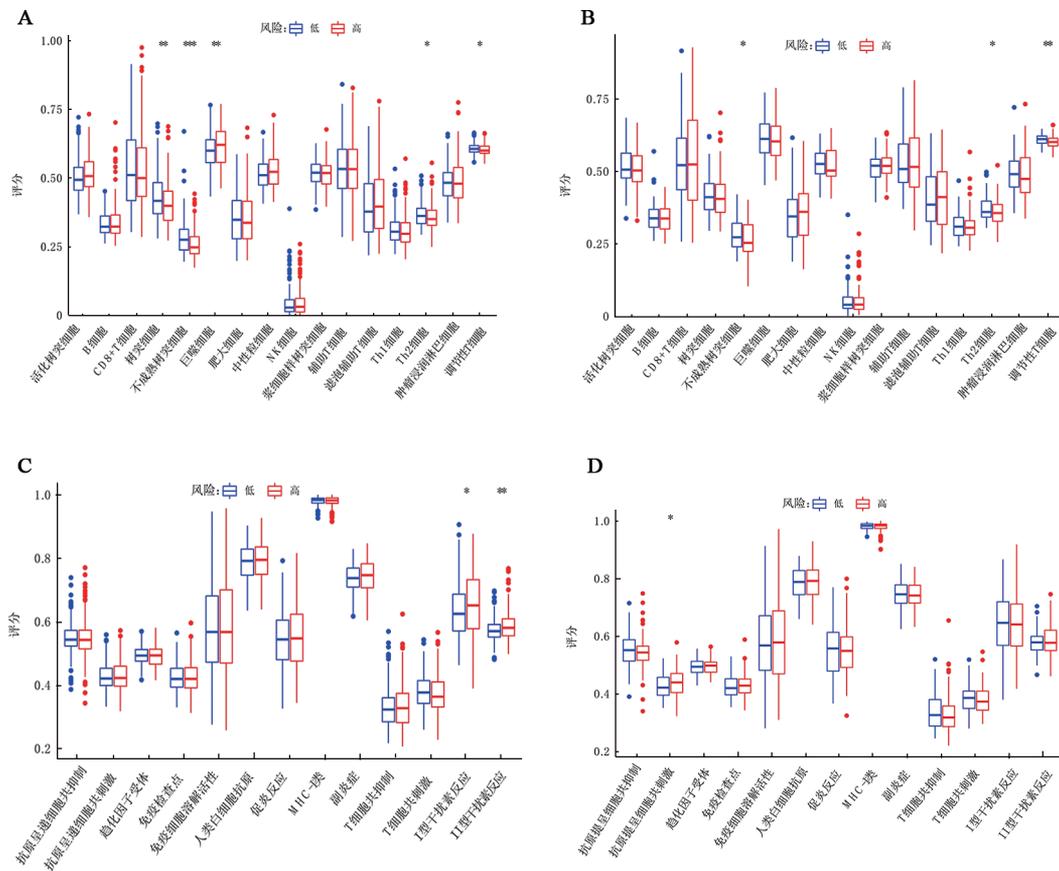
在本研究中, 首先发现 52 个焦亡相关基因间存在紧密联系且存在差异表达, 聚类分析结果显示两型之间临床特征无明显差异。通过 Cox 回归分析及 lasso 回归分析, 本研究构建了一个基于 15 个基因的

预后预测模型, 并利用生存分析、ROC 曲线、PCA 和 t-SNE 分析在 GEO 数据中验证了其良好的预测价值。功能分析显示, 高低风险组之间的差异表达基因与蛋白质消化吸收、ECM-受体相互作用、焦点黏着、PI3K-Akt 信号通路、免疫细胞浸润及通路等相关。其中, 高风险组患者免疫细胞浸润明显减少。



A: TCGA 样本 GO 富集分析(图 6A1、图 6A2 分别为柱状图、气泡图); B: TCGA 样本 KEGG 富集分析(图 6B1、图 6B2 分别为柱状图、气泡图); C: GEO 样本 GO 富集分析(图 6C1、图 6C2 分别为柱状图、气泡图); D: GEO 样本 KEGG 富集分析(图 6D1、图 6D2 分别为柱状图、气泡图); 柱状图: 纵坐标为通路名称、横坐标为附着在每个通路上基因数目、颜色越红富集越显著; 气泡图: 纵坐标为通路名称、横坐标为基因的比例、圆圈大小为附着在每个通路上基因数目、颜色越红富集越显著; q 值为校正后的 P 值)

图 7 富集分析



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

A: TCGA 样本, 高低风险组之间存在差异的免疫细胞; B: TCGA 样本, 高低风险组之间存在差异的免疫通路; C: GEO 样本, 高低风险组之间存在差异的免疫细胞; D: GEO 样本, 高低风险组之间存在差异的免疫功能; 横坐标: 免疫细胞或通路名称; 纵坐标: 免疫打分; 蓝框: 低风险组; 红框: 高风险组

图 8 免疫分析

典型的焦亡是由炎症小体介导的^[14],炎症小体激活导致的慢性炎症在肿瘤发生的所有阶段都起着核心作用,包括免疫抑制、增殖、血管生成和转移。因此,细胞焦亡在结肠癌的预防及治疗中可能提供新的靶点。在结肠癌中,细胞焦亡基因通过哪些通路和功能来调控肿瘤,以及是否影响患者总体生存目前并不清楚,本研究构建了一个基于15个基因的预后预测模型来预测患者的生存。

细胞焦亡的启动依赖于炎症因子。在本研究所构建的模型中,多个基因与炎症因子释放相关。P2RX5(配体门控阳离子通道5)是嘌呤能受体基因家族2的成员,而嘌呤能受体信号传导参与了炎症巨噬细胞的细胞融合和多核过程^[15],也通过炎症小体的激活和IL-1 β 和IL-18的成熟形式的释放与炎症反应相关^[16]。MAPK12(丝裂原活化蛋白激酶12)编码p38 γ ,在结肠炎相关结肠癌模型中,p38 γ 缺乏显著降低结肠癌的形成,同时也降低了促炎细胞因子和趋化因子的产生,在结肠炎相关结肠癌中起重要作用,同时被证实参与了免疫应答的调节^[17]。另外还参与调节结肠癌相关致癌蛋白的产生,如50%结肠癌中发生突变的K-Ras^[18]。TMEM88通过YAP信号通路对ETOH诱导的细胞炎症因子(IL-6和IL-1 β)的分泌必不可少^[19]。而TMEM88在促癌和抑癌上尚有争议,在非小细胞肺癌和三阴乳腺癌中,TMEM88表达升高,通过与DVL(disheveled)相互作用,增加Snail的表达促进肿瘤发展^[20-21];相反,TMEM88通过下调C-myc和cyclin-D1抑制卵巢癌细胞增殖^[22],并且参与调控卵巢癌铂类耐药。UPK3B(uroplakin 3B)被鉴定为肝星状细胞激活的关键基因,而肝星状细胞产生的细胞外基质增加,最终导致慢性肝炎的肝纤维化,敲除UPK3B可抑制TGF- β 1的表达,降低肝星状细胞的激活^[23]。P2RX5、MAPK12、TMEM88、UPK3B都促进了不同炎症因子的释放,可能诱导细胞焦亡的发生。但在我们的模型中上述几种基因均为高风险基因。

EGFL7(表皮生长因子样蛋白7),研究表明EGFL7基因敲除后,脑和脊髓组织中出现T淋巴细胞的浸润,尤其是可产生IL-17的CD4⁺T淋巴细胞,表明EGFL7可减少CNS免疫浸润及炎症反应^[24]。在乳腺癌中,也观察到相同结论^[25]。IL20RB(白介素20受体亚单位 β),与IL20RA组成白介素20受体I复合体^[26]。作为IL20亚家族,它参与了放大的炎症反应及抗炎反应,尤其是自身免疫性疾病及慢性炎症^[27],其中包括炎症肠病。在各种肿瘤中亦有报道,如非小细胞肺癌^[28]、鼻咽癌^[29]、乳腺癌^[30]、胰腺癌^[31]等。HEYL是HESR(hairy and enhancer of split related)基

因家族成员之一(包括HEY1、HEY2、HEYL),已被证实是Notch信号通路的下游靶基因^[32]。乳腺癌中,Notch通路通过HEYL作用抑制TGF- β 信号,促进乳腺癌的启动^[33],并且HEYL过表达时,包括CXCL1/2/3在内的一些血管生成因子上调,调控新生血管的生成^[34]。TGF- β 靶基因HEYL的表观失活参与了P53诱导的肝癌细胞凋亡^[35]。另一方面,HEYL可抑制雄激素受体相关基因,抑制前列腺癌细胞增殖^[36]。所以HEYL在不同肿瘤中可发挥促癌或抑癌的作用。但在本研究结果中,EGFL7、IL20RB、HEYL似乎都是高危预后不良因素,因为他们的HR值分别为1.709、2.122、1.987,且P值均小于0.001。

肿瘤细胞的增殖、分化、死亡均与细胞周期密切相关,细胞周期受相关基因调控,本模型中涉及IFITM、CALB2、MID2、RNF207、HOX等基因。IFITM(干扰素诱导跨膜蛋白)可作为肿瘤抑制因子,他们具有控制细胞周期的能力,并参与细胞增殖与黏附^[37]。例如IFITM与CTSD融合可促进乳腺癌细胞的增殖^[38]。CALB2目前被认为是最主要的钙结合蛋白^[39]。在卵巢癌中,CALB2的高表达与较差的预后相关,而siRNA介导的CALB2沉默能明显抑制卵巢癌细胞的黏附,减少转移^[40]。CALB2在大部分低分化结肠癌中表达,是受丁酸负调控的基因之一,而丁酸盐来源于肠道细菌对纤维素的腔内酵解,通过阻断细胞周期、调节分化和诱导凋亡,在结肠黏膜稳态中发挥重要作用^[41]。MID2和RNF207均具有E3泛素连接酶活性,E3泛素连接酶是泛素化或受损的亲蛋白胞内降解的主要途径^[42]。E3连接酶被越来越多的人认为是癌症的生物标志物,在调节细胞增殖、分化和死亡等多种细胞过程中发挥重要作用^[43]。MID2是属于TRIM基因家族,调节微管蛋白磷酸酶2A的转化,在细胞分裂中起重要作用^[44]。乳腺癌中,MID2的过表达可能带来较差的预后,而抑制MID2可很大程度上消除MORC4诱导的化疗药物耐药^[45]。重要的是,研究人员发现MID2在活化的T细胞中上调,在CTL中可控制溶解颗粒的胞吐,并参与免疫反应^[46]。研究表明,下调RNF207可导致ATP浓度下降和线粒体功能障碍^[47]。在子宫内膜癌中,与淋巴结转移阳性患者相比,淋巴结阴性患者RNF207表达更高^[48]。

细胞焦亡与凋亡不完全相同,但可能存在一些相似之处,肿瘤细胞的死亡可能是多种死亡模式的共存并相互作用的结果^[49]。本研究构建的预后模型中与凋亡相关基因有LINGO1、TMPRSS11E、HOX、CALB2等。LINGO1是富亮氨酸重复序列和含免疫球蛋白结构域蛋白,研究表明,TrkB可增强肿瘤细胞

的迁移、侵袭、存活和血管生成,减少化疗诱导的细胞凋亡^[50],而LINGO1及其下游分子的表达,可抑制TrkB磷酸化,达到抗脑胶质瘤细胞的目的^[51],LINGO1的表达,可能增殖化疗所致肿瘤细胞的凋亡。TMPRSS11E(transmembrane protease serine 11E)也叫作DESC1(differentially expressed in squamous cell carcinoma 1)属于II型跨膜丝氨酸蛋白酶家族(type II transmembrane protease serine, TTSP),它可通过下调EGFR/AKT信号通路增加细胞对凋亡的敏感性,从而抑制食管癌的发展^[52],并且抑制食管癌细胞的化疗耐药^[53]。但在膀胱癌中得到了相反的结论,TMPRSS11E在膀胱癌中显著上调,与较差的预后相关^[54]。HOX基因编码的HOX蛋白具有转录因子的功能,在细胞凋亡、分化、血管生成等方面发挥重要作用^[55]。在多种恶性肿瘤中,HOXC11高表达促进肿瘤细胞增殖、迁移、细胞周期加快,预后差,如胃癌^[56]、乳腺癌^[57]、肾癌^[58]、宫颈癌^[59]、黑色素瘤^[60]。

在15个预测基因中,CCL22(趋化因子22)是唯一一个低风险基因,CCL22是一种分泌蛋白,可对单核细胞、DC、NK细胞和长期激活的T淋巴细胞发挥趋化活性^[61],并参与多种炎症通路的调控,如哮喘^[62]、与自身免疫性相关的类风湿关节炎^[63]。CCL22在B细胞及T细胞之间起联系及调节作用,在CD40刺激下,生发中心B细胞上调CCL22,通过与辅助T细胞上CCR4结合,可从远处吸引多个辅助细胞,从而增加得到帮助的机会^[64],表明CCL22是参与肿瘤免疫的重要组成。但与本研究结论相悖的是,多种肿瘤中,CCL22有促癌作用。卵巢癌中CCL22被发现诱导调节性T细胞进入肿瘤团块,并抑制细胞免疫^[65]。M2巨噬细胞中CCL22高表达导致肠癌,并对氟尿嘧啶耐药^[66]。高CCL22阳性细胞浸润的宫颈癌患者易淋巴结转移,且导致较差的预后^[67]。CCL22信号通路强烈促进乙肝病毒相关肝癌中索拉非尼耐药^[68]。

细胞焦亡的过程是强烈炎症反应与免疫反应,综上所述,在本模型中有多个基因参与了免疫反应,如P2RX5、MAPK12、MID2、CCL22、EGFL7、IL20RB等。高危组中免疫细胞浸润明显减少,包括DC、诱导树突状细胞、Th2细胞、Treg细胞,提示免疫功能受损可能与上述基因调节相关。另外,在促癌和抑癌上有争议的基因有TMPRSS1E、HEYL、TMEM88、CCL22,但在本模型中,TMPRSS1E、HEYL、TMEM88为高危基因,CCL22为低危基因,这需要更多的实验来证实。

综上所述,本研究结果表明,结肠癌预后与细胞焦亡相关,结肠癌组织及正常组织之间焦亡相关基因表达有明显差异;构建了一个基于15个基因的结

肠癌预后预测模型,且预测模型所得到的风险评分是结肠癌的独立预后因素,部分基因与肿瘤免疫相关。同时为结肠癌的治疗提供潜在的新靶点。

[参考文献]

- [1] CAO W, CHEN H D, YU Y W, *et al.* Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(7): 783-791. DOI: 10.1097/CM9.0000000000001474.
- [2] CHEN J Y, ZHENG Y Q, WANG H H, *et al.* Cause of death among patients with colorectal cancer: a population-based study in the United States[J]. *Aging*, 2020, 12(22): 22927-22948. DOI: 10.18632/aging.104022.
- [3] ZHOU P, WU X Y, CHEN H, *et al.* The mutational pattern of homologous recombination-related (HRR) genes in Chinese colon cancer and its relevance to immunotherapy responses[J]. *Aging*, 2020, 13(2): 2365-2378. DOI: 10.18632/aging.202267.
- [4] LICHTENSTERN C R, NGU R K, SHALAPOUR S, *et al.* Immunotherapy, inflammation and colorectal cancer[J/OL]. *Cells*, 2020, 9(3): 618[2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32143413/>. DOI: 10.3390/cells9030618.
- [5] DIVISION C D. Cancer facts and figures [2023-04-11][EB/OL]. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2019.html>.
- [6] FRANK D, VINCE J E. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(1): 99-114. DOI:10.1038/s41418-018-0212-6.
- [7] WU D B, CHEN Y F, SUN Y X, *et al.* Gasdermin family: a promising therapeutic target for cancers and inflammation-driven diseases[J]. *J Cell Commun Signal*, 2020, 14(3): 293-301. DOI: 10.1007/s12079-020-00564-5.
- [8] FINK S L, COOKSON B T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages[J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(11): 1812-1825. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00751.x.
- [9] ROGERS C, ERKES D A, NARDONE A, *et al.* Gasdermin pores permeabilize mitochondria to augment caspase-3 activation during apoptosis and inflammasome activation[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1689[2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC6459836/>. DOI:10.1038/s41467-019-09397-2.
- [10] TAN G, HUANG C Y, CHEN J Y, *et al.* HMGB1 released from GSDME-mediated pyroptotic epithelial cells participates in the tumorigenesis of colitis-associated colorectal cancer through the ERK1/2 pathway[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 149 [2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33160389/>. DOI: 10.1186/s13045-020-00985-0.
- [11] AMARAL M P, BRANCO L M, STRASSER A, *et al.* Paradise revealed III: why so many ways to die? Apoptosis, necroptosis, pyroptosis, and beyond[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(5): 1740-1742. DOI:10.1038/s41418-020-0526-z.
- [12] KARKI R, KANNEGANTI T D. Diverging inflammasome signals in tumorigenesis and potential targeting[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(4): 197-214. DOI:10.1038/s41568-019-0123-y.
- [13] YU P, ZHANG X, LIU N, *et al.* Pyroptosis: mechanisms and

- diseases[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 128 [2023-04-11]. <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00507-5>. DOI: 10.1038/s41392-021-00507-5.
- [14] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro-inflammatory programmed cell death[J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(3): 113-114. DOI:10.1016/s0966-842x(00)01936-3.
- [15] LEMAIRE I, FALZONI S, ADINOLFI E. Purinergic signaling in giant cell formation[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2012, 4(1): 41-55. DOI:10.2741/359.
- [16] IDZKO M, FERRARI D, ELTZSCHIG H K. Nucleotide signalling during inflammation[J]. *Nature*, 2014, 509(7500): 310-317. DOI: 10.1038/nature13085.
- [17] DEL REINO P, ALSINA-BEAUCHAMP D, ESCÓS A, *et al.* Pro-oncogenic role of alternative p38 mitogen-activated protein kinases p38 γ and p38 δ , linking inflammation and cancer in colitis-associated colon cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(21): 6150-6160. DOI:10.1158/0008-5472.can-14-0870.
- [18] QI X M, POHL N M, LOESCH M, *et al.* p38 α antagonizes p38 γ activity through c-Jun-dependent ubiquitin-proteasome pathways in regulating ras transformation and stress response[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(43): 31398-31408. DOI:10.1074/jbc.m703857200.
- [19] LI L Y, YANG C C, LI S W, *et al.* TMEM88 modulates the secretion of inflammatory factors by regulating YAP signaling pathway in alcoholic liver disease[J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(8): 789-800. DOI:10.1007/s00011-020-01360-y.
- [20] ZHANG X P, YU X M, JIANG G Y, *et al.* Cytosolic TMEM88 promotes invasion and metastasis in lung cancer cells by binding DVLS[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(21): 4527-4537. DOI: 10.1158/0008-5472.can-14-3828.
- [21] YU X, ZHANG X, ZHANG Y, *et al.* Cytosolic TMEM88 promotes triple-negative breast cancer by interacting with Dvl[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25034-25045. DOI:10.18632/oncotarget.4379.
- [22] Maria, LEON D, . Transmembrane protein 88 (TMEM88) promoter hypomethylation is associated with platinum resistance in ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 142(3): 539-547. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.06.017.
- [23] HUANG H M, ZHOU X R, LIU Y J, *et al.* Histone deacetylase inhibitor givinostat alleviates liver fibrosis by regulating hepatic stellate cell activation[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(5): 305[2023-04-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7974418/>. DOI: 10.3892/mmr.2021.11944.
- [24] LAROCHELLE C, UPHAUS T, BROUX B, *et al.* EGFL7 reduces CNS inflammation in mouse[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9: 819 [2023-04-11]. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-03186-z>. DOI:10.1038/s41467-018-03186-z.
- [25] PINTE S, SONCIN F. Egf η 7 promotes tumor escape from immunity[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(3): 375-376. DOI: 10.4161/onci.18964.
- [26] KINGO K, MÖSSNER R, RÄTSEP R, *et al.* Association analysis of IL20RA and IL20RB genes in psoriasis[J]. *Genes Immun*, 2008, 9(5): 445-451. DOI:10.1038/gene.2008.36.
- [27] RUTZ S, WANG X T, OUYANG W J. The IL-20 subfamily of cytokines: from host defence to tissue homeostasis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(12): 783-795. DOI:10.1038/nri3766.
- [28] ANNE-MARIE, BAIRD. IL-20 is epigenetically regulated in NSCLC and down regulates the expression of VEGF[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(12): 1908-1918. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.04.012.
- [29] FEI, GAO. miR-9 modulates the expression of interferon-regulated genes and MHC class I molecules in human nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(3): 610-616. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.12.097.
- [30] OMARINI C, BETTELLI S, CAPRERA C, *et al.* Clinical and molecular predictors of long-term response in HER2 positive metastatic breast cancer patients[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(10): 879-886. DOI: 10.1080/15384047.2018.1480287.
- [31] HAIDER S, WANG J, NAGANO A, *et al.* A multi-gene signature predicts outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma[J/OL]. *Genome Med*, 2014, 6(12): 105 [2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25587357/>. DOI: 10.1186/s13073-014-0105-3.
- [32] ISO T, KEDES L, HAMAMORI Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 194(3): 237-255. DOI: 10.1002/jcp.10208.
- [33] HAN L F, DIEHL A, NGUYEN N K, *et al.* The Notch pathway inhibits TGF β signaling in breast cancer through HEYL-mediated crosstalk[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(22): 6509-6518. DOI: 10.1158/0008-5472.can-14-0816.
- [34] HAN L, KORANGATH P, NGUYEN N K, *et al.* HEYL regulates neoangiogenesis through overexpression in both breast tumor epithelium and endothelium[J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 581459 [2023-04-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7845423/>. DOI: 10.3389/fonc.2020.581459.
- [35] KUO K K, JIAN S F, LI Y J, *et al.* Epigenetic inactivation of transforming growth factor- β 1 target gene HEYL, a novel tumor suppressor, is involved in the P53-induced apoptotic pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(7): 782-793. DOI:10.1111/hepr.12414.
- [36] DEREK N, Lavery, . Repression of androgen receptor activity by HEYL, a third member of the hairy/enhancer-of-split-related family of Notch effectors[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(20): 17796-17808. DOI:10.1074/jbc.M110.198655.
- [37] HICKFORD D, FRANKENBERG S, SHAW G, *et al.* Evolution of vertebrate interferon inducible transmembrane proteins[J/OL]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 155 [2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3424830/>. DOI:10.1186/1471-2164-13-155.
- [38] VARLEY K E, GERTZ J, ROBERTS B S, *et al.* Recurrent read-through fusion transcripts in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 146(2): 287-297. DOI:10.1007/s10549-014-3019-2.
- [39] BLUM W, PECZE L, RODRIGUEZ J W, *et al.* Regulation of calretinin in malignant mesothelioma is mediated by septin 7 binding to the CALB2 promoter[J/OL]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 475 [2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5922012/>. DOI:10.1186/s12885-018-4385-7.
- [40] OJASALU K, BREHM C, HARTUNG K, *et al.* Upregulation of mesothelial genes in ovarian carcinoma cells is associated with an unfavorable clinical outcome and the promotion of cancer cell adhesion[J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(9): 2142-2162. DOI: 10.1002/1878-0261.12749.
- [41] HÄNER K, HENZI T, PFEFFERLI M, *et al.* A bipartite butyrate-responsive element in the human calretinin (CALB2) promoter acts as a repressor in colon carcinoma cells but not in mesothelioma cells[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 109(3): 519-531. DOI:10.1002/jcb.22429.

- [42] HAN Q Y, WANG H X, LIU X H, *et al.* Circulating E3 ligases are novel and sensitive biomarkers for diagnosis of acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 128(11): 751-760. DOI: 10.1042/CS20140663.
- [43] SUN Y. E3 ubiquitin ligases as cancer targets and biomarkers[J]. *Neoplasia*, 2006, 8(8): 645-654. DOI:10.1593/neo.06376.
- [44] LI B J, ZHOU T H, ZOU Y. Mid1/Mid2 expression in craniofacial development and a literature review of X-linked opitz syndrome[J/OL]. *Mol Genet Genomic Med*, 2016, 4(1): 95-105[2023-04-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707030/>. DOI: 10.1002/mgg3.183.
- [45] LUO J, ZENG S Y, TIAN C. MORC4 promotes chemoresistance of luminal A/B breast cancer via STAT3-mediated MID2 upregulation [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 6795-6803. DOI: 10.2147/OTT.S260509.
- [46] BODING L, HANSEN A K, MERONI G, *et al.* MID2 can substitute for MID1 and control exocytosis of lytic granules in cytotoxic T cells[J]. *APMIS*, 2015, 123(8): 682-687. DOI: 10.1111/apm.12402.
- [47] WATARU M, HIDEHISA T, MASASHI W, *et al.* The novel heart-specific RING finger protein 207 is involved in energy metabolism in cardiomyocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 100: 43-53. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.09.013.
- [48] LÓPEZ-OZUNA V M, KOGAN L, HACHIM M Y, *et al.* Identification of predictive biomarkers for lymph node involvement in obese women with endometrial cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 695404[2023-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34307159/>. DOI:10.3389/fonc.2021.695404.
- [49] FRITSCH M, GÜNTHER S D, SCHWARZER R, *et al.* Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 683-687. DOI:10.1038/s41586-019-1770-6.
- [50] PEARSE R N, SWENDEMAN S L, LI Y, *et al.* A neurotrophin axis in myeloma: TrkB and BDNF promote tumor-cell survival[J]. *Blood*, 2005, 105(11): 4429-4436. DOI:10.1182/blood-2004-08-3096.
- [51] LIN X B, JIANG L, DING M H, *et al.* Anti-tumor activity of phenoxybenzamine hydrochloride on malignant glioma cells[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(3): 2901-2908. DOI: 10.1007/s13277-015-4102-y.
- [52] NG H Y, KO J M Y, YU V Z, *et al.* DESC1, a novel tumor suppressor, sensitizes cells to apoptosis by downregulating the EGFR/AKT pathway in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(12): 2940-2951. DOI: 10.1002/ijc.30034.
- [53] CHANG Z W, JIA Y X, ZHANG W J, *et al.* LncRNA-TUSC7/miR-224 affected chemotherapy resistance of esophageal squamous cell carcinoma by competitively regulating DESC1[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 56. DOI: 10.1186/s13046-018-0724-4.
- [54] CHEN S T, ZHANG N, SHAO J L, *et al.* A novel gene signature combination improves the prediction of overall survival in urinary bladder cancer[J]. *J Cancer*, 2019, 10(23): 5744-5753. DOI: 10.7150/jca.30307.
- [55] SHAH N, SUKUMAR S. The Hox genes and their roles in oncogenesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(5): 361-371. DOI: 10.1038/nrc2826.
- [56] PENG X, SUN J Y, LONG Y, *et al.* The significance of HOXC11 and LSH in survival prediction in gastric adenocarcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 1517-1529. DOI: 10.2147/OTT.S273195.
- [57] MCILROY M, MCCARTAN D, EARLY S, *et al.* Interaction of developmental transcription factor HOXC11 with steroid receptor coactivator SRC-1 mediates resistance to endocrine therapy in breast cancer[corrected[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(4): 1585-1594. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-09-3713.
- [58] LIU Y J, ZHU Y, YUAN H X, *et al.* Overexpression of HOXC11 homeobox gene in clear cell renal cell carcinoma induces cellular proliferation and is associated with poor prognosis[J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(4): 2821-2829. DOI:10.1007/s13277-014-2909-6.
- [59] SAHA S S, CHOWDHURY R R, MONDAL N R, *et al.* Expression signatures of HOX cluster genes in cervical cancer pathogenesis: impact of human papillomavirus type 16 oncoprotein E7[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22): 36591-36602. DOI: 10.18632/oncotarget.16619.
- [60] DEBLACAM C, BYRNE C, HUGHES E, *et al.* HOXC11-SRC-1 regulation of S100beta in cutaneous melanoma: new targets for the kinase inhibitor dasatinib[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(1): 118-123. DOI:10.1038/bjc.2011.193.
- [61] GODISKA R, CHANTRY D, RAPORT C J, *et al.* Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells[J]. *J Exp Med*, 1997, 185(9): 1595-1604. DOI: 10.1084/jem.185.9.1595.
- [62] WILLIAMS T C, JACKSON D J, MALTBY S, *et al.* Rhinovirus-induced CCL17 and CCL22 in asthma exacerbations and differential regulation by STAT6[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021, 64(3): 344-356. DOI:10.1165/rcmb.2020-0011oc.
- [63] WANG L, WANG L, HAO P, *et al.* Anti-CCL22 increases regulatory T cells in CD4⁺ T cells of rheumatoid arthritis patients via STAT5 pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 2127-2132. DOI:10.3892/etm.2019.8404.
- [64] LIU B, LIN Y H, YAN J C, *et al.* Affinity-coupled CCL22 promotes positive selection in germinal centres[J]. *Nature*, 2021, 592(7852): 133-137. DOI:10.1038/s41586-021-03239-2.
- [65] CURIEL T J, COUKOS G, ZOU L H, *et al.* Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 942-949. DOI:10.1038/nm1093.
- [66] WEI C, YANG C G, WANG S Y, *et al.* M2 macrophages confer resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer through the activation of CCL22/PI3K/AKT signaling[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3051-3063. DOI:10.2147/OTT.S198126.
- [67] WANG Q, SCHMOECKEL E, KOST B P, *et al.* Higher CCL22⁺ cell infiltration is associated with poor prognosis in cervical cancer patients[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(12): 2004 [2023-04-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6966573/>. DOI: 10.3390/cancers11122004.
- [68] GAO Y N, FAN X, LI N, *et al.* CCL22 signaling contributes to sorafenib resistance in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104800[2023-04-11]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104800>. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104800.

[收稿日期] 2022-08-28

[修回日期] 2023-04-11

[本文编辑] 黄静怡