



DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.008

· 临床研究 ·

## CCT各亚基在甲状腺癌中的表达及其对患者临床预后、肿瘤微环境和化疗药物敏感性的影响

施晓辉<sup>1</sup>, 白云峰<sup>1,2△</sup>, 塔拉<sup>1</sup>, 白银宝<sup>1</sup>, 顾佳慧<sup>2</sup> (1. 内蒙古自治区人民医院肿瘤中心 甲状腺肿瘤外科, 内蒙古呼和浩特 010000; 2. 内蒙古科技大学包头医学院 研究生院, 内蒙古 包头 014000)

**[摘要]** 目的: 探究含t-复合物1的伴侣蛋白(CCT)的8个亚基在甲状腺癌(TC)组织中的表达及其与TC分期、患者预后、免疫细胞浸润、免疫检查点表达和化疗药物敏感性的相关性。方法: 采用TCGA数据库数据分析CCT各亚基在TC组织和癌旁组织中的表达; 用TCGA数据库数据分析CCT各亚基表达与TC患者预后的关系; 用GSEA法分析CCT各亚基的生物学功能; 用TCGA和TIMER2.0数据库数据分析CCT各亚基表达与肿瘤微环境、免疫细胞浸润、化疗药物敏感性、免疫检查点表达的相关性。结果: 数据库数据分析显示, 在TC组织中CCT3、CCT7和CCT8 mRNA均呈高表达( $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ), 而CCT1、CCT2、CCT5和CCT6B mRNA均呈低表达( $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ); CCT3、CCT6B、CCT8 mRNA的表达与T分期有关联( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )、CCT6B mRNA的表达与淋巴结转移有关联( $P < 0.01$ ), CCT5 mRNA的表达与远处转移有关联( $P < 0.05$ ), CCT6B可能是TC患者OS的独立预后生物标志物; CCT各亚基mRNA表达主要富集于移植植物排斥、补体和干扰素-γ等信号通路; CCT各亚基mRNA低表达组TC组织的基质、免疫和综合评分均显著高于高表达组( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ); CCT各亚基mRNA表达与TC的基质评分、免疫评分和综合评分均呈负相关(均 $P < 0.01$ ); CCT各亚基mRNA的表达与CD8<sup>+</sup>T细胞和巨噬细胞浸润均呈正相关(均 $P < 0.05$ ), 多数CCT亚基(CCT6B和CCT7除外)的mRNA表达与中性粒细胞的浸润呈正相关( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ), 而CCT3、4、7、8 mRNA的表达与CD4<sup>+</sup>T细胞浸润呈负相关(均 $P < 0.05$ ); 与低表达组比较, 大多数CCT亚基mRNA高表达的TC患者对索拉非尼、乐伐替尼、达拉非尼、曲美替尼、凡德他尼和卡博替尼等化疗药物的IC<sub>50</sub>均明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ); TC组织中CCT各亚基mRNA的表达与PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、CD80和CD86表达均有明显关联( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ )。结论: CCT复合物可能通过影响肿瘤微环境促进TC的发生发展, 进而影响患者预后, 其可成为难治性TC诊断和免疫治疗的潜在靶点。

**[关键词]** 甲状腺癌; CCT复合物; 预后; 免疫细胞浸润; 药物敏感性

**[中图分类号]** R736.1    **[文献标识码]** A    **[文章编号]** 1007-385x(2024)09-0895-12

## Expression of CCT subunits in thyroid cancer and their impacts on clinical prognosis, tumor microenvironment and chemotherapy drug sensitivity of patients

SHI Xiaohui<sup>1</sup>, BAI Yunfeng<sup>1,2△</sup>, TA La<sup>1</sup>, BAI Yinbao<sup>1</sup>, GU Jiahui<sup>2</sup> (1. Department of Thyroid Oncology, Cancer Center, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China; 2. Graduate School of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014000, Inner Mongolia, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the expression of eight subunits of chaperonin containing t-complex 1 (CCT) in thyroid cancer (TC) tissues and their correlation with TC staging, patient prognosis, immune cell infiltration, immune checkpoint expression, and chemotherapy drug sensitivity. Methods: Data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database were used to analyze the expression of each CCT subunit in TC tissues and para-cancerous tissues as well as their relationship with the prognosis of TC patients. The biological function of each CCT subunit was analyzed by the Gene Set Enrichment Analysis (GSEA). Data from the TCGA and TIMER2.0 databases were used to analyze the correlations between the expression of each CCT subunit and the tumor microenvironment, infiltration of immune cells, chemotherapeutic drug sensitivity, and immune checkpoint expression. Results: Database analysis showed high mRNA expression of CCT3, CCT7, and CCT8 and low mRNA expression of CCT1, CCT2, CCT5, and CCT6B in TC tissues ( $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). CCT3, CCT6B, and CCT8 mRNA expression were correlated with T staging ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); CCT6B mRNA expression was associated with lymph node metastasis ( $P < 0.01$ ); CCT5 mRNA expression was

**[作者简介]** 施晓辉(1981—),男,博士,主任医师,主要从事甲状腺肿瘤基础与临床的研究,E-mail:menghegala515@sina.com;白云峰(1997—),男,硕士生,主要从事甲状腺肿瘤基础与临床的研究,E-mail:yunfeng9702@163.com。△为共同第一作者

**[通信作者]** 施晓辉,E-mail:menghegala515@sina.com



associated with distant metastasis ( $P < 0.05$ ); and CCT6B may serve as an independent prognostic biomarker for overall survival (OS) in TC patients. CCT subunit expression was primarily enriched in signaling pathways such as graft rejection, complement, and interferon-gamma. Low expression groups of CCT subunits demonstrated significantly higher TC stromal score, immune infiltration score and composite score than the high expression groups ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ), displaying a negative correlation between the expression of each CCT subunit and TC stromal, immune infiltration and composite scores (all  $P < 0.01$ ). The mRNA expression of each CCT subunit was positively correlated with CD8<sup>+</sup> T cell and macrophage infiltration (all  $P < 0.05$ ), the mRNA expression of most CCT subunits (except CCT6B and CCT7) was positively correlated with neutrophil infiltration ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ), whereas the mRNA expression of CCT3, 4, 7, and 8 was negatively correlated with CD4<sup>+</sup> T-cell infiltration (all  $P < 0.05$ ). Compared to the low-expression group, patients with high mRNA expression of most CCT subunit had significantly higher IC<sub>50</sub> for chemotherapeutic agents such as sorafenib, levatinib, darafenib, trametinib, vandetanib, and cabozantinib (all  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). CCT subunit expression in TC tissues was significantly correlated with the expression of PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, CD80, and CD86 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). **Conclusion:** CCT complexes may promote TC development by affecting the tumor microenvironment thus impacting patient prognosis, potentially serving as a target for the diagnosis and immunotherapy of refractory TC.

**[Key words]** thyroid cancer; CCT complex; prognosis; immune infiltration; drug sensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(9): 895-906. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.008]

甲状腺癌(thyroid cancer, TC)是最常见的内分泌恶性肿瘤,是近年来发病率上升最快的肿瘤之一,其增长速度显著超过其他肿瘤。根据2020年统计,TC在全球范围内新发病率为3.1%,排在世界肿瘤新发病例总数的第九位<sup>[1]</sup>,预计到2030年,TC将取代结直肠癌成为第四大恶性肿瘤<sup>[2]</sup>。虽然多数TC通过外科手术和放射性<sup>131</sup>I辅助治疗后预后较好,但仍有部分TC可进展为晚期难治性癌,易转移和复发。目前用于晚期TC的药物有索拉非尼、乐伐替尼<sup>[3]</sup>等药物,这类药物为多靶点抑制剂,缺乏特异性,并且不良反应特别强。随着近年免疫抑制剂的临床推广,在部分晚期TC的治疗通过免疫抑制剂单独或联合多靶点抑制剂,可显著提高患者的生存率并改善生活质量<sup>[4]</sup>,但疗效有限。因此迫切需要新的生物标志物及药物靶点,以便早期发现和个体化治疗来延长患者的生存期。

在肿瘤发生过程中,对蛋白质折叠的需求增加,以支持癌细胞不受调节的生长和存活<sup>[5]</sup>。含t-复合物1的伴侣蛋白(chaperonin containing t-complex 1, CCT)属于II型分子伴侣素,以ATP依赖的方式通过复杂的网络系统在细胞内协助蛋白折叠、组装、转运、降解,重叠和避免蛋白质错配方面的关键作用,参与约10%胞质蛋白的折叠<sup>[6]</sup>。CCT主要由8种不同的亚基(CCT1~CCT8)构成,介导细胞骨架蛋白(微管蛋白和肌动蛋白)<sup>[7]</sup>和其他致癌蛋白的折叠,例如VHL、p53、STAT3等<sup>[8-10]</sup>。目前,CCT在许多报道中证明与肿瘤的进展、预后和治疗有关<sup>[11]</sup>,然而CCT各亚基在TC中的研究甚少。本研究通过生物信息学分析探讨CCT复合物的8个亚基在TC组织中的表达、临床意义、分子机制及其对肿瘤微环境的影响,判断是否能成为潜在分子标志物和治疗靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 利用数据库数据分析CCT各亚基mRNA在TC

#### 组织中的表达

利用R Studio 4.3.1软件中“TCGAbiolinks”包下载癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中的TC组织表达谱数据,包括500例TC组织样本和57例癌旁组织,通过“DESeq2”包分析在TC组织与癌旁组织中CCT复合物8个亚基的表达差异,并对配对样本进行表达差异分析。

#### 1.2 利用数据库数据分析TC患者临床特征与CCT各亚基mRNA表达水平的关系

从UCSC Xena数据库中下载TCGA数据库TC患者的临床信息,与TCGA表达谱进行整合。在去除缺少相关临床生存信息的样本后,共500 TC组织样本纳入本研究,用R Studio 4.3.1软件分析临床特征(Stage、T、N、M分期)与CCT各亚基mRNA表达的关系,并分析随着癌症发生发展中的表达变化。

#### 1.3 利用数据库数据分析TC组织中CCT各亚基表达水平高低与患者预后的关系

根据TCGA数据库中TC组织中CCT各亚基mRNA表达水平的中位数将样本分为高、低表达组,用Kaplan-Meier plotter分析其总生存期(OS),并采用R Studio 4.3.1软件构建预测模型验证效能。

#### 1.4 CCT各亚型mRNA高、低表达组的基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)

将CCT各亚型mRNA高、低表达组数据通过GSEA分析、选用基因集数据库MsigDB中的“h.all.v7.0.symbols.gmt”基因集作为参考基因集进行注释和解释生成富集数据。

#### 1.5 CCT各亚型mRNA表达水平与免疫检查点分子表达及免疫细胞浸润的相关性分析

通过“estimate”和“limma”包分析TC组织中CCT各亚基mRNA表达与22种免疫细胞浸润以及PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、CD80和CD86等免疫检查

点表达的相关性。此外,在本研究中使用TCGA肿瘤免疫浸润分析(TIMER2.0)数据库中的“Gene”模块在线分析了TC组织中CCT各亚基mRNA表达与CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞,B淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和髓系DC等6种免疫细胞浸润的相关性。

### 1.6 利用数据库筛选CCT各亚型mRNA高、低表达TC患者敏感的化疗药物

从TCGA数据库下载的TC表达谱与CTRP数据库中的药物信息通过“oncoPredict”包进行药物半数有效浓度( $IC_{50}$ )分析,通过“ggpubr”和“ggsci”包分析CCT各亚基mRNA表达高、低患者对索拉非尼、乐伐替尼、达拉非尼、曲美替尼、凡德他尼和卡博替尼等药物的敏感性。

### 1.7 统计学处理

采用SPSS21.0统计学软件和R软件分析数据。本研究所有数据均属于计量资料且均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 CCT 亚基 mRNA 在 TC 组织中的表达

TCGA数据库数据分析结果(图1A)显示,与癌旁组织( $n = 57$ )比较,在TC组织( $n = 500$ )中CCT3、CCT7和CCT8 mRNA均呈高表达(均 $P < 0.01$ ),而CCT1、CCT2、CCT5和CCT6B mRNA均呈低表达(均 $P < 0.01$ ),CCT4和CCT6A mRNA的表达均无明显变化。

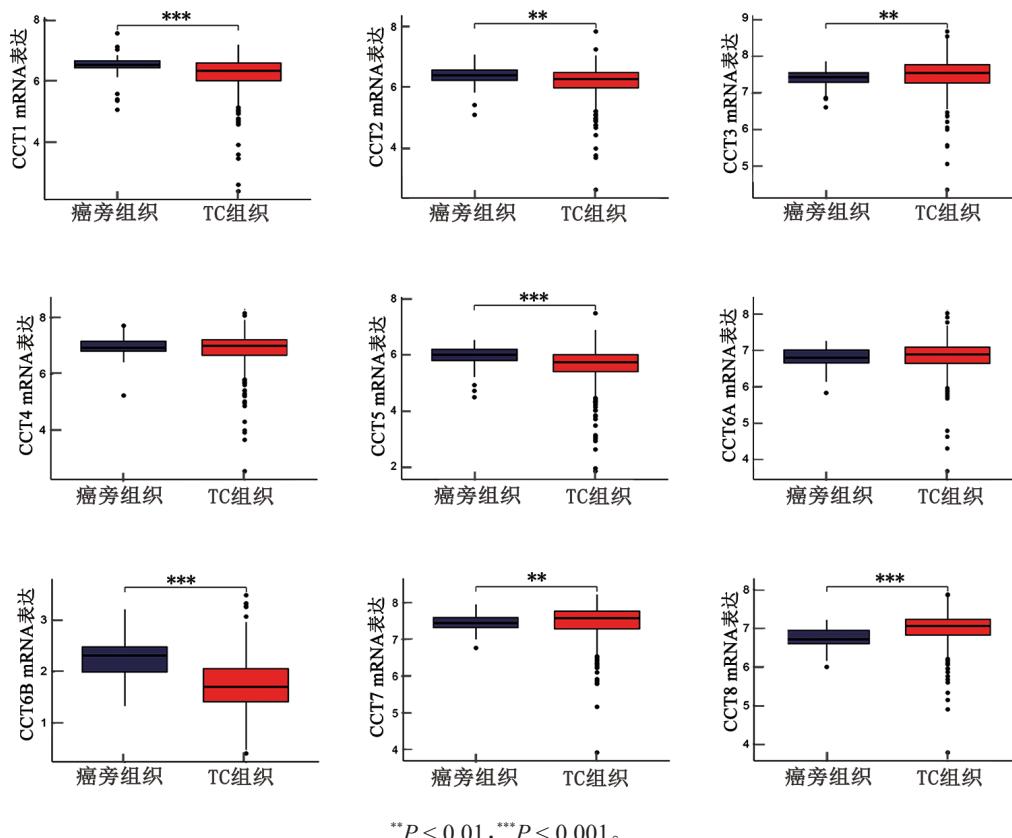
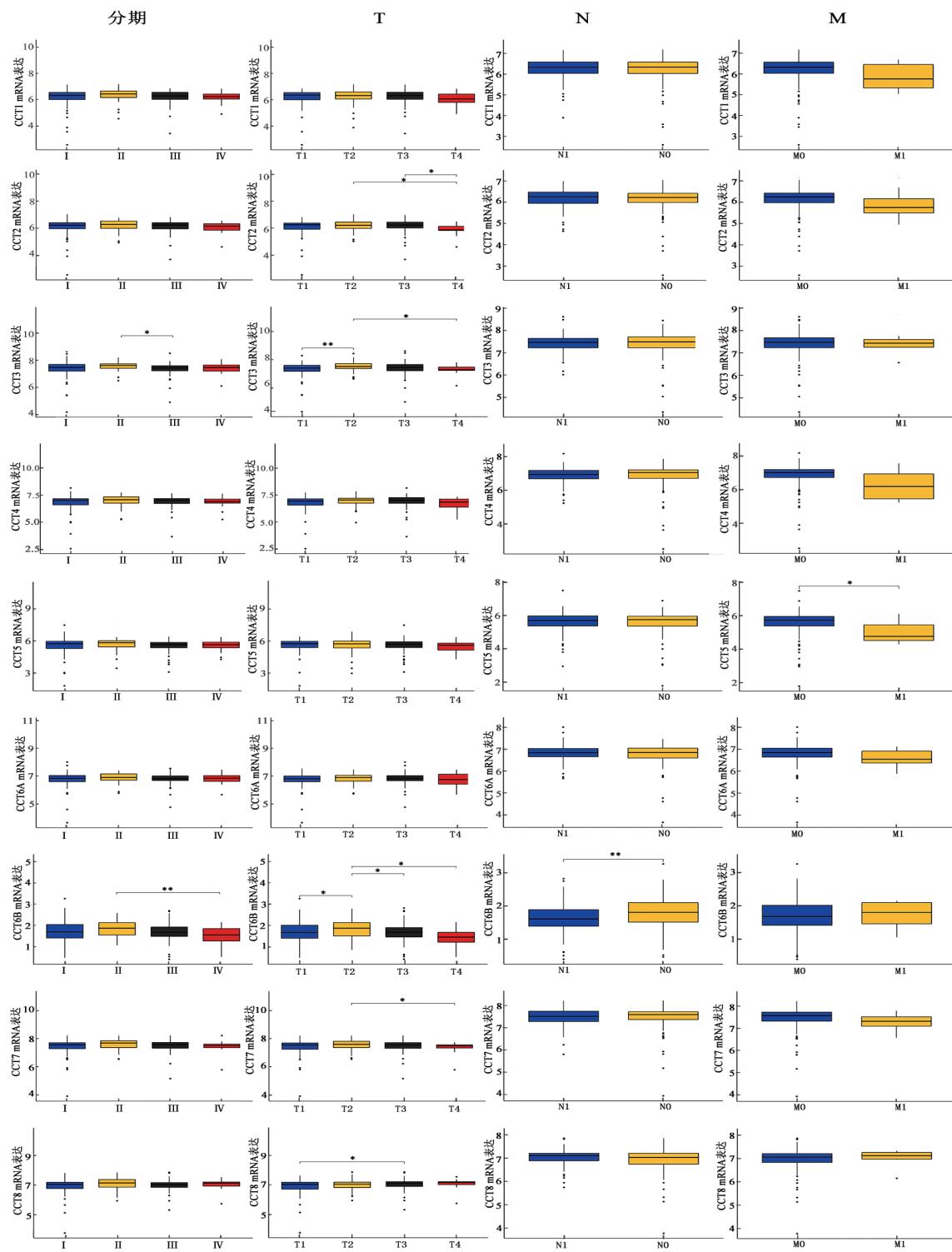


图1 TC组织与癌旁组织中CCT各亚基mRNA的表达

### 2.2 CCT各亚基mRNA表达与TC分期和患者预后的关系

TCGA数据库数据分析结果(图2)显示,CCT各亚基mRNA表达在Stage各期之间无明显差异;在T分期中,与T1期比较,CCT3和CCT6B在T2期,CCT8在T3期的mRNA表达水平明显上调( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),其他亚基无明显变化;在N分期中,淋巴结转移患者中CCT6B mRNA的表达显著下降( $P < 0.01$ ),其余CCT亚基mRNA无明显变化;在M分期中,CCT5 mRNA在远

处转移患者TC组织中明显下降( $P < 0.05$ ),其他CCT各亚基mRNA的表达无明显变化。根据TCGA数据库数据进行Kaplan-Meier生存分析结果(图3)显示,CCT6B mRNA高表达的TC患者OS明显缩短( $P < 0.05$ ),其他CCT亚基mRNA高、低表达组TC患者的OS无明显差异。上述临床预后分析结果表明,CCT各亚基mRNA的表达与T分期、淋巴结转移和远处转移有关联,CCT6B可能是TC患者OS的独立预后生物标志物。



TCGA 数据库中 CCT 亚基 mRNA 的表达水平与 TC 临床分期的相关性。 $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ 。

图 2 CCT 各亚基 mRNA 表达与临床分期的相关性

### 2.3 CCT 各亚基 mRNA 的高低表达在 TC 组织中的信号通路富集

通过 GSEA 分析结果(图 4)显示, 在 TC 中 CCT 各亚基 mRNA 低表达主要涉及异体移植排斥、补体和干扰素- $\gamma$ 等信号通路, 各亚基低表达均参与 IL-6/JAK/STAT3 信号转导(CCT5 除外)、氧化磷酸化过程(CCT6A 除外)、炎性反应过程(CCT8 除外)。CCT1、

CCT2、CCT5、CCT6A 和 CCT8 mRNA 过表达均参与紫外线反应信号通路。大部分 CCT 亚基 mRNA 的高或低表达均参与了凝血、IL2/STAT5、干扰素- $\alpha$ , KRAS、肌肉再生和雄激素反应等信号通路。

### 2.4 CCT 各亚基 mRNA 表达与 TC 组织中免疫细胞浸润水平明显相关

通过 TCGA、TIMER2.0 数据库数据进行免疫评

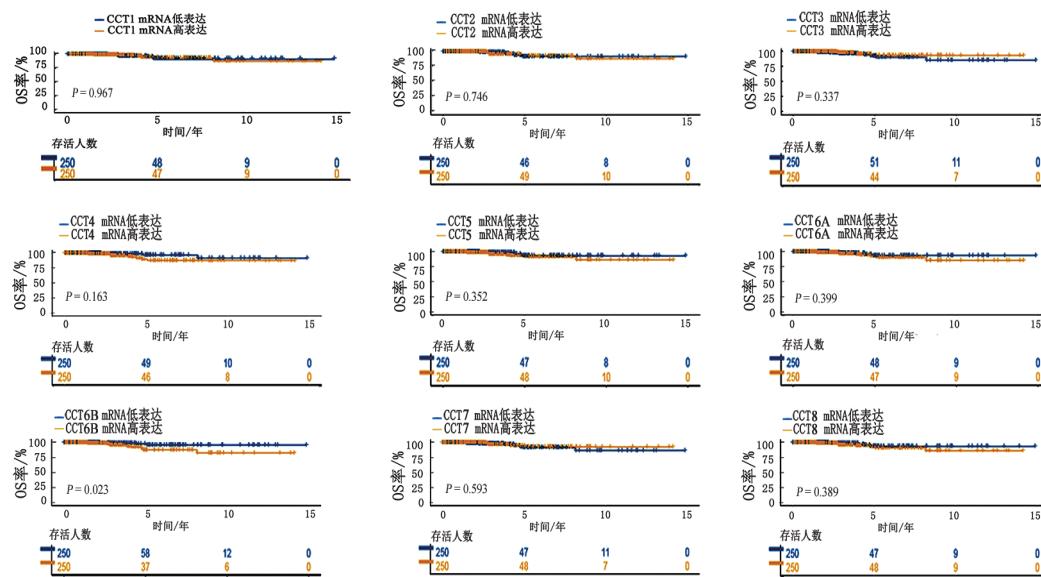


图3 CCT各亚基表达水平与患者OS的关系

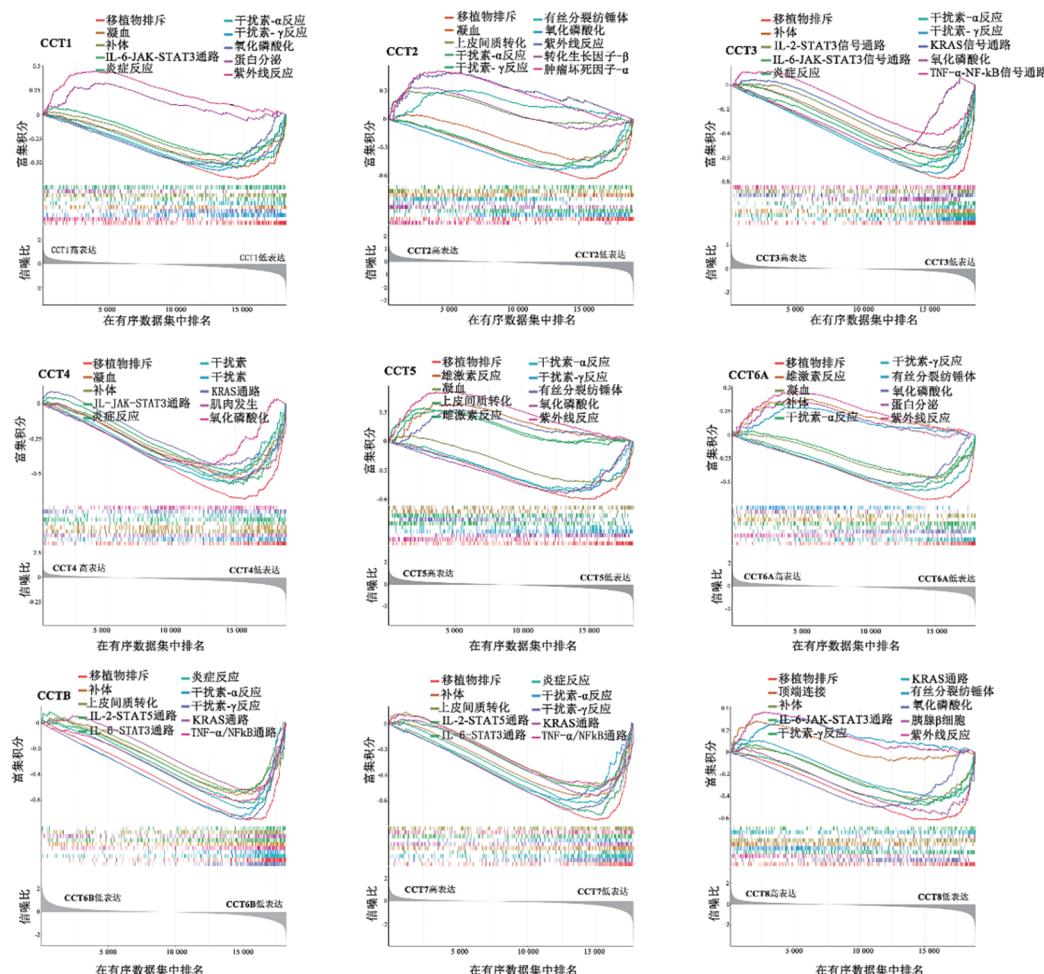


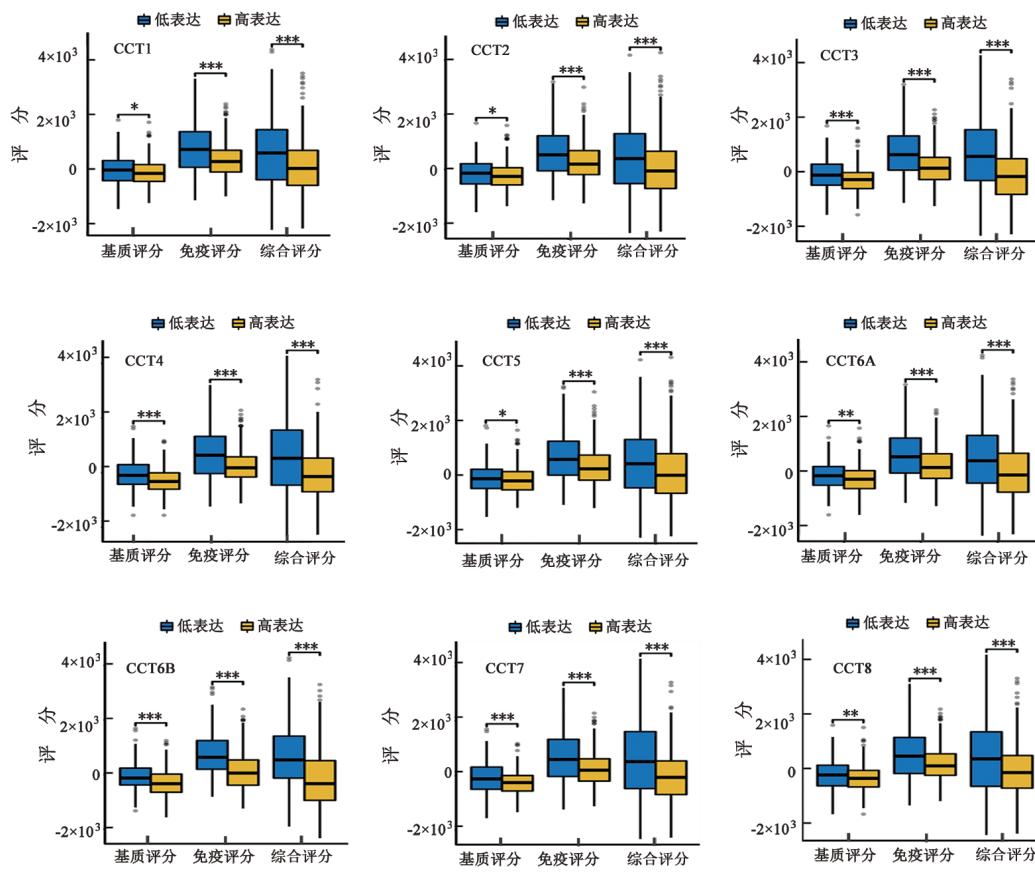
图4 GSEA分析CCT各亚基在TC组织中富集的信号通路

分和免疫细胞浸润相关性分析。通过 TCGA 数据库 R 包 estimate 计算 CCT 各亚基 mRNA 高、低表达组 TC 组织的基质评分、免疫评分和综合评分，结

果(图5)显示,CCT各亚基mRNA低表达组TC组织的基质、免疫和综合评分均显著高于高表达组( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ )。CCT各亚基

mRNA 表达与基质评分、免疫评分和综合评分之间的相关分析结果(图6)显示,各CCT亚基与基质评分、免疫评分和综合评分均呈负相关关系(均  $P < 0.01$ )。通过TIMER2.0数据库进一步分析TC中CCT各亚基mRNA表达与免疫细胞浸润的相关性,结果(图7)显示,CCT各亚基mRNA的表达与CD8<sup>+</sup>T细胞和巨

噬细胞浸润水平均呈正相关关系(均  $P < 0.05$ );多数CCT亚基(CCT6B和CCT7除外)的mRNA表达与中性粒细胞的浸润呈正相关关系;而CCT3、4、7、8 mRNA的表达与CD4<sup>+</sup>T细胞浸润水平呈负相关关系(均  $P < 0.05$ )。这些分析结果表明,CCT各亚基mRNA表达与TC组织中免疫细胞浸润水平明显相关。



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

图5 CCT各亚基mRNA高、低表达组TC组织的基质、免疫和综合评分的情况

## 2.5 TC组织中CCT各亚基mRNA的表达水平能显著影响TC患者对化疗药物的敏感性

将TCGA数据库中的CCT各亚基mRNA表达数据与GTRP2数据库中的药物信息综合进行分析,结果(图8)显示,与低表达组比较,大多数CCT亚基mRNA高表达组TC患者对索拉非尼、乐伐替尼、达拉非尼、曲美替尼、凡德他尼、卡博替尼等6种化疗药物的IC<sub>50</sub>均明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ),只有CCT6B mRNA高表达组TC患者对索拉非尼和乐伐替尼的IC<sub>50</sub>明显下降( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),还有少部分CCT亚基mRNA高表达组TC患者对上述6种化疗药物的IC<sub>50</sub>无显著变化。以上分析结果表明,大多数CCT各亚基mRNA的高表达的TC患者会对上述6种化疗药物产生耐药性。

## 2.6 CCT各亚基mRNA表达与免疫检查点分子表达的

### 相关性

TCGA数据库数据分析结果(图9)显示,与CCT1 mRNA低表达组比较,高表达组TC组织中CTLA4 mRNA表达明显下降( $P < 0.05$ ),PD-1、PD-L1、PD-L2、CD80和CD86 mRNA均无明显变化;CCT2 mRNA高、低表达组之间上述6种免疫检测点分子mRNA表达均无明显差异;与CCT3 mRNA低表达组比较,CCT3 mRNA高表达组TC组织中上述6种免疫检查点分子mRNA均显著下降( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ );与CCT4 mRNA低表达组比较,CCT4 mRNA高表达组TC组织中PD-1和CTLA4 mRNA均显著下降(均  $P < 0.001$ ),PD-L1 mRNA明显升高( $P < 0.05$ );与CCT5 mRNA低表达组比较,CCT5 mRNA高表达组TC组织中CTLA4 mRNA均显著下降(均  $P < 0.05$ ),CD80 mRNA明显升高( $P < 0.01$ );

与CCT6A mRNA低表达组比较,CCT6A mRNA高表达组TC组织中PD-1和CTLA4 mRNA均显著下降(均 $P < 0.01$ );与CCT6B mRNA低表达组比较,CCT6B mRNA高表达组TC组织中上述6种免疫检查点分子mRNA均显著下降( $P < 0.05$ 或 $P < 0.001$ );与CCT7 mRNA低表达组比较,CCT7 mRNA高表达组TC组织中PD-L1、PD-L2、CTLA4、CD80和CD86 mRNA

均显著下降( $P < 0.05$ 或 $P < 0.001$ );与CCT8 mRNA低表达组比较,CCT8 mRNA高表达组TC组织中PD-1、CTLA4 mRNA均显著下降( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );PD-L1 mRNA明显升高( $P < 0.05$ )。分析结果表明,TC组织中CCT各亚基mRNA的表达水平与PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、CD80和CD86表达有明显的关联。

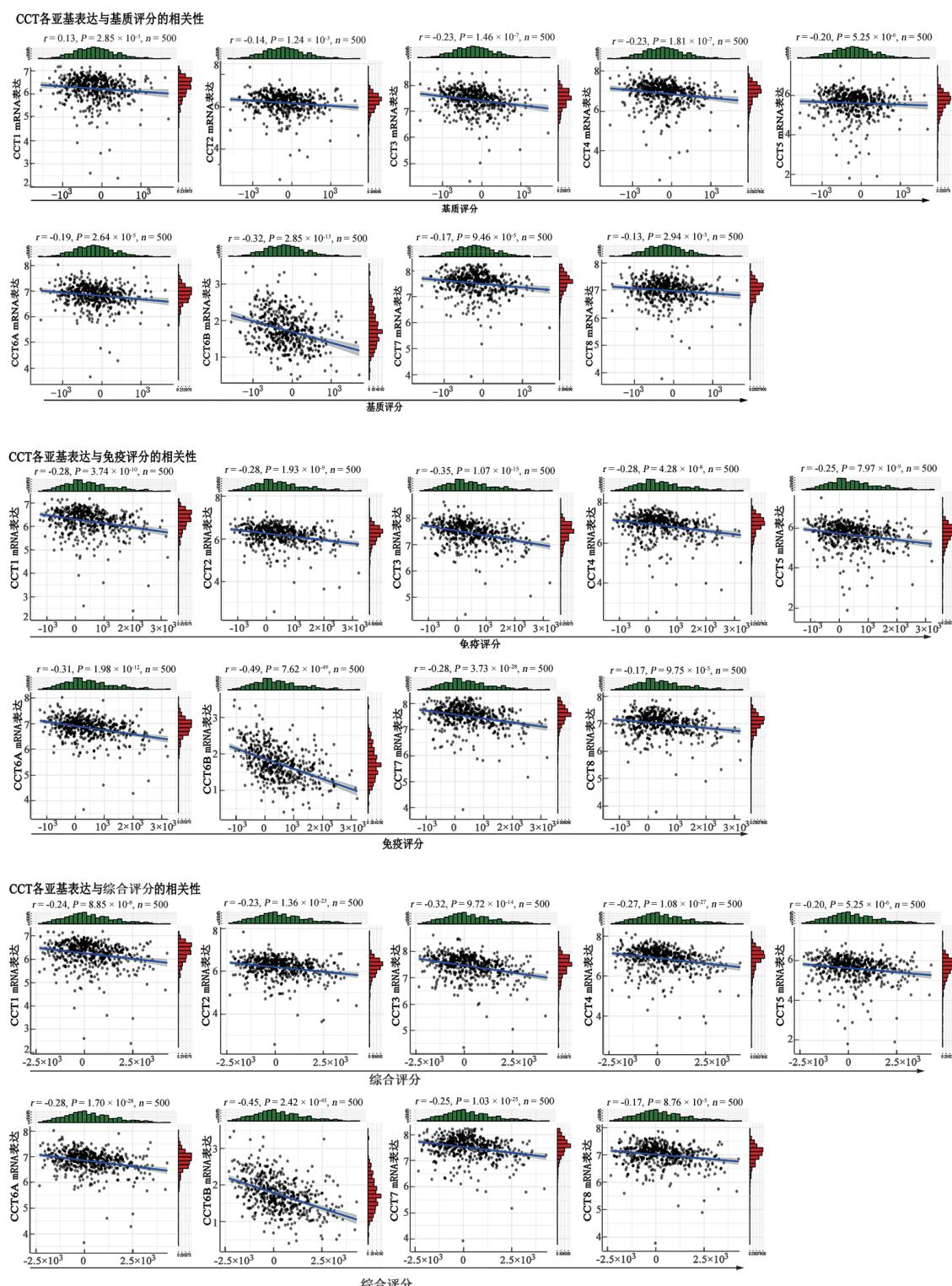


图6 CCT各亚基表达水平与基质、免疫和综合评分的相关性

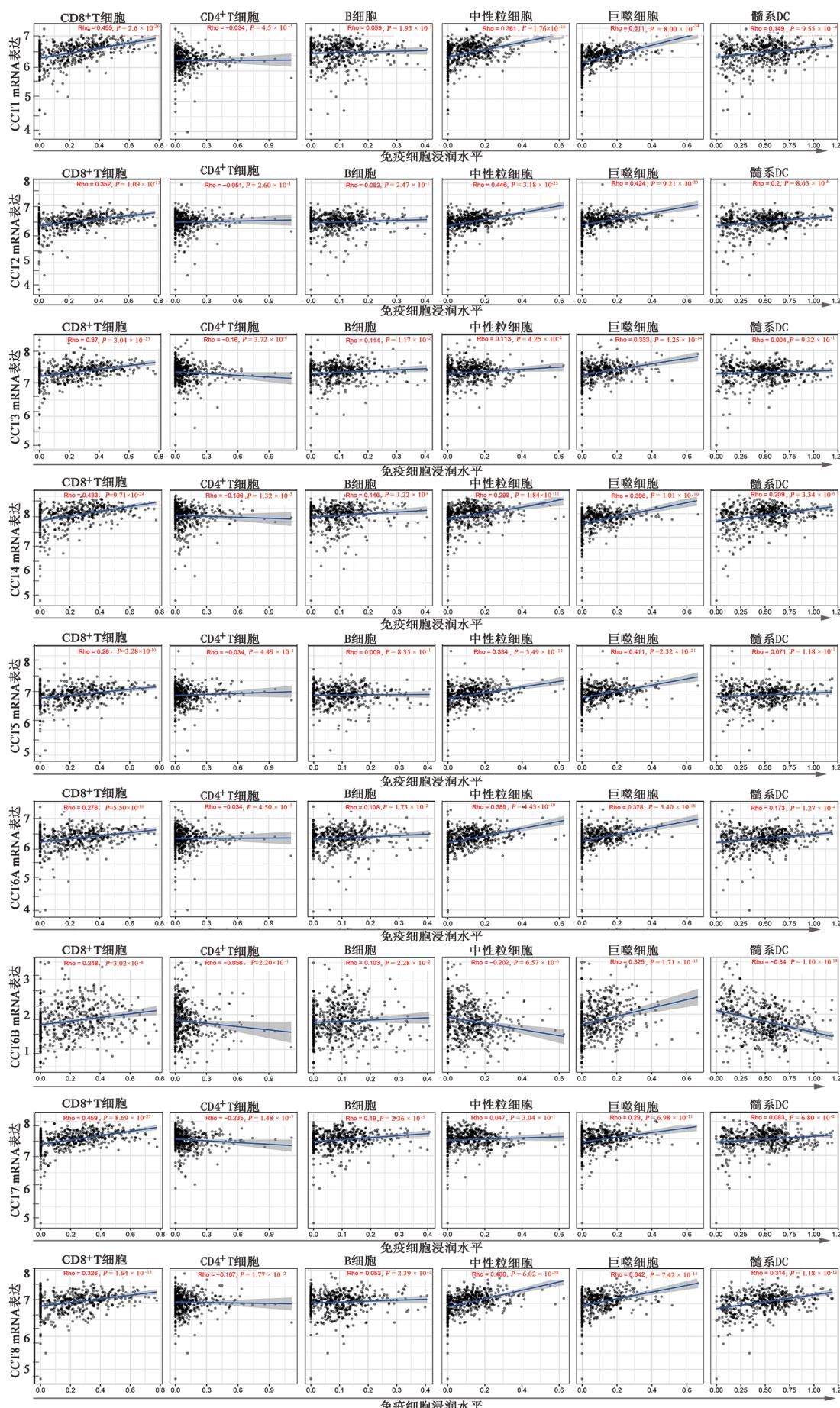


图7 CCT各亚基mRNA表达与TC组织中免疫细胞浸润水平的相关性

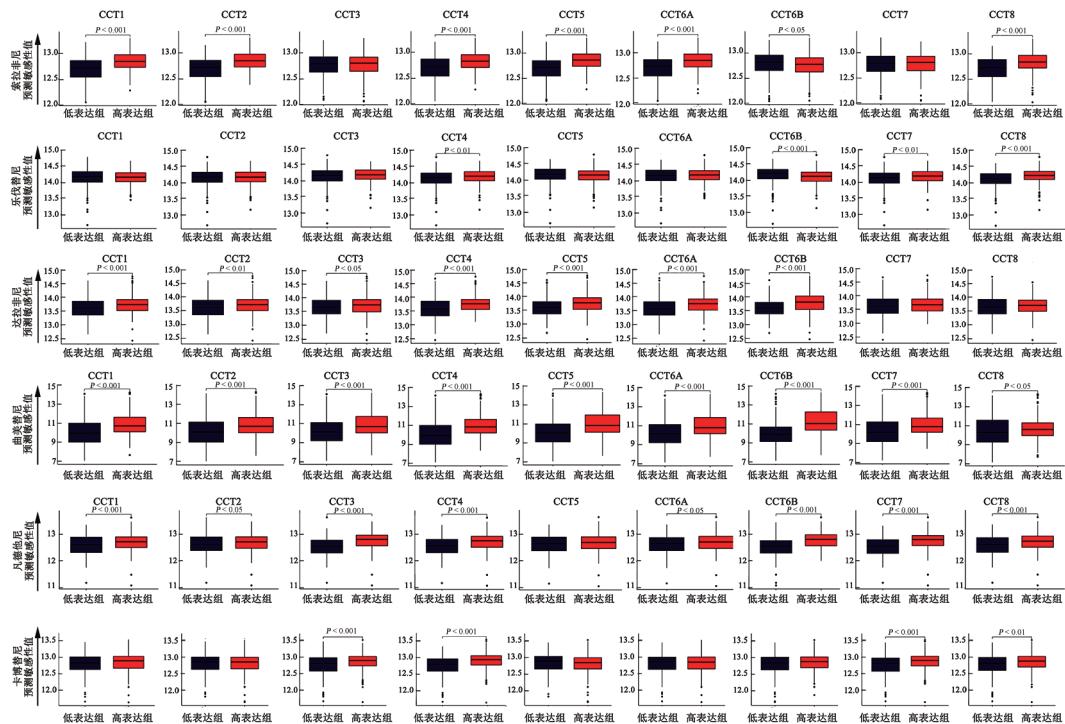
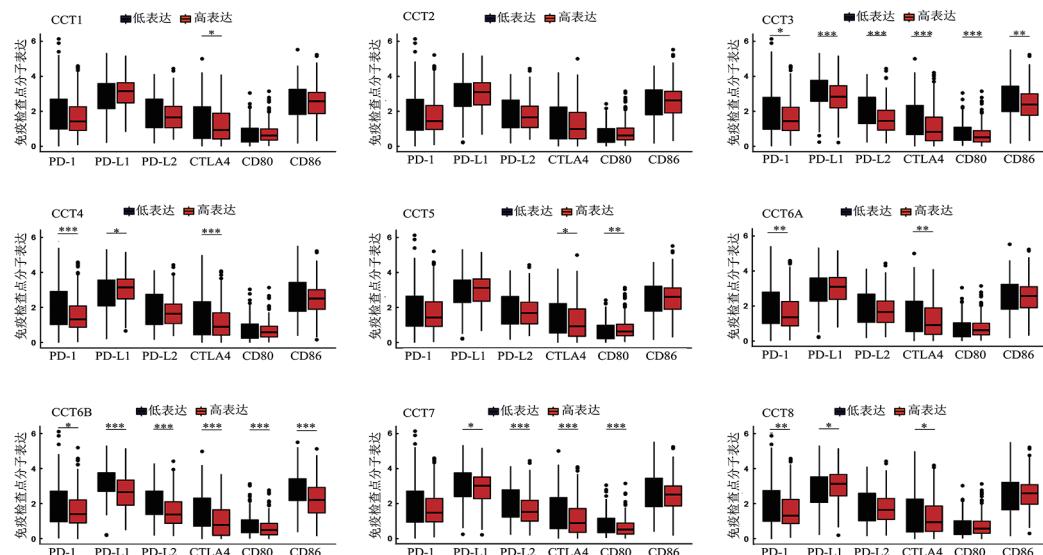


图8 CCT各亚基 mRNA 高低表达与药物敏感性之间的关系



\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001。

图9 CCT各亚基 mRNA 表达与免疫检查点分子表达的关系

### 3 讨 论

TC的细胞起源包括甲状腺滤泡上皮细胞和滤泡旁细胞。大多数起源于滤泡旁细胞, 约占全部TC的90%~95%, 主要为分化型甲状腺癌(differentiated thyroid cancer, DTC), 包括乳头状TC(papillary thyroid carcinoma, PTC)和滤泡状TC(follicular thyroid carcinoma, FTC)。DTC可进展为低分化型TC, 甚至部分失分化成为未分化型TC(anaplastic

thyroid carcinoma, ATC)。另外, 起源于甲状腺滤泡旁细胞的为甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma, MTC)<sup>[12]</sup>。TC已成为头颈外科最常见的恶性肿瘤之一, 目前治疗方法主要为外科手术、术后放射性碘(radioactive iodine, RAI)和内分泌治疗等。虽然多数预后良好, 但多数MTC、部分DTC、分化不良TC和ATC患者对RAI耐药<sup>[13]</sup>。出现RAI耐药患者临幊上使用靶向药物治疗, 索拉非尼和乐伐替尼等药物用于RAI耐药DTC, 达拉非尼和曲美替尼用于



BRAF V600E突变的患者,凡德他尼和卡博替尼等药物用于治疗MTC,塞普替尼和普拉替尼用于治疗晚期或转移性RET突变型甲状腺髓样癌患者<sup>[3]</sup>。但这些多靶向药物有许多不良反应,疗效较低,并对患者OS率无明显改善。因此临床亟需新型干预治疗方法,靶向治疗有很大的前景。目前,随着人们对免疫系统和肿瘤免疫微环境的相互作用认识的不断深入,免疫逃逸是癌症的新型标志,逐渐成为免疫疗法的靶点之一。免疫疗法主要通过肿瘤微环境内外的免疫细胞识别和攻击癌细胞,具有特异性高和不良反应少等优点<sup>[4]</sup>。近年来,对免疫检查点抑制剂在内的免疫治疗在临床治疗肿瘤中取得了巨大的成功,其分子对免疫治疗的影响成为研究热点。PD-1和CTLA-4是目前研究最热的免疫检查点,多项研究表明,TC组织中PD-L1与肿瘤复发和患者生存率低有关<sup>[5]</sup>,CAPDEVILA等<sup>[6]</sup>发现,人源化单克隆抗体斯巴达珠单抗(PD-1阻断剂)对于PD-1及PD-L1阳性晚期ATC患者(包含BRAF野生型人群)有较好的疗效,并提高患者OS率。SHI等<sup>[7]</sup>研究表明,CTLA-4阳性表达仅在散发性MTC中发现,其具有较强侵袭性,并且发现T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3(domain 3 T cell immunoglobulin and mucin, TIM-3)和PD-1联合阻断有明显的抗肿瘤作用。PD-1、PD-L1和CTLA-4阻断剂在抗肿瘤中单一或联合疗法可能是潜在的免疫治疗方法。

肿瘤是多基因、多通路、多层次、多因素的共同作用下,机体某些组织细胞的基因对其自身的生长失去了正常的调控作用,致使细胞增生异常,最终导致肿瘤的形成,即控制肿瘤发生的基因编码蛋白质的形成,致使肿瘤的发生<sup>[8]</sup>。同时,蛋白质的错误折叠及装配是很多疾病分子基础,包括肿瘤<sup>[9]</sup>。分子伴侣蛋白是蛋白质折叠、蛋白质稳态网络的重要部分。CCT作为II型分子伴侣家族的重要成员,主要由八种不同亚基组成,每个亚基的分子量在50 000~60 000之间,每个亚基以一定的方式排列,8个亚基相互间的氨基酸相似性约为23%至35%<sup>[20]</sup>。CCT对于维持细胞骨架蛋白(包括微管蛋白和肌动蛋白)的稳态和蛋白的折叠是必不可少的,可参与肿瘤发生相关蛋白质的折叠<sup>[10]</sup>。众所周知,肿瘤细胞快速增殖需要大量蛋白的合成,CCT可能通过调节癌细胞生长,凋亡和基因组不稳定性在肿瘤发生中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。CCT各亚基表达改变的临床意义在很多恶性肿瘤中被报道<sup>[11]</sup>,只有少数研究表明CCT复合物在TC中表达及潜在机制。据报道<sup>[21]</sup>,CCT3在TC组织中与癌旁组织相比显著高表达,沉默CCT3可抑制肿瘤细胞的活力、增殖,并诱导凋亡。

本研究利用TCGA数据库分析了CCT各亚基在TC中的表达差异。其中CCT3、CCT7、CCT8在TC组织中呈高表达,而TCP1、CCT2、CCT5、CCT6B呈低表达。通过TCGA数据库进行Stage和病理分期(T、N、M)相关性分析表明,随着肿瘤的进展CCT各亚基表达普遍增加,与以往CCT与肝细胞癌的研究结果一致<sup>[22]</sup>。然而,其中只有CCT6B与N分期有明显关联。在预后分析中发现CCT6B高表达与TC患者OS缩短有明显关联,这与以往在肝细胞癌的研究结果相反<sup>[22]</sup>。在CCT复合物在TC中可能参与的通路机制分析表明,CCT各亚基共同参与移植排斥、补体和干扰素-γ反应信号通路。

正常的微环境(免疫细胞、成纤维细胞、血液和淋巴管以及间质细胞外基质)维持组织稳态并防止肿瘤发生。来自改变微环境的炎症介质、活性氧、细胞因子和趋化因子等促进肿瘤生长。肿瘤微环境中的细胞可以是肿瘤抑制细胞,也可以是肿瘤支持细胞。肿瘤微环境在肿瘤发生发展和调节癌症治疗效果中起关键作用<sup>[23]</sup>。免疫疗法中免疫逃逸为许多学者研究的热点。在一项研究<sup>[24]</sup>中发现,综合评分低表明肿瘤已经发展至晚期和患者的预后不良。以往研究<sup>[25]</sup>表明,CCT亚基表达与肿瘤微环境形成相关,并且在通路富集分析结果中,CCT各亚基多在免疫相关通路中富集,因此本研究首先分析CCT各亚基表达与基质评分、免疫评分、综合评分和免疫细胞浸润的相关性,结果表明,CCT表达水平与基质评分、免疫评分、综合评分呈负相关关系。免疫细胞是肿瘤微环境中最丰富的非癌细胞,在调节免疫防御和组织稳态方面具有重要功能。肿瘤浸润细胞通常以T细胞为主,但也含有B细胞、NK细胞、DC、巨噬细胞和中性粒细胞,在肿瘤微环境中有着重要作用<sup>[26]</sup>。CD4<sup>+</sup> T细胞通过调节先天免疫、适应性免疫和免疫检测点来起抗肿瘤作用<sup>[27]</sup>。在一项研究<sup>[28]</sup>中,通过免疫分析将CD8<sup>+</sup> T细胞亚群特征识别为TC复发的预后标志物。因此,本研究通过TIMER2.0数据库进一步分析CCT各亚基表达与免疫细胞浸润的相关性,结果表明,CCT各亚基mRNA的表达与CD8<sup>+</sup> T细胞和巨噬细胞浸润水平均呈正相关;多数CCT亚基(CCT6B和CCT7除外)的mRNA表达与中性粒细胞的浸润呈正相关;而CCT3、4、7、8的mRNA的表达与CD4<sup>+</sup> T细胞浸润呈负相关。分析结果表明,CCT各亚基mRNA表达与TC组织中免疫细胞浸润水平明显相关,CCT通过影响肿瘤微环境中免疫细胞数量来促进TC的进展,需进一步实验证实。

免疫检查点对于维持自身耐受和调节生理免疫应答中起重要作用,免疫检查点失调是肿瘤细胞免



疫逃逸的重要机制<sup>[28]</sup>。在部分晚期TC的治疗上,一般使用多靶点抑制剂,如索拉非尼和乐伐替尼等。由于近年来,PD-1和CTLA-4等免疫抑制剂的临床广泛应用<sup>[29]</sup>,在TC中也逐渐应用。对于BRAF等突变型和出现耐药的晚期TC患者的治疗上,采取免疫抑制剂单独或联合多靶点抑制剂<sup>[30]</sup>,并且PD-L1在ATC中较其他TC表达更高<sup>[31-32]</sup>,PD-1免疫抑制剂对于PD-1/PD-L1阳性晚期ATC患者和BRAF突变野生型TC有较好的疗效,并提高患者生存率。本研究发现,CCT各亚基表达水平与TC治疗中常用的6种化疗药物的IC<sub>50</sub>和免疫检查点表达有明显关联,表明CCT可能是TC治疗的潜在治疗靶点。

本研究表明,CCT各亚基mRNA在TC组织中的表达水平存在显著差异,其中CCT6B mRNA的表达与患者预后显著相关,并且可能通过免疫相关通路来影响TC的进展。此外,CCT各亚基与免疫调节密切相关。虽然通过多个数据库进行分析,但本研究仍存在一些局限性。尽管生物信息学分析结果表明CCT各亚基mRNA表达在TC组织中存在差异且与患者预后、肿瘤免疫微环境有明显的关联,CCT各亚基是否通过免疫途径影响肿瘤的发生发展和患者临床预后尚不明确,需进一步的相关研究来验证。

综上所述,本研究在TC组织中分析发现CCT各亚基mRNA在肿瘤的表达与患者临床预后有关联,并与免疫细胞浸润密切相关。CCT复合物可能成为TC分子诊断和免疫治疗的潜在候选基因。为开展难治性TC靶向治疗提供了方向和理论依据。

## 参 考 文 献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] RAHIB L, SMITH B D, AIZENBERG R, et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States[J]. Cancer Res, 2014, 74(11): 2913-2921. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155.
- [3] CHEN D W, LANG B H H, MCLEOD D S A, et al. Thyroid cancer [J]. Lancet, 2023, 401(10387): 1531-1544. DOI: 10.1016/s0140-6736(23)00020-x.
- [4] FERRARI S M, ELIA G, RAGUSA F, et al. Novel treatments for anaplastic thyroid carcinoma[J]. Gland Surg, 2020, 9(Suppl 1): S28-S42. DOI: 10.21037/gs.2019.10.18.
- [5] WANG D Y, KAMUDA K, MONTOYA G, et al. The TRiC/CCT chaperonin and its role in uncontrolled proliferation[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1243: 21-40. DOI: 10.1007/978-3-030-40204-4\_2.
- [6] ROH S H, KASEMBELI M, BAKTHAVATSALAM D, et al. Contribution of the type II chaperonin, TRiC/CCT, to oncogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(11): 26706-26720. DOI: 10.3390/ijms161125975.
- [7] KELLY J J, TRANTER D, PARDON E, et al. Snapshots of actin and tubulin folding inside the TRiC chaperonin[J]. Nat Struct Mol Biol, 2022, 29(5): 420-429. DOI: 10.1038/s41594-022-00755-1.
- [8] FELDMAN D E, SPIESS C, HOWARD D E, et al. Tumorigenic mutations in VHL disrupt folding *in vivo* by interfering with chaperonin binding[J]. Mol Cell, 2003, 12(5): 1213-1224. DOI: 10.1016/s1097-2765(03)00423-4.
- [9] MONTEITH J, MCMAHON S B. p53: the TRiC is knowing when to fold 'em[J]. Mol Cell, 2013, 50(6): 781-782. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.06.009.
- [10] KASEMBELI M, LAU W C Y, ROH S H, et al. Modulation of STAT3 folding and function by TRiC/CCT chaperonin[J/OL]. PLoS Biol, 2014, 12(4): e1001844[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24756126/>. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001844.
- [11] ZHENG L, CHEN X, ZHANG L, et al. A potential tumor marker: Chaperonin containing TCP-1 controls the development of malignant tumors (Review) [J]. Int J Oncol, 2023;63(3):106. DOI: 10.3892/ijo.2023.5554.
- [12] CRESCENZI A, BALOCH Z. Immunohistochemistry in the pathologic diagnosis and management of thyroid neoplasms[J/OL]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1198099[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10266214/>. DOI: 10.3389/fendo.2023.1198099.
- [13] VIOLA D, VALERIO L, MOLINARO E, et al. Treatment of advanced thyroid cancer with targeted therapies: ten years of experience[J]. Endocr Relat Cancer, 2016;23(4):R185-R205. DOI: 10.1530/ERC-15-0555.
- [14] YOST K E, SATPATHY A T, WELLS D K, et al. Clonal replacement of tumor-specific T cells following PD-1 blockade[J]. Nat Med, 2019, 25(8): 1251-1259. DOI: 10.1038/s41591-019-0522-3.
- [15] AGHAJANI M, GRAHAM S, MCCAFFERTY C, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of programmed cell death ligand 1 expression in patients with non-medullary thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Thyroid, 2018, 28(3): 349-361. DOI: 10.1089/thy.2017.0441.
- [16] CAPDEVILA J, WIRTH L J, ERNST T, et al. PD-1 blockade in anaplastic thyroid carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(23): 2620-2627. DOI: 10.1200/JCO.19.02727.
- [17] SHI X, LI C W, TAN L C, et al. Immune co-inhibitory receptors PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, and TIGIT in medullary thyroid cancers: a large cohort study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 106(1): 120-132. DOI: 10.1210/clinend/dgaa701.
- [18] 李莉娟. CCT3基因调控胃癌细胞增殖及机制研究[D]. 兰州大学, 2017.
- [19] HETZ C, ZHANG K Z, KAUFMAN R J. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(8): 421-438. DOI: 10.1038/s41580-020-0250-z.
- [20] HAN W Y, JIN M L, LIU C X, et al. Structural basis of plp2-mediated cytoskeletal protein folding by TRiC/CCT[J/OL]. Sci Adv, 2023, 9(11): eade1207[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36921056/>. DOI: 10.1126/sciadv.ade1207.
- [21] SHI X H, CHENG S S, WANG W X. Suppression of CCT3 inhibits malignant proliferation of human papillary thyroid carcinoma cell[J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 9202-9208. DOI: 10.3892/ol.2018.8496.
- [22] SUN H, WANG Y, JING H Y, et al. Chaperonin-containing TCP1



- subunit 6A is a prognostic potential biomarker that correlates with the presence of immune infiltrates in colorectal cancer[J/OL]. Front Genet, 2021, 12: 629856[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8129517/>. DOI: 10.3389/fgene.2021.629856.
- [23] BEJARANO L, JORDÃO M J C, JOYCE J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment[J]. Cancer Discov, 2021, 11(4): 933-959. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1808.
- [24] ARAN D, SIROTA M, BUTTE A J. Systematic pan-cancer analysis of tumour purity[J/OL]. Nat Commun, 2015, 6: 8971[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26634437/>. DOI: 10.1038/ncomms9971.
- [25] HUANG J F, HU B Q, YANG Y, et al. Integrated analyzes identify CCT3 as a modulator to shape immunosuppressive tumor microenvironment in lung adenocarcinoma[J/OL]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 241[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10012614/>. DOI: 10.1186/s12885-023-10677-w.
- [26] LAUMONT C M, BANVILLE A C, GILARDI M, et al. Tumour-infiltrating B cells: immunological mechanisms, clinical impact and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Cancer, 2022, 22(7): 414-430. DOI: 10.1038/s41568-022-00466-1.
- [27] ESCORS D, BOCANEGR A, CHOCARRO L, et al. Systemic CD4 immunity and PD-L1/PD-1 blockade immunotherapy[J/OL]. Int J Mol Sci, 2022, 23(21): 13241[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9655397/>. DOI: 10.3390/ijms232113241.
- [28] CHEN Z, GUO M L, LI Y Y, et al. Immune profiling identifies CD8<sup>+</sup> T-cell subset signatures as prognostic markers for recurrence in papillary thyroid cancer[J/OL]. Front Immunol, 2022, 13: 894919[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9676940/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.894919.
- [29] DOS SANTOS VALSECCHI V A, BETONI F R, WARD L S, et al. Clinical and molecular impact of concurrent thyroid autoimmune disease and thyroid cancer: from the bench to bedside[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2024, 25(1): 5-17. DOI: 10.1007/s11154-023-09846-w.
- [30] RAGUSA F, FERRARI S M, ELIA G, et al. Combination strategies involving immune checkpoint inhibitors and tyrosine kinase or BRAF inhibitors in aggressive thyroid cancer[J/OL]. Int J Mol Sci, 2022, 23(10): 5731[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9144613/>. DOI: 10.3390/ijms23105731.
- [31] GARCIA-ALVAREZ A, HERNANDO J, CARMONA-ALONSO A, et al. What is the status of immunotherapy in thyroid neoplasms? [J/OL]. Front Endocrinol, 2022, 13: 929091[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9389039/>. DOI: 10.3389/fendo.2022.929091.
- [32] ZHANG G Q, WEI W J, SONG H J, et al. Programmed cell death-ligand 1 overexpression in thyroid cancer[J]. Endocr Pract, 2019, 25(3): 279-286. DOI: 10.4158/EP-2018-0342.

[收稿日期] 2024-05-11

[修回日期] 2024-07-26

[本文编辑] 向正华