

生物信息分析

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002962

结肠癌中 SLC11A1 基因的表达及其临床意义

姜钟翔, 黄丹阳, 姜小叶, 李晓晴, 张 益, 杨懿春, 吴 焦, 姜 政

(重庆医科大学附属第一医院消化内科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨多个结肠癌数据集中 SLC11A1 的表达情况及其与结肠癌临床预后的关系,以及在结肠癌肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的潜在作用。**方法:**利用肿瘤基因表达图谱(the cancer genome atlas, TCGA)及基因表达汇编(gene expression omnibus, GEO)汇总结肠癌相关数据,分析 SLC11A1 表达及其与结肠癌临床预后关系,同时使用 ESTIMATE 算法和单样本基因集富集分析(single-sample gene-set enrichment analysis, ssGSEA)算法,探索 SLC11A1 与 TME 中免疫细胞浸润之间的关联。**结果:**在 TCGA、GEO 数据集中,SLC11A1 表达在肿瘤中增高($P<0.001$),其高表达是结肠癌患者总体生存(overall survival, OS)的独立危险因素,且 SLC11A1 与肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAMs)和 M2 型巨噬细胞的浸润、聚集密切相关。进一步分析发现,其与 CD8⁺ T 细胞抑制剂 TGFB1 和 CXCL12 及其受体的增加密切相关。**结论:**SLC11A1 的表达与肿瘤微环境中细胞,尤其 TAMs 等免疫细胞的功能调节具有一定的相关性,并对肿瘤的预后具有潜在的生物标志物作用。

【关键词】肿瘤免疫;结肠癌;SLC11A1;生物标志物**【中图分类号】**R735.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2021-01-26

The expression and clinical significance of SLC11A1 in colon cancer

Jiang Zhongxiang, Huang Danyang, Jiang Xiaoye, Li Xiaoqing, Zhang Yi, Yang Yichun, Wu Jiao, Jiang Zheng
(Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the expression of SLC11A1 in multiple colon cancer data sets and its relationship with the clinical prognosis, and its potential role in the tumor microenvironment (TME) in colon cancer. **Methods:** With the use of the tumor genome atlas (TCGA) and the gene expression omnibus (GEO), the expression of SLC11A1 and its relationship with the clinical prognosis of colon cancer were analyzed. At the same time, we used the algorithm of ESTIMATE and the single-sample gene-set enrichment analysis (ssGSEA) algorithm to explore the relationship between SLC11A1 and immune cell infiltration within the TME. **Results:** In the TCGA and GEO datasets, the expression of SLC11A1 increased in tumor tissues ($P<0.001$) compared with normal tissues. High SLC11A1 expression was an independent risk factor for the overall survival (OS) of colon cancer patients. In addition, SLC11A1 was strongly linked to the infiltration and aggregation of tumor associated macrophages (TAMs) and M2-type macrophages, and further analysis indicated that it was strongly correlated with increased CD8⁺ T cell inhibitors TGFB1 and CXCL12 and their receptors. **Conclusion:** In summary, the expression of SLC11A1 is associated with the function regulation of cells in TME, especially TAMs and other immune cells, and it might have potential as a prognostic biomarker of colon cancer.

【Key words】tumor immunity; colon cancer; SLC11A1; biomarker

众所周知,结肠癌是消化道常见的恶性肿瘤之一。随着我国经济的发展、人民生活水平的提高、生活方式及膳食结构的改变,结肠癌的发病率已由 10 年前的第 6 位上升至目前的第 4 位^[1]。提高结肠癌患者生存率的关键在于早期发现、早期诊断、早期治疗以及术后综合治疗,而肿瘤的免疫与靶向治疗是继手术、放疗、化疗后发展起来的肿瘤治疗第 4 大疗法,在提高恶性肿瘤的治疗效果、延长生存时间、

降低放化疗副作用方面发挥重要作用^[2]。

溶质载体家族 11 成员 1 (solute carrier family 11 member 1, SLC11A1) 是一种吞噬体膜蛋白,在单核细胞中表达,单核细胞是巨噬细胞和树突状细胞的循环前体。SLC11A1 作为一种促炎性因子,与多种炎症性疾病及肿瘤的发生发展密切相关^[3]。Awomoyi A^[4]发现 SLC11A1 的转录异常能影响癌细胞的增殖与存活,从而导致癌症和自身免疫。在甲状腺癌患者中,SLC11A1 的表达异常与不良的生存和肿瘤异常增殖有关,并与巨噬细胞各项指标密切相关^[5]。这些发现提示 SLC11A1 在肿瘤免疫中可能具有潜在作用,但目前尚无 SLC11A1 在结肠癌中

作者介绍:姜钟翔, Email: jiangz1753@tom.com,

研究方向:消化系统肿瘤。

通信作者:姜 政, Email: jiangz1753@163.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20211221.1603.020.html>

(2021-12-23)

独立预后作用及其与肿瘤免疫之间关系的相关报道。因此,本研究使用 TCGA 及 GEO 数据库对 SLC11A1 在结肠癌中的表达及预后进行综合评估,并进一步探索 SLC11A1 与肿瘤免疫浸润的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 数据库分析 从 UCSC Xena 数据库(<https://xena.ucsc.edu/>)下载 TCGA RNA-seq 泛癌数据(其中包括 33 种癌症表达数据)。从 TCGA 数据库(<http://tcga-data.nci.nih.gov/Tcga/>)下载结肠腺癌(colon adenocarcinoma, COAD)RNA-seq 数据(其中正常组织 41 例,肿瘤组织 473 例);从美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载 GSE17536($n=177$,全部为结肠癌组织)、GSE41258($n=230$,其中正常组织 54 例,结肠癌组织 186 例)、GSE17537(结肠癌组织 55 例)。各 GEO 数据集使用前均已校正。筛选 TCGA COAD 及 GSE17536 数据集中临床资料及生存信息完整的数据。

使用在线数据库基因表达谱交互分析(GEPIA)(<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)进一步探索 SLC11A1 与免疫细胞标志物的相关性。从 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)下载结肠癌患者的 6 种免疫细胞浸润水平(B 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突状细胞)。

1.1.2 ESTIMATE 分析 从 TCGA 数据库下载的基因表达

谱数据,使用 R 包“ESTIMATE”(Estimation of STromal and Immune cells in MAlignant Tumor tissues using Expression data)计算免疫得分、基质评分及 ESTIMATE 评分。

1.1.3 单样本基因集富集分析(single-sample gene-set enrichment analysis,ssGSEA) 在 GSE17536 数据集中使用 ssGSEA 测量每个样本中 29 种免疫信号的富集水平,并计算 SLC11A1 表达量与各免疫细胞富集水平之间的相关性。

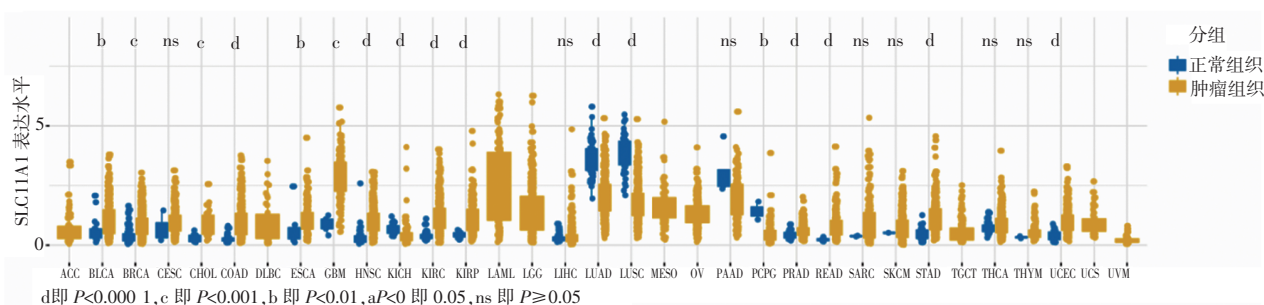
1.2 统计学处理

分别使用 SPSS 软件及 R 软件 3.6.0 进行统计学分析及画图,不同组中 SLC11A1 的表达的比较使用 Wilcoxon rank-sum 检验。R 包“survminer”用于选择 SLC11A1 表达的最佳临界值,Kaplan-Meier 法用于绘制生存曲线,Cox 比例风险回归模型用于单因素、多因素回归分析。所有的相关性分析均使用 Pearson 相关性分析方法,以 $P<0.001$ 为相关性具有统计学意义, $r=0.00\sim0.19$ 为相关性非常弱, $r=0.20\sim0.39$ 为相关性弱, $r=0.40\sim0.59$ 为相关性中等, $r=0.60\sim0.79$ 为相关性强, $r=0.80\sim1.00$ 为强相关性^[6]。通过 R 包“Surviving ROC”绘制接收器工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线^[7]。除相关性分析外,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

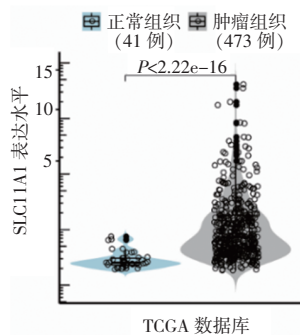
2 结果

2.1 SLC11A1 基因在结肠癌组织的表达

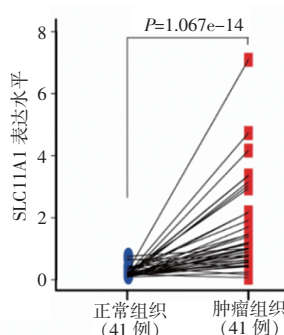
在 TCGA 的 33 种癌症数据集中,发现 SLC11A1 在 17 种癌症中表达有差异,在 14 种肿瘤组织中呈现高表达(图 1A)。在 TCGA COAD RNA-Seq 数据集及 GSE41258 数据集中,SLC11A1 在结肠癌组织中的表达较正常组织中明显增高($P<0.001$)(图 1B~D)。



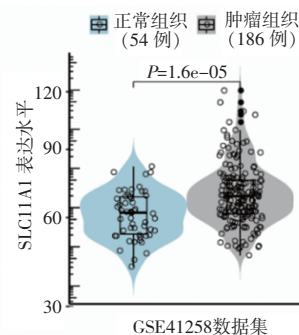
A. SLC11A1 在 33 种肿瘤中的表达情况



B. TCGA 数据集



C. TCGA 数据集配对样品



D. GSE41258 数据集

图 1 SLC11A1 在结肠癌中的表达情况

2.2 SLC11A1 基因表达与结肠癌患者预后的关系

分别在数据集 TCGA COAD 和 GSE17536 中探讨 SLC11A1 对结肠癌的预后价值。在 2 个数据集中,SLC11A1 在肿瘤组织中高表达预示着患者总体生存率(overall survival, OS)低($P=0.004, P=0.037$)(图 2A、B)。在 GSE17536 数据集中,SLC11A1 表达低的患者的无复发生存率(recurrence-free survival, RFS)明显高于高表达患者($P=0.005$)(图 2C)。

使用 Cox 回归模型进一步评估 SLC11A1 表达对肿瘤预后的影响。在 TCGA 数据集中,控制年龄、性别、分期、T、N、M 等相关临床因素,SLC11A1 表达是结肠癌 OS 的独立预测指标($HR=1.73, 95\%CI=1.01\sim2.98, P=0.047$)(表 1)。在数据集

GSE17536 中,控制年龄、性别、分期、分级等相关临床因素,SLC11A1 表达是结肠癌 OS 及 RFS 的独立的预测指标($HR=1.97, 95\%CI=1.18\sim3.27, P=0.009$, 表 2; $HR=2.70, 95\%CI=1.38\sim5.29, P=0.004$, 表 3)。

2.3 SLC11A1 表达与 TME 免疫和基质评分相关性

组织学类型相同的癌症患者可能有不同的免疫浸润水平,这可能导致不同的临床结果^[8-9]。原发肿瘤组织中肿瘤浸润淋巴细胞数量的增加与良好的预后有关,包括结肠癌^[10]。因此,本研究通过对 SLC11A1 与免疫细胞等浸润水平的相关性进行评价,以揭示 SLC11A1 影响结肠癌预后的可能机制。

据文献报道,TME 中炎症细胞及基质细胞与肿瘤细胞的

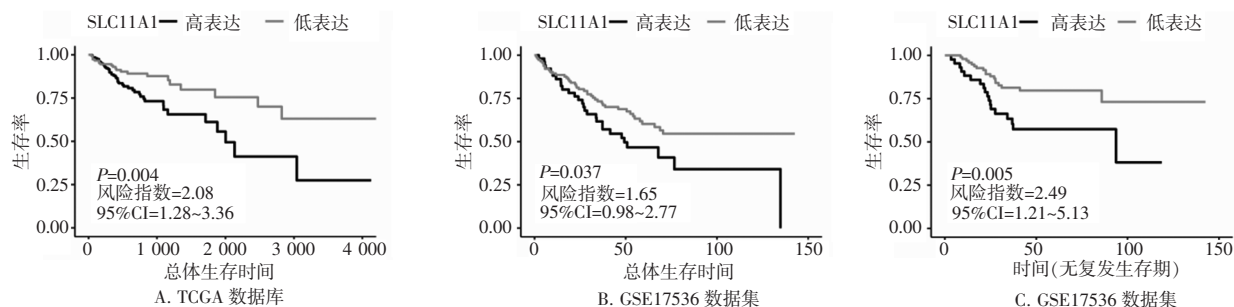


图 2 Kaplan-Meier 分析 SLC11A1 表达在 TCGA COAD 数据集、GSE17536 数据集中对患者预后的影响

表 1 TCGA 数据集中 SLC11A1 对结肠癌患者总生存率的单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素回归分析		多因素回归分析	
	风险指数 (95%CI)	P	风险指数 (95%CI)	P
年龄	1.67 (0.95~2.93)	0.075	2.31 (1.27~4.21)	0.006
性别	1.18 (0.72~1.92)	0.518	1.00 (0.61~1.67)	0.987
AJCC分期	2.66 (1.99~3.54)	<0.001	1.64 (0.71~3.80)	0.247
T分期	3.38 (2.07~5.52)	<0.001	2.00 (1.12~3.54)	0.020
N分期	2.56 (1.70~3.00)	<0.001	1.26 (0.76~2.08)	0.367
M分期	5.49 (3.33~9.05)	<0.001	1.60 (0.52~4.88)	0.411
SLC11A1表达	2.13 (1.26~3.60)	0.005	1.73 (1.01~2.98)	0.047

表 2 GSE17536 中 SLC11A1 对结肠癌患者总生存率的单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素回归分析		多因素回归分析	
	风险指数 (95%CI)	P	风险指数 (95%CI)	P
年龄	0.92 (0.58~1.47)	0.729	1.02 (0.62~1.68)	0.943
性别	1.05 (0.66~1.69)	0.831	0.89 (0.54~1.46)	0.633
AJCC分期	2.70 (2.00~3.65)	<0.001	2.89 (2.08~4.01)	<0.001
肿瘤分级	2.15 (1.33~3.47)	0.002	1.45 (0.89~2.39)	0.139
SLC11A1表达	1.66 (1.03~2.69)	0.039	1.97 (1.18~3.27)	0.009

表 3 GSE17536 中 SLC11A1 对结肠癌患者无复发生存率的单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素回归分析		多因素回归分析	
	风险指数 (95%CI)	P	风险指数 (95%CI)	P
年龄	0.66 (0.34~1.27)	0.213	0.76 (0.38~1.55)	0.454
性别	1.00 (0.52~1.93)	1.000	0.93 (0.47~1.87)	0.848
AJCC分期	2.05 (1.35~3.10)	0.001	2.14 (1.34~3.43)	0.002
肿瘤分级	1.85 (0.94~3.64)	0.076	1.35 (0.69~2.66)	0.381
SLC11A1表达	2.49 (1.30~4.80)	0.006	2.70 (1.38~5.29)	0.004

相互作用是肿瘤发生发展和转移的重要条件。使用 ESTIMATE 法计算 TCGA COAD 肿瘤样本的免疫评分和基质评分,发现 SLC11A1 的表达与结肠癌的免疫评分和基质评分明显相关,分别是 $r=0.56, P<0.001$ 和 $r=0.61, P<0.001$ 。进一步分析表明,这种相关性以阶段独立的方式存在(表 4)。总之,这些数据表明 SLC11A1 在结肠癌患者中的独立预测潜力可能与 TME 的改变有关。

2.4 SLC11A1 在结肠癌的表达与免疫细胞及其亚型的相关性

为了进一步研究 SLC11A1 与 TME 免疫细胞亚型的关系,采用 ssGSEA 定量 GSE17536 数据集中各样本免疫细胞的组成。结肠癌组织中 SLC11A1 表达水平与巨噬细胞($r=0.50, P<0.001$)、中性粒细胞($r=0.32, P<0.001$)、T 细胞共抑制($r=0.36, P<0.001$)等呈正相关(图 3)。在这些免疫细胞类型中,SLC11A1 的表达与巨噬细胞的 ssGSEA 分数相关性最强。

2.5 SLC11A1 表达与 TAM 和 M2 型巨噬细胞相关性

为了进一步了解 SLC11A1 与不同浸润性免疫细胞类型的关系,使用 GEPIA 网页工具分析 SLC11A1 与不同免疫细胞类型标记基因的相关性。本研究还分析了 SLC11A1 与各种功能性 T 细胞亚型的相关性。结果表明,SLC11A1 表达水平与单核细胞、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)、M2 型巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞、滤泡辅助 T 细胞(follicular helper T cells, Tfh)、调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)、T 细胞衰竭等细胞标记基因呈正相关(表 5)。SLC11A1 与 M2 型巨噬细胞标记基因(CD163、VSIG4 和 MS4A4A)、Treg 标记基因(FOXP3、CCR8、CD4、CD25 和 TGFB1)和 T 细胞衰竭标记基因 TIM-3 均有相关性,提示在富含 M2 型巨噬细胞的 TME 中 SLC11A1 高表达可能会限制抗肿瘤免疫^[11-12]。本研究还发现,SLC11A1 的表达水平与结肠癌中的

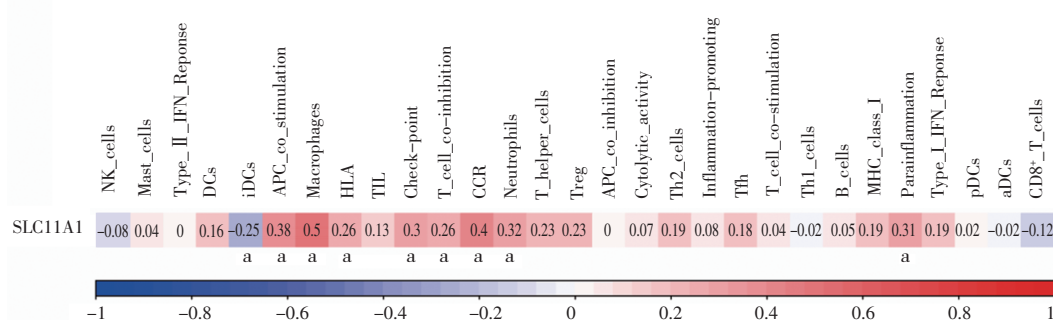
单核细胞、TAMs 和树突状细胞的标记基因呈正相关(表 6),这些结果在 TCGA COAD 数据集及 GSE17537 数据集中得到验证(表 7),提示 SLC11A1 可能参与调节结肠癌中巨噬细胞的极化。

2.6 SLC11A1 与抗肿瘤免疫、TAMs 激活和抑制 CD8⁺ T 细胞的相关性

最近有研究表明,TAMs 通过诱导 TGFB1 和 CXCL12^[13]抑制 CD8⁺ T 细胞的浸润。此外,使用 GEPIA 网页工具分析发现,SLC11A1 的表达与结肠癌患者中的 TGFB1 和 CXCL12 及其受体 TGFB1、TGFB2 和 TGFB3 和 CXCR4 呈明显正相关(图 4A),这些结果在 TCGA COAD 数据集中得到验证(图 4B),提示 SLC11A1 可能有助于 TAMs 介导的 CD8⁺ T 细胞抑制。为了评估这种活动对患者预后的影响,在 TCGA COAD 数据集及 GSE17536 数据集中分析了 CD8⁺ T 细胞浸润对患者总体生存期的影响,发现高 CD8⁺ T 细胞浸润与较好的临床结果相关($P=0.044, P=0.008$;图 5)。将 2 个数据集的患者分为 4 组:SLC11A1-Hi/CD8⁺-Hi、SLC11A1-Hi/CD8⁺-Lo、SLC11A1-Lo/CD8⁺-Hi 和 SLC11A1-Lo/CD8⁺-Lo,并进行 Kaplan-Meier 分析。SLC11A1-Hi/CD8⁺-Hi 肿瘤(黄线)显示 OS 优于 SLC11A1-Hi/CD8⁺-Lo 肿瘤(蓝线)($P=0.007, P=0.046$;图 6A、B)。在 GSE17536 数据集中使用 ROC 曲线比较 SLC11A1 单独状态与 SLC11A1/CD8⁺复合状态预测预后的能力,结果发现 SLC11A1/CD8⁺复合状态预测预后的能力更佳(图 6C)。控制年龄、性别、分期等相关临床因素,SLC11A1-Hi/CD8⁺-Hi 状态是结肠癌 OS 的预后独立因子($P=0.001$,表 7; $P=0.002$,表 8)。这些结果提示,应进行进一步的研究探索 SLC11A1 在激活 TAMs 和抑制 CD8⁺ T 细胞浸润中的具体作用。

表 4 SLC11A1 mRNA 表达与结肠癌的免疫评分和基质评分的相关性分析

ESTIMATE 评分		I ~ IV 期	I 期	II 期	III 期	IV 期
免疫评分	r	0.56	0.41	0.68	0.47	0.56
	P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
基质评分	r	0.61	0.58	0.67	0.56	0.57
	P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001



注:a, $P<0.001$

图 3 SLC11A1 在 GSE17536 数据集中与各项免疫亚型的相关性分析结果

表 5 SLC11A1 和免疫细胞的免疫标记之间的相关性 (GEPIA 数据库)

免疫细胞	免疫细胞标志物	肿瘤组织		正常组织	
		<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CD8 ⁺ T 细胞	CD8A	0.220	< 0.001	-0.077	0.300
	CD8B	0.028	0.640	-0.130	0.074
T 细胞	CD3D	0.220	< 0.001	-0.170	0.024
	CD3E	0.270	< 0.001	-0.150	0.045
	CD2	0.300	< 0.001	-0.140	0.065
B 细胞	CD19	0.140	0.019	-0.130	0.091
	CD79A	0.150	0.016	-0.180	0.013
单核细胞	CD86	0.730	< 0.001	0.650	< 0.001
	CD115	0.800	< 0.001	0.250	< 0.001
肿瘤相关巨噬细胞	CCL2	0.610	< 0.001	0.350	< 0.001
	CD68	0.600	< 0.001	0.190	0.010
	IL10	0.630	< 0.001	0.850	< 0.001
M1 巨噬细胞	INOS	-0.044	0.470	-0.130	0.084
	IRF5	0.230	< 0.001	0.055	0.460
	COX2	0.210	< 0.001	0.700	< 0.001
M2 型巨噬细胞	CD163	0.850	< 0.001	0.870	< 0.001
	VSIG4	0.800	< 0.001	0.670	< 0.001
	MS4A4A	0.790	< 0.001	0.730	< 0.001
中性粒细胞	CD66b	-0.005	0.930	-0.120	0.110
	CD11b	0.860	< 0.001	0.490	< 0.001
	CCR7	0.210	< 0.001	0.240	0.001
自然杀伤细胞	KIR2DL1	0.340	< 0.001	0.180	0.015
	KIR2DL3	0.320	< 0.001	0.044	0.560
	KIR2DL4	0.300	< 0.001	-0.110	0.150
	KIR3DL1	0.200	< 0.001	0.130	0.075
	KIR3DL2	0.450	< 0.001	-0.110	0.130
	KIR3DL3	0.340	0.003	-0.076	0.310
	KIR2DS4	0.230	0.001	0.260	< 0.001
树突状细胞	HLA-DPB1	0.440	< 0.001	-0.046	0.530
	HLA-DQB1	0.350	< 0.001	-0.180	0.016
	HLA-DRA	0.450	< 0.001	-0.028	0.700
	HLA-DPA1	0.380	< 0.001	-0.056	0.450
	BDCA-1	0.220	< 0.001	-0.170	0.021
	BDCA-4	0.830	< 0.001	0.270	< 0.001
	CD11c	0.850	< 0.001	0.750	< 0.001
Th1 细胞	T-bet	0.350	< 0.001	-0.039	0.600
	STAT4	0.400	< 0.001	0.680	< 0.001
	STAT1	0.290	< 0.001	-0.059	0.430
	IFN- γ	0.210	< 0.001	-0.021	0.780
	TNF- α	0.350	< 0.001	-0.023	0.760
Th2 细胞	GATA3	0.290	< 0.001	-0.090	0.230
	STAT6	0.100	0.092	0.150	0.043
	STAT5A	0.340	< 0.001	0.230	< 0.001
	IL13	0.210	< 0.001	0.120	0.100
滤泡辅助 T 细胞	BCL6	0.680	< 0.001	0.310	< 0.001
	IL21	0.200	< 0.001	-0.130	0.070
调节性 T 细胞	FOXP3	0.430	< 0.001	-0.180	0.017
	CCR8	0.470	< 0.001	-0.120	0.021
	STAT5B	0.250	< 0.001	0.270	< 0.001
	TGF β	0.590	< 0.001	0.430	< 0.001
	CD25	0.600	< 0.001	0.180	0.260
	CD4	0.630	< 0.001	0.130	0.430
T 细胞衰竭	PD-1	0.260	< 0.001	0.190	< 0.001
	CTLA4	0.390	< 0.001	-0.024	0.650
	LAG3	0.140	0.024	0.058	0.280
	TIM-3	0.730	< 0.001	0.560	< 0.001
	GZMB	-0.033	0.590	-0.043	0.420

表 6 SLC11A1 和免疫细胞的免疫标记之间的相关性 (TCGA COAD 数据集及 GEO 数据集验证)

免疫细胞	免疫细胞标志物	TCGA COAD (n=473)		GSE17537 (n=55)	
		r	P	r	P
单核细胞	CD86	0.70	<0.001	0.59	<0.001
	CD115	0.65	<0.001	0.67	<0.001
	CCL2	0.55	<0.001	0.57	<0.001
肿瘤相关巨噬细胞	CD68	0.29	<0.001	—	—
	IL10	0.52	<0.001	0.54	<0.001
	INOS	-0.05	0.284	0.07	0.620
M1巨噬细胞	IRF5	0.22	<0.001	0.65	<0.001
	COX2	0.43	<0.001	0.30	0.030
	CD163	0.77	<0.001	0.67	<0.001
M2型巨噬细胞	VSIG4	0.72	<0.001	0.67	<0.001
	MS4A4A	0.69	<0.001	0.57	<0.001

表 7 TCGA 数据集中 SLC11A1 和 CD8⁺ 状态对结肠癌患者总生存率的单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素回归分析		多因素回归分析	
	风险指数 (95%CI)	P	风险指数 (95%CI)	P
年龄	1.67 (0.95~2.93)	0.075	2.41 (1.31~4.40)	0.004
性别	1.18 (0.72~1.92)	0.518	0.95 (0.57~1.58)	0.842
AJCC分期	2.66 (2.00~3.54)	<0.001	1.67 (0.72~3.85)	0.228
T分期	3.38 (2.07~5.52)	<0.001	1.92 (1.08~3.41)	0.026
N分期	2.26 (1.70~3.00)	<0.001	1.22 (0.74~2.01)	0.432
M分期	5.49 (3.33~9.05)	<0.001	1.62 (0.54~4.92)	0.393
SLC11A1/CD8 ⁺	1.54 (1.21~1.95)	0.001	1.41 (1.09~1.81)	0.008

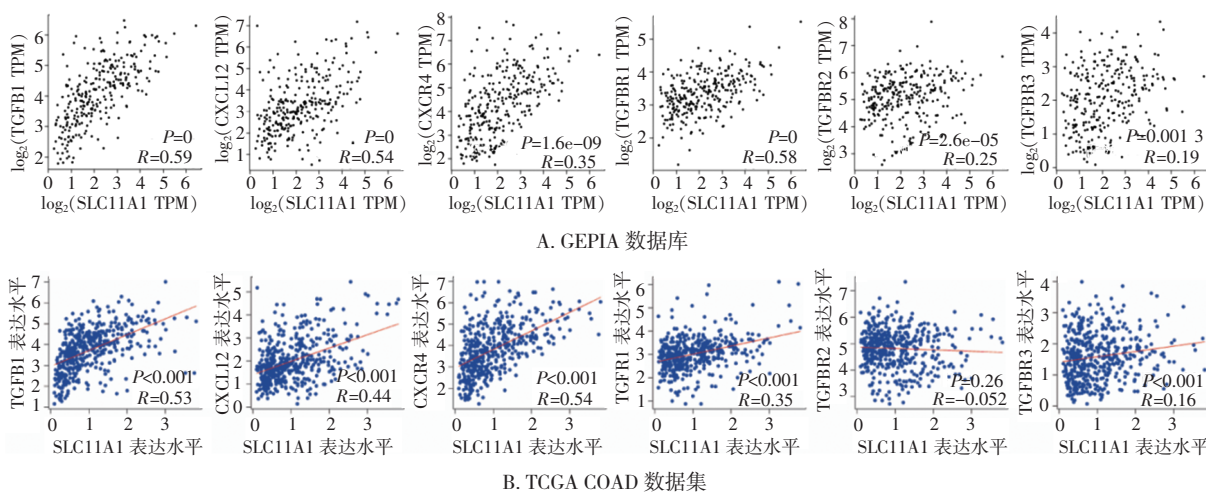


图 4 SLC11A1 的表达与 TGFβ1、CXCL12 及其特异性受体 TGF-βR1、TGF-βR2、TGF-βR3 和 CXCR4 的相关性分析

3 讨论

目前肿瘤的治疗主要采取手术切除及放、化疗等传统治疗方法,对于早期肿瘤效果较好,但对于中、晚期肿瘤只能延长患者生命,缓解临床症状,不能从根本上提高患者生活质量^[14]。在肿瘤进展过程中,肿瘤免疫逃逸是其生存的主要原因之一,可通过下调肿瘤相关抗原表达、抵抗细胞介导的裂解作

用以及免疫抑制分子的表达等来避免免疫系统的识别和攻击,从而导致肿瘤的进展及全身的扩散,而肿瘤免疫逃逸受 TME 调控的观点已经被广泛接受,成为近年来肿瘤的免疫以及靶向治疗的研究热点^[15]。

TME 是肿瘤细胞生存的环境,除肿瘤细胞外, TME 还包括周围血管、基质细胞、成纤维细胞、免疫细胞、脂肪细胞、细胞外基质及信号分子等。它们之间相互作用,形成一个独特的网络。在这个网络中,

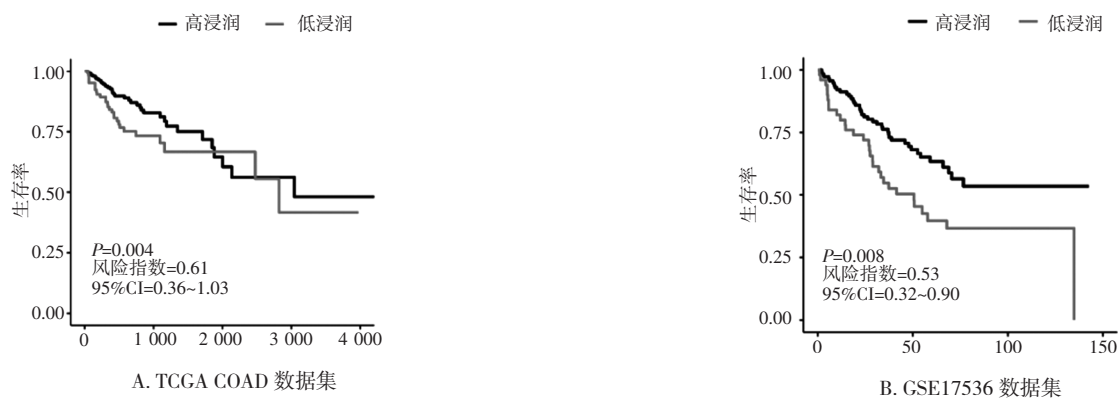
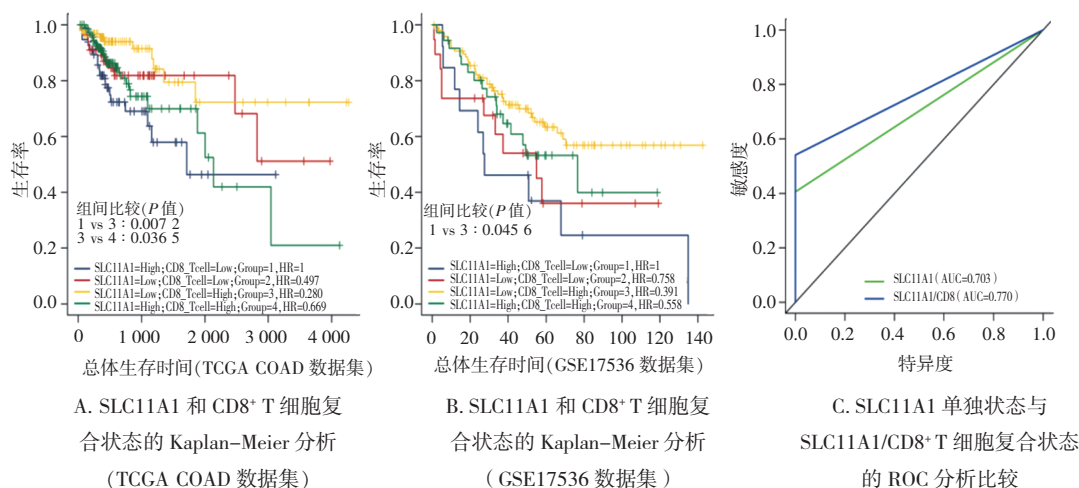
图5 Kaplan-Meier 分析 CD8⁺ T 细胞浸润在 TCGA 数据库、GSE17536 数据集中对患者总体生存期的影响

图6 SLC11A1/CD8 状态预测结肠癌患者的总体生存 (SLC11A1-L0/CD8-Hi (黄线) 患者存活时间较好)

表8 GSE17536 中 SLC11A1 和 CD8⁺ 状态对结肠癌患者总生存率的单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素回归分析		多因素回归分析	
	风险指数 (95%CI)	P	风险指数 (95%CI)	P
年龄	0.92 (0.58~1.47)	0.729	1.26 (0.75~2.10)	0.382
性别	1.05 (0.66~1.69)	0.831	0.88 (0.53~1.45)	0.614
AJCC分期	2.70 (2.00~3.65)	< 0.001	2.75 (2.00~3.79)	< 0.001
肿瘤分级	2.15 (1.33~3.47)	0.002	1.60 (0.97~2.66)	0.069
SLC11A1/CD8 ⁺	1.37 (1.12~1.70)	0.004	1.45 (1.15~1.84)	0.002

肿瘤细胞对它们的代谢特性进行重新编程,在不同细胞之间尤其是肿瘤细胞和免疫细胞之间相互作用来维持肿瘤细胞的代谢和生长,因此对于肿瘤的发生发展以及免疫逃逸机制的发展至关重要^[16-17]。研究发现 SLC11A1 mRNA 的表达与基质和免疫存在一定的相关性,而且还发现 SLC11A1 在结肠癌发生发展中与 TME 中各细胞成分也有相关性。

本研究利用 TCGA 及 GEO 汇总结肠癌相关数据,分析 SLC11A1 表达及其与结肠癌临床预后关系,同时使用 ESTIMATE 算法和 ssGSEA 算法,探索 SLC11A1 与 TME 中免疫细胞浸润之间的关联程度。研究发现,SLC11A1 的表达与结肠癌中多种免

疫细胞类型的浸润有关。SLC11A1 表达水平与 M2 型巨噬细胞浸润水平呈明显正相关,提示 SLC11A1 在结肠癌中调节肿瘤免疫功能,而 M2 型巨噬细胞高表达 IL-10、TGF- β 和精氨酸酶 (arginase, ARG) 等能够将 T 细胞极化为免疫抑制性的辅助性 T 细胞 2 进而抑制免疫反应^[18]。NOS2、PTGS2 等 M1 型巨噬细胞标志物与 SLC11A1 无相关性,而 CD163、VSIG4、MS4A4A 等 M2 型巨噬细胞标志物与 SLC11A1 呈强相关性。因此,推测 SLC11A1 或 SLC11A1+细胞可能调节 TAMs 的极化。此外,SLC11A1 的高表达与结肠癌中 Treg (FOXP3、CCR8、TGF- β 1、CD25、CD4) 和 T 细胞衰竭标志物 (PD-1、CTLA4、LAG3) 的

增加有关。在这些标记中,TGF- β 1、CXCL12 和TIM-3 是诱导 T 细胞衰竭的关键因素^[19],与 SLC11A1 相关性明显。总之,这些发现提示 SLC11A1 可能与 TME 中炎性细胞以及免疫细胞的招募、浸润及其功能调节发挥重要作用,不仅可以抑制抗肿瘤的免疫应答,还可以促进肿瘤的转移和侵袭等过程,促进恶性肿瘤的发展和转移。

CD8⁺细胞毒性 T 细胞是清除肿瘤细胞的关键效应细胞。在许多肿瘤中,较高的 CD8⁺ T 细胞浸润与较好的临床结果相关^[20]。有报道说,耗尽的 CD8⁺ T 细胞也表达 CD8A,但失去了根除肿瘤细胞的能力^[21],认为是免疫检查点抑制剂改善 CD8⁺ T 细胞功能的一个重要原因^[22-23]。本研究结果表明,低 SLC11A1 表达与高 CD8⁺ T 细胞浸润状态预示结肠癌患者更好的存活率,且相较于 SLC11A1 低表达状态,SLC11A1/CD8⁺复合状态预测预后的能力更佳。此外,本研究同样也发现高 CD8⁺ T 细胞浸润与结肠癌较好的临床结果相关。但是,在探索 SLC11A1/CD8⁺ T 细胞复合状态与生存的关系时,发现 SLC11A1 高表达/高 CD8⁺ T 细胞浸润患者的 OS 与 SLC11A1 高表达/CD8⁺ T 细胞低浸润患者相比无明显差异,提示 SLC11A1 除了调节 CD8⁺ T 细胞功能以外,还可能存在其他相关机制参与其中,这在后续的研究工作中需要进一步深入研究。

总之,在结肠癌中,SLC11A1 表达与 M2 型巨噬细胞及 Treg 浸润有关,同时与结肠癌患者总体生存率与临床预后明显相关。SLC11A1 的表达可能参与 TAMs 和 Treg 的调节,从而增强 CD8⁺ T 细胞的抑制和诱导 T 细胞衰竭。因此 SLC11A1 可能成为结肠癌的预后标志物和佐剂靶点,为提高免疫治疗的敏感性,改善结肠癌患者的预后奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Li SKH, Martin A. Mismatch repair and colon cancer: mechanisms and therapies explored[J]. Trends Mol Med, 2016, 22(4): 274-289.
- [3] Montalbetti N, Simonin A, Kovacs G, et al. Mammalian iron transporters: families SLC11 and SLC40[J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(2/3): 270-287.
- [4] Awomoyi AA. The human solute carrier family 11 member 1 protein (SLC11A1): linking infections, autoimmunity and cancer?[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2007, 49(3): 324-329.
- [5] Zhuang GJ, Zeng Y, Tang Q, et al. Identifying M1 macrophage-related genes through a co-expression network to construct a four-gene risk-scoring model for predicting thyroid cancer prognosis[J]. Front Genet, 2020, 11: 591079.
- [6] Pan JH, Zhou H, Cooper L, et al. LAYN is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric and colon cancers[J]. Front Immunol, 2019, 10: 6.
- [7] Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker[J]. Biometrics, 2000, 56(2): 337-344.
- [8] Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point[J]. Nature, 2017, 541(7637): 321-330.
- [9] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. N Engl J Med, 2015, 372(26): 2509-2520.
- [10] Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment[J]. Science, 2015, 348(6230): 74-80.
- [11] Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy[J]. Immunity, 2014, 41(1): 49-61.
- [12] Arnold T, Betsholtz C. The importance of microglia in the development of the vasculature in the central nervous system[J]. Vasc Cell, 2013, 5(1): 4.
- [13] Savage NDL, de Boer T, Walburg KV, et al. Human anti-inflammatory macrophages induce Foxp3⁺ GITR⁺ CD25⁺ regulatory T cells, which suppress via membrane-bound TGF- β 1[J]. J Immunol, 2008, 181(3): 2220-2226.
- [14] Franke AJ, Skelton WP, Starr JS, et al. Immunotherapy for colorectal cancer: a review of current and novel therapeutic approaches[J]. J Natl Cancer Inst, 2019, 111(11): 1131-1141.
- [15] Zhang JF, Dang FB, Ren JM, et al. Biochemical aspects of PD-L1 regulation in cancer immunotherapy[J]. Trends Biochem Sci, 2018, 43(12): 1014-1032.
- [16] Liu W, Ye H, Liu YF, et al. Transcriptome-derived stromal and immune scores infer clinical outcomes of patients with cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4351-4357.
- [17] Li XY, Wenes M, Romero P, et al. Navigating metabolic pathways to enhance antitumor immunity and immunotherapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(7): 425-441.
- [18] Lu TY, Ramakrishnan R, Altiock S, et al. Tumor-infiltrating myeloid cells induce tumor cell resistance to cytotoxic T cells in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(10): 4015-4029.
- [19] Sato E, Olson SH, Ahn J, et al. Intraepithelial CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8⁺/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(51): 18538-18543.
- [20] Pernot S, Terme M, Voron T, et al. Colorectal cancer and immunity: what we know and perspectives[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(14): 3738-3750.
- [21] Blackburn SD, Shin H, Haining WN, et al. Coregulation of CD8⁺ T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection[J]. Nat Immunol, 2009, 10(1): 29-37.
- [22] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection[J]. Nature, 2006, 439(7077): 682-687.
- [23] Bae EA, Seo H, Kim BS, et al. Activation of NKT cells in an anti-PD-1-resistant tumor model enhances antitumor immunity by reinvigorating exhausted CD8 T cells[J]. Cancer Res, 2018, 78(18): 5315-5326.

(责任编辑:冉明会)