

PDZK1IP1 在胶质瘤中的预后价值及免疫浸润分析*

云德波¹ 杨学军²

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院南充医院南充市中心医院神经外科, 四川 南充 637000; 2. 北京清华长庚医院神经外科, 北京 100000)

【摘要】 目的 探讨 PDZK1IP1 在胶质瘤中的临床意义及免疫浸润情况。方法 采用 R 软件分析 TCGA 数据库胶质瘤和 GTEx 数据库的脑组织的 PDZK1IP1 的表达水平。利用 TCGA 数据库胶质瘤的 mRNA-seq 及临床数据分析 PDZK1IP1 表达与重要临床病理特征(年龄、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、1p/19q 联合缺失、WHO 分级)的关系。采用 Kaplan-Meier 法分析 PDZK1IP1 表达与总生存率(OS)的关系。GO 及 KEGG 分析 PDZK1IP1 的生物学功能及可能富集的信号通路,采用 Spearman 相关分析 PDZK1IP1 表达与肿瘤组织中免疫细胞浸润关系。**结果** PDZK1IP1 在胶质瘤中显著富集,其表达水平与患者年龄、IDH 状态、1p/19q 联合缺失及 WHO 分级显著相关,且高表达 PDZK1IP1 的患者 OS 更差。PDZK1IP1 的表达与肿瘤微环境中的中性粒细胞及巨噬细胞浸润显著相关。**结论** PDZK1IP1 可能是胶质瘤潜在的生物学标志物,其可能通过调节胶质瘤复杂的肿瘤免疫微环境而促进胶质瘤恶性进展。

【关键词】 DZK1IP1; 胶质瘤; 基因表达; 预后; 免疫浸润

【中图分类号】 R739.41 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.12.007

The prognostic value of PDZK1IP1 and immune infiltration analysis in glioma

YUN Debo¹, YANG Xuejun²

(1. Department of Neurosurgery, Beijing Anzhen Nanchong Hospital, Capital Medical University, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Department of Neurosurgery, Beijing Tsinghua Changgeng Hospital, Beijing 100000, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinical significance of PDZK1IP1 and immune infiltration in gliomas. **Methods** The expression levels of PDZK1IP1 in gliomas from the TCGA database and brain tissues from the GTEx database were analyzed using R software. mRNA-seq and clinical data from the TCGA database were used to analyze the relationship between PDZK1IP1 expression and important clinical pathological features (age, isocitrate dehydrogenase (IDH) status, 1p/19q co-deletion, WHO grade) in gliomas. Kaplan-Meier analysis was performed to assess the relationship between PDZK1IP1 expression and overall survival (OS). GO and KEGG analyses were conducted to explore the biological functions and potential signaling pathways enriched by PDZK1IP1. Spearman correlation analysis was used to investigate the relationship between PDZK1IP1 expression and immune cell infiltration in tumor tissues. **Results** PDZK1IP1 was significantly enriched in gliomas, and its expression level was significantly associated with patient age, IDH status, 1p/19q co-deletion, and WHO grade. Patients with high PDZK1IP1 expression had worse OS. PDZK1IP1 expression was significantly correlated with neutrophil and macrophage infiltration in the tumor microenvironment. **Conclusion** PDZK1IP1 may serve as a potential biomarker in gliomas, potentially promoting malignant progression by modulating the complex tumor immune microenvironment in gliomas.

【Key words】 PDZK1IP1; Glioma; Gene expression; Prognosis; Immune infiltration

基金项目:北京市自然科学基金项目(7232228)

通讯作者:杨学军,二级教授,博士生导师, E-mail: ydenny@126.com

引用本文:云德波,杨学军. PDZK1IP1 在胶质瘤中的预后价值及免疫浸润分析[J]. 西部医学, 2024, 36(12):1756-1760. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2024.12.007

胶质瘤是最常见、恶性程度最高的中枢神经系统肿瘤^[1-2]。通过常规的肿瘤手术切除,术后辅以放化疗仅能获得有限的预后改善^[3-4]。肿瘤的免疫微环境在肿瘤发生发展中扮演着重要角色,免疫微环境中的肿瘤相关巨噬细胞、中性粒细胞均可能和肿瘤细胞一起狼狈为奸,协助肿瘤细胞逃逸免疫、促进增殖、远处

迁移。在非小细胞肺癌、肾癌等实体瘤中,采用免疫检查点阻断抗体的免疫治疗已显示出显著的临床疗效^[5-6]。中枢神经系统中淋巴管的开创性发现为胶质瘤的免疫治疗带来更多的机遇^[7],作为胶质瘤有希望的辅助治疗手段之一,但目前基础研究和临床试验中都遇到了众多的挑战。因此,迫切需要在胶质瘤免疫微环境、免疫调控、靶向免疫治疗方面有新的发现及突破。

PDZK1IP1 为蛋白编码基因,其编码的蛋白 MAP17 可能在肿瘤的发生发展中发挥着重要的生物学功能^[8]。研究发现,沉默 *PDZK1IP1* 可以抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭、凋亡和细胞周期阻滞^[9]。在结肠癌中,*PDZK1IP1* 所编码的蛋白在肿瘤微环境中发挥着超级增强子的作用,剔除 *PDZK1IP1* 基因,结肠癌的生长就会减缓,这或许表明,*PDZK1IP1* 能作为新型抗癌疗法的作用靶点^[10]。在胶质瘤中,*PDZK1IP1* 的生物学功能目前尚缺乏研究及报道。我们利用 GTEX 及 TCGA 的 mRNA-seq 及临床数据,分析了胶质瘤中 *PDZK1IP1* 的表达谱,并进一步探索发现 *PDZK1IP1* 表达与胶质瘤的重要临床病理特征、预后及免疫浸润存在密切关系,这将为 *PDZK1IP1* 在胶质瘤中的基础及临床研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料下载和过滤 UCSC XENA (<https://xenabrowser.net/datapages/>) 数据库下载经 Toil 流程统一处理的 TCGA 和 GTEX 的 TPM 格式的 RNA-seq 数据^[11]。从中进一步提取了 *PDZK1IP1* 基因在胶质瘤($n=689$)和正常脑组织样本($n=1157$)中的表达数据,用于分析 *PDZK1IP1* 在肿瘤组织及正常脑组织中的表达情况。从 TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov>) 下载并整理 TCGA-GBM 和 TCGA-LGG 项目 STAR 流程共计 698 例胶质瘤患者的 mRNA-seq 数据及临床数据,TCGA 补充数据

(WHO 分级、IDH 突变状态、1p/19q 共缺失)来自 Ceccarelli 等^[12]研究,这些数据用于 *PDZK1IP1* 临床相关性分析及生存分析。所有分析均在 R (4.2.1) 软件中完成,根据数据格式特征选择 stats 包以及 car 包进行统计分析,采用 ggplot2 包对数据进行可视化。临床病理因素组中 NA 值患者被剔除,其中 IDH 状态组 9 例、1P/19q 联合缺失状态组 6 例及 WHO 分级组 61 例。

1.2 GO 和 KEGG 分析 按照 *PDZK1IP1* 的表达水平中位值将 TCGA 胶质瘤分成高、低表达组,利用 DESeq2 包对 *PDZK1IP1* 的原始 Counts 矩阵进行差异分析。利用 GO plot 包进行 GO 和 KEGG 通路富集分析。

1.3 免疫浸润分析 利用 GSVA 包(1.46.0)中提供的 ssGSEA 算法^[13],采用 Bindea 等^[14]研究方法进行胶质瘤免疫细胞的浸润分析,随后在 *PDZK1IP1* 和免疫浸润矩阵数据之间进行相关性分析,分析结果用 ggplot2 包进行可视化。

1.4 统计学分析 所有分析均在 R(4.2.1) 软件中完成,根据数据格式特征选择 stats 包及 car 包进行统计分析,采用 ggplot2 包对数据进行可视化。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,满足正态分布及方差齐的资料采用 t 检验;满足正态分布但方差不齐的资料采用 Welch t 检验;不满足正态分布的资料采用 U 检验。计数资料采用 χ^2 检验,应用 Kaplan-Meier 法进行生存分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *PDZK1IP1* 在胶质瘤肿瘤组织中显著富集 分析 UCSC XENA 数据库中经 Toil 流程处理的 TCGA 数据库胶质瘤和 GTEX 数据库正常脑组织的 RNA-seq 数据(TPM 格式),结果显示 *PDZK1IP1* 在胶质瘤中表达水平显著高于正常脑组织(图 1A),在较低级别胶质瘤(图 1B)及胶质母细胞瘤(图 1C)中,*PDZK1IP1* 表达水平亦显著高于正常组织(均 $P < 0.001$)。

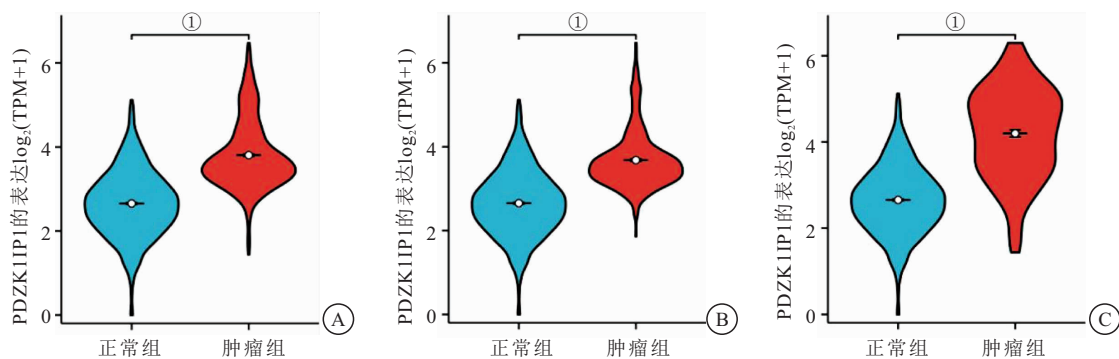


图 1 *PDZK1IP1* 的表达差异图

Figure 1 Differential expression of *PDZK1IP1*

注:A.胶质瘤;B.较低级别胶质瘤;C.胶质母细胞瘤。两组比较,① $P < 0.001$ 。

2.2 PDZK1IP1 表达水平与胶质瘤重要临床病理特征关系密切 对 TCGA 胶质瘤按重要临床病理特征进行分组,随后分别比较 PDZK1IP1 表达水平在其重要临床病理特征分组之间的表达水平,发现 PDZK1IP1 在胶质瘤的年龄、IDH 状态、1p/19q 联合

缺失状态、WHO 分级分组中表达均存在显著差异,且在高龄(图 2A)、IDH 野生型(图 2B)、1p/19q 非联合缺失(图 2C)、胶质母细胞瘤(图 2D)组中,PDZK1IP1 表达水平显著增高(均 $P < 0.001$),这表明 PDZK1IP1 表达水平与胶质瘤的重要临床病理特征关系密切。

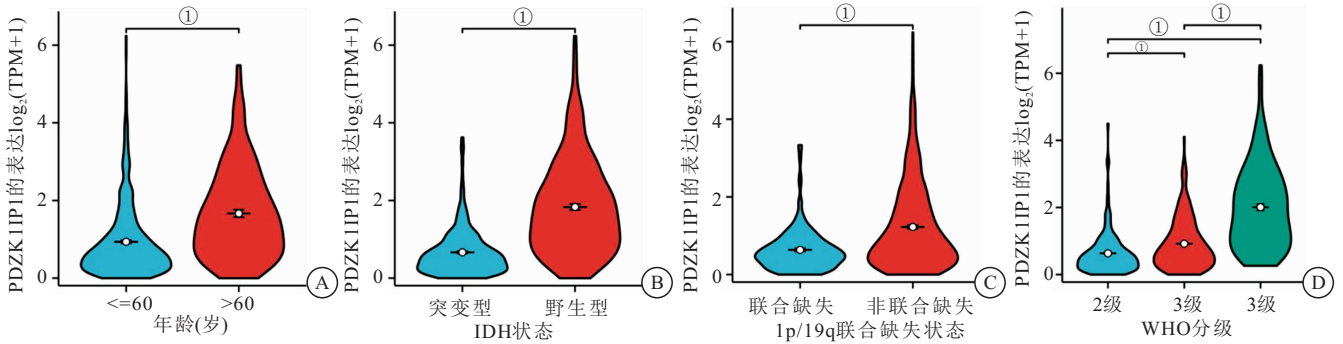


图 2 PDZK1IP1 在胶质瘤不同临床病理特征组中的表达情况

Figure 2 Expression of PDZK1IP1 in different clinical pathological groups of glioma

注:A. 胶质瘤患者的年龄;B. IDH 状态;C. 1p/19q 联合缺失状态 D. 肿瘤 WHO 分级。组间比较,① $P < 0.001$ 。

2.3 PDZK1IP1 表达水平与胶质瘤总生存期密切相关 分析 TCGA 数据库胶质瘤患者 PDZK1IP1 表达水平与总生存时间的关系,发现过表达 PDZK1IP1 的患者总生存时间显著缩短($P < 0.001$),见图 3A。对胶质瘤的临床亚组进行分析,发现在较低级别胶质瘤

及胶质母细胞瘤亚组中,也存在过表达 PDZK1IP1 患者的总生存时间显著缩短($P < 0.001$),见图 3B、C。这说明不管是在胶质瘤还是在其临床亚组中,PDZK1IP1 表达均与患者的总生存期密切相关。

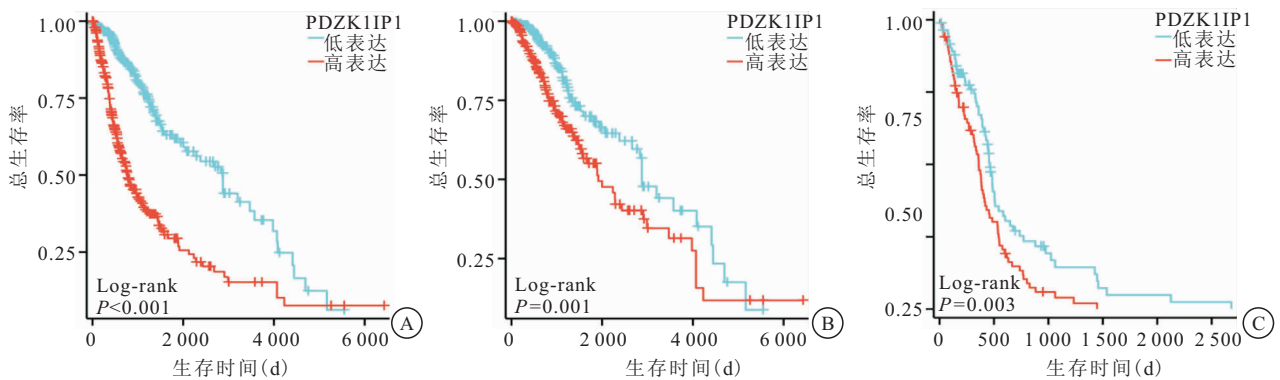


图 3 PDZK1IP1 高低表达组的生存分析

Figure 3 Survival analysis plot of high and low expression groups of PDZK1IP1

注:A. TCG_胶质瘤;B. TCG_较低级别胶质瘤;C. TCG_胶质母细胞瘤。

2.4 GO、KEGG 及免疫浸润分析 GO 分析发现 PDZK1IP1 的生物功能可能和中性粒细胞激活、中性粒细胞介导的免疫、中性粒细胞脱颗粒密切相关(图 4A)。KEGG 分析提示 PDZK1IP1 可能参与介导细胞因子-细胞因子受体相互作用的信号通路(图 4B)。我们采用 Bindea 等^[14]的研究方法提取胶质瘤免疫细胞的各种生物标记物进行免疫浸润分析,发现 PDZK1IP1 的表达与巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞显著正相关(图 5)。

3 讨论

脑胶质瘤是成人最常见的颅内原发性恶性肿瘤^[15],具有高复发率、高致残率和高致死率,作为临床最难治的肿瘤之一,给患者家庭和社会带来沉重的负担。越来越多的研究表明,脑胶质瘤免疫微环境与患者预后和治疗敏感性密切相关。然而如何术前准确地预测胶质瘤患者预后,安全地获得胶质瘤患者肿瘤免疫浸润状态目前仍属世界难题。随着组学技术的成熟为术前无创预测胶质瘤患者预后和肿瘤免疫浸润状

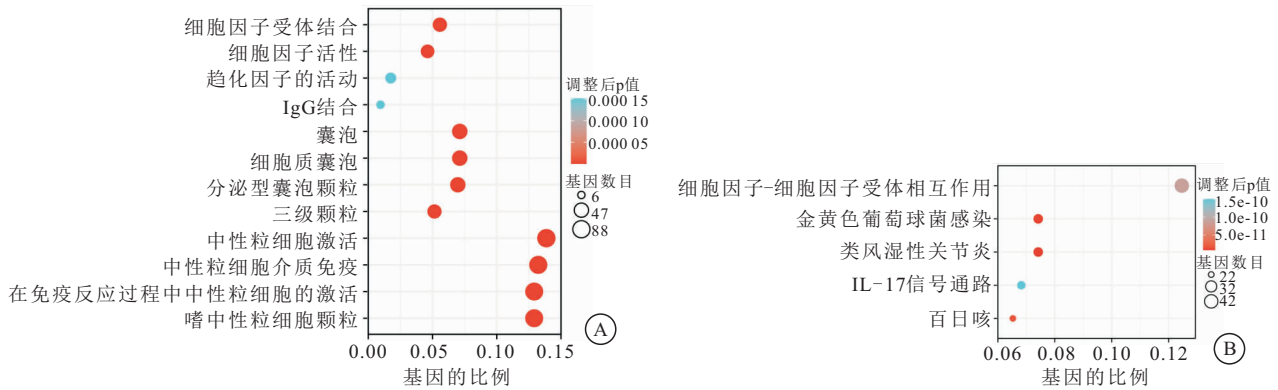


图 4 GO 和 KEGG 分析结果图
Figure 4 GO and KEGG analysis results plot

注: A. GO 和结果显示与 PDZK1IP1 富集的基因功能、细胞组分及参与的生物过程情况; B. KEGG 分析 PDZK1IP1 所富集的疾病和信号通路情况。

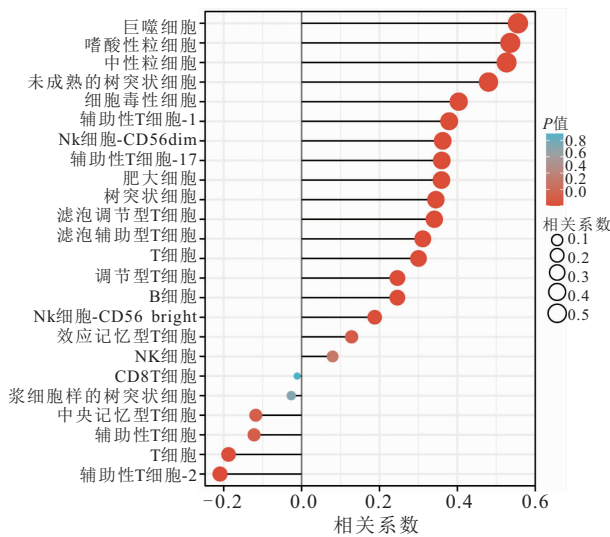


图 5 免疫浸润分析结果图
Figure 5 Immunoinfiltration analysis results plot

注:免疫浸润分析显示, PDZK1IP1 的表达水平与巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞显著正相关。

态提供了可能。我们分析 TCGA 脑胶质瘤的 PDZK1IP1 的表达及临床资料,发现 PDZK1IP1 在胶质瘤中高表达,且病理级别越高,表达水平越高; PDZK1IP1 表达水平与胶质瘤预后密切相关,表达水平越高,胶质瘤病人预后越差。这些结果预示着 PDZK1IP1 可能在胶质瘤成瘤、躲避机体清除等方面扮演着不为人知的角色,也提示着 PDZK1IP1 可能成为胶质瘤患者预后的潜在生物标志物。在过去的十年里,肿瘤微环境与肿瘤细胞之间的相互作用,受到了广泛的关注^[16]。肿瘤微环境包括血管、免疫细胞、间质细胞等,通过细胞因子、细胞外基质和细胞间相互作用等方式与肿瘤细胞交流,影响其行为。传统上,中枢神经系统被认为是免疫豁免器官,而最近的数据表明,当血脑屏障被胶质瘤引起的组织损伤或炎症破坏时,免疫细胞可以进入中枢神经系统^[17],但并

未因此而有效地清除肿瘤细胞,狡猾的肿瘤细胞通过基因组的重编程,诱导免疫微环境的改变而促使肿瘤的免疫逃逸,最终导致肿瘤的快速进展^[18]。中性粒细胞是最丰富的白细胞类型^[19],据报道,肿瘤微环境中的中性粒细胞与肾癌、头颈部鳞状细胞癌、胰腺腺癌、肝癌、胶质瘤的肿瘤复发时间缩短及总生存率降低有关^[20-23]。胶质瘤的大多数非肿瘤细胞是肿瘤相关巨噬细胞,无论是外周起源的还是脑内的小胶质细胞,为肿瘤细胞的扩张和侵袭创造了支持基质。肿瘤相关巨噬细胞被招募到胶质瘤环境中,并可以释放大量的生长因子和细胞因子。通过这种方式, TAMs 发挥着促进胶质瘤细胞的增殖、迁移及侵袭作用,通过这种反复的相互作用,建立了独特的肿瘤生态系统^[24]。嗜酸性粒细胞分泌的多种细胞因子可调节免疫反应,影响胶质瘤肿瘤微环境^[25]。本研究行 GO 及 KEGG 分析发现, PDZK1IP1 与免疫反应过程中的中性粒细胞的激活及脱颗粒及中性粒细胞介导的免疫显著相关。进一步行免疫浸润分析亦发现, PDZK1IP1 的表达水平与巨噬细胞、嗜酸性粒细胞及中性粒细胞浸润程度显著正相关。这些发现表明过表达的 PDZK1IP1 可能通过调节胶质瘤免疫微环境及免疫细胞浸润而促进胶质瘤的恶性进展。了解 PDZK1IP1 在肿瘤免疫调节中的具体作用有助于我们更好地理解肿瘤微环境中的免疫逃逸机制,并且为开发针对 PDZK1IP1 的精准治疗提供重要依据。然而,尽管我们发现了 PDZK1IP1 与胶质瘤免疫浸润显著相关,但其确切的作用机制和其与特定免疫细胞的相互作用等情况仍需要进一步研究。

4 结论

PDZK1IP1 在胶质瘤中富集,并且其表达与患者年龄、IDH 状态、1p/19q 联合缺失和 WHO 分级等重要临床病理特征相关,且高过表达的 PDZK1IP1 患者

总生存期更短;此外,PDZK1IP1 的表达与肿瘤微环境中中性粒细胞和巨噬细胞的浸润相关。这些发现表明,PDZK1IP1 可能成为胶质瘤的潜在生物标志物,并可能通过调节复杂的肿瘤免疫微环境促进其恶性进展,为胶质瘤的基础及临床研究提供重要依据。

【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. doi:10.3322/caac.21492.
- [2] 石瑞, 郭梦, 毛维. HOTAIR 通过 STAT3_NANOG 信号通路调控脑胶质瘤干细胞的增殖与分化[J]. *西部医学*, 2022, 32(3): 355-360.
- [3] JIANG T, NAM D H, RAM Z, *et al.* Clinical practice guidelines for the management of adult diffuse gliomas[J]. *Cancer Lett*, 2021,499:60-72. doi:10.1016/j.canlet.2020.10.050.
- [4] 黄培成, 程小耕, 杨强, 等. 贝伐单抗联合多西环素治疗胶质瘤的疗效与机制研究[J]. *西部医学*, 2018, 30(10): 1479-1483.
- [5] ROSSI SEBASTIANO M, POZZATO C, SALIAKOURA M, *et al.* ACSL3-PAI-1 signaling axis mediates tumor-stroma cross-talk promoting pancreatic cancer progression [J]. *Sci Adv*, 2020,6(44):eabb9200. doi:10.1126/sciadv.abb9200.
- [6] YU H A, SUZAWA K, JORDAN E, *et al.* Concurrent alterations in EGFR-Mutant lung cancers associated with resistance to EGFR kinase inhibitors and characterization of MTOR as a mediator of resistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(13): 3108-3118. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2961.
- [7] XU S, TANG L, LI X, *et al.* Immunotherapy for glioma: Current management and future application[J]. *Cancer Lett*, 2020, 476:1-12. doi:10.1016/j.canlet.2020.02.002.
- [8] BLUM Y, MEILLER C, QUETEL L, *et al.* Dissecting heterogeneity in malignant pleural mesothelioma through histo-molecular gradients for clinical applications[J]. *Nat Commun*, 2019,10(1):1333. doi:10.1038/s41467-019-09307-6.
- [9] ZHANG W, ZHENG D, JIN L, *et al.* PDZK1IP1 gene promotes proliferation, migration, and invasion in papillary thyroid carcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 238: 154091. doi:10.1016/j.prp.2022.154091.
- [10] ZHOU R W, XU J, MARTIN T C, *et al.* A local tumor micro-environment acquired super-enhancer induces an oncogenic driver in colorectal carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6041. doi:10.1038/s41467-022-33377-8.
- [11] VIVIAN J RAA, NOTHAFT F A, *et al.* Toil enables reproducible, open source, big biomedical data analyses[J]. *Nature biotechnology*, 2017,35(4):314-316.
- [12] CECCARELLI M, BARTHEL F P, MALTA T M, *et al.* Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma[J]. *Cell*, 2016,164(3): 550-563. doi:10.1016/j.cell.2015.12.028.
- [13] HANZELMANN S, CASTELO R, GUINNEY J. GSVA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013,14:7. doi:10.1186/1471-2105-14-7.
- [14] BINDEA G, MLECNIK B, TOSOLINI M, *et al.* Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer[J]. *Immunity*, 2013,39(4):782-795. doi:10.1016/j.immuni.2013.10.003.
- [15] 许乐宜, 张敏, 孔令军, 等. 脑胶质瘤细胞外泌体对血管新生的影响及其机制-许乐宜[J]. *西部医学*, 2022, 34(4): 482-487.
- [16] WANG D, DUBOIS R N. Immunosuppression associated with chronic inflammation in the tumor microenvironment[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(10): 1085-1093. doi:10.1093/carcin/bgv123.
- [17] RASCHER G, FISCHMANN A, KROGER S, *et al.* Extracellular matrix and the blood-brain barrier in glioblastoma multiforme: spatial segregation of tenascin and agrin[J]. *Acta Neuropathol*, 2002, 104(1): 85-91. doi:10.1007/s00401-002-0524-x.
- [18] TAFANI M, DI VITO M, FRATI A, *et al.* Pro-inflammatory gene expression in solid glioblastoma microenvironment and in hypoxic stem cells from human glioblastoma[J]. *J Neuroinflammation*, 2011,8:32. doi:10.1186/1742-2094-8-32.
- [19] ERMERT D, NIEMIEC M J, ROHM M, *et al.* Candida albicans escapes from mouse neutrophils[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 94(2):223-236. doi:10.1189/jlb.0213063.
- [20] HALAZUN K J, HARDY M A, RANA A A, *et al.* Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Surg*, 2009,250(1):141-151. doi:10.1097/SLA.0b013e3181a77e59.
- [21] REID M D, BASTURK O, THIRABANJASAK D, *et al.* Tumor-infiltrating neutrophils in pancreatic neoplasia[J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(12): 1612-1619. doi:10.1038/modpathol.2011.113.
- [22] TRELAKIS S, BRUDEREK K, DUMITRU C A, *et al.* Polymorphonuclear granulocytes in human head and neck cancer: enhanced inflammatory activity, modulation by cancer cells and expansion in advanced disease[J]. *Int J Cancer*, 2011,129(9): 2183-2193. doi:10.1002/ijc.25892.
- [23] ZHA C, MENG X, LI L, *et al.* Neutrophil extracellular traps mediate the crosstalk between glioma progression and the tumor microenvironment via the HMGB1/RAGE/IL-8 axis[J]. *Cancer Biol Med*, 2020,17(1):154-168. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0353.
- [24] HAMBARDZUMYAN D, GUTMANN D H, KETTENMANN H. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(1): 20-27. doi:10.1038/nn.4185.
- [25] HUANG Z, WU L, HOU Z, *et al.* Eosinophils and other peripheral blood biomarkers in glioma grading: a preliminary study [J]. *BMC Neurol*, 2019,19(1):313. doi:10.1186/s12883-019-1549-2.

(收稿日期:2023-11-02;修回日期:2024-11-30;编辑:黎仕娟)