DOI:10.16016/j.2097-0927.202405037

PSMA4 在肺腺癌预后、诊断和免疫浸润中的作用和机制研究

赵 静[1],李艳梅[2],王雪樾[3],聂 恬[4],王 洁[1],翁启明[1],张 静[5],范 晔[6] 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院:临床技能培训中心[1],野战内科研究所[5],呼吸科[6];610083 成都,中国人民解放军西部战区总医院检验科[2];850000 拉萨,中国人民解放军西藏军区总医院儿科[3];610072 成都,四川省人民医院消化内镜中心[4]

[**摘要**] **目的** 探究 PSMA4 在肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)预后、诊断和免疫浸润中的作用和机制。**方法** 从癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库中获取 LUAD 患者的表达谱和临床信息。通过 Wilcoxon 秩和检验比较 LUAD 组($n=539$)与正常组($n=59$)PSMA4 基因的表达水平。通过在 GEO 数据库下载 GSE40791 和 GSE10072 LUAD 数据集,验证 PSMA4 在 LUAD 组与正常组中的表达水平。收集 10 对 2023 年 1-12 月在陆军军医大学第二附属医院呼吸科进行纤维支气管镜肺活检术的 LUAD 患者的肿瘤和癌旁组织样本。采用 RT-qPCR 技术验证 PSMA4 在 10 对 LUAD 和癌旁组织中的表达。体外培养肺癌细胞和正常肺上皮细胞,通过 RT-qPCR 检测 PSMA4 在各组细胞中的表达。并对 PSMA4 的高低表达组进行了功能富集分析和免疫细胞浸润分析,通过 Cox 回归分析和 Kaplan-Meier (KM)法确定 PSMA4 对于 LUAD 的诊断和预后的价值,并构建列线图预测不同时间点的总生存率。**结果** TCGA 数据集、GSE40791 和 GSE10072 LUAD 数据集中的表达数据显示,PSMA4 在 LUAD 组中的表达明显高于正常组($P<0.01$)。RT-qPCR 检测分析发现,PSMA4 在 LUAD 和肺癌细胞中的表达显著高于癌旁组织和正常肺上皮细胞($P<0.01$)。PSMA4 高表达是诊断 LUAD 和预后不良的标志物,与肿瘤微环境中效应记忆性 T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞、中央记忆性 T 细胞、肥大细胞的水平的降低有关。**结论** PSMA4 对 LUAD 有良好的诊断效能,并且与 LUAD 的预后和免疫浸润密切相关。

[**关键词**] 肺腺癌;PSMA4;预后;诊断;免疫浸润
[**中图法分类号**] R394.3; R730.23; R734.2 [**文献标志码**] A

Role and mechanism of PSMA4 in prognosis, diagnosis and immune infiltration of lung adenocarcinoma

ZHAO Jing[1], LI Yanmei[2], WANG Xueyue[3], NIE Tian[4], WANG Jie[1], WENG Qiming[1], ZHANG Jing[5], FAN Ye[6]
[1]Training Center for Clinical Skills, [5]Institute of Field Internal Medicine, [6]Department of Respiratory Diseases, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037; [2]Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Western Theater Command, Chengdu, Sichuan Province, 610083; [3]Department of Pediatrics, General Hospital of Xizang Command, Lasha, Xizang Autonomous Region, 850000; [4]Digestive Endoscopy Center, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan Province, 610072, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the role of PSMA4 in the prognosis, diagnosis and immune infiltration of lung adenocarcinoma (LUAD), and explore its underlying mechanism. **Methods** The expression profiles and clinical data of LUAD patients were sourced from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The expression level of PSMA4 in LUAD tissues ($n=539$) and normal tissues ($n=59$) were compared using the Wilcoxon rank-sum test. The expression levels of PSMA4 in LUAD tissues and normal tissues were validated by analyzing the GSE40791 and GSE10072 LUAD datasets obtained from the Gene

[**基金项目**] 重庆市科卫联合项目(2023QNXM010)
[**通信作者**] 范 晔,E-mail:fygan@163.com
张 静,E-mail:83728087@qq.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Expression Omnibus (GEO) database. In addition, tumor and adjacent non-cancerous tissues were collected from 10 LUAD undergoing lung biopsy by fiberoptic bronchoscopy in Second Affiliated Hospital of Army Medical University from January to December 2023. The PSMA4 expression in above samples was further verified using RT-qPCR. RT-qPCR was performed to detect the expression of PSMA4 in lung cancer cells and normal lung epithelial cells. Functional enrichment analysis and immune cell infiltration analysis were conducted on the cells with high and low expression of PSMA4. Cox regression analysis and Kaplan-Meier (KM) survival analysis were used to determine the diagnostic and prognostic value of PSMA4 for LUAD, and a nomogram was constructed to predict the overall survival rate at different time points. **Results** The analysis of TCGA datasets, GSE40791, and GSE10072 LUAD data revealed that PSMA4 expression was significantly higher in LUAD tissues than in normal tissues ($P<0.01$). RT-qPCR further confirmed that the expression of PSMA4 was obviously elevated in LUAD tissues and lung cancer cells than adjacent non-cancerous tissues and normal lung epithelial cells ($P<0.01$). High PSMA4 expression could be regarded as a marker for LUAD diagnosis and poor prognosis, and was associated with reduced proportions of Tem cells, TFH cells, B cells, NK cells, Tcm cells, and mast cells in the tumor microenvironment. **Conclusion** PSMA4 presents significant diagnostic performance for LUAD, and is closely associated with the prognosis and immune infiltration of this malignancy.

[**Key words**] lung adenocarcinoma; PSMA4; prognosis; diagnosis; immune infiltration

Supported by the Joint Medical Research of Chongqing Science and Technology Commission and Chongqing Health Commission (2023QNXM010).
Corresponding authors: FAN Ye, E-mail: fygan@163.com; ZHANG Jing, E-mail: 83728087@qq.com

肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)是肺癌的一种主要类型,占所有肺癌患者的40%以上,并且发病率逐年上升,给国民的生命健康带来严重威胁[1]。新近研究对LUAD的病因、发展机制、诊断以及治疗有了较多突破性进展,如高分辨率计算机断层扫描(CT)及新型生物标志物检测的应用等,使LUAD的早期诊断能有进一步的实现[2]。LUAD的手术、化疗和靶向治疗等方面也取得诸多进展,但由于LUAD显著的异质性,每个患者的肿瘤具有不同的生物学特征,对于治疗的反应也各不相同,LUAD的早期诊断和预后仍然面临着诸多挑战[3]。因此,LUAD早期诊断标志物和治疗靶点的研究对LUAD的早期诊断和提升LUAD患者的生存率具有重要的临床意义。

PSMA4(prostate-specific membrane antigen 4)在维持细胞正常生物学功能中扮演着重要角色,并且与肿瘤的发生发展密切相关。PSMA4最重要的功能是参与蛋白质降解过程,尤其是通过蛋白酶体途径[4]。蛋白酶体是一种多亚基的蛋白质复合物,负责降解细胞内不再需要的蛋白质,从而维持细胞内环境的稳定[5]。PSMA4作为蛋白酶体的一个组成部分,对于其正常功能的发挥至关重要。既往研究发现,PSMA4的表达水平在多种肿瘤中显著升高,提示它在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。研究发现,在胰腺癌中,PSMA4的表达水平增加,已成为前列腺癌诊断和治疗的潜在靶点[6]。另有研究发现,PSMA4在乳腺癌中的表达也显著增加,其与这些癌症的进展和转移密切相关[7]。机制研究发现,PSMA4可能通过调节细胞周期、促进细胞增殖和抑制细胞凋亡等途径参与肿瘤的发生发展。此外,PSMA4还可能影响肿瘤细胞的侵袭和转移能力,进一步加速肿瘤的进展[8]。对PSMA4的深入研究有助于进一步揭示其在肿瘤中的作用机制,并为肿瘤的诊断和治疗提供新的思路和方法。尽管既往研究对PSMA4进行了广泛的研究,但其与LUAD的预后和免疫浸润的关系尚少见报道。

本研究旨在深入探索PSMA4在LUAD中的转录表达及其潜在的预后意义。通过应用生物信息学技术,分析PSMA4表达水平与LUAD患者的临床病理特征、疾病进展以及免疫细胞浸润之间的关系。有助于增进对PSMA4在LUAD中角色的理解,进而为临床医生提供改善LUAD患者治疗策略和总体预后的新见解,并通过揭示PSMA4在LUAD中的具体作用机制,为LUAD的精准治疗提供新的靶点和方法。

1 材料与方法

1.1 数据来源

本研究纳入的LUAD组和正常组的mRNA表达数据和临床数据来源于TCGA(the cancer genome atlas, https://portal.gdc.cancer.gov)数据库和GTEx(genotype-tissue expression, https://gtexportal.org/home)数据库,其中非配对的表达数据中正常组59例,LUAD组539例,配对的表达数据中正常组和LUAD组分别为58例。验证数据集来源于通过GEO(gene

expression omnibus database)数据库下载的GSE40791和GSE10072 LUAD数据集。GSE40791数据集中LUAD组100例,正常组97例,GSE10072数据集中LUAD组49例,正常组62例。

1.2 PSMA4在泛癌和LUAD中的表达分析

从TCGA数据库下载并整理33种肿瘤的mRNA表达数据,从GTEx数据库下载正常组mRNA表达数据,通过Wilcoxon秩和检验比较PSMA4基因在正常组和LUAD组中的表达差异,用R语言中的ggplot2包对数据进行可视化。

1.3 LUAD中PSMA4中的诊断价值

从TCGA数据库下载并整理TCGA-LUAD项目STAR流程的RNAseq数据并提取TPM格式的数据,用R语言中的pROC包分析数据,并对PSMA4基因进行ROC分析,结果用ggplot2进行可视化。

1.4 人类蛋白图谱数据库分析PSMA4的表达差异

人类蛋白图谱(https://www.proteinatlas.org)包含了超过1 000万个由免疫细胞化学和免疫组织化学生成的单细胞蛋白表达谱,用于鉴定正常组和LUAD组之间蛋白表达的差异,并检索相关文献。基于人类蛋白图谱中的免疫组织化学图像分析比较了PSMA4在LUAD组和正常组中的蛋白质表达水平。

1.5 细胞培养

正常肺上皮细胞株BEAS-2B、LUAD细胞株A549、NCI-H1975、201T均购自中国科学院上海细胞库。BEAS-2B细胞采用含10%胎牛血清的DMEM培养基,A549、NCI-H1975、201T LUAD细胞株采用含10%胎牛血清的RPMI1640培养基,所有细胞在5%CO_2、37 ℃恒温的细胞培养箱中培养,当细胞贴壁融合至80%以上用0.25%胰酶进行消化并传代。

1.6 资料收集

收集10对2023年1-12月在陆军军医大学第二附属医院呼吸科进行纤维支气管镜肺活检术的LUAD患者的肿瘤和癌旁组织样本。纳入标准:①年龄18~80岁;②符合支气管镜肺活检术的适应证;③无麻醉手术禁忌证;④患者或其法定代理人已签署知情同意书,同意将其组织样本用于科学研究。排除标准:①严重心肺功能不全;②凝血功能障碍。本研究经陆军军医大学第二附属医院医学伦理委员会批准(2023-研第076-02),患者术前均签署知情同意书。

1.7 RT-qPCR检测各组细胞中PSMA4基因的表达

使用SPARKeasy改良组织/细胞RNA试剂盒(Sparkjade,中国山东)提取10对LUAD组织和邻近正常组织样本和各组细胞的总RNA。然后使用SPARKscript Ⅱ All-in-one RT SuperMix(Sparkjade,中国山东)进行反转录,将RNA转化为互补DNA。在RT-qPCR过程中,使用SYBR Green Master Mix(Sparkjade,中国山东)扩增基因。$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法用于量化PSMA4的相对表达。本研究使用的RT-qPCR引物序列如下所示,PSMA4:上游引物AGTGTGGCAGGCATAACTTCT,下游引物TCACAAGGTATTGGCTCCTGA;β-actin:上游引物CATGTACGTTGCTATCCAGGC,下游引物CTCCTTAATGTCACGCACGAT。

1.8 PSMA4高低表达组的临床信息分析

分析TCGA数据库的患者临床信息,根据PSMA4在LUAD患者中表达的中位数水平,将LUAD癌症分为2组:PSMA4高表达组(高于中位数表达水平)和PSMA4低表达组(低于中位数表达水平),分析比较2组患者的年龄、性别、吸烟史等基线临床资料。并进一步比较分析2组患者的主要治疗结局的情况,包括疾病进展(progressive disease,PD)、疾病稳定(stable disease,SD)、部分缓解(partial response,PR)、完全缓解(complete response,CR)的比例。

1.9 PSMA4高低表达组的差异表达分析

进一步分析TCGA数据库的LUAD基因表达数据,为了进一步研究2组之间基因表达的差异,使用R语言的DESeq2包,将差异表达基因(differently expressed genes, DEGs)的阈值设置为调整后的$P<0.05$,且$|\text{Log}_2\text{ fold change (FC)}|>2$。火山图通过ggplot2包对差异分析结果进行可视化展示,并通过Spearman相关系数分析评估前10个DEGs的表达(5个显著升高和5个显著降低)与PSMA4之间的相关性。采用基于基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库的联合分析方法,探究DEGs富集的信号通路和功能,通过ggplot2包进行可视化展示联合分析的弦图。

1.10 PSMA4高低表达组的生存曲线分析

从TCGA数据库下载并整理LUAD组的基因表达数据库和生存资料,采用Kaplan-Meier(KM)法和对数秩检验,针对PSMA4高低表达组使用R语言的survival包进行比例风险假设检验并进行拟合生存回归,分析PSMA4高低表达对LUAD总体生存率(overall survival, OS)、疾病特异性存活率(disease specific survival, DSS)、无进展生存期(progress free interval, PFI)的差异,结果用survminer包以及ggplot2包进行可视化。

1.11 免疫浸润分析

分析TCGA数据库的LUAD基因表达数据,进一步分析免疫细胞浸润水平,使用单样本基因集富集分析方法测量这些免疫细胞在LUAD中的相对富集分

数,该方法使用 R 包 GSVA 进行。此外,利用 Spearman 相关系数分析探讨了 PSMA4 水平与 24 种免疫细胞的关系,通过 ggplot2 包进行可视化展示。

1.12　PSMA4 高低表达组的预后分析

针对 PSMA4 高低表达组 LUAD 患者的临床资料,对 LUAD 进行了单因素和多因素 Cox 回归分析。在单变量 Cox 回归分析中,将年龄、性别、吸烟史、主要治疗结局确定了一个显著性水平为 $P<0.05$ 的预后变量并纳入多变量 Cox 分析中进一步分析该变量。使用 R 软件包 ggplot2 生成森林图,展示了单变量、多变量 Cox 回归结果。为了预测总体生存概率,根据多变量 Cox 回归分析结果确立独立预后因素,并建立列线图,直观地表示这些因素与生存概率之间的关系,并使用校准图来评估列线图的性能。

1.13　统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。采用 Wilcoxon 符号秩检验分析 PSMA4 在 LUAD 组与正常组的表达差异,2 组间比较采用单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

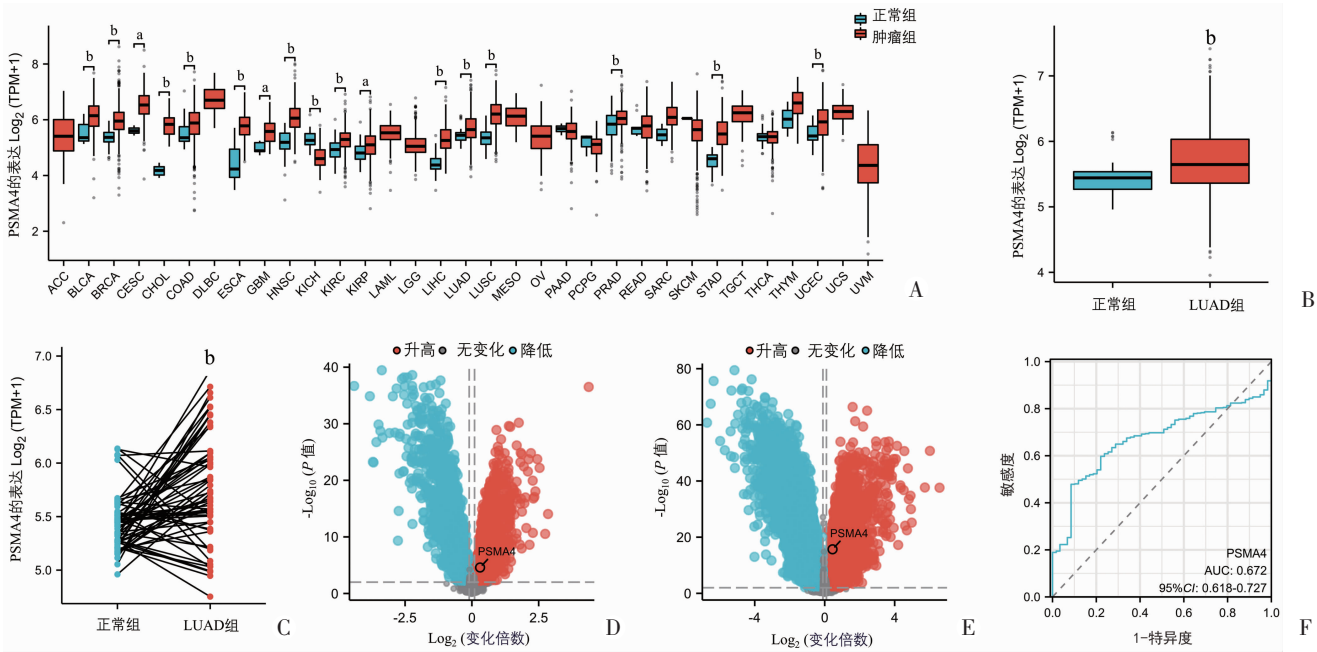
2　结果

2.1　PSMA4 在 LUAD 中高表达

泛癌分析显示,PSMA4 在大多数肿瘤中的表达水平均高于正常组,如 LUAD、膀胱尿路上皮癌、胆管癌等(图 1A)。PSMA4 在 LUAD 组中的表达水平明显高于正常组($P<0.01$,图 1B),此外,在 58 例 LUAD 组中,其表达量显著高于配对相邻组织($P<0.01$,图 1C)。通过分析 GSE40791 和 GSE10072 2 个 LUAD 数据集发现,PSMA4 在 LUAD 组的表达显著增加(图 1D、E)。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析表明,PSMA4 基因在 LUAD 组中的表达对预测该疾病的存在具有很高的准确性。ROC 曲线的曲线下面积(area under the curve, AUC)值确定为 0.672(图 1F),表明 PSMA4 或许可以作为 LUAD 早期诊断的生物标志物。

2.2　人类蛋白图谱数据库和 RT-qPCR 验证 PSMA4 的表达

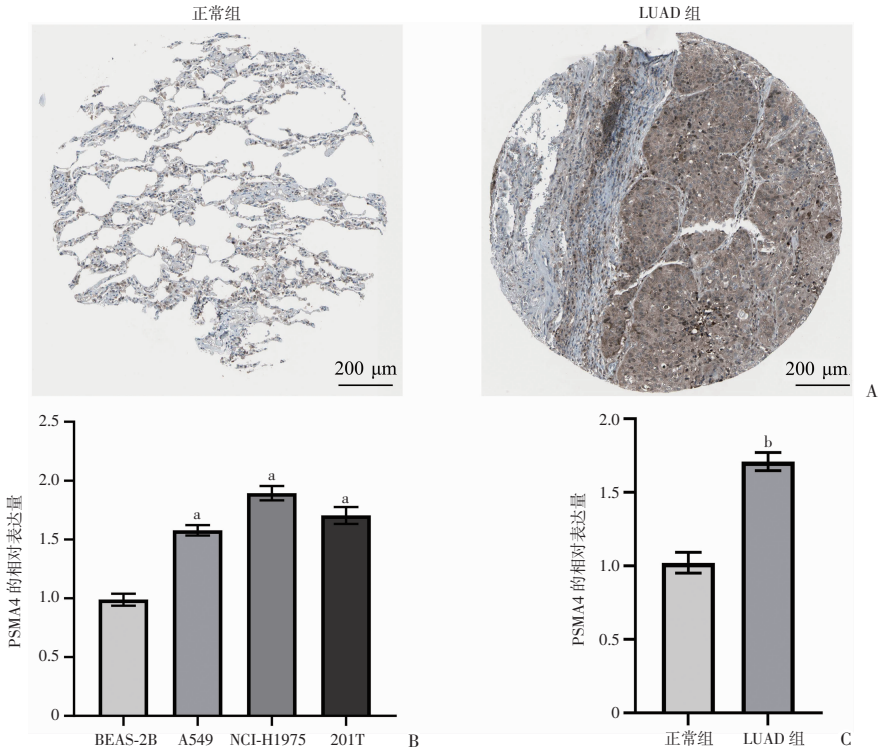
利用人类蛋白图谱数据库,分析 PSMA4 在 LUAD 组和正常组中的表达。免疫组化结果显示,PSMA4 在 LUAD 组中的表达显著高于正常组(图 2A)。与对照肺上皮细胞系 BEAS-2B 比较,PSMA4 基因在 LUAD 细胞系 A549、NCI-1975、201T 中的表达显著升高(图 2B)。并且,进一步通过 RT-qPCR 评估 PSMA4 在 LUAD 组织中的表达水平。结果发现,与癌旁组织比较,LUAD 组织中 PSMA4 基因的表达显著增加(图 2C)。



a:$P<0.05$, b:$P<0.01$, 与正常组比较

A: PSMA4 泛癌表达水平比较;B: TCGA 数据库分析 PSMA4 在肿瘤组和正常组中的表达;C: TCGA 数据库分析 PSMA4 在配对 LUAD 组和正常组中的表达; D:火山图分析 PSMA4 在 GSE40791 数据集 LUAD 组和正常组中的表达; E:火山图分析 PSMA4 在 GSE10072 数据集 LUAD 组和正常组中的表达; F: PSMA4 在 LUAD 中的诊断 ROC 曲线

图 1　PSMA4 在泛癌和 LUAD 中的表达情况及 PSMA4 诊断 LUAD 的效能分析



A:人类蛋白图谱数据库中 PSMA4 在 LUAD 组和正常组中的免疫组化染色; B: RT-qPCR 检测 PSMA4 在 BEAS-2B、A549、NCI-H1975、201T 各细胞系中的表达 a:$P<0.01$,与 BEAS-2B 比较;C: RT-qPCR 检测 PSMA4 在 LUAD 组织和癌旁组织中的表达 b:$P<0.01$,与正常组比较

图 2 人类蛋白图谱数据库和 RT-qPCR 验证 PSMA4 的表达

2.3 PSMA4 在 LUAD 中的预后价值

为了探究 PSMA4 在 LUAD 中的预后价值,进一步分析比较 PSMA4 高表达组和低表达组的临床信息。分析发现,2 组患者的年龄、性别、吸烟史等基线临床资料差异无统计学意义。进一步分析发现,PSMA4 高表达组 PD 的比例显著高于 PSMA4 低表达组($P<0.05$),而 SD、PR、CR 的比例显著低于 PSMA4 低表达组($P<0.05$,表 1)。采用 KM 法评估 PSMA4 水平与 LUAD 预后的相关性。结果发现,PSMA4 高表达组患者的 OS、DSS、PFI 预后较低表达组患者差(图 3),提示 PSMA4 的高表达是 LUAD 不良预后的危险因素。

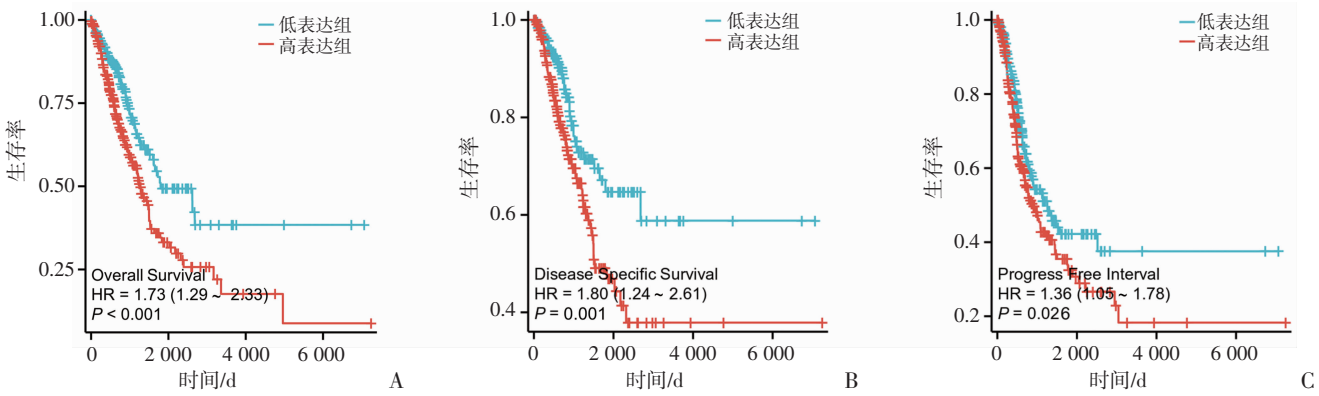
2.4 LUAD 的 Cox 回归分析和列线图分析

为进一步明确 PSMA4 的表达与 LUAD 的预后关系,采用单因素和多因素 Cox 回归分析构建 LUAD 风险模型,通过对肺癌的单因素 Cox 回归分析发现,T2、T3+T4、N1、N2+N3、M1、PSMA4 高表达是 LUAD 的潜在危险因素(图 4A)。进一步通过多因素 Cox 回归发现,T2、T3+T4、N1、N2+N3、PSMA4 高表达是 LUAD 的独立危险因素(图 4B)。为了预测 LUAD 患者的预后,对各种独立因素进行了单因素回归分析,以 $P<0.05$ 为检验水准,筛选出独立危险因素,并得出一个综合的列线图(图 4C)。结果发现,随着图表上总点数的增加,表明存在的不良因素越多,总分越高,LUAD 患者的预后越差。

表 1 PSMA4 高表达组和低表达组临床和生存信息比较(例)

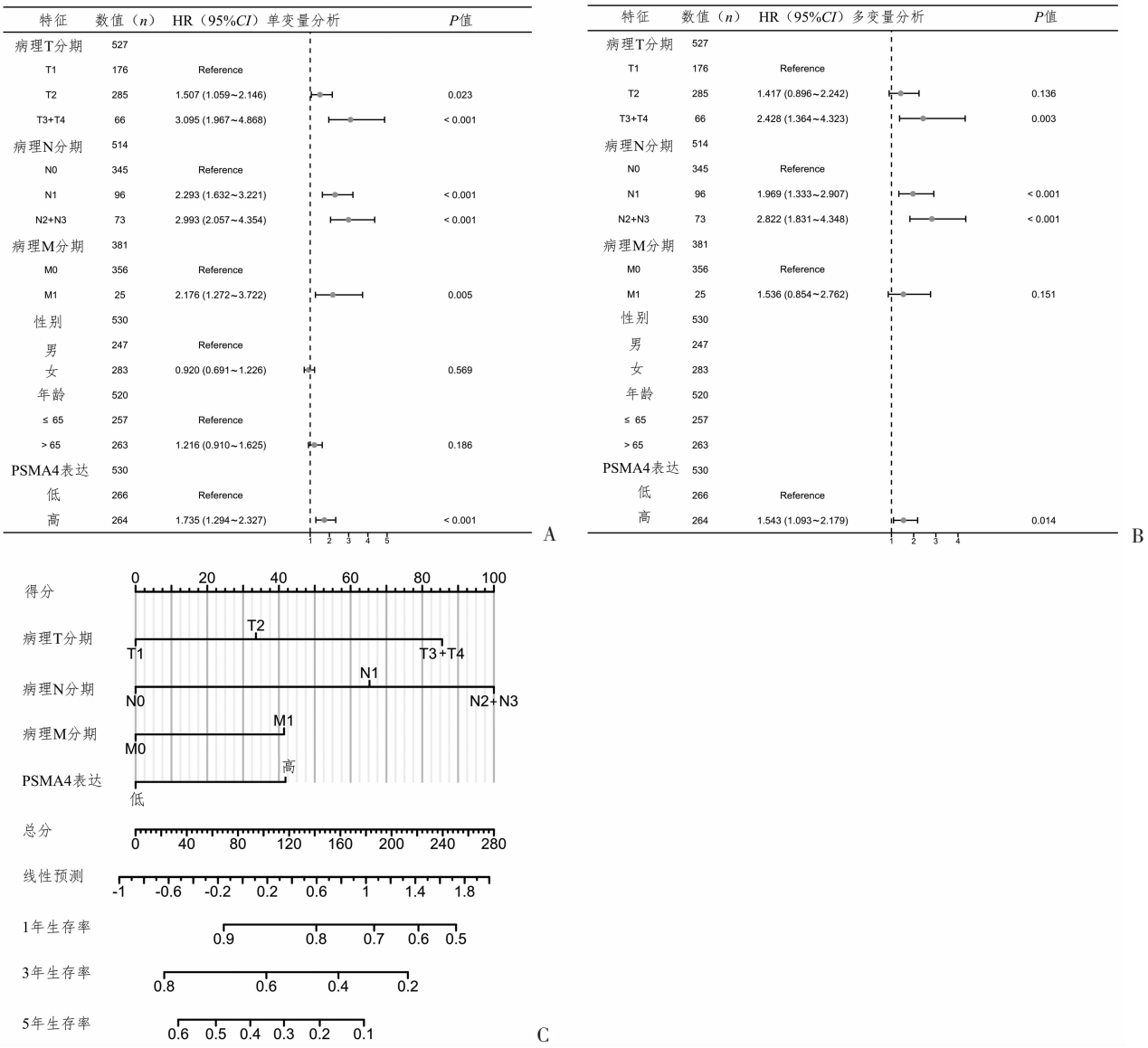
临床信息	PSMA4 低表达组($n=269$)	PSMA4 高表达组($n=270$)	P
年龄/岁			0.429
≤65	134	123	
>65	128	135	
未知	7	12	
性别			0.092
女	154	135	
男	115	135	
吸烟史/年			0.323
<40	99	89	
≥40	86	95	
未知	84	86	
主要治疗结局			<0.05
PD	24	47	
SD	26	12	
PR	5	1	
CR	179	155	
未知	35	55	

"未知"为统计缺失值



A：OS；B：DSS；C：PFI

图 3　PSMA4 水平与 LUAD 预后的相关性分析



A：LUAD 的单因素 Cox 回归分析森林图；B：LUAD 的多因素 Cox 回归分析森林图；C：LUAD 的多因素 Cox 回归分析的列线图分析

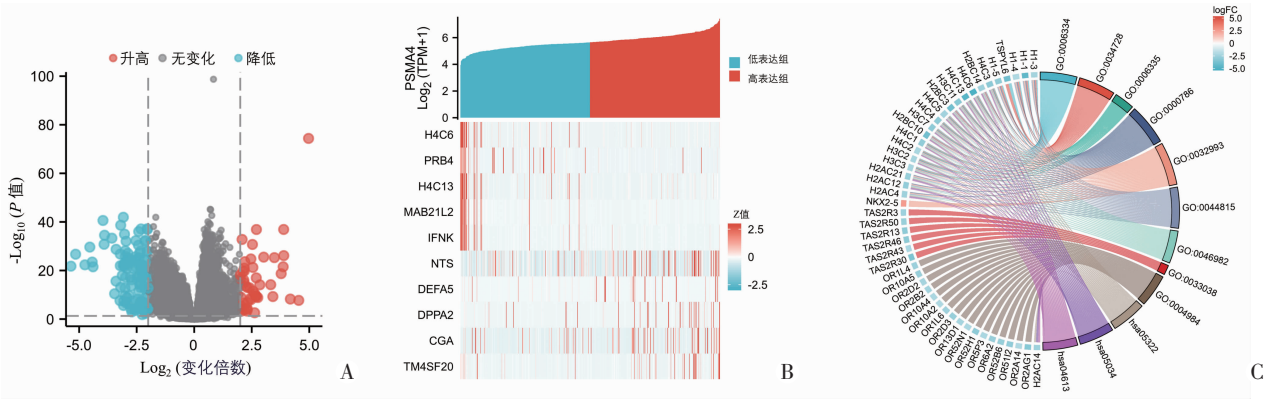
图 4　LUAD 的 Cox 回归分析和列线图分析

2.5　PSMA 相关 DEGs 功能富集分析

PSMA4 高表达组和低表达组之间共有 162 个差异表达编码基因。其中上调基因 49 个,占 30.2%,下调基因 113 个,占 69.8%(调整后 $P<0.05$,且 $|\mathrm{Log_2\ FC}|>2$,图 5A)。研究集中在显著上调或下调差异的各前 5 个基因(10 个基因)及其与 PSMA4 的关系上。这些基因包括 H4C6、PRB4、H4C13、MAB21L2、IFNK、NTS、DEFA5、DPPA2、CGA、TM4SF20,进一步分析它们与 PSMA4 的关联(图 5B)。对所有 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析。生物学过程(BP)主要富集了核小体组织装配、染色质组等。细胞组分(CC)主要富集于核小体、蛋白质-DNA 复合体、DNA 组装复合体。分子功能(MF)富集项为蛋白质异二聚化活性、染色质 DNA 结合、核小体 DNA 结合等。在 KEGG 通路分析中,显著富集的通路是中性粒细胞胞外陷阱的形成、癌症中的转录失调等(图 5C)。

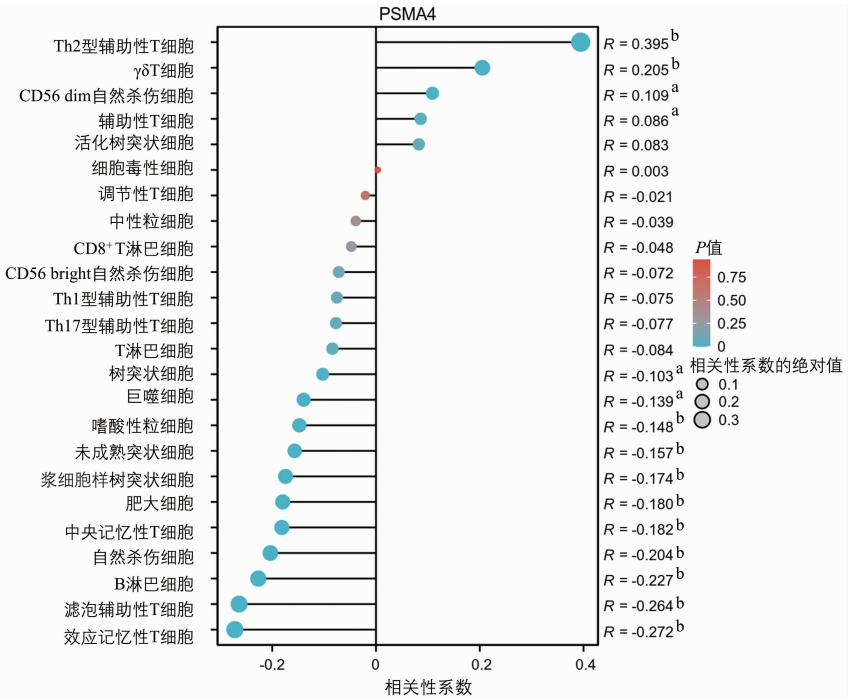
2.6　PSMA4 与 LUAD 免疫浸润的关系

为探究 PSMA4 与 LUAD 中免疫细胞浸润的关系,分析 TCGA 数据库的 LUAD 基因表达数据,进一步分析免疫细胞浸润水平,对 PSMA4 和免疫浸润矩阵数据之间的相关性进行分析,结果显示,PSMA4 水平与免疫细胞浸润数量呈明显负相关(图 6),PSMA4 高表达组与效应记忆性 T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞、中央记忆性 T 细胞、肥大细胞、巨噬细胞等的水平降低相关。



A:PSMA4 高表达组和低表达组差异基因的火山图分析;B:前 10 关键基因与 PSMA4 高表达组和低表达组的相关性热图分析;C:弦图展示 PSMA4 高表达组和低表达组差异基因的 GO、KEGG 联合分析

图 5 PSMA 相关差异表达基因(DEGs)功能富集分析



a:$P<0.05$, b:$P<0.01$

图 6　棒棒糖图展示 PSMA4 和 LUAD 免疫浸润之间的相关性

3 讨论

LUAD 作为一种常见的非小细胞肺癌类型,其发生发展呈现出显著的异质性[9]。由于 LUAD 早期症状不明显,很多患者在确诊时已经是中晚期,错过了最佳治疗时机。目前,尽管临床上已经采用了一些病理指标如病理分级、EGFR 突变状态、ALK 重排、KRAS 突变以及 PD-L1 表达等来进行预后预测和个性化治疗方案的制定,但这些指标在预测 LUAD 患者的预后方面仍存在一定的局限性[10]。LUAD 的异质性不仅体现在不同患者之间的生物学行为差异,还体现在同一患者肿瘤内部不同区域的细胞遗传学、分子表达等方面的差异,这种异质性导致了临床治疗的复杂性和挑战性,使得单一的治疗策略往往难以取得理想的疗效。并且,部分 LUAD 患者在接受靶向治疗等治疗方法后,可能会出现耐药现象,导致治疗效果不佳[11]。因此,针对 LUAD 的早期诊断、个性化靶向治疗、减少耐药 LUAD 的发生是目前临床需要解决的问题。

本研究中使用 TCGA 数据库的数据分析了 PSMA4 在 LUAD 中的表达。研究发现,相较于正常组织,PSMA4 多种肿瘤组织中的表达显著升高,其中包括了 LUAD。并且,通过 RT-qPCR 实验和调研人类蛋白图谱数据库,明确了 PSMA4 在 LUAD 细胞、组织中的表达显著高于正常肺上皮细胞和癌旁组织。进一步通过诊断 ROC 曲线分析发现,PSMA4 基因表达在预测 LUAD 方面具有较高的准确性。既往多项研究证实,PSMA4 在多种肿瘤组织中的表达显著增加,例如,在乳腺癌[7]、胃癌[12]、胰腺癌[6]等。并且,进一步研究发现,PSMA4 的高表达状态与肿瘤的恶性程度、侵袭性、转移能力等呈正相关,提示 PSMA4 的高表达在肿瘤的发生发展过程中起到了关键作用[13]。机制研究明确,PSMA4 能够通过调节细胞内蛋白质降解过程,影响肿瘤细胞的增殖、凋亡等生物学行为。并且,PSMA4 还能够与多种肿瘤相关蛋白相互作用,促进肿瘤细胞的侵袭、转移。PSMA4 的高表达还与肿瘤细胞的耐药性有关,导致肿瘤细胞对化疗药物的敏感性降低,影响肿瘤患者的预后[14]。在本研究中,PSMA4 高表达组和低表达组的差异表达编码基因通过 GO-BP 主要富集到核小体组织装配、染色质组等生物学过程,核小体是染色体的基本结构单位,由 DNA 和组蛋白组成。核小体的装配过程直接影响了 DNA 的可接近性,进而影响转录因子和 RNA 聚合酶等调控元件与 DNA 的结合,从而调控基因的表达[15]。这提示 PSMA4 可能通过影响核小体装配和染色质组学异常,改变关键基因的表达模式,导致 LUAD 相关基因(如癌基因、抑癌基因等)的失调,进而促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移,发挥促癌作用。

许多研究已经提供证据证明肿瘤微环境对肿瘤进展的影响。研究发现,肿瘤细胞与微环境之间的相互作用对肿瘤的生长、侵袭和对治疗的反应有很大的影响[16],此外,滤泡辅助性 T 细胞[17]、B 淋巴细胞[18]、自然杀伤细胞[19]、巨噬细胞[20]等免疫细胞在肿瘤微环境中机体对肿瘤的免疫应答中起重要肿瘤监视的作用,进而抑制肿瘤的发生发展。另有研究发现,肿瘤微环境中免疫细胞的类型、密度和位置会影响患者的预后[21]。在本研究中,发现与 LUAD 相关的基因 PSMA4 的表达与 TFH 细胞、B 细胞、NK 细胞、巨噬细胞浸润的数量呈负相关,提示 PSMA4 高表达可通过调节浸润免疫细胞的数量和类型,影响 LUAD 肿瘤免疫内环境,进而导致 LUAD 的发生发展,影响 LUAD 的预后。

虽然本研究为 PSMA4 水平与 LUAD 患者诊断、预后及免疫浸润的相关性提供了新的视角,但仍有局限性。首先,本研究只涉及了少量数据集,包括 TCGA 数据库、GTEx 数据库、GSE40791 和 GSE10072 LUAD 数据集,这也可能限制了患者群体的多样性,并导致选择偏倚。其次,大部分数据从网上数据库下载,未开展前瞻性 RCT 研究评估治疗前后与 PSMA4 表达的变化情况。在后续的研究中,还需要设计前瞻性的实验来验证本研究的结果,研究和探讨 PSMA4 的表达与 LUAD 治疗效果的关联。

综上所述,本研究提供的证据表明 PSMA4 的表达与 LUAD 患者预后较差有关,提示 PSMA4 可能作为一种新的 LUAD 预后生物标志物。然而,值得注意的是,PSMA4 影响 LUAD 发生发展的确切生物学机制尚不清楚,需要进一步的研究来揭示 PSMA4 发挥其作用的复杂生物学途径。PSMA4 基因可能是 LUAD 一个潜在的促癌基因。PSMA4 基因的高表达与 LUAD 的发生发展、肿瘤免疫内环境以及预后均有着非常密切的相关性,通过进一步的研究,将来 PSMA4 基因可作为 LUAD 一个重要的诊断和预后相关的生物学标志物。

参考文献:

[1] SHI Q, JU J G. Circ_0001998regulates the proliferation, invasion, and apoptosis of lung adenocarcinoma via sponging miR-145[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 6446150. DOI: 10.1155/2022/6446150.

[2] EDITORIAL OFFICE. Erratum to identification of GPX4 as a therapeutic target for lung adenocarcinoma after EGFR-TKI resistance[J]. Transl Lung Cancer Res, 2022, 11(8): 1731-1733. DOI: 10.21037/tlcr-2022-4.

[3] LU J, TANG H T, YANG X G, *et al*. Diagnostic value and imaging features of multi-detector CT in lung adenocarcinoma with ground glass nodule patients[J]. Oncol Lett, 2020, 20(1): 693-698. DOI: 10.3892/ol.2020.11631.

[4] MERAE ALSHAHRANI M. A glance at the emerging diagnostic biomarkers in the most prevalent genitourinary cancers[J]. Saudi J Biol Sci, 2022, 29(4): 2072-2084. DOI: 10.1016/j.sjbs.2022.01.017.

[5] KWON D H, EOM G H, KO J H, *et al*. MDM2 E3 ligase-mediated ubiquitination and degradation of HDAC1 in vascular calcification[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10492. DOI: 10.1038/ncomms10492.

[6] WATCHARANURAK P, MUTIRANGURA A, AKSORNKITTI V, *et al*. The high FKBP1A expression in WBCs as a potential screening biomarker for pancreatic cancer[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 7888. DOI: 10.1038/s41598-024-58324-z.

[7] CHIAO CC, LIU Y H, PHAN N N, *et al*. Prognostic and genomic analysis of proteasome 20S subunit alpha (PSMA) family members in breast cancer[J]. Diagnostics, 2021, 11(12): 2220. DOI: 10.3390/diagnostics11122220.

[8] LI M M, WU L. Functional analysis of keratinocyte and fibroblast gene expression in skin and keloid scar tissue based on deviation analysis of dynamic capabilities[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(6): 3633-3641. DOI: 10.3892/etm.2016.3817.

[9] KO Y H, WON H S, JEON E K, *et al*. Prognostic significance of CD44s expression in resected non-small cell lung cancer[J]. BMC Cancer, 2011, 11: 340. DOI: 10.1186/1471-2407-11-340.

[10] GENG Y M, MEI Y L, XI Y, *et al*. Bilirubin can be used as a prognostic factor for lung adenocarcinoma patients with EGFR mutations[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 11089-11095. DOI: 10.2147/OTT.S266477.

[11] MAZZOCCHI A, DEVARASETTY M, HERBERG S, *et al*. Pleural effusion aspirate for use in 3D lung cancer modeling and chemotherapy screening[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2019, 5(4): 1937-1943. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.8b01356.

[12] DING X Q, WANG Z Y, XIA D, *et al*. Proteomic profiling of serum exosomes from patients with metastatic gastric cancer[J]. Front Oncol, 2020, 10: 1113. DOI: 10.3389/fonc.2020.01113.

[13] XIONG Q H, FENG R, FISCHER S, *et al*. Proteasomes of autophagy-deficient cells exhibit alterations in regulatory proteins and a marked reduction in activity[J]. Cells, 2023, 12(11): 1514. DOI: 10.3390/cells12111514.

[14] BAI Y S, ZHENG J, CHENG L, *et al*. Potentially functional genetic variants of VAV2 and PSMA4 in the immune-activation pathway and non-small cell lung cancer survival[J]. J Gene Med, 2022, 24(10): e3447. DOI: 10.1002/jgm.3447.

[15] VALIEVA M E, ARMEEV G A, KUDRYASHOVA K S, *et al*. Large-scale ATP-independent nucleosome unfolding by a histone chaperone[J]. Nat Struct Mol Biol, 2016, 23(12): 1111-1116. DOI: 10.1038/nsmb.3321.

[16] HSU M T, WANG Y K, TSENG Y J. Exosomal proteins and lipids as potential biomarkers for lung cancer diagnosis, prognosis, and treatment[J]. Cancers, 2022, 14(3): 732. DOI: 10.3390/cancers14030732.

[17] LIU W, YOU W H, LAN Z W, *et al*. An immune cell map of human lung adenocarcinoma development reveals an anti-tumoral role of the Tfh-dependent tertiary lymphoid structure[J]. Cell Rep Med, 2024, 5(3): 101448. DOI: 10.1016/j.xcrm.2024.101448.

[18] LEE I H, WANG H Y, CHEN YY, *et al*. Synergistic B and T lymphocyte interaction: prognostic implications in non-small cell lung cancer[J]. Am J Cancer Res, 2024, 14(3): 1227-1242. DOI: 10.62347/TDIV2436.

[19] CUI Y N, CHEN Y P, ZHAO P Y, *et al*. Peripheral NK cells identified as the predictor of response in extensive-stage small cell lung cancer patients treated with first-line immunotherapy plus chemotherapy[J]. Clin Transl Oncol, 2024: online ahead of print. DOI: 10.1007/s12094-024-03479-4.

[20] TANG X, LUO X R, WANG X, *et al*. Chrysin inhibits TAMs-mediated autophagy activation *via* CDK1/ULK1 pathway and reverses TAMs-mediated growth-promoting effects in non-small cell lung cancer[J]. Pharmaceuticals, 2024, 17(4): 515. DOI: 10.3390/ph17040515.

[21] SCHAD F, THRONICKE A, HOFHEINZ R D, *et al*. Patients with advanced or metastasised non-small-cell lung cancer with *Viscum album* L. therapy in addition to PD-1/PD-L1 blockade: a real-world data study[J]. Cancers, 2024, 16(8): 1609. DOI: 10.3390/cancers16081609.

(收稿:2024-05-13;修回:2024-06-29)

(编辑 张艺霖)