

本文引用: 冯忘忧, 姜东伯, 徐盈, 李佳, 杨红. SPOCK2在泛癌中的预后和免疫治疗反应中的潜在价值研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(11): 2071-2080.

## SPOCK2在泛癌中的预后和免疫治疗反应中的潜在价值研究

冯忘忧<sup>1</sup>, 姜东伯<sup>2</sup>, 徐盈<sup>1</sup>, 李佳<sup>1</sup>, 杨红<sup>1\*</sup>

1.空军军医大学西京医院妇产科, 陕西 西安 710032; 2.空军军医大学基础医学院, 陕西 西安 710032

**[摘要]** **目的** 探索羧基蛋白聚糖 2(sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan 2, SPOCK2)在泛癌中的预后及免疫治疗反应中的作用。**方法** 基于癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和临床蛋白质组学肿瘤分析联盟(Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium, CPTAC)数据库检测 SPOCK2 在肿瘤组织与正常组织中的表达差异,并通过人类蛋白质图谱(Human Protein Atlas, HPA)数据库 SPOCK2 进行初步验证。关于 SPOCK2 对患者生存预后的影响采用 Kaplan-Meier 方法进行分析。采用基因富集工具进一步分析 SPOCK2 在肿瘤中参与的通路。最后通过桑格数据库研究 SPOCK2 与免疫细胞及免疫相关基因的关系。**结果** SPOCK2 在 14 种肿瘤中高表达,在 12 种肿瘤中低表达,且 HPA 数据库显示在肝细胞性肝癌、甲状腺癌、皮肤黑色素瘤及卵巢浆液性囊腺癌中 SPOCK2 高表达,与基因表达水平分析结果一致。生存分析结果表明 SPOCK2 高表达在多种肿瘤中预示预后良好。富集分析发现 SPOCK2 参与 T 细胞和辅助性 T 细胞的分化和激活过程。此外,与免疫浸润细胞的相关性分析显示 SPOCK2 水平与多数肿瘤中的 B 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞和树突状细胞等免疫细胞浸润呈正相关。SPOCK2 的表达水平与免疫调节因子和免疫检查点相关基因存在密切联系。**结论** SPOCK2 在泛癌中是一种免疫相关的生物标志物,具有调节肿瘤免疫微环境的作用,在免疫治疗中具有潜在的价值。

**[关键词]** TCGA; 免疫治疗; SPOCK2; 泛癌; 预后; 免疫微环境

**[中图分类号]** R737.31

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.11.021

## Potential value of SPOCK2 in prognosis and immunotherapy response in pan-cancer

FENG Wangyou<sup>1</sup>, JIANG Dongbo<sup>2</sup>, XU Ying<sup>1</sup>, LI Jia<sup>1</sup>, YANG Hong<sup>1\*</sup>

1. Department of Obstetrics and Gynaecology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China;

2. Basic Medical Science Academy, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the role of sparco/osteonectin, cwcv, and kazal-like domains proteoglycan 2 (SPOCK2) in prognosis and immunotherapy response in pan-cancer. **Methods** The differential expressions of SPOCK2 in tumor tissues and normal tissues were examined by The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium (CPTAC), and SPOCK2 was preliminarily validated by the Human Protein Atlas (HPA). The effects of SPOCK2 on the survival and prognosis of patients were analyzed using the Kaplan-Meier method, and gene enrichment tools were used to further analyze the pathways involved in SPOCK2 in tumors. Finally, the Sanger database was used to study the relationship between SPOCK2 and the immune cells as well as immune-related genes. **Results** SPOCK2 was highly expressed in 14 tumors and lowly expressed in 12. HPA showed high expression of SPOCK2 in hepatocellular carcinoma, thyroid cancer, cutaneous

**[收稿日期]** 2023-03-09

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82172993);陕西省自然科学基金基础研究计划一般项目(2022JQ-977)。

**[第一作者]** 冯忘忧,女,硕士研究生,研究方向:妇科肿瘤研究。

**[通信作者]** \* 杨红,女,博士,教授,博士研究生导师, E-mail: yanghongdoc@163.com。

melanoma, and ovarian serous cystadenocarcinoma, which was consistent with the analysis of gene expression levels. Survival analysis showed that high expression of SPOCK2 predicted good prognosis in multiple tumors, and enrichment analysis indicated that SPOCK2 was involved in the differentiation and activation of T cells and helper T cells. In addition, correlation analysis with immune infiltrating cells revealed that SPOCK2 level was positively correlated with the infiltration of immune cells such as B lymphocytes, CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, CD8<sup>+</sup> T lymphocytes, and dendritic cells in most tumors. The expression levels of SPOCK2 were closely related to immune regulatory factors and immune checkpoint-related genes. **Conclusion** SPOCK2 is an immune-related biomarker in pan-cancer, which plays a role in regulating tumor immune microenvironment and has potential value in immunotherapy.

[**Keywords**] The Cancer Genome Atlas; immunotherapy; sparc/osteonectin, cwcv, and kazal-like domains proteoglycan 2; pan-cancer; prognosis; immune microenvironment

肿瘤的发生往往由多种因素驱动,导致其高度的复杂性和异质性<sup>[1]</sup>。传统的癌症治疗模式,包括放射疗法、化学药物治疗或靶向治疗,其疗效较为有限<sup>[2]</sup>。免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)作为一种癌症免疫疗法,改变了癌症晚期患者的治疗方式,这是癌症治疗史上的一场革命<sup>[3]</sup>。单一的免疫疗法对某些肿瘤患者的治疗效果仍有限,研究表明,传统的治疗方法可以影响肿瘤微环境(tumor micro environment, TME),与 ICIs 联合使用具有协同作用<sup>[2]</sup>。中医学是我国传承数千年的医学,受到越来越多人的重视,研究表明,中医药可以通过重塑免疫细胞平衡及调节免疫检查点等方式杀伤肿瘤细胞<sup>[4]</sup>。因此,中医药以其独特的优势与免疫治疗相辅相成<sup>[4]</sup>。TME是肿瘤细胞与宿主免疫系统相互作用的主要部位<sup>[5]</sup>。越来越多的研究表明,免疫抑制性细胞高浸润是免疫治疗的主要障碍<sup>[6]</sup>,与不良预后和 ICIs 耐药性相关<sup>[2]</sup>。相反,免疫激活的特点是高促炎免疫物质浸润,这往往预示着良好的免疫治疗效果<sup>[7]</sup>。TME是中医肿瘤辨证论治的物质基础,治疗实质就是重塑 TME。因此,探索 TME 可以成为中医现代化之路的切入点。例如,研究表明,中药可以调控程序性死亡蛋白-1(programmed cell death protein-1, PD-1)/程序性死亡蛋白配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)免疫通路及相关细胞因子水平抑制胃癌进展<sup>[8]</sup>。因此,寻找可能影响 TME 组分的关键基因至关重要,可以为免疫治疗新时代中西医结合治疗肿瘤提供支撑,也为中医药的作用机制提供理论基础和参考方向<sup>[8]</sup>。近年来,转录组学和高通量测序的发展导致越来越多的关键驱动基因被发现<sup>[9]</sup>。这使得可以在泛癌中分析任何与肿瘤相关的基因,并检查其与临床预后以及对免疫微环境的影响。

鞣丸蛋白聚糖 2 (sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan 2, SPOCK2)是基质细胞蛋

白家族的一员,在卵巢癌和子宫内膜癌的生长中起着重要作用<sup>[10-11]</sup>。此外,研究表明,SPOCK2 在肺癌中的表达与免疫浸润有关,表明 SPOCK2 在肿瘤免疫调节中具有重要影响<sup>[12]</sup>,同时说明 SPOCK2 在不同的癌症中具有不同的功能。目前尚无 SPOCK2 与免疫微环境相关性的泛癌分析。本研究利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)、临床蛋白质组学肿瘤分析联盟(Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium, CPTAC)数据库及人类蛋白质图谱(Human Protein Atlas, HPA)数据库中的肿瘤图谱对 SPOCK2 在泛癌中的预后和免疫治疗的价值进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据收集

从癌症基因组学数据分析平台下载来自 TCGA、基因型组织表达数据库的泛癌数据集,为去除测序深度和基因长度等测序数据的技术偏差,该数据集已经过标准化处理,即将数据后台没有处理的原始表达量转变为每千个碱基的转录每百万映射读取的 RNA 测序片段,进一步从中提取 SPOCK2 在各个样本中的表达数据和相关临床数据。此外,从既往发表在《细胞》杂志上的 TCGA 预后研究中获取高质量的预后数据集,并排除样本量<3 的癌症类型。

### 1.2 主要试剂

RNA 提取试剂盒(北京聚合美生物科技有限公司,批号:MF036-01),反转录试剂盒(北京聚合美生物科技有限公司,批号:MF166-plus-01),2X 实时定量 PCR 预混液(北京聚合美生物科技有限公司,批号:MF015-505)。

### 1.3 检测 SPOCK2 的差异表达

使用基因表达谱交互分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA20)和肿瘤免疫评

估资源库(Tumor Immune Estimation Resource, TIMER 2.0)评估 SPOCK2 信使 RNA 的表达<sup>[3]</sup>。此外,利用 GEPIA2.0 的“病理分期”模块,获得了 TCGA 肿瘤不同病理阶段(I期、II期、III期和IV期)SPOCK2 的表达情况。最后利用 CPTAC 数据库对 SPOCK2 在蛋白水平的表达进行评估,且利用 HPA 数据库对部分肿瘤中的差异表达结果进行初步验证。

#### 1.4 生存分析

采用 Kaplan-Meier 方法分析 TCGA 队列患者的生存期和无进展间隔期(progression-free interval, PFI)。

#### 1.5 基于 SPOCK2 相关基因的基因富集分析

基于仙桃平台,筛选出与 SPOCK2 共表达的基因,并使用京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集工具<sup>[4]</sup>进行分析,以获取 SPOCK2 在各种癌症中的潜在机制。

#### 1.6 免疫浸润分析

基于桑格数据分析<sup>[5]</sup>平台,并通过 TIMER2.0、CIBERSORT 算法平台和微环境细胞群计数器(Microenvironment Cell Populations-counter, MCPcounter)等评估 SPOCK2 与肿瘤中免疫浸润水平的相关性。TIMER2.0 数据库可以分析 TCGA 数据集,其中包含 B 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞。CIBERSORT 使用基因表达谱定义复杂组织中的细胞组成。MCP-counter 根据基因表达矩阵,计算每个样本中 8 种免疫细胞和 2 种基质细胞的绝对丰度分数。根据每种 TCGA 肿瘤类型的中间值将患者分为 SPOCK2 高表达组和低表达组,以比较免疫细胞浸润程度。

#### 1.7 免疫组织化学分析

利用 HPA 数据库获取肝细胞性肝癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)、甲状腺癌(thyroid carcinoma, THCA)、皮肤黑色素瘤(skin cutaneous melanoma, SKCM)、卵巢浆液性囊腺癌(ovarian serous cystadenoma, OV)肿瘤组织与相应的正常组织中 SPOCK2 表达的免疫组化结果。

#### 1.8 荧光定量 PCR 反应

按照 RNA 提取试剂盒的操作手册提取人卵巢正常组织和肿瘤组织的 RNA,将总 RNA 逆转录为 cDNA 后配制 PCR 反应体系共 20  $\mu$ L,反应过程:95  $^{\circ}$ C 1 min,40 个循环:95  $^{\circ}$ C 15 s,60  $^{\circ}$ C 15 s,72  $^{\circ}$ C 45 s,35  $^{\circ}$ C 30 s,95  $^{\circ}$ C 1 min,60  $^{\circ}$ C 15 s,98  $^{\circ}$ C 5 s。SPOCK2 正向序列:5'-ATGGAGGACGAGCAATGGCT-

3',反向序列:5'-TGGGTCCGACGAGGGAAC-3'; $\beta$ -actin 正向序列:5'-ACTCTTCCAGCCTTCCTTCC-3',反向序列:5'-TCTCCTTCTGCATCCTGTCC-3'。读取 FAM 荧光值。各样本以  $\beta$ -actin 为内参计算 SPOCK2 的表达量。 $\beta$ -actin 引物由上海生工生物工程股份有限公司提供,SPOCK2 引物由北京擎科生物科技股份有限公司提供。

#### 1.9 统计学分析

基于 *student's* 检验两组之间的差异。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SPOCK2 的表达在多种肿瘤组织和正常组织中有显著差异

SPOCK2 在脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma, LGG)、子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)、乳腺癌(breast carcinoma, BRCA)、食管癌(esophageal carcinoma, ESCA)、胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD)、头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、LIHC、THCA、SKCM、OV、胰腺腺癌(pancreatic adenocarcinoma, PAAD)、子宫癌肉瘤(uterine carcinosarcoma, UCS)、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(pheochromocytoma and paraganglioma, PCPG)和胆管细胞癌(cholangiocarcinoma, CHOL)14 种肿瘤表达较高。在星形胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)、肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma, KIRP)、结肠腺癌(colon adenocarcinoma, COAD)、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)、肺鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)、直肠腺癌(rectum adenocarcinoma, READ)、睾丸生殖细胞瘤(testicular germ cell tumors, TGCT)、急性淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)、急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)、肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma, ACC)和肾嫌色细胞癌(kidney chromophobe, KICH)12 种肿瘤中表达较低,详见图 1A。通过 GEPIA2.0 进一步验证了其中 6 个肿瘤的结果,发现除胸腺癌(thymoma, THYM)外,其余 5 种肿瘤的结果均与图 1A 一致,详见图 1B。使用 GEPIA2.0 发现 SPOCK2 在 THYM 中高表达,图 1A 数据所得结果不包含 THYM。使用“病理分期”模块进一步发现在 SKCM、THCA、

STAD 和 KICH 4 种肿瘤中,SPOCK2 的表达在较高的分期显著升高,详见图 1C。此外,HNSC、OV、KIRC、PAAD、GBM 和 LUAD 中肿瘤细胞与正常组织的 SPOCK2 蛋白水平有显著差异,详见图 1D。以上结果说明在基因水平和蛋白表达水平上,SPOCK2 基因在多种肿瘤类型的肿瘤组织中的表达与在正常组织中的表达有显著差异。这一发现也表明,SPOCK2 基因在表达上调和下调肿瘤中的功能有差异。

### 2.2 SPOCK2 高表达在大多数癌症中与良好的预后相关

根据 SPOCK2 表达水平将病例分为高表达组和低表达组,并使用 TCGA 数据集检验其在不同肿瘤类型中的预后意义。从 Kaplan–Meier 总生存分析结果来看,SPOCK2 是 OV 患者的危险因素( $P=0.007$ ),是 BRCA( $P=0.003$ )、THCA( $P=0.021$ )、口腔鳞状细胞

癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)( $P=0.028$ )、HNSC( $P<0.001$ )、PAAD( $P=0.025$ )、SKCM( $P<0.001$ )患者的保护因素,详见图 2A。PFI 分析结果显示,SPOCK2 是前列腺癌(prostate adenocarcinoma, PRAD)患者的危险因素( $P=0.005$ ),是 HNSC( $P<0.001$ )、SKCM( $P=0.001$ )、BRCA( $P=0.005$ )、CHOL( $P=0.002$ )、LIHC( $P=0.032$ )和 LGG( $P=0.001$ )患者的保护因素。详见图 2B。

### 2.3 KEGG 富集分析发现 SPOCK2 参与免疫相关的通路

使用富集分析方法探讨 SPOCK2 在 PAAD、HNSC、LIHC、LUAD、SKCM、LAML、BRCA、PRAD 和 OSCC 9 种肿瘤中的功能及其相关通路。选取每种肿瘤中与 SPOCK2 呈正相关的前 300 个基因。KEGG 分析的结果表明 SPOCK2 与 T 细胞、T 辅助细胞的激活和

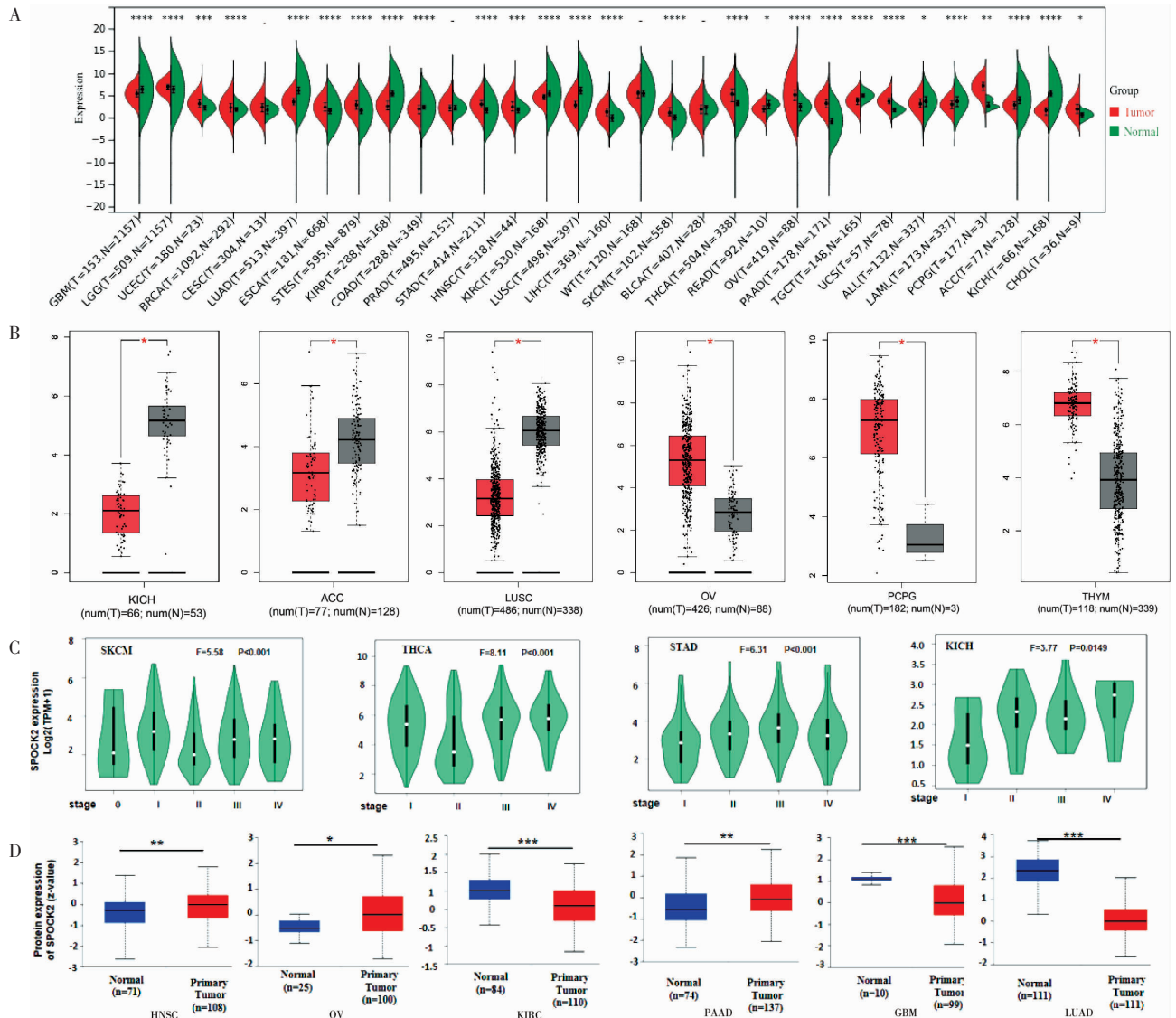


图 1 SPOCK2 在泛癌肿瘤组织与正常组织中的差异表达分析

注:A–B.SPOCK2 在肿瘤和正常组织中的表达分析;C.SPOCK2 总蛋白在肿瘤组织与正常组织中的差异表达;D.SPOCK2 基因的表达水平与肿瘤病理分期的关系。

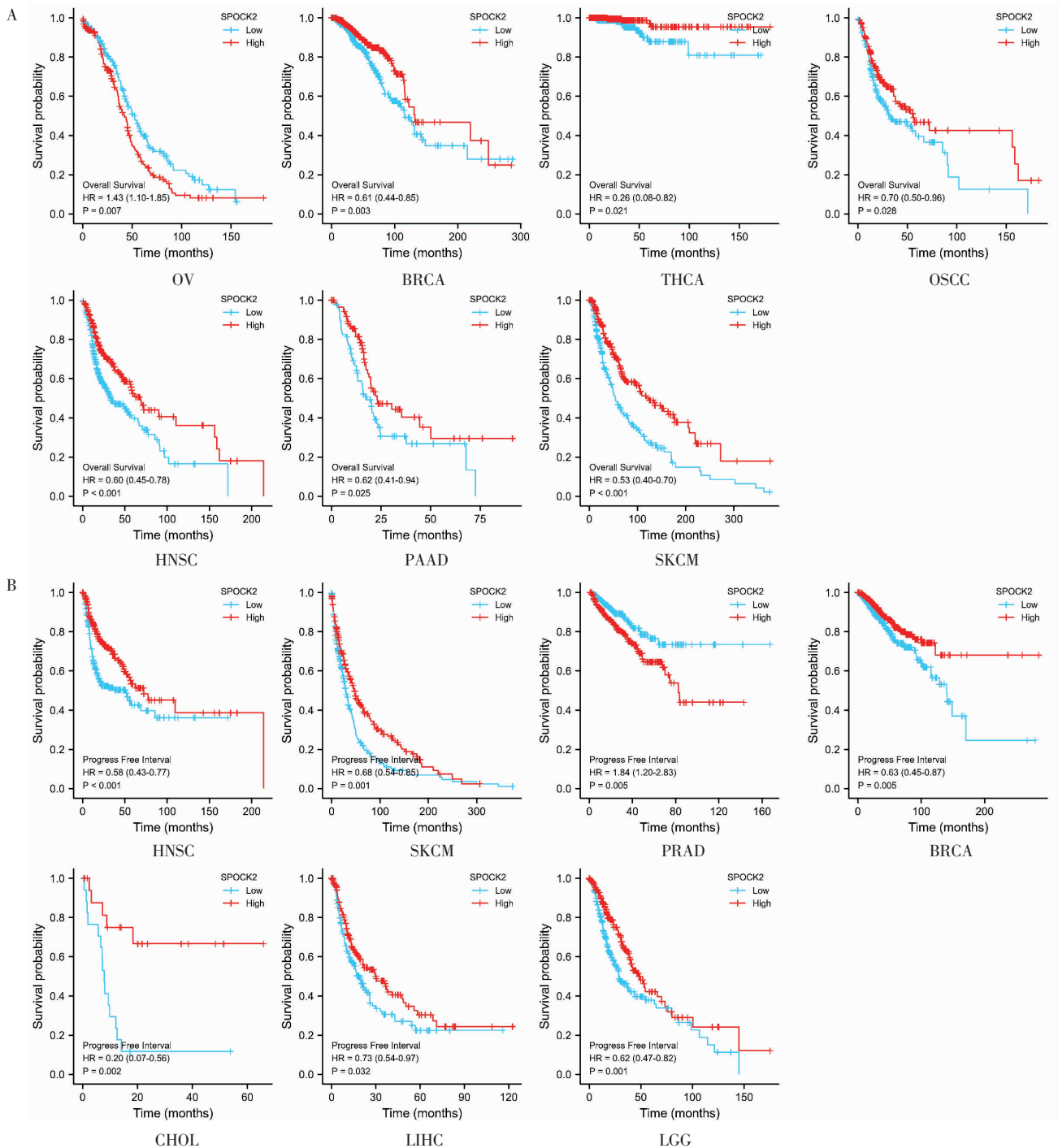


图2 SPOCK2表达与患者预后的关系

注:A.SPOCK2表达对患者总生存期的影响;B.SPOCK2表达对患者PFI的影响。红色曲线:SPOCK2基因高表达组;蓝色曲线:SPOCK2基因低表达组。

分化、趋化因子信号通路、T细胞受体信号通路、细胞因子受体活性、T细胞受体复合物、淋巴细胞分化和抗原受体介导的信号通路有关,详见图3。T细胞活化是免疫反应的核心,是抗肿瘤作用的关键。因此,SPOCK2参与了这些肿瘤中T细胞的激活和分化,是其对某些肿瘤具有保护作用的重要原因。这些途径都与免疫反应和免疫调节过程有关,表明SPOCK2可以调节肿瘤免疫微环境。

## 2.4 SPOCK2表达水平与免疫浸润水平相关

进一步分析SPOCK2与免疫细胞的相关性以明确其免疫学功能。TIMER2.0算法分析结果显示,在大多数肿瘤中,SPOCK2与B淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞浸润呈正相关,详见图4A,这与MCP-counter数据库得到的结果相对一致,详见图4B。虽然,MCP-counter数据库算法比TIMER2.0评估更多

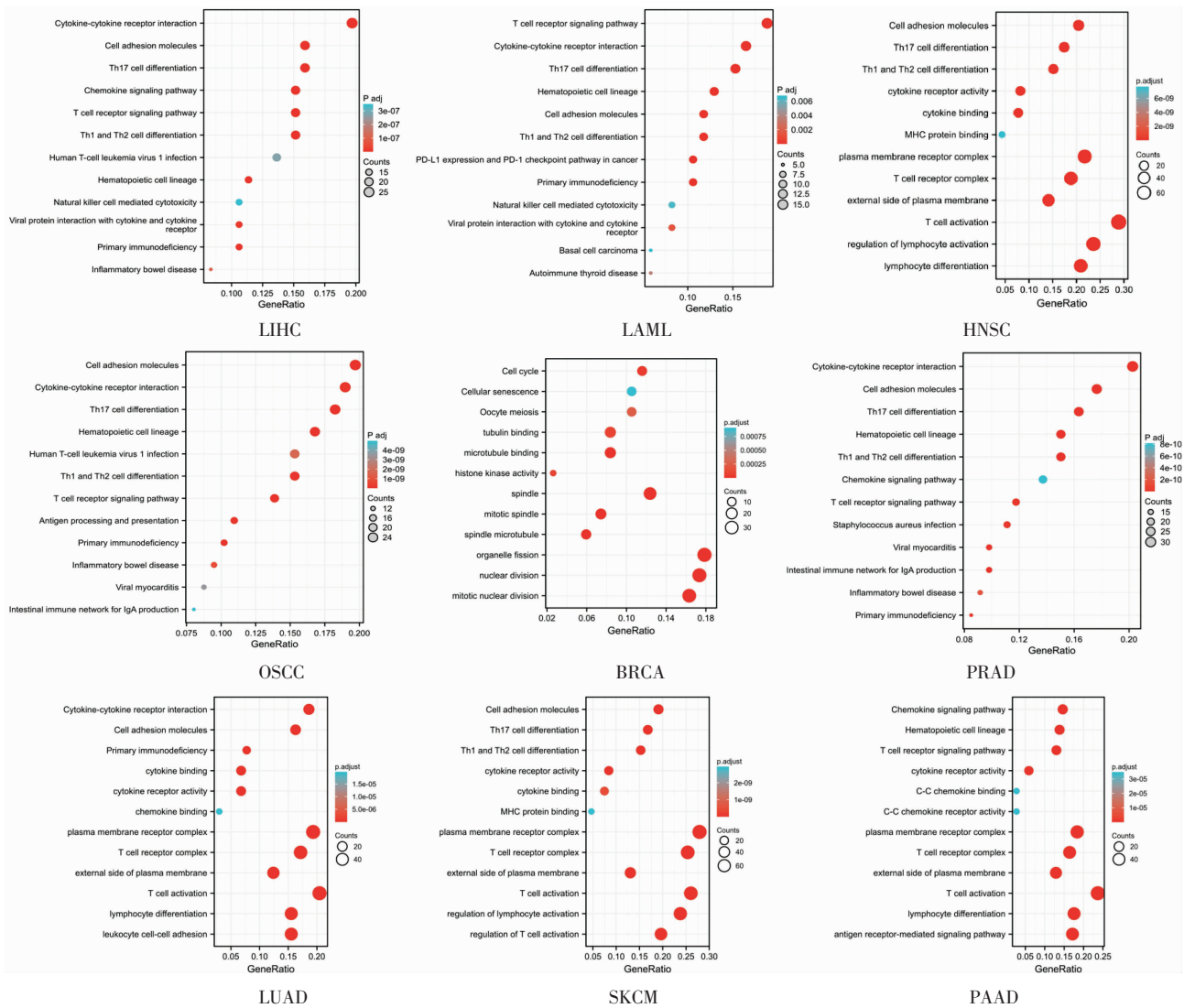


图 3 SPOCK2 相关基因的 KEGG 富集分析

注: SPOCK2 相关基因在 PAAD、HNSC、LIHC、LUAD、SKCM、LAML、BRCA、PRAD 和 OSCC 等 9 种肿瘤中的富集通路。圆点的大小: 富集到的基因个数; 圆点的颜色; 该通路的 P 值大小。

的免疫细胞类型,但仍发现 SPOCK2 对一些癌症的免疫细胞浸润水平影响较小,包括 OV、CHOL、ACC、THCA、间皮瘤、LGG、PCPG、GBM、THYM 和 UCS,低免疫浸润提示预后不良。因此,SPOCK2 可作为 OV、UCS、ACC 预后不良的生物学标志物。利用 CIBERSORT 数据库的免疫细胞浸润数据共获得 34 种肿瘤类型的 22 种免疫细胞浸润评分,详见图 4C。22 种免疫细胞包括浆细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞,以及各种类型的 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、自然杀伤性细胞、巨噬细胞、树突状细胞和肥大细胞。结果表明,SPOCK2 与静息 B 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、M1 型巨噬细胞呈正相关,而与静息自然杀伤细胞、M0 型和 M2 型巨噬细胞、静息肥大细胞和嗜酸性粒细胞呈负相关。

### 2.5 SPOCK2 在多种肿瘤类型中与免疫检查点相关基因具有相关性

目前,阻断免疫检查点是免疫疗法的主要手段,而免疫微环境是影响肿瘤免疫治疗的重要因素。因此进一步探讨 SPOCK2 是否具有调节免疫微环境的作用,且是否与免疫检查点相关的基因具有相关性是有必要的。本文评估了 SPOCK2 与五类免疫途径的相关性,包括趋化因子、受体、主要组织相容性复合体标记基因的表达、免疫抑制因子和免疫刺激因子<sup>[16]</sup>,详见图 5A。SPOCK2 的表达与趋化因子 CCL2、CCL4、CCL5 和 CCL7 及其受体 CCR2、CCR4、CCR5 和 CCR7 呈正相关。进一步提取 SPOCK2 和包括抑制性和刺激性两类免疫检查点通路在内的 60 个基因,详见图 5B。分析发现,SPOCK2 在大多数肿瘤类型中与衰竭 T 细胞标记基因、免疫激活基因和癌症

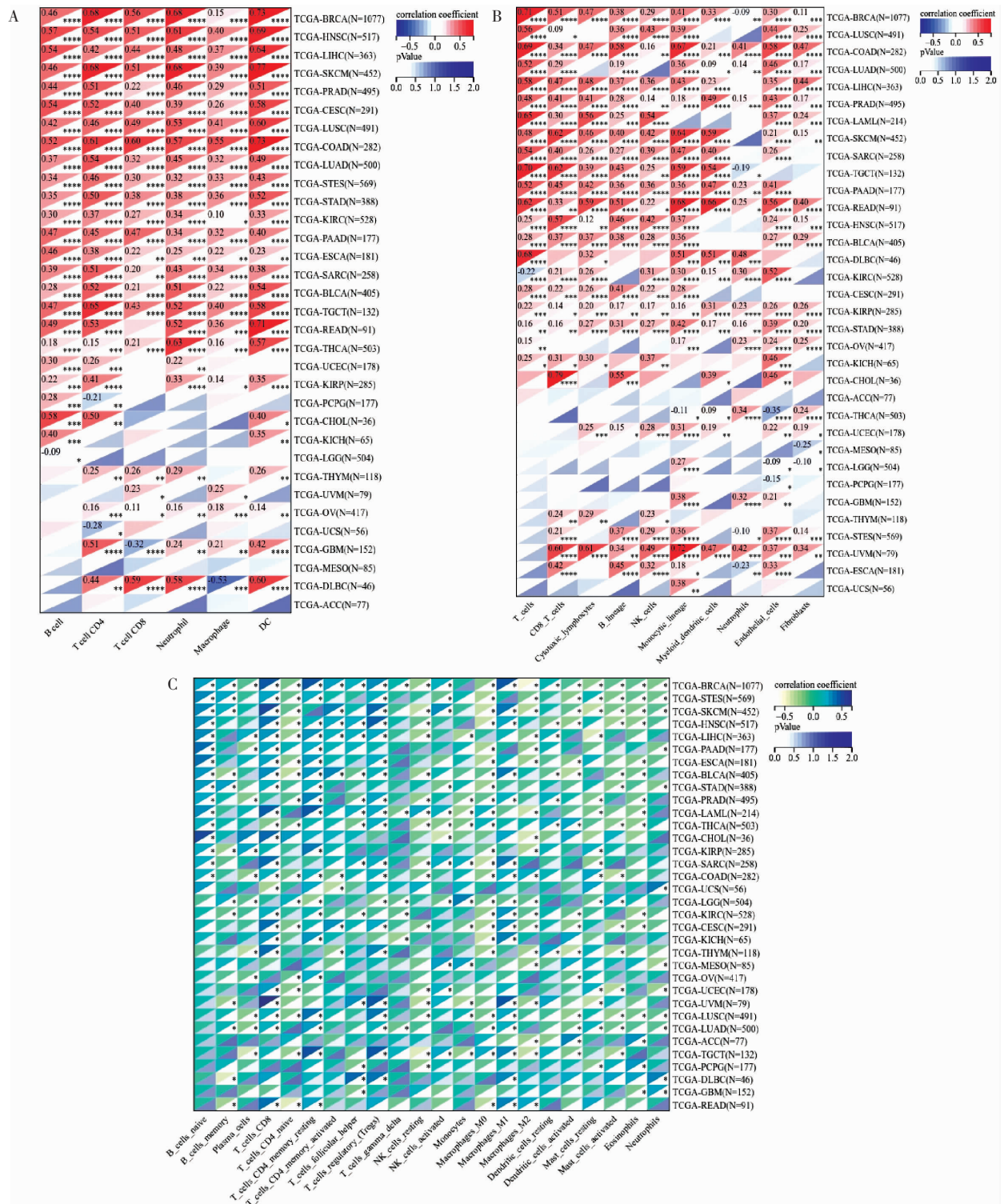


图4 免疫细胞浸润分析

注:A.TIMER2.0算法分析SPOCK2与免疫细胞的相关性;B.MCPcounter算法确定SPOCK2与免疫细胞浸润的相关性;C.CIBISORT算法分析SPOCK2与免疫细胞之间的相关性。

免疫抑制基因、T细胞免疫球蛋白免疫受体酪氨酸抑制基序结构、细胞程序性死亡蛋白1(programmed cell death 1, PDCD1)、淋巴细胞活化基因-3、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4)、表面抗原分化簇274等与免疫治疗相关的基因具有正相关性。结果

表明,SPOCK2在TME中起着至关重要的作用。

## 2.6 免疫组织化学分析

从HPA数据库LIHC、THCA、SKCM和OV肿瘤组织及其相应的正常组织中SPOCK2的免疫组织化学结果,详见图6。这些结果支持TCGA的发现,即SPOCK2在LIHC、THCA、SKCM和OV组织中的

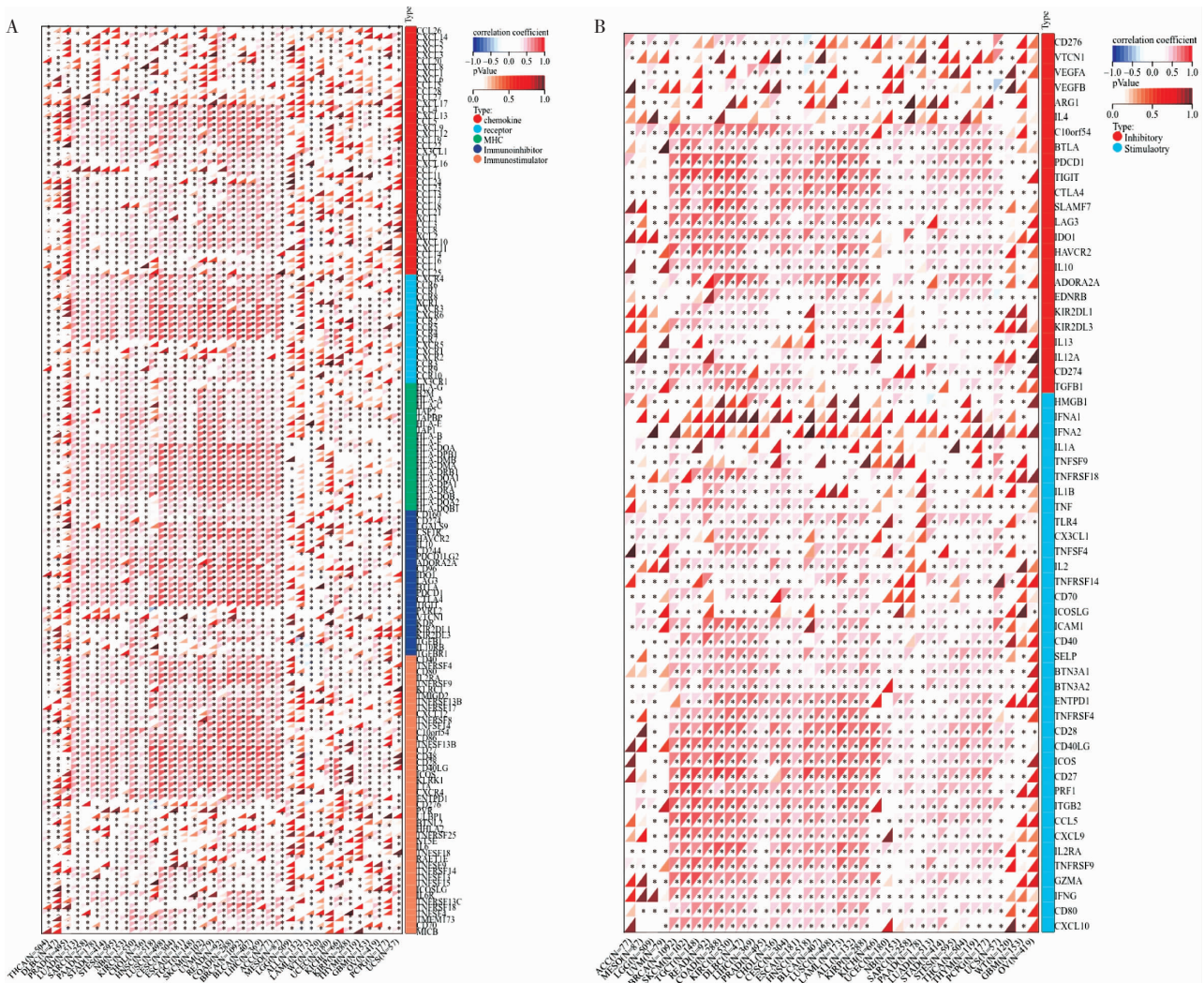


图 5 SPOCK2 与免疫调节、免疫检查点基因的相关性

注:A.SPOCK2 表达与免疫激活和免疫抑制状态相关基因的相关性;B.SPOCK2 表达与免疫检查点相关基因的相关性。

表达高于正常组织。

### 2.7 荧光定量 PCR 分析

以上结果均基于数据库得到,为了进一步验证 SPOCK2 在正常组织和癌症组织的表达差异,选取正常卵巢上皮组织和 OV 组织为代表,经过荧光定量 PCR 分析可以发现,OV 组织中 SPOCK2 mRNA 的表达水平确实高于正常卵巢上皮组织,与GEPID2.0 和HPA数据库得到的结果一致,详见图 7。

### 3 讨论

随着对肿瘤生物学和免疫学的探索,过去十年 ICIs 在肿瘤的临床治疗中取得了重大进展<sup>[17]</sup>。由于肿瘤特性极度复杂,免疫治疗也存在有效人群比例低、产生耐药性、过度进展等问题。只有大约 20% 的患者可以从 ICI 单药治疗中获益。近年来中医药辅助免疫治疗在肿瘤治疗中展现出强大的优势,两者相辅相承。中医认为扶正祛邪法是治疗肿瘤的关键,

通过调整阴阳、扶助正气使机体达到平衡状态,使患者能够带瘤生存。现代医学中免疫治疗从免疫逃逸机制出发,研发出的 ICIs 大大改善肿瘤治疗效果,这种利用患者自身免疫功能杀伤肿瘤的治疗理念,与中医扶正抑瘤的理念具有异曲同工之妙<sup>[18]</sup>。但无论是传统中医还是现代医学都注重个体化治疗,因此,寻找新的生物标志物对帮助临床医生预测癌症的预后和中西医联合免疫治疗效果至关重要。SPOCK2 在某些肿瘤中可作为帮助诊断的生物标记物。本研究对 SPOCK2 在泛癌中的预后和免疫治疗价值进行了系统的分析。

SPOCK2 在 14 种肿瘤中高表达,在 12 种肿瘤低表达。HPA 数据库的免疫组织化学结果也显示在 LIHC、THCA、SKCM 和 OV 中 SPOCK2 的表达高于正常组织。且 SPOCK2 在大多数具有统计学意义的癌症中是保护因素,但仅在 OV 中是危险因素。之前的研究发现在 OV 中,随着 hsa-miR-363-3p-SPOCK2



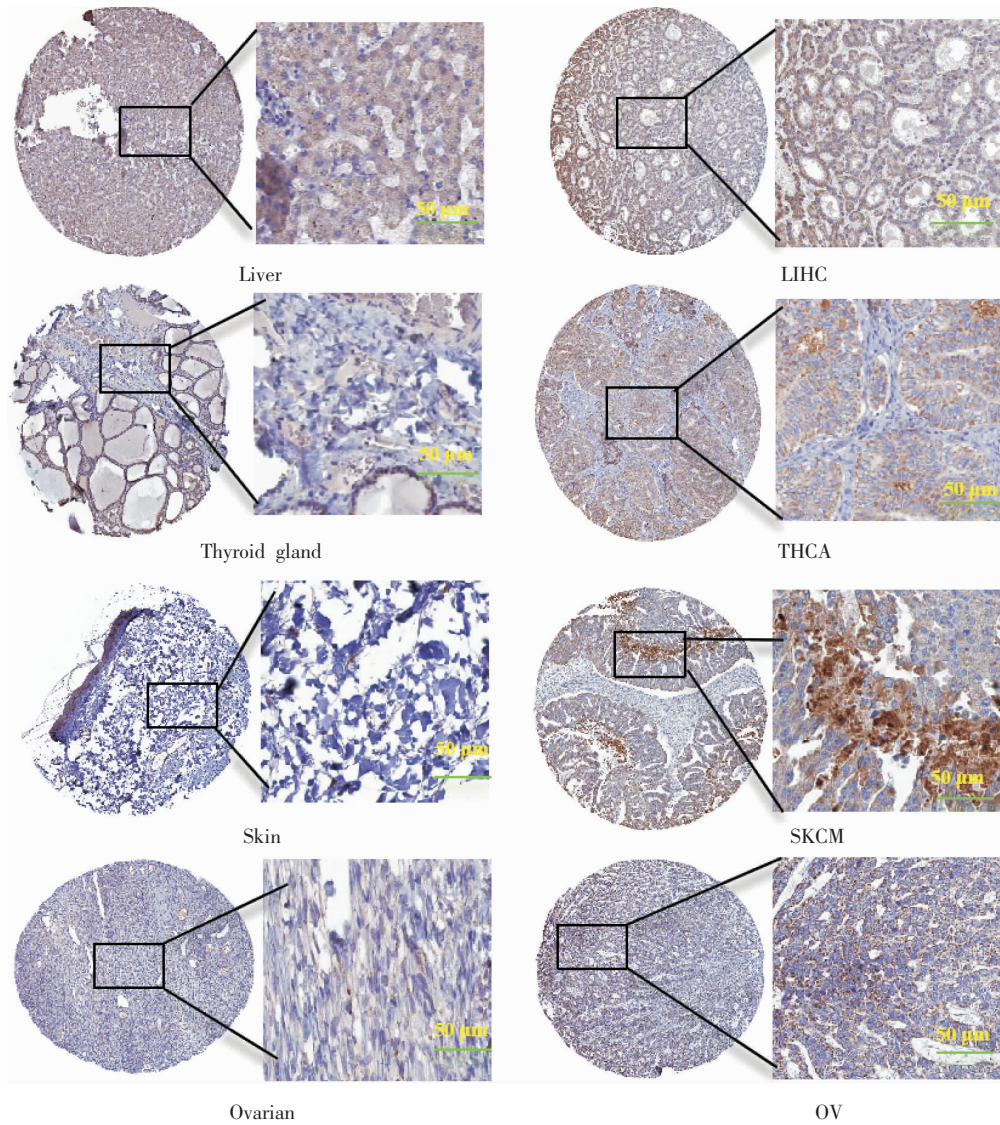


图 6 免疫组织化学分析 SPOCK2 在不同肿瘤组织与正常组织的差异表达

注: SPOCK2 在 LIHC、THCA、SKCM 和 OV 的肿瘤组织与其相应的正常组织间的表达差异(IHC, ×100, 比例尺=50 μm)。

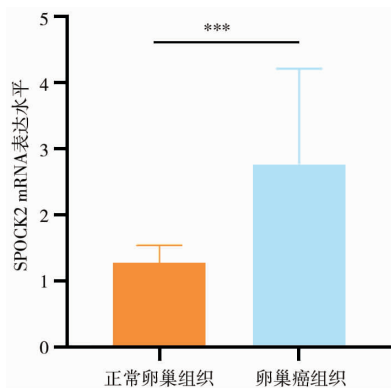


图 7 荧光定量 PCR 验证 SPOCK2 mRNA 在 OV 组织中的表达水平 (n=3)

注: 与正常卵巢组织比较, \*\*\*P<0.001。

轴的促进, SPOCK2 被下调, 它可以调节肌动蛋白细胞骨架, 阻断 OV 的分期进展<sup>[11]</sup>, 这与本次研究结果一致。此外, SPOCK2 的表达与临床分期相关, 提示 SPOCK2 在指导 SKCM、THCA、STAD、KICH 4 种

肿瘤不同分期患者的治疗方面具有临床意义。

KEGG 分析发现 SPOCK2 与 T 细胞和辅助 T 细胞的激活和分化有显著相关。辅助性 T 细胞和功能性 T 细胞都在免疫微环境中发挥重要作用。且在大多数癌症中, SPOCK2 的表达与发挥主要免疫功能的免疫细胞也密切相关, 包括 B 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、癌症相关成纤维细胞、NK 细胞、免疫检查点和免疫调节相关基因。这些结果表明, SPOCK2 在调节 TME 中起着至关重要的作用。

对于 BRCA、THCA、HNSC、PAAD 和 SKCM 来说, SPOCK2 高表达与其瘤内高免疫浸润水平相关, 这也解释了 SPOCK2 在这些肿瘤中起保护作用的现象。相反, SPOCK2 是 OV 和 PRAD 的危险因素, 虽然该基因在肿瘤中高表达, 但其免疫浸润水平较低。这种情况表明, 在免疫抑制的情况下, SPOCK2 的功

能受到限制。影响肿瘤微环境的因素很多。例如,肿瘤浸润的调节性 T 细胞可以诱导免疫抑制微环境,这是肿瘤免疫治疗成功的主要障碍<sup>[9]</sup>。因此,当其他抑制因子在免疫微环境中占据优势时,SPOCK2 的免疫激活功能可能受到限制。

此外,SPOCK2 与 PDCD1 和 CTLA4 基因在多种肿瘤里呈正相关,例如在 SKCM,READ,LUSC 等肿瘤中,且 PD-1 抑制剂和 CTLA4 抑制剂均已在临床广泛应用,尤其在 SKCM 及 LUSC 等实体肿瘤中治疗效果明显,表明 SPOCK2 可以作为一种生物标志物来指导免疫治疗药物的使用。本文初步分析了 SPOCK2 在泛癌中的作用,发现 SPOCK2 与调节免疫微环境的刺激分子及抑制分子相关,具有调节免疫微环境的作用。因此,在某些肿瘤中,可预测免疫治疗敏感性。当然,这还需要更深入的研究去验证。综上所述,本文评估了 SPOCK2 在癌症中预后和免疫治疗反应预测的作用,并发现其在不同的癌症中发挥不同的功能。该研究为 SPOCK2 在恶性肿瘤中的应用提供了一个新的角度,这有助于科学家寻找更好的治疗癌症患者的方法,也可为中医药作用靶点以及分子生物学领域的研究提供参考方向。

## 参考文献

- [1] GRETEN F R, GRIVENNIKOV S I. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences[J]. *Immunity*, 2019, 51 (1): 27-41.
- [2] KIM T K, VANDSEMB E N, HERBST R S, et al. Adaptive immune resistance at the tumour site: Mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2022, 21 (7): 529-540.
- [3] MORAD G, HELMINK B A, SHARMA P, et al. Hallmarks of response, resistance, and toxicity to immune checkpoint blockade[J]. *Cell*, 2021, 184(21): 5309-5337.
- [4] 李 晶, 王胜奇, 王 能, 等. 中医药在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(08): 86-91.
- [5] PROPPER D J, BALKWILL F R. Harnessing cytokines and chemokines for cancer therapy[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2022, 19(4): 237-253.
- [6] DEVALARAJA S, TO T K J, FOLKERT I W, et al. Tumor-derived retinoic acid regulates intratumoral monocyte differentiation to promote immune suppression [J]. *Cell*, 2020, 180 (6): 1098-1114, e1016.
- [7] BERTUCCI F, DE NONNEVILLE A, FINETTI P, et al. Predictive power of tertiary lymphoid structure signature for neoadjuvant chemotherapy response and immunotherapy benefit in HER2-negative breast cancer[J]. *Cancer communications*, 2023, 43(8): 943-946.
- [8] 井海亮, 潘 丽, 菅佳宁, 等. 基于表观遗传-肿瘤微环境互作论肿瘤“形气神同病”[J]. *基层中医药*, 2023, 2(5): 79-85.
- [9] WANG K, GUAN C, SHANG X, et al. A bioinformatic analysis: The overexpression and clinical significance of FCGBP in ovarian cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(5): 7416-7429.
- [10] REN F, WANG D, WANG Y, et al. SPOCK2 affects the biological behavior of endometrial cancer cells by regulation of MT1-MMP and MMP2[J]. *Reproductive Sciences*, 2020, 27(7): 1391-1399.
- [11] LOU W, DING B, ZHONG G, et al. Dysregulation of pseudogene/lncRNA-hsa-miR-363-3p-SPOCK2 pathway fuels stage progression of ovarian cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11 (23): 11416-11439.
- [12] ZHAO J, CHENG M, GAI J, et al. SPOCK2 serves as a potential prognostic marker and correlates with immune infiltration in lung adenocarcinoma[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 588499.
- [13] LI T, FU J, ZENG Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48 (W1): W509-W514.
- [14] MINORU KANEHISA, MIHO FURUMICHI, YOKO SATO, et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(D1): D587-D592.
- [15] SHEN W, SONG Z, ZHONG X, et al. Sangerbox: A comprehensive, interaction-friendly clinical bioinformatics analysis platform[J]. *iMeta*, 2022, 1(3): e36.
- [16] HU J, YU A, OTHMANE B, et al. Siglec15 shapes a non-inflamed tumor microenvironment and predicts the molecular subtype in bladder cancer[J]. *Theranostics*, 2021, 11(7): 3089-3108.
- [17] KRAEHENBUEHL L, WENG C H, EGHBALI S, et al. Enhancing immunotherapy in cancer by targeting emerging immunomodulatory pathways[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2022, 19(1): 37-50.
- [18] 陈 刚, 吴嫣然, 李 婧. 免疫治疗时代对恶性肿瘤中西医结合治疗的思考[J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(3): 376-380.
- [19] WANG Y M, HUANG T N, JIAN G U, et al. Targeting the metabolism of tumor-infiltrating regulatory T cells[J]. *Trends in Immunology*, 2023, 44(8): 598-612.

(本文编辑 田梦妍)