

本文引文格式:田喆,岑丽兰,蒋玉洁,等.核受体 NR4A1 基因表达特征泛癌分析[J].
右江民族医学院学报,2021,43(3):319-327.

【论著与临床报道】

核受体 NR4A1 基因表达特征泛癌分析

田喆^{1,2},岑丽兰¹,蒋玉洁²,廖品琥³

1. 右江民族医学院研究生学院,广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院呼吸内科,广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院重症医学教研室,广西 百色 533000)

摘要:目的 核受体亚家族 4A 组成员 1(NR4A1;又称 Nur77/TR3/NGFIB)是核受体超家族成员,表达为调节多个靶基因表达的早期反应基因。它影响着肿瘤的发生和患者生存,但尚不清楚 NR4A1 在不同癌症类型中的表达水平、预后结果、免疫浸润关联等。**方法** 使用 TCGA 和 GEO 数据库对 NR4A1 进行泛癌分析,从基因表达、生存状态、基因改变、蛋白磷酸化、免疫浸润以及相关的细胞途径等方面探讨 NR4A1 在不同肿瘤发生和临床预后中的潜在分子机制。**结果** NR4A1 在大多数肿瘤中低表达,并且与癌症患者的预后有一定的相关性。在肺腺癌中 NR4A1 S218 磷酸化水平较低,NR4A1 在多数癌症中的表达与肿瘤相关成纤维细胞浸润有关。此外,结合蛋白和 RNA 代谢相关功能参与到 NR4A1 的作用机制中。**结论** NR4A1 的表达与临床预后、蛋白磷酸化、免疫细胞浸润、肿瘤突变负荷之间存在统计相关性,这有助于从临床肿瘤样本的角度来理解 NR4A1 在肿瘤发生中的作用。

关键词:NR4A1;肿瘤;磷酸化;预后;免疫浸润

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2021)03-0319-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.03.006

Pan-cancer analysis of the gene expression characteristics of nuclear receptor NR4A1

Tian Zhe^{1,2}, Cen Lilan¹, Jiang Yujie², Liao Pinhu³

1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Department of Critical Care Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** Member 1 of nuclear receptor subfamily 4A (NR4A1 or Nur77 /TR3/NGFIB) is a member of the nuclear receptor superfamily and is expressed as an early response gene that regulates the expression of multiple target genes. It affects tumor genesis and patient survival, but the correlation between NR4A1 expressions and the prognosis and immune infiltration in different cancer types is still unclear. **Methods** A pan-cancer analysis of NR4A1 was performed by TCGA and GEO databases to explore the potential molecular mechanisms of NR4A1 in the genesis and clinical prognosis of different tumors. It was analyzed in terms of gene expression, survival status, gene changes, protein phosphorylation, immune infiltration, and related cellular pathways. **Results** NR4A1 was low expressed in most tumors and was associated with prognosis in cancer patients. The phosphorylation level of NR4A1 S218 was low in lung adenocarcinoma. The expression of NR4A1 in most cancers was associated with tumor-associated fibroblast infiltration. Furthermore, binding protein and RNA metabolism-related functions were involved in the mechanism of NR4A1. **Conclusion** NR4A1 expression is statistically correlated with clinical prognosis, protein phosphorylation, immune cell infiltration, and tumor mutation load, which helps to understand the role of NR4A1 in tumor genesis from the per-

基金项目:国家自然科学基金项目(81760350)

第一作者简介:田喆(1996—),男,在读硕士研究生,研究方向:ARDS 的分子生物学机制,E-mail:1034678614@qq.com

通讯作者简介:廖品琥(1967—),男,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:ARDS 发病机制,E-mail:liaopinhu@

spective of clinical tumor samples.

Key words: NR4A1; cancer; phosphorylation; prognosis; immune infiltration

核受体亚家族4A组成员1(NR4A1)定位于人12号染色体,是立刻早期反应基因之一^[1]。接受信号刺激后NR4A1分子构象发生变化,通过对靶基因调控区的识别和结合发挥转录调控作用,广泛参与细胞分化和增殖、肿瘤发生和凋亡、代谢控制、血管重塑等环节^[2-5]。泛癌分析是将多组学进行整合分析,检查不同癌症类型中发现的基因组和表达变化之间的相似与差异^[6]。尽管基于细胞或动物的新证据支持NR4A1与癌症之间的联系,但目前鲜少有关于NR4A1泛癌分析可用。本研究通过癌症基因组图谱(the cancer genome atlas,TCGA)和基因表达综合数据库(gene expression omnibus,GEO),探索NR4A1在大多数肿瘤中的表达情况,并与其预后做相关性分析。分析NR4A1在癌症中的表达与肿瘤微环境中的肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts,CAFs)的关系。通过泛癌分析提供一个对NR4A1在不同肿瘤中致癌作用的相对全面的理解。

1 方法

1.1 基因表达情况 通过TIMER2(tumor immune estimation resource,version 2)工具挖掘TCGA数据库中NR4A1在不同癌症(或特定癌症亚型)和正常组织中的表达差异。使用GEPIA2工具(gene expression profiling interactive analysis,version 2)来获得癌症组织与GTEX数据库中相应正常组织之间表达差异的箱线图(box plot)。参数设置:Log2FCcutoff=1,P-value cutoff=0.01。此外,还通过GEPIA2明确NR4A1在所有TCGA癌症不同病理分期的表达水平,计算每百万转录本(transcript per million,TPM)值,用Log2(TPM+1)量表显示NR4A1的表达水平并绘制成小提琴图(violin plot)。明确基因表达水平后,利用Ualcan挖掘TCGA数据库中NR4A1的蛋白表达水平。本次研究选取子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma,UCEC)、肺腺癌(lung adenocarcinoma,LUAD)的有效数据集。

1.2 生存预后分析 通过GEPIA2获取所有TCGA癌症类型中NR4A1对总生存期(overall survival,OS)和无病生存期(disease-free survival,DFS)的生存贡献。选择合适的表达阈值以区分高表达人群和低表达人群(Cutoff-High=50%;Cutoff-Low=50%)。假设检验采用Mantel-Cox检验,绘制单基因生存分析图(Kaplan-Meier曲线)。

1.3 NR4A1基因变异情况 在超过28种疾病谱,总计10967个样本数中,利用TCGA泛癌图谱研究(TCGA pan cancer atlas studies)查询NR4A1的基因改变特征,观察所有TCGA肿瘤中NR4A1的突变频率(alteration frequency)、突变类型(mutation type)以

及拷贝数变化(copy number alteration)结果。比较TCGA癌症病例中有无NR4A1基因改变对OS、DFS、无进展生存期(progression-free survival,PFS)和疾病特异生存率(disease-specific survival,DSS)影响差异数据,生成具有对数秩P值的Kaplan-Meier图。

1.4 NR4A1蛋白磷酸化情况 通过uniprot软件(<https://www.uniprot.org/>)找到NR4A1蛋白对应的ID,然后输入到SMART工具找到蛋白结构域。利用Ualcan明确各种癌症中的磷酸化位点及表达水平,并将提示的磷酸化位点组合到蛋白结构域上。

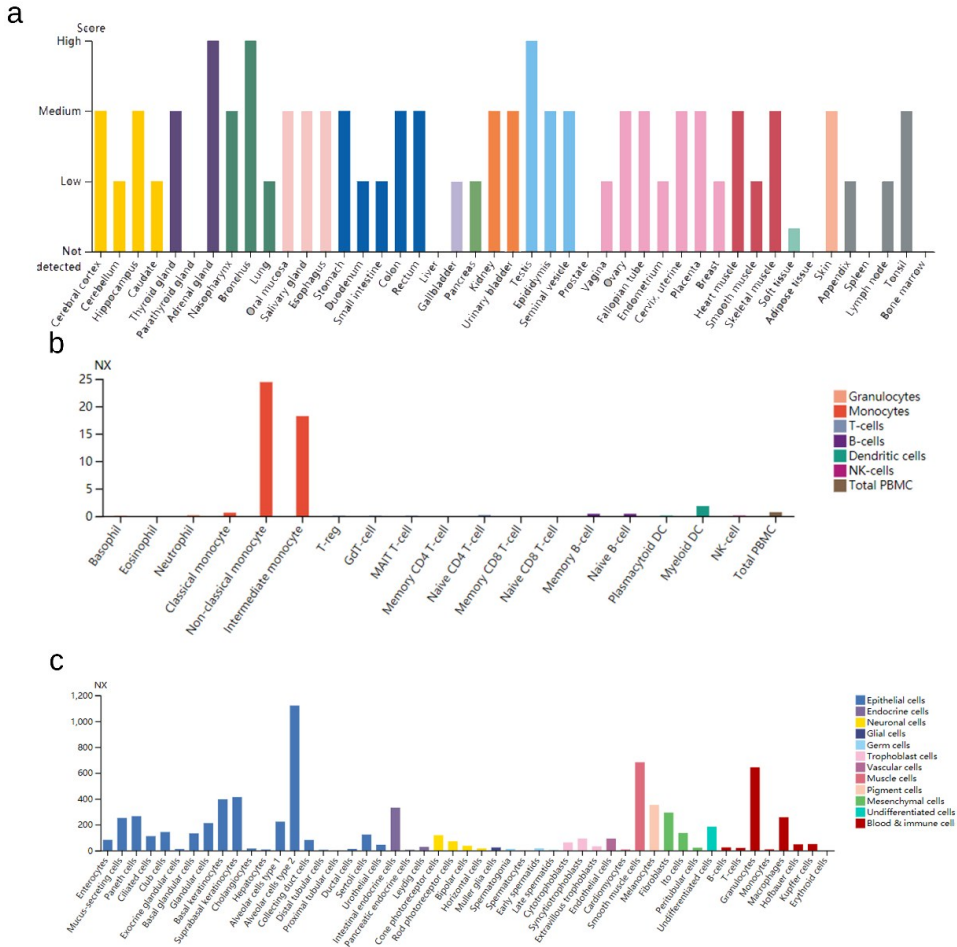
1.5 免疫浸润分析 在TIMER2网络服务器中探索所有TCGA肿瘤中NR4A1表达与免疫浸润的关联。着重介绍NR4A1与CAFs浸润的相关性,应用EPIC、MCPCOUNTER、XCLL、TIDE算法进行免疫浸润评估。肿瘤纯度是本分析中主要的混杂因素^[7],根据纯度调整后的Spearman's等级相关检验得到P值和偏相关系数(partial correlation,COR)值。数据以热图和散点图的形式可视化。

1.6 NR4A1相关基因富集分析 使用STRING查询蛋白名称及物种(NR4A1;homo sapiens),随后设置以下参数:最低关系分数(minimum required interaction score)设置为低可信度0.150;线条颜色表示交互证据的类型;显示的交互对象的最大数量:不超过50个;交互来源:实验。最后,筛选出50个有实验验证的与NR4A1结合的蛋白。利用GEPIA2进行相关性分析,基于TCGA和GTEX数据集,选取与NR4A1相关性前100的基因,并从中选取相关基因与NR4A1进行成对基因的Pearson相关分析。散点图采用log2TPM,给出P值和相关系数R。根据上一步选择的相关性基因,制作所选基因与NR4A1的相关性热图。为了进一步筛选基因,使用交互式韦恩图(Venn diagram)查看器Jvenn将相关性的100个基因与蛋白互作的50个基因进行交集分析。此外,把两组数据合并并进行KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路分析。通过将基因列表上传至DAVID(database for annotation,visualization,and integrated discovery),并选择“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”和“homo sapiens”分别作为基因标识符和物种,获得了功能注释图的数据。最后用一种用于数据分析和可视化的在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn>)绘制气泡图显示富集的通路。此外,还应用该平台进行了GO(gene ontology)富集分析。对生物学过程(biological process,BP)、细胞成分(cellular component,CC)和分子功能(molecular function,MF)的数据可视化。

2 结果

2.1 基因表达数据分析 首先分析 NR4A1 在不同细胞和非肿瘤组织中的表达模式,如图 1 所示。根据人类蛋白图谱(human protein atlas, HPA)、GTE_x 和哺乳动物基因组功能注释 5(function annotation of the mammalian genome 5, FANTOM5)数据集的组合,发现 NR4A1 在肾上腺、支气管、睾丸中蛋白表达最高,其次是大脑皮层和海马区(见图 1a)。然而, NR4A1 在所有检测到的组织中都有表达,显示出较低的组织特异性。当分析 HPA/Monaco/Schmiedel 数

据集中不同血细胞中的 NR4A1 mRNA 表达时,出现血细胞类型特异性富集组:非经典单核细胞(non-classical monocyte)、中间单核细胞(intermediate monocyte)(见图 1b)。另外,分析单细胞类型中 NR4A1 mRNA 表达水平时发现 2 型肺泡上皮细胞、平滑肌细胞、粒细胞中 NR4A1 mRNA 水平增强(见图 1c)。利用肽图谱(peptide atlas)中基于质谱的血浆蛋白质组学进行量化,未检测到血浆中 NR4A1 的蛋白浓度,预计细胞内 NR4A1 蛋白未主动分泌到血液中。



注:a:组织中 NR4A1 蛋白表达数据集;b:血液细胞中 NR4A1 mRNA 表达数据集;c:单细胞中 NR4A1 mRNA 表达数据集。数据来自 HPA、GTE_x、FANTOM5 转录组学数据集。

图 1 有关 NR4A1 在正常组织/细胞/血液中的数据集合

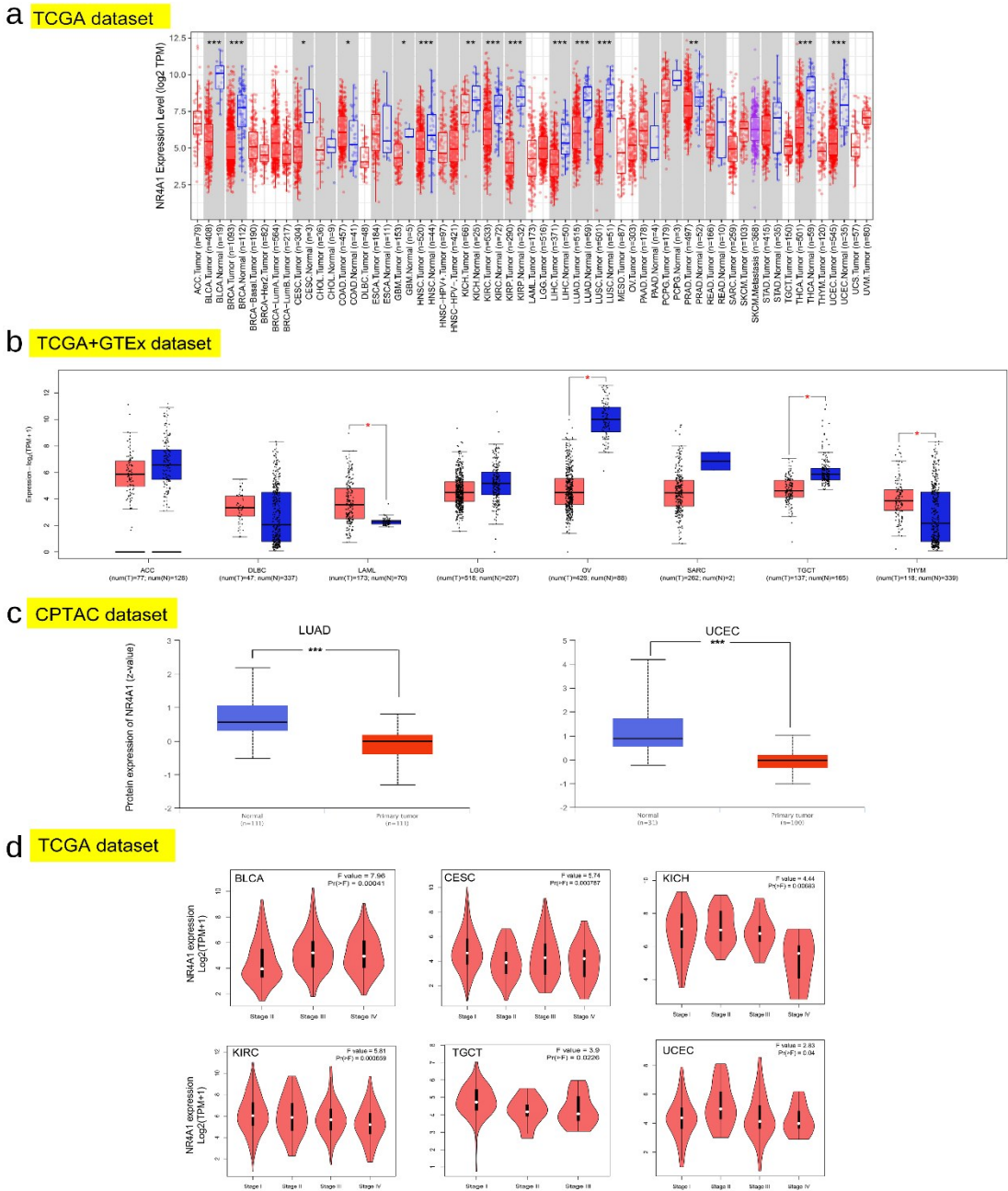
TIMER2 工具挖掘 TCGA 数据库中 NR4A1 基因在各种癌症中表达状况(见图 2a)。NR4A1 在膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BLCA)、乳腺浸润癌(breast invasive carcinoma, BRCA)、头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)、肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma, KIRP)、肝细胞肝癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)、肺腺癌(lung adenocarcinoma,

LUAD)、肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)、甲状腺癌(thyroid carcinoma, THCA)、子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)组织中的表达水平显著低于正常对照组($P < 0.001$)。

后续将 TCGA 与 GTE_x 数据库联合进行分析,补充 GTE_x 数据集的正常组织作为对照,进一步评估 NR4A1 在急性髓细胞样白血病(acute myeloid leukemia, LAML)、卵巢浆液性囊腺癌(ovarian serous cys-

tadenocarcinoma, OV)、睾丸癌 (testicular germ cell tumors, TGCT)、胸腺癌 (thymoma, THYM) 的正常组织和癌症组织中的表达差异 ($P < 0.01$), 见图 2b。对于肾上腺皮质癌 (adrenocortical carcinoma, ACC)、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma, DLBC)、脑低级别胶质瘤 (brain lower grade glioma, LGG)、肉瘤 (sarcoma, SARC) 没有得到显著性差异。

NR4A1 总蛋白在 LUAD、UCEC 组织中的表达均低于正常组织 ($P < 0.001$), 见图 2c。我们还观察到 NR4A1 与 BLCA、宫颈鳞癌和腺癌 (cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, CESC)、肾嫌色细胞癌 (kidney chromophobe, KICH)、TGCT、UCEC 病理分期有关 (P 均 < 0.05), 见图 2d, 其他癌症与之无关。



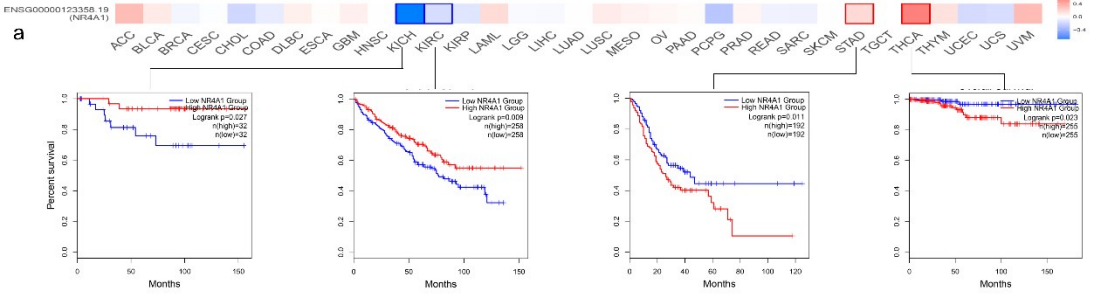
注: a: 分析 NR4A1 在不同肿瘤或特定肿瘤亚型中的表达情况, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; b: TCGA 中 ACC、DLBC、LAML、LGG、OV、SARC、TGCT、THYM, 以 GTEx 中相应正常组织为对照, * $P < 0.001$; c: LUAD、UCEC 正常组织与原发癌症组织中 NR4A1 总蛋白表达水平, 作箱线图, *** $P < 0.001$; d: 分析 BLCA、CESC、KICH、KIRC、TGCT、UCEC 主要病理分期的表达水平, 采用 $\text{Log}_2(\text{TPM}+1)$ 为对数标尺。

图 2 NR4A1 基因在不同肿瘤和病理分期中的表达水平

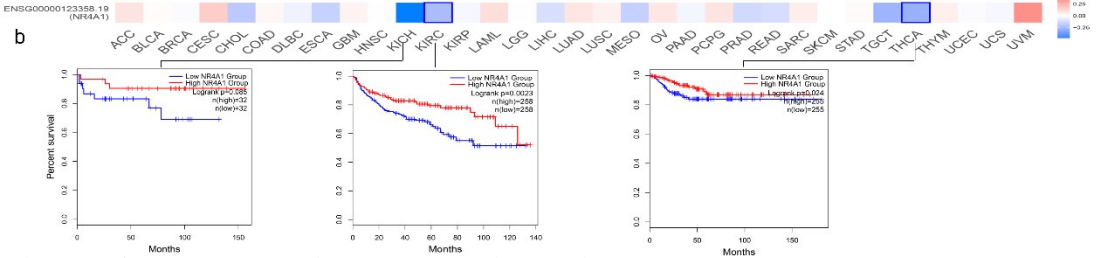
2.2 生存数据分析 根据 NR4A1 表达水平将肿瘤划分为高表达组和低表达组。如图 3a 所示,高表达的 NR4A1 与 KICH($P = 0.027$)、KIRC($P = 0.009$)总体预后不良有关。NR4A1 基因低表达与 STAD 不良 OS 有关($P = 0.011$)。DFS 分析数据显示(见图 3b),

KICH 与 DFS 无明确相关($P = 0.085$),KIRC 的 NR4A1 高表达与 DFS 预后不良存在相关性。有趣的是,高表达的 NR4A1 与 THCA 总体 OS 预后差有关,但却表现出与短期 DFS 预后良好的相关性。

Overall Survival



Disease Free Survival



注:对 TCGA 中不同肿瘤的总生存期(a)和无病生存期(b)进行 NR4A1 基因表达分析,得出 Kaplan-Meier 曲线。

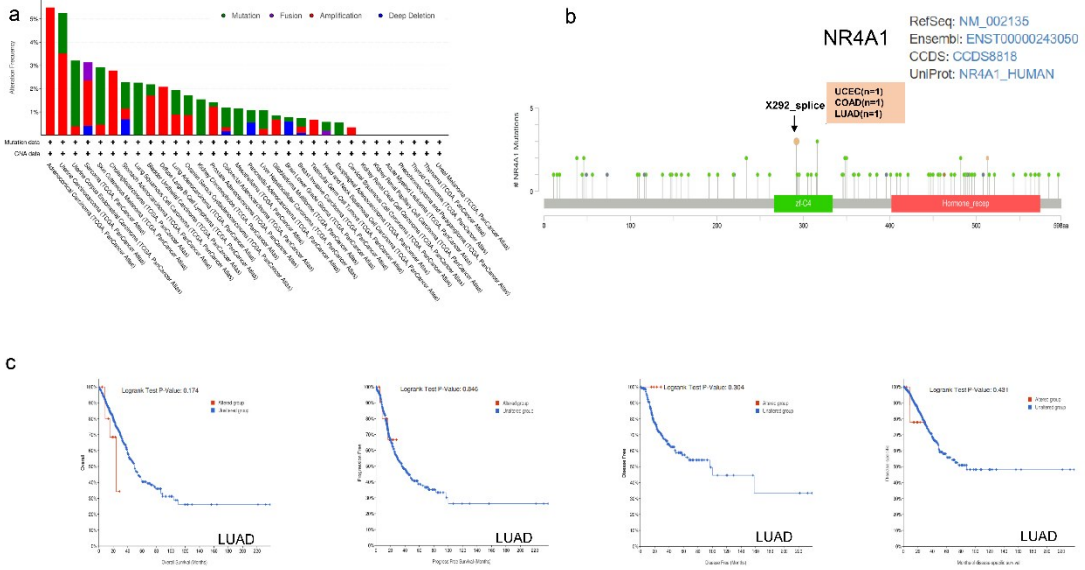
图 3 TCGA 中 NR4A1 表达与肿瘤生存预后的关系

2.3 基因变异分析 以 NR4A1 扩增为主要变异类型的 ACC 癌症患者 NR4A1 基因改变频率最高(> 5%)。UCEC 以 NR4A1 突变为主,其改变频率 > 3%。值得注意的是,基因改变大约 1% 的 LGG 绝大多数都是 NR4A1 拷贝数缺失(见图 4a)。进一步显示 NR4A1 遗传变异的类型和位点(见图 4b),我们发现 NR4A1 错义突变是主要的遗传变异类型。在 1 例 UCEC,1 例 COAD,1 例 LUAD 病例中检测出 C4 型锌指结构域中 X292_splice 能够使 NR4A1 基因 292 号位点发生拼接突变。之后,还探讨了 NR4A1 基因改变与不同类型癌症患者临床预后之间的潜在联系。与无 NR4A1 基因改变的病例相比,NR4A1 改变后与 LUAD 患者的 OS($P = 0.174$)、PFS($P = 0.846$)、DFS($P = 0.304$)、DSS($P = 0.431$)无显著相关(见图 4c)。

2.4 蛋白磷酸化分析 图 5a 描绘的是 NR4A1 蛋白结构域的示意图。通过 CPTAC 数据集,比较正常组织与原发肿瘤组织中 NR4A1 磷酸化水平的变化,总结出 NR4A1 磷酸化水平发生显著性差异的肿瘤类型:LUAD。LUAD 组织中 S218 位点上磷酸化水平低于正常组织($P < 0.001$),见图 5b。这一观察结果值得进一步的分子检测,以进一步探讨 NR4A1 磷酸化

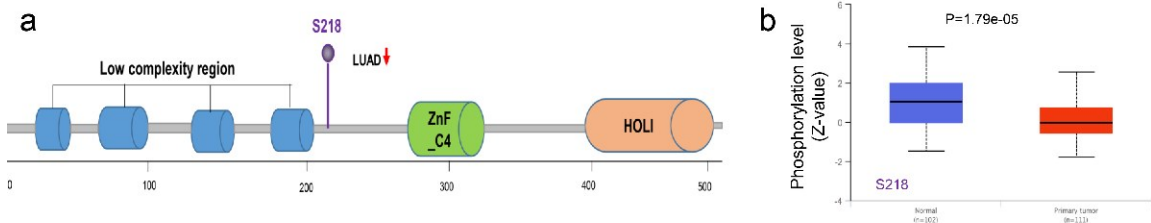
在肿瘤发生中的潜在作用。
2.5 免疫浸润分析 观察到 BLCA、BRCA、HNSC (包括 HNSC+HPV-),KIRC、LUSC、MESO、STAD、UCS 各种癌症中 NR4A1 的表达与肿瘤相关成纤维细胞的浸润成正相关,而在 TGCT 呈现负相关(见图 6a)。在此,仅将上述肿瘤其中一种算法产生的相关性散点图作为代表展现(见图 6b)。

2.6 NR4A1 相关基因的富集分析 首先筛选出 NR4A1 靶向结合蛋白以及与 NR4A1 表达相关基因,然后再进行一系列通路富集分析。基于 STRING,共筛选出 50 个有实验验证的与 NR4A1 结合蛋白。图 7a 显示了这些蛋白的相互作用网络。利用 GEPIA2 结合 TCGA 数据库进行相关性分析,并选取与 NR4A1 相关性前 100 的基因。NR4A1 的表达水平与 CSRNP1($R = 0.72$)、ATF3($R = 0.7$)、NR4A3($R = 0.67$)、ZFP36($R = 0.66$)、CYR61($R = 0.64$)的表达水平呈正相关(见图 7b)。热图显示(见图 7c),在绝大多数的癌症类型中,NR4A1 与上述基因成正相关。进一步筛选基因,将相关性 Top100 基因与蛋白互作的 50 个基因取交集并筛选出 2 个共同成员(SMAD7、MIDN)(见图 7d)。



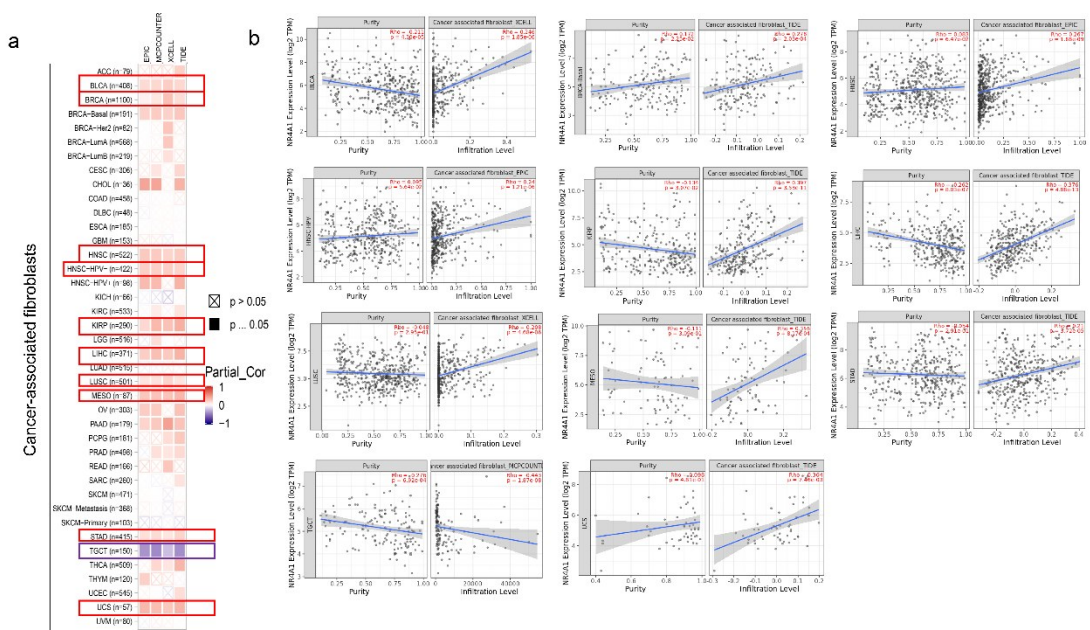
注:显示了变异类型(a)和突变位点(b)的改变频率。展示出 NR4A1 改变频率最高的突变位点 (X292_splice)。该突变位点与 LUAD 的 OS、PFS、DFS、DSS 之间的潜在相关性。

图 4 TCGA 中不同肿瘤 NR4A1 变异类型



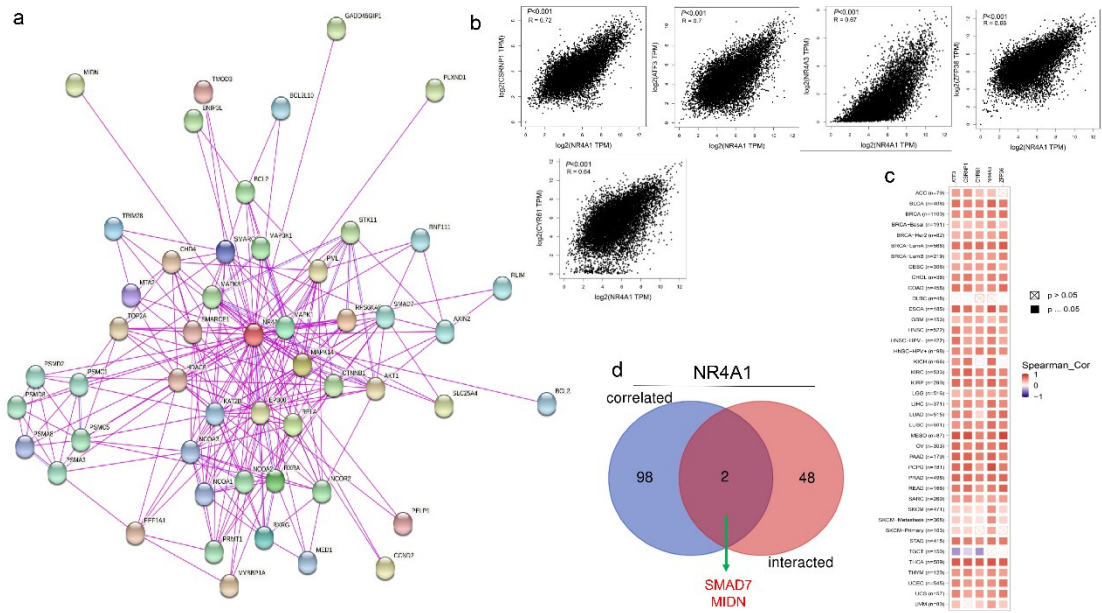
注:NR4A1 磷酸化蛋白(S218 位点)在正常组织和癌症原发灶中的表达水平。蛋白质结构域示意图(a)显示磷酸化位点位置。LUAD 在 S218 磷酸化表达情况(b)。

图 5 NR4A1 蛋白磷酸化分析



注:采用不同的算法探讨 TCGA 各类型癌症中 NR4A1 基因的表达水平与癌症相关成纤维细胞浸润水平之间的潜在相关性。用热图(a)和相关性散点图(b)表示。

图 6 NR4A1 表达与肿瘤相关成纤维细胞免疫浸润之间的相关性分析

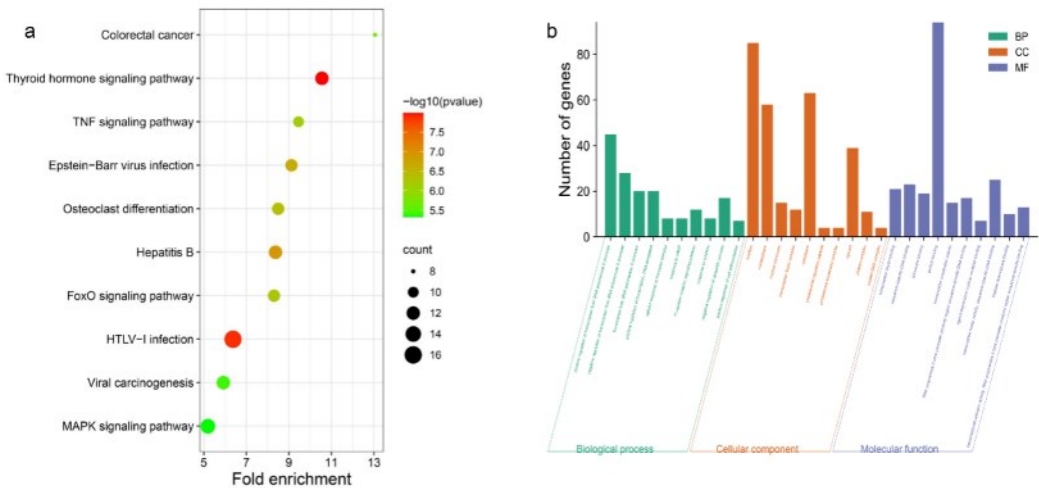


注:利用 STRING 工具获得了现有实验确定的 NR4A1 结合蛋白(a)。TCGA 项目中排名前 100 位的 SND1 相关基因(b),并分析了 NR4A1 与所选靶向基因的表达相关性,绘制相应的热图(c)。对 SND1 结合基因和相关基因进行了交叉分析(d)。

图 7 NR4A1 相关基因筛选

把上述两组数据合并进行 KEGG 和 GO 富集分析。KEGG 数据表明, NR4A1 在癌症发病机制中的作用可能与甲状腺激素信号传导途径(thyroid hormone signaling pathway)、人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型感染(HTLV-1 infection)、MAPK 信号通路有关(见图

8a)。GO 富集分析进一步表明,这些基因大多数与 RNA 聚合酶 II 启动子转录调控有关,并且大多数基因编码产物定位在细胞核上,发挥着结合蛋白质的分子功能(见图 8b)。



注:根据 NR4A1 结合和相互作用的基因,进行了 KEGG 通路分析(a)和 GO 分析(b)。

图 8 NR4A1 KEGG 富集分析和 GO 分析

3 讨论

通过检索文献,我们没有检索到任何从整体角度对 NR4A1 进行泛癌分析的文献。因此,有机会基于 TCGA、CPTAC 和 GEO 数据库的数据,通过基因表

达、基因改变、蛋白磷酸化等分子特征对不同肿瘤中的 NR4A1 基因进行较为全面的检测分析。我们想表示出 NR4A1 在癌症组织和正常组织的表达高低,但是 TCGA 数据库中某些癌症缺少相邻正常对照或癌旁组

织高度受限。例如 ACC、DLBC 等,所以将 TCGA 与 GTEx(genotype-tissue expression)数据库联合进行分析。Ualcan 作为一个全面的、交互式网络资源^[8],我们通过门户网站(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)分析癌症 Omics 数据,使本次研究能够对临床蛋白质组肿瘤分析联盟(clinical proteomic tumor analysis consortium, CPTAC)确认/发现的数据集进行蛋白质表达分析。

我们观察到 NR4A1 在大多数肿瘤中低表达。在 TCGA 数据库中 BLCA、BRCA、HNSC、LUAD、LUSC、LIHC、THCA、UCEC 癌组织中 NR4A1 基因表达低于正常组织。通过以往文献已知, NR4A1 过表达抑制子宫内膜样癌细胞增殖、侵袭和迁移,促进细胞凋亡^[9]。Wu HM 等^[10]研究三阴乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)时发现 TNBC 中 NR4A1 表达降低, NR4A1 过表达抑制 TNBC 生长和侵袭性。也有报道称 NR4A1 是急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)有效抑癌因子,在人 AML 中被沉默,而基因的缺失导致 AML 在小鼠出生后快速发展^[11]。然而,现已报道的文献中,有关 NR4A1 在癌症中的作用是矛盾的。miR-506 通过减少 NR4A1 表达抑制结肠癌细胞的增殖、迁移^[12]。NR4A1 在乳腺癌患者中的过度表达是降低生存率和增加转移的预后因素^[13]。这些争议的结果强调了 NR4A1 在不同癌症类型或者亚型发挥特定作用的可能性。从 CPTAC 数据库中得到 NR4A1 总蛋白和磷酸化蛋白数据结果表明, LUAD 原发肿瘤组织中 S218 位点总蛋白和磷酸化蛋白水平相比正常对照较低。提示 NR4A1 蛋白磷酸化水平下调是促进 LUAD 发生的原因。需要进一步的实验评估 NR4A1 S218 位点磷酸化在癌症发生中的作用。

在 Hedrick E 等^[13]的研究中发现 NR4A1 在乳腺癌患者中的过度表达是降低生存率的预后因素,与 NR4A1 依赖性调节转化生长因子 β (TGF- β)信号有关。NR4A1 高表达的 NSCLC 患者 OS 和 PFS 较短^[14]。我们在对 NR4A1 这个基因预后情况展开了解的过程中发现, NR4A1 低表达时 KICH、KIRC 总体预后不良,而在 STAD 中 NR4A1 高表达会导致生存期下降。可能因为 OS、DFS 终点结局以及观察时间存在差异,导致 NR4A1 低表达在 THCA 预后分析中出现相反结果。目前尚需要更多高质量临床试验,为探寻 NR4A1 与 THCA 预后关系提供更有利的证据。Kaplan-Meier 分析发现,不管 NR4A1 基因改变与否并不存在生存差异。以 C4 型锌指结构上位点 X292 为例,发生拼接突变后 LUAD 患者 OS、PFS、DFS、DSS 无统计学意义。究其原因,可能因为 NR4A1 基

因改变病例数过少,需要更大的病例数,以确定 NR4A1 基因改变是否增加预后风险。

成纤维细胞是肿瘤微环境中一类主要的非造血基质细胞类型^[15],与浸润性免疫细胞在肿瘤生长、进展和耐药性中起着重要作用^[16]。肿瘤转移涉及肿瘤细胞与宿主细胞之间的复杂相互作用^[17],而活化的 CAFs 数量的增加与患者的淋巴结转移和肿瘤分化不良密切相关^[18]。NR4A1 在绝大多数肿瘤中的表达水平与 CAFs 浸润呈显著正相关,仅在 TGCT 中 NR4A1 表达与 CAFs 浸润呈现负相关。这表明 NR4A1 与 CAFs 浸润之间的相关性是癌症依赖性的,肿瘤转移发生在晚期癌症阶段, CAFs 介导的浸润加深,肿瘤细胞可能会“劫持”NR4A1 用来保护肿瘤细胞。

NR4A1 基因参与 MAPK 信号通路^[19]。课题组前期通过细胞和动物实验两方面论证 NR4A1 通过抑制 NF- κ B 和 p38 MAPK 信号通路在 LPS 诱导 ARDS 中下调 ET-1 表达^[20]。KEGG、GO 分析显示 NR4A1 及相关基因在胞核内外都有表达,与 NR4A1 蛋白出核在细胞质中行使生物学功能相一致。当 NR4A1 转运至线粒体内,与 Bcl-2 形成促凋亡复合物对诱导细胞凋亡的刺激做出响应^[2]。与甲状腺激素信号传导途径富集程度显示出 NR4A1 可能调节代谢相关基因,介导促甲状腺激素释放激素诱导的促甲状腺素 β 基因转录^[21]。

综上所述,通过对 NR4A1 的泛癌分析表明, NR4A1 在癌症中广泛低表达,与蛋白磷酸化、CAF 浸润之间存在统计相关性,这有助于从临床肿瘤样本的角度来理解 NR4A1 在肿瘤发生中的作用。但与临床预后、基因改变有待进一步论证。

参考文献:

- [1] Wu H, Li XM, Wang JR, et al. Nur77 exerts a protective effect against inflammatory bowel disease by negatively regulating the TRAF6/TLR-IL-1R signalling axis [J]. *J Pathol*, 2016, 238(3):457-469.
- [2] Lin BZ, Kolluri SK, Lin F, et al. Conversion of Bcl-2 from protector to killer by interaction with nuclear orphan receptor Nur77/TR3 [J]. *Cell*, 2004, 116(4):527-540.
- [3] Mohankumar K, Lee J, Wu CS, et al. Bis-indole-derived NR4A1 ligands and metformin exhibit NR4A1-Dependent glucose metabolism and uptake in C2C12 cells [J]. *Endocrinology*, 2018, 159(5):1950-1963.
- [4] Zeng HY, Qin LL, Zhao DZ, et al. Orphan nuclear receptor TR3/Nur77 regulates VEGF- α -induced angiogenesis through its transcriptional activity [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(3):719-729.
- [5] Camacho CP, Latini FRM, Oler G, et al. Down-regulation

- of NR4A1 in follicular thyroid carcinomas is restored following lithium treatment [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009, 70(3):475-483.
- [6] Cancer Genome Atlas Research N, Weinstein JN, Collisson EA, et al. The cancer genome atlas pan-cancer analysis project [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(10):1113-1120.
- [7] Li B, Severson E, Pignon J-C, et al. Comprehensive analyses of tumor immunity: Implications for cancer immunotherapy [J]. *Genome Biol*, 2016, 17(1):174.
- [8] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, et al. Ualcan: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8):649-658.
- [9] Sun L, Zhou R, Dong J, et al. Lnc-NA inhibits proliferation and metastasis in endometrioid endometrial carcinoma through regulation of NR4A1 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(7):4699-4710.
- [10] Wu HM, Bi J, Peng Y, et al. Nuclear receptor NR4A1 is a tumor suppressor down-regulated in triple-negative breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33):54364-54377.
- [11] Ramirez-Herrick AM, Mullican SE, Sheehan AM, et al. Reduced NR4A gene dosage leads to mixed myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms in mice [J]. *Blood*, 2011, 117(9):2681-2690.
- [12] Huang MH, Xie XN, Song XH, et al. Mir-506 suppresses colorectal cancer development by inhibiting orphan nuclear receptor NR4A1 expression [J]. *J Cancer*, 2019, 10(15):3560-3570.
- [13] Hedrick E, Lee SO, Doddapaneni R, et al. NR4A1 antagonists inhibit β 1-integrin-dependent breast cancer cell migration [J]. *Mol Cell Biol*, 2016, 36(9):1383-1394.
- [14] Zhu B, Yang JR, Jia Y, et al. Overexpression of NR4A1 is associated with tumor recurrence and poor survival in non-small-cell lung carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(69):113977-113986.
- [15] Peltanova B, Raudenska M, Masarik M. Effect of tumor microenvironment on pathogenesis of the head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):63-63.
- [16] Yu J, Xie MY, Ge SF, et al. Hierarchical clustering of cutaneous melanoma based on immunogenomic profiling [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:580029.
- [17] Li FW, Jiang GC, Chen YT, et al. Curative effects of different sequences of vessel interruption during the completely thoracoscopic lobectomy on early stage non-small cell lung cancer [J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 21(6):536-543.
- [18] Hu GM, Xu F, Zhong KF, et al. Activated tumor-infiltrating fibroblasts predict worse prognosis in breast cancer patients [J]. *J Cancer*, 2018, 9(20):3736-3742.
- [19] Su WY, Zhou Q, Wang YB, et al. Deletion of the *capn1* gene results in alterations in signaling pathways related to alzheimer's disease, protein quality control and synaptic plasticity in mouse brain [J]. *Front Genet*, 2020, 11:334.
- [20] Jiang Y, Zeng Y, Huang X, et al. Nur77 attenuates endothelin-1 expression via downregulation of NF- κ B and p38 MAPK in A549 cells and in an ARDS rat model [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 311(6):L1023-L1035.
- [21] Nakajima Y, Yamada M, Taguchi R, et al. NR4A1 (Nur77) mediates thyrotropin-releasing hormone-induced stimulation of transcription of the thyrotropin β gene; analysis of trh knockout mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e40437.

收稿日期:2021-04-02;修回日期:2021-05-13