

本文引文格式:华浩铭,王凡璐,黄江妮,等.基于生信数据的 Toll 样受体 4 泛癌分析[J].
右江民族医学院学报,2022,44(5):656-655.

【论著与临床报道】

基于生信数据的 Toll 样受体 4 泛癌分析

华浩铭¹,王凡璐¹,黄江妮¹,彭慧²,丁浩¹,钟浩华¹,马晶¹,王居平¹

(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检验科,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨 Toll 样受体 4(toll-like receptors, TLR4)在不同癌症类型的表达水平、预后结果、免疫浸润等。方法 使用 GEO 数据库、TCGA 数据库、人类蛋白质图谱(human protein atlas, HPA)和多种生物信息工具对 TLR4 进行泛癌分析,从分子水平、基因表达水平、生存状态、免疫浸润、基因突变以及相关细胞代谢途径等方面来探讨 TLR4 在不同类型癌症发生发展和癌症患者临床预后中的作用。结果 TLR4 在大多数癌症中呈现低表达($P < 0.05$),并且与癌症患者的预后有一定的相关性($P < 0.05$),TLR4 在多数癌症的表达与癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)浸润有关。TLR4 参与到免疫应答、DNA 转录调控、肿瘤增殖、凋亡、翻译后修饰和自噬等多种生物过程。结论 TLR4 表达与癌症患者临床预后和免疫细胞浸润存在统计学相关性,这将有助于人们从临床角度认识 TLR4 在癌症发生发展中所扮演的角色。

关键词: Toll 样受体 4;生信;癌症;预后生存;免疫浸润;基因变异

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2022)05-0656-10

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.008

The Pan-cancer analysis of Toll-like receptor 4 based on bioinformatics data

Hua Haoming¹, Wang Fanlu¹, Huang Jiangni¹, Peng Hui²,
Ding Hao¹, Zhong Haohua¹, Ma Jing¹, Wang Juping¹

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;

2. Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of toll-like receptors 4 (TLR4) in expression, prognosis and immune infiltration of various cancers. **Methods** The pan-cancer analysis of TLR4 was conducted by using GEO database, TCGA databases, human protein atlas(HPA), and multiple bioinformation tools. The role of TLR4 in occurrence and development of various cancers and the clinical prognosis of cancer patients was explored from the aspects of molecular levels, gene expression levels, survival status, immune infiltration, gene mutations and associated cellular metabolic pathways. **Results** The expression of TLR4 was low in most of cancers ($P < 0.05$), and had some associations with the prognosis in patients with cancer ($P < 0.05$). The expression of TLR4 in many cancers was related to cancer-associated fibroblast (CAFs). TLR4 was involved in many biological processes including immune response, DNA transcription regulation, tumor proliferation, apoptosis, post-translational modification and autophagy. **Conclusion** The expression of TLR4 is statistically associated with clinical prognosis and the infiltration of immune cells, which can contribute to understanding the role of TLR4 in occurrence and development of cancers from the clinical perspective.

Key words: TLR4; bioinformatics; tumor; prognostic survival; immune infiltration; genetic variation

基金项目:国家自然科学基金项目(81760513);广西学术学位硕士研究生创新课题(YCSW2021342)

第一作者简介:华浩铭(1998-),男,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤免疫,E-mail:1041427006@qq.com

通讯作者简介:王居平(1976-),男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤免疫,E-mail:juping0128@163.com

TLR4 是人类发现的第一个 TLR 相关蛋白^[1],它定位在 9 号染色体上。TLR4 在接受包括脂多糖(lipopopolysaccharide, LPS)在内的刺激后,形成 CD14/TLR4/MD-2 异质三聚体而活化,活化的 TLR4 经过一系列的信号传导发挥转录调控作用,从而参与炎症反应、抗病毒感染、调节免疫应答、促进免疫细胞活化等重要环节^[2-4]。泛癌分析通过多组学系统整合分析,目的在于检查在不同肿瘤类型中已发现的基因组或蛋白质表达变化之间的相似性和差异^[5]。本课题组一直在对 TLRs 蛋白进行研究,并报道了 TLR4、宫颈癌和免疫球蛋白 G 之间的功能联系^[6]。现有的研究结果尽管支持 TLR4 与不同类型的癌症之间存在联系,然而目前没有关于 TLR4 与各种癌症类型之间的具体关系的泛癌分析报道。本研究使用癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)和基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)分析了 TLR4 在肿瘤中的表达、生存预后的相关性、基因突变、CAFs 和 TLR4 相关的生物学功能途径,为 TLR4 在不同癌症中的发病机制以及临床预后中的潜在分子机制提供了更加全面的理解。

1 资料和方法

1.1 基因表达分析 检索 HPA 数据库获得了正常组织和细胞 TLR4 蛋白水平表达柱状图、TLR4 在不同免疫细胞中的分布柱状图、单核细胞中 TLR4 mRNA 主要表达柱状图,其中单核细胞中 TLR4 mRNA 主要表达柱状图来源于 Schmiedel 数据集。检索 Oncomine 数据库和 TIMER 数据库分别得到不同癌症或特异性癌症亚型的肿瘤组织与邻近正常组织之间 TLR4 的表达差异。在数据库中没有正常对照组织或没有肿瘤组织的情况下如肾上腺皮质癌(TCGA-ACC)、脑低级别胶质瘤(TCGA-LGG)等,使用 GEPIA2(gene expression profiling interactive analysis, version 2)网站和 GTEX(genotype-tissue expression)数据库分别获得这些肿瘤组织与相应正常组织表达差异的箱线图。参数设置为:P-value cutoff = 0.05, log₂FC cutoff = 1。使用 UALCAN 数据库根据临床参数(性别、癌症阶段、转移)评估并计算每百万转录本的值,用 Log₂(TPM+1)表示,绘制了在 TCGA 数据库中不同癌症患者中 TLR4 表达水平的箱线图。

1.2 生存预后分析 用 Kaplan-Meier 数据库(Kaplan-Meier Plotter)分析上述 TCGA 数据库的所有肿瘤,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 Mentel-Cox 检验,绘制单基因生存分析图(Kaplan-Meier 曲线)。

1.3 免疫浸润分析 TIMER 是一个对不同免疫细

胞的浸润水平进行全面的分析的公共网站,我们通过 TIMER 检索了 TCGA 数据库所有肿瘤中 TLR4 的表达与免疫浸润的关系,着重选择了 CAFs 进行详细分析,应用 EP-IC、MCPCOUNTER、XCELL 和 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展现。

1.4 基因改变分析 使用 cBioPortal 工具收集所有 TCGA 肿瘤 TLR4 基因结构的突变频率、突变类型、突变位点信息和拷贝数改变。比较 TLR4 基因突变是否导致 TCGA 癌症病例中的总体生存率(overall survival, OS)、无病生存期(disease-free survival, DFS)、无进展生存期(progression-free survival, PFS)和疾病特异生存率(disease-specific survival, DSS)发生改变。

1.5 TLR4 相关基因富集分析 利用 String 数据库查询并选择蛋白质名称和物种,这里选择的是 TLR4 和人,然后最低关系分数设置为高可信度 0.700,显示的交互对象的最大数量不超过 50 个,交互来源为实验。最后筛选得到了 50 个实验确定的与 TLR4 相互作用蛋白。随后使用 GEPIA2 基于 TCGA + GTEx 联合数据库筛选出与 TLR4 相关的前 100 个基因,并从中选取相关性高的基因与 TLR4 基因进行成对基因的 Pearson 相关分析。散点图采用 log₂TPM,给出 P 值和相关系数 R。然后绘制所选基因的热图,图中包含 R 值和 P 值。为了进一步筛选基因,使用交互式韦恩图(Venn diagram)查看器 Jvenn 将以上 100 个基因与能和 TLR4 发生相互作用的 50 个基因进行交集分析,比较 TLR4 结合基因和相互作用基因。此外,把两组数据合并上传仙桃学术网站(www.xiantao.love)进行 GO(gene ontology)/KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路分析,绘制相关气泡图和柱状图。

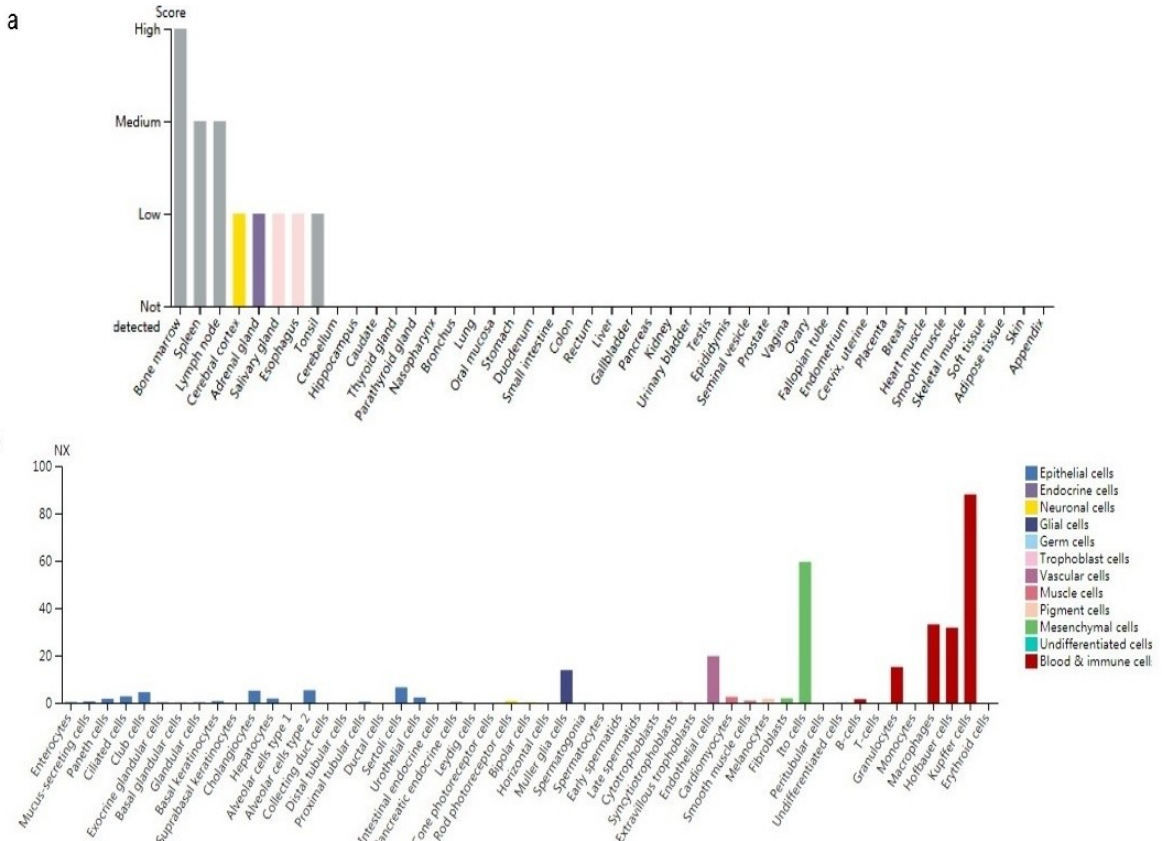
1.6 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。成正态分布的两组计量资料比较用 t 检验,相关分析用 Pearson 相关分析。检验水准:α = 0.05。

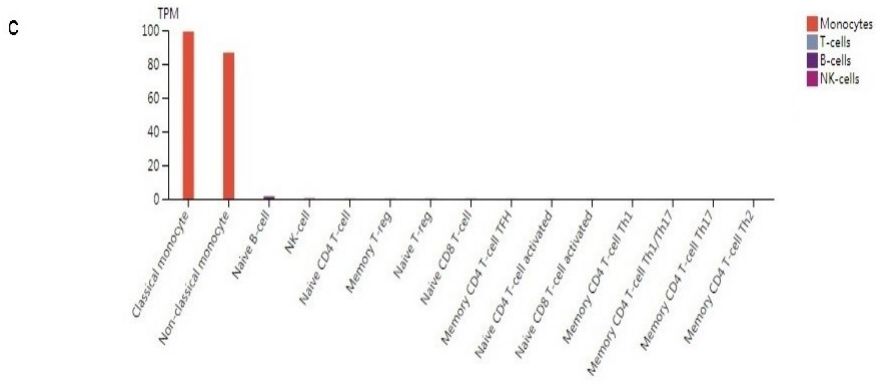
2 结果

2.1 基因表达分析结果 首先分析 TLR4 在不同细胞系和正常组织中的表达,根据 HPA 数据库显示,TLR4 在骨髓中表达最高;其次是脾脏、淋巴结组织;大脑皮质、肾上腺、唾液腺食管、扁桃体呈现中等程度的表达。但是 TLR4 在除上述以外的组织几乎不表达,显示出了较高的组织特异性(见图 1a)。在单核细胞中 TLR4 mRNA 主要表达在血细胞和部分器官的免疫细胞(如肝巨噬细胞)以及间质细胞中(见图 1b)。

此外,在分析 HPA 数据库中 Schmiedel 数据集时发现,TLR4 mRNA 在不同血细胞中表达分布有相似的富集现象:即大多数在经典的单核细胞和非经典的单核细胞中表达较高,极少量在幼稚 B 细胞中,其他血细胞几乎没有(见图 1c),这表明 TLR4 分布区域化的特性与它的生物功能密切相关。接下来,检索 TIMER 数据库和 Oncomine 数据库发现,TLR4 在膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma,BLCA)、乳腺浸润癌(breast invasive carcinoma,BRCA)、胆管癌(cholangiocarcinoma,CHOL)、肾嫌色细胞癌(kidney Chromophobe,KICH)、肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma,KIRP)、肝细胞肝癌(liver hepatocellular carcinoma,LHIC)、肺腺癌(lung adenocarcinoma,LUAD)、肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma,LUSC)、前列腺癌(prostate adenocarcinoma,PRAD)、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组织($P < 0.05$),在肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma,KIRC)、胃癌(stomach adenocarcinoma,STAD)组织中的表达显著高于正常组织($P < 0.05$) (见图 2a 和图 2b)。将 TCGA 数据库中缺少正常组织对照的肿瘤联合 GTEX 数据库进一步评估分析发现,TLR4 在肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma,

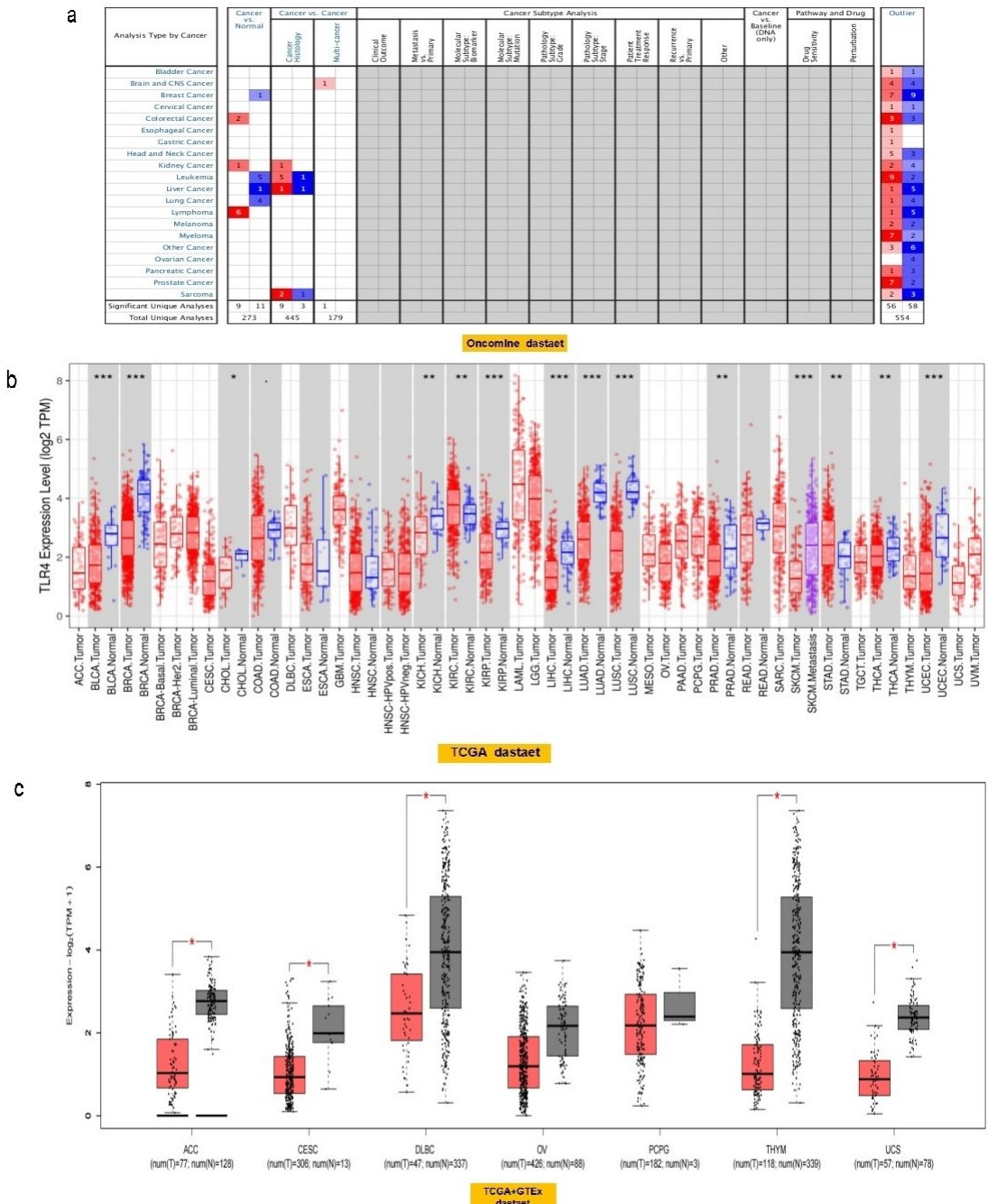
ACC)、宫颈癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma,CESC)、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(lymphoid neoplasm diffuse large b-cell lymphoma,DLBC)、胸腺癌(thymoma,THYM)、子宫肉瘤(uterine carcinosarcoma,UCS)表达水平显著低于正常组织($P < 0.05$) (见图 2c)。TLR4 在多形成性胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme,GBM)、急性髓细胞样白血病(acute myeloid leukemia,LAML)、脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma,LGG)、胰腺癌(pancreatic adenocarcinoma,PAAD)中表达水平显著高于正常组织($P < 0.05$) (见图 2d)。TLR4 在卵巢浆液性囊腺癌(ovarian serous cystadenocarcinoma,OV)、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(pheochromocytoma and paraganglioma,PCPG)、肉瘤(sarcoma,SARC)、睾丸癌(testicular germ cell tumors,TGCT)中表达水平与正常组织相比没有显著性差异。此外在 UALCAN 数据库中,根据不同的临床参数研究了 LUAD 患者组间 TLR4 的表达。根据性别不同,与相应的正常对照组相比,男性和女性肺腺癌患者都显著下降($P < 0.05$)。从肿瘤分期来看,在 1、2、3、4 期中 TLR4 表达也显著下降($P < 0.05$)。最后根据转移分期来看,LUAD 患者在 N0、N1、N2、N3 阶段的 TLR4 表达也相应的下降($P < 0.05$) (见图 2e)。其他肿瘤则没有发现差异。

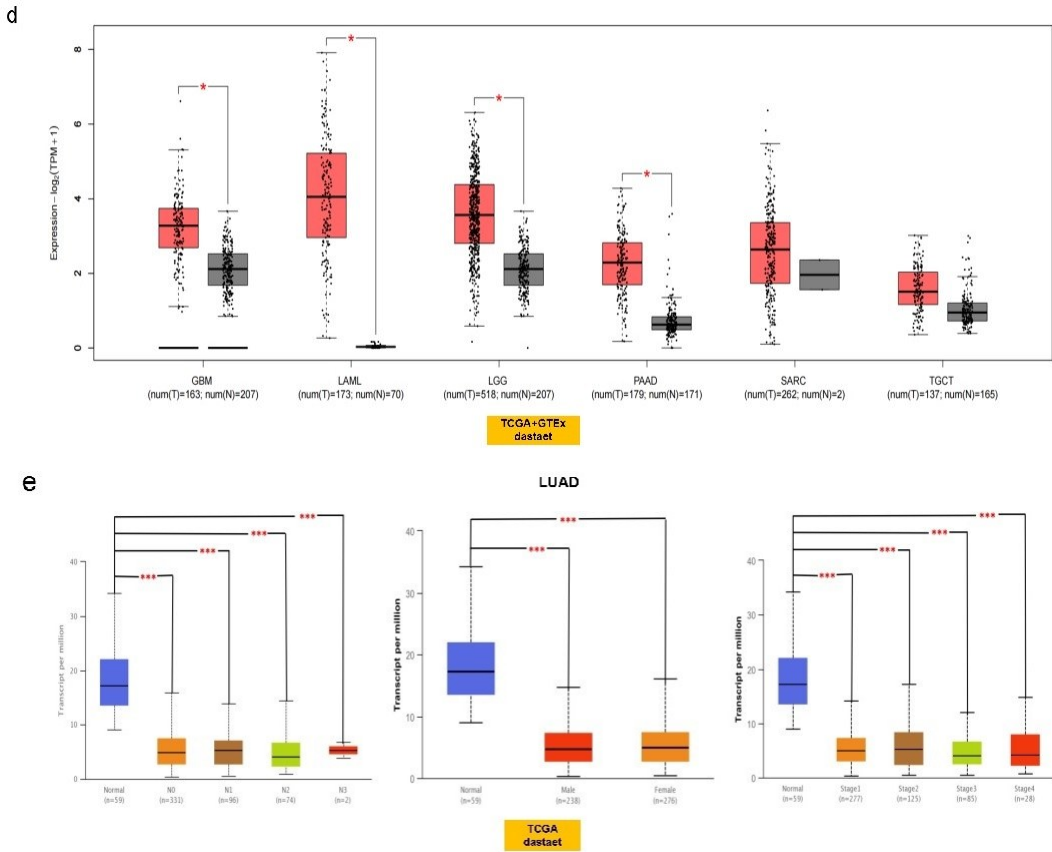




a: TLR4 基因在不同组织中的表达;b:不同单核细胞中 TLR4 基因的表达;c:不同血细胞中 TLR4 基因的表达。数据基于 HPA、GTEx 和 FANTOM5 转录组学数据库。

图 1 正常生理条件下 TLR4 在不同细胞和组织中 TLR4 的表达水平



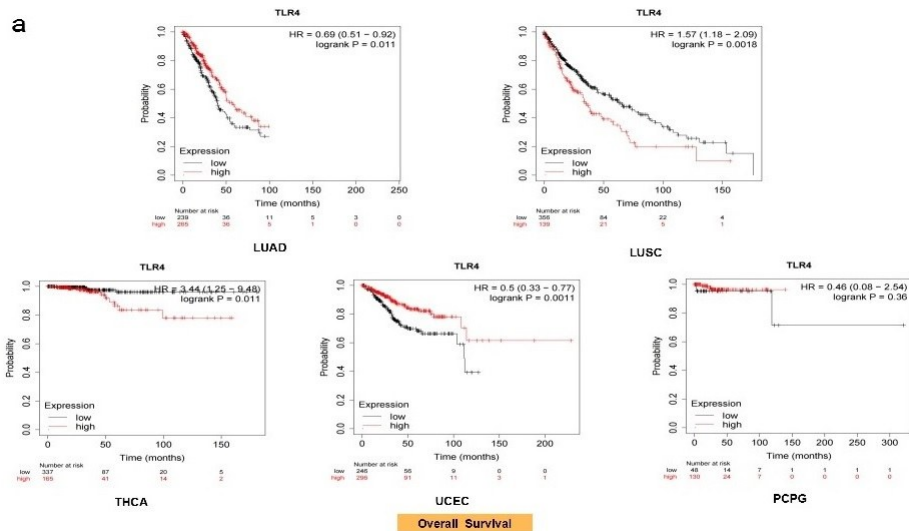


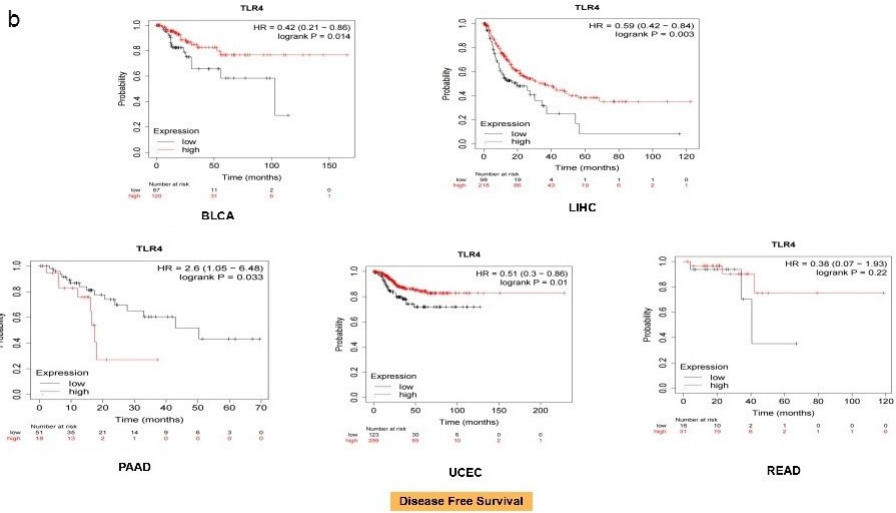
a: Oncomine 数据库的肿瘤与邻近组织中 TLR4 的表达水平, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; b: TIMER 数据库肿瘤与邻近组织中 TLR4 的表达水平; c: GEPIA2 数据库的 ACC、CESC、DLBC、OV、PCPG、THYM 和 UCS(TCGA 项目)中 TLR4 表达水平比较的箱线图, * $P < 0.05$; d: GEPIA2 数据库的 GBM、LAML、LGG、PAAD、SARC 和 TGCT(TCGA 项目)中 TLR4 表达水平比较的箱线图, * $P < 0.05$; e: 采用 ualcan 数据库评估 LUAD 性别, 病理分期, 转移分期 TLR4 的表达水平, 表达式水平显示为 $\log_2(\text{TPM}+1)$ 。

图 2 TLR4 在不同肿瘤基因表达水平和在肺腺癌中表达水平

2.2 生存预后分析结果 由于 TLR4 的表达水平与癌症的发生发展密切相关, 为了评估 TLR4 与肿瘤预后的关系, 通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库绘制了单基因生存分析图(见图 3a), TLR4 高表达会降低 TH-CA、LUSC 患者的 OS, LUAD、UCEC 患者的 OS 降低与 TLR4 低表达有关, 与 PCPG 患者则无关。此外, 从

DFS 数据来看, TLR4 高表达与 PAAD 患者的 DFS 有关, BLCA、LIHC、UCEC 患者的 DFS 与 TLR4 低表达有关, 直肠癌(rectum adenocarcinoma, READ)患者的 DFS 则与 TLR4 表达无关(见图 3b)。UCEC 患者的 TLR4 低表达显示出总生存率和无病生存率降低的一致性。



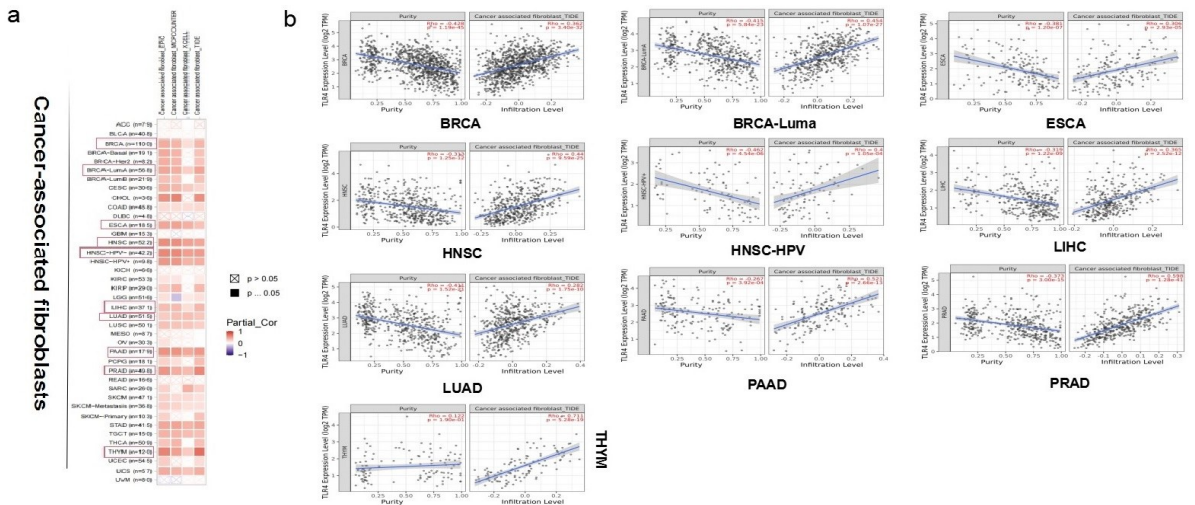


注:使用 Kaplan-Meier Plotter 数据库评估了所有 TCGA 肿瘤中 TLR4 基因表达与 OS(a)、DFS(b)之间的关系,列出了 Kaplan-Meier 曲线结果。

图 3 TCGA 肿瘤中 TLR4 表达水平与患者生存率的关系

2.3 免疫浸润分析结果 TLR4 通过激活下游通路 Myd88/NF-κB/MMP2 是经典的肿瘤转移通路^[8],因此 TLR4 表达水平或基因突变可能影响肿瘤浸润性免疫细胞反应。肿瘤浸润性免疫细胞作为肿瘤微环境的重要组成部分,与癌症的发生发展密切相关。本研究应用 EP- IC、MCPCOUNTER、XCLL、TIDE 算法,探

讨了不同肿瘤与 CAFs 之间的相关性(见图 4a)。下面仅将 TIDE 算法的结果进行展示,如图 4b 所示, BRCA、BRCA-LumA、ESCA、HNSC、HNSC-HPV-、LIHC、LUAD、PAAD、PRAD、THYM 中 TLR4 的表达与 CAFs 浸润都呈现正相关。

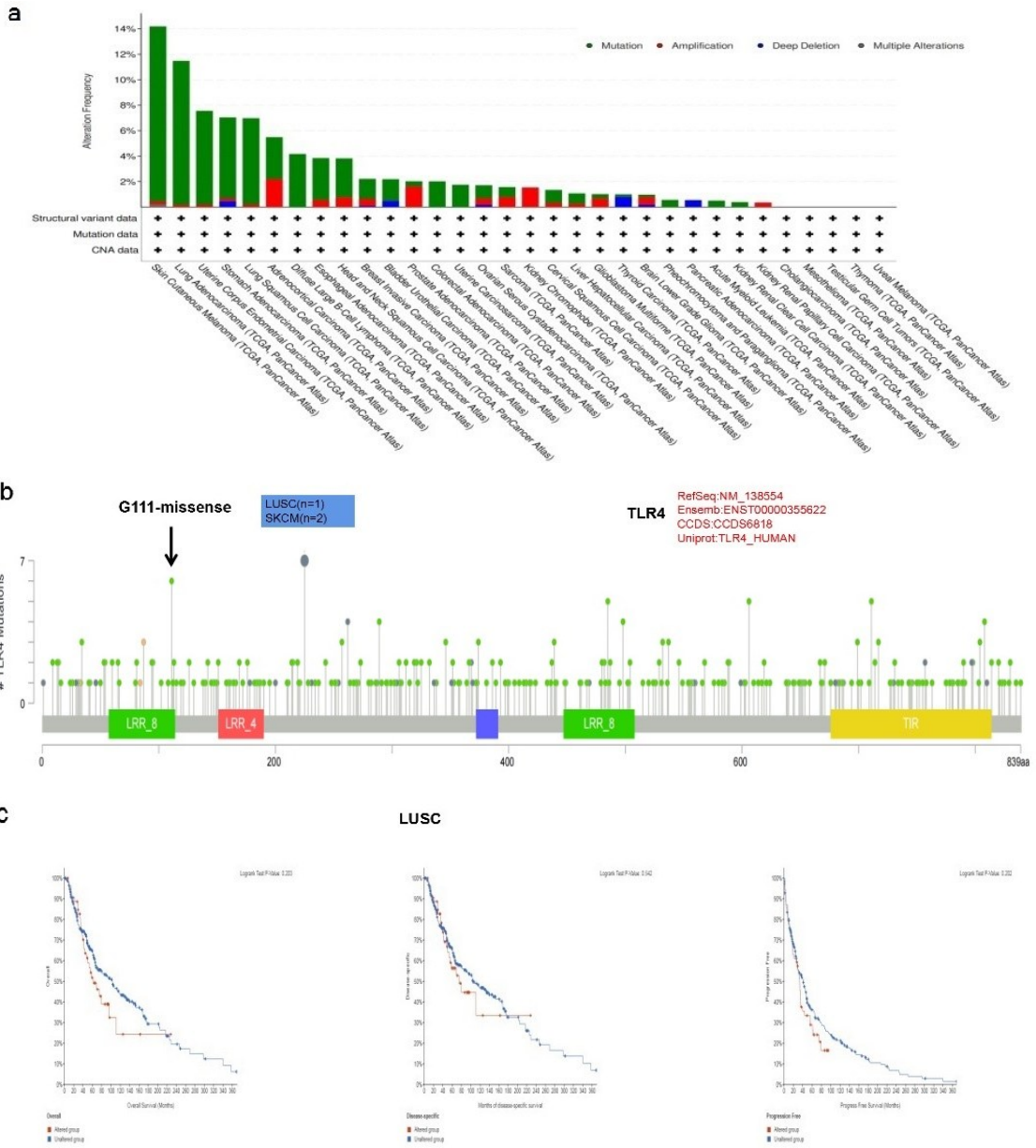


注:采用 EP- IC、MCPCOUNTER、XCLL、TIDE 算法分析 TCGA 中所有肿瘤中 TLR4 基因的表达水平与成纤维细胞浸润水平的相关性热图(a)和散点图(b)。

图 4 TLR4 表达水平与 CAFs 免疫浸润之间的相关性分析

2.4 基因改变分析结果 癌症的发展是由于基因突变的积累,在 TCGA 数据库的不同肿瘤样本中分析到了 TLR4 的基因变异情况。如图 5a 所示,大部分癌症都以 TLR4 基因突变为主要变异类型,在 SKCM 中 TLR4 基因突变占到了总突变的 14%,LUAD 同样占到了 11%,值得关注的是 KICH 和 KIRP 则全部是 TLR4 扩增突变,1%胰腺癌则是 TLR4 拷贝数缺失导致。进一步分析显示,TLR4 遗传变异类型大多数是

错义突变,在 8 号锌指结构域中,有 1 例 LUSC 和 2 例 SKCM 检测出第 111 位点鸟嘌呤发生了错义突变(G111-missense)(见图 5b)。进一步评估 TLR4 的某些基因突变对 LUSC 肿瘤患者的临床生存预后的影响,结果发现,有 TLR4 基因突变的 LUSC 患者的 OS、DFS 以及 DSS 与健康人相比无明显差别(见图 5c)。

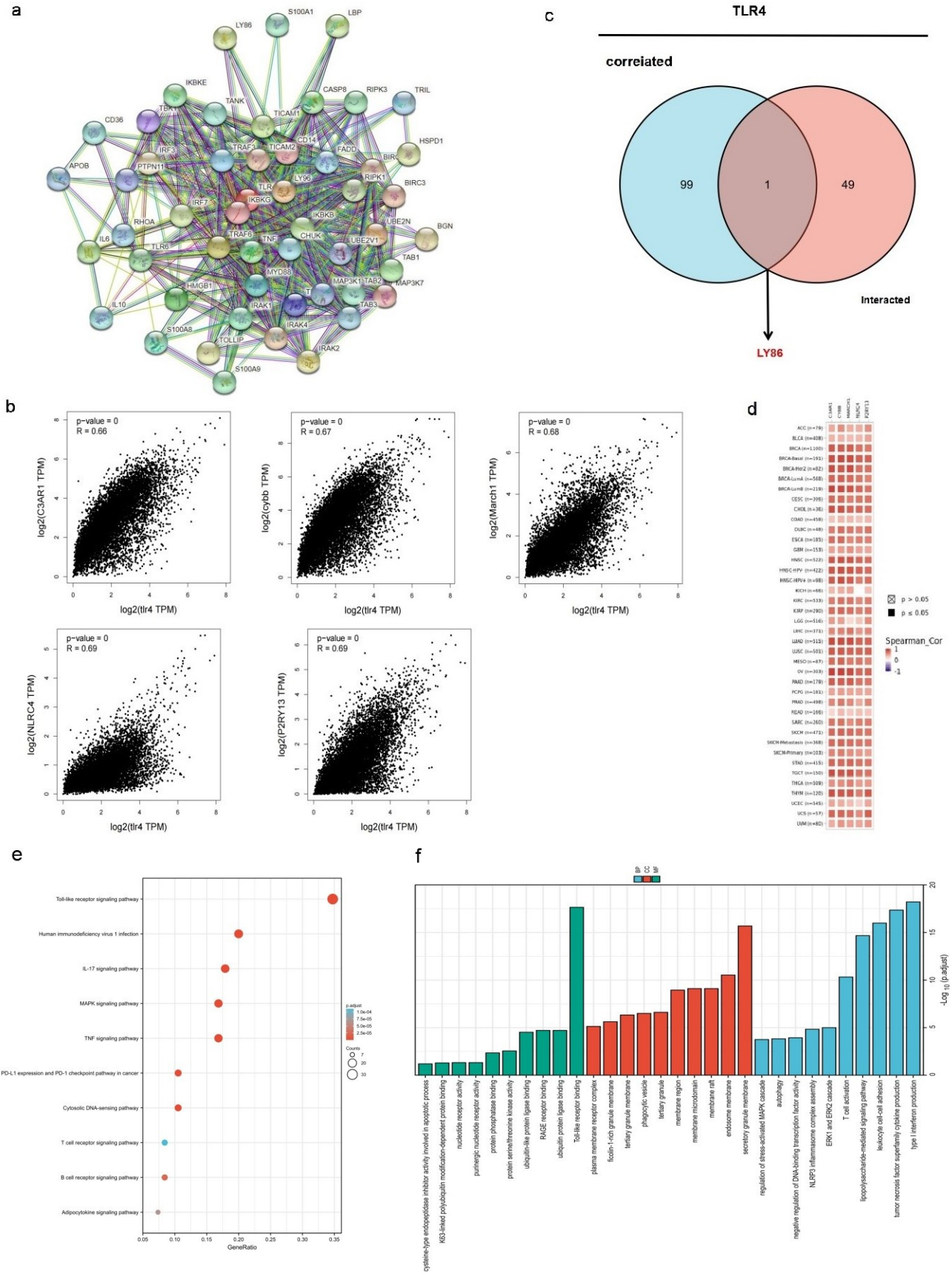


注:使用 cBioPortal 工具分析 TCGA 肿瘤中 TLR4 的突变状态,显示了突变类型(a)和突变位点(b)的变化频率;展示了突变位点(G111-missense)以及该突变位点与 LUSC 的 OS、DSS 和 DFS 之间的相关性(c)。

图 5 TCGA 肿瘤中 TLR4 的变异类型

2.5 富集分析结果 为了研究 TLR4 在肿瘤发生发展中的分子机制,筛选出已知的与 TLR4 相互作用蛋白和 TLR4 表达相关基因。使用 String 数据库,总共获得了 50 个与 TLR4 相互作用的蛋白质,图 6a 显示了这 50 个蛋白质的相互作用网络。然后利用 GEPIA 2 工具结合 TCGA 的所有肿瘤表达数据,获得与 TLR4 相关的前 100 位基因。本研究分析表明,TLR4 与补体成分 3a 受体 1(C3AR1) ($R = 0.66$)、细胞色素 B- β 链(CYBB) ($R = 0.67$)、线粒体 E3 泛素连接酶 1(MARCH1) ($R = 0.68$)、炎症小体 4(NLRC4) ($R = 0.69$)和胞外核苷酸 ADP 受体(P2RY13) ($R = 0.69$)的表达水平呈正相关($P < 0.001$) (见图 6b)。此外,

热图数据显示,在大多数癌症类型中,TLR4 与上述 5 个基因成正相关(见图 6c)。进一步将 TOP 前 100 基因与前 50 个互作蛋白的基因做交集分析,最终筛选出了一位共同成员淋巴细胞抗原 86(LY86) (见图 6d)。进一步将上述两组数据合并进行 GO 和 KEGG 分析。KEGG 分析显示 TLR4 在肿瘤发病机制中的作用可能与 Toll 样受体信号通路、人类免疫缺陷病毒 1 感染、MAPK 信号通路、癌症中 PD-L1 的表达和 PD-1 检查点通路有关。GO 分析显示,这些基因大多数参与免疫应答、DNA 转录调控、翻译后修饰,肿瘤增殖、凋亡和自噬(见图 6e 和图 6f)。



注:TLR4 相互作用蛋白网络图;彩色节点表示已识别的单个蛋白质(a);通过 GEPIA2 检测的 TCGA 项目中 TLR4 与代表性基因(C3AR1、CYBB、MARCH1、NLR4 和 P2RY13)的表达相关性(b),并绘制了相应的热图(c);TLR4 相互作用蛋白的基因和相关基因的交叉分析图(d);TLR4 相互作用和相关性基因的 KEGG 通路分析(e)和 GO 分析(f)。

图 6 TLR4 相关基因筛选以及 KEGG 和 GO 分析

3 讨论

自 20 世纪末 TLR4 发现之日起,关于 TLR4 的研究就从未停歇,先前的研究表明,TLR4 是人体天然免疫重要组成部分,对机体免疫自稳有着不可替代的重要作用。随着研究的深入,越来越多的证据表明,TLR4 在癌症中起着双刃剑的作用,TLR4 一方面监视和杀灭肿瘤细胞,另一方面也“帮助”肿瘤细胞增殖、分化和转移。目前少有关于从整体角度对 TLR4 进行泛癌分析的报道,由此本研究基于 HPA、TCGA、Kaplan-Meier Plotter 等数据库从基因表达、基因变异等角度对不同肿瘤中的 TLR4 进行全面的分析^[9]。

TLR4 在人体组织中的表达呈现出了独特的组织特异性,即固有免疫器官和细胞的组织特异性,这与它的主要生物功能密不可分。同时,分析了 TCGA 数据库肿瘤组织中的 TLR4 表达水平,由于 TCGA 数据库缺失了部分正常组织的数据信息,因此补充了 GTEx 数据库中的正常组织作为参照一同分析。本研究分析表明,大多数癌组织(BLCA、BRCA、CHOL、KICH、KIRP、LIHC、LUAD、LUSC、PRAD、THCA、UCEC、ACC、CESC、DLBC、THYM、UCS)的 TLR4 表达水平显著低于正常组织,根据以往相关文献报道,结肠癌细胞表面表达 TLR4,当被 LPS 激活时可诱导活性白细胞介素 12p70(IL-12p70)的合成,IL-12p70 对肿瘤诱导的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的产生具有抑制作用。IL-12p70 还可以激活体内 NK 细胞,诱导 T 细胞增殖,并促进对肿瘤的特异性 CTL 细胞的杀伤作用^[10-12]。此外,牛分枝杆菌(卡介苗)通过 TLR4 促进树突状细胞成熟,增强对肿瘤细胞的识别,产生特异性活化诱导的细胞死亡反应,目前正用于治疗非肌肉浸润性膀胱癌^[13]; TLR4 过表达抑制人皮肤鳞状细胞癌的体外增殖和迁移,延缓肿瘤在体内的生长^[14]。但是也有文献报道,LPS 通过 TLR4/MD-2 信号通路诱导胃癌细胞株 SGC 7901 的 CXCR4 趋化因子受体 7 表达,促进胃癌细胞的增殖和迁移^[15]; TLR4 的表达与胰腺癌肿瘤大小和淋巴结转移呈常正相关,并且与 HIF-1 α 信号通路协同促进胰腺癌的发展^[16]。这些有争议的结果表明,TLR4 在不同癌症类型或者癌症亚型中发挥着不同的作用。虽然在 CP-TAC 数据库中检索到 TLR4 总蛋白和磷酸化数据结果,但这并不意味着 TLR4 不能发生翻译后修饰,以往的文献表明 TLR4 可以发生磷酸化修饰^[17],本课题组先前也发现 TLR4 可发生乙酰化修饰,该修饰正向调控 NF- κ B 促进 IL-6 的产生^[18]。

LANKI M A 等^[19]发现食管鳞状细胞癌组织中 TLR4 蛋白表达上调,其表达强度与预后不良及发育不良程度有关;在胰管腺癌中,TLR4 可作为早期肿瘤

患者预后的预测因子^[20];在滤泡性甲状腺肿瘤中,TLR4 与肿瘤的原发转移和侵袭性有关^[21]。本研究对 TLR4 在癌症患者中的预后情况分析后也证实了 TLR4 高表达与 THCA 患者的预后不良有关($P = 0.011$)。此外,在子宫内膜癌患者中 TLR4 低表达显示了 OS 和 DFS 降低的一致性,为预测子宫内膜癌患者的整体生存提供了一个可能的临床生物标志物。Kaplan-Meier 分析发现,不管 TLR4 基因是否突变都不直接影响肺鳞癌患者生存差异,以 8 号锌指结构域中第 111 号位点鸟嘌呤发生了错义突变为例,LUSC 患者的 OS、DFS、DSS 无明显统计学意义,其主要原因可能是基因突变是随机的,其相同位点突变的病例数太少,因此需要更多的病例数来确定 TLR4 基因突变是否增加预后风险。

CAFs 是肿瘤微环境中一类重要的非造血类基质细胞群体,某些炎症因子可促进 CAFs 活化,如白细胞介素-1 通过 NF- κ B 作用于 JAK-STAT 信号通路促进 CAFs 的激活^[22]。CAFs 能够调节肿瘤转移、细胞外基质和生长因子的产生、影响血管生成和对药物治疗产生耐药反应等,因此 CAFs 的活化与大部分癌症患者淋巴结转移和肿瘤分化不良密切相关。TLR4 在绝大多数肿瘤中表达水平都与 CAFs 浸润呈明显正相关,这表明 TLR4 与 CAFs 浸润之间的相关性是癌症依赖性的,因此在 CAFs 介导的肿瘤转移中,肿瘤细胞可能会干扰 TLR4 正常功能进行免疫逃逸。TLR4 除了参与经典的 Toll 样受体通路,还参与了 B 细胞和 T 细胞的适应性免疫应答通路。ARORA H 等^[23]研究表明,泛素化修饰也可以调控 TLR4 信号通路抑制脓毒症导致的休克。KEGG 和 GO 分析结果也显示,TLR4 不仅仅局限在天然免疫信号通路调节中,还广泛的参与除上述以外的自噬、DNA 转录水平调控、翻译后修饰和各种囊泡活动中,这表明 TLR4 具有广泛生物学活性和作为治疗靶点的价值。

综上所述,本研究通过多种生物信息学分析方法对 TLR4 进行泛癌分析。分析结果表明,TLR4 在癌症中广泛低表达,与临床预后、CAFs 浸润之间存在统计学相关性,这有助于人们从临床角度认识 TLR4 在肿瘤发生发展中所扮演的角色,至于 TLR4 基因突变与肿瘤患者的临床生存预后相关性还有待进一步探究。

参考文献:

- [1] TANG S F,JIANG X H,WU L,et al. Toll-like receptor 4 shRNA attenuates lipopolysaccharide-induced epithelial-mesenchymal transition of intrahepatic biliary epithelial cells in rats[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 107: 1210-

- 1217.
- [2] LI X L, ZHANG S W, BLANDER G, et al. SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR[J]. *Mol Cell*, 2007, 28 (1): 91-106.
- [3] POTENTE M, GAENI L, BALDESSARI D, et al. SIRT1 controls endothelial angiogenic functions during vascular growth[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(20): 2644-2658.
- [4] LYSAKOVA-DEVINE T, KENOG B, HARRINGTON B, et al. Viral inhibitory peptide of TLR4, a peptide derived from vaccinia protein A46, specifically inhibits TLR4 by directly targeting MyD88 adaptor-like and TRIF-related adaptor molecule[J]. *Immunol*, 2010, 185 (7): 4261-4271.
- [5] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK, WEISSTEIN J N, COLLISSON E A, et al. The cancer genome atlas pan-cancer analysis project[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(10): 1113-1120.
- [6] ZHAO J, PENG H, GAO J, et al. Current insights into the expression and functions of tumor-derived immunoglobulins[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 148.
- [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] 范晟. 雌激素通过雌激素受体 β (ER β) 激活 Toll 样受体 4 (TLR4) 及下游通路 myd88/NF- κ B/MMP2 轴协同促进非小细胞肺癌转移及其机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
- [9] 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.
- [10] XU M L, MIZOGUCHI I, MORISHIMA N, et al. Regulation of antitumor immune responses by the IL-12 family cytokines, IL-12, IL-23, and IL-27[J]. *Clin Dev Immunol*, 2010, 2010: 832454.
- [11] NISHIOKA Y, WEN H, MITANI K, et al. Differential effects of IL-12 on the generation of alloreactive CTL mediated by murine and human dendritic cells; a critical role for nitric oxide[J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 73(5): 621-629.
- [12] KOBLISH H K, HUNTER C A, WYSOCKA M, et al. Immune suppression by recombinant interleukin (rIL)-12 involves interferon gamma induction of nitric oxide synthase 2 (iNOS) activity; inhibitors of NO generation reveal the extent of rIL-12 vaccine adjuvant effect[J]. *J Exp Med*, 1998, 188(9): 1603-1610.
- [13] SYLVES R J. Bacillus Calmette-Guérin treatment of non-muscle invasive bladder cancer[J]. *Int J Urol*, 2011, 18(2): 113-120.
- [14] IOTZOVA-WEISS G, FREIBERGER S N, Johansen P, et al. TLR4 as a negative regulator of keratinocyte proliferation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0185668.
- [15] LI N, XU H B, OU Y R, et al. LPS-induced CXCR7 expression promotes gastric cancer proliferation and migration via the TLR4/MD-2 pathway[J]. *Diagn Pathol*, 2019, 14(1): 3.
- [16] ZHANG J J, WU H S, WANG L, et al. Expression and significance of TLR4 and HIF-1 α in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16 (23): 2881-2888.
- [17] MEDVEDEV A E, PIAO W J, SHOENFELT J, et al. Role of TLR4 tyrosine phosphorylation in signal transduction and endotoxin tolerance[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(22): 16042-16053.
- [18] 王居平. TLR4 乙酰化/甲基化修饰激活对炎症免疫的调节[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [19] LANKI M A, SEPPÄNEN H E, MUSTONEN H K, et al. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 predict favorable prognosis in local pancreatic cancer[J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(9): 1010428318801188.
- [20] HAGSTRÖM J, HEIKKILÄ A, SHIRONRN P, et al. TLR-4 expression and decrease in chronic inflammation; indicators of aggressive follicular thyroid carcinoma[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(4): 333-338.
- [21] WU F L, YANG J, LIU J J, et al. Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and targeted therapy for cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 218.
- [22] ITOH A, RIDGWAY W M. Targeting innate immunity to downmodulate adaptive immunity and reverse type 1 diabetes[J]. *Immunotargets Ther*, 2017, 6: 31-38.
- [23] ARORA H, WILCOX S M, Johnson L A, et al. The ATP-binding cassette gene ABCF1 functions as an E2 ubiquitin-conjugating enzyme controlling macrophage polarization to dampen lethal septic shock[J]. *Immunity*, 2019, 50(2): 418-431.

收稿日期: 2022-05-20; 修回日期: 2022-06-06