

晶,但也有几点缺陷:(1)需要人工排除伪影,避免出现假阳性,评估费时;(2)无法识别扫描视野内不同区域的尿酸盐结晶体积变化;(3)对体积小于 0.01 cm^3 的单发尿酸盐结晶,计算机无法识别,其测量结果为 $0^{[11]}$;(4)有辐射。

本研究结果显示高尿酸组尿酸盐结晶阳性检出率高,相同部位高尿酸组结晶体积均大于正常尿酸组,但尿酸值高低的程度与晶体沉积的体积大小并不成正比关系。有研究报道 DECT 能无创操作下检出痛风患者小关节中尿酸盐结晶的存在、分布及动态变化,能直观、准确显示其沉积范围及骨质破坏情况^[12]。尿酸盐结晶体积定量测量不仅为痛风患者降尿酸治疗评估带来可靠依据,同时也为痛风发作风险预估提供一种新方法。追踪复查尿酸盐结晶的数量和体积有利于临床判断使用的药量及效果跟踪,指导临床及时调整治疗方案及疗程。临床降尿酸治疗后血尿酸水平降到正常水平,再比较尿酸盐体积改变情况,是国际类风湿评分系统的研究趋势。

本研究也存在一定局限性,患者痛风药物治疗后定期复查的依从性差;复查 DECT 患者数据有限,对痛风治疗疗效评估结果有一定的影响,后期将加强患者管理,扩大研究样本量,提高研究结果的广泛性。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] 王海霞. 非布司他联合塞来昔布治疗痛风性关节炎的临床疗效观察[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(5): 759-761.
- [2] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1): 1-13.
- [3] 渐元修, 龚亮, 张笑. 第一跖趾关节 DECT 在诊断痛风性关节炎尿酸盐结晶沉积中的应用[J]. 河北医药, 2019, 41(6): 888-890, 894.
- [4] 段柯. 西门子 Force 双源 CT 双能量成像技术诊断痛风患者尿酸盐结晶的临床价值分析[J]. 现代医用影像学, 2020, 29(8): 1486-1488.
- [5] 曾学军. 《2015 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟痛风分类标准》解读[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2015, 9(4): 235-238.
- [6] SOBOL M, SOBOL M K, KOWAL M. Adult behavior toward the child before surgery and pediatric emergence delirium[J]. Paediatr Anaesth, 2022, 32(1): 43-48.
- [7] 张谦, 时光丽, 韩萌, 等. DECT 处理技术在痛风性关节炎尿酸盐结晶沉积诊断中的应用[J]. 中国地方病防治杂志, 2023, 38(1): 66-69.
- [8] 石向明, 刘星, 王佳, 等. DECT 与 MRI 在膝关节痛风性关节炎中的对照研究[J]. 河北医药, 2020, 42(21): 3226-3229, 3233.
- [9] 刘勇玲, 范红燕, 赵庆, 等. 双源 CT 双能量成像在痛风尿酸盐结晶检测中应用价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2019, 17(2): 143-145.
- [10] 高立栋, 侯金玲, 李生虎. 单源双能量 CT 低管电流扫描对痛风诊断价值的前瞻性研究[J]. 医学影像学杂志, 2020, 30(6): 1091-1094.
- [11] 沈瑞, 曹国平, 孙婷婷, 等. 双能量 CT 半定量评分系统在尿酸盐结晶评估中的应用价值[J]. 安徽医学, 2019, 40(10): 1091-1094.
- [12] KUMAR R, SINGH J, YADAV T P, et al. Retrospective evaluation of dual-energy computed tomography for detection of urate depositions in patients with suspected gout[J]. Indian J Radiol Imaging, 2021, 31(2): 297-303.

收稿日期: 2024-01-26

(本文编辑: 陈志翔)

基于生物信息学分析环状鸟苷酸腺苷酸合成酶在非小细胞肺癌中的表达及临床价值

王容, 姜静波, 褚梦迪, 吴宏成, 董明骏

【关键词】 非小细胞肺癌; cGAS; 免疫; 预后

doi: 10.3969/j.issn.1671-0800.2024.05.028

【中图分类号】 R734.2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)05-0657-05

根据 2020 年世界卫生组织最新统计, 肺癌在全世界的发病率和死亡率分别为 11.6% 和 18.4%, 在所有恶性肿瘤中位居第一^[1]。根据组织学特征, 肺癌分为小

细胞肺癌和非小细胞肺癌(NSCLC)两大类, NSCLC 是最常见的肺癌亚型, 占肺癌的 80%~85%, 近年来靶向治疗和免疫疗法取得较大进展, 但患者预后仍较差, 5 年生存率不足 15%, 其中主要原因是大部分患者在确诊时已处于中晚期^[2]。因此, 提高 NSCLC 预后必须寻找有效的预后评估和治疗靶点的生物标记物。

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2024KY294)

作者单位: 315040 宁波, 宁波市医疗中心李惠利医院

通信作者: 董明骏, Email: dmj515@163.com

环状鸟苷酸腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP Synthase, cGAS)是 Sun 等^[3]发现的一种细胞内 DNA 感受器,可以识别内源性或外源性 DNA^[4]激活下游信号分子 cGAMP 及 IFN-I 等表达,目前认为 cGAS 还可以通过调节 PD-L1 表达和诱导自噬来促进肿瘤免疫逃逸和转移^[5]。cGAS 与多种肿瘤的发生发展关系密切,有研究表明在不同肿瘤中其功能存在差异,既有抗肿瘤作用,又有促肿瘤作用^[6]。目前关于 cGAS 在 NSCLC 中的表达及其与预后的关系尚不明确,因此本研究通过生物信息学分析 cGAS 在 NSCLC 中的表达,探讨其与临床预后和免疫浸润的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 数据库 TIMER 2.0 数据库 (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>); TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>); GEPIA 数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn/>)。

1.2 方法 从 TCGA 数据库中下载 NSCLC 相关转录组数据和患者的临床资料。使用 R 软件中“ggplot2”、“stats”和“car”软件包分析和绘制肺癌中 cGAS 的差异表达情况,并对数据进行可视化。利用 GEPIA 数据库分析 NSCLC 组织中 cGAS mRNA 表达水平和患者中位生存时间的关系。生存曲线使用 Survival 包进行比例风险假设检验并进行生存分析,时间依赖 ROC 曲线用 time-ROC 包对数据进行分析并进行可视化。独立预后分析将包含有患者临床病理数据及 cGAS 在 NSCLC 中的表达数据进行 Cox 回归分析,从而得到影响 NSCLC 患者生存的预后因素。通过 TIMER 数据库中的“Immune association”模块探索 cGAS 与 NSCLC 免疫细胞浸润程度的相关性。包括 T 辅助细胞、树突状细胞、NK 细胞、Treg 细胞、Tgd 细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、T 卵泡辅助细胞 (TFH) 和肥大细胞等,包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞和中性粒细胞等。采用 ssGSEA 算法对肺癌组织样本中的 24 种免疫细胞进行评估并对数据进行可视化。使用 Spearman 分析评估 cGAS 表达与免疫细胞及免疫检查点之间的相关性,并使用“ggplot2”包和“heatmap”包对相关性进行可视化^[7]。

1.3 统计方法 采用 SPSS 20.0 和 GraphPad 5.0 绘图软件进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验;使用

Survival 包进行生存分析,采用 ROC 曲线分析诊断价值,独立预后分析采用 Cox 回归分析,使用 Spearman 分析评估 cGAS 表达与免疫细胞及免疫检查点之间的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织中 cGAS 的表达水平和诊断价值

TIMER 在线数据库分析 33 种常见恶性肿瘤中 cGAS mRNA 的表达水平,通过肿瘤组织与癌旁组织表达进行对比,发现在包括 NSCLC (肺腺癌及肺鳞癌) 内的 18 种恶性肿瘤中, cGAS 在肿瘤组和癌旁组织的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1A、B、C。ROC 曲线分析结果显示 cGAS 的 AUC 为 0.704 (95%CI: 0.655 ~ 0.753), 见图 1D。

2.2 NSCLC 中 cGAS 表达与预后及临床病理特征的关系 根据 cGAS 表达中位数将患者分为高、低两组, 结果发现高表达组 (521 例) 和低表达组 (520 例) 预后差异有统计学意义 ($HR=1.26, P < 0.05$), 见图 2。

cGAS 高表达组与低表达组肿瘤 T 分期、病理分期、吸烟年数及病理类型差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 见表 1。Cox 回归模型分析结果显示临床 T 分期、N 分期、M 分期、病理分期、初始治疗疗效及年龄差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。多因素回归结果显示初始治疗疗效 (疾病进展)、T 分期和 N 分期可作为 NSCLC 的独立预后因素, 见表 2。ROC 曲线分析结果显示 cGAS 预测 1、3 和 5 年生存率的 AUC 分别为 0.554、0.562 和 0.551, 见图 3。

2.3 cGAS 与多种免疫细胞及免疫检查点的相关性

辅助 T 细胞 1 和 2、炎性树突状细胞 (aDC)、自然杀伤细胞 (NK56dim)、调节性 T 细胞 (Treg)、Tgd 细胞、中性粒细胞与 cGAS 均呈正相关 (均 $P < 0.05$), 嗜酸性粒细胞、树突状细胞 (iDC)、TFH、辅助 T17 细胞和肥大细胞与 cGAS 均呈负相关 (均 $P < 0.05$)。cGAS 与 PD1 (PDCD1)、PD-L1 (CD274)、CTLA4 及 TIGIT 等免疫相关因子均呈正相关 (均 $P < 0.05$), 见图 4。

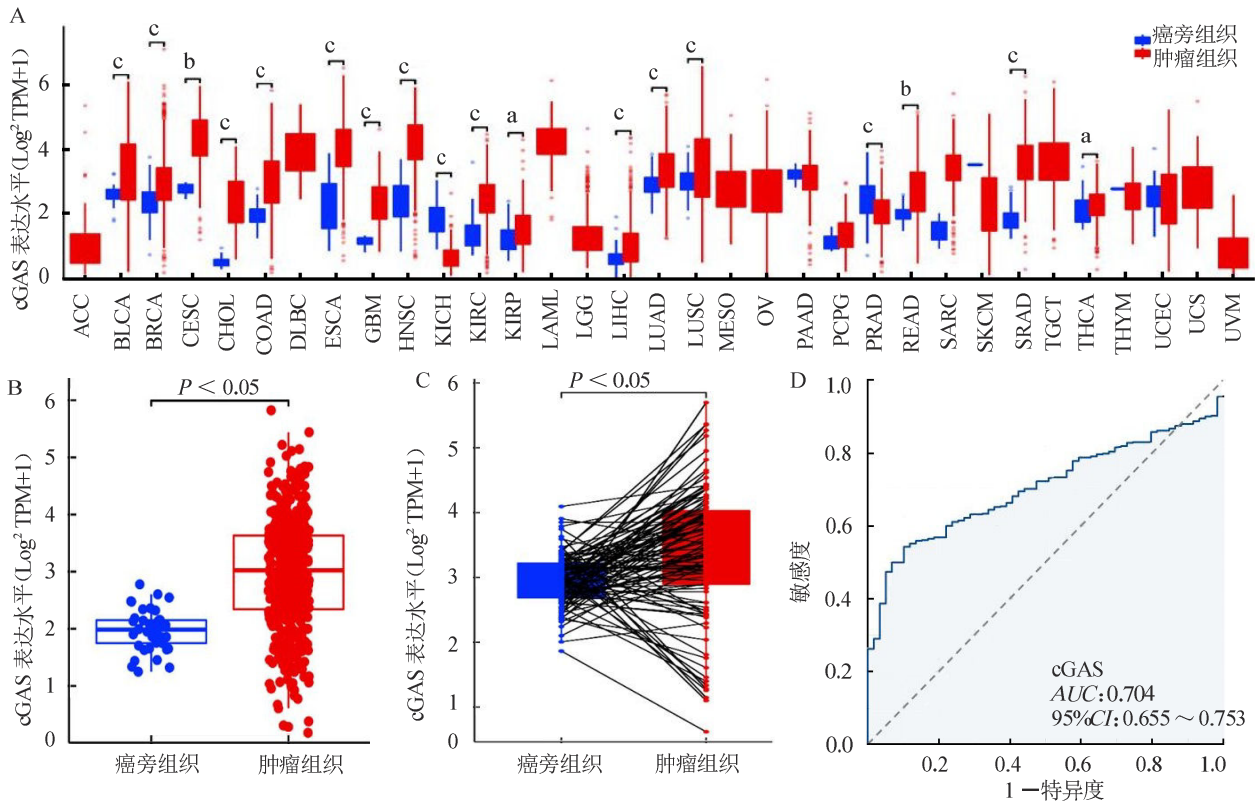
3 讨论

cGAS 是一种先天免疫传感器, 可识别各种细胞质 dsDNA, 包括病毒、细菌、线粒体、微核和逆转录

因子来源的 DNA 或肿瘤胞质的 dsDNA, 激活后的 cGAS 刺激干扰素基因刺激剂 (STING), 该信号通路通常与肿瘤进展、远处转移和治疗耐受性有关^[8]。从 TCGA 数据库整理分析的 RNA 数据及临床资料发现, cGAS 的表达在 NSCLC (肺腺癌及肺鳞癌) 中呈高表达。通过 ROC 曲线分析发现 cGAS 的 AUC 为 0.704, 有可能作为肺癌潜在的诊断性标志物。本研究结果显示 cGAS 表达高低与 NSCLC 肿瘤 T 分期、

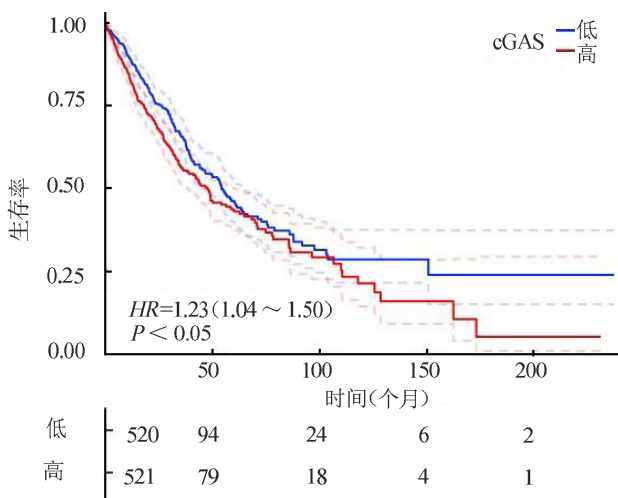
病理分期、吸烟年数及病理类型等因素有关, 并且发现 cGAS 的表达与 NSCLC 患者的 OS 呈负相关。多因素分析结果则表明 cGAS 表达并非总体生存率的独立预测指标, ROC 曲线分析 cGAS 在预测 1、3、5 年生存率的 AUC 值分别为 0.554、0.562 和 0.551。

免疫治疗是过去的十年里肿瘤治疗方面的重大突破之一, 针对免疫检查点抑制剂 (ICI) 受体的免疫治疗方法成为不同实体恶性肿瘤的主要治疗方法,



注: cGAS 为环状鸟苷酸腺苷酸合成酶; A 为 TCGA 数据库中 cGAS 在 33 种癌症中的差异性表达 (a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, c 为 $P < 0.001$), B 为 NSCLC 中肿瘤组与癌旁组织 cGAS 的表达差异, C 为 NSCLC 中 cGAS 的两两差异分析, D 为 cGAS 在 NSCLC 中的 ROC 曲线分析

图 1 cGAS 的差异表达及诊断价值



注: cGAS 为环状鸟苷酸腺苷酸合成酶

图 2 总生存曲线图

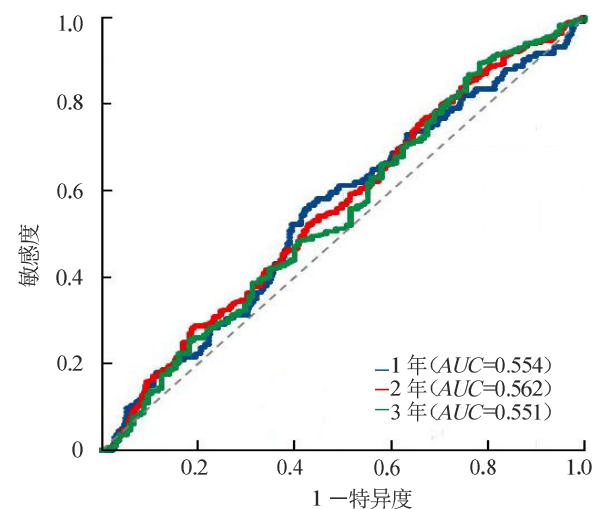


图 3 环状鸟苷酸腺苷酸合成酶预测生存率的 ROC 曲线分析

表1 非小细胞肺癌患者 cGAS 表达与临床、病理特征的关系 例数比(%)

特征	cGAS 低表达	cGAS 高表达	χ^2 值	P 值	特征	cGAS 低表达	cGAS 高表达	χ^2 值	P 值
性别					吸烟年数				
女性	225/512(43.27)	195/517(37.43)	12.47	< 0.05	< 40 年	175/386(45.34)	147/408(36.03)	7.13	< 0.05
男性	295/512(56.73)	326/517(62.57)			≥40 年	211/386(54.66)	261/408(63.97)		
年龄					位置				
≤65 岁	223/520(44.16)	225/521(44.29)	0.01	> 0.05	中央型	114/505(22.37)	96/508(18.90)	2.70	> 0.05
> 65 岁	282/520(55.84)	283/521(55.71)			周围型	102/505(20.20)	118/508(23.23)		
T 分期					M 分期				
T1	167/520(32.12)	123/518(23.75)	12.47	< 0.05	M0	387/508(97.24)	390/511(94.89)	2.93	> 0.05
T2	282/520(54.23)	304/518(58.69)			M1	11/508(2.76)	21/511(5.11)		
T3	57/520(10.96)	63/518(12.16)			病理分期				
T4	14/520(2.69)	28/518(5.41)			I 型	290/398(56.64)	251/411(48.55)	8.88	< 0.05
N 分期					II 型	134/398(26.17)	153/411(29.59)		
N0	343/508(67.52)	327/518(63.99)	1.52	> 0.05	III 型	77/398(15.04)	91/411(17.60)		
N1	109/508(21.46)	119/518(23.29)			IV 型	11/398(2.76)	22/411(4.26)		
N2	53/508(10.43)	61/518(11.94)			病理类型				
N3	3/508(0.59)	4/518(0.78)			鳞癌	229/520(44.04)	273/521(52.40)	7.29	< 0.05
					腺癌	291/520(55.96)	248/521(47.60)		

注:cGAS 为环状鸟苷酸腺苷酸合成酶

表2 非小细胞肺癌患者临床病理参数的单因素和多因素分析

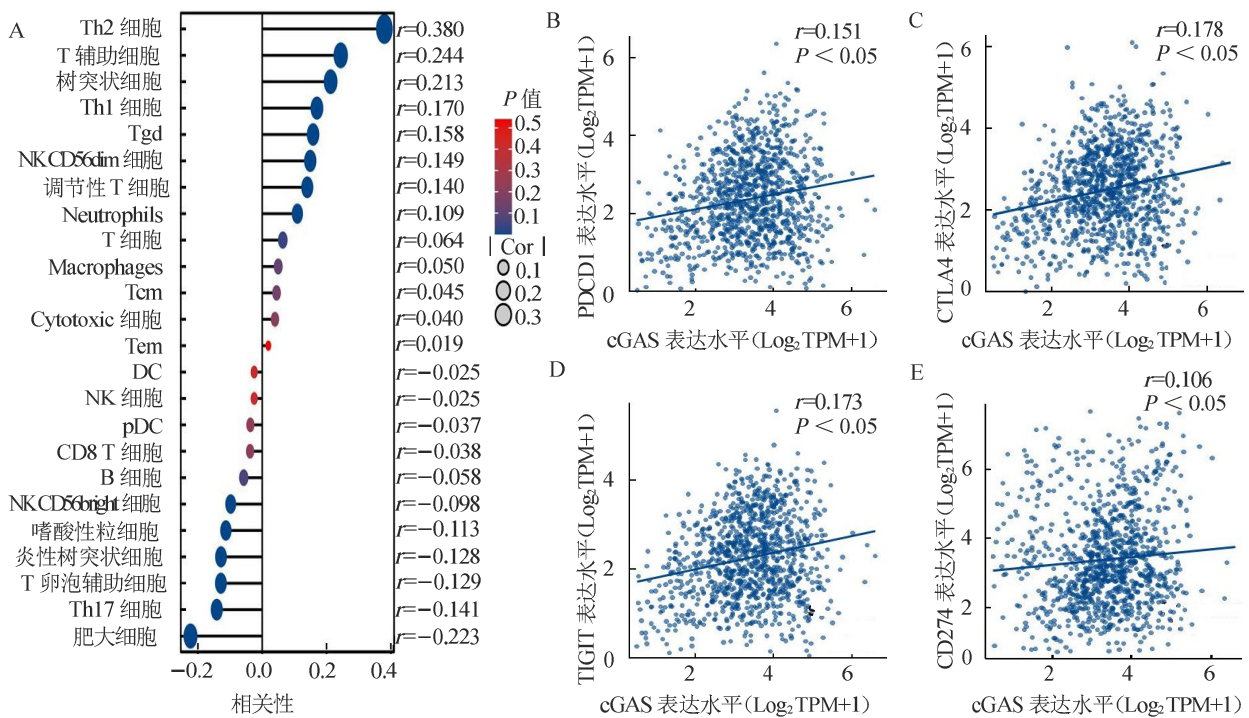
特征	单因素分析		多因素分析	
	HR (95%CI)	P 值	HR (95%CI)	P 值
cGAS 高表达	1.232(1.012 ~ 1.499)	< 0.05	1.009(0.768 ~ 1.326)	> 0.05
T3+T4	1.903(1.491 ~ 2.430)	< 0.05	1.723(1.146 ~ 2.592)	< 0.05
N2+N3	1.813(1.383 ~ 2.376)	< 0.05	2.145(1.177 ~ 3.907)	< 0.05
M1	2.287(1.451 ~ 3.605)	< 0.05	1.892(0.915 ~ 3.914)	> 0.05
III+IV 期	2.028(1.627 ~ 2.526)	< 0.05	0.824(0.456 ~ 1.492)	> 0.05
疾病进展	3.749(2.844 ~ 4.942)	< 0.05	3.784(2.693 ~ 5.317)	< 0.05
男性	1.176(0.959 ~ 1.443)	> 0.05	—	—
年龄> 65 岁	1.264(1.033 ~ 1.547)	< 0.05	1.089(0.825 ~ 1.438)	> 0.05
吸烟年数≥40 年	1.094(0.867 ~ 1.381)	> 0.05	—	—
鳞癌	1.129(0.926 ~ 1.375)	> 0.05	—	—
周围型肺癌	1.095(0.812 ~ 1.477)	> 0.05	—	—

注:cGAS 为环状鸟苷酸腺苷酸合成酶

大量研究在不断探索新的免疫检查点。因此,了解肿瘤微环境中免疫细胞的浸润情况是发掘潜在肿瘤免疫治疗的关键所在。本研究发现 cGAS 与多种免疫检查点及免疫信号通路密切相关。PD-1/PD-L1 信号通路在肿瘤免疫治疗中具有里程碑作用,它主要通过 T 细胞介导抗肿瘤免疫,从而抑制肿瘤生长,在各种晚期、耐药癌症中有十分重要的优势^[9]。T 细胞免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸抑制基序结构域蛋白(TIGIT)是免疫球蛋白超家族的一种受体,通过多种机制抑制淋巴细胞 T 细胞,体外模型显示其抑制作用可恢复抗肿瘤反应^[10]。另外一种免疫检查点分子-细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4),在细胞毒性 T 淋巴细胞中高度表达,它通过一系列受体-配体的相互作用和对 B7 配体的高亲和力,从而阻断刺激性信号和下调 T 细胞活性,推动免疫抑制和肿瘤逃避免疫监视^[11]。有研究表明,针对 PD-1、CTLA4 和 PD-L1 作为早期及晚期细胞免疫应答的免疫检查点,对

于表达高的患者进行免疫治疗可取得不错的临床疗效^[12]。本研究发现 cGAS 与 PD1(PDCD1)、PD-L1(CD274)、CTLA4 及 TIGIT 等免疫检查点呈正相关。

cGAS 信号通路通常被认为是癌症免疫的有效调节因子,目前关于该信号通路介导癌症免疫的机制尚不明确,本研究发现 cGAS 影响 NSCLC 患者肿瘤的发生发展,与免疫细胞密切相关。有研究发现,罗卡酰胺可以通过靶向 mtDNA 激活 cGAS-STING 信号传导,来促进 NK 细胞浸润,介导对 NSCLC 细胞的杀伤作用^[13]。另外研究发现,共济失调毛细血管扩张突变抑制可促进 mtDNA 渗漏到细胞质中,激活 cGAS-STING 信号,增强淋巴细胞向肿瘤微环境的浸润^[14]。放射治疗使 mtDNA 暴露于细胞质中,触发 cGAS-STING 驱动的 I 型 IFN 引发抗癌免疫作用^[15]。因此,cGAS 可以单独或联合 PD1、PD-L1(CD274)、CTLA4、TIGIT 等免疫检查点预测肿瘤免疫治疗的新靶点,为 cGAS 高表达带来福音,不过这需要在今



注: cGAS 为环状鸟苷酸腺苷酸合成酶; A 为 cGAS 与各种免疫细胞的相关性, B、C、D、E 为 cGAS 和免疫检查点的相关性

图 4 cGAS 与多种免疫细胞及免疫检查点的相关性

后的临床中证实并验证。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] ALDUAIS Y, ZHANG H, FAN F, et al. Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment[J]. Medicine(Baltimore), 2023, 102(8):e32899.
- [3] SUN L, WU J, DU F, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway[J]. Science, 2013, 339(6121): 786-791.
- [4] ODURO P K, ZHENG X, WEI J, et al. The cGAS-STING signaling in cardiovascular and metabolic diseases: Future novel target option for pharmacotherapy[J]. Acta pharm Sin B, 2022, 12(1): 50-75.
- [5] CHEON H, HOLVEY-BATES E G, MCGRAIL D J, et al. PD-L1 sustains chronic, cancer cell-intrinsic responses to type I interferon, enhancing resistance to DNA damage[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(47): e2112258118.
- [6] GAN Y, LI X, HAN S, et al. The cGAS-STING pathway: A novel target for cancer therapy[J]. Front Immunol, 2021, 12(1):795401.
- [7] FANG Y, HUANG S, HAN L, et al. Comprehensive analysis of peritoneal metastasis sequencing data to identify LINC00924 as a prognostic biomarker in gastric cancer[J]. Cancer Manag Res, 2021, 13(1): 5599-5611.
- [8] KWON J, BAKHOUM S F. The cytosolic DNA-sensing cGAS-STING pathway in cancer[J]. Cancer Discov, 2020, 10(1): 26-39.
- [9] LAHIRI A, MAJI A, POTDAR P D, et al. Lung cancer immunotherapy: progress, pitfalls, and promises[J]. Mol Cancer, 2023, 22 (1): 40.
- [10] ROUSSEAU A, PARISI C, BARLESI F. Anti-TIGIT therapies for solid tumors: a systematic review[J]. ESMO Open, 2023, 8(2): 101184.
- [11] ZINN S, VAZQUEZ-LOMBARDI R, ZIMMERMANN C, et al. Advances in antibody-based therapy in oncology[J]. Nat Cancer, 2023, 4(2): 165-180.
- [12] ZHAO Y L, LEE C K, LIN C H, et al. PD-L1:CD80 cis-heterodimer triggers the co-stimulatory receptor CD28 while repressing the inhibitory PD-1 and CTLA-4 pathways[J]. Immunity, 2019, 51(6): 1059-1073.e9.
- [13] YAN X, YAO C, FANG C, et al. Rocaglamide promotes the infiltration and antitumor immunity of NK cells by activating cGAS-STING signaling in non-small cell lung cancer[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(2): 585-598.
- [14] HU M, ZHOU M, BAO X, et al. ATM inhibition enhances cancer immunotherapy by promoting mtDNA leakage and cGAS-STING activation[J]. J Clin Invest, 2021, 131(3): 139333.
- [15] YAMAZAKI T, GALLUZZI L. Mitochondrial control of innate immune signaling by irradiated cancer cells[J]. Oncoimmunology, 2020, 9(1): 1797292.

收稿日期:2023-12-15

(本文编辑:陈志翔)