

·生物信息学·

GSDMs 家族在子宫内膜癌中的表达情况和预后价值

李 丹,黄艳丹,卢 艳

(广西医科大学附属肿瘤医院妇瘤科,广西 南宁 530021)

摘要:目的 分析 Gasdermins (GSDMs)家族在子宫内膜癌(UCEC)中的表达水平、作用机制及预后价值。方法 通过 ULACAN 和 cBioportal 数据库综合分析 GSDMs 在 UCEC 中的表达情况;Kaplan-Meier Plotter 数据库预测其预后价值;Cytoscape 和 Metascape 探索其功能机制;TISIDB、TIMER 分析免疫浸润水平。结果 相较于正常内膜组织,子宫内膜癌组织中 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD 表达升高,GSDME 和 PJVK 基因表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$),且 GSDMB 和 DFNA5 的表达与肿瘤分期有关;GSDMD 低表达患者 OS 和 RFS 下降($P<0.05$),而其他基因表达量与患者 OS、RFS 未见明显相关性($P>0.05$);GO 和 KEGG 通路富集分析显示,GSDMs 家族参与调控细胞分裂周期、泛素依赖性蛋白质代谢过程、内体膜、鞘脂信号通路和 AMPK 信号通路等;Cox 比例风险回归模型分析显示,CD4⁺T 细胞($HR=0.000$, $P=0.005$)、CD8⁺T 细胞($HR=0.001$, $P=0.001$)、GSDMB($HR=1.216$, $P=0.028$)、GSDMD($HR=0.674$, $P=0.016$)和 GSDME($HR=1.330$, $P=0.026$)可能是 UCEC 的独立预后因素;GSDMA、GSDMB、GSDMD 与 PD-1 呈正相关($P<0.05$);PD-L1 与 GSDMA、GSDMC 呈正相关,与 PJVK 呈负相关($P<0.05$);GSDMA、GSDMB、GSDMD 与 CTLA4 呈正相关($P<0.05$)。结论 GSDMs 家族与子宫内膜癌的致病机制、预后价值、免疫浸润相关,是子宫内膜癌诊断标志物以及免疫治疗的潜在靶点。

关键词:子宫内膜癌;Gasdermin 家族;免疫浸润;生物信息学分析

中图分类号:R737.33

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.03.014

文章编号:1006-1959(2023)03-0063-07

The Expression and Prognostic Value of GSDMs Family in Uterine Corpus Endometrial Cancer

LI Dan,HUANG Yan-dan,LU Yan

(Department of Gynecologic Oncology,Guangxi Medical University Cancer Hospital,Nanning 530021,Guangxi,China)

Abstract: Objective To analyze the expression level, mechanism and prognostic value of Gasdermins (GSDMs) family in uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC). **Methods** The expression of GSDMs in UCEC was analyzed by ULACAN and cBioportal database. Kaplan-Meier Plotter database was used to predict its prognostic value. Cytoscape and Metascape explored its functional mechanism; tISIDB and TIMER were used to analyze the level of immune infiltration. **Results** Compared with normal endometrial tissues, the expression of GSDMA, GSDMB, GSDMC and GSDMD in endometrial cancer tissues increased, and the expression of GSDME and PJVK genes decreased, the difference was statistically significant ($P<0.05$), and the expression of GSDMB and DFNA5 was related to tumor stage; the OS and RFS of patients with low expression of GSDMD decreased ($P<0.05$), while the expression of other genes was not significantly correlated with OS and RFS ($P>0.05$). GO and KEGG pathway enrichment analysis showed that the GSDMs family was involved in regulating cell division cycle, ubiquitin-dependent protein metabolism, endosomal membrane, sphingolipid signaling pathway and AMPK signaling pathway. Cox proportional hazard regression model analysis showed that CD4⁺T cells ($HR=0.000$, $P=0.005$), CD8⁺T cells ($HR=0.001$, $P=0.001$), GSDMB ($HR=1.216$, $P=0.028$), GSDMD ($HR=0.674$, $P=0.016$) and GSDME ($HR=1.330$, $P=0.026$) may be independent prognostic factors of UCEC. GSDMA, GSDMB and GSDMD were positively correlated with PD-1 ($P<0.05$); PD-L1 was positively correlated with GSDMA and GSDMC, and negatively correlated with PJVK ($P<0.05$); GSDMA, GSDMB and GSDMD were positively correlated with CTLA4 ($P<0.05$). **Conclusion** The GSDMs family is related to the pathogenesis, prognostic value and immune infiltration of endometrial cancer, and is a potential target for diagnostic markers and immunotherapy of endometrial cancer.

Key words: Uterine corpus endometrial cancer; Gasdermin family; Immune infiltration; Bioinformatics analysis

Gasdermin (GSDM)家族蛋白是一组结构相关蛋白,由 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD、GSDME (DFNA5)和 PJVK (DFNB59)共 6 个成员组成,参与

细胞增殖死亡、炎症及肿瘤等生理和病理性过程^[1-3]。GSDMs 在肝癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌等表达异常,并与患者不良预后相关^[4-7]。然而,有关 GSDMs 与子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)之间的联系尚不清楚。本研究通过生物信息学方法综合分析 GSDMs 家族在内膜癌中的表达情况及预后价值,以期 GSDMs 的靶向治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 UCEC 中的 GSDMs 家族表达 通过 ULACAN 数

作者简介:李丹(1996.9-),女,广西南宁人,硕士研究生,住院医师,主要从事妇科肿瘤的诊治工作

通讯作者:卢艳(1975.12-),女,广西南宁人,博士,主任医师,硕士生导师,主要从事妇科肿瘤的诊治工作

据库^[8](<http://ualcan.path.uab.edu/>)比较 GSDMs 家族在内膜癌组织和正常子宫内膜中的表达水平及与肿瘤分期的关系。

1.2 GSDMs 家族在 UCEC 中的预后生存分析 在 Kaplan-Meier Plotter 数据库^[9]中从总生存期(OS)、无进展生存期(RFS)两方面分析 GSDMs 表达与内膜癌患者预后的关系。

1.3 UCEC 中 GSDMs 及其相关基因的 PPI 蛋白相互作用网络和 GO 功能、KEGG 通路富集 选择 cBio-portal 网站^[10,11] 中的数据集 UCEC(TCGA, Firehose Legacy) Complete samples 7 例, 以 $|\text{Spearman's correlation}| > 0.95, P < 0.001$ 为条件筛选与 GSDMs 共表达基因。STRING 数据库^[12]对 GSDMs 家族基因及其共表达基因进行蛋白质互作网络分析, Cytoscape^[13]开展可视化分析并筛选核心基因, 在

Metascape 数据库^[14]中进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。

1.4 UCEC 中 GSDMs 家族与免疫浸润的关系 根据 TISIDB 网站^[15]中 TCGA 的 UCEC 数据分析 GSDMs 家族基因与免疫抑制检查点的关联。另通过 TIMER 数据库^[16]评估 GSDMs 表达和肿瘤免疫细胞浸润水平的预后价值。

2 结果

2.1 GSDMs 家族在 UCEC 中的表达 ULACAN 数据库分析显示, 相较于正常内膜组织, 子宫内膜癌组织中 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD 表达升高, GSDME 和 PJVK 基因表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1A; GSDMB 和 DFNA5 的表达与肿瘤分期有关, 见图 1B。

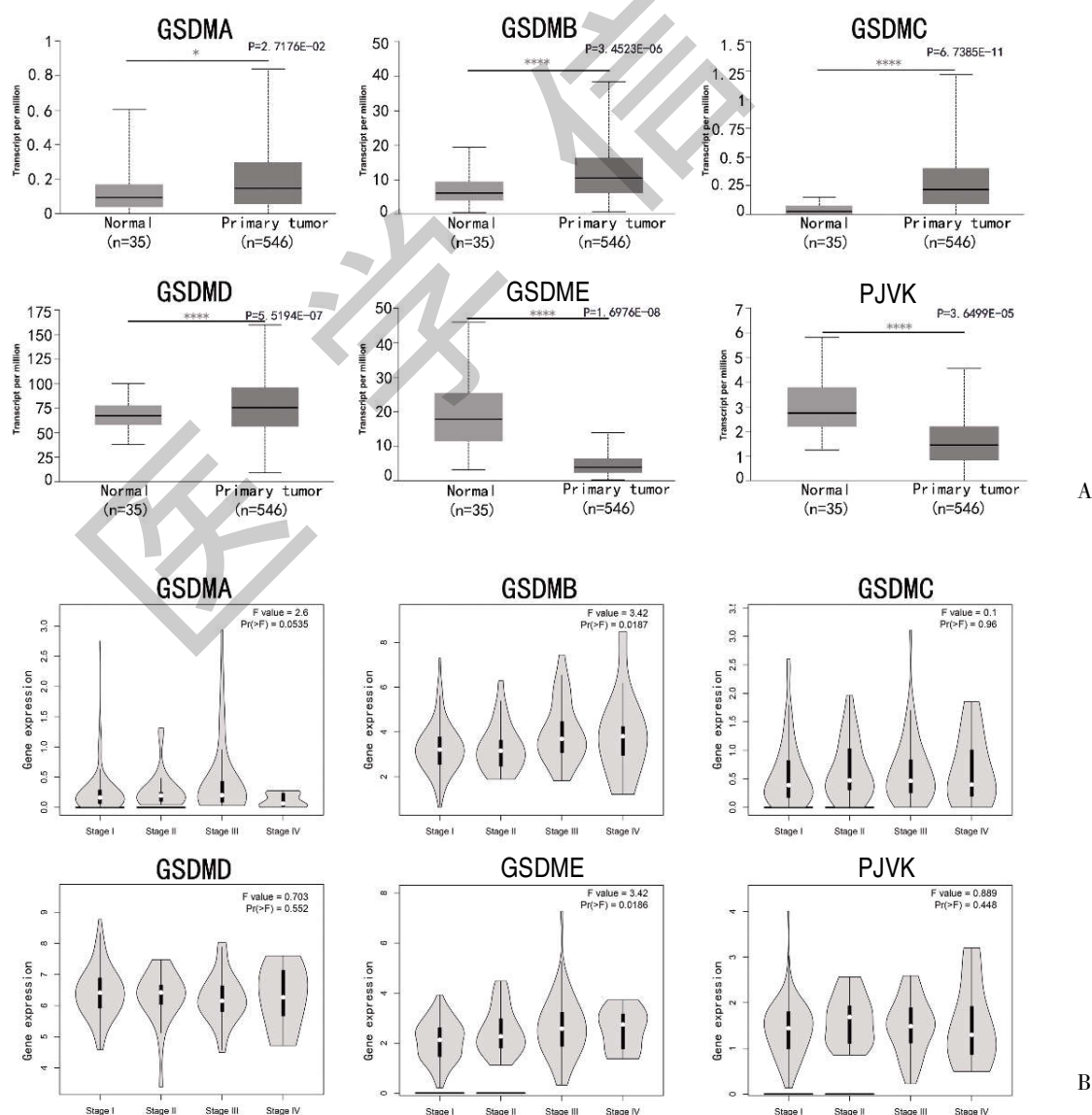


图 1 GSDMs 家族在 UCEC 中的表达

2.2 GSDMs 表达与 UCEC 患者生存预后的关系 Kaplan-Meier Plotter 数据库探究 GSDMs 表达与内膜癌患者预后的关系,结果显示 GSDMD 低表达患者 OS 和 RFS 下降($P < 0.05$),而其他基因表达量与患者 OS、RFS 未见明显相关性($P > 0.05$),见图 2。

2.3 GSDMs 家族及共表达基因的功能富集分析 通过 cBioportal 数据库筛选了共表达基因,并进行功能富集分析,结果显示有 169 个基因与 GSDMs 表达呈正相关,324 个基因与 GSDMs 表达呈负相关;通

过 String 数据库和 Cytoscape 进行蛋白网络互作分析,筛选出 AKT1、HRAS 等核心基因,见图 3A。GO 分析显示,GSDMs 及其相关基因生物学过程主要富集于有丝分裂细胞周期、泛素依赖性蛋白质代谢过程;细胞组成变化主要在内体膜、中心体;分子功能变化显著富集在核苷三磷酸酶活性;KEGG 信号通路富集分析显示,GSDMs 及其相关基因主要在鞘脂类信号通路、AMPK 信号通路等,见图 3B。

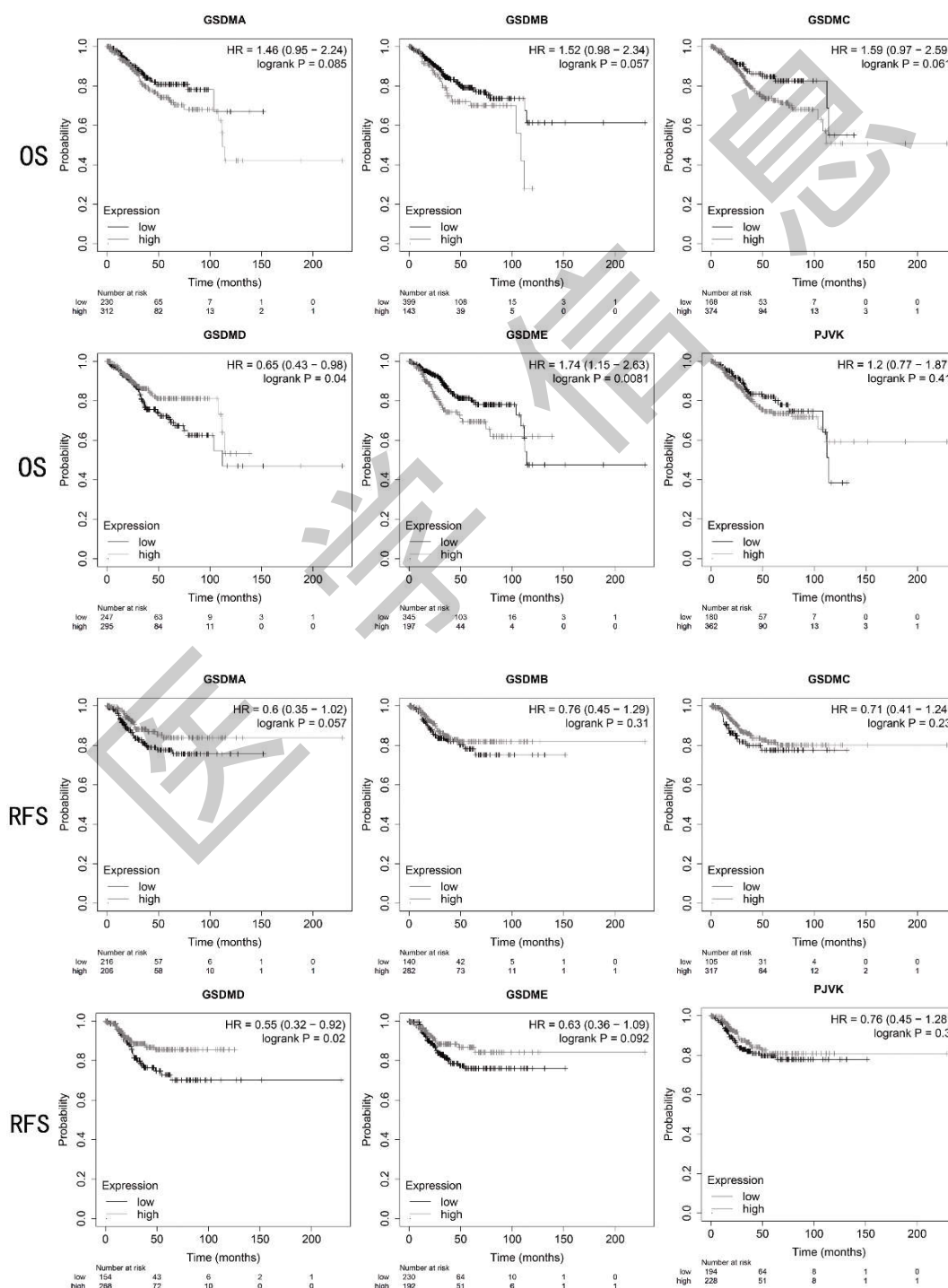
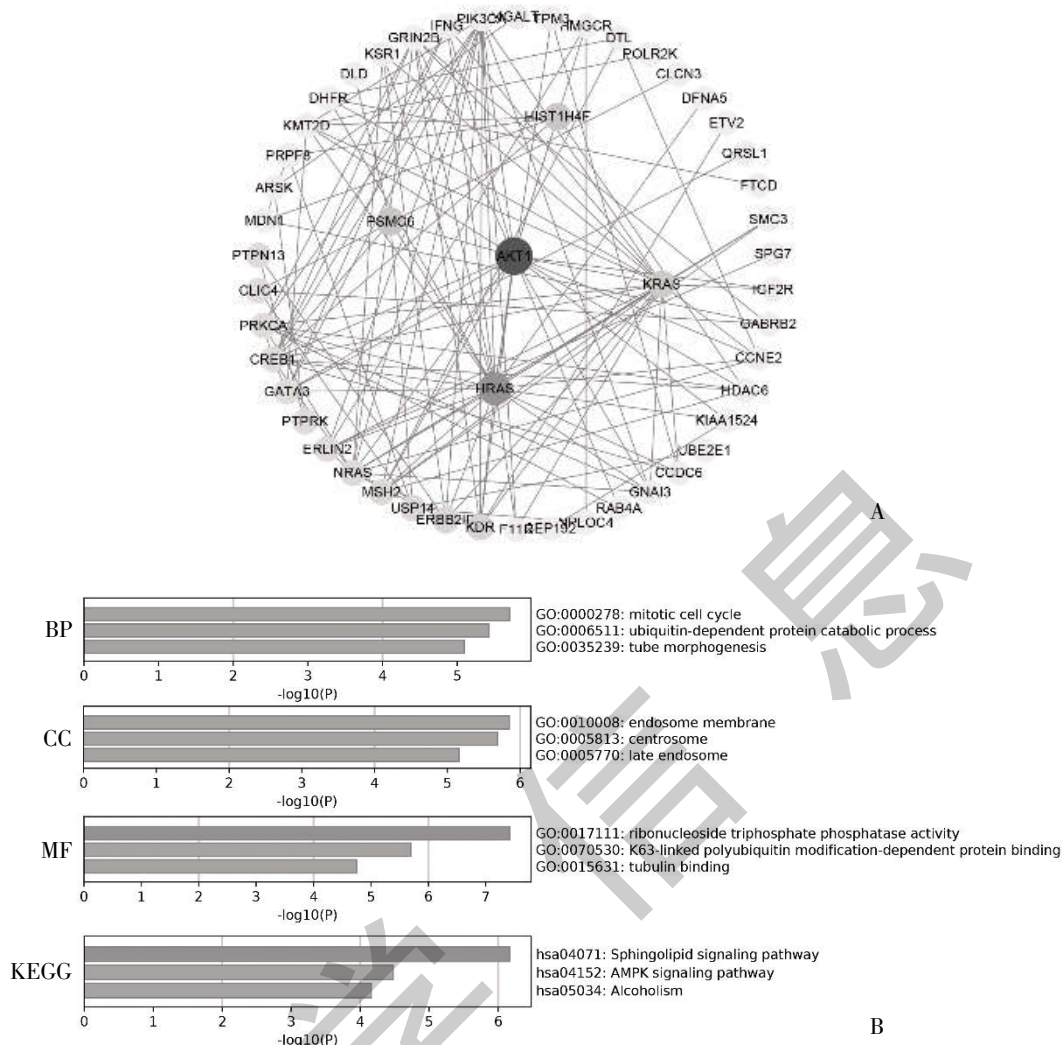


图 2 GADMs 在 UCEC 中的预后价值



注:A:蛋白互作网络图和核心基因筛选;B:GO 及 KEGG 通路富集

图 3 GSDMs 家族及共表达基因的潜在机制

2.4 GSDMs 家族与 UCEC 中免疫浸润的相关性 在 TIMER 中将 GSDMs 家族和 6 种 TILs(B 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和 DC 细胞)进行 Cox 比例风险回归模型分析后发现,CD4⁺T 细胞($HR=0.000$, $P=0.005$)、CD8⁺T 细胞($HR=0.001$, $P=0.001$)、GSDMB ($HR=1.216$, $P=0.028$)、GSDMD ($HR=0.674$, $P=0.016$) 和 GSDME ($HR=1.330$, $P=$

0.026)可能是 UCEC 的独立预后因素,见表 1。

2.5 GSDMs 家族与免疫抑制检查点的关系 在 TISIDB 数据库中分析发现,GSDMA、GSDMB、GSDMD 与 PD-1 呈正相关;PD-L1 与 GSDMA、GSDMC 呈正相关,与 PJKV 呈负相关;GSDMA、GSDMB、GSDMD 与 CTLA4 呈正相关,见图 4。

表 1 UCEC 中 GSDMs 家族与主要 TILs 的 Cox 比例风险回归模型(TIMER)

项目	coef	HR	95%CI_l	95%CI_u	P
B 细胞	-3.352	0.035	0.000	20.474	0.302
CD8 ⁺ T 细胞	-7.591	0.001	0.000	0.043	0.001
CD4 ⁺ T 细胞	-9.093	0.000	0.000	0.061	0.005
巨噬细胞	3.104	22.286	0.117	4229.199	0.246
中性粒细胞	6.915	1006.784	0.293	3 453 691.365	0.096

表 1(续)

项目	coef	HR	95%CI_l	95%CI_u	P
DC 细胞	2.188	8.920	0.294	270.775	0.209
GSDMA	-0.182	0.834	0.537	1.295	0.418
GSDMB	0.195	1.216	1.021	1.447	0.028
GSDMC	0.089	1.093	0.761	1.568	0.631
GSDMD	-0.394	0.674	0.490	0.928	0.016
GSDME	0.285	1.330	1.034	1.710	0.026
PJVK	-0.097	0.908	0.636	1.294	0.592

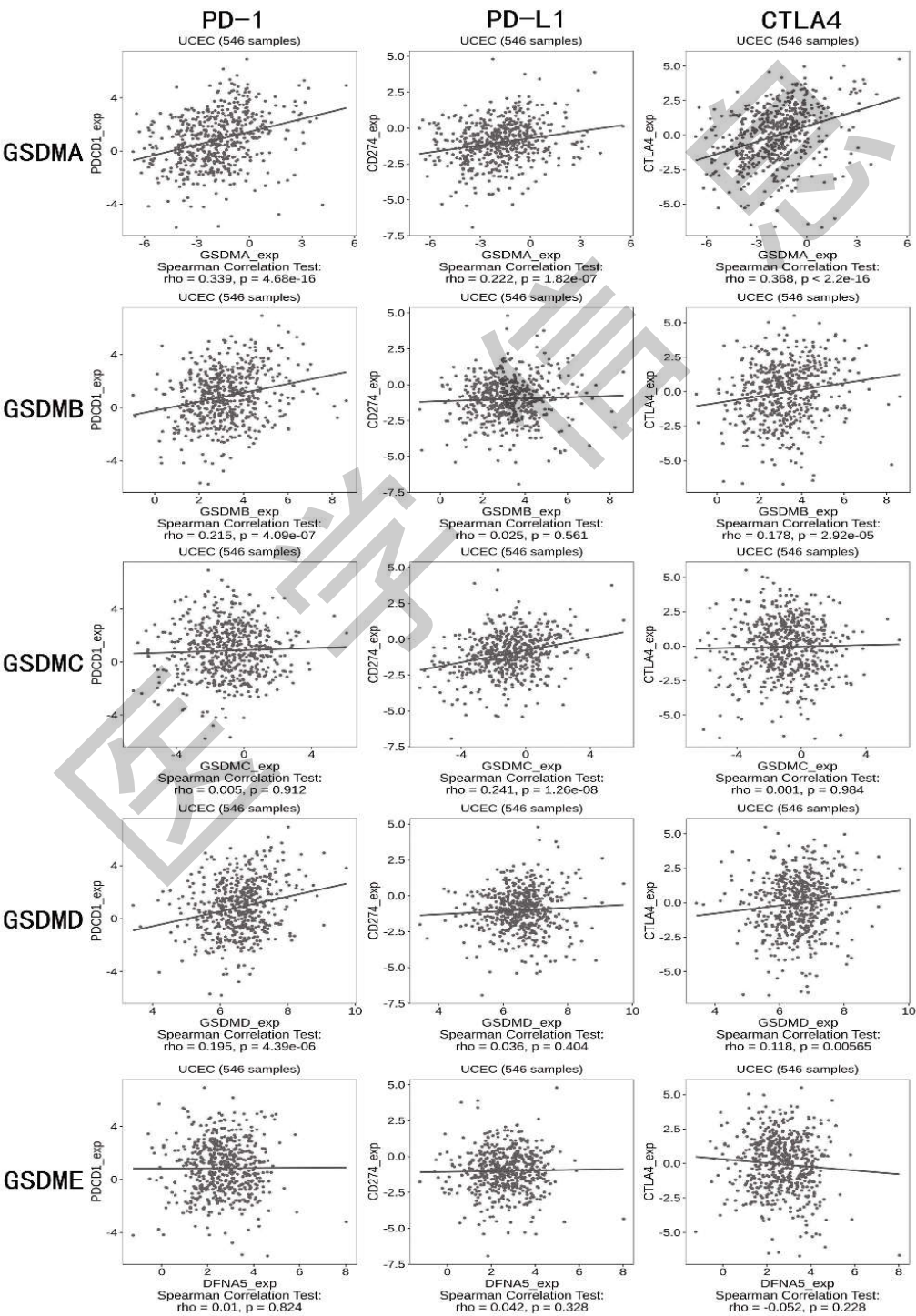


图 4 UCEC 中 GSDMs 家族 mRNA 表达与免疫抑制检查点 mRNA 表达的相关性

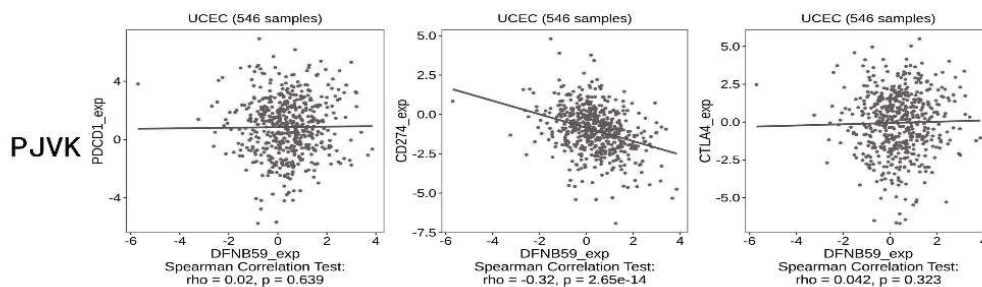


图 4 UCEC 中 GSDMs 家族 mRNA 表达与免疫抑制检查点 mRNA 表达的相关性(续)

3 讨论

GSDMs 家族是介导细胞焦亡的一组重要蛋白,除 PJKV 外,所有家族蛋白均含有形成膜孔的 N-末端结构域、具有调节性的 C-末端结构域、中央接头区域 3 个相似结构^[17,18]。在正常情况下,C-末端结构域紧密结合并掩盖 N-末端并抑制其活性,使得全蛋白失活。当受到外界刺激时,中央接头结构域被半胱天冬酶或颗粒酶裂解切割后,N-末端与 C-末端结构域分离,结合脂质并通过寡聚化和插入膜形成细胞膜孔隙,导致了促炎细胞因子和细胞内容物过度释放,引起细胞破裂,甚至细胞焦亡,破坏机体稳态发挥关键作用^[19-21]。生物信息学分析是一种综合计算机科学、信息学及统计学的复杂的生物学研究方法,有助于临床全方面的识别疾病的转录水平、突变特征等多变的生物学意义^[22,23]。本研究基于多个免费开放的权威性数据库的生物信息学数据对 GSDMs 家族在子宫内膜癌中的生物学意义进行综合系统性的探究。

本研究结果发现,相较于正常内膜组织,子宫内膜癌组织中 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD 表达升高,GSDME 和 PJKV 基因表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$),且 GSDMB 和 DFN55 的表达与肿瘤分期有关。然而,仅 GSDMD 低表达患者 OS 和 RFS 下降($P<0.05$),而其他基因表达量与患者 OS、RFS 未见明显相关性($P>0.05$),与 Yang Y 等^[24]研究结果类似。但关于 GSDMs 对 UCEC 的预后价值仍有待进一步研究,这可能是由于肿瘤发病机制复杂,单基因并不能完全预测患者总体的生存意义,也可能是数据信息不足或存在偏倚,期待后续更换数据库、收集临床样本或者寻找相关的机制与 GSDMs 交互性的探索分析。此外,本研究中 GO 和 KEGG 通路富集分析显示,GSDMs 家族参与调控细胞分裂周期、泛素依赖性蛋白质代谢过程、内体膜、鞘脂信号通路

和 AMPK 信号通路等,且通过对 GSDMs 家族及相关基因进行蛋白质互作网络分析发现 AKT1、HRAS、KRAS 等基因与 GSDMs 的表达及调控机制有关。肿瘤相关免疫浸润细胞是肿瘤免疫研究的热点。子宫内膜周期变化与慢性炎症密切相关,免疫细胞、细胞因子、趋化因子等微环境成分的变化参与肿瘤发生、发展过程。在 TIMER 数据库进行 Cox 比例风险回归模型分析发现,CD4⁺T 细胞($HR=0.000, P=0.005$)、CD8⁺T 细胞($HR=0.001, P=0.001$)、GSDMB($HR=1.216, P=0.028$)、GSDMD($HR=0.674, P=0.016$)和 GSDME($HR=1.330, P=0.026$)可能是 UCEC 的独立预后因素,有望成为肿瘤免疫治疗的新型肿瘤标志物。有研究表明^[25],在乳腺癌中过表达 GSDME 增强了 TAM 对肿瘤细胞的吞噬作用以及肿瘤浸润性自然杀伤细胞和 CD8⁺T 淋巴细胞的数量。Xi G 等^[26]研究表明,GSDMD 在非小细胞肺癌中高表达并与 CD8⁺T 淋巴细胞显著正相关,CD8⁺T 淋巴细胞活化后,GSDMD 的 mRNA 表达水平及裂解形式的蛋白表达水平上升。由此推测,GSDMs 通过调控免疫细胞浸润在 UCEC 的致病机制中发挥作用。

免疫检查点指固定在免疫系统中的抑制通路,主要维持自身耐受性和调节外周组织免疫反应的持续时间和幅度,在肿瘤中机体将免疫检查点作为肿瘤免疫抵抗的重要机制之一^[27]。本研究通过分析 UCEC 中 GSDMs 表达与经典免疫检查点关键基因表达的相关性发现,除了 PJKV 与 PD-L1 表达存在负相关性外,其他基因与免疫检查点呈中度甚至较强的正相关性,推测 GSDMs 可能是未来免疫检查点治疗的潜在预测性生物标志物。

综上所述,GSDMs 家族与子宫内膜癌的致病机制、预后价值、免疫浸润相关,是子宫内膜癌诊断标志物以及免疫治疗的潜在靶点。虽然本研究基于多个数据库综合分析了 GSDMs 家族在 UCEC 中的表

达特征、预后价值及免疫浸润等的关系,然而本研究还存在一定的局限性:首先,研究为在线数据库分析,虽有可信度,但缺乏基础实验验证;其次,GSDMs的预后价值不佳,这可能与样本量不足、数据偏倚或疾病机制复杂有关。相信在未来通过生物信息技术与实验验证的深入研究能挖掘出 GSDMs 家族在 UCEC 的作用机制,让 GSDMs 家族能成为 UCEC 的诊断、治疗和预后判断的有效靶点。

参考文献:

- [1]Broz P,Pelegri P,Shao F.The gasdermins,a protein family executing cell death and inflammation [J].*Nat Rev Immunol*,2020,20(3):143–157.
- [2]Zou J,Zheng Y,Huang Y,et al.The Versatile Gasdermin Family:Their Function and Roles in Diseases [J].*Front Immunol*,2021,12:751533.
- [3]Liu X,Xia S,Zhang Z,et al.Channelling inflammation:gasdermins in physiology and disease [J].*Nature Reviews Drug Discovery*,2021,20(5):384–405.
- [4]Miao Y,Chen Y,Mi D.Role of gasdermin family proteins in the occurrence and progression of hepatocellular carcinoma [J].*Heliyon*,2022,8(10):e11035.
- [5]Hergueta-Redondo M,Sarrio D,Molina-Crespo á,et al.Gasdermin B expression predicts poor clinical outcome in HER2-positive breast cancer[J].*Oncotarget*,2016,7(35):56295–56308.
- [6]Berkel C,Cacan E.Differential Expression and Copy Number Variation of Gasdermin (GSDM) Family Members,Pore-Forming Proteins in Pyroptosis,in Normal and Malignant Serous Ovarian Tissue[J].*Inflammation*,2021,44(6):2203–2216.
- [7]Wei J,Xu Z,Chen X,et al.Overexpression of GSDMC is a prognostic factor for predicting a poor outcome in lung adenocarcinoma[J].*Mol Med Rep*,2020,21(1):360–370.
- [8]Chandrashekar DS,Karthikeyan SK,Korla PK,et al.UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform [J].*Neoplasia*,2022,25:18–27.
- [9]Lánczky A,Györfy B.Web-Based Survival Analysis Tool Tailored for Medical Research (KMplot):Development and Implementation[J].*J Med Internet Res*,2021,23(7):e27633.
- [10]Cerami E,Gao J,Dogrusoz U,et al.The cBio cancer genomics portal:an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data[J].*Cancer Discov*,2012,2(5):401–404.
- [11]Gao J,Aksoy BA,Dogrusoz U,et al.Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal[J].*Sci Signal*,2013,6(269):p11.
- [12]Szkarczyk D,Gable A L,Nastou K C,et al.The STRING database in 2021:customizable protein-protein networks,and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J].*Nucleic Acids Res*,2021,49(D1):D605–D612.
- [13]Shannon P,Markiel A,Ozier O,et al.Cytoscape:a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J].*Genome Res*,2003,13(11):2498–2504.
- [14]Zhou Y,Zhou B,Pache L,et al.Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J].*Nat Commun*,2019,10(1):1523.
- [15]Ru B,Wong CN,Tong Y,et al.TISIDB:an integrated repository portal for tumor-immune system interactions [J].*Bioinformatics*,2019,35(20):4200–4202.
- [16]Li T,Fan J,Wang B,et al.TIMER:A Web Server for Comprehensive Analysis of Tumor-Infiltrating Immune Cells [J].*Cancer Res*,2017,77(21):e108–e110.
- [17]Grywalska E,Sobstyl M,Putowski L,et al.Current Possibilities of Gynecologic Cancer Treatment with the Use of Immune Checkpoint Inhibitors[J].*Int J Mol Sci*,2019,20(19):4705.
- [18]Rousset-Rouviere S,Rochigneux P,Chrétien AS,et al.Endometrial Carcinoma:Immune Microenvironment and Emerging Treatments in Immuno-Oncology[J].*Biomedicines*,2021,9(6):632.
- [19]Ding J,Wang K,Liu W,et al.Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J].*Nature*,2016,535(7610):111–116.
- [20]Shi J,Zhao Y,Wang K,et al.Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J].*Nature*,2015,526(7575):660–665.
- [21]Zahid A,Ismail H,Jin T.Molecular and structural aspects of gasdermin family pores and insights into gasdermin-elicited programmed cell death[J].*Biochemical Society Transactions*,2021,49(6):2697–2710.
- [22]Cortes-Ciriano I,Gulhan DC,Lee JJ,et al.Computational analysis of cancer genome sequencing data [J].*Nat Rev Genet*,2022,23(5):298–314.
- [23]Pallen MJ.Microbial bioinformatics 2020 [J].*Microbial Biotechnology*,2016,9(5):681–686.
- [24]Yang Y,Liu PY,Bao W,et al.Hydrogen inhibits endometrial cancer growth via a ROS/NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptotic pathway[J].*BMC Cancer*,2020,20(1):28.
- [25]Zhang Z,Zhang Y,Xia S,et al.Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity [J].*Nature*,2020,579(7799):415–420.
- [26]Xi G,Gao J,Wan B,et al.GSDMD is required for effector CD8 (+) T cell responses to lung cancer cells [J].*Int Immunopharmacol*,2019,74:105713.
- [27]Pardoll DM.The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy[J].*Nat Rev Cancer*,2012,12(4):252–264.

收稿日期:2022-11-13;修回日期:2022-11-22

编辑/杜帆