

KIRREL 表达对胃癌的预后作用及 与肿瘤免疫细胞浸润的相关性

王 接, 李启信, 杨侃侃

(安徽医科大学附属巢湖医院胃肠外科, 安徽 巢湖 238000)

摘要:目的 探讨 KIRREL 表达在胃癌中的预后作用及与肿瘤免疫细胞浸润的相关性。方法 通过 TIMER 和 UALCAN 数据库分析 KIRREL 在泛癌和胃癌中的表达以及与临床特征的关系。Sangerbox 和 Kaplan-Meier 数据库分析 KIRREL 表达对胃癌患者预后的影响。TIMER 数据库分析 KIRREL 表达与免疫细胞浸润以及浸润等级与患者预后的关系。Sangerbox 数据库分析 KIRREL 基因与免疫检查点基因以及 ESTIMATE 分数的关系。结果 KIRREL 在胆管癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、胃癌中的表达高于相对应的癌旁组织 ($P<0.05$), 且在膀胱尿路上皮癌、乳腺浸润癌、肾嫌色细胞癌、肾乳头状细胞癌、肺腺癌、肺鳞癌、前列腺癌、甲状腺癌、子宫内膜癌中表达下调 ($P<0.05$)。通过 UALCAN 数据库分析显示, KIRREL 在胃癌组织中表达具有显著差异 ($P=1.18E-06$)。UALCAN 数据库分析显示, KIRREL 表达与肿瘤分期、分级、淋巴结转移分期有关。GEPIA 数据库分析显示, 高表达的 KIRREL 对胃癌患者 OS 有显著影响 ($HR=1.5, P=0.02$)。Kaplan-Meier 数据库分析显示, 更高表达的 KIRREL 预示着胃癌患者具有较差的 OS ($HR=1.5, P=2.7E-06$)。TIMER 数据库分析显示, KIRREL 表达与 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润等级呈正相关 ($P<0.05$), 与肿瘤纯度、B 细胞无相关性 ($P>0.05$)。KIRREL 的表达与基质分数、免疫分数和评估分数均呈正相关。结论 KIRREL 在胃癌的发生、发展及免疫细胞浸润中发挥了关键作用, 可以作为评估患者临床预后的生物学标记物和指导免疫治疗的潜在靶点。

关键词: KIRREL; 胃癌; 预后; 免疫细胞浸润

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2023.09.002

文章编号: 1006-1959(2023)09-0010-06

The Prognostic Effect of KIRREL Expression on Gastric Cancer and its Correlation with Tumor Immune Cell Infiltration

WANG Jie, LI Qi-xin, YANG Kan-kan

(Department of Gastrointestinal Surgery, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000, Anhui, China)

Abstract: Objective To investigate the prognostic role of KIRREL expression in gastric cancer and its correlation with tumor immune cell infiltration.

Methods The expression of KIRREL in pan-cancer and gastric cancer and its relationship with clinical features were analyzed by TIMER and UALCAN databases. Sangerbox and Kaplan-Meier databases were used to analyze the effect of KIRREL expression on the prognosis of patients with gastric cancer. TIMER database was used to analyze the relationship between KIRREL expression and immune cell infiltration, as well as the relationship between infiltration grade and prognosis of patients. The relationship between KIRREL gene and immune checkpoint gene and ESTIMATE score was analyzed by Sangerbox database. **Results** The expression of KIRREL in cholangiocarcinoma, esophageal cancer, head and neck squamous cell carcinoma and gastric cancer was higher than that in corresponding adjacent tissues ($P<0.05$), and the expression of KIRREL was down-regulated in bladder urothelial carcinoma, breast invasive carcinoma, chromophobe cell carcinoma, papillary renal cell carcinoma, lung adenocarcinoma, lung squamous cell carcinoma, prostate cancer, thyroid cancer and endometrial carcinoma ($P<0.05$). UALCAN database analysis showed that KIRREL expression was significantly different in gastric cancer tissues ($P=1.18E-06$). UALCAN database analysis showed that KIRREL expression was related to tumor stage, grade and lymph node metastasis stage. GEPIA database analysis showed that high expression of KIRREL had a significant effect on OS of gastric cancer patients ($HR=1.5, P=0.02$). Kaplan-Meier database analysis showed that higher expression of KIRREL indicated poor OS in gastric cancer patients ($HR=1.5, P=2.7E-06$). TIMER database analysis showed that KIRREL expression was positively correlated with the infiltration grade of CD8⁺ T cells, CD4⁺ T cells, macrophages, neutrophils and dendritic cells ($P<0.05$), but not with tumor purity and B cells ($P>0.05$). The expression of KIRREL was positively correlated with matrix fraction, immune fraction and evaluation score. **Conclusion** KIRREL plays a key role in the occurrence, development and immune infiltration of gastric cancer, and can be used as a biological marker to evaluate the clinical prognosis of patients and a potential target to guide immunotherapy.

Key words: KIRREL; Gastric cancer; Prognosis; Immune cell infiltration

作者简介: 王接(1997.6-), 男, 安徽宣城人, 硕士, 住院医师, 主要从事胃肠道肿瘤及腹壁疝外科学的基础及临床研究
通讯作者: 李启信(1963.9-), 男, 安徽合肥人, 本科, 主任医师, 主要从事胃肠道与腹壁外科相关基础与临床研究

胃癌(gastric cancer)是消化系统常见的恶性肿瘤之一。据统计^[1],2020 年全球人口中胃癌在所有恶性肿瘤中发病率排名第 5,占 5.6%,新发病例致死率排名第 4,占 7.7%,具有较高的发病率及死亡率,且我国胃癌发病情况相对于其他国家更为严重,对人类的健康及生活质量产生巨大影响。胃癌的发生与发展与诸多因素相关,如不良生活习惯、幽门螺杆菌感染、遗传、基因突变等^[2-3]。目前,早期胃癌的治疗仍以手术为主^[4],进展期胃癌的治疗主要是手术治疗联合化学治疗、内分泌治疗、免疫治疗等辅助治疗的综合治疗手段^[5-7]。KIRREL 又称 Nehp1,是由人类 KIRREL 基因转录翻译的一种免疫球蛋白超家族类细胞黏附分子^[8],属于 NEHP 蛋白家族。研究显示^[9-11],KIRREL 主要表达于肾脏足细胞、神经突触和胎盘中,参与足细胞修复、神经发育和炎症反应。随着临床研究的进展,发现 KIRREL 在许多恶性肿瘤中过表达,对肿瘤的发生、发展产生影响^[12,13],并可能成为肿瘤治疗的新靶点基因^[14]。但 KIRREL 在胃癌中的表达等级和预后作用以及是否可以作为免疫治疗的新靶点仍尚未可知。因此,本研究中通过使用肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和各种公共数据库对 KIRREL 在胃癌中的表达、预后及其与肿瘤免疫浸润的相关性进行分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 KIRREL 基因表达分析 通过 TIMER (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>) 数据库来分析 KIRREL 在泛癌及其癌旁组织中的差异表达,检索条件:① Diff Exp;② Gene symbol:KIRREL;③ Submit。接着,通过 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>) 数据库对 TCGA 数据进行分析,进一步验证 KIRREL 在胃癌组织及其癌旁组织中的表达差异以及与临床特征之间的关系,检索条件:① Gene symbol:KIRREL;② Select cancer:stomach adenocarcinoma;③ Gene expression;④ KIRREL expression based on sample types, individual cancer stages, tumor grade, nodal metastasis status, H.pylori infection status。

1.2 预后价值分析 通过使用 Kaplan-Meier (<https://kmplot.com/analysis/>) 网站和 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 数据库绘制生存曲线,评估 KIRREL 基因表达水平在胃癌患者预后中的价值,检索条件为:① Gene symbol:KIRREL;② Cancer:

gastric cancer;③ Survival:OS。

1.3 免疫细胞浸润分析 采用 TIMER 数据库分析 KIRREL 基因表达与免疫细胞浸润等级的相关性,检索条件:① Gene;② Gene symbol:KIRREL;③ Cancer type:STAD;④ Immune Infiltrates:Purity、B cell、CD8⁺ T cell、CD4⁺ T cell、macrophage、neutrophil、dendritic cell。

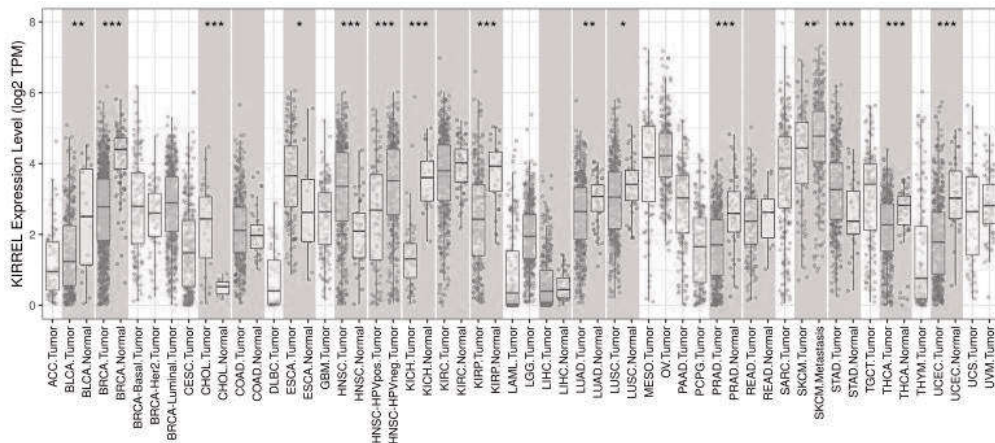
1.4 KIRREL 的表达与免疫细胞浸润的关系分析 通过 SangerBox 分析 KIRREL 相关的免疫检查点基因,通过 ESTIMATE 评估其在肿瘤微环境中的肿瘤纯度,其中包括基质分数(stromal score),免疫分数(immune score)和评估分数(estimate score)。另通过 SangerBox 网站分析二者之间的相关性,检索条件:① 泛癌分析;② 免疫检查点基因分析;③ Gene symbol:KIRREL;④ Cancer type:STAD。

1.5 统计学方法 采用 Wilcoxon 检验分析 KIRREL 在泛癌中的表达水平差异,Kaplan-Meier 生存曲线和 Log-rank 检验分析 KIRREL 表达水平的生存差异。另采用 Spearman 相关系数分析 KIRREL 与胃癌肿瘤微环境中的免疫细胞浸润及免疫检查点基因表达的相关性,采用 Pearson 相关系数分析 KIRREL 与基质分数、免疫分数和评估分数的相关性,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, $P < 0.01$ 表示统计学意义显著, $P < 0.001$ 表示统计学意义极显著。

2 结果

2.1 KIRREL 在泛癌中的表达 KIRREL 在胆管癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、胃癌中的表达水平高于相对应的癌旁组织($P < 0.05$),且在膀胱尿路上皮癌、乳腺浸润癌、肾嫌色细胞癌、肾乳头状细胞癌、肺腺癌、肺鳞癌、前列腺癌、甲状腺癌、子宫内膜癌中表达下调($P < 0.05$),见图 1。通过 UALCAN 数据库分析 TCGA 数据,发现 KIRREL 在胃癌组织中表达具有显著差异($P = 1.18E-06$),见图 2。

2.2 KIRREL 表达与临床特征的关系 UALCAN 数据库分析显示,肿瘤分期为 2~4 期的患者中 KIRREL 表达高于癌旁组织及肿瘤分期为 1 期的患者,见图 3A;肿瘤分级为 3 级的患者中 KIRREL 表达高于癌旁组织和肿瘤分级为 1、2 级的患者,且肿瘤分级为 2 级的患者中 KIRREL 表达高于癌旁组织,见图 3B;随着淋巴结转移分期的增加,KIRREL 表达也呈上升趋势,见图 3C。



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

图 1 KIRREL 在泛癌中的表达

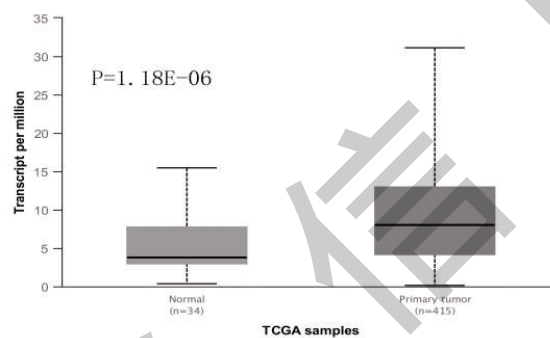
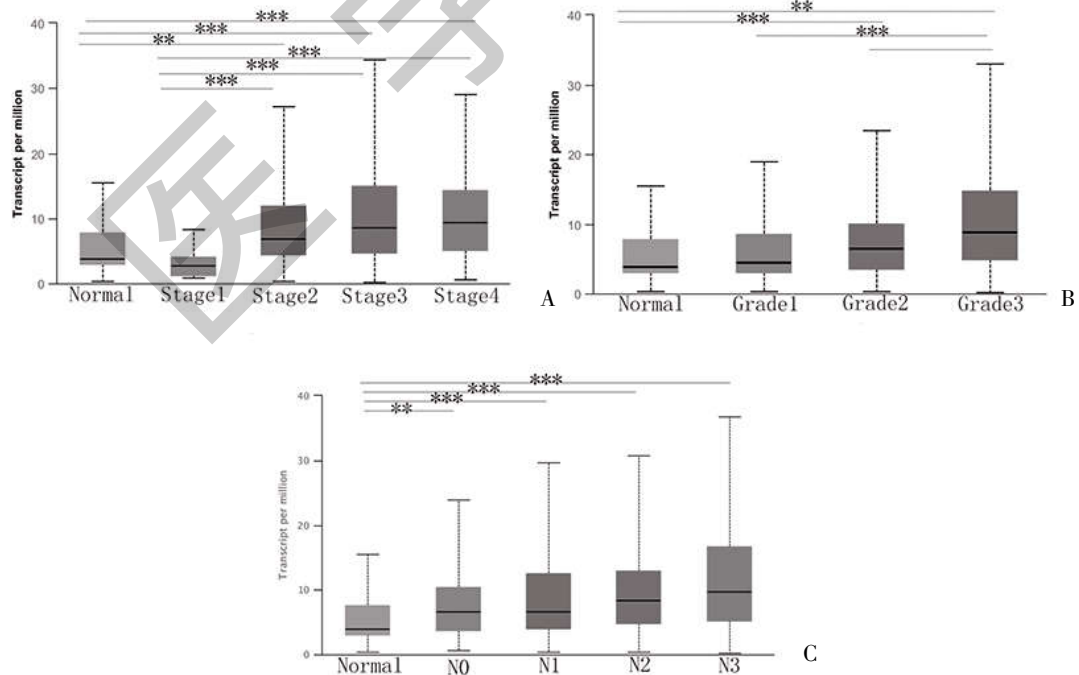


图 2 KIRREL 在胃癌组织及癌旁组织中的表达差异



注: A: KIRREL 与胃癌肿瘤分期的相关性; B: KIRREL 与胃癌肿瘤分级的相关性; C: KIRREL 与淋巴结转移分期的相关性。 ** $P < 0.01$;

*** $P < 0.001$

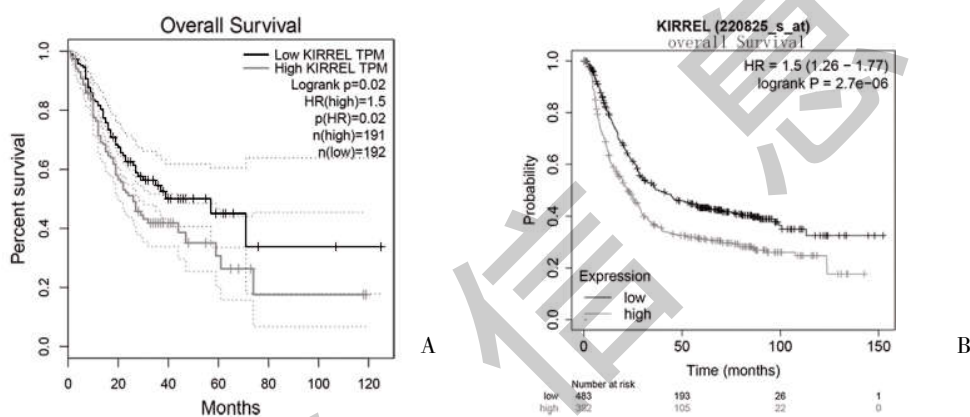
图 3 KIRREL 表达与临床特征的关系

2.3 KIRREL 表达对胃癌患者预后的价值 GEPIA 数据库分析显示,高表达的 KIRREL 对胃癌患者 OS 有显著影响 ($HR=1.5, P=0.02; n=383$), 见图 4A。Kaplan-Meier 数据库分析发现, 更高表达的 KIRREL 预示着胃癌患者具有较差的 OS ($HR=1.5, P=2.7E-06; n=875$), 见图 4B。

2.4 KIRREL 表达与免疫检查点基因和 ESTIMATE 分数的关系 通过 Sangerbox 数据库分析与 KIRREL 密切相关的免疫检查点, 发现在胃癌患者中有 60 个免疫检查点途径基因(Inhibitory=24, Stimulatory=36)与 KIRREL 的表达有显著相关性(图 5A)。然后, 根

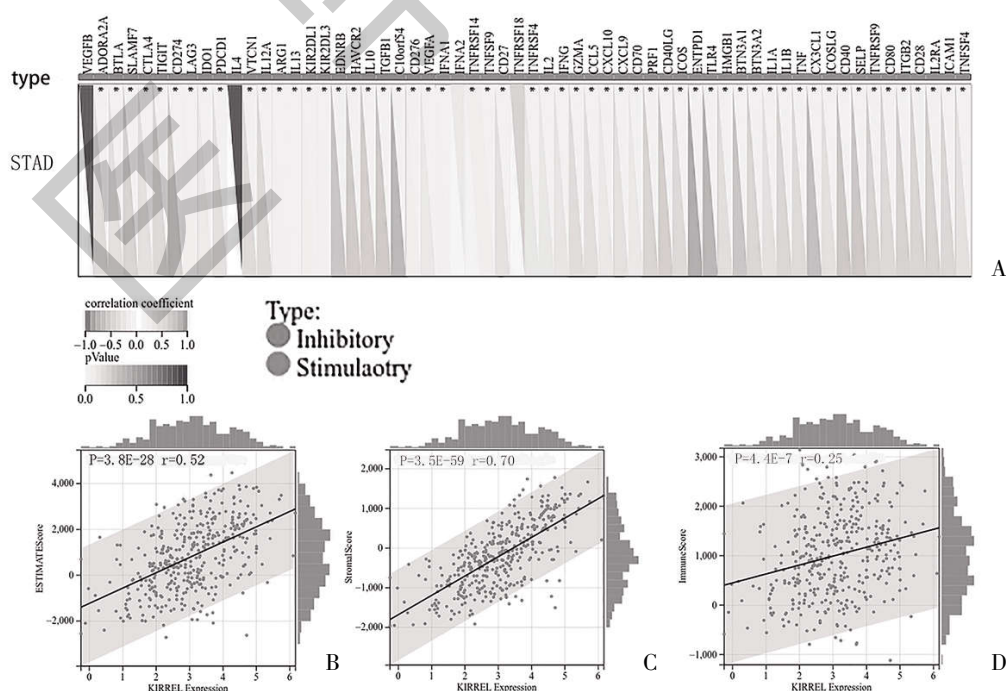
据 KIRREL 表达再次计算了胃癌中每例患者的基质分数、免疫分数和评估分数, 结果显示 KIRREL 的表达与基质分数、免疫分数和评估分数均呈正相关(基质分数: $r=0.70, P=3.5E-59$; 免疫分数: $r=0.25, P=4.4E-7$; 评估分数: $r=0.52, P=3.8E-28$), 见图 5B~5D。

2.5 KIRREL 表达与免疫细胞浸润的关系 TIMER 数据库分析显示, KIRREL 表达与 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润等级呈正相关($P<0.05$), 与肿瘤纯度、B 细胞无相关性($P>0.05$), 见表 1。



注:A:GEPIA 数据库;B:Kaplan-Meier 数据库

图 4 KIRREL 表达对胃癌患者预后的价值



注:KIRREL 的表达与 ICP(A)、评估分数(B)、基质分数(C)和免疫分数(D)的相关性

图 5 KIRREL 表达与免疫检查点基因和 ESTIMATE 分数的关系

表 1 KIRREL 表达与免疫细胞浸润的关系

免疫细胞	Cor	P
纯度	-0.1	5.05E-02
B 细胞	0.055	2.88E-01
CD8 ⁺ T 细胞	0.159	2.14E-03
CD4 ⁺ T 细胞	0.499	2.13E-24
巨噬细胞	0.582	7.44E-35
中性粒细胞	0.218	2.23E-05
树突状细胞	0.402	7.78E-16

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤,其发生、发展、转移受到多种因素影响,目前仍以手术为主要治疗手段。但由于其进展较快,很多患者失去手术机会,严重威胁患者生命健康。近年来随着分子生物学和肿瘤免疫学的快速发展,出现了一系列新的肿瘤治疗方法,包括放射治疗、化学治疗、免疫治疗等,逐渐成为治疗恶性肿瘤的新选择。其中,免疫治疗在临床上得到了广泛应用,并取得了显著的疗效,以 PD-1/PD-L1 抑制剂、HER2 具有代表性^[15,16]。既往研究表明^[17],KIRREL 在肿瘤发生、炎症反应、足细胞细胞修复和神经元发育等过程中起到重要作用。但 KIRREL 在胃癌的发生、发展中是否发挥重要作用,并能够作为免疫治疗的潜在靶点尚未可知。因此,本研究通过数据挖掘对 TCGA、GEO 等常见的生物医学信息数据库进行分析,以期对胃癌的免疫治疗提供新的选择。

本研究首先通过 TIMER 和 UALCAN 数据库分析了 KIRREL 在恶性肿瘤组织和癌旁组织中的差异表达,发现 KIRREL 在胆管癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、胃癌的肿瘤组织中的表达水平高于相对应的癌旁组织,差异有统计学意义 ($P<0.05$);而 KIRREL 在膀胱尿路上皮癌、乳腺浸润癌、肾嫌色细胞癌、肾乳头状细胞癌、肺腺癌、肺鳞癌、前列腺癌、甲状腺癌、子宫内膜癌中表达下调 ($P<0.05$);通过 UALCAN 数据库分析 TCGA 数据,发现 KIRREL 在胃癌组织中表达具有显著差异 ($P=1.18E-06$),提示 KIRREL 在胃癌的发生过程中起到重要作用。然后,经 UALCAN 数据库进一步分析 KIRREL 在胃癌患者不同临床特征中的表达,发现 KIRREL 的表达与胃癌患者肿瘤分期、分级、淋巴转移密切相关,表明 KIRREL 表达对胃癌的发展和侵袭起到促进作用。接着,通过 GEPIA 和 Kaplan-Meier 数据库分析

KIRREL 与胃癌患者预后关系得出,高表达的 KIRREL 患者具有更低的生存率。上述分析结果提示,KIRREL 的高表达在胃癌的发生、发展、侵袭、不良预后中起重要作用,是潜在的预后生物标志物。此外,通过 TIMER 数据库探究发现,KIRREL 表达与 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润等级有显著相关性,与 B 细胞无相关性。另一方面,通过 Sangerbox 数据库分析与 KIRREL 密切相关的免疫检查点,发现在胃癌患者中有 60 个免疫检查点途径基因 (Inhibitory=24, Stimulatory=36) 与 KIRREL 的表达有显著相关性。然后,根据 KIRREL 表达再次计算了胃癌中每例患者的基质分数、免疫分数和评估分数,结果显示 KIRREL 的表达与基质分数、免疫分数和评估分数均呈正相关。上述结果表明,KIRREL 调控了胃癌肿瘤微环境中的免疫细胞浸润及免疫检查点基因,参与肿瘤的免疫逃避和抑制,为胃癌的免疫治疗提供了理论基础^[18-20],提示 KIRREL 可能成为肿瘤免疫治疗的潜在靶点。

但本研究仍有很多局限性:首先,所有数据的来源是各个数据库对 TCGA 数据的加工、处理,各数据库之间的统计方法可能存在误差,缺乏特异性;其次,缺乏更多的实验数据来进一步证明 KIRREL 的高表达在胃癌肿瘤生成、发展和侵袭以及调控免疫细胞浸润等级和免疫检查点基因中的具体机制,需要更多的体内和体外实验设计来验证研究结果。

综上所述,KIRREL 在胃癌的发生、发展及免疫浸润中发挥了关键作用,可以作为评估患者临床预后的生物学标记物和指导免疫治疗的潜在靶点。

参考文献:

- [1]Sung H,Ferlay J,Siegel RL,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]吴开春.胃癌发生与幽门螺杆菌相关胃炎及癌前病变[J].肿瘤综合治疗电子杂志,2022,8(2):1-4,6.
- [3]Usui G,Matsusaka K,Mano Y,et al.DNA Methylation and Genetic Aberrations in Gastric Cancer [J].Digestion,2021,102(1): 25-32.
- [4]胡礼,杨力,严志龙,等.全腹腔镜次全胃切除术在中上部早期胃癌治疗中的应用[J].腹腔镜外科杂志,2022,27(1):23-27.
- [5]刘俊英,刘腾,王超,等.腹腔镜辅助与开腹 D2 胃癌根治术对进展期胃癌治疗效果的前瞻性研究 [J]. 腹腔镜外科杂志,

2021,26(3):200–205.

[6]赵怡,张正筠,姚敬,等.紫杉醇联合奥沙利铂及 S-1 的新辅助化疗方案对进展期胃癌治疗效果评价 [J]. 现代肿瘤医学, 2020,28(19):3378–3382.

[7]孙宏建.腹腔镜辅助 D2 根治性全胃切除术联合细胞免疫对胃癌患者肿瘤标志物水平的影响[J]. 吉林医学,2022,43(3): 674–676.

[8]Sellin L,Huber TB,Gerke P,et al.NEPH1 defines a novel family of podocin interacting proteins [J].FASEB J,2003,17(1): 115–117.

[9]Solanki AK,Arif E,Srivastava P,et al.Phosphorylation of slit diaphragm proteins NEPHRIN and NEPH1 upon binding of HGF promotes podocyte repair [J].J Biol Chem,2021,297(3): 101079.

[10]Brignall AC,Raja R,Phen A,et al.Loss of Kirrel family members alters glomerular structure and synapse numbers in the accessory olfactory bulb [J].Brain Struct Funct,2018,223(1):307–319.

[11]Beall MH,Amidi F,Gayle DA,et al.Placental and fetal membrane Nephrin and Neph1 gene expression: response to inflammation[J].J Soc Gynecol Investig,2005,12(5):298–302.

[12]Lundgren S,Fagerström-Vahman H,Zhang C,et al.Discovery of KIRREL as a biomarker for prognostic stratification of patients with thin melanoma[J].Biomark Res,2019,7:1.

[13]Zhang MJ,Hong YY,Li N.Overexpression of Kin of IR-

RE-Like Protein 1 (KIRREL) in Gastric Cancer and Its Clinical Prognostic Significance [J].Med Sci Monit,2018,24:2711–2719.

[14]Hu B,Shi C,Jiang HX,et al.Identification of novel therapeutic target genes and pathway in pancreatic cancer by integrative analysis[J].Medicine (Baltimore),2017,96(42):e8261.

[15]Wu X,Gu Z,Chen Y,et al.Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy[J].Comput Struct Biotechnol J,2019,17: 661–674.

[16]Van Cutsem E,Bang YJ,et al.HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer[J].Gastric Cancer,2015,18(3):476–484.

[17]Chen K,Zhao R,Yao G,et al.Overexpression of kin of IR-RE-Like protein 1 (KIRREL) as a prognostic biomarker for breast cancer[J].Pathol Res Pract,2020,216(7):153000.

[18]Tsuchiya H,Shiota G.Immune evasion by cancer stem cells [J].Regen Ther,2021,17:20–33.

[19]Li B,Severson E,Pignon JC,et al.Comprehensive analyses of tumor immunity: implications for cancer immunotherapy [J].Genome Biol,2016,17(1):174.

[20]Zeng D,Wu J,Luo H,et al.Tumor microenvironment evaluation promotes precise checkpoint immunotherapy of advanced gastric cancer[J].J Immunother Cancer,2021,9(8):e002467.

收稿日期:2022-05-24;修回日期:2022-07-11

编辑/杜帆