

COL6A3 基因与胃癌免疫浸润水平及临床预后的相关性分析

张竞^{1,2,3}, 谢扬^{1,2,3}, 王凤^{1,2,3}, 齐健^{1,2,3*}

1. 武汉大学中南医院 消化内科, 湖北 武汉 430071

2. 肠病湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430071

3. 湖北省肠病医学临床研究中心, 湖北 武汉 430071

【摘要】 目的 探讨 COL6A3 基因与胃癌免疫浸润水平及临床预后的相关性。方法 通过 Oncomine、TIMER 数据库分析不同癌症中 VI 型胶原蛋白 $\alpha 3$ 链(collagen type VI $\alpha 3$ chain, COL6A3) 的表达水平。通过 Kaplan-Meier Plotter、GEPIA 数据库评估 COL6A3 对胃癌临床预后的影响。利用 TIMER 和 GEPIA 数据库, 联合免疫相关细胞的标记基因评估 COL6A3 在胃癌中与免疫细胞浸润水平的相关性。结果 与正常组织相比, COL6A3 在胃癌、结直肠癌和食管癌等组织中的高表达; COL6A3 的高表达与胃癌较差的总生存(overall survival, OS)率、后进展生存(post progression survival, PPS)率、首次进展(first progression, FP)率显著相关(OS HR=1.33, $P=0.0015$; PPS HR=1.54, $P<0.001$; FP HR=1.36, $P=0.003$); COL6A3 的高表达与 II~IV 期胃癌患者较差的 OS 率和 PPS 率有关, 而与 I 期和 N₀ 期胃癌患者无关($P=0.23, r=0.18$; $P=0.09, r=0.16$); COL6A3 的表达与 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞在胃癌中的浸润水平呈正相关。结论 COL6A3 与胃癌免疫浸润水平相关, 包括 CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞。COL6A3 可作为判断胃癌预后不良的标志物, 且与胃癌的免疫浸润呈正相关。

【关键词】 胃癌; 免疫浸润; 临床预后

Correlation analysis of COL6A3 gene and immune infiltration level and clinical prognosis of gastric cancer

Zhang Jing^{1,2,3}, Xie Yang^{1,2,3}, Wang Feng^{1,2,3}, Qi Jian^{1,2,3*}

1. Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

2. Key Laboratory of Intestinal and Colorectal Diseases, Wuhan 430071, Hubei, China

3. Hubei Clinical Research Center of Intestinal and Colorectal Diseases, Wuhan 430071, Hubei, China

【Abstract】 **Objective** To explore the correlation between the COL6A3 gene and immune infiltration level and clinical prognosis of gastric cancer. **Methods** The mRNA expression levels of collagen type VI $\alpha 3$ chain (COL6A3) in different cancers were analyzed through the Oncomine, Tumor Immune Estimation Resource (TIMER) database. We assessed the effect of COL6A3 on clinical prognosis via Kaplan-Meier plotter and Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA). TIMER and GEPIA database were also used to evaluate the correlations between COL6A3 and the infiltrating levels of immune cells in gastric cancer, and relate genes and markers of immune cells in gastric cancer. **Results** the COL6A3 expression was higher in gastric, colorectal and esophageal tumors compared to the normal tissues. In addition, high COL6A3 expression was significantly correlated with poor overall survival (OS), post-progression survival (PPS), first progression (FP) in gastric cancers (OS HR=1.33, $P=0.0015$; PPS HR=1.54, $P<0.001$; FP HR=1.36, $P=0.003$). Specifically, high COL6A3 expression was correlated with worse OS and PPS in stage II to IV but not stage I and stage N₀ gastric cancer patients ($P=0.23, r=0.18$; $P=0.09, r=0.16$). Moreover, COL6A3 expression was positively correlated with infiltrating levels of CD4⁺ T and CD8⁺ T cells, macrophages, neutrophils, and

基金项目: 湖北省卫生健康委员会联合基金重点项目(WJ2019H056)

第一作者: 张竞, 硕士研究生, E-mail: 2018203030021@whu.edu.cn

* 通信作者: 齐健, 主任医师, E-mail: qiqidelizi@163.com

dendritic cells (DCs) in and stomach adenocarcinoma (STAD). **Conclusions** These findings suggest that COL6A3 is correlated with prognosis and immune infiltrating levels including those of CD8⁺ T cells, CD4⁺ T cells, macrophages, neutrophils, and DCs in patients with gastric cancer. COL6A3 can be used as an unfavorable prognostic biomarker for determining prognosis, and positively correlated with immune infiltration in gastric cancer.

【Key words】 Gastric cancer; Immune infiltration; Clinical prognosis

胃癌是全球常见的恶性肿瘤之一,是引起癌症相关性死亡的第四大主要原因,由于其较高的侵袭性、进展快、预后差等特点,成为全球性重点关注的健康问题^[1-3]。尽管在胃癌的预防、诊断、筛查、手术切除和辅助化疗等方面取得了一定进展,但其临床效果仍有待提高。在近10年中,以程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1,PD-1)/程序性死亡配体1(programmed cell death 1 ligand 1,PD-L1)为代表的治疗策略在癌症免疫治疗领域取得了成功^[4],目前免疫疗法依然是肿瘤学研究的热点,在恶性黑色素瘤、非小细胞肺癌、转移性尿路上皮等肿瘤中表现出显著的疗效^[5],但与以上肿瘤相比,胃癌免疫治疗的进展缓慢。因此,确定新的免疫相关治疗靶点,阐明胃癌-免疫相互作用的免疫表型,是目前胃癌免疫治疗的重要研究方向。

COL6A3是COL6家族的成员,位于染色体2q37上,编码VI型胶原蛋白3 α 链,是VI型胶原蛋白3个亚基之一,对于VI型胶原蛋白的稳定组装过程至关重要^[6]。VI型胶原蛋白在多种人体组织中表达,在结缔组织、神经组织、肌肉组织和细胞外基质环境中广泛分布,为细胞提供物理支持^[6-8]。COL6A3作为VI型胶原蛋白的亚基,其表达在肿瘤组织中普遍升高,如食管癌、乳腺癌、胰腺癌、结肠直肠癌,其高表达与肿瘤的增殖、侵袭、迁移和凋亡密切相关^[9-12]。然而,关于COL6A3在胃癌中的预后作用及其与免疫浸润间的关系尚未明确。在本研究中,利用数据库分析探讨COL6A3在不同癌症患者中的表达及其与胃癌预后的关系并评估COL6A3与肿瘤浸润性免疫细胞及免疫标志物的相关性。

1 材料与方法

1.1 Oncomine 数据库分析 Oncomine 数据库(<https://www.oncomine.org/resource/login.html>)是目前较全面的肿瘤基因芯片数据库,旨在收集、分析

和标准化癌症转录组数据并将其用于生物医学研究。利用 Oncomine 数据库分析 COL6A3 在人类不同肿瘤组织中的表达水平。

1.2 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 Kaplan-Meier Plotter(<https://kmplot.com/analysis/>)是目前常用于发现和验证癌症生存相关生物标志物的数据库,其整合来源于 GEO、EGA 和 TCGA 的数据,能够评估 5 万多个基因对 21 种癌症类型存活率的影响。在本文中,利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 COL6A3 在胃癌中的表达与生存的关系。

1.3 TIMER 数据库分析 TIMER(<https://cistrome.org/Shinyapps.io/Timer/>)是一个全面用于系统性分析不同癌症类型免疫浸润水平的数据库,应用去卷积统计方法,从基因表达谱推断肿瘤浸润免疫细胞的丰度。在本文中,利用 TIMER 数据库基因模块分析胃癌中 COL6A3 基因的表达与各种免疫浸润细胞的相关性,并通过相关模块分析 COL6A3 基因与胃癌免疫浸润细胞标记基因之间的关系。

1.4 GEPIA 数据库分析 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)是一个基因表达谱交互分析的在线数据库,可用于单基因分析、多基因分析以及肿瘤类型分析。使用 GEPIA 进一步确认 COL6A3 在胃癌中的表达水平以及 TIMER 中显著相关的基因。

1.5 统计学分析 生存曲线由 Kaplan-Meier 曲线绘制。Oncomine 中生成的结果以 *P* 值、折叠变化和排名显示。Kaplan-Meier 曲线图和 GEPIA 的结果以来自对数秩检验的 *HR* 和 *P* 或 *Cox P* 值显示。用 Spearman 相关分析和统计学意义评估基因表达的相关性,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COL6A3 在人类不同肿瘤中的表达水平 为利用 Oncomine 数据库分析了不同肿瘤和各正常组织中 COL6A3 mRNA 的表达水平。分析表明,与正常组织相比,COL6A3 在胃癌、结肠直肠癌、食管

癌、肝癌、胰腺癌和淋巴瘤中高表达(图1A), COL6A3在膀胱癌、宫颈癌、卵巢癌、肺癌以及黑色素瘤中低表达(图1A);使用TIMER数据库中多种恶性肿瘤的RNA-SEQ数据检测了COL6A3的表达。结果显示,在浸润性乳腺癌、食管癌、结肠腺癌、胆管癌和头颈部癌组织中表达明显高于各自癌旁的正常组织(图1B),而在膀胱尿路上皮癌、前列腺癌和子宫内膜癌组织中表达明显低于各自癌旁的正常组织(图1B)。此外,再次利用Oncomine数据库和GEPIA数据库共同确认了COL6A3在胃癌中的高表达状态(图2)。

2.2 COL6A3在胃癌中的预后潜能 为了探索COL6A3的表达与胃癌患者的预后间的关系。利用Kaplan-Meier Plotter分析COL6A3在胃癌中的表达与生存的关系,结果表明COL6A3的高表达与胃癌较差的总生存率(图3A)、后进展生存率(图3B)、首次进展生存率(图3C)显著相关(总生存率 $HR=1.33, P=0.0015$;后进展生存率 $HR=1.54, P=1e-04$;首次进展生存率 $HR=1.36, P=0.003$);

2.3 COL6A3高表达对胃癌淋巴结转移患者预后的影响 为了进一步明确COL6A3在胃癌中表达与预后的相关性和潜在机制,再次利用Kaplan-Meier Plotter中分析COL6A3表达与胃癌患者临床特征的关系。结果表明,COL6A3的表达与胃癌分期、Lauren分型以及分化程度有关($P<0.05$)(表1)。COL6A3的高表达与II~IV期胃癌患者较差的

总生存率和后进展生存率有关,而与1期和 N_0 期胃癌患者无关($P=0.23, r=0.18; P=0.09, r=0.16$)(表1)。N分期是根据淋巴结转移情况而划分: N_0 表示无区域淋巴结转移, N_1 表示1~2个区域淋巴结转移, N_2 表示3~6个区域淋巴结转移, N_3 表示7个及7个以上区域淋巴结转移。此外,在4个N分期中, N_1 期的总生存率和进展后生存率的HR值最高(表1)。

2.4 COL6A3的表达与胃癌中的免疫浸润水平相关 利用TIMER数据库分析评估COL6A3的表达与胃癌免疫浸润水平的相关性,结果表明,在胃癌中,COL6A3的表达与胃癌的肿瘤纯度呈负相关关系($r=-0.124, P=0.0153$),与 $CD8^+T$ 细胞($r=0.163, P=1.66e-03$)、 $CD4^+T$ 细胞($r=0.324, P=2.08e-10$)、巨噬细胞($r=0.564, P=1.96e-32$)、中性粒细胞($r=0.311, P=9.41e-10$)、树突状细胞($r=0.426, P=9.04e-18$)呈正相关关系。

2.5 COL6A3的表达与免疫标记基因相关 为了进一步探讨COL6A3与多种免疫浸润细胞的关系,利用TIMER数据库重点分析了COL6A3与胃癌中 $CD8^+T$ 细胞、 $CD4^+T$ 细胞、肿瘤相关巨噬细胞、M1巨噬细胞、M2巨噬细胞和树突状细胞等不同类型免疫细胞的典型标志物进行相关性分析(表2、图5)。同时,评估了不同类型的功能性T细胞的标志物,如Th1、Treg和T细胞耗竭(表2)。经肿瘤纯度相关性调整后发现,胃癌中COL6A3的

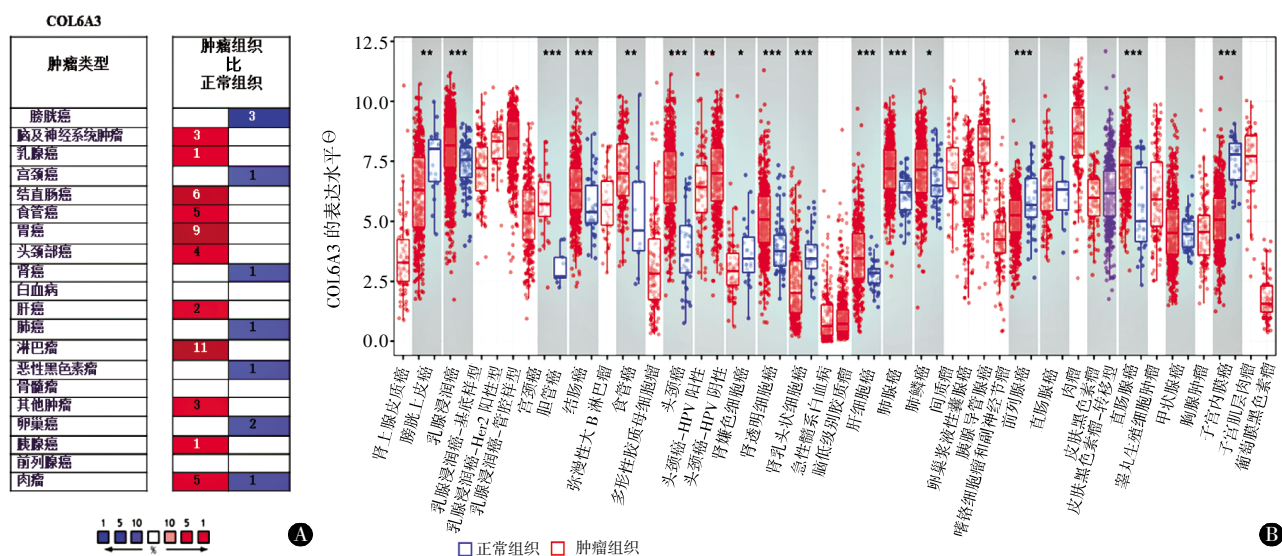


图1 COL6A3在人类不同肿瘤中的表达水平

注:A为Oncomine数据库分析COL6A3在不同肿瘤数据集中的表达水平;B为TIMER数据库分析COL6A3在不同癌症类型中的表达水平;HPV为人乳头瘤病毒,Her2为人表皮生长因子受体2

表达水平与各种免疫细胞和功能性 T 细胞的大部分免疫标志物基因显著相关, 其中 COL6A3 的表达水平与肿瘤相关性巨噬细胞和 M1/M2 型巨噬细胞标志物的表达水平有很强的相关性, 如肿瘤相关巨噬细胞的标记基因 *CCL-2*、*IL-10*, M1 型巨噬细胞标记基因 *PTGS2*、*IRFS*, M2 型巨噬细胞标记基因 *CD163*、*VSIG4*、*MS4A4A* ($P < 0.0001$, 表 2、图 5)。同时, 利用 GEPIA 数据库再次确认 COL6A3 基因与单核细胞和巨噬细胞标记基因间的相关性

(表 3), 发现 COL6A3 与肿瘤相关性巨噬细胞、M1/M2 型巨噬细胞标志物的相关结果与 TIMER 的结果一致 ($P < 0.0001$, 表 3)。

此外, COL6A3 的高表达与树突状细胞在胃癌中浸润水平有关, 树突状细胞标记基因 *ITGAX*、*NRP1* 也与 COL6A3 的表达显著相关 ($P < 0.0001$, 表 2、图 5); 同时, 发现 COL6A3 与调节性 T 细胞、T 细胞耗竭的标志基因 *FOXP3*、*HAVCR2* 有显著的相关性 ($P < 0.0001$, 表 2)。

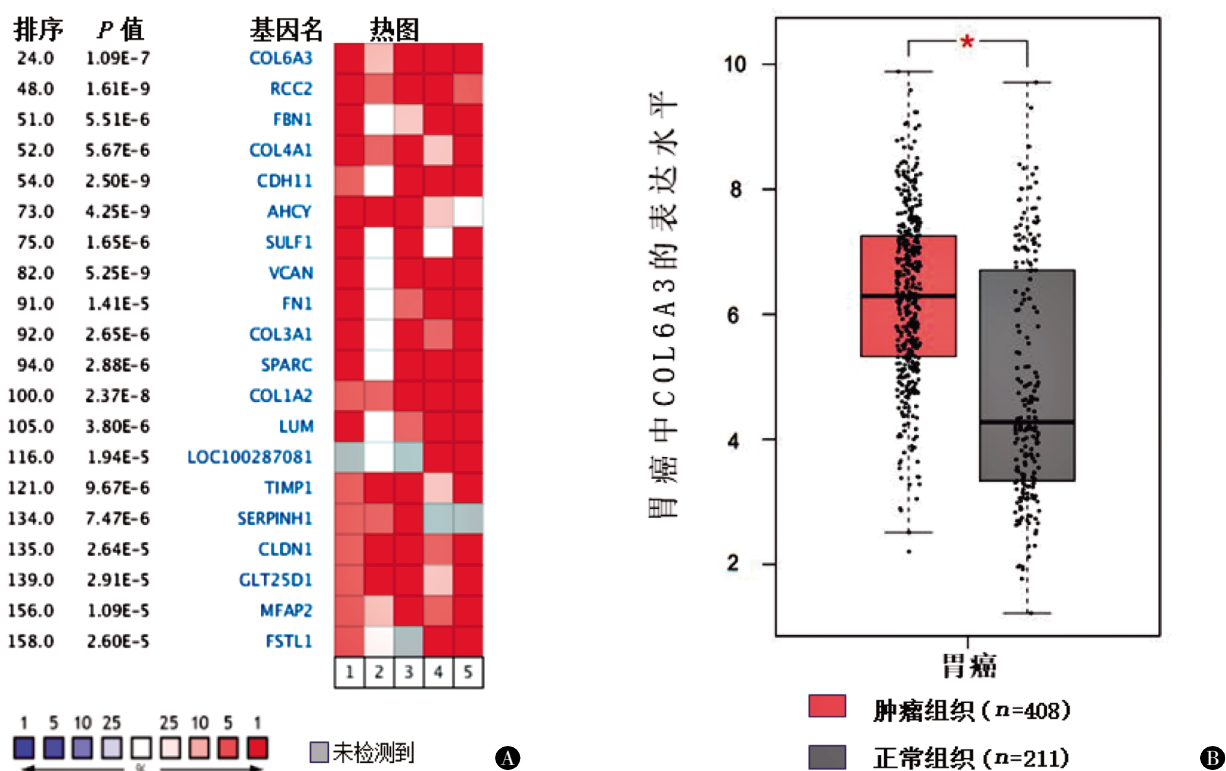


图 2 COL6A3 在胃癌中的表达水平

注: A 为 Oncomine 数据库筛选胃癌中过表达基因; B 为 GEPIA 数据库分析胃癌中 COL6A3 的表达水平

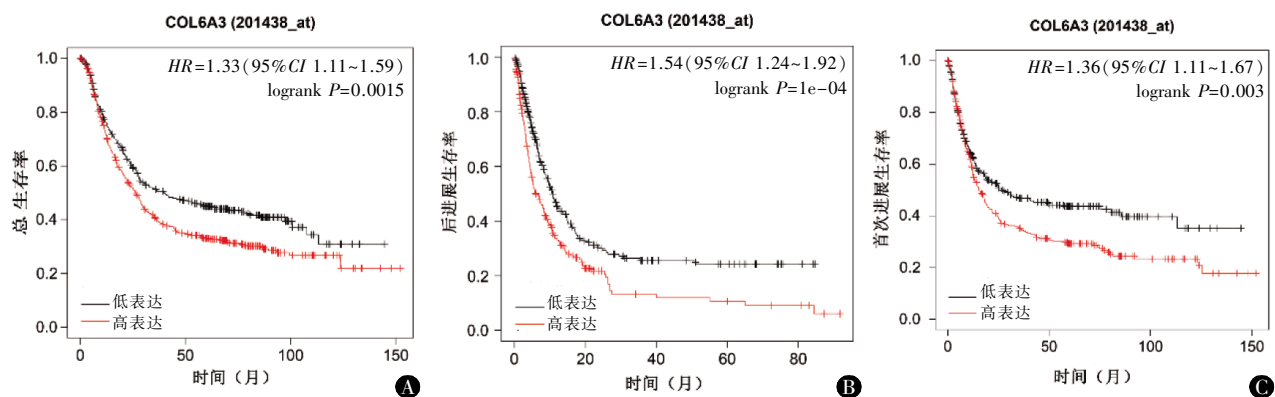


图 3 COL6A3 表达水平与胃癌患者的预后关系

注: A 为 COL6A3 的表达与胃癌总生存率的关系; B 为 COL6A3 的表达与胃癌后进展生存率的关系; C 为 COL6A3 的表达与胃癌首次进展生存率的关系

表1 Kaplan-Meier 数据库分析 COL6A3 的表达水平与胃腺癌临床病理特征的关系

临床病理特征	总体生存率			后进展生存率		
	例数	HR(95%CI)	P	例数	HR(95%CI)	P
性别						
女性	236	1.54(1.04~2.28)	0.030	149	1.17(1.07~2.70)	0.022
男性	544	1.39(1.12~1.72)	0.002	348	1.59(1.23~2.06)	<0.001
分期						
1	67	0.54(0.20~1.50)	0.230	31	0.33(0.06~1.83)	0.180
2	140	2.00(1.10~3.65)	0.021	105	2.78(1.42~5.45)	0.002
3	305	1.51(1.06~2.16)	0.022	142	2.01(1.30~3.11)	0.001
4	148	1.72(1.17~2.53)	0.005	104	1.81(1.10~2.98)	0.018
T分期						
I	14	-	-	3	-	-
II	241	1.83(1.20~2.81)	0.005	196	2.45(1.56~3.86)	<0.001
III	204	1.28(0.89~1.84)	0.018	150	1.43(0.96~2.13)	0.075
IV	38	2.63(1.14~6.09)	0.019	29	1.45(0.57~3.70)	0.430
N分期						
0	74	2.05(0.88~4.79)	0.090	41	3.82(1.2~12.28)	0.160
1	225	2.28(1.50~3.45)	<0.001	169	2.80(1.75~4.48)	<0.001
2	121	1.84(1.11~3.07)	0.017	105	1.84(1.14~2.96)	0.011
3	76	1.62(0.95~2.75)	0.075	63	1.81(0.99~3.31)	0.049
M分期						
0	444	1.92(1.45~2.54)	<0.001	342	2.31(1.71~3.13)	<0.001
1	56	1.59(0.88~2.89)	0.012	36	2.78(1.23~6.28)	0.011
Lauren分型						
肠型	320	2.26(1.65~3.10)	<0.001	192	2.51(1.67~3.79)	<0.001
弥漫型	241	1.43(1.00~2.03)	0.048	176	1.92(1.29~2.86)	0.001
分化程度						
差	165	0.75(0.48~1.18)	0.220	49	1.56(0.82~2.98)	0.170
中	67	1.79(0.93~3.43)	0.076	24	0.48(0.60~1.46)	0.090
较好	32	4.78(1.7~10.11)	<0.001	-	-	-

注:“-”表明数据库该项样本数未达到统计分析要求

3 讨论

胃癌是世界性的重大健康问题,在中国,其发病率和死亡率方面仅次于肺癌,5年生存率仅为28%^[13]。由于大部分患者早期无特异性症状,就诊时多已发展至进展期胃癌,其治疗成功主要依赖于精准的早癌筛查及镜下治疗,即使术后联合化疗,也只适用于晚期胃癌患者延长生存期。VI型胶原蛋白 $\alpha 3$ 链(COL6A3)及其被切割的C5结构域片段(内啡肽)在多种癌组织中高表达,可通过趋化作用募集巨噬细胞和内皮细胞以调节肿瘤的微环境,最终促进肿瘤的炎症和血管生成^[6, 9, 10, 14],在癌症进展中起重要作用。Iyenga等^[10]研究表明COL6A3参与诱导乳腺癌进展相关的基因,并促进体内原发性肿瘤的生长。在胃癌细胞中沉默COL6A3可通过调节PI3K-Akt信号通路抑制癌细

胞的增殖、侵袭和迁移^[11, 12]。以上这些发现揭示了COL6A3调节细胞生物学功能的潜在机制。

本研究发现COL6A3在多种肿瘤组织和其正常组织之间存在差异表达,且多种数据库分析均表明,与正常组织相比COL6A3在胃癌中高表达。生存分析发现,COL6A3的高表达与胃癌较差的总生存率、进展后生存率、首次进展生存率显著相关,并且COL6A3的表达与胃癌分期、Lauren分型以及分化程度有关。同时,COL6A3的高表达与II~IV期胃癌患者较差的总生存率和进展后生存率有关,而与I期和N₀期胃癌患者无关,这些发现表明COL6A3是胃癌的预后生物标志物。研究发现COL6A3的高表达是结直肠癌、肝纤维化、肝细胞肝癌和转移性肾癌的不良预后因素^[15-17]。

这项研究另一个重要的发现是COL6A3的表达与胃癌的免疫浸润水平有关,在胃癌中,COL6A3

的表达与 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润呈正相关关系,提示 COL6A3 在胃癌的肿瘤细胞免疫浸润水平中的特定作用,尤其在巨噬细胞和树突状细胞的浸润水平,进一步分析表明胃癌中 COL6A3 的表达水平

与各种免疫细胞和功能性 T 细胞的大部分免疫标志物基因显著相关,尤其与肿瘤相关性巨噬细胞、M1/M2 型巨噬细胞标记基因的表达水平有很强的相关性,如肿瘤相关巨噬细胞的标记基因(CCL-2、IL-10)、M1 型巨噬细胞标记基因(PTGS2、IRF5),

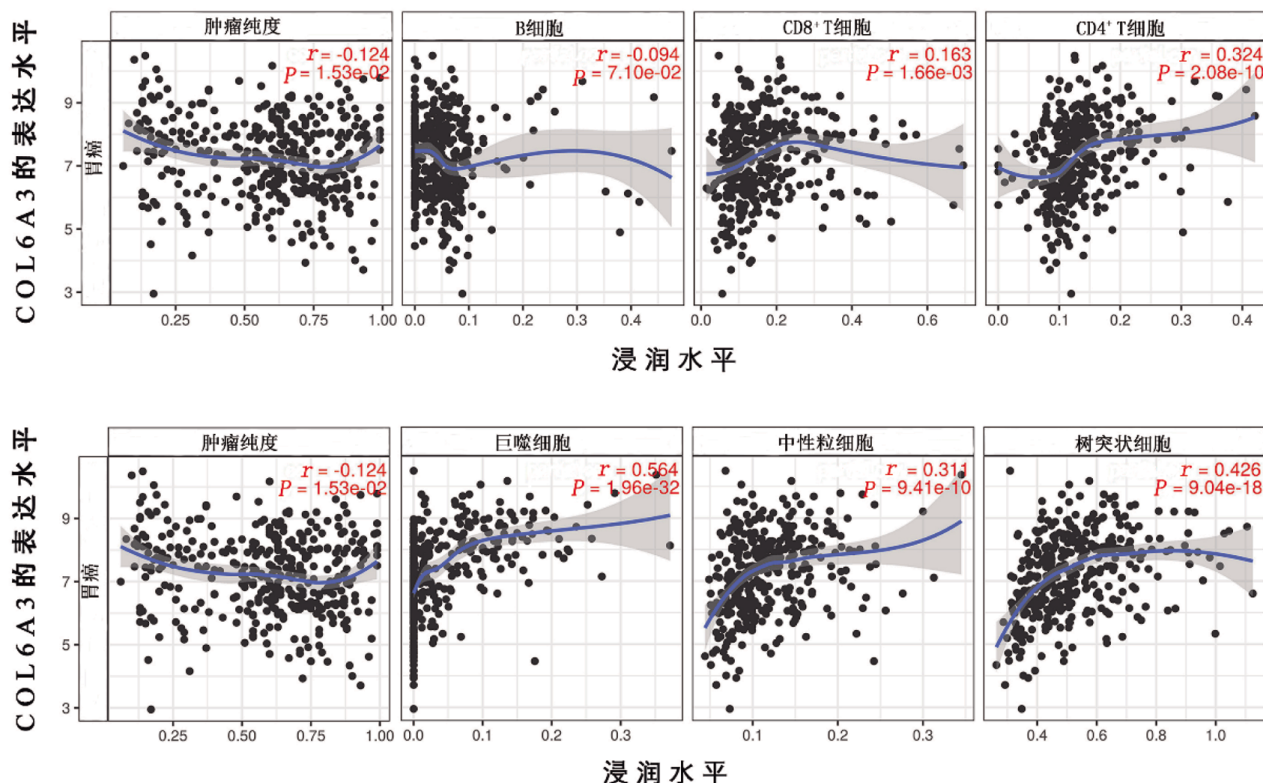


图4 COL6A3 的表达与胃癌中各免疫细胞浸润水平的关系

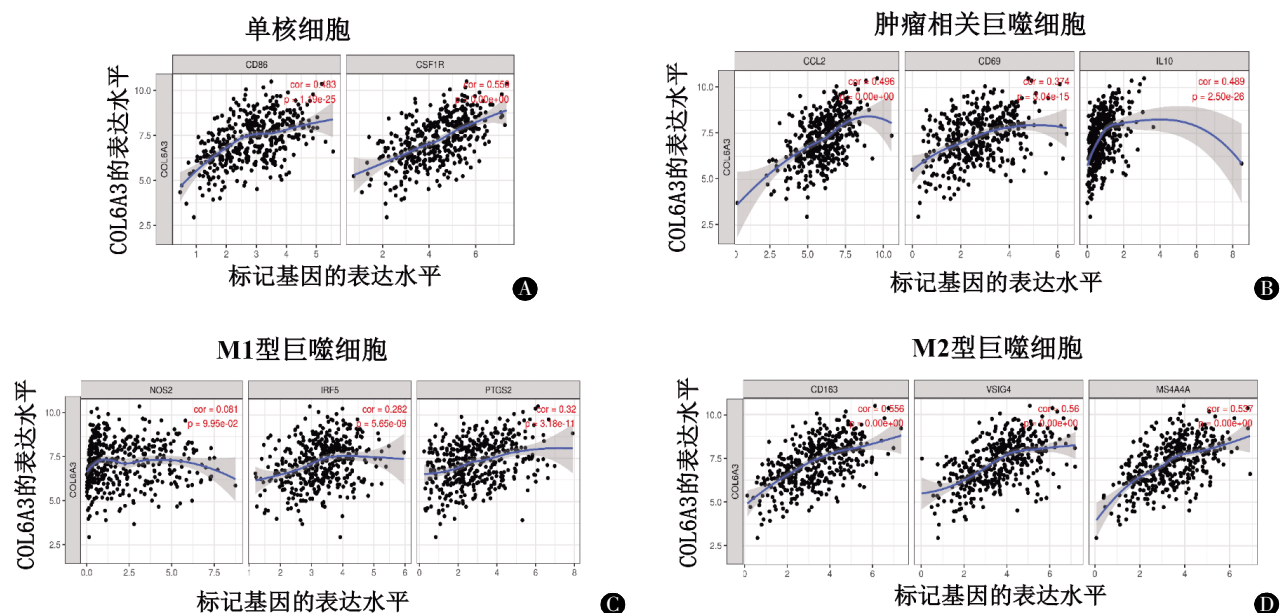


图5 胃癌中 COL6A3 表达与巨噬细胞极化的关系

注:胃癌中单核细胞(A)、肿瘤相关巨噬细胞(B)、M1 型巨噬细胞(C)和 M2 巨噬细胞(D)的标记基因与 COL6A3 基因之间的相关性

表2 TIMER数据库分析胃癌中COL6A3基因与免疫细胞标记基因的相关性

项目	标记基因	胃癌(GC)			
		调整前相关性		经肿瘤纯度调整后相关性	
		Cor	P	Cor	P
CD8 ⁺ T 细胞	<i>CD8A</i>	0.249	<0.001	0.233	<0.001
	<i>CD8B</i>	0.102	0.037	0.094	0.0664
T 细胞	<i>CD3D</i>	0.195	<0.001	0.169	<0.001
	<i>CD3E</i>	0.213	<0.001	0.190	<0.001
	<i>CD2</i>	0.266	<0.001	0.251	<0.001
B 细胞	<i>CD19</i>	0.194	<0.001	0.187	<0.001
	<i>CD79A</i>	0.191	<0.001	0.158	0.002
单核细胞	<i>CD86</i>	0.483	<0.001	0.470	<0.001
	<i>CSF1R</i>	0.559	<0.001	0.548	<0.001
肿瘤相关巨噬细胞	<i>CCL2</i>	0.496	<0.001	0.467	<0.001
	<i>CD68</i>	0.374	<0.001	0.366	<0.001
	<i>IL10</i>	0.489	<0.001	0.482	<0.001
M1 型肿瘤细胞	<i>NOS2</i>	0.081	0.100	0.085	0.100
	<i>IRF5</i>	0.282	<0.001	0.278	<0.001
	<i>PTGS2</i>	0.320	<0.001	0.319	<0.001
M2 型肿瘤细胞	<i>CD163</i>	0.556	<0.001	0.539	<0.001
	<i>VSIG4</i>	0.560	<0.001	0.552	<0.001
	<i>MS4A4A</i>	0.537	<0.001	0.528	<0.001
中性粒细胞	<i>CEACAM8</i>	-0.009	0.850	0.011	0.824
	<i>ITGAM</i>	0.526	<0.001	0.513	<0.001
	<i>CCR7</i>	0.275	<0.001	0.256	<0.001
自然杀伤细胞	<i>KIR2DL1</i>	0.169	<0.001	0.177	<0.001
	<i>KIR2DL3</i>	0.083	0.100	0.082	0.110
	<i>KIR2DL4</i>	0.029	0.550	0.004	0.936
	<i>KIR3DL1</i>	0.097	0.047	0.086	0.093
	<i>KIR3DL2</i>	0.145	0.010	0.137	0.007
	<i>KIR3DL3</i>	-0.080	0.100	-0.062	0.227
	<i>KIR2DS4</i>	0.077	0.140	0.066	0.198
树突状细胞	<i>HLA-DPBI</i>	0.284	<0.001	0.260	<0.001
	<i>HLA-DQB1</i>	0.176	<0.001	0.149	0.003
	<i>HLA-DRA</i>	0.244	<0.001	0.225	<0.001
	<i>HLA-DPA1</i>	0.247	<0.001	0.225	<0.001
	<i>CD1c</i>	0.279	<0.001	0.266	<0.001
	<i>NRP1</i>	0.669	<0.001	0.658	<0.001
	<i>ITGAX</i>	0.554	<0.001	0.536	<0.001
滤泡辅助 Th1 细胞	<i>TBX21</i>	0.253	<0.001	0.247	<0.001
	<i>STAT4</i>	0.327	<0.001	0.325	<0.001
	<i>STAT1</i>	0.175	<0.001	0.182	<0.001
	<i>IFNG</i>	0.076	0.120	0.076	0.138
	<i>TNF</i>	0.191	<0.001	0.167	0.002
滤泡辅助 Th2 细胞	<i>GATA3</i>	0.302	<0.001	0.292	<0.001
	<i>STAT6</i>	0.194	<0.001	0.203	<0.001
	<i>STAT5A</i>	0.455	<0.001	0.460	<0.001
滤泡辅助 Th 细胞	<i>IL13</i>	0.194	<0.001	0.231	<0.001
	<i>BCL6</i>	0.430	<0.001	0.402	<0.001
滤泡辅助 Th17 细胞	<i>IL21</i>	0.106	0.029	0.100	0.053
	<i>STAT3</i>	0.457	<0.001	0.449	<0.001
调节型 T 细胞	<i>IL17A</i>	-0.131	0.010	-0.146	0.004
	<i>FOXP3</i>	0.313	<0.001	0.300	<0.001
	<i>CCR8</i>	0.424	<0.001	0.420	<0.001
	<i>STAT5B</i>	0.516	<0.001	0.515	<0.001
	<i>TGFB1</i>	0.607	<0.001	0.595	<0.001
T 细胞衰竭	<i>PDCD1</i>	0.223	<0.001	0.215	<0.001
	<i>CTLA4</i>	0.208	<0.001	0.194	<0.001
	<i>LAG3</i>	0.189	<0.001	0.173	<0.001
	<i>HAVCR2</i>	0.515	<0.001	0.510	<0.001
	<i>GZMB</i>	0.174	<0.001	0.146	0.004

注: Cor 为 Spearman 相关分析的 R 值

表3 GEPIA数据库分析胃癌中COL6A3基因与单核细胞和巨噬细胞标记基因间的相关性

类目	标记基因	胃癌(GC)			
		肿瘤组织		正常组织	
		Cor	P	Cor	P
单核细胞	<i>CD86</i>	0.480	<0.001	-0.170	0.320
	<i>CD115</i>	0.590	<0.001	0.240	0.160
肿瘤相关巨噬细胞	<i>CCL2</i>	0.490	<0.001	0.560	<0.001
	<i>CD68</i>	0.360	<0.001	-0.390	0.020
	<i>IL10</i>	0.520	<0.001	0.025	0.088
M1 型巨噬细胞	<i>INOS</i>	0.094	0.058	0.260	0.012
	<i>IRF5</i>	0.330	<0.001	-0.440	0.002
	<i>COX2</i>	0.350	<0.001	0.810	<0.001
M2 型巨噬细胞	<i>CD163</i>	0.520	<0.001	0.710	<0.001
	<i>VSIG4</i>	0.560	<0.001	0.520	0.002
	<i>MS4A4A</i>	0.560	<0.001	0.550	<0.001

注: Cor 为 Spearman 相关分析的 R 值

M2 型巨噬细胞标记基因 (CD163、USIG4、MS4A4A)。巨噬细胞是浸入肿瘤组织中主要的炎症细胞,其释放大量的炎症介质,创造炎症环境促进肿瘤生长并降低抗肿瘤免疫力^[18]。M1、M2 型巨噬细胞是其响应许多不同的刺激而改变的两种不同细胞表型, M1 型参与促炎反应, M2 型参与抗炎反应和组织修复,在肿瘤组织中,巨噬细胞的不同表型调节肿瘤不同阶段中肿瘤细胞的活性^[18, 19]。以上结果均提示 COL6A3 可能参与调控胃癌中的巨噬细胞极化。此外, COL6A3 的高表达与树突状细胞在胃癌中浸润水平有关, 树突状细胞标记基因 (ITGAX、NRP1) 也与 COL6A3 的表达显著相关。有研究表明, 树突状细胞可通过募集调节性 T 细胞和抑制 CD8⁺T 细胞杀伤作用进而促进肿瘤转移^[15-17], 然而在胃癌中 COL6A3 是否是树突状细胞介导的肿瘤转移过程中的关键因子, 仍需要更多的研究去证实。同时, 还发现 COL6A3 与调节性 T 细胞、T 细胞耗竭的标记基因 (FOXP3 和 HAVCR2 等基因) 有显著的相关性, 调节性 T 细胞具有高度免疫抑制特性, 维持免疫稳态。而在肿瘤组织中, 调节性 T 细胞渗入其中并通过其抑制免疫的特性限制抗肿瘤免疫应答从而有利于癌细胞逃避免疫监视^[17, 20, 21], FOXP3 作为调节性 T 细胞的重要标志物, 在调节性 T 细胞介导的免疫逃逸过程发挥重要作用^[20]。以上结果均提示 COL6A3 在胃癌微环境中可能参与癌细胞的免疫逃逸过程。

总而言之, COL6A3 表达与胃癌中 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞的免疫浸润水平有关。此外, 在胃癌中,

COL6A3 的表达可能有助于肿瘤相关巨噬细胞、树突状细胞、T 细胞衰竭和 Tregs 的调节。因此, COL6A3 可能在免疫浸润中发挥重要作用,可作为判断胃癌预后不良的标志物。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7–34.
- [2] MACHLOWSKA J, BAJ J, SITARZ M, et al. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): 4012.
- [3] ZHANG X Y, ZHANG P Y. Gastric cancer: somatic genetics as a guide to therapy [J]. J Med Genet, 2017, 54(5): 305–312.
- [4] GUO L, WEI R, LIN Y, et al. Clinical and Recent Patents Applications of PD-1/PD-L1 Targeting Immunotherapy in Cancer Treatment –Current Progress, Strategy, and Future Perspective [J]. Front Immunol, 2020, 11:1508.
- [5] PÉREZ-RUIZ E, MELERO I, KOPECKA J, et al. Cancer immunotherapy resistance based on immune checkpoints inhibitors: Targets, biomarkers, and remedies [J]. Drug Resist Updat, 2020, 53:100718.
- [6] WANG J, PAN W. The Biological Role of the Collagen Alpha-3 (VI) Chain and Its Cleaved C5 Domain Fragment Endotrophin in Cancer [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13:5779–5793.
- [7] KEENE D R, ENGVALL E, GLANVILLE R W. Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network [J]. J Cell Biol, 1988, 107(5): 1995–2006.
- [8] CHENG J S, DUBAL D B, KIM D H, et al. Collagen VI protects neurons against Abeta toxicity [J]. Nat Neurosci, 2009, 12(2): 119–121.
- [9] NANDA A, CARSON-WALTER E B, SEAMAN S, et al. TEM8 interacts with the cleaved C5 domain of collagen alpha 3 (VI)[J]. Cancer Res, 2004, 64(3): 817–820.
- [10] IYENGAR P, ESPINA V, WILLIAMS T W, et al. Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression in vivo, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment [J]. J Clin Invest, 2005, 115(5): 1163–1176.
- [11] LIU W, LI L, YE H, et al. Role of COL6A3 in colorectal cancer [J]. Oncol Rep, 2018, 39(6): 2527–2536.
- [12] AO R, GUAN L, WANG Y, et al. Silencing of COL1A2, COL6A3, and THBS2 inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion while promoting apoptosis through the PI3 k-Akt signaling pathway [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6): 4420–4434.
- [13] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115–132.
- [14] QIAO J, FANG C Y, CHEN S X, et al. Stroma derived COL6A3 is a potential prognosis marker of colorectal carcinoma revealed by quantitative proteomics [J]. Oncotarget, 2015, 6(30): 29929–29946.
- [15] SAWANT A, HENSEL J A, CHANDA D, et al. Depletion of plasmacytoid dendritic cells inhibits tumor growth and prevents bone metastasis of breast cancer cells [J]. J Immunol, 2012, 189(9): 4258–4265.
- [16] KOUČEK V, BOUČEK J, FIALOVÁ A. Immunology of Plasmacytoid Dendritic Cells in Solid Tumors: A Brief Review [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(4): 407.
- [17] SASIDHARAN NAIR V, ELKORD E. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy: a focus on T-regulatory cells [J]. Immunol Cell Biol, 2018, 96(1): 21–33.
- [18] FUNES S C, RIOS M, ESCOBAR-VERA J, et al. Implications of macrophage polarization in autoimmunity [J]. Immunology, 2018, 154(2): 186–195.
- [19] LIU Y C, ZOU X B, CHAI Y F, et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases [J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(5): 520–529.
- [20] SHANG B, LIU Y, JIANG S J, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. Sci Rep, 2015, 5:15179.
- [21] FACCIABENE A, MOTZ G T, COUKOS G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis [J]. Cancer Res, 2012, 72(9): 2162–2171.