

LAMP5 在泛癌发生和发展中的作用及免疫分析

朱俊菘 杨振宇 姚景凤 何泉禄 安家旭
长治医学院第一临床学院

DOI:10.12238/bmtr.v6i4.8491

[摘要] 目的：探究溶酶体相关膜蛋白5(LAMP5)在泛癌中的预后价值和潜在免疫功能。方法：从TCGA和GTEx数据库获取肿瘤和正常组织LAMP5的表达水平。采用logrank检验和Cox回归分析LAMP5表达与患者生存率的相关性,Kaplan-Meier分析评估数据库中患者的生存期,并绘制生存曲线。采用Timer法及QUANTISEQ法分析该基因表达与免疫细胞浸润及免疫检查点基因的相关性。结果：LAMP5在大多数肿瘤类型中差异表达,不同的瘤种中预测不同的生存状态,在大多数癌症为危险因素。此外,LAMP5的表达与免疫细胞之间调节作用显著相关,与免疫细胞浸润、免疫检查点密切相关。结论：LAMP5与癌症的发生和预后有显著关系,是潜在癌症生物标志物。具有极大免疫功能潜力,可用于开发新的靶向免疫治疗药物。

[关键词] LAMP5; 泛癌分析; 预后分析; 免疫分析

中图分类号: R392.3 **文献标识码:** A

Role and development of LAMP 5 in pan-carcinogenesis and immunoassay

Junsong Zhu Zhenyu Yang Jingfeng Yao Quanlu He Jiayu An
The First Clinical College of Changzhi Medical College

[Abstract] To explore the prognostic value and potential immune function of lysosomal-associated membrane protein 5 (LAMP 5) in pan-cancer. Methods: The expression levels of LAMP 5 in tumor and normal tissues were obtained from the TCGA and GTEx databases. The association of LAMP 5 expression and patient survival was analyzed by logrank test and Cox regression, and Kaplan-Meier analysis was used to evaluate patient survival in the database and survival curves were plotted. The correlation of this gene expression with immune cell infiltration and immune checkpoint genes was analyzed by Timer and QUANTISEQ methods. Results: LAMP 5 was differentially expressed in most tumor types, predicting different survival status in different tumor species, and being a risk factor in most cancers. Moreover, LAMP 5 expression was significantly correlated with the regulatory effect between immune cells, and was closely associated with immune cell infiltration and immune checkpoint. Conclusion: LAMP 5 has a significant relationship with cancer occurrence and prognosis, and is a potential cancer biomarker. It has great immune function potential and can be used to develop new targeted immunotherapeutic agents.

[Key words] LAMP 5; pan-cancer analysis; prognostic analysis; immunoassay 0 Introduction

引言

国家癌症中心二次统计发现,中国癌症的新发病例约457万例,占全世界新发病例的23.7%^[1]。人体免疫对于肿瘤的发生、发展、预后具有重要的意义,而肿瘤的免疫治疗的应用逐渐发展^[2,3]。尽管针对微卫星不稳定性(Microsatellite instability, MSI)和程序性死亡配体1(Programmed death ligand 1, PD-L1)等治疗方法获得许多成果,但就结果而言患者的5年生存率依旧小于20%^[4,5]。

溶酶体相关膜蛋白5(Lysosome-associated membrane protein 5, LAMP5)是跨膜蛋白,其分子量为31.7 kDa,其组成包括1个跨

膜结构域以及4个保守半胱氨酸的管腔结构域^[6]。LAMP5是目前较为关注的癌症相关蛋白,目前LAMP5已被发现参与多种癌症进程:在白血病、胃癌以及结肠直肠癌中发现,LAMP5表达均异常增高,并与其预后呈显著负相关^[7,8,9]。但研究仅限于胃癌、结肠直肠癌和白血病等特定类型的肿瘤,但尚无关于LAMP5的泛癌及免疫相关性研究。本研究利用数据库分析LAMP5表达与各种肿瘤发生、预后的关系;此外进一步研究LAMP5与免疫细胞浸润及免疫检查点的关系。结果提供了LAMP5在泛癌中的新见解,强调了其影响肿瘤微环境以及癌症免疫治疗的潜在机制。

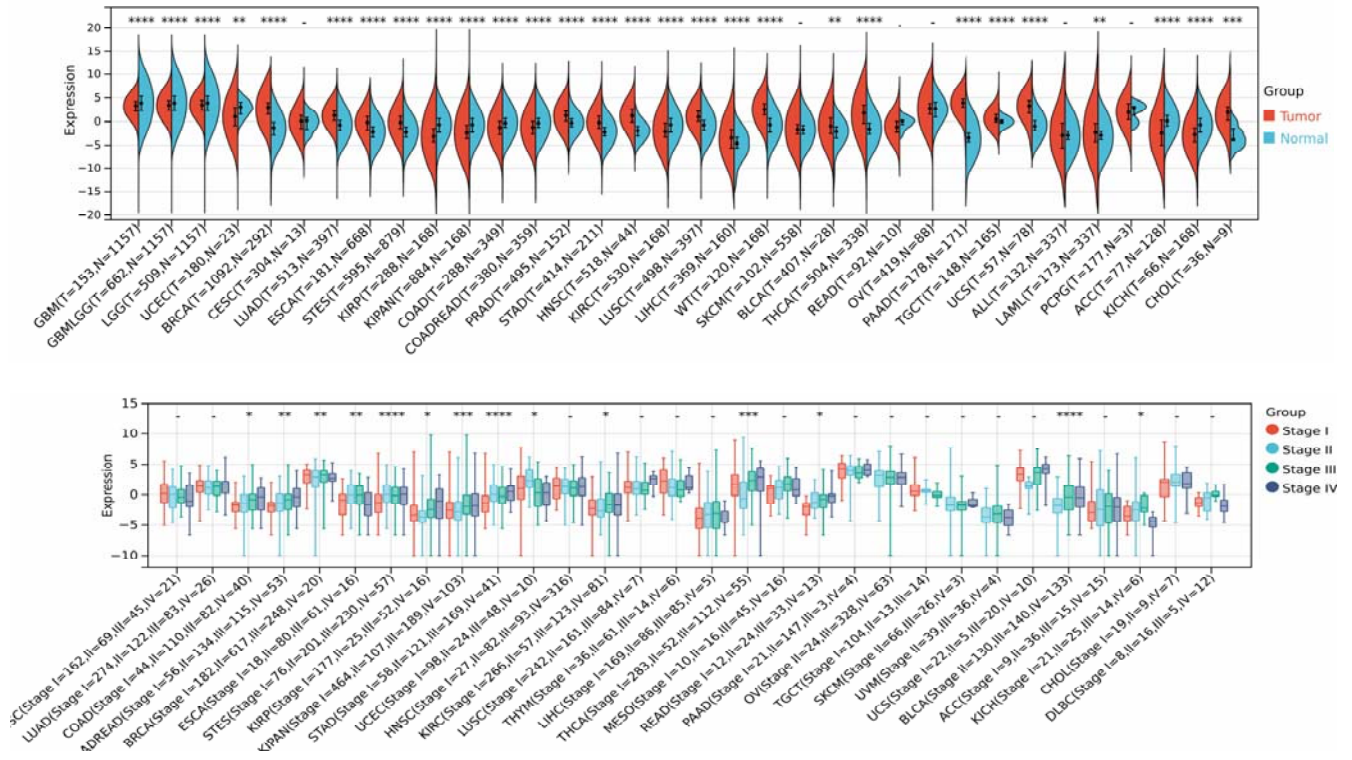


图1 (A)肿瘤组织与正常组织 LAMP5 的泛癌表达。(B)不同临床分期的泛癌 LAMP5 表达。(* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$)

1 材料与方法

1.1 数据收集。我们从UCSC (<https://xenabrowser.net/>) 数据库中下载了统一标准化的泛癌数据集: TCGA TARGET GTEx (PANCAN, $N=19131$, $G=60499$), 我们从中进一步提取ENSG00000125869 (LAMP5) 基因在各样本中的表达数据, 并筛选来源为: 正常实体组织、原发性实体瘤、原发性肿瘤、正常组织、原发性血源性骨髓癌症、原发性外周血液衍生癌的样本。RNAseq数据经过转换, 最终获得了34个癌种的表达数据。

1.2 LAMP5在泛癌中的表达分析。分析数据库中34个癌种的表达数据, 基于Sangerbox3.0在线工具分析LAMP5在肿瘤组织和正常组织中的表达水平, 以及LAMP5在WHO分期中的变化情况。

1.3 预后分析。采用COX方法分析LAMP5表达与患者生存率的相关性, Kaplan-Meier分析评估患者的总生存期 (Overall survival, OS)、疾病特异性生存期 (Disease-specific survival, DSS)、无病间期 (Disease-free interval, DFI) 和无进展间期 (Progression-free interval, PFI), 并绘制生存曲线。生存曲线使用maxstat计算LAMP5的最佳截断值, 计算95%置信区间 (95%CI) 的Log-rank P值和风险比 (Hazard ratio, HR)。L表示LAMP5低表达, H表示LAMP5高表达, 利用logrank test评估不同样本之间的预后差异显著性。

1.4 LAMP5表达与免疫细胞浸润、免疫检查点的关系。利用R包IOBR (version 0.99.9) 通过Timer法及QUANTISEQ法, 评估患者的免疫细胞浸润与基因表达的关系。我们将来源于文献中的60个免疫检查点基因 (抑制基因24个、激活基因36个)^[10] 进行整

理, 使用SangerBox分析LAMP5与免疫检查点基因之间的相关性。

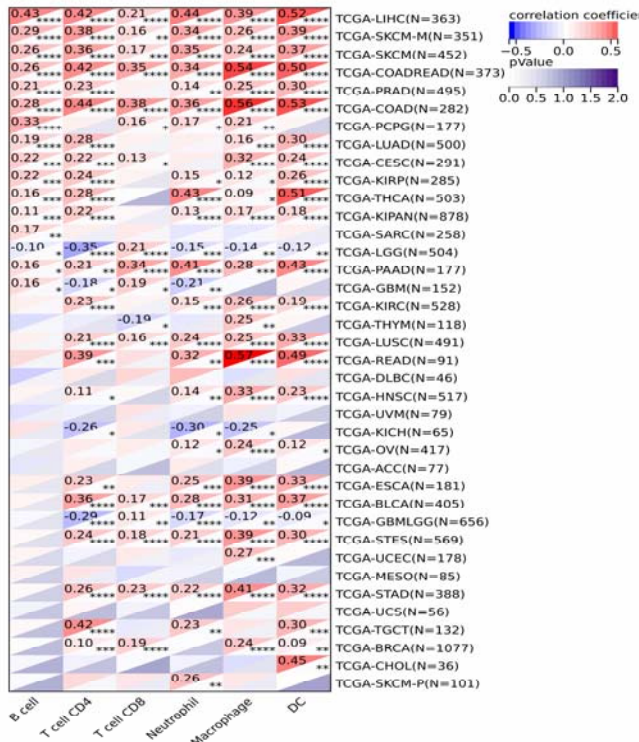
2 结果

2.1 LAMP5在正常组织和肿瘤之间的差异表达。在17种肿瘤中观察到了显著上调 ($p < 0.05$) 如乳腺浸润癌、头颈鳞状细胞癌等。在11种肿瘤中观察到了显著下调如胶质瘤、子宫内膜癌等 (图1A)。此外, 我们在结肠癌、肾乳头状细胞癌等14种肿瘤中观察到了LAMP5在不同临床分期中有显著表达差异 ($p < 0.05$) (图1B)。

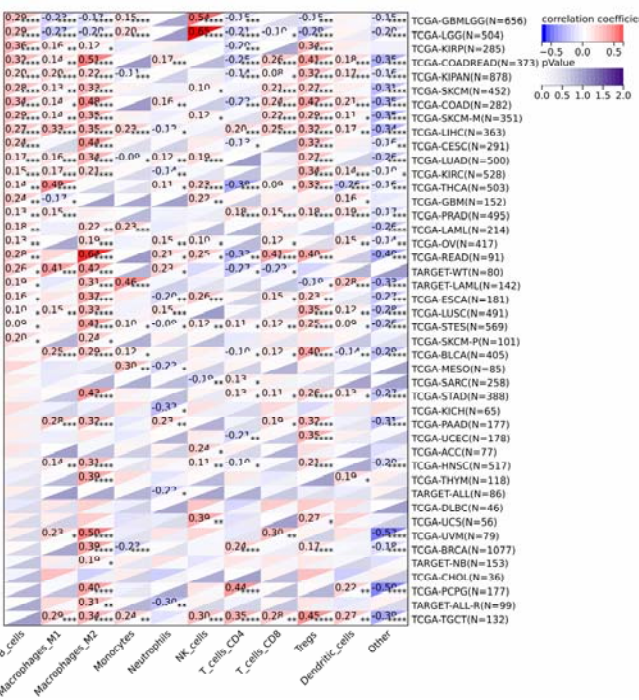
2.2 LAMP5的预后价值分析。OS分析结果显示: 结肠癌等10个肿瘤中高表达预后差, 而在宫颈鳞癌和腺癌中呈低表达预后差 (图2A)。DSS分析结果显示: 在胃癌等8个肿瘤中高表达预后差, 而宫颈癌中低表达预后差 (图2B)。DFI结果显示: 在混合肾癌等7个肿瘤类型中呈现高表达预后差, 在子宫内膜癌中低表达预后差 (图2C)。PFI结果显示: 在胃癌等6个肿瘤类型中高表达预后差 (图2D)。

2.3 LAMP5表达水平与免疫浸润水平的关系。我们使用Timer法分析肿瘤中LAMP5表达与免疫细胞的关系: B细胞与15种肿瘤呈正相关, 与脑低级别胶质瘤呈负相关; CD4⁺T细胞与等22种肿瘤呈正相关, 与4种肿瘤呈负相关; 有16种肿瘤与CD8⁺T细胞呈正相关, 而胸腺癌与CD8⁺T细胞呈负相关; 有22种肿瘤与中性粒细胞呈正相关, 4种肿瘤与中性粒细胞呈负相关; 25种肿瘤与巨噬细胞呈正相关, 3种肿瘤与巨噬细胞呈负相关; 24种肿瘤与树突状细胞呈正相关, 2种肿瘤与树突状细胞呈负相关 (图5A)。因此LAMP5表达与多数免疫细胞浸润呈显著正相关, 而少数癌症为负相关性。采用QUANTISEQ法分析了LAMP5表达与11

生存期越差^[9],这与我们所预测的结果相同。而杨书瀚等人对于LAMP5在结直肠癌中的研究表明,在该癌组织中LAMP5的表达异常高于正常组织^[8],这可能是由于公共数据库分析局限性导致,因此,LAMP5在不同癌组织中的表达水平差异反映其相应的功能和机制。可以作为一种新型的肿瘤标志物。



(A)TIMER法免疫细胞分析



(B)QUANTISEQ法免疫细胞分析

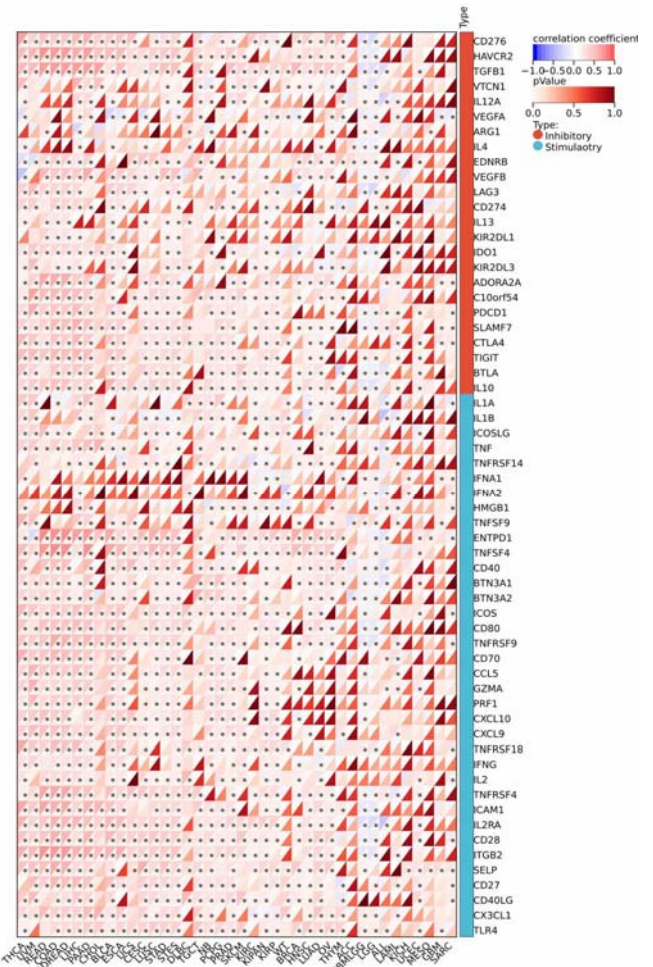


图5 LAMP5表达与免疫检查点基因的相关性。(*p<0.05)

预后分析分别以OS、PFI、DFI和DSS为主要分析结果,分析了LAMP5在各类癌症中的预后情况,结果显示:混合肾癌等肿瘤中LAMP5呈现高表达预后差,而在子宫内膜癌中则呈低表达预后差。另外,OS生存分析的K-M曲线表明:在白血病等8种肿瘤中LAMP5高表达显示患者OS更短,而在宫颈癌中LAMP5低表达患者OS更短,上述分析结果均提示患者预后不良。因此,LAMP5可在多种肿瘤中作为判断患者预后的标志物。

癌组织周边浸润的免疫细胞可以促进或者抑制肿瘤的发生和进程^[12],而癌细胞也可产生各种细胞因子、趋化因子等方法对微环境进行调控。一般来说,CD8⁺T细胞、B细胞、NK细胞和树突状细胞发生浸润提示癌症良好预后,肿瘤发展被抑制;而M2型巨噬细胞、Treg细胞浸润则表明癌症预后不良^[13]。LAMP5在大部分癌症与M2型巨噬细胞和Tregs细胞存在显著正相关,而与CD4⁺T细胞呈负相关。这提示在大部分癌症中LAMP5扮演着危险性因素。免疫检查点分析结果也表明,大部分癌症中,免疫检查点与LAMP5均有显著的相关性。这表明,在肿瘤中LAMP5差异表达可影响肿瘤微环境,进而影响抗肿瘤免疫的发生。

综上所述,LAMP5在大多数肿瘤中差异表达且与癌症分期有关,在不同的癌症中有不同的生存状态。而LAMP5的表达免疫功

能显著相关,与免疫细胞浸润、免疫检查点密切相关,且LAMP5可能与其他免疫检查点协同调节免疫微环境,具有巨大的免疫研究的潜力与价值。

[参考文献]

- [1]CAO W, CHEN H D, YU Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. Chin Med J (Engl), 2021, 134(7):783-91.
- [2]MAKAREMI S, ASADZADEH Z,HEMMAT N, et al.Immune Checkpoint Inhibitors in Colorectal Cancer: Challenges and Future Prospects[J].Biomedicines,2021,9(9).
- [3]GHIDINI M, FUSCO N, SALATI M, et al. The Emergence of Immune-checkpoint Inhibitors in Colorectal Cancer Therapy [J].Current Drug Targets,2021,22(9):1021-33.
- [4]AJANI JA,D'AMICO T A,BENTREM D J,et al.Gastric cancer, version 2.2022,NCCN clinical practice guidelines in oncology [J].JNatl Compr Canc Netw,2022,20(2):167-192.
- [5]UMEDA S,KANDA M,SHIMIZU D,et al.Lysosomal-associated membrane protein family member 5 promotes the metastatic potential of gastric cancer cells[J].Gastric Cancer,2022,25(3): 558-572.
- [6]COMBES A,CAMOSSETO V,N'GUESSAN P,et al.BAD-LAMP controls TLR9 trafficking and signalling in human plasmacytoid dendritic cells[J].Nat Commun,2017,8(1):913
- [7]WANG W T,HAN C,SUN Y M,et al.Activation of the lysosome-associated membrane protein LAMP5 by DOT1L serves as a bodyguard for MLL fusion oncoproteins to evade degradation in leukemia[J].Clin Cancer Res,2019,25(9):2795-2808
- [8]杨书瀚,裴筱涵,祁义军.LAMP5在结直肠癌发生发展和预后中的作用[J].安徽医科大学学报2022,57(08):1338-1344.
- [9]张翔,周宏,周云海.胃癌中LAMP5表达及预后意义分析[J].交通医学,2023,37(01):33-38.
- [10]THORSSON V, GIBBS D L, BROWN S D, et al. The Immune Landscape of Cancer [J]. Immunity,2018,48(4):812-30e14.
- [11]DEFAYS A,DAVID A,DE GASSART A,et al. BADLAMP is a novel biomarker of nonactivated human plasmacytoid dendritic cells[J].Blood,2011,118(3):609-617.
- [12]LEI X, LEI Y, LI J-K, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy[J].Cancer Letters,2020,470:126-33.
- [13]SICA A,LARGHI P,MANCINO A,et al.Macrophage polarization in tumour progression[J].Semin Cancer Biol,2008,18(5):349-55.

作者简介:

朱俊菘(2002--),男,汉族,湖南常德人,本科,长治医学院,研究方向: LAMP5在癌症中的作用。