

FBXO43在泛癌中的表达及其与免疫细胞浸润和预后的关系

刘松华¹, 荣耀¹, 唐明政¹, 陈云洋¹, 李鹏飞¹, 杨晓军²

(1. 甘肃中医药大学第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃省人民医院普外科, 甘肃省外科肿瘤分子诊断与精准治疗重点实验室, 甘肃省消化道恶性肿瘤防控工程研究中心, 国家卫生健康委胃肠肿瘤诊治重点实验室, 兰州 730000)

摘要 目的 基于生物信息学探讨FBXO43在泛癌中的表达及其与免疫细胞浸润和预后的关系。方法 从癌症基因组图谱(TCGA)和基因型-组织表达(GTEX)数据库获取33种癌症的基因表达数据,分析FBXO43在33种癌组织中的表达水平;从TCGA数据库中获得33种癌症的临床病理和生存数据,使用基因表达谱交互式分析(GEPIA)工具分析FBXO43表达与患者临床分期相关性;采用Kaplan-Meier生存分析评估FBXO43表达与预后的关系;利用R语言分析FBXO43与免疫细胞浸润、免疫检查点(ICP)基因、肿瘤突变负荷(TMB)、微卫星不稳定性(MSI)、错配修复(MMR)基因的关系。通过基因集富集分析(GSEA)分析FBXO43潜在的生物学机制。采用qRT-PCR检测正常胃黏膜细胞(GES-1)和胃癌细胞(HGC-27、MGC-803、MKN-45),正常肝细胞(LO-2)和肝癌细胞(SMMC-7721、HEPG2、HuH7、MHCC-97H)中FBXO43的表达水平。结果 TCGA联合GTEX数据库统计结果显示,肾上腺皮质癌(ACC)、膀胱尿路上皮癌(BLCA)、乳腺浸润癌(BRCA)、宫颈鳞癌和腺癌(CESC)、胆管癌(CHOL)、结肠癌(COAD)和弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBC)等26种癌组织中,FBXO43的表达均高于正常组织(均 $P < 0.05$);而肾嫌色细胞癌(KICH)、睾丸癌(TGCT)和甲状腺癌(THCA)3种癌组织中,FBXO43的表达均低于正常组织(均 $P < 0.05$)。GEPIA数据分析结果显示,FBXO43表达与ACC、KICH、肾透明细胞癌(KIRC)和肾乳头状细胞癌(KIRP)的临床分期呈正相关,而与卵巢浆液性囊腺癌(OV)和TGCT的临床分期呈负相关(均 $P < 0.05$)。Kaplan-Meier生存分析结果显示,FBXO43异常表达与多种癌症的预后相关(均 $P < 0.05$)。其中,FBXO43高表达是ACC、KICH、KIRC、KIRP、脑低级别胶质瘤(LGG)、肝细胞癌(LIHC)、间皮瘤(MESO)和肉瘤(SARC)的危险因素;但在胸腺瘤(THYM)中则是保护因素。XCELL算法发现,FBXO43表达与多形成性胶质细胞瘤(GBM)、KIRP、急性髓系白血病(LAML)、肺鳞状细胞癌(LUSC)和OV等9种癌组织中的免疫评分呈负相关(均 $P < 0.05$),并与BLCA、COAD、头颈部鳞癌(HNSC)、SARC和THYM等24种癌组织中的免疫细胞浸润水平密切相关,尤其在SARC中与大部分免疫细胞呈显著负相关($P < 0.01$)。相关性分析表明FBXO43与泛癌中的TMB、MSI和MMR存在显著相关性。GSEA分析显示FBXO43与多种肿瘤的细胞周期和免疫相关功能有关。qRT-PCR结果显示,与正常细胞比较,FBXO43在肝癌细胞中表达上调,在胃癌细胞中表达下降(均 $P < 0.05$)。结论 FBXO43异常表达与多种癌症的发生、发展密切相关;FBXO43可能是新的免疫细胞浸润和预后的标志物,可为癌症的靶向治疗提供新的方向。

关键词 FBXO43; 预后; 免疫细胞浸润; 泛癌分析

中图分类号 R730 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)09-0834-11

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240909.1726.018>

DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2024.09.012

FBXO43 expression in pan-cancer and its relationship with immune cell infiltration and prognosis

LIU Songhua¹, RONG Yao¹, TANG Mingzheng¹, CHEN Yunyang¹, LI Pengfei¹, YANG Xiaojun²

(1. The First Clinical Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Department of General Surgery, The First Clinical Medical School of Lanzhou University, Gansu Provincial Hospital, Gansu Key Laboratory of Molecular Diagnostics and Precision Medicine for Surgical Oncology, Gansu Research Center of Prevention and Control Project for Digestive Oncology, Key Laboratory of Gastrointestinal Tumor Diagnosis and Treatment of National Health Commission, Lanzhou 730000, China)

Abstract Objective To investigate the expression of FBXO43 in various cancers and its relationship with immune cell infiltration and prognosis using bioinformatics. **Methods** Gene expression data for 33 cancers were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Genotype-Tissue Expression (GTEX) databases to analyze FBXO43 expression. Clinical and survival data were sourced from the TCGA

基金项目: 甘肃省科技计划创新基地和人才计划(20JR10RA433); 甘肃省科技计划重点研发计划(21YF5WA027); 甘肃省卫生健康行业科研计划(GSWSKY2020-45); 甘肃省教育厅优秀研究生创新之星项目(2022CXZX-746); 国家卫健委胃肠肿瘤诊治重点实验室硕博/博士后基金项目(NHCDP2022001); 甘肃省人民医院博士研究生导师培育项目(22GSSYA-3)

作者简介: 刘松华(1996-),男,硕士研究生。

通信作者: 杨晓军, E-mail: yangxjmd@aliyun.com

收稿日期: 2023-06-21

网络出版时间: 2024-09-10 15:29:22

database. Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) was used to assess the correlation between *FBXO43* expression and the clinical stage. Kaplan-Meier survival analysis was used to evaluate the relationship between *FBXO43* expression and prognosis. R language was used to analyze the associations between *FBXO43* expression and clinical stages, immune cell infiltration, immune checkpoint genes, tumor mutation burden (TMB), microsatellite instability (MSI), and mismatch repair (MMR) genes. The potential biological mechanisms of *FBXO43* were explored using gene set enrichment analysis (GSEA). Moreover, qRT-PCR was performed to measure *FBXO43* expression in normal gastric mucosal cells (GES-1), gastric cancer cells (HGC-27, MGC-803, and MKN-45), normal liver cells (LO-2), and liver cancer cells (SMMC-7721, HEPG2, HuH7, and MHCC97-H). **Results** Combined TCGA and GTEx database statistics revealed higher *FBXO43* expression in 26 types of cancer tissues, including adrenocortical carcinoma (ACC), bladder urothelial carcinoma, breast invasive carcinoma, cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, cholangiocarcinoma, colon adenocarcinoma, and diffuse large B-cell lymphoma, than in normal tissues ($P < 0.05$). However, *FBXO43* expression was lower in three types of cancer tissues: kidney chromophobe (KICH), testicular germ cell tumor (TGCT), and thyroid carcinoma ($P < 0.05$). GEPIA data analysis showed that *FBXO43* expression positively correlated with the clinical stages of ACC, KICH, kidney renal clear cell carcinoma (KIRC), and kidney renal papillary cell carcinoma (KIRP) and negatively correlated with the clinical stages of ovarian serous cystadenocarcinoma (OV) and TGCT ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis indicated that abnormal *FBXO43* expression was associated with the prognosis of various cancers ($P < 0.05$). Specifically, high *FBXO43* expression was a risk factor for ACC, KICH, KIRC, KIRP, low-grade glioma, liver hepatocellular carcinoma, mesothelioma, and sarcoma, but protective in thymoma (THYM). The XCELL algorithm found that *FBXO43* expression was negatively correlated with immune scores in nine types of cancer tissues, including glioblastoma multiforme, KIRP, acute myeloid leukemia, lung squamous cell carcinoma, and OV, and closely related to immune cell infiltration levels in 24 types of cancer tissues, especially showing a significant negative correlation with most immune cells in SARC ($P < 0.01$). Correlation analysis revealed a significant association between *FBXO43* and TMB, MSI, and MMR in all cancers. GSEA analysis indicated that *FBXO43* is involved in the cell cycle and immune-related functions in various tumors. qRT-PCR results showed that *FBXO43* expression was upregulated in liver cancer cells and downregulated in gastric cancer cells (all $P < 0.05$). **Conclusion** Abnormal *FBXO43* expression is closely associated with the occurrence and progression of multiple cancers. Thus, *FBXO43* may serve as a novel marker of immune cell infiltration and prognosis, thereby offering new directions for targeted cancer therapy.

Keywords *FBXO43*; prognosis; immune cell infiltration; pan-cancer analysis

癌症对人类生命构成了巨大的威胁,是人类死亡的主要原因之一。同时,癌症也带来了巨大的社会经济负担^[1]。目前,大多数癌症仍然采取化疗、放疗和手术治疗^[2]。虽然这些治疗措施取得了一定的成果,但由于个体免疫微环境不同和肿瘤异质性,癌症患者预后和生存依旧较差。因此,探索新的诊断和治疗标志物尤为重要。

F-box蛋白家族是泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)中E3泛素连接酶的成分之一,主要负责特异性识别底物蛋白来参与泛素介导的蛋白降解途径^[3]。既往研究^[4-6]表明UPS能调节关键信号通路蛋白泛素化和降解过程,在DNA损伤、转录,细胞增殖和凋亡等方面发挥着重要作用。*FBXO43*是F-box蛋白家族成员,研究^[7-9]发现*FBXO43*通过抑制后期促进复合物/环体(APC/C)功能,在脊椎动物和小鼠卵母细胞减数分裂停滞的建立和维持中扮演着至关重要的角色。最近的研究表明*FBXO43*的异常表达与乳腺浸润癌(breast invasive carcinoma, BRCA)^[10-12]、肝细胞癌(liver hepatocellular

carcinoma, LIHC)^[13-15]、胃癌(gastric cancer, GC)^[16]和胆管癌(cholangiocarcinoma, CHOL)^[17]的发生发展有关。

已有研究^[18-20]表明,癌症发展很大程度上是由于免疫功能障碍,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的一些免疫细胞(调节性T细胞、肿瘤相关巨噬细胞和肿瘤相关性中性粒细胞)可促进癌症的免疫逃逸,进而促进癌症的发生与发展。最近的研究表明*FBXO43*可能在免疫逃逸方面起重要作用。例如,研究^[15]发现*FBXO43*可能通过促进M2巨噬细胞、调节性T细胞和中性粒细胞的浸润来促使HCC肿瘤细胞发生免疫逃逸,进而促进肿瘤进展和预后不良。可见,*FBXO43*是一种很有前途的预后标志物。然而,*FBXO43*表达与多种癌症免疫细胞浸润和预后的关系仍未明确。本研究基于生物信息学探讨了*FBXO43*在泛癌症中的表达情况,以及它与免疫细胞浸润和预后的关系,旨在为癌症的靶向治疗提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 数据来源

通过癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 和基因型-组织表达(Genotype Tissue Expression, GTEx) 数据库(<https://gtexportal.org/>) 获取33种癌症的基因表达数据,使用R软件分析TCGA和GTEx数据库中的测序数据。从TCGA数据库中获得33种癌症的临床病理和生存数据。

1.2 *FBXO43*表达与患者预后及临床病理特征的关系

从TCGA数据库中提取患者的总生存期(overall survival, OS)。将患者分为*FBXO43*高表达组和*FBXO43*低表达组,使用“survminer”和“survival”包来进行Kaplan-Meier生存分析。使用“pROC”包对TCGA和GTEx测序数据进行受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析,计算曲线下面积(area under curve, AUC) 评估*FBXO43*表达对癌症的诊断价值。使用基因表达谱交互分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA) 在线数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn>) 分析*FBXO43*表达与癌症临床病理分期的关系。

1.3 *FBXO43*的基因突变分析

使用cBioPortal在线数据库(<https://www.cbioportal.org/>) 分析*FBXO43* 基因组在泛癌中的变异(扩增、突变、深度缺失和多重变异) 情况。

1.4 *FBXO43*与免疫细胞浸润水平、免疫检查点(immune checkpoint, ICP)、肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)、错配修复(mismatch repair, MMR) 基因的相关性

采用TIMER和XCELL算法评估33种癌症中*FBXO43*与免疫细胞浸润水平的关系。采用Spearman相关性分析探讨*FBXO43*与免疫检查点、TMB、MSI和MMR相关基因的关系。

1.5 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)。

在GSEA网站(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/downloads.jsp>) 获取基因本体论(gene ontology, GO) 和京都基因和基因组数据库(Kyoto encyclopedia

gene and genome, KEGG) 基因集,使用R包org.Hs.eg.db、enrichPlot、limma、clusterProfiler分析*FBXO43*在泛癌中的生物学功能。

1.6 qRT-PCR检测

正常肝细胞(LO-2)和肝癌细胞(HEPG2、MHCC-97H、SMMC-7721和HuH7),正常胃黏膜细胞(GES-1)和胃癌细胞(AGS、MKN-45和HGC-27) 购自中国科学院细胞资源中心。使用含有10%胎牛血清和1%双抗的1640培养基培养LO2、SMMC-7721、GES-1、MGC-803、MKN-45和HGC-27。使用含有10%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基培养HepG2、HuH7和MHCC-97H细胞。所有细胞置于37℃ 5% CO₂培养箱内培养。使用M5 Universal RNA Mini Kit 试剂盒提取RNA。使用Evo M-MLV 反转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,使用2× M5 HiPer SYBR Premix Es Taq 扩增cDNA模版来检测*FBXO43* mRNA的表达情况。*FBXO43*引物,正向5'-CGAACAAAGCTCGCAGTC-3',反向5'-AGG TCAAATCCCCACTCTC-3'。GAPDH引物,正向5'-GGAAGCTTGTTCATCAATGGAAATC-3',反向5'-TGATGACCCTTGGCTCCC-3'。

1.7 统计学分析

*FBXO43*在泛癌中的表达及其与临床病理特征的关系采用Wilcoxon检验。*FBXO43*对预后的影响采用Kaplan-Meier生存分析。*FBXO43*与免疫细胞浸润水平、ICP、TMB、MSI和MMR相关基因的关系采用Spearman相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

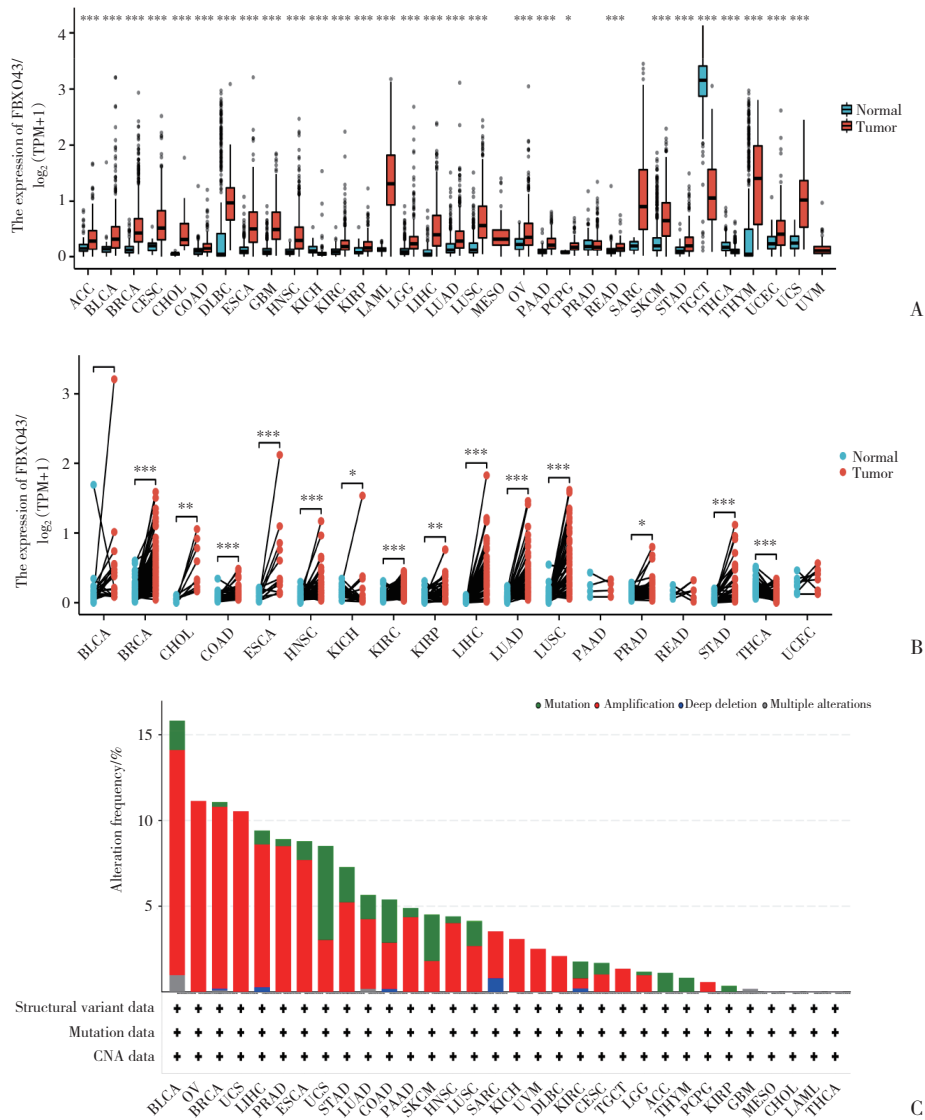
2 结果

2.1 泛癌中*FBXO43* mRNA表达和基因突变类型

结果显示,*FBXO43*在肾上腺皮质癌(adrenocortical cancer, ACC)、膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BLCA)、BRCA、宫颈鳞状细胞癌和腺癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, CESC)、CHOL、结肠癌(colon adenocarcinoma, COAD)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large b-cell lymphoma, DLBC)、食管癌(esophageal carcinoma, ESCA)、多形成性胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)、头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)、肾乳头状细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma,

KIRP)、急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, LAML)、脑低级别胶质瘤 (brain lower grade glioma, LGG)、肝细胞癌 (liver hepatocellular carcinoma, LIHC)、肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞状细胞癌 (lung squamous cell carcinoma, LUSC)、卵巢浆液性囊腺癌 (ovarian serous cystadenocarcinoma, OV)、胰腺癌 (pancreatic adenocarcinoma, PAAD)、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤 (pheochromocytoma and paraganglioma, PCPG)、直肠腺癌 (rectal adenocarcinoma, READ)、皮肤黑色素瘤 (skin cutaneous melanoma, SKCM)、胃腺癌 (stomach adenocarcinoma, STAD)、胸腺瘤 (thymoma, THYM)、子宫内膜癌 (uterine corpus

endometrial carcinoma, UCEC) 和子宫癌肉瘤 (uterine carcinosarcoma, UCS) 中的表达高于正常组织,而在肾嫌色细胞癌 (kidney chromophobe, KICH)、睾丸生殖细胞肿瘤 (testicular germ cell tumors, TGCT) 和甲状腺癌 (thyroid cancer, THCA) 中的表达低于正常组织 (图1A)。TCGA数据库中癌组织和癌旁组织中 *FBXO43* 表达分析发现, *FBXO43* 在 THCA 中表达低于癌旁组织, 在 BLCA、BRCA、CHOL、COAD、ESCA、HNSC、KICH、KIRC、KIRP、LIHC、LUAD、LUSC、PRAD 和 STAD 中的表达高于癌旁组织 (图1B)。*FBXO43* 基因突变分析结果显示, 扩增是 *FBXO43* 突变中最常发生的, 其次是突变和深度缺失 (图1C)。

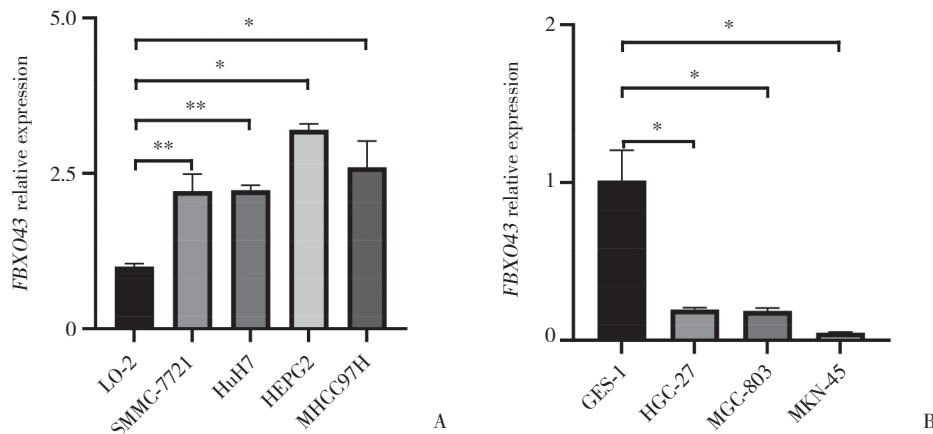


A, expression levels of *FBXO43* across 33 types of cancer from the TCGA and GTEx databases; B, expression of *FBXO43* in paired tumor and adjacent normal tissues from the TCGA database; C, types and frequencies of *FBXO43* gene mutations in various cancers from the cBioPortal database. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图1 *FBXO43*在泛癌中的表达和基因突变情况
Fig.1 Expression and gene alteration of *FBXO43* in pan-cancer

qRT-PCR检测*FBXO43*在正常胃黏膜细胞(GES-1)和胃癌细胞(HGC-27、MGC-803、MKN-45),正常肝细胞(LO-2)和肝癌细胞(SMMC-7721、HEPG2、HuH7、

MHCC97H)的表达结果显示,与对应的正常细胞比较,*FBXO43*在肝癌细胞中表达升高,而在胃癌细胞中的表达降低(均 $P < 0.05$),见图2。



A, expression of *FBXO43* in normal liver cells (LO-2) and liver cancer cells (SMMC-7721, HEPG2, HuH7, MHCC97-H); B, expression of *FBXO43* in normal gastric mucosal cells (GES-1) and gastric cancer cells (HGC-27, MGC-803, MKN-45). * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$.

图2 *FBXO43*在细胞系中的表达情况
Fig.2 Expression of *FBXO43* in cell lines

2.2 *FBXO43*表达与患者临床病理特征的关系及其诊断价值

结果显示,ACC、KICH、KIRC和KIRP中*FBXO43*表达与临床分期正相关,而OV、TGCT中*FBXO43*表达与临床分期负相关(图3A)。ROC曲线分析结果显示,*FBXO43*在BRCA、GBM、LAML、TGCT和UCS中的AUC均 >0.9 ,表明在这些癌症中*FBXO43*表达具有很高的诊断价值(图3B)。

2.3 *FBXO43*表达与患者预后的关系

Kaplan-Meier生存曲线分析结果显示,在ACC、KICH、KIRC、KIRP、LGG、LIHC、MESO和SARC中*FBXO43*表达越高,患者预后越差。相反,在THYM中*FBXO43*扮演着保护角色,*FBXO43*低表达预示患者有更好的预后(图4)。

2.4 *FBXO43*表达与免疫细胞浸润水平和ICP的关系

通过TIMER数据库分析泛癌中*FBXO43*与免疫细胞浸润水平的相关性,发现*FBXO43*表达与GBM中的CD4⁺T细胞、髓样DC细胞和巨噬细胞的浸润水平呈负相关,与LUSC中的中性粒细胞、髓样DC细胞和巨噬细胞的浸润水平呈负相关;在SARC中,*FBXO43*表达水平和CD4⁺T细胞、中性粒细胞、髓样DC细胞和巨噬细胞的浸润水平呈显著负相关,表明

*FBXO43*可能在BRCA、GBM、LUSC和SARC中发挥免疫抑制作用。相反,*FBXO43*与COAD和THYM中的CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、中性粒细胞、髓样DC细胞和B细胞呈正相关(图5A)。

进一步使用XCELL算法发现,*FBXO43*表达与GBM、KIRP、LAML、LUSC和OV等9种癌组织中的免疫评分呈负相关,并且与BLCA、COAD、HNSC、SARC和THYM等24种癌组织中的免疫细胞浸润水平密切相关。在SARC中*FBXO43*表达与免疫细胞浸润水平呈强负相关,而在THYM中*FBXO43*表达与大部分免疫细胞浸润水平呈强正相关(图5B)。

此外,泛癌中*FBXO43*与ICP基因的相关性分析结果显示,*FBXO43*表达与ICP基因表达显著相关。其中,*FBXO43*表达与大多数癌症类型中的*CTLA4*、*CD274*、*PDCD1*和*TIGIT*等ICP基因呈正相关(图5C)。

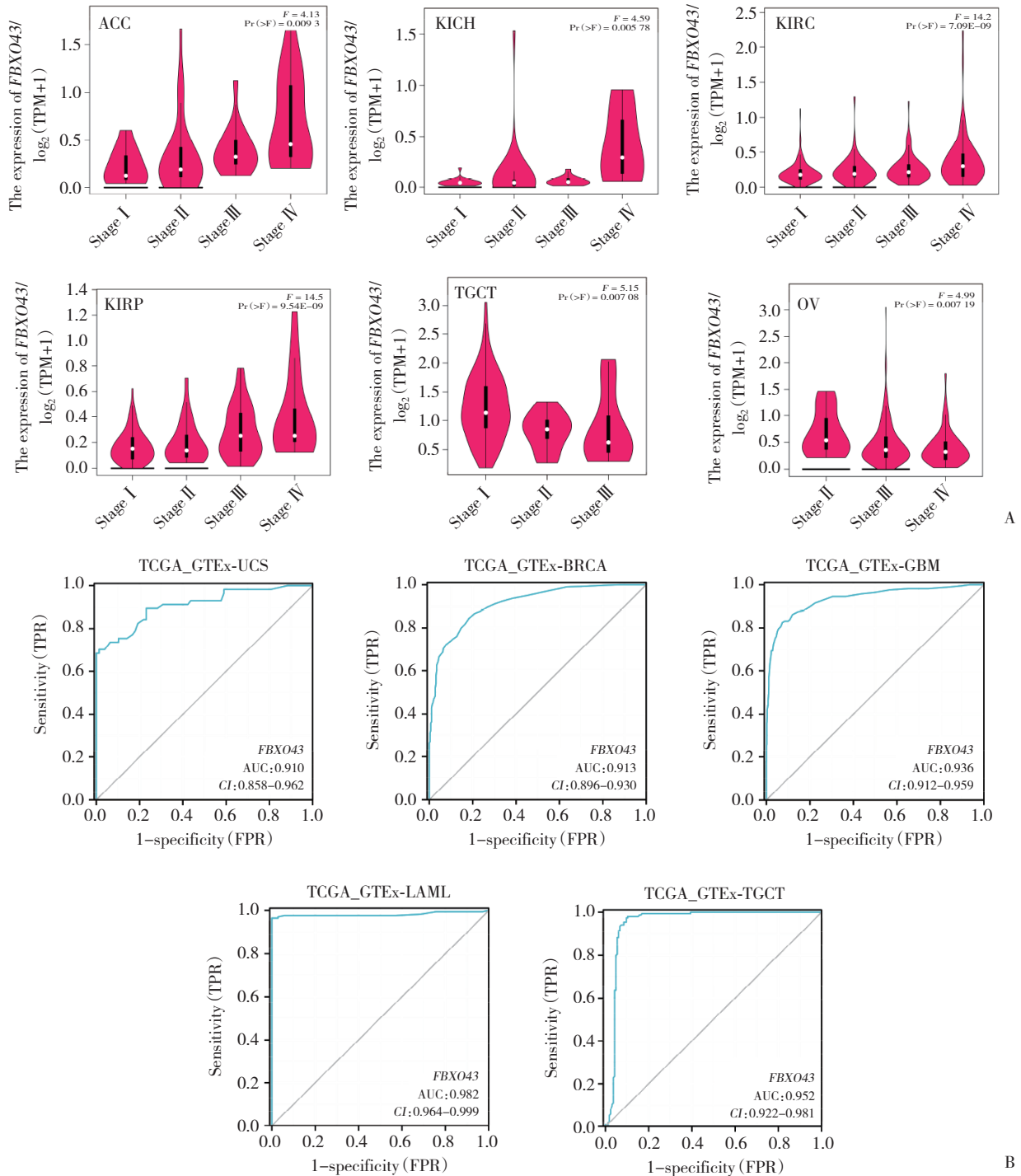
2.5 *FBXO43*表达与TMB、MSI和MMR基因的相关性

本研究分析了泛癌中*FBXO43*的表达与TMB和MSI的相关性。结果显示,*FBXO43*表达与ACC、BLCA、BRCA、COAD、KICH、KIRC、LGG、LIHC、LUAD、LUSC、MESO、OV、PAAD、PRAD、READ、SARC、SKCM和STAD中TMB呈正相关,而与ESCA和THYM中TMB呈负相关(图6A)。此外,*FBXO43*表达

与GBM、HNSC、LIHC、LUAD、LUSC、PRAD、SARC、THCA和UCS中MSI呈正相关,相反,在DLBC中,*FBXO43*表达与MSI呈负相关(图6B)。

MMR系统与基因组的稳定性密切相关,基因组的不稳定往往在肿瘤中的发生中起重要作用^[21]。

泛癌中*FBXO43*表达与MMR的相关性分析结果显示,*FBXO43*表达与大多数肿瘤中MMR基因呈显著相关。其中,在BRCA、ESCA、GBM、LAML、LGG、OV和UCEC中,*FBXO43*与所有的MMR基因均存在显著相关性(图6C)。



A, the relationship between *FBXO43* expression and clinical staging; B, ROC curve analysis of *FBXO43* expression for diagnostic value in pan-cancer. TPR, true positive rate; FPR, false positive rate.

图3 *FBXO43*表达与患者临床病理特征的关系及其诊断价值

Fig.3 The relationship between *FBXO43* expression and clinicopathological characteristics and its diagnostic value

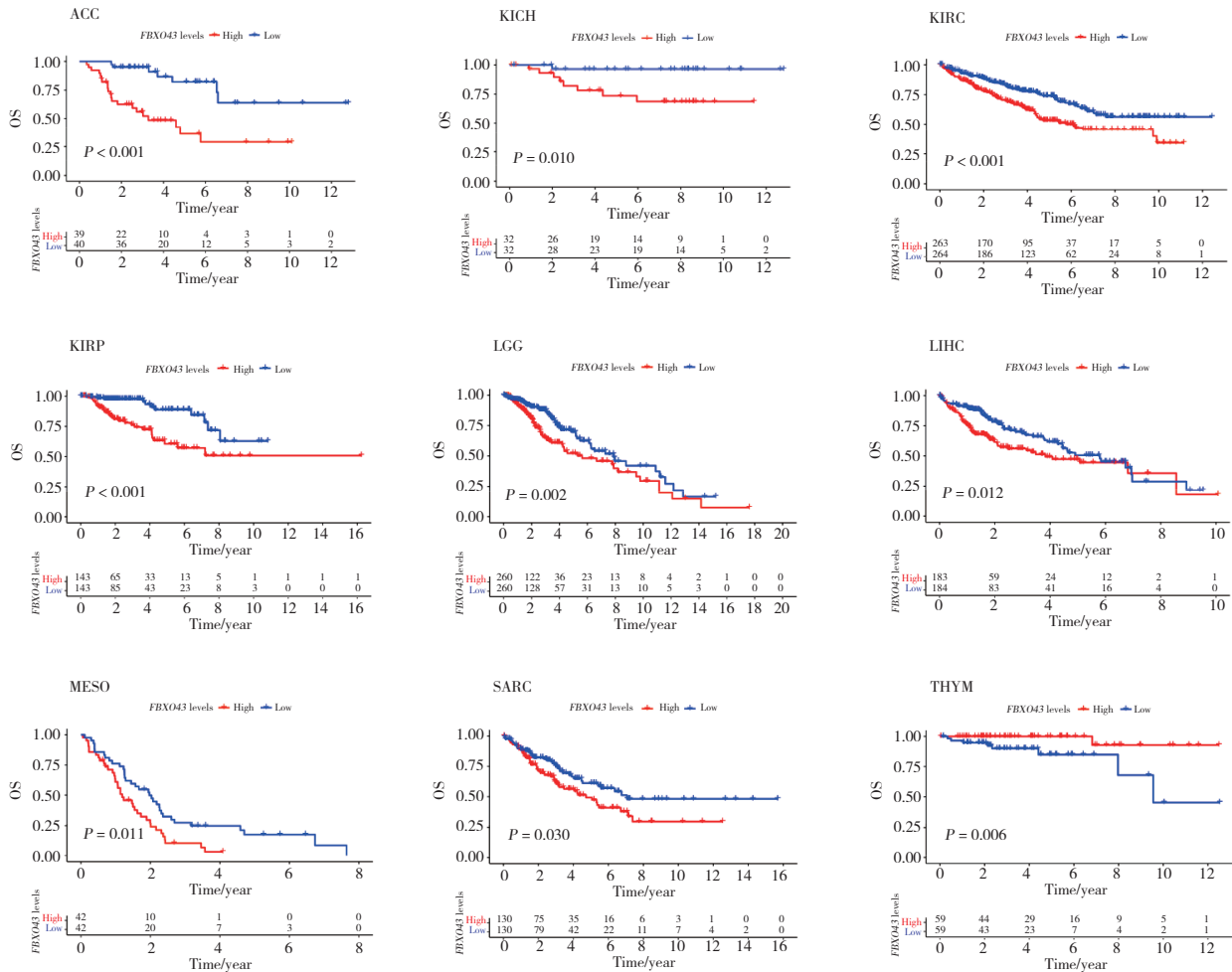


图4 泛癌中FBXO43表达与患者OS的关系

Fig.4 The relationship between FBXO43 expression and OS in pan-cancer patients

2.6 GSEA分析

GO富集分析显示,FBXO43在ACC、BRCA、COAD和PCPG中正向调控细胞周期、抗菌防御反应、B细胞分化、对I型干扰素的响应以及染色体分离等生物过程;相反,FBXO43在DLBC和THYM中负向调控抗微生物体液免疫反应和细胞间的黏附等生物过程(图7A)。KEGG富集分析显示,FBXO43在LGG、GBM、PAAD和LAML中正向调控细胞周期、卵母细胞减数分裂、胞质DNA感应通路、戊糖和葡萄糖醛酸相互转化等生物学功能;而在KICH、TGCT、GBM、PAAD和LAML中负向调控抗原处理和呈递、补体与凝血级联反应、同种异体免疫排斥、趋化因子信号通路和自然杀伤细胞介导的细胞毒性等免疫相关功能(图7B)。

3 讨论

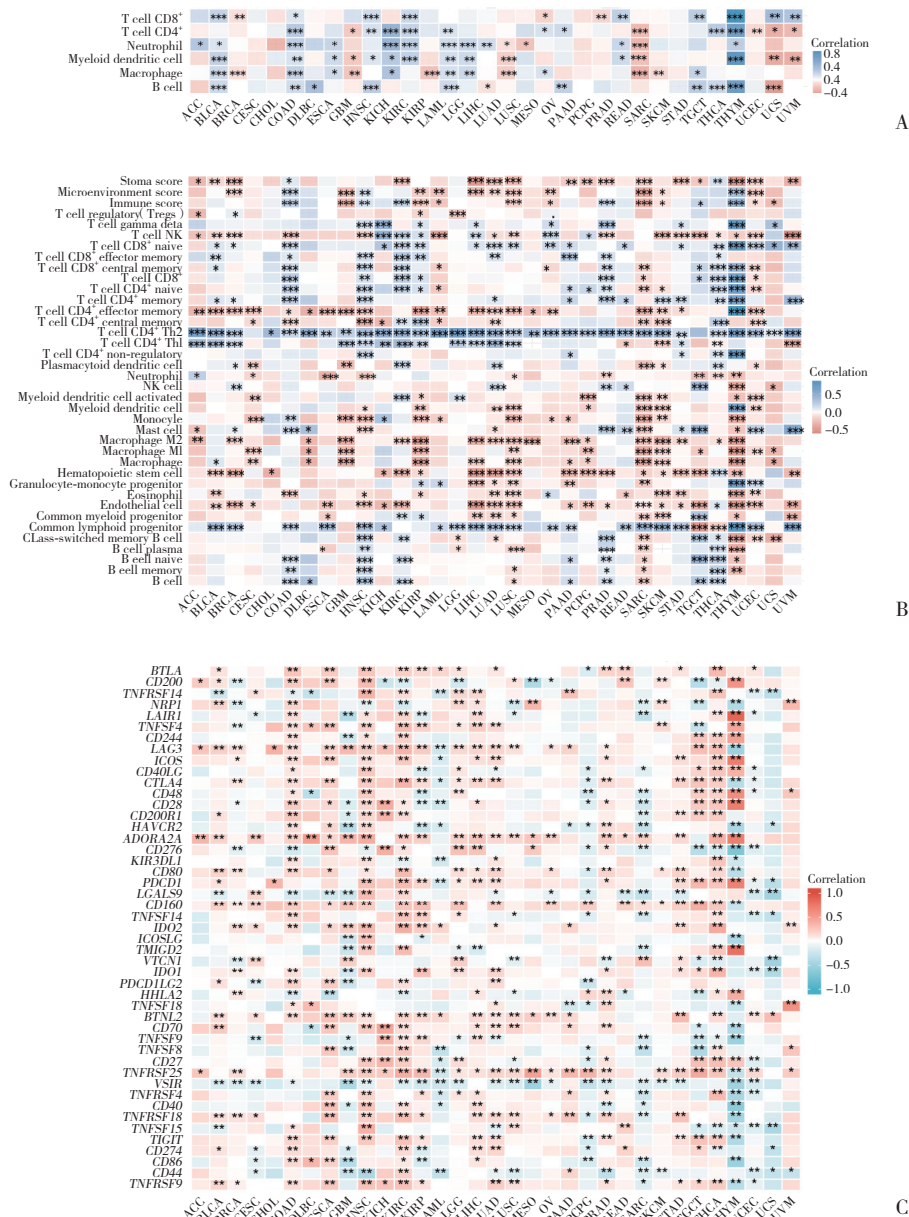
本研究通过TCGA联合GTEx数据库发现,与正

常组织比较,FBXO43表达在大多数癌症中上调,其中在LAML和THYM中表达上调最显著。既往研究表明,与正常组织和细胞比较,FBXO43在BRCA^[10-12]、LIHC^[13-15]和CHOL^[17]组织和细胞中表达升高,与本研究结果一致。另外,本研究qRT-PCR验证结果发现FBXO43在肝癌细胞中表达升高,与数据库分析及以往研究结果一致。此外,既往研究^[16]显示胃癌组织中表达升高,本研究生物信息学分析结果显示胃癌组织中FBXO43也是高表达。而本研究qRT-PCR发现FBXO43在胃癌细胞中表达水平降低,这种差异可能是由于患者胃癌组织和体外培养的胃癌细胞系之间的生物学差异所导致的。体外细胞系可能缺乏体内微环境的复杂性,包括与周围基质和免疫细胞的相互作用,从而导致表达水平的差异,未来还需进一步验证。

本研究通过ROC曲线分析发现,FBXO43在多种癌症中的AUC>0.9,因此推测FBXO43可能是癌

症诊断新的潜在标志物。*FBXO43*与患者临床病理特征的关系分析结果显示,ACC、KICH、KIRC、KIRP中,*FBXO43*表达与临床分期正相关。Kaplan-Meier生存分析进一步评估了*FBXO43*在泛癌中的预后价值,发现*FBXO43*在ACC、KICH、KIRC、KIRP、LGG、LIHC、MESO和SARC等癌症中表达愈高,预后愈差。ZHOU等^[13]发现,与正常肝组织比较,肝细胞癌中*FBXO43*表达水平升高,并且与患者晚期进展和不良预后有关。WU等^[14]研究发现*FBXO43*过表达与

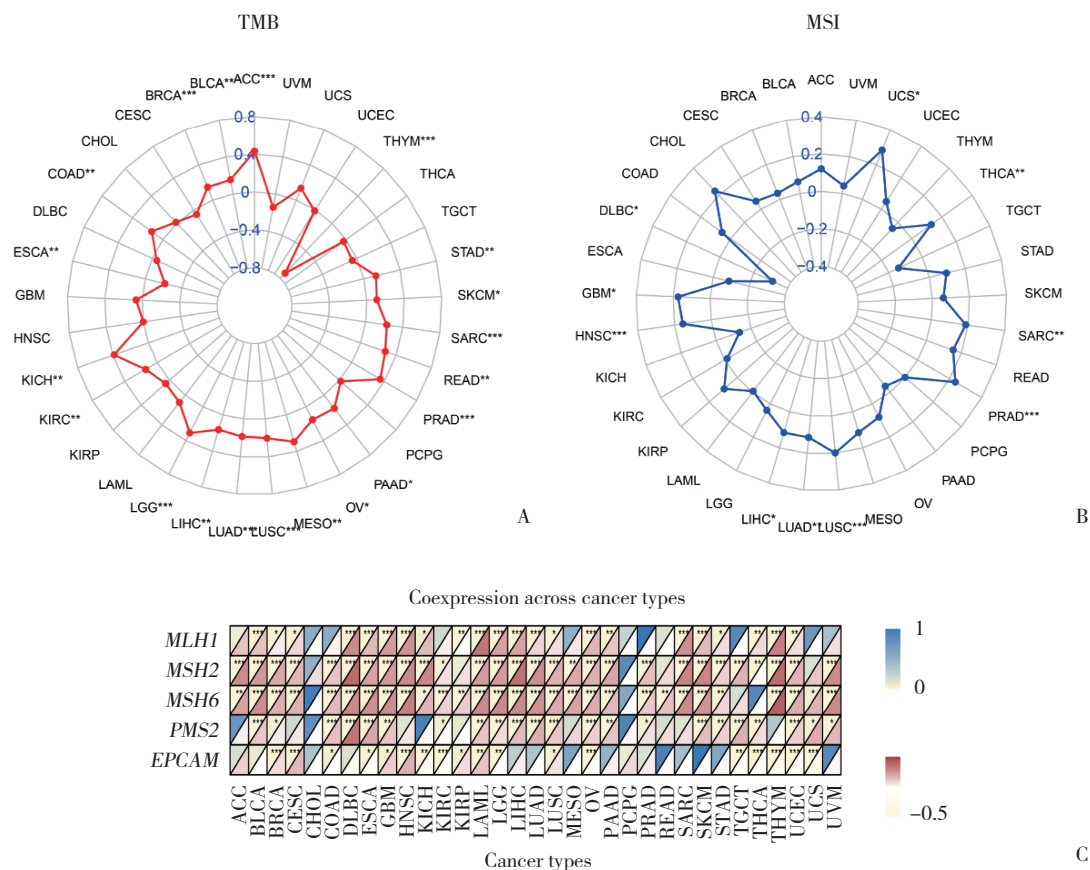
淋巴管浸润、癌症复发提前、根治术后总生存率降低和肿瘤体积大密切相关。NI等^[16]发现,与癌旁组织比较,*FBXO43*在GC组织中表达显著增高,并且其表达越高,患者预后越差。此外,最近研究^[12]显示*FBXO43*在乳腺癌组织中表达越高,肿瘤越大,肿瘤分级越高,淋巴结转移概率越大,并且DFS和OS越短,与本研究结果一致,提示*FBXO43*高表达与大多数癌症患者预后不良相关。因此,*FBXO43*可能是多种癌症不良预后的标志物。



A, the correlation between *FBXO43* expression and immune cell infiltration levels using the TMMER algorithm; B, the correlation between *FBXO43* expression and immune cell infiltration levels using the XCELL algorithm; C, correlation of *FBXO43* expression with ICP. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图5 *FBXO43*表达与免疫细胞浸润水平和ICP基因的关系

Fig.5 The relationship between *FBXO43* expression and levels of immune cell infiltration and ICP genes



A, correlation of *FBXO43* expression with TMB; B, correlation of *FBXO43* expression with MSI; C, correlation of *FBXO43* expression with MMR gene. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图6 泛癌中*FBXO43*表达与TMB、MSI和MMR基因的相关性

Fig.6 The correlation of *FBXO43* expression with TMB, MSI, and MMR gene in pan-cancer

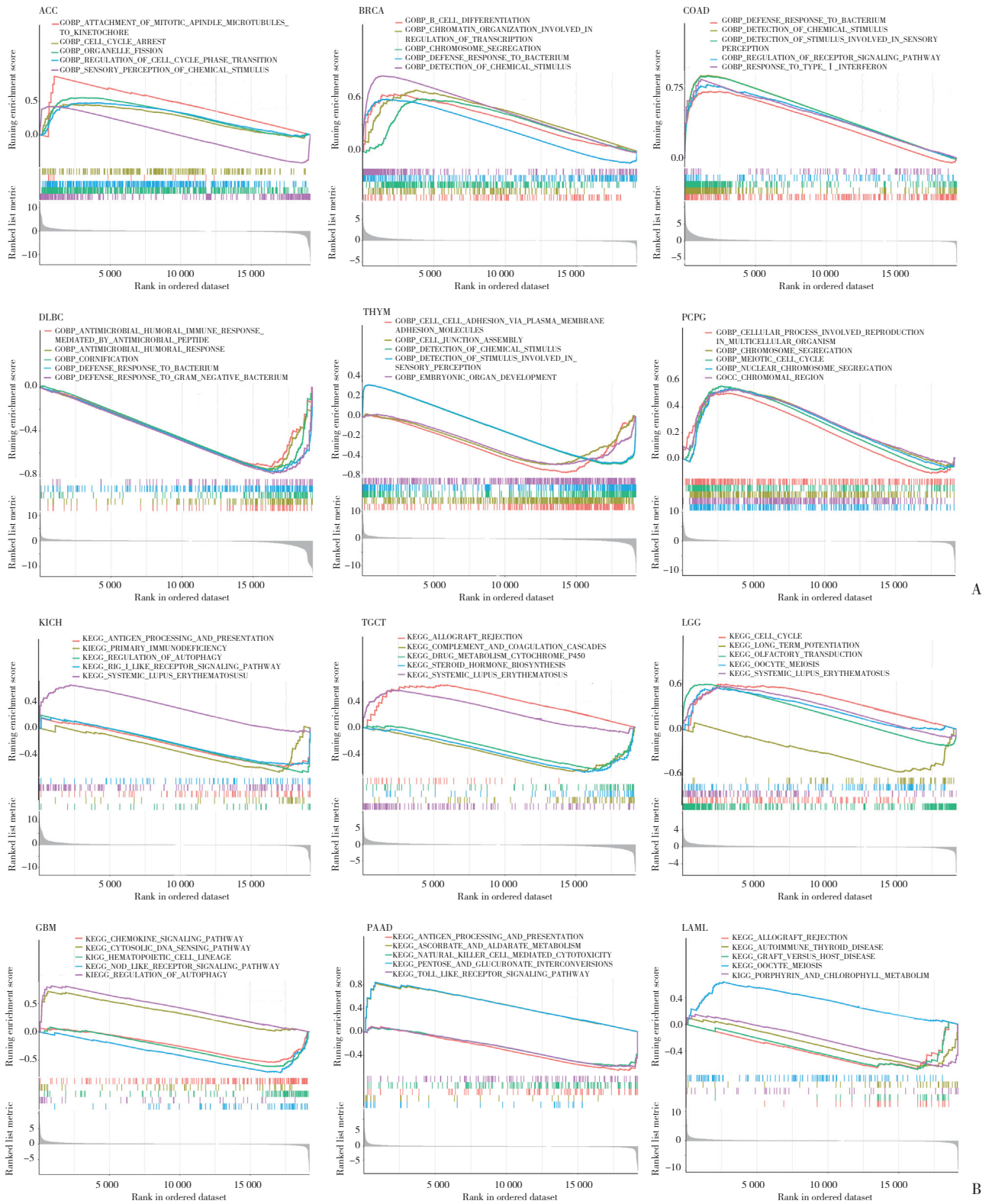
免疫细胞是TME重要的组成部分,在调控肿瘤免疫激活和免疫抑制平衡之间发挥重要作用。一旦这种平衡被打破,发生免疫逃逸和抗肿瘤作用失活将促使肿瘤细胞生长和转移^[22]。本研究结果显示,在BRCA、GBM、LUSC和SARC等肿瘤中,*FBXO43*表达与CD8⁺T细胞、树突状细胞、CD4⁺T细胞、B细胞和中性粒细胞等呈负相关。这提示在这些癌症中,*FBXO43*可能通过促进TME中的免疫逃逸导致肿瘤的进展。TME中免疫评分越高,表明免疫细胞浸润越丰富^[23]。本研究发现*FBXO43*表达与GBM、KIRP、LAML、LUSC和OV等9种癌组织中的免疫评分呈负相关。另一方面,*FBXO43*与大部分癌症中的免疫细胞浸润水平呈负相关趋势。这提示*FBXO43*可能通过减少抗肿瘤免疫细胞浸润程度,从而促进肿瘤免疫抑制微环境的形成,进而影响肿瘤的进展。此外,*FBXO43*与ICP基因的相关性研究发现,*FBXO43*表达与大多数癌症中的*CTLA4*、*CD274*、*PDCD1*和

*TIGIT*等ICP基因呈正相关。这进一步揭示了*FBXO43*在调节免疫微环境中的潜在作用,尤其是在免疫逃逸机制中的作用。MA等^[15]发现*FBXO43*可能通过招募M2巨噬细胞,Treg细胞等促肿瘤免疫细胞,从而促进肿瘤的进展和不良预后,与本研究结果一致,提示*FBXO43*可能通过调控TME来影响肿瘤的进展和患者的预后。

本研究分析了*FBXO43*表达与TMB、MSI和MMR之间的关系。既往研究显示,MMR基因异常通常导致MSI的发生^[24]。与此同时,存在错配修复缺陷和MSI高水平的肿瘤往往表现出较高的TMB^[25]。TMB能一定程度上反映肿瘤细胞产生抗原的能力,从而预测肿瘤对免疫治疗的效果。值得注意的是,TMB和MSI高水平的肿瘤患者通常显示出更好的免疫治疗效果^[26]。本研究结果发现,LIHC、LUAD、LUSC、PRAD和SARC等癌症患者中*FBXO43*表达与MSI/TMB呈正相关,并且在多数癌症中*FBXO43*表达与TMB、

MSI和MMR显著相关,这表明*FBXO43*表达水平可能通过影响肿瘤的TMB与MSI,进而影响肿瘤免疫治

疗效果。然而,*FBXO43*是否可作为相关癌症免疫疗法的预测指标需要进一步论证。



A, GO functional annotation analysis was conducted for *FBXO43* in ACC, BRCA, COAD, DLBC, THYM, and PCPG. B, KEGG pathway analysis was performed for *FBXO43* in KICH, TGCT, LGG, GBM, PAAD, and LAML. Different colors represent distinct functions and pathways, with peaks of the curve pointing upward indicating positive regulation, and peaks pointing downwards indicating negative regulation.

图7 *FBXO43*在泛癌中的GSEA富集分析

Fig.7 GSEA enrichment analysis of *FBXO43* in pan-cancer

GO功能注释和KEGG通路分析表明,*FBXO43*与细胞间黏附和细胞周期等通路紧密相关,这些功能对肿瘤细胞的增殖和迁移至关重要。此外,*FBXO43*还与众多免疫相关功能和通路密切相关,包括补体与凝血级联反应、同种异体免疫排斥、抗原处理与呈递、趋化因子信号通路和自然杀伤细胞介导的细胞毒性等。这也进一步突显了*FBXO43*在调控免疫微环境中扮演的重要角色。

综上所述,*FBXO43*可能通过调控TME来影响癌症进展和预后。*FBXO43*有望成为一种新的癌症预后标志物,并作为一个有前景的免疫相关靶点。本研究属于生物信息学研究,仅在肝癌和胃癌中进行了验证。另外,本研究虽然发现*FBXO43*与免疫细胞浸润有关,但无法确认具体的调控机制,未来需在小鼠移植瘤模型中,进一步分析*FBXO43*对免疫细胞浸润的影响。

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. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] HEGDE PS, CHEN DS. Top 10 Challenges in cancer immunotherapy [J]. *Immunity*, 2020, 52 (1): 17-35. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.12.011.
- [3] DANG F, NIE L, WEI W. Ubiquitin signaling in cell cycle control and tumorigenesis [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28 (2): 427-438. DOI: 10.1038/s41418-020-00648-0.
- [4] ZHENG N, WANG Z, WEI W. Ubiquitination-mediated degradation of cell cycle-related proteins by F-box proteins [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 73: 99-110. DOI: 10.1016/j.biocel.2016.02.005.
- [5] POPOVIC D, VUCIC D, DIKIC I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment [J]. *Nat Med*, 2014, 20 (11): 1242-1253. DOI: 10.1038/nm.3739.
- [6] FENG T, WANG P, ZHANG X. Skp2: a critical molecule for ubiquitination and its role in cancer [J]. *Life Sci*, 2024, 338: 122409. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122409.
- [7] SCHMIDT A, DUNCAN PI, RAUH NR, et al. Xenopus polo-like kinase Plx1 regulates XErp1, a novel inhibitor of APC/C activity [J]. *Genes Dev*, 2005, 19 (4): 502-513. DOI: 10.1101/gad.320705.
- [8] TUNG JJ, HANSEN DV, BAN KH, et al. A role for the anaphase-promoting complex inhibitor Emi2/XErp1, a homolog of early mitotic inhibitor 1, in cytotstatic factor arrest of *Xenopus* eggs [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (12): 4318-4323. DOI: 10.1073/pnas.0501108102.
- [9] HANSEN DV, TUNG JJ, JACKSON PK. CaMKII and polo-like kinase 1 sequentially phosphorylate the cytotstatic factor Emi2/XErp1 to trigger its destruction and meiotic exit [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103 (3): 608-613. DOI: 10.1073/pnas.0509549102.
- [10] ADDEO A, FRIEDLAENDER A, BANNA GL, et al. TMB or not TMB as a biomarker: that is the question [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 163: 103374. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2021.103374.
- [11] CHANG SC, HUNG CS, ZHANG BX, et al. A novel signature of CCNF-associated E3 ligases collaborate and counter each other in breast cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13 (12): 2873. DOI: 10.3390/cancers13122873.
- [12] VADHAN A, WANG YY, YUAN SF, et al. EMI2 expression as a poor prognostic factor in patients with breast cancer [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36 (8): 640-648. DOI: 10.1002/kjm2.12208.
- [13] ZHOU H, ZENG C, LIU J, et al. F-Box protein 43, stabilized by N6-methyladenosine methylation, enhances hepatocellular carcinoma cell growth and invasion via promoting p53 degradation in a ubiquitin conjugating enzyme E2 C-dependent manner [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15 (3): 957. DOI: 10.3390/cancers15030957.
- [14] WU S, QIN L, YANG J, et al. Association between F-box-only protein 43 overexpression and hepatocellular carcinoma pathogenesis and prognosis [J]. *Cancer Med*, 2023, 12 (8): 10062-10076. DOI: 10.1002/cam4.5660.
- [15] MA R, LIU W, SUN T, et al. Clinical significance of FBXO43 in hepatocellular carcinoma and its impact on tumor cell proliferation, migration and invasion [J]. *Peer J*, 2023, 11: e15373. DOI: 10.7717/peerj.15373.
- [16] NI J, DENG B, ZHU M, et al. Integration of GWAS and eQTL analysis to identify risk loci and susceptibility genes for gastric cancer [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 679. DOI: 10.3389/fgene.2020.00679.
- [17] ZHOU S, QU K L, LI J A, et al. YY1 activates EMI2 and promotes the progression of cholangiocarcinoma through the PI3K/Akt signaling axis [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21 (1): 699. DOI: 10.1186/s12935-021-02328-6.
- [18] KRAVCHENKO J, CORSINI E, WILLIAMS MA, et al. Chemical compounds from anthropogenic environment and immune evasion mechanisms: potential interactions [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36 Suppl 1 (Suppl 1): S111-S127. DOI: 10.1093/carcin/bgv033.
- [19] GHAREMANLOO A, SOLTANI A, MODARESI SMS, et al. Recent advances in the clinical development of immune checkpoint blockade therapy [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2019, 42 (5): 609-626. DOI: 10.1007/s13402-019-00456-w.
- [20] TSAI HF, HSU PN. Cancer immunotherapy by targeting immune checkpoints: mechanism of T cell dysfunction in cancer immunity and new therapeutic targets [J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24 (1): 35. DOI: 10.1186/s12929-017-0341-0.
- [21] BARETTI M, LE DT. DNA mismatch repair in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 45-62. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.04.004.
- [22] SADEGHI RAD H, MONKMAN J, WARKIANI ME, et al. Understanding the tumor microenvironment for effective immunotherapy [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41 (3): 1474-1498. DOI: 10.1002/med.21765.
- [23] XU JL, YANG MX, LAN HR, et al. Could immunoscore improve the prognostic and therapeutic management in patients with solid tumors? [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124 (Pt B): 110981. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110981.
- [24] VILAR E, TABERNEIRO J. Molecular dissection of microsatellite instable colorectal cancer [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3 (5): 502-511. DOI: 10.1158/2159-8290.Cd-12-0471.
- [25] YARCHOAN M, JOHNSON BA, LUTZ ER, et al. Targeting neoantigens to augment antitumor immunity [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17 (4): 209-222. DOI: 10.1038/nrc.2016.154.
- [26] FILIPOVIC A, MILLER G, BOLEN J. Progress toward identifying exact proxies for predicting response to immunotherapies [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 155. DOI: 10.3389/fcell.2020.00155.