

自噬相关基因5在人恶性胸膜间皮瘤中的表达及其意义

刘如爱^{1,2,3}, 王播勇^{1,2,3}, 李锦松^{1,2}, 普元倩^{1,2}, 余敏⁴, 熊伟^{1,2,3}

(1. 大理大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 云南 大理 671000; 2. 云南省高校临床生物化学检验重点实验室, 云南 大理 671000; 3. 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000; 4. 云南大学生命科学学院生物化学与分子生物学实验室, 昆明 650091)

摘要 **目的** 探讨自噬相关基因5 (*ATG5*) 在人恶性胸膜间皮瘤 (MPM) 细胞和组织中的表达情况, 分析*ATG5*与MPM患者临床病理参数和预后的相关性。**方法** 实时定量PCR (RT-qPCR) 和Western blotting检测正常人胸膜间皮细胞和MPM细胞、非MPM胸膜间皮组织和MPM组织中*ATG5*的表达差异。应用TCGA数据库分析*ATG5*与MPM患者临床病理特征和预后的相关性。构建Cox回归模型, 分析影响MPM患者预后的因素。GEPIA数据库评估*ATG5*与MPM肿瘤标志物和新型血清标志物的相关性。TIMER数据库分析*ATG5*与MPM免疫细胞浸润和关键免疫调节基因的相关性。**结果** *ATG5*在MPM细胞和组织中显著高表达, 且与MPM患者的肿瘤分期呈正相关 ($P < 0.05$)。生存分析显示, *ATG5*高表达组MPM患者的预后更差, 肿瘤病理类型可能是患者预后不良的危险因素 ($P < 0.05$)。 *ATG5*与多种MPM肿瘤标志物 (*MTAP*、*SETD2*、*NF2*、*FIB3*) 和新型血清标志物 (*HMGB1*、*SMPR*、*THBS2*、*KRAS*) 显著相关 ($P < 0.05$)。 *ATG5*表达与MPM中免疫细胞浸润 (B细胞、CD4⁺T细胞和巨噬细胞) 和免疫相关基因 (*CD28*、*CUL48B*、*CD166*、*MMP14*) 呈显著正相关 ($P < 0.05$)。**结论** *ATG5*在MPM中表达上调, 且与患者不良预后和免疫浸润水平相关, 有望成为MPM早期筛查、诊断和预后评估的重要生物标志物。

关键词 恶性胸膜间皮瘤; 自噬相关基因5; 自噬; 预后; 免疫浸润

中图分类号 R734.3 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2024)08-0673-07

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240722.1244.004>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.08.001

Expression and significance of autophagy-related gene 5 in human malignant pleural mesothelioma

LIU Ruai^{1,2,3}, WANG Boyong^{1,2,3}, LI Jinsong^{1,2}, PU Yuanqian^{1,2}, YU Min⁴, XIONG Wei^{1,2,3}

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Dali University, Dali 671000, China; 2. Key Laboratory of Clinical Biochemical Testing in Yunnan Provincial Universities, Dali 671000, China; 3. Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical R&D, Dali 671000, China; 4. Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract **Objective** To explore the expression of autophagy-related gene 5 (*ATG5*) in human malignant pleural mesothelioma (MPM) cells and tissues and analyze the correlation between *ATG5* expression and patient clinicopathological parameters and prognosis. **Methods** Real-time quantitative PCR and Western blotting were used to detect differences in *ATG5* expression between normal human pleural mesothelial cells and MPM cells and between non-MPM pleural mesothelial tissues and MPM tissues. The Cancer Genome Atlas was used to analyze correlations between *ATG5* expression and clinicopathological characteristics and prognosis of patients with MPM. A Cox proportional hazard model was constructed to analyze factors affecting the prognosis of patients with MPM. The Gene Expression Profiling Interactive Analysis database was used to evaluate the correlation between *ATG5* and MPM tumor markers and novel serum markers. Tumor Immune Estimation Resource was used to analyze correlations between *ATG5* and MPM immune cell infiltration and key immune regulatory genes. **Results** *ATG5* was highly expressed in MPM cells and tissues and positively correlated with tumor stage ($P < 0.05$). High *ATG5* expression indicated poor prognosis ($P < 0.05$). *ATG5* expression was significantly associated with various MPM tumor markers (*MTAP*, *SETD2*, *NF2*, and *FIB3*) and novel serum markers (*HMGB1*, *SMPR*, *THBS2*, and *KRAS*) ($P < 0.05$). *ATG5* was associated with immune cell infiltration in MPM (B cells, CD4⁺T cells, and macrophages) and expression of immune-related genes (*CD28*, *CUL48B*, *CD166*, and *MMP14*) ($P < 0.05$). **Conclusion** *ATG5* is upregulated in MPM and is associated with poor prognosis and immune cell infiltration. *ATG5* could be a key biomarker for early screening, diagnosis, and prognostic assessment of MPM.

Keywords malignant pleural mesothelioma; autophagy-related gene 5; autophagy; prognosis; immune infiltration

基金项目: 国家自然科学基金 (82160516); 云南省昆虫生物医药研发重点实验室开放课题 (AG2022003); 云南省教育厅科学研究基金 (2023Y0949)

作者简介: 刘如爱 (1998-), 女, 硕士研究生。

通信作者: 熊伟, E-mail: xiongwei@dali.edu.cn

收稿日期: 2023-06-20

网络出版时间: 2024-07-23 09:52:24

恶性胸膜间皮瘤 (malignant pleural mesothelioma, MPM) 是起源于胸膜间皮细胞的罕见肿瘤, 具有高度侵袭性和致命性。MPM 的发生主要与职业或环境石棉纤维暴露密切相关, 目前其发病率在全世界范围内呈持续上升趋势^[1]。大多数MPM患者诊断时已为晚期, 预后极差。研究^[2]表明, 自噬过程的异常激活会为肿瘤细胞的增殖和浸润提供条件。自噬相关基因5 (autophagy-related gene 5, ATG5) 是自噬过程的关键参与者, 其异常表达能够通过调控细胞自噬活性影响细胞的新陈代谢和凋亡速度, 在非小细胞肺癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌、结直肠癌等多种恶性肿瘤的发生和进展中起促进或者抑制的双重作用^[3]。然而, 目前ATG5在MPM中的表达情况及其作用机制尚不明确。本研究通过检测MPM细胞和组织中ATG5的表达量, 分析ATG5与MPM患者临床病理参数、免疫浸润和预后的相关性, 以期对MPM患者的早期诊断、治疗监测和预后评估提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 MPM组织样本和临床病理资料收集

收集大理大学第四附属医院(楚雄彝族自治州人民医院)和大姚县人民医院胸外科2020年1月至2022年12月诊治的10例MPM患者和5例非MPM(包括肺大疱、肺结核等疾病)患者的胸膜间皮组织标本。将胸腔镜手术和开胸手术切除的组织进行病理学检查。所有MPM患者术前均未进行放化疗、激素治疗和其他相关抗肿瘤治疗。本研究获得大理大学医学伦理委员会的批准(批号:2020-YXLL20), 所有患者均签署知情同意书。

1.2 细胞、主要试剂和仪器

人MPM细胞系NCI-H2052(肉瘤样型)、NCI-H2452(双相混合型)和正常胸膜间皮细胞系Met5A均购自武汉普诺赛生命科技有限公司; MPM细胞系NCI-H28(上皮样型)购自广州赛库生物技术有限公司; MPM细胞系MTSO-211H(二相间皮瘤肺转移灶)购自中国科学院上海细胞库。所有引物均由北京擎科生物科技股份有限公司(昆明公司)合成; RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司; 胎牛血清、0.25%胰蛋白酶-EDTA消化液购自武汉赛维尔生物科技股份有限公司、青霉素-链霉素溶液购自大连美仑生物技术有限公司; 组织/细胞RNA提取试剂盒购自北京艾德莱生物

科技有限公司; cDNA逆转录试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 凝胶成像分析系统购自美国Bio-Rad公司; 超微量核酸蛋白测定仪、荧光定量PCR仪购自美国ThermoFisher Scientific公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养: 5种细胞系均由美国标准生物品收藏中心提供短串联重复序列鉴定证书。细胞培养过程中定期使用发光法支原体检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)检查是否存在支原体污染。所有细胞系均用含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素溶液的RPMI 1640培养基进行体外培养。将细胞培养箱设置为37℃、5%CO₂, 待细胞融合度达到80%以上时, 使用0.25%胰蛋白酶-EDTA消化液进行消化和传代。

1.3.2 实时定量PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 检测MPM细胞系和组织中ATG5 mRNA的表达: 严格按照组织/细胞RNA提取试剂盒(北京艾德莱生物科技股份有限公司)说明, 从MPM细胞系和组织中分别提取总RNA, 使用超微量核酸蛋白测定仪检测其浓度和纯度, 保证OD_{260 nm}/OD_{280 nm}均位于1.8~2.2。采用qPCR SuperMIX将总RNA (1 pg~1 μg) 逆转录为cDNA, 条件设置为50℃ 15 min, 85℃ 5 s。使用ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行RT-qPCR。ATG5引物: 正向5'-CAGACAACGACTGAAAGACCT-3', 反向5'-CAGGATCAATAGCAGAAGGACAA-3'; GAPDH引物: 正向5'-TGTGGGCATCAATGGATTTGG-3'; 反向5'-ACACCATGTATTCCGGGTCAAT-3'。GAPDH为内参。工作条件: 95℃预变性30 s; 循环反应为95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 共40个循环。每个基因均设置3个复孔, 孔间Ct值误差<0.5。使用2^{-ΔΔCt}法计算目的基因mRNA和内参基因mRNA的差异倍数。实验重复3次。取RT-qPCR产物在1%的琼脂糖凝胶中进行电泳(100 V, 30 min), 应用凝胶成像系统扫描分析结果, 验证引物和RT-qPCR产物的特异性。实验重复3次。

1.3.3 Western blotting检测MPM细胞和组织中ATG5蛋白的表达: 应用RIPA裂解液裂解组织或细胞, 4℃、12 000 r/min离心10 min, 收集上清液, 按照BCA蛋白质浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)说明书测定蛋白质浓度。应用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质, 转移到PVDF膜上, 室温封闭

2 h。先将兔抗人ATG5单克隆抗体(ab108327, 1 : 1 000, 英国Abcam公司)在4 °C下孵育过夜, TBST缓冲液洗膜3次, 每次10 min。然后将辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(ab6721, 1 : 5 000, 英国Abcam公司)在室温下孵育2 h, TBST缓冲液洗膜3次, 每次10 min。最后ECL显色液显色, 以GAPDH为内参, 拍照, 使用ImageJ软件(V1.8.0)对目标蛋白和内参条带的灰度值进行分析。实验重复3次。

1.3.4 癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库分析ATG5表达量与MPM患者临床病理参数的相关性: 使用R语言(4.2.0版本)的cgdsr函数包, 从TCGA(<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>)数据库下载87例MPM样本的转录组数据, 数据类型为RNAseqv2。使用Perl语言整理下载的MPM患者的临床病理资料数据集。其中, 女性16例, 男性71例; 年龄28~81岁, 中位年龄64岁。MPM组织样本中ATG5基因表达量为318.354~1 060.510, 以87例MPM组织样本中ATG5基因表达量的中位数(629.045)为界限, 分为ATG5基因高表达组(44例)和低表达组(43例)。通过R语言epicacle函数包, 进一步分析ATG5基因表达量与MPM患者临床病理参数的相关性。

1.3.5 ATG5表达与MPM患者临床预后的相关性分析: 使用GEPIA在线数据库(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>)对TCGA和GTEX数据库中的MPM样本进行基因表达分析。GEPIA数据库中的搜索条件为“Gene: ATG5”“Datasets Selection: MESO”, 获取ATG5基因表达量与MPM患者预后的关系。

1.3.6 单因素Cox回归分析: 提取MPM临床资料中的生存时间和生存状态、年龄、肿瘤类型、分期和TNM分期后, 结合ATG5的表达情况构建Cox回归模型。对ATG5基因表达量与MPM各项临床参数、预后的关系进行单因素回归分析, 计算风险比(hazard ratio, HR)、95%置信区间(confidence interval, CI)和P值。

1.3.7 ATG5基因表达与MPM肿瘤标志物和新型血清标志物的相关性分析: 最新版《恶性胸膜间皮瘤(MPM)诊治共识》(2022年版)中推荐的MPM肿瘤标志物包括甲基硫腺苷磷酸化酶(methylthioadenosine phosphorylase, MTAP)、组蛋白甲基转移酶(SET domain-containing 2, SETD2)、神经纤维瘤病

2(neurofibromatosis 2, NF2)、纤维蛋白3(fibulin-3, FIB3)等^[4]。目前国内外文献报道的MPM新型血清标志物包括高迁移率族蛋白1(high mobility group protein 1, HMGB1)、可溶性间皮素相关蛋白(soluble mesothelin-related peptide, SMRP)、血小板反应蛋白2(thrombospondin 2, THBS2)、原癌基因KRAS等^[5]。通过GEPIA数据库在线检索ATG5与各项MPM肿瘤和血清标志物的表达相关性, 并进行可视化作图分析。

1.3.8 TIMER数据库分析ATG5与MPM免疫浸润的相关性: 通过TIMER2.0数据库(<http://timer.cistrome.org/>)计算MPM中ATG5表达量与肿瘤纯度、B细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞和自然杀伤细胞表达丰度的关系, 评估ATG5表达与肿瘤-免疫细胞浸润的相关性。为进一步揭示ATG5与MPM患者免疫系统的相关性, 对已经报道的参与免疫浸润的肿瘤干细胞标志物CD166^[6], 调节MPM肿瘤细胞侵袭、免疫细胞活性和免疫反应过程的关键免疫分子CUL48^[7]、MMP14^[8], 免疫检查点CD28^[9]与ATG5间的关联进行分析和比较。

1.4 统计学分析

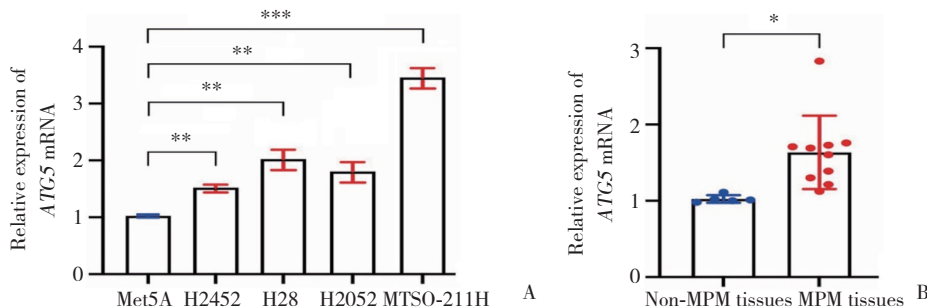
采用SPSS 23.0软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2组间比较采用独立样本t检验, 多组间比较采用方差分析。计数资料用率(%)表示, 采用 χ^2 检验进行比较。采用Spearman相关分析对基因表达进行相关性检验。采用Kaplan-Meier法、log-rank检验进行生存分析。采用Cox回归模型分析预后的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MPM细胞和组织中ATG5 mRNA表达显著增高

RT-qPCR结果表明, 与正常的胸膜间皮细胞系Met5A相比, 4个MPM细胞系NCI-2452、NCI-H28、NCI-H2052和MTSO-211H中ATG5 mRNA的表达量均显著增高, 其表达量分别为正常胸膜间皮细胞的1.521、2.011、1.895、3.486倍($P < 0.01$), 见图1A。与5例非MPM胸膜间皮组织比较, 10例MPM组织中ATG5 mRNA的表达量显著增高($P < 0.05$), 见图1B。

2.2 ATG5蛋白在MPM细胞和组织中表达显著增高

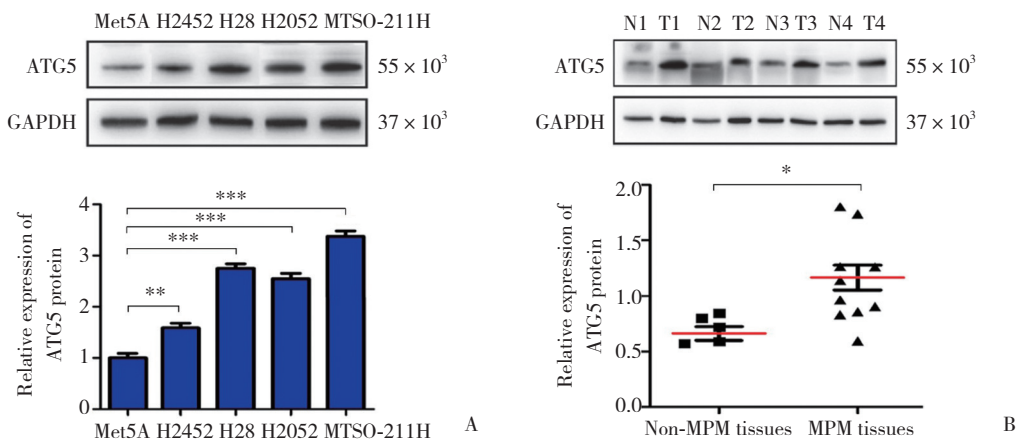


A, normal pleural mesothelial cell line Met5A and four MPM cell lines; B, non-MPM pleural mesothelial tissues and MPM tissues. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图1 RT-qPCR检测ATG5 mRNA表达量
Fig.1 ATG5 mRNA expression detected by RT-qPCR

Western blotting结果表明,与正常的胸膜间皮细胞系Met5A相比,4个MPM细胞系NCI-2452、NCI-H28、NCI-H2052和MTSO-211H中ATG5蛋白的表达量均显

著增高($P < 0.01$),见图2A。与5例非MPM胸膜间皮组织比较,10例MPM组织中ATG5蛋白表达量显著增高($P < 0.05$),见图2B。



A, normal pleural mesothelial cell line Met5A and four MPM cell lines; B, non-MPM pleural mesothelial tissues and MPM tissues. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. N, non-MPM pleural mesothelial tissues; T, MPM tissues.

图2 Western blotting检测ATG5蛋白表达量
Fig.2 ATG5 protein expression detected by Western blotting

2.3 ATG5 mRNA表达量与MPM患者临床病理参数的相关性

对TCGA数据库中ATG5 mRNA的表达量与MPM患者的临床资料进行分析,结果显示,ATG5高表达与MPM肿瘤分期呈显著相关($P < 0.05$)。进一步比较结果发现,ATG5 mRNA表达量与MPM患者的年龄、TNM分期和肿瘤类型无相关性。见表1。

2.4 ATG5高表达影响MPM患者的预后

使用GEPIA数据库构建Kaplan-Meier生存模型,进行log-rank检验,结果显示,与ATG5基因低表达组相比,ATG5基因高表达组患者无疾病进展生存期(disease-free survival, DFS)更短(log-rank $P = 0.023$,

$HR = 1.9, P = 0.025$)。见图3。

MPM患者的总体生存期(overall survival, OS)与ATG5基因表达量无相关性(log-rank $P = 0.076, HR = 1.5, P = 0.079$)。见图3。

2.5 单因素Cox回归分析

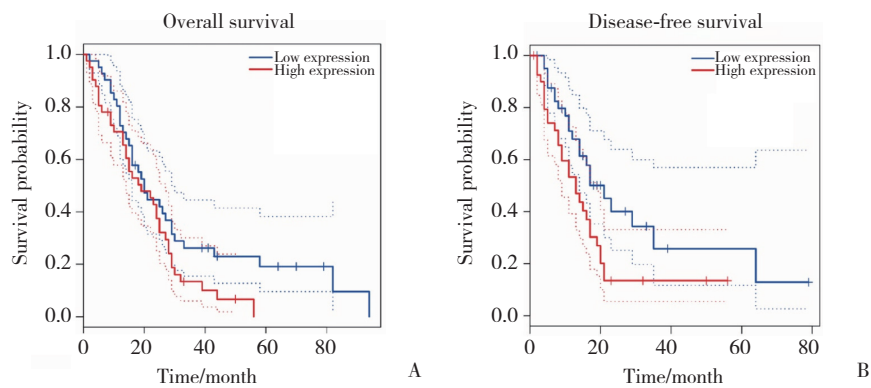
构建87例MPM患者临床参数的Cox比例风险回归模型,进行单因素分析。结果显示,病理类型是影响MPM患者预后不良的危险因素($P < 0.05$),与上皮样型MPM患者相比,双相混合型MPM患者的预后更差。见表2。

2.6 ATG5与其他MPM肿瘤标志物和新型血清标志物的相关性

表1 ATG5 mRNA表达量与MPM患者临床参数的相关性 [n (%)]

Tab.1 Correlation between ATG5 mRNA expression and clinical parameters of patients with MPM [n (%)]

Clinical characteristic	ATG5 expression		χ^2	P
	Low expression	High expression		
Age			0.335	0.720
≤60 years	15 (17.24)	18 (20.69)		
>60 years	28 (32.18)	26 (29.89)		
Sex			0.365	0.743
Female	9 (10.34)	7 (8.05)		
Male	34 (39.08)	37 (42.53)		
T stage			3.422	0.490
T ₁	7 (8.05)	7 (8.05)		
T ₂	16 (18.39)	10 (11.49)		
T ₃	15 (17.24)	17 (19.54)		
T ₄	4 (4.60)	9 (10.34)		
T _x	1 (1.15)	1 (1.15)		
N stage			3.398	0.499
N ₀	23 (26.44)	21 (24.14)		
N ₁	7 (8.04)	3 (3.45)		
N ₂	10 (11.49)	16 (18.39)		
N ₃	1 (1.15)	2 (2.30)		
N _x	2 (2.30)	2 (2.30)		
M stage			2.108	0.394
M ₀	25 (28.74)	32 (36.78)		
M ₁	2 (2.30)	1 (1.15)		
M _x	16 (18.39)	11 (12.64)		
Cancer type			0.444	0.811
Biphasic type	10 (11.50)	13 (14.94)		
Epithelioid type	32 (36.78)	30 (34.48)		
Sarcomatoid type	1 (1.15)	1 (1.15)		
Clinical stages			9.045	0.029
Stage I	5 (5.75)	5 (5.75)		
Stage II	13 (14.94)	3 (3.45)		
Stage III	20 (22.99)	25 (28.73)		
Stage IV	5 (5.75)	11 (12.64)		



A, overall survival curves for patients with low and high ATG5 expression; B, disease-free survival curves for patients with low and high ATG5 expression.

图3 ATG5基因表达对MPM患者生存的影响

Fig.3 Effect of ATG5 expression on the survival of patients with MPM

通过GEPIA网站在线可视化分析TCGA数据库中的MPM肿瘤标志物与ATG5基因表达的相关性。结果表明,ATG5与MPM肿瘤标志物MTAP($r = 0.22, P = 0.041$)、SETD2($r = 0.33, P = 0.002$)、NF2($r = 0.31, P = 0.003$)、FIB3($r = 0.22, P = 0.040$)和MPM新型血清标志物HMGB1($r = 0.34, P = 0.001$)、SMPR($r = 0.23, P = 0.031$)、THBS2($r = 0.25, P = 0.022$)、KRAS($r = 0.23, P = 0.031$)均呈显著正相关。

2.7 MPM中ATG5基因的表达与免疫相关性

TIMER数据库分析结果显示,MPM中ATG5的表达与B细胞($r = 0.30, P = 0.005$)、CD4⁺T细胞($r = 0.22, P = 0.046$)和巨噬细胞($r = 0.42, P < 0.001$)浸润呈显

著正相关。与肿瘤纯度($r = -0.09, P = 0.401$)、CD8⁺T细胞($r = 0.10, P = 0.367$)、中性粒细胞($r = 0.01, P = 0.926$)、树突状细胞($r = 0.11, P = 0.340$)和自然杀伤细胞($r = -0.20, P = 0.061$)的免疫浸润水平不相关。

为进一步阐明ATG5与MPM发病和进展过程的免疫相关性,对参与免疫浸润、调节肿瘤细胞侵袭和免疫反应、免疫检查点抑制剂治疗等过程的关键免疫相关基因与ATG5的关联进行分析。结果表明,MPM中ATG5的表达与免疫分子CD28($r = 0.23, P = 0.035$)、CUL48B($r = 0.40, P < 0.001$)、CD166($r = 0.32, P = 0.002$)、MMP14($r = 0.22, P = 0.045$)呈显著正相关。

表2 MPM患者预后影响因素的单因素Cox回归分析
Tab.2 Univariate Cox regression analyses of prognosis in patients with MPM

Clinical characteristic	HR (95%CI)	P
Age		
>60 years vs. ≤60 years	1.32 (0.81–2.17)	0.263
T stage		
T ₂ vs. T ₁	0.98 (0.47–2.03)	0.949
T ₃ vs. T ₁	1.05 (0.52–2.15)	0.883
T ₄ vs. T ₁	0.77 (0.33–1.83)	0.556
T _x vs. T ₁	2.09 (0.45–9.65)	0.345
N stage		
N ₁ vs. N ₀	0.93 (0.45–1.92)	0.837
N ₂ vs. N ₀	0.81 (0.46–1.41)	0.459
N ₃ vs. N ₀	1.78 (0.54–5.83)	0.340
N _x vs. N ₀	1.83 (0.56–6.00)	0.316
M stage		
M ₁ vs. M ₀	1.94 (0.46–8.14)	0.364
M _x vs. M ₀	0.68 (0.40–1.15)	0.148
Clinical stage		
Stage II vs. stage I	0.63 (0.26–1.51)	0.300
Stage III vs. stage I	0.76 (0.36–1.59)	0.461
Stage IV vs. stage I	0.71 (0.30–1.67)	0.428
Cancer type		
Epithelioid type vs. biphasic type	0.50 (0.30–0.85)	0.010
Sarcomatoid type vs. biphasic type	3.42 (0.44–26.68)	0.240
ATG5 expression		
High expression vs. low expression	1.39 (0.87–2.24)	0.170

3 讨论

由于MPM潜伏期长且诊断较困难,目前尚无针对MPM的有效治疗模式和方法。因此,急需发现新

的早期筛查和诊断标志物,以提高患者的预后。细胞自噬异常与肿瘤的发生和发展机制密切相关,异常激活的自噬过程会触发肿瘤发生,避免肿瘤细胞凋亡,为肿瘤的增殖和浸润提供条件^[10-11]。自噬过

程受自噬相关基因ATG5的调控。目前的研究表明,ATG5在肿瘤中的作用仍存在争议。ATG5是卵巢上皮性肿瘤的抑制剂,然而ATG5上调通过增强自噬促进胃癌的进展^[12-13]。ATG5在恶性肿瘤发生、发展和治疗中的具体调控途径、作用机制等尚不完全明确,尤其是ATG5在MPM中的表达情况和调控机制仍未见相关报道。

本研究发现,ATG5在MPM细胞和组织中高表达,并与肿瘤分期呈显著相关,尤其是4期MPM患者的ATG5高表达率最高,推测恶性程度高的MPM组织伴随自噬水平显著上调,进而促进肿瘤细胞的增殖和生长。生存分析显示,ATG5高表达的患者预后较差。此外,ATG5具备作为MPM诊断标志物的潜力,其与多种MPM肿瘤标志物(*MTAP*、*SETD2*、*NF2*、*FIB3*)和MPM新型血清标志物(*HMGBI*、*SMPR*、*THBS2*、*KRAS*)均呈显著正相关。研究^[14]证明,ATG5可作为具有石棉接触史的职业工人的早期生物监测标志物,可以在MPM诊断前2年的样本中检测到,具有高灵敏度和高特异度。以上结果均提示,ATG5有望成为一种新的MPM诊断标志物,用于MPM的早期诊断和预后评估。

免疫系统靶向治疗是目前MPM领域最具潜力的新型治疗方案之一,本研究发现,ATG5和B细胞、CD4⁺T细胞和巨噬细胞的浸润水平显著相关。处于石棉暴露的MPM细胞中的CD4⁺T细胞增殖能力被显著抑制,且石棉可诱导巨噬细胞凋亡和免疫活性抑制,以促进MPM的发生和发展^[15]。此外,ATG5的表达与调节MPM肿瘤细胞侵袭和免疫反应、免疫检查点抑制剂治疗等过程的关键基因(*CD166*、*CD28*、*CUL48B*、*MMP14*)呈显著正相关。以上结果均提示,ATG5对MPM免疫调控的作用可能通过影响多种免疫细胞、免疫检查点和免疫调节分子而起效。

综上所述,ATG5在MPM细胞和组织中显著高表达,并且与MPM患者的预后呈显著负相关,有可能成为MPM肿瘤和治疗的新靶点。鉴于ATG5与多种MPM肿瘤和血清标志物、免疫浸润细胞和免疫相关基因显著相关,因此ATG5可能通过与多基因相互作用共同影响MPM的发生和进展。针对不同分子分型和病理分期、分级的MPM患者提供多种诊断方法联合应用和多种生物标志物协助治疗,有望提

高MPM治疗的有效性和精确性,从而促进个体化治疗、联合治疗取得重大突破。

参考文献:

- [1] SINN K, MOSLEH B, HODA MA. Malignant pleural mesothelioma: recent developments [J]. *Curr Opin Oncol*, 2021, 33 (1): 80-86. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000697.
- [2] 崔大炜, 邢育柏, 金宏远, 等. 肝癌高表达长链非编码RNA在肝癌中的表达及其对自噬水平的影响 [J]. *中国医科大学学报*, 2019, 48 (11): 970-974. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2019.11.003.
- [3] HERNANDEZ GA, PERERA RM. Autophagy in cancer cell remodeling and quality control [J]. *Mol Cell*, 2022, 82 (8): 1514-1527. DOI: 10.1016/j.molcel.2022.03.023.
- [4] 毛伟敏, 陆舜, 王俊, 等. 恶性胸膜间皮瘤 (MPM) 诊治共识 (2022, 杭州) [J]. *中国肿瘤*, 2022, 31 (12): 941-951. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2022.12.A002.
- [5] FONTANA V, PISTILLO MP, VIGANI A, et al. Potential role of serum mesothelin in predicting survival of patients with malignant pleural mesothelioma [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21 (2): 128. DOI: 10.3892/ol.2020.12389.
- [6] INAGUMA S, LASOTA J, WANG Z, et al. Expression of ALCAM (CD166) and PD-L1 (CD274) independently predicts shorter survival in malignant pleural mesothelioma [J]. *Hum Pathol*, 2018, 71: 1-7. DOI: 10.1016/j.humpath.2017.04.032.
- [7] LIU L, HUI R, ZENG T, et al. CUL4B is a potential novel prognostic biomarker and is correlated with immune infiltrates in malignant pleural mesothelioma [J]. *Int J Gen Med*, 2022, 15: 4613-4623. DOI: 10.2147/IJGM.S355889.
- [8] CREANEY J, PATCH AM, ADDALA V, et al. Comprehensive genomic and tumour immune profiling reveals potential therapeutic targets in malignant pleural mesothelioma [J]. *Genome Med*, 2022, 14 (1): 58. DOI: 10.1186/s13073-022-01060-8.
- [9] SCHUBERTH PC, HAGEDORN C, JENSEN SM, et al. Treatment of malignant pleural mesothelioma by fibroblast activation protein-specific re-directed T cells [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 187. DOI: 10.1186/1479-5876-11-187.
- [10] 李千会, 陈说, 赵杨. E2F1通过调节自噬相关蛋白表达促进卵巢癌细胞耐药 [J]. *中国医科大学学报*, 2020, 49 (5): 448-453. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2020.05.014.
- [11] LI YJ, LEI YH, YAO N, et al. Autophagy and multidrug resistance in cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2017, 36 (1): 52. DOI: 10.1186/s40880-017-0219-2.
- [12] YANG F, PENG ZX, JI WD, et al. LncRNA CCAT1 upregulates ATG5 to enhance autophagy and promote gastric cancer development by absorbing miR-140-3p [J]. *Dig Dis Sci*, 2022, 67 (8): 3725-3741. DOI: 10.1007/s10620-021-07187-9.
- [13] 邓琦程, 王福萍, 高爱华, 等. Beclin1和Atg5在上皮性卵巢癌组织中的表达及临床意义 [J]. *基础医学与临床*, 2013, 33 (12): 1595-1599. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2013.12.023.
- [14] TOMASETTI M, MONACO F, STROGOVETS O, et al. ATG5 as biomarker for early detection of malignant mesothelioma [J]. *BMC Res Notes*, 2023, 16 (1): 61. DOI: 10.1186/s13104-023-06330-1.
- [15] KUMAGAI-TAKEI N, YAMAMOTO S, LEE S, et al. Inflammatory alteration of human T cells exposed continuously to asbestos [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (2): 504. DOI: 10.3390/ijms19020504.

(编辑 陈 姜)