

## 基于多组学整合分析瞬时受体电位通道在肝癌发生发展中的分子分型及机制

于奕<sup>1</sup>, 李菁<sup>2\*</sup>, 张泽鑫<sup>3</sup>, 王智槟<sup>4</sup>, 钟崇<sup>5</sup> (<sup>1</sup>湖南中医药大学第一附属医院肝胆胰疝外科, 长沙 410021; <sup>2</sup>湖南中医药大学第一附属医院肿瘤科; <sup>3</sup>广州中医药大学第二临床医学院; <sup>4</sup>湖南中医药大学中西医结合学院; <sup>5</sup>广州中医药大学第一附属医院胆胰外科; \*通讯作者, E-mail: lilee2711@sina.com)

**摘要:** 目的 探究瞬时受体电位(TRP)通道在肝细胞癌(HCC)发生发展中的生物学机制及治疗潜力。方法 整合TCGA、MsigDB、KEGG和Genecards数据库筛选TRP通道差异基因,结合无监督聚类鉴定分子亚型。采用单变量Cox和LASSO回归构建HCC预后模型,经Bootstrap重抽样(1 000次)及外部队列验证。通过CIBERSORT算法评估免疫细胞浸润程度,并分析TRP预后风险评分(TRPRS)与免疫检查点分子表达的相关性。结合药物敏感性预测和拷贝数变异分析,评估预后模型临床关联性。通过qRT-PCR检测关键基因(GHR, KCNJ11)在肝癌细胞系MHCC-97H和正常肝细胞LO2中mRNA转录水平,考马斯亮蓝染色法检测其蛋白表达水平,以验证关键基因在肝癌细胞中的表达变化。结果 共鉴定出93个TRP通道差异基因,基于无监督聚类将其划分为2种分子亚型(cluster 1与cluster 2)。通过LASSO-Cox回归筛选核心基因GHR和KCNJ11构建预后模型,内外部队列的ROC曲线证实了该模型的可靠性(在TCGA\_HCC训练集中AUC>0.7, P=0.000 14)。多因素Cox分析显示,TRPRS是HCC患者在TCGA\_HCC(P<0.001)、GSE76427(P=0.045)和LIRI-JP(P=0.03)队列中的独立预后因素;免疫浸润与免疫检查点分析显示TRPRS与免疫微环境特征相关,与免疫检查点CTLA4表达正相关,与CD274表达负相关(均P<0.05);药物敏感性分析表明,高TRPRS组对顺铂等化疗药物敏感性增强(P<0.001),且高TRPRS组TIDE评分更高(P=0.006 7)。qRT-PCR和考马斯亮蓝染色结果显示,GHR和KCNJ11在肝癌细胞系MHCC-97H中的mRNA(均P<0.001)及总蛋白表达均显著高于正常肝细胞LO2。结论 TRP通路因子GHR和KCNJ11通过调控免疫微环境和药物敏感性参与肝癌进展,为HCC机制研究及治疗靶点筛选提供依据。

**关键词:** TRP通道; 分子亚型; 预后模型; 肝细胞癌; 免疫浸润; 生物标志物

中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1007-6611(2026)03-0237-13 DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2026.03.001

### Typing analysis and mechanism study of transient receptor potential channel in hepatocellular carcinoma based on multi-omics integration

YU Yi<sup>1</sup>, LI Jing<sup>2\*</sup>, ZHANG Zexin<sup>3</sup>, WANG Zhibin<sup>4</sup>, ZHONG Chong<sup>5</sup> (<sup>1</sup>Department of Hepatobiliary, Pancreatic and Hernia Surgery, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410021, China; <sup>2</sup>Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine; <sup>3</sup>Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine; <sup>4</sup>College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine; <sup>5</sup>Department of Biliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine; \*Corresponding author, E-mail: lilee2711@sina.com)

**Abstract:** *Objective* To investigate the biological mechanism and therapeutic potential of transient receptor potential (TRP) channels in the occurrence and development of hepatocellular carcinoma (HCC). *Methods* Differential genes related to TRP pathway were screened by integrating the TCGA, MsigDB, KEGG and Genecards databases, and molecular subtypes were identified by unsupervised clustering. A prognostic model was constructed using univariate Cox and LASSO regression, and validated through Bootstrap resampling (1 000 times) and external cohorts. The CIBERSORT algorithm was employed to evaluate the degree of immune cell infiltration, and the correlation between TRP prognostic risk score (TRPRS) and expressions of immune checkpoint molecules was analyzed. The clinical relevance of the prognostic model was assessed by drug sensitivity prediction combined with copy number variation analysis. The mRNA transcription levels of key genes (GHR, KCNJ11) were detected in HCC cell line MHCC-97H and normal hepatocyte line LO2 by qRT-PCR, and the protein expression levels of two key genes in HCC cells were measured using Coomassie brilliant blue staining and validated. *Results* A total of 93 TRP-related differentially expressed genes were identified and categorized into two molecular subtypes (cluster 1 and cluster 2) based on unsupervised clustering. The core genes GHR and KCNJ11 were selected by LASSO-Cox re-

**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(82274526);湖南省自然青年基金资助项目(2023JJ40503);湖南省卫生健康委科研重点项目(C202203108338)

**作者简介:**于奕,男,1983-09生,硕士,主治医师,E-mail:crimson11@sohu.com

**收稿日期:**2025-09-04

gression to construct a prognostic model, and the reliability of the model was confirmed by ROC curves in both internal and external cohorts (AUC>0.7,  $P=0.000\ 14$  in TCGA\_HCC training cohort). Multivariate Cox analysis indicated that TRPRS was an independent prognostic factor in TCGA\_HCC ( $P<0.001$ ), GSE76427 ( $P=0.045$ ), and LIRI-JP ( $P=0.03$ ) cohorts. Additionally, analyses of immune infiltration and immune checkpoints revealed that TRPRS was associated with immune microenvironment characteristics (positively correlated with CTLA4, negatively correlated with CD274, both  $P<0.05$ ). Drug sensitivity analysis demonstrated that the patients with high TRPRS had lower TIDE score ( $P=0.006\ 7$ ), and the sensitivity to chemotherapeutic drugs such as cisplatin increased in high TRPRS group ( $P<0.001$ ). Results of qRT-PCR and Coomassie brilliant blue staining showed that both the mRNA ( $P<0.001$ ) and total protein expression levels of GHR and KCNJ11 were significantly higher in HCC cell line MHCC-97H than in normal hepatocyte line LO2. **Conclusion** The TRP pathway factors GHR and KCNJ11 are involved in the progression of HCC by regulating the immune microenvironment and drug sensitivity, which provides a basis for mechanism research and therapeutic target screening of HCC.

**Keywords:** TRP pathway; molecular subtype; prognostic model; hepatocellular carcinoma; immune infiltration; biomarker

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝癌类型, 占全球肝癌病例的 90%<sup>[1,2]</sup>。根据 2020 年全球癌症统计数据, 肝癌年新发病例达 90.6 万例, 死亡 83 万例<sup>[2]</sup>, 其中中国贡献了近 50% 的病例<sup>[3]</sup>。HCC 的致病机制复杂, 主要由慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 或丙型肝炎病毒 (HCV) 感染、酒精性肝病 (ASH) 及黄曲霉素暴露等多因素驱动, 通过慢性炎症及纤维化-肝硬化级联反应驱动恶性转化<sup>[4]</sup>。由于缺乏早期特异性症状及有效筛查手段, 超过 50% 的患者确诊时已进展至中晚期, 失去根治性手术机会<sup>[5]</sup>。尽管手术切除、肝移植及局部消融术可改善早期患者预后, 但 5 年复发率仍高达 50%~70%<sup>[6]</sup>。晚期患者依赖全身治疗 (如索拉非尼、仑伐替尼) 的客观缓解率不足 20%, 且伴随显著毒性反应<sup>[7]</sup>, 亟需开发更精准、安全的治疗策略。

瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道作为跨膜离子通道超家族, 广泛参与细胞信号传导、代谢调节及感觉信号传递等生理过程<sup>[8]</sup>。近年研究表明, 其异常表达与肿瘤发生发展密切相关, 可能成为新型抗肿瘤治疗靶点<sup>[9]</sup>。例如, TRPV4 可通过激活钙调蛋白依赖性激酶 (CaMK) 信号通路调控肝癌细胞增殖和存活<sup>[10,11]</sup>; 或通过调节 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路促进肿瘤细胞上皮-间质转化 (EMT), 进而增强细胞迁移和侵袭能力<sup>[12]</sup>; TRPV1 激动剂辣椒素可显著抑制肝癌异种移植模型的肿瘤生长<sup>[13,14]</sup>。然而, TRP 通道在肝细胞癌中的作用尚未见报道, 仍缺乏系统性研究, 严重制约了基于 TRP 调控的精准治疗策略应用<sup>[15,16]</sup>。基于此, 本研究整合多组织学数据与生物信息学分析, 系统解析 TRP 通道相关因子在肝细胞癌发生发展中的动态调控网络, 揭示 TRP 通道在肝癌免疫微环境调控及治

疗响应中的作用, 并通过 qRT-PCR 和考马斯亮蓝染色验证关键基因功能, 从而为肝癌的分子分型、靶向治疗及预后预测提供全新策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 多组学数据整合与 TRP 相关基因集构建

本研究系统整合了来自癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库、分子签名数据库 (MsigDB)、京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 和人类基因数据库 (Genecards) 等的肝细胞癌 (HCC) 多维度组学数据及转录组信息。从 UCSC Xena 数据库下载训练集 TCGA\_HCC 表达谱数据, 经  $\log_2(\text{FPKM}+1)$  标准化处理矩阵 (FPKM 指每百万外显子片段每千碱基长度), 同步获取来自 ICGC 数据库的肝癌数据集 (LICA-FR、LIRI-JP); GEO 数据库下载验证集数据: GSE14520、GSE76427、GSE109211。MsigDB (REACTOME\_TRP\_CHANNELS)、KEGG (数据库中 TRP 通道相关炎症介质) 数据库下载 TRP 相关因子。为确保基因集完整性, 进一步采用 Genecards 数据库, 以 “transient receptor potential” 为关键词查询 TRP 相关基因。

### 1.2 TRP 通道相关基因表达失调分析

采用 R 语言的 limma 包 (v3.52.0) 进行肿瘤与正常组织的差异表达分析。通过线性模型拟合与经验贝叶斯模态检验, 筛选满足  $|\log_2\text{FC}|>0.3$  且校正后  $P<0.05$  的显著差异表达基因 (DEGs)。火山图绘制采用 ggplot2 包, 通过动态阈值设定突出生物学意义显著的基因。热图可视化通过 pheatmap 包实现, 采用 Z-score 标准化处理表达矩阵, 使用 Pearson 相关系数进行基因间聚类, 完整展示 TRP 基因家族在肿瘤微环境中的表达重构特征。

### 1.3 TRP 相关分子亚型识别

采用 R 包 ConsensusClusterPlus 对 HCC 样本进行无监督层次聚类分析,以识别基于 TRP 相关基因表达谱的分子亚型。参数设置为 maxK=10, cluster-Alg="hc", distance="pearson"。通过一致性累积分布函数(CDF)曲线确定最佳聚类数( $k$ ),最终将样本划分为稳定的分子亚型。

#### 1.4 TRP 预后评分系统(TRPRS)的构建

使用亚型间差异表达的 TRP 基因进行单变量 Cox 筛选预后相关基因。基于预后相关基因,使用 LASSO Cox 去除冗余基因,构建 TRPRS,即 LARPS,计算公式如下:  $LARPS = \sum Coef_i * Expri$ , 其中,  $Expri$  为模型中特征基因  $i$  的表达值,  $Coef_i$  为对应的 LASSO 回归系数。根据所有样本 TRPRS 评分的中位数将患者分为高风险与低风险两组,并评估该评分在训练集和外部独立验证集中预后预测效能。

#### 1.5 TRPRS 与临床表型关联分析

基于训练集临床特征,展示不同临床特征 TRPRS 差异,评估高低风险组间免疫浸润差异及与免疫检查点表达的相关性。

#### 1.6 TRPRS 预测患者治疗效果

使用 pRRophetic 包进行药敏性预测,通过岭回归模型计算 high TRPRS 和 low TRPRS 间化疗药物敏感性(或“半抑制浓度  $IC_{50}$ ”)。免疫治疗预后评估整合 TIDE 算法,计算肿瘤免疫功能障碍与排除评分,结合亚组生存分析验证 TRPRS 的临床转化价值。

#### 1.7 TRP 过程紊乱与其他组学关联

计算 TRP 风险评分高低组突变差异及拷贝数变异(CNV)差异。

#### 1.8 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 GHR 和 KCNJ11 的 mRNA 水平

人肝癌细胞系 MHCC-97H 及正常肝细胞 LO2 购自美国 ATCC,培养于含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基,置于 37 °C、5%  $CO_2$  恒温培养箱。取分批培养的细胞,采用 TRIzol 试剂(Invitrogen, 美国)提取总 RNA, NanoDrop 2000 测定浓度, PrimeScript RT 试剂盒(Takara, 日本)合成 cDNA。针对 GHR(F: 5'-CTGGCTGTGCTCTTCATCCT-3', R: 5'-TGGTAGCCAAACTCCTTGCT-3')和 KCNJ11(F: 5'-GCTGCTCTGGTGGTATTGT-3', R: 5'-CAGCAGGTCCAGGAAGATGA-3')设计特异性引物,以 GAPDH 为内参基因(F: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', R: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3')。使用

SYBR Green Master Mix (Roche, 瑞士)在 LightCycler 480 系统进行扩增,反应条件:95 °C 预变性 5 min; 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 40 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算相对表达量。

#### 1.9 考马斯蓝染色法检测 GHR 和 KCNJ11 总蛋白表达水平

取分批培养的细胞收集裂解液,经 BCA 法定量后取等量总蛋白(30  $\mu$ g)进行 SDS-PAGE 电泳(浓缩胶 80 V 30 min, 分离胶 120 V 90 min)。电泳结束后,直接将凝胶置于考马斯亮蓝 R-250 染色液(0.1% 考马斯亮蓝, 45% 甲醇, 10% 冰醋酸, 国药集团化学试剂有限公司)中室温振荡染色 30 min, 脱色液(5% 甲醇, 1% 冰醋酸)洗涤至背景清晰。使用凝胶成像系统扫描染色后的凝胶,观察两组细胞间总蛋白表达差异。

#### 1.10 统计学分析

差异基因表达分析采用 limma 包进行线性建模,使用经验贝叶斯法计算校正  $P$  值( $FDR < 0.05$ )。生存分析通过 Kaplan-Meier 法和 log-rank 检验评估组间差异。预后模型构建采用 LASSO 回归筛选特征基因,通过交叉验证确定最优参数,时间依赖性 ROC 曲线评估预测效能。免疫浸润评分通过 CIBERSORT 算法计算,使用非参数检验进行组间比较。药物敏感性通过岭回归模型预测,基因组变异分析采用 Fisher 检验和 GISTIC 算法。实验数据采用  $t$  检验(正态分布)或 Mann-Whitney  $U$  检验(非正态)分析,所有统计检验显著性阈值设定为  $\alpha = 0.05$ , 多重比较校正采用 Holm 法。

## 2 结果

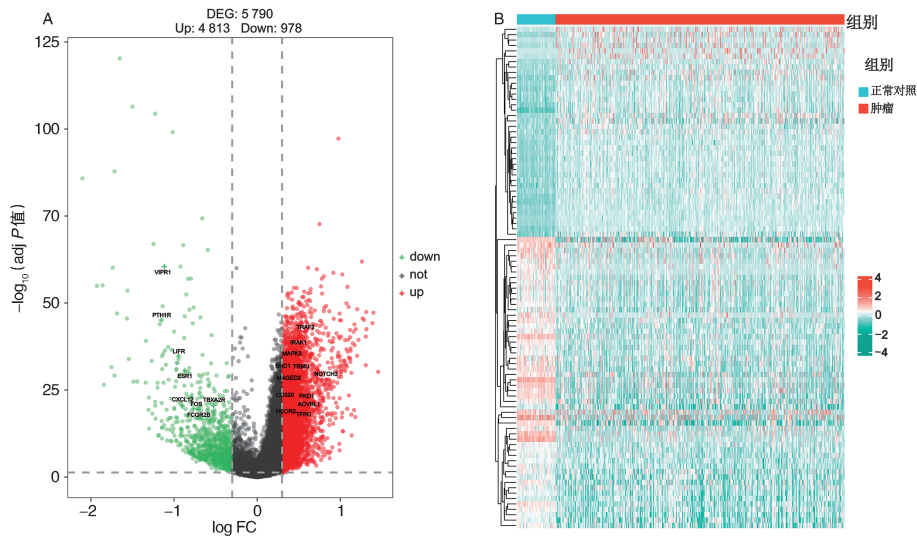
### 2.1 数据获取与预处理

本研究系统整合多源数据库的 TRP 通道相关基因数据:从分子特征数据库(molecular signatures database, MsigDB v7.5)提取 REACTOME\_TRP\_CHANNELS 基因集,涵盖 28 个 TRP 通道核心调控基因;基于 KEGG 数据库中 TRP 通道相关炎症介质(如 map04750 通路),获取 44 个炎症-TRP 交互调控基因;通过 Genecards (Version 5.13)数据库以“transient receptor potential”为关键词进行全基因组检索,查询到 11 471 个基因,采用严格筛选标准(Relevance Score  $\geq 20$  分,覆盖 PubMed 文献证据  $\geq 5$  篇),最终纳入 522 个(不重复)高置信度 TRP 相关基因。

### 2.2 TRP通道相关基因的差异表达谱分析

基于limma包(v3.56.2)进行差异表达分析,采用Benjamini-Hochberg法校正多重假设检验,筛选标准为 $|\log_2(\text{fold change})| > 0.3$ 且 $FDR < 0.05$ 。在TCGA-HCC队列中共鉴定出5790个DEGs,包括

4813个上调基因和978个下调基因,其中93个TRP通道相关基因呈现显著表达失调( $P < 1.0 \times 10^{-4}$ ,  $FDR < 0.001$ ),占TRP候选基因集合的17.8%(93/522),提示TRP通道在肝癌发生中具有关键调控作用(见图1)。



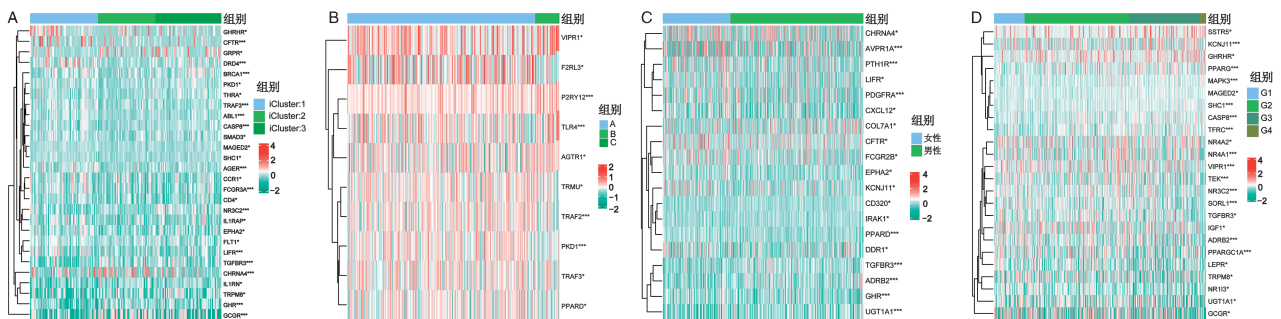
注:A. 肝癌组织与癌旁组织间差异表达基因火山图。虚线标示了差异表达倍数( $|\log_2FC| > 0.3$ )与统计学显著性( $FDR < 0.05$ )的阈值。B. 93个TRP通道相关差异基因在肝癌组织与正常组织中的表达热图。图例数值代表基因表达量的Z-score值(红色表示高表达,蓝色表示低表达)。

图1 TRP通路差异基因表达谱分析

Figure 1 Analysis of differential gene expression profiles in the TRP pathway

进一步分析显示,这些差异TRP基因的表达模式与临床病理特征显著相关(Kruskal-Wallis检验,  $FDR < 0.05$ ):TCGA分子分型(iC1、iC2、iC3)、Child-Pugh分级(A、B、C)、性别(女、男)、肿瘤组织学分级(G1、G2、G3、G4)(见图2)。差异表达分析结果显示,多数TRP相关基因在肝癌组织中呈现上调趋势。基于STRING数据库(v12.0,相互作用置信度阈

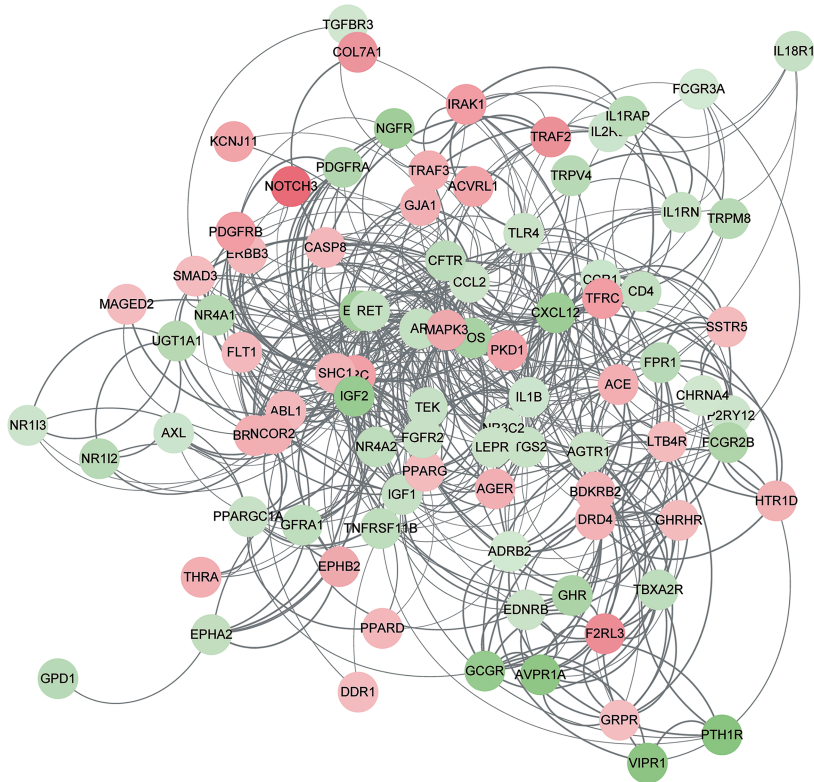
值 $> 0.7$ ),利用差异表达的93个TRP基因构建TRP相关基因的蛋白质互作网络(PPI),该网络显示出显著的交互作用(见图3),其中钙离子信号通路相关基因(如CALML家族成员)和MAPK信号通路相关基因(如HRAS)构成了网络的核心节点,提示TRP通道可能通过调控细胞内钙稳态和MAPK信号转导在肝癌进程中发挥协同作用。



注:93个差异TRP因子在TCGA分子分型(A)、Child-Pugh分级(B)、性别(C)、肿瘤组织学分级(D)中的表达量热图。基因上标符号表示该基因在该临床特征分组间的表达差异具有统计学意义(Kruskal-Wallis检验, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )。图例数值表示基因表达量的Z-score值(红色表示高表达,蓝色表示低表达)。

图2 基于TCGA-HCC队列的TRP通路差异基因与临床特征关联分析

Figure 2 Association analysis of TRP pathway differential genes with clinicopathological features in the TCGA-HCC cohort



注:节点代表蛋白质,节点颜色深度代表该蛋白质在互作网络中的连接度(Degree),颜色越深表示与之相互作用的蛋白数量越多,边代表蛋白质间的相互作用。

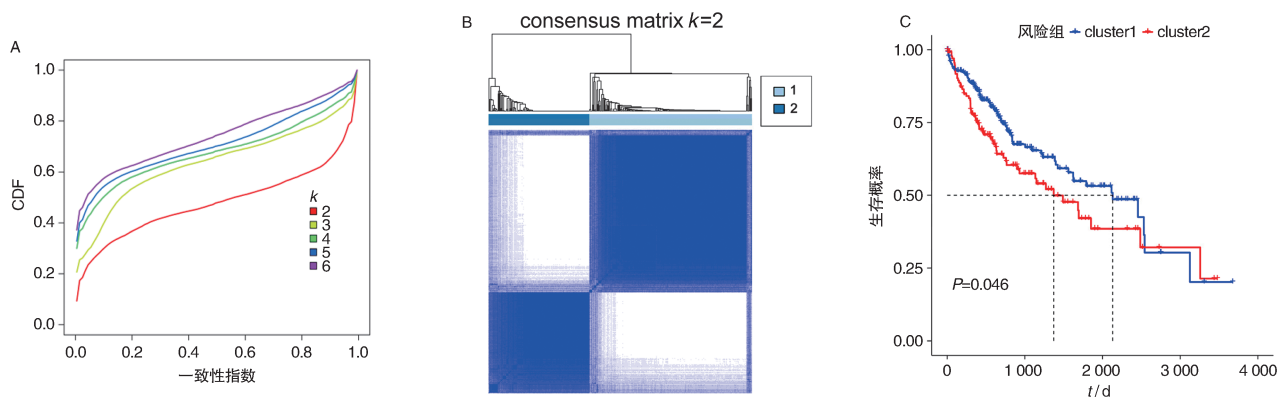
图3 基于STRING数据库TRP通路差异基因蛋白互作网络分析

Figure 3 Protein-protein interaction network analysis of TRP pathway differential genes based on STRING database

### 2.3 TRP分子亚型识别与临床关联

基于TRP相关基因表达谱,采用R包ConsensusClusterPlus进行无监督层次聚类分析,参数设置为: maxK=10, clusterAlg="hc", distance="pearson"。为了保证分组间数量差距不大,且在横坐标0.1~0.9范围内曲线下下降斜率最小的分类为最佳分类(见图

4A)。当k=2时,曲线下下降斜率最小。最终分成两组: cluster 1(包含231个样本)和 cluster 2(包含143个样本),且样本分配均衡性最佳(见图4B)。对亚组进行生存预后分析,结果表明两组具有显著差异(P=0.046,见图4C)。且相关热图表明TRP亚型与临床特征间存在显著差异性(见图5A)。对亚组进



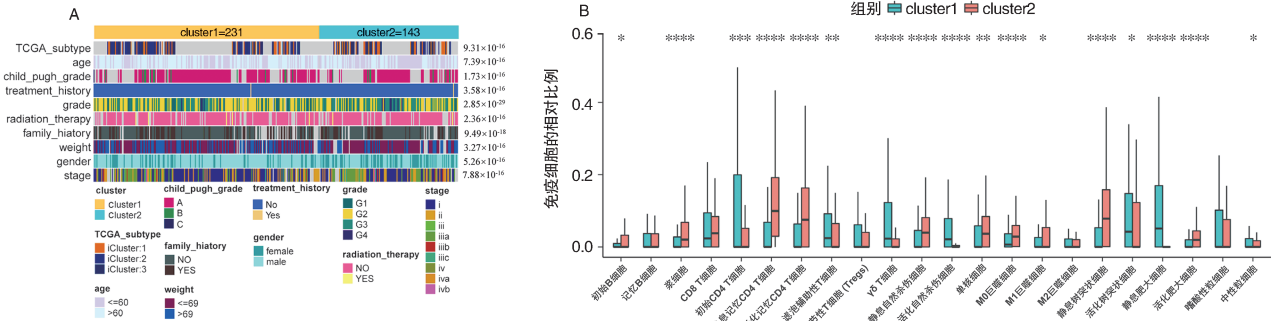
注:A.一致性累积分布函数(CDF)图;B. k=2时的矩阵热图;C.两种TRP分子亚型患者的Kaplan-Meier生存曲线。

图4 基于TRP通路基因的肝癌分子亚型识别及生存差异分析

Figure 4 Molecular subtyping and survival analysis based on TRP pathway genes in HCC

行免疫浸润分析,结果表明在浆细胞、静息记忆 CD4<sup>+</sup> T细胞、静息树突状细胞等免疫细胞中存在显

著差异(见图 5B),提示 TRP 分子亚型可能通过重塑免疫抑制微环境影响预后。



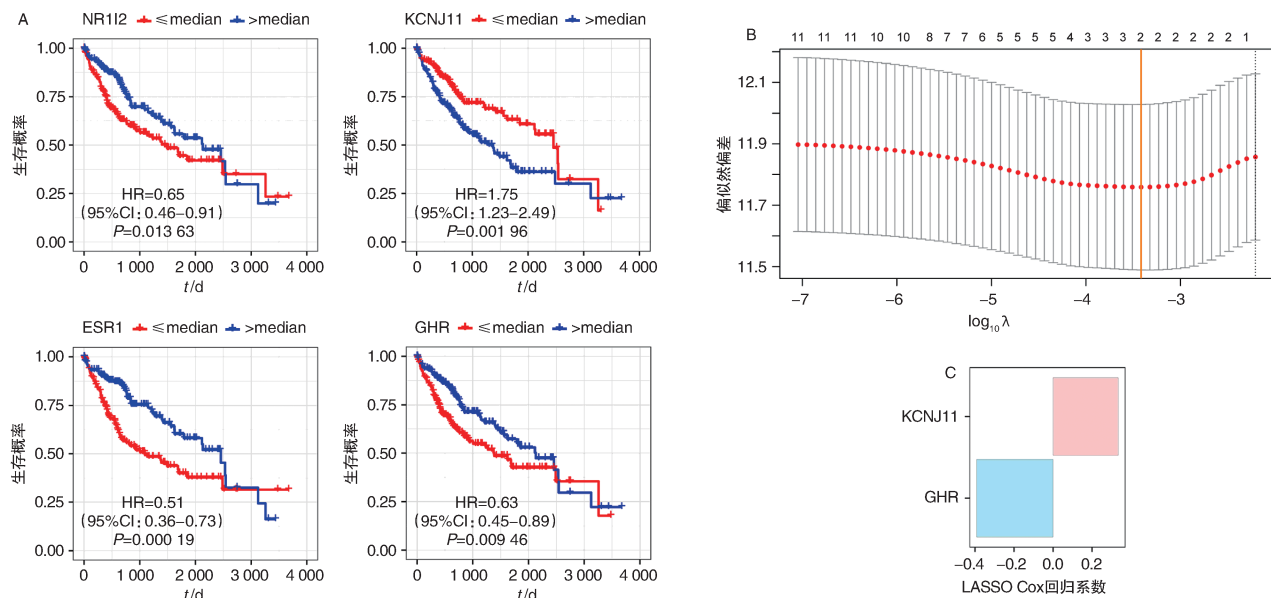
注:A. TRP 分子亚型与主要临床特征的关联热图。热图右侧数值代表各特征在不同亚型中分布频数的对数值(log<sub>10</sub>转换),用于直观展示分布差异;B. TRP 分子亚型间 22 种免疫细胞浸润评分的差异分析。纵坐标表示基于 CIBERSORT 算法估算的各类免疫细胞在样本中的相对比例(范围 0~1)。\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001,\*\*\*\*P<0.0001;其中 cluster1 和 cluster2 为基于 TRP 相关基因表达谱,通过 R 包 ConsensusClusterPlus 进行无监督层次聚类得到的两种肝癌分子亚型,cluster1 包含 231 例样本,cluster2 包含 143 例样本。

图 5 基于 TCGA-HCC 队列的 TRP 分子亚型与临床特征及肿瘤免疫微环境的关联分析

Figure 5 Association of TRP molecular subtypes with clinicopathological features and immune microenvironment in the TCGA-HCC cohort

2.4 TRP 预后风险评分系统(TRPRS)的构建与验证  
基于 TRP 分子亚型间差异分析(limma v3.56.2, |log<sub>2</sub>FC|>0.3 且 FDR<0.05),筛选出 29 个亚型特异性 TRP 基因。通过单变量 Cox 比例风险回归分析(P<

0.05),鉴定出 11 个预后相关基因,展示最显著的前 4 个预后基因并进行 LASSO Cox 分析,筛选出 2 个基因,即生长激素受体(GHR)、钾内向整流通道亚家族 J 成员 11(KCNJ11),构建 TRPRS(见图 6)。



注:A. 基于 TRP 差异基因筛选出的前 4 个最显著预后基因(单变量 Cox 分析,P<0.05)的生存曲线;B. LASSO 回归的交叉验证误差曲线,曲线上的误差线表示均值的标准误,垂直虚线指通过最小准则(左)及一倍标准误准则(右)选择的 λ 值;C. 构建预后模型的 2 个特征基因及其 LASSO 回归系数。

图 6 基于 TCGA-HCC 队列的 TRPRS 预后模型核心基因筛选与 LASSO 回归分析

Figure 6 Screening of core genes and LASSO regression analysis for TRP prognostic model in the TCGA-HCC cohort

根据 TRPRS 评分的中位数将样本分为 high TRPRS 和 low TRPRS, 绘制生存预后曲线两组间存在显著差异, ROC 曲线的 AUC>0.7 (P=0.000 14, 见图 7), 表明构建的 TRPRS 评分系统具有较高的预后

效果。TRPRS 在外部独立验证集中也得到了验证(见图 7): GSE14520 (P=0.009 9)、GSE76427 (P=0.021)、LICA-FR (P=0.11)、LIRI-JP (P=0.004 2)。

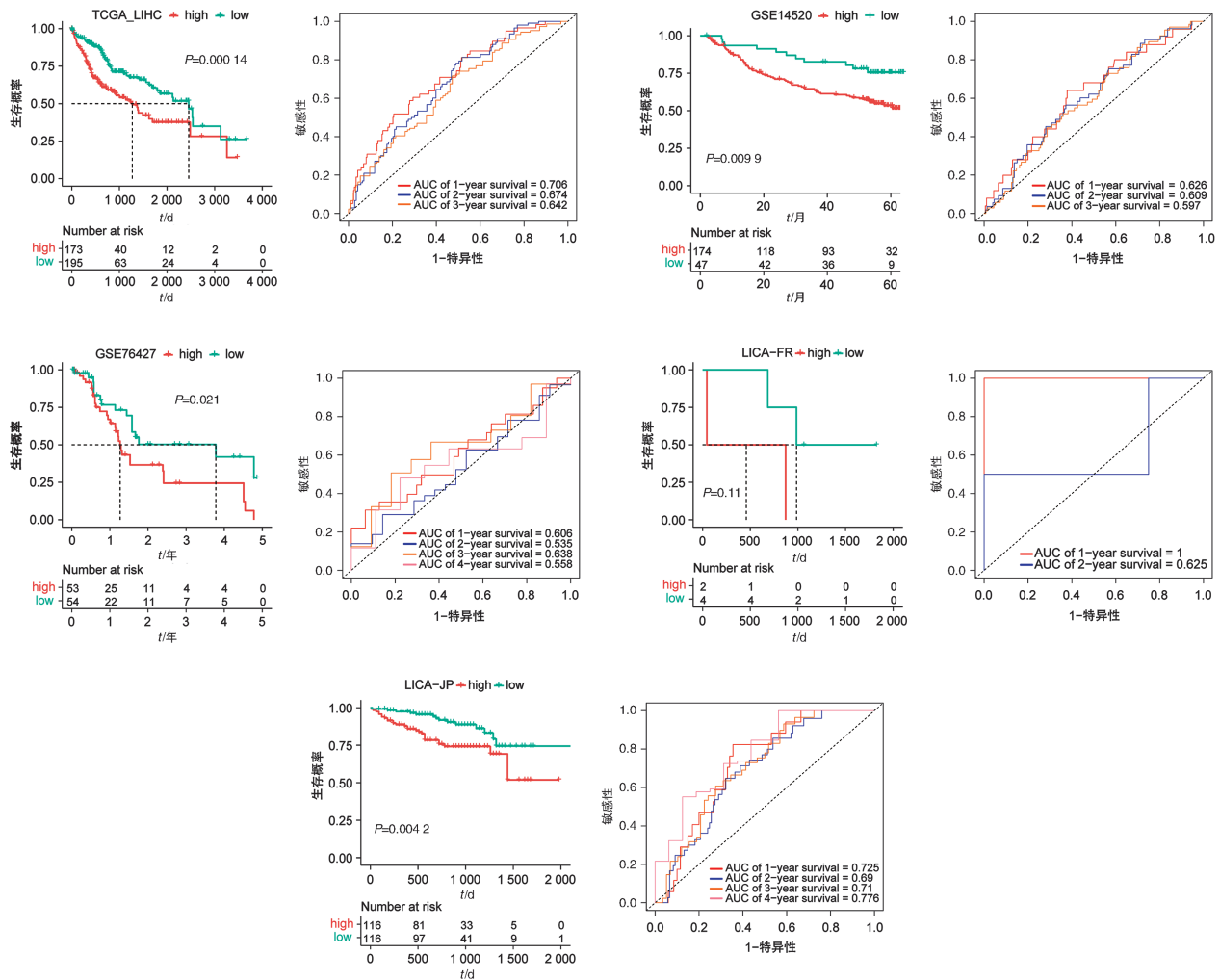


图 7 TRPRS 预后模型在 TCGA\_HCC 训练集及 4 个验证队列中的生存预测效能

Figure 7 Survival predictive efficacy of the TRPRS prognostic model in the TCGA\_HCC training cohort and four validation cohorts

TCGA\_HCC 中单、多因素分析都表明 TRPRS 为独立预后因素; GSE14520 中单因素表明 TRPRS 为独立预后因素 (P=0.036 8); GSE76427 中多因素表明 TRPRS 为独立预后因素 (P=0.045); LICA-FR 表明 TRPRS 不显著, 可能与样本异质性相关; LIRI-JP 中单、多因素分析都表明 TRPRS 为独立预后因素 (见图 8)。

### 2.5 TRPRS 与临床病理特征的关联分析

基于训练集 TCGA\_HCC 的全面分析显示, TRPRS 在 TCGA 分子分型 iCluster1 与 iCluster2、体

重、临床分期 I 与 III、肿瘤分级、有无家族史等临床特征之间存在统计学差异 (见图 9), 提示 TRPRS 可作为肝功能代偿能力的潜在生物标志物。对高低风险组进行免疫浸润分析, 结果表明在 CD8<sup>+</sup> T 细胞、活化记忆 CD4<sup>+</sup> T 细胞、静息树突状细胞、嗜酸性粒细胞等免疫细胞中存在显著差异 (见图 10)。TRPRS 与免疫检查点 CTLA4、CD80 及 CD86 的表达呈显著正相关性, 与 CD274 呈显著负相关 (见图 10), 提示 TRPRS 可能通过调节共抑制/共刺激分子平衡影响免疫治疗应答。

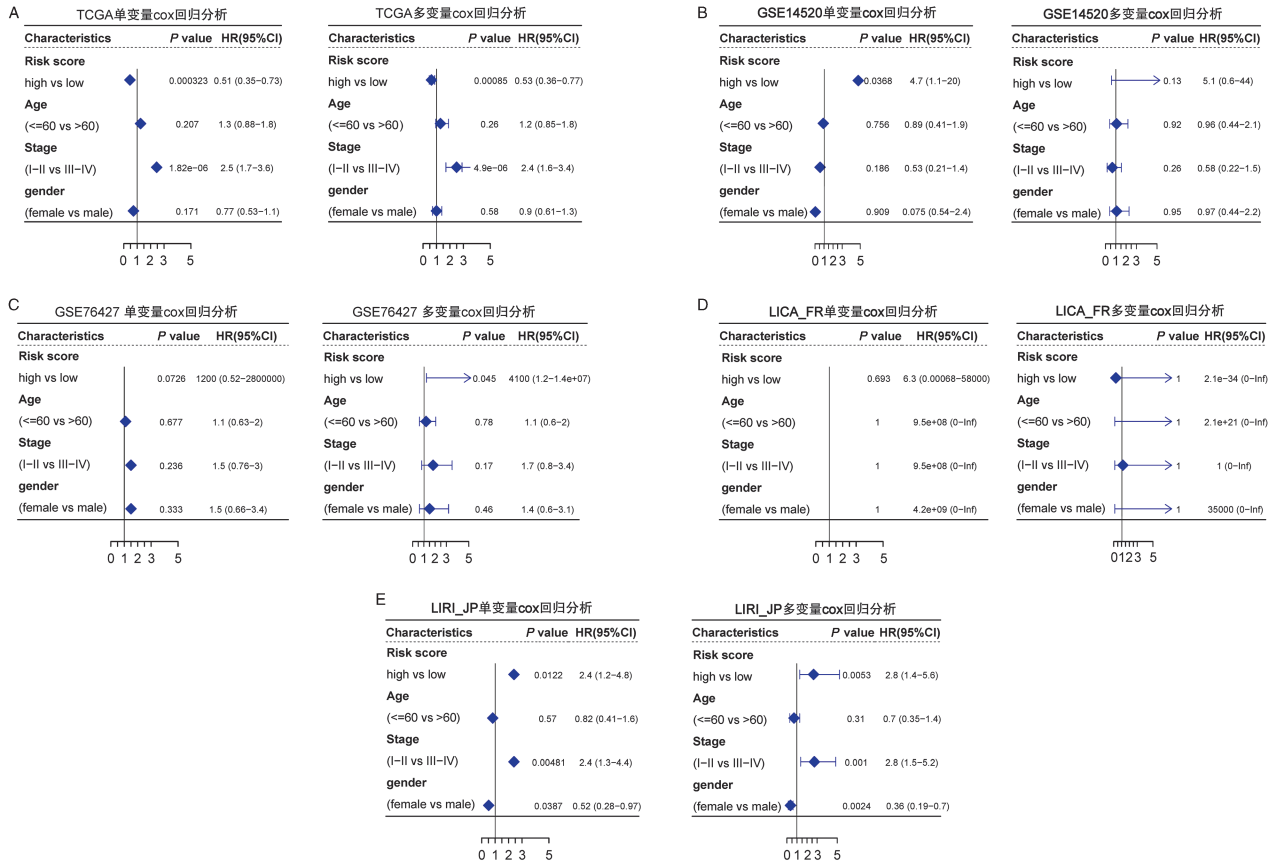
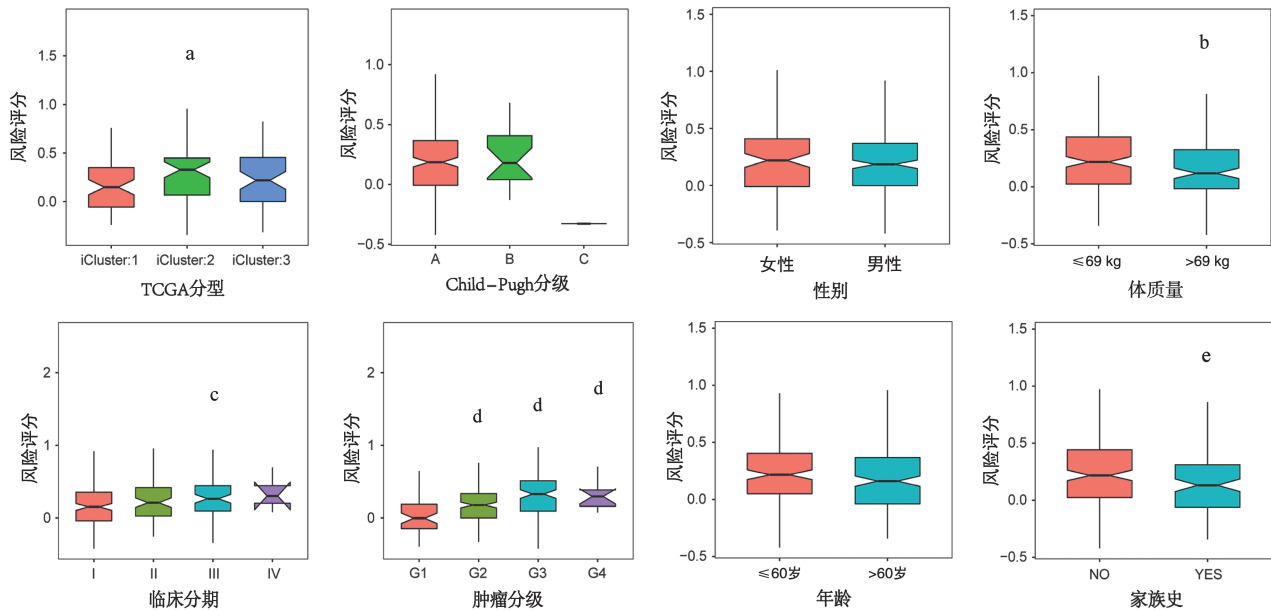


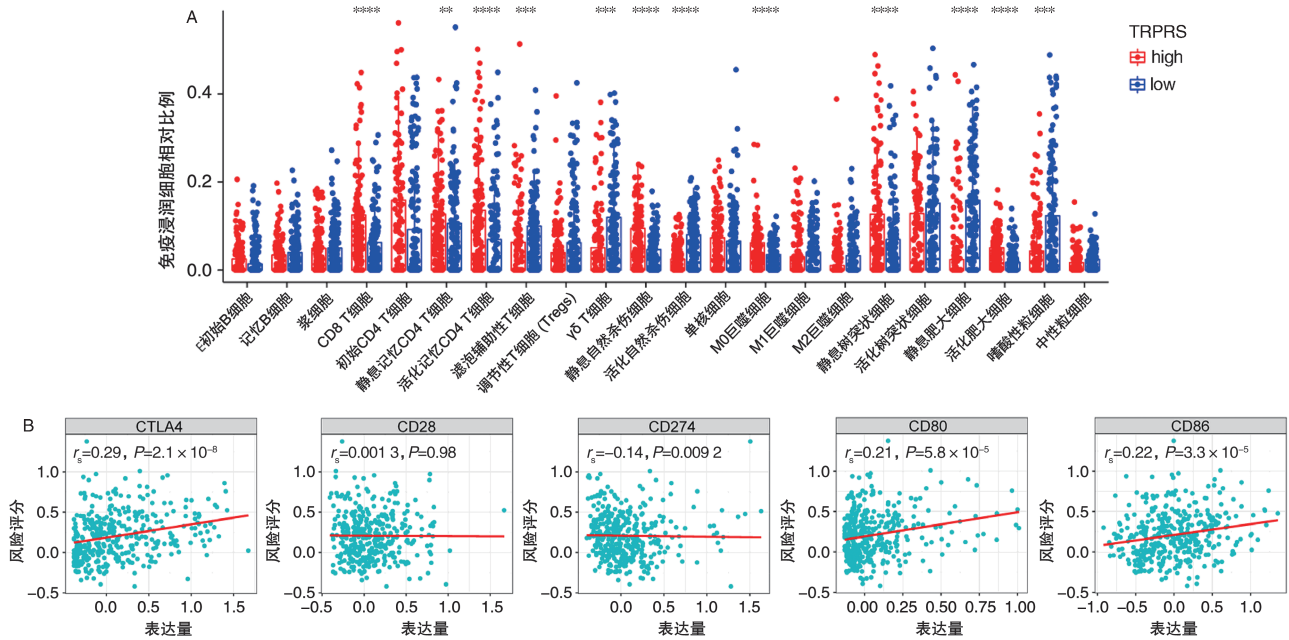
图8 TRPRS评分在TCGA\_HCC、GSE14520、GSE76427、LICA-FR、LIRI-JP队列中作为独立预后因素的验证  
 Figure 8 Validation of the TRPRS score as an independent prognostic factor in the TCGA\_HCC, GSE14520, GSE76427, LICA-FR, and LIRI-JP cohorts



注:与iCluster1组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与体质量≤69 kg组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与临床分期I期比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与组织学分级G1组比较,<sup>d</sup> $P < 0.0001$ ;与无家族史组比较,<sup>e</sup> $P < 0.01$ 。

图9 基于TCGA\_HCC队列的TRPRS评分与临床病理特征的相关性分析

Figure 9 Correlation analysis between TRPRS score and clinicopathological features based on the TCGA\_HCC cohort



注:A. 高、低 TRPRS 组间 22 种免疫浸润评分的差异。与 high 组相比, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

B. TRPRS 与 4 个关键免疫检查点分子表达水平的 Spearman 相关性分析。

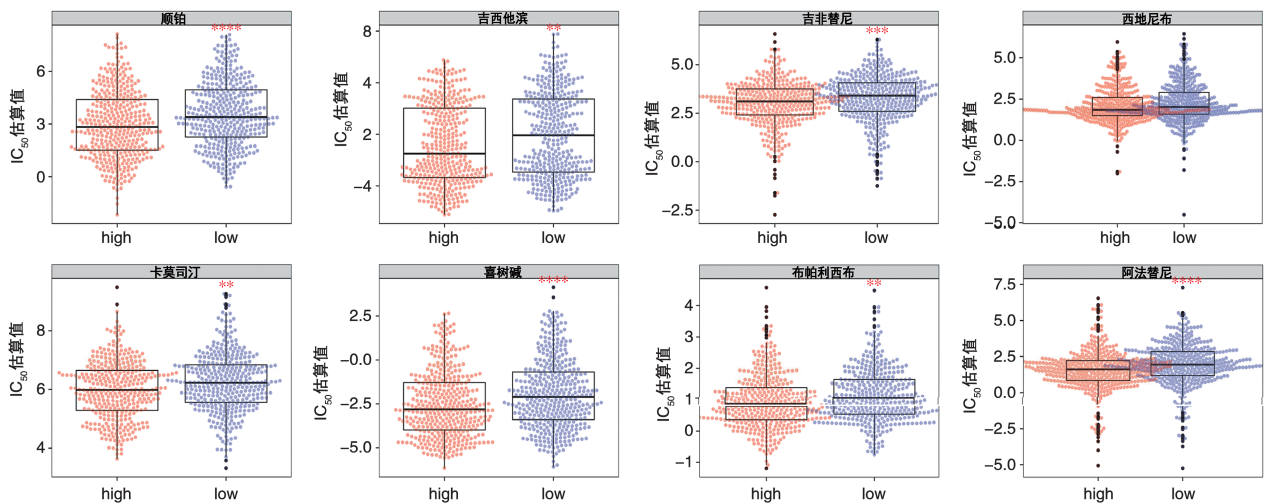
图 10 基于 TCGA\_HCC 队列的 TRPRS 评分与免疫微环境的相关性分析

Figure 10 Correlation analysis between TRPRS score and immune microenvironment based on the TCGA\_HCC cohort

### 2.6 TRPRS 的治疗预测价值评估

使用 pRRophetic 包计算 high TRPRS 和 low TRPRS 间药物有效性, 结果显示高、低风险组间顺铂、吉西他滨、吉非替尼等药物有效性差异具有统计学意义(见图 11)。之后对训练集 TCGA\_HCC 的 TRPRS 评估免疫治疗预后, 使用 TIDE 在线网站分析, 结果表明差异具有统计学意义( $P=0.0067$ , 见图

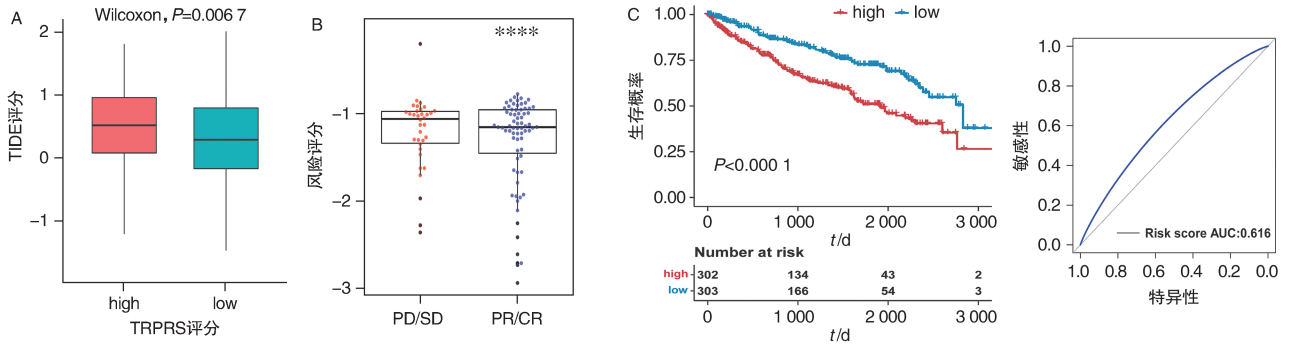
12, 13)。对于其他具有免疫治疗数据的队列也评估了 TRPRS 的免疫治疗预后效果, 结果显示, 在黑色素瘤 GSE91061 数据集( $P < 0.0001$ )、肾透明细胞癌( $P < 0.0001$ )、膀胱癌数据集(IMvigor210,  $P=0.025$ )中 TRPRS 评估免疫治疗预后效果显著。这些结果共同表明 TRPRS 具有跨瘤种预测免疫治疗预后的价值。



注: 训练集(TCGA\_HCC)队列中, 高、低 TRPRS 风险组(分别标记为“high”和“low”)对多种常用化疗药物估计半抑制浓度( $IC_{50}$ )的差异比较箱线图。与高 TRPRS 组比较, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

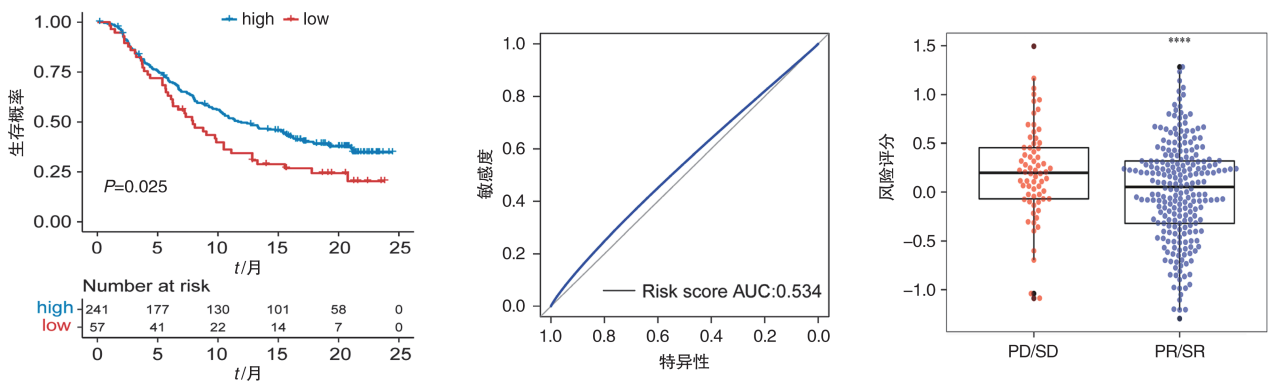
图 11 基于 TCGA\_HCC 队列的 TRPRS 评分与化疗药物敏感性的关联分析

Figure 11 Association between TRPRS score and chemotherapy drug sensitivity based on the TCGA\_HCC cohort



注:A.训练集TCGA\_HCC亚型样本基于TRPRS评分分组的肿瘤免疫功能障碍与排斥(TIDE)评分差异。B.黑色素瘤GSE91061队列中免疫治疗应答差异;PD,疾病进展;SD,疾病稳定;PR,部分缓解;CR,完全缓解。C.肾透明细胞癌中高、低TRPRS组患者的免疫治疗响应分析;与PD/SD比较,\*\*\*\* $P<0.0001$ 。

图12 TRPRS评分在TCGA\_HCC训练集及黑色素瘤、肾透明细胞癌免疫治疗队列中的预后预测价值  
Figure 12 Prognostic value of TRPRS score in the TCGA\_HCC training cohort and melanoma (GSE91061) and renal clear cell carcinoma immunotherapy cohorts



注:与PD/SD比较,\*\*\*\* $P<0.0001$ 。

图13 TRPRS评分在膀胱癌IMvigor210免疫治疗队列中的预后预测价值  
Figure 13 Prognostic value of TRPRS score in the bladder cancer IMvigor210 immunotherapy cohort

### 2.7 TRP通道紊乱的多组学关联分析

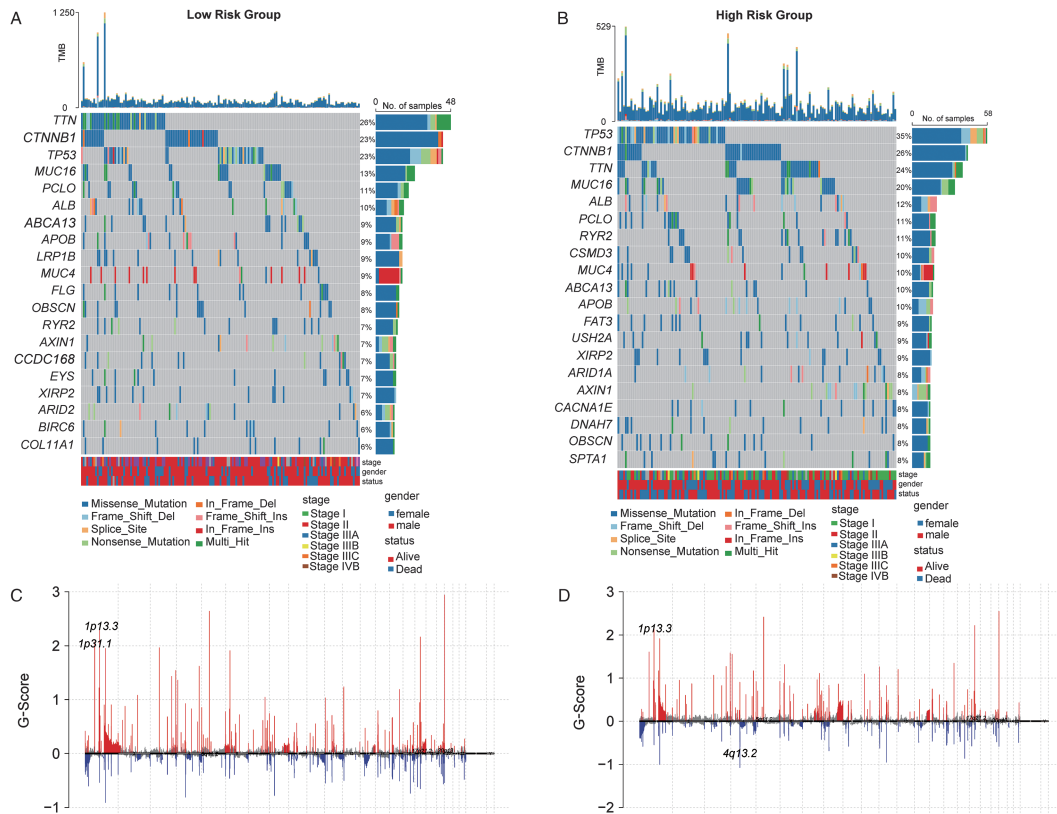
基于TCGA\_HCC训练集的基因组学分析显示,高、低风险组间存在显著的突变特征差异,其中最常见20个突变基因如图14A,B所示。此外,检测到显著的扩增和缺失,在 $FDR<0.05$ 的严格阈值下进行比较,可观察到TRPRS高低风险队列中发生改变的区域(图14C,D),这些基因组不稳定性区域与TRP通道基因的染色体定位存在空间共线性,提示拷贝数变化可能影响TRP通道功能。

### 2.8 实验验证与分子机制探索

qRT-PCR检测显示,MHCC-97H细胞中GHR、KCNJ11的mRNA表达水平较LO2细胞上调(见图15A)。考马斯蓝染色结果显示,MHCC-97H细胞的全泳道总蛋白表达量较LO2细胞显著增加,表明其总蛋白表达量增加(见图15B)。

## 3 讨论

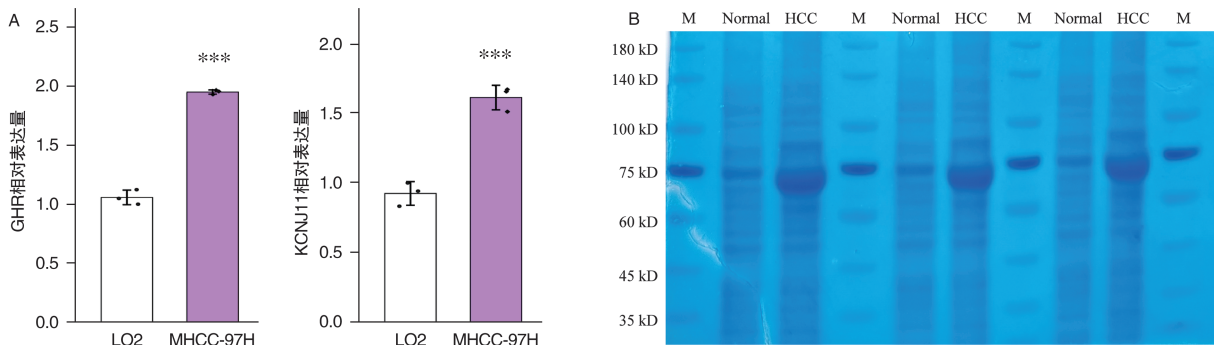
肝细胞癌(HCC)是全球范围内发病率和死亡率均较高的恶性肿瘤,探索其发生发展的新机制及潜在治疗靶点具有重要意义<sup>[17]</sup>。瞬时受体电位(TRP)通道作为重要的细胞信号调控分子,因其在调控钙稳态、细胞增殖与死亡以及免疫微环境中的核心作用,已成为肿瘤治疗领域极具潜力的新兴靶点,其功能异常与肿瘤发生发展密切相关<sup>[18-20]</sup>。然而,目前对TRP通道在HCC中的作用仍缺乏系统性认识。因此,通过多组学整合分析策略系统阐明TRP通道在HCC中的分子分型及作用机制,对于深化HCC病理认知和开发新型治疗策略具有迫切需求。



注:A.低风险组中最常见的20个突变基因及其突变频率;B.高风险组中最常见的20个突变基因及其突变频率;C.低风险组染色体拷贝数变异(CNV)分布 heatmap,颜色深浅表示拷贝数变异程度(红色为扩增,蓝色为缺失,颜色越深变异越显著);D.高风险组染色体拷贝数变异(CNV)分布 heatmap。统计筛选标准:FDR<0.05。

图 14 TRP 相关基因组不稳定性与拷贝数变异分析

Figure 14 Analysis of TRP-related genomic instability and copy number variation



注:与 LO2 组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ;Normal:正常肝细胞 LO2,HCC:肝癌细胞系 MHCC-97H。

图 15 关键基因 GHR 和 KCNJ11 在肝癌细胞中的表达 ( $n=3$ )

Figure 15 Expressions of key genes GHR and KCNJ11 in hepatocellular carcinoma cells ( $n=3$ )

为系统解析 TRP 通道在肝癌中的生物学作用,本研究采用无监督一致性聚类分析对 TCGA-HCC 队列中 TRP 家族基因表达谱进行分子分型,成功鉴别出两种具有显著生存差异的分子亚型。进一步通过单因素 Cox 回归筛选出与预后强相关的基因模块,并运用 LASSO 回归分析构建包含 KCNJ11 和

GHR 基因的预后预测模型。该模型在独立验证队列中表现出优异的预后判别能力,表明 TRP 通道相关分子标记物具有重要的临床应用价值。

KCNJ11 基因编码的是 ATP 敏感性钾通道 (Kir6.2) 的一个亚单位,其通过调控细胞膜电位稳态在肝癌发生发展中发挥关键作用<sup>[21]</sup>。本研究发

现,肝癌组织中KCNJ11的表达显著高于癌旁组织,与TCGA-HCC队列中拷贝数扩增率相吻合。这与KCNJ11调控的钾离子通道活性可影响细胞的增殖和凋亡,从而促进肿瘤的生长报道相符<sup>[22]</sup>。临床队列分析显示,KCNJ11的高表达与肿瘤患者的不良预后、较低的生存率和较高的复发率密切相关<sup>[23]</sup>。这些发现支持了机制研究中特异性阻断KCNJ11表达或功能可显著减缓肝癌细胞体外增殖及体内异种移植瘤生长的结论<sup>[24]</sup>,提示其作为治疗靶点的转化价值。因此,KCNJ11在肝癌的发生、发展和预后中起着重要的作用,其高表达不仅促进肝癌的生长和转移,还与患者的不良预后相关,这充分提示KCNJ11可能是肝癌潜在的治疗靶点。

生长激素受体(GHR)在肝癌等多种癌症中具有促癌作用<sup>[21]</sup>。本研究发现,肝癌细胞系MHCC-97H中GHR的mRNA表达较正常肝细胞LO2上调。这与文献报道一致,GHR能够通过增强生长激素信号转导,激活下游信号通路,如JAK2/STAT5通路,同时也能上调抗凋亡蛋白Bcl-2水平,抑制细胞凋亡,从而促进肝癌细胞的增殖和生存<sup>[25,26]</sup>。在功能层面,GHR的高表达与肝癌细胞的侵袭性增加相关,过度激活可能导致肝癌细胞的迁移和侵袭能力增强,从而增加肝癌的转移风险,同时可能与肝癌患者的不良预后、进展和复发风险增加相关,这可能是由于其促进肿瘤细胞增殖和侵袭的作用<sup>[27,28]</sup>。

本研究通过整合基因组、转录组等多组学数据,首次揭示TRP通道中KCNJ11-GHR调控轴在肝癌中的协同作用。qRT-PCR与考马斯蓝染色实验证实,肝癌细胞中TRP通道相关基因的mRNA及蛋白表达呈现一致性上调,提示该通道在肝癌中具有多层次的激活特征。

尽管研究取得重要进展,本研究仍存在局限性:首先,空间转录组数据的缺乏限制了微环境异质性解析的精度;其次,TRPRS在LICA-FR队列中的预测效能下降,可能与欧洲人群的病因学差异有关;最后,GHR/KCNJ11的上下游调控机制仍需通过条件性敲除模型深入验证。未来研究将结合单细胞测序技术解析TRP通道在肿瘤生态位中的细胞特异性作用,并开发小分子抑制剂靶向该通道的关键变构调控位点。

综上所述,本研究通过多维度实验确立了TRP通道在肝癌发生发展的核心地位,阐明了KCNJ11与GHR能够协同驱动肝癌恶性进展的分子机制,充

分表明KCNJ11和GHR是影响肝癌患者预后的重要基因,揭示了KCNJ11-GHR轴作为预后标志物及治疗靶点的双重价值,为肝癌精准治疗提供了新的理论依据和转化方向。

#### 参考文献:

- [1] Ramirez CFA, Taranto D, Ando-Kuri M, *et al.* Cancer cell genetics shaping of the tumor microenvironment reveals myeloid cell-centric exploitable vulnerabilities in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 2581.
- [2] Vogel A, Meyer T, Sapisochin G, *et al.* Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1345-1362.
- [3] 王裕新, 潘凯枫, 李文庆. 2022全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2024, 10(3): 1-16.
- [4] Yeo YH, Abdelmalek M, Khan S, *et al.* Current and emerging strategies for the prevention of hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2025, 22(3): 173-190.
- [5] Yang C, Zhang H, Zhang L, *et al.* Evolving therapeutic landscape of advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(4): 203-222.
- [6] Wang YY, Yang WX, Cai JY, *et al.* Comprehensive molecular characteristics of hepatocellular carcinoma based on multi-omics analysis[J]. *BMC Cancer*, 2025, 25(1): 573.
- [7] Hou J, Zhang H, Sun B, *et al.* The immunobiology of hepatocellular carcinoma in humans and mice: Basic concepts and therapeutic implications[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(1): 167-182.
- [8] Liu H, Fu M, Zhang Y, *et al.* Small molecules targeting canonical transient receptor potential channels: an update [J]. *Drug Discov Today*, 2024, 29(5): 103951.
- [9] Turgambayeva A, Duisekova S, Tashenova G, *et al.* Role of TRP channels in carcinogenesis and metastasis: pathophysiology and regulation by non-coding RNAs [J]. *Noncoding RNA Res*, 2024, 9(2): 359-366.
- [10] Fang Y, Liu G, Xie C, *et al.* Pharmacological inhibition of TRPV4 channel suppresses malignant biological behavior of hepatocellular carcinoma via modulation of ERK signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 910-919.
- [11] Woolums BM, Mccray BA, Sung H, *et al.* TRPV4 disrupts mitochondrial transport and causes axonal degeneration via a CaMKII-dependent elevation of intracellular Ca<sup>(2)</sup> [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2679.
- [12] Xie C, Liu G, Li M, *et al.* Targeting TRPV1 on cellular plasticity regulated by Ovov 2 and Zeb 1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109270.
- [13] Li T, Jiang S, Zhang Y, *et al.* Nanoparticle-mediated TRPV1 channel blockade amplifies cancer thermo-immunotherapy via heat shock factor 1 modulation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2498.
- [14] Sailo BL, Garhwal A, Mishra A, *et al.* Potential of capsaicin as a combinatorial agent to overcome chemoresistance and to improve outcomes of cancer therapy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2025,

- 236: 116828.
- [15] Ekundayo B, Arullampalam P, Gerber CE, *et al.* Identification of a binding site for small molecule inhibitors targeting human TRPM4[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 833.
- [16] Binkle-Ladisch L, Pironet A, Zaliani A, *et al.* Identification and development of TRPM4 antagonists to counteract neuronal excitotoxicity[J]. *iScience*, 2024, 27(12): 111425.
- [17] 王鹏举. 1990-2019年我国肝癌发病与死亡趋势及预测研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2021: 1-79.
- [18] Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels[J]. *Genome Biol*, 2011, 12(3): 218.
- [19] Saldias MP, Maureira D, Orellana-Serradell O, *et al.* TRP channels interactome as a novel therapeutic target in breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 621614.
- [20] 霍天宇, 魏宇轩, 朱洪银, 等. 瞬时感受器电位香草酸受体3在肝硬化及肝细胞性肝癌中的表达及临床意义[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(4): 532-535.
- [21] Nikolac N, Simundic AM, Katalinic D, *et al.* Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR1) but not with KCNJ11 polymorphisms[J]. *Arch Med Res*, 2009, 40(5): 387-392.
- [22] Cui H, Yang S, Zheng M, *et al.* High-salt intake negatively regulates fat deposition in mouse[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2053.
- [23] Yang Y, Chen B, Zheng C, *et al.* Association of glucose-lowering drug target and risk of gastrointestinal cancer: a mendelian randomization study[J]. *Cell Biosci*, 2024, 14(1): 36.
- [24] Lin YW, Li A, Grasso V, *et al.* Functional characterization of a novel KCNJ11 in frame mutation-deletion associated with infancy-onset diabetes and a mild form of intermediate DEND: a battle between K(ATP) gain of channel activity and loss of channel expression[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63758.
- [25] Walenkamp MJ, Wit JM. Single gene mutations causing SGA[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2008, 22(3): 433-446.
- [26] Sosa C, Abecia JA, Carriquiry M, *et al.* Early pregnancy alters the metabolic responses to restricted nutrition in sheep[J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2009, 36(1): 13-23.
- [27] Liu G, Tang H, Li C, *et al.* Prognostic gene biomarker identification in liver cancer by data mining[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(5): 4603-4613.
- [28] 钟昭众, 熊志勇, 梁豪, 等. 生长激素受体与肝细胞癌增殖迁移及预后的关系[J]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2021, 10(2): 210-214.

(责任编辑: 阮爱萍)