

MZB1 基因在泛癌中的表达及其与免疫浸润及预后的关系

张瑜¹, 李海涛¹, 潘玉卿², 曹杰贤², 翟丽¹, 张曦¹

¹云南省肿瘤医院//昆明医科大学第三附属医院医学检验科, 云南 昆明 650118; ²昆明医科大学第一附属医院医学检验科//云南省检验医学重点实验室//云南省医学检验临床医学研究中心, 云南 昆明 650032

摘要:目的 探讨边缘区 B 细胞及 B1 细胞特异性蛋白(MZB1)在泛癌中的表达水平及其与患者预后、肿瘤微环境的关系。方法 利用 UCSC 数据库提取 MZB1 在 33 种癌症中的表达数据、临床病理参数和生存数据。利用 R 软件分析 MZB1 与临床分期、患者预后、免疫调节基因、免疫检查点基因、肿瘤干性、免疫细胞浸润、肿瘤突变负荷(TMB)以及微卫星不稳定性(MSI)的相关性,使用 cBioPortal 在线数据库分析 MZB1 在泛癌中基因突变情况,利用 ROC 曲线分析 MZB1 的癌症诊断价值,利用 RT-qPCR 和 Western blotting 检测 MZB1 在髓系白血病和肾癌中的表达,利用 EdU 法检测干扰 MZB1 后细胞的增殖情况。结果 与正常组织相比, MZB1 在肾透明细胞癌(KIRC)、乳腺浸润性癌(BRCA)、急性髓系白血病(LAML)等 20 种肿瘤中高表达($P<0.05$),并且与多种肿瘤的 TNM 分期和临床分期以及部分肿瘤的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)相关($P<0.05$)。在大多数肿瘤中, MZB1 的表达与免疫调节基因(CCL4、CXCL10、CCL5、CCR4、CCR7、XCR1、MHC、IL-10、TGF- β)、免疫检查点基因(LAG3、TIGIT、BTLA、PDCD1、CTLA4)、肿瘤的干性指数、免疫细胞浸润(B 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞等)、TMB、MSI 相关($P<0.05$)。此外, MZB1 在泛癌中的基因突变类型以扩增为主,并且对皮肤黑色素瘤(SKCM)、肾透明细胞癌(KIRC)和头颈部鳞状细胞癌(HNSC)均有较高的诊断价值。RT-qPCR 和 Western blotting 结果均显示在髓系白血病细胞(HL60、KG-1、U937、MV-4-11)和肾癌细胞(786-O、769-P、OSRC-2)中 MZB1 呈高表达($P<0.05$),下调 MZB1 表达后可降低 HL60 和 769-P 的增殖水平。结论 MZB1 在多种肿瘤中高表达,其异常表达影响多种肿瘤的发生及预后,有望成为新的肿瘤标志物和免疫调节靶点。

关键词: MZB1; 泛癌分析; 免疫浸润; 预后; 治疗靶点

Pan-cancer analysis of MZB1 expression and its association with immune infiltration and clinical prognosis

ZHANG Yu¹, LI Haitao¹, PAN Yuqing², CAO Jiexian², ZHAI Li¹, ZHANG Xi¹

¹Department of Clinical Laboratory, Cancer Hospital of Yunnan Province, Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650118, China; ²Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Key Laboratory of Laboratory Medicine, Yunnan Provincial Clinical Research Center for Laboratory Medicine, Kunming 650032, China

Abstract: Objective To investigate the expression levels of marginal zone B and B1-cell-specific protein (MZB1) in pan-cancer and its association with patient prognosis and tumor microenvironment (TME). **Methods** MZB1 expression data, clinicopathological parameters, and survival data from 33 cancer types were extracted from the UCSC database for analyzing the correlations of MZB1 with clinical stage, patient prognosis, immunomodulatory genes, immune checkpoint genes, tumor stemness, immune cell infiltration, tumor mutational burden (TMB), and microsatellite instability (MSI). MZB1 gene mutations in pan-cancer were assessed using cBioPortal online database, and the value of MZB1 for cancer diagnosis was evaluated using ROC curve analysis. MZB1 expression levels in myeloid leukemia and renal carcinoma cells were detected using RT-qPCR and Western blotting, and the effect of MZB1 knockdown on cell proliferation was examined using EdU assay. **Results** MZB1 was significantly overexpressed in 20 cancer types, including kidney renal clear cell carcinoma (KIRC), breast invasive carcinoma, and acute myeloid leukemia. Its expression was associated with TNM stage, clinical stage, overall survival, and progression-free survival in multiple cancers. In most tumors, MZB1 expression was correlated significantly with immunomodulatory genes, immune checkpoint genes, tumor stemness, immune cell infiltration, TMB, and microsatellite instability. Gene amplification was the predominant mutation type of MZB1 in pan-cancer, and MZB1 showed high diagnostic value for skin cutaneous melanoma, KIRC, and head and neck squamous cell carcinoma. MZB1 was highly expressed in different myeloid leukemia cell lines and renal carcinoma cell lines, and MZB1 knockdown significantly suppressed the proliferation of HL60 and 769-P cells. **Conclusion** MZB1 is highly expressed in a variety of tumors, and its aberrant expression affects the occurrence and prognosis of many tumors, suggesting its potential as a novel tumor biomarker and immunomodulatory target.

Keywords: marginal zone B and B1-cell-specific protein; pan-cancer analysis; immune infiltration; prognosis; therapeutic target

收稿日期: 2025-05-15

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2024J0330, 2025J0247); 云南省应用基础研究计划(202101AY070001-165); 云南省临床医学研究中心子课题(202102AA100063-06)

作者简介: 张瑜, 硕士, 检验师, E-mail: 15520858743@163.com

通信作者: 张曦, 副主任技师, 硕士生导师, E-mail: zhangxi@kmmu.edu.cn

癌症作为威胁人类健康的核心难题,长期位居全球主要死因的前列,是预期寿命延长的重要障碍。尽管靶向治疗、免疫检查点抑制剂及早期筛查技术的突破使部分癌种的5年生存率显著提高,但由于不同个体存在异质性和耐药性等问题,癌症仍对医学研究与社会发展构成严峻挑战^[1,2]。癌症免疫疗法旨在增强自身免疫系统

以清除恶性细胞,是癌症治疗领域的里程碑式突破^[3]。有研究表明,对免疫治疗有反应的患者生存率更长,转移复发率更低,表明免疫治疗可能是克服癌症转移并成功对抗癌症的关键策略^[4]。

边缘区B细胞及B1细胞特异性蛋白(MZB1)是一种内质网驻留蛋白,主要在B细胞(尤其是边缘区B细胞和B1细胞)中高表达^[5,6]。MZB1直接与底物特异性伴侣葡萄糖调节蛋白94(GRP94)结合,内质网应激时在GRP94与免疫球蛋白 μ 重链相互作用中扮演重要角色^[7],与IgM的分泌相关^[8],并且MZB1可以促进J链与IgA的结合和二聚体IgA的分泌^[9]。此外,MZB1在促进细胞增殖,抑制凋亡、侵袭和炎症、减轻细胞中线粒体损伤等方面发挥重要作用^[10]。一些研究发现MZB1在白血病和淋巴瘤^[11]、肺腺癌^[12]、多发性骨髓瘤^[13]、乳腺癌^[14]和转移性黑色素瘤^[15]患者中高表达。因此MZB1可能是近年来免疫治疗和肿瘤研究的潜在靶点。本研究首次基于生物信息学系统探讨MZB1在泛癌背景下的表达谱,对预后的影响,与肿瘤病理分期、免疫调节基因、免疫检查点基因、肿瘤干性、免疫细胞浸润、TMB、MSI的关联以及对肿瘤的诊断效能,并在体外对细胞增殖的影响进行了实验验证,填补其作为潜在免疫治疗靶点的研究空白,为癌症预后和临床相关生物标志物的研究提供了新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞及干扰片段 HL60、KG-1、U937、MV-4-11、HS-5、786-O、769-P、OSRC-2、HK-2(普诺赛),癌细胞和对照细胞分别采用含10%胎牛血清的RPMI-1640和DMEM培养于37℃,5%CO₂培养箱中。小干扰siMZB1及阴性对照(吉玛),siMZB1序列如下:5'-GCGAAAGCAGAGGCUAAA-3'。

1.1.2 试剂 RPMI 1640、DMEM培养基、胎牛血清(Gibco);Trizol、逆转录试剂盒、RT-qPCR试剂盒(Takara);EdU试剂盒(武汉伊莱瑞特公司);MZB1一抗(CST);Lipofectamine™ 3000(Thermo Fisher)。

1.2 方法

1.2.1 MZB1在泛癌中的表达量分析 MZB1(ENSG00000170476)表达数据来源于UCSC数据库(<https://xenobrowser.net/>),从癌症基因组图谱(TCGA)和基因型-组织表达(GTEX)数据库获取TCGA TARGET GTEX(PANCAN, $n=19131$, 基因数量=60499)数据集,剔除单个癌种中样本个数小于3个的癌种。样本被划分为肿瘤组和正常组,差异表达分析采用R语言limma软件包进行计算,泛癌数据中相关癌种中英文缩写见表1。

1.2.2 MZB1与肿瘤TNM分期和Stage分期的相关性分析 临床分期信息,包括TNM分期以及Stage分期(以AJCC第8版为标准,分I、II、III、IV期)均提取自UCSC数据库的临床注释文件。采用limma软件包分析MZB1基因在这些不同分期中的差异表达情况。

1.2.3 MZB1与泛癌的生存分析 采用经验证的预后数据集^[16],并从UCSC数据库中下载TARGET随访数据作为补充,并剔除随访时间小于30d的样本。结合GEPIA2的初筛能力和R分析的多变量建模,系统评估MZB1的预后价值。首先利用GEPIA2在线分析平台(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)进行快速分析,初步验证MZB1预后潜力,进一步使用R软件包survival的coxph函数建立Cox比例风险回归模型分析MZB1与每个癌种的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)之间的关系。

1.2.4 MZB1与免疫调节基因、免疫检查点基因和肿瘤干性基因的相关性分析 基于TCGA泛癌数据集获取MZB1基因、5类免疫调节基因、2类免疫检查点基因的表达数据。通过Pearson相关系数分析MZB1与以上基因的相关性,并进一步分析了MZB1与肿瘤干细胞性评分的相关性,肿瘤干细胞性评分标准参照已有研究分类标准和方法进行^[17]。

1.2.5 MZB1与免疫细胞浸润水平的相关性分析 采用R语言IOBR包^[18]中的Timer、IPS和xCELL算法评估免疫细胞浸润水平。其中,Timer基于肿瘤特异性基因表达模式估算免疫浸润程度,IPS评估肿瘤免疫微环境中6种细胞的浸润特征,xCELL则提供64种免疫和基质细胞类型的富集评分。通过Pearson相关系数分析MZB1与各免疫细胞浸润评分的相关性。

1.2.6 MZB1的基因突变分析以及与TMB、MSI的相关性分析 使用cBioPortal在线数据库(<https://www.cbioportal.org/>)分析MZB1基因组在泛癌中的扩增、突变、深度缺失情况。此外,TMB分析采用R语言maftools软件包完成。基于GDC数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)提供的单核苷酸变异(SNV)数据,经MuTect2处理后生成突变注释格式(MAF)文件^[19]。各癌种的MSI评分引自既往研究^[20]。通过Pearson相关系数分析评估MZB1表达与MSI、TMB的相关性。

1.2.7 MZB1对HNSC、KIRC和SKCM的诊断效能分析 从GDC数据库获取HNSC、KIRC和SKCM中MZB1基因的表达数据。采用R语言pROC软件包进行受试者操作特征(ROC)曲线分析,利用ggplot2软件包可视化ROC曲线。此外,使用survival包进行比例风险假设检验并进行Cox回归分析,使用rms包进行校准构建列线图相关模型及校准曲线分析与可视化。

1.2.8 细胞转染 采用脂质体法将siMZB1及阴性对照分别转染至HL60和769-P中,细胞分别接种于24孔板

(HL60: 2×10^5 /孔; 769-P: 5×10^4 /孔), Lipofectamine™ 3000 与 siRNA 复合物转染, 6 h 后更换完全培养基。

1.2.9 RT-qPCR 检测 MZB1 mRNA 的表达 采用 Trizol 法提取细胞样本总 RNA, 利用反转录试剂盒将纯化的 RNA 反转录成 cDNA 模板, 然后对 MZB1 进行 RT-qPCR 检测, 以 GAPDH 作为内参。循环程序, 预变性: 95°C , 2 min; 变性: 95°C , 15 s, 退火/延伸: 60°C , 60 s (共 40 个循环); 4°C 保存。实验结果通过 Ct 值计算表达量, 通过内参 GAPDH 的 Ct 值分别计算实验组和对照组的 ΔCt 值, 计算相对表达量 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 。引物设计工具为 NCBI Primer-BLAST, 引物序列如下(生工生物合成), MZB1: 正向引物, 5'-C TCACAGGCCAGGACTTAG-3', 反向引物, 5'-TGT GGCTGACACCTTCTCTG-3'; GAPDH: 正向引物, 5'-A TGGCAAATTCATGGCACC-3', 反向引物, 5'-AGC ATCGCCCCACTTGATTT-3'。

1.2.10 Western blotting 检测 MZB1 蛋白的表达 提取细胞蛋白样品定量后, 取 40 μL 总蛋白与等体积 $2 \times$ 上样缓冲液混合, 配制 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶, 待蛋白变性后进行上样、电泳、转膜, 用含 5% 脱脂奶粉封闭, 加一抗 (1:1000) ACTIN 和 MZB1 4°C 孵育过夜, 经 TBS-T 充分洗涤, 加二抗 (1:5000) 室温孵育 1 h, TBST 洗涤, 利用化学发光试剂盒进行显影。

1.2.11 细胞增殖能力检测 将 HL60 与 769-P 细胞分别与 10 $\mu\text{mol/L}$ EdU 共同孵育 2 h。经 4% 多聚甲醛固定及 0.3% Triton X-100 透化处理后检测 EdU 掺入情况。使用 DAPI 染色标记细胞核以显示细胞总数, 最后通过荧光显微镜对 EdU 阳性细胞进行计数以评估细胞的增殖情况。

1.3 统计学分析

MZB1 在泛癌中的表达采用的 Wilcoxon 检验分析; 在不同临床病理分期的关系采用 Student's *t*-Test 进行两组间比较以及方差分析进行多组样本间比较; MZB1 对泛癌的预后分析采用 Logrank-test 检验; 与免疫调节基因、免疫检查基因、肿瘤干性、免疫细胞浸润水

平、TMB 以及 MSI 的相关性采用 Pearson 相关系数; 体外实验验证中的组间比较采用 Student's *t*-Test 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MZB1 在泛癌中的表达情况

MZB1 在 KIRC、BRCA、LAML 等 20 种肿瘤中上调, 而在 LIHC、WT、READ、ACC、KICH 中出现下调 ($P < 0.05$, 图 1)。

2.2 MZB1 与肿瘤 TNM 分期和 Stage 分期的关系

MZB1 的表达与 LUAD、STES、KIRP 等 8 种肿瘤的 T 分期存在差异 (图 2A), 在 LUAD、BRCA、STES 等 7 种肿瘤中与 N 分期相关 (图 2B), 在 KIPAN、KIRC、ACC 及 LUAD 中与 M 分期相关 (图 2C)。此外, MZB1 的表达在 LUAD、BRCA、STES 等 12 种肿瘤中与 Stage 分期相关 (图 2D)。

2.3 MZB1 表达对癌症的预后的影响

MZB1 高表达在 UVM、KIRC 和 LAML 患者中 OS 缩短 ($P < 0.05$, 图 3A~C), MZB1 低表达在 SARC、SKCM、HNSC 患者中 OS 缩短 ($P < 0.05$, 图 3D~F)。并且 MZB1 高表达与 KIPAN、GBMLGG、KIRC 等 5 种肿瘤的不良 OS 相关, 而在 SKCM、HNSC、THYM 等 9 种肿瘤中 MZB1 的低表达与患者的不良 OS 相关 (图 3G)。MZB1 的高表达在 KIPAN、GBMLGG、KIRC 等 5 种肿瘤中与患者的不良 PFS 有关, 而在 CESC、HNSC、LIHC 等 7 种肿瘤中 MZB1 的低表达与患者的不良 PFS 有关 (图 3H)。

2.4 MZB1 与免疫调节基因、免疫检查点基因、肿瘤干性的关系

CHOL、NB、THCA 等多数肿瘤中 MZB1 的表达与 CCL4、CXCL10 和 CCL5 等大多数趋化因子基因呈正相关, 并且与 CCR4、CCR7 和 XCR1 等免疫受体基因、MHC、IL-10 和 TGF- β 等免疫抑制基因、免疫激活相关免疫调节基因存在正相关, 而在 THYM 中 MZB1 的这些免疫学特征基本相反 (图 4A)。进一步分析了 MZB1

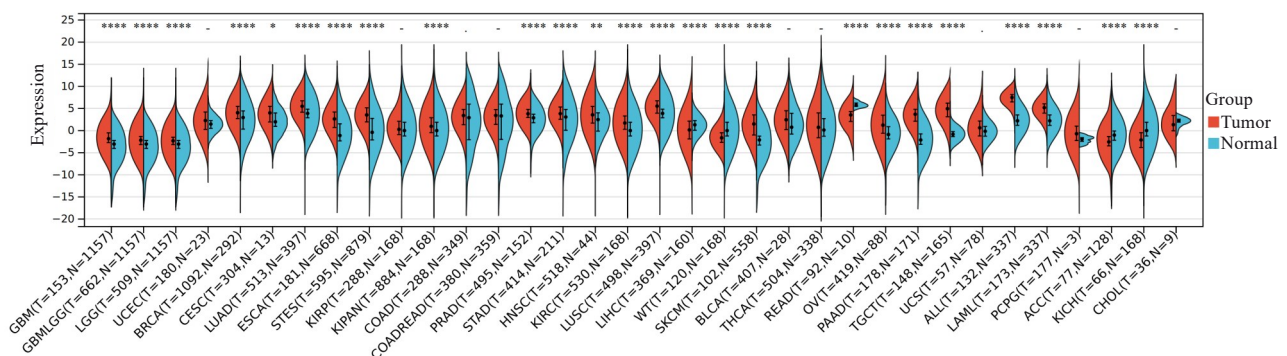


图 1 MZB1 在泛癌中表达

Fig.1 Expression of MZB1 in pan-cancer. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$.

表1 泛癌数据中相关肿瘤的英文缩写

Tab.1 English abbreviations of relevant cancers in pan-cancer data

Cancer type abbreviation	Full name of cancer type
ACC	Adrenocortical carcinoma
BLCA	Bladder urothelial carcinoma
BRCA	Breast invasive carcinoma
CESC	Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma
CHOL	Cholangiocarcinoma
COAD	Colon adenocarcinoma
COADREAD	Colon adenocarcinoma/rectum adenocarcinoma esophageal carcinoma
ESCA	Esophageal carcinoma
GBM	Glioblastoma multiforme
GBMLGG	Glioma
HNSC	Head and neck squamous cell carcinoma
KICH	Kidney chromophobe
KIPAN	Pan-kidney cohort (kich+kirc+kirp)
KIRC	Kidney renal clear cell carcinoma
KIRP	Kidney renal papillary cell carcinoma
LAML	Acute myeloid leukemia
LGG	Brain lower grade glioma
LIHC	Liver hepatocellular carcinoma
LUAD	Lung adenocarcinoma
LUSC	Lung squamous cell carcinoma
MESO	Mesothelioma
OV	Ovarian serous cystadenocarcinoma
PAAD	Pancreatic adenocarcinoma
PCPG	Pheochromocytoma and paraganglioma
PRAD	Prostate adenocarcinoma
READ	Rectum adenocarcinoma
SARC	Sarcoma
STAD	Stomach adenocarcinoma
SKCM	Skin cutaneous melanoma
STES	Stomach and esophageal carcinoma
TGCT	Testicular germ cell tumors
THCA	Thyroid carcinoma
THYM	Thymoma
UCEC	Uterine corpus endometrial carcinoma
UCS	Uterine carcinosarcoma
WT	High-risk wilms tumor

的表达与免疫检查点相关基因的关系,结果显示在 THCA、UVM、CHOL 等多数肿瘤中 MZB1 与 LAG3、TIGIT、BTLA、PDCD1、CTLA4 等免疫检查点基因呈正相关,而在 THYM 中观察到 MZB1 与大多数免疫检查点基因成负相关(图 4B)。此外,在 GBMLGG、KIRP、PRAD 和 THCA 中 MZB1 的表达与肿瘤的干性指数正相关,而在 CESC、ESCA、STES 等 10 种肿瘤中呈负

相关(图 4C)。

2.5 MZB1 与泛癌中免疫细胞浸润水平的关系

Timer 算法结果显示在大多数癌种中 MZB1 表达与 B 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞的浸润呈正相关(图 5A),IPS 算法结果显示 MZB1 在泛癌中与抗原呈递细胞(MHC)和内皮细胞(EC)浸润呈正相关,而与基质细胞(SC)和浆细胞

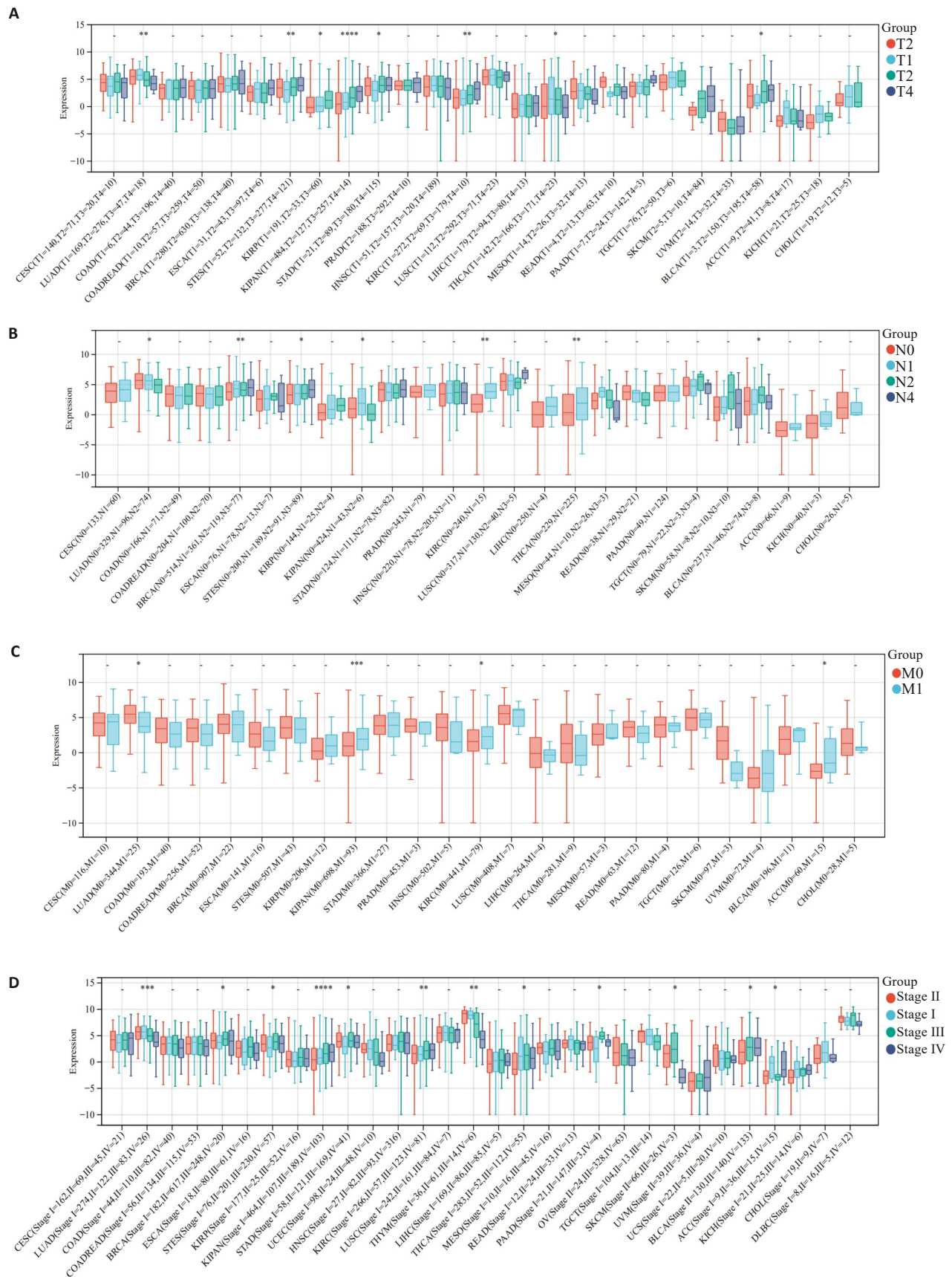


图2 MZB1与肿瘤病理分期的关系

Fig.2 Relationship between MZB1 and tumor pathological stage. A-C: Relationship between MZB1 and tumor TNM stage. D: Relationship between MZB1 and tumor stage. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

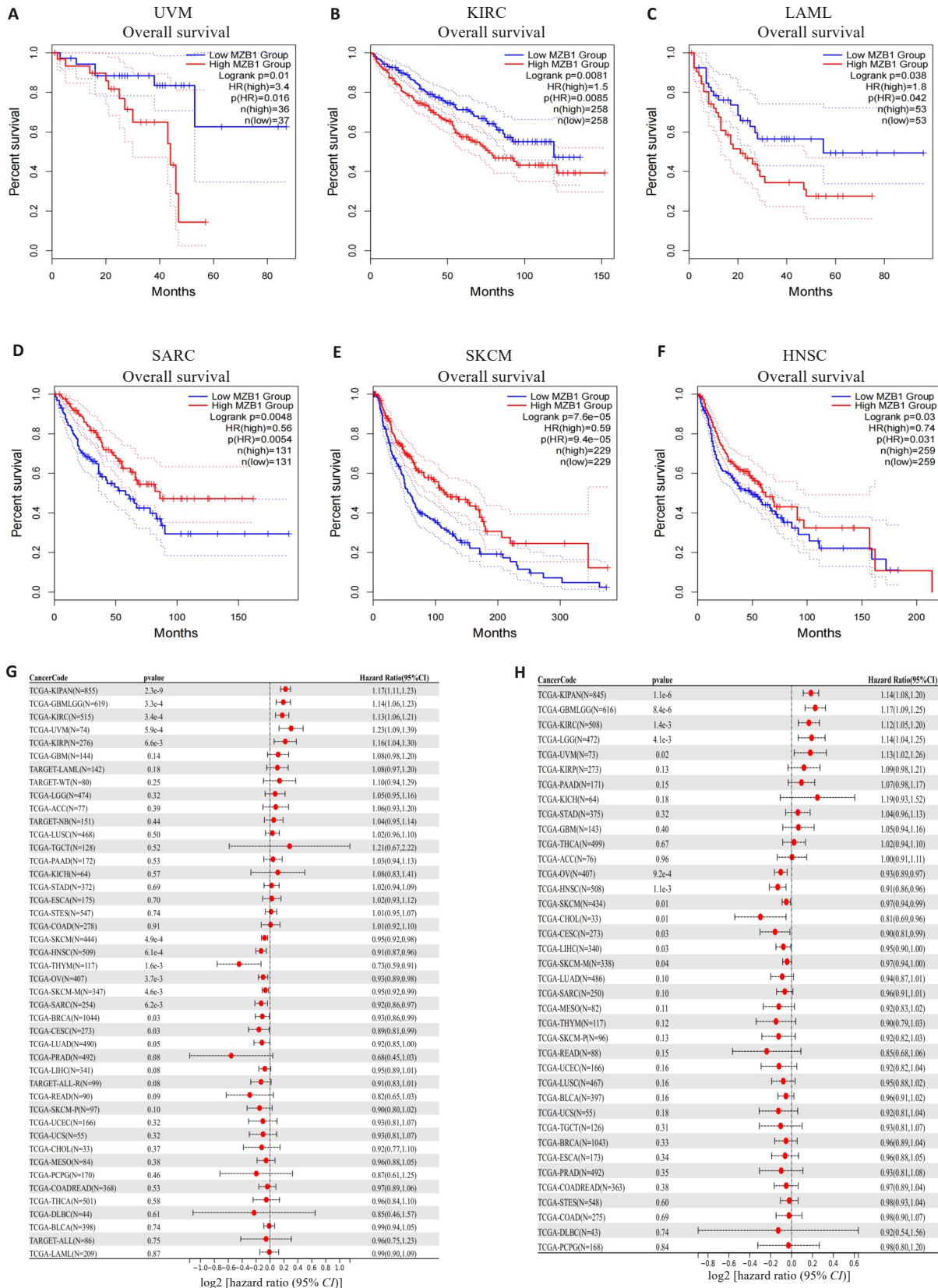


图3 MZB1对癌症预后的影响

Fig.3 Effect of MZB1 on cancer prognosis. A-F: Kaplan-Meier survival curves of MZB1 expression in UVM, KIRC, LAML, SARC, SKCM, and HNSC. G, H: Prognostic analysis of the effect of MZB1 expression on overall survival (G) and progression-free survival (H).

(CP)呈负相关(图5B)。xCELL算法结果显示大多数癌种中MZB1表达与B细胞、CD8⁺T细胞、树突状细胞和巨噬细胞浸润评分呈正相关(图5C),这一结果与

Timer算法结果一致。

2.6 MZB1的突变分析以及与TMB,MSI的关系

通过对MZB1在泛癌中的基因突变分析,可以观察

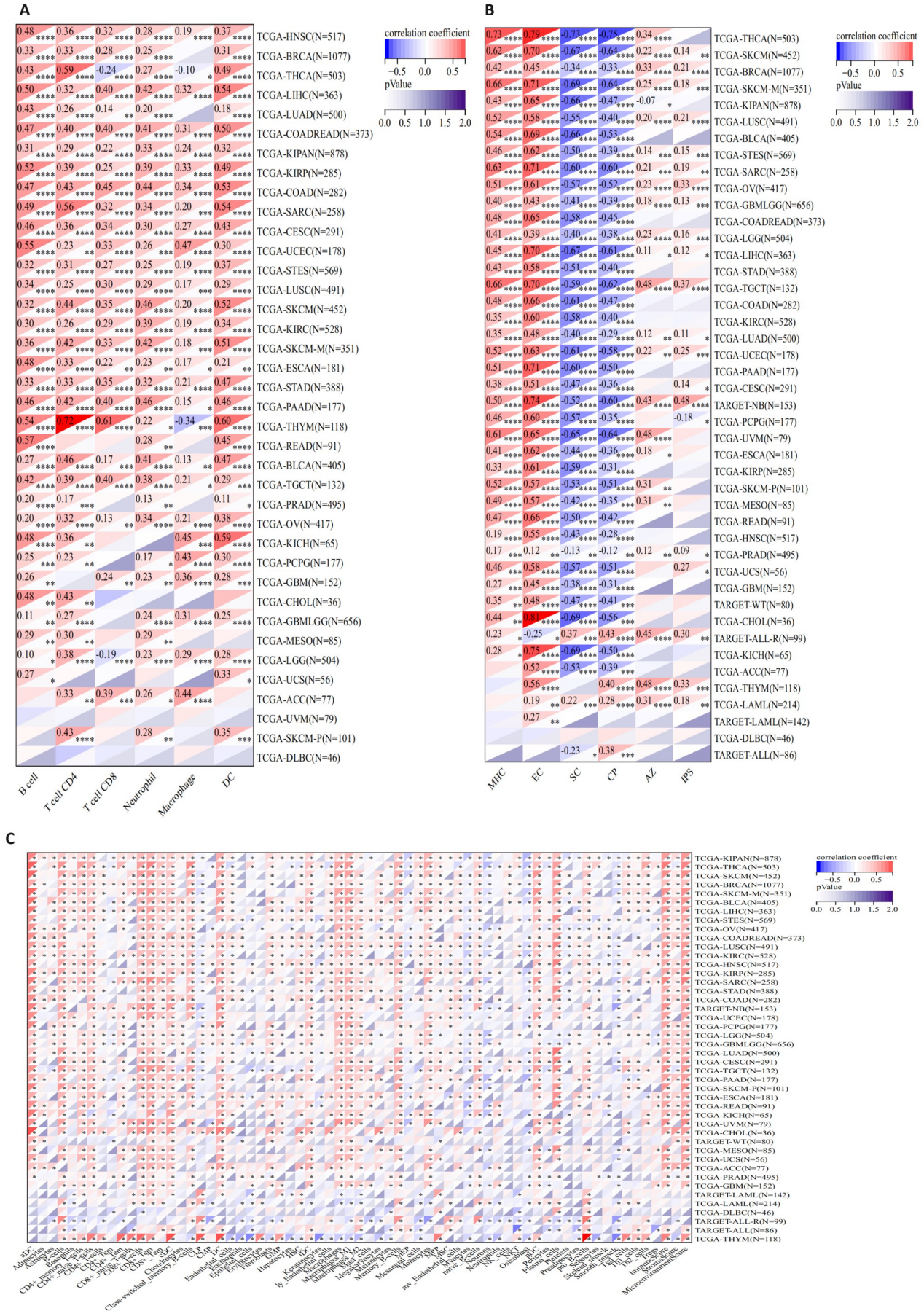


图5 MZB1与泛癌中免疫细胞浸润水平的相关性

Fig.5 Correlation between MZB1 and immune cell infiltration levels in pan-cancer. A: TIMER. B: IPS. C: xCELL. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001.

到最常发生的是基因扩增,并且在KIRC、CHOL、OV等癌种中MZB1基因以扩增为主,其次在UVM、LUSC和MESO中以深度缺失为主,而突变出现的较少,突变主要出现在UCEC中(图6A)。进一步分析MZB1与

TMB和MSI的关系,结果显示MZB1在KIPAN、UCEC和KICH中与TMB正相关,而在KIRP、THYM和LIHC中呈负相关(图6B)。此外,在BRCA、KIPAN、LUSC、TGCT和SKCM中MZB1与MSI负相关(图6C)。

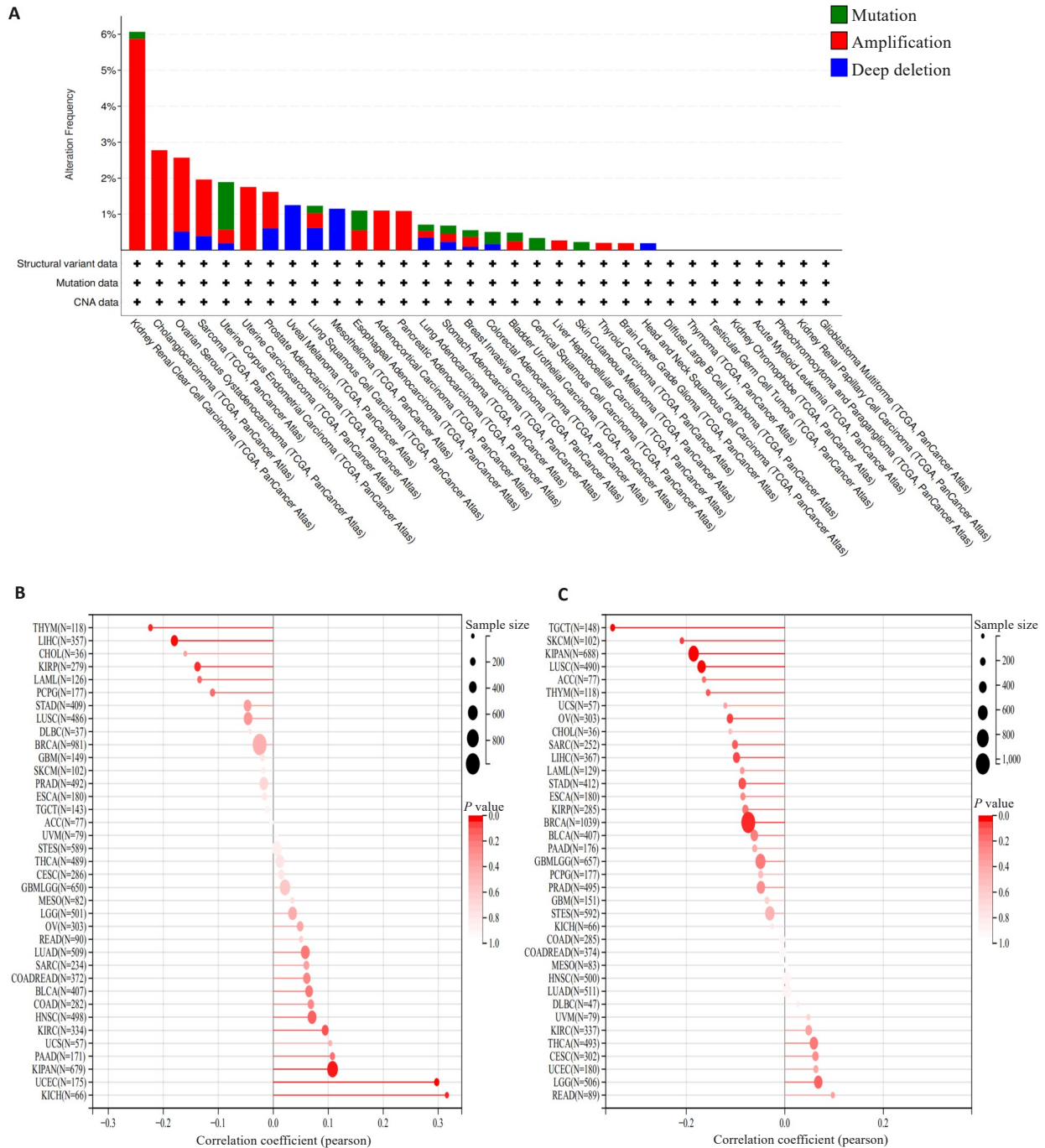


图6 MZB1的突变分析以及其与TMB、MSI的相关性
Fig.6 Mutation analysis of MZB1 and its correlation with TMB and MSI. A: Mutation analysis of MZB1 in tumors. B: Correlation of MZB1 with tumor TMB. C: Correlation of MZB1 with tumor MSI.

2.7 MZB1对HNSC、KIRC和SKCM的诊断价值

ROC曲线分析结果显示,MZB1在HNSC、KIRC和SKCM中的AUC均大于0.6,通过ph假设检验对MZB1以及临床参数构建的列线图模型拟合度,结果显示HNSC、KIRC和SKCM中的列线图未见明显偏离(P值分别为0.611,0.228,0.096),通过计算3种肿瘤列线

图模型中的一致性(C-index)进行内部验证,结果显示在HNSC、KIRC和SKCM中C-index分别为0.768(0.744-0.791)、0.759(0.734-0.783)、0.717(0.696-0.739),校准曲线显示模型的预测概率与实际观测结果总体一致,但在部分时间点存在一定偏差,这可能与分层后样本量有限、删失数据较多有关(图7)。

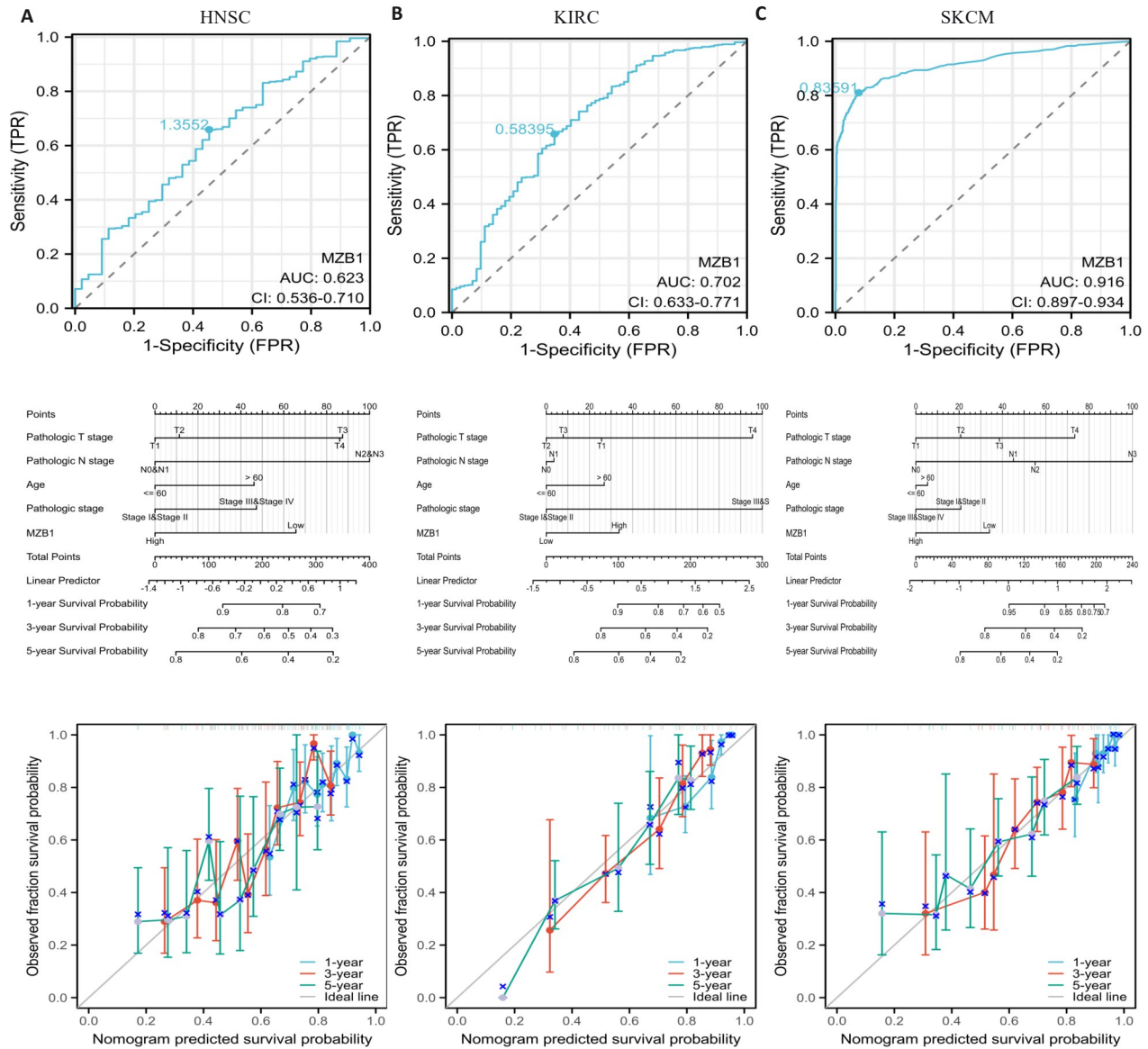


图7 MZB1对HNSC、KIRC和SKCM的诊断价值
 Fig.7 Diagnostic value of MZB1 for HNSC (A), KIRC (B) and SKCM (C).

2.8 MZB1在白血病和肾癌中的表达及体外实验验证

利用RT-qPCR和Western blotting分别检测MZB1在白血病和肾癌中的转录和蛋白水平,结果表明MZB1在髓系白血病细胞系HL60、KG-1、U937、MV-4-11以及肾癌细胞系786-O、769-P、OSRC-2中均为高表达($P < 0.01$,图8A~D),与生物信息分析结果一致。下调MZB1在HL60和769-P的表达后(图8E),EdU检测2株细胞的增殖水平降低($P < 0.01$,图8F)。

3 讨论

本研究中MZB1在大多数癌种的表达高于癌旁正常组织,与已有研究结果一致^[11-15],并且RT-qPCR以及Western blotting的检测结果验证了MZB1在髓系白血病和肾癌中呈高表达。Manabu Watanabe等^[14]发现乳腺癌中III期疾病患者与非癌性标本之间MZB1

mRNA表达水平的比率高于0/I/II期疾病患者的比率,说明MZB1与乳腺癌的分期有关。同样,本研究结果显示MZB1与LUAD、BRCA、KIRC等癌种的临床病理分期有关。进一步分析MZB1对癌症预后的影响,本研究观察到在UVM、LAML、GBMLGG、KIRC、KIPAN、KIRC等癌种中MZB1的高表达与患者的不良预后有关,然而在HNSC、SARC、SKCM、LIHC、THYM、STAD等癌种中MZB1的表达愈低,患者的预后愈差。Tobias Herold等^[11]的研究结果显示MZB1的高表达可预测白血病和淋巴瘤不良预后,与本研究结果一致。而有研究发现MZB1与胰腺癌和胃癌的良好预后密切相关^[21,22],与本研究结果不一致,需进一步通过细胞和动物实验模型验证。

免疫调节基因和免疫检查点基因在肿瘤的发生发展中扮演着复杂而关键的角色,二者通过调控免疫系统

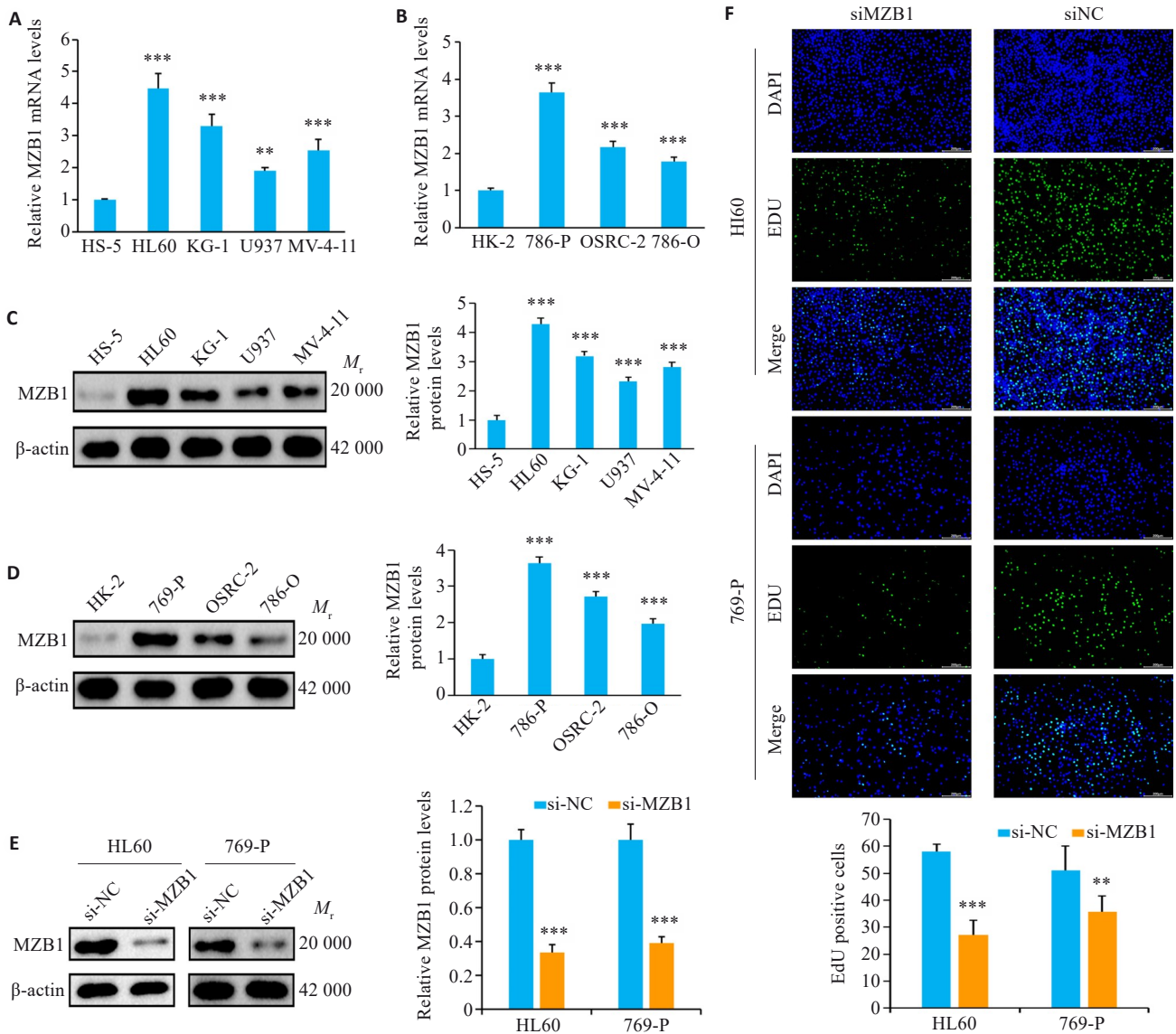


图8 体外验证MZB1在白血病和肾癌细胞系中的表达及体外实验验证

Fig. 8 *In vitro* validation of MZB1 expression and functional assays in leukemia and renal carcinoma cell lines. A-D: Expression of MZB1 in leukemia and renal carcinoma cell lines determined using RT-qPCR and Western blotting. E: Expression levels of MZB1 in HL60 and 769-P cells following MZB1 knockdown. F: Changes in cell proliferation capacity after MZB1 knockdown assessed using EdU assay (scale bar= 200 μm). ***P*<0.01, ****P*<0.001 vs HS-5/HK-2/si-NC.

的激活与抑制平衡肿瘤内环境,影响肿瘤细胞免疫逃逸、肿瘤进展以及治疗和预后。本研究结果显示在多数癌种中MZB1与免疫调节基因显著相关,如与免疫抑制基因IL-10和TGF-β等呈正相关。IL-10和TGF-β过表达可诱导调节性T细胞(Tregs)分化,抑制CD8⁺T细胞功能,促进肿瘤微环境(TME)免疫抑制^[23,24],提示MZB1在免疫微环境中的具有抑制炎症的作用。进一步发现MZB1与抑制T细胞激活的基因CTLA-4、BTLA和TIGIT等以及刺激T细胞激活的基因CD28、IFNG和ICOS等密切相关,提示MZB1可能成为癌症治疗中的免疫检查点阻断治疗的靶点。此外,在GBMLGG、KIRP、PRAD和THCA中MZB1与肿瘤的干性指数存在显著正相关,提示MZB1可能促进这些癌种的肿瘤细胞的自我更新、转移和增殖等能力,而在

CESC、ESCA和LUSC等10种肿瘤中结果相反。Zhu等^[25]证明了MZB1可以抑制非小细胞肺癌增殖和迁移,与本研究结果中MZB1下调LUSC的干性指数的结果一致。

免疫细胞是肿瘤微环境的重要组成部分,在促瘤微环境中抑制性免疫检查点、缺氧、炎性细胞因子、免疫抑制性肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、Tregs和粒细胞骨髓衍生的抑制细胞^[26],通过在癌细胞侵袭前后提供有利条件和抑制抗肿瘤免疫来促进癌细胞转移。Timer算法结果显示在大多数癌种中MZB1表达与B细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞浸润呈正相关,IPS算法评估出MZB1在泛癌中与MHC和EC浸润呈正相关,而与SC和PC呈负相关,并且xCELL算法结果显示大多数癌种中MZB1表达与B细

胞、CD8⁺T细胞、树突状细胞、巨噬细胞等细胞浸润评分呈正相关,与Timer算法结果一致,Song等^[27]也曾报道MZB1是与B细胞克隆扩增呈正相关的基因。

癌基因的致癌性由基因突变、拷贝数的扩增、启动子功能的改变以及与转录或表观遗传修饰调节因子的相互作用的改变来诱导,这些改变可导致基因产物过度活跃,而编码肿瘤抑制基因的基因通常因缺失、突变、启动子甲基化或其他调节变化而失活^[28]。通过对MZB1在泛癌中的基因突变分析发现MZB1最常发生基因扩增,主要发生在KIRC、CHOL、OV等癌种中,提示MZB1主要通过剂量效应驱动肿瘤进展。此外,MSI和TMB也是肿瘤基因组不稳定性的两个重要指标,MSI通常伴随高TMB。高MSI以及高TMB肿瘤中新抗原载量增加有利于免疫效应细胞的浸润,从而对免疫检查点抑制剂更敏感^[29]。本研究显示MZB1在KIPAN、UCEC和KICH中与TMB显著正相关,而在KIRP、THYM和LIHC中呈显著负相关。此外,在BRCA、KIPAN、LUSC、TGCT和SKCM中MZB1与MSI显著负相关,这表明在肿瘤中MZB1可能通过影响MSI和TMB的改变进而影响肿瘤的免疫治疗效果。其中,在KIPAN中MZB1分别与高TMB与低MSI相关,可能是因为DNA发生同源重组修复以及碱基切除修复缺陷,MSI不变导致的差异,未来还需进一步验证。最后,本研究还发现MZB1对HNSC、KIRC和SKCM具有较高的诊断价值,而RT-qPCR和Western blotting实验显示MZB1在白血病和肾癌细胞系中高表达,下调其表达后可显著抑制HL60和769-P细胞的增殖能力,提示MZB1不仅是多种癌症的潜在诊断标志物,还可能通过调控细胞增殖促进肿瘤发展。本研究属于生物信息研究,结论仍停留在理论层面,且TCGA和GETx的基因数据可能存在样本选择偏差,如人种、地域、疾病分期过度集中可能导致分析结果存在误差,具有局限性,未来仍需通过更多的细胞及动物模型实验进一步验证。

综上所述,MZB1在多数肿瘤中呈高表达,其表达与临床分期、免疫基因、细胞浸润水平及基因组不稳定性密切相关,并具有一定的诊断预测价值。生物信息学分析与体外实验结果相互验证,为其作为潜在免疫治疗靶点提供了依据。

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63.
[2] Li QR, Xia CF, Li H, et al. Disparities in 36 cancers across 185 countries: secondary analysis of global cancer statistics[J]. Front

Med, 2024, 18(5): 911-20.

- [3] Rui R, Zhou LQ, He SM. Cancer immunotherapies: advances and bottlenecks[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1212476.
[4] Gauci ML, Lanoy E, Champiat S, et al. Long-term survival in patients responding to anti-PD-1/PD-L1 therapy and disease outcome upon treatment discontinuation[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(3): 946-56.
[5] Wei H, Wang JY. Role of polymeric immunoglobulin receptor in IgA and IgM transcytosis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2284.
[6] Kapoor T, Corrado M, Pearce EL, et al. MZB1 enables efficient interferon α secretion in stimulated plasmacytoid dendritic cells[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 21626.
[7] Rosenbaum M, Andreani V, Kapoor T, et al. MZB1 is a GRP94 cochaperone that enables proper immunoglobulin heavy chain biosynthesis upon ER stress[J]. Genes Dev, 2014, 28(11): 1165-78.
[8] Flach H, Rosenbaum M, Duchniewicz M, et al. Mzb1 protein regulates calcium homeostasis, antibody secretion, and integrin activation in innate-like B cells[J]. Immunity, 2010, 33(5): 723-35.
[9] Xiong EM, Li YQ, Min Q, et al. MZB1 promotes the secretion of J-chain-containing dimeric IgA and is critical for the suppression of gut inflammation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(27): 13480-9.
[10] Xu MT, Feng Y, Xiang XL, et al. MZB1 regulates cellular proliferation, mitochondrial dysfunction, and inflammation and targets the PI3K-Akt signaling pathway in acute pancreatitis[J]. Cell Signal, 2024, 118: 111143.
[11] Herold T, Mulaw MA, Jurinovic V, et al. High expression of *MZB1* predicts adverse prognosis in chronic lymphocytic leukemia, follicular lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma and is associated with a unique gene expression signature[J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54(8): 1652-7.
[12] Zhai YY, Chen YL, Li QZ, et al. Exploration of the hub genes and miRNAs in lung adenocarcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 18(2): 1713-22.
[13] Chanukuppa V, Paul D, Taunk K, et al. Proteomics and functional study reveal marginal zone B and B1 cell specific protein as a candidate marker of multiple myeloma[J]. Int J Oncol, 2020, 57(1): 325-37.
[14] Watanabe M, Shibata M, Inaishi T, et al. MZB1 expression indicates poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer[J]. Oncol Lett, 2020, 20(5): 198.
[15] Ji C, Li YM, Yang K, et al. Identification of four genes associated with cutaneous metastatic melanoma[J]. Open Med (Wars), 2020, 15(1): 531-9.
[16] Liu JF, Lichtenberg T, Hoadley KA, et al. An integrated TCGA pan-cancer clinical data resource to drive high-quality survival outcome analytics[J]. Cell, 2018, 173(2): 400-16.e11.
[17] Malta TM, Sokolov A, Gentles AJ, et al. Machine learning identifies stemness features associated with oncogenic dedifferentiation[J]. Cell, 2018, 173(2): 338-54.e15.
[18] Zeng DQ, Ye ZL, Shen RF, et al. IOBR: multi-omics immunology biological research to decode tumor microenvironment and signatures[J]. Front Immunol, 2021, 12: 687975.
[19] Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers[J]. Nature, 2010, 463

- (7283): 899-905.
- [20] Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, et al. Landscape of microsatellite instability across 39 cancer types[J]. *JCO Precis Oncol*, 2017, 2017: PO.17.00073.
- [21] Miyake K, Mori R, Homma Y, et al. MZB1 in borderline resectable pancreatic cancer resected after neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. *J Surg Res*, 2017, 220: 391-401.
- [22] Kanda M, Tanaka C, Kobayashi D, et al. Epigenetic suppression of the immunoregulator MZB1 is associated with the malignant phenotype of gastric cancer[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(10): 2290-8.
- [23] Chen W. TGF- β regulation of T cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2023, 41: 483-512.
- [24] Ouyang WJ, Rutz S, Crellin NK, et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 71-109.
- [25] Zhu XH, Liu D, Wang YB, et al. Salidroside suppresses nonsmall cell lung cancer cells proliferation and migration *via* microRNA-103-3p/Mzb1[J]. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(7): 663-71.
- [26] Barcellos-Hoff MH, Lyden D, Wang TC. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(7): 511-8.
- [27] Song L, Ouyang ZY, Cohen D, et al. Comprehensive characterizations of immune receptor repertoire in tumors and cancer immunotherapy studies[J]. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10(7): 788-99.
- [28] Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, et al. Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(11): 6009-15.
- [29] Picard E, Verschoor CP, Ma GW, et al. Relationships between immune landscapes, genetic subtypes and responses to immunotherapy in colorectal cancer[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 369.

(编辑:经 媛)