

# MAP4K1 于泛癌中的突变、转录与免疫调控图谱

车思函<sup>1</sup>, 薛浩楠<sup>1</sup>, 刘兴宇<sup>2</sup>, 勾 霜<sup>3</sup>, 刘 琳<sup>3</sup>, 张 瑶<sup>3</sup>, 徐 乾<sup>3</sup>, 李子一<sup>4</sup>, 杜富宽<sup>3</sup>

西南医科大学: 1. 医学影像系; 2. 中西医结合学院; 3. 药学院; 4. 临床医学院 (泸州 646000)

**【摘要】目的** 探讨 *MAP4K1* 基因在泛癌中的表达、突变、预后影响和免疫浸润, 并考察其作为免疫疗法新靶点的潜力。**方法** 利用 UCSC 数据库中的泛癌数据集与 GEPIA 2 数据库, 探究 *MAP4K1* 的表达差异和生存率关系。小提琴图展示 *MAP4K1* 在泛癌与正常组织中的差异; Kaplan-Meier 曲线评估生存关联。此外, 还进行了实时荧光定量 PCR 测定 *MAP4K1* mRNA 水平, cBioPortal 网站分析基因突变和编码顺序变化, TIMER1.0 网站探索免疫浸润联系。**结果** *MAP4K1* 基因在大多数泛癌组织中的表达量高于正常组织, *MAP4K1* mRNA 在胰腺癌和急性髓性白血病细胞中明显高表达; 而在卵巢癌细胞, 黑色素瘤细胞, 胶质瘤细胞中低表达, 与肿瘤纯度负相关、免疫浸润正相关。基因改变频率为 2.9%, 以扩增和深度缺失为主, 子宫内膜癌等癌症中突变频率高。此外, *MAP4K1* 在泛癌中一共有 156 处突变, 其中错义突变为主要类型。*MAP4K1* 的表达与生存期关系复杂, 既可能与较长生存期相关, 也可能预示较短生存期。**结论** 本研究探究了 *MAP4K1* 在多种癌症发生和发展中的重要作用, 揭示了其在癌症治疗中作为潜在靶标的可能性。这些发现能为癌症免疫治疗策略的发展提供一定的参考, 可能对未来癌症治疗方法具有借鉴意义。

**【关键词】** *MAP4K1*; 泛癌; 免疫浸润; 预后

**【中图分类号】** R730.3

文献标志码 A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.006

## Mutation, Transcription and Immunoregulatory Map of *MAP4K1* in Pan-cancer

CHE Sihan<sup>1</sup>, XUE Haonan<sup>1</sup>, LIU Xingyu<sup>2</sup>, GOU Shuang<sup>3</sup>, LIU Lin<sup>3</sup>, ZHANG Yao<sup>3</sup>, XU Qian<sup>3</sup>, LI Ziyi<sup>4</sup>, DU Fukuan<sup>3</sup>

1. Department of Medical Imaging, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. School of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. School of pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 4. School of Clinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

**【Abstract】Objective** This study investigated the expression, mutation, prognostic impact, and immune infiltration of *MAP4K1* gene in pan-cancer, and examined its potential as a new target for immunotherapy. **Methods** The study utilized the pan-cancer dataset from the UCSC database and the GEPIA 2 database to investigate the differential expression of *MAP4K1* and its relationship with survival rate. The violin diagram showed the difference of *MAP4K1* between pan-cancer and normal tissues; Kaplan Meier curve evaluation of survival association. In addition, real-time fluorescence quantitative PCR was used to measure *MAP4K1* mRNA levels, cBioPortal website was used to analyze gene mutations and coding sequence changes, and TIMER1.0 website was used to explore immune infiltration connections. **Results** The expression level of *MAP4K1* gene was higher in most pan-cancer tissues than in normal tissues, and *MAP4K1* mRNA was significantly overexpressed in pancreatic cancer and acute myeloid leukemia cells. In ovarian cancer cells, melanoma cells, and glioma cells, low expression was negatively correlated with tumor purity but positively correlated with immune infiltration. The frequency of genetic changes was 2.9%, mainly amplification and deep deletion, with a high mutation frequency in cancers such as endometrial cancer. In addition, *MAP4K1* had a total of 156 mutations in pan-cancer, with missense mutations being the main type. The expression of *MAP4K1* had a complex relationship with survival, which might be related to longer survival or indicate shorter survival. **Conclusion** This study confirmed the role of *MAP4K1* in the occurrence and development of various cancers, providing potential target sites for subsequent related tumor treatments.

**【Key words】** *MAP4K1*; Pan-cancer; Immune infiltration; Prognosis

肿瘤是机体在各种致癌因素的作用下, 局部组织细胞在基因水平上发生变异, 使细胞偏离正常的生长发育而形成的<sup>[1]</sup>。世界卫生组织 2021 年统计结果显

示: 癌症是全球第二大死因, 每年导致约 1 000 万人死亡。据估计, 2020 年我国新发癌症病例占全球新发癌症病例的 23.7%、癌症死亡病例占全球癌症死亡病例的

**基金项目:** 四川省科技计划项目(2022NSFSC0783); 西南医科大学与泸州市政府联合基金(2020LZXNYDJ08); 西南医科大学基金(2021ZKMS038); 西南医科大学博士引进科研启动经费(05-00040140)

**通信作者:** 杜富宽, E-mail: adublg@126.com

**引用本文:** 车思函, 薛浩楠, 刘兴宇, 等. *MAP4K1* 于泛癌中的突变、转录与免疫调控图谱 [J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(5): 395-404. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.006.

30.2%,均高于该年中国人口占全球人口总数的比例<sup>[2]</sup>。同时国外情况也十分严峻,2022年美国估算全年将新增1 918 030例癌症病例和609 360例癌症死亡病例<sup>[3]</sup>。由此可见,寻找癌症治疗的新靶点、新方向,对提高癌症治愈率有着极大的意义。

泛癌是由癌症基因组图谱计划数据库收录的11 000例癌症病例的33种不同癌症类型的数据合集<sup>[4]</sup>。泛癌分析是指在不同肿瘤类型中发现基因组和细胞变化之间的相似性和差异,并在其中寻找到某些普遍的规律。*MAP4K1*是一种编码蛋白质的基因片段,用于编码造血祖细胞激酶1(hematopoietic progenitor Kinase1, HPK1)。从国内外的研究现状来看<sup>[5]</sup>,目前*MAP4K1*的研究主要集中于某些癌症中的作用或是*MAP4K1*对体免疫细胞的影响作用<sup>[6-7]</sup>,尚无全面的总结与分析,且*MAP4K1*的免疫治疗机制也未明确,所以未得到广泛的临床应用。本文利用生物信息学分析方法和已有的网络大数据资源来探讨*MAP4K1*在泛癌中转录表达水平、对病人临床指标的影响以及对肿瘤免疫浸润和免疫评分等方面的调控作用,探讨该基因在多种癌症的发生和发展中的作用,对*MAP4K1*进行更全面的机制及潜在作用研究,为后续相关肿瘤治疗提供靶标位点。

## 1 数据获取与方法

### 1.1 数据的获取

数据主要来源于:TCGA数据库、Kaplan-Meier Plotter数据库<sup>[8]</sup>、肿瘤免疫估计资源数据库(tumor immune estimation resource, TIMER) 1.0<sup>[9]</sup>、基因表达谱数据动态分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA2)数据库<sup>[10-11]</sup>以及cBioPortal数据库<sup>[12]</sup>。

### 1.2 *MAP4K1*在泛癌中的表达

从UCSC (<https://xenabrowser.net/>)数据库中下载经统一标准化的泛癌数据集:TCGA TARGET GTEx (PANCAN, N = 19 131, G = 60 499),从中提取ENSG00000104814 (*MAP4K1*)基因在各个样本中的表达数据,再对每一个表达值进行了 $\log^2(x+1)$ 变换,最后剔除单个癌种中样本个数小于3个的癌种,最终获得了34个癌种的表达数据。使用非配对的Wilcoxon Rank Sum进行每个肿瘤中正常样本和肿瘤样本的表达差异显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

实时荧光定量PCR检测*MAP4K1* mRNA表达:收集急性髓性白血病细胞(EOL-1),胃癌细胞(TMK), (胰腺癌细胞Panc-1),胶质瘤细胞(U251),乳腺癌细胞(MDA-MB-231),卵巢癌细胞(A2780),黑色素瘤细胞(A2058),宫颈癌细胞(HeLa)8种癌细胞沉淀,提取总RNA, RNA质量检测合格后,逆转录反应合成cDNA,反应体系:4 × g DNA wiper Mix 2 μL,模板RNA

1 μg,加无RNA酶水至8 μL,42 °C 2 min以去除基因组DNA,再加5 × HisScript III qRT SuperMix 2 μl。反应程序:37 °C 15 min,85 °C 5 s,4 °C保存。进行实时荧光定量PCR,MAP4K1,GAPDH引物由擎科生物技术公司设计而成,MAP4K1:上游引物5'GTGAAGATGGAGCCTGATGATGA3',下游引物:5'CTTCCCGGCAGACATAGCTAATC3'。GAPDH:上游引物5'GGAGTCCACTGGCGTCTTCA3',下游引物5'GTCATGAGTCCTTCCACGATACC3'。反应体系:2 × ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix,上游引物0.4 μL,下游引物0.4 μL,cDNA 2 μL,加双蒸水至10 μL,反应程序:95 °C 10 s,60 °C 30 s,共40个循环。采用 $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ 法计算*MAP4K1* mRNA的相对表达量。

### 1.3 *MAP4K1*在泛癌癌细胞中的突变和编码顺序的改变

为探讨*MAP4K1*在泛癌中的突变情况,使用cBioportal网站的OncoPrint模块来绘制*MAP4K1*基因在泛癌样本中突变情况的统计图,用Cancer Types Summary模块来绘制*MAP4K1*基因在泛癌中的改变情况及频率关系的柱状图,用Mutation模块显示*MAP4K1*基因的突变信息。

### 1.4 *MAP4K1*在泛癌中的表达和生存率之间的相关性

在GEPIA 2数据库中利用所有可用微阵列数据集中搜索*MAP4K1*在泛癌中表达水平,以确定其与预后生存的关系,主要项目为总生存期。将阈值调整为Cox  $P < 0.05$ 并计算具有95%置信区间和对数秩*P*值的危险比(HR),再绘制生存曲线。

### 1.5 *MAP4K1*基因的表达与肿瘤免疫浸润细胞间的关系

利用TIMER 1.0 (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)的基因模块分析*MAP4K1*在32种泛癌[缺乏LAML的相关数据(39个癌症,其中BRCA有4类,HNSC有3类,SKCM有3类)]中的表达以及*MAP4K1*的表达与免疫浸润丰度的相关性,包括B细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞、中性粒细胞、树突状细胞和巨噬细胞的浸润情况。

利用TIMER 1.0的SCNA模块来探索*MAP4K1*具有的不同体细胞拷贝数改变与免疫浸润丰度之间的相关性。TIMER应用GISTIC 2.0的数据,检验与正常组织相比不同基因拷贝状态对免疫浸润的影响。结果用箱形图来呈现所选癌症类型中每个拷贝状态下每个免疫子集的分布,结果包括深度缺失、浅缺失、二倍体/正常、低扩增和高扩增。

### 1.6 统计学分析

使用*P*值和差异倍数分析来自GEPIA 2数据库和TCGA数据库的基因表达数据。生存曲线由GEPIA 2生成,将阈值调整为Cox  $P < 0.05$ ,并设置具有95%置



## 2.2 MAP4K1在泛癌中表达和对生存的影响

**2.2.1 MAP4K1在泛癌中的表达** 通过数据分析发现MAP4K1在26种肿瘤组织中的表达量高于正常组织,在PAAD、睾丸生殖细胞肿瘤(testicular germ cell tumors, TGCT)、急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, LAML)、OV、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)、宫颈鳞状细胞癌和宫颈内腺癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, CESC)中差异较为显著,此外8种肿瘤组织的MAP4K1的表达量略低于其在正常组织中表达量:肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、结肠癌(colon adenocarcinoma, COAD)、COADREAD、前列腺腺癌(prostate adenocarcinoma, PRAD)、LUSC、膀胱移行细胞癌(bladder urothelial carcinoma, BLCA)、READ和肾嫌色细胞癌(Kidney chromophobe, KICH)。

进一步选取了生信分析中8种MAP4K1表达在肿瘤组织中高于正常组织的结果进行进一步的实验验证。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量后,结果表明,MAP4K1 mRNA在胰腺癌和急性髓性白血病细胞中明显高表达,其次是胃癌,乳腺癌,宫颈癌;在卵巢癌、黑色素瘤和胶质瘤细胞中低表达(图2B)。

**2.2.2 MAP4K1表达在泛癌中对生存的影响** 为了进一步研究MAP4K1的表达情况与33种癌症患者的预后生存情况,利用GEPIA 2数据库进行分析。首先根据MAP4K1表达水平的中位值,将MAP4K1的表达水平分

为MAP4K1高表达组和MAP4K1低表达组。然后根据Cox PH模型计算风险比并设置95%的置信区间后绘制总生存期(OS)的Kaplan–Meier生存曲线图。绘制的生存曲线图如下(图2C),根据Kaplan–Meier生存曲线图可知:MAP4K1在33种癌症中的表达与预后生存的情况主要有2种:MAP4K1在肿瘤细胞中的表达量与患者预后生存情况有关系,即P值小于0.05(图2 C1和图2 C2);MAP4K1在肿瘤细胞中的表达量与患者预后生存情况没有关系。而MAP4K1在肿瘤细胞中的表达量与患者的预后生存有关系的情况又分为:MAP4K1在肿瘤细胞中表达量高的组有较高的生存率(图2 C1);另外一种情况则与之相反,MAP4K1在肿瘤细胞中表达量高的组有较低的生存率(图2 C2)。表现出高表达高生存情况的癌症种类有:乳腺浸润性癌(breast invasive carcinoma, BRCA)( $P = 0.005$ ),宫颈鳞状细胞癌和宫颈内腺癌( $P < 0.001$ )、胆管癌(cholangiocarcinoma, CHOL)( $P = 0.031$ )、肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)( $P = 0.032$ )、肉瘤(sarcoma, SARC)( $P = 0.011$ )和皮肤黑色素瘤(skin cutaneous melanoma, SKCM)( $P = 0.025$ )。表现出高表达低生存的癌症种类有:肾透明细胞癌(Kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)( $P = 0.011$ )、急性髓性白血病(LAML)( $P = 0.001$ )和脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma, LGG)( $P < 0.001$ )。

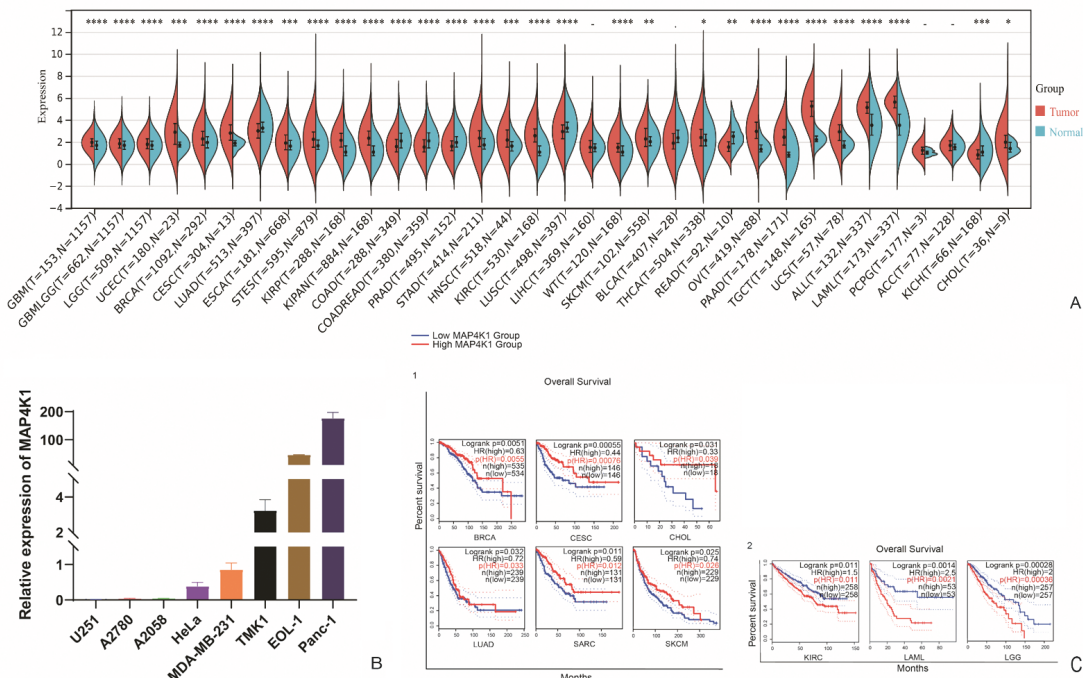


图2 泛癌中MAP4K1表达与生存率的关系

Figure 2 Relationship between MAP4K1 expression and survival in pan-cancer

注:A. MAP4K1在肿瘤组织与正常组织中的表达情况统计图:MAP4K1在26种癌症组织中表达多高于其在正常组织中的表达,尤其是在PAAD, TGCT, LAML, OV, KIRC, CESC中MAP4K1在肿瘤组织中的表达远远高于MAP4K1在正常组织中的表达;B. 8种癌细胞中MAP4K1的表达情况柱状图:实时荧光定量PCR检测8种癌细胞中MAP4K1的表达。MAP4K1 mRNA在胰腺癌和急性髓性白血病细胞中明显高表达,其次是胃癌、乳腺癌、宫颈癌;在卵巢癌、黑色素瘤、胶质瘤细胞中低表达;C. 生存曲线图:(1). 出现高表达高生存的K–M生存曲线(2). 出现

高表达低生存的K-M曲线。

综上所述,MAP4K1在BRCA、CESC、CHOL、LUAD、SARC、SKCM、TGCT和THYM中高表达,这部分人群往往有较长的总体生存期,可能有较好的预后,高表达低生存的反之,包括KIRC、LAML和LGG。

### 2.3 MAP4K1的表达与肿瘤免疫浸润细胞间的关系

**2.3.1 MAP4K1基因的表达与肿瘤免疫浸润丰度的相关性** 肿瘤的生长、侵袭和转移无不与免疫细胞相关。免疫细胞的种类很多,且不同类型的免疫细胞在抗肿瘤和肿瘤免疫逃逸过程中又发挥了不同的作用。为了研究MAP4K1的表达是否与不同的癌症类型的免疫浸润水平有关,运用TIMER 1.0的基因模块来探讨MAP4K1基因在32种泛癌(缺乏LAML的相关数据)中的39个癌症中的表达与免疫浸润丰度之间的相关性,并筛选出 $|r| \geq 0.5$ 的结果,如图3所示。图中的横轴表示的是浸润水平,纵轴表示的是MAP4K1的表达量,每个小黑点都代表了一个样本,蓝色的线则代表了拟合的线性模型。

结果表明MAP4K1的表达与28种泛癌中的35个癌症的肿瘤纯度(Purity)有显著的相关性,其中MAP4K1的表达与肿瘤纯度具有显著的负相关性的癌症有34个,包括 $|r| \geq 0.5$ :BLCA(图3A),BRCA(图3B),CHOL(图3F),KICH(图3J),肝细胞癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)(图3M),LUAD(图3N),SKCM(图3P);  $0 \leq |r| \leq 0.5$ : 肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma, ACC),CESC,COAD,食管癌(esophageal carcinoma, ESCA),GBM,头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC),KIRC,肾乳头状细胞癌(Kidney renal papillary cell carcinoma, KIRP),LGG,LUSC,间皮瘤(mesothelioma, MESO),PAAD,嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(pheochromocytoma and paraganglioma, PCPG),PRAD,READ,SARC,胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD),TGCT,THCA和THYM。MAP4K1的表达与肿瘤纯度具有正相关性的癌症有1个,即UVM( $r = 0.257, P = 2.29 \times 10^{-2}$ ),MAP4K1的表达与肿瘤纯度无明显相关性的癌症有4个。此外,MAP4K1的表达与34个癌症中的B细胞浸润水平、29个癌症中的CD8<sup>+</sup>T细胞浸润水平、36个癌症中的CD4<sup>+</sup>T细胞浸润水平、27个癌症中的巨噬细胞浸润水平、28个癌症中的中性粒细胞浸润水平及33个癌症中的树突状细胞浸润水平具有显著的相关性。MAP4K1的表达与B细胞浸润水平具有正相关性的癌症有33个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:BRCA(图3A/B/C)、CHOL(图3F)、HNSC(图3G/H/I)、ESCA(图3G)、KIRP(图3K)、LIHC(图3M)、LUAD(图3N)、PRAD(图3O)、THYM(图3R)。具有负相关性的癌症有1个,即UVM( $r = -0.29, P = 1.16 \times 10^{-2}$ ),无呈正相关或呈负相关的癌症有5个;MAP4K1的表达与CD8<sup>+</sup>T细胞浸润水平具有显著的正相关性的

癌症有27个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:BRCA(图3A/D)、CHOL(图3F)、HNSC(图3G/H/I)、KIRC(图3J)、LIHC(图3M)、STAD(图3Q)。具有负相关性的癌症2个,包括DLBC( $r = -0.517, P = 1.65 \times 10^{-2}$ )(图3G),GBM( $r = -0.302, P = 2.90 \times 10^{-10}$ ),无显著相关性的癌症10个;MAP4K1的表达与CD4<sup>+</sup>T细胞浸润水平具有显著的正相关性的癌症有36个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:BRCA(图3A/B/C/D)、COAD(图3E)、CESC(图3E)、CHOL(图3F)、HNSC(图3H/I)、LUSC(图3J)、MESO(图3J)、KIRP(图3K)、LGG(图3L)、UCEC(图3L)、UCS(图3M)、LUAD(图3N)、PAAD(图3N)、PRAD(图3O)、SARC(图3O)、SKCM(图3P)、STAD(图3Q)、THYM(图3R)。无显著相关性的癌症有3个;MAP4K1的表达与巨噬细胞(Macrophage)浸润水平具有显著正相关性的癌症有27个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:CHOL(图3F)、HNSC(图3H/I)、LGG(图3L)。无显著相关性的癌症有12个;MAP4K1的表达与中性粒细胞(Neutrophil)浸润水平具有显著正相关性的癌症有28个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:BRCA(图3B/C/D)、COAD(图3E)、HNSC(图3H/I)、MESO(图3J)、KIRP(图3K)、LGG(图3L)、PAAD(图3N)、PRAD(图3O)、SKCM(图3P)、STAD(图3Q)、THCA(图3R)。无显著相关性的癌症有11个;MAP4K1的表达与树突状细胞(Dendritic Cell)浸润水平具有显著正相关性的癌症有33个,其中 $|r| \geq 0.5$ 包括:BRCA(图3B/C/D)、COAD(图3E)、CESC(图3E)、CHOL(图3F)、HNSC(图3G/H/I)、KICH(图3J)、KIRC(图3J)、KIRP(图3K)、LGG(图3L)、LIHC(图3M)、PAAD(图3N)、PRAD(图3O)、SARC(图3O)、SKCM(图3P/Q)、STAD(图3Q)、THYM(图3R)、THCA(图3R)。无显著相关性的癌症有6个。总的来说,MAP4K1的表达在这32种泛癌39种癌症的免疫浸润中起着十分重要的作用。

**2.3.2 MAP4K1不同的体细胞拷贝数变异与免疫浸润丰度的相关性** “SCNA”模块提供了给定基因具有不同体细胞拷贝数畸变的肿瘤中TII C丰度的比较。利用TIMER 1.0的SCNA模块来探讨在32种37个癌症中MAP4K1具有不同的体细胞拷贝数的肿瘤之间的肿瘤浸润水平比较的结果,并筛选出 $P < 0.05$ 的结果(如图4)。图中横轴表示免疫细胞种类,纵轴表示浸润水平,箱形图表示所选癌症类型中每个拷贝数状态下免疫子集的分布。结果表明:MAP4K1具有不同体细胞拷贝数肿瘤之间的肿瘤浸润水平比较,具有统计学意义的有27种30个癌症。

在泛癌中,MAP4K1基因拷贝数变异的每个肿瘤浸润免疫细胞子集的分布情况可能包括深度缺失、浅缺失、二倍体/正常、低扩增和高扩增中的两个或两以上。并且MAP4K1的基因拷贝数变异(CNVs)与B细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞、中性粒细胞、树突状细胞和巨

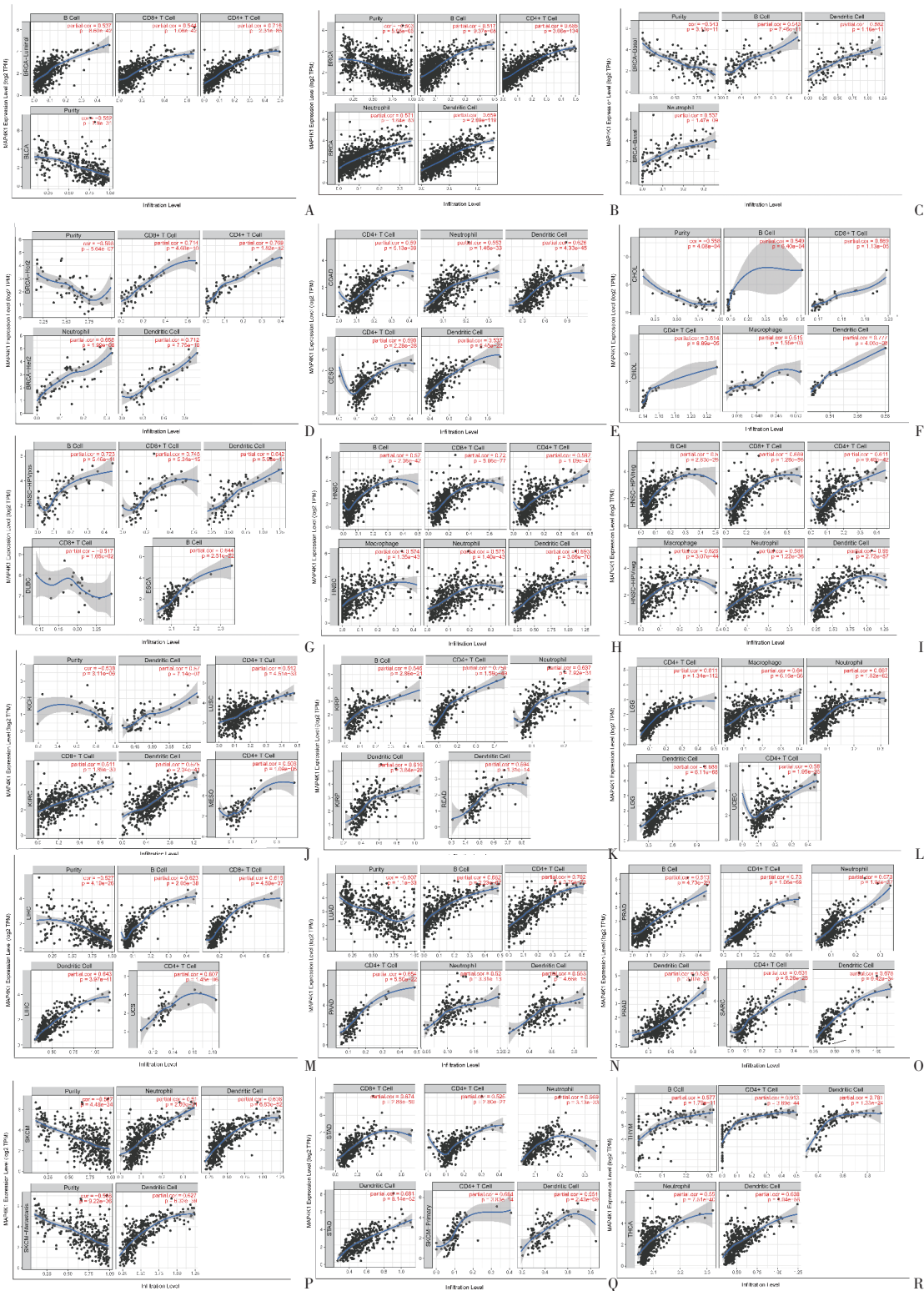


图3 MAP4K1的表达与肿瘤免疫浸润丰度的相关性散点图

Figure 3 Scatterplot of the correlation between MAP4K1 expression and tumor immune invasion abundance

注:A.MAP4K1的表达与BLCA, BRCA-Luminal免疫浸润丰度的相关性散点图;B.MAP4K1的表达与BRCA免疫浸润丰度的相关性散点图;C.MAP4K1的表达与BRCA-Basal免疫浸润丰度的相关性散点图;D.MAP4K1的表达与BRCA-Her2免疫浸润丰度的相关性散点图;E.MAP4K1的表达与CESC, COAD免疫浸润丰度的相关性散点图;F.MAP4K1的表达与CHOL免疫浸润丰度的相关性散点图;G.MAP4K1的表达与DLBC, ESCA, HNSC-HPVpos免疫浸润丰度的相关性散点图;H.MAP4K1的表达与HNSC免疫浸润丰度的相关性散点图;I.MAP4K1的表达与HNSC-HPVneg免疫浸润丰度的相关性散点图;J.MAP4K1的表达与KICH, KIRC, LUSC, MESO免疫浸润丰度的相关性散点图;K.MAP4K1的表达与KIRP, READ免疫浸润丰度的相关性散点图 L.MAP4K1的表达与LGG, UCEC免疫浸润丰度的相关性散点图;M.MAP4K1的表达与HISC, UCS免疫浸润丰度的相关性散点图;N.MAP4K1的表达与LUAD, PAAD免疫浸润丰度的相关性散点图;O.MAP4K1的表达与PRAD, SARC免疫浸润丰度的相关性散点图;P.MAP4K1的表达与SKCM, SKCM-Metastasis免疫浸润丰度的相关性散点图;Q.MAP4K1的表达与STAD, SKCM-Primary免疫浸润丰度的相关性散点图;R.MAP4K1的表达与THYM, THCA免疫浸润丰度的相关性散点图。



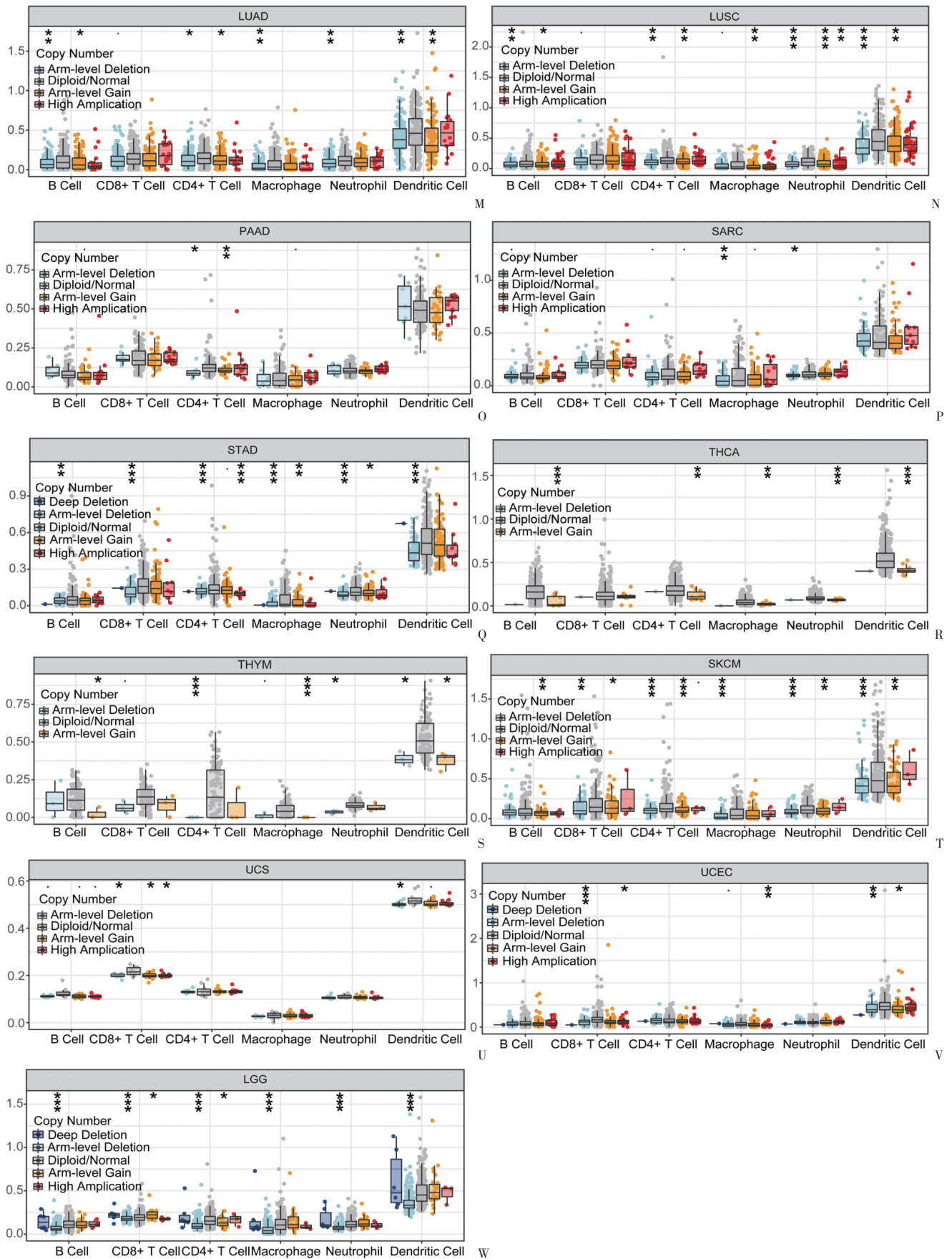


图4 MAP4K1不同的体细胞拷贝数变异与免疫浸润丰度之间的相关性箱型图

Figure 4 Box plot of the correlation between different somatic copy number variants and immune infiltration abundance of MAP4K1

注:A-W. MAP4K1不同的体细胞拷贝数变异与免疫浸润丰度之间的有意义的相关性箱型图;BLCA, BRCA, BRCA-Luminal, CHOL, COAD, ESCA, KICH, HNSC, KIRC, KIRP, LUAD, LUSC, PAAD, SARC, MESO, STAD, THCA, THYM, SKCM, UCS, UCEC, LGG。\*代表MAP4K1的基因拷贝变异(CNVs)与相应免疫细胞具有相关性。

噬细胞中的一些免疫细胞呈正相关,见图4。

### 3 讨论

MAP4K1是一种上游蛋白激酶,是丝氨酸/苏氨酸Ste20相关蛋白激酶的造血细胞限制性成分(hematopoietic cell-restricted member),具有抑制CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞和树突细胞等多种细胞的免疫功能<sup>[13-14]</sup>。关于MAP4K1已有的研究主要围绕机制或某种具体的癌症或免疫细胞进行,本研究在已有的研究基础上,从宏观的角度分析了MAP4K1在多数泛癌肿瘤组织中的特点,拓展了其于肿瘤免疫方面的研究内容并分析了其对临床指标的影响作用。

现有研究中,MAP4K1与少数血液系统癌症、皮肤癌、泌尿系统癌症<sup>[15]</sup>以及非小细胞肺癌<sup>[16-17]</sup>之间的关系研究较为广泛。如在急性髓系白血病中,MAP4K1可以独立预测其预后,并且能调节其治疗药物高三尖杉酯碱的耐药性;在黑色素瘤中,通过体内敲除MAP4K1表达后可抑制YAP磷酸化水平进而抑制黑色素瘤细胞的迁移和侵袭能力<sup>[18]</sup>;但其余癌症与MAP4K1之间的关系仍然不清楚<sup>[19-20]</sup>。我们通过TCGA数据库与GTEx数据库的信息评估了MAP4K1在泛癌中的表达情况(图2A),结果表明MAP4K1在多数泛癌的肿瘤组织中转录水平明显高于正常组织中的转录水平,同时MAP4K1的表达能抑制体内多种免疫细胞的免疫功能,并且在乳房外湿疹样癌(EMPD)的研究中发现,35例样本中均存在HPK1的细胞质过表达<sup>[21]</sup>。cBioportal网站的数据分析结果显示MAP4K1基因拷贝数变异在泛癌中比例最高的是扩增和深度缺失(图1A)。通过对MAP4K1的表达情况与33种癌症患者的临床预后情况比较研究证明,MAP4K1在肿瘤组织中的表达量与患者的预后生存之间存在密切联系(图2C)。一般情况下,MAP4K1的高表达可能导致患者的低生存<sup>[19]</sup>,MAP4K1的低表达有利于患者的总生存期<sup>[22]</sup>。一项体外实验发现,下调MAP4K1的表达,能够减缓白血病细胞的增殖,并延长其在体内的存活期;MAP4K1还可作为T细胞免疫治疗的药物靶点,介导T细胞功能障碍,从而改善免疫治疗反应<sup>[23]</sup>。MAP4K1在相关的研究中已被证明是介导抗肿瘤免疫的细胞内免疫检查点。药理抑制HPK1是研究HPK1在人类免疫细胞中的作用和治疗意义的理想选择<sup>[24]</sup>。此外,HPK1似乎是一种T细胞、B细胞、树突状细胞的负调控因子,并可能作为增强剂作用于T细胞和B细胞和树突状细胞的免疫治疗的治疗干预靶点<sup>[25-26]</sup>。MAP4K1还免疫应答之间的研究较为成熟。相关体内外研究显示<sup>[27]</sup>,在癌症初期免疫应答与MAP4K1上调有关。然而这种免疫应答存在特异性,同时每种癌症具有激活不同的淋巴细胞免疫应答的途径<sup>[28-29]</sup>,而其他癌症激活的淋巴细胞对于

MAP4K1激活通路具有较低的特异性,因此治疗效果较差。有研究证明MAP4K1具有促进淋巴细胞增殖,增强免疫应答的作用<sup>[23]</sup>;MAP4K1还可以起到抑制肿瘤细胞生长的作用<sup>[30]</sup>。我们发现,肿瘤浸润淋巴细胞是癌症前哨淋巴结状态和存活率的独立预测因子<sup>[17,31-34]</sup>。癌症表达与免疫浸润丰度相关性研究发现MAP4K1的表达与多数泛癌的肿瘤纯度具有显著的负相关性(图3),这表明在癌症的起始阶段MAP4K1为高表达,随着肿瘤纯度的增加MAP4K1的表达在逐渐降低。有相关学者提出了假设,可以通过观察泛癌中MAP4K1的表达及转录情况以及其表达量高低预测癌症患者与生存预后的关系<sup>[19]</sup>。作用机制方面,MAP4K1下游接头蛋白学说有一定依据<sup>[35]</sup>,MAP4K1可通过各种接头蛋白组成的信号通路来调控疾病的转归。此外,我们还选取了8种在数据分析结果中,MAP4K1的肿瘤组织表达量高于正常组织的肿瘤细胞样本进行实时荧光定量PCR检测实验,探究其在肿瘤组织中的具体表达情况。实验结果显示,MAP4K1 mRNA在胰腺癌和急性髓性白血病细胞中明显高表达,其次是胃癌、乳腺癌和宫颈癌;在卵巢癌、黑色素瘤和胶质瘤细胞中低表达。在肿瘤组织中,除肿瘤细胞外,还包含有许多免疫细胞,而MAP4K1在肿瘤细胞中低表达而在肿瘤组织中高表达可能与肿瘤组织中浸润的免疫细胞有关。因此我们进一步分析了MAP4K1的表达与免疫细胞浸润之间的关系,结果显示在大部分肿瘤样本中,二者具有显著的正相关性。

我们利用了生物信息网站大数据探讨了MAP4K1在泛癌中的发生和发展的重要性,但我们的研究仍然存在一定的局限。第一是我们需要多网站、多数据库来综合研究评估MAP4K1在泛癌中的功能。第二是单独使用生物信息学的分析得到的结果不一定很完善,所以我们还应进行一定的实验来验证我们的分析结果。并且,我们的研究还涉及到了一些尚在研究中的内容,比如目前对MAP4K1与其接头蛋白的相互作用研究尚停留在理论研究水平,还未在临床上被证明,对此进行深入探讨,将有助于理解MAP4K1在各种免疫反应中的作用机制,从而为泛癌提供新的治疗思路和策略。

### 4 结论

本研究利用生物信息学大数据分析方法和已有的网络大数据资源来探讨MAP4K1在泛癌中转录表达水平、突变情况对病人生存等临床指标的影响以及对肿瘤免疫浸润和免疫评分等方面的调控作用。本研究还通过实时荧光定量PCR检测测定了部分肿瘤细胞样本MAP4K1 mRNA的表达情况,明确了该基因在多种癌症的发生和发展中的作用,可为后续相关肿瘤治疗提

供新的靶标位点。

## 5 参考文献

- [1] HAO SY, CAI D, GOU S, *et al.* Does each component of reactive oxygen species have a dual role in the tumor microenvironment?[J]. *Curr Med Chem*, 2023: CMC-EPUB-133019.
- [2] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-14.
- [3] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, *et al.* Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [4] ARAN D, SIROTA M, BUTTE AJ. Systematic pan-cancer analysis of tumour purity[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8971.
- [5] WANG XH, LI JP, CHIU LL, *et al.* Attenuation of T cell receptor signaling by serine phosphorylation-mediated lysine 30 ubiquitination of SLP-76 protein[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(41): 34091-34100.
- [6] HERNANDEZ S, QING J, THIBODEAU RH, *et al.* The Kinase activity of hematopoietic progenitor Kinase 1 is essential for the regulation of T cell function[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(1): 80-94.
- [7] 刘秀盈, 刘静静, 朱晶晶, 等. MAP4K1影响T细胞在肿瘤微环境中的功能研究进展[J]. *中草药*, 2022, 20(9): 2106-2109.
- [8] LÁNCZKY A, NAGY Á, BOTTAI G, *et al.* miRpower: a web-tool to validate survival-associated miRNAs utilizing expression data from 2178 breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2016, 160(3): 439-446.
- [9] LI TW, FAN JY, WANG BB, *et al.* TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): e108-e110.
- [10] CERAMI E, GAO JJ, DOGRUSOZ U, *et al.* The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data[J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 401-404.
- [11] TANG ZF, LI CW, KANG BX, *et al.* GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W98-W102.
- [12] TOMCZAK K, CZERWIŃSKA P, WIZNEROWICZ M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19(1A): A68-A77.
- [13] ZHU QS, CHEN NN, TIAN XJ, *et al.* Hematopoietic progenitor Kinase 1 in tumor immunology: a medicinal chemistry perspective[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(12): 8065-8090.
- [14] WANG Y, LUO HM, LI YL, *et al.* Hsa-miR-96 up-regulates MAP4K1 and IRS1 and may function as a promising diagnostic marker in human bladder urothelial carcinomas[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(1): 260-265.
- [15] 杨乾. MAP4K1在膀胱尿路上皮癌中的表达及与JNK信号通路调控关系[D]. 衡阳: 南华大学, 2017.
- [16] BAI YX, LIU XF, QI XY, *et al.* PDIA6 modulates apoptosis and autophagy of non-small cell lung cancer cells via the MAP4K1/JNK signaling pathway[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42: 311-325.
- [17] HU YF, XIAO MT, ZHANG DL, *et al.* Comprehensive analysis of chemoKines family and related regulatory ceRNA network in lung adenocarcinoma[J]. *Heliyon*, 2022, 8(11): e11399.
- [18] 李晶, 余音, 刘素桃, 等. MAP4K1促进皮肤黑色素瘤迁移和侵袭的机制研究[J]. *中国美容整形外科杂志*, 2021, 32(4): 241-244, 后插11.
- [19] LING Q, LI FL, ZHANG X, *et al.* MAP4K1 functions as a tumor promoter and drug mediator for AML via modulation of DNA damage/repair system and MAPK pathway[J]. *EBioMedicine*, 2021, 69: 103441.
- [20] TANG XL, LIU L, LI Y, *et al.* Chemical profiling and investigation of molecular mechanisms underlying anti-hepatocellular carcinoma activity of extracts from *Polygonum perfoliatum* L[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115315.
- [21] QIAN Y, TAKEUCHI S, LONG DG, *et al.* Hematopoietic progenitor Kinase 1, mitogen-activated protein/extracellular signal-related protein Kinase Kinase 1, and phosphoinositide-dependent protein Kinase Kinase 4 are overexpressed in extramammary Paget disease[J]. *Am J Dermatopathol*, 2011, 33(7): 681-686.
- [22] BAI ZJ, YAO QM, SUN ZY, *et al.* Prognostic value of mRNA expression of MAP4K family in acute myeloid leukemia[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18: 1533033819873927.
- [23] SI JW, SHI XJ, SUN SH, *et al.* Hematopoietic progenitor Kinase 1 (HPK1) mediates T cell dysfunction and is a druggable target for T cell-based immunotherapies[J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(4): 551-566.e11.
- [24] YOU D, HILLERMAN S, LOCKE G, *et al.* Enhanced antitumor immunity by a novel small molecule HPK1 inhibitor[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(1): e010402.
- [25] ALZABIN S, BHARDWAJ N, KIEFER F, *et al.* Hematopoietic progenitor Kinase 1 is a negative regulator of dendritic cell activation[J]. *J Immunol*, 2009, 182(10): 6187-6194.
- [26] 褚玉平, 晁旭, 唐海龙, 等. HPK1在肿瘤和免疫中的研究进展[J]. *转化医学杂志*, 2021, 10(6): 396-400.
- [27] YANG HS, MATTHEWS CP, CLAIR T, *et al.* Tumorigenesis suppressor Pcd4 down-regulates mitogen-activated protein Kinase Kinase Kinase 1 expression to suppress colon carcinoma cell invasion[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(4): 1297-1306.
- [28] ZHANG Q, LONG H, LIAO JY, *et al.* Inhibited expression of hematopoietic progenitor Kinase 1 associated with loss of jumonji domain containing 3 promoter binding contributes to autoimmunity in systemic lupus erythematosus[J]. *J Autoimmun*, 2011, 37(3): 180-189.
- [29] LIU L, ZHANG Y, CHEN Y, *et al.* Therapeutic prospects of ceRNAs in COVID-19[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 998748.
- [30] WANG JJ, SONG LJ, YANG S, *et al.* HPK1 positive expression associated with longer overall survival in patients with estrogen receptor-positive invasive ductal carcinoma-not otherwise specified[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4634-4642.
- [31] CHEN-DEUTSCH X, STUDZINSKI GP. Dual role of hematopoietic progenitor Kinase 1 (HPK1) as a positive regulator of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D-induced differentiation and cell cycle arrest of AML cells and as a mediator of vitamin D resistance[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(7): 1364-1373.
- [32] LANZ MC, DIBITETTO D, SMOLKA MB. DNA damage Kinase signaling: checkpoint and repair at 30 years[J]. *EMBO J*, 2019, 38(18): e101801.
- [33] AZIMI F, SCOLYER RA, RUMCHEVA P, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(21): 2678-2683.
- [34] OHTANI H. Focus on TILs: prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in human colorectal cancer[J]. *Cancer Immun*, 2007, 7: 4.
- [35] STOECKMAN AK, BAECHLER EC, ORTMANN WA, *et al.* A distinct inflammatory gene expression profile in patients with psoriatic arthritis[J]. *Genes Immun*, 2006, 7(7): 583-591.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2023-11-26;修回日期:2024-04-12)