

PVRL2基因在胶质瘤中的表达及其与临床和免疫特征的相关性分析

杨坤 白丽

671000 大理大学基础医学院; 671000 大理, 云南省昆虫生物医药研发重点实验室

通信作者: 白丽, Email: lbai@dali.edu.cn

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.06.006

【摘要】目的 探究脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白2(PVRL2)基因表达与胶质瘤的预后、免疫浸润和分子特征的关系。**方法** 利用UCSC数据集分析PVRL2基因表达差异,整合癌症基因组图谱(TCGA)数据库中656例胶质瘤(GBMLGG)患者的基因组和临床数据,研究PVRL2表达与临床分级的关系。通过R包maxstat确定最佳截断值,将样本分为高、低表达组,使用Kaplan-Meier生存曲线和log-rank检验评估生存差异并进行Cox单因素回归分析。采用Pearson相关性分析PVRL2表达与肿瘤干性评分的相关性。分析共表达基因、基因本体(GO)功能和京都基因与基因组数据库(KEGG)通路富集,构建PPI网络。分析PVRL2与免疫细胞浸润及免疫调节基因的相关性。**结果** PVRL2在25种肿瘤中上调,5种肿瘤中下调,GBMLGG中显著上调($P < 0.05$)。PVRL2在高级别胶质瘤的表达值(4.78 ± 0.72)高于低级别胶质瘤(4.41 ± 0.51)($P < 0.001$)。计算出最佳截断值为5.1907,根据截断值将患者分成高、低表达组,Kaplan-Meier生存分析显示在总胶质瘤患者及低级别、高级别胶质瘤患者中高表达组生存期均短于低表达组,风险比均大于1,PVRL2表达与死亡风险和疾病进展呈正相关($P < 0.05$)。PVRL2与基于DNA甲基化、差异甲基化、表观遗传学调控的DNA甲基化和增强子的DNA甲基化的干性评分呈正相关(均 $P < 0.001$)。PVRL2与20118个基因共表达,富集分析显示其与细胞外基质、病毒感染、免疫调控、血管生成等功能和通路相关,且与免疫调节性分子高度相关($FDR < 0.05$)。PVRL2表达与多种免疫细胞浸润和多数免疫调节基因相关($P < 0.05$)。**结论** PVRL2高表达与胶质瘤临床分级和预后不良相关,并与免疫调节密切相关。

【关键词】 胶质瘤; PVRL2; 生物信息学; 免疫调节; 免疫细胞浸润; 预后

基金项目: 国家自然科学基金(81360319); 云南省2019年中药饮片产业发展专项资金(2019-YG-067)

Expression of PVRL2 gene in gliomas and its correlation with clinical and immunologic features

Yang Kun, Bai Li

School of Basic Medicine, Dali University, Dali 671000, China; Yunnan Key Laboratory of Insect Biomedicine Research and Development, Dali 671000, China

Corresponding author: Bai Li, Email: lbai@dali.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the relationship between poliovirus receptor-related protein 2 (PVRL2) gene expression and prognosis, immune infiltration, and molecular characteristics of gliomas. **Methods** University of California Santa Cruz (UCSC) dataset was used to analyze the differences in PVRL2 gene expression, and the genomic and clinical data of 656 glioma (GBMLGG) patients from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database were integrated to study the relationship between PVRL2 expression and clinical grade. The optimal cutoff value was determined by R package maxstat, and the samples were divided into high-expression group and low-expression group, and survival differences were assessed using Kaplan-Meier survival curves and log-rank tests and analyzed by Cox one-way regression. The correlation between PVRL2 expression and tumor stemness score was analyzed using Pearson correlation. Co-expressed genes, gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment were analyzed to construct PPI networks. Correlation with immune cell infiltration and immunomodulatory genes was analyzed. **Results** PVRL2 was up-regulated in 25 types of tumors, down-regulated in 5 types of tumors, and significantly up-regulated in GBMLGG, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The expression value of PVRL2 was higher in high-grade gliomas (4.78 ± 0.72) than in low-grade gliomas

(4.41 ± 0.51), and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The optimal cutoff value was calculated to be 5.190 7, and the patients were divided into high and low expression groups according to the cutoff value. Kaplan-Meier survival analysis showed that the survival of high expression group was shorter than that of low expression group in patients with total gliomas, low-grade, and high-grade gliomas, and the hazard ratios were all greater than 1, and that the *PVRL2* expression was positively correlated with the risk of death and disease progression, and the differences were all statistical ($P < 0.05$). *PVRL2* was positively correlated with stemness scores based on DNA methylation, differential methylation, epigenetic regulation of DNA methylation and enhancer DNA methylation, with statistically significant differences (all $P < 0.001$). *PVRL2* was co-expressed with 20 118 genes, and enrichment analysis showed that it was associated with extracellular matrix, viral infection, immune regulation, angiogenesis, and other functions and pathways, and was highly correlated with immunomodulatory molecules ($FDR < 0.05$). *PVRL2* expression was associated with multiple immune cell infiltrates and most immunomodulatory genes with a statistical difference ($P < 0.05$).

Conclusions High *PVRL2* expression correlates with clinical grade and poor prognosis of gliomas and is strongly associated with immune regulation.

【Key words】 Glioma; *PVLR2*; Computational biology; Immune regulation; Immune cell infiltration; Prognosis

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81360319); 2019 Special Fund for the Development of Traditional Chinese Medicine Drinking Tablets Industry of Yunnan Province (2019-YG-067)

脑肿瘤是常见的肿瘤,且病因复杂。原发性恶性脑肿瘤的发病率为7/100 000,随年龄的增长发病率不断增加,5年生存率为36%,多数患者死于疾病进展^[1]。胶质瘤是最常见的原发性中枢神经系统肿瘤,在原发性恶性脑肿瘤中占比高达75%。因极强的局部攻击性和目前无法治愈,被认为是破坏性最强的癌症之一^[2]。随着治疗方法不断进步,手术切除、放疗和化疗及靶向免疫治疗等方法已用于胶质瘤的治疗,但由于胶质瘤增殖速度快、侵袭性强和耐药性强等特点,患者的总生存期未得到显著改善^[3]。因此,探索胶质瘤治疗和预后的关键基因可以促进分子靶点的发现,有利于胶质瘤治疗效果的提升和预后的评估。

脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白2(poliovirus receptor-related 2, *PVRL2*)也称为连接蛋白2(nectin-2)或白细胞分化抗原112(CD112),是连接蛋白家族成员,与肿瘤血管生成、生长和转移相关^[4]。研究发现*PVRL2*基因在癌组织中的表达高于正常组织,在乳腺癌、子宫内膜癌、肺癌和卵巢癌等多种癌症中高表达^[5]。肿瘤微环境中,该基因编码的蛋白分子表达于抗原呈递细胞和肿瘤细胞表面,其高表达与大多数癌症患者的肿瘤进展和不良预后有关^[6]。*PVRL2*在胶质瘤中的表达及影响尚未明了,因此,本研究利用生物学分析平台sangerbox^[7](<https://http://sangerbox.com/>)和多个数据库分析*PVRL2*的表达与胶质瘤的临床及免疫特征的相关性。

一、材料与方法

1. 数据库来源:从UCSC(<https://xenabrowser.net/>)数据库获取经统一标准化的泛癌数据集:癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) TARGET

GTEx (PANCAN, N=19 131, G=60 499),筛选了样本来源为:Solid Tissue Normal、Primary Tumor、Primary Solid Tumor、Primary Blood Derived Cancer-Bone Marrow、Normal Tissue、Primary Blood Derived Cancer-Peripheral Blood的样本;从TCGA(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)数据库获取656例胶质瘤(GBMLGG)患者的肿瘤组织转录组RNA-Seq数据及临床资料,对表达值进行 $\log_2(x+0.001)$ 变换。

2. *PVRL2*基因在泛癌中的差异表达分析:从泛癌数据集中提取了*PVRL2*基因在样本中的表达数据,去除样本个数小于3个的癌种,得到33个癌种,分析各癌种中的差异表达。

3. *PVRL2*基因表达和胶质瘤临床分级的相关性分析:从TCGA-GBMLGG的临床信息中得到根据世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类办法^[8]进行区分的低级别胶质瘤和高级别胶质瘤2个分级,分析*PVRL2*基因在GBMLGG的2个不同临床分级样本中的差异表达。

4. 预后分析:从先前发表在Cell上的TCGA预后研究中获取TCGA-GBMLGG的预后数据集^[9],并从UCSC中获取TARGET随访数据,并筛选出随访时间大于30 d的样本,整合后作为生存数据。使用R包maxstat设置最大分组样本数小于75%,最小分组样本数大于25%,计算出了ENSG00000130202(*PVRL2*)的最佳截断值5.190 7,根据截断值将患者分成高、低表达组,进行Kaplan-Meier生存分析,并使用log-rank检验进行统计检验以评估预后显著性。进一步将临床分级的信息与预后数据集匹配后分别对低级别胶质瘤和高级别胶质瘤2个不同分级的患者根据同样方法进行分组,进行Kaplan-Meier生存

分析,同样通过 *log-rank* 检验不同分级患者中基因表达的预后显著性。

5. *PVRL2* 基因表达与肿瘤干细胞相关性分析: 肿瘤干细胞特性得分是评价肿瘤细胞与干细胞相似程度的一个重要指标,理论上干性越高的肿瘤细胞,其增殖、转移的能力也就越强,预后越差^[10-11]。从先前的研究^[12]中获取胶质瘤通过甲基化特征计算的基于DNA甲基化、基于差异甲基化、基于表观遗传学调控的DNA甲基化和基于增强子的DNA甲基化的肿瘤干细胞相关性评分,并对样本的4类干性评分和 *PVRL2* 基因表达数据进行整合,分析相关性。

6. *PVRL2* 基因共表达、基因本体(gene ontology, GO)功能富集、京都基因与基因组数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)信号通路和蛋白互作分析:使用 Linkedomics 数据库^[13](<http://www.linkedomics.org/login.Php>)检测 GBMLGG 癌型中的 *PVRL2* 共表达:“cancer type: GBMLGG” “data type: RNAseq” “attribute: *PVRL2*” “statistical method: pearson correlation test”。通过基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)对该基因的生物学过程、细胞成分、分子功能以及 KEGG 通路进行分析:“Link Definition: GSEA” “Enrichment analysis: GO molecular functions、GO biological processes、GO cellular components、KEGG pathway”,等级标准为 $FDR < 0.05$;通过 STRING(<http://string-db.org>) 数据平台分析 *PVRL2* 与其他蛋白的相互作用,构建 PPI 网络:“protein by name: Nectin-2” “organism: homo sapiens” “medium confidence (0.400)”。

7. 肿瘤微环境免疫细胞浸润分析:利用 CIBERSOR 方法^[14]分析 22 种免疫细胞浸润水平,根据 *PVRL2* 基因表达获取胶质瘤患者的原始 B 细胞、记忆 B 细胞、浆细胞、原始 CD4+T 细胞、静息记忆性 CD4+T 细胞、活化记忆性 CD4+T 细胞、辅助性 T 细胞、CD8+T 细胞、调节性 T 细胞、 γ δ T 细胞、单核细胞、M0 细胞、巨噬细胞(M1 型)、巨噬细胞(M2 型)、静息自然杀伤细胞、活化自然杀伤细胞、静息树突状细胞、活化树突状细胞、静息肥大细胞、活肥大细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的浸润评分,得到基因与免疫细胞浸润评分显著相关的细胞类型。

8. *PVRL2* 表达与免疫调节基因相关性分析:从 TCGA-GBMLGG 肿瘤样本转录组数据中提取了 *PVRL2* 基因和 5 类免疫途径的标记基因(趋化因子标记基因 41 个、受体标记基因 18 个、主要组织相容性复合体标记基因 21 个、免疫抑制标记基因 24 个、免疫刺激标记基因 46 个)在各个样本中的表达数据^[15],

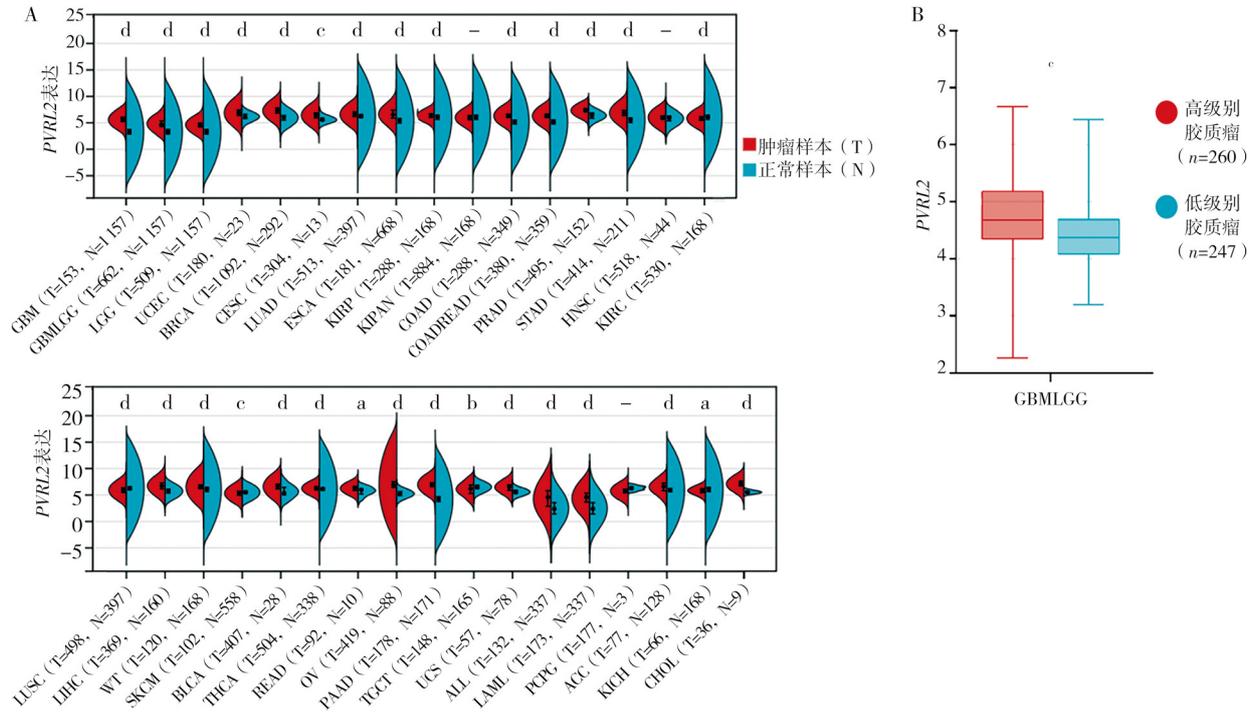
进一步分析了 *PVRL2* 和 5 类免疫途径的标记基因的相关性。

9. 统计学方法:采用 R3.6.4 软件以及数据库默认统计方法进行数据处理。采用 Kolmogorov-Smirnov 方法进行正态分布检验,符合正态分布的计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资料用频数、百分数(%)表示,组内比较采用 χ^2 检验。采用非配对的 Wilcoxon 秩和检验进行泛癌分析,采用 Pearson 相关分析肿瘤干性、免疫细胞浸润和免疫调节基因的相关性。以生存时间为因变量,以 *PVRL2* 基因的表达为自变量,采用 Cox 回归分析与预后的关系。双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

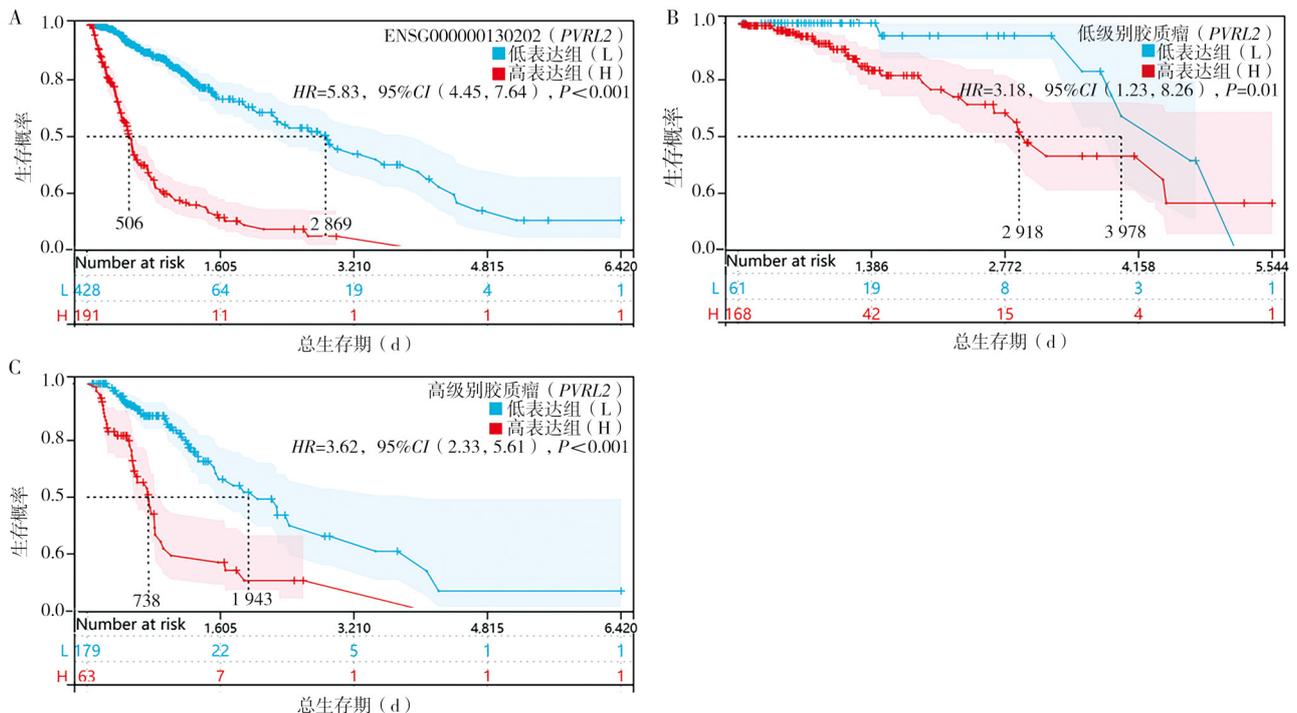
1. *PVRL2* 的表达在泛癌中的差异以及与胶质瘤临床分级的关系:通过泛癌分析最终获得了 33 个癌种的表达数据(图 1A)。结果显示, *PVRL2* 在胶质瘤、多形成性胶质细胞瘤、脑低级别胶质瘤、乳腺浸润癌、宫颈鳞癌和腺癌、胃癌、肝细胞肝癌、结肠癌、肺腺癌、食管癌、肾乳头状细胞癌、子宫内膜癌、结直肠癌、卵巢浆液性囊腺癌、前列腺癌、肾母细胞瘤、膀胱尿路上皮癌、胸腺癌、直肠腺癌、子宫肉瘤、胰腺癌、白血病、急性髓细胞样白血病、肾上腺皮质癌和胆管癌 25 种肿瘤中观察到了过表达,在黑色素瘤、肾透明细胞癌、肺鳞癌、肾嫌色细胞癌、睾丸癌 5 种肿瘤中观察到了表达下调,在混合肾癌、头颈鳞状细胞癌、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤 3 种肿瘤中表达差异无统计学意义。从 TCGA-GBMLGG 的临床信息共得到 507 个样本的分级数据(图 1B),分析结果显示, *PVRL2* 在高级别胶质瘤的表达值(4.78 ± 0.72)高于低级别胶质瘤的表达值(4.41 ± 0.51)($P < 0.001$)。

2. *PVRL2* 表达与胶质瘤预后的关系:生存分析显示,在总胶质瘤患者和在 2 个不同临床分级的患者中 *PVRL2* 高表达患者的总生存期均短于 *PVRL2* 低表达患者(图 2)($P < 0.05$)。总胶质瘤患者($n=619$)的中位生存期分别为 506 d(高表达组)和 2 869 d(低表达组),风险比(HR)=5.83, 95% CI (4.45 ~ 7.64)(图 2A);低级别胶质瘤患者($n=229$)的中位生存期分别为 2 918 d(高表达组)和 3 978d(低表达组), $HR=3.18$, 95% CI (1.23 ~ 8.26)(图 2B);高级别胶质瘤患者($n=242$)的中位生存期分别为 738 d(高表达组)和 1 943 d(低表达组), $HR=3.62$, 95% CI (2.33 ~ 5.61)(图 2C)。



注: A为PVRL2在33种癌症中的差异表达; B为PVRL2在高、低级别胶质瘤肿瘤样本中的表达; GBM 多形性胶质细胞瘤; GBMLGG 胶质瘤; LGG 脑低级别胶质瘤; UCEC 子宫内膜癌; BRCA 乳腺浸润癌; CESC 宫颈鳞癌和腺癌; LUAD 肺腺癌; ESCA 食管癌; KIRP 肾乳头状细胞癌; KIPAN 混合肾癌; COAD 结肠癌; COADREAD 结直肠癌; PRAD 前列腺癌; STAD 胃癌; HNSC 头颈鳞状细胞癌; KIRC 肾透明细胞癌; LUSC 肺鳞癌; LIHC 肝细胞肝癌; WT 肾母细胞瘤; SKCM 黑色素瘤; BLCA 膀胱尿路上皮癌; THCA 胸腺癌; READ 直肠癌; OV 卵巢浆液性囊腺癌; PAAD 胰腺癌; TGCT 睾丸癌; UCS 子宫肉瘤; ALL 白血病; LAML 急性髓细胞样白血病; PCPG 嗜铬细胞瘤和副神经节瘤; ACC 肾上腺皮质癌; KICH 肾嫌色细胞癌; CHOL 胆管癌; * $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, ^d $P < 0.0001$

图1 PVRL2在泛癌和不同分级的胶质瘤中的差异表达图



注: A为总胶质瘤患者的生存曲线; B为低级别胶质瘤患者的生存曲线; C为高级别胶质瘤患者的生存曲线; HR 风险比

图2 总胶质瘤、低级别胶质瘤、高级别胶质瘤生存曲线图

以上分析结果表明, *PVRL2* 表达与患者死亡风险和疾病进展风险呈正相关。

3. *PVRL2* 表达与肿瘤干细胞的相关性: *PVRL2* 的表达与基于DNA甲基化、差异甲基化、表观遗传学调控的DNA甲基化和增强子的DNA甲基化的4类肿瘤干性评分均呈正相关(均 $P < 0.001$) (图3)。干细胞特性得分是评价肿瘤细胞与干细胞相似程度的一个重要指标, 分析结果可进一步得出 *PVRL2* 的表达与胶质瘤的增殖、转移的能力呈正相关, 与预后呈负相关。

4. *PVRL2* 共表达基因、GO功能富集、KEGG通路富集和蛋白互作网络: 采用Linkedomics的功能模块分析 *PVRL2* 与20 118个基因的共表达, 经 $FDR < 0.05$ 筛选后共得到16 142个相关基因, 其中8 266个基因与 *PVRL2* 呈正相关, 7 876个基因与 *PVRL2* 呈负相关(图4A), 与 *PVRL2* 显著正、负相关前20个基因如图所示(图4B、C)。共表达基因生物学过程富集分析结果显示(图4D), 与EB病毒感染、溶酶体、补体和凝血级联反应、细胞因子-细胞因子受体相互作用、吞噬体、白细胞跨内皮迁移呈正相关, 与谷氨酸能突触以及磷脂酰肌醇信号转导系统呈负相关 ($FDR < 0.05$); 细胞成分富集分析结果显示(图4E), 与囊泡腔、细胞外基质、细胞-基质连接、膜侧、线粒体蛋白复合物以及液泡膜呈正相关, 与突触膜、突触前膜以及神经元细胞体呈负相关 ($FDR < 0.05$); 分子功能富集分析结果显示(图4F), 与细胞外基质结构成分、肽酶调节剂活性、碳水化合物结合、细胞因子结合以及内肽酶活性呈正相关, 与组蛋白结合、微管蛋白结合、被动跨膜转运蛋白活性呈负相关 ($FDR < 0.05$)。KEGG信号通路分析结果显示(图4G), *PVRL2* 与中性粒细胞介导的免疫、适应性免疫反应、白细胞活化的调节、对病毒的反应、血管生成、对细菌来源分子的反应、对外部刺激反应的积极调节呈正相关, 与跨突触信号转导的调节、突触组织、膜电位调节呈负相关 ($FDR < 0.05$)。PPI网络展示了 *PVRL2* (NECTIN2) 与相关性最高的10个蛋白分子之间的相互作用(图4H)。 *PVRL2* 在多种免疫相关的功能和通路富集, 与其他免疫调节性基因有密切的联系。

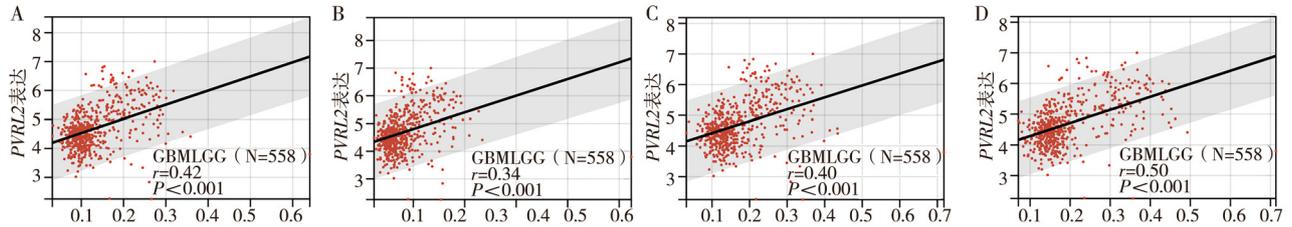
5. *PVRL2* 表达与免疫细胞浸润评分的相关性: CIBERSOR方法分析结果显示, *PVRL2* 的表达与静息记忆性CD4+T细胞、调节性T细胞、静息NK细胞、巨噬细胞(M1型)、巨噬细胞(M2型)、中性粒细胞的浸润呈正相关, 与记忆性B细胞、原始CD4+T细

胞、辅助性T细胞、活化NK细胞、单核细胞、活化肥大细胞、嗜酸性粒细胞的浸润呈负相关 ($P < 0.05$); 与原始B细胞、浆细胞、活化记忆性CD4+T细胞、CD8+T细胞、 $\gamma \delta$ T细胞、M0细胞、静息DC细胞、活化DC细胞、静息肥大细胞的浸润无统计学意义 ($P < 0.05$), 见图5。 *PVRL2* 的表达与多数正效应免疫细胞呈负相关, 与多数负调节免疫细胞呈正相关。

6. *PVRL2* 表达与免疫调节基因的相关性: 分析结果显示 *PVRL2* 的表达与 *CXCL16*、*CCL16*、*CCL2* 等30个趋化因子标记分子呈正相关, 与 *CCR7*、*CXCR4*、*CCR10* 等17个受体标记基因呈正相关, 与 *TAPBP*、*HLA-F*、*TAP1* 等20个主要组织相容性复合体标记基因正相关, 与 *TIGIT*、*LAG3*、*CTLA4* 等21个免疫抑制标记基因呈正相关, 与 *CD276*、*PVR*、*TNFRSF14* 等38个免疫刺激标记基因呈正相关(图6)。

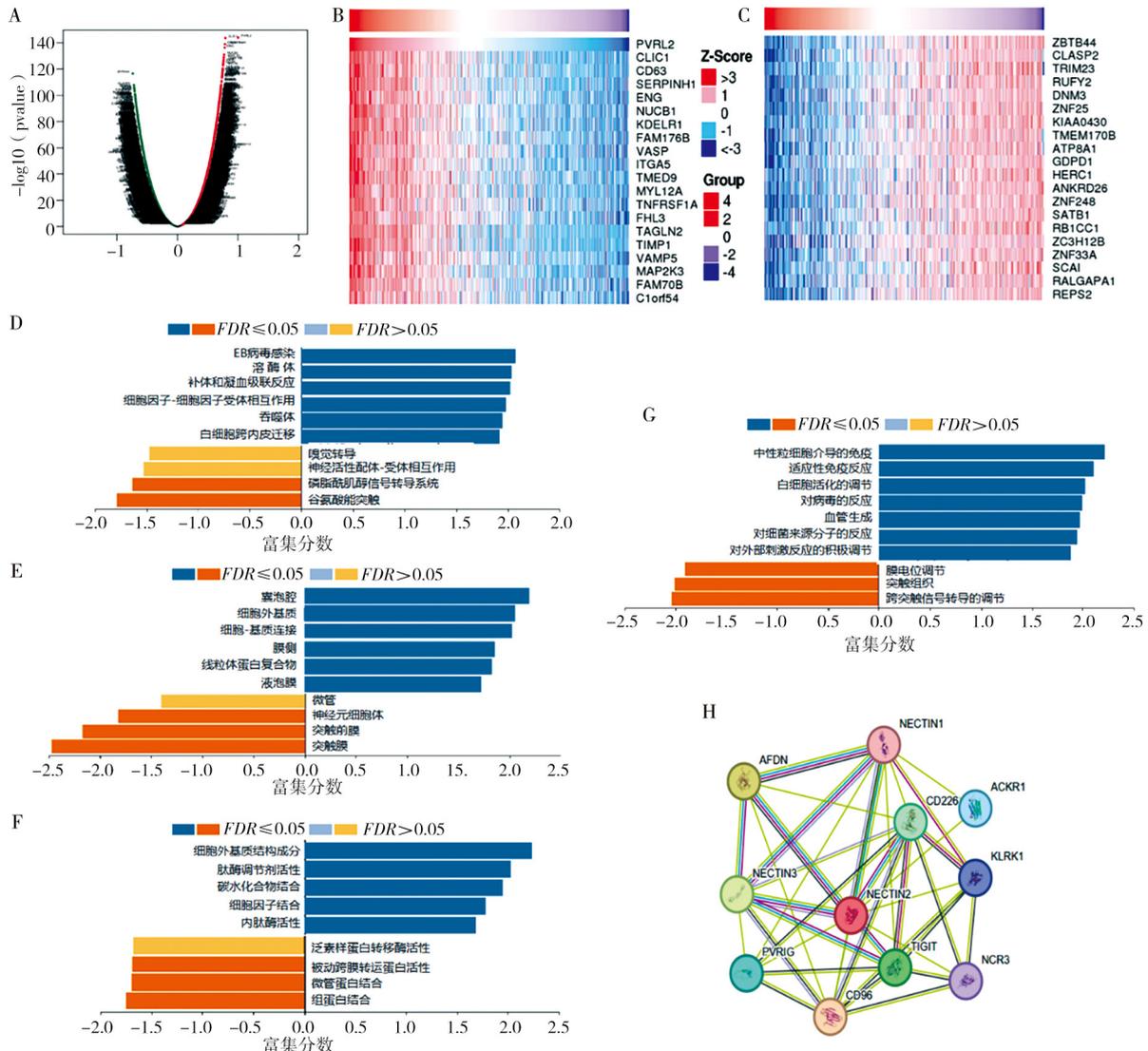
讨论 胶质瘤是脑部和脊髓胶质细胞癌变的原发性肿瘤, 其发病率高, 病死率高, 复发率高, 治疗效果不佳。在胶质瘤肿瘤微环境中, 包含内皮细胞、周细胞、成纤维细胞和免疫细胞等很多非癌细胞类型, 这些细胞与肿瘤细胞相互作用使脑肿瘤实现免疫逃逸及快速生长^[16]。近年来, 肿瘤的治疗方法如肽疫苗、免疫检查点阻断和嵌合抗原受体T细胞免疫疗法等已参与临床试验, 为难治性胶质瘤治疗带来希望。但胶质瘤稳定的免疫抑制微环境以及血脑屏障的存在, 使其对免疫治疗的敏感性低, 是造成免疫治疗效果受限的重要原因, 对胶质瘤肿瘤微环境中涉及的不同细胞和分子及其相互作用进行全面的了解是公认的研究重点^[17-19]。因此深入探究胶质瘤的肿瘤微环境至关重要, 可以为胶质瘤的治疗提供依据。

PVRL2 是一种单通 I 型膜糖蛋白, 是黏着连接的质膜成分之一, 与脾脏的血管覆盖率、内皮细胞迁移和内皮管的形成显著相关, 具有调节白细胞跨内皮迁移的能力, 且在T细胞进入脾脏的过程发挥作用^[20-21]。越来越多的研究表明 *PVRL2* 在癌症中发挥着调节抗肿瘤免疫的作用^[5, 22-24]。理论上, *PVRL2* 作为脊髓灰质炎病毒受体相关免疫球蛋白结构域蛋白(PVRIG)的配体与其在免疫细胞上结合后发挥作用, 但是还没有研究证明这一结论, *PVRL2* 的作用机制尚不明确。有研究表明, *PVRL2* 可以促进肿瘤生长并抑制抗肿瘤免疫反应, 是通过抑制CD8+T细胞和NK细胞从而发挥其促肿瘤作用, 且同时抑制 *PVRL2* 和阻断T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域蛋白(TIGIT)可以重新激活抗肿瘤免疫, 有很



注: A为基于DNA甲基化评分; B为基于差异甲基化评分; C为基于表观遗传学调控的DNA甲基化评分; D为基于增强子的DNA甲基化评分; DNA脱氧核糖核酸; GBM 多形性胶质瘤; LGG 脑低级别胶质瘤

图3 558例胶质瘤样本中PVRL2表达与4类肿瘤干性指数的相关性散点图

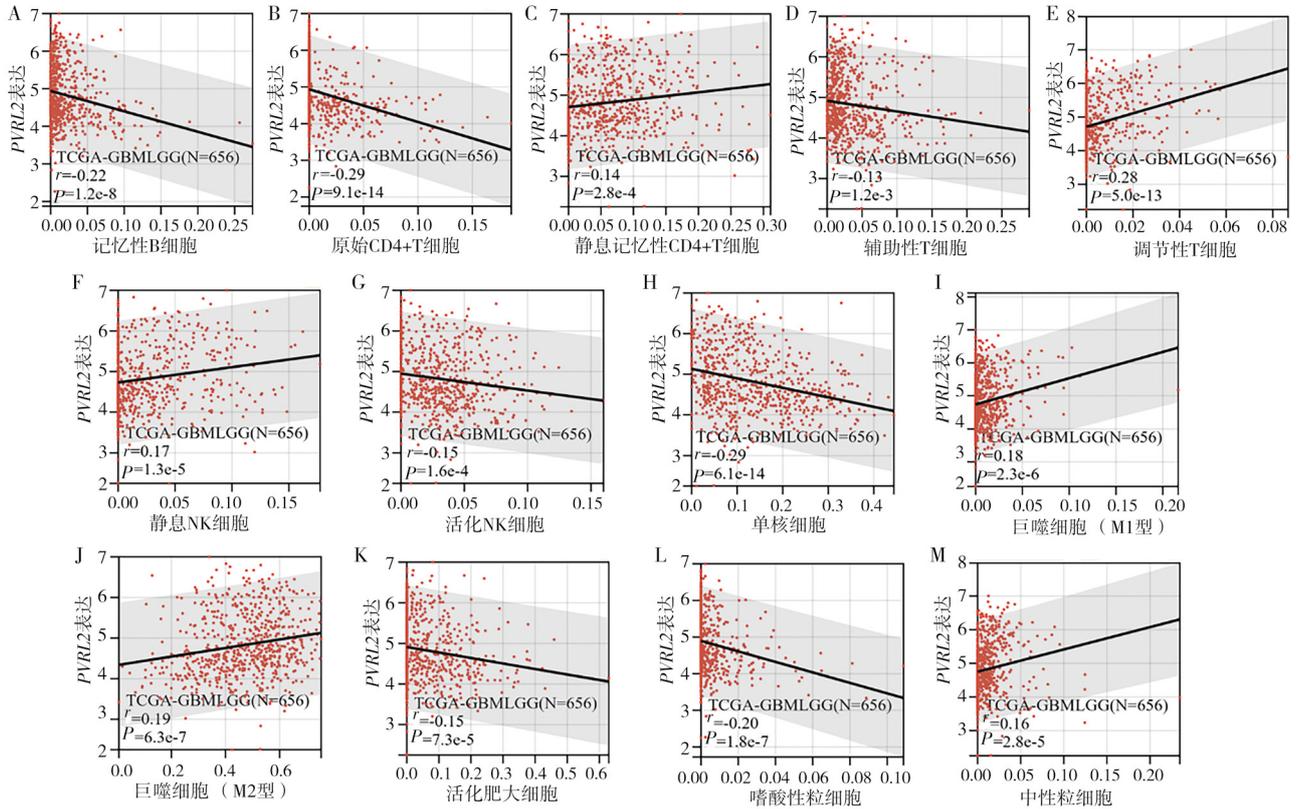


注: A为PVRL2共表达基因火山图; B为与PVRL2正相关前20个基因热图; C为与PVRL2负相关前20个基因热图; D为GO生物学过程富集; E为GO细胞成分富集; F为GO分子功能富集; G为KEGG信号通路; H为PPI蛋白互作网络图; GO 基因本体; KEGG 京都基因与基因组数据库; NECTIN2 粘连蛋白细胞黏附分子2; NECTIN3 粘连蛋白细胞黏附分子3; TIGIT T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域蛋白; NECTIN1 粘连蛋白细胞黏附分子1; CD226 白细胞分化抗原226; CD96 白细胞分化抗原96; PVRL2 脊髓灰质炎病毒受体相关结构域蛋白; NCR3 天然细胞毒性受体3; KLRK1 杀伤细胞凝集素样受体K1; ACKR1 非典型趋化因子受体1; AFDN 黏附连接形成因子

图4 基因共表达、正负相关基因、GO及KEGG富集分析、蛋白互作网络图

大的治疗潜力^[25]。PVRL2在很多癌症类型中过表达,包括急性髓系白血病、多发性骨髓瘤、肺癌、子宫内膜癌、黑色素瘤、乳腺癌、结直肠癌、前列腺癌

和卵巢癌^[5, 26-30]。一项研究对200例急性髓系白血病病例进行分析,发现PVRL2表达的高低与生存期长短相关^[31]。本研究发现PVRL2在26种癌症中过



注: A ~ M 为与 PVRL2 表达有相关性的 13 种免疫细胞; TCGA 癌症基因组图谱; GBM 多形性胶质母细胞瘤; LGG 脑低级别胶质瘤

图5 656例胶质瘤样本中PVRL2表达与免疫细胞浸润相关性的散点图

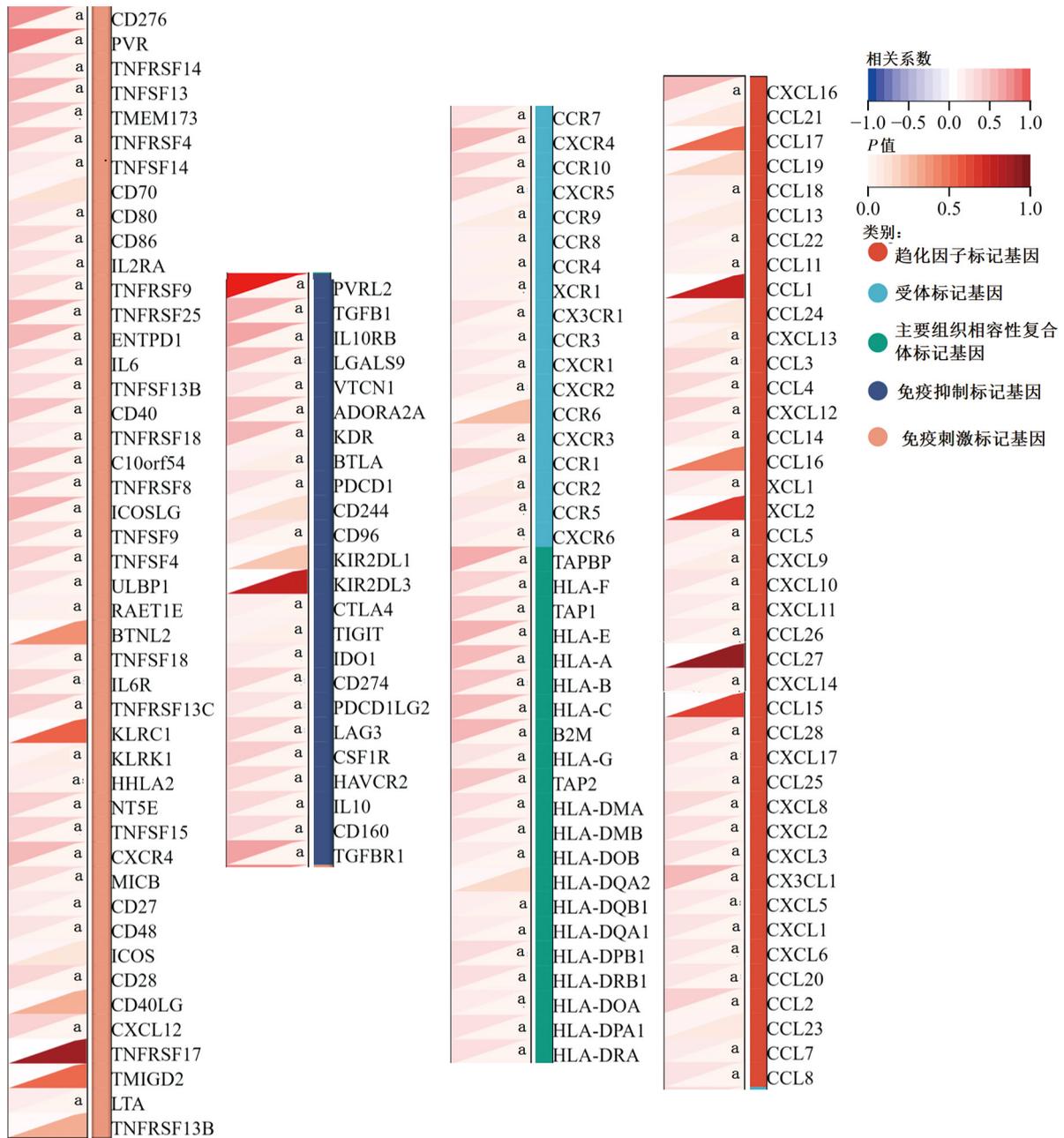
表达,在高级别胶质瘤中PVRL2的表达高于低级别胶质瘤,PVRL2高表达样本的总生存期较低表达样本缩短,与肿瘤干细胞评分呈正相关,提示PVRL2表达和胶质瘤的疾病进展呈正相关,且与预后及肿瘤干性相关,可能是预测胶质瘤预后的生物因子。

PVRL2参与的生物学过程和分子调控网络的分析结果显示,PVRL2及其相关基因主要在病毒感染以及免疫调控相关功能和通路富集,在囊泡腔、细胞外基质、细胞-基质连接、基底外侧膜、线粒体蛋白复合物、液泡膜这些细胞成分中富集。PPI网络分析结果显示,PVRL2的互作蛋白分子主要为免疫调节性分子。据此推测,PVRL2在胶质瘤中作为关键的免疫调节分子,具有调节免疫环境的作用。进而对PVRL2在胶质瘤肿瘤微环境中与免疫细胞浸润水平以及免疫调节的影响深入探究。

胶质瘤有着独特的肿瘤微环境,其中免疫细胞是决定癌症命运及其侵袭性和转移能力的关键,影响着肿瘤的发生和进展^[32-33]。CD4+T细胞与CD8+T细胞的协助合作,NK细胞对肿瘤的溶细胞活性,调节性T细胞的免疫抑制和免疫耐受,在肿瘤生长过程中发挥作用^[34-36]。对于B细胞,虽然肿

瘤浸润的B细胞对预后积极的影响,但在肿瘤中B细胞的功能和相互作用的机制还尚不明确,中性粒细胞在肿瘤微环境中则发挥双重功能^[28, 37-38]。本研究的免疫细胞浸润分析结果显示,PVRL2在胶质瘤中的表达与静息记忆CD4+T细胞、调节性T细胞、静息NK细胞、M1巨噬细胞、M2巨噬细胞以及中性粒细胞的浸润程度呈正相关,与记忆性B细胞、原始CD4+T细胞、辅助性T细胞、活化NK细胞、单核细胞、活化肥大细胞以及嗜酸性粒细胞的浸润程度呈负相关。提示PVRL2的高表达与胶质瘤的肿瘤免疫微环境的抑制状态相关,抑制了T细胞、B细胞和NK细胞的活化。本研究还发现PVRL2在胶质瘤中的表达与绝大多数免疫调节基因具有相关性。综上所述,PVRL2与胶质瘤中免疫调节密切相关,可能是调节其肿瘤微环境免疫状态的潜在标志物。

本研究使用多种生物信息学数据库分析发现PVRL2在多种癌症中高表达,且其差异表达与胶质瘤的临床分级和预后以及肿瘤干细胞特性相关。通过GO功能富集、KEGG信号通路和蛋白分子互作网络的分析,发现PVRL2在胶质瘤中主要在免疫调控



注: * $P < 0.05$

图6 PVRL2与150个免疫调节基因的相关性分析

相关功能和通路富集。进一步分析了对其肿瘤微环境中免疫细胞浸润水平以及免疫调节的影响,揭示了PVRL2与胶质瘤中的免疫调节密切相关。PVRL2可能是通过促进胶质瘤增殖和转移,负调节免疫系统的激活,加快了胶质瘤的进展,从而影响其预后。随着免疫治疗的兴起,这种治疗肿瘤方式有高效、不良反应小、疗效持久的优点,但是存在耐受和并非所有患者通用的问题。本研究发现的PVRL2可作为生物预测标志物对其靶点进行预测,也作为一种

新的靶点来解决胶质瘤对其他免疫治疗靶点耐受的问题,最终改善其预后。

综上,本研究分析了PVRL2与胶质瘤预后和肿瘤微环境的相关性,为胶质瘤的治疗提供有效的免疫治疗靶点和生物预测标志物。但本研究存在样本量不足,数据库的人种来源、地域来源不全面,统计方法的系统性误差等局限性。未来将进行进一步的试验验证、不同数据集的验证研究以及更全面的功能性探究以探讨该基因靶点的具体作用机制。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 研究设计、数据分析、论文撰写为杨坤, 论文修订为白丽

参 考 文 献

- [1] Schaff LR, Mellingshoff IK. Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults: a review[J]. *JAMA*, 2023, 329(7): 574-587. DOI: 10.1001/jama.2023.0023.
- [2] Finch A, Solomou G, Wykes V, et al. Advances in research of adult gliomas[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 924. DOI: 10.3390/ijms22020924.
- [3] van Solinge TS, Nieland L, Chiocca EA, et al. Advances in local therapy for glioblastoma-taking the fight to the tumour[J]. *Nat Rev Neurol*, 2022, 18(4): 221-236. DOI: 10.1038/s41582-022-00621-0.
- [4] Samanta D, Almo SC. Nectin family of cell-adhesion molecules: structural and molecular aspects of function and specificity[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(4): 645-658. DOI: 10.1007/s00018-014-1763-4.
- [5] Whelan S, Ophir E, Kotturi MF, et al. PVRIG and PVRL2 are induced in cancer and inhibit CD8(+)T-cell function[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(2): 257-268. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0442.
- [6] Zeng T, Cao Y, Jin T, et al. The CD112R/CD112 axis: a breakthrough in cancer immunotherapy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 285. DOI: 10.1186/s13046-021-02053-y.
- [7] Shen W, Song Z, Zhong X, et al. Sangerbox: a comprehensive, interaction-friendly clinical bioinformatics analysis platform[J]. *Imeta*, 2022, 1(3): e36. DOI: 10.1002/imt2.36.
- [8] Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(8): 1231-1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.
- [9] Liu J, 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): 400-416.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.052.
- [10] Stouras I, Vasileiou M, Kanatas PF, et al. Metabolic profiles of cancer stem cells and normal stem cells and their therapeutic significance[J]. *Cells*, 2023, 12(23): 2686. DOI: 10.3390/cells12232686.
- [11] Ibragimova M, Tsyganov M, Litviakov N. Tumour stem cells in breast cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 5058. DOI: 10.3390/ijms23095058.
- [12] Malta TM, Sokolov A, Gentles AJ, et al. Machine learning identifies stemness features associated with oncogenic dedifferentiation[J]. *Cell*, 2018, 173(2): 338-354.e15. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.034.
- [13] Vasaikar SV, Straub P, Wang J, et al. LinkedOmics: analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D956-D963. DOI: 10.1093/nar/gkx1090.
- [14] Newman AM, Liu CL, Green MR, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles[J]. *Nat Methods*, 2015, 12(5): 453-457. DOI: 10.1038/nmeth.3337.
- [15] Hu J, Yu A, Othmane B, et al. Siglec15 shapes a non-inflamed tumor microenvironment and predicts the molecular subtype in bladder cancer[J]. *Theranostics*, 2021, 11(7): 3089-3108. DOI: 10.7150/thno.53649.
- [16] Markwell SM, Ross JL, Olson CL, et al. Necrotic reshaping of the glioma microenvironment drives disease progression[J]. *Acta Neuropathol*, 2022, 143(3): 291-310. DOI: 10.1007/s00401-021-02401-4.
- [17] Meister H, Look T, Roth P, et al. Multifunctional mRNA-based CAR T cells display promising antitumor activity against glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(21): 4747-4756. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-4384.
- [18] Picca A, Finocchiaro G. Deciphering diffuse glioma immune microenvironment as a key to improving immunotherapy results[J]. *Curr Opin Oncol*, 2022, 34(6): 653-660. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000895.
- [19] Bikfalvi A, da Costa CA, Avril T, et al. Challenges in glioblastoma research: focus on the tumor microenvironment[J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(1): 9-27. DOI: 10.1016/j.trecan.2023.02.006.
- [20] Guardiola M, Muntané G, Martínez I, et al. Metabolic overlap between Alzheimer's disease and metabolic syndrome identifies the PVRL2 gene as a new modulator of diabetic dyslipidemia[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7415. DOI: 10.3390/ijms24087415.
- [21] Russo E, Runge P, Jahromi NH, et al. CD112 regulates angiogenesis and T cell entry into the spleen[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 169. DOI: 10.3390/cells10010169.
- [22] Bottino C, Castriconi R, Pende D, et al. Identification of PVR (CD155) and Nectin-2 (CD112) as cell surface ligands for the human DNAM-1 (CD226) activating molecule[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(4): 557-567. DOI: 10.1084/jem.20030788.
- [23] Stanitsky N, Simic H, Arapovic J, et al. The interaction of TIGIT with PVR and PVRL2 inhibits human NK cell cytotoxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(42): 17858-17863. DOI: 10.1073/pnas.0903474106.
- [24] Stamm H, Klingler F, Grossjohann EM, et al. Immune checkpoints PVR and PVRL2 are prognostic markers in AML and their blockade represents a new therapeutic option[J]. *Oncogene*, 2018, 37(39): 5269-5280. DOI: 10.1038/s41388-018-0288-y.
- [25] Yang J, Wang L, Byrnes JR, et al. PVRL2 suppresses antitumor immunity through PVRIG- and TIGIT-independent Pathways[J]. *Cancer Immunol Res*, 2024, 12(5): 575-591. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-23-0722.
- [26] Casado JG, Pawelec G, Morgado S, et al. Expression of adhesion molecules and ligands for activating and costimulatory receptors involved in cell-mediated cytotoxicity in a large panel of human melanoma cell lines[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(9): 1517-1526. DOI: 10.1007/s00262-009-0682-y.
- [27] Mastaglio S, Wong E, Perera T, et al. Natural killer receptor ligand expression on acute myeloid leukemia impacts survival and relapse after chemotherapy[J]. *Blood Adv*, 2018, 2(4): 335-346. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017015230.
- [28] Sanchez-Correa B, Gayoso I, Bergua JM, et al. Decreased expression of DNAM-1 on NK cells from acute myeloid leukemia patients[J]. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90(1): 109-115. DOI: 10.1038/ich.2011.15.

[29] El-Sherbiny YM, Meade JL, Holmes TD, et al. The requirement for DNAM-1, NKG2D, and Nkp46 in the natural killer cell-mediated killing of myeloma cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8444-8449. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4230.

[30] James NE, Miller K, LaFranzo N, et al. Immune modeling analysis reveals immunologic signatures associated with improved outcomes in high grade serous ovarian cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11: 622182. DOI: 10.3389/fonc.2021.622182.

[31] Kaito Y, Sugimoto E, Nakamura F, et al. Immune checkpoint molecule DNAM-1/CD112 axis is a novel target for NK-cell therapy in acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2024, 109(4): 1107-1120. DOI: 10.3324/haematol.2023.282915.

[32] Xu C, Xiao M, Li X, et al. Origin, activation, and targeted therapy of glioma-associated macrophages[J]. Front Immunol, 2022, 13: 974996. DOI: 10.3389/fimmu.2022.974996.

[33] Xu C, Xiao M, Li X, et al. Nanotherapeutic treatment of the invasive glioblastoma tumor microenvironment[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 188: 114415. DOI: 10.1016/j.addr.2022.114415.

[34] Sun L, Su Y, Jiao A, et al. T cells in health and disease[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 235. DOI: 10.1038/S41392-023-01471-y.

[35] Sivori S, Pende D, Quatrini L, et al. NK cells and ILCs in tumor immunotherapy[J]. Mol Aspects Med, 2021, 80: 100870. DOI: 10.1016/j.mam.2020.100870.

[36] Laskowski TJ, Biederstädt A, Rezvani K. Natural killer cells in antitumor adoptive cell immunotherapy[J]. Nat Rev Cancer, 2022, 22(10): 557-575. DOI: 10.1038/s41568-022-00491-0.

[37] Playoust E, Remark R, Vivier E, et al. Germinal center-dependent and -independent immune responses of tumor-infiltrating B cells in human cancers[J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(9): 1040-1050. DOI: 10.1038/s41423-023-01060-7.

[38] Que H, Fu Q, Lan T, et al. Tumor-associated neutrophils and neutrophil-targeted cancer therapies[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2022, 1877(5): 188762. DOI: 10.1016/j.bbcan.2022.188762.

(收稿日期: 2024-06-27)
(本文编辑: 王影)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊文稿中缩略语的书写要求

在本刊发表的学术论文中,已被公知公认的缩略语在正文中可不加注释直接使用(表1);不常用的和尚未被公知公认的缩略语以及原词过长、在文中多次出现者,若为中文可于文中第1次出现时写明全称,在圆括号内写出缩略语,如:流行性脑脊髓膜炎(流脑);若为外文可于文中第1次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语,如:阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)。若该缩略语已经公知,也可不注出其英文全称。不超过4个汉字的名词不宜使用缩略语,以免影响论文的可读性。西文缩略语不得拆开转行。

表1 《神经疾病与精神卫生》杂志常用缩略语

缩略语	中文全称	缩略语	中文全称	缩略语	中文全称
CNS	中枢神经系统	AD	老年痴呆症(阿尔茨海默病)	GABA	γ-氨基丁酸
IL	白细胞介素	CT	电子计算机体层扫描	PD	帕金森病
MRI	磁共振成像	BDNF	脑源性神经营养因子	DSA	数字减影血管造影
PCR	聚合酶链式反应	ELISA	酶联免疫吸附剂测定	PET	正电子发射计算机断层显像
SOD	超氧化物歧化酶	NIHSS	美国国立卫生研究院卒中评分	CRP	C反应蛋白
MMSE	简易精神状态检查	WHO	世界卫生组织	TIA	短暂性脑缺血发作
TNF	肿瘤坏死因子	PANSS	阳性与阴性症状量表	HAMD	汉密尔顿抑郁量表
HAMA	汉密尔顿焦虑量表	SSRIs	选择性5-羟色胺再摄取抑制剂	rTMS	重复经颅磁刺激
5-HT	5-羟色胺	ICD-10	国际疾病分类第十版	MoCA	蒙特利尔认知评估量表
PTSD	创伤后应激障碍	CCMD	中国精神障碍分类与诊断标准	DSM	美国精神障碍诊断与统计手册