

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research

THBS1 的泛癌分析及其与肿瘤微环境相关性研究

Pan - cancer analysis of THBS1 and its correlation analysis of tumor microenvironment

薛瑞芬^{1,2a,2b}, 陈洁^{1,2a,2b},
陈琳^{2a,2b}, 刘鸿金^{2c},
戎卓娜^{2b}, 庞晓丛^{1,2a,2b}

(1. 徐州医科大学 药学院, 江苏 徐州 221009; 2. 北京大学 第一医院 a. 临床药理研究所; b. 药剂科; c. 普通外科, 北京 100034)

XUE Rui - fen^{1,2a,2b}, CHEN Jie^{1,2a,2b},
CHEN Lin^{2a,2b}, LIU Hong - jin^{2c},
RONG Zhuo - na^{2b},
PANG Xiao - cong^{1,2a,2b}

(1. School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China; 2. a. Institute of Clinical Pharmacology; b. Department of Pharmacy; c. Department of General Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

基金项目:北京市自然科学基金 - 杰出青年科学基金资助项目(JQ24059); 国家自然科学基金面上基金资助项目(82274015); 国家自然科学基金国际(地区)合作与交流基金资助项目(12411530134)

作者简介:薛瑞芬(2000 -), 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤方面的临床工作和基础研究

通信作者:庞晓丛, 副研究员, 博士生导师
MP: 18801321699

E - mail: pangxiaocong1227@163.com

摘要:目的 探索血小板反应蛋白-1 (THBS1) 在泛癌中的表达及其与肿瘤微环境(TME)的相关性。方法 基于TCGA和GTEx数据库分析泛癌中THBS1的表达差异及预后意义。用计算方法评估THBS1与免疫细胞浸润、肿瘤突变负荷(TMB)、微卫星不稳定性(MSI)等多种TME指数的相关性。通过GEPIA构建THBS1与其他基因的相互作用网络, 剖析其潜在机制; 并通过多重免疫组化(mIHC)在胰腺癌(PAAD)组织中进行验证。结果 泛癌分析揭示了THBS1 mRNA在17种常见癌症中均差异表达(均 $P < 0.05$), 其蛋白在9种癌症中均差异表达(均 $P < 0.001$)。生存分析表明, 在多种恶性肿瘤中, 较高的THBS1表达与患者不良预后显著相关($P < 0.05$)。机制上, THBS1表达与肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)浸润在所有癌症类型中均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)并与CD274($P < 0.001$)、HAVCR2($P < 0.001$)、PDCD1LG2($P < 0.001$)、LAG3($P < 0.001$)、PDCD1($P < 0.001$)、CTLA4($P < 0.001$)和TIGIT($P < 0.001$)免疫检查点基因表达呈正相关, 提示其或通过塑造免疫抑制微环境导致免疫治疗反应性降低。共表达和富集分析显示在PAAD中与THBS1强相关的整合素基因是ITGAV($r = 0.60, P < 0.001$)、ITGB3($r = 0.54, P < 0.001$)和ITGB1($r = 0.69, P < 0.001$)。并在胰腺癌组织中得到验证, 免疫荧光共定位分析显示, THBS1的表达与整合素ITGAV($r = 0.75, P < 0.001$)存在强烈的正相关关系。结论 本研究表明, THBS1作为一个关键的泛癌性预后标志物和TME调节因子, 为其作为潜在的抗癌靶点提供了理论依据。

关键词:血小板反应蛋白-1; 肿瘤微环境; 癌症相关成纤维细胞; 整合素; 泛癌

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.21.015

中图分类号:R97 **文献标志码:**A

文章编号:1001-6821(2025)21-3090-06

Abstract: Objective To explore the expression of thrombospondin - 1 (THBS1) in pan - cancer and its relevance to tumor microenvironment (TME). **Methods** The discrepancies in the expression and prognostic significance of THBS1 were examined in 33 different types of tumors using TCGA and GTEx data. The correlation between THBS1 and the TME index, various factors like immune cell infiltration, tumor mutagenesis burden (TMB) and microsatellite instability (MSI) was evaluated using computational methods. The potential mechanism was also dissected by constructing interaction networks of THBS1 with other genes by GEPIA; this was validated using multiplex immunohistochemistry (mIHC) in pancreatic cancer (PAAD) tissues. **Results** Pan - cancer analysis revealed THBS1 mRNA was differentially

expressed in 17 common cancer types (all $P < 0.05$) and differential expression of the THBS1 protein was observed in 9 cancer types (all $P < 0.001$). Survival analysis indicated that higher THBS1 expression was significantly associated with poorer patient prognosis in various malignant tumors ($P < 0.05$). THBS1 expression was statistically significantly correlated with cancer-associated fibroblast (CAFs) infiltration across all cancer types ($P < 0.05$), and positively associated with the expression of multiple immune checkpoint genes, including CD274 ($P < 0.001$), HAVCR2 ($P < 0.001$), PDCD1LG2 ($P < 0.001$), LAG3 ($P < 0.001$), PDCD1 ($P < 0.001$), CTLA4 ($P < 0.001$) and TIGIT ($P < 0.001$). These findings suggested that THBS1 may contribute to reduced responsiveness to immunotherapy by shaping an immunosuppressive tumor microenvironment. Co-expression and enrichment analyses demonstrated that the integrin genes strongly correlated with THBS1 in pancreatic adenocarcinoma (PAAD) were ITGAV ($r = 0.60$, $P < 0.001$), ITGB3 ($r = 0.54$, $P < 0.001$) and ITGB1 ($r = 0.69$, $P < 0.001$). These findings were validated in pancreatic cancer tissues; immunofluorescence co-localization analysis demonstrated a strong positive correlation between THBS1 expression and integrin ITGAV ($r = 0.75$, $P < 0.001$). **Conclusion** This study identifies THBS1 as a crucial pan-cancer prognostic biomarker and a key regulator of the TME, providing a compelling rationale for its potential as a therapeutic target in oncology.

Key words: thrombospondin-1; tumor microenvironment; cancer-associated fibroblast; integrin; pan-cancer

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME), 尤其是细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM), 在血管生成、淋巴血管生成、间质压力增加、化疗耐药、免疫抑制和肿瘤转移中发挥着重要作用^[1]。血小板反应蛋白 (thrombospondins, THBSs) 家族是一组细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 蛋白, 其参与组织重塑、血管生成和肿瘤形成等多种生物学过程^[2]。血小板反应蛋白-1 (thrombospondin-1, THBS1) 是第1个被鉴定出来的成员, 并且在肿瘤微环境中起主要作用。THBS1 在肿瘤进展中发挥着复杂且有时相反的作用^[3]。此外, THBS1 在肿瘤发生中的作用因癌症类型和阶段而异。THBS1 通过调节血管生成和肿瘤发展, 影响肿瘤组织的免疫特征和肿瘤邻近免疫细胞的表型表达。鉴于 THBS1 在肿瘤发展中复杂且矛盾的功能, 有必要细分其在泛癌中作用, 以提供更多数据支持 THBS1 作为潜在的跨肿瘤治疗靶点。因此, 本研究对 THBS1 的表达及预后意义进行了全面的泛癌分析, 进一步探讨了 THBS1 与 TME 之间的关联, 并在相关临床样本中进行了验证。

材料与方法

1 材料

组织 2020年9月至2023年1月以本院收集的接受手术或穿刺活检的胰腺导管腺癌患者配对的胰腺癌和癌旁组织样本5例为研究对象。本研究经北京大学第一医院伦理委员会批准 (伦理批号: 2018 研 15),

所有患者均签署知情同意书。

药品与试剂 THBS1 抗体、I 型胶原蛋白 $\alpha 2$ 链 (collagen type I $\alpha 2$ chain, COL1A2) 抗体、整合素 αV 亚基 (integrin αV , ITGAV) 抗体和 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA), 均由英国 Abcam 公司生产; 四色多重荧光免疫组化染色试剂盒, 由上海爱必信生物科技有限公司生产。

仪器 CKX54 倒置显微镜, 日本 Olympus 公司产品。

2 实验方法

2.1 差异表达分析

用在线基因表达分析平台 GEPIA2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn>) 数据库检测来自 TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 和 GTEx 数据集 (<https://www.gtexportal.org/>) 的 THBS1 mRNA 在肿瘤组织和正常组织中的表达水平, 并研究 THBS1 表达与 33 种癌症类型病理分期之间的相关性。设置 GEPIA2 分析阈值: $P < 0.01$, $|\log_2 FC| \geq 1$; 数据经 $\log_2$ (FPKM + 1) 标准化处理, 以便后续分析。此外, 还利用临床蛋白质组肿瘤分析数据库 (Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium, CPTAC) (<https://cptac-data-portal.georgetown.edu/>) 对 THBS1 在不同癌症中的蛋白表达进行了分析。

2.2 预后分析

用 Kaplan-Meier 数据库 (<http://kmplot.com/analysis/>) 评估 THBS1 在泛癌中的预后价值。用高截断值 (85%) 和低截断值 (15%) 划分高表达和低表达队列的表达阈值且 $|\log_2 FC| > 1$ 。

2.3 THBS1 表达与免疫的关系

本研究通过 7 种算法^[4] (TIMER、EPIC、MCP-counter、CIBERSORT、CIBERSORT-ABS、quanTIseq 和 xCELL) 对泛癌中的免疫浸润细胞和 THBS1 相关性进行了分析。此外,本研究还用临床生信之家 (<https://www.aclbi.com/static/index.html#/>) 评估了 THBS1 表达与肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) 和微卫星基因组不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 之间的相关性。

2.4 免疫检查点的评估

从 TCGA 数据库下载 PAAD 的 RNA-Seq 表达 (3 级) 基因组数据和临床数据。用 Pearson 检验量化 THBS1 与免疫检查点基因表达之间的相关性并评估了每个转录本的表达值。此外,使用 TIDE 网站对潜在的免疫检查点阻断 (immune checkpoint blockade, ICB) 反应进行了预测。

2.5 相互作用网络构建、功能富集及状态分析

用 STRING (<https://string-db.org/>) 工具构建了以 THBS1 为中心的复杂蛋白质-蛋白质相互作用网络,同时使用 GEPIA2 研究与 THBS1 相关的靶基因,再对 THBS1 类似基因进行了基因本体论 (gene ontology, GO) 富集分析。最后,用 CancerSEA (<http://biocc.hrbmu.edu.cn/CancerSEA/>) 研究 THBS1 与多种肿瘤功能之间的动态关系。

2.6 多重免疫组织化学 (multiplex immunohistochemistry, mIHC) 法验证

组织切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇复水化处理。选择柠檬酸盐缓冲液 (pH 6.0) 进行微波热诱导抗原修复,修复后磷酸缓冲盐溶液 (phosphate-buffered saline, PBS) 洗涤。为阻断内源性过氧化物酶活性,切片经 3% H_2O_2 室温孵育 15 min, PBS 洗涤,随后用 3% 正常山羊血清封闭 30 min。本研究按照前期工作中描述的酪胺信号放大 (tyramide signal amplification, TSA) 方法进行染色^[5]:切片在 4℃ 下与 THBS1 一抗孵育过夜, PBS 洗涤后,切片与相应的辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记二抗室温孵育 1 h,随后与 TYR-700 荧光素 (1:200 稀释) 室温反应 5~10 min, PBS 洗涤。为进行下一轮染色,切片经 3% H_2O_2 室温处理 15 min, PBS 洗涤, 95℃ 柠檬酸钠缓冲液处理 10 min,去除上一轮抗体复合物,冷却后洗涤。切片按上述流程开始下一轮染色,依次更换为针对 COL1A2、ITGAV 及 α -SMA 的一抗及对应的 TSA 荧光染料。4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染核, PBS 洗

涤,抗荧光淬灭封片剂,避光干燥 24 h,用多光谱荧光显微镜采集图像;通过 InFormv2.4 软件进行多重荧光信号解卷积及共定位分析。

3 统计学处理

在 GEPIA2 中用 ANOVA 比较肿瘤组织与正常样本的差异,并用 Spearman 等级相关系数评估 2 组之间的关系。用 Kaplan-Meier 方法评估患者预后与 THBS1 表达水平的相关性。

结 果

1 THBS1 在泛癌中的表达

通过对 TCGA 和 GTEx 数据集综合分析发现, THBS1 表达在 13 种癌症中均显著下调 (均 $P < 0.05$), 包括:肾上腺皮质癌 (adrenocortical carcinoma, ACC)、膀胱尿路上皮癌 (bladder urothelial carcinoma, BLCA)、宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌 (cervical squamous cell carcinoma and intracervical adenocarcinoma, CESC)、肾嫌色细胞癌 (kidney chromophobe, KICH)、肾乳头状细胞癌 (kidney renal papillary cell carcinoma, KIRP)、肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞状细胞癌 (lung squamous cell carcinoma, LUSC)、卵巢癌 (ovarian cancer, OV)、皮肤黑色素瘤 (skin cutaneous melanoma, SKCM)、甲状腺癌 (thyroid carcinoma, THCA)、胸腺癌 (thymoma, THYM)、子宫内膜癌 (endometrial cancer, UCEC) 和子宫癌肉瘤 (uterine carcinosarcoma, UCS);在 4 种癌症中均显著上调 (均 $P < 0.05$), 包括:胰腺癌 (pancreatic adenocarcinoma, PAAD)、食管癌 (esophageal carcinoma, ESCA)、胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 和急性髓样白血病 (acute myeloid leukemia, LAML),在其余 16 种癌症类型中在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。此外,还进一步分析了 THBS1 表达与肿瘤病理进展之间的相关性,仅在胃癌 (stomach adenocarcinoma, STAD) ($F = 3.76, P < 0.05$)、THCA ($F = 6.45, P < 0.001$) 和 LUAD ($F = 2.78, P < 0.05$) 中观察到 THBS1 水平的阶段特异性变化。泛癌分析揭示了 THBS1 在蛋白表达水平上在统计学上差异有统计学意义。THBS1 蛋白的总表达在 8 种癌症中均显著增加 (均 $P < 0.001$), 包括:PAAD、GBM、结肠癌 (colon cancer, COAD)、肝细胞癌 (liver hepatocellular carcinoma, LIHC)、头颈鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、肾透明细胞 (kidney renal clear cell carcinoma, RCC)、乳腺癌 (breast cancer, BRCA) 和 LUAD。然而, THBS1 蛋

白表达在 UCEC 中显著降低 ($P < 0.001$), 在 OV、前列腺癌 (prostate adenocarcinoma, PRAD) 和 STAD 中, 在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2 泛癌分析 *THBS1* 表达与预后的相关性

根据生存分析, *THBS1* 表达升高与 PAAD (HR = 2.3, $P < 0.05$)、HNSC (HR = 1.9, $P < 0.05$)、脑低级别胶质瘤 (brain lower grade glioma, LGG) (HR = 2.3, $P < 0.05$)、间皮瘤 (mesothelioma, MESO) (HR = 3.4, $P < 0.01$)、UCEC (HR = 10, $P < 0.01$)、葡萄膜黑色素瘤 (uveal melanoma, UVM) (HR = 7.2, $P < 0.05$)、LAML (HR = 3.8, $P < 0.05$) 和 STAD (HR = 2.6, $P < 0.01$) 患者的不良 OS 显著相关。高表达的 *THBS1* 是 PAAD (HR = 2, $P < 0.05$)、ACC (HR = 6.3, $P < 0.001$)、CESC (HR = 3, $P < 0.05$)、KICH (HR > 1000, $P < 0.05$)、UVM (HR = 3.9, $P < 0.05$) 和 GBM (HR = 2.2, $P < 0.01$) 的 DFS 危险因素。

3 *THBS1* 表达与免疫浸润、TMB 和 MSI 在癌症中的相关性

研究发现, *THBS1* 与不同癌症 TME 中免疫细胞之间的相关性与癌症类型无关。*THBS1* 表达与 KIRP ($r = 0.42$, $P < 0.05$) 和 PAAD ($r = 0.38$, $P < 0.05$) 中 B 细胞预估浸润数量之间呈正相关, 而在 BRCA ($r = -0.25$, $P < 0.05$)、CESC ($r = -0.31$, $P < 0.05$)、HNSC ($r = -0.28$, $P < 0.05$) 和睾丸生殖细胞肿瘤 (testicular germ cell tumors, TGCT) ($r = -0.35$, $P < 0.05$) 中呈负相关。*THBS1* 表达和癌症相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs) 在所有癌症类型中均具有统计学意义的相关性。此外, 研究表明, *THBS1* 表达与骨髓树突状细胞 (dendritic cells, DCs)、T 细胞 (cytotoxic T lymphocytes)、单核细胞 (monocytes) 和中性粒细胞 (neutrophils) 之间的关系主要为正相关。

本研究还探讨了 *THBS1* 与 TMB 和 MSI 表达之间的相关性。*THBS1* 表达在 THYM ($r = 0.45$, $P < 0.001$) 和 ACC ($r = 0.45$, $P < 0.001$) 中与 TMB 呈显著正相关, 而在 UVM ($r = 0.25$, $P < 0.001$)、CESC ($r = 0.20$, $P < 0.01$)、LIHC ($r = 0.18$, $P < 0.01$)、PAAD ($r = 0.15$, $P < 0.05$) 和 LUSC ($r = 0.12$, $P < 0.05$) 中与 TMB 呈显著负相关。*THBS1* 表达在 MESO ($r = 0.22$, $P < 0.001$) 和 TGCT ($r = 0.2$, $P < 0.001$) 中与 MSI 呈显著正相关, 而在胆管癌 (cholangiocarcinoma, CHOL) ($r = -0.25$, $P < 0.001$)、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBC) ($r = 0.20$, $P < 0.001$)、LUSC ($r = 0.15$,

$P < 0.001$)、ESCA ($r = 0.12$, $P < 0.01$)、STAD ($r = 0.10$, $P < 0.01$) 和 LUAD ($r = 0.08$, $P < 0.05$) 中与 MSI 呈显著负相关。

4 胰腺癌中的免疫检查点分析

由于 PAAD 与 *THBS1* 异常高表达相关以及 *THBS1* 在 PAAD 中有潜在的预后和预测价值, 我们在胰腺癌中进行了免疫检查点分析。研究表明, *THBS1* 高表达组的胰腺癌患者中免疫检查点基因 *CD274*、*HAVCR2*、*PDCD1LG2*、*LAG3*、*PDCD1*、*CTLA4* 和 *TIGIT* 的表达均显著高于 *THBS1* 低表达组 (均 $P < 0.001$)。此外, 使用 TIDE 算法预测了患者对 ICB 治疗的反应性。*THBS1* 高表达组的 TIDE 评分升高, 表明在接受 ICB 治疗后疗效和生存率降低, 见图 1。

5 *THBS1* 的共表达网络及富集通路分析

用 STRING 建立了 *THBS1* 相互作用的分子网络, 获得了 11 个经过实验验证的在肿瘤发生发展中 *THBS1* 结合的分子 *PLG*、*PCOLCE*、*COL5A1*、*TGFB1*、*MMP9*、*LRP1*、*CD36*、*ITGB3*、*FN1*、*FGA* 和 *TNFAIP6*。用 GEPIA2 筛选显示, *THBS1* 的表达水平与 *CRISPLD2* ($r = 0.51$, $P < 0.001$)、*ADAMTS4* ($r = 0.41$, $P < 0.001$)、*LMCD1* ($r = 0.46$, $P < 0.001$)、*ITGB1* ($r = 0.49$, $P < 0.001$) 以及 *PALLD* ($r = 0.45$, $P < 0.001$) 呈正相关。在胰腺癌中与 *THBS1* 强关联的整合素基因

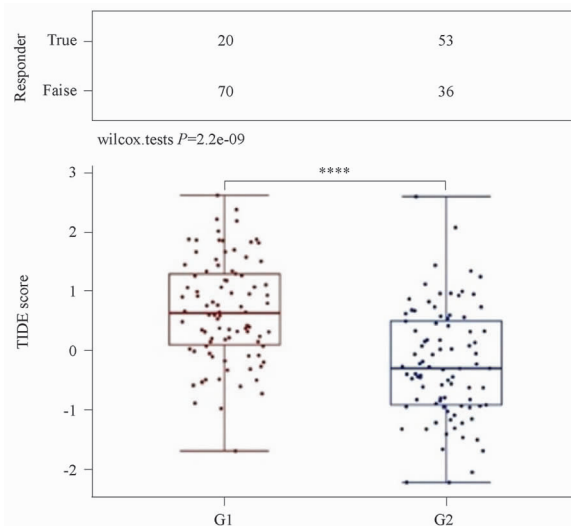


图 1 基于肿瘤免疫功能障碍和排斥 (TIDE) 评分的胰腺癌患者免疫治疗反应预测

Figure 1 The immunotherapy response prediction of pancreatic adenocarcinoma patients based on the tumor immune dysfunction and exclusion (TIDE) score

G1: *THBS1* high expression; G2: *THBS1* low expression; Compared with G1, *** $P < 0.0001$.

是 *ITGAV* ($r = 0.6, P < 0.001$)、*ITGB3* ($r = 0.54, P < 0.001$) 和 *ITGB1* ($r = 0.69, P < 0.001$), 与成纤维细胞活化强关联基因是 *COL1A2* ($r = 0.68, P < 0.001$)、*FN* ($r = 0.62, P < 0.001$) 和 *ACTA2* ($r = 0.73, P < 0.001$)。

6 胰腺癌中 THBS1 的多重免疫组化 (mIHC) 验证

胰腺癌组织与癌旁组织 THBS1 蛋白表达差异通过免疫组化评分 (immunoreactive score, IRS) 量化分析显示: 胰腺癌组织中 THBS1 的 IRS 评分中位数为 8.5 (范围 5 ~ 12), 癌旁组织中 THBS1 的 IRS 评分中位数为 2.0 (范围 0 ~ 4), 证实胰腺癌组织中 THBS1 蛋白表达显著高于癌旁组织 ($P < 0.001$)。免疫荧光共定位分析显示, THBS1 的表达与多个 CAFs 活化及基质重塑标志物均存在强烈的正相关关系, 包括: 细胞外基质成分 *COL1A2* ($r = 0.82, P < 0.001$)、CAFs 收缩性标志物 α -SMA ($r = 0.80, P < 0.001$) 以及整合素 *ITGAV* ($r = 0.75, P < 0.001$)。

讨 论

泛癌研究有助于医师为患者制定个性化的医疗方案, 实现精准靶向治疗。研究 *THBS1* 在各种癌症中的表达模式及其对肿瘤预后的影响, 对于早期认识 *THBS1* 在各种恶性肿瘤发展中的作用至关重要。因此, 我们对 *THBS1* 进行了全面的泛癌分析, 以揭示其在不同癌症的发生发展中的潜在作用和机制。

本研究观察到, *THBS1* mRNA 和蛋白表达在不同癌症的肿瘤组织和邻近正常组织之间存在显著差异, 这表明 *THBS1* 可能是多种恶性肿瘤的病理标志物。本研究发现, 在 PAAD 中, *THBS1* 表达与 CAFs 标志物显著正相关, 这一现象可能与 PAAD 中持续活化的 TGF- β 信号通路有关^[6], 该通路已被广泛报道是 *THBS1* 的关键上游诱导因子。GBM 的 TME 富含 M2 型巨噬细胞和免疫抑制性 DC 细胞, 这类细胞通过分泌 *IL-4*、TGF- β 等细胞因子, 诱导 *THBS1* 表达上调以增强血管生成和免疫逃逸能力^[7]。有研究证实, 肾癌细胞分泌的 *VEGF* 可以与 *THBS1* 形成功能拮抗, *THBS1* 通过结合 CD36 受体抑制血管内皮生长, 而肾癌中 *VEGF* 的高表达会竞争性抑制 *THBS1* 的分泌, 同时下调其启动子活性^[8]。以上研究都证实, *THBS1* 在不同癌种中的表达差异与肿瘤特异性 TME 特征密切相关。

进一步研究 *THBS1* 对多种肿瘤类型的预后的影响。与之前的研究一致, *THBS1* 的高表达通常与不良

预后相关。在我们选择的终点指标中观察到, 在胰腺癌和葡萄膜黑色素瘤中 *THBS1* 的高表达与较低的 OS 和 DFS 都相关; 而在其他肿瘤类型中, *THBS1* 的高表达可能只与其中 1 个有关或者 2 个指标都无关。多项研究已证实, *THBS1* 可以作为胰腺癌的预后标志物^[9-10], 其参与胰腺癌预后评估的潜在机制可能是通过 PI3K-Akt 信号通路实现的^[9]。

肿瘤微环境 (TME) 在肿瘤发生过程中经常发生重构以促进肿瘤的进展。因此, 我们评估了 *THBS1* 表达与肿瘤免疫之间的相关性。结果显示, 在大多数 TCGA 癌症中, *THBS1* 表达与 CAFs 浸润呈强正相关, 尤其与 CAFs 中 *COL1A2*、*FN* 和 *ACTA2* 基因的表达相关。ZHANG 等^[11] 还发现, *THBS1* 表达在胃癌中与 CAFs 的相关性最强。研究发现, 胰腺癌的特征是丰富的基质, 其中 CAFs 通过改变肿瘤微环境为肿瘤细胞生存提供了有利条件^[12]。如前所述, 胰腺癌中 *THBS1* 的高表达与患者生存率降低相关。因此, 我们对胰腺癌样本进行了 mIHC 验证, 并建立了 *THBS1* 与 CAFs 相关基因的相关性。研究表明 *THBS1* 在活跃基质的增殖能力和纤维化反应中起关键作用^[10]。*THBS1* 能够结合并激活 TGF- β , 从而调节 CAFs 的表型^[12]。此外, *THBS1* 还能够增强 CAFs 和多种肿瘤细胞的整合、扩散和侵袭能力^[1]。本研究未发现 *THBS1* 与 NK 细胞和巨噬细胞浸润之间存在显著相关性, 这与之前的研究结果相矛盾^[11]。原因可能与免疫细胞浸润的亚型特异性、免疫细胞功能状态以及癌种亚型、肿瘤分期有关。比如巨噬细胞具有显著的 M1 (促炎/抗肿瘤) 和 M2 (抑炎/促肿瘤) 极化状态。既往研究可能关注的是特定亚型 (如 M2 型巨噬细胞) 与 *THBS1* 的正相关, 而本研究将巨噬细胞视为一个整体, 可能导致信号相互抵消。癌种亚型也会对 *THBS1* 表达与肿瘤免疫之间的相关性产生影响, 比如在肝细胞癌中观察到 *THBS1* 与 M2 型巨噬细胞的显著正相关^[13]; 然而, 在肾透明细胞癌中, 这种关系并不存在, 甚至呈负相关^[14]。*THBS1* 的表达及其免疫调节作用可能随着肿瘤进展而动态变化。在早期肿瘤中可能不显著的关系, 在晚期、免疫抑制性更强的微环境中可能变得显著。例如在肺腺癌中^[15], *THBS1* 与 NK 细胞的负相关性仅在晚期患者中显现, 提示其抑制 NK 细胞的功能可能是在肿瘤进展的特定阶段才被激活的。

人体的免疫系统在疾病的发生发展中起着重要作用, 免疫治疗在大多数肿瘤中已显示出疗效。免疫治疗包括免疫检查点抑制分子, 这些分子能够

阻断免疫检测、抑制和逃避免疫反应,并增强 T 细胞对肿瘤的反应。此外,由于 T 细胞衰竭是实现有效癌症免疫治疗的主要障碍,本研究选择了 T 细胞抑制因子 *CTLA4*、*HAVCR2*、*PDCD1*、*PDCD1LG2*、*TIGIT* 和 *SIGLEC15* 等免疫检查点相关的 mRNA 转录本来探讨免疫治疗与胰腺癌反应之间的相关性^[16]。结果表明,胰腺癌患者中 *THBS1* 高表达与免疫检查点相关的基因和高 TIDE 评分之间存在正相关。然而,在胰腺癌中 *THBS1* 表达与 TMB 呈显著负相关。此外,本研究揭示了 *THBS1* 与 ICB 疗效之间的密切联系,表明 *THBS1* 可能是 TME 中的一个潜在治疗靶点。

除了肿瘤浸润免疫细胞外,本研究的泛癌分析显示,整合素(integrin)作为调节肿瘤细胞与细胞外基质(extracellular matrix,ECM)相互作用的 ECM 蛋白家族,影响着肿瘤增殖、黏附、侵袭和定植的机制^[5],并且在共表达网络结果中与 *THBS1* 显著相关。GEPiA2 数据库分析显示,*THBS1* 与 *ITGB1* 和 *ITGB3* 有较强的相关性。多重免疫组化(mIHC)分析表明,*THBS1* 与 *COL1A2* 和 *ITGAV* 具有很强的正相关性。此外,整合素钙网蛋白 LRP1 介导了 *THBS1* 促进的适应性免疫、CAFs 以及细胞外囊泡转移^[17]。因此,本研究强调了 *THBS1* 与 TME 之间协同的相互作用。

本研究提示:*THBS1* 在肿瘤进展、临床预后和免疫反应中复杂而全面的关键作用,表明 *THBS1* 可以作为特定肿瘤预后的潜在生物标志物。然而,*THBS1* 在 CAFs 浸润、TME 重塑和癌症进展中的调控机制仍需进一步探索。

参考文献:

- [1] PETRIK J, LAUKS S, GARLISI B, *et al.* Thrombospondins in the tumor microenvironment [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2024, 155 (Pt B):3—11.
- [2] DE FRAIPONT F, NICHOLSON A C, FEIGE J J, *et al.* Thrombospondins and tumor angiogenesis [J]. *Trends Mol Med*, 2001, 7(9):401—407.
- [3] HUANG T, SUN L, YUAN X, *et al.* Thrombospondin - 1 is a multifaceted player in tumor progression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (48):84546—84558.
- [4] STURM G, FINOTELLO F, PETITPREZ F, *et al.* Comprehensive evaluation of transcriptome - based cell - type quantification methods for immuno - oncology [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35 (14): i436—i445.
- [5] PANG X, SUN X, GU Y, *et al.* Discovery of C19 - 9 as a novel non - RGD inhibitor of $\alpha v\beta 3$ to overcome enzalutamide resistance in castration - resistant prostate cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1):60—64.
- [6] MURPHY - ULLRICH J E. Thrombospondin 1 and its diverse roles as a regulator of extracellular matrix in fibrotic disease [J]. *J Histochem Cytochem*, 2019, 67(9):683—699.
- [7] DAUBON T, LÉON C, CLARKE K, *et al.* Deciphering the complex role of thrombospondin - 1 in glioblastoma development [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1146—1161.
- [8] ZHAO H, WANG E. COL1A1 drives tumor progression in kidney renal clear cell carcinoma by regulating EMT through the PI3K/Akt pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2025, 25(1):314—326.
- [9] ZHENG B, PENG J, MOLLAYUP A, *et al.* Construction of a prognostic prediction system for pancreatic ductal adenocarcinoma to investigate the key prognostic genes [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (1):216—224.
- [10] MATSUMURA K, HAYASHI H, UEMURA N, *et al.* Thrombospondin - 1 overexpression stimulates loss of Smad4 and accelerates malignant behavior *via* TGF - β signal activation in pancreatic ductal adenocarcinoma [J/OL]. *Transl Oncol*, 2022, 26: 101533. 2022 - 12 - 31 [2025 - 06 - 02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36115074/>.
- [11] ZHANG X, HUANG T, LI Y, *et al.* Upregulation of *THBS1* is related to immunity and chemotherapy resistance in gastric cancer [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14:4945—4957.
- [12] CZEKAY R P, CHEON D J, SAMARAKOON R, *et al.* Cancer - associated fibroblasts: Mechanisms of tumor progression and novel therapeutic targets [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14 (5): 1231—1260.
- [13] GIRAUD J, CHALOPIN D, RAMEL E, *et al.* *THBS1* (+) myeloid cells expand in SLD hepatocellular carcinoma and contribute to immunosuppression and unfavorable prognosis through TREM1 [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(2): 113773.
- [14] CHEVRIER S, LEVINE J H, ZANOTELLI V R T, *et al.* An immune atlas of clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cell*, 2017, 169(4): 736—749.
- [15] LIU W, YOU W, LAN Z, *et al.* An immune cell map of human lung adenocarcinoma development reveals an anti - tumoral role of the Tfh - dependent tertiary lymphoid structure [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(3): 101448.
- [16] SCHREIBER R D, OLD L J, SMYTH M J. Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion [J]. *Science*, 2011, 331(6024):1565—1570.
- [17] LECA J, MARTINEZ S, LAC S, *et al.* Cancer - associated fibroblast - derived annexin A6 + extracellular vesicles support pancreatic cancer aggressiveness [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (11):4140—4156.

(收稿日期 2025 - 08 - 30)