

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.05.0495

· 论 著 ·

## 补体 C3a 受体 1 与低级别胶质瘤预后及免疫细胞浸润的关系

朱开鑫<sup>△</sup>, 张叶磊<sup>△</sup>, 侯晓翔, 曲笑霖, 张丹枫, 王申浩, 侯立军\*

海军军医大学(第二军医大学)长征医院神经外科, 上海 200003

**[摘要]** **目的** 借助癌症基因组图谱(TCGA)数据库研究低级别胶质瘤(LGG)组织中补体C3a受体1(C3AR1)的表达水平及其与LGG患者预后及肿瘤免疫细胞浸润的关系。**方法** 从TCGA数据库下载514例LGG患者的基因表达谱数据和临床信息。比较C3AR1基因在LGG组织和正常组织中的表达水平,分析不同WHO分级LGG组织样本中C3AR1基因的表达量及与患者预后的关系,分析LGG患者临床特征和C3AR1基因表达水平对患者预后的影响,分析LGG组织中C3AR1基因表达与肿瘤免疫细胞浸润的相关性及免疫细胞浸润水平对患者预后的影响。对与C3AR1基因表达呈正相关的基因群进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。**结果** LGG组织中C3AR1基因表达水平高于正常组织( $P<0.05$ )。C3AR1基因在WHOⅢ级LGG组织中的表达高于WHOⅡ级( $P<0.05$ ),C3AR1基因低表达组患者的预后优于高表达组( $HR=1.7$ , 95%  $CI$  1.1~2.4,  $P=0.0036$ )。患者年龄、LGG级别和C3AR1基因表达水平是LGG的独立预后因素( $P$ 均 $<0.01$ )。C3AR1基因的表达水平与LGG的免疫细胞浸润水平呈正相关( $P$ 均 $<0.01$ ),且后者影响LGG患者预后。与C3AR1基因表达呈正相关基因群的干扰素 $\gamma$ 介导的信号通路、Ig/主要组织相容性复合体(MHC)保守位点、Ig样C1型结构域、MHC I/II类抗原识别蛋白、连接肽特定区域、Toll样受体信号通路等多条通路参与调控LGG。**结论** C3AR1与LGG的预后和免疫细胞浸润有关,可能成为LGG分级诊断、免疫治疗和预后判断的生物标志物。

**[关键词]** 补体C3a受体1;低级别胶质瘤;预后;肿瘤免疫细胞浸润;肿瘤生物标记

**[中图分类号]** R 737.25; R 730.264

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2021)05-0495-08

### Association of complement C3a receptor 1 with low-grade glioma prognosis and immune cell infiltration

ZHU Kai-xin<sup>△</sup>, ZHANG Ye-lei<sup>△</sup>, HOU Xiao-xiang, QU Xiao-lin, ZHANG Dan-feng, WANG Shen-hao, HOU Li-jun\*

Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

**[Abstract]** **Objective** To analyze the expression of complement C3a receptor 1 (C3AR1) in low-grade glioma (LGG) tissues and the association with the prognosis and immune cell infiltration in LGG based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. **Methods** The gene expression profile data and clinical information of 514 LGG patients were downloaded from TCGA database. The expression levels of C3AR1 in LGG and normal tissues were compared. The expression levels of C3AR1 in different World Health Organization (WHO) grades of LGG tissues and their relationship with prognosis were analyzed. The influence of clinical features and C3AR1 expression level on prognosis of LGG patients was analyzed. The correlation between C3AR1 expression in LGG tissues and tumor immune cell infiltration, and the influence of immune cell infiltration level on prognosis were analyzed, and gene groups positively correlated with the expression of C3AR1 were further analyzed by Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment. **Results** The expression of C3AR1 in LGG tissues was significantly higher than that in normal tissues ( $P<0.05$ ). The expression of C3AR1 was higher in WHO grade III LGG tissues than in WHO grade II tissues ( $P<0.05$ ). The prognosis of C3AR1 low-expression group was significantly better than that of the high-expression group (hazard ratio=1.7, 95% confidence interval 1.1-2.4,  $P=0.0036$ ). Patient age, LGG grade and expression level of C3AR1 were independent prognostic factors of LGG (all  $P<0.01$ ). The expression level of C3AR1 was positively correlated with the immune cell infiltration level of LGG (all  $P<0.01$ ), and the latter was related to the prognosis of LGG patients. Gene groups positively related to C3AR1 regulated several LGG-related key pathways: interferon

**[收稿日期]** 2020-07-11

**[接受日期]** 2020-11-12

**[作者简介]** 朱开鑫, 硕士生. E-mail: kaixinjoy@outlook.com; 张叶磊, 硕士生, 住院医师. E-mail: zhangyelei2019@163.com

<sup>△</sup>共同第一作者(Co-first authors).

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885671, E-mail: ljhou@smmu.edu.cn

$\gamma$ -mediated signaling pathway, conserved immunoglobulin (Ig)/major histocompatibility complex (MHC) site, Ig-like C1 type domains, MHC class I/II-like antigen recognition protein, specific regions of junctional peptide, and Toll-like receptor signaling pathways. **Conclusion** C3AR1 is associated with the prognosis and immune cell infiltration of LGG, and it can be a biomarker for grading diagnosis, immunotherapy and prognosis of LGG.

[**Key words**] complement C3a receptor 1; low-grade glioma; prognosis; tumor immune cell infiltration; tumor biomarkers

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(5): 495-502]

胶质瘤是起源于神经外胚层细胞或前体细胞的肿瘤,包括星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤和室管膜瘤等,占成人脑原发恶性肿瘤的75%<sup>[1]</sup>。全世界每年有超过10万人被诊断为胶质瘤,其致死率和致残率均较高<sup>[2]</sup>。低级别胶质瘤(low-grade glioma, LGG)是指WHO分级中异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)突变的II级和III级胶质瘤<sup>[3]</sup>,预后相对较好,但也可能进展为恶性程度更高、侵袭性更强的高级别胶质瘤。近年来分子遗传学和生物标志物方面的研究进展为LGG的精确诊断、个体化治疗及预后判断带来了新的希望和方向<sup>[4-5]</sup>,找到可靠、有效的生物标志物对LGG的基础研究和临床治疗意义重大。

补体C3a受体1(complement C3a receptor 1, C3AR1)是G蛋白偶联受体家族成员,其特征是经典的7个跨膜结构域和较大的第2个细胞外环<sup>[6]</sup>。C3AR1参与固有免疫反应调节和病原体监测,其与乳腺癌<sup>[7]</sup>、神经发生<sup>[8]</sup>、脂类分解代谢<sup>[9]</sup>等病理生理过程密切相关。目前尚未见LGG与C3AR1有关的报道。本研究利用美国癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中LGG相关的测序数据和临床信息进行生物信息学分析,运用R 4.0.1软件和基因表达谱数据动态分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA)<sup>[10]</sup>工具分析C3AR1在不同肿瘤组织与正常组织中的表达差异、C3AR1与不同WHO分级LGG的相关性及对患者预后的影响。为了解肿瘤免疫细胞浸润情况,本研究进一步利用肿瘤免疫评估(Tumor Immune Estimation Resource, TIMER)数据库分析C3AR1与LGG中肿瘤浸润性免疫细胞的相关性及肿瘤浸润免疫细胞对患者预后的影响,通过对LGG中与C3AR1表达呈正相关的基因群进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,确定C3AR1在LGG发生、发展及免疫细胞浸润中的潜在通路。

## 1 资料和方法

1.1 数据收集与预处理 从TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)<sup>[11]</sup>筛选并下载529例LGG患者的临床信息和组织的基因表达谱数据,均为肿瘤组织,无正常组织。由于缺少正常组织对照,从TCGA数据库筛选并下载5例多形性胶质母细胞瘤患者正常脑组织的基因表达谱数据用于对照分析。检查下载数据的完整性,删去完全缺失临床信息或缺失生存状态、生存时间等关键数据的病例。将基因编码转换为美国基因命名委员会(HUGO Gene Nomenclature Committee, HGNC)的标准基因名称。

1.2 C3AR1基因在肿瘤组织和正常组织中的表达水平分析 利用Oncomine数据库(<https://www.oncomine.org/resource/login.html>)<sup>[12]</sup>鉴定多种类型肿瘤组织中C3AR1基因的表达水平。筛选条件: $P < 0.05$ 、差异倍数 $> 1.5$ 、基因排名前10%,数据类型为mRNA。比较分析TCGA数据库中部分肿瘤组织和正常组织中C3AR1基因的表达水平。

1.3 C3AR1基因在不同WHO分级LGG组织中的表达分析及与患者预后的关系 利用癌症数据在线分析和挖掘网站UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)<sup>[13]</sup>对TCGA数据库中的LGG数据进行分析。计算不同WHO分级LGG组织样本中C3AR1基因的表达量。用GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)对正常脑组织与LGG组织中C3AR1基因表达量进行对比分析,根据C3AR1基因表达量的中位数将病例分为高表达组和低表达组,并绘制生存曲线。

1.4 LGG患者临床特征和C3AR1基因表达水平对患者预后影响分析 对病例数据的分类进行赋值转换,在用R 4.0.1软件对LGG患者临床特征和C3AR1基因表达水平进行单因素和多因素Cox回归分析,分析其对患者预后的影响。

1.5 肿瘤免疫细胞浸润与C3AR1基因表达的关系及对患者预后影响分析 利用TIMER数据库

(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)<sup>[14]</sup>对 LGG 组织中 *C3AR1* 基因的表达水平与 6 种免疫细胞 (B 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞) 浸润水平之间的相关性进行分析, 并分析这 6 种免疫细胞在 LGG 组织中的浸润水平与患者总体预后的关系。

1.6 与 *C3AR1* 基因表达呈正相关基因群的 KEGG 通路富集分析 利用 UALCAN 进行相关分析得到与 LGG 组织中 *C3AR1* 基因表达呈正相关的基因群, 再利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)<sup>[15]</sup>进行 KEGG 通路富集分析, 取富集倍数排名前 10 且  $P < 0.01$  的通路, 用 R 4.0.1 软件绘制气泡图。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 22.0 和 R 4.0.1 软件进行分析。计量资料以中位数 (下四分位数, 上四分位数) 表示, 采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验; 计数资料以例数和百分数表示。用 Kaplan-Meier 法绘制患者生存曲线, 生存率的比较采用 log-rank 检验; 用单因素和多因素 Cox 回归分析 LGG 患者临床特征和 *C3AR1* 基因表达水平对预后的影响; 采用 Spearman 偏相关分析法分析 *C3AR1* 基因表达与肿瘤免疫浸润细胞的关系。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 组织样本的一般情况 共 514 个 LGG 组织样本纳入本研究, 均含有基因表达谱测序数据和临床信息。其中星形细胞瘤组织样本 194 个 (37.7%)、少突胶质细胞瘤组织样本 191 个 (37.2%)、少突星形细胞瘤组织样本 129 个 (25.1%); WHO II 级 LGG 249 例 (48.4%), WHO III 级 LGG 265 例 (51.6%); 总生存时间为 0~6 423 d, 中位时间为 674.0 (400.5, 1 227.0) d。

2.2 *C3AR1* 基因在肿瘤组织和正常组织中的表达水平 利用 Oncomine 数据库进行分析的结果表明, *C3AR1* 基因在 5 个脑和中枢神经系统肿瘤数据集中明显高表达 ( $P < 0.01$ , 差异倍数  $> 1.5$ ); 在膀胱肿瘤、结直肠肿瘤、肺肿瘤、黑色素瘤等数据集中低表达; 在胃肿瘤、头颈部肿瘤、肾脏肿瘤、肝肿瘤、胰腺肿瘤、肉瘤等数据集中高表达。为了进一步评估 *C3AR1* 基因在 LGG 组织中的表达, 我们

利用 TCGA 数据库的 RNA 测序数据分析了 *C3AR1* 基因在 LGG 组织和多形性胶质细胞瘤、膀胱癌、乳腺癌、胆囊癌、头颈鳞状细胞癌等肿瘤组织中的表达。与正常组织相比, LGG 组织中 *C3AR1* 基因表达升高 ( $P < 0.05$ , 图 1), 与多形性胶质细胞瘤中的结果相似。

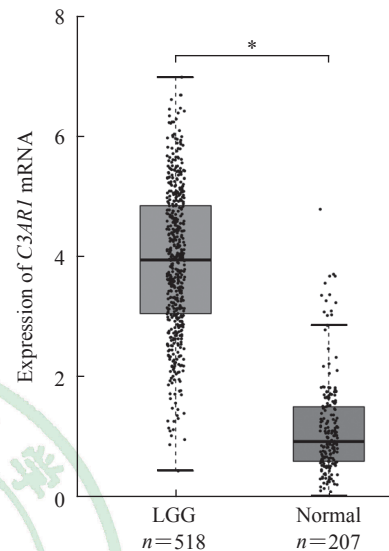


图 1 *C3AR1* mRNA 在 LGG 组织和正常组织中的表达  
Fig 1 Expression of *C3AR1* mRNA in LGG and normal tissues

$P < 0.05$ . The data of 207 normal cases as controls were collected from GEPIA. Of 518 LGG samples, 514 cases had LGG grade and 4 cases had no LGG grade. *C3AR1*: Complement C3a receptor 1; LGG: Low-grade glioma.

2.3 *C3AR1* 基因在不同 WHO 分级 LGG 组织中的表达及与患者预后的关系 根据 UALCAN 计算得到不同 WHO 分级 LGG 组织样本中 *C3AR1* 基因的表达量, *C3AR1* 基因在 WHO II 级 LGG 组织中的表达量低于 WHO III 级 LGG 组织, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 2)。生存分析结果显示 *C3AR1* 基因低表达组 ( $n = 257$ ) 的生存预后优于高表达组 ( $n = 257$ ), 差异有统计学意义 ( $HR = 1.7, 95\% CI 1.1 \sim 2.4, P = 0.003 6$ , 图 3)。

2.4 LGG 患者临床特征和 *C3AR1* 基因表达水平对预后的影响 如表 1 所示, 单因素 Cox 回归分析结果显示, 患者年龄、LGG WHO 分级和 *C3AR1* 基因表达水平与患者总体预后有关 ( $P$  均  $< 0.01$ ); 多因素 Cox 回归分析结果显示, 患者年龄、LGG WHO 分级和 *C3AR1* 基因表达水平是 LGG 患者的独立预后因素 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

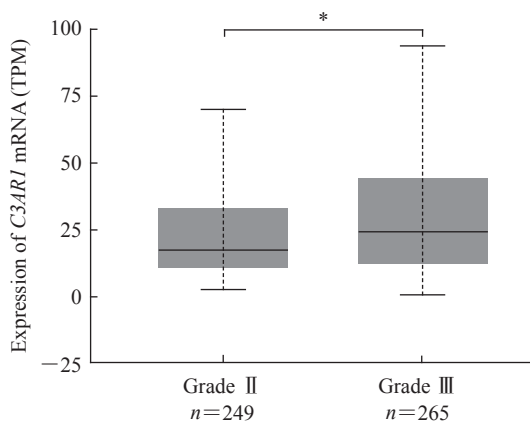


图2 C3AR1 mRNA 在不同 WHO 分级 LGG 组织中的表达

Fig 2 Expression of C3AR1 mRNA in different WHO grades of LGG tissues

\* $P < 0.05$ . C3AR1: Complement C3a receptor 1; LGG: Low-grade glioma; WHO: World Health Organization; TPM: Transcripts per million.

2.5 肿瘤免疫细胞浸润与 C3AR1 基因表达的关系及对患者预后的影响 Spearman 偏相关分析发现, C3AR1 基因的表达水平与 LGG 的肿瘤纯度<sup>[16]</sup>呈负相关 ( $r_s = -0.396, P < 0.01$ ), 与肿瘤免疫细胞浸润水平呈正相关: B 细胞 ( $r_s = 0.671, P < 0.01$ ), CD8<sup>+</sup> T 细胞 ( $r_s = 0.234, P < 0.01$ ), CD4<sup>+</sup> T 细胞 ( $r_s = 0.819, P < 0.01$ ), 巨噬细胞 ( $r_s = 0.783,$

$P < 0.01$ ), 中性粒细胞 ( $r_s = 0.840, P < 0.01$ ), 树突状细胞 ( $r_s = 0.841, P < 0.01$ )。CD4<sup>+</sup> T 细胞、中性粒细胞和树突状细胞的浸润水平与 C3AR1 基因表达水平间的偏相关系数都在 0.8 以上, 具有极强的正相关关系。

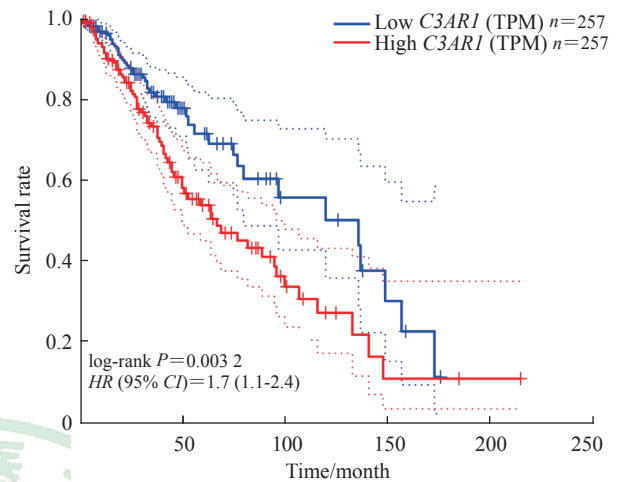


图3 高、低表达 C3AR1 的 LGG 患者生存曲线

Fig 3 Survival curves of LGG patients with high- and low-expression C3AR1

The dotted lines represent the 95% confidence bound. LGG: Low-grade glioma; C3AR1: Complement C3a receptor 1; TPM: Transcripts per million; HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval.

表1 LGG 患者临床特征和 C3AR1 基因表达水平对预后影响的 Cox 回归分析

Tab 1 Cox regression analyses of influence of clinical features and expression level of C3AR1 on prognosis of LGG patients

Feature	Univariate Cox regression		Multivariate Cox regression	
	HR (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
Age	1.058 (1.043, 1.073)	<0.01	1.060 (1.044, 1.076)	<0.01
Gender	0.914 (0.641, 1.304)	0.619	1.119 (0.781, 1.604)	0.541
LGG WHO grade	3.340 (2.258, 4.940)	<0.01	2.883 (1.944, 4.276)	<0.01
C3AR1 level	1.649 (1.148, 2.369)	0.007	1.877 (1.295, 2.721)	0.001

LGG: Low-grade glioma; C3AR1: Complement C3a receptor 1; WHO: World Health Organization; HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval.

不同免疫细胞的浸润水平与 LGG 患者生存预后关系的分析发现, B 细胞、T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润水平均会影响 LGG 患者的总体预后 ( $P$  均  $< 0.05$ , 图 4)。

2.6 与 C3AR1 基因表达呈正相关基因群的 KEGG 通路富集分析结果 由于 C3AR1 基因的高表达是 LGG 患者生存预后的危险因素, 我们利用 UALCAN 进行相关分析得到与 LGG 组织中 C3AR1 基因表达呈正相关的基因共 1 658 个, 并利用 DAVID 数据

库进行 KEGG 通路富集分析。结果发现, 富集倍数排名前 10 且  $P < 0.01$  的通路主要有干扰素  $\gamma$  介导的信号通路、金黄色葡萄球菌感染、Ig/ 主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 保守位点、Ig 样 C1 型结构域、MHC I / II 类抗原识别蛋白、连接肽特定区域、Toll 样受体信号通路、内质网膜腔侧的组成部分、 $\alpha$ -2 特定区域、 $\alpha$ -1 特定区域等, 见图 5。

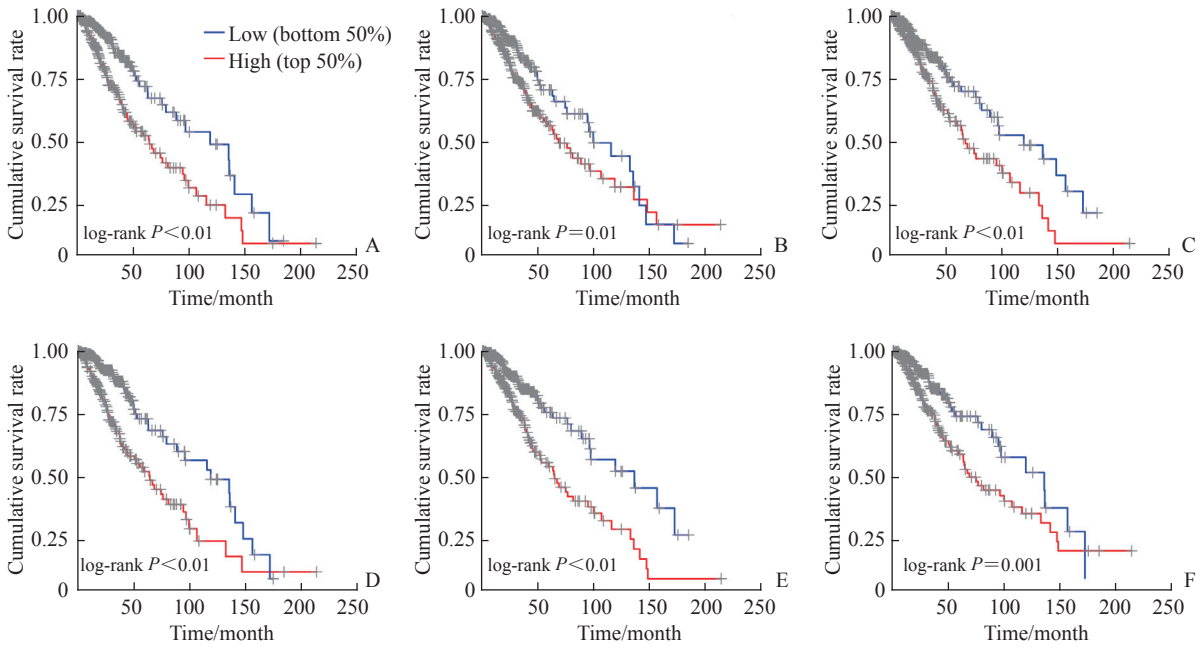


图 4 不同免疫细胞浸润水平的 LGG 患者生存曲线

Fig 4 Survival curves of LGG patients with different immune cell infiltration levels

A: B cell; B: CD8<sup>+</sup> T cell; C: CD4<sup>+</sup> T cell; D: Macrophage; E: Neutrophil; F: Dendritic cell. LGG: Low-grade glioma.

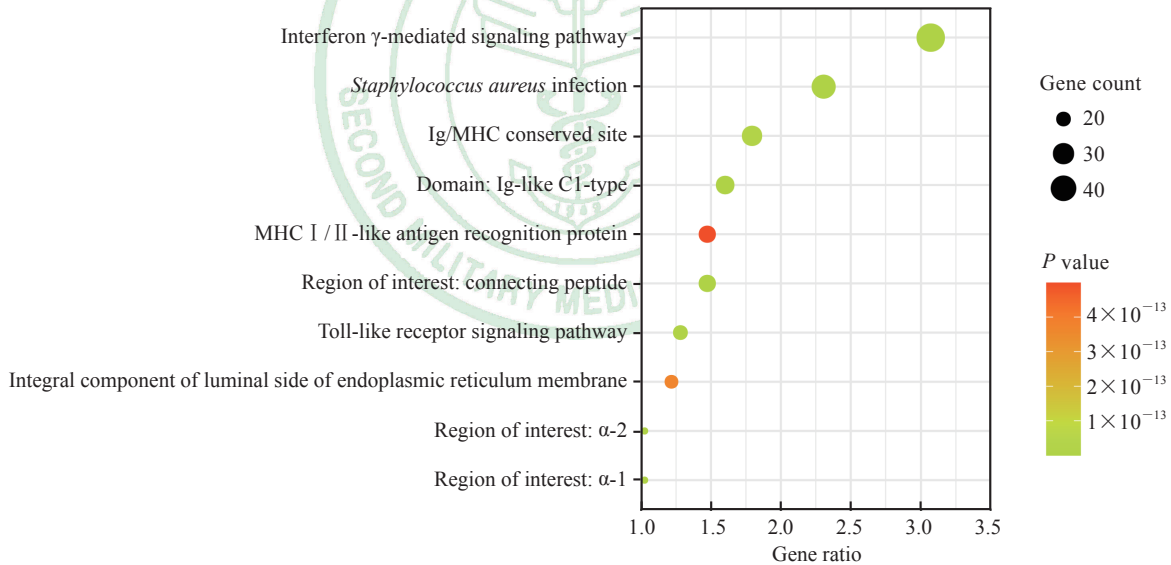


图 5 KEGG 通路富集分析的前 10 个与 C3AR1 基因表达呈正相关的基因

Fig 5 Enrichment analysis of KEGG pathway showing top 10 genes positively correlated with C3AR1 expression

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; C3AR1: Complement C3a receptor 1; Ig: Immunoglobulin; MHC: Major histocompatibility complex.

### 3 讨论

胶质瘤是一种最常见、最致命的原发性脑肿瘤。胶质瘤的诊断主要依靠影像学检查，如 CT 和 MRI，治疗主要依靠手术切除和辅助化疗<sup>[17]</sup>。近年来，一些新的治疗方法，如免疫疗法<sup>[18]</sup>和光动力疗法<sup>[19]</sup>被采用，但患者预后仍不理想<sup>[3]</sup>，可能

与缺乏有效的诊断和治疗靶点有关。我们研究的 C3AR1 可能为 LGG 的诊断、治疗和预后判断提供潜在的分子靶点，C3AR1 与肿瘤免疫细胞浸润关系的发现则有助于 LGG 免疫疗法的发展。

近年对于 LGG 预后生物标志物的研究逐步深入和丰富。IDH 突变在 LGG 患者中的表达预示着良好的预后<sup>[20]</sup>，而细胞周期蛋白依赖性激酶抑制

剂 2A 和 B (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B, *CDKN2A/B*) 纯合缺失近年被认为是 *IDH* 突变 LGG 中预后不良指标<sup>[21]</sup>。端粒酶 RNA 组分 (telomerase RNA component, *TERC*)、端粒酶反转录酶 (telomerase reverse transcriptase, *TERT*)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, *EGFR*)、卷曲螺旋结构域蛋白 26 (coiled-coil domain-containing 26, *CCDC26*)、膜泡运输 t-SNAREs 同源物 1A (vesicle transport through interaction with t-SNAREs homolog 1A, *VTI1A*)、锌指和 BTB 结构域蛋白 16 (zinc finger and BTB domain-containing 16, *ZBTB16*)、Pleckstrin 同源结构域家族 B 成员 1 (Pleckstrin homology-like domain family B member 1, *PHLDB1*)、聚合酶 (RNA) III (DNA 定向) 多肽 B [polymerase (RNA) III (DNA directed) polypeptide B, *POLR3B*]、电子转移黄素蛋白  $\alpha$  多肽 (electron-transfer-flavoprotein  $\alpha$  polypeptide, *ETF $\alpha$* )、肿瘤蛋白 *P53* 和端粒伸长解旋酶 1 调节因子 (regulator of telomere elongation helicase 1, *RTEL1*) 等基因突变与 LGG 发生风险密切相关<sup>[22-26]</sup>。分子标志物研究的进展也将促进脑肿瘤的脑脊液活检等新兴技术的发展<sup>[27]</sup>, 进一步在精确诊断、治疗的同时减少患者的痛苦。LGG 的免疫治疗有了一定的发展, 但由于肿瘤的异质性和有效分子靶标的缺乏, LGG 的免疫治疗需要进一步研究<sup>[28]</sup>。

*C3AR1* 是 G 蛋白偶联受体家族成员, 在小胶质细胞等免疫细胞上表达, 并与包括中枢神经系统炎症在内的各种免疫调节过程有关<sup>[29]</sup>。*C3AR1* 最初被认为局限于固有免疫反应, 在补体级联中发挥作用, 但进一步研究发现 *C3AR1* 与乳腺肿瘤<sup>[30]</sup>、垂体激素释放<sup>[31]</sup> 和神经发生<sup>[8]</sup> 等均密切相关。有研究表明, 肿瘤浸润免疫细胞是肿瘤患者的前哨淋巴结状态和预后生存的独立预测因子<sup>[32]</sup>。本研究首次在人类 LGG 患者队列中分析了 *C3AR1* 基因的表达, 利用临床信息和 RNA 测序数据研究了 *C3AR1* 基因表达与 LGG WHO 分级预后的关系, 并分析了 *C3AR1* 基因表达水平与 LGG 免疫细胞浸润的相关性及免疫细胞浸润对患者预后的影响。

本研究结果显示, *C3AR1* 基因在 LGG 组织的表达高于正常组织 ( $P < 0.05$ ), 且其表达水平与

肿瘤有关, 在 WHO II 级 LGG 组织中的表达量低于 WHO III 级 LGG 组织 ( $P < 0.05$ ), 生存分析结果表明 *C3AR1* 基因表达水平与 LGG 的预后有关, 高表达患者的预后可能不良。多因素 Cox 回归分析结果显示, *C3AR1* 基因表达水平是 LGG 患者预后的独立危险因素 ( $HR = 1.877$ ,  $P < 0.01$ )。

本研究还发现 LGG 组织中 *C3AR1* 基因表达水平与 LGG 的肿瘤纯度呈负相关, 与 6 种肿瘤免疫细胞 (B 细胞、 $CD8^+$  T 细胞、 $CD4^+$  T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞) 浸润水平呈正相关 ( $P$  均  $< 0.01$ )。肿瘤细胞的基因组变异可能会产生肿瘤抗原, 被免疫系统识别为非自身成分, 从而引发细胞免疫反应<sup>[33]</sup>。LGG 在遗传学和免疫水平存在显著的异质性, 找到合适的靶标仍是影响 LGG 免疫治疗的关键因素<sup>[28]</sup>。在既往研究中, 利用 RNA 测序数据分析基因表达水平与浸润免疫细胞之间的关系时, 相关系数多为不相关或弱、中度相关, 强相关少见<sup>[34-35]</sup>。本研究中  $CD4^+$  T 细胞、中性粒细胞和树突状细胞的浸润水平与 *C3AR1* 基因表达水平间的偏相关系数  $> 0.8$ , 与强正相关关系。提示 *C3AR1* 可能对肿瘤免疫有潜在的影响, 其可能成为一种很有前途的肿瘤生物标志物。

本研究对 LGG 组织中与 *C3AR1* 基因表达呈正相关的基因群进行了 KEGG 通路富集分析, 以获知其产生生物学功能的通路。结果显示 Ig/MHC 保守位点、MHC I/II 类抗原识别蛋白、Toll 样受体信号通路等通路均有基因的富集, 提示与 *C3AR1* 基因表达呈正相关的基因多可能通过这些通路调控 LGG 的免疫细胞浸润并影响患者的预后。

综上所述, *C3AR1* 表达是 LGG 患者预后的潜在分子标志物。在 LGG 组织中由 *C3AR1* 调控的 Ig/MHC 保守位点、MHC I/II 类抗原识别蛋白、Toll 样受体信号通路等通路可能影响肿瘤免疫细胞浸润, 进而影响肿瘤的发生、发展和患者预后。*C3AR1* 作为 LGG 患者的独立预后因素, 有成为治疗 LGG 分子靶标的潜力。

#### [参考文献]

- [1] LAPOINTE S, PERRY A, BUTOWSKI N A. Primary brain tumours in adults[J]. *Lancet*, 2018, 392: 432-446.
- [2] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, MATHERS C, PARKIN D M, PIÑEROS M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. *Int J*

- Cancer, 2019, 144: 1941-1953.
- [3] YOUSSEF G, MILLER J J. Lower grade gliomas[J/OL]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2020, 20: 21. DOI: 10.1007/s11910-020-01040-8.
- [4] REIFENBERGER G, WIRSCHING H G, KNOBBE-THOMSEN C B, WELLER M. Advances in the molecular genetics of gliomas—implications for classification and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14: 434-452.
- [5] DE BLANK P, FOULADI M, HUSE J T. Molecular markers and targeted therapy in pediatric low-grade glioma[J]. *J Neurooncol*, 2020, 150: 5-15.
- [6] RICKLIN D, REIS E S, MASTELLOS D C, GROS P, LAMBRIS J D. Complement component C3—the “Swiss Army Knife” of innate immunity and host defense[J]. *Immunol Rev*, 2016, 274: 33-58.
- [7] SONG G Q, HE L, YANG X L, YANG Y, CAI X M, LIU K, et al. Identification of aberrant gene expression during breast ductal carcinoma *in situ* progression to invasive ductal carcinoma[J/OL]. *J Int Med Res*, 2020, 48: 300060518815364. DOI: 10.1177/0300060518815364.
- [8] KLOS A, TENNER A J, JOHSWICH K O, AGER R R, REIS E S, KÖHL J. The role of the anaphylatoxins in health and disease[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46: 2753-2766.
- [9] CERO C, RAZZOLI M, HAN R J, SAHU B S, PATRICELLI J, GUO Z K, et al. The neuropeptide TLQP-21 opposes obesity via C3aR1-mediated enhancement of adrenergic-induced lipolysis[J]. *Mol Metab*, 2017, 6: 148-158.
- [10] TANG Z F, LI C W, KANG B X, GAO G, LI C, ZHANG Z M. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W98-W102.
- [11] BLUM A, WANG P, ZENKLUSEN J C. SnapShot: TCGA-analyzed tumors[J/OL]. *Cell*, 2018, 173: 530. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.059.
- [12] RHODES D R, KALYANA-SUNDARAM S, MAHAVISNO V, VARAMBALLY R, YU J, BRIGGS B B, et al. OncoPrint 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18, 000 cancer gene expression profiles[J]. *Neoplasia*, 2007, 9: 166-180.
- [13] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALASUBRAMANYA S A H, CREIGHTON C J, PONCE-RODRIGUEZ I, CHAKRAVARTHI B V S K, et al. UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. *Neoplasia*, 2017, 19: 649-658.
- [14] LI T W, FAN J Y, WANG B B, TRAUGH N, CHEN Q M, LIU J S, et al. TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells[J/OL]. *Cancer Res*, 2017, 77: e108-e110. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-17-0307.
- [15] HUANG D A W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009, 4: 44-57.
- [16] YOSHIHARA K, SHAHMORADGOLI M, MARTÍNEZ E, VEGESNA R, KIM H, TORRES-GARCIA W, et al. Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data[J/OL]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2612. DOI: 10.1038/ncomms3612.
- [17] KONG Z R, YAN C R, ZHU R Z, WANG J R, WANG Y N, WANG Y, et al. Imaging biomarkers guided anti-angiogenic therapy for malignant gliomas[J]. *Neuroimage Clin*, 2018, 20: 51-60.
- [18] KONG Z R, WANG Y, MA W B. Vaccination in the immunotherapy of glioblastoma[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2018, 14: 255-268.
- [19] AKIMOTO J. [ III ]. Photodynamic therapy for malignant glioma[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2018, 45: 933-937.
- [20] BUCKNER J, GIANNINI C, ECKEL-PASSOW J, LACHANCE D, PARNEY I, LAACK N, et al. Management of diffuse low-grade gliomas in adults—use of molecular diagnostics[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13: 340-351.
- [21] REIS G F, PEKMEZCI M, HANSEN H M, RICE T, MARSHALL R E, MOLINARO A M, et al. *CDKN2A* loss is associated with shortened overall survival in lower-grade (World Health Organization grades II - III) astrocytomas[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2015, 74: 442-452.
- [22] JENKINS R B, XIAO Y, SICOTTE H, DECKER P A, KOLLMAYER T M, HANSEN H M, et al. A low-frequency variant at 8q24.21 is strongly associated with risk of oligodendroglial tumors and astrocytomas with *IDH1* or *IDH2* mutation[J]. *Nat Genet*, 2012, 44: 1122-1125.
- [23] KINNERSLEY B, LABUSSIÈRE M, HOLROYD A, DI STEFANO A L, BRODERICK P, VIJAYAKRISHNAN J, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for glioma[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8559. DOI: 10.1038/ncomms9559.
- [24] SANSON M, HOSKING F J, SHETE S, ZELENKA D, DOBBINS S E, MA Y, et al. Chromosome 7p11.2 (EGFR) variation influences glioma risk[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20: 2897-2904.
- [25] STACEY S N, SULEM P, JONASDOTTIR A, MASSON G, GUDMUNDSSON J, GUDBJARTSSON D F, et al. A germline variant in the *TP53* polyadenylation signal confers cancer susceptibility[J]. *Nat Genet*, 2011, 43: 1098-1103.
- [26] WALSH K M, ANDERSON E, HANSEN H M, DECKER P A, KOSEL M L, KOLLMAYER T, et al. Analysis of 60 reported glioma risk SNPs replicates

- published GWAS findings but fails to replicate associations from published candidate-gene studies[J]. *Genet Epidemiol*, 2013, 37: 222-228.
- [27] SIMONELLI M, DIPASQUALE A, ORZAN F, LORENZI E, PERSICO P, NAVARRIA P, et al. Cerebrospinal fluid tumor DNA for liquid biopsy in glioma patients' management: close to the clinic?[J/OL]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2020, 146: 102879. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.102879.
- [28] SAMPSON J H, GUNN M D, FECCI P E, ASHLEY D M. Brain immunology and immunotherapy in brain tumours[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 12-25.
- [29] BOOS L, CAMPBELL I L, AMES R, WETSEL R A, BARNUM S R. Deletion of the complement anaphylatoxin C3a receptor attenuates, whereas ectopic expression of C3a in the brain exacerbates, experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2004, 173: 4708-4714.
- [30] OPSTAL-VAN WINDEN A W, VERMEULEN R C, PEETERS P H, BEIJNEN J H, VAN GILS C H. Early diagnostic protein biomarkers for breast cancer: how far have we come?[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 134: 1-12.
- [31] FRANCIS K, LEWIS B M, AKATSU H, MONK P N, CAIN S A, SCANLON M F, et al. Complement C3a receptors in the pituitary gland: a novel pathway by which an innate immune molecule releases hormones involved in the control of inflammation[J]. *FASEB J*, 2003, 17: 2266-2268.
- [32] AZIMI F, SCOLYER R A, RUMCHEVA P, MONCRIEFF M, MURALI R, MCCARTHY S W, 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: 2678-2683.
- [33] MATSUSHITA H, VESELY M D, KOBOLDT D C, RICKERT C G, UPPALURI R, MAGRINI V J, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting[J]. *Nature*, 2012, 482: 400-404.
- [34] PAN J H, ZHOU H, COOPER L, HUANG J L, ZHU S B, ZHAO X X, et al. LAYN is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric and colon cancers[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 6. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00006.
- [35] MILLER C P, THORPE J D, KORTUM A N, COY C M, CHENG W Y, OU YANG T H, et al. JAK2 expression is associated with tumor-infiltrating lymphocytes and improved breast cancer outcomes: implications for evaluating JAK2 inhibitors[J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2: 301-306.

[本文编辑] 商素芳