

PSMD2表达对非小细胞肺癌预后及免疫微环境的影响

张姣^{1*}, 訾瑞², 胡萍², 王燕¹

¹宁夏医科大学总医院肿瘤医院肿瘤内三科, 宁夏 银川

²宁夏医科大学总医院肿瘤医院肿瘤内一科, 宁夏 银川

收稿日期: 2023年12月17日; 录用日期: 2024年1月11日; 发布日期: 2024年1月18日

摘要

目的: 探索蛋白酶体26S亚基非ATP酶2 (Proteasome 26S Subunit, Non.ATPase2, PSMD2)在非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)患者中的表达特征、预后预测特征及对免疫微环境的影响。方法: 基于TCGA数据集中的肺腺癌(Lung adenocarcinoma, LUAD)和肺鳞癌(Lung squamous cell carcinoma, LUSC)相关数据以及GTEx数据集中的健康人相关数据, 利用TIMER2.0及GEPIA2在线工具进行基因表达差异分析; 利用GEPIA2进行生存分析, 并绘制Kaplan-Meier生存曲线, 分析PSMD2的预后意义; 利用TIMER2.0分析肿瘤组织中免疫细胞浸润情况, 采用CIBERSORT算法进行PSMD2表达水平与免疫细胞浸润的相关性预测。结果: PSMD2在LUAD和LUSC组织中高表达, PSMD2表达水平在不同分期NSCLC间具有显著差异($F = 4.59, P < 0.05$), PSMD2表达在LUAD和LUSC中分别进行分期分析时无显著差异。生存分析结果显示, LUAD患者中PSMD2高表达者OS明显短于低表达者($P < 0.05$), DFS无统计学差异, 而在LUSC患者中OS及DFS均无统计学意义。免疫浸润分析结果显示, 在LUAD中, PSMD2表达水平与Macrophage M0/M1及Neutrophil水平呈正相关, 而与B cell memory水平呈负相关; 在LUSC中, PSMD2表达水平与Macrophage M0水平呈正相关, 而与T cell CD8+, B cell memory以及Neutrophil水平呈负相关。结论: PSMD2在NSCLC中高表达; PSMD2高表达与NSCLC患者差的预后密切相关; PSMD2的表达水平与NSCLC肿瘤免疫相关。

关键词

非小细胞肺癌, PSMD2, 表达, 预后, 肿瘤免疫微环境

The Effect of PSMD2 Expression on the Prognosis and Immune Microenvironment of Non-Small Cell Lung Cancer

Jiao Zhang^{1*}, Rui Zi², Ping Hu², Yan Wang¹

*通讯作者。

¹The Third Department of Oncology, Tumor Hospital, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan Ningxia

²The First Department of Oncology, Tumor Hospital, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan Ningxia

Received: Dec. 17th, 2023; accepted: Jan. 11th, 2024; published: Jan. 18th, 2024

Abstract

Objective: Exploring the gene expression characteristics, prognostic prediction, and impact on the immune microenvironment of PSMD2 (Proteasome 26S Subunit, Non.ATPase2, PSMD2) in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. **Methods:** Related data of lung adenocarcinoma (LUAD) and lung squamous cell carcinoma (LUSC) were based on TCGA data set, and the related data of healthy people were based on GTEx data set. TIMER2.0 and GEPIA2 online tools were used to mine the expression difference; GEPIA2 was used for survival analysis and drawing Kaplan Meier survival curves to analyze the prognostic significance of PSMD2; TIMER2.0 was used to analyze the infiltration of immune cells in tumor tissue, and the CIBERSORT algorithm was used to predict the correlation between PSMD2 expression level and immune cell infiltration. **Results:** The PSMD2 expression increased in LUAD and LUSC tissues, and the expression level of PSMD2 showed significant differences among different stages of NSCLC ($F = 4.59, P < 0.05$). There is no significant difference in PSMD2 expression during stage analysis in LUAD and LUSC, respectively. The survival analysis results showed that in LUAD patients, those with increased expression of PSMD2 had significantly shorter OS than those with low expression ($P < 0.05$), and there was no significant difference in DFS. However, in LUSC patients, both OS and DFS were no statistically significant association. The results of immune infiltration analysis showed that in LUAD, the expression level of PSMD2 was positively correlated with Macrophage M0/M1 and Neutrophil levels, while negatively correlated with B cell memory levels; In LUSC, the expression level of PSMD2 is positively correlated with Macrophage M0 level, but negatively correlated with T cell CD8+, B cell memory, and Neutrophil levels. **Conclusion:** The expression of PSMD2 is increased in NSCLC; The increased expression of PSMD2 is closely related to the poor prognosis of NSCLC patients; The expression level of PSMD2 is associated with tumor immunity in NSCLC.

Keywords

Non-Small Cell Lung Cancer, PSMD2, Expression, Prognosis, Tumor Immune Microenvironment

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

2020 年全球癌症统计数据显示, 肺癌新发病例数达 220.7 万, 仅次于乳腺癌; 死亡病例数为 179.6 万, 位居所有恶性肿瘤首位[1], 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占 85%。肺癌癌(Lung adenocarcinoma, LUAD)和肺鳞状细胞癌(Lung squamous cell carcinoma, LUSC)是最常见的 NSCLC 病理亚型。近年来, 靶向治疗、免疫治疗以及抗体偶联药物(antibody-drug conjugates, ADC)的出现及飞快发展使肺癌的治疗模式发生了变革, NSCLC 的生存明显提高。但是整体 5 年生存率仍然较低[1] [2]。因此寻找更多的针对不同患者的精准治疗靶标仍然是亟需解决的问题。肿瘤微环境(tumor microenvironment,

TME)指肿瘤细胞或肿瘤干细胞存在的细胞环境,包括肿瘤细胞周围的相关免疫细胞(巨噬细胞、DC、NK细胞、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、B细胞、中性粒细胞等)、肿瘤相关非免疫细胞(成纤维细胞、脂肪细胞等)、细胞外基质等组成,其在许多恶性肿瘤的发生、进展和转移中起关键作用。

蛋白酶体 26S 亚基非 ATP 酶 2 (Proteasome 26S Subunit, Non.ATPase2, PSMD2)已被证实是多种肿瘤中的癌基因。PSMD2 的过表达与细胞增殖、肿瘤浸润和转移相关。研究表明 PSMD2 在多种肿瘤中过表达,包括乳腺癌、胃癌、膀胱癌、食管癌等,并可以预测乳腺癌、胃癌、食管癌等的不良预后[3] [4] [5] [6]。另外,越来越多的研究提示 PSMD2 与多种肿瘤的免疫抑制密切相关[3] [7] [8] [9]。然而,PSMD2 在 NSCLC 中的作用及其机制尚不明确,国内尚无相关研究报道。

本研究主要通过公共数据挖掘对 PSMD2 进行全面的生物信息学分析,以探讨 PSMD2 在 NSCLC 患者中的表达特征、预后预测特征及对免疫微环境的影响,以期寻找潜在的预后预测指标、治疗靶点并指导个体化免疫治疗。

2. 材料与方法

2.1. 数据来源

从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)公共数据库(<https://link.zhihu.com/?target=https%3A/www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>)获得 LUAD 与 LUSC 患者肿瘤组织与正常组织基因表达数据,其中包括 LUAD 患者肿瘤组织数 483 例及正常组织数 347 例,LUSC 患者肿瘤组织数据 486 例及正常组织数据 338 例。此外纳入来自 GTEx (Genotype-Tissue Expression)公共数据集(<https://www.gtexportal.org/home/>)的健康人肺组织基因表达数据 288 例作为补充。LUAD、LUSC 和正常肺组织免疫组化数据来自人类蛋白质图谱(Human Protein Atlas, HPA)数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)。LUAD 与 LUSC 患者临床资料亦来自 TCGA 数据库。

2.2. 表达差异分析

利用 TIMER2.0 及 GEPIA2 在线工具进行基因表达差异分析,设定筛选条件为对数 2 倍变化(\log_2FC) = 1 且相应的矫正后 P 值 < 0.01 表示表达差异,对目标基因 PSMD2 在肿瘤组织和正常组织中的表达水平进行比较,同时比较 PSMD2 表达水平在 LUAD 和 LUSC 不同分期的差异。

2.3. 生存分析

利用 GEPIA2 软件对 TCGA 公共数据集中 LUAD 和 LUSC 样本进行生存分析。以 LUAD/LUSC 样本中 MEIS1 基因表达中位数为临界值(cut-off = 50%),用 Log-rank 检验分析 PSMD2 表达与 LUAD/LUSC 患者总生存期(overall survival, OS)及无病生存期(event-free survival, EFS)的相关性,并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,分析 PSMD2 的预后意义。

2.4. 免疫微环境影响分析

利用 TIMER2.0 在线工具分析 TCGA 公共数据集中 LUAD 和 LUSC 肿瘤组织中免疫细胞浸润情况。采用 CIBERSORT 算法进行 PSMD2 表达水平与免疫细胞浸润的相关性预测,包括 CD8+ T 细胞、CD4+ T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞。

2.5. HPA 数据库免疫组化分析

利用 HPA 数据库检索病理图谱中的“PSMD2”(“肺癌”为癌类型)。检查了每一幅图像的细节,并选择了 LUAD/LUSC 中具有代表性的癌症和邻近样本的图像。

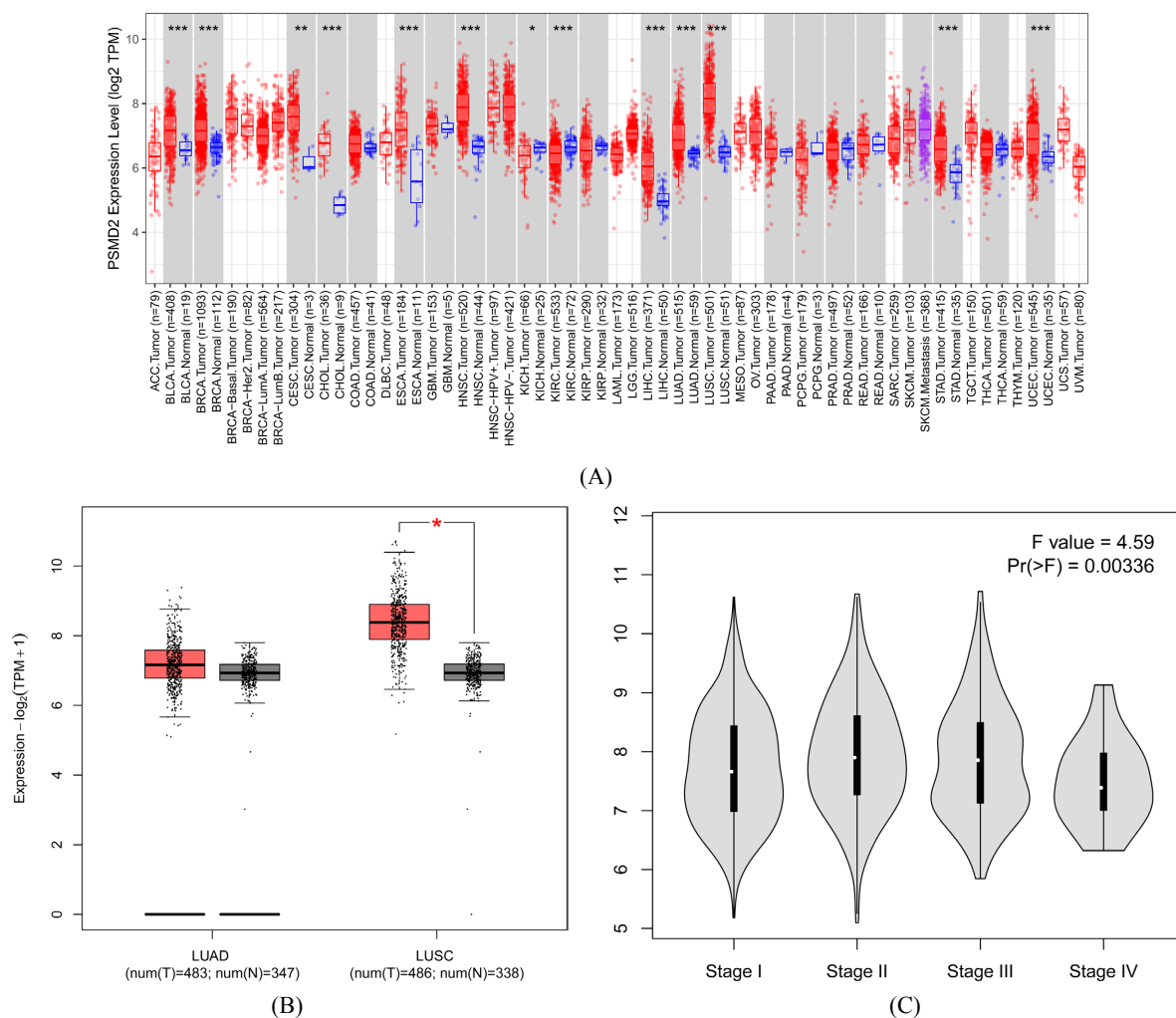
2.6. 统计学处理

本研究统计学分析均通过在线网站 GEPIA2、TIMER2.0 及 HPA 完成。表达差异采用 ANOVA 算法计算,以性别、年龄、种族和疾病状态(肿瘤或正常)作为变量,用 Benjamini-Hochberg 法计算伪发现率(false discovery rate, FDR)获得多重检验调整后 P 值。统计学差异设定为 $P < 0.05$ 。生存分析采用 Log-rank 检验并计算 Cox 风险比 HR 和 95%置信区间。

3. 结果

3.1. PSMD2 在 NSCLC 表达情况

为了研究肿瘤和正常组织之间 PSMD2 表达水平的差异,我们使用 TIMER2.0 和 GEPIA2 分析 TCGA 数据。TIMER2.0 将 TCGA 肿瘤组织与正常组织匹配,GEPIA2 将 TCGA 肿瘤组织与 GTEx 数据匹配。应用 TIMER2.0 分析肿瘤组织样本和正常组织样本,结果(图 1(A))显示 LUAD 和 LUSC 组织中 PSMD2 表达水平显著高于正常组织。我们还发现,PSMD2 在大多数实体肿瘤中高表达,包括膀胱肿瘤、乳腺癌、宫颈鳞癌、头颈部鳞癌等。应用 GEPIA2 的分析结果也证实了 PSMD2 在 LUAD 和 LUSC 组织中高表达(图 1(B))。PSMD2 表达水平在不同分期 NSCLC 间具有显著差异($F = 4.59$, $P < 0.05$, 图 1(C)),在 LUAD 和 LUSC 中分别进行分期分析时,PSMD2 表达无显著差异(图 1(D)和图 1(E))。



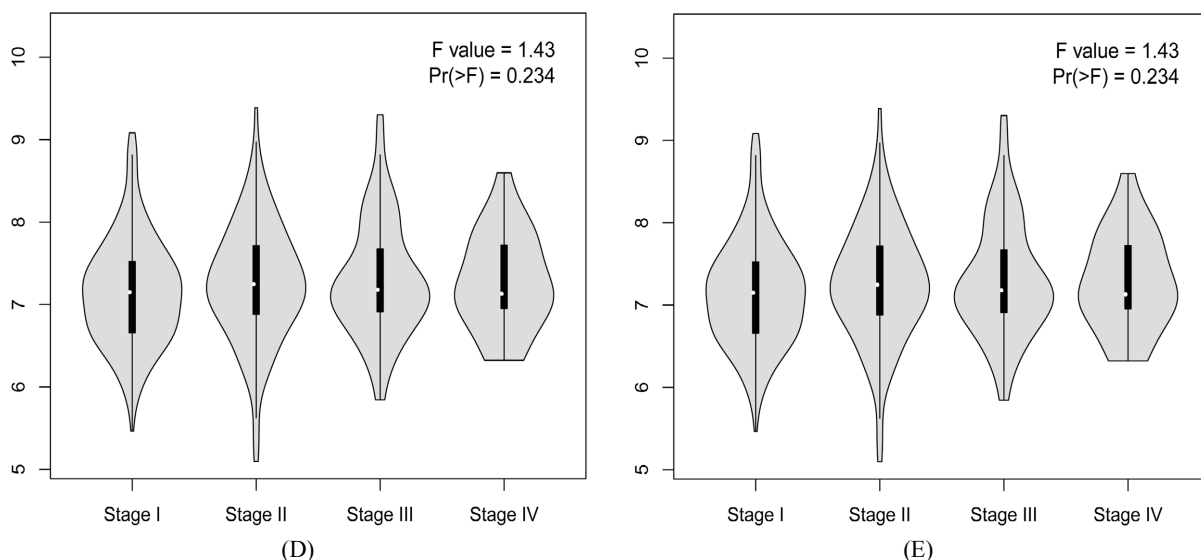


Figure 1. (A) The expression of PSMD2 in pan carcinoma; (B) The expression of PSMD2 in LUAD and LUSC; (C) The expression of PSMD2 in different stages of non-small cell lung cancer; (D) The expression of PSMD2 in different stages of LUAD; (E) The expression of PSMD2 in different stages of LUSC

图 1. (A) PSMD2 在泛癌中的表达; (B) PSMD2 在 LUAD 和 LUSC 中的表达; (C) PSMD2 在不同分期 NSCLC 的表达; (D) PSMD2 在不同分期 LUAD 中的表达; (E) PSMD2 在不同分期 LUSC 中的表达

3.2. HPA 数据库免疫组化分析

在 HPA 在线数据库中进行免疫组化分析(抗体: HPA062363), 结果显示 PSMD2 蛋白在正常肺组织的肺泡细胞中不表达, 在巨噬细胞中呈中度染色, 而在 LUAD 及 LUSC 组织样本中染色均呈现中 - 重度染色, 提示 PSMD2 在 NSCLC 中表达水平增加(图 2)。

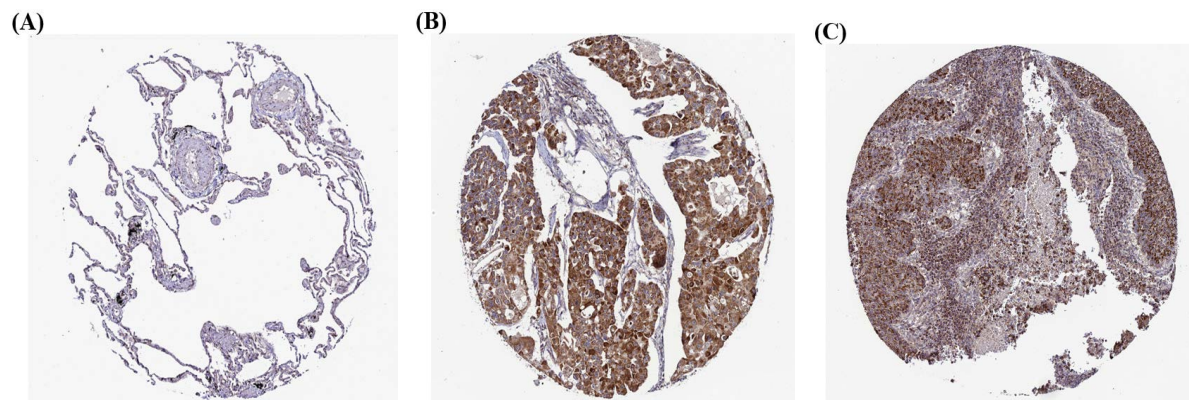


Figure 2. High expression of PSMD2 in LUAD and LUSC

图 2. PSMD2 在 LUAD 和 LUSC 中高表达

3.3. PSMD2 对 NSCLC 患者预后的影响

应用 GEPIA2 进行生存分析结果显示, LUAD 患者中 PSMD2 高表达者 OS 明显短于低表达者($P < 0.05$) (图 3(A)), DFS 无统计学差异(图 3(B)); 而在 LUSC 患者中 OS 及 DFS 均无统计学意义(图 3(C)和图 3(D))。HPA 数据库生存分析显示 PSMD2 是 NSCLC 的预后预测因子, PSMD2 高表达与差的预后密切相关(图 3(E))。

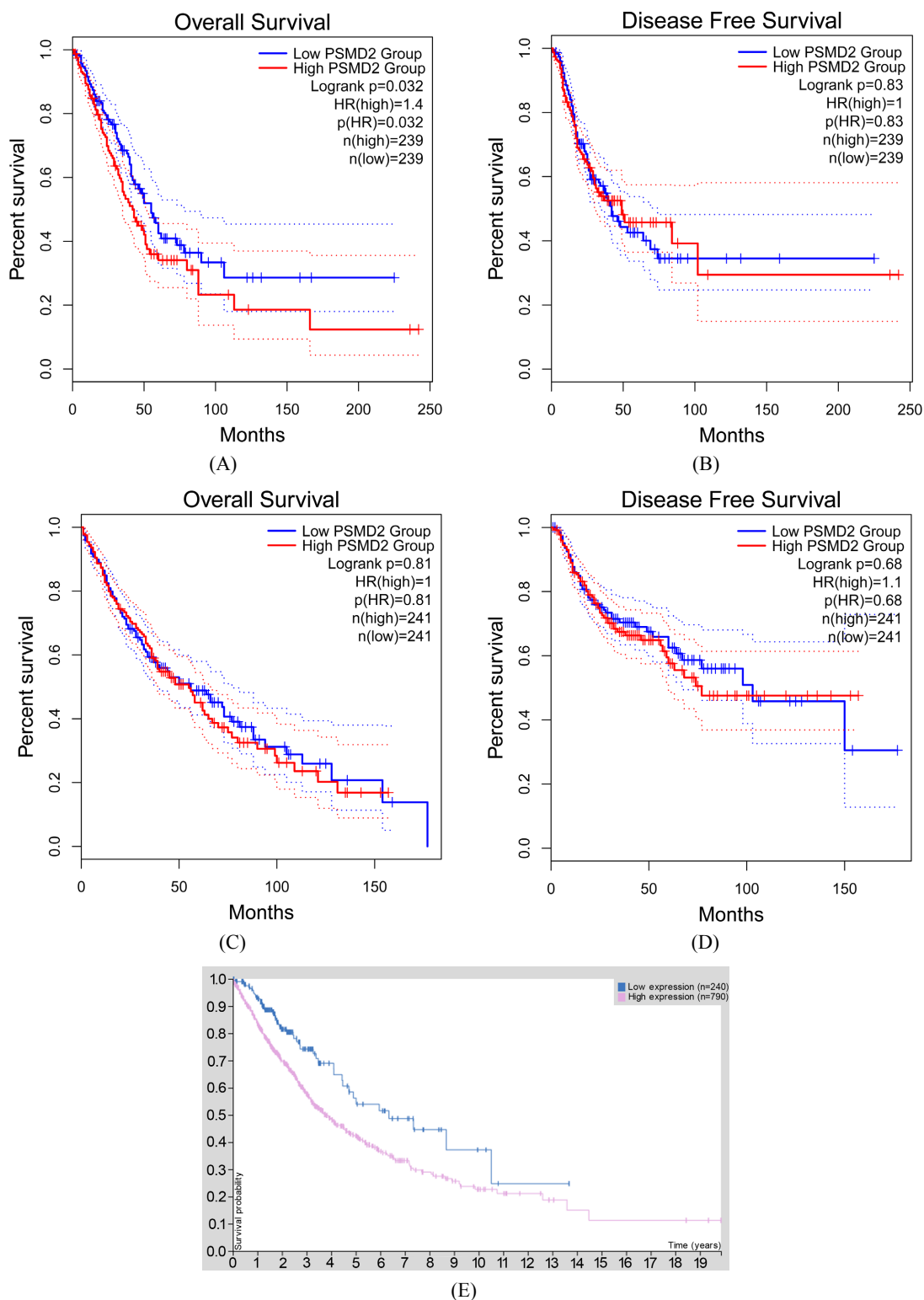


Figure 3. (A), (B) The impact of PSMD2 expression on overall survival and disease-free survival in patients with LUAD; (C), (D) The impact of PSMD2 expression on overall survival and disease-free survival in patients with LUSC; (E) Correlation between PSMD2 and prognosis of NSCLC

图 3. (A), (B) PSMD2 的表达对 LUAD 患者总生存期及无病生存期的影响; (C), (D) PSMD2 的表达对 LUSC 患者总生存期及无病生存期的影响; (E) PSMD2 与 NSCLC 预后的相关性

3.4. PSMD2 表达对 NSCLC 肿瘤免疫微环境的影响

利用 TIMER2.0 采用 CIBERSORT 算法得到的免疫浸润程度对比分析发现, 在 LUAD 中, PSMD2 表达水平与 Macrophage M0/M1 及 Neutrophil 水平呈正相关, 而与 B cell memory 水平呈负相关(图 4(A)); 在 LUSC 中, PSMD2 表达水平与 MacrophageM0 水平呈正相关, 而与 T cell CD8+, B cell memory 以及 Neutrophil 水平呈负相关(图 4(B))。结果说明, PSMD2 表达水平不同, 免疫浸润类型及浸润程度均不同。

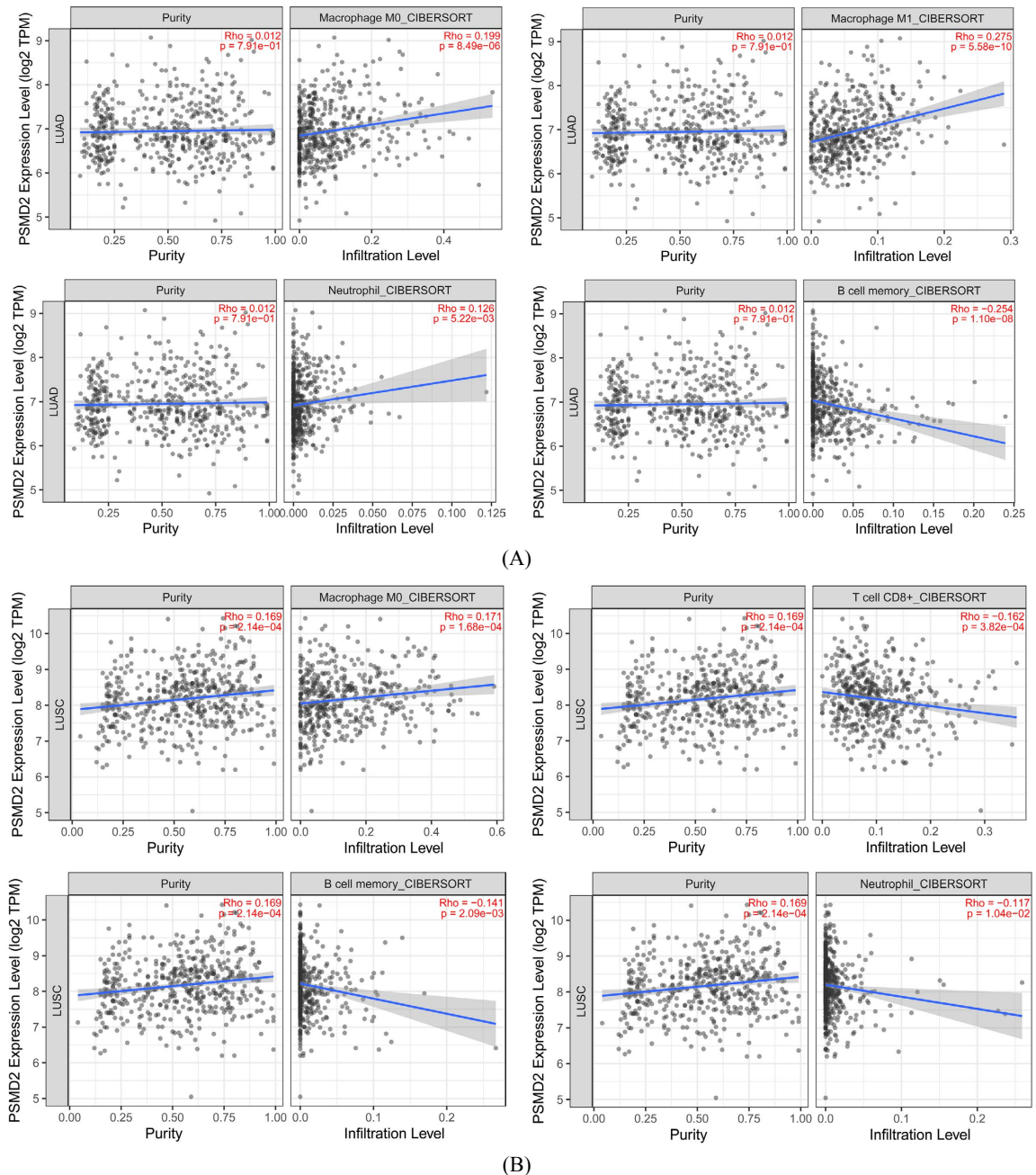


Figure 4. (A) Correlation prediction of PSMD2 expression in different kinds of immune cell in LUAD; (B) Correlation prediction of PSMD2 expression in different kinds of immune cell in LUSC

图 4. (A) PSMD2 表达水平与 LUAD 中不同免疫细胞浸润水平相关性预测; (B) PSMD2 表达水平与 LUSC 中不同免疫细胞浸润水平相关性预测

4. 讨论

本研究基于公共数据挖掘对 NSCLC 中 PSMD2 基因的表达特征、预后预测以及免疫浸润等特征进行了全面分析。结果显示在 LUAD 和 LUSC 组织中 PSMD2 表达水平均显著增高,并且 LUAD 患者中 PSMD2 高表达者 OS 明显短于低表达者,提示该基因表达量的增高与 LUAD 患者差的预后密切相关,这与 Zhao 等的研究结论相符[7]。但在 LUSC 中未发现 PSMD2 与患者生存相关。同样的,HPA 数据库免疫组化分析显示,PSMD2 在 NSCLC 中高表达,且高表达者生存较差。这些发现均与既往研究结论相符[10]。本研究中,PSMD2 表达水平在不同分期 NSCLC 间具有显著差异,但在 LUAD 和 LUSC 中分别进行分期分析时,PSMD2 表达无显著差异,这可能与病例数少有关。上述发现提示 PSMD2 可能参与了 LUAD 的促进肿瘤发展作用并且 PSMD2 可以作为 NSCLC 尤其是 LUAD 的潜在预后标志物,也有望作为治疗 NSCLC 的潜在治疗靶点进行更深入的研究。

免疫细胞是 TME 的重要组成部分,由于 TME 的复杂性、动态性,免疫细胞会分化为不同表型、不同代谢特点以及不同功能的亚群,分别起到抗肿瘤或促肿瘤的作用[11][12]。巨噬细胞通常根据其不同的表面分子表达、分泌谱和功能被分为促炎的 M1 型巨噬细胞和抗炎的 M2 型巨噬细胞。但实际上巨噬细胞真正的分型远比二分类更为复杂,并且他们之间的分解是模糊的,存在着更多的过度亚型[13]。CD8+ T 细胞在抗肿瘤免疫反应中发挥着非常重要的作用,活化的 CD8+ T 细胞负责肿瘤细胞的识别和裂解。B 细胞在免疫系统中承担着重要作用,主要通过产生抗体、刺激性细胞因子和趋化因子增强 T 细胞反应,并作为局部抗原提呈细胞,组织形成维持免疫反应的三级淋巴结构,使 B 细胞产生抗肿瘤作用[14]。中性粒细胞作为天然免疫细胞在肿瘤微环境中大量浸润,发挥对肿瘤杀手——CD8+ T 细胞的免疫调节作用[15]。本研究结果显示,在 LUAD 中,PSMD2 表达水平与 M0/M1 型巨噬细胞、中性粒细胞水平呈正相关,与 B 记忆细胞水平呈负相关;在 LUSC 中,PSMD2 表达水平与 M0 型巨噬细胞水平呈正相关,而与 CD8+ T 细胞、记忆 B 细胞以及中性粒细胞水平呈负相关。提示 PSMD2 表达可能在一定程度上促进免疫细胞浸润,可能起到积极的抗肿瘤免疫作用。

尽管我们的研究结果初步表明 PSMD2 可作为 NSCLC 潜在的预后生物标志物并且与免疫浸润密切相关。但该研究仍有一定局限性。首先本研究基于数据库数据分析所得的结果,仍有待进一步研究验证。另外,肿瘤微环境是一个相对复杂的动态系统,免疫浸润细胞在肿瘤的发生及发展中起关键作用,但机制复杂,需要更为严谨综合的机制研究验证。本研究结果可为 NSCLC 提供更精准的预后指导及治疗靶点。

基金项目

宁夏自然科学基金(2022AAC03602)。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E., et al. (2021) Cancer Statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21654>
- [2] Xu, M., Luo, J. and Xu, R. (2023) Advances in the Treatment of EGFR Exon 20ins Mutant NSCLC. *Chinese Journal of Lung Cancer*, **26**, 151-157.
- [3] Wang, S., Wang, H., Zhu, S., et al. (2022) PSMD2 Promotes the Progression of Bladder Cancer and Is Correlated with Immune Infiltration. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article 1058506. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1058506>
- [4] Zhang, Z., Li, H., Zhao, Y., et al. (2019) Asporin Promotes Cell Proliferation via Interacting with PSMD2 in Gastric Cancer. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, **24**, 1178-1189. <https://doi.org/10.2741/4774>
- [5] Li, Y., Huang, J., Zeng, B., et al. (2018) PSMD2 Regulates Breast Cancer Cell Proliferation and Cell Cycle Progression by Modulating P21 and P27 Proteasomal Degradation. *Cancer Letters*, **430**, 109-122.

- <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.05.018>
- [6] Liu, Y., Wu, M., Xu, S., *et al.* (2023) PSMD2 Contributes to the Progression of Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Repressing Autophagy. *Cell & Bioscience*, **13**, Article No. 67. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-01016-4>
- [7] Zhao, H. and Lu, G. (2022) Prognostic Implication and Immunological Role of PSMD2 in Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article 905581. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.905581>
- [8] Wu, C.C., Kao, T.J., Ta, H.D.K., *et al.* (2021) Prognostic and Immune Infiltration Signatures of Proteasome 26S Subunit, Non-ATPase (PSMD) Family Genes in Breast Cancer Patients. *Aging (Albany NY)*, **13**, 24882-24913. <https://doi.org/10.18632/aging.203722>
- [9] Shen, B., Zhang, G., Liu, Y., *et al.* (2022) Identification and Analysis of Immune-Related Gene Signature in Hepatocellular Carcinoma. *Genes*, **13**, 1834. <https://doi.org/10.3390/genes13101834>
- [10] Matsuyama, Y., Suzuki, M., Arima, C., *et al.* (2011) Proteasomal Non-Catalytic Subunit PSMD2 as a Potential Therapeutic Target in Association with Various Clinicopathologic Features in Lung Adenocarcinomas. *Molecular Carcinogenesis*, **50**, 301-309. <https://doi.org/10.1002/mc.20632>
- [11] Hinshaw, D.C. and Shevde, L.A. (2019) The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression. *Cancer Research*, **79**, 4557-4566. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3962>
- [12] Long, W., Chen, J., Gao, C., Lin, Z., Xie, X. and Dai, H. (2021) Brief Review on the Roles of Neutrophils in Cancer Development. *Journal of Leukocyte Biology*, **109**, 407-413. <https://doi.org/10.1002/JLB.4MR0820-011R>
- [13] Boutilier, A.J. and Elsawa, S.F. (2021) Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 6995. <https://doi.org/10.3390/ijms22136995>
- [14] Hao, D., Han, G., Sinjab, A., *et al.* (2022) The Single-Cell Immunogenomic Landscape of B and Plasma Cells in Early-Stage Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discovery*, **12**, 2626-2645. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1658>
- [15] Meng, Y., Ye, F., Nie, P., Zhao, Q., An, L., Wang, W., Qu, S., Shen, Z., Cao, Z., Zhang, X., Jiao, S., Wu, D., Zhou, Z. and Wei, L. (2023) Immunosuppressive CD10⁺ALPL⁺ Neutrophils Promote Resistance to Anti-PD-1 Therapy in HCC by Mediating Irreversible Exhaustion of T Cells. *Journal of Hepatology*, **79**, 1435-1449. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.08.024>