

血管紧张素II受体2型在乳腺癌患者中的表达及生物学意义

李健^{1*}, 王颜^{2#}

¹泰安市中心医院, 山东 泰安

²山东农业大学, 山东 泰安

Email: my-lj@163.com, #emily_wang@sdau.edu.cn

收稿日期: 2021年9月8日; 录用日期: 2021年9月29日; 发布日期: 2021年10月12日

摘要

目的: 运用生物信息学的方法探讨血管紧张素II受体2型(AGTR2)基因在乳腺癌患者中的表达、预后意义及与免疫浸润之间的关系。方法: 我们在多个数据库中探讨了AGTR2在乳腺癌中的表达模式和预后价值, 包括Ualcan、Bc-GenExMiner v4.7和Kaplan-Meier Plotter数据库。然后, 我们使用TIMER数据库研究了乳腺癌中AGTR2表达和免疫细胞浸润之间的相关性。结果: 我们发现乳腺癌肿瘤组织中AGTR2的表达水平显著低于癌旁组织, AGTR2的高表达水平有助于乳腺癌患者的生存。在乳腺癌中, AGTR2表达与多种免疫细胞(包括CD8+ T细胞、CD4+ T细胞)之间存在显著正相关($p < 0.05$), 与肿瘤纯度显著负相关($p < 0.05$)。总之, AGTR2可作为乳腺癌的预后生物标志物, 并可能与免疫细胞浸润相关。

关键词

乳腺癌, 血管紧张素II受体2型(AGTR2), 预后, 免疫浸润

Expression and Biological Significance of Angiotensin II Receptor Type 2 in Breast Cancer Patients

Jian Li^{1*}, Yan Wang^{2#}

¹Tai'an Central Hospital, Tai'an Shandong

²Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong

Email: my-lj@163.com, #emily_wang@sdau.edu.cn

*第一作者。

#通讯作者。

Abstract

Objective: Bioinformatics methods were used to investigate the gene expression of angiotensin II receptor type 2 (AGTR2), its prognostic significance and relationship with immune cell infiltration in breast cancer patients. **Methods:** We explored the expression pattern and prognostic value of AGTR2 in breast cancer in multiple databases, including Ualcan, Bc-GenExMiner v4.7 and Kaplan-Meier Plotter databases. Then, the TIMER database was used to study the correlation between AGTR2 expression and immune cell infiltration in breast cancer. **Results:** We found that the expression level of AGTR2 in breast cancer tumor tissues was significantly lower than that in adjacent tissues. The high expression level of AGTR2 contributes to the survival of breast cancer patients. In breast cancer, AGTR2 expression is significantly positively correlated with a variety of immune cells (including CD8+ T cells, CD4+ T cells) ($p < 0.05$), and significantly negatively correlated with tumor purity ($p < 0.05$). In short, AGTR2 can be used as a prognostic biomarker of breast cancer and is probably related to immune cell infiltration.

Keywords

Breast Cancer, Angiotensin II Receptor Type 2 (AGTR2), Prognosis, Immune Infiltration

Copyright © 2021 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

根据《2018年全球癌症统计》[1]的最新报告, 乳腺癌(BC)已成为女性发病率最高的癌症, 占全球女性新发癌症病例的近 24.2%, 是导致死亡的主要原因。乳腺癌的发病率和死亡率逐年上升[2]。尽管在过去的几十年里, 乳腺癌的治疗取得了很大进展, 但由于复发和转移率高, 乳腺癌患者的长期预后仍然很差。乳腺癌是由五种分子亚型组成的异质性疾病, 根据生物分子标记物的类型需要不同的治疗方法[3]。因此, 寻找治疗乳腺癌的新靶点以及开发诊断和预后标志物是迫切需要的, 可以提供早期有效的治疗。改进的预后标志物将有助于为乳腺癌患者制定个性化的治疗方案[4]。

高血压目前是世界上的一种流行性疾病[5], 英国伦敦帝国理工学院 Christakoudi 等报告, 高血压与肾癌和食管鳞状细胞癌正相关, 与头颈部癌症等的相关性较弱; 但与宫颈鳞癌和淋巴瘤存在较弱的负相关[6], 我们以前的研究表明高血压与肺癌之间存在一定的关系, 使用降压药物可改善肺癌病人的预后[7]。最近的荟萃分析观察到高血压和乳腺癌风险之间呈正相关, 并有研究支持高血压作为与乳腺癌相关的独立危险因素, 且与被诊断患有乳腺癌的女性的存活率降低有关[8]。肾素 - 血管紧张素系统(RAS), 一直被认为是作用于维持心血管自身稳定, 尤其对血压的调节有重要意义。高血压的发病机理之一就是 RAS 学说, 肾素 - 血管紧张素系统(RAS)在血压维持中起着重要作用, 并且可能是高血压发展的病因因素。其中血管紧张素 II 受体作用是通过两种不同的亚型直接和间接介导, 包括 1 型(AGTR1)和 2 型(AGTR2) [9], AGTR1 和 AGTR2 均是 G 蛋白偶联受体(GPCR)超家族的成员, 并且以其在血管生物学中的作用而闻名

[10]。有研究表明, 血管紧张素 1 型受体的激活可以使得肿瘤细胞增殖转移, 激活血管紧张素 II 型受体则可抑制小鼠胰腺癌细胞的生长与转移, 使得细胞凋亡, 两者作用为负相关[11]。AGTR1 可作为 ER 阳性和 ERBB2 阴性乳腺癌病例的治疗靶点[12], 并能预测转移性乳腺癌患者对化疗和贝伐单抗(AVALUZ 研究)的药物敏感性[13]。AGTR2, 目前研究可能是使新型冠状病毒(SARS-CoV-2)进入人体细胞的新型关键基因[14], 但是 AGTR2 在乳腺癌中的作用还不是很清楚, 有数据将 AGTR2 与乳腺癌中的细胞增殖联系起来, 另一方面, 其他研究表明 AGTR2 与乳腺癌细胞增殖之间没有关系[15]。因此本研究想通过生物信息学的方法研究 AGTR2 在乳腺癌中的表达及临床意义。

2. 资料与方法

2.1. Ualcan 数据库分析 AGTR2 基因的 mRNA 表达水平

UALCAN 数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/>)是一个有效的癌症数据在线分析和挖掘的网站, 主要是基于 TCGA 数据库中的相关癌症数据进行分析。我们使用这个数据库分析 AGTR2 基因在乳腺癌和癌旁组织中的表达水平差异。

2.2. Bc-GenExMiner v4.7 和 KM-Plotter 数据库网站分析 AGTR2 基因与乳腺癌的预后关系

Bc-GenExMiner v4.7 数据库(<http://bcgenex.centregauducheau.fr/BC-GEM/GEM-Aide.php>)是一个用户友好的专门针对乳腺癌的各种芯片和测序数据的统计挖掘工具, 包含大量已发表的注释基因组数据, 可以对表达、预后和相关性进行统计。Kaplan-Meier Plotter (<https://kmplot.com/analysis/>)数据库是基于 GEO, TCGA 等公共数据库的基因芯片和 RNA-seq 数据构成, 评估了 54,675 个基因在 21 种癌症中对于生存率的影响, 包括乳腺癌(6234 例)、卵巢癌(2190 例)、肺癌(3452 例)和胃癌(1440 例)。Kaplan-Meier Plotter 数据库通过整合基因表达信息以及临床预后价值进行 Meta 分析以及生存相关分子标志物的研究、发现以及验证。我们主要搜索基因表达与患者预后方面的关系, 包括 OS, RFS, DMFS 和 PPS, 跨越大量公开可用的癌症微阵列数据集。阈值调整为 Cox P 值 < 0.05。

2.3. 血管紧张素 II 受体 2 型和免疫细胞浸润之间的相关性分析

TIMER 提供了一个用户友好的 Web 界面, 用于动态分析不同癌症类型的免疫细胞浸润。TIMER 从 32 种癌症类型的 10,897 个肿瘤中计算六个筛选肿瘤免疫亚组的水平。我们分析了 AGTR2 在乳腺癌中的表达并确定了 AGTR2 表达与 6 种免疫细胞(包括 B 细胞、CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞)之间的相关性。基因表达和肿瘤纯度之间的关系也被检测。

2.4. 统计学分析

Ualcan 数据库分析 AGTR2 在乳腺癌和癌旁组织中的 mRNA 表达水平差异使用 limma 计算方法。Bc-GenExMiner v4.7、Kaplan-Meier Plotter 用于获得生存曲线, 结果显示为 HR 和 P 值或来自 logrank 测试的 Cox P 值。小于 0.05 的 p 值被认为表明有显著差异。

3. 结果

3.1. AGTR2 在乳腺癌中基因水平的表达差异

首先, 我们使用 Ualcan 数据库分析了 AGTR2 在乳腺癌和癌旁组织中的信使 RNA (mRNA) 表达水平, 根据结果, 与正常组织相比, AGTR2 在乳腺癌中的表达降低($p = 0.008615$) (见图 1)。

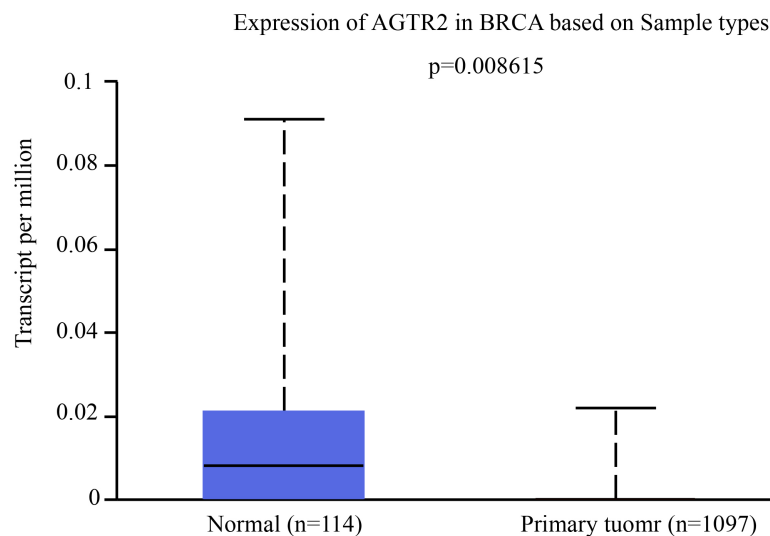
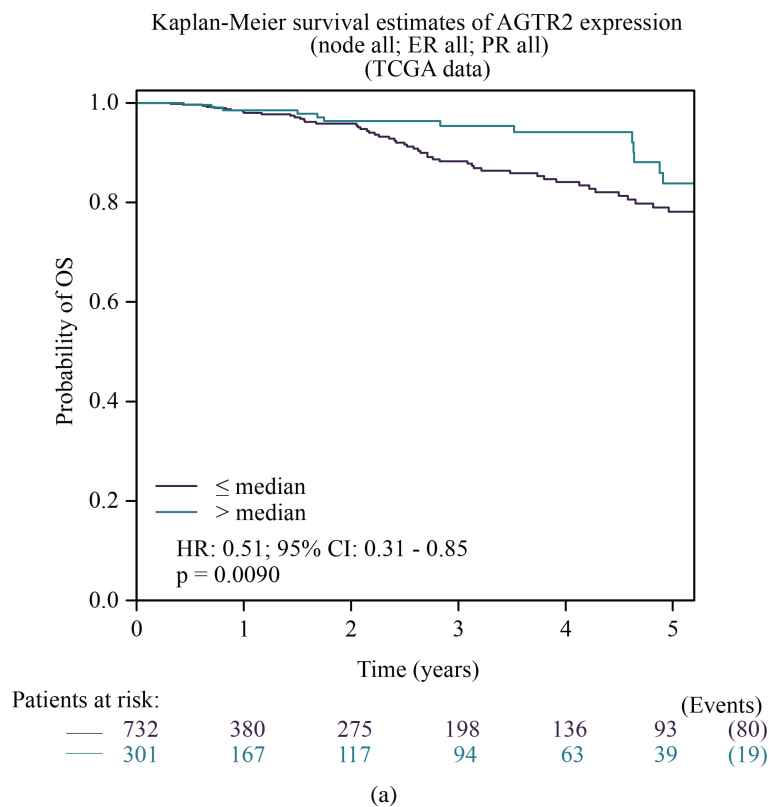


Figure 1. Differential expression of angiotensin II receptor type 2 (AGTR2) in breast cancer and adjacent tissues

图 1. 血管紧张素 II 受体 2 型(AGTR2)在乳腺癌和癌旁组织的表达差异

3.2. AGTR2 在乳腺癌中的预后分析

接下来, 我们使用 Bc-GenExMiner v4.7 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 AGTR2 在乳腺癌中的预后价值。结果显示 AGTR2 表达与乳腺癌的预后显著相关。AGTR2 在总生存(OS), 无复发生存率(RFS) 方面表明均对乳腺癌有保护作用($p < 0.05$) (见图 2(a), 图 2(b))。



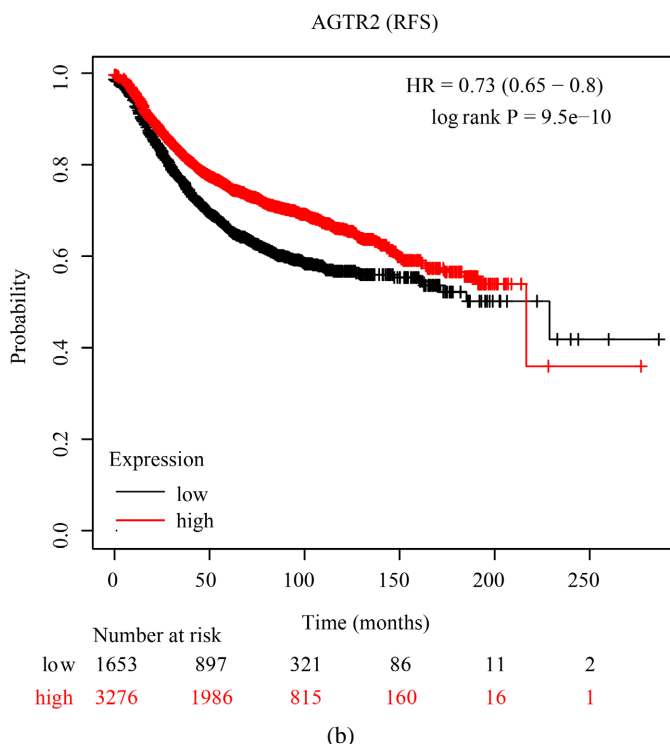


Figure 2. The prognosis of angiotensin II receptor type 2 (AGTR2) in breast cancer, OS (Overall Survival), RFS (Relapse-Free Survival)

图 2. 血管紧张素 II 受体 2 型 (AGTR2) 在乳腺癌的预后, OS (总生存), RFS (无复发生存)

3.3. AGTR2 表达与免疫细胞浸润的关系

肿瘤微环境(TME)中的免疫细胞可以积极影响患者的生存。因此,我们探讨了 AGTR2 表达与免疫细胞浸润之间的关系。我们通过 TIMER 数据库计算了乳腺癌中 AGTR2 表达和免疫细胞浸润水平之间的相关系数。结果显示, AGTR2 表达与肿瘤纯度呈显著负相关($r = -0.192$, $p = 9.31e-10$), 与 CD8+ T 细胞($r = 0.114$, $p = 3.45e-04$)、CD4+ T 细胞($r = 0.102$, $p = 1.50e-03$)显著正相关(见图 3)。这与我们在 Bc-GenExMiner v4.7 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库中的发现一致, AGTR2 在乳腺癌中可能具有保护作用, 因此它与免疫浸润淋巴细胞呈现正相关。

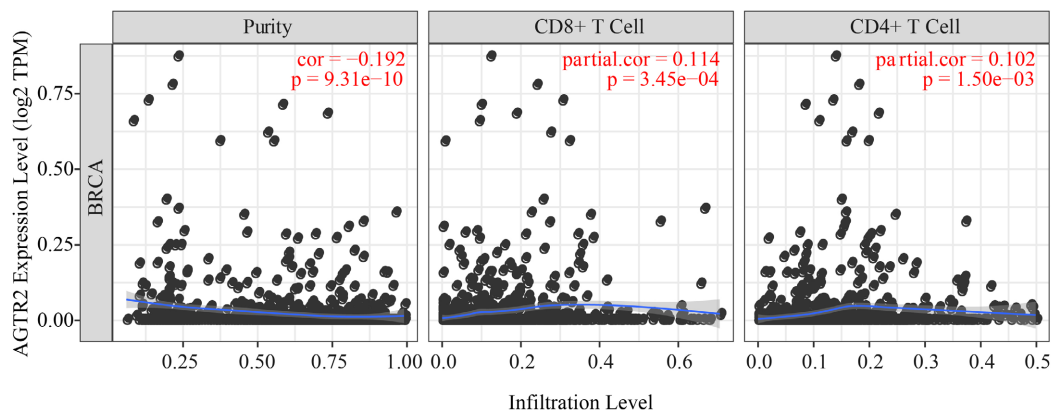


Figure 3. The relationship between AGTR2 and immune cell infiltration

图 3. AGTR2 与免疫细胞浸润的关系

4. 讨论

血管紧张素 II (Ang II) 是肾素血管紧张素系统主要的效应肽, 主要介导血压和体液平衡, 在肿瘤的发生发展、血管生成和转移中的起作用。大量实验表明, AngII 通过其 1 型、2 型受体参与肿瘤细胞的增殖、迁移、浸润和肿瘤血管形成[16], 其中所有经典功能, 如血管收缩、刺激醛固酮合成、血管生成和细胞生长, 主要由 AGTR1 介导。相反, AGTR2 的刺激导致细胞凋亡、增殖减少、血管舒张和血管愈合[17]。有研究表明, AGTR1 和 AGTR2 的双重调节可能是一种通过抑制癌细胞存活和抗血管生成来治疗上皮性卵巢癌的新策略[18]。但其在乳腺癌中的价值尚未有研究。在本研究中, 我们旨在通过生物信息学分析来研究 AGTR2 在乳腺癌中的表达和预后价值及与免疫细胞浸润的关系。我们的结果表明 AGTR2 在乳腺癌中表达降低, 对乳腺癌的预后起一定的保护作用, 并可以促进肿瘤微环境中的免疫细胞浸润。AGTR2 通过调节免疫微环境影响肿瘤的机制尚不清楚; 我们的研究表明 AGTR2 可能通过癌症免疫影响肿瘤预后。我们进一步观察到 AGTR2 的表达与 CD8+ T 细胞、CD4+ T 细胞最密切相关。这些结果表明 AGTR2 可能在肿瘤免疫细胞杀伤中发挥重要作用。这也是我们未来研究的一个潜在研究方向。

虽然我们整合了来自多个数据库的信息, 但这项研究仍有一些局限性。未来需要调查更多的临床数据, 以阐明 AGTR2 与癌症患者临床特征之间的关系。此外, 本研究仅涉及 AGTR2 表达和患者生存率的生物信息学分析; 未进行任何体内或体外实验。这些实验将需要进一步解释 AGTR2 作用的具体机制。

5. 结论

总之, AGTR2 可以影响乳腺癌预后, 并可能与免疫细胞浸润相关, 可以作为乳腺癌预后生物标志物。这些发现可能为下一步临床治疗提供依据。

基金项目

泰安市科技发展规划(引导计划)项目(2018NS0222)和国家自然科学基金资助项目(61703250)。

参考文献

- [1] Bray, F., *et al.* (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Momenimovahed, Z. and Salehiniya, H. (2019) Epidemiological Characteristics of Risk Factors for Breast Cancer in the World. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, **11**, 151-164. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>
- [3] Goldhirsch, A., Winer, E.P., Coates, A.S., *et al.* (2011) Strategies for Subtypes—Dealing with the Diversity of Breast Cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, **22**, 1736-1747. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr304>
- [4] Koo, T.R., Eom, K.Y., Kang, E.Y., *et al.* (2013) Prognostic Value of the Nodal Ratio and Ki-67 Expression in Breast Cancer Patients Treated with Postmastectomy Radiotherapy. *Journal of Breast Cancer*, **16**, 274-284. <https://doi.org/10.4048/jbc.2013.16.3.274>
- [5] 潘金鹏, 杜芯瑜, 崔鹏, 等. 高血压住院患者情况分析[J]. 临床医学进展, 2020, 10(9): 2174-2179.
- [6] 李金红. 血压与癌症风险的相关性分析[J]. 抗癌之窗, 2019(4): 80-81.
- [7] 李健. 高血压和肾素-血管紧张素系统阻断剂对肺癌病人结局的影响[D]: [博士学位论文]. 济南: 山东大学, 2017.
- [8] Patterson, R.E., Flatt, S.W., Saquib, N., *et al.* (2010) Medical Comorbidities Predict Mortality in Women with a History of Early Stage Breast Cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, **122**, 859-865. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0732-3>
- [9] Mottl, A.K., Shoham, D.A. and North, K.E. (2008) Angiotensin II Type 1 Receptor Polymorphisms and Susceptibility to Hypertension: A HuGE Review. *Genetics in Medicine*, **10**, 560-574. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181809613>

-
- [10] Ekambaram, P., Lee, J.-Y.L., Hubel, N.E., *et al.* (2017) The CARMA3-Bcl10-MALT1 Signalosome Drives NF- κ B Activation and Promotes Aggressiveness in Angiotensin II Receptor-Positive Breast Cancer. *Cancer Research*, **78**, 1225-1240. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1089>
- [11] 王悦, 李航, 李腾越, 等. 血管紧张素 II 在肿瘤发病机制中的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2017(6): 67-69.
- [12] Ateeq, B., Tomlins, S. and Chinnaiyan, A.M. (2009) AGTR1 as a Therapeutic Target in ER-Positive and ERBB2-Negative Breast Cancer Cases. *Cell Cycle*, **8**, 3794-3795. <https://doi.org/10.4161/cc.8.23.9976>
- [13] Juan, D., Bofill, J.S., Ciruelos, E.M., *et al.* (2012) Study of the Usefulness of Angiotensin Type 1 Receptor (AGTR1) as a Possible Response Predictor in Patients with Metastatic Breast Cancer (mBC) Subjected to Chemotherapy and Treatment with Bevacizumab (AVALUZ Study). *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 10608.
- [14] Cui, C., Huang, C., Zhou, W., *et al.* (2020) AGTR2, One Possible Novel Key Gene for the Entry of SARS-CoV-2 into Human Cells. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, **18**, 1230-1233. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2020.3009099>
- [15] Acconcia, F. (2020) The Network of Angiotensin Receptors in Breast Cancer. *Cells*, **9**, 1336. <https://doi.org/10.3390/cells9061336>
- [16] 丁祥黎, 王海峰, 杨德林, 等. 血管紧张素 II 的 1,2 型受体在肿瘤中的作用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2014, 41(5): 321-323.
- [17] Mata-Greenwood, E., Blood, A.B., Sands, L.D., Bragg, S.L., Xiao, D. and Zhang, L. (2018) A Novel Rodent Model of Pregnancy Complications Associated with Genetically Determined Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Activity. *The American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, **315**, E52-E62. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00289.2017>
- [18] Park, Y.A., Choi, C.H., Do, I.G., *et al.* (2014) Dual Targeting of Angiotensin Receptors (AGTR1 and AGTR2) in Epithelial Ovarian Carcinoma. *Gynecologic Oncology*, **135**, 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.06.031>