

· 基础研究 ·

前列腺癌细胞焦亡相关基因预后分析及 NLRP1 对前列腺癌细胞焦亡的调节作用

马晓璐, 陈嘉钦, 冯隽龙, 赵琦, 王彬

(北京中医药大学东直门医院中医男科, 北京 100029)

Prognostic analysis of genes related to pyroptosis in prostate cancer cells and the regulatory role of NLRP1

MA Xiaolu, CHEN Jiaqin, FENG Junlong, ZHAO Qi, WANG Bin

(Department of Andrology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the prognostic value of prostate cancer (PCa) pyroptosis-related genes (PRGs) using gene expression databases and to explore the regulatory mechanism of nucleotidebinding oligomerization domain-like receptor containing pyrin domain 1 (NLRP1) in the pyroptosis of PCa cells. Methods Fragments per kilobase of exon model per million reads mapped (FPKM) data and clinical information from PCa and adjacent tissues from The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Gene Expression Omnibus (GEO) were obtained. Differentially expressed PRGs between PCa and adjacent tissues, classified subtypes and plotted survival curves were analyzed. Univariate Cox regression analysis, least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression analysis were conducted to screen prognosis-related PRGs, risk scores were calculated, and a prognostic risk model was constructed and validated. Patients were divided into high and low risk groups based on the median risk scores from the training and validation sets, and gene ontology (GO) enrichment and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis were conducted on differentially expressed PRGs. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression level of NLRP1 in PCa cell lines, and pyroptosis was induced in DU145 and LNCaP cells while morphological changes were observed. Western blot (WB) was performed to detect the expression of pyroptosis-related molecules. Results A total of 6 prognostic-related PRGs were obtained, including CHMP4C, CYCS, GPX4, GSDMB, NLRP1, and PLCG1. The risk score was positively correlated with the risk of recurrence but negatively correlated with the progression-free survival ($P < 0.001$). The area under the receiver operating characteristic curves (AUCs) for the training set at 1, 3, and 5 years were 0.769 (95% CI: 0.652–0.878), 0.804 (95% CI: 0.736–0.882), and 0.772 (95% CI: 0.631–0.905), respectively, while those for the validation set were 0.731 (95% CI: 0.647–0.826), 0.753 (95% CI: 0.674–0.818), and 0.763 (95% CI: 0.626–0.849), respectively. Differences in expression levels of the 6 PRGs were observed between the high and low risk groups in both the training and validation sets ($P < 0.05$). Cox regression analysis showed that T stage, prostate specific antigen (PSA), Gleason grade, and risk score were independent predictors of PCa prognosis ($P < 0.05$). Differences in risk scores were observed among patients of different ages, T stages, and Gleason grades ($P < 0.05$). NLRP1 was found to be lowly expressed in PCa cell lines and was involved in the regulation of pyroptosis in DU145 and LNCaP cells. Conclusion The prognostic risk model constructed based on PRGs has a certain predictability for the prognosis of PCa patients, and NLRP1 may be involved in the regulation of pyroptosis in PCa cells.

KEY WORDS: prostate cancer; pyroptosis; nucleotidebinding oligomerization domain-like receptor containing pyrin domain 1; The Cancer Genome Atlas

摘要: 目的 利用基因表达数据库分析前列腺癌(PCa)细胞焦亡相关基因(PRGs)与PCa预后的关系,探究核苷酸结合寡聚化结构域样受体1(NLRP1)在PCa细胞焦亡中的调节机制。方法 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库、基因表达综合数据库(GEO)获取PCa、癌旁正常组织每千个碱基的转录每百万映射读取的片段(FPKM)数据及临床资料。分析PCa与癌旁正常组织差异表达的PRGs,划分亚型并绘制生存曲线。单因素Cox回归分析、最小绝对收缩选择算子(LASSO)回归分析筛选预后相关PRGs,计算风险评分,建立预后风险模型并进行验证。以训练集、验证集的中位风险评分将患者分为高、低风险组,对差异表达的PRGs

收稿日期:2024-04-01

修回日期:2024-07-17

通信作者:王彬,主任医师。E-mail:dayiwangbin@126.com

作者简介:马晓璐,硕士研究生在读。研究方向:中西医结合治疗男科疾病。E-mail:765386073@qq.com

进行基因本体论(GO)富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析。实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测 PCa 细胞系 NLRP1 表达水平,诱导 DU145、LNCaP 细胞焦亡并观察形态变化,蛋白质免疫印迹法(WB)检测焦亡相关分子表达。结果共获得 CHMP4C、CYCS、GPX4、GSDMB、NLRP1、PLCG1 6 个具有预后价值的 PRGs,患者风险评分与复发风险呈正相关,与无进展生存期呈负相关($P < 0.001$)。训练集 1、3、5 年 AUC 分别为 0.769(95%CI:0.652~0.878)、0.804(95%CI:0.736~0.882)、0.772(95%CI:0.631~0.905),验证集分别为 0.731(95%CI:0.647~0.826)、0.753(95%CI:0.674~0.818)、0.763(95%CI:0.626~0.849)。训练集和验证集中高、低风险组的 6 个 PRGs 表达水平均存在差异($P < 0.05$)。Cox 回归分析显示 T 分期、前列腺特异性抗原(PSA)、Gleason 分级、风险评分为 PCa 预后的独立预测因素($P < 0.05$),年龄、T 分期、Gleason 分级患者其风险评分差异均有统计学意义($P < 0.05$)。NLRP1 在 PCa 细胞系中低表达,参与 DU145、LNCaP 细胞焦亡调节。结论 基于 PRGs 构建的预后风险模型对 PCa 患者预后具有一定预测能力,NLRP1 可能参与了 PCa 细胞焦亡的调节过程。

关键词: 前列腺癌;细胞焦亡;核苷酸结合寡聚化结构域样受体 1;癌症基因组图谱数据库

中图分类号: R737.25

文献标志码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2025.01.015

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性泌尿生殖系统常见恶性肿瘤,多发于中老年男性^[1-2]。尽管手术治疗或放疗对局限性 PCa 疗效显著,但术后仍有较高的复发和转移率^[3-5]。常用的 PCa 预后指标如 Gleason 评分、前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)等在预测患者生化复发时间方面能力有限^[6]。因此,探索更加准确、特异性更高的生物标志物对指导 PCa 患者治疗、预测预后至关重要。细胞焦亡由炎性小体与 Gasdermin 蛋白(GSDM)家族介导^[7-8]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor containing pyrin domain, NLRP)等炎性小体募集并结合含有胱天蛋白酶募集结构域的细胞凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated specklike protein containing a caspase recruitment domain, ASC)形成复合物,该复合物募集 caspase-1 前体激活 caspase-1^[9]。caspase-1 参与切割 Gasdermin D 蛋白(GSDMD),GSDMD 的 N-末端片段(GSDMD-N)在质膜上形成孔洞,导致细胞渗透性裂解并释放炎症因子^[10-11]。近期研究显示,细胞焦亡相关基因(pyroptosis-related genes, PRGs)对 PCa 预后具有一定预测能力^[12-13]。本次研究基于基因表达数据库数据筛选预后相关 PRGs,构建 PCa 预后风险模型,探究 NLRP1 在 PCa 中的调节机制,旨在为预测 PCa 患者预后、提高疾病治疗效果提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据收集 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)(<https://cancergenome.nih.gov/>)数据库获取 495 例 PCa 组织和 52 例癌旁正常组织的每千个碱基的转录每百万映射读取的片段(fragments per kilobase of exon model per million reads mapped, FPKM)数据及生存状态、生存时间、年龄、TNM 分期、PSA、Gleason 分级等临床资料,从

基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO,<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取 92 例 PCa 患者的 FPKM 数据及相应临床资料。FPKM 数据表达水平通过 $\log_2(\text{FPKM} + 1)$ 进行对数转换。PRGs 来自分子特征数据库(molecular signatures database, MSigDB)(<http://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/search.jsp>)。

1.2 预后相关 PRGs 的鉴定 使用 R 软件(4.1.2 版本)“limma”包分析 PCa 组织与癌旁正常组织间差异表达的 PRGs,筛选条件: $|\log_2(\text{Fold Change})| > 1$ 、伪发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 。使用“pheatmap”包绘制热图,使用 STRING 网站(<https://cn.string-db.org/>)绘制 PCa 中差异表达 PRGs 的相互作用网络。使用“ConsensusClusterPlus”包对 PCa 组织进行无监督聚类分析,划分亚型,使用“survival”“survminer”包绘制不同亚型的生存曲线。使用单因素 Cox 回归分析筛选与预后相关的 PRGs,使用“glmnet”包进行最小绝对收缩选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)回归分析,剔除过拟合的 PRGs,通过多因素 Cox 回归分析确定与预后相关的 PRGs。

1.3 基于 PRGs 的预后风险模型的构建与验证 将 TCGA 数据库来源的样本作为训练集,GEO 数据库来源的样本作为验证集,训练集与验证集基线资料差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。计算患者风险评分,公式 $\text{risk score} = \sum_{i=1}^n \text{coef}(i) \times \text{expr}(i)$,其中 n 、 $\text{coef}(i)$ 和 $\text{expr}(i)$ 分别代表 PRGs 的数量、相应系数和相应表达水平。根据中位风险评分将所有患者分为高、低风险组,使用“survival”“survminer”包绘制生存曲线,使用“timeROC”包绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线对预后风险模型进行评估,计算 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC)。

1.4 预后相关 PRGs 的功能富集分析 使用

“limma”包分析高、低风险组间差异表达的 PRGs,筛选条件: $|\log_2(\text{Fold Change})| > 0.585$, $\text{FDR} < 0.05$ 。使用“clusterProfiler”包对差异表达的 PRGs 进行基因本体论(gene ontology, GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)分析。

1.5 细胞培养与分组 人 PCa 细胞系 22RV1(货号 FY-22FN0730)、C4-2(货号 FY-22FN0914)、DU145(货号 FY-22FN0787)、LNCaP(货号 FY-XM091)、PC-3(货号 FY-22FN2155)、人正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 细胞(货号 FY-FN4131),均购自上海富雨生物科技有限公司。重组质粒 sh-NLRP1 购自上海生博生物医药科技有限公司。使用含 10%(体积分数)胎牛血清、1%(体积分数)青霉素/链霉素的 RPMI-1640 培养基,在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中进行细胞培养。DU145、LNCaP 细胞分为对照组、焦亡组、sh-NLRP1 组。对照组正常培养,焦亡组培养基中加入 1 μg/mL 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),培养 5.5 h 后加入 5 mmol 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)作用 0.5 h。sh-NLRP1 组转染 sh-NLRP1 后向培养基中加入 1 μg/mL LPS,培养 5.5 h 后加入 5 mmol ATP 作用 0.5 h。收集各组细胞用于后续实验。

1.6 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 NLRP1 表达 使用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,反转录成 cDNA,配制 20 μL 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)反应体系。反应条件:94℃预变性 2 min,95℃30 s,95℃5 s,60℃30 s,循环 40 次。引物序列见表 1。使用 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪完成 qRT-PCR 操作,应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达水平。

表 1 引物序列

引物名称	序列(5'~3')
NLRP1	F: CCAAGACTTGAACAACGAG
	R: CCTCCAATGACTGTGCTGGGTA
GAPDH	F: CGCTAACATCAAATGGGGTG
	R: TTGCTGACAATCTTGAGGGAG

NLRP1:核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;F:上游引物;R:下游引物。

1.7 蛋白质免疫印迹法(western blot, WB)检测细胞焦亡信号通路相关分子表达 取细胞沉淀加入适量裂解液,4℃孵育 30 min。4℃、10 000 转/min 离心 10 min,取上清液制样。经电泳、转膜,截取目的条带

浸于封闭液中,室温封闭 1 h。加入 1:500 稀释的一抗孵育液,4℃过夜。洗膜,加入 1:5000 稀释的对应二抗孵育液,室温孵育 2 h,洗膜,加入增强型化学发光试剂,避光反应 5 min,收集荧光图像结果。一抗:NLRP1(货号 ab36852)、ASC(货号 ab283684)、pro-caspase-1(货号 ab179515)、GSDMD(货号 ab219800)、GSDMD-N(货号 ab215203),购自英国 Abcam 公司;C-caspase-1(货号 89332),购自美国 CST 公司。二抗:β-肌动蛋白(β-actin,货号 ab8227),购自英国 Abcam 公司。

1.8 统计学方法 使用 SPSS 24.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布数据采用 *t* 检验,非正态分布数据采用 Wilcoxon 检验,计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验或 Fisher's 检验,Kaplan-Meier 生存分析采用对数秩检验,相关性分析采用 Wilcoxon、Kruskal-Wallis 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

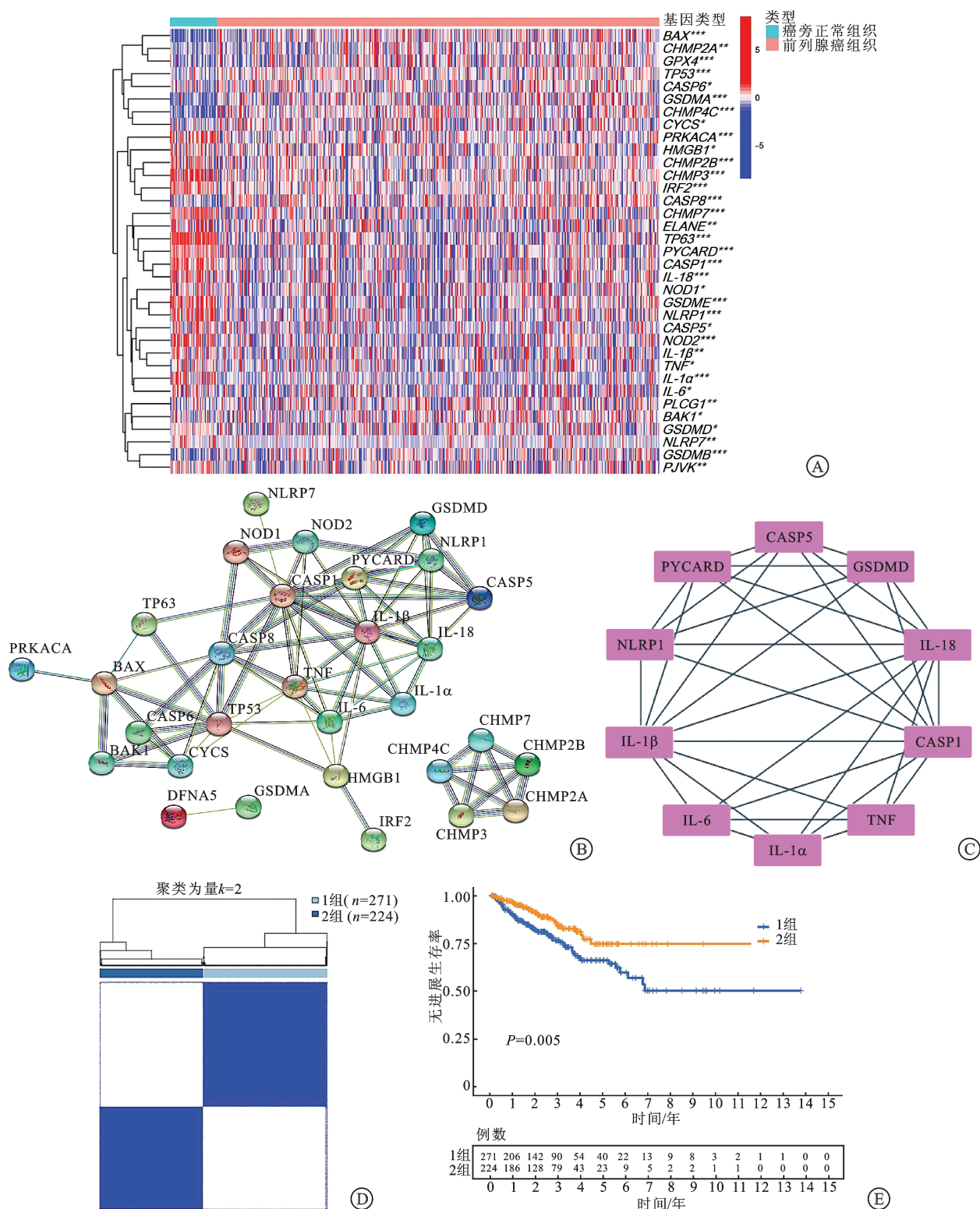
2 结果

2.1 PRGs 在 PCa 中的表达以及 PRGs 之间的相关性 从 MSigDB 数据库共获得了 52 个 PRGs,在 TCGA 数据库 PCa 组织与癌旁正常组织中,共 35 个 PRGs 存在表达差异,IL-1α、TP63、ELANE、IL-6、CASP1、GSDME、NLRP1、IL-18、NOD2、PYCARD、IL-1β、NLRP7、CHMP3、IRF2、PRKACA、TNF、CHMP7、CASP5、CHMP2B、PJKV、NOD1、HMGB1、GSDMD 在 PCa 组织中呈低表达,BAK1、CASP6、CYCS、PLCG1、TP53、CHMP2A、CASP8、GPX4、BAX、CHMP4C、GSDMB、GSDMA 在 PCa 组织中呈高表达(图 1A)。相互作用网络显示,35 个 PRGs 之间具有丰富的相互作用,其中 CASP5、GSDMD、IL-18、CASP1、TNF、IL-1α、IL-6、IL-1β、NLRP1、PYCARD 为枢纽基因(图 1B~C)。对 TCGA 数据库来源样本进行无监督聚类分析,聚类变量 $k=2$ 时数据被分为两组,1 组 271 例,2 组 224 例(图 1D),与 1 组相比,2 组无进展生存率较高,差异有统计学意义($P=0.05$,图 1E)。

2.2 基于 PRGs 的预后风险模型的建立与验证 采用单因素 Cox 回归分析从 35 个差异表达的 PRGs 中进一步筛选出了 13 个与预后相关的 PRGs(图 2A),通过 LASSO-Cox 回归分析最终确定了 6 个具有预后价值的 PRGs 并建立风险预后模型(图 2B~C)。风险评分 = $(0.298\ 5 \times \text{CHMP4C}) + (0.562\ 5 \times \text{CYCS}) + (0.624\ 3 \times \text{GPX4}) + (0.310\ 2 \times \text{GSDMB}) + (1.020\ 9 \times \text{NLRP1}) + (0.924\ 2 \times \text{PLCG1})$ 。以训练

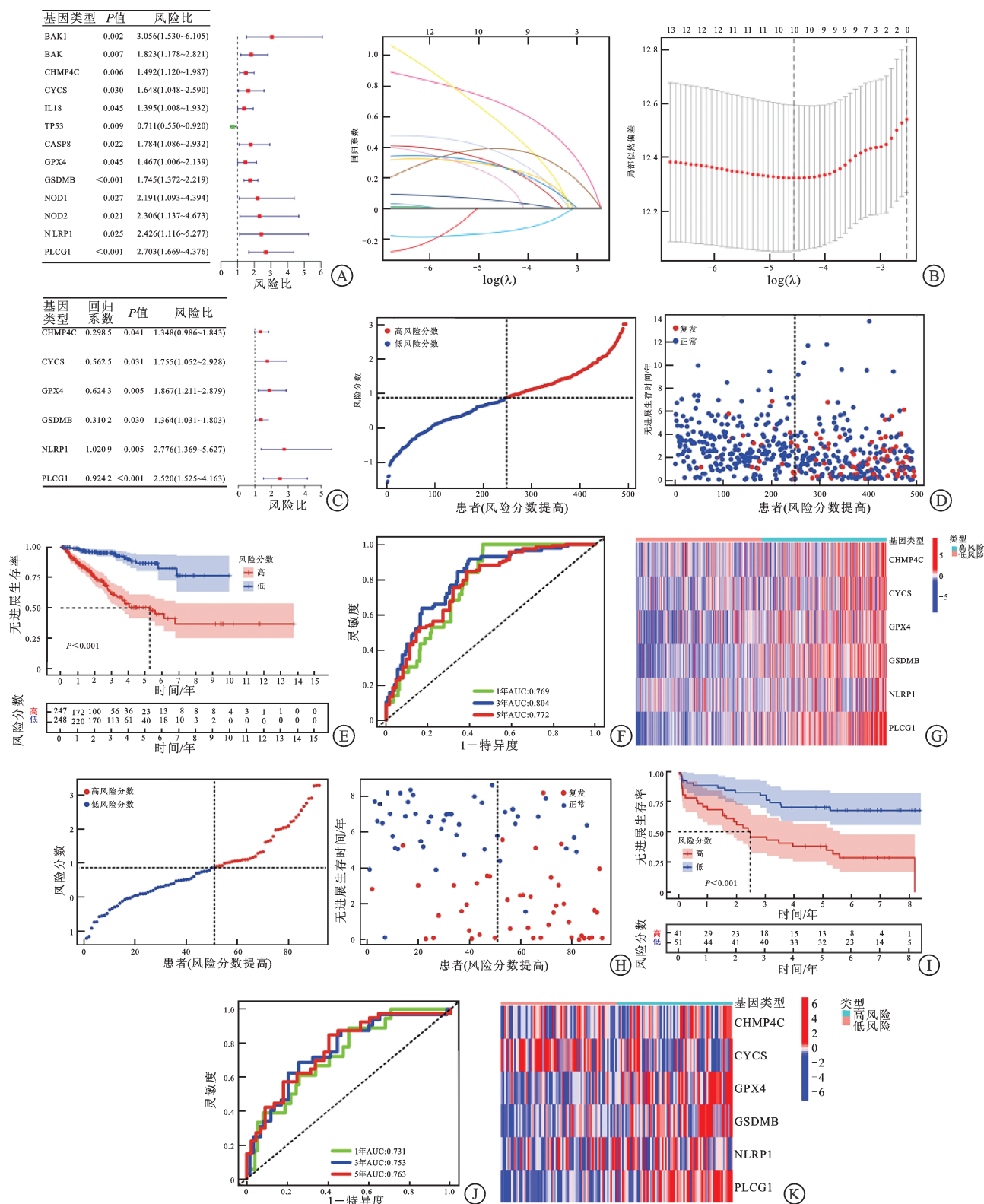
集($n=495$)的中位风险评分 0.873 为临界值,将患者分为低风险组($n=248$)与高风险组($n=247$),患者风险评分与复发风险正相关,与无进展生存期负相关($P<0.001$,图 2D~E)。1、3、5 年 ROC 曲线的 AUC 分别为 0.769(95% CI: 0.652~0.878)、0.804(95%

CI: 0.736~0.882)、0.772(95% CI: 0.631~0.905)(图 2F)。绘制预后相关 PRGs 表达热图,与低风险组相比,高风险组 6 个 PRGs 表达水平均较高($P<0.05$,图 2G)。



A:差异表达的 PRGs 热图;B:PRGs 相互作用网络图;C:枢纽基因网络图;D:无监督聚类分析进行亚型划分;E:不同亚组间的生存分析;PRGs:细胞焦亡相关基因。

图 1 PRGs 在前列腺癌中的表达以及不同 PRGs 间的相关性

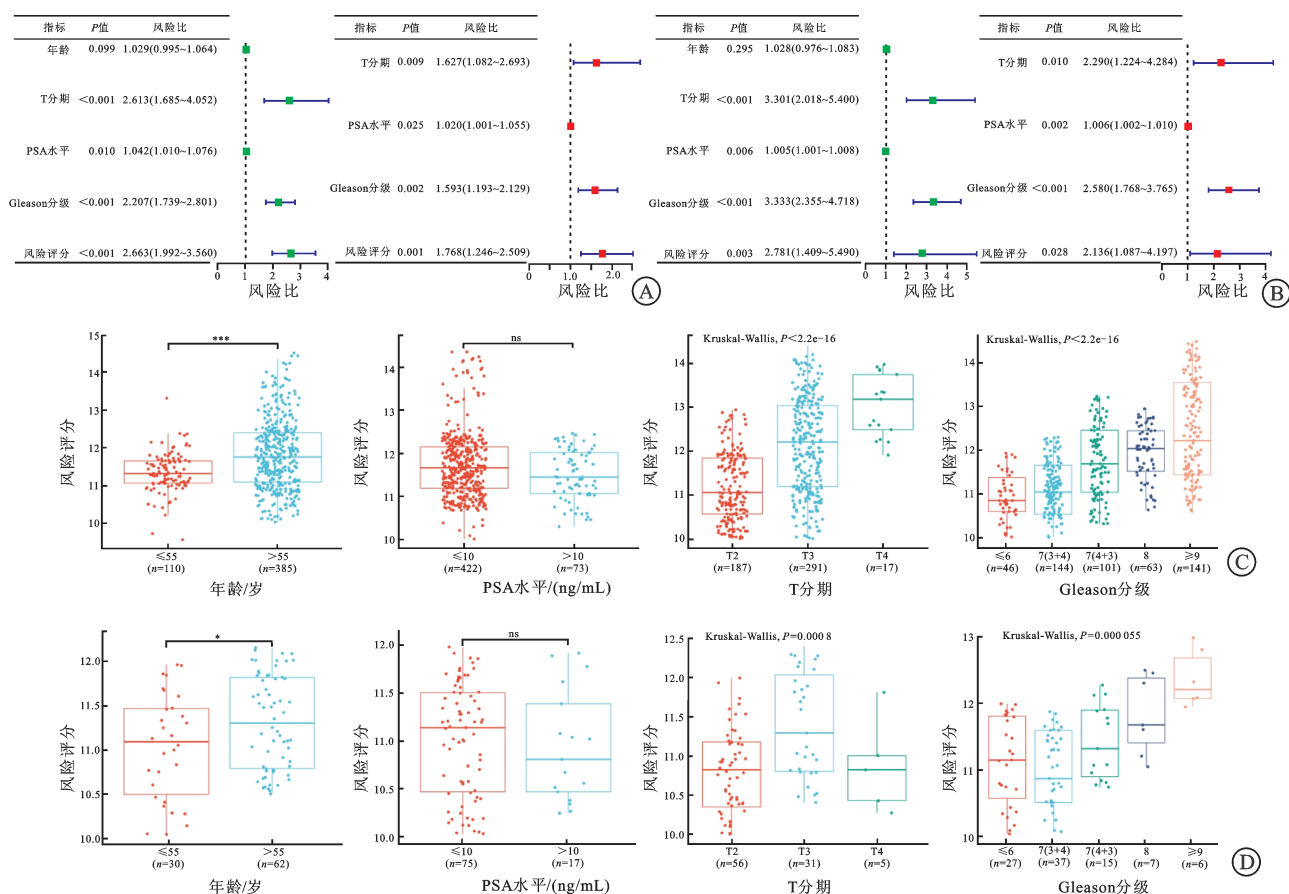


A: 单因素 Cox 回归分析筛选结果; B: LASSO-Cox 回归模型; C: 多因素 Cox 回归分析筛选结果; D: 训练集预后模型的风险曲线与生存状况分布; E: 训练集生存曲线; F: 训练集 ROC 曲线; G: 训练集高、低风险组预后 PRGs 表达热图; H: 验证集预后模型风险曲线与生存状况分布; I: 验证集生存曲线; J: 验证集 ROC 曲线; K: 验证集高、低风险组预后 PRGs 表达热图; PRGs: 细胞焦亡相关基因; LASSO: 最小绝对收缩选择算子; ROC: 受试者工作特征; AUC: 曲线下面积。

图 2 基于 PRGs 的预后风险模型建立与验证

同样计算验证集($n=92$)样本的风险评分,以临界值 0.873 将患者分为低风险组($n=51$)与高风险组($n=41$),患者风险评分与复发风险正相关,与无进展生存期负相关($P<0.001$,图 2H~I),1、3、5 年 ROC 曲线 AUC 分别为 0.731(95% CI: 0.647~0.826)、0.753(95% CI: 0.674~0.818)、0.763(95% CI: 0.626~0.849)(图 2J),与低风险组相比,高风险组 CHMP4C、GPX4、GSDMB、NLRP1、PLCG1 表达水平较高,CYCS 表达水平较低($P<0.05$,图 2K)。

2.3 风险评分与 PCa 临床病理因素的关系 分别对



A: 训练集独立预测因素的单因素、多因素 Cox 回归分析结果; B: 验证集独立预测因素的单因素、多因素 Cox 回归分析结果; C: 训练集风险评分与临床病理因素(年龄、PSA 水平、T 分期、Gleason 分级)的相关性; D: 验证集风险评分与临床病理因素(年龄、PSA 水平、T 分期、Gleason 分级)的相关性; PSA: 前列腺特异性抗原, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, ns 表示 $P>0.05$ 。

图 3 风险评分与前列腺癌临床病理因素的关系

2.4 预后相关 PRGs 的 GO 和 KEGG 功能分析

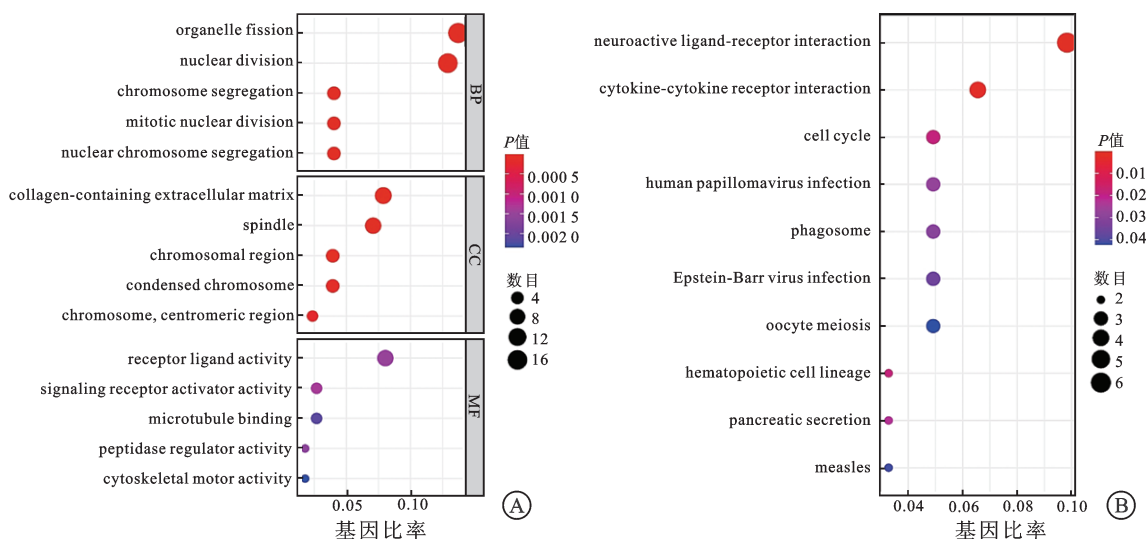
GO 富集结果显示,预后相关 PRGs 与细胞器裂变、核分裂、染色体分离等细胞周期相关生物学过程密切相关(图 4A);KEGG 分析结果显示,预后相关 PRGs 与神经活性配体-受体相互作用、细胞因子-细胞因子受体相互作用、细胞周期等过程密切相关(图 4B)。

2.5 NLRP1 在不同 PCa 细胞中的表达及不同组间细胞焦亡情况比较

qRT-PCR 检测结果显示,与

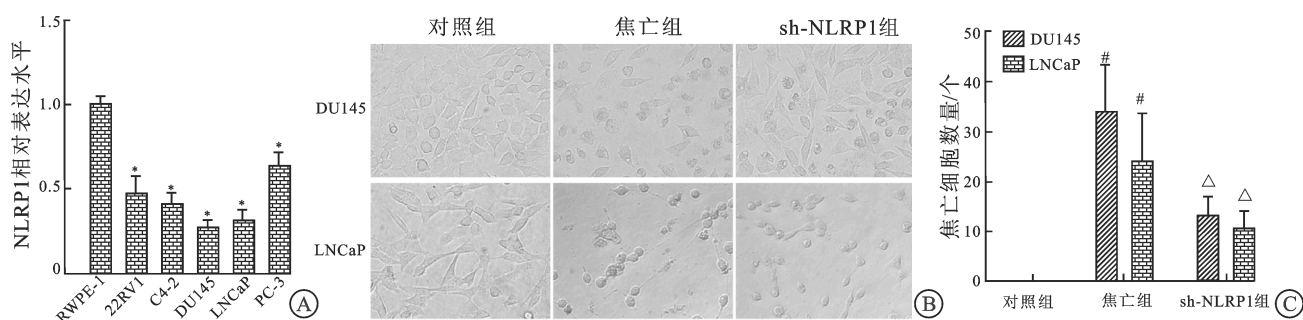
训练集($n=495$)与验证集($n=92$)患者的风险评分和不同临床特征进行单因素、多因素 Cox 回归分析(自变量为年龄、T 分期、PSA 水平、Gleason 分级、风险评分,因变量为 PCa 患者无进展生存期),结果显示在训练集与验证集中,T 分期、PSA 水平、Gleason 分级、风险评分为 PCa 预后的独立预测因素($P<0.05$)(图 3A~B)。相关性分析结果显示,在训练集与验证集中,年龄、T 分期、Gleason 分级的患者其风险评分差异均具有统计学意义($P<0.05$,图 3C~D)。

RWPE-1 细胞比较,22RV1、C4-2、DU145、LNCaP、PC-3 细胞中 NLRP1 的相对表达水平均更低($P<0.05$,图 5A),其中 DU145、LNCaP 细胞的 NLRP1 相对表达水平最低,因此选择这两种细胞进行后续实验。光学显微镜下拍摄结果显示,与 DU145、LNCaP 细胞对照组相比,焦亡组焦亡细胞数量增加($P<0.05$);与焦亡组相比,sh-NLRP1 组焦亡细胞数量减少($P<0.05$,图 5B、C)。



A:GO 功能富集分析结果;B:KEGG 分析结果;GO:基因本体论;KEGG:京都基因与基因组百科全书;BP:生物过程;CC:细胞组分;MF:分子功能;PRGs:细胞焦亡相关基因。

图 4 预后相关 PRGs 的 GO 和 KEGG 功能分析

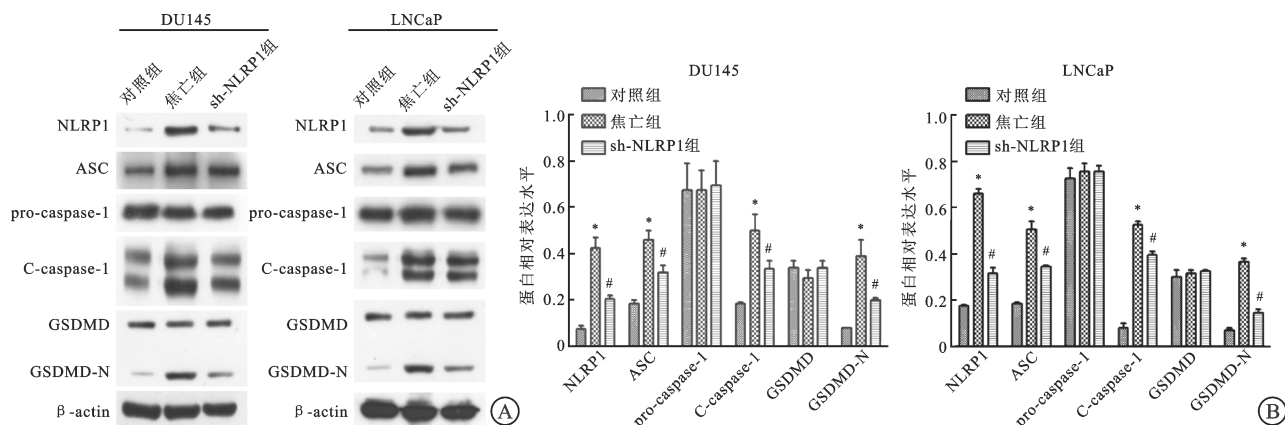


A:qRT-PCR 检测结果($n=3$);B:光学显微镜下拍摄结果($n=3$, $\times 400$);C:3 组焦亡细胞数量比较;* 与 RWPE-1 细胞比较, $P<0.05$;# 与对照组比较, $P<0.05$;△ 与焦亡组比较, $P<0.05$;NLRP1:核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1。

图 5 NLRP1 在不同 PCa 细胞中的表达及 3 组间细胞焦亡情况比较

2.6 NLRP1 介导 PCa 细胞焦亡 WB 检测结果显示,与 DU145、LNCaP 细胞对照组比较,焦亡组 NLRP1、ASC、C-caspase-1、GSDMD-N 的相对表达

水平升高($P<0.05$);与焦亡组比较,sh-NLRP1 组 NLRP1、ASC、C-caspase-1、GSDMD-N 的相对表达水平降低($P<0.05$,图 6)。



A:DU145 细胞及 LNCaP 细胞的蛋白免疫印迹图;B:DU145 细胞及 LNCaP 细胞中蛋白的相对表达数据统计图;* 与对照组比较, $P<0.05$;# 与焦亡组比较, $P<0.05$ 。NLRP1:核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1;ASC:含有胱天蛋白酶募集结构域的细胞凋亡相关斑点样蛋白;pro-caspase-1:caspase-1 前体;C-caspase-1:剪切的 caspase-1;GSDMD:Gasdermin D 蛋白;GSDMD-N:Gasdermin D 蛋白的 N-末端片段。

图 6 NLRP1 介导前列腺癌细胞焦亡($n=3$)

3 讨论

尽管 PCa 的治疗效果已获得显著提升,但仍有 30%~40% 的患者接受局部治疗后出现转移或复发^[14-15]。生化复发是指接受根治性治疗后患者血清 PSA 水平连续 2 次 >0.2 ng/mL,促进晚期去势抵抗性 PCa 发展,提高远处转移风险与死亡率^[16-18]。已有多项研究分析了细胞焦亡在多种癌症中的作用,并建立了能够有效预测患者预后和治疗反应的模型^[19-21]。本研究首先分析了 TCGA 数据库来源的 PCa 与癌旁正常组织间差异表达的 PRGs,通过单因素 Cox 回归分析、LASSO-Cox 回归分析最终获得了 CHMP4C、CYCS、GPX4、GSDMB、NLRP1 与 PLCG1 共 6 个具有预后价值的 PRGs。CHMP4C 是 ESCRT-III 的一个亚基,在 PCa 组织中表达升高,其对细胞分裂脱落过程的调控失调可能与致癌基因诱导的有丝分裂应激协同作用,促进肿瘤发生^[22-24]。CYCS 涉及多种调控性细胞死亡形式^[25-26],BAZYLIANSKA 等^[27]的研究显示,CYCS 的 K53 乙酰化参与 PCa 逃避细胞凋亡机制。GPX4 是一种专门还原磷脂过氧化物修复氧化性脂质损伤的酶,有助于减弱败血症中的脂质过氧化、炎症小体激活和细胞焦亡^[28-29],降低 GPX4 表达可诱导 PC3 细胞铁死亡^[30]。GSDMB 是细胞焦亡途径中的下游效应蛋白,参与膀胱癌、乳腺癌发展^[31-32]。PLCG1 存在于各种亚细胞区室中,参与调节细胞迁移、侵袭和扩散^[33]。NLRP1 为 NLRP 家族第 1 个被鉴定的炎症小体,与免疫调节功能失调相关疾病关系密切^[34]。受到外部刺激后,NLRP1 的 N-末端 PYD 结构域与 ASC 结合,启动级联反应激活 caspase-1,并通过调节先天和适应性免疫反应参与多种炎症性疾病^[35]。LIN 等^[36]的结果显示,NLRP1 低表达的肺腺癌患者生存率较低。基于上述 6 个具有预后价值的 PRGs 建立预后风险模型并使用 GEO 数据库来源样本进行验证,在训练集与验证集中,高风险组患者疾病进展的可能性均较高,无进展生存期较短,1、3、5 年 ROC 曲线 AUC 值较高,提示风险模型准确性较高。相关性分析结果显示,风险评分与 PCa 临床病理因素密切相关,提示风险评分可作为 PCa 预后的独立预测因素。GO 功能富集分析结果显示,预后相关 PRGs 主要与细胞周期等过程密切相关。

本研究进一步选取 NLRP1 作为靶点,通过体外细胞实验探究其在 PCa 细胞焦亡调节机制中的作用。NLRP1 在 PCa 细胞系中均呈低表达,使用 LPS 与 ATP 诱导细胞焦亡,观察到部分细胞内有许多气

泡状突出物,细胞形态肿胀膨大,NLRP1、ASC、Caspase-1、GSDMD-N 等焦亡相关蛋白表达水平明显上调,而诱导细胞焦亡的同时抑制 NLRP1 在一定程度上抑制了细胞焦亡水平,提示 NLRP1 可能参与了 PCa 细胞焦亡的调节过程。

本研究还存在一些局限性:TCGA、GEO 数据库样本量有限且均为回顾性数据,还需大规模前瞻性数据进行验证;其余 5 个预后相关 PRGs 在 PCa 中的具体分子机制仍需通过体内、体外实验进一步探究。综上所述,本研究基于基因表达数据库分析鉴定出了 6 个与 PCa 预后相关 PRGs,构建并验证了预后风险模型,该模型具有较高的预测 PCa 预后情况的能力,预后相关 PRGs 可能是 PCa 的潜在治疗靶点,NLRP1 在 PCa 细胞中低表达,可能参与了细胞焦亡调节过程。

参考文献:

- [1] EPSTEIN JI, KRYVENKO ON. A comparison of genitourinary society pathology and international society of urological pathology prostate cancer guidelines[J]. *Eur Urol*, 2021, 79(1): 3-5.
- [2] LIU Z, GUO H, ZHU Y, et al. TP53 alterations of hormone-naïve prostate cancer in the Chinese population[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2021, 24(2): 482-491.
- [3] 康海, 刘晓颖, 赵洁, 等. 基于 TCGA 数据库分析 lncRNA SNHG25 在前列腺癌中的表达及其意义[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2024, 29(3): 224-231.
- [4] DEVOS G, DEVLIES W, DE MEERLEER G, et al. Neoadjuvant hormonal therapy before radical prostatectomy in high-risk prostate cancer[J]. *Nat Rev Urol*, 2021, 18(12): 739-762.
- [5] PANEBIANCO V, VILLEIRS G, WEINREB JC, et al. Prostate magnetic resonance imaging for local recurrence reporting (PI-RR): international consensus-based guidelines on multiparametric magnetic resonance imaging for prostate cancer recurrence after radiation therapy and radical prostatectomy[J]. *Eur Urol Oncol*, 2021, 4(6): 868-876.
- [6] DANACIOGLU YO, KESER F, EFILOĞLUÖ, et al. The efficiency of prostate-specific antigen density measurement using three different methods on the prediction of biochemical recurrence[J]. *Aging Male*, 2021, 24(1): 15-23.
- [7] WEI X, XIE F, ZHOU X, et al. Role of pyroptosis in inflammation and cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(9): 971-992.
- [8] RODRÍGUEZ-ANTONIO I, LÓPEZ-SÁNCHEZ GN, URIBE M, et al. Role of the inflammasome, gasdermin D, and pyroptosis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 36(10): 2720-2727.
- [9] 李春桃, 唐苏婷, 徐云柯, 等. miR-16-5p 靶向 NLRP1 抑制缺氧复氧诱导的 BRL-3A 细胞焦亡[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(10): 68-75.

- [10] CHEN T, WANG Z, ZHONG J, et al. Secoisolariciresinol diglucoside induces pyroptosis by activating caspase-1 to cleave GSDMD in colorectal cancer cells[J]. *Drug Dev Res*, 2022, 83(5):1152-1166.
- [11] DEVANT P, KAGAN JC. Molecular mechanisms of gasdermin D pore-forming activity[J]. *Nat Immunol*, 2023, 24(7):1064-1075.
- [12] JIA Y, WANG X, DENG Y, et al. Pyroptosis provides new strategies for the treatment of cancer[J]. *J Cancer*, 2023, 14(1):140-151.
- [13] HU D, CAO Q, TONG M, et al. A novel defined risk signature based on pyroptosis-related genes can predict the prognosis of prostate cancer[J]. *BMC Med Genomics*, 2022, 15(1):24-40.
- [14] GANDAGLIA G, LENI R, BRAY F, et al. Epidemiology and prevention of prostate cancer[J]. *Eur Urol Oncol*, 2021, 4(6):877-892.
- [15] TSAUR I, BLAHETA RA, DOTZAUER R, et al. Focal therapy for primary tumor and metastases in de novo or recurrent oligometastatic prostate cancer: current standing and future perspectives[J]. *World J Urol*, 2023, 41(8):2077-2090.
- [16] LEE W, LIM B, KYUNG YS, et al. Impact of positive surgical margin on biochemical recurrence in localized prostate cancer[J]. *Prostate Int*, 2021, 9(3):151-156.
- [17] ALBISINNI S, DIAMAND R. Understanding biochemical recurrence after radical prostatectomy: trust biology, not a number[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2023, 26(4):637-638.
- [18] FERDINANDUS J, FENDLER WP, FAROLFI A, et al. PSMA PET validates higher rates of metastatic disease for European association of urology biochemical recurrence risk groups: an international multicenter study[J]. *J Nucl Med*, 2022, 63(1):76-80.
- [19] XIANG R, GE Y, SONG W, et al. Pyroptosis patterns characterized by distinct tumor microenvironment infiltration landscapes in gastric cancer[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(10):1535-1556.
- [20] YE Y, DAI Q, QI H. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):71-81.
- [21] CHEN H, LUO H, WANG J, et al. Identification of a pyroptosis-related prognostic signature in breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1):429-444.
- [22] PETSALAKI E, ZACHOS G. The abscission checkpoint: a guardian of chromosomal stability[J]. *Cells*, 2021, 10(12):3350-3368.
- [23] LIU B, GUO S, LI GH, et al. CHMP4C regulates lung squamous carcinogenesis and progression through cell cycle pathway[J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13(8):4762-4774.
- [24] KHAN AA, AL-MAHROUQI N, AL-YAHYAEE A, et al. Deciphering urogenital cancers through proteomic biomarkers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 16(1):22-43.
- [25] KAN J, HU Y, GE Y, et al. Declined expressions of vast mitochondria-related genes represented by CYCS and transcription factor ESRRA in skeletal muscle aging [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1):3485-3502.
- [26] SHEN X, WANG H, WENG C, et al. Caspase 3/GSDME-dependent pyroptosis contributes to chemotherapy drug-induced nephrotoxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2):186-201.
- [27] BAZYLIANSKA V, KALPAGE HA, WAN J, et al. Lysine 53 acetylation of cytochrome c in prostate cancer: warburg metabolism and evasion of apoptosis[J]. *Cells*, 2021, 10(4):802-822.
- [28] XIE Y, KANG R, KLIONSKY DJ, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease[J]. *Autophagy*, 2023, 19(10):2621-2638.
- [29] QU M, WANG Y, QIU Z, et al. Necroptosis, pyroptosis, ferroptosis in sepsis and treatment[J]. *Shock*, 2022, 57(6):161-171.
- [30] SHAO ZC, ZHU BH, HUANG AF, et al. Docosahexaenoic acid reverses epithelial-mesenchymal transition and drug resistance by impairing the PI3K/AKT/Nrf2/GPX4 signalling pathway in docetaxel-resistant PC3 prostate cancer cells [J]. *Folia Biol (Praha)*, 2022, 68(2):59-71.
- [31] HE H, YI L, ZHANG B, et al. USP24-GSDMB complex promotes bladder cancer proliferation via activation of the STAT3 pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(10):2417-2429.
- [32] GÁMEZ-CHIACHIO M, MOLINA-CRESPO Á, RAMOS-NEBOT C, et al. Gasdermin B over-expression modulates HER2-targeted therapy resistance by inducing protective autophagy through Rab7 activation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1):285-303.
- [33] LI T, YANG Z, LI H, et al. Phospholipase Cγ1 (PLCG1) overexpression is associated with tumor growth and poor survival in IDH wild-type lower-grade gliomas in adult patients[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(2):143-153.
- [34] FENINI G, KARAKAYA T, HENNIG P, et al. NLRP1 inflammasome activation in keratinocytes: increasing evidence of important roles in inflammatory skin diseases and immunity[J]. *J Invest Dermatol*, 2022, 142(9):2313-2322.
- [35] GRISWOLD AR, HUANG HC, BACHOVCHIN DA. The NLRP1 inflammasome induces pyroptosis in human corneal epithelial cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022, 63(3):2-11.
- [36] LIN W, CHEN Y, WU B, et al. Identification of the pyroptosis related prognostic gene signature and the associated regulation axis in lung adenocarcinoma[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):161-170.

(编辑 闫玉梅)