· 论　　著 · Original Article ·

中国现代普通外科进展
Chin J Curr Adv Gen Surg

2025年6月　第28卷　第6期　Jun. 2025　Vol. 28　No. 6

基于TCGA数据库与生物信息学方法分析结直肠癌的免疫检查点、预后相关分子和潜在敏感药物

吴岳[1]　张轶君[2]　王银中[1]　张彦彦[3]

焦作市第二人民医院(河南理工大学第一附属医院)　[1]普通外科　[2]甲状腺乳腺外科　[3]肿瘤内科
(河南　焦作　454000)

【摘要】目的:探究与结直肠癌(CRC)免疫检查点(ICs)基因显著关联、对患者预后具有关键影响的生物分子,并运用生物信息学方法寻找靶向该分子的敏感性药物。**方法:**筛选TCGA数据库表达上调且与CRC患者预后不良相关的基因,提取与ICs具有高度相关性的分子,验证其对CRC患者预后的影响,并检测其对免疫细胞浸润的影响及相关性,寻找作用于目的基因的敏感性药物。**结果:**组织金属蛋白酶抑制剂1(TIMP1)表达上调的CRC患者预后不良。TIMP1表达量与多种免疫细胞浸润水平相关。进一步药物敏感性分析显示TIMP1高表达样本可能对博莱霉素和米哚妥林具有高度敏感性。**结论:**TIMP1有望成为鉴别癌症免疫治疗获益的新的预测性生物标志物,博莱霉素和米哚妥林可能成为TIMP1高表达CRC患者个性化治疗选择。

【关键词】结直肠癌•免疫检查点•预后•药物敏感性•组织金属蛋白酶抑制剂1
【中图分类号】R735.3+5
【文献标识码】A　DOI: 10.3969/j.issn.1009-9905.2025.06.004
【文章编号】1009-9905(2025)06-0444-07

Analysis of immune checkpoints, prognostic related molecules, and potential sensitive drugs in colorectal cancer based on TCGA database and bioinformatics methods

WU Yue[1], ZHANG Yi-jun[2], WANG Yin-zhong[1], ZHANG Yan-yan[3]

[1]Department of General Surgery, [2]Department of Thyroid and Breast Surgery, [3]Department of Oncology Department, Jiaozuo Second People's Hospital(First Affiliated Hospital of Henan University of Technology) (Jiaozuo 454000, China)

【ABSTRACT】*Objective:* To investigate biomarkers that are significantly associated with the immune checkpoint (ICs) genes of colorectal cancer(CRC) and have a key impact on the prognosis of patients, and to search for related sensitive drugs by using bioinformatics methods. ***Methods:*** Genes with up-regulated expression in TCGA database

[**基金项目**] 2024年度河南省高校基本科研业务费专项资金资助(河南理工大学 NSFRF240323);2024年度河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20240692);焦作市2023年科技计划项目(2023430025)
[**通信作者**] 王银中,E-mail: 827356692@qq.com

and associated with poor prognosis of patients were screened, and molecules with high correlation with immune checkpoint were extracted to verify their impact on the prognosis of patients with colorectal cancer. Finally, their impact on immune cell infiltration and correlation were detected, and sensitive drugs that act on target genes were analyzed and searched. ***Results:*** Colorectal cancer patients with up-regulated expression of tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP1) had poor prognosis. Different TIMP1 expression levels showed significant differences in the infiltration levels of various immune cells. Further drug sensitivity analysis predicted that bleomycin and middotolin could be highly sensitive to samples with high TIMP1 expression. ***Conclusion:*** TIMP1 is expected to be a new predictive biomarker to identify the benefits of cancer immunotherapy, and bleomycin and middotolin may be potential individualized treatment options for patients with high expression of TIMP1.

【KEY WORDS】Colorectal cancer•Immune checkpoint•Prognosis•Drug susceptibility•Tissue inhibitor of metalloproteinase 1

结直肠癌（colorectal cancer，CRC）是全球发病率和死亡率排名前三的癌症[1]。早期CRC患者症状通常不明显[2]，大多数患者确诊时已为晚期[3]。转移性CRC的预后一直不尽如人意[4-5]。寻找CRC发生和发展的关键因素对其预防和治疗十分重要[6]。免疫检查点（immune checkpoints，ICs）在CRC进展过程中发挥关键作用[7]。研究发现，ICs相关分子影响免疫细胞浸润和细胞生长因子、抗凋亡因子、血管生成因子等释放，介导肿瘤生长、增殖，并与抗肿瘤药物的疗效密切相关[8]。SIGLEC15、TIGIT、CD274、HAVCR2、PDCD1、CTLA4、LAG3和PDCD1LG2是目前已报道的ICs相关分子[9-12]，对维持自身耐受、防止自身免疫反应以及减少免疫应答带来的组织损伤等具有至关重要的作用[13]。ICs相关分子可抑制免疫细胞功能，使机体无法产生有效的抗肿瘤免疫应答，导致肿瘤免疫逃逸[14]。本研究探讨能够影响ICs并且导致CRC患者预后不良的关键分子，并寻找针对目的基因的敏感性药物，为CRC患者的免疫治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 数据收集和准备 CRC基因表达数据和临床数据来自TCGA。共收集资料671例，其中CRC患者620例，基因表达的正常患者51例。分析两组样本中的差异表达基因（differential expression genes，DEGs），如该基因高表达则可能参与结直肠癌的发生与发展。

1.2 DEGs 本研究DEGs高、低分组以|logFC|＜1.3、FDR＜0.05界定。通过R包“limma”进行操作和聚类。GO/KEGG富集分析通过DAVID在线工具里GO/KEGG富集分析板块进行，选择TCGA数据库，数据分析工具为ClusterProfiler包。

1.3 预后相关基因 提取基因表达数据和相应的临床信息，行单变量和多变量Cox回归分析，并通过“forestplot”包使用森林图显示每个变量（*P*值，*HR*和95% *CI*）。通过Venn图得到CRC表达上调且与预后不良相关的目的基因。

1.4 影响ICs的重要相关分子 将60个目的基因与8个ICs分子做相关性热图。

1.5 验证目的基因的影响 通过R软件包ggrisk、log rank检验Kaplan-Meier生存分析，比较两组或多组间生存差异。通过R软件包survival和survminer获得Kaplan-Meier曲线。通过logrank检验和单变量Cox回归获得*P*值和具有95% *CI*的危险比（*HR*）。应用GEPIA再次对目的基因进行生存分析。

1.6 泛癌及对免疫分析 将目的基因录入TIMER，分析目的基因在多个癌症的表达情况。计算目的基因与多种免疫细胞浸润系数。

1.7 药物敏感性分析 半抑制浓度（IC_{50}）是评估药物疗效或治疗反应的重要指标。基于TCGA样本转录组数据，本研究使用“pRp”R包评估每个样本的IC_{50}，预测每个样本的药物治疗反应。

1.8 统计学方法 所有数据应用R4.0.2版软件进行统计学分析。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 预后不良基因 TCGA的CRC数据集中1184个基因表达上调。其功能和通路主要表现炎症、免疫、细胞迁移和细胞信号传导等方面，见图1。886个基因与CRC患者预后不良相关。60个基因高表达且与CRC患者预后不良相关，见图2。

2.2 ICs相关性分子 Spearman相关性分析得出与ICs基因相关性最强的10个分子为WNT5A、组织金属蛋白酶抑制剂1（TIMP1）、KRTAP5-1、COMP、

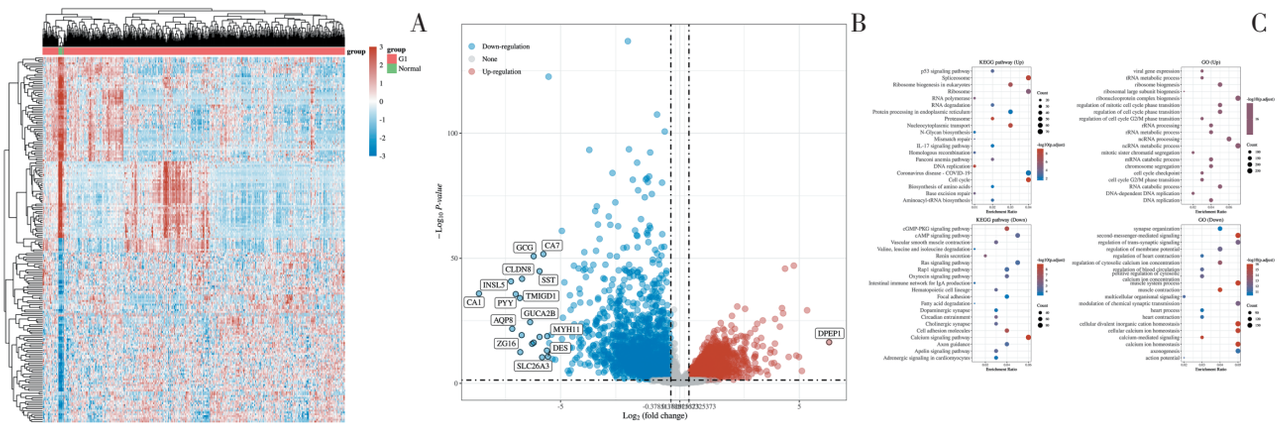

图 1　TCGA 数据库 CRC 表达上调基因

A：基因表达热图；B：基因表达火山图；C：表达上调基因 GO 和 KEGG 分析

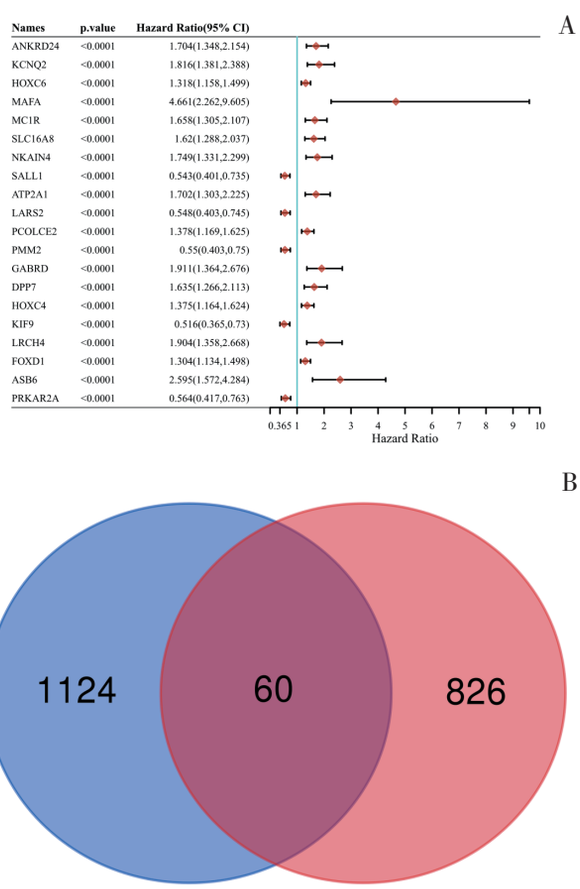

图 2　表达上调且与预后不良相关的基因

A：表达上调基因中预后不良相关的部分基因；B：蓝色为表达上调基因，红色为预后不良相关基因

ADAM8、FSTL3、CKMT2、LIMK1、AGMAT、TNNT1，这些分子在结直肠癌组织中的表达量与已报道 ICs 分子相关基因表达量的相关性均具有统计学意义（$P<0.05$）。见图 3。

2.3　目的基因　生存分析结果显示 ADAM8、COMP、FSTL3、KRTAP5-1、TIMP1、TNNT1 高表达和高 TNM 分期患者预后不良。多因素 Cox 回归分析

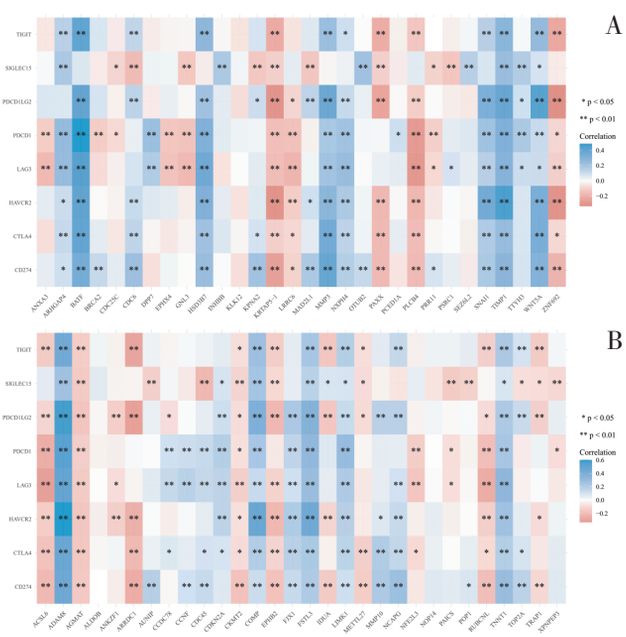

图 3　60 个目的基因与 ICs 相关基因的相关性分析

结果显示，TIMP1 和高 TNM 分期是导致 CRC 患者预后不良的独立危险因素。见图 4。

2.4　验证目的基因的影响　生存分析结果显示 TIMP1 与 CRC 预后显著相关（log rank $P<0.05$），且表达越高预后越差。将 TIMP1 录入 GEPIA，生存分析提示 TIMP1 高表达组患者预后显著不良。见图 5。

2.5　目的基因与免疫细胞浸润相关　TIMER 软件计算目的基因与多种免疫细胞浸润系数，结果显示 TIMP1 表达量与 B 细胞、$CD8^+$T 细胞、中性粒细胞、树突状细胞的浸润等免疫浸润程度相关，见图 6。

2.6　目的基因物敏感性预测　药物敏感性分析结果显示 TIMP1 高表达样本可能对博莱霉素和米哚妥林具有高度敏感性（$P<0.05$），见图 7。

3　讨论

癌症免疫治疗获益的预测性生物标志物对免疫治疗具有重要价值[15]。免疫细胞浸润的存在影响

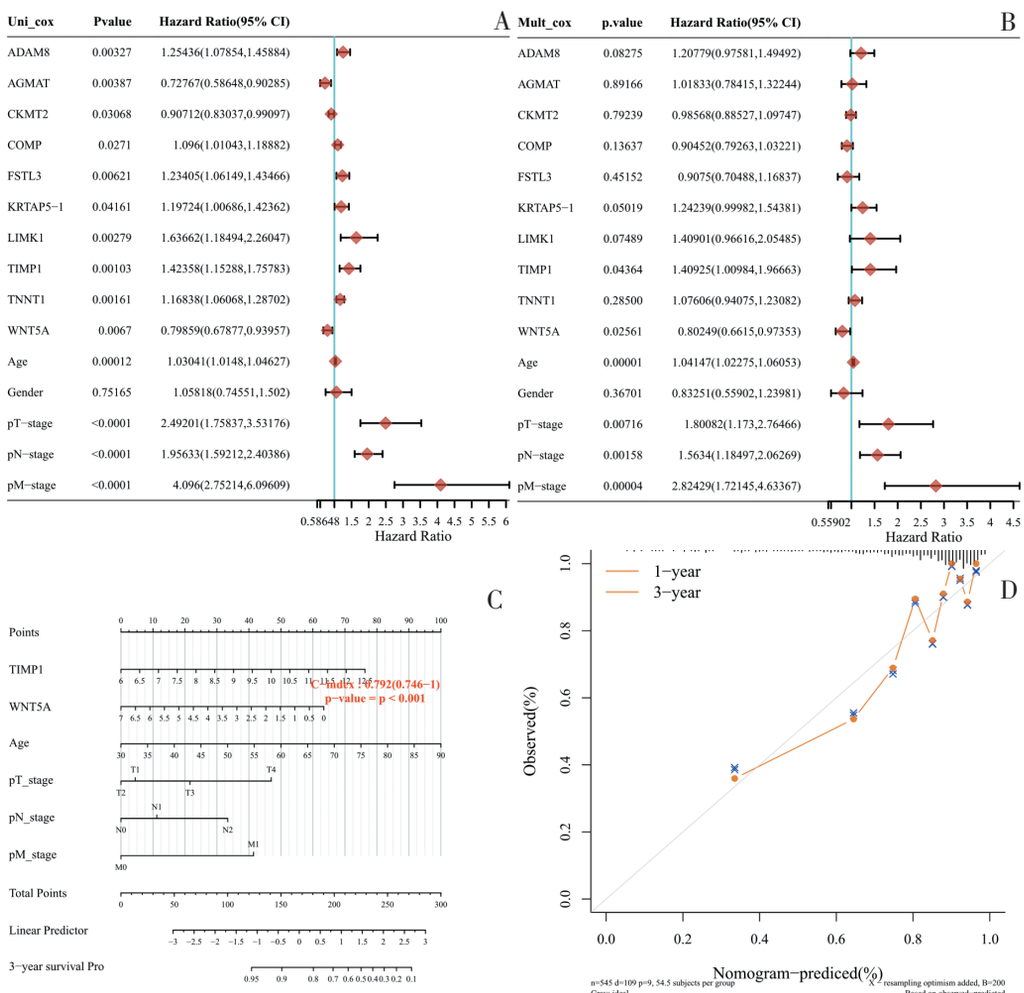

图4　TIMP1与CRC患者预后的关系

A：单因素Cox回归分析结果显示ADAM8、LIMK1、TIMP1高表达和高TNM分期与患者预后不良有关；B：多因素Cox回归分析结果显示TIMP1高表达和高TNM分期是CRC患者预后不良的独立危险因素；C：预测CRC患者3年总生存期的列线图；D：总体生存列线图模型曲线

肿瘤微环境的炎症状态，对靶抗原的可用性具有决定性作用[16-17]。利用生物标志物来预测抗肿瘤药物的疗效是癌症免疫治疗领域的重要研究方向[18]。TIMP1从TCGA数据库筛选得到，在CRC中表达显著上调，并且其表达量与ICs的表达相关性高；同时，TIMP1还能够显著影响CRC患者预后。TIMP1来自TIMPs家族，包括TIMP1、TIMP2、TIMP3和TIMP4[19]。TIMPs通过抑制基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases，MMPs）促进细胞外基质（extracellular matrix，ECM）降解，抑制或刺激肿瘤发生[20-21]。TIMP1与肿瘤浸润、血行转移及淋巴转移相关[22]。在多种肿瘤如甲状腺癌[23]、前列腺癌[24]、胰腺癌[25]、乳腺癌[26]中高表达，且与预后不良密切相关。在肾细胞癌中，TIMP1与上皮间质转化（epithelial interstitial transformation，EMT）密切相关[27]。TIMP1被证明是胃癌的独立危险因素之一[28]。本研究结果显示，TIMP1高表达是CRC患者预后不良的独立危险因素之一；TIMP1表达量不同的患者其多种免疫细胞浸润水平存在显著差异；药物敏感性分析发现TIMP1高表达样本对博莱霉素和米哚妥林可能具有高度敏感性。

综上，TIMP1与CRC免疫微环境相关，其表达上调是CRC患者预后不良的独立危险因素之一。TIMP1可能通过影响ICs及免疫细胞浸润导致CRC患者预后不良，其有望成为鉴别癌症免疫治疗获益的新的预测性生物标志物。博莱霉素和米哚妥林可能是TIMP1高表达CRC患者的敏感药物。

参　考　文　献

[1] ZHANG C, STAMPFL-MATTERSBERGER M, RUCKSER R, et al. Colorectal cancer[J]. Wien Med Wochenschr, 2023, 173(9-10): 216-220. DOI:10.1007/s10354-022-00975-6.

[2] 杨宗明，朱章航，徐李莎，等.全球结直肠癌疾病负担与筛查比较[J].实用肿瘤杂志，2023，38(3)：211-217.

[3] CERVANTES A, ADAM R, ROSELLO S, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment

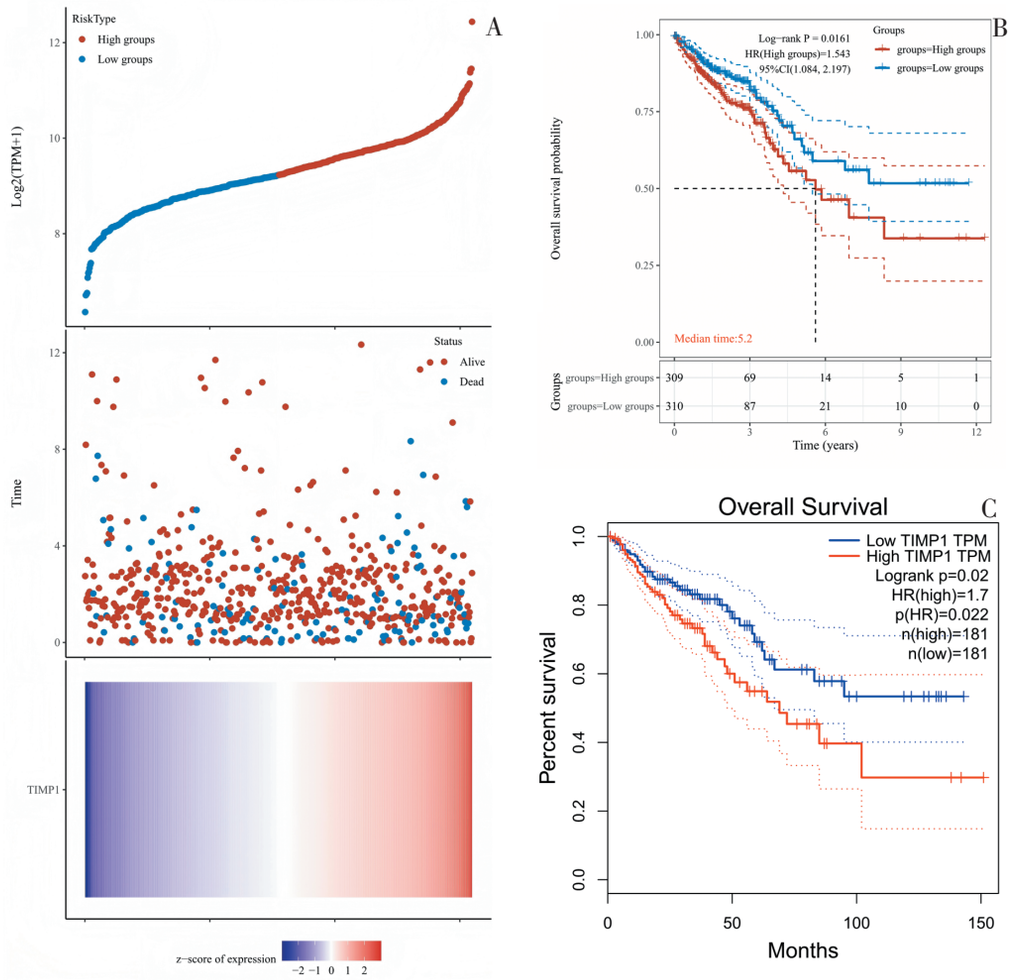

图 5　TIMP1 高表达 CRC 患者预后不良

A：TIMP1 与 CRC 预后相关（P<0.05）；B：TIMP1 在 TCGA 数据中的 Kaplan-Meier 生存曲线；C：TIMP1 在 GEPIA 数据中的 Kaplan-Meier 生存曲线

and follow-up[J]. Ann Oncol, 2023, 34(1): 10-32. DOI:10.1016/j.annonc.2022.10.003.

[4] 徐璐，孙婧. 结直肠癌伴腹膜转移治疗的研究进展[J]. 临床肿瘤学杂志，2023，28（1）：84-89.

[5] 陈羽丰. 伴有不可切除肝转移的结直肠癌的治疗进展[J]. 中国现代普通外展，2021，24（2）：160-162，165.

[6] QU R, MA Y, ZHANG Z, et al. Increasing burden of colorectal cancer in China[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(8): 700. DOI: 10.1016/S2468-1253(22)00156-X.

[7] TIENG F, LEE L H, AB M N, et al. Deciphering colorectal cancer immune microenvironment transcriptional landscape on single cell resolution-A role for immunotherapy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 959705. DOI:10.3389/fimmu.2022.959705.

[8] VIKAS P, MESSERSMITH H, COMPTON C, et al. Mismatch repair and microsatellite instability testing for immune checkpoint inhibitor therapy: ASCO endorsement of College of American Pathologists guideline[J]. J Clin Oncol, 2023, 41(10): 1943-1948. DOI: 10.1200/JCO.22.02462.

[9] ZENG D, LI M, ZHOU R, et al. Tumor microenvironment characterization in gastric cancer identifies prognostic and immunotherapeutically relevant gene signatures[J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(5): 737-750. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-18-0436.

[10] RAVI R, NOONAN K A, PHAM V, et al. Bifunctional immune checkpoint-targeted antibody-ligand traps that simultaneously disable TGFbeta enhance the efficacy of cancer immunotherapy[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 741. DOI:10.1038/s41467-017-02696-6.

[11] WANG J C. Importance of plasma matrix metalloproteinases (MMP) and tissue inhibitors of metalloproteinase(TIMP) in development of fibrosis in agnogenic myeloid metaplasia[J]. Leuk Lymphoma, 2005, 46(9): 1261-1268. DOI:10.1080/10428190500126463.

[12] YI L, WU G, GUO L, et al. Comprehensive analysis of the PD-L1 and immune infiltrates of m(6)A RNA methylation regulators in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 21: 299-314. DOI:10.1016/j.omtn.2020.06.001.

[13] 孙俪洋，高恒军，牛哲禹，等. 免疫检查点抑制剂治疗原发性肝癌的研究进展[J]. 中国现代普通外科进展，2019，22（3）：203-206.

[14] DING Y, WANG Z, ZHOU F, et al. Associating resistance to immune checkpoint inhibitors with immunological escape in colorectal cancer[J]. Front Oncol, 2022, 12: 987302. DOI: 10.3389/fonc.2022.987302.

[15] FAN A, WANG B, WANG X, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: current achievements and future perspective[J]. Int J Biol

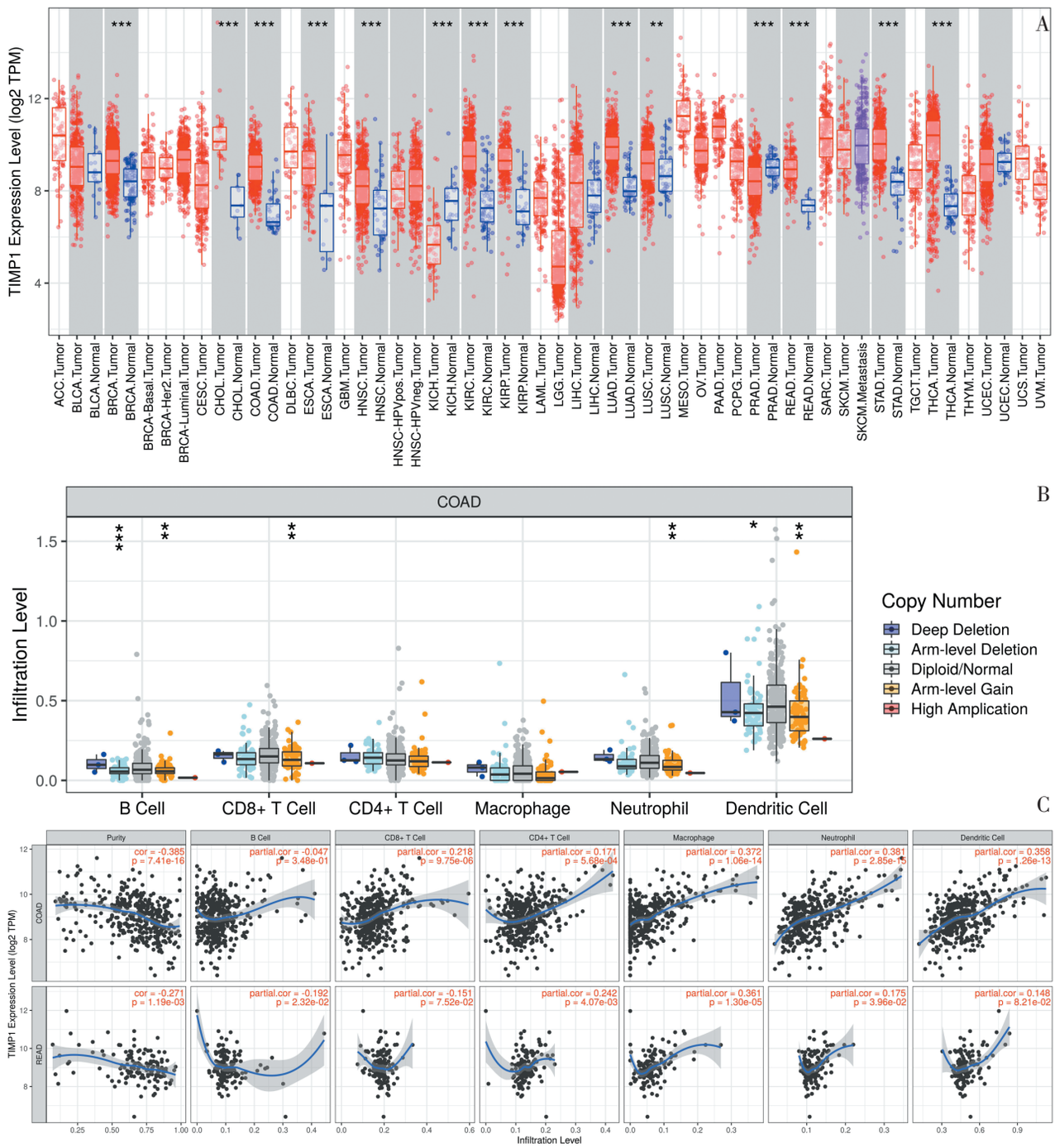

图6　TIMP1与癌症患者免疫系统的关系

A：TIMP1在多个癌症中高表达；B：TIMP1表达量不同，多种免疫细胞浸润水平存在显著差异；C：TIMP1与多种免疫细胞浸润水平显著相关

Sci, 2021, 17(14): 3837-3849. DOI:10.7150/ijbs.64077.

[16] 王建平，霍子天，秦钧，等.量化肿瘤浸润免疫细胞的分析方法研究进展[J].生命科学研究，2023，27(1)：1-12.

[17] SUN J, JIA H, BAO X, et al. Tumor exosome promotes Th17 cell differentiation by transmitting the lncRNA CRNDE-h in colorectal cancer[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(1): 123. DOI:10.1038/s41419-020-03376-y.

[18] JOHDI N A, SUKOR N F. Colorectal cancer immunotherapy: options and strategies[J]. Front Immunol, 2020, 11: 1624. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01624.

[19] BODOR J N, BOUMBER Y, BORGHAEI H, et al. Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. Cancer, 2020, 126(2): 260-270. DOI: 10.1002/cncr.32468.

[20] BATRA J, ROBINSON J, SOARES A S, et al. Matrix metalloproteinase-10(MMP-10) interaction with tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-1 and TIMP-2: binding studies and crystal structure [J]. J Biol Chem, 2012, 287(19): 15935-15946. DOI: 10.1074/jbc.M112.341156.

[21] ROBERT S, GICQUEL T, VICTONI T, et al. Involvement of matrix metalloproteinases(MMPs) and inflammasome pathway in molecular mechanisms of fibrosis[J]. Biosci Rep, 2016, 36(4). DOI: 10.1042/

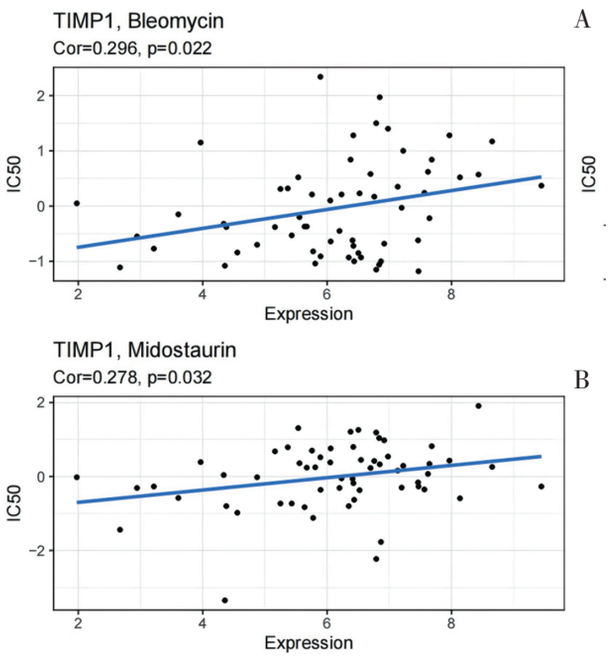

图 7　TIMP1 高表达样本对博莱霉素和米哚妥林的药物反应

A：博莱霉素；B：米哚妥林

BSR20160107.

[22] WANG J, SUN J, LIU L N, et al. Siglec-15 as an immune suppressor and potential target for normalization cancer immunotherapy[J]. Nat Med, 2019, 25(4): 656-666. DOI:10.1038/s41591-019-0374-x.

[23] HWANG C F, CHIEN C Y, HUANG S C, et al. Fibulin-3 is associated with tumour progression and a poor prognosis in nasopharyngeal carcinomas and inhibits cell migration and invasion via suppressed AKT activity[J]. J Pathol, 2010, 222(4): 367-379. DOI: 10.1002/path.2776.

[24] HAWTHORN L, STEIN L, VARMA R, et al. TIMP1 and SERPIN-A overexpression and TFF3 and CRABP1 underexpression as biomarkers for papillary thyroid carcinoma[J]. Head Neck, 2004, 26 (12): 1069-1083. DOI:10.1002/hed.20099.

[25] TIAN Z, TAN Y, LIN X, et al. Arsenic trioxide sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine through downregulation of the TIMP1/PI3K/AKT/mTOR axis[J]. Transl Res, 2023, 255: 66-76. DOI: 10.1016/j.trsl.2022.11.007.

[26] WURTZ S O, SCHROHL A S, MOURIDSEN H, et al. TIMP-1 as a tumor marker in breast cancer--an update[J]. Acta Oncol, 2008, 47 (4): 580-590. DOI:10.1080/02841860802022976.

[27] SHOU Y, LIU Y, XU J, et al. TIMP1 indicates poor prognosis of renal cell carcinoma and accelerates tumorigenesis via EMT signaling pathway[J]. Front Genet, 2022, 13: 648134. DOI: 10.3389/fgene.2022.648134.

[28] MACEDO F C, CUNHA N, PEREIRA T C, et al. A prospective cohort study of TIMP1 as prognostic biomarker in gastric and colon cancer[J]. Chin Clin Oncol, 2022, 11(6): 43. DOI:10.21037/cco-22-69.

（收稿日期：2024-12-30）

读者·作者·编者

敬请关注《中国现代普通外科进展》官方微信平台

《中国现代普通外科进展》官方微信公众号已开通，我们将通过微信平台定期推送本刊优秀文章、活动信息及国内外最新研究成果与进展等。您也可在微信上留言，向我们咨询杂志相关问题并对我们的工作提出意见和建议。《中国现代普通外科进展》微信公众号的开通是我们在移动互联微时代背景下的创新之举，希望能为广大读者与作者带来更多便利。

欢迎扫描二维码，关注《中国现代普通外科进展》官方微信公众号。

《中国现代普通外科进展》编辑部