

· 临床研究 ·

基于生物信息学方法挖掘调控肾透明细胞癌发生的分子生物标志物

郭 峰,王晨宇,史振峰,赵建华,樊文龙,艾合买提·卡德尔,倪泽称

(新疆维吾尔自治区人民医院泌尿中心肿瘤病区,新疆乌鲁木齐 830002)

Mining molecular biomarkers regulating the occurrence of kidney renal clear cell carcinoma based on bioinformatics methods

GUO Feng, WANG Chenyu, SHI Zhenfeng, ZHAO Jianhua, FAN Wenlong, AIHEMAITI Kadeer, NI Zecheng
(Urinary Center Tumor Ward, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830002, China)

ABSTRACT: **Objective** To identify biomolecular markers closely related to the occurrence of kidney renal clear cell carcinoma (KIRC) and verify their expression levels in clinical samples. **Methods** Stage I KIRC mRNA sequencing data were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA). Principal component analysis (PCA) was used for dimensionality reduction to screen differentially expressed genes (DEGs), which then underwent GO and KEGG analyses. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was used to screen genes significantly related to KIRC, and a protein-protein interaction (PPI) network was constructed to screen hub genes. The diagnostic value of hub genes was evaluated with receiver operating characteristic (ROC) curve, and their prognostic value was analyzed using survival curve plots. The correlation between the mRNA expressions of hub genes and the pathological stages of KIRC was analyzed. Clinical samples of 20 patients with stage I KIRC treated in our hospital were included, and the expressions of the hub genes in cancerous and adjacent tissues were detected with reverse transcription real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), Western blotting, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** A total of 8223 DEGs were screened out, including 4092 up-regulated ones and 4131 down-regulated ones. GO analysis showed that DEGs were related to bioadhesion, plasma membrane composition, and transporter activity. KEGG analysis showed that DEGs were related to pathways such as cell adhesion molecules, cytokine-cytokine receptor interactions, and interactions between viral proteins and cytokines and cytokine receptors. WGCNA analysis obtained 171 genes that were significantly related to stage I KIRC. The hub gene, lymphocyte cytosolic protein 2 (LCP2), screened out by the PPI network, was significantly related to stage I KIRC. The area under the ROC curve was 0.96. The expression level was negatively correlated with the overall survival rate of patients. The expression of LCP2 was related to the stage and lymph node metastasis. Clinical verification showed that the mRNA and protein relative expressions of LCP2 in KIRC tissues were significantly higher than those in adjacent tissues ($P < 0.0001$). **Conclusion** LCP2 is significantly up-regulated in stage I KIRC tissues and can be used as a potential biomarker for the early diagnosis and treatment of KIRC.

KEY WORDS: molecular biology; bioinformatics; epigenetics; differentially expressed genes; kidney renal clear cell carcinoma; weighted gene co-expression network analysis; lymphocyte cytosolic protein 2

摘要: **目的** 采用生物信息学分析筛选与肾透明细胞癌(KIRC)发生密切相关的分子生物标志物,并验证其在临床样本中的表达水平。 **方法** 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库获取 KIRC I 期 mRNA 测序数据,用主成分分析(PCA)降维处理,筛选差异表达基因(DEGs),并对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析。采用加权基因共表达网络分析(WGCNA)筛选出与 KIRC 显著相关的基因,构建蛋白互作(PPI)网络筛选枢纽基因。通过受试者工作特征(ROC)曲线评估枢纽基因的诊断价值,使用生存曲线图分析其预后价值,并分析枢纽基因的 mRNA 表达量与 KIRC 病理分期的相关性。纳入来自新疆维吾尔自治区人民医院的 20 例 KIRC I 期患者的临床样本,采用逆转录实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)、蛋白免疫印迹法、酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测该枢纽基因在患者肾癌及癌旁组织中的表达水平。 **结果** 共筛选出 8223 个 DEGs,其中上调基因 4092 个、下调基因 4131 个。GO 分析显示 DEGs 与生物粘附、质膜组成部分和转运蛋白活性等相关,KEGG 分析显示 DEGs 与细胞粘附分子、细胞因子-细胞因子受体相互作用、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用等途径相关。WGCNA 分析获得了 171 个与 KIRC I 期显著相关的基因,PPI 网络筛选出的枢纽基因淋巴细胞胞质蛋白 2(LCP2)与 KIRC I 期的相关性显著,ROC 曲线下面积为 0.96,且 LCP2 的表达水平与患者的总体生存率呈负相关,与患者的分期、淋巴结转移有关。临床样本验证显示,KIRC I 期组织中 LCP2 的 mRNA 和蛋白的相对表达水平均显著高于癌旁正常组织($P < 0.0001$)。 **结论** LCP2 在 KIRC I 期组织中显著上

收稿日期:2024-05-14

修回日期:2024-08-12

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(No.2021D01C189)

通信作者:倪泽称,硕士研究生。E-mail: hmnzc@163.com

作者简介:郭峰,本科,副主任医师。研究方向:泌尿系肿瘤。E-mail: 18099199510@163.com

调,可作为 KIRC 早期诊断与治疗的潜在分子生物标志物。

关键词:分子生物学;生物信息学;表观遗传学;差异表达基因;肾透明细胞癌;加权基因共表达网络分析;淋巴细胞胞质蛋白 2

中图分类号:R737.11

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2025.03.007

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是一种实质性肿瘤,全球每年约有 338 000 例新发 RCC 病例,其中 70% 以上为肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)^[1]。KIRC 是一种代谢性疾病,发病率在世界范围内呈上升趋势^[2],通常恶性程度较低,早期可能无明显临床表现或有轻度发热、乏力,早期诊断主要依赖于影像学检查。然而由于 KIRC 病理分级的复杂性以及其可能与其他类型 RCC 并发,晚期预后通常不良^[3-4]。

加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)是一种强大的系统生物学方法,可在转录组学、蛋白质组学和代谢组学研究中寻找共表达模块和枢纽/关键基因^[5-7]。WGCNA 根据相似表达谱的基因之间的成对相关性将基因分组到一个模块/网络中,进而能够系统地分析大型高维数据集^[8]。目前 WGCNA 已被广泛应用于研究枢纽(Hub)基因与不同类型癌症的病程进展及 Hub 基因在患者预后中的作用^[9]。

1 资料与方法

1.1 数据下载与预处理 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)的“Kidney Clear Cell Carcinoma”队列中下载患者的 mRNA 测序数据和临床信息,包括 528 个 KIRC 样本和 78 个癌旁正常组织样本。根据临床信息先将 KIRC I 期的肿瘤样本筛选出来,再通过主成分分析(principal component analysis, PCA)排除不能区分肿瘤组织和正常组织的样本。

1.2 差异表达基因(differential expressed genes, DEGs)的筛选 在 R 软件中使用“limma”包识别 KIRC I 期样本与癌旁正常组织样本之间的 DEGs,筛选标准 $P < 0.01$, 且 $|\log FC| > 1.5$, 使用 R 包“ggplot2”绘制 DEGs 的火山图。

1.3 功能富集分析 使用 R 软件中“clusterProfiler”(version: 3.14.3),对 DEGs 进行基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genome, KEGG)(<http://sangerbox.com>)富集分析,设定最小基因集为 5,最大基因集为 5000,错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.1 , $P < 0.01$ 。

1.4 基于 WGCNA 构建数据网络 使用 R 软件中

BiocManger(version: 1.30.10)下载 WGCNA 包(version: 1.70-3),并构建 DEGs 共表达网络,将不同模块与 KIRC I 期的相关性进行分析,选择相关性显著的模块进行 Hub 基因筛选。构建无标度网络,将软阈值功率 β 设置为 14,独立性设置为 0.9,平均连通性接近于 0。将表达模式相似的 DEGs 聚集,合并切割高度 < 0.25 差异的模块。

1.5 蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络构建及 Hub 基因筛选 使用 STRING 数据库,将 WGCNA 中筛选出的 Hub 基因导入,选择物种为人,得到基于 STRING 的 PPI 网络图,将数据导入到 Cytoscape 软件中进行可视化,根据 Degree 算法筛选 Hub 基因。

1.6 淋巴细胞胞质蛋白 2(lymphocyte cytoplasmic protein 2, LCP2)在 KIRC 中的预后分析 使用 R 软件包 maxstat 计算 RiskScore 的最佳截断值,设置最小分组样本数 $> 25\%$,最大分组样本数 $< 75\%$,以 LCP2 表达量的最佳截断值将患者分为“高表达”或“低表达”组, Kaplan-Meier 法制作生存曲线图,使用 R 软件包 survival 的 survfit 函数分析两组的预后差异,采用 log-rank 检验评估两组之间的差异显著性。使用 R 软件包 pROC (version: 1.17.0.1)绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,并分析 LCP2 在 KIRC 中的诊断价值。

1.7 临床样本中 LCP2 表达水平的检测 纳入新疆维吾尔自治区人民医院 2023 年 2 月 2 日—2024 年 3 月 1 日收治的 20 例 KIRC I 期患者的肿瘤组织和癌旁正常组织,并对其进行 LCP2 表达水平验证。纳入标准:年龄 18~60 岁;确诊为 KIRC I 期患者并进行手术治疗。排除标准:曾进行化疗或放疗的患者;合并其他肿瘤及严重威胁生命安全疾病的患者。本研究获得了所有参与者的书面知情同意,且获得新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会批准(KY2023060111)。

1.7.1 逆转录实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR) 用 Trizol 试剂(南京博雷兹生物科技有限公司)裂解冷冻组织以提取总 RNA。采用 RT-qPCR 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)对 RNA 进行逆转录,按照说明书进行操作。在荧光定量聚合酶链式反应仪(杭州博日科技股份有限公司)上进行 cDNA 扩增。LCP2_F: 5'-CT-

TCTCTCAAGGCCCTAGCAA-3', LCP2 _ R: 5'-ACTTTCCTTCTGATAACG GAT-3'。以 GAPDH 扩增方法作为内对照。GAPDH_F: 5'-CTCTGCTC CTCCTGTTTCGAC-3', GAPDH _ R: 5'-ACCAAA TCCGTTGACTCCGA-3'[所有引物均由生工生物工程(上海)有限公司设计合成]。

1.7.2 蛋白免疫印迹(western blotting, WB) 用裂解缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)提取组织中的总蛋白,然后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳结束后将凝胶上的蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)(北京兰杰柯科技有限公司)上。将 PVDF 置于 50 g/L 脱脂奶粉中 4℃ 条件下封闭过夜,然后与抗核心基因的特异性一抗和抗 β -actin 孵育 3 h,孵育结束后冲洗膜并与过氧化物酶偶联的二抗孵育 2 h(抗体均购自江苏亲科生物研究中心有限公司)。最后使用增强型化学发光液(北京兰杰柯科技有限公司)在 Tanon 5200 化学发光成像仪(上海天能科技有限公司)上显影。

1.7.3 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)裂解冷冻组织,按

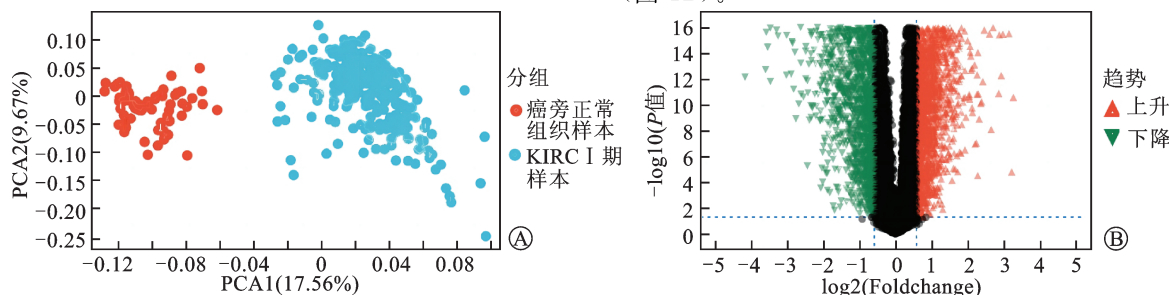
照 ELISA 试剂盒(上海通蔚实业有限公司)的说明书进行检测。具体步骤:首先稀释标准品并设置空白对照孔及待测样品孔,加入相应稀释液及待测样品;按步骤温育洗涤;依次加入显色剂 A 与 B 以及终止液。最后测量各孔在 450 nm 波长处的吸光度值。

1.8 统计学方法 实验数据应用 GraphPad Prism 5.0 统计分析软件进行处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的比较采用 t 检验(Student's t -test), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 数据预处理 从 528 个 KIRC 样本中筛选出的 267 个 KIRC I 期样本和 78 个癌旁正常组织样本。基于 PCA 的过滤排除了 18 个 KIRC I 期样本和 12 个癌旁正常组织样本,两个 PCA 可以充分区分 KIRC I 期样本与癌旁正常组织样本,占观察到差异的 17.56%(第 1 成分)和 9.67%(第 2 成分)(图 1A)。

2.2 DEGs 的筛选与鉴定 在 66 个癌旁正常组织样本和 249 个 KIRC I 期样本中,共鉴定出 8223 个 DEGs,包括 4092 个上调基因和 4131 个下调基因(图 1B)。

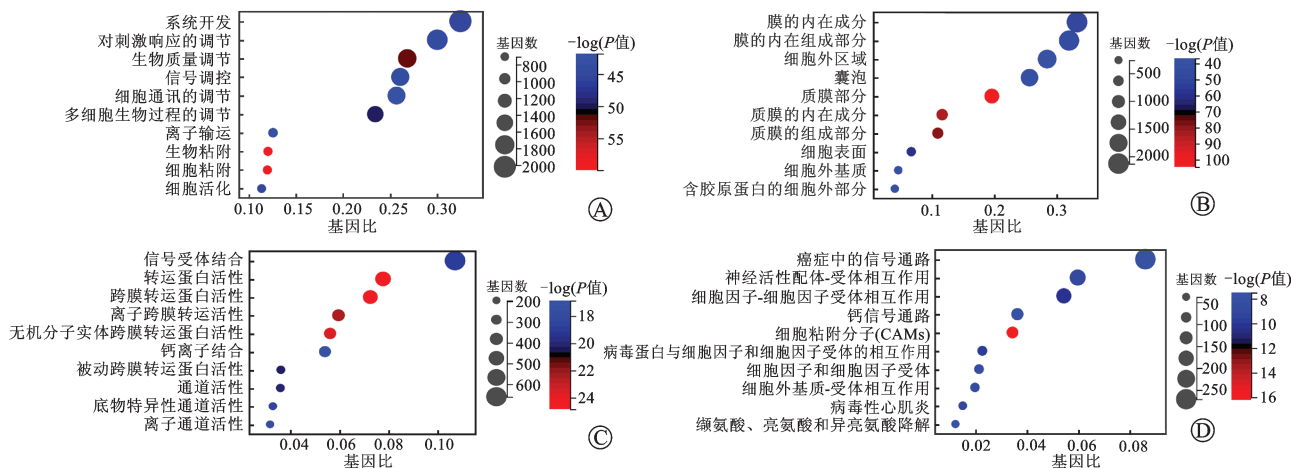


A:主成分分析;B:差异基因火山图;PCA:主成分分析。

图 1 肾透明细胞癌 I 期组织与癌旁正常组织样本间差异基因的筛选

2.3 KIRC 的 DEGs 功能富集分析 为了探讨 DEGs 在 KIRC 中潜在的生物学功能,本文进行了 GO 和 KEGG 富集分析(图 2)。GO 功能注释由 3 个

部分构成,生物学进程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)。



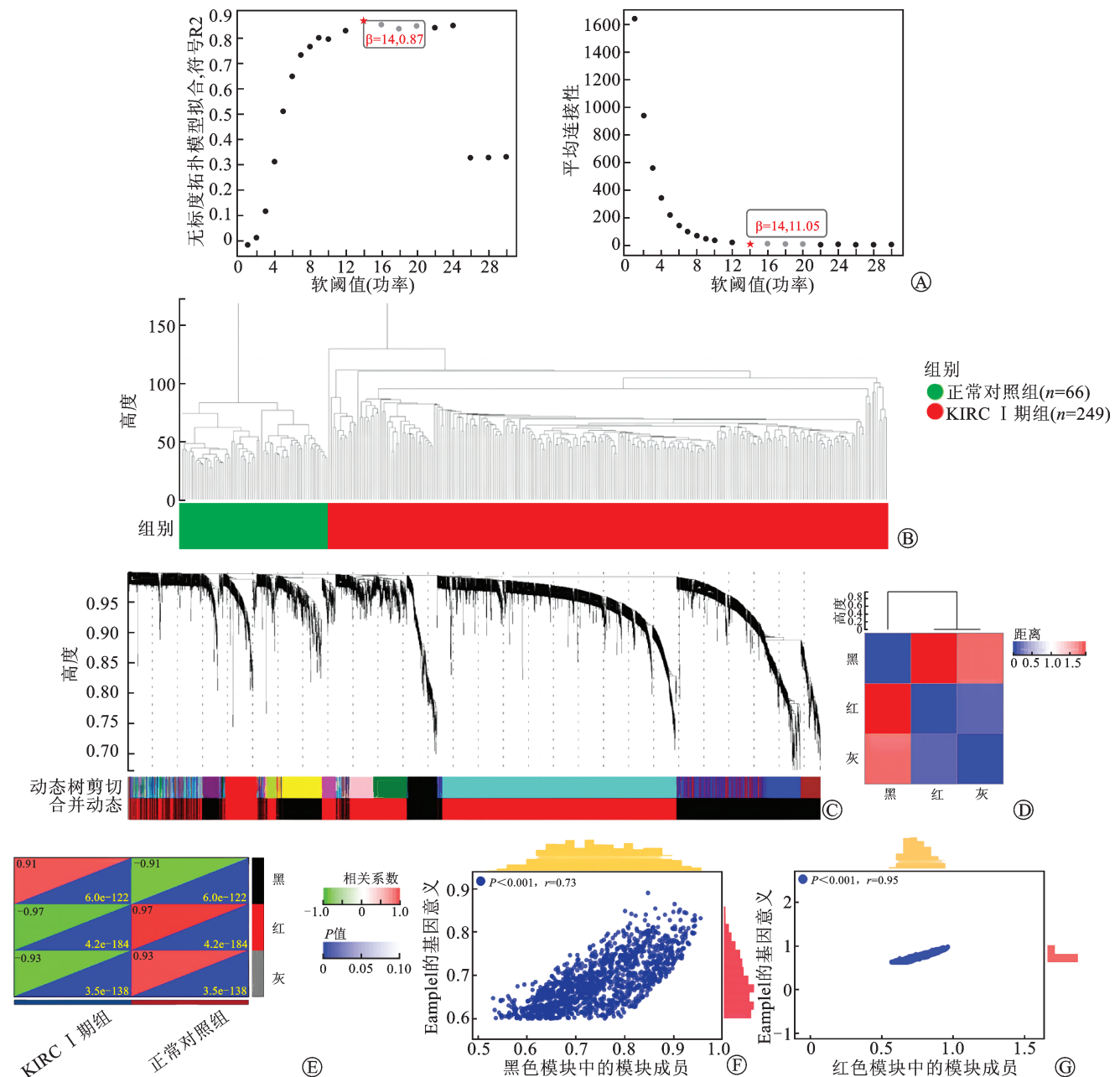
A:GO 生物学进程富集分析图;B:GO 细胞组分富集分析图;C:GO 分子功能富集分析图;D:KEGG 功能富集分析图。

图 2 差异基因的 GO 和 KEGG 通路富集分析

BP 分析结果主要有:生物粘附、细胞粘附、生物质量调节、多细胞生物过程的调节。CC 分析结果主要有:质膜部分、质膜内在成分、质膜组成部分、细胞表面。MF 分析结果主要有:转运蛋白活性、跨膜转运蛋白活性、无机分子实体跨膜转运蛋白活性、离子跨膜转运蛋白活性。KEGG 富集分析显示 DEGs 主要与细胞粘附分子、细胞因子-细胞因子受体相互作用、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、神经活性配体-受体相互作用有关。这些结果与已知的 KIRC 功能障碍相一致,结果可靠。

2.4 基于 WGCNA 构建数据网络并识别显著模

块 基于 WGCNA 构建一个包括 8223 个 DEGs 的表达矩阵和 315 个样本(包括 249 个 KIRC I 期样本和 66 个癌旁正常组织样本)的临床数据网络。使用聚类分析该 315 个样本,并设定截止阈值(高度 < 200),无任何异常值。将 315 个样本分为 2 个簇, KIRC I 期簇和正常对照簇。无标度网络构建过程中产生了 3 个共表达模块:黑色、红色和灰色。经过分析确认黑色和红色模块与 KIRC 相关性最大,选取黑色和红色模块设置 $|MM| > 0.9$, $|GS| > 0.1$ 提取 Hub 基因,共获得 171 个 Hub 基因,其中黑色模块获得 61 个 Hub 基因,红色模块获得 110 个 Hub 基因(图 3)。



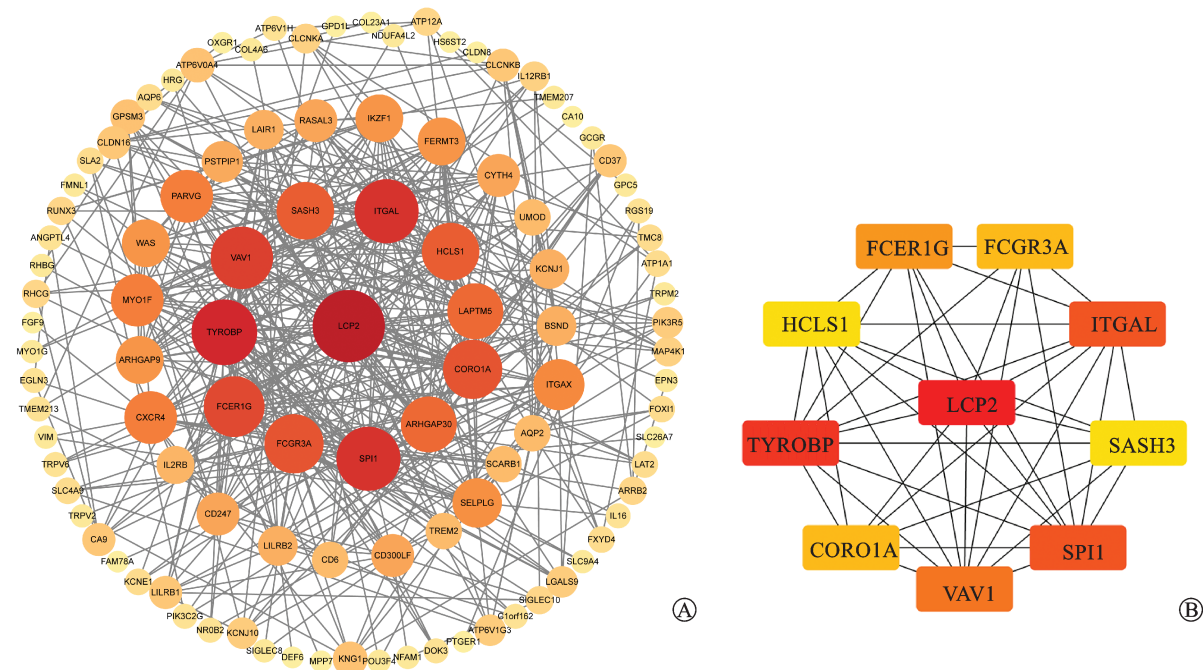
A: 软阈值确定; B: 样本聚类图; C: 基因聚类图; D: 模块特征向量聚类图; E: 模块与表型相关性热图; F: 黑色模块中基因 $|GS|$ 和 $|MM|$ 散点图; G: 红色模块中基因 $|GS|$ 和 $|MM|$ 散点图; KIRC: 肾透明细胞癌。图 F、G 中红色、黄色代表出现频率, 蓝色代表 mRNA 相对表达量。

图 3 基于加权基因共表达网络分析(WGCNA)构建数据网络

2.5 Hub 基因的 PPI 网络构建及候选枢纽基因筛选

将获得的 171 个 Hub 基因导入 STRING 数据库, 获得 PPI 网络数据, 将数据导入 Cytoscape 软件进行可视化, 显示共有 108 个节点, 437 个互作关系对, 根据 Degree 算法, 筛选出关联度最高的前 10 个候选

Hub 基因(图 4)。关联度最高的基因为淋巴细胞胞质蛋白 2(lymphocyte cytoplasmic protein 2, LCP2) 其次为 TYROBP、SPI1、ITGAL、VAV1、FCER1G、FCGR3A、CORO1A、SASH3、HCLS1, 这些基因在 KIRC 中均表达上调。

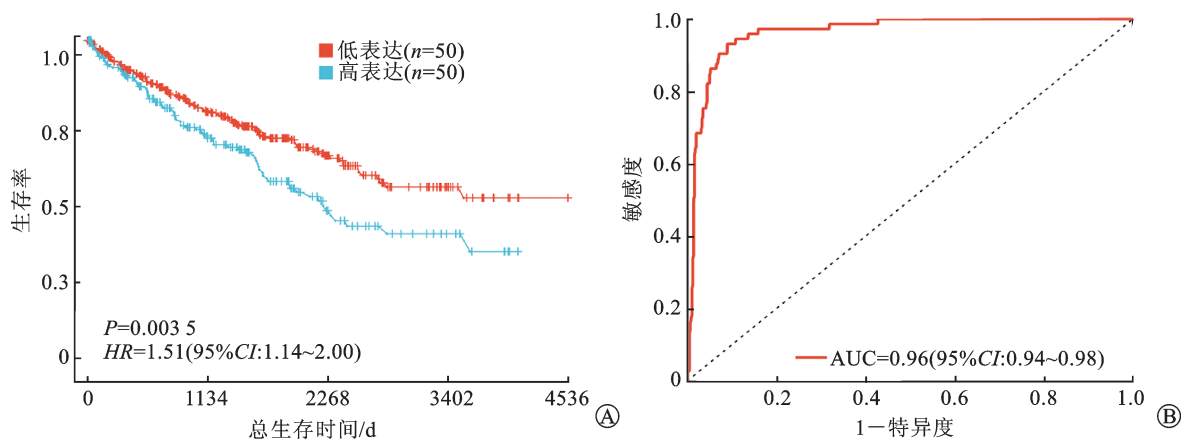


A: 枢纽基因的 PPI 网络图; B: 节点最多的前 10 个候选枢纽基因 PPI 网络图。

图 4 蛋白互作(PPI)网络图

2.6 LCP2 在 KIRC 中的预后分析 生存分析结果显示, LCP2 相对表达水平越高, 患者的总体生存率(overall survival, OS)越低(log rank $P=0.0035$, 图

5A)。ROC 曲线分析结果显示 LCP2 诊断 KIRC 的曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.96(图 5B)。

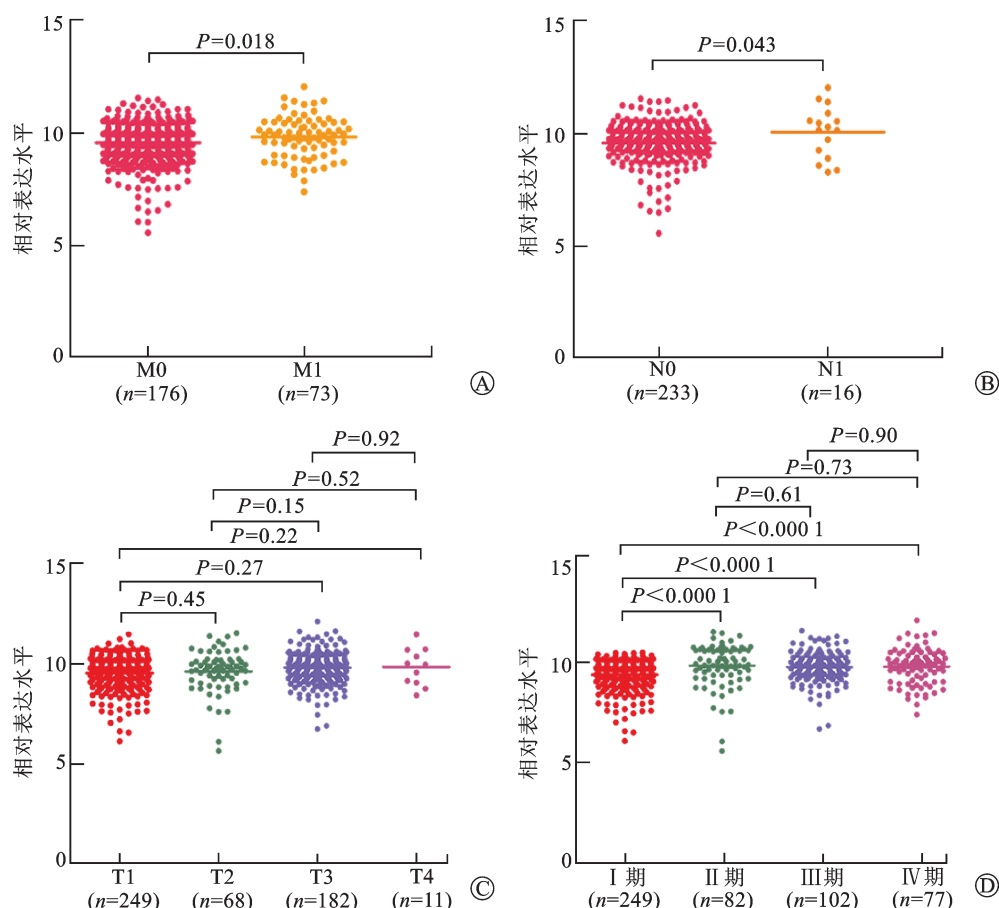


A: K-M 生存曲线; B: 受试者工作特征(ROC)曲线; HR: 风险比; AUC: ROC 曲线下面积。

图 5 LCP2 在肾透明细胞癌预后诊断中的价值

2.7 LCP2 与 KIRC 临床病理分期的关系 LCP2 mRNA 相对表达水平与 KIRC TNM 分期的相关性分析显示, LCP2 mRNA 的表达水平在 KIRC 的 M0 和 N0 期显著低于 M1 和 N1 期 ($P=0.018$, $P=0.043$, 图 6A、B); LCP2 mRNA 表达水平在 T1~4

分期中差异无统计学意义($P>0.05$, 图 6C); LCP2 mRNA 表达水平在 I 期显著低于 II、III、IV 期 ($P<0.0001$, 图 6D)。说明 LCP2 mRNA 表达水平与 KIRC 患者的分期、淋巴结转移有关。

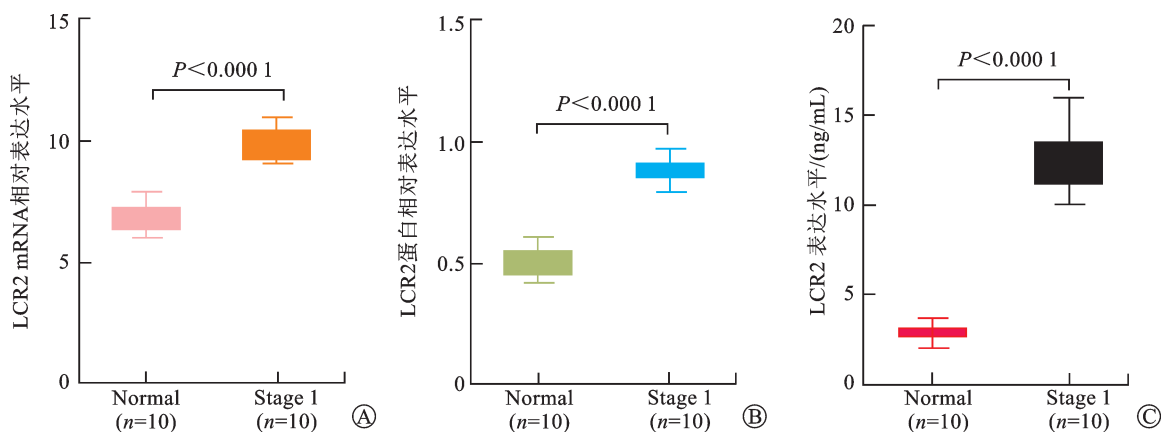


A:有无远处转移;B:有无淋巴结转移;C:T分期;D:临床分期。T:肿瘤大小及进展情况;N:淋巴结转移情况;M:有无远处转移;LCP2:淋巴细胞质蛋白2。

图6 LCP2 mRNA在肾透明细胞癌不同临床病理分期中表达水平的对比

2.8 临床样本中LCP2的表达水平验证 KIRC I期组织较癌旁正常组织中LCP2 mRNA的相对表达水平高,差异具有统计学意义 $[(9.830 \pm 0.140) \text{ vs. } (6.798 \pm 0.119), P < 0.0001]$,图7A)。WB检测结果显示KIRC I期组织中LCP2蛋白相对表达水平较癌旁正常组织高,差异具有统计学意义 $[(0.891 \pm 0.$

$010) \text{ vs. } (0.508 \pm 0.013), P < 0.0001]$,图7B)。ELISA检测结果显示KIRC I期组织中LCP2表达水平较癌旁正常组织更高,差异具有统计学意义 $[(12.463 \pm 0.195) \text{ ng/mL vs. } (2.934 \pm 0.041) \text{ ng/mL}, P < 0.0001]$,图7C)。



A:LCP2 mRNA相对表达水平;B:Western blotting检测LCP2蛋白相对表达水平;C:ELISA检测LCP2表达水平。Normal:癌旁正常组织;Stage I:肾透明细胞癌I期组织;LCP2:淋巴细胞质蛋白2。

图7 临床样本中肾透明细胞癌I期组织中LCP2的表达

3 讨论

尽管在过去几十年里,联合化疗和放疗等略微改善了肿瘤治疗的效果,但肿瘤仍是经济发达国家和发展中国家患者死亡的主要原因之一。KIRC 是一种泌尿系恶性肿瘤,晚期或转移性 KIRC 患者的 5 年生存率低于 20%^[10]。常规化疗和放疗对 KIRC 的治疗作用有限,因此手术切除是局部肿瘤的主要治疗方法^[11-12],然而,约 30% 的患者即使在原发肿瘤完全切除后仍出现复发^[13]。因此,寻找 KIRC 相关分子标志物并从中探索新的临床治疗方法十分必要。

LCP2 位于染色体 5q33,全长 2032 bp,是一种肌动蛋白结合蛋白,参与多种细胞信号通路。LCP2 蛋白可以激活 T 细胞,促进白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和干扰素- γ (interferon, IFN- γ) 的分泌^[14-15],LCP2 在中性粒细胞和血小板的整合素信号传导过程中也发挥着重要作用。本研究发现,与癌旁正常组织相比,KIRC I 期组织中 LCP2 表达水平显著上调。通过生存曲线分析发现,LCP2 表达量越高 KIRC 患者 OS 越差,表明 LCP2 高表达可能与预后不良相关。ROC 曲线分析 LCP2 诊断 KIRC 的 AUC 为 0.96,且具有较高的特异度和敏感度,说明 LCP2 具有较好的诊断价值。本文还发现 LCP2 mRNA 的表达水平与 KIRC 患者分期、淋巴结转移相关。目前 LCP2 已被证实与多项肿瘤疾病的发生及发展密切相关,因此 LCP2 有望成为 KIRC 的潜在治疗靶点。

研究显示 LCP2 可作为接受抗程序性死亡受体 (programmed death receptor 1, PD-1) 免疫治疗的转移性皮肤黑色素瘤患者无进展生存的预后生物标志物^[16]。与正常皮肤相比,转移性皮肤黑色素瘤中 LCP2 的 mRNA 和蛋白表达显著增加,且 LCP2 高表达与肿瘤浸润 CD8⁺ T 细胞数目呈正相关。HUO 等^[17]的研究发现,LCP2 的表达与肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 临床分期和淋巴结转移相关;LCP2 的高表达与 LUAD 患者 OS 增加相关;在 LUAD 组织中,LCP2 的表达与程序性死亡受体配体 1 (programmed death ligand 1, PD-L1) 的表达呈正相关。盘大同源相关蛋白 5 (DLG associated protein 5, DLGAP5) 是细胞周期调控蛋白,参与了一系列的细胞生物学事件,有研究表明 DLGAP5 通过影响 CD8⁺ T 细胞从而促进 KIRC 的发生,DLGAP5 对 KIRC 的生存预后、肿瘤浸润免疫细胞、免疫治疗反

应和药物敏感性有一定的预测价值^[18],但 DLGAP5 的作用通路及机制尚不清楚。相较于 DLGAP5 作用于 KIRC 机制的不明确,LCP2 作为一种适配器蛋白编码基因,参与 T 细胞抗原受体激活的蛋白酪氨酸激酶途径^[19],对正常的 T 细胞发育和丝氨酸磷酸化激活至关重要^[20],参与介导来自 CD28/B7 家族的第二信号,从而调节 TCR 信号通路,LCP2 与 T 细胞受体信号通路、T1 和 T2 及 T17 细胞分化相关。此外研究发现 LCP2 与 SH3 结构域的蛋白 (UBASH3B) 紧密相互作用,UBASH3B 蛋白被确定为一种新的预后生物标志物^[21],并与肿瘤微环境中的免疫细胞浸润相关,且 KIRC 易发生免疫浸润,有理由认为 LCP2 可通过调节免疫细胞应答参与 KIRC 的发生发展。MAMMADLI 等^[22]的研究发现在肿瘤转移前用 LCP2 145pTYR 肽抑制剂处理的小鼠 T 细胞可以清除肿瘤细胞,抗肿瘤活性增强。造血祖细胞激酶 1 已被证明通过磷酸化 LCP2 的丝氨酸 376 来抑制 T 细胞的激活,从而导致 TCR 信号阻断。WU 等^[23]研发了一种具有选择性和口服生物可利用性的 HPK1 降解剂 HZ-S506,在疗效研究中 HZ-S506 作为单药或与抗 PD-1 抗体联合使用,在 CT26 肿瘤模型中均具有抗肿瘤活性,在 4T1 和 MC38 同基因肿瘤模型中显示出强大的抗 PD-1 抗肿瘤活性。

综上所述,本研究结果表明 LCP2 与 KIRC 的发生、生存预后、临床分期、淋巴结转移密切相关,LCP2 可能作为 KIRC 诊断及治疗的潜在分子生物标志物。

参考文献:

- [1] LI F, JIN Y, PEI X, et al. Bioinformatics analysis and verification of gene targets for renal clear cell carcinoma[J]. *Comput Biol Chem*, 2021, 92: 107453.
- [2] LUCARELLI G, LOIZZO D, FRANZIN R, et al. Metabolomic insights into pathophysiological mechanisms and biomarker discovery in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2019, 19(5): 397-407.
- [3] BAEK D, VILLEN J, SHIN C, et al. The impact of microRNAs on protein output[J]. *Nature*, 2008, 455(7209): 64-71.
- [4] WANG J, CHEN J, CHANG P, et al. MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2009, 2(9): 807-813.
- [5] PEI G, CHEN L, ZHANG W. WGCNA application to proteomic and metabolomic data analysis[J]. *Methods Enzymol*, 2017, 585: 135-158.
- [6] LUO Y, COSKUN V, LIANG A, et al. Single-cell transcriptome

- analyses reveal signals to activate dormant neural stem cells[J]. *Cell*, 2015, 161(5): 1175-1186.
- [7] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [8] LIU C, DAI Q, DING Q, et al. Identification of key genes in hepatitis B associated hepatocellular carcinoma based on WGCNA[J]. *Infect Agents Cancer*, 2021, 16(1): 18.
- [9] YUAN LS, CHEN L, QIAN KY, et al. Co-expression network analysis identified six hub genes in association with progression and prognosis in human clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) [J]. *Genom Data*, 2017, 14: 132-140.
- [10] BEDKE J, ALBIGES L, CAPITANIO U, et al. The 2021 updated European Association of Urology guidelines on renal cell carcinoma: immune checkpoint inhibitor-based combination therapies for treatment-naïve metastatic clear-cell renal cell carcinoma are standard of care[J]. *Eur Urol*, 2021, 80(4): 393-397.
- [11] BLANCO AI, TEH BS, AMATO RJ. Role of radiation therapy in the management of renal cell cancer[J]. *Cancers*, 2011, 3(4): 4010-4023.
- [12] DIAMOND E, MOLINA AM, CARBONARO M, et al. Cytotoxic chemotherapy in the treatment of advanced renal cell carcinoma in the era of targeted therapy[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2015, 96(3): 518-526.
- [13] NERICH V, HUGUES M, PAILLARD MJ, et al. Clinical impact of targeted therapies in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2014, 7: 365-374.
- [14] SOMMERS CL, MENON RK, GRINBERG A, et al. Knock-in-mutation of the distal four tyrosines of linker for activation of T cells blocks murine T cell development[J]. *J Exp Med*, 2001, 194(2): 135-142.
- [15] MALTZMAN JS, KOVOOR L, CLEMENTS JL, et al. Conditional deletion reveals a cell-autonomous requirement of SLP-76 for thymocyte selection[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(1): 893-900.
- [16] WANG Z, PENG M. A novel prognostic biomarker LCP2 correlates with metastatic melanoma-infiltrating CD8⁺ T cells[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 9164.
- [17] HUO Y, ZHANG K, HAN S, et al. Lymphocyte cytosolic protein 2 is a novel prognostic marker in lung adenocarcinoma[J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(11): 3000605211059681.
- [18] 李坤, 韩娜, 凡志祥, 等. DLGAP5 作为肾透明细胞癌的诊断标志物及其与 CD8⁺ T 细胞的相关性[J]. *医学信息*, 2023, 36(7): 1-8.
- [19] BARR VA, SHERMAN E, YI J, et al. Development of nanoscale structure in LAT-based signaling complexes[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(24): 4548-4562.
- [20] NAVAS VH, CUCHE C, ALCOVER A, et al. Serine phosphorylation of SLP76 is dispensable for T cell development but modulates helper T cell function [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170396.
- [21] WANG Z, WANG Y, PENG M, et al. UBASH3B is a novel prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in prostate cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1517.
- [22] MAMMADLI M, HUANG W, HARRIS R, et al. Targeting SLP76: ITK interaction separates GVHD from GVL in allo-HSCT[J]. *iScience*, 2021, 24(4): 102286.
- [23] WU YZ, ZHOU XL, JIN TT, et al. 1106 HZ-S506, a selective and orally bioavailable HPK1 degrader, is efficacious as a single agent or in combination with PD-1 antibody[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(Suppl 2): A1149.

(编辑 郭楚君)