

PAQR3 在肝细胞癌中的表达及其与 T 淋巴细胞免疫浸润、 免疫检查点基因及患者生存期关系的生物信息学分析

梁晓辉^{1,2}, 刘文娜³, 赵建伯⁴

(1. 天津医科大学基础医学院病理教研室, 天津 300070; 2. 天津医科大学总医院病理科, 天津 300052;
3. 天津医科大学朱宪彝纪念医院麻醉科 天津市内分泌研究所 国家卫健委激素与发育重点实验室
天津市代谢性疾病重点实验室, 天津 300134; 4. 天津市天津医院重症医学科, 天津 300211)

[摘 要] **目的:** 探讨孕酮和脂联素受体 3 (PAQR3) 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达及其与免疫浸润和免疫治疗反应及患者生存之间的关联, 阐明 PAQR3 在 HCC 免疫微环境中的作用及其临床意义。
方法: 收集 2023 年 1—12 月在天津医科大学总医院行肝切除手术的 3 例 HCC 患者 HCC 组织及癌旁组织样本。采用 Western blotting 法和免疫组织化学染色法检测各例 HCC 患者 HCC 组织及癌旁组织中 PAQR3 蛋白表达情况。收集癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库中接受肝切除手术的 HCC 患者的基因表达和临床数据。采用 CIBERSORT 和 TIMER2.0 等多种算法分析 PAQR3 表达与免疫细胞浸润的相关性; 采用 Spearman 相关性分析评估 PAQR3 表达水平与免疫检查点基因 [程序性细胞死亡蛋白 1 (PDCD1)、分化抗原 274 (CD274) 和细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA4)] 表达水平的相关性, 采用 Cox 比例风险回归模型和 Kaplan-Meier 法分析 PAQR3 蛋白表达与患者生存的关系。
结果: Western blotting 和免疫组织化学染色法, 与癌旁组织比较, HCC 组织中 PAQR3 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。TCGA 数据库分析, 与癌旁组织比较, PAQR3 基因在 HCC 组织中表达上调 ($P < 0.05$)。相关性分析, PAQR3 表达水平与 HCC 组织中调节性 T 淋巴细胞 (Tregs) ($\rho = 0.349$, $P < 0.001$)、CD8⁺ T 淋巴细胞 ($\rho = 0.268$, $P < 0.001$)、M2 巨噬细胞 ($\rho = 0.435$, $P < 0.001$) 和中性粒细胞 ($\rho = 0.399$, $P < 0.001$) 浸润呈正相关关系。PAQR3 蛋白高表达与 HCC 患者总生存期缩短有关联 ($P = 0.019$), 而免疫浸润对 HCC 患者生存无关联 ($P > 0.05$)。PAQR3 表达与免疫检查点相关基因 PDCD1、CD274 和 CTLA4 的表达呈正相关关系 ($P < 0.05$)。
结论: PAQR3 在 HCC 组织中表达上调, 其表达水平与 T 淋巴细胞和巨噬细胞等多种免疫细胞浸润程度、免疫检查点基因表达及患者不良预后有关, 提示 PAQR3 可能作为 HCC 预后的潜在生物标志物。

[关键词] 孕酮和脂联素受体 3; 肝细胞癌; 免疫细胞浸润; 免疫检查点基因; 生物信息学分析

[中图分类号] R730.2 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2025-09-08 [录用日期] 2025-11-03

[基金项目] 天津市教委科研项目 (2022KJ196)

[作者简介] 梁晓辉 (1985—), 女, 山东省乐陵市人, 实验师, 医学硕士, 主要从事肿瘤病理和病理技术方面的研究。

[通信作者] 梁晓辉, 实验师 (E-mail: liang-02@163.com)

©《吉林大学学报 (医学版)》编辑部, 开放获取遵循 CC BY-NC-ND 协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Bioinformatic analysis on *PAQR3* expression in hepatocellular carcinoma and its correlations with T lymphocyte infiltration, immune checkpoint genes, and patient survival

LIANG Xiaohui^{1,2}, LIU Wenna³, ZHAO Jianbo⁴

(1. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pathology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 3. Department of Anesthesiology, Tianjin Medical University Chu Hsien-I Memorial Hospital, Tianjin Institute of Endocrinology, NHC Key Lab of Hormones and Development, Tianjin Key Lab of Metabolic Diseases, Tianjin 300134, China; 4. Department of Critical Care Medicine, Tianjin Hospital, Tianjin City, Tianjin 300211, China)

ABSTRACT **Objective:** To discuss the expression of progesterin and adiponQ receptor 3 (*PAQR3*) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its association with immune infiltration, immunotherapy response, and patient survival, and to clarify its role in the HCC immune microenvironment and its clinical significance. **Methods:** The HCC tissue and adjacent tissue samples were collected from 3 cases of HCC patients who underwent hepatectomy in General Hospital of Tianjin Medical University from January to December 2023. Western blotting method and immunohistochemical staining were used to detect the expression level of *PAQR3* protein in HCC tissue and adjacent tissue of each HCC patient. The gene expression and clinical data of HCC patients who underwent hepatectomy were collected from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Various algorithms such as CIBERSORT and TIMER2.0 were used to analyze the correlation between *PAQR3* expression and immune cell infiltration; Spearman correlation analysis was used to evaluate the correlation between *PAQR3* expression level and the expression levels of immune checkpoint genes [programmed cell death protein 1 (*PDCD1*), cluster of differentiation 274 (*CD274*), and cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (*CTLA4*)]; Cox proportional hazards regression model and Kaplan-Meier method were used to analyze the relationship between *PAQR3* protein expression and patient survival. **Results:** The Western blotting and immunohistochemical staining results showed that compared with adjacent tissue, the expression level of *PAQR3* protein in HCC tissue was significantly increased ($P < 0.05$). The TCGA database analysis results showed that compared with adjacent tissue, the expression of *PAQR3* gene in HCC tissue was up-regulated ($P < 0.05$). The correlation analysis results showed that *PAQR3* expression level was positively correlated with regulatory T cells (Tregs) ($\rho = 0.349$, $P < 0.001$), $CD8^+$ T lymphocytes ($\rho = 0.268$, $P < 0.001$), M2 macrophages ($\rho = 0.435$, $P < 0.001$), and neutrophils ($\rho = 0.399$, $P < 0.001$) in HCC tissue. High expression of *PAQR3* protein was associated with shortened overall survival of HCC patients ($P = 0.019$), while immune infiltration was not associated with the survival of HCC patients ($P > 0.05$). The expression of *PAQR3* was positively correlated with the expressions of immune checkpoint-related genes *PDCD1*, *CD274*, and *CTLA4* ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of *PAQR3* is up-regulated in HCC tissue. Its expression level is associated with the infiltration degree of various immune cells such as T lymphocytes and macrophages, the expression of immune checkpoint genes, and poor prognosis of patients, suggesting that *PAQR3* may serve as a potential prognostic biomarker for HCC.

KEYWORDS Progesterin and adiponQ receptor 3; Hepatocellular carcinoma; Immune cell infiltration; Immune checkpoint genes; Bioinformatics analysis

孕酮和脂联素受体3 (progesterin and adiponQ receptor 3, *PAQR3*) 是一种进化保守的膜蛋白,

因其在肿瘤发病机制中的潜在作用而受到关注^[1]。尽管PAQR3在细胞增殖过程中的功能已在不同癌症类型中阐明,但其在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的作用及其在免疫浸润、免疫治疗反应和患者生存方面的意义尚未阐明^[2-3]。因此,分析PAQR3在HCC中的作用及其与肿瘤免疫微环境的相互作用,以识别潜在的预后标志物和治疗靶点意义重大。本研究探讨PAQR3表达与HCC微环境中的免疫浸润、免疫治疗反应和患者生存之间的相关性,利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库的数据,并采用先进的生物信息学和统计学分析,揭示PAQR3表达对HCC患者免疫细胞浸润、免疫治疗结局和总生存期的潜在影响。

1 资料与方法

1.1 样本收集

收集2023年1—12月在天津医科大学总医院行肝切除术的3例HCC患者作为研究对象,所有患者在术前未接受化疗或放疗。收集样本包含3份HCC组织和3份癌旁正常组织(距离HCC组织距离>2 cm)。HCC的诊断经组织病理学确认。手术切除的新鲜组织立即冷冻在-80℃中。本研究通过天津医科大学总医院伦理委员会审批,伦理审批号:IRB2025-YX-535-01,所有患者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

PAQR3抗体(美国Santa Cruz公司), β -actin抗体(福州迈新生物有限公司),二抗和显色试剂盒(北京中杉金桥有限公司),聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(德国Millipore公司),增强化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)(美国Cell Signaling公司)。光学显微镜(德国Leica公司),电泳仪(型号:DYCZ-5D)和电转槽(型号:DYCZ-40A)(北京六一仪器厂),摇床(型号:TS-000A,南通市其林贝尔仪器制造有限公司),凝胶成像仪(型号:GelDoc Go,美国Bio-Rad公司)。

1.3 Western blotting法检测HCC患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达水平

使用RIPA裂解缓冲液裂解HCC患者HCC组织和癌旁组织,4℃、12 000 r·min⁻¹离心20 min,分离上清液中的蛋白。将蛋白样品于12%SDS-PAGE凝胶上电泳分离,随后转移至PVDF膜。采

用5%脱脂牛奶封闭非特异性结合位点45 min后,分别于4℃下使用鼠抗PAQR3抗体(1:300)和 β -actin抗体(1:1 000)孵育过夜。含Tween 20的Tris缓冲盐(Tris-buffered saline with Tween 20, TBST)洗膜3次,每次15 min,室温下辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)偶联的抗鼠二抗(1:10 000)孵育45 min, TBST溶液洗膜3次,每次15 min。ECL显影,采用Image J软件分析蛋白条带灰度值,以 β -actin为内参,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

1.4 免疫组织化学染色法检测HCC患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达情况

HCC组织使用甲醛固定,经梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡,石蜡包埋后常规切片,厚度为4 μ m。经烤片后进行二甲苯脱蜡和梯度酒精水化,滴加抗原修复液修复抗原,使用封闭液室温封闭1 h,加入浓度为1:100的PAQR3抗体稀释液,37℃恒温孵育2 h。使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗并加入二抗稀释液,37℃恒温培养箱中孵育1 h。PBS缓冲液冲洗后使用DAB显色,苏木精复染,显微镜下观察。结果采用盲法测定,由2名病理医生独立阅片,对切片进行评分。按染色强度评分:无色计0分,淡黄色计1分,棕黄色计2分,棕褐色计3分;按阳性细胞百分率评分:1%~25%计1分,26%~50%计2分,51%~75%计3分,76%~100%计4分。染色强度评分与阳性细胞百分率评分的乘积作为免疫反应评分(immunoreactive score, IRS)。

1.5 生物信息学分析

1.5.1 数据来源和处理 从TCGA数据库下载泛癌数据集。该数据集已经过标准化处理,去除了测序深度以及基因长度等混杂因素导致的潜在技术偏差,包含374例HCC组织样本和50例癌旁组织样本。从TCGA数据库中提取PAQR3和免疫检查点相关基因在各个样本中的表达数据和相关预后数据。

1.5.2 免疫细胞浸润分析 为全面评估HCC肿瘤微环境中的免疫细胞浸润状态,本研究综合利用了4种计算方法:①CIBERSORT及其绝对模式CIBERSORT-ASB,采用反卷积算法CIBERSORT,估算22种免疫细胞亚型在样本中的细胞百分率;②TIMER,通过TIMER 2.0工具中的反卷积模

块,获取关键免疫细胞(调节性T淋巴细胞和CD8⁺T淋巴细胞等)的绝对分数,该分数基于线性模型解卷积计算,反映细胞的绝对丰度;③QuantTSeq,使用QuantTSeq反卷积算法,计算多种免疫细胞和基质细胞的绝对分数,该分数基于线性模型解卷积计算;④XCELL,应用基于基因集富集分析的XCELL算法,计算免疫和基质细胞的富集分数,该分数通过评估细胞类型特征基因集的表达富集程度得出;⑤MCPCOUNTER,采用基于免疫特征基因集的富集算法,计算各类免疫细胞的相对浸润评分;⑥EPIC,采用线性回归反卷积算法,计算免疫细胞、肿瘤细胞及其基质细胞的绝对丰度;⑦TIDE,基于免疫特征表达模式,计算肿瘤免疫功能障碍和排斥评分,用于评估肿瘤免疫逃逸状态。

1.5.3 免疫检查点基因相关性分析 结合HCC免疫治疗领域的经典研究及最新综述文献^[4],筛选出HCC中关键的免疫检查点基因,包括程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death protein 1, *PDCD1*)、分化抗原274(cluster of differentiation 274, *CD274*)和细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, *CTLA4*)。基于TCGA队列的HCC基因表达数据,采用Spearman秩相关分析检验PAQR3表达与上述免疫检查点基因表达水平之间的相关性,并计算相关系数(ρ)及统计学 P 值。

1.6 统计学分析

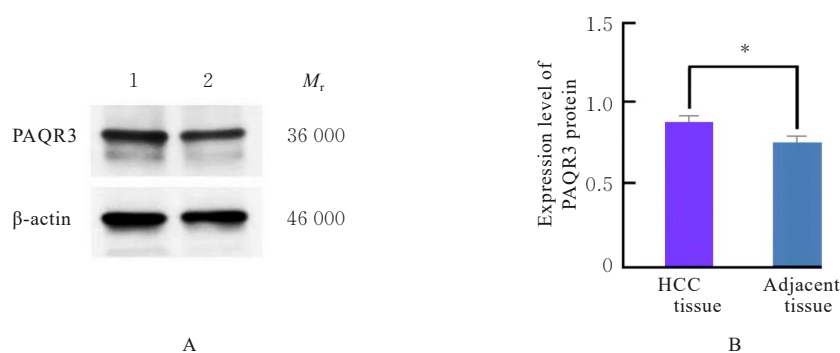
采用SPSS 29.0软件和R软件(4.2.0)进行

统计学分析及生物信息学分析。患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达水平呈正态性分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用非配对 t 检验。患者HCC和癌旁组织IRS评分呈非正态分布,以中位数(四分位数) $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。PAQR3表达与免疫细胞浸润水平的相关性采用经肿瘤纯度校正后的Spearman's ρ 值和校正 P 值进行评估。PAQR3蛋白表达水平和免疫浸润对HCC患者总生存期的影响采用单因素Cox回归分析,通过校正多变量Cox比例风险回归模型分析患者年龄、性别、种族、肿瘤分期和基因表达等影响因素。使用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,并进行Log-Rank检验以评估生存差异。基因相关性分析采用Spearman相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达水平

与癌旁组织比较,HCC患者HCC组织中PAQR3蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。见图1。癌旁组织中PAQR3染色较弱或呈阴性,HCC组织中PAQR3阳性信号明显增强。患者癌旁组织IRS评分中位数为2(1~3)分,与癌旁组织比较,患者HCC组织IRS评分[中位数为8(6~9)分]明显升高($U=0, P<0.05$)。见图2。



Lane 1: HCC tissue; Lane 2: Adjacent tissue. * $P<0.05$ vs adjacent tissue.

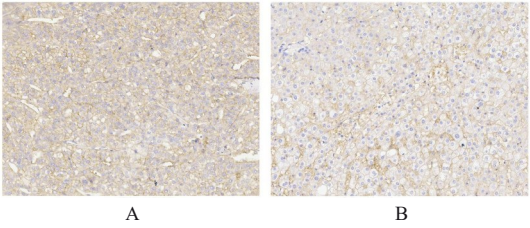
图1 Western blotting法检测HCC患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达电泳图及直条图

Fig. 1 Electrophoregram(A) and histogram(B) of expressions of PAQR3 protein in HCC and adjacent tumor tissues of HCC patient detected by Western blotting method

2.2 PAQR3基因在不同肿瘤组织中表达情况

使用TCGA数据库进行PAQR3的泛癌分析,结果显示:PAQR3基因在乳腺癌、肾透明细胞癌、

肾乳头状细胞癌、前列腺癌、直肠腺癌、皮肤恶性黑色素瘤、甲状腺癌和子宫内膜癌中表达明显下调,在胆管癌、食管癌、头颈部鳞状细胞癌、HCC、



A:HCC tissue; B:Adjacent tissue.
图2 免疫组织化学染色法检测HCC患者HCC和癌旁组织中PAQR3蛋白表达情况(×200)

Fig. 2 Expression of PAQR3 protein in HCC and Adjacent tumor tissue of HCC patient detected by immunohistochemical method(×200)

肺腺癌和肺鳞癌中表达明显上调。见图3。提示 *PAQR3*基因在不同类型癌组织中的表达存在差异。

2.3 *PAQR3*表达与HCC组织中T淋巴细胞免疫浸润相关性

*PAQR3*表达与多种T淋巴细胞的浸润程度

存在显著相关性(表1)。*PAQR3*与CD4⁺Th1细胞浸润呈负相关关系,在XCELL算法中相关系数 $\rho=-0.418$ ($P<0.001$)。*PAQR3*与调节性T淋巴细胞(regulatory T lymphocytes, Tregs)浸润呈正相关关系,在QUANTISEQ算法中 $\rho=0.349$ ($P<0.001$),在XCELL算法中 $\rho=0.234$ ($P<0.001$);*PAQR3*与CD8⁺T淋巴细胞(非初始型)浸润呈负相关关系,在XCELL算法中 $\rho=-0.234$ ($P<0.001$)。*PAQR3*与CD4⁺初始T淋巴细胞浸润呈负相关关系,在多种算法中得到一致结果(XCELL: $\rho=-0.130$, $P=0.016$; CIBERSORT: $\rho=-0.129$, $P=0.016$; CIBERSORT-ABS: $\rho=-0.129$, $P=0.016$);*PAQR3*与记忆T淋巴细胞浸润呈正相关关系,在XCELL算法中 $\rho=0.265$ ($P<0.001$),在CIBERSORT-ABS算法中 $\rho=0.128$ ($P=0.018$)。

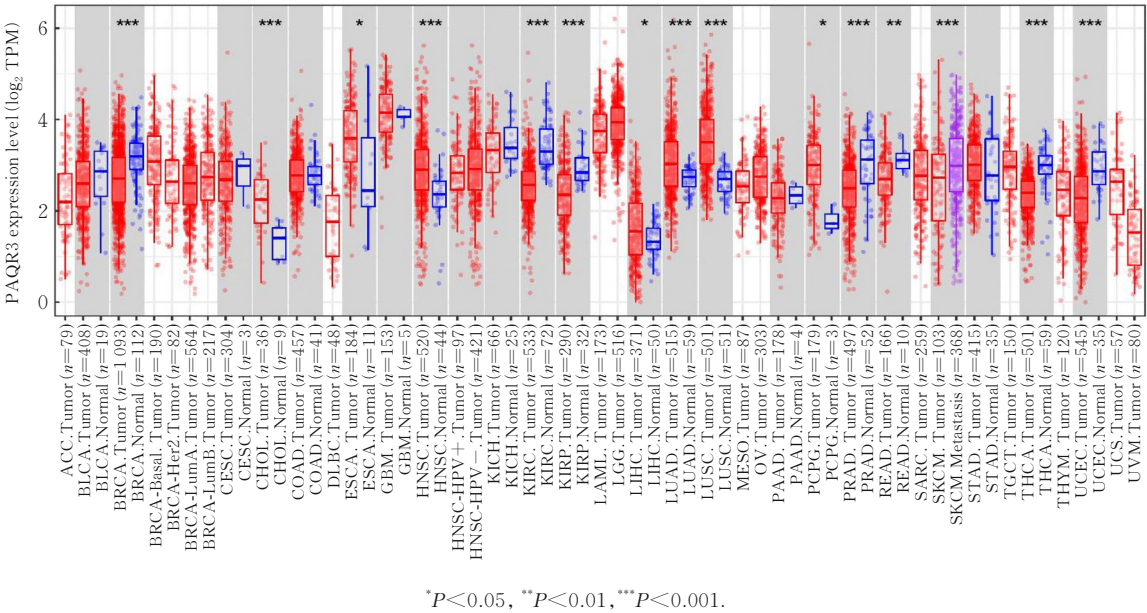


图3 *PAQR3*基因在不同肿瘤组织中表达情况

Fig. 3 Expressions of *PAQR3* gene in different tumor tissues

*PAQR3*表达与多个单核/巨噬细胞相关亚群的浸润水平存在显著相关性(表2)。*PAQR3*与M2型巨噬细胞浸润呈正相关关系,在CIBERSORT-ABS算法中 $\rho=0.435$ ($P<0.001$),在TIDE算法中呈负相关关系($\rho=-0.422$, $P<0.001$)。

*PAQR3*与M1型巨噬细胞浸润呈正相关关系,在CIBERSORT-ABS算法中呈正相关关系($\rho=0.339$, $P<0.001$),在EPIC算法中呈负相关关系

($\rho=-0.327$, $P<0.001$)。*PAQR3*与总巨噬细胞浸润呈正相关关系,在QUANTISEQ算法中 $\rho=0.345$ ($P<0.001$),在TIMER算法中 $\rho=0.264$ ($P<0.001$)。*PAQR3*与单核细胞浸润呈正相关关系,在MCPCOUNTER算法中呈正相关关系($\rho=0.320$, $P<0.001$);在CIBERSORT算法中呈负相关关系($\rho=-0.164$, $P=0.002$)。*PAQR3*与巨噬细胞/单核细胞整体标记(Macrophage/

表 1 PAQR3 表达与 HCC 组织中 T 淋巴细胞免疫浸润相关性
Tab. 1 Association between PAQR3 expression and T lymphocyte cell infiltration in HCC tissue

Infiltration	Rho	P	Adj.P
T cell CD4 ⁺ Th1 XCELL	−0.418	<0.001	<0.001
T cell regulatory (Tregs) QUANTISEQ	0.349	<0.001	<0.001
T cell CD4 ⁺ memory XCELL	0.265	<0.001	<0.001
T cell CD8 ⁺ TIMER	0.268	<0.001	<0.001
T cell CD4 ⁺ EPIC	0.243	<0.001	<0.001
T cell regulatory (Tregs) XCELL	0.234	<0.001	<0.001
T cell CD8 ⁺ naïve XCELL	−0.234	<0.001	<0.001
T cell CD4 ⁺ memory resting CIBERSORT-ABS	0.205	<0.001	0.001
T cell CD4 ⁺ naïve XCELL	−0.196	<0.001	0.001
T cell CD4 ⁺ Th2 XCELL	0.131	0.015	0.039
T cell CD4 ⁺ naïve CIBERSORT	−0.130	0.016	0.043
T cell CD4 ⁺ naïve CIBERSORT-ABS	−0.129	0.016	0.043
T cell CD4 ⁺ central memory XCELL	−0.128	0.018	0.045
T cell regulatory (Tregs) CIBERSORT-ABS	0.125	0.021	0.048

Monocyte) 呈正相关关系, 在 MCPCOUNTER 算法中 rho=0. 320 ($P<0. 001$)。

表 2 PAQR3 表达与 HCC 组织中单核巨噬细胞免疫浸润相关性
Tab. 2 Association between PAQR3 expression and mononuclear phagocyte infiltration in HCC tissue

Infiltration	Rho	P	Adj.P
Macrophage M2 CIBERSORT-ABS	0.435	<0.001	<0.001
Macrophage M2 TIDE	−0.422	<0.001	<0.001
Macrophage M2 QUANTISEQ	0.345	<0.001	<0.001
Macrophage M1 CIBERSORT-ABS	0.339	<0.001	<0.001
Macrophage EPIC	−0.327	<0.001	<0.001
Macrophage/Monocyte MCPCOUNTER	0.320	<0.001	<0.001
Macrophage/Monocyte MCPCOUNTER	0.320	<0.001	<0.001
Monocyte MCPCOUNTER	0.320	<0.001	<0.001
Macrophage TIMER	0.264	<0.001	<0.001
Macrophage M1 QUANTISEQ	0.246	<0.001	<0.001
Monocyte CIBERSORT	−0.164	0.002	0.015
Macrophage M1 CIBERSORT	0.151	0.005	0.020
Macrophage M2 CIBERSORT	0.145	0.007	0.025

PAQR3 表达与 HCC 微环境中多种免疫细胞浸润水平存在显著相关性 (表 3)。PAQR3 表达与中性粒细胞浸润呈正相关关系, 在 MCPCOUNTER、TIMER 和 QUANTISEQ 算法中 rho 值分别为 0. 399、0. 370 和 0. 342 ($P<0. 001$)。PAQR3 表达与髓样树突状细胞浸润呈正相关关系, 在 TIMER

和 MCPCOUNTER 算法中 rho 值分别为 0. 261 和 0. 252 ($P<0. 001$)。PAQR3 表达与 B 淋巴细胞浸润呈正相关关系, 在 QUANTISEQ 算法中 rho=0. 262 ($P<0. 001$), 在 EPIC 算法中 rho=0. 135 ($P=0. 012$)。PAQR3 表达与活化的 NK 细胞浸润呈正相关关系, 在 CIBERSORT-ABS 算法中 rho=0. 209($P<0. 001$); 与 NK 细胞在 MCPCOUNTER 算法中 rho=0. 180 ($P=0. 001$)。PAQR3 表达与中性粒细胞在 CIBERSORT-ABS 和 CIBERSORT 算法中呈正相关关系, rho 值分别为 0. 169 ($P=0. 002$) 和 0. 135 ($P=0. 012$)。PAQR3 表达与浆细胞样树突状细胞浸润呈负相关关系, 在 XCELL 算法中 rho=−0. 157 ($P=0. 003$)。PAQR3 表达与巨噬细胞 M1 和 M2 亚型在 CIBERSORT 算法中均呈正相关关系, rho 值分别为 0. 151 ($P=0. 005$) 和 0. 145 ($P=0. 007$)。

2.4 PAQR3 蛋白表达与 HCC 患者总生存期的关联性分析

高表达的 PAQR3 蛋白与 HCC 患者总生存期降低存在关联 ($P=0. 019$), 见图 4。通过 Kaplan-Meier 生存分析, 低 PAQR3 表达组 (底部 50%) 与高 PAQR3 表达组 (顶部 50%) 在 HCC 患者的总生存期上显示出显著差异 (Log-Rank $P=0. 019$), 高 PAQR3 表达组患者累积生存率明显低于低 PAQR3 表达组。提示 PAQR3 蛋白高表达与 HCC 患者不良预后有关。

表3 *PAQR3*表达与HCC组织中其他免疫细胞浸润的关系
Tab. 3 Relationship between *PAQR3* expression and infiltration of other immune cells in HCC tissue

Infiltration	Rho	<i>P</i>	Adj. <i>P</i>
Neutrophil MCPCOUNTER	0.399	<0.001	<0.001
Neutrophil TIMER	0.370	<0.001	<0.001
Neutrophil QUANTISEQ	0.342	<0.001	<0.001
Myeloid dendritic cell TIMER	0.261	<0.001	<0.001
B cell QUANTISEQ	0.262	<0.001	<0.001
Myeloid dendritic cell MCPCOUNTER	0.252	<0.001	<0.001
NK cell activated CIBERSORT-ABS	0.209	<0.001	0.001
NK cell MCPCOUNTER	0.180	0.001	0.005
Neutrophil CIBERSORT-ABS	0.169	0.002	0.006
Plasmaeytoid dendritic cell XCELL	-0.157	0.003	0.020
Neutrophil CIBERSORT	0.135	0.012	0.034
B cell EPIC	0.135	0.012	0.049

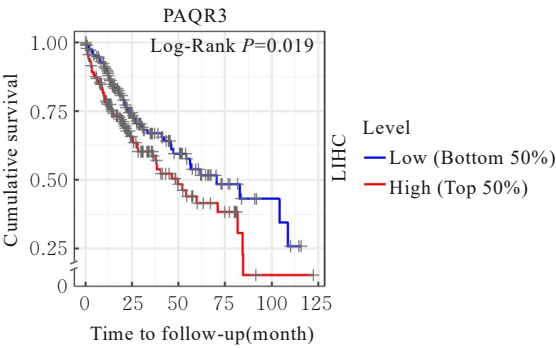


图4 *PAQR3*蛋白表达与HCC患者总生存期的关联性
Fig. 4 Association between *PAQR3* protein expression and overall survival in HCC proteins

2.5 HCC免疫浸润与HCC患者总生存期的关联性

*PAQR3*与HCC患者总生存期以及肿瘤免疫浸润之间存在关联性, 但HCC免疫浸润与HCC患者总生存期无关联 ($P>0.05$)。见图5。

2.6 *PAQR3*表达与免疫检查点基因相关性

PDCD1、*CD274*和*CTLA4*均与*PAQR3*表达呈正相关关系 ($P<0.05$)。见图6。

3 讨论

HCC是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤, 其发病率和死亡率均呈上升趋势, 给全球健康带来了沉重负担^[5-6]。尽管对HCC发病机制和治疗方案的研究已取得了一定进展, 但晚期HCC患者的预后仍然较差, 且有效的治疗手段仍然有限^[7]。随着肿瘤领域研究不断向免疫治疗方向转变, 识别免疫相关

分子标志物对HCC患者的预后判断和免疫治疗策略的指导越来越受到关注^[8-9]。目前, 国内外有研究^[10-11]关注肿瘤免疫微环境在调节肿瘤发生、发展和治疗中的作用。肿瘤免疫微环境由免疫细胞、基质细胞和各种免疫相关分子的复杂相互作用组成^[12]。这一复杂的网络不仅影响肿瘤的发生和发展, 而且在免疫逃逸及对免疫治疗的反应中发挥关键作用^[13]。因此, 识别新的分子标志物并改变对肿瘤微环境的理解对于推动肝癌精准医学发展具有重要意义。*PAQR3*是脂联素受体家族的一员^[1-2]。研究^[1-3]显示: *PAQR3*在乳腺癌、胃癌和结直肠癌中可能是潜在的治疗靶点, 但目前缺乏对*PAQR3*在HCC中作用的研究分析。本研究阐明了HCC患者HCC组织中*PAQR3*表达在免疫浸润、免疫治疗反应和患者生存方面的作用, 通过Western blotting和免疫组织化学染色法证实了*PAQR3*蛋白在HCC组织中表达显著上调。本研究结果显示: *PAQR3*蛋白表达水平在不同癌症类型中呈现显著变化, 并在HCC组织中明显上调, 这与LING等^[14]的泛癌分析研究结果一致。LING等^[14]研究显示: *PAQR3*在神经母细胞瘤、胆管癌、食道癌、头颈部鳞状细胞癌、HCC、肺腺癌和肺鳞状细胞癌中表达显著上调, 而在乳腺癌、肾透明细胞肾癌、肾乳头状细胞癌、前列腺腺癌、直肠腺癌、甲状腺癌和子宫体癌中表达显著下调。但WU等^[15]研究发现: *PAQR3*在HCC组织中的表达显著下调, 其研究结果不一致可能是由于各研究的样本选择标准不同导致。

肿瘤微环境由多种免疫细胞、基质细胞和分泌因子组成, 在肿瘤的发生、发展和对治疗的反应中发挥关键作用^[16-17]。免疫细胞浸润肿瘤组织的能力被认为是机体抗肿瘤防御机制的一个重要方面^[18-19]。免疫细胞(T淋巴细胞和巨噬细胞)浸润的增强通常与各种癌症的良好预后相关, 这些细胞可以直接攻击和清除肿瘤细胞^[20-21]。研究^[22]发现: 免疫细胞浸润还可提高免疫治疗(包括免疫检查点抑制剂)的疗效。本研究结果显示: *PAQR3*蛋白表达与肿瘤微环境中不同免疫细胞的浸润, 包括T淋巴细胞、巨噬细胞和其他各种免疫细胞显著相关, 提示*PAQR3*蛋白表达在调节HCC肿瘤微环境中具有潜在作用, 即*PAQR3*蛋白表达上调可能有助于创造免疫抑制的肿瘤微环境, 潜在地促进肿瘤的生长和发展。另一方面, 低*PAQR3*蛋白表达可

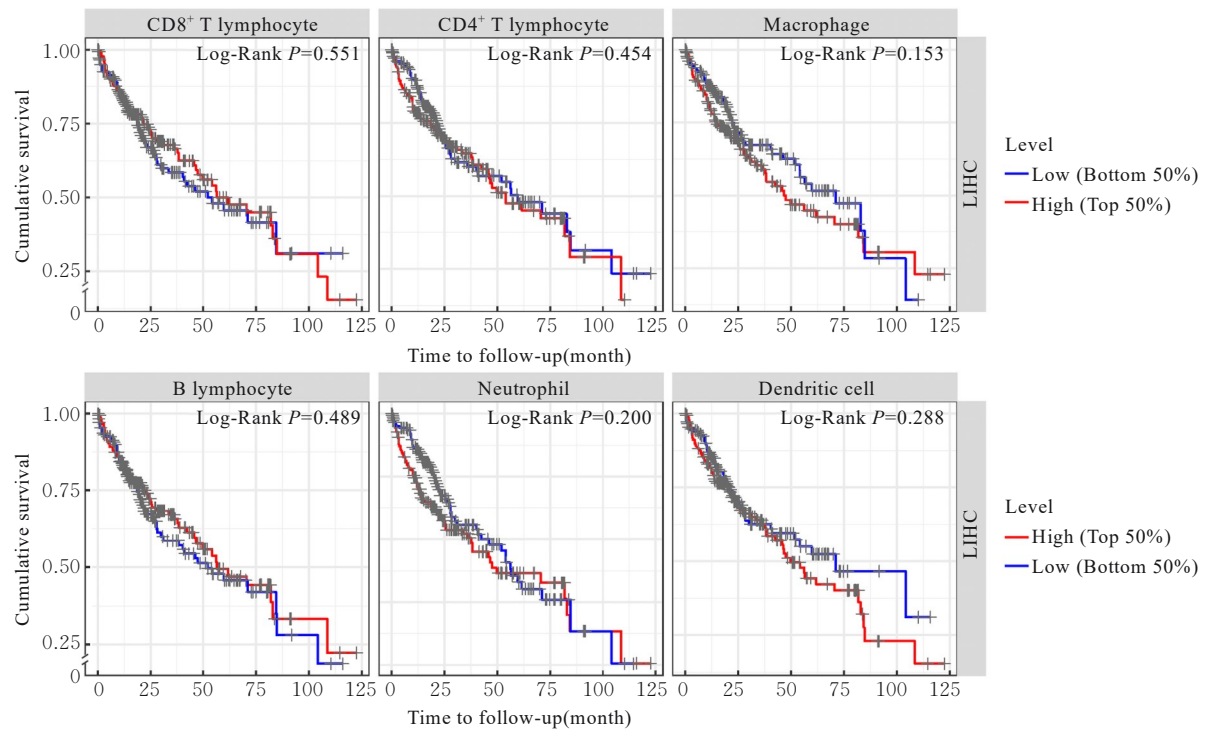


图5 Kaplan-Meier法检测免疫浸润与HCC患者总生存期的关联性

Fig. 5 Association between immune infiltration and overall survival in HCC patients detected by Kaplan-Meier method

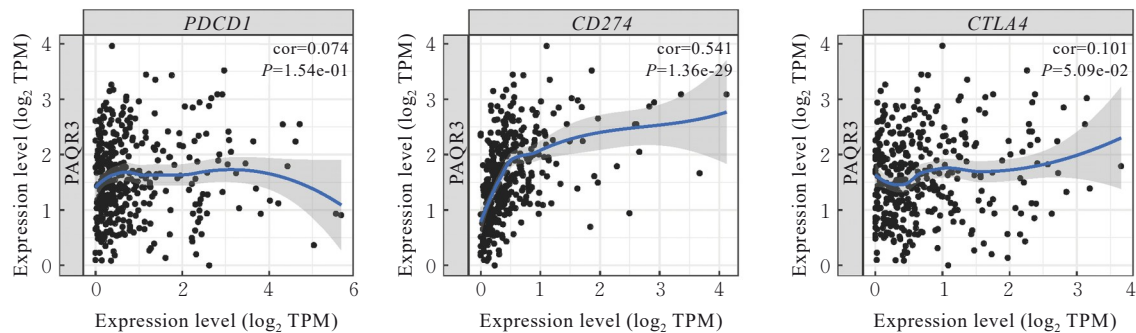


图6 PAQR3表达与免疫检查点基因的相关性

Fig. 6 Association between PAQR3 expression and immune checkpoint genes

能对应于免疫激活状态，有利于抗肿瘤免疫反应，可能预示着更好的预后。

本研究结果显示：PAQR3蛋白表达与HCC患者的总体生存期具有显著关联性，但免疫细胞浸润并不直接影响HCC患者的生存。提示PAQR3蛋白可能通过多种免疫细胞浸润的协同作用或潜在的其他途径，如影响肿瘤细胞的生长、迁移和侵袭等恶性行为，共同影响生存。

免疫检查点阻断治疗作为一种有效的癌症治疗模式备受关注^[10, 23]。PAQR3与免疫检查点相关基因之间的相关性对于理解HCC的免疫生物学和制

定有效的免疫治疗策略具有重要意义。以PDCD1、CD274和CTLA4等分子为代表的免疫检查点在调节免疫应答中发挥着至关重要的作用^[24-25]。在正常情况下，相关检查点分子可防止免疫系统过度激活并维持免疫稳态^[26]。然而，肿瘤细胞可利用这些检查点来逃避免疫破坏，导致癌症进展和预后不良^[27]。本研究结果显示：PAQR3表达与上述免疫检查点基因的表达显著相关。提示PAQR3可能通过与这些免疫检查点通路的相互作用参与HCC免疫应答的调节。高PAQR3表达可能导致相关免疫检查点的表达增强或激活，帮助免疫逃避，而低

PAQR3表达可能与更有利的免疫反应有关。提示PAQR3可能在免疫治疗反应中发挥作用, PAQR3可能成为HCC的潜在治疗靶点。

本研究揭示了PAQR3在HCC中的潜在作用, 但也存在一些局限性。研究数据源自TCGA数据库, 其中样本的选择性偏倚和样本质量未知。尽管PAQR3显示出作为预后标志和治疗靶点的潜力, 但仍需要进一步的基础实验以阐明其具体作用机制。

综上所述, PAQR3在HCC组织中表达显著上调, 且其表达水平与T淋巴细胞和巨噬细胞等多种免疫细胞浸润程度及免疫检查点基因表达有关, 同时PAQR3表达与患者的总生存期显著相关, PAQR3可能作为HCC预后的潜在生物标志物, 通过多种免疫细胞浸润的协同作用或潜在的其他途径共同影响生存。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

梁晓辉参与论文设计、数据收集和分析及论文撰写, 刘文娜参与数据统计学分析和论文撰写, 赵建伯参与数据分析和论文修改。

参考文献

- [1] SONG X X, ZHANG W M, YU N S, et al. PAQR3 facilitates the ferroptosis of diffuse large B-cell lymphoma *via* the regulation of LDLR-mediated PI3K/AKT pathway[J]. Hematol Oncol, 2024, 42(1): e3219.
- [2] LUO J R, MEI Z X, LIN S, et al. Integrative pan-cancer analysis reveals the importance of PAQR family in lung cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(12): 10149-10160.
- [3] GUO Q, LIU X L, ZHAI K, et al. The emerging roles and mechanisms of PAQR3 in human cancer: pathophysiology and therapeutic implications [J]. Int J Gen Med, 2023, 16: 4321-4328.
- [4] PINTER M, JAIN R K, DUDA D G. The current landscape of immune checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma: a review [J]. JAMA Oncol, 2021, 7(1): 113.
- [5] DONNE R, LUJAMBIO A. The liver cancer immune microenvironment: Therapeutic implications for hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2023, 77(5): 1773-1796.
- [6] SINGAL A G, KUDO M, BRUIX J. Breakthroughs in hepatocellular carcinoma therapies[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2023, 21(8): 2135-2149.
- [7] YAHOO N, DUDEK M, KNOLLE P, et al. Role of immune responses in the development of NAFLD-associated liver cancer and prospects for therapeutic modulation[J]. J Hepatol, 2023, 79(2): 538-551.
- [8] RIMASSA L, FINN R S, SANGRO B. Combination immunotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2023, 79(2): 506-515.
- [9] POLYZOS S A, CHRYSAGVIS L, VACHLIOTIS I D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: Insights in epidemiology, pathogenesis, imaging, prevention and therapy [J]. Semin Cancer Biol, 2023, 93: 20-35.
- [10] PINTER M, SCHEINER B, PINATO D J. Immune checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma: emerging challenges in clinical practice [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2023, 8(8): 760-770.
- [11] GRETEN T F, VILLANUEVA A, KORANGY F, et al. Biomarkers for immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(11): 780-798.
- [12] LLOVET J M, WILLOUGHBY C E, SINGAL A G, et al. Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma: pathogenesis and treatment [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(8): 487-503.
- [13] SINGAL A G, KANWAL F, LLOVET J M. Global trends in hepatocellular carcinoma epidemiology: implications for screening, prevention and therapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(12): 864-884.
- [14] LING Z N, HONG L L, WU J, et al. Systematic pan-cancer analyses of the potential function of the Golgi scaffold protein PAQR3[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 3030.
- [15] WU H G, ZHANG W J, DING Q, et al. Identification of PAQR3 as a new candidate tumor suppressor in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 32(6): 2687-2695.
- [16] WU J Y, CHAN Y T, LU Y J, et al. The tumor microenvironment in the postsurgical liver: Mechanisms and potential targets of postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma [J]. Med Res Rev, 2023, 43(6): 1946-1973.
- [17] CHEN Y W, ZHOU Y H, YAN Z Y, et al. Effect of infiltrating immune cells in tumor microenvironment on metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. Cell Oncol (Dordr), 2023, 46(6): 1595-1604.
- [18] LI Z S, ZHANG Z H, FANG L T, et al. Tumor

- microenvironment composition and related therapy in hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2023, 10: 2083-2099.
- [19] CHEN S Q, DU Y Q, GUAN X Y, et al. The current status of tumor microenvironment and cancer stem cells in sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1204513.
- [20] YUAN Y, WU D L, LI J, et al. Mechanisms of tumor-associated macrophages affecting the progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1217400.
- [21] ARGENTIERO A, DELVECCHIO A, FASANO R, et al. The complexity of the tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma and emerging therapeutic developments[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(23): 7469.
- [22] YANG Q Q, TIAN H, GUO Z Y, et al. The role of noncoding RNAs in the tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2023, 55(11): 1697-1706.
- [23] GAMBOA A C, KOOBY D A, MAITHEL S K, et al. Immune checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma: a review of current clinical trials [J]. *J Surg Oncol*, 2024, 129(1): 63-70.
- [24] PELIZZARO F, FARINATI F, TREVISANI F. Immune checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma: current strategies and biomarkers predicting response and/or resistance[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(4): 1020.
- [25] RUFF S M, MANNE A, CLOYD J M, et al. Current landscape of immune checkpoint inhibitor therapy for hepatocellular carcinoma[J]. *Curr Oncol*, 2023, 30(6): 5863-5875.
- [26] FOY V, MCNAMARA M G, VALLE J W, et al. Current evidence for immune checkpoint inhibition in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Curr Oncol*, 2023, 30(9): 8665-8685.
- [27] CHAMI P, DIAB Y, KHALIL D N, et al. Radiation and immune checkpoint inhibitors: combination therapy for treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(23): 16773.