

基于生物信息学分析探究食管鳞状细胞癌的关键通路、基因及免疫细胞浸润

王彰骄¹, 沈 勇², 许青霞²

(1.河南中医药大学,河南中医药大学第二临床医学院,河南 郑州 450000)

(2.河南省肿瘤医院,郑州大学附属肿瘤医院医学检验科,河南 郑州 450008)

[摘要] 食管鳞状细胞癌是常见的恶性肿瘤之一,本研究利用生物信息学方法系统地探索食管癌中的差异表达基因以及免疫细胞特征。本文从 GEO 数据库中获取 4 个食管癌数据集,进行差异和基因富集分析,并对筛选出的核心基因进一步探索。研究共筛选出 244 个差异表达基因(DEGs),其中上调基因 164 个,下调基因 80 个。基因富集分析发现,DEGs 主要富集在胞外区和细胞外间隙,与肿瘤侵袭转移相关,并且与 PI3K-Akt 信号通路和细胞外基质(ECM)受体相互作用信号通路相关。进一步研究发现 3 个核心基因(CXCL8、MMP9 和 MMP13)在 ESCC 中高表达且能促进巨噬细胞和静息树突状细胞,并抑制肥大细胞和单核细胞。本研究筛选出的 ESCC 核心基因在肿瘤免疫浸润细胞中起着重要作用,有望成为 ESCC 潜在的肿瘤标志物且用于 ESCC 的诊断和治疗。

[关键词] 食管癌,肿瘤标志物,免疫浸润,生物信息学分析

[中图分类号] R735.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2023)02-0077-08

Analysis of Key Pathways, Genes and Immune Cell Infiltration in Metastatic Esophageal Squamous Cell Carcinoma Based on Bioinformatics

Wang Zhangjiao¹, Shen Yong², Xu Qingxia²

(1. Henan University of Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China)

(2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University & Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: Esophageal squamous cell carcinoma is one of the common malignant tumors, to systematically and comprehensively explore the characteristics of differentially expressed genes and immune cells in esophageal carcinoma by bioinformatics. Four esophageal cancer data sets were obtained from GEO database, and the differences and gene enrichment were analyzed, and the selected core genes were further explored. A total of 244 differentially expressed genes (DEGs) were screened, including 164 up-regulated genes and 80 down-regulated genes, which were mainly enriched in extracellular region and extracellular space, and related to tumor invasion and metastasis. KEGG results showed that DEGs were mainly enriched in PI3K-Akt signal pathway and extracellular matrix (ECM) receptor interaction signal pathway. And it was found that three hub genes (CXCL8, MMP9 and MMP13) were highly expressed in ESCC. The results of immune infiltration showed that macrophages and resting dendritic cells increased significantly, while mast cells and monocytes decreased significantly. In conclusion, three hub genes and immune infiltrating cells may play an important role in ESCC, and are expected to become potential tumor markers of ESCC and be used in the diagnosis and treatment of ESCC.

Key words: esophageal carcinoma, biomarker, immune infiltration, bioinformatics analysis

食管癌(ESCA)是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,在 2020 年发布的全球癌症统计数据^[1]中,食管癌发病率位列第七,食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)约占食管癌的 90%。由于早期临床症状不典型,同时缺乏简易有效的早期临床诊断方法,多数食管鳞状细胞癌患者被诊断时已经是中晚期。目前临床上主要采用手术等方法治疗,但是 5 年临床生存率仍不理想^[2]。将放化疗和免疫疗

收稿日期:2022-05-20.

基金项目:河南省医学科技攻关计划省部共建项目(SBGJ202102070)。

通讯作者:许青霞,教授,研究方向:肿瘤免疫。E-mail:hnqx12@163.com

法^[3]添加到肿瘤基本治疗方法中已被证明对食管鳞状细胞癌有治疗作用,其中免疫治疗法开启了癌症治疗的新时代,对某些癌症患者具有非凡的治疗效果^[4].有学者认为,肿瘤微环境中的免疫细胞浸润程度有助于分析肿瘤的免疫状态,评估免疫治疗的效果^[5].随着基因芯片技术和高通量测序技术的发展,利用生物信息学技术对大数据挖掘,可以识别出有价值的生物分子^[6-8].因此,筛选 ESCC 潜在肿瘤标志物对其早期诊断、治疗以及预后具有重要意义.

在本研究中,从基因表达数据集(gene expression omnibus, GEO)中筛选出差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),然后对这些基因进行富集和蛋白质相互作用分析,找到其中重要的核心基因.最后进行免疫浸润分析,探究各种免疫细胞在 ESCC 中的浸润情况,为 ESCC 的预后诊断和治疗提供新的思路.

1 材料与方法

1.1 基因芯片数据

从 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载编号为 GSE70409、GSE26886、GSE161533、GSE17351 的数据集.共有 128 例样本,其中 64 例 ESCC 组织和 64 例癌旁组织(表 1).

表 1 数据集基本信息
Table 1 Details of GEO ESCC data

GSE ID	Platform ID	Tumor	Normal	Total
GSE70409	GPL13287	17	17	34
GSE26886	GPL570	14	14	28
GSE161533	GPL570	28	28	56
GSE17351	GPL570	5	5	10

1.2 差异表达基因筛选

使用 R 软件的 Limma 软件包(版本:3.40.2)研究 mRNA 的差异表达.在 GEO 中分析了调整后的 P 值以纠正假阳性结果.以 Adjusted $P < 0.05$ 且 \log_2 (倍数变化) > 1 或 \log_2 (倍数变化) < -1 为分析阈值进行差异表达筛选.使用 Sangerbox 在线工具(<http://sangerbox.com/Tool>)对这 4 个数据集的上调和下调 DGEs 分别绘制韦恩图.

1.3 GO 富集分析和 KEGG 通路分析

使用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 DEGs 进行功能富集分析,得到生物学过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)和 KEGG 信号通路富集结果.富集条件以 $P < 0.05$ 为阈值.

1.4 蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建和模块分析

使用在线数据库 STRING^[9](<https://string-db.org/>)构建 DEGs 相应 PPI 网络,选取可信度 > 0.7 的蛋白质.在 Cytoscape(3.8.2)中构建并可视化 PPI 网络.用分子复杂检测插件(molecular complex detection, MCODE)来识别重要的 PPI 网络模块.此外,还使用 CytoHubba 插件中的 6 种算法来筛选核心基因^[10].

1.5 核心基因多数据库验证

在 GEPIA2 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)和 ENCORI 数据库(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)中验证核心基因在 ESCC 组和正常组中的差异表达,参数设定为 $|\log_2FC| = 1.0$ 和 $P = 0.01$.同时,在 GEPIA2 数据库中分析了 ESCC 不同阶段中的核心基因表达情况.

1.6 核心基因相关性与生存分析

使用 GEPIA2 数据库执行核心基因之间的相关性.使用 GEPIA2 数据库分析核心基因表达水平的生存曲线,发现基因表达与 ESCC 患者预后的相关性,高表达组和低表达组的百分位数设置为 70%和 30%.

1.7 免疫浸润分析

在 Timer2.0 数据库(<http://timer.cistrome.org/>)中估计了 ESCC 核心基因表达与免疫细胞群(B 细胞、CD8+T 细胞、CD4+T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和 DC 细胞)之间的关系. P 值 < 0.01 被认为具有统计学意义.同时再通过 CIBERSORT 反卷积算法对 ESCC 组和正常组进行可靠的免疫评分评估.

2 结果与讨论

2.1 差异基因选取

分别从 GSE70409、GSE26886、GSE161533、GSE1735 数据集中发现了 1 694、3 209、583、1 889 个差异基因.上调基因分别为 941、1 614、328 和 873 个;下调基因分别为 753、1 595、255 和 1 016 个.通过筛选分析 4 个数据集中共有上调基因 164 个,下调基因 80 个(图 1A-1B).

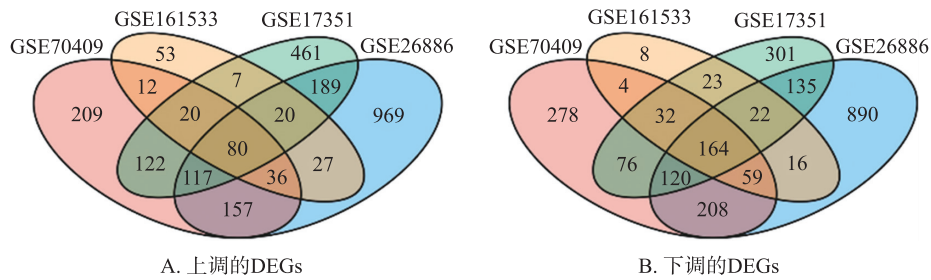


图1 4个数据集共表达 DEGs

Fig. 1 Identification of the DEGs in 4 GEO datasets

2.2 GO 富集分析和 KEGG 通路分析

GO 分析结果显示,DEGs 生物学功能主要包括蛋白水解、细胞外基质、参与氧化还原、细胞黏附和正向调控细胞增殖;细胞组成主要与细胞外泌体、胞外区、细胞外间隙和内质网及内质网膜有关;分子功能主要与钙离子和肌动蛋白结合,影响丝氨酸型内肽酶、氧化还原酶和金属内肽酶活性. 同时,KEGG 通路分析显示基因集主要富集在 PI3K-Akt 信号通路,细胞外基质 (ECM) 受体相互作用的信号通路上(表 2). 这些结果表明,导致食管癌发生的差异基因在多条通路上协同发挥作用,其中主要影响食管癌的迁移和侵袭.

表 2 DEGs 富集分析和 KEGG 通路分析

Table 2 Significantly enriched GO terms and KEGG pathways of DEGs

Category	<i>n</i>	<i>P</i>	Term
GO_BP	21	7.02E-06	GO:0006508 proteolysis
	17	4.05E-03	GO:0055114 oxidation-reduction process
	16	3.48E-08	GO:0030198 extracellular matrix organization
	16	8.70E-04	GO:0007155 cell adhesion
	13	1.74E-02	GO:0008284 positive regulation of cell proliferation
GO_CC	78	1.07E-11	GO:0070062 extracellular exosome
	48	5.31E-08	GO:0005576 extracellular region
	44	1.76E-08	GO:0005615 extracellular space
	19	1.90E-02	GO:0005783 endoplasmic reticulum
	18	4.95E-02	GO:0005789 endoplasmic reticulum membrane
GO_MF	18	9.98E-03	GO:0005509 calcium ion binding
	16	9.32E-07	GO:0004252 serine-type endopeptidase activity
	10	1.04E-03	GO:0016491 oxidoreductase activity
	9	2.57E-02	GO:0003779 actin binding
	8	5.92E-04	GO:0004222 metalloendopeptidase activity
KEGG	10	7.23E-06	hsa05146 Amoebiasis
	10	3.15E-02	hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway
	8	1.12E-04	hsa04512 ECM-receptor interaction
	8	1.60E-02	hsa04510 Focal adhesion
	7	8.64E-04	hsa05323 Rheumatoid arthritis

注:BP;biological process;CC;cellular component;MF;molecular function

2.3 差异基因的蛋白相互作用分析和关键基因模块提取

DEGs 的蛋白相互作用通过 STRING 数据库构建,形成包含 103 个节点和 175 条边的 PPI 网络,综合得分大于 0.7, $P<0.001$ (图 2A). 此外,利用 CytoHubba 插件中的 6 种算法对 PPI 网络进行计算与统计,选取各个算法的前 10 位基因(表 3). 取 6 种算法结果交集,最终筛选出 CXCL8、MMP9 和 MMP13 这 3 个核心基因. 同时,发现 3 个核心基因出现在 MCODE 分析中的同一模块(图 2B).

2.4 关键基因的表达和临床样本验证

为了验证生物信息学分析结果的可靠性,在 GEPIA2 数据库中确定了 3 个核心基因的表达水平以及与肿瘤临床分期的相关性,结果表明,与正常组相比,CXCL8、MMP9 和 MMP13 在 ESCC 组织中显著高表达(图 3A-3C),但是只有 MMP9 和 MMP13 的表达与肿瘤的分期有关(图 4A-4C). 在线数据库 ENCORI 也被用来确认 ESCC 中 3 种核心基因的显著高表达(表 4). 3 项结果表明,CXCL8、MMP9 和 MMP13 的表达水平高于正常食管组织,具有潜在的致癌效应.

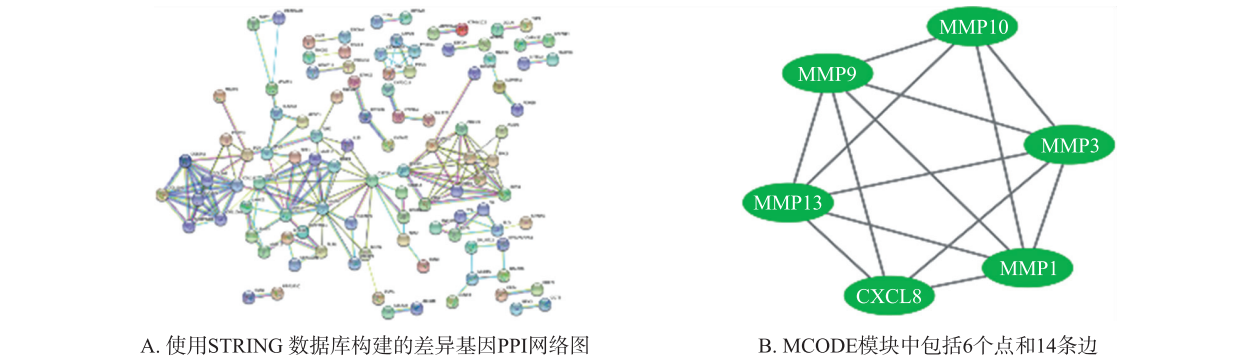


图 2 DEGs 的 PPI

Fig. 2 PPI of DEGs

表 3 6 种算法获得的排名前 10 的核心基因

Table 3 Top 10 hub genes from 6 centrality methods

NO.	BottleNeck	Stress	MNC	Radiality	Betweenness	Degree
1	CXCL8	CXCL8	MMP9	MMP9	CXCL8	MMP9
2	MMP9	MMP9	MMP3	CXCL8	UBE2C	CXCL8
3	TLR2	UBE2C	CXCL8	MMP3	MMP9	MMP3
4	UBE2C	APOE	TPX2	MMP13	APOE	MMP13
5	COL1A1	MMP13	DTL	TLR2	TLR2	UBE2C
6	MMP13	TLR2	MMP13	SERPINE1	COL1A1	COL1A1
7	APOE	MMP3	UBE2C	MMP1	MMP13	TPX2
8	BGN	COL1A1	CDKN3	IL18	PLA2G7	DTL
9	PLA2G7	PLA2G7	COL3A1	APOE	MMP3	CDKN3
10	CYP2J2	BGN	COL1A1	IL1RN	LPCAT1	COL3A1

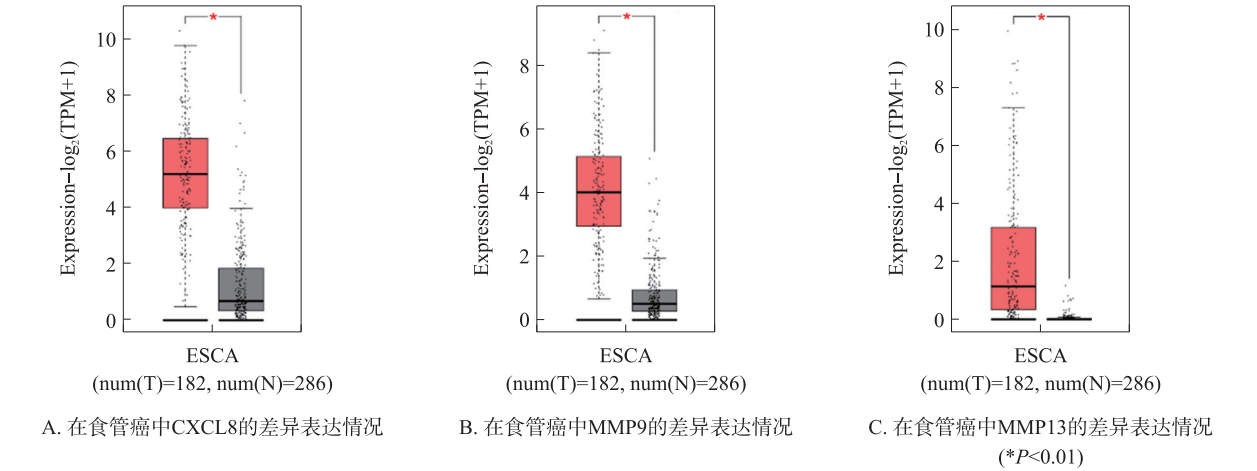


图 3 来自 GEPIA2 的 ESCC 和正常组织中核心基因的表达水平

Fig. 3 The mRNA expression levels of 3 hub genes in ESCC tissues and normal tissues using GEPIA2

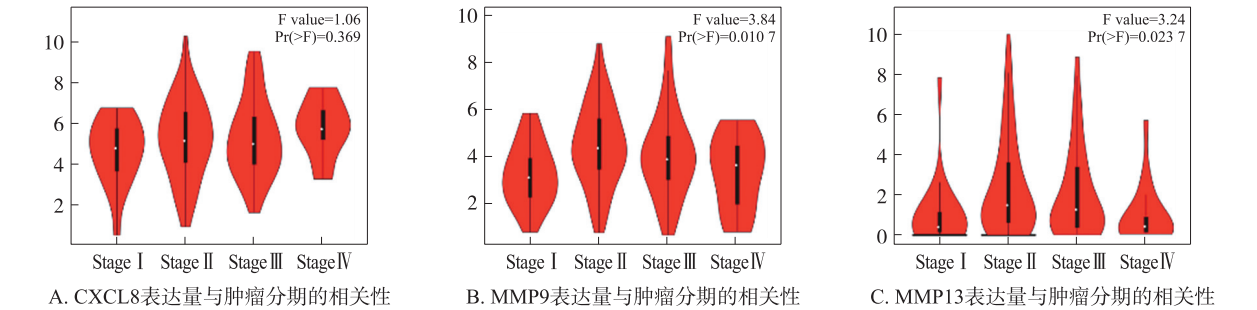


图 4 来自 GEPIA2 的 ESCC 患者中核心基因与肿瘤阶段之间的相关性

Fig. 4 Correlation between expression of the hub genes and tumor stage in ESCC patients from GEPIA2

表 4 ENCORI 数据库中 3 个核心基因的表达

Table 4 Statistics of expression of the 3 hub genes in ENCORI database

Gene symbol	Cancer number	Normal number	Cancer exp	Normal exp	Fold change	P value	FDR
CXCL8	162	11	39.97	1.83	21.86	3.9e-12	6.6e-10
MMP9	162	11	22.86	1.76	12.95	1.8e-7	7.1e-6
MMP13	162	11	13.73	0.19	72.07	1.5e-5	0.000 29

2.5 核心基因对 ESCC 患者预后的影响

利用 GEPIA2 数据库对 ESCC 进行核心基因的总生存分析时,结果显示,CXCL8 高表达 ($P=0.026$) 与患者总生存期存在显著相关性,但是 MMP9 和 MMP13 与患者的预后没有显著相关性(图 5A-5C),并且发现 3 个核心基因在 ESCC 中的表达具有一定的相关性,均 $P<0.05$ (图 5D-5F)。

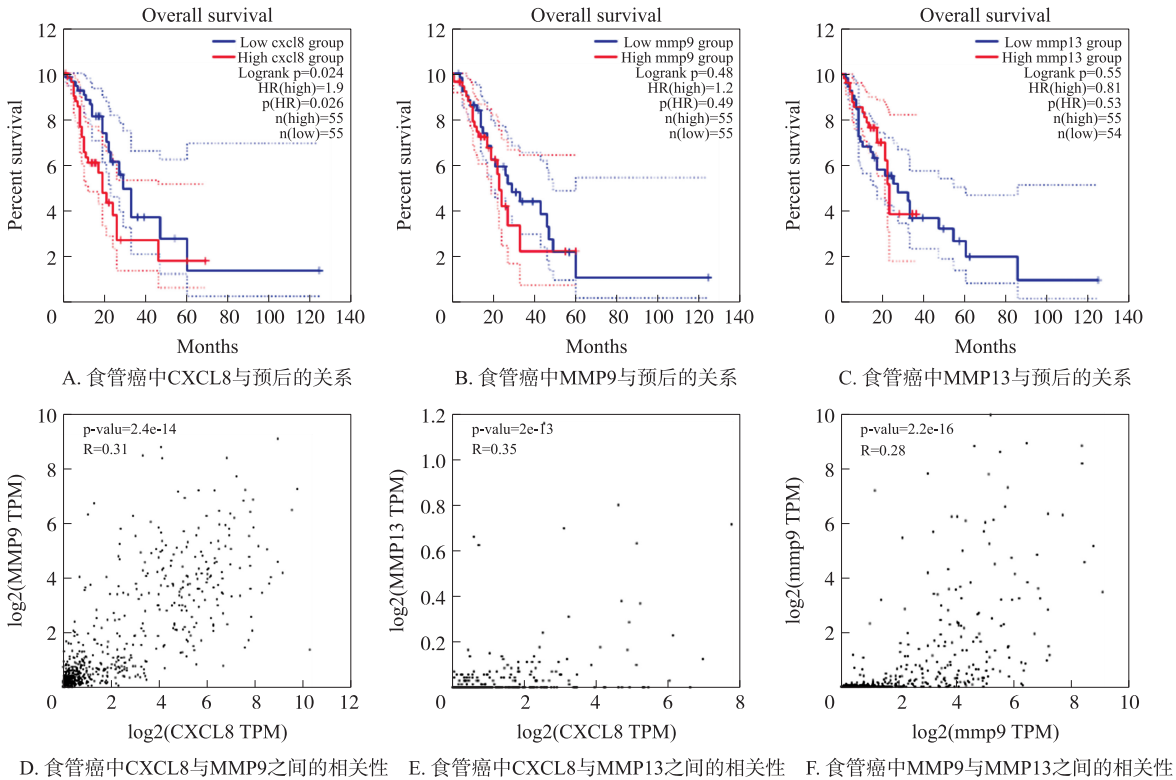


图 5 核心基因的生存分析和相关性

Fig. 5 Survival analysis and correlation analysis of the 3 hub genes

2.6 核心基因的免疫细胞浸润

TIMER 2.0 数据库分析结果表明,3 个核心基因都与肿瘤纯度相关. CXCL8 与肿瘤微环境中 5 种免疫细胞浸润水平呈一定相关性. 其中 CXCL8 表达与中性粒细胞、CD8+T 细胞和树突状细胞浸润呈正相关,与 CD4+T 细胞和巨噬细胞浸润呈负相关. 而 MMP9 和 MMP13 都与中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞有关(图 6A-6C). CIBERSORT 得分显示,M0 巨噬细胞、M1 巨噬细胞、静息树突状细胞和滤泡性辅助性 T 细胞在肿瘤组中显著增加. 而 B 细胞、单核细胞、CD8+T 细胞和激活肥大细胞在肿瘤组中显著降低.(图 7A-7B)。

食管鳞状细胞癌是常见的恶性肿瘤之一,经常诊断为中晚期. 到目前为止,ESCC 的发生和发展的分子机制尚未得到充分澄清,迫切需要发现更多潜在的肿瘤标志物来进行有效的诊预后评估。

众所周知,侵袭和转移是恶性肿瘤的主要生物学特征之一,是人类癌症的一个标志^[11]. 其发生主要步骤包括细胞外基质降解、细胞黏附等. 本研究通过对 4 个数据集进行综合分析确定了 DEGs,结果显示 DEGs 主要在胞外区、细胞外间隙,功能主要富集在与肿瘤侵袭转移相关的细胞黏附和蛋白水解中. KEGG 信号通路分析结果也显示在肿瘤侵袭和转移的功能通路中,PI3K-Akt 信号通路和 ECM 受体相作通路改变在多种肿瘤中参与肿瘤侵袭转移^[12-13]。

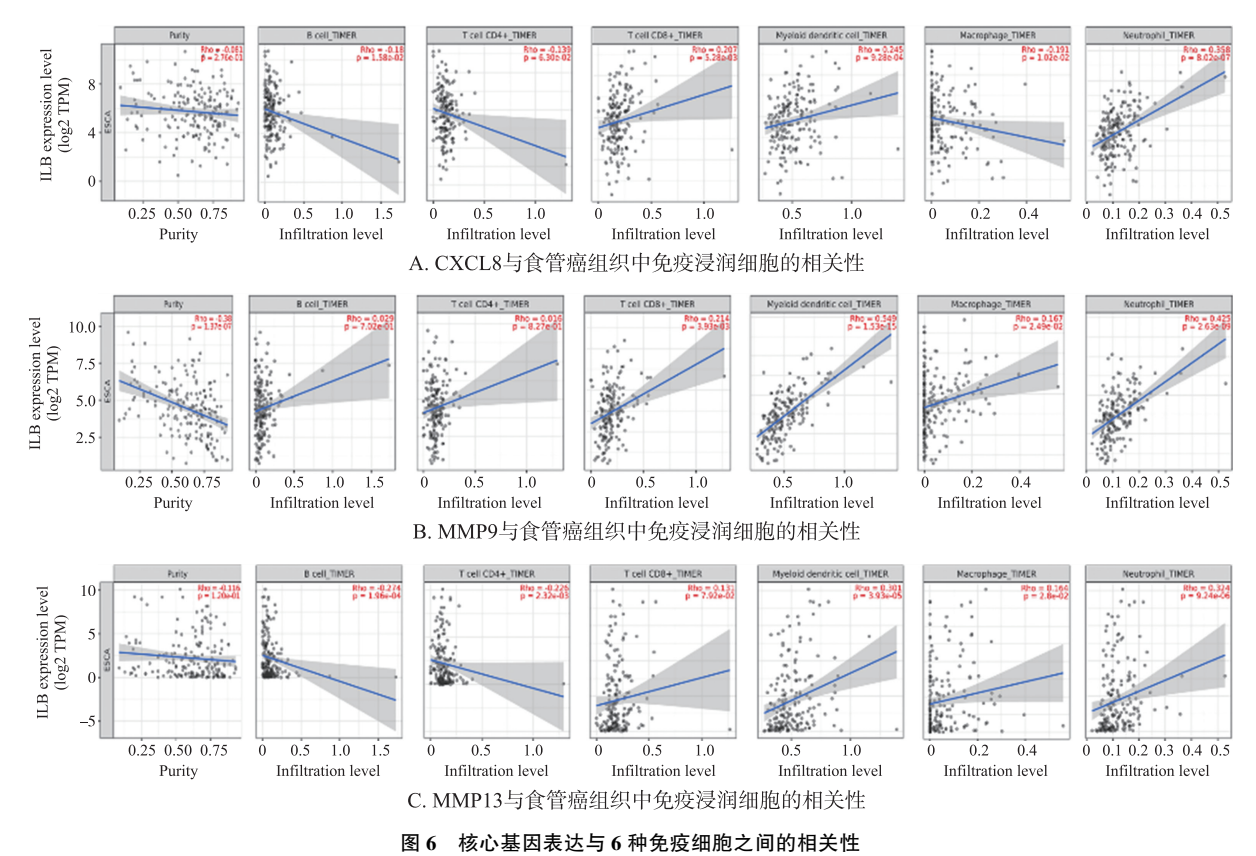


Fig. 6 Correlation between hub genes expression and 6 immune cell populations

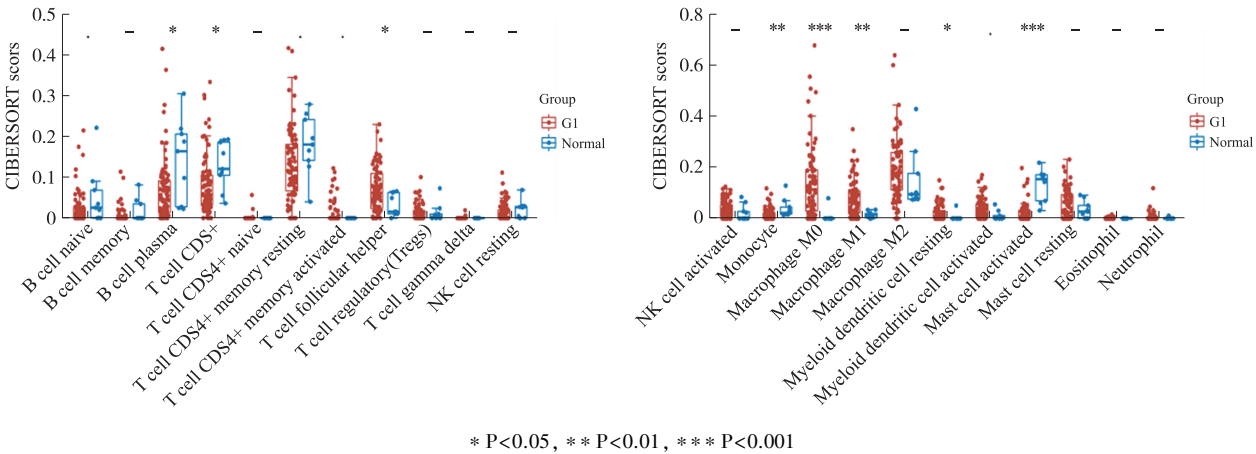


Fig. 7 Infiltration analysis of 22 immune cells in ESCC group and normal group

本研究基于 6 种算法筛选出 3 个核心基因,其中趋化因子 CXCL8 又称白细胞介素-8,能诱导并刺激中性粒细胞颗粒释放和产生超氧化物和过氧化氢^[14]. CXCL8 及其受体 CXCR1/2 可以通过与免疫细胞、癌症干细胞和肿瘤微环境相互作用^[15],使其在肿瘤进展和侵袭转移中发挥重要作用,例如,田倩等^[16]发现 CXCL8 同家族成员 CXCL13 能激活下游 Snail 等转移分子促进前列腺癌细胞增殖和转移. 另外趋化因子是肿瘤微环境的重要组成部分,在肿瘤微环境中介导免疫细胞募集和促进淋巴组织发育调节肿瘤的发生和发展. CXCL8 被报道在胃癌、黑色素瘤、结直肠癌等多种肿瘤中可能作为免疫治疗有效靶点^[17-19]. 另外有研究发现,PI3K-Akt 信号通路能通过激活 IKK 和 NF- κ B 蛋白诱导人肺上皮细胞中 CXCL8 的表达^[20]. 基质金属蛋白酶 MMPs,属于甲锌蛋白酶超家族,能够降解和修饰细胞外基质(ECM)和基底膜(BM)的大多数成分,不仅在胚胎发育和组织重塑等正常生理过程起作用,同时在肿瘤转移和细胞外基质分解的疾病过程中起关键作用^[21]. 并且研究结果发现,CXCL8、MMP9 和 MMP13 可能通过相互作用在 ESCC 中发挥作用,

CXCL8 和 MMP9 之间呈现正相关. CXCL8 和 MMP9 的过表达与膀胱癌的不良预后相关,且二者表达水平随着肿瘤侵袭性的增加而增加^[22]. 同样的研究结果在前列腺癌^[23]中也得到验证,在 PC-3M-LN4 细胞中敲除 CXCL8 后细胞会降低 MMP9 的表达,同时上调 CXCL8 后会增强 MMP9 的表达. 在对胃癌微阵列数据进行分析的一项研究表明, CXCL8 和 MMP9 的共表达可能是胃癌神经周围浸润的早期检测标志物^[24]. 综上所述可知,这 3 个核心基因作为 ESCC 肿瘤标志物和预后指标很有挖掘的价值和意义.

本研究采用 CIBERSORT 对 ESCC 免疫细胞浸润进行了分析评价,发现与正常组织相比, ESCC 组中巨噬细胞、静息性树突状细胞和滤泡性辅助性 T 细胞水平较高; B 细胞、单核细胞、CD8+T 细胞和激活性肥大细胞水平较低. Chen 等^[25]的研究发现, M0 和 M1 型巨噬细胞在 ESCC 中显著增高,且 M1 型巨噬细胞参与抑制 ESCC 细胞的侵袭迁移. 一般来说, M1 型巨噬细胞能产生 IL1、IL-12 和 TNF- α 等细胞因子,产生抗肿瘤效应^[26]. 然而随着肿瘤进展, M1 可以通过 PI3K-Akt、STAT6 等^[27]向 M2 型巨噬细胞极化导致肿瘤增殖转移. 树突状细胞与 ESCC 进展密切相关,肿瘤中免疫抑制环境可能是导致树突状细胞功能障碍的原因,并且使用靶向树突状细胞疫苗是肿瘤治疗的重要方法之一. Chen 等^[28]研究发现,食管癌组织和外周血中的树突状细胞明显低于对照组. Kocian^[29]对结直肠癌的研究发现,静息性树突状细胞的高浸润与复发密切相关,宋政文等^[30]通过成功构建靶向树突状细胞的结直肠癌肿瘤疫苗,为肿瘤免疫治疗结直肠癌奠定基础. 肥大细胞能分泌 IL-10 和 TGF- β 1,诱导 IL-17 产生,影响肿瘤进展. 值得注意的是,肥大细胞能通过产生相关细胞因子诱导 CXCL8 和 MMP9 产生促肿瘤作用^[31]. 单核细胞同样在癌症发展中起着重要作用, Han 等的一项回顾性研究发现,术前较高的单核细胞数可视为接受食管切除术的患者的有用预后指标^[32]. CD8+T 细胞在 ESCC 中减少,可能与巨噬细胞抑制作用有关. 同时, Simoni 等^[33]报告说,浸润的大部分 CD8+T 细胞不具识别表位功能. 另外,在 TIMER2.0 数据库的结果发现,3 个核心基因都与中性粒细胞、树突状细胞呈正相关. 总之,免疫浸润分析给 ESCC 免疫治疗提供了一定的指向性.

3 结论

综上所述,本研究采用多种生物信息学方法对 ESCC 的 DEGs 进行系统性分析,为探索 ESCC 的机理提供了线索,研究结果显示, CXCL8、MMP9、MMP13 与食管癌发生发展紧密相关,其可能存在相互作用并与肿瘤免疫细胞浸润相关. 然而,本研究仅对信息数据进行分析,未来还需要进一步的实验研究证实上述结果.

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] LI J, XU J, ZHENG Y, et al. Esophageal cancer: Epidemiology, risk factors and screening[J]. Chinese journal of cancer research, 2021, 33(5): 535–547.
- [3] KAKEJI Y, OSHIKIRI T, TAKIGUCHI G, et al. Multimodality approaches to control esophageal cancer: development of chemoradiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy[J]. Esophagus, 2021, 18(1): 25–32.
- [4] YANG J, LIU X, CAO S, et al. Understanding esophageal cancer: the challenges and opportunities for the next decade[J]. Frontiers in oncology, 2020, 10(17): 27–40.
- [5] ZHENG Y, CHEN Z, HAN Y, et al. Immune suppressive landscape in the human esophageal squamous cell carcinoma microenvironment[J]. Nature communications, 2020, 11(1): 6268–6285.
- [6] CHEN H, WU J, LU L, et al. Identification of hub genes associated with immune infiltration and predict prognosis in hepatocellular carcinoma via bioinformatics approaches[J]. Frontiers in genetics, 2020, 11(57): 62–79.
- [7] VAN IJZENDOORN D G P, SZUHAI K, BRIARE-DE BRUIJN I H, et al. Machine learning analysis of gene expression data reveals novel diagnostic and prognostic biomarkers and identifies therapeutic targets for soft tissue sarcomas[J]. PLoS computational biology, 2019, 15(2): 6826–6845.
- [8] LING B, LIAO X, HUANG Y, et al. Identification of prognostic markers of lung cancer through bioinformatics analysis and in vitro experiments[J]. International journal of oncology, 2020, 56(1): 193–205.
- [9] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage,

- supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic acids research*, 2019, 47(D1): D607–D613.
- [10] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. *BMC systems biology*, 2014, 8(Suppl 4): S11–S18.
- [11] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646–674.
- [12] JIANG N, DAI Q, SU X, et al. Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior[J]. *Molecular biology reports*, 2020, 47(6): 4587–4629.
- [13] BAO Y, WANG L, SHI L, et al. Transcriptome profiling revealed multiple genes and ECM-receptor interaction pathways that may be associated with breast cancer[J]. *Cellular & molecular biology letters*, 2019, 24(6): 38–58.
- [14] RAPOPORT B L, STEEL H C, THERON A J, et al. Role of the neutrophil in the pathogenesis of advanced cancer and impaired responsiveness to therapy[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2020, 25(7): E1618–E1640.
- [15] HA H, DEBNATH B, NEAMATI N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases[J]. *Theranostics*, 2017, 7(6): 1543–1588.
- [16] 田倩, 曹润峰, 王方方, 等. CXCL13 参与 AR 促进前列腺癌细胞体内异种移植瘤的生长[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2018, 41(3): 70–77.
- [17] BILUSIC M, HEERY C R, COLLINS J M, et al. Phase I trial of HuMax-IL8 (BMS-986253), an anti-IL-8 monoclonal antibody, in patients with metastatic or unresectable solid tumors[J]. *Journal for immunotherapy of cancer*, 2019, 7(1): 240–248.
- [18] LIN C, HE H, LIU H, et al. Tumour-associated macrophages-derived CXCL8 determines immune evasion through autonomous PD-L1 expression in gastric cancer[J]. *Gut*, 2019, 68(10): 1764–1773.
- [19] XIONG X, LIAO X, QIU S, et al. CXCL8 in tumor biology and its implications for clinical translation[J]. *Frontiers in molecular biosciences*, 2022, 9(7): 846–859.
- [20] LIN C H, CHENG H W, MA H P, et al. Thrombin induces NF-kappaB activation and IL-8/CXCL8 expression in lung epithelial cells by a Rac1-dependent PI3K/Akt pathway[J]. *The journal of biological chemistry*, 2011, 286(12): 10483–10494.
- [21] YANG L, LIU L, GAO H, et al. The stem cell factor SALL4 is an essential transcriptional regulator in mixed lineage leukemia-rearranged leukemogenesis[J]. *Journal of hematology & oncology*, 2017, 10(1): 159–180.
- [22] REIS S T, LEITE K R M, PIOVESAN L F, et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer[J]. *BMC urology*, 2012, 12(11): 18–23.
- [23] INOUE K, SLATON J W, EVE B Y, et al. Interleukin 8 expression regulates tumorigenicity and metastases in androgen-independent prostate cancer[J]. *Clinical cancer research: an official journal of the american association for cancer research*, 2000, 6(5): 2104–2119.
- [24] JIA X, LU M, RUI C, et al. Consensus-expressed CXCL8 and MMP9 identified by meta-analyzed perineural invasion gene signature in gastric cancer microarray data[J]. *Frontiers in genetics*, 2019, 10(7): 851–858.
- [25] JIANG C H, LIANG W H, LI F P, et al. Distribution and prognostic impact of M1 macrophage on esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2021, 42(4): 537–545.
- [26] MEHLA K, SINGH P K. Metabolic regulation of macrophage polarization in cancer[J]. *Trends in cancer*, 2019, 5(12): 822–834.
- [27] XU F, WEI Y, TANG Z, et al. Tumor-associated macrophages in lung cancer: Friend or foe? (Review) [J]. *Molecular medicine reports*, 2020, 22(5): 4107–4115.
- [28] CHEN S R, LUO Y P, ZHANG J K, et al. Study on immune function of dendritic cells in patients with esophageal carcinoma[J]. *World journal of gastroenterology*, 2004, 10(7): 934–939.
- [29] KOCIÁN P, ŠEDIVCOVÁ M, DRGÁČ J, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells in human colorectal cancer: their relationship to KRAS mutational status and disease recurrence[J]. *Human immunology*, 2011, 72(11): 1022–1028.
- [30] 宋政文, 赵智辉. 靶向树突状细胞的结肠癌肿瘤疫苗的制备[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2020, 43(3): 112–119.
- [31] DERA KHSHANI A, VAHIDIAN F, ALIHASANZADEH M, et al. Mast cells: A double-edged sword in cancer[J]. *Immunology letters*, 2019, 209(5): 28–35.
- [32] HAN L, JIA Y, SONG Q, et al. Prognostic significance of preoperative absolute peripheral monocyte count in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Diseases of the esophagus: official journal of the international society for diseases of the esophagus*, 2016, 29(7): 740–746.
- [33] SIMONI Y, BECHT E, FEHLINGS M, et al. Bystander CD8+T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates[J]. *Nature*, 2018, 557(7706): 575–579.

[责任编辑:黄敏]