

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.07.010

· 临床研究 ·

基于生物信息学方法分析MFAP2基因在胃癌预后及免疫治疗中的意义

张宏¹, 黄轶华¹, 乐湘华¹, 刘彬², 魏品球³, 韩钧凌¹, 张永镇¹ (1. 中国人民解放军联勤保障部队第九二八医院 消化内科, 海南 海口 570100; 2. 中国人民解放军九二九一四部队医院 卫生队, 海南 临高 571820; 3. 中国人民解放军九二四九七部队 卫生队, 海南 陵水 572400)

[摘要] **目的:** 筛选影响胃癌患者预后及治疗的关键基因, 分析关键基因微纤维相关蛋白2(MFAP2)在提示胃癌患者预后及免疫治疗敏感性中的价值。 **方法:** 从TCGA数据库下载胃癌患者的癌和癌旁组织的表达谱数据及临床资料。综合加权基因共表达网络分析(WGCNA)和单因素Cox回归分析筛选与胃癌预后显著相关的基因。使用多个患者队列评估关键基因MFAP2的预后价值, 分析其效能和临床病理指标的相关性。使用多个在线数据库数据及算法分析MFAP2与肿瘤免疫微环境的关联, 免疫表型评分(IPS)联合免疫治疗患者队列分析MFAP2在预测免疫治疗响应性中的价值。采用多数据集验证MFAP2在胃癌及癌旁组织中的表达差异。 **结果:** 蓝色模块与胃癌患者的生存结局相关性最高($R=0.17, P<0.001$); 进一步与预后相关基因取交集, 共筛选到20个关键基因。关键基因MFAP2的高表达提示胃癌的不良预后和病理进展($HR>1, P<0.05$)。MFAP2与肿瘤相关成纤维细胞密切相关, 高表达MFAP2的胃癌患者对免疫治疗更不敏感。多数据集验证结果显示, MFAP2 mRNA在胃癌组织中高表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。 **结论:** MFAP2的高表达是胃癌预后不良和免疫治疗响应不佳的提示因子, 有望作为胃癌的新型治疗靶点和预后标志物。

[关键词] 胃癌; 微纤维相关蛋白2; 预后; 肿瘤微环境; 免疫治疗; 生物信息学

[中图分类号] R735.2; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)07-0707-08

Bioinformatic screening reveals the significance of MFAP2 in the prognosis and immunotherapy of gastric cancer

ZHANG Hong¹, HUANG Yihua¹, LE Xianghua¹, LIU Bin², WEI Pinqiu³, HAN Junling¹, ZHANG Yongzhen¹ (1. Department of Gastroenterology, the 928th Hospital of PLA Joint Logistics Force, Haikou 570100, Hainan, China; 2. Health Team, the 92914th Military Hospital of PLA, Lingao 571820, Hainan, China; 3. Health Team, the 92497th Military Hospital of PLA, Lingshui 572400, Hainan, China)

[Abstract] Objective: To screen the key genes affecting the prognosis and treatment of gastric cancer (GC) patients and to analyze the value of the key gene microfibrillar-associated protein 2 (MFAP2) in suggesting the prognosis and the sensitivity of immunotherapy of GC patients. **Methods:** The expression profile data and clinical information of gastric cancer and paracancerous tissues were downloaded from the TCGA database. Genes significantly associated with the prognosis of gastric cancer were screened by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) and univariate Cox regression analysis. Multiple patient cohorts were used to assess the prognostic value of the key gene MFAP2 and analyze its efficacy and clinicopathological correlation. Multiple online databases and algorithms were used to analyze the correlation between MFAP2 and the tumor immune microenvironment. Immunophenotyping score (IPS) combined with immunotherapy patient cohort was used to analyze the value of MFAP2 in predicting the responsiveness of immunotherapy. Differential expression of MFAP2 in gastric cancer and adjacent tissues was verified with multiple datasets. **Results:** The blue module showed the highest correlation with survival outcomes of GC patients ($R=0.17, P<0.001$). Further intersections were taken with prognosis-related genes, and a total of 20 key genes were screened. High expression of the key gene MFAP2 suggested poor prognosis and pathological progression of GC ($HR>1, P<0.05$). MFAP2 was closely associated with cancer-associated fibroblasts, and GC patients with high expression of MFAP2 were more insensitive to immunotherapy. The high expression of MFAP2 mRNA in GC was verified by multiple datasets ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion:** High expression of MFAP2 is a predictive factor for poor prognosis and response to immunotherapy in GC patients. MFAP2 is expected to serve as a novel therapeutic target and prognostic indicator for gastric cancer.

[Key words] gastric cancer (GC); microfibrillar-associated protein 2 (MFAP2); prognosis; immunotherapy; bioinformatics

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(7): 707-714. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.07.010]

[基金项目] 海南省自然科学基金青年基金(No. 820QN419)

[作者简介] 张宏(1979—), 学士, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤的基础和临床研究。E-mail: 357886295@qq.com

[通信作者] 韩钧凌, E-mail: 131266132681@163.com; 张永镇, E-mail: zyzhangyongzhen@163.com

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一。全球癌症统计数据^[1]显示,在所有癌症类型中,胃癌的发病率居第六位,病死率居第四位。中国胃癌发病率和病死率均显著高于其他国家,全球近一半的胃癌新发及死亡病例均在中国^[2]。然而,由于早期无特异性改变,不易被发现,所以大多胃癌患者确诊时已经处于疾病的中晚期,这严重显著制约了胃癌治疗的效果^[3]。虽然手术、放疗及化疗的进步在一定程度上延长了胃癌患者的生存期,但由于其耐药性、转移等原因,胃癌患者的5年生存率仍不理想(5%~15%)^[4]。最新临床试验结果显示,免疫检查点阻断疗法在晚期胃癌治疗中展现出良好的效果^[5];但肿瘤免疫治疗的响应率不足仍是限制其进一步应用的重要原因^[6]。因此,亟需发掘新的胃癌诊断、预后评估及治疗响应性预测的生物标志物。本研究利用公共数据库数据,采用多种方法筛选影响胃癌患者预后的关键基因,综合多维度分析关键基因微纤维相关蛋白2(microfibrillar-associated protein 2, MFAP2)在提示胃癌患者预后及免疫治疗敏感性中的价值,为将MFAP2作为胃癌诊治的潜在新靶点和预后标志物提供理论依据和应用参考。

1 材料与方法

1.1 胃癌数据的收集

从TCGA数据库(<https://www.cancer.gov/tcga>)下载胃癌(TCGA-STAD)及癌旁组织样本的RNA-seq数据,共纳入415例胃癌及35例癌旁组织样本。在进行生存及临床相关性分析时,去除重复及随访时间不足30 d的样本。外部胃癌患者队列GSE62254、GSE15459、GSE29272、GSE51105、GSE19826及GSE79973从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取。

1.2 胃癌差异表达基因分析

使用R语言edgeR包分析胃癌及癌旁组织中mRNA表达差异,将差异倍数 $\log_2(\text{fold change, FC}) > 2$ 且 $P < 0.05$ 的基因作为差异表达基因。基于R语言pheatmap包和ggplot2包,使用热图和火山图进行差异可视化。

1.3 加权基因共表达网络分析(weighted correlation network analysis, WGCNA)鉴定与胃癌患者生存预后相关的基因模块

WGCNA用于筛选与患者的生存预后最相关的模块和基因。在对样本进行聚类并剔除异常值后,确定软阈值(soft threshold)用于后续分析。在确保每个模块中不少于50个基因的情况下,将基因划分到不同的模块中,进行相关性筛选以获取生存结局相关模块与基因。

1.4 关键基因筛选及功能富集分析

合并TCGA-STAD的基因表达谱与临床随访信息,使用单因素Cox回归分析以筛选预后基因($P < 0.05$)。使用R语言ClusterProfiler包进行功能富集分析,获取与胃癌预后相关的生物过程或通路。将差异表达基因、WGCNA鉴定的生存结局相关模块基因以及预后基因取交集,获得关键预后基因,并绘制维恩(Venn)图。

1.5 生存分析

使用R语言survival包绘制Kaplan-Meier(K-M)曲线,以显示TCGA-STAD队列中MFAP2高表达组与低表达组的生存差异。使用外部队列GSE62254、GSE15459、GSE29272、GSE51105及合并队列验证不同MFAP2表达组的生存差异。

1.6 基因预后效能及临床病理相关性分析

绘制ROC曲线以其曲线下面积(area under curve, AUC)评估MFAP2诊断胃癌及预测胃癌患者生存结局的准确性,基于R语言survivalROC包完成。根据不同临床亚组分析MFAP2的表达趋势,评估MFAP2与胃癌患者的临床病理指标的相关性。

1.7 基因与肿瘤微环境及免疫治疗的相关性分析

利用TIMER数据库(<http://timer.cistrome.org/>)和ESTIMATE算法评估MFAP2表达与多种肿瘤浸润免疫细胞以及肿瘤微环境评分的相关性^[7-9]。在TISCH数据库(<http://tisch.comp-genomics.org>)上分析胃癌单细胞测序数据集,探究MFAP2在不同细胞中的表达趋势^[9]。从TCIA数据库(<https://tcia.at/home>)下载胃癌患者的免疫表型评分(immunophenoscore, IPS),用于预测患者对免疫治疗的敏感性^[10]。从Kaplan-Meier Plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)引入接受免疫治疗的肿瘤患者队列,分析治疗前MFAP2表达与患者生存预后的关系^[11]。

1.8 MFAP2表达趋势的验证

为进一步确认MFAP2在肿瘤组织中的表达状态,引入GTEx数据库中的正常胃组织表达数据,基于GEPIA数据库分析MFAP2在肿瘤组织、癌旁组织及正常组织中的表达趋势^[12]。使用CEPIA数据库数据及GSE19826和GSE79973数据集进一步验证MFAP2 mRNA在胃癌及癌旁组织中的表达差异。

1.9 统计学处理

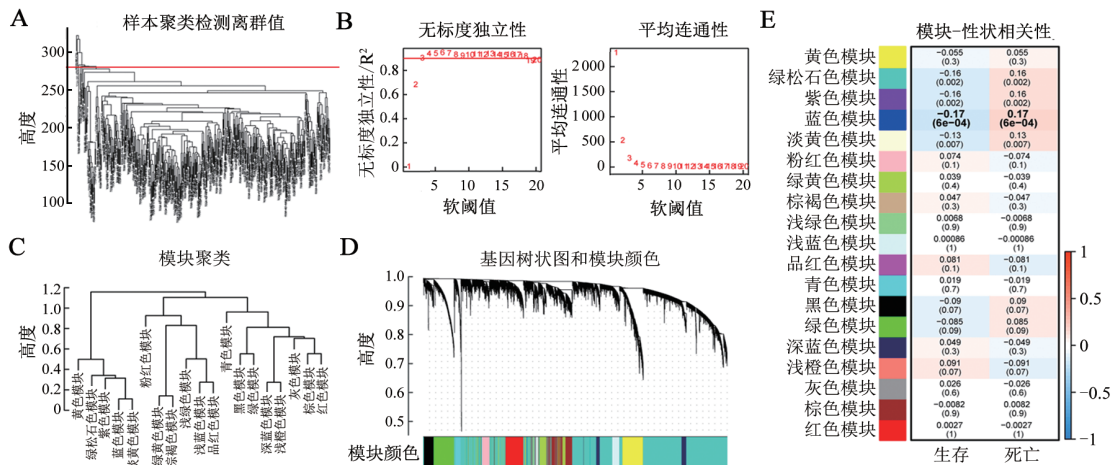
使用R软件(版本4.2.2)相关功能包及在线数据库进行数据的处理、分析和可视化。使用Wilcoxon秩和检验进行表达差异的统计分析,Cox回归分析用于预后基因筛选,Spearman法用于相关性分析,使用配对t检验分析微阵列实验中MFAP2的表达水平。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 蓝色模块与胃癌患者生存结局相关性最高

基于WGCNA流程对TCGA-STAD的样本进行聚类分析显示,10个样本被鉴定为离群样本被剔除

(图1A);后续分析中,选取4作为软阈值,所有基因被划分为19个不同模块(图1B~1D)。WGCNA分析这些模块与患者生存结局的相关性,结果显示,蓝色模块与患者生存结局关系最密切($R=0.17, P<0.001$),其中包括1686个基因(图1E)。



A: 鉴定离群样本; B: 选取WGCNA合适的软阈值; C: WGCNA将基因分成不同模块; D: 基因在各模块中的分布情况; E: 不同基因模块与患者生存结局的相关性。

图1 WGCNA鉴定与胃癌患者生存结局关联最显著的基因模块

2.2 筛选到20个影响胃癌预后的关键基因

通过比较TCGA-STAD表达谱中胃癌与癌旁组织中的表达差异,鉴定出1538个差异基因(图2A、2B)。结合TCGA-STAD队列中患者的生存信息,使用单因素Cox回归鉴定出1541个胃癌预后相关基因。进行功能富集分析,发现这些基因主要富集于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)调控、凝血调控、细胞-基质黏附、生长因子等生物学过程或通路(图2C),提示ECM成分及相关通路对胃癌预后具有重要影响。将差异表达基因、单因素Cox回归鉴定的预后基因、WGCNA鉴定的蓝色模块基因三者取交集,共获得20个影响胃癌患者预后的关键基因(图2D)。关键基因的风险比(hazard ratio, HR)及95%CI如图2E所示。

2.3 关键基因MFAP2高表达提示胃癌不良预后

MFAP2作为预后效果最显著的基质相关蛋白之一,成为本研究关注的分子。依据MFAP2表达的中位值(5.655)将TCGA-STAD队列中的胃癌患者分成MFAP2高表达组和MFAP2低表达组。生存分析发现,MFAP2高表达组胃癌患者总生存期更短($HR>1, P=0.006$;图3A)。为验证该结论的可靠性,进一步在GSE62254、GSE15459等多个独立的胃癌患者队列及合并队列中进行生存分析,得到了一致的结果(均 $HR>1, P<0.05$;

图3B~3F)。以上结果表明,MFAP2的高表达能够提示胃癌患者的不良预后。

2.4 关键基因MFAP2具有良好的诊断和预后效能及临床病理相关性

诊断ROC曲线显示,MFAP2表达所呈现的AUC为0.892,显示了其良好的诊断效果(图4A)。通过时间依赖性ROC曲线评估MFAP2预测胃癌患者总体生存结局及疾病特异性生存结局的准确性,结果显示,MFAP2对长期生存的预测效果更优(AUC=0.7~0.8;图4B、4C)。由此可见,MFAP2在作为胃癌的诊断及预后指标方面具有良好的效能。

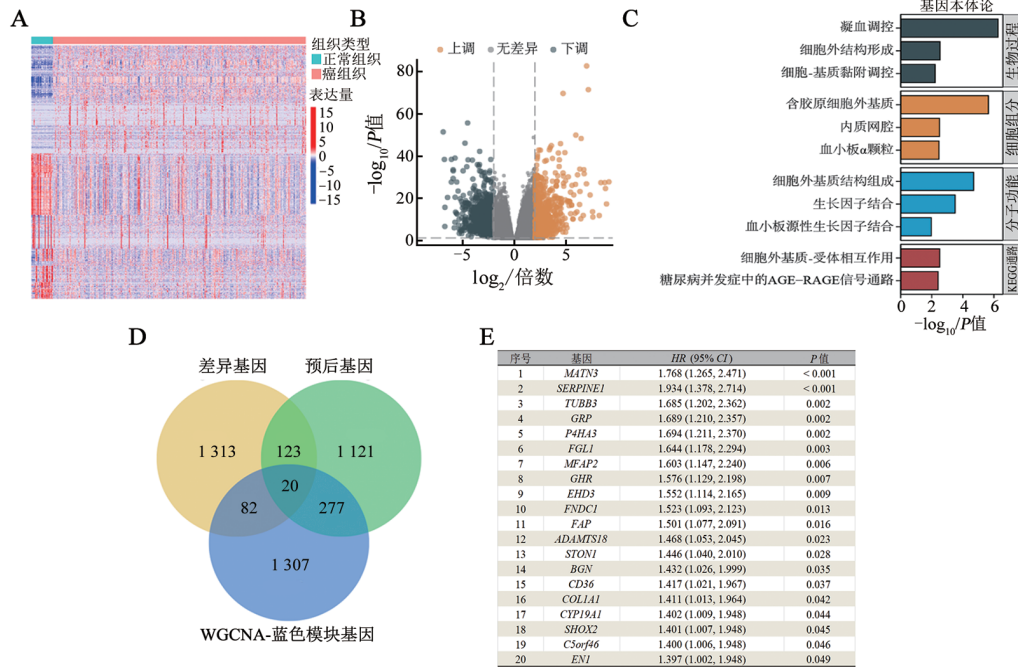
关键基因与患者临床病理指标的良好相关性也是其预后价值的重要体现。进一步评估MFAP2表达与胃癌患者的TNM分期等临床指标之间的关联,结果显示,MFAP2在T分期更高的患者亚组中表达更高($P<0.001$,图4D),而与N分期、M分期的关联不明显(图4E、4F)。与I期组患者相比,MFAP2在II期组患者中表达更高($P<0.05$,图4G);III-IV期组患者MFAP2也较I期组高,但差异无统计学意义(图4G)。MFAP2在死亡结局的患者组中的表达也较存活组更高($P<0.01$,图4H)。MFAP2的表达与幽门螺旋杆菌感染之间未见明显关联(图4I)。结果表明,关键基因MFAP2与胃癌患者的临床病理指标尤其是T

分期具有良好的相关性。

2.5 MFAP2与胃癌微环境中的基质成分高度相关

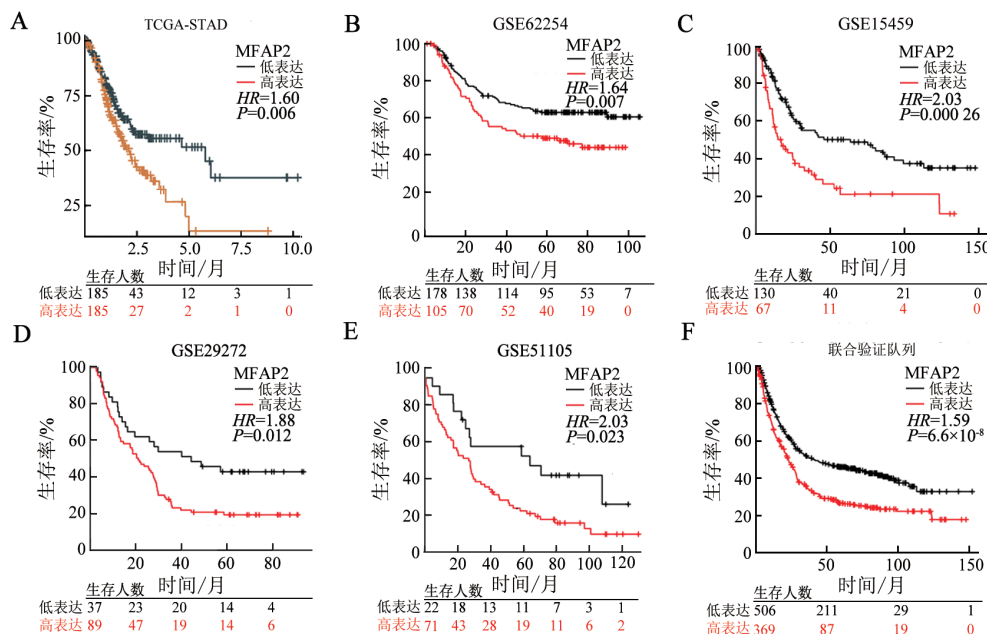
基于TIMER数据库的胃癌微环境相关性分析结果显示, MFAP2与巨噬细胞的相关性最高($R=0.294, P<0.001$), 与B细胞、CD4⁺T细胞及DC具有一定的相关性($P<0.05$, 图5A)。MFAP2表达与微环境评分中的基质评分相关性最强($R=0.437, P<0.001$; 图5B)。

单细胞转录组维度分析MFAP2与肿瘤微环境各种细胞成分的相关性, 结果显示, MFAP2在成纤维细胞中表达最强(图5C~5E)。癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)是微环境中最重要的基质细胞种类之一, 因此MFAP2与胃癌微环境中的CAF等基质成分具有高度相关性。



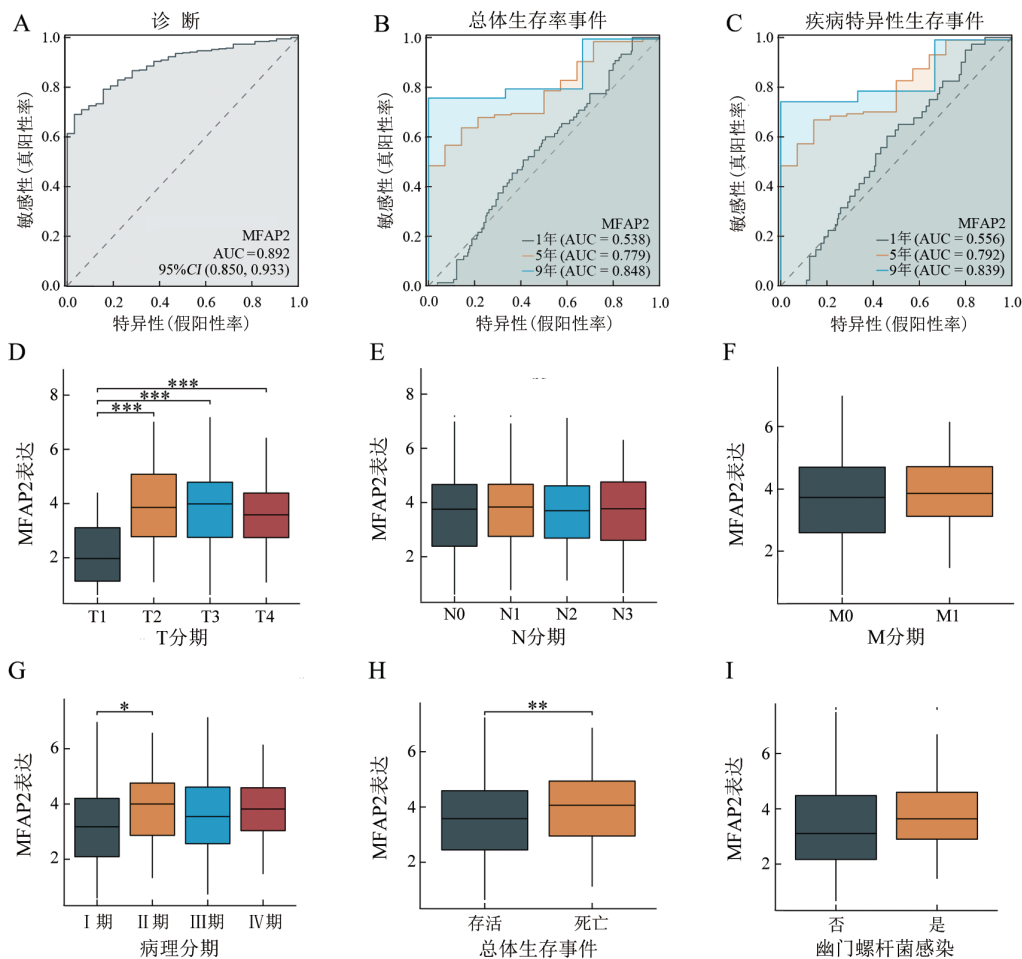
A: 差异分析热图; B: 差异分析火山图; C: 预后基因的功能富集分析; D: 多策略筛选基因的交集 Venn 图; E: 20个关键预后基因的风险值。

图2 多策略筛选对胃癌患者预后影响最显著的关键基因



A: 基于TCGA队列的生存分析; B-F: 基于GSE62254(B)、GSE15459(C)、GSE29272(D)、GSE51105(E)及合并外部队列(F)的生存分析。

图3 多队列生存分析揭示关键基因MFAP2在胃癌中的预后价值



A: 基于 MFAP2 的胃癌诊断 ROC 曲线; B: 基于 MFAP2 的时间依赖性 ROC 曲线(总生存期); C: 基于 MFAP2 的时间依赖性 ROC 曲线(疾病特异性生存期); D-I: MFAP2 在不同临床病理亚组中的表达趋势分析。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图4 关键基因 MFAP2 与胃癌临床指标的相关性

2.6 MFAP2 高表达提示肿瘤对免疫治疗不敏感

通过比较不同 MFAP2 表达水平的患者亚组的 IPS 评分,发现不论 PD-1 及 CTLA-4 的状态如何, MFAP2 低表达组的 IPS 评分均显著高于 MFAP2 高表达组,提示 MFAP2 低表达的患者可能对肿瘤免疫治疗的响应性更高 ($P < 0.001$, 图 5F)。此外, MFAP2 高表达组也具有更高的 CAF 评分,而 CAF 对肿瘤免疫治疗的效果具有显著消极影响,因此 MFAP2 高表达可能提示接受免疫治疗的肿瘤患者的不良预后 ($P < 0.001$, 图 5G)。为了进一步验证上述结果,本研究在两个接受免疫治疗的肿瘤患者队列中评估了 MFAP2 表达水平与患者预后的关系,结果显示, MFAP2 高表达的患者组均具有更短的总生存期 ($HR > 1$, $P < 0.01$; 图 5H、5I)。分析结果表明, MFAP2 高表达能够提示接受免疫检查点阻断疗法的肿瘤患者的不良预后。

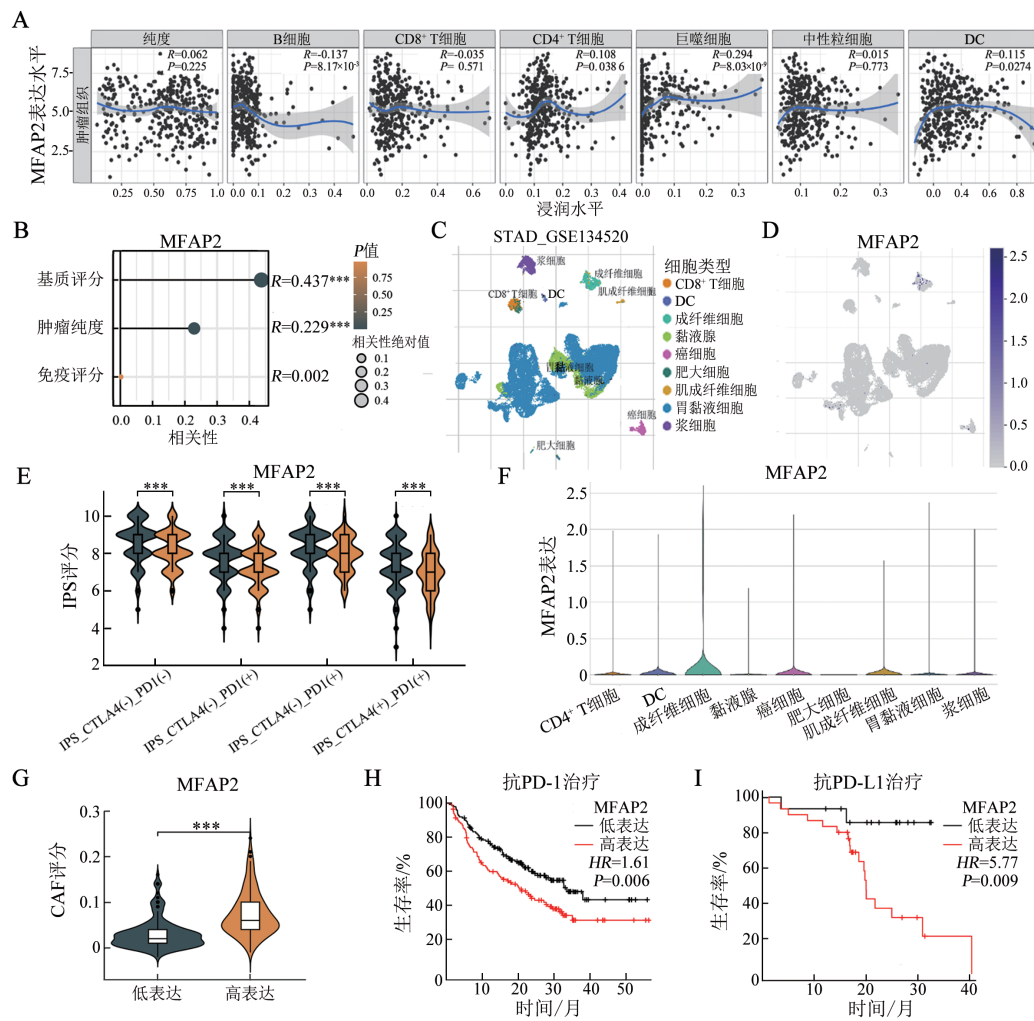
2.7 多数据集验证 MFAP2 mRNA 在胃癌组织中呈高表达

除了癌旁组织,本研究还引入了 GTEx 数据库

中的正常胃黏膜组织表达谱数据进行表达趋势分析,充分验证了 MFAP2 mRNA 在胃癌组织高表达的特征 ($P < 0.05$, 图 6A)。在 GSE19826 和 GSE79973 胃癌及癌旁组织的表达谱数据集中验证 MFAP2 mRNA 的高表达,得到了一致的结果 ($P < 0.001$, 图 6B、6C)。结果表明, MFAP2 mRNA 在胃癌组织中显著高表达。

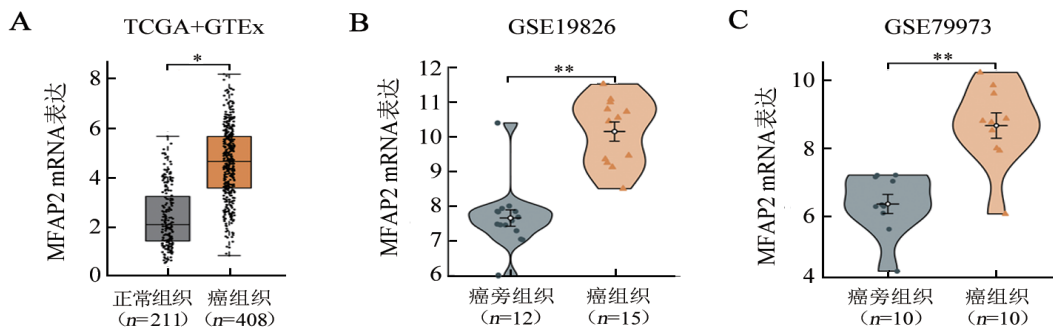
3 讨论

胃癌作为一种侵袭性消化道恶性肿瘤,是世界范围内癌症相关死亡的主要原因之一。手术切除是早期胃癌的理想治疗手段,但是当出现淋巴结转移或远处转移时,常需要进行化疗、靶向药物治疗或免疫疗法等全身性治疗手段,且患者的长期预后仍然不够理想^[13]。因此,以患者预后作为出发点,发掘有利于胃癌早期诊断和预后评估的新型分子标志物尤为重要,对于深入理解胃癌进展机制和筛选药物靶点也具有重要意义。



A: 基于TIMER 数据库分析 MFAP2 与肿瘤免疫微环境的相关性; B: MFAP2 与微环境评分的相关性; C-E: 胃癌单细胞测序分析显示 MFAP2 优势表达的细胞群; F: MFAP2 高表达组与低表达组的 IPS 评分差异; G: MFAP2 高表达与低表达组的 CAF 评分差异; H, I: MFAP2 高表达与低表达的患者接受免疫治疗的生存曲线分析。

图5 关键基因 MFAP2 与胃癌微环境及免疫治疗的相关性分析



A: GEPIA 数据库分析 MFAP2 mRNA 在胃癌组织中的高表达; B, C: 两个独立数据集 GSE19826 (B) 与 GSE79973 (C) 验证 MFAP2 mRNA 在胃癌组织中高表达。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图6 关键基因 MFAP2 在胃癌及癌旁组织中的表达特征验证

本研究综合了 WGCNA 性状-模块分析、Cox 回归分析、差异表达分析三种策略, 筛选出 20 个与胃癌生存预后密切相关的关键基因。功能富集分析提示预后基因显著富集在 ECM 相关的功能和通路, 因此有必要对关键基因中的 ECM 相关基因进行重点探

究。经文献调研, 这 20 个关键基因中的确有包括成纤维细胞活化蛋白 α (fibroblast activation protein alpha, FAP- α)、纤维蛋白原样蛋白 1 (fibrinogen like 1, FGL1)、丝氨酸蛋白酶抑制剂分支 E 成员 1 (serpin family E member 1, SERPINE1)、I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链

(collagen type I alpha 1 chain, COL1A1)、MFAP2、基质蛋白3(matrilin 3, MATN3)、双糖链蛋白多糖(biglycan, BGN)、白细胞分化抗原36(cluster of differentiation 36, CD36)等多个基因与ECM相关,其中部分基因调控胃癌预后的作用已经有所报道。例如,KUMAR等^[14]通过大规模基于单细胞测序的胃癌微环境分析揭示了INHBA-FAP高表达的CAF亚群是胃癌的不良预后因子。BGN/FAP/STAT3可在胃癌细胞与CAF样细胞之间形成正反馈环路,进而促进胃癌的腹膜转移^[15]。CAF来源的MATN3的相分离能够促进胃癌的侵袭^[16]。JIANG等^[17]提出CD36是一个与CD4⁺T细胞活化相关的重要因子,且CD36-BATF2/MYB轴能够作为预测胃癌患者免疫检查点阻断疗法响应性的指标。因此,上述研究从侧面反映了本研究的可靠性,为后续进一步揭示这些关键基因的功能提供了有力支持。

MFAP2是本研究筛选出的预后作用最显著的关键基因之一。据报道,MFAP2在参与ECM的构成、生长因子信号转导、产热调控等方面起着重要作用,但MFAP2在胃癌患者的预后、临床病理特征及免疫治疗等方面的角色意义尚未得到充分明确^[18-21]。因此,本研究重点关注了MFAP2,从生存预后、疾病诊断、临床病理相关性、肿瘤免疫等方面对MFAP2的生物学意义进行了综合探究。多个胃癌患者队列的生存分析均说明了MFAP2是胃癌的风险预后因子,且MFAP2的表达与肿瘤的T分期尤为相关,也从侧面说明了MFAP2与胃癌进展的相关性。研究结果^[22-25]表明,MFAP2在结肠癌、卵巢癌、口腔鳞癌等肿瘤中高表达,且能够通过m1A甲基化、糖酵解、致癌自噬等不同机制促进肿瘤的侵袭、转移和进展。此外,ROC曲线分析也说明MFAP2对胃癌诊断和预后评估的准确性良好。

肿瘤微环境由肿瘤中的浸润性免疫细胞、基质细胞及分泌性非细胞组分等组成^[26]。近年来,肿瘤微环境在调控肿瘤进展、患者预后及药物治疗敏感性中的作用受到了广泛关注^[26-27]。例如,对多数肿瘤而言,肿瘤内浸润性细胞毒性CD8⁺T细胞是保护性的预后因子^[28-29]。杨珺涵等^[30]发现,NFKBIA在黑色素瘤中低表达,其表达水平与多种CD8⁺T细胞亚群的浸润水平呈正相关。基质细胞方面,CAF作为肿瘤基质的关键组成部分,可通过调控ECM重塑、血管生成、肿瘤-免疫细胞相互作用等机制影响肿瘤的进展^[27]。LIU等^[31]利用空间多组学的方法鉴定了一种由SPP1⁺巨噬细胞和CAF相互作用所形成的肿瘤-免疫屏障结构,这种结构通过限制效应性免疫细胞的瘤内浸润来制约肿瘤免疫治疗的疗效。在本研究中,

关键基因MFAP2的高表达也能够提示接受免疫治疗的肿瘤患者的不良预后;进一步分析结果显示,MFAP2主要表达于微环境中的CAF,提示MFAP2可能是通过CAF与肿瘤细胞的相互作用促进免疫抑制和肿瘤进展,但具体机制还需未来更多基于二代测序和空间多组学技术的研究以明确MFAP2、CAF及肿瘤细胞之间的分子和细胞作用关系。

综上所述,本研究通过综合的生物信息学筛选鉴定了影响胃癌患者生存预后和免疫治疗响应性的关键基因MFAP2;从表达特征、生存预后、疾病诊断、临床病理相关性、肿瘤微环境、免疫治疗等方面对MFAP2在胃癌中的生物学意义进行了综合的表征,揭示了CAF相关基因MFAP2的高表达提示胃癌患者预后不良、疾病进展及免疫治疗低响应性的作用,为胃癌免疫治疗新靶点和预后标志物的研究提供了新思路。

[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 Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] WANG Z X, HAN W, XUE F, *et al.* Nationwide gastric cancer prevention in China, 2021-2035: a decision analysis on effect, affordability and cost-effectiveness optimisation[J]. *Gut*, 2022, 71(12): 2391-2400. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325948.
- [3] SMYTH E, NILSSON M, GRABSCHE H, *et al.* Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396: 635-648. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31288-5.
- [4] YAN X X, LEI L, LI H, *et al.* Stomach cancer burden in China: Epidemiology and prevention[J/OL]. *Chung Kuo Yen Cheng Yen Chiu*, 2023, 35(2): 81-91[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10167608/>. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2023.02.01.
- [5] YUAN S Q, NIE R C, JIN Y, *et al.* Perioperative toripalimab and chemotherapy in locally advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer: a randomized phase 2 trial[J/OL]. *Nat Med*, 2024, 30(2): 552-559[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/8425847/>. DOI: 10.1038/s41591-023-02721-w.
- [6] GUAN W L, HE Y, XU R H. Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 57[2024-02-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37245017/>. DOI: 10.1186/s13045-023-01451-3.
- [7] LI T W, FAN J Y, WANG B B, *et al.* TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells[J/OL]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): e108-e110[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6042652/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0307.
- [8] YOSHIHARA K, SHAHMORADGOLI M, MARTÍNEZ E, *et al.* Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data[J/OL]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2612[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3826632/>. DOI: 10.1038/ncomms3612.

- [9] SUN D Q, WANG J, HAN Y, *et al.* TISCH: a comprehensive web resource enabling interactive single-cell transcriptome visualization of tumor microenvironment[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49 (D1): D1420-D1430[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7778907/>. DOI: 10.1093/nar/gkaa1020.
- [10] CHAROENTONG P, FINOTELLO F, ANGELOVA M, *et al.* Pan-cancer immunogenomic analyses reveal genotype-immunophenotype relationships and predictors of response to checkpoint blockade[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(1): 248-262. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.019.
- [11] GYÖRFFY B. Transcriptome-level discovery of survival-associated biomarkers and therapy targets in non-small-cell lung cancer[J]. *Br J Pharmacol*, 2024, 181(3): 362-374. DOI: 10.1111/bph.16257.
- [12] TANG Z F, KANG B X, LI C W, *et al.* GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6602440/>. DOI: 10.1093/nar/gkz430.
- [13] THRIFT A P, WENKER T N, EL-SERAG H B. Global burden of gastric cancer: epidemiological trends, risk factors, screening and prevention[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(5): 338-349. DOI: 10.1038/s41571-023-00747-0.
- [14] KUMAR V, RAMNARAYANAN K, SUNDAR R, *et al.* Single-cell atlas of lineage states, tumor microenvironment, and subtype-specific expression programs in gastric cancer[J/OL]. *Cancer Discov*, 2022, 12 (3): 670-691[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9394383/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-0683.
- [15] WU H T, XIANG Z X, HUANG G Q, *et al.* BGN/FAP/STAT3 positive feedback loop mediated mutual interaction between tumor cells and mesothelial cells contributes to peritoneal metastasis of gastric cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(2): 465-483. DOI: 10.7150/ijbs.72218.
- [16] HUANG Y L, XU X Y, LU Y K, *et al.* The phase separation of extracellular matrix protein matrilin-3 from cancer-associated fibroblasts contributes to gastric cancer invasion[J/OL]. *FASEB J*, 2024, 38(2): e23406[2024-02-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38193601/>. DOI: 10.1096/fj.202301524R.
- [17] JIANG Q Y, CHEN Z X, MENG F S, *et al.* CD36-BATF2\MYB axis predicts anti-PD-1 immunotherapy response in gastric cancer[J/OL]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(14): 4476-4492[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10535701/>. DOI: 10.7150/ijbs.87635.
- [18] CRAFT C S, PIETKA T A, SCHAPPE T, *et al.* The extracellular matrix protein MAGP1 supports thermogenesis and protects against obesity and diabetes through regulation of TGF- β [J/OL]. *Diabetes*, 2014, 63(6): 1920-1932[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4030109/>. DOI: 10.2337/db13-1604.
- [19] ZHU S P, YE L, BENNETT S, *et al.* Molecular structure and function of microfibrillar-associated proteins in skeletal and metabolic disorders and cancers[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1): 41-48. DOI: 10.1002/jcp.29893.
- [20] XU W Z, WANG M F, BAI Y, *et al.* The role of microfibrillar-associated protein 2 in cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1002036[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9748481/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.1002036.
- [21] CRAFT C S, BROEKELMANN T J, MECHAM R P. Microfibrillar-associated glycoproteins MAGP-1 and MAGP-2 in disease[J]. *Matrix Biol*, 2018, 71/72: 100-111. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.03.006.
- [22] ZHAO L Q, SUN W, ZHANG P, *et al.* MFAP2 aggravates tumor progression through activating FOXM1/ β -catenin-mediated glycolysis in ovarian cancer[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2022, 38(8): 772-780. DOI: 10.1002/kjm2.12546.
- [23] ZHANG H, SHEN S, FENG C, *et al.* MFAP2 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway through autophagy[J/OL]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2023, 55(9): 1445-1455[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10520470/>. DOI: 10.3724/abbs.2023079.
- [24] XUE M, MI S Y, ZHANG Z Z, *et al.* MFAP2, upregulated by m1A methylation, promotes colorectal cancer invasiveness via CLK3[J/OL]. *Cancer Med*, 2023, 12(7): 8403-8414[2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10134263/>. DOI: 10.1002/cam4.5561.
- [25] YAN B, SUN Q, ZHOU H, *et al.* Microfibrillar-associated protein 2 is activated by POU class 2 homeobox 1 and promotes tumor growth and metastasis in tongue squamous cell carcinoma[J]. *Hum Cell*, 2023, 36(2): 822-834. DOI: 10.1007/s13577-022-00840-z.
- [26] DE VISSER K E, JOYCE J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374-403. DOI: 10.1016/j.ccell.2023.02.016.
- [27] MAO X Q, XU J, WANG W, *et al.* Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives[J/OL]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 131 [2024-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8504100/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01428-1.
- [28] FRIDMAN W H, ZITVOGEL L, SAUTÈS-FRIDMAN C, *et al.* The immune contexture in cancer prognosis and treatment[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(12): 717-734. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.101.
- [29] PARK J, HSUEH P C, LI Z Y, *et al.* Microenvironment-driven metabolic adaptations guiding CD8⁺ T cell anti-tumor immunity[J]. *Immunity*, 2023, 56(1): 32-42. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.12.008.
- [30] 杨珺涵, 徐刚林, 柳梦婷, 等. 整合多数据库分析 NFKBIA 在 SKCM 预后和免疫浸润中的价值[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(1): 55-61. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2023.01.008.
- [31] LIU Y, XUN Z Z, MA K, *et al.* Identification of a tumour immune barrier in the HCC microenvironment that determines the efficacy of immunotherapy[J]. *J Hepatol*, 2023, 78(4): 770-782. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.01.011.

[收稿日期] 2024-02-27

[修回日期] 2024-06-09

[本文编辑] 党瑞山