

TIPE3 在结直肠癌中的表达与肿瘤免疫浸润及患者预后的关系

张原¹,许越¹,朱勇²,张平平¹¹安徽医科大学基础医学院生理学教研室,合肥 230032;²安徽医科大学第一附属医院普外科,合肥 230022)

摘要 目的 探讨 TIPE3 在结直肠癌(CRC)中的表达及其与肿瘤免疫浸润和预后的关系。方法 通过实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)、蛋白质印迹法(Western blot)、免疫组化技术、生信分析和单细胞测序等方法对 110 例 CRC 患者癌组织及癌旁组织中 TIPE3 的表达进行检测,分析其与临床病理因素及预后的相关性,并研究 TIPE3 与免疫细胞浸润的关系。结果 转录水平和蛋白水平分析显示, TIPE 家族中 TIPE($P < 0.05$)和 TIPE3($P < 0.001$)在 CRC 癌组织中表达高于癌旁组织, TIPE3 表达上调尤为明显。免疫组化实验结果显示, TIPE3 在 CRC 癌组织中的表达明显高于癌旁组织($P < 0.001$)。Kaplan-Meier 生存分析显示, TIPE3 高表达患者生存率降低, 预后较差。免疫浸润分析显示, TIPE3 高表达患者 CD8⁺ T 细胞和 CD20⁺ B 细胞数量较少, 而 CD66b⁺ 中性粒细胞数量较多, 提示 TIPE3 与肿瘤预后差有相关性。CRC 癌组织的单细胞转录组测序结果与免疫组化结果相一致。结论 TIPE3 在 CRC 组织中的表达与肿瘤免疫浸润相关, 其高表达提示预后不良, 有望作为 CRC 治疗和预防的靶点。

关键词 TIPE3; 结直肠癌; 免疫浸润; 预后; 癌组织; 癌旁组织

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2166-10

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.024

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,具有较高的发病率和病死率^[1-2]。其发生和发展与多种因素密切相关,包括年龄、性别、生活方式、饮食习惯以及遗传因素等^[3-5]。目前,CRC的预防和治疗主要依靠结肠镜检和外科手术切除病变部位。然而,CRC的高复发率和转移率仍使其成为全球癌症相关死亡的主要原因之一。

TIPE3 是肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白 8 样蛋白家(TNFAIP8L/TIPE 家族)一员,在肿瘤发生和免疫调节中发挥重要作用^[6-8]。TIPE3 在多种肿瘤细胞系中高表达,研究发现其具有促进肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭和转移的作用^[8-9]。此外, TIPE3 在肿瘤免疫浸润中的作用也逐渐受到关注,其表达水平与肿瘤微环境中的免疫细胞浸润密切相关^[7]。然而, TIPE3 在 CRC 发生发展中的作用鲜有报道。该研究旨在通过临床手术标本,探究 TIPE3 表达与肿瘤

免疫浸润及 CRC 患者预后的关系,为 CRC 的早期诊断和治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例资料 收集安徽医科大学第一附属医院普外科 2015 年 1 月—2016 年 4 月 CRC 患者手术切除的病理标本 110 例,通常选取距癌组织边缘 2~3 cm 以上、经病理检查确认无癌细胞浸润的正常组织作为癌旁组织。所有病例临床病理及术后随访资料完整,并得到安徽医科大学第一附属医院伦理委员会的批准,所有 CRC 患者手术前均未进行任何放射治疗和抗肿瘤药物的治疗,所有患者的 TNM 分期都在国际抗癌联盟(international agency for research on cancer, UICC)2016 年颁布实施的第 8 版结直肠癌 TNM 分期指南下完成。所获取的临床病例信息(年龄、性别、肿瘤侵犯层次、淋巴结转移和 TNM 分期)均获得患者或家属知情。

1.1.2 主要试剂 DMEM、Opti-MEM 培养基购于美国 Invitrogen 公司;血清购自美国 Hyclone 公司;总 RNA 提取试剂盒购于德国 Qiagen 公司。

1.1.3 主要仪器 二氧化碳培养箱(型号:NU-5810E)、生物安全柜(型号:NU-425-400S)购于美国 NUAIRE 公司;荧光定量 PCR 仪(型号:Step One

2025-10-16 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81801317);安徽省自然科学基金(编号:1808085QH277);安徽省高校科学研究项目(编号:2022AH050752)

作者简介:张原,女,硕士研究生;

张平平,女,副教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: pingpingzhang@ahmu.edu.cn

Plus ABI)购于美国 Thermo Fisher 公司;倒置荧光显微镜(型号:DeltaVision)购于美国 GE 公司。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative enzyme chain reaction, qPCR)

本实验采用 qPCR 技术检测 RNA 含量。首先,将 qPCR 试剂盒取出冰上融化,用 TE buffer 将引物浓度配制至 10 $\mu\text{mol/L}$ 。本次实验引物包括 hTIPE、hTIPE1、hTIPE2、hTIPE3 和 β -actin,其序列见表 1。接着,按照试剂盒说明配制 20 μL 的 qPCR 反应体系:包含 1 μL cDNA、0.5 μL 正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、0.5 μL 反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、10 μL 2 \times SYBR Green qPCR MIX 和 8 μL RNase Free H_2O ,混匀并离心。将反应体系放入 qPCR 仪,设置扩增程序:94 $^\circ\text{C}$ 、30 s,94 $^\circ\text{C}$ 、5 s,60 $^\circ\text{C}$ 、15 s,72 $^\circ\text{C}$ 、10 s,共 45 个循环。扩增完成后,根据样本的 Ct 值,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 RNA 含量,并使用 GraphPad Prism 软件进行作图分析。将 qPCR 试剂盒取出于冰上融化。用 TE buffer 配制引物浓度至 10 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Genes	Primer sequence (5'-3')
<i>hTIPE</i>	F: TTCAGGCCTCCCTCTTAACAATC R: CGTTCGTGGCAGGGGTATT
<i>hTIPE 1</i>	F: CAGTGACCTGCTAGATGAG R: CAAGTGCTGAGTGAAGT
<i>hTIPE2</i>	F: ACTGAGTAAGATGGCGGGTCC R: TTCTGGCGAAAGCGGGTAG
<i>hTIPE 3</i>	F: ACCCAAGCACACTGTTTCC R: CTTGGGTCCTGCATATCCG
β -actin	F: ATTGCCAATGAGCGGTTCCG R: AGGGCAGTGATCTCCTTCTG

1.2.2 蛋白质印迹 采用蛋白质印迹法检测 TIPE 家族蛋白在 CRC 组织中蛋白表达水平。首先,取 50 mg 组织样品,加入 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂,研磨后离心取上清液,用于后续实验。通过 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,配制蛋白标准曲线溶液和待测蛋白样品溶液。煮样后分装保存。配制 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。随后,将蛋白从凝胶转移到 PVDF 膜上,用 5% 脱脂牛奶封闭膜,孵育一抗(兔抗-TIPE 抗体等,1:500)和二抗(HRP 山羊抗兔 IgG,1:20 000),最后用 ECL 试剂显影,通过灰度扫描分析目的蛋白表达水平。

1.2.3 免疫组织化学 采用免疫组织化学方法对结肠癌组织进行染色分析。首先,将 110 例结肠癌

患者的手术标本固定于 4% 多聚甲醛溶液中,依次经过脱水、透明、浸蜡和包埋处理,制成组织蜡块。然后切片(5 μm 厚),黏附于载玻片上并烤片。染色过程中,切片先经过脱蜡、清洗,再进行抗原修复,使用柠檬酸盐修复液在微波炉中加热处理。随后,阻断内源性过氧化物酶,用 5% 山羊血清封闭,滴加一抗(兔抗-CD8(1:1 000)、CD20(1:1 000)、CD66b(1:1 000)、TIPE3(1:200))孵育过夜。次日,室温复温、清洗后,滴加二抗孵育 20 min, DAB 显色,苏木精复染,脱水透明后封片。最后,使用光学显微镜扫描切片并评分。TIPE3 评分结合阳性信号强度和染色面积占比,免疫细胞(CD8⁺ T 细胞、CD20⁺ B 细胞、CD66b⁺ 中性粒细胞)则根据阳性细胞计数评分。

1.2.4 免疫组织化学染色结果评分 免疫组化结果评分的方法按照先前文献介绍的进行^[10],首先在显微镜低倍镜($\times 100$)下观察整张切片的染色的结果,对染色的结果进行一个预估,然后选取 5 个典型视野,并在高倍镜($\times 200$)下经行拍摄,最后分别对 5 张图片经行评分,并取平均值作为最后的评分结果。

TIPE3 的评分模式分为两部分^[11]:一是阳性信号的强度:无阳性信号(0 分)、浅黄色阳性信号(1 分)、深黄色阳性信号(2 分)和褐色阳性信号(3 分);二是阳性染色的面积占比:<1% (0 分)、1% ~ 20% (1 分)、21% ~ 40% (2 分)、41% ~ 60% (3 分)、61% ~ 80% (4 分)和 $\geq 81\%$ (5 分)。最后将两部分评分的数值相加即为单个视野的评分。

免疫细胞(CD8⁺ T 细胞、CD20⁺ B 细胞和 CD66b⁺ 中性粒细胞)染色结果的评分模式^[12]:对染色的阳性细胞进行计数,苏木精染色的细胞核作为计数参照,计数结果即为单个视野评分结果。

1.2.5 TIPE3 在 CRC 组织中的表达水平与患者临床病理因素、生存率以及免疫细胞表达的关系 计算免疫组化染色的评分结果,利用 cutoff R 语言包的 survcutpoint 函数计算出最佳截断值,将 CRC 患者分为癌组织 TIPE3 高表达和低表达组以及在癌旁组织 TIPE3 高表达和低表达组,并做了对应的 Kaplan-Meier 生存曲线来研究 TIPE3 的表达与预后的关系。同时,利用 GEPIA 分析了癌症基因组图谱计划(the cancer genome atlas program, TCGA)公共数据库中 TIPE3 的表达与 CRC 患者预后的关系,并做了 Overall Survival 生存曲线来验证实验结果。

在这基础上,分析 CRC 患者 TIPE3 的表达与免

疫细胞浸润的关系,以及 TIPE3 的表达与临床病理因素(性别、年龄淋巴结转移肿瘤浸润深度和肿瘤 TNM 分期)的关系。

1.2.6 单细胞转录组测序 本研究采用单细胞转录组测序技术分析样本。单细胞测序分析由南京新格元生物科技有限公司完成。样本收集后,30 min 内用生理盐水和组织保存液各洗涤 3 次,随后浸入组织保存液并冰上保存。组织离解时,用汉克斯平衡盐溶液洗涤,加入组织解离液后在 PythoNTM 系统中 37 °C 解离 15 min,再用红细胞裂解液去除红细胞,离心后用 PBS 重悬,台盼蓝染色评估细胞活力。单细胞悬浮液经 Singleron MatrixR 系统加载至微流体装置,根据 GEXSCOPER 试剂盒构建 scRNA-seq 文库,稀释后在 Illumina HiSeq X 系统测序,生成 150 bp 片段池。数据分析中,对原始读数处理生成基因表达谱,注释基因,使用 Seurat 程序进行细胞类型鉴定和聚类分析,FindClusters 函数辅助聚类,clusterProfiler 软件用于 GO 功能富集分析,探索特异性表达基因相关的生物学功能或途径。

1.3 统计学处理 采用 IBM SPSS Statistics 19 和 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。利用 Image J 进行灰度分析。利用 cutoff R 语言包的 surv_cutpoint 函数计算出最佳截断值,将癌组织和癌旁组织

分别分为 TIPE3 高表达组和低表达组。生存分析采用 Kaplan-Meier 法。采用 Mann-Whitney U 检验分析临床病理特征与 TIPE3 表达的关系。采用 Wilcoxon Signed Rank Test 分析统计 TIPE3 免疫组化染色强度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TIPE 家族基因在 CRC 组织的 mRNA 转录水平 收集 14 例 CRC 患者的癌组织和癌旁组织,利用 TRIzol 裂解法分别提取样本的总 RNA,经过 RT-PCR 和 qPCR 检测样本中 TIPE、TIPE1、TIPE2 和 TIPE3 四种基因的 mRNA 反转录水平,结果显示,在这 14 例样本的癌组织和癌旁组织中 TIPE 家族基因在 mRNA 水平均有不同程度的表达,其中, TIPE 与 TIPE3 在癌组织中的转录上调 (TIPE: $P < 0.05$; TIPE3: $P < 0.001$)。见图 1。

2.2 TIPE 家族蛋白在 CRC 组织的蛋白表达水平 收集 4 例 CRC 患者的癌组织和癌旁组织,采用 RIPA 裂解法分别提取样本的总蛋白,通过 Western blot 检测了样本中 TIPE、TIPE2 和 TIPE3 的蛋白表达水平,发现在这 4 例样本的癌组织和癌旁组织中 TIPE 家族蛋白均有不同程度的表达,其中 TIPE3 在癌组织中的表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。见图 2。

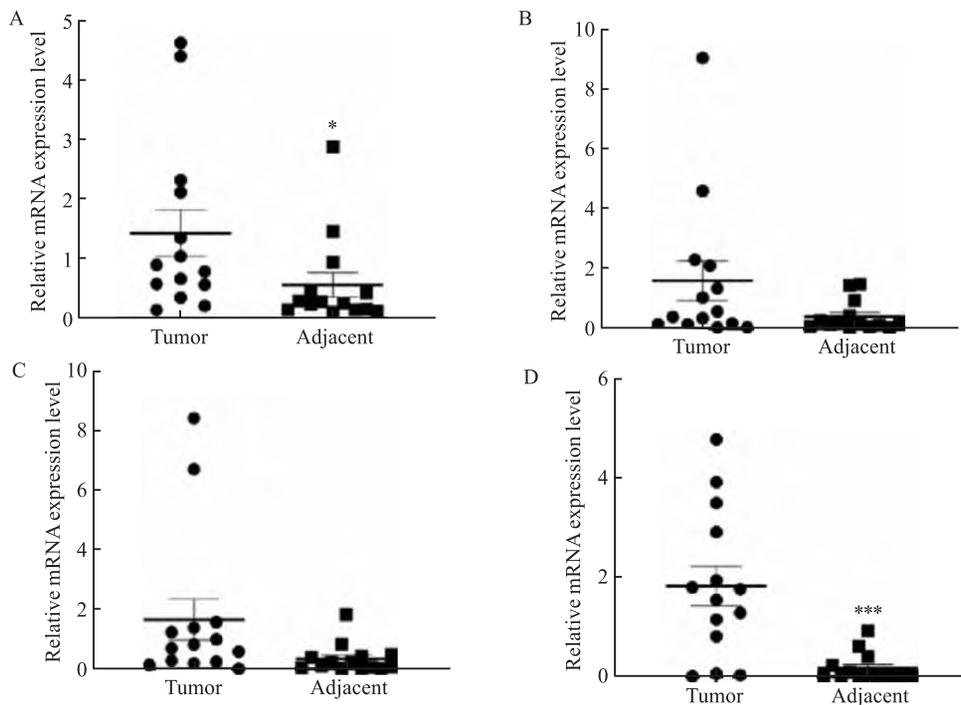


图 1 RT-qPCR 检测 14 例 CRC 癌组织和癌旁组织中 TIPE 家族基因的相对 mRNA 水平 ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

Fig. 1 Relative mRNA levels of TIPE family gene in 14 pairs of CRC tumor tissues and adjacent non-tumor tissues detected by RT-qPCR ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

A: TIPE; B: TIPE1; C: TIPE2; D: TIPE3; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs Tumor group.

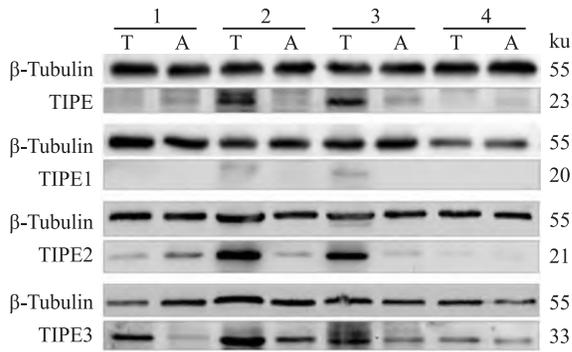


图2 Western blot 检测 4 例 TIPE 家族蛋白在 CRC 组织中的表达水平

Fig.2 Western blot analysis was performed to detect the expression levels of TIPE family proteins in 4 cases of CRC tissues

2.3 TIPE3 在 CRC 组中的表达 结果显示,癌组织中 TIPE3 呈现强阳性表达,表现为深棕褐色的弥漫性胞质着色,阳性细胞率极高 (>95%)。癌旁正常组织中 TIPE3 表达缺失或仅呈微弱表达,阳性细胞稀疏且染色浅淡(表 2、图 3)。这种在同一患者体内观察到的巨大表达差异,与 qPCR(mRNA 水平)和 Western blot(蛋白水平)结果高度一致,共同证实了 TIPE3 在结直肠癌发生发展中是一个显著上调的关键分子。TIPE3 在 CRC 癌组织中的表达明显高于癌旁组织,与 qPCR 和 Western blot 结果一致。

2.4 TIPE3 表达水平与 CRC 患者预后关系 根据 110 例 CRC 癌组织和癌旁组织中 TIPE3 免疫组

化染色的评分结果,利用 cutoff R 语言包的 surv_cutpoint 函数计算出最佳截断值,将染色结果按照癌组织和癌旁组织分别分为 TIPE3 高表达组和低表达组,其中 TIPE3 癌组织高表达组 74 例 (>5.2),低表达组 36 例 (<5.2);TIPE3 癌旁组织高表达组 46 例 (>1.6),低表达组 64 例 (<1.6)。并做了对应的 Kaplan-Meier 生存曲线,癌组织和癌旁组织的 Kaplan-Meier 生存曲线均显示:TIPE3 高表达的 CRC 患者生存率明显低于 TIPE3 低表达的 CRC 患者,提示 TIPE3 高表达与 CRC 患者预后不良有关(图 4)。

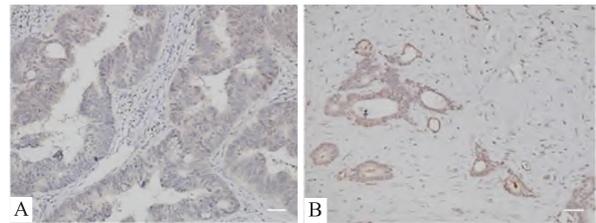


图3 TIPE3 在 CRC 组织中表达的代表图

Fig.3 A representative diagram of TIPE3 expression in CRC tissues

A: High expression in tumor tissue, showing on the left; B: Low expression in adjacent tissue, showing on the right; scale bar = 100 μm.

表 2 CRC 组织 TIPE3 免疫化染色强度统计表

Tab.2 TIPE3 immunohistochemical staining intensity score in CRC tissues

Groups	Cases	TIPE3 expression				P value
		-	+	++	+++	
Tumor tissue	110	0	16	36	58	<0.000 1
Adjacent tissue	110	25	52	33	0	

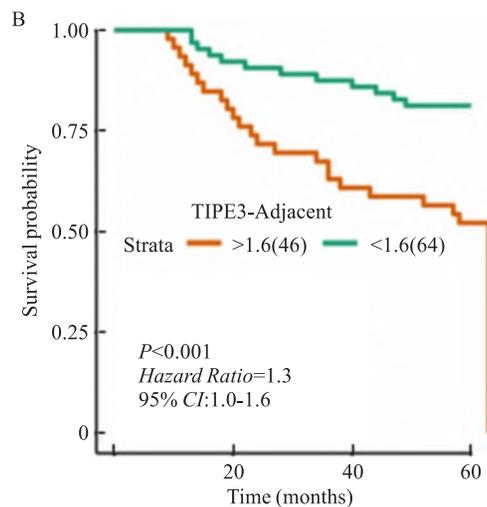
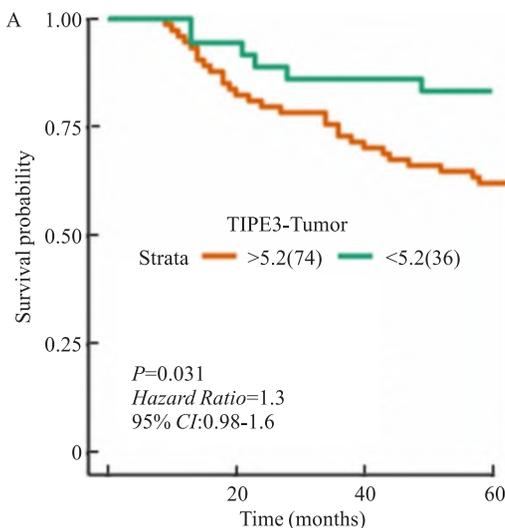


图4 CRC 患者癌组织(A)中和癌旁组织(B)中 TIPE3 表达与生存率曲线

Fig.4 Correlation curve between TIPE3 expression in cancer tissue (A) and cancer-adjacent tissue (B) and survival rate in patients with CRC

2.5 TIPE3 表达与临床病理特征的关系 CRC 患者癌组织 TIPE3 表达与临床病理特征的相关分析,包括性别、年龄、淋巴结转移、肿瘤浸润深度、TNM 分期及分化程度(表 3)。结果显示, TIPE3 的表达与上述各项临床病理参数均无统计学相关性。该结果可能源于样本收集时某些因素考虑不够全面。由于 CRC 涵盖范围较广,包括结肠与直肠不同区段(如直肠、乙状结肠、盲肠、升结肠、降结肠、横结肠及右半结肠等),而原发部位不同的肿瘤可能存在异质性,这可能导致抽样偏差。

表 3 CRC 组织 TIPE3 表达与临床病理特征的关系
Tab.3 The correlation between TIPE3 expression and clinicopathological characteristics

Variables	High TIPE3	Low TIPE3	P value
	expression (n = 74)	expression (n = 36)	
Gender			0.252
Male	45	25	
Female	29	11	
Age (years)			0.420
< 63	38	17	
≥ 63	36	19	
Lymph node metastasis			0.319
Negative	40	17	
Positive	34	19	
Invasion			0.431
I + II	10	6	
III + IV	64	30	
TNM			0.863
T1	10	6	
T2	30	13	
T3	34	17	
Differentiation			0.571
Low	16	5	
Moderate	55	30	
High	3	1	

2.6 TIPE3 表达与免疫细胞浸润的关系 对免疫组化染色的结果进行阳性细胞计数,并利用 cutoff R 语言包的 `surv_cutpoint` 函数计算出最佳截断值,分别将癌组织和癌旁组织分为高表达组和低表达组(表 4)。通过统计分析发现 CRC 患者癌组织 TIPE3 表达与免疫细胞数目有相关性(表 5),然后做了对应的 Kaplan-Meier 生存曲线,癌组织和癌旁组织的 Kaplan-Meier 生存曲线结果提示: CD8⁺ T 细胞和 CD20⁺ B 细胞数目较多时, CRC 患者生存率较高,预后较好; CD8⁺ T 细胞和 CD20⁺ B 细胞数目较少时, CRC 患者生存率较低,预后较差; CD66b⁺ 中性粒细胞数目较多时, CRC 患者生存率较低,预后较

差; CD66b⁺ 中性粒细胞数目较低时, CRC 患者生存率较高,预后较好。见图 5。

表 4 CRC 组织免疫细胞染色统计表
Tab.4 Immune cell staining statistics of CRC tissues

Groups	Cases	High	Low	P value
		expression	expression	
CD8 ⁺ T lymphocytes				<0.001
Tumor tissues	110	56	54	
Adjacent tissues	110	96	14	
CD20 ⁺ T lymphocytes				<0.001
Tumor tissues	110	89	21	
Adjacent tissues	110	36	74	
CD66b ⁺ neutrophil				0.020
Tumor tissues	110	29	81	
Adjacent tissues	110	51	59	

表 5 CRC 组织 TIPE3 表达与免疫细胞数目的关系

Tab.5 The correlation between TIPE3 expression and the number of immune cells in CRC tissues

Groups	Cases	High TIPE3	Low TIPE3	P value
		expression (n = 74)	expression (n = 36)	
CD8				0.098
High expression	56	34	22	
Low expression	54	40	14	
CD20				0.036
High expression	89	56	33	
Low expression	21	18	3	
CD66b				0.008
High expression	29	25	4	
Low expression	81	49	32	

2.7 TIPE3 相关关系热图总结 根据免疫组化的结果、患者血液化验的指标以及临床病理因素分别制作相关关系图(图 6A)和热图(图 6B)。由两张图得知: TIPE3 在 CRC 癌组织中的表达与 CD8⁺ T 细胞和 CD20⁺ B 细胞数目呈负相关,与 CD66b⁺ 中性粒细胞呈正相关。

2.8 单细胞转录组测序 选取了 4 例 CRC 患者的癌组织进行单细胞转录组测序(图 7 A),测序前先检测样本 TIPE3 mRNA 反转录水平,结果显示,4 例样本中 P04 号样本 TIPE3 表达量高于其他 3 组($P < 0.001$)(图 7B)。根据测序结果细分出一共获取了 25 782 个单细胞,通过聚类一共得到了 6 大类细胞: T 细胞、B 细胞、浆细胞、髓系细胞、基质细胞和上皮细胞其中,髓系细胞又包括巨噬细胞、树突细胞和肥大细胞(图 7C ~ E 及表 6)。

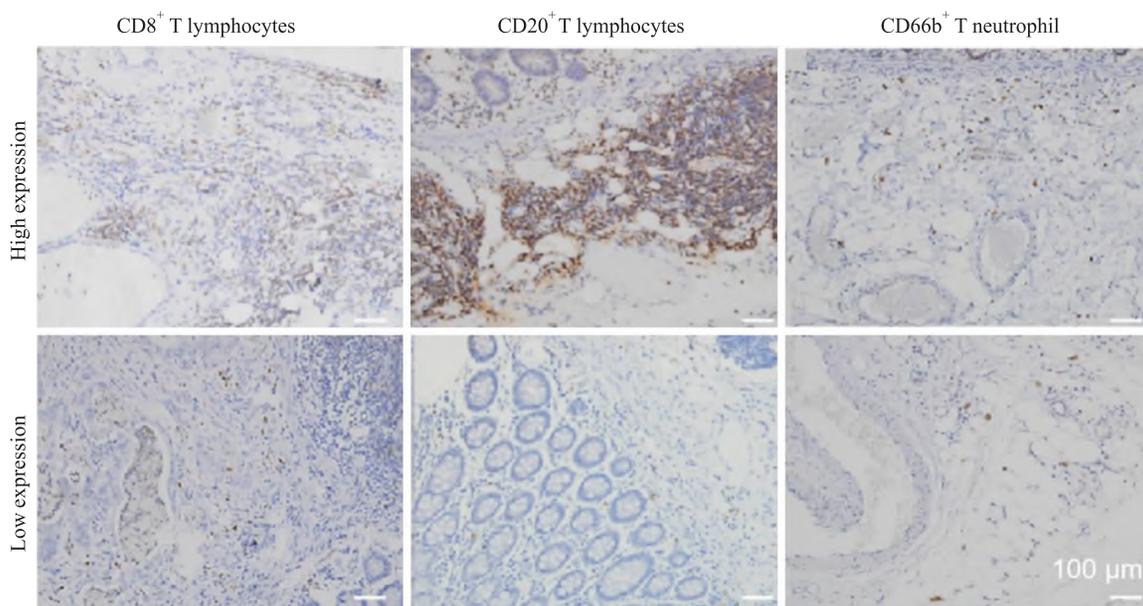


图5 T细胞在癌组织和癌旁组织中的免疫组化表达代表图

Fig.5 Representative diagrams of T cell expression in cancer tissues and adjacent tissues

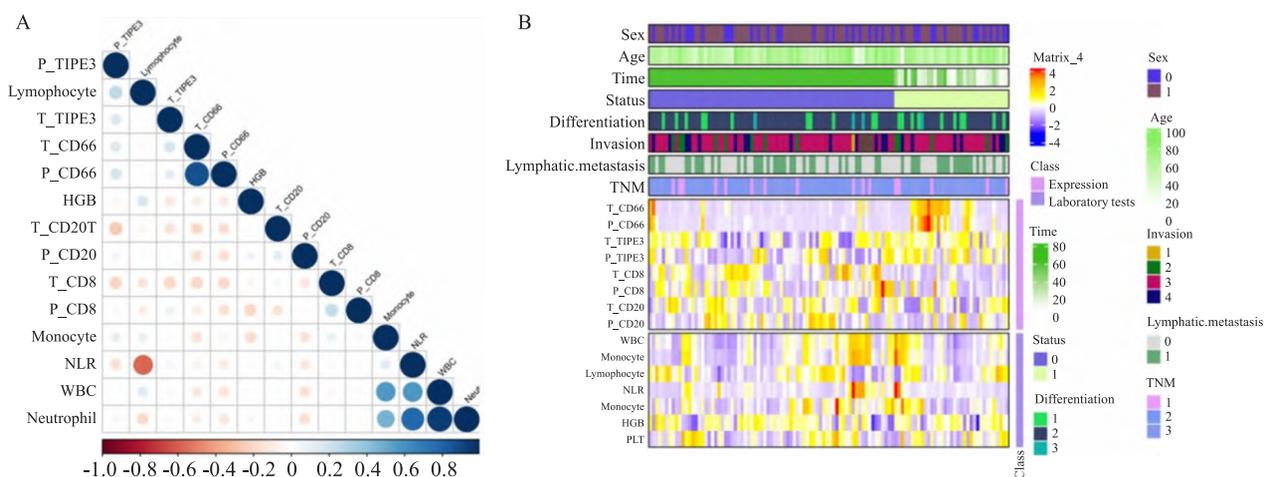


图6 TIPE3表达与各项指标的相关关系分析

Fig.6 The correlation of TIPE3 expression with various indicators

A: In the figure, cool colors are positively correlated, and warm colors are negatively correlated (HGB, hemoglobin; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio; WBC, leukocyte; T, tumor tissue; P, Peritumoral tissue); B: The heatmap between TIPE3 expression and various indicators.

表6 单细胞转录组测序鉴定出的主要细胞类型及细胞数量
Tab.6 Major cell types identified by single-cell RNA sequencing and the corresponding cell numbers

Cells	P01	P02	P03	P04
Myeloid	733	1 842	557	1 140
Plasma	1 929	253	1 155	56
Epithelial	2 470	2 265	3 657	5 532
Fibroblasts	373	518	434	33
ECs	334	483	76	191
T cells	75	563	405	128
Pericytes	108	134	56	50
B cells	33	2	190	7

对 T 细胞进行细胞比例差异分析发现,在 TIPE3 低表达的 P02 样本中,早期 T 细胞前体(Pro-T)的比例较高。而在 TIPE3 高表达的 P04 样本中,CD4⁺调节性 T 细胞(Treg)则显著富集。这一免疫细胞浸润特征分析结果表明, TIPE3 高表达可能通过促进 Treg 增殖介导肿瘤免疫逃逸,从而与疾病进展和不良预后相关。此发现与免疫组化及生物信息学分析结果一致,共同证实了肿瘤组织内 TIPE3 表达上调与患者生存率降低相关(图 8 和表 7)。

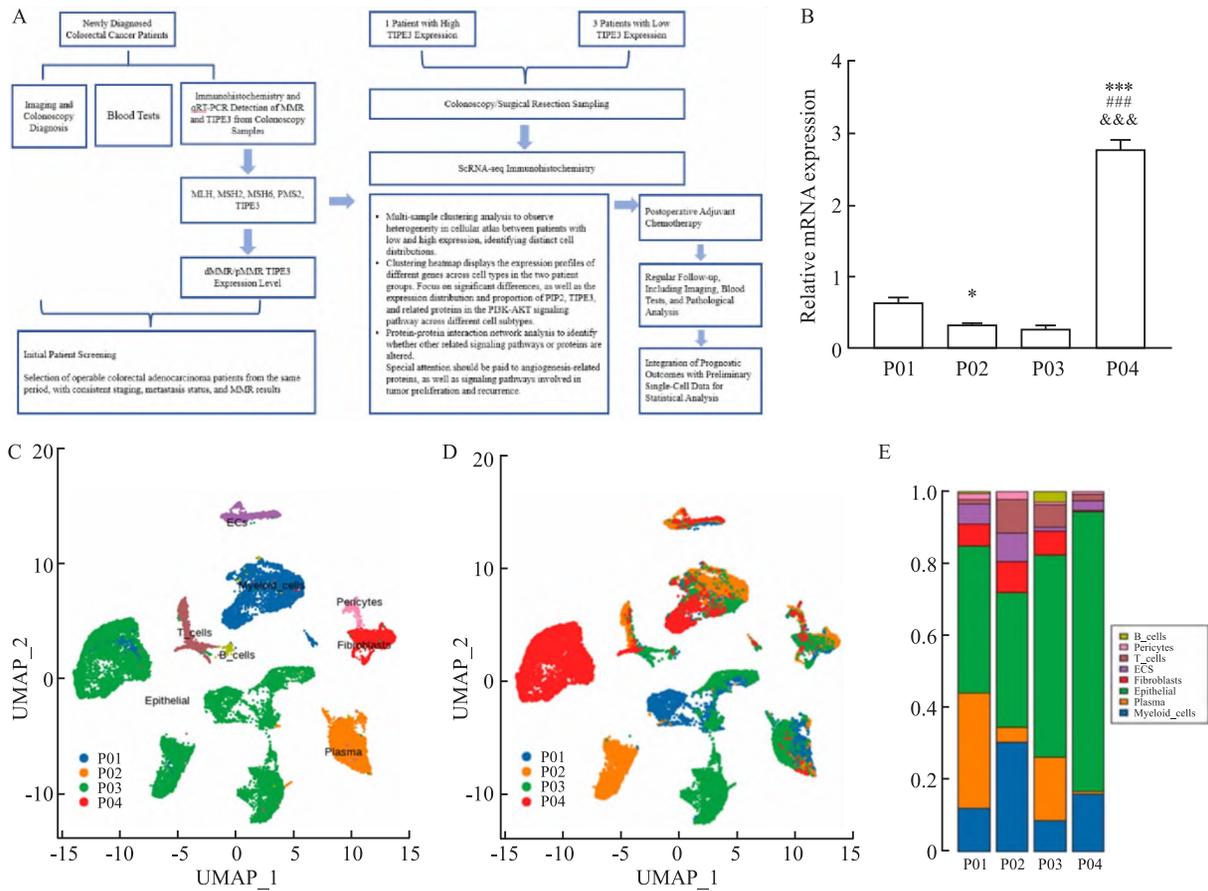


图7 CRC 样本单细胞测序细胞大类分析

Fig.7 Analysis of cell categories in single-cell sequencing of CRC samples

A: Flowchart of single-cell sequencing; B: Detection of reverse transcription levels of TIPE3 mRNA in 4 samples; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs P01 group; ### $P < 0.001$ vs P02 group; &&& $P < 0.001$ vs P03 group; C: Color clustering UMAP map drawn by cell type; D: Color clustering UMAP map drawn by sample type; E: Bar chart of cell composition in a single sample.

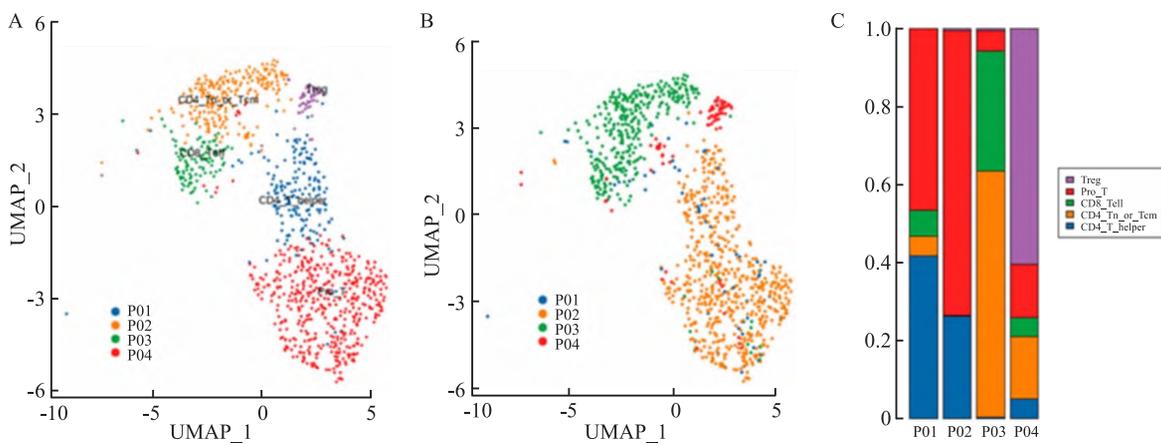


图8 TIPE3 表达水平对 T 细胞亚群分布的影响

Fig.8 The impact of TIPE3 expression level on T cell subset distribution

A: Color clustering UMAP map drawn by cell type; B: Color clustering UMAP map drawn by sample type; C: Bar chart of cell composition in a single sample.

表7 T细胞分类细胞统计数量
Tab.7 T cell classification and cell count number

Cells	P01	P02	P03	P04
CD4_T_helper	25	146	1	4
CD4_Tn_or_Tem	3	1	214	13
CD8_Teff	4	0	104	4
Pro_T	28	405	18	11
Treg	0	3	2	49

3 讨论

目前,CRC在全球癌症患者中的发病率排第3位,病死率也到了第2位,每年都有上百万的新增病例和死亡病例,并且还在逐年上升,严重损害人类的健康、威胁人类的生命^[1-2,13]。在我国,CRC的发病率和病死率分别在15%和10%左右,而且发病年龄段开始逐步年轻化^[14],并且随着人口老龄化的影响,发病率和病死率也在明显提高^[2]。CRC最有效的预防和早期治疗手段就是结直肠镜检,通过镜检可以发现癌前病变和早期癌症,可以明显提高生存率改善预后。研究发现,通过早期筛查和诊断治疗,直肠癌患者有较好的预后,五年生存率在90%左右,转移率仅为14%^[15]。随着早期筛查的普及,手术技术的改以及靶向治疗的发展,最近几十年CRC患者的生存率明显提高。

肿瘤浸润性T细胞与改善CRC患者的临床结果和生存率有关^[16],虽然机制尚不明确,但适应性免疫系统被认为在抑制这种疾病的进展中起着重要作用。同时,也有研究者提出,肿瘤边缘的T细胞密度与中心核心的比率比常规TNM分期有更强的预后意义^[16]。

TIPE3是TIPE家族里研究最少的一个成员,被认为在肿瘤的发生和发展过程中起着重要的作用,虽然目前没有完全研究清楚它的作用机制。TIPE3是一种脂质第二信使转运蛋白,其家族独有的空间结构,使具有结合亲脂性分子PIP2和PIP3的能力,TIPE3通过转运这两种脂质第二信使,使这两种第二信使在细胞内的分布发生变化,进而对细胞内外的刺激做出应答,以此来使PI3K/AKT和MEK-ERK信号通路激活,进一步对肿瘤的生长、增殖和扩散发挥作用。

本研究显示,TIPE3在CRC癌组织中的表达明显高于癌旁组织,这可能与TIPE3可以促进肿瘤的发生和发展相关。其可能的原因是,在癌变部位, *TIPE3* 受肿瘤环境刺激,使得TIPE3有一个较高的表

达,进而使PIP2和PIP3这两种脂质第二信使转运速率加快,从而从而使PI3K/AKT和MEK-ERK信号通路的激活加强,进一步促进肿瘤细胞的生长、增殖和迁移,扩大肿瘤的恶性程度,使患者预后较差。结合CRC患者预后信息提示:TIPE3的高表达预示着一个较差的预后,患者的生存率明显低于TIPE3低表达的患者。本研究还显示,TIPE3在CRC中的表达与肿瘤免疫浸润相关:TIPE3的表达与CD8⁺T细胞和CD20⁺B细胞的数目呈负相关趋势,与CD66b⁺中性粒细胞数目呈正相关趋势。

本研究对4例CRC患者的癌组织进行了单细胞转录组测序,一共获取了25782个单细胞,通过聚类一共得到了6种细胞类型:T细胞、B细胞、浆细胞、髓系细胞、基质细胞和上皮细胞。并根据检测到的T细胞受体mRNA,对T细胞进行功能上的细分,得到了5种不同功能的T细胞亚型:CD8⁺T细胞、Treg、CD4⁺辅助性T细胞、CD4⁺初始/中央记忆T细胞和增殖性T细胞。经过统计分析提示,TIPE3低表达的P02样本中早期T细胞前体(Pro-T)明显增多,这将有利于免疫系统中T细胞重建,改善抗肿瘤效果。而在TIPE3高表达的P04样本中,CD4⁺调节性T细胞(Treg)明显增多,可能与肿瘤细胞免疫逃逸、进展和不良预后有关,与我们的免疫组化结果一致。

肿瘤浸润的免疫细胞是肿瘤组织的重要组成部分,往往在肿瘤的发生和发展中起着重要作用。T细胞是这类型免疫细胞中的关键成员之一,T细胞亚型之一的CD8⁺T细胞是肿瘤的监督者,在肿瘤的发展过程中,对肿瘤抗原进行免疫监视。CD8⁺T细胞通过T细胞抗原受体被激活,随后快速增殖并分化成细胞毒性T淋巴细胞,最后通过细胞免疫的方式消除癌细胞,研究表明,肿瘤中大量浸润CD8⁺T细胞与改善患者预后密切相关。

Tregs也是T细胞的一个亚型,在抑制炎症反应中起重要作用。肿瘤浸润性Tregs与大多数癌症的不良结局有关,但在某些癌症中(包括CRC、头颈部癌症和食道癌),通常表现出良好的预后,与较长的总生存期有关,但具体原因仍待继续研究。所以CRC肿瘤组织中浸润的CD8⁺T细胞、Treg细胞的数目通常可以作为判断患者预后好坏的一个指标,这两种免疫细胞的数目越多,预示着患者的预后越好,反之,数目越少,预示着患者预后越差。

综上所述,TIPE3在CRC癌组织中表达上调,并且与肿瘤免疫浸润相关:TIPE3表达高,CD8⁺T细

胞数目较少,预后差;TIPE3 表达低,CD8⁺T 细胞数目较多,预后好。TIPE3 对患者的预后有着明显的提示作用,有望作为 CRC 治疗与预防的靶点。

参考文献

- [1] Zhan Z, Chen B, Lin W, et al. Rising burden of colon and rectum cancer in China: an analysis of trends, gender disparities, and projections to 2030 [J]. *Ann Surg Oncol*, 2025, 32(5): 3361–71. doi:10.1245/s10434-025-16905-w.
- [2] Zhou J, Yang Q, Zhao S, et al. Evolving landscape of colorectal cancer: global and regional burden, risk factor dynamics, and future scenarios (the Global Burden of Disease 1990–2050) [J]. *Ageing Res Rev*, 2025, 104: 102666. doi:10.1016/j.arr.2025.102666.
- [3] Liu Y, Yan J, Sun H, et al. Not all colon cancer patients with preoperative hyperinflammatory status are at high risk of muscle loss and poor prognosis [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2025, 40(1): 100. doi:10.1007/s00384-025-04895-w.
- [4] Roshandel G, Ghasemi-Kebria F, Malekzadeh R. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and prevention [J]. *Cancers*, 2024, 16(8): 1530. doi:10.3390/cancers16081530.
- [5] Zhao J, Ji H, Li K, et al. Decoding the genetic and environmental forces in propelling the surge of early-onset colorectal cancer [J]. *Chin Med J*, 2025, 138(10): 1163–74. doi:10.1097/CM9.0000000000003601.
- [6] Guo F, Yuan Y. Tumor necrosis factor alpha-induced proteins in malignant tumors: progress and prospects [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 3303–18. doi:10.2147/OTT.S241344.
- [7] Zhang X, Zhang X, Liu T, et al. Comprehensive analysis of the prognostic and immunological signature of TNFAIP8 family genes in human glioma [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 17875. doi:10.1038/s41598-024-68784-y.
- [8] Lou Y, Tian X, Sun C, et al. TNFAIP8 protein functions as a tumor suppressor in inflammation-associated colorectal tumorigenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 311. doi:10.1038/s41419-022-04769-x.
- [9] Bordoloi D, Harsha C, Padmavathi G, et al. Loss of TIPE3 reduced the proliferation, survival and migration of lung cancer cells through inactivation of Akt/mTOR, NF-κB, and STAT-3 signaling cascades [J]. *Life Sci*, 2022, 293: 120332. doi:10.1016/j.lfs.2022.120332.
- [10] Jiang Y, Zhang Q, Hu Y, et al. ImmunoScore signature: a prognostic and predictive tool in gastric cancer [J]. *Ann Surg*, 2018, 267(3): 504–13. doi:10.1097/SLA.0000000000002116.
- [11] Lian K, Ma C, Hao C, et al. TIPE3 protein promotes breast cancer metastasis through activating AKT and NF-κB signaling pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 48889–904. doi:10.18632/oncotarget.16522.
- [12] Li T J, Jiang Y M, Hu Y F, et al. Interleukin-17-producing neutrophils link inflammatory stimuli to disease progression by promoting angiogenesis in gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(6): 1575–85. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0617.
- [13] 杨书瀚, 裴筱涵, 祁义军. LAMP5 在结直肠癌发生发展和预后中的作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(8): 1338–44. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.031.
- [13] Yang S H, Pei X H, Qi Y J. Expression of LAMP5 in colorectal cancer and its significance in occurrence, development and prognosis [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(8): 1338–44. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.031.
- [14] Shen Y, Cai H, Zhou D, et al. Differences in the epidemiology and survival of patients with colorectal cancer between China and the United States: a large cross-sectional study [J]. *Updates Surg*, 2025, 77(1): 119–32. doi:10.1007/s13304-024-02024-w.
- [15] Siegel R L, Wagle N S, Cercek A, et al. Colorectal cancer statistics, 2023 [J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2023, 73(3): 233–54. doi:10.3322/caac.21772.
- [16] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [J]. *Science*, 2006, 313(5795): 1960–4. doi:10.1126/science.1129139.

The correlation of TIPE3 expression in colorectal cancer with tumor immune infiltration and the prognosis of patients

Zhang Yuan¹, Xu Yue¹, Zhu Yong², Zhang Pingping¹

¹Dept of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the expression of TIPE3 in colorectal cancer (CRC) and its correlation with tumor immune infiltration and prognosis. **Methods** The expression of TIPE3 in tumor and adjacent normal tissues from 110 CRC patients was detected using real-time fluorescence quantitative enzyme chain reaction (qPCR), Western blot, immunohistochemistry (IHC), bioinformatics analysis, and single-cell RNA sequencing (下转第 2181 页)

Research progress on the role and mechanism of C/EBP β in female reproduction

Liu Shuzhen¹, Peng Jiahua^{1,2}, Xiao Min¹, Liang Ruining^{1,2,3}

(¹School of Clinical Medicine of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004;

²Institute of Obstetrics and Gynecology of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330008;

³Dept of Gynecology, Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006)

Abstract CCAAT/enhancer binding protein β (C/EBP β) is a transcription factor that plays a vital role in diverse biological processes, including cell proliferation, cell apoptosis, inflammation, and immune regulation. It is expressed in female reproductive organs such as the ovary and uterus, and it serves as a critical regulator of both physiological functions and pathological conditions. This review comprehensively summarizes the significant contributions of C/EBP β to physiological processes such as follicular development and decidualization, as well as its involvements and mechanisms in reproductive disorders including polycystic ovary syndrome, endometriosis, and ovarian tumors, aiming to provide a potential research target in the field of reproduction.

Key words CCAAT/enhancer binding protein β ; reproduction; follicular development; decidualization; polycystic ovary syndrome

Fund programs National Natural Science Foundation of China (Nos. 81560783, 82060880, 81860865); Key Research and Development Program of Jiangxi Province (No. 20223BBG71012); the First Batch of Scientific and Technological Innovation Team Project of Jiangxi University of Chinese Medicine (No. CXTD22013); Science and Technology Research Project of Jiangxi Provincial Department of Education (No. GJJ2200915); Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20202BAB206073); Special Fund for Science and Technology of Jiangxi Province (No. 20232BAB216115)

Corresponding author Liang Ruining, E-mail: jack169@sina.com

(上接第 2174 页)

(scRNAseq). The association between TIPE3 expression and clinicopathological factors, prognosis, and immune cell infiltration was analyzed. **Results** Transcriptomic and proteomic analyses revealed that among the TIPE family, TIPE ($P < 0.05$) and TIPE3 ($P < 0.001$) were significantly upregulated in CRC tissues compared to adjacent normal tissues, with TIPE3 showing the most pronounced increase. IHC further confirmed that TIPE3 expression was significantly higher in CRC tissues ($P < 0.001$). Kaplan-Meier survival analysis indicated that high TIPE3 expression was associated with reduced survival and poorer prognosis. Immune infiltration analysis demonstrated that patients with high TIPE3 expression exhibited fewer CD8⁺ T cells and CD20⁺ B cells but more CD66b⁺ neutrophils, suggesting a correlation between TIPE3 and unfavorable tumor prognosis. Additionally, scRNA-seq of CRC tissues yielded results consistent with the IHC findings. **Conclusion** TIPE3 expression in CRC is associated with tumor immune infiltration, and its upregulation predicts poor prognosis, indicating its potential as a therapeutic and preventive target in CRC.

Key words TIPE3; colorectal cancer; immune infiltration; prognosis; tumor tissue; tumor normal tissue

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81801317); Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 1808085QH277); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2022AH050752)

Corresponding author Zhang Pingping, E-mail: pingpingzhang@ahmu.edu.cn