

文章编号 1006-8147(2022)06-0585-06

论著

基于生物信息学方法筛选精原细胞瘤进展中的脂代谢关键基因

闫墨,刘帅兵,王楷斌,陈铭哲,杨阔

(天津医科大学第二医院泌尿外科,天津市泌尿外科研究所,天津 300211)

摘要 目的:通过生物信息学方法筛选精原细胞瘤进展中的与脂代谢相关的关键基因,分析脂肪酸结合蛋白1(FABP1)在其中可能发挥的作用机制。方法:于TCGA下载精原细胞瘤测序及临床数据,同GSEA网站下载脂代谢相关基因集共同分析,筛选出Ⅱ期、Ⅲ期和Ⅰ期之间的与脂代谢相关的差异基因(MRGs)及关键基因FABP1,利用免疫组化对其表达进行验证,分析其与MRGs表达的相关性、甲基化水平、免疫浸润程度及对预后的影响。结果:Ⅱ期、Ⅲ期精原细胞瘤存在61个上调、4个下调的MRGs。FABP1与差异显著的MRGs有较强的相关性($P<0.01$),GK2、AWAT2、DGAT2L6、ELOVL3在多个甲基化探针均表现明显的甲基化($r=-0.744\sim-0.489$,均 $P<0.001$)。FABP1与自然杀伤细胞(NK细胞)、中央记忆型T细胞(Tcm细胞)、辅助性T细胞(Th细胞)均存在显著的相关关系(均 $P<0.01$);不同FABP1表达的样本中具有明显的免疫浸润($P<0.001$)及基质成分($P<0.01$)差异。高表达FABP1则能显著降低患者无进展生存期。结论:FABP1作为脂代谢关键基因,可能与其他MRGs通过共表达,改变自身甲基化及组织免疫浸润水平,共同促进精原细胞瘤的进展。

关键词 精原细胞瘤;TCGA;脂代谢;FABP1;免疫浸润

中图分类号 R737.21

文献标志码 A

Identification of key lipid metabolism genes in the progress of seminoma by integrated bioinformatics analysis

YAN Mo, LIU Shuai-bing, WANG Kai-bin, CHEN Ming-zhe, YANG Kuo

(Department of Urology, Tianjin Institute of Urology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: Using bioinformatics method to screen the key lipid metabolism genes in the progress of seminoma and analyze the potential mechanism of fatty acid binding protein 1 (FABP1). **Methods:** The sequencing and clinical data of seminoma were downloaded from TCGA, and the gene set related to lipid metabolism downloaded from GSEA was used for analysis. The differential genes related to lipid metabolism (MRGs) and the key gene FABP1 between stage II/III and stage I were screened out, and the expression of FABP1 was verified by immunohistochemistry. Then, the correlation between FABP1 and MRGs co-expression, methylation level, immune infiltration degree and its influence on prognosis were analyzed. **Results:** A total of 61 differentially expressed genes related to lipometabolism were up-regulated and 4 down-regulated in stage II/III seminomas. FABP1 was strongly correlated ($P<0.01$) with some MRGs, among which, down-regulated genes GK2, AWAT2, DGAT2L6, and ELOVL3 showed significant ($r=-0.744\sim-0.489$, all $P<0.001$) methylation in multiple methylation probes. In seminoma samples, the FABP1 was correlated with natural killer cells (NK cells), central memory T cells (Tcm cells), and helper T cells (Th cells) (all $P<0.01$), and different FABP1 expression samples showed significant differences in immune infiltration ($P<0.001$) and matrix composition ($P<0.01$). Meanwhile, high expression of FABP1 significantly reduced progression-free survival of patients. **Conclusion:** As a key gene for lipid metabolism, FABP1 may co-express with other MRGs, change auto methylation and tissue immune infiltration level, and jointly promote the progress of seminoma.

Key words seminomas; TCGA; lipometabolism; Fatty Acid Binding Protein 1; immune infiltration

睾丸生殖细胞瘤虽然只占男性肿瘤总数的1%~2%,但是却在15~35岁男性中有着较高的发病率,是该年龄段男性最常见的恶性实体肿瘤^[1]。睾丸生殖细胞瘤可分为精原细胞瘤和非精原细胞瘤。精原细胞瘤和非精原细胞瘤分别占总病例数的

60%和40%。Ⅰ期精原细胞瘤患者的5年特异性生存率可高达99.6%,且放化疗对其有极佳的治疗效果,但是Ⅱ期、Ⅲ期患者的总生存率则低至50%,同时伴随着相对较大比例的复发^[2-3]。

肿瘤细胞为了自身增殖和适应环境的需要,细胞内部的生物合成和代谢途径均会发生适应性的变化^[4]。脂代谢作为诸多代谢途径的一种,在肿瘤细胞膜生物合成、细胞信号转导、脂化反应以及细胞

基金项目 天津市科技计划项目(18ZXDBSY00020)

作者简介 闫墨(1997-),男,硕士在读,研究方向:泌尿系肿瘤;通信

作者:杨阔, E-mail: ykuoster@126.com。

代谢供能等方面发挥重要作用,通常在转变为恶性表型的肿瘤中,会发生较大的变化^[5]。脂肪酸结合蛋白 1(fatty acid binding protein, FABP1) 分子量为 14 kD, 是一种可溶性蛋白, 由 127 个氨基酸构成, 主要在脂肪酸的摄取、运输、代谢和细胞内转运等方面发挥功能, 同时在调节脂代谢以及细胞信号通路中也起到非常重要的作用。Wu 等^[6]发现 FABP1 在肾透明细胞癌中与转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 和脂蛋白脂肪酶(LPL)共表达, 且可以作为重要的肾透明细胞癌肿瘤标志物; Liu 等^[7]发现, FABP1 表达随胃癌的进展逐渐降低, 同时伴随着不良的预后, 而这种不良的预后可能与其调节胃癌发展过程中的免疫微环境的作用相关。

笔者通过分析精原细胞瘤相关表达谱数据, 发现 FABP1 在 II 期、III 期精原细胞瘤中有明显的表达升高, 这能显著影响患者的无进展生存。另外, FABP1 与脂代谢相关基因显著相关, 不同表达的样本中的免疫浸润也有明显差异, 这将有助于理解精原细胞瘤进展过程中 FABP1 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 数据资料下载与组织标本获取 从 TCGA(The Cancer Genome Atlas, <https://portal.gdc.cancer.gov/>) 和 GTEx(Genotype-Tissue Expression Program, <https://commonfund.nih.gov/gtex>) 下载精原细胞瘤($n=156$)及睾丸正常组织($n=165$)RNA-seq、临床生存及甲基化数据, 以上为剔除缺失 RNA 与临床数据后最终纳入分析的数量。从 GSEA(Gene Set Enrichment Analysis, <http://www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp>) 获取的代谢相关基因集分别为甘油酯代谢(GLYCEROLIPID_METABOLIC_PROCESS)、脂蛋白生物合成(LIPOPROTEIN_BIOSYNTHETIC_PROCESS)、脂蛋白代谢(LIPOPROTEIN_METABOLIC_PROCESS)、膜脂质代谢(MEMBRANE_LIPID_METABOLIC_PROCESS)、磷脂生物合成(PHOSPHOLIPID_BIOSYNTHETIC_PROCESS)以及磷脂代谢(PHOSPHOLIPID_METABOLIC_PROCESS), ISBN:0198506732。收集病理科石蜡包埋的不同级别精原细胞瘤组织, 每组 3 例。医院伦理委员会(NO. KY2014K112)批准这项研究并且所有患者均签署了知情同意书。

1.2 脂代谢相关差异基因筛选 DESeq2 包(v1.26.0)用来对 I 期($n=80$)以及 II、III 期($n=58$)精原细胞瘤样本 RNA-seq 数据进行差异分析, 筛选标准为 $|\log_2(FC)| \geq 1$ 且 $P_{adj} < 0.05$, 同时对差异分析得到的基因用 Ensembl101 (<http://ftp.ensembl.org/>)

pub/release-101/gtf/homo_sapiens/)进行分子类型的注释。将获取的差异表达基因(DEGs)与 GSEA 中 6 组代谢相关基因集中的基因取交集, 得到在精原细胞瘤进展过程中与脂代谢相关的差异表达基因(MRGs)。

1.3 免疫组织化学法检测 按照通用型二步法免疫组化试剂盒(PV-9000)说明书中操作对 FABP1(1:500, Anti-Rabbit, Proteintech Group)进行染色。由 3 名经验丰富的病理科医师分别在相同条件下各自阅片, 每张片子随机选取 5 个高倍镜视野观察, 目标细胞胞浆出现淡黄色至棕黄色为阳性染色。根据染色强度对切片进行评价: 阴性或未染色(无着色); 弱阳性(浅黄色); 中等阳性(黄色或者黄褐色); 强阳性(棕色)。

1.4 MRGs 的相关性、共表达、甲基化以及免疫浸润分析 将 1.2 分析得到的 MRGs 进行相关性分析, 共表达分析及甲基化分析。GSVA 包^[8](v1.34.0)和 estimate 包^[9](v1.0.13)用来分析精原细胞瘤 RNA-Seq 数据, 评估精原细胞瘤患者 TME 中基质细胞比例和免疫细胞的浸润情况。相关系数的绝对值范围 0~1, 绝对值小于 0.3 为弱相关或不相关; 绝对值介于 0.3~0.5 为一般相关程度; 绝对值介于 0.5~0.8 为中等程度相关; 绝对值大于 0.8 为强相关。

1.5 生存分析 Survival 包(v3.2-10)用来进行生存资料的统计分析, survminer 包(v0.4.9)用于生存数据的可视化。

1.6 统计学处理 R (v3.6.3)用于数据整理、统计分析可视化。由 Pearson 秩和检验进行相关性分析。生存数据的统计方法为 Cox 回归。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

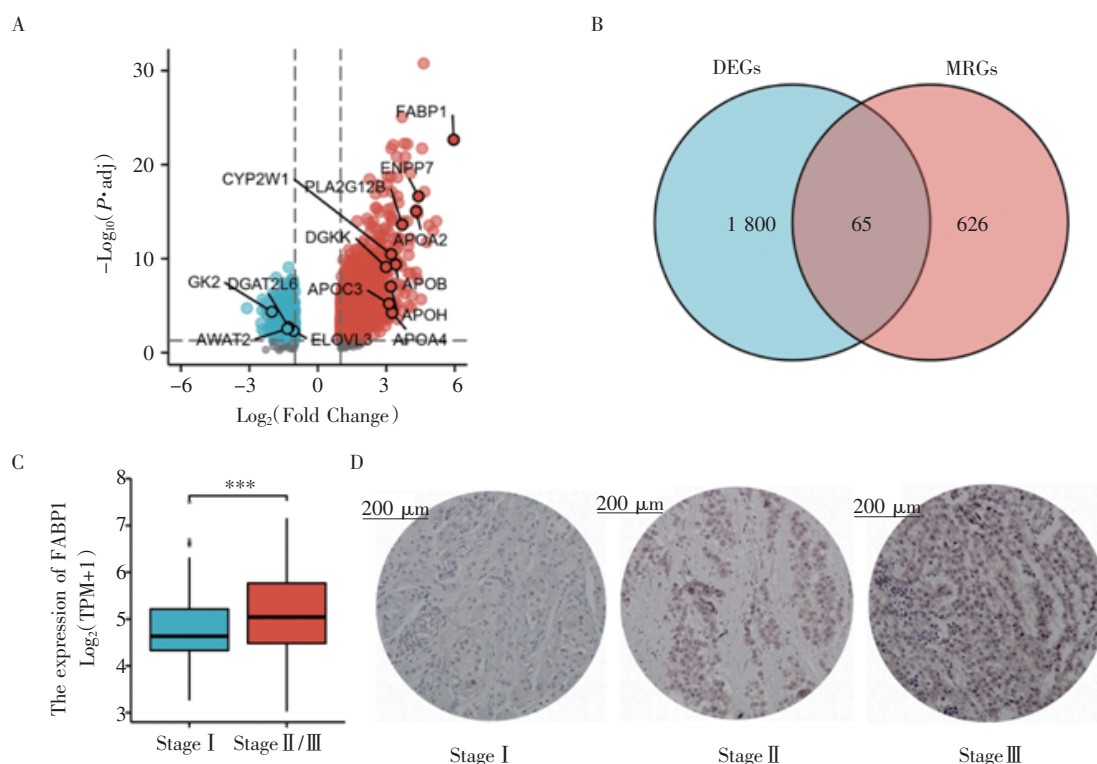
2.1 DEGs 与 MRGs 分析结果 对精原细胞瘤 RNA-seq 数据分析后, 共注释出 56 493 个基因, 其中编码 mRNA 19 577 个, lncRNA 14 077 个, miRNA 1 448 个。满足差异基因筛选条件的 mRNA 编码基因共有 1 865 个, 其中上调基因 1 462 个, 下调基因 403 个(图 1A)。去除 GSEA 下载的 6 组脂代谢相关基因集中的重复基因后获得 691 个脂代谢相关基因, 与 DEGs 取交集后共有 65 个 MRGs, 见图 1B。MRGs FABP1 的 $\log_2(FC)=5.96$, $P_{adj}=1.63E-27$, 差异倍数与 P 值极为显著; FABP1 在 II/III 期精原细胞瘤中有着明显的表达差异($P < 0.001$, 图 1C); 免疫组化结果显示 FABP1 在高级别精原细胞瘤中有着更高的表达水平(图 1D)。

2.2 FABP1 与 MRGs 的相关性、共表达及甲基化分析 从 MRGs 中筛选出差异显著上调基因碱性鞘磷脂酶(ENPP7)、载脂蛋白 A2(APOA2)、磷脂酶 A2 XII B(PLA2G12B)、载脂蛋白 B(APOB)、载脂蛋白 A4(APOA4)、细胞色素 P450 2W1(CYP2W1)、载脂蛋白 H(APOH)、载脂蛋白 C3(APOC3)、二酰基甘油激酶 κ (DGKK)和下调基因超长链脂肪酸延伸酶 3(ELOVL3)、二酰基甘油 O-酰基转移酶 2 样蛋白 6(DGAT2L6)、二酰基甘油 O-酰基转移酶 2 样蛋白 4(DGAT2L4、AWAT2)、甘油激酶 2(GK2),相关性分析结果显示 FABP1 与各基因均有显著的相关关系($P<0.01$,图 2A)。精原细胞瘤样本中 FABP1 与上调 MRGs 共表达分析结果按照相关性强弱进行排序,FABP1 与各基因均有显著的共表达关系($P<0.001$,图 2B);除 APOB 和 APOA4 和 FABP1 有强相关关系外,其余各指标均与 FABP1 有中等相关强度;热图显示在低表达 FABP1 的精原细胞瘤样本中,各指标的表达式低,高表达 FABP1 样本中各指标的表达式高,显示出表达的一致性。下调 MRGs 的 DNA 甲基化分析表明除了 GK2,ELOVL3、DGAT2L6、AWAT2 在不同的甲基化探针中均存在较高度度的

DNA 甲基化($P<0.001$,图 3)。

2.3 FABP1 的免疫浸润分析 24 种免疫细胞的免疫浸润分析结果表明,FABP1 的表达与自然杀伤(NK)细胞、NK CD56 bright 细胞、肥大细胞、 $\gamma\delta$ (gamma-delta,Tgd)T 细胞、未成熟树突状(iDC)细胞、巨噬细胞和树突状(DC)细胞存在显著正相关($P<0.01$,图 2C),其中与 NK 细胞,NK CD56 bright 细胞存在中等强度以上相关;FABP1 和 NK CD56dim bright 细胞、活化树突状(aDC)细胞、辅助性 T 细胞 17(Th17)、调节性 T 细胞(Treg)、细胞毒性细胞、B 细胞、T 细胞、中央记忆型 T 细胞和辅助性 T 细胞存在显著负相关($P<0.01$,图 2C),其中与中央记忆型 T 细胞和辅助性 T 细胞的相关性强度较强。精原细胞瘤中与肿瘤微环境相关的基质细胞与免疫细胞浸润的结果显示高表达 FABP1 较低表达的肿瘤样本,基质得分高,而免疫浸润得分与估计得分低(图 2D)。

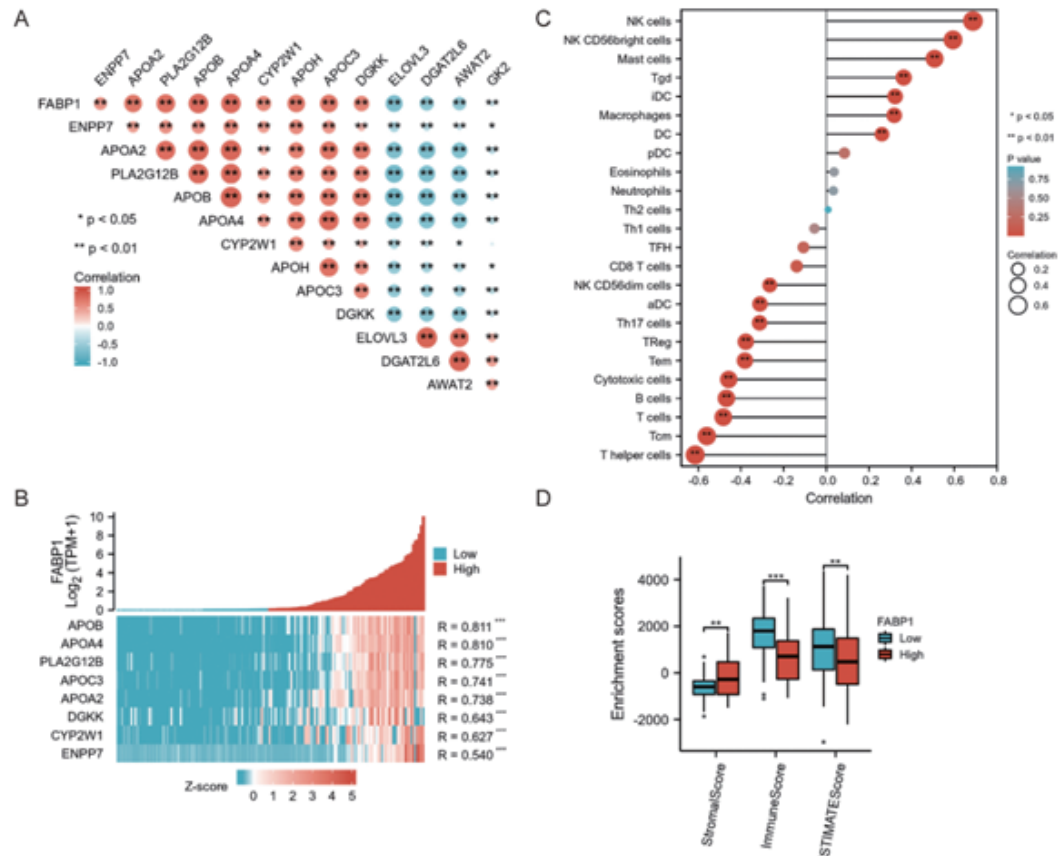
2.4 生存分析结果 高 FABP1 表达患者的无进展生存期较短。FABP1 共表达脂代谢基因 PLA2G12B、APOB、APOA2、APOC3、APOA4 和 CYP2W1 的生存结果与 FABP1 一致;而在精原细胞瘤中低表达的 MRGs 如 DGAT2L6 与 AWAT2 则显示相反的生存



注:A: II、III期与 I 期精原细胞瘤差异基因火山图(红色:上调基因;蓝色:下调基因;灰色:差异不显著基因);B:差异基因维恩图;DEGs:精原细胞瘤差异基因;MRGs:脂代谢相关基因;C:不同级别精原细胞瘤中 FABP1 的表达;D:免疫组化验证 FABP1 的表达;*** $P<0.001$

图1 DRGs 和 MRGs 的差异表达基因筛选

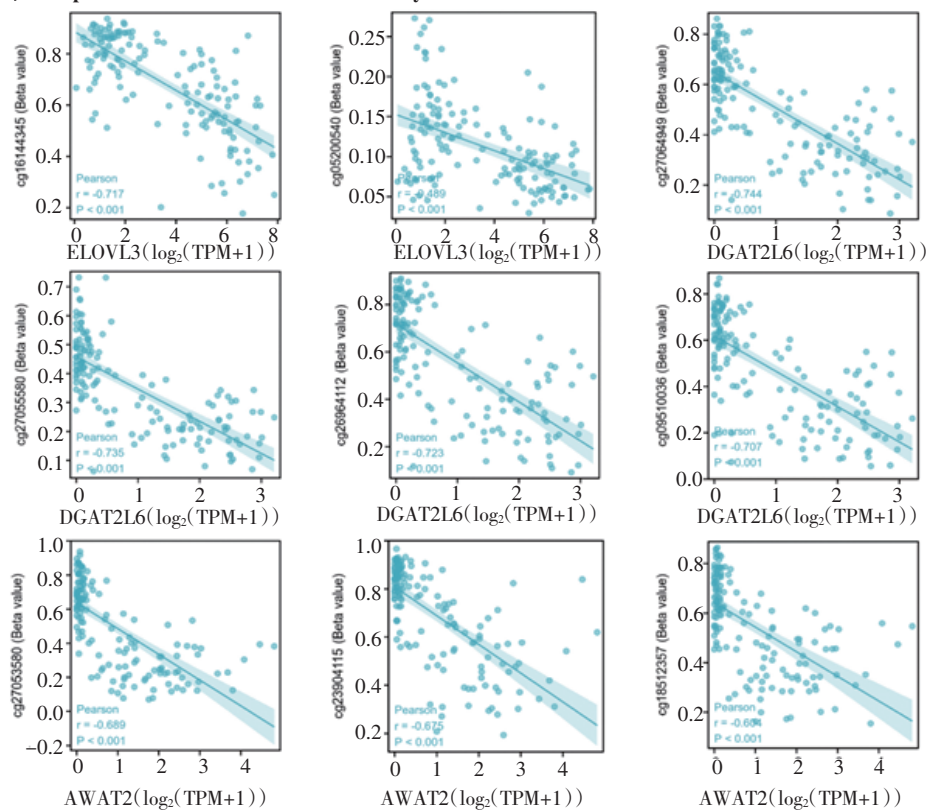
Fig 1 Differential expression genes screening in DRGs and MRGs



注:A:FABP1 与 MRGs 相关性热图;B:FABP1 在精原细胞瘤样本中与 MRGs 的共表达热图;C:FABP1 与 24 种免疫细胞的相关关系;D:不同 FABP1 表达量的样本中免疫浸润评分;* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;FABP1:脂肪酸结合蛋白 1;MRGs 脂代谢相关基因

图 2 FABP1 与 MRGs 的相关性、共表达以及免疫浸润分析

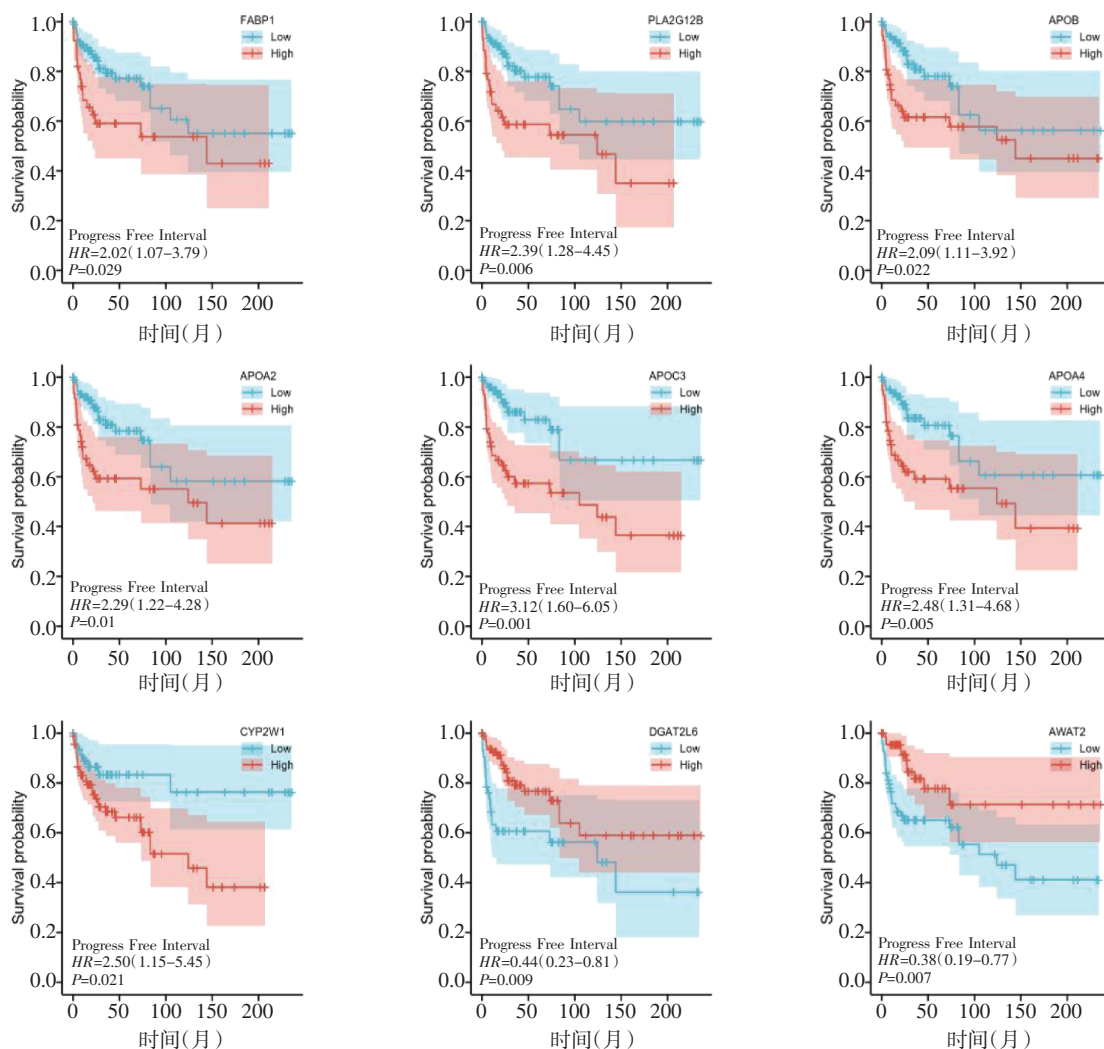
Fig 2 Correlation, co-expression and immune infiltration analysis between FABP1 and MRGs



注:MRGs:脂代谢相关基因

图 3 表达下调的 MRGs 在不同甲基化探针中的甲基化水平

Fig 3 Methylation levels of down-regulated MRGs in different methylation probes



注:FABP1:脂肪酸结合蛋白 1;MRGs:脂代谢相关基因

图4 FABP1与各指标高低表达组无进展生存期比较的生存曲线

Fig 4 Survival curve of comparison of progression-free survival time in FABP1 and other genes high-low expression group

结果($P < 0.01$, 图4)。

3 讨论

睾丸生殖细胞瘤作为15~35岁年轻男性中发病率较高的实体恶性肿瘤,因其发病的特殊性,往往对该年龄段男性的正常生活造成较大影响,除导致不育外,甚至会使患者产生不良预后而死亡,精原细胞瘤作为其中重要的类型更应给予足够的关注^[10]。因为I期精原细胞瘤患者具有极佳的生存率,所以为了在精原细胞瘤进展过程中鉴别其有无向高级别肿瘤进展的倾向,将TCGA数据库中II期、III期与I期精原细胞瘤作差异表达分析筛选出FABP1及相关脂代谢相关差异基因。同时分析了FABP1与MRGs的相关性与共表达关系,MRGs在不同甲基化探针中甲基化的情况,不同表达的FABP1与肿瘤中免疫细胞的免疫浸润关系以及表达FABP1与MRGs患者的生存差异。笔者认为,

FABP1可能通过调节肿瘤细胞与肿瘤微环境中免疫细胞的脂代谢途径,增强肿瘤细胞的增殖与转移能力,减弱免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,从而介导精原细胞瘤的进展。FABP1具有成为鉴别精原细胞瘤进展以及潜在治疗靶点的标志物的潜力。

细胞增殖是肿瘤的共性,而肿瘤的转移往往意味着预后不良,在此过程中,肿瘤细胞通常具有特征性的脂代谢变化,需要脂肪酸来合成细胞膜和细胞活动所需的信号分子^[11-12]。Nieman等^[13]发现,FABP4在卵巢癌网膜转移灶中较原发性卵巢癌中表达增多,作为肿瘤细胞中脂质运输的介质,在肿瘤生长和转移过程中起到关键作用。FABP1在II期、III期精原细胞瘤中差异表达升高极为明显,通过分析FABP1与其MRGs之间的共表达与相关关系,发现FABP1与APOB、APOA4、PLA2G12B、APOC3、APOA2、DGKK、CYP2W1、ENPP7共表达,这些基因

编码蛋白参与脂质运输和细胞内细胞信号的传递; FABP1 与 ELOVL3、DGAT2L6、DGAT2L4、AWAT2 和 GK2 呈负相关,对下调的 MRGs 进行甲基化分析,其中 ELOVL3、DGAT2L6、AWAT2 有较高的甲基化水平。DAGT 可通过增加脂质的存储来减少可用脂质^[11]。Bagnato 等^[14]发现 DGAT1 在人成纤维细胞中过表达可降低其增殖与侵袭性;而 ELOVL3 则能够参与形成脂滴、调控脂类合成以及增强脂肪细胞脂肪酸氧化能力^[12]。综上所述,FABP1 可能通过与脂代谢相关基因共同作用,增强精原细胞瘤细胞对脂肪酸摄入的同时,增加可用脂质以及减少脂肪酸氧化,进而提高肿瘤细胞的增殖与迁移能力。

肿瘤免疫微环境是肿瘤细胞周围存在的免疫细胞以及具有免疫调节功能的物质的总称,是肿瘤微环境的重要组成部分^[15]。肿瘤免疫微环境在肿瘤发生、发展中发挥重要的调节作用,如促进肿瘤细胞免疫耐受以及肿瘤免疫逃逸等^[16]。在调控过程中,肿瘤细胞不是简单地增长,而是在积极主动的调整自身,与免疫细胞相互影响,采取各种策略如限制免疫细胞获取营养物质来使肿瘤免疫延后、改变乃至完全停止,在晚期肿瘤中,这种机制会变得尤其精妙且复杂^[4,17]。同样,免疫细胞也会发生改变来适应肿瘤发展,例如恶性肿瘤细胞和调节性 T 细胞可以驱动 T 细胞发生衰老。衰老的 T 细胞表现出不平衡的脂代谢。这种不平衡的脂代谢会改变脂质种类和 T 细胞中脂滴的积累^[18]。通过生物信息学分析发现,脂代谢基因 FABP1 在精原细胞瘤中具有较高的差异表达,并可能通过调节脂代谢来发挥特定的作用。这一过程同样可能发生在其肿瘤免疫微环境中。笔者首先通过 ssGSEA 算法评估了 FABP1 与 24 种免疫细胞的浸润,发现在高表达 FABP1 样本中存在更高比例的 NK 细胞及 NK CD56 bright 细胞浸润;在低表达 FABP1 样本中存在更高比例的辅助性 T 细胞与中央记忆型 T 细胞浸润。接着利用 estimate 算法评估精原细胞瘤中各成分情况,发现高表达 FABP1 的肿瘤中基质成分升高,这与基质细胞能够支持肿瘤生长是一致的;免疫浸润及肿瘤细胞比例均降低,说明免疫微环境在精原细胞瘤不同阶段中产生了较大的变化,在 I 期主要以适应性免疫细胞为主,而在 II、III 期以固有免疫细胞为主,且免疫浸润程度显著降低,FABP1 可能在这一过程中通过调节脂肪酸代谢发挥关键作用,高表达 FABP1 的肿瘤细胞与免疫细胞竞争性摄取脂肪酸,从而改变精原细胞瘤的免疫微环境。

FABP1 与相关 MRGs 的 Kaplan-Meier 生存曲

线差异显著,这意味着可以通过针对相关靶点来改善患者预后,延长生存时间。综上所述,本研究认为精原细胞瘤在进展过程中可能发生脂肪酸代谢重编程,肿瘤细胞以 FABP1 为代表与 MRGs 相互作用,通过调控肿瘤细胞的脂质运输与细胞内转导信号的合成来增强肿瘤的增殖与迁移能力,在此过程中,肿瘤细胞竞争性摄取脂肪酸,改变肿瘤免疫微环境,进而降低患者预后,这为理解 FABP1 在肿瘤进展中发挥的作用具有一定的启发。脂代谢在精原细胞瘤细胞中的具体机制,还需要进一步实验研究,探索 FABP1 作为潜在的诊断标志物与治疗靶点在其中发挥的具体作用以及其与免疫调节的关系,为精原细胞瘤的发生进展提供理论依据。

参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] CHIEFFI P, DE MARTINO M, ESPOSITO F. Further insights into testicular germ cell tumor oncogenesis: potential therapeutic targets[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2020, 20(3): 189-195.
- [3] TANDSTAD T, SMAALAND R, SOLBERG A, et al. Management of seminomatous testicular cancer: a binational prospective population-based study from the Swedish norwegian testicular cancer study group[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(6): 719-725.
- [4] MARTINEZ-REYES I, CHANDEL N S. Cancer metabolism: looking forward[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(10): 669-680.
- [5] BROADFIELD L A, PANE A A, TALEBI A, et al. Lipid metabolism in cancer: new perspectives and emerging mechanisms[J]. Dev Cell, 2021, 56(10): 1363-1393.
- [6] WU G, ZHANG Z, TANG Q, et al. Study of FABP's interactome and detecting new molecular targets in clear cell renal cell carcinoma[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(4): 3776-3789.
- [7] LIU S, NI C, LI Y, et al. The involvement of TRIB3 and FABP1 and their potential functions in the dynamic process of gastric cancer[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 790433.
- [8] HÄNZELMANN S, CASTELO R, GUINNEY J. GSVA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data[J]. BMC Bioinformatics, 2013, 14: 7.
- [9] BINDEA G, MLECNIK B, TOSOLINI M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer[J]. Immunity, 2013, 39(4): 782-795.
- [10] AL-OBAIDY K I, IDREES M T. Testicular tumors: a contemporary update on morphologic, immunohistochemical and molecular features[J]. Adv Anat Pathol, 2021, 28(4): 258-275.
- [11] CURRIE E, SCHULZE A, ZECHNER R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. Cell Metab, 2013, 18(2): 153-161.
- [12] BERGERS G, FENDT S M. The metabolism of cancer cells during metastasis[J]. Nature reviews Cancer, 2021, 21(3): 162-180.
- [13] NIEMAN K M, KENNY H A, PENICKA C V, et al. Adipocytes pro-

(下转第 597 页)

- [14] 赵奇志,赵毅民.阿朴菲类生物碱生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2006,18(2):316-324.
- [15] LI B,HAN L,CAO B,et al. Use of magnoflorine-phospholipid complex to permeate blood-brain barrier and treat depression in the CUMS animal model[J]. Drug Deliv, 2019, 26(1):566-574.
- [16] FARHAN M,HALEEM D J. Attenuation of unpredictable chronic mild stress induced deficits in rats by apomorphine[J]. J Pak Med Assoc, 2016, 66(12): 1541-1546.
- [17] MARTÍNEZ-VÁZQUEZ M, ESTRADA-REYES R, ESCALONA A-GA, et al. Antidepressant-like effects of an alkaloid extract of the aerial parts of *Annona cherimolia* in mice[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(1): 164-170.
- [18] MORI F, RIBOLSI M, KUSAYANAGI H, et al. Genetic variants of the NMDA receptor influence cortical excitability and plasticity in humans[J]. J Neurophysiol, 2011, 106(4): 1637-1643.
- [19] WANG L P, LI F, WANG D, et al. NMDA receptors in dopaminergic neurons are crucial for habit learning[J]. Neuron, 2011, 72(6): 1055-1066.
- [20] LI W, YANG Y, LIN J, et al. Association of serotonin transporter gene (SLC6A4) polymorphisms with schizophrenia susceptibility and symptoms in a Chinese-Han population[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2013, 44(1): 290-295.
- [21] TUNBRIDGE E, BURNET PWJ, SODHI M S, et al. Catechol-O-methyltransferase (COMT) and proline dehydrogenase (PRODH) mRNAs in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression[J]. Synapse, 2004, 51(2): 112-118.
- [22] NOHESARA S, GHADIRIVASFI M, MOSTAFAVI S, et al. DNA hypomethylation of MB-COMT promoter in the DNA derived from saliva in schizophrenia and bipolar disorder[J]. J Psychiatr Res, 2011, 45(11): 1432-1438.
- [23] ANTYPAN N, DRAGO A, SERRETTI A. The role of COMT gene variants in depression: bridging neuropsychological, behavioral and clinical phenotypes[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2013, 37(8): 1597-1610.
- [24] NAOI M, MARUYAMA W, SHAMOTO-NAGAI M. Type A monoamine oxidase and serotonin are coordinately involved in depressive disorders: from neurotransmitter imbalance to impaired neurogenesis[J]. J Neural Transm, 2018, 125(1): 53-66.
- [25] 张景霞,赵重博,李凡,等.基于网络药理学和分子对接技术的白芍治疗抑郁症作用机制探讨[J].中国现代中药, 2021, 23(9): 1582-1589.
- [26] PEREIRA P A, BICALHO MAC, DE MORAES E N, et al. Genetic variant of AKT1 and AKTIP associated with late-onset depression in a Brazilian population[J]. Int J Geriatr Psychiatry, 2014, 29(4): 399-405.
- [27] KAUDANOVICH-BEILIN O, MILMAN A, WEIZMAN A, et al. Rapid antidepressant-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on β -catenin in mouse hippocampus[J]. Biol Psychiatry, 2004, 55(8): 781-784.
- [28] LAUSS M, KRIEGER A, VIERLINGER K, et al. Characterization of the drugged human genome [J]. Pharmacogenomics, 2007, 8(8): 1063-1073.
- [29] 周建松,李凌江,曹霞,等.5-羟色胺及其突触后 1A 受体对慢性应激大鼠情绪和认知的影响[J].中南大学学报(医学版), 2008, 33(4): 305-311.
- [30] POPOLI M, GENNARELLI M, RACAGNI G. Modulation of synaptic plasticity by stress and antidepressants[J]. Bipolar Disord, 2002, 4(3): 166-182.
- [31] D'SA C, DUMAN R S. Antidepressants and neuroplasticity[J]. Bipolar Disord, 2002, 4(3): 183-194.
- [32] DONG Y, TAO B, XUE X, et al. Molecular mechanism of Epicedium treatment for depression based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. BMC Complement Med Ther, 2021, 21(1): 1-13.

(2022-02-23 收稿)

(上接第 590 页)

- mote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth[J]. Nat Med, 2011, 17(11): 1498-1503.
- [14] BAGNATO C, IGAL R A. Overexpression of diacylglycerol acyltransferase-1 reduces phospholipid synthesis, proliferation, and invasiveness in simian virus 40-transformed human lung fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2003, 278(52): 52203-52211.
- [15] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [16] LEI X, LEI Y, LI J K, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: biological functions and roles in cancer immunotherapy[J]. Cancer Lett, 2020, 470: 126-133.
- [17] SANMAMED M F, CHEN L. A paradigm shift in cancer immunotherapy: from enhancement to normalization[J]. Cell, 2018, 175(2): 313-326.
- [18] LI Z, ZHANG H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(2): 377-392.

(2022-03-02 收稿)