

文章编号 1006-8147(2023)04-0379-08

论著

利用焦亡相关基因的特征预测神经母细胞瘤免疫微环境及其预后价值

高伟靖, 李龙

(天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070)

摘要 目的:研究焦亡相关基因的特征与神经母细胞瘤的肿瘤免疫微环境(TME)的关系以及神经母细胞瘤患者的预后。方法:基因表达数据来自于TCGA、NCBI-GEO和TARGET数据库。ESTIMATE和ssGSEA用于分析TME。LASSO-COX方法用于建立预后模型以量化神经母细胞瘤中焦亡的水平。同时构建了一种名为Risk的新评分方法,并全面地评价Risk评分的有效性。结果:焦亡相关基因在神经母细胞瘤中突变负荷较低(3.35%突变率)。同时,焦亡相关基因的高表达与患者良好的预后相关($HR=0.403\ 6$;95%CI:0.291 5~0.558 7;Log-rank test, $P<0.001$)。免疫细胞的浸润程度在焦亡相关基因高表达的患者中更为丰富。多因素Cox分析表明,Risk评分是一种独立的预后因素,可以提高临床预测模型的准确性(曲线下面积均大于0.8)。结合常见的患者临床特征构建的诺模图具有很好的临床预测价值($P<0.001$)。低风险患者的免疫细胞浸润也更为丰富,与预后良好相关。结论:焦亡相关基因的特征可以预测神经母细胞瘤患者的免疫微环境,基于焦亡相关基因的表达特征构建的预后模型可很好的预测患者的预后情况。

关键词 焦亡;神经母细胞瘤;肿瘤微环境;预后

中图分类号 R739.4

文献标志码 A

Pyroptosis-related gene signature predicts the tumor microenvironment and prognosis in neuroblastoma

GAO Wei-jing, LI Long

(Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** The relationship between pyroptosis-related gene signature and the tumor microenvironment(TME) and the prognosis of patients with neuroblastoma. **Methods:** Gene expression data were obtained from TCGA, NCBI-GEO and TARGET databases. ESTIMATE and ssGSEA were used to analyze TME. The LASSO-COX method was used to develop a prognostic model to quantify the level of pyroptosis in neuroblastoma. At the same time, a new scoring method called Risk was constructed and the effectiveness of Risk scoring was comprehensively evaluated. **Results:** Pyroptosis-related genes had low mutational burden in neuroblastoma (3.35% mutation rate). High expression of pyroptosis-related genes indicated good prognosis of patients($HR=0.403\ 6$;95%CI:0.291 5~0.558 7;Log-rank test, $P<0.001$). The infiltration of immune cells was more abundant in patients with high expression of pyroptosis-related genes. Multivariate Cox analysis showed that Risk scoring was an independent prognostic factor that could improve the accuracy of clinical prediction models (area under curve>0.8). The Nomograms constructed by combining common clinical characteristics of patients have good clinical predictive value($P<0.001$). Immune cell infiltration was also more abundant in low-risk patients, which correlated with favorable prognosis. **Conclusion:** The immune microenvironment of patients with neuroblastoma can be predicted according to the characteristics of pyroptosis-related genes, and the prognostic model constructed based on the expression characteristics of pyroptosis-related genes has good accuracy in predicting the prognosis of patients.

Key words pyroptosis; neuroblastoma; tumor microenvironment; prognosis

神经母细胞瘤是儿童最常见的颅外实体肿瘤。这种实体瘤起源于交感神经系统,具有异质性。患儿发病的中位年龄为23个月,死亡人数约占所有儿童肿瘤死亡的15%^[1-3]。尽管目前采用了包括手术、化疗、放疗、免疫治疗等多种模式的治疗,但高危神经母细胞瘤患儿的5年生存率仍低于50%^[2]。

神经母细胞瘤免疫原性差,具有复杂的免疫抑制微环境,多项研究表明,肿瘤免疫微环境与患儿预后之间存在潜在的关联^[4-6]。因此,为了准确预测神经母细胞瘤患儿预后以及改善预后,仍需要开发新的方法和新的治疗策略。然而焦亡是细胞死亡的一种形式,对免疫至关重要。细胞可以通过经典和非经典途径裂解gasdermin家族蛋白,从而使gasdermin蛋白的活性形式在细胞膜上打孔并导致细胞因子释放^[7]。Gasdermin家族是细胞焦亡过程的核心蛋

基金项目 国家重点研发计划(2018YFC1313000,2018YFC1313002)

作者简介 高伟靖(1996-),男,硕士在读,研究方向:肿瘤免疫;通信作者:李龙,E-mail:Long.Li@tmu.edu.cn。

白,GSDMB 可被颗粒酶 A 切割,GSDMC 可被 caspase 8 切割,GSDMD 可被 caspase 1、caspase 4、caspase 5、caspase 11 切割,GSDME 可被 caspase 3 切割^[8-12]。通过诱发细胞焦亡,可导致炎症因子和免疫刺激分子(包括白细胞介素-1 β 、白细胞介素-18、ATP、高迁移率族蛋白 1)的释放以及各种免疫细胞的浸润,将免疫冷肿瘤转化为免疫热肿瘤,从而抑制肿瘤的进展^[10,13-15]。本研究旨在揭示细胞焦亡与肿瘤免疫微环境之间的关系,并根据焦亡相关基因表达对神经母细胞瘤患者进行分类,建立预后模型。

1 材料与方法

1.1 神经母细胞瘤数据来源和预处理 从 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库获取神经母细胞瘤患者的基因突变数据。从 TARGET(Therapeutically Applicable Research To Generate Effective Treatments)数据库获取神经母细胞瘤患者的基因拷贝数数据。从 TCGA-NBL 和 GSE62564 两个公共数据库中收集神经母细胞瘤患者的基因表达数据和临床数据。TCGA-NBL 来自 TCGA 数据库,GSE62564 来自 GEO(Gene Expression Omnibus)数据库。排除没有生存信息的数据。共收集了 650 例具有标准化基因表达数据和临床信息的神经母细胞瘤样本进行下一步分析。为了使 TCGA 数据与 GEO 数据集更加一致,将 TCGA-NBL 数据集中的 FPKM(Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped fragments)值转换为 TPM(Transcripts Per Million)值。使用“SVA”R 包中的“ComBat”算法对非生物技术偏差的批量效应进行校正。“MafTools”包中的瀑布函数用于制作突变瀑布图。

1.2 细胞焦亡相关基因的确定及其一致性聚类 首先,根据相关研究定义了 13 个焦亡相关基因^[16-17]。这些基因包括 caspase 家族(caspase 1、caspase 3、caspase 4、caspase 6、caspase 8);gasdermin 家族(GSDMB、GSDMD、GSDME);炎症小体(NLRP1、NLRP3)和细胞因子(IL1 β 、IL18、TNF)。然后采用共识聚类算法确定队列中 13 个焦亡相关基因的聚类数量,通过模糊聚类(PAC)的算法确定最优聚类数量。聚类过程由“ConsensusClusterPlus”R 包完成,迭代 1 000 次以确保稳定的结果。

1.3 预后网络图的分析方法 通过对 13 个焦亡相关基因两两之间进行相关性分析,得出相关系数及 P 值,粉线代表正相关,蓝线代表负相关。焦亡相关基因预后分析的风险比率(HR)<1 为低风险基因,用绿色半球表示;HR>1 为高风险基因,用紫色半球表示。最后,采用“igraph”包绘制预后网络图。

1.4 基因集变异分析 通过“GSVA”R 包在热图上进行 GSVA(Gene Set Variation Analysis)富集分析。从 MSigDB 数据库下载“c2.cp.kegg.V6.2”和“c5.go.v2022.1”用于 GSVA 分析。在“Limma”R 包中, $P<0.05$ 被认为在不同亚组之间具有统计学意义。

1.5 差异基因 使用“Limma”R 包中的经验贝叶斯方法获得差异基因。选择差异基因的显著性标准设定为调整后的 P 值小于 0.05 和 LogFC 的绝对值大于 1。

1.6 肿瘤微环境细胞浸润分析 ssGSEA 评分反映了浸润免疫基因在样本中增加或减少的程度。通过“ESTIMATE”R 包估算肿瘤纯度评分。

1.7 预后模型的构建 通过 LASSO-COX 分析建立

有效的预后模型。预后评分= $\sum_{i=1}^n C_i E_i$,其中 n 、 C_i 、 E_i

分别代表特征基因数量、系数指数、基因表达水平。临界值使用“survminer”R 包确定。采用 Kaplan-Meier 生存曲线确定模型区分不同患者亚型的能力,采用受试者工作特征(ROC)曲线确定模型的有效性。**1.8 预后模型的外部验证** 为了进一步验证该评分模型的可行性,收集了 GSE16476 和 E-MTAB-8248 两个神经母细胞瘤数据集作为外部验证。GSE16476 的表达矩阵及其匹配的临床信息可从 GEO 数据库下载(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE16476>),E-MTAB-8248 的表达矩阵及其匹配的临床信息可从 Biostudies 网站下载(<https://www.ebi.ac.uk/biostudies/arrayexpress/studies/E-MTAB-8248>)。在对表达矩阵进行标准化处理后,提取了评分模型中 10 个基因的表达量数据,并根据每个基因的既定系数进行综合评分,获得每个病人样本的风险评分(Risk score),并进行 Kaplan-Meier 生存分析。

1.9 统计学处理 所有统计学方法均在 R 软件(v4.0.2)上执行。当比较两个或更多的连续变量时,对正态资料使用 unpaired Student's t -test,对非正常数据使用 Wilcoxon 或 Kruskal-Wallis 检验。组间比较采用 Fisher's exact 检验。生存分析由生存包进行。两组患者的生存时间比较采用 Log-rank 检验;在 Survminer 程序包中,应用 Cox 回归模型进行独立预后因素的计算,并用 ggForest 软件包进行可视化处理。当双尾 $P<0.05$ 时,两组间比较有统计学意义。

2 结果

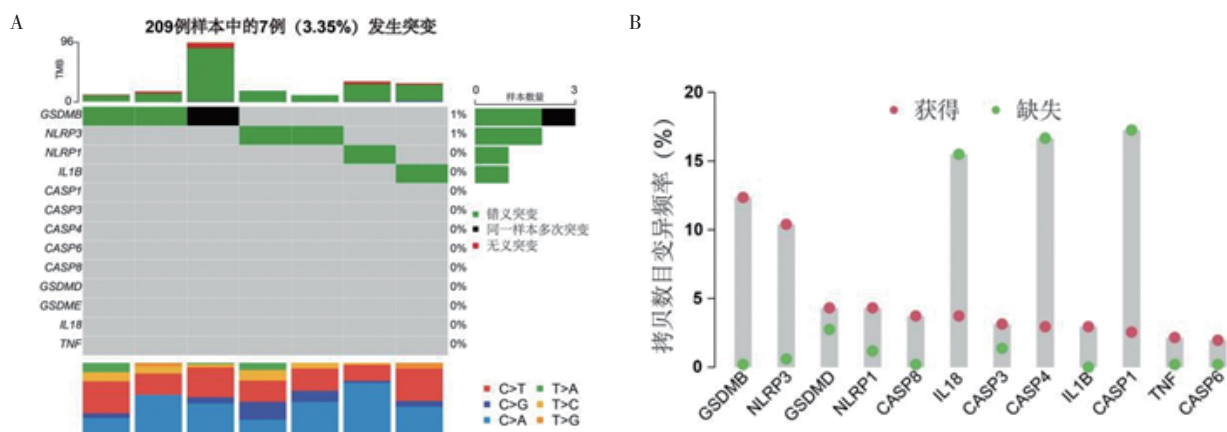
2.1 焦亡相关基因的突变和拷贝分析 TCGA 数据库收集了 209 例患者的基因突变数据结果显示 3.35% 的患者存在焦亡相关基因突变,同时,仅有 4

种焦亡相关基因出现突变,炎症小体(NLRP 家族)似乎更容易出现基因突变(图 1A)。UCSC 数据库 510 例患者的基因拷贝数据结果显示 9 种焦亡相关基因表现为基因拷贝数增多(图 1B)。

2.2 焦亡相关基因在神经母细胞瘤中的表达情况 从 TCGA-NB、GSE62564 两个数据集收集了 650 例患者的 RNA-Seq 和临床数据,并进行了合并。经过 PCA(主成分分析)显示数据合并效果良好(图 2A)。基于 13 个焦亡相关基因的表达,采用无监督聚类分析的方法将患者分为两群,可见分群内部相关性较高,而分群之间相关性低(图 2B)。PCA 分析也显

示根据焦亡相关基因的表达可很好的将 A、B 群患者分开(图 2C)。热图显示分群 A 较分群 B 高表达焦亡相关基因。临床数据显示分群 B 患者易出现 MYCN 基因扩增,而两群患者在年龄、性别、INSS 分期上没有明显差别(图 2D)。

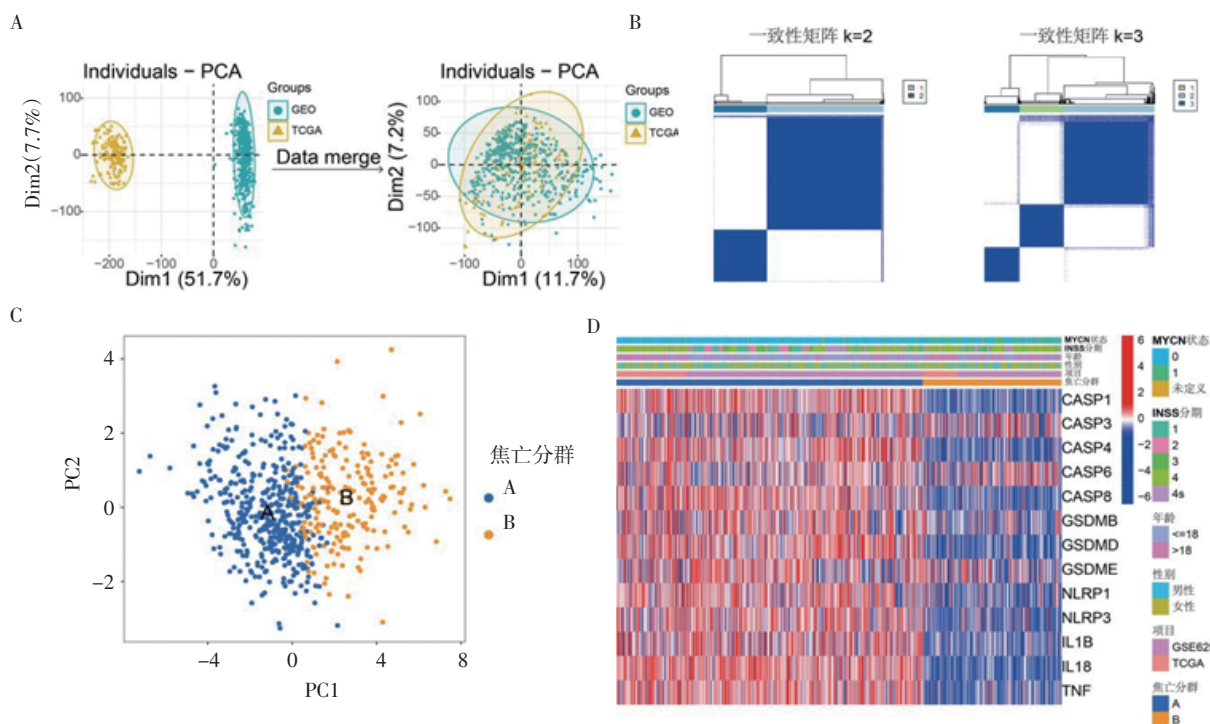
2.3 焦亡相关基因与神经母细胞瘤患者生存之间的关系 高表达焦亡相关基因的 A 群患者具有良好的预后(图 3A)。预后网络图显示焦亡相关基因多为低风险基因,且存在明显共表达关系(图 3B)。焦亡相关基因生存分析显示除 *CASP6* 外其余的焦亡相关基因与患者生存相关,其中 *NLRP3* 和 *GS-*



注:A:来自 TCGA-NBL 数据的 209 例患者的突变级联图;B:TARGET 数据中 510 例患者细胞焦亡相关基因的拷贝数目变异频率

图 1 焦亡相关基因在神经母细胞瘤中的突变情况

Fig 1 Mutations of pyroptosis-related genes in neuroblastoma

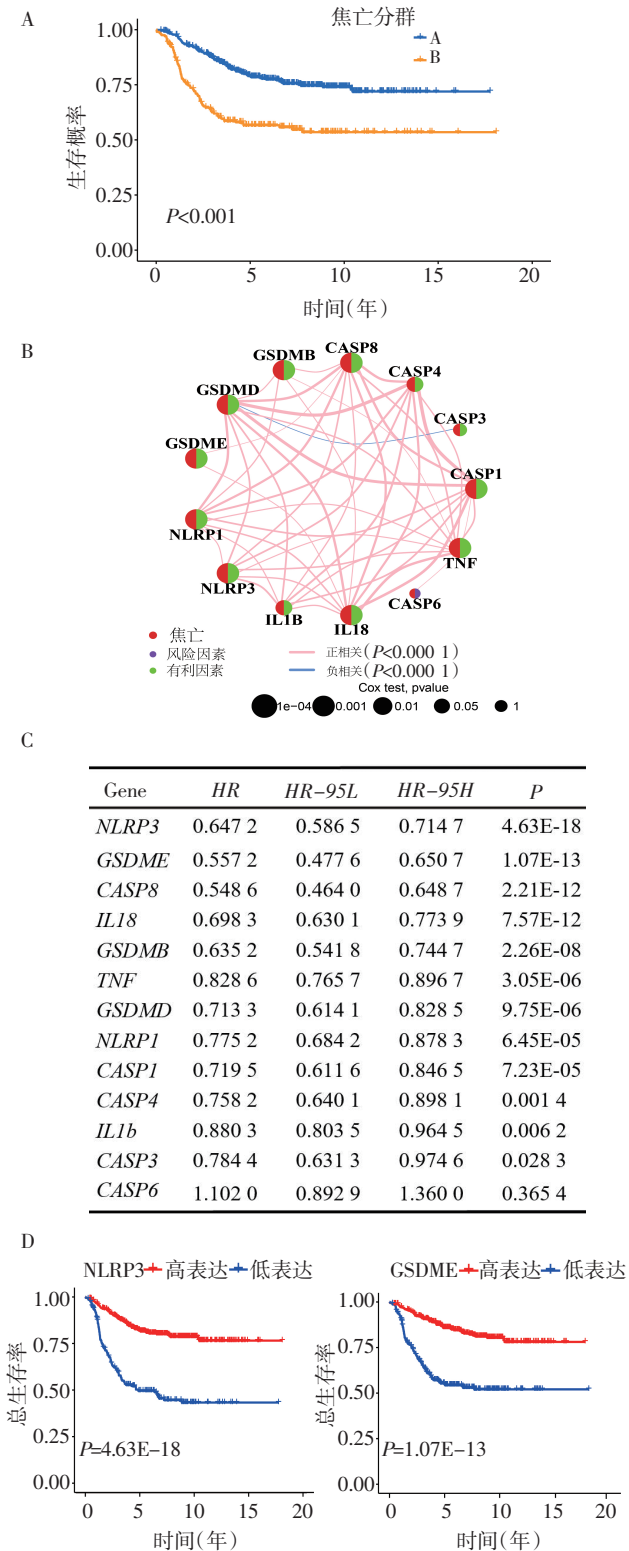


注:A:TCGA-NB($n=152$)和 GSE62564($n=498$)的主成分分析;B:队列中 $k=2\sim3$ 时所有样本的共识评分矩阵;C:对 650 例患者的细胞焦亡相关基因表达进行主成分分析,以区分 A 组($n=447$)和 B 组($n=203$);D:13 个焦亡相关基因的无监督聚类热图分析

图 2 焦亡相关基因表达分析

Fig 2 Analysis of expression of pyroptosis-related genes

DME 基因的高表达与患者的良好预后之间相关性更为明显(图 3C、3D)。



注:A:两群焦亡相关基因簇的生存曲线($HR=0.4036$;95%CI:0.2915~0.5587;Log-rank test, $P<0.001$);B:细胞焦亡相关基因的预后网络图;C:13个细胞焦亡相关基因预后分析的HR、HR-95L、HR-95H和P值;D:NLRP3(Log-rank test, $P=4.63E-18$)和GSDME(Log-rank test, $P=1.07E-13$)的生存曲线分析

图3 焦亡相关基因在神经母细胞瘤中的生存分析

Fig 3 Survival analysis of pyroptosis related genes in neuroblastoma

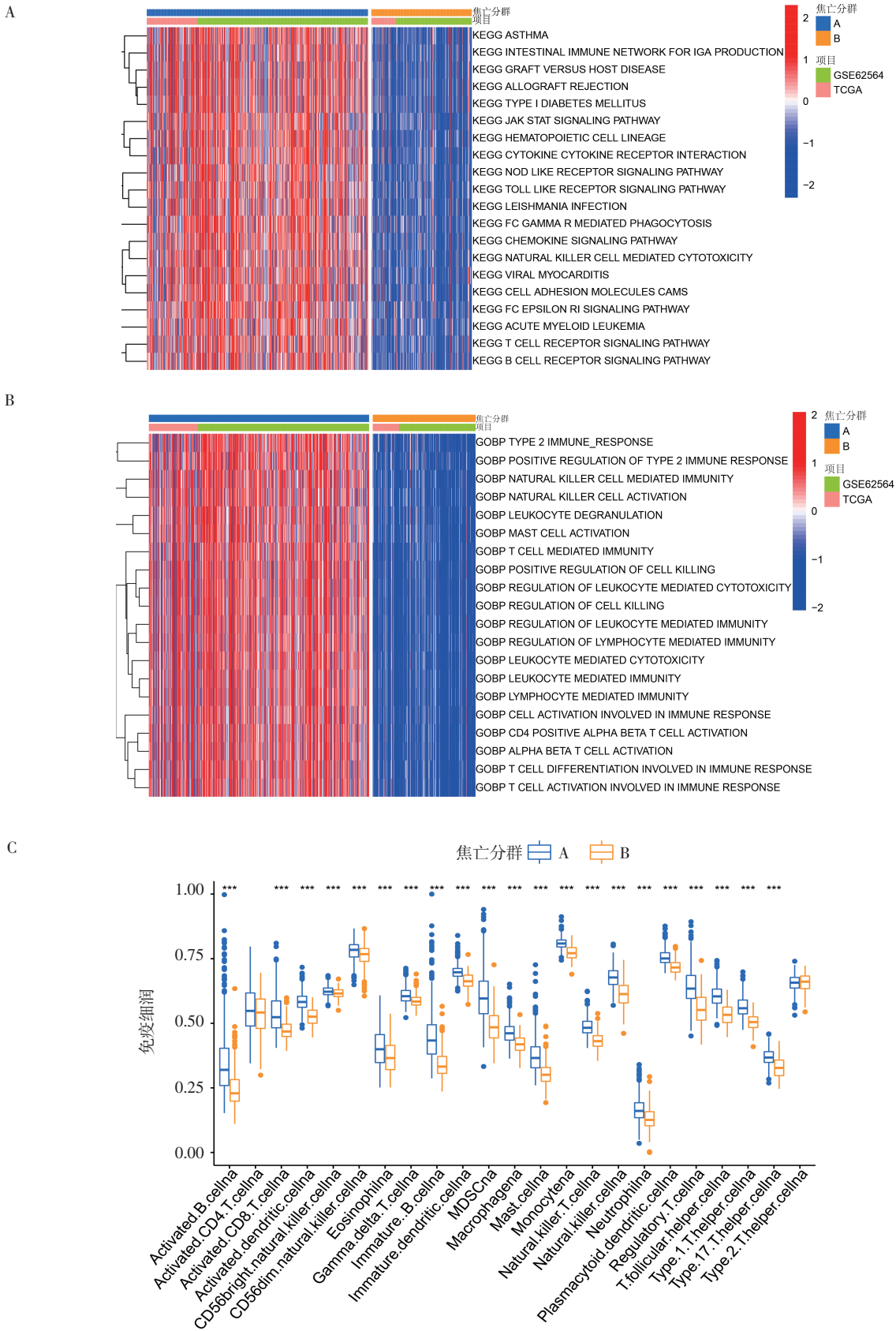
2.4 GSVA 和 ssGSEA 评估 GSVA 分析结果显示分群 A 主要富集在免疫激活通路,包括抗原加工和递呈、T 和 B 细胞受体信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、白细胞跨内皮迁移、趋化因子信号通路、TOLL、NOD 和 RIG-I 样受体信号通路、JAK-STAT 信号通路。而分群 B 多富集在肿瘤增殖通路,包括 DNA 复制、细胞周期、RNA 聚合酶、核糖体、氨基酸生物合成(图 4A)。同样,基于 GO 基因集的 GSVA 富集分析显示分群 A 主要富集在免疫相关通路,包括 II 型免疫反应相关通路、自然杀伤细胞的激活及其介导的免疫通路、T 细胞激活通路和白细胞介导的免疫相关通路等(图 4B)。ssGSEA 分析结果显示分群 A 中激活的免疫细胞浸润丰富,包括活化的 B 细胞、活化的 CD8⁺ T 细胞、Th1 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤 T 细胞、活化的树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞,与其预后良好相关(图 4C)。

2.5 预后模型的构建及免疫微环境评估

2.5.1 预后模型的构建 用 LogFC>1 和 $P<0.05$ 的标准在两个分群间确定了 922 个差异基因(图 5A)。然后使用单因素 Cox 分析确定了 843 个与预后相关的基因。最后,通过 LASSO-COX 回归模型建立了一个能够量化每个患者的预后模型(图 5B、5C)。以风险得分的中位值 0.93 为分界将患者分为高低风险两组。可见低风险组较高风险组高表达 12 种焦亡相关基因(图 5D)。

2.5.2 预后模型对预测患者预后的价值 通过分析发现低风险组有明显的生存优势(图 6A)。风险曲线也显示随着患者风险得分的增高,死亡的患者数逐渐增多(图 6B、6C)。ROC 曲线显示通过预后模型来预测神经母细胞瘤患者 1 年、3 年和 5 年生存期的准确性较高(图 6D)。使用预后模型结合 4 个常见的患者临床特征构建了诺模图(多因素 Cox 回归分析),用来预测患者 1、3、5 年生存率(图 6E)。对两个外部神经母细胞瘤患者的数据集(GSE16476 和 E-MTAB-8248)进行风险评分,结果显示高风险评分的患者预后要明显差于低风险评分患者(图 6F、6G),差异有统计学意义。

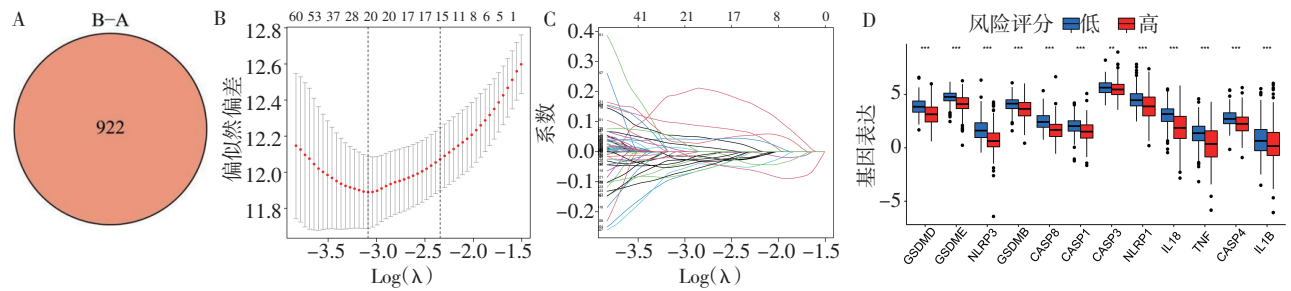
2.5.3 免疫微环境评估 CIBERSORT 分析高低风险组间免疫细胞浸润的区别,结果显示低风险组肿瘤组织中富含多种激活的免疫细胞,包括活化的 B 细胞、活化的 CD8⁺ T 细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞等(图 7A)。ESTIMATE 分析的结果也显示低风险组具有更高的免疫评分(图 7B)。



注:A:基于 KEGG 基因集的 GSVA 富集分析热图;B:基于 GO 基因集的 GSVA 富集分析热图;C:通过 ssGSEA 对两组焦亡相关基因簇的各种类型的免疫细胞浸润进行比较(Wilcoxon test,*** $P<0.001$)

图 4 神经母细胞瘤的焦亡相关基因的免疫特性

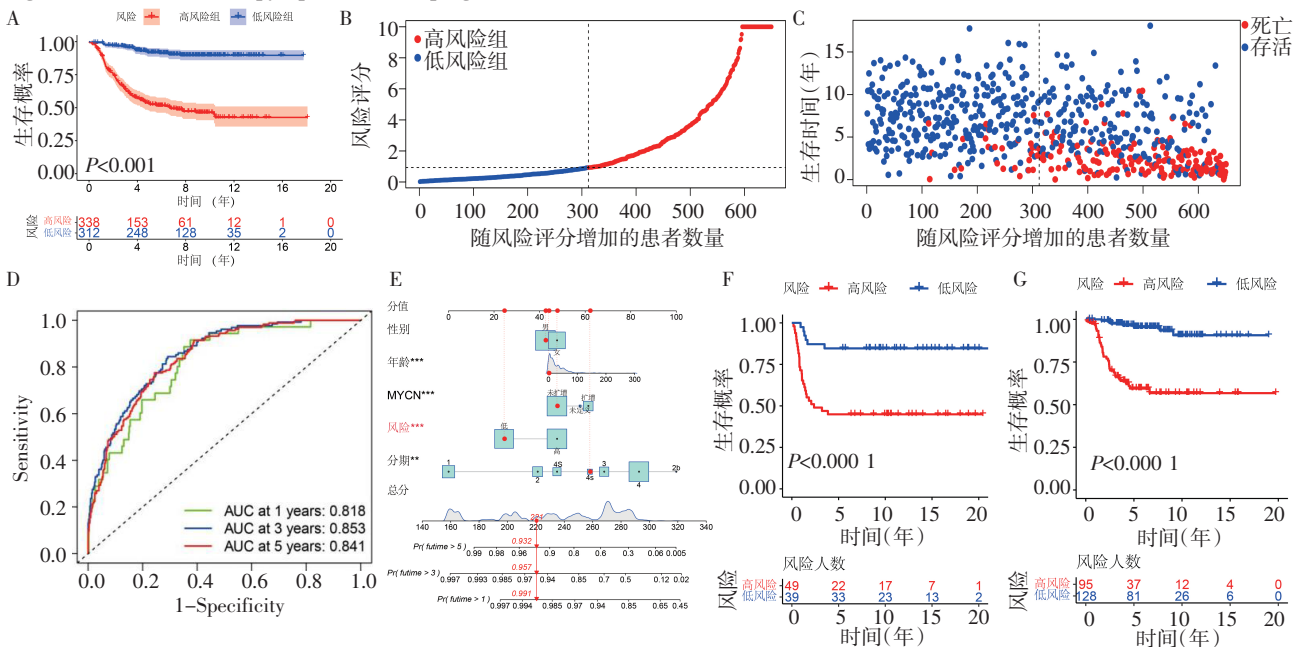
Fig 4 Immune characteristics of pyroptosis-related genes in neuroblastoma



注:A:以 $\log FC > 1$ 和 $P < 0.05$ 的标准在两个分群间确定了 922 个差异基因;B:通过最小标准选择 λ 的最优值的 10 倍交叉验证图。在最小标准和最小标准的 1 个标准误差的值处画虚线垂直线;C:系数分布图。每条曲线代表一个基因,基因的末尾指向一个纵坐标,这个纵坐标就是系数,通过 LASSO 回归为每一个基因算一个系数;D:焦亡相关基因在高低风险评分组之间的箱线图(Kruskal-Wallis test, $**P < 0.01$; $***P < 0.001$)

图5 细胞焦亡相关预后模型的构建

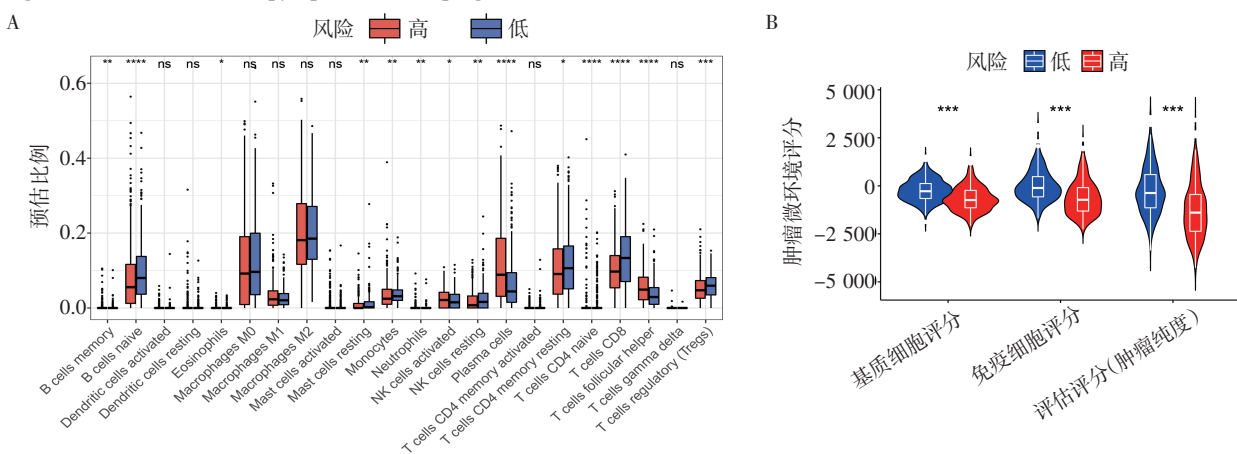
Fig 5 Construction of the pyroptosis-related prognostic model



注:A:队列中神经母细胞瘤样本的风险评分的 OS (总生存期) 曲线,其中高风险和低风险的分界值为 0.93 ($HR = 0.068$ 28; $95\%CI$: 0.051 10~0.091 22; \log -rank test, $P < 0.001$);B:650 例神经母细胞瘤患者的风险评分分析;C:650 例神经母细胞瘤患者生存状况分布情况;D:用于预测神经母细胞瘤患者 1、3 和 5 年总生存期的 ROC 曲线图;E:多因素回归分析的结果 ($**P < 0.01$; $***P < 0.001$);F:GSE16476 数据集中高风险评分组和低风险评分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线 ($n = 88$; $HR = 4.92$; $95\%CI$: 2.49~9.75; \log -rank test, $P < 0.0001$);G:E-MTAB-8248 数据集中高风险评分组和低风险评分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线 ($n = 223$; $HR = 9.16$; $95\%CI$: 4.86~17.24; \log -rank test, $P < 0.0001$)

图6 细胞焦亡相关预后模型的特征

Fig 6 Characteristics of the pyroptosis-related prognostic model



注:A:通过 CIBERSORT 来分析高低风险组间免疫细胞浸润 ($*P < 0.05$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$; $****P < 0.0001$; ns, 无统计学意义);B:高风险组和低风险组的 ESTIMATE 评分值 (Kruskal-Wallis test, $***P < 0.001$)

图7 风险评分的免疫微环境分析

Fig 7 Immune microenvironment assessment of risk scoring

3 讨论

神经母细胞瘤是一种发生在周围交感神经系统神经节内的恶性肿瘤,这些神经元来自腹外侧神经嵴细胞^[18]。神经母细胞瘤的发生与多种转录因子(*SOX10*、*FOXD3*)和癌基因(*c-MYC*、*MYCN*、*MYCL*、*ALK*)的异常表达有关^[19]。获得与神经母细胞瘤发病机制有关的分子特征和遗传变异对于开发更安全和有效的治疗方法是必要的。神经母细胞瘤具有冷肿瘤的特点,免疫原性较差,表现为 HLA I 类分子的低表达,抗原加工机制缺陷,下调激活 T 细胞和自然杀伤(NK)细胞的分子(如 PD-1L、NKG2DL、MIC-A、MIC-B、ULBP-1、ULBP-2、ULBP-3),释放含有免疫抑制分子(B7-H3)的外泌体,分泌免疫调节细胞因子(IL-10、TGF- β 1)^[20]。同时,神经母细胞瘤具有复杂的免疫抑制微环境^[21-23]。因此,有必要探索神经母细胞瘤免疫微环境的特点及其与患者预后的关系。

焦亡一词源于希腊语词根 pyro(火/热)和 ptosis(坠落),用于描述促炎性程序性细胞死亡^[24]。迄今为止,存在两种重要的程序性细胞死亡(PCD)途径,包括凋亡和焦亡。焦亡是一种新发现的促炎 PCD 途径,细胞发生焦亡后释放细胞内容物,进而引发炎症。Caspase 切割 GSDMD、GSDME 产生 N 端结构域,它通过穿孔质膜来驱动焦亡。焦亡在肿瘤免疫中发挥重要作用,但在不同情况下,细胞焦亡是一把双刃剑。一方面,中度细胞焦亡有助于细胞维持稳态,提高免疫活性,有效清除损伤和病原体,保护宿主,有利于抗肿瘤免疫治疗和纳米药物研究^[13,17,25-26]。另一方面,细胞焦亡引起的过度炎症对宿主不利,可能会加剧疾病发展,尤其是肿瘤进展,释放各种炎症因子,形成炎症免疫微环境^[27]。

目前,细胞焦亡在神经母细胞瘤中的作用仍不清晰。分析神经母细胞瘤中细胞焦亡相关基因的表达特征,及其对肿瘤微环境的影响,可发现其与患者预后的潜在联系。很多研究显示细胞焦亡在抗肿瘤治疗方面可发挥重要作用。

通过分析 13 个焦亡相关基因在神经母细胞瘤中的表达及变异情况,发现大部分焦亡相关基因在神经母细胞瘤中高表达,且很少发生基因变异。生存分析显示:患者较好的生存与 *GSDMB*、*GSDMD*、*GSDME*、*CASP1*、*CASP3* 等 13 个基因高表达相关。预后网络图也显示焦亡相关基因多为有利的基因,且存在丰富的共表达关系。这与之前的研究一致,焦亡相关基因的高表达与患者的预后良好相关^[28]。

根据预定义的基因表达特征对样本进行分类是一种有效的方法^[29]。所采用的分型策略则借鉴了该方法,根据焦亡相关基因的表达对神经母细胞瘤

患者进行分型,发现在不同的分型之间焦亡相关基因的表达是完全不同的,且焦亡相关基因与患者的预后、免疫细胞浸润存在明显的相关性。相关研究也表明细胞焦亡与免疫微环境之间存在密切的联系,细胞焦亡的急性激活导致各种免疫细胞的浸润,从而抑制肿瘤的发展^[30]。在肿瘤内诱导细胞焦亡被认为是治疗各种癌症的潜在策略^[13]。

为了将焦亡相关基因特征应用于临床,本研究开发了一个用来量化患者预后风险的预后模型,为神经母细胞瘤患者的临床管理提供了有力的证据。首先,预后模型将细胞焦亡与患者生存联系起来;第二,预后模型可以预测患者的预后;第三,预后模型可以代表患者之间不同的免疫特征,对肿瘤微环境免疫特征的评估具有重要价值。本研究侧重于肿瘤细胞死亡和肿瘤免疫微环境的变化,低风险组具有丰富的免疫细胞激活及浸润,且有较长的生存期。因此,该模型对于预测患者预后及促进新治疗的开发更有价值。

综上所述,本研究证明了焦亡相关基因的表达在神经母细胞瘤中的重要作用及与患者预后、免疫微环境之间的联系。

参考文献:

- [1] MARIS J M, HOGARTY M D, BAGATELL R, et al. Neuroblastoma [J]. *Lancet*, 2007, 369(9579): 2106-2120.
- [2] MATTHAY K K, MARIS J M, SCHLEIERMACHER G, et al. Neuroblastoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16078.
- [3] NAKAGAWARA A, LI Y, IZUMI H, et al. Neuroblastoma [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2018, 48(3): 214-241.
- [4] PARK J A, CHEUNG N V. Targets and antibody formats for immunotherapy of neuroblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(16): 1836-1848.
- [5] BLAVIER L, YANG R M, DECLERCK Y A. The tumor microenvironment in neuroblastoma: new players, new mechanisms of interaction and new perspectives [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(10): 2912.
- [6] MELAIU O, CHERICI M, LUCARINI V, et al. Cellular and gene signatures of tumor-infiltrating dendritic cells and natural-killer cells predict prognosis of neuroblastoma [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5992.
- [7] PENTIMALLI F, GRELLI S, DI DANIELE N, et al. Cell death pathologies: targeting death pathways and the immune system for cancer therapy [J]. *Genes Immun*, 2019, 20(7): 539-554.
- [8] ZHANG J Y, ZHOU B, SUN R Y, et al. The metabolite α -KG induces GSDMC-dependent pyroptosis through death receptor 6-activated caspase-8 [J]. *Cell Res*, 2021, 31(9): 980-997.
- [9] SHI J, ZHAO Y, WANG K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
- [10] ZHANG Z, ZHANG Y, XIA S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415-420.
- [11] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.

- [12] ZHOU Z, HE H, WANG K, et al. Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells [J]. *Science*, 2020, 368(6494): eaaz7548.
- [13] WANG Q, WANG Y, DING J, et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 421–426.
- [14] BEN-SASSON S Z, HOGG A, HU-LI J, et al. IL-1 enhances expansion, effector function, tissue localization, and memory response of antigen-specific CD8 T cells [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(3): 491–502.
- [15] JAIN A, SONG R, WAKELAND E K, et al. T cell-intrinsic IL-1R signaling licenses effector cytokine production by memory CD4 T cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3185.
- [16] MAN S M, KANNEGANTI T D. Regulation of inflammasome activation [J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 6–21.
- [17] TANG R, XU J, ZHANG B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 110.
- [18] BETTERS E, LIU Y, KJAELDGAARD A, et al. Analysis of early human neural crest development [J]. *Dev Biol*, 2010, 344(2): 578–592.
- [19] ZAFAR A, WANG W, LIU G, et al. Molecular targeting therapies for neuroblastoma: progress and challenges [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(2): 961–1021.
- [20] MORANDI F, SABATINI F, PODESTÙ M, et al. Immunotherapeutic strategies for neuroblastoma: present, past and future [J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(1): 43.
- [21] PELIZZO G, VESCHI V, MANTELLI M, et al. Microenvironment in neuroblastoma: isolation and characterization of tumor-derived mesenchymal stromal cells [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1176.
- [22] VANICHAPOL T, CHUTIPONGTANATE S, ANURATHAPAN U, et al. Immune escape mechanisms and future prospects for immunotherapy in neuroblastoma [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1812535.
- [23] SUZUKI M, CHEUNG N K. Disialoganglioside GD2 as a therapeutic target for human diseases [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(3): 349–362.
- [24] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(3): 113–114.
- [25] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61–75.
- [26] ROSENBAUM S R, WILSKI N A, APLIN A E. Fueling the fire: inflammatory forms of cell death and implications for cancer immunotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 266–281.
- [27] FANG Y, TIAN S, PAN Y, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109595.
- [28] LUO B, WANG L, GAO W, et al. Using a gene network of pyroptosis to quantify the responses to immunotherapy and prognosis for neuroblastoma patients [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845757.
- [29] CRISTESCU R, LEE J, NEBOZHYN M, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes [J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 449–456.
- [30] GALLUZZI L, BUQUÉ A, KEPP O, et al. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(2): 97–111.

(2023-01-17 收稿)

(上接第 365 页)

- [9] GUENTHER M G, BARAK O, LAZAR M A. The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3 [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(18): 6091–6101.
- [10] TSAI K K, HUANG S S, NORTHEY J J, et al. Screening of organoids derived from patients with breast cancer implicates the repressor NCOR2 in cytotoxic stress response and antitumor immunity [J]. *Nature Cancer*, 2022, 3(6): 734–752.
- [11] LONG M D, JACOBI J J, SINGH P K, et al. Reduced NCOR2 expression accelerates androgen deprivation therapy failure in prostate cancer [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(11): 110109.
- [12] CLEARY R K, MORRIS A M, CHANG G J, et al. Controversies in surgical oncology: does the minimally invasive approach for rectal cancer provide equivalent oncologic outcomes compared with the open approach? [J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(12): 3587–3595.
- [13] DU D, SU Z, WANG D, et al. Optimal interval to surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2018, 17(1): 13–24.
- [14] LEVIN T R, JAMIESON L, BURLEY D A, et al. Organized colorectal cancer screening in integrated health care systems [J]. *Epidemiol Rev*, 2011, 33(1): 101–110.
- [15] DE WIT M, FIJNEMAN R J, VERHEUL H M, et al. Proteomics in colorectal cancer translational research: biomarker discovery for clinical applications [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(6): 466–479.
- [16] MACDERMID E, HOOTON G, MACDONALD M, et al. Improving patient survival with the colorectal cancer multi-disciplinary team [J]. *Colorectal Dis*, 2009, 11(3): 291–295.
- [17] ZIELINSKA A, WLODARCZYK M, MAKARO A, et al. Management of pain in colorectal cancer patients [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 157: 103122.
- [18] WONG M M, GUO C, ZHANG J. Nuclear receptor corepressor complexes in cancer: mechanism, function and regulation [J]. *Amer J Clin Exper Urol*, 2014, 2(3): 169–187.
- [19] LEE R D, KNUTSON T P, MUNRO S A, et al. Nuclear corepressors NCOR1/NCOR2 regulate B cell development, maintain genomic integrity and prevent transformation [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(12): 1763–1776.
- [20] TENG L, FENG Y C, GUO S T, et al. The pan-cancer lncRNA PLANE regulates an alternative splicing program to promote cancer pathogenesis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3734.
- [21] DOBRZYCKA K M, TOWNSON S M, JIANG S, et al. Estrogen receptor corepressors—a role in human breast cancer? [J]. *Endocrine-related Cancer*, 2003, 10(4): 517–536.
- [22] TALUKDER A H, LI D Q, MANAVATHI B, et al. Serine 28 phosphorylation of NRIF3 confers its co-activator function for estrogen receptor- α transactivation [J]. *Oncogene*, 2008, 27(39): 5233–5242.
- [23] TINNIKOV A A, YEUNG K T, DAS S, et al. Identification of a novel pathway that selectively modulates apoptosis of breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(4): 1375–1382.
- [24] LIU S, FEI W, SHI Q, et al. CHAC2, downregulated in gastric and colorectal cancers, acted as a tumor suppressor inducing apoptosis and autophagy through unfolded protein response [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e3009.

(2022-12-04 收稿)