

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2025.12.002

✧基础医学研究✧

端粒保护蛋白 TRF2 在胃癌中的表达及临床意义

徐磊^{1,3}, 何霜¹, 程娇¹, 杨慧¹, 郭晓兰^{1,2,3}, 钟晓武^{1,2,3}, 张劲¹

(川北医学院, 1. 检验医学院; 2. 附属医院检验科; 3. 转化医学研究中心, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探讨端粒重复序列结合因子 2 (TRF2) 在胃癌中的表达及临床意义。**方法:** 采用 UALCAN 分析 TRF2 在胃癌患者中的表达, 并用免疫组化验证其在临床标本的表达; 利用 Kaplan-Meier 法分析胃癌患者生存预后的价值; 使用 TIMER 等在线软件探索 TRF2 表达和患者临床特征及免疫浸润的相关性; 利用 CTD 和 SymMap 数据库筛选候选靶向 TRF2 基因的药物。**结果:** TRF2 在胃癌患者中的表达水平高于正常组织 ($P < 0.05$)。TRF2 表达水平与患者的年龄、性别、种族、肿瘤分期、组织分型、体质量正相关 ($P < 0.05$)。TRF2 高表达的胃癌患者具有较差的预后 ($P < 0.05$)。TRF2 表达与胃癌的甲基化、基因突变、免疫细胞丰度及免疫标志物的表达相关 ($P < 0.05$)。TRF2 及其相关基因主要富集在局灶性黏附、钙信号通路、嘌呤代谢、甲状腺激素信号通路、FoxO 信号通路等。马兜铃酸 I、三氧化二砷、 β -甲基胆碱等小分子药物, 川楝子、川乌、党参、广金钱草和救必应等中药可能具有治疗胃癌的潜在价值。**结论:** TRF2 在胃癌中高表达且预后不良, 并参与调控胃癌多种生物学功能。以马兜铃酸 I、三氧化二砷为代表的小分子药物和以川楝子、川乌为代表的中药可能是胃癌治疗的潜在靶向药物。

【关键词】 胃癌; 端粒重复序列结合因子 2; 生物学信息学; 标志物; 候选药物

【中图分类号】 Q811.4; R285 **【文献标志码】** A

Expression and clinical significance of telomere protective protein TRF2 in gastric cancer

XU Lei^{1,3}, HE Shuang¹, CHENG Jiao¹, YANG Hui¹, GUO Xiao-lan^{1,2,3}, ZHONG Xiao-wu^{1,2,3}, ZHANG Jin¹

(1. School of Laboratory Medicine, North Sichuan Medical College; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; 3. Translational Medicine Research Center, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression and clinical significance of telomere repeat binding factor 2 (TRF2) in gastric cancer. **Methods:** UALCAN was used to analyze the expression of TRF2 in gastric cancer patients. Clinical patient samples were used to verify their protein expression levels by Immunohistochemistry. Kaplan-Meier methods were used to analyze the relationship between overall survival rate and clinical features of GC patients. TIMER was used to analyze immune infiltration in gastric cancer patients. Various online analysis tools were used to explore the potential relationship between TRF2 and gastric cancer, and CTD and SymMap databases were used to screen candidates for drugs targeting TRF2 gene. **Results:** The expression level of TRF2 in GC patients was higher than that in normal subjects ($P < 0.05$). Patients with high TRF2 expression in gastric cancer had a poorer prognosis ($P < 0.05$). TRF2 expression was correlated with methylation, gene mutations, immune cell abundance, and expression of immune markers in gastric cancer ($P < 0.05$). The expression level of TRF2 was positively correlated with the patient's age, gender, race, tumor stage, tissue typing, and body weight ($P < 0.05$). TRF2-related gene enrichment analysis showed that these genes were mainly concentrated in focal adhesion, calcium signal pathway, purine metabolism, thyroid hormone signal pathway, FoxO signal pathway and so on. Small molecular drugs such as aristolochic acid I, arsenic and β -methylcholine, and traditional Chinese medicine such as Szechwan Chiberry Fruit, root of Common Monkshood may have potential value in the treatment of gastric cancer. **Conclusion:** TRF2 is highly expressed in gastric cancer and has a poor prognosis and participates in the regulation of a variety of biological functions of gastric cancer. Small molecular drugs represented by aristolochic acid I and arsenic and traditional Chinese medicine represented by Szechwan Chiberry Fruit, root of Common Monkshood may be potential targeted drugs for the treatment of gastric cancer.

基金项目: 四川省医学科技创新研究会项目 (2025YCZD110); 川北医学院附属医院科研发展计划项目 (2024PTZK004, 2023-2ZD002); 川北医学院科研发展计划项目 (CBY24-QDA27, CBY22-ZDA03)

作者简介: 徐磊 (1991—), 男, 实习研究员。E-mail: xulei199172@qq.com

通讯作者: 张劲。E-mail: 272941614@qq.com

【Key words】Gastric cancer; TRF2; Bioinformatics; Biomarkers; Candidate drugs

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上第五大常见癌症,也是第三大致命性癌症,同时也是男性第四种最常见的癌症及女性第七种最常见的癌症^[1]。目前胃癌的早期治疗方法是内镜下切除,但大多数胃癌患者发现时已进入晚期,失去最佳的手术时机。统计数据^[2]显示,晚期胃癌的中位生存期不到 12 个月。由于晚期胃癌缺乏典型的早期临床症状,预后较差,因此对胃癌的早期诊断、预后评估和寻找治疗靶点尤为重要。

端粒是每条染色体末端的特定 DNA-蛋白质结构,包含端粒 DNA 重复 TTAGGG 及其相关的庇护蛋白复合物。端粒 DNA 需要这种蛋白质复合物来帮助维持其长度并防止其因 DNA 合成而变短^[3]。TRF2 在端粒中扮演着重要的角色,保护染色体末端不受端到端融合和端粒缩短。TRF2 是目前已鉴定的两种人类端粒 DNA 结合蛋白之一。TRF2 是从 HeLa 细胞中分离到的双链 TTAGGG 重复序列结合蛋白。该因子是一种同源二聚体蛋白,具有类似于 Myb 和同源结构域 DNA 结合折叠的 C 端螺旋转弯螺旋基序^[4]。近年来,研究^[3]发现,TRF2 在肝癌、乳腺癌、肺癌和上皮性肿瘤等多种人类肿瘤中均有高表达,表明 TRF2 在人类恶性肿瘤中具有重要意义。TRF2 可通过转录激活血小板源生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR β) 促进内皮细胞血管生成。此外,TRF2 是防止哺乳动物端粒激活 DNA 损伤所必需。TRF2 抑制了 ATM 依赖的 DNA 损伤反应,从而允许染色体畸变的积累以及异常细胞的继续生长。TRF2 的过表达影响了 ATM 激酶对 DNA 损伤的反应。TRF2 的过表达消除了电离辐射后细胞周期的停滞,TRF2 具有抑制端粒 ATM 激活的能力^[5]。然而,关于 TRF2 在胃癌中的预后及其相关机制的尚未见报道。因此,了解 TRF2 在胃癌患者中的表达、预后及候选治疗药物,将有助于为胃癌的分子靶向治疗提供更多的生物标志物,从而提高胃癌的诊断和治疗水平。

1 材料与方法

1.1 TRF2 的表达分析

通过在 UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)网站主页输入目的基因 TRF2,选择胃癌,即可获得目的基因 TRF2 在胃癌组织和正常胃上皮细胞中的差异表达情况,并根据不同的肿瘤分期、肿瘤分级、种族、体质量或其他临床病理特征分析了 TRF2 在不同肿瘤亚组中的表达差异。

1.2 TRF2 的蛋白表达检测

收集川北医学院附属医院 20 例胃癌患者手术切除的胃癌组织和相应的癌旁组织制成石蜡切片。本研究获医院伦理审查委员会批准。先将石蜡切片进行脱蜡和复水,再用 EDTA 缓冲液(pH=8.0)进行抗原修复,5% BSA 在 37 °C 下封闭 30 min,然后用 TRF2 抗体(Abcam, 1:100)后 4 °C 冰箱孵育过夜,二抗 37 °C 孵育 1 h,最后用 DAB 溶液染色 2 min,再用苏木精染色,显微镜下观察切片、拍照并进行结果判读。根据免疫反应性评分标准(IRS)由两名高年资病理老师分别对免疫染色的组织切片进行判读。染色强度 0~3 分依次对应无染色、弱、中、强阳性,肿瘤细胞比例以 25% 递升分为 4 档,对应 0~4 级,两者相乘得最终染色指数。

1.3 生存曲线分析

采用 Kaplan-Meier Plotter (<https://kmplot.com/analysis/>)工具,通过公开数据集分析 TRF2 mRNA 水平与胃癌患者生存期的相关性。

1.4 免疫浸润分析

应用 TIMER2.0 (<http://timer.cistrome.org/>)中的“免疫关联”模块对 TRF2 的表达与中性粒细胞、树突状细胞、B 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞进行了相关性分析。同时,采用 GEPIA2(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>)分析 TRF2 与免疫细胞基因生物标志物之间的相关性。

1.5 TRF2 及其相关基因网络的构建

利用 cBioPortal 数据库(<https://www.cbioportal.org/>)和 LinksdOmics 数据库(<http://www.linkedomics.org/login.php>)对 TCGA 数据集中的 TRF2 相关信息进行分析,获得 TRF2 共表达基因。再使用韦恩图在线工具(<http://bioinformatic.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)去获得相交基因集。

1.6 富集分析和功能注释

利用 DAVID 在线工具(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 TRF2 及其相关基因进行 GO 和 KEGG 分析。

1.7 药物筛选

在 The Comparative Toxicogenomics Database (CTD) 数据库(<http://ctdbase.org/>)中输入 TRF2,筛选靶向 TRF2 的候选小分子化合物药物,这些可能作为潜在治疗药物。同时,在 SymMap(<http://www.symmap.org/>)数据库的 Target search 选项下进行查找靶点基因 TRF2 所对应的中药和功效,并以 $P < 0.01$ 为筛选条件。

1.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9 软件进行数据处理与统计分析。组间差异比较使用单因素方差分析 (one-way ANOVA),并以 LSD 检验进行事后两两比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TRF2 在胃癌患者中的表达

根据样本类型、年龄、性别、患者种族、个体肿瘤分期、肿瘤分级、幽门螺杆菌感染状况、组织学亚型、淋巴结转移情况和 TP53 缺失情况进行亚组分析。如图 1-3 所示,胃癌组织中 TRF2 基因的表达水平高于正常胃黏膜组织 ($P<0.05$)。TRF2 的表达水平在胃癌患者的年龄、性别、种族、肿瘤分期和幽门

螺杆菌感染状况等方面均高于对照组 ($P<0.05$)。免疫组化实验显示,与癌旁组织相比,胃癌组织中 TRF2 的蛋白表达水平较高。见图 1-图 4。

2.2 TRF2 表达与胃癌预后的相关性

通过 Kaplan-Meier Plotter 分析 TRF2 基因表达水平与胃癌患者预后的关系。TRF2 基因高表达的胃癌患者总生存率 (OS) 降低 ($HR = 2.29, 95\% CI = 1.86 \sim 2.81, P < 0.001$);高表达 TRF2 组中位生存时间为 9.2 个月,低表达组为 20.03 个月 (图 5A)。TRF2 高表达组比低表达组的首次进展生存率 (FP) 较差 ($HR = 2.03, 95\% CI = 1.63 \sim 2.52, P < 0.001$ (图 5B));无进展生存率 (PPS) 也降低 ($HR = 3.05, 95\% CI = 2.42 \sim 3.85, P < 0.001$)。见图 5。

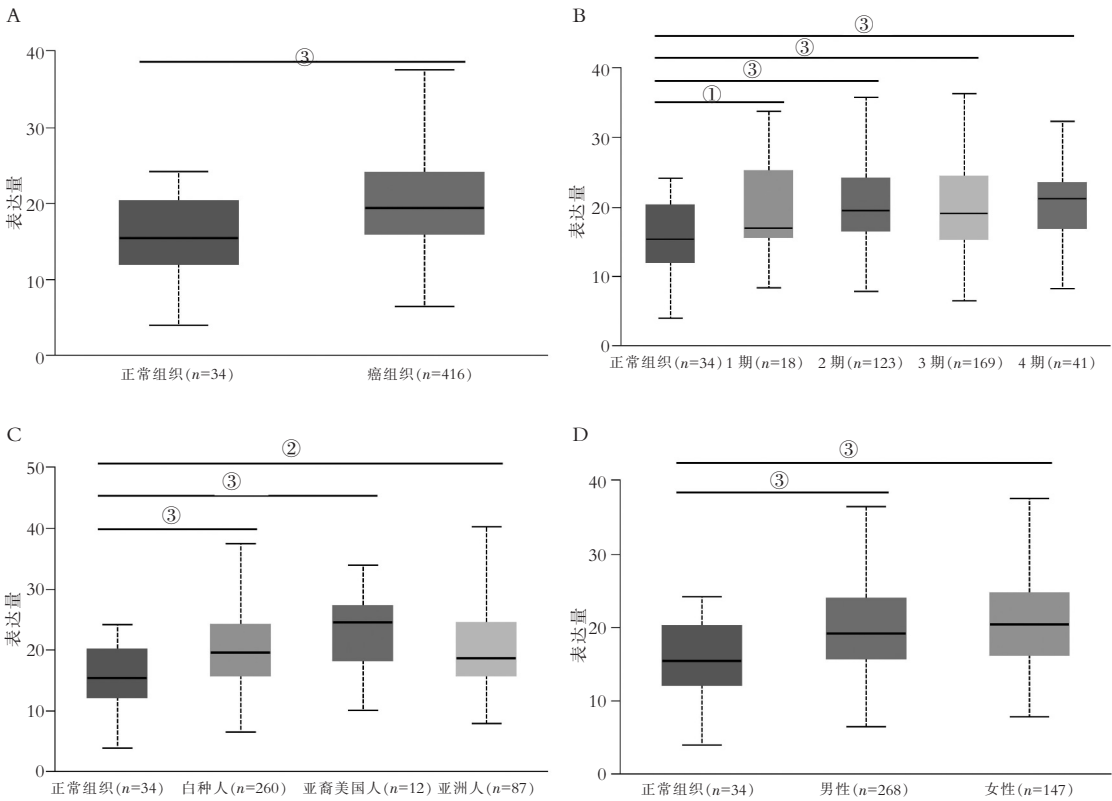
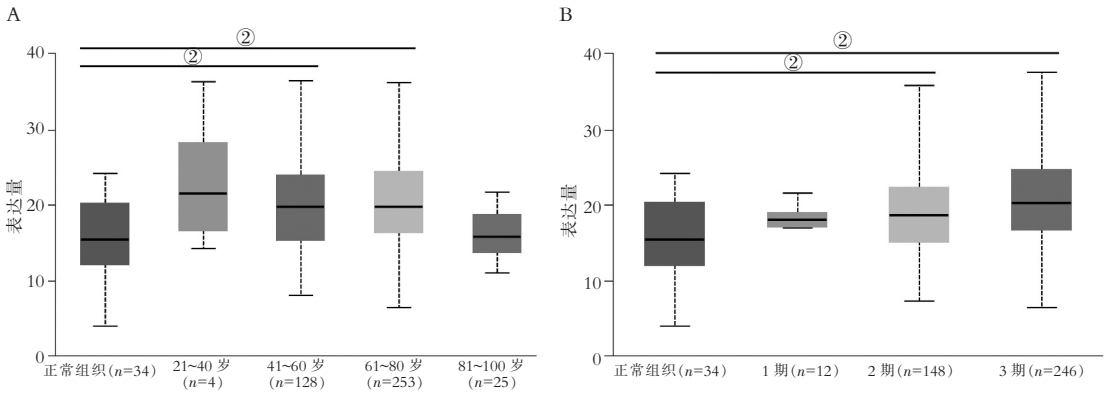


图 1 TRF2 在胃癌不同组织、肿瘤分期、种族和性别中的表达

A. TRF2 mRNA 在胃癌患者组织中的表达水平;B. TRF2 mRNA 在胃癌不同肿瘤分期患者中的表达水平;C. TRF2 mRNA 在胃癌不同种族患者中的表达水平;D. TRF2 mRNA 在胃癌不同性别患者中的表达水平。① $P<0.05$;② $P<0.01$;③ $P<0.001$ 。



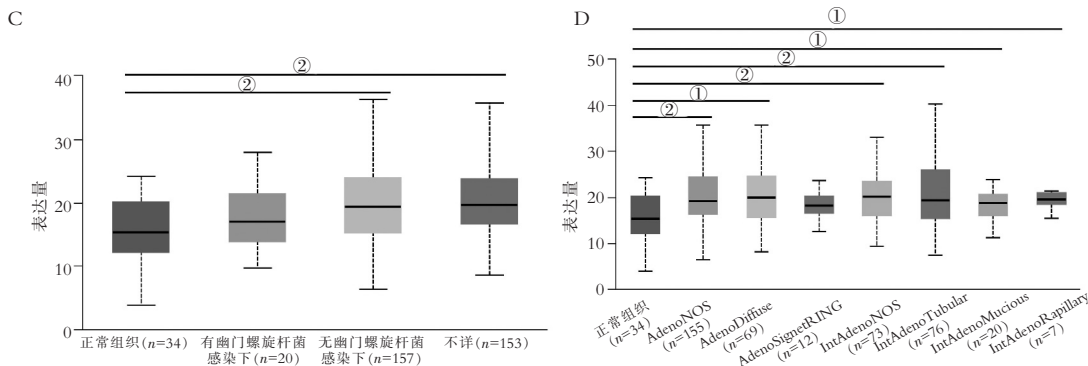


图 2 TRF2 在胃癌不同年龄、肿瘤分级、幽门螺杆菌感染和组织学亚型患者中的表达

A. TRF2 mRNA 在胃癌不同年龄患者中的表达水平;B. TRF2 mRNA 在胃癌不同肿瘤分级患者中的表达水平;C. TRF2 mRNA 在胃癌不同幽门螺杆菌感染患者中的表达水平;D. TRF2 mRNA 在胃癌不同组织学亚型患者中的表达水平。① $P<0.05$;② $P<0.001$ 。

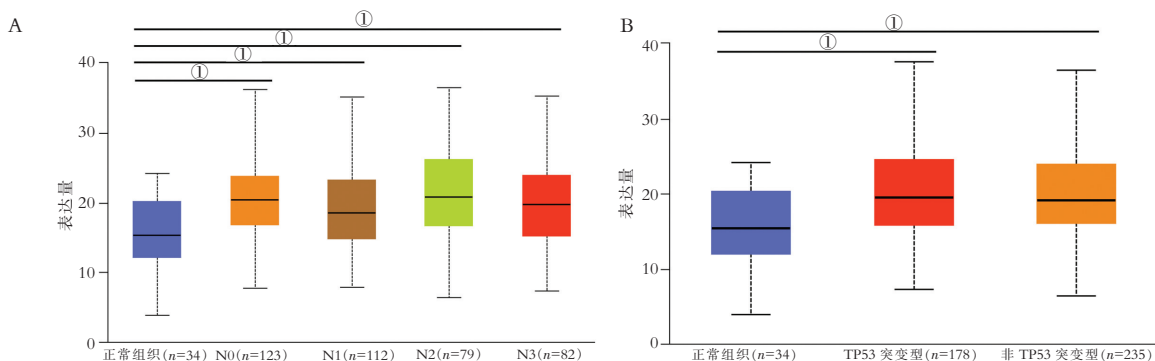


图 3 TRF2 在胃癌不同淋巴结转移和 TP53 突变患者中的表达

A. TRF2 mRNA 在胃癌不同淋巴结转移患者中的表达水平;B. TRF2 mRNA 在胃癌不同 TP53 突变患者中的表达水平。① $P<0.001$ 。

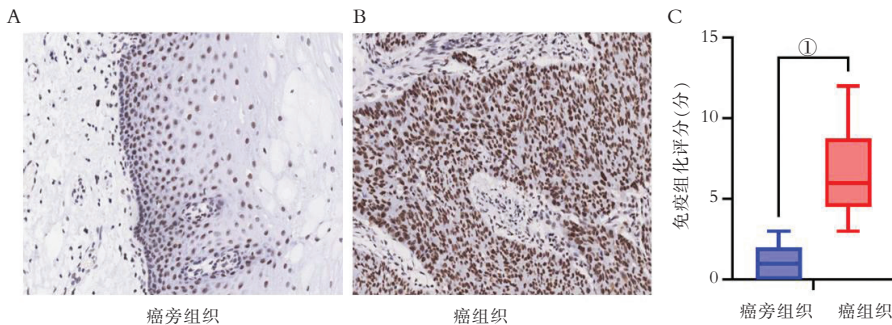


图 4 胃癌不同组织中 TRF2 的表达

A. TRF2 在胃癌患者癌旁组织中表达水平($\times 200$);B. TRF2 在胃癌患者癌组织中表达水平($\times 200$);C. TRF2 在 20 例胃癌患者癌与癌旁组织中表达水平。① $P<0.001$ 。

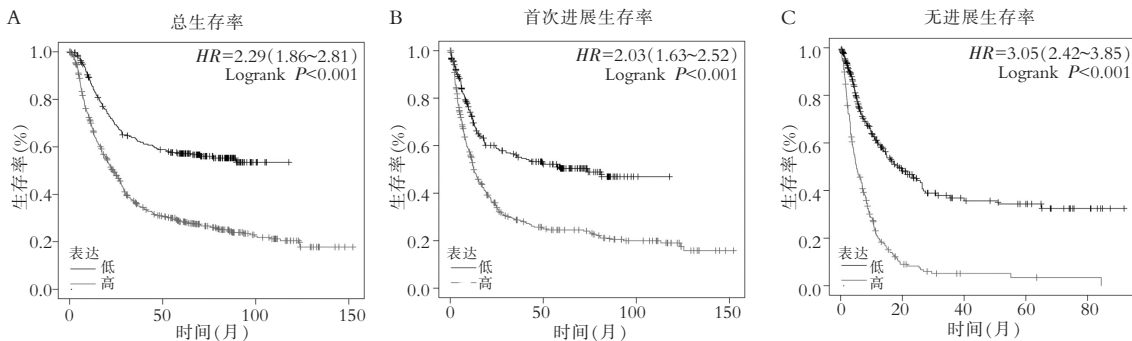


图 5 胃癌患者 TRF2 表达与生存分析

A. TRF2 表达水平与胃癌患者总生存率的相关性;B. TRF2 表达水平与胃癌患者首次进展生存率的相关性;C. TRF2 表达水平与胃癌患者无进展生存率的相关性。

2.3 TRF2 与免疫浸润的相关性

TRF2 mRNA 表达水平与 CD4⁺ T 细胞($COR = 0.262, P < 0.001$)、CD8⁺ T 细胞($COR = 0.228, P < 0.001$)、树突状细胞($OR = 0.24, P < 0.001$)、巨噬细胞($COR = 0.223, P < 0.001$)、中性粒细胞($COR = 0.196, P < 0.001$)相关($P < 0.05$)。通过 GEPIA2 数据库分析,胃癌中 TRF2 的表达水平与免疫标志物的表达水平相关($P < 0.05$),其中中性粒细胞(CD11b/CCR7)、Th2 细胞(GATA3/STAT5A)、耗竭 T 细胞(PD-1(PDCD1)/TIM-3)的表达水平与胃癌中 TRF2 表达水平呈正相关($P < 0.05$),而 B 细胞(CD79A)、CD8⁺ T 细胞(CD8B)、CD8⁺ T 细胞(CD2/CD3E)、中性粒细胞(CD11b/CC66b)、Th2 细胞(STAT6)、Th17 细胞(STAT3/IL17A)、Tfh 细胞(BCL6)的表达水平与胃癌中 TRF2 表达水平负相关($P < 0.05$)。见表 1 及表 2。

表 1 TRF2 表达与免疫浸润细胞的相关性			
免疫细胞	标记基因	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
中性粒细胞	CD66b/ITGAM/CCR7	0.196	<0.001
树突状细胞	CD1C/ITGAX/CD83/HLA-DPB1/HLA-DRA	0.240	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞	CD8A/CD8B/CD27	0.228	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞		0.262	<0.001
巨噬细胞		0.227	<0.001

表 2 GEPIA2 分析中 TRF2 表达与免疫标志物的关系						
免疫标志物	肿瘤组织		正常组织		GTEx	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
CD8 ⁺ T 细胞						
CD8A	0.092	0.069	-0.373	0.027	-0.222	0.004
CD8B	0.119	0.012	-0.452	0.006	-0.230	0.007
T 细胞(general)						
CD2	0.041	0.420	-0.415	0.017	-0.212	0.005
CD3E	0.015	0.763	-0.452	0.006	-0.211	0.004
B 细胞						
CD19	0.593	0.00	-0.314	0.073	-0.023	0.772
CD79A	0.582	0.00	-0.523	0.002	-0.144	0.067
NK 细胞						
KIR2DL1	0.005	0.912	-0.023	0.893	-0.036	0.634
KIR2DL3	0.039	0.438	-0.152	0.388	0.095	0.213
KIR2DL4	-0.079	0.869	-0.368	0.028	-0.018	0.812
KIR3DL1	0.048	0.328	-0.082	0.644	0.075	0.334
KIR3DL2	0.066	0.183	-0.262	0.123	-0.078	0.281
KIR3DL3	0.041	0.414	-0.193	0.269	-0.026	0.732
KIR2DS4	0.011	0.827	-0.023	0.893	0.086	0.264

续表 2

免疫标志物	肿瘤组织		正常组织		GTEx	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
中性粒细胞						
CD66b	0.006	0.913	0.356	0.029	0.001	0.992
CD11b	0.134	0.007	0.423	0.011	0.614	0.123
CCR7	0.114	0.039	-0.256	0.122	0.573	<0.001
Th1						
T-bet	0.096	0.052	-0.193	0.272	-0.097	0.210
STAT4	0.039	0.43	-0.046	0.786	0.005	0.952
TNF-α	-0.037	0.463	-0.281	0.143	0.193	0.013
Th2						
GATA3	0.152	0.003	-0.232	0.181	0.044	0.563
STAT6	0.094	0.058	0.718	<0.001	0.754	0.130
STAT5A	0.348	<0.001	0.812	<0.001	0.933	0.124
IL13	-0.006	0.913	0.156	0.361	0.394	<0.001
Tfh	0.423	0	0.752	<0.001	0.723	0.123
Th17						
STAT3	0.208	<0.001	0.853	<0.001	0.851	0.134
IL17A	-0.071	0.154	-0.433	0.009	-0.066	0.394
T 细胞耗竭						
PD-1(PDCD1)	0.292	<0.001	-0.273	0.117	-0.015	0.843
CTLA4	0.113	0.023	-0.323	0.081	-0.057	0.452
LAG3	0.016	0.744	-0.262	0.133	0.534	<0.001
TIM-3	0.181	0.001	0.003	0.994	0.652	0.143
肥大细胞						
TPSB2	-0.067	0.176	-0.253	0.132	0.172	0.002
TPSAB1	-0.042	0.392	-0.293	0.085	0.221	0.004
CPA3	0.0053	0.910	-0.132	0.462	0.273	0.001
MSI42	0.025	0.611	0.097	0.572	0.021	0.778
HDC	0.005	0.922	-0.154	0.393	-0.091	0.233

GTEx 为基因型组织表达数据。

2.4 TRF2 相关基因的功能

cBioPortal 和 LinkedOmics 获得两个 TRF2 表达相关基因集;利用维恩法对两个基因集取交集,得到 1 579 个基因。将 TRF2 及其相关基因导入 DAVID 进行功能分析,发现这些基因主要参与 DNA 复制转录、蛋白质转运、蛋白质糖基化、Notch 信号通路和肿瘤发生等 64 个生物过程,主要位于细胞核、细胞溶质、高尔基体、细胞结与蛋白质复合体等 21 个细胞系组分中,主要参与蛋白质结合、金属离子(锌)结合、DNA 结合、核酸结合与调控 DNA 结合转录因子活性等 21 个分子功能。KEGG 通路富集分析发现,这些基因主要富集在局灶性黏附、钙信号通路、嘌呤代谢、甲状腺激素信号通路、FoxO 信号通路等通路等 18 个通路中。见图 6 及表 3。

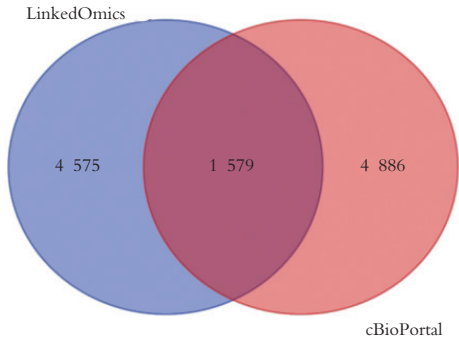


图 6 TRF2 表达基因维恩图

表 3 TRF2 及其表达相关基因 GO 和 KEGG 分析

ID	类别	功能注释	基因数	P 值
GO:0003676	MF	Nucleic acid binding	121	<0.001
GO:0005515	MF	protein binding	799	<0.001
GO:0046872	MF	metal ion binding	217	<0.001
GO:0031681	MF	G-protein beta-subunit binding	5	0.004
GO:0008022	MF	protein C-terminus binding	26	0.007
GO:0003677	MF	DNA binding	165	0.008
GO:0005622	CC	intracellular	155	<0.001
GO:0005634	CC	nucleus	504	<0.001
GO:0033290	CC	eukaryotic 48S preinitiation complex	6	0.005
GO:0016282	CC	eukaryotic 43S preinitiation complex	6	0.005
GO:0030054	CC	cell junction	53	0.008
GO:0005852	CC	eukaryotic translation initiation factor 3 complex	6	0.009
GO:0006351	BP	transcription, DNA-templated	222	<0.001
GO:0006355	BP	regulation of transcription, DNA-templated	165	<0.001
GO:0032880	BP	regulation of protein localization	13	<0.001
GO:0016192	BP	vesicle-mediated transport	24	0.003
GO:0035914	BP	skeletal muscle cell differentiation	11	0.006
GO:0009143	BP	nucleoside triphosphate catabolic process	4	0.009
hsa04960	KEGG	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	11	<0.001
hsa04919	KEGG	Thyroid hormone signaling pathway	20	0.002
hsa04668	KEGG	TNF signaling pathway	17	0.009
hsa04510	KEGG	Focal adhesion	27	0.011
hsa04020	KEGG	Calcium signaling pathway	24	0.013
hsa04664	KEGG	Fc epsilon RI signaling pathway	12	0.016
hsa04068	KEGG	FoxO signaling pathway	19	0.017
hsa00230	KEGG	Purine metabolism	23	0.020
hsa04722	KEGG	Neurotrophin signaling pathway	17	0.026
hsa04370	KEGG	VEGF signaling pathway	10	0.048

2.5 药物基因相互作用

CTD 数据库结果发现候选小分子药物为马兜铃酸 I、三氧化二砷、β-甲基胆碱等 22 种。Sym-Map 数据库发现靶点 TRF2 相关中药及功效,有统计意义有中药 5 味,包括川楝子、川乌、党参、广金钱草和救必应,功效分别为理气、风湿散寒、补气、利水渗湿与清热解毒等。见表 4 及表 5。

表 4 CTD 数据库筛选出的 22 种小分子化合物

序号	化学 ID	化学名	PMIDs
1	C000228	Aristolochic acid I(马兜铃酸 I)	33212167
2	D001151	Arsenic(三氧化二砷)	25460668
3	C044887	Beta-methylcholine(β-甲基胆碱)	21179406
4	D002392	Catechin(儿茶酸)	24763279
5	D002945	Cisplatin(顺铂)	21858171
6	D019327	Copper Sulfate(硫酸铜)	19549813
7	D004121	Dimethyl Sulfoxide(二甲亚砜)	26330309
8	D004317	Doxorubicin(阿霉素)	29803840
9	D005472	Fluorouracil(氟脲嘧啶)	15585135 16803524
10	D005557	Formaldehyde(甲醛)	20655997
11	D019344	Lactic Acid(乳酸)	30851411
12	D007854	Lead(蓝色菱形药片)	19921347
13	D019800	Phenol(苯酚)	17547211
14	C006253	Pirinixic acid(吡啉酸)	19710929
15	D010894	Piroxicam(吡罗昔康)	21858171
16	C000622638	TAK-243(泛素激活酶抑制剂)	31285264
17	D013755	Tetradecanoylphorbol Acetate (十四酰基佛波酯)	26330309
18	D014212	Tretinoin(维甲酸)	26330309
19	D014635	Valproic Acid(丙戊酸)	23179753 27188386
20	C034028	Vanadyl sulfate(硫酸矾)	16330358
21	C014024	2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (2,3,3',4,4',5'-六氯联苯)	26330309
22	C023035	3,4,5,3',4',5'-pentachlorobiphenyl (2,3,3',5,6-五氯联苯)	26330309

表 5 针对 TRF2 的治疗胃癌的潜在中药

序号	ID 号	中药	拉丁名	英文名	药方	P 值
1	SMHB00072	川楝子	Toosendan Fructus	Szechwan Chiberry Fruit	理气药	0.010
2	SMHB00076	川乌	Aconiti Radix	Root of Common Monkshood	祛风湿散寒药	0.017
3	SMHB00096	党参	Codonopsis Radix	Root Pilose Asiabell	补气药	0.022
4	SMHB00521	广金钱草	Desmodii Styracifolii Herba	None	利水渗湿药	0.005
5	SMHB00650	救必应	Ilicis Rotundae Cortex	None	清热解毒药	0.006

3 讨论

胃癌是一种多因素疾病,环境和遗传因素都会对其发生和发展产生影响^[6]。TRF2 与 TRF1, Rap1, TIN2, POT1, ACD 基因形成蛋白质复合体保

护端粒 DNA 并维持其长度;TRF2 还能通过影响癌细胞分泌血管内皮生长因子 A(VEGF-A)的水平,促进内皮细胞分化和血管生成^[7]。TRF2 的促血管生成作用独立于其在端粒封端中的作用;此外 TRF2 还能主动抑制共济失调毛细血管扩张突变

(ATM)激酶识别端粒末端为 DNA 断裂^[8]。TRF2 在晚期乳腺癌细胞中上调,以努力保护临界短的端粒不被识别为 DNA 损伤反应。如果没有保护帽,端粒很容易受到末端相关染色体畸变的影响,导致生长停滞,甚至可能导致细胞死亡^[9]。此外,在人脑星形胶质瘤中,TRF2 的上调发生在癌变的早期阶段,决定了端粒的缩短和基因组的不稳定性^[10]。有研究^[11-13]报道,TRF2 在直肠癌、乳腺癌与低级别星形细胞瘤等癌组织中也高表达,且参与调节端粒完整性,TRF2 高表达与肺癌的肿瘤分级低相关,提示 TRF2 在肿瘤进展过程中具有保护作用。本研究发现,TRF2 在胃癌组织中表达高于癌旁组织($P < 0.05$);TRF2 表达水平与胃癌患者的年龄、性别、种族、肿瘤分期等临床病理参数相关($P < 0.05$),说明 TRF2 可能参与胃癌的发生发展过程,并在胃癌组织发生和发展中起着重要作用。在浸润性宫颈癌中 TRF2 的高表达与端粒短小负相关。TRF2 的表达与宫颈癌细胞凋亡有关,TRF2 高表达或低表达肿瘤患者的存活率存在明显差异^[14]。本研究 TRF2 基因表达水平与胃癌患者总生存率、首次进展生存率和无进展生存率相关($P < 0.05$),提示 TRF2 在胃癌组织中的表达可作为潜在的肿瘤标志物,其对临床诊疗中的预后判断具有重要指导意义。

TRF2 在肿瘤微环境和免疫应答中的重要作用。TRF2 表达上调后肿瘤细胞会招募和激活骨髓来源的抑制性细胞,通过抑制 NK 和 T 细胞反应,作为免疫反应的一般抑制者,从而在癌症相关的端粒修饰和免疫抑制的肿瘤微环境之间建立直接联系^[15]。在免疫缺陷裸鼠模型中,TRF2 可正向调控硫酸乙酰肝素(氨基葡萄糖)3-O-磺基转移酶 4 的基因,并抑制 NK 细胞的聚集^[16]。TRF2 可通过衰老相关分泌表型组间接聚集巨噬细胞和淋巴细胞^[17]。本研究发现,TRF2 的表达与 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、树突状细胞等免疫细胞的丰度相关($P < 0.05$)。TRF2 表达水平与中性粒细胞中的 CD11b/CCR7、Th2 细胞中的 GATA3/STAT5A、CD8⁺T 细胞中的 CD2/CD3E 等免疫标志物的表达水平也具有潜在相关性,暗示了 TRF2 在胃癌微环境中可能起免疫逃逸作用。

本研究对 TRF2 及其相关基因进行功能富集分析发现,其主要参与 RNA 转录、转录调控等生物过程,且主要富集在 DNA 代谢、Notch 信号通路、VEGF 信号通路、肿瘤发生等。TRF2 不仅是一种端粒保护蛋白,还能够独立于端粒之外抑制 DNA 损伤反应,DNA 损伤会瞬时增加 TRF2 的表达,TRF2 通过形成 T 环保护端粒免受 ATM 激酶的识

别,从而保护了基因的完整性。其次,PZG 能够编码 TRF2/DREF 复合体,可能是 Notch 信号的正向调节因子,与 TRF2/DREF 复合体一同直接激活转录发挥作用^[18]。TRF2 正向调节 SULF2 表达,促进肿瘤微环境中 VEGF-A 的释放和活性。TRF2 能通过 VEGF-A 干扰内皮细胞(ECs)的增殖、迁移和血管生成反应。TRF2 能够刺激内皮细胞迁移、增殖和管状形成,从而促进肿瘤血管的生成^[19]。

目前治疗胃癌的技术多为化疗、放射治疗或手术,然而都有一些副作用和毒性。因此,开发特异性强的靶向药物具有重要价值^[20]。本研究发现共有 22 种有效的药物小分子可作用于靶基因 TRF2,其中十四酰基佛波酯作为 PKC 激活剂抑制 shelterin 的表达,从达到抑癌的作用^[21]。SymMap 分析发现 5 种针对靶基因 TRF2 的中药药材,且均有一定的抑癌作用,可能在肿瘤治疗中具有良好的前景。盐酸乙酰半胱氨酸(AHH)是从川乌提取的小分子,AHH 对人类 ether-a-go-go 相关基因(HERG)介导的快速延迟整流钾电流有抑制作用,进而影响肿瘤侵袭。川乌不仅对多种肿瘤细胞具有抑制生长或转移作用,同时具有逆转肿瘤细胞耐药的优势^[22-24]。川芎和异刺五加是从川楝子中分离得到的两种天然三萜类化合物。研究^[25]表明天然化合物川芎和异刺五加通过诱导坏死、凋亡和自噬来抑制三阴性乳腺癌生长。另外,川楝子中的川楝果乙醇提取物(EMTF)在体内外对肝癌具有抑制作用^[26]。Lo-betyolin(LBT)是一种从党参的根中分离出来的聚乙炔糖苷。研究^[27]发现 LBT 能够下调谷氨酰胺代谢,有助于药物诱导的细胞凋亡和肿瘤生长抑制。

综上,TRF2 在胃癌中高表达,且与胃癌患者预后不良和免疫浸润相关,通过生物信息学方法预测出的 TRF2 靶向药可能成为治疗胃癌的潜在药物。

参考文献

- [1] Johnston FM, Beckman M. Updates on management of gastric cancer[J]. Current Oncology Reports, 2019, 21(8): 67.
- [2] Sexton RE, Al Hallak MN, Diab M, et al. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies[J]. Cancer Metastasis Reviews, 2020, 39(4): 1179-1203.
- [3] Imran SAM, Yazid MD, Cui W, et al. The intra- and extra-telomeric role of TRF2 in the DNA damage response[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(18): 9900.
- [4] Markiewicz-Potoczny M, Lobanova A, Loeb AM, et al. TRF2-mediated telomere protection is dispensable in pluripotent stem cells[J]. Nature, 2021, 589(7840): 110-115.
- [5] Wang Z, Wu X. Abnormal function of telomere protein TRF2 induces cell mutation and the effects of environmental tumor-promoting factors[J]. Oncology Reports, 2021, 46(2): 184.

- [6] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, *et al.* Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11): 4012.
- [7] Zizza P, Dinami R, Porru M, *et al.* TRF2 positively regulates SULF2 expression increasing VEGF-A release and activity in tumor microenvironment[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(7): 3365—3382.
- [8] Ying Y, Hu X, Han P, *et al.* The non-telomeric evolutionary trajectory of TRF2 in zebrafish reveals its specific roles in neurodevelopment and aging[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(4): 2081—2095.
- [9] Nijjar T, Bassett E, Garbe J, *et al.* Accumulation and altered localization of telomere-associated protein TRF2 in immortally transformed and tumor-derived human breast cells[J]. Oncogene, 2005, 24(20): 3369—3376.
- [10] Latorre D, Conti A, Aguenouz MH, *et al.* Telomere length modulation in human astroglial brain tumors[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64296.
- [11] Dinami R, Petti E, Porru M, *et al.* TRF2 cooperates with CTCF for controlling the oncomiR-193b-3p in colorectal cancer[J]. Cancer Letters, 2022, 533: 215607.
- [12] Dinami R, Pompili L, Petti E, *et al.* MiR-182-3p targets TRF2 and impairs tumor growth of triple-negative breast cancer[J]. EMBO Molecular Medicine, 2023, 15(1): e16033.
- [13] Zhang JM, Genois MM, Ouyang J, *et al.* Alternative lengthening of telomeres is a self-perpetuating process in ALT-associated PML bodies [J]. Molecular Cell, 2021, 81(5): 1027—1042. e4.
- [14] Ozden S, Tiber PM, Ozgen Z, *et al.* Expression of TRF2 and its prognostic relevance in advanced stage cervical cancer patients [J]. Biological Research, 2014, 47(1): 61.
- [15] Cherfils-Vicini J, Iltis C, Cervera L, *et al.* Cancer cells induce immune escape via glyocalyx changes controlled by the telomeric protein TRF2[J]. The EMBO Journal, 2019, 38(11): e100012.
- [16] Biroccio A, Cherfils-Vicini J, Augereau A, *et al.* TRF2 inhibits a cell-extrinsic pathway through which natural killer cells eliminate cancer cells [J]. Nature Cell Biology, 2013, 15(7): 818—828.
- [17] Uryga AK, Grootaert MOJ, Garrido AM, *et al.* Telomere damage promotes vascular smooth muscle cell senescence and immune cell recruitment after vessel injury[J]. Communications Biology, 2021, 4(1): 611.
- [18] Zimmermann M, Kugler SJ, Schulz A, *et al.* Loss of putzig activity results in apoptosis during wing imaginal development in Drosophila[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124652.
- [19] El Mai M, Janho Dit Hreich S, Gaggioli C, *et al.* A novel screen for expression regulators of the telomeric protein TRF2 identified small molecules that impair TRF2 dependent immunosuppression and tumor growth[J]. Cancers, 2021, 13(12): 2998.
- [20] Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. CA, 2021, 71(3): 264—279.
- [21] Luo Z, Liu W, Sun P, *et al.* Pan-cancer analyses reveal regulation and clinical outcome association of the shelterin complex in cancer [J]. Briefings in Bioinformatics, 2021, 22(5): bbaa441.
- [22] He S, Moutaoufik MT, Islam S, *et al.* HERG channel and cancer: a mechanistic review of carcinogenic processes and therapeutic potential[J]. Biochimica et Biophysica Acta Reviews on Cancer, 2020, 1873(2): 188355.
- [23] Jin X, Cheng J, Zhang Q, *et al.* Aconitine - A promising candidate for treating cold and mechanical allodynia in cancer induced bone pain [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 161: 114284.
- [24] 周长凯, 高静, 付蕾, 等. 川乌抗肿瘤作用研究进展及可行性分析[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(12): 179—182.
- [25] Zhang J, Yang F, Mei X, *et al.* Toosendanin and isotoosendanin suppress triple-negative breast cancer growth via inducing necrosis, apoptosis and autophagy[J]. Chemico-Biological Interactions, 2022, 351: 109739.
- [26] Bailly C. Anticancer properties of lobetyolin, an essential component of Radix codonopsis (Dangshen)[J]. Natural Products and Bioprospecting, 2021, 11(2): 143—153.
- [27] 章甜, 贾思静, 孙冬雪, 等. 药对“川楝子-延胡索”治疗肝癌的网络药理学研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(9): 2136—2143.

(收稿日期: 2025—05—10

修回日期: 2025—07—12)