

· 基础研究 ·

丁酰胆碱酯酶在胃癌中的预后价值及其生物学功能分析

何继凯¹, 瞿文豪², 贾佳琦¹, 杨小兵³, 王彬³, 贾立周², 黄衍强¹, 赵薇^{3*}¹右江民族医学院研究生院, 广西 百色 533000; ²巴彦淖尔市医院中心实验室, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; ³南京医科大学附属南京医院病理科, 江苏 南京 210006

[摘要] 目的: 探究丁酰胆碱酯酶(betylcholinesterase, BCHE)在胃癌(gastric cancer, GC)中的预后价值, 验证和分析BCHE对胃癌细胞生物学功能的影响。方法: 采用Lasso回归法筛选预后基因, 并利用卡方检验验证BCHE表达水平与临床病理参数之间的关系; 利用TIMER2.0数据库和CIBERSORT算法研究BCHE和免疫细胞浸润之间的相关性, WGCNA算法和DAVID Bioinformatics Resources数据库进行富集分析; qRT-PCR检测正常人胃上皮细胞系(GES-1)及人胃癌细胞系(HGC27和MKN1)中BCHE的表达情况; 在HGC27和MKN1细胞系中瞬时转染小干扰RNA敲减BCHE后, 利用CCK-8和克隆形成实验检测细胞增殖能力, 黏附实验检测细胞黏附能力, Transwell和划痕实验检测细胞迁移、侵袭能力等功能变化情况。结果: 利用Lasso回归分析筛选出15个与GC患者预后相关的基因, 其中BCHE具有最佳的预测价值; 进一步分析表明BCHE在胃癌组织中的表达水平显著高于其在癌旁组织中的表达水平, 且BCHE在肿瘤细胞中的表达与免疫细胞浸润密切相关。富集分析结果显示BCHE高表达与细胞增殖、细胞迁移和细胞黏附等有关。体外实验进一步证实降低BCHE的表达显著抑制胃癌细胞系的恶性生物学功能。结论: BCHE可作为GC的预后生物标志物, 且可促进肿瘤内免疫细胞浸润; 此外, 降低BCHE表达可抑制其介导的恶性生物学功能。

[关键词] BCHE; 胃癌; 预后; 肿瘤浸润免疫细胞**[中图分类号]** R735.2**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2023)10-1356-10**doi:** 10.7655/NYDXBNS20231004

The prognostic value and biological functions of butyrylcholinesterase in gastric cancer

HE Jikai¹, QU Wenhao², JIA Jiaqi¹, YANG Xiaobing³, WANG Bin³, JIA Lizhou², HUANG Yanqiang¹, ZHAO Wei^{3*}¹Graduate School of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000; ²Central Laboratory, Bayannur Hospital, Bayannur 015000; ³Department of Pathology, the Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to explore the prognostic value of butyrylcholinesterase (BCHE) in gastric cancer (GC) and analyze its impact on the biological functions of gastric cancer cells. **Methods:** Firstly, Lasso regression method was used to screen prognostic genes, and the relationships between BCHE expression levels and clinical pathological parameters were verified using chi-square test. In addition, TIMER 2.0 database and CIBERSORT algorithm were utilized to investigate the correlation between BCHE and immune cell infiltration, and enrichment analysis was performed using WGCNA algorithm and DAVID Bioinformatics Resources database. Finally, the expression levels of BCHE in normal gastric epithelial cell line (GES-1) and gastric cancer cell lines (HGC27 and MKN1) were detected by real-time qPCR. Following transient transfection of small interfering RNA was conducted to knockdown the expression of BCHE in HGC27 and MKN1 cell lines. Cell proliferation was detected by CCK-8 and colony formation assay. Cell adhesion ability was detected by adhesion assay. Cell migration and invasion were detected by transwell and scratch assay. **Results:** Fifteen genes related to the prognosis of GC patients were screened out using Lasso regression analysis. Among them, BCHE has the best predictive value. Further analysis indicated that the expression level of BCHE in GC tissues was higher than those in the adjacent tissues or healthy controls, while the expression of BCHE in tumor cells was closely related to immune cell infiltration related

[基金项目] 国家自然科学基金(82273196)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhaowei_njmu@163.com.

molecules. Enrichment analysis showed that the high expression of BCHE was related to cell proliferation, migration and adhesion. The results of *in vitro* experiments further confirmed that reducing the expression of BCHE significantly inhibited the malignant biological function of gastric cancer cell line. **Conclusion:** BCHE serve as a prognostic biomarker for GC and can promote immune cell infiltration in tumors. In addition, reducing the expression of BCHE can inhibit its mediated malignant biological function.

[Key words] BCHE; gastric cancer; prognosis; tumor-infiltrating immune cell

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(10): 1356-1365]

GC(gastric cancer, GC)是全球第5大癌症,死亡率居全球第4位^[1-2]。目前,GC的治疗方法主要包括手术、放疗和化疗,但术后局部复发或远处转移的发生率超过40%^[3]。此外,放疗和化疗后会出现明显的不良反应,导致晚期GC患者的5年生存率仅约20%^[4-5]。因此,寻找GC新的治疗和预后靶点以提高患者的生存率,已成为一项迫切的公共卫生问题。

为筛选出与GC预后相关的基因,本研究采用多种分析方法发现,在GC中丁酰胆碱酯酶(betylcholinesterase, BCHE)具有良好的预后价值。BCHE是一种由肝脏合成并分泌到血液中的血浆酶,主要表达于外泌体和内质网^[6],其半衰期约为12 d,参考值为5 900~13 200 U/L^[7-8]。研究表明,口腔癌和乳腺癌患者血清中BCHE的表达水平明显升高^[9-10]。然而,BCHE基因在GC中的表达水平、调控机制,以及与临床治疗和预后的相关性仍不清楚。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究的GC患者临床病理信息和基因转录组数据都来源于UCSC Xena数据库的肿瘤基因组图谱(TCGA)^[11]。

人GC细胞系HGC27、MKN1和人正常胃上皮细胞系GES-1(武汉普诺赛生命科技有限公司)。qRT-PCR试剂(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)(上海吉玛制药技术有限公司);Lipo6000、CCK-8试剂(上海碧云天生物公司);基质凝胶(厦门模基生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 生信数据处理

首先使用Lasso回归筛选预后基因^[12],并采用Kaplan-Meier生存曲线和单因素、多因素Cox回归分析BCHE基因表达在GC中的预后价值;其次采用卡方检验验证BCHE mRNA与临床病理参数之间的关

系,使用TIMER2.0数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)^[13]和CIBERSORT算法研究BCHE和免疫细胞浸润之间相关性,此外,利用WGCNA算法和DAVID Bioinformatics Resources数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)^[14]对BCHE基因进行Gene Ontology(GO)和Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)分析。

1.2.2 qRT-PCR

使用细胞RNA提取试剂盒提取人GC细胞HGC27、MKN1和人正常胃上皮细胞GES-1的RNA,再用逆转录试剂将RNA逆转录成cDNA,以GAPDH作为内参对BCHE进行qRT-PCR扩增。BCHE R:5'-TGTTGCAGAGAATCGGAAATCAA-3', F:5'-CCCA-ATAAGCATGCAGAGCA-3'。GAPDH R:5'-GAAG-GTGAAGGTCGGAGTC-3', F:5'-GGCTGTTGTCAT-ACTTCTCATGG-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。

1.2.3 细胞转染

利用siRNA靶向敲减BCHE基因。将细胞分为对照组、空载组(si-NC)和实验组(si-BCHE),收集处理后的HGC27和MKN1细胞,并配制成 2×10^5 个/mL的细胞悬液,铺入6孔板中,每孔2 mL。培养24 h后,每孔滴加7.5 μ L Lipo6000和7.5 μ L siRNA,在培养箱中培养48 h后进行下一步实验。

1.2.4 CCK-8和克隆形成实验

CCK-8实验:收集处理后的HGC27和MKN1细胞,并配制成 2×10^4 个/mL的细胞悬液,铺入96孔板中,每孔100 μ L,分别在24、48、72、96 h后加入10 μ L CCK-8试剂,在37 $^{\circ}$ C下孵育2 h后检测450 nm的吸光度值。克隆形成实验:收集处理后的HGC27和MKN1细胞,并配制成 1×10^3 个/mL的细胞悬液,铺入6孔板中,每孔1 mL,观察到克隆体的外观后使用甲醛固定细胞,再用1%结晶紫对细胞进行染色,最后PBS洗涤3次并拍照。

1.2.5 细胞黏附实验

96孔板每孔加入100 μ L的1:4基质凝胶,凝胶

凝固后,收集处理过的 HGC27 和 MKN1 细胞,并配制成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液,铺入 96 孔板中,每孔 100 μ L,随后置于细胞培养箱中孵育 2、4 和 8 h, PBS 洗涤 3 次后,更换新的培养基后进行 CCK-8 检测。

1.2.6 迁移和侵袭实验

迁移实验:收集处理后的 HGC27 和 MKN1 细胞,并配制成 2×10^5 个/mL 的细胞悬液,铺入 6 孔板中,每孔 2 mL,24 h 后使用灭菌的 200 μ L 枪头垂直于 6 孔板底部横线划线,更换无血清培养基,分别在 0、12、24 h 后使用荧光倒置显微镜拍照。**侵袭实验:**收集处理后的 HGC27 和 MKN1 细胞,并配制成 1×10^6 个/mL 的无血清细胞悬液,将细胞加入铺有 1:8 基质凝胶的 Transwell 上层小室中,每孔 100 μ L。小室的底部加入 500 μ L 20% 的血清培养基。培养 48 h 后,使用甲醛固定细胞,再用 0.1% 结晶紫对细胞进行染色,最后 PBS 洗涤 3 次并拍照。

1.3 统计学方法

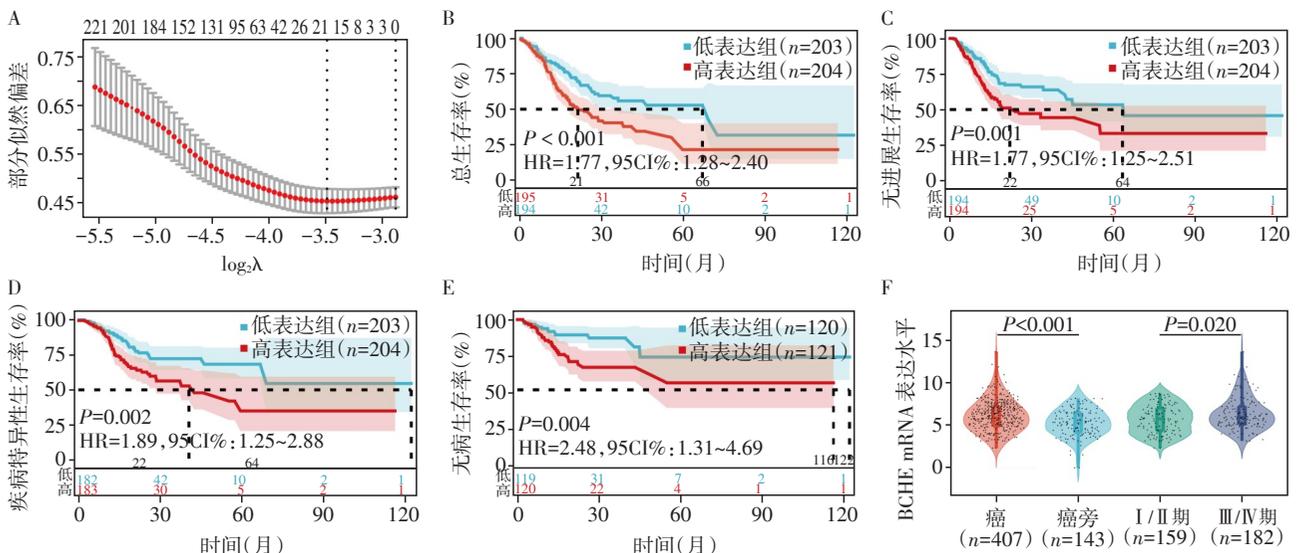
所有统计分析都使用 R 软件(4.1.2 版本)和 GraphPad Prism 8 进行,符合正态分布的数据资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。根据中位数将 BCHE mRNA 在 GC 组织中的表达水平分为高表达组和低表达组^[15-18]。生存分析采用 Kaplan-Meier 法并进行 log-rank 检验。使用 R 包“forestplot”进行单因素和多因素 Cox

回归分析,并将单因素分析中差异具有统计学意义($P < 0.05$)的变量纳入多因素分析。BCHE 表达高低与临床病理参数的关系采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,每组实验重复 3 次。

2 结果

2.1 BCHE 与 GC 患者预后及临床病理参数的关联性分析

首先通过 Lasso 回归分析筛选出 15 个与 GC 患者总生存期(overall survival, OS)有关的基因: BCHE、GPX3、ADAMTS18、ASPA、CD36、SERPINE1、CYP19A1、LRAT、CGB5、ANO3、SOX14、CYMP、CFHR4、F13B 和 OTX2(图 1A);其次,根据生存曲线分析筛选出影响预后差异最显著的基因 BCHE($P < 0.001$,图 1B),且发现 BCHE mRNA 高表达的 GC 患者无进展生存期($P=0.001$)、疾病特异性生存期($P=0.002$)和无病生存期($P=0.004$)更短(图 1C~E)。进一步分析发现,BCHE mRNA 在肿瘤组织中的表达水平高于癌旁组织($P < 0.001$),同时 BCHE mRNA 在晚期 GC(III/IV 期)患者中的表达水平高于早期 GC(I/II 期)患者($P=0.020$,图 1F)。根据 BCHE mRNA 在 GC 组织中表达水平的中位数将患者分为高表达组和低表达组,分析 BCHE mRNA 的表达与 GC 患者临床病理学参数之间的关系。结果表明,BCHE mRNA 的高表达与 T 分期($P=0.029$)、



A: Lasso 回归模型筛选 GC 预后相关基因; B: 生存曲线分析 BCHE 表达与 GC 患者的总生存期情况; C: 生存曲线分析 BCHE 表达与 GC 患者疾病无进展生存期情况; D: 生存曲线分析 BCHE 表达与 GC 患者疾病特异性生存期情况; E: 生存曲线分析 BCHE 表达与 GC 患者无病生存期情况; F: BCHE mRNA 在癌/癌旁组织和早期(I/II)/晚期(III/IV)GC 患者癌组织中的表达水平。

图1 BCHE mRNA 在 GC 中的表达水平及相关生存分析

Figure 1 The expression of BCHE mRNA and related survival analysis in GC

TNM分期($P=0.035$)、肿瘤类型($P < 0.001$)、肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)($P < 0.001$)、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)($P < 0.001$)等临床病理参数相关(表1)。此外,单因素分析结果显示 BCHE mRNA 的表达水平($P < 0.001$)、年龄($P=0.010$)、T分期($P=0.002$)、M分期($P=0.002$)、

N分期($P=0.002$)、TNM分期($P < 0.001$)和肿瘤类型($P=0.030$)与GC患者预后有关。将单因素分析中有统计学意义的临床因素和BCHE表达水平因素一并纳入多因素分析,结果表明 BCHE mRNA 的表达水平($P=0.006$)、年龄($P=0.025$)和M分期($P=0.019$)均是GC患者的独立预后因素(表2)。

表1 BCHE mRNA与GC患者临床病理参数的关系

Table 1 The relationship of BCHE mRNA with clinical features

病理参数	BCHE高表达组($n=204$)	BCHE低表达组($n=203$)	总计($n=407$)	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	64.69 \pm 10.62	66.42 \pm 10.61	65.55 \pm 10.64	0.104
性别[$n(\%)$]				0.387
女	68(33.33)	77(37.93)	145(35.63)	
男	136(66.67)	126(62.07)	262(64.37)	
T分期[$n(\%)$]				0.029
T1/2	41(21.69)	59(32.24)	100(26.88)	
T3/4	148(78.31)	124(67.76)	272(73.12)	
N分期[$n(\%)$]				0.182
N0/1	120(62.50)	109(55.33)	229(58.87)	
N2/3	72(37.50)	88(44.67)	160(41.13)	
M分期[$n(\%)$]				0.235
M0	180(91.84)	183(95.31)	363(93.56)	
M1	16(8.16)	9(4.69)	25(6.44)	
TNM分期[$n(\%)$]				0.035
I/II期	70(40.70)	89(52.66)	159(46.63)	
II/IV期	102(59.30)	80(47.34)	182(53.37)	
肿瘤类型[$n(\%)$]				< 0.001
高/中分化	59(29.65)	95(47.74)	154(38.69)	
低分化	140(70.35)	104(52.26)	244(61.31)	
TMB[$n(\%)$]				< 0.001
高	86(42.79)	116(57.14)	202(50.00)	
低	115(57.21)	87(42.86)	202(50.00)	
MSI[$n(\%)$]				< 0.001
高	81(40.10)	122(60.10)	203(50.12)	
低	121(59.90)	81(39.90)	202(49.88)	

2.2 BCHE表达和免疫细胞浸润的相关性分析

首先,使用CIBERSORT算法研究BCHE mRNA与免疫细胞浸润之间的关系。结果表明,BCHE mRNA高表达与多种免疫细胞浸润相关,包括浆细胞、B细胞、调节性T细胞、NK细胞和巨噬细胞等($P < 0.05$,图2A);进一步通过TIMER2.0数据库研究BCHE mRNA表达与免疫细胞浸润之间的具体相关性。结果表明,在GC中BCHE mRNA的表达与B细胞($r=0.192, P < 0.001$)、单核细胞($r=0.226, P < 0.001$)、巨噬细胞($r=0.169, P < 0.001$)、NK细胞($r=0.137, P=0.008$)、肥大细胞($r=0.432, P < 0.001$)

和癌症相关成纤维细胞(cancer fibroblast, CAF)($r=0.733, P < 0.001$)显著正相关;与CD4⁺T细胞($r=-0.256, P < 0.001$)和CD8⁺T细胞($r=-0.104, P=0.043$)显著负相关(图2B)。

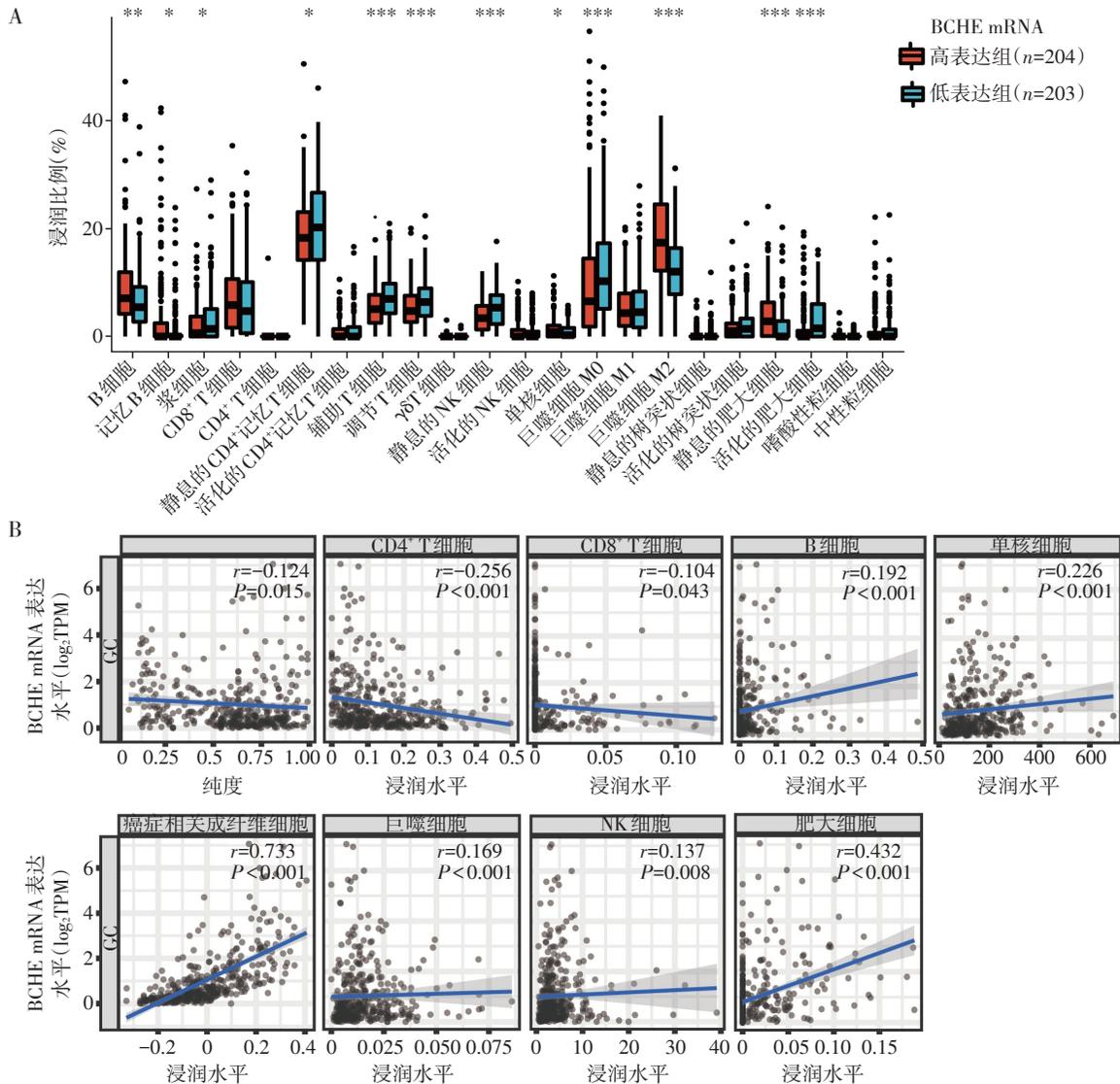
2.3 BCHE基因的富集分析

为了解目的基因BCHE可能存在的生物学功能和信号通路,我们利用WGCNA算法和ESTIMATE算法筛选与BCHE基因相关的共表达基因,选择了与免疫细胞和基质细胞相关性最高的棕色模块(包含了188个与BCHE共表达的基因)(图3A),使用DAVID数据库对这188个基因进行富集分析,GO分

表2 BCHE mRNA及临床病理参数的单因素及多因素Cox回归分析

Table 2 Univariate analysis and multivariate Cox regression analysis of BCHE mRNA and clinical features

病理参数	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值
BCHE mRNA的表达水平(低 vs. 高)	1.81(1.32~2.50)	< 0.001	1.75(1.17~2.62)	0.006
年龄(低 vs. 高)	1.49(1.08~2.04)	0.010	1.54(1.06~2.26)	0.025
性别(男 vs. 女)	0.89(0.63~1.25)	0.500	—	—
T分期(T1/2 vs. T3/4)	1.94(1.27~2.96)	0.002	1.39(0.79~2.46)	0.260
N分期(N0/1 vs. N2/3)	1.68(1.22~2.31)	0.002	1.31(0.81~2.12)	0.280
M分期(M0 vs. M1)	2.41(1.38~4.18)	0.002	2.28(1.14~4.54)	0.019
TNM分期(I+II期 vs. III+IV期)	2.24(1.54~3.26)	< 0.001	1.30(0.73~2.29)	0.371
肿瘤类型(高/中分化 vs. 低分化)	1.47(1.05~2.06)	0.030	1.29(0.86~1.95)	0.220
MSI(低 vs. 高)	0.77(0.56~1.06)	0.100	—	—
TMB(低 vs. 高)	0.76(0.55~1.05)	0.090	—	—



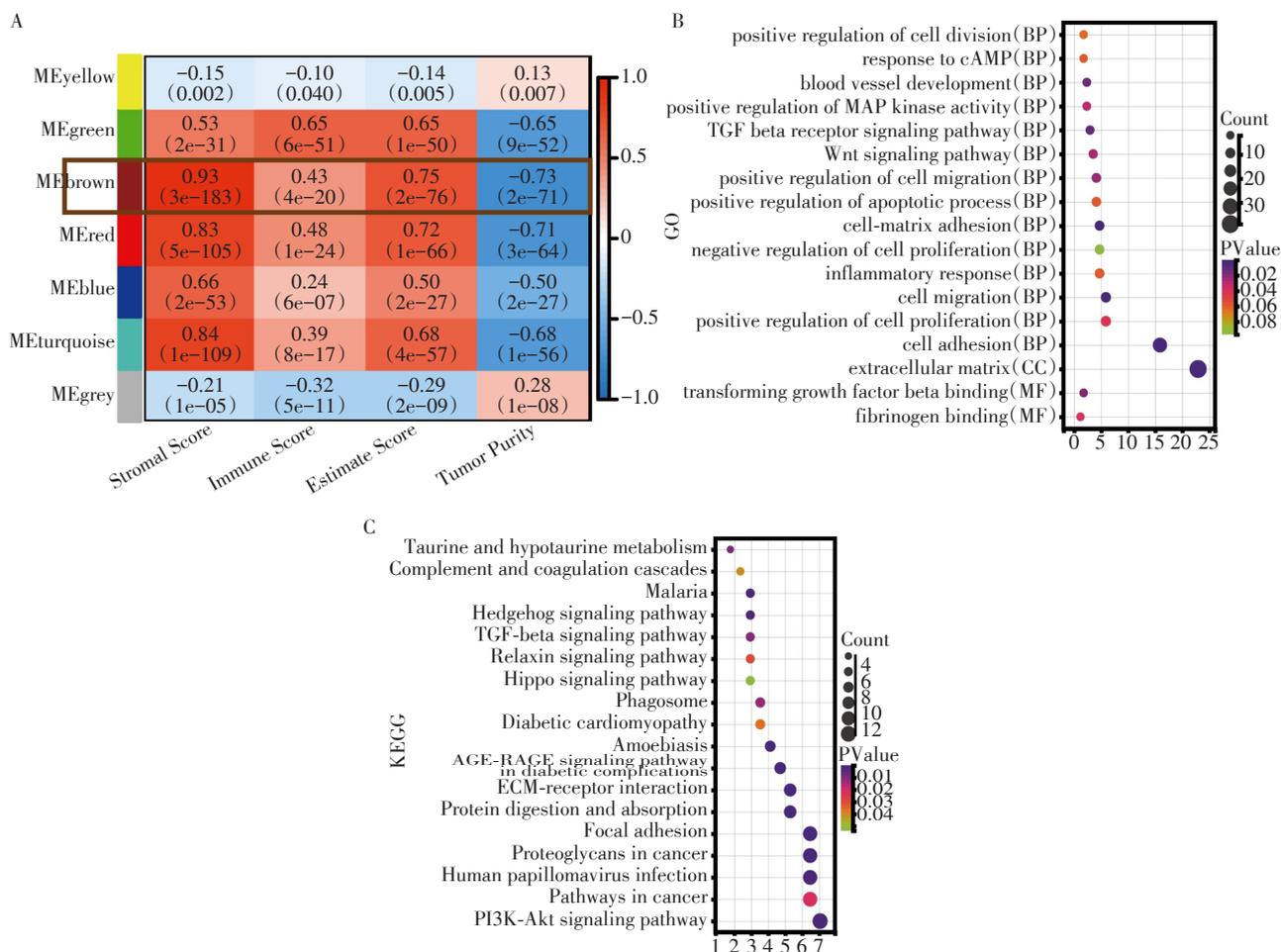
A: BCHE mRNA与免疫细胞浸润的相关性(CIBERSORT); B: 在TIMER2.0数据库中BCHE mRNA与免疫细胞浸润的相关性。

图2 BCHE与免疫细胞浸润的相关性分析

Figure 2 The correlation between BCHE and immune cell infiltration

析结果表明 BCHE 的表达可能与细胞增殖、细胞黏附和细胞迁移等功能有关(图 3B)。KEGG 分析表

明, BCHE 的功能可能与 PI3K-Akt 信号通路、TGF- β 信号通路和癌症通路等有关(图 3C)。



A: WGCNA 热图, ESTIMATE 算法分析 BCHE mRNA 与免疫细胞的相关性; B、C: 采用 GO(B) 和 KEGG(C) 对 BCHE 进行富集分析。

图3 BCHE mRNA 的富集分析

Figure 3 Enrichment analysis of BCHE mRNA

2.4 BCHE 敲减对 GC 细胞增殖、黏附、迁移和侵袭的影响

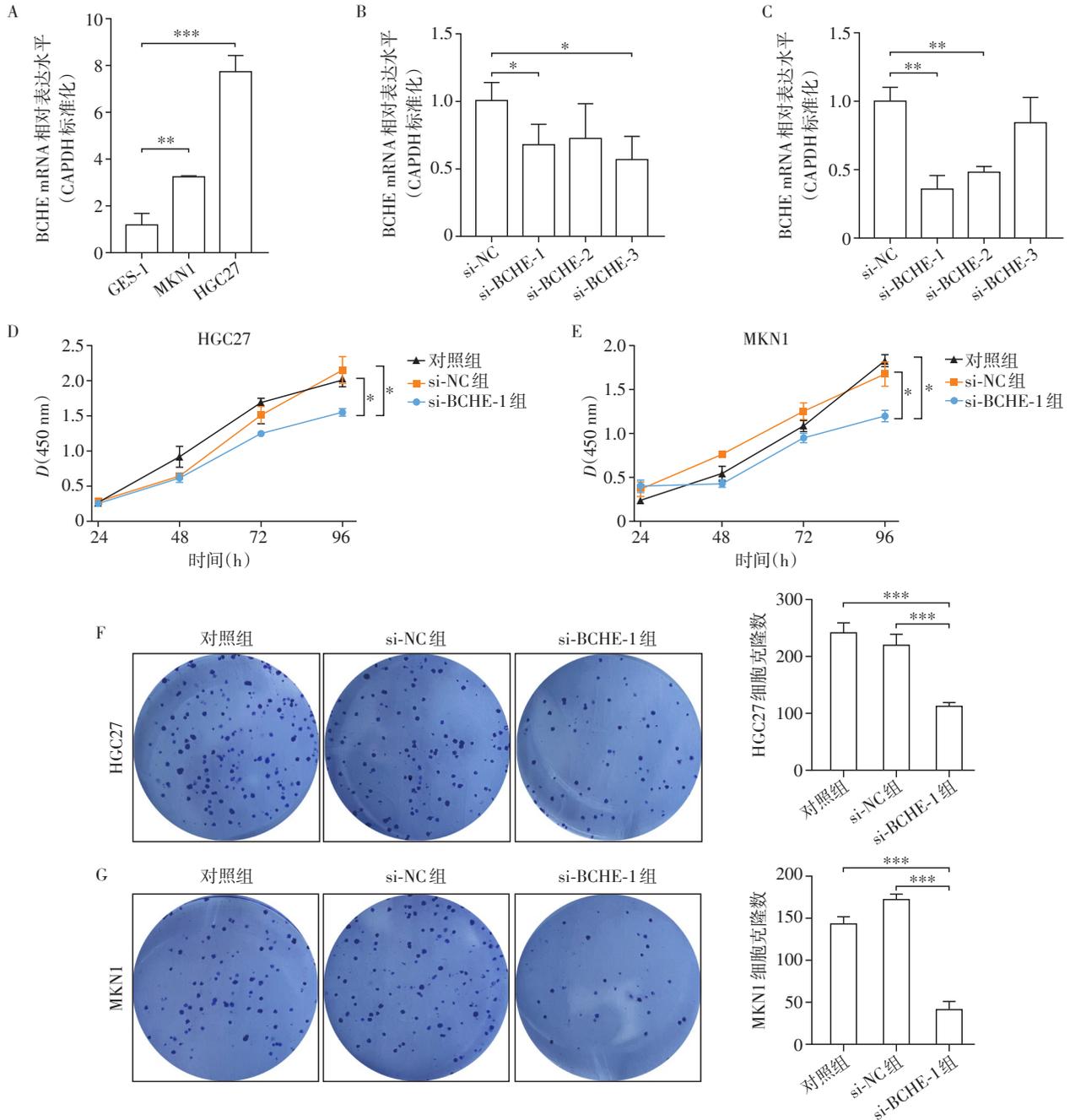
为验证 BCHE 在 GC 细胞中的作用, 本研究验证了该基因的体外功能。qRT-PCR 检测发现, GC 细胞株(HGC27 和 MKN1)中 BCHE mRNA 的表达显著高于胃组织正常细胞株(GSE-1) ($P < 0.001$, 图 4A)。通过 siRNA 敲减 BCHE 表达, 敲减效率如图 4B、C 所示, 选择敲减效率最高的 1 号片段 (si-BCHE-1) 进行下游的功能实验。结果发现, BCHE 敲减后明显抑制了 GC 细胞的增殖能力 ($P < 0.05$) 和克隆形成能力 ($P < 0.001$, 图 4D~G)。黏附实验结果表明, BCHE 敲减后能够促进 GC 细胞的黏附能力 ($P < 0.05$, 图 5A、B)。迁移和侵袭实验结果表明, BCHE 敲减后明显抑制 GC 细胞的迁移

($P < 0.001$) 和侵袭能力 ($P < 0.001$, 图 5C~F)。这些结果表明, BCHE 是 GC 细胞中的一个促癌基因, 敲减 BCHE 可抑制其介导的恶性生物学功能。

3 讨论

BCHE 是一个潜在的肿瘤标志物, 其 mRNA 水平在卵巢癌、乳腺癌和肺癌中显著升高^[9, 19-20], 且 BCHE mRNA 的高表达与子宫内膜癌和卵巢癌患者较差的总生存率相关^[19, 21]。本研究通过生信数据分析以及实验验证发现, BCHE 在 GC 细胞中高表达, 且 BCHE mRNA 的高表达与 GC 预后不良呈显著正相关。以上结果提示, BCHE 可能是 GC 新的预后生物标志物。

鉴于 GC 微环境对肿瘤发生发展和转移具有重



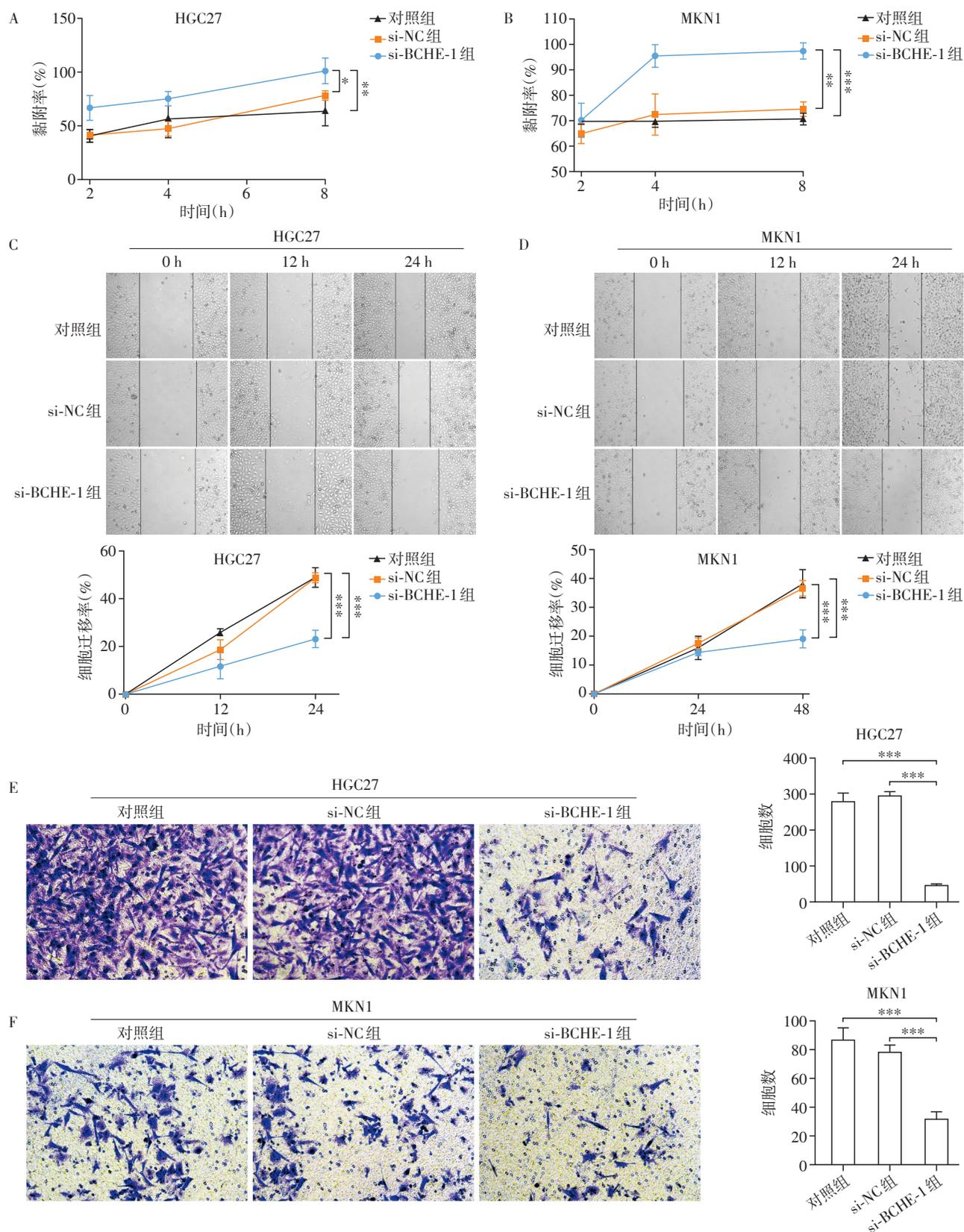
A: BCHE在GC和正常胃组织细胞系中的表达分析; B、C: qRT-PCR检测HGC27(B)和MKN1(C)细胞系中BCHE的敲减效率; D、E: CCK-8测定法检测BCHE敲减对GC细胞HGC27(D)和MKN1(E)增殖能力的影响; F、G: 克隆形成实验分析GC细胞HGC27(F)和MKN(G)中敲减BCHE对细胞克隆形成能力的影响。两组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ($n=3$)。

图4 敲减BCHE抑制胃癌细胞的增殖和克隆形成的能力

Figure 4 Knock-down of BCHE inhibits proliferation and colony formation of gastric tumor cells

要作用,本研究使用CIBERSORT算法和TIMER 2.0数据库分析发现,BCHE mRNA高表达与B细胞、癌症相关成纤维细胞及巨噬细胞的浸润呈正相关,与CD4⁺T和CD8⁺T细胞浸润呈负相关。研究报道显示,肿瘤微环境中存在较多的免疫细胞亚型,部分免疫细胞亚型与肿瘤患者较差的预后相关,如M2

型巨噬细胞、调节性B细胞、癌症相关成纤维细胞等^[22-24];亦有研究表明,B细胞浸润可能和肿瘤转移相关^[25]。另外,部分T细胞上高表达免疫抑制性分子(如PD-1、CTLA-4)等,当与携带相应配体的肿瘤细胞结合时,可抑制效应性T细胞的杀伤功能,从而使肿瘤细胞逃脱体内免疫系统的检查点监视,这



A、B: 细胞黏附实验分析敲减BCHE对GC细胞HGC27(A)和MKN1(B)黏附能力的影响; C、D: 划痕实验分析敲减BCHE对GC细胞HGC27(C)和MKN1(D)迁移能力的影响; E、F: 迁移和侵袭实验分析敲减BCHE对GC细胞HGC27(E)和MKN1(F)迁移和侵袭能力的影响。两组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ($n=3$)。

图5 敲减BCHE抑制胃癌细胞的侵袭和迁移能力

Figure 5 Knock-down of BCHE inhibits invasion and migration of gastric tumor cells

也成为针对免疫检查点治疗的核心所在^[26]。据此,有理由推测GC组织中BCHE的高表达可能通过重塑肿瘤免疫微环境,促进肿瘤的发生发展,进而可影响免疫治疗的效果。

研究表明,BCHE与细胞凋亡、细胞黏附、细胞增殖和肿瘤发生有关^[27-28]。在神经母细胞瘤中,BCHE mRNA的敲低显著抑制了癌细胞的增殖和侵袭^[28]。在对子宫内膜癌的研究中发现BCHE可能和TGF- β 信号通路有关^[21]。然而,BCHE在GC中的生物学功能的研究尚未见报道。本研究通过敲低BCHE mRNA表达显著减缓了GC细胞增殖和克隆,并促进GC细胞的黏附、抑制GC细胞的迁移和浸润能力。因此,BCHE是一个促癌基因,降低BCHE的表达可抑制其介导的恶性生物学功能。但本研究仍有不足,如未对BCHE的分子机制进行实验验证,因此,本研究团队将会在今后的工作中完善对该部分内容探索。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R, 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
- [2] ZHAO W, JIA L, ZHANG M, et al. The killing effect of novel bi-specific Trop2/PD-L1 CAR-T cell targeted gastric cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8): 1846-1856
- [3] MANZANEDO I, PEREIRA F, SERRANO Á, et al. Review of management and treatment of peritoneal metastases from gastric cancer origin [J]. *J Gastrointest Oncol*, 2021, 12(Suppl 1): S20-S29
- [4] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries [J]. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023-1075
- [5] ZHANG Y J, LU K, WU X, et al. Genetic variants in the Hedgehog signaling pathway genes are associated with gastric cancer risk in a Chinese Han population [J]. *J Biomed Res*, 2022, 36(1): 22-31
- [6] GAUGHAN G, PARK H, PRIDDLE J, et al. Refinement of the localization of human butyrylcholinesterase to chromosome 3q26.1-Q26.2 using a PCR-derived probe [J]. *Genomics*, 1991, 11(2): 455-458
- [7] SANTARPIA L, GRANDONE I, CONTALDO F, et al. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2013, 4(1): 31-39
- [8] OSTERGAARD D, VIBY-MOGENSEN J, HANEL H K, et al. Half-life of plasma cholinesterase [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1988, 32(3): 266-269
- [9] KUMAR R, RAZAB S, PRABHU K, et al. Serum butyrylcholinesterase and zinc in breast cancer [J]. *J Cancer Res Ther*, 2017, 13(2): 367-370
- [10] PRABHU K, NAIK D, RAY S, et al. Significance of serum butyrylcholinesterase levels in oral cancer [J]. *Australas Med J*, 2011, 4(7): 374-378
- [11] GOLDMAN M J, CRAFT B, HASTIE M, et al. Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(6): 675-678
- [12] ZOU C, HUANG D H, WEI H G, et al. Identification of immune-related risk signatures for the prognostic prediction in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 6203759
- [13] LI T, FU J, ZENG Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W509-W514
- [14] SHERMAN B T, HAO M, QIU J, et al. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W216-W221
- [15] HUGHES C G, BONCYK C S, FEDELES B, et al. Association between cholinesterase activity and critical illness brain dysfunction [J]. *Crit Care Lond Engl*, 2022, 26(1): 377
- [16] FUKSHI K, OKAMOTO T, OZAKI K, et al. Butyrylcholinesterase level as an independent prognostic factor for overall survival in patients on maintenance hemodialysis: a single-center retrospective study [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2022, 26(2): 190-197
- [17] 朱德明,孔连宝,贾文博,等. ANKRD1通过介导上皮细胞间充质转化促进肝细胞肝癌增殖与转移 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2023, 43(4): 484-491
- [18] 马佩,方圆,查全斌,等. 长链非编码RNA LINC01197调节GC进展的机制研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(7): 992-998
- [19] WILLIS S, VILLALOBOS V M, GEVAERT O, et al. Single gene prognostic biomarkers in ovarian cancer: a meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149183
- [20] ZENGIN T, ÖNAL-SÜZEK T. Analysis of genomic and transcriptomic variations as prognostic signature for lung adenocarcinoma [J]. *BMC Bioinform*, 2020, 21(Suppl 14): 368
- [21] LIU J, TIAN T, LIU X, et al. BCHE as a prognostic biomarker in endometrial cancer and its correlation with im-

- munity[J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 6051092
- [22] MURAKAMI Y, SAITO H, SHIMIZU S, et al. Increased regulatory B cells are involved in immune evasion in patients with gastric cancer[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13083
- [23] CHEN Z H, ZHOU L J, LIU L L, et al. Single-cell RNA sequencing highlights the role of inflammatory cancer-associated fibroblasts in bladder urothelial carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5077
- [24] MAO X, XU J, WANG W, et al. Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 131
- [25] GU Y, LIU Y, FU L, et al. Tumor-educated B cells selectively promote breast cancer lymph node metastasis by HSPA4-targeting IgG [J]. *Nat Med*, 2019, 25(2): 312-322
- [26] AI L, XU A, XU J. Roles of PD-1/PD-L1 pathway: signaling, cancer, and beyond [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1248: 33-59
- [27] JAISWAL S, JAISWAL G. Butyrylcholinesterase: an economical marker of disease activity in oral squamous cell carcinoma before and after therapy [J]. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16(Suppl): S39-S42
- [28] BARANOWSKA J, KORTYLEWICZ Z, MCLNTYRE E, et al. Multifarious functions of butyrylcholinesterase in neuroblastoma: impact of bche deletion on the neuroblastoma growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2022, 44(6): 293-304
- [收稿日期] 2023-06-10
(责任编辑: 蒋 莉)

(上接第 1355 页)

- Med, 2007, 262(3): 393-401
- [12] KOLODZIEJCZYK A A, FEDERICI S, ZMORA N, et al. Acute liver failure is regulated by MYC- and microbiome-dependent programs [J]. *Nat Med*, 2020, 26(12): 1899-1911
- [13] SCHWARZER R, JIAO H P, WACHSMUTH L, et al. FADD and caspase-8 regulate gut homeostasis and inflammation by controlling MLKL- and GSDMD-mediated death of intestinal epithelial cells [J]. *Immunity*, 2020, 52(6): 978-993
- [14] MIFFLIN L, OFENGEIM D, YUAN J Y. Receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1) as a therapeutic target [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(8): 553-571
- [15] XU P F, TAO C R, ZHU Y Y, et al. TAK1 mediates neuronal pyroptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 188
- [16] FAJGENBAUM D C, JUNE C H. Cytokine storm [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(16): 2255-2273
- [17] WANG W J, GAO W K, ZHU Q J, et al. TAK1: a molecular link between liver inflammation, fibrosis, steatosis, and carcinogenesis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 734749
- [18] XU D C, JIN T J, ZHU H, et al. TBK1 suppresses RIPK1-driven apoptosis and inflammation during development and in aging [J]. *Cell*, 2018, 174(6): 1477-1491
- [19] MALIREDDI R K S, GURUNG P, KESAVARDHANA S, et al. Innate immune priming in the absence of TAK1 drives RIPK1 kinase activity - independent pyroptosis, apoptosis, necroptosis, and inflammatory disease [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(3): 20191644
- [20] TAN S X, ZHAO J, SUN Z Y, et al. Hepatocyte-specific TAK1 deficiency drives RIPK1 kinase-dependent inflammation to promote liver fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *PNAS*, 2020, 117(25): 14231-14242
- [收稿日期] 2022-10-09
(责任编辑: 蒋 莉)