

• 论 著 •

DNAJB11 基因在尤文氏肉瘤中的表达及预后价值*

李 鑫¹, 刘震东², 李 昂², 王红强^{2△}

1. 河南大学人民医院脊柱脊髓外科, 河南郑州 450003; 2. 河南省人民医院

脊柱脊髓外科, 河南郑州 450003

摘要:目的 探讨 DnaJ 热休克蛋白家族成员 B11(DNAJB11)在尤文氏肉瘤(ES)中的预后、诊断价值及与免疫细胞浸润的关系,并预测具有潜在治疗价值的药物。方法 利用 GEO 数据库分析 DNAJB11 在 ES 样本与正常样本中的表达水平差异,并使用荧光定量 PCR(RT-qPCR)进行验证。随后获取 ICGC 数据库中 56 例 ES 的 RNA 测序(RNA-seq)数据和临床相关信息进行后续分析,根据 DNAJB11 表达水平将患者分为高表达组、低表达组,通过“limma”包鉴定两组间的差异表达基因。采用 Kaplan-Meier 生存分析、单因素和多因素 COX 分析及受试者工作特征(ROC)曲线分析 DNAJB11 表达水平对 ES 患者预后的影响,GO 和 KEGG 富集分析 DNAJB11 在 ES 病理进展中可能参与的生物学途径,ssGSEA 算法分析 DNAJB11 表达水平与 ES 免疫细胞浸润的关系,CMap 数据库筛选对 ES 具有治疗潜力的药物。结果 结合 GEO、ICGC 数据库与 RT-qPCR 分析结果发现,DNAJB11 在 ES 中呈高表达($P < 0.05$),且 DNAJB11 高表达与 ES 发生转移有关。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示 DNAJB11 高表达与 ES 患者较差的预后相关($P = 0.029$)。多因素 COX 分析显示 DNAJB11 高表达是 ES 患者预后的独立危险因素($P = 0.002$, $HR = 1.055$, $95\%CI: 1.020 \sim 1.091$)。ROC 曲线分析显示,DNAJB11 对 ES 预后有一定的预测价值。GO 和 KEGG 富集分析显示,DNAJB11 主要参与内质网应激反应、抗原加工及呈递和主要组织相容性复合体 II 类蛋白复合物结合等通路。ssGSEA 免疫评分结果提示 DNAJB11 高表达组具有较高的免疫细胞浸润丰度。CMap 分析提示粗糠柴毒素、甲氟喹和依米丁可能是治疗 ES 的潜在治疗药物。结论 DNAJB11 高表达预示患者预后较差,并对 ES 免疫微环境有一定的影响,DNAJB11 有望成为治疗 ES 的新的生物靶点。

关键词: 尤文氏肉瘤; DnaJ 热休克蛋白家族成员 B11; 免疫微环境; 预后**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.007 **中图法分类号:** R738.1**文章编号:** 1673-4130(2023)10-1181-08**文献标志码:** A

Expression and prognostic value of DNAJB11 gene in Ewing's sarcoma*

LI Xin¹, LIU Zhendong², LI Ang², WANG Hongqiang^{2△}

1. Department of Surgery of Spine and Spinal Cord, Henan University People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China; 2. Department of Surgery of Spine and Spinal Cord, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China

Abstract: **Objective** To investigate the prognostic and diagnostic value of DnaJ heat shock protein family member B11 (DNAJB11) in Ewing's sarcoma (ES) and its relationship with immune cell infiltration, and to predict potential therapeutic drugs. **Methods** Differential expression of DNAJB11 between ES and normal samples was analyzed by GEO database, and verified by fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). The RNA-seq data and clinical information of 56 ES cases in the ICGC database were obtained for subsequent analysis. According to the expression level of DNAJB11, the patients were divided into high and low expression groups, and the differentially expressed genes between the two groups were identified by the "limma" package. Kaplan-Meier survival analysis, univariate and multivariate COX analysis and ROC curve were used to explore the effect of DNAJB11 expression on the prognosis of ES patients. GO and KEGG enrichment analysis were used to analyze the possible biological pathways that DNAJB11 might be involved in the pathological progression of ES. The relationship between the expression of DNAJB11 and the infiltration of ES immune cells was analyzed by ssGSEA algorithm, and the drugs with therapeutic potential for ES were screened by CMap database.

* 基金项目: 河南省医学科技攻关计划省部共建项目(SB201901085)。

作者简介: 李鑫, 男, 硕士研究生在读, 主要从事骨肿瘤和脊柱畸形方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 13598889672@163.com。

Results The results of GEO, ICGC database and RT-qPCR analysis showed that DNAJB11 was highly expressed in ES ($P < 0.05$), and the high expression of DNAJB11 was associated with the metastasis of ES. Kaplan-Meier survival curve analysis showed that high expression of DNAJB11 was associated with poor prognosis in ES patients ($P = 0.029$). Multivariate COX analysis showed that high expression of DNAJB11 was an independent risk factor for prognosis in ES patients ($P = 0.002$, $HR = 1.055$, $95\% CI: 1.020 - 1.091$). ROC curve analysis showed that DNAJB11 had certain prognostic value for ES. GO and KEGG enrichment analysis showed that DNAJB11 was mainly involved in endoplasmic reticulum stress response, antigen processing and presentation, and major histocompatibility complex Class II protein complex binding. The ssGSEA immune score results indicated that the DNAJB11 high expression group had a higher abundance of immune cell infiltration. CMap suggested that rottlerin, mefloquine and emetine might be potential drugs for the treatment of ES. **Conclusion** High expression of DNAJB11 predicts poor prognosis of patients, and it has certain influence on the immune microenvironment of ES. DNAJB11 is expected to be a new biological target for the treatment of ES.

Key words: Ewing's sarcoma; DnaJ heat shock protein family member B11; immune microenvironment; prognosis

尤文氏肉瘤(ES)是一种侵袭性强、低度分化的骨或软组织恶性肿瘤,其在儿童中的发病率仅次于骨肉瘤^[1]。近年来随着多学科诊疗模式的应用,部分ES患者预后有所改善,但对于早期转移或复发的患者,其5年生存率仅有20%^[2]。目前面临的瓶颈问题是对ES的发病机制尚未阐明,缺乏有效的靶向药物改善患者预后。DnaJ热休克蛋白家族成员B11(DNAJB11)是一种人类蛋白编码基因,在协调内质网和细胞外蛋白质稳态方面发挥多种功能^[3-4]。已有研究证实,DNAJB11作为一种致病基因,可促进多种癌症的病理进展^[5-6],但是目前较少有DNAJB11对ES影响的报道。因此,本研究将探讨DNAJB11在ES中的表达水平、预后价值、潜在功能及免疫细胞浸润情况,旨在为ES的诊断和治疗提供新的靶点。

1 资料与方法

1.1 数据收集 从UCSC Xena(the University of California Santa)数据库中下载经标准化的泛癌数据集TCGA Pan-Cancer(PANCAN),提取DNAJB11基因在各个样本中的表达数据,并对所有数据进行 $\log_2(TPM+1)$ 处理,剔除单个样本个数小于3个的癌症病种,最终获得了26种肿瘤表达数据。本研究从International Cancer Genome Consortium(ICGC)数据库的BOCA-FR项目中下载56例ES患者的RNA测序(RNA-seq)数据和临床相关信息进行生物信息学分析。从Gene Expression Omnibus(GEO)数据库中获取GSE17674数据集,该数据集包含44例ES组织样本和18例正常组织样本。基于该数据集比较ES组织和正常组织之间DNAJB11的表达差异。

1.2 荧光定量PCR(RT-qPCR)检测 本研究所使用的人骨髓间充质干细胞(HBMSC)和人尤文氏肉瘤

细胞株(TC-32和RD-ES)购自上海舜冉细胞库,所有细胞均在含10%胎牛血清(美国Gibco公司)的DMEM培养基(美国HyClone公司)中培养,培养箱环境设定为37℃、5%CO₂。使用Total RNA Kit I(美国Omega Biotek公司)试剂盒从细胞中提取总RNA,并通过超微量分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司)测定RNA浓度,随后使用NovoScript Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix(苏州Novoprotein公司)逆转录获得cDNA。采用NovoStart SYBR qPCR SuperMix Plus(苏州Novoprotein公司)试剂盒进行PCR反应。内参GAPDH及DNAJB11的引物序列如下:GAPDH正向引物为5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTG-3',GAPDH反向引物为5'-GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG-3';DNAJB11正向引物为5'-TTTGGAGGAACCCCTCGTCA-3',DNAJB11反向引物为5'-AATTGCACTTCCGTTTGCCA-3'。基因表达量采用2^{-ΔΔCt}法分析。

1.3 差异表达基因的筛选 本研究使用R软件中的“limma”包筛选差异表达基因(DEGs),根据BOCA-FR数据集中DNAJB11表达水平的中位数,将ES患者分为高表达组和低表达组,以 $|\log_2 FC| > 1$ 和 $P < 0.05$ 为临界值筛选两组间的DEGs。最终,本课题组筛选出1230个DEGs。

1.4 富集分析 富集分析是一种广泛使用的高通量组学数据分析技术,用于探索基因集的生物学术功能和作用^[7]。基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库是基因富集分析中常用的两种方法,GO分析主要用于目标基因的分类和功能注释分析,包括3个层次,即生物过程、细胞成分和分子功能,KEGG分析则可用来分析目的基因的生物学途

径。使用“clusterprofiler”包对 DEGs 进行 GO 分析及 KEGG 分析。以 $P < 0.05$ 为入选标准。

1.5 免疫细胞浸润分析 获取 BOCA-FR 数据集基因表达矩阵,使用“GSVA”包的单样本基因集富集分析(ssGSEA)计算 23 种免疫细胞的浸润分数,并使用“pheatmap”包绘制热图。使用“vioplot”包比较 DNAJB11 高表达组和低表达组的免疫细胞浸润差异。

1.6 药物分析 Connectivity Map(CMap)数据库是一个药物研发工具,用于探索疾病、基因和药物之间的潜在联系^[8]。将 DEGs 分为上调组和下调组,并上传至 CMap 数据库,根据富集指数 < -0.75 和 $P < 0.005$ 的标准,筛选出对 ES 有潜在治疗价值的药物。

1.7 统计学处理 运用 R 软件(v. 4.0.3)进行统计分析和相关图像绘制。采用 Kaplan-Meier(K-M)生存曲线方法分析 DNAJB11 表达对 ES 患者生存的影响,单因素和多因素 COX 回归模型分析与生存率相关的预后因素,受试者工作特征(ROC)曲线评估 DNAJB11 的诊断价值。两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验,不同 DNAJB11 表达水平患者临床病理特征比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 DNAJB11 表达水平患者临床病理特征比较 根据 BOCA-FR 数据集中 DNAJB11 表达水平的中位数,将 ES 患者分为高表达组(28 例)和低表达组(28 例),两组临床病理特征比较,差异有统计学意义($P = 0.01$),提示 DNAJB11 表达与 ES 的转移有关。见表 1。

2.2 DNAJB11 在不同肿瘤中的表达水平差异 TC-GA PANCAN 数据集用于分析 DNAJB11 在不同肿瘤中的表达差异,最终纳入 26 种肿瘤。结果显示, DNAJB11 在胶质母细胞瘤(GBM)、宫颈鳞癌和腺癌(CESC)、肺腺癌(LUAD)、结肠癌(COAD)、结直肠癌(COADREAD)、乳腺浸润癌(BRCA)、食管癌(ES-CA)、胃和食管癌(STES)、肾乳头状细胞癌(KIRP)、混合肾癌(KIPAN)、胃癌(STAD)、前列腺癌(PRAD)、子宫内膜癌(UCEC)、头颈鳞状细胞癌(HNSC)、肾透明细胞癌(KIRC)、肺鳞癌(LUSC)、肝细胞肝癌(LIHC)、直肠腺癌(READ)、膀胱尿路上皮癌(BLCA)、胆管癌(CHOL)中表达水平显著升高($P < 0.05$),见图 1A。在 GSE17674 数据集中,ES 组织中的 DNAJB11 表达水平高于正常组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1B。

2.3 RT-qPCR 验证 DNAJB11 在 ES 中高表达 为了进一步明确 DNAJB11 在 ES 表达水平,本研究采用 RT-qPCR 检测 DNAJB11 在人骨髓间充质干细胞

(HBMSC)和 ES 细胞系(TC-32 和 RD-ES)中的表达水平。结果显示,TC-32、RD-ES 和 HBMSC 细胞中 DNAJB11 的相对表达水平分别为 19.12 ± 1.45 、 10.15 ± 1.56 和 1.00 ± 0.11 ,与 HBMSC 细胞比较,TC-32($t = 24.97, P < 0.001$)和 RD-ES 细胞($t = 10.15, P = 0.009$)中 DNAJB11 表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1C。

表 1 不同 DNAJB11 表达水平患者临床病理特征比较[n(%)]

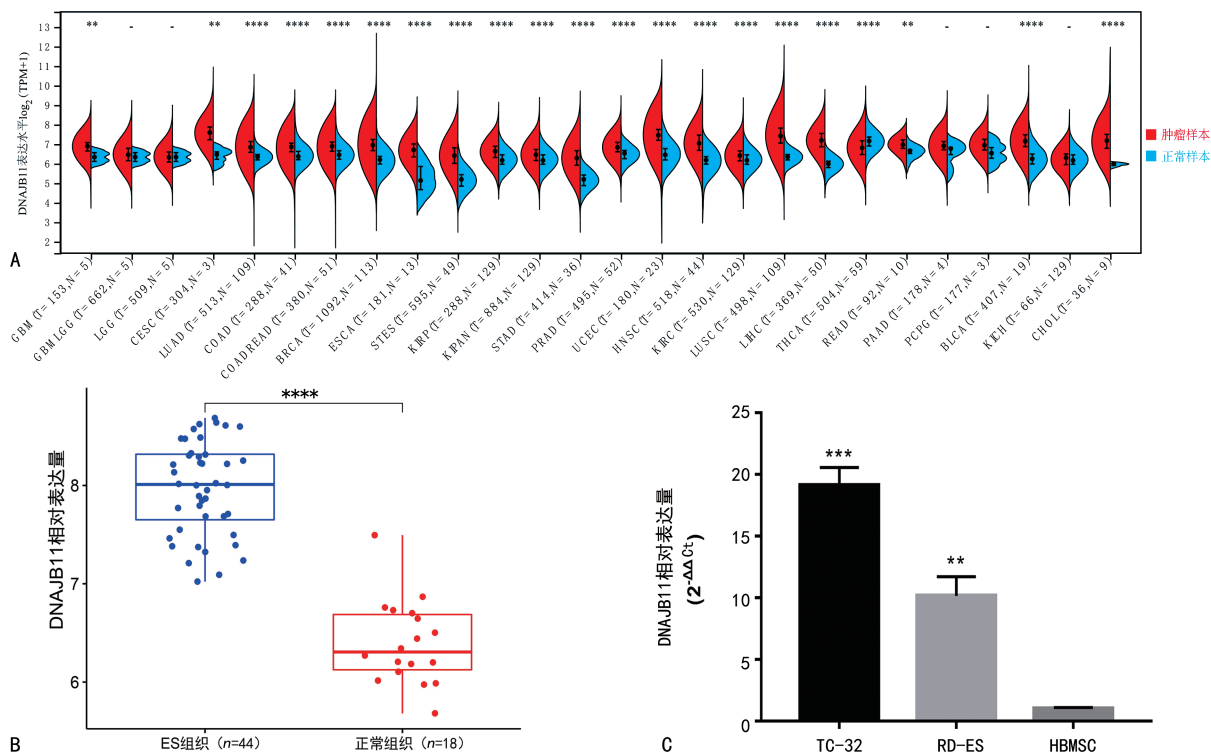
项目	高表达组(n=28)	低表达组(n=28)	P
性别			0.42
女	11(19.64)	15(26.79)	
男	17(30.36)	13(23.21)	
年龄(岁)			0.56
<18	21(37.50)	18(32.14)	
≥18	7(12.50)	10(17.86)	
生存状态			0.06
存活	10(17.86)	18(32.14)	
死亡	18(32.14)	10(17.86)	
复发			0.28
是	18(32.14)	13(23.21)	
否	10(17.86)	15(26.79)	
转移			0.01
是	14(25.00)	4(7.14)	
否	14(25.00)	24(42.86)	

2.4 DNAJB11 对 ES 的预后和诊断价值 采用 K-M 生存曲线评估 DNAJB11 对患者生存期的影响,结果显示,DNAJB11 高表达可明显缩短 ES 患者的生存时间($P = 0.029$),见图 2A。通过 ROC 曲线及曲线下面积(AUC)来评估 DNAJB11 的价值,结果显示,DNAJB11 预测 3 年生存的 AUC 为 0.709,预测 5 年生存的 AUC 为 0.634,提示 DNAJB11 对 ES 患者的预后具有一定的诊断价值,见图 2B。

2.5 DNAJB11 表达对 ES 患者预后的影响 单因素分析结果显示,DNAJB11 高表达($P = 0.020, HR = 1.036, 95\% CI: 1.006 \sim 1.067$)和复发($P < 0.001, HR = 2.348, 95\% CI: 1.637 \sim 3.367$)与 ES 患者的生存率有关(图 3A)。多因素分析结果显示,DNAJB11 高表达($P = 0.002, HR = 1.055, 95\% CI: 1.020 \sim 1.091$)和复发($P < 0.001, HR = 2.701, 95\% CI: 1.801 \sim 4.052$)是 ES 患者预后的独立危险因素(图 3B)。

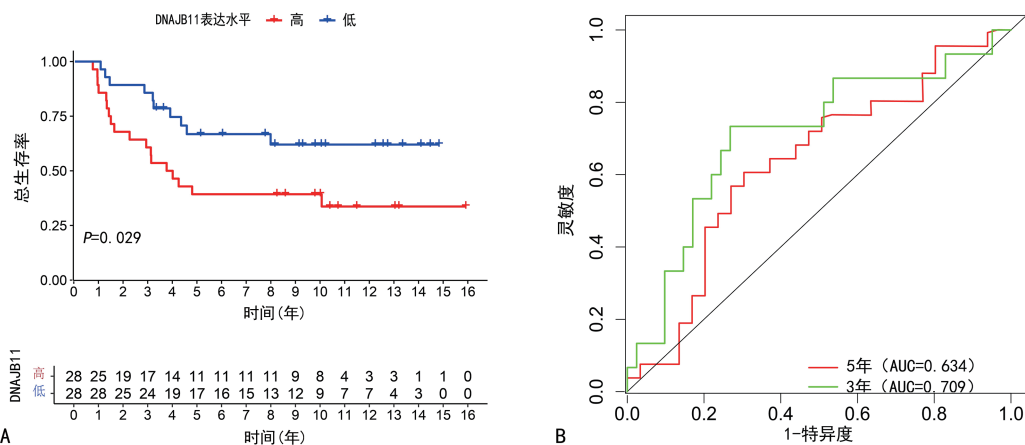
2.6 GO 分析和 KEGG 分析 GO 分析结果显示, DNAJB11 可能参与了内质网应激反应、抗原加工及呈递、内质网膜的组成和主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ类蛋白复合物结合等方面(图 4A);而

KEGG 分析显示, DNAJB11 与单纯疱疹病毒 1 型感染、抗原的加工和呈递、内质网中的蛋白质加工和肌萎缩等相关(图 4B)。



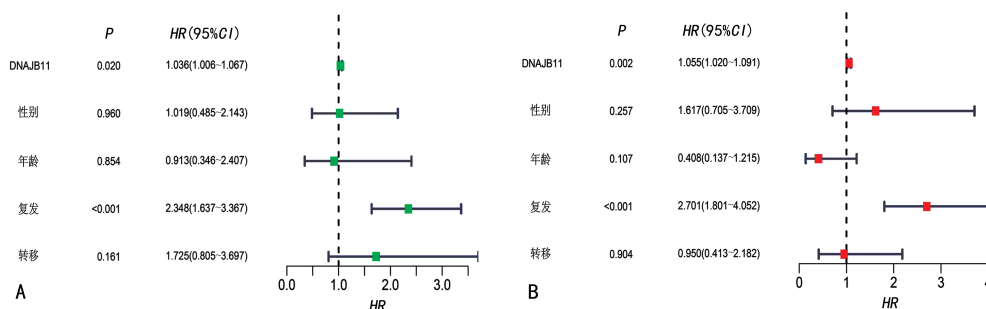
注: A 为在 TCGA PANCAN 数据集中, DNAJB11 在不同肿瘤中的表达情况; B 为在 GSE17674 数据集中, DNAJB11 在 ES 组织与正常组织中的表达情况; C 为 DNAJB11 在 ES 细胞(TC-32 和 RD-ES)和 HBMSC 细胞中的表达情况; **** $P < 0.0001$, *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, - 为 $P > 0.05$ 。

图 1 DNAJB11 在不同肿瘤中的表达情况



注: A 为 K-M 曲线; B 为 ROC 曲线。

图 2 DNAJB11 的预后和诊断价值



注: A 为单因素分析; B 为多因素分析。

图 3 COX 风险回归分析 DNAJB11 表达对 ES 患者预后的影响

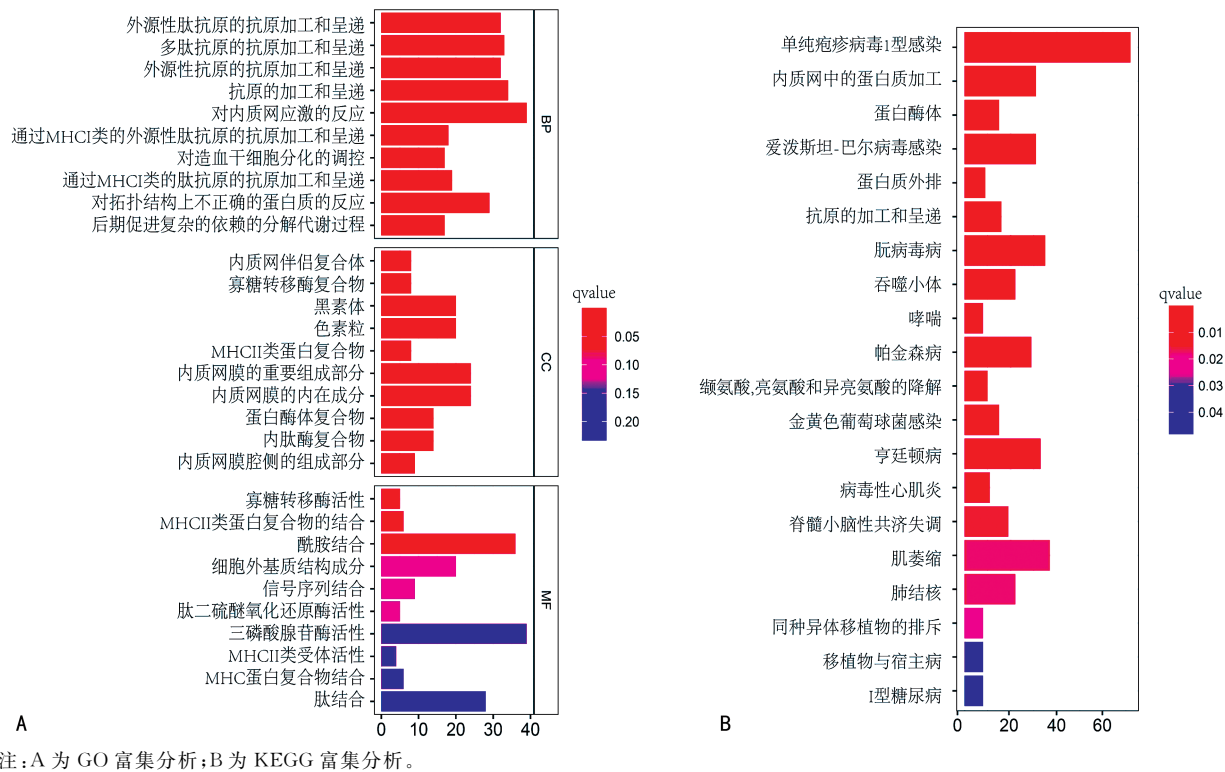


图 4 DNAJB11 的基因富集分析

2.7 免疫细胞浸润比较 通过 ssGSEA 计算免疫浸润评分并绘制热图,使每个样本中 23 种免疫细胞的浸润情况可视化(图 5)。进一步分析 DNAJB11 高、低表达组的免疫细胞浸润情况,箱线图显示了两组间

免疫细胞浸润差异(图 6),DNAJB11 高表达组的巨噬细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、髓源性抑制细胞、调节性 T 细胞、肥大细胞等 22 种免疫细胞浸润丰度高于低表达组($P < 0.05$)。

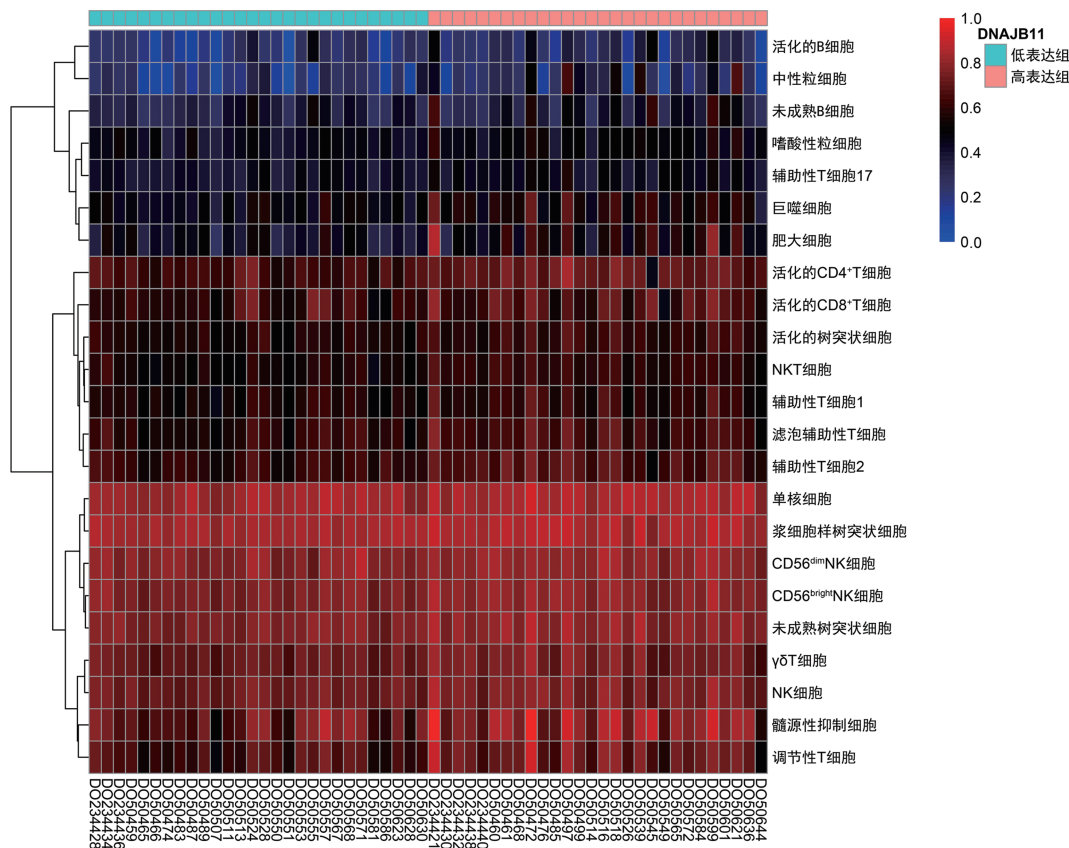
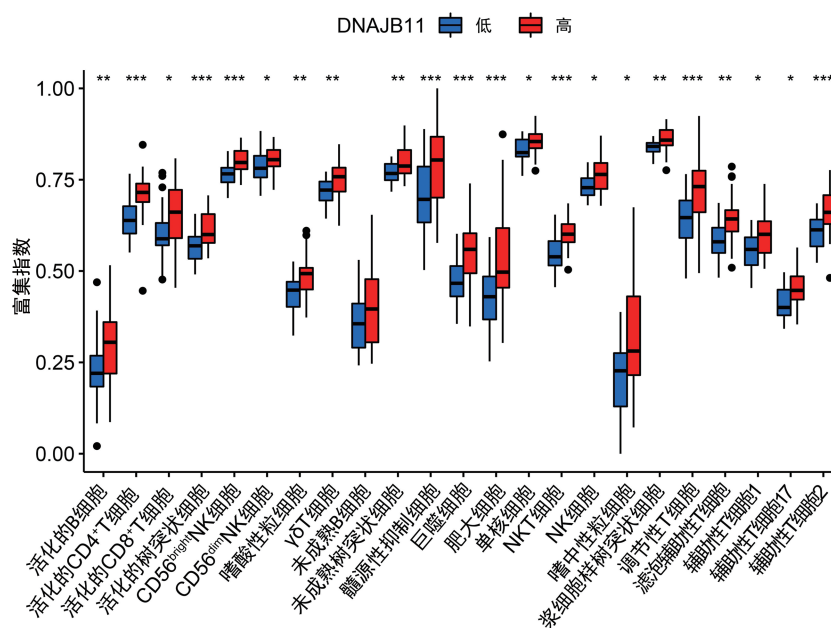


图 5 免疫细胞浸润热图



注: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

图 6 DNAJB11 高、低表达组与 23 种免疫细胞浸润的差异分析

2.8 CMap 分析 CMap 用于预测可能逆转 DNAJB11 基因表达增高的治疗药物,最终筛选出 3 种对 ES 有潜在治疗价值药物:粗糠柴毒素、甲氟喹和依米丁,见表 2。

表 2 CMap 分析结果

治疗药物	富集指数	P
粗糠柴毒素	-0.979	0.000 04
甲氟喹	-0.793	0.000 74
依米丁	-0.853	0.000 84

3 讨 论

作为一种高侵袭性的恶性肿瘤,ES 的病死率长期处于较高水平,探索有效的生物标志物对 ES 的诊断和治疗具有重要意义。由于肿瘤微环境的复杂性,肿瘤的进展往往伴随蛋白质稳态的变化,蛋白质错误折叠已被认为是导致癌症进展的因素之一^[9-10]。DNAJB11 可编码一种参与内质网中蛋白加工的伴侣蛋白,对蛋白质正确折叠、运输和降解发挥着重要作用^[11]。目前,关于 DNAJB11 对恶性肿瘤病理生理学的调控作用已有多篇报道,例如:DNAJB11 可通过抑制 Alpha-1-antitrypsin mutant Z 的降解来促进肝癌的进展^[5];相较于口腔鳞癌旁组织,DNAJB11 在口腔鳞癌组织中的表达显著升高^[6]。在本研究中,通过 UCSC Xena 数据库纳入的泛癌数据进行分析,最终纳入的 26 种肿瘤中,DNAJB11 在 20 种肿瘤中呈高表达。阐明 DNAJB11 在 ES 中的表达水平及临床意义,将有助于建立一个新的治疗靶点,改进治疗策略。然而,DNAJB11 与 ES 的相关性尚未被揭示。

ICGC 数据库纳入了全球多个国家的测序数据,

已经成为分子生物研究最常用的数据库之一。通过 GEO 数据库分析发现,DNAJB11 在 ES 样本中的表达水平明显高于正常样本,为验证这一结果,本研究进一步采用 RT-qPCR 进行分析,结果显示,相较于正常细胞株,DNAJB11 在 ES 细胞株中的表达显著升高。K-M 曲线结果表明,DNAJB11 高表达组患者预后明显较差;单因素及多因素 COX 回归分析显示,DNAJB11 高表达可作为 ES 患者总生存期的独立危险因素;ROC 曲线分析显示,DNAJB11 对 ES 具有一定的诊断价值。以上研究结果表明,DNAJB11 可能是诊断 ES 的潜在靶点。

为进一步探究 DNAJB11 促进 ES 病理进展的可能机制,本研究对 DNAJB11 高、低表达组的差异表达基因进行 GO 和 KEGG 分析。值得提到的是,内质网应激反应是 GO 分析主要富集结果之一,内质网应激作为癌症的多重调节因子和效应因子,可促进肿瘤细胞的存活,增强化疗的耐药性,目前,内质网应激已被认为是癌症进展和维持恶性细胞的关键驱动因素^[12-13]。DNAJB11 的高表达可能会通过促进内质网应激及相关信号通路异常激活,进而推动 ES 的病理进展。因此,靶向内质网应激可能是治疗 ES 的新方向,但这需要更进一步的研究来证明。另外,KEGG 分析结果显示,DNAJB11 参与了通过 MHC I 类的抗原加工和呈递及 MHC II 类蛋白复合物的结合。研究表明,MHC I 类和 II 类分子可分别将抗原呈递给 CD8⁺ T 细胞和 CD4⁺ T 细胞,在适应性免疫系统中发挥关键作用^[14-15]。因此,抗原加工和呈递作为癌症的免疫逃避的关键,DNAJB11 可能会影响 MHC I 类和 II 类分子介导的抗原呈递以帮助 ES 细胞逃避免疫监视。以上富集分析结果表明,DNAJB11 可通

过多种途径促进 ES 的发生和发展,进而影响患者预后,这些分子机制可为 ES 的治疗提供有价值的参考。

肿瘤浸润性免疫细胞是肿瘤微环境中的重要部分,与肿瘤恶性生物学行为和患者预后密切相关^[16]。本研究应用 ssGSEA 分析了 DNAJB11 表达水平与 ES 免疫细胞浸润的关系,结果显示,在 DNAJB11 高表达组发现较高的免疫细胞浸润丰度,其中包括巨噬细胞、髓源性抑制细胞和调节性 T 细胞等免疫抑制性细胞,提示 DNAJB11 高表达介导更活跃的肿瘤免疫反应。巨噬细胞可通过 PI3K γ 信号通路抑制细胞毒性 T 细胞的激活,诱导肿瘤免疫抑制^[17]。一项研究发现,在人类 ES 样本中,较高水平的 CD68⁺ 巨噬细胞(包括 M1 型巨噬细胞和 M2 型巨噬细胞)浸润与患者预后不良相关^[18]。本研究发现,DNAJB11 高表达组的巨噬细胞浸润显著增加,抑制 DNAJB11 表达可能会减少巨噬细胞浸润,增强 T 细胞抗肿瘤免疫活性,进而改善 ES 免疫抑制性微环境。

CMap 数据库用于获取可能下调 DNAJB11 表达水平的药物,根据筛选标准,最终确定 3 种对 ES 具有潜在治疗作用的药物:粗糠柴毒素、甲氟喹和依米丁。这些药物已被证实具有不同程度的抗癌活性:粗糠柴毒素通过抑制细胞生长、触发细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡等机制在多种癌症中表现出显著的抗肿瘤特性^[19-21];甲氟喹通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有效靶向胃癌细胞,还可通过破坏溶酶体功能作为胶质母细胞瘤进展的抑制剂^[22-23];依米丁可以通过激活与细胞凋亡密切相关的 p38 通路,抑制细胞外信号调节激酶、c-Jun N-末端激酶和 β -连环蛋白这 3 个信号通路,进而对骨肉瘤细胞发挥抗癌作用^[24]。但是,这仅为 ES 的药物治疗提出一个方向,后续可能需要更多的药物实验来验证。

本研究结果表明,DNAJB11 在 ES 中呈高表达,并且 DNAJB11 高表达与 ES 患者预后不良和免疫细胞浸润丰度相关。此外,DNAJB11 可能通过内质网应激反应、MHC I 类的抗原加工和呈递和 MHC II 类蛋白复合物的结合等方面来影响 ES 的病理进展。本研究结果显示,DNAJB11 具有作为 ES 生物靶点的潜力,并为 ES 的治疗提供新的研究方向。

参考文献

- [1] RIGGI N, SUVÀ M, STAMENKOVIC I. Ewing's Sarcoma[J]. N Engl J Med, 2021, 384(2):154-164.
- [2] STAHL M, RANFT A, PAULUSSEN M, et al. Risk of recurrence and survival after relapse in patients with Ewing sarcoma[J]. Pediatr Blood Cancer, 2011, 57(4):549-553.
- [3] KUO Y, REN S, LAO U, et al. Suppression of polyglutamine protein toxicity by co-expression of a heat-shock protein 40 and a heat-shock protein 110[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(10):e833.
- [4] SHEN Y, MEUNIER L, HENDERSHOT L M. Identification and characterization of a novel endoplasmic reticulum (ER) DnaJ homologue, which stimulates ATPase activity of BiP in vitro and is induced by ER stress[J]. J Biol Chem, 2002, 277(18):15947-15956.
- [5] PAN J J, CAO D, GONG J P. The endoplasmic reticulum co-chaperone ERdj3/DNAJB11 promotes hepatocellular carcinoma progression through suppressing AATZ degradation[J]. Future Oncol, 2018, 14(29):3001-3013.
- [6] HSU C W, YU J S, PENG P H, et al. Secretome profiling of primary cells reveals that THBS2 is a salivary biomarker of oral cavity squamous cell carcinoma[J]. J Proteome Res, 2014, 13(11):4796-4807.
- [7] CHEN C, LU Y, SIO C, et al. Gene Ontology based housekeeping gene selection for RNA-seq normalization[J]. Methods, 2014, 67(3):354-363.
- [8] WEN Q L, LIU R Q, ZHANG P. Clinical connectivity map for drug repurposing: using laboratory results to bridge drugs and diseases[J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2021, 21(Suppl 8):S263.
- [9] VANDRIE J H. Protein folding, protein homeostasis, and cancer[J]. Chin J Cancer, 2011, 30(2):124-137.
- [10] MARCINIAK S J, CHAMBERS J E, RON D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 21(2):115-140.
- [11] JIN Y, ZHUANG M, HENDERSHOT L M. ERdj3, a luminal ER DnaJ homologue, binds directly to unfolded proteins in the mammalian ER; identification of critical residues[J]. Biochemistry, 2009, 48(1):41-49.
- [12] CHEN X, CUBILLOS J R. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(2):71-88.
- [13] MANGHWAR H, LI J M. Endoplasmic Reticulum stress and unfolded protein response signaling in plants[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2):828.
- [14] WIECZOREK M, ABUALROUS E T, STICHT J, et al. Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins; conformational plasticity in antigen presentation[J]. Front Immunol, 2017, 8:292.
- [15] MPAKALI A, STRATIKOS E. The role of antigen processing and presentation in cancer and the efficacy of immune checkpoint inhibitor immunotherapy[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(1):134.
- [16] TANG S, NING Q, YANG L, et al. Mechanisms of immune escape in the cancer immune cycle[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 86:106700.
- [17] KANEDA M M, MESSER K S, RALAINIRINA N, et al. PI3K γ is a molecular switch that controls immune suppression[J]. Nature, 2016, 539(7629):437-442. (下转第 1194 页)

- study[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(4): 566.
- [3] HEINZ J, ROVER C, FURAIJAT G, et al. Strategies to reduce antibiotic use in women with uncomplicated urinary tract infection in primary care; protocol of a systematic review and meta-analysis including individual patient data [J]. *BMJ Open*, 2020, 10(10): e035883.
- [4] JIANG T, CHEN X S. Outcome impacts due to pathogen-specific antimicrobial resistance: a narrative review of published literature[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): 1395.
- [5] OURANI M, HONDA N S, MACDONALD W, et al. Evaluation of evidence-based urinalysis reflex to culture criteria; impact on reducing antimicrobial usage[J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 102: 40-44.
- [6] ENKO D, STELZER I, BÖCKL M, et al. Comparison of the diagnostic performance of two automated urine sediment analyzers with manual phase-contrast microscopy [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 58(2): 268-273.
- [7] CHRISTY P, SIDJABAT H E, LUMBAN TORUAN A A, et al. Comparison of laboratory diagnosis of urinary tract infections based on leukocyte and bacterial parameters using standardized microscopic and flow cytometry methods[J]. *Int J Nephrol*, 2022, 2022: 9555121.
- [8] HAUGUM K, HAUGAN M S, SKAGE J, et al. Use of Sysmex UF-5000 flow cytometry in rapid diagnosis of urinary tract infection and the importance of validating carryover rates against bacterial count cut-off[J]. *J Med Microbiol*, 2021, 70(12): 001472.
- [9] SZMULIK M, TRZESNIEWSKA-OFIARA Z, MENDRYCKA M, et al. A novel approach to screening and managing the urinary tract infections suspected sample in the general human population[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 915288.
- [10] GARCIA-COCA M, GADEA I, ESTEBAN J. Relationship between conventional culture and flow cytometry for the diagnosis of urinary tract infection[J]. *J Microbiol Methods*, 2017, 137: 14-18.
- [11] KIM S Y, PARK Y, KIM H, et al. Rapid screening of urinary tract infection and discrimination of Gram-positive and Gram-negative bacteria by automated flow cytometric analysis using Sysmex UF-5000 [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(8): e02004-17.
- [12] CORTES-PENFIELD N W, TRAUTNER B W, JUMP R L P. Urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria in older adults[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2017, 31(4): 673-688.
- [13] ALENKAER L K, PEDERSEN L, SZECSI PB, et al. Evaluation of the sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometer as a screening platform for ruling out urinary tract infections in elderly patients presenting at the Emergency Department[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2021, 81(5): 379-384.
- [14] IPPOLITI R, ALLIEVI I, ROCCHETTI A. UF-5000 flow cytometer: a new technology to support microbiologists' interpretation of suspected urinary tract infections [J]. *Microbiologyopen*, 2020, 9(3): e987.
- [15] GEERTS N, JANSZ A R, BOONEN K J, et al. Urine flow cytometry can rule out urinary tract infection, but cannot identify bacterial morphologies correctly[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 448: 86-90.
- [16] REN C, WU J, JIN M, et al. Rapidly discriminating culture-negative urine specimens from patients with suspected urinary tract infections by UF-5000[J]. *Bioanalysis*, 2018, 10(22): 1833-1840.
- (收稿日期: 2022-10-02 修回日期: 2023-02-16)
-
- (上接第 1187 页)
- [18] FUJIWARA T, FUKUSHI J, YAMAMOTO S, et al. Macrophage infiltration predicts a poor prognosis for human ewing sarcoma[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(3): 1157-1170.
- [19] ZHAO Z, ZHENG N N, WANG L X, et al. Rottlerin exhibits antitumor activity via down-regulation of TAZ in non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 7827-7838.
- [20] YIN X Y, ZHANG Y, SU J N, et al. Rottlerin exerts its anti-tumor activity through inhibition of Skp2 in breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41): 66512-66524.
- [21] KHARAIT S, DHIR R, LAUFFENBURGER D, et al. Protein kinase C delta signaling downstream of the EGF receptor mediates migration and invasiveness of prostate cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 343(3): 848-856.
- [22] LIU Y W, CHEN S, XUE R, et al. Mefloquine effectively targets gastric cancer cells through phosphatase-dependent inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 470(2): 350-355.
- [23] WAN B, WU Z H, ZHANG X L, et al. Mefloquine as a dual inhibitor of glioblastoma angiogenesis and glioblastoma via disrupting lysosomal function[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 580: 7-13.
- [24] SON J, LEE S Y. Emetine exerts anticancer effects in U2OS human osteosarcoma cells via activation of p38 and inhibition of ERK, JNK, and β -catenin signaling pathways [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(10): e22868.
- (收稿日期: 2022-10-11 修回日期: 2022-12-31)