

· 论 著 ·

与食管癌淋巴结转移、肿瘤免疫细胞浸润有关预后的基因分析*

付 伟,程国彬,丁 瑶,张 鹤,邓亚婕,罗永婧
联勤保障部队第九二五医院消化内科,贵州贵阳 550009

摘 要:**目的** 探讨食管癌淋巴结转移相关基因,并分析其与免疫浸润的关系。**方法** 基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库分析与食管癌淋巴结转移相关的差异表达基因,构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络以筛选关键基因;根据鉴定的中枢(Hub)基因,分析在有无淋巴结转移的食管癌中的表达情况,并进行功能富集分析;探讨鉴定基因与免疫细胞浸润的相关性;采用 LASSO Logistic 回归分析以确定最相关的基因构建体的风险评分,并基于风险评分公式中的基因进行多因素 Cox 回归分析。**结果** 共有 227 个基因在淋巴结转移的食管癌中差异表达,包括 70 个上调基因和 157 个下调基因。PPI 网络鉴定了 31 个 Hub 基因,筛选淋巴结转移组中有 7 个基因[甲状旁腺激素样激素(PTH LH)、C 型凝集素域 7 家族成员 A(CLEC7A)、胰高血糖素(GCG)、瞬时受体电位离子通道香草素亚型 3(TRPV3)、松弛素家族肽受体 4(RXFP4)、血小板因子 4(PF4)、生长抑素受体(SSTR5)]的表达异常。免疫浸润分析结果显示,PTH LH、CLEC7A、TRPV3 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈正相关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞呈负相关;PF4、SSTR5、RXFP4 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈负相关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞呈正相关。LASSO Logistic 回归分析确定了最相关的 3 个基因(GCG、TRPV3、SSTR5)。多因素 Cox 回归分析结果显示,SSTR5 是独立的预后因素。**结论** PTH LH、CLEC7A、GCG、TRPV3、RXFP4、PF4、SSTR5 与食管癌的淋巴结转移和肿瘤免疫细胞浸润有关。

关键词:食管癌; 淋巴结转移; 免疫浸润; 预后分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.11.007

中图法分类号:R342.3;R735.1

文章编号:1673-4130(2023)11-1311-06

文献标志码:A

Prognostic gene analysis related to lymph node metastasis and tumor immune cell infiltration in esophageal cancer*

FU Wei, CHEN Guobin, DING Yao, ZHANG He, DENG Yajie, LUO Yongjing

Department of Gastroenterology, the 925th Hospital of the Joint Logistics

Support Force, Guiyang, Guizhou 550009, China

Abstract: Objective To investigate the genes associated with lymph node metastasis in esophageal cancer and analyze their relationship with immune infiltration. **Methods** The differentially expressed genes associated with lymph node metastasis of esophageal cancer were analyzed based on the Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Protein-protein interaction (PPI) networks were constructed to screen key genes. According to the identified Hub genes, the expression of hub genes in esophageal cancer with or without lymph node metastasis was analyzed, and functional enrichment analysis was performed. The correlation between identified genes and immune cell infiltration was investigated. LASSO Logistic regression analysis was used to determine the risk score of the most relevant gene construct, and multivariate Cox regression analysis was performed based on the genes in the risk score formula. **Results** A total of 227 genes were differentially expressed in esophageal cancer with lymph node metastasis, including 70 up-regulated and 157 down-regulated genes. A total of 31 central genes were identified by the PPI network, and seven genes in the screening lymph node metastasis group [parathyroid hormone-like hormone (PTH LH), C-type lectin domain 7 family member A (CLEC7A), glucagon (GCG), transient receptor potential ion channel vanilloid subtype 3 (TRPV3), relaxin family peptide receptor 4 (RXFP4), platelet factor 4 (PF4), and growth inhibitory receptor (SSTR5)] were expressed abnormally. Immuno-infiltration analysis showed that PTH LH, CLEC7A, and TRPV3 were positively correlated with Tcm central memory T cells and negatively correlated with Th17 cells, NK CD56 bright cells, and eosinophils; PF4,

* 基金项目:贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwwkj2022-305);联勤保障部队第九二五医院院内课题(YNKT2022-03/2022-04)。

作者简介:付伟,男,主任医师,主要从事消化肿瘤的诊断与治疗相关研究。

SSTR5, and PXP4 were negatively correlated with Tcm central memory T cells and positively correlated with Th17 cells, NK CD56 bright cells, and eosinophils. LASSO Logistic regression analysis identified the three most relevant genes (GCG, TRPV3, SSTR5). Multivariate Cox regression analysis showed that SSTR5 to be an independent prognostic factor. **Conclusion** PTHLH, CLEC7A, GCG, TRPV3, RXFP4, PF4, and SSTR5 are associated with lymph node metastasis and tumour immune cell infiltration in oesophageal cancer.

Key words: esophageal cancer; lymphatic metastasis; immune infiltration; prognostic analysis

食管癌是世界上最常见和最致命的消化系统肿瘤之一。在美国,每年有超过 18 000 人被诊断为食管癌,有超过 15 000 人死于食管癌,大多数患者在诊断后 1 年内死亡^[1]。超过 90% 的食管癌患者病理类型是食管鳞状细胞癌(ESCC)^[1-2]。尽管近年来中国食管癌的发病率有所下降,但由于人口众多,食管癌患者的绝对数量仍然很高。食管癌的主要治疗方法是手术、化疗和放疗。完整的手术切除和根治性淋巴结清扫可以提供准确的分期,目前食管癌患者的分类标准包括组织学分级、原发肿瘤、淋巴结转移等^[3],对预测预后和确定术后治疗方案具有重要的指导意义。一个有效合理的食管癌分期系统对于治疗方案的选择和长期生存的预测具有重要意义^[4-5]。

淋巴结转移是食管癌最关键的预后因素,淋巴结的数量与疾病的进展有关^[4-5]。原发肿瘤和淋巴结扩散的程度决定了食管癌的预后,已有研究发现淋巴结状态是预测复发疾病及 5 年生存率的一个因素^[5]。在食管癌中,需要一种预测生物标志物来确定疾病的进展和预后。本研究基于综合生物信息学分析,探索可能影响食管癌淋巴结转移的基因,并探讨其与免疫浸润的关系,以期为临床治疗食管癌淋巴结转移提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究使用了来自癌症基因组图谱(TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov/>)数据库中食管癌的 RNAseq 数据集 level 3 HTSeq-FPKM 格式的 RNAseq 数据和临床数据,FPKM 格式的 RNAseq 数据转换成了 TPM 格式并进行 log₂ 转化,截止时间 2021 年 3 月 31 日。首先确定了食管癌患者,本研究共包括 144 个标本,包括 66 个无淋巴结转移的标本和 78 个有淋巴结转移的标本。

1.2 淋巴结转移基因表达的差异 将来自 TCGA 数据库的食管癌标本数据分为两组,有淋巴结转移和无淋巴结转移。然后,使用 R 软件的 Limma 软件包研究 mRNA 的差异表达。当“调整的 $P < 0.05$ 和 log₂ (倍数变化) > 1.5 或 log₂ (倍数变化) < -1.5 ”被定义为阈值 mRNA 差异表达筛选。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络结构 PPI 淋巴结转移相关基因网络基于 metascape 在线数据库(<https://metascape.org/gp/#/main/step1>)进行分析,采用 mcode 算法确定中心基因。

1.4 免疫浸润评估 用于分析基因与免疫细胞浸润之间的关系。横坐标代表基因,纵坐标代表免疫细

胞,相关系数范围为-1~1,负值代表呈负相关,正值代表呈正相关。

1.5 基因本体(GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析 采用 GO 富集分析生物过程(BP)、细胞成分(CC)、分子功能(MF),采用 rpack-age 簇图谱对筛选出的淋巴结转移相关基因进行 KEGG 分析。

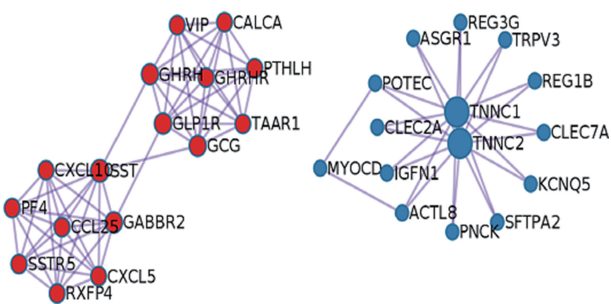
1.6 预后模型 对与淋巴结转移密切相关的基因进行预后模拟,采用 LASSO Logistic 回归分析获得最佳相关基因,确定与预后相关的基因,构建基因特征,并根据每例患者签名中基因的回归系数和相应的表达值计算风险评分。

1.7 统计学处理 从 TCGA 中获得的统计数据采用 R3.6.3 软件包进行处理。灵敏度和准确性通过受试者工作特征(ROC)曲线来验证。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分析淋巴结转移差异表达的基因 利用 TCGA 数据库研究发现,在有淋巴结转移的食管癌中存在 227 个差异表达的基因,其中 70 个为上调基因,157 个为下调基因。

2.2 食管癌中表达的中枢(Hub)基因的 PPI 网络构建 通过分析食管癌有无淋巴结转移的差异表达基因,构建了 70 个上调和 157 个下调基因的 PPI 网络,并确定了 31 个 Hub 基因。另外,将基于 TCGA 数据集的食管癌标本按有无淋巴结转移分为两组,发现其中 7 个基因[甲状旁腺激素样激素(PTH1H)、C 型凝集素域 7 家族成员 A (CLEC7A)、胰高血糖素(GCG)、瞬时受体电位离子通道香草素亚型 3 (TRPV3)、松弛素家族肽受体 4 (RXFP4)、血小板因子 4 (PF4)、生长抑素受体 (SSTR) 5] 的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1、2。



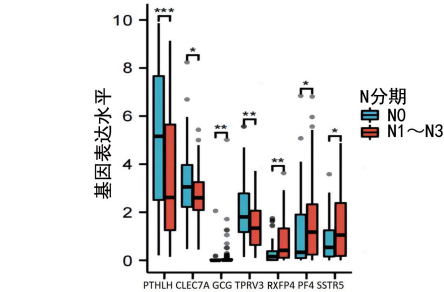
注:图中为前 31 个 Hub 基因,其高度较高的节点以红色、蓝色显示。

图 1 PPI 网络建设图

2.3 GO 富集分析和 KEGG 分析 结果表明,这些基因在 G 蛋白偶联受体信号通路、腺苷酸环化酶激活 G 蛋白偶联受体(GPCR)信号通路、钙离子输入的正向调节、宿主细胞细胞质及神经活性配体-受体相互作用中发挥着重要的作用,见图 3。

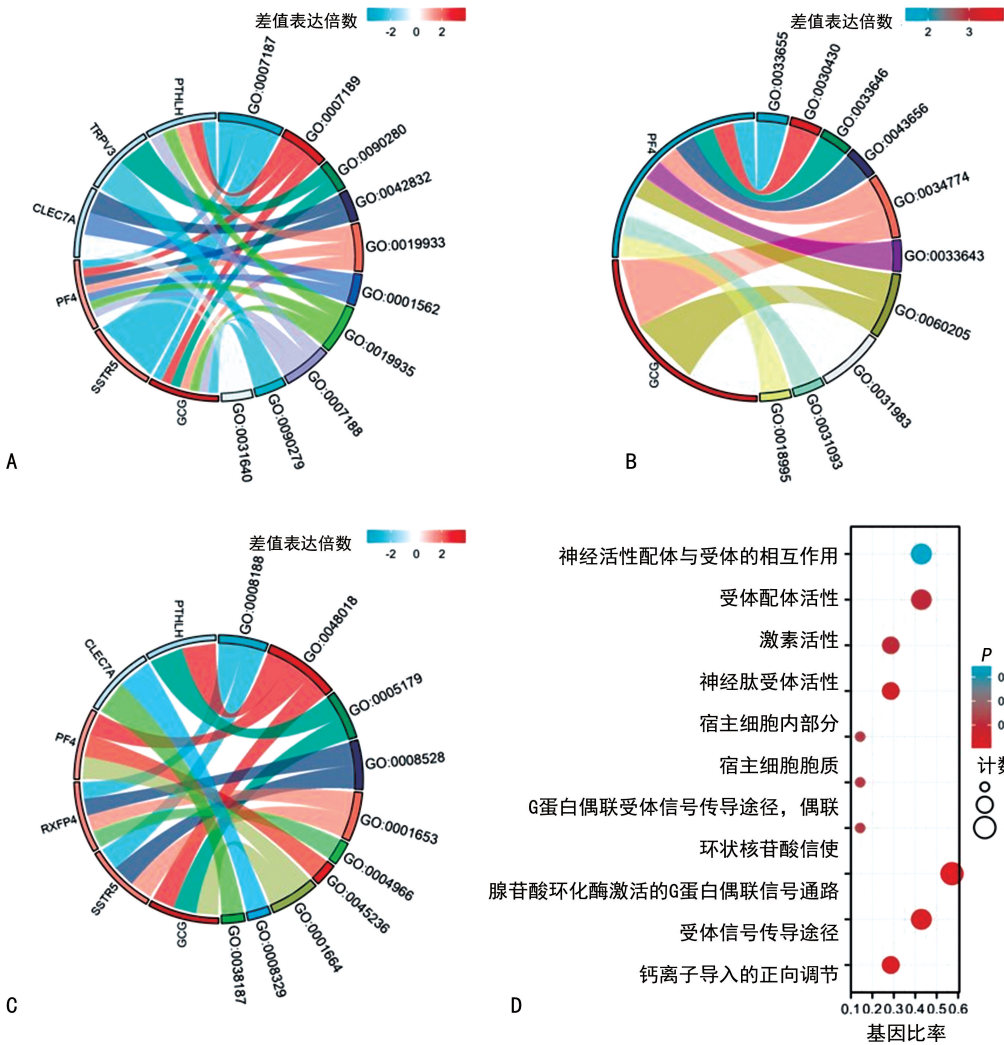
2.4 食管癌中 7 个 Hub 基因与免疫浸润的关系 经过 GO 富集分析发现,GPCR 家族在涉及信号转导的细胞膜受体中占据重要地位,参与调节免疫应答和炎症反应,并且在食管癌的免疫浸润中扮演着重要的角色。进一步分析食管癌基因与免疫浸润的关系发现,这 7 个基因与多种免疫细胞有关,其中 PTHLH、CLEC7A、TRPV3 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈正相关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞

呈负相关;PF4、SSTR5、RXFP4 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈负相关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞呈正相关。见图 4。



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

图 2 食管癌中淋巴结转移的 7 个 Hub 基因的表达



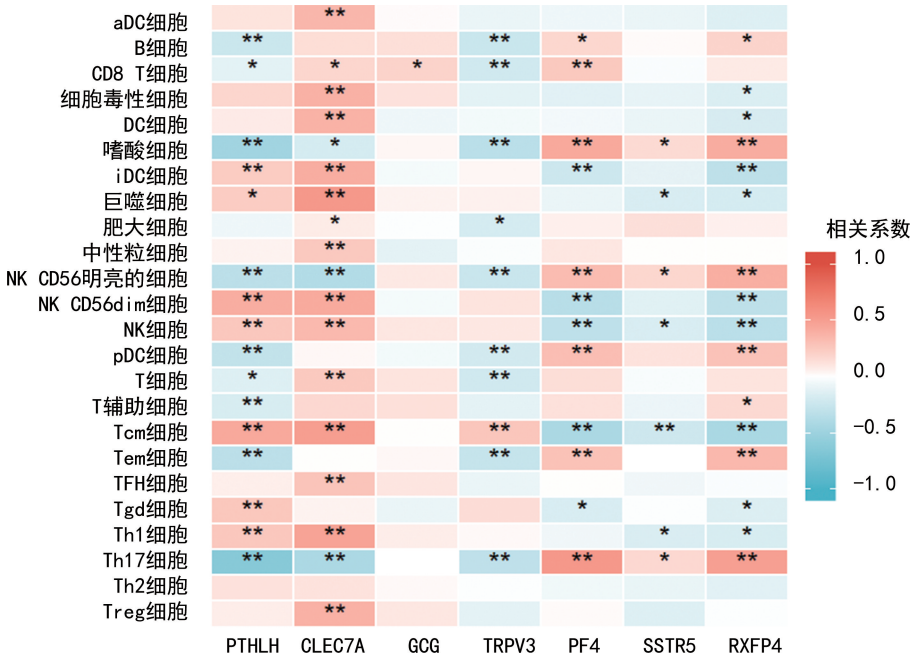
注:A 为 BP 分析的圆图;B 为 CC 分析的圆图;C 为 MF 分析的圆图;D 为 KEGG 分析图。

图 3 7 个 Hub 基因的 GO 分析和 KEGG 分析

2.5 预后建模 对来自食管癌队列的 6 个基因表达矩阵进行了 LASSO Logistic 回归分析,使用有无淋巴结转移来最终确定 3 个最相关的基因(GCG、TRPV3、SSTR5)构建体的风险评分, λ 值最小目标参量均值=0.041,风险评分=0.064 7×GCG+0.082 2×TRPV3+0.092 9×SSTR5。见图 5。

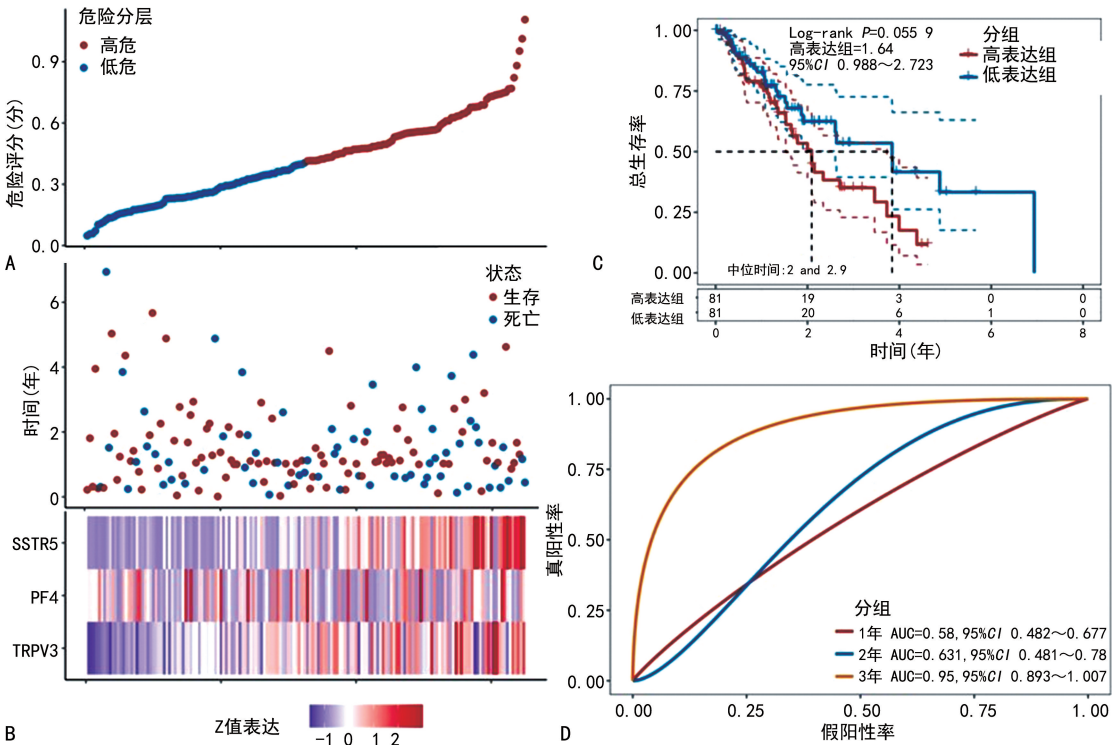
2.6 多因素 Cox 回归分析 进一步分析 TCGA 数据集中的风险模型,显示高危患者的生存状态低于低危患者,风险比(HR)为 1.64, $P=0.056$ 。同时,该模型在 1、3、5 年的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.580、0.631 和 0.950。另外,对基于风险的评分公式中的基因进行了多因素 Cox 回归分析,表明

SSTR5 是独立的预后因素。见表 1。



注：* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ 。

图 4 食管癌中 7 个 Hub 基因与免疫浸润的关系



注：A 为风险评分从低到高的散点图；B 为不同标本风险评分对应的生存时间和生存状态的散点图分布及预后模型中基因表达的热图；C 为高风险患者和低风险患者的 Kaplan-Meier 曲线；D 为该风险模型的 1、3、5 年的 ROC 曲线。

图 5 预后风险模型的构建

表 1 多因素 Cox 回归分析				续表 1 多因素 Cox 回归分析			
基因	HR	95%CI	P	基因	HR	95%CI	P
SSTR5	1.724	1.021~2.910	0.042	TRPV3	1.542	0.891~2.668	0.122
PTHLH	0.745	0.372~1.493	0.407	RXFP4	0.715	0.353~1.446	0.350
CLEC17A	0.916	0.555~1.514	0.733	PF4	1.227	0.648~2.325	0.530

3 讨 论

食管癌是一种常见的恶性肿瘤,预后差,长期生存率低。对于局部晚期可切除的食管癌,新辅助化疗目前是治疗的标准^[6-8]。然而,无论进行何种根治性切除和扩大淋巴结清扫,大多数 ESCC 患者仍然死于局部区域复发和(或)远处转移。因此,食管癌的 5 年生存率仅在 13%~18%^[9],区域淋巴结转移是 ESCC 患者术后失败的主要标志^[10]。有研究报道了 miRNAs 和长非编码 RNA 与 ESCC 转移的关系^[11],表明淋巴结转移与特定生物标志物的异常表达之间存在直接联系。因此,有可能在术后通过检测特定的生物标志物来识别高危的淋巴结转移患者,从而精确地进行术后辅助治疗,提高生存率。

肿瘤细胞可通过系统循环迁移到区域淋巴结。几乎所有类型的癌症都涉及循环肿瘤细胞。淋巴结转移是乳腺癌、头颈部癌症、结直肠癌和前列腺癌的一个公认的预后因素。然而,在不同的癌症中,血管侵犯(淋巴侵犯、血源性传播等)的方法是不同的。HOSCH 等^[12]将食管癌归为免疫性肿瘤。WU 等^[13]报道的机制包括由于主要组织相容性复合体 I 类表型食管癌的 DNA 甲基化对细胞毒性 T 淋巴细胞的功能性抑制而导致的免疫规避和高凝血。

因此,有必要寻找能够预测早期转移现象的生物标志物。在本研究中,在两组有无淋巴结转移的标本中检测到 227 个基因表达差异,70 个上调基因和 157 个下调基因。然后,构建了这些基因的 PPI 网络,并筛选了总共 7 个 Hub 基因,包括 PTHLH、CLEC7A、GCG、TRPV3、RXFP4、PF4、SSTR5。

研究发现,在 ESCC 的一个亚群中溴结构域睾丸特异性蛋白与鳞状细胞表型相关的关键 $\Delta Np63$ 靶基因 PTHLH 环路有关^[14]。有研究发现, CLEC7A 在胰腺导管腺癌(PDA)的巨噬细胞上高表达,靶向 CLEC7A 信号传导是开发 PDA 免疫疗法的潜在策略^[15]。GCG 是林奇综合征发展成结直肠癌的生物标志物^[16]。在结肠癌中发现具有高预后价值的 GCG 异常表达。肿瘤进展相关的途径和肿瘤免疫调节细胞与 GCG 的表达有关。因此,GCG 可被视为治疗结直肠癌的一个潜在治疗靶点。但是在食管癌的研究中相关报道较少^[17]。有研究表明,SSTR 在多肿瘤中过度表达,在食管腺癌患者中,大多数人表达少量的 SSTR^[18]。

淋巴结也是肿瘤转移的常见部位,淋巴结中的癌细胞可以通过控制免疫细胞的浸润和反应性来塑造它们与宿主免疫系统的相互作用。这可能表明淋巴结转移可能与免疫细胞的浸润密切相关。GO 富集分析结果也显示了 7 个 Hub 基因和免疫之间的可能联系。本研究还分析了这些基因与食管癌免疫细胞浸润水平的相关性。免疫浸润分析结果显示,PTHLH、CLEC7A、TRPV3 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈正相

关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞呈负相关;PF4、SSTR5、RXFP4 与 Tcm 中央记忆型 T 细胞呈负相关,与 Th17 细胞、NK CD56 明亮细胞、嗜酸性粒细胞呈正相关。

CLEC7A 通过修饰肠道菌群来调控 Treg 细胞的分化,从而调节肠道免疫稳态^[19]。SSTR5 诱导 SW480 结肠癌细胞凋亡,促进 β -catenin 质膜积累,T 细胞因子依赖的转录失活,下调 Wnt 靶基因 cyclin D1 和 c-Myc^[20]。这进一步证明免疫细胞浸润可以促进食管癌的淋巴结转移。结合这项研究可以看出,这一过程与这 7 个关键基因密切相关,但具体机制还有待研究。

最后,本研究对 TCGA 数据库中 7 个基因表达矩阵进行了 LASSO Logistic 回归分析,通过有无淋巴结转移来最终确定为 3 个最相关基因(GCG、TRPV3、SSTR5)构建的风险评分。此外,基于风险评分公式中变量 Cox 回归分析显示,SSTR5 是独立的预后因素。这可以解释 GCG、TRPV3、SSTR5 与食管癌淋巴结转移的预后密切相关。

但本研究存在一定局限性:(1)TCGA 是一个定期更新的公共数据库,但样本量和数据量有限,临床病理信息不全面,这可能会导致一些潜在的错误或偏见,未来应该包括更多的数据来改进模型;(2)缺乏体内和体外实验的验证。本课题组还将继续进行基因对相应免疫细胞调节机制的研究。

综上所述,食管癌中有 7 个基因与淋巴结转移有关。此外,GCG、TRPV3、SSTR5 与食管癌淋巴结转移的预后密切相关。上述 7 个基因可能通过免疫细胞浸润促进食管癌的淋巴结转移,但其具体机制仍有待研究,这也为免疫疗法阻止食管癌的进展提供了潜在的方向。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022[J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] QIU B Z, ZHOU Y, LOU M, et al. The effect of the appropriate timing of radiotherapy on survival benefit in patients with metastatic esophageal cancer who have undergone resection of primary site: a SEER database analysis[J]. J Oncol, 2022, 2022: 6086953.
- [3] BETANCOURT-CUELLAR S L, BENVENISTE M F K, PALACIO D P, et al. Esophageal cancer staging[J]. Korean J Thorac Cardiovasc Surg, 2015, 48(3): 157-163.
- [4] YANG Y M, HONG P, XU W W, et al. Advances in targeted therapy for esophageal cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 229.
- [5] YAMAMOTO S, KATO K. Immuno-oncology for esophageal cancer[J]. Future Oncol, 2020, 16(32): 2673-2681.
- [6] CATS A, JANSEN E P M, VAN GRIEKEN N C T, et al. Chemotherapy versus chemoradiotherapy after surgery and preoperative chemotherapy for resectable gastric

- cancer (CRITICS): an international, open-label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(5): 616-628.
 - [7] SHAPIRO J, VAN LANSCHOT J J B, HULSHOF M C C M, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for oesophageal or junctional cancer (CROSS): long-term results of a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(9): 1090-1098.
 - [8] LI C Q, ZHAO S G, ZHENG Y Y, et al. Preoperative pembrolizumab combined with chemoradiotherapy for oesophageal squamous cell carcinoma (PALACE-1) [J]. *Eur J Cancer*, 2021, 144: 232-241.
 - [9] ARNAL M J D, ARENAS Á F, ARBELOA Á L. Esophageal cancer: risk factors, screening and endoscopic treatment in Western and Eastern countries[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(26): 7933-7943.
 - [10] CUI T T, ZHANG H J, YU T, et al. Pattern of recurrence in 428 patients with thoracic esophageal squamous cell carcinoma after radical surgery and its implication in postoperative radiotherapeutic clinical target volume[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 652365.
 - [11] SU M, TANG J M, ZHANG B H, et al. LncRNA GACAT3 promotes esophageal squamous cell carcinoma progression through regulation of miR-149/FOXO1 [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 478.
 - [12] HOSCH S B, IZBICKI J R, PICHLMEIER U, et al. Expression and prognostic significance of immunoregulatory molecules in esophageal cancer[J]. *Int J Cancer*, 1997, 74(6): 582-587.
 - [13] WU T, WU C X, ZHAO X Y, et al. Extrachromosomal DNA formation enables tumor immune escape potentially through regulating antigen presentation gene expression [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 3590.
 - [14] WANG X, KUTSCHAT A P, YAMADA M, et al. Bromodomain protein BRDT directs DeltaNp63 function and super-enhancer activity in a subset of esophageal squamous cell carcinomas[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(7): 2207-2220.
 - [15] DALEY D, MANI V R, MOHAN N, et al. Dectin 1 activation on macrophages by galectin 9 promotes pancreatic carcinoma and peritumoral immune tolerance [J]. *Nat Med*, 2021, 27(12): 2247-2248.
 - [16] LI H F, SUN L W, ZHUANG Y, et al. Molecular mechanisms and differences in lynch syndrome developing into colorectal cancer and endometrial cancer based on gene expression, methylation, and mutation analysis[J]. *Cancer Causes Control*, 2022, 33(4): 489-501.
 - [17] DU W F, MIAO Y, ZHANG G Q, et al. The regulatory role of neuropeptide gene glucagon in colorectal cancer: a comprehensive bioinformatic analysis [J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 4262600.
 - [18] HERLIN G, LUNDELL L, OST A, et al. Quantitative assessment of (99m) tc-depreotide uptake in oesophageal cancer and precursor conditions and its reflection in immunohistochemically detected somatostatin receptors[J]. *Radiol Res Pract*, 2012, 2012: 415616.
 - [19] TANG C, KAMIYA T, LIU Y, et al. Inhibition of dectin-1 signaling ameliorates colitis by inducing lactobacillus-mediated regulatory T cell expansion in the intestine[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(2): 183-197.
 - [20] WANG S, BAO Z, LIANG Q M, et al. Octreotide stimulates somatostatin receptor-induced apoptosis of SW480 colon cancer cells by activation of glycogen synthase kinase-3beta, a Wnt/beta-catenin pathway modulator [J]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60(127): 1639-1646.
- (收稿日期: 2022-10-12 修回日期: 2023-01-31)
-
- (上接第 1310 页)
- [11] ZHANG M Y, JIANG Y X, YANG Y C, et al. Cigarette smoke extract induces pyroptosis in human bronchial epithelial cells through the ROS/NLRP3/caspase-1 pathway [J]. *Life Sci*, 2021, 269(1): 119090.
 - [12] WANG W, WU W, WANG B, et al. Effect of houttuynia on improving lung injury in chronic obstructive pulmonary disease by regulating the TLR4 signaling pathway[J]. *Food Sci Nutr*, 2021, 9(7): 3389-3396.
 - [13] 林德华, 王成枫, 余养生. 辛伐他汀通过调控 NOTCH 信号通路来抑制慢阻肺免疫失衡和炎症反应[J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(5): 839-845.
 - [14] HUANG Y, XU W, ZHOU R. NLRP3 inflammasome activation and cell death [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9): 2114-2127.
 - [15] WANG L, CHEN Q, YU Q, et al. TREM-1 aggravates chronic obstructive pulmonary disease development via activation NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis [J]. *Inflamm Res*, 2021, 70(9): 971-980.
 - [16] RAO Y, GAI X, XIONG J, et al. Transient receptor potential cation channel subfamily V member 4 mediates pyroptosis in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Front Physiol*, 2021, 12(1): 783891.
 - [17] MO R, ZHANG J, CHEN Y, et al. Nicotine promotes chronic obstructive pulmonary disease via inducing pyroptosis activation in bronchial epithelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(3): 92.
 - [18] TIAN X, XUE Y, XIE G, et al. Epicatechin ameliorates cigarette smoke-induced lung inflammation via inhibiting ROS/NLRP3 inflammasome pathway in rats with COPD [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 429(1): 115674.
 - [19] 李海霞. 自拟调肺饮对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者 NLRP3 mRNA/NLRP3/IL-1β 细胞焦亡通路的影响[J]. *环球中医药*, 2019, 12(8): 1268-1271.
- (收稿日期: 2022-09-30 修回日期: 2023-02-11)