

整合蛋白质组学与单细胞转录组学揭示SERPINB6棕榈酰化修饰促胃癌分子机制

杨婕¹ 白俊平² 郭峰华³ 安利伟² 周兆才^{1*}

(¹复旦大学生命科学学院, 上海 200438; ²同济大学医学院癌症中心, 上海 200072; ³复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

摘要 蛋白质棕榈酰化修饰失调在肿瘤发生发展与治疗抵抗过程中扮演关键角色, 但其在胃癌中的异常调控网络与修饰底物尚未完全明确。该研究首先通过分析TCGA数据库发现胃癌组织中ZDHHC家族棕榈酰化修饰酶表达与活性显著升高, 且与患者不良预后及免疫治疗抵抗相关。进而利用4D无标记定量蛋白质组学技术结合代谢物标记的点击化学法绘制并比较了胃癌与癌旁棕榈酰化修饰蛋白图谱, 共鉴定出了495个棕榈酰化修饰蛋白, KEGG和GO通路分析发现差异蛋白主要参与糖代谢重编程及氧化还原稳态调控。其中, SERPINB6和PPA1在肿瘤中显著上调而ALDH6A1和GLUL下调。最后, 基于公共数据库的单细胞分析显示蛋白差异富集于肿瘤上皮亚群, 关键差异蛋白SERPINB6高表达通过激活脂代谢通路驱动脂肪酸代谢, 并重塑细胞间通讯网络: 增强细胞黏附相关信号促进物理屏障的形成, 增强肿瘤细胞耐药及免疫抵抗, 同时抑制T/NK细胞功能并促进免疫逃逸。该研究的结果揭示了棕榈酰化修饰蛋白SERPINB6可能通过代谢重编程与免疫微环境交互驱动胃癌进展的双重机制, 为靶向该修饰网络的精准治疗策略提供了新的方向。

关键词 胃癌; 棕榈酰化修饰; 蛋白质组; 单细胞转录组学

Integrated Proteomics and Single-Cell Transcriptomics Reveal the Molecular Mechanism by Which SERPINB6 Palmitoylation Drives Gastric Cancer Progression

YANG Jie¹, BAI Junping², GUO Fenghua³, AN Liwei², ZHOU Zhaocai^{1*}

(¹School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200348, China; ²Tongji University Cancer Center, School of Medicine, Shanghai 200072, China; ³Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract Dysregulation of palmitoylation plays a pivotal role in tumorigenesis, progression, and therapeutic resistance, yet its aberrant regulatory network in gastric cancer remains elucidated. This study first identified significantly elevated activity of the ZDHHC enzyme family in gastric cancer tissues through analysis of the TCGA database, which correlated with poor patient prognosis and immunotherapy resistance. Subsequently, utilizing 4D label-free quantitative proteomics combined with metabolite-labeled click chemistry, palmitoylated proteins were screened in gastric cancer, identifying 495 palmitoylated proteins. Among these, SERPINB6 and PPA1 were markedly upregulated in tumors, while ALDH6A1 and GLUL were downregulated. Differential proteins were predominantly implicated in glycolytic reprogramming and redox homeostasis regulation. Single-cell transcriptomics

收稿日期: 2025-04-23

接受日期: 2025-05-26

国家重点研发计划(批准号: 2020YFA0803200)和上海市原创探索项目(批准号: 23ZR1480400)资助的课题

*通信作者。Tel: 021-66300215, E-mail: zhouzhaocai@fudan.edu.cn

Received: April 23, 2025

Accepted: May 26, 2025

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2020YFA0803200) and the Shanghai Original Exploration Project (Grant No.23ZR1480400)

*Corresponding author. Tel: +86-21-66300215, E-mail: zhouzhaocai@fudan.edu.cn

analysis revealed that these proteins were enriched in tumor epithelial subpopulations. Key differential proteins, such as SERPINB6, driven by high expression, activated lipid metabolic pathways to promote fatty acid metabolism and remodeled intercellular communication networks: enhancing cell adhesion-related signaling to reinforce physical barriers, thereby fostering tumor cell drug resistance and immune evasion, while simultaneously suppressing T/NK cell function and promoting immune escape. These findings elucidate a dual mechanism by which palmitoylation protein SERPINB6 may drive gastric cancer progression through metabolic reprogramming and immune microenvironment crosstalk, providing novel directions for precision therapeutic strategies targeting this modification network.

Keywords gastric cancer; palmitoylation; proteomics; single-cell transcriptomics

胃癌作为消化系统最具侵袭性的恶性肿瘤之一,其发病与死亡比例持续位居全球癌症发病前列,高致死率与极强的异质性特征使得胃癌防控面临重大挑战。2022年全球癌症统计报告显示,胃癌新增病例达968 350例,死亡人数约659 853例,发病率与死亡率分别位列恶性肿瘤第六位和第四位^[1]。值得注意的是,胃癌发病呈现明显的地域分布差异:东亚地区(包括中国、日本、韩国)因独特的饮食模式(如高盐腌制食品摄入)、幽门螺杆菌感染率(超过50%)及遗传易感性,成为全球胃癌负担最重的区域^[2]。我国胃癌防治形势尤为严峻:最新流行病学数据显示,农村地区胃癌粗发病率高达30/10万,5年生存率不足20%,显著低于发达国家平均水平^[3]。

蛋白质功能的精准调控不仅依赖于一级氨基酸结构,更通过翻译后修饰(post-translational modification, PTM)实现动态调节。作为生命体最复杂的调控网络之一,PTM通过200余种修饰类型(如磷酸化、泛素化、糖基化、脂基化等)显著拓展了蛋白质组的多样性与功能可塑性^[4]。这些修饰通过改变蛋白质构象、亚细胞定位、稳定性及相互作用分子网络,在细胞周期调控、代谢重编程、信号转导等生理病理过程中发挥核心作用。在肿瘤发生发展中,PTM异常与致癌驱动基因突变具有同等重要的生物学意义^[5]。例如磷酸化修饰:EGFR胞内段酪氨酸激酶域磷酸化驱动受体二聚化及下游PI3K/AKT信号激活,促进细胞增殖与存活^[6];泛素化修饰:肿瘤抑制蛋白p53的MDM2依赖泛素化降解导致其功能失活,促进基因组不稳定性^[7];糖基化修饰:PD-L1的N-糖基化修饰增强其膜稳定性,促进肿瘤免疫逃逸^[8]。

棕榈酰化修饰作为一种可逆的脂质修饰,通过ZDHHC酶家族催化棕榈酸与蛋白质半胱氨酸残基形成硫酯键,动态调控膜蛋白的亚细胞定位与功能

活性^[9-11]。这种修饰可通过多种生物学特性从不同角度参与肿瘤发生发展。例如:时空特异性,不同ZDHHC亚型呈现组织特异性表达模式,其修饰活性受细胞周期、代谢状态及应激信号调控^[12];功能多样性,通过改变膜蛋白在脂筏区的分布,调控信号转导复合物组装(如CD8 β 棕榈酰化通过促进其与p56lck的结合及脂筏中p56lck的激活,对T细胞活化至关重要^[13]),影响细胞极性维持与物质运输;病理相关性,异常棕榈酰化修饰与多种疾病密切相关,如亨廷顿舞蹈症中突变HTT蛋白的棕榈酰化导致其毒性聚集^[14],阿尔茨海默病中APP蛋白修饰异常促进 β 淀粉样斑块形成^[15]。在肿瘤研究中,棕榈酰化的重要性逐渐凸显。以乳腺癌为例,HER2棕榈酰化增强其二聚化及下游信号转导,促进肿瘤细胞增殖与迁移^[16]。在结直肠癌中,Wnt信号通路关键分子Porcn的棕榈酰化修饰是Wnt蛋白分泌及信号激活的必要条件,抑制该修饰可显著阻断肿瘤生长^[17]。前列腺癌研究中发现,ZDHHC2通过棕榈酰化修饰雄激素受体(androgen receptor),促进其核定位及增强其转录活性,驱动去势抵抗性前列腺癌进展^[18]。

尽管棕榈酰化修饰在乳腺癌、前列腺癌等实体瘤中的病理作用机制研究取得重要进展,但对其在胃癌发生发展中的作用机制尚未系统阐明^[19]。现有研究多局限于ZDHHC家族成员表达水平与临床预后的关联性分析,如YAN等^[20]发现ZDHHC2低表达与胃腺癌淋巴结转移及不良预后相关。本研究基于TCGA胃癌队列的生物信息学分析,首次揭示ZDHHC酶家族活性评分与胃癌预后及抗肿瘤免疫应答的显著相关性,提示棕榈酰化修饰在胃癌进展中的重要作用。为鉴定关键调控分子,本研究整合4D蛋白质组学技术,系统描绘胃癌特异性棕榈酰化修饰蛋白图谱,发现SERPINB6和PPA1等上调蛋白

及ALDH6A1与GLUL等下调蛋白,其功能富集显示显著参与糖代谢重塑、核糖体合成及氧化还原稳态调控。进一步分析显示,肿瘤细胞亚群特异性高表达SERPINB6可通过激活PPAR信号通路,驱动脂质代谢重编程(ACSL1/PLA2G2上调),增强紧密连接通讯作用以构建物理屏障,同时上调CD46、TIGIT等免疫抑制通路相关蛋白的表达,形成免疫逃逸微环境。本研究从临床关联、代谢调控到免疫重塑多维度解析棕榈酰化修饰在胃癌中的调控网络,填补棕榈酰化修饰与胃癌研究的空白,揭示SERPINB6等关键修饰蛋白作为潜在治疗靶点的转化医学价值。

1 材料与方法

1.1 数据来源与样本信息

1.1.1 公共数据库数据 TCGA-STAD队列: 下载胃癌患者的RNA-seq数据(FPKM标准化)及临床生存信息。

GEO转录组数据集: 下载来自GEO数据库GSE5081($n=32$)和GSE27411($n=18$)的胃癌转录组数据。

GEO单细胞数据集: 下载来自GEO数据库GSE183904($n=40$)的胃癌/癌旁单细胞转录组数据(10× Genomics平台)。

1.1.2 实验样本 组织样本: 本论文中所使用的胃癌病人肿瘤组织($n=3$)以及配对的癌旁组织均由复旦大学附属华山医院普外科提供,病理信息如表1。纳入的胃癌患者均已知情且签署使用标本的书面知情同意书。本研究依据《赫尔辛基宣言》进行,并经复旦大学附属华山医院机构伦理评审委员会批准(批准文号: 2017-222)。

样本处理: 组织经液氮速冻后保存于 -80°C ,质谱检测前使用RIPA裂解液(含蛋白酶/磷酸酶抑制剂)提取总蛋白。

1.2 实验方法

1.2.1 棕榈酰化修饰质谱检测 组织样本首先使用含蛋白酶及磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液提取总蛋白,随后通过BCA法测定蛋白浓度,并取等量蛋白的裂解液与终浓度为 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ 棕榈酰炔烃辅酶A(palmitoyl alkynyl-coenzyme A)在冰上孵育1 h以引入炔基修饰。孵育结束后,向裂解液中依次加入终浓度为 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的TBTA、 $500\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的TCEP、 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的 CuSO_4 、 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的叠氮生物素(Biotin-Azido)以及 2.5 mmol/L 的抗坏血酸钠,在室温避光条件下于摇床上孵育2 h,以实现炔基与叠氮基团的点击化学反应。反应完成后,通过加入适量甲醇于 4°C 过夜沉淀蛋白, $8\text{ }000\times\text{g}$ 离心5 min后弃上清,沉淀用预冷甲醇洗涤2次。所得沉淀用含1% SDS的RIPA裂解液溶解后,加入链霉亲和素(streptavidin)修饰的磁珠,室温混合2 h以捕获生物素标记的蛋白。通过室温 $1\text{ }000\text{ r/min}$ 离心3 min收集磁珠,并用RIPA裂解液洗涤3次以去除非特异性结合。随后,将磁珠修饰的肽段溶解后进行质谱分析,质谱检测采用高分辨率四维无标记定量(4D label-free)技术。质谱数据由美吉生物科技有限公司进行测定,质谱原始数据通过MaxQuant软件分析,匹配至Uniprot Human数据库(含常见污染物序列)。关键参数设置如下。肽段与蛋白质鉴定: 一级质量容差 $\leq 20\text{ mg/L}$, 二级质量容差 $\leq 0.05\text{ Da}$; FDR控制: 采用目标-诱饵数据库策略,通过Benjamini-Hochberg法校正,肽段水平的FDR阈值均设为1%,确保肽段鉴定的准确性和可靠性; 定量分析: label-free强度基于Top3肽段信号,仅保留在2/3样本中检测到的蛋白进行差异分析。

1.2.2 棕榈酰化修饰蛋白差异分析 对标准化后的蛋白质表达数据进行 $\log_2$ 转换,以稳定方差并满足线性模型假设。根据每一对样本的癌和癌旁定义分组变量,并设置配对变量。构建线性模型设计

表1 三例胃癌病人病理信息
Table 1 Pathological data of three gastric cancer cases

患者ID Patient ID	年龄 Age	性别 Gender	诊断部位 Location	组织学分类 Histological classification	T	N	M	分化等级 Differentiation grade	Lauren分型 Lauren classification
1	45	Female	Body of stomach	Adenocarcinoma	4a	2	0	1	Diffuse
2	59	Male	Body of stomach	Adenocarcinoma	4a	1	0	1	Diffuse
3	73	Male	Body of stomach	Adenocarcinoma	4	1	0	1	Diffuse

矩阵, 包含分组效应和配对效应以消除个体间异质性。使用limma包的lmFit函数拟合线性模型, 并通过contrasts.fit和eBayes进行经验贝叶斯调整, 计算差异表达统计量。同时, 采用arrayWeights函数计算样本权重, 以校正不同样本的质控偏差。将权重整合至线性模型[lmFit(weights=aw)], 提升差异分析的准确性。设置显著性阈值: $P < 0.05$; 效应量阈值: $|\log_2FC(\text{fold change})| > 1.5$ 。FDR校正: 采用Benjamini-Hochberg方法控制多重假设检验的假发现率。

1.2.3 生物信息学分析 生物信息学分析方法包括以下几种。(1) TCGA预后分析。从TCGA数据库下载胃癌基因表达谱数据, 使用GSVA包计算ZDHHC酶家族的基因集活性评分, 结合Kaplan-Meier生存分析评估其与胃癌预后的相关性, 按评分中位数将患者分为高/低组, 采用log-rank检验, 并通过Cox风险模型验证评分的独立预后价值。利用CIBERSORT包反卷积分析肿瘤微环境, 评估GSVA评分与22种免疫细胞浸润的相关性。

(2) 单细胞转录组分析。单细胞转录组数据采用Seurat包进行预处理: 过滤基因数 < 200 或 $> 6\,000$ 、线粒体基因占比 $> 10\%$ 的细胞, 标准化每个细胞的UMI总数为 $10\,000$, 检测高变基因(平均表达量 $0.05 < \text{mean} < 3$, 离散度 > 0.5), 通过PCA降维(选取前30个主成分)及UMAP可视化分群。

(3) 染色体拷贝数变异分析。利用R语言中的Copykat包来进行染色体拷贝数变异分析, 得到拷贝数变异的位置、大小和类型等信息, 将这些信息添加到Seurat对象的meta.data中进行UMAP可视化。

(4) 细胞互作分析。使用R语言中的CellChat包来模拟和分析细胞间的通讯情况。具体步骤包含输入基因表达数据和细胞标签, 创建CellChat对象。设置配体-受体相互作用的数据库, 包括人类和小鼠的配体-受体对信息。用CommunProb和ComputeProb-Pathway这两个函数分别推断每个配体-受体对和信号转导途径的网络。最后, 通过多种可视化输出, 包括网络图、层次图、和弦图、热图等, 得到配体-受体的相互作用、信号通路活性、细胞间网络构建以及定量分析的结果。细胞互作差异分析是将上皮组织分为高表达SERPINB6和低表达SERPINB6的两组, 分别与其他细胞类型进行细胞互作分析后利用CellChat包中自带的函数进行比较, 然后进行上述的可视化。

所有数据可视化采用ggplot2包绘制, 包括生存曲线与火山图, ComplexHeatmap展示聚类热图。组间差异统计采用t检验(正态分布)或Wilcoxon秩和检验(非参数), 多重检验经Benjamini-Hochberg法校正(显著性阈值 $P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 棕榈酰化修饰活性与胃癌患者预后显著相关

为了系统揭示棕榈酰化修饰酶与胃癌发生的病理关联, 本研究首先通过构建ZDHHC酶家族基因集(ZDHHC1~24)并应用GSVA分析, 发现胃癌组织(Tumor)的ZDHHC活性评分显著高于正常组织(Normal, $P < 0.000\,1$, 图1A), 提示ZDHHC家族介导的棕榈酰化修饰在胃癌发生中可能发挥调控作用。生存分析进一步表明, 高GSVA评分组患者的总生存率显著低于低评分组(Kaplan-Meier曲线, $P < 0.01$, 图1B和表2), 且Cox回归分析进一步证实ZDHHC活性评分是胃癌预后的独立危险因素($HR = 1.42$, $P < 0.01$), 表明其可作为胃癌预后的潜在生物标志物。GSVA评分与临床特征分析显示, ZDHHC评分在年龄高低分组间存在显著差异($P < 0.05$, 图1C), 提示年龄可能通过潜在机制影响棕榈酰化修饰活性; 同时, 不同诊断部位的ZDHHC评分差异亦具有统计学意义($P < 0.05$, 图1D), 其中诊断部位为胃体部患者的GSVA评分显著高于胃底部。结合胃体部富含代谢活跃的主细胞和壁细胞的特征, 推测其棕榈酰化修饰活性升高可能与膜蛋白功能调控(如质子泵定位)或脂代谢通路活化相关。进一步解析胃癌异质性发现, 不同TCGA分子分型的ZDHHC活性评分呈现显著差异($P < 0.000\,1$, 图1F)。其中, 基因组稳定型(genomically stable, GS)评分最低, 而EBV阳性型与微卫星不稳定型(microsatellite instable, MSI)评分显著升高, 提示EBV感染可能通过病毒编码蛋白调控宿主棕榈酰化修饰网络, 而MSI亚型的高突变负荷可能通过代谢应激诱导ZDHHC酶代偿性激活。值得注意的是, 结合GEO队列(GSE5081/GSE27411)的幽门螺杆菌感染状态分析显示, EBV阳性胃癌患者的ZDHHC评分显著低于EBV阴性组($P < 0.05$, 图1E), 表明EBV感染可能通过干扰宿主蛋白棕榈酰化修饰重塑肿瘤微环境。

免疫微环境分析显示, GSVA评分与多种免疫细胞浸润显著相关(图1E): 与记忆性B细胞、激活态肥大细胞及NK细胞呈负相关, 而与M0型巨噬细胞、

驻留态肥大细胞、驻留态NK细胞及滤泡辅助T细胞呈正相关,反映棕榈酰化修饰活性升高可能通过抑制抗肿瘤免疫应答(如NK细胞毒性)和促进免疫抑制性微环境(如M0巨噬细胞极化)^[21]参与胃癌进展。

2.2 基于点击化学策略绘制胃癌棕榈酰化修饰蛋白质组

为深入解析棕榈酰化修饰调控胃癌的分子机制,本研究采用4D无标记定量蛋白质组学技术结合代谢物标记的点击化学法,对三对胃癌及癌旁组织样本进行蛋白质组棕榈酰化修饰分析(图2A)。结果显示共鉴定到495个棕榈酰化修饰蛋白(图2B),其中421个为Swiss-Palm数据库^[22]已收录蛋白,149个为数据库中已明确鉴定修饰位点的蛋白。GO富集分析表明,这些蛋白显著富集于胞质翻译、核糖核蛋白复合体生物发生、核糖磷酸代谢及小分子代谢等生物过程,细胞-底物连接、黏着斑及核糖体等细胞组分,以及钙粘蛋白结构成分、核糖体、GTP连接酶活性及氧化还原酶活性等分子功能(图2C~图2E)。KEGG通路分析则揭示其与核糖体、糖代谢、内质网蛋白质加工、氨基酸生物合成及糖酵解(TCA循环)等代谢途径密切相关,上述结果表明胃癌组织中棕榈酰化修饰蛋白的富集模式与细胞增殖、代谢及信号转导密切相关,特别是核糖体相关蛋白的棕榈酰化修饰可能通过调控蛋白质合成效率影响胃癌细胞生长,而糖代谢及TCA循环通路的富集则提示棕榈酰化修饰可能参与能量代谢重编程(图2F)。

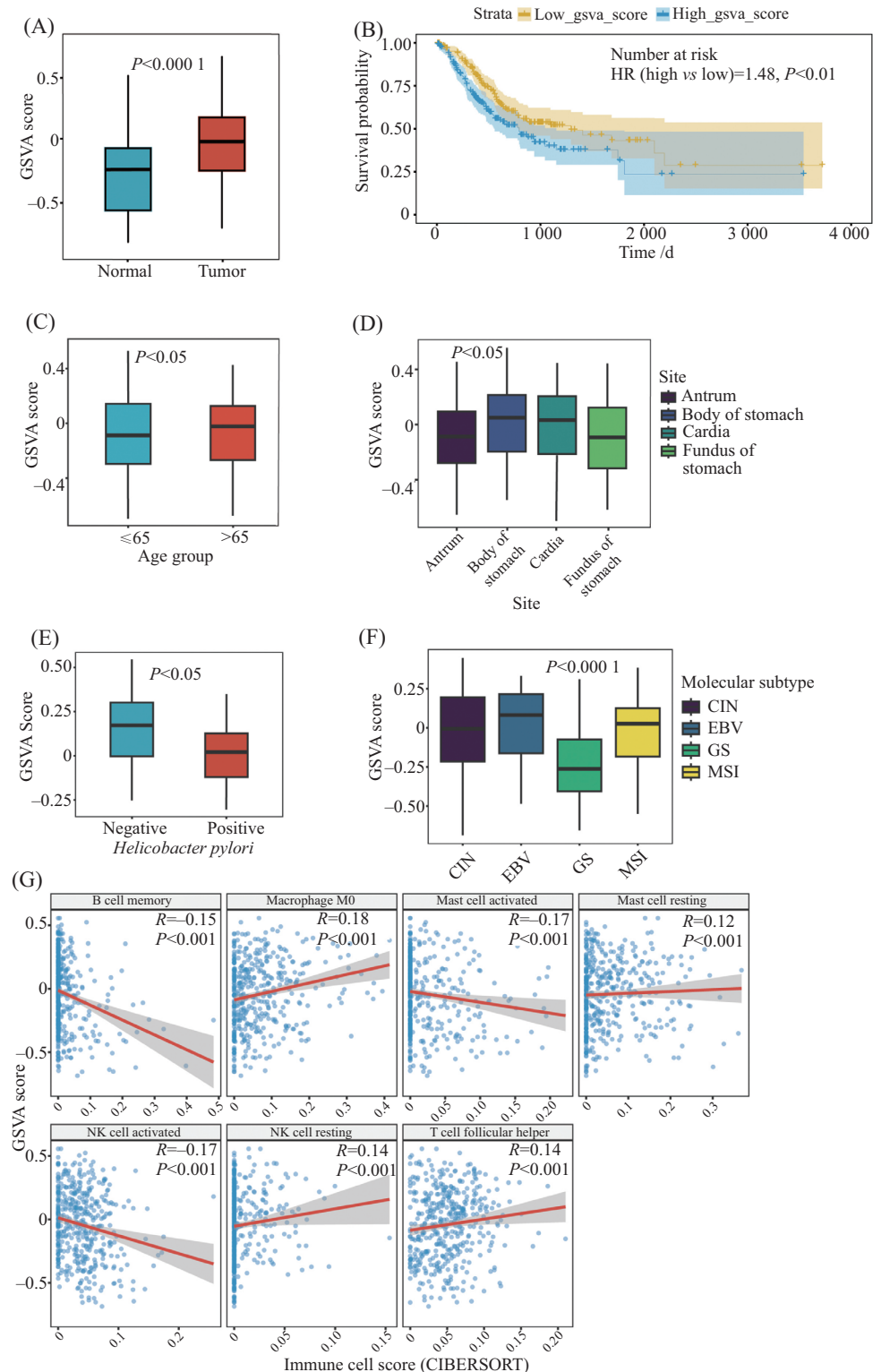
为解析胃癌组织与癌旁组织中棕榈酰化修饰蛋白的差异特征,用质谱数据对Tumor与Normal样本进行差异分析。火山图显示,相较于癌旁组,肿瘤组织中显著上调的棕榈酰化修饰蛋白(例如SERPINB6和PPA1)与下调蛋白(例如LIPF和GLUL)形成明显分离趋势(图3A)。热图进一步直观展示了差异蛋白在两组样本中的表达模式(图3B)。对差异蛋白进行文献调研的结果显示,PLS1是已经鉴定的棕榈酰化修饰蛋白,其修饰水平可调控蛋白在细胞膜与细胞核之间的穿梭定位^[23]。此外,GLUL同样也是已经鉴定的自棕榈酰化修饰蛋白,其修饰活性抑制可导致线粒体定位减弱,并进一步削弱与甘油三酯脂肪酶(ATGL)的相互作用,从而影响脂质分解代谢^[24]。GO功能富集分析(图3C和图3E)显示,差异上调蛋白在生物过程中主要参与缺氧响应、脂肪酸代谢及脂质修饰,细胞组分富集于焦点黏着和细

胞连接,分子功能则与ATP水解酶活性、未折叠蛋白结合及脂肪酸结合密切相关,提示其通过增强膜相关信号复合物组装和能量代谢适应性(ATP供能)维持肿瘤细胞侵袭表型。差异下调蛋白则显著富集于二羧酸代谢、氨基酸分解及细胞呼吸等生物过程,细胞组分集中于氧化还原酶复合体和线粒体基质,分子功能涉及氧化还原酶与棕榈酰基转移酶活性,其修饰缺失可能导致ROS清除能力下降及线粒体功能障碍,从而加剧基因组不稳定性。进一步KEGG通路分析(图3D和图3F)表明,差异上调蛋白主导糖酵解/糖异生、脂肪酸降解及EBV感染通路,而下调蛋白集中于乙二酸代谢、氨基酸生物合成等通路。这一双向代谢调控模式提示,棕榈酰化修饰通过激活糖酵解-脂解轴与抑制线粒体氧化代谢协同重塑胃癌能量代谢景观,形成促增殖的“Warburg效应”强化状态。总的来说,富集分析的结果提示棕榈酰化修饰可能通过驱动胃癌细胞代谢重编程实现胃癌恶性表型的维持。进一步通过TCGA数据库验证发现,差异蛋白的棕榈酰化修饰改变(图3G)与其RNA表达水平变化趋势基本一致,但相关性分析(图3H)显示两者相关系数($R=0.31$, $P=3.01\times 10^{-12}$)较低,表明棕榈酰化修饰对蛋白水平的调控可能部分独立于RNA水平,提示翻译后修饰在胃癌发生中具有独特的调控作用。上述结果综合表明,棕榈酰化修饰通过调控糖代谢、蛋白质稳态及氧化还原平衡等关键通路,可能在胃癌发生发展中发挥重要作用。

2.3 单细胞转录组解析差异修饰蛋白的细胞类型特异性分布

为了深入解析差异修饰蛋白在胃癌微环境中的功能,本研究进行了单细胞转录组学的分析。下载了GSE183904胃癌单细胞数据集($n=40$)并进行分析^[25],UMAP分群鉴定了8个主要细胞类型:T/NK细胞、髓系细胞、B细胞、上皮细胞、基质细胞、内皮细胞、肥大细胞及成纤维细胞(图4A),分群依据为经典标记基因(如EPCAM⁺上皮细胞、PECAMI⁺内皮细胞,图4B)。质谱筛选的差异棕榈酰化蛋白在单细胞层面显示,差异上调蛋白(如SERPINB6和PPA1)与差异下调蛋白(如GLUL和ALDH6A1)的表达变化主要富集于上皮细胞亚群(图4C),提示棕榈酰化修饰的失调可能主要在胃癌上皮细胞中具有核心调控作用。

为进一步解析差异蛋白在上皮细胞中的调控



A: ZDHHC酶家族基因集(ZDHHC1~24)的GSVA活性评分箱线图; B: 基于ZDHHC活性评分的胃癌患者总生存率Kaplan-Meier曲线; C: ZDHHC活性评分与患者年龄的箱线图; D: ZDHHC活性评分与胃癌诊断部位的箱线图; E: ZDHHC活性评分与幽门螺杆菌感染的箱线图; F: ZDHHC活性评分与TCGA分子分型的箱线图; G: ZDHHC活性评分与免疫细胞浸润的相关性图。

A: GSVA activity score boxplots of ZDHHC enzyme family gene set (ZDHHC1-24); B: Kaplan-Meier curve of overall survival rate in gastric cancer patients based on ZDHHC activity scores; C: boxplot of ZDHHC activity scores stratified by patient age; D: boxplot of ZDHHC activity scores stratified by gastric cancer diagnosis site; E: boxplot of ZDHHC activity scores stratified by *Helicobacter pylori* infection status; F: boxplot of ZDHHC activity scores stratified by TCGA molecular subtypes; G: correlation diagram between ZDHHC activity scores and immune cell infiltration.

图1 ZDHHC家族介导的棕榈酰化修饰活性与胃癌患者预后相关

Fig.1 Correlation between ZDHHC family-mediated palmitoylation activity and prognosis in gastric cancer patients

表2 基于ZDHHC活性评分的胃癌患者总生存率

Table 2 Overall survival rate in gastric cancer patients based on ZDHHC activity scores

生存概率 Survival probability	时间/天 Time /d				
	0	1 000	2 000	3 000	4 000
Low_gsva_score	216	44	7	2	0
High_gsva_score	216	22	3	1	0

作用,对上皮细胞进行亚群细分(图5A),共鉴定9个亚群: *STMN1*⁺上皮细胞、*CEACAM6*⁺肿瘤细胞、主细胞、肠化生细胞、黏液性细胞、*SOX4*⁺上皮细胞、*CDK1*⁺肿瘤细胞、神经内分泌细胞、转化态细胞(既具有正常黏膜修复的表型,同时又具有胃癌早前病变的特征 *AKR1B10*(*AKR1B10*过表达预示手术切除胃癌患者预后不良^[26])、*CAPG*(早期胃癌的标志物^[27])。亚群特征基因点状图验证分群可靠性(图5C)。为了确定肿瘤细胞,我们进行了Copykat分析(图5B),联合Copykat和特征基因的分析结果,基本确定了 *CEACAM6*⁺肿瘤细胞、*CDK1*⁺肿瘤细胞两个肿瘤细胞亚群。紧接着,我们绘制了几个差异性棕榈酰化修饰蛋白在上皮细胞中的特征分布图,结果显示,差异上调的蛋白更多地分布在两个肿瘤细胞亚群中,如SERPINB6、ACAA2,差异下调的蛋白则更多地分布在以主细胞为主的正常上皮细胞中(图5D)。这些结果进一步强调了差异性棕榈酰化蛋白在胃癌上皮细胞向肿瘤细胞转化中可能具有潜在的调控功能。

2.4 关键差异蛋白SERPINB6的功能机制解析

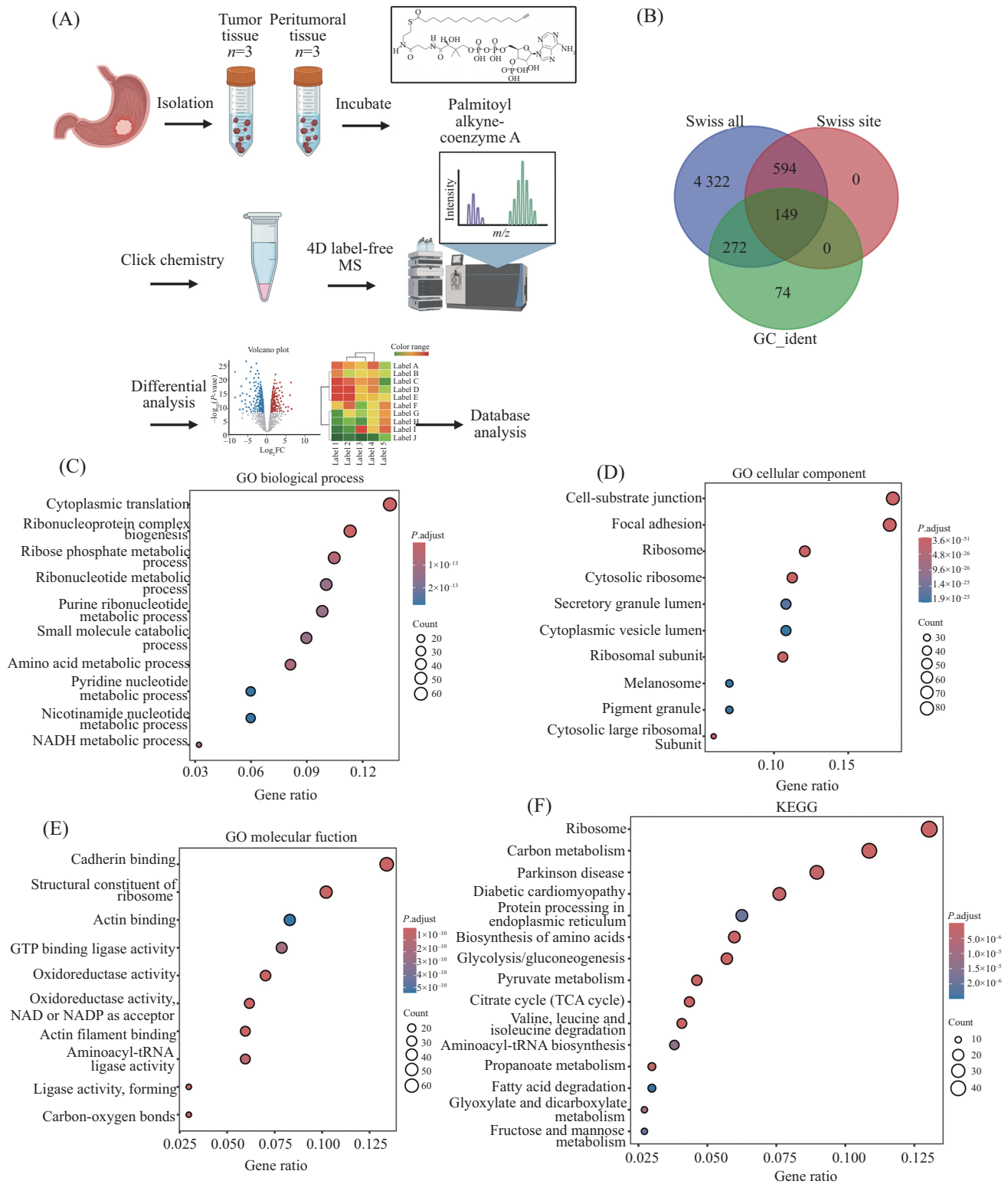
为进一步解析差异棕榈酰化蛋白在胃癌上皮细胞恶性转化中的功能角色,本研究聚焦于代表性差异上调蛋白SERPINB6并开展深入分析。利用相关性分析,我们尝试鉴定SERPINB6的棕榈酰化修饰酶。TCGA胃癌数据中, SERPINB6与ZDHHC3、ZDHHC5、ZDHHC20等具有显著的相关性(图6A)。将TCGA的结果和单细胞肿瘤细胞亚群中SERPINB6与ZDHHC酶家族的相关性(图6B)分析结果联合分析发现, ZDHHC4、ZDHHC5是潜在的介导胃癌中SERPINB6棕榈酰化的修饰酶。

鉴于前期研究已揭示ZDHHC酶活性与TCGA分子分型存在显著关联,本研究进一步验证了SERPINB6表达在不同分子亚型中的分布模式。结合TCGA分子分型分析发现, SERPINB6的表达水

平在不同分子亚型间呈现显著差异($P < 0.0001$,图6C)。其中,EBV阳性胃癌中SERPINB6表达水平最低,而MSI亚型表达最高,这与前期发现的MSI亚型ZDHHC活性评分升高现象一致(图1F),提示MSI的高突变负荷可能通过诱导代谢应激从而激活SERPINB6的棕榈酰化修饰依赖性保护机制。在单细胞水平解析中(图6D), MSI型胃癌细胞无论肿瘤还是正常组织均呈现高SERPINB6表达,而染色体不稳定型(chromosomal instability, CIN)胃癌细胞则表现出显著的肿瘤-正常组织间表达差异,表明SERPINB6可能在MSI型胃癌中通过维持基因组稳定性或促进突变积累发挥促癌作用,而在CIN型胃癌中可能通过差异表达驱动表型转化。

紧接着,我们想确定SERPINB6在胃癌上皮亚群的调控网络。首先通过小提琴图直观呈现了SERPINB6蛋白在胃癌上皮细胞中的分布特征(图6E)。接着基于SERPINB6表达水平的中位数阈值将上皮细胞划分为SERPINB6高/低表达亚群,差异基因分析显示,高表达亚群中脂质及脂肪酸代谢相关基因(如*ACSL1*、*PI3*)显著上调,其中上调的*PLA2G2*可通过催化脂质生成前列腺素促进血管新生^[28];而具有抑癌功能的基因(如抑制上皮-间质转化及肿瘤转移的*CKB*^[29]、调控胃黏膜稳态的*KCNE2*^[30])则显著下调,提示SERPINB6可能通过代谢重编程驱动恶性表型转化(图6F)。

GO富集分析进一步证实,差异基因在“小分子代谢过程调控”及“长链脂肪酸运输”等生物学过程中显著富集(图6G)。KEGG通路分析显示,PPAR信号通路作为脂质代谢的核心调控路径被特异性激活(图6H)^[31],同时“脂肪消化与吸收”通路的上调表明SERPINB6通过增强脂质摄取与利用促进肿瘤代谢适应。值得注意的是,跨多个差异棕榈酰化蛋白的类似分析均显示,差异上调的棕榈酰化修饰蛋白与胃蛋白酶原家族成员(如PGA3/4/5/C)及脂解关

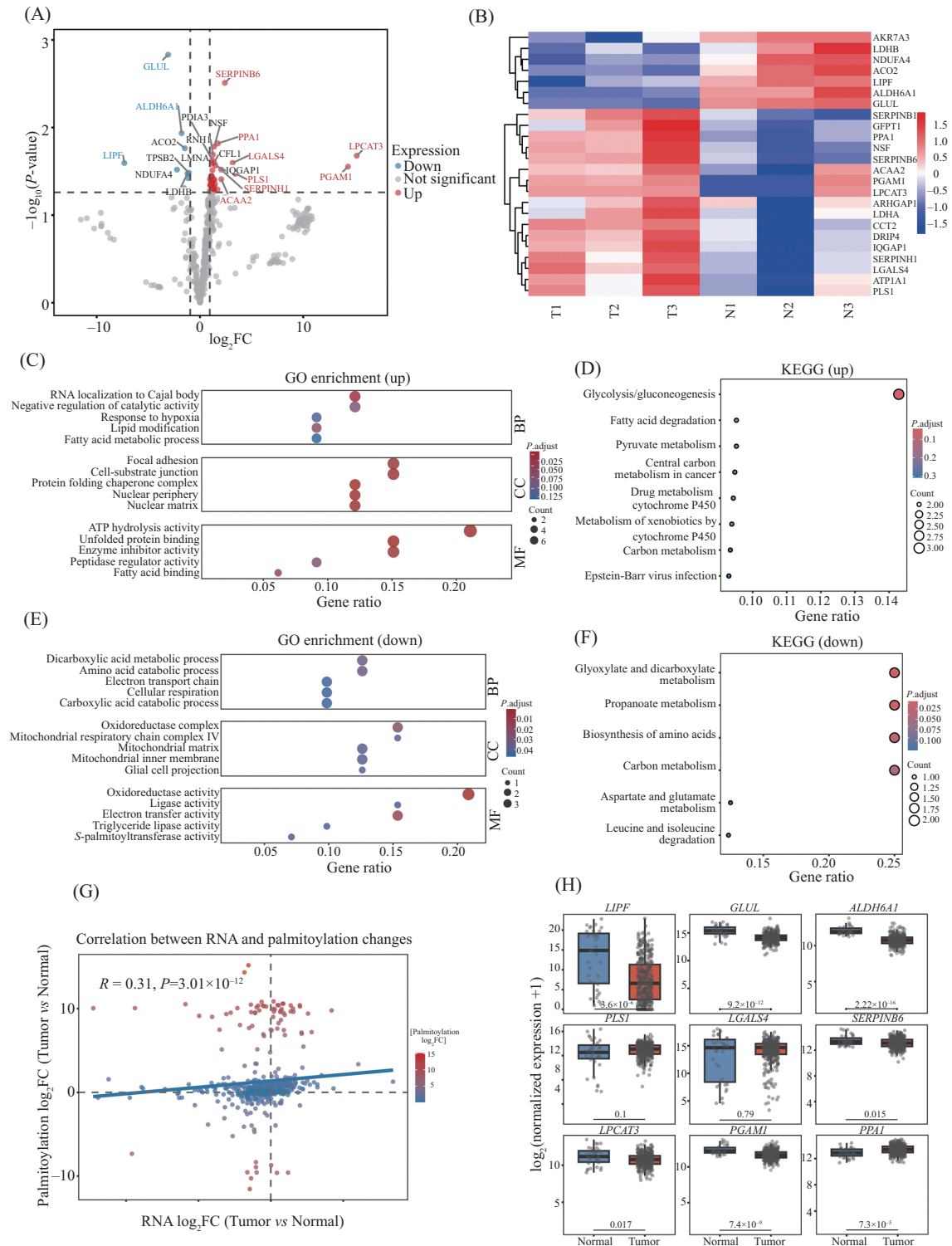


A: 棕榈酰化蛋白质组学分析流程图; B: 棕榈酰化修饰蛋白的鉴定与Swiss-Palm数据库比对结果; C-E: 棕榈酰化修饰蛋白的生物信息学GO富集分析结果; F: 棕榈酰化修饰蛋白的生物信息学KEGG富集分析结果。

A: workflow of palmitoylated proteomics analysis; B: identification of palmitoylated proteins and comparison with Swiss-Palm database; C-E: bioinformatics GO enrichment analysis results of palmitoylated proteins; F: bioinformatics KEGG enrichment analysis results of palmitoylated proteins.

图2 胃癌组织中棕榈酰化修饰蛋白的鉴定与功能富集分析

Fig.2 Identification and functional enrichment analysis of palmitoylated proteins in gastric cancer tissues



A: 差异分析的火山图; B: 差异分析的热图; C: 差异上调蛋白GO富集分析结果; D: 差异上调蛋白KEGG通路富集分析结果; E: 差异下调蛋白GO富集分析结果; F: 差异下调蛋白KEGG通路富集分析结果; G: TCGA数据库验证中差异蛋白棕榈酰化修饰改变与RNA表达水平的相关性分析图; H: TCGA数据库验证中差异蛋白棕榈酰化修饰改变的箱线图。

A: volcano plot of differential analysis; B: heatmap of differential analysis; C: GO enrichment analysis results for differentially upregulated proteins; D: KEGG pathway enrichment analysis results for differentially upregulated proteins; E: GO enrichment analysis results for differentially downregulated proteins; F: KEGG pathway enrichment analysis results for differentially downregulated proteins; G: correlation analysis between palmitoylation changes and RNA expression levels of differential proteins validated in TCGA database; H: boxplot of palmitoylation changes in differential proteins validated in TCGA database.

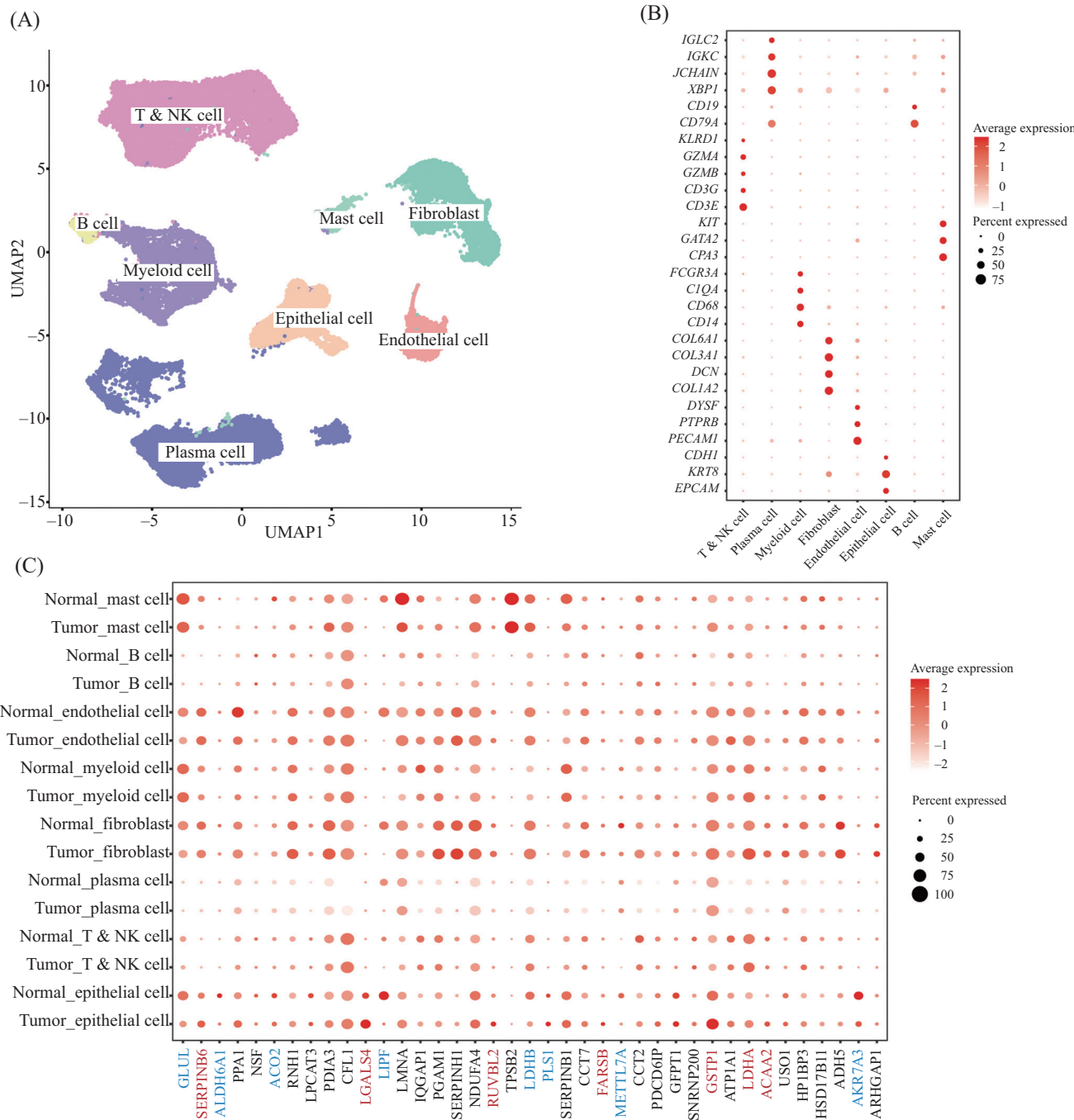
图3 胃癌组织与癌旁组织中棕榈酰化修饰蛋白的差异分析

Fig.3 Differential analysis of palmitoylated proteins between gastric cancer tissues and adjacent normal tissues

键酶LIPF的表达呈显著负相关, 提示这些修饰蛋白可能通过调控细胞代谢过程从而削弱胃上皮细胞正常功能基因的表达, 推动上皮细胞向恶性表型转变。

2.5 SERPINB6介导的肿瘤微环境互作分析

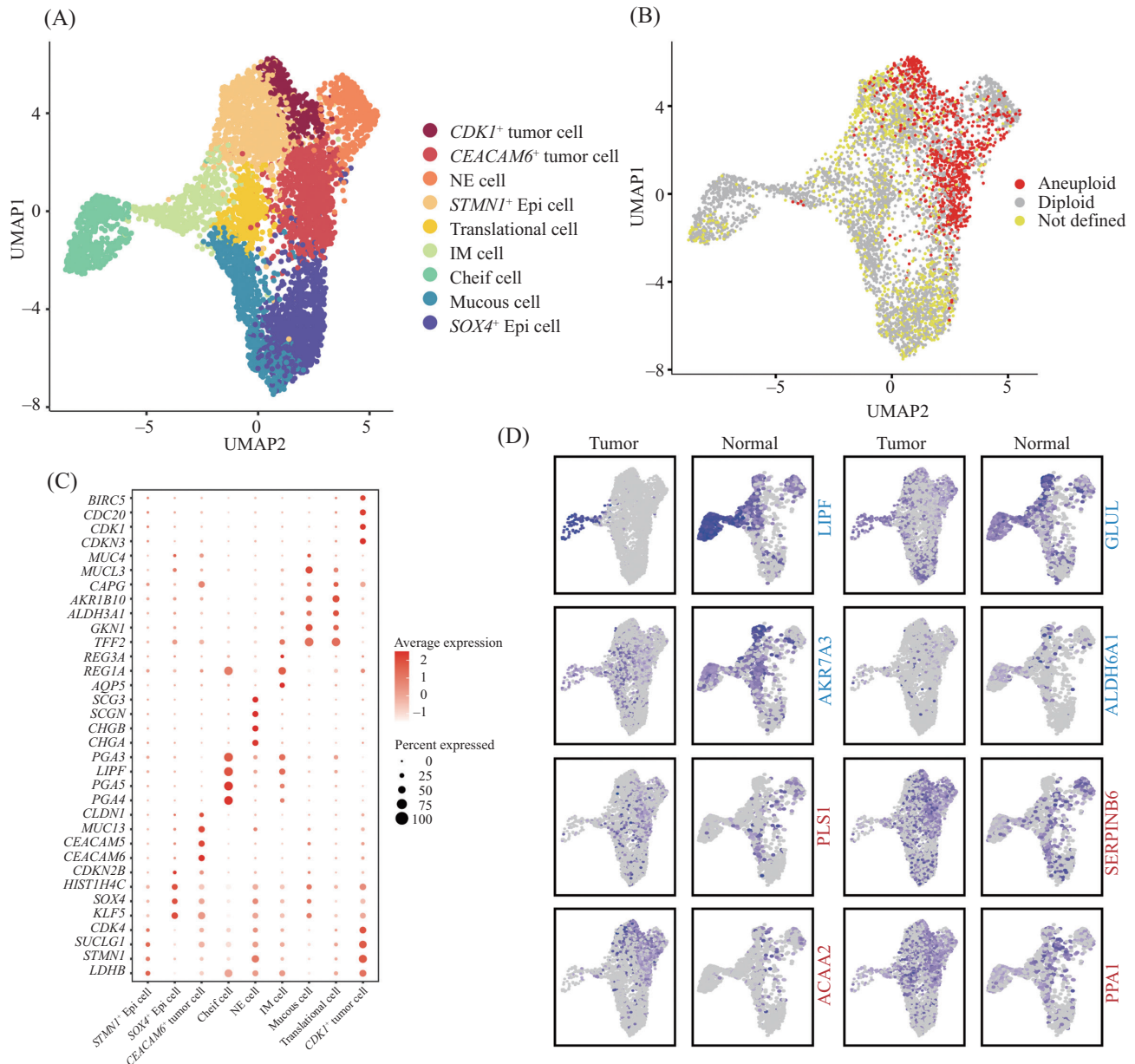
为揭示差异棕榈酰化蛋白SERPINB6在胃癌上皮细胞与其他细胞通讯中的调控机制, 我们利用CellChat算法展开深入分析。首先同样基于SER-



A: 胃癌单细胞UMAP分群图谱; B: 细胞类型鉴定标记基因点状图; C: 差异棕榈酰化蛋白在细胞亚群中的表达分布的点状图。
A: UMAP clustering of single cells in gastric cancer tissues; B: of marker genes for cell type identification; C: dotplot showing expression distribution of differentially palmitoylated proteins across cell subclusters.

图4 单细胞转录组解析胃癌中棕榈酰化差异蛋白的细胞特异性分布

Fig.4 Single-cell transcriptomic analysis reveals cell-type-specific distribution of differentially palmitoylated proteins in gastric cancer



A: 胃癌上皮细胞亚群UMAP分群图谱; B: Copykat拷贝数变异分析鉴定恶性亚群; C: 上皮亚群特征基因点状图; D: 差异棕榈酰化蛋白空间表达特征。

A: UMAP clustering of epithelial cell subclusters in gastric cancer; B: malignant subcluster identification via Copykat CNV analysis; C: dotplot of signature genes for epithelial subcluster characterization; D: spatial expression patterns of differentially palmitoylated proteins.

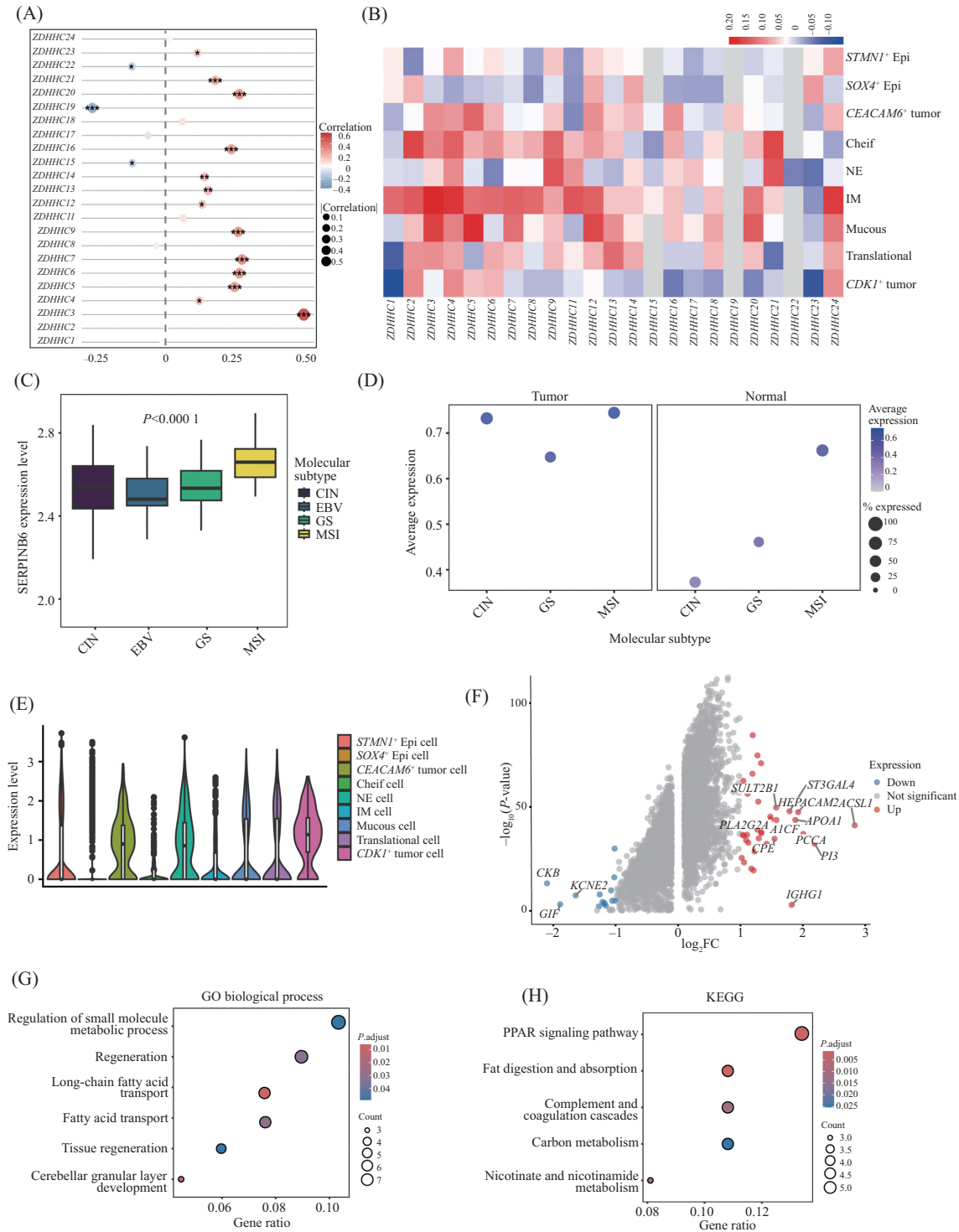
图5 胃癌中上皮细胞亚群功能解析与差异蛋白调控网络

Fig.5 Functional dissection of epithelial cell subclusters and regulatory network of differentially palmitoylated proteins in gastric cancer

PINB6表达中位数将上皮细胞分为高低表达亚群, 分别进行CellChat分析并整合进行差异分析发现: 高表达组不仅总通讯强度较低表达组显著提升, 且展现出显著增加的上皮细胞与微环境中其他细胞的通讯数量, 而髓系细胞与T/NK细胞间的通讯则相应减弱(图7A)。环状图直观印证了这一通讯模式转变(图7B), 高表达组中上皮细胞成为核心通讯节点, 与成

纤维细胞的交互强度显著提升。但两组总体通讯强度和数量差别不大(图7C), 表明高低亚群的通讯差异可能体现在对象选择及强度分布上。

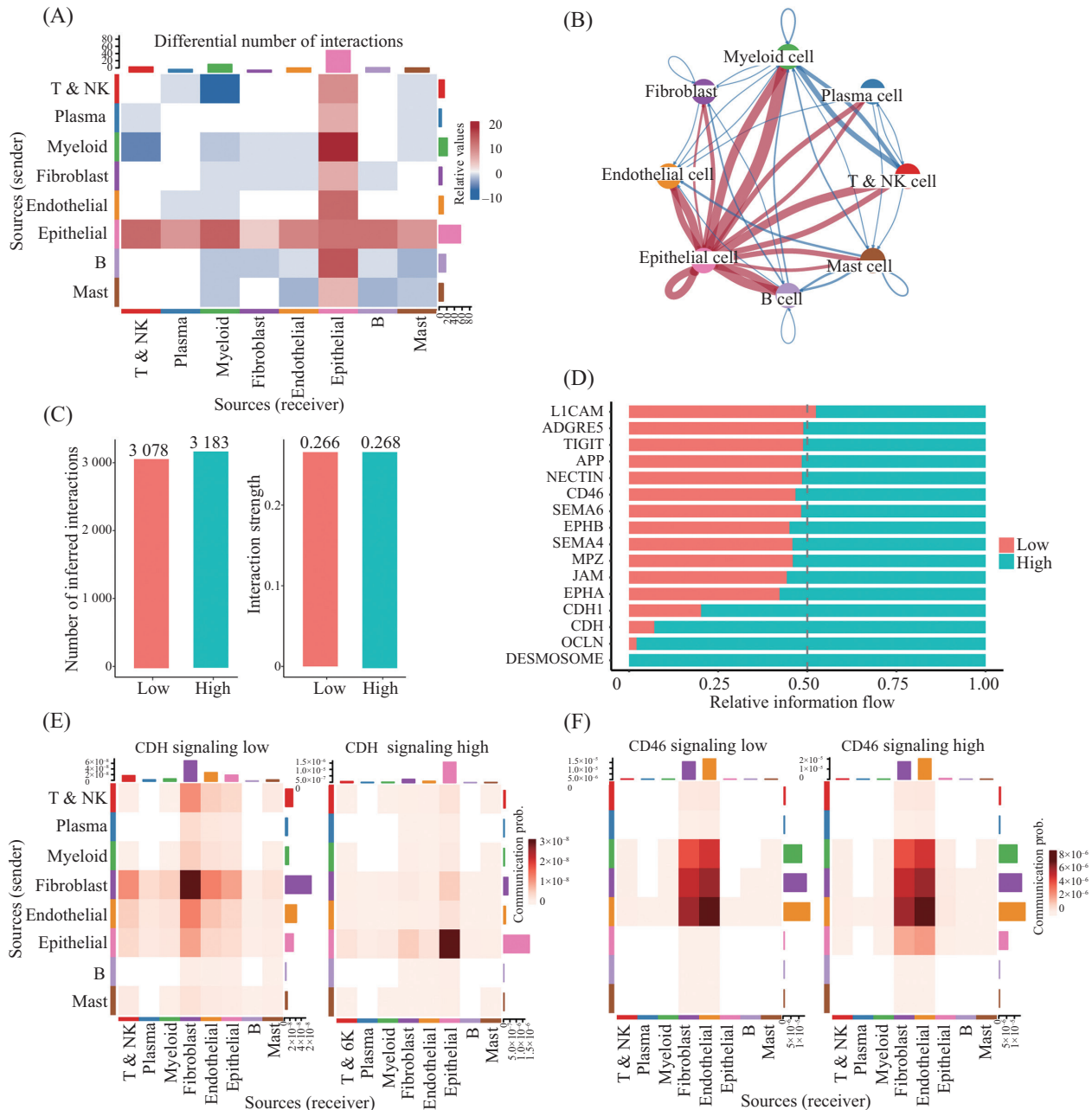
对通讯信号通路的解析(图7D)揭示, 高表达组特异性激活桥粒(DESMOSOME)通路(桥粒介导的中间丝跨细胞连接, 通过构建细胞间物理网络, 显著提升了细胞对抗机械应力的能力), 可能通过增强



A: TCGA胃癌数据中SERPINB6与ZDHHC酶家族的表达相关性; B: 上皮亚群中SERPINB6与ZDHHC酶家族的表达相关性热图; C: TCGA胃癌数据中SERPINB6在不同分子分型中的表达; D: 上皮亚群中SERPINB6在不同分子分型中的表达; E: SERPINB6在胃癌上皮细胞中的表达分布小提琴图; F: 基于SERPINB6表达的胃癌上皮细胞亚群差异基因火山图; G: SERPINB6相关差异基因的GOBP富集分析结果图; H: SERPINB6相关差异基因的KEGG通路富集分析结果。

A: correlation analysis of *SERPINB6* and ZDHHC enzyme family expression in TCGA gastric cancer data; B: heatmap of expression correlation between *SERPINB6* and ZDHHC enzyme family in epithelial subclusters; C: *SERPINB6* expression across molecular subtypes in TCGA gastric cancer data; D: *SERPINB6* expression in epithelial subclusters across molecular subtypes; E: violin plot of *SERPINB6* protein expression distribution in gastric cancer epithelial cells; F: volcano plot of differential genes in gastric cancer epithelial subclusters based on *SERPINB6* expression; G: GO biological process enrichment analysis for *SERPINB6*-related differential genes; H: KEGG pathway enrichment analysis for *SERPINB6*-related differential genes.

图6 关键差异蛋白SERPINB6在胃癌上皮细胞亚群调控中的代谢重编程机制研究
Fig.6 Metabolic reprogramming mechanism of key differential protein SERPINB6 in regulating gastric cancer epithelial cell subclusters



A: 高/低表达组细胞通讯强度差异热图; B: 整体通讯网络弦图; C: 总通讯强度直方图; D: 差异信号通路强度对比; E: CDH信号网络热图; F: CD46信号网络热图。

A: heatmap of cell-cell communication intensity differences between high/low expression groups; B: chord diagram of global communication network; C: histogram of total communication intensity; D: comparison of differential signaling pathway intensities; E: heatmap of CDH signaling network; F: heatmap of CD46 signaling network.

图7 SERPINB6介导的细胞通讯网络重塑

Fig.7 SERPINB6-mediated remodeling of cellular communication networks proteins

细胞间机械连接促进肿瘤细胞物理屏障的建立; 同时显著上调 OCLN 通路 (OCLN 促进血管生成及化疗耐药^[32])。值得注意的是, CDH 信号通路 (包括 CDH1) 在高表达组中强度显著增加, 且显示其通讯模式发生根本性转变 (图 7E): 低表达组中成纤维细胞作为 CDH 信号主要发送者, 通过激活 NK/T 细胞

及内皮细胞发挥免疫监视功能; 而高表达组中上皮细胞成为 CDH 信号核心发送者, 主要作用于自身及成纤维细胞, 提示 SERPINB6 可能通过增强上皮-基质通讯重塑肿瘤相关成纤维细胞 (cancer associated fibroblasts, CAF) 功能, 形成促肿瘤微环境。此外, 免疫抑制性 CD46、TIGIT 通路^[33-34] 在高表达组中显

著上调, 上皮细胞作为CD46信号发送者, 对T/NK细胞、髓系细胞及内皮细胞的抑制作用全面增强, 特别是与内皮细胞的通讯强化可能协同OCLN通路促进肿瘤血管新生及免疫逃逸(图7F)。进一步解析发现, 高表达组中上皮-上皮CDH交互强度提升, 可能通过E-cadherin介导的黏附连接形成物理屏障抑制免疫浸润。这些发现表明, SERPINB6通过调控细胞间通讯网络的拓扑结构和信号通路偏好性, 展现了双重作用机制: 物理屏障增强以促进肿瘤细胞的耐药(DESMOSOME、OCLN、CDH通路活化促进细胞黏附)和免疫抑制重塑(CD46/TIGIT信号抑制抗肿瘤免疫应答)。

3 讨论

本研究通过整合多组学分析揭示了棕榈酰化修饰在胃癌进展中的重要作用, 首次构建了胃癌特异性棕榈酰化修饰蛋白图谱。研究发现, ZDHHC酶家族活性评分与胃癌患者预后及免疫微环境重塑显著相关, 高分组呈现CD8⁺ T细胞耗竭和M0型巨噬细胞浸润特征, 提示棕榈酰化修饰可能通过调控肿瘤细胞的免疫逃逸。此外, 本研究鉴定到SERPINB6、PPA1等新型棕榈酰化修饰蛋白, 其功能富集显示与糖脂代谢重编程、氧化还原稳态调控密切相关。单细胞转录组分析进一步表明, SERPINB6在恶性上皮细胞中特异性高表达, 并通过激活PPAR信号通路上调ACSL1/PLA2G2表达, 促进脂滴形成与紧密连接屏障构建, 同时诱导TIGIT/CD46等免疫抑制分子表达, 形成“代谢-免疫”协同调控网络。这一发现为解析胃癌异质性提供了新视角。

与既往研究相比, 本工作填补了棕榈酰化修饰在胃癌研究中的关键空白。尽管棕榈酰化在乳腺癌(如HER2信号激活^[16])和结直肠癌(如Wnt通路调控^[17])中的作用已被初步阐明, 但其在胃癌中的分子机制长期未被系统探索。此前研究多聚焦于ZDHHC家族表达水平与临床预后的相关性^[20], 而本研究通过多组学技术首次揭示了ZDHHC酶活性与免疫微环境的功能联系, 并鉴定出SERPINB6等具有胃癌特异性的修饰底物。值得注意的是, SERPINB6作为丝氨酸蛋白酶抑制剂, 先前研究仅报道其在结直肠癌锯齿状病变中通过抑制ROS产生促进上皮细胞增殖^[35-36], 在功能性消化不良模型中通过神经蛋白酶调控参与胃组织应激保护^[37], 但其棕

榈酰化修饰及在胃癌中的代谢调控功能尚属首次揭示。本研究提出SERPINB6可能通过棕榈酰化修饰驱动脂代谢重编程及免疫抑制微环境形成, 这一机制相较于其在其他疾病中的经典功能具有显著创新性。

然而, 本研究仍存在若干局限性。首先, 尽管生物信息学分析提示SERPINB6的棕榈酰化修饰可能介导胃癌恶性转化, 但目前缺乏直接的实验证据(如位点突变验证、酶-底物互作检测)支持其修饰依赖性功能。其次, 其他差异棕榈酰化蛋白(如ALDH6A1、GLUL)在胃癌中的作用尚未明确, 这些蛋白是独立发挥作用还是与SERPINB6形成协同调控网络仍需深入解析。再者, 本研究虽利用公共数据库揭示了胃癌棕榈酰化修饰的部分特征, 但受限于临床信息不完整(如分子分型缺失)及数据集间批次效应, 未能进行更精细的亚型分析。未来研究需从以下方向展开: 其一, 利用质谱联用位点突变技术明确SERPINB6的棕榈酰化修饰位点, 并验证其对脂代谢及免疫调控的功能必要性; 其二, 探究ZDHHC酶亚型与特定底物(如SERPINB6、ALDH6A1)的配对关系, 揭示其修饰特异性调控机制; 其三, 开发靶向棕榈酰化修饰的小分子抑制剂(如基于脂肪酸类似物的竞争性拮抗剂), 并在人源化小鼠模型中评估其联合免疫治疗的疗效; 其四, 需建立标准化生物样本库, 结合多组学数据, 以深入解析胃癌异质性及其调控机制。总的来说, 这些工作将有助于将棕榈酰化修饰的基础发现转化为胃癌精准治疗的临床实践。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, LAVERS ANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63.
- [2] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer [J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-48.
- [3] WANG Z, HAN W, XUE F, et al. Nationwide gastric cancer prevention in China, 2021-2035: a decision analysis on effect, affordability and cost-effectiveness optimisation [J]. Gut, 2022, 71(12): 2391-400.
- [4] DERIBE Y L, PAWSON T, DIKIC I. Post-translational modifications in signal integration [J]. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17(6): 666-72.
- [5] PAN S, CHEN R. Pathological implication of protein post-translational modifications in cancer [J]. Mol Aspects Med, 2022, 86: 101097.

- [6] DU Z, LOVLY C M. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 58.
- [7] MICHAEL D, OREN M. The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system [J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13(1): 49-58.
- [8] GRANICA M, LASKOWSKI G, LINK-LENCZOWSKI P, et al. Modulation of N-glycosylation in the PD-1: PD-L1 axis as a strategy to enhance cancer immunotherapies [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2025, 1880(2): 189274.
- [9] ERAZO-OLIVERAS A, FUENTES N R, WRIGHT R C, et al. Functional link between plasma membrane spatiotemporal dynamics, cancer biology, and dietary membrane-altering agents [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(2/3): 519-44.
- [10] LINDER M E, DESCHENES R J. Palmitoylation: policing protein stability and traffic [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 74-84.
- [11] WHITESIDE T L. Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences [J]. *Semin Cancer Biol*, 2002, 12(1): 43-50.
- [12] BAEKKESKOV S, KANAANI J. Palmitoylation cycles and regulation of protein function [J]. *Mol Membr Biol*, 2009, 6(1): 42-54.
- [13] ARCARO A, GREGOIRE C, BOUCHERON N, et al. Essential role of CD8 palmitoylation in CD8 coreceptor function [J]. *J Immunol*, 2000, 165(4): 2068-76.
- [14] YANAI A, HUANG K, KANG R, et al. Palmitoylation of huntingtin by HIP14 is essential for its trafficking and function [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(6): 824-31.
- [15] BHATTACHARYYA R, FENN R H, BARREN C, et al. Palmitoylated APP forms dimers, cleaved by BACE1 [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e166400.
- [16] NANDI I, JI L, SMITH H W, et al. Targeting fatty acid oxidation enhances response to HER2-targeted therapy [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6587.
- [17] HOSSEINI V, DANI C, GERANMAYEH M H, et al. Wnt lipids: roles in trafficking, modulation, and function [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8040-54.
- [18] LIN S C, CHENG Y S, LIN Y S, et al. The long noncoding RNA lncZBTB10 facilitates AR function via S-palmitoylation to promote prostate cancer progression and abiraterone resistance [J]. *Br J Cancer*, 2025, 132(7): 587-98.
- [19] ZHOU B, HAO Q, LIANG Y, et al. Protein palmitoylation in cancer: molecular functions and therapeutic potential [J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(1): 3-26.
- [20] YAN S M, TANG J J, HUANG C Y, et al. Reduced expression of ZDHHC2 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in gastric adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56366.
- [21] HUANG L, WANG Z, CHANG Y, et al. EFEMP2 indicates assembly of M0 macrophage and more malignant phenotypes of glioma [J]. *Aging*, 2020, 12(9): 8397-412.
- [22] BLANC M, DAVID F, VAN DER GOOT F G. SwissPalm 2: protein S-palmitoylation database [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2009: 203-14.
- [23] SAHU S K, GUMMADI S N, MANOJ N, et al. Phospholipid scramblases: an overview [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 462(1): 103-14.
- [24] EELEN G, DUBOIS C, CANTELMO A R, et al. Role of glutamine synthetase in angiogenesis beyond glutamine synthesis [J]. *Nature*, 2018, 561(7721): 63-9.
- [25] KUMAR V, RAMNARAYANAN K, SUNDAR R, et al. Single-cell atlas of lineage states, tumor microenvironment, and subtype-specific expression programs in gastric cancer [J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(3): 670-91.
- [26] LIU Y Y, LIU Y W, HUANG G K, et al. Overexpression of AKR1B10 predicts poor prognosis in gastric cancer patients undergoing surgical resection [J]. *Curr Oncol*, 2022, 30(1): 85-99.
- [27] LONG Y, WU J, SHEN Y, et al. CAPG is a novel biomarker for early gastric cancer and is involved in the Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 15.
- [28] PENG Z, CHANG Y, FAN J, et al. Phospholipase A2 superfamily in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2021, 497: 165-77.
- [29] WANG Z, HULSURKAR M, ZHUO L, et al. CKB inhibits epithelial-mesenchymal transition and prostate cancer progression by sequestering and inhibiting AKT activation [J]. *Neoplasia*, 2021, 23(11): 1147-65.
- [30] ROEPKE T K, PURTELL K, KING E C, et al. Targeted deletion of Kcne2 causes gastritis cystica profunda and gastric neoplasia [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e1451.
- [31] DREYER C, KREY G, KELLER H, et al. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors [J]. *Cell*, 1992, 68(5): 879-87.
- [32] YANG F, LIU X Q, HE J Z, et al. Occludin facilitates tumour angiogenesis in bladder cancer by regulating IL8/STAT3 through STAT4 [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(8): 2363-76.
- [33] CARDONE J, LE FRIEC G, VANTOUROUT P, et al. Complement regulator CD46 temporally regulates cytokine production by conventional and unconventional T cells [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(9): 862-71.
- [34] YU X, HARDEN K, GONZALEZ L C, et al. The surface protein TIGIT suppresses T cell activation by promoting the generation of mature immunoregulatory dendritic cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(1): 48-57.
- [35] ZHOU Y J, LU X F, CHEN H, et al. Single-cell transcriptomics reveals early molecular and immune alterations underlying the serrated neoplasia pathway toward colorectal cancer [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2023, 15(2): 393-424.
- [36] BURGNER S S, LEBORGNE N, SNIPAS S J, et al. Cathepsin G inhibition by serpinb1 and serpinb6 prevents programmed necrosis in neutrophils and monocytes and reduces GSDMD-driven inflammation [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(12): 3646-56.
- [37] CHEN F, YANG J, ZHANG H, et al. The role of amygdala neuropeptide/serpinb6 pathway in the regulation of gastric hypersensitivity and anxiety by electroacupuncture [J]. *J Dig Dis*, 2022, 23(3): 149-56.