



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.05.008  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.05.008  
Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(5):631-639.

· 基础研究 ·

## 乳腺癌新辅助化疗前后肿瘤相关巨噬细胞相关基因变化的生物信息学分析

陈娟<sup>1</sup>, 蒋斌<sup>2</sup>, 黄果<sup>3</sup>, 贺秋冬<sup>1</sup>

(南华大学附属第二医院 1. 放疗科 2. 整形美容科, 湖南 衡阳 421001; 3. 南华大学衡阳医学院肿瘤研究所, 湖南 衡阳 421001)

### 摘要

**背景与目的:** 乳腺癌是全球女性发病率最高的恶性肿瘤, 化疗是乳腺癌最重要的治疗方式之一, 最近的研究表明, 化疗可能通过增强肿瘤微环境中的抗肿瘤免疫力来发挥抗肿瘤效应。因此, 本研究通过生物信息学分析明确乳腺癌患者新辅助化疗 (NAC) 前后肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs) 及相关基因的变化, 评估 NAC 对乳腺癌患者免疫影响。

**方法:** GEO 数据库输入 “Breast Cancer”, “TAMs”, “Chemotherapy” 进行检索, 选择人乳腺癌组织的 GSE134600 数据集进行分析。通过 R 包 (limma 函数) 筛选乳腺癌患者 NAC 前后组织样本中差异表达基因 (DEGs)。对所有 DEGs 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析。通过 Cytoscape 软件对 DEGs 进行蛋白互作网络可视化, 并筛选关键核心基因, 通过 cBioPortal 对 10 个关键基因进行突变分析。使用 R 包 (CIBERSORT) 对 GSE134600 数据中的免疫细胞分布及相关性进行评估。

**结果:** 鉴定出 751 个乳腺癌 NAC 前后 DEGs (409 个上调基因和 342 个下调基因)。通过 GO 富集分析 DEGs 的生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF)。在 BP 中主要富集在 I 型干扰素 (IFN-I) 信号通路/病毒应答与防御和病毒生命周期方面; 在 CC 中主要富集在细胞膜的外在成分和细胞膜的细胞质侧方面; 在 MF 中主要富集在细胞因子受体结合、双链 RNA 结合和脂肽结合方面。KEGG 通路富集分析中, DEGs 主要富集在甲型 H1N1 流感、麻疹、丙型肝炎、冠状病毒病 COVID-19、NF- $\kappa$ B 信号通路、EBV 病毒感染、NOD 样受体信号通路和阿米巴病信号通路。通过 CytoHubba 插件筛选出乳腺癌 NAC 前后 TAMs 相互作用程度最高的前 10 个关键基因: IFIT1、ISG15、MX1、MX2、IRF7、RSAD2、IFIT3、IFI35、IFI6、IFITM1。多组学分析发现 IFIT1、MX1 和 MX2 主要发生缺失突变, IFIT1 主要发生基因深度删除, 而 MX1 和 MX2 主要发生基因扩增。NAC 后乳腺癌组织中 M0 巨噬细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞及 M2 巨噬细胞含量减少, M0 巨噬细胞与记忆性 B 细胞成正相关 ( $r=0.64$ ), 与未活化的 CD4<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞呈负相关 ( $r=-0.66$ )。

**结论:** 所发现的乳腺癌患者 NAC 前后 TAMs 相关的 DEGs 与干扰素信号通路密切相关, 提示干扰素信号通路在 NAC 可能通过改变 TAMs 而发挥重要作用。同时 NAC 前后 M0 巨噬细胞发生明显改变, 提示化疗可能通过改变 M0 巨噬细胞分布及免疫功能调节对肿瘤的免疫应答。

### 关键词

乳腺肿瘤; 肿瘤相关巨噬细胞; 免疫; 计算生物学

中图分类号: R737.9

**基金项目:** 湖南省科技厅临床医疗技术创新引导项目 (2020SK51705); 湖南省卫计委科研计划基金资助项目 (B20180058)。

**收稿日期:** 2021-07-23; **修订日期:** 2022-04-11。

**作者简介:** 陈娟, 南华大学附属第二医院主治医师, 主要从事乳腺癌基础与临床方面的研究。

**通信作者:** 蒋斌, Email: JiangBin@fsyy.usc.edu.cn

## Bioinformatics analysis of changes in genes associated with tumor-associated macrophages before and after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer

CHEN Juan<sup>1</sup>, JIANG Bin<sup>2</sup>, HUANG Guo<sup>3</sup>, HE Qiudong<sup>1</sup>

(1. Department of Radiotherapy 2. Department of Plastic Surgery, the Second Affiliated Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Cancer Research Institute, Hengyang Medical School of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

### Abstract

**Background and Aims:** Breast cancer is the most prevalent malignancy in women worldwide, and chemotherapy is one of the most important treatment modalities for breast cancer. Recent studies have shown that chemotherapy may exert anti-tumor effects by enhancing anti-tumor immunity in the tumor microenvironment. Therefore, this study was conducted to identify the changes in tumor-associated macrophages (TAMs) and relevant genes before and after neoadjuvant chemotherapy (NAC) in breast cancer patients by bioinformatics analysis and to evaluate the effect of NAC on immune functions in breast cancer patients.

**Methods:** Information searching was performed by entering "Breast Cancer", "TAMs", "Chemotherapy" and selecting the human breast cancer tissue in the GEO database, and the GSE134600 dataset was selected for analysis. Differentially expressed genes (DEGs) in tissue samples from breast cancer patients before and after NAC were screened by R package (limma function). GO function enrichment and KEGG pathway analysis were performed for all DRGs. The protein interaction network of DEGs was visualized by Cytoscape software, and hub genes were screened and 10 hub genes were analyzed for mutations by cBioPortal. Immune cell distribution and correlation in GSE134600 data were evaluated using the R package "CIBERSORT".

**Results:** A total of 751 DEGs (409 up-regulated and 342 down-regulated genes) were identified before and after NAC for breast cancer. The biology of DEGs was analyzed by GO enrichment for biological process (BP), cellular component (CC), and molecular function (MF). In BP function, they were mainly enriched in type I interferon (IFN-I) signaling pathway/viral response and defense and viral life cycle; in CC function, they were mainly enriched in extrinsic components of cell membrane and cytoplasmic side of cell membrane; in MF function, they were mainly enriched in cytokine receptor binding, double-stranded RNA binding and lipopeptide binding. In the analysis of KEGG pathway enrichment, DEGs were mainly enriched in influenza A (H1N1), measles, hepatitis C, coronavirus disease COVID-19, NF- $\kappa$ B signaling pathway, EBV virus infection, NOD-like receptor signaling pathway, and amoeba disease signaling pathway. The top 10 hub genes with the highest degree of interaction with TAMs before and after NAC for breast cancer were screened by CytoHubba plug-in: IFIT1, ISG15, MX1, MX2, IRF7, RSAD2, IFIT3, IFI35, IFI6, and IFITM1. Multi-omics analysis revealed that IFIT1, MX1 and MX2 were mainly deletion mutations, IFIT1 mainly had deep gene deletion, while MX1 and MX2 were mainly associated with gene amplifications. The content of M0 macrophages, CD8<sup>+</sup>T cells and M2 macrophages in breast cancer tissues decreased after NAC, and M0 macrophages were positively correlated with memory B cells ( $r=0.64$ ) and negatively correlated with unactivated CD4<sup>+</sup> memory T cells ( $r=-0.66$ ).

**Conclusion:** The identified DEGs associated with TAMs in breast cancer patients before and after NAC

are closely related to interferon signaling pathway, suggesting that interferon signaling pathway may play an important role by altering TAMs in NAC. Meanwhile, M0 macrophages are significantly altered before and after NAC, indicating that chemotherapy may regulate the immune response to tumor by changing the distribution of M0 macrophages and immune function.

## Key words

Breast Neoplasms; Tumor-Associated Macrophages; Immunity; Computational Biology

CLC number: R737.9

乳腺癌发病率约占所有女性癌症的30%，病死率为15%<sup>[1]</sup>。化疗已被证明可通过诱导I型干扰素(Interferon type I, IFN-I)反应增强抗肿瘤免疫力<sup>[2-3]</sup>，可以激活抗肿瘤免疫细胞并重新编程炎症性肿瘤的微环境<sup>[4]</sup>。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是肿瘤微环境中炎症浸润的一种主要细胞成分，通常具有抗炎表型(M2)，可促进肿瘤生长和免疫抑制。研究<sup>[5]</sup>报道乳腺癌化疗后肿瘤中产生的巨噬细胞可以通过NF- $\kappa$ B介导的细胞因子，包括IL-6、IL-8和TNF- $\alpha$ 促进肿瘤的进展，还可通过STAT1介导的细胞因子，包括CXCL9、CXCL10和IL-15，促进抗肿瘤免疫。肿瘤相关免疫细胞，包括B细胞、T细胞、树突细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、单核细胞和肥大细胞，可以调节癌症进展，为肿瘤的治疗提供新靶点。新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)在乳腺癌的治疗中发挥着重要作用，可以减瘤降期，增加保乳几率，还可能通过消除远处隐匿性微转移改善患者总生存<sup>[6]</sup>。近期研究<sup>[7-8]</sup>表明，NAC不仅通过对肿瘤细胞的直接细胞毒性发挥其临床作用，还通过增强恶性肿瘤微环境中的抗肿瘤免疫力来发挥作用。本文通过GEO数据库下载乳腺癌化疗前后数据集进行分析，明确化疗前后患者TAMs变化，评估化疗对乳腺癌患者免疫影响，为后期免疫治疗提供理论思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 TAMs相关数据下载及分析

通过GEO数据库<sup>[9]</sup>(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>)输入Breast Cancer, TAMs, Chemotherapy进行检索，通过比对，选择人乳腺癌组织的GSE134600<sup>[5]</sup>数据集进行分析，其中包含4对NAC前后的乳腺癌样本数据。

### 1.2 差异基因筛选

通过使用R软件(version 3.6.3)中affy包<sup>[10]</sup>获取数据集基因表达矩阵数据，使用Normalize函数对该数据集差异表达基因数据进行归一化处理，通过R包(limma函数)筛选化疗前后乳腺癌组织样本的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)，筛选出 $|\logFC| \geq 1$ 且校正后 $P < 0.05$ 的DEG， $\logFC \geq 1$ 为上调基因， $\logFC \leq -1$ 为下调基因。

### 1.3 DEGs功能富集及通路分析

使用DAVID来分析GO功能富集和KEGG通路分析<sup>[11]</sup>，使用“ggplot2”R包对富集分析进行可视化。

### 1.4 蛋白互作网络(PPI)的构建及关键基因筛选

使用STRING数据库(<https://string-db.org>)在线预测并分析筛选DEGs之间的关联性。获得数据通过Cytoscape<sup>[12]</sup>软件(3.8.0)进行可视化。并通过Cytohubba插件筛选hub核心基因，通过cBioPortal(<https://www.cbioportal.org>)对10个关键基因进行突变分析。

### 1.5 TAMs相关的免疫细胞浸润的评估

GSE134600数据集中4对样本数据通过CIBERSORT<sup>[13]</sup>标准，总T细胞计算包括CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>幼稚T细胞、CD4<sup>+</sup>记忆静止T细胞、CD4<sup>+</sup>记忆激活T细胞、卵泡辅助T细胞、调节性T细胞(Tregs)和 $\gamma\delta$ T细胞的总和。总巨噬细胞为M0、M1和M2巨噬细胞的总和。总B细胞为B细胞及记忆性B细胞的总和。同时应用CIBERSORT包进行免疫细胞浸润的评估。使用barplot函数、pheatmap函数、vioplot函数、corrplot函数分别进行可视化绘图。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DEGs筛选及相关性分析

将NAC前后两组乳腺癌测序数据进行DEGs分

析，筛选出 751 个 DEGs (409 个上调基因和 342 个下调基因)，选择两组表达差异前 20 位的基因绘制

火山图 (图 1A)、热图 (图 1B) 以及相关性热图 (图 1C)。

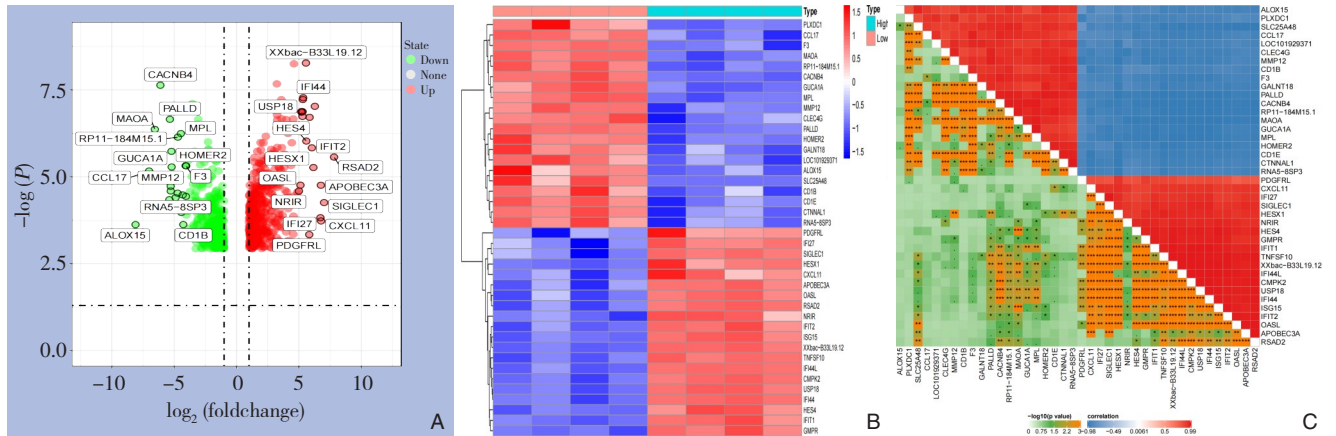


图 1 NAC 前后 DEGs A: 火山图; B: 热图; C: DEGs 的相关性分析

Figure 1 The DEGs before and after NAC A: Volcanic map; B: Heat map; C: Correlation analysis of DEGs

### 2.2 差异表达基因 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析

为了明确乳腺癌化疗前后在生物功能上差异，对上述筛选的 DEGs 进行功能富集分析。通过 GO 富集分析 DEGs 的生物过程 (Biological Process, BP)、细胞组分 (Cellular Component, CC) 和分子功能 (Molecular Function, MF)。在 BP 中主要富集在 IFN-I 信号通路/病毒应答与防御和病毒生命周期

方面；在 CC 中主要富集在细胞膜的外在成分和细胞膜的细胞质侧方面；在 MF 中主要富集在细胞因子受体结合、双链 RNA 结合和脂肽结合方面 (图 2A)。KEGG 通路富集分析中，DEGs 主要富集在甲型 H1N1 流感、麻疹、丙型肝炎、冠状病毒 COVID-19、NF-κB 信号通路、EBV 病毒感染、NOD 样受体信号通路和阿米巴病信号通路 (图 2B)。

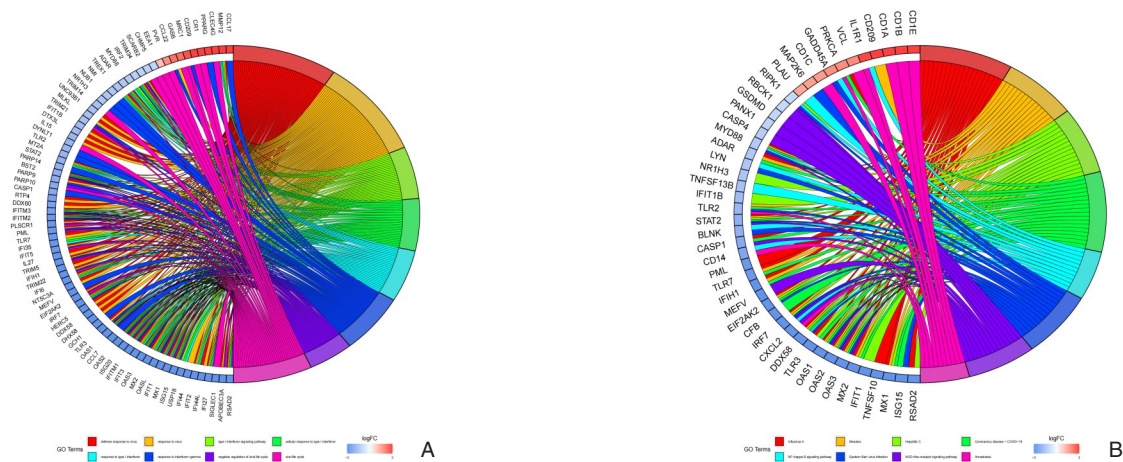


图 2 DEGs 功能富集分析 A: GO 功能富集分析; B: KEGG 通路分析

Figure 2 Functional enrichment analysis of DEGs A: GO enrichment analysis; B: KEGG pathways analysis

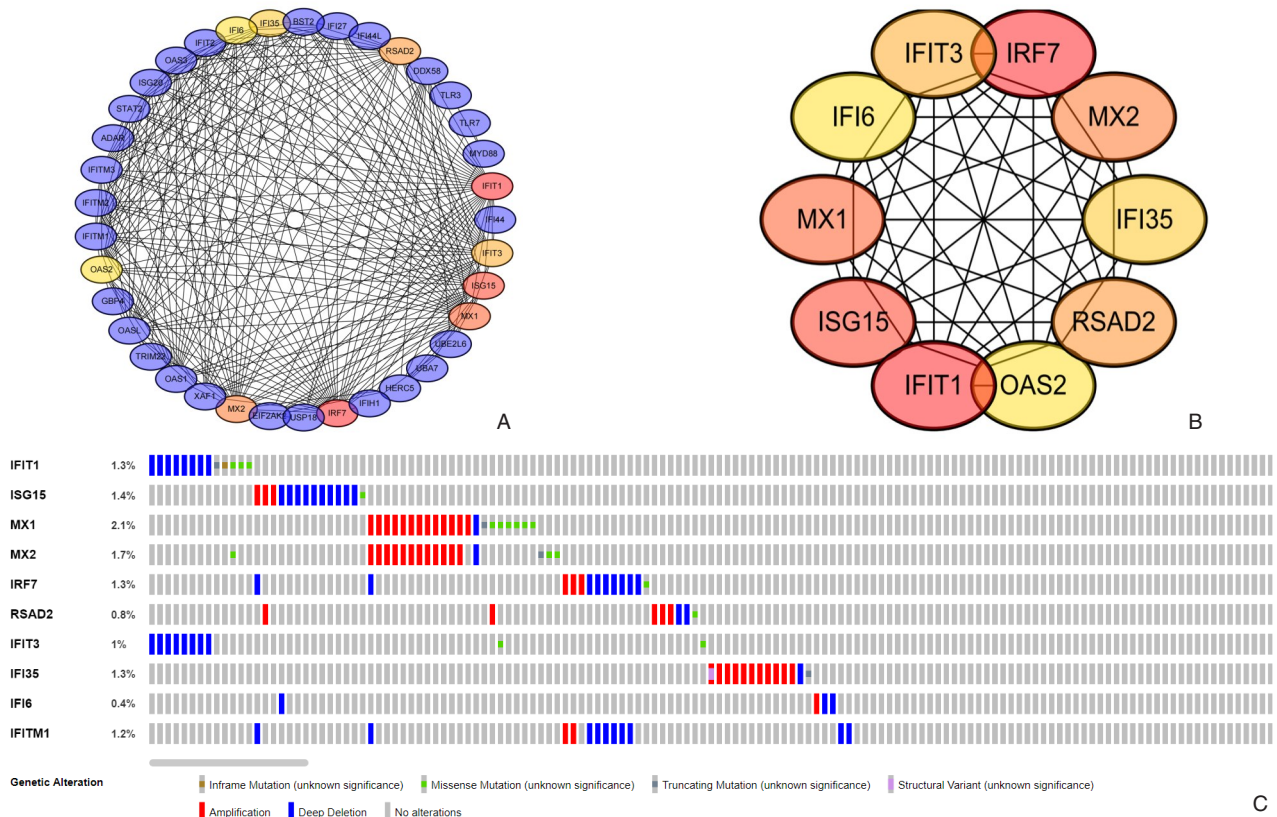
### 2.3 DEGs 的 PPI 网络及关键基因突变可视化

将 DEGs 导入 String 平台后，按照交互评分为 0.95 处理后得到节点数据并绘制 PPI 图 (图 3)。将获得节点数据通过 CytoHubba 插件筛选与乳腺癌

NAC 前后 TAMs 相互作用程度最高的前 10 个 DEGs 作为关键基因：干扰素诱导的四肽重复蛋白 1 (interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1, IFIT1)、干扰素刺激基因 15 (IFN-stimulated gene, ISG15)、

黏病毒耐药蛋白1 (recombinant myxovirus resistance 1, MX1)、黏病毒耐药蛋白2 (recombinant myxovirus resistance 2, MX2)、干扰素调节因子7 (interferon regulatory factor 7, IRF7)、S-腺苷甲硫氨酸基区域蛋白2 (radical S-adenosyl methionine domain containing 2, RSAD2)、干扰素诱导的四肽重复蛋白3 (interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3, IFIT3)、干扰素诱导蛋白35 (interferon-

induced protein 35, IFI35)、干扰素诱导蛋白6 (interferon-induced protein 6, IFI6)、干扰素诱导跨膜蛋白1 (interferon induced transmembrane protein 1, IFITM1)。通过 cBioPortal 进行多组学分析 10 个关键基因突变情况, IFIT1、MX1 和 MX2 主要发生缺失突变, IFIT1 主要发生基因深度删除, 而 MX1 和 MX2 主要发生基因扩增。



**图3 DEGs相互作用及关键基因突变** A: PPI网络图评估DEGs相互作用关系; B: 10个关键基因; C: 关键基因突变  
**Figure 3 Interactions of DEGs and hub genes mutations** A: PPI network diagram of DEGs corresponding proteins; B: The 10 hub genes; C: Mutations of the hub genes

### 2.4 乳腺癌NAC前后免疫细胞占比和含量分析

通过 CIBERSORT 包对 NAC 前后乳腺癌组织中免疫细胞分布情况进行发现, 占比最高的 10 个免疫细胞分别是: M0 巨噬细胞、活化的树突突细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、活化的自然 NK 细胞、活化的肥大细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、记忆性 B 细胞、单核细胞、M1 巨噬细胞 (图 4A)。对乳腺癌免疫细胞进行无监督聚类分析发现 M0 巨噬细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞及 M2 巨噬细胞含量减少 (图 4B), 可能是影响乳腺癌 NAC 前后 TAMs 相关基因表达差异的主要原因。

### 2.5 乳腺癌NAC前后免疫细胞的相关分析

乳腺癌 NAC 前后免疫细胞表达相关系数较大的有: 呈正相关主要有 M0 巨噬细胞与记忆性 B 细胞 (0.64)、未活化的 NK 细胞与活化的 CD4<sup>+</sup>记忆性 T 细胞 (0.91)、初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞 (0.93)、活化的树突状细胞 (0.73)、活化的 CD4<sup>+</sup>记忆性 T 细胞与初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞活化 (0.94)、树突状细胞 (0.67)、CD8<sup>+</sup>T 细胞 (0.61)、未活化的 CD4<sup>+</sup>记忆性 T 细胞与 M1 巨噬细胞 (0.91)、 $\gamma\delta$ T 细胞 (0.70)、单核细胞 (0.71)、活化的 NK 细胞与  $\gamma\delta$ T 细胞 (0.69), 上述正相关免疫细胞在乳腺癌 NAC 前后过程中起相互

协同作用。呈负相关的可见 CD8<sup>+</sup>T 细胞与单核细胞 (-0.85)、未活化的 CD4<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞 (-0.68)、M2 巨噬细胞与活化的树突细胞 (-0.7)、活化的树突细胞与未活化的树突细胞 (-0.78)、单核细胞与 CD4<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞 (-0.77)、嗜酸性粒细胞

与滤泡辅助性 T 细胞 (-0.85)、记忆性 B 细胞与 M1 巨噬细胞 (-0.67)、M0 巨噬细胞与未活化的 CD4<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞 (-0.66)、M1 巨噬细胞 (-0.83)，以上负相关提示在免疫细胞之间相互抑制 (图 5)。

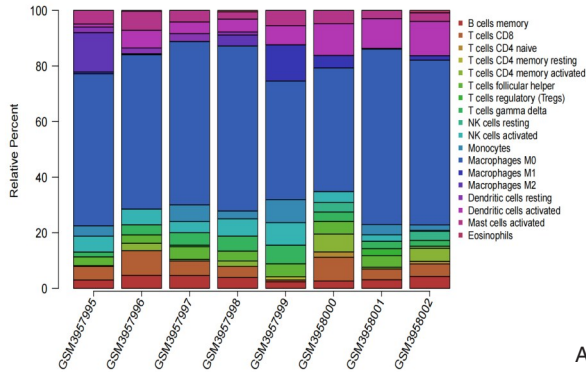


图 4 免疫细胞占比及含量 A: 22 种免疫细胞的比例; B: 22 种免疫细胞的热图

Figure 4 Proportion and content of immune cells cells

A: The proportion of 22 kinds of immune cells; B: Heatmap of 22 immune

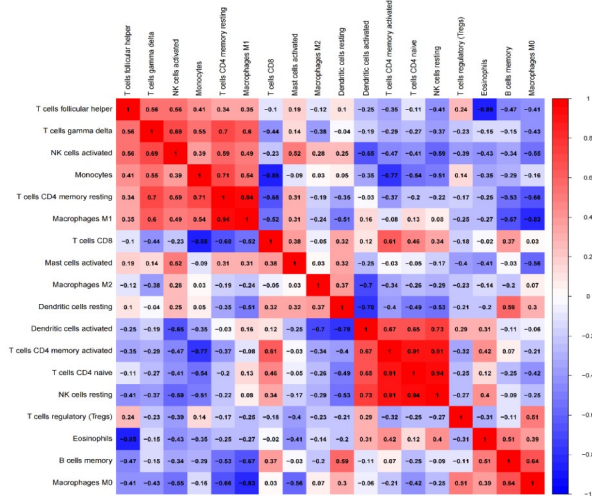


图 5 免疫细胞比例的相关性

Figure 5 Correlations between the proportions of the immune cells

### 3 讨论

根据《2020 年全球癌症统计报告》，乳腺癌已经超过肺癌，成为女性中发病率最高的恶性肿瘤，新增病例约 230 万例，乳腺癌已成为癌症的第五大死因<sup>[14]</sup>。乳腺癌占女性癌症总数的 30%，原发性乳腺肿瘤本身并不是乳腺癌患者的主要死因，对化疗药物的耐药性、复发性和转移性是病死率增加

的主要原因。一旦转移发生，患者 5 年生存率只有 25%<sup>[15]</sup>。尽管化疗药物具有一定的抑制特性，但一些临床证据<sup>[16]</sup>表明，化疗药物可能通过改变肿瘤免疫微环境，增强 NAC 对三阴性乳腺癌的免疫作用从而发挥抗肿瘤作用，但是具体的机制及功能尚不清楚。NAC 后，残留肿瘤中肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 的存在可能与三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 亚型的良好预后有关<sup>[17]</sup>。在使用含阿霉素方案进行 NAC 后，残留乳腺癌组织中发现 T 细胞高度浸润<sup>[18]</sup>。阿霉素不仅通过招募 TILs，而且通过下调 PD-1 和 Tim-3 检查点来增强抗肿瘤免疫<sup>[19]</sup>。

通过 GSE134600 数据集筛选出 NAC 前后乳腺癌组织样本中的 DEGs，通过功能富集分析发现，IFN-I 信号通路在影响乳腺癌生物学过程中发挥重要作用。在胶质瘤的研究中发现，使用中等剂量间歇化疗方案可以诱导肿瘤细胞自主 IFN-I 信号传导，随后释放可溶性因子，激活肿瘤细胞和肿瘤浸润免疫细胞中的干扰素刺激基因，从而激活免疫原性细胞死亡<sup>[20]</sup>。萘环类药物在激活内体模式识别受体 Toll 样受体 3 (TLR3) 后刺激恶性细胞快速产生 IFN-I，通过与肿瘤细胞上的干扰素  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) 和干扰素  $\beta$  受体 (IFNARs) 结合，I 型

IFN-I触发自分泌和旁分泌回路,导致趋化因子(C-X-C基序)配体10(CXCL10)的释放,发挥抗肿瘤作用,但缺乏TLR3或IFN $\alpha$ 会导致肿瘤对化疗没有反应<sup>[21]</sup>。说明IFN-I信号通路在乳腺癌NAC中发挥重要的免疫原性作用,诱导乳腺癌细胞凋亡。

通过CytoHubba插件筛选出与乳腺癌NAC前后TAMs密切相关的10个对应的蛋白:IFIT1、ISG15、MX1、MX2、IRF7、RSAD2、IFIT3、IFI35、IFI6、OAS2。研究<sup>[22]</sup>发现ISG15在乳腺癌中高表达增加了乳腺癌细胞对化疗药物的敏感度。IFN $\alpha$ 已被用于治疗包括乳腺癌在内的各种类型癌症,但其抗肿瘤活性相对较低,阻碍了其在临床应用。目前通过将MCF-7结合肽(MBP)与IFN $\alpha$ 的c端融合,构建IFN $\alpha$ -MBP融合分子(IMBP),其活性明显高于IFN $\alpha$ 。合成的IMBP的活性增强也与STAT1通路靶基因(STAT1、IFIT1、IFITM1和MX1)的激活密切相关,IMBP可以抑制细胞周期和促进细胞凋亡途径增强了阿霉素对乳腺癌化疗的治疗效果<sup>[23]</sup>。雌激素受体阴性乳腺癌细胞对阿霉素和甲氨蝶呤的化疗诱导存在免疫休眠,主要是由于IRF7/IFN- $\beta$ /IFNAR轴的持续激活造成<sup>[24]</sup>。IRF7上调主要通过抑制细胞主导的免疫反应转变为CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>T细胞依赖性抗肿瘤反应促进乳腺癌细胞对化疗的耐药<sup>[25]</sup>。IRF7或IFNAR沉默可逆转休眠状态,自发摆脱休眠与干扰素- $\beta$ 产生密切相关。RSAD2在TNBC中上调,RSAD2表达的增加与无病生存有关<sup>[26]</sup>。

在乳腺肿瘤微环境中,TAMs是最丰富的免疫细胞,在乳腺癌发生和进展过程中,TAMs通过促进血管生成和癌细胞转移,诱导癌症干性,调节能量代谢和支持免疫系统抑制来支持乳腺肿瘤的生长<sup>[27]</sup>。TAMs表现出高度的细胞可塑性,将肿瘤相关巨噬细胞重新极化为M1巨噬细胞抑制肿瘤生长,活化的M1和M2巨噬细胞的不同免疫调节功能起到肿瘤的作用<sup>[28]</sup>,同时也参与肿瘤耐药的调节<sup>[29]</sup>。本研究通过免疫浸润分析,发现M0巨噬细胞和M2巨噬细胞在乳腺癌化疗后含量减少,而M1巨噬细胞含量增加。相关性分析提示,M0、M2与M1成负相关,说明化疗可能造成M0、M2含量降低,影响患者的免疫功能。最近研究发现,成熟的树突细胞与卵巢癌患者免疫浸润和改善预后有关<sup>[30]</sup>。由SN-38诱导的SW480细胞上的MHC-I类

分子上调使SW480细胞更容易受到免疫调节,从而被单核细胞衍生的树突状细胞吞噬,抑制肿瘤的转移<sup>[31]</sup>。本研究中发现活化的树突状细胞含量增加可能通过免疫调节增加乳腺癌患者的预后。研究发现在基底样乳腺癌中(basal-like breast cancer, BLBC)中IFN $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 通路活性明显增加,但是TGF $\beta$ 活性明显降低。IFN $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 通路活性与BLBC复发呈负相关,TGF $\beta$ 通路与TNBC复发呈正相关。BLBC中的免疫细胞亚群分析显示M0、M1和M2巨噬细胞水平与TNF $\alpha$ 或TGF $\beta$ 通路相关,而活化记忆CD4<sup>+</sup>T细胞的水平与这两种通路相关。此外,T细胞亚群在具有低TGF $\beta$ 和高TNF $\alpha$ 通路活性的BLBC中最为丰富。这些结果表明TNF $\alpha$ 和TGF $\beta$ 通路协同作用可能参与了BLBC中记忆T细胞的调节和抗癌免疫<sup>[32]</sup>。在乳腺癌患者化疗中,顺铂可将单核细胞和M0巨噬细胞极化为M2样表型,加入寡聚果糖可明显减少M0巨噬细胞极化成M2样表型,寡聚果糖还可增加顺铂对乳腺癌细胞的毒性,防止M2巨噬细胞分化。更重要的是,寡聚果糖抑制了肿瘤微环境中M2巨噬细胞浸润,从而增加抗肿瘤免疫<sup>[33]</sup>。

本文通过对现有数据分析,发现乳腺癌患者化疗前有明显的免疫细胞改变,同时预测化疗前后患者体内TAMs变化主要与干扰素信号通路密切相关,提示在乳腺癌患者化疗中可以加入干扰素进行联合处理,增加化疗药物对肿瘤细胞的杀伤效果,从而获得更优的治疗效果。但仍需对宿主、肿瘤和微环境参数行进一步研究,以阐明这些化疗与免疫之间可能存在的相关机制,以及在对乳腺癌患者的治疗中合理选择化疗、靶向药物和免疫治疗药物的组合,达到最佳治疗效果。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

#### 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21590.
- [2] Holder PG, Lim SA, Huang CS, et al. Engineering interferons and interleukins for cancer immunotherapy[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 182:114112. doi: 10.1016/j.addr.2022.114112.
- [3] Zhang X, Wang S, Zhu YY, et al. Double-edged effects of

- interferons on the regulation of cancer-immunity cycle[J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1929005. doi: [10.1080/2162402X.2021.1929005](https://doi.org/10.1080/2162402X.2021.1929005).
- [4] Broad RV, Jones SJ, Teske MC, et al. Inhibition of interferon-signalling halts cancer-associated fibroblast-dependent protection of breast cancer cells from chemotherapy[J]. *Br J Cancer*, 2021, 124(6):1110–1120. doi: [10.1038/s41416-020-01226-4](https://doi.org/10.1038/s41416-020-01226-4).
- [5] Liu J, Lao LY, Chen JN, et al. The IRENA lncRNA converts chemotherapy-polarized tumor-suppressing macrophages to tumor-promoting phenotypes in breast cancer[J]. *Nat Cancer*, 2021, 2(4): 457–473. doi: [10.1038/s43018-021-00196-7](https://doi.org/10.1038/s43018-021-00196-7).
- [6] Haque W, Verma V, Schwartz MR, et al. Neoadjuvant chemotherapy for metaplastic breast cancer: response rates, management, and outcomes[J]. *Clin Breast Cancer*, 2022: S1526–S8209(22)00021–0. doi: [10.1016/j.clbc.2022.01.006](https://doi.org/10.1016/j.clbc.2022.01.006). [Online ahead of print].
- [7] Raisner R, Bainer R, Haverty PM, et al. Super-enhancer acquisition drives oncogene expression in triple negative breast cancer[J]. *PLoS One*, 2020, 15(6): e0235343. doi: [10.1371/journal.pone.0235343](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235343).
- [8] Bathara M, Date T, Chaudhari D, et al. Exploring the promising potential of high permeation vesicle-mediated localized transdermal delivery of docetaxel in breast cancer to overcome the limitations of systemic chemotherapy[J]. *Mol Pharm*, 2020, 17(7): 2473–2486. doi: [10.1021/acs.molpharmaceut.0c00211](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00211).
- [9] Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets: update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D991–995. doi: [10.1093/nar/gks1193](https://doi.org/10.1093/nar/gks1193).
- [10] Li H, Li XY, Guo J, et al. Identification of biomarkers and mechanisms of diabetic cardiomyopathy using microarray data[J]. *Cardiol J*, 2020, 27(6):807–816. doi: [10.5603/CJ.a2018.0113](https://doi.org/10.5603/CJ.a2018.0113).
- [11] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG: integrating viruses and cellular organisms[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1):D545–551. doi: [10.1093/nar/gkaa970](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa970).
- [12] Piñero J, Saüch J, Sanz F, et al. The DisGeNET cytoscape app: exploring and visualizing disease genomics data[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19:2960–2967. doi: [10.1016/j.csbj.2021.05.015](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.05.015).
- [13] Kawada JI, Takeuchi S, Imai H, et al. Immune cell infiltration landscapes in pediatric acute myocarditis analyzed by CIBERSORT[J]. *J Cardiol*, 2021, 77(2): 174–178. doi: [10.1016/j.jjcc.2020.08.004](https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2020.08.004).
- [14] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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. doi: [10.3322/caac.21660](https://doi.org/10.3322/caac.21660).
- [15] Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(5):363–385. doi: [10.3322/caac.21565](https://doi.org/10.3322/caac.21565).
- [16] Axelrod ML, Nixon MJ, Gonzalez-Ericsson PI, et al. Changes in peripheral and local tumor immunity after neoadjuvant chemotherapy reshape clinical outcomes in patients with breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(21):5668–5681. doi: [10.1158/1078-0432.CCR-19-3685](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3685).
- [17] Watanabe T, Hida AI, Inoue N, et al. Abundant tumor infiltrating lymphocytes after primary systemic chemotherapy predicts poor prognosis in estrogen receptor-positive/HER2-negative breast cancers[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 168(1): 135–145. doi: [10.1007/s10549-017-4575-z](https://doi.org/10.1007/s10549-017-4575-z).
- [18] Liao GM, Jiang ZD, Yang YR, et al. Combined homologous recombination repair deficiency and immune activation analysis for predicting intensified responses of anthracycline, cyclophosphamide and taxane chemotherapy in triple-negative breast cancer[J]. *BMC Med*, 2021, 19(1):190. doi: [10.1186/s12916-021-02068-4](https://doi.org/10.1186/s12916-021-02068-4).
- [19] Sadighi S, Sharifian R, Kazemimanesh M, et al. Down-regulation of immune checkpoints by doxorubicin and carboplatin-containing neoadjuvant regimens in a murine breast cancer model[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2021, 24(4): 537–544. doi: [10.22038/ijbms.2021.54383.12221](https://doi.org/10.22038/ijbms.2021.54383.12221).
- [20] Du B, Waxman DJ. Medium dose intermittent cyclophosphamide induces immunogenic cell death and cancer cell autonomous type I interferon production in glioma models[J]. *Cancer Lett*, 2020, 470: 170–180. doi: [10.1016/j.canlet.2019.11.025](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.11.025).
- [21] Sistigu A, Yamazaki T, Vacchelli E, et al. Cancer cell-autonomous contribution of type I interferon signaling to the efficacy of chemotherapy[J]. *Nat Med*, 2014, 20(11):1301–1309. doi: [10.1038/nm.3708](https://doi.org/10.1038/nm.3708).
- [22] Tecalco-Cruz AC, Ramírez-Jarquín JO, Cruz-Ramos E. Regulation and action of interferon-stimulated gene 15 in breast cancer cells[J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4): 954–962. doi: [10.1007/s13577-020-00414-x](https://doi.org/10.1007/s13577-020-00414-x).
- [23] Li SJ, Liu CS, Li HJ, et al. A novel engineered interferon- $\alpha$  hybrid molecule increases anticancer efficacy of doxorubicin in breast cancer chemotherapy[J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(3): 949–958. doi: [10.3892/ijo.2017.4062](https://doi.org/10.3892/ijo.2017.4062).
- [24] Lan Q, Peyvandi S, Duffey N, et al. Type I interferon/IRF7 axis instigates chemotherapy-induced immunological dormancy in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2019, 38(15):2814–2829. doi: [10.1038/s41388-018-0624-2](https://doi.org/10.1038/s41388-018-0624-2).
- [25] Zheng X, Liu ZJ, Mi M, et al. Disulfiram improves the anti-PD-1 therapy efficacy by regulating PD-L1 expression via epigenetically reactivation of IRF7 in triple negative breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11:734853. doi: [10.3389/fonc.2021.734853](https://doi.org/10.3389/fonc.2021.734853).
- [26] Tang JN, Yang Q, Cui QX, et al. Weighted gene correlation



- network analysis identifies RSAD2, HERC5, and CCL8 as prognostic candidates for breast cancer[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(1):394-407. doi: 10.1002/jcp.28980.
- [27] Huang XQ, Cao JS, Zu XY. Tumor-associated macrophages: an important player in breast cancer progression[J]. Thorac Cancer, 2022, 13(3):269-276. doi: 10.1111/1759-7714.14268.
- [28] Wang C, Cao MH, Jiang XL, et al. Macrophage balance fraction determines the degree of immunosuppression and metastatic ability of breast cancer[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 97:107682. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107682.
- [29] Xiao MY, He J, Yin LY, et al. Tumor-associated macrophages: critical players in drug resistance of breast cancer[J]. Front Immunol, 2021, 12:799428. doi: 10.3389/fimmu.2021.799428.
- [30] Truxova I, Kasikova L, Hensler M, et al. Mature dendritic cells correlate with favorable immune infiltrate and improved prognosis in ovarian carcinoma patients[J]. J Immunother Cancer, 2018, 6(1):139. doi: 10.1186/s40425-018-0446-3.
- [31] Liang YH, Tsai JH, Cheng YM, et al. Chemotherapy agents stimulate dendritic cells against human colon cancer cells through upregulation of the transporter associated with antigen processing[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):9080. doi: 10.1038/s41598-021-88648-z.
- [32] Liu DX, Vadgama J, Wu Y. Basal-like breast cancer with low TGF $\beta$  and high TNF $\alpha$  pathway activity is rich in activated memory CD4 T cells and has a good prognosis[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(3):670-682. doi: 10.7150/ijbs.56128.
- [33] Chen LM, Tseng HY, Chen YA, et al. Oligo-fucoidan prevents M2 macrophage differentiation and HCT116 tumor progression[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(2):E421. doi: 10.3390/cancers12020421.

( 本文编辑 宋涛)

本文引用格式:陈娟,蒋斌,黄果,等.乳腺癌新辅助化疗前后肿瘤相关巨噬细胞相关基因变化的生物信息学分析[J].中国普通外科杂志,2022,31(5):631-639. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.05.008

Cite this article as: Chen J, Jiang B, Huang G, et al. Bioinformatics analysis of changes in genes associated with tumor-associated macrophages before and after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer[J]. Chin J Gen Surg, 2022, 31(5): 631-639. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.05.008



微信扫一扫  
关注该服务号

## 敬请关注《中国普通外科杂志》官方微信平台

《中国普通外科杂志》官方公众微信正式上线启动(服务号:ZGPTWKZZFWH),我们将通过微信平台定期或不定期推送本刊的优秀文章、工作信息、活动通知以及国内外最新研究成果与进展等。同时,您也可在微信上留言,向我们咨询相关问题,并对我们的工作提出意见和建议。《中国普通外科杂志》公众微信号的开通是我们在移动互联网时代背景下的创新求变之举,希望能为广大读者与作者带来更多的温馨和便利。

欢迎扫描二维码,关注《中国普通外科杂志》杂志社官方微信服务平台。

中国普通外科杂志编辑部