



· 论 著 ·

# MYC通过靶向CD47促进前列腺癌增殖和转移的机制研究

刘浩<sup>1</sup>, 苏俊杰<sup>2</sup>, 辛士永<sup>2</sup>

1. 河南科技大学基础医学与法医学院, 河南 洛阳 471000;  
2. 河南科技大学第一附属医院临床医学院泌尿外科, 河南 洛阳 471000

**[摘要]** 背景与目的: 前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 患者接受免疫治疗的效果一直不理想, 这可能与PCa肿瘤微环境呈免疫抑制状态密切相关。MYC是癌细胞内一种关键的转录因子, 通过调节细胞内基因的表达, 参与细胞增殖、分化、凋亡和免疫监视等过程。本研究旨在探索MYC引起PCa肿瘤微环境成为免疫抑制状态的原因和对PCa细胞的作用。方法: 对PCa单细胞数据进行分群注释, 分别对肿瘤细胞、T细胞和巨噬细胞进行亚群分析, 分析MYC和CD47在肿瘤亚群中的表达变化, 并分析信号调节蛋白 $\alpha$  (signal regulatory protein alpha, SIRP $\alpha$ ) 在巨噬细胞亚群中的表达变化。再依据MYC表达水平将PCa转录组数据样本分为高表达组和低表达组, 并分别进行差异分析和富集分析。利用染色质免疫沉淀-定量聚合酶链反应 (chromatin immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction, ChIP-qPCR) 和实验分析验证MYC在PCa细胞中的作用。此外, 通过动物实验 (已通过河南科技大学第一附属医院伦理委员会的审查, 批号: D-2025-B015) 再次验证MYC与CD47的关系。最后, 我们利用PCa的转录组数据对乳清酸蛋白四二硫键核心域2 (whey acidic protein four-disulfide core domain 2, WFDC2)<sup>+</sup>肿瘤亚型进行分析验证。结果: 通过对PCa单细胞数据分析, 共筛选出32 977个细胞, 鉴定出7种不同的细胞类型。肿瘤细胞被进一步分为10种肿瘤细胞亚型, 其中, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群在PCa肿瘤微环境中与CD8<sup>+</sup> T细胞和巨噬细胞的细胞通信更加密切。MYC和CD47在PCa细胞分化的中后期呈高表达状态, 而SIRP $\alpha$ 在巨噬细胞分化轨迹中均呈高表达状态。富集分析显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群主要富集在转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 和Wnt- $\beta$ -catenin等信号通路中。ChIP-qPCR证实了MYC对CD47表达的调控关系, 同时发现敲低细胞中的MYC能够显著抑制PCa细胞增殖和侵袭能力, 而过表达CD47后能够逆转该现象。动物实验结果证实MYC与CD47蛋白表达呈正相关关系。肿瘤免疫功能障碍和排斥 (tumor immune dysfunction and exclusion, TIDE) 和Estimate分析结果显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群中低分组患者相较于高分组患者, 对免疫治疗的反应可能更好。结论: 本研究揭示了MYC在PCa肿瘤免疫微环境中的作用, MYC能够通过调控CD47的表达促进PCa细胞增殖和迁移, 这为PCa患者的治疗提供了新思路。

**[关键词]** 前列腺癌; MYC; CD47; 免疫治疗; 肿瘤微环境

中图分类号: R737.25 文献标志码: A

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.11.001

**基金项目:** 河南省医学科技项目资助项目 (LHGJ20230460)。

**利益冲突:** 作者声明无利益冲突。

**伦理批件:** D-2025-B015。

**知情同意:** 不需要。

**引用本文:** 刘浩, 苏俊杰, 辛士永. MYC通过靶向CD47促进前列腺癌增殖和转移的机制研究 [J]. 中国癌症杂志, 2025, 35(11): 987-1000.

**Funding:** Medical Science and Technology project of Henan Province (LHGJ20230460).

**Conflicts of interest:** authors declare no conflicts of interest.

**Ethical approval:** D-2025-B015.

**Informed consent:** not required.

**Cite this article:** LIU H, SU J J, XIN S Y. Mechanism study of MYC promoting proliferation and metastasis in prostate cancer by targeting CD47 [J]. Chin Oncol, 2025, 35(11): 987-1000.

**Mechanism study of MYC promoting proliferation and metastasis in prostate cancer by targeting CD47** LIU Hao<sup>1</sup>, SU Junjie<sup>2</sup>, XIN Shiyong<sup>2</sup> (1. College of Basic Medicine and Forensic Medicine, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan Province, China; 2. Department of Urology, The First Affiliated Hospital and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan Province, China)

Correspondence to: XIN Shiyong E-mail: doctsyxin@163.com

[ **Abstract** ] **Background and purpose:** Patients with prostate cancer (PCa) have consistently shown suboptimal responses to immunotherapy, which may be closely related to the immunosuppressive state of the PCa tumor microenvironment. MYC, a key transcription factor in cancer cells, is involved in cell proliferation, differentiation, apoptosis and immune surveillance by regulating the expression of intracellular genes. This study aimed to elucidate the mechanisms through which MYC fosters an immunosuppressive state within the PCa tumor microenvironment and to delineate its functional impact on PCa cells. **Methods:** We performed clustering and annotation of single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) data from PCa, and conducted subcluster analyses for tumor cells, T cells, and macrophages respectively. The expression changes of MYC and CD47 across tumor subtype were analyzed, and the expression variations of signal regulatory protein alpha (SIRP $\alpha$ ) among macrophage subtype were assessed. Furthermore, we divided the PCa transcriptomic dataset samples into high- and low-MYC expression groups based on MYC expression levels, and performed differential expression analysis and enrichment analysis for each group. The functional role of MYC in PCa cells was validated using chromatin immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction (ChIP-qPCR) and experimental analyses. Furthermore, animal experiments (reviewed and approved by the ethics committee of the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, approval number: D-2025-B015) were conducted to further validate the relationship between MYC and CD47. Finally, we analyzed and validated the whey acidic protein four-disulfide core domain 2 (WFDC2)<sup>+</sup> tumor subtype using transcriptomic data from PCa. **Results:** Through the analysis of scRNA-seq data from PCa, a total of 32,977 cells were identified, and 7 distinct cell types were annotated. The tumor cells were further divided into 10 tumor cell subtypes, among which the WFDC2<sup>+</sup> tumor cell subtype exhibited more intensive cellular communication with CD8<sup>+</sup> T cells and macrophages within the PCa tumor microenvironment. MYC and CD47 exhibited high expression levels during the middle-to-late stages of differentiation in PCa cells, whereas SIRP $\alpha$  maintained high expression throughout the macrophage differentiation trajectory. Enrichment analysis revealed that the WFDC2<sup>+</sup> tumor cell subtype was primarily enriched in signaling pathways such as transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and Wnt/ $\beta$ -catenin. ChIP-qPCR confirmed the regulatory relationship between MYC and CD47 expression. Additionally, it was found that MYC knockdown significantly inhibited the proliferation and invasion abilities of PCa cells, while overexpression of CD47 could reverse this effect. Animal experiment results confirmed a positive correlation between MYC and CD47 protein expression. Furthermore, Tumor Immune Dysfunction and Exclusion (TIDE) and Estimate analyses indicated that patients in the low-expression group of the WFDC2<sup>+</sup> tumor cell subtype exhibited a potentially better response to immunotherapy compared to those in the high-expression group. **Conclusion:** The findings of this study elucidate the role of MYC in the PCa tumor immune microenvironment. Specifically, MYC promotes the proliferation and migration of PCa cells by regulating the expression of CD47. These insights provide novel perspectives for the treatment of PCa patients.

[ **Key words** ] Prostate cancer; MYC; CD47; Immunotherapy; Tumor microenvironment

前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是世界范围内男性常见的恶性肿瘤之一, 也是男性第二大常见死亡原因<sup>[1]</sup>。PCa的主要治疗手段包括手术治疗、放疗和雄激素剥夺治疗 (androgen deprivation therapy, ADT)<sup>[2]</sup>, 其中ADT是大多数晚期PCa的主要治疗方案<sup>[3]</sup>。其中大部分PCa患者最终都会发展为去势抵抗性PCa<sup>[4]</sup>。阿比特龙、恩杂鲁胺等药物虽然在临床应用中表现出良好效果, 能够延长PCa患者的生存期, 但是对于晚期PCa患者收效甚微<sup>[5]</sup>。免疫治疗包括免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 和针对肿瘤相关抗原的特异性治疗, 然而免疫治疗用于治疗PCa的效果并不理想, 这可能与PCa肿瘤微环境呈免疫抑制状态有关。

免疫治疗是通过多种方法激活患者自身的免疫细胞来识别和杀伤肿瘤细胞。MYC作为肿瘤中的一种关键转录因子, 可调节基因表达及细胞过程, 包括增殖、分化、细胞周期、代谢和细胞凋亡。而在肿瘤微环境中包含许多不同

类型的细胞, 如肿瘤相关巨噬细胞、免疫细胞和炎症细胞等<sup>[6]</sup>。有证据<sup>[7]</sup>表明, MYC在使肿瘤通过各种机制逃避免疫监视方面具有重要作用, 包括上调抑制性细胞因子和免疫检查点蛋白, 如程序性死亡蛋白配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 和CD47。而MYC在PCa免疫微环境中的作用仍需要进一步研究。CD47是一种糖蛋白, 在几乎所有细胞类型中均表达, 其配体信号调节蛋白 $\alpha$  (signal regulatory protein alpha, SIRP $\alpha$ ) 主要表达于髓系细胞表面, 包括单核细胞、巨噬细胞、粒细胞和髓系树突状细胞 (dendritic cell, DC) 等。当CD47与巨噬细胞中表达的SIRP $\alpha$ 结合后, 免疫受体酪氨酸抑制模体 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM) 介导的抑制信号转导被激活以阻断吞噬细胞的清除功能。而许多癌症通过激活该信号通路来逃避吞噬细胞的免疫监视<sup>[8]</sup>。肿瘤微环境中各种细胞之间的细胞通信与肿瘤细胞的生存、进展和免疫抑制密切相关。其中, T细胞在肿瘤的

免疫治疗中发挥重要作用，T细胞的浸润丰度和活性是免疫治疗的关键。细胞间抑制信号可导致CD8<sup>+</sup>T细胞功能障碍，促进肿瘤进展。因此，揭示MYC在PCa细胞中的作用以及对PCa肿瘤免疫微环境的调控作用对指导PCa的治疗并寻找有效的治疗靶点具有重要意义。

本研究首先在单细胞水平上对13个PCa样本数据进行鉴定分析。经过降维聚类共识别出7个不同的细胞群，分别对肿瘤细胞、T细胞和巨噬细胞群进行深入的亚群分析，包括细胞分化轨迹和功能富集。然后，分别在细胞和裸鼠体内验证MYC与CD47间的关系以及对PCa细胞的影响。最后，利用PCa的转录组数据对乳清酸蛋白四二硫键核心域2（whey acidic protein four-disulfide core domain 2, WFDC2）<sup>+</sup>肿瘤亚型进行分析验证。

## 1 材料和方法

### 1.1 单细胞数据分析

本研究收集的13例PCa单细胞数据来自肿瘤免疫单细胞中心2（Tumor Immune Single-Cell Hub 2, TISCH2）数据库（<http://tisch.compbio.cn/home/>，下载时间为2024年1月11日），对应的编号为GSE141445。PCa转录本数据从癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas, TCGA）数据库（<https://portal.gdc.cancer.gov/>）中获取（下载时间为2024年2月21日）。下载的单细胞数据使用R（4.3.1版本）中的Seurat包（5.1.0版本）进行处理和分析。使用以下标准筛选质量合格的细胞：每个细胞的基因数为500~5 000，且每个细胞线粒体基因百分比不超过5%。基于过滤后的细胞进行后续分析。

### 1.2 注释聚类

将过滤后的细胞进行标准化处理，然后使用Seurat包（5.1.0版本）中的FindVariableFeatures函数筛选2 000个高变基因，最后选择主成分数量（number of principal components, npcs）=20进行主成分分析。使用Seurat包（5.1.0版本）中的FindNeighbours和FindClusters函数进行细胞聚类，鉴定出细胞簇。通过调节不同的参数，选择最优的细胞聚类结果，最终将分辨率设置为0.3。使用Seurat包（5.1.0版本）中的RunTSNE和RunUMAP函数进行降维并展示结果。使用Seurat包（5.1.0版本）中的FindAllMarkers函数分别计算每个细胞簇中的特征上调基因。通过检索文献和CellMarker2.0数据库（<http://117.50.127.228/>

CellMarker/CellMarkerBrowse.jsp），基于每个细胞簇中的特异性标志物对每个细胞簇进行细胞注释。

### 1.3 拟时序分析

为分析各细胞亚群的细胞分化特征，使用Monocle包（2.28.0版本）对细胞亚群进行拟时序分析，从而推断细胞的发育轨迹和分化特征。首先从整个单细胞中提取感兴趣的细胞亚群，并根据Monocle包流程分析。将基因的表达量设置为0.1，并在至少10个细胞中表达。利用校正后 $P < 0.1$ 的差异表达基因对细胞进行分类，最终输出细胞的发育轨迹。

### 1.4 细胞通信

使用R（4.3.1版本）中的CellChat包（1.6.1版本）计算肿瘤微环境中不同细胞间的相互作用模式，包括细胞通信频率和权重、配体-受体信息。简单来说，将每个细胞的表达数据导入CellChat，来创建细胞间相互作用的网络图，可视化细胞之间的通信关系。

### 1.5 差异基因分析

根据基因中位表达水平，将样本分为高表达组和低表达组。采用Limma包（4.22版本）对高、低表达组间的差异表达基因进行鉴定筛选，设置 $P < 0.05$ 和 $|\log \text{fold change}| \geq 0.5$ 为显著阈值。

### 1.6 蛋白网络构建

为了建立蛋白的相互作用网络，将差异表达基因上传到STRING网站（<https://cn.string-db.org/>）中，并设置中等可靠性。通过Cytoscape软件（3.9.1版本）对初始网络进行调整和可视化。基因本体论（Gene Ontology, GO）中的生物过程（biological process）、细胞组分（cell components）、分子功能（molecular function）和京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG）途径富集分析均通过DAVID数据库完成，以单侧 $P < 0.05$ 为显著阈值。通过GSEA函数进行Hallmark富集分析。

### 1.7 免疫微环境

为了评估不同分组样本中CD8、微卫星不稳定性（microsatellite instability, MSI）和肿瘤免疫功能障碍和排斥（tumor immune dysfunction and exclusion, TIDE）评分等各项免疫参数的差异，并预测不同分组样本对免疫检查点阻滞的应答率，我们将PCa样本的基因表达矩阵上传到TIDE在线数据库（<http://tide.dfci.org/>）进行分析。使用R包Estimate（1.0.13版本）评估不同分组样本中的免疫和基质评分。此外，通过CIBESORT算

法计算PCa样本中不同免疫细胞的浸润丰度。

### 1.8 细胞培养

PC-3细胞购自苏州海星生物科技有限公司,并在RPMI-1640培养基中培养。MYC的shRNA由苏州吉玛基因股份有限公司设计和合成,转染按照其标准程序进行,为构建过表达CD47的PCa细胞,按照实验说明使用携带CD47的慢病毒转染PC-3细胞。

### 1.9 集落实验

将细胞以 $300 \times g$ 离心5 min,重悬,并以1 000个细胞/孔的密度接种到6孔板中,在恒温培养箱中温育2周。最后依次使用4%多聚甲醛溶液固定,0.1%结晶紫染色,在显微镜下拍照计数。

### 1.10 EdU实验

将细胞以 $20 \times 10^5$ 个/孔的密度接种到6孔板中,并置于37 °C的培养箱中培养。待细胞状态稳定后,按照BeyoClick™ EdU-555细胞增殖检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0075S)的标准程序进行细胞处理。最后,用共聚焦显微镜拍照并分析。

### 1.11 划痕实验

提前在6孔板背面画3条平行线,然后以 $6 \times 10^6$ 个/孔的密度将细胞种植于6孔板上,等到细胞密度达到90%时,用200  $\mu$ L移液器吸嘴垂直于6孔板在细胞上划痕,再使用无菌磷酸缓冲盐溶液(phosphate-buffered saline, PBS)进行洗涤,然后置于细胞培养箱中继续培养。分别在划痕的0和24 h进行拍摄记录。使用Image J软件(1.8.0版本)分析和计算细胞迁移速率。细胞迁移速率=(0 h划痕宽度-24 h后的划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$ 。

### 1.12 蛋白质印迹法(Western blot)实验

用PBS洗涤细胞2次,再加入放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解缓冲液,收集裂解液并在4 °C下以 $12\ 000 \times g$ 离心30 min。收集离心后的上清液,用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0012)测定蛋白浓度。蛋白质通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶进行电泳分离,然后将分离后的蛋白转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。PVDF膜在5%脱脂奶粉(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0216)溶液中浸泡1 h进行封闭;然

后加入一抗,在4 °C环境下温育过夜。第2天,用含有吐温-20三乙醇胺缓冲盐溶液(tris-buffered saline Tween, TBST)洗涤PVDF膜3次,再与二抗在室温下温育2 h;然后用TBST溶液再次洗膜3次。

### 1.13 Transwell实验

将80  $\mu$ L基质胶加入小室中,置于37 °C培养箱中,使其完全凝固。然后消化细胞,并以 $200 \times g$ 离心细胞5 min,将 $5 \times 10^5$ 个细胞加入含有基质胶的小室中。下室中加入600  $\mu$ L培养基,温育48 h,采用4%多聚甲醛溶液固定30 min,0.1%结晶紫染色,在显微镜下观察并拍照。

### 1.14 染色质免疫沉淀-定量聚合酶链反应(chromatin immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction, ChIP-qPCR)

使用ChIP试剂盒(美国CST公司,货号:#9003)进行实验检测,首先利用1%甲醛溶液交联固定,用125 mmol/L甘氨酸中和,然后使用含蛋白酶抑制剂的PBS收集细胞。随后进行3次超声破碎处理,以获得染色质裂解液。用anti-MYC在4 °C下温育过夜。然后加入蛋白G磁珠,旋转温育2 h。经染色质洗脱和DNA纯化后,对DNA产物进行qPCR分析定量。ChIP-qPCR的引物为CD47(正向引物序列为5'-AAAGAAGGGGATCCCTAGCA-3',反向引物序列为5'-CCATCTCCAAATGCACACAC-3')。

### 1.15 动物实验

BALB/c雄性裸鼠购自郑州大学实验动物中心。实验开始前,让动物适应环境1周以上。将裸鼠随机分为3组(3只动物/组),将各组(NC组、sh-MYC组和sh-MYC+oe-CD47组)200  $\mu$ L的PC-3细胞( $10^7$ 个/mL)悬液注射到每只裸鼠的右侧前肢后背部皮下,3周后对各组裸鼠肿瘤取材进行免疫组织化学实验分析。本研究获得河南科技大学第一附属医院研究伦理委员会的批准(D-2025-B015)。

### 1.16 免疫组织化学实验

将肿瘤组织保存在4%甲醛溶液中,然后石蜡包埋。将石蜡包埋组织切成5  $\mu$ m切片,用不同浓度(100%、95%、80%、75%)的乙醇水合。用3%过氧化氢温育10 min,冷却至室温后用PBS洗涤3次,每次10 min。加入一抗(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:67447-1-IG;20305-1-AP)并置于4 °C的湿盒中过夜。第2天用PBS洗涤3次,每次5 min。之后,去除一抗并加入相应二抗。随后,在室温下温育30 min,

然后用PBS洗掉二抗。滴加二氨基联苯胺（diaminobenzidine, DAB）观察，适当时间停止染色，使用苏木精进行复染。

### 1.17 统计学处理

实验数据表示为至少3个生物学重复的样本均数。若满足正态分布，且满足方差齐性，采用独立样本t检验，以 $\bar{x} \pm s$ 表示；若只满足正态分布，不满足方差齐性，采用Welch's校正t检验，以 $\bar{x} \pm s$ 表示；不满足正态分布，则采用Mann-Whitney U检验，以中位数（四分位数间距）表示。所有生物信息学数据均通过R软件（4.3.1版本）进行分析，使用GraphPad Prism 8软件（8.0.2版本）进行统计学分析。采用双侧检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PCa单细胞图谱

本研究对13例PCa样本的单细胞数据进行分析。首先，过滤掉低质量的细胞后共有32 977个细胞被纳入后续分析。对纳入的细胞进行降维聚类分析，通过UMAP图展示，纳入的细胞共被分为19个簇（图1A）。通过比较分析每个细胞簇的高表达基因，将所有细胞簇最终定义为7种细胞类型（图1B），包括B细胞、T细胞、上皮细胞和内皮细胞等。通过气泡图对各个细胞亚群的标志物进行展示（图1C），其中T细胞亚

群中TRBC2和CXCR4特异性高表达，内皮细胞亚群中EMCN和PLVAP高表达，上皮细胞亚群中SLC15A2和OGN高表达。

### 2.2 上皮细胞亚群分析

为对肿瘤细胞亚群进行深入分析，我们将肿瘤细胞亚群再次分为10个亚簇。通过鉴定各个亚簇的标志物，肿瘤细胞重新被注释为10种肿瘤细胞亚型（图2A）。拟时序分析结果表明，肿瘤细胞发育的初始阶段位于右侧分支，主要由LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群和成纤维细胞生长因子12（fibroblast growth factor 12, FGF12）<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群富集，细胞分化末期主要是WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群富集（图2B~2C）。而在PCa肿瘤细胞分化过程中，AXL、MYC、MET和CD47表达水平随着肿瘤细胞分化的进展发生显著变化。其中MYC和CD47在肿瘤细胞分化的中后期呈高表达状态，而AXL和MET仅在肿瘤细胞分化末期表达（图2H）。此外，富集分析结果显示，LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群和FGF12<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群与WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群之间存在通路富集差异，WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群主要富集在转化生长因子-β（transforming growth factor-β, TGF-β）和Wnt-β-catenin等信号通路，LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群主要富集在雄激素反应和胆固醇平衡信号通路等信号通路，FGF12<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群主要富集在雄激素反应和蛋白质分泌等信号通路（图2I）。

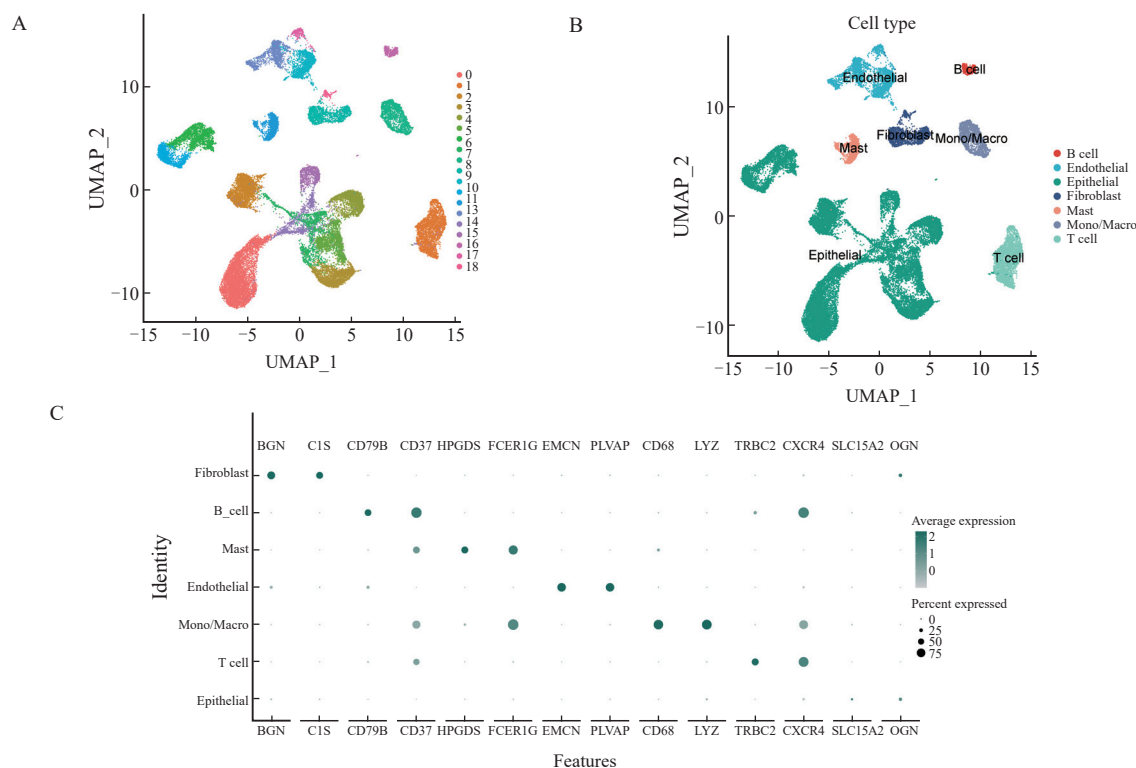


图1 PCa数据的scRNA-seq图谱

Fig. 1 RNA-seq profile of PCa data

A, B: UMAP shows the different cell clusters of PCa; C: Marker in different cell types.

### 2.3 T细胞亚群分析

T细胞作为关键免疫细胞,我们进一步对T细胞进行亚群分析。通过降维聚类分析将T细胞亚群分为4个亚簇。根据各个T细胞亚簇中特异高表达基因,将T细胞分为4类亚群(图2D)。同时,为了揭示T细胞的分化特征,我们对T细胞亚群进行了细胞拟时序分析,发现T细胞分化的起点位于右侧分支,分化的终点位于左侧分支(图2E)。在T细胞分化轨迹的早期阶段主要是KLK2<sup>+</sup>T细胞亚群富集,而CD8<sup>+</sup>T细胞主要在T细胞分化的末期富集(图2F)。而小提琴图显示,TIGIT主要在CD8<sup>+</sup>T细胞中表达,而在其余3种T细胞亚群中不表达(图2G)。

### 2.4 肿瘤细胞与T细胞之间的细胞通信

细胞之间的细胞通信是细胞发挥作用的基础。本研究结果显示,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞相比于LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群与T细胞亚群之间相互作用的数量和权重更高(图3A~3B)。热图结果也显示,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与T细胞亚群,尤其是CD8<sup>+</sup>T细胞亚群之间的细胞通信更为频繁(图3D)。同时,继续分析介导不同细胞亚群间发生相互作用的受体配体对,发现MIF-(CD74<sup>+</sup>CXCR4)和MIF-(CD74<sup>+</sup>CD44)在不同细胞亚群的信号传递中发挥重要作用,特别是在CD8<sup>+</sup>T细胞和WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞之间的细胞通信中(图3E)。此外,我们还发现耗竭T细胞与WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞之间有相同的作用模式,与MK和EGF信号相关,而CD8<sup>+</sup>T细胞亚群的作用模式主要与MIF和VISFATIN信号相关(图3C)。

### 2.5 巨噬细胞亚群分析

不同的巨噬细胞亚型在肿瘤微环境中具有不同的作用,为分析巨噬细胞在PCa肿瘤微环境中的作用,将巨噬细胞重新分为4个细胞亚簇(图4A)。根据FindAllMarkers鉴定的各个细胞亚簇的特异表达标志物,将巨噬细胞分为4种细胞亚型:M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、CD163<sup>+</sup>FCGR3A<sup>+</sup>巨噬细胞和APOC1巨噬细胞。巨噬细胞的拟时序分析表明,巨噬细胞分化轨迹始于右下分支,晚期位于左侧分支(图4B)。值得注意的是,4个巨噬细胞亚群在巨噬细胞分化轨迹上几乎均匀分布,没有显著的分布差异(图4C)。在巨噬细胞拟时序分化过程中,SIRP $\alpha$ 处于稳定的高表达状态(图4D)。这表明巨噬细胞的免疫吞噬功能在PCa中丧失,通过靶向SIRP $\alpha$ 激活巨噬细胞功能有可能提高免疫功效。

巨噬细胞与肿瘤细胞之间的细胞通信在肿

瘤的发展中起着重要作用。为揭示巨噬细胞和肿瘤细胞之间的通信模式,我们对巨噬细胞亚群与肿瘤细胞亚群之间的细胞通信进行了预测,结果显示,与LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞相比,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与4个巨噬细胞亚群的沟通更频繁(图4E)。细胞通信热图显示,与LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞相比,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与巨噬细胞亚群之间的细胞相互作用更强(图4F)。通过计算不同细胞亚群间相互作用的配体受体对,发现WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与巨噬细胞亚群之间的信号传递主要通过MDK-LRP1、MDK-NCL和REG-EGFR等,而LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞与巨噬细胞亚群之间的细胞相互作用较弱,主要通过GDF15-TGFBR2和GRN-SORT1(图4G)。

### 2.6 MYC相关差异基因和富集分析

MYC作为关键的转录调节因子,在肿瘤进展中发挥重要作用。基于PCa单细胞数据分析的结果,我们在转录本水平上分析了MYC在PCa进展中的作用。根据MYC的中位表达水平将PCa样本分为MYC高表达组和MYC低表达组,并对高表达组和低表达组进行差异分析,共鉴定出424个差异基因(图5A)。然后对MYC相关差异基因进行功能富集分析,结果显示,MYC相关差异基因参与多种信号通路,包括细胞间黏附、细胞衰老和主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I分子和抗原的呈递和传递等(图5B~5C)。基于MYC相关差异基因,我们构建了蛋白相互作用网络,发现MYC相关差异基因在蛋白水平上存在蛋白相互作用关系(图5D)。

### 2.7 MYC通过调控CD47提高肿瘤细胞增殖和侵袭能力

敲低PCa细胞MYC表达后,发现PCa细胞中MYC和CD47的表达水平均明显降低,而过表达CD47能够逆转这一现象(图6A~6B)。此外,小鼠移植瘤免疫组织化学结果提示,敲低MYC后,肿瘤组织中的MYC和CD47蛋白表达水平均降低,而过表达CD47后,能够逆转敲低MYC对CD47蛋白表达水平的影响(图6C)。通过ChIP-qPCR实验证实MYC能够通过靶向CD47调控其表达(图6D~6E)。EdU和transwell实验结果显示,敲低MYC可显著抑制PCa细胞迁移和侵袭能力(图6F~6G)。划痕和集落形成实验结果显示,敲低MYC后PCa细胞增殖和迁移能力显著受到抑制,而过表达CD47后,削弱了敲低MYC引起的作用(图6H~6I)。

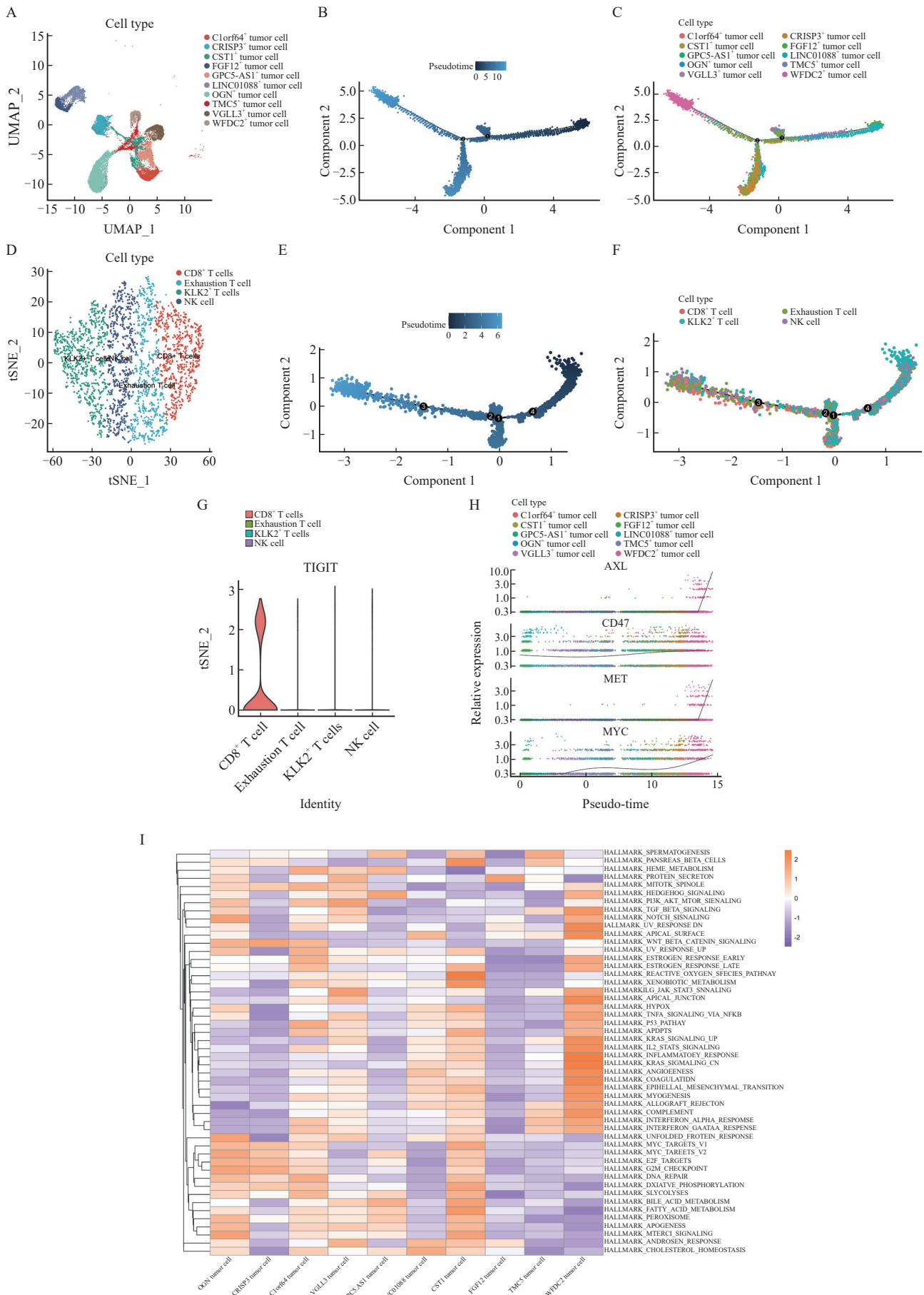


图2 肿瘤和巨噬细胞亚群的分析

Fig. 2 Analysis of tumor and macrophage subpopulations

A: UMAP shows the PCA cell subpopulation; B, C: Differentiation trajectory of tumor cell subsets; D: tSNE shows the T cell subpopulation; E, F: Differentiation trajectory of T cell subsets; G: The violin diagram shows the expression of TIGIT in T cell subsets; H: Expression changes of MYC, CD47, AXL and MET during tumor cell differentiation; I: Results of enrichment analysis of tumor cell subsets.

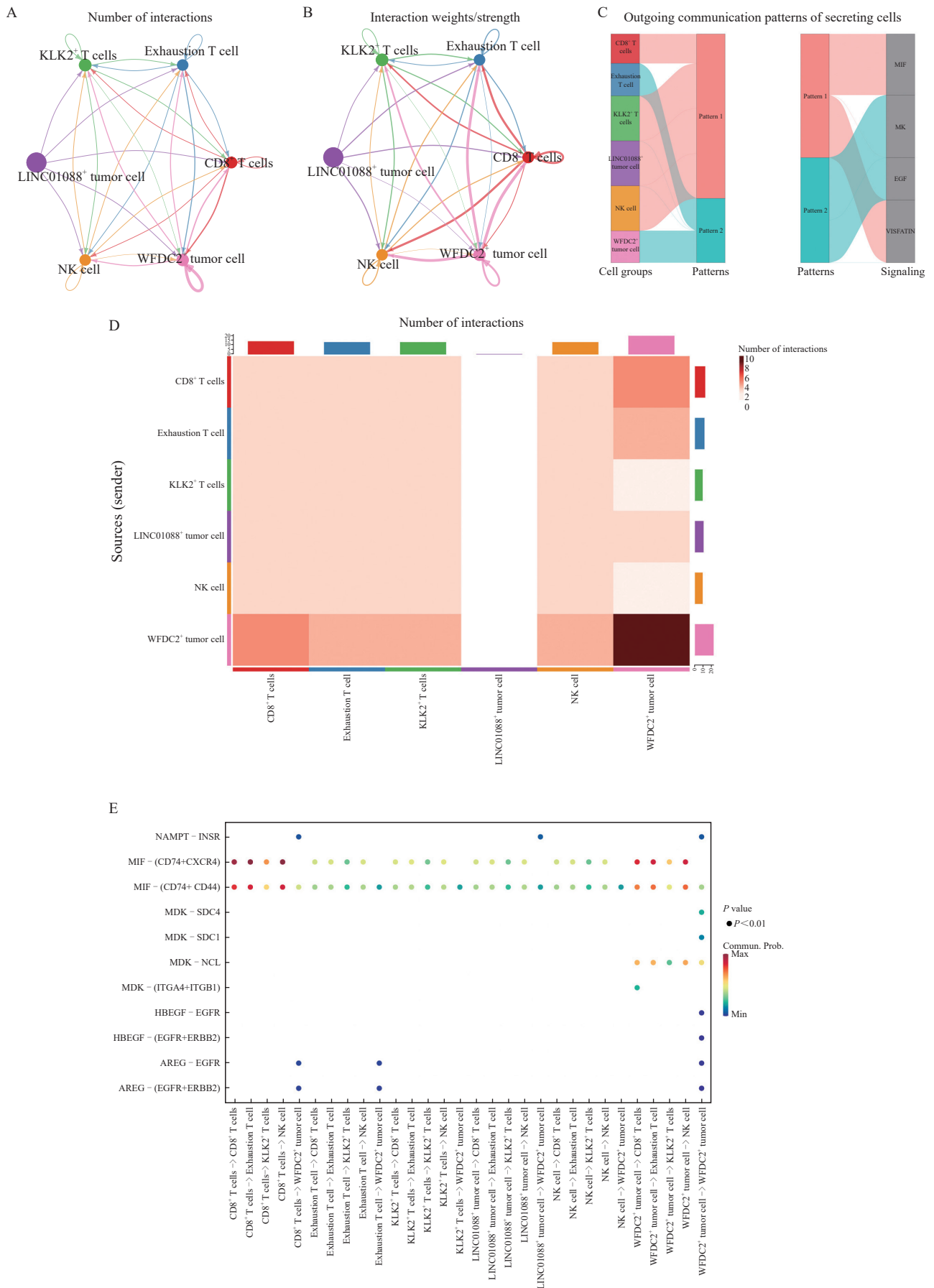


图3 肿瘤细胞与T细胞之间的细胞通信

Fig. 3 Cell communication between tumor cells and T cells

A, B: Intensity of cell communication between tumor cell subpopulations and T cell subpopulations; C: Functional patterns between different cell subpopulations; D: Heat map of the number of cell interactions between different cell subpopulations; E: Receptor ligand pairs for cell communication between different cell subpopulations.

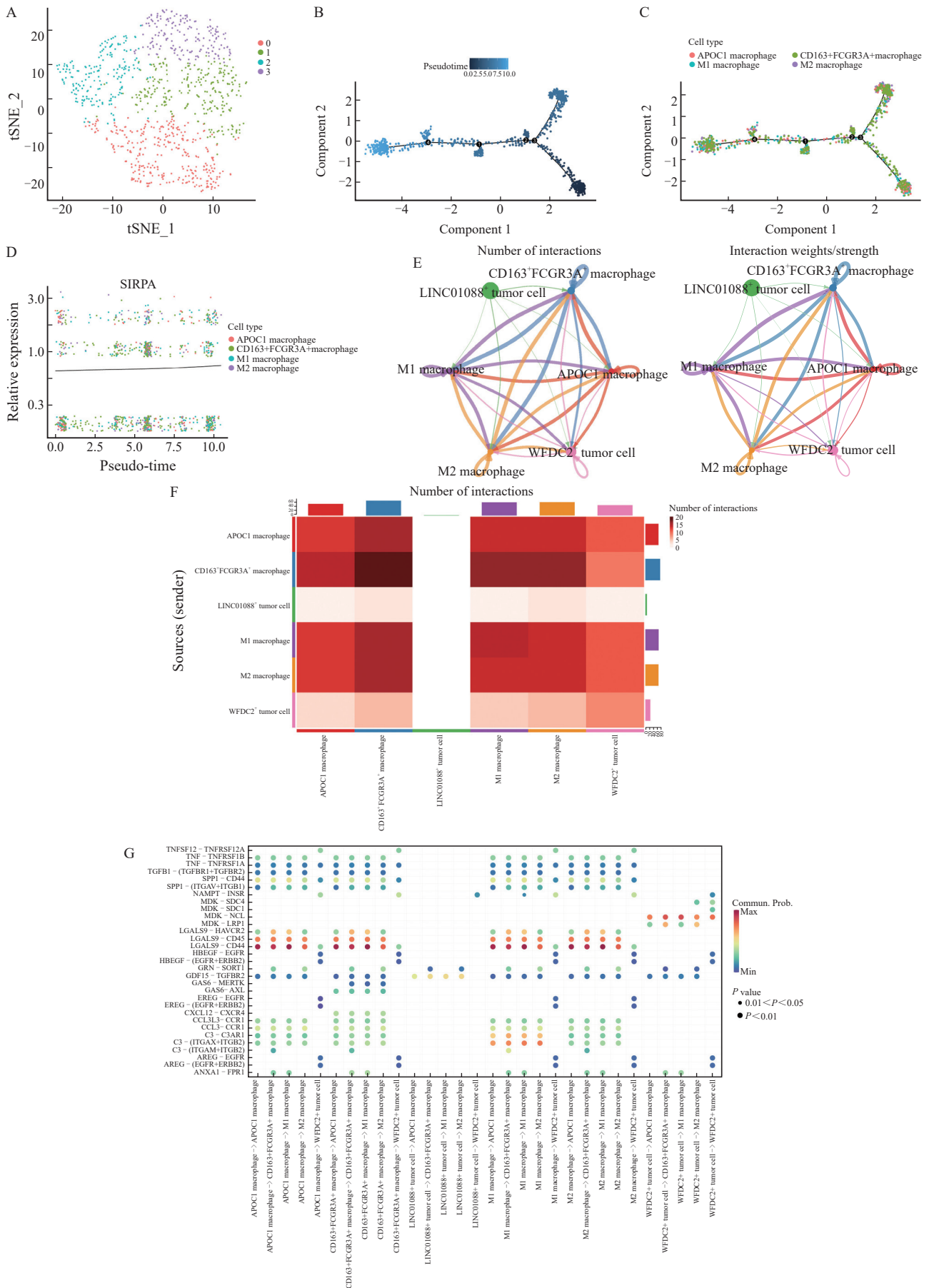


图4 巨噬细胞亚群分析

Fig. 4 Macrophage subpopulation analysis

A: tSNE shows different subpopulations of macrophages; B, C: Pseudotime of macrophages; D: Expression changes of SIRP $\alpha$  during macrophage differentiation; E: The number and proportion of cell communication between macrophage subpopulations and tumor cell subpopulations; F: Heat maps show cellular communication between macrophage subpopulations and tumor subpopulations; G: Receptor ligand pairs between macrophage subpopulation and tumor cell subpopulation.

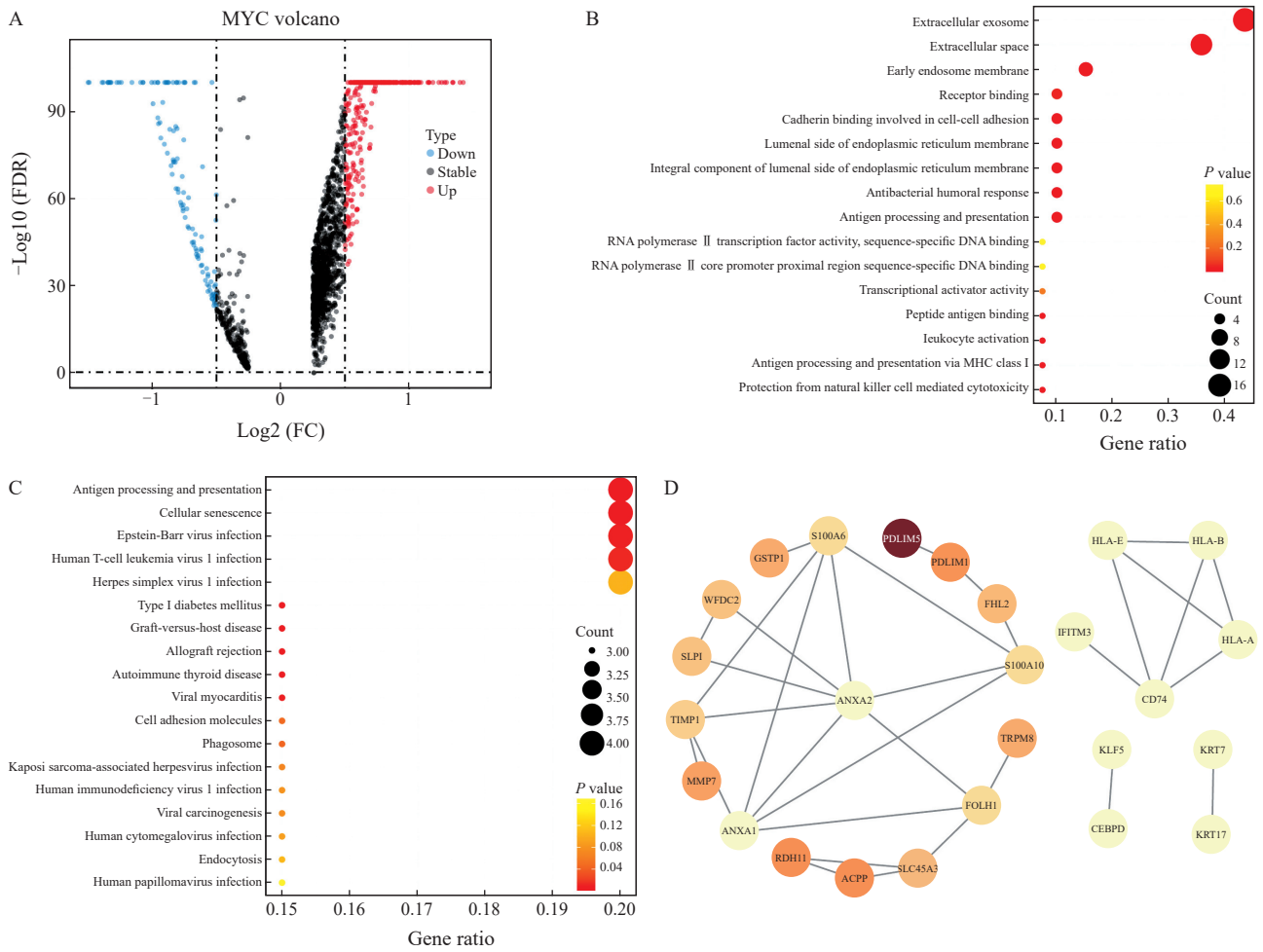


图5 MYC相关差异基因分析

Fig. 5 Analysis of MYC-related differential genes

A: The volcano map shows differential genes associated with MYC; B, C: Enrichment analysis of MYC-related differential genes; D: PPI networks reveal protein interactions.

### 2.8 WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞分析

对WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞的标志物进行富集评分, 依据中位评分将WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本分为高评分组和低评分组。TIDE分析显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞评分与CD8呈正相关(图7A)。此外, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞评分与TIDE评分呈正相关(图7C), 而与MSI评分呈负相关(图7B)。这些结果表明, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群中高评分组患者免疫逃逸的可能性增加, 导致免疫治疗效果较差。TIDE预测的免疫治疗结果显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组受益于免疫治疗的比例低于低评分组(图7D)。此外, Estimate分析结果显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组患者均对应较高的基质评分(StromalScore)、免疫评分(ImmuneScore)和Estimate评分(EstimateScore)(图7E), 与TIDE分析结果一致, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组患者接受免疫治疗的效果更差。因此, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组患者体内间质细胞和免疫细胞的比例较

高。此外, 我们使用IMvigor210的免疫治疗队列进行了验证, 结果显示, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组患者对免疫治疗应答的比例低于低评分组患者(图7F)。我们进一步对WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组和低评分组患者进行了差异分析, 对差异基因进行了KEGG富集分析, 结果表明, WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与多种代谢通路相关, 包括脂肪酸代谢、丙酸盐代谢和蛋白输出等(图7G)。然后我们分析了26个免疫细胞在WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞样本中的浸润程度, 发现WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与大多数免疫细胞(如自然杀伤细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞)之间存在很强的相关性(图7H)。本研究进一步发现, 在WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中, 高评分组患者表现出更高水平的CD8<sup>+</sup>效应T细胞浸润、免疫检查点表达及EMT评分(图7I)。

### 3 讨论

近年来, 免疫疗法在治疗各种实体瘤方面显示出良好的前景<sup>[9]</sup>, 包括肺癌<sup>[10]</sup>和肾癌<sup>[11]</sup>。

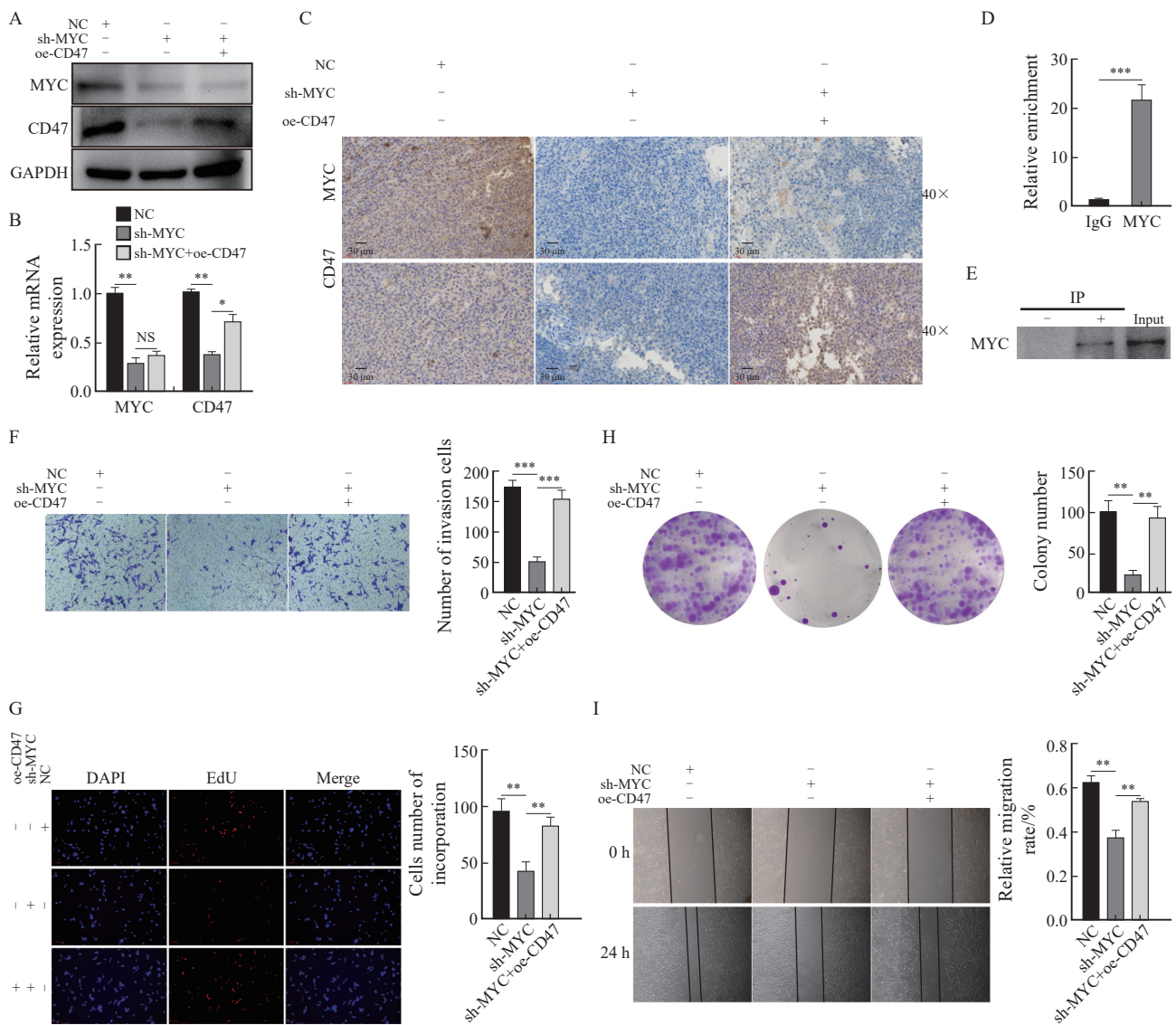


图6 MYC与CD47之间的调控关系

Fig. 6 The regulatory relationship between MYC and CD47

A, B: After knocking down MYC, MYC and CD47 protein and mRNA levels in the cells changed; C: Immunohistochemical results; D: ChIP-PCR result. E: Validation of MYC expression in ChIP; F: Transwell results showed the effect of MYC and CD47 expression on the invasion ability of PCa cells; G: EdU experiment results showed the effect of MYC and CD47 expression levels on the proliferation of PCa cells; H, I: The results of colony formation and scratching experiments showed the effects of MYC and CD47 expression levels on the proliferation and migration of PCa cells. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; NS: No significance.

但单独使用程序性死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) /PD-L1抑制剂在PCa治疗中并没有产生令人满意的结果<sup>[12]</sup>, 这可能与PCa是一种“冷肿瘤”, T细胞浸润差、免疫抑制性肿瘤微环境相关。MYC作为调节癌细胞中不同基因的关键转录因子, 有研究<sup>[13]</sup>显示, 干扰肿瘤中MYC的表达可能是激活肿瘤微环境中免疫系统的关键。因此, 本研究通过PCa单细胞数据、转录组数据和实验验证相结合的方法揭示了MYC通过调控CD47介导PCa细胞进展和转移的机制, 为PCa患者的免疫治疗提供了新思路。

肿瘤微环境主要由免疫细胞和肿瘤细胞构成, 同时免疫细胞和肿瘤细胞的状态和细胞通信

是造成抑制性免疫微环境的主要原因之一。其中, T细胞和巨噬细胞在先天免疫和适应性免疫中都起着重要作用。CD8<sup>+</sup> T细胞作为肿瘤免疫治疗中的主要效应细胞, 能够浸润到肿瘤组织中并与肿瘤细胞相互作用, 从而杀死肿瘤细胞。巨噬细胞是高度异质性的细胞, 在肿瘤免疫微环境中, 在不同的信号刺激下, 巨噬细胞能够分化为不同的亚型, 主要包括M1促炎表型和M2抗炎表型, 而M2亚型又能抑制免疫功能, 促进肿瘤生长和血管生成。本研究为分析PCa肿瘤免疫微环境中肿瘤细胞与免疫细胞之间的相互作用关系, 分别对T细胞、巨噬细胞和肿瘤细胞进行了亚群分析, 共注释出10种PCa细胞亚型、4种T细胞亚

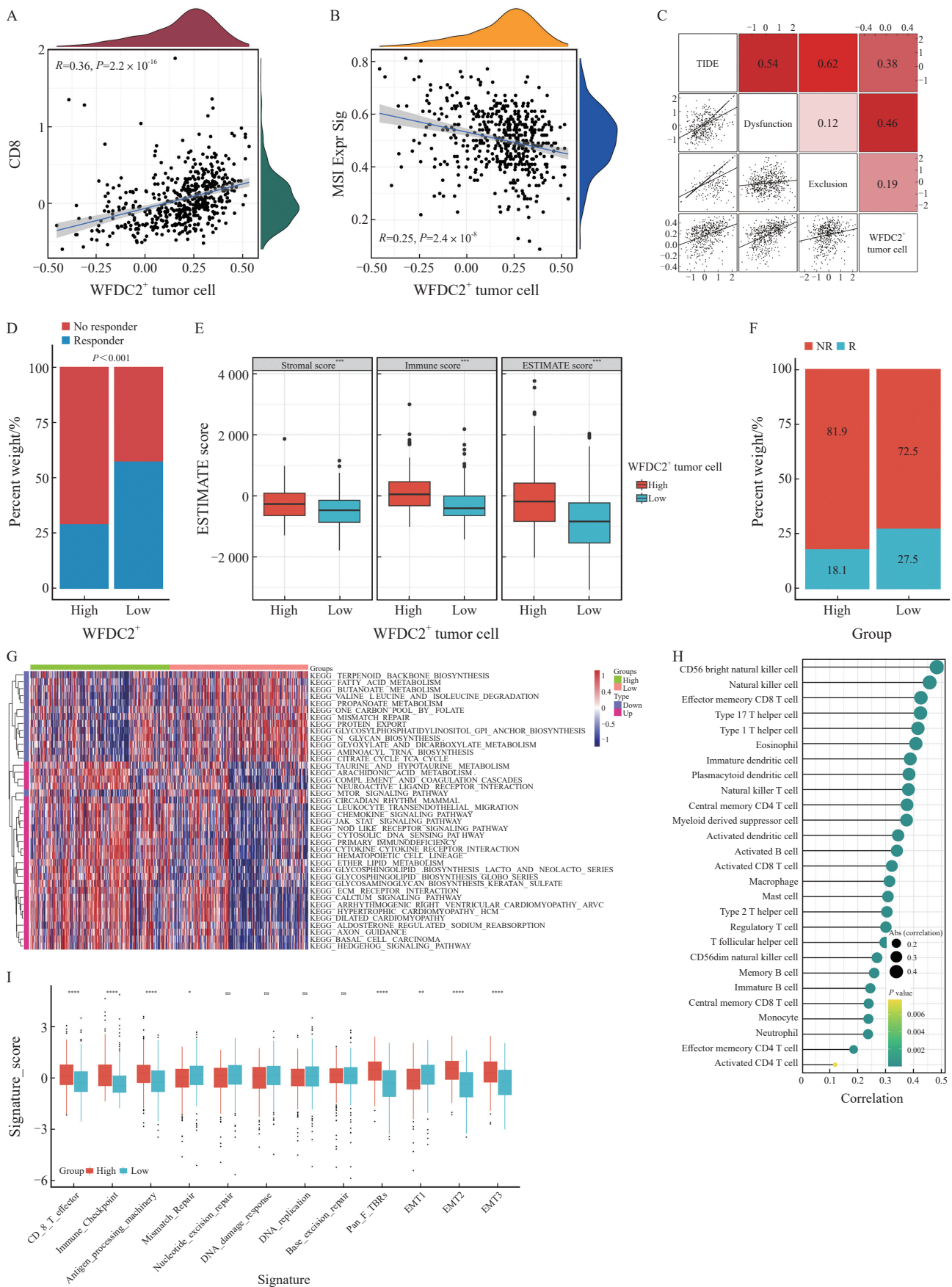


图7 WFDc2<sup>+</sup>肿瘤样本中高评分组患者具有更高的免疫细胞浸润丰度

Fig. 7 WFDc2<sup>+</sup> patients in the high-scoring group exhibit greater immune cell infiltration abundance

A-C: Association of WFDc2<sup>+</sup> tumor cell signature scores with CD8, MSI, TIDE, cell exclusion, and dysfunction; D: Differences in response to immunotherapy in high-rated and low-rated WFDc2<sup>+</sup> tumor cells; E: Differences in stromal score, immune score and ESTIMATE score between high-rated and low-rated groups of WFDc2<sup>+</sup> tumor cells; F: Validation sets demonstrated the difference in response to immunotherapy between high-rated and low-rated groups of WFDc2<sup>+</sup> tumor cells; G: KEGG enrichment analysis was performed on the differential genes of WFDc2<sup>+</sup> tumor cells in high and low rating groups; H: Correlation between the abundance of immune cell infiltration and WFDc2<sup>+</sup> tumors; I: Differences of different biological processes in high-rated and low-rated WFDc2<sup>+</sup> tumor cells.

型和4种巨噬细胞亚型。有研究<sup>[14]</sup>显示,非小细胞肺癌中c-MET/MYC/AXL轴可增加相应药物治疗的敏感性。而本研究发现,在PCa细胞生长分化过程中,CD47和MYC在肿瘤细胞分化过程中呈高表达,而AXL和MET仅在肿瘤细胞分化后期高表达,主要分布在WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞中。

MYC是多种生物程序的主要调节因子,在多种肿瘤细胞中呈高表达,主要作为转录因子介导细胞功能,直接或间接调节数千个基因的表达<sup>[15-16]</sup>,参与肿瘤细胞的分化和凋亡,也参与细胞的恶性转化过程。有研究<sup>[17]</sup>表明,MYC是多种癌症发生、发展的标志。既往研究<sup>[18]</sup>表明,抑制肿瘤组织中MYC的表达可有效地抑制肿瘤的进一步进展。近年来,MYC在肿瘤中的作用受到越来越多的关注,MYC可以使恶性肿瘤细胞的肿瘤微环境失调并逃避宿主的免疫反应。因此,有研究<sup>[17]</sup>提出,通过靶向MYC通路的治疗可能是恢复肿瘤微环境中免疫监视的关键,可以逆转MYC驱动癌症患者的癌症生长。而MYC也可能是引起PCa肿瘤免疫微环境呈抑制状态的重要因素之一。CD47是一种免疫球蛋白,主要表达于肿瘤细胞表面,能够通过SIRP $\alpha$ 、TSP1及整联蛋白相互作用发挥作用<sup>[19-20]</sup>。有研究<sup>[21-22]</sup>显示,CD47在各种类型实体肿瘤中呈高表达状态。CD47能够与巨噬细胞上的SIRP $\alpha$ 相互作用,抑制体内巨噬细胞的吞噬,帮助肿瘤细胞逃避免疫系统的清除<sup>[23]</sup>。本研究发现,在PCa细胞分化的中后期MYC和CD47呈高表达状态,而SIRP $\alpha$ 在各个巨噬细胞亚型中均高表达,且巨噬细胞中SIRP $\alpha$ 与PCa细胞中CD47的表达趋势基本一致。本研究结果显示,MYC能够通过调控CD47的表达影响细胞的生存能力。因此,在PCa中可能由于MYC的表达引起CD47的高表达,使PCa细胞表达的CD47能够与巨噬细胞上的SIRP $\alpha$ 相互作用,从而导致巨噬细胞的免疫功能呈被抑制状态。这种相互作用可能是导致PCa肿瘤微环境呈免疫抑制状态的重要原因之一。此外本研究通过细胞和小鼠实验验证了MYC在PCa细胞中的作用,通过敲低PCa细胞中MYC的表达,发现敲低MYC后,PCa细胞增殖和侵袭能力明显被抑制。

MYC作为实体肿瘤发生、发展过程中的关键转录因子,MYC在“培育”肿瘤浸润细胞并使其参与肿瘤进展方面发挥重要作用<sup>[24]</sup>。肿瘤细胞与浸润性免疫细胞之间的细胞通信是激活或抑制免疫系统的基础,进而促进或抑制肿瘤的生长。

特别是T细胞,其在免疫系统杀伤肿瘤细胞过程中起着至关重要的作用,具有识别和杀死肿瘤细胞的作用。为了解PCa肿瘤微环境中的肿瘤细胞的异质性,我们选择位于PCa肿瘤细胞分化两端的肿瘤细胞亚群LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞和WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞进行后续分析。结果显示,位于PCa细胞分化早期与晚期的肿瘤细胞亚群间存在显著的生物学差异。细胞通信分析结果显示,与LINC01088<sup>+</sup>肿瘤细胞亚群相比,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤细胞与T细胞和巨噬细胞之间的细胞通讯更加密切。WFDC2是一种小分子分泌蛋白,在卵巢癌中已有广泛的研究,发现其与卵巢癌细胞侵袭及增殖等生物学行为密切相关<sup>[25]</sup>。在PCa中,WFDC2能够通过抑制EGFR信号通路抑制PCa转移<sup>[26]</sup>。TIDE和ESTIMATE结果均显示,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中低评分组样本从免疫治疗中获益更大。此外,使用免疫治疗患者的相关数据集进行验证也表明,WFDC2<sup>+</sup>肿瘤样本中低评分组患者中有更高比例的患者对免疫治疗有反应。

本研究也存在一定局限性,例如,本研究基于PCa单细胞数据进行了深入分析,然而本研究仅纳入了13例PCa患者的单细胞数据样本,样本量相对较小,可能影响结论的普适性与统计效力。此外,受限于临床资料在原数据库中的缺失,样本的临床分期等关键临床信息未能完全获取,因此本研究未对这些因素进行分层分析。

综上所述,本研究证实PCa细胞中MYC通过调节CD47的表达进而介导PCa细胞增殖和迁移能力,也分析了PCa肿瘤免疫微环境呈抑制状态的可能原因,这有望为PCa患者的治疗提供新思路。未来研究需要获取更大规模、具有详细临床注释的样本,进一步验证本研究的发现,并提升结论的临床适用性。

#### 第一作者:

刘浩 (ORCID: 0009-0004-4247-9408), 博士。

#### 通信作者:

辛士永 (ORCID: 0009-0001-2760-8580), 博士, 副主任医师、硕士研究生导师, E-mail: doctsyxin@163.com。

#### 作者贡献声明:

刘浩: 数据分析, 参与完成实验, 撰写并修改文章; 苏俊杰: 参与完成实验, 修改文章; 辛士永: 指导实验, 审核并修改文章。

#### [参 考 文 献]

[1] BRAY F, LAVERSANNE 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): 229–263.
- [ 2 ] HAMDY F C, DONOVAN J L, LANE J A, et al. Fifteen-year outcomes after monitoring, surgery, or radiotherapy for prostate cancer [J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(17): 1547–1558.
- [ 3 ] CHEN K, O'BRIEN J, MCVEY A, et al. Combination treatment in metastatic prostate cancer: is the bar too high or have we fallen short [J]. *Nat Rev Urol*, 2023, 20(2): 116–123.
- [ 4 ] BHOIR S, DE BENEDETTI A. Targeting prostate cancer, the 'tousled way' [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 11100.
- [ 5 ] GILLESSEN S, ATTARD G, BEER T M, et al. Management of patients with advanced prostate cancer: report of the advanced prostate cancer consensus conference 2019 [J]. *Eur Urol*, 2020, 77(4): 508–547.
- [ 6 ] GAO F Y, LI X T, XU K, et al. C-MYC mediates the crosstalk between breast cancer cells and tumor microenvironment [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 28.
- [ 7 ] LLOMBART V, MANSOUR M R. Therapeutic targeting of 'undruggable' MYC [J]. *eBioMedicine*, 2022, 75: 103756.
- [ 8 ] BOUWSTRA R, VAN MEERTEN T, BREMER E. CD47-SIRP $\alpha$  blocking-based immunotherapy: current and prospective therapeutic strategies [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(8): e943.
- [ 9 ] LIU Q F, LI J Y, ZHENG H J, et al. Adoptive cellular immunotherapy for solid neoplasms beyond CAR-T [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 28.
- [ 10 ] LAHIRI A, MAJI A, POTDAR P D, et al. Lung cancer immunotherapy: progress, pitfalls, and promises [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 40.
- [ 11 ] BEDKE J, ALBIGES L, CAPITANIO U, et al. The 2022 updated European association of urology guidelines on the use of adjuvant immune checkpoint inhibitor therapy for renal cell carcinoma [J]. *Eur Urol*, 2023, 83(1): 10–14.
- [ 12 ] REBUZZI S E, RESCIGNO P, CATALANO F, et al. Immune checkpoint inhibitors in advanced prostate cancer: current data and future perspectives [J]. *Cancers*, 2022, 14(5): 1245.
- [ 13 ] ZIMMERLI D, BRAMBILLASCA C S, TALENS F, et al. MYC promotes immune-suppression in triple-negative breast cancer *via* inhibition of interferon signaling [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6579.
- [ 14 ] LEI T Y, XU T W, ZHANG N, et al. Anlotinib combined with osimertinib reverses acquired osimertinib resistance in NSCLC by targeting the c-MET/MYC/AXL axis [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 188: 106668.
- [ 15 ] KRESS T R, SABÒ A, AMATI B. MYC: Connecting selective transcriptional control to global RNA production [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(10): 593–607.
- [ 16 ] CONACCI-SORRELL M, MCFERRIN L, EISENMAN R N. An overview of MYC and its interactome [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 4(1): a014357.
- [ 17 ] DHANASEKARAN R, DEUTZMANN A, MAHAUAD-FERNANDEZ W D, et al. The MYC oncogene: the grand orchestrator of cancer growth and immune evasion [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(1): 23–36.
- [ 18 ] DUFFY M J, O'GRADY S, TANG M H, et al. MYC as a target for cancer treatment [J]. *Cancer Treat Rev*, 2021, 94: 102154.
- [ 19 ] YANG Y, YANG Z, YANG Y. Potential role of CD47-directed bispecific antibodies in cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 686031.
- [ 20 ] LOGTENBERG M E W, SCHEEREN F A, SCHUMACHER T N. The CD47-SIRP $\alpha$  immune checkpoint [J]. *Immunity*, 2020, 52(5): 742–752.
- [ 21 ] KIM H, BANG S, JEE S, et al. Clinicopathological significance of CD47 expression in hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Pathol*, 2021, 74(2): 111–115.
- [ 22 ] LI Z H, LI Y, GAO J, et al. The role of CD47-SIRP $\alpha$  immune checkpoint in tumor immune evasion and innate immunotherapy [J]. *Life Sci*, 2021, 273: 119150.
- [ 23 ] ZHOU F Y, FENG B, YU H J, et al. Tumor microenvironment-activatable prodrug vesicles for nanoenabled cancer chemoimmunotherapy combining immunogenic cell death induction and CD47 blockade [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(14): e1805888.
- [ 24 ] MEŠKYTĖ E M, KESKAS S, CIRIBILLI Y. MYC as a multifaceted regulator of tumor microenvironment leading to metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7710.
- [ 25 ] CHEN Y, WANG S H, LIU T C, et al. WAP four-disulfide core domain protein 2 gene (WFDC2) is a target of estrogen in ovarian cancer cells [J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9: 10.
- [ 26 ] XIONG Y Y, YUAN L S, CHEN S, et al. WFDC2 suppresses prostate cancer metastasis by modulating EGFR signaling inactivation [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 537.

(收稿日期: 2025-01-22 修回日期: 2025-09-02)

(责任编辑: 李广涛)