

论 著

临床研究

BIK在胰腺癌中的表达特征及临床预后价值

庆会国^{1,2}, 杨丹锋³, 侯岩松^{1,2}, 王田^{1,2}, 焦作义¹, 俞泽元^{1*}¹兰州大学第二医院普通外科, 甘肃兰州 730030; ²兰州大学第二医院萃英生物医学研究中心, 甘肃兰州 730030;³陕西省人民医院胸外科, 陕西西安 710000

[中图分类号] R735.9

[文献标志码] A

[DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0003.2025.1013

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 庆会国, 杨丹锋, 侯岩松, 等. BIK在胰腺癌中的表达特征及临床预后价值[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(5): 667-674.

[收稿日期] 2025-01-02

[录用日期] 2025-04-17

[上线日期] 2025-10-13

[摘要] **目的** 探讨Bcl-2相互作用杀伤蛋白(BIK)在胰腺癌中的表达特征及其与肿瘤微环境、患者预后的关系, 评估其作为潜在预后生物标志物和治疗靶点的价值。**方法** (1)基于癌症基因组图谱(TCGA)和基因表达综合(GEO)数据库获取胰腺癌表达谱数据, 采用生物信息学方法筛选差异表达基因, 并结合生存分析选定BIK基因作为研究靶点; 进一步通过基因本体论(GO)富集分析及基因表达谱交互式分析(GEPIA)数据库评估其潜在生物学功能及与胶原沉积、免疫浸润的相关性。(2)回顾性收集2020年12月—2023年9月兰州大学第二医院收治的56例胰腺癌患者的组织标本, 行HE、免疫组化(IHC)和天狼星红染色, 评估BIK表达与患者临床病理特征及预后的关系。**结果** BIK在胰腺癌组织中高表达, 且与不良预后相关($P<0.05$), 并富集于含胶原蛋白的细胞外基质区域, 与IV型胶原 $\alpha 1$ 链(COL4A1)、赖氨酰氧化酶(LOX)表达呈正相关($r=0.39$ 、 0.23 , $P<0.001$); 其表达与M1型巨噬细胞浸润呈负相关($r=-0.166$, $P<0.001$), 与TGFB1、TGFB2表达存在明显相关性($r=0.53$ 、 0.26 , $P<0.001$)。BIK高表达是影响胰腺癌患者总生存期(OS)的危险因素($P=0.0014$), 与胶原区域占比($R^2=0.5375$, $P<0.001$)及CD86阳性细胞数($R^2=0.4345$, $P<0.001$)密切相关; 受试者操作特征(ROC)曲线分析显示BIK蛋白的表达对胰腺癌患者生存预后具有一定的预测价值($AUC=0.7288$, $P=0.0034$)。此外, BIK表达水平与淋巴结转移(N分期)明显相关($P=0.001$)。**结论** BIK在胰腺癌中表达上调, 可能通过促进胶原沉积、抑制M1型巨噬细胞浸润进而促进肿瘤进展, 有望成为潜在的预后预测生物标志物和治疗靶点。

[关键词] 胰腺癌; Bcl-2相互作用杀伤蛋白; 预后; 细胞外基质; 免疫浸润

Expression of BIK in pancreatic cancer and its clinical prognostic value

Qing Hui-Guo^{1,2}, Yang Dan-Feng³, Hou Yan-Song^{1,2}, Wang Tian^{1,2}, Jiao Zuo-Yi¹, Yu Ze-Yuan^{1*}¹Department of General Surgery, ²Cuiying Biomedical Research Center, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou, Gansu 730030, China³Department of Thoracic Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710000, China

*Corresponding author, E-mail: yuzy17@lzu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82160487), the Lanzhou Youth Science and Technology Talent Innovation Project (2023-QN-15), and the Lanzhou University Undergraduate Innovation and Entrepreneurship Training Program Project (20250020079)

[Abstract] **Objective** To explore the expression pattern of Bcl-2 interacting killer protein (BIK) in pancreatic cancer, its relationship with tumor microenvironment and patient prognosis, and to evaluate its potential as a prognostic biomarker and therapeutic target. **Methods** (1) Expression profile data of pancreatic cancer were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Gene Expression Omnibus (GEO) datasets. Differentially expressed genes were screened using bioinformatics methods, and BIK was identified as the research target based on survival analysis. Furthermore, Gene Ontology (GO) enrichment analysis and the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) database were used to evaluate its potential biological function and its

[基金项目] 国家自然科学基金(82160487); 兰州市青年科技人才创新项目(2023-QN-15); 兰州大学大学生创新创业训练计划项目(20250020079)

[作者简介] 庆会国, 硕士研究生, 主要从事消化系统肿瘤的预防及治疗方面的研究

[通信作者] 俞泽元, E-mail: yuzy17@lzu.edu.cn

correlation with collagen deposition and immune cell infiltration. (2) Tissue samples from 56 pancreatic cancer patients admitted to Lanzhou University Second Hospital between December 2020 and September 2023 were retrospectively collected. Hematoxylin-eosin (HE), immunohistochemistry (IHC), and Sirius red staining were performed to assess the correlation between BIK expression and patients' clinicopathological features as well as prognosis. **Results** BIK was significantly overexpressed in pancreatic cancer tissues and associated with poor prognosis ($P<0.05$). It was enriched in extracellular matrix regions containing collagen and positively correlated with the expression of collagen type IV alpha 1 chain (*COL4A1*) and lysyl oxidase (*LOX*) ($r=0.39, 0.23, P<0.001$). BIK expression was significantly inversely correlated with M1 macrophage infiltration ($r=-0.166, P<0.001$), but showed a significant positive correlation with the expression of immunosuppressive markers *TGFB1* and *TGFB2* ($r=0.53, 0.26, P<0.001$). High BIK expression was an independent risk factor affecting the overall survival (OS) in pancreatic cancer patients ($P=0.0014$), and it was closely correlated with the proportion of collagen regions ($R^2=0.5375, P<0.001$) and the number of CD86-positive cells ($R^2=0.4345, P<0.001$). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis demonstrated that the expression of BIK protein had certain predictive value for the survival prognosis of pancreatic cancer patients ($AUC=0.7288, P=0.0034$). In addition, BIK expression level was significantly correlated with lymph node metastasis (N stage) ($P=0.001$). **Conclusions** BIK is upregulated in pancreatic cancer and may promote tumor progression by promoting collagen deposition and inhibiting M1 macrophage infiltration, it is expected to be a promising prognostic biomarker and therapeutic target.

[Key words] pancreatic cancer; Bcl-2-interacting killer protein; prognosis; extracellular matrix; immune infiltration

胰腺癌因早期症状隐匿、诊断困难,被视为恶性程度最高的肿瘤之一。2022年全球约有46.7万人死于胰腺癌,居癌症死亡原因的第6位^[1]。尽管根治性手术是目前最有效的治疗手段,但多数患者确诊时已出现局部浸润或远处转移,难以通过手术根治。近年来,免疫治疗和靶向治疗逐渐成为重要的辅助治疗方式^[2]。然而,胰腺癌高度致密的肿瘤微环境严重限制了免疫细胞浸润和药物递送,这被认为是疗效不佳的关键因素之一^[3]。因此,寻找新的、有效的治疗靶点对改善患者预后并为临床治疗提供新思路至关重要。

Bcl-2相互作用杀伤蛋白(Bcl-2-interacting killer, BIK)属于Bcl-2家族BH3-only亚类,是一种定位于内质网的促凋亡蛋白,可通过调控细胞内钙离子浓度诱导细胞凋亡^[4-5]。既往研究发现,BIK在雌激素缺乏或抗雌激素治疗下表达上调,可促进肿瘤细胞凋亡^[6],在结肠癌等多种肿瘤中表现出一定的抑癌作用^[7]。然而,Lu等^[8]发现,非小细胞肺癌的预后与BIK高表达密切相关。尽管BIK在多种肿瘤中的生物学功能已被广泛报道,其在胰腺癌中的表达模式及临床意义尚未有系统研究,特别是对患者生存预后的影响,目前仍缺乏相关报道。本研究利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)、基因表达综合(Gene Expression Omnibus, GEO)等公共数据库,结合胰腺癌肿瘤微环境的致密性和免疫浸润特征,筛选出BIK作为潜在治疗靶点;通过生物信息学分析BIK在胰腺癌中的表达及其对患者生存预后的影响,并结合临床患者的肿瘤组织样本进行验证,旨在为胰腺癌的治疗和预后评估提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 生物信息学分析 (1)从TCGA数据库(<http://www.tcgadata.biostat.harvard.edu/tcgadata/>)下载胰腺癌RNA-seq数据(共179例胰腺癌组织样本),从GTEx数据库(<https://www.gtexportal.org/>)获取正常胰腺组织样本共362份;使用R 4.4.2软件整合TCGA和GEO数据库的数据,采用DESeq2进行差异表达分析。(2)使用R 4.4.2软件中的Estimate包对179份胰腺癌组织进行基质评分,并根据基质评分的中位数将样本分为高分组($n=89$)与低评分组($n=90$),采用DESeq2进行两组间差异表达基因分析,并采用LASSO回归分析筛选与预后相关的基因。LASSO回归分析:使用R包“glmnet”分析基因与预后的相关性,通过十折交叉验证(10-fold cross-validation)确定正则化参数 λ (lambda);选择对应于最小均方误差(mean squared error, MSE)加一个标准误(standard error)的 λ 值,即“lambda.1se”,作为最优参数筛选与预后相关的基因。(3)采用Kaplan-Meier Plotter(<https://www.kmplot.com/>)初步分析BIK等基因表达与胰腺癌患者生存预后的关系。(4)基于基因表达谱交互式分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析BIK基因在胰腺癌组织中的表达情况;从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载胰腺癌数据集GSE28735和GSE62452,分析BIK在胰腺癌组织中的表达情况。(5)基于TCGA数据库和GEO数据库中GSE62452数据集,采用survival包分析BIK表达与胰腺癌患者预后的关系。根据BIK表达量的最佳截断值(通过surv_cutpoint函数计算),将患者分为BIK高表达组与BIK低表达组,以总生存期(overall survival, OS)作为终点事件,通过survfit函数拟合

Kaplan-Meier 曲线; clusterProfiler 包进行基因本体论 (GO) 富集分析。同时, 使用 TIMER 2.0 数据库 (<http://timer.cistrome.org/>) 的 xCell 算法分析 BIK 表达与 M1 型巨噬细胞的相关性。

1.2 临床样本收集、检测与分析 收集 2020 年 12 月—2023 年 9 月于兰州大学第二医院确诊并接受根治性手术的 56 例胰腺癌患者的临床资料进行回顾性分析。纳入标准: (1) 术后病理检查确诊为胰腺癌; (2) 术前未接受放疗、化疗、靶向治疗或免疫治疗; (3) 临床资料及手术标本保存完整且有完整的随访记录 (随访截至 2024 年 6 月 30 日)。排除标准: 合并其他系统恶性肿瘤。56 例胰腺癌患者中男 40 例、女 16 例, 年龄 43~81 岁; 共收集癌组织标本 56 份 (其中 43 份为与癌旁组织配对样本)、癌旁组织标本 43 份。所有标本均经石蜡包埋保存并用于组织染色分析。本研究获兰州大学第二医院伦理委员会审批 (2024A-756)。

1.2.1 苏木精-伊红 (HE) 染色 取石蜡包埋组织切片, 经二甲苯脱蜡, 依次用 95%、80%、70% 梯度乙醇及蒸馏水水化后, 以苏木精和伊红染色, 待细胞核显蓝、细胞质显红或淡红时终止染色。经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后, 中性树胶封片。具体方法参照文献 [9]。

1.2.2 免疫组化 (immunohistochemistry, IHC) 染色 组织切片经脱蜡水化、抗原修复后, 滴加内源性过氧化物酶阻断剂与非特异性染色阻断剂, 37 °C 孵育 10 min; 加入一抗 [BIK (ab52182)、CD86 (ab234401) 购自英国 Abcam 公司, 稀释比例 1:100] 4 °C 孵育过夜; 次日回收一抗后, 依次加入生物素标记羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物和链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶, 37 °C 孵育 10 min。DAB 显色后苏木精复染, 脱水透明后封片。染色步骤参照“即用型免疫组化超敏 UltraSensitive™ SP 试剂盒” (KIT-9710, 福州迈新生物技术有限公司) 说明书进行。由两名病理科医师盲审评分, 评分标准为染色强度 (0~3 分) 与阳性区域比例 (0~100%) 的乘积。根据 BIK 的 IHC 评分结果, 将评分 ≥ 150 分的患者纳入 BIK 高表达组, <150 分的患者纳入 BIK 低表达组。CD86 为 M1 型巨噬细胞标志物, 其阳性细胞数用于评估浸润水平。

1.2.3 天狼星红染色 组织切片经脱蜡水化后, 滴加铁苏木精染液 5~10 min, 蒸馏水冲洗, 再用天狼星红染液染色 10~15 min。经脱水、透明处理后封片。染色步骤参照“改良天狼星红染色试剂盒” (G1472, 北京索莱宝科技有限公司) 说明书进行。该染色可使胶原纤维呈红色, 用于评估细胞外基质中的胶原含量, 胶原区域面积用于定量分析。

1.2.4 生存分析及 BIK 表达与患者生存预后的关系

通过 Kaplan-Meier Plotter 对 BIK 及其他候选基因进行生存分析, 并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线。采用受试者操作特征 (ROC) 曲线评价 BIK 表达水平对预后的预测价值, 并计算曲线下面积 (AUC)。采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验 BIK 蛋白表达水平与胰腺癌患者临床病理特征 (如性别、年龄、肿瘤分化程度、TNM 分期等) 的关系。采用 survival 包和 survminer 包进行生存分析和多因素 Cox 比例风险回归分析, 并评估 BIK 高低表达与患者生存预后的独立关系, 结果以风险比 (HR) 及 95% 置信区间 (CI) 表示。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 27.0 软件进行统计分析, GraphPad Prism 9.5 软件制图。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。显著性标准设为 $\alpha=0.05$; 为控制多重比较偏差, 采用 Bonferroni 校正 P 值。

2 结 果

2.1 TCGA 数据库结合基质评分筛选胰腺癌潜在的治疗靶点 从 TCGA 数据库中提取胰腺癌组织样本 ($n=179$) 及从 GTEx 数据库中提取正常胰腺组织样本 ($n=362$), 使用 DESeq2 进行差异表达基因分析, 共筛选出 1386 个上调基因 (图 1A)。利用 R 软件中的 Estimate 包对 179 例胰腺癌组织样本进行基质评分, 根据基质评分中位数分为高评分组 ($n=89$) 与低评分组 ($n=90$), 采用 DESeq2 进行两组间差异表达基因分析, 得到 156 个上调基因 (图 1B), 进一步通过 LASSO 回归分析, 最终筛选出 22 个与预后相关的基因 (图 1C)。取第一步筛选出的差异表达基因 (胰腺癌组织样本与正常胰腺组织样本) 与 LASSO 回归分析筛选的 22 个基因取交集, 得到 6 个基因: BIK、STON2、CALHMS、FPR3、GLIPR2、MNDA (附图 1A)。

2.2 BIK 基因及其他候选基因与胰腺癌患者生存预后的关系 利用 Kaplan-Meier Plotter 分析上述基因表达与胰腺癌患者 OS 的关系, 结果显示, 仅 BIK 的表达与胰腺癌患者 OS 具有明显的相关性 (log-rank $P=0.042$, 附图 1B)。据此选取 BIK 基因作为进一步的研究靶点。

2.3 BIK 在胰腺癌组织中的表达情况及其与患者生存预后的关系 基于 GEPIA 数据库的分析结果显示, BIK mRNA 在胰腺癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织 ($P<0.05$, 图 2A)。此外, 从 GEO 数据库中获取胰腺癌数据集 GSE28735 和 GSE62452 进行表达比较分析, 结果也显示 BIK mRNA 在胰腺癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织 ($P<0.001$, 图 2B)。基于 TCGA 数据库中的胰腺癌数据进行生存分析, 结果显示, BIK 高表达胰腺癌患者的 OS 明显短于 BIK 低表达者 ($P=0.00045$, 图 2C)。基于 GEO 数据库中

GSE62452数据集进行生存分析也得到了类似的结果($P=0.029$, 图2D)。

2.4 BIK表达与胶原沉积、免疫浸润的相关性 GO分析结果显示, *BIK* 参与与基质中胶原沉积密切相关的“含胶原蛋白的细胞外基质”通路, 该通路在肿瘤细胞黏附、迁移和基质重塑过程中起关键作用

(图3A)。通过GEPIA数据库分析, *BIK* 与胶原相关基因IV型胶原 $\alpha 1$ 链(*COL4A1*)及基质交联相关基因赖氨酰氧化酶(*LOX*)呈明显正相关($r=0.39$ 、 0.23 , $P<0.001$, 图3B)。基于TCGA数据库中的胰腺癌组织样本, 利用xCell包分析*BIK*表达与M1型巨噬细胞的相关性, 结果显示二者之间呈负相关($r=-0.166$, $P<0.001$,

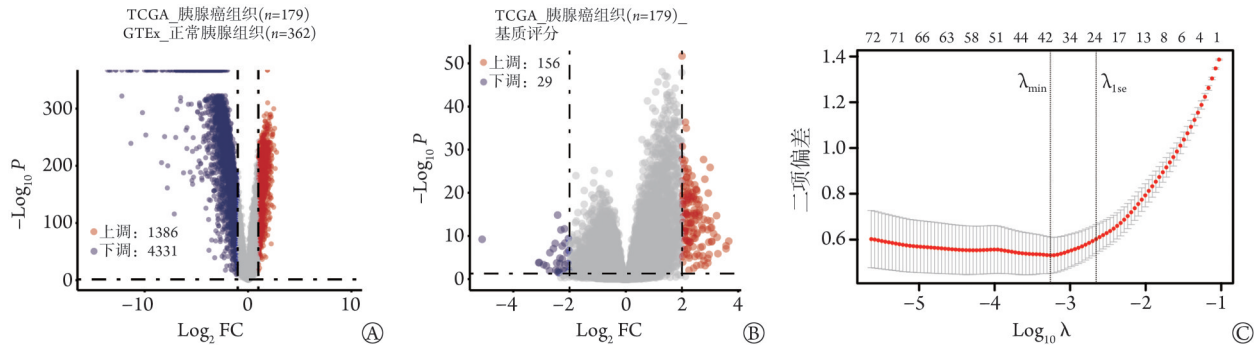


图1 Bcl-2相互作用杀伤蛋白(*BIK*)基因的筛选

Fig.1 The screening process of *BIK* gene

A. 火山图显示TCGA数据库中胰腺癌组织和GTEx数据库中正常胰腺组织的DESeq2差异分析结果; B. 火山图显示基质高分组($n=89$)与低评分组($n=90$)间的DESeq2差异分析结果; C. LASSO回归分析结果。图上排数字表示在相应正则化参数 λ 下, 模型中非零回归系数的数量, 即被筛选进入模型的变量个数; λ_{min} 表示通过交叉验证获得的预测误差(如均方误差)达到最小值时对应的 λ ; λ_{1se} 表示在交叉验证误差不超过最小误差加一个标准误差范围内所能取到的最大 λ 值。TCGA. 癌症基因组图谱; FC. 差异倍数

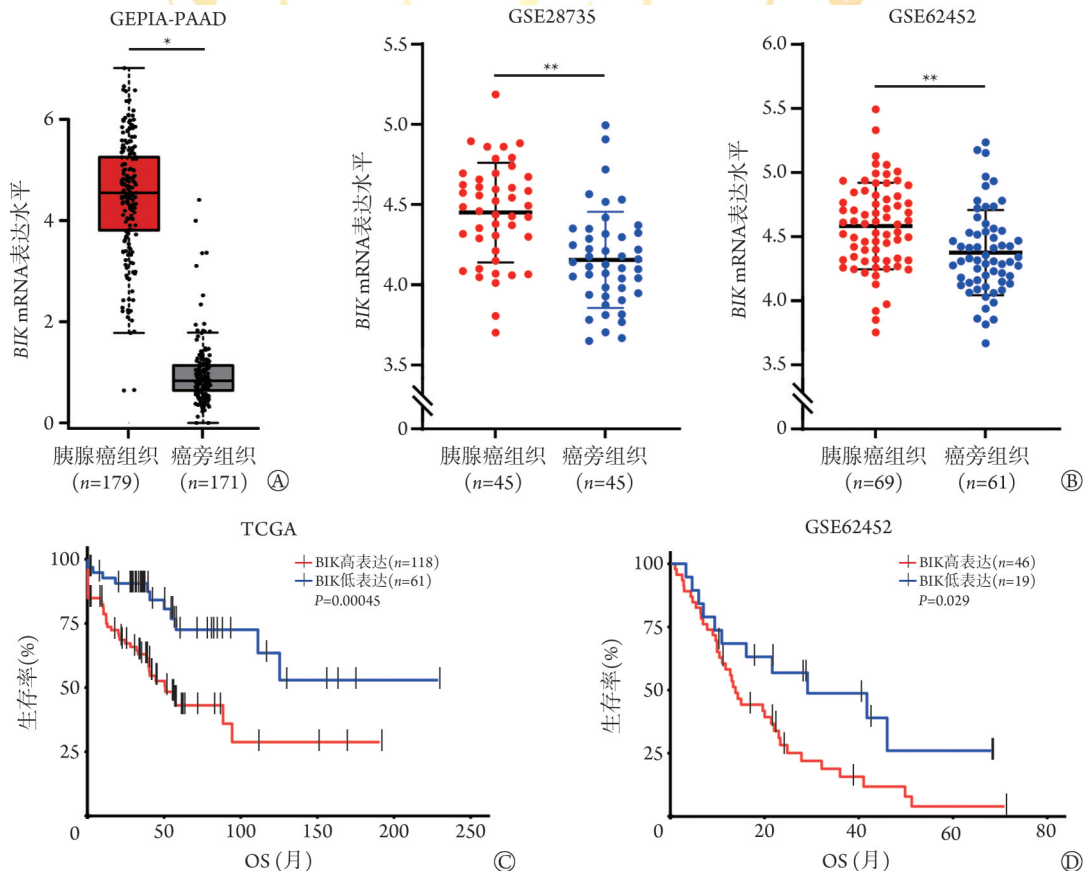


图2 Bcl-2相互作用杀伤蛋白(*BIK*)在胰腺癌组织及癌旁组织中的差异表达及其与患者OS的关系

Fig.2 Differential expression of *BIK* gene in pancreatic cancer and adjacent tissues and its relationship with OS

A. 基于基因表达谱交互分析(GEPIA)数据库分析 *BIK* mRNA在胰腺癌组织中的表达情况; B. 基于基因表达综合(GEO)数据库(GSE28735和GSE62452数据集)分析 *BIK* mRNA在胰腺癌组织中的表达情况; C. 癌症基因组图谱(TCGA)数据库中 *BIK* 表达与胰腺癌患者总生存期(OS)的关系; D. GSE62452数据集中 *BIK* 表达与胰腺癌患者OS的关系。* $P<0.05$, ** $P<0.001$ 。BIK. Bcl-2相互作用杀伤蛋白

图3C)。此外, GEPIA数据库中分析显示, *BIK*表达与调节M1型巨噬细胞行为的关键基因 *TGFB1* 和 *TGFB2* 呈明显正相关($r=0.53$ 、 0.26 , $P<0.001$, 图3D)。

2.5 *BIK* 蛋白的表达及其与患者生存预后的关系

HE染色显示, 胰腺癌组织结构紊乱, 腺体排列不规则, 而癌旁组织中的腺体结构则相对规则完整。IHC染色结果显示, 胰腺癌组织中 *BIK* 呈现出更强的阳性染色信号, 且IHC评分明显高于癌旁组织($P<0.001$, 图4A)。根据 *BIK* IHC评分结果, 将56例胰腺癌患者分为 *BIK* 高表达组($n=33$)与 *BIK* 低表达组($n=23$), 分析 *BIK* 表达与患者生存预后的关系, 结果

显示, *BIK* 高表达组患者的生存时间明显短于 *BIK* 低表达组($P=0.0003$, 图4B); ROC曲线分析显示, *BIK* 蛋白的表达对胰腺癌患者的生存预后具有一定的预测价值($AUC=0.7288$, $P=0.0034$, 图4C)。此外, 对 *BIK* 蛋白表达与患者临床病理特征的相关性进行分析, 结果显示, *BIK* 蛋白表达水平与淋巴结转移(N分期)明显相关($P=0.001$), 但与患者年龄、性别等人口统计学特征, 肿瘤分化程度、Ki-67增殖指数、神经/脉管浸润等肿瘤生物学特征, 以及AJCC分期、肿瘤大小和浸润深度(T分期)等临床病理特征无关($P>0.05$, 表1)。

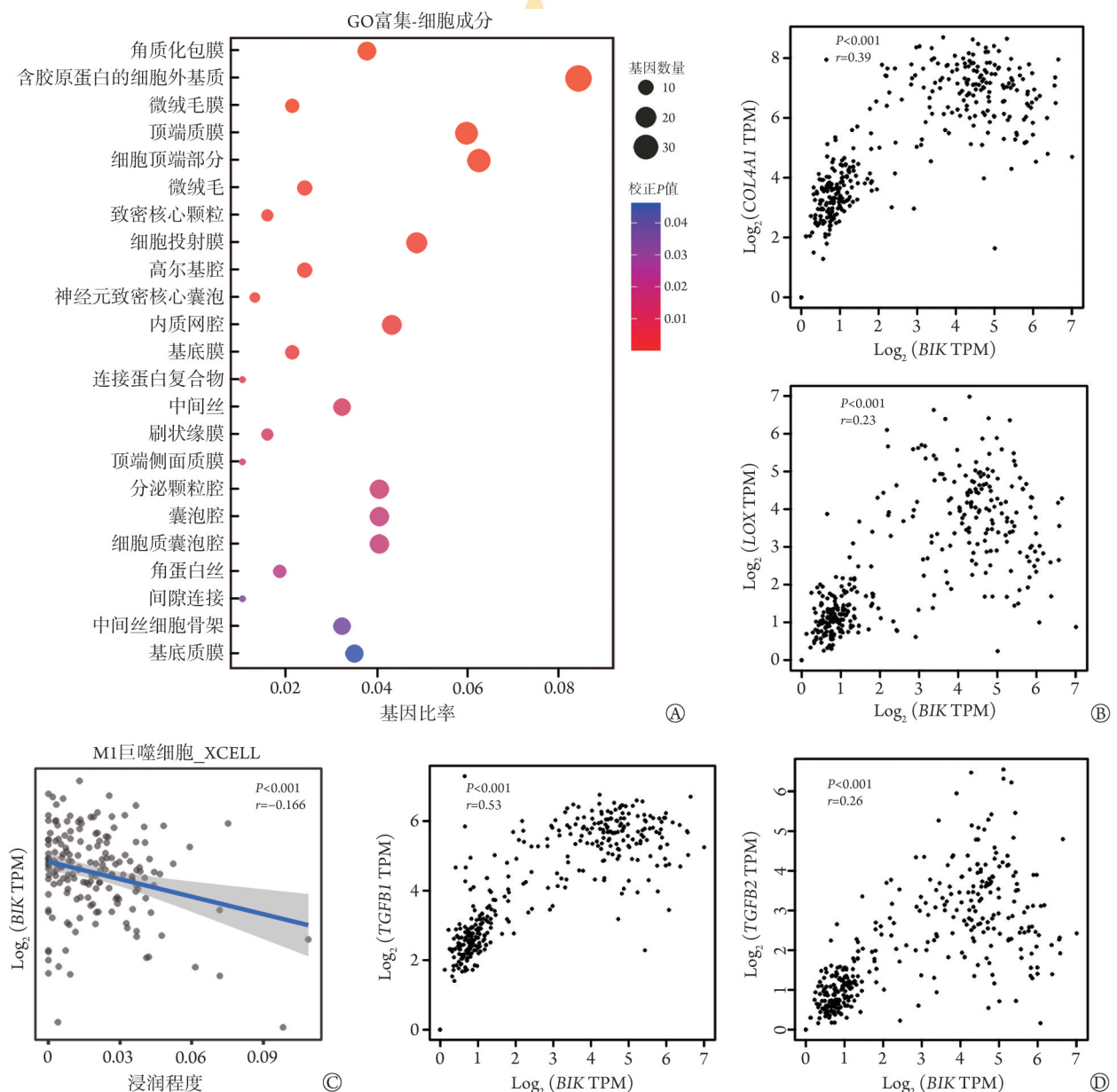


图3 *BIK* 在胰腺癌中的功能富集及其与关键基因和免疫浸润的相关性

Fig.3 Functional enrichment of *BIK* and its correlation with key genes and immune infiltration in pancreatic cancer

A. *BIK* 在胰腺癌中参与的细胞组分; B. 基因表达谱交互分析(GEPIA)数据库中 *BIK* 表达与 *COL4A1* 和 *LOX* 基因表达的相关性; C. xCell 算法中 *BIK* 表达与M1型肿瘤相关巨噬细胞的关系; D. GEPIA数据库中 *BIK* 表达与 *TGFB1* 和 *TGFB2* 基因表达的相关性。 *BIK*, Bcl-2相互作用杀伤蛋白; *COL4A1*, IV型胶原 $\alpha 1$ 链; *LOX*, 赖氨酰氧化酶; *TGFB1*, 转化生长因子- β_1 ; *TGFB2*, 转化生长因子- β_2 ; TPM, 每百万转录本数

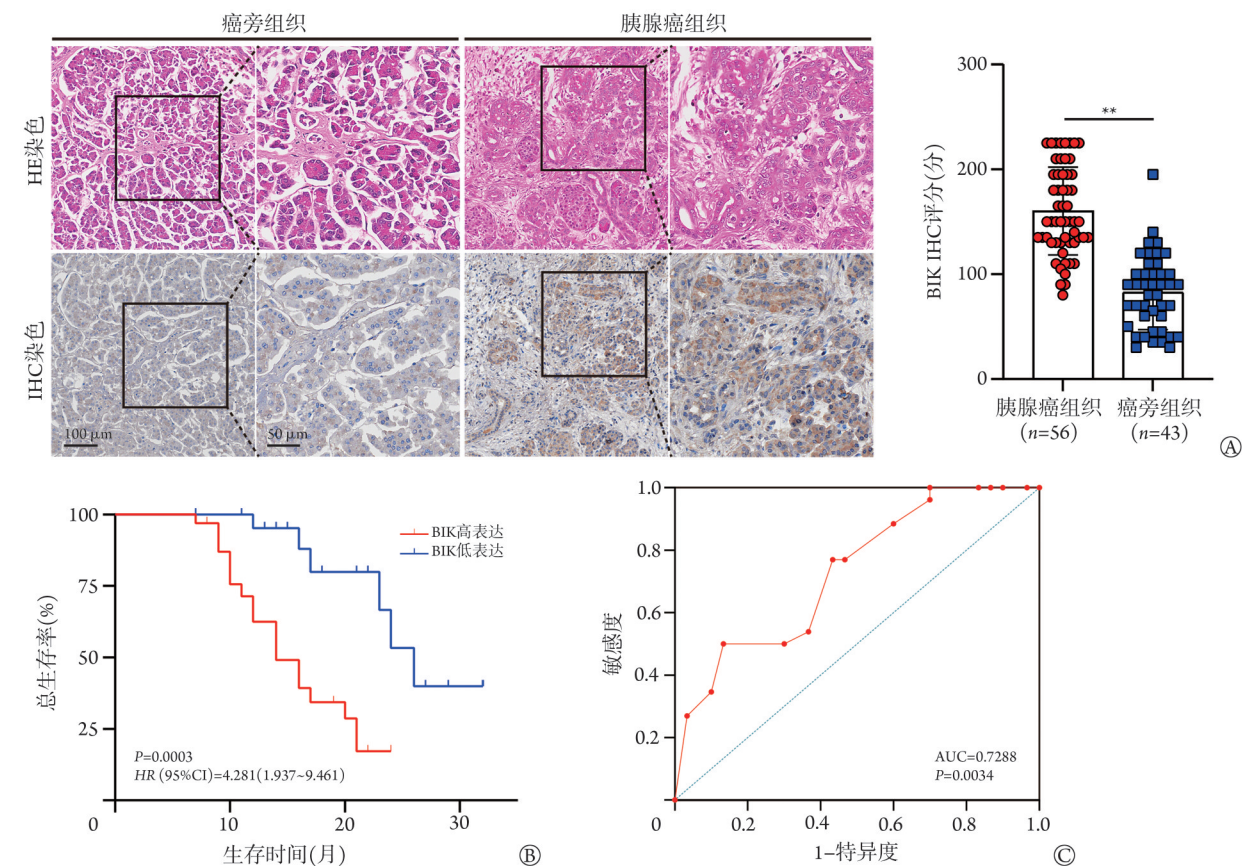


图4 临床胰腺癌样本中BIK的苏木精-伊红(HE)染色、免疫组化(IHC)染色及生存预后结果

Fig.4 Hematoxylin eosin (HE) staining of clinical pancreatic cancer samples, immunohistochemistry (IHC) staining of BIK, and survival prognosis results

A. 胰腺癌组织与癌旁组织中BIK的HE和IHC染色结果及BIK蛋白在胰腺癌组织和癌旁组织中的IHC染色评分比较；B. BIK高表达和低表达患者的Kaplan-Meier生存曲线；C. 基于BIK蛋白的表达对胰腺癌患者生存预后预测价值的ROC曲线。* $P<0.001$ 。BIK、Bcl-2相互作用杀伤蛋白；AUC. 曲线下面积

表1 BIK蛋白表达与胰腺癌患者临床病理特征的关系 [例(%)]

Tab.1 Relationship between the expression of BIK protein and the clinical characteristics of pancreatic cancer patients [n(%)]

临床特征	BIK 低表达组 (n=23)	BIK 高表达组 (n=33)	χ^2	P
年龄			2.229	0.136
<65岁	10(43.5)	21(63.6)		
≥65岁	13(56.5)	12(36.4)		
性别			0.738	0.390
男	15(65.2)	25(75.8)		
女	8(34.8)	8(24.2)		
分化程度			4.449	0.231
低分化	5(21.7)	4(12.1)		
中、低分化	10(43.5)	12(36.4)		
中分化	8(34.8)	12(36.4)		
高分化	0	5(15.2)		
Ki-67			3.621	0.057
≥50%	6(26.1)	17(51.5)		
<50%	17(73.9)	16(48.5)		

临床特征	BIK 低表达组 (n=23)	BIK 高表达组 (n=33)	χ^2	P
神经/脉管浸润			2.132	0.144
是	14(60.9)	26(78.8)		
否	9(39.1)	7(21.2)		
AJCC分期			2.821	0.275
I	5(21.7)	12(36.4)		
II	15(65.2)	14(42.4)		
III	3(13.0)	7(21.2)		
T分期			4.276	0.250
T ₁	1(4.3)	6(18.2)		
T ₂	14(60.9)	12(36.4)		
T ₃	6(26.1)	12(36.4)		
T ₄	2(8.7)	3(9.1)		
N分期			13.47	0.001
N ₀	9(39.1)	16(48.5)		
N ₁	13(56.5)	5(15.2)		
N ₂	1(4.3)	12(36.4)		

BIK、Bcl-2相互作用杀伤蛋白；AJCC. 美国癌症联合委员会

2.6 BIK 蛋白表达与胶原沉积、免疫浸润的相关性 IHC 染色结果示 BIK 主要定位于细胞质, BIK 高表达组的染色强度明显强于低表达组。HE 染色显示, BIK 低表达组中可见胰腺导管样结构, 而 BIK 高表达组导管结构消失。天狼星红染色显示, BIK 高表达组胰腺癌组织中的胶原纤维呈现更大面积的红色沉积, 染色更深、更密集, 而 BIK 低表达组中胶原染色相对较浅、分布较少, 进一步定量分析显示, BIK 高表达组胶原区域占比较 BIK 低表达组明显增加

($P<0.001$, 图 5A, 附图 1C)。将 56 例胰腺癌患者的 BIK IHC 评分与天狼星红染色中胶原区域占比绘制成散点图(图 5B), 结果显示两者之间呈明显正相关($R^2=0.5375$, $P<0.001$)。同样, CD86 阳性细胞计数结果显示, BIK 高表达组患者的 CD86 阳性细胞数明显少于 BIK 低表达组($P<0.001$, 图 5A, 附图 1C); 将 BIK IHC 评分与 CD86 阳性细胞数绘制为散点图(图 5C), 结果显示两者之间呈明显负相关($R^2=0.4345$, $P<0.001$)。

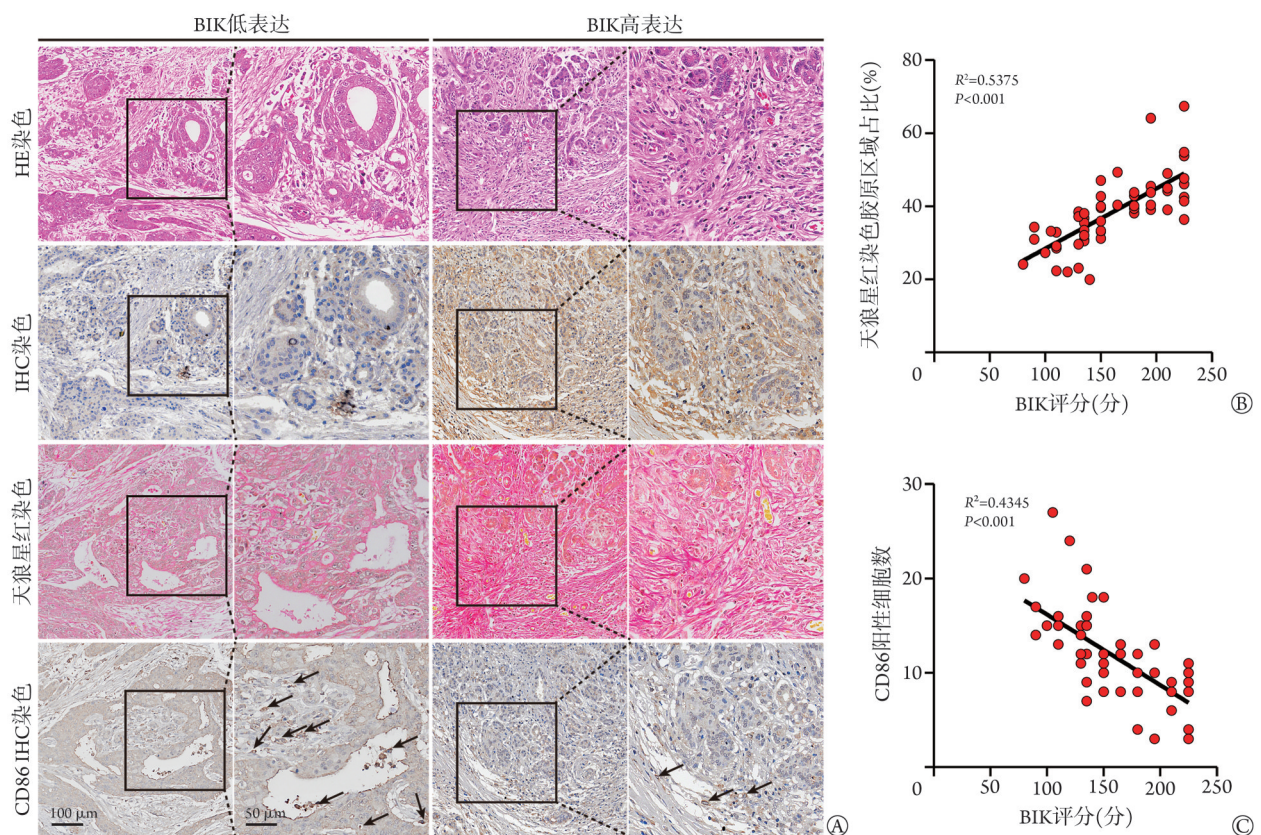


图5 BIK的表达与胰腺癌组织中胶原沉积和免疫浸润的相关性

Fig.5 Correlation of BIK expression with collagen deposition and immune infiltration in ECM of pancreatic cancer tissue

A. BIK 高、低表达患者的 HE 染色、免疫组化(IHC)染色、天狼星红染色和 CD86 的 IHC 染色结果; B、C. BIK 的 IHC 评分分别与天狼星红染色的胶原区域占比(B)和 CD86 阳性细胞数(C)的相关性。BIK. Bcl-2 相互作用杀伤蛋白

2.7 胰腺癌患者 OS 影响因素的多因素 Cox 比例风险回归分析结果 对 56 例胰腺癌患者的临床病理特征的分析结果显示, BIK 高表达是影响胰腺癌患者 OS 的危险因素($P=0.0014$, 附图 1D)。

3 讨论

胰腺癌是一种治疗困难且高度致命的全身性疾病, 5 年生存率仅 10%^[10]。尽管治疗手段不断进步, 但患者生存预后仍无明显改善。免疫疗法虽在多种实体瘤中取得突破, 但在胰腺癌中的疗效有限。胰腺癌的免疫抑制性肿瘤微环境被认为是影响治疗反应的关键因素之一, 因此改善肿瘤微环境有望提高

药物敏感性, 进而改善患者的预后^[11]。

在乳腺癌中, BIK 在雌激素依赖性细胞中被沉默, 通过抗雌激素治疗可激活 BIK, 诱导肿瘤细胞凋亡。而耐药的乳腺癌细胞则不表达 BIK^[6,12], 提示 BIK 可能为抑癌因子^[4]。在非小细胞肺癌中, BIK 与 Bcl-2 的过表达可增强两者之间的竞争, 促进与炎症和免疫反应相关的 caspase 蛋白过表达, 从而加快肿瘤进展^[4]。上述研究提示, BIK 在不同肿瘤类型中可能具有双重作用, 其生物学功能亟须进一步阐明。

胰腺癌的肿瘤微环境富含星状细胞和癌症相关成纤维细胞, 导致 ECM 中胶原沉积, 形成致密的肿瘤基质, 进而促进免疫抑制和治疗抵抗, 这是治疗

失败的主要原因^[13]。此外, M1型巨噬细胞的浸润可显著影响胰腺癌免疫治疗的疗效^[14-15]。本研究通过生物信息学分析筛选与胰腺癌患者预后密切相关的上调基因, 结合肿瘤基质的致密性及免疫浸润特点, 选择 *BIK* 作为研究靶点。通过 TCGA、GEO 等公共数据库分析 *BIK* 在胰腺癌中的表达及其对患者 OS 的影响, 进一步揭示了 *BIK* 与肿瘤 ECM 中胶原沉积及 M1 型巨噬细胞浸润的关系。有研究表明, 血清转化生长因子(TGF)- β_1 和 Bcl-2 家族蛋白的表达水平与食管鳞癌患者的临床病理特征及预后呈正相关^[16]。在肝纤维化模型中, 加味柴胡当归汤可通过调控 PI3K/Akt/Bcl-2 信号通路, 调控肝细胞凋亡, 激活肝星状细胞并诱导其分泌大量胶原及其他基质蛋白^[17]。由此推测, *BIK* 可能通过调控 *TGFB1/2* 基因的表达及 PI3K/Akt/Bcl-2 信号通路, 诱导 ECM 中的胶原沉积, 从而抑制免疫细胞浸润, 参与胰腺癌的发生发展过程。在临床验证方面, 本研究收集 56 例胰腺癌患者的术后组织样本, 构建胰腺癌组织微阵列, 并通过 HE 染色、IHC 染色及天狼星红染色等验证 *BIK* 在胰腺癌中的表达特征及其与患者预后的关联。鉴于胰腺癌肿瘤微环境的高度复杂性, 联合应用基质靶向与免疫靶向治疗, 有望更有效地干预肿瘤微环境, 从而提高治疗反应率^[18]。未来可通过体外实验或动物实验进一步探索以 *BIK* 为靶点的联合免疫治疗策略在胰腺癌中的应用潜力。

本研究存在一定的局限性: (1) 样本量有限, 相关性分析中部分指标的 R^2 值波动较大(图 5B、C); (2) 患者诊断及手术时间不一致, 随访时间存在差异, 可能影响预后的评估; (3) 虽然 IHC 结果初步验证了 *BIK* 的表达模式, 但其分子机制尚未明确, 仍需进一步开展体内外功能实验。考虑到 *BIK* 在其他肿瘤中可能具有双重作用, 其在胰腺癌中的生物学功能亦值得深入探究。

综上所述, 本研究结果表明, *BIK* 在胰腺癌中高表达, 可能通过促进胶原沉积及影响免疫细胞浸润参与肿瘤进展。*BIK* 作为预后评估因子及治疗靶点具有潜在的应用价值, 未来应进一步探索其作用机制与临床转化的可能。

【附加材料】

附图 1 见 <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.0003.2025.1013FJ>。
请扫描右方二维码获取。



【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] Tempero MA, Malafa MP, Chiorean EG, *et al.* Pancreatic adenocarcinoma, version 1.2019[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(3): 202-210.
- [3] Hosein AN, Brekken RA, Maitra A. Pancreatic cancer stroma: an update on therapeutic targeting strategies[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 487-505.
- [4] Chinnadurai G, Vijayalingam S, Rashmi R. BIK, the founding member of the BH3-only family proteins: mechanisms of cell death and role in cancer and pathogenic processes[J]. *Oncogene*, 2008, 27 (Suppl 1): S20-S29.
- [5] Germain M, Mathai JP, Shore GC. BH-3-only BIK functions at the endoplasmic reticulum to stimulate cytochrome C release from mitochondria[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(20): 18053-18060.
- [6] Hur J, Chesnes J, Coser KR, *et al.* The BIK BH3-only protein is induced in estrogen-starved and antiestrogen-exposed breast cancer cells and provokes apoptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(8): 2351-2356.
- [7] 冯莉, 刘妍, 荆丽, 等. miRNA-486-3p 和 BIK 在结直肠癌中表达及与临床病理特征的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(5): 972-974.
- [8] Lu Y, Lemon W, Liu PY, *et al.* A gene expression signature predicts survival of patients with stage I non-small cell lung cancer[J]. *PLoS Med*, 2006, 3(12): e467.
- [9] 刘微. HE 染色在临床病理诊断中的应用价值研究[J]. *中国实用医药*, 2022, 17(19): 106-108.
- [10] Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, *et al.* Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2020, 395(10242): 2008-2020.
- [11] Wang J, Yang J, Narang A, *et al.* Consensus, debate, and prospective on pancreatic cancer treatments[J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 92.
- [12] Hur J, Bell D W, Dean KL, *et al.* Regulation of expression of BIK proapoptotic protein in human breast cancer cells: p53-dependent induction of BIK mRNA by fulvestrant and proteasomal degradation of BIK protein[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(20): 10153-10161.
- [13] Maietta I, González-Fernández Á, Simón-Vázquez R. Harnessing epigenetic inhibitors: a promising approach for overcoming challenges in pancreatic ductal adenocarcinoma treatment[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2025, 224: 115638.
- [14] Toledo B, Zhu CL, Paniagua-Sancho M, *et al.* Deciphering the performance of macrophages in tumour microenvironment: a call for precision immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 44.
- [15] Xiong J, Huang J, Xu H, *et al.* CpG-based nanovaccines enhance ovarian cancer immune response by Gbp2-mediated remodeling of tumor-associated macrophages[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(15): e2412881.
- [16] 王伟, 刘振辉. 血清 TGF- β_1 、Bcl-2 及食管鳞癌组织 MTDH 表达水平与食管鳞癌患者临床预后的相关性[J]. *中国医药导刊*, 2023, 25(10): 1023-1028.
- [17] 孙素红, 周晓玲, 李泽鹏, 等. 基于 PI3K/Akt/Bcl-2 信号通路探讨加味柴胡当归汤治疗肝纤维化的机制研究[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(20): 5019-5023.
- [18] Ho WJ, Jaffee EM, Zheng L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(9): 527-540.

(责任编辑: 纪方方)