

基于多数据库分析SCN7A在肺腺癌中的表达及意义

刘 晟*, 刘继先[#]

北京大学深圳医院胸外科, 广东 深圳

收稿日期: 2025年3月8日; 录用日期: 2025年3月31日; 发布日期: 2025年4月9日

摘 要

目的: 通过生物信息学的方法分析电压门控钠通道 α 亚基7 (Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 7, SCN7A)基因在肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)和邻近非癌组织中的差异表达, 探讨其与肺腺癌患者临床病理特征和预后的相关性, 分析其可能调控的信号通路和在肿瘤免疫微环境中的作用, 并通过细胞实验验证SCN7A在肺腺癌细胞中的生物学功能。方法: 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库和基因型组织表达(Genotype-Tissue Expression, GTEx)数据库下载并整理33种肿瘤患者的基因表达数据进行SCN7A泛癌分析。利用TCGA数据库探讨SCN7A基因在肺腺癌及正常肺组织中的表达差异情况, 并使用临床样本qRT-PCR对结果进行验证。ROC曲线评估SCN7A的诊断价值。从人类蛋白质图谱(The Human Protein Atlas, HPA)数据库下载LUAD患者及健康人群免疫组织化学数据。Cox回归分析寻找LUAD独立预后因素。临床相关性分析揭示SCN7A与LUAD患者临床病理特征的相关性。采用Kaplan-Meier Plotter数据库进行生存分析。通过功能注释工具分析SCN7A及其互作基因的功能。通过肿瘤免疫系统相互作用数据库(Tumor Immune System Interaction Database, TISIDB)分析SCN7A与肺癌肿瘤免疫浸润之间的关系。体外培养人正常肺上皮细胞BEAS-2B、肺腺癌细胞A549、H1395、H1975, qRT-PCR检测以上4株细胞中SCN7A的表达。构建SCN7A过表达质粒, 转染至A549细胞中。采用cell counting kit8 (CCK8)、划痕试验、Transwell方法检测SCN7A基因过表达对肺腺癌A549细胞增殖、迁移及侵袭的影响。结果: SCN7A在肺腺癌中的表达显著低于正常肺组织($P < 0.001$), 并与T分期、病理分级、总生存期(OS)等临床病理特征呈负相关($P < 0.05$)。Cox回归分析发现SCN7A低表达是影响LUAD预后的独立危险因素($P < 0.05$)。SCN7A低表达的肺腺癌患者总生存期、首次进展时间显著缩短($P < 0.001$)。功能富集分析提示SCN7A主要参与E2f targets、G2m checkpoint等相关通路($P < 0.001$)。免疫浸润分析显示SCN7A表达水平与LUAD中肥大细胞(Mast cell)、树突状细胞(DC)、巨噬细胞(Macrophages)、滤泡辅助性T细胞(TFH)浸润丰度相关($P < 0.001$)。SCN7A在A549、H1395、H1975细胞中表达显著低于BEAS-2B细胞。过表达SCN7A后, A549细胞增殖、迁移和侵袭能力显著降低($P < 0.01$)。结论: SCN7A低水平表达与LUAD患者的不良预后和免疫细胞浸润状况密切相关, 其有望被确立为一种用于LUAD诊断和治疗的新型生物标志物。

关键词

肺腺癌, SCN7A, 免疫细胞浸润, 预后, 生物信息学

*第一作者。

[#]通讯作者。

Expression and Significance of SCN7A in Lung Adenocarcinoma Based on Multi-Database Analysis

Sheng Liu*, Jixian Liu#

Department of Thoracic Surgery, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen Guangdong

Received: Mar. 8th, 2025; accepted: Mar. 31st, 2025; published: Apr. 9th, 2025

Abstract

Objective: This study aimed to analyze the expression differences of Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 7 (SCN7A) in lung adenocarcinoma (LUAD) and adjacent non-tumor tissues, investigating its correlation with the clinical pathological characteristics and outcomes of LUAD patients. It also analyzes the potential signaling pathways regulated by SCN7A and its role in the tumor immune microenvironment. The biological function of SCN7A in lung adenocarcinoma cells was investigated by cell experiments. **Methods:** Gene expression profiles of 33 tumor types were downloaded from the Human Protein Atlas (TCGA) database and Genotype-Tissue Expression (GTEx) databases for pan-cancer analysis of SCN7A. The expression difference of SCN7A gene in lung adenocarcinoma and adjacent normal tissues was investigated by using TCGA database, and the results were verified by qRT-PCR of clinical samples. ROC curve was employed to evaluate the diagnostic value of SCN7A. The immunohistochemical data of LUAD patients and healthy individuals were obtained from the Human Protein Atlas (HPA) database. Cox regression analysis was conducted to identify the independent prognostic factors. Clinical correlation analysis revealed the correlation between SCN7A and clinicopathological features of LUAD patients. Kaplan-Meier Plotter database was used for survival analysis. The function of SCN7A and its interacting genes was analyzed by functional annotation tools. The relationship between SCN7A and tumor immune infiltration in lung adenocarcinoma was analyzed through the Tumor Immune System Interaction Database (TISIDB). Human normal lung epithelial cells BEAS-2B, lung adenocarcinoma cells A549, H1395, H1975 were cultured *in vitro*. The expression of SCN7A in the above 4 cell lines was detected by qRT-PCR. SCN7A overexpression plasmid was constructed and transfected into A549 cells. The effects of SCN7A overexpression on the proliferation, migration and invasion of A549 cells were detected by Cell counting kit 8 (CCK8), scratch test and Transwell methods. **Results:** The expression of SCN7A in lung adenocarcinoma was significantly lower than in adjacent normal lung tissues ($P < 0.001$), and was negatively correlated with T stage, pathological grade, and overall survival (OS) ($P < 0.05$). Cox regression analysis revealed that low SCN7A expression was an independent risk factor for the prognosis of LUAD ($P < 0.05$). Patients with low SCN7A expression had a significantly reduced overall survival (OS) time and first progression (FP) time ($P < 0.001$). Function enrichment analysis suggested that SCN7A mainly participates in E2f targets, G2m checkpoint, etc. related pathways. Immune infiltration analysis showed that SCN7A expression correlated with mast cell, dendritic cell, macrophage, and follicular helper T cell infiltration in LUAD. The expression of SCN7A in A549, H1395 and H1975 cells was significantly lower than in BEAS-2B cells. After overexpression of SCN7A, proliferation, migration and invasion of A549 cells were significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion:** The low expression level of the SCN7A gene is

closely associated with poor prognosis and immune cell infiltration in lung adenocarcinoma patients, suggesting its potential to be established as a novel biomarker for the diagnosis and treatment of lung adenocarcinoma.

Keywords

Lung Adenocarcinoma, SCN7A, Immune Cell Infiltration, Prognosis, Bioinformatics

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 背景

肺癌是全球范围内癌症相关死亡的首要原因之一[1], 其中非小细胞肺癌占所有肺癌病例的大多数, 非小细胞癌又分为腺癌、鳞癌以及大细胞癌[2]。在这些类型中, 肺腺癌约占 40%~55%, 在许多国家已经超过肺鳞癌成为最常见的肺癌病理类型。目前临床上对于肺癌主要治疗手段包括手术切除、放疗、化疗、分子靶向、免疫治疗[3]。尽管手术治疗仍是早期肺癌的主要治疗策略, 但大量患者初诊时即已被诊断为晚期, 丧失了手术根治的机会。因此, 对肺癌进展的分子机制进行研究尤为关键, 将有助于肺癌的早期检测与治疗。

电压门控钠通道(VGSC)家族由一个跨膜糖蛋白家族组成, 这些蛋白通过调节 Na^+ 离子进入细胞膜的通量, 从而在可兴奋细胞中产生和传播动作电位来产生电信号[4]。结构分析表明, VGSCs 由较大的成孔 α 亚基和较小的辅助 β 亚基共同构成。哺乳动物基因组包含编码 10 个不同 α 亚基的基因(SCNnA)和 5 个不同 β 亚基的基因(SCNnB) [5]。既往研究报道, 在胃癌、食管癌、肝癌、直肠癌等多种肿瘤中 SCN7A 表达水平与肿瘤分期及疾病预后相关[6]-[12], 表明该基因作为肿瘤生物标志物的潜在作用。但是 SCN7A 在肺腺癌中是否能够作为预后标志物, 及其表达水平对肺腺癌生物学功能的影响, 值得进一步思考和探究。

2. 材料与方法

2.1. 一般材料

2.1.1. 基因表达数据及临床信息

UCSC XENA (<https://xenabrowser.net/datapages/>)经 Toil 流程(Vivian J *et al.*, 2017)统一处理的 TCGA 和 GTEx 的 TPM 格式的 RNAseq 数据, 进行 log2 变换, 提取 33 种癌症类型对应的 TCGA 的数据和 GTEx 中对应的正常组织数据, 其中包括 515 例肺腺癌样本, 347 例正常肺组织样本(TCGA 癌旁样本 59 例, GTEx 正常样本 288 例)。肺腺癌患者相关的临床数据来源于 TCGA 数据库。

2.1.2. 免疫组化数据

肺腺癌和正常肺组织免疫组化数据来自 HPA 数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)。

2.1.3. 临床标本

收集 2022 年至 2024 年北京大学深圳医院 28 例肺术前未接受化疗和放疗的肺腺癌患者的肿瘤组织及邻近正常组织样本, 所有标本均经本院病理科证实, 所有患者均获得知情同意。

2.1.4. 细胞及主要试剂

BEAS-2B、A549、H1395、H1975 细胞株购自武汉多莱秘生物科技有限公司, RNA 抽提试剂盒购自上海飞捷公司, ReverTra Ace qPCR RT Kit 逆转录试剂盒购自东洋纺公司, SYBR High-Sensitivity qPCR Super-mixqPCR 试剂盒购自近岸蛋白公司, DMEM 细胞培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司, FBS 胎牛血清购自内蒙古奥普赛生物科技有限公司, CCK-8 试剂盒(细胞增殖及毒性检测试剂盒)购自北京索莱宝科技有限公司, 4% PFA 组织细胞固定液购自中国医药集团有限公司, 结晶紫染色液购自碧云天生物, PBS 缓冲液购自 Biosharp。

2.2. 方法

2.2.1. 基因表达分析

采用 Mann-Whitney U 检验进行分组比较, 采用配对样本 T 检验进行配对样本分析, 用 ggplot2 包对数据进行可视化。

2.2.2. 临床病理特征相关性分析

从 TCGA 数据库下载 539 例 LUAD 患者的临床病理信息和基因表达数据。按性别、年龄、吸烟、TNM 分期、病理分级、总生存期(OS)、疾病特异生存期(DSS)进行分组。将 539 例样本按 SCN7A 表达中位数分为高低表达组, 用 stats 包分析 SCN7A 表达与 LUAD 患者临床病理特征之间的相关性, 用 ggplot2 包对数据进行可视化。

2.2.3. 基因表达与肺腺癌诊断及预后的关系

使用 pROC 包进行配对样本进行受试者操作特征(ROC)曲线分析, 结果用 ggplot2 进行可视化, 评估 SCN7A 表达对区分肿瘤和正常样本的有效性。使用 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<https://kmplot.com>)分析 SCN7A 在 LUAD 患者中的预后价值。根据中位表达水平将患者分为高低表达两组, 分析 SCN7A 对 LUAD 患者总生存期(OS)和首次进展时间(FP)的影响。使用 survival 和 rms 包, 通过单因素和多因素 Cox 回归分析评估 SCN7A 表达是否作为 LUAD 的独立预后因素。

2.2.4. 目标基因的差异分析和差异基因的富集分析

根据 SCN7A 表达中位数, 将样本分为 SCN7A 高和低表达组, 利用差异分析找到 SCN7A 高低表达组之间具有差异的基因。过滤条件为 $|\log_2FC| > 1.5$ 且 $P < 0.001$, 得到显著差异基因, ggplot2 包对结果进行可视化。通过基因本体(Gene Ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析和基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)分析共表达基因在通路上的表达情况。富集结果的 FDR 阈值设置为 0.05, ClusterProfiler 包执行, ggplot2R 包进行可视化。

2.2.5. 免疫相关细胞浸润评估

利用 GSVA 包中提供的 ssGSEA 算法比较 SCN7A 高低表达组之间免疫细胞浸润水平的差别, 利用 Spearman 法分析 SCN7A 表达水平与不同免疫细胞的相关性, 用 ggplot2 包对结果进行可视化。

2.2.6. 细胞培养与转染

A549 细胞使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基(Procell, PM150210B), 1% PS (青霉素, 链霉素, merck, TMS-AB2)进行培养。A549 细胞铺到细胞培养板, 当细胞密度达到 70%时使用 lipo2000 (Invitrogen, 11668027)转染 SCN7A 过表达质粒。取 1 μ g 质粒加入到 50 μ l opti-MEM medium, 混匀静置 5 min, 取 2 μ l lipo2000 加入到 50 μ l opti-MEM medium, 混匀静置 5 min。随后将混匀的质粒和 lipo2000 混合, 室温静置 10 min。混匀后的质粒-lipo2000 混合物加入到细胞培养板, 转染 4 h 后换含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养细胞。

2.2.7. 总 RNA 提取及 qRT-PCR

使用离心柱式提取总 RNA, 反转录获得互补 DNA (cDNA), 并通过实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)获得表达数据。GAPDH 为内参基因。引物: H-SCN7A-F: agttttggctgggccttatt, H-SCN7A-R: ataggccatggcaagtatgc。

2.2.8. CCK8 实验

分别取 2 组细胞, 胰酶消化后计数铺 96 孔板, 每孔 1000 个, 放入 37℃ CO₂ 培养箱中培养; 待细胞贴壁后, 按细胞分组分别处理细胞 0 h、24 h、48 h、72 h; 每孔加入 10 μl CCK8 溶液, 将培养板放入培养箱中孵育 1~2 h; 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

2.2.9. Transwell 迁移实验

分别取 2 组细胞, 用无血清的 DMEM 重悬制备成细胞悬液, 血球计数板计数; 取上述 1×10^4 个细胞接种至上室, 下室接种含有 10% FBS 的 DMEM 培养基, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中进行培养; 24 小时后弃掉培养基, PBS 清洗一次; 用 4% 的多聚甲醛固定 15 min; 结晶紫染色 20 min, 用 PBS 清洗, 在显微镜下拍照。

2.2.10. 划痕实验

分别取 2 组细胞, 接种约 5×10^5 个细胞至 6 孔板; 次日贴壁后用枪头比着直尺在孔中划线; 用 PBS 清洗细胞 3 次, 去除划下的细胞, 加入新鲜的基础培养基; 放在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养; 0 h、24 h 在显微镜下拍照记录。

3. 结果

3.1. SCN7A 在泛癌和肺腺癌中的表达水平

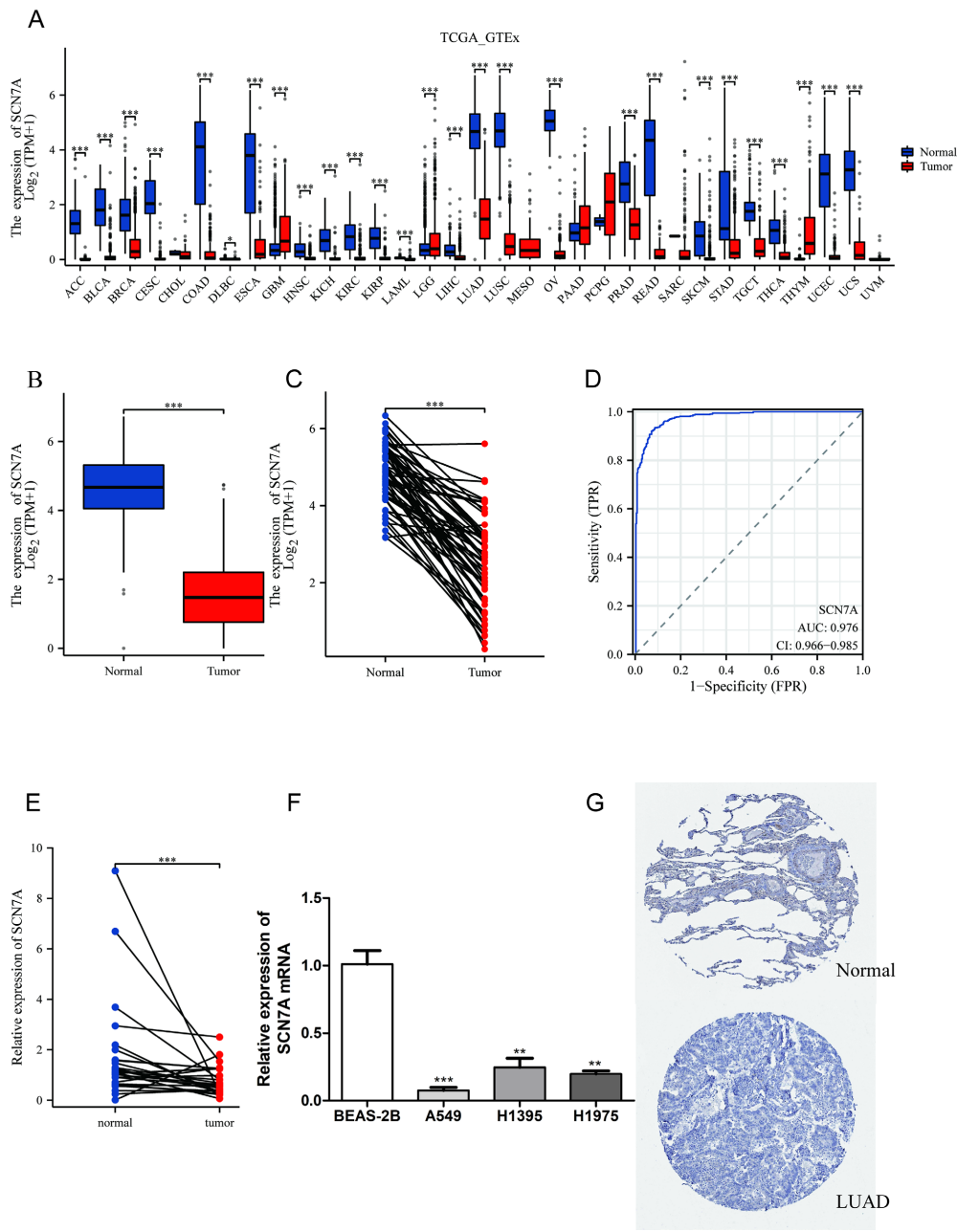
我们借助 TCGA 和 GTEx 数据库评估 SCN7A 在 33 种常见类型肿瘤和对应正常组织中的表达水平, 结果如图 1(A)所示。SCN7A 在 26 种肿瘤中呈显著性差异表达。其中, SCN7A 在 ACC、BLCA、BRCA、CESC、COAD、ESCA 及 UCS 等 23 种肿瘤中呈显低表达; 而在 UCEC、GBM、LGG、THYM 3 种肿瘤中呈显著高表达。收集来自 GTEx 和 TCGA 数据库的总计 347 例正常肺组织样本(GTEx288 例、TCGA59 例), 以及来自 TCGA 数据库的 515 例肺腺癌样本。通过比较可以发现, 肺腺癌组织中 SCN7A 表达量明显低于正常肺组织($P < 0.001$) (图 1(B))。同样, 比较来自 TCGA 数据库中肺腺癌与其配对的癌旁正常肺组织中 SCN7A 的表达水平, 结果与非配对样本结果一致, SCN7A 在肿瘤样本中的表达显著下降($P < 0.001$) (图 1(C))。随后绘制受试者工作特征曲线, 结果显示曲线下面积为 0.976 (图 1(D)), 这提示 SCN7A 表达水平对于 LUAD 患者的诊断有一定的准确性, 可能是 LUAD 的一个诊断标志物。

为了验证上述结果, 我们收集了从 2022 年 9 月至 2024 年 4 月在北京大学深圳医院胸外科手术切除的 28 对肺腺癌肿瘤组织及其相匹配的癌旁组织, 结果显示, 肺腺癌组织中 SCN7A 的表达显著降低(图 1(E))。在细胞水平上, qRT-PCR 检测 SCN7A 在 A549、H1395、H1975 细胞中的表达明显低于 BEAS-2B 细胞(图 1(F))。同时, 我们使用 HPA 数据库提供的免疫组化结果进一步确认了肺腺癌中 SCN7A 的低表达(图 1(G))。

3.2. 肺腺癌患者 SCN7A 表达与临床病理特征的关系

如表 1 所示, 从 TCGA 数据库获取 539 例肺腺癌患者的临床信息和基因表达数据, 根据 SCN7A 的中位表达水平作为临界值, 将肺腺癌患者分为 SCN7A 低表达组($n = 269$)和高表达组($n = 270$)。结果显示, SCN7A 表达与性别、T 分期、总生存期有关($P < 0.05$), 与年龄、吸烟、N 分期、M 分期、总分期、疾病特异生存期无显著相关性($P > 0.05$) (表 1)。男性肺腺癌患者的 SCN7A 表达量较女性患者低($P < 0.01$), T2 期肺腺癌 SCN7A 表达量较 T1 期低($P < 0.001$), III 期和 IV 期肺腺癌 SCN7A 表达量较 I 期和 II 期低($P <$

0.05), 但不同年龄、N 分期、M 分期分组间 SCN7A 的表达量无统计学差异($P > 0.05$) (图 2(A)~(F))。同时, 单变量逻辑回归分析的结果如表 2 所示, SCN7A 在肺腺癌中低表达与性别(男 vs 女, $OR = 0.653$)、肿瘤 T 分期(T2 vs T1, $OR = 0.535$)、病理分期(III, IV vs I, II, $OR = 0.609$)显著相关($P < 0.05$)。这些结果提示, SCN7A 低表达的肺腺癌更容易进展到晚期。



(A) TCGA 和 GTEx 数据库中 SCN7A 在常见类型肿瘤和正常组织中的表达水平。(B) SCN7A 在肺腺癌和正常组织中的表达水平。(C) SCN7A 在肺腺癌和配对的邻近正常组织中的表达水平。(D) SCN7A 在肺腺癌中的诊断价值。(E) qRT-PCR 检测 28 对肺腺癌组织及相应正常组织中 SCN7A 的表达。(F) qRT-PCR 检测 BEAS-2B、A549、H1395、H1975 中 SCN7A 的表达水平。(G) HPA 数据库中肺腺癌和正常组织中 SCN7A 免疫组化染色图。

Figure 1. Expression of SCN7A in tumor and normal tissues

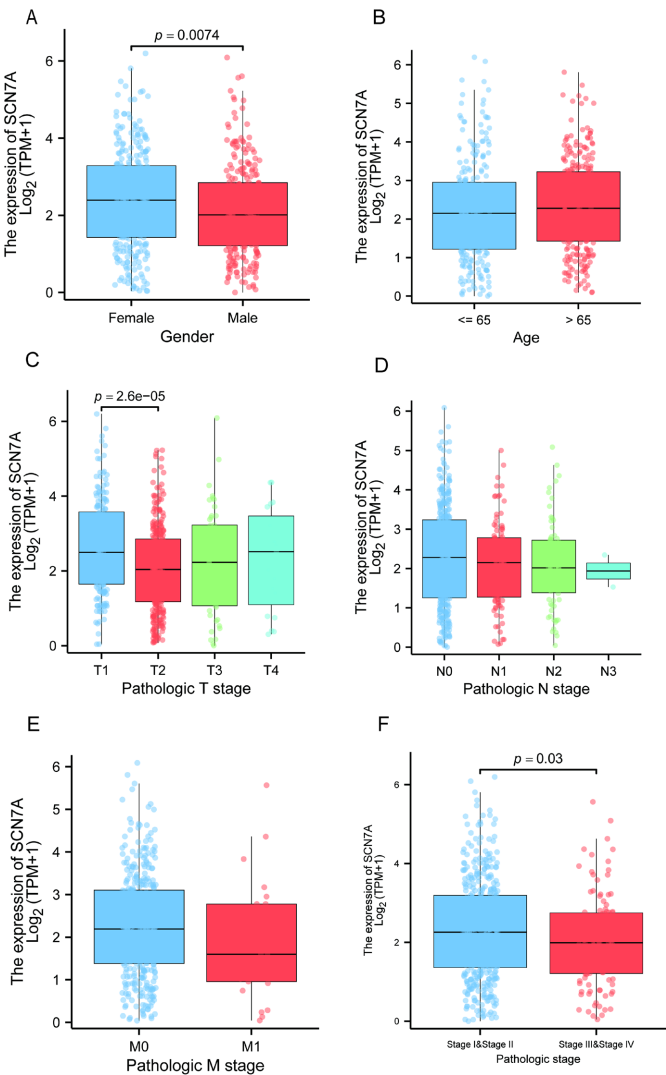
图 1. SCN7A 在肿瘤和正常组织中的表达水平

Table 1. The relationship between SCN7A expression and the clinicopathological characteristics of patients with lung adenocarcinoma
表 1. SCN7A 表达与肺腺癌患者临床病理特征的关系

Characteristics	Low expression of SCN7A	High expression of SCN7A	P value
n	269	270	
Gender, n (%)			0.014
Female	130 (24.1%)	159 (29.5%)	
Male	139 (25.8%)	111 (20.6%)	
Age, n (%)			0.220
≤65	135 (26%)	122 (23.5%)	
>65	124 (23.8%)	139 (26.7%)	
Race, n (%)			0.131
Asian	5 (1.1%)	3 (0.6%)	
Black or African American	33 (7%)	22 (4.7%)	
White	191 (40.5%)	218 (46.2%)	
Pathologic T stage, n (%)			0.014
T1	71 (13.2%)	105 (19.6%)	
T2	163 (30.4%)	129 (24.1%)	
T3	24 (4.5%)	25 (4.7%)	
T4	9 (1.7%)	10 (1.9%)	
Pathologic N stage, n (%)			0.141
N0	167 (31.9%)	183 (35%)	
N1	52 (9.9%)	45 (8.6%)	
N2	46 (8.8%)	28 (5.4%)	
N3	1 (0.2%)	1 (0.2%)	
Pathologic M stage, n (%)			0.340
M0	183 (46.9%)	182 (46.7%)	
M1	15 (3.8%)	10 (2.6%)	
Pathologic stage, n (%)			0.087
Stage I	136 (25.6%)	160 (30.1%)	
Stage II	65 (12.2%)	60 (11.3%)	
Stage III	50 (9.4%)	34 (6.4%)	
Stage IV	16 (3%)	10 (1.9%)	

Table 2. Logistic regression analysis of SCN7A expression and related clinical pathological features
表 2. SCN7A 表达与相关临床病理特征的逻辑回归分析

Characteristics	Total (N)	OR (95% CI)	P value
Age (>65 vs. ≤65)	520	1.240 (0.879~1.750)	0.220
Gender (Male vs. Female)	539	0.653 (0.464~0.918)	0.014
Pathologic T stage (T2 vs. T1)	468	0.535 (0.366~0.782)	0.001
Pathologic N stage (N1 vs. N0)	447	0.790 (0.503~1.240)	0.305
Pathologic M stage (M1 vs. M0)	390	0.670 (0.293~1.531)	0.343
Pathologic stage (Stage III & Stage IV vs. Stage I & Stage II)	531	0.609 (0.398~0.933)	0.023

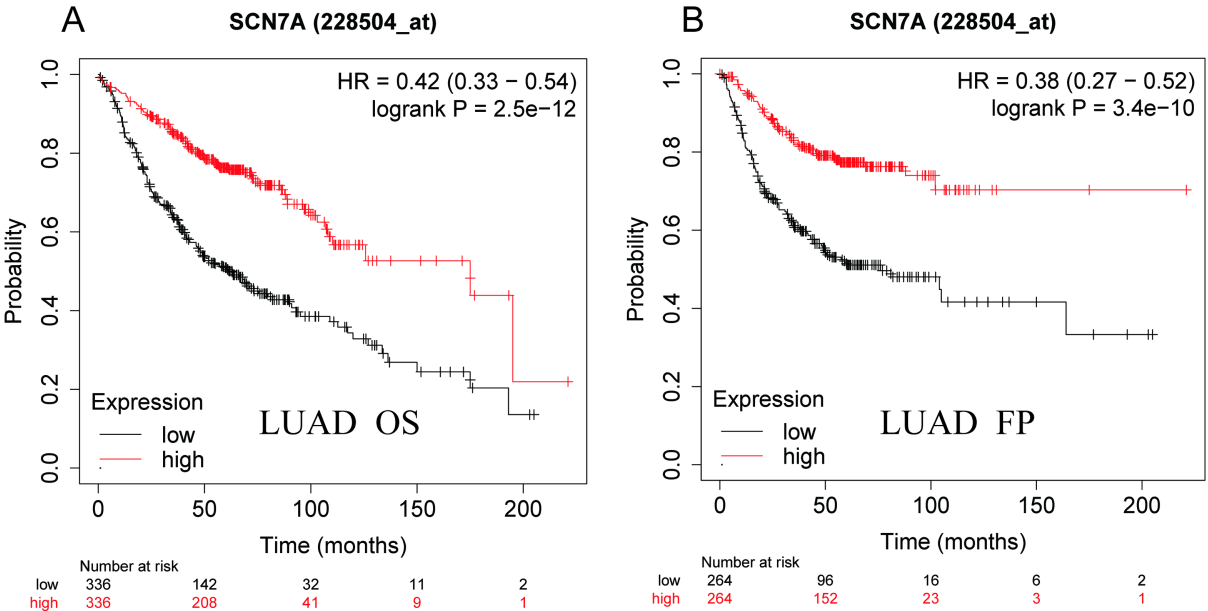


(A) SCN7A 表达水平和性别之间的关系；(B) SCN7A 表达水平和年龄之间的关系；(C) SCN7A 表达水平和 T 分期之间的关系；(D) SCN7A 表达水平和 N 分期之间的关系；(E) SCN7A 表达水平和 M 分期之间的关系；(F) SCN7A 表达水平和病理分期之间的关系。

Figure 2. Relationship between SCN7A expression and clinical features in LUAD patients
图 2. 肺腺癌患者 SCN7A 的表达水平与临床特征之间的关系

3.3. SCN7A 在肺腺癌中低表达提示预后不良

为了探讨 SCN7A 表达与肺腺癌患者预后的相关性, 我们根据 SCN7A 表达水平将肺腺癌患者分为高表达组和低表达组。如图 3 所示, 肺腺癌患者中 SCN7A 低水平表达与较差的 FP、和 OS。Cox 回归单因素分析结果显示, T 分期、N 分期、M 分期、总分期、SCN7A 的表达水平与肺腺癌患者的不良预后显著相关($P < 0.05$, 表 3); 而多因素分析表明, 在这些影响因素中, SCN7A 的表达水平是导致肺腺癌患者不良预后的独立影响因素($P < 0.05$, 表 3)。以上结果表明, SCN7A 的表达水平是 LUAD 一个独立的预后标志物, 其低表达与 LUAD 的预后不良有关。



(A) OS 总生存期; (B) FP 首次进展时间。

Figure 3. Kaplan-Meier curve of SCN7A high and low expression groups in LUAD patients

图 3. 肺腺癌患者 SCN7A 高低表达组的 KM 生存曲线

Table 3. Cox regression analysis of the relationship between overall survival and clinical pathological characteristics in patients with lung adenocarcinoma

表 3. Cox 回归分析肺腺癌患者总生存期与临床病理特征的关系

Characteristics	Total (N)	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Hazard ratio (95% CI)	P value	Hazard ratio (95% CI)	P value
Age	520				
≤65	257	Reference			
>65	263	1.216 (0.910~1.625)	0.186		
Gender	530				
Female	283	Reference			
Male	247	1.087 (0.816~1.448)	0.569		
Pathologic T stage	527				

续表

T1 & T2	461	Reference		Reference	
T3 & T4	66	2.352 (1.614~3.426)	<0.001	1.884 (1.174~3.024)	0.009
Pathologic N stage	514				
N0	345	Reference		Reference	
N1 & N2 & N3	169	2.547 (1.904~3.407)	<0.001	1.966 (1.338~2.888)	<0.001
Pathologic M stage	381				
M0	356	Reference		Reference	
M1	25	2.176 (1.272~3.722)	0.005	1.270 (0.665~2.425)	0.469
Pathologic stage	522				
Stage I & Stage II	415	Reference		Reference	
Stage III & Stage IV	107	2.710 (1.994~3.685)	<0.001	1.533 (0.938~2.503)	0.088
SCN7A	530				
High	266	Reference		Reference	
Low	264	1.371 (1.027~1.829)	0.032	1.446 (1.030~2.029)	0.033

3.4. SCN7A 的差异基因分析与富集分析

根据 SCN7A 高低表达组进行差异基因分析, 以 P 值<0.001, |log2FC|>1.5 筛选差异表达基因(图 4(A)), 并显示与 SCN7A 呈正负相关的前 70 个差异基因(图 4(B))。GO 富集分析发现, SCN7A 表达相关基因主要功能富集在“微管束的形成”、“含胶原蛋白的细胞外基质”、“信号受体激活剂活性”等生物学过程(图 4(C))。KEGG 通路分析显示, SCN7A 表达相关基因主要参与了“神经活性配体-受体相互作用”、“补体和凝血级联”、“细胞周期”等信号通路(图 4(D))。GSEA 富集分析显示 SCN7A 低表达组主要富集在“E2f Targets”、“G2m Checkpoint”、“Mtorc1 Signaling”、“MYC Targets”信号通路(图 5(A)~(D))。表明这些途径可能与 SCN7A 相关的基因调节有关。

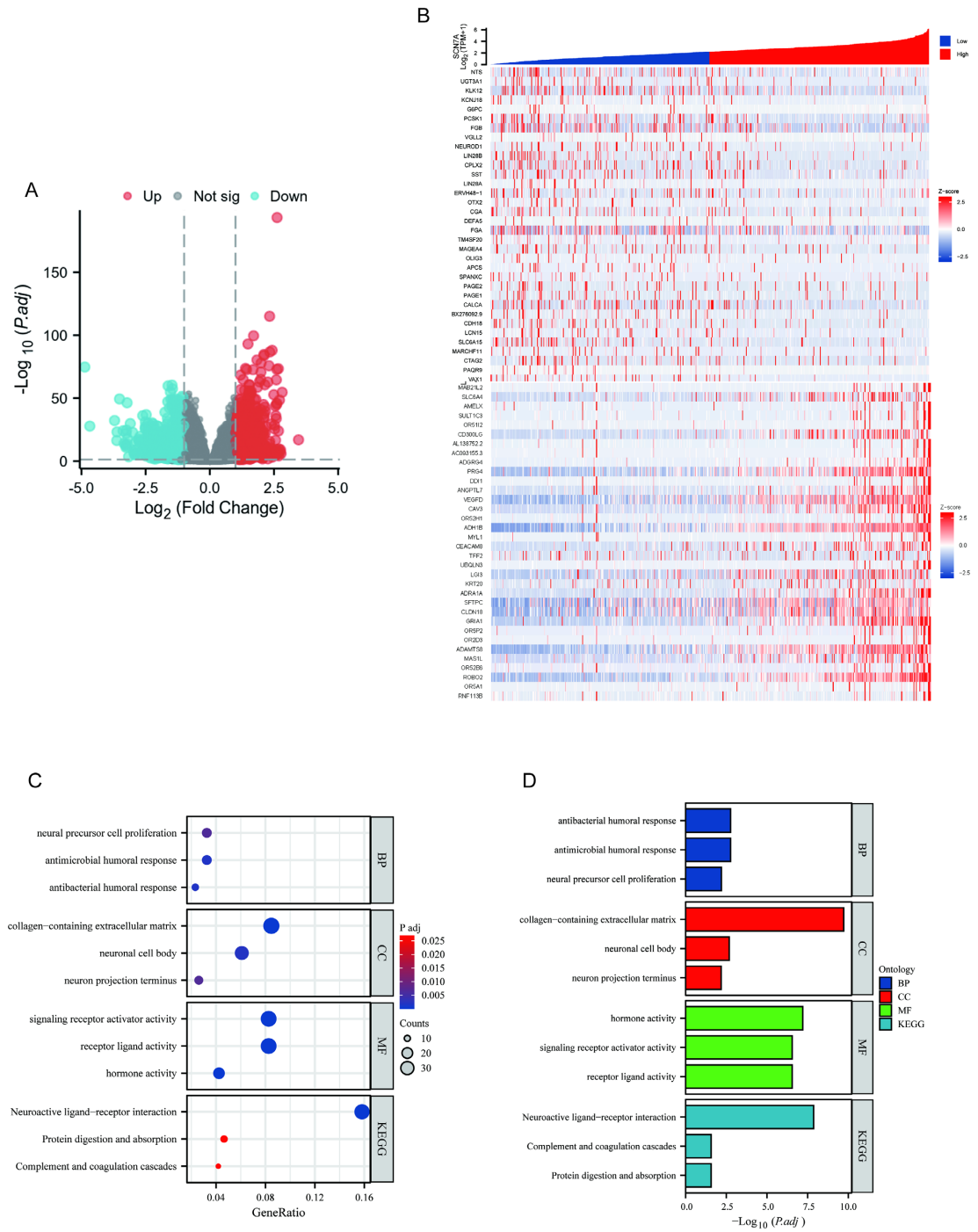
3.5. SCN7A 表达与免疫细胞浸润之间的关系

首先将 TCGA 数据集中的 LUAD 患者根据 SCN7A 表达量分为高表达和低表达两组。随后, 对两组中 24 种免疫细胞亚型的表达水平差异进行了评估。与 SCN7A 低表达组相比, SCN7A 高表达组的肥大细胞(Mast cell)、树突状细胞(DC)、巨噬细胞(Macrophages)、滤泡辅助性 T 细胞(TFH)和其他免疫细胞浸润水平明显更高(图 6(A))。同时, 我们观察到上述 24 种免疫细胞有 18 种与 SCN7A 表达呈正相关(图 6(B))。针对与 SCN7A 的表达显著相关的免疫细胞绘制相关性的散点图, 进一步证明肥大细胞、树突状细胞、巨噬细胞、滤泡辅助性 T 细胞的浸润丰度与 SCN7A 表达水平呈正相关(图 6(C)~(F))。

3.6. 过表达 SCN7A 抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭

对不同肺腺癌细胞系中 SCN7A 表达量的检测结果显示, 与细胞系 H1395、H1975 相比, SCN7A 在肺腺癌细胞系 A549 中的表达量相对最低(图 1(F))。在肺腺癌细胞 A549 中过表达 SCN7A, RT-qPCR 结果显示, 与对照组(OE-NC)相比, 实验组(OE-SCN7A) SCN7A 的表达水平显著增高(图 7(A))。细胞功能检

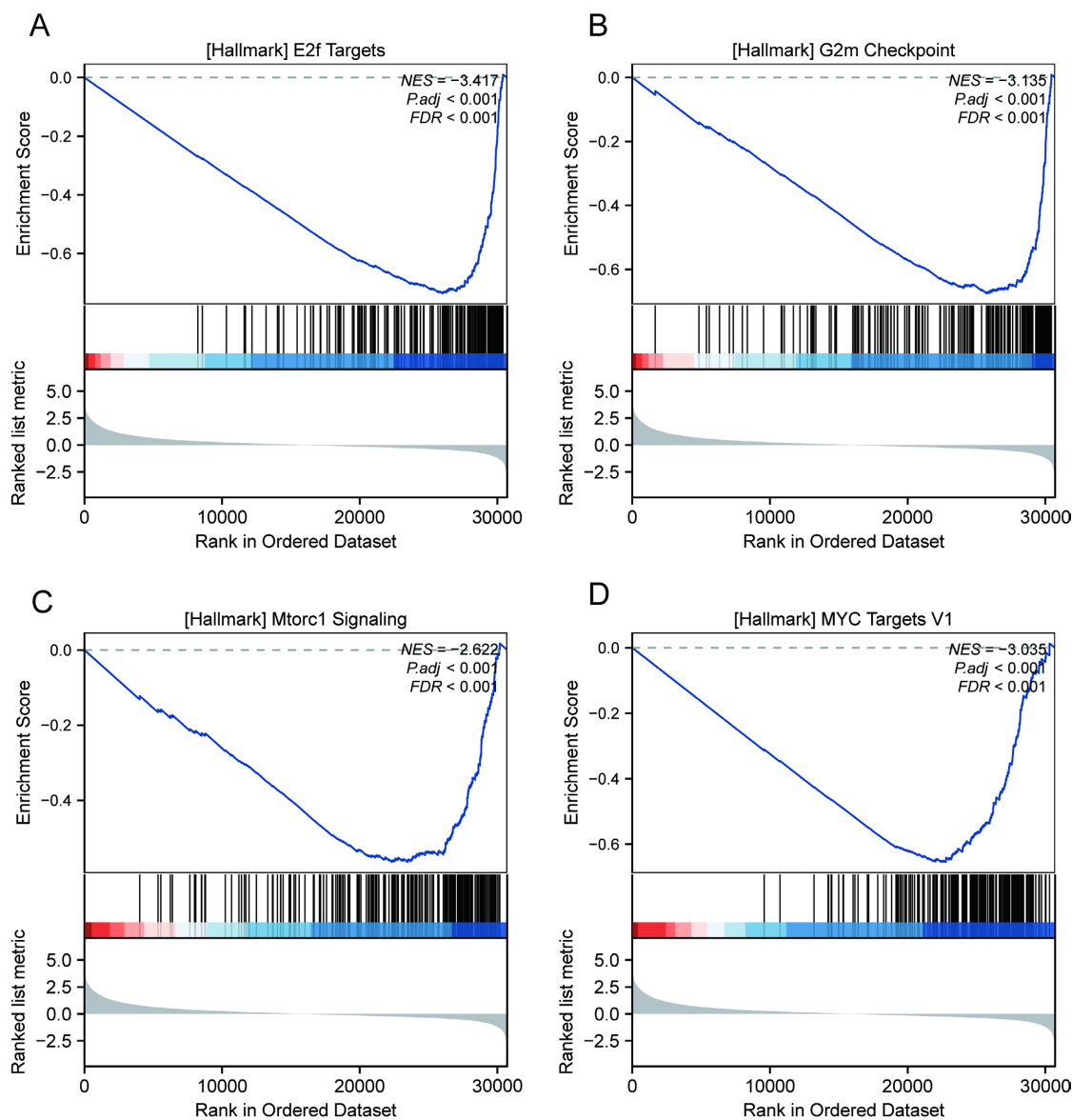
测结果显示: 与 OE-NC 组相比, 过表达 SCN7A 不仅降低了肺腺癌细胞 A549 的细胞活力(图 7(B)), 还使肺腺癌细胞 SCN7A 的细胞迁移数量和伤口愈合速度降低(图 7(C), 图 7(D))。即过表达 SCN7A 可以抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。



(A) 差异基因的火山图; (B) 相关性前 70 的差异基因热图; (C) 差异基因 GO 富集分析; (D) 差异基因 KEGG 富集分析。

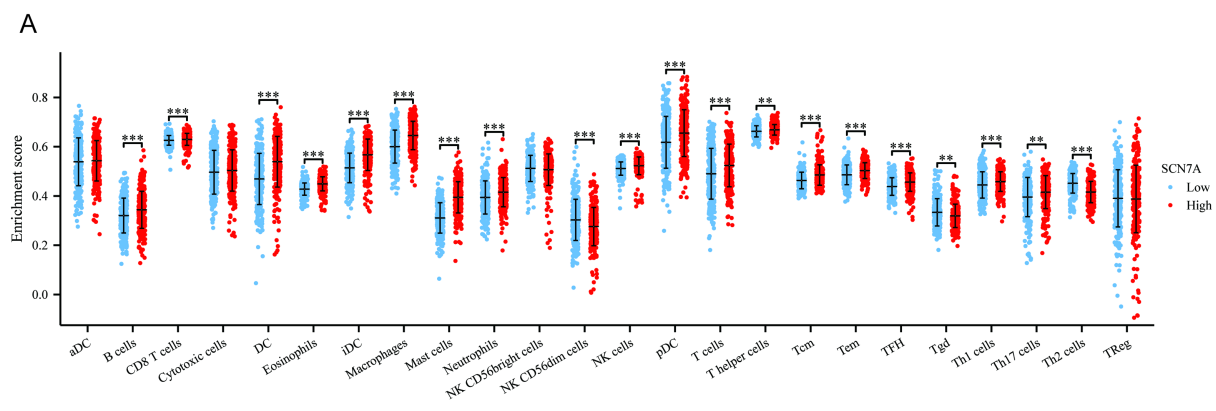
Figure 4. SCN7A-related differentially expressed genes (DEGs) and functional enrichment analysis of SCN7A in LUAD using GO and KEGG

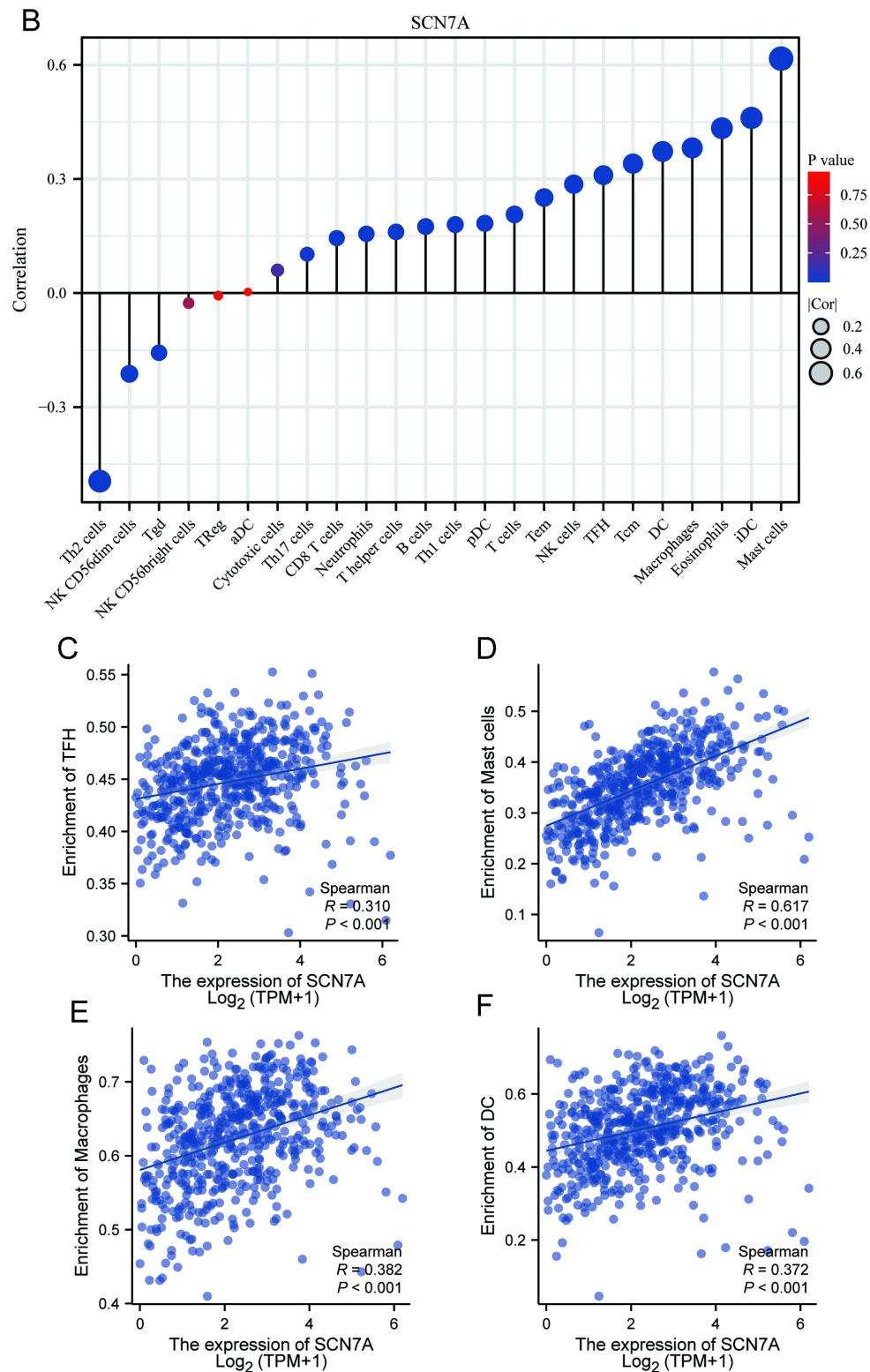
图 4. 肺腺癌患者 SCN7A 高低表达组之间的差异基因及 GO/KEGG 富集分析柱状图



(A) E2f 靶点通路; (B) G2m 检查点通路; (C) Mtorc1 信号通路; (D) MYC 信号通路。

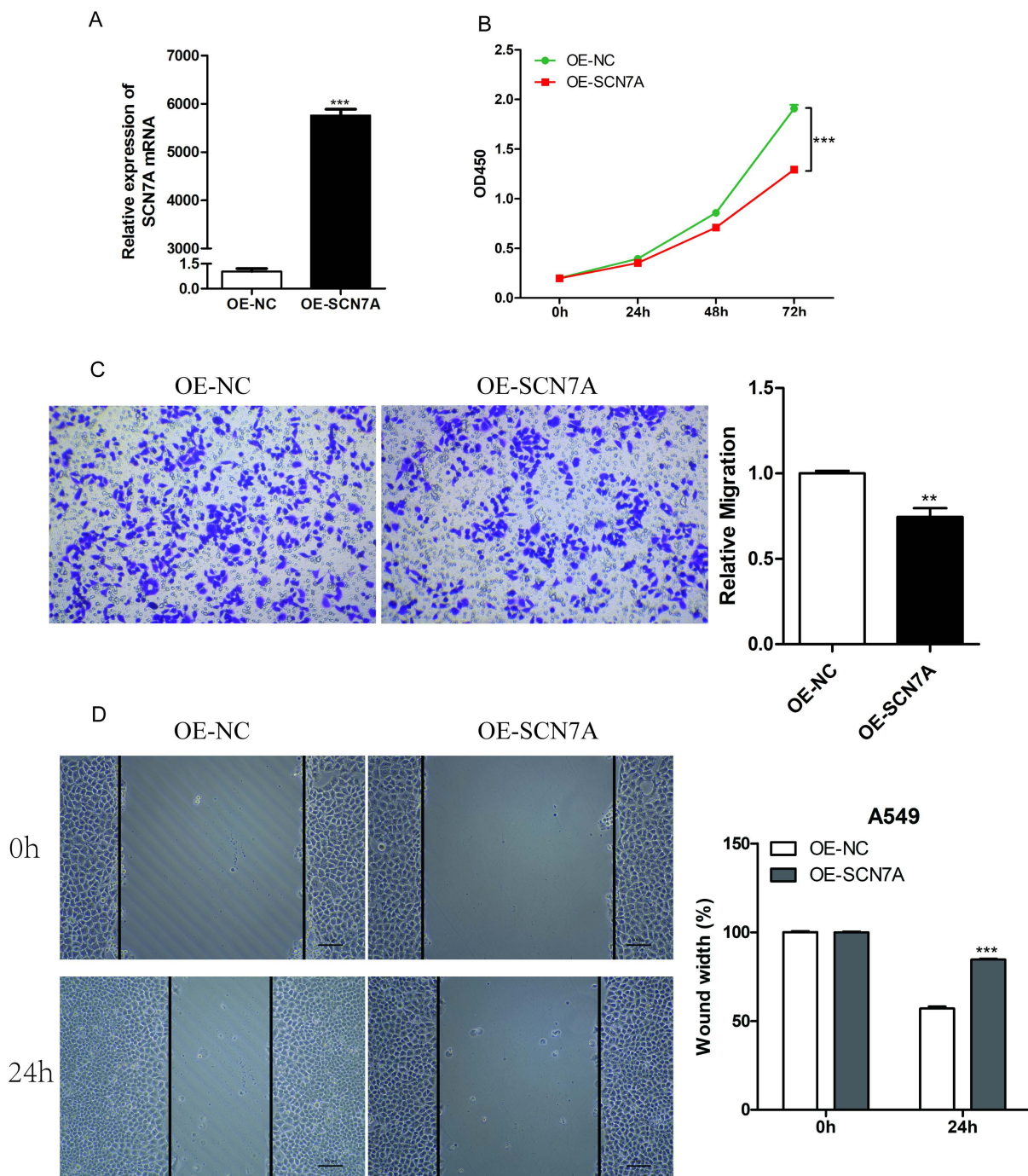
Figure 5. Gene set enrichment analysis (GSEA) of DEGs
图 5. 差异基因 GSEA 富集分析





(A) 24 种不同类型免疫细胞在 SCN7A 高低表达的肺腺癌肿瘤样本中的浸润水平; (B) SCN7A 表达水平和不同类型免疫细胞之间的相关性; (C)~(F) SCN7A 表达与滤泡辅助性 T 细胞、肥大细胞、巨噬细胞、树突状细胞浸润丰度的相关性图。

Figure 6. Relationship between SCN7A expression and immune infiltration of LUAD
图 6. SCN7A 表达水平与 LUAD 免疫浸润之间的关系



(A) 实验组 OE-SCN7A 与对照组 OE-NC 中 SCN7A 的表达水平; (B) 通过 CCK-8 实验测定 2 组细胞的增殖能力; (C) 通过 Transwell 实验测定 2 组细胞的侵袭能力; (D) 通过划痕实验测定 2 组细胞的迁移能力。

Figure 7. Overexpression of SCN7A inhibits the proliferation, invasion, and migration ability of LUAD tumor cells
图 7. SCN7A 过表达会抑制 LUAD 肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移能力

4. 讨论

肺腺癌是肺癌中最常见的类型, 且近年来发病率越来越高, 具有复发率高、预后差的特点。由于早期的肿瘤并没有明显的临床症状, 许多肺腺癌患者在早期很难被发现, 这给肺腺癌患者的早期诊断和制

定最佳治疗方案带来了挑战。LUAD 目前的治疗手段包括手术、放疗、化疗及分子靶向治疗,但许多 LUAD 患者就诊时已为晚期,失去了手术治疗的机会[13]。分子靶向治疗为这部分晚期患者提供了较好的治疗方案,明显提高了患者的生存率[14]。但近年来,分子靶向药物耐药性逐渐升高,因此寻找新的针对 LUAD 诊断、预后、治疗的生物标志物尤为重要。

对大样本的肿瘤和正常组织进行差异基因的表达分析,有助于发现新的肿瘤生物标志物。因此,本研究通过 TCGA 数据库分析了 LUAD 组织和癌旁组织存在差异表达的基因,发现 SCN7A 在 LUAD 组织中的表达量显著低于正常肺组织。且 SCN7A 在乳腺癌、结肠癌、胃癌、食管癌等恶性肿瘤中的表达均下调[6]-[12]。SCN7A 是电压门控钠通道家族成员,编码的电压门控钠通道为 *Nax*。在可兴奋细胞中,电压门控钠通道对于细胞膜去极化后动作电位的产生和传播至关重要。但与其他电压门控钠通道不同的是,*Nax* 不具备电压门控的特性,而是一种特异性的钠离子传感器[15]。Li 等发现,SCN7A 在胃癌中的表达下调,但 SCN7A 低表达与胃癌的肿瘤突变复合增高有关,较高的肿瘤突变负荷意味着暴露更多的新抗原,更容易触发 T 细胞依赖性免疫反应以抑制肿瘤发展,从而改善患者的生存预后[6]。但 Yan 等发现,在肝细胞癌中,SCN7A 的高表达与患者更好的预后有关,且通过富集分析发现 SCN7A 可能通过激活 PI3K-Akt 通路来促进肿瘤的进展[9]。

本研究借助 TCGA 数据库资源,运用生物信息学手段分析了 SCN7A 在包括 LUAD 在内的多种癌症类型中的表达情况,发现 SCN7A 在大部分肿瘤中存在表达的下调,这与已有的研究一致。此外,在基因和蛋白水平上探究了 LUAD 和其毗邻正常组织间 SCN7A 表达量的差异,并通过 qRT-PCR 方法进行实验验证。通过绘制 ROC 曲线显示曲线下面积高达 0.976,说明 SCN7A 表达量的高低能够很好地区分肿瘤和正常组织。进一步对肺腺癌患者临床特征和表达情况进行分析发现 SCN7A 表达与性别、T 分期、病理分级、OS 相关。深入的生存分析和预后评估显示,低表达 SCN7A 的 LUAD 患者总生存率低于高表达者。这些结果表明 SCN7A 可能是肺腺癌的一个潜在生物标志物。

为了进一步探究 SCN7A 在肺腺癌发生发展中可能存在的分子机制,我们对 SCN7A 高低表达组间的差异表达基因进行 GO、KEGG、GSEA 富集分析。GSEA 富集分析显示,SCN7A 低表达组显著富集的通路包括 E2f targets、G2m checkpoint、Mtorc1 signaling、MYC targets。E2F 转录因子(E2F)是一大类转录因子,是真核细胞周期、细胞凋亡和分化的关键调节因子。Zhang 等报道,减数分裂核 1(MN1)通过与 Kruppel 样因子 6 (KLF6)的竞争性结合,调节细胞周期进程,从而上调 E2F1 的转录,这一机制与肺腺癌(LUAD)的发展以及不良的临床预后密切相关[16]。G2M 检查点通过监测 DNA 完整性和防止 DNA 受损细胞进展为有丝分裂,在保护基因组稳定性方面发挥着重要作用。G2M 检查点通路的失调或中断可能对癌症的发展产生影响[17]。mTOR 通路在细胞生长、代谢和蛋白质合成的调节中起着重要作用,尤其是在癌症中,mTOR 通路过度激活后会促进细胞增殖和代谢,从而促进肿瘤的发生和进展。MYC 是一个转录因子家族,可控制多种细胞过程,包括增殖、生长、DNA 损伤修复、组蛋白修饰和代谢[18]。MYC 是一种原癌基因,在调节细胞周期、DNA 合成等方面发挥着重要作用,其扩增后会促进肿瘤细胞的生长和增殖[19]。综合上述结果,可以推断 SCN7A 可能作为一个抑癌基因,其表达水平下调可能通过调控细胞周期及 DNA 损伤修复等相关信号通路促进 LUAD 的发生发展。

近年来,越来越多的研究表明,肿瘤微环境中的免疫细胞参与了肿瘤的发生发展,针对肿瘤免疫机制开发的治疗策略,即免疫治疗,已成肿瘤治疗的新兴支柱。肿瘤细胞的恶性生物学行为受到多方面的影响,包括肿瘤细胞内部的分子事件以及肿瘤微环境的生物学特性。TME 的特征包括缺氧、代谢失调和免疫抑制,它能够通过多种复杂的机制打破机体对肿瘤免疫监视和免疫耐受之间的平衡,进而为肿瘤的生长提供有利条件[20]。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)是 TME 的重要组成部分,被认为是评价肿瘤免疫治疗有效性的独立预测因子[21]。目前尚无 SCN7A 与肿瘤免疫微环境的研究,本

文通过分析 SCN7A 表达与 LUAD 中免疫细胞浸润水平之间的关系, 发现 SCN7A 表达水平与肥大细胞(Mast cell)、树突状细胞(DC)、巨噬细胞(Macrophages)、滤泡辅助性 T 细胞(TFH)浸润水平正相关。肥大细胞通过释放 IL-1、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β 、MCP-3、MCP-4、白三烯 B4 (LTB4) 和胰凝乳蛋白酶来促进炎症、抑制肿瘤细胞生长和诱导肿瘤细胞凋亡。树突状细胞是一种抗原呈递细胞(APC), 可以分别通过 MHCI 和 MHCII 分子呈递抗原来激活 CD8⁺ 和 CD4⁺ T 细胞, 从而激活抗肿瘤 T 细胞反应。此外, DC 细胞通过产生 CXCL9/10 趋化因子来使效应 T 细胞迁移到肿瘤部位, DC 细胞的缺失有助于肿瘤的免疫逃逸以及对免疫检查点阻断(ICB)的反应有限, 这与本文的研究结果具有一致性[22]。既往研究证实, 通过基因干预手段敲低巨噬细胞中 Nav1.6 的表达可显著抑制其足小体(podosomes)结构的形成, 进而削弱巨噬细胞的定向迁移能力[23]。肺腺癌(LUAD)中 SCN7A 的低表达是否通过抑制相关免疫细胞的迁移功能, 进而介导肿瘤免疫逃逸机制, 仍有待通过深入的分子机制研究和细胞实验予以阐明。

尽管已经初步探索了免疫细胞在 LUAD 中与 SCN7A 表达量之间的关系, 但未来仍需进一步研究不同类型免疫细胞在胃癌发病及预后中作用的机制。

此外, 本研究通过试验进一步探讨了 SCN7A 的表达对 LUAD 肿瘤细胞生物学的影响。实验结果证实, 肺腺癌细胞系中 SCN7A 的表达较正常细胞低, 当肺腺癌细胞系中 SCN7A 过表达后, 肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭水平较对照组降低。

综上所述, 本研究利用生物信息学和临床样本证明 SCN7A 不仅在肺腺癌的诊断及预后评估中发挥着关键作用, 而且还参与了肺腺癌的免疫调节。此外, 本研究发现在肺腺癌细胞中过表达 SCN7A 后能使肿瘤的增殖、迁移、侵袭能力降低。因此, SCN7A 有潜力成为肺腺癌的生物标志物和治疗靶点。但仍需对 SCN7A 功能做进一步探索, 深入理解其在肺腺癌中参与的发病机制以及其在免疫和靶向治疗中的作用。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Giaquinto, A.N. and Jemal, A. (2024) Cancer Statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **74**, 12-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21820>
- [2] Leiter, A., Veluswamy, R.R. and Wisnivesky, J.P. (2023) The Global Burden of Lung Cancer: Current Status and Future Trends. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **20**, 624-639. <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00798-3>
- [3] Alduais, Y., Zhang, H., Fan, F., Chen, J. and Chen, B. (2023) Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Medicine*, **102**, e32899. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000032899>
- [4] Kwong, K. and Carr, M.J. (2015) Voltage-Gated Sodium Channels. *Current Opinion in Pharmacology*, **22**, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2015.04.007>
- [5] Bennett, D.L., Clark, A.J., Huang, J., Waxman, S.G. and Dib-Hajj, S.D. (2019) The Role of Voltage-Gated Sodium Channels in Pain Signaling. *Physiological Reviews*, **99**, 1079-1151. <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2017>
- [6] Li, W., Zhou, K., Li, M., Hu, Q., Wei, W., Liu, L., et al. (2022) Identification of SCN7A as the Key Gene Associated with Tumor Mutation Burden in Gastric Cancer. *BMC Gastroenterology*, **22**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/s12876-022-02112-4>
- [7] Yuan, P., Rao, W., Lin, Z., Liu, S., Lin, X., Wu, C., et al. (2022) Genomic Analyses Reveal SCN7A Is Associated with the Prognosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Esophagus*, **19**, 303-315. <https://doi.org/10.1007/s10388-021-00898-y>
- [8] Ma, C. (2024) A Novel Gene Signature Based on Immune Cell Infiltration Landscape Predicts Prognosis in Lung Adenocarcinoma Patients. *Current Medicinal Chemistry*, **31**, 6319-6335. <https://doi.org/10.2174/0109298673293174240320053546>
- [9] Yan, Y., He, W., Chen, Y., Li, Q., Pan, J., Yuan, Y., et al. (2022) Comprehensive Analysis to Identify the Encoded Gens of Sodium Channels as a Prognostic Biomarker in Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Genetics*, **12**, Article 802067. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.802067>
- [10] Ma, C., Luo, H., Cao, J., Zheng, X., Zhang, J., Zhang, Y., et al. (2020) Identification of a Novel Tumor Microenvironment-Associated Eight-Gene Signature for Prognosis Prediction in Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **7**, Article 571641. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.571641>

-
- [11] Cai, G., Sun, M., Li, X. and Zhu, J. (2021) Construction and Characterization of Rectal Cancer-Related LncRNA-mRNA Cerna Network Reveals Prognostic Biomarkers in Rectal Cancer. *IET Systems Biology*, **15**, 192-204. <https://doi.org/10.1049/syb2.12035>
- [12] Ko, J., Ko, E.A., Gu, W., Lim, I., Bang, H. and Zhou, T. (2013) Expression Profiling of Ion Channel Genes Predicts Clinical Outcome in Breast Cancer. *Molecular Cancer*, **12**, Article No. 106. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-106>
- [13] Kocher, F., Hilbe, W., Seeber, A., Pircher, A., Schmid, T., Greil, R., *et al.* (2015) Longitudinal Analysis of 2293 NSCLC Patients: A Comprehensive Study from the TYROL Registry. *Lung Cancer*, **87**, 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.12.006>
- [14] 宋勇, 高健伟. 精准医学时代的晚期非小细胞肺癌内科治疗进展[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(11): 1121-1127.
- [15] Dolivo, D., Rodrigues, A., Sun, L., Li, Y., Hou, C., Galiano, R., *et al.* (2021) The Nax (SCN7A) Channel: An Atypical Regulator of Tissue Homeostasis and Disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **78**, 5469-5488. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03854-2>
- [16] Lin, S., Yu, X., Yan, H., Xu, Y., Ma, K., Wang, X., *et al.* (2024) E2F7 Serves as a Potential Prognostic Biomarker for Lung Adenocarcinoma. *Medicine*, **103**, e34342. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000034342>
- [17] Wang, Z., Zheng, Z., Wang, B., Zhan, C., Yuan, X., Lin, X., *et al.* (2024) Characterization of a G2M Checkpoint-Related Gene Model and Subtypes Associated with Immunotherapy Response for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Heliyon*, **10**, e29289. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29289>
- [18] Wang, G., Chen, L., Qin, S., Zhang, T., Yao, J., Yi, Y., *et al.* (2022) Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1: From a Nutrient Sensor to a Key Regulator of Metabolism and Health. *Advances in Nutrition*, **13**, 1882-1900. <https://doi.org/10.1093/advances/nmac055>
- [19] Stine, Z.E., Walton, Z.E., Altman, B.J., Hsieh, A.L. and Dang, C.V. (2015) MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer Discovery*, **5**, 1024-1039. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-15-0507>
- [20] Eulberg, D., Frömming, A., Lapid, K., Mangasarian, A. and Barak, A. (2022) The Prospect of Tumor Microenvironment-Modulating Therapeutical Strategies. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article 1070243. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1070243>
- [21] Fortes, C., Mastroeni, S., Caggiati, A., Passarelli, F., Ricci, F. and Michelozzi, P. (2020) High Level of Tils Is an Independent Predictor of Negative Sentinel Lymph Node in Women but Not in Men. *Archives of Dermatological Research*, **313**, 57-61. <https://doi.org/10.1007/s00403-020-02067-0>
- [22] Abascal, J., Oh, M.S., Licican, E.L., Dubinett, S.M., Salehi-Rad, R. and Liu, B. (2023) Dendritic Cell Vaccination in Non-Small Cell Lung Cancer: Remodeling the Tumor Immune Microenvironment. *Cells*, **12**, Article 2404. <https://doi.org/10.3390/cells12192404>
- [23] Carrithers, M.D., Chatterjee, G., Carrithers, L.M., Offoha, R., Iheagwara, U., Rahner, C., *et al.* (2009) Regulation of Podosome Formation in Macrophages by a Splice Variant of the Sodium Channel Scn8a. *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 8114-8126. <https://doi.org/10.1074/jbc.m801892200>