**DOI:** 10.14188/j.1671-8852.2024.1019
**文章编号** 1671-8852(2025)12-1559-13

# Homer2在胃癌中的诊断价值及功能研究

张 钰 刘凤莲 涂建成
武汉大学中南医院检验科 湖北 武汉 430071

**摘要** 目的：分析Homer2基因在胃癌（GC）中的表达水平，评估其在GC中的诊断和预后价值，探究其在GC发生发展中的作用，并分析其与GC肿瘤免疫浸润水平的相关性，预测其是否可作为GC的免疫治疗靶点。方法：（1）通过癌症基因组图谱（TCGA）和人类蛋白质图谱（HPA）数据库获取Homer2在GC中的表达数据；（2）结合临床信息探究Homer2表达水平与临床特征相关性，采用受试者工作特征（ROC）曲线评估其诊断价值；（3）通过GO和KEGG功能富集分析预测Homer2的潜在功能；（4）通过CellMarker和TISIDB数据库分析Homer2与GC肿瘤免疫浸润水平相关性；（4）收集GC患者外周血及临床组织样本，检测Homer2的mRNA表达水平对生物信息学分析结果加以验证；（5）检测常见GC细胞系中Homer2的mRNA和蛋白质表达水平并进行细胞功能学实验；（6）通过OE-Homer2慢病毒感染NCI-N87和AGS细胞过表达Homer2，通过CCK-8细胞增殖实验、克隆形成实验、细胞划痕实验和Transwell侵袭实验观察NCI-N87和AGS细胞的增殖、迁移和侵袭能力的变化。结果：（1）Homer2在GC组织中表达下调，其表达水平与病理分期、组织学分级、原发肿瘤大小分期和淋巴结转移分期水平呈负相关；（2）基于Homer2表达水平的ROC曲线的曲线下面积（*AUC*）为0.76（95%*CI*：0.691～0.829）；（3）Homer2参与Wnt信号通路、参与单原子离子通道络合物且能影响DNA结合转录因子活性及RNA聚合酶Ⅱ的特异性，且与肌动蛋白细胞骨架的调节、MAPK、钙离子、Wnt以及mTOR信号通路的调节有相关性；（4）Homer2表达水平与GC肿瘤免疫浸润水平有一定相关性；（5）Homer2在GC患者外周血及组织中低表达，过表达Homer2后NCI-N87和AGS细胞系的体外增殖、迁移和侵袭能力降低。以上结果差异均有统计学意义（$P<0.05$）。结论：Homer2在GC中表达下调；Homer2低表达与GC不良预后相关；Homer2可作为GC的诊断标志物和潜在的免疫治疗靶点。

**关键词** 胃癌；HOMER家族；Homer2；肿瘤免疫；肿瘤；诊断标志物
**中图分类号** R735.2
**文献标识码** A
**开放科学（资源服务）标识码（OSID）：**

# Diagnostic and functional value of Homer2 in gastric cancer

**ZHANG Yu, LIU Fenglian, TU Jiancheng**
*Department of Laboratory Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China*

**Abstract**

**Objective:** o analyze the expression level of the Homer2 gene in gastric cancer (GC), to evaluate its diagnostic and prognostic value, to explore its role in GC development, to analyze its correlation with tumor immune-infiltration levels, and to assess its potential as an immunotherapy target for GC. **Methods:** Homer2 expression data in GC were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Human Protein Atlas (HPA) databases, and clinical information was combined to investigate the correlation between Homer2 expression levels and clinical characteristics. The diagnostic value of Homer2 was evaluated using the receiver operating characteristic (ROC) curve. The function of Homer2

**作者简介**：张钰，女，1995—，医学硕士生，主要从事胃癌、肝癌标志物及其分子机制研究，E-mail：chrisss1226@whu.edu.cn；刘凤莲，女，2001—，医学硕士生，主要从事胃癌标志物及其分子机制研究，E-mail：LFL017@whu.edu.cn。张钰、刘凤莲为本文共同第一作者
**通信作者**：涂建成，男，1962—，医学博士，教授，主要从事肝细胞癌发生发展的分子机制研究，E-mail：jianchengtu@whu.edu.cn

was predicted through GO and KEGG functional enrichment analysis. The correlation between Homer2 and tumor immune infiltration level was evaluated using CellMarker 2.0, an integrated repository portal for tumor-immune system interactions (TISIDB) databases. Peripheral blood samples and tumor and non-tumor samples of GC patients were collected to detect the mRNA expression level of Homer2. Moreover, the mRNA and protein expression levels of Homer2 were detected in common GC cell lines. Homer2 expression was reduced in GC cells via lentivirus infection. Cellular assays, including CCK-8 proliferation, clone formation, cell scratch, and Transwell invasion assays, were conducted to observe changes in cell proliferation, migration, and invasion abilities. **Results:** The bioinformatics analysis showed that Homer2 expression was downregulated in GC tissues and negatively correlated with pathological staging, histological grading, primary tumor size, and lymph node metastasis. The *AUC* value of the ROC curve was 0.76 (95%*CI*: 0.691-0.829). Homer2 was involved in the Wnt signaling pathway and ion channel complexes. It can also affect the activity of DNA-binding transcription factors and RNA polymerase Ⅱ. Furthermore, Homer2 was related to the regulation of the actin cytoskeleton, MAPK, calcium ion, Wnt, and mTOR signaling pathways. The expression level of Homer2 was correlated with the immune infiltration level in GC tumors. Homer2 was found to be downregulated in the peripheral blood and tissue samples of patients with GC. Overexpression of Homer2 reduced the *in vitro* proliferation, migration, and invasion of GC cells ($P<0.05$). **Conclusion:** The expression of Homer2 was downregulated in GC, and low expression of Homer2 was associated with poor prognosis. Homer2 can be used as a diagnostic marker and a potential target for immunotherapy in GC.

**Key Words** Gastric Cancer; Homer Family; Homer2; Tumor Immune Infiltration; Cancer; Diagnostic Biomarker

胃癌(gastric cancer,GC)是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一,对人类健康构成严重威胁。根据2020年全球癌症统计数据显示,胃癌新发病例约104万例,占所有恶性肿瘤的5.6%,死亡病例约76.8万例,位居癌症死亡原因第四位[1]。在中国,胃癌发病率和死亡率均位居恶性肿瘤前列,2020年新发病例约47.8万例,死亡病例约37.3万例,发病率和死亡率分别为27.6/10万和22.1/10万[2]。

Homer2作为一种支架蛋白,已被证实在多种恶性肿瘤中发挥关键作用。Homer2通过与多种信号分子相互作用,参与调控细胞内的信号传导通路。这些信号通路在细胞的增殖、分化、凋亡等过程中发挥着重要作用。在恶性肿瘤中,Homer2的异常表达可能导致信号传导通路的紊乱,进而促进肿瘤细胞的增殖和侵袭能力[3]。此外,研究[4]表明,Homer2在原发性肝癌中的表达水平升高,可能与肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力有关。同样的,Homer2在子宫低级别子宫内膜样腺癌中的高表达提示了可能参与子宫内膜样子宫肿瘤的肿瘤发生[5]。由于Homer2在恶性肿瘤中的重要作用,它已成为潜在的治疗靶点。通过抑制Homer2的功能或表达,可以抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭能力,从而达到治疗肿瘤的目的。目前,已有一些针对Homer2的靶向治疗药物正在研发中,这些药物的疗效和安全性正在进一步评估中。

基于以上研究背景,本研究深入探讨Homer2在胃癌中的表达特征及其临床应用价值具有重要的理论和实践意义。本研究通过收集胃癌患者的临床标本,采用多种实验方法检测Homer2的表达水平,分析其与临床病理特征的关系,评估其在胃癌诊断和预后判断中的应用前景。

## 1 材料与方法

**1.1 生物信息学分析** 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库获得375例GC患者组织和32例正常组织(其中包括27对癌及癌旁配对组织)的mRNA表达数据。从人类蛋白质图谱(Human Protein Atlas,HPA)数据库下载肿瘤组织和正常组织中的免疫组织化学染色图谱。用SPSS分析Homer2表达与临床特征间的相关性及

其诊断和预后价值。通过R4.2.1软件分析TCGA数据库Homer2表达水平与GC免疫细胞浸润水平的相关性；通过TISIDB（an integrated repository portal for tumor-immune system interactions）数据库分析Homer2和GC中肿瘤浸润淋巴细胞丰度的相关性。利用CellMarker 2.0数据库查询免疫细胞的标志基因，利用TISIDB数据库查询常见免疫检查点，对Homer2与免疫细胞标志物和免疫检查点的表达水平进行Spearman相关性分析。

**1.2　外周血有核细胞分离与裂解**　取1 mL外周血至RNase-free离心管中，加入2 mL红细胞裂解液，用移液器吹打混匀，冰浴15 min，其间涡旋震荡2次使红细胞完全裂解，待溶液清亮透明，则说明红细胞基本全部裂解，4 ℃，450 *g*离心10 min，小心取出离心管，可见管底有白色沉淀，即为白细胞，小心弃去上清。向上述沉淀中再加入1 mL红细胞裂解液，用移液器轻轻吹打充分悬浮白细胞，4 ℃，450 *g*离心10 min后弃去上清，向所得沉淀中加入500 μL DEPC $H_2O$洗涤沉淀，用移液器轻轻吹打混匀后，4 ℃，450 *g*离心2 min，小心吸弃上清。向最后得到的白细胞沉淀中加入1 mL RNA isolater裂解液，涡旋震荡混匀后冰上静置5 min使细胞完全裂解，得到的细胞裂解液用于后续RNA提取，可暂存于－80 ℃备用。外周血样本及经武汉大学中南医院伦理委员会审批（No. 2022206K）。

**1.3　组织样本的收集与处理**　收集2023年10月至2024年8月在武汉大学中南医院胃肠外科进行胃癌切除手术的50例GC患者的癌组织及其癌旁组织。收集临床胃癌患者的临床病理信息，包括性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤大小、分化程度、病理分期、Lauren分型、病理分型、浸润范围、淋巴结转移、远处转移、脉管侵犯、神经侵犯、CEA、CA-125和CA-199。临床手术组织样本收集经武汉大学中南医院伦理委员会审批（No. 2022206K）。

将组织样本从－80 ℃冰箱中取出后置于冰上，用灭菌后的镊子和剪刀将组织样本剪20 mg于RNase-free离心管中后，继续用剪刀将样品剪成细腻的碎片，加入直径为3 mm的钢珠4～6颗与1 mL RNA isolater裂解液。将离心管置入低温研磨仪，设置程序为1 000 r•min$^{-1}$，振动时间为5 min，4 ℃。研磨完成后将得到的裂解液置于－80 ℃备用于RNA提取。

**1.4　实时荧光定量PCR**　使用TOYOBO qRT-PCR试剂盒（货号PK-201T）检测目的基因在细胞系及组织内mRNA表达量，以GAPDH基因为内参。所涉及的引物序列见表1，根据$2^{-\Delta ct}$值计算相对表达量。

**表1　引物及目的基因上下游引物序列**

| 引物名称 | 引物序列（5′—3′） |
|---|---|
| GAPDH-F | AGAAGGCTGGGGCTCATTTG |
| GAPDH-R | GCAGGAGGCATTGCTGATGAT |
| Homer2-F | TCACCGTTTCCTACTTCTATG |
| Homer2-R | CCTGCGTCTTGTCTTTGG |

**1.5　Western Blot**　浓度为1%PMSF蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液提取细胞总蛋白之后用BCA法测定蛋白质浓度。将40 μg蛋白质加载至10%SDS-PAGE凝胶电泳，浓缩压80 V，分离压120 V，后转至0.22 μm硝酸纤维素膜。经5%脱脂牛奶封闭2 h及1×TBST清洗5次后，与一抗4 ℃过夜孵育（β-actin为内参）。第2天再室温与二抗孵育1 h，1×TBST清洗5次，用ECL显影，ImageJ分析蛋白表达。

**1.6　细胞实验**

**1.6.1**　*细胞培养*　GES-1、AGS和NCI-N87细胞培养于含10%胎牛血清（Fetal bovine serum，FBS）和1%青霉素-链霉素双抗（P-S）的RPMI-1640培养基；293T细胞培养于含10%FBS和1%P-S的DMEM高糖培养基。所有细胞均置于37 ℃、5% $CO_2$细胞培养箱培养。

**1.6.2**　*构建稳转细胞株*　取对数生长期的AGS和NCI-N87细胞，分为过表达组和阴性对照组，以每孔$6\times10^5$的密度接种于6孔板中，待细胞密度达到80%以上时，分别使用慢病毒包被的OE-Homer2质粒和Vector空载质粒进行转染。慢病毒感染细胞后继续培养24 h后，将上清液更换为新鲜培养基继续培养72 h，在荧光显微镜下观察荧光强度并用qPCR及Western Blot检测慢病毒感染效率；更换为含嘌呤霉素的培养基，培养7 d，筛选出稳定过表达Homer2的细胞株。

**1.6.3**　*细胞划痕实验*　在6孔板底面预划3～5条水平线标记拍照位，每孔接种$6\times10^5$个对数生长期稳转细胞，培养24 h至密度＞90%后，用200 μL枪头于每孔中央竖划划痕，PBS清洗后换无血清培养基。分别在初始，24 h和48 h用倒置显微镜观察划痕并拍照，最后以ImageJ软件分析细胞迁移速率。

**1.6.4**　*CCK-8细胞增殖实验*　将对数生长期稳转细胞以每孔$3\times10^3$个接种于96孔板（实验组和阴性对照），空白对照加100 μL培养基，外围加PBS防蒸

发,共铺4板。置37 ℃、5% $CO_2$培养。分别在细胞贴壁、24 h、48 h、72 h时,每孔加10 μL CCK-8后于37 ℃孵育1 h,用酶标仪测450 nm吸光度,根据吸光度值绘制生长曲线。

**1.6.5 克隆形成实验** 将对数生长期稳转细胞以每孔$1\times10^3$个接种6孔板,细胞培养箱中培养14 d,每3 d换液,克隆形成(>50细胞/克隆)后终止。弃上清培养基,加入1 mL PBS清洗后加入1 mL 4%多聚甲醛固定30 min,再用PBS冲洗,然后加入1 mL 0.1%结晶紫染色30 min,PBS洗至无色,晾干后对6孔板拍照。

**1.6.6 Transwell侵袭实验** 侵袭实验前,将细胞培养基更换为无血清培养基使细胞瓶饥饿24 h。基质胶4 ℃解冻后1∶8无血清培养基稀释,铺于8 μm Transwell上室,置于37 ℃培养箱中观察凝固状况。稳转细胞消化离心后无血清培养基重悬,每孔$2\times10^4$个接种上室,下室加700 μL完全培养基(20%FBS和1%P-S)。培养48 h后,PBS冲洗3次后加入500 μL 4%多聚甲醛固定30 min,再用PBS冲洗3次后加入500 μL 0.1%结晶紫染色30 min,使用PBS将其冲净至无明显紫色,棉签擦去上室细胞,晾干。倒置显微镜观察拍照,ImageJ计数侵袭细胞。

**1.7 统计学分析** 采用SPSS 26.0、GraphPad Prism 9.5.1和R Studio 4.2.1等工具对数据进行统计分析和可视化呈现。计量数据的描述方式如下:符合正态分布且方差齐的数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示;非正态分布数据以中位数(四分位数间距)[$M(P_{25},P_{75})$]表示,计数数据以例(%)呈现。符合正态分布且方差齐性的数据,采用$t$检验或单因素方差分析(ANOVA);若数据符合正态分布但方差不齐,采用Welch $t$检验及Welch单向方差分析;非正态分布数据则采用Mann-Whitney $U$检验与Kruskal-Wallis检验;计数数据采用$\chi^2$检验;组间相关性分析采用Spearman秩相关法。以$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 公共数据库分析显示Homer2在GC中低表达** 为探究Homer2在胃癌(GC)中的mRNA及蛋白质表达情况,本研究对TCGA和HPA两大公共数据库中的Homer2表达数据进行了系统分析。通过对比GC组织与正常胃组织的非配对样本,发现GC组织中的Homer2 mRNA水平显著低于正常组织($U=9121$,$P<0.001$,图1A);配对样本分析也显示在GC组织与其邻近非癌组织之间,Homer2的mRNA水平存在显著差异,GC组织中的表达水平明显下调($t=8.808$,$P<0.01$,图1B)。结果证明Homer2在GC中的潜在抑制作用,提示其可能在肿瘤的生物学特性中发挥重要作用。

HPA数据库中免疫组织化学染色数据结果显示,与癌旁组织相比,GC组织中的Homer2蛋白表达同样显著降低(图1C)。为了评估Homer2表达与GC临床病理特征之间的潜在联系,对TCGA数据库中的GC患者进行了基线特征分析(见表2)。统计结果表明,Homer2的表达水平与GC的病理学分级存在显著的统计学意义($\chi^2=9.979$,$P=0.007$)。这意味着,Homer2的表达情况可能与肿瘤的恶性程度相关,提示其在胃癌的进展和预后中可能发挥重要作用。

**2.2 Homer2在GC患者外周血以及胃癌细胞系中低表达** 为进一步探讨Homer2在GC患者中的表达情况,本研究分析了临床GC患者、慢性萎缩性胃炎(CAG)患者以及健康体检者的外周血样本中Homer2的mRNA表达水平。受试者的基本信息详见表3,Homer2表达量与GC患者临床病理特征的相关性分析结果见补充表1(手机扫描本文OSID可见)所示。RT-qPCR结果显示GC组受试者的外周血中Homer2的mRNA表达水平显著低于CAG组和健康对照组,统计分析结果显示$F=44.49$,$P<0.01$(图2A)。

除外周血样本的分析,还对多种常见的胃癌细胞系(如NCI-N87和AGS细胞系)以及正常胃黏膜上皮细胞(GES-1)进行了Homer2的mRNA表达水平检测。结果显示,Homer2在NCI-N87细胞($P<0.000\ 1$)和AGS细胞($P<0.000\ 1$)中的表达水平显著低于正常的GES-1细胞(图2B)。Western Blot试验检测了常见胃癌细胞系和人正常胃黏膜上皮细胞GES-1中Homer2的蛋白表达水平,发现Homer2的蛋白表达水平在NCI-N87细胞和AGS细胞中均低于GES-1细胞($P<0.001$)(图2C)。

**2.3 Homer2在GC患者组织中低表达** 对50对GC患者的癌组织及其配对的癌旁组织进行了Homer2 mRNA和蛋白表达量的检测。患者的临床病理特征与Homer2相对表达量的相关性分析结果显示,胃癌组织(0.041±0.020)显著低于癌旁组织

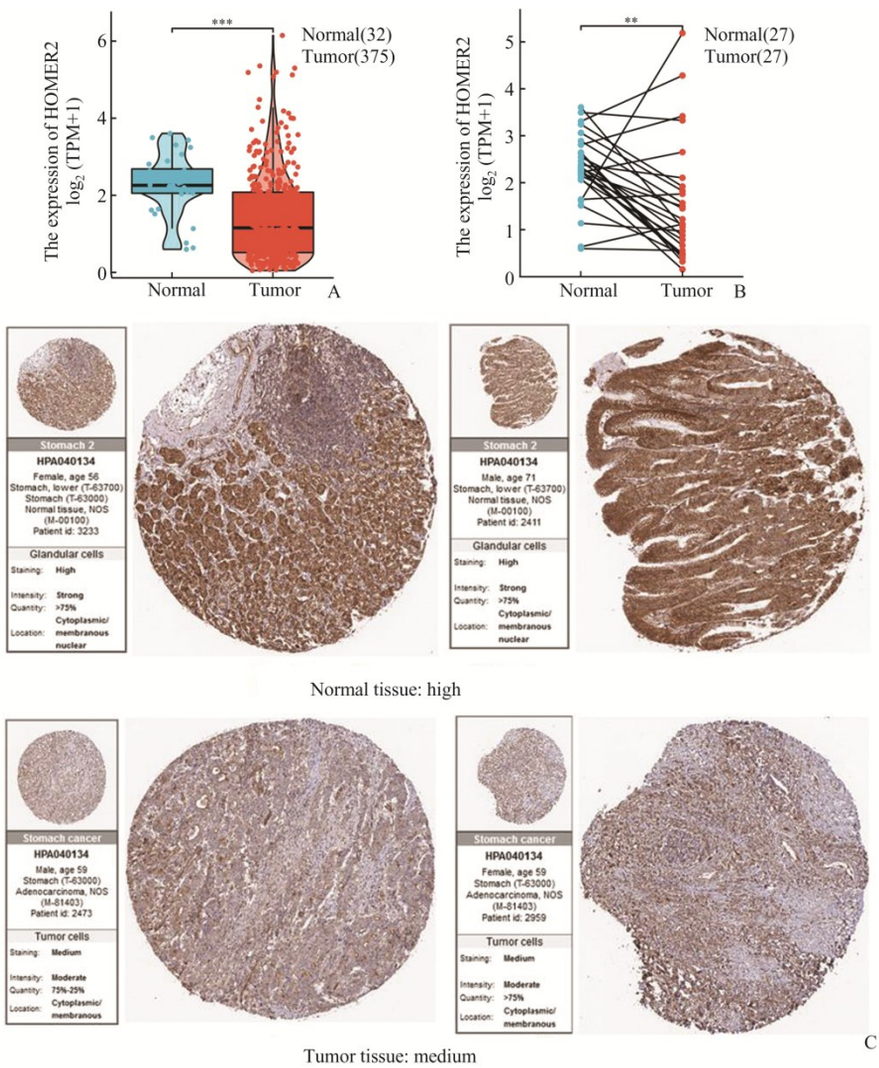



**图 1　TCGA 和 HPA 数据库 Homer2 在 GC 中表达水平**

A. 非配对样本(Mann-Whitney $U$ 检验);B. 配对样本(配对样本 $t$ 检验);C. HPA 数据库的免疫组织化学染色图。$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$。

(0.062±0.030,$P<0.000\ 1$),详见补充表 2(手机扫描本文 OSID 可见)。RT-qPCR 结果显示,与癌旁组织相比,GC 组织中 Homer2 的表达显著降低($P<0.000\ 1$),结果见图 3A。这表明 Homer2 在胃癌组织中的低表达可能与肿瘤的发生和发展密切相关。瀑布图更直观呈现 Homer2 的表达,结果显示,78.0%(39/50)的 GC 组织中 Homer2 表达下调,其中 36.0%(18/50)的组织样本中 Homer2 的表达下调幅度至少为两倍(见图 3B)。

**2.4　Homer2 与 GC 临床病理特征的相关性**　通过对 TCGA 数据库中 GC 患者的 Homer2 表达量进行分析,发现不同临床及病理特征的 GC 患者在 Homer2 表达水平上存在显著差异。随着 Homer2 表达量的增加,临床信息、病理分期、病理分级和组织学诊断在 TCGA 数据库中的分布呈现出不对称性(见图 4A)。这一发现提示 Homer2 的表达可能与胃癌的临床特征密切相关。

进一步比较分析显示,Homer2 的表达在不同病理分期和分级的患者中有显著差异。相较于低级别的病理分期和病理分级,Homer2 在 Stage Ⅲ和Ⅳ期的患者中显著低表达($t=2.249$,$P=0.025\ 2$);在病理分级为 G3 的患者中也呈现出类似的趋势($t=2.163$,$P=0.031\ 2$)。此外,肿瘤大小(T 分期)为 T3 和 T4 的患者($t=2.348$,$P=0.019\ 4$)以及淋巴结受累(N 分期)为 N1、N2 和 N3 的患者($t=2.517$,$P=0.031\ 4$)中,Homer2 的表达水平显著低于其他组别(见图 4B~4E)。这些结果表明,Homer2 在不同病理特征上展现出特异的分子表达趋势,可能反映出其在胃癌进展中的重要作用。然而,在 M0 与 M1 分期、年龄小于和大于等于 60 岁的

**表2 胃癌患者(TCGA-STAD)临床基线特征表**[例(%)]

| 临床特征 | Homer2低表达($n$=187) | Homer2高表达($n$=188) | $\chi^2$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|
| T分期 | | | 0.566 | 0.904 |
| T1 | 8(4.3) | 11(6.0) | | |
| T2 | 40(21.7) | 40(21.9) | | |
| T3 | 86(46.7) | 82(44.8) | | |
| T4 | 50(27.3) | 50(27.3) | | |
| N分期 | | | 5.628 | 0.131 |
| N0 | 59(32.4) | 52(29.7) | | |
| N1 | 42(23.1) | 55(31.4) | | |
| N2 | 36(19.8) | 39(22.3) | | |
| N3 | 45(24.7) | 29(16.6) | | |
| M分期 | | | 0.049 | 0.824 |
| M0 | 164(92.7) | 166(93.3) | | |
| M1 | 13(7.3) | 12(6.7) | | |
| 病理分期 | | | 2.092 | 0.554 |
| Stage Ⅰ | 27(15.0) | 26(15.1) | | |
| Stage Ⅱ | 52(28.9) | 59(34.3) | | |
| Stage Ⅲ | 83(46.1) | 67(39.0) | | |
| Stage Ⅳ | 18(10.0) | 20(11.6) | | |
| 病理分级 | | | 9.979 | 0.007 |
| G1 | 5(2.7) | 5(2.7) | | |
| G2 | 54(29.5) | 83(45.4) | | |
| G3 | 124(67.8) | 95(51.9) | | |
| 性别 | | | 0.154 | 0.695 |
| 男 | 122(65.2) | 119(63.3) | | |
| 女 | 65(34.8) | 69(36.7) | | |
| 年龄 | | | 3.073 | 0.08 |
| ≥60岁 | 137(73.7) | 122(64.9) | | |
| <60岁 | 50(26.3) | 66(35.1) | | |

患者、性别等方面,Homer2的表达水平并未显示出显著差异(见图4F~4H)。这进一步说明Homer2的表达变化与某些临床病理特征的相关性更为显著,而在其他因素上则可能并无明显影响。

**表3 外周血样本胃癌患者的基本临床特征表**[例(%)]

| 临床特征 | GC($n$=108) | CAG($n$=108) | Control($n$=87) | $\chi^2$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 性别 | | | | 13.930[a] | <0.001 |
| 男 | 77(71.3) | 52(48.1) | 44(50.6) | | |
| 女 | 31(28.7) | 56(51.9) | 43(49.4) | | |
| 年龄 | | | | 77.815[a] | <0.001 |
| ≥60岁 | 78(72.2) | 69(63.9) | 11(12.6) | | |
| <60岁 | 30(27.8) | 39(36.1) | 76(87.4) | | |

**2.5 Homer2在GC中的诊断价值** ROC曲线分析TCGA数据库胃癌组织和癌旁组织Homer2的表达显示,其区分GC组织和正常组织的曲线下面积(area under the curve, $AUC$)为0.760(95%$CI$:0.691~0.829),当最佳临界值为2.016时,Homer2的敏感性、特异性和准确性分别为73.6%、78.1%和74.0%,阳性预测值为97.5%,阴性预测值为20.2%(图5A)。

ROC曲线分析临床样本中Homer2的诊断效能,将临床样本分为三组进行比较:GC与健康对照、GC与CAG、CAG与健康对照。当最佳临界值为0.025时,Homer2区分GC与对照的$AUC$为0.784,Homer2的敏感性和特异性分别为47.2%和97.7%;当最佳临界值为0.055时,Homer2区分GC与CAG的$AUC$为0.704,敏感性和特异性分别为88%和45.4%(图5B~5D)。不同组别间的$AUC$结果汇总于表4,进一步表明Homer2可能是有前景的诊断GC的生物标志物。尽管Homer2在某些对照组中展现了良好的敏感性,但其特异性在某些情况下有所下降,提示在临床应用中可能需要结合其他生物标志物或检测手段以提高诊断的准确性。

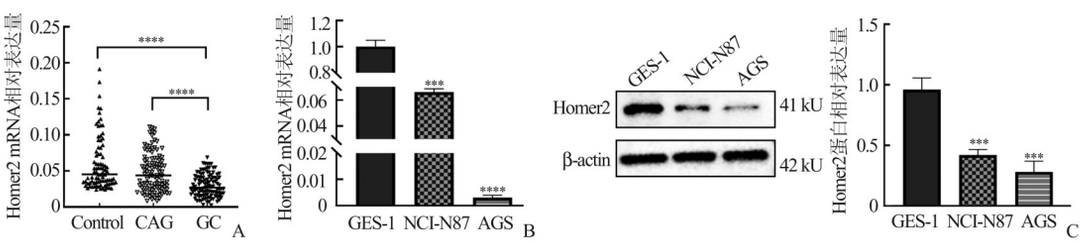



**图2 临床患者外周血和胃癌细胞系中Homer2表达水平**

A.临床患者外周血中Homer2 mRNA表达水平(单因素方差分析);B.GC细胞系中Homer2 mRNA水平(单因素方差分析);C.GC细胞系中Homer2蛋白水平(单因素方差分析)。$^{***}P$<0.001,$^{****}P$<0.000 1。

**2.6 Homer2的潜在功能分析** 以Homer2的表达中位值为临界点将TCGA-STAD数据库中Homer2相关基因的RNASeq数据分为高表达组和低表达组,通过Spearman统计方法以FDR<0.05且$|\log_2FC|$>2为差异表达基因(differential expression gene,DEG)筛选阈值,以低表达组为对照,高表达组中共鉴定出343个DEGs(19个上调和324个下调),DEGs火山图如图6A所示。Homer2与相关性

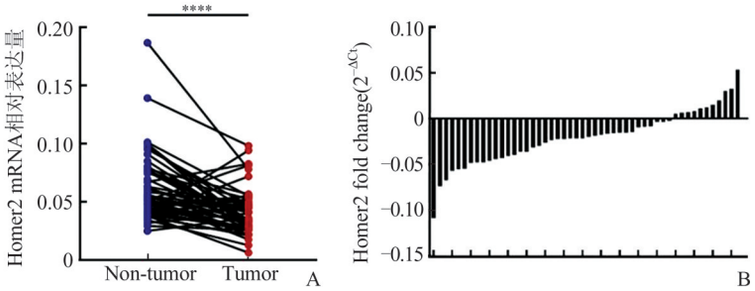



**图 3　临床患者胃癌组织中 Homer2 表达水平**

A. 临床胃癌患者癌及癌旁组织中 Homer2 mRNA 表达水平（$t$ 检验配对分析）；B. 临床胃癌患者癌及癌旁组织中 Homer2 mRNA 表达差异倍数。$^{****}P<0.000\ 1$。

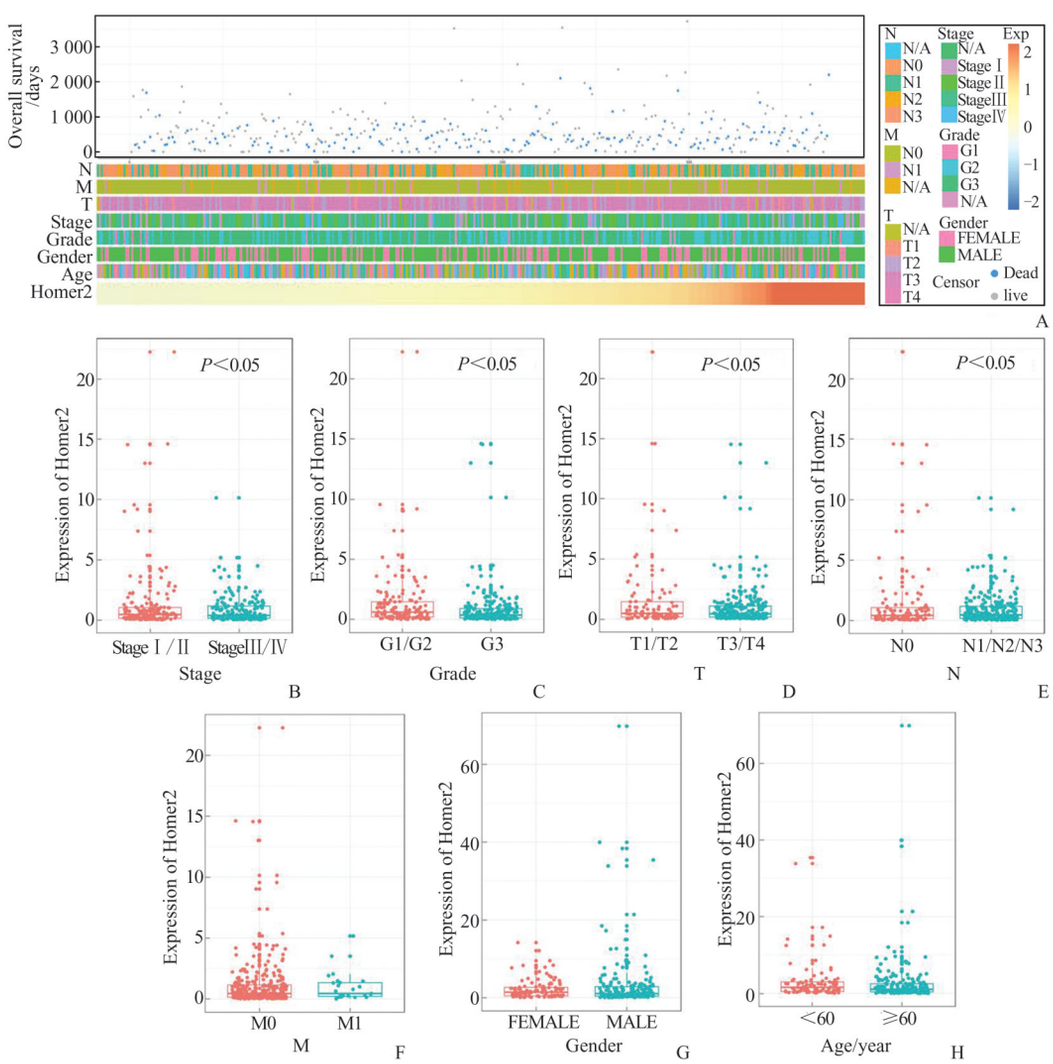



**图 4　Homer2 mRNA 表达与 GC 临床病理特征的关系**

A. TCGA 数据库中 GC 与 Homer2 相关临床病理特征的分布；B. 病理分期（非配对样本 $t$ 检验）；C. 病理分级（非配对样本 $t$ 检验）；D. T 分期（非配对样本 $t$ 检验）；E. N 分期（非配对样本 $t$ 检验）；F. M 分期（非配对样本 $t$ 检验）；G. 性别（非配对样本 $t$ 检验）；H. 年龄（非配对样本 $t$ 检验）。

最高的 25 个基因之间的相关性热图如图 6B 所示。将筛选出来的差异基因进行 GO 富集分析及 KEGG 富集分析，GO 富集分析结果显示这些差异基因主要参与 Wnt 信号通路、参与单原子离子通道络合物且能影响 DNA 结合转录因子活性及 RNA 聚合酶Ⅱ的特异性，KEGG 富集分析表明这些差异基因主要参与肌动蛋白细胞骨架的调节、MAPK、钙离子、Wnt 以及 mTOR 信号通路的调节（图 6C～6F）。

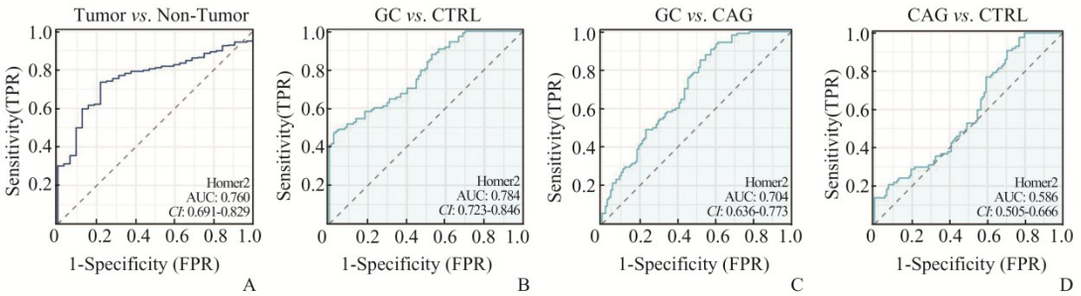



**图5 基于Homer2表达水平的ROC曲线**

A. TCGA数据库GC组织与癌旁组织，$AUC$=0.760(95%$CI$:0.691～0.829)；B. 临床血样本胃癌与健康对照，$AUC$=0.784(95%$CI$:0.723～0.846)；C. 临床血样本GC与CAG，$AUC$=0.704(95%$CI$:0.636～0.773)；D. 临床血样本CAG与健康对照，$AUC$=0.586(95%$CI$:0.505～0.666)。

**表4 临床样本组别ROC曲线结果**

| 分组 | $AUC$ | 95%$CI$ | $P$ | 敏感性/% | 特异性/% |
|---|---|---|---|---|---|
| GC *vs* Controls | 0.784 | 0.723～0.864 | <0.001 | 47.2 | 97.7 |
| GC *vs* CAG | 0.704 | 0.636～0.773 | <0.001 | 88.0 | 45.4 |
| CAG *vs* Controls | 0.586 | 0.505～0.666 | 0.040 | 97.7 | 23.1 |

此外，通过cBioPortal数据库搜索Homer2，找到了在GC中与其相互作用分数大于0.4的共表达基因。结果显示，ENTPD3($r$=0.589，$P$<0.01)、EEF1A2($r$=0.577，$P$<0.01)、KCNIP3($r$=0.535，$P$<0.01)和STOX2($r$=0.528，$P$<0.01)与Homer2之间的相互作用尤为显著(图7)。这些基因的表达与Homer2的高表达组密切相关，可能在GC的病理过程中共同发挥作用。因此，Homer2不仅在GC中表现出显著的表达变化，其相关基因的功能分析也揭示了其在多种信号通路中的潜在调节作用。

**2.7 Homer2与GC肿瘤免疫浸润水平相关** 通过TCGA数据库分析Homer2在泛癌肿瘤微环境中与免疫细胞浸润程度的相关性，结果显示Homer2在肿瘤中的表达与多种免疫细胞类型存在显著相关性(图8A)。进一步分析Homer2在GC中的免疫相关性发现，Homer2的表达水平与肥大细胞、NK细胞、亮型CD56 NK细胞以及Tγδ细胞的免疫浸润呈正相关，与大多数免疫细胞(如$CD8^+$ T细胞、树突状细胞、中性粒细胞和Th2细胞等)的免疫浸润则呈负相关(见图8B)。而相关性在Th2细胞($r$=－0.355)、暗型CD56NK细胞($r$=－0.3)和TReg细胞($r$=－0.284)中尤为显著，均为$P$<0.001(图8C～8E)。通过TISIDB数据库分析发现Homer2的表达水平与GC中肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)的丰度呈负相关，特别是与活化的$CD4^+$ T细胞($r$=－0.368，$P$<0.000 1)、活化的$CD8^+$T细胞($r$=－0.303，$P$<0.000 1)和调节性T细胞的相对丰度(见图9A～9C)有显著联系。

为进一步验证Homer2与免疫浸润水平的相关性，我们分析了其与免疫细胞标志物的关系。结果显示Homer2与多个免疫细胞标志物之间存在负相关，且均为$P$<0.05(见图9D)。结果表明Homer2在GC的免疫浸润中可能发挥特定作用。为探讨Homer2作为肿瘤免疫治疗靶标的潜力，我们还分析了Homer2与多种免疫检查点的相关性。结果显示，Homer2与免疫检查点分子CD96、HAVCR2、LGALS9、PDCD1LG2、TIGIT和LAG3之间存在显著的负相关($P$<0.05)(见图9E)。这一发现提示Homer2可能在调节肿瘤免疫微环境和免疫逃逸机制中发挥重要作用，为其作为潜在治疗靶点提供了新的研究方向。

**2.8 Homer2在GC细胞的过表达效率** 为了探究Homer2对GC发生发展的作用，通过细胞功能实验对Homer2在GC肿瘤细胞中的作用加以研究。根据前文3.1.2中Homer2在常见胃癌细胞系中的表达水平检测结果，选取Homer2表达水平较低的AGS和NCI-N87细胞系进行细胞学实验。使用慢病毒转染并通过嘌呤霉素筛选后获得稳定过表达Homer2的AGS和NCI-N87稳转细胞株，并通过qPCR和Western Blot实验分别验证Homer2的mRNA和蛋白质水平的过表达效率(图10)。

**2.9 过表达Homer2抑制GC细胞的增殖能力** 为了探究Homer2的表达水平对GC细胞增殖能力的影响，进行CCK-8细胞增殖实验和克隆形成实

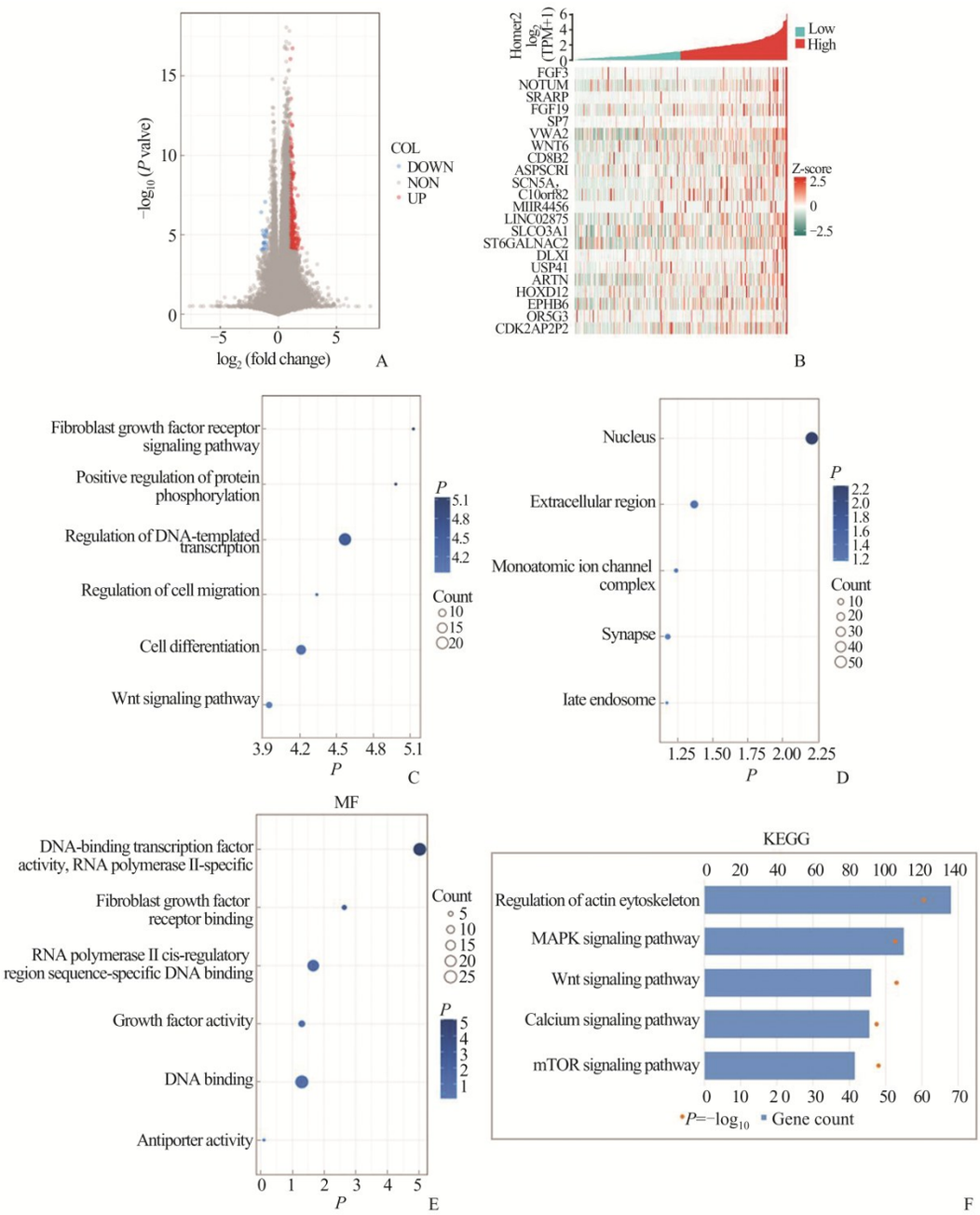



**图 6　GC 中 Homer2 相关差异表达基因及功能富集分析**

A. 差异表达基因火山图；B. Homer2 与相关性最强的 25 个基因的热图；C～E. 差异表达基因 GO 富集分析；F. 差异表达基因 KEGG 富集分析。

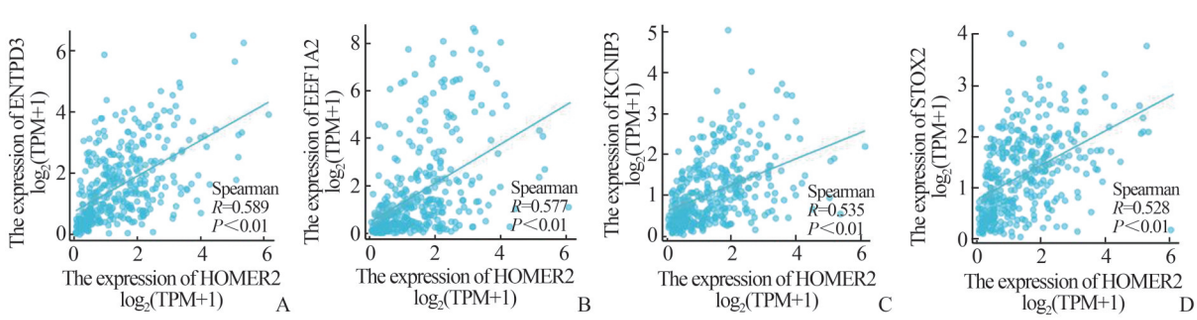



**图 7　GC 中 Homer2 共表达基因相关性散点图**

A. 与 ENTPD3 相关性；B. 与 EEF1A2 相关性；C. 与 KCNIP3 相关性；D. 与 STOX2 相关性。

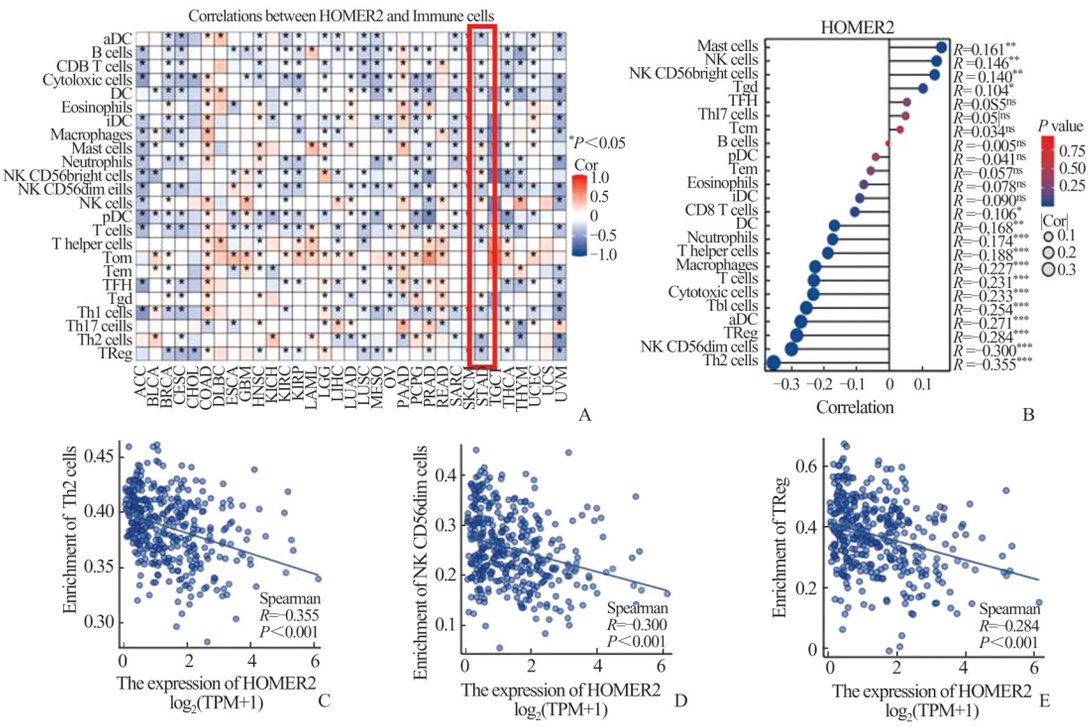



**图8 Homer2与肿瘤细胞免疫浸润水平的相关性**

A. Homer2在泛癌中与免疫细胞浸润程度相关性；B. Homer2在GC中与免疫细胞浸润程度相关性；C. Homer2与Th2细胞相关性；D. Homer2与CD56dim cells相关性；E. Homer2与TReg细胞相关性。ns：差异无统计学意义，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

验。CCK-8细胞增殖实验结果如图11A、11B所示，NCI-N87和AGS细胞的OE-Homer2过表达组细胞的增殖能力均低于对应的Vector组细胞，说明过表达Homer2表达可抑制胃癌细胞的增殖能力。克隆形成实验结果如图11C、11D所示，相对于Vector组细胞，NCI-N87和AGS细胞的OE-Homer2过表达组细胞的克隆形成能力显著降低，进一步证明了过表达Homer2可抑制胃癌细胞的增殖能力。

**2.10 过表达Homer2抑制GC细胞的迁移能力** 通过细胞划痕实验验证Homer2的表达水平对GC细胞迁移能力的影响，结果如图12所示，过表达组的NCI-N87和AGS细胞迁移率均低于对应的Vector组细胞，说明Homer2的过表达显著抑制了GC细胞的迁移能力，提示Homer2可能在肿瘤细胞的侵袭和转移中发挥抑制作用。此外，迁移能力的降低可能与细胞骨架的重组、细胞黏附分子的表达变化以及相关信号通路的调控有关。Homer2的过表达可能通过调节这些生物过程，影响细胞的运动能力，从而抑制肿瘤细胞的迁移和扩散。

**2.11 过表达Homer2抑制GC细胞的侵袭能力** Transwell侵袭实验探究了Homer2的表达水平对GC细胞侵袭能力的影响，结果如图13所示，过表达的NCI-N87和AGS细胞侵袭至小室下表面的细胞数均少于Vector组，说明过表达Homer2可抑制GC细胞的侵袭能力。侵袭能力的降低可能与细胞外基质的降解、细胞黏附分子的表达以及细胞迁移信号通路的调控密切相关。Homer2的过表达可能通过影响这些生物过程，抑制细胞在基质中的浸润能力，从而降低肿瘤细胞的侵袭力。此外，Homer2可能通过调节与细胞迁移和侵袭相关的基因表达，进一步影响肿瘤的转移潜力。

## 3 讨论

本研究初步验证了Homer2在胃癌组织中的低表达特征，这一发现与某些其他癌症中的报道相似，但值得注意的是，胃癌具有高度的异质性，其发生和发展涉及多种遗传和表观遗传改变[6-9]。因此，Homer2在胃癌中的表达模式可能受到多种因素的影响，包括基因多态性、表观遗传修饰（如DNA甲基化、组蛋白修饰）以及微环境因素的相互作用[10-12]。其次，本研究虽通过ROC曲线分析发现了Homer2在区分GC患者与健康个体中的诊断价值，但诊断准确性仍受限于样本量和检测方法的敏感性。为了进一步提高Homer2作为生物标志物的诊断效能，可探索基于多标志物的联合检测策略，结合其他已知的生物标志物，如CEA、

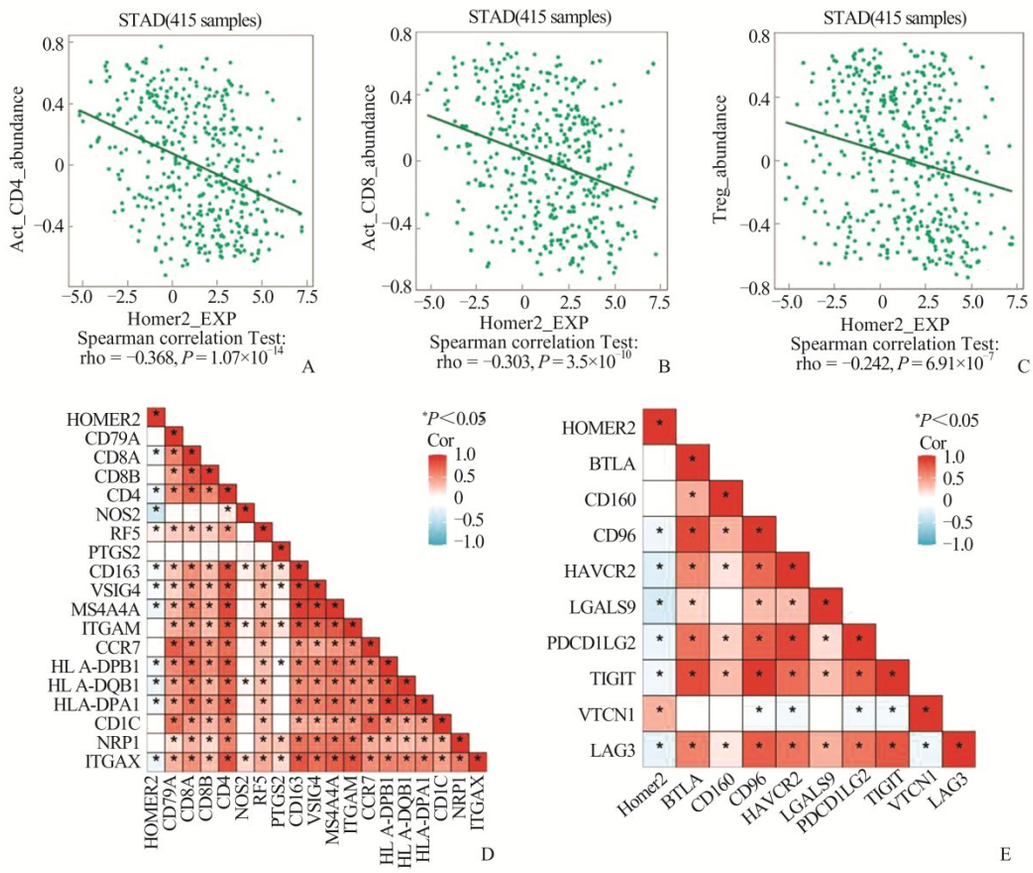



**图 9　Homer2 表达水平与 TILs 相关性及与免疫细胞标志物和免疫检查点的相关性热图**

A. Homer2 与活化 $CD4^+$ T 细胞相关性；B. Homer2 与活化 $CD8^+$ T 细胞相关性；C. Homer2 与 Treg 细胞相关性；D. Homer2 与多个免疫细胞标志物基因表达水平的相关性；E. Homer2 与免疫检查点基因表达水平的相关性。$^*P<0.05$。

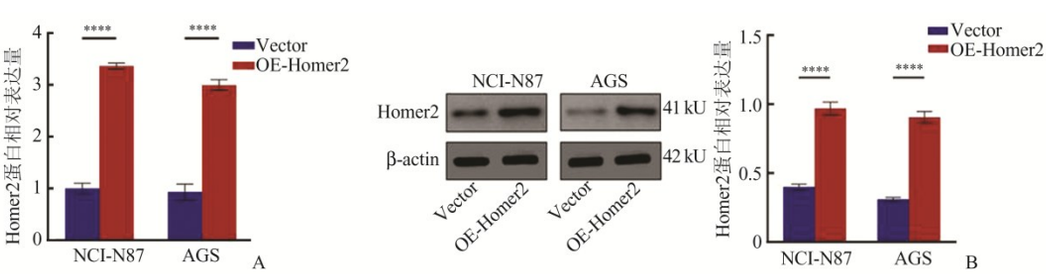



**图 10　NCI-N87 和 AGS 细胞 Homer2 过表达效率验证**

A. Homer2 mRNA 过表达水平；B. Homer2 蛋白过表达水平。双因素方差分析，$^{****}P<0.000\ 1$。

CA19-9 等，以构建更敏感和特异性的诊断模型。此外，开发更精确、高灵敏度的检测方法，如基于高通量测序或单细胞测序的技术，也是提高诊断准确性的关键[13-14]。

在功能实验部分，Homer2 的过表达显著抑制了胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。这表明 Homer2 可能作为 GC 的抑癌基因，通过调控关键信号通路抑制肿瘤细胞的恶性行为。Homer2 与细胞骨架相关蛋白的相互作用可能在这一过程中发挥了重要作用。已有研究[15]表明，HOMER 家族成员可通过调控肌动蛋白细胞骨架稳定性影响细胞迁移能力。

此外，GO 和 KEGG 功能富集分析显示，Homer2 参与了 Wnt 信号通路、MAPK 信号通路和 mTOR 信号通路的调节。这些通路在肿瘤的发生发展中具有重要作用。例如，Wnt/β-catenin 信号通路的异常激活是胃癌发生的重要机制之一，其促进了癌细胞的增殖和干性维持[16]。本研究发现 Homer2 的低表达可能导致 Wnt 信号通路的异常激活，从而加速胃癌的发生发展。

在 MAPK 信号通路中，Homer2 可能通过与下游效应分子相互作用，抑制 ERK 和 p38 的过度激

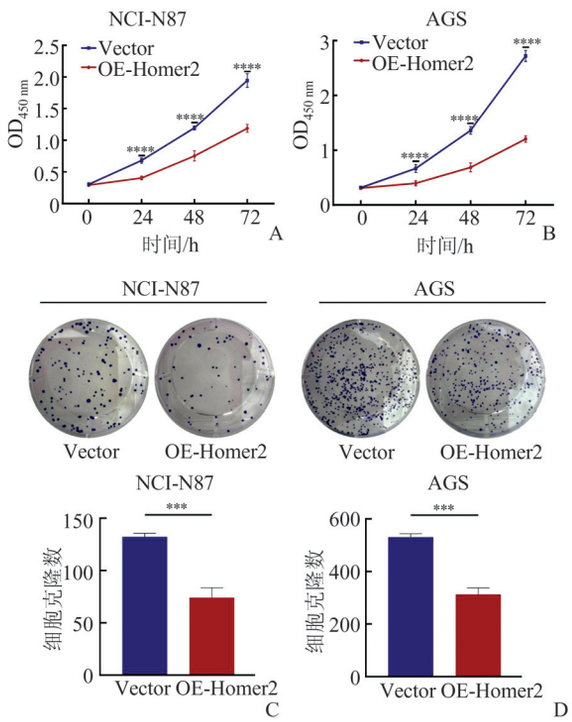



**图11 过表达Homer2可抑制NCI-N87和AGS细胞的增殖**

A、B. CCK-8细胞增殖实验，双因素方差分析；C、D. 细胞克隆形成实验，独立样本$t$检验。$^{***}P<0.001$，$^{****}P<0.000\,1$。

活。MAPK信号通路的过度激活可促进癌细胞的增殖、凋亡逃逸和转移[17]。通过Homer2的功能恢复，有望打破这一恶性循环，为胃癌的治疗提供新思路。然而，对于Homer2如何具体调节这些通路，以及这些通路在胃癌中的上下游效应，仍需进一步的实验研究来阐明[18-19]。

免疫浸润水平的分析结果表明，Homer2的表达水平与胃癌肿瘤微环境中免疫细胞的分布存在一定相关性。本研究通过TIMER和TISIDB数据库分析，发现Homer2表达水平与肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)特别是$CD8^+$ T细胞的浸润密度呈正相关。$CD8^+$ T细胞是抗肿瘤免疫反应的重要效应细胞，其浸润水平的增加通常与肿瘤患者的较好预后相关[20]。

Homer2可能通过调控免疫检查点分子的表达影响肿瘤微环境的免疫逃逸。本研究的相关性分析表明，Homer2与免疫检查点分子CD96、HAVCR2、LGALS9、PDCD1LG2、TIGIT、VTCN1和LAG3之间存在显著的负相关。这一结果提示，Homer2的低表达可能通过上调免疫检查点分子表达，促进胃癌的免疫逃逸。结合近年来免疫检查点抑制剂在胃癌治疗中的成功应用[21]，Homer2可能作为免疫治疗的潜在靶点值得进一步研究。

## 参考文献


[1] International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. CI5 Ⅻ: Cancer incidence in five continents volume Ⅻ[EB/OL]. [2024-10-02]. https://ci5.iarc.who.int/.

[2] 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.

[3] SALONI W, KATE L, ROXANNE M, et al. The role of homer scaffolding protein 2 (Homer2) in endometrial cancer [J]. Modern Pathology, 2017, 30: 314A.

[4] LUO P, LIANG C, JING W, et al. Homer2 and Homer3 act as novel biomarkers in diagnosis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer, 2021, 12(12): 3439-3447.

[5] MHAWECH-FAUCEGLIA P, WALIA S, YESSAIAN A, et al. Overexpression of HOMER2 predicts better outcome in low-grade endometrioid endometrial adenocarcinoma[J]. Pathology, 2018, 50(5): 499-503.

[6] KANG J Y, SONG S H, YUN J, et al. Identification of long-range epigenetic silencing on chromosome 15q25 and its clinical implication in gastric cancer[J]. Am J Pathol, 2015, 185(3): 666-678.

[7] DART A. Intercepting gastric cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2024, 24(10): 651.

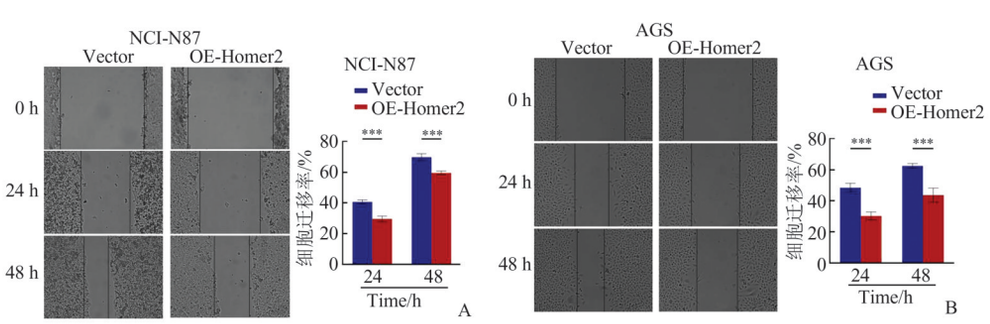




**图12 过表达Homer2可抑制NCI-N87和AGS细胞的迁移能力(×100)**

A. NCI-N87细胞划痕实验；B. AGS细胞划痕实验。双因素方差分析，$^{***}P<0.001$。

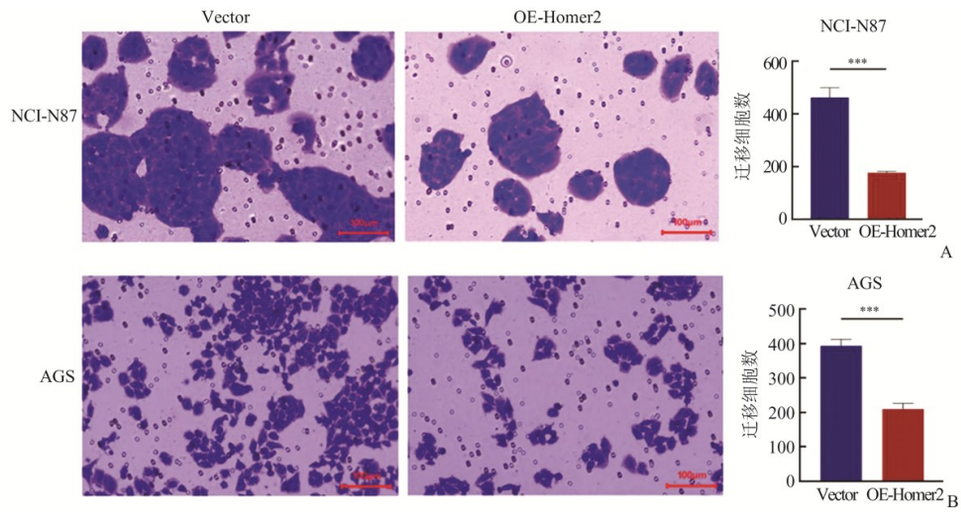



**图 13　过表达 Homer2 可抑制 GC 细胞的侵袭能力**（×200）

A. NCI-N87 细胞 Transwell 实验；B. AGS 细胞 Transwell 实验。独立样本 $t$ 检验，$^{***}P<0.001$。


[8] BASS A J, THORSSON V, SHMULEVICH I, et al. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. Nature, 2014, 513: 202-209.

[9] ZHU M, LIANG Q, CHEN T, et al. Identification and validation of methylated differentially expressed miRNAs and immune infiltrate profile in EBV-associated gastric cancer[J]. Clin Epigenetics, 2021, 13(1): 22.

[10] YANG M, LU Z, YU B, et al. COL5A1 promotes the progression of gastric cancer by acting as a *CeRNA* of miR-137-3p to upregulate FSTL1 expression[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(13): 3244.

[11] DE VRIES A C, VAN GRIEKEN N C T, LOOMAN C W N, et al. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: A nationwide cohort study in the Netherlands[J]. Gastroenterology, 2008, 134(4): 945-952.

[12] FORD A C, FORMAN D, HUNT R, et al. *Helicobacter pylori* eradication for the prevention of gastric neoplasia[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015(7): CD005583.

[13] ZHANG Y, WU X, ZHANG C, et al. Dissecting expression profiles of gastric precancerous lesions and early gastric cancer to explore crucial molecules in intestinal-type gastric cancer tumorigenesis[J]. J Pathol, 2020, 251(2): 135-146.

[14] ZHANG P, YANG M, ZHANG Y, et al. Dissecting the single-cell transcriptome network underlying gastric premalignant lesions and early gastric cancer[J]. Cell Rep, 2019, 27(6): 1934-1947. e5.

[15] ZHANG X, WANG L, LI Z., et al. Homer family proteins: Structure, function and their role in cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(25): 41893-41903.

[16] NIEHRS C. The complex world of WNT receptor signalling[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13: 767-779.

[17] DHILLON A S, HAGAN S, RATH O, et al. MAP kinase signalling pathways in cancer[J]. Oncogene, 2007, 26(22): 3279-3290.

[18] 刘涛，张霞，刘登科，等 . 胃康宁治疗幽门螺杆菌相关性胃癌前病变临床疗效及对胃黏膜 Ki-67 蛋白表达的影响[J]. 中国临床医生杂志，2017，45(6): 21-24.
LIU T, ZHANG X, LIU D K, et al. Effect the treatment of Weikangning decoction to HP with gastric precancerous lesions and its influence on Ki-67 protein expression[J]. Chin J Clin, 2017, 45(6): 21-24.

[19] 杨洋 . 慢性萎缩性胃炎模型大鼠定量蛋白组学及中药干预靶点研究[D]. 北京：中国中医科学院，2017.
YANG Y. Study on quantitative proteomics of chronic atrophic gastritis model rats and intervention targets of traditional Chinese medicine[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2017.

[20] FRIDMAN W H, PAGÈS F, SAUTÈS-FRIDMAN C, et al. The immune contexture in human tumours: Impact on clinical outcome[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12: 298-306.

[21] FUCHS C S, DOI T, JANG R W, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: Phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial[J]. JAMA Oncol, 2018, 4(5): e180013.


（2024-12-25 收稿）
编辑　沈建国