

• 生物信息专栏 •

## 嗜乳脂蛋白基因在肺腺癌中的功能及预后作用：多组学融合与生存分析



齐 鑫\*, 陈圣伦, 左嘉晨, 闫东辉, 陈佳佳

(苏州科技大学化学与生命科学学院 江苏 苏州 215011)

**【摘要】**肺腺癌是最常见的肺癌类型，具有侵袭性强、进展速度快和致命性强的特点，已成为世界范围内亟待解决的公共卫生问题。最新的研究显示，嗜乳脂蛋白 (BTN) 基因家族在免疫调节过程中发挥着关键的作用，但其在肺腺癌中的功能尚未明确。该研究采用多组学融合与生存分析方法，对 BTN 家族基因作为肺腺癌预后生物标志物的潜能进行了分析。研究结果显示，该基因家族中的 BTN2A2 和 BTNL9 在肺腺癌组织中的表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ )，且分别与患者的总体生存时间显著相关 ( $P < 0.05$ )。另外，BTN2A2 和 BTNL9 的表达水平分别与 B 细胞、巨噬细胞和调节性 T 细胞的浸润水平显著正相关 ( $P < 0.05$ )，与 BTN2A2 共表达的基因在 T 细胞激活、细胞因子结合、MHC 蛋白复合体结合等条目中显著富集，与 BTNL9 共表达的基因在细胞周期、DNA 复制相关的条目中显著富集 (adjust. $P < 0.05$ )。因此，BTN2A2 和 BTNL9 的低表达分别与肺腺癌患者的总体生存率低密切相关，是肺腺癌患者潜在的预后生物标志物。

**关键词** BTN2A2; BTNL9; 嗜乳脂蛋白; 免疫浸润; 肺腺癌; 预后

**中图分类号** TP391; R73 **文献标志码** A **doi**:10.12178/1001-0548.2021283

## Functional and Prognostic Roles of Butyrophilin Genes in Lung Adenocarcinoma: Multi-Omics Integration and Survival Analyses

QI Xin\*, CHEN Shenglun, ZUO Jiachen, YAN Donghui, and CHEN Jiajia

(School of Chemistry and Life Sciences, Suzhou University of Science and Technology Jiangsu Suzhou 215011)

**Abstract** Lung adenocarcinoma (LUAD) is the most common type of lung cancer, which is characterized by strong aggressiveness, rapid progression and strong lethality. It has become an urgent public health problem worldwide. Recent studies have shown that Butyrophilins (BTN) gene family plays a key role in immune regulation, but its function in LUAD is not yet clear. In this study, the potential of BTN family genes as prognostic biomarkers for LUAD was explored using multi-omics integration and survival analyses. The results showed that the expression levels of butyrophilin gene BTN2A2 and BTNL9 were significantly down-regulated in LUAD ( $P < 0.05$ ), and tightly correlated with the overall survival of patients ( $P < 0.05$ ), respectively. In addition, the expression levels of BTN2A2 and BTNL9 were significantly positively correlated with the infiltration levels of B cells, macrophages and regulatory T cells ( $P < 0.05$ ). The genes co-expressed with BTN2A2 were significantly enriched in T cell activation, cytokine binding, and MHC protein complex binding GO terms, and genes co-expressed with BTNL9 were significantly enriched in cell cycle and DNA replication related GO items (adjust. $P < 0.05$ ). Therefore, the low expression levels of BTN2A2 and BTNL9 are closely related to the poor overall survival of patients with LUAD, suggesting that they are potential prognostic biomarkers in LUAD patients.

**Key words** BTN2A2; BTNL9; butyrophilin; immune infiltration; lung adenocarcinoma; prognosis

肺癌是呼吸系统最常见的恶性肿瘤，在世界范围内其发病率和死亡率分别位居恶性肿瘤的第二位和第一位。2020 年全球癌症统计数据显示，全球每年肺癌患者新增约 220.6 万例，死亡约 179.6 万

例，已严重威胁人类的生命和健康<sup>[1]</sup>。肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 是最常见的肺癌组织学亚型，约占肺癌患者总数的 40%<sup>[2]</sup>。虽然，近年来诊断和治疗肺腺癌的技术手段取得了不断的创新和发

收稿日期: 2021-10-08; 修回日期: 2021-10-30

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (31900490)

作者简介: 齐鑫 (1987-), 女, 博士, 主要从事生物信息学方面的研究。

\*通信作者: 齐鑫, E-mail: qixin@usts.edu.cn

展,但是肺腺癌仍然是世界范围内癌症患者死亡的主要原因之一,患者的5年生存率仍较低。目前,肺腺癌个体患者的治疗决策主要基于TNM分期和分化等级等特异性因素,但是由于不同个体间有高度的异质性,具有相同病理条件的患者通常在治疗反应和预后方面表现出巨大的差异,限制了传统方法在预测肺腺癌患者预后方面的应用。因此,迫切需要筛选鉴定可靠的预后生物标志物,为肺腺癌患者的风险分层和临床治疗提供指导。

嗜乳脂蛋白(butyrophilins, BTNs)是与B7蛋白家族具有相似结构的免疫球蛋白家族。1981年,BTN最初于泌乳上皮细胞中被发现并构成乳蛋白,与泌乳过程密切相关。随着研究的深入,越来越多的研究表明BTNs在免疫调节中发挥重要作用。迄今为止,已发现人类BTN超家族包括7个BTN基因(BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN2A3、BTN3A1、BTN3A2、BTN3A3)、5个BTN样基因(BTNL2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、BTNL10)和1个SKINT样因子(SKINTL)<sup>[3]</sup>。最新研究显示,BTNs是癌症免疫治疗的潜在治疗靶点,靶向BTNs有助于激活抗肿瘤的免疫反应,目前通过靶向BTNs增强V $\gamma$ 9V $\delta$ 2+T细胞激活的抗体正在在临床试验中进行测试<sup>[4]</sup>。但是,BTNs基因在肺腺癌进展过程中的作用及其作为肺腺癌预后生物标志物的潜能尚未明确。

本研究基于生物信息学方法,分析了BTN基因家族在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中的表达水平,鉴定了与肺腺癌进展密切相关的BTN基因家族成员BTN2A2和BTNL9,并对BTN2A2和BTNL9表达水平与肺腺癌患者预后的相关性进行了评估。同时分析了BTN2A2和BTNL9表达水平与免疫细胞浸润的相关性,揭示了肺腺癌中BTN2A2和BTNL9共表达基因显著富集的生物过程。

## 1 材料与方法

### 1.1 基因差异表达分析

利用UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/>)在线工具<sup>[5]</sup>分析BTN家族基因在肺腺癌肿瘤和正常对照组织的表达情况,分析类型选择“TCGA Gene analysis”,TCGA数据集选择“lung adenocarcinoma”,得到目的基因在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中表达水平的箱线图,并进行统计学分析, $P<0.05$ 被认为统计学差异显著。

### 1.2 基因表达水平与肺腺癌进展的相关性分析

为了分析BTN家族基因的表达水平与肺腺癌

进展的相关性,利用GEPIA2(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>)在线分析工具<sup>[6]</sup>中的“Expression Analysis”模块,分析目的基因在肺腺癌阶段I、阶段II、阶段III和阶段IV的表达水平有无显著的变化。使用单因素方差分析(one-way ANOVA)评估基因差异表达的显著性, $P<0.05$ 被认为统计学差异显著。

### 1.3 Kaplan-Meier生存曲线分析

分别利用Kaplan-Meier plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)<sup>[7]</sup>、PrognScan数据库(<http://dna00.bio.kyutech.ac.jp/PrognScan/>)<sup>[8]</sup>和GEPIA2数据库绘制肺腺癌中BTN2A2和BTNL9的Kaplan-Meier生存曲线,使用基因表达的中位数将相应数据集中的患者分为高表达组和低表达组。使用对数秩检验(log-rank test)进行统计学检验, $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。

### 1.4 免疫细胞浸润分析

利用GEPIA2021(<http://gepia2021.cancer-pku.cn/>)数据库的“Cell Type Proportion Analysis”模块,数据集选择TCGA数据库中的“LUAD Tumor”和“LUADNormal”,“Select deconvolution tool”参数选择“quanTIseq”,“Normalization”参数选择“True”,对肺腺癌肿瘤和正常对照组织中免疫细胞组分的变化进行分析, $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。进一步,利用TIMER2.0数据库(<http://timer.cistrome.org/>)<sup>[9]</sup>分析BTN2A2或BTNL9与免疫细胞浸润水平的相关性, $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。

### 1.5 蛋白质相互作用分析

利用Cytoscape(3.6.1)软件<sup>[10]</sup>中的GeneMANIA<sup>[11]</sup>插件对与BTN2A2和BTNL9互作的蛋白进行分析,筛选前20个蛋白构建蛋白质相互作用网络。

### 1.6 功能富集分析

为了研究BTN2A2和BTNL9在肺腺癌中的功能,首先利用cBioPortal(<https://www.cbioportal.org/>)数据库,以 $|\text{Spearman's correlation}| \geq 0.5$ 和 $q \text{ value} < 0.05$ 作为筛选标准,分别鉴定与BTN2A2和BTNL9在肺腺癌中共表达的基因。然后,利用“ClusterProfiler”R包分别对与BTN2A2和BTNL9共表达的基因进行GO功能富集分析。调整后的 $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。

## 2 实验结果

### 2.1 BTNs在肺腺癌和正常对照组织中的表达情况

首先,在Ensembl数据库(<https://asia.ensembl.org/index.html>)检索人类BTN基因家族(13个基

因)的注释信息和序列信息,发现已报道的人类BTN超家族中的BTN2A3、BTNL10和SKINTL不能编码蛋白质。进一步,利用UALCAN在线工具,对编码蛋白质的BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTN3A3、BTNL2、BTNL3、BTNL8、BTNL9基因在癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库肺腺癌肿瘤和正常对照组织中的表达水平进行分析。结果显示,BTN1A1

在肺腺癌肿瘤组织中显著上调表达( $P < 0.05$ )且其在肿瘤和正常对照组织中的表达量均较低;BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTN3A3、BTNL3、BTNL8、BTNL9均在肺腺癌肿瘤组织中显著下调表达( $P < 0.05$ );BTN2A1与BTNL2在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中的表达水平无显著差异( $P > 0.05$ ),如图1所示。该结果提示BTN超家族在肺腺癌的致病过程中可能发挥着重要的作用。

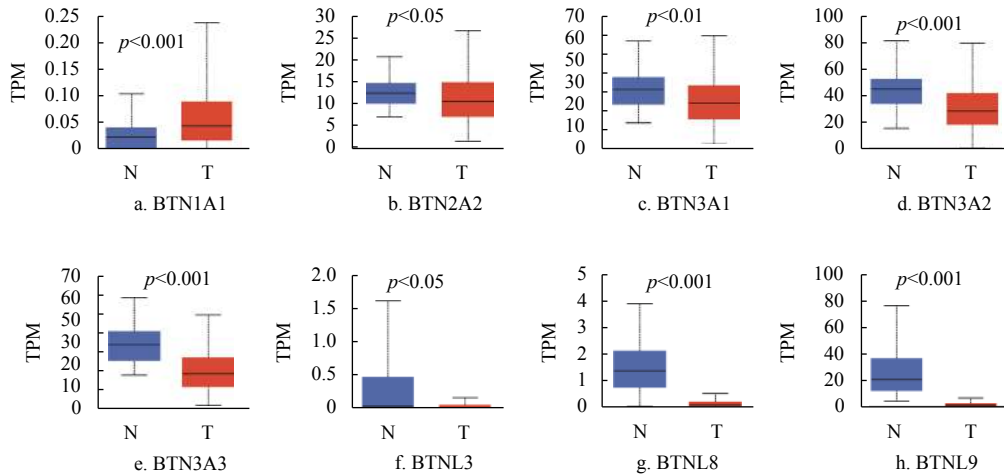


图1 BTN家族基因在肺腺癌肿瘤和正常对照组织的表达水平

## 2.2 BTN 与肺癌进展的相关性

利用GEPIA2在线工具,对在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中显著差异表达的8个BTN基因(BTN1A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTN3A3、BTNL3、BTNL8和BTNL9)与肺腺癌不同病理阶段(stage I、stage II、stage III和stage IV)进展的相关性进行了分析。结果显示,这8个基因中,只有BTN2A2和BTNL9分别与肺腺癌的进展显著相关( $P < 0.05$ ),如图2所示,提示嗜乳脂蛋白基因BTN2A2和BTNL9在肺腺癌发生发展过程中的潜在作用。

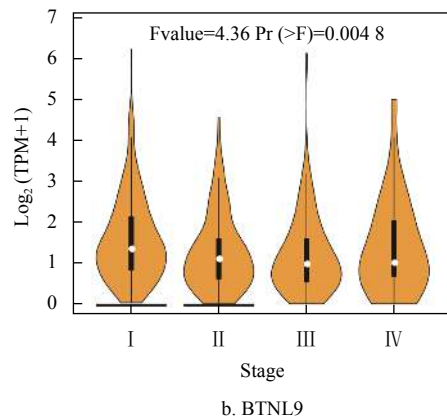
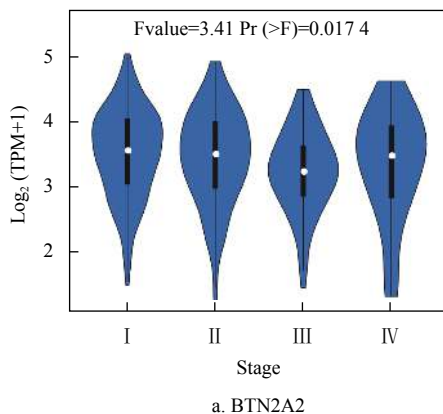


图2 表达水平与肺腺癌病理阶段的相关性



a. BTN2A2

## 2.3 BTN 表达水平与肺腺癌患者预后的相关性

Kaplan-Meier生存曲线能够反映基因表达与癌症患者预后的相关性。在本研究中,首先利用Kaplan-Meier plotter数据库,对与肺腺癌进展密切相关的嗜乳脂蛋白基因BTN2A2和BTNL9与肺腺癌患者总体生存时间的相关性进行了分析。结果显示,与高表达BTN2A2组相比,低表达BTN2A2组患者的总生存率显著降低( $P < 0.05$ );与高表达BTNL9组相比,低表达BTNL9患者的总生存率也显著降低( $P < 0.05$ ),如图3所示。为了进一步证实BTN2A2

和 BTNL9 与肺腺癌患者预后的相关性, 分别使用 PrognScan 和 GEPIA2 数据库, 进行 Kaplan-Meier 生存曲线分析。结果显示, 来自 PrognScan 和 GEPIA2 数据库的结果与 Kaplan-Meier plotter 数据库的结果一致, BTN2A2 和 BTNL9 分别与肺腺癌患者总体生存时间具有显著的相关性, 如图 4、图 5 所示。为了更深入的研究 BTN2A2 和 BTNL9 分别与肺腺癌患者预后的相关性, 进一步将 Kaplan-Meier plotter 数据库中的肺腺癌患者根据性别和吸

烟史分为女性、男性、吸烟和不吸烟 4 组, 生存曲线分析结果显示, BTN2A2 和 BTNL9 与肺腺癌患者预后的相关性与性别无关, 即 BTN2A2/BTNL9 的低表达与女性、男性肺腺癌患者的预后差均显著相关 ( $P < 0.05$ ), 如图 6、图 7 所示; 同时, BTN2A2 和 BTNL9 与肺腺癌患者预后的相关性与吸烟史有关, 即 BTN2A2/BTNL9 的低表达与吸烟肺腺癌患者的预后差显著相关 ( $P < 0.05$ ), 如图 8 所示, 而与不吸烟肺腺癌患者的预后差无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。

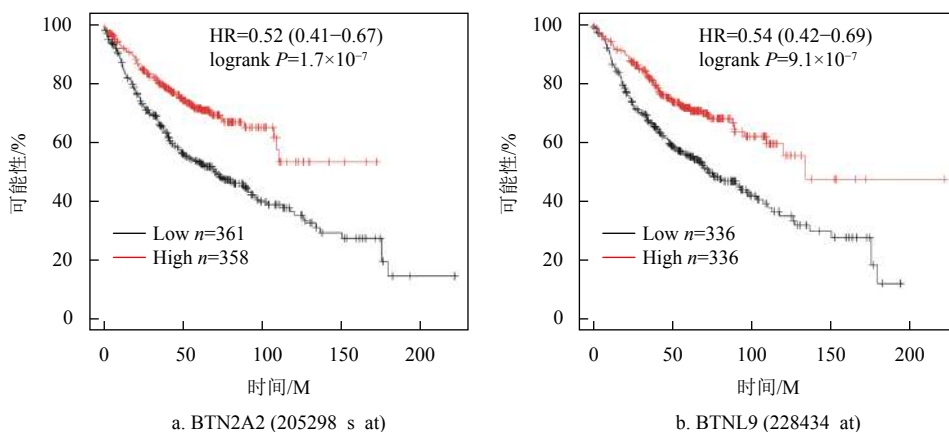


图 3 Kaplan-Meier plotter 数据库中肺腺癌患者总体生存期的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

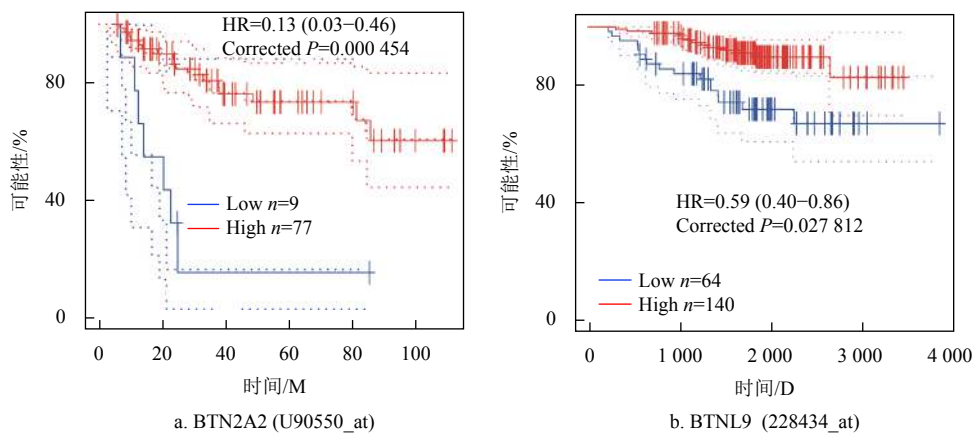


图 4 PrognScan 数据库中肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

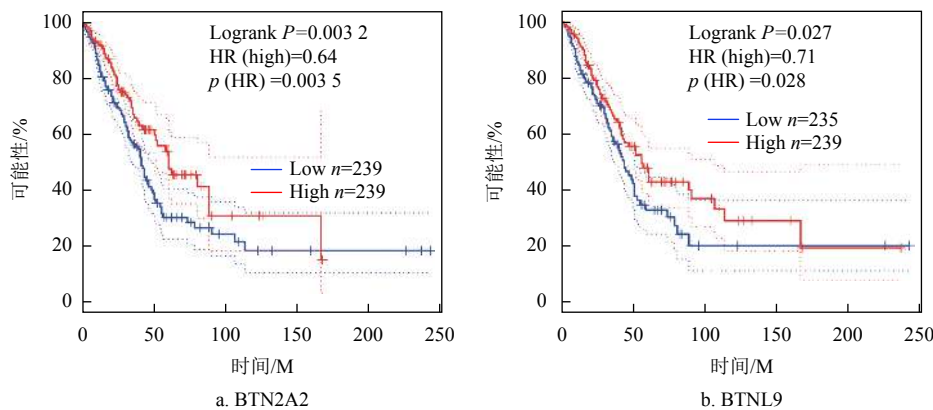


图 5 GEPIA2 数据库中肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

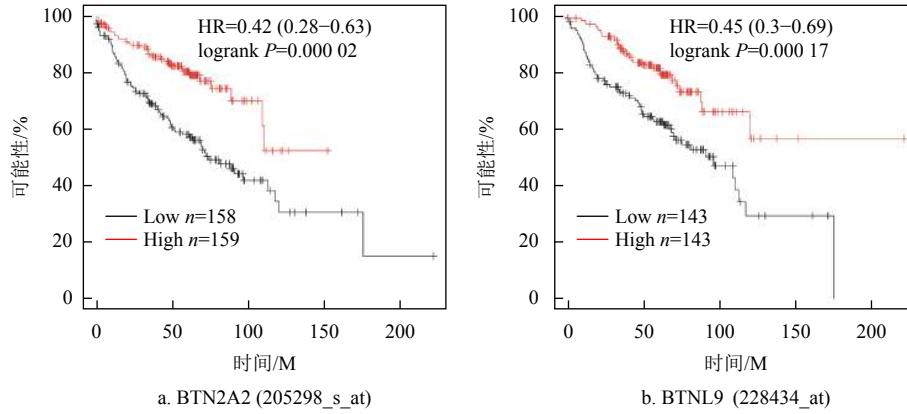


图 6 Kaplan-Meier plotter 数据库中女性肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

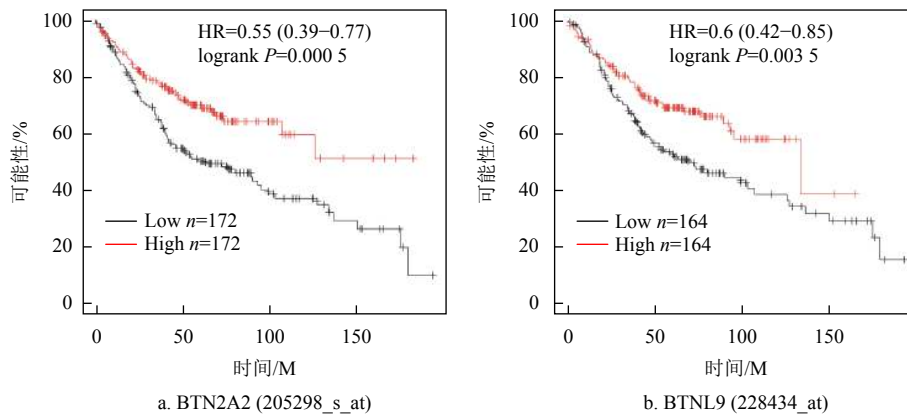


图 7 Kaplan-Meier plotter 数据库中男性性肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

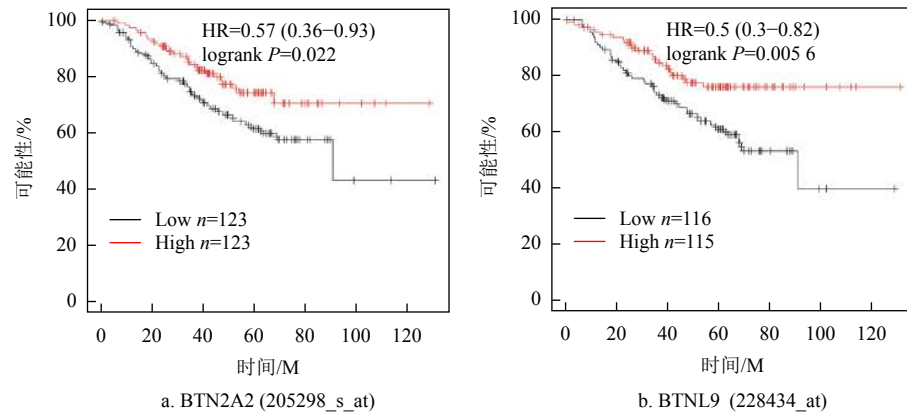


图 8 Kaplan-Meier plotter 数据库中吸烟肺腺癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

## 2.4 BTNs 表达水平与免疫细胞浸润的相关性

基于 BTNs 基因家族在免疫调节中的重要作用,对 BTN2A2 和 BTNL9 表达水平与免疫细胞浸润的相关性进行了探究。首先,利用 GEPIA2021 数据库,对肺腺癌中免疫细胞组分的变化进行了分析。结果显示,B 细胞、巨噬细胞 M1、巨噬细胞 M2、CD8<sup>+</sup> T 细胞和调节性 T 细胞在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中的细胞比例均具有显著的差

异,如图 9 所示。进一步,利用 TIMMER2.0 数据库分析 BTN2A2 和 BTNL9 表达水平与这 5 种免疫细胞浸润的相关性进行分析,发现 BTN2A2 的表达水平与这 5 种免疫细胞的浸润显著正相关,如图 10 所示。BTNL9 的表达水平与 B 细胞、巨噬细胞 M2 和调节性 T 细胞的浸润显著正相关,如图 11 所示,表明 BTN2A2 和 BTNL9 在免疫浸润过程中的关键作用。

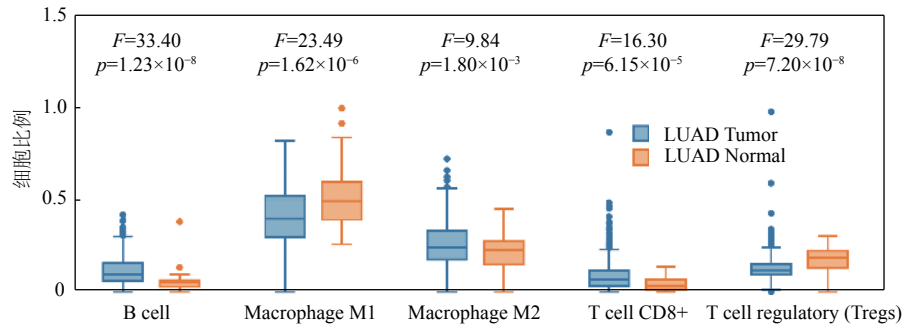


图 9 免疫细胞在肺腺癌肿瘤和正常对照组织中的比例

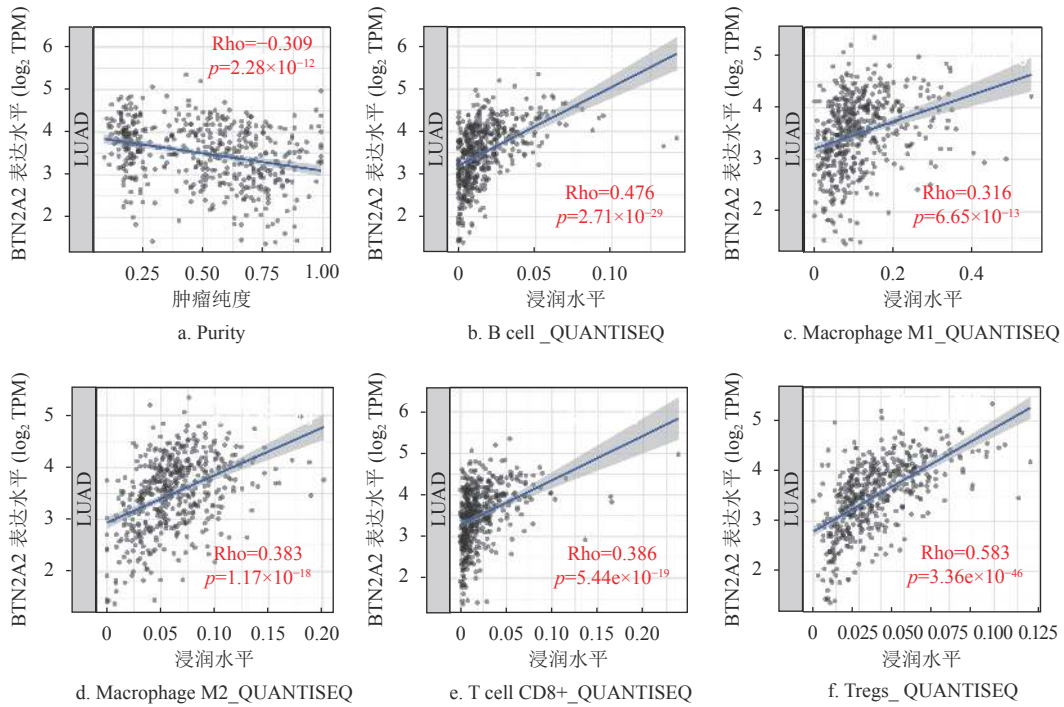


图 10 BTN2A2 表达水平与免疫细胞浸润的相关性

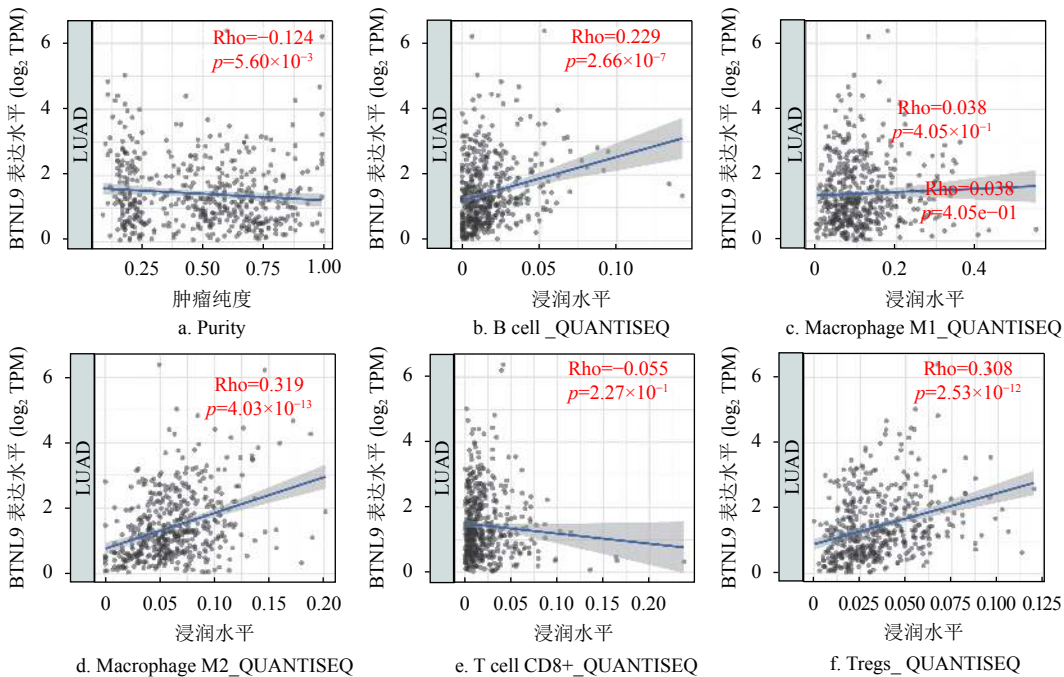


图 11 BTNL9 表达水平与免疫细胞浸润的相关性

## 2.5 与 BTN2A2 和 BTNL9 相互作用的蛋白质

基于蛋白质相互作用对基因功能的影响, 利用 Cytoscape 中 GeneMANIA 插件对与 BTN2A2 和 BTNL9 相互作用的蛋白质进行分析并构建由互作关系最强的前 20 个蛋白质组成的蛋白质相互作用网络。蛋白质之间的相互作用主要通过物理相互作用、共享蛋白质结构域、共表达和共定位 4 个方面体现。结果显示, 参与该互作网络的蛋白功能均与免疫调节密切相关, 如图 12 所示。如 BTN2A1 可作为一种针对 V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 细胞对恶性细胞毒性的免

疫检查点<sup>[12]</sup>, BTN3A1、BTN3A2 与 BTN3A3 在  $\gamma\delta$  T 细胞的调节过程中发挥着关键的作用<sup>[13]</sup>, BTN3A1 能够调控 V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T 细胞的激活<sup>[14]</sup>, BTNL3 能够直接结合 V $\gamma$ 4+T 细胞受体<sup>[15]</sup>, BTNL8 能够共刺激初级免疫反应<sup>[16]</sup>, DOK2 是 T 细胞受体信号通路的负调控因子<sup>[17]</sup>, DAPP1 能够参与调节 MHC I 类诱导的 CD8+ T 细胞的活化<sup>[18]</sup>, ERMAP 是一种 B7 家族相关分子, 负调控 T 细胞和巨噬细胞反应<sup>[19]</sup>。因此, 通过蛋白质相互作用网络分析, 可以推测 BTN2A2 和 BTNL9 可能通过免疫调节影响肺腺癌的致病过程。

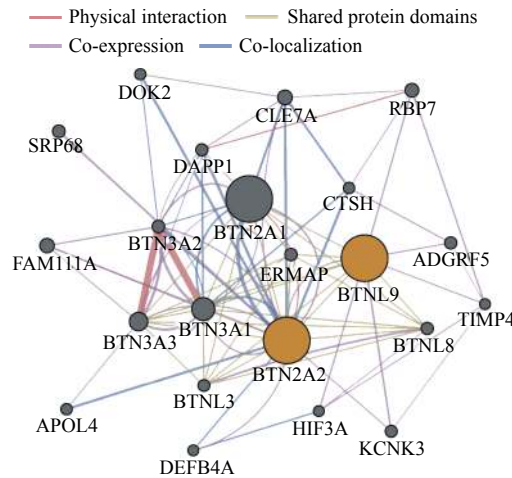
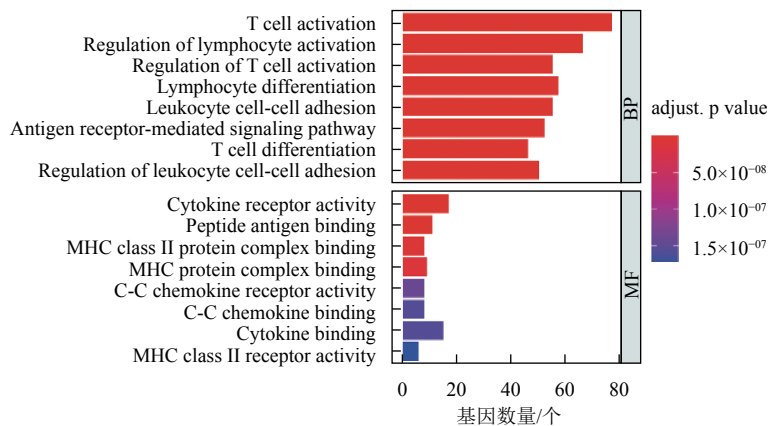


图 12 由 BTN2A2、BTNL9 及其互作蛋白组成的蛋白质相互作用网络

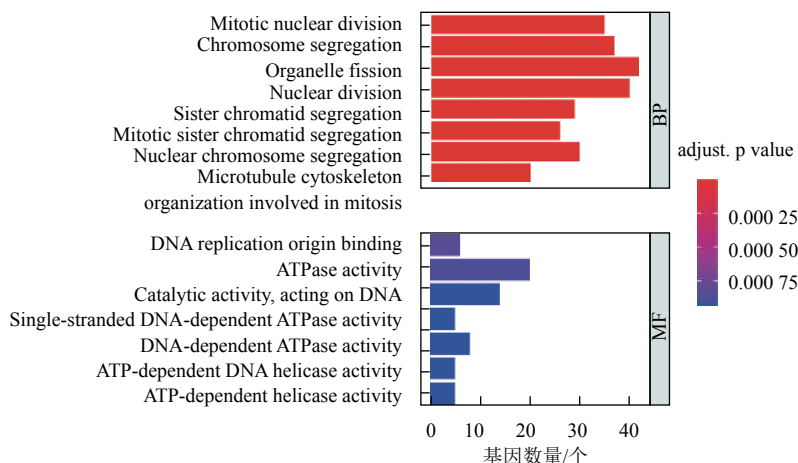
## 2.6 BTN2A2 和 BTNL9 共表达基因的功能

为了进一步揭示 BTN2A2 和 BTNL9 在肺腺癌中的功能, 本研究首先利用 cBioPortal(<https://www.cbioportal.org/>) 数据库对在肺腺癌中分别与 BTN2A2 和 BTNL9 共表达的基因进行鉴定, 然后利用“ClusterProfiler” R 包分别对与 BTN2A2 和 BTNL9 共表达的基因进行 GO 功能富集分析。结果显示,

与 BTN2A2 共表达的基因在 T 细胞激活调控、淋巴细胞激活调控等生物过程和细胞因子结合、MHC 蛋白复合体结合等分子功能条目中显著富集, 如图 13a 所示; 与 BTNL9 共表达的基因在与细胞周期、DNA 复制相关的生物过程和分子功能条目中显著富集 (adjust.  $P < 0.05$ ), 如图 13b 所示。



a. BTN2A2 共表达基因的 GO 功能富集分析



b. BTNL9 共表达基因的 GO 功能富集分析

图 13 BTN2A2 或 BTNL9 共同表达基因的 GO 功能富集分析

### 3 结束语

肺腺癌是肺癌中最常见的亚型, 尽管其治疗技术手段不断改进, 但是患者 5 年总生存率仍较低, 是世界范围内癌症患者死亡的主要原因之一。最新研究显示, BTN 家族基因在免疫调节中发挥重要作用, 可作为癌症免疫治疗的潜在治疗靶点, 但是其在预测肺腺癌患者预后方面的研究仍较少。生物标志物能够可靠地评估疾病预后和患者生存期, 对指导肺腺癌的临床治疗具有重要价值<sup>[20]</sup>。本研究旨在利用生物信息学的软件和方法对 BTN 家族基因作为肺腺癌预后生物标志物的潜能进行探究, 进而为肺腺癌患者的个性化治疗提供指导。

近年来, 高通量测序技术的发展促进癌症相关分子标志物的鉴定和表征。本研究基于 TCGA 数据库中的肺腺癌数据, 通过整合分析发现, 编码蛋白质的 10 个人类 BTN 基因中, 有 7 个基因 (BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTN3A3、BTNL3、BTNL8、BTNL9) 在肺腺癌肿瘤组织中显著下调表达 ( $P < 0.05$ ), 提示 BTN 基因在肺腺癌中的重要作用。进一步分析发现, BTN2A2 和 BTNL9 分别与肺腺癌发展和预后密切相关, 均可作为独立的预后因子, 表明 BTN2A2 和 BTNL9 具有作为预测肺腺癌患者生存时间生物标志物的潜力。通过免疫浸润分析发现, BTN2A2 的表达水平与 B 细胞、巨噬细胞 M1、巨噬细胞 M2、CD8+ T 细胞和调节性 T 细胞的浸润水平呈正相关, BTN2A2 的表达水平与 B 细胞、巨噬细胞 M2 和调节性 T 细胞的浸润水平呈正相关, 提示 BTN2A2 和 BTNL9 在肺腺癌致病过程可能参与了免疫调节。蛋白质相互作用网络分析结果也显示, 与 BTN2A2 和 BTNL9 互作的蛋白均

参与调控免疫反应。最新研究显示, 与 BTN2A2 和 BTNL9 互作的部分蛋白能够指示肺癌患者的预后情况或参与调控肺癌的进展。如 BTN3A3 表达降低能够反映非小细胞肺癌患者的预后不良, 且能够促进非小细胞肺癌细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[21]</sup>; ADGRF4 可调控非小细胞肺癌细胞的侵袭性<sup>[22]</sup>; DOK2 能够抑制 EGFR 突变的肺腺癌<sup>[23]</sup>等。另外, BTN2A2 和 BTNL9 共表达基因的 GO 功能富集分析结果显示, BTN2A2 主要参与 T 细胞激活调控、淋巴细胞激活等生物过程, 而 BTNL9 主要参与细胞周期、DNA 复制相关的生物过程, 提示 BTN2A2 和 BTNL9 可能在肺腺癌的发生发展过程中发挥着不同的重要功能。

综上, 本文通过利用生物信息学的方法进行综合分析发现, BTN 家族的 BTN2A2 和 BTNL9 均具有作为肺腺癌患者预后生物标志物的潜力, 并可能通过免疫调节影响肺腺癌的进展过程, 但是具体的作用机制需要进一步的功能实验进行解析。本研究结果可为鉴定肺腺癌的预后生物标志物提供线索, 进而指导患者的精准临床治疗。

### 参 考 文 献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] LI W, GAO L N, SONG P P, et al. Development and validation of a RNA binding protein-associated prognostic model for lung adenocarcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(4): 3558.
- [3] WANG Y, ZHAO N, ZHANG X, et al. Bibliometrics analysis of butyrophilins as immune regulators [1992-2019] and implications for cancer prognosis[J]. Front Immunol,



- 2020, 11: 1187.
- [4] RIGAU M, ULDRICH A P, BEHREN A. Targeting butyrophilins for cancer immunotherapy[J]. *Trends Immunol*, 2021, 42(8): 670-680.
- [5] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALASUBRAMANYA S A H, et al. UALCAN: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8): 649-658.
- [6] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: A web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): 98-102.
- [7] NAGY Á, MUNKÁCSY G, GYÖRFFY B. Pancancer survival analysis of cancer hallmark genes[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1-10.
- [8] MIZUNO H, KITADA K, NAKAI K, et al. PrognoScan: A new database for meta-analysis of the prognostic value of genes[J]. *BMC Med Genomics*, 2009, 2(1): 1-11.
- [9] LI T, FU J, ZENG Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): 509-514.
- [10] CLINE M S, SMOOT M, CERAMI E, et al. Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(10): 2366-2382.
- [11] FRANZ M, RODRIGUEZ H, LOPES C, et al. GeneMANIA update 2018. *Nucleic Acids Res*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(W1): 60-64.
- [12] CANO C E, PASERO C, DE G A, et al. BTN2A1, an immune checkpoint targeting V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cell cytotoxicity against malignant cells[J]. *Cell Rep*, 2021, 36(2): 109359.
- [13] DE G N, GROEN R, ORIE V, et al. Analysis of macaque BTN3A genes and transcripts in the extended MHC: Conserved orthologs of human  $\gamma\delta$  T cell modulators[J]. *Immunogenetics*, 2019, 71(8): 545-559.
- [14] GU S, SACHLEBEN J R, BOUGHTER C T, et al. Phosphoantigen-induced conformational change of butyrophilin 3A1 (BTN3A1) and its implication on V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cell activation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(35): 7311-7320.
- [15] WILLCOX C R, VANTOUROUT P, SALIM M, et al. Butyrophilin-like 3 directly binds a human V $\gamma$ 4+ T cell receptor using a modality distinct from clonally-restricted antigen[J]. *Immunity*, 2019, 51(5): 813-825.
- [16] CHAPOVAL A I, SMITHSON G, BRUNICK L, et al. BTNL8, a butyrophilin-like molecule that costimulates the primary immune response[J]. *Mol Immunol*, 2013, 56(4): 819-828.
- [17] YASUDA T, BUNDO K, HINO A, et al. Dok-1 and Dok-2 are negative regulators of T cell receptor signaling[J]. *Int Immunol*, 2007, 19(4): 487-495.
- [18] ORTNER D, GRABHER D, HERMANN M, et al. The adaptor protein Bam32 in human dendritic cells participates in the regulation of MHC class I-induced CD8+ T cell activation[J]. *J Immunol*, 2011, 187(8): 3972-3978.
- [19] SU M, LIN Y, CUI C, et al. ERMAP is a B7 family-related molecule that negatively regulates T cell and macrophage responses[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(8): 1920-1933.
- [20] ZHANG M, ZHU K, PU H, et al. An immune-related signature predicts survival in patients with lung adenocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1314.
- [21] CHENG X, MA T, YI L, et al. Low expression of BTN3A3 indicates poor prognosis and promotes cell proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(6): 478.
- [22] YOON J H, CHO S G. ADGRF4 regulates non-small cell lung cancer cell invasiveness[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(12): 6835-6844.
- [23] BERGER A H, CHEN M, MOROTTI A, et al. DOK2 inhibits EGFR-mutated lung adenocarcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79526.

编辑 刘飞阳