

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.08.017

论著 • 临床

喉癌组织 LAG3、FGL1 表达水平与免疫检查点分子的相关性及预后价值研究

姬敏干, 梁勇军, 刘少飞, 袁国丽, 袁浩展



基金项目: 陕西省科技计划项目(2021SF-131)

作者单位: 712000 陕西咸阳, 咸阳市第一人民医院耳鼻咽喉头颈外科(姬敏干、刘少飞、袁国丽、袁浩展); 712000 陕西咸阳, 陕西省核工业二一五医院耳鼻咽喉头颈外科(梁勇军)

通信作者: 梁勇军, E-mail: 27427694@qq.com

【摘要】 目的 研究喉癌组织中淋巴细胞活化基因 3(LAG3)、纤维蛋白原样蛋白 1(FGL1) 表达与免疫检查点分子的相关性及预后的关系。方法 选取 2020 年 3 月—2022 年 3 月咸阳市第一人民医院耳鼻咽喉头颈外科诊治的喉癌患者 90 例。采用 qPCR 法检测 LAG3、FGL1 mRNA 及免疫检查点分子[程序性死亡因子 1(PD-1)、程序性死亡因子配体 1(PD-L1)]mRNA 表达,免疫组织化学法检测 LAG3、FGL1 蛋白表达; Pearson 相关系数分析喉癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 表达与免疫检查点分子 mRNA 表达的相关性; Kaplan-Meier 曲线分析 LAG3、FGL1 蛋白表达对喉癌患者生存预后的影响; Cox 回归分析喉癌患者预后的影响因素。结果 喉癌患者癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 及 PD-1、PD-L1 mRNA 相对表达量均高于癌旁组织($t/P=34.516/<0.001$ 、 $31.372/<0.001$ 、 $30.335/<0.001$ 、 $23.894/<0.001$); 喉癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 分别与 PD-1、PD-L1 mRNA 呈正相关(LAG3: $r/P=0.714/<0.001$ 、 $0.681/<0.001$; FGL1: $r/P=0.721/<0.001$ 、 $0.663/<0.001$); 喉癌组织 LAG3、FGL1 蛋白阳性率高于癌旁组织($\chi^2/P=86.968/<0.001$ 、 $88.210/<0.001$); TNM 分期 III~IV 期、淋巴结转移的喉癌患者癌组织中 LAG3、FGL1 蛋白阳性率高于 I~II 期、无淋巴结转移的患者($\chi^2/P=13.125/<0.001$ 、 $3.920/0.048$ 、 $12.995/<0.001$ 、 $11.810/0.001$); LAG3 阳性组、FGL1 阳性组 3 年总体生存率均低于阴性组(Log-Rank $\chi^2=4.023$ 、 3.799 , $P=0.002$ 、 0.028); TNM 分期 III~IV 期、淋巴结转移、LAG3 阳性、FGL1 阳性是喉癌患者预后不良的独立危险因素[OR(95% CI)=1.477(1.075~2.029)、1.441(1.095~1.895)、1.259(1.033~1.534)、1.310(1.058~1.622)]。结论 喉癌组织中 LAG3、FGL1 表达上调,两者与免疫检查点分子表达呈正相关,是喉癌预后评估新的标志物。

【关键词】 喉癌; 淋巴细胞活化基因 3; 纤维蛋白原样蛋白 1; 预后**【中图分类号】** R739.65**【文献标识码】** A

Study on the correlation of LAG3, FGL1 expression levels and immune checkpoint molecules in laryngeal cancer tissue and prognostic value Ji Mingan*, Liang Yongjun, Liu Shaofei, Yuan Guoli, Yuan Haozhan.* Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, The First People's Hospital of Xianyang City, Shaanxi, Xianyang 712000, China
Funding program: Science and Technology Plan Project of Shaanxi Provincial Science and Technology Department (2021SF-131)

Corresponding author: Liang Yongjun, E-mail: 27427694@qq.com

【Abstract】 Objective To study the relationship between the expression of lymphocyte activation gene 3 (LAG3), fibrinogen-like protein 1 (FGL1) and immune checkpoint molecules and prognosis in laryngeal cancer. **Methods** The expression of LAG3 mRNA, FGL1 mRNA, and immune checkpoint molecules [programmed death factor 1 (PD-1) mRNA, programmed death factor ligand 1 (PD-L1) mRNA] in laryngeal cancer tissues was detected by qPCR. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between LAG3 mRNA, FGL1 mRNA expression and immune checkpoint molecules in laryngeal cancer tissues. The expression of LAG3 and FGL1 protein in laryngeal carcinoma tissues was detected by immunohistochemistry. Kaplan-Meier curve and Cox regression model were used to analyze the prognostic factors of patients with laryngeal cancer. **Results** The expression levels of LAG3 mRNA, FGL1 mRNA, PD-1 mRNA, and PD-L1 mRNA in laryngeal cancer tissues were significantly higher than those in adjacent normal tissues ($t/P=34.516/<0.001$, $31.372/<0.001$, $30.335/<0.001$, $23.894/<0.001$). LAG3 mRNA and FGL1 mRNA in laryngeal cancer tissues were positively correlated with

PD-1 mRNA and PD-L1 mRNA ($r=0.714/<0.001$, $0.681/<0.001$, $0.721/<0.001$, $0.663/<0.001$). The positive rates of LAG3 and FGL1 in laryngeal cancer tissues were 77.78% (70/90) and 75.56% (68/90), respectively, which were significantly higher than those in adjacent normal tissues [8.89% (8/90) and 6.67% (6/90)] ($\chi^2/P=86.968/<0.001$, $88.210/<0.001$). The positive rates of LAG3 and FGL1 in laryngeal cancer tissues were higher in patients with TNM stage III-IV and lymph node metastasis ($\chi^2/P=13.125/<0.001$, $3.920/0.048$, $12.995/<0.001$, $11.810/0.001$). The 3-year overall survival rate of the LAG3-positive group was 78.57% (55/70), which was significantly lower than that of the negative group (90.00%, 18/20). The 3-year overall survival rate of the FGL1-positive group was 77.94% (53/68), which was significantly lower than that of the negative group (90.91%, 20/22) (Log-rank $\chi^2/P=4.023/0.002$, $3.799/0.028$). TNM stage III-IV, lymph node metastasis, LAG3 positivity, and FGL1 positivity were independent risk factors affecting the prognosis of laryngeal cancer [OR (95%CI)=1.477 (1.075-2.029), 1.441 (1.095-1.895), 1.259 (1.033-1.534), 1.310 (1.058-1.622)]. **Conclusion** The expression of LAG3 and FGL1 is upregulated in laryngeal cancer tissues. They are positively correlated with the expression of immune checkpoint molecules and are new markers for the prognosis of laryngeal cancer.

【Key words】 Laryngeal cancer; Lymphocyte activation gene 3; Fibrinogen like protein 1; Prognosis

喉癌是头颈部常见的恶性肿瘤之一,其全球发病率呈逐年上升趋势^[1]。尽管手术、放疗、化疗及靶向治疗等综合治疗策略不断优化,复发及转移性喉癌患者的总体生存率仍不理想^[2]。淋巴细胞活化基因 3 (lymphocyte activation gene 3, LAG3) 是一种重要的免疫抑制性受体,主要表达于活化 T 细胞及自然杀伤细胞表面^[3]。研究表明,LAG3 通过与主要组织相容性复合体 II 类分子 (major histocompatibility complex class II, MHC-II) 结合,传递抑制性信号,诱导 T 细胞功能耗竭,从而促进肿瘤免疫逃逸^[4]。纤维蛋白原样蛋白 1 (fibrinogen-like protein 1, FGL1) 是一种主要由肝细胞分泌的蛋白,其通过与 LAG3 特异性结合,抑制 CD8⁺T 细胞的细胞毒性^[5]。研究指出,FGL1 在非小细胞肺癌、胃癌等多种肿瘤中呈高表达,其表达水平与肿瘤组织中 CD8⁺T 细胞浸润减少、功能抑制及患者不良预后密切相关^[6]。目前,关于 LAG3 与 FGL1 在喉癌组织中的表达情况及其临床意义尚不明确。本研究拟检测喉癌组织中 LAG3 及 FGL1 的表达水平,并分析其与免疫检查点分子的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 3 月—2022 年 3 月咸阳市第一人民医院耳鼻咽喉头颈外科诊治的喉癌患者 90 例,男 55 例,女 35 例;年龄 32~79 (63.67±8.26) 岁;病程 7~58 (18.12±8.23) d;均无明显诱因;基础病:高血压 14 例,糖尿病 9 例;吸烟史 12 例,饮酒史 10 例;均无家族遗传史;临床分型:声门型 40 例,声门上型 30 例,声门下型 20 例;TNM 分期: I ~ II 期 36 例, III ~ IV 期 54 例;淋巴结转移:有 49 例,无 41 例;分化程度:高分化 20 例,中分化 46 例,低分化 24 例。本研究已获得医院伦理委员会批准 (20200029),患者和/或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①经病理学检查明确为喉鳞状细胞癌; ②拥有完整、可追溯的临床和随访资料; ③初次接受诊治。(2) 排除标准: ①入组前 5 年内有其他任何部位的恶性肿瘤病史; ②接受新辅助放化疗等; ③非鳞状细胞癌的病理类型 (如腺样囊性癌、肉瘤、神经内分泌癌等)。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 LAG3、FGL1 mRNA 及免疫检查点分子表达检测: 所有患者均接受开放/经口支撑喉镜下喉癌根治切除术,将术中留取的癌组织及癌旁组织在液氮中研磨,采用 Trizol 法提取组织 RNA,使用 NanoDrop 微量分光光度计 (美国赛默飞公司, Nanodrop2000) 检测 RNA 浓度与纯度,将总 RNA 逆转录为 cDNA。引物由生工生物工程股份有限公司设计合成。引物序列见表 1。采用 SYBR Green 法在实时荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司, 型号 ABI7500) 上进行。反应体系如下 (20 μ l): TB Green Premix Ex Taq II (2 $\times$) 10 μ l, 上游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ l, 下游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ l, cDNA 模板 2.0 μ l, RNase-Free 水 7.2 μ l。qPCR 反应程序: 预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s, 1 个循环; 扩增反应 95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环。每个样本设置 3 个技术重复。以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因 mRNA 的相对表达水平。

1.3.2 LAG3、FGL1 蛋白表达检测: 将癌组织和癌旁组织蜡块切片,60 $^{\circ}$ C 烘烤 2 h。将切片依次置于二甲苯及梯度乙醇水化,置于 EDTA 抗原修复液 (pH 9.0) 中,采用微波加热至沸腾,维持 15 min,自然冷却。滴加 3% 过氧化氢溶液,室温孵育 25 min。滴加羊血清室温孵育 30 min。滴加一抗工作液,兔抗人 LAG3 单克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 货号 ab40465), 工作浓度 1:200。兔抗人 FGL1 多克隆抗体 (美国 abcam 公司, 货

表 1 LAG3、FGL1 mRNA 及免疫检查点分子表达 qPCR 引物序列

Tab.1 qPCR primer sequences for LAG3 ,FGL1 mRNA ,and immune checkpoint molecule expression

基因	上游引物	下游引物
LAG3	5'-AGCTGGCATCATCGT-GTTC-3'	5'-GTAGGCGTTGATGGC-AAAGA-3'
FGL1	5'-TGGGACCTACCTGGC-TATG-3'	5'-CAGCCACACACACAC-ACAA-3'
PD-1	5'-TGGCCTGGCATTACC-TTC-3'	5'-CAGGATCTTGCTGGT-TGTC-3'
PD-L1	5'-TGGCATTTGCTGAAC-GCAT-3'	5'-TGCAGCCAGGTCTAA-TTGTTT-3'
GAPDH	5'-GGAGCGAGATCCCTC-CAAAAT-3'	5'-GGCTGTTGTCACT-TCTCATGG-3'

号 ab197357) ,工作浓度 1:150。湿盒中 4℃ 冰箱过夜孵育。滴加 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 聚合物二抗 ,室温孵育 30 min。加入 DAB 显色液 ,显微镜下显色 5 min。苏木素复染 ,梯度乙醇脱水、二甲苯透明 ,树胶封片。染色强度评分: 0 分无着色; 1 分弱着色 ,淡黄色; 2 分中等着色 ,棕黄色; 3 分强着色 ,棕褐色。阳性细胞百分比评分: 0 分 < 5% ,1 分 5% ~ 25% ,2 分 26% ~ 50% ,3 分 51% ~ 75% ,4 分 > 75%。将染色强度得分与阳性细胞百分比得分相乘 ,范围为 0~ 12 分。最终得分 ≥ 4 分定义为阳性表达 ,<4 分为阴性表达。

1.4 随访方法 对患者定期门诊、电话随访 3 年 ,术后前 2 年 3 个月随访 1 次 ,术后第 3 年 6 个月随访 1 次。详细记录患者的生存状态、疾病状态、任何复发或转移的证据(包括日期和诊断方式) 以及死亡原因。以患者接受根治性手术的日期作为随访计算的起始日 ,随访截止日期为 2024 年 3 月。总生存期指从随访起点至因任何原因导致死亡的时间。对于失访患者 ,其最后一次确认存活的日期将被记录为截尾数据。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 24.0 软件分析数据。计

数资料以频数或构成比(%) 表示 ,组间比较采用 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,2 组间比较采用独立样本 t 检验; Pearson 相关系数分析喉癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 表达与免疫检查点分子 mRNA 表达的相关性; Kaplan-Meier 曲线分析 LAG3、FGL1 蛋白表达对喉癌患者生存预后的影响; Cox 回归分析喉癌患者预后的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 喉癌患者癌组织与癌旁组织 LAG3、FGL1 及免疫检查点分子 mRNA 表达比较 喉癌患者癌组织 LAG3、FGL1 及 PD-1、PD-L1 mRNA 相对表达量均高于癌旁组织($P < 0.01$) ,见表 2。

表 2 喉癌患者癌组织与癌旁组织 LAG3、FGL1 及免疫检查点分子 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of LAG3 mRNA ,FGL1 mRNA and immune checkpoint molecule expression between cancerous and adjacent non-cancerous tissues in laryngeal cancer patients

组 别	例数	LAG3	FGL1	PD-1	PD-L1
癌旁组织	90	1.01±0.24	0.99±0.23	0.89±0.20	0.88±0.17
癌组织	90	3.16±0.54	2.78±0.49	2.32±0.40	1.86±0.35
t 值		34.516	31.372	30.335	23.894
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 喉癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 与免疫检查点分子的相关性 喉癌组织 LAG3、FGL1 mRNA 分别与 PD-1、PD-L1 mRNA 呈正相关(LAG3: $r/P = 0.714 / < 0.001$ 、 $0.681 / < 0.001$; FGL1: $r/P = 0.721 / < 0.001$ 、 $0.663 / < 0.001$)。

2.3 喉癌患者癌组织与癌旁组织 LAG3、FGL1 蛋白表达比较 喉癌组织中 LAG3、FGL1 蛋白位于细胞质和细胞膜 ,部分位于细胞核。喉癌组织 LAG3、FGL1 蛋白阳性率分别为 77.78%(70/90)、75.56%(68/90) ,高于癌旁组织的 8.89%(8/90)、6.67%(6/90) ,差异有统计学意义($\chi^2/P = 86.968 / < 0.001$ 、 $88.210 / < 0.001$) ,见图 1。

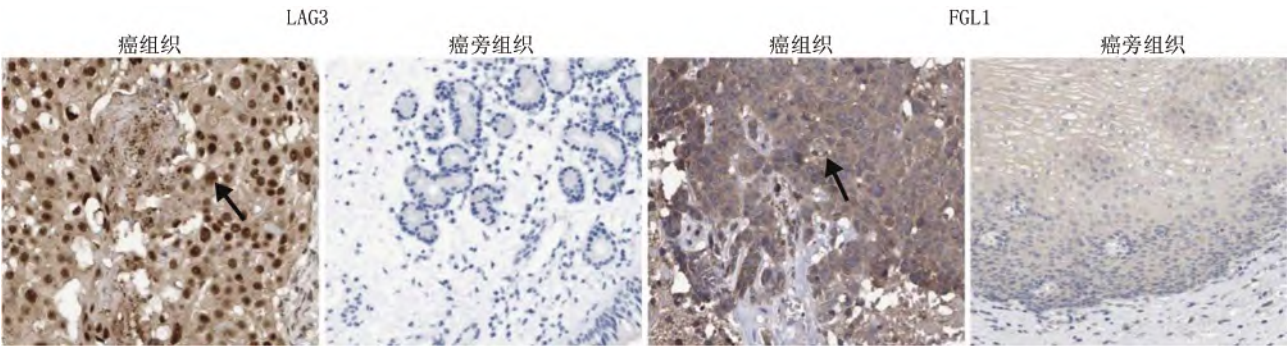


图 1 喉癌患者癌组织与癌旁组织中 LAG3、FGL1 蛋白表达(免疫组化 ×200)

Fig.1 Expression of LAG3 protein and FGL1 protein in cancerous and adjacent tissues of laryngeal cancer patients

2.4 喉癌组织中 LAG3、FGL1 蛋白表达在不同临床病理特征中的差异比较 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移的喉癌患者癌组织中 LAG3、FGL1 蛋白表达阳性率高于Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移的患者($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 3。

2.5 LAG3、FGL1 蛋白表达对喉癌患者预后的影响 喉癌患者 90 例随访中死亡 17 例,3 年总体生存率为 81.11%(73/90)。LAG3 阳性组 3 年总体生存率为 78.57%(55/70),低于阴性组的 90.00%(18/20); FGL1 阳性组 3 年总体生存率为 77.94%(53/68),低于阴性组的 90.91%(20/22),差异均有统计学意义(Log-Rank $\chi^2=4.023、3.799$ $P=0.002、0.028$)。

2.6 多因素 Cox 回归分析喉癌患者预后不良的影响因素 以喉癌患者预后不良为因变量(赋值: 是为“1”; 否为“0”),以上述结果中 $P<0.05$ 项目: TNM 分期(1=Ⅲ~Ⅳ期,0=Ⅰ~Ⅱ期)、淋巴结转移(1=有,0=无)、LAG3 蛋白(1=阳性; 0=阴性)、FGL1 蛋白(1=阳性; 0=阴性)为自变量,进行多因素 Cox 回归分析,结果显示: TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移、LAG3 阳性、FGL1 阳性是喉癌患者预后不良的独立危险因素(P 均 <0.01),见表 4。

表 4 多因素 Cox 回归分析喉癌患者预后不良的影响因素
Tab.4 Multivariate Cox regression analysis of factors influencing poor prognosis in laryngeal cancer patients

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95%CI
TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期	0.390	0.162	5.796	<0.001	1.477	1.075~2.029
淋巴结转移	0.365	0.140	6.797	<0.001	1.441	1.095~1.895
LAG3 蛋白阳性	0.230	0.101	5.186	<0.001	1.259	1.033~1.534
FGL1 蛋白阳性	0.270	0.109	6.136	<0.001	1.310	1.058~1.622

3 讨 论

目前,喉癌的预后评估主要依赖于 TNM 分期、病理分级等传统临床病理特征。然而,上述指标在反映肿瘤生物学行为及肿瘤免疫微环境状态方面存在局限性,难以精准预测患者的治疗反应和远期结局^[7]。近年来,免疫检查点抑制剂在肿瘤治疗中取得显著进展。但其在喉癌中的总体应答率有限,且缺乏有效的生物标志物以筛选优势人群^[8]。因此,探寻新的、可靠的分子预后标志物,对于实现喉癌的个体化精准治疗及改善患者预后具有重要意义。

LAG3 又称为 CD223,属于免疫球蛋白超家族成员,作为一种重要的免疫抑制性受体,主要表达于活化的 T 细胞、自然杀伤细胞和 B 细胞表面,通过结合主要组织相容性复合体Ⅱ类分子传导抑制信号。研究表明,LAG3 通过调控 T 细胞受体信号通路,抑制 T 细胞活化、增殖和细胞因子分泌,从而维持免疫耐受并促进肿瘤进展^[9]。本研究结果显示,喉癌组织中 LAG3 表达上调,与既往喉鳞癌组织测序结果一致^[10]。其机制可能与肿瘤细胞内 E3 连接酶 c-Cbl 表达缺失有关,该缺失导致 LAG3 泛素化水平降低,使其细胞质尾部稳定于膜解离构象,从而增强 LAG3 的肿瘤免疫抑制能力^[11]。此外,本研究发现,LAG3 表达与 TNM 分期和淋巴结转移相关,提示 LAG3 介导的免疫抑制可能促进肿瘤细胞免疫逃逸,进而加速局部进展及远处播散。有研究报道,卵巢癌中半乳糖凝集素 3 能够结合 LAG3 受体,通过促进癌细胞上皮间质转化,增强癌细胞的侵袭转移能力,同时与 CD8⁺T 细胞相互作用,促进肿瘤微环境中 T 细胞的耗竭,抑制抗肿瘤免疫^[12]。进一步分析显示,LAG3 与 PD-1、PD-L1 mRNA 表达呈正相

表 3 喉癌组织中 LAG3、FGL1 蛋白表达在不同临床病理特征中的比较 [例(%)]
Tab.3 Comparison of LAG3 and FGL1 protein expression differences in different clinical pathological characteristics of laryngeal cancer

项 目	例数	LAG3 阳性	χ^2 值	P 值	FGL1 阳性	χ^2 值	P 值
年龄	<60 岁	40 30(75.00)	0.321	0.571	29(72.50)	0.346	0.546
	≥60 岁	50 40(80.00)			39(78.00)		
性别	男	55 45(81.82)	1.336	0.247	40(72.73)	0.613	0.434
	女	35 25(71.43)			28(80.00)		
临床分型	声门型	40 30(75.00)	0.804	0.669	32(80.00)	0.842	0.656
	声门上型	30 25(83.33)			22(73.33)		
	声门下型	20 15(75.00)			14(70.00)		
分化程度	高分化	20 15(75.00)	0.594	0.743	14(70.00)	1.188	0.552
	中分化	46 35(76.09)			34(73.91)		
	低分化	24 20(83.33)			20(83.33)		
TNM 分期	Ⅰ~Ⅱ期	36 21(58.33)	13.125	<0.001	20(55.56)	12.995	<0.001
	Ⅲ~Ⅳ期	54 49(90.74)			48(88.89)		
淋巴结转移	无	41 28(68.29)	3.920	0.048	24(58.54)	11.810	0.001
	有	49 42(85.72)			44(89.80)		

关 提示 LAG3 可能参与代偿性免疫抑制通路的激活,这或可部分解释单一 PD-1/PD-L1 阻断疗法在部分喉癌患者中疗效有限的原因。肿瘤细胞和微环境可通过上调包括 LAG3/FGL1 在内的替代通路,来补偿 PD-1/PD-L1 通路被阻断后的抑制缺失,从而导致继发性或原发性耐药。研究表明,T 细胞的耗竭表现为多个免疫检查点的共表达,例如在头颈部癌中观察到 LAG3 与 PD-1 在肿瘤浸润淋巴细胞上的共表达,两者在抑制 CD8⁺T 细胞的免疫杀伤中发挥协同效应^[13]。生存分析显示,LAG3 阳性的喉癌患者预后较差,多因素 Cox 分析进一步证实 LAG3 阳性是影响喉癌患者预后的独立危险因素。分析其原因,LAG3 阳性的喉癌细胞容易出现肿瘤侵袭和转移,降低单一的 PD-1/PD-L1 阻断治疗的临床疗效,导致患者不良预后。有学者报道,接受纳武利尤单抗(抗 PD-1)和 relatlimab(抗 LAG3)联合治疗能够通过激活 IFN- γ 信号传导增强抗肿瘤免疫,改善黑色素瘤患者的免疫治疗疗效,延长患者的生存预后,通过多靶点阻断能够有效逆转 T 细胞耗竭,从而改善患者预后^[14]。

FGL1 属纤维蛋白原相关蛋白家族成员,主要由肝细胞合成和分泌,结构上包含一个 N 端的信号肽、两个纤维蛋白原样结构域,参与肝脏的再生、代谢调节及维持血管内皮完整性^[15]。近年来研究发现,FGL1 在肿瘤微环境中发挥免疫调节作用,作为 LAG3 的功能性配体,直接参与肿瘤免疫逃逸过程^[16]。本研究中,喉癌组织中 FGL1 表达上调,与既往在喉癌组织及喉癌细胞系 TU-686 中的检测结果一致,该研究同时发现喉癌患者血浆和肿瘤组织中 FGL1 高表达,且 FGL1 可促进 TU-686 细胞的增殖,并通过诱导上皮细胞向间质细胞的转化,促进喉癌细胞的迁移和侵袭^[17]。本研究发现 FGL1 表达与晚期 TNM 分期和淋巴结转移相关,提示 FGL1 介导的免疫抑制可能通过促进肿瘤细胞的免疫逃逸,加速肿瘤的侵袭性生长和远处播散。基础研究证实,赖氨酸特异性去甲基酶 1A 能够结合到肺癌细胞中 FGL1 启动子区域,上调 FGL1 的表达,进而激活信号转导和转录激活因子 3 等致癌信号通路,促进肿瘤免疫逃逸及肿瘤进展^[18]。本研究发现,喉癌中 FGL1 与 PD-1、PD-L1 mRNA 表达呈正相关,提示 FGL1 可能与 PD-1/PD-L1 通路存在协同的作用关系。研究表明,乳腺癌肿瘤微环境中的 FGL1 与 PD-1 存在共表达的现象,两者可与浸润性 CD8⁺T 细胞表面的 LAG3 受体结合,传递抑制性信号,导致 T 细胞功能耗竭,表现为 T 细胞增殖能力下降、效应细胞因子(如 IFN- γ 、TNF- α)分泌减少,最终丧失清除肿瘤细胞的能力^[19]。

生存分析结果显示,FGL1 阳性表达的喉癌患者总生存期显著缩短,多因素 Cox 回归分析进一步证实 FGL1 阳性是影响喉癌预后的独立危险因素。一项近期的研究在头颈部鳞癌中也观察到了相似结果,进一步佐证了本研究结论^[20]。有研究表明,FGL1 可通过非免疫相关的途径,其能促进上皮-间质转化,进而促进癌细胞的侵袭、转移等,导致患者不良预后^[21]。

本研究证实,喉癌中 LAG3、FGL1 蛋白的阳性表达均与患者较短的总生存期相关,这与在前列腺癌、胃癌等其他多种实体瘤中的报道趋势一致^[13,21]。深入分析其特点,LAG3 作为 T 细胞功能衰竭的直接标志物,其高表达可能直接抑制抗肿瘤免疫应答过程^[22-23]。而 FGL1 作为主要由肿瘤细胞分泌的配体,其高表达不仅反映了肿瘤细胞本身的免疫逃逸能力,还可能因其全身性分泌特性,影响全身性免疫状态^[24-25]。本研究中 FGL1 的预后风险比略高于 LAG3,这可能提示 FGL1 作为可溶性分子或肿瘤源性标志物,其影响范围更广,与肿瘤的侵袭性生物学行为为关联更密切。

4 结 论

本研究通过检测喉癌组织及癌旁组织中 LAG3、FGL1 的表达水平,系统分析了二者与免疫检查点分子 PD-1/PD-L1 的相关性及其临床病理意义和预后价值。结果发现喉癌中 LAG3、FGL1 表达升高,LAG3、FGL1 阳性表达与 TNM 分期 III ~ IV 期及淋巴结转移密切相关,是影响喉癌患者预后的独立危险因素。喉癌中 LAG3、FGL1 表达与免疫检查点相关基因 PD-1、PD-L1 表达呈正相关,两者可能通过协同作用促进肿瘤免疫逃逸及疾病进展。本研究提供了关于喉癌组织中 LAG3、FGL1 表达的临床关联性证据,为喉癌的免疫治疗策略优化及预后分层提供了新的理论依据,但缺乏功能实验的直接支持,未来有待通过体外(细胞共培养)或体内(动物模型)实验证实 LAG3、FGL1 促进喉癌免疫逃逸的分子机制。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

姬敏干:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;梁勇军:提出研究思路,论文审核;刘少飞:实施研究过程,资料搜集整理;袁国丽:资料搜集整理,进行统计学分析;袁浩展:进行文献调研与整理,论文修改

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48. DOI: 10.3322/caac.21763.
- [2] 黄昌群, 戚新春, 宫宇, 等. 喉癌组织中 MAGEB2、THBS1 表达与临床病理参数及预后的关系 [J]. 国际检验医学杂志, 2025, 46

- (11) : 1390-1394. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.11.021.
- [3] 张陈 ,周丽君 ,龙聪. LAG3 免疫抑制剂治疗黑色素瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学 ,2024 ,32(13) : 2469-2473. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2024.13.029.
- [4] Adam K ,Butler SC ,Workman CJ ,et al. Advances in LAG3 cancer immunotherapeutics[J]. Trends Cancer ,2025 ,11(1) : 37-48. DOI: 10.1016/j.trecan.2024.10.009.
- [5] 刘尧 ,孙雪梅 ,刘静 ,等. 食管鳞状细胞癌组织中 FGL1 的表达、肿瘤浸润淋巴细胞的分布及其意义[J]. 肿瘤防治研究 ,2022 ,49(10) : 1043-1047. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2022.22.0087.
- [6] Tian T ,Xie X ,Yi W ,et al. FBXO38 mediates FGL1 ubiquitination and degradation to enhance cancer immunity and suppress inflammation[J]. Cell Rep ,2023 ,42(11) : 1133-1142. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.113362.
- [7] 李霞 ,曹玲 ,王志婕 ,等. 喉癌患者预后相关因素分析[J]. 宁夏医科大学学报 ,2024 ,46(9) : 935-939. DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2024.09.012.
- [8] 曾妮 ,高芳芳 ,王爱华 ,等. miR-552 和 HSP90 α 与喉癌临床病理因素及预后的相关性研究[J]. 疑难病杂志 ,2024 ,23(1) : 57-62. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.01.010.
- [9] Mariuzza RA , Shahid S , Karade SS. The immune checkpoint receptor LAG3: Structure ,function ,and target for cancer immunotherapy[J]. J Biol Chem ,2024 ,300(5) : 1072-1081. DOI: 10.1016/j.jbc.2024.107241.
- [10] Yan L ,Song X ,Yang G ,et al. Identification and validation of immune infiltration phenotypes in laryngeal squamous cell carcinoma by integrative multi-omics analysis[J]. Front Immunol ,2022 ,13(5) : 8434-8447. DOI: 10.3389/fimmu.2022.843467.
- [11] Jiang Y ,Dai A ,Huang Y ,et al. Ligand-induced ubiquitination unleashes LAG3 immune checkpoint function by hindering membrane sequestration of signaling motifs[J]. Cell ,2025 ,188(9) : 2354-2371. DOI: 10.1016/j.cell.2025.02.014.
- [12] Yakubovich E ,Cook DP ,Rodriguez GM ,et al. Mesenchymal ovarian cancer cells promote CD8⁺ T cell exhaustion through the LGALS3-LAG3 axis[J]. NPJ Syst Biol Appl ,2023 ,9(1) : 61-74. DOI: 10.1038/s41540-023-00322-4.
- [13] Cillo AR ,Cardello C ,Shan F ,et al. Blockade of LAG3 and PD-1 leads to co-expression of cytotoxic and exhaustion gene modules in CD8⁺ T cells to promote antitumor immunity[J]. Cell ,2024 ,187(16) : 4373-4388. DOI: 10.1016/j.cell.2024.06.036.
- [14] Andrews LP ,Butler SC ,Cui J ,et al. LAG3 and PD-1 synergize on CD8⁺ T cells to drive T cell exhaustion and hinder autocrine IFN- γ -dependent anti-tumor immunity[J]. Cell ,2024 ,187(16) : 4355-4372. DOI: 10.1016/j.cell.2024.07.016.
- [15] Qian W ,Zhao M ,Wang R ,et al. Fibrinogen-like protein 1 (FGL1) : The next immune checkpoint target[J]. J Hematol Oncol ,2021 ,14(1) : 147-155. DOI: 10.1186/s13045-021-01161-8.
- [16] Shi AP ,Tang XY ,Xiong YL ,et al. Immune checkpoint LAG3 and its ligand FGL1 in cancer[J]. Front Immunol ,2021 ,12(8) : 7850-7861. DOI: 10.3389/fimmu.2021.785091.
- [17] Huang J ,Huang Q ,Xue J ,et al. Fibrinogen like protein-1 knock-down suppresses the proliferation and metastasis of TU-686 cells and sensitizes laryngeal cancer to LAG3 blockade[J]. J Int Med Res ,2022 ,50(9) : 6657-6669. DOI: 10.1177/03000605221126874.
- [18] Jiang J ,Luo S ,Chen X ,et al. Transcriptional activation of FGL1 by KDM1A promotes immune evasion in lung cancer[J]. Physiol Genomics ,2025 ,57(9) : 518-525. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00195.2024.
- [19] Du H ,Yi Z ,Wang L ,et al. The co-expression characteristics of LAG3 and PD-1 on the T cells of patients with breast cancer reveal a new therapeutic strategy[J]. Int Immunopharmacol ,2020 ,78(6) : 1061-1073. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.106113.
- [20] Pan Z ,Hu W ,Huang J ,et al. Increased FGL1 expression predicts poor prognosis and promotes emt in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Biochem Genet ,2024 ,62(3) : 2066-2081. DOI: 10.1007/s10528-023-10545-z.
- [21] Zhu S ,Kou Z ,Xiao C ,et al. Silencing FGL1 promotes prostate cancer cell apoptosis and inhibits EMT progression[J]. Sci Rep ,2025 ,15(1) : 19886-19897. DOI: 10.1038/s41598-025-04717-7.
- [22] 孙婷婷 ,方文 ,熊伟 ,等. 基于生信学分析乳腺癌组织 PD-1、CTLA4 和 LAG-3 表达与预后的关系[J]. 河北医药 ,2022 ,44(23) : 3525-3529. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2022.23.001.
- [23] 倪金菊 ,王馨辰 ,胡茂贵 ,等. 程序性死亡受体-1 与淋巴细胞活化基因-3 在滤泡性淋巴瘤中的表达及临床意义[J]. 中国当代医药 ,2024 ,31(18) : 14-20. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4721.2024.18.005.
- [24] 夏宁 ,周泽军 ,方申存 ,等. 血清 FGL1、LncSchLAP1 对晚期非小细胞肺癌免疫治疗效果及预后评估的价值[J]. 疑难病杂志 ,2024 ,23(3) : 346-351. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.03.017.
- [25] 蔡馨 ,李欢 ,汤冬玲 ,等. 纤维蛋白原样蛋白 1 对乙型肝炎病毒相关肝细胞癌的诊断价值[J]. 中国医药 ,2022 ,17(8) : 1184-1187. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.08.015.

(收稿日期: 2025-11-24)