

基于多数据库分析 MYH10 在肾透明细胞癌中的表达与意义

桂慧慧, 刘霞

(深圳市第二人民医院病理科, 广东 深圳 518000)

摘要:目的 分析 MYH10 基因在肾透明细胞癌中的表达水平及意义。方法 应用 UALCAN 数据库分析 MYH10 基因在肾透明细胞癌组织与正常对照组织中的差异性表达、肿瘤分级、启动子甲基化和预后, 应用 GEPIA 数据库检索 MYH10 基因的表达及肿瘤分级, 应用 GEPIA 数据库分析 MYH10 基因表达对肾透明细胞癌患者生存时间的影响, 应用 Oncomine 数据库检索肾透明细胞癌中与 MYH10 有共表达的基因, 应用 GEPIA 分析 MYH10 与共表达基因的相关性, 并通过 STRING 数据库对 MYH10 的蛋白质相互作用网络进行分析。结果 肾透明细胞癌组织中 MYH10 表达水平低于正常组织 ($P<0.05$); MYH10 过表达与肿瘤分级相关, 并且随分级增高 MYH10 表达降低 ($P<0.05$); 低表达的 MYH10 基因与患者低生存率有关 ($P<0.05$); MYH10 与 RAB3A 的共表达显著相关, MYH10 可能参与炎症反应和免疫细胞浸润; STRING 蛋白质分析网络显示, MYH10 可能与 MYL6B、MYL6、MYL9、MYL12B、CDC42、MYL1、MYLPF、MYH9、MYL2、MYLK 等蛋白相互作用。结论 MYH10 在肾透明细胞癌中呈低表达, 其表达水平与肾透明细胞癌患者生存与预后有关, MYH10 可能通过参与炎症反应和免疫细胞浸润影响肾透明细胞癌患者的临床结局。

关键词: 肾透明细胞癌; MYH10; 差异基因; 炎症反应; 免疫细胞浸润

中图分类号: R737.11

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.10.004

文章编号: 1006-1959(2022)10-0020-06

Expression and Significance of MYH10 in Renal Clear Cell Carcinoma Based on Multi-database Analysis

GUI Hui-hui, LIU Xia

(Department of Pathology, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518000, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To analyze the expression level and significance of MYH10 gene in renal clear cell carcinoma. **Methods** The differential expression, tumor grade, promoter methylation and prognosis of MYH10 gene in renal clear cell carcinoma and normal control tissues were analyzed by ualcan database. The expression and tumor grade of MYH10 gene were retrieved by GEPIA database. The effect of MYH10 gene expression on the survival time of patients with renal clear cell carcinoma was analyzed by GEPIA database. The genes co-expressed with MYH10 in renal clear cell carcinoma were retrieved by Oncomine database. The correlation between MYH10 and co-expressed genes was analyzed by GEPIA. The protein interaction network of MYH10 was analyzed by String database. **Results** The expression level of MYH10 in renal clear cell carcinoma was lower than that in normal tissues ($P<0.05$). The overexpression of MYH10 was related to tumor grade, and the expression of MYH10 decreased with the increase of grade ($P<0.05$). The low expression of MYH10 gene was related to the low survival rate ($P<0.05$). The co-expression of MYH10 and RAB3A was significantly correlated. MYH10 could be involved in inflammatory response and immune cell infiltration. STRING protein analysis network showed that MYH10 might interact with MYL6B, MYL6, MYL9, MYL12B, CDC42, MYL1, MYLPF, MYH9, MYL2, MYLK and other proteins. **Conclusion** MYH10 is low expressed in renal clear cell carcinoma, and its expression level is related to the survival and prognosis of patients with renal clear cell carcinoma. MYH10 may affect the clinical outcome of patients with renal clear cell carcinoma by participating in inflammatory response and immune cell infiltration.

Key words: Renal clear cell carcinoma; MYH10; Differential genes; Inflammatory response; Immune cell infiltration

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是一种常见的癌症。近年来,随着吸烟、高血压和肥胖等肾细胞癌危险因素的增加,以及成像技术的提高,该病的发病率呈增加趋势^[1,2]。大多数成人肾脏肿瘤是肾透明细胞癌^[3-5],为目前最常见的肾癌类型之一,大约占有肾脏肿瘤的 75%^[6]。肾透明细胞癌晚期预后很差^[7-9],寻找与肾透明细胞癌密切相关并具有诊断和治疗意义的基因尤为重要。MYH10 是 NMMHC-II B 蛋白的编码基因。研究表明^[10], MYH10 在乳腺

癌、胶质瘤和脑膜瘤中的表达增多。当 MYH10 表达降低时,增加了 NPC 细胞的迁移和侵袭;此外,恶性转化通常伴随着细胞骨架的破坏,MYH10 可以保持细胞骨架的完整性和稳定性,恢复细胞骨架网络可以逆转转化表型,即细胞形状、细胞粘附、饱和密度,这可能是 MYH10 的抗癌机制^[11-14]。但该基因在肾透明细胞癌中的作用目前较少报道。基于此,本研究旨在通过生物信息学方法探讨 MYH10 与肾透明细胞癌发生发展的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 MYH10 在肾透明细胞癌中的表达情况 UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/>)^[15]是一个有效的癌症数据在线分析和挖掘工具,主要是基于 TCGA 数据库的在线分析和挖掘。利用 UALCAN 数据库分析

作者简介:桂慧慧(1984.7-),女,广东深圳人,本科,主管技师,主要从事肾癌相关机制研究

通讯作者:刘霞(1974.5-),女,广东深圳人,博士,主任医师,主要从事肾癌相关机制研究

MYH10 在肾透明细胞癌中的表达情况。检索条件如下: ①在 Enter genesymbol 输入 MYH10; ②TCGA dataset Select cancer 栏选择 Head and Neck squamous cell carcinoma, 点击 Explore; ③Links for analysis 选择 Expression 及 Survival plots, individual cancer stages。

1.2 MYH10 与肾透明细胞癌及免疫检查点基因的关系 GEPIA 数据库是一个高度可视化数据库, 该数据库整合了 TCGA 癌症大数据和 GTEx 正常组织大数据^[16]。运用该数据库分析 MYH10 表达与肾透明细胞癌患者的预后, 分析其与免疫检查点基因之间的相关性。检索条件如下: ①在 Enter gene name 检索栏输入 MYH10, 点击 GEPIA, 再选择 individual cancer stages 检索肿瘤分期与 MYH10 表达量之间的关系; ②Survival 选择 Survival plots; ③Datasets Selection (Cancer name) 选择肾透明细胞癌。

1.3 MYH10 基因在肾透明细胞癌中共表达基因筛选 Oncomine 数据库(www.oncomine.org)是一个集成的在线癌症微阵列数据库, 用于 DNA 或 RNA 序列分析^[17]。检索 MYH10 基因在肾透明细胞癌中与其共表达基因: ①Gene: MYH10; ②Analysis Type: Coexpression Analysis。选择肾透明细胞癌数据集后出现与 MYH10 有共表达的基因。

1.4 肾透明细胞癌内 MYH10 基因与 6 种免疫细胞的关系 TIMER (https://cistrome.shinyapps.io/timer/) 是利用 RNA-seq 表达谱数据检测肿瘤组织中免疫细胞的浸润情况^[18]。TIMER 提供 (CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞)

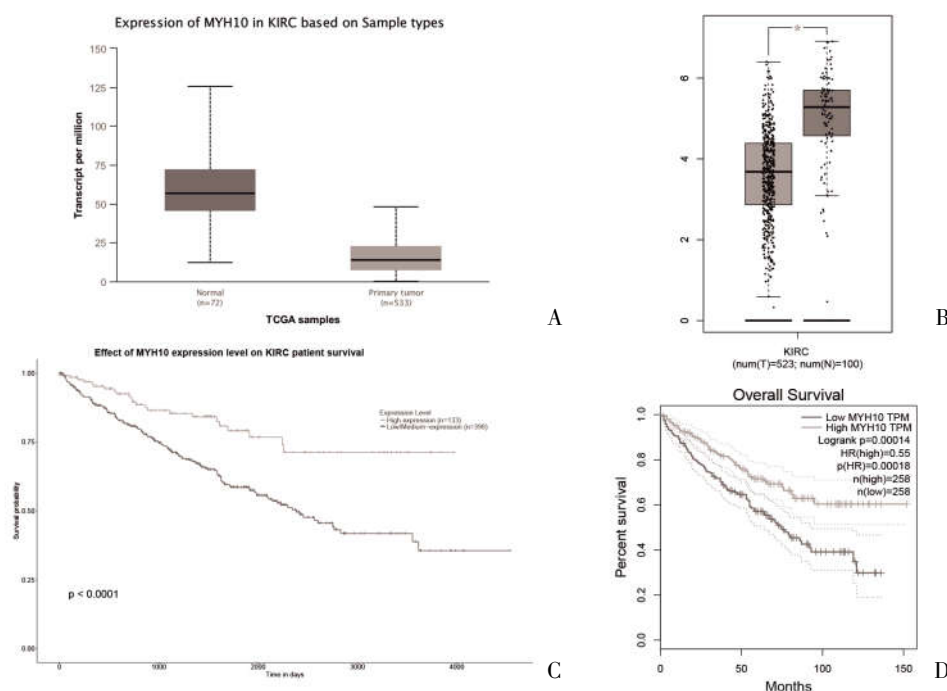
6 种免疫细胞的浸润情况。利用 TIMER 数据库分析肾透明细胞癌内 MYH10 基因表达和 6 种免疫细胞浸润比例的关系。检索条件如下: ①点击 SCNA, 在 Cancer Types: 选择肾透明细胞癌; ②Gene symbol: 输入 MYH10, 点击 Submit, 点击 correlation 输入 MYH10 和 RAB3A 查两基因相关性。

1.5 MYH10 蛋白与其他蛋白的相互作用 STRING 11.0 (https://string-db.org/) 是研究蛋白质相互作用的数据库, 可进行已知蛋白与预测蛋白之间的相互作用分析, 包括直接相互作用和间接相互作用。本研究利用 STRING 11.0 数据库分析 MYH10 蛋白与其他蛋白的相互作用, 检索条件如下: ①数据库中 input “MYH10”; ②在 List Of Name 下方的 Orginsim 选择 Homo sapiens; ③最后点击 SEARCH 进行构建蛋白质互作网络。

1.6 统计学方法 利用 SPSS 24.0 软件分析 MYH10 表达水平与临床病理参数间的关系, Spearman 相关系数分析 GEPIA 数据库中的基因表达相关性。采用 GEPIA 数据库分析生存率, Log-rank 检验估计生存率的差异。通过 TIMER 数据库中的 GENE 模块分析基因与免疫浸润水平的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MYH10 基因在肾透明细胞癌中的表达及预后 肾透明细胞癌组织中 MYH10 表达水平低于正常组织 ($P < 0.05$); MYH10 低表达与患者低生存率有关 ($P < 0.05$), 见图 1。



注: A: UALCAN 数据库中 MYH10 的表达; B: GEPIA 数据库中 MYH10 的表达; C: UALCAN 数据库中 MYH10 表达与患者总体生存率的关系; D: GEPIA 数据库中 MYH10 的表达与患者总体生存率的关系

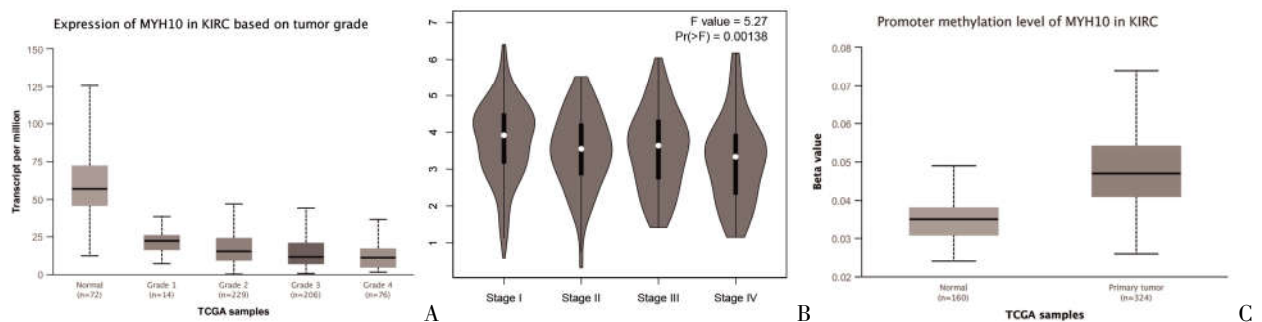
图 1 MYH10 基因在肾透明细胞癌中的表达及预后

2.2 MYH10 表达及 MYH10 启动子甲基化在肾透明细胞癌中与肿瘤分级的关系 MYH10 过表达与肿瘤分级相关,并且随分级增高 MYH10 表达降低($P < 0.05$);MYH10 启动子甲基化在肾透明细胞癌和正常组织中的表达比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

2.3 MYH10 与免疫细胞浸润的关系 MYH10 的表达与 B 细胞 ($P = 4.23e-02$)、CD4⁺T 细胞 ($P = 1.42e-13$)、巨噬细胞 ($P = 3.71e-10$)、中性粒细胞 ($P = 9.66e-04$)、树突状细胞 ($P = 2.16e-1204$) 的浸润呈正相关,

与 CD8⁺T 细胞 ($P = 2.26e-01$) 的浸润无关,见图 3。

2.4 肾透明细胞癌中与 MYH10 共表达的基因及其富集分析 使用搜索得到的 MYH10 共表达基因在 metascape 中进行富集,发现在通过生物过程富集后与在分化过程中调控细胞形态、肽基酪氨酸磷酸化、细胞粘附的正向调节有关;细胞成分富集后与液泡溶解、细胞质核周区、粘附结有关;分子功能富集后与单价无机阳离子跨膜转运蛋白活性等有关;KEGG 通路富集后与胰岛素分泌有关,见图 4、表 1。



注:A:UALCAN 中 MYH10 的表达与肿瘤分级的关系;B:GEPIA 中 MYH10 的表达与肿瘤分级的关系;C:UALCAN 中 MYH10 启动子甲基化的表达

图 2 MYH10 表达及 MYH10 启动子甲基化在肾透明细胞癌中与肿瘤分级的关系

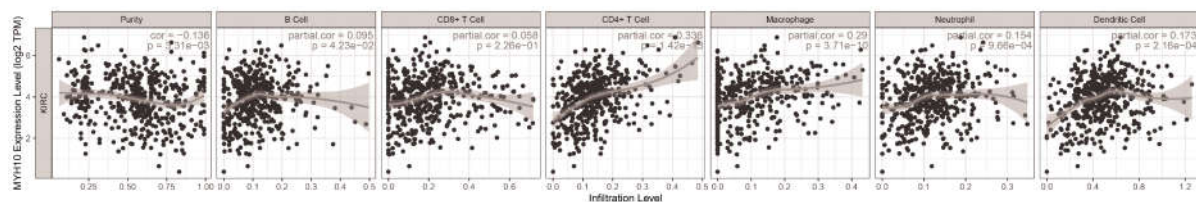
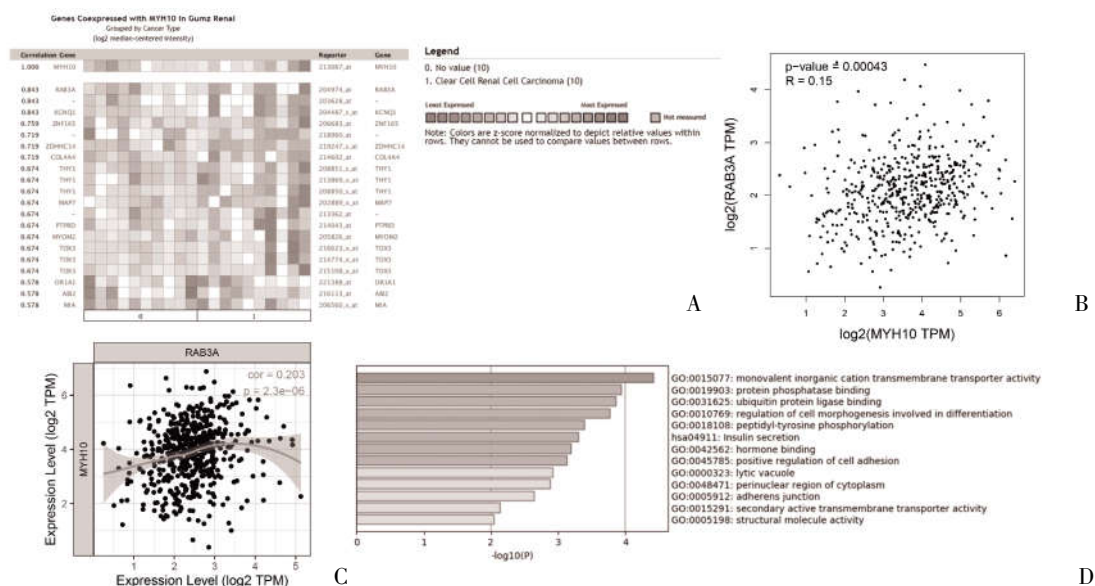


图 3 MYH10 与免疫细胞浸润的关系



注:A:Oncomine 中与 MYH10 存在共表达的基因;B:GEPIA 中 MYH10 和 RAB3A 之间存在共表达;C:TIMER 中 MYH10 和 RAB3A 之间存在共表达;D:富集分析通路

图 4 肾透明细胞癌中与 MYH10 共表达的基因及其富集分析

表 1 肾透明细胞癌中与 MYH10 共表达的基因富集结果

GO	Category	Description
GO:0015077	GO Molecular Functions	monovalent inorganiccation transmembrane transporter activity
GO:0019903	GO Molecular Functions	protein phosphatase binding
GO:0031625	GO Molecular Functions	ubiquitin protein ligase binding
GO:0010769	GO Biological Processes	regulation of cell morphogenesis involved in differentiation
GO:0018108	GO Biological Processes	peptidyl-tyrosine phosphorylation
hsa04911	KEGG Pathway	Insulin secretion
GO:0042562	GO Molecular Functions	hormone binding
GO:0045785	GO Biological Processes	positive regulation of cell adhesion
GO:0000323	GO Cellular Components	lytic vacuole
GO:0048471	GO Cellular Components	perinuclear region of cytoplasm
GO:0005912	GO Cellular Components	adherens junction
GO:0015291	GO Molecular Functions	secondary active transmembrane transporter activity
GO:0005198	GO Molecular Functions	structural molecule activity

GO	占比(%)	Log ₁₀ (P)	Log ₁₀ (q)
GO:0015077	12.77	-4.42	-0.26
GO:0019903	8.51	-3.94	-0.26
GO:0031625	10.64	-3.86	-0.26
GO:0010769	10.64	-3.77	-0.26
GO:0018108	10.64	-3.39	-0.26
hsa04911	6.38	-3.30	-0.26
GO:0042562	6.38	-3.19	-0.25
GO:0045785	10.64	-3.13	-0.25
GO:0000323	12.77	-2.92	-0.20
GO:0048471	12.77	-2.88	-0.17
GO:0005912	10.64	-2.64	-0.08
GO:0015291	6.38	-2.13	0.00
GO:0005198	10.64	-2.04	0.00

2.5 MYH10 基因表达水平与上下游蛋白质间的相互调控作用 利用通过 STRING 数据库得到 MYH10 蛋白相互作用网络,PPI 富集的分别为 MYL6B、MYL6、MYL9、MYL12B、CDC42、MYL1、MYLPF、MYH9、MYL2、MYLK,见图 5。

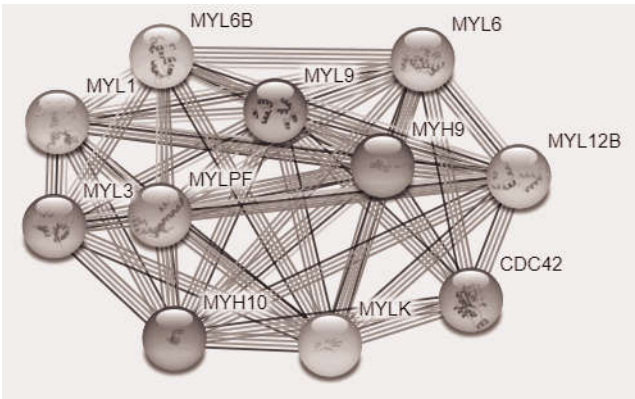


图 5 MYH10 蛋白水平与上下游蛋白调控间的相互关系

3 讨论

肾细胞癌最常见的亚型之一是肾透明细胞癌,其特征是复发率和死亡率高^[19],对放疗和化疗的反应较差^[20]。尽管在肾透明细胞癌的检测和治疗方面取得了许多进展,但大多数患者确诊时已处于晚期,因此迫切需要研究出新的筛查基因或治疗靶点,以实现该病的早期发现与治疗。MYH10 基因参与编码 NMMHC-II B,在哺乳动物线粒体 DNA 维持中起着非常重要的作用^[21]。据报道^[22],MYH10 可能可以作为膀胱尿路上皮癌新的治疗靶点。另有研究证明^[23],MYH10 诱导 MYH9 表达并通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路促进卵巢癌细胞增殖、迁移侵袭。沉默人脑胶质瘤细胞中的 MYH10 后发现,Wnt/ β -catenin 信号通路会受到一定程度的抑制^[24]。在结直肠癌肿瘤组织中 MYH10 表达明显增高,可以作为诊断结直肠癌肿瘤的候选生物标志物之一^[25]。但 MYH10 在肾透明细胞癌中的作用目前较少报道,本研究旨在通过多种数据库预测 MYH10 在肾透明细胞癌发生发展中的作用,寻找 MYH10 在肾透明细胞癌中的机制,以期发现肾透明细胞癌新的治疗方案和靶点。

本研究发现,MYH10 在肾透明细胞癌中表达减少,提示 MYH10 的低表达与总体率相关,推测 MYH10 在肾透明细胞癌的发生发展中发挥了重要作用。另外,UNCLAN 和 GEPIA 数据库中均显示 MYH10 与肾透明细胞癌肿瘤分级有关,且随着分级增高,差异越大;随后用 UNCLAN 预测 MYH10 基因启动子甲基化,发现在肾透明细胞癌中甲基化程度高于正常组织($P < 0.05$)。本研究还显示,MYH10 的表达与 B 细胞($P = 4.23 \times 10^{-2}$)、CD4⁺T 细胞($P = 1.42 \times 10^{-13}$)、巨噬细胞($P = 3.71 \times 10^{-10}$)、中性粒细胞($P = 9.66 \times 10^{-4}$)、树突状细胞($P = 2.16 \times 10^{-124}$)的浸润呈正相关,与 CD8⁺T 细胞($P = 2.26 \times 10^{-1}$)的浸润无关,提示 MYH10 与炎症反应和免疫细胞浸润有关,继而影响患者的临床结局。

本研究发现,MYH10 和 RAB3A 的表达密切相关。为了探索识别出的与 MYH10 共表达的基因可能的信号通路,本研究在 Metascape 进行了富集,发现生物过程富集与在分化过程中调控细胞形态、肽基酪氨酸磷酸化、细胞粘附的正向调节有关;细胞成分富集后与液泡溶解、细胞质核周区、粘附结有关;分子功能富集后与单价无机阳离子跨膜转运蛋白活性等有关;KEGG 通路富集后与胰岛素分泌相关,这些将有利于探索 MYH10 参与肾透明细胞癌发生发展的过程。另外,本研究还发现 MYH10 与多个蛋白存在着共表达关系,存在多个相互作用节点,通过探索 MYH10 的上下游调控蛋白对肾透明细胞癌的机制研究具有重要价值。

综上所述,MYH10 在肾透明细胞癌中低表达,且与患者预后相关;其参与炎症反应和免疫细胞浸润,MYH10 启动子的甲基化,共表达基因,相互作用蛋白都可以成为下一步探索方向,可以更加深入的研究 MYH10 参与肾透明细胞癌发生发展机制,未来可能可以将 MYH10 作为肾透明细胞癌预测标志物及新的治疗靶点。

参考文献:

- [1]Ward RD,Tanaka H,Campbell SC,et al.2017 AUA Renal Mass and Localized Renal Cancer Guidelines[J],Imaging Implications Radiographics,2018,38(7):2021-2033.
- [2]Cui H,Shan H,Miao MZ,et al.Identification of the key genes and pathways involved in the tumorigenesis and prognosis of kidney renal clear cell carcinoma[J].Sci Rep,2020,10(1):4271.
- [3]Moch H,Montironi R,Lopez-Beltran A,et al.Oncotargets in different renal cancer subtypes [J].Curr Drug Targets,2015,16(2):125-135.
- [4]Valera VA,Merino MJ.Misdiagnosis of clear cell renal cell carcinoma[J].Nat Rev Urol,2011,8(6):321-333.
- [5]Ran L,Liang J,Deng X,et al.miRNAs in Prediction of Prognosis in Clear Cell Renal Cell Carcinoma [J].Biomed Res Int,2017,2017:4832931.
- [6]Li QK,Pavlovich CP,Zhang H,et al.Challenges and opportunities in the proteomic characterization of clear cell renal cell carcinoma (ccRCC): A critical step towards the personalized care of renal cancers[J].Semin Cancer Biol,2019,55:8-15.
- [7]Yang H,Song E,Shen G,et al.Expression of microRNA-30c via lentivirus vector inhibits the proliferation and enhances the sensitivity of highly aggressive ccRCC Caki-1 cells to anti-cancer agents[J].Onco Targets Ther,2017,10:579-590.
- [8]Khadirnaikar S,Kumar P,Pandi SN,et al.Immune associated LncRNAs identify novel prognostic subtypes of renal clear cell carcinoma[J].Mol Carcinog,2019,58(4):544-553.
- [9]Zhang Y,Wang J,Liu X.LRRRC19-A Bridge between Selenium Adjuvant Therapy and Renal Clear Cell Carcinoma: A Study Based on Datamining[J].Genes (Basel),2020,11(4):440.
- [10]Liu W,Cai T,Li L,et al.MiR-200a Regulates Nasopharyngeal Carcinoma Cell Migration and Invasion by Targeting MYH10[J].J Cancer,2020,11(10):3052-3060.
- [11]Glück U,Kwiatkowski DJ,Ben-Ze'ev A.Suppression of tumorigenicity in simian virus 40-transformed 3T3 cells transfected with alpha-actinin cDNA[J].Bioassays,1993,90(2):383-387.
- [12]Fernández JLR,Geiger B,Salmon D,et al.Suppression of tumorigenicity in transformed cells after transfection with vinculin cDNA[J].Cell Biol,1992,119:427-438.
- [13]Boyd J,Risinger JI,Wiseman RW,et al.Regulation of microfilament organization and anchorage-independent growth by tropomyosin 1[J].Proc Natl Acad Sci USA,1995,92(25):11534-11538.
- [14]Gimona M,Kazzaz JA,Helfman DM.Forced expression of tropomyosin 2 or 3 in v-Ki-ras-transformed fibroblasts results

in distinct phenotypic effects [J].*Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996,93(18):9618-9623.

[15]Mahnken AH,Thomson K,deHaan M,et al.CIRSE standards of practice guidelines on ilio caval stenting[J].*CardiovascIntervent Radiol*,2014,37(4):889-897.

[16]Pellerin O,Baudin G,di Primio M,et al.Endovascular treatment for post-thrombotic syndrome. Two case studies and a literature review[J].*Diagn Interv Imaging*,2012,93(5):380-385.

[17]Rhodes DR,Yu J,Shanker K,et al.ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J].*Neoplasia*,2004,6:1-6.

[18]Neglén P,Raju S.Balloon dilation and stenting of chronic iliac vein obstruction:technical aspects and early clinical outcome [J].*Journal Of Endovascular Therapy*,2000,7(2):79-91.

[19]Jiao M,Guo H,Chen Y,et al.DARS-AS1 promotes clear cell renal cell carcinoma by sequestering miR-194-5p to up-regulate DARS[J].*Biomed Pharmacother*,2020,128:110323.

[20]Yuan C,Xiong Z,Shi J,et al.Overexpression of PPT2 Represses the Clear Cell Renal Cell Carcinoma Progression by

Reducing Epithelial-to-mesenchymal Transition [J].*J Cancer*, 2020,11(5):1151-1161.

[21]Reyes A,He J,Mao CC,et al.Actin and myosin contribute to mammalian mitochondrial DNA maintenance [J].*Nucleic Acids Res*,2011,39(12):5098-5108.

[22]成重峰,徐婷,荆涛,等.A1AT、MYH10 在膀胱尿路上皮癌中的表达及其临床意义[J].*现代泌尿外科杂志*,2015(6):395-398.

[23]刘龙阳.MYH10 诱导 MYH9 促进卵巢癌增殖、迁移侵袭的研究[D].广州:南方医科大学,2019.

[24]Wang Y,Yang Q,Cheng Y,et al.Myosin Heavy Chain 10 (MYH10) Gene Silencing Reduces Cell Migration and Invasion in the Glioma Cell Lines U251, T98G, and SHG44 by Inhibiting the Wnt/ β -Catenin Pathway [J].*Med Sci Monit*,2018(24): 9110-9119.

[25]李凯迪,王海,郑岩,等.MYH10 在结直肠癌中的表达及意义[J].*中国实验诊断学*,2020(5):800-803.

收稿日期:2021-07-25;修回日期:2021-08-20

编辑/成森