

MTHFD2 基因在膀胱癌中的表达、功能富集及信号通路的生物信息学分析

任默涵, 于东海, 吴 迪

(天津市第三中心医院放射科, 天津 300170)

摘要:目的 采用数据挖掘技术探讨亚甲基四氢叶酸脱氢酶 2 基因(MTHFD2)在膀胱癌中的表达、生物学功能、相关信号通路及其与患者预后的关系。方法 在癌症基因组图谱数据库 (TCGA) 中比较人多种实体肿瘤及膀胱癌组织和正常组织中 MTHFD2 基因 mRNA 的相对表达水平, String 数据库构建 MTHFD2 基因相关蛋白-蛋白相互作用网络, 对 MTHFD2 及相关基因功能进行 KEGG 信号通路功能富集; 根据膀胱癌患者癌组织中 MTHFD2 基因表达中位数分为高、低表达组, 绘制风险比例模型, Log-rank 检验比较 MTHFD2 高低表达组患者总生存期(OS)和无病生存期(DFS)有无差异。结果 MTHFD2 基因 mRNA 在人体大多数肿瘤组织中呈现高表达 ($P<0.05$); MTHFD2 基因 mRNA 在癌组织中重度表达水平高于癌旁正常组织 ($P<0.05$), 随着 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平的增高, 膀胱癌的分期也增加 ($P<0.05$); MTHFD2 蛋白-蛋白相互作用网络中共有 21 个蛋白和 47 个相互作用, 各蛋白平均相互作用指数为 0.893, 网络中各个蛋白富集明显 ($P<0.05$); MTHFD2 基因功能主要富集于上皮肿瘤发生、线粒体和甲酰基及相关转移酶活性; MTHFD2 基因表达与 CD8⁺T 细胞 ($r=0.364$)、巨噬细胞 ($r=0.145$)、中性粒细胞 ($r=0.269$) 及树突状细胞 ($r=0.407$) 存在相关性; MTHFD2 高表达组膀胱癌患者 OS ($HR=1.5$, $P=0.000\ 62$) 和 DFS ($HR=1.5$, $P=0.015$) 低于低表达组。结论 MTHFD2 在膀胱癌患者癌组织中呈高表达水平, 其可能参与了膀胱癌的发生与发展, 并与患者的预后不良有关。

关键词:膀胱癌; MTHFD2 基因; 无病生存期; 淋巴细胞

中图分类号: Q811.4; R737.14

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.24.004

文章编号: 1006-1959(2022)24-0018-05

Expression, Functional Enrichment and Bioinformatics Analysis of MTHFD2 Gene in Bladder Cancer

REN Mo-han, YU Dong-hai, WU Di

(Department of Radiology, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression, biological function, related signaling pathways and prognosis of methylene tetrahydrofolate dehydrogenase 2 (MTHFD2) in bladder cancer by data mining. **Methods** The relative expression levels of MTHFD2 gene mRNA in various solid tumors and bladder cancer tissues and normal tissues were compared in the Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The String database was used to construct the MTHFD2 gene-related protein-protein interaction network, and the KEGG signaling pathway function enrichment of MTHFD2 and related gene functions was performed. According to the median expression of MTHFD2 gene in bladder cancer tissues, the patients were divided into high and low expression groups, and the risk ratio model was drawn. Log-rank test was used to compare the overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) of patients with high and low expression of MTHFD2. **Results** MTHFD2 mRNA was highly expressed in most human tumor tissues ($P<0.05$). The expression level of MTHFD2 mRNA in cancer tissues was higher than that in adjacent normal tissues ($P<0.05$). With the increase of MTHFD2 mRNA expression level, the stage of bladder cancer increased ($P<0.05$). There were 21 proteins and 47 interactions in the MTHFD2 protein-protein interaction network. The average interaction index of each protein was 0.893, and each protein in the network was significantly enriched ($P<0.05$). The function of MTHFD2 gene is mainly enriched in epithelial tumorigenesis, mitochondria and formyl and related transferase activity. MTHFD2 gene expression was correlated with CD8⁺T cells ($r=0.364$), macrophages ($r=0.145$), neutrophils ($r=0.269$) and dendritic cells ($r=0.407$). The OS ($HR=1.5$, $P=0.000\ 62$) and DFS ($HR=1.5$, $P=0.015$) of bladder cancer patients in the MTHFD2 high expression group were lower than those in the low expression group. **Conclusion** MTHFD2 is highly expressed in bladder cancer tissues, which may be involved in the occurrence and development of bladder cancer and is related to the poor prognosis of patients.

Key words: Bladder cancer; MTHFD2 gene; Disease-free survival; Lymphocytes

膀胱癌(bladder cancer)是临床上最为常见的泌尿系统上皮肿瘤^[1]。流行病学数据显示^[2],截至 2018 年,全球约有 160 万膀胱癌患者,新增病例 54.9 万,死亡病例 20 万。膀胱癌发病年龄通常在 65~84 岁,男性多于女性。近年来随着分子生物学研究的不断深入,关键驱动基因时空异常表达是膀胱癌发病的重要因素,这些基因包括 FGFR3、TP53、ARID1A、KMT2D、HRA、TERT、KRAS、CREBBP 等^[3,4]。亚甲基

四氢叶酸脱氢酶 2(methylene tetrahydrofolate dehydrogenase 2, MTHFD2)的编码产物为双功能亚甲基四氢叶酸脱氢酶/环水解酶,这种酶作为同二聚体发挥作用,酶镁复合物的形成允许 NAD 的结合^[5]。在分子机制上探讨膀胱癌发生的分子机制、复发转移和预后分子标志物是目前研究的热点^[6]。基于此,本研究采用生物信息学方法,探讨 MTHFD2 在膀胱癌中表达、相关生物学功能和信号通路,以及与患者预后的关系,以期对膀胱癌的诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 MTHFD2 基因表达分析 在癌症基因组图谱数据库(TCGA)^[7]中分析 MTHFD2 基因 mRNA 在人多

作者简介:任默涵(1979.11-),男,天津人,本科,技师,主要从事医学影像技术研究

种实体肿瘤及膀胱癌组织和正常尿路上皮组织中的相对表达水平。检索词为“bladder cancer”和“MTHFD2 基因”检索物种为人类。另外分析 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平与患者临床病理特征及预后的相关性^[8]。

1.2 MTHFD2 蛋白网络构建 在 String 数据库(<http://string-db.org/cgi/input.pl>)^[9] 中构建 MTHFD2 基因相关蛋白-蛋白相互作用网络,物种选择人类,作用蛋白不多于 20 个,相互作用关系置信度大于 0.4。

1.3 GO 和 KEGG 分析 采用 David 数据库进行基因本体论(GO)功能富集和京都基因百科全书(KEGG)信号通路分析^[10]。GO 功能富集包括细胞定位、分子功能和生物学过程,并采用气泡图进行表示,反映相关基因的功能、基因技术、基因比例及 *P* 值。

1.4 生存分析 根据膀胱癌组织中 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平的中位数,将膀胱癌患者分为高、低表达组采用 Cox 回归模型 Log-rank 检验比较高低表达组患者的总生存期(OS)和无病生存期(DFS),

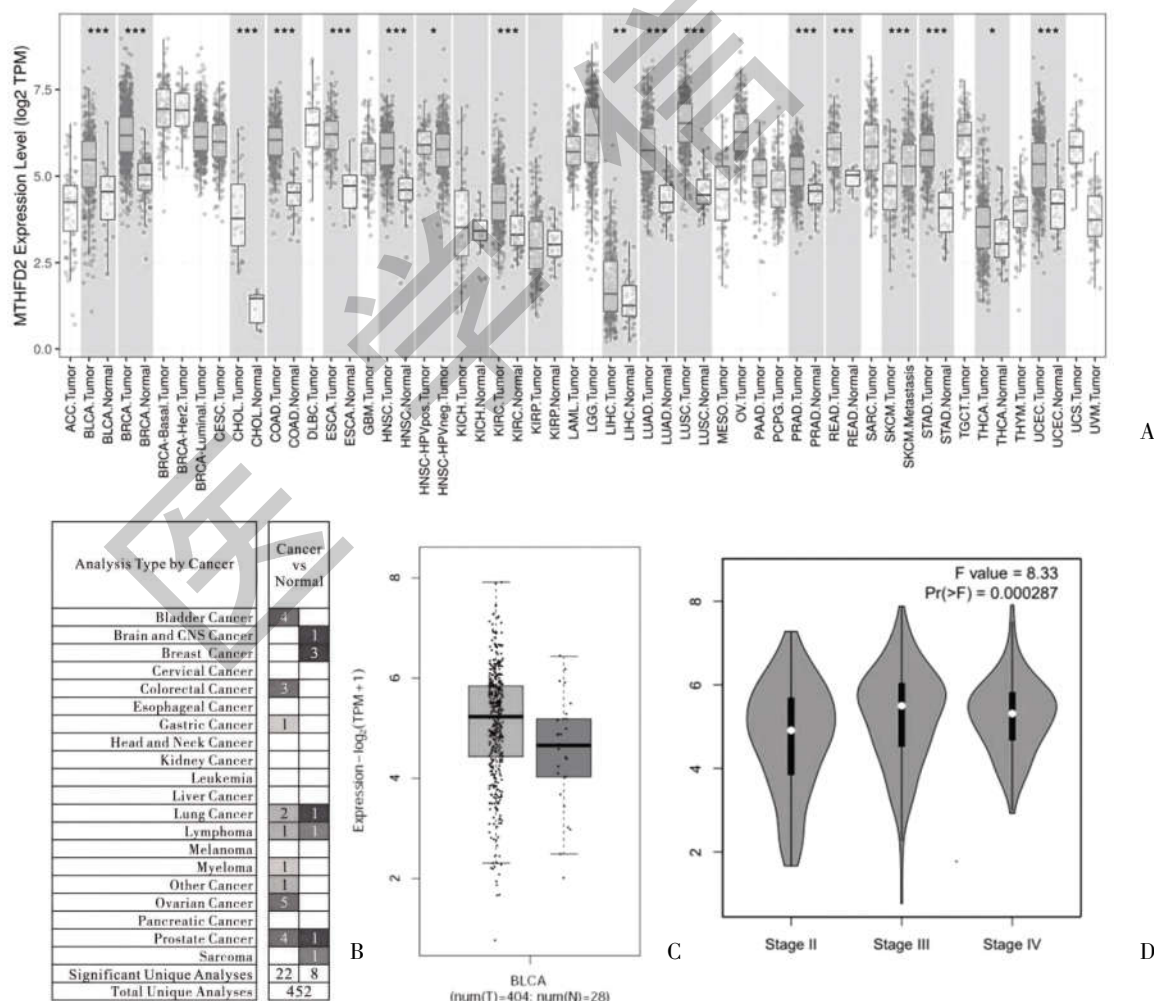
并计算风险比(hazard ratio,HR)^[11]。

1.5 统计学方法 本研究所涉及数据分析采用 R 软件完成(<https://www.r-project.org/>),差异表达、蛋白网络等采用在线软件分析,生存数据采用风险比例模型,Log-rank 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTHFD2 基因 mRNA 在膀胱癌及其他肿瘤组织中的表达 MTHFD2 基因 mRNA 在人体大多数肿瘤组织中呈高表达,见图 1A、图 1B;在膀胱癌患者中,MTHFD2 基因 mRNA 在癌组织重度表达水平高于癌旁正常膀胱上皮组织(*P*<0.05),见图 1C,且随着 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平的升高,膀胱癌的分期也增加,见图 1D。

2.2 MTHFD2 蛋白相互作用网络分析 String 数据库构建 MTHFD2 蛋白相互作用网络见图 2,MTHFD2 蛋白-蛋白相互作用网络中共有 21 个蛋白和 47 个相互作用,各蛋白平均相互作用指数为 0.893,网络中各个蛋白富集明显(*P*<0.05)。



注:A:MTHFD2 基因 mRNA 在人体多种肿瘤组织及对应的正常组织中的表达;B:Oncomine 数据库中 MTHFD2 基因 mRNA 在人体多种肿瘤组织的表达;C:膀胱癌组织和正常组织中 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平;D:MTHFD2 基因 mRNA 在不同分期膀胱癌组织中的表达

图 1 MTHFD2 基因 mRNA 在膀胱癌及其他肿瘤组织中的表达



图 2 MTHFD2 基因编码蛋白相互作用网络

2.3 GO 功能富集分析 MTHFD2 基因功能富集分析显示,MTHFD2 基因生物学过程主要富集于细胞氨基酸代谢、上皮肿瘤发生和有机环状化合物代谢等过程;细胞组分主要富集于核帽结合复合体、线粒体和细胞内;分子功能主要富集于羟甲基、甲酰基及相关转移酶活性和 RNA 帽结合,见表 1。

2.4 KEGG 信号通路富集分析 MTHFD2 基因信号通路主要富集于叶酸碳池、肿瘤代谢途径、RNA 转

运和氨酰 tRNA 生物合成,见表 2。

2.5 MTHFD2 基因表达与淋巴细胞浸润的相关性 MTHFD2 基因表达与 CD8⁺T 细胞($r=0.364$)、巨噬细胞($r=0.145$)、中性粒细胞($r=0.269$)及树突状细胞($r=0.407$)存在相关性,见图 3。

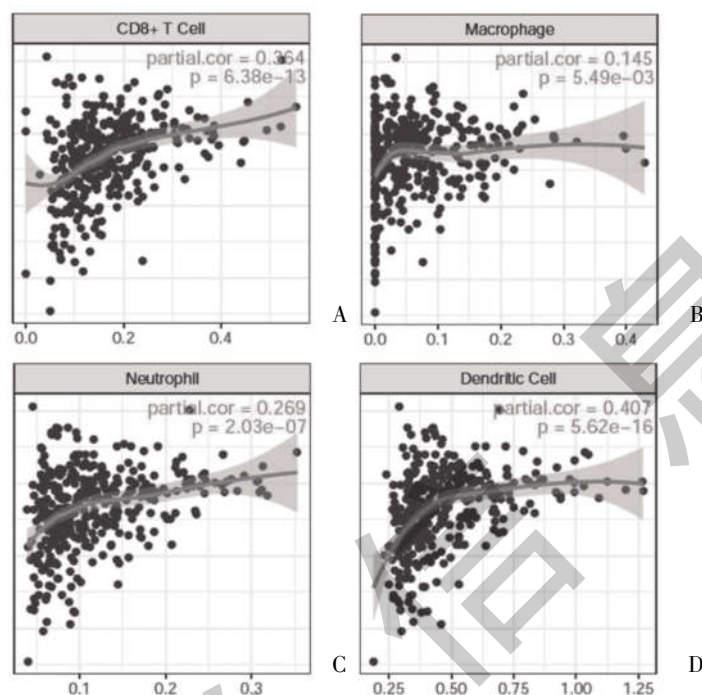
2.6 生存分析 Log-rank 检验显示,MTHFD2 高表达组膀胱癌患者 OS ($HR=1.5, P=0.000\ 62$) 和 DFS ($HR=1.5, P=0.015$)低于低表达组,见图 4。

表 1 MTHFD2 基因 GO 功能富集分析

功能富集	涉及基因	背景基因	强度	P
生物学过程				
细胞氨基酸代谢过程	5	308	1.18	0.0119
丝氨酸家族氨基酸代谢过程	3	40	1.84	0.0119
上皮肿瘤发生	6	622	0.95	0.0119
RNA 定位	4	211	1.25	0.0164
含蛋白质复合物定位	4	223	1.22	0.0164
有机环状化合物代谢过程	14	4963	0.42	0.0164
α -氨基酸代谢过程	4	209	1.25	0.0164
甘氨酸代谢过程	2	16	2.07	0.0194
细胞组分				
核帽结合复合体	2	3	2.79	0.0015
线粒体	7	1531	0.63	0.0353
细胞内	21	14 286	0.14	0.0456
分子功能				
羟甲基、甲酰基及相关转移酶活性	2	8	2.37	0.0077
RNA 帽结合	2	17	2.04	0.0145

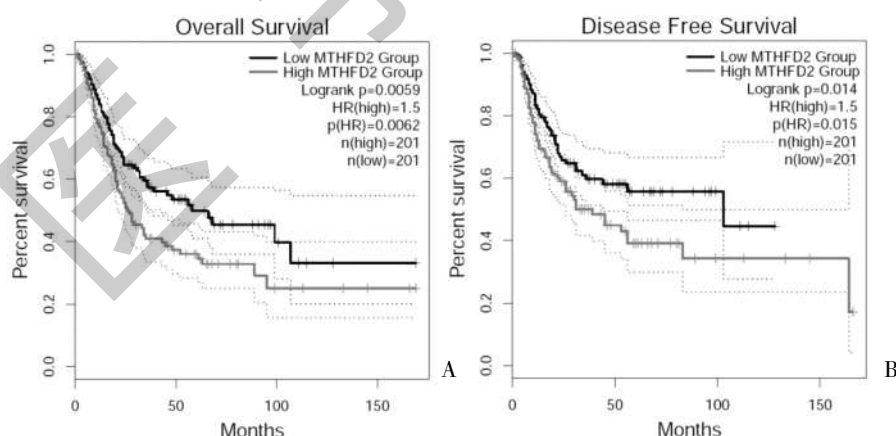
表 2 KEGG 信号通路富集分析

信号通路	涉及基因	背景基因	关联强度	P
叶酸碳池	3	20	2.15	4.08E-05
肿瘤代谢途径	7	1250	0.72	0.0025
RNA 转运	3	159	1.25	0.0049
氨酰 tRNA 生物合成	2	44	1.63	0.0061



注:A:MTHFD2 基因表达与 CD8⁺T 细胞;B:MTHFD2 基因表达与巨噬细胞;C:MTHFD2 基因表达与中性粒细胞;D:MTHFD2 基因表达与树突状细胞

图 3 MTHFD2 基因表达与淋巴细胞浸润的相关性



注:A:OS 曲线;B:DFS 曲线

图 4 MTHFD2 基因表达与膀胱癌患者预后生存的关系

3 讨论

相关研究显示^[12],在血液和实体瘤中,MTHFD2 表达升高与预后不良相关。MTHFD2 缺失可导致多种恶性表型的抑制,包括增殖、侵袭、迁移和诱导癌细胞死亡^[13,14]。这种酶的非代谢功能,特别是在癌症中,是目前研究的热点^[15]。刘新城等^[16]的研究探讨了

MTHFD2 在非肌层浸润性膀胱癌中的表达及临床意义,但与已有的研究存在差异,因此,MTHFD2 表达与膀胱癌的关系还需要临床进一步探究证实。

本研究通过生物信息数据挖掘探讨了 MTHFD2 在膀胱癌中的表达、生物血功能、相关信号通路及其与患者预后的关系。结果显示,MTHFD2 基因 mRNA

在人体大多数肿瘤组织中呈现高表达 ($P<0.05$),提示 MTHFD2 参与了包括膀胱癌在内的多种肿瘤的发生、发展。因此,可将 MTHFD2 参数作为诊断膀胱癌的筛查指标,以缩小检查范围,避免漏诊和误诊。同时研究显示,膀胱癌患者中 MTHFD2 基因 mRNA 在癌组织重度表达水平高于癌旁正常膀胱上皮组织 ($P<0.05$),且随着 MTHFD2 基因 mRNA 表达水平的增高,膀胱癌的分期也升高 ($P<0.05$),提示 MTHFD2 功能富集于上皮肿瘤的发生,进一步验证了其于膀胱癌的发生发展有关,并且不同分期膀胱癌患者 MTHFD2 基因 mRNA 表达存在差异,随病情的严重 MTHFD2 基因 mRNA 表达逐渐升高。因此, MTHFD2 基因 mRNA 表达水平可判断膀胱癌患者病情严重程度,但是单一指标具有一定局限性^[17],临床可选择 MTHFD2 基因 mRNA 表达为膀胱癌病情的主要判断指标,并结合其他相关体征、症状进行诊断,以免耽误病情,造成不良预后^[18]。生存分析显示, MTHFD2 高表达患者 OS 和 DFS 降低,表明 MTHFD2 在膀胱癌患者癌组织中表达水平升高,参与了膀胱癌的发生与发展,并与患者的生存预后相关。此外, MTHFD2 蛋白-蛋白相互作用网络中共有 21 个蛋白和 47 个相互作用,各蛋白平均相互作用指数为 0.893,网络中各个蛋白富集明显 ($P<0.05$); MTHFD2 基因功能主要富集于上皮肿瘤发生、线粒体和甲酰基及相关转移酶活性。 MTHFD2 基因表达与 CD8⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及树突状细胞存在相关性,提示 MTHFD2 基因表达与免疫机制相关。分析原因: MTHFD2 是一种线粒体单碳叶酸代谢酶,在胚胎和多种肿瘤中高表达,但在大多数成体分化组织中低表达或无表达^[19,20],其在膀胱癌组织中的表达水平较癌旁组织升高,可能因对患者的免疫功能造成影响。

综上所述, MTHFD2 在膀胱癌患者癌组织中表达水平升高,其参与了膀胱癌的发生与发展,并与患者的预后不良有关。

参考文献:

- [1]Siegel RL,Miller KD,Fuchs HE,et al.Cancer Statistics,2021[J].CA Cancer J Clin,2021,71(1):7-33.
- [2]Bray F,Ferlay J,Soerjomataram I,et al.Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J].CA Cancer J Clin,2018,68(6):394-424.
- [3]Ardelt P,Kausch I,B hle A.Gene and antisense therapy of bladder cancer[J].Adv Exp Med Biol,2003,539(Pt A):155-183.
- [4]Shibata MA,Morimoto J,Ito Y,et al.Experimental gene therapy in mammary and urinary bladder cancer using electrogene transfer[J].Med Electron Microsc,2004,37(4):216-224.

- [5]Huang J,Qin Y,Lin C,et al.MTHFD2 facilitates breast cancer cell proliferation via the AKT signaling pathway [J].Exp Ther Med,2021,22(1):703.
- [6]Zhu J,Jin L,Zhang A,et al.Coexpression Analysis of the EZH2 Gene Using The Cancer Genome Atlas and Oncomine Databases Identifies Coexpressed Genes Involved in Biological Networks in Breast Cancer,Glioblastoma,and Prostate Cancer[J].Med Sci Monit,2020,26:e922346.
- [7]Hoffmann R,Valencia A.A gene network for navigating the literature[J].Nat Genet,2004,36(7):664.
- [8]Shukla K,Singh N,Lewis JE,et al.MTHFD2 Blockade Enhances the Efficacy of β -Lapachone Chemotherapy With Ionizing Radiation in Head and Neck Squamous Cell Cancer [J].Front Oncol,2020,10:536377.
- [9]Shang M,Yang H,Yang R,et al.The folate cycle enzyme MTHFD2 induces cancer immune evasion through PD-L1 up-regulation[J].Nat Commun,2021,12(1):1940.
- [10]Xu QY,Xie MJ,Huang J,et al.Effect of circ MTHFD2 on resistance to pemetrexed in gastric cancer through regulating expression of miR-124 [J].Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(23):10290-10299.
- [11]季德才,郝斌,姜利宁,等.膀胱癌组织 GPR48 基因的表达及其临床意义[J].山东医药,2018,58(4):89-92.
- [12]Wei Y,Liu P,Li Q,et al.The effect of MTHFD2 on the proliferation and migration of colorectal cancer cell lines [J].Onco Targets Ther,2019,12:6361-6370.
- [13]Yan Y,Zhang D,Lei T,et al.MicroRNA-33a-5p suppresses colorectal cancer cell growth by inhibiting MTHFD2 [J].Clin Exp Pharmacol Physiol,2019,46(10):928-936.
- [14]Ju HQ,Lu YX,Chen DL,et al.Modulation of Redox Homeostasis by Inhibition of MTHFD2 in Colorectal Cancer:Mechanisms and Therapeutic Implications [J].J Natl Cancer Inst,2019,111(6):584-596.
- [15]Farling KB.Bladder cancer:Risk factors,diagnosis,and management[J].Nurse Pract,2017,42(3):33-34.
- [16]刘新城,黄海花,彭友彬,等.MTHFD2 在非肌层浸润性膀胱癌中的表达及其临床意义 [J].临床泌尿外科杂志,2020,35(12):963-966,970.
- [17]张肃.SAPCD2 基因对膀胱癌细胞增殖、侵袭的影响及其机制研究[D].昆明:昆明医科大学,2022.
- [18]杨悦,杨成林,王尉,等.高迁移率蛋白 A2 基因负反馈调控微小 RNA-497-5p 促进膀胱癌细胞增殖和侵袭[J].中华实验外科杂志,2021,12(8):40-45.
- [19]Kim JH,Lee C,Lee M,et al.Control of leucine-dependent mTORC1 pathway through chemical intervention of leucyl-tRNA synthetase and Rag D interaction[J].Nat commun,2017,8(1):1-15.
- [20]Jeong SJ,Kim JH,Lim BJ,et al.Inhibition of MUC1 biosynthesis via threonyl-tRNA synthetase suppresses pancreatic cancer cell migration[J].Exp Mol Med,2018,50(1):e424.

收稿日期:2022-12-08;修回日期:2022-12-13

编辑/成森