

生物信息学分析 TLCD1 在肝细胞肝癌中的表达及意义

刘 宁

(常州市妇幼保健院消化科,江苏 常州 213000)

摘要:目的 基于生物信息学分析 TLCD1 在肝细胞肝癌(HCC)表达及临床价值。方法 通过 TIMER2.0、GEPIA 和 UALCAN 数据库分析 TLCD1mRNA 在 HCC 组织和正常组织中的表达差异。使用 UALCAN 数据库中进一步分析 TLCD1mRNA 与 HCC 临床病理参数的关系。采用 Kaplan-MeierPlotter 数据库和 GEPIA 数据库分析 TLCD1mRNA 表达高低对 HCC 患者预后的影响。通过 LinkedOmics 数据库探讨 HCC 中 TLCD1 的共表达基因,并进行通路分析。结果 TLCD1mRNA 在 HCC 组织中表达高于正常组织,且 TLCD1mRNA 在亚洲人、TP53 突变、低分化或未分化的 HCC 组织中表达水平较高($P<0.05$)。生存分析提示,TLCD1mRNA 高表达的 HCC 患者总生存期、无复发生存期、无进展生存期、疾病特异性生存期、无病生存期均较差($P<0.05$)。共表达分析显示,TLCD1 可能与核糖体、氧化磷酸化、剪切体、蛋白酶体、RNA 转运、嘌呤代谢等信号通路相关。结论 在 HCC 组织中 TLCD1mRNA 表达增高,且 TLCD1 高表达的 HCC 患者预后较差,可能成为 HCC 新的治疗靶点。

关键词: TLCD1;肝细胞肝癌;预后;生物信息学

中图分类号:R735.7

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.04.003

文章编号:1006-1959(2023)04-0016-06

Bioinformatics Analysis of the Expression and Significance of TLCD1 in Hepatocellular Carcinoma

LIU Ning

(Department of Gastroenterology, Changzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Changzhou 213000, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To analyze the expression and clinical value of TLCD1 in hepatocellular carcinoma (HCC) based on bioinformatics.

Methods The expression of TLCD1mRNA in HCC tissues and normal tissues was analyzed by TIMER2.0, GEPIA and UALCAN databases. The relationship between TLCD1 mRNA and clinicopathological parameters of HCC was further analyzed using the UALCAN database. Kaplan-MeierPlotter database and GEPIA database were used to analyze the effect of TLCD1 mRNA expression on the prognosis of HCC patients. The co-expressed genes of TLCD1 in HCC were explored by LinkedOmics database, and pathway analysis was performed. **Results** The expression of TLCD1 mRNA in HCC tissues was higher than that in normal tissues, and the expression level of TLCD1 mRNA was higher in Asian, TP53 mutant, poorly differentiated or undifferentiated HCC tissues ($P<0.05$). Survival analysis showed that the overall survival, recurrence-free survival, progression-free survival, disease-specific survival and disease-free survival of HCC patients with high expression of TLCD1 mRNA were poor ($P<0.05$). Co-expression analysis showed that TLCD1 may be related to ribosome, oxidative phosphorylation, spliceosome, proteasome, RNA transport, purine metabolism and other signaling pathways. **Conclusion** In HCC tissues the expression of TLCD1 mRNA is increased, and the prognosis of HCC patients with high expression of TLCD1 is poor, which may become a new therapeutic target for HCC.

Key words: TLCD1;Hepatocellular carcinoma;Prognosis;Bioinformatics analysis

目前,肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)已经成为全球第6大最常见的肿瘤,其高发病率和死亡率严重危害了人们的健康^[1]。HCC的治疗方式主要包括手术切除、动脉化疗栓塞、射频消融、化疗、免疫治疗等。然而,药物耐药、肿瘤复发等导致治疗失败仍然很常见^[2-4]。因此,探索新的治疗靶点对肝细胞肝癌的治疗有重要意义。TLCD1位于细胞膜上,参与细胞膜组装、磷脂稳态、调节膜脂分布等多种生物进程^[5]。细胞膜成分和流动性的改变

与肿瘤细胞的生长和转移有关^[6]。研究发现^[7],TLCD1在葡萄糖黑色素瘤中表达显著异常,并且其异常表达与患者无远处转移生存预后存在相关性。可见,TLCD1可能在肿瘤发生发展中有重要作用。关于TLCD1在HCC中的作用仍未有相关研究报道。本研究通过生物信息学分析,研究TLCD1在HCC中的mRNA表达情况,以及在患者预后预测中的价值,并探讨其潜在的作用机制,为HCC的治疗带来新的思路。

1 数据来源与方法

1.1 TIMER2.0 数据库 TIMER2.0 数据库(<http://timer.comp-genomics.org>)用于分析来自TCGA数据库中不同肿瘤组织的基因表达情况和免疫细胞浸润水平。通过TIMER2.0数据库“Gene_DE”模块,研究TLCD1在30余种肿瘤组织和正常组织中mRNA的

基金项目:常州市科技项目(编号:CJ20200086)

作者简介:刘宁(1994.10-),女,江苏常州人,硕士,住院医师,主要从事消化疾病的研究

表达差异。

1.2 GEPIA 数据库 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)是一个具备基因表达差异分析、相关性分析、预后分析等多种功能的综合性基因分析平台。本研究通过 GEPIA 分析 TLCD1mRNA 在 HCC 与正常组织中的表达差异,结果以箱式图展示。利用“Survival:Survival Plots”模块分析 TLCD1mRNA 的表达差异对 HCC 患者预后的影响,主要包括患者的总生存期(OS)和无病生存期(DFS)。

1.3 UALCAN 数据库 UALCAN 数据库(<http://UALCAN.path.uab.edu/>)用于深入分析 TCGA 数据库中 31 中肿瘤的基因表达数据。本研究通过该数据库进一步验证 TLCD1mRNA 在 HCC 组织和正常组织的表达差异,并且分析在 HCC 患者不同种族、分期、分级等亚组间 TLCD1mRNA 的表达差异。

1.4 Kaplan-Meier Plotter 数据库 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<http://www.kmplot.com>)用于分析来自 21 种肿瘤类型的 25 000 多个样本中,超过 30 000 个基因的表达和生存之间的相关性。采用该数据库研究 TLCD1mRNA 表达情况与 HCC 患者预后的关系,TLCD1 高表达与低表达按最佳临界值划分,绘制 OS、无复发生存期(RFS)、无进展生存期(PFS)、疾病特异性生存期(DSS)生存曲线。

1.5 LinkedOmics 数据库 LinkedOmics 数据库(<http://linkedomics.org/>)可用于分析多种癌症的多组学分析^[8]。通过该数据库的“LinkFinder”模块,筛选获得与 TLCD1 共表达基因,以火山图形式呈现,相关性采

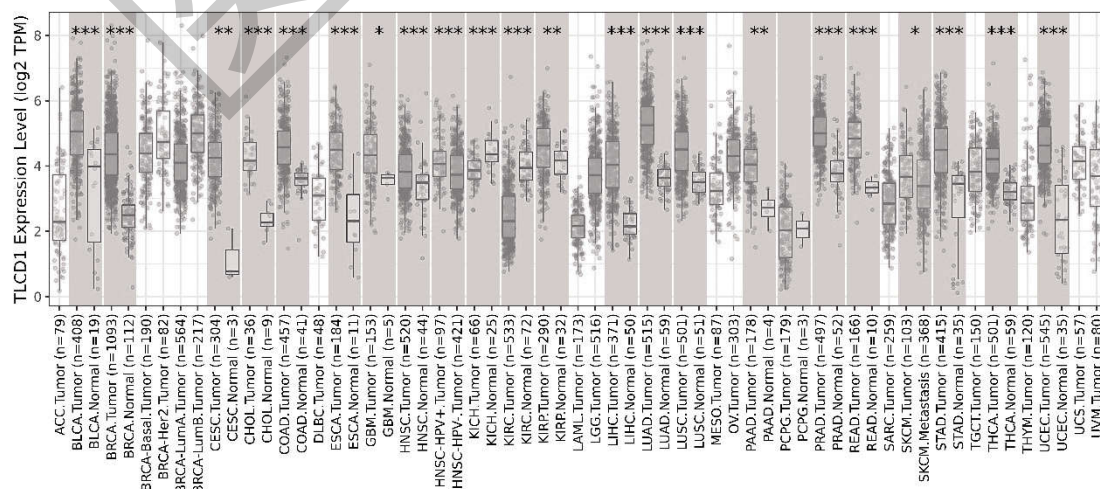
用 Pearson 相关系数检验。功能富集分析通过“LinkInterpreter”模块,通过 GSEA 进行 KEGG 通路分析,参数设置为 1000 次模拟, $P<0.05$ 。

1.6 统计学方法 采用 t 检验分析 HCC 组织和正常组织中 TLCD1mRNA 表达差异;单因素方差分析比较不同 HCC 亚组间 TLCD1 的表达情况。通过 Kaplan-Meier 曲线和 Log-rank 检验进行 TLCD1 的生存分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

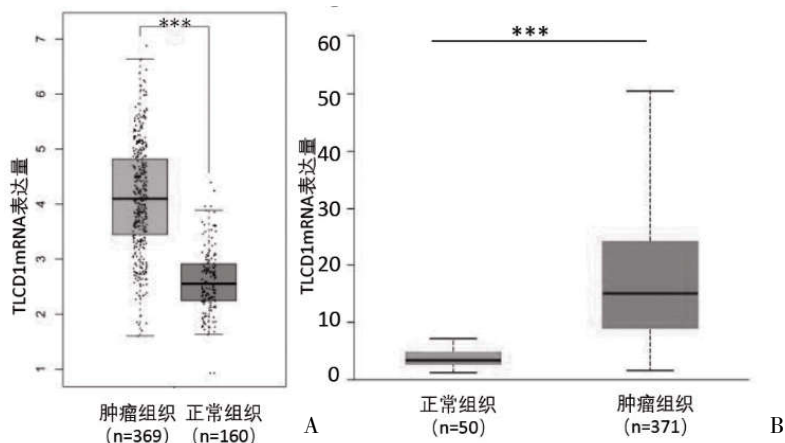
2.1 TLCD1mRNA 在不同肿瘤组织中的表达情况 TIMER2.0 数据库分析结果显示,TLCD1mRNA 在 HCC、结肠癌、直肠癌、胆管癌、食管癌、胃癌、胰腺癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌、膀胱移行细胞癌、前列腺癌、肾乳头状细胞癌、乳腺浸润癌、宫颈鳞状细胞癌和宫颈内腺癌、子宫内膜癌、多形性成胶质细胞瘤、头颈部鳞状细胞癌、甲状腺癌中,较相应正常组织,表达显著上调,而在肾嫌色细胞癌、肾透明细胞癌中表达下降($P<0.05$),见图 1。

2.2 TLCD1mRNA 在 HCC 中表达情况 本研究通过 GEPIA 数据库,对 369 例 HCC 组织和 160 例正常肝组织的 TLCD1mRNA 表达情况进行分析,结果提示,TLCD1mRNA 在 HCC 中表达显著提高,差异有统计学意义($P<0.001$),见图 2A。在 UALCAN 数据库中,对两组间的表达差异进一步验证,结果显示 TLCD1mRNA 在 HCC 组织中显著高表达($P<0.001$),见图 2B。



注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 1 TIMER2.0 数据库中 TLCD1mRNA 在不同肿瘤组织中的表达水平

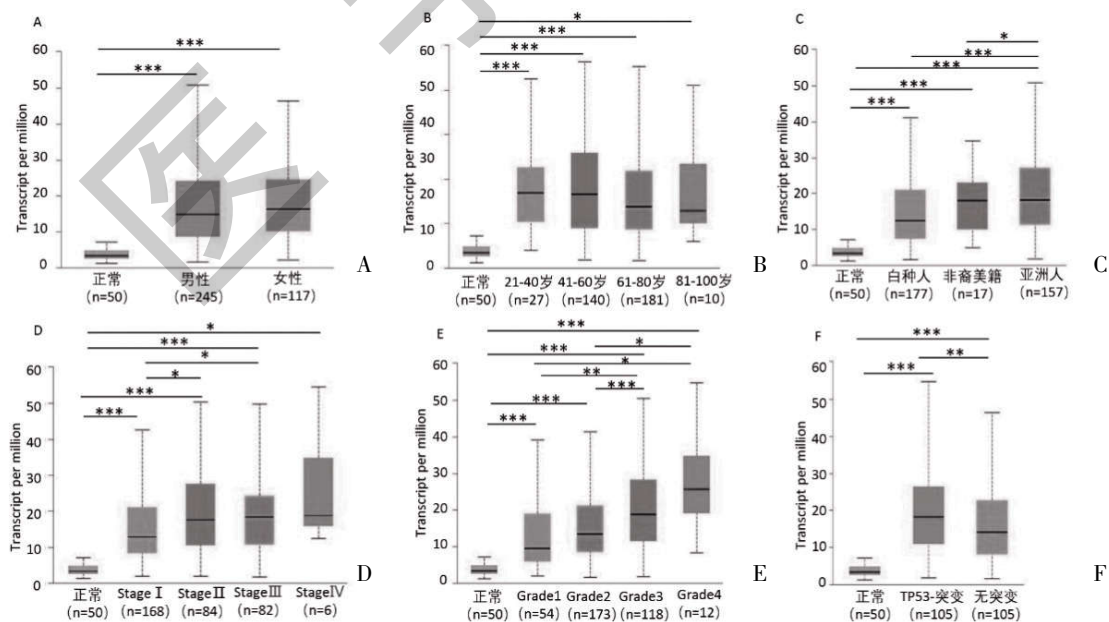


注:A:GEPIA 数据库中 TLCD1mRNA 在肿瘤和正常组织中的表达情况;B:UALCAN 数据库中 TLCD1mRNA 在肿瘤和正常组织中的表达情况;*** $P<0.001$

图 2 TLCD1mRNA 在 HCC 组织和正常组织中的表达水平

2.3 TLCD1mRNA 与 HCC 临床病理参数的关系 采用 UALCAN 数据库,探讨了 TLCD1mRNA 与 HCC 临床病理参数的关系。TLCD1 的表达与性别、年龄无相关性($P>0.05$),见图 3A 及 3B。而 TLCD1mRNA 在亚洲 HCC 患者组织中,表达情况高于白种人及非裔美籍,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3C。随着肝癌分期、病理分级的增加,TLCD1mRNA 表达也呈上升趋势,即 II 期或 III 期 HCC 患者中,TLCD1mRNA

的表达水平较 I 期患者升高,差异有统计学意义($P<0.05$),图 3D;在低分化或未分化的肝细胞肝组织中,TLCD1mRNA 的表达水平也均高于高分化或中分化者,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3E。此外,TLCD1mRNA 的表达与 TP53 突变情况有关,在 TP53 突变的 HCC 中,TLCD1mRNA 的表达水平也显著升高,见图 3F。



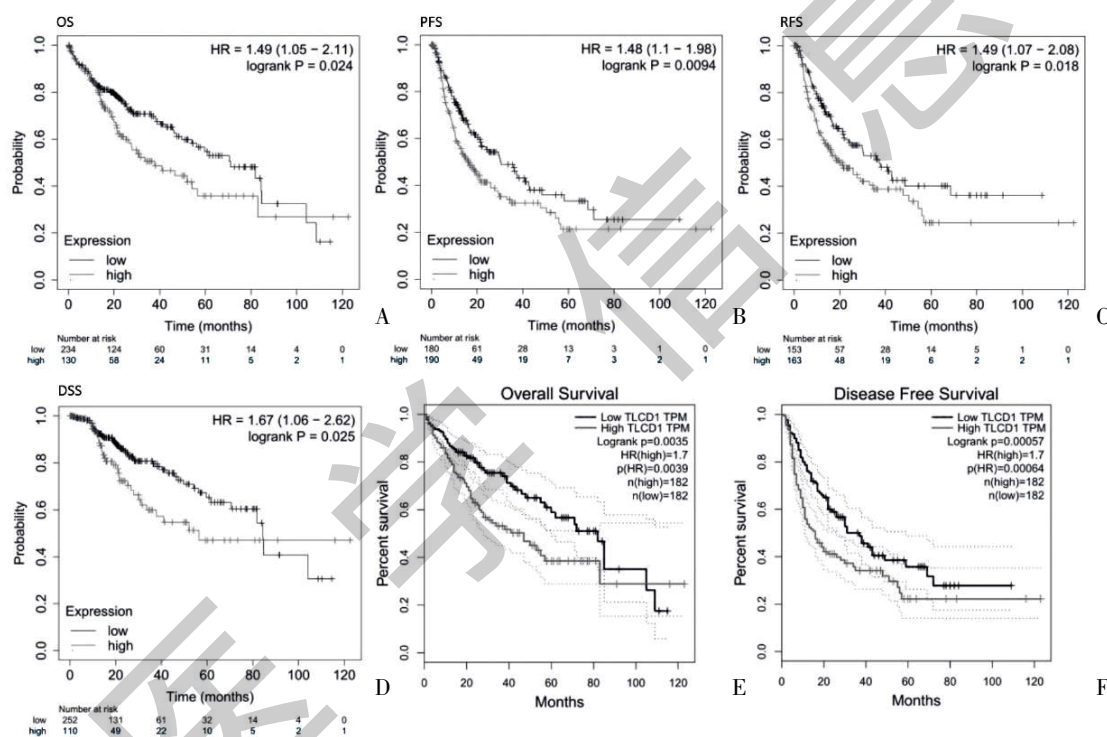
注:A:不同性别;B:不同年龄段;C:不同种族;D:不同肝癌临床分期;E:不同肝癌病理分级;F:TP53 突变与否; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 3 GEPIA 数据库中 TLCD1mRNA 在不同 HCC 亚组间的表达情况

2.4 TLCD1 表达与 HCC 患者预后的相关性 为了进一步探讨 TLCD1mRNA 表达水平对 HCC 患者预后的影响,本研究分析了 Kaplan-Meier Plotter 线上数据库中 364 位 HCC 患者的预后数据。结果发现,在 HCC 患者中,高表达 TLCD1 组较低表达组预后差(OS: $HR=1.49, 95\% CI: 1.05 \sim 2.11, P=0.024$; PFS: $HR=1.48, 95\% CI: 1.1 \sim 1.98, P=0.0094$; RFS: $HR=1.49, 95\% CI: 1.07 \sim 2.08, P=0.018$; DSS: $HR=1.67, 95\% CI: 1.06 \sim 2.62, P=0.025$),见图 4A~4D。同时,通过 GEPIA 数据验证 TLCD1 在 HCC 患者预后的预测价值,结果也提示,TLCD1 高表达的患者 OS 和 DFS 明显低于低表达的患者(OS: $HR=1.7, P=0.0035$; DFS: $HR=$

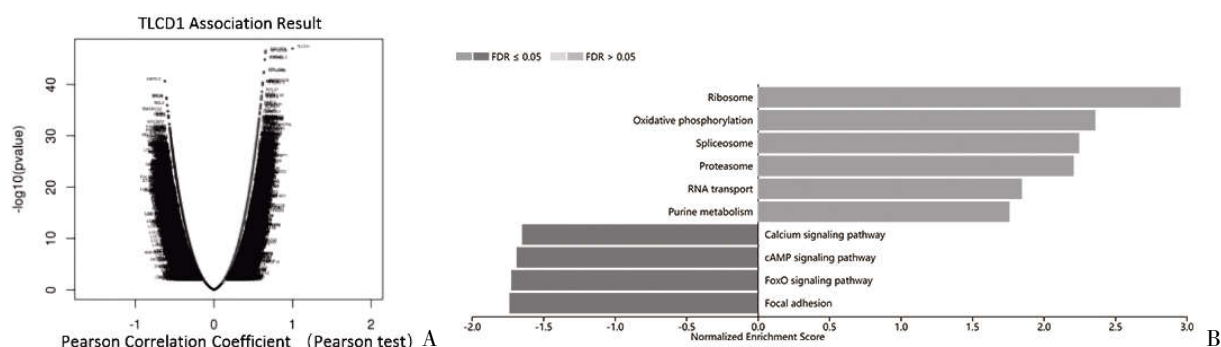
$1.7, P=0.00057$),见图 4E 和 4F。

2.5 TLCD1 在 HCC 中的共表达及相关通路的富集分析 利用 LinkedOmics 数据库对在 HCC 中 TLCD1 的共表达基因进行分析,结果显示,共有 5402 个基因与 TLCD1 表达呈正相关($P<0.05$),6519 个基因与 TLCD1 表达呈负相关($P<0.05$),见图 5A。与 TLCD1 表达正相关性最强的基因为 SAC3D1, 相关系数为 0.657;与 TLCD1 负相关最强的基因为 HERC3, 相关系数为 -0.624。KEEG 通路富集分析表明,TLCD1 可能与核糖体、氧化磷酸化、剪切体、蛋白酶体、RNA 转运、嘌呤代谢等信号通路相关,见图 5B。



注:A~D:TLCD1mRNA 表达与 HCC 患者 OS、PFS、RFS、DSS 的关系 (Kaplan-Meier Plotter 数据库);E、F:TLCD1mRNA 表达与 HCC 患者 OS、DFS 的关系(GEPIA 数据库)

图 4 TLCD1 表达水平与 HCC 患者预后的关系



注:A:LIHC 队列中 TLCD1 的高度相关基因(Pearson 检验)B:LIHC 队列中 TLCD1 的 KEGG 通路富集情况

图 5 在 HCC 中 TLCD1 的共表达基因(LinkedOmics 数据库)

3 讨论

近年来,生物信息学为医学的发展开辟了新的途径,特别是在探索肿瘤治疗新靶点中发挥重要作用^[9]。目前,分子靶向药物仍然是中晚期 HCC 患者的主流治疗措施,索拉菲尼、瑞格菲尼等分子靶向药物现已广泛运用于临床,但药物耐药导致治疗失败仍然很常见^[10,11]。因此,寻求新的治疗靶点,对改善 HCC 患者预后具有重要意义。

目前,关于 TLCD1 在肿瘤中的作用的研究仍较少。近年来发现,TLCD1 可以通过抑制多不饱和脂肪酸进入膜磷脂,进而调节质膜的流动性^[5]。膜流动性的增加,可以导致肿瘤侵袭性增加和肿瘤进展^[12]。而调整细胞膜的组成和流动性,是治疗 HCC 的有效手段^[12-14]。因此,可以推测 TLCD1 可能在 HCC 发生发展中有重要作用,可能是 HCC 治疗的潜在作用靶点。

通过检索 GEPIA 和 UALCAN 数据库,发现 TLCD1mRNA 表达在 HCC 组织中,相较于正常肝组织显著升高,且随着 HCC 临床分期和病理分级的升高,TLCD1mRNA 表达呈上升趋势。可见 TLCD1mRNA 的表达水平可能成为 HCC 诊断、临床分期和病理分级评估的参考指标。TP53 基因突变诱发了 HCC 的发生发展^[15]。本研究还发现,在 TP53 突变的 HCC 组织中,TLCD1mRNA 呈现高表达,提示 TLCD1 与 TP53 基因突变存在相关性,从而参与了 HCC 的进程。

Kaplan-Meier Plotter 数据库和 GEPIA 数据库分析发现,TLCD1mRNA 高表达的 HCC 患者 OS、RFS、PFS、DSS 和 DFS 均显著低于低表达的患者,即 TLCD1mRNA 可能作为预测 HCC 预后的潜在标志物。

本研究采用 LinkedOmics 数据库,进一步探讨 TLCD1 在 HCC 中的作用机制。SAC3D1 是与 TLCD1 正相关性最强的基因,研究表明,SAC3D1 参与了中心体复制、纺锤体组装等细胞周期进程^[16],且 SAC3D1 过表达是 HCC 预后不良的潜在标志^[17,18]。基因富集分析提示,TLCD1 共表达基因参与核糖体、蛋白酶体、RNA 剪切、转运、氧化磷酸化等信号通路,这些通路与基因表达调控、能量代谢的诸多过程密切相关。基因突变在 HCC 中尤为常见,关键基因的突变可诱发 HCC 的发生发展^[19,20]。TLCD1 与抑癌基因 TP53 突变有相关性,可以推断具有基因表达调控作用的 TLCD1 可能参与了 TP53 的突变,在

HCC 形成发展中起关键作用。TLCD1 在 HCC 中具体作用机制仍待更多研究验证。

综上所述,本研究基于公开的基因表达和临床数据库,对 TLCD1mRNA 在 HCC 中的表达情况及预后价值进行探索,发现 TLCD1 在 HCC 中的上调可能对基因表达调控的多个环节有深远影响,有望成为 HCC 新的预后生物标志物和治疗靶点。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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] Lai W, Derek L, Cheuk -Ting L, et al. Genome -wide CRISPR/Cas9 library screening identified PHGDH as a critical driver for sorafenib resistance in HCC [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4681.
- [3] 曾永毅, 林孔英, 唐世川. 靶向联合免疫时代肝细胞癌转化治疗策略 [J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(2): 224-230.
- [4] Couri T, Pillai A. Goals and targets for personalized therapy for HCC [J]. Hepatol Int, 2019, 13(2): 125-137.
- [5] Ruiz M, Bodhicharla R, Svensk E, et al. Membrane fluidity is regulated by the C. elegans transmembrane protein FLD-1 and its human homologs TLCD1/2 [J]. Elife, 2018, 7: e40686.
- [6] Nicolson GL. Cell membrane fluid - mosaic structure and cancer metastasis [J]. Cancer Res, 2015, 75(7): 1169-1176.
- [7] Li Y, Yang X, Yang J, et al. An 11 - gene - based prognostic signature for uveal melanoma metastasis based on gene expression and DNA methylation profile [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(5): 8630-8639.
- [8] Vasaikar SV, Straub P, Wang J, et al. LinkedOmics: analyzing multi - omics data within and across 32 cancer types [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D956-D963.
- [9] Oulas A, Minadakis G, Zachariou M, et al. Systems Bioinformatics: increasing precision of computational diagnostics and therapeutics through network - based approaches [J]. Brief Bioinform, 2019, 20(3): 806-824.
- [10] 刘淦, 孙杰, 张婷, 等. 晚期肝细胞癌靶向治疗及个性化治疗的现状 [J]. 传染病信息, 2019, 32(2): 103-108.
- [11] Faivre S, Rimassa L, Finn RS. Molecular therapies for HCC: Looking outside the box [J]. J Hepatol, 2020, 72(2): 342-352.
- [12] Bartel K, Winzi M, Ulrich M, et al. V - ATPase inhibition increases cancer cell stiffness and blocks membrane related Ras signaling - a new option for HCC therapy [J]. Oncotarget, 2017, 8(6): 9476-9487.

(下转第 26 页)

(上接第 20 页)

- [13] Lin L, Ding Y, Wang Y, et al. Functional lipidomics: Palmitic acid impairs hepatocellular carcinoma development by modulating membrane fluidity and glucose metabolism[J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 432–448.
- [14] Cunli G, Yumei B, Lei Z, et al. Microwaves as modulators of membrane stability parameters during hepatic cancer[J]. *J BUON*, 2019, 24(1): 158–162.
- [15] Long J, Wang A, Bai Y, et al. Development and validation of a TP53-associated immune prognostic model for hepatocellular carcinoma[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42: 363–374.
- [16] Khuda SE, Yoshida M, Xing Y, et al. The Sac3 homologue shd1 is involved in mitotic progression in mammalian cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(44): 46182–46190.
- [17] Han ME, Kim JY, Kim GH, et al. SAC3D1: a novel prognostic marker in hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 15608.
- [18] Li N, Zhao L, Guo C, et al. Identification of a novel DNA repair-related prognostic signature predicting survival of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 7473–7484.
- [19] Calderaro J, Couchy G, Imbeaud S, et al. Histological subtypes of hepatocellular carcinoma are related to gene mutations and molecular tumour classification[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(4): 727–738.
- [20] Liu Z, Liu L, Guo C, et al. Tumor suppressor gene mutations correlate with prognosis and immunotherapy benefit in hepatocellular carcinoma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101 (Pt B): 108340.

收稿日期: 2022-04-15; 修回日期: 2022-04-22

编辑/肖婷婷