

基于 NUF2 mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄的预后评估模型在肾透明细胞癌预后判断中的运用

单丽¹, 朱晓力¹, 向程程¹, 张媛¹, 顾国建², 程旭¹

(苏州大学附属太仓医院/太仓市第一人民医院血液肿瘤科¹, 病理科², 江苏 苏州 215400)

摘要:目的 探讨细胞分裂相关基因 mRNA (NUF2 mRNA) 以及铁调素 mRNA (HAMP mRNA) 在肾透明细胞癌 (KIRC) 预后判断中的运用。**方法** 从 TCGA 数据库下载 KIRC 患者基因表达数据, 分析 NUF2 mRNA、Hepcidin mRNA 与对照组的表达差异及表达水平与患者的总生存率的关系。采用多因素 COX 分析获得患者总生存 (OS) 的预后因素, 根据独立预后因素构建患者的预后评估模型, 并对该模型对患者的预后的评价效果进行分析。**结果** KIRC 患者的 NUF2 mRNA 及 HAMP mRNA 高于对照组, 高表达患者的预后差于低表达患者; 多因素 COX 回归分析表明 NUF2 mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄是患者的独立预后危险因素; 基于 NUF2 mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄的预后评估模型评估的高风险组患者的 OS 低于低风险组, 1、2、3 年 OS 分别为 81.4%、70.7% 及 60.5%; 预后评估模型 1、2、3 年的 ROC 曲线下面积分别为 0.816、0.800 及 0.793。**结论** 基于 NUF2 mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄构建的预后评估模型能更准确的判断 KIRC 患者的预后。

关键词: NUF2; HAMP; 肾透明细胞癌; 预后生物标记

中图分类号: R737.11

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2023.09.007

文章编号: 1006-1959(2023)09-0042-06

The Application of Prognostic Evaluation Model Based on NUF2 mRNA, HAMP mRNA, Stage, Pathological Grade and Age in the Prognosis of Kidney Renal Clear Cell Carcinoma

SHAN Li¹, ZHU Xiao-li¹, XIANG Cheng-cheng¹, ZHANG Yuan¹, GU Guo-jian², CHENG Xu¹

(Department of Oncology¹, Department of Pathology², Taicang Hospital of Suzhou University/the First People's Hospital of Taicang, Taicang 215400, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application of NUF2 mRNA and HAMP mRNA in the prognosis of kidney renal clear cell carcinoma (KIRC). **Methods** The gene expression data of KIRC patients were downloaded from the TCGA database, and the expression differences of NUF2 mRNA, Hepcidin mRNA and the control group and the relationship between the expression level and the overall survival rate of the patients were analyzed. Multivariate COX analysis was used to obtain the prognostic factors of overall survival (OS). The prognostic evaluation model of patients was constructed according to independent prognostic factors, and the evaluation effect of the model on the prognosis of patients was analyzed. **Results** The NUF2 mRNA and HAMP mRNA of KIRC patients were higher than those of the control group, and the prognosis of patients with high expression was worse than that of patients with low expression. Multivariate COX regression analysis showed that NUF2 mRNA, HAMP mRNA, stage, pathological grade and age were independent prognostic risk factors for patients. The OS of patients in the high-risk group evaluated by the prognostic evaluation model based on NUF2 mRNA, HAMP mRNA, stage, pathological grade and age was lower than that in the low-risk group, and the 1-year, 2-year and 3-year OS were 81.4%, 70.7% and 60.5%, respectively. The area under the ROC curve of the prognostic evaluation model 1, 2 and 3 years was 0.816, 0.800 and 0.793, respectively. **Conclusion** The prognostic evaluation model based on NUF2 mRNA, HAMP mRNA, stage, pathological grade and age can more accurately judge the prognosis of KIRC patients.

Key words: NUF2; HAMP; Kidney renal clear cell carcinoma; Prognostic biomarker

肾细胞癌 (renal cell carcinoma) 的发病率约占全身恶性肿瘤的 3%, 占成人肾脏原发性恶性肿瘤的 85%~90%, 为泌尿系统第 2 大恶性肿瘤, 其中肾

透明细胞癌 (kidney renal clear cell carcinoma, KIRC) 占肾细胞癌的 85%^[1]。对 KIRC 预后的判断目前尚缺乏有效的生物学标记以及模型。细胞分裂相关基因 NUF2 (Ndc80 kinetochore complex component) 在细胞有丝分裂过程中起到稳定着丝粒和使染色体正确分离的作用^[2]。据报道^[3], NUF2 在多种恶性肿瘤中均有较高表达, 并且对肿瘤的形成和发展起着重要作用。铁调素基因 (HAMP) 作为系统铁稳态的主要调节因子, 也已经被报道和很多的恶性肿瘤发生及发展有关。既往研究证实 NUF2 及 HAMP

基金项目: 苏州市科技局 2021 年度苏州市科技发展计划 (编号: SKJYD2021015)

作者简介: 单丽 (1989.6-), 女, 江苏宜兴人, 本科, 主治医师, 主要从事肿瘤防治工作

通讯作者: 程旭 (1973.10-), 男, 江西萍乡人, 硕士, 主任医师, 主要从事肿瘤防治工作

基因与 KIRC 的发生发展有关^[4]。因此本研究结合 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库构建了基于 NUF2 mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄的预后评估模型,以对 KIRC 患者的预后做出精准判断。

1 资料与方法

1.1 数据来源 从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov>)获取了 537 例肾透明细胞(KIRC)癌患者及 72 例正常对照患者的 mRNA 数据及对应的临床资料。

1.2 方法 按照表达是否大于平均值分为高表达及低表达组。分析 NUF2 及 HAMP mRNA 在 KIRC 中的表达情况与总生存期(OS)及的关系。根据多因素 COX 分析中的独立预后危险因素构建患者 OS 的预后评估模型,具体计算公式如下: 风险因子 = $\sum_{i=1}^n \text{Coefi} * x_i$ 。Coefi: 风险系数, x_i : NUF2 及 HAMP(低表达 0 分,高表达 1 分),分期(1~4 分),病理分级(1~3 分),年龄(≤ 60 岁 0 分, >60 岁 1 分)。根据风险因子构建 OS 的预后评估模型。

1.3 统计学处理 由 R 软件(版本号 3.6.2)完成分析。NUF2 及 HAMP mRNA 与对照组区别采用 t 检

验、生存分析采用 Kaplan-Meier 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。NUF2 及 HAMP mRNA 及其他临床病理参数与 OS 的关系采用多因素 COX 回归分析法;R 插件 RMS 用来构建预后预测模型。风险因子的 ROC 分析采用 R 插件 survivalROC,热图分析采用插件 pheatmap,数据可视化由 R 插件 Ggplot2 绘制。

2 结果

2.1 KIRC 患者特征 共 521 例有完整的基因表达数据及临床病理特征数据;其中 >60 岁者 260 例, ≤ 60 岁者 261 例;男 339 例,女 182 例;I + II 期 315 例,III + IV 期 206 例; $G_1 + G_2$ 级 240 例, $G_3 + G_4$ 级 281 例。

2.2 KIRC 患者 NUF2 mRNA 表达情况及与 OS 的关系 KIRC 患者的 NUF2 mRNA 及 HAMP mRNA 的表达在患者分别为 (0.747 ± 1.771) FPKM 及 (0.566 ± 1.071) FPKM,高于对照组的 (0.191 ± 0.360) FPKM 及 (0.042 ± 0.071) FPKM,见图 1。KIRC 患者的 NUF2 及 HAMP mRNA 与生存明显相关,高表达 NUF2 及 HAMP mRNA 的 5 年生存率分别为 54.7% 及 52.9%,低于低表达 NUF2 及 HAMP mRNA 的 3 年生存率,分别为 72.8% 及 74.9%,见图 2。

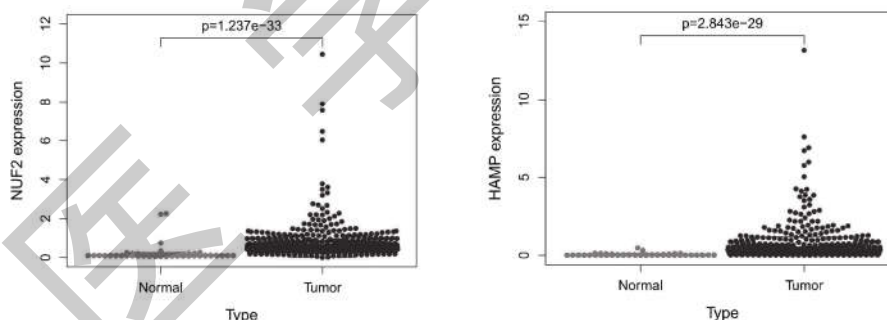


图 1 TCGA 数据库中 KIRC 患者与对照组 NUF2 及 HAMP mRNA 表达

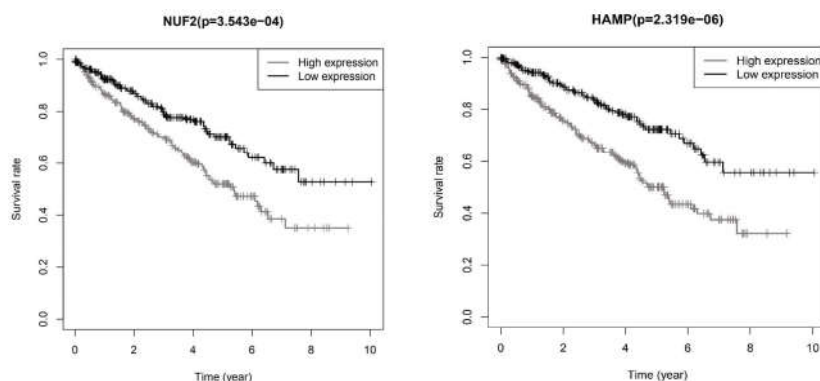


图 2 高表达与低表达 NUF2 及 HAMP mRNA 患者的 OS 差异

2.3 COX 回归分析结果 多因素 COX 分析表明, NUF2 mRNA、HAMP mRNA、年龄、AJCC 分期及病理分级时患者 OS 的独立预后因素,见表 1 及图 3。

2.4 预后评估模型的构建 根据风险评分构建了预后评估模型来预测患者 1、3、5 年的生存概率。根据 NUF2mRNA、HAMP mRNA、分期、病理分级及年龄构建了患者的 OS 预后评估模型,见图 4。

2.5 预后评估模型对患者 OS 的评估 高风险组患者的 OS 明显低于低风险组患者 ($P=1.1E-11$),1、2、3 年 OS 分别为 81.4%、70.7% 及 60.5%, 见图 5。1、2、3 年的 ROC 曲线下面积分别为 0.816、0.800 及 0.793, 见图 6。Heatmap、Risk score 和 survstat 图均表明采用预后评估模型能将高风险及低风险组患者的 OS 状态明显的区分开,见图 7。

表 1 COX 回归分析结果

参数	单因素			多因素			
	HR	95%CI	P	Coef	HR	95%CI	P
年龄	1.78	1.31~2.42	2.43E-4	0.50	1.65	1.21~2.24	0.002
性别	0.96	0.70~1.31	0.785	/	/	/	/
病理分级	2.66	1.89~3.75	2.20E-08	0.48	1.61	1.12~2.32	0.010
分期	3.70	2.71~5.06	1.83E-16	0.99	2.68	1.92~3.74	6.98E-09
HAMP	1.26	1.16~1.37	1.34E-07	0.25	1.19	1.09~1.33	0.002
NUF2	1.37	1.27~1.47	6.17E-18	0.17	1.28	1.19~1.38	2.82E-10

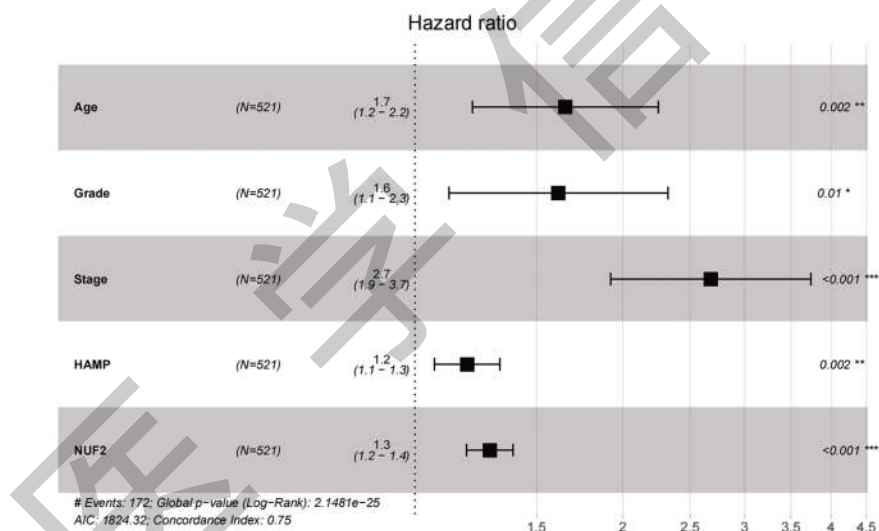


图 3 多因素 COX 回归分析森林图

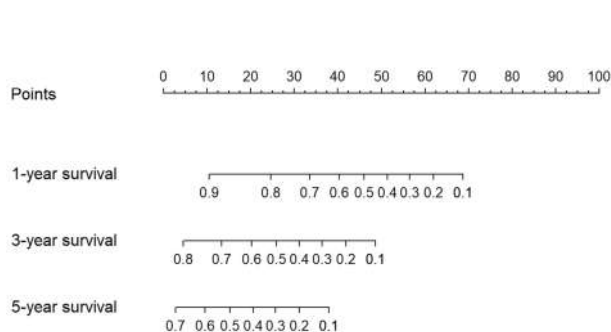


图 4 OS 预后评估模型 Nomogram

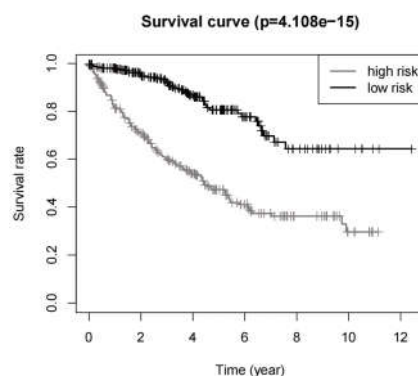
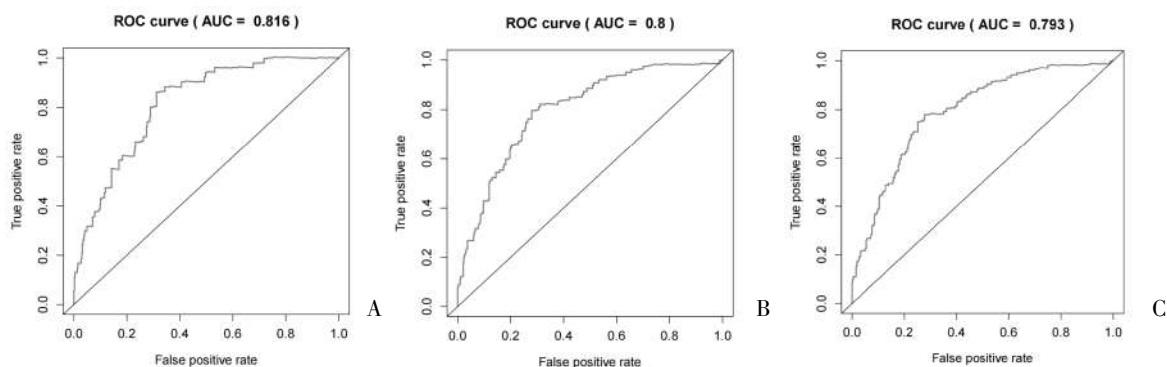
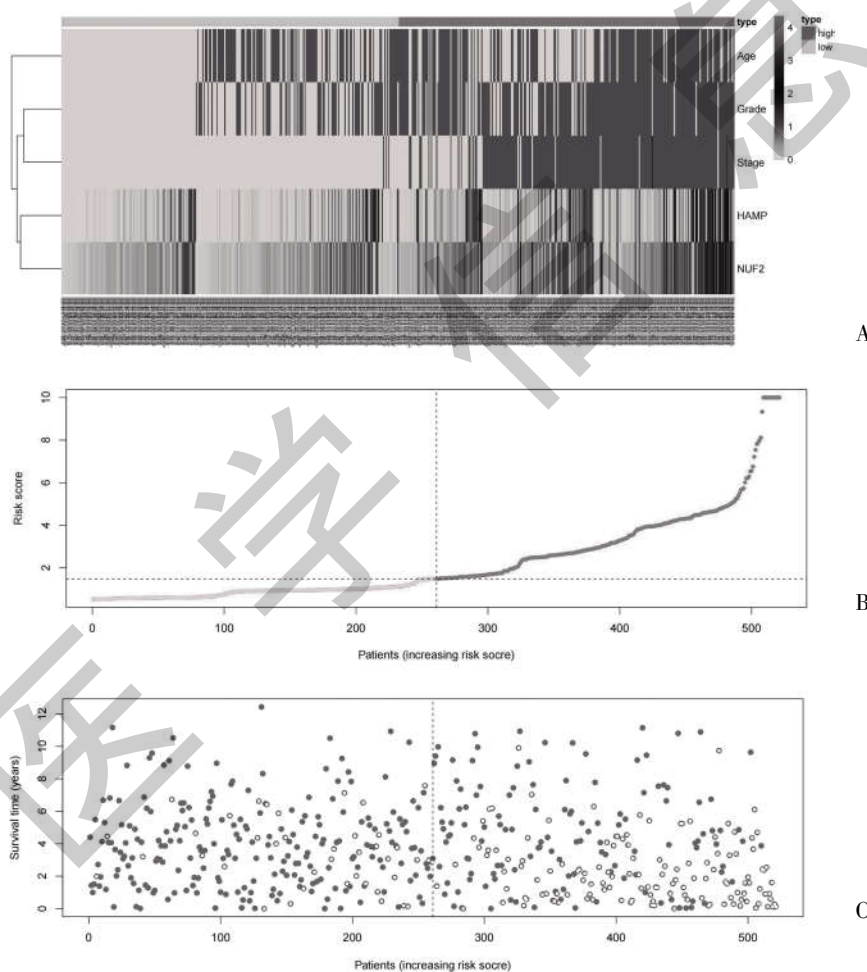


图 5 高风险与低风险组患者的 OS 差异



注:A、B、C 分别代表 1、2、3 年

图 6 风险评估模型 1、2、3 年的 ROC 曲线



注:A:Heatmap;B:风险分数分布图;C:生存状态分布图(实心代表存活,空心代表死亡)

图 7 高风险组和低风险组患者 OS 预后评估模型评价

3 讨论

肾细胞癌是泌尿系统的常见肿瘤。2015 年,我国肾细胞癌新发病例数为 66 800 例(男性 43 200 例,女性 23 600 例),占全部恶性肿瘤新发病例的 1.56%,在所有恶性肿瘤发病中排第 14 位。肾细胞

癌患者死亡例数为 23 400 例(男性 15 200 例,女性 8200 例),占全部恶性肿瘤死亡例数的 0.83%,在所有恶性肿瘤死亡率中排名第 17 位^[5]。外科手术切除是肾细胞癌最好的治疗方法,但是约有高达 40% 的患者发生局部复发和远处转移^[6]。因此,能早期诊断

并判断患者预后的生物指标对提高患者生存有重要的意义。目前由于 KIRC 是最常见肾细胞癌组织学类型,本研究的重点分析 KIRC。

基因组的不稳定状态是大多数肿瘤细胞的特征之一^[7],而 NUF2 的异常表达能导致细胞有丝分裂失调,从而导致肿瘤的发生发展^[8]。孙景波等^[9]的研究发现,与正常乳腺组织相比,NUF2 在乳腺癌中高表达,且高表达组比低表达组具有较短的总生存期和无复发生存期,可作为不良预后的生物标志物。国外的研究也发现通过抑制 NUF2 的表达,能够减缓胰腺癌、神经胶质瘤、肝癌肿瘤细胞及肺癌的生长^[10-13]。Shi L 等^[14]发现 NUF2 基因与肝细胞性肝癌的发病机制及预后有关。Zhang H 等^[15]对 GEO 数据库的研究发现,NUF2 基因可能与肾透明细胞癌的发生,侵袭及复发有关。本研究通过对 TCGA 数据的分析发现,NUF2 mRNA 在 KIRC 患者中明显高于对照组,而且高表达 NUF2 mRNA 患者的预后明显差于低表达患者。这些都提示 NUF2 在 KIRC 患者的发生、发展中可能起到重要的作用。

肿瘤细胞需要丰富的细胞内铁来供应细胞的增殖、代谢和转移。铁水平的升高与肿瘤的生长和进展呈正相关^[16]。越来越多的研究也表明肾细胞癌发生中存在铁积累^[17]。HAMP 基因作为调控细胞内铁的主要基因的过表达与各种癌症类型有关,包括前列腺癌、结肠癌等^[18,19]。本研究中通过分析 TCGA 数据发现,HAMP mRNA 在健康对照组中几乎检测不到,但在 ccRCC 肿瘤中显著增加,同样这也提示 HAMP 是 KIRC 患者的预后指标之一。

由于目前尚无公认的有效的判断 KIRC 患者预后的指标,因此对 KIRC 预后判断的模型构建研究较多。Zhang D 等^[20]利用 DNA 甲基化有关的 4 个基因构建了预后判断模型,1、3 年的 ROC 曲线下面积分别为 0.856 及 0.800。Wan B 等^[21]用 7 个免疫相关的基因构建的预后判断模型,3 年的 ROC 曲线下面积为 0.760。Wu Y 等^[22]利用代谢相关的 11 个基因构建了预后判断模型,1、3 年的 ROC 曲线下面积分别为 0.737 及 0.687。Guo L 等^[23]发现在肝癌中 NUF2 与其他 4 个基因一起构成的预后预测模型可以准确的预测肝癌患者的预后。但是目前尚未检索到以 NUF2 及 HAMP 基因为基础构建 KIRC 预后判断模型的研究。多因素 COX 分析表明 NUF2 mRNA、HAMP mRNA 年龄、AJCC 分期及病理分级是 KIRC

患者 OS 的独立预后因素,据此本研究构建了预后评估模型并制作了列线图。结果表明高风险组患者的 OS 明显低于低风险组患者,1、2、3 年 OS 分别为 81.4、70.7%及 60.5%。1、2、3 年的 ROC 曲线下面积分别为 0.816、0.800 及 0.793,明显优于前述的各项研究。从 Heatmap、Risk score 和 survstat 图上也能看出该模型能很好的将低危及高危组的患者的生存状态明显的区分开。而且由于该模型是由 NUF2 及 HAMP 基因与临床常见年龄、AJCC 分期及病理分级等指标一起构建的,因此相对其他模型来说具有经济及便利的特点。

总之,NUF2 及 HAMP 基因的表达与 KIRC 患者的预后有关,可作为 KIRC 的独立预后的生物标记,基于 NUF2 mRNA、分期、病理分级及年龄构建的预后评估模型能更准确的判断 KIRC 患者的预后。

参考文献:

- [1]Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1):9-29.
- [2]Liu D, Ding X, Du J, et al. Human NUF2 interacts with centromere-associated protein E and is essential for a stable spindle microtubule-kinetochore attachment [J]. J Biol Chem, 2007, 282(29):21415-21424.
- [3]Jiang X, Jiang Y, Luo S, et al. Correlation of NUF2 Overexpression with Poorer Patient Survival in Multiple Cancers [J]. Cancer Res Treat, 2021, 53(4):944-961.
- [4]Shan L, Zhu XL, Zhang Y, et al. Expression and clinical significance of NUF2 in kidney renal clear cell carcinoma [J]. Transl Androl Urol, 2021, 10(9):3628-3637.
- [5]Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [6]Posadas EM, Figlin RA. Systemic therapy in renal cell carcinoma: advancing paradigms [J]. Oncology (Williston Park), 2012, 26(3):290-301.
- [7]Sansregret L, Vanhaesebroeck B, Swanton C. Determinants and clinical implications of chromosomal instability in cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(3):139-151.
- [8]Obara W, Sato F, Takeda K, et al. Phase I clinical trial of cell division associated 1 (CDCA1) peptide vaccination for castration resistant prostate cancer [J]. Cancer Sci, 2017, 108(7):1452-1457.
- [9]孙景波, 陈嘉炜, 王植治, 等. NUF2 基因在乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(5):591-597.
- [10]Hu P, Chen X, Sun J, et al. siRNA-mediated knockdown against NUF2 suppresses pancreatic cancer proliferation in vitro and in vivo [J]. Biosci Rep, 2015, 35(1):79-86.

- [11]Huang SK,Qian JX,Yuan BQ,et al.SiRNA -mediated knockdown against NUF2 suppresses tumor growth and induces cell apoptosis in human glioma cells[J].Cell Mol Biol,2014,60(4): 30-36.
- [12]Liu Q,Dai SJ,Li H,et al.Silencing of NUF2 inhibits tumor growth and induces apoptosis in human hepatocellular carcinomas[J].Asian Pac J Cancer Prev,2014,15(20):8623-8629.
- [13]Chen M,Li S,Liang Y,et al.Integrative Multi-Omics Analysis of Identified NUF2 as a Candidate Oncogene Correlates With Poor Prognosis and Immune Infiltration in Non-Small Cell Lung Cancer[J].Front Oncol,2021,11:656509.
- [14]Shi L,Shang X,Nie K,et al.Identification of potential crucial genes associated with the pathogenesis and prognosis of liver hepatocellular carcinoma[J].J Clin Pathol,2021,74(8):504-512.
- [15]Zhang H,Zou J,Yin Y,et al.Bioinformatic analysis identifies potentially key differentially expressed genes in oncogenesis and progression of clear cell renal cell carcinoma [J].Peer J,2019,7: e8096.
- [16]Torti SV,Manz DH,Paul BT,et al.Iron and Cancer[J].Annu Rev Nutr,2018,21(38):97-125.
- [17]Greene CJ,Attwood K,Sharma NJ,et al.Transferrin receptor 1 upregulation in primary tumor and downregulation in benign kidney is associated with progression and mortality in renal cell carcinoma patients[J].Oncotarget,2017,8(63):107052-107075.
- [18]Wang F,Liu A,Bai R,et al.Hepcidin and iron metabolism in the pathogenesis of prostate cancer [J].J BUON,2017,22 (5): 1328-1332.
- [19]Sornjai W,Nguyen Van Long F,Pion N,et al.Iron and hepcidin mediate human colorectal cancer cell growth[J].Chem Biol Interact,2020,1(319):109021.
- [20]Zhang D,Wang Y,Hu X.Identification and Comprehensive Validation of a DNA Methylation-Driven Gene-Based Prognostic Model for Clear Cell Renal Cell Carcinoma[J].DNA Cell Biol,2020,39(10):1799-1812.
- [21]Wan B,Liu B,Huang Y,et al.Prognostic value of immune-related genes in clear cell renal cell carcinoma [J].Aging (Albany NY),2019,11(23):11474-11489.
- [22]Wu Y,Wei X,Feng H,et al.An eleven metabolic gene signature-based prognostic model for clear cell renal cell carcinoma [J].Aging (Albany NY),2020,12(22):23165-23186.
- [23]Guo L,Wang Z,Du Y,et al.Random-forest algorithm based biomarkers in predicting prognosis in the patients with hepatocellular carcinoma[J].Cancer Cell Int,2020,20:251.

收稿日期:2022-07-19;修回日期:2022-07-27

编辑/肖婷婷