

HMMR 基因在结肠癌中的表达及其对患者预后的影响

陈雨, 卢业才

(安徽医科大学附属巢湖医院胃肠外科, 安徽 巢湖 238000)

摘要:目的 采用生物学方法探究 HMMR 基因在结肠癌中的表达, 分析其与结肠癌患者预后的关系。方法 利用 R 语言相关软件包对 NCBI 数据库中 GSE140973 样本进行筛选和分析获取差异表达基因, 通过 GO 分析和 KEGG 分析进行功能和途径富集分析, 并对其进行 PPI 网络构建, 通过 Cytoscape 软件对 PPI 网络进行可视化以及获取 Hub 基因, 通过 GEPIA 平台进行差异表达分析和生存分析, 最终筛选出目标基因。结果 在 GSE140973 中共发现 807 个 DEGs; GO 分析和 KEGG 分析显示, DEGs 主要富集在有丝分裂细胞周期、染色体分离、糖酵解/糖异生、细胞周期等过程中, 进一步分析获得 HMMR、SHCBP1、ERCC6L、ZWINT、FAM83D、CDCA2、SPC25、SKA1、KIAA0101、MND1 共 10 个 Hub 基因; 生存分析和差异表达分析显示, HMMR 基因在结肠癌组织和正常组织中的表达不同, 其表达与患者预后有关。结论 在结直肠癌组织中 HMMR 基因呈高表达, 且 HMMR 基因高表达与结肠癌患者预后相关。

关键词: 结肠癌; HMMR; 信号通路; PI3K-AKT-mTOR

中图分类号: R735.3+5

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2023.12.002

文章编号: 1006-1959(2023)12-0008-05

Expression of HMMR Gene in Colon Cancer and its Effect on the Prognosis

CHEN Yu, LU Ye-cai

(Department of Gastrointestinal Surgery, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To explore the expression of HMMR gene in colon cancer by biological method and analyze its relationship with the prognosis of colon cancer patients. **Methods** The R language related software package was used to screen and analyze the GSE140973 samples in the NCBI database to obtain differentially expressed genes. GO analysis and KEGG analysis were used to perform functional and pathway enrichment analysis, and PPI network construction was performed. The PPI network was visualized by Cytoscape software and Hub genes were obtained. Differential expression analysis and survival analysis were performed through the GEPIA platform, and the target genes were finally screened. **Results** A total of 807 DEGs were found in GSE140973. GO analysis and KEGG analysis showed that DEGs were mainly enriched in mitotic cell cycle, chromosome separation, glycolysis/gluconeogenesis, cell cycle and other processes. Further analysis obtained 10 Hub genes including HMMR, SHCBP1, ERCC6 L, ZWINT, FAM83 D, CDCA2, SPC25, SKA1, KIAA0101 and MND1. Survival analysis and differential expression analysis showed that the expression of HMMR gene was different in colon cancer tissues and normal tissues, and its expression was related to the prognosis of patients. **Conclusion** HMMR gene is highly expressed in colon cancer, and the high expression of HMMR gene is related to the prognosis of colon cancer patients.

Key words: Colon cancer; HMMR; Signaling pathways; PI3K-AKT-mTOR

恶性肿瘤是困扰全人类健康的重要疾病之一, 结直肠癌(colorectal cancer)是胃肠道常见的恶性肿瘤之一, 我国以 41~65 岁人群发病率较高。近 20 年来, 结直肠癌的发病率明显上升^[2]。随着现代生活节奏的加快, 人们暴露于各种致癌因素的机会较前大大增加。针对结肠癌的治疗方法包括手术、化疗^[1,2]等多方法。本研究通过信息生物学的方法, 挖掘透明质酸介导运动因子受体基因(HMMR 基因)表达

产物在结肠癌组织中的表达情况, 分析 HMMR 基因表达与结肠癌患者预后生存的关系, 以期对结肠癌的诊断及治疗提供新的思路 and 方向。

1 资料与方法

1.1 资料来源 从基因表达综合数据库(GEO)下载(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE140973>) 结直肠癌基因表达谱, 使用数据集 GSE140973 筛选差异表达基因(DEGs), 该基因样本包含 114 个样本, 共检测 44 495 个基因数据, 使用 R 软件的“limma”软件包预设筛选标准, 选择 $P < 0.05$ 和 $|\log_2(\text{fold change (FC)})| > 1$ 作为截止标准, 进行 DEGs 的筛选。通过上述方法筛选两组样本之间的差异表达基因。

1.2 功能和途径富集分析 使用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>)^[3]对 DEGs 进行富集分

基金项目: 安徽省卫生健康科研自筹项目(编号: AHWJ2022c036)

作者简介: 陈雨(1997.7-), 男, 安徽宿州人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事胃肠道肿瘤研究

通讯作者: 卢业才(1968.10-), 男, 安徽庐江县人, 硕士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事胃肠道肿瘤研究

析,设置标准 $FDR < 0.05$ 进行 GO 分析和 KEGG 分析,通过 GO 分析和 KEGG 通路分析进行可视化研究。

1.3 蛋白质相互作用(PPI)网络构建 使用搜索工具检索交互基因数据库(<http://www.string-db.org/>)评估 PPI 信息。此外,为了评估 DEGs 之间的相互关系,使用字符串数据库进行分析,并使用 Cytoscape 软件进行可视化^[4]。

1.4 获取 Hub 基因并对其进行进一步验证 使用插件 cytoHubba 在 Cytoscape 中选择 PPI 网络的中心模块^[5]。设置参数:Hubba nodes:Top 10 nodes ranked by DMNC, 获取具有高度连通性的前 10 个 DEGs,将其作为结直肠癌的 Hub 基因。GEPIA 数据库是一个基于 TCGA 的在线分析数据库,设置参数: $P \leq 0.01$, 癌症组织为结肠癌, $|\log_2FC|$ Cutoff=1, Jitter Size=0.4, 进行差异表达分析;生存分析设置参数:Group Cutoff=Median, 95% Confidence Interval=yes, Cutoff-High (%)=50, Cutoff-Low (%)=50, 组织为结肠癌组织,获得的 Hub 基因通过 GEPIA 数据库进行生存分析和基因差异表达分析验证。

2 结果

2.1 结直肠癌组织中 DEGs 的鉴定 通过 GSE140973 数据集确定了 807 个 DEGs, 其中 653 个上调,154 个下调,见图 1。

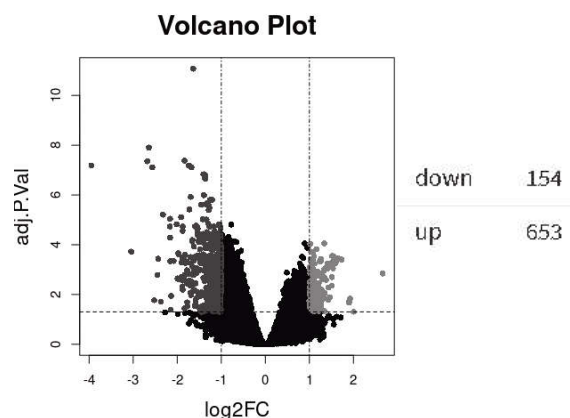
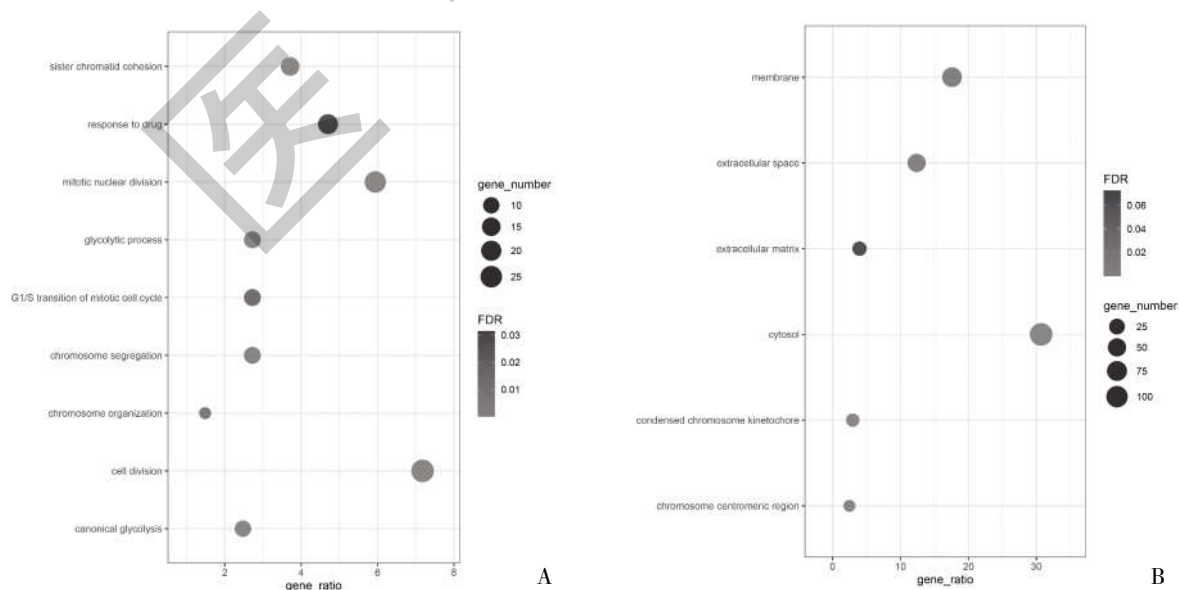


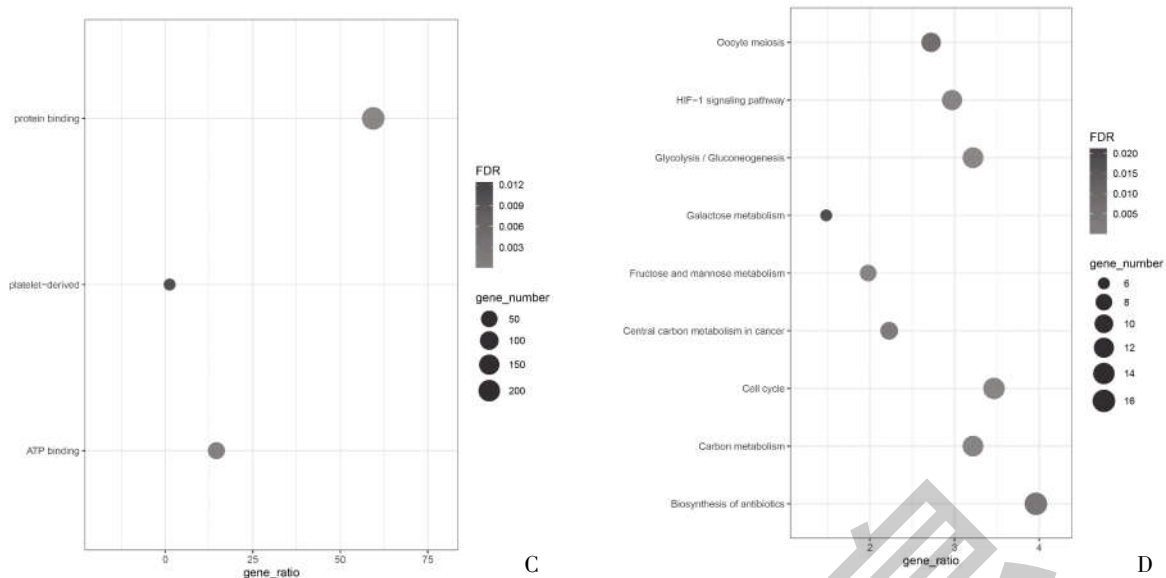
图 1 结直肠癌组织的 DEGs

2.2 DEGs 的 GO 分析和 KEGG 分析 GO 分析结果显示,DEGs 的生物过程(BP)主要富集在糖酵解过程、典型糖酵解、细胞分裂、有丝分裂核分裂、姐妹染色单体粘连、染色体分离、染色体组织、有丝分裂细胞周期的 G₁/S 转换及对药物的反应方面,见图 2A。DEGs 的分子功能(MF)主要富集在蛋白质结合、ATP 结合血小板衍化等方面,见图 2B。DEGs 的细胞成分(CC)主要富集在染色体着丝粒区、胞浆、浓缩染色体动粒、细胞外间隙、细胞膜、细胞外基质部位,见图 2C。KEGG 分析显示,DEGs 主要富集在糖酵解/糖异生、果糖和甘露糖代谢、细胞周期、HIF-1 信号通路、碳代谢、癌症的中枢碳代谢、抗生素的生物合成、卵母细胞减数分裂、半乳糖代谢中,见图 2D。



注:A:BP 富集分析;B:MF 富集分析;C:CC 富集分析;D:KEGG 富集分析

图 2 DEGs 的 GO 分析和 KEGG 分析



注:A:BP 富集分析;B:MF 富集分析;C:CC 富集分析;D:KEGG 富集分析

图 2 DEGs 的 GO 分析和 KEGG 分析(续)

2.3 PPI 网络构建及 Hub 基因获取 DEGs 的 PPI 网络由 354 个节点和 5662 个边缘组成,包括 653 个上调基因和 154 个下调基因。具有高度连通性的前 10 个 DEGs 是结直肠癌的 Hub 基因(HMMR、SHCBP1、ERCC6L、ZWINT、FAM83D、CDCA2、SPC25、SKA1、KIAA0101、MND1),它们可能在肿瘤发生和增殖中发挥关键作用,见图 3。

2.4 生存分析和差异表达分析 根据 PPI 网络分析结果基因,将其上传至 GEPIA 数据库,对其进行生

存分析和预后分析,通过数据库获得 HMMR 基因在差异分析和生存分析中均有意义,见图 4。

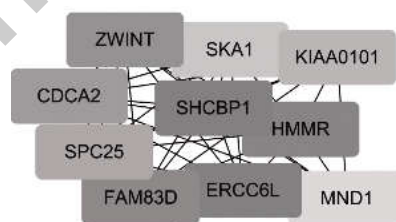
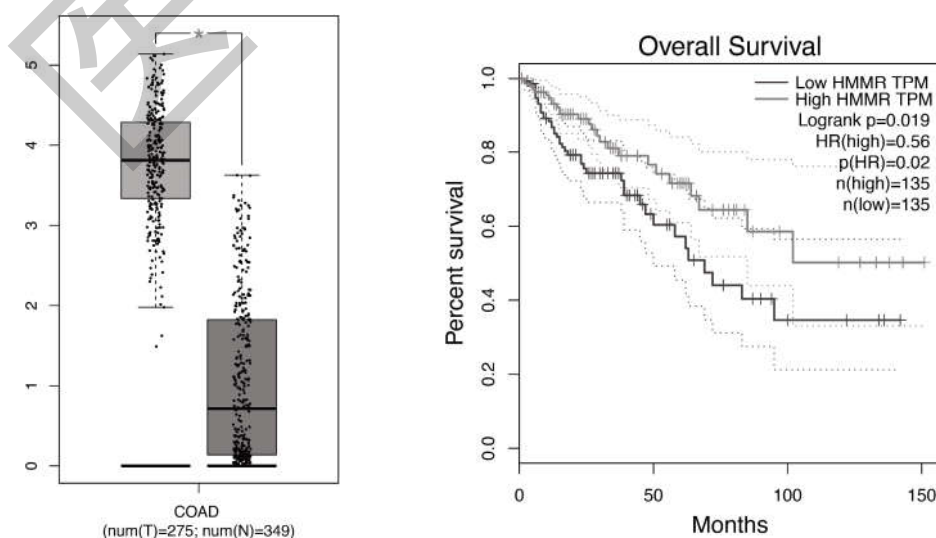


图 3 PPI 网络构建



注: * $P < 0.05$

图 4 生存和差异表达分析

3 讨论

结直肠癌是一种生物学异质性疾病,大约 70% 的结直肠癌是由腺瘤性息肉演变而来,从形态学上可见到增生、腺瘤及癌变各阶段以及相应的染色体改变,耗时 10~15 年,但也有约 30% 的癌不经腺瘤演变直接以癌巢的形式出现^[6]。随分子生物学技术的发展,结直肠癌癌变过程中的基因改变逐渐被认识,已知结直肠癌的发生发展是一个多步骤、多阶段及多基因参与的细胞遗传性疾病。因此,了解其分子机制对于更好地诊断和治疗结直肠癌至关重要。

本研究结果表明,结肠癌组织中有 807 个基因的表达发生了改变。在 807 个 DEGs 中,653 个上调,154 个下调。进行 PPI 网络分析,以确定与结直肠癌临床特征相关的蛋白质-蛋白质相互作用和基因共表达模块。此外,还进行了功能和途径分析,以发现结直肠癌相关的生物过程和途径。通过对 DEGs 的 GO 分析、KEGG 分析,并对 DEGs 进行 PPI 网络分析获取 Hub 基因,并对 Hub 基因进行生存分析和差异分析,得知 HMMR 基因在结肠癌中高表达,HMMR 基因的高表达对结肠癌患者的生存具有影响。

HMMR 基因位于人类五号染色体,HMMR 首先被确定为从鼠细胞上清液中纯化的新型透明质酸受体复合物的成分,HMMR 基因编码的透明质酸介导运动因子受体蛋白参与细胞运动,其在乳腺组织中表达,并与其他蛋白质一起与 BRCA1 和 BRCA2 形成复合物。目前已经证实 HMMR 基因的表达与乳腺癌风险相关^[7]。同时有研究表明 HMMR 基因表达与肺癌和肝癌相关^[8,9]。透明质酸是一种细胞外基质成分,可吸收组织中的水分并与细胞表面受体[如分化簇 44(CD44)]结合以促进细胞生长和运动^[10]。HMMR 可定位蛋白质复合物以增强有丝分裂激酶(如 Polo 样激酶 1 和极光激酶 A)的活性,并控制动力蛋白和驱动蛋白的运动活动,HMMR 的结构是一种卷曲螺旋微管相关蛋白,它可以通过其 N 端直接与微管结合,并通过其 C 端 BZIP 序列定位到中心体^[11]。HMMR 作为纺锤体组装因子(如 TPX2、DYNLL1 和 CHICA/FAM83D)的结合伙伴,在有丝分裂和减数分裂过程中调节纺锤体微管的组装、稳定性和定位。在有丝分裂之前和期间,细胞中

HMMR 的表达升高,而可检测到 HMMR 表达的组织往往高度增殖。目前已经证实 HMMR 基因是乳腺癌的易感基因。HMMR 在结构上与 C 端 BZIP 序列非常相似在 Xklp2 中,它可以与 TPX2 进行交互^[12]。TPX2 是一种微管相关蛋白,由位于人类染色体带 20q11.1 的基因编码。它是哺乳动物细胞动粒处微管形成所必需的,TPX2 位于 Ran-GTP 的下游,在纺锤体形成中起着核心作用^[13,14]。在有丝分裂的早期阶段,TPX2 以依赖 Ran-GTP 的方式释放,TPX2 表达在细胞周期阶段受到严格调控,在 G1~S 转运时可检测到,并在胞质分裂完成时消失,TPX2 在结肠癌组织和细胞系中的高表达^[15],抑制 TPX2 表达会使 PI3K/AKT 信号通路失活并降低结肠癌细胞的致癌性^[16]。PI3K-AKT-mTOR 信号通路控制多种细胞过程,包括代谢、运动、增殖、生长和存活,是人类癌症中最常见的失调通路之一^[17,18]。

在 HMMR 沉默的细胞中,抑制性 TPX2-Eg5 复合物降低,目前已知这些复合物会抑制 Eg5 活性,干扰 TPX2 和 Eg5 附近纺锤极之间的共定位^[19]。HMMR 能够调节非有丝分裂细胞中的 TPX2 的定位^[20]。其中 HMMR 通过 BZIP 序列将 TPX2 定位在微管负端附近,这使得 TPX2-Eg5 复合物形成。需要 HMMR 介导的 Eg5 活性调节来稳定双极纺锤体并促进动粒-微管附着,这是细胞分裂进入后期和染色体分离所必需的,这也突出了非运动衔接蛋白在调节运动活动和维持基因组稳定性方面的重要性。已知 TPX2 在结肠癌的发生发展中发挥着重要作用^[21,22],而本次研究发现 HMMR 在结肠癌的诊断和预后分析方面有重要作用,TPX2 和 HMMR 可在细胞内形成交互作用,而 TPX2 表达会影响 PI3K/AKT 信号通路进而影响结肠癌细胞的致癌性,因此预测 HMMR 基因的表达对结肠癌的影响是通过 PI3K/AKT 信号发挥作用的。

综上所述,HMMR 基因在结肠癌中表达上升,且 HMMR 基因的高表达和结肠癌患者的预后相关,HMMR 基因表达能够延长结肠癌患者的生存时间。

参考文献:

- [1]Mody K,Bekaii -Saab T.Clinical Trials and Progress in Metastatic Colon Cancer [J].Surgical Oncology Clinics of North America,2018,27(2):349-365.

- [2]Lee JJ,Chu E.An update on treatment advances for the first-line therapy of metastatic colorectal cancer [J].Cancer Journal,2007,13(5):276-281.
- [3]Dennis G,Sherman B,Da H,et al.DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery[J].Genome Biology,2003,4(5):P3.
- [4]Shannon P.Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks[J].Genome Research,2003,13(11):2498-2504.
- [5]Bader GD,Hogue CWV.An Automated Method for Finding Molecular Complexes in Large Protein Interaction Networks[J].BMC Bioinformatics,2003,4(1,article 2):2.
- [6]Schulc K,Nagy ZT,Kamp S,et al.Modular Reorganization of Signaling Networks during the Development of Colon Adenoma and Carcinoma [J].The Journal of Physical Chemistry B,2021,125(7):1716-1726.
- [7]Cai Y,Sheng Z,Chen Y,et al.LncRNA HMMR-AS1 promotes proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma by regulating MiR-138/sirt6 axis[J].Aging,2019,11(10):3041-3054.
- [8]Li X,Zuo H,Zhang L,et al.Validating HMMR Expression and Its Prognostic Significance in Lung Adenocarcinoma Based on Data Mining and Bioinformatics Methods[J].Frontiers in Oncology,2021,11:3379.
- [9]吴良银,李文丽,刘俊.HMMR 预测肝细胞癌预后的生物信息学分析[J].国际检验医学杂志,2022,43(12):1454-1457.
- [10]Xu F,Guan Y,Xue L,et al.The effect of a novel glycolysis-related gene signature on progression, prognosis and immune microenvironment of renal cell carcinoma [J].BMC Cancer,2020,20(1):1207.
- [11]He Z,Mei L,Connell M,et al.Hyaluronan Mediated Motility Receptor (HMMR) Encodes an Evolutionarily Conserved Homeostasis, Mitosis, and Meiosis Regulator Rather than a Hyaluronan Receptor[J].Cells,2020,9(4):819.
- [12]Chen H,Connell M,Mei L,et al.The non-motor adaptor HMMR dampens Eg5-mediated forces to preserve the kinetics and integrity of chromosome segregation[J].Molecular Biology of the Cell,2018,29(7):786-796.
- [13]Rui Z,Roostalu J,Surrey T,et al.Structural insight into TPX2-stimulated microtubule assembly[J].Elife,2017,6:e30959.
- [14]He Z,Mei L,Connell M,et al.Hyaluronan Mediated Motility Receptor (HMMR) Encodes an Evolutionarily Conserved Homeostasis, Mitosis, and Meiosis Regulator Rather than a Hyaluronan Receptor[J].Cells,2020,9(4):819.
- [15]熊超.结肠癌组织中 RNF181、TPX2 的表达量及其与癌细胞活力、血管新生的相关性分析 [J].海南医学院学报,2017,23(14):1969-1971,1975.
- [16]Wei P,Zhang N,Xu Y,et al.TPX2 is a novel prognostic marker for the growth and metastasis of colon cancer[J].Journal of Translational Medicine,2013,1(1):313.
- [17]Janku F,Yap TA,Meric-Bernstam F.Targeting the PI3K pathway in cancer: are we making headway?[J].Nat Rev Clin Oncol,2018,15(5):273-291.
- [18]胡晓青,于慧美,沈璐妍,等.PI3K/AKT/mTOR 信号通路与线粒体稳态在疾病治疗中的作用 [J].中国病理生理杂志,2021,37(11):2072-2076.
- [19]Liu M,Ran J,Zhou J.Non-canonical functions of the mitotic kinesin Eg5[J].Thoracic Cancer,2018,9(8):904-910.
- [20]Chu TLH,Connell M,Zhou L,et al.Cell Cycle-Dependent Tumor Engraftment and Migration Are Enabled by Aurora-A [J].Molecular Cancer Research,2018,16(1):16-31.
- [21]Taherdangkoo K,Kazemi Nezhad SR,Hajjari MR,et al.miR-485-3p suppresses colorectal cancer via targeting TPX2 [J].Bratisl Lek Listy,2020,121(4):302-307.
- [22]熊超.结肠癌组织中 RNF181、TPX2 的表达量及其与癌细胞活力、血管新生的相关性分析 [J].海南医学院学报,2017,23(14):1969-1971,1975.

收稿日期:2022-08-24;修回日期:2022-09-13

编辑/成森