

·生物信息学·

基于生物信息学方法探究 SERINC2 基因 在宫颈癌中的表达及其作用机制

李得意,张路瑶,许 杨,马雪艳

(大理大学基础医学院,云南 大理 671000)

摘要:目的 通过生物信息学方法分析 SERINC2 在宫颈癌中的表达及其功能特性。方法 利用基因表达谱数据动态分析(GEPIA)探究 SERINC2 基因在宫颈癌及癌旁组织的表达,评价其与宫颈癌患者的生存预后关系;并在人蛋白质数据库(HPA)中获取 SERINC2 蛋白在宫颈癌和癌旁组织的表达情况;基于 Ualcan 数据库分析 SERINC2 甲基化水平与宫颈癌临床病理特征之间的相关性;利用 Linked Omics 数据库探索 SERINC2 的共表达基因,并进一步分析 SERINC2 基因在宫颈癌发展过程中可能参与的信号调控通路。结果 宫颈癌组织中 SERINC2 基因表达高于癌旁组织($P<0.05$),且与患者不良预后相关。宫颈癌组织中的 SERINC2 甲基化水平低于癌旁组织($P<0.05$)。共表达结果分析显示,GALE、GPRC5A、TINAGL1、C9orf167 和 CAP1 等基因与 SERINC2 表达呈正相关,SCML2、KDM2B、GLS2、ARHGAP19 和 SCAL 等基因与其表达呈负相关($FDR<0.05$);SERINC2 基因参与了半乳糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、聚糖的合成和降解等一系列与糖代谢相关的过程($P<0.05$, $FDR<0.25$)。结论 SERINC2 基因在宫颈癌中高表达,与宫颈癌的发生发展及不良预后有关,SERINC2 基因可能成为宫颈癌预后评估和治疗的靶点。

关键词:宫颈癌;SERINC2;甲基化;糖代谢;生物信息学分析

中图分类号:R737.33

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.14.001

文章编号:1006-1959(2023)14-0001-07

The Expression and Mechanism of SERINC2 Gene in Cervical Cancer Based on Bioinformatics Methods

LI De-yi,ZHANG Lu-yao,XU Yang,MA Xue-yan

(Basic Medical College of Dali University,Dali 671000,Yunnan,China)

Abstract: Objective To analyze the expression and functional characteristics of SERINC2 in cervical cancer by bioinformatics. **Methods** The expression of SERINC2 gene in cervical cancer and adjacent tissues was explored by Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA), and its relationship with the survival and prognosis of patients with cervical cancer was evaluated. The expression of SERINC2 protein in cervical cancer and adjacent tissues was obtained in the Human Protein Atlas (HPA). The correlation between SERINC2 methylation level and clinicopathological features of cervical cancer was analyzed based on Ualcan database. Using the Linked Omics database to explore the co-expressed genes of SERINC2, and further analyze the signal regulatory pathways that SERINC2 gene may participate in in the development of cervical cancer. **Results** The expression of SERINC2 gene in cervical cancer tissues was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$), and it was related to the poor prognosis of patients. The methylation level of SERINC2 in cervical cancer tissues was lower than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The results of co-expression analysis showed that GALE, GPRC5 A, TINAGL1, C9orf167 and CAP1 were positively correlated with SERINC2 expression, while SCML2, KDM2 B, GLS2, ARHGAP19 and SCAL were negatively correlated with SERINC2 expression ($FDR<0.05$). SERINC2 gene was involved in a series of processes related to glucose metabolism, such as galactose metabolism, amino sugar and nucleotide sugar metabolism, glycan synthesis and degradation ($P<0.05$, $FDR<0.25$). **Conclusion** SERINC2 gene is highly expressed in cervical cancer, which is associated with the development and poor prognosis of cervical cancer. SERINC2 gene may be a target for prognosis evaluation and treatment of cervical cancer.

Key words: Cervical cancer;SERINC2;Methylation;Glucose metabolism;Bioinformatics analysis

宫颈癌(cervical cancer)是常见的妇科恶性肿瘤之一,发病率位于女性肿瘤的第2位^[1]。据世界卫生组织统计,目前全世界每年新发病例约57万例,

死亡病例约31万例,其中我国每年宫颈癌新发病例约为9.89万例,死亡病例约为3.05万例^[2]。宫颈癌的治疗方法很多,手术适合于早期患者,化疗主要与放疗结合,靶向治疗目前还处于探索阶段,且用于晚期或复发宫颈癌的治疗,整体预后仍不乐观^[3]。因此,寻找宫颈癌的预后标志物 and 对其潜在治疗靶点的探索具有重要意义。Serine Incorporator(SERINC2)是跨膜蛋白SERINC家族的成员,在哺乳动物细胞中具有高度保守的特征,可将丝氨酸整合到膜脂中^[3]。SERINC2在调节磷脂酰丝氨酸和鞘脂分子

基金项目:云南省科技厅科技计划项目(编号:202101AU070136)

作者简介:李得意(1996.8-),女,江苏淮安人,硕士研究生,主要从事分子生物学研究

通讯作者:马雪艳(1990.1-),女,云南巍山人,博士,讲师,主要从事分子生物学研究

等多种膜脂的生物合成中发挥重要作用^[4],而磷脂酰丝氨酸和鞘脂在肿瘤发生和发展中起关键作用,比如在凋亡胶质瘤细胞膜上磷脂酰丝氨酸可以影响小胶质细胞的吞噬作用^[5]。已有研究报道^[6],敲除 SERINC2 基因可抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。但 SERINC2 基因在宫颈癌中的作用尚未不清楚,基于此,本研究利用生物信息学方法,分析 SERINC2 基因在宫颈癌发生过程中的潜在机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 GEPIA 数据库 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>)数据库是在线进行基因表达差异分析和预后分析的平台。本研究通过 GEPIA 分析 TCGA 和 GTEx 联合数据库中宫颈癌组织和癌旁组织样本之间 SERINC2 转录水平,在“Expression DIY”模块中选择“BoxPlot”组输入“SERINC2”选择“CESC”得出 SERINC2 在宫颈癌组织和癌旁组织样本之间 SERINC2 转录表达水平,同时利用数据库中“Survival:Survival Plots”模块分析 SERINC2 基因对宫颈癌患者生存预后的影响。

1.2 HPA 数据库 人蛋白质数据库[HPA(<http://www.proteinatlas.org/>)],该数据库涵盖了蛋白组学、转录组学以及生物学数据,可获取某种蛋白在细胞或组织中的表达情况。本研究借助该数据库检索 SERINC2 基因表达情况,在搜索栏中输入 SERINC2,得到该基因在组织、细胞和肿瘤中的表达情况,分别选取宫颈癌和宫颈组织,提取出该基因在宫颈癌组织和癌旁组织免疫组化数据。

1.3 UALCAN 数据库 在 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu>)

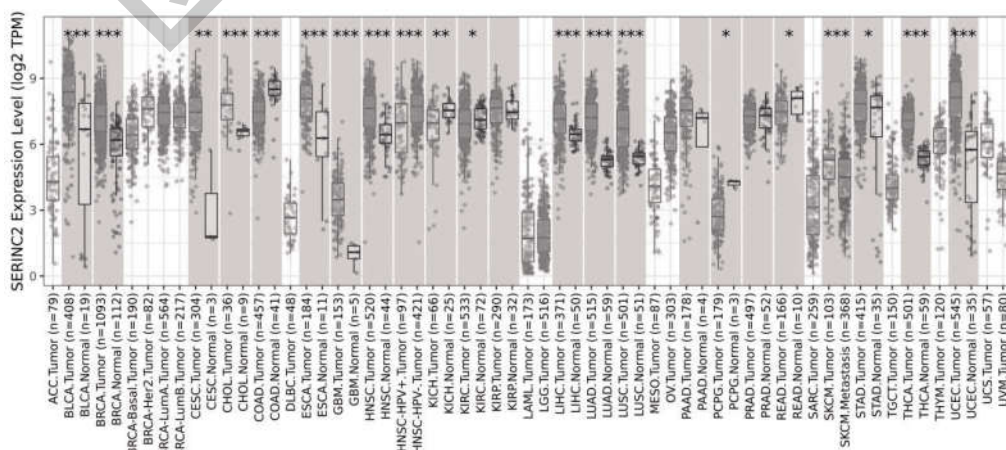
数据库分析公开癌症组学数据(TCGA, MET500 和 CPTAC)中 SERINC2 基因甲基化水平与年龄、肿瘤分期、肿瘤分级等临床病理特征的相关性。在搜索框中输入“SERINC2”并选择宫颈癌,得到 SERINC2 甲基化水平及与宫颈癌的肿瘤期别、患者年龄、淋巴结转移、肿瘤级别、肿瘤类型的相关性。

1.4 Linked Omics 数据库 使用 Linked Omics(<http://www.linkedomics.org/login.php>)数据库进行共表达基因分析。用 LinkFinder 模块分析与 SERINC2 相关的差异表达基因。利用 LinkInterpreter 模块的 GSEA 富集分析 SERINC2 相关的信号通路,筛选条件为 $P < 0.05$ 且错误发现率(FDR) < 0.05 ,进行 500 次模拟,并分析 SERINC2 相关基因的细胞定位和主要参与的生物学过程。

1.5 统计学方法 采用配对 t 检验分析宫颈癌和癌旁组织中 SERINC2 mRNA 的表达差异、预后情况以及 SERINC2 甲基化与宫颈癌患者临床病理特征的相关性。Pearson 相关检验统计分析 SERINC2 相关的差异表达基因。

2 结果

2.1 SERINC2 基因在宫颈癌组织和癌旁组织的差异性表达 SERINC2 在膀胱尿路上皮癌、乳腺癌、宫颈癌、胆管癌、结肠癌、食管癌、多形性胶质母细胞瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、直肠癌、胃癌、甲状腺癌、子宫内膜样癌中呈高表达($P < 0.05$),见图 1。在 GEPIA 数据库中分析 306 例宫颈癌组织和 13 例癌旁组织的 SERINC2 基因的表达水平,结果显示与癌旁组织相比, SERINC2 基因在宫颈癌组织中表达升高 ($P < 0.05$),见图 2。



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

图 1 SERINC2 在不同肿瘤中的表达

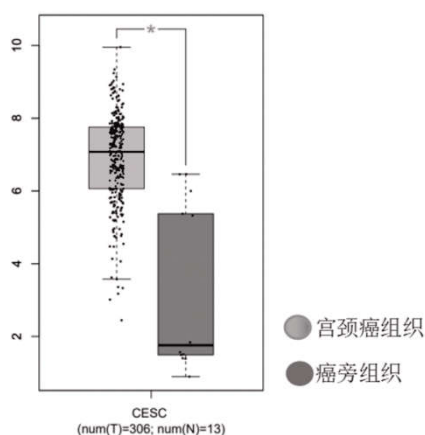


图 2 SERINC2 在宫颈癌与癌旁组织表达的比较

2.2 SERINC2 蛋白在宫颈癌组织和癌旁组织的免疫组化结果 SERINC2 蛋白在宫颈癌组织中的染色阳性率>75%,染色强度高,而在癌旁组织染色阳性率为25%~50%,染色强度较弱。免疫组化染色结果显示,相较于正常组织,SERINC2 蛋白在宫颈癌组织中表达量高于癌旁组织,且主要定位于细胞质,见图 3。

2.3 SERINC2 基因表达与宫颈癌患者生存预后的

关系 在宫颈癌患者中,SERINC2 基因高表达组的生存率低于低表达组($P<0.05$),见图 4。

2.4 SERINC2 基因甲基化水平与宫颈癌临床病理特征的相关性分析 宫颈癌组织中 SERINC2 甲基化水平较癌旁组织降低($P<0.05$),见图 5A;随着宫颈癌肿瘤病理分级等级增高,SERINC2 甲基化水平降低($P<0.05$),其中 Grade4 只有一个样本,无统计学意义,见图 5B;非洲裔宫颈癌患者的 SERINC2 甲基化水平低于亚洲裔和白种人患者 ($P<0.05$),见图 5C;并对 SERINC2 甲基化水平与宫颈癌淋巴结转移的相关性分析,结果显示 SERINC2 在 N_1 期宫颈癌组织中的甲基化水平低于 N_0 期($P<0.05$),见图 5D;随着宫颈癌肿瘤期别的增高,SERINC2 甲基化水平呈降低趋势($P<0.05$),见图 5E;不同年龄段中宫颈癌组织的甲基化水平亦不相同,81~100 岁组患者中 SERINC2 甲基化水平最低(Median:0.136),其次是 61~80 岁组(Median:0.185),21~40 岁组和 41~60 岁组患者 SERINC2 甲基化水平高于其他年龄段患者 (Median:0.2、0.202)($P<0.05$),见图 5F。

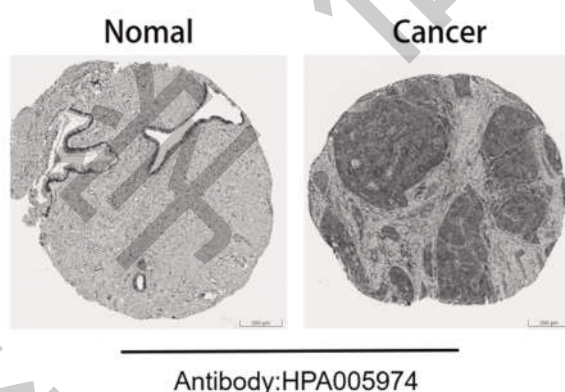


图 3 SERINC2 蛋白免疫组化结果图

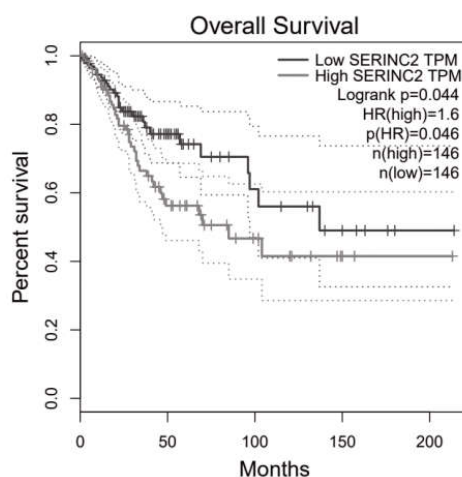
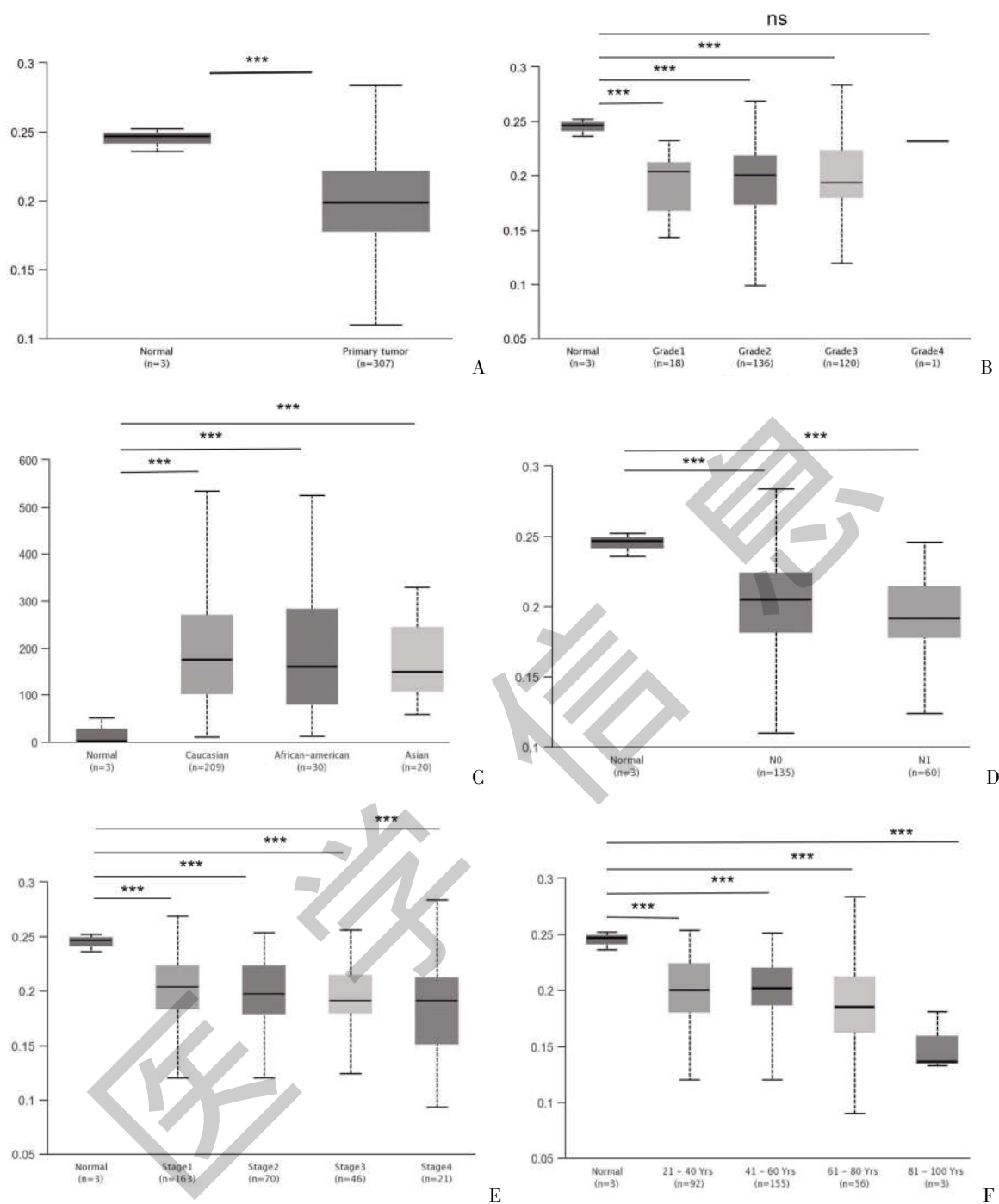


图 4 SERINC2 基因表达与宫颈癌患者总生存期的关系

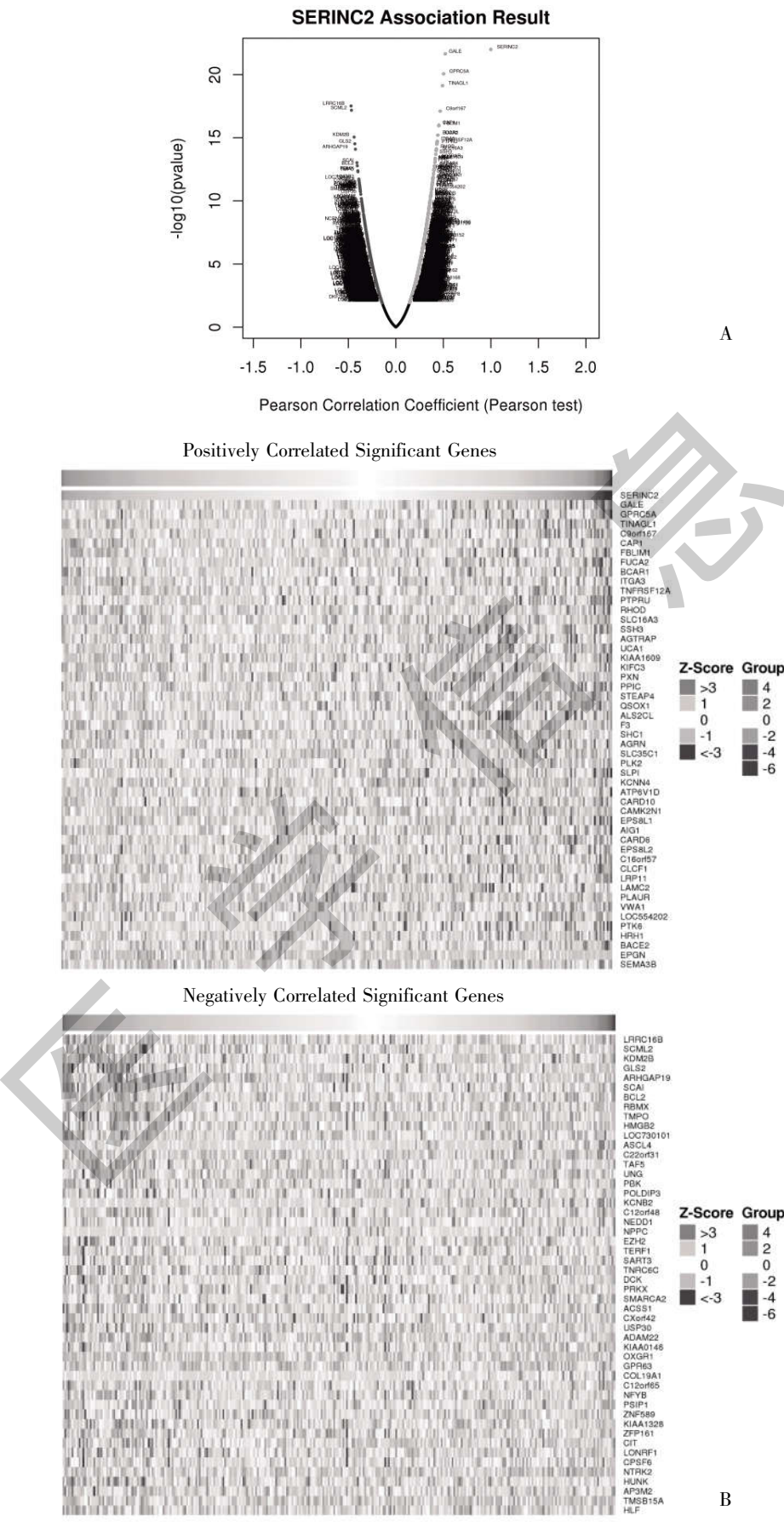


注:A:宫颈癌组织和癌旁组织;B:宫颈癌病理分级;C:种族;D:淋巴结转移;E:宫颈癌临床分期;F:年龄;*** $P<0.001$

图 5 SERINC2 基因甲基化水平与宫颈癌临床病理特征的相关性分析

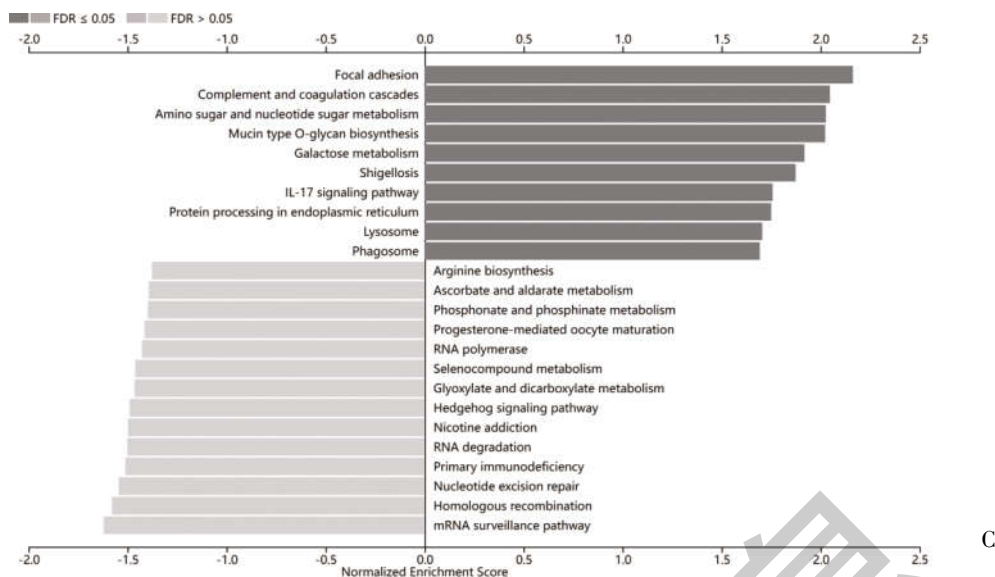
2.5 宫颈癌组织中的 SERINC2 共表达基因分析 为探究 SERINC2 基因参与宫颈癌进程的潜在机制,借助 Linked Omics 数据库,用火山图呈现宫颈癌中与 SERINC2 相关的基因,其中有 8316 个基因与 SERINC2 呈正相关,11 588 个基因呈负相关 ($FDR<0.05$),见图 6A;与该基因具有正负相关性的前 50 个共表达基因用热图展示,其中 GALE、GPC5A、

TINAGL1、C9orf167 和 CAP1 等基因与 SERINC2 表达呈正相关,SCML2、KDM2B、GLS2、ARHGAP19 和 SCAL 等基因与其表达呈负相关($FDR<0.05$),见图 6B。KEEG 通路富集分析显示,SERINC2 高表达组主要富集于半乳糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢途径、聚糖合成和降解等一系列与糖代谢相关的过程,见图 6C。



注:A:SERINC2 正相关和负相关基因热图;B:SERINC2 相关共表达基因火山图;C:SERINC2 高表达的宫颈癌组织样本的基因富集分析

图 6 宫颈癌组织中 SERINC2 正负相关的共表达基因及基因富集信号通路



注:A:SERINC2 正相关和负相关基因热图;B:SERINC2 相关共表达基因火山图;C:SERINC2 高表达的宫颈癌组织样本的基因富集分析

图 6 宫颈癌组织中 SERINC2 正负相关的共表达基因及基因富集信号通路(续)

3 讨论

随着生物信息学技术在医学研究领域的运用得到广泛发展,越来越多的课题研究人员将研究热点放在癌症机制和治疗靶点的研究探讨上,并借助各种交互式数据库分析潜在基因靶点,继而在细胞水平和体内水平上验证^[7-9]。据人乳头瘤病毒相关疾病报告显示,宫颈癌发病率有逐年增长且年轻化的趋势,尽管近几十年来在肿瘤治疗和临床诊断方面取得一些进展,但复发或晚期宫颈癌患者的临床结果和长期生存仍然较不理想^[10,11]。因此,进一步探索宫颈癌的发病机制,找到更具特异性的诊断性生物标志物具有重要意义。SERINC2 是 SERINC 跨膜蛋白家族的成员,在合成过程中将丝氨酸合并到膜脂中,在调节多种膜脂的生物合成方面具有重要功能^[12]。目前,磷脂酰丝氨酸和鞘磷脂分子、磷脂酰丝氨酸^[13-15]和鞘磷脂^[16-18]已被证明在癌症的发生和发展中起关键作用。且已有文献报道^[19,20],敲除 SERINC2 基因可以抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭;敲除肝癌细胞中的 SERINC2 可以通过转录水平激活 P21 抑制肝癌细胞增殖。

本研究通过生物信息学方法分析了 SERINC2 基因在宫颈癌中的表达和甲基化水平以及与临床病理特征的关系,并探讨了其在糖代谢相关过程中的功能。通过检索 GEPIA 和 HPA 数据库,发现 SERINC2 基因在宫颈癌组织中转录表达水平和蛋白表达水平均高于正常组织,并且 SERINC2 基因高表达

的宫颈癌患者的生存率低于低表达患者,提示 SERINC2 基因高表达与宫颈癌患者预后不良有关。以上结果提示 SERINC2 基因在宫颈癌发展过程中可能作为促癌因子发挥作用,同时可作为宫颈癌患者预后指标。DNA 甲基化是一种重要的表观遗传修饰,与癌症的发生和发展密切相关,其主要表现于启动子区域的甲基化水平表现出升高趋势,而整体的甲基化水平呈现下降^[21]。本研究结果发现,宫颈癌组织中的 SERINC2 甲基化水平低于正常宫颈组织,并且 SERINC2 甲基化水平与临床病理特征相关,即随着临床分期和病理分级的升高,SERINC2 甲基化水平呈下降趋势,这提示 SERINC2 甲基化水平可能成为宫颈癌诊断、临床分期和病理分级评估的参考指标。目前已有研究表明^[22],通过糖代谢途径可以促进宫颈癌细胞的增殖。本研究就其所调控通路进行探究并得出该基因功能发挥主要富集于半乳糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、聚糖的合成和降解等一系列与糖代谢相关过程。另外,本研究在线分析筛选出了与 SERINC2 具有正负相关的共表达基因,其中 GALE 是与 SERINC2 正相关性最强的基因。GALE 是半乳糖代谢过程中的关键酶^[23]。已有研究报道^[24,25],过表达 GALE 可以促进甲状腺乳头状癌细胞、脑胶质瘤细胞增殖。但 GALE 在宫颈癌中的具体生物学作用尚不清楚,推测 SERINC2 可能与 GALE 共同参与糖代谢途径调节宫颈癌的发生、发展,SERINC2 在宫颈癌中具体作用机制仍待更多研究验证。

综上所述,SERINC2 基因在宫颈癌组织中高表达,与患者不良预后相关,参与宫颈癌发生、发展过程。本研究尚缺乏实验基础的验证,后续还需功能性实验增加其可靠性,期望能成为宫颈癌筛选和治疗的靶点。

参考文献:

- [1]Merera DJ, Jima GH. Precancerous Cervical Lesions and Associated Factors Among Women Attending Cervical Screening at Adama Hospital Medical College, Central Ethiopia [J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 2181–2189.
- [2]刘佳琪, 李朋飞, 纪妹, 等. 基于中国子宫颈癌临床诊疗大数据的子宫颈癌诊疗规范化调查分析[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37(1): 82–86.
- [3]da Costa SCS, Bonadio RC, Gabrielli FCG, et al. Neoadjuvant Chemotherapy With Cisplatin and Gemcitabine Followed by Chemoradiation Versus Chemoradiation for Locally Advanced Cervical Cancer: A Randomized Phase II Trial [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(33): 3124–3131.
- [4]Inuzuka M, Hayakawa M, Ingi T. Serinc, an activity-regulated protein family, incorporates serine into membrane lipid synthesis [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(42): 35776–35783.
- [5]Ren WH, Yang CY, Yang XM, et al. siRNA-mediated knockdown of hTDE2 retards cell cycle progression through transcriptional activation of p21 [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(3): 1314–1322.
- [6]Chang GH, Barbaro NM, Pieper RO. Phosphatidylserine-dependent phagocytosis of apoptotic glioma cells by normal human microglia, astrocytes, and glioma cells [J]. *Neuro Oncol*, 2000, 2(3): 174–183.
- [7]Liang Z, Riaz A, Chachar S, et al. Epigenetic Modifications of mRNA and DNA in Plants [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(1): 14–30.
- [8]Carroll DJ. Integrating experience with databases, bioinformatics, and wet lab exercises for students in an introductory genetics course [J]. *Biochem Mol Biol Educ*, 2022, 50(5): 457–459.
- [9]Orton RJ, Gu Q, Hughes J, et al. Bioinformatics tools for analysing viral genomic data [J]. *Rev Sci Tech*, 2016, 35(1): 271–285.
- [10]Zhao XT, Zhu Y, Zhou JF, et al. Development of a novel 7 immune-related genes prognostic model for oral cancer: A study based on TCGA database [J]. *Oral Oncol*, 2021, 112: 105088.
- [11]Cao W, Chen HD, Yu YW, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(7): 783–791.
- [12]de Sanjosé S, Serrano B, Castellsagué X, et al. Human papillomavirus (HPV) and related cancers in the Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI) countries. A WHO/ICO HPV Information Centre Report [J]. *Vaccine*, 2012, 30 Suppl 4: D1–83, vi.
- [13]Xu S, Zheng Z, Pathak JL, et al. The Emerging Role of the Serine Incorporator Protein Family in Regulating Viral Infection [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 856468.
- [14]Digumarti R, Bapsy PP, Suresh AV, et al. Bavituximab plus paclitaxel and carboplatin for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2014, 86(2): 231–236.
- [15]Yin Y, Huang X, Lynn KD, et al. Phosphatidylserine-targeting antibody induces M1 macrophage polarization and promotes myeloid-derived suppressor cell differentiation [J]. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(4): 256–268.
- [16]Bondanza A, Zimmermann VS, Rovere-Querini P, et al. Inhibition of phosphatidylserine recognition heightens the immunogenicity of irradiated lymphoma cells in vivo [J]. *J Exp Med*, 2004, 200(9): 1157–1165.
- [17]Kok JW, Sietsma H. Sphingolipid metabolism enzymes as targets for anticancer therapy [J]. *Curr Drug Targets*, 2004, 5(4): 375–382.
- [18]Proia RL, Hla T. Emerging biology of sphingosine-1-phosphate: its role in pathogenesis and therapy [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(4): 1379–1387.
- [19]Ogretmen B, Hannun YA. Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(8): 604–616.
- [20]Zeng Y, Xiao D, He H, et al. SERINC2-knockdown inhibits proliferation, migration and invasion in lung adenocarcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 5916–5922.
- [21]Pan Y, Liu G, Zhou F, et al. DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics [J]. *Clin Exp Med*, 2018, 18(1): 1–14.
- [22]傅柳陶, 王青元, 卫兵, 等. PGAM1 通过激活 Warburg 效应调控宫颈癌细胞恶性生物学行为的机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(9): 1398–1402.
- [23]Broussard A, Florwick A, Desbiens C, et al. Human UDP-galactose 4'-epimerase (GALE) is required for cell-surface glycane structure and function [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(5): 1225–1239.
- [24]da Silveira Mitteldorf CA, de Sousa-Canavez JM, Leite KR, et al. FN1, GALE, MET, and QPCT overexpression in papillary thyroid carcinoma: molecular analysis using frozen tissue and routine fine-needle aspiration biopsy samples [J]. *Diagn Cytopathol*, 2011, 39(8): 556–561.
- [25]孙晓朋. miR-let-7i-5p 靶向 GALE 抑制人胶质母细胞瘤增殖和侵袭迁移特性的机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2021.

收稿日期: 2023-04-10; 修回日期: 2023-04-28

编辑/杜帆