

网络出版时间: 2021-9-7 15:33 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210907.1405.029.html>

基于 CGGA 数据库的 325 例脑胶质瘤患者 PSMB8 表达水平与临床特征的相关性研究

龙腾飞¹, 张红雁¹, 吴爱林², 高 劲^{1,2}, 刘鹤飞¹, 柳 璐¹, 张 琦¹

摘要 利用 CGGA 数据库,采集 325 例胶质瘤患者基因表达和临床信息,探讨蛋白酶体亚单位 β -8(PSMB8) mRNA 表达水平与胶质瘤患者临床特征及预后的关系。结果显示 PSMB8 mRNA 在高级别胶质瘤患者和异柠檬酸脱氢酶 1 野生型(IDH1-wt)患者中高表达。Pearson 相关分析显示 PSMB8 与其他 PSMB 基因相关,表明 PSMB8 mRNA 表达与胶质瘤的恶性表型呈正相关,与总生存期(OS)呈负相关。推测抑制 PSMB8 可作为治疗 PSMB8 高表达胶质瘤的一种新方案。

关键词 蛋白酶体亚单位 β -8 基因;胶质瘤;免疫治疗

中图分类号 R 739.41

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)11-1833-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.11.031

2021-07-05 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:11805198)

作者单位: ¹ 中国科学技术大学附属第一医院离子医学中心(合肥离子医学中心) 肿瘤放疗科,合肥 230088

² 中国科学技术大学附属第一医院西区(安徽省肿瘤医院) 肿瘤放疗科,合肥 230031

作者简介: 龙腾飞,男,主治医师;

张红雁,女,主任医师,责任作者,E-mail: 874595024@qq.com

胶质瘤是临床上最常见的中枢神经系统肿瘤,在原发性中枢神经系统恶性肿瘤的比例为 32%^[1]。近年来,神经肿瘤分子病理相关研究取得重大进展,根据基因表达谱特征将胶质瘤分成了 4 种不同的分子亚型——前神经元型、神经元型、经典型及间质型。根据肿瘤生长方式,WHO 中枢神经系统肿瘤分类(2007 年,第四版)将胶质瘤分为 WHO I-IV 级^[2],分级越高肿瘤的侵袭性越强^[3]。尽管采用手术、放疗以及化疗等方法综合治疗,胶质瘤患者的生存时间并没有明显的改善^[4]。因此,探讨胶质瘤发生、复发和预后的分子机制是十分必要的,相关研究^[5]将为脑胶质瘤患者的治疗策略提供新的靶点。蛋白酶体亚单位 β -8(proteasome 20 S subunit beta 8,PSMB8)又称大多功能蛋白酶 7(LMP7),编码 β 5i,通常作为免疫蛋白酶体的一个亚单位发挥作用^[6]。研究^[7-8]表明 PSMB8 的抑制和缺失通过下调促炎性细胞因子白细胞介素(interleukin,IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、IL-17 和 IL-23 的表达显著抑制结直肠癌、胃癌的进展,但在胶质瘤中的作用尚不清楚。该研究利用中国胶质瘤

The role and mechanism of IL-21 in knee osseous joint

Wei Singsong, Xu Bin, Wang Hao, et al

(Dept of Sports Trauma and Arthroscopic Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract The purpose of the experiment was to analyze the changes of interleukin-21(IL-21) in peripheral blood samples and joint microenvironment of patients with osteoarthritis(OA) and healthy controls by ELISA, and to detect the percentage of $CD3^+CD8^-IL-21^+$ T lymphocytes in peripheral blood mononuclear cells and infiltrating $CD3^+CD8^-IL-21^+$ T lymphocytes in synovium of OA patients and healthy controls by flow cytometry. Compared with healthy volunteers, the concentration of IL-21 in serum and joint microenvironment of OA patients increased, and the percentage of $CD3^+CD8^-IL-21^+$ T cells in peripheral blood mononuclear cells in total lymphocytes increased. At the same time, the percentage of $CD3^+CD8^-IL-21^+$ T cells in synovial infiltrating lymphocytes in OA patients also increased. It was found that the expression of IL-21 increased in patients with OA, and might be involved in the pathogenesis of the disease by increasing abnormal immune cascade reaction.

Key words knee joint; osteoarthritis; interleukin 21; flow cytometry

基因组图谱(CGGA) mRNAseq_325 作为数据集,分析 325 例脑胶质瘤患者 PSMB8 表达与临床特征的相关性,研究 PSMB8 在胶质瘤中是否起癌基因的作用,以期制定有效的方法治疗 PSMB8 高表达的胶质瘤患者。

1 材料与方法

1.1 病例资料和数据收集 从中国胶质瘤基因组图谱(the Chinese glioma genome atlas,CGGA)数据库中下载 mRNA-seq_325 数据集(包含 109 个 WHO II 级、72 个 WHO III 级、144 个 WHO IV 级的神经胶质瘤患者),收集每例患者年龄、性别、WHO 分级、分子亚型、异柠檬酸脱氢酶 1(isocitrate dehydrogenase 1, IDH1) 状态、PSMB8 表达以及随访资料等信息。总生存期(overall survival, OS) 估计是从诊断之日到死亡或最后一次随访之日。本研究基于 CGGA 数据库发布的公开数据,所有患者已去除个人标识,因此无需伦理委员会的批准,也无需患者知情同意。

1.2 研究方法 利用 CGGA mRNA-seq 数据集 325 例患者 PSMB8 mRNA 表达信息以中间值作为临界点,将患者分为 PSMB8 高表达组和低表达组。依据肿瘤分级水平,将胶质瘤患者分为 WHO II、WHO III、WHO IV 三组。根据肿瘤基因组图谱(TCGA)定义的分子分型,评估 PSMB8 在不同分子亚型胶质瘤中的表达,采用 Kaplan-Meier 分析探讨不同组内 PSMB8 的表达。为了验证 PSMB8 表达作为胶质瘤一个独立的预后因素,对 CGGA mRNA-seq 数据集进行单因素和多因素 Cox 分析。利用 R 语言包 pROC 绘制预测间质性胶质瘤的 PSMB8 表达 ROC 曲线。用 Pearson 相关分析法寻找与 PSMB8 表达相关的基因,将相关基因导入 DAVID 6.8(<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO(Gene Ontology) 功能富集和 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路富集。

1.3 统计学处理 采用 Graphpad Prism 7 软件进行统计分析。3 组及 3 组以上的比较使用单因素方差分析(ANOVA) 或者非参数检验(Kruskal-Wallis H),两组之间采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PSMB8 mRNA 在高级别胶质瘤和 IDH1 突变

胶质瘤中表达情况 从 CGGA mRNAseq 获得了 325 个具有 PSMB8 表达和完整随访资料的患者。在图 1A 中,PSMB8 mRNA 表达水平,在 WHO II、WHO III、WHO IV 三组间差异有统计学意义($F = 35.84$, $P < 0.0001$)。经过两两比较,WHO II、WHO III、WHO IV 各组间 PSMB8 mRNA 表达水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果显示 PSMB8 mRNA 表达水平与胶质瘤级别呈正相关。PSMB8 表达在异柠檬酸脱氢酶 1 野生型(isocitrate dehydrogenase 1 wild-type, IDH1-wt) 高于 IDH1 突变(IDH1-mut) 组($t = 7.457$, $P < 0.0001$),见图 1B。

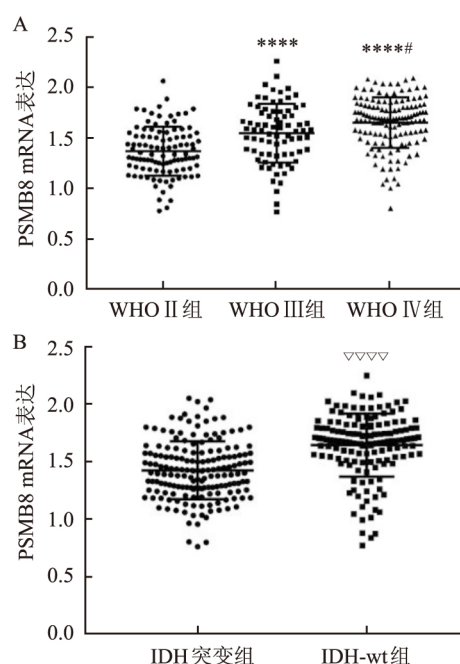


图1 PSMB8 mRNA 表达在不同级别胶质瘤和 IDH1 突变胶质瘤中表达情况

A: CGGA mRNA-seq 数据集中患者 PSMB8 mRNA 在不同级别胶质瘤组中表达; B: 患者 PSMB8 mRNA 在 IDH1 突变组和 IDH1-wt 组中表达; 与 WHO II 组比较: **** $P < 0.0001$; 与 WHO III 组比较: # $P < 0.05$; 与 IDH 突变组比较: ▽▽▽▽ $P < 0.0001$

2.2 PSMB8 在不同分子亚型中表达情况 与间质型组相比,经典型组($t = 3.3$, $P < 0.0012$)、神经元型($t = 11.02$, $P < 0.0001$)、前神经元型($t = 11.85$, $P < 0.0001$)、间质性胶质瘤 PSMB8 表达较高,差异有统计学意义,见图 2。间质性胶质瘤 PSMB8 表达 ROC 分析曲线下面积(area under curve, AUC) 为 83.6%,见图 3。

2.3 PSMB8 表达情况与胶质瘤患者 OS 间关系 本研究对 PSMB8 高表达组和低表达组胶质瘤患者

表1 CGGA mRNA-seq 数据集单因素和多因素 Cox 回归分析

临床特征	单因素分析				多因素分析			
	HR	95% CI		P 值	HR	95% CI		P 值
		下方	上方			下方	上方	
年龄(≥50岁)	1.033	1.020	1.047	<0.000 1	1.009	0.996	1.021	0.173
性别(男)	0.922	0.699	1.217	0.567	-	-	-	-
IDH1 状态(突变)	0.352	0.265	0.567	<0.000 1	0.764	0.535	1.091	0.138
级别(WHO IV级)	4.695	3.489	6.318	<0.000 1	3.118	2.191	4.436	<0.000 1
PSMB8(高表达)	7.573	4.552	12.601	<0.000 1	3.067	1.737	5.416	0.000 1

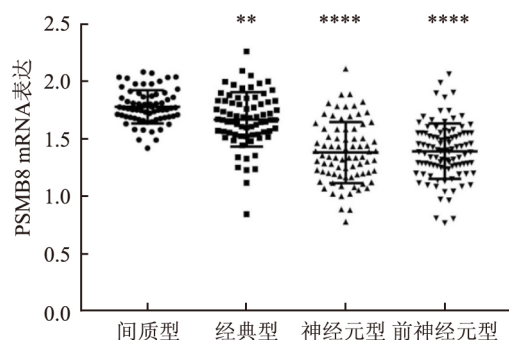


图2 CGGA RNA-seq 数据集中
PSMB8 mRNA 在不同分子亚型中的表达
与间质型组比较: ** $P < 0.01$; **** $P < 0.000 1$

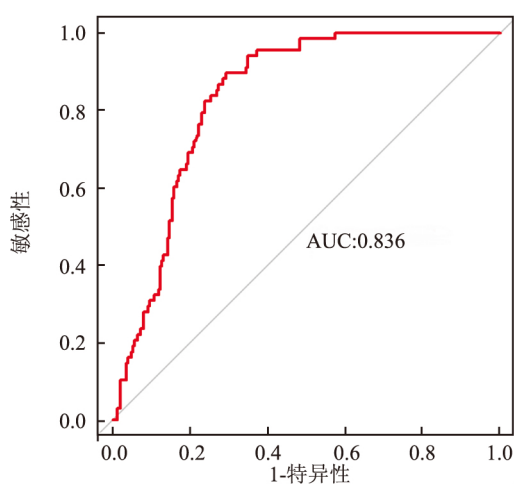


图3 CGGA RNA-seq 数据集中预测
间质性胶质瘤的 PSMB8 表达 ROC 曲线

生存时间进行了评估,与 PSMB8 低表达组患者相比,在各级别(WHO II、III、IV 级)胶质瘤患者中, PSMB8 高表达组患者 OS 均明显缩短(图4)。对 CGGA mRNA-seq 数据集进行单因素和多因素 Cox 分析:单因素分析结果显示, PSMB8 表达 ($P < 0.000 1$)、WHO 分级 ($P < 0.000 1$)、年龄 ($P < 0.000 1$)、IDH1 状态 ($P < 0.000 1$) 可以预测神经胶

质瘤患者的 OS,见表1;在多因素分析中, PSMB8 高表达在校正 WHO 分级 ($P < 0.000 1$)、年龄 ($P < 0.173$) 和 IDH1 状态 ($P < 0.138$) 后显示差异有统计学意义 ($P = 0.000 1$)。以上结果表明, PSMB8 表达在神经胶质瘤的进展中起重要作用。

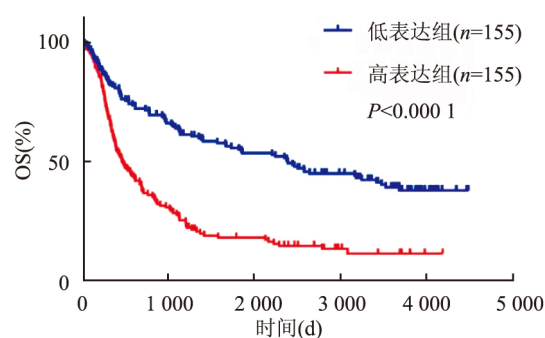


图4 各级别胶质瘤 PSMB8 高表达组和低表达组患者 OS

2.4 PSMB8 与神经胶质瘤的免疫功能关系 为了研究 PSMB8 和其他 PSMB 家族基因的关系,在 CGGA mRNA-seq 数据集中进行了 Pearson 相关分析,结果(图5)表明, PSMB8 表达与 PSMB9 ($r = 0.94$)、PSMB10 ($r = 0.61$) 显著相关,与 PSMB4 ($r = 0.55$) 中等相关,与 PSMB6 ($r = 0.37$) 弱相关。为了探讨神经胶质瘤中 PSMB8 表达的生物学过程,对 CGGA RNA-seq 数据集中 325 例患者的全基因组进行了 PSMB8 表达与其他基因之间的 Pearson 相关分析,结果显示 107 个基因 ($R^2 > 0.6$) 与 PSMB8 表达正相关。通过 DAVID 网站 (<https://david.ncifcrf.gov>) 进行 GO 和 KEGG 富集分析,结果见表2、3。其中,观察到的 GO 富集包括多肽抗原结合、肿瘤坏死因子受体超家族结合、戊糖基转移酶活性、NAD + ADP 核糖基转移酶活性、蛋白质 ADP 核糖酶活性;对于 KEGG 分析,包括抗原加工和呈递、NOD 样受体信号途径、吞噬体、蛋白酶体、RIG-I 样受体信号途径。以上所有结果表明 PSMB8 可以影响神经胶质瘤相

关的免疫活性。

表2 PSMB8 GO 富集分析

GO 富集	P 值	计数
抗原加工和呈递	5.88×10^{-10}	9
NOD 样受体信号途径	8.07×10^{-8}	10
吞噬体	2.76×10^{-6}	8
蛋白酶体	6.48×10^{-6}	5
RIG-I 样受体信号途径	5.74×10^{-5}	5

表3 PSMB8 KEGG 富集分析

GO 富集	P 值	计数
多肽抗原结合	6.10×10^{-7}	5
肿瘤坏死因子受体超家族结合	4.62×10^{-6}	5
戊糖基转移酶活性	5.14×10^{-6}	5
NAD + ADP 核糖基转移酶活性	5.29×10^{-6}	4
蛋白质 ADP 核糖酶活性	6.51×10^{-5}	3

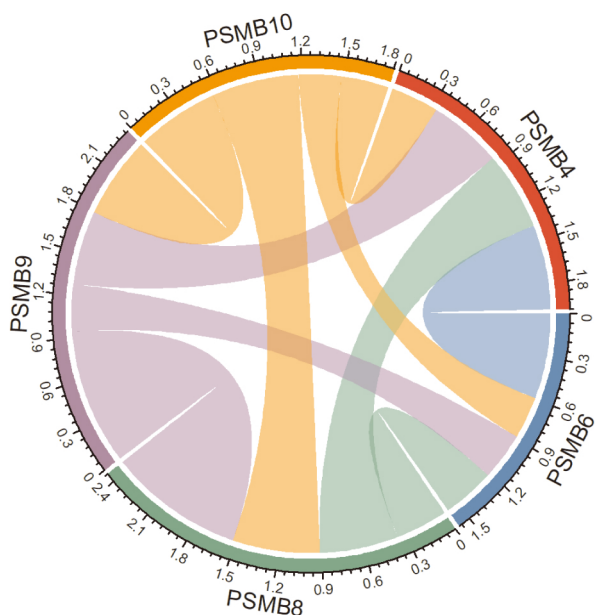


图5 PSMB8 和其他 PSMB 家族基因的相关性

3 讨论

胶质瘤具有较高的癌症相关病死率^[9]。目前采用手术、放疗以及化疗等综合治疗方法,大多数胶质瘤患者的预后仍然很差,最具侵袭性的胶质母细胞瘤(WHO IV级)中位存活时间仅为14.7个月^[10]。肿瘤细胞的扩散性、浸润性和侵袭性是导致胶质瘤患者死亡和复发的主要原因^[11]。进一步研究胶质瘤的分子机制,更全面了解肿瘤侵袭、增殖和凋亡机制将有助于临床发现新的免疫治疗靶点,改善胶质瘤患者的预后。随着肺癌、黑色素瘤等肿瘤免疫治

疗的发展,免疫治疗有可能是胶质瘤延长患者生存期的新方法,与直接针对肿瘤细胞的传统治疗手段不同,肿瘤免疫疗法是利用人自身免疫系统对肿瘤进行杀伤^[12]。PSMB8 作为免疫蛋白酶体的催化亚单位之一,通过 26S 蛋白酶体介导的降解参与免疫反应^[7]。该研究回顾性分析了 325 例胶质瘤患者的 CGGA RNA-seq 数据集,阐明了 PSMB8 mRNA 表达与患者临床特征的相关性。结果显示,不同级别胶质瘤组 PSMB8 mRNA 表达水平存在差异,在胶质母细胞瘤组中高表达。而且在各级别胶质瘤(WHO II、III、IV 级)组中,PSMB8 mRNA 表达水平与患者总生存时间呈负相关。即随着胶质瘤的发展,PSMB8 的表达逐渐增加。有研究^[13]表明含有 IDH 基因突变的高级别胶质瘤有显著的较好预后,间质型胶质瘤的恶性程度高于其他亚型^[14]。该研究显示 IDH1-wt 组 PSMB8 表达高于 IDH1-mut 组;间质型组 PSMB8 表达上调,表明 PSMB8 高表达胶质瘤患者恶性程度高,预后差。提示 PSMB8 可作为胶质瘤新的预后因子和治疗靶点。

该研究进一步对 CGGA mRNA-seq 数据集进行相关单因素和多因素 Cox 分析,进一步验证了 PSMB8 mRNA 高表达可以作为胶质瘤患者一个独立的预后因素。通过 DAVID 网站(<https://david.ncifcrf.gov>) 进行 GO 和 KEGG 富集分析,表明 PSMB8 基因在内源性抗原提呈、多肽抗原结合等免疫调节过程中发挥作用。PSMB8 基因在胶质瘤中的功能涉及肿瘤组织免疫状态的调节,诱导胶质瘤细胞生长。在肿瘤的发生发展过程中,由于基因突变和肿瘤相关因子的刺激,导致肿瘤抑制因子 PTEN 和 TP53 等异常蛋白质产生,在降解这些蛋白质过程中 26S 蛋白酶体起主要作用。PSMB8 是 26S 免疫蛋白酶体复合物的关键的 β 催化亚基之一, PSMB8 高表达加速降解异常蛋白质,稳定细胞生存的内环境;缺乏 PSMB8 可能使胶质瘤细胞容易被机体免疫系统清除^[6]。Yang et al^[15] 的研究表明 PSMB8 基因敲除可抑制 U87 胶质瘤细胞的生长, PSMB8 可能在 G₁-S 期起到细胞周期的调节作用, PSMB8 可以促进胶质瘤细胞的迁移和增殖,并可能通过激活 ERK1/2 和 AKT 通路以抑制细胞凋亡。

综上所述, PSMB8 mRNA 表达与胶质瘤的恶性表型呈正相关,与 OS 呈负相关。PSMB8 mRNA 高表达促进胶质瘤细胞的生长和迁移,抑制胶质瘤细

胞凋亡,与胶质瘤患者预后不佳相关。抑制 PSMB8 可能是治疗 PSMB8 高表达胶质瘤的一种有良好前景的方案。

参考文献

- [1] Sun X, Ma X, Wang J, et al. Glioma stem cells-derived exosomes promote the angiogenic ability of endothelial cells through miR-21/VEGF signal[J]. *Oncotarget* 2017 8(22):36137–48.
- [2] Rizzo D, Ruggiero A, Martini M, et al. Molecular biology in pediatric high-grade glioma: impact on prognosis and treatment[J]. *Biomed Res Int* 2015 2015:215135.
- [3] Fan X, Wang Y, Zhang C, et al. ADAM9 expression is associated with glioma tumor grade and histological type, and acts as a prognostic factor in lower-grade gliomas[J]. *Int J Mol Sci* 2016 17(9):1276–311.
- [4] Fan X, Wang Y, Zhang C, et al. Human leukocyte antigen-G overexpression predicts poor clinical outcomes in low-grade gliomas[J]. *J Neuroimmunol* 2016 294(5):27–31.
- [5] Vehlou A, Cordes N. Invasion as target for therapy of glioblastoma multiforme[J]. *Biochim Biophys Acta* 2013 1836(2):236–44.
- [6] Rivett A J, Hearn A R. Proteasome function in antigen presentation: immunoproteasome complexes, peptide production, and interactions with viral proteins[J]. *Curr Protein Pept Sci* 2004 5(3):153–61.
- [7] Koerner J, Brunner T, Groettrup M. Inhibition and deficiency of the immunoproteasome subunit LMP7 suppress the development and progression of colorectal carcinoma in mice[J]. *Oncotarget* 2017 8(31):50873–88.
- [8] Kwon C H, Park H J, Choi Y R, et al. PSMB8 and PBK as potential gastric cancer subtype-specific biomarkers associated with prognosis[J]. *Oncotarget* 2016 7(16):21454–68.
- [9] Liu Z, Han H, He X, et al. Expression of the galectin-9-Tim-3 pathway in glioma tissues is associated with the clinical manifestations of glioma[J]. *Oncol Lett* 2016 11(3):1829–34.
- [10] Huang K, Fang C, Yi K, et al. The role of PTRF/Cavin1 as a biomarker in both glioma and serum exosomes[J]. *Theranostics* 2018 8(6):1540–57.
- [11] Jiang T, Zhao B, Li X, et al. ARPP-19 promotes proliferation and metastasis of human glioma[J]. *Neuroreport* 2016 27(13):960–6.
- [12] Goel G, Sun W. Cancer immunotherapy in clinical practice—the past, present, and future[J]. *Chin J Cancer* 2014 33(9):445–57.
- [13] Upadhyay V A, Brunner A M, Fathi A T. Isocitrate dehydrogenase (IDH) inhibition as treatment of myeloid malignancies: progress and future directions[J]. *Pharmacol Ther* 2017 177:123–8.
- [14] Brennan C W, Verhaak R G, McKenna A, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma[J]. *Cell* 2013 155(2):462–77.
- [15] Yang B Y, Song J W, Sun H Z, et al. PSMB8 regulates glioma cell migration, proliferation, and apoptosis through modulating ERK1/2 and PI3K/AKT signaling pathways[J]. *Biomed Pharmacother* 2018 100:205–12.

Correlation of PSMB8 expression and clinical characterization in 325 brain glioma patients based on CGGA database

Long Tengfei¹, Zhang Hongyan¹, Wu AiLin², et al

¹Dept of Tumor Radiotherapy, Hefei Ion Medical Center, The First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230088;

²Dept of Tumor Radiotherapy, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China West District (Anhui Provincial Cancer Hospital), Hefei 230031]

Abstract To investigate the relationship between proteasome 20S subunit beta 8 (PSMB8) mRNA expression and clinical characteristics and prognosis of glioma patients. 325 patients with gliomas were from CGGA. PSMB8 mRNA was enriched in high-grade glioma and isocitrate dehydrogenase 1 wild-type (IDH1-wt) group. Pearson correlation test showed that PSMB8 was correlated with other PSMB8 genes. PSMB8 mRNA expression was positively correlated with malignant phenotype and negatively correlated with overall survival (OS), suppression of PSMB8 may be taken as a new strategy for the treatment of PSMB8 over expressing gliomas.

Key words PSMB8 gene; glioma; immunotherapy