

· 最新医学论著 ·

基于 TCGA 挖掘 TTK 在肝细胞癌中的表达及临床意义

杨雪佳¹, 马义丽², 李玉杰², 吴登强¹, 周素芳²

(1. 国家生物靶向诊治国际联合研究中心, 广西生物靶向诊治重点实验室, 广西肿瘤靶向诊治协同创新中心, 广西生物靶向诊治研究人才小高地, 广西医科大学, 广西 南宁 530021; 2. 广西医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 广西 南宁 530021)

摘要: 目的 探讨 TTK 基因在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中的表达及临床意义。方法 利用癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库分析 TTK 转录水平在 HCC 和正常组织中表达差异、与临床病理特征及患者生存状态关系。受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析评价 TTK 诊断 HCC 的效能。收集十组配对的 HCC 和癌旁样本验证 TTK 差异表达。结果 TTK mRNA 在肝细胞癌组织中显著高于正常组织, TTK 基因表达水平与病理分期和组织分级相关 ($P < 0.05$), 与 HCC 预后呈负相关 ($P < 0.05$)。ROC 分析表明 TTK 诊断 HCC 效能良好。结论 通过对 TCGA 数据库数据挖掘和临床样本验证, 发现 TTK 基因在 HCC 组织中高表达, 并且与 HCC 病理特征和预后关系密切, 可作为潜在诊断 HCC 和预后标志物。

关键字: 肝细胞癌; 数据挖掘; TTK

中图分类号: R73

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2022.026.006

本文引用格式: 杨雪佳, 马义丽, 李玉杰, 等. 基于 TCGA 挖掘 TTK 在肝细胞癌中的表达及临床意义 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2022, 22(026): 24-28.

Mining the Expression and Clinical Significance of TTK in Hepatocellular Carcinoma Based on TCGA

YANG Xue-jia¹, MA Yi-li², LI Yu-jie², WU Deng-qiang¹, ZHOU Su-fang²

(1 National International Joint Research Center for biological targeted diagnosis and treatment, Guangxi Key Laboratory for biological targeted diagnosis and treatment, Guangxi Collaborative Innovation Center for tumor targeted diagnosis and treatment, Guangxi small highland of biological targeted diagnosis and treatment research talents, Guangxi Medical University, Nanning Guangxi 530021; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Guangxi Medical University, Nanning Guangxi 530021)

ABSTRACT: Objective To investigate the expression and clinical significance of TTK gene in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The Cancer Genome Atlas (TCGA) database was used to analyze the difference of TTK transcript expression in HCC and normal tissues, and its relationship with clinicopathological characteristics and patient survival status. Receiver operating characteristic curve (ROC) analysis was used to evaluate the efficacy of TTK in diagnosing HCC. Ten pairs of paired HCC and paracancerous samples were collected to verify the differential expression of TTK. **Results** TTK mRNA were significantly higher in hepatocellular carcinoma tissues than in normal tissues. TTK gene expression level was correlated with pathological stage and tissue grade ($P < 0.05$), and negatively correlated with HCC prognosis ($P < 0.05$). ROC analysis showed that TTK had good diagnostic performance for HCC. **Conclusion** Through data mining of TCGA database and clinical sample verification, it is found that TTK gene is highly expressed in HCC tissue and is closely related to the pathological characteristics and prognosis of HCC, and can be used as a potential diagnostic and prognostic marker for HCC.

KEY WORDS: hepatocellular carcinoma; data mining; TTK

0 引言

肝癌是癌症相关第四大死亡原因, 也是最难治

疗的癌症之一, 每年导致近百万人死亡。HCC 占原发性肝癌的 80%–90%^[1], 死亡率位居全球第三^[2]。

作者简介: 杨雪佳 (1997–), 女, 四川达州, 硕士研究生, 肿瘤靶向诊断治疗。

2022 年在中国诊断出的前五种癌症类型中肝癌排第四,癌症死亡的前五位原因肝癌排第二^[3]。肝癌具有发病隐匿、预后很差、恶性程度高等生物学特征^[4]。因此进一步加深对 HCC 发病机制的研究十分重要。深入探讨肝细胞癌的发生、发展机制,寻找新的治疗靶点和预后的生物标志物对肝细胞癌的研究有着重要意义。纺锤体组装检查点激酶 TTK (Mps1) 基因(NM_003318) 位于染色体 6q13-q21 上,编码双丝氨酸 / 苏氨酸和酪氨酸蛋白激酶^[5]。TTK 是纺锤体组装检查点的核心组成部分,其作用是确保染色体正确分布到子细胞^[6]。除了睾丸和胎盘,通过 Northern 印迹在正常组织中几乎无法检测到 TTK。然而,TTK 的高表达水平可以在不同类型的癌症中检测到,包括胶质母细胞瘤、食道癌和乳腺癌。TTK 在肝癌中表达明显增高。此外,TTK 在肝癌具有促进细胞增殖和迁移的作用^[7]。这些结果提示 TTK 可能作为诊断肝癌的潜在预测指标。

1 资料和方法

1.1 TCGA 数据库分析

从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 下载关于肝细胞癌的 TCGA-LIHC 转录组测序数据(FPKM 格式) 和样本临床信息, 包含 374 个 HCC 和 50 个正常组织。将 FPKM 格式的 RNAseq 数据转换成了 TPM 格式并进行 log₂ 转化后用于基

因表达分析。基因表达分析采用 wilcoxon 秩和检验, 临床特征分析 Kruskal-Wallis 检验, 癌和癌旁配对样本差异分析采用配对样本 T 检验。生存分析 Kaplan-Meier 生存分析与 log-rank 检验, 采用 Survival R 包完成, ROC 分析采用 PROC R 包。使用 ggplot R 包进行可视化。

1.2 临床样本

从广西医科大学获得 10 对匹配的 HCC 组织和邻近癌旁组织。以上样本采集时间为 2020 年 1 月至 2021 年 8 月。本研究经广西医科大学伦理委员会批准(批准文号 :20200035)。所有人体组织标本的处理都严格遵守《赫尔辛基宣言》中的道德准则。所有患者均提供知情同意。上述临床标本的 RNA 纯化、鉴定及 RNA 序列均由中国 Novelbio 公司完成。采用 R 包“Limma”中的 Wilcoxon 检验验证 TTK 的表达。癌和癌旁配对样本差异分析采用配对样本 T 检验。

2 结果

2.1 TTK 在 TCGA 肝细胞癌组织和正常组织中表达情况

由图 1A 可知, TTK 在 TCGA 数据库 HCC 组织表达显著高于正常组织($P < 0.001$)。图 1B 在 50 对配对样本组中, 除了一组癌组织 TTK 表达低于正常组织外, 大部分组均高于正常组织($P < 0.001$)。说明转录水平上 TTK 在 HCC 组织中高表达。

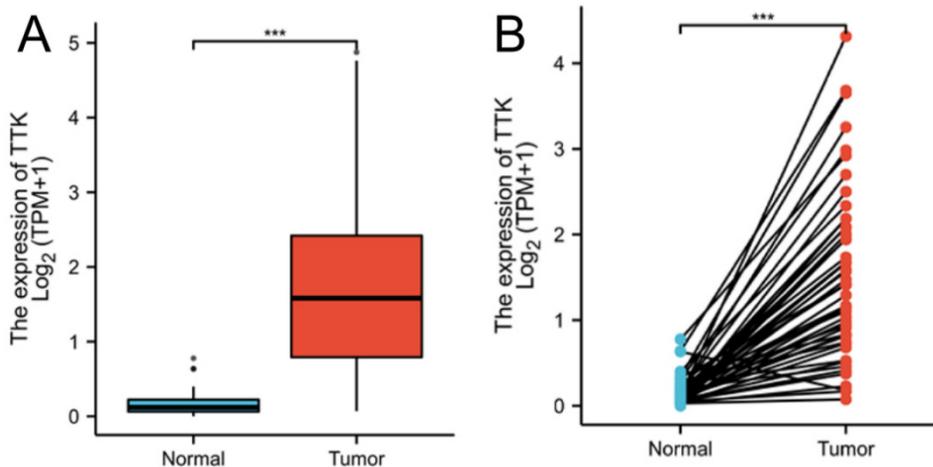


图 1 TCGA 数据库中 TTK 转录水平表达情况

注: A: HCC 和正常组织 TTK 差异表达; B: 配对 HCC 和癌旁组织 TTK 差异表达

2.2 TTK 表达与临床病理特征关系

由图 2A-2B 可知, TTK 表达在 HCC 病理分期 Stage I - III 和组织分级 G1-G4 中其表达逐渐升

高, Stage II 和 Stage III 与 Stage I 相比, TTK 表达量显著升高($P < 0.05$)。然而 Stage IV 与各分期无显著差异, 考虑 Stage IV 仅有 5 个样本, 样本数过少

不具有代表性。G3 和 G4 与 G1 相比, TTK 表达量显著升高($P<0.05$)。反映 HCC 疾病恶化程度越严重, TTK 表达越高。

2.3 TTK 表达与患者生存状态关系

由图 3A-B 可知, HCC 患者在总体生存和无进展生存方面, TTK 高表达组比低表达组随着随访时间延长, 病人生存率逐渐下降。说明 TTK 高表达与 HCC 的不良预后有关($P<0.05$)。

2.4 ROC 分析 TTK 诊断效能

由图 4A 可知, 在预测正常和 HCC 结局上, TTK 的预测能力有较高准确性($AUC=0.971, CI=0.955-0.987$); 图 4B 可知, 在预测病理早期(Stage I - II)和晚期(Stage III - IV)病理状态上, TTK 的预测能

力有较低准确性($AUC=0.601, CI=0.530-0.672$); 图 4C 可知, 在预测组织分级早期(G1-G2)和晚期(G3-G4)方面, TTK 预测效能有一定准确性($AUC=0.680, CI=0.625-0.735$)。可推断, TTK 用作诊断 HCC 良好指标。

2.5 临床样本验证 TTK 在 HCC 中表达

通过收集来自广西医科大学附属肿瘤医院的十对 HCC 和配对癌旁样本, 进行转录组测序挖掘 TTK 基因在癌和正常组织差异表达。有图 5A 可知, TTK 在 HCC 组织中高表达($P<0.05$)。图 5B 可知, 在十组配对样本中, 癌组织 TTK 表达量均高于正常组织($P<0.05$)。

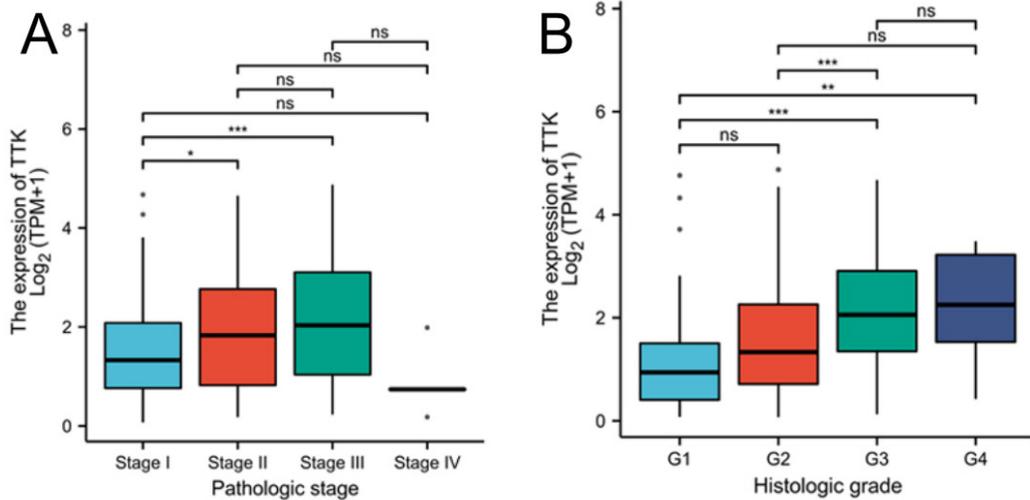


图 2 TCGA 数据库中 TTK 表达与临床病理特征关系

注: A: TTK 表达与病理分期关系; B: TTK 表达与组织分级关系

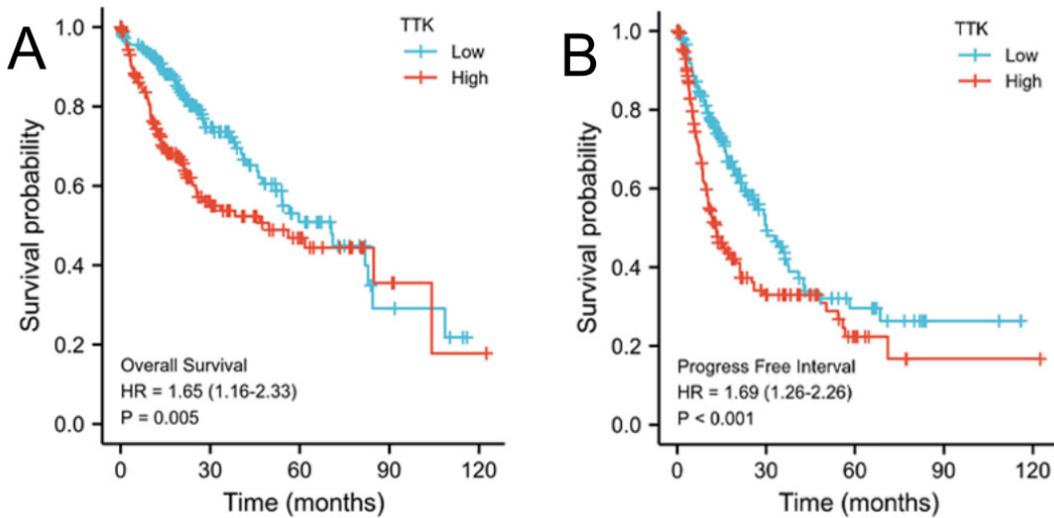


图 3 TCGA 数据库中 TTK 表达与患者生存状态关系

注: A: 总体生存曲线; B: 无进展生存曲线

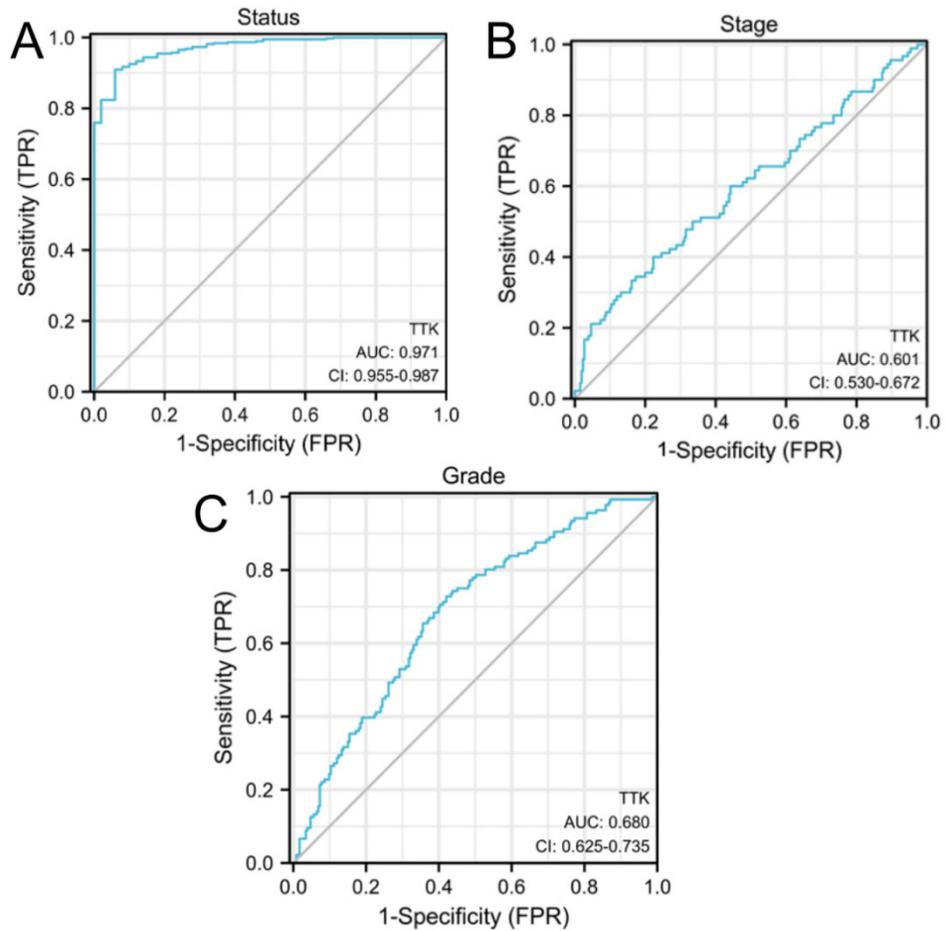


图 4 ROC 分析 TTK 诊断效能

注: A: ROC 分析 TTK 诊断 HCC/ 正常效能; B: ROC 分析 TTK 诊断不同病理分期 (Stage I-II/Stage III-IV) 效能 ;C: ROC 分析 TTK 诊断不同组织分级 (G I-II/G III-IV) 效能

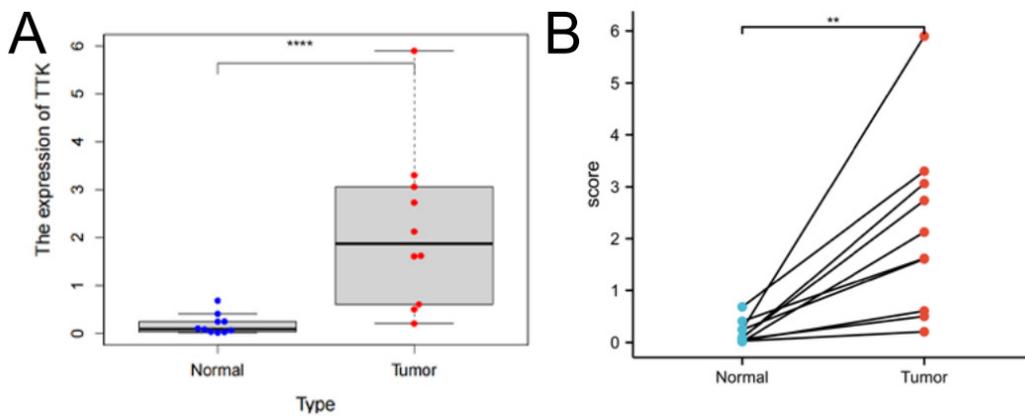


图 5 临床样本验证 TTK 转录水平表达情况

注: A: HCC 和正常组织 TTK 差异表达; B: 配对 HCC 和癌旁组织 TTK 差异表达

3 结论

肝细胞癌 (HCC) 是癌症相关死亡的第四大原因, 并且在全球范围内发病率不断上升^[8]。HCC 的发病率、频繁复发、高死亡率和目前治疗方案的局限性, 使 HCC 被公认为主要的公共卫生问题。HCC 是一种生物学复杂且高度异质的疾病^[9]。常

规的临床和病理学指标可用于判断肝细胞癌分期和预后, 但准确性有限。肝细胞癌变的分子机制仍不清楚^[10]。TTK 该基因编码一种参与细胞有丝分裂和增殖的双特异性蛋白激酶。目前有研究报道, TTK 高表达与多种肿瘤预后不良相关, 包括三阴性乳腺癌^[11]、胃癌^[12]、前列腺癌^[13]和膀胱癌^[14], 但其

在肝细胞癌中的表达情况和预后相关性报道较少见。Miao 等^[15]研究发现, TTK 在肝脏肿瘤组织中表达水平较肝脏组织高, 间接表明 TTK 可作为肝细胞癌的一个潜在癌基因。因此进一步探讨 TTK 在肝细胞癌中的表达情况和临床特征相关性十分必要。TCGA 数据库是目前被广泛使用的肿瘤学数据库, 并得到了广泛科研工作者的认同。本实验通过对 TCGA 数据库数据深入挖掘, 发现 TTK 基因在肝细胞癌组织中的表达水平高于正常组织, 临床样本验证也证实 TTK 在 HCC 的高表达。TTK 的高表达与患者 HCC 病程进展密切相关: TTK 在病理晚期和组织分化差样本中, 表达量更高。生存分析发现, 高表达 TTK 与 HCC 患者不良预后相关。接着用 ROC 分析探索了 TTK 诊断 HCC 结局、预测病理和组织方面其检验准确性。发现 TTK 在预测患者 HCC 或正常疾病状态方面, AUC=0.971, 表明 TTK 评价患者 HCC 检验效能良好。本研究将数据挖掘和临床验证结合起来, 证明了 TTK 在 HCC 组织中的高表达, 与疾病恶化和预后密切相关, 且可作为潜在 HCC 预后和诊断靶标, 但未能对 TTK 影响 HCC 进展的机制进行基础研究。本研究将为寻找肝细胞癌诊断和预测预后的靶标提供一定的理论依据和临床指导。

参考文献

- [1] LI X, RAMADORI P, PFISTER D, et al. The immunological and metabolic landscape in primary and metastatic liver cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(9): 541-57.
- [2] MINTZ K J, LEBLANC R M. The use of nanotechnology to combat liver cancer: Progress and perspectives[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(2): 188621.
- [3] XIA C, DONG X, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022, 135(5): 584-90.
- [4] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018, 68(6): 394-424.
- [5] ZHANG L, SHI R, HE C, et al. Oncogenic B-Raf(V600E) abrogates the AKT/B-Raf/Mps1 interaction in melanoma cells[J]. *Cancer letters*, 2013, 337(1): 125-32.
- [6] XIE Y, WANG A, LIN J, et al. Mps1/TTK: a novel target and biomarker for cancer[J]. *J Drug Target*, 2017, 25(2): 112-8.
- [7] ZHANG H, YAO W, ZHANG M, et al. TTK inhibitor promotes radiosensitivity of liver cancer cells through p21[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 550: 84-91.
- [8] LLOVET J M, DE BAERE T, KULIK L, et al. Locoregional therapies in the era of molecular and immune treatments for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(5): 293-313.
- [9] LEE T K-W, GUAN X-Y, MA S. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma - from origin to clinical implications[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(1): 26-44.
- [10] BOSCH F X, RIBES J, BORRÀS J. Epidemiology of primary liver cancer[J]. *Seminars in liver disease*, 1999, 19(3): 271-85.
- [11] GAO Y-H, QU S-S, CAO L-Q, et al. TTK predicts triple positive breast cancer prognosis and regulates tumor proliferation and invasion[J]. *Neoplasma*, 2021.
- [12] HUANG H, YANG Y, ZHANG W, et al. TTK regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer cells through the Akt-mTOR pathway[J]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10(8): 1542-9.
- [13] CHEN S, WANG J, WANG L, et al. Silencing TTK expression inhibits the proliferation and progression of prostate cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 385(1): 111669.
- [14] TIAN Y, GUAN Y, SU Y, et al. MiR-582-5p Inhibits Bladder Cancer-Genesis by Suppressing TTK Expression[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 11933-44.
- [15] MIAO R, WU Y, ZHANG H, et al. Utility of the dual-specificity protein kinase TTK as a therapeutic target for intrahepatic spread of liver cancer[J]. *Scientific reports*, 2016, 6: 33121.