

BYSL 基因在胃癌中的表达及临床意义

严晓梦 陈鹏飞 王 帆 许 菲 张玉鹏 谢 扬 刘 静 常 莹 赵 秋

摘要 **目的** 研究 BYSL 基因在胃癌中的表达情况和临床意义,并探究可能的作用机制。**方法** 收集胃癌相关生物大数据,对样本中的 BYSL 基因表达数据及其对应的临床信息进行回顾性分析和生存分析,采用基因集富集分析方法探讨 BYSL 基因在胃癌中可能的作用机制,采用胃癌及癌旁组织基因芯片数据验证 BYSL 基因与胃癌发生的相关性。**结果** 376 例胃癌 RNA 测序样本中,BYSL 基因表达与肿瘤分级存在一定相关性($P=0.047$),表达越高,肿瘤恶性程度越高,且 BYSL 基因高表达患者的预后明显差于低表达患者($P=0.000$)。基因富集分析提示,BYSL 基因高表达的样本中,Myc、E2F1、RPS14、HOXA9 等多个肿瘤细胞通路相关基因表达上调。31 对胃癌及癌旁组织基因芯片数据也证实,BYSL 基因在胃癌中表达明显升高($P=0.000$),且具有较大的鉴别诊断价值($AUC=0.958$)。**结论** BYSL 基因表达与胃癌的分级及发展存在一定相关性,具有较大的临床意义。

关键词 胃癌 BYSL 基因表达 临床意义

中图分类号 R735

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.11.039

Clinical Significance of BYSL Expression in Gastric Cancer. Yan Xiaomeng, Chen Pengfei, Wang Fan, et al. Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Hubei 430071, China

Abstract **Objective** To investigate the clinical significance of BYSL expression and potential mechanism in gastric cancer. **Methods** Large-scale RNA sequencing data were collected, and retrospective and survival analyses were conducted on the expression profiles of tumor samples and related clinical data. Gene set enrichment analysis was conducted to identify potential mechanism of BYSL in gastric cancer. Finally, the correlation between BYSL expression and gastric cancer was verified by the microarray data of tumor and adjacent tissues. **Results** In 376 cases of gastric cancer RNA sequencing samples, higher expression of BYSL gene was associated with higher tumor grade ($P=0.047$). Patients with high BYSL expression showed a poorer prognosis than those with low expression ($P=0.000$). In gene set enrichment analysis, tumor cellular pathway-related genes (eg. Myc, E2F1, RPS14 and HOXA9) were up-regulated in the samples with BYSL highly expressed. The microarray data of 31 pairs of tumor and adjacent tissues also confirmed a higher expression of BYSL in gastric cancer ($P=0.000$), with a high diagnostic accuracy ($AUC=0.958$). **Conclusion** BYSL expression was related with the grade and prognosis of gastric cancer, and it had a clinical significance.

Key words Gastric cancer; BYSL; Gene expression; Clinical significance

据世界卫生组织最新研究显示,全球范围内胃癌新发病例数居恶性肿瘤发病谱第 4 位^[1]。目前胃癌的发病机制尚不明确,仍缺乏快速、准确、有效的诊治方法^[2]。胃癌早期症状缺乏特异性,诊断较难,多数患者确诊时已属于中晚期,5 年生存率很低。其浸润深度、分化程度与转移是影响其预后的重要因素,肿瘤细胞的某些基因及其表达产物在这些病理过程中发挥着重要作用^[3]。

BYSL 参与胚胎早期着床和核糖体 40S 亚基生物合成过程,前者与癌细胞浸润与转移相关,而后者则为癌细胞快速增殖生长必需^[4~6]。目前,对 BYSL 研究相对较少,主要集中在对分子功能的探究,且在胃

癌中的表达及作用尚无报道。因此,明确 BYSL 在胃癌中的表达情况及预后作用,对阐明 BYSL 参与肿瘤发生发展的作用机制具有重要意义。

资料与方法

1. 数据资料收集:在 TCGA 公共数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)中下载胃癌样本的 RNA 测序数据(均使用 Illumina Hiseq 测序技术)及相关临床数据。

2. BYSL 基因与临床病理学参数的相关性研究:421 例胃癌 RNA 测序数据中,提取 376 例临床信息完整的病例。根据表达谱数据,对样本的 BYSL 基因的表达进行由高到低的排序,前 50% 的样本作为高表达组(188 例),后 50% 的样本作为低表达组(188 例)。

3. BYSL 基因与预后的相关性研究:在线工具

作者单位:430071 武汉大学中南医院消化内科

通讯作者:赵秋,主任医师,教授,电子信箱:zhaoqiuhu@163.com

Kaplan - Meier Plotter 收集了 876 例胃癌患者的基因芯片数据及其 5 年生存数据 (<http://kmplot.com/analysis/>)。该工具可将样本根据指定基因的表达水平分成高表达组和低表达组,分析两组患者在 5 年生存率上的差异。

4. BYSL 基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA): 基因集富集分析是分析基因表达信息的一种方法,使用预定义的基因集 (通常来自功能注释或先前实验的结果),将基因按照在两类样本中的差异表达程度排序,然后检验预先设定的基因集合是否在这个排序表的顶端或者底端富集。本研究采用 GSEA 2.2.2 版统计学软件进行分析。根据 BYSL 基因的表达水平分成高表达组和低表达组。利用 GSEA 网站 MSigDB 数据库中的 c6. all. v6. 1. symbols. gmt 肿瘤细胞通路相关基因数据集作为功能基因集,按缺省加权富集统计的方法,设置随机组合次数为 1000 次,分析 BYSL 基因的表达水平对各种肿瘤细胞通路相关基因集的影响。

5. 基因芯片数据验证 BYSL 基因与胃癌发生相关性: 在 NCBI 的 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载 31 例胃癌患者癌组织及癌旁组织的基因表达谱数据 (研究号为 GSE13911)。该数据集使用了 Affymetrix 公司的 Human Genome U133 Plus 2.0 表达谱芯片。该芯片包含 54675 个探针,其中 203612_at 为 BYSL 基因的特异性探针。利用配对 *t* 检验分析 BYSL 基因在胃癌组织中的差异表达情况。同时,利用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 及其曲线下面积 (area under ROC curve, AUC),评价 BYSL 基因在胃癌组织和癌旁组织鉴别诊断中的价值。

6. 统计学方法: 生存分析采用 Kaplan - Meier 和 Log - Rank 检验法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料采用 GraphPad Prism 软件进行 *t* 检验和做图。计数资料使用 SPSS 软件进行 χ^2 检验。在 GSEA 分析中, $P < 0.05$ 及错误发现率 (false discovery rates, FDR) < 0.05 的基因集作为显著富集基因集。

结 果

1. BYSL 基因与临床病理学参数的相关性研究: 376 例胃癌 RNA 测序数据中, BYSL 基因表达水平与年龄、性别、T 分期、N 分期、转移均无明显关系 ($P > 0.05$), 与肿瘤分级存在一定相关性 ($P = 0.047$), 提示 BYSL 基因高表达的胃癌, 恶性程度可能越高 (表 1)。

表 1 BYSL 基因表达与胃癌临床病理特征的相关性分析 [*n* (%)]

因素	<i>n</i>	BYSL 表达水平		χ^2	<i>P</i>
		高表达	低表达		
年龄 (岁)					
<60	118	55 (46.6)	63 (53.4)	0.790	0.374
≥60	258	133 (51.6)	125 (48.4)		
性别					
男性	240	119 (49.6)	121 (50.4)	0.460	0.830
女性	136	69 (50.7)	67 (49.3)		
肿瘤分级					
G ₁	8	2 (25.0)	6 (75.0)	6.115	0.047
G ₂	132	76 (57.6)	56 (42.4)		
G ₃	236	110 (46.6)	126 (53.4)		
转移					
是	19	9 (47.4)	10 (52.6)	0.550	0.814
否	357	179 (50.1)	178 (49.9)		
N 分期					
N ₀	121	61 (50.4)	60 (49.6)	1.858	0.602
N ₁	105	54 (51.4)	51 (48.6)		
N ₂	80	35 (43.8)	45 (56.2)		
N ₃	70	38 (54.2)	32 (45.7)		
T 分期					
T ₁	20	10 (50.0)	10 (50.0)	0.458	0.928
T ₂	78	41 (52.6)	37 (47.4)		
T ₃	177	89 (50.3)	88 (49.7)		
T ₄	101	48 (47.5)	53 (52.5)		
TNM 分期					
I	48	26 (54.2)	22 (45.8)	0.460	0.928
II	126	61 (48.4)	65 (51.6)		
III	170	85 (50.0)	85 (50.0)		
IV	32	16 (50.0)	16 (50.0)		

2. BYSL 基因与预后的相关性研究: Kaplan - Meier Plotter 在线数据分析发现, BYSL 基因高表达患者的预后明显差于低表达患者 ($P = 0.000$, 图 1)。提示, BYSL 基因是预后不良因素, 高表达与患者生存期缩短显著相关。

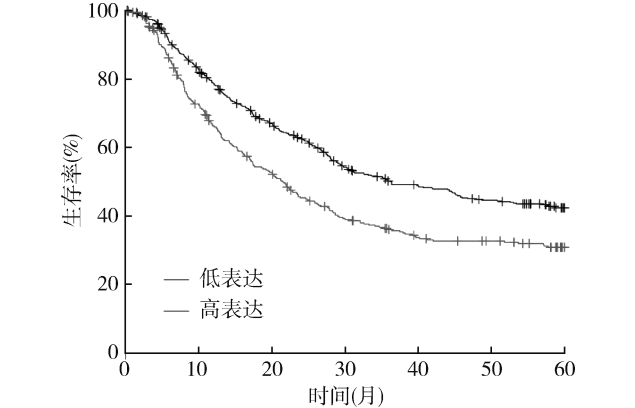


图 1 BYSL 基因表达水平与胃癌患者预后的关系

3. BYSL 基因高表达的功能基因集富集: GSEA 分析结果提示, BYSL 基因高表达的样本中, Myc、

E2F1、RPS14、HOXA9 等多个肿瘤细胞通路相关基因表达上调(图 2)。

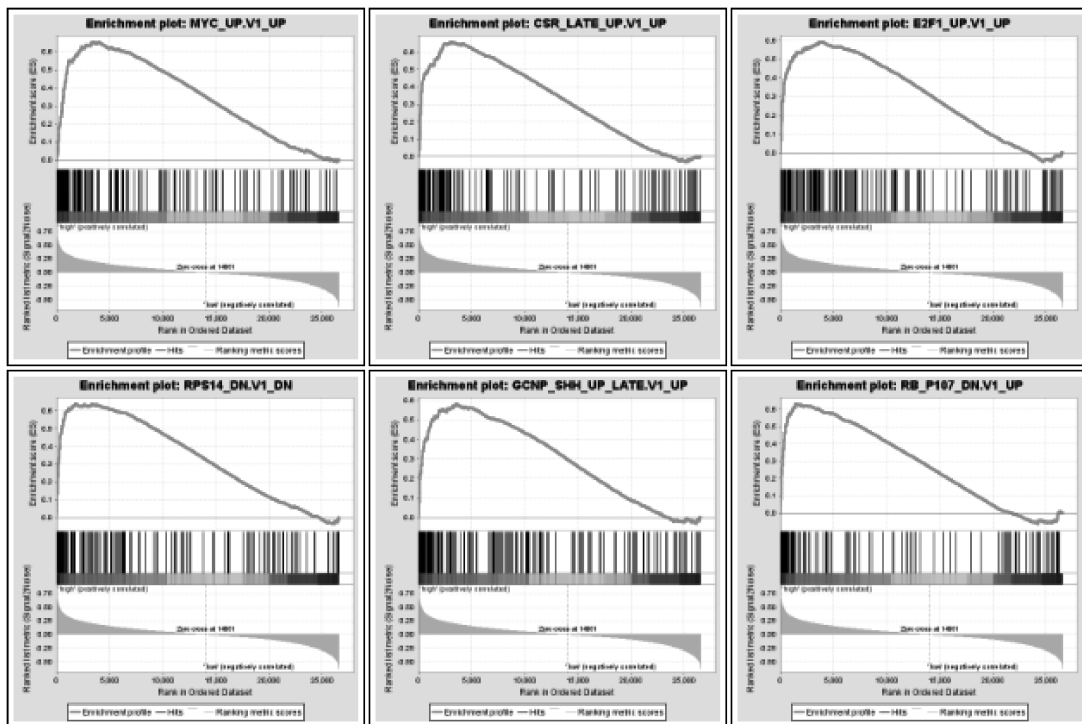


图 2 BYSL 基因相关富集基因集(仅展示排名前 6 位)

4. 基因芯片验证 BYSL 基因与胃癌发生相关性: GSE13911 数据集中, 配对 t 检验发现与癌旁组织相比, BYSL 基因在胃癌组织中表达明显增高 ($P =$

0.000, 图 2)。同时, BYSL 基因在癌组织和癌旁组织的鉴别诊断中有较高的诊断价值, 其受试者工作曲线下面积 (AUC) 达到了 0.958 (图 3)。

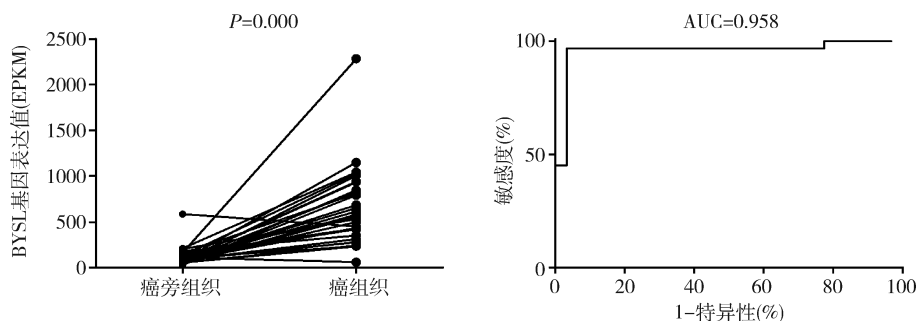


图 3 BYSL 基因与胃癌发生的相关性及其在胃癌诊断中的价值

讨 论

BYSL 又称作 Bystin-like, 基因最初被定义为早期胚胎着床相关的黏附分子, 后续研究提示, 该基因可能在预核糖体 RNA 的成熟过程起到重要作用^[7]。Bystin、Tastin 和 Trophinin 形成复合物参与胚胎植入过程中滋养层细胞和子宫内膜上皮细胞间的起始粘连。胚胎植入及胚胎有节制侵入等环节中起重要作用^[8,9]。20%~40% 的人上皮癌表达一种滋养层的标志物——人绒毛膜促性腺激素 (hCG), 胚胎植入过

程中滋养层细胞的高侵入性和繁殖能力与恶性肿瘤细胞有相似性。Trophinin 能提高睾丸癌、结肠癌和肺癌细胞的侵入能力。肿瘤细胞中 Trophinin 的高表达与 Bystin、Tastin 的高表达相关, Bystin 是 MYC 的底物也说明了 Bystin 与癌症的关系。功能学研究显示, 在正常人体组织中, BYSL 呈低表达, 而在多种癌组织呈高表达。Ayala 等^[10]与 Azzato 等^[11]研究显示, BYSL 表达与前列腺癌神经黏附和乳腺癌复发/死亡风险增加有关。Kasugai 等^[12]报道, 在弥漫大 B 细

胞淋巴瘤中, BYSL 是 6p21 增益的一个候选靶基因^[12]。闻炳基等^[13]研究显示 BYSL 高表达与大肿瘤(>6cm)、血管侵犯和肿瘤分期有关具有一致。这些研究结果共同提示, BYSL 是多种肿瘤进展的一个重要促进因子, 可作为肿瘤治疗的候选靶点。

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 胃癌的发生与多种因素有关, 但是, BYSL 在胃癌中的表达及预后作用尚无报道。目前, 关于 BYSL 的研究较少, 主要集中在分子功能的探究。本研究首先通过大样本 RNA 测序数据探究 BYSL 基因表达与胃癌临床特征的关系, 发现其表达水平与肿瘤分级存在一定相关性($P = 0.047$)。同时, 测序数据的生存分析发现 BYSL 基因高表达患者的预后明显差于低表达患者。尽管 T 分期、N 分期及转移与患者预后密切相关, 但是 BYSL 表达量与之无明显关系。这可能是由于样本量不够造成。其次, TNM 分期与胃癌预后不完全一致, BYSL 可能通过其他生物过程来影响胃癌的发生发展。31 对胃癌及癌旁组织基因芯片表达谱数据分析发现 BYSL 基因在胃癌中表达明显升高($P = 0.000$), 且 BYSL 基因在癌组织和癌旁组织的鉴别诊断中有较高的诊断价值($AUC = 0.958$), 提示该基因参与了胃癌的发生。为了进一步探究 BYSL 基因在胃癌中可能的作用机制, 笔者根据基因表达水平分组后进行了 GSEA 分析。结果提示, BYSL 基因高表达的样本中, Myc、E2F1、RPS14、HOXA9 等多个肿瘤细胞通路相关基因表达上调。因此, BYSL 基因在胃癌中有着较大的生物学意义, 值得深入研究。

综上所述, 本研究通过大规模生物数据分析, 发现 BYSL 基因在胃癌中表达明显增高, 且其表达与肿瘤分级、预后存在一定相关性, 具有较大的临床意义。

参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics[J]. CA

Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90

- 2 Leppert U, Eisenreich A. The role of tissue factor isoforms in cancer biology[J]. Int J Cancer, 2015, 137(3):497-503
- 3 Sachlova M, Majek O, Tucek S. Prognostic value of scores based on malnutrition or systemic inflammatory response in patients with metastatic or recurrent gastric cancer[J]. Nutr Cancer, 2014, 66(8):1362-1370
- 4 Iles RK. Ectopic hCGBeta expression by epithelial cancer: malignant behaviour, metastasis and inhibition of tumor cell apoptosis[J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 260-262:264-270
- 5 Fukuda MN, Sugihara K. Cell adhesion molecules in human embryo implantation[J]. Acta Physiol Sinica, 2012, 64(3):247-258
- 6 Fukuda MN, Miyoshi M, Nadano D. The role of bystin in embryo implantation and in ribosomal biogenesis[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(1):92-109
- 7 Harada O, Suga T, Suzuki T, *et al.* The role of trophinin, an adhesion molecule unique to human trophoblasts, in progression of colorectal cancer[J]. Int J Cancer, 2007, 121(5):1072-1088
- 8 Pack SD, Tanigami A, Ledbetter DH, *et al.* Assignment of trophoblast/endometrial epithelium cell adhesion molecule trophinin gene TRO to human chromosome bands Xp11.22- ->p11.21 by in situ hybridization[J]. Cytogenet Cell Genet, 1997, 79(1-2):123-134
- 9 Aoki R, Fukuda MN. Recent molecular approaches to elucidate the mechanism of embryo implantation: trophinin, bystin, and tustin as molecules involved in the initial attachment of blastocysts to the uterus in humans[J]. Semin Reprod Med, 2000, 18(3):265-271
- 10 Ayala GE, Dai H, Li R, *et al.* Bystin in perineural invasion of prostate cancer[J]. Prostate, 2006, 66(3):266-272
- 11 Azzato EM, Driver KE, Lesueur F, *et al.* Effects of common germline genetic variation in cell cycle control genes on breast cancer survival: results from a population-based cohort[J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(3):R47
- 12 Kasugai Y, Tagawa H, Kameoka Y, *et al.* Identification of CCND3 and BYSL as candidate targets for the 6p21 amplification in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(23):8265-8272
- 13 闻炳基, 贺松琴, 叶映泉, 等. 肝细胞癌患者术后复发相关的 6 号染色体短臂拷贝数变异及靶基因[J]. 中华肝胆外科杂志, 2015, 21(12):806-810

(收稿日期:2017-09-27)

(修回日期:2017-11-06)

(上接第 154 页)

18 Pérezdelis M, Akasbi M, Sisó A, *et al.* Cardiovascular risk factors in primary Sjogren's syndrome: a case-control study in 624 patients[J]. Lupus, 2010, 19(8):941-948

19 Juarez M, Toms TE, De PP, *et al.* Cardiovascular risk factors in women with primary Sjögren's syndrome: United Kingdom primary Sjögren's syndrome registry results[J]. Arthritis Care Res, 2014, 66(5):757-764

20 De Oliveira C, Watt R, Hamer M. Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey[J]. BMJ, 2010, 340(7761):c2451

21 Fedele S, Sabbah W, Donos N, *et al.* Common oral mucosal disea-

ses, systemic inflammation, and cardiovascular diseases in a large cross-sectional US survey[J]. Am Heart J, 2011, 161(2):344-350

- 22 Nurmohamed MT, Kitas G. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis and diabetes: how does it compare and when does it start? [J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(6):881-883
- 23 Palm O, Garen T, Berge Enger T, *et al.* Clinical pulmonary involvement in primary Sjogren's syndrome: prevalence, quality of life and mortality - a retrospective study based on registry data[J]. Rheumatology, 2013, 52(1):173-179

(收稿日期:2018-03-15)

(修回日期:2018-03-23)