

• 肿瘤与转化 •

使用 GEO 数据集分析驱动蛋白 KIF2C 在膀胱癌 中的表达及临床意义

冯雨嘉, 蒋佳志, 晏 鑫, 郭梓鑫, 李 胜, 孟详喻, 陈 松

[摘要] 目的 通过基因表达汇编公共数据库, 探讨驱动蛋白家族成员 2C (kinesin family member 2C, KIF2C) 在膀胱癌患者中的表达, 探索其表达与临床病理特征的联系, 评价 KIF2C 对膀胱癌术后患者预后评估的意义。方法 检索并下载美国国立生物技术信息中心的肿瘤公共数据集, 对表达谱资料和临床信息进行分析, 利用基因集富集分析受 KIF2C 调控的相关基因集。结果 KIF2C 在膀胱癌组织中的表达水平高于其在正常膀胱组织中的表达 ($P < 0.0001$)。膀胱癌患者疾病进展、T 分期、N 分期和肿瘤分级, KIF2C 的高、低表达组之间均有显著性差异 ($P < 0.05$)。KIF2C 高表达患者的肿瘤特异性生存期及总生存期显著低于低表达患者 ($P < 0.05$)。KIF2C 高表达样本富集了与核糖体蛋白质、多梳蛋白、内源性核糖核酸酶、E2F 转录因子、抑癌基因 RB 有关的基因集。结论 KIF2C 与膀胱癌的多个病理指标相关, 有作为判断膀胱癌患者预后的标志物和治疗的靶标的潜力。

[关键词] 膀胱癌; 驱动蛋白家族成员 2C; 病理; 预后

[中图分类号] R737.14

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2019)01-0015-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2019.01.004

Analysis of clinical significance of expression of KIF2C in bladder cancer utilizing GEO datasets
FENG Yujia¹, JIANG Jiazhi¹, YAN Xin¹, GUO Zixin¹, LI Sheng^{2,3}, MENG Xiangyu³, CHEN Song³
(1. Zhongnan Hospital of Wuhan University & Second Clinical College of Wuhan University, Wuhan Hubei 430071, China; 2. Department of Biological Repositories, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan Hubei 430071, China; 3. Department of Urology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan Hubei 430071, China)

[Abstract] Objective To investigate the expression of kinesin family member 2C (KIF2C) in bladder cancer (BC) utilizing GEO datasets, to clarify the relationship between KIF2C expression and clinicopathological characteristics of patients with BC, and to evaluate the possibility of using KIF2C as a prognosis marker in BC. Methods BC gene expression studies were collected and the relationship between expression level of KIF2C and clinical information were analyzed. Gene sets enrichment analysis (GSEA) was conducted to explore the gene sets enriched in KIF2C high-expression samples. Results The expression of KIF2C was up-regulated in BC ($P < 0.0001$); KIF2C expression was significantly associated with progression, grade, T stage, and N stage. Higher expression of KIF2C indicated poor prognosis in BC. GSEA indicated that KIF2C regulated gene sets associated with ribosomal protein, polycomb protein, endogenous ribonuclease, E2F, and anti-oncogene RB. Conclusion KIF2C is highly expressed in BC and functions as a potential marker and target for diagnosis and treatment of BC.

[Key words] Bladder cancer; Kinesin family member 2C (KIF2C); Pathology; Prognosis

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤, 且发病率呈现逐年增长趋势^[1]。尽管治疗手段多样且不

断改进, 但复发率仍较高, 尤其肌层膀胱癌和转移性膀胱癌的预后更差, 近十年治疗未取得重要进展^[2]。驱动蛋白家族成员 2C (kinesin family member 2C,

KIF2C), 也叫分裂着丝粒相关驱动蛋白 (mitotic centromere associated kinesin, MCAK), 是驱动蛋白家族-13 中最具代表性的成员, 参与微管的解聚、二极纺锤体的形成和染色体的分离, 从而对有丝分裂和细胞周期进行调节。KIF2C 可以使细胞间期中微管

[基金项目] 国家自然科学基金 (81802541); 武汉大学珞珈青年学者科研基金 (351 人才计划); 武汉大学中南医院科技创新培育基金 (znp2017050)

[作者单位] 430071 湖北 武汉, 武汉大学中南医院 / 武汉大学第二临床学院 (冯雨嘉, 蒋佳志, 晏鑫, 郭梓鑫); 430071 湖北 武汉, 武汉大学中南医院生物样本库 (李胜); 430071 湖北 武汉, 武汉大学中南医院泌尿外科 (李胜, 孟详喻, 陈松)

[通讯作者] 李胜, E-mail: lisheng-znpy@whu.edu.cn

的稳定性降低,抑制 KIF2C 可以导致多种动点-微管附着缺陷,动点-微管的连接异常可以导致非整倍染色体细胞的产生。此外,KIF2C 表达水平的降低或缺失将导致有丝分裂 S 期染色体的排列异常和 G2 期染色体的错误分离,从而破坏正常的有丝分裂进程,这些都被认为是诱发肿瘤的潜在原因^[3]。但是,KIF2C 基因在膀胱癌中的表达研究报道较少。

本研究通过收集美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的基因表达汇编(Gene Expression Omnibus,GEO)数据库的公共数据集(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>),分析 KIF2C 在膀胱癌中的表达情况,探究 KIF2C 与膀胱癌预后的关系,并使用基因集富集分析(gene sets enrichment analysis,GSEA)的方法预测在膀胱癌细胞中可能受 KIF2C 调控的基因集,为进一步研究 KIF2C 在肿瘤发生发展中的作用机制提供线索和思路。

1 资料和方法

1.1 资料 从 GEO 数据库中下载基因表达谱数据集,选取标准为包含 KIF2C 表达数据的人类膀胱癌和正常膀胱组织的表达谱。数据集 GSE13507^[4] 使用 Illumina 公司的 Illumina human-6 v2.0 expression beadchip 基因表达芯片,该数据集包含了 165 例原发性膀胱癌和 10 例正常膀胱组织的基因表达谱及性别、年龄、TNM 分期等临床信息。在 GSE13507 数据集中筛选了膀胱癌患者和正常膀胱组织的 KIF2C 基因表达谱数据及相应的临床信息。使用 GSE13507 数据集用于 GSEA 分析。在数据集 GSE13507 中,KIF2C 基因对应的探针为 ILMN_1685916。

1.2 方法

1.2.1 数据分组 对样本数据集 GSE13507 做回顾性研究和生存期分析,排除其中临床资料缺失的样本,根据表达谱数据对样本的 KIF2C 的表达由高到低排序后,取前 50% 的样本为高表达组($n=82$),后 50% 的样本为低表达组($n=83$)。

1.2.2 挖掘样本富集基因 采用 GSEA3.0 版本^[5] 进行分析。GSE13507 被纳入 GSEA。膀胱癌组织样本根据 KIF2C 的表达水平被分为高表达组和低表达组后,通过 GSEA 分析 KIF2C 的表达水平对各种生物通路基因集的影响。GSEA 网站的 MsigDB 数据库中获得的基因集作为参照基因集,按照默认加权富集统计(GSEA 说明详见 <http://www.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>)的方法,每次随机重复 1 000 次进行分析。

1.2.3 统计学处理及作图 统计学处理以及作图

分别使用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 5 软件。使用两独立样本 t 检验的方法进行膀胱癌细胞与正常膀胱组织细胞中基因表达差异的比较。临床病理相关性分析中,组间比较采用联列表法和 χ^2 检验。进行生存分析时,使用 Log-rank (Mantel-Cox) 法比较 KIF2C 高表达与低表达组的生存期,以 $P < 0.05$ 为差异比较有统计学意义。在 GSEA 中, $P < 0.05$ 及错误发现率(false discovery rates,FDR) < 0.25 的基因集作为显著富集基因集。

2 结果

2.1 膀胱癌组织和正常膀胱组织中 KIF2C 的表达

在膀胱癌样本数据集 GSE13507 中,KIF2C 在正常膀胱组织中低表达($7.390 \pm 0.043, n=10$),在膀胱癌组织中高表达($8.959 \pm 0.086, n=165$),比较差异有统计学意义($P \leq 0.0001$,图 1)。

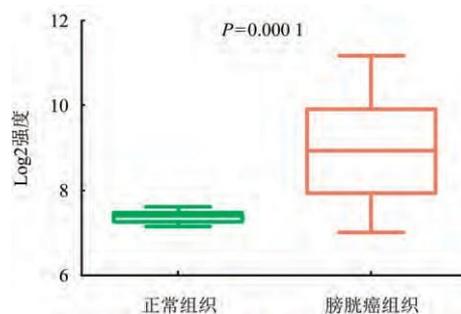


图 1 膀胱癌组织和正常膀胱组织中 KIF2C 的表达

2.2 KIF2C 表达水平与膀胱癌的临床病理相关性

在膀胱癌样本数据集 GSE13507 中,疾病是否进展($P=0.009$)、疾病分级($P=0.000$)、T 分期($P=0.000$)、N 分期($P=0.013$)与 KIF2C 的表达差异比较有统计学意义;M 分期与 KIF2C 的表达差异比较无统计学意义($P=0.687$,表 1)。

2.3 KIF2C 与膀胱癌患者的预后相关性

在膀胱癌样本数据集 GSE13507 中,KIF2C 高表达组和低表达组的 5 年肿瘤特异性生存率分别为 67.986% 和 92.203% (Log-rank = 13.030, $P=0.0003$, HR = 0.2743, 95%CI: 0.1359~0.5537,图 2A); 5 年总生存率分别为 50.969% 和 70.538% (Log-rank = 9.217, $P=0.0024$, HR = 0.4700, 95%CI: 0.2887~0.7652,图 2B)。

2.4 KIF2C 高表达的基因集富集

用 GSEA 方法分析 KIF2C 的表达水平对各种生物通路基因集的影响,使用基因集“oncogenic gene sets”作为参照基因集,GSEA 的结果显示 KIF2C 高表达的样本富集了与核糖体蛋白质、多梳蛋白、内源性核糖核酸酶、E2F 转录因子、抑癌基因 RB 有关的基因集(表 2)。

表1 KIF2C 表达水平与膀胱癌的临床病理相关性

指标	n	KIF2C 表达		X ²	P 值
		高	低		
年龄					
≤55 岁	29	9	20	4.902	0.027
>55 岁	136	73	63		
性别					
男	135	61	74	6.046	0.014
女	30	21	9		
是否进展					
是	31	22	9	6.908	0.009
否	134	60	74		
分级					
高	60	49	11	38.548	0.000
低	105	33	72		
T 分期					
T _a -T ₁	104	39	65	16.740	0.000
T ₂ -T ₄	61	43	18		
N 分期					
N ₀	149	69	80	6.189	0.013
N ₁ -N ₃	15	12	3		
M 分期					
M ₀	158	78	80	0.162	0.687
M ₁	7	4	3		

注: N 分期 KIF2C 高表达组有 1 例数据删失

表2 KIF2C 高表达的基因集富集

基因集	富集分数	FDR	P 值
RPS14dn.v1dn	-0.7512	0.0128	<0.0001
PRC2EZHZ2up.v1up	-0.7042	0.0092	<0.0001
E2F1up.v1up	-0.7014	0.0089	<0.0001
E2F3up.v1up	-0.6921	0.0114	<0.0001
CSRlateup.v1up	-0.7327	0.0108	<0.0001
Rbp130dn.v1up	-0.6400	0.0113	0.0020
GCNPSHHupearly.v1up	-0.6855	0.0246	0.0021

3 讨论

驱动蛋白包括一个巨大的马达蛋白超家族,它最初是 1985 年在鱿鱼神经细胞大轴突内部发现的,主要存在于真核细胞内。驱动蛋白在有丝分裂中起着重要作用,这启发人们思考通过抑制驱动蛋白的生物学功能来抑制肿瘤的生长,以此作为治疗癌症的手段。通过破坏驱动蛋白的轨道—微管蛋白^[6],可以有效的对癌症进行控制和治疗。目前微管蛋白抑制剂(microtubule inhibitor, MTI) 已经可以成功地抑制有丝分裂,达到阻碍癌细胞增殖的效果。

KIF2C/MCAK(染色体 1p34) 是驱动蛋白家族中最具特征的成员^[7],以往的研究表明 KIF2C 对纺锤体组装和确保有丝分裂过程中染色体的分离起着重要作用^[8-10],KIF2C 的过表达可以抑制染色体不稳定的细胞系中细胞染色体的分离错误^[11]。在有丝分裂过程中,KIF2C 还在维持遗传完整性方面起着重要的作用。有研究表明 KIF2C 基因的表达水平与增殖细胞核抗原(Ki-67) 密切相关^[12],Ki-67 是一种与细胞周期相关的蛋白质,是目前多种恶性肿瘤研究中的热门生物指标,可以通过 Ki-67 抗原的检测了解恶性肿瘤的细胞增殖活性。多项恶性肿瘤研究表明,KIF2C 过表达可能与乳腺癌、结直肠癌、胃癌等肿瘤的进展有关^[13-16],这可能与非整倍体的形成有关^[17]。

本研究发现 KIF2C 在膀胱癌组织中较正常膀胱组织表达上调,提示 KIF2C 的表达与膀胱癌的发生发展有关。类似的结果在结直肠癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌和乳腺癌中也有发现。Gnjatic 等^[16] 研究显示,KIF2C 在结肠癌细胞系和结直肠癌患者的恶性组织中表达上调,在胃癌、胰腺癌、头颈癌和乳腺癌中均有表达上调,并发现 KIF2C 可能是多种癌症主动免疫治疗的靶点之一。Duan 等^[18] 研究表明,肿瘤组织中的 KIF2C 表达有望作为男性食管鳞状

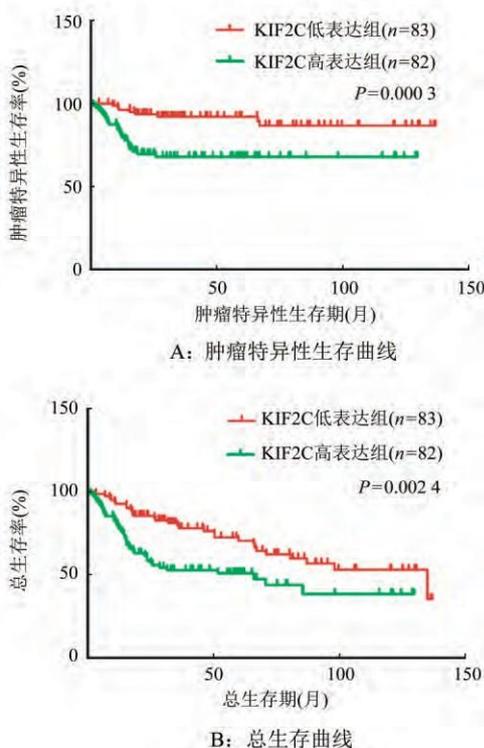


图2 膀胱癌患者生存曲线

上皮细胞癌患者的独立预后标志。Shimo 等^[14]研究表明, KIF2C 在乳腺癌组织中高表达, 并且可能在乳腺癌细胞的细胞分裂中扮演重要的角色, 此研究还通过 cDNA 微阵列数据发现了在胰腺癌和膀胱癌中, KIF2C/MCAK 都有表达上调, 提示 KIF2C 高表达组膀胱癌患者的临床病理特征(如疾病进展, 肿瘤分级, T 分期, N 分期)明显差于 KIF2C 低表达组的患者, 说明 KIF2C 的高表达与膀胱癌的恶性程度及疾病进展密切相关。GESA 分析揭示其机制可能是, 高表达 KIF2C 通过调节细胞周期(内源性核糖核酸酶、E2F 转录因子)、细胞增殖(多梳蛋白、抑癌基因 RB)和细胞蛋白质合成(核糖体蛋白质)相关的基因集, 影响膀胱癌细胞的增殖和代谢进而推动膀胱癌的发生发展。此外, 本研究生存期分析提示 KIF2C 高表达的患者术后生存期更短、复发更快, KIF2C 有望成为评估膀胱癌预后的标志物之一。本研究的局限性和启示: ①由于数据集样本量的限制, 未来实验研究需扩大样本量、严格分组来进一步验证; ②KIF2C 调控这些信号通路的作用机制还不十分清楚, 是否为膀胱癌患者临床预后的独立危险因素, 还有待更深入的机制研究加以验证。

综上所述, KIF2C 可通过多种途径来促进膀胱癌细胞的增殖和分裂, 进而影响膀胱癌患者的临床预后。因此, KIF2C 有望成为诊断膀胱癌的标志物或潜在治疗靶点, 这为未来的临床研究提供了新的思路。

【参考文献】

[1] 韩苏军, 张思维, 陈万青, 等. 中国膀胱癌发病现状及流行趋势分析 [J]. 癌症进展, 2013, 11(1): 89-95.

[2] 曹达龙, 叶定伟. 免疫治疗在膀胱癌中的最新研究进展和未来展望 [J]. 中国癌症杂志, 2018, 28(2): 81-87.

[3] 宋世龙. KIF2C 和 P53 在非小细胞肺癌中的表达及意义 [D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2015.

[4] 郭梓鑫, 晏鑫, 李胜, 等. 基于 GEO 数据库分析 AURKB 在膀胱癌中的表达及其临床意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(8): 711-715.

[5] 袁佳仪, 何恒晶, 毕娅琼, 等. TOP2A 基因表达对膀胱癌的预后价值分析 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2018, 45(1): 22-26.

[6] Perez EA. Microtubule inhibitors: differentiating tubulin-inhibiting agents based on mechanisms of action, clinical activity, and resistance [J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(8): 2086-2095.

[7] Manning AL, Ganem NJ, Bakhom SF, et al. The kinesin-13 proteins Kif2a, Kif2b, and Kif2c/MCAK have distinct roles during mitosis in human cells [J]. Mol Biol Cell, 2007, 18(8): 2970-2979.

[8] Kline-Smith SL, Khodjakov A, Hergert P, et al. Depletion of centromeric MCAK leads to chromosome congression and segregation defects due to improper kinetochore attachments [J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(3): 1146-1159.

[9] Moore A, Wordeman L. The mechanism, function and regulation of depolymerizing kinesins during mitosis [J]. Trends Cell Biol, 2004, 14(10): 537-546.

[10] Howard J, Hyman AA. Microtubule polymerases and depolymerases [J]. Curr Opin Cell Biol, 2007, 19(1): 31-35.

[11] Bakhom SF, Thompson SL, Manning AL, et al. Genome stability is ensured by temporal control of kinetochore-microtubule dynamics [J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(1): 27-35.

[12] Bie L, Zhao G, Wang YP, et al. Kinesin family member 2C (KIF2C/MCAK) is a novel marker for prognosis in human gliomas [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2012, 114(4): 356-360.

[13] Ishikawa K, Kamohara Y, Tanaka F, et al. Mitotic centromere-associated kinesin is a novel marker for prognosis and lymph node metastasis in colorectal cancer [J]. Br J Cancer, 2008, 98(11): 1824-1829.

[14] Shimo A, Tanikawa C, Nishidate T, et al. Involvement of kinesin family member 2C/mitotic centromere-associated kinesin overexpression in mammary carcinogenesis [J]. Cancer Sci, 2008, 99(1): 62-70.

[15] Nakamura Y, Tanaka F, Haraguchi N, et al. Clinicopathological and biological significance of mitotic centromere-associated kinesin overexpression in human gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2007, 97(4): 543-549.

[16] Gnjjatic S, Cao Y, Reichelt U, et al. NY-CO-58/KIF2C is overexpressed in a variety of solid tumors and induces frequent T cell responses in patients with colorectal cancer [J]. Int J Cancer, 2010, 127(2): 381-393.

[17] Nakamoto J, Torisu R, Aoki R, et al. Clinicopathological evaluation of biological behavior of submucosal invasive gastric carcinomas: relationship among lymph node metastasis, mucin phenotype and proliferative activity [J]. J Med Invest, 2007, 54(1-2): 99-108.

[18] Duan H, Zhang X, Wang FX, et al. KIF-2C expression is correlated with poor prognosis of operable esophageal squamous cell carcinoma male patients [J]. Oncotarget, 2016, 7(49): 80493-80507.

(收稿日期: 2018-04-29 本文编辑: 冯博)