doi:10.11659/jjssx.09E024138

·基础研究·

基于泛癌分析的线粒体MT-ND家族基因在癌症中的预后价值

张海佳,陈 思,常 程,高凯月,王立杰 (吉林大学白求恩第一医院普通外科中心结直肠肛门外科,吉林 长春 130021)

[摘 要] **目的** 探讨MT-ND家族在泛癌中的异常表达及其预后价值。**方法** 从TCGA数据库下载33种癌症类型的转录组表达和临床信息数据,分析不同癌症类型中MT-ND家族在癌组织与正常组织中的表达差异。采用单因素*Cox*回归分析和*Kaplan-Meier*生存分析探讨MT-ND家族在泛癌中的预后作用。**结果** MT-ND家族在肾嫌色细胞癌、急性髓性白血病和胸腺瘤中表达上调,在其余肿瘤中表达下调。MT-ND家族的表达与不同癌症类型的总生存率有关。此外,MT-ND家族成员均与免疫侵袭亚型显著相关,并与基质细胞侵袭和肿瘤细胞干性有不同程度的相关性。在低级别脑胶质瘤中,MT-ND4表达下调,且是预后的保护因子;而MT-ND4在胸腺癌中表达上调,是预后的危险因子。**结论** 经过泛癌分析证实,MT-ND家族可预测肿瘤预后,为癌症的精准治疗和预后管理提供了新的思路和策略。

[关键词] MT-ND家族;泛癌;TCGA;预后因素;肿瘤微环境
[中图分类号] Q786;R730 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-09-26

Prognostic value of mitochondrial MT-ND family genes in cancer based on a pan-cancer analysis

ZHANG Hai-jia, CHEN Si, CHANG Cheng, GAO Kai-yue, WANG Li-jie (Department of Colorectal & Anal Surgery, General Surgery CenterofFirst Bethune Hospital of Jilin University, Changchun Jilin 130021, China)

Abstract: Objective To explore the abnormal expression of the MT-ND family in pan-cancers and its prognostic value. **Methods** Transcriptome expression and clinical data of 33 cancers were downloaded from the TCGA database, thereby analyzing the expression differences of the MT-ND family in tissuesof different types of cancers and normal tissues. The prognostic role of the MT-ND family in pan-cancers was explored by univariate *Cox* regression analysis and *Kaplan-Meier* survival analysis. **Results** The expression of the MT-ND family was upregulated in the kidney chromophobe, acute myeloid leukemia and thymoma, and downregulated in the remaining tumors. The expression of the MT-ND family was associated with the overall survival rate of different types of cancers. In addition, the MT-ND family were significantly correlated with the immune invasion subtypes, and were correlated with stromal cell invasion and tumor cell stemness to varying degrees. The expression of MT-ND4 was downregulated in brain lower grade glioma, which was a protective factor for prognosis; while the expression of MT-ND4 in thymoma was upregulated, which was a risk factor for prognosis. **Conclusion** Pan-cancer analysis has confirmed that the MT-ND family can predict the tumor prognosis, which provides new ideas and strategies for the precision treatment and prognostic management of cancer.

Keywords: MT-ND family; pan-cancer; TCGA; prognostic factor; tumor microenvironment

线粒体在能量转换过程中起重要作用[1],其通过电子传递链氧化磷酸化合成三磷酸腺苷,是真核细胞的主要能量供应源[2]。在癌细胞中,能量代谢发生改变。研究显示,癌细胞为满足自身快速增殖的需求,更倾向于通过糖酵解产生三磷酸腺苷和乳酸[3]。这种非典型代谢改变可能是由于癌细胞线粒体呼吸功能受损,导致能量代谢从正常的氧化磷酸化转向糖酵解[4]。线粒体基因在细胞能量代谢及癌症能量代谢改变中至关重要,但其在癌症进展中的确切作用仍不明确。

线粒体DNA包含37个基因[5],其中MT-ND家族所编码的蛋白是NADH-泛醌还原酶的重要组分,该酶的关键功能是实现电荷从NADH转移到泛醌[6]。MT-ND一旦出现异常,极有可能干扰NADH-泛醌还原酶的合成或者改变其分子,从而影响癌细胞的代谢过程。研究表明,MT-ND1突变能通过使活性氧的增加,进而引发宫颈癌[7];在侵袭性卵巢癌细胞中,miR-450a的过表达会使线粒体膜电位降低,这可能与miR-450a调控MT-ND2的表达有关[8]。Jin等[9]研究发现,MT-ND3的RS28358278、RS2853826和RS41467651多态性会增加胃癌易感性。还有研究发现,在甲状腺结节和甲状腺癌患者体内,MT-ND1水平均显著升高,但MT-ND4/MT-ND1比值在甲状腺癌患者中明显高于正常人群[10]。此外,MT-ND5和MT-ND6同样被证明与癌症的发展进程密切相关[11-12]。

基于此,本研究探讨了MT-ND家族在33种癌症中的表达及其与预后生存和肿瘤微环境的关系,并进

[基金项目] 吉林省科技厅资助项目(20240304063SF)
[通信作者] 王立杰,E-mail:wlj962527151@jlu.edu.cn

一步探究MT-ND4家族在高表达和低表达模式下的脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma,BLGG)和胸腺瘤(thymoma,THYM)中的通路富集情况,以期为揭示线粒体基因在癌症发生发展中的作用机制提供新的线索和理论依据。

1 方法

1.1 泛癌数据

从Xena Browser网站(https://xenabrow ser. net/datapages/)获取TCGA数据库中的33种泛癌数据:肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma,ACC)77例、膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma,BLCA)403例、乳腺浸润性癌(breast invasive carcinoma,BRCA)1 085例、宫颈鳞状细胞癌和宫颈内腺癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma,CESC)306例、胆管癌(cholangio carcinoma,CHOL)36例、结肠腺癌(colon adenocarcinoma,COAD)275例、淋巴样肿瘤弥漫性大B细胞淋巴瘤(lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma,DLBC)47例、食管癌(esophageal carcinoma,ESCA)182例、多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme,GBM)163例、头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma,HNSC)519例、肾嫌色细胞癌(kidney chromophobe,KICH)66例、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma,KIRC)523例、肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma,KIRP)286例、急性髓性白血病(acute myeloid leukemia,LAML)173例、脑低级别胶质瘤518例、肝细胞癌(liver hepatocellular carcinoma,LIHC)369例、肺腺癌(lung adenocarcinoma,LUAD)483例、肺鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinom,LUSC)486例、间皮瘤(mesothelioma,MESO)87例、卵巢浆液性囊腺癌(ovarian serous cystadenocarcinoma,OV)426例、胰腺腺癌(pancreatic adenocarcinoma,PAAD)179例、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(pheochromocytoma and paraganglioma,PCPG)182例、前列腺腺癌(prostate adenocarcinoma,PRAD)492例、直肠腺癌(rectum adenocarcinoma,READ)92例、肉瘤(sarcoma,SARC)262例、皮肤黑色素瘤(skin cutaneous melanoma,SKCM)461例、胃腺癌(stomach adenocarcinoma,STAD)408例、睾丸生殖细胞肿瘤(testicular germ cell tumors,TGCT)137例、甲状腺癌(thyroid carcinoma,THCA)512例、胸腺瘤118例、子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma,UCEC)174例、子宫肉瘤(uterine carcinosarcoma,UCS)57例、葡萄膜黑色素瘤(uveal melanoma,UVM)79例。收集转录组表达数据、生存数据、免疫亚型、mRNA诱导肿瘤干细胞特性(RNAss)和DNA甲基化诱导肿瘤干细胞支撑(DNAss)数据。

1.2 MT-ND家族GO富集、差异表达及生存分析

从NCBI(https://www. ncbi. nlm. nih. gov/)获得MT-ND家族成员,使用ClusterProfiler R包对MT-ND家族进行GO富集分析。使用GOplot R包对结果进行可视化。使用热图显示MT-ND家族在泛癌中的表达。利用GEPIA在线分析网站(http://gepia. cancer-pku. cn/index. html)比较MT-ND家族在癌组织与正常组织中的差异表达。使用*Kaplan-Meier*法的*Logrank*检验和单因素*Cox*比例风险回归模型对不同癌症类型进行预后分析。

1.3 肿瘤微环境分析

对160个免疫表达特征进行评分,分为6个免疫亚型。利用*Wilcoxon*检验探讨MT-ND家族基因表达与免疫亚型的关系。采用*Spearman*秩相关法分析不同肿瘤间质和免疫细胞浸润与MT-ND家族基因表达的相关性、肿瘤细胞干性与MT-ND家族表达的相关性。

1.4 GSEA通路富集分析

GSEA通路富集分析发现MT-ND4作为预后保护因子在脑低级别胶质瘤中低表达,而作为预后危险因子在胸腺瘤中高表达。根据MT-ND4表达中位数将样本分为高表达和低表达组,c2. cp. kegg. v7. 0. symbols. gmt数据集作为参考,分别使用默认加权富集统计来研究脑低级别胶质瘤和胸腺瘤中通路的富集。

1.5 ESTIMATE算法分析

采用ESTIMATE算法进行基因集富集分析,识别出与浸润基质细胞和免疫细胞相关的基因,然后计算基质评分(捕捉肿瘤组织中的基质)、免疫评分(代表肿瘤组织中免疫细胞的浸润),进而推断出肿瘤纯度。

1.6 统计学分析

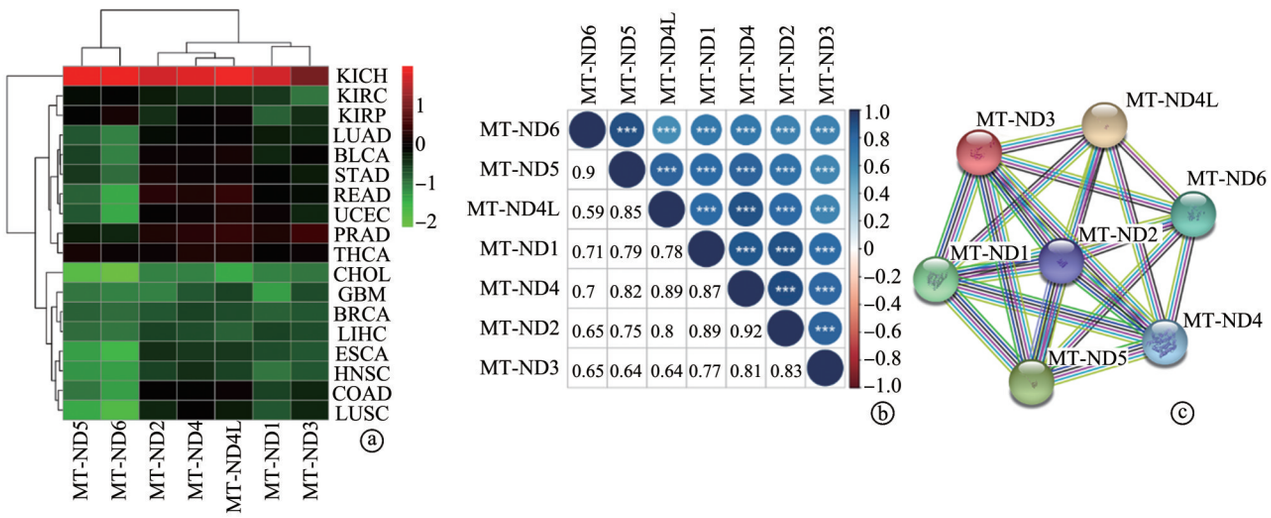
采用R和SPSS 22. 0软件对数据进行分析。采用*Wilcoxon*检验比较2组及多组间差异。采用单因素*Cox*回归分析、*Kaplan-Meier*法、*Logrank*检验分析基因表达与总生存率的关系。采用*Spearman*秩相关法分析基因表达与基质评分、免疫评分、肿瘤干性评分的相关性。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MT-ND家族在泛癌中的表达及其相关性

GEPIA在线分析泛癌中癌组织与正常组织的差异表达发现,MT-ND家族在肾嫌色细胞癌、急性髓性白血病和胸腺瘤中表达上调,在其余肿瘤中表达下调。MT-ND家族的主要功能是电子传递和ATP生成,

MT-ND4、MT-ND3、MT-ND2、MT-ND1在各种癌症中表达较高，而MT-ND4L、MT-ND5和MT-ND6表达较低（图1a）。*Spearman*检验结果显示，MT-ND家族成员在转录组水平上存在相关性（图1b）。蛋白质相互作用网络显示，MT-ND家族成员在蛋白质水平上存在相关性（图1c）。表明MT-ND家族成员在不同的肿瘤中有不同的表达模式。

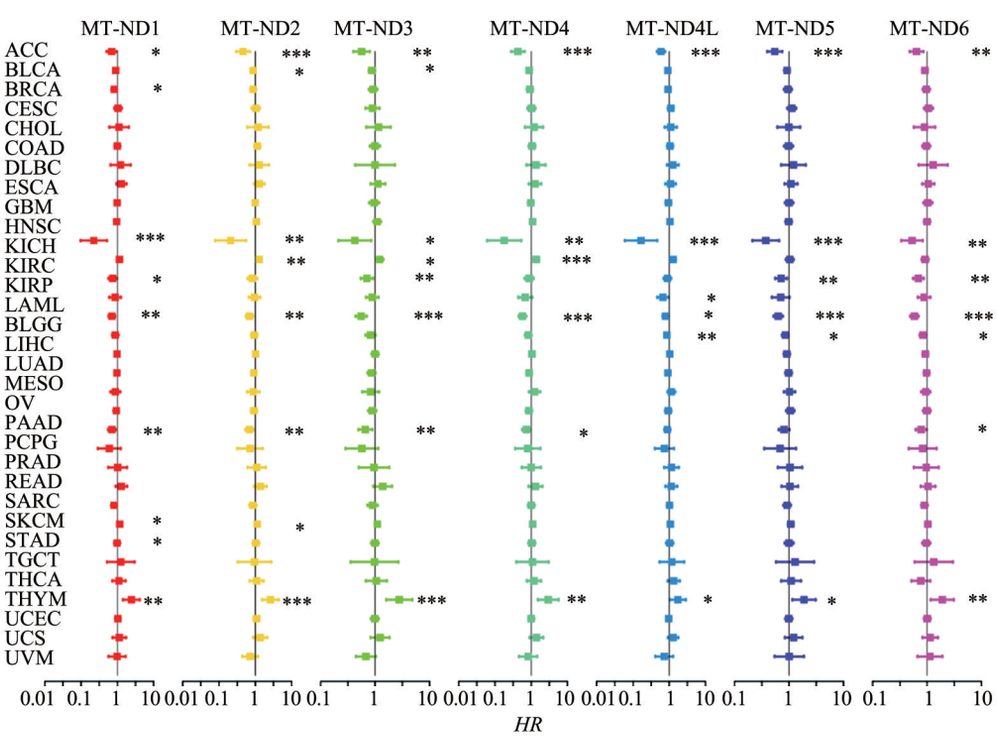


a：热图显示18种癌症类型的原发癌组织和癌旁组织中MT-ND家族差异表达基因（红色代表上调，绿色代表下调）；b：MT-ND家族成员在转录组水平上的相关性；c：MT-ND家族成员在蛋白质水平上的相关性 ***：$P<0.001$

图1 基于TCGA数据库的MT-ND家族基因在癌组织和癌旁组织中的表达水平

2.2 MT-ND家族基因表达与生存预后的关系

单因素*Cox*回归分析发现，MT-ND家族成员在33种癌症中具有不同的预后意义，皮肤黑色素瘤中的MT-ND1和MT-ND2，胸腺瘤中的MT-ND1、MT-ND2、MT-ND3、MT-ND4、MT-ND4L、MT-ND5和MT-ND6，肾透明细胞癌中的MT-ND2、MT-ND3、MT-ND4、MT-ND4L为预后的危险因素，MT-ND家族中与预后相关的基因为其余癌症预后的保护因素（图2）。

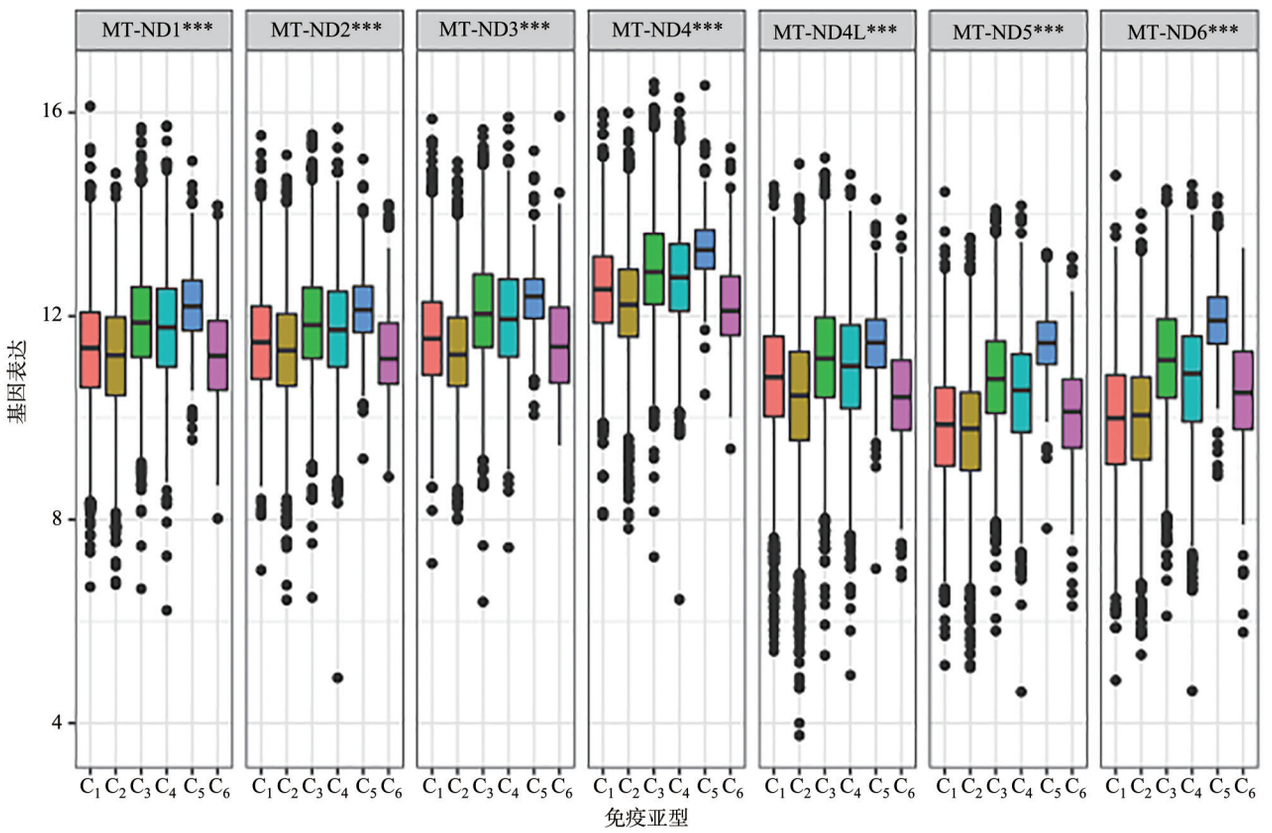


*：$P<0.05$；**：$P<0.01$；***：$P<0.001$

图2 单因素*Cox*比例风险回归模型分析MT-ND家族基因表达与不同癌症预后的关系

2.3 MT-ND家族基因与肿瘤微环境的关系

MT-ND家族与泛癌免疫亚型间的相关性分析显示,MT-ND家族基因在C_1、C_2和C_6免疫亚型中低表达,可能与较高的肿瘤细胞增殖率相关;而MT-ND家族基因在C_3、C_4和C_5免疫亚型中高表达,可能与较低的肿瘤细胞增殖率相关(图3)。ESTIMATE算法结果显示,MT-ND家族基因在不同癌症类型中免疫评分、基质评分差异较大,但在同一肿瘤类型中相似(图4a、b)。利用mRNA诱导肿瘤干细胞特性和DNA甲基化诱导肿瘤干细胞支撑发现,在不同的癌症类型中,MT-ND家族成员与RNAss和DNAss表现出不同程度的相关性(图4c、d)。



***:P<0.001

图3 MT-ND家族基因表达与不同癌症类型免疫亚型的关系

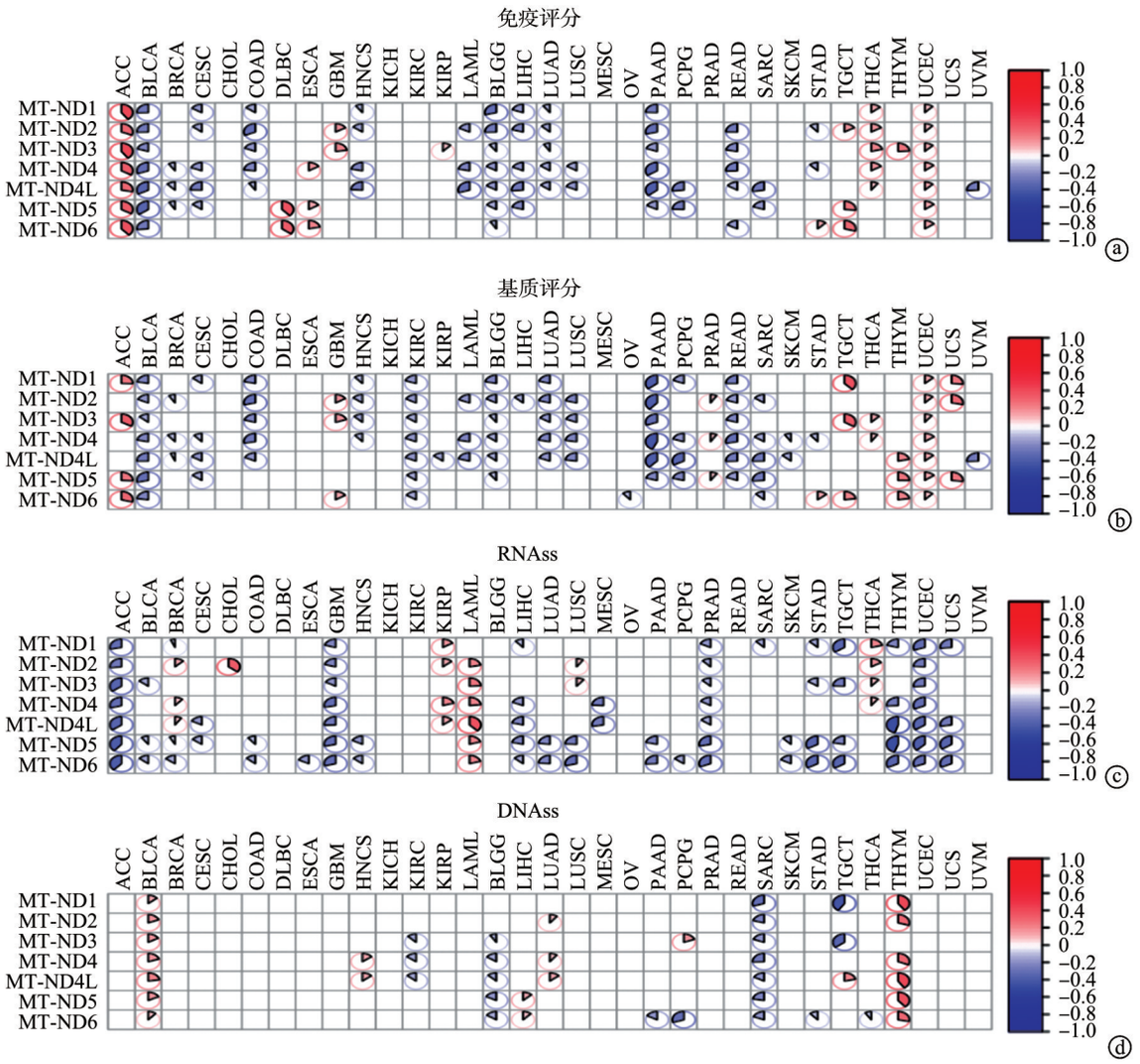
2.4 脑低级别胶质瘤和胸腺瘤中MT-ND4的表达及与预后的关系

MT-ND4基因在脑低级别胶质瘤中低表达,是其预后的保护因子;而在胸腺瘤中高表达,是预后的危险因子。GEPIA在线分析也证实了MT-ND4在脑低级别胶质瘤中低表达,是预后的保护因子(HR=0.56,P=0.002);而在胸腺瘤中高表达,是预后的危险因子(HR=8.20,P=0.049),见图5。根据MT-ND4表达的中位数将脑低级别胶质瘤和胸腺瘤分为高表达和低表达组,进行GSEA通路富集分析发现,在脑低级别胶质瘤中MT-ND4高表达的样品富集于氧化磷酸化信号通路,而MT-ND4低表达的样品富集于癌症通路、JAK/STAT信号通路、泛素介导的蛋白水解通路和Toll样受体信号通路。在胸腺瘤中,MT-ND4高表达富集于脂肪细胞因子信号通路、MAPK信号通路、甘油脂代谢和PPAR信号通路,而MT-ND4低表达富集于核糖体。

3 讨论

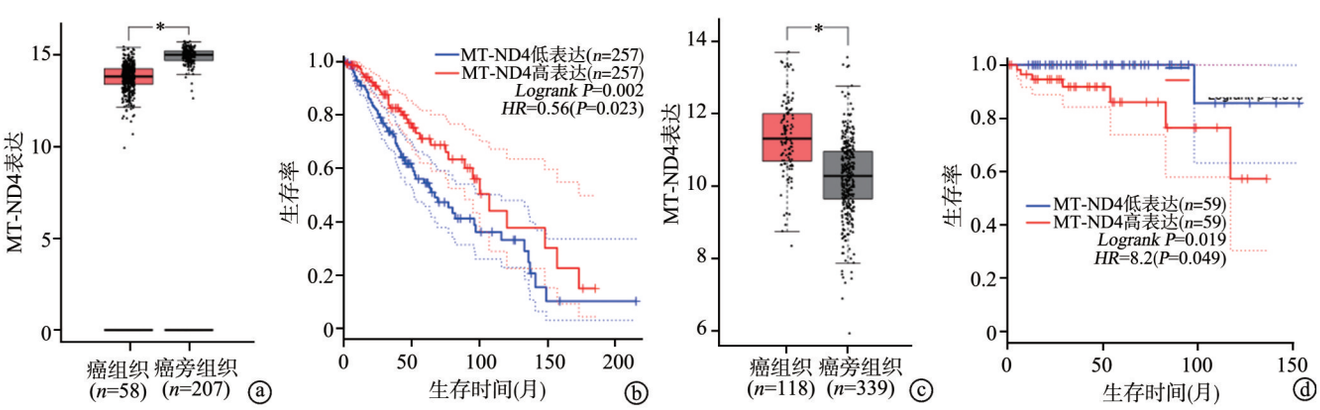
肿瘤代谢重编程是其主要特征之一。目前的研究发现,原发肿瘤可通过糖酵解途径产生三磷酸腺苷以维持其生长,当癌细胞发生恶性转化或转移时,会伴随活性氧升高和线粒体膜电位降低,这种氧化磷酸化能力下降的现象,可能与癌细胞通过使线粒体功能失活来避免凋亡有关[13]。MT-ND家族通过介导细胞氧化磷酸化电子传递过程,在肿瘤发生中发挥重要作用。

本研究结果显示,MT-ND家族基因的表达水平在不同癌症类型中呈现高度异质性,但家族成员之间的表达存在高度协同性,提示其可能通过复合体形成或协同调控机制参与生物学过程。本研究生存分析显示,MT-ND家族成员与多种癌症的预后均相关,这一发现为其作为泛癌生物标志物提供了依据。在肿瘤



a、b:MT-ND家族基因表达与免疫评分、基质评分的关系;c、d:MT-ND家族基因表达与肿瘤细胞干性的关系　弧面积的大小代表相关系数的绝对值(面积越大,绝对相关系数越高);空白表示相关性无显著统计学差异

图4　MT-ND家族基因表达与33种肿瘤微环境及肿瘤细胞干性的关系



a、b:MT-ND4在脑低级别胶质瘤中的表达及对预后的影响;c、d:MT-ND4在胸腺瘤中的表达及对预后的影响　*:$P<0.05$

图5　MT-ND4在脑低级别胶质瘤和胸腺瘤中的表达及预后

微环境调控方面,MT-ND家族展现出多维度的调节特征,其表达水平不仅与C_1~C_6免疫亚型显著相关(尤其与肿瘤细胞增殖密切相关),还与免疫评分、基质评分以及肿瘤细胞干性评分(RNAss/DNAss)等微环境特征指标存在显著相关性。以MT-ND4为例,其在低级别胶质瘤中低表达,提示预后良好;而其在胸腺瘤中高表达,预示不良预后。这种组织特异性调控模式可能反映了肿瘤细胞对能量代谢途径的差异化需求,即在

低级别胶质瘤中,MT-ND4低表达通过JAK/STAT信号通路活化(促进免疫逃逸)、泛素介导的蛋白水解增强(抑制促凋亡蛋白)及TLR信号通路激活(诱导慢性炎症)共同构成促瘤微环境[14-16];而在胸腺瘤中,MT-ND4高表达则表现为脂代谢重编程(脂肪细胞因子/PPAR通路激活)和MAPK信号通路上调[17-18]。

目前的研究多聚焦MT-ND家族基因突变对肿瘤恶性转化的驱动作用,如线粒体基因不稳定导致的促癌效应[19],这也为癌症治疗提供了相应的靶点。本研究通过分析MT-ND家族在C_1~C_6免疫亚型中的表达特征及其与免疫/基质评分的相关性,发现该家族可能通过调控肿瘤微环境稳态影响治疗,特别在肿瘤干细胞特性维持方面,其与肿瘤细胞干性评分(RNAss/DNAss)的强相关性为这一假说提供了佐证。已有证据表明,具有强干性特征的肿瘤细胞可通过代谢重编程维持休眠状态并抵抗化疗[20]。本研究亦发现,MT-ND家族高表达亚群同时呈现肿瘤细胞干性评分升高和JAK/STAT通路激活特征,这或许解释了该家族在肿瘤复发中的潜在作用:即通过整合代谢调控生存信号通路,维持肿瘤干细胞池并促进治疗抵抗。

本研究基于泛癌分析深入探讨了线粒体MT-ND家族基因在癌症中的预后价值,MT-ND家族基因在不同癌症类型中呈现显著的差异表达,且其表达水平与患者的预后密切相关。MT-ND家族基因在肿瘤微环境调控、肿瘤干细胞特性维持以及信号通路交互中具有重要作用,这为MT-ND家族基因作为癌症预后生物标志物的开发提供了有力的证据。尽管本研究仍存在体外和体内实验验证的局限性,但所建立的MT-ND家族基因调控网络模型可为后续的研究指明方向。综上所述,线粒体MT-ND家族基因在癌症预后评估中具有重要价值,为癌症的精准治疗和预后管理提供了新的思路和策略。

[参考文献]

[1] Bahat A, Gross A. Mitochondrial plasticity in cell fate regulation[J]. J Biol Chem, 2019, 294(38): 13852-13863. doi: 10.1074/jbc.REV118.000828.

[2] van der Bliek AM, Sedensky MM, Morgan PG. Cell biology of the mitochondrion[J]. Genetics, 2021, 207(3): 843-871. doi: 10.1534/genetics.117.300262.

[3] Vaupel P, Schmidberger H, Mayer A. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression[J]. Int J Radiat Biol, 2019, 95(7): 912-919. doi: 10.1080/09553002.2019.1589653.

[4] Nakagawa H, Fujita M. Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine[J]. Cancer Sci, 2018, 109(3): 513-522. doi: 10.1111/cas.13505.

[5] Legros F, Malka F, Frachon P, et al. Organization and dynamics of human mitochondrial DNA[J]. J Cell Sci, 2004, 117(13): 2653-2662. doi: 10.1242/jcs.01134.

[6] Formosa LE, Dibley MG, Stroud DA, et al. Building a complex complex: assembly of mitochondrial respiratory chain complex Ⅰ[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 76: 154-162. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.08.011.

[7] Warowicka A, Wołuń-Cholewa M, Kwaśniewska A, et al. Alternations in mitochondrial genome in carcinogenesis of HPV positive cervix[J]. Exp Mol Pathol, 2020, 117: 104530. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104530.

[8] Muys BR, Sousa JF, Plaça JR, et al. miR-450a acts as a tumor suppressor in ovarian cancer by regulating energy metabolism[J]. Cancer Res, 2019, 79(13): 3294-3305. doi: 10.1158/0008-5472.Can-19-0490.

[9] Jin EH, Sung JK, Lee SI, et al. Mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 (MTND3) polymorphisms are associated with gastric cancer susceptibility[J]. Int J Med Sci, 2018, 15(12): 1329-1333. doi: 10.7150/ijms.26881.

[10] Jiang Z, Bahr T, Zhou C, et al. Diagnostic value of circulating cell-free mtDNA in patients with suspected thyroid cancer: ND4/ND1 ratio as a new potential plasma marker[J]. Mitochondrion, 2020, 55: 145-153. doi: 10.1016/j.mito.2020.09.007.

[11] Nguyen NNY, Kim SS, Jo YH. Deregulated mitochondrial DNA in diseases[J]. DNA Cell Biol, 2020, 39(8): 1385-1400. doi: 10.1089/dna.2019.5220.

[12] Jaberi E, Tresse E, Grønbæk K, et al. Identification of unique and shared mitochondrial DNA mutations in neurodegeneration and cancer by single-cell mitochondrial DNA structural variation sequencing (MitoSV-seq)[J]. EBioMedicine, 2020, 57: 102868. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102868.

[13] Ngo DC, Ververis K, Tortorella SM, et al. Introduction to the molecular basis of cancer metabolism and the Warburg effect[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(4): 819-823. doi: 10.1007/s11033-015-3857-y.

[14] Stefan JR, Renatus M, Schwarzenbacher R, et al. Structural basis for the inhibition of Caspase-3 by XIAP[J]. Cell, 2001, 104: 791-800. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00274-4.

[15] Brooks AJ, Putoczki T. JAK-STAT signalling pathway in cancer[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(7): 1971-1973. doi: 10.3390/cancers12071971.

[16] Lu J, Peng Y, Huang R, et al. Elevated TYROBP expression predicts poor prognosis and high tumor immune infiltration in patients with low-grade glioma[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 723. doi: 10.1186/s12885-021-08456-6.

[17] Chi T, Wang M, Wang X, et al. PPAR-γ modulators as current and potential cancer treatments[J]. Front Oncol, 2021, 11: 3686. doi: 10.3389/fonc.2021.737776.

[18] Yang Z, Liu S, Wang Y, et al. High expression of KITLG is a new hallmark activating the MAPK pathway in type A and AB thymoma[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(7): 1944-1954. doi: 10.1111/1759-7714.13486.

[19] Andor N, Maley CC, Ji HP. Genomic instability in cancer: teetering on the limit of tolerance[J]. Cancer Res, 2017, 77(9): 2179-2185. doi: 10.1158/0008-5472.Can-16-1553.

[20] Zhu J, Ding J, Ding F. Tumor stem cell, or its niche, which plays a primary role in tumorigenesis?[J]. World J Gastro Oncol, 2010, 2(5): 218-221. doi: 10.4251/wjgo.v2.i5.218.

(编辑:刘 艺)