DOI:10.16016/j.1000-5404.202106042

HMGCS2 在膀胱癌中的表达及其与临床病理特征的相关性分析

朱 帅,文育恒,梁 宇,曹 健,刘 侃,叶明佶,谢 宇 410013 长沙,中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院,湖南省肿瘤医院泌尿外科

[摘要] **目的** 探索 3-羟甲基戊二酰辅酶 A 合酶 2(3-hydroxy-3-methylglytaryl-CoA synthetase 2,HMGCS2)在膀胱癌中的表达水平及其与患者临床病理特征的相关性。**方法** 利用 GEO 数据库筛选肌层浸润性膀胱癌与非肌层浸润性膀胱癌中有显著差异性表达的基因,GEPIA 数据库对筛选的公共差异表达基因进行生存分析;Metascape 数据库对 HMGCS2 及其相关基因进行功能富集分析;免疫组化染色检测临床手术切除膀胱癌样本中 HMGCS2 的蛋白表达情况,卡方检验分析其与患者临床病理特征的关系,Cox 回归分析验证其预后效能。**结果** GEO 数据库的转录组数据显示,与非肌层浸润性膀胱癌相比,HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌中显著低表达(7.42±2.51 *vs* 9.38±2.78,$P<0.05$);GEPIA 数据库的生存分析显示,高表达 HMGCS2 的膀胱癌患者预后较好(总体生存期:风险比 $HR=0.6$,$P=0.028$;疾病无进展生存期:$HR=0.59$,$P=0.036$);KEGG、GO 功能富集分析表明,HMGCS2 可能参与细胞的脂肪代谢、细胞凋亡及铂类耐药,并涉及 mTOR 通路的信号转导;卡方检验显示 HMGCS2 的表达与 T 分期($P<0.001$)、组织学分级($P=0.006$)、患者存活状态($P<0.001$)及患者疾病无进展状态($P<0.001$)显著相关;单因素 Cox 回归分析显示,HMGCS2 与患者的总体生存率及疾病无进展生存率显著相关(总体生存期:$HR=0.104$,$P<0.001$;疾病无进展生存期:$HR=0.155$,$P<0.001$);多因素 Cox 回归分析显示,HMGCS2 是评估患者预后风险的独立预测因子(总体生存期:$HR=0.181$,$P<0.001$;疾病无进展生存期:$HR=0.312$,$P<0.001$)。**结论** HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌中低表达,低表达的 HMGCS2 与患者的不良预后密切相关。

[关键词] HMGCS2;膀胱癌;功能富集分析;生存分析;免疫组化

[中图法分类号] R345; R730.23; R737.14 [文献标志码] A

Expression of HMGCS2 and its correlation with clinopathological characteristics in bladder cancer

ZHU Shuai, WEN Yuheng, LIANG Yu, CAO Jian, LIU Kan, YE Mingji, XIE Yu Department of Urology, Hunan Cancer Hospital, Affiliated Cancer Hospital to Xiangya School of Medicine of Central South University, Changsha, Hunan Province, 410013, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression of 3-hydroxymethylglutaryl-CoA synthase 2 (HMGCS2) and its correlation with the clinicopathological characteristics of patients with bladder cancer. **Methods** The GEO database was used to screen genes that were significantly differentially expressed between muscle invasive bladder cancer and non-muscle invasive bladder cancer. The survival analysis of the screened public differentially expressed genes was performed by gene expression profiling interactive analysis (GEPIA). The Metascape database was used for the functional enrichment analysis of HMGCS2 and its related genes. The

[基金项目] 国家癌症中心攀登基金临床研究项目(NCC201818A55);国家留学基金委项目(202006370028)

[通信作者] 谢 宇,E-mail:xieyu420@sina.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

expression of HMGCS2 was detected with immunohistochemical staining in clinical samples from patients with bladder cancer. *Chi*-square test was used to analyze the relationship between the expression of HMGCS2 and the clinicopathological characteristics, and Cox regression analysis was adopted to verify the prognostic efficacy of HMGCS2. **Results** The transcriptome data of the GEO database showed HMGCS2 had significantly lower expression in muscle invasive bladder cancer compared with non-muscle invasive bladder cancer (7.42±2.51 *vs* 9.38±2.78, $P<0.05$). The survival analysis of the GEPIA database showed that patients with high expression of HMGCS2 had better prognosis (overall survival: $HR=0.6$, $P=0.028$; disease progression-free survival: $HR=0.59$, $P=0.036$); KEGG pathway analysis and GO functional enrichment analysis showed that HMGCS2 might be involved in fat metabolism, cell apoptosis and platinum resistance, and exerted effect on the signal transduction of the mTOR pathway. In addition, the *Chi*-square test showed the expression of HMGCS2 was significantly related to the T stage ($P<0.001$), tissue grade ($P=0.006$), patients' overall survival status ($P<0.001$) and patients' disease-free survival status ($P<0.001$); Univariate Cox regression analysis showed that HMGCS2 was related to the patients' overall survival rate and the disease progression-free survival rate (OS: $HR=0.104$, $P<0.001$; DFS: $HR=0.155$, $P<0.001$); multivariate Cox regression analysis indicated that HMGCS2 was an independent predictor of the prognostic risk of patients (OS: $HR=0.181$, $P<0.001$; DFS: $HR=0.312$, $P<0.001$). **Conclusion** HMGCS2 is lowly expressed in muscle invasive bladder cancer, and its low expression is closely related to the poor prognosis of patients.

[**Key words**] 3-hydroxymethylglutaryl-CoA synthase 2; bladder cancer; functional enrichment analysis; survival analysis; immunohistochemistry

Supported by the Clinical Research Project of Climbing Fund from National Cancer Center (NCC201818A55) and the Project of China Scholarship Council (202006370028). Corresponding author: XIE Yu, E-mail: xieyu420@sina.com

膀胱癌是常见的泌尿系肿瘤之一,根据肿瘤组织浸润的程度不同,膀胱癌被分为非肌层浸润性膀胱癌(non muscle invasive bladder cancer,NMIBC)和肌层浸润性膀胱癌(muscle invasive bladder cancer,MIBC)[1]。尽管近年来在经尿道膀胱肿瘤切除术或膀胱灌注化疗等方面取得了进步,但约30%的NMIBC患者最终将发展为MIBC,对于MIBC而言,大约50%的患者在行根治性膀胱切除术后会局部或全身复发,甚至死于该病[2-3]。此外,病理1期合并组织学3级的NMIBC(T1G3)和原位癌(carcinoma *in situ*,CIS)更倾向于侵袭和转移[4]。研究表明,45%~65%的MIBC患者可观察到CIS的发生,而CIS的存在大大增加了NMIBC发展为MIBC的风险[5]。基于这一复杂的过程,膀胱癌治疗的主要临床问题在于为患者在正确的时间选择最合适的治疗方法,临床上无法准确判断是否早期行根治性膀胱切除术(对于NMIBC患者)或新辅助/辅助化疗(对于MIBC患者)来改善患者的总体生存率。几十年来,很少有预后生物标志物可帮助临床医生为患者的治疗提供精准的决策。因此,了解从NMIBC转变为MIBC的潜在机制至关重要,这将为膀胱癌的治疗方式选择提供有力的帮助。

3-羟甲基戊二酰辅酶A合酶2(3-hydroxy-3-methylglytaryl-CoA synthetase 2,HMGCS2)是酮体生成途径中的限速酶,可导致产生包括β-羟基丁酸酯在内的酮体[6]。HMGCS2的表达和活性受多种转录因子和翻译后修饰的调控,且与多种肿瘤的发生、发展有着紧密的关系[7-8]。研究表明,在雌激素受体阴性的乳腺癌和激素高分泌型的乳腺癌中HMGCS2的表达水平增加[9];HMGCS2的高表达可导致直肠癌对放化疗的敏感性下降[10]。有趣的是,在结肠癌细胞中HMGCS2的表达能被c-Myc抑制,而c-Myc的表达被Wnt/β-catenin途径激活[11];此外,对食管鳞状细胞癌、肝细胞癌和前列腺癌的研究也表明,与非肿瘤组织相比,HMGCS2的表达水平在肿瘤组织中显著降低[12-14]。由此可见,HMGCS2在不同类型肿瘤中发挥着不同的作用。但HMGCS2在膀胱癌中的作用尚不清楚。因此,本研究通过生物信息学的方法分析HMGCS2在膀胱癌中的表达及其相关的生物学功能,并利用免疫组化的方法对其表达水平进行验证,同时结合临床样本及其随访数据对HMGCS2的预后效能

进行检测,旨在为膀胱癌的临床诊治提供潜在的靶点。

1 材料与方法

1.1 基因表达数据下载与差异表达基因的筛选

3 个膀胱癌数据集(GSE83586、GSE120736、GSE128959)的基因表达数据从 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库中(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)下载,使用 GEO2R 分析肌层浸润性膀胱癌(T2、T3、T4)与非肌层浸润性膀胱癌(Tis、Ta、T1)中有显著差异表达的基因(筛选标准:log FC 的绝对值>1,$P<0.05$),用韦恩图(bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn)筛选 3 个数据集的公共差异基因,并根据公共差异基因在 3 个数据集的表达情况使用 Heatmapper(http://www.heatmapper.ca/expression/)绘制热图。

1.2 生存分析

利用 GEPIA 数据库[15](http://gepia.cancer-pku.cn/index.html)对筛选的公共差异表达基因进行生存分析。

1.3 基因共表达分析

使用 UALCAN 数据库[16](http://ualcan.path.uab.edu/analysis.html)筛选与 HMGCS2 的表达有显著相关性的基因。

1.4 功能富集分析

使用 Metascape 数据库[17](https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1)对 HMGCS2 及其表达相关的基因集进行 GO、KEGG 等功能富集分析。

1.5 临床病例资料收集

本研究得到湖南省肿瘤医院伦理委员会审批(2016-0008),收集 2010 年 1-12 月就诊于本院的膀胱癌患者的临床病理资料,包括年龄、性别、病理 T 分期、组织学分级。纳入标准:患者均接受过根治性膀胱切除术、经尿道膀胱肿块切除术或膀胱部分切除的手术,术后病理检查确诊为膀胱癌;排除标准:有远处转移的患者;有心血管、内分泌、呼吸系统等其他严重影响寿命的疾病患者。患者的临床病理资料通过医院中心电子病历管理系统获取,并录入相应的信息采集表格。肿瘤 T 分期依据膀胱癌 2017 版 TNM 分期(UICC),组织学分级依据膀胱癌 WHO 2016 版分级法。共纳入 127 例患者,其中 86 例为非肌层浸润性膀胱癌(其中低度恶性潜能尿路上皮乳头状瘤 33 例、低级别尿路上皮癌 24 例、高级别尿路上皮癌 20 例、膀胱原位癌 9 例),41 例为肌层浸润性膀胱癌。定义组织学Ⅰ级(G1)和Ⅱ级(G2)为高分化肿瘤,组织学Ⅲ级(G3)为低分化肿瘤。术后对 127 名患者进行随访,每 3 个月 1 次,随访时间为 120 个月。

1.6 免疫组化染色及评分

对以上 127 例患者的石蜡切片进行免疫组化染色,采用 S-P 法,依照试剂盒说明书进行操作,一抗 HMGCS2 抗体 4 ℃过夜(1∶200)。免疫组化评分使用阳性肿瘤细胞比例与染色强度评分的乘积进行计算,具体方法见文献[18]。

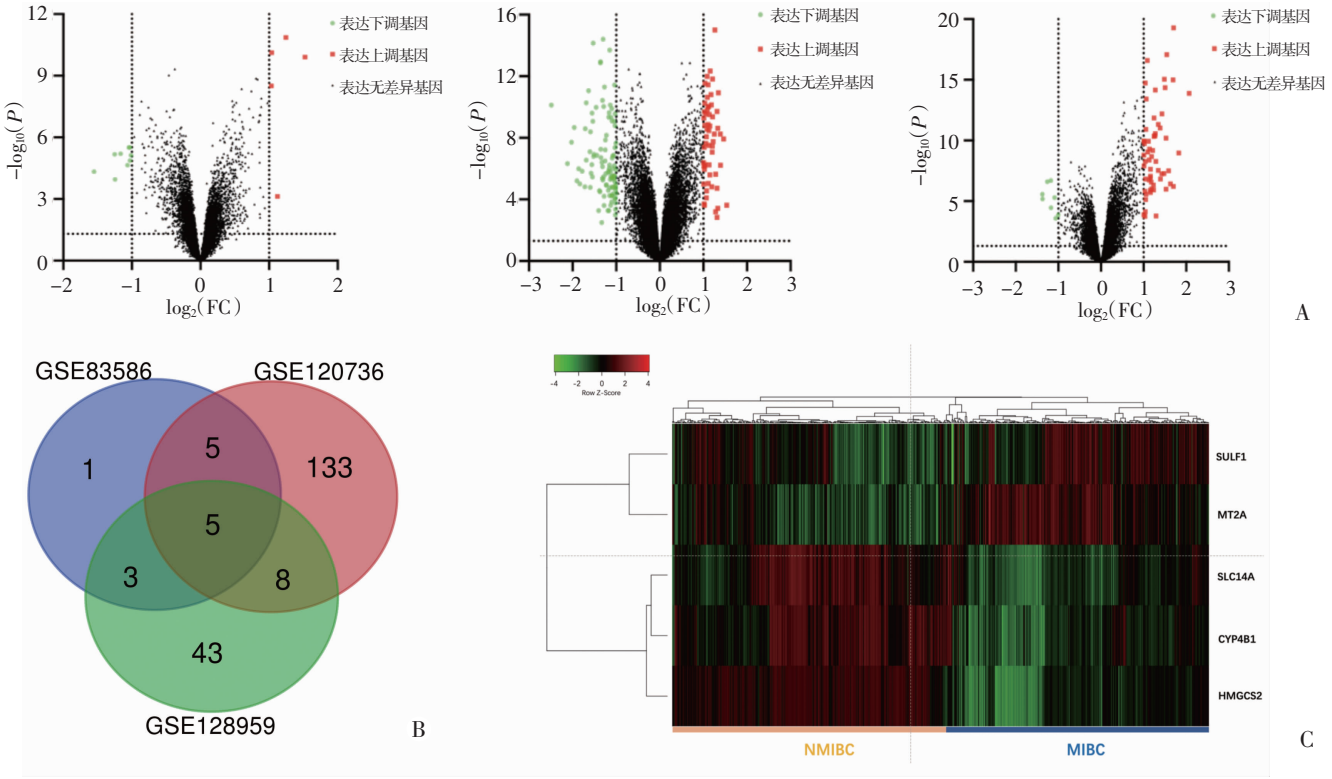
1.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,基因表达的差异分析采用 t 检验,HMGCS2 表达水平与临床病理特征的相关性分析采用卡方检验,生存分析使用 Cox 回归法,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非肌层浸润性膀胱癌和肌层浸润性膀胱癌的差异表达基因

纳入的 3 个数据集(GSE83586、GSE120736、GSE128959)中包含 41 个肌层浸润性膀胱癌组织和 55 个非肌层浸润性膀胱癌组织。使用 GEO2R 在线分析工具,分别从 GSE83586、GSE120736、GSE128959 中筛选出 14、151 和 69 个差异表达基因。其中,GSE83586 包含 5 个上调基因和 9 个下调基因;GSE120736 包含 43 个上调基因和 108 个下调基因;GSE128959 包含 8 个上调基因和 61 个下调基因(图 1A);韦恩图(图 1B)显示 SULF1、MT2A、SLC14A、CYP4B1、HMGCS2 为 3 个数据集中的共有差异基因;各个样本的表达热图(图 1C)显示,与非肌层浸润性膀胱癌相比,SULF1(8.90±1.19 *vs* 7.91±0.58, $P<0.05$)、MT2A(10.38±1.24 *vs* 9.38±1.04,$P<0.05$)在肌层浸润性膀胱癌中相对高表达,而 SLC14A(10.00±1.67 *vs* 11.61±1.17,$P<0.05$)、CYP4B1(10.21±1.07 *vs* 11.52±1.12,$P<0.05$)、HMGCS2(7.42±1.51 *vs* 9.38±2.78,$P<0.05$)表达下调。



A:火山图筛选3个独立的GEO数据库中具有显著表达差异基因(表达差异倍数>2且调整后$P<0.05$) 从左到右分别为GSE83586、GSE120736、GSE128959;B:韦恩图确认3个数据库中公共差异基因;C:热图显示5个公共差异基因在GEO数据库样本中的表达情况

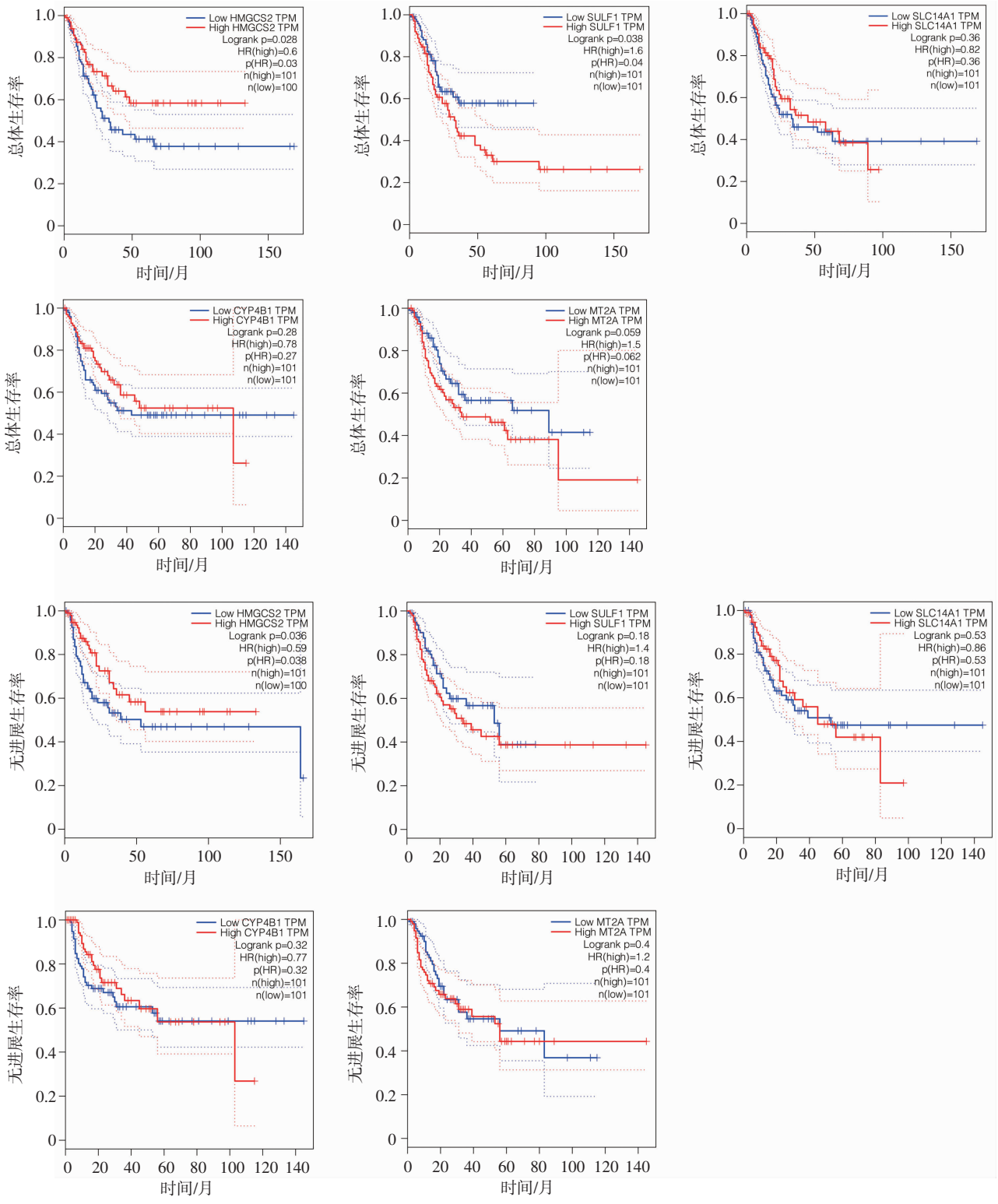
图1 GEO数据库筛选差异表达基因

2.2 差异基因在GEPIA数据库中的生存分析

利用GEPIA数据库分别对上述5个差异基因进行Kaplain-Meier生存分析。2个基因(HMGCS2、SULF1)的表达水平对患者总体生存期有明显影响($P<0.05$),其中,HMGCS2高表达的膀胱癌患者总体生存率较高(风险比$HR=0.6$,$P=0.028$),而SULF1高表达的膀胱癌患者总体生存率相对较低($HR=0.04$,$P=0.038$,图2A);此外,1个基因(HMGCS2)的高表达显示相对高的疾病无进展生存率($HR=0.59$,$P=0.036$,图2B)。表明,HMGCS2可能是膀胱癌的潜在预后指标。

2.3 HMGCS2及其共表达基因的功能富集分析

使用UALCAN在线数据库(http://ualcan.path.uab.edu/)探索与HMGCS2表达相关性较高的基因,发现69个基因与HMGCS2的表达呈正相关(表1)。采用Metascape在线数据库中的GO、KEGG等功能及通路富集工具预测HMGCS2及其共表达基因集的生物学功能。在前10个富集分析中,GO富集分析表明HMGCS2与脂肪组织的发育,对从粗面内质网到顺式高尔基体的囊泡靶向运输、糖基化、凋亡过程中半胱氨酸型内肽酶活性的正调控,高尔基体的构成及含蛋白质的复合物分解有关(图3A)。KEGG通路富集分析显示该基因集与铂类药物的化疗耐药有关(图3B)。同时,使用Metascape在线数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)富集分析,图3C显示从PPI网络中提取3个最重要的MCODE成分,并将每个MCODE成分分别应用于途径和过程富集分析,结果表明,该基因的生物学功能参与mTOR信号通路转导。

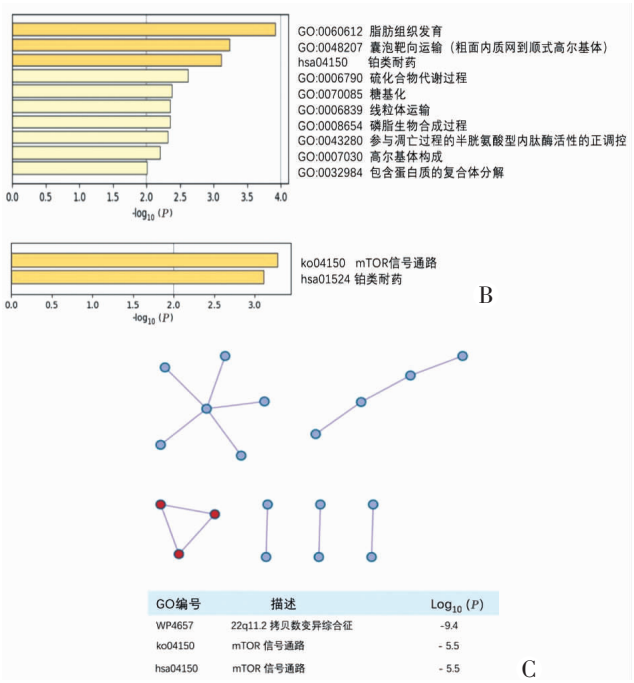


A:各差异基因表达水平(上左:HMGCS2,上中:SULF1,上右:SLC14A1,下左:CYP4B1,下右:MT2A)对膀胱癌患者总体生存期的影响;B:各差异基因表达水平(上左:HMGCS2,上中:SULF1,上右:SLC14A1,下左:CYP4B1,下右:MT2A)对膀胱癌患者无进展生存期的影响

图 2 Kaplan-Meier 分析各差异基因对膀胱癌患者预后的影响

表 1 HMGCS2 及其关联基因的 Pearson 相关性分析

基因	与 HMGCS2 表达的相关系数	基因	与 HMGCS2 表达的相关系数
WARS2	0.86	TMEM219	0.35
PHGDH	0.85	DGCR14	0.35
SEC22B	0.83	GSTT1	0.35
C22orf29	0.80	TRMT2A	0.35
C3orf42	0.57	CDIPT	0.35
C1orf152	0.53	TCTA	0.34
SLC25A1	0.51	ARVCF	0.34
OVGP1	0.51	GNR2	0.34
TBX1	0.50	TFIP11	0.34
SHISA5	0.50	LRP5	0.34
ZDHHC8	0.49	ACAA1	0.34
LOC728989	0.49	MAPK1	0.33
KRTAP5-9	0.48	ZNF785	0.33
UBE2L3	0.47	DGCR8	0.33
KRTAP5-8	0.47	MMP19	0.33
ZNF697	0.45	DGCR6L	0.32
C22orf39	0.43	PPM1F	0.32
BID	0.42	WNT8B	0.32
C22orf25	0.42	CMTM6	0.32
BCL2L13	0.42	MICAL3	0.32
COMT	0.41	RRN3P3	0.32
SORL1	0.40	FBRS	0.32
TRAK1	0.40	ZC3H12B	0.31
LOC200030	0.40	YPEL3	0.31
PPIL2	0.40	GORASP1	0.31
LOC728875	0.40	PIGZ	0.31
DGCR2	0.39	NAPA	0.30
CABIN1	0.38	C1orf213	0.3
ATP6V1E1	0.37	ZNF600	0.30
CECR5	0.37	ST3GAL1	0.30
BNIPL	0.36	KLHL29	0.30
LOC388692	0.36	HIRA	0.30
C3orf62	0.36	TPRN	0.30
LRP5L	0.36	ZNF74	0.3
LOC644165	0.36		



A:GO 功能富集分析;B:KEGG 通路功能富集分析;C:蛋白与蛋白交互网络图(PPI)

图 3 HMGCS2 及与其表达相关基因的功能富集分析

2.4 HMGCS2 与临床病理特征的相关性

采用免疫组织化学染色检测收集的临床石蜡切片中 HMGCS2 的蛋白表达水平(图 4)。127 例膀胱癌患者中 HMGCS2 相对高表达 82 例,低表达 45 例。HMGCS2 的表达水平与病理 T 分期($P<0.001$)、组织学分级($P=0.006$)、患者存活状态($P<0.001$)及患者疾病无进展生存状态($P<0.001$)显著相关,而与患者的年龄($P=0.296$)、性别($P=0.389$)及 BMI($P=0.360$)之间未见明显差异(表 2)。单因素 Cox 回归分析表明,HMGCS2 与患者的总体生存率及疾病无进展生存率显著相关(OS:风险比 $HR=0.104$, $P<0.001$;DFS:$HR=0.155$, $P<0.001$);多因素 Cox 回归分析显示,HMGCS2 是评估膀胱癌患者预后风险的独立预测因子(OS:$HR=0.181$, $P<0.001$;DFS:$HR=0.312$, $P<0.001$),见表 3、4。

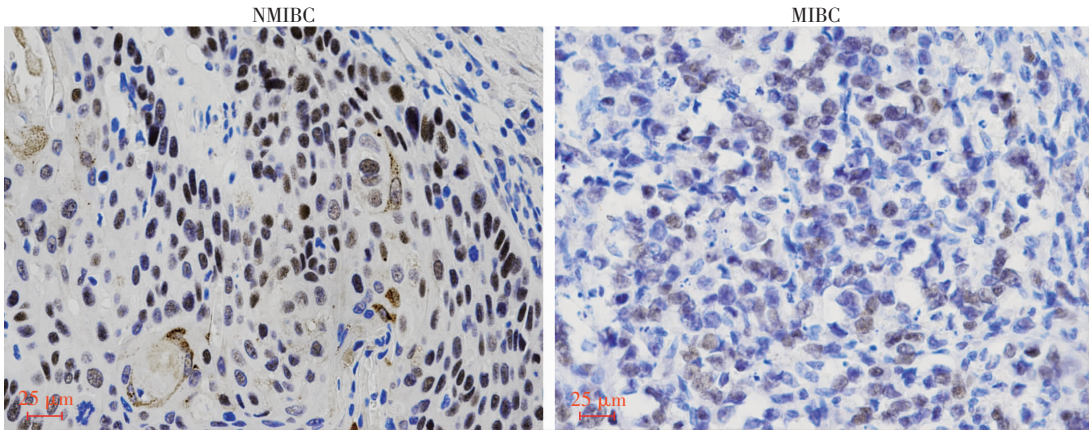


图 4　免疫组化染色检测 HMGCS2 在非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC)和肌层浸润性膀胱癌(MIBC)中的表达　(S-P)

表 2　膀胱癌中 HMGCS2 的表达水平与患者临床病理特征的相关性分析

临床病理特征	例数(%)	HMGCS2		*P* 值
		低表达(n=45)	高表达(n=82)	
年龄/岁				0.296
≥ 60	74 (58.3)	29	45	
<60	53 (41.7)	16	37	
性别				0.389
男	63 (49.6)	20	43	
女	64 (50.4)	25	39	
BMI/kg·m^{-2}				0.360
≤24	52 (40.9)	16	36	
>24	75 (59.1)	29	46	
T 分期				<0.001
非肌层浸润性膀胱癌	86 (67.7)	14	72	
肌层浸润性膀胱癌	41 (32.3)	31	10	
组织学分级				0.006
低分化	45 (35.4)	23	22	
高分化	82 (64.6)	22	60	
患者存活状态				<0.001
存活	70 (55.1)	5	65	
死亡	57 (44.9)	40	17	
疾病进展状态				<0.001
无进展	63 (49.6)	5	58	
进展	64 (50.4)	40	24	

表 3　膀胱癌患者总体生存期的单因素及多因素 Cox 回归分析

临床病理特征	单因素分析			多因素分析		
	风险比	95% 置信区间	*P* 值	风险比	95% 置信区间	*P* 值
年龄	1.380	0.805~2.364	0.241	-	-	-
性别	1.047	0.623~1.760	0.863	-	-	-
BMI	1.319	0.773~2.249	0.309	-	-	-
T 分期	7.856	4.464~13.828	<0.001	2.372	1.087~5.171	0.030
组织学分级	4.793	2.756~8.337	<0.001	2.040	1.014~4.102	0.046
HMGCS2	0.104	0.058~0.187	<0.001	0.181	0.092~0.335	<0.001

表 4 膀胱癌患者疾病无进展生存期的单因素及多因素 Cox 回归分析

临床病理特征	单因素分析			多因素分析		
	风险比	95% 置信区间	*P* 值	风险比	95% 置信区间	*P* 值
年龄	1.486	0.891~2.478	0.129	-	-	-
性别	1.071	0.656~1.749	0.783	-	-	-
BMI	1.408	0.849~2.337	0.185	-	-	-
T 分期	7.889	4.592~13.552	<0.001	2.364	1.117~5.002	0.024
组织学分级	5.959	3.481~10.200	<0.001	2.681	1.365~5.263	0.004
HMGCS2	0.155	0.092~0.260	<0.001	0.312	0.168~0.577	<0.001

3 讨论

肌层浸润性膀胱癌是一种异质性较强的恶性肿瘤,其不良预后一直是临床上难以解决的问题[19-20]。本研究从 3 个独立的 GEO 数据库发现 HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌和非肌层浸润性膀胱癌之间具有显著的表达差异性,并通过 GEPIA 数据库的生存分析确认 HMGCS2 的表达水平与膀胱癌患者总体生存期和疾病无进展生存期显著相关;同时,免疫组化实验结果也表明 HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌中的表达较非肌层浸润性膀胱癌显著降低,并与膀胱癌 T 分期及组织学分级有关,同时,高表达 HMGCS2 的膀胱癌患者临床预后相对较好。SARAON 等[12]发现前列腺癌中 HMGCS2 显著低表达,并且其表达水平与患者的 Gleason 评分、病理学分级及预后相关。在肝细胞癌组织中 HMGCS2 的表达水平也明显下调,低水平的 HMGCS2 表达与患者高级别的组织学分级和临床分期显著相关,并通过增强 c-Myc/cyclin D1 和 EMT 的信号传导以及抑制 Caspase 依赖性的凋亡途径来促进细胞增殖,细胞迁移的发生[21]。此外,HMGCS2 表达下调也是食管鳞状上皮癌和结肠癌预后不良的一个危险因素[11, 13]。因此,我们推测低表达的 HMGCS2 可能促进膀胱癌由非肌层浸润性膀胱癌向肌层浸润性膀胱癌的进展,导致患者预后不良。

相比于低度恶性的肿瘤,恶性程度较高的肿瘤有着更为特殊的能量代谢方式[22]。HMGCS2 是酮体生成途径中的一种限速酶,参与肿瘤细胞的代谢重编程[7, 23]。当 HMGCS2 表达降低时,酮体生成减少,极大地提高了肿瘤细胞对于体内能量的使用率,促进了肿瘤的转移及进展[22, 24]。本研究表明,HMGCS2 及其相关基因集可能涉及许多酯类代谢的生物学过程,包括脂肪组织的形成、高尔基体的构建、脂肪的囊泡运输等。因此,我们推测 HMGCS2 可能通过影响膀胱癌的能量代谢进而加速了膀胱癌的进展。

肌层浸润性膀胱癌对铂类药物的化疗敏感性是影响膀胱癌患者预后状况的重要因素[25]。本研究数据表明 HMGCS2 及其相关基因集可能参与了肿瘤细胞对于铂类药物化疗敏感性的影响。前期的研究表明 HMGCS2 可通过 mTOR 通路参与 β 样淀粉前体蛋白的自噬降解[26],WANG 等[27]则发现 HMGCS2 与 mTOR 信号通路共同参与肠上皮细胞的分化,以维持肠道稳定。此外,线粒体同源簇颗粒通过调控 HMGCS2 的翻译参与生酮作用,进而抑制 mTORC1 激活和线粒体合成代谢途径,并促进线粒体更新[28]。最近的研究也表明了 mTOR 信号通路的激活会导致肿瘤细胞对铂类化疗药物的不敏感[29-30]。因此,我们推测 HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌中的低表达激活了 mTOR,进而增强了肿瘤细胞对铂类药物的化疗不敏感。

本研究表明 HMGCS2 可能参与凋亡途径中半胱氨酸型内肽酶活性的调控。肿瘤的发生大多数与细胞增殖异常或者凋亡失常有关[31-32]。SIEWIŃSKI 等[33]在浆液性卵巢癌和子宫内膜间质瘤的细胞表面观察到高表达的半胱氨酸型内肽酶抑制物。XIONG 等[34]通过对与 FKBP 相关的 lncRNA-mRNA 复合体进行生物信息学分析,发现这些复合体在肿瘤中显著高表达并参与凋亡过程中对半胱氨酸型内肽酶的负调控,表明肿瘤细胞能通过限制半胱氨酸型内肽酶的活性抑制细胞凋亡进而促进肿瘤进展。因此,我们推测低表达的 HMGCS2 可能减弱了半胱氨酸型内肽酶对细胞凋亡的促进作用,从而促进膀胱癌的进展。

总之,本研究表明 HMGCS2 在肌层浸润性膀胱癌中低表达,其低水平的表达状态与膀胱癌患者高级别的 T 分期,低分化的肿瘤组织及患者的不良预后相关;生物学功能的分析表明,HMGCS2 可能参与肿瘤细胞的脂质代谢,并与铂类化疗不敏感以及肿瘤细胞内 mTOR 通路的激活有关。

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. DOI:

10.3969/j.issn.1672-1535.2013.01.021.
HAN S J, ZHANG S W, CHEN W Q, *et al*. Analysis of the current status and epidemic trend of bladder cancer in China [J]. Cancer Prog, 2013, 11(1): 89-95. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1535.2013.01.021.

[2] DEL GIUDICE F D, PECORARO M, VARGAS H A, *et al*. Systematic review and meta-analysis of vesical imaging-reporting and data system (VI-RADS) inter-observer reliability: an added value for muscle invasive bladder cancer detection[J]. Cancers, 2020, 12(10): 2994. DOI: 10.3390/cancers12102994.

[3] HURLE R, CASALE P, LAZZERI M, *et al*. En bloc re-resection of high-risk NMIBC after en bloc resection: results of a multicenter observational study[J]. World J Urol, 2020, 38(3): 703-708. DOI: 10.1007/s00345-019-02805-8.

[4] ATTA M A, KOTB A F, SHARAFELDEEN M, *et al*. The value of extended good quality transurethral resection of bladder tumour in the treatment of the newly diagnosed bladder cancer[J]. Arab J Urol, 2017, 15(1): 60-63. DOI: 10.1016/j.aju.2016.10.003.

[5] LIU W, TIAN J H, ZHANG S, *et al*. The utilization status of neoadjuvant chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Minerva Urol Nephrol, 2021, 73(2): 144-153. DOI: 10.23736/S0393-2249.19.03648-8.

[6] KIM J T, LI C, WEISS H L, *et al*. Regulation of ketogenic enzyme $HMGCS_2$ by wnt/β-catenin/PPARγ pathway in intestinal cells[J]. Cells, 2019, 8(9): E1106. DOI: 10.3390/cells8091106.

[7] GRABACKA M, PIERZCHALSKA M, DEAN M, *et al*. Regulation of ketone body metabolism and the role of PPARα [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): E2093. DOI: 10.3390/ijms17122093.

[8] NEWMAN J C, VERDIN E. Ketone bodies as signaling metabolites[J]. Trends Endocrinol Metab, 2014, 25(1): 42-52. DOI: 10.1016/j.tem.2013.09.002.

[9] GROMOV P, ESPINOZA J A, TALMAN M L, *et al*. $FABP_7$ and $HMGCS_2$ are novel protein markers for apocrine differentiation categorizing apocrine carcinoma of the breast [J]. PLoS ONE, 2014, 9(11): e112024. DOI: 10.1371/journal.pone.0112024.

[10] LEE Y E, HE H L, SHIUE Y L, *et al*. The prognostic impact of lipid biosynthesis-associated markers, HSD17B2 and $HMGCS_2$, in rectal cancer treated with neoadjuvant concurrent chemoradiotherapy[J]. Tumour Biol, 2015, 36(10): 7675-7683. DOI: 10.1007/s13277-015-3503-2.

[11] CAMARERO N, MASCARÓ C, MAYORDOMO C, *et al*. Ketogenic $HMGCS_2$ is a c-Myc target gene expressed in differentiated cells of human colonic epithelium and down-regulated in colon cancer[J]. Mol Cancer Res, 2006, 4(9): 645-653. DOI: 10.1158/1541-7786.mcr-05-0267.

[12] SARAON P, CRETU D, MUSRAP N, *et al*. Quantitative proteomics reveals that enzymes of the ketogenic pathway are associated with prostate cancer progression[J]. Mol Cell Proteomics, 2013, 12(6): 1589-1601. DOI: 10.1074/mcp.M112.023887.

[13] TANG H, WU Y, QIN Y, *et al*. Predictive significance of $HMGCS_2$ for prognosis in resected Chinese esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 2553-2560. DOI: 10.2147/ott.s132543.

[14] SU S G, YANG M, ZHANG M F, *et al*. miR-107-mediated decrease of $HMGCS_2$ indicates poor outcomes and promotes cell migration in hepatocellular carcinoma [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2017, 91(Pt A): 53-59. DOI: 10.1016/j.biocel.2017.08.016.

[15] TANG Z, LI C, KANG B, *et al*. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(w1): W98-W102. DOI: 10.1093/nar/gkx247.

[16] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALASUBRAMANYA S A H, *et al*. UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. Neoplasia, 2017, 19(8): 649-658. DOI: 10.1016/j.neo.2017.05.002.

[17] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, *et al*. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1523. DOI: 10.1038/s41467-019-09234-6.

[18] 朱帅, 许镇州, 薛蕾, 等. Adnp 在膀胱尿路上皮癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(11): 1214-1221. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.006.
ZHU S, XU Z Z, XUE L, *et al*. Expression of Adnp in bladder urothelial carcinoma and its clinical significance[J]. Chin J Cancer Biother, 2019, 26(11): 1214-1221. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.006.

[19] 余昆, 代林, 刘胜, 等. 膀胱部分切除术与根治性全膀胱切除术治疗局限性肌层浸润性膀胱癌的临床分析[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(2): 169-175. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201708212.
YU K, DAI L, LIU S, *et al*. Clinical analysis of partial cystectomy and radical total cystectomy in the treatment of localized myometrial invasive bladder cancer[J]. J Third Mil Med Univ, 2018, 40(2): 169-175. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201708212.

[20] 王猛, 滕晓东. 肌层浸润性膀胱癌的分子分型研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(6): 439-442. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.06.022.

WANG M, TENG X D. Research progress in molecular classification of muscular invasive bladder cancer[J]. Chin J Pathol, 2017, 46(6): 439-442. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.06.022.

[21] WANG Y H, LIU C L, CHIU W C, *et al*. $HMGCS_2$ mediates ketone production and regulates the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Cancers, 2019, 11(12): 1876. DOI:10.3390/cancers11121876.

[22] PAVLOVA N N, THOMPSON C B. The emerging hallmarks of cancer metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 27-47. DOI:10.1016/j.cmet.2015.12.006.

[23] GRABACKA M M, WILK A, ANTONCZYK A, *et al*. Fenofibrate induces ketone body production in melanoma and glioblastoma cells[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2016, 7: 5. DOI:10.3389/fendo.2016.00005.

[24] PUCHALSKA P, CRAWFORD P A. Multi-dimensional roles of ketone bodies in fuel metabolism, signaling, and therapeutics[J]. Cell Metab, 2017, 25(2): 262-284. DOI:10.1016/j.cmet.2016.12.022.

[25] 王坤, 段鑫鑫, 姚欣. 肌层浸润性膀胱癌的精准新辅助化疗进展研究[J]. 中国肿瘤临床, 2020, 47(22): 1168-1170. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.22.706.
WANG K, DUAN X X, YAO X. Advances in precision neoadjuvant chemotherapy for muscular invasive bladder cancer[J]. Chin J Clin Oncol, 2020, 47(22): 1168-1170. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.22.706.

[26] HU L T, ZHU B L, LAI Y J, *et al*. $HMGCS_2$ promotes autophagic degradation of the amyloid-β precursor protein through ketone body-mediated mechanisms[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 486(2): 492-498. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.03.069.

[27] WANG Q D, ZHOU Y N, RYCHAHOU P, *et al*. Ketogenesis contributes to intestinal cell differentiation[J]. Cell Death Differ, 2017, 24(3): 458-468. DOI:10.1038/cdd.2016.142.

[28] PLA-MARTÍN D, SCHATTON D, WIEDERSTEIN J L, *et al*. CLUH granules coordinate translation of mitochondrial proteins with mTORC1 signaling and mitophagy[J]. EMBO J, 2020, 39(9): e102731. DOI: 10.15252/embj.2019102731.

[29] BAIZE N, MONNET I, GREILLIER L, *et al*. Second-line treatments of small-cell lung cancers[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2017, 17(11): 1033-1043. DOI: 10.1080/14737140.2017.1372198.

[30] KUMAR S, KUMAR A, SHAH P P, *et al*. MicroRNA signature of Cis-platin resistant *vs*. Cis-platin sensitive ovarian cancer cell lines[J]. J Ovarian Res, 2011, 4(1): 17. DOI:10.1186/1757-2215-4-17.

[31] 朱西, 罗生军, 蒋立, 等. Nprl2 与膀胱癌患者临床病理特征的相关性及对膀胱癌细胞凋亡的影响[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(5): 432-437. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202009233.
ZHU X, LUO S J, JIANG L, *et al*. Correlation of Nprl2 with clinicopathological characteristics of bladder cancer patients and its effect on bladder cancer cell apoptosis[J]. J Third Mil Med Univ, 2021, 43(5): 432-437. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202009233.

[32] 赵阳, 葛雷, 单中杰. lncRNA HULC 在膀胱癌组织中的表达及其对 5637 细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(1): 60-66. Doi: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.010.
ZHAO Y, GE L, SHAN Z J. The expression of lncRNA HULC in bladder cancer and its effect on the malignant biological behavior of 5637 cells[J]. Chin J Cancer Biother, 2021, 28(1): 60-66. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.010.

[33] SIEWIŃSKI M, SALEH Y, POPIELA A, *et al*. Expression of high molecular weight cysteine proteinase inhibitor in ovarian cancer tissues: regulation of cathepsin B expression by placental CPI[J]. Biol Chem, 2003, 384(7): 1103-1107. DOI:10.1515/bc.2003.123.

[34] XIONG H C, CHEN Z H, CHEN W J, *et al*. FKBP-related ncRNA-mRNA axis in breast cancer[J]. Genomics, 2020, 112(6): 4595-4607. DOI:10.1016/j.ygeno.2020.08.017.

(收稿:2021-06-06;修回:2021-09-19)

(编辑 汪勤俭)