疾病数据分析与建模 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003391

GluA1相互作用蛋白GNAI2和SRSF10对肝细胞癌预后的影响及诊断模型的建立

张洺铭，易发平
（重庆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨AMPA型谷氨酸受体亚基1（glutamate A1，GluA1）相互作用蛋白GNAI2、SRSF10对HCC药物相关靶点、预后指标及诊断模型的作用和影响。**方法：**蛋白质组学方法获得GluA1相互作用蛋白。Xena数据库（https://xenabrowser.net/）中获取肝细胞癌（liver hepatocellular carcinoma，LIHC）转录组数据以及对应的临床数据，保留在75%样本中表达的基因和其中原发肿瘤和癌旁组织样本用于后续分析。R语言的limma包标准流程对样本进行差异分析。对GluA1相互作用蛋白及差异基因取交集，并进行表达量分析、单因素COX分析和生存曲线分析。PDBePISA数据库验证候选蛋白集与GluA1在分子结构上的对接。string数据库分析候选蛋白集与肝癌相关药物的作用靶点。多因素COX分析患者的预后指标，logistic回归模型构建肝癌诊断模型。**结果：**获得6个候选蛋白，即KIF1A、GNAI2、RPL3、ARPC1A、EIF3H和SRSF10与GluA1具有很强的亲和力。其中GNAI2和SRSF10是肝细胞癌药物Regorafenib的二级作用靶点，其在单因素以及多因素COX分析中对患者的生存均存在影响（P<0.05），GNAI2（P=0.000 339），SRSF10（P=0.040 4），并且GNAI2、SRSF10在疾病组中比正常组中高。Z值分别为GNAI2：3.584、SRSF10：2.049。HR分别为GNAI2：2.38，SRSF10：1.18，均为不利预后因素，有希望作为独立于其他因素的预后指标。在肝癌患者的诊断模型中，HR系数分别为GNAI2：11.8455，SRSF10：−0.2037，且该模型在训练集上的曲线下面积为0.971，性能优异。**结论：**GluA1相互作用蛋白GNAI2和SRSF10是肝细胞癌治疗药物Regorafenib的二级作用靶点，意味着其可能会成为独立于其他因素的预后指标，且具备一定的诊断意义。

【关键词】肝细胞癌；谷氨酸受体亚基1；预后；诊断模型
【中图分类号】R735.7；R34 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2023-10-12

Effect of GluA1 interacting proteins GNAI2 and SRSF10 on prognosis of Hepatocellular carcinoma and establishment of diagnostic model

Zhang Mingming, *Yi Faping*
(*Department of Biochemistry and Molecular Biology*, *School of Basic Medicine*, *Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of AMPA glutamate receptor subunit 1 (glutamate A1, GluA1) interacting proteins GNAI2 and SRSF10 on drug-related targets, prognostic indicators, and diagnostic models of hepatocellular carcinoma (HCC). ***Methods*:** GluA1 interacting proteins were obtained by proteomic methods. Transcriptome data and the corresponding clinical data of liver hepatocellular carcinoma were obtained from the Xena database (https://xenabrowser.net/). Genes expressed in 75% of the samples and primary tumor and para-carcinoma tissue samples were retained for subsequent analysis. The limma package standard process in R language was used to perform variation analysis on the samples. The intersection of GluA1 interacting proteins and differentially expressed genes was obtained for expression analysis, univariate COX analysis, and survival curve analysis. The PDBePISA database was used to verify the molecular docking of the candidate protein set with GluA1. The string database was used to analyze the targets of HCC-related drugs in the candidate protein set. Prognostic indicators of patients were analyzed by the multivariate COX analysis. The logistic regression model was used to construct a diagnostic model for HCC. ***Results*:** Six candidate proteins, namely KIF1A, GNAI2, RPL3, ARPC1A, EIF3H, and SRSF10, were obtained with strong affinity to GluA1. GNAI2 and SRSF10 were secondary targets of Regorafenib in HCC, and the univariate and multivariate COX analyses showed that they had significant effects on patient survival (P=0.000 339, 0.0404). GNAI2 and SRSF10 were higher in level in the disease group than in the normal group (Z=3.584, 2.049; hazard ratio (HR)= 2.38, 1.18), and are adverse prognostic factors. In the diagnostic

作者介绍：张洺铭，Email：756311534@qq.com，
研究方向：神经及肿瘤疾病分子生物学。
通信作者：易发平，Email：100506@cqmu.edu.cn。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231227.1634.024
（2023-12-29）

model of HCC, the HR coefficients were 11.8455 and −0.2037, respectively, and the area under the curve of this model on the training set was 0.971, indicating excellent performances. ***Conclusion***: GluA1 interacting proteins GNAI2 and SRSF10 are secondary targets of Regorafenib in HCC, which may become prognostic indicators independent of other factors and have certain diagnostic significance.
【Key words】hepatocellular carcinoma; glutamate A1; prognosis; diagnostic model

α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体（α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor，AMPARs）是由2个二聚体组成的四聚体，由4个亚基（GluA1～GluA4）组成。既往研究表明[1-2]，AMPA受体转运对神经精神疾病和神经退行性疾病的突触可塑性有重大意义，控制这种转运的信号传导来自AMPA受体的细胞内蛋白相互作用[2]。已有文献表明，AMPA型谷氨酸受体亚基1（glutamate A1，GluA1）在海马体许多类型的细胞上都有表达，比如神经元和胶质细胞。神经元受体GluA1通常介导最快速的兴奋性突触传递，其数量可通过内吞作用、胞吐作用和内吞体分类来调节，这导致其可循环回到质膜或在溶酶体中降解。这种动态行为通常由蛋白质与蛋白质的相互作用调节。故在以往研究中提出了一种策略，以GluA1为例的细胞表面受体中，来研究神经细胞表面受体的细胞内蛋白质的相互作用，从而得到GluA1相互作用蛋白[3]。其相互作用蛋白参与了蛋白质、RNA、蛋白质复合物、核苷酸和环化合物的结合以及酶活性的过程，在KEGG通路富集过程中，可以观察到所鉴定的蛋白参与了多种生物学通路，其中细胞的迁移侵袭、信号传导等相关通路均对肿瘤的发生发展存在一定的影响。

肝癌是全球第六大最常见恶性肿瘤疾病，同时也是肿瘤相关死亡的四大因素之一[4-5]。在我国及一些发展中国家，肝病发病率较高且呈上升趋势[6-7]。多数患者在病情晚期时才就诊，只有约20%的患者可获得手术治疗的机会，并且患者在术后5年复发率达60%以上。早期就诊的肝癌患者仅5%~15%适合手术切除治疗。除此之外，肝癌易广泛转移，仍没有治疗肝癌转移的有效方法。目前，在临床治疗肝癌的方法中，仅手术、微创治疗具有较佳的效果。临床上常用的治疗肝细胞癌的分子靶向药物主要有多靶点酪氨酸激酶抑制剂，如Regorafenib、Sorafenib等[8]。长期使用Sorafenib会导致毒性和或药物无效的情况。其中Regorafeni是一种多激酶抑制剂，后者与其靶标特征部分重叠，但Regorafeni可更有效的治疗肝癌[9]，并延长生存期，降低死亡率。2017年FDA批准该药用于治疗先前接受索拉非尼治疗的晚期肝细胞癌患者、既往接受过伊马替尼及舒尼替尼治疗的局部晚期的、不能手术切除的或转移性胃肠道间质肿瘤病人，或者既往进行了氟尿嘧啶、奥沙利铂和伊立替康等为基础的化疗，又或者既往进行了或不适宜进行抗VEGF诊断、抗EGFR诊断（RAS野生型）或转移性结直肠癌患者。所以，要确定有效的治疗靶点和制定合理的护理方针，需要更好地了解肝癌发生、发展和转移的分子机制。

既往文献表明，在正常大脑功能发展过程中，谷氨酸神经元可以通过与不同干细胞群（包括神经元和少突胶质前体细胞）之间形成的功能性突触引起电路特异性反应[10]。突触AMPARs的数量可通过内吞作用、胞吐作用和内吞体分类来调节，其动态行为通常由蛋白质与蛋白质的相互作用调节。其转运对神经精神系统的病理生理有重大意义，并有利于新药的研究，可通过操纵此过程来治疗相关疾病[11]。调节肝功能、再生和疾病的交感神经及副交感神经系统支配其自主神经和感觉纤维，从而释放神经递质发挥作用[12]。自主神经和感觉神经纤维可调节肝功能、修复和再生的多个方面，包括脂质和葡萄糖代谢、胆汁分泌和损伤后细胞增殖等[13]。流行病学、实验动物研究表明，心理社会因素可通过诱导神经递质和或激素的释放来调节某些肿瘤的生长和进展，特别是在慢性应激中。由于现可从神经学的方向重新展示肝癌发生的神经-免疫学机制。当交感神经系统过度兴奋时，可能会影响多种系统的功能。肝脏的慢性炎症反应可通过交感神经系统释放多种神经递质调控，从而促进癌变的发生[14]。肝脏疾病的病理生理过程中，神经系统的调控效率高且作用显著。

神经系统在肝脏疾病的发生发展过程中具有重大意义，但该方面的研究国内报道较少。在以往研究中，课题组通过蛋白质组学方法获得了 GluA1 相互作用蛋白 273 个[3]，现未见这些蛋白与肝癌药物的作用靶点及预后关系的报道，故在本研究中探讨 GluA1 相互作用蛋白对其药物相关靶点、预后指标及诊断模型的作用和影响。

1 资料与方法

1.1 肝癌数据来源及数据处理

从 Xena 数据库（https://xenabrowser.net/）中获取肝癌（LIHC）转录组数据以及对应的临床数据，Xena 中获得的表达数据为 $\log^2$(count+1)，通过 expr2−1 将表达数据转换成原始 count 值。保留 75% 样本中表达的基因以及原发肿瘤和癌旁组织样本用于后续的差异表达分析。利用 R 语言的 limma 包标准流程对样本进行差异分析，采用 voom 方法进行数据标化，并通过 $|\log^2 fc|>0.585$ 以及 $P<0.05$ 鉴定差异表达基因。

1.2 肝癌预后相关基因鉴定

对鉴定到的差异基因以及 GluA1 相关基因取交集，并通过箱线图展示交集基因的表达量情况。随后对交集基因进行单因素 COX 分析，以确定其对患者生存预后的影响。另外，以基因表达量的中位值为阈值，将肿瘤样本划分为高风险组和低风险组，展示在 2 组中的生存曲线，以 $P<0.05$ 筛选具有显著生存差异的基因。最终将单因素 COX 分析和生存曲线分析的结果交集作为候选基因。并针对候选基因 HPA 数据库（The Human Protein Atlas）在肝癌组织及正常组织中蛋白表达水平的差异。

1.3 分子对接

将 1.2 中所筛选出的候选基因（蛋白）作为配体与 GluA1 进行蛋白分子对接检测。由于通过 RSCB pdb 网页（https://www.rcsb.org/）未检索到该 6 个蛋白相应的 X−ray 蛋白分子结构。通过 alphafold 网页（https://alphafold.ebi.ac.uk/）获取其对应的预测蛋白分子结构。受体和配体的 pdb 文件通过 gramm−x 网页工具（https://gramm.compbio.ku.edu/gramm）进行提交并计算其可能对接的相对空间方位，下载为复合体的蛋白分子结构。随后将其导入 pymol 软件进行可视化后，再利用 PDBePISA 数据库（https://www.ebi.ac.uk/pdbe/pisa/）进行复合体结合面的对接情况分析。

1.4 药物靶点分析

根据各种类型肝癌检索词筛选出药物，进一步检索该药物在临床上是否应用于肝癌的治疗，以及是否具有 FDA label 从而筛选符合的药物。随后在 Drugbank 中检索每个药物的作用靶点（包括 Targets、enzymes、TRANSPORTERS），将作用靶点与目的蛋白汇总，导入 string 数据库中构建网络互作关系。利用 cytoscape 软件进行总网络分析，包括：Betweenness Centrality Closeness Centrality Clustering Coefficient、Degree 的计算。最后针对总网络中 Degree 排名前 10 的蛋白绘制关键蛋白和药物靶点的网络互作图。

1.5 预后及诊断模型构建

对 1.4 筛查出的候选蛋白进行进一步多因素 COX 分析，并基于目的蛋白表达量构建了肝癌患者的诊断模型，将肝癌患者样本以及正常样本作为训练集用于二分类 logistic 回归模型的构建，使用受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线评估其模型性能。

1.6 统计学方法

数据清理部分中 Xena 数据为 $\log^2$(count+1)，通过 expr2−1 将表达数据转换成原始 count 值，并只保留在 75% 样本中表达的基因用于后续分析。利用 R 语言的 limma 包标准流程对样本进行差异分析，采用 voom 方法进行数据标化，并通过 $|\log^2 fc|>0.585$ 以及 $P<0.05$ 进行差异基因鉴定。单因素 COX 分析和多因素 COX 分析时 HR<1 为预后有利因素，HR>1 为预后不利因素。生存曲线分析以基因表达量的中位值为阈值将肿瘤样本划分成高风险组和低风险组，以 $P<0.05$ 为阈值进行筛选。基于 2 个基因表达量构建了肝细胞癌患者的诊断模型，且使用 ROC 曲线评估其模型性能。

2 结 果

2.1 肝癌数据库处理结果

从 Xena 数据库（https://xenabrowser.net/）中共获取 424 例肝癌转录组数据，通过 expr2−1 将转换成原始 count 值后保留 75% 样本中表达的基因，同时 424 例样本中仅保留 371 例原发肿瘤和 50 例癌旁组织样本的数据结果，用于后续分析。利用 R 语言的 limma 包标准流程对样本进行差异分析，采用 voom 方法数据标化后进行差异基因鉴定，最终鉴定到共 3 028 个差异基因，其中表达上调的基因有 1 487 个，表达下调的基因有 1 541 个（图 1）。

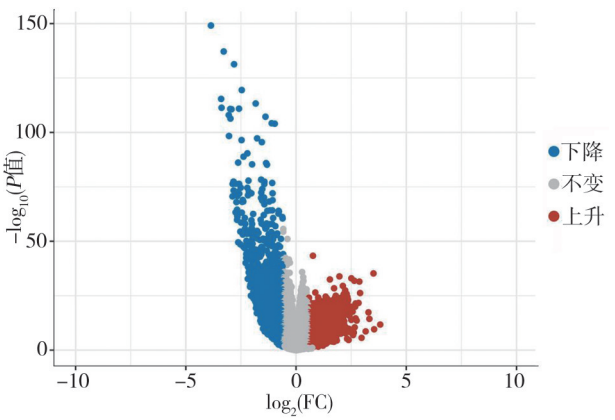
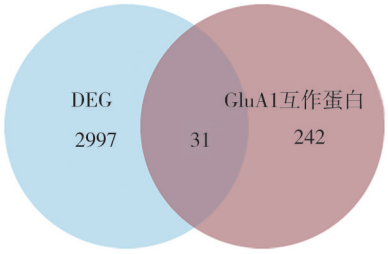


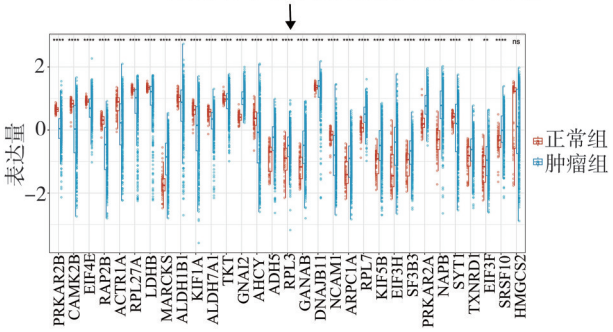
图 1 肝癌差异表达基因

2.2 预后及生存曲线分析筛查结果

针对前期已获得的GluA1相互作用蛋白以及2.1鉴定到的差异蛋白（基因）取交集得到31个蛋白（图2A），为PRKAR2B、CAMK2B、EIF4E、RAP2B、ACTR1A、RPL27A、LDHB、MARCKS、ALDH1B1、KIF1A、ALDH7A1、TKT、GNAI2、AHCY、ADH5、RPL3、GANAB、DNAJB11、NCAM1、ARPC1A、RPL7、KIF5B、EIF3H、SF3B3、PRKAR2A、NAPB、SYT1、TXNRD1、EIF3F、SRSF10、HMGCS2。其表达量情况如图2B所示，结果显示31个交集蛋白的表达量在肿瘤患者与正常人中存在差异。



A. GluA1互作蛋白以及肝癌差异基因（蛋白）取交集



B. 交集蛋白表达量

图2 GluA1互作蛋白及肝癌差异基因（蛋白）筛查

对31个交集基因进行单因素COX分析，*HR*<1为预后有利因素，*HR*>1为预后不利因素，其中*P*<0.05的基因共9个，为ARPC1A、ALDH1B1、DNAJB11、EIF3H、GNAI2、KIF1A、RPL3、RPL7、SRSF10（图3）。针对该31个基因进一步生存曲线分析，以*P*<0.05为阈值进行筛选后发现在高、低风险组中存在12个显著的生存差异蛋白，为ARPC1A、EIF3H、GNAI2、KIF1A、LDHB、SRSF10、SYT1、RAP2B、RPL27A、RPL3、KIF5B、TXNRD1（图4）。具体结果见于表1。随后最终以单因素COX和生存曲线分析结果的交集获得6个候选蛋白，为ARPC1A、EIF3H、GNAI2、KIF1A、SRSF10、RPL3。

针对以上6个候选蛋白进行蛋白水平在肝癌组织和正常组织切片的对照，结果显示GNAI2、RPL3、ARPC1A、EIF3H、SRSF10在肝癌患者切片中表达量明显高于正常组织水平，如图5所示。KIF1A未检索到相关结果。

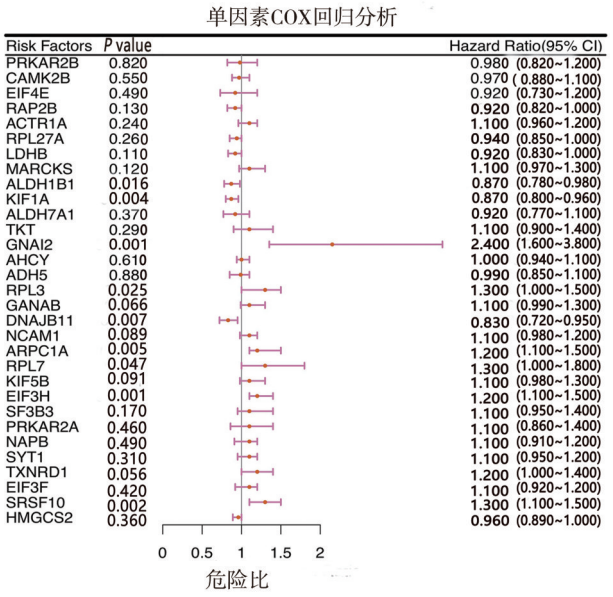


图3 预后分析

表1 交集蛋白预后及生存曲线分析结果

风险因素	风险比（95%CI）	单因素COX分析*P*值	生存曲线分析*P*值
ACTR1A	1.10（0.96~1.20）	0.240	0.780
ADH5	0.99（0.85~1.10）	0.880	0.753
AHCY	1.00（0.94~1.10）	0.610	0.592
ALDH1B1	0.87（0.78~0.98）	0.016	0.109
ALDH7A1	0.92（0.77~1.10）	0.370	0.508
ARPC1A	1.20（1.10~1.50）	0.005	0.016
CAMK2B	0.97（0.88~1.10）	0.550	0.823
DNAJB11	0.83（0.72~0.95）	0.007	0.662
EIF3F	1.10（0.92~1.20）	0.420	0.153
EIF3H	1.20（1.10~1.40）	0.001	0.001
EIF4E	0.92（0.73~1.20）	0.490	0.504
GANAB	1.10（0.99~1.300）	0.066	0.230
GNAI2	2.40（1.60~3.80）	0.001	0.001
HMGCS2	0.96（0.89~1.00）	0.360	0.885
KIF1A	0.87（0.80~0.96）	0.004	0.002
KIF5B	1.10（0.98~1.30）	0.091	0.011
LDHB	0.92（0.83~1.00）	0.110	0.001
MARCKS	1.10（0.97~1.30）	0.120	0.223
NAPB	1.10（0.91~1.20）	0.490	0.917
NCAM1	1.10（0.98~1.20）	0.089	0.061
PRKAR2A	1.10（0.86~1.40）	0.460	0.657
PRKAR2B	0.98（0.82~1.20）	0.820	0.482
RAP2B	0.92（0.82~1.00）	0.130	0.001
RPL27A	0.94（0.85~1.00）	0.260	0.020
RPL3	1.30（1.00~1.50）	0.025	0.036
RPL7	1.30（1.00~1.80）	0.047	0.146
SF3B3	1.10（0.95~1.40）	0.170	0.081
SRSF10	1.30（1.10~1.50）	0.002	0.001
SYT1	1.10（0.95~1.20）	0.310	0.031
TKT	1.10（0.90~1.40）	0.290	0.932
TXNRD1	1.20（1.00~1.40）	0.056	0.028

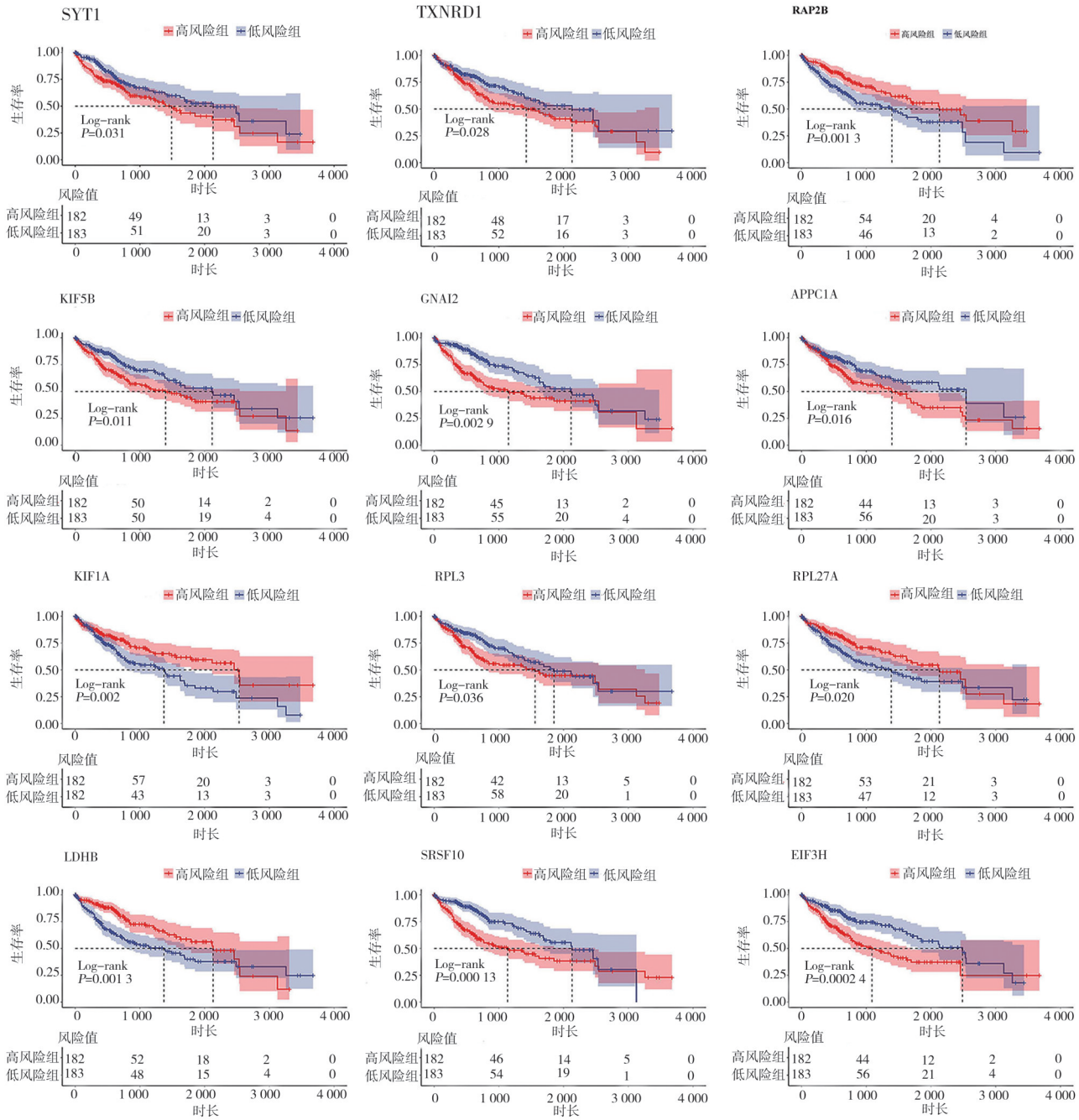


图 4　生存曲线分析

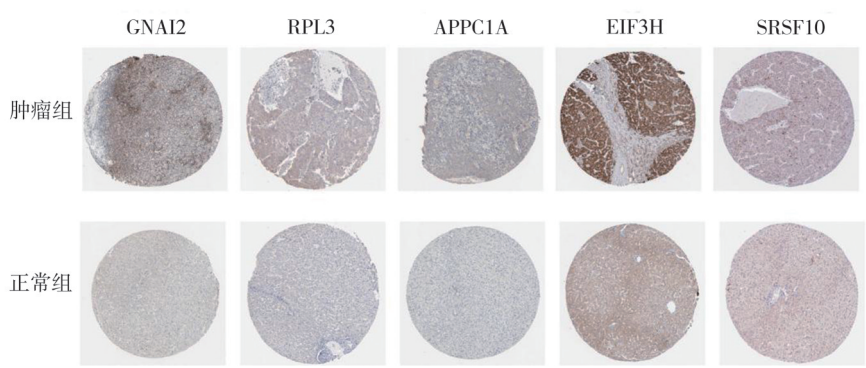


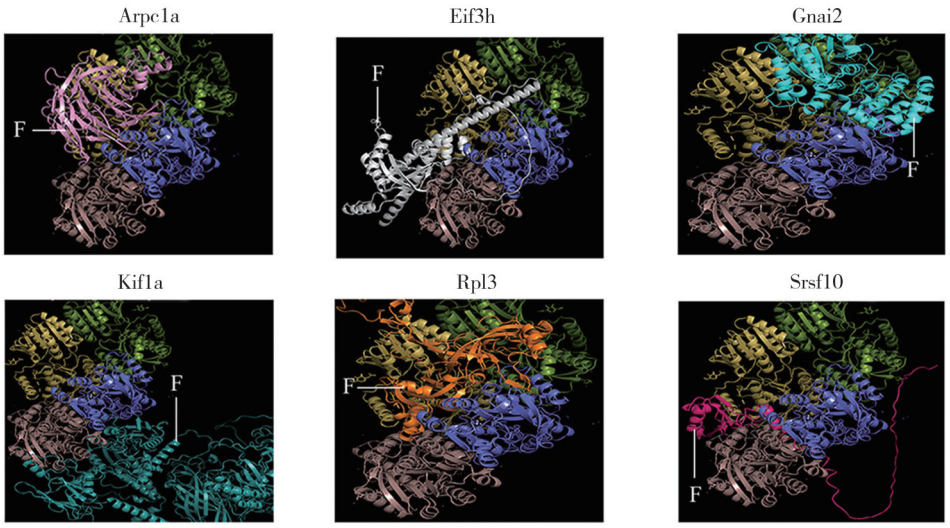
图 5　候选蛋白在肝癌与正常组织 IHC 切片表达量对比

2.3 分子对接结果

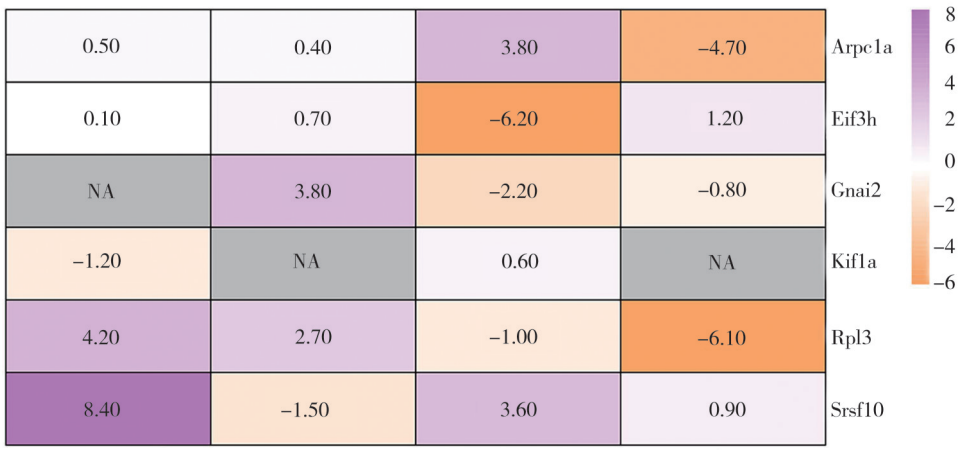
将2.2中所筛选出的6个GluA1相互作用蛋白KIF1A、GNAI2、RPL3、ARPC1A、EIF3H、SRSF10作为配体，GluA1作为受体，通过gramm-x网页工具（https://gramm.compbio.ku.edu/gramm）得到复合体的蛋白分子结构，将其导入pymol软件进行可视化（图6A）。再通过PDBePISA数据库（https://www.ebi.ac.uk/pdbe/pisa/）分析复合体结合面的对接情况，得到GluA1的4个亚基与6个相互作用蛋白的结合面积、结合能、化学键及*P*值。*P*值是界面特异性的度量，显示了界面在能量方面的程度。结果显示结合能热图如图6B所示，其揭示了GluA1的4个亚基与6个互作蛋白具有结合能稳定性。以上结果说明KIF1A、GNAI2、RPL3、ARPC1A、EIF3H、SRSF10与GluA1具有很强的亲和力。

2.4 药物分析

根据检索词liver cancer、hepatocellular cancer、cancer of liver、cancer of the liver、gastrointestinal cancers-liver、cancer liver、heptocellular cancer、hepatic cancer、hepatic tumour malignant、hepatocellular carcinoma、primary hepatocellular carcinoma、combined hepatocellular carcinoma、cholangiocarcinoma、Intraheptic cholangiocarcinoma，筛选出16个肝癌相关药物，为cabozantinib、capecitabine、ipilimumab、nivolumab、pembrolizumab、ramucirumab、regorafenib、atezolizumab、durvalumab、lenvatinib、sorafenib、tremelimumab、ivosidenib、futibatinib、uracil。随后针对16个肝癌相关药物进行检索，发现其在临床上是否应用于肝癌的治疗以及具有FDA label的药物共8个，为cabozantinib、ramucirumab、regorafenib、lenvatinib、nivolumab、atezolizumab、durvalumab、tremelimumab。最终在Drugbank中检索每个药物的药物靶点，汇总去重复后总计41个药物靶点，并将其与6个候选蛋白导入string数据库后发现KIF1A、ARPC1A与药物靶点不存在互作关系，故不纳



A. GluA1不同亚基与6个候选蛋白的分子对接



B. GluA1不同亚基与6个候选蛋白的结合能热图

注：GluA1的4个亚基与F配体蛋白结合后得到复合体，针对其蛋白分子结构观察其结合面，并分析其结合能。目标蛋白GluA1有4个亚基，为GluA1-A/B/C/D；F则指配体蛋白Arpc1a、Eif3h、Gnai2、kif1a、Rpl3、Srsf10

图6 GluA1不同亚基与6个候选蛋白的分子对接及其结合能热图

入后续分析。随后进一步使用 cytoscape 软件绘制其余 4 个目的基因与肝癌的总网络图（图 7），在总网络中根据 Degree 排名筛选得到肝癌药物靶点中最核心的 10 个药物靶点，并绘制其网络互作图（图 7）。结果显示仅 GNAI2、SRSF10 作为药物的二级靶点分别与 MAPK11、ABL1 一级药物靶点相互作用，从而有利于提高 Regorafenib 药物在临床上治疗肝癌的疗效。

2.5　预后及诊断模型建立

针对 2 个目的蛋白 GNAI2、SRSF10 进一步分析，发现其同时在单因素以及多因素 COX 分析中对患者的生存有明显影响（P<0.05），具体结果见表 2。这提示 GNAI2、SRSF10 是独立于其他因素（如：年龄、Grade 分期、性别、人种）的预后指标。在多因素 COX 分析下 *HR* 分别为 GNAI2：2.38，SRSF10：1.18，均>1。结果表明高表达的 GNAI2、SRSF10 可能不利于肝癌患者的预后，为不利预后因素（图 8）。

鉴于 GNAI2、SRSF10 在肝癌患者中的显著作用，本研究基于其表达量构建了肝癌患者的诊断模型，将 356 例肝癌患者样本（其中 355 例为 HCC 患者）以及 50 例正常样本作为训练集用

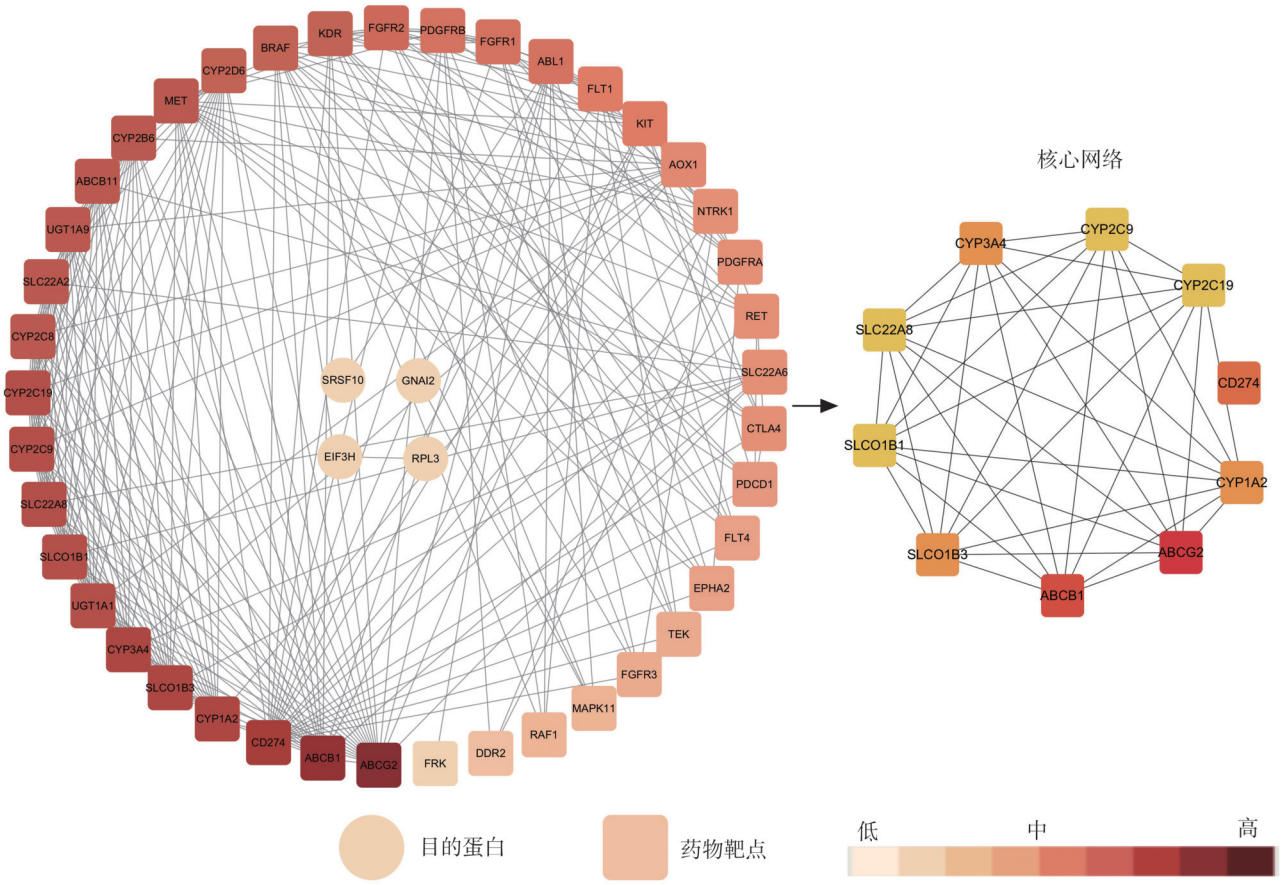


图 7　目的蛋白与肝癌药物靶点相互作用网路图

表 2　多因素 COX 分析结果

项目	coef	Exp(coef)	*SE*(coef)	*Z*	*P*
GNAI2	0.868	2.383	0.242 00	3.584	0.001
SRSF10	0.169	1.184	0.083 00	2.049	0.040
AgeMiddle	−0.239	0.787	0.200 16	−1.196	0.232
AgeYoung	−0.368	0.692	0.596 28	−0.618	0.537
GradeG2	0.041	1.042	0.279 10	0.148	0.883
GradeG3	−0.039	0.961	0.306 49	−0.128	0.898
GradeG4	0.285	1.330	0.547 12	0.521	0.602
Genderfemale	0.084	1.088	0.201 65	0.417	0.676
Raceblack	0.550	1.733	0.429 34	1.281	0.200
Racewhite	0.158	1.171	0.227 54	0.694	0.488

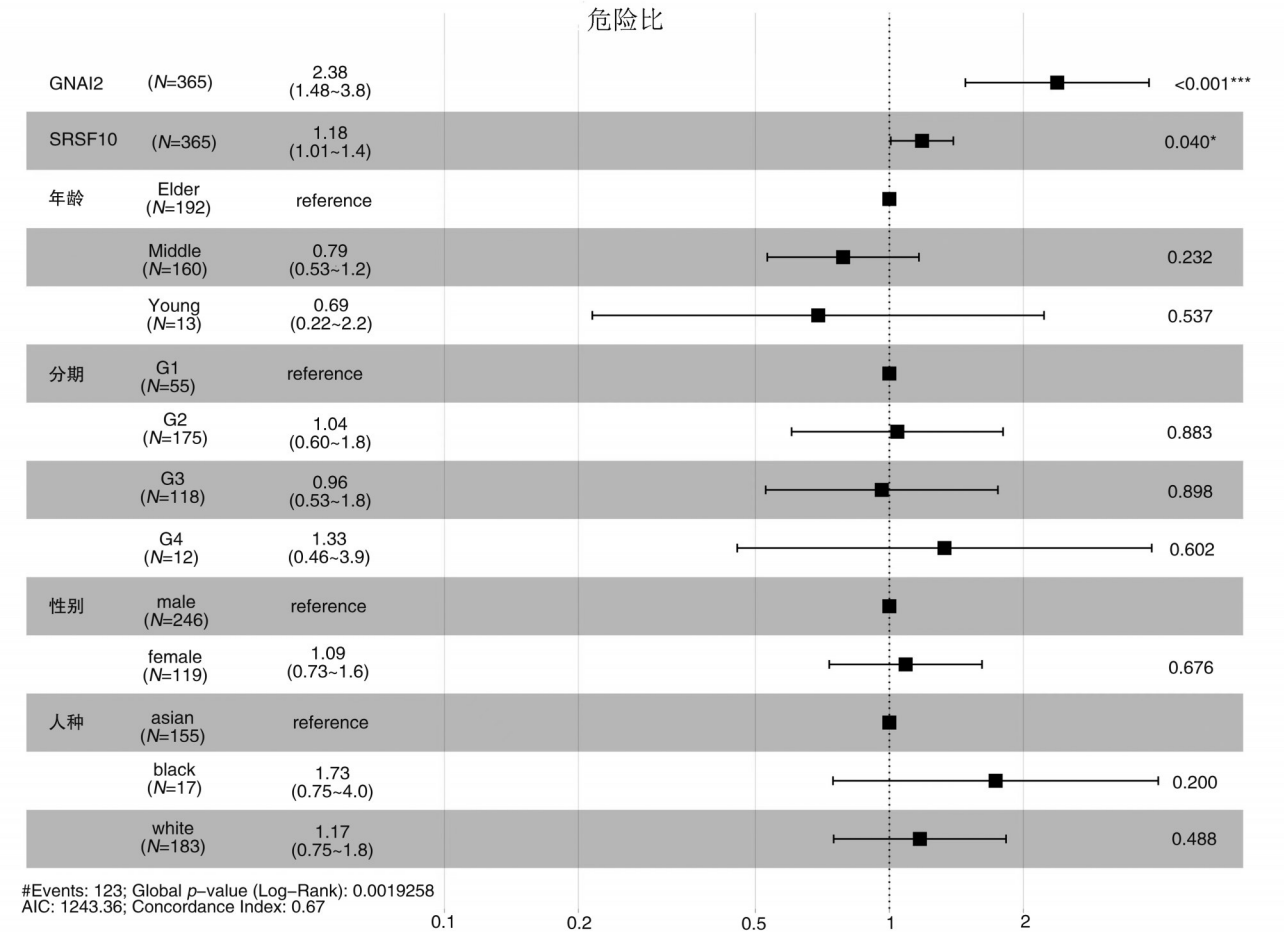


图 8　GNAI2、SRSF10 多因素 COX 分析

于二分类 logistic 回归模型的构建，经过模型拟合，得到两基因系数分别为 GNAI2：11.845 5，SRSF10：−0.203 7，并得到诊断模型 $prob=\frac{1}{1+\exp(0.203\,7\times SRSF10-5.742\,5-11.845\,5)\times GNAI2}$。最终使用 ROC 曲线评估该模型的性能，其在训练集上的曲线下面积（area under the curve，AUC）为 0.971。这表明该诊断模型具备较高的准确性且性能优异，对肝癌的诊断存在重大意义（图 9）。

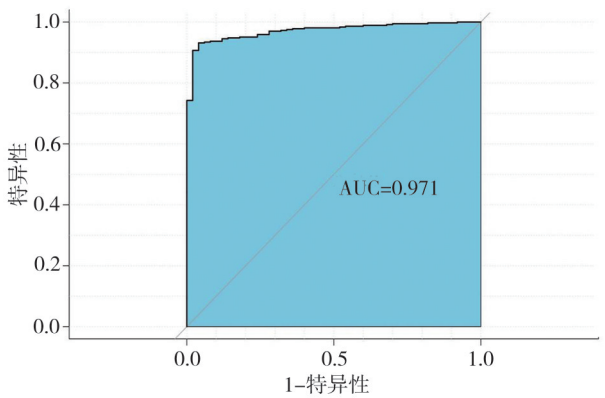


图 9　GNAI2、SRSF10 ROC 曲线

3　讨　论

AMPAR 通过同源性筛选确定有 4 个亚基（GluA1~GluA4），每个亚基的分子量为 95~105 kD[15]。在哺乳动物的中枢神经系统传递过程中，AMPAR 介导的兴奋性突触传递最为快速，其长时间激活具有强烈的神经毒性。除此之外，突触表达的发育和活动也受到了严格的细胞调节[3,15]。以往研究表明，大多数抗 AMPAR 脑炎患者并发多种肿瘤，如胸腺瘤、小细胞肺癌、乳腺癌和卵巢癌等[16]，故推测 GluA1 与肿瘤可能密切相关。

肝癌的发生非常复杂，可能与多个肝癌相关基因表达异常以及其他因素有关。临床上肝细胞癌最常发生在肝硬化的情况下，并且大多数患者在肝癌晚期才被诊断出来，因此预后通常较差。目前，临床获益的治疗方案选择有限。全身治疗，特别是常规细胞毒性药物通常无效。近年来，肿瘤分子靶向治疗的基础研究和临床试验越来越多，其原理是

通过调控肿瘤相关基因的表达来抑制肿瘤细胞的生长。分子靶向治疗的特异性较强，能够更好地应用于患者的个体化治疗。迄今为止，HCC的临床试验已经评估了单靶点治疗，或2种及2种以上靶点的治疗方案[17]。以往研究中表明，Regorafenib是一种多靶点受体酪氨酸激酶抑制剂，其控制的激酶包括与血管（淋巴管）生成相关的血管内皮生长因子，与肿瘤微环境相关的血小板衍生生长因子受体-β、成纤维细胞生长因子受体，与肿瘤细胞增殖相关的3种原癌激酶。这些激酶与肿瘤细胞血管生成、细胞增殖和微环境相关。在Ⅲ期RESOUCE研究中，Regorafenib降低了37%的死亡率，相比安慰剂客观缓解率分别为11%、4%[18]。结果表明Regorafenib改善了Sorafenib一线治疗期间疾病进展的肝细胞癌患者的总生存率，虽然靶点特征与Sorafenib部分重叠，但Regorafenib更为有效[9,18]。在本研究中，结果显示GNAI2、SRSF10作为药物二级靶点分别与ABL1、MAPK11一级药物靶点相互作用，从而提高Regorafenib在临床上治疗肝细胞癌的疗效。其中ABL1是一种非受体酪氨酸激酶，调节多种细胞过程，控制细胞生长、存活、侵袭、黏附和迁移。以往研究显示Regorafenib可靶向ABL1抑制其活性从而治疗癌症患者[19]。丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPKs）在信号转导途径中发挥重要作用，并能够通过底物蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶蛋白级联的顺序磷酸化来控制细胞内过程，如细胞存活、分化、增殖和凋亡。其中p38MAPK蛋白与许多癌症病理有关，p38β（MAPK11）和p38α，以及下游MAPKs MK2/3/5是基因表达和细胞周期进程的关键调控因子，在应激和许多病理过程（包括炎症和癌症）中被激活[20]。以往研究显示circ_0001955通过抑制miR-516a-5p释放TRAF6和MAPK11的表达促进HCC的发生[21]。Regorafenib可靶向MAPK11抑制肿瘤的生长从而治疗HCC患者。除此之外，DrugBank数据库仅有关于药品及其靶点、相关的生物或生理结果定量分析和分子量的数据，但缺乏关于药物时间与肝癌疗效的临床详尽数据，因此本研究没有进行药物敏感性研究。

疾病的预后对于癌症管理至关重要，并且由于临床病理参数的局限性，对于许多恶性肿瘤来说仍然是一个挑战。由于基因组、转录组和大数据技术的发展，现在能够详细探索肿瘤的分子机制并确定其临床相关性。通过将肿瘤分组，预后基因表达的各项表征有益于患者的治疗，并为患者提供了个性化治疗方案的指导[22]。在以往研究中，为了构建预后模型，应用并验证了COX比例风险回归分析，最终确定了目的基因作为基于准确性和可行性诊断HCC的特异性生物标志物，并使用诊断模型的曲线下面积评估有效性[23]。GNAI2是一种信号调节剂及换能器，参与多种跨膜信号传导系统[24-25]、细胞损伤和炎症反应[26]、肿瘤发生[24]、肝缺血再灌注损伤[27]等。除此之外GNAI2主要在免疫细胞中表达，对调节细胞活力和迁移中也起着重要作用[28]。肝癌局部组织及不同人肝癌细胞中GNAI2在转录和翻译水平表达均升高。在患者原发性HCC细胞和细胞株HepG2中，沉默GNAI2基因的表达能够诱导细胞周期阻滞和激活caspase依赖性细胞凋亡途径，最终显著抑制肿瘤细胞的增殖和迁移[29]。一些信号通路的异常也与HCC的发生发展密切相关。SR蛋白作为剪接激活因子，参与RNA的剪切过程。SRSF10复合物作为SREK1L的剪接调节因子，其表达水平的上调能够促进肝癌的发生。组织芯片和基因敲出实验证明了SRSF10/SREK1L/B-T信号环路的激活能够促进肝癌的发生[30]。然而，中枢神经系统中高表达的SRSF10对维持大脑正常功能具有重要作用，这是因为在大脑发育过程中前体mRNA的选择性剪接起着关键作用[31]。以往研究发现，在多基因表达图谱分析和TCGA数据集中，HCC中SRSF10的含量高于正常组织，并且与低总生存率相关。在以往蛋白组学分析中也显示SRSF10在sirt1介导的HCC肿瘤发展中含量丰富。除此之外，多项临床病理参数显示HCC组织SRSF10（n=74）与肿瘤分级和大小高度相关。此外，SRSF10的高表达能够刺激HCC细胞的生长和侵袭，导致了HCC的恶性表型，其发生机制是因为5个参与增殖和代谢的关键基因与SRSF10表达呈正相关[32]。本研究通过单因素以及多因素COX分析后发现GNAI2和SRSF10对肝癌患者的生存均存在显著影响，均为不利预后因素。肝癌患者的诊断模型中，GNAI2和SRSF10的*HR*系数分别为11.845 5、-0.203 7，且该模型在训练集上的AUC指标为0.971，性能优异（其纳入对象基本为HCC患者）。

综上所述，本研究结果结合以往文献证明了GluA1相互作用蛋白GNAI2和SRSF10分别与MAPK11、ABL1一级药物靶点相互作用，从而有利于提高Regorafenib药物在临床上治疗肝细胞癌的疗效，其高表达一定程度上抑制肝癌细胞的生长、

迁移和侵袭。除此之外，GNAI2、SRSF10可作为独立于其他因素（如年龄、等级分期、性别、人种）的不利肝细胞癌预后指标，构建的诊断模型在一定程度上具备较高的准确性。本研究提供的数据可能在未来为肝细胞癌的预后和诊断提供一种新方法。

参 考 文 献

[1] Wu QL, Gao Y, Li JT, et al. The role of AMPARs composition and trafficking in synaptic plasticity and diseases[J]. Cell Mol Neurobiol, 2022, 42(8): 2489-2504.

[2] Mishra S, Knupp A, Szabo MP, et al. The Alzheimer's gene SORL1 is a regulator of endosomal traffic and recycling in human neurons[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(3): 162.

[3] Liu YC, Zhang MM, Liu Z, et al. A strategy can be used to analyze intracellular interaction proteomics of cell-surface receptors[J]. Amino Acids, 2023, 55(2): 263-273.

[4] Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system[J]. Histopathology, 2020, 76(2): 182-188.

[5] 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 Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[6] Xia CF, Dong XS, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J, 2022, 135(5): 584-590.

[7] Liu ZQ, Xu KL, Jiang YF, et al. Global trend of aetiology-based primary liver cancer incidence from 1990 to 2030: a modelling study[J]. Int J Epidemiol, 2021, 50(1): 128-142.

[8] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7: 6.

[9] Killock D. Liver cancer: regorafenib-a new RESORCE in HCC[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(2): 70-71.

[10] Venkataramani V, Tanev DI, Strahle C, et al. Glutamatergic synaptic input to glioma cells drives brain tumour progression[J]. Nature, 2019, 573(7775): 532-538.

[11] Zhang JF, Li J, Yin YC, et al. Collapsin response mediator protein 2 and endophilin2 coordinate regulation of AMPA receptor GluA1 subunit recycling[J]. Front Mol Neurosci, 2020, 13:128.

[12] Miller BM, Oderberg IM, Goessling W. Hepatic nervous system in development, regeneration, and disease[J]. Hepatology, 2021, 74(6): 3513-3522.

[13] Mizuno K, Ueno Y. Autonomic nervous system and the liver[J]. Hepatol Res, 2017, 47(2): 160-165.

[14] Huan HB, Wen XD, Chen XJ, et al. Sympathetic nervous system promotes hepatocarcinogenesis by modulating inflammation through activation of alpha1-adrenergic receptors of Kupffer cells[J]. Brain Behav Immun, 2017, 59: 118-134.

[15] Yu J, Rao P, Clark S, et al. Hippocampal AMPA receptor assemblies and mechanism of allosteric inhibition[J]. Nature, 2021, 594(7863): 448-453.

[16] Zhang TY, Cai MT, Zheng Y, et al. Anti-alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor encephalitis: a review[J]. Front Immunol, 2021, 12: 652820.

[17] Alqahtani A, Khan Z, Alloghbi A, et al. Hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and targeted therapies[J]. Medicina, 2019, 55(9): 526.

[18] Bruix J, Qin SK, Merle P, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. Lancet, 2017, 389(10064): 56-66.

[19] Bush KT, Boichard A, Tsigelny IF. In vitro elucidation of drug combination synergy in treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Anticancer Res, 2018, 38(4): 1967-1977.

[20] Katopodis P, Kerslake R, Zikopoulos A, et al. p38β - MAPK11 and its role in female cancers[J]. J Ovarian Res, 2021, 14(1): 84.

[21] Yao ZC, Xu RY, Yuan L, et al. Circ_0001955 facilitates hepatocellular carcinoma (HCC) tumorigenesis by sponging miR-516a-5p to release TRAF6 and MAPK11[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(12): 945.

[22] Qian YQ, Daza J, Itzel T, et al. Prognostic cancer gene expression signatures: current status and challenges[J]. Cells, 2021, 10(3): 648.

[23] Gholizadeh M, Mazlooman SR, Hadizadeh M, et al. Detection of key mRNAs in liver tissue of hepatocellular carcinoma patients based on machine learning and bioinformatics analysis[J]. MethodsX, 2023, 10: 102021.

[24] Li ZW, Sun BC, Gong T, et al. GNAI1 and GNAI3 reduce colitis-associated tumorigenesis in mice by blocking IL6 signaling and down-regulating expression of GNAI2[J]. Gastroenterology, 2019, 156(8): 2297-2312.

[25] Hu SS, Dai YY, Bai SC, et al. GNAI2 promotes proliferation and decreases apoptosis in rabbit melanocytes[J]. Genes, 2021, 12(8): 1130.

[26] Lu Y, Xi J, Zhang Y, et al. SNHG1 inhibits ox-LDL-induced inflammatory response and apoptosis of HUVECs via up-regulating GNAI2 and PCBP1[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 703.

[27] Sun QK, He QF, Xu JB, et al. Guanine nucleotide-binding protein G(i)α2 aggravates hepatic ischemia-reperfusion injury in mice by regulating MLK3 signaling[J]. FASEB J, 2019, 33(6): 7049-7060.

[28] Zhang SY, Wang H, Liu J, et al. RGS1 and related genes as potential targets for immunotherapy in cervical cancer: computational biology and experimental validation[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 334.

[29] Chen MB, Li ZF, Gu CT, et al. Identification of G protein subunit alpha i2 as a promising therapeutic target of hepatocellular carcinoma [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2): 143.

[30] Chang CJ, Rajasekaran M, Qiao YT, et al. The aberrant upregulation of exon 10-inclusive SREK1 through SRSF10 acts as an oncogenic driver in human hepatocellular carcinoma[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1363.

[31] Li JJ, Jiang HY, Mu YW, et al. SRSF10 regulates proliferation of neural progenitor cells and affects neurogenesis in developing mouse neocortex[J]. iScience, 2023, 26(7): 107042.

[32] Liu XM, Zheng YQ, Xiao MQ, et al. SRSF10 stabilizes CDC25A by triggering exon 6 skipping to promote hepatocarcinogenesis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 353.

（责任编辑：周一青）