口腔医学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001329

基于 Oncomine 荟萃分析 HJURP 基因在头颈部癌中的表达和预后研究

赵莉琳[1]，陈雁南[2]，胡　渝[2]，周丽丽[3]

（1. 重庆医科大学附属第一医院口腔科，重庆　400010；2. 重庆市人民医院口腔科，重庆　400013；
3. 重庆市人民医院急诊科，重庆　400013）

【摘　要】**目的**：阐述 HJURP 基因（holliday junction recognition protein）在头颈部癌及正常组织中的表达及对预后影响。**方法**：挖掘 Oncomine 数据库中头颈部癌 HJURP 基因相关数据，并结合 ArrayExpress 中芯片数据集进行生存分析。**结果**：Oncomine 数据库中，针对不同癌症，HJURP 基因癌组织/正常组织表达量分析共有 383 个结果，其中在癌组织中显著高表达的有 125 个结果，低表达的仅 18 个结果。有 13 个数据集共 27 个分析涉及 HJURP 在头颈部癌组织/正常组织中的表达，其中 8 个分析结果显示 HJURP 在头颈部癌组织中显著高表达，仅一个分析结果显示其在癌组织中低表达。通过对 ArrayExpress 中 E-TABM-302 芯片数据集生存分析表明，HJURP 的表达量与预后存在明显负相关性，即 HJURP 表达量越高，总体生存越差。**结论**：通过整合 Oncomine 芯片数据和生存相关芯片数据，首次提出 HJURP 在头颈部癌中高表达且对预后有不良影响，为肿瘤药物的开发提供了潜在靶点。

【关键词】头颈部癌；Oncomine；HJURP；生存分析

【中图分类号】R739.81　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-03-21

Expression and prognosis of HJURP gene in head and neck cancer based on Oncomine Meta analysis

Zhao Lilin[1]，*Chen Yannan*[2]，*Hu Yu*[2]，*Zhou Lili*[3]

（*1. Department of Stomatology，The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University；2. Department of Stomatology，Chongqing General Hospital；3. Department of Emergency，Chongqing General Hospital*）

【Abstract】***Objective***：To clarify expression level of holliday junction recognition protein（HJURP）in head and neck cancer and its association with prognosis. ***Methods***：Data from Oncomine was used for HJURP expression analysis and dataset from ArrayExpress was used for survival analysis. ***Results***：For different diseases in Oncomine，383 analysis results were found for HJURP，125 of which were significantly highly expressed in cancer tissues while only 18 of which were down regulated in cancer tissues. Thirteen datasets including twenty seven analysis were involved in head and neck cancer vs. normal for HJURP. Eight analysis showed that HJURP was up regulated and only one analysis showed the opposite result. Survival analysis was performed using E-TABM-302 dataset indicating that HJURP expression level had negative relationship with head and neck cancer prognosis. ***Conclusion***：HJURP is up regulated in head and neck cancer by microarray analysis and can be used as a potential prognostic biomarker.

【Key words】head and neck cancer；Oncomine；holliday junction recognition protein；survival analysis

最近几年，高通量测序和分析的应用逐渐成为癌症组学研究的强大工具，其中芯片分析是目前发展比较成熟的分析工具之一。然而由于实验人员操作、测序平台、分析方法等的不同，导致分析结果有较大偏差[1-4]。研究发现，数据的整合分析可消除以上因素的影响，得到更令人信服的结果，目前已广泛应用在多种癌症分析中。Oncomine 是目前发展得比较成熟的肿瘤表达谱数据库，采集了 715 个癌症的芯片数据，涉及 19 种不同的癌症类型，包含总共 86 733 个芯片样本数据，而且该数目还在持续增加当中。利用 Oncomine 可以方便地进行差异表达基

作者介绍：赵莉琳，Email：zhaolilin263@163.com，
研究方向：牙体牙髓牙周疾病及颌面部肿瘤。

通信作者：陈雁南，Email：julius213@qq.com。

优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170622.1636.042.html（2017-06-22）

因分析，寻找潜在感兴趣的基因；其高效的分析能力和大量的样本保证分析结果具有极大的参考价值。通过 Oncomine 数据库挖掘，在头颈部癌中发现了一个新的潜在癌基因 HJURP（holliday junction recognition protein）。

研究发现，HJURP 基因在染色体稳定性调节过程中具有重要功能，它与真菌蛋白 Scm3 结构和功能相似且高度保守[5-8]。作为特异性分子伴侣，HJURP的 N 端与 CENP-A 结合，可介导其在着丝粒的沉积[9-12]，其 C 端二聚体的形成对 CENP-A 的结合也至关重要[13]，而 CDK1 磷酸化 CENP-A 后则会抑制其与 HJURP 的结合[14]。最近研究发现，HJURP 的中部区域与 Mis18 复合蛋白 M18BP1/KNL2 有关，形成的 HJURP-M18BP1 对 HJURP 作用发挥非常关键[9]。HJURP 在不同家鼠中表达量不一致，推测可能与其对不同环境的适应有关[15]。

目前在肿瘤研究中已经发现，HJURP 在肺癌和乳腺癌中高表达，并且可以作为乳腺癌的预后标志物[16-19]，在神经胶质瘤中其高表达也与肿瘤恶化显著相关[20-22]。尽管如此，HJURP 基因在其他类型肿瘤中的作用还不清楚，本课题组尤其关心其在头颈部癌中的作用。

通过在 Oncomine 数据库中整合分析所有头颈部癌中的数据，发现 HJURP 在头颈部癌中高表达；通过对 E-TABM-302 芯片生存数据的分析，发现其高表达对预后有不良影响，为头颈部癌症治疗提供了新的靶标。

1 材料和方法

1.1 数据提取

Oncomine 中数据提取，设定搜索条件为：①Gene：HJURP；②Analysis Type：Head and Neck Cancer vs. Normal Analysis；③分析参数为 P-value<0.05，Fold change=all，Gene rank=top 10%。

Kolesnikov 等[23]收录了大量功能基因组学数据和经过初步处理的高通量测序实验数据。从中提取 E-TABM-302 进行后续分析。E-TABM-302 是一个头颈部鳞状细胞癌转录本芯片数据库，共包含 81 例病人样本数据，详细记录了病人年龄、性别、病情状态、生存情况等信息。下载该基因芯片数据，提取 HJURP 表达数据，结合生存时间和最终生存状态数据进行生存分析。

1.2 统计学分析

头颈部癌组织与正常组织 HJURP 基因表达差异采用 t 检验，HJURP 基因表达量与预后的关系（生存分析）采用 Kaplan-Meier 模型和 Log-rank 检验，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 HJURP 在所有肿瘤中的表达结果

Oncomine 数据库中共检索到 383 个不同疾病类型的统计结果（图 1），其中有 125 个结果显示 HJURP 在癌组织中高表达，包括乳腺癌、结直肠癌、肺癌、肉瘤、头颈部癌等；18 个结果显示其可能低表达，且主要集中在膀胱癌、白血病等癌症。头颈部癌中有 8 个结果显示 HJURP 基因在癌组织中高表达，仅 1 个结果显示其可能低表达。

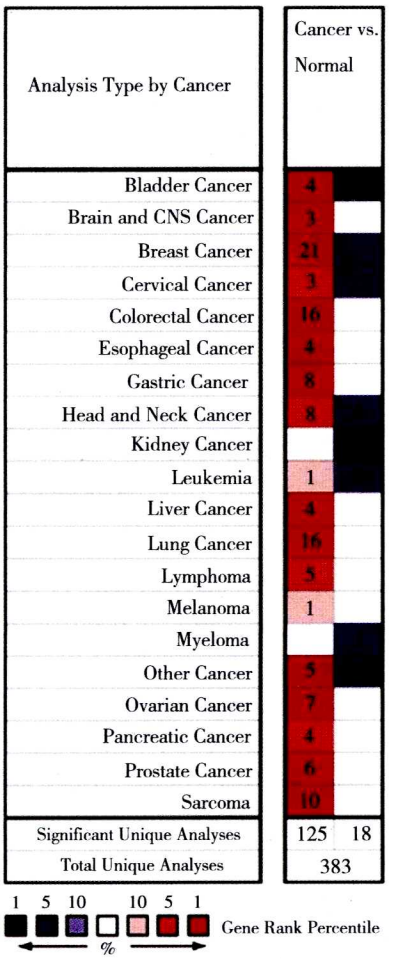


图 1 Oncomine 中 HJURP 基因在多种肿瘤研究中的表达情况

Fig.1 The HJURP expression of different cancer types in Oncomine database

2.2 HJURP 在头颈部癌中的表达情况

在 Oncomine 数据库中，共发现 8 个头颈部癌相关的数据库通过筛选条件。剔除 2 个甲状腺癌数据库和 1 个多种肿瘤数据库，获得 5 个数据库共 224 例样本中 HJURP 基因表达汇总情况（图 2）。分析结果显示，HJURP 基因在所有差异表达基因中其中位数值排名为 884，P=0.000，进一步显示其在头颈部癌组织中明显高表达。

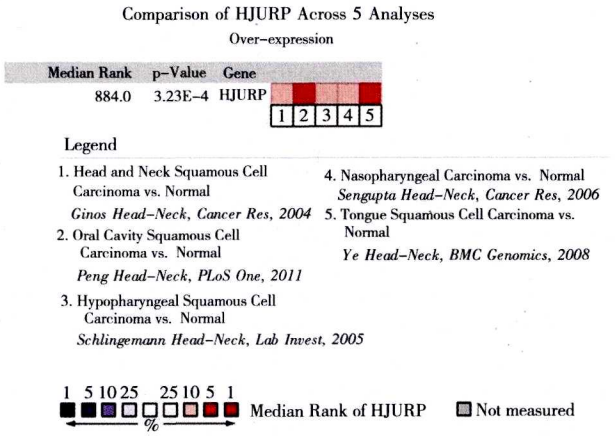


图 2 Oncomine 数据库中 HJURP 在头颈部癌研究中的汇总表达情况

Fig.2 The HJURP expression of head and neck squamous cell carcinomas in Oncomine database

2.3 HJURP 在头颈部癌芯片研究中，癌组织与正常组织的表达差异

挑选上述 5 个数据库进行箱图比较分析，结果显示 HJURP 在头颈部肿瘤中的表达量均明显高于对照组。见图 3。

2.4 HJURP 表达量与头颈部癌预后的关系

为进一步研究 HJURP 基因表达与病人预后的关系，我们下载了 E-TABM-302 中的数据，其中包含头颈部癌病人的生存数据。利用 Kaplan-Meier 生存分析和 Log-rank 检验做 HJURP 基因生存曲线图，发现 HJURP 的表达与头颈部癌病人预后显著相关，且其表达量越高，其预后越差（P=0.030，Log-rank 检验）。见图 4。

3 讨 论

头颈部肿瘤是世界上最常见的十大肿瘤之一[24]。世界范围内，有大约 650 000 例病人新诊断出头颈部肿瘤，其中超过 90%是鳞状细胞癌[25-26]。解剖学上，头颈部肿瘤指颅底至锁骨上（不包括颈椎）部分的肿瘤，包括颈部肿瘤、耳鼻喉科肿瘤和口腔颌面部肿瘤 3 部分。其中，颈部肿瘤主要包括甲状腺癌和原发灶不明的颈部转移癌；耳鼻喉科肿瘤主要包括鼻腔癌、鼻咽癌、鼻窦癌和喉癌；口腔颌面部肿瘤主要包括颊黏膜癌、唇癌、舌癌、口底癌、齿龈癌等[27]。由于肿瘤位置特殊及治疗中产生的毒副作用影响，病人往往会经受巨大折磨，对生活及心理产生极大影响[28-29]，例如吞咽问题、语言问题、疼痛、心理压力乃至自尊丧失[30]。因此，发现有效的头颈部肿瘤标志物对了解肿瘤成因及病人预后起到关键作用。

通过 Oncomine 数据库的整合分析发现，一个在头颈部肿瘤中高表达的基因 HJURP。目前研究已经发现，该基因在肺癌、乳腺癌和神经胶质瘤中高表达，且其高表达与乳腺癌和神经胶质瘤的预后显著相关。然而该基因在头颈部肿瘤中的研究相对较少。对该基因在不同癌症类型中表达情况分析，发现 HJURP 在绝大多数癌症中高表达，其中包括头颈部肿瘤。进一步在头颈部肿瘤研究中剔除甲状腺癌数据库和一个多肿瘤数据库，选取剩余 5 个头颈部肿瘤数据库分析，发现 HJURP 在 5 个数据库中

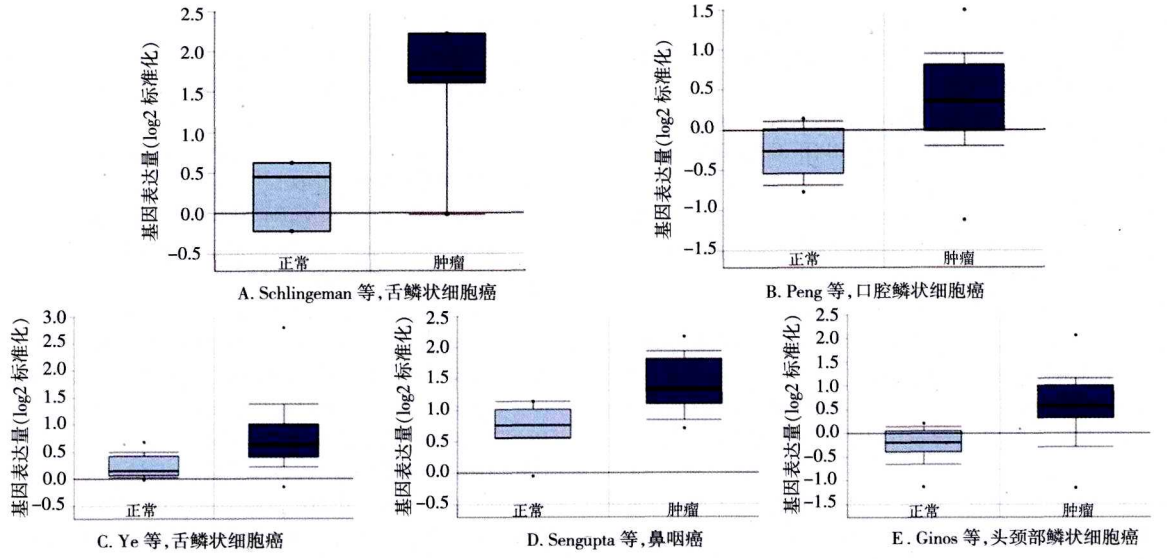


图 3 HJURP 在不同头颈部癌芯片数据集中的表达情况

Fig.3 The expression of HJURP in five head and neck squamous cell carcinomas datasets

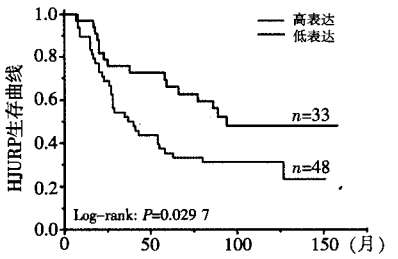


图 4 芯片数据库 E-TABM-302 中 HJURP 与预后的关系

Fig.4 HJURP expression level having negative relationship with head and neck cancer prognosis（E-TABM-302 dataset）

均高表达。结合芯片数据库 E-TABM-302 作生存分析，发现 HJURP 表达量越高，其生存越差。

本研究充分利用已经发表的芯片数据库信息，结合 Oncomine 发现了一个强健的头颈部肿瘤标志物，为肿瘤标志物研究提供了良好范例，同时为 HJUREP 致病机制研究奠定了基础。

参 考 文 献

[1] Mas VR, Fisher RA, Archer KJ, et al. Genes associated with progression and recurrence of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients waiting and undergoing liver transplantation: preliminary results [J]. Transplantation, 2007, 83(7): 973-981.

[2] Pinato DJ, Pirisi M, Maslen L, et al. Tissue biomarkers of prognostic significance in hepatocellular carcinoma[J]. Adv Anat Pathol, 2014, 21(4): 270-284.

[3] Somura H, Iizuka N, Tamesa T, et al. A three-gene predictor for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy[J]. Oncol Rep, 2008, 19(2): 489-495.

[4] Woo HG, Park ES, Cheon JH, et al. Gene expression-based recurrence prediction of hepatitis B virus-related human hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(7): 2056-2064.

[5] Williams JS, Hayashi T, Yanagida M, et al. Fission yeast Scm3 mediates stable assembly of Cnp1/CENP-A into centromeric chromatin[J]. Mol Cell, 2009, 33(3): 287-298.

[6] Sanchez-Pulido L, Pidoux AL, Ponting CP, et al. Common ancestry of the CENP-A chaperones Scm3 and HJURP[J]. Cell, 2009, 137(7): 1173-1174.

[7] Pidoux AL, Choi ES, Abbott JK, et al. Fission yeast Scm3: a CENP-A receptor required for integrity of subkinetochore chromatin[J]. Mol Cell, 2009, 33(3): 299-311.

[8] Mizuguchi G, Xiao H, Wisniewski J, et al. Nonhistone Scm3 and histones CenH3-H4 assemble the core of centromere-specific nucleosomes[J]. Cell, 2007, 129(6): 1153-1164.

[9] Perpelescu M, Hori T, Toyoda A, et al. HJURP is involved in the expansion of centromeric chromatin[J]. Mol Biol Cell, 2015, 26(15): 2742-2754.

[10] Dunleavy EM, Roche D, Tagami H, et al. HJURP is a cell-cycle-dependent maintenance and deposition factor of CENP-A at centromeres[J]. Cell, 2009, 137(3): 485-497.

[11] Foltz DR, Jansen LE, Bailey AO, et al. Centromere-specific assembly of CENP-a nucleosomes is mediated by HJURP[J]. Cell, 2009, 137(3): 472-484.

[12] Stellfox ME, Bailey AO, Foltz DR. Putting CENP-A in its place [J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(3): 387-406.

[13] Zasadzinska E, Barnhart-Dailey MC, Kuich PH, et al. Dimerization of the CENP-A assembly factor HJURP is required for centromeric nucleosome deposition[J]. EMBO J, 2013, 32(15): 2113-2124.

[14] Miell MD, Straight AF. Regulating the timing of CENP-A nucleosome assembly by phosphorylation[J]. Dev Cell, 2015, 32(1): 1-2.

[15] Pezer Z, Harr B, Teschke M, et al. Divergence patterns of genic copy number variation in natural populations of the house mouse (Mus musculus domesticus) reveal three conserved genes with major population-specific expansions[J]. Genome Res, 2015, 25(8): 1114-1124.

[16] Kato T, Sato N, Hayama S, et al. Activation of Holliday junction recognizing protein involved in the chromosomal stability and immortality of cancer cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8544-8553.

[17] Hu Z, Huang G, Sadanandam A, et al. The expression level of HJURP has an independent prognostic impact and predicts the sensitivity to radiotherapy in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2): R18.

[18] Montes de Oca R, Gurard-Levin ZA, Berger F, et al. The histone chaperone HJURP is a new independent prognostic marker for luminal A breast carcinoma[J]. Mol Oncol, 2015, 9(3): 657-674.

[19] Bravaccini S, Tumedei MM, Scarpi E, et al. New biomarkers to predict the evolution of in situ breast cancers[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 159765.

[20] de Tayrac M, Aubry M, Saikali S, et al. A 4-gene signature associated with clinical outcome in high-grade gliomas[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(2): 317-327.

[21] Valente V, Serafim RB, de Oliveira LC, et al. Modulation of HJURP (Holliday Junction-Recognizing Protein) levels is correlated with glioblastoma cells survival[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62200.

[22] de Tayrac M, Saikali S, Aubry M, et al. Prognostic significance of EDN/RB, HJURP, p60/CAF-1 and PDLI4, four new markers in high-grade gliomas[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e73332.

[23] Kolesnikov N, Hastings E, Keays M, et al. Arrayexpress update--simplifying data submissions[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(Database issue): D1113-1116.

[24] Mehanna H, Paleri V, West CM, et al. Head and neck cancer--part 1: epidemiology, presentation, and prevention[J]. BMJ, 2010, 341: c4684.

[25] Crozier E, Sumer BD. Head and neck cancer[J]. Med Clin North Am, 2010, 94(5): 1031-1046.

[26] Cohan DM, Popat S, Kaplan SE, et al. Oropharyngeal cancer: current understanding and management[J]. Curr Opin Otolaryngo Head Neck Surg, 2009, 17(2): 88-94.

[27] Matar N, Haddad A. New trends in the management of head and neck cancers[J]. J Med Liban, 2011, 59(4): 220-226.

[28] Ronis DL, Duffy SA, Fowler KE, et al. Changes in quality of life over 1 year in patients with head and neck cancer[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2008, 134(3): 241-248.

[29] Devins GM, Payne AY, Lebel S, et al. The burden of stress in head and neck cancer[J]. Psychooncology, 2013, 22(3): 668-676.

[30] De Boer MF, McCormick LK, Pruyn JF, et al. Physical and psychosocial correlates of head and neck cancer: a review of the literature [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1999, 120(3): 427-436.

（责任编辑：张辉洁）