

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.07.001

FAM72D 与肺腺癌筛查、预后及生物学机制分析*

郑泰浩¹,李 明¹,张晓月²,彭 媛²,郭政军²,黄 秀¹,凌丰宇¹,杨镇洲^{2△}

(1. 重庆医科大学附属永川医院肿瘤内科 402160;2. 重庆医科大学附属第二医院肿瘤中心 400010)

[摘要] **目的** 探讨 FAM72D 在肺腺癌(LUAD)中的表达变化及其与预后的关系,并进行生物学机制的预测。**方法** 从 TCGA 获取原始数据,采用 Kaplan-Meier 生存分析、单变量 Cox 分析、多变量 Cox 分析、表达差异分析、临床相关性分析 FAM72D 在评估 LUAD 患者预后中的作用;采用基因集富集分析预测 FAM72D 的潜在作用机制,并利用 TIMER 数据库分析 FAM72D 与 LUAD 免疫浸润之间的相关性。**结果** FAM72D 的高表达与 LUAD 患者的预后不良有关($P<0.05$),是 LUAD 患者的独立预后指标。与正常肺组织比较,FAM72D 表达在 LUAD 组织中明显上调,FAM72D 高表达与高龄呈负相关,与男性、临床分期、T 分期呈正相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。GSEA 结果显示细胞周期、同源重组、剪接体、RNA 降解、DNA 复制、P53 通路等相关基因集明显富集于 FAM72D 高表达。TIMER 数据库分析显示,LUAD 患者 FAM72D 表达水平与 B 细胞、巨噬细胞渗透水平呈负相关,与中性粒细胞的渗透水平呈正相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** FAM72D 可作为 LUAD 早期诊断和预测预后的生物标志物。

[关键词] 肺腺癌;FAM72D;诊断;预后;生物信息学

[中图法分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)07-1081-06

FAM72D and analysis on lung adenocarcinoma screening,
prognosis and biological mechanism*

ZHENG Taihao¹,LI Ming¹,ZHANG Xiaoyue²,PENG Yuan²,
GUO Zhengjun²,HUANG Xiu¹,LENG Fengyu¹,YANG Zhenzhou^{2△}

(1. Department of Oncology, Affiliated Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Tumor Center, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between the expression of FAM72D in lung adenocarcinoma (LUAD) and prognosis, and to make the predictions of biological mechanism. **Methods** The raw data were obtained from TCGA. The role of FAM72D in evaluating the prognosis of LUAD was analyzed by adopting the Kaplan-Meier survival analysis, univariate Cox analysis, multivariate Cox analysis, expression difference analysis and clinical correlation. The potential action mechanism of FAM72D was predicted by adopting the gene set enrichment analysis (GSEA), and the correlation between FAM72D and LUAD immune infiltration was analyzed by using the TIMER database. **Results** The high expression of FAM72D was associated with the poor prognosis ($P<0.05$), which was an independent prognostic index for the patients with LUAD. The FAM72D expression in LUAD was significantly up-regulated, and its high expression was negatively correlated with the advanced age, and positively correlated with male, clinical stage and T stage, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The GSEA results indicated that the gene sets such as the cell cycle, homologous recombination, spliceosome, RNA degradation, DNA replication and P53 signaling pathway were significantly enriched in the FAM72D high-expression. The TIMER database analysis showed that the expression level of FAM72D in the patients with LUAD was negatively correlated with the infiltration level of B cells and macrophages, positively correlated with the infiltration level of neutrophils, and the differences were

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81972851);重庆市自然科学基金博士后科学基金项目(cstc2019jcyj-bshX0056)。 作者简介:郑泰浩(1987—),主治医师,硕士,主要从事肺癌分子机制研究。 △ 通信作者, E-mail: yangzz@cqmu.edu.cn。

statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** FAM72D can serve as a biomarker for early diagnosis and prognosis prediction of LUAD.

[Key words] lung adenocarcinoma; FAM72D; diagnosis; prognosis; bioinformatics

肺癌是最严重的恶性肿瘤之一,病死率极高^[1]。肺癌分为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)和小细胞肺癌,其中 NSCLC 占 80%~85%^[2-3],而肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)是 NSCLC 最常见的亚型,约占 40%^[4]。目前,LUAD 的诊断和治疗等方面已经取得了很大的进展,如靶向治疗、免疫治疗等能明显改善患者的生存质量^[5],但是由于晚期 LUAD 患者具有高转移、高复发的恶性特征,其 5 年总体生存率为 50%~70%^[6]。因此,迫切需要更多的诊断和治疗策略来改善 LUAD 患者的预后。

随着高通量测序技术的进步,生物信息学在肿瘤研究领域的应用越来越广泛,对寻找更多潜在的肿瘤生物标志物有重要意义,进而有助于提高预测 LUAD 预后的准确性,使得疾病的管理更为有效。通过生物信息学分析发现 STEAP1 高表达是 LUAD 预后不佳的指标^[7],血清 LINC00173 可作为 NSCLC 患者潜在的辅助诊断生物标志物^[8]。

FAM72D 是一种特异性蛋白编码基因,属于 FAM72 家族基因,该家族由 4 个基因组成^[9]。有研究^[10]表明 FAM72 有潜在的致癌作用,然而目前对 FAM72D 在肿瘤发生、发展中的作用研究相对较少。既往研究表明,FAM72D 是前列腺癌患者的独立预后因子;在肾细胞癌中,FAM72D 等 7 个基因集可以预测患者预后^[11];在多发性骨髓瘤中,FAM72D 可以调节细胞增殖^[12]。然而,其在 LUAD 的作用尚不清楚。本研究通过生存分析、单变量、多变量 Cox 分析、临床相关性等分析了 FAM72D 在评估 LUAD 患者预后中的作用,并进行了基因集富集分析、免疫渗透相关分析,为探讨 FAM72D 在 LUAD 预后中的预测价值和潜在机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据下载和预处理

从 TCGA 下载了 535 例 LUAD 组织和 59 例符合 HTSeq-FPKM 类型的正常肺组织的基因表达数据,以及 522 例 LUAD 患者的临床数据,在 TCGA 样品中,有 57 例配对 LUAD 组织和癌旁正常肺组织。通过 R 软件(V4.02 版本)及 Perl 软件(V5.32 版本)对上述下载数据进行整理,在对 LUAD 患者的临床病理特征进行相关分析时,删除了“未知”“TX”“NX”“MX”和其他样本。

1.2 基因集富集分析

利用 GSEA^[13] 研究 FAM72D 在 LUAD 中的作用机制。使用 GSEA4.1 软件分析来自分子特征数据库(MSigDB)的“c2.cp.kegg.v7.1.symbols.gmt”基因组。根据 FAM72D 的中位表达,将总共 535 例 LUAD 样品分为两组,即 FAM72D 低表达组和 FAM72D 高表达组。标准化富集得分(NES)绝对值大于或等于 1.0, $P<0.05$ 和 $q<0.25$ 被认为在某些基因组上差异有统计学意义。

1.3 免疫浸润分析

TIMER (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)是一个综合性网站,可对 32 种癌症类型的免疫浸润进行系统分析^[14]。笔者使用 TIMER 探索 LUAD 中 FAM72D 的表达与免疫浸润的相关性^[15]。采用经纯度校正的 partial spearman method (partial-cor)显示相关性,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 统计学处理

采用 Survival 和 Survminer^[16] 工具绘制 FAM72D 和 LUAD 生存曲线,单因素 Cox 回归分析临床病理特征和 FAM72D 表达与总生存的关系,并进行多因素 Cox 分析。采用 Wilcoxon rank sum tests 比较 LUAD 组织和正常肺组织之间 FAM72D 的表达,Wilcoxon signed-rank tests 比较 LUAD 组织和临近配对正常肺组织之间 FAM72D 的表达^[17],两独立样本 Wilcoxon 秩和检验、多组独立样本 Kruskal-Wallis 检验和 Logistic 回归分析临床病理因素与 FAM72D 的关系。箱型图绘制 FAM72D 表达与各种临床特征之间的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCGA 数据库中 FAM72D 的生物信息学分析

TCGA 数据集的 Kaplan-Meier 生存分析显示,FAM72D 低表达与 LUAD 患者预后较好相关,而 FAM72D 高表达与预后较差相关($P<0.05$),见图 1。单因素 Cox 分析显示,FAM72D($HR=1.967,95\%CI:1.164\sim3.324,P=0.012$)、临床分期、T 分期、M 分期为高危因素,见图 2。多因素 Cox 分析显示,FAM72D、临床分期与总生存率独立相关,见图 3。

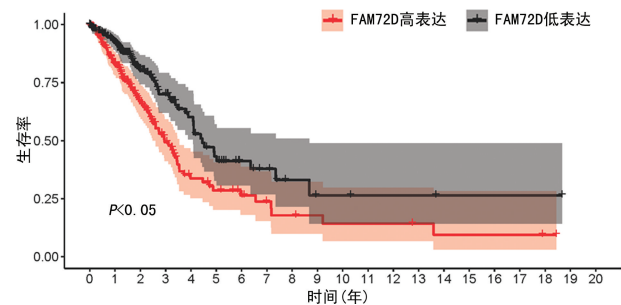


图 1 FAM72D 与 LUAD 患者的生存分析

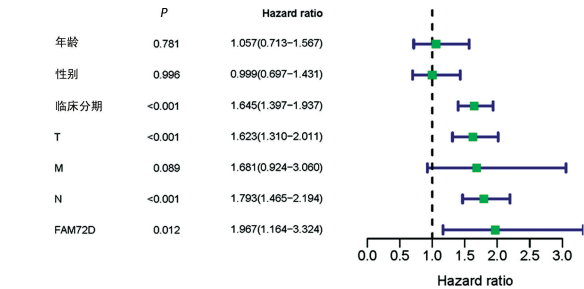


图 2 单因素 Cox 分析

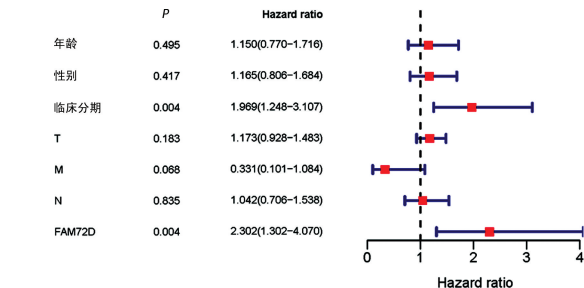


图 3 多因素 Cox 分析

2.2 FAM72D 在 LUAD 组织和正常肺组织之间表达差异分析

535 例 LUAD 组织 FAM72D 表达较 59 例正常

肺组织明显上调($P<0.001$), 57 例配对的 LUAD 组织 FAM72D 表达较癌旁正常肺组织亦明显增高($P<0.001$), 见图 4、5。

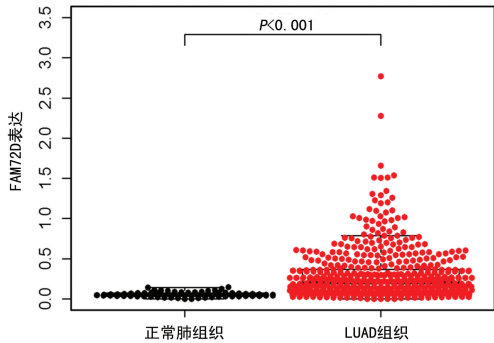


图 4 FAM72D 表达在 LUAD 组织和正常肺组织的差异

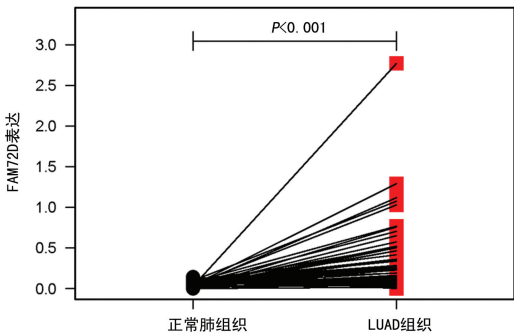
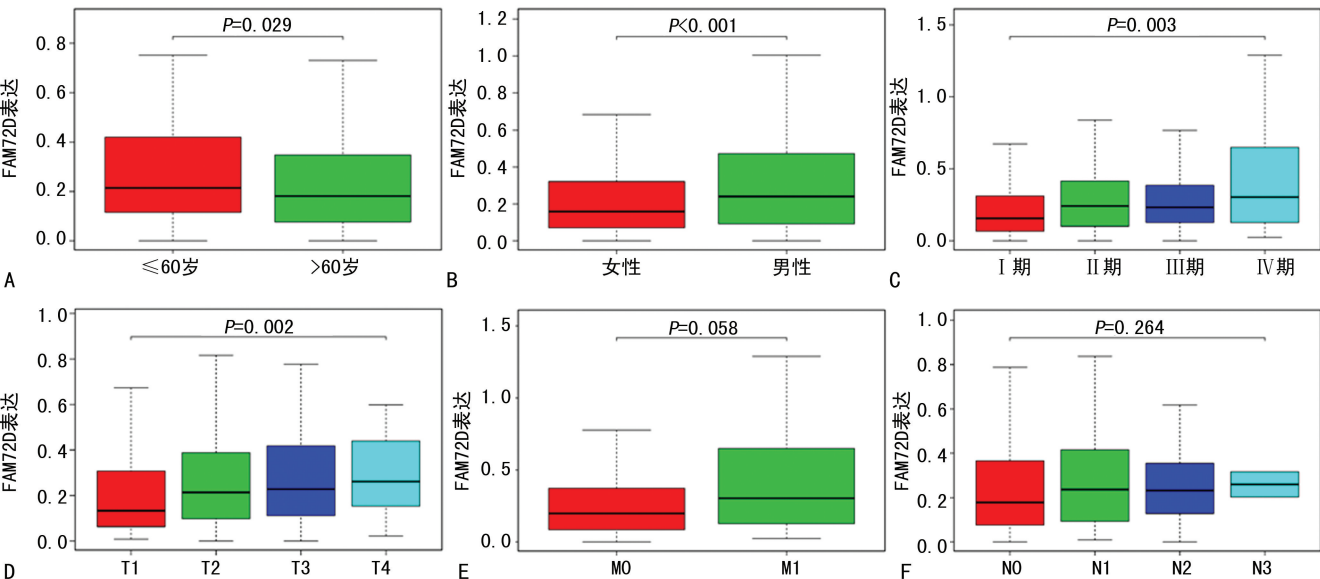


图 5 FAM72D 表达在配对 LUAD 组织和癌旁正常肺组织的差异

2.3 FAM72D 表达与临床特征的相关性分析

FAM72D 的高表达与高龄($P=0.029$)呈负相关, 与男性($P<0.001$)、临床分期($P=0.003$)、T 分期($P=0.002$)呈正相关, 与 M 分期($P=0.058$)、N 分期($P=0.264$)无关, 见图 6。



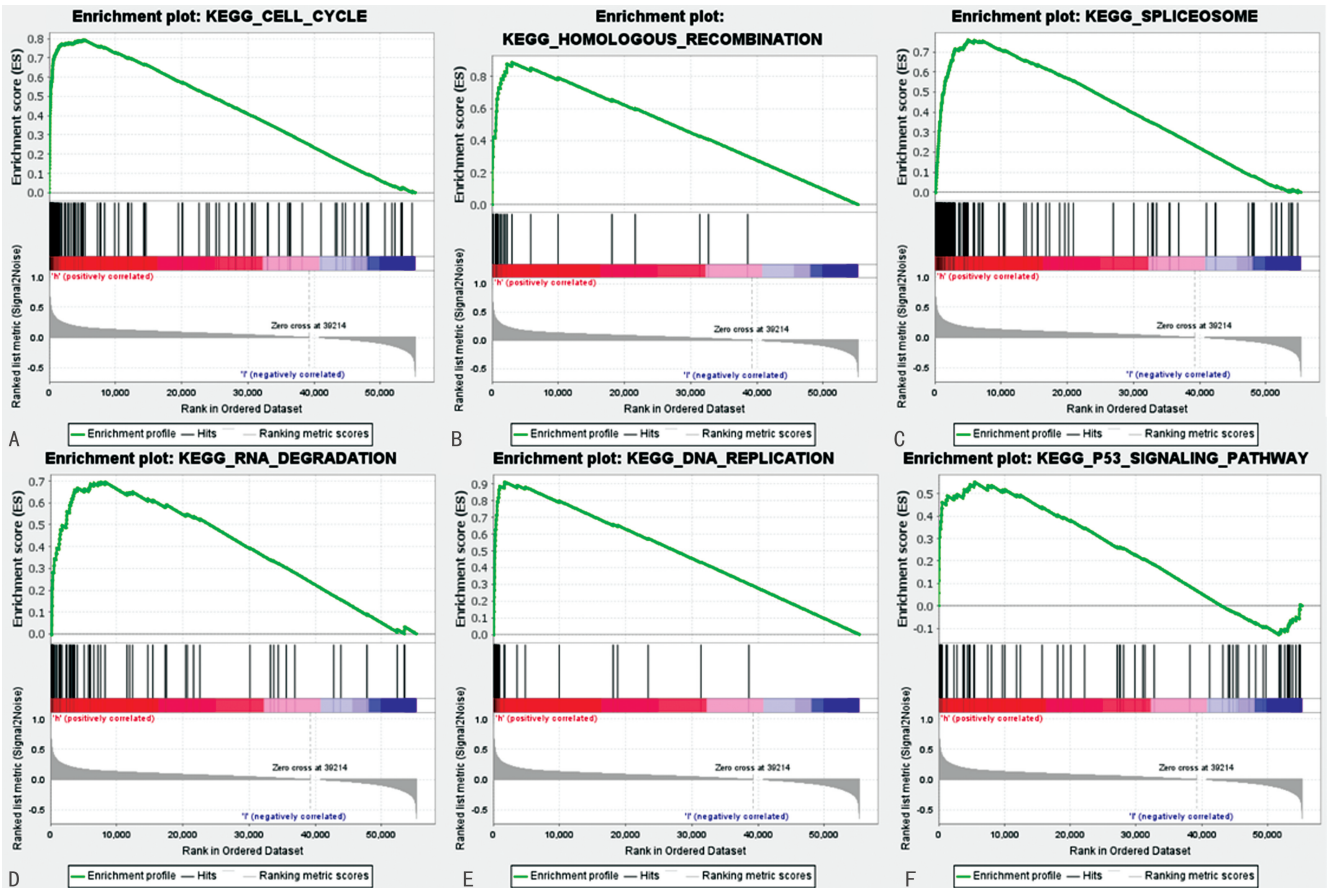
A: 年龄; B: 性别; C: 临床分期; D: T 分期; E: M 分期; F: N 分期。

图 6 FAM72D 表达与临床特征的相关性分析

2.4 FAM72D 参与 LUAD 的相关信号通路

细胞周期、同源重组、剪接体、RNA 降解、DNA

复制、P53 通路等相关基因集明显富集于 FAM72D 高表达组,见表 1、图 7。



A:细胞周期通路;B:同源重组通路;C:剪接体通路;D:RNA 降解通路;E:DNA 复制通路;F:P53 通路。

图 7 FAM72D 高表达组基因集富集分析图

基因集名称	NES	P	q
细胞周期通路	2.52	<0.001	<0.001
同源重组通路	2.40	<0.001	<0.001
剪接体通路	2.36	<0.001	<0.001
RNA 降解通路	2.35	<0.001	<0.001
DNA 复制通路	2.21	<0.001	<0.001
P53 通路	2.13	<0.001	0.002

2.5 FAM72D 表达与 LUAD 免疫浸润水平的相关性分析

FAM72D 表达与 LUAD 患者 B 细胞、巨噬细胞渗透水平呈负相关,与中性粒细胞渗透水平呈正相关 ($P<0.05$),见表 2。

免疫浸润变量	partial. cor	P
Purity	0.018 453	0.682 438
B 细胞	-0.139 050	0.002 169

免疫浸润变量	partial. cor	P
CD8 ⁺ T 细胞	0.038 025	0.402 431
CD4 ⁺ T 细胞	-0.064 070	0.159 356
巨噬细胞	-0.089 080	0.049 915
中性粒细胞	0.098 422	0.030 565
树突状细胞	-0.052 180	0.249 960

3 讨 论

据报道,中国人群中 LUAD 是一种发病率高、转移率高、病死率高的恶性肿瘤^[18-19]。近年来,LUAD 患者人数不断增加,原因包括大气污染、烟草摄入量增加等,大约每年造成 180 万人死亡^[20]。然而,现阶段尚缺乏预测 LUAD 预后的特异性生物标志物,因此开发一种新的有效预测 LUAD 预后的靶点分子至关重要。

FAM72D 在一些癌组织中高表达,既往研究表明 FAM72D 可能作为前列腺癌、肾细胞癌预后的生物标志物。此外,其表达与泛素结合酶 E2C(UBE2C)相

关,而 UBE2C 表达与患者总生存期呈负相关,因此被认为是癌症治疗的一个新靶点^[21]。本研究对 FAM72D 在 LUAD 中潜在作用进行了探索,通过对 TCGA 数据库中大量 LUAD 标本分析发现 FAM72D 高表达与 LUAD 预后较差相关,是 LUAD 患者的独立预后指标。临床特征分析显示,FAM72D 表达与年龄、性别、临床分期、T 分期相关($P<0.05$),进一步分析表明 FAM72D 在 LUAD 组织中表达明显增高($P<0.05$)。既往有学者也发现在 TP53 突变的癌细胞中,FAM72 基因高表达,其生长依赖于 FAM72D^[22-23],在多发性骨髓瘤中 FAM72D 作为 FOXM1 转录因子调控网络的一部分,参与细胞增殖与存活,是不同癌症类型的生长所必需的^[12]。通过 GSEA 进一步探索了 FAM72D 在 LUAD 中潜在的机制和生物学功能,结果表明细胞周期、同源重组、剪接体、RNA 降解、DNA 复制、P53 通路等相关基因集明显富集于 FAM72D 高表达组,这些通路均参与调控细胞增殖与存活。此外,越来越多的研究表明肿瘤的发生与发展是肿瘤细胞与肿瘤微环境中各种成分(包括免疫细胞浸润)动态相互作用的结果^[24-25],WANG 等^[26]发现 B 细胞在肺癌的发展过程中起着至关重要的作用,本研究也表明 FAM72D 表达水平与 B 细胞、巨噬细胞渗透水平呈负相关,与中性粒细胞的渗透水平呈正相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,FAM72D 在 LUAD 中可作为预后生物标志物,并与 LUAD 中的免疫渗透相关,研究结果为 LUAD 患者的诊疗及预后评估提供了一定的理论依据。然而,本研究尚存在一定局限性:(1)TCGA 数据库缺少患者临床治疗策略等信息,如药物的使用、手术治疗和手术细节,这些因素对于患者的预后很重要。(2)本研究未深入探索 FAM72D 参与 LUAD 发生发展、影响免疫微环境的具体机制,以及揭示影响免疫治疗疗效的关系,这些需进一步通过基础实验加以证实。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] GOLDSTRAW P, BALL D, JETT J R, et al. Non-small-cell lung cancer[J]. Lancet, 2011, 378(984): 1727-1740.
- [3] MOLINA J R, YANG P, CASSIVI S D, et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship[J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(5): 584-594.
- [4] ALBERG A J, SAMET J M. Epidemiology of lung cancer[J]. Chest, 2003, 123(1 Suppl): 21S-49S.
- [5] MAZZA V, CAPPUZZO F. Immunotherapy and lung cancer: from therapeutic cancer vaccination to novel[J]. J Thorac Dis, 2016, 8(10): E1348-E1350.
- [6] SAWABATA N. Prognosis of lung cancer patients in Japan according to data from the Japanese joint committee of lung cancer registry[J]. Respir Investig, 2014, 52(6): 317-321.
- [7] GUO Q, KE X X, LIU Z, et al. Evaluation of the prognostic value of STEAP1 in lung adenocarcinoma and insights into its potential molecular pathways via bioinformatic analysis[J]. Front Genet, 2020, 11(242): 1-13.
- [8] YANG Q, KONG S, ZHENG M, et al. Long intergenic noncoding RNA LINC00173 as a potential serum biomarker for diagnosis of non-small-cell lung cancer [J]. Cancer Biomark, 2020, 29(4): 441-451.
- [9] RAHANE C S, KUTZNER A, HEESE K. A cancer tissue-specific FAM72 expression profile defines a novel glioblastoma multiform (GBM) gene-mutation signature [J]. J Neurooncol, 2019, 141(1): 57-70.
- [10] WANG Y, LIN J, YAN K, et al. Identification of a robust Five-Gene risk model in prostate cancer: a robust Likelihood-Based survival analysis[J]. Int J Genomics, 2020, 2020: 1097602.
- [11] HU F, ZENG W, LIU X. A gene signature of survival prediction for kidney renal cell carcinoma by Multi-Omic data analysis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22): 5720.
- [12] CHATONNET F, PIGNARRE A, SÉRANDO UR A A, et al. The hydroxymethylome of multiple myeloma identifies FAM72D as a 1q21 marker linked to proliferation[J]. Haematologica, 2020, 105(3): 774-783.
- [13] SUBRAMANIAN A, TAMAYO P, MOOTHA V K, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. Proc Natl

- Acad Sci U S A, 2005, 102(43):15545-15550.
- [14] LI T, FAN J, WANG B B, et al. TIMER: a web server for comprehensive analysis of Tumor-Infiltrating immune cells[J]. Cancer Res, 2017, 77(21):e108-e110.
- [15] LV S, LUO H, HUANG K, et al. The prognostic role of glutathione peroxidase 1 and immune infiltrates in glioma investigated using public datasets[J]. Med Sci Monit, 2020, 26:e926440.
- [16] LI M, SPAKOWICZ D, BURKART J, et al. Change in neutrophil to lymphocyte ratio during immunotherapy treatment is a non-linear predictor of patient outcomes in advanced cancers[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(10):2541-2546.
- [17] ZENG Z, CAO Z, Tang Y. Increased E2F2 predicts poor prognosis in patients with HCC based on TCGA data[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):1037.
- [18] YOULDEN D R, CRAMB S M, BAADE P D. The international epidemiology of lung cancer: Geographical distribution and secular trends[J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(8):819-831.
- [19] TAN W L, JAIN A, TAKANO A, et al. Novel therapeutic targets on the horizon for lung cancer[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(8):e347-e362.
- [20] SHE J, YANG P, HONG Q Y, et al. Lung cancer in China challenges and interventions [J]. Chest, 2013, 143(4):1117-1126.
- [21] DASTSOOZ H, CEREDA M, DONNA D, et al. A comprehensive bioinformatics analysis of UBE2C in cancers[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9):2228.
- [22] WANG X, SUN Q. TP53 mutations, expression and interaction networks in human cancers[J]. Oncotarget, 2017, 8(1):624-643.
- [23] WANG D, LI B, WANG Z, et al. Functional dose-volume histograms for predicting radiation pneumonitis in locally advanced non-small cell lung cancer treated with late-course accelerated hyperfractionated radiotherapy[J]. Exp Ther Med, 2011, 2(5):1017-1022.
- [24] VERRECCHIA F, RÉDINI F. Transforming growth factor- β signaling plays a pivotal role in the interplay between osteosarcoma cells and their microenvironment[J]. Front Oncol, 2018, 8:133.
- [25] HUI L, CHEN Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1):7-13.
- [26] WANG S S, LIU W, LY D, et al. Tumor-infiltrating B cells: their role and application in anti-tumor immunity in lung cancer[J]. Cell Mol Immunol, 2019, 16(1):6-18.

(收稿日期:2020-08-20 修回日期:2020-12-20)