

• 论 著 •

基于 TCGA 构建染色质调节因子相关 LncRNA 的胃癌预后模型*

熊黎¹, 向尹¹, 杨阳¹, 阳丽红², 黄鑫¹, 刘楷^{1△}

1. 乐山市人民医院检验科, 四川乐山 614000; 2. 川北医学院, 四川南充 637000

摘要:目的 通过 TCGA 数据库构建胃癌染色质调节因子相关 LncRNA 的预后模型, 协助评估胃癌患者的预后。方法 从 TCGA 数据库下载胃癌的转录组数据及临床数据, 通过差异分析获得在胃癌中差异表达染色质调节因子后共表达筛选出染色质调节因子相关 LncRNA, 采用 COX 分析构建胃癌预后模型, 并对其预测能力进行风险曲线分析、单因素和多因素独立预后分析、多指标采用受试者工作特征(ROC)曲线验证。结果 通过差异分析得出 148 个在胃癌中差异表达的染色质调节因子, 共表达分析及 COX 分析发现, 12 个染色质调节因子相关 LncRNA 具有预后作用并纳入构建预后模型。生存分析、风险曲线分析、单因素和多因素独立预后分析、多指标 ROC 曲线分析结果均显示该预后模型具有较好的预后预测效果。结论 成功构建胃癌染色质调节因子相关 LncRNA 预后预测模型, 能较好地预测患者预后, 为胃癌治疗提供参考。

关键词: 胃癌; 染色质调节因子; 长链非编码 RNA; 预后; 风险模型

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.07.007

中图法分类号: R735.2

文章编号: 1673-4130(2024)07-0794-06

文献标志码: A

Construction of a prognosis model of chromatin regulator-related

LncRNAs for gastric cancer based on TCGA*

XIONG Li¹, XIANG Yin¹, YANG Yang¹, YANG Lihong², HUANG Xin¹, LIU Kai^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Leshan People's Hospital, Leshan, Sichuan 614000, China; 2. North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China

Abstract: **Objective** To construct a prognosis model of chromatin regulator-related LncRNAs for gastric cancer based on TCGA database and to assist in evaluating the prognosis of patients with gastric cancer. **Methods** Transcriptome data and clinical data of gastric cancer were downloaded from TCGA database. Chromatin regulator-related LncRNAs were selected by co-expression of differentially expressed chromatin regulators in gastric cancer obtained by differential analysis. Cox analysis was used to construct a prognostic model of gastric cancer, and risk curve analysis was performed for their predictive ability, univariate and multivariate independent prognostic analysis, and multi-index ROC curve validation. **Results** A total of 148 differentially expressed chromatin regulators were identified in gastric cancer through differential analysis. Co-expression analysis and COX analysis revealed that 12 chromatin regulator-related LncRNAs had prognostic effects and were included in the construction of prognosis models. Survival analysis, risk curve analysis, univariate and multivariate independent prognostic analysis, and multi-indicator ROC curve analysis all showed that the model had a good prognostic predictive effect. **Conclusion** The prognosis prediction model of LncRNA associated with chromatin regulators in gastric cancer was successfully constructed, which can better predict the prognosis of patients and provide reference for the treatment of gastric cancer.

Key words: gastric cancer; chromatin regulator; long non-coding RNA; prognostic risk model

胃癌是一种常见的恶性肿瘤, 在全球范围内都具有较高的发病率和致死率^[1], 其发病率排名第三, 仅次于肺癌和乳腺癌^[2], 而在中国, 胃癌也是一种常见

的癌症^[3]。胃癌的发生和发展与多个基因异常有关^[4], 其中染色质调节因子在细胞中起着重要的作用, 可以影响基因的表达和功能^[5]。研究表明, 染色

* 基金项目: 乐山市 2020 年重点科技计划项目(20SZD141)。

作者简介: 熊黎, 男, 技师, 主要从事医学检验诊断及肿瘤防治研究。△ 通信作者, E-mail: 1227213927@qq.com。

质调节因子参与表观修饰的重要过程,进而促进肿瘤的发生发展。它们能够改变染色质结构和组织化程度,从而影响基因的转录活性和 DNA 甲基化状态,进而调控相关基因的表达^[6-8]。因此,对于胃癌染色质调节因子的研究具有重要意义。

长链非编码 RNA (LncRNA) 是一段长度大于 200 核苷酸的不翻译蛋白的 RNA^[9]。在人类的基因组中只有不到 2% 的基因具有编码蛋白的能力,但是超过 90% 的基因会被转录为 RNA,而 LncRNA 曾经被认为是无作用、无意义的基因组转录“噪音”^[10],但是越来越多的研究表明,LncRNA 参与表观修饰和基因的转录调控等肿瘤发生发展的分子机制^[11-12]。近期研究表明,LncRNA 可以构建肿瘤的预后风险模型^[13-14]。因此,为了探寻胃癌染色质调节因子相关的 LncRNA,提供新的具有预后价值的生物标志物,本研究构建胃癌染色质调节因子相关 LncRNA 的预后模型,以为胃癌患者的风险及预后评估提供新的参考指标。

1 资料与方法

1.1 TCGA 数据下载 从 TCGA 数据库下载胃癌的转录组数据及相关的临床数据,并通过文献^[15]获得 870 个染色质调节因子。

1.2 胃癌差异表达染色质调节基因 从 TCGA 下载胃癌的转录组测序数据后利用 R 软件进行数据整理和基因 ID 转化为基因名,得到胃癌基因的表达矩阵。通过染色质调节因子列表,利用 R 软件提取在胃癌中显著差异表达的染色质调节因子。

1.3 COX 回归分析筛选具有预后价值的染色质调节因子相关 LncRNA 将临床生存数据和染色质调节因子相关 LncRNA 的表达矩阵通过 R 软件的“survival”包进行 Kaplan-Meier (K-M) 生存分析、单因素和多因素 COX 回归分析,筛选出具有预后价值的染色质调节因子相关 LncRNA ($P < 0.03$),进而构建胃癌染色质调节因子相关 LncRNA 的预后风险模型。

1.4 染色质调节因子相关 LncRNA 的共表达网络 提取染色质调节因子相关 LncRNA 表达矩阵中多因素 COX 回归分析得到的具有预后价值的 LncRNA,通过 Cytoscape 软件构建染色质调节因子相关 mRNA 和 LncRNA 共表达网络,并采用 R 软件绘制桑基图和预后相关的 LncRNA 生存曲线。

1.5 风险模型的构建及生存分析 利用风险值计算公式得出患者的风险值,按照风险值的中位数将患者分为高风险组和低风险组,利用 R 软件的“survival”包和“survminer”包绘制高低风险组的生存曲线,并采用 R 软件的“survival ROC”包绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线图评估风险模型准确性。根据患者的风

险评分绘制热图、生存曲线及生存状态图。

1.6 统计学处理 胃癌染色质调节因子相关 LncRNA 相关性检验,阈值过滤条件为相关系数 > 0.3 且 $P < 0.001$ 。采用 K-M 法进行不同组的生存差异比较。使用单因素和多因素 COX 回归分析来确定独立预后因子。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有数据分析基于 R 软件 4.31 版、perl 软件 5.32 版。

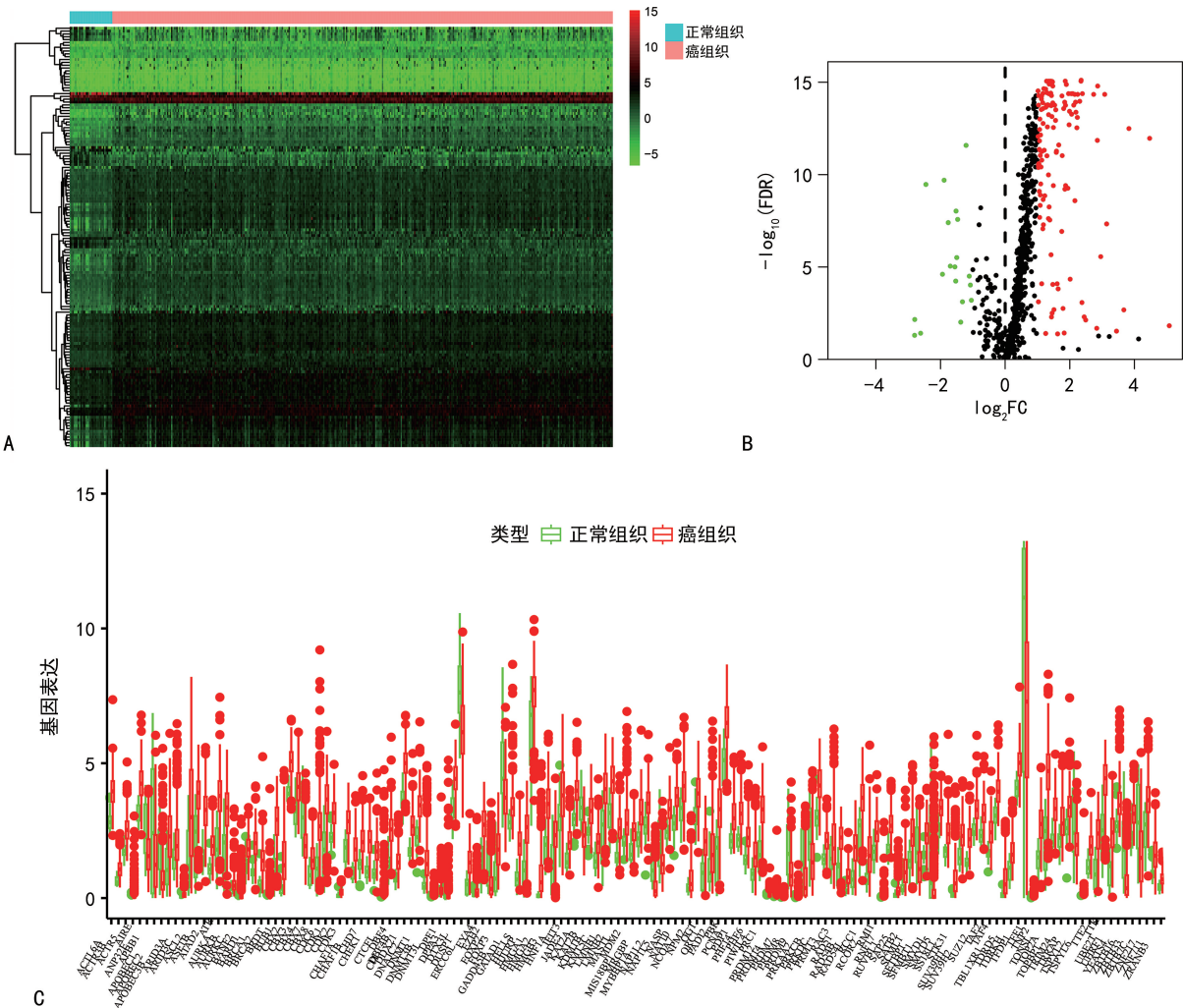
2 结果

2.1 胃癌差异表达的染色质调节因子 从 TCGA 下载胃癌的转录组测序数据后利用 R 软件进行数据整理和基因 ID 转化为基因名,得到胃癌基因的表达矩阵。利用 R 软件提取在胃癌中显著差异表达的染色质调节因子 ($|\log_2 FC| > 1, P < 0.05$) 148 个,其中高表达 129 个,低表达 19 个(图 1A~C)。

2.2 染色质调节因子相关 LncRNA 通过 Sperman 相关性分析得到 1 243 个与染色质调节因子相关的 LncRNA,进一步通过 COX 单因素和多因素回归分析筛选出 12 个具有预后价值的 LncRNA。采用 Cytoscape 软件进行染色质调节因子与 LncRNA 的共表达网络的构建并利用 R 语言软件进行桑基图分析。桑基图结果显示,AC010768.2、AL353804.1、AL355574.1、AC127521.1、LINC01315、AC005586.1、AC010719.1 和 AL590666.2 是保护性 LncRNA,而 AL161785.1、HAGLR、AP001033.2 和 AL359182.1 则为风险性 LncRNA(图 2)。

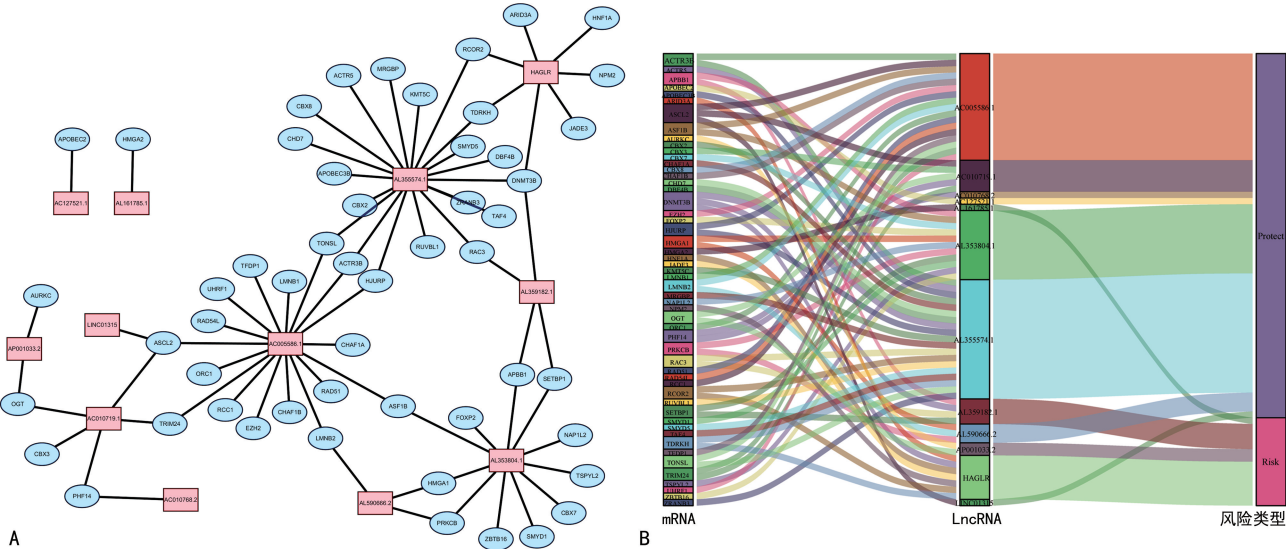
2.3 染色质调节因子相关 LncRNA 的生存分析 利用 R 语言进行具有预后价值的染色质相关 LncRNA 的生存分析,结果显示 4 个 LncRNA 在高表达时生存期显著降低,提示 AL161785.1、HAGLR、AP001033.2 和 AL359182.1 可能为致癌因素(图 3A~D);8 个 LncRNA 在高表达时患者生存期显著升高,提示 AC010768.2、AL353804.1、AL355574.1、AC127521.1、LINC01315、AC005586.1、AC010719.1 和 AL590666.2(图 3E~L)可能为抑癌因素。

2.4 染色质调节因子相关 LncRNA 风险预测模型的构建 以风险值的中位数作为分界点将胃癌患者分为高风险组和低风险组,利用 R 语言进行生存分析发现,与低风险组的胃癌患者相比,高风险组的总生存期 (OS) 显著降低(图 4A)。热图结果显示,AL161785.1、HAGLR、AP001033.2 和 AL359182.1 在高风险组中表达高于低风险组,而 AC010768.2、AL353804.1、AL355574.1、AC127521.1、LINC01315、AC005586.1、AC010719.1 和 AL590666.2 在低风险组中的表达高于高风险组(图 4B)。此外,生存状态散点图显示高风险组患者的生存时间低于低风险组(图 4C~D)。



注:A 为染色质调节因子表达热图;B 为染色质调节因子表达火山图,FDR 为错误发现率;C 为染色质调节因子表达箱图。

图 1 胃癌差异表达染色质调节因子



注:A 为染色质调节因子与相关 LncRNA 共表达网络;B 为染色质调节因子与相关 LncRNA 桑基图。

图 2 胃癌差异表达染色质调节因子与相关转录因子共表达

2.5 独立预后分析与 ROC 曲线验证 根据胃癌患者的年龄、肿瘤分期等临床信息,利用 R 语言进行单因素及多因素的 COX 回归分析,结果显示风险预测

模型的单因素和多因素分析差异均有统计学意义(图 5A~B)。为了验证风险模型的预测能力进行 ROC 曲线分析,结果显示风险模型的曲线下面积(AUC)为

0.729, 提示其具有较好的预测能力(图 5C)。

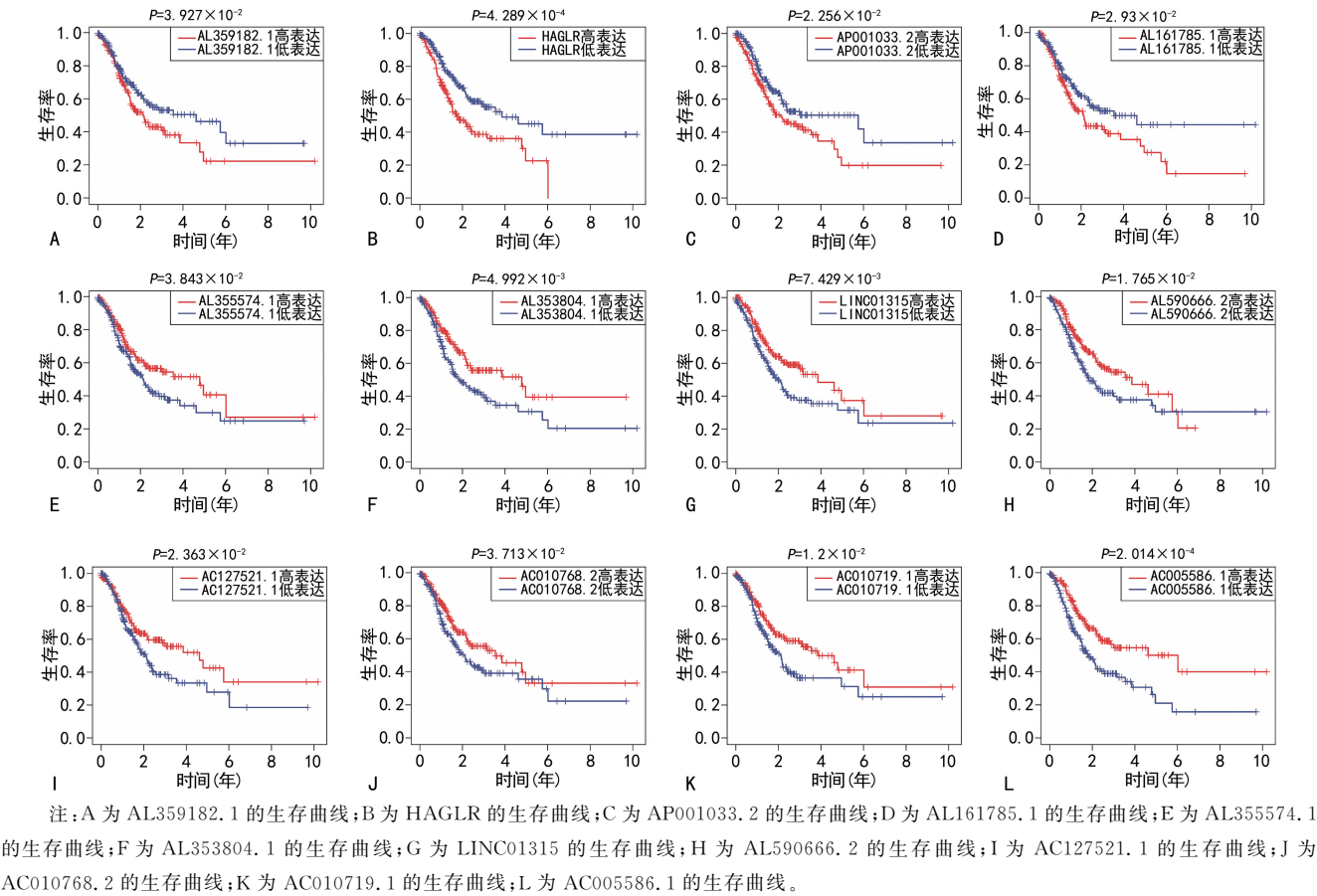


图 3 染色质调节因子相关 LncRNA 的生存分析

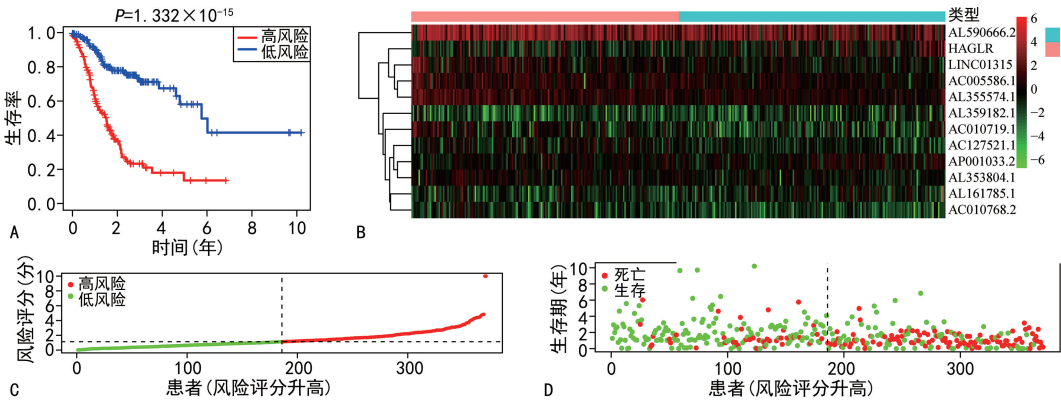


图 4 胃癌患者染色质调节因子相关 LncRNA 生存曲线及特征性分布

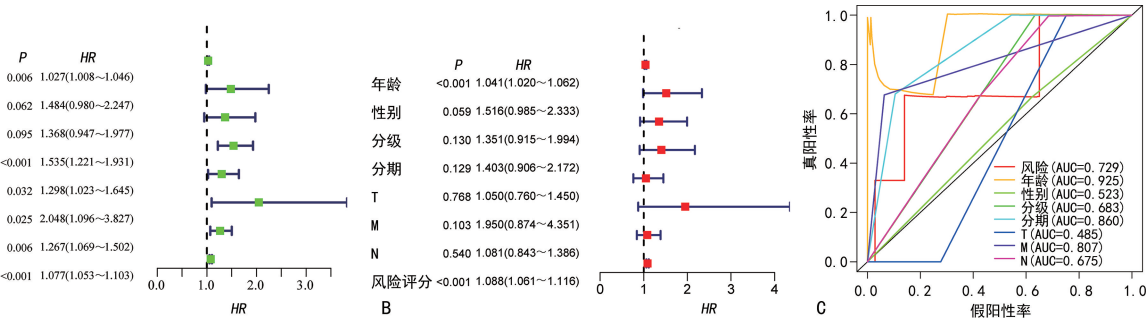


图 5 预后分析及 ROC 曲线

3 讨 论

胃癌是一种常见的恶性肿瘤,其发生发展常与基因的异常表达密切相关^[16]。染色质调节因子在胃癌中发挥重要,例如,在胃癌细胞中染色质调节因子 BMI1 通过调节细胞周期和干细胞标志物表达,促进了胃癌的增殖和转移^[17]。已有一些研究指出, LncRNA 与染色质调节因子具有相关性,如 SUN 等^[18]发现 LncRNA HOXA11-AS 通过与染色质调节因子 DNMT1 相互作用,进而调节了胃癌中多个关键基因的表达,促进了胃癌细胞的增殖和侵袭,而 FANG 等^[19]发现 LncRAN UCA1 通过增加染色质调节因子 EZH2 的表达,促进了肿瘤细胞的增殖和耐药性产生。

本研究基于 TCGA 数据库下载的数据,整理及分析发现了 148 个在胃癌中差异表达的染色质调节因子,然后进行染色质调节因子与 LncRNA 的共表达分析得到 1 243 个与染色质共表达的 LncRNA,进一步通过单因素及多因素 COX 回归分析筛选出具有预后价值的 12 个 LncRNA 并构建预后模型。某些 LncRNA 在构建预后模型中扮演着重要角色,并与多种疾病和肿瘤密切相关。AC010768.2 被确定为胃癌患者潜在的自噬相关 LncRNA 预后信号^[20],而 AL590666.2 则有望成为青光眼的潜在生物标志物^[21]。LIAO 等^[22]研究还发现 AL161785.1、AL353804.1、AL355574.1、AC005586.1 和 AC010719.1 这 5 个 LncRNA 也适用于糖酵解相关 LncRNA 的胃癌预后模型的构建,这项研究进一步突显了它们在预后评估中的重要性。此外,LINC01315 被证明可以通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进结直肠癌细胞的发生和发展^[23]。在 12 个 LncRNA 中 HAGLR 是差异最为显著的高风险 LncRNA,该 LncRNA 在人癌症进展过程中起着重要的调控作用。ZHAI 等^[24]发现,HAGLR 海绵吸附 miR-4644,增加 ASB11 的表达水平,进一步促进黑色素瘤的发生发展;在三阴性乳腺癌中,HAGLR 也可以通过海绵吸附 miR-335-3p 调节 WNT2 促进三阴性乳腺癌进展^[25];在肺腺癌中,HAGLR 可以招募染色质调节因子 DNMT1 调节作用于 E2F1 的启动子甲基化进而影响 E2F1 的表达促进肺腺癌的发生发展^[26]。这些研究都表明 HAGLR 在肿瘤的发生发展中发挥重要的作用,具有作为胃癌靶向治疗研究的潜在价值。未来的研究将进一步揭示这些 LncRNA 的作用机制,并为开发更有效的治疗方案提供支持。

综上所述,本研究结果表明高分值的染色质调节因子相关 LncRNA 胃癌患者预后更差,并通过对生存、独立预后和 ROC 曲线等分析,进一步验证了该预

测模型的准确性和可靠性。因此,染色质调节因子相关 LncRNA 的风险模型对指导胃癌患者治疗及预后具有一定临床价值和意义。

参考文献

[1] WANG S Y, WANG Y X, SHEN A, et al. Construction and validation of a prognostic prediction model for gastric cancer using a series of genes related to lactate metabolism[J]. Heliyon, 2023, 9(5): e16157.

[2] TIAN Y, YANG P, LIN Y, et al. Assessment of carbon nanoparticle suspension lymphography-guided distal gastrectomy for gastric cancer[J]. JAMA Netw Open, 2022, 5(4): e227739.

[3] HUANG X, WU B, CHEN Q, et al. Antibiotic resistance profile of Helicobacter pylori to 14 antibiotics: a multicenter study in Fujian, China[J]. PeerJ, 2023, 11: e15611.

[4] SU P F, YU J C. Progress in neoadjuvant therapy for gastric cancer[J]. Oncol Lett, 2022, 23(6): 172.

[5] BELANGER S, HAUPT S, FALITI C E, et al. The chromatin regulator Mll1 supports T follicular helper cell differentiation by controlling expression of Bcl6, LEF-1, and TCF-1[J]. J Immunol, 2023, 210(11): 1752-1760.

[6] SHU X S, LI L, TAO Q. Chromatin regulators with tumor suppressor properties and their alterations in human cancers[J]. Epigenomics, 2012, 4(5): 537-549.

[7] YANG W, LUO C, CHEN S. Development and validation of a chromatin regulator prognostic signature in colon adenocarcinoma[J]. Front Genet, 2022, 13: 986325.

[8] XIONG F, LI C, WANG Q, et al. Identification of chromatin regulatory factors related to immunity and treatment of Alzheimer's disease[J]. J Mol Neurosci, 2023, 73(2/3): 85-94.

[9] BRIDGES M C, DAULAGALA A C, KOURTIDIS A. LNCcation: lncRNA localization and function[J]. J Cell Biol, 2021, 220(2): e202009045.

[10] MCCABE E M, RASMUSSEN T P. LncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions[J]. Semin Cancer Biol, 2021, 75: 38-48.

[11] ZHAO Y, YANG S, NIE H, et al. Promotion of colorectal cancer progression by immune-related lnc-SOX9-4 via suppression of YBX1 poly-ubiquitination and degradation[J]. Cell Signal, 2023, 111: 110854.

[12] RUAN J, WU M, YE X, et al. Comparative mRNA and lncrna analysis of the molecular mechanisms associated with low silk production in Bombyx mori[J]. Front Genet, 2021, 11: 592128.

[13] WANG F, LIN H, SU Q, et al. Cuproptosis-related lncRNA predict prognosis and immune response of lung

adenocarcinoma[J]. *World J Surg Oncol*, 2022, 20(1): 275.

[14] FENG Z H, LIANG Y P, CEN J J, et al. m6A-immune-related lncRNA prognostic signature for predicting immune landscape and prognosis of bladder cancer[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 492.

[15] LU J, XU J, LI J, et al. FACER: comprehensive molecular and functional characterization of epigenetic chromatin regulators[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(19): 10019-10033.

[16] ZUO B, HUANG Q, YU W, et al. ISLR interacts with MGAT5 to promote the malignant progression of human gastric cancer AGS cells[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2023, 26(8): 960-965.

[17] WUPUTRA K, KU C C, PAN J B, et al. Stem cell biomarkers and tumorigenesis in gastric cancer[J]. *J Pers Med*, 2022, 12(6): 929.

[18] SUN M, NIE F, WANG Y, et al. LncRNA HOXA11-AS promotes proliferation and invasion of gastric cancer by scaffolding the chromatin modification factors PRC2, LSD1, and DNMT1[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(21): 6299-6310.

[19] FANG Z, ZHAO J, XIE W, et al. LncRNA UCA1 promotes proliferation and cisplatin resistance of oral squamous cell carcinoma by sunppressing miR-184 expression [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(12): 2897-2908.

[20] CHEN D, WANG M, XU Y, et al. A Novel autophagy-related lncRNA prognostic signature associated with immune microenvironment and survival outcomes of gastric cancer patients[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14: 6935-6950.

[21] WANG L, YU T, ZHANG X, et al. Network integration analysis and immune infiltration analysis reveal potential biomarkers for primary open-angle glaucoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 793638.

[22] LIAO T, LU Y, LI W, et al. Construction and validation of a glycolysis-related lncRNA signature for prognosis prediction in stomach adenocarcinoma[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 794621.

[23] LIU Y, ZHOU W L. LINC01315 accelerates the growth and epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells via activating the Wnt/ β -catenin signal[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 8396-8406.

[24] ZHAI J, JIANG J F, SHI L. Lycorine weakens tamoxifen resistance of breast cancer via abrogating HAGLR-mediated epigenetic suppression on VGLL4 by DNMT1 [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2023, 39(3): 278-289.

[25] JIN L, LUO C, WU X, et al. LncRNA-HAGLR motivates triple negative breast cancer progression by regulation of WNT2 via sponging miR-335-3p [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(15): 19306-19316.

[26] GUO X, CHEN Z, ZHAO L, et al. Long non-coding RNA-HAGLR suppressed tumor growth of lung adenocarcinoma through epigenetically silencing E2F1 [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 382(1): 111461.

(收稿日期: 2023-09-18 修回日期: 2023-12-29)

(上接第 793 页)

[11] GALLE P R, FOERSTER F, KUDO M, et al. Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2019, 39(12): 2214-2229.

[12] FENG H, LI B, LI Z, et al. PIVKA-II serves as a potential biomarker that complements AFP for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 401.

[13] KANG S H, KIM D Y, JEON S M, et al. Clinical characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma with different sets of serum AFP and PIVKA-II levels[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 24(7): 849-856.

[14] 马庆霞, 顾澄, 严铃铃, 等. FAR、CAR、LSR、甲胎蛋白水平及微血管侵犯与原发肝癌患者 TACE 术后生存时间的关系[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(13): 1599-1603.

[15] 周小泉, 赵凯亮, 王卫星. 肝细胞癌微血管侵犯术前预测因素及价值探讨[J]. *微循环学杂志*, 2023, 33(2): 55-60.

[16] RYU T, TAKAMI Y, WADA Y, et al. A clinical scoring system for predicting microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma within the milan criteria [J]. *J Gastrointest Surg*, 2019, 23(4): 779-787.

[17] YAMASHITA Y I, IMAI K, YUSA T, et al. Microvascular invasion of single small hepatocellular carcinoma ≤ 3 cm: predictors and optimal treatments[J]. *Ann Gastroenterol Surg*, 2018, 2(3): 197-203.

[18] POTÉ N, CAUCHY F, ALBUQUERQUE M, et al. Performance of PIVKA-II for early hepatocellular carcinoma diagnosis and prediction of microvascular invasion[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(4): 848-854.

[19] GIARD J M, MEHTA N, DODGE J L, et al. Alpha-fetoprotein slope > 7.5 ng/mL per month predicts microvascular invasion and tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. *Transplantation*, 2018, 102(5): 816-822.

[20] ZHANG W, LIU L, WANG P, et al. Preoperative computed tomography and serum α -fetoprotein to predict microvascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *Medicine*, 2018, 97(27): e11402.

(收稿日期: 2023-10-18 修回日期: 2023-11-10)