

文章编号 1006-8147(2019)05-0440-06

论 著

ITSN1 mRNA 预测乳腺癌预后的价值

张莹华, 马勇杰

(天津医科大学肿瘤医院肿瘤细胞生物学实验室, 国家肿瘤临床医学研究中心, 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

摘要 目的: 通过数据库对 ITSN1 mRNA 的表达水平分析, 以期能够预测乳腺癌患者的预后。方法: 利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 ITSN1 mRNA 表达水平与乳腺癌患者预后的关系, GEPIA 数据库分析基因 ITSN1 和 HER2 在乳腺癌中的表达。结果: ITSN1 mRNA 高表达的乳腺癌总人群有更好的预后。ITSN1 mRNA 的高表达预示 luminal A、luminal B、HER2 阴性、淋巴结阳性乳腺癌患者更长的无复发生存, 以及淋巴结阴性乳腺癌患者更好的总生存。ITSN1 mRNA 低表达的 Her-2 扩增型/阳性乳腺癌患者有更好的预后。ITSN1 基因在乳腺癌中的表达低于正常乳腺组织, HER2 基因在乳腺癌中的表达高于正常乳腺组织。结论: ITSN1 mRNA 高表达的乳腺癌患者预后更好, ITSN1 在乳腺癌中可能发挥抑癌的功能。

关键词 ITSN1; HER2; 乳腺癌; 预后

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

The value of ITSN1 mRNA in predicting the prognosis of breast cancer

ZHANG Ying-hua, MA Yong-jie

(Laboratory of Tumor Cell Biology, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China)

Abstract **Objective:** To predict the prognosis of breast cancer patients by analyzing the expression level of ITSN1 mRNA. **Methods:** The Kaplan-Meier Plotter database was used to analyze the relationship between ITSN1 mRNA expression and prognosis in breast cancer patients. The GEPIA database was applied to explore the expression of genes ITSN1 and HER2 in breast cancer. **Results:** The total population of breast cancer with high expression of ITSN1 mRNA had a better prognosis. High expression of ITSN1 mRNA predicted longer recurrence-free survival in patients with luminal A, luminal B, HER2-negative and node-positive breast cancer, and better overall survival in patients with node-negative breast cancer. Her-2 amplified/positive breast cancer patients with low ITSN1 mRNA expression had a better prognosis. The expression of ITSN1 gene in breast cancer was lower than that in normal breast tissue, and the expression of HER2 gene in breast cancer was higher than that in normal breast tissue. **Conclusion:** Breast cancer patients with high expression of ITSN1 mRNA have a better prognosis, and ITSN1 may play a role in tumor suppression in breast cancer.

Key words ITSN1; HER2; breast cancer; prognosis

乳腺癌是女性发病率最高且异质性很强的恶性肿瘤, 严重威胁着女性的身心健康^[1]。因此探究与乳腺癌预后相关的基因将对其治疗有很大意义。Intersectin1 (ITSN1) 是一种细胞衔接蛋白, 主要参与网格蛋白介导的内吞、肌动蛋白细胞骨架重排、细胞信号传导等生物学过程^[2]。除此之外, ITSN1 还参与多种疾病的发生发展。研究表明, 敲低 ITSN1-S 可促进肺内皮细胞的增殖^[3-4]。ITSN1 参与神经母细胞瘤和胶质母细胞瘤的发生发展^[5-6]。ITSN1 在唐氏综合征、阿尔茨海默病和亨廷顿病中异常表达^[7]。然而, 目前关于 ITSN1 在乳腺癌中的研究较少, 仅

有两篇文章报道 ITSN1 在乳腺癌中的作用, 其中也不涉及 ITSN1 在乳腺癌各亚型中的研究。2015 年的一项研究首次报道 ITSN1 和 ITSN2 存在于乳腺癌细胞的侵袭性突起中, 并且与 WIP 相互作用, 这可能有助于侵袭性伪足的形成, 促进细胞侵袭和转移^[8]。2017 年, 有研究发现 CR16 和 ITSN1 在乳腺癌细胞中相互作用, 可以增加 ITSN1 与 F-肌动蛋白的结合, 这可能在肌动蛋白细胞骨架重塑和细胞侵袭中发挥重要作用^[9]。以上结果表明, ITSN1 在乳腺癌中可能主要通过调控细胞骨架重塑和细胞侵袭/转移影响细胞存活, 对于 ITSN1 在其中发挥的具体功能还不是很清楚。为此, 本研究利用数据库预测 ITSN1 对乳腺癌患者预后的影响, 期望能够进一步阐明 ITSN1 在乳腺癌中可能发挥的功能。

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81572851)

作者简介 张莹华(1990-)女, 硕士在读, 研究方向: 生物化学与分子生物学; 通信作者: 马勇杰, E-mail: yongjiemagu@aliyun.com。

1 材料与方法

1.1 Kaplan-Meier Plotter 数据库 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)包含了乳腺癌样本基因 mRNA 表达水平的数据及样本来源病例的临床预后相关信息。运用此数据库,笔者分析了 ITSN1 mRNA 表达水平与乳腺癌患者预后的关系,所用探针 ID 为 35776-at。对 3 955 例患者进行无复发生存(recurrence free survival, RFS)分析,1 402 例患者进行总生存(overall survival, OS)分析,这些样本来源于该数据库中保存的 33 个 GSE, E-MTAB-365 和 E-TABM-43。总生存期定义为从疾病确诊日期到最后一次随访日期或患者死于乳腺癌的日期,无复发生存期定义为从开始用药到乳腺癌患者最早出现局部复发、远处转移或者死亡的时间。病例根据 ITSN1 mRNA 中位表达水平分成高表达组和低表达组,分别比较两组乳腺癌患者预后的情况。ITSN1 mRNA 的中位表达水平为 635,高表达组为 2 908,低表达组为 108。运用 COX 回归分析方法计算两组病例之间的预后风险比(hazard ratios, HRs)和 95%置信区间,同时计算 log-rank P 值, $P < 0.05$ 认为有统计学差异。

进行总生存分析的乳腺癌病例($n=1\ 402$)来自以下数据库:E-MTAB-365 ($n=537$),E-TABM-43 ($n=37$),GSE11121 ($n=200$),GSE12093 ($n=136$),GSE12276 ($n=204$),GSE1456 ($n=159$),GSE16391 ($n=55$),GSE16446 ($n=120$),GSE16716 ($n=47$),GSE17705 ($n=196$),GSE17907 ($n=54$),GSE18728 ($n=61$),GSE19615 ($n=115$),GSE20194 ($n=45$),GSE20271 ($n=96$),GSE2034 ($n=286$),GSE20685 ($n=327$),GSE20711 ($n=90$),GSE21653 ($n=240$),GSE2603 ($n=99$),GSE26971 ($n=276$),GSE2990 ($n=102$),GSE31448 ($n=71$),GSE31519 ($n=67$),GSE32646 ($n=115$),GSE3494 ($n=251$),GSE37946 ($n=41$),GSE41998 ($n=279$),GSE42568 ($n=121$),GSE45255 ($n=139$),GSE4611 ($n=153$),GSE5327 ($n=58$),GSE6532 ($n=82$),GSE7390 ($n=198$),GSE9195 ($n=77$)。

进行无复发生存分析的病例($n=3\ 955$)来自数据库:E-MTAB-365 ($n=537$),E-TABM-43 ($n=37$),GSE11121 ($n=200$),GSE12093 ($n=136$),GSE12276 ($n=204$),GSE1456 ($n=159$),GSE16391 ($n=55$),GSE16446 ($n=120$),GSE16716 ($n=47$),GSE17705 ($n=196$),GSE17907 ($n=54$),GSE18728 ($n=61$),GSE19615 ($n=115$),GSE20194 ($n=45$),GSE20271 ($n=96$),GSE2034 ($n=286$),GSE20685 ($n=327$),GSE20711 ($n=90$),GSE21653 ($n=240$),

GSE2603 ($n=99$),GSE26971 ($n=276$),GSE2990 ($n=102$),GSE31448 ($n=71$),GSE31519 ($n=67$),GSE32646 ($n=115$),GSE3494 ($n=251$),GSE37946 ($n=41$),GSE41998 ($n=279$),GSE42568 ($n=121$),GSE45255 ($n=139$),GSE4611 ($n=153$),GSE5327 ($n=58$),GSE6532 ($n=82$),GSE7390 ($n=198$),GSE9195 ($n=77$)。

1.2 GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) 数据库 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)包含的内容很丰富,可寻找差异基因和相似基因,分析肿瘤病人的生存情况,探索两个基因在肿瘤及正常组织中的表达相关性。利用该数据库,笔者分析了基因 ITSN1 和 HER2 在乳腺癌中的表达情况。该数据库中保存了 TCGA 和 GTEx 两个数据库的样本信息,本研究利用其中的 1 085 例乳腺癌患者和 291 例正常对照组进行分析。

2 结果

2.1 ITSN1 mRNA 表达水平与乳腺癌患者总人群预后的关系 首先,通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析发现 ITSN1 mRNA 高表达的乳腺癌患者具有更好的($P=1.3e-07$)无复发生存(图 1B),但不影响患者($P=0.44$)的总生存(图 1A)。

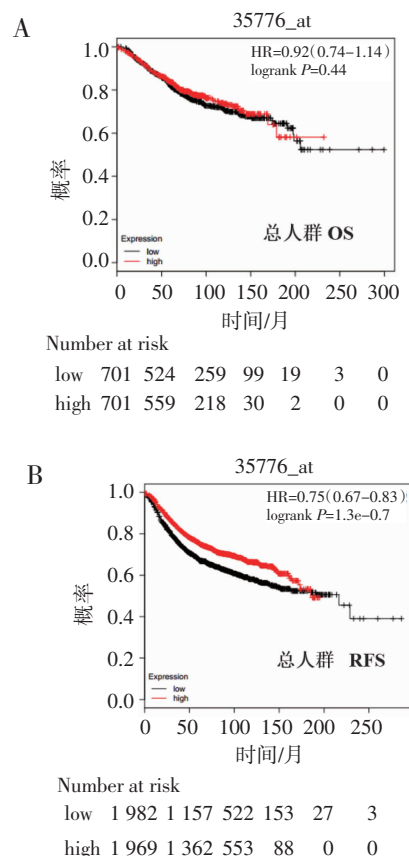


图1 ITSN1 mRNA 表达水平与乳腺癌患者总人群 OS、RFS 的关系
Fig 1 Relationship between ITSN1 mRNA expression level and OS, RFS in breast cancer patients

2.2 ITSN1 mRNA 表达水平与不同 HER2 状态乳腺癌患者预后的关系 根据不同 HER2 状态对乳腺癌患者分类,ITSN1 mRNA 的表达量主要影响患者的无复发生存。ITSN1 mRNA 的低表达提示 HER2 阳性($P=0.0072$)乳腺癌患者更好的无复发生存(图 2C), ITSN1 mRNA 的高表达提示 HER2 阴性($P=9e-05$)乳腺癌患者更好的无复发生存(图 2D)。但无法预测患者的总生存,HER2 阳性($P=0.69$),HER2 阴性($P=0.14$)(图 2A、2B)。

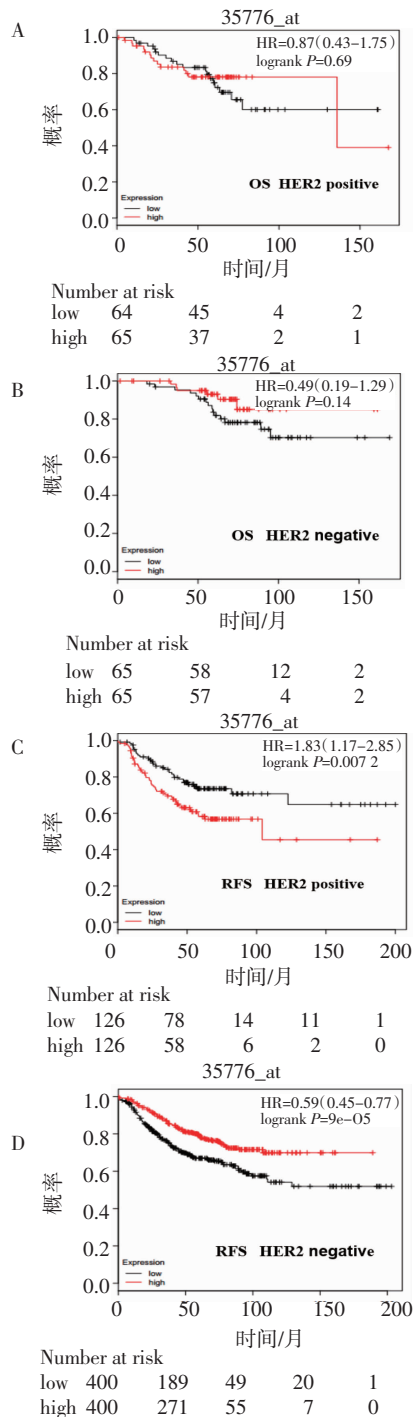


图2 ITSN1mRNA 表达水平与不同 HER2 状态乳腺癌患者预后的关系
 Fig 2 Relationship between ITSN1 mRNA expression level and prognosis of breast cancer patients in different HER2 status

2.3 ITSN1 mRNA 表达水平与各亚型乳腺癌患者预后的关系 进一步分析看到,ITSN1 mRNA 的低表达预示 Her-2 扩增型乳腺癌($P=0.0085$)更好的总生存(图 3C),而在 luminal A($P=0.17$),luminal B($P=0.49$),基底细胞型($P=0.24$)乳腺癌中没有这种预测价值(图3A、3B、3D)。

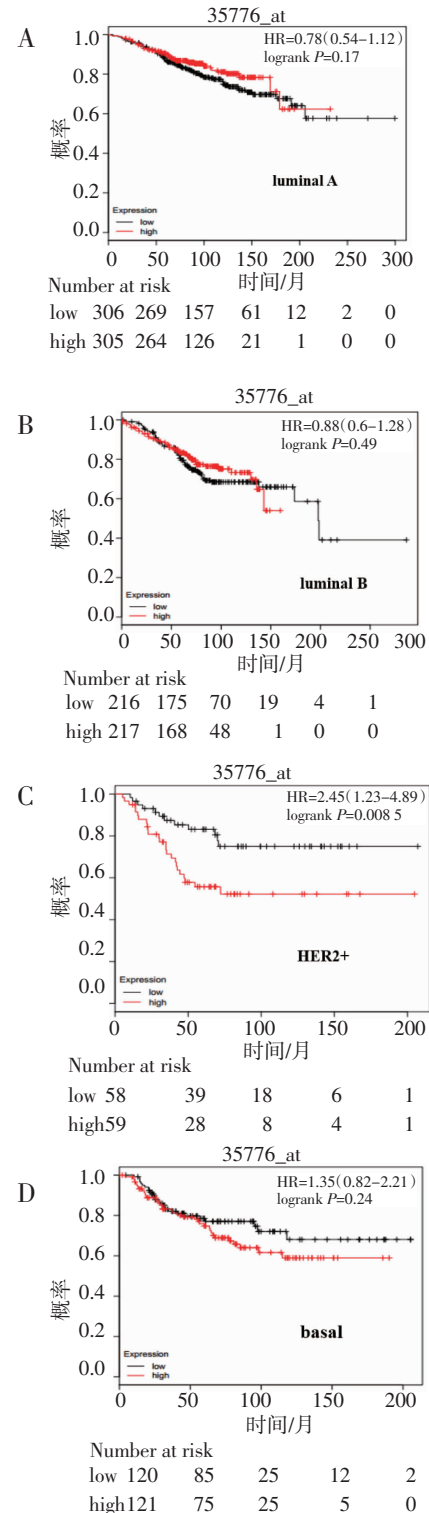


图3 ITSN1 mRNA 表达水平与各亚型乳腺癌患者 OS 的关系

Fig 3 Relationship between ITSN1 mRNA expression level and OS of breast cancer patients

ITSN1 mRNA 的表达水平与乳腺癌患者的无复发生存有一定关系。ITSN1 mRNA 的高表达预示 luminal A ($P=0.000\ 46$), luminal B ($P=5.7e-05$) 乳腺癌患者更好的无复发生存(图 4 A, 4 B), 而在 Her-2 扩增 ($P=0.12$), 基底细胞型 ($P=0.64$) 乳腺癌中没有这种预测价值(4 C、4 D)。

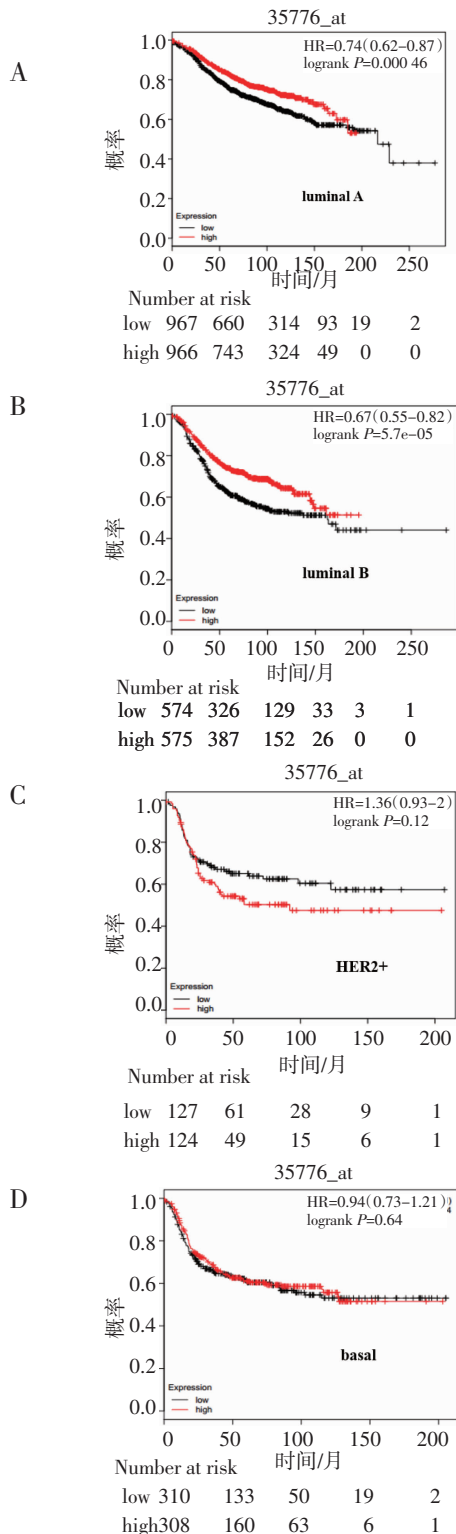


图 4 ITSN1 mRNA 表达水平与各亚型乳腺癌患者 RFS 的关系

Fig 4 Relationship between ITSN1 mRNA expression level and RFS in breast cancer patients

2.4 ITSN1 mRNA 表达水平与不同淋巴结状态乳腺癌患者预后的关系 根据淋巴结转移的情况对乳腺癌患者分类, 笔者发现 ITSN1 mRNA 的高表达提示淋巴结阴性 ($P=0.003\ 4$) 乳腺癌更好的总生存(图 5B), 淋巴结阳性 ($P=0.045$) 乳腺癌更好的无复发生存(图 5 C)。但无法预测淋巴结阳性患者的总生存 ($P=0.93$)(图 5 A)和淋巴结阴性患者的无复发生存 ($P=0.45$)(图 5 D)。

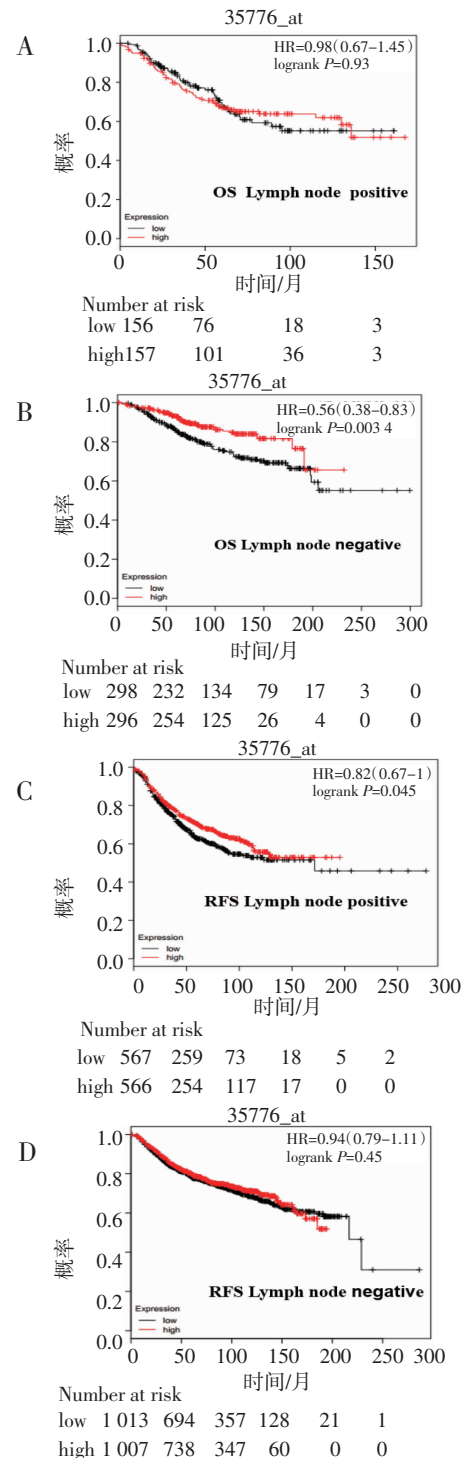


图 5 ITSN1 mRNA 表达水平与不同淋巴结状态乳腺癌患者预后的关系

Fig 5 Relationship between ITSN1 mRNA expression level and prognosis of breast cancer patients in different lymph node status

2.5 基因 ITSN1 和 HER2 在肿瘤中的表达情况 ITSN1 mRNA 的低表达在 HER2 阳性/扩增型乳腺癌患者中提示更好的预后,而在其他患者中 ITSN1 mRNA 的高表达提示更好的预后,这说明 HER2 在 ITSN1 mRNA 预测乳腺癌预后方面发挥重要作用。为此笔者分别比较了基因 ITSN1 和 HER2 在多种癌症中的表达。两种基因在数十种癌症中的表达既有升高也有降低,HER2 在乳腺癌中的表达升高,ITSN1 在乳腺癌中的表达降低(图 6 A、6 B)。这提示 ITSN1 在不同肿瘤中可能具有不同的功能,与肿瘤的发生发展密切相关。

在乳腺癌(BRCA)中,通过对 1 085 例乳腺癌患者和 291 例正常对照组分析,箱式图分析结果发现 HER2 基因的表达高于正常乳腺组织(图 6 C),ITSN1 基因的表达低于正常乳腺组织(图 6 D),差异均有统计学意义。

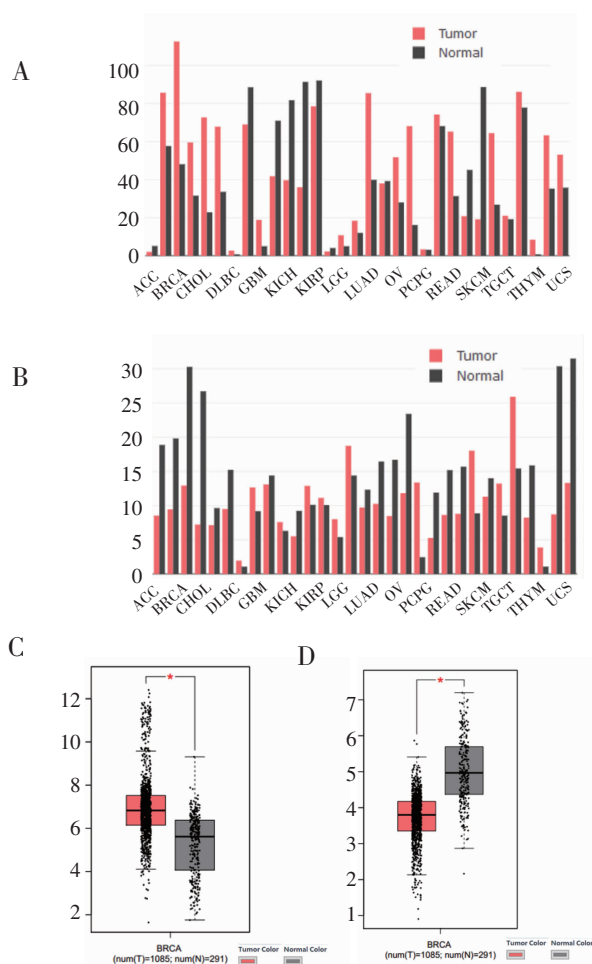


图 6 基因 HER2 和 ITSN1 在多种肿瘤及对应正常组织中的表达(A, B),两种基因在乳腺癌及正常乳腺组织中表达的箱式图(C, D)

Fig 6 Expression of genes HER2 and ITSN1 in various tumors and corresponding normal tissues (A, B), box plots of expression of two genes in breast cancer and normal breast tissues (C, D)

3 讨论

ITSN 与调控细胞凋亡的线粒体途径,促进生存的 PI3K 途径,调节细胞生长、分化和发育的 RTK、Ras、MAPK 途径等密切相关,这些信号通路的改变都将严重影响细胞发挥正常的功能,更有可能导致各种疾病的发生。研究表明,过表达 ITSN1 可以促进成纤维细胞的恶性转化^[10]。

HER2 基因在多种癌症中扩增,包括乳腺癌。HER2 是重要的乳腺癌预后判断因子,据报道,大约 15%~25% 的患者为 HER2 阳性乳腺癌^[11-12]。cBioPortal 数据库中的 Network 板块显示,HER2 基因在乳腺癌中的扩增频率为 22.8%,这与文献报道一致。

笔者发现 ITSN1 mRNA 的高表达预示乳腺癌总人群更好的预后,然而,ITSN1 mRNA 的低表达却能够提示 Her-2 扩增型乳腺癌患者更长的总生存,HER2 阳性乳腺癌患者更长的无复发生存。对于这种现象,笔者提出了以下几点猜想:HER2 可以通过 PI3K-AKT 通路间接活化 NF- κ B,阻断乳腺癌细胞的凋亡,促进细胞生存^[13]。另外,PI3K/AKT 通路在 HER2 阳性乳腺癌中过度激活,这可能引起了患者总生存时间短及抗 HER2 治疗耐药^[14]。ITSN1 对 PI3K-AKT 途径具有调节作用,ITSN1 与 PI3K-C2 β 发生相互作用形成复合物,促进 AKT 的磷酸化并激活下游信号通路,促进细胞生存^[15]。有研究报道,ITSN1 与 PI3K2 β 在神经母细胞瘤中相互作用,沉默 ITSN1 可降低细胞生长,过表达 PI3K-C2 β 可逆转 ITSN1 沉默导致的细胞生长减慢^[16-17]。

HER2 与 ITSN1 存在相互作用并参与药物反应,这可能会对肿瘤患者的生存及化疗效果产生重要的影响。总之,HER2 与 ITSN1 都可以调节 PI3K/AKT 通路,该通路与细胞增殖、生长、迁移和代谢等多个过程密切关联。至于两者如何通过调节 PI3K/AKT 或其他信号通路而影响乳腺癌细胞的存活,具体作用机制有待于深入研究和验证。

笔者进一步通过 GEPIA 数据库分析,发现基因 ITSN1 和 HER2 在多种癌症中异常表达,而在乳腺癌中,HER2 基因的表达高于正常组织的 2.34 倍,ITSN1 基因的表达低于正常组织的 2.34 倍。通过对 1 085 例乳腺癌患者和 291 例正常对照组的分析,我们发现 ITSN1 在乳腺癌中的表达明显低于正常乳腺组织,HER2 在乳腺癌中的表达显著高于正常乳腺组织。

本研究首次利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库在线分析了 ITSN1 mRNA 的表达量对乳腺癌患者预后的影响,我们发现 ITSN1 mRNA 的高表达能够

提示乳腺癌总人群更长的无复发生存($P=1.3e-07$),但不影响患者的总生存($P=0.44$)。进一步将乳腺癌患者分类,发现 ITSN1 mRNA 高表达的 luminal A ($P=0.00046$),luminal B ($P=5.7e-05$),HER2 阴性 ($P=9e-05$),淋巴结阳性($P=0.045$)乳腺癌患者具有更长的无复发生存时间,高表达 ITSN1 mRNA 的淋巴结阴性($P=0.0034$)乳腺癌患者具有更好的总生存。

总体来说,笔者发现单一考虑 ITSN1 mRNA 的表达,高表达组患者的预后好于低表达组。如果患者同时被鉴定为 HER2 阳性/扩增型乳腺癌,那么他的预后实际上差于低表达组。因此,笔者提出综合考虑 ITSN1 和 HER2 评价乳腺癌患者预后的观点,为精准预测和精准治疗提供新的可参考的理论依据。

参考文献:

- [1] 翟寓. 心理护理在急性脊髓损伤患者康复中的作用[J]. 当代护士(下旬刊), 2017, 5: 122
- [2] Oleksandr Dergai, Mykola Dergai, Inessa Skrypina, et al. The LMP2A protein of Epstein - Barr virus regulates phosphorylation of ITSN1 and Shb adaptors by tyrosine kinases [J]. Cellular Signalling, 2013, 25:33
- [3] Predescu S, Bardita C, Predescu D, et al. New insights into the functions of intersectin-1s[J]. Commun Integr Biol, 2015, 8(3):103-110
- [4] Bardita C, Predescu D N, Sha F, et al. Endocytic deficiency induced by ITSN-1s knockdown alters the Smad2/3-Erk1/2 signaling balance downstream of Akt5[J]. Cell Sci, 2015, 128:1528
- [5] Gu F, Zhang H, Qin F, et al. Intersectin1-S a multidomain adapter protein is essential for malignant glioma proliferation[J]. Glia, 2015, 63:1595
- [6] Russo A, O'Bryan J P. Intersectin1 is required for neuroblastoma tumorigenesis [J]. Oncogene, 2012, 31:4828
- [7] Herrero-Garcia E, O'Bryan J P. Intersectin scaffold proteins and their role in cell signaling and endocytosis[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2017, 1864(1): 23
- [8] Gryaznova T, Kropyvko S, Burdyniuk M, et al. Intersectin adaptor proteins are associated with actin-regulating protein WIP in invadopodia [J]. Cell Signal, 2015, 27(7): 1499
- [9] Kropyvko S, Gryaznova T, Morderer D, et al. Mammalian Verprolin CR16 acts as a modulator of ITSN scaffold proteins association with actin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 484(4):813
- [10] Novokhatska O, Dergai M, Tsyba L, et al. Adaptor proteins intersectin 1 and 2 bind similar proline-rich ligands but are differentially recognized by SH2 domain-containing proteins [J]. PLoS One, 2013, 8(7): e70546
- [11] Ricciardi G R, Franchina T, Russo A, et al. Nab-paclitaxel and trastuzumab combination: a promising approach for neoadjuvant treatment in Her2-positive breast cancer [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9:4351
- [12] Olofsson S, Norrlid H, Karlsson E, et al. Societal cost of subcutaneous and intravenous trastuzumab for HER2-positive breast cancer: An observational study prospectively recording resource utilization in a Swedish healthcare setting [J]. Breast, 2016, 29:140
- [13] 邵士珺, 吴雪卿, 万华等. 乳腺癌术后对 HER2 阳性乳腺癌复发转移小鼠 NF- κ B 表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(2):208
- [14] 李慧, 李春晓, 南鹏, 等. PI3K/AKT 信号通路与 HER2 阳性乳腺癌患者总生存时间的相关性及验证分析 [J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(3):217
- [15] Wheeler M, Domin J. The N-terminus of phosphoinositide 3-kinase γ 2 regulates lipid kinase activity and binding to clathrin [J]. J Cell Physiol, 2006, 206(3):586
- [16] Harris M D, Herrero-Garcia E, Russo A, et al. Silencing Intersectin 1 Slows Orthotopic Neuroblastoma Growth in Mice [J]. Pediatr Hematol Oncol, 2017, 39(8):413
- [17] Russo A, Okurb M N, Bosland M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase, Class 2 beta (PI3KC2 β) isoform contributes to neuroblastoma tumorigenesis [J]. Cancer Lett, 2015, 359(2):262

(2018-11-24 收稿)

欢迎投稿

欢迎订阅