

• 论 著 •

H2AX 基因在肺腺癌中的临床意义*

黄 奔, 郑弘熙, 顾 敏[△]

南京医科大学第一附属医院检验学部/国家医学检验临床医学研究中心分中心, 江苏南京 210029

摘 要:**目的** 研究组蛋白 H2A 变体(H2AX)基因在人肺腺癌中的临床意义,初步探索其在肺腺癌中的生物学作用。**方法** 从癌症基因组图谱和基因表达综合数据库中下载肺腺癌转录组数据,使用 R 4.3.1 软件提取 H2AX mRNA 在肺腺癌组织和癌旁正常肺组织中的表达水平,分析 H2AX 表达与患者临床病理参数之间的关系。使用 Kaplan-Meier 和 Cox 回归分析 H2AX 基因表达对患者的预后作用。使用实时荧光定量 PCR (qPCR)验证分析 H2AX 基因在肺腺癌细胞和正常支气管上皮细胞中的表达。基因集富集分析、基因本体论富集分析和京都基因与基因组百科全书富集分析用于探索 H2AX 基因的生物学作用。**结果** 与癌旁正常组织比较,H2AX mRNA 在肺腺癌组织中表达升高($P<0.001$)。qPCR 结果显示,与正常支气管上皮细胞相比,肺腺癌细胞 A549 和 SPC-A1 中 H2AX mRNA 表达水平明显升高($P<0.05$)。H2AX 基因表达与患者的肿瘤分期($P=0.029$)和 N 分期($P=0.016$)有关。Kaplan-Meier 曲线分析显示,高表达的 H2AX 与患者总生存率较低有关($P<0.001$)。Cox 回归分析显示,H2AX 是肺腺癌患者的独立预后因素($HR=1.011, 95\%CI\ 1.003\sim 1.020, P=0.006$)。功能富集分析结果表明,H2AX 基因参与了细胞周期、DNA 复制、错配修复等分子功能,参与了 P53 信号通路等与肿瘤发生发展相关的分子通路。**结论** H2AX 基因在人肺腺癌中高表达,与肿瘤患者的恶性进展相关,可以通过多种途径影响肺腺癌的进展,有望成为肺腺癌患者的分子标志物。

关键词:组蛋白 H2A 变体基因; 肺腺癌; 表达; 预后标志物; 功能富集分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.05.006

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2025)05-0535-08

文献标志码:A

Clinical significance of H2AX gene in lung adenocarcinoma*

HUANG Ben, ZHENG Hongxi, GU Min[△]

Department of Laboratory Medicine/Branch of National Clinical Research Center
for Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing
Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of H2A histone family member (H2AX) gene in human lung adenocarcinoma, and to explore its biological role in lung adenocarcinoma. **Methods** The transcriptome data of lung adenocarcinoma were downloaded from the Cancer Genome Atlas and Gene Expression database. The expression of H2AX mRNA in lung adenocarcinoma tissues and adjacent normal lung tissues was extracted by R 4.3.1 software, and the relationship between the expression of H2AX and the clinicopathological parameters of the patients was analyzed. Kaplan-Meier and Cox regression analysis were used to analyze the prognostic value of H2AX gene expression. The expression of H2AX gene in lung adenocarcinoma cell lines and normal bronchial epithelial cells was verified by quantitative real-time PCR (qPCR). Gene set enrichment analysis, gene ontology enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes enrichment analysis were used to explore the biological role of H2AX gene. **Results** The expression of H2AX mRNA in lung adenocarcinoma tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues ($P<0.001$). qPCR results showed that compared with normal bronchial epithelial cells, the expression levels of H2AX mRNA in lung adenocarcinoma cell lines A549 and SPC-A1 were significantly increased ($P<0.05$). H2AX expression was associated with tumor stage ($P=0.029$) and N stage ($P=0.016$). Kaplan-Meier curve analysis showed that high expression of H2AX was associated with a lower overall survival rate of patients ($P<0.001$). Cox regression analysis showed that H2AX was an independent prognostic factor for lung adenocarcinoma patients ($HR=1.011, 95\%CI\ 1.003\sim 1.020, P=0.006$). The results of functional enrichment analysis showed that

* 基金项目:江苏省医学重点学科项目(ZDXK202239)。

作者简介:黄奔,男,主管技师,主要从事肿瘤免疫相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: gumin09@njmu.edu.cn。

H2AX gene was involved in molecular functions such as cell cycle, DNA replication, mismatch repair, and P53 signaling pathway. **Conclusion** H2AX gene is highly expressed in human lung adenocarcinoma, which is related to the malignant progression of tumor patients. H2AX gene can affect the progression of lung adenocarcinoma through a variety of pathways, and may be used as a molecular marker for lung adenocarcinoma patients.

Key words: H2A histone family member gene; lung adenocarcinoma; expression; prognostic markers; functional enrichment analysis

肺癌是最常见的恶性肿瘤,也是全球癌症相关死亡的主要原因^[1]。约 85% 的肺癌患者被诊断为非小细胞肺癌(NSCLC),其中最常见 NSCLC 病理类型是肺腺癌^[2]。研究指出,肺腺癌患者的病理进展快,易发生远端转移,并且预后较差^[3-4]。许多危险因素与肺腺癌密切相关,包括遗传因素、吸烟、环境污染等^[5]。尽管肺腺癌的筛查和治疗取得了进展,但部分患者在首次就诊时就已经被诊断为晚期,这也是导致患者总生存率低的主要原因之一。近年来,随着微阵列、测序等高通量技术的不断发展,研究人员逐渐发现了肺腺癌新的分子机制和潜在靶点,为诊断、治疗和预后预测提供了新思路。

组蛋白 H2A 变体(H2AX)基因定位于 11 号染色体 11q23 位置,属于组蛋白 H2A 基因家族。先前的研究通常认为 H2AX 的功能与其磷酸化有关^[6]。磷酸化 H2AX(γ H2AX)参与基因组 DNA 损伤的修复^[7]。H2AX 基因是检测 DNA 双链断裂(DSB)的灵敏、可靠的指标^[8],并参与 DSB 的信号传导、募集 DNA 修复因子和防止 DNA 断裂进展到易位^[9]。越来越多的证据表明了 H2AX 与人类癌症之间存在相关性,如膀胱癌^[10]、头颈部癌^[11]和肝细胞癌^[12]。近期,WANG 等^[13]通过生物信息学分析坏死性凋亡相关基因,并构建肺腺癌患者的预后模型,结果发现 H2AX 等 8 个基因与患者的预后相关,提示 H2AX 可以作为肺腺癌患者潜在的预后标志物。鉴于此,本研究旨在通过综合利用癌症基因组图谱(TCGA)和基因表达综合(GEO)数据库,分析 H2AX mRNA 在肺腺癌中的表达情况,进一步探索其表达与患者临床病理特征和总生存率的相关性。此外,为进一步了解 H2AX 基因的生物学作用,使用功能富集分析探究 H2AX 及其互相作用的基因在肺腺癌中参与的生物学途径。

1 资料与方法

1.1 H2AX mRNA 在肺腺癌中的表达分析 在 TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 中下载肺腺癌的转录组测序数据,其中,有肺腺癌组织 535 例和癌旁正常组织 59 例。同时,在 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载 GSE32863 肺腺癌数据集,其中,共有肺腺癌组织 58 例,癌旁正常组织 58 例。使用 R 4.3.1 软件对基因表达数据进行标准化,提取 H2AX mRNA 的表达数据,分析 H2AX mRNA 在肺腺癌组织中的表达水平。

1.2 H2AX mRNA 与肺腺癌患者的临床病理参数的相关性分析 在 TCGA 数据库中,下载肺腺癌患者相应的临床数据,包括性别、年龄、肿瘤临床分期、随访时间及生存状态。在后续分析中,只保留了具有完整临床参数的病例,并排除随访时间小于 30 d 的病例。在探究 H2AX mRNA 表达与患者临床病理特征的相关性时,基于 H2AX mRNA 表达水平的中位值,将肺腺癌患者分为高、低表达两组。

1.3 H2AX mRNA 与肺腺癌患者预后的相关性分析 在本研究中,为了充分探索 H2AX 基因在肺腺癌患者中的预后作用,使用 Kaplan-Meier 和 Cox 回归分析 H2AX 基因表达与患者的总生存率的关系。此外,使用 GEPIA2 数据库(<http://gepia2.cancer-pku.cn>)、UALCAN 数据库 (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 和 OncoLnc 数据库 (<http://www.oncolnc.org/>) 验证分析 H2AX 表达与肺腺癌患者预后的关系。基于 H2AX 表达水平的中位值,在 GEPIA2 数据库中,将肺腺癌患者分为高表达组 239 例,低表达组 239 例;在 UALCAN 数据库中,高表达 H2AX 组 127 例,低表达组 375 例;在 OncoLnc 数据库,高表达 H2AX 组 246 例,低表达组 246 例。

1.4 实时荧光定量 PCR(qPCR)分析 使用 TRIzol 试剂提取人正常支气管上皮 HBE 细胞和肺腺癌 A549 细胞、SPC-A1 细胞中的总 RNA。使用 NanoDrop ND-2000 分光光度计测定 RNA 的浓度。在后续实验中,按照 PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser 逆转录试剂盒操作说明书逆转录生成 cDNA,使用 2 $\times$ 通用 SYBR Green Fast qPCR Mix 进行 qPCR 分析。每组实验重复 3 次,每组设置 3 个平行副孔。使用引物试剂为上海碧云天生物技术有限公司 Human H2AX qPCR Primer Pair 干粉试剂(QH15625S),以 GAPDH 为内参,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 方法计算相对表达水平。

1.5 UALCAN 数据库验证分析 UALCAN 数据库是一个基于 TCGA 数据库进行深入分析的在线交互式网站^[14]。在 UALCAN 数据库中,有肺腺癌 515 例和 59 例癌旁正常组织。基于测序 TPM 表达值,将基因表达水平的中位值将患者分为两组(高表达组和中/低表达组)。在本研究中,使用 UALCAN 数据库来验证分析肺腺癌中 H2AX 的表达与患者的病理分期、肿瘤分级、淋巴结转移、TP53 突变状态等临床病理特征的相关性。

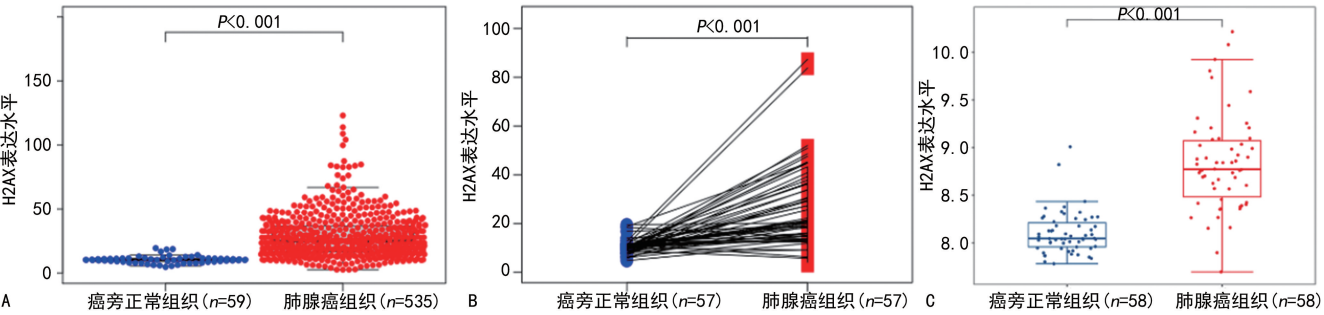
1.6 功能富集分析 在本研究中,使用基因集富集分析(GSEA)方法探究 H2AX 的分子作用机制。基于 H2AX 表达水平的中位值将患者分为低和高表达两类以注释表型。采用加权富集法分析,分析的通路来自 Msig-DB 数据库中的 c2. cp. kegg. v7. 0. symbols. gmt 数据集。随机组合数设置为 1 000 次。 $P<0.05$ 和错误发现率 <0.05 的基因集被视为显著富集。所有其他参数均按默认值设置。此外,使用 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)分析与 H2AX 互相作用的基因。进一步对这些互相作用的基因进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,以探索 H2AX 和互相作用的基因参与的生物学过程、分子功能、细胞学组分及分子通路。

1.7 统计学处理 本研究使用 R 4. 3. 1 软件和 SPSS22. 0 统计学软件进行数据分析。采用 Mann-

Whitney U 检验分析肿瘤组织和癌旁正常组织间的 H2AX 的表达差异。使用 χ^2 检验分析 H2AX 表达与肺腺癌患者临床病理参数之间的相关性。Log-rank 检验、Cox 回归分析用于探讨 H2AX 表达与肺腺癌患者的预后作用。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

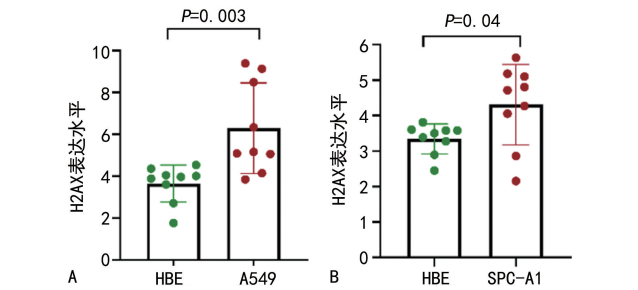
2.1 H2AX mRNA 在肺腺癌中表达升高 在 TCGA 数据库中,共有肺腺癌组织 535 例和癌旁正常组织 59 例。结果显示,与癌旁正常组织比较,H2AX 在肺腺癌组织中的表达升高($P<0.001$,图 1A)。在配对的 57 对肺腺癌组织和相应的癌旁正常组织中 H2AX mRNA 的表达水平比较结果也显示,H2AX mRNA 在肺腺癌中过表达($P<0.001$,图 1B)。此外,在 GSE32863 数据集的分析也显示了相同的结果($P<0.001$,图 1C)。



注: A 为 TCGA 数据库中 H2AX mRNA 情况;B 为 TCGA 数据库 57 对配对的肺腺癌组织和癌旁正常组织中 H2AX mRNA 情况;C 为 GSE32863 数据集中 58 例癌旁正常组织和 58 例肺腺癌组织 H2AX mRNA 情况。

图 1 H2AX mRNA 在癌旁正常组织和肺腺癌组织中的表达情况

2.2 qPCR 分析结果 使用 qPCR 分析肺腺癌细胞中 H2AX mRNA 的表达,结果显示,相比于人正常支气管上皮 HBE 细胞,A549 细胞(图 2A)、SPC-A1 细胞(图 2B)中 H2AX mRNA 的表达明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。



注:A 为 H2AX mRNA 在 A549 细胞与 HBE 细胞中的表达比较;B 为 H2AX mRNA 在 SPC-A1 细胞与 HBE 细胞中的表达比较。

图 2 qPCR 分析 H2AX mRNA 在细胞系中的表达

2.3 H2AX mRNA 表达与临床病理特征的关系分析 在 TCGA 数据库中,共有 337 肺腺癌患者临床资料完整。Logistic 回归分析表明,H2AX mRNA 表达升高与患者的肿瘤分期(Ⅲ~Ⅳ期 *vs.* Ⅰ~Ⅱ期, $OR=1.746$, $P=0.030$)和 N 分期(N1~N3 期 *vs.*

N0 期, $OR=1.995$, $P=0.008$)有关。结果提示,H2AX 与肺腺癌的恶性进展特征有关。见表 1。

表 1 H2AX mRNA 表达与临床病理特征的关系

临床特征	OR	95%CI	P
年龄(>65 岁 <i>vs.</i> ≤65 岁)	0.663	0.400~1.091	0.108
性别(男 <i>vs.</i> 女)	1.109	0.676~1.826	0.682
T 分期(T3~T4 期 <i>vs.</i> T1~T2 期)	1.183	0.720~1.948	0.507
M 分期(M1 期 <i>vs.</i> M0 期)	0.976	0.594~1.604	0.924
N 分期(N1~N3 期 <i>vs.</i> N0 期)	1.995	1.206~3.345	0.008
肿瘤分期(Ⅲ~Ⅳ期 <i>vs.</i> Ⅰ~Ⅱ期)	1.746	1.059~2.909	0.030

此外,在 TCGA 数据库中,根据 H2AX 表达的中位值(26.66),将患者分为两组(高表达组与低表达组)。 χ^2 检验结果显示,H2AX 的表达与患者的肿瘤分期($P=0.029$)和 N 分期有关($P=0.016$),见表 2。

表 2 H2AX mRNA 表达与患者临床病理特征的关系

临床特征	高表达组	低表达组	χ^2	P
年龄(岁)			3.632	0.057
≤65	90	73		
>65	78	96		

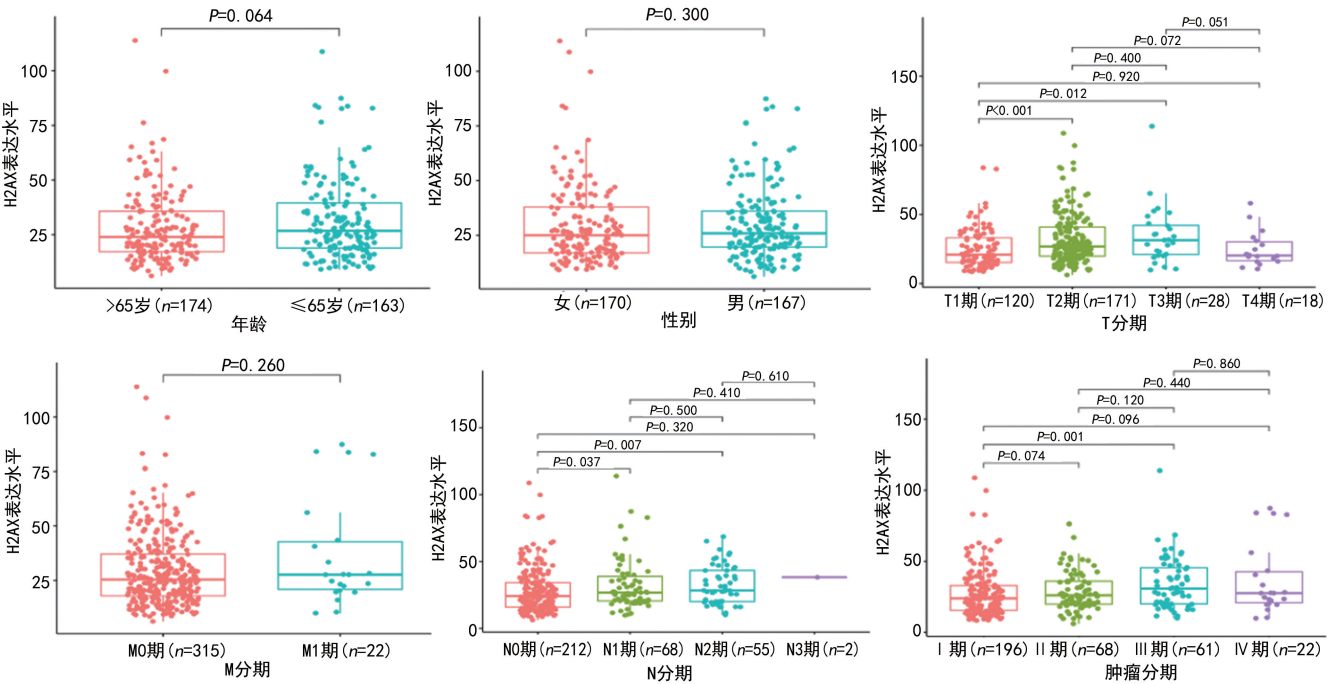
续表 2 H2AX mRNA 表达与患者临床病理特征的关系				
临床特征	高表达组	低表达组	χ^2	P
性别			0.359	0.549
女	82	88		
男	86	81		
肿瘤分期			4.755	0.029
I ~ II 期	118	136		
III ~ IV 期	50	33		
T 分期			0.115	0.735
T1 ~ T2 期	144	147		
T3 ~ T4 期	24	22		
N 分期			5.808	0.016
N0 期	95	117		
N1 ~ N3 期	73	52		
M 分期			0.207	0.649
M0 期	156	159		
M1 期	12	10		

进一步的分析显示,在患者分期中,与 T1 期比较,T2 期和 T3 期患者的 H2AX 表达升高($P <$

0.001, $P=0.012$,图 3C);N1 和 N2 期患者的 H2AX 表达高于 N0 期($P=0.037$ 、0.007,图 3E);此外,H2AX 在肿瘤分期 III 期患者中的表达高于 I 期($P=0.001$,图 3F)。然而,H2AX 的表达与患者的 M 分期之间未发现明显的关系($P=0.260$,图 3D)。

2.4 H2AX 基因是肺腺癌患者的不良预后因素 结果显示,在 TCGA 肺腺癌数据集中,高表达组患者的总生存率低于低表达组($P < 0.001$,图 4A),在 GEP-PIA2 数据库中,Log-rank 分析显示,H2AX 的过度表达可能提示肺腺癌患者的总生存率低($P < 0.001$,图 4B),在 UALCAN 数据库中,与低表达组比较,高表达组的患者总生存率较低($P < 0.001$,图 4C),同时,在 OncoLnc 数据库中发现了一致的结果($P < 0.001$,图 4D)。

此外,对 TCGA 数据库进行 Cox 回归分析,以进一步评估 H2AX 的预后价值。单因素 Cox 回归分析显示,患者的肿瘤分期、T 分期、N 分期、M 分期和 H2AX 表达会影响患者的生存率($P < 0.05$)。而在多因素分析中,T 分期($HR=1.305$,95%CI 1.035~1.644, $P=0.024$)和 H2AX 表达($HR=1.011$,95%CI 1.003~1.020, $P=0.006$)与患者生存率低有关,可以作为肺腺癌的独立预后因素。见表 3。

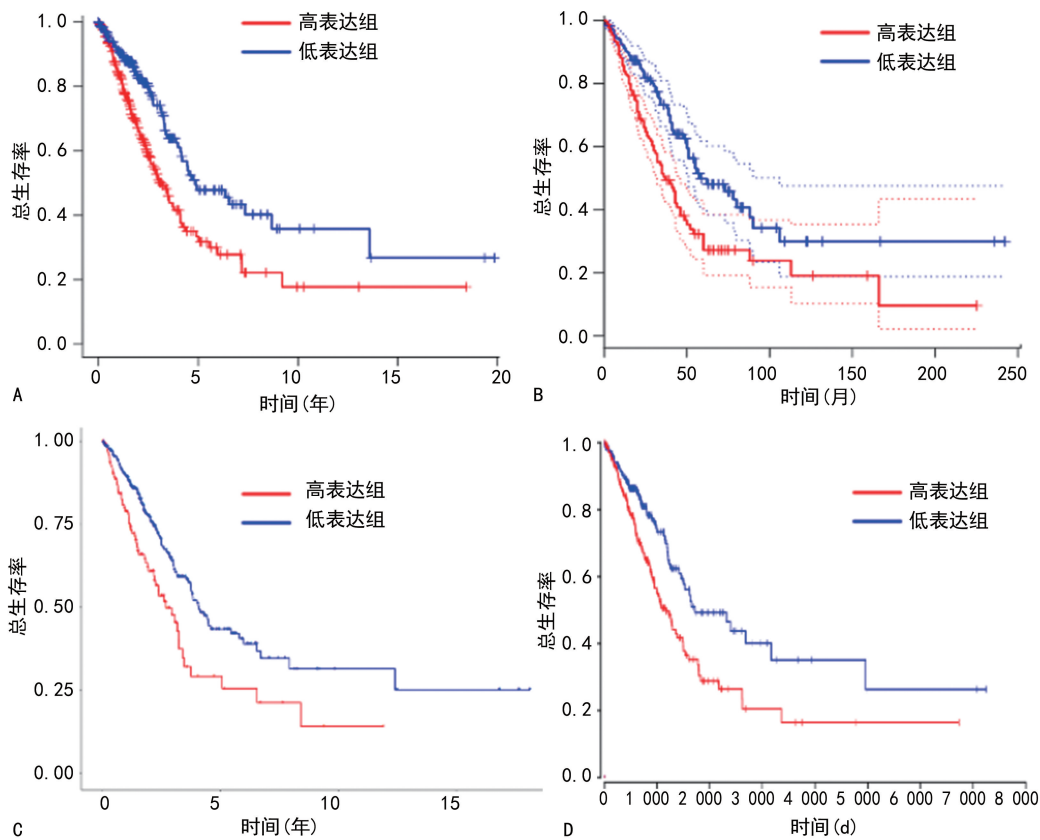


注:A~F 分别表示在 TCGA 数据库中,患者不同年龄、性别、T 分期、M 分期、N 分期及肿瘤分期中 H2AX 表达情况分析。

图 3 H2AX mRNA 表达与肺腺癌患者临床参数的关系分析

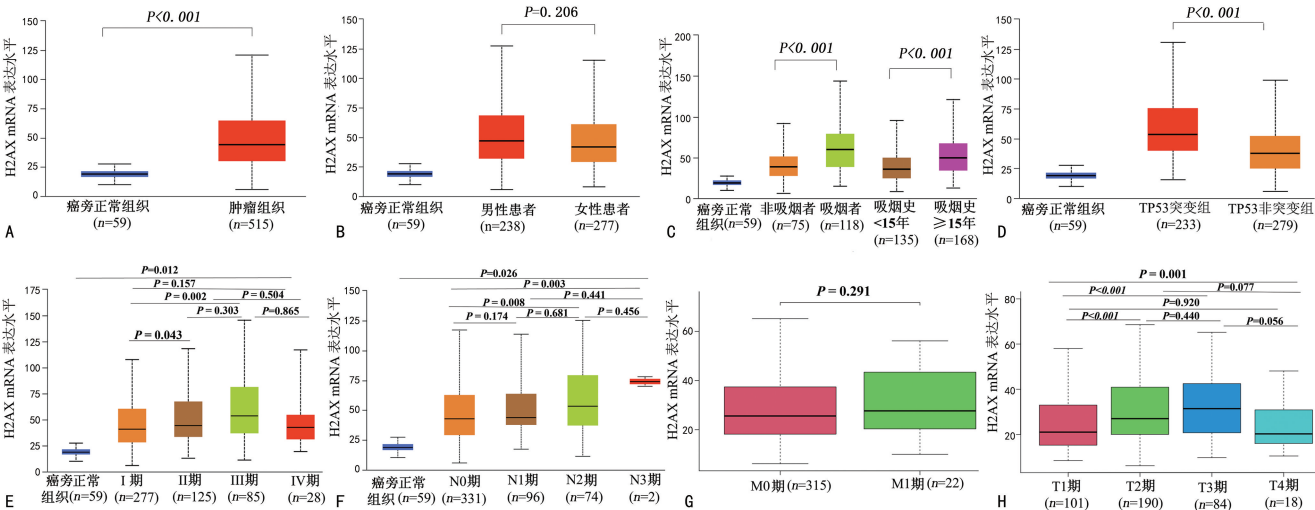
2.5 UALCAN 数据库验证分析 结果显示,与癌旁正常组织比较,H2AX mRNA 在肺腺癌组织中的表达升高($P < 0.001$,图 5A)。此外,吸烟者的 H2AX mRNA 表达水平高于非吸烟者($P < 0.001$,图 5C);与吸烟史 < 15 年的患者相比,吸烟史 ≥ 15 年的患者

H2AX mRNA 表达水平升高($P < 0.001$,图 5C)。H2AX mRNA 表达与患者的 TP53 突变状态($P < 0.001$,图 5D)、肿瘤分期($P=0.012$,图 5E)、N 分期($P=0.026$,图 5F)和 T 分期($P=0.001$,图 5H)有关,而与患者的性别无关($P=0.206$,图 5B)。



注：A~D 分别表示在 TCGA、GEP1A2、UALCAN、OncoLnc 数据库中 H2AX 表达与肺癌患者总生存率之间的关系。

图 4 H2AX mRNA 表达与肺癌患者总生存率的关系



注：A 为 UALCAN 数据库中，59 例癌旁正常组织和 515 例肺癌组织中 H2AX mRNA 的表达情况；B~H 为 H2AX mRNA 的表达与患者性别、吸烟情况、TP53 突变状态、肿瘤分期、N 分期、M 分期和 T 分期的关系分析。

图 5 UALCAN 数据库中 H2AX mRNA 表达与临床参数的相关性

表 3 单因素和多因素 Cox 分析

临床特征	单因素分析			多因素分析		
	HR	P	95%CI	HR	P	95%CI
年龄(>65 岁 vs. ≤65 岁)	1.000	0.968	0.983~1.108	1.012	0.203	0.994~1.030
性别(男 vs. 女)	1.074	0.067	0.768~1.503	0.960	0.819	0.679~1.358
肿瘤分期(Ⅲ~Ⅳ期 vs. Ⅰ~Ⅱ期)	1.584	<0.001	1.355~1.852	1.320	0.182	0.878~1.984
T 分期(T3~T4 期 vs. T1~T2 期)	1.607	<0.001	1.322~1.954	1.305	0.024	1.035~1.644

续表 3 单因素和多因素 Cox 分析

临床特征	单因素分析			多因素分析		
	HR	P	95%CI	HR	P	95%CI
N 分期 (N1~N3 期 vs. N0 期)	1.724	<0.001	1.422~2.091	1.263	0.190	0.890~1.792
M 分期 (M1 期 vs. N0 期)	1.825	0.040	1.028~3.240	0.880	0.807	0.313~2.469
H2AX 表达 (高 vs. 低)	1.012	0.002	1.004~1.019	1.011	0.006	1.003~1.020

2.6 功能富集分析 使用 GSEA 富集分析进一步了解 H2AX 在肺腺癌中的分子功能,结果如图 6A 所示,H2AX 基因高表达参与了细胞周期、DNA 复制、RNA 降解、错配修复和 P53 信号通路。进一步使用 STRING 数据库探究与 H2AX 相互作用的基因,结果如图 6B 显示,共有 10 个基因:BRCA1、TP53BP1、RAD51、ATM、MDC1、XRCC6、H2BC21、H4C6、H3C1、H3C12 与 H2AX 相互作用。GO 富集分析结果显示,这些相互作用的基因在体内主要参与了细胞

对辐射的反应、端粒组织、蛋白质-DNA 复合物组装等生物学过程(图 6C);参与了受损 DNA 结合、端粒结合蛋白、DNA 解旋酶活性等分子功能(图 6D);定位了染色体端粒区、DNA 组装复合体等细胞学组分(图 6E)。KEGG 富集分析结果显示,H2AX 与互相作用的基因主要参与了中性粒细胞胞外陷阱形成、同源重组、癌症中的转录失调、铂类耐药等生物学途径(图 6F)。

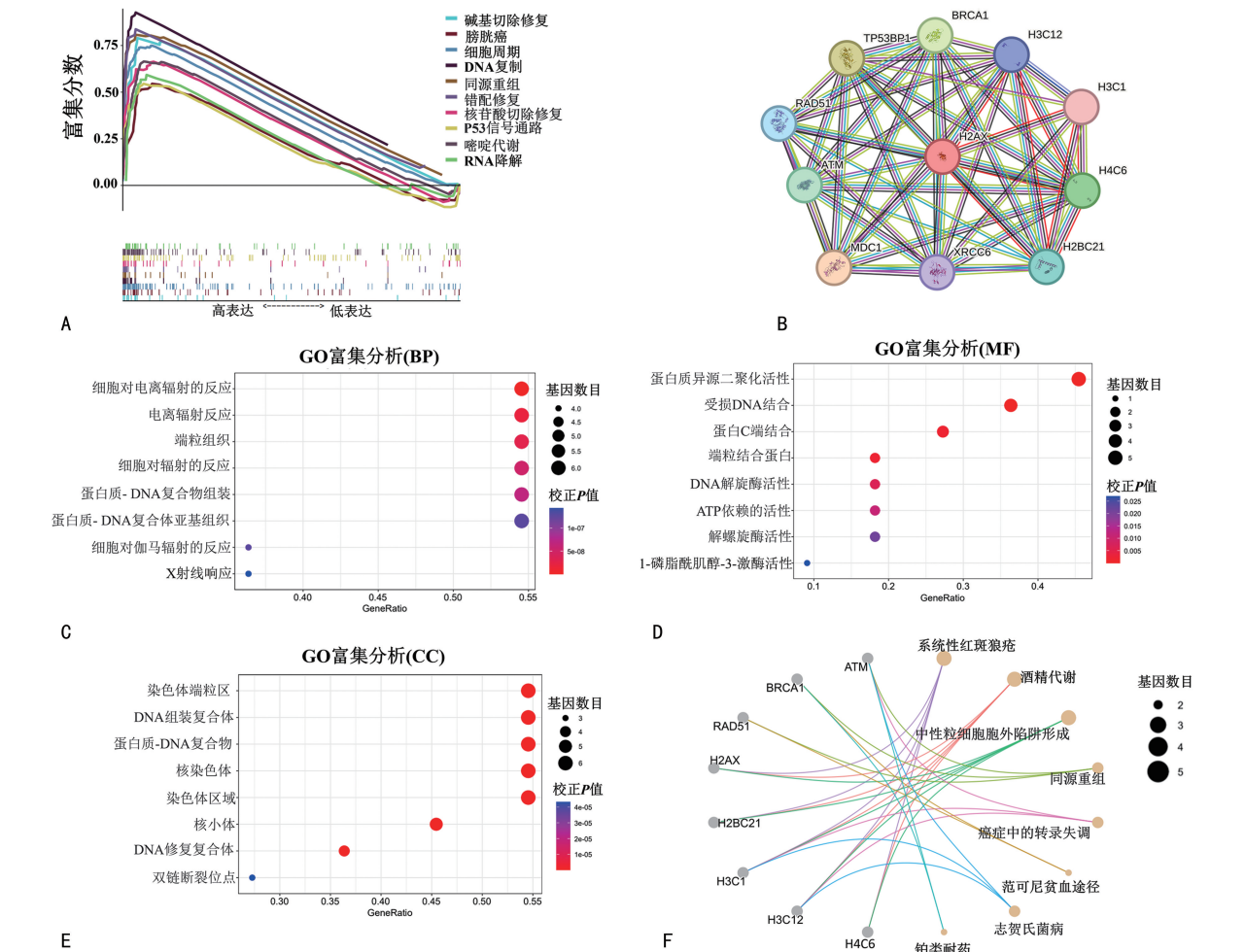


图 6 H2AX 基因的功能富集分析

3 讨 论

DNA 损伤可导致肿瘤细胞不受控制的增殖,促

进恶性肿瘤的形成。H2AX 基因属于编码组蛋白 H2A 家族,在生物体内参与 DNA 修复。在真核细胞

中,生物、物理和化学因素均会导致 DNA 损伤,此时,组蛋白 H2AX 在 Ser-139 上快速磷酸化,形成 γ H2AX 来进行响应与修复 DSB^[15]。研究指出, γ H2AX 也可以通过 P38 丝裂原活化蛋白激酶途径调节细胞凋亡与增殖^[16]。在 DSB 阶段,大量的 γ H2AX 聚集在双链断裂位点以感知和放大 DNA 损伤信号,然后募集更多的 DNA 修复蛋白如 53BP1 和 BRCA1^[17]。此外,磷酸化组蛋白在 DSBs 处积累,形成 γ H2AX 焦点。 γ H2AX 的产生具有时间敏感性,与 DSB 位点呈 1:1 的关系。随后, γ H2AX 焦点将通过逐渐去磷酸化或被 DSBs 修复的正常 H2AX 取代,从而减少并消失^[18]。因此, γ H2AX 水平有助于评估 DSB 的程度。然而,越来越多的证据开始表明,H2AX 与人类恶性肿瘤密切相关^[17-20],提示 H2AX 可以作为潜在的分子标志物。

本研究主要探讨了 H2AX mRNA 在肺腺癌患者中的临床意义。通过综合生物信息学分析和细胞实验的结果发现,H2AX mRNA 在肺腺癌组织和细胞中的表达升高。进一步分析显示,H2AX 基因的表达与患者的肿瘤分期有关,这表明了 H2AX mRNA 表达与肺腺癌的恶性进展生物学特性有关。值得说明的是,在本研究中,只有 337 例肺腺癌患者的临床资料完整,其中肿瘤分期 I~II 期患者数量为 254 例,III~IV 期患者数量仅为 83 例。因此,在未来的工作中,需要纳入更多的临床资料来进一步验证这个结果。然而,关于 H2AX mRNA 在其他肿瘤患者中的临床意义,却存在着不同的结果。WANG 等^[21]使用 97 例乳腺癌患者的癌组织标本和 77 例癌旁组织标本的研究指出,H2AX 的表达与 TNM 分期呈负相关,并且与患者的预后不存在显著关联。随后,KATSUTA 等^[22]研究者通过对生物信息学分析 3 594 例乳腺癌患者时指出,H2AX 在晚期乳腺癌患者中表达较高,并且与患者较差的无病生存期、疾病特异性生存期和总生存期相关。这可能是由于研究者使用的样本数量和随访时间不一致所致。因此,仍需要进一步的多中心、大样本的研究来验证这一结果。HE 等^[23]的研究指出,高水平的 γ H2AX 与癌症风险增加相关, γ H2AX 水平较高的吸烟者比水平较低的吸烟者罹患肺癌的风险更高。在本研究中发现,吸烟者及有 ≥ 15 年吸烟史的患者的 H2AX mRNA 水平更高,这可能是由于致癌过程中 H2AX 的表达增加。进一步的分析显示,H2AX mRNA 的过表达与肺腺癌患者较差的总生存率有关,并且可以作为肺腺癌患者的独立预后因子,这与 MATTHAIOS 等^[24]在 NSCLC 患者中发现的结果一致。因此,H2AX mRNA 参与了肺腺癌的进展,并可作为潜在的预后生物标志物。

功能富集分析结果表明,H2AX 的过表达参与了与肿瘤进展相关的途径,这进一步表明 H2AX 在肿瘤发生和发展中起着关键作用。研究指出,H2AX 可能

通过调节各种分子和信号通路来促进肿瘤的发生和发展。XU 等^[25]的研究结果显示,H2AX 磷酸化可以通过 miR-3196/PUMA 途径调控肺癌细胞的凋亡。研究人员还发现,敲低 H2AX 可以显著抑制 A549 细胞的凋亡,其中,两个核心基因(NFKB1 和 JUN)与 H2AX 调节的癌症细胞凋亡有关^[26]。此外,癌细胞中 H2AX 的过度表达及 γ H2AX 介导的 HIF1 α 的富集可能导致肿瘤发生,是潜在的致病信号^[27]。因此,H2AX 还被认为可以作为癌症治疗的一个有前途的靶点^[28]。LIU 等^[29]通过实验性转移模型报道沉默 H2AX 基因表达可以阻止 MDA-MB-231 转移性乳腺癌细胞的进展。进一步的分子机制表明,这是由于组蛋白 H2AX 可以通过维持己糖激酶-2 驱动糖酵解途径来控制癌细胞的转移。另一项研究表明,在 BRCA 基因缺陷的肿瘤细胞中,H2AX 可以调节复制叉的稳定性,与患者化疗耐药性相关^[17]。在肝细胞癌中,泛素结合酶 E2T(UBE2T)可以介导 H2AX/ γ H2AX 泛素化,促进细胞周期阻滞激活,为辐射诱导的 DNA 修复提供足够的时间,从而赋予辐射抗性。因此,研究人员认为干扰 UBE2T-H2AX 途径可能是一种克服肝细胞癌抗辐射性能有前途的方案^[30]。在本研究中,通过探究与 H2AX 互相作用的基因,分析其参与的分子途径发现,H2AX 与 BRCA1 等 10 个基因互相调节,在中性粒细胞胞外陷阱形成、癌症中的转录失调、铂类耐药等分子途径中发挥重要的作用。虽然目前尚无相关文献报道 H2AX 在上述分子途径中的作用机制,但本研究初步表明了 H2AX 基因及信号通路可能是潜在的分子治疗策略。

本研究也存在一定的局限性。首先,本研究是基于生物信息学的分析策略,虽然通过 qPCR 分析验证了 H2AX 基因在肺腺癌细胞中表达升高,但需要进一步用患者的临床标本进行验证。其次,通过基因功能富集分析了 H2AX 可能参与的生物学途径,但 H2AX 促进肺腺癌发生发展的分子机制还需要分子和细胞学的实验加以证明。

综上所述,本研究分析结果显示,H2AX mRNA 在人类肺腺癌组织中高表达,并与患者临床分期和不良预后相关,H2AX 可通过多种信号途径参与肿瘤的发生和发展,可以作为肺腺腺癌的分子标志物。

参考文献

- [1] UNAT D S, BAGCI O U, UNAT O S, et al. The spectrum of infections in patients with lung cancer [J]. Cancer Invest, 2023, 41(1): 25-42.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48.
- [3] WU W, LI M, WU Y, et al. METTL14-mediated m6A mRNA modification of G6PD promotes lung adenocarcinoma [J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 361.

[4] 何海斌,马佳宏,唐妍,等.肺腺癌分型方法及临床应用的研究进展[J].生命科学研究,2024,28(4):1-10.

[5] HILL W, LIM E L, WEEDEN C E, et al. Lung adenocarcinoma promotion by air pollutants [J]. *Nature*, 2023, 616 (7955):159-167.

[6] SHARMA A, SINGH K, ALMASAN A. Histone H2AX phosphorylation; a marker for DNA damage[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 920:613-626.

[7] YOON Y S, YOU J S, KIM T K, et al. Senescence and impaired DNA damage responses in alpha-synucleinopathy models [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(2):115-128.

[8] LEE Y, WANG Q, SEONG K M, et al. High-throughput γ -H2AX assay using imaging flow cytometry[J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2635:123-134.

[9] BRETHERICK K L, SCHUETZ J M, MORTON L M, et al. Sex- and subtype-specific analysis of H2AFX polymorphisms in non-Hodgkin lymphoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9):e74619.

[10] YAMADA T, TOYODA T, MATSUSHITA K, et al. Persistent γ -H2AX formation and expression of stem cell markers in N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats [J]. *Toxicol Sci*, 2022, 189(1):51-61.

[11] KAZMIERSKA J, BARCZAK W, WINIECKI T, et al. The kinetics of γ -H2AX during radiotherapy of head and neck cancer potentially allow for prediction of severe mucositis[J]. *Radiol Oncol*, 2020, 54(1):96-102.

[12] TETIKOĞLU S, ÇELİK-UZUNER S. Bee venom induces the interaction between phosphorylated histone variant, H2AX, and the intracellular site of beta-actin in liver and breast cancer cells [J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20 (6): e202300401.

[13] WANG G, LIU X, LIU H, et al. A novel necroptosis related gene signature and regulatory network for overall survival prediction in lung adenocarcinoma[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):15345.

[14] CHANDRASHEKAR D S, KARTHIKEYAN S K, KORLA P K, et al. UALCAN: an update to the integrated cancer data analysis platform[J]. *Neoplasia*, 2022, 25:18-27.

[15] 吴慧翔. miRNA 与 γ -H2AX 作为辐射剂量生物标志物的研究[D]. 太原:山西医科大学, 2023.

[16] QIU Y, BAI L, ZHAO H, et al. Homoharringtonine enhances cytarabine-induced apoptosis in acute myeloid leukaemia by regulating the p38 MAPK/H2AX/Mcl-1 axis [J]. *BMC cancer*, 2024, 24(1):520.

[17] DIBITETTO D, LIPTAY M, VIVALDA F, et al. H2AX promotes replication fork degradation and chemosensitivity in BRCA-deficient tumours[J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1):4430.

[18] RASCHE L, HEISERICH L, BEHRENS J R, et al. Analysis of lymphocytic DNA damage in early multiple sclerosis by automated gamma-H2AX and 53BP1 foci detection; a case control study[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147968.

[19] AITMAGAMBETOVA M, SMAGULOVA G, SAKHANOVA S, et al. The γ -H2AX foci as an indicator for double-stranded DNA breaks and response to ongoing chemotherapy in breast cancer women; a pilot study[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2023, 27(13):6282-6292.

[20] 刘雅雯,章玲玲,涂海燕,等.黄芪多糖上调 γ H2AX 的表达提高宫颈癌细胞放疗敏感性的分析[J].实用癌症杂志. 2024,39(6):871-873.

[21] WANG B, ZHANG Z, XIA S, et al. Expression of γ -H2AX and patient prognosis in breast cancer cohort[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8):12958-12965.

[22] KATSUTA E, DESSAI A S, EBOS J M, et al. H2AX mRNA expression reflects DNA repair, cell proliferation, metastasis, and worse survival in breast cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2022, 12(2):793-804.

[23] HE Y, GONG Y, LIN J, et al. Ionizing radiation-induced γ -H2AX activity in whole blood culture and the risk of lung cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 22(3):443-451.

[24] MATTHAIOS D, FOUKAS PG, KEFALA M, et al. γ -H2AX expression detected by immunohistochemistry correlates with prognosis in early operable non-small cell lung cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2012, 5:309-314.

[25] XU C, ZHANG L, DUAN L, et al. MicroRNA-3196 is inhibited by H2AX phosphorylation and attenuates lung cancer cell apoptosis by downregulating PUMA[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47):77764-77776.

[26] LU C, XIONG M, LUO Y, et al. Genome-wide transcriptional analysis of apoptosis-related genes and pathways regulated by H2AX in lung cancer A549 cells[J]. *Apoptosis*, 2013, 18(9):1039-1047.

[27] REZAEIAN A H, LI C F, WU C Y, et al. A hypoxia-responsive TRAF6-ATM-H2AX signalling axis promotes HIF1 α activation, tumorigenesis and metastasis[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(1):38-51.

[28] PRABHU K S, KUTTIKRISHNAN S, AHMAD N, HABEEBA U, et al. H2AX; a key player in DNA damage response and a promising target for cancer therapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175:116663.

[29] LIU Y, LI H, WILSON C N, et al. Histone H2AX promotes metastatic progression by preserving glycolysis via hexokinase-2[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):3758.

[30] SUN J, ZHU Z, LI W, et al. UBE2T-regulated H2AX monoubiquitination induces hepatocellular carcinoma radioresistance by facilitating CHK1 activation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):222.