

• 论 著 •

HMMR 预测肝细胞癌预后的生物信息学分析*

吴良银¹, 李文丽², 刘 俊^{3△}

粤北人民医院; 1. 检验科; 2. 生殖医学中心, 广东韶关 512025; 3. 汕头大学医学院, 广东汕头 515041

摘 要:目的 探讨透明质酸介导的运动受体(HMMR)在肝细胞癌中的表达及在临床预后中的作用。方法 从癌症基因组图谱计划(TCGA)和国际癌症基因组联合体(ICGC)数据库中下载肝细胞癌转录组数据、HMMR 的表达信息以及 609 例患者的临床资料,采用 Wilcoxon 秩和检验、Kruskal-Wallis 检验和 Logistic 回归分析临床特征与 HMMR 表达之间的关系,同时使用 Kaplan-Meier 生存分析、单因素和多因素 COX 回归分析评估 HMMR 预测肝细胞癌预后的价值。利用基因富集分析(GSEA)预测 HMMR 高风险组主要富集的生物学功能和通路。结果 在 TCGA 和 ICGC 两组数据库中都表明 HMMR 在肝细胞癌组织中高表达,且其表达水平与临床分期有一定的相关性。生存分析显示,HMMR 高表达患者生存时间更短;单因素和多因素 COX 回归分析表明,HMMR 可以作为肝细胞癌的独立预后因子。GSEA 显示,HMMR 高风险组主要富集通路包括 DNA 复制、P53 信号通路、癌症通路、凋亡通路等。结论 HMMR 在肝细胞癌中高表达,且 HMMR 有可能成为肝细胞癌预后的生物标志物及治疗的靶点。

关键词:透明质酸介导的运动受体; 肝细胞癌; 生物信息学; 生物标志物
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 12. 010 **中图法分类号:**R318. 0
文章编号:1673-4130(2022)12-1454-04 **文献标志码:**A

Bioinformatics analysis of HMMR in predicting the prognosis of hepatocellular carcinoma*

WU Liangyin¹, LI Wenli², LIU Jun^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Reproductive Center, Northern Guangdong People's Hospital, Shaoguan, Guangdong 512025, China; 3. Shantou University Medical College, Shantou, Guangdong 515041, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of hyaluronan mediated motility receptor(HMMR) in hepatocellular carcinoma and its role in clinical prognosis. **Methods** Hepatocellular carcinoma transcriptome data, HMMR expression information and patient clinical data were download the from the Cancer Genome Atlas Program (TCGA) and International Cancer Genome Consortium (ICGC) database. We used Wilcoxon rank sum test, Kruskal-Wallis test, and Logistic regression to analyze the relationship between clinical features and HMMR expression. We also used Kaplan-Meier survival analysis, univariate survival analysis, and multivariate COX analysis to evaluate HMMR as independent hepatocellular carcinoma prognostic genes. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) was used to predict the main enrichment biological functions and pathways of the HMMR high-risk group. **Results** Both TCGA and ICGC data showed that HMMR is highly expressed in hepatocellular carcinoma, and its expression had a certain correlation with the clinical stage. Survival analysis in TCGA and ICGC data showed that patients with high expression of HMMR had shorter survival time. Univariate survival analysis and multivariate COX regression analysis showed that HMMR could be used as an independent prognostic factor for hepatocellular carcinoma. GSEA showed that the main enrichment pathways in the high-risk group of HMMR including DNA replication, P53 signaling pathway, cancer pathway, and apoptosis pathway. **Conclusion** HMMR is highly expressed in hepatocellular carcinoma, and HMMR may become a prognostic biomarker and therapeutic target for hepatocellular carcinoma.

Key words: hyaluronan mediated motility receptor; hepatocellular carcinoma; bioinformatics; bio-markers

肝细胞癌是世界上第五大常见恶性肿瘤,每年全球确诊的新病例超过 70 万^[1]。虽然目前采取了包括

* 基金项目:广东省韶关市卫生健康委员会科研项目(Y21298);广东省韶关市科学技术局科研项目(210802174538690);广东省医学科学技术研究基金项目(B2018262)。

作者简介:吴良银,男,副主任技师,主要从事临床医学检验与分子诊断研究。 △ 通信作者, E-mail: liuyu8566@126. com。
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50. 1176. R. 20220527. 1043. 004. html\(2022-05-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50. 1176. R. 20220527. 1043. 004. html(2022-05-30))

一级预防策略、早期筛查诊断以及更先进治疗技术在内的多种诊疗方案,但肝癌的总体发病率和病死率仍持续上升^[2]。肝细胞癌是一种高异质性肿瘤,且肝细胞癌的发生和发展是多机制调控、多分子参与的过程^[3]。目前,肝细胞癌仍面临着高发率及晚期低生存率的现状,因此,准确地识别预后生物标志物对预后较差的高危患者进行监测和制订个体化治疗策略,以及防止复发都具有重要的意义。

越来越多的证据表明,分子遗传及拷贝数变异在肝细胞癌的发生、发展中起着重要的作用。隆绍平等^[4]研究表明,非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 12 (PTPN12)是预测肝细胞癌患者预后的因素,可能成为肝细胞癌预后的重要生物标志物^[4]。相关研究显示,透明质酸介导的运动受体(HMMR)在肝细胞癌中呈显著高表达,并且有一定的预后意义,但其在肝细胞癌中的作用仍有待进一步研究^[5]。本研究回顾性分析了癌症基因组图谱计划(TCGA)和国际癌症基因组联合体(ICGC)数据库中的肝细胞癌转录组数据和相对应的临床资料,旨在分析 HMMR 在肝细胞癌中的表达情况,以及与临床分期的相关性,同时通过单因素生存分析以及多因素 COX 回归分析 HMMR 对肝细胞癌预后的预测作用。现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 从 TCGA 数据库下载 377 例肝细胞癌患者的表达谱数据和临床资料,同时从 ICGC 数据库下载 232 例肝细胞癌患者的表达谱数据和临床资料。选取癌旁组织 202 例、正常组织 202 例进行比较。609 例肝细胞癌患者中男 426 例,女 183 例;生存 438 例,死亡 171 例;TNM 分期 T1、T2、T3、T4 分别有 185、95、80、13 例,M0、M1、MX 各有 272、4、101 例,N0、N1、NX 各有 257、4、115 例;Stage 分期 I、II、III、IV 期各有 211、193、157、24 例;组织学分级 G1、G2、G3、G4 级各有 55、180、124、13 例。

1.2 基因富集分析(GSEA) 为了进一步探索 HMMR 的表达对于肝细胞癌的潜在影响机制,本研究通过 GSEA 分析来阐明 HMMR 高低表达组之间差异基因的富集通路。从 GSEA 官网 (<http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>)下载 GSEA (JAVA version, 2-2.2.3) 分析软件。GSEA 通过标准化

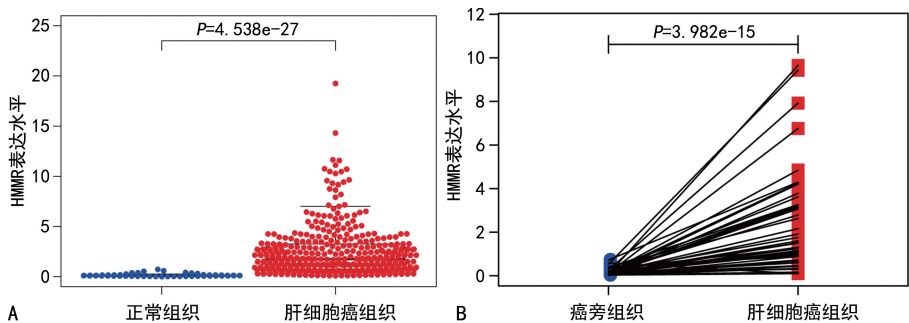
的 P 值和标准化的富集评分来分析富集通路。

1.3 统计学处理 使用 R3.6.1 统计软件进行统计学分析。计数资料采用百分数表示。采用 Wilcoxon 秩和检验比较 HMMR 的表达水平在肝细胞癌和正常组织之间以及肝细胞癌和癌旁组织之间的差异。采用 Wilcoxon 秩和检验、Kruskal-Wallis 检验和 Logistic 回归分析临床特征与 HMMR 表达水平之间的关系。采用 Kaplan-Meier 法分析 HMMR 的表达水平与患者总体生存时间的关系。采用单因素及多因素 COX 回归分析比较 HMMR 的表达水平对生存期及其他临床特征的影响。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

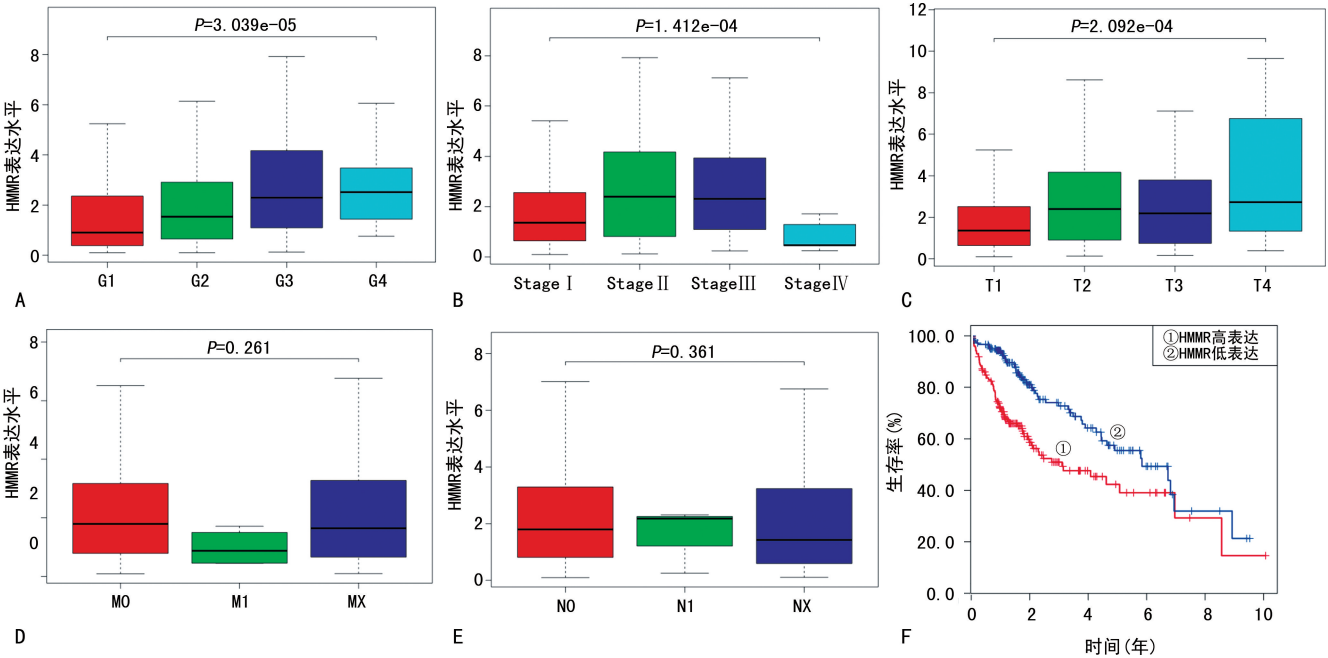
2.1 HMMR 在肝细胞癌组织、正常组织、癌旁组织中的表达水平比较 结果显示,与正常组织比较,HMMR 在肝细胞癌组织中表达水平显著升高($P<0.05$)。同时,与癌旁组织比较,HMMR 在肝细胞癌组织中表达水平显著升高($P<0.05$),见图 1。

2.2 HMMR 在肝细胞癌中的表达水平与临床特征的相关性 本研究分析了 TCGA 数据库中 HMMR 的表达水平与临床特征的关系,结果显示,组织学分级越高,HMMR 表达水平越高($P<0.05$);Stage 分期、T 分期越高,HMMR 表达水平也更高($P<0.05$)。而不同 M 分期及 N 分期的患者 HMMR 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。同时,Logistic 回归分析显示,Stage II 期和 Stage III 期的 HMMR 表达水平高于 Stage I 期($OR=2.49、2.57;P=0.0007、0.0005$);T2 及 T3 期的 HMMR 表达水平高于 T1 期($OR=2.73、2.31;P=0.0001、0.0022$);同时,G3 期的 HMMR 表达水平高于 G1 期($OR=2.92,P=0.0015$)。Kaplan-Meier 曲线分析结果显示,HMMR 低表达患者生存率高于 HMMR 高表达者,差异有统计学意义($P<0.001$)。见图 2。同时,本研究分析了 ICGC 数据库中 HMMR 在肝细胞癌组织、正常组织中的表达水平,结果显示,HMMR 在肝细胞癌组织中表达水平显著升高($P<0.001$);Kaplan-Meier 生存分析也表明,HMMR 高表达患者在 ICGC 数据库中的生存率低于 HMMR 低表达者($P<0.001$)。见图 3。



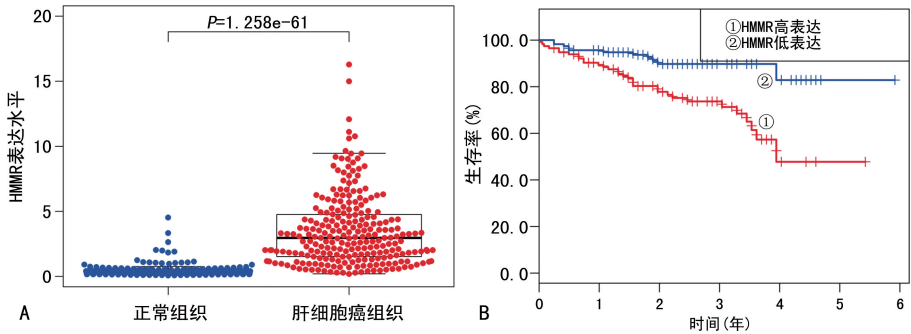
注:A 为 HMMR 在正常组织和肝细胞癌组织中表达水平的比较;B 为 HMMR 在癌旁组织和肝细胞癌组织中的表达水平比较。

图 1 HMMR 在肝细胞癌组织、正常组织、癌旁组织中的表达情况



注:A 为 HMMR 表达水平与组织学分级的关系分析;B 为 HMMR 表达水平与肿瘤 Stage 分期的关系分析;C 为 HMMR 表达水平与 T 分期的关系分析;D 为 HMMR 表达水平与 M 分期的关系分析;E 为 HMMR 表达水平与 N 分期的关系分析;F 为不同 HMMR 表达水平的患者生存率分析。

图 2 HMMR 在肝细胞癌中的表达与临床特征的关系



注:A 为 ICGC 数据库中 HMMR 表达水平在肝细胞癌组织和正常组织中的比较;B 为 ICGC 数据库中不同 HMMR 表达水平的患者生存率分析。

图 3 HMMR 的表达及预后

2.3 HMMR 是肝细胞癌的独立预后因子 本研究采用单因素及多因素 COX 回归分析 HMMR 对预后的预测价值。单因素回归分析结果显示,TCGA 和 ICGC 数据库中 HMMR 高表达是预后不良的危险因素 ($HR=1.15, 1.19; P<0.001$)。多因素回归分析结果显示,TCGA 和 ICGC 数据库中 HMMR 高表达是预后不良的危险因素 ($HR=1.80, 2.56, P<0.001$)。

2.4 GSEA 采用 GSEA 方法,共发现 12 条通路富集在 HMMR 高表达患者中,包括 RNA 降解、DNA 复制、P53 信号通路、癌症通路、凋亡通路等,见表 1。

表 1 HMMR 的高、低表达数据集与肝细胞癌发生发展相关的信号通路

通路名	富集得分 (分)	校正后的 P 值
KEGG_UBIQUITIN_MEDIATED_PROTEOLYSIS	2.135	0.001
KEGG_RNA_DEGRADATION	2.044	0.002
KEGG_DNA_REPLICATION	2.007	0.003
KEGG_REGULATION_OF_AUTOPHAGY	1.965	0.005
KEGG_P53_SIGNALING_PATHWAY	1.931	0.006

续表 1 HMMR 的高、低表达数据集与肝细胞癌发生发展相关的信号通路

通路名	富集得分 (分)	校正后的 P 值
KEGG_COLORECTAL_CANCER	1.858	0.017
KEGG_NON_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	1.857	0.017
KEGG_WNT_SIGNALING_PATHWAY	1.742	0.027
KEGG_PATHWAYS_IN_CANCER	1.822	0.020
KEGG_ENDOMETRIAL_CANCER	1.820	0.018
KEGG_BLADDER_CANCER	1.795	0.021
KEGG_APOPTOSIS	1.791	0.020

3 讨 论

肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一,患者的预后一般较差,在全球癌症相关死亡的主要原因中排名第二^[6]。虽然肝细胞癌的治疗在过去几十年里取得了快速的发展,包括从手术和局部治疗到分子靶向治疗以及免疫治疗等,但预后情况一直不乐观^[7]。因此,阐明肝细胞癌发生、发展的分子机制,以及发现新的治疗靶点,完善治疗方案势在必行。

随着高通量测序技术的发展,近年来越来越多的研究者运用高通量方法来探索与疾病发生和预后相关的潜在分子标志物^[8-9]。毛丽萍等^[10]的研究表明,血浆 Dickkopf 同源物 1(DKK1)对肝细胞癌的诊断有一定价值,并可作为甲胎蛋白(AFP)的有效补充。HAN 等^[11]在 3 个独立的数据集中验证了 SAC3D1 在肿瘤组织异常高表达,并且通过生存分析及多因素分析表明其是肝细胞癌的独立预后因子。LIANG 等^[12]在两个独立的数据集中通过单因素 COX 回归及最小绝对收缩和选择算法构建了 10 个基因的预测模型,用于肝细胞癌患者的预后评估。本研究从 TCGA 和 ICGC 数据库中获得 609 例患者的信息来评估 HMMR 在肝细胞癌中的预后价值,在 TCGA 和 ICGC 数据库中,HMMR 表达水平在肝细胞癌晚期上升,提示较高的 HMMR 水平对肝细胞癌的进展有不利影响,并且单因素和多因素 COX 回归分析表明,HMMR 是肝细胞癌的独立预后因子。

有研究表明,HMMR 编码的蛋白质是透明质酸介导的运动受体,当透明质酸与 HMMR 结合时,包括 PTK2/FAK1 在内的许多蛋白质就会发生磷酸化,HMMR 与肿瘤的发生过程相关,是多种肿瘤的易感基因,其在肿瘤进展中的作用通常归因于透明质酸介导的信号传导^[13]。HMMR 也可能参与细胞转化和转移的形成,以及调节细胞外调节激酶(ERK)的活性。YANG 等^[14]研究结果表明 HMMR 可能调控膀胱癌的多个通路,并且其在肿瘤组织中的异常高表达是膀胱癌的无病生存期的特异性预后标志物。本课题组前期结果也表明 HMMR 在肝细胞癌的发生、发展中具有一定作用,并对预后有影响^[5]。

已有研究显示,P53 信号通路在维持基因组稳定性和保真度上扮演着重要角色,并且影响着细胞的代谢和衰老,在多种肿瘤的发生和发展中都起着非常重要的作用^[15]。Wnt 信号通路是胚胎发育过程中的关键传导通路,并且在调节组织稳态方面也起着重要作用,Wnt 信号通路的异常激活与许多肿瘤的发生相关^[16]。本研究通过 GSEA 分析表明在 HMMR 高表达患者中,P53 信号通路、Wnt 信号通路、DNA 复制及细胞凋亡通路被显著富集。这些结果说明 HMMR 可能在肝细胞癌的 P53 及 Wnt 信号通路激活中起着重要作用。

综上所述,本研究结果显示,HMMR 在肝细胞癌肿瘤组织中显著高表达,且其表达水平与肝细胞癌的疾病进展相关。此外,HMMR 在肝细胞癌肿瘤组织中表达水平越高,其预后越差,且 HMMR 可以独立于其他临床因素作为肝细胞癌的预后因子。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
[2] AYOUB W S, STEGGERDA J, YANG J D, et al. Current status of hepatocellular carcinoma detection: screening

strategies and novel biomarkers[J]. Ther Adv Med Oncol, 2019, 11: 1758835919869120.
[3] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Inter J Cancer, 2015, 136(5): E359-E386.
[4] 隆绍平, 邓世群, 赵世元. PTPN12 蛋白表达下调与原发性肝细胞癌患者复发和预后关系研究[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 86-90.
[5] LIU J, MA Z, LIU Y, et al. Screening of potential biomarkers in hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma using bioinformatic analysis[J]. Oncol Lett, 2019, 18(3): 2500-2508.
[6] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
[7] FORNER A, REIG M, BRUIX J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet (London, England), 2018, 391(10127): 1301-1314.
[8] SONG X, DU R, GUI H, et al. Identification of potential hub genes related to the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma through integrated bioinformatics analysis[J]. Oncol Rep, 2020, 43(1): 133-146.
[9] HE G, FU S, LI Y, et al. TCGA and ESTIMATE data mining to identify potential prognostic biomarkers in HCC patients[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(21): 21544-21558.
[10] 毛丽萍, 何义民, 韩刚, 等. 血浆 Dickkopf 同源物 1 检测对肝细胞癌的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(5): 62-65.
[11] HAN M E, KIM J Y, KIM G H, et al. SAC3D1: a novel prognostic marker in hepatocellular carcinoma[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 15608.
[12] LIANG J Y, WANG D S, LIN H C, et al. A Novel Ferroptosis-related Gene Signature for Overall Survival Prediction in Patients with Hepatocellular Carcinoma[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(13): 2430-2441.
[13] HE Z, MEI L, CONNELL M, et al. Hyaluronan Mediated Motility Receptor (HMMR) Encodes an Evolutionarily Conserved Homeostasis, Mitosis, and Meiosis Regulator Rather than a Hyaluronan Receptor[J]. Cells, 2020, 9(4): 819.
[14] YANG D, MA Y, ZHAO P, et al. Systematic screening of protein-coding gene expression identified HMMR as a potential independent indicator of unfavorable survival in patients with papillary muscle-invasive bladder cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120: 109433.
[15] HARRIS S L, LEVINE A J. The p53 pathway: positive and negative feedback loops[J]. Oncogene, 2005, 24(17): 2899-2908.
[16] TACIAK B, PRUSZYNSKA I, KIRAGA L, et al. Wnt signaling pathway in development and cancer[J]. J Physiol Pharmacol, 2018, 69(2): 185-196.