

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.013

· 临床研究 ·

子宫内膜癌淋巴结转移相关基因的生物信息学分析

李状, 李力(广西医科大学附属肿瘤医院 妇瘤科暨区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室, 广西南宁 530021)

[摘要] **目的:**基于芯片数据分析和生物信息学方法挖掘与子宫内膜癌淋巴结转移相关的潜在差异表达基因。**方法:**在 GEO 数据库中筛选子宫内膜癌淋巴结转移相关的 mRNA 表达谱芯片数据, 分析 mRNA 表达谱, 筛选差异表达基因; 通过生物学过程注释、生物信号通路富集、文本挖掘及蛋白/基因相互作用等综合生物信息学方法再次分析, 挖掘与子宫内膜癌淋巴结转移相关的信号通路和基因。**结果:**在 GEO 数据库获得 GSE2109、GSE39099 芯片数据, 将共同差异表达基因及信号通路富集, 获得 8 条与子宫内膜癌淋巴结转移显著相关的信号通路 (type I interferon、interferon-gamma-mediated、PI3K-Akt、Rap1、TGF-beta、cGMP-PKG、Wnt、Ras) 及调控这些信号通路的 14 个差异表达基因, 其中 11 个基因与子宫内膜癌淋巴结转移相关并且形成蛋白相互作用网络。PI3K-Akt 信号通路可能是子宫内膜癌淋巴结转移的重要信号通路, 基因 VEGFC、IRS1 可能是子宫内膜癌淋巴结转移相关的重要候选基因。**结论:**通过对芯片数据生物信息学分析, 筛选出与子宫内膜癌淋巴结转移相关的 8 条信号通路及 11 个差异表达基因。

[关键词] 子宫内膜癌; 淋巴结转移; 表达谱; 基因芯片; 生物信息

[中图分类号] R737.33; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)11-1262-08

Bioinformatics analysis of genes related to endometrial cancer with lymph nodes metastasis

LI Zhuang, LI Li (Department of Gynecology & Key Laboratory of Early Prevention and Treatment for Regional High Frequency Tumor of Ministry of Education, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the potential genes associated with lymph nodes metastasis in endometrial cancer (EC) through microarray data analysis and bioinformatics methods. **Methods:** We screened mRNA expression profiling chip data related to lymph node metastasis of EC from the GEO database and analyzed mRNA expression profile to screen the differentially expressed genes; with the integrated bioinformatics approach, such as biological process annotation, biological signaling pathway enrichment, text mining and protein/gene interactions, we further explored the signaling pathways and genes associated with lymph node metastasis in endometrial cancer. **Results:** GSE2109 and GSE39099 accessions were obtained in the GEO database, and 8 signaling pathways related to lymph node metastasis in EC (type I interferon, interferon-gamma-mediated, PI3K-Akt, Rap1, TGF-beta, cGMP-PKG, Wnt and Ras) and 14 differentially expressed genes that regulate these pathways were found though the signaling pathways enrichment of common differentially expressed genes. Among them, 11 genes were associated with lymph node metastasis of EC and formed a protein-protein interaction network. PI3K-Akt signaling pathway may be an important signaling pathway for lymph node metastasis in EC. VEGFC and IRS1 may be the important candidate genes related to the regulation of lymph node metastasis in EC. **Conclusion:** Eight signaling pathways and 11 differentially expressed genes were identified to be associated with lymph node metastasis in EC by bioinformatics analysis.

[Key words] endometrial cancer; lymph nodes metastasis; expression profiling; microarray gene; bioinformatics

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(11): 1262-1269. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.11.013]

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划资助课题(桂科攻No.14124004); 广西自然科学基金资助项目(No. 2014GXNSFAA118147); 广西壮族自治区临床重点专科建设项目(妇科)资助(No. 2018-39)。Project supported by the Scientific Research and Technology Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No.14124004), the Natural Science Foundation Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No. 2014GXNSFAA118147), and the Clinical Key Specialized Subject Construction Project (Gynecology) of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No. 2018-39)

[作者简介] 李状(1986-), 女, 硕士生, 主治医师, 主要从事卵巢癌多药耐药机制和子宫内膜癌淋巴结转移分子机制的研究, E-mail: 196071813@qq.com

[通信作者] 李力(LI Li, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事妇瘤的基础和临床研究, E-mail: lili@gxmu.edu.cn

子宫内膜癌是常见的妇科恶性肿瘤, 发生率有逐年上升趋势。子宫内膜癌分为 I 型(子宫内膜样)和 II 型(非子宫内膜样), 两种类型不仅表型和分子机制不同, 其生物学行为也大相径庭。子宫内膜癌的治疗以手术为主, 经过全子宫双附件切除+淋巴结切除的标准治疗后, 再根据术后病理结果进行必要的术后辅助放疗以及内分泌治疗, 多数患者预后良好。晚期患者淋巴结清扫术是重要的分期手术, 对于早期患者是否切除淋巴结一直有所争议。子宫内膜癌淋巴结转移的标志物能够有效预测淋巴结转移率, 对决定手术范围有重要的指导意义。随着对肿瘤发生机制的深入研究, 子宫内膜癌分子遗传学特征及相关的信号转导通路已有大量研究, 而针对子宫内膜癌淋巴结转移的相关基因及标志物尚未见报道。本研究通过生物信息学分析挖掘与子宫内膜癌淋巴结转移相关的信号通路和基因, 进一步在分子水平上研究子宫内膜癌淋巴结转移, 为子宫内膜癌淋巴结转移的作用机制提供线索和思路。

1 材料与方法

1.1 基因检索

在美国国立生物技术中心(NCBI)的 GEO 数据库中检索并下载与子宫内膜癌淋巴结相关的 mRNA 表达谱芯片数据。以“endometrial cancer AND lymph nodes positive”为关键词检索, 限制的研究类型为 expression profiling by array, 限制种属为 homo sapiens, 检索 2019 年 1 月以前已报道的与子宫内膜癌淋巴结转移相关基因表达谱, 下载符合纳入条件的 mRNA 表达谱芯片数据集然后进行分析。

1.2 差异表达基因的筛选

利用 GEO 数据库的 GEO2R 工具进行差异表达基因的筛选。GEO2R^[1]是 2012 年最新开放的一个基

于 R 语言程序的数据集分析工具, 能够对相同实验条件下的两组样品进行对比, 从而筛选出差异表达基因。因无典型的子宫内膜癌淋巴结序列研究, 本研究利用 GEO 自带的 GEO 2R 分析工具对 GSE39099 和 GSE2109 系列集中的数据进行分析, 以调整后 $P < 0.05$ 和 $|\log_2FC| > 2$ 为筛选条件, 分别选择两个数据集中差异表达的基因; 并且将 2 个数据集中表达上调或下调的基因分别取交集, 筛选出共同表达上调或下调的基因作为进一步分析的对象; 通过 Venn 作图工具 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/venn/>) 挑选出两组表达谱数据中共有的差异表达基因。

1.3 差异表达基因的生物信息学分析

采用 DAVID^[2] (<https://david.ncicrf.gov/home.jsp>) 进行差异表达基因的信号通路富集, 通过 CORE-MINE(基于本体的医学信息检索平台)进行生物学注释 (<http://www.coremine.com/medical/>), 通过 GeneMania^[3] (<http://www.genemania.org/>) 进行蛋白/基因相互作用分析。

2 结果

2.1 子宫内膜癌淋巴结转移相关的差异基因

2.1.1 芯片数据集 筛选出 GSE39099 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE39099>) 和 GSE2109 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE2109>) 两组芯片数据, 其中 GSE2109 由美国 IGC expO 实验室所采用 GPL570 芯片平台完成, 数据样本为 2 158 个各种恶性肿瘤的标本, 其中包含 20 例淋巴结阴性的子宫内膜癌组织、19 例淋巴结阳性的子宫内膜癌组织; GSE39099 采用 GPL571 芯片平台完成, 数据样本为 10 例早期子宫内膜癌组织、10 例晚期子宫内膜癌组织。详见表 1。

表 1 与子宫内膜癌淋巴结转移相关的基因表达谱芯片数据集

Tab.1 Microarray dataset of gene expression profiles associated with lymph node metastasis in EC

GEO accession	Organization name	Contributor	Platform	Sample
GSE2109	IGC expO	Erin Curley	GPL570	20 negative lymph nodes ECC, 19 positive lymph nodes ECC
GSE39099	NCTU	Wei-Yun Huang	GPL571	10 (stages I and II) EEC, 10 (stages III and IV)

2.1.2 GSE39099 和 GSE2109 芯片数据中共同差异表达基因的筛选 对 GSE39099 和 GSE2109 数据集通过 GEO2R 进行差异表达基因筛选。本研究以 $P < 0.05$ 和 2 倍变化阈值为条件进行严格筛选, 在 GSE39099 芯片中共筛选出 1 272 个上调及 2 127 个下调差异表达基因; 在 GSE2109 芯片中共筛选出 1 570 个上调及 1 540 个

下调差异表达基因。将 GSE39099 和 GSE2109 芯片中的上调和下调基因分别采用 Venn 作图工具继续筛选, 发现 140 个共同上调和 424 个共同下调差异表达基因。

2.1.3 生物信号通路分析 对于上述 140 个共同上调和 424 个共同下调差异表达基因, 采用 DAVID 软件对京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclope-

dia of Genes and Genomes, KEGG)数据库进行生物信号通路(pathway)富集分析,并统计每一条基因富集信号通路的P及FDR值。生物信号通路分析可寻

找富集共同差异表达基因的信号通路,推断出与不同的组织样本差异表达基因相关的细胞信号通路,根据P<0.05筛选出差异显著的信号通路(表2、3)。

表2 KEGG分析共同差异表达上调基因的生物信号通路

Tab.2 Co-differentially expressed up-regulated gene in biological signaling pathways analyzed by KEGG

Term	Count	P	Gene	FDR
Type I interferon signaling pathway	4	0.008319	IFNA1, IRF5, OAS3, OAS1	12.08595
Interferon-gamma-mediated signaling pathway	4	0.011046	IRF5, OAS3, OAS1, PTAFR	15.74034

表3 KEGG分析共同差异表达下调基因的生物信号通路

Tab.3 Co-differentially expressed down-regulated gene in biological signaling pathways analyzed by KEGG

Term	Count	P	FDR	Gene
PI3K-Akt signaling pathway	25	5.19E-07	6.45E-04	FGFR1, IL7, TNC, COL3A1, LPAR4, CDK6, FGF13, HGF, KIT, IRS1, COL4A5, VEGFC, ITGA9, EIF4E, PRLR, COL1A2, COL6A2, COL6A1, PDGFC, ANGPT1, LAMB1, ANGPT2, FGF2, AKT3, GHR
Rap1 signaling pathway	17	1.57E-05	0.0194661	FGFR1, MAGI2, MAGI1, TLN2, LPAR4, FGF13, KIT, HGF, PRKD1, VEGFC, PLCB4, RAPGEF4, ANGPT1, PDGFC, FGF2, ANGPT2, AKT3
TGF-beta signaling pathway	9	5.27E-04	0.6536894	INHBA, LTBP1, SMAD5, BMPR2, TGFB3, ID4, DCN, BMPR1B, BAMBI
cGMP-PKG signaling pathway	12	0.0011415	1.4106973	EDNRA, MEF2C, AGTR1, PLCB4, PLN, MRVI1, PDE5A, GUCY1A3, PRKG1, IRS1, AKT3, MYLK, WNT5A, GPC4, PLCB4, PRICKLE1, PRICKLE2, FZD3, WIF1, SOX17, BAMBI, AXIN2
Wnt signaling pathway	10	0.0035617	4.3414128	
Ras signaling pathway	13	0.0044503	5.3971696	VEGFC, FGFR1, RASGRF2, PAK3, GAB1, PDGFC, AKT3, ANGPT1, FGF13, KIT, HGF, FGF2, ANGPT2,

2.2 子宫内膜癌淋巴结转移与差异表达基因相关性分析

为从整体水平上揭示GSE39099和GSE2109芯片中共同差异表达基因在子宫内膜癌淋巴结转移的生物学意义,本研究对信号通路富集获得的基因进行相关性分析。共同上调差异表达基因获得2条信号通路(表2): type I interferon signaling pathway和interferon-gamma-mediated signaling pathway;共同下调差异表达基因获得6条信号通路(表3):PI3K-Akt signaling pathway、Rap1 signaling pathway、TGF-beta signaling pathway、cGMP-PKG signaling pathway、Wnt signaling pathway、Ras signaling pathway。以上8条信号通路中的差异表达基因共64个。

通过COREMINE进行文本挖掘,以“endometrial

neoplasmas AND lymphatic metastasis”为关键词进行搜索,发现1945个基因与子宫内膜癌淋巴结转移相关。采用Venn作图工具继续筛选比对,发现这1945个基因中,有29个与2组(GSE39099和GSE2109)表达谱数据中的差异表达基因重合。

以基因名称、endometrial neoplasmas、lymphatic metastasis为关键词进行文献共现分析,29个共同差异基因中,FGFR1、LPAR4、IRS1、VEGFC、SOX17、AGTR1、MAGI1、ANGPT1、EIF4E、TGFB3、PLCB4、PRLR、IFNA1、BMPR1B AKT3及IL-7这16个基因在COREMINE检测中存在与子宫内膜癌淋巴结转移的注释网络中;其中PDGFC、EDNRA、CDK6、KIT、WNT5A、PAK3、WIF1、ANGPT2 TNC、FGF2、FGF13、DCN及HGF这13个基因在COREMINE检测中不存

在于注释网络中。除了 AKT3 单独作用于子宫内膜癌、TGFB3 单独作用于淋巴结转移, 其他 14 个基因均与子宫内膜癌淋巴结转移相关(图 1)。

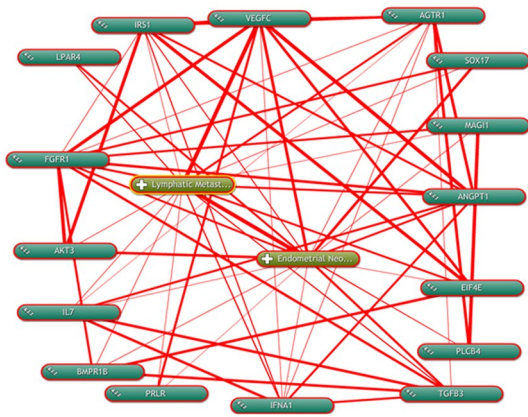


图1 COREMINE 检索到 16 个基因与子宫内膜癌淋巴结转移之间的线性关系图

Fig.1 Linear relationship diagram between 16 genes retrieved by COREMINE and lymph node metastasis in EC

2.3 信号通路富集获得基因与子宫内膜癌淋巴结转移相关蛋白基因相互作用分析

通过 PubMed 以 endometrial cancer lymph nodes metastasis 为关键词进行文献搜索, 发现 31 个已知与子宫内膜癌淋巴结转移相关的基因, 其中 MDM2、p21、VEGF、P53、Bcl-2、surviving、UPA、PAI-1、HSF1、XAF1、CDK4、Ki67、ER6、SKP2、NDRG1、PGP9.5、EZH2、C-erbB-2、wwox、septin-9、HER2、BRCA1、COX、TGF-1n、Mta-1、E-cad 这 26 个基因表达上调, nm23、smac、bax、PTEN、sky 这 5 个基因表达下调。GeneMania 工具分析上述 31 个基因与信号通路富集获得的 14 个基因之间的关系(图 2、表 4)发现, 除 MAGI1、BMPR1B 和 SOX17 基因外, 其他 11 个基因蛋白网络中之间通过各种方式相互作用, 如 FGFR1 与 IRS1、VEFC、ANGPT1、PLCB4 直接相互作用, IRS1 与 FGFR1、PRLR、EIF4E 直接相互作用, PRLR 与 IFNA1、IRS1、IL7 也存在直接相互作用关系。说明筛选出的基因大部分都通过直接或间接的方式与已知的子宫内膜癌淋巴结转移相关基因相互作用形成蛋白相互作用网络, 推测这些基因可能在功能上相关, 从而提示筛选的基因可能也与子宫内膜癌淋巴结转移相关。

生物信号通路分析得出的 8 条信号转导通路中, PI3K-Akt 信号转导通路上子宫内膜癌淋巴结转移相关基因数目最多, 其基因分别是 FGFR1、IRS1、PRLR、VEGFC、ANGPT1、EIF4E、LPAR4、IFNA1、IL-7 等, 故可考虑子宫内膜癌淋巴结转移以 PI3K-Akt 信号

通路为主。对这 11 个基因进行文本分析, 结果如表 4。根据 PubMed 结果分析可知 11 个基因在子宫内膜组织中均有表达, 而 PRLR、IFNA1 在淋巴结组织中未见表达。综合文献发现, VEGFC、ANGPT1、eIF4E、FGFR1、IRS1 等 5 个基因与子宫内膜癌淋巴结转移的相关性更为显著, 结合文献推测, VEGFC、IRS1 可能是子宫内膜癌淋巴结转移调控相关的重要候选基因。

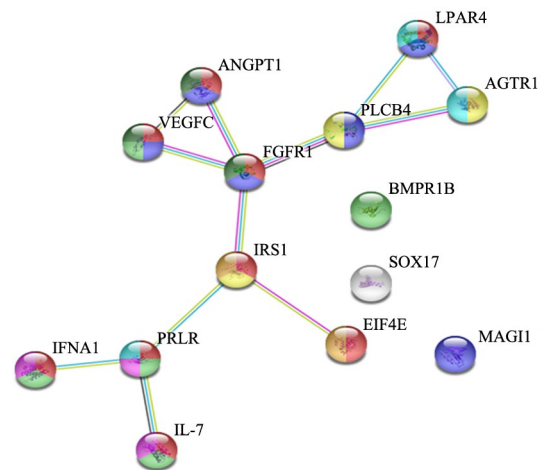


图2 GeneMania 工具分析潜在的 14 个基因蛋白相互作用分析
Fig.2 The protein-protein interaction analysis about 14 potential genes by gene mania

3 讨论

淋巴结转移是子宫内膜癌的主要转移方式, 也是子宫内膜癌术后复发的主要因素之一。多数研究认为对于淋巴结转移低风险的患者可以不进行淋巴结清扫, 但是目前对低风险的定义尚未形成统一标准。若能在术前就能预测子宫内膜癌淋巴结转移率, 则能指导是否切除淋巴结以及切除淋巴结的范围, 减少手术并发症。因此, 在分子水平上探讨子宫内膜癌淋巴结转移的调控机制, 鉴定子宫内膜癌淋巴结转移调控相关的信号通路和关键基因对于子宫内膜癌淋巴结是否切除具有重要的意义。目前国内外使用 GEO2R 工具综合性分析与子宫内膜癌淋巴结转移有关的基因和作用机制以及与临床因素的关系鲜有报道。本研究通过广泛搜索, 查寻来源于 I-II 期和 III-IV 期子宫内膜癌 GSE39099 和子宫内膜癌淋巴结阳性和阴性 GSE2109 两组 mRNA 基因芯片表达谱, 经 GEO2R 和 Venn 作图工具选择两组芯片共有的差异表达基因, 为筛选与子宫内膜癌淋巴结转移有关的基因提供基本数据。经 DAVID 对 KEGG 数据库进行富集分析, 所选择的基因富集的 8 条信号通路均具有显著性差异, 因此说明这些富集信号通路可能

在子宫内膜癌淋巴结转移过程中起一定作用,在富集信号通路上查找差异表达基因成为可能。在具有显著差异的8条信号通路中,PI3K-Akt研究最多也最彻底。多个研究也提示PI3K-Akt参与了I型子宫内膜癌的致癌机制,由此推测PI3K-Akt可能是子宫内膜癌淋巴结转移过程中的重要信号通路,而基于这条信号通路的相关基因研究可能为术前评估淋巴结转移提供新的预测指标。经文献搜索发现,8条信号通路上的14个差异表达基因中,FGFR1、IRS1、VEGFC、ANGPT1、eIF4E, FGFR1、ANGPT1 及 IF4E 与肺

癌、鼻咽癌、乳腺癌、胃癌以及卵巢癌等肿瘤的淋巴结转移相关,其中IRS1、VEGFC还与子宫内膜癌淋巴结转移相关,其他基因暂未发现与子宫内膜癌淋巴结转移相关的报道。而发现与各种肿瘤淋巴结均无关的基因有PRLR、LPAR4、IFNA1、IL-7等。本研究基于GeneMania进行了14个相关基因的蛋白相互作用分析,结果发现11个基因之间通过各种方式相互作用,进一步支持说明筛选的基因可能在功能上相关,且作为一个整体参与子宫内膜癌淋巴结转移调控。

表4 String检索获取的14个潜在基因的生物功能
Tab.4 The biological functions of 14 potential genes retrieved by String

Number of nodes: 14		Expected number of edges:2	
Number of edges: 12		PPI enrichment p-value: 8.14e-06	
Average node degree: 1.71		Your network has significantly more interactions than expected	
Avg.local clustering coefficient: 0.536		(what does that mean?)	
Functional enrichments in your network			
Biological processing(GO)			
Pathway ID	Pathway description	Count in gene set	False discovery rate
GO:0001655	urogenital system development	5	0.00231
GO:0007154	cell communication	12	0.00231
GO:0044700	single organism signaling	12	0.00231
GO:0072091	regulation of stem cell proliferation	4	0.00231
GO:0007165	signal transduction	11	0.00901
(more...)			
Molecular function (GO)			
Pathway ID	Pathway description	Count in gene set	False discovery rate
GO:0005515	protein binding	11	0.0263
KEGG pathways			
Pathway ID	Pathway description	Count in gene set	False discovery rate
04151	PI3K-Akt signaling pathway	9	4.18e-11
04015	Rap1 signaling pathway	6	3.68e-07
04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	5	5.57e-05
04022	cGMP-PKG signaling pathway	3	0.00871
04630	Jak-STAT signaling pathway	3	0.00871
04014	Ras signaling pathway	3	0.0193
04080	Neuroactive ligand-receptor interaction	3	0.0264
04150	mTOR signaling pathway	2	0.0264

在11个基因中,VEGF-C、ANGPT1、eIF4E、FGFR1、IRS1与子宫内膜癌淋巴结转移的相关性更为显著,因此可能是子宫内膜癌淋巴结转移相关的重要候选基因,但结果有待进一步的深入研究证实。查阅文献发现,INOKUCHI^[4]等研究发现FGFR1高表达与弥漫性胃癌淋巴结转移有关。KWON等^[5]研究FG-

FR1扩增状态在食管鳞状细胞癌和转移淋巴结之间存在相关性,FGFR1扩增是所有患者OS延长的独立预测因子。FGFR1、FGFR2或FGFR4的过表达与肿瘤进展显著相关,包括浸润深度、淋巴结转移、病理分期和远处转移或疾病复发^[6]。而大部分的研究是关于FGFR1参与肿瘤过程以及相关预后相关^[7-9]。

BRUNELLO 等^[10]发现,FGFR1 基因表达在乳腺癌的淋巴结转移中有扩增,而其参与子宫内膜癌淋巴结

转移至今尚未有报道。LUO 等^[11]研究发现胰岛素受体底物 1(IRS-1)表达阳性可以作为鼻咽癌淋巴结转

表 5 String 检索获取的 11 个基因的文本分析
Tab.5 Text analysis of 11 genes retrieved by String

Gene	Gene full name	Signal pathway	Disease
AGTR1	angiotensin II receptor type 1	cGMP-PKG signaling pathway	Renal tubular dysgenesis
LPAR4	lysophosphatidic acid receptor 4	Rap1 signaling pathway	
		PI3K-Akt signaling pathway	
VEGFC	vascular endothelial growth factor C	PI3K-Akt signaling pathway	
		Rap1 signaling pathway	
		Cytokine-cytokine receptor interaction	
FGFR1	fibroblast growth factor receptor 1	PI3K-Akt signaling pathway	Breast cancer, Hypogonadotropic hypogonadism, Osteoglophonic dysplasia (OD), Craniosynostosis, Cleft lip and/or cleft palate, Trignocephaly, Pfeiffer syndrome, Hartsfield syndrome, Jackson-Weiss syndrome
		Rap1 signaling pathway	
eIF4E	eukaryotic translation initiation factor 4E	PI3K-Akt signaling pathway	
PLCB4	phospholipase C beta 4	Rap1 signaling pathway	Auriculocondylar syndrome
PRLR	prolactin receptor	cGMP-PKG signaling pathway	
		Cytokine-cytokine receptor interaction	Hyperprolactinemia
		Neuroactive ligand-receptor interaction	
		PI3K-Akt signaling pathway	
		Jak-STAT signaling pathway	
IFNA1	interferon alpha 1	Cytokine-cytokine receptor interaction	
		PI3K-Akt signaling pathway、Jak-STAT signaling pathway	
IL-7	interleukin 7	Cytokine-cytokine receptor interaction	
		PI3K-Akt signaling pathway	
		Jak-STAT signaling pathway	
IRS1	insulin receptor substrate 1	PI3K-Akt signaling pathway	Auriculocondylar syndrome
		cGMP-PKG signaling pathway	
ANGPT1	angiopoietin 1	PI3K-Akt signaling pathway	
		Rap1 signaling pathway	
		Ras signaling pathway	

移预测的独立生物标志物。IRS-1 在原发性肿瘤中的表达与乳腺癌淋巴结浸润相关^[12]。IRS-1 的激活与侵袭性子宫内膜癌的特征相关,其作用依赖于 PI3K/Akt 通路,可能是子宫内膜癌有效的预防和治疗策略^[13],亦可能是子宫内膜癌预后的预测因子^[14]。VEGFA 和 VEGC 在黑色素瘤淋巴结中的表达与淋巴结转移有关^[15]。CAI 等^[16]发现,COX-2、VEGFC 对判

断子宫内膜癌的 FIGO 分期、分化程度、肌层浸润深度具有重要意义,其中 VEGFC 对判断子宫内膜癌是否转移至淋巴结具有重要意义。VEGFC 在血管内皮细胞的发育及向腹膜后淋巴结转移过程中发挥重要作用,是预测子宫内膜癌腹膜后淋巴结转移的重要标志物^[17]。DAI 等^[18]发现 VEGFC 表达在 FIGO II-III 期宫颈癌及淋巴结转移患者中显著上调,认为 CX-

CR4、CCR7、VEGFC、VEGF-D表达对宫颈癌淋巴结转移可能具有协同作用。BI等^[19]认为VEGFC在肺癌组织和转移淋巴结中均有高表达,其表达水平与非小细胞肺癌的淋巴结转移有显著相关性,CXCR4和VEGFC可能协同促进肺癌的淋巴转移,可能是非小细胞肺癌患者淋巴结转移的临床预测因子。AL-SHAREEF等^[20]分析显示,淋巴结转移与舌鳞状细胞癌中VEGFC的表达水平有显著的相关性,但不是独立影响因素。ANGPT1 mRNA在肺腺癌组织中呈低表达,与淋巴结转移呈正比。KANG等^[21]发现,ANGPT1基因高表达是淋巴结转移和淋巴血管浸润的独立危险因素。MORRISSEY等^[22]研究发现,沉默ANGPT1对前列腺癌骨、肝和淋巴结转移中的血管生成至关重要。ANGPT在淋巴管生成中的具体功能尚不清楚。eIF4E过表达被认为是多种肿瘤类型的一种有价值的预后标志物,但在鼻咽癌研究中发现其与临床分期及淋巴结转移表达无相关性^[23]。目前文献^[24]查询得知,FRLR基因为DNA转录调控因子,主要作用是通过调控枯草杆菌进行遗传控制,未见其他相关报道。

综上所述,本研究通过对已报道的GEO芯片数据进行生物信息学分析,筛选出8条信号通路,其中PI3K-Akt信号通路可能是子宫内膜癌淋巴结转移的重要信号通路;筛选出14个基因,通过查询相关资料,推测VEGFC、IRS1可能是子宫内膜癌淋巴结转移调控相关的重要候选基因。本研究也说明利用生物信息学方法可以为探索子宫内膜癌淋巴结转移的标志物开辟新的思路,进一步为术前评估子宫内膜癌淋巴结转移状态提供重要的临床指导意义。同时还为2个基因(VEGFC、IRS1)在子宫内膜癌淋巴结转移的研究方向提供了依据。由于可查找的芯片数据仅两组(GSE2109和GSE39099),且两组并不都是子宫内膜癌淋巴结转移与否的直接阵列,而有一组是以早期和晚期子宫内膜癌表达谱为基础,一定程度上限制了差异表达基因的筛选。本课题组将进一步对这些筛选的基因进行功能验证,并将追踪更新的芯片数据进行生物信息学分析。

[参 考 文 献]

- [1] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D991-D995[2019-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531084/>. DOI: 10.1093/nar/gks1193.
- [2] DENNIS G Jr, SHERMAN B T, HOSACK D A, et al. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery[J]. *Genome Biol*, 2003, 4(5): P3.
- [3] HUANG D W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(1): 1-13. DOI: 10.1093/nar/gkn923.
- [4] INOKUCHI M, MURASE H, OTSUKI S, et al. Different clinical significance of FGFR1-4 expression between diffuse-type and intestinal-type gastric cancer[J/OL]. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1): 2 [2019-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5217622/>. DOI:10.1186/s12957-016-1081-4.
- [5] KWON D, YUN J Y, KEAM B, et al. Prognostic implications of FGFR1 and MYC status in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(44): 9803. DOI: 10.3748/wjg.v22.i44.9803.
- [6] MURASE H, INOKUCHI M, TAKAGI Y, et al. Prognostic significance of the co-overexpression of fibroblast growth factor receptors 1, 2 and 4 in gastric cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(4): 509-517. DOI:10.3892/mco.2014.293.
- [7] LIM S, KOH M J, JEONG H J, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 overexpression is associated with poor survival in patients with resected muscle invasive urothelial carcinoma[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(4): 831-839. DOI:10.3349/ymj.2016.57.4.831.
- [8] MA F, ZHANG L, MA L, et al. MiR-361-5p inhibits glycolytic metabolism, proliferation and invasion of breast cancer by targeting FGFR1 and MMP-1[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 158[2019-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5683540/>. DOI:10.1186/s13046-017-0630-1.
- [9] XIE G, KE Q, JI Y Z, et al. FGFR1 is an independent prognostic factor and can be regulated by miR-497 in gastric cancer progression [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 52(1): e7816. DOI:10.1590/1414-431x20187816.
- [10] BRUNELLO E, BRUNELLI M, BOGINA G, et al. FGFR-1 amplification in metastatic lymph-nodal and haematogenous lobular breast carcinoma[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31: 103[2019-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542523/>. DOI:10.1186/1756-9966-31-103.
- [11] LUO J D, WEN Q Y, LI J, et al. Increased expression of IRS-1 is associated with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9): 6117-6124.
- [12] KODA M, SULKOWSKA M, KANCZUGA-KODA L, et al. Expression of insulin receptor substrate 1 in primary breast cancer and lymph node metastases[J]. *J Clin Pathol*, 2005, 58(6): 645-649. DOI:10.1136/jcp.2004.022590.
- [13] WANG Y M, HUA S F, TIAN W Y, et al. Mitogenic and anti-apoptotic effects of insulin in endometrial cancer are phosphatidylinositol 3-kinase/Akt dependent[J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 125(3): 734-741. DOI:10.1016/j.ygyno.2012.03.012.
- [14] 华绍芳, 薛凤霞, 张丽志, et al. 子宫内膜癌组织中胰岛素受体底物1的表达与活化及其临床意义[J]. *中华妇产科杂志*, 2008, 43(6): 437-441.
- [15] ALESSI C, SCAPULATEMPO NETO C, VIANA C R, et al. PD-1/PD-L1 and VEGF-A/VEGF-C expression in lymph node microenvironment and association with melanoma metastasis and survival[J]. *Melanoma Res*, 2017, 27(6): 565-572. DOI:10.1097/CMR.0000000000000396.
- [16] CAI S N, ZHANG Y X, HAN K, et al. Expressions and clinical significance of COX-2, VEGF-C, and EGFR in endometrial carcinoma [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 296(1): 93-98. DOI: 10.1007/

- s00404-017-4386-9.
- [17] HUANG Y W, XU L Q, LUO R Z, et al. VEGF-c expression in an in vivo model of orthotopic endometrial cancer and retroperitoneal lymph node metastasis[J/OL]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013, 11: 49 [2019-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3672014/>. DOI:10.1186/1477-7827-11-49.
- [18] DAI Y F, TONG R, GUO H, et al. Association of CXCR4, CCR7, VEGF-C and VEGF-D expression with lymph node metastasis in patients with cervical cancer[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 214: 178-183. DOI:10.1016/j.ejogrb.2017.04.043.
- [19] BI M M, SHANG B, WANG Z, et al. Expression of CXCR4 and VEGF-C is correlated with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2017, 8(6): 634-641. DOI:10.1111/1759-7714.12500.
- [20] AL-SHAREEF H, HIRAOKA S I, TANAKA N, et al. Use of NRP1, a novel biomarker, along with VEGF-C, VEGFR-3, CCR7 and SEMA3E, to predict lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(5): 2444-2454. DOI: 10.3892/or.2016.5116.
- [21] KANG Y E, KIM K S, PARK S J, et al. High expression of angiopoietin-1 is associated with lymph node metastasis and invasiveness of papillary thyroid carcinoma[J]. *World J Surg*, 2017, 41(12): 3128-3138. DOI:10.1007/s00268-017-4111-7.
- [22] MORRISSEY C, TRUE L D, ROUDIER M P, et al. Differential expression of angiogenesis associated genes in prostate cancer bone, liver and lymph node metastases[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(4): 377-388. DOI:10.1007/s10585-007-9116-4.
- [23] ZHANG P, WU S K, WANG Y, et al. P53, MDM2, eIF4E and EGFR expression in nasopharyngeal carcinoma and their correlation with clinicopathological characteristics and prognosis: A retrospective study[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(1): 113-118. DOI: 10.3892/ol.2014.2631.
- [24] DEPPE V M, KLATTE S, BONGAERTS J, et al. Genetic control of amadori product degradation in *Bacillus subtilis* via regulation of frlBONMD expression by FrIR[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(9): 2839-2846. DOI:10.1128/AEM.02515-10.

[收稿日期] 2018-10-20

[修回日期] 2019-10-05

[本文编辑] 黄静怡