

DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2023.072

· 临床研究 ·

IMPA2 在结肠癌中的表达和预后价值分析

张恒^{1,2}, 孔灿¹, 宋伟¹, 向仁伸¹, 吴敬¹, 付锦程¹, 付涛^{1,3}

1. 武汉大学人民医院胃肠外 II 科, 湖北 武汉 430060; 2. 襄阳市中心医院胃肠外科, 湖北 襄阳 441021; 3. 青岛市市立医院普外科中心, 山东 青岛 266071

通信作者: 付涛, E-mail: tfu001@whu.edu.cn

摘要: **目的** 研究肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2, IMPA2) 在结肠癌中的表达及其与患者临床病理特征和预后的关系, 明确其在诊断和预后判断中的价值, 并初步探讨 IMPA2 在结肠癌发生和发展中的作用及可能的机制。 **方法** 利用癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库分析 IMPA2 在结肠癌组织与正常结肠组织中的表达情况以及其与结肠癌患者临床病理特征和预后的关系。基因表达综合 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库及美国国家癌症研究所临床蛋白质组学肿瘤分析联盟 (National Cancer Institute Clinical Proteomics Tumor Analysis Consortium, CPTAC) 数据库数据用于验证。此外, 收集 2019 年 9 月至 2021 年 9 月武汉大学人民医院收治的 50 例结肠癌患者的临床病理信息、结肠癌组织及其癌旁组织, 使用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测组织中 IMPA2 mRNA 的表达量。从其中随机挑选 6 例患者标本作蛋白免疫印迹检测 IMPA2 蛋白的表达水平, 并使用 χ^2 检验分析 IMPA2 表达水平与临床病理特征的关系。最后, 运用 TCGA 数据库数据进行基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 预测 IMPA2 参与结肠癌发生和发展的潜在机制。 **结果** TCGA 和 GEO 数据库分析显示, 结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 水平均低于正常结肠组织 (均 $P < 0.01$)。CPTAC 数据库分析显示, 结肠癌组织中 IMPA2 蛋白的表达水平低于正常结肠组织 ($P < 0.01$)。qRT-PCR 和蛋白免疫印迹分别证实结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 表达水平和蛋白的表达水平低于癌旁组织 (均 $P < 0.01$)。IMPA2 表达水平在临床分期方面比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 TCGA 数据库和 GEO 数据库的 GSE39582 数据集资料作单因素 Cox 回归分析显示, 结肠癌患者预后与 IMPA2 表达水平、年龄、临床分期、T 分期、N 分期和 M 分期相关 (均 $P < 0.05$)。根据 IMPA2 表达水平中位值进行分组作生存分析显示, IMPA2 高表达组的总生存期 (overall survival, OS) 长于 IMPA2 低表达组 ($P < 0.05$)。受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线显示, IMPA2 表达水平对于结肠癌有较好的诊断价值, 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.844 (TCGA) 和 0.915 (GSE39582)。GSEA 结果提示, IMPA2 与脂肪酸代谢 ($P = 0.002$)、氧化磷酸化 ($P = 0.019$) 和谷胱甘肽代谢 ($P = 0.002$) 通路相关。 **结论** IMPA2 在结肠癌患者肿瘤组织中呈低表达, 其表达水平与结肠癌患者的临床分期和预后相关。IMPA2 在结肠癌中可能是抑癌基因, 可能通过影响脂肪酸代谢、氧化磷酸化和谷胱甘肽代谢影响肿瘤的发生和发展, 可作为潜在分子标志物用于结肠癌诊断和预后判断。

关键词: 结肠癌; 肌醇单磷酸酶 2; 肿瘤分期; 预后

Expression and prognostic value of IMPA2 in colon cancer

Zhang Heng¹, Kong Can¹, Song Wei¹, Xiang Ren Shen¹, Wu Jing¹, Fu Jincheng¹, Fu Tao^{1,2}

1. Department of Gastrointestinal Surgery II, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;

2. Department of Gastrointestinal Surgery, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, China; 3. Department

of General Surgery, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266071, China

Corresponding to: Fu Tao, E-mail: tfu001@whu.edu.cn

Abstract: Objective To explore the expression of inositol monophosphatase 2 (IMPA2) in colon cancer and its relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of patients, to clarify its value in diagnosis and prognosis determination, and to preliminarily explore the role and possible mechanisms of IMPA2 in the development of colon cancer. **Methods** The Cancer Genome Atlas (TCGA) database was used to analyze the expression of IMPA2 in colon cancer tissues and normal colon tissues, and its relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of colon cancer patients. The Gene Expression Omnibus (GEO) database and the National

Cancer Institute Clinical Proteomics Tumor Analysis Consortium (CPTAC) database were used for validation. In addition, the clinicopathological information, colon cancer tissues and their matched adjacent tissues were collected from 50 colon cancer patients admitted to the Renmin Hospital of Wuhan University from September 2019 to September 2021. The expression of IMPA2 mRNA was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR), and the expression level of IMPA2 protein in the cancer tissues of six patients randomly selected from the 50 colon cancer patients was detected by Western blot, and χ^2 test was used to analyze the relationship between the expression level of IMPA2 and clinicopathological features. Finally, gene set enrichment analysis (GSEA) was performed using TCGA database to analyze the potential mechanisms of IMPA2 in colon carcinogenesis and development. **Results** Both TCGA and GEO database analyses showed that the level of IMPA2 mRNA was significantly lower in colon cancer tissues than in normal colon tissues (both $P < 0.01$) and the CPTAC database analysis revealed that the level of IMPA2 protein in colon cancer tissues was lower than that in normal colon tissues ($P < 0.01$). qRT-PCR and Western blot both confirmed that the expressions of IMPA2 mRNA and protein in colon cancer tissues were lower than those in adjacent tissues (both $P < 0.01$). The expression level of IMPA2 was significantly different in clinical stage ($P < 0.05$). Univariate Cox regression analysis using data from TCGA database and GSE39582 in GEO database demonstrated that the prognosis of colon cancer patients was associated with the expression of IMPA2, age, clinical stage, T stage, N stage, and M stage (all $P < 0.05$). Survival analysis of patients divided according to the median expression of IMPA2 showed that the overall survival (OS) of the IMPA2 high expression group was significantly longer than that of the IMPA2 low expression group ($P < 0.05$). The receiver operating characteristic (ROC) curve showed that the expression of IMPA2 had a good diagnostic value for colon cancer, and the area under the curve (AUC) was 0.844 (TCGA) and 0.915 (GSE39582). GSEA results suggested that IMPA2 was associated with fatty acid metabolism ($P = 0.002$), oxidative phosphorylation ($P = 0.019$), and glutathione metabolism ($P = 0.002$). **Conclusions** The expression of IMPA2 is low in the colon cancer tissues, and its expression level is correlated with the clinical stage and the prognosis of colon cancer patients. IMPA2 may be a tumor suppressor gene in colon cancer, which may affect the development of tumors by affecting fatty acid metabolism, oxidative phosphorylation and glutathione metabolism. IMPA2 can be used as a potential molecular marker for the diagnosis and prognosis of colon cancer.

Key words: colon cancer; inositol monophosphatase 2; neoplasm staging; prognosis

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球发病率排名第 3 位和死亡率排名第 2 位的恶性肿瘤。2020 年全球估计有 >190 万例 CRC 新增病例和 93.5 万例 CRC 死亡病例, 分别占新发癌症病例和癌症死亡病例的约 1/10^[1]。遗传和环境因素在 CRC 的病因中起重要作用, 其中遗传因素包括 Lynch 综合征、家族性腺瘤性息肉病和慢性结肠炎等, 吸烟、饮酒、饮食和肥胖等环境因素同样也影响罹患 CRC 的风险^[2-4]。尽管目前有手术、化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗等多种方法用于 CRC 的治疗, 但 CRC 患者早期转移率和术后复发率较高, 其总生存期 (overall survival, OS) 仍然很短^[5-7]。因此, 寻找与 CRC 发生、发展及预后相关的新型肿瘤标志物并探究相关分子调控机制, 对于 CRC 患者的早期诊断、治疗和预后判断均有重要的意义。

肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2, IMPA2) 基因位于人类染色体 18p11.2 上, 其编码的蛋白由 288 个氨基酸组成, 具有 IMPA 活性, 能使肌醇磷酸脱磷酸, 从而产生游离的肌醇^[8]。IMPA2 参与磷脂酰肌醇信号通路, 与细胞生物学功能如新陈代谢、分泌、细胞生长和分化有关^[9]。

IMPA2 可能促进白血病细胞中甲氨蝶呤多聚谷氨酸的积累^[10]。此外, Mir-25 介导的 IMPA2 下调会导致透明细胞肾细胞癌的转移和不良结局^[11]。最近的一项研究指出沉默 IMPA2 可以抑制子宫颈癌细胞增殖和转移^[12]。也有一些研究指出, IMPA2 在神经精神疾病 (如躁狂抑郁症和精神分裂症) 中也具有重要的临床意义^[12]。然而, IMPA2 在结肠癌中的临床意义和预后价值尚不清楚。本研究旨在探讨 IMPA2 在结肠癌中的诊断和预后价值。基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 用于分析 IMPA2 与结肠癌病程相关的潜在分子调节机制。

1 资料与方法

1.1 数据资料

1.1.1 公共数据库资料收集 2020 年 5 月 8 日从癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 下载 41 个正常结肠样本的基因表达数据和 473 个结肠癌样本的基因表达数据及 452 个样本的临床数据。所有患者年龄 31~90 岁, 中位年龄 71 岁; 男性 214 例, 女性 238 例。从基因表达综合 (Gene

Expression Omnibus, GEO) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) 中的 GSE39582 数据集下载 19 个正常结肠样本的基因表达数据和 566 个结肠癌样本的基因表达及临床数据。所有患者年龄 22~97 岁, 中位年龄 69 岁; 男性 322 例, 女性 263 例。从美国国家癌症研究所临床蛋白质组学肿瘤分析联盟 (National Cancer Institute Clinical Proteomics Tumor Analysis Consortium, CPTAC) 数据库 (<https://proteomics.cancer.gov/>) 下载 100 个正常结肠样本和 97 个结肠癌样本的蛋白表达数据。

1.1.2 患者临床信息及组织标本 2019 年 9 月至 2021 年 9 月武汉大学人民医院收治的 50 例结肠癌患者, 术后病理检查确诊为结肠癌。年龄 35~84 岁, 中位年龄 62 岁。收集患者姓名、性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度和分期等临床病理信息。同时收集患者的原发肿瘤组织和配对的癌旁组织 (距离肿瘤组织 >7 cm) 置于 -80℃ 冰箱中。随机挑选其中 6 例患者标本, 使用蛋白免疫印迹检测 IMPA2 蛋白的表达水平。6 例患者年龄 57~77 岁, 平均年龄 63.8 岁, 中位年龄 63 岁; 男性 2 例, 女性 4 例; 中分化 5 例, 低分化 1 例; 临床分期 III 期 4 例, II 期 1 例, I 期 1 例。本研究已获得武汉大学人民医院伦理委员会的审批。

1.2 IMPA2 在结肠癌和正常结肠组织中的表达差异分析

使用 R 语言软件分别对 TCGA 以及 GEO 数据库中结肠癌和正常结肠组织中 IMPA2 的 mRNA 表达水平进行分析并绘制散点图。为探究 IMPA2 蛋白表达水平在结肠癌组织和正常结肠组织中是否存在差异, 使用 Wilcoxon 秩和检验对 CPTAC 数据库中结肠癌组织和正常结肠组织中 IMPA2 蛋白表达水平进行分析。

1.3 IMPA2 表达水平与结肠癌患者临床病理特征的关系分析

保留 TCGA 数据库和 GSE39582 数据集中临床数据完整的样本, 使用 R 语言软件中的 Ggpubr 包完成临床分析。此外, 去除无生存信息的样本后, 使用 R 语言软件中的 Survival 包进行独立预后分析。运用 χ^2 检验评估 50 例结肠癌患者临床病理特征资料与 IMPA2 表达水平的关系。

1.4 IMPA2 表达水平与结肠癌患者预后的关系分析

保留 TCGA 数据库和 GSE39582 数据集中生存数据完整的样本, 根据结肠癌样本 IMPA2 的中位表达水平将样本分为 IMPA2 高表达组和 IMPA2

低表达组, 进行生存分析, 并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线。根据结肠癌组织及正常结肠组织中 IMPA2 的表达水平使用 SPSS 软件绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线, 评价 IMPA2 表达水平对结肠癌的诊断价值。

1.5 GSEA

根据 TCGA 数据库中结肠癌样本 IMPA2 的中位表达水平将样本分为 IMPA2 高表达组和 IMPA2 低表达组, 通过比较 IMPA2 高表达组和 IMPA2 低表达组在京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 和基因本体论 (Gene Ontology, GO) 基因集中的富集度, 使用 GSEA 软件生成富集分析结果。用缺省加权富集法进行富集分析, 随机组合 1 000 次。P<0.05 的基因集作为显著富集的基因集。并使用 R 中的 plyr、ggplot2、grid 和 gridExtra 软件包, 将 GSEA 富集分析结果合并到 1 个图中, 以便于比较。

1.6 qRT-PCR

使用 TRIzol 法提取组织标本的总 RNA, 并检测其纯度和浓度。严格按照翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司的试剂盒说明书进行反转录和 qRT-PCR 反应, 并以 GAPDH 为内参进行相对定量分析。每组设置 2 个复孔, 使用 Roche-LC480 实时定量 PCR 仪 (Roche 公司, 瑞士) 进行检测, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。IMPA2 的上游引物序列为 5'-GAAACCTCTCTCGCAACTCAG-3', 下游引物序列为 5'-GGGCAGGACAGATCATCAGAA-3'; GAPDH 的上游引物序列为 5'-GGAGTCCACTGGCGTCTTCA-3', 下游引物序列为 5'-GTCATGAGTCCTTCCACGATACC-3'。

1.7 蛋白免疫印迹

用 RIPA 裂解缓冲液从组织中提取蛋白。用 BCA 蛋白测定试剂盒 (武汉赛维尔) 测定蛋白质总量, 用 10% 聚丙烯酰胺凝胶分离等量蛋白样品, 然后电转到 PVDF 膜上。所用抗体如下: 抗 IMPA2 兔单克隆抗体 (1:1 000; 上海艾博抗) 为一抗, 内参为抗 GAPDH 小鼠单克隆抗体 (1:5 000; 武汉赛维尔); 二抗分别为辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G (1:5 000; 武汉赛维尔), HRP 标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白 G (1:5 000; 武汉赛维尔)。

1.8 统计学分析

使用 R 语言 (版本: 4.0.3) 和 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。使用 GraphPad Prism 8.0.2 进行

图片处理和编辑。Wilcoxon 秩和检验用于比较正常组织与肿瘤组织的 IMPA2 表达差异。在公共数据库中使用 Wilcoxon 秩和检验分析结肠癌患者性别、年龄及 M 分期与 IMPA2 表达水平之间的关系，使用 Kruskal-Wallis 检验分析 IMPA2 表达水平与结肠癌患者临床分期、T 分期及 N 分期之间的关系。使用 log-rank 检验完成 IMPA2 高表达组和 IMPA2 低表达组的生存分析。使用单变量 Cox 回归分析来评估 IMPA2 及临床病理特征在结肠癌预后中的危险程度。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IMPA2 在结肠癌组织中的表达水平

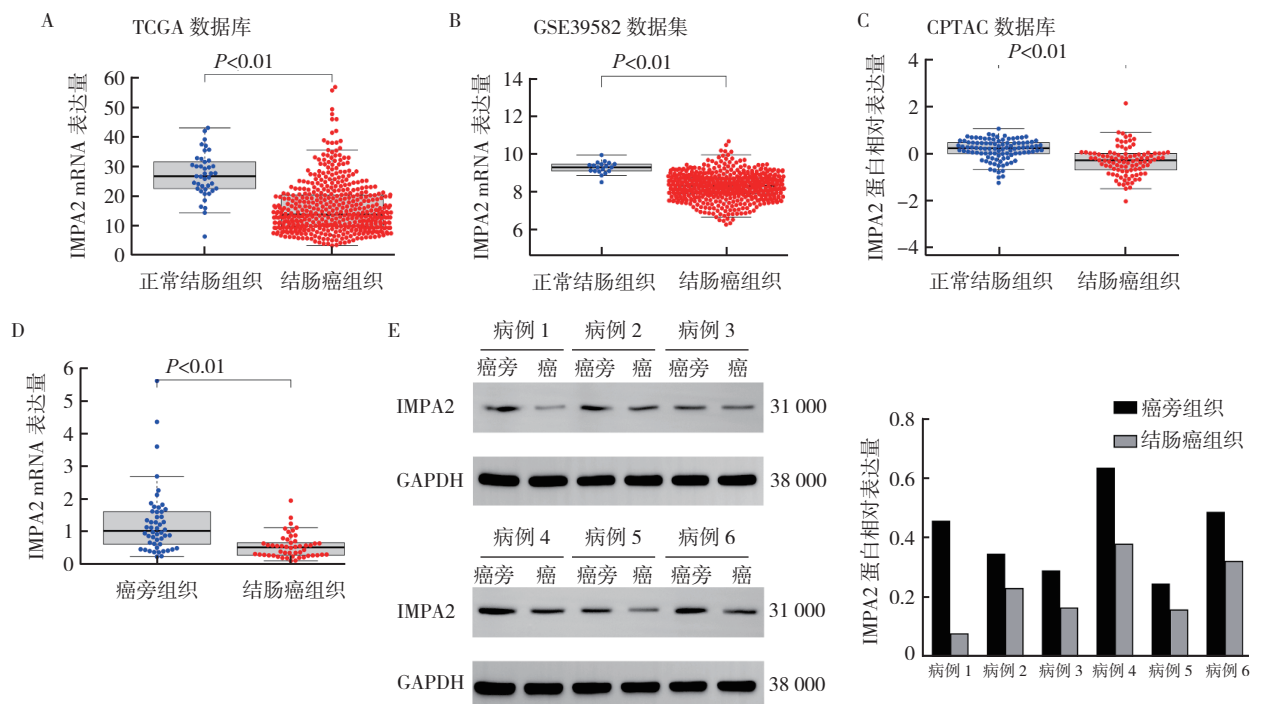
根据 TCGA 数据库中 41 个正常结肠组织样本和 473 个结肠癌组织样本中的 IMPA2 表达水平绘制散点图 (图 1A)。结果显示, IMPA2 mRNA 在结肠癌组织中的表达水平低于正常结肠组织 ($P < 0.01$)。对 GSE39582 数据集中 19 个正常结肠组织样本和 566 个结肠癌组织样本 IMPA2 基因表

达水平进行 Wilcoxon 秩和检验 (图 1B)。结果提示, 结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 表达水平低于正常结肠组织 ($P < 0.01$), 这与 TCGA 数据库的分析结果相同。在 CPTAC 数据库中, 结肠癌组织 ($n=97$) 中 IMPA2 蛋白水平表达低于正常结肠组织 ($n=100$, $P < 0.01$, 图 1C)。

为验证 IMPA2 在结肠癌及癌旁标本中的 mRNA 及蛋白的表达差异, 采用 qRT-PCR 法检测武汉大学人民医院胃肠外科收治的 50 例结肠癌患者的结肠癌及癌旁标本中 IMPA2 mRNA 的表达量, 结肠癌组织 IMPA2 mRNA 表达水平低于癌旁组织 ($P < 0.01$, 图 1D)。同时, 随机挑选 6 例患者标本, 使用蛋白免疫印迹检测 IMPA2 蛋白的表达水平 (图 1E)。结果显示, 与癌旁正常组织比较, 结肠癌组织中 IMPA2 蛋白表达减少 [(0.413 ± 0.145) vs (0.223 ± 0.111) , $P=0.008$]。

2.2 IMPA2 表达水平与结肠癌患者临床病理特征的关系

2.2.1 TCGA 数据库 保留 TCGA 数据库中临床数据完整的 377 例结肠癌样本, 探讨结肠癌患者



注 A : TCGA 数据库中结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 水平下调; B : GSE39582 数据集中结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 水平下调; C : CPTAC 数据库结肠癌组织中 IMPA2 蛋白水平下调; D : 本院 50 例结肠癌组织中 IMPA2 mRNA 水平下调; E : 6 例结肠癌组织及其癌旁组织中 IMPA2 的蛋白表达水平; IMPA2 : 肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2)

图 1 IMPA2 mRNA 和蛋白在结肠癌组织和正常结肠组织中的表达水平

Fig.1 Expression levels of IMPA2 mRNA and protein in colon cancer tissues and normal colon tissues

的临床病理特征与 IMPA2 表达水平的关系。结果表明, IMPA2 表达水平在年龄(图 2A)、临床分期(图 2B)、T 分期(图 2C)、N 分期(图 2D)以及 M 分期(图 2E)方面比较, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$); 但在性别方面比较, 差异无统计学意义($P = 0.140$)。其中, 临床分期为 I ($P = 0.001$)、II ($P = 0.003$) 和 III ($P = 0.031$) 期的结肠癌患者的 IMPA2 表达水平高于 IV 期的结肠癌患者; T2 ($P = 0.003$) 和 T3 ($P = 0.014$) 期的结肠癌患者的 IMPA2 表达水平高于 T4 期的结肠癌患者; N0 期的结肠癌患者的 IMPA2 表达水平高于 N1 期的结肠癌患者 ($P = 0.020$); 存在远处转移的结肠癌患者 IMPA2 表达水平低于无远处转移的结肠癌患者 ($P = 0.001$)。此外, 单因素 Cox 回归分析结果显示, IMPA2 表达水平与结肠癌的预后有关 ($HR = 0.960$, $P = 0.020$, 图 2F)。然而, 多因素 Cox 回归分析提示, IMPA2 表达水平不是结肠癌的独立预后因素 ($HR = 0.974$, $P = 0.146$, 图 2G)。

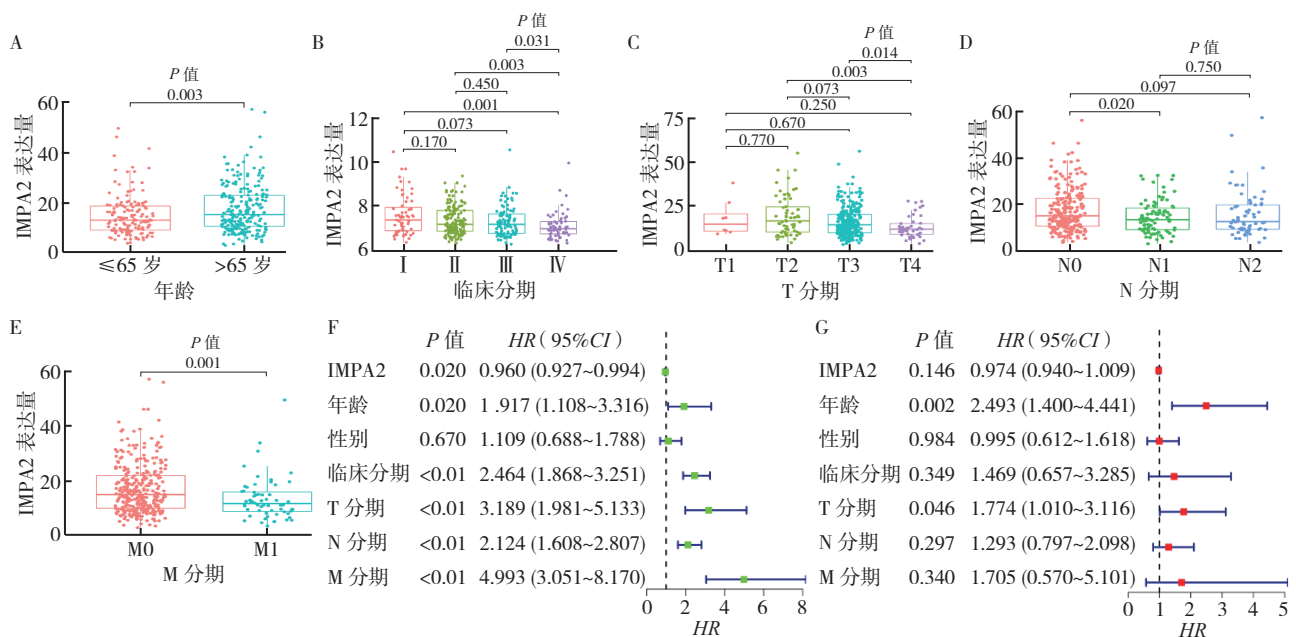
2.2.2 GSE35982 数据集 为了检验 TCGA 数据库生成的结果, 保留 GSE35982 数据集中临床数据完整的 530 例结肠癌样本信息, 探讨结肠癌患者的临床病理特征与 IMPA2 表达水平的关系。结果证实, IMPA2 表达水平在临床分期(图 3A)及

M 分期(图 3B)方面比较, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。其中, 临床分期为 II 期的结肠癌患者的 IMPA2 表达水平高于 IV 期的结肠癌患者 ($P = 0.009$); 无远处转移的结肠癌患者 IMPA2 表达水平高于存在远处转移的结肠癌患者 ($P = 0.022$)。单因素 Cox 回归分析也显示, IMPA2 表达水平与结肠癌的预后有关 ($HR = 0.748$, $P = 0.012$, 图 3C)。然而, 多因素 Cox 回归分析提示, IMPA2 表达水平不是结肠癌的独立预后因素 ($HR = 0.873$, $P = 0.230$, 图 3D)。

2.2.3 50 例结肠癌患者 进一步对本院 50 例结肠癌患者的 IMPA2 表达水平与临床病理特征的关系进行分析。根据 IMPA2 的中位表达水平 (0.537) 分组, 中位值归 IMPA2 低表达组。IMPA2 高表达组 23 例, IMPA2 低表达组 27 例。IMPA2 高表达组年龄为 35~84 岁, 中位年龄 59 岁。IMPA2 低表达组年龄为 38~81 岁, 中位年龄 62 岁。IMPA2 表达水平在结肠癌患者性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤直径、分化程度及 T 分期方面比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 在临床分期 ($P = 0.042$) 和 N 分期 ($P = 0.042$) 方面, 差异均具有统计学意义(表 1)。

2.3 IMPA2 表达水平与结肠癌患者预后的关系

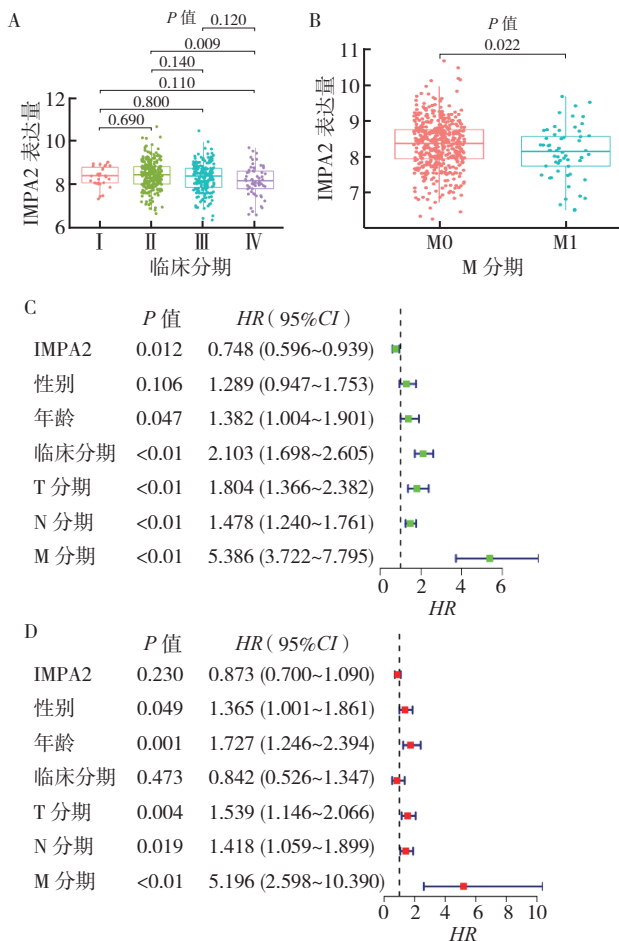
保留生存数据完整的样本, 根据 TCGA 数据



注 A: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与年龄的关系; B: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与临床分期的关系; C: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与 T 分期的关系; D: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与 N 分期的关系; E: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与 M 分期的关系; F: 单因素 Cox 回归分析; G: 多因素 Cox 回归分析; IMPA2: 肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2)

图 2 TCGA 数据库中 IMPA2 表达水平与结肠癌患者临床病理特征的关系

Fig.2 Relationship between IMPA2 expression level and clinicopathological characteristics of colon cancer patients in TCGA database



注 A: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与临床分期的关系; B: 结肠癌患者 IMPA2 表达水平与 M 分期的关系; C: 单因素 Cox 回归分析; D: 多因素 Cox 回归分析; IMPA2: 肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2)

图 3 GSE35982 数据集中 IMPA2 表达水平与结肠癌患者临床病理特征的关系

Fig.3 Relationship between IMPA2 expression level and clinicopathological characteristics of colon cancer patients in the GSE35982 dataset

库中结肠癌组织中 IMPA2 中位表达水平 (14.239) 将 411 例结肠癌标本分为高表达组 (n=205) 和低表达组 (n=206), 中位值归低表达组, 进行生存分析, 绘制 Kaplan-Meier 生存曲线 (图 4A)。结果显示, IMPA2 低表达组的 OS 较高表达组缩短 (HR=1.748, 95%CI: 1.140~2.690, P=0.011), 提示 IMPA2 低表达的结肠癌患者预后较差。为了检验 TCGA 数据库生成的结果, 从 GSE39582 数据集中获取 566 个结肠癌样本的基因表达水平和临床信息。去除 10 例无生存数据的结肠癌样本后, 根据 IMPA2 中位表达水平 (8.326) 分为低表达组和高表达组各 278 例, 中位值归低表达组, 绘制

表 1 50 例结肠癌患者 IMPA2 表达水平与临床病理特征的关系 (例, %)

Table 1 Correlation between IMPA2 expression level and the clinicopathological features of 50 colon cancer patients (case, %)

临床病理特征	总例数	IMPA2 低表达组 (n=27)	IMPA2 高表达组 (n=23)	χ^2 值	P 值
性别				0.005	0.945
男性	28	15 (53.6)	13 (46.4)		
女性	22	12 (54.5)	10 (45.5)		
年龄				1.691	0.193
≤65 岁	35	21 (60.0)	14 (40.0)		
>65 岁	15	6 (40.0)	9 (60.0)		
肿瘤部位				2.566	0.109
左半结肠	31	14 (45.2)	17 (54.8)		
右半结肠	19	13 (68.4)	6 (31.6)		
肿瘤直径				0.001	0.982
≤5 cm	24	13 (54.2)	11 (45.8)		
>5 cm	26	14 (53.8)	12 (46.2)		
分化程度				1.096	0.295
低~中分化	43	25 (58.1)	18 (41.9)		
高分化	7	2 (28.6)	5 (71.4)		
临床分期				4.154	0.042
I~II 期	27	11 (40.7)	16 (59.3)		
III~IV 期	23	16 (69.6)	7 (30.4)		
T 分期				0.027	0.869
T1~T2	18	10 (55.6)	8 (44.4)		
T3~T4	32	17 (53.1)	15 (46.9)		
N 分期				4.154	0.042
N0	27	11 (40.7)	16 (59.3)		
N1~N2	23	16 (69.6)	7 (30.4)		
M 分期				0.573	0.449
M0	45	23 (51.1)	22 (48.9)		
M1	5	4 (80.0)	1 (20.0)		

注 IMPA2: 肌醇单磷酸酶 2 (inositol monophosphatase 2)

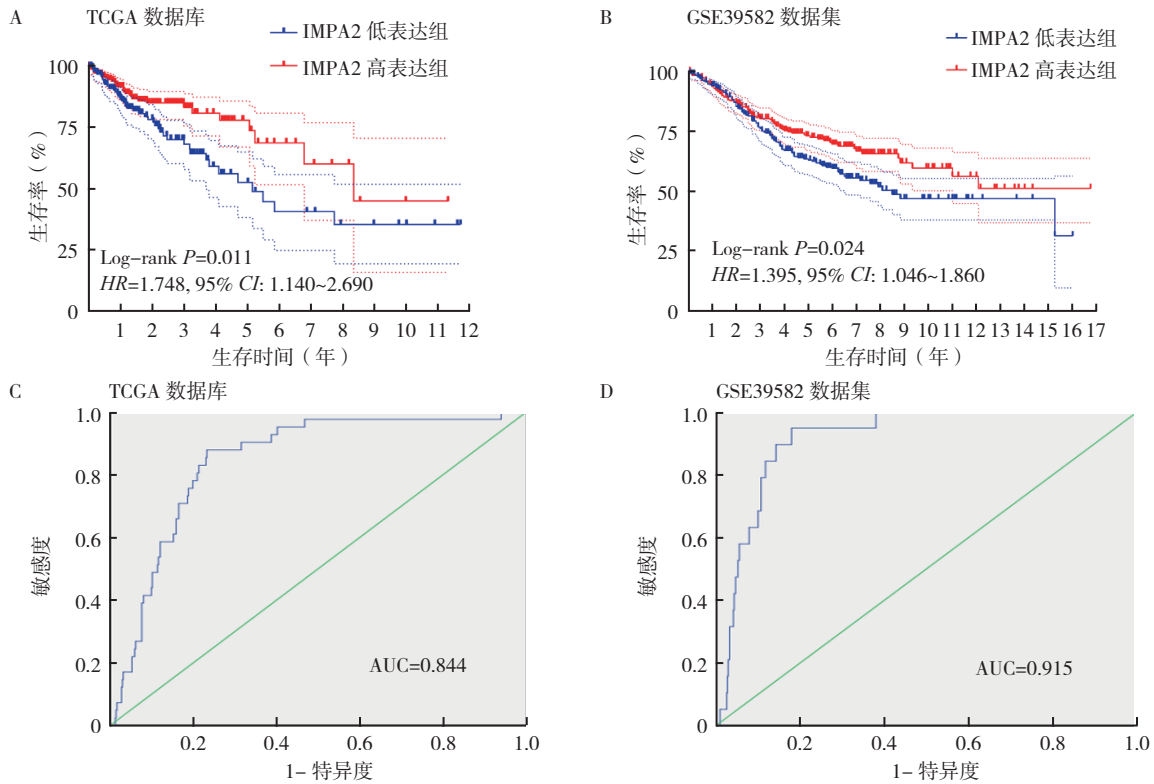
Kaplan-Meier 曲线 (图 4B) 显示, IMPA2 低表达组 OS 低于 IMPA2 高表达组 (HR=1.395, 95%CI: 1.046~1.860, P=0.024)。根据结肠癌组织及正常结肠组织中 IMPA2 的表达水平绘制 ROC 曲线。结果显示, TCGA 数据库中 IMPA2 对于结肠癌有较好的诊断价值, 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.844 (95%CI: 0.790~0.899, P<0.01), 截断值为 20.798 (图 4C)。对 GSE39582 数据集的分析也得出 IMPA2 对于结肠癌有较好的诊断价值的结论, AUC 为 0.915 (95%CI: 0.874~0.955, P<0.01), 截断值为 8.869 (图 4D)。

2.4 GSEA 结果

为进一步探索 IMPA2 参与结肠癌进展的潜

在机制，将 TCGA 数据库中 473 例结肠癌患者根据 IMPA2 mRNA 的中位表达水平（13.827，中位值归低表达组）分为高表达组（ $n=236$ ）和低表达组（ $n=237$ ），分别基于 GO 和 KEGG 因集进

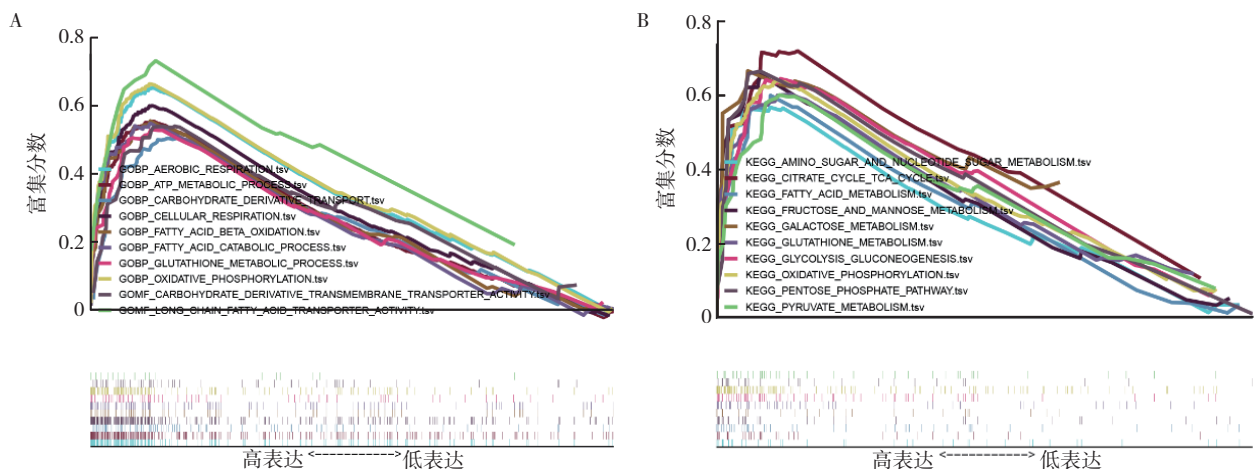
行 GSEA 富集分析（图 5）。GO 富集分析结果显示，IMPA2 的高表达可能与脂肪酸分解代谢过程（ $P=0.002$ ）、谷胱甘肽代谢过程（ $P=0.002$ ）、ATP 代谢过程（ $P=0.004$ ）、细胞呼吸（ $P=0.010$ ）以及



注 A：TCGA 数据库中结肠癌患者 IMPA2 表达水平与总生存期的关系；B：GSE39582 数据集中结肠癌患者 IMPA2 表达水平与总生存期的关系；C：TCGA 数据库中 IMPA2 表达水平对结肠癌诊断价值的 ROC 曲线；D：GSE39582 数据集中 IMPA2 表达水平对结肠癌诊断价值的 ROC 曲线；IMPA2：肌醇单磷酸酶 2（inositol monophosphatase 2）

图 4 IMPA2 表达水平与结肠癌患者预后的关系

Fig.4 Relationship between IMPA2 expression level and the prognosis of colon cancer patients



注 A：基于 TCGA 数据库的 IMPA2 高表达结肠癌样本的 GO 富集分析；B：基于 TCGA 数据库的 IMPA2 高表达结肠癌样本的 KEGG 富集分析

图 5 基于 TCGA 数据库的 IMPA2 高表达结肠癌样本的 GSEA 分析结果

Fig.5 GSEA analysis results of colon cancer samples with high IMPA2 expression in TCGA database

氧化磷酸化 ($P=0.019$) 有关。KEGG 富集分析结果显示, IMPA2 的高表达可能参与糖酵解葡萄糖异生 ($P<0.01$)、谷胱甘肽代谢 ($P<0.01$)、脂肪酸代谢 ($P=0.008$)、氨基糖代谢与核苷酸糖代谢 ($P=0.008$)、氧化磷酸化 ($P=0.014$) 以及柠檬酸循环 ($P=0.023$) 等途径。

3 讨论

每年全世界有 >180 万例被诊断为 CRC, 是胃肠道常见的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康^[13]。结肠癌易发生早期转移和术后复发, 故死亡率较高。因此深入了解结肠癌的发病机制, 寻找新的诊断及预后标志物对临床诊断和治疗工作有重要的意义。

IMPA2 基因编码的催化蛋白, 通过脱磷酸化将肌醇单磷酸转化为游离肌醇^[14]。在许多研究中, IMPA2 与神经精神疾病有关, 如精神分裂症^[15]、癫痫^[16]、躁郁症^[17] 和亨廷顿氏症^[18]。此外, 锂可以抑制 IMPA2, 是躁郁症的主要治疗药物^[19]。然而, 关于 IMPA2 和癌症之间的关系的研究很少。有研究指出, IMPA2 在子宫颈瘤的增殖和迁移中起促癌基因的作用, IMPA2 下调细胞外调节蛋白激酶磷酸化以促进子宫颈瘤的发生和发展^[12]。在乳腺癌中, IMPA2 是一种预后不良的生物标志物^[20]。IMPA2 下调促进透明细胞肾细胞癌肿瘤转移以及造成不良结局^[11]。然而, IMPA2 在结肠癌中的临床意义尚未被研究。本研究通过对 TCGA 以及 GEO 高通量 RNA 测序数据的生物信息学分析发现, IMPA2 在结肠癌组织中的表达低于相邻的正常结肠组织。CPTAC 数据库分析显示, 结肠癌组织中 IMPA2 蛋白的表达水平低于正常结肠组织。对武汉大学人民医院收治的 50 例结肠癌患者的结肠癌组织及癌旁组织标本 IMPA2 mRNA 及蛋白的表达量进行检测, 得到相同的结论。之前的研究报告, IMPA2 在有远处转移的透明细胞肾细胞癌患者中的相对表达量下调^[21], 这与本研究在结肠癌患者中的结果一致。此外, 本研究发现, 在 TCGA 和 GEO 数据库中, IMPA2 的表达水平在结肠癌患者临床分期及 M 分期方面比较, 差异均具有统计学意义 (均 $P<0.05$)。然而, 对武汉大学人民医院收治的 50 例结肠癌患者的临床数据分析显示, IMPA2 表达水平在临床分期和 N 分期方面比较, 差异均具有统计学意义 (均 $P<0.05$), 但在结肠癌患者 M 分期方面比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 与 TCGA 与 GSE39582 得出的结论不同,

这可能与本研究收集的样本数据量偏小有关, 需要样本量更大的研究来探讨 IMPA2 表达水平与结肠癌患者 M 分期的关系。Kaplan Meier 生存曲线显示, IMPA2 低表达的结肠癌患者预后不良。TCGA 和 GEO 数据库的单因素 Cox 回归分析表明, IMPA2 与结肠癌预后有关。

大量研究表明, 抑制 IMPA2 可能导致三磷酸肌醇积累和 (或) 肌醇耗竭, 这最终可以调节自噬, 帮助治疗神经退行性疾病或双相障碍^[18, 22]。然而, IMPA2 在癌症中的作用机制尚不清楚。最近的一项研究指出, 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径参与 IMPA2 的促肿瘤作用^[12]。为了进一步评估 IMPA2 在结肠癌中的机制, 本研究使用 TCGA 数据进行 GSEA。GO 和 KEGG 基因集的 GSEA 结果均提示, IMPA2 可能与脂肪酸代谢、氧化磷酸化以及谷胱甘肽代谢相关。癌细胞依赖脂肪酸作为细胞膜形成、能量储存和信号分子产生的基础, 限制脂肪酸供应可以控制癌细胞增殖^[23], 脂肪酸代谢异常与肿瘤发生密切相关^[24]。氧化磷酸化代谢途径通过将电子传递到线粒体内膜中的一系列跨膜蛋白质复合物上而产生 ATP。氧化磷酸化下调与所有癌症类型的不良临床结局相关, 并与侵袭性和转移性肿瘤的特征相关^[25]。氧化磷酸化是癌症治疗的新靶点^[26]。谷胱甘肽在保护细胞免受氧化损伤以及维持氧化还原稳态方面起着关键作用^[27]。此外, 谷胱甘肽参与多种细胞过程, 包括细胞增殖、分化和凋亡^[28]。谷胱甘肽代谢紊乱卵巢癌^[29] 和肺癌^[30] 等多种癌症病因、进展以及抗癌药物的耐药性有关。

本研究结果具有重要的临床意义, 为关于 IMPA2 在结肠癌中的基础和临床研究提供了线索和依据, 为结肠癌患者的早期诊断、预后判断及靶向治疗提供新的思路。本研究的不足之处在于从在线数据库获取相关数据进行相关分析, 虽然结果具有一定的提示意义, 但同时也具有一定的局限性, 需要更深入的研究探讨 IMPA2 的作用及 IMPA2 下调促进结肠癌发生和发展的具体机制。

综上所述, IMPA2 在结肠癌患者肿瘤组织中呈低表达, 其表达水平与结肠癌患者的临床分期和预后有关。IMPA2 在结肠癌中可能是抑癌基因, 可能通过影响脂肪酸代谢、氧化磷酸化和谷胱甘肽代谢从而影响肿瘤的发生和发展, 可作为潜在分子标志物用于结肠癌诊断和预后判断, 也有望作为新的靶点用于结肠癌治疗。

参考文献：

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, et al. Colorectal cancer[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15065.
- [3] Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: Emerging trends, risk factors and prevention strategies[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(12): 713–732.
- [4] Kanth P, Inadomi JM. Screening and prevention of colorectal cancer[J]. *BMJ*, 2021, 374: n1855.
- [5] 程龙, 刘晓昌, 梅俏. 关于建立结直肠癌立体防治系统的探讨[J]. *实用肿瘤杂志*, 2021, 36(1): 1–5.
- [6] Cardoso R, Guo F, Heisser T, et al. Colorectal cancer incidence, mortality, and stage distribution in European countries in the colorectal cancer screening era: An international population-based study[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(7): 1002–1013.
- [7] Li N, Lu B, Luo CY, et al. Incidence, mortality, survival, risk factor and screening of colorectal cancer: A comparison among China, Europe, and northern America[J]. *Cancer Lett*, 2021, 522: 255–268.
- [8] Yoshikawa T, Turner G, Esterling LE, et al. A novel human myo-inositol monophosphatase gene, IMP.18p, maps to a susceptibility region for bipolar disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 1997, 2(5): 393–397.
- [9] Jiménez E, Arias B, Mitjans M, et al. Genetic variability at IMPA2, INPP1 and GSK3 β increases the risk of suicidal behavior in bipolar patients[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2013, 23(11): 1452–1462.
- [10] French D, Yang WJ, Cheng C, et al. Acquired variation outweighs inherited variation in whole genome analysis of methotrexate polyglutamate accumulation in leukemia[J]. *Blood*, 2009, 113(19): 4512–4520.
- [11] Lin YF, Chou JL, Chang JS, et al. Dysregulation of the miR-25-IMPA2 axis promotes metastatic progression in clear cell renal cell carcinoma[J]. *EBioMedicine*, 2019, 45: 220–230.
- [12] Zhang K, Liu L, Wang M, et al. A novel function of IMPA2, plays a tumor-promoting role in cervical cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 371.
- [13] 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.
- [14] Bloch PJ, Weller AE, Doyle GA, et al. Association analysis between polymorphisms in the myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2) gene and bipolar disorder[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2010, 34(8): 1515–1519.
- [15] Li J, Huang S, Dai HR, et al. A promoter polymorphism rs2075824 within IMPA2 gene affecting the transcription activity: possible relationship with schizophrenia[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(4): 658–664.
- [16] Gurnett CA, Hedera P. New ideas in epilepsy genetics: novel epilepsy genes, copy number alterations, and gene regulation[J]. *Arch Neurol*, 2007, 64(3): 324–328.
- [17] Tomioka Y, Jiménez E, Salagre E, et al. Association between genetic variation in the myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2) gene and age at onset of bipolar disorder[J]. *J Affect Disord*, 2018, 232: 229–236.
- [18] Sarkar S, Rubinsztein DC. Inositol and IP3 levels regulate autophagy: Biology and therapeutic speculations[J]. *Autophagy*, 2006, 2(2): 132–134.
- [19] Williams RS, Cheng LL, Mudge AW, et al. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs[J]. *Nature*, 2002, 417(6886): 292–295.
- [20] Uddin MN, Wang XS. Identification of key tumor stroma-associated transcriptional signatures correlated with survival prognosis and tumor progression in breast cancer[J]. *Breast Cancer*, 2022, 29(3): 541–561.
- [21] Kuei CH, Lin HY, Lee HH, et al. IMPA2 downregulation enhances mTORC1 activity and restrains autophagy initiation in metastatic clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(4): E956.
- [22] Sade Y, Toker L, Kara NZ, et al. IP3 accumulation and/or inositol depletion: Two downstream lithium's effects that may mediate its behavioral and cellular changes[J]. *Transl Psychiatry*, 2016, 6(12): e968.
- [23] Currie E, Schulze A, Zechner R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. *Cell Metab*, 2013, 18(2): 153–161.
- [24] 赵天轶, 刘志铭, 姜洁. LPCATs 在肿瘤中的作用研究进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2021, 36(3): 284–288.
- [25] Gaude E, Frezza C. Tissue-specific and convergent metabolic transformation of cancer correlates with metastatic potential and patient survival[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13041.
- [26] Ashton TM, McKenna WG, Kunz-Schughart LA, et al. Oxidative phosphorylation as an emerging target in cancer therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(11): 2482–2490.
- [27] Forman HJ, Zhang HQ, Rinna A. Glutathione: overview

20 例免疫检查点抑制剂相关性心肌炎临床特征分析

张育, 王海涛, 段小漫, 郭茗元, 赵艳滨

哈尔滨医科大学附属肿瘤医院肿瘤内科, 黑龙江 哈尔滨 150081

通信作者: 赵艳滨, E-mail: zhaoyanbin1978@sina.com

摘要: **目的** 分析免疫检查点抑制剂相关性心肌炎临床表现、实验室检查、治疗方案及预后。**方法** 回顾性分析 2017 年 7 月至 2021 年 10 月哈尔滨医科大学附属肿瘤医院收治的因胸部肿瘤应用免疫检查点抑制剂导致心肌炎的患者 20 例。将亚临床心肌损伤及轻症型心肌炎定义为轻症组, 将重症型心肌炎和危重型心肌炎定义为重症组, 应用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线评价中性粒细胞/淋巴细胞比值 (neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) 及血小板/淋巴细胞比值 (platelet to lymphocyte ratio, PLR) 对于预测心肌炎病情严重程度的敏感度和准确度。**结果** 20 例患者中, 女性 4 例, 男性 16 例, 中位发病年龄 64.5 岁, 发生心肌炎时间 (40.40 ± 26.95)d, 中位发病时间 40 d, 死亡率 30.0%, 重启免疫治疗 3 例。以胸闷和气短为首发症状的 10 例 (50.0%)。心电图和心脏核磁共振等实验室检查表现形式多样。轻症组与重症组 NLR 和 PLR 的 ROC 曲线下面积分别为 0.844 和 0.727。**结论** 免疫检查点抑制剂相关性心肌炎部分起病隐匿, 致死率高, 实验室检查等缺乏特异性。NLR 和 PLR 可能作为预测重症 ICI 相关性心肌炎的潜在标志物。

关键词: 免疫检查点抑制剂; 心肌炎; 胸部肿瘤

肿瘤的治疗模式已进入免疫治疗的年代, 免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 是目前最受关注的肿瘤治疗手段^[1-2]。ICIs 主要包括程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 抑制剂、程序性死亡受体配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 抑制剂和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4) 抑制剂, 在恶性黑色素瘤和肺癌等多种恶性肿瘤的治疗当中均显示出显著疗效^[3]。

然而, 免疫治疗在带来显著抗肿瘤疗效的同

时也产生了多个系统的不良反应, 被称之为免疫相关不良事件 (immune-related adverse events, irAEs)^[4], 本质上为免疫系统过度激活导致的炎症反应^[5]。其中, 心脏毒性虽发生率低^[6], 但致死性极高^[7]。在所有与 ICIs 相关的心脏毒性当中, 心肌炎为最常见的心脏不良反应^[8]。据已有报道, 心肌炎的症状是高度可变和非特异的^[8]。对于临床医师来说, 如何早期识别、诊断以及治疗免疫检查点相关性心肌炎仍在探索阶段。现有的关于 irAEs 的相关数据多来自于临床研究, 受试者经过严格筛选, 可能与真实世界情况存在一定差距。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81673024); 北京医学奖励基金会 (YXJ-2020-0785-1071)

of its protective roles, measurement, and biosynthesis[J]. Mol Aspects Med, 2009, 30(1/2): 1-12.

[28] Lv HH, Zhen CX, Liu JY, et al. Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 3150145.

[29] Nunes SC, Serpa J. Glutathione in ovarian cancer: a dou-

ble-edged sword[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(7): E1882.

[30] Hu KW, Li K, Lv J, et al. Suppression of the SLC7A11/glutathione axis causes synthetic lethality in KRAS-mutant lung adenocarcinoma[J]. J Clin Invest, 2020, 130(4): 1752-1766.

(收稿日期: 2022-03-24)