

ASPM 基因在肾透明细胞癌中的表达及其诊断预后的价值*

陈悦康¹ 王伟¹ 卢启海¹ 姚远¹ 杨剑文¹

[摘要] **目的:**探讨人类异常纺锤体样小头畸形相关蛋白(abnormal spindle-like microcephaly-associated protein, ASPM)在肾透明细胞癌中的表达情况以及其诊断预后的价值。**方法:**利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库的 RNA-Seq 数据和临床数据,分析 ASPM 基因与肾透明细胞癌患者临床病理特征以及生存预后的关系。**结果:**总体 534 例肾透明细胞癌样本的癌和癌旁组织中的 ASPM 的表达水平分别为 6.62 ± 1.34 和 3.59 ± 1.41 , 差异有统计学意义($P < 0.001$)。72 例配对的肾透明细胞癌和癌旁组织中的 ASPM 表达水平分别为 6.89 ± 1.14 和 3.59 ± 1.41 , 差异有统计学意义($P < 0.001$)。ROC 曲线分析结果表明, ASPM 基因可作为一个灵敏度和特异度较高的肾透明细胞癌诊断指标(敏感性为 94.2%, 特异性为 90.3%, $AUC = 0.935$)。ASPM 基因表达与肾透明细胞癌患者临床病理特征的关系显示, ASPM 表达与性别、肿瘤分级、T 分期、M 分期、临床分期均有显著性差异($P < 0.001$)。生存分析发现总体 534 例样本中 ASPM 低表达者和高表达者的总体生存时间分别为(1 421.85 ± 984.72) d 和(1 279.89 ± 976.68) d, 比较差异有统计学意义(Log-rank = 14.69, $P < 0.001$)。**结论:** ASPM 在肾透明细胞癌中高表达, 且临床特征密切相关, 其高表达对判断肾透明细胞癌的生存预后及其诊断具有参考价值。

[关键词] ASPM 基因; 肾透明细胞癌; TCGA; 生物信息学

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.05.015

[中图分类号] R737.11 **[文献标志码]** A

Expression and prognostic value of ASPM in renal clear cell carcinoma

CHEN Yuekang WANG Wei LU Qihai YAO Yuan YANG Jianwen

(Department of Urology, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou, Guangxi, 545001)

Corresponding author: WANG Wei, E-mail: wangweilcn@126.com

Abstract Objective: To investigate the expression of abnormal spindle-like microcephaly-associated protein (ASPM) in renal clear cell carcinoma and its prognostic value. **Method:** The RNA-Seq data and clinical data of the Cancer Genome Atlas (TCGA) database were used to analyze the relationship between ASPM gene and clinicopathological features and survival prognosis in patients with renal clear cell carcinoma. **Result:** The expression levels of ASPM in cancer and paracancerous tissues of 534 renal clear cell carcinoma samples were 6.62 ± 1.34 and 3.59 ± 1.41 , respectively, and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The expression levels of ASPM in 72 matched renal clear cell carcinoma and adjacent tissues were 6.89 ± 1.14 and 3.59 ± 1.41 , respectively, and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The ROC curve analysis showed that the ASPM gene can be used as a diagnostic index for renal clear cell carcinoma with high sensitivity and specificity (Sensitivity: 94.2%, Specificity: 90.3%, $AUC = 0.935$). The relationship between ASPM gene expression and clinicopathological features of patients with renal clear cell carcinoma showed that ASPM expression was significantly different from gender, tumor grade, T stage, M stage, and clinical stage. Survival analysis found that the overall survival time of ASPM low expression and high expression in the overall 534 samples were (1 421.85 ± 984.72) and (1 279.89 ± 976.68) days, respectively, and the difference was statistically significant (Log-rank = 14.69, $P < 0.001$). **Conclusion:** ASPM is highly expressed in renal clear cell carcinoma and is closely related to clinical features. Its high expression has reference value for judging the survival prognosis and diagnosis of renal clear cell carcinoma.

Key words ASPM gene; renal clear cell carcinoma; TCGA; bioinformatics

肾癌又称肾细胞癌,是起源于肾实质泌尿小管上皮的恶性肿瘤,占成人恶性肿瘤的 3.79%^[1], 2018 年在美国确诊约 65 340 例肾癌患者,且约 14 970 例患者死于肾癌^[2],呈现上升状态,在我国肾癌的发病率以及死亡率也呈现逐年上升。肾透明

细胞癌是肾癌中最常见的类型,约占肾癌的 75% ~ 80%^[3],同时也是肾癌死亡率最高的类型,具有高侵袭性和转移性。早期患者因缺乏特异性的症状而延误诊治,研究表明约 20% ~ 30% 的肾透明细胞癌患者首诊时已经出现转移^[4]。对于早期患者可通过手术切除治疗,但对于晚期患者治疗手段少,其预后差。因此,迫切需要寻找有效肾癌的治疗靶点是近年临床研究的热点。

*基金项目:广西卫健委自筹经费科研课题(No:Z20190023)

¹柳州市人民医院泌尿外科(广西柳州,545001)

通信作者:王伟, E-mail: wangweilcn@126.com

人类异常纺锤体样小头畸形相关蛋白(abnormal spindle-like microcephaly-associated protein, ASPM)基因定位于染色体 1q31.3 上,具有编码 3477 个氨基酸的蛋白质,其主要在有丝分裂纺锤体调节和调节神经发生和脑大小中起关键作用^[5-7]。近年来越来越多的证据表明 ASPM 在人类癌症中表达较高,并且与临床预后不良和早期复发有关^[8-9]。然而,ASPM 基因与肾癌疾病的关系目前在国内外尚未见报道,故本研究分析癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库(<http://cancergenome.nih.gov/>),探讨 ASPM 在肾透明细胞癌的表达情况与临床特征以及患者预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

下载 TCGA 中 TCGA KIRC Cohort(Kidney Clear Cell Carcinoma)中相关的 RNA-Seq 数据,共入 534 例肾透明细胞癌样本,其中癌与癌旁组织配对 72 例。男 346 例,女 188 例,年龄 26~90 岁,AJCC 临床分期:Ⅰ期 268 例,Ⅱ期 57 例,Ⅲ期 123 例,Ⅳ期 84 例,未知 2 例。

1.2 ROC 诊断试验及生存分析

将肾透明细胞癌 534 例患者与癌旁 72 例的 ASPM mRNA 表达量进行受试者工作特征曲线,分析 ASPM 在诊断透明细胞癌中的灵敏度和特异度。将 534 例肾透明细胞癌患者中 ASPM mRNA 表达量与其对应的临床特征信息相匹配。以 ASPM mRNA 表达量的中位数为界限,将患者分为低表达组和高表达组,采用 Kaplan-Meier 生存曲线和 Log-rank 生存曲线检验法分析肾透明细胞癌患者中 ASPM mRNA 表达与生存预后的关系。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表达,采用 *t* 检验比较 ASPM mRNA 在透明细胞癌和癌旁组织中表达水平的差异,采用 χ^2 检验分析 ASPM mRNA 表达与临床特征的关系,Kaplan-Meier 法和 Log-rank 检验绘制总生存曲线图,采用单因素和多因素回归分析 ASPM 的表达量与患者临床资料及预后的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ASPM mRNA 在肾透明细胞癌组织中的表达情况

总体 534 例样本中癌和癌旁组织 ASPM mRNA 表达水平分别为 6.62 ± 1.34 和 3.59 ± 1.41 ,差异有统计学意义($P < 0.001$),见图 1。同时,配对的 72 例癌与癌旁组织中 ASPM mRNA 表达水平分别为 6.89 ± 1.142 和 3.59 ± 1.41 ,差异有统计

学意义($P < 0.001$),见图 2,说明 ASPM 在肾透明细胞癌组织中高表达。

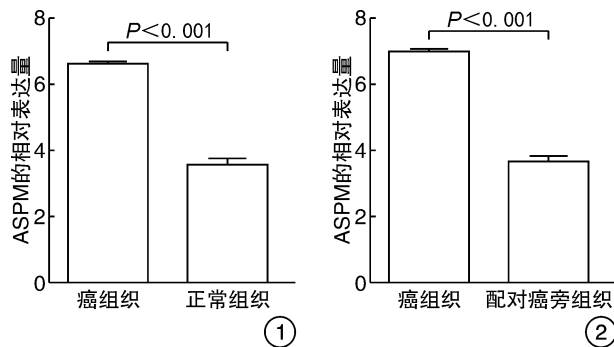


图 1 534 例肾癌患者与正常组织 ASPM mRNA 表达量情况;图 2 72 例肾癌患者与配对癌旁组织 ASPM mRNA 表达量情况

2.2 ASPM mRNA 表达在肾透明细胞癌中的诊断价值

采用 ROC 曲线分析。结果发现 ASPM mRNA 表达对肾透明细胞癌具有较好的诊断价值,受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)下面积 AUC 为 0.935,其中敏感性为 94.2%,特异性为 90.3%,95%CI 为 0.912~0.953(图 3)。

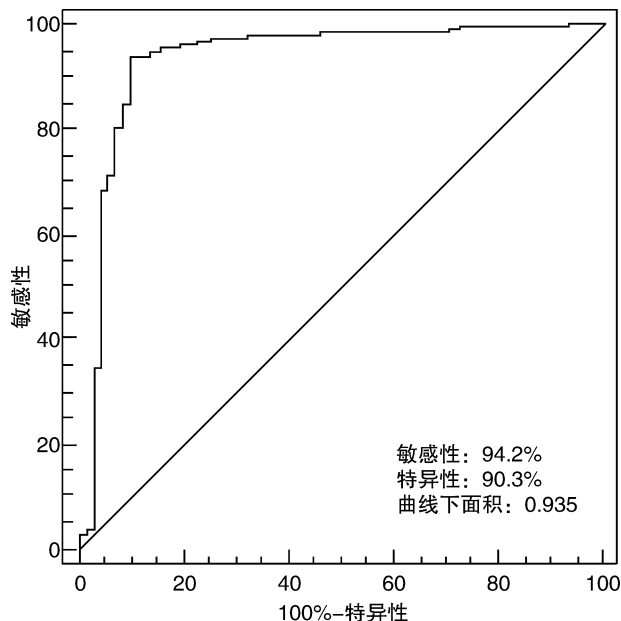


图 3 ASPM mRNA 表达的 ROC 曲线

2.3 ASPM mRNA 在肾透明细胞癌患者临床病理特征的相关性

结果表明,ASPM mRNA 表达与性别、Grade 分级、临床分期、T 分期、M 分期均有显著性差异(均 $P < 0.001$),认为高级别、有远处转移、临床晚

期以及男性的肾癌患者的 ASPM mRNA 表达量较低级别、无转移、临床早期以及女性的肾癌患者高,但与年龄、是否淋巴结转移、肿瘤位置差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1。

表 1 ASPM mRNA 表达与肾癌患者临床病理特征的关系例(%)

临床特征	例数	ASPM mRNA 表达水平		P
		低表达	高表达	
年龄				0.795
>60 岁	269	133(49.4)	136(50.6)	
≤60 岁	265	134(50.6)	131(49.4)	
性别				0.000
男	346	152(43.9)	194(56.1)	
女	188	115(61.2)	73(38.8)	
肿瘤位置				0.128
左侧	252	117(46.4)	135(53.6)	
右侧	281	149(53.0)	132(47.0)	
双侧	1	—	—	
病理分级				0.000
G ₁ ~G ₂	243	152(62.6)	91(37.4)	
G ₃ ~G ₄	283	109(38.5)	174(61.5)	
未知	8	—	—	
T 分期				0.000
T ₁ ~T _{2b}	343	203(59.2)	140(40.8)	
T ₃ ~T ₄	191	64(33.5)	127(66.5)	
临床分期				0.000
I~II	325	195(60.0)	130(40.0)	
III~IV	207	72(34.8)	135(65.2)	
未知	2	—	—	
是否淋巴结转移				0.088
否	240	117(48.8)	123(51.2)	
是	16	4(25.0)	12(75.0)	
未知	278	—	—	
是否远处转移				0.000
否	422	223(52.8)	199(47.2)	
是	79	18(22.8)	61(77.2)	
未知	33	—	—	

2.4 ASPM mRNA 表达在肾透明细胞癌患者的生存分析的相关性

采用 Kaplan-Meier 法。结果发现,总体 534 例样本中 ASPM 低表达者和高表达的总体生存时间分别为(1 421.85 ± 984.72) d 和(1 279.89 ±

976.68) d,差异有统计学意义(Log-rank = 14.69, $P < 0.001$),见图 4,说明 ASPM mRNA 表达与肾透明细胞癌患者的总生存时间密切相关,认为高表达 ASPM 组患者的总生存预后较低表达组差。单因素和多因素回归模型分析结果发现患者年龄、病理分级、临床分期和远处转移可作为肾透明细胞癌的独立危险因素,而 ASPM 的表达不能作为肾透明细胞癌独立危险因素(单因素分析 $HR = 1.801$, 95% $CI 1.327 \sim 2.444$, $P < 0.01$;多因素分析 $HR = 1.152$, 95% $CI 0.827 \sim 1.604$, $P = 0.403$),可能与数据库样本数量偏少有关,因此需要增加样本量或需要我们国内多中心研究证实 ASPM 的表达量是否可以作为肾透明细胞癌患者不良预后的独立危险因素。见表 2。

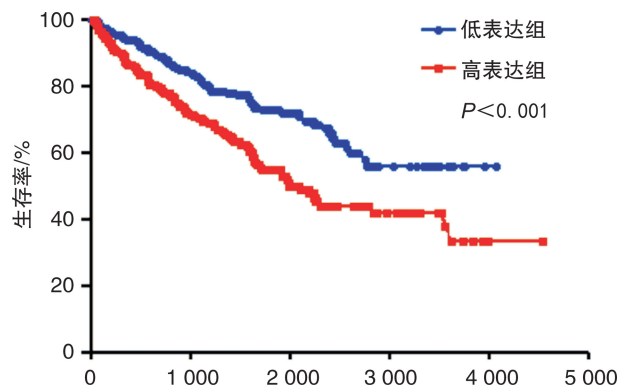


图 4 ASPM mRNA 表达在肾透明细胞癌患者中的 Kaplan-Meier 生存分析曲线

3 讨论

肾癌是泌尿系常见的恶性肿瘤,在发达国家以及我国的发病率逐年上升,因人体肾脏位置隐蔽,且早期肾癌体积较小,故很少出现肾癌三联征,当出现肾癌三联征时多提示患者已进入肾癌晚期,研究表明约 20%~30%的肾透明细胞癌患者首诊时已经出现转移^[10]。对于早期患者可通过手术切除治疗,但对于晚期患者治疗手段少,其预后差。因此,迫切需要寻找一个有效肾癌的治疗靶点是近年临床研究的热点。

人类异常纺锤体样小头畸形相关蛋白(abnormal spindle-like microcephaly-associated protein, ASPM)基因定位于染色体 1q31.3 上,其主要在有丝分裂纺锤体调节和调节神经发生和脑大小中起关键作用。近年来越来越多的证据表明 ASPM 在人类癌症中表达较高,并且与临床预后不良和早期复发有关。Xie 等^[5]研究发现 ASPM 在前列腺癌组织中呈高表达,并发现 ASPM 表达量与 Gleason 评分、远处转移、病理分期密切相关,同时,高表达 ASPM 患者的无疾病生存时间较低表达患者短,他

他们认为 ASPM 可能在前列腺癌的进展中起重要作用, ASPM 表达的增加可预测前列腺癌患者低存活率。同时, Pai 等^[11] 研究同样发现 ASPM 表达在原发性和转移性前列腺癌中逐渐上调, ASPM 表达的下调显著减弱前列腺癌细胞的增殖, 集落形成和侵袭行为, 他们认为 ASPM 是一种新型癌蛋白, 是前列腺癌中 Wnt 信号传导和癌症干细胞的必需调节因子, 具有重要的临床和治疗意义。Wang 等^[12] 在胃癌患者研究发现 ASPM 同样呈高表达, 但是

他们发现病理分化差的患者 ASPM 的表达量反而降低, 差异有统计学意义, 同时通过 Kaplan-Meier 法检测患者生存情况, 结果发现与低表达 ASPM 的胃癌患者相比, 高表达 ASPM 的患者表现出较好的预后, 差异有统计学意义。然而, ASPM 基因与肾癌疾病的关系目前在国内外尚未见报道, 故本研究分析 TCGA 数据库, 探讨 ASPM 在肾透明细胞癌的表达情况与临床特征以及患者预后的相关性。

表 2 单因素与多因素回归分析模型各临床特征与总体生存时间的关系

临床特征	单因素分析			多因素分析		
	<i>P</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>
年龄(≤60 岁 vs. >60 岁)	0.000	1.775	1.307~2.409	0.001	1.692	1.238~2.314
性别(男 vs. 女)	0.71	0.943	0.693~1.283	—	—	—
肿瘤位置(左 vs. 右)	0.028	0.716	0.531~0.964	0.096	0.77	0.565~1.047
病理分级(G ₁ ~G ₂ vs. G ₃ ~G ₄)	0.000	2.617	1.863~3.675	0.015	1.587	1.095~2.3
临床分期(I~II vs. III~IV)	0.000	3.838	2.799~5.262	0.000	2.029	1.369~3.009
淋巴结转移(否 vs. 是)	0.000	0.236	0.125~0.444	—	—	—
远处转移(否 vs. 是)	0.000	4.338	3.181~5.917	0.000	2.297	1.567~3.368
ASPM 表达量(高表达 vs. 低表达)	0.000	1.801	1.327~2.444	0.403	1.152	0.827~1.604

结果本研究发现纳入的 534 例肾透明细胞癌样本的 ASPM 表达量显著高于癌旁组织, 差异具有统计学意义, 与文献报道一致, 同时本研究通过 ROC 曲线法分析发现, ASPM 基因可作为一个灵敏度和特异度较高的肾透明细胞癌诊断指标(敏感性为 94.2%, 特异性为 90.3%, 95%*CI* 0.912~0.953, *AUC* = 0.935)。Alsiary 等^[13] 研究发现 ASPM 在 294 例上皮性卵巢癌组织中呈高表达, 且与上皮性卵巢癌患者病理分级、临床分期、淋巴结转移密切相关, 认为病理分级越高, 有淋巴结转移患者的 ASPM 表达量越高。由于 ASPM 基因与肾癌之间的临床特征关系尚未明确, 本研究探讨 ASPM 基因表达与肾透明细胞癌患者临床病理特征的关系, 结果发现, ASPM 表达与性别、肿瘤分级、T 分期、M 分期、临床分期均有显著性差异(均 *P* < 0.001)。同时, 生存分析发现总体 534 例样本中 ASPM 低表达者和高表达的总体生存时间分别为 (1 421.85 ± 984.72) d 和 (1 279.89 ± 976.68) d, 差异有统计学意义 (Log-rank = 14.69, *P* < 0.001)。单因素和多因素回归模型分析结果发现患者年龄、病理分级、临床分期和远处转移可作为肾透明细胞癌患者不良预后的独立危险因素, 而 ASPM 的表达量不能作为肾透明细胞癌不良预后的独立危险因素 (*HR* = 1.801, 95%*CI* 1.327~2.444, *P* < 0.01; *HR* = 1.152, 95%*CI* 0.827~

1.604, *P* = 0.403), 可能与数据库样本数量偏少有关, 因此需要增加样本量或需要我们国内多中心研究证实 ASPM 的表达量是否可以作为肾透明细胞癌患者不良预后的独立危险因素。

综上所述, 本研究通过公共数据库 TCGA 分析 ASPM 与肾透明细胞癌的相关性。结果发现 ASPM 在肾透明细胞癌中高表达, 且临床特征密切相关, 其高表达对判断肾透明细胞癌的生存预后及其诊断具有参考价值。但本研究仅从国外 TCGA 数据库对 ASPM 在肾癌中的分析, 故本课题组后续将收集肾癌患者大样本, 并探讨 ASPM 在肾癌中的表达及临床意义, 同时结合分子生物学及细胞学实验进一步探讨其在肾癌可能的机制。

[参考文献]

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30.
- 2 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. 2018, 68(1): 7-30.
- 3 Joosten SC, Hamming L, Soetekouw PM, et al. Resistance to sunitinib in renal cell carcinoma: From molecular mechanisms to predictive markers and future perspectives [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1855(1): 1-16.
- 4 肖文, 袁长斐, 熊之勇, 等. 神经型一氧化氮合酶在肾透明细胞癌中的表达及判断临床预后的价值 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2017, 38(7): 523-526.

- 5 Xie JJ, Zhuo YJ, Zheng Y, et al. High expression of ASPM correlates with tumor progression and predicts poor outcome in patients with prostate cancer [J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(5): 817–823.
- 6 Bikeye SN, Colin C, Marie Y, et al. Correction: ASPM-associated stem cell proliferation is involved in malignant progression of gliomas and constitutes an attractive therapeutic target [J]. *Cancer Cell Int*, 2011, 11: 10.
- 7 Buchman JJ, Durak O, Tsai LH. ASPM regulates Wnt signaling pathway activity in the developing brain [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(18): 1909–1914.
- 8 Bruning-Richardson A, Bond J, Alsiary R, et al. ASPM and microcephalin expression in epithelial ovarian cancer correlates with tumour grade and survival [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(10): 1602–1610.
- 9 Lin SY, Pan HW, Liu SH, et al. ASPM is a novel marker for vascular invasion, early recurrence, and poor prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4814–4820.
- 10 蔡华裕, 程远航, 王洁, 等. 基于生物信息学分析 RPS19 基因在肾透明细胞癌中的表达及预后意义 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2019, 34(9): 689–694.
- 11 Pai VC, Hsu CC, Chan TS, et al. ASPM promotes prostate cancer stemness and progression by augmenting Wnt-Dvl-3-beta-catenin signaling [J]. *Oncogene*, 2018.
- 12 Wang F, Li J, Liu J, et al. Controversial role of the possible oxyntic stem cell marker ASPM in gastric cancer [J]. *J Pathol*, 2017, 241(4): 559–561.
- 13 Alsiary R, Bruning-Richardson A, Bond J, et al. Deregulation of microcephalin and ASPM expression are correlated with epithelial ovarian cancer progression [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97059.

(收稿日期: 2019-01-31)

(上接第 397 页)

- 15 L'Esperance JO, Marguet CG, Waiters RC, et al. Do nonspecific deep corticomedullary sutures performed during partial nephrectomy adequately control major vascular and collecting system injury [J]. *BJU Int*, 2010, 105(3): 411–415.
- 16 Li CC, Yeh HC, Lee HY, et al. Laparoscopic partial nephrectomy without intracorporeal suturing [J]. *Surg Endosc*, 2016, 30(4): 1585–1591.
- 17 Smith GL, Kenney PA, Lee Y, et al. Non-clamped partial nephrectomy: Techniques and surgical outcomes [J]. *BJU Int*, 2010, 107(7): 1054–1058.
- 18 张俊, 胡林昆, 李聪, 等. 肾上皮样血管平滑肌脂肪瘤临床分析 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2016, 37(6): 420–422.

(收稿日期: 2020-03-01)