

脑胶质瘤 CHSY1 的表达变化及临床意义的生信分析

陈思思 邓 钢

【摘要】目的 探讨硫酸软骨素合酶 1(CHSY1)在脑胶质瘤中的表达及临床意义。方法 从 Gliovis 下载 CHSY1 在 TCGA、CGGA 和 Rembrandt 数据库中的基因表达数据和对应的临床数据,将 CHSY1 表达量由低到高排序,前 50% 为低表达组,后 50% 为高表达组。利用 TIMER 在线网站分析 CHSY1 在脑胶质瘤中的表达与免疫浸润的相关性。结果 胶质瘤组织 CHSY1 表达水平明显高于正常脑组织($P<0.05$),且与胶质瘤病理分级呈正相关($P<0.05$)。多因素 Cox 回归分析显示 CHSY1 高表达是胶质瘤病人生存预后不良的独立危险因素($P<0.05$),CHSY1 高表达组中位生存期较低表达组明显缩短($P<0.05$)。MGMT 启动子甲基化组胶质母细胞瘤病人中,CHSY1 高表达组中位生存期较低表达组明显缩短($P<0.05$)。CHSY1 高表达组胶质瘤病人化疗后中位生存期较低表达组明显缩短($P<0.05$)。TIMER 分析发现,胶质母细胞瘤组织 CHST1 表达水平与树突状细胞的浸润程度呈正相关,低级别胶质瘤组织 CHST1 表达水平与 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、嗜中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞的浸润程度成正比。结论 脑胶质瘤 CHSY1 呈高表达,与胶质瘤的恶性程度与免疫浸润呈正相关。CHSY1 可作为胶质瘤预后和对化疗反应的预测因子。

【关键词】胶质瘤;硫酸软骨素合酶 1(CHSY1);预后;化疗敏感性;免疫浸润

【文章编号】1009-153X(2021)08-0607-05 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Bioinformatics analysis of CHSY1 expression in brain glioma tissues and its clinical significance

CHEN Si-si, DENG Gang. Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of chondroitin sulfate synthase 1 (CHSY1) in glioma tissues and its clinical significance. Methods The CHSY1 gene expression data in glioma tissues and the corresponding clinical data of glioma patients in The Cancer Genome Atlas (TCGA), Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA), Rembrandt database were downloaded from Gliovis online website. According to the median expression level of CHSY1, the glioma patients were divided into low expression group and high expression group. The correlation between CHSY1 expression and immune infiltration in glioma tissues was analyzed by the online TMER website. Results The expression level of CHSY1 in glioma tissues was significantly higher than that in normal brain tissues ($P<0.05$), and the expression level of CHSY1 in glioma tissues was positively correlated with the pathological grade of glioma ($P<0.05$). Multivariate Cox regression analysis showed that high CHSY1 expression was an independent risk factor for poor survival prognosis in the patients with glioma ($P<0.05$), and the median survival time of high expression group was significantly shorter than that of lower expression group ($P<0.05$). Of GBM patients with MGMT promoter methylation, the median survival time of high expression group was significantly shorter than that of low expression group ($P<0.05$). The median survival time of high expression group after chemotherapy was significantly shorter than that of low expression group ($P<0.05$). TIMER analysis found that the expression level of CHST1 in GBM tissues was positively correlated with the infiltration degree of dendritic cells, and the expression level of CHST1 in LGG tissues was correlated with the infiltration degree of B cells, CD8⁺ T cells, neutrophils, macrophages and dendritic cells. Conclusions CHSY1 is highly expressed in brain gliomas, which is positively correlated with the malignancy of gliomas and immune infiltration. CHSY1 can be used as a predictor of the prognosis of glioma patients and the response to chemotherapy.

【Key words】Glioma; Chondroitin sulfate synthase 1; CHSY1; Prognosis; Chemosensitivity; Immune infiltration

脑胶质瘤是成人最常见的中枢神经系统肿瘤,具有侵袭性强、易复发、预后差等特点。尽管一些标志物的发现在胶质瘤的分类和诊断中发挥了重要作

用,然而,当前的早期诊断和临床治疗效果仍然不理想。因此,进一步探索胶质瘤潜在的重要标志物十分重要。硫酸软骨素合成酶 1(chondroitin sulfate synthase, CHSY1)是负责哺乳动物细胞硫酸软骨素生物合成的六种酶之一,其甲基化水平与 T 细胞分化有关^[1]。最近的研究表明,CHSY1 在多种肿瘤中表达失调,如骨肉瘤、肾透明细胞癌和结直肠癌等^[2-3]。本文采用生信分析方法探讨 CHSY1 在胶质瘤中的表达及临床意义。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.08.011
基金项目:湖北省自然科学基金(2020CFB244)
作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(陈思思、邓钢)
通讯作者:邓 钢,E-mail:gang.deng@whu.edu.cn

1 资料与方法

1.1 数据获取 利用 GlioVis 在线网站 (<http://gliovis.bioinfo.cnio.es/>) 获取 TCGA、CGGA 和 Rembrandt 数据集的胶质瘤病人基因表达谱和相应的临床资料^[4], 将 CHSY1 的基因表达数据和对应的临床数据匹配, 缺少预后信息及组织学分级的样本不纳入本研究。利用 TIMER 在线网站分析 CHSY1 和免疫浸润的相关性 (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)^[5]。

1.2 数据分析 将 CHSY1 表达量由低到高排序, 前 50% 为低表达组, 后 50% 为高表达组。采用 Kaplan-Meier 法对 CHSY1 的表达数据与匹配的生存资料进行生存分析。采用 GraphPad Prism 8.01 软件进行统

计分析, 定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 *t* 检验和单因素方差分析及 Tukey 检验; *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤 CHSY1 的表达水平 胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) CHSY1 表达水平显著高于正常脑组织 (*P* < 0.05; 图 1A、1B), 且随着胶质瘤病理分级的增加, 表达水平明显增高 (*P* < 0.05; 图 1C、1D)。另外, CHSY1 表达水平与胶质瘤年龄、IDH 突变及 1p19q 共缺失等密切相关 (*P* < 0.05; 图 1E~J)。TCGA 数据库将 GBM 分为古典型、间充质型和前神经型, 间充质型 GBM 组织 CHSY1 表达水平更高 (*P* < 0.05; 图 1K~L)。这提示, CHSY1 的表达差异与胶质

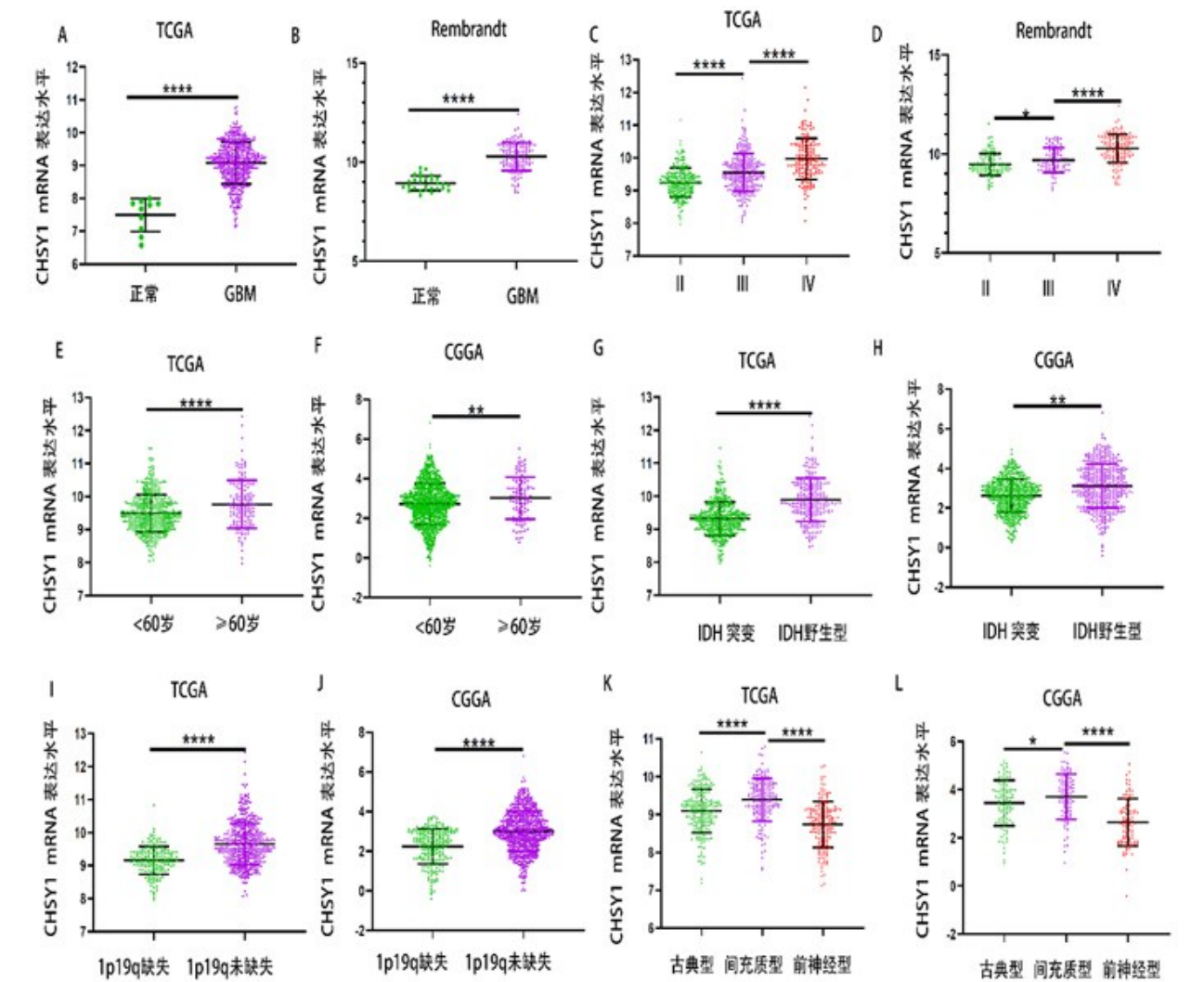


图 1 CHSY1 表达水平与胶质瘤的恶性程度相关性

A~B. TCGA 和 Rembrandt 数据集分析显示, GBM 组织 CHSY1 表达水平显著高于正常脑组织; C~D. CHSY1 的表达水平随着胶质瘤病理分级的增加, 表达水平明显上升; E~F. <60 岁胶质瘤病人 CHSY1 表达水平明显降低; G~J. IDH 突变型和 1p19q 共缺失的胶质瘤 CHSY1 表达水平明显低于; K~L. 间充质型 GBM 的 CHSY1 表达水平明显高于其他两种亚型; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.001, **** *P* < 0.0001; GBM. 胶质母细胞瘤; CHSY1. 硫酸软骨素合成酶 1

瘤的恶性程度密切相关。

2.2 CHSY1 是胶质瘤的预后影响因子 多因素 Cox 回归分析显示 CHSY1 高表达是胶质瘤病人生存预后不良的独立危险因素($P<0.05$;表 1)。利用 TCGA 数据进行生存分析发现,CHSY1 高表达组低级别胶质瘤(lower grade glioma, LGG)和 GBM 病人中位生存时间较低表达组明显缩短($P<0.05$;图 2A~C),CGGA 数据进一步验证($P<0.05$;图 2D~F)。

2.3 CHSY1 与胶质瘤放化疗敏感性的关系 根据 O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(O-6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)基因启动子甲基化状态将 GBM 分为甲基化组和非甲基化组。MGMT 启动子甲基化组 GBM 病人中,CHSY1 高表达组中位

生存期较低表达组明显缩短($P<0.05$;图 3A),而 MGMT 非甲基化 GBM 病人或 LGG 病人,CHSY1 表达水平与病人生存预后没有明显关系($P>0.05$;图 3A、3F)。无论是 GBM 病人,还是 LGG 病人,CHSY1 表达水平与放疗后病人生存预后没有明显关系($P>0.05$;图 3B、3D、3G、3I)。GBM 或 LGG 病人,CHSY1 高表达组化疗后中位生存期较低表达组明显缩短($P<0.05$;图 3C、3E、3H、3J)。

2.4 CHSY1 表达水平和胶质瘤免疫浸润的相关性 利用 TIMER 在线网站对 CHSY1 在胶质瘤中的免疫浸润进行评估,结果显示,CHSY1 表达水平与 GBM 病人树突状细胞的浸润程度成正相关,与 LGG 病人 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、嗜中性粒细胞、巨噬细胞和树

表 1 应用 TCGA 数据集进行 Cox 回归分析的胶质瘤病人生存预后不良的危险因素

影响因素	单因素		多因素	
	HR(95% CI)	P 值	HR(95% CI)	P 值
年龄	1.07(1.06~1.08)	<0.001	1.04(1.03~1.06)	<0.001
WHO 分级(LGG/GBM)	0.096(0.068~0.13)	<0.001	0.53(0.35~0.80)	0.003
IDH 状态(突变/未突变)	0.095(0.068~0.13)	<0.001	0.28(0.18~0.45)	<0.001
1p19q 状态(缺失/未缺失)	0.24(0.15~0.39)	<0.001	0.56(0.32~0.97)	0.040
CHSY1 表达水平(高/低)	2.60(2.08~3.25)	<0.001	1.44(1.10~1.88)	0.008

注:LGG. 低级别胶质瘤;GBM. 胶质母细胞瘤;IDH. 异柠檬酸脱氢酶;CHSY1. 硫酸软骨素合成酶 1

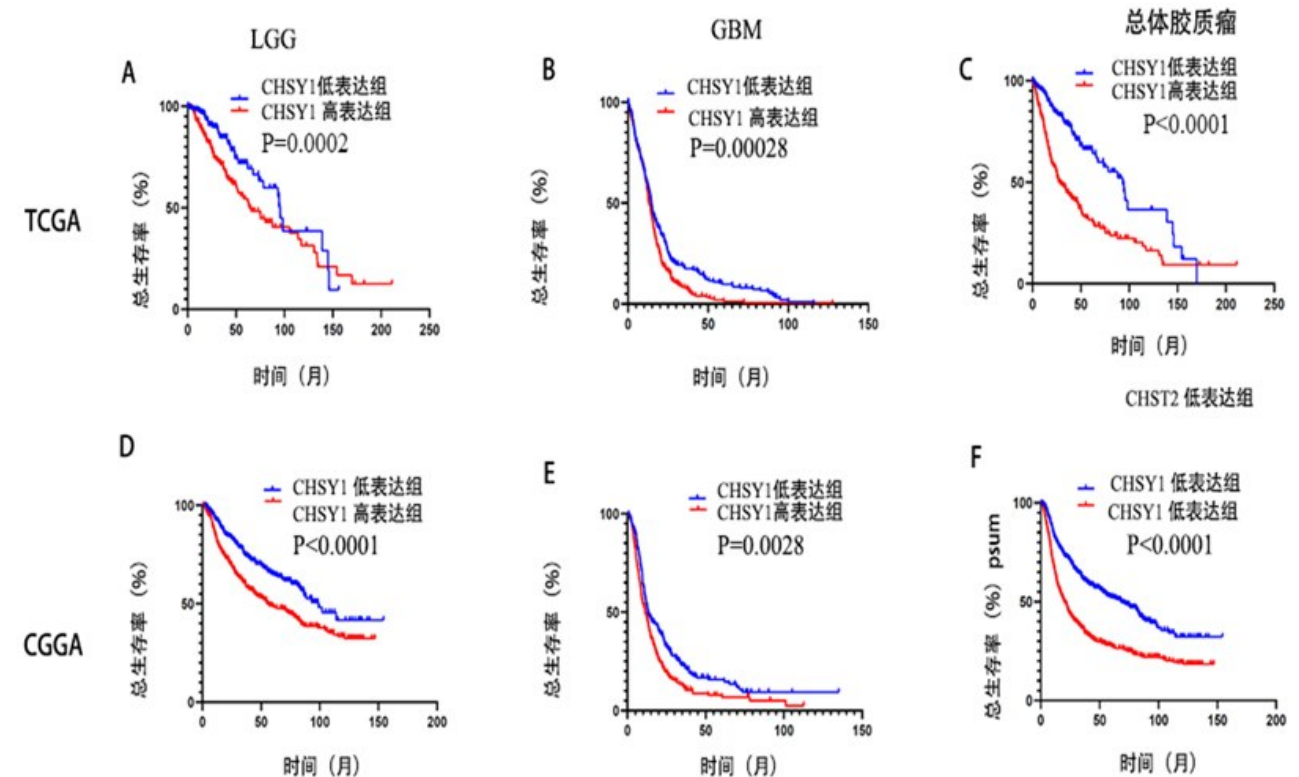


图 2 生存曲线分析CHYS1与胶质瘤病人生存预后的关系

A、D. LGG 病人的生存曲线;B、E. GBM 病人的生存曲线;C、J. 胶质瘤病人的生存曲线;LGG. 低级别胶质瘤;GBM. 胶质母细胞瘤

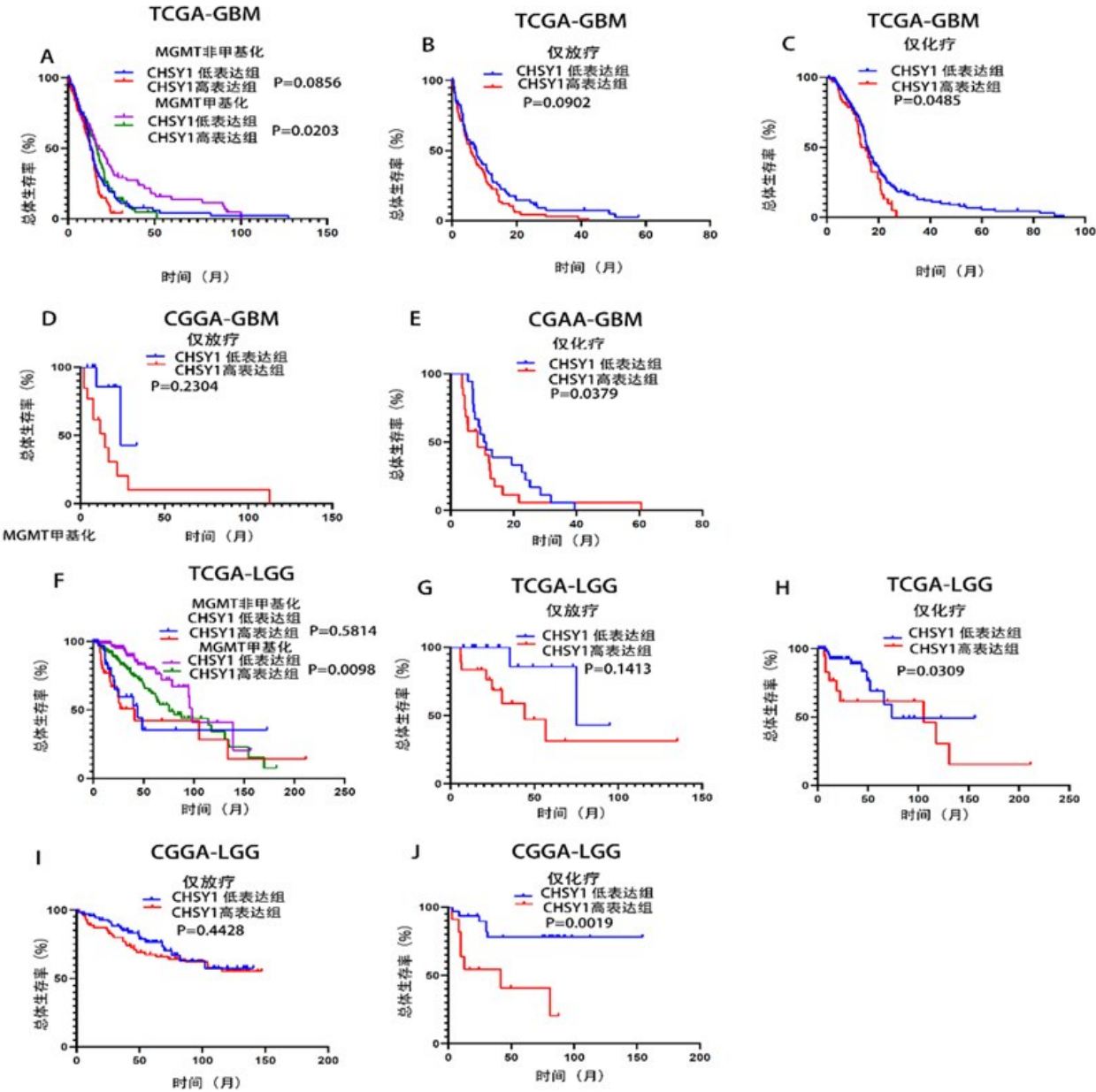


图 3 CHSY1 表达水平与胶质瘤化疗敏感性的关系

A、F. CHSY1 对 MGMT 启动子甲基化状态分组的 LGG 和 GBM 患者预后的影响；B、E、H、J. CHSY1 对仅化疗的 GBM 和 LGG 患者预后的影响；D、G、I. CHSY1 对仅放疗的 GBM 和 LGG 患者预后的影响

突状细胞的浸润程度成正相关($P<0.05$;表 2)。

3 讨论

目前,胶质瘤的治疗方法包括手术、术后放疗和化疗,然而,由于胶质瘤浸润性生长的特点,尤其是 GBM,难以彻底切除,且对放疗、化疗或免疫治疗具有很强的抵抗性。因此,探索胶质瘤的起源和进展相关分子,对胶质瘤的诊治具有重要意义。本文发现胶质瘤 CHSY1 呈高表达,随胶质瘤病理分级的增加,CHSY1 的表达水平明显增高;而且,CHSY1 与

IDH、1p19q 缺失密切相关,CHSY1 高表达组生存期较低表达组明显缩短。这些结果提示 CHSY1 的表达水平和胶质瘤的恶性程度相关,与病人预后有关。

目前,替莫唑胺(temozolomide, TMZ)被广泛用于胶质瘤的化疗,主要通过干扰 DNA 复制导致细胞凋亡,然而,并不是所有胶质瘤均对 TMZ 敏感^[6]。对 TMZ 耐药性的机制之一是由 MGMT 介导的细胞毒性损伤修复。然而,MGMT 低表达肿瘤,存在其他耐药机制^[7]。本文结果显示,MGMT 甲基化组的胶质瘤中证实,CHSY1 的表达影响病人的预后,但在未

表 2 胶质瘤 CHSY1 表达水平与免疫浸润的关系

肿瘤	变量	偏回归系数	P 值
GBM	纯度	-0.162	<0.001
GBM	B 细胞	-0.033	>0.05
GBM	CD8 ⁺ T 细胞	0.084	>0.05
GBM	CD4 ⁺ T 细胞	0.096	>0.05
GBM	巨噬细胞	0.123	<0.05
GBM	嗜中性粒细胞	0.073	0.136
GBM	树突状细胞	0.398	<0.0001
LGG	纯度	-0.036	>0.05
LGG	B 细胞	0.412	<0.0001
LGG	CD8 ⁺ T 细胞	0.490	<0.0001
LGG	CD4 ⁺ T 细胞	0.334	>0.05
LGG	巨噬细胞	0.469	<0.0001
LGG	嗜中性粒细胞	0.529	<0.0001
LGG	树突状细胞	0.480	<0.0001

注:CHSY1. 硫酸软骨素合成酶 1;GBM. 胶质母细胞瘤;LGG. 低级别胶质瘤

发生甲基化组病人并没有发现这一差异。同时,发现在仅接受化疗的病人中,CHSY1 高表达降低化疗敏感性,缩短病人的生存时间。这提示 CHSY1 是胶质瘤病人化疗敏感性影响因子。

肿瘤浸润性免疫细胞在促进和/或调节肿瘤进展和生长方面具有重要的作用。在恶性胶质瘤中,免疫系统由多种成分组成,如巨噬细胞、自然杀伤细胞、T 细胞,这些瘤内免疫细胞产生各种细胞因子或趋化因子,对胶质瘤的进展和化疗耐药性产生重大影响^[8]。近年来,随着免疫疗法在其他实体肿瘤中的成功应用,脑肿瘤的免疫治疗受到越来越多地关注^[8,9]。本文结果显示,CHSY1 的表达水平与 GBM 树突状细胞的浸润程度成正相关,与 LGG 组织 B 细胞、CD8⁺T 细胞、嗜中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞的浸润程度密切相关。既往研究发现, TMZ 可以影响免疫细胞浸润或肿瘤微环境成分而对肿瘤微环境的动力学产生积极或消极的影响^[10]。这提示 CHSY1 通过调节免疫浸润影响胶质瘤病人预后。

综上所述,脑胶质瘤 CHSY1 呈高表达,与胶质瘤的恶性程度与免疫浸润呈正相关。CHSY1 可作为胶质瘤预后和对化疗反应的预测因子。但本文仅仅通过生物信息学方法进行分析,有待后续实验进一步证实。

【参考文献】

[1] Zeng L, Qian J, Luo X, *et al.* CHSY1 promoted proliferation and suppressed apoptosis in colorectal cancer through regulation of the NFκB and/or caspase-3/7 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6140-6146.

[2] Liu CH, Lan CT, Chou JF, *et al.* CHSY1 promotes aggressive phenotypes of hepatocellular carcinoma cells via activation of the hedgehog signaling pathway [J]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 280-288.

[3] Zeng L, Qian J, Luo X, *et al.* CHSY1 promoted proliferation and suppressed apoptosis in colorectal cancer through regulation of the NFκB and/or caspase-3/7 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6140-6146.

[4] Bowman RL, Wang QH, Carro A, *et al.* GlioVis data portal for visualization and analysis of brain tumor expression datasets [J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19(1), 139-141.

[5] Li T, Fan J, Wang B, *et al.* TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): e108-e110.

[6] Escamilla- Ramírez A, Castillo- Rodríguez RA, Zavala- Vega S, *et al.* Autophagy as a potential therapy for malignant glioma [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2020, 13(7): 156.

[7] Wu L, Bernal GM, Cahill KE, *et al.* BCL3 expression promotes resistance to alkylating chemotherapy in gliomas [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(448): eaar2238.

[8] Zhong QY, Fan EX, Feng GY, *et al.* A gene expression-based study on immune cell subtypes and glioma prognosis [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 1116.

[9] Hoang- Minh LB, Mitchell DA. Immunotherapy for brain tumors [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2018, 19(11): 60.

[10] Manglani M, McGavern DB. New advances in CNS immunity against viral infection [J]. *Curr Opin Virol*, 2018, 28: 116-126.

[10] Karachi A, Yang C, Dastmalchi F, *et al.* Modulation of temozolomide dose differentially affects T- cell response to immune checkpoint inhibition [J]. *Neuro Oncol*, 2019, 21(6): 730-741.

(2021-03-18 收稿, 2021-06-03 修回)