

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003164

CDCA8 对肝细胞癌患者预后的影响

曾茂林¹, 徐 婷², 何锦悦¹, 刘胜伟¹, 苏凤娟¹

(重庆医科大学附属永川医院 1. 药学部; 2. 检验科, 重庆 402160)

【摘要】目的:肝细胞癌预后相关的分子标志物对提高患者生存质量和改善疗效至关重要, 本研究旨在探究细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8, CDCA8) 对肝细胞癌预后的影响及潜在分子机制。**方法:**432 例肝细胞癌样本的转录组数据及对应患者的临床信息下载自肿瘤基因表达图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库。分析肿瘤组织和正常组织中 CDCA8 mRNA 差异; 根据 CDCA8 mRNA 中位数将肝细胞癌患者分为高表达组和低表达组, 绘制生存曲线。采用 Kruskal 检验分析 CDCA8 与肿瘤分期、分级和 T 分期的相关性。采用单因素和多因素 Cox 回归分析探究 CDCA8 能否作为肝细胞癌患者的独立预后因子。采用基因富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 探究 CDCA8 在肝细胞癌中的潜在作用机制。**结果:**CDCA8 在肿瘤组织中的 mRNA 水平明显高于正常对照组织 ($P < 0.001$), CDCA8 高表达患者的生存率明显低于低表达组 ($P < 0.001$)。随着肿瘤分期 ($P < 0.001$)、分级 ($P < 0.001$) 和 T 分期 ($P < 0.001$) 增加, 肝细胞癌恶性程度增加, 同时伴随 CDCA8 mRNA 水平增加。GSEA 富集分析发现 CDCA8 高表达明显富集的通路包括细胞周期和有丝分裂。**结论:**CDCA8 可作为肝细胞癌患者的预后分子标志物, 深入研究后有望成为治疗的新靶点。

【关键词】CDCA8; 肝细胞癌; TCGA; GSEA**【中图分类号】**R735.7**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-04-07

Effect of CDCA8 on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma

Zeng Maolin¹, Xu Ting², He Jinyue¹, Liu Shengwei¹, Su Fengjuan¹

(1. Department of Pharmacy; 2. Clinical Laboratory, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: Molecular markers related to the prognosis of hepatocellular carcinoma are essential for improving the quality of life of patients and improving the therapeutic efficacy. This study aims to investigate the effect of cell division cycle associated 8 (CDCA8) on the prognosis of hepatocellular carcinoma and its potential molecular mechanism. **Methods:** The transcriptome data of 432 cases of hepatocellular carcinoma and the clinical information of the corresponding patients were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The differences of CDCA8 mRNA in tumor tissues and normal tissues were analyzed. The patients with hepatocellular carcinoma were divided into high expression group and low expression group according to the median CDCA8 mRNA, and the survival curve was drawn. Kruskal test was used to analyze the correlation between CDCA8 and tumor stage, grade and T stage. Univariate and multivariate Cox regression analysis were used to investigate whether CDCA8 could be used as an independent prognostic factor for patients with hepatocellular carcinoma. The potential molecular mechanism of CDCA8 in hepatocellular carcinoma was explored using gene set enrichment analysis (GSEA). **Results:** The mRNA level of CDCA8 in tumor tissues was significantly higher than that in control tissues ($P < 0.001$), and the survival rate of patients with high CDCA8 expression was significantly lower than that of those with low expression ($P < 0.001$). As tumor stage ($P < 0.001$), grade ($P < 0.001$) and T stage ($P < 0.001$) increase, the degree of malignancy of hepatocellular carcinoma increases, accompanied by an increase of the mRNA level of CDCA8. GSEA revealed significant pathways for CDCA8 overexpression including cell cycle and mitosis. **Conclusion:** CDCA8 can be used as a prognostic molecular marker for patients with hepatocellular carcinoma, and it is expected to become a new target after in-depth study.

【Key words】cell division cycle associated 8; hepatocellular carcinoma; The Cancer Genome Atlas; gene set enrichment analysis

作者介绍: 曾茂林, Email: 769196654@qq.com,

研究方向: 肿瘤分子机制的研究。

通信作者: 苏凤娟, Email: 839378669@qq.com。

基金项目: 重庆市永川区自然科学基金资助项目 (编号: Ycstc 2020nb0237); 重庆医科大学附属永川医院市级平台专项资助项目 (编号: YJSJ202132)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230218.1850.002.html> (2023-02-20)

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是一种常见的消化道恶性肿瘤, 其发病率在全球肿瘤中居第 5 位。随着肝细胞癌分子机制的探索和靶向药物的研发使用, 患者处境有所好转, 但 5 年生存率仍不容乐观^[1-2]。因此, 寻找肝细胞癌患者预后相关的

分子标志物对提高患者生存质量和改善疗效至关重要。

随着高通量测序技术发展,生物信息学分析方法的普及明显提高了寻找关键基因及潜在分子机制的效率。近几年,通过对肿瘤基因表达图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)、基因表达汇编(Gene Expression Omnibus, GEO)等数据库中肝癌样本再分析,发现了大量转录水平和转录后调控水平明显改变的差异基因,为肝细胞癌发生发展机制研究提供了坚实基础^[3-5]。有研究通过 GEO 数据库分析 GSE62043、GSE29721 芯片数据,发现细胞分裂周期相关基因 8 (cell division cycle associated 8, CDCA8) 可作为肝癌预后潜在的分子标志物^[6-7]。另有研究采用 WGCNA 分析 TCGA 数据库肝癌样品,发现 CDCA8 作为关键基因参与了肝细胞癌细胞生长与分裂生物学进程,可作为潜在治疗靶点^[8]。然而, CDCA8 在肝细胞癌预后过程中的作用暂无进一步研究报道。

因此,本研究旨在探究 CDCA8 对肝细胞癌预后的影响及潜在分子机制,为肝癌预后分子标志物的筛选提供新位点,并为后续课题研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 数据收集

432 例肝细胞癌样本包括 373 例肿瘤样本和 49 例正常对照样本。转录组数据及患者的临床信息包括性别、年龄、生存时间、生存状态、肿瘤分期等,下载自 TCGA 数据库。

1.2 表达差异分析

采用 R 语言提取 CDCA8 基因在肿瘤组织和正常对照组织中的表达差异;此外,提取与 49 例正常对照组织对应的肿瘤组织进行配对表达差异分析。

1.3 临床相关性分析

提取肝细胞癌患者的生存时间和生存状态信息,与 CDCA8 基因 mRNA 表达量整合,采用 Kaplan-Meier 法,绘制生存曲线。将随访数据缺失的样本剔除后,按肝细胞癌患者的肿瘤分期、肿瘤分级和 T 分期分别与 CDCA8 基因的 mRNA 水平整合,采用 Kruskal 检验分析不同分组间 CDCA8 的表达差异。

1.4 独立预后分析

采用单因素和多因素 Cox 回归进行独立预后分析,探究年龄、性别、肿瘤分期、肿瘤分级、T 分期和 CDCA8 mRNA 水平在预测肝细胞癌患者生存状态中的作用。探究 CDCA8 作为肝细胞癌患者独立预后因子的可能性。

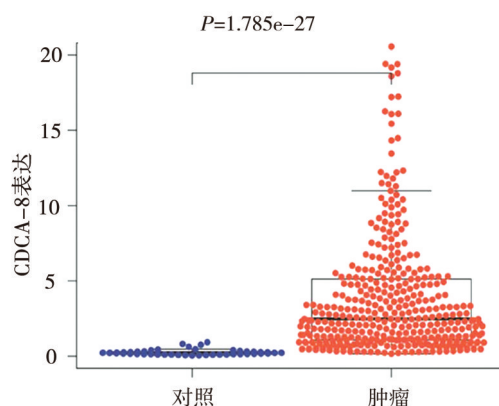
1.5 GSEA 富集分析

为筛选与 CDCA8 相关的信号通路,为后续 CDCA8 作用机制研究提供基础,采用 GSEA 软件对肝细胞癌患者的转录组信息进行分析。其中,样本中 CDCA8 mRNA 高于 CDCA8 中位数为高表达组,反之为低表达组。软件参数设置如下:基因集数据库设为 c2.cp.kegg.v7.0.symbols.gmt;表型标签为高表达组比低表达组;排除较大数集的最大数集为默认值 500;排除较小数集的最小数集为默认值 15;随机排列数为默认值 1 000。

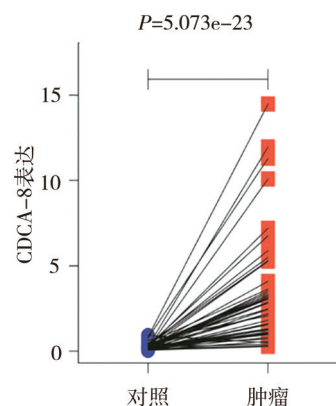
2 结果

2.1 表达差异分析

分析结果发现,CDCA8 在肿瘤组织中的 mRNA 水平明显高于对照组织(图 1A)。配对样本的差异分析结果同样证明了肿瘤组织中 CDCA8 mRNA 水平明显增加(图 1B)。



A. 肿瘤与对照组织中 CDCA8 mRNA 散点图



B. 肿瘤与配对对照组织中 CDCA8 mRNA 散点图

图 1 CDCA8 的表达差异分析

2.2 临床相关性分析

根据 CDCA8 mRNA 表达量中位数将肝细胞癌患者分为高表达组与低表达组,生存曲线结果表明 CDCA8 高表达的肝细胞癌患者生存时间明显低于 CDCA8 低表达量组(图 2A)。CDCA8 高表达组的 5 年生存率约为 40%,低表达组的

5 年生存率约为 60%。采用 Kruskal 检验分析,发现不同肿瘤分期患者的 CDCA8 水平有明显差异,且随着肿瘤分期 I、II 和 III 的增长,CDCA8 的表达水平呈现递增趋势(图 2B)。此外,肿瘤的分级(图 2C)和 T 分期(图 2D)也表现出一致的结论。随着肿瘤恶性程度增加,CDCA8 mRNA 水平呈增加趋势。

2.3 独立预后分析

单因素 Cox 回归分析结果见表 1,肿瘤分期、分级和 CDCA8 有明显差异。多因素 Cox 回归分析结果表明,仅 CDCA8 差异有统计学意义,表明 CDCA8 mRNA 水平可排除患者年龄、性别、肿瘤分期、肿瘤分级和 T 分期等临床信息的干扰,可单独作为肝细胞癌患者的独立预后因子。此外,CDCA8 的风险比(hazard ratio, HR)大于 1,确证 CDCA8 是一个高风险因素,与肝细胞癌患者不良的预后相关。

2.4 GSEA 富集分析

GSEA 富集分析结果见表 3,CDCA8 高表达组明显富集的 KEGG 通路包括细胞周期、卵细胞减数分裂、泛素介导的蛋白水解、孕酮介导的卵母细胞成熟和基础切除修复等。明显富集在 CDCA8 低表达组的通路包括补体和凝血级联、初级胆汁酸生物合成、药物代谢细胞色素 P450、脂肪酸代谢和

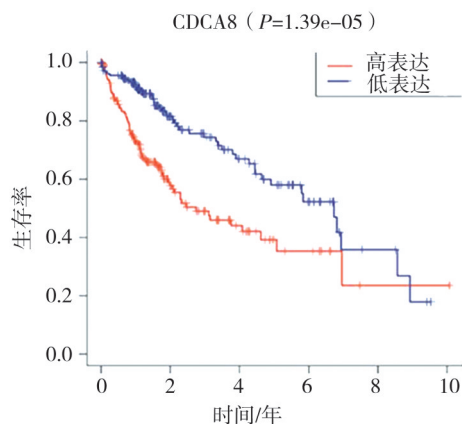
缬氨酸和异亮氨酸的降解等。为展示 GSEA 明显富集的通路,绘制多通路富集图(图 3)。GSEA 富集分析结果为进一步探究 CDCA8 在肝细胞癌中的作用机制提供了新思路。

表 1 单因素 Cox 回归分析

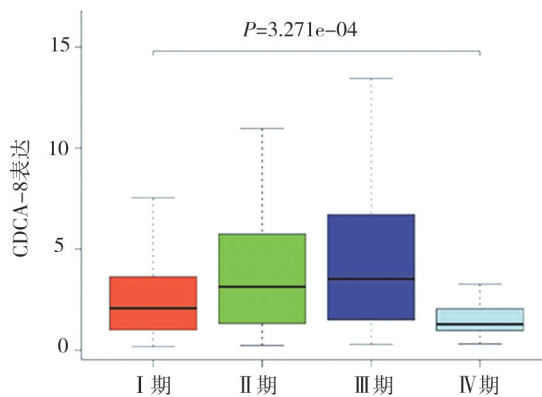
指标	HR	HR.95L	HR.95H	P 值
年龄	1.205	0.826	1.759	0.333
性别	0.821	0.557	1.209	0.318
分级	1.121	0.869	1.447	0.379
分期	1.671	1.359	2.055	1.15e-06
T 分期	1.651	1.356	2.010	5.96e-07
CDCA8	1.110	1.073	1.147	8.44e-10

表 2 多因素 Cox 回归分析

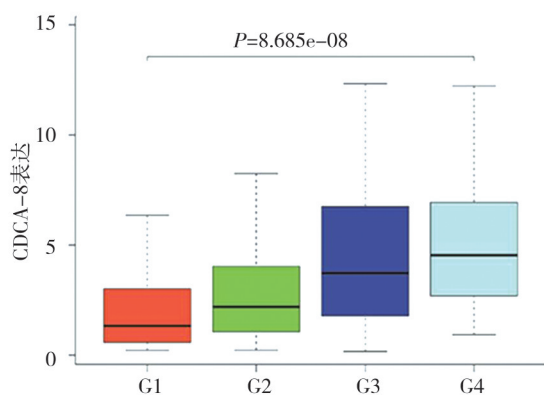
指标	HR	HR.95L	HR.95H	P 值
年龄	1.316	0.894	1.935	0.164
性别	0.918	0.616	1.367	0.672
分级	1.050	0.798	1.381	0.729
分期	1.276	0.586	2.781	0.539
T 分期	1.197	0.569	2.518	0.635
CDCA8	1.090	1.052	1.130	2.48e-06



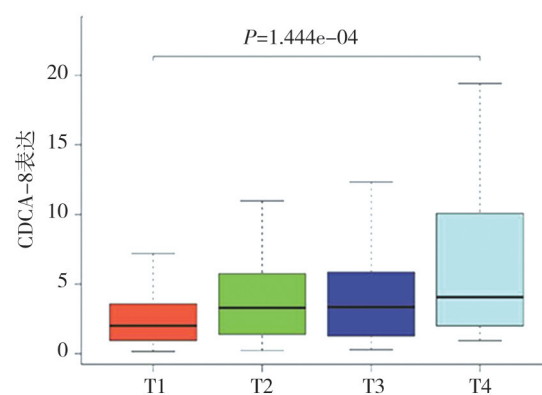
A. 生存曲线



B. 不同肿瘤分期患者的CDCA8 mRNA 水平



C. 不同肿瘤分级患者的CDCA8 mRNA 水平



D. 不同肿瘤T分期患者的CDCA8 mRNA 水平

图2 CDCA8临床相关性分析

表3 GSEA富集分析

NAME	ES	NES	FDR
Enrichment in high expression group			
KEGG_CELL_CYCLE	0.785	2.228	0.004
KEGG_OOCYTE_MEIOSIS	0.671	2.197	0.002
KEGG_UBIQUITIN_MEDIATED_PROTEOLYSIS	0.705	2.190	0.001
KEGG_PROGESTERONE_MEDIATED_OOCYTE_MATURATION	0.687	2.177	8.88e-04
KEGG_BASE_EXCISION_REPAIR	0.791	2.145	0.001
Enrichment in low expression group			
KEGG_COMPLEMENT_AND_COAGULATION_CASCADES	-0.818	-2.382	0
KEGG_PRIMARY_BILE_ACID_BIOSYNTHESIS	-0.914	-2.123	0.001
KEGG_DRUG_METABOLISM_CYTOCHROME_P450	-0.674	-2.046	0.003
KEGG_FATTY_ACID_METABOLISM	-0.791	-2.029	0.003
KEGG_VALINE_LEUCINE_AND_ISOLEUCINE_DEGRADATION	-0.752	-1.915	0.007

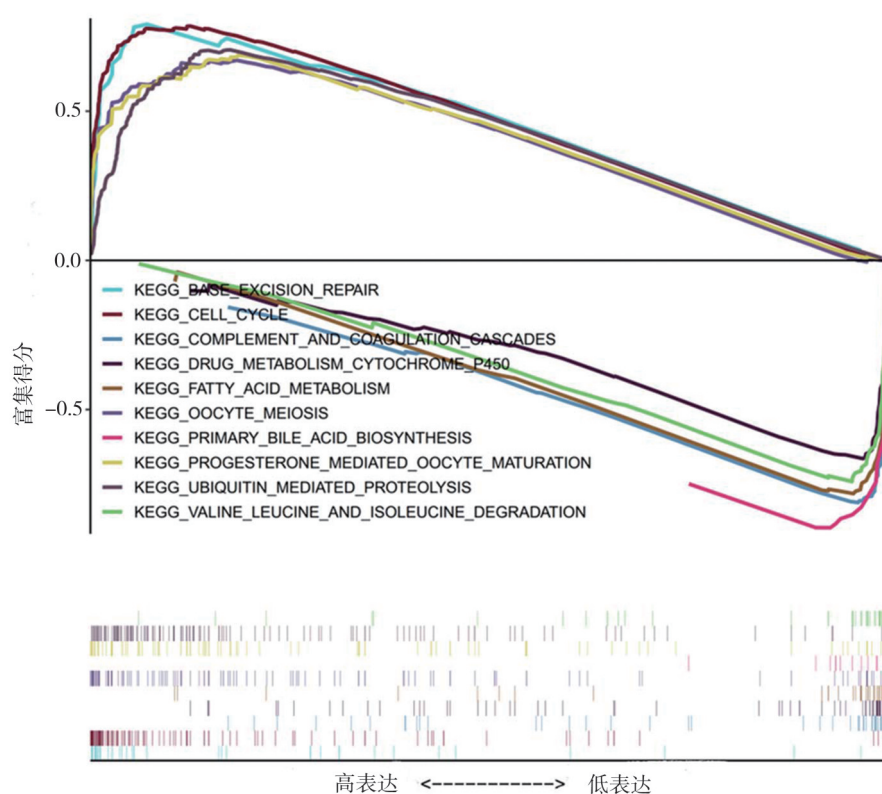


图3 最明显富集的GSEA通路图

3 讨论

肝癌患者的确诊时间往往影响患者的预后状态。因此,利用大数据分析探究肝细胞癌预后相关的分子标志物对改善患者生存质量和调整治疗方案至关重要。本研究通过对TCGA数据库中肝癌样本再分析,明确了CDCA8可作为肝癌患者预后分析

的分子标志物,为CDCA8在肝癌进程中的作用机制研究提供了方向。

CDCA8为染色体移动复合物(chromosomal passenger complex, CPC)中的一个重要组分,调控细胞的有丝分裂进程。研究表明,CPC各组分的表达异常可能会导致有丝分裂过程紊乱,造成肿瘤形成^[9-10]。目前已发现CDCA8在不同类型肿瘤中存在异常高表达。既往研究表明,CDCA8可作为乳腺癌

的一个独立预后因子,其表达增高提示乳腺癌预后不良;阻断 CDCA8 表达可抑制乳腺癌耐药发生,有望成为乳腺癌耐药治疗的新靶点^[11-12]。Ci C 等^[13]研究发现,与正常皮肤组织相比,CDCA8 在黑色素瘤组织中高表达,且与不良预后明显相关。另有研究报道 CDCA8 在膀胱癌、卵巢癌患者中高表达,并促进肿瘤的发生发展^[14-16]。

本研究发现,CDCA8 可能通过调控细胞周期从而导致肝细胞癌发生。CDCA8 在肝细胞癌患者中表达明显增高,配对样本的差异分析也得出一致结论。生存分析结果表明,高表达 CDCA8 的患者生存率明显低于低表达组。进一步研究不同肿瘤分期、分级和 T 分期患者中的 CDCA8 mRNA 水平,发现 CDCA8 的表达量随肿瘤的恶性程度增加而逐步增加,进一步表明 CDCA8 是一个高风险因子。随后采用单因素和多因素 Cox 回归分析,CDCA8 能排除其他临床因素影响,作为一个独立的预后因子预测患者预后状况,为肝细胞癌患者的预后分析提供一个分子标志物。GSEA 富集分析结果表明,高表达 CDCA8 主要通过影响细胞周期和有丝分裂过程参与肝细胞癌进程,为后续研究 CDCA8 在肝细胞癌中的分子机制提供新思路。

综上所述,CDCA8 可作为肝细胞癌患者的预后分子标志物。随着分子机制的深入研究,CDCA8 可能成为治疗肝细胞癌的新靶点。本研究仍存在一定局限性,尽管发现了 CDCA8 在肝癌中的表达及其与预后的关系,但目前尚无相关研究予以证实。因此,CDCA8 对肝癌的发生发展作用有待深入探究。此外,深入探究 CDCA8 在肝癌中的潜在作用机制至关重要。本研究仅通过 GSEA 富集分析发现 CDCA8 可能与细胞周期和有丝分裂过程相关,可在今后的研究中结合转录组学、蛋白质组学等多组学联合探究 CDCA8 在肝癌过程中的分子机制。

参 考 文 献

- [1] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA A Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Pomfret EA, Washburn K, Wald C, et al. Report of a national conference on liver allocation in patients with hepatocellular carcinoma in the United States[J]. Liver Transpl, 2010, 16(3): 262-278.
- [3] He RQ, Gao L, Ma J, et al. The essential role of MTDH in the progression of HCC: a study with immunohistochemistry, TCGA, meta-analysis and *in vitro* investigation[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(4): 1561-1579.
- [4] Zhang X, Ye ZH, Liang HW, et al. Down-regulation of miR-146a-5p and its potential targets in hepatocellular carcinoma validated by a TCGA- and GEO-based study[J]. FEBS Open Bio, 2017, 7(4): 504-521.
- [5] Hou YC, Yu Z, Tam NL, et al. Exosome-related lncRNAs as predictors of HCC patient survival: a prognostic model[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(6): 1648-1662.
- [6] Wan Z, Zhang XH, Luo YY, et al. Identification of hepatocellular carcinoma-related potential genes and pathways through bioinformatic-based analyses[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2019, 23(11): 766-777.
- [7] Yan HX, Li ZH, Shen Q, et al. Aberrant expression of cell cycle and material metabolism related genes contributes to hepatocellular carcinoma occurrence[J]. Pathol Res Pract, 2017, 213(4): 316-321.
- [8] Li B, Pu K, Wu X. Identifying novel biomarkers in hepatocellular carcinoma by weighted gene co-expression network analysis[J]. J Cell Biochem, 2019; 2019Feb11.
- [9] Carmena M, Wheelock M, Funabiki H, et al. The chromosomal passenger complex (CPC): from easy rider to the godfather of mitosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(12): 789-803.
- [10] van der Horst A, Lens SMA. Cell division: control of the chromosomal passenger complex in time and space[J]. Chromosoma, 2014, 123(1/2): 25-42.
- [11] Bu YH, Shi LB, Yu DH, et al. CDCA8 is a key mediator of estrogen-stimulated cell proliferation in breast cancer cells[J]. Gene, 2019, 703: 1-6.
- [12] Yu DH, Shi LB, Bu YH, et al. Cell division cycle associated 8 is a key regulator of tamoxifen resistance in breast cancer[J]. J Breast Cancer, 2019, 22(2): 237-247.
- [13] Ci C, Tang B, Lyu DL, et al. Overexpression of CDCA8 promotes the malignant progression of cutaneous melanoma and leads to poor prognosis[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(1): 404-412.
- [14] Bi YQ, Chen S, Jiang JZ, et al. CDCA8 expression and its clinical relevance in patients with bladder cancer[J]. Medicine, 2018, 97(34): e11899.
- [15] Gao X, Wen XH, He HW, et al. Knockdown of CDCA8 inhibits the proliferation and enhances the apoptosis of bladder cancer cells[J]. PeerJ, 2020, 8: e9078.
- [16] Qi GH, Zhang CY, Ma HL, et al. CDCA8, targeted by MYBL2, promotes malignant progression and olaparib insensitivity in ovarian cancer[J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(2): 389-415.

(责任编辑:唐秋娟)