



· 论 著 ·

胶质母细胞瘤复发相关基因的筛选、表达和临床预后分析

林 艺, 王 策, 康 勋, 康 庄, 陈 峰, 江 波, 李文斌

首都医科大学附属北京天坛医院肿瘤综合治疗中心, 北京 100070

[摘要] **背景与目的:** 脑胶质瘤是常见的中枢神经系统原发性恶性脑肿瘤之一, 胶质母细胞瘤恶性程度高、侵袭性强、容易复发, 复发后患者的预后极差。筛选胶质母细胞瘤复发相关的基因, 并分析其在胶质瘤中的表达、临床病理学参数和预后的关系。**方法:** 通过对GEO数据库中胶质母细胞瘤相关数据集进行挖掘, 筛选包含胶质母细胞瘤原发和复发病例的相关数据集, 并分析胶质母细胞瘤原发病例和复发病例样本间的差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG)。对DEG进行基因本体功能和信号富集分析, 构架蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 筛选Hub基因。通过PPI网络和Venn图筛选关键基因, 而后研究使用基因表达谱数据动态分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 和中国脑胶质瘤基因组图谱 (Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA) 数据库进行关键基因的生存分析和表达分析, 分析其表达与胶质瘤临床病理学参数的关系。**结果:** GSE62153数据集筛选到40个DEG, 上调基因34个, 下调基因6个。GSE58399数据集筛选到19个DEG, 上调基因16个, 下调基因3个。GO功能分析结果提示GSE62153的DEG主要参与中枢神经系统发育、髓鞘、肌动蛋白结合及中枢神经系统髓鞘形成等11个生理过程。而GSE58399的DEG主要参与上皮细胞迁移的正调控。京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析结果显示, GSE62153和GSE58399的DEG存在共同富集—组氨酸代谢。通过STRING数据库, 将20个蛋白分子构建成为核心PPI, Hub基因共筛选出10个, 分别为MOBP、OPALIN、ERMN、PLP1、MOG、CLDN11、ASPA、TMEM125、KLK6和NKX6-2基因。胶质母细胞瘤复发关键基因筛选结果显示, 共有3个基因: ERMN、MOG和MOBP基因。基于癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 和CGGA数据库胶质瘤数据分析, ERMN、MOG和MOBP基因高表达者预后均优于低表达组, ERMN、MOG和MOBP基因在胶质母细胞瘤组织内表达水平低于对照组织 ($P < 0.001$)。ERMN、MOG和MOBP基因在不同世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 分级 (WHO II、III和IV级) 组织内表达差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 且随着胶质母细胞瘤的级别升高, ERMN、MOG和MOBP基因的表达逐渐降低。ERMN、MOG和MOBP基因表达与WHO分级、异柠檬酸脱氢酶 (isocitrate dehydrogenase, IDH) 状态及临床病理学参数相关 ($P < 0.001$)。而MOBP基因表达与患者年龄 ($P < 0.001$) 及MGMT甲基化状态 ($P = 0.022$) 相关。**结论:** ERMN、MOG和MOBP基因可能发挥抑癌基因作用参与胶质瘤复发过程, 组氨酸代谢途径可能与甲氨蝶呤治疗敏感性相关。

[关键词] 胶质瘤; 生物信息; 生存预后; 复发; 组氨酸代谢

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.01.002

中图分类号: R739.41 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2022)01-0013-11

Screening recurrent glioblastoma-related genes and analyzing their gene expressions in association with clinicopathological parameters and prognosis LIN Yi, WANG Ce, KANG Xun, KANG Zhuang, CHEN Feng, JIANG Bo, LI Wenbin (Department of Neuro-oncology, Cancer Center, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China)

Correspondence to: LI Wenbin E-mail: liwenbin@ccmu.edu.cn

[Abstract] **Background and purpose:** Glioma is the most common and malignant primary brain tumor in the central nervous system (CNS). Glioblastoma is highly malignant and aggressive, and the prognosis of patients with recurrent glioblastoma is very poor. This study aimed to screen the genes related to the recurrent glioblastoma, and analyze the relationship between their

基金项目: 国家自然科学基金 (81972338); 首都医科大学自然基金 (14JL55)。

通信作者: 李文斌 E-mail: liwenbin@ccmu.edu.cn

expressions, clinicopathological parameters and prognosis in glioma. **Methods:** By mining the relevant datasets of the primary and recurrent cases of glioblastoma in the GEO database, the differentially expressed gene (DEG) in the samples of primary and recurrent glioblastomas were screened and analyzed. All DEGs analyses were carried out in ontology function and pathway enrichment. Protein-protein interaction (PPI) network was constructed and used for screening Hub gene. Key genes were intersected by PPI network and Venn diagram, and the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) and Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA) database were analyzed for association of key gene expressions and survival status. Key genes were furtherly analyzed to determine the relationship between their expressions and clinicopathological parameters of glioma. **Results:** There were 40 DEG screened in the dataset GSE62153, including 34 up-regulated genes and 6 down-regulated genes. There were 19 DEG screened in the dataset GSE58399, including 16 up-regulated genes and 3 down-regulated genes. Go functional analyses showed that the DEG of GSE62153 were mainly involved in 11 physiological processes, such as central nervous system development, myelin sheath, actin binding, central nervous system myelination. The DEG of GSE58399 were mainly enriched in the positive regulation of epithelial cell migration. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment showed that the datasets GSE62153 and GSE58399 were both enriched in histidine metabolism. By using the STRING database, the core of PPI network was constructed with 20 protein molecules. A total of 10 hub genes were screened, including *MOBP*, *OPALIN*, *ERMN*, *PLP1*, *MOG*, *CLDN11*, *ASPA*, *TMEM125*, *KLK6* and *NKX6-2* gene. The key genes for recurrent glioblastoma were *ERMN*, *MOG* and *MOBP* gene. Based on analyses using The Cancer Genome Atlas (TCGA) and CGGA databases, the prognosis of patients with high expressions of *ERMN*, *MOG* and *MOBP* was favorable compared with the low expression group. The expression levels of key genes in glioblastoma were lower compared with the control tissues ($P < 0.001$). There were significant differences in the expressions of *ERMN*, *MOG* and *MOBP* gene among different World Health Organization (WHO) grades (WHO II, III and IV) ($P < 0.001$). As the grade of glioblastoma increased, the expressions of *ERMN*, *MOG* and *MOBP* were decreased gradually. The expressions of *ERMN*, *MOG* and *MOBP* gene were correlated with WHO classification, isocitrate dehydrogenase (IDH) status and clinicopathological characteristics ($P < 0.001$). The expression of *MOBP* gene was correlated with age ($P < 0.001$) and MGMT methylation status ($P = 0.022$). **Conclusion:** *ERMN*, *MOG* and *MOBP* gene may function as tumor suppressor genes and participate in the recurrence of glioblastoma. The histidine metabolism pathway may be related to the sensitivity of methotrexate treatment.

[Key words] Glioma; Bioinformatics; Survival; Recurrence; Histidine metabolism

脑胶质瘤是常见的中枢神经系统原发性恶性脑肿瘤之一, 约占原发性脑肿瘤的30%, 原发恶性脑肿瘤的80%^[1]。高级别脑胶质瘤 [世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) III~IV级] 恶性程度高、侵袭性强, 尤其胶质母细胞瘤患者中位总生存期为12~15个月, 容易复发, 复发后患者的中位总生存期为3~6个月^[2-3]。因此, 胶质母细胞瘤复发是临床棘手的问题。突破的关键在于深入探究胶质母细胞瘤的发生、发展机制, 寻找复发相关的分子标志物, 针对相关靶点进行转化研究。在神经肿瘤领域, 基因表达谱数据动态分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 和中国脑胶质瘤基因组图谱 (Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA) 数据库已经实现数据公开, 为胶质瘤相关的标志物研究提供了新的途径^[4-5]。本研究通过对GEO、癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 和CGGA等公共数据库进

行挖掘, 筛选胶质母细胞瘤复发相关基因, 并分析表达、临床病理学参数及临床预后的关系。

1 材料和方法

1.1 胶质母细胞瘤相关的基因芯片数据来源

基因芯片数据来源于GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 数据库, 检索策略为Recurrent [All Fields] AND (Glioblastoma [MeSH Terms] OR Glioblastoma [All Fields])。研究纳入标准为采用手术切除样本 (原发肿瘤和复发肿瘤均大于10例) 进行RNA检测的数据集, 排除标准为采用细胞培养或动物模型 (Xenograft) 等处理过的样本研究。数据集GSE62153和GSE58399符合研究标准, 包含胶质母细胞瘤和复发胶质母细胞瘤患者组织标本的样本, 表达数据和实验平台等信息见表1。研究通过R软件, 下载了标准化的表达数据, 利用Biobase、GEOquery和limma等数据包, 寻找胶质

母细胞瘤复发相关的差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG), 并以 $P < 0.05$, $\log FC > 1$ 或 $\log FC < -1$ 作为筛选条件进行后续分析。

1.2 生物信息相关分析

基因功能及通路分析: 利用R工具“org.Hs.eg.db”“clusterProfiler”“enrichplot”对DEG进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 信号富集分析。GO分析包括生物过程 (biological process)、

细胞组成 (cellular component) 和分子功能 (molecular function) 3个部分。利用STRING工具构建蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 寻找蛋白质之间的相互作用关系。Hub基因的筛选通过PPI网络, 利用Cytoscape中的“Hub”计算生成。生存分析、表达分析使用GEPIA和CGGA数据库相关在线Survival分析工具。STRING、GEPIA和CGGA数据库网址见表2。

表 1 研究入选GEO数据集信息

Tab. 1 Information about the GEO data and series

Datasets	Case <i>n</i>	Primary GBM <i>n</i>	Recurrent GBM <i>n</i>	Platforms
GSE62153	43	25	18	GPL10558, illumina human HT-12 V4.0 expression beadchip
GSE58399	105	72	33	GPL6244, affymetrix human gene 1.0 ST Array

表 2 生物信息相关在线分析工具

Tab. 2 Databases related to bioinformatics analysis

Databases	Website
STRING	https://string-db.org/
GEPIA	http://gepia.cancer-pku.cn/
CGGA	http://www.cbioportal.org

1.3 统计学处理

应用R4.0.2软件进行统计分析, 使用limma数据包中的Student *t* 检验方法筛选DEG。在GO通路分析中, 数据间差异比较采用ANOVA检验。KEGG中选择差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 的信号转导通路进行研究。生存分析采用Kaplan-Meier法, 生存率的比较采用log-rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。癌组织和癌旁组织表达量差异采用配对*t* 检验用来比较, χ^2 检验比较临床病理学参数组间差异 ($n < 5$ 时行连续校正 χ^2 检验)。

2 结 果

2.1 胶质母细胞瘤复发相关基因的生物信息学筛选和富集分析

GSE62153数据集纳入病例43例, 包括25例原发胶质母细胞瘤和18例复发胶质母细胞瘤病

例。GSE58399数据集纳入病例105例, 包括72例原发胶质母细胞瘤和33例复发胶质母细胞瘤。GSE62153数据集筛选到40个DEG, 上调基因34个, 下调基因6个。GSE58399数据集筛选到19个DEG, 上调基因16个, 下调基因3个。GO功能分析结果提示GSE62153的DEG主要参与中枢神经系统发育、髓鞘、肌动蛋白结合及中枢神经系统髓鞘形成等11个生理过程 (表3)。而GSE58399的DEG主要参与上皮细胞迁移的正调控 (表4)。KEGG信号转导通路富集分析结果显示, GSE62153和GSE58399的DEG存在共同富集—组氨酸代谢 (图1, 表4)。

2.2 胶质母细胞瘤复发PPI网络构建及Hub基因挖掘

PPI网络构建基于GSE62153和GSE58399筛选出来的DEG, 通过STRING数据库, 获得PPI网络, 共有20个蛋白分子构建成为核心相互作用网络, 相关基因为MOG、ASPA、ERMN、PTGDS、MOBP、CLDN11、NKX6-2、CNDP1、SH3GL2、OPALIN、KLK6、MYBPC1、SH3GL3、PLP1、TMEM125、AKR1C3、CARNS1、HLA-DPA1、HHATL和SEPP1基因 (图2)。而后利用Cytoscape软件对构建的PPI网络进行分析和Hub基因挖掘, 结果筛选出10个Hub基因, 分别为MOBP、OPALIN、ERMN、PLP1、

MOG、*CLDN11*、*ASPA*、*TMEM125*、*KLK6*和
*NKX6-2*基因(图3)。为进一步获得胶质母细胞
瘤复发的关键核心基因,通过Venn图工具取出
GSE62153和GSE58399芯片的DEG的交集,结果

提示共有6个DEG(图4)。最后再选择排名前
5的Hub基因与GSE62153和GSE58399筛选出来
的DEG取交集,结果提示共有3个基因,分别为
ERMN、*MOG*和*MOBP*基因。

表 3 GSE62153 GO功能分析结果

Tab. 3 GSE62153 GO function analysis

Category	Term	Description	Count <i>n</i> (%)	<i>P</i> value	Gene
BP	GO: 0007417	Central nervous system development	4 (12.01)	0.001	<i>SH3GL3</i> , <i>MOG</i> , <i>SH3GL2</i> , <i>KLK6</i>
CC	GO: 0043209	Myelin sheath	4 (12.10)	0.002	<i>CLDN11</i> , <i>MOBP</i> , <i>PLP1</i> , <i>ERMN</i>
MF	GO: 0003779	Actin binding	4 (12.10)	0.011	<i>MYBPC1</i> , <i>MOBP</i> , <i>DAAM2</i> , <i>PHACTR3</i>
BP	GO: 0022010	Central nervous system myelination	2 (6.06)	0.012	<i>NKX6-2</i> , <i>PLP1</i>
BP	GO: 0008366	Axon ensheathment	2 (6.06)	0.012	<i>CLDN11</i> , <i>PLP1</i>
MF	GO: 0008599	Protein phosphatase type 1 regulator activity	2 (6.06)	0.016	<i>PPP1R1B</i> , <i>PHACTR3</i>
MF	GO: 0019911	Structural constituent of myelin sheath	2 (6.06)	0.016	<i>MOBP</i> , <i>PLP1</i>
BP	GO: 0019371	Cyclooxygenase pathway	2 (6.06)	0.018	<i>AKR1C3</i> , <i>PTGDS</i>
MF	GO: 0031432	Titin binding	2 (6.06)	0.023	<i>MYBPC1</i> , <i>CAPN3</i>
BP	GO: 0006796	Phosphate-containing compound metabolic process	2 (6.06)	0.032	<i>ENPP2</i> , <i>LHPP</i>
MF	GO: 0042802	Identical protein binding	5 (15.15)	0.034	<i>CLDN11</i> , <i>SH3GL3</i> , <i>HSPB8</i> , <i>SH3GL2</i> , <i>ETNPPL</i>

表 4 GSE58399 GO功能及KEGG信号转导通路富集分析结果

Tab. 4 GSE58399 GO function and KEGG signal pathway enrichment analysis

Category	Term	Description	Count <i>n</i> (%)	<i>P</i> value	Gene
BP	GO: 0010634	Positive regulation of epithelial cell migration	2 (12.5)	0.027	<i>DOCK5</i> , <i>ENPP2</i>
KEGG	hsa00340	Histidine metabolism	2 (12.5)	0.016	<i>ASPA</i> , <i>CNDP1</i>

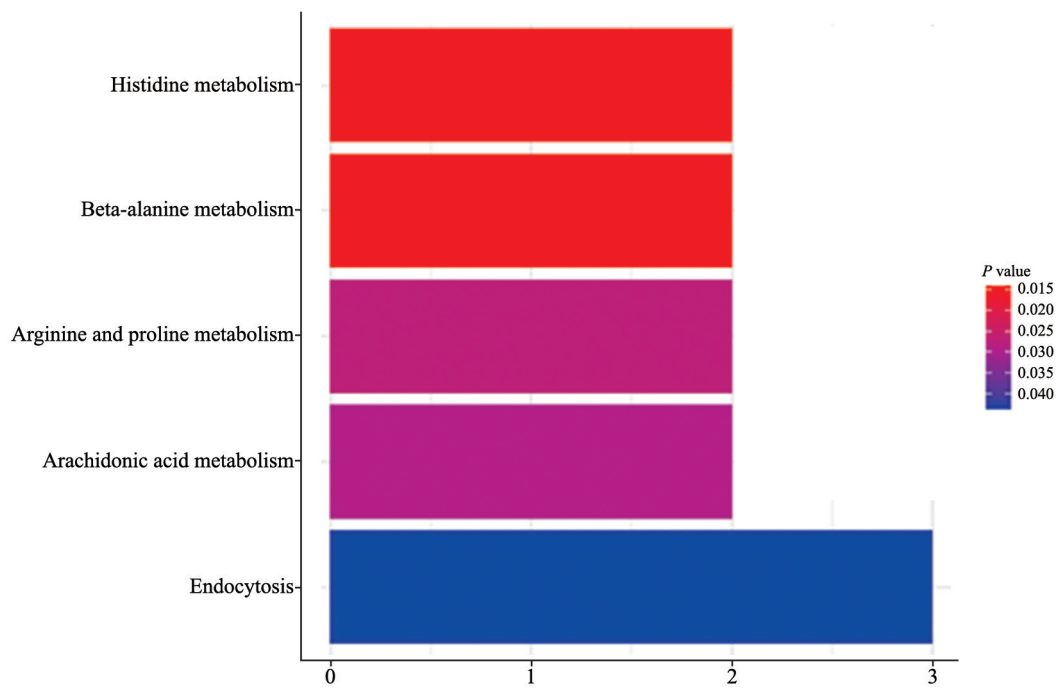


图 1 GSE62153数据集KEGG信号转导通路富集

Fig. 1 Enrichment of KEGG signaling pathway in GSE62153 dataset

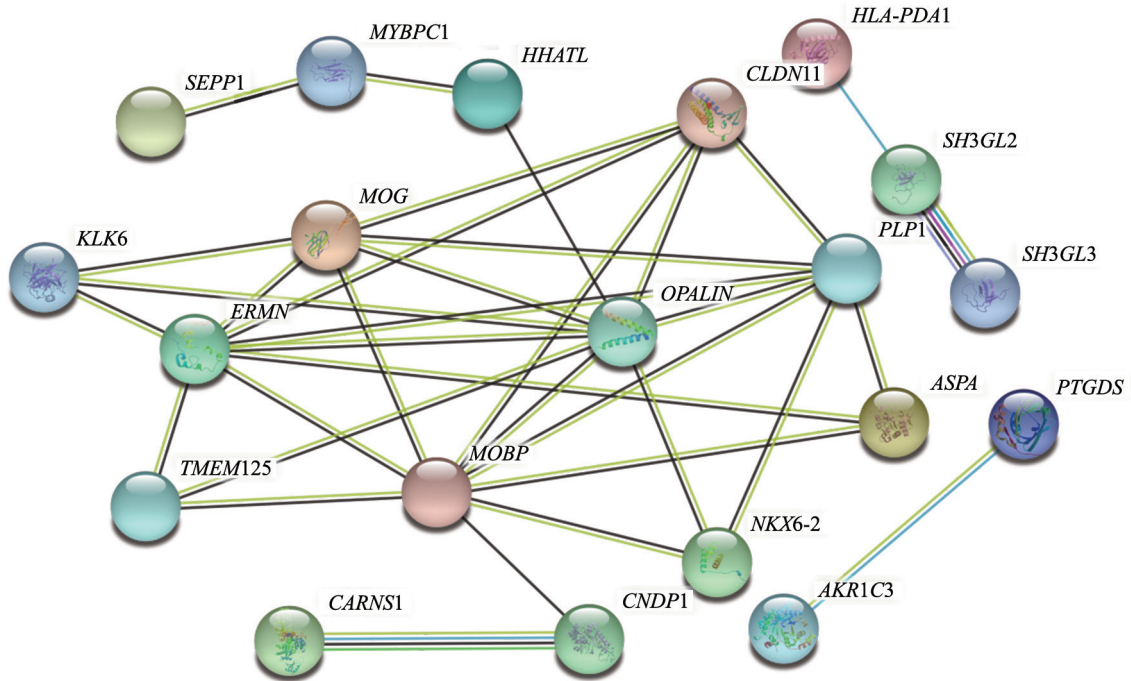


图 2 PPI网络
Fig. 2 PPI network

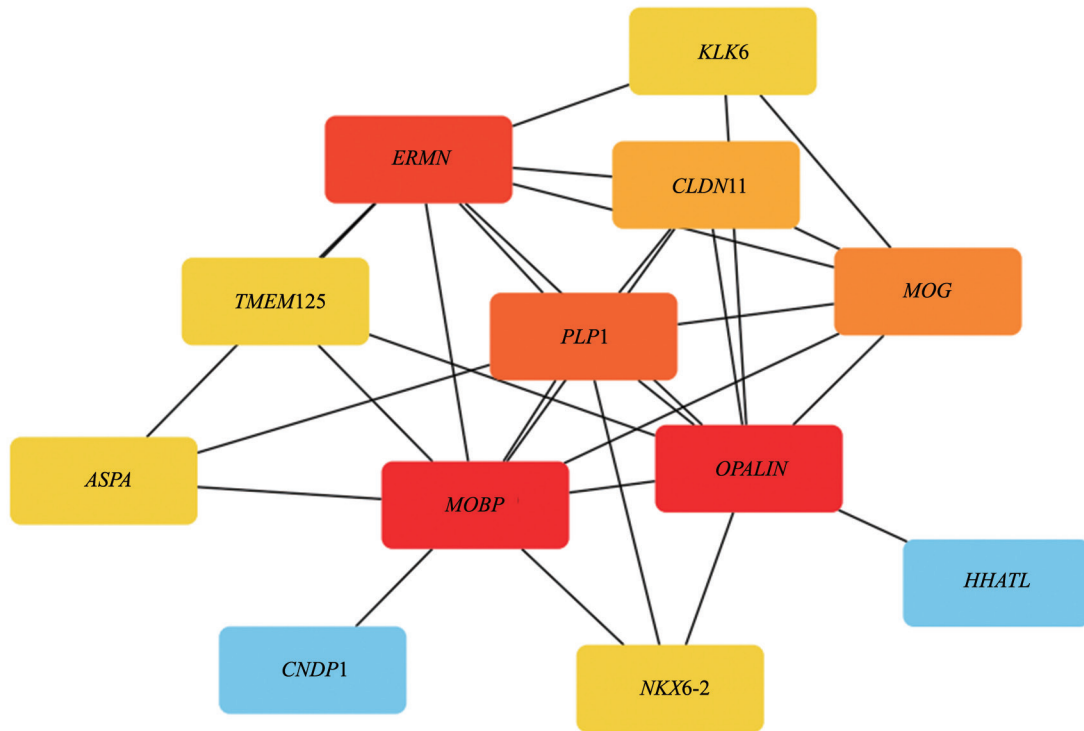


图 3 Hub基因筛选图
Fig. 3 Bioinformatics screening of Hub gene

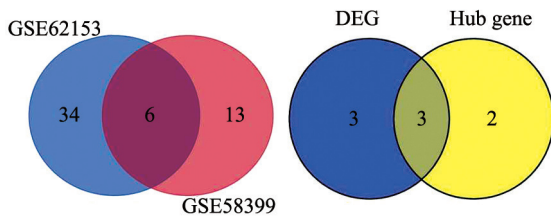


图 4 DEG与Hub基因韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of DEG and Hub gene

2.3 *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因mRNA的表达水平与胶质瘤患者预后的关系

为分析*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在胶质瘤

中的预后价值, 研究通过GEPIA进行生存分析, Kaplan-Meier法结果显示, 在TCGA数据库676例胶质瘤病例中, *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因高表达者预后均优于低表达组, 总生存率差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图5)。为进一步验证该生存分析结果, 研究进一步利用CGGA mRNA芯片数据库进行生存分析, 结果显示, *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因与胶质瘤患者的总生存率均显著相关 ($P < 0.0001$, 图5), *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因高表达组预后优于低表达组。

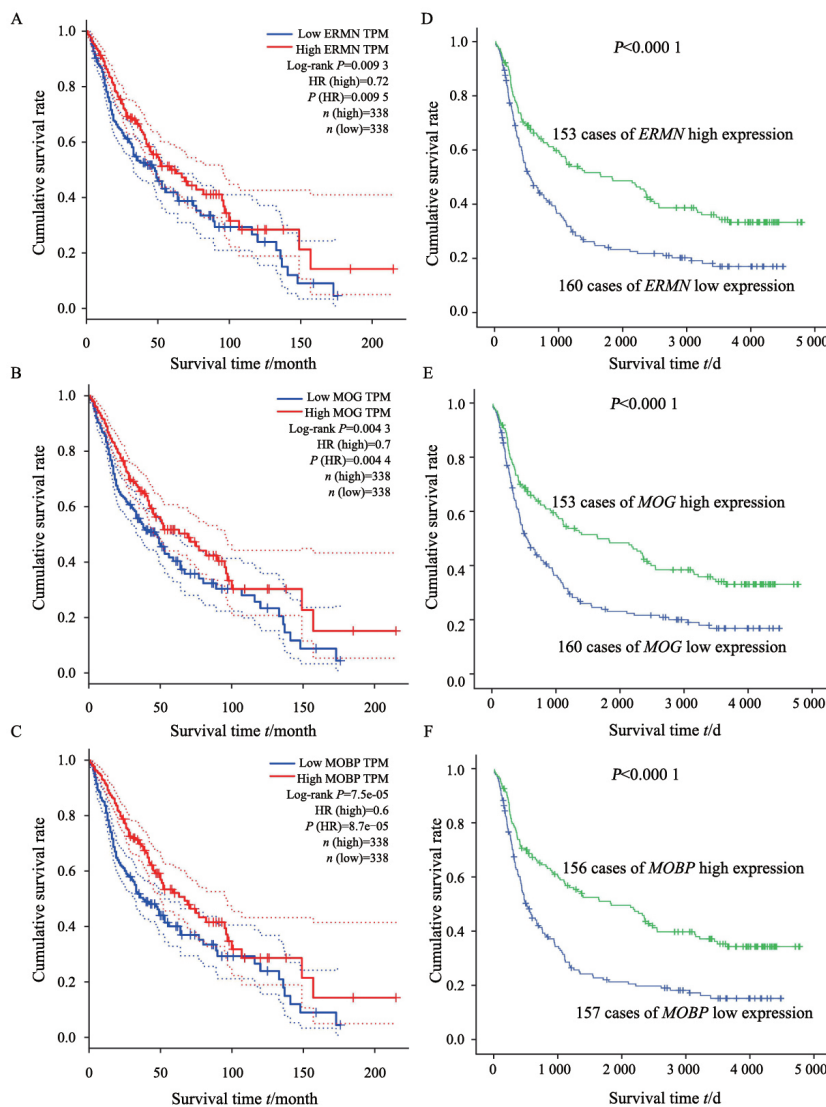


图 5 基于TCGA和CGGA胶质瘤病例的生存分析

Fig. 5 Survival analysis of TCGA and CGGA database

The higher expression groups were favorable than those of patients with lower expression. A: Analysis of *ERMN* expression in TCGA database; B: Analysis of *MOG* expression in TCGA database; C: Analysis of *MOBP* expression in TCGA database; D: Analysis of *ERMN* expression in CGGA database; E: Analysis of *MOG* expression in CGGA database; F: Analysis of *MOBP* expression in CGGA database.

2.4 *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因mRNA在胶质瘤组织中的表达

通过GEPIA分析*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在胶质瘤中的表达情况。*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在低级别胶质瘤和对照组织之间的表达水平差异无统计学意义，而在胶质母细胞瘤和对照组织之间差异有统计学意义（图6）。*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在胶质母细胞瘤组织内的表达水平低于对照组织。研究进一步通过CGGA数据库分析*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在肿瘤不同分级（WHO II、III和IV级）组织间的表达情况，结果显示，*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因在不同分级组织内的表达差异有统计学意义（ $P<0.001$ ），且随着胶质母细胞瘤的级别升

高，*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因的表达逐渐降低（图6）。

2.5 *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因mRNA表达水平与胶质瘤临床病理学参数的关系

通过提取CGGA数据库的临床数据和表达谱数据，进一步分析*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因的表达情况与胶质瘤临床病理学参数的关系。结果显示，*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因的表达与WHO分级、异柠檬酸脱氢酶（isocitrate dehydrogenase, IDH）状态和临床病理学参数相关（ $P<0.001$ ，表5）。*MOBP*基因的表达与患者年龄（ $P<0.001$ ）和*MGMT*基因甲基化状态相关（ $P=0.022$ ，表5）。

表5 *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因mRNA的表达水平与胶质瘤临床病理学参数的关系

Tab. 5 Association between *ERMN*, *MOG* and *MOBP* genes expressions and the patient's clinicopathological characteristics in patients with glioma

Clinicopathological Features	Case	<i>ERMN</i> Expression			<i>MOG</i> Expression			<i>MOBP</i> Expression		
		Low	High	<i>P</i> value	Low	High	<i>P</i> value	Low	High	<i>P</i> value
(n)										
Gender										
Male	203	109	94	0.170	104	99	0.620	106	97	0.270
Female	122	56	66		59	63		56	66	
Age/year										
≤40	143	65	78	0.090	64	79	0.084	61	82	0.022
>40	182	100	82		99	83		101	81	
WHO Grade										
II	103	29	74	<0.001	28	75	<0.001	24	79	<0.001
III	79	37	42		37	42		39	40	
IV	139	96	43		95	44		96	43	
MGMT methylation status										
Un-methylated	149	82	67	0.250	78	71	0.640	85	64	0.029
Methylated	157	76	81		78	79		70	87	
IDH mutation status										
Wild type	149	97	52	<0.001	96	53	<0.001	99	50	<0.001
Mutant	175	67	108		66	109		62	113	
Type of tumorigenesis										
Primary	229	116	113	0.900	117	112	0.780	113	116	0.910
Recurrent	62	30	32		29	33		30	32	
Secondary	30	16	14		14	16		16	14	
Histology										
Strocytoma	56	17	39	<0.001	16	40	<0.001	13	43	<0.001
Oligodendroglioma	52	14	38		14	38		14	38	
Anaplastic oligodendro	12	5	7		4	8		5	7	
Anaplastic astrocytoma	62	30	32		31	31		31	31	
Glioblastoma	139	96	43		95	44		96	43	

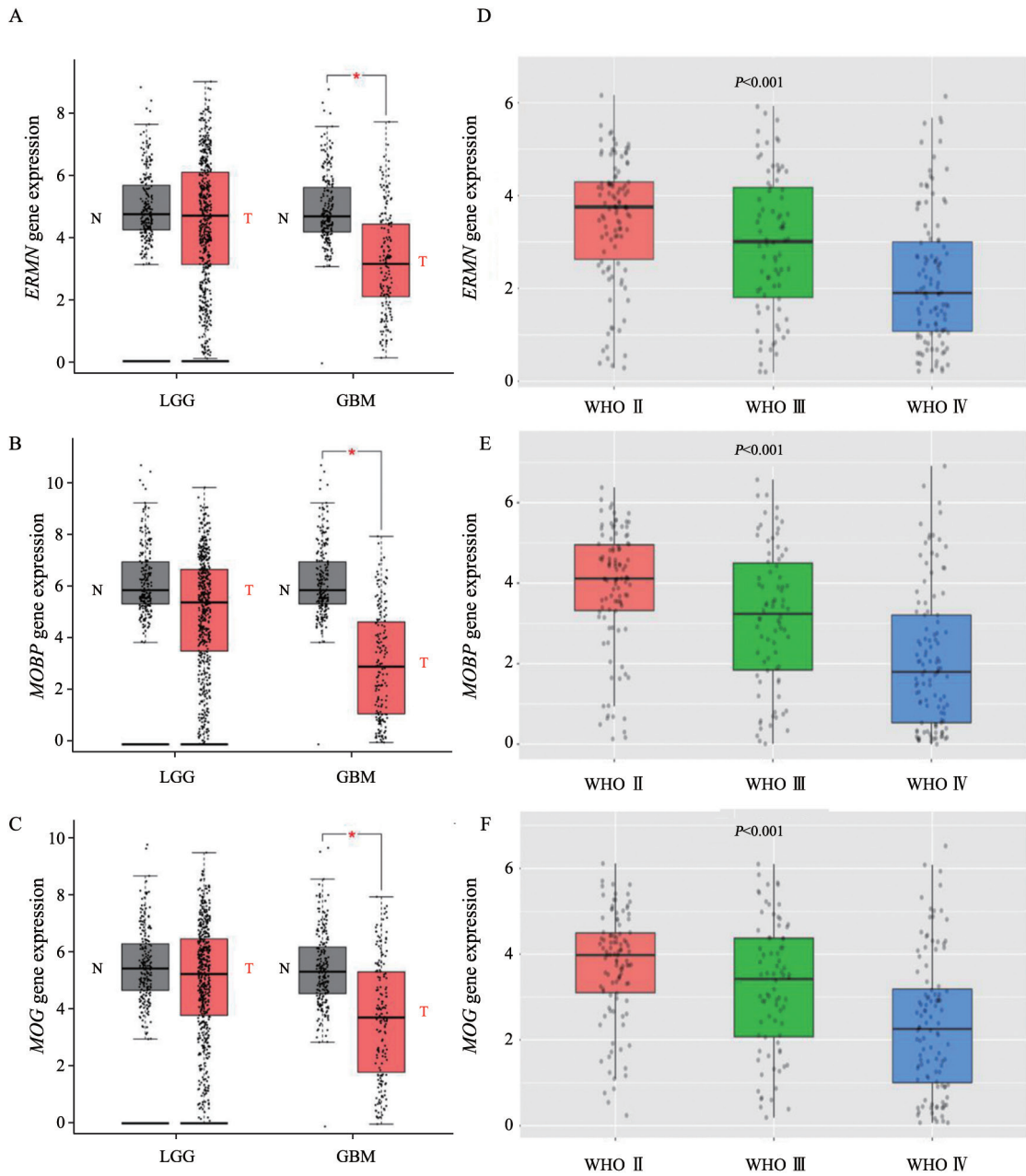


图 6 *ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因的mRNA在对照组织和胶质瘤组织中的表达

Fig. 6 mRNA expression of *ERMN*, *MOG* and *MOBP* genes in control tissues and glioma tissues

N: Control tissues; T: Glioma tissues. A: mRNA expression of *ERMN* gene in control tissues and glioma tissues; B: mRNA expression of *MOG* gene in control tissues and glioma tissues; C: mRNA expression of *MOBP* gene in control tissues and glioma tissues; D: mRNA expression of *ERMN* gene in different WHO grades of glioma; E: mRNA expression of *MOG* gene in different WHO grades of glioma; F: mRNA expression of *MOBP* gene in different WHO grades of glioma. *: $P < 0.05$, compared with control tissues.

3 讨 论

胶质瘤是一类原发于中枢神经系统的常见恶性肿瘤。尽管在过去的几十年中，其治疗已有很大进展，但是大多数患者的临床结局仍然很差。

Nieder等^[6]报道恶性胶质瘤患者复发后生存时间为6~8个月，而出现第2次进展患者的中位生存期仅为14周。胶质母细胞瘤患者总体预后差，即使接受手术联合放疗和替莫唑胺化疗标准治疗方案治疗，复发率和死亡率仍较高。Stupp方案延

长了胶质母细胞瘤患者的总生存期和无进展生存期，但总生存期不足15个月，而5年生存率也低于10%^[7]。

文献^[8]报道，复发性胶质母细胞瘤患者接受挽救疗法[化疗和(或)再次放疗]的中位生存期为5.3个月。一项纳入167例复发性胶质母细胞瘤患者的Ⅱ期临床试验^[9]，将患者随机分入贝伐珠单抗单药治疗和联用伊立替康组，总生存期分别为9.2和8.7个月。一项病例系列研究^[10]显示，Ⅳ级患者接受立体定向放疗(stereotactic radiosurgery, SRS)后的中位无进展生存期为4.6个月。复发胶质母细胞瘤患者应用贝伐珠单抗联合SRS($n=20$)，患者的6个月无进展生存率达65%^[11]。2006—2009年一项复发胶质母细胞瘤Ⅲ期临床试验^[12]将237例复发性胶质母细胞瘤患者按1:1随机分配接受单纯电场疗法治疗组($n=120$)或最优化疗组($n=117$)，结果显示，肿瘤治疗电场组与最优化疗组的中位总生存期分别为6.6和6.0个月($P=0.27$)，中位无进展生存期分别为2.2和2.1个月($P=0.16$)。复发胶质母细胞瘤尚无标准治疗方案，美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南推荐考虑临床试验。

胶质母细胞瘤具有高度异质性，其进化过程表现出高度分支化特征，按照分支模式及进化速率的估算，与复发相关的克隆往往在诊断前已存在。接受替莫唑胺治疗的胶质母细胞瘤患者中有17%(17/100)复发并伴有高突变肿瘤，但未接受替莫唑胺治疗的患者中没有发生高突变^[13]。Nandeesh等^[14]研究表明，复发性肿瘤中SOX2表达的显著增加可能表明这些肿瘤中存在具有干样特性的未分化细胞，这种改变可能增加的侵袭性和干性，抵抗放疗和化疗。Zhang等^[15]将23例患者切除的标本进行了外显子组测序，该组病例均为初始低级别胶质瘤，而后出现复发性肿瘤，在43%的病例中，至少有一半的初始肿瘤突变在复发时未被发现，包括*TP53*、*ATRX*、*SMARCA4*和*BRAF*中的驱动突变，10例接受替莫唑胺治疗的患者中有6例肿瘤发展为高级别胶质瘤，复发肿瘤发生超突变，并带有TMZ诱导突变特征，即

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)和蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian targets of rapamycin, mTOR)的驱动突变^[15]。Kim等^[16]通过采用多基因组学方法分析初次和再次手术的26对配对脑胶质瘤标本，证实复发胶质瘤获得了大量新的基因突变。胶质母细胞瘤复发的两种肿瘤进化途径：大多数局部复发的肿瘤共有大多数初始肿瘤突变，与线性进化一致。在远处复发时，初始和复发肿瘤之间的遗传差异导致关键胶质母细胞瘤驱动基因/途径改变的变化。本研究所选用两个数据集分析产生的DEG交集并不多，这可能是因为胶质母细胞瘤复发后驱动复发增长的基因改变较多，与初始肿瘤不同。

本研究筛选出了胶质母细胞瘤复发相关的关键基因3个，即*ERMN*、*MOG*和*MOBP*基因。*ERMN*是参与髓鞘形成过程的必需基因，而少突胶质细胞主要是形成髓磷脂的细胞，是叶酸代谢中断的主要靶标^[17-19]。在少突胶质细胞成熟过程中，髓鞘特异性蛋白，如蛋白脂蛋白(protein lipoprotein, PLP)和髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)在少突胶质细胞中依次表达。*MOG*则是一种表达在髓鞘和少突胶质细胞膜的表面糖蛋白，属于免疫球蛋白超家族成员。*MOG*最先由Linnington等^[20]于1984年利用小鼠单抗确定并命名，其特异性表达在少突胶质细胞和髓鞘表面的I型膜结合糖蛋白位于髓鞘结构的最外层^[21]。在脱髓鞘病变的急性、亚急性及缓解期，*MOG*抗体均可出现^[22]。*MOBP*是构成中枢神经系统髓磷脂的第三大蛋白质。像髓磷脂碱性蛋白一样，*MOBP*主要存在于中枢神经系统髓磷脂的致密线，提示在髓磷脂的紧实或稳定中起作用。

通过本次生物信息学分析，我们进一步发现GSE62153和GSE58399的DEG KEGG通路富集分析结果存在交集—组氨酸代谢^[23]。组氨酸代谢途径可调节甲氨蝶呤药物敏感性，提示甲氨蝶呤鞘内注射化疗对复发胶质母细胞瘤的治疗价值可能源自于组氨酸代谢。甲氨蝶呤是目前临床广泛应用的抗肿瘤化疗药物，主要适

用于白血病和某些其他类型的实体肿瘤,特别是原发性中枢神经淋巴瘤。大剂量甲氨蝶呤是原发性中枢神经系统淋巴瘤的首选治疗方案。

Ommaya囊作为中枢神经系统疾病治疗的常用辅助装置,临床常用于脑室内引流与给药,尤其颅内感染和颅内肿瘤的局部用药。1976年 Romodanov等^[24]对52例恶性脑肿瘤患者进行甲氨蝶呤鞘内注射能够让肿瘤缩小,病理形态学分析提示,其对恶性脑肿瘤具有明显的破坏作用。1991年Nierenberg等^[25]对5例多形性胶质母细胞瘤患者给予甲氨蝶呤治疗,尸检发现甲氨蝶呤治疗患者肿瘤组织出现液化性坏死。李丰展等^[26]分析了甲氨蝶呤经Ommaya鞘内注射间质化疗联合同步放化疗胶质母细胞瘤患者,发现其复发时间为(13.61±3.83)个月,中位生存时间为2.10个月(1.35~2.70个月),优于常规放化疗的(10.31±2.20)个月和1.55个月(1.30~2.10个月)。我们团队前期基础研究^[27]结果显示,甲氨蝶呤通过下调RAS/MAPK/MYC/CD47信号转导通路,抑制胶质母细胞瘤细胞系U87生长。甲氨蝶呤鞘内注射治疗复发胶质母细胞瘤患者在临床应用中取得了一定的效果,未来应进一步深入研究其具体机制。

综上所述,生物信息学分析结果表明,ERMN、MOG和MOBP基因的表达改变与胶质瘤的临床病理学参数及患者预后有关,有可能成为甄别复发胶质母细胞瘤的标志物。本研究所利用的开放数据库病例涵盖东、西方胶质瘤人群,预后分析结果显示,东西方人群的基因类型并没有显著差异。ERMN、MOG和MOBP基因的预后预测价值还需要进一步利用中国的病例样本在蛋白水平进行验证,以期寻找到诊疗标志物,并对其功能和机制进行研究,为胶质瘤的复发诊断、预后预测提供线索和依据。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] OSTROM Q T, PATIL N, CIOFFI G, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2013–2017 [J]. Neuro

Oncol, 2020, 22(12 suppl 2): iv1–iv96.

- [2] MEYER M A. Malignant gliomas in adults [J]. N Engl J Med, 2008, 359(17): 1850.
- [3] GRUBER M L, BUSTER W P. Temozolomide in combination with irinotecan for treatment of recurrent malignant glioma [J]. Am J Clin Oncol, 2004, 27(1): 33–38.
- [4] BAO Z S, CHEN H M, YANG M Y, et al. RNA-seq of 272 gliomas revealed a novel, recurrent PTPRZ1–MET fusion transcript in secondary glioblastomas [J]. Genome Res, 2014, 24(11): 1765–1773.
- [5] ZHAO Z, MENG F, WANG W, et al. Comprehensive RNA-seq transcriptomic profiling in the malignant progression of gliomas [J]. Sci Data, 2017, 4: 170024.
- [6] NIEDER C, GROSU A L, MOLLS M. A comparison of treatment results for recurrent malignant gliomas [J]. Cancer Treat Rev, 2000, 26(6): 397–409.
- [7] STUPP R, HEGI M E, MASON W P, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC–NCIC trial [J]. Lancet Oncol, 2009, 10(5): 459–466.
- [8] AZOULAY M, SANTOS F, SHENOUDA G, et al. Benefit of re-operation and salvage therapies for recurrent glioblastoma multiforme: results from a single institution [J]. J Neurooncol, 2017, 132(3): 419–426.
- [9] FRIEDMAN H S, PRADOS M D, WEN P Y, et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(28): 4733–4740.
- [10] KONG D S, LEE J I, PARK K, et al. Efficacy of stereotactic radiosurgery as a salvage treatment for recurrent malignant gliomas [J]. Cancer, 2008, 112(9): 2046–2051.
- [11] SCHNELL O, THORSTEINSDOTTIR J, FLEISCHMANN D F, et al. Re-irradiation strategies in combination with bevacizumab for recurrent malignant glioma [J]. J Neurooncol, 2016, 130(3): 591–599.
- [12] STUPP R, WONG E T, KANNER A A, et al. NovoTTF-100A versus physician's choice chemotherapy in recurrent glioblastoma: a randomised phase III trial of a novel treatment modality [J]. Eur J Cancer, 2012, 48(14): 2192–2202.
- [13] WANG J G, CAZZATO E, LADEWIG E, et al. Clonal evolution of glioblastoma under therapy [J]. Nat Genet, 2016, 48(7): 768–776.
- [14] NANDEESH B N, NASKAR S, SHASHTRI A H, et al. Recurrent glioblastomas exhibit higher expression of biomarkers with stem-like properties [J]. J Neurosci Rural Pract, 2018, 9(1): 86–91.
- [15] ZHANG R R, POINTER K B, KUO J S, et al. Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma [J]. Neurosurgery, 2014, 75(6): N9–10.
- [16] KIM J, LEE I H, CHO H J, et al. Spatiotemporal evolution of the primary glioblastoma genome [J]. Cancer Cell, 2015, 28(3): 318–328.
- [17] SALEK ESFAHANI B, GHARESOURAN J, GHAFOURI-

- FARD S, et al. Down-regulation of *ERMN* expression in relapsing remitting multiple sclerosis [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(5): 1261–1266.
- [18] ZHANG L, XUE Z Y, LIU Q D, et al. Disrupted folate metabolism with anesthesia leads to myelination deficits mediated by epigenetic regulation of *ERMN* [J]. *EBioMedicine*, 2019, 43: 473–486.
- [19] HOMS A, CODINA-SOLÀ M, RODRÍGUEZ-SANTIAGO B, et al. Genetic and epigenetic methylation defects and implication of the *ERMN* gene in autism spectrum disorders [J]. *Transl Psychiatry*, 2016, 6(7): e855.
- [20] LINNINGTON C, WEBB M, WOODHAMS P L. A novel myelin-associated glycoprotein defined by a mouse monoclonal antibody [J]. *J Neuroimmunol*, 1984, 6(6): 387–396.
- [21] VOURECH P, ANDRES C. Oligodendrocyte myelin glycoprotein (OMgp): evolution, structure and function [J]. *Brain Res Brain Res Rev*, 2004, 45(2): 115–124.
- [22] KIM S M, WOODHALL M R, KIM J S, et al. Antibodies to *MOG* in adults with inflammatory demyelinating disease of the CNS [J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2015, 2(6): e163.
- [23] KANAREK N, KEYS H R, CANTOR J R, et al. Histidine catabolism is a major determinant of methotrexate sensitivity [J]. *Nature*, 2018, 559(7715): 632–636.
- [24] ROMODANOV A P, ZOZULJA J A, SOSNOV J D, et al. Regional chemotherapy of malignant brain tumors with endolumbar methotrexate injection [J]. *Zentralbl Neurochir*, 1976, 37(3): 161–167.
- [25] NIERENBERG D, HARBAUGH R, MAURER L H, et al. Continuous intratumoral infusion of methotrexate for recurrent glioblastoma: a pilot study [J]. *Neurosurgery*, 1991, 28(5): 752–761.
- [26] 李丰展, 盖立平, 杨艳敏, 等. 胶质母细胞瘤术后甲氨蝶呤间质化疗同步放疗临床观察 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2020, 23(17): 1544–1548.
- LI F Z, GAI L P, YANG Y M, et al. Clinical observation on simultaneous radiotherapy and chemotherapy of methotrexate interstitial chemotherapy after glioblastoma [J]. *Chin J Pract Nerv Dis*, 2020, 23(17): 1544–1548.
- [27] 白 玥, 钟晓松, 李文斌. 甲氨蝶呤通过RAS/MAPK/ERK/MYC/CD47信号通路抑制胶质母细胞瘤的生长 [J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2018, 5(2): 144–150.
- BAI Y, ZHONG X S, LI W B. Glioblastoma progression is inhibited by methotrexate via RAS/MEK/ERK/MYC/CD47 signaling pathways [J]. *Electron J Metab Nutr Cancer*, 2018, 5(2): 144–150.

(收稿日期: 2021-07-05 修回日期: 2021-12-09)

《中国癌症杂志》被EBSCO数据库收录

2021年11月5日,《中国癌症杂志》编辑部接到美国EBSCO信息服务部通知,本刊已正式被EBSCO数据库收录。

EBSCO数据库是目前世界上最大的多学科学术期刊数据库和综合性商业资源全文数据库,已经被多个科研机构 and 高校图书馆订购使用,全球83.3%的高校图书馆均将EBSCOhost列为首选的电子文献检索。现已开发近400多个在线文献数据库,满足各类型机构的信息需求已达70余年,收录全球各种期刊逾26万种,全球11万5千多家机构选用EBSCO的产品与服务,每天在EBSCO平台上进行的检索达一亿七千五百万次。

作为中文期刊,《中国癌症杂志》提供1 000字左右英文长摘要。被EBSCO文献数据库收录,意味着本刊在论文编写格式和数据处理的标准化和规范化要求与国际文献接轨,促进了本刊已发表论文国际化传播的力度,提高论文在国内外的被引频次,提高作者、期刊、工作单位在国内外的学术地位和知名度。

特别感谢支持《中国癌症杂志》的各位专家、作者及读者,我们将不忘初心、砥砺前行!

《中国癌症杂志》编辑部