

沉默信息调节因子2在胆管癌中的表达及其对可切除胆管癌患者预后的预测价值

王威^{1*}, 季文斌¹, 吕振宇¹, 孙万亮², 邵玉³, 刘静¹, 杨燕¹

1. 蚌埠医学院第一附属医院肿瘤内科, 安徽蚌埠 233004

2. 蚌埠医学院第一附属医院肝胆外科, 安徽蚌埠 233004

3. 蚌埠医学院第一附属医院国家药物临床试验机构, 安徽蚌埠 233004

[摘要] 目的:探究沉默信息调节因子2(SIRT2)在胆管癌组织中的表达、潜在作用机制及临床意义,并构建可切除胆管癌患者生存预测模型。方法:首先,通过癌症基因图谱和基因表达综合数据库分析SIRT2在胆管癌组织与正常组织中的表达差异,并通过基因集富集分析(GSEA)探讨SIRT2在胆管癌中的潜在机制;其次,免疫组织化学染色检测研究者队列胆管癌组织中SIRT2的表达,并分析SIRT2表达与胆管癌患者临床病理特征和预后的关系。最后,基于COX回归分析结果构建胆管癌术后患者预后列线图预测模型,使用校准曲线及时间依赖性的受试者工作特征曲线(ROC)对列线图模型进行评价,并与美国癌症联合委员会(AJCC)第八版TNM分期预测效果进行比较。结果:公共数据库中SIRT2 mRNA在胆管癌组织中显著过表达,免疫组织化学染色发现SIRT2蛋白在胆管癌组织中表达高于癌旁组织(均 $P < 0.05$)。GSEA结果显示,SIRT2高表达可能影响了多种代谢相关信号通路,如脂肪酸代谢、氧化磷酸化、氨基酸代谢等。SIRT2表达与血清三酰甘油水平、肿瘤大小、淋巴结是否转移相关(均 $P < 0.05$)。生存分析结果显示,SIRT2高表达患者较低表达患者总生存期显著缩短($P < 0.05$)。单因素回归分析结果显示,肿瘤分化程度、TNM分期、是否接受后续治疗、SIRT2表达与胆管癌患者预后相关(均 $P < 0.05$);多因素回归分析结果进一步证实,TNM分期和SIRT2表达是胆管癌患者总生存期的独立预测因素(均 $P < 0.05$)。基于SIRT2构建的胆管癌术后患者列线图生存预测模型C指数为0.675,第1、2、3年的时间依赖性ROC曲线下面积分别为0.879、0.778、0.953,与AJCC第八版TNM分期系统相比具有更好的预后预测价值。结论:可切除胆管癌患者肿瘤组织中SIRT2高表达并与患者不良预后相关,基于SIRT2构建的胆管癌术后患者的预后列线图模型可能比TNM分期系统具有更好的预测作用。



收稿日期(Received):2023-09-03 接受日期(Accepted):2023-10-08 网络预发表日期(Online):2023-12-05

基金项目(Funding):安徽省教育厅高校自然科学研究重大项目(2023AH040291);安徽省高校优秀青年人才支持计划(gxyq2022042);蚌埠医学院“512人才培养计划”(by51202208)

第一作者(First author):王威,医师,主要从事消化系统疾病临床及基础研究;E-mail:18255249512@163.com;https://orcid.org/0000-0002-9549-2719

通信作者(Corresponding author):杨燕,教授,副主任医师,主要从事肝胆恶性肿瘤临床及基础研究;E-mail:qiannianhupo@163.com;https://orcid.org/0000-0003-0887-2770

*现在蚌埠医学院附属蚌埠市第三人民医院工作

[关键词] 胆管癌;沉默信息调节因子2;临床意义;预后模型;生物信息学分析

[中图分类号] R735.8 [文献标志码] A

Construction of a prediction model for postoperative prognosis in patients with resectable cholangiocarcinoma based on silence information regulator 2 expression

WANG Wei^{1*}, JI Wenbin¹, LYU Zhenyu¹, SUN Wanliang², SHAO Yu³, LIU Jing¹, YANG Yan¹ (1. Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China; 3. National Drug Clinical Trial Center, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China)

*Now works in the Third People's Hospital of Bengbu Affiliated to Bengbu Medical College.

Corresponding author: YANG Yan, E-mail: qiannianhupo@163.com, <https://orcid.org/0000-0003-0887-2770>

[Abstract] **Objective:** To develop a prediction model for postoperative prognosis in patients with cholangiocarcinoma (CCA) based on the expression of silence information regulator 2 (SIRT2). **Methods:** The differential expression of SIRT2 between CCA and normal tissues was analyzed using TCGA and GEO databases. Gene set enrichment analysis (GSEA) was used to explore potential mechanisms of SIRT2 in CCA. The expression of SIRT2 protein in CCA tissues and normal tissues (including 44 pairs of specimens) was also detected by immunohistochemistry (IHC) in 89 resectable CCA patients who underwent surgical treatment in the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College between January 2016 and December 2021. The relationship between SIRT2 expression and clinicopathological characteristics and prognosis of CCA patients was analyzed. A survival prediction model for patients with resectable CCA was constructed with COX regression results, the calibration curve and the time-dependent receiver operating characteristic curve (ROC) were used to evaluate the performance of the constructed model, and the predictive power between this model and the American Joint Committee on Cancer (AJCC)/TNM staging system (8th edition) was compared. **Results:** SIRT2 mRNA was overexpressed in CCA tissues as shown in TCGA and GEO databases. IHC staining showed that SIRT2 protein expression in CCA tissues was significantly higher than that in adjacent non-tumor tissues. GSEA results showed that elevated SIRT2 expression may be involved in multiple metabolism-related signaling pathway, such as fatty acid metabolism, oxidative phosphorylation and amino acid metabolism. SIRT2 expression was related to serum triglycerides level, tumor size and lymph node metastasis (all $P<0.05$). The survival analysis results showed that patients with higher SIRT2 expression had a significantly lower overall survival (OS) than patients with lower SIRT2 expression ($P<0.05$). Univariate COX regression analysis suggested that pathological differentiation, clinical stage, postoperative treatment and SIRT2 expression level were associated with the prognosis of CCA patients (all $P<0.05$). Multivariate regression analysis confirmed that clinical stage and SIRT2 expression level were independent

predictors of OS in postoperative CCA patients (both $P < 0.05$). A nomogram based on SIRT2 for prediction of survival in postoperative CCA patients was constructed. The C-index of the model was 0.675, and the area under the time-dependent ROC curve (AUC) for predicting survival in the first, second, and third years was 0.879, 0.778, and 0.953, respectively, which were superior to those of AJCC/TNM staging system (8th Edition). **Conclusions:** SIRT2 is highly expressed in CCA tissues, which is associated with poor prognosis in patients with resectable CCA. The nomogram developed based on SIRT2 may have better predictive power than the AJCC/TNM staging system (8th edition) in prediction of survival of postoperative CCA patients.

[**Key words**] Cholangiocarcinoma; Silence information regulator 2; Clinical significance; Prognostic model; Bioinformatics analysis

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2024, 53(1): 98-107.]

[**缩略语**] 沉默信息调节因子(silence information regulator, SIRT); 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺); 信使RNA(messenger RNA, mRNA); 癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA); 基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO); 错误发现率(false discovery rate, FDR); 标准化富集分数(normalized enrichment score, NES); 受试者操作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC 曲线); 风险比(hazard ratio, HR); 置信区间(confidence interval, CI); 美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)

胆管癌是一种起源于胆管上皮细胞的高度侵袭性恶性肿瘤,近年来总体发病率不断攀升。虽然胆管癌的治疗已经取得了一些进展,但患者整体存活率仍然较低,一个重要原因是胆管癌早期临床特征不明显,仅三分之一的患者可以通过手术治疗,术后患者5年存活率为25%~40%^[1],而大多数患者确诊时往往处于不可手术的晚期阶段,治疗选择十分有限,5年存活率低于20%^[2]。更重要的是,胆管癌缺乏敏感有效的预后生物标志物或者预后预测模型,这些使得胆管癌患者的后续治疗及疾病管理变得困难。因此,探索胆管癌诊疗靶点及预后预测工具具有重要意义。

SIRT2是依赖NAD⁺的Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶家族成员之一,主要定位于细胞质,可调控代谢和基因表达等多种生物过程^[3]。现有研究表明,SIRT2在不同恶性肿瘤中的表达存在差异,在卵巢癌、前列腺癌等肿瘤组织中,SIRT2的表达显著低于正常组织;而在黑色素瘤、胃癌等肿瘤组织中,SIRT2的表达高于正常组织^[4],这提示SIRT2可能既具有促癌作用,又具有抑癌作用。另外值得注意的是,在乳腺癌早期癌变过程中SIRT2具

有显著的肿瘤抑制作用,而在晚期阶段,其过表达则预示着肿瘤高侵袭性,抑制SIRT2具有抗癌效应^[5]。此外,Li等^[6]发现SIRT2 mRNA和蛋白水平在非小细胞肺癌中均显著下调,而Luo等^[7]观察到SIRT2在非小细胞肺癌中表达显著升高。这表明SIRT2在恶性肿瘤中的作用是复杂的且存在争议。在胆管癌中,SIRT2被发现存在显著过表达,并可能通过诱导代谢重编程^[8]及调控乙酰化P53水平^[9]促进胆管癌细胞增殖、侵袭。鉴于SIRT2在肿瘤中的复杂性及争议性,本研究拟对SIRT2在胆管癌中的价值进行进一步探究,并为探寻胆管癌术后生存预测模型增添新的数据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

从TCGA下载胆管癌数据集,从GEO下载GSE107943转录组数据,提取SIRT2 mRNA的表达量。TCGA数据集含有36个胆管癌组织,其中有配对正常胆管组织的9个;GSE107943数据集含有30个胆管癌组织,其中有配对正常胆管组织的27个。

收集2016年1月1日至2021年12月31日在

蚌埠医学院第一附属医院经手术治疗且术后病理检查确诊为胆管癌患者的蜡块标本或组织标本。患者纳入标准:①经手术治疗且术后病理确诊为胆管癌;②术前未进行任何抗肿瘤治疗;③重要临床病理资料完整且可被追溯。排除标准:①多发癌,继发性胆道系统恶性肿瘤;②组织标本封存不佳。根据纳入和排除标准,共收集到89例术后胆管癌患者的标本,其中有配对癌旁组织的44例。本研究通过蚌埠医学院第一附属医院伦理委员会审查(BYYFY-2018KY46)。收集89例胆管癌患者的临床病理特征,包括年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤大小、肿瘤数、脉管侵犯情况、淋巴结转移情况、神经侵犯情况、分化程度、临床分期等,还有部分常见实验室指标如糖类抗原199、癌胚抗原、总胆红素、总胆固醇、三酰甘油等。患者随访时间截至2022年6月1日,通过患者医院病历系统的个人就诊记录或电话随访获得生存信息,记录所有患者的总生存期,即手术日直至患者发生因为任何原因死亡的时间。

1.2 免疫组织化学染色检测SIRT2表达

将组织块进行包埋、切片(4 μm厚)、烘烤(75 °C,6 h)后,按照脱蜡、梯度乙醇水化、修复、内源性过氧化物酶阻断、封闭、抗原抗体反应、DAB显色、苏木精复染、梯度乙醇脱水、透明、中性树胶封片等步骤进行免疫组织化学染色,其中SIRT2一抗(德国Gene Tex公司)稀释比例为1:200。由两位病理学专家利用光学显微镜对本染色结果进行盲评,并取平均值作为最后得分。每个切片随机选择5个高倍镜视野(200×),以肿瘤细胞或癌旁组织细胞胞质内出现棕黄色颗粒为SIRT2染色阳性。染色信号强度评分:无染色为0分(阴性),淡黄色为1分(弱,+),黄褐色为2分(中等,++),褐色为3分(强,+++);染色阳性程度根据阳性细胞数的百分比评分:0%~25%为1分,>25%~50%为2分,>50%~75%为3分,>75%为4分。根据阳性细胞染色强度以及细胞数占比的乘积进行最终评分,评分范围0~12,以中位数6分作为截断值^[10],评分小于6分为低表达组,大于等于6分为高表达组。

1.3 基因集富集分析及SIRT2关联基因分析

利用R“clusterProfiler”包进行基因集富集分析,并绘制富集结果图(校正后的 $P<0.05$, $FDR<0.25$ 和 $|\text{NES}|>1$ 认为是显著富集)。使用LinkedOmics

数据库(<http://www.linkedomics.org/login.php>)探索胆管癌中SIRT2关联基因。

1.4 统计学方法

采用SPSS 25.0、R(3.6.3)及EXCL-VLOOKUP函数对数据进行处理,组间比较采用 t 检验,采用配对样本 t 检验进行配对差异分析,率的比较采用 χ^2 检验或Fisher精确检验;使用Kaplan-Meier生存曲线、Log-Rank检验及COX回归分析进行生存分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。根据COX回归结果建立列线图,R“rms”包、“survival”包进行列线图可视化,R“timeROC”包进行时间依赖性ROC曲线数据分析,R“ggplot2”包绘制曲线。

2 结果

2.1 SIRT2在胆管癌组织中表达变化

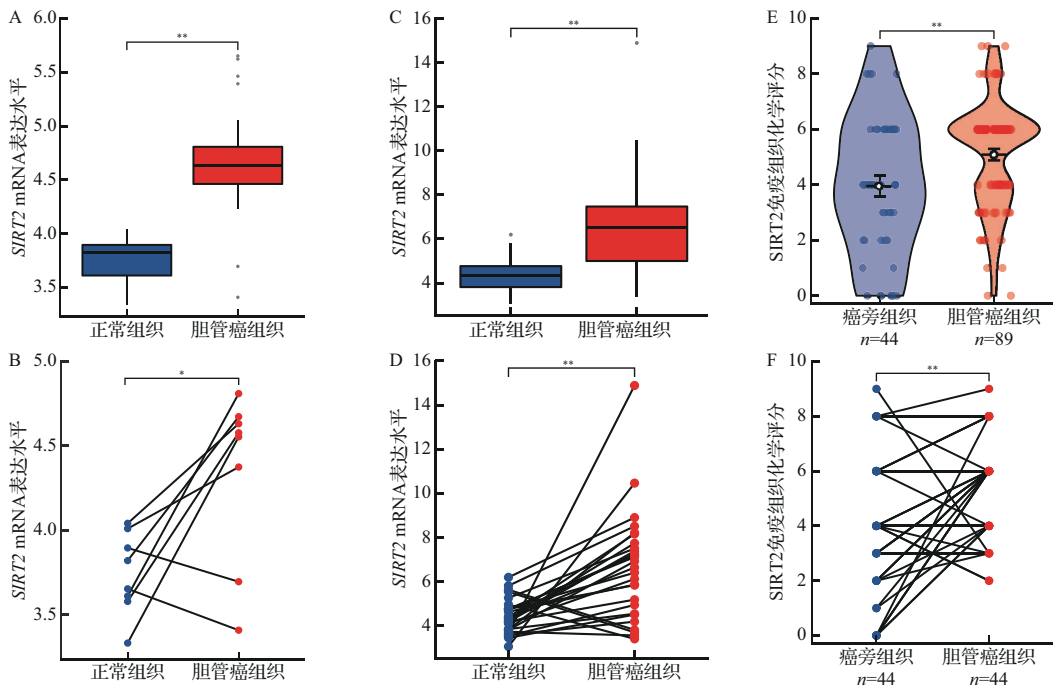
TCGA数据库分析结果显示,SIRT2 mRNA在胆管癌组织中较癌旁组织表达显著增高(均 $P<0.05$),见图1A、B。使用GSE107943数据集进行验证,结果进一步证实了无论非配对组织差异分析,还是配对组织差异分析,SIRT2 mRNA在胆管癌组织中均存在高表达(图1C、D)。研究者队列免疫组织化学染色分析结果显示,SIRT2阳性颗粒主要定位在细胞质中,多呈淡黄色或棕黄色(图2);无论基于非配对组织差异比较,还是配对组织差异分析,结果均显示SIRT2在胆管癌组织中的表达较癌旁组织显著增高(图1E、F)。以上结果提示,SIRT2在胆管癌中存在高表达。

2.2 胆管癌组织中基因集富集分析及SIRT2关联基因分析结果

SIRT2高表达患者胆管癌组织中核糖体、氧化磷酸化、脂肪酸代谢、氨基酸代谢、丙酮酸代谢等途径显著富集(图3),提示SIRT2高表达可能参与调控胆管癌患者肿瘤组织代谢。进一步基于LinkedOmics数据库分析得到SIRT2正负相关的蛋白,正相关分子包括ATG4A、SMPD1、NFKB1B等(图4A),负相关分子包括ZNF624、SMARCC1、ACVR2B等(图4B)。

2.3 SIRT2表达与胆管癌患者临床病理特征的关系

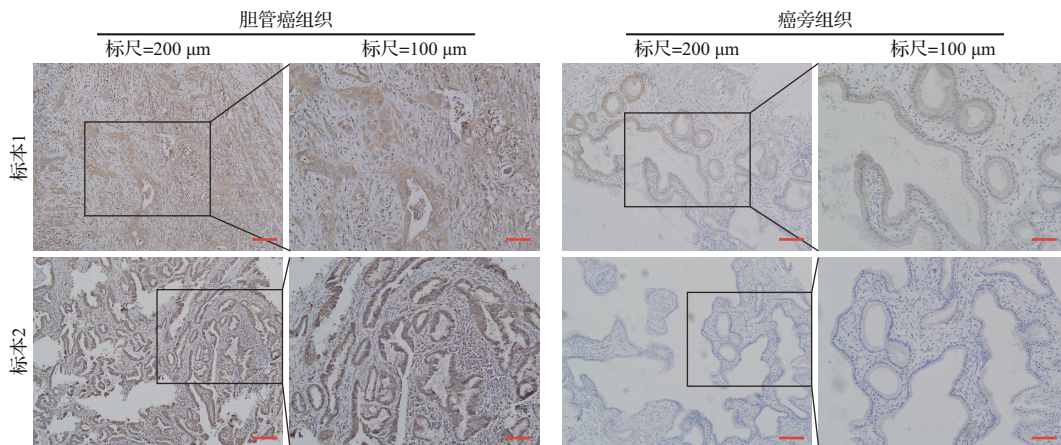
针对胆管癌患者的研究者队列数据分析发现,SIRT2表达与胆管癌患者术前血三酰甘油水平、淋巴结是否转移和肿瘤大小显著相关(均 $P<0.05$),表现为SIRT2低表达患者更易出现高甘油



A、B:癌症基因图谱数据库中非配对分析和配对分析结果;C、D:GSE107943数据集中非配对分析和配对分析结果;E、F:研究者队列中非配对分析和配对分析结果。* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。SIRT:沉默信息调节因子;mRNA:信使RNA。

图1 胆管癌组织与正常组织中SIRT2 mRNA和蛋白表达比较

Figure 1 Expression of SIRT2 mRNA and protein in cholangiocarcinoma tissues and normal tissues



与癌旁组织比较,胆管癌组织中细胞质内可见棕黄色颗粒,颜色深、着色细胞数多,提示SIRT2蛋白的表达较癌旁组织显著增高。SIRT:沉默信息调节因子。

图2 两个代表性胆管癌标本及其配对癌旁组织中SIRT2的表达情况

Figure 2 SIRT2 expression in two representative cholangiocarcinoma samples and their paired adjacent non-cancerous tissues

三酯血症,SIRT2高表达患者更易出现淋巴结转移和负荷更大的肿瘤。见表1。

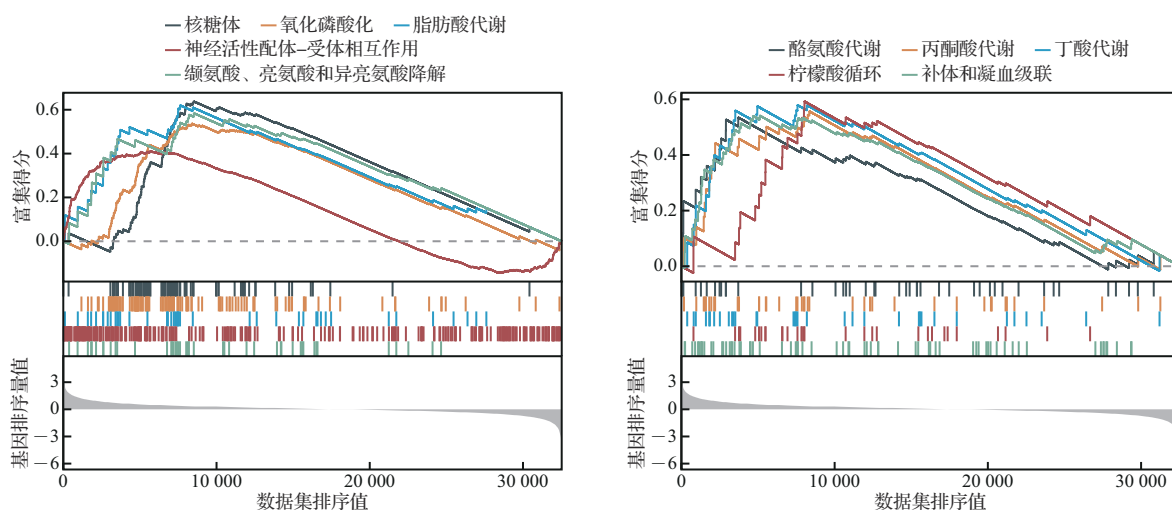
2.4 SIRT2表达与胆管癌患者术后总生存期的关系

89例胆管癌手术患者中位总生存期为23个月。Kaplan-Meier生存分析提示,SIRT2高表达组总生存期较低表达组明显缩短(分别为21和

29个月, $HR=1.71,95\%CI:1.06\sim 2.77,P<0.05$),见图5。结果提示SIRT2表达与胆管癌患者术后总生存期相关。

2.5 影响胆管癌患者术后总生存期的单因素和多因素COX回归分析

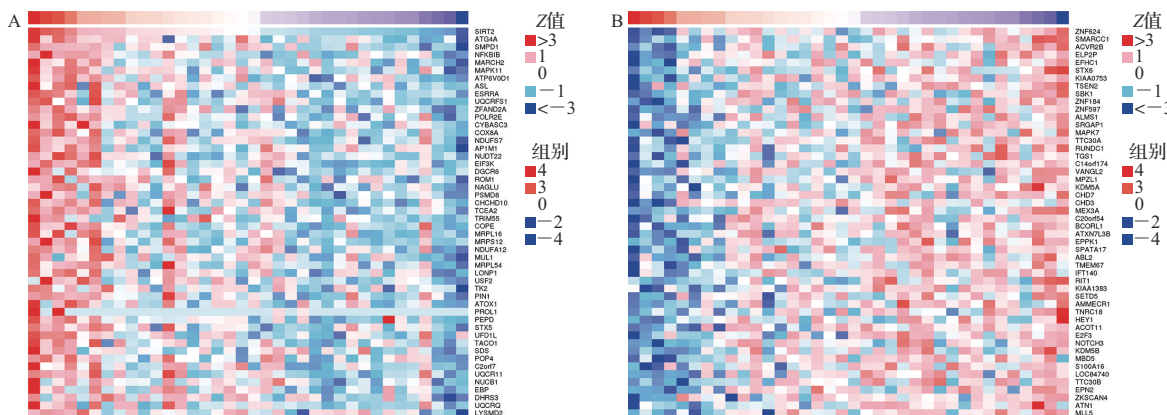
单因素COX回归分析结果显示,组织分化程度($HR=1.981,95\%CI:1.181\sim 3.323,P<0.05$)、TNM



SIRT: 沉默信息调节因子.

图3 胆管癌组织中SIRT2高表达的主要基因集富集分析结果

Figure 3 Main results of gene set enrichment analysis in cholangiocarcinoma with up-regulated SIRT2



A: SIRT2正相关前五十基因热图; B: SIRT2负相关前五十基因热图. SIRT: 沉默信息调节因子.

图4 胆管癌组织中SIRT2关联分子热图

Figure 4 Heat map of SIRT2-associated molecules in cholangiocarcinoma

分期($HR=2.521, 95\%CI: 1.392\sim 4.566, P<0.01$)、是否接受后续治疗($HR=0.586, 95\%CI: 0.351\sim 0.977, P<0.05$)及SIRT2表达($HR=1.897, 95\%CI: 1.127\sim 3.193, P<0.05$)与胆管癌术后患者总生存期显著相关(表2);多因素COX回归分析结果显示, TNM分期($HR=2.100, 95\%CI: 1.129\sim 3.904, P<0.05$)和SIRT2表达($HR=1.726, 95\%CI: 1.102\sim 2.944, P<0.05$)是胆管癌术后患者总生存期的独立预测因素(表3)。

2.6 胆管癌术后患者预后列线图模型的构建及验证

根据上述COX回归分析得出的影响胆管癌术后患者预后的因素,并结合有意义的重要临床病理参数构建列线图模型(图6),预测模型显示

得分越高的患者,所对应的预后越差。利用校准曲线验证该预测模型的性能,发现与参考曲线拟合度较高,C指数=0.675(0.638~0.712)(图7)。列线图模型、AJCC第八版TNM分期系统预测胆管癌患者1、2、3年存活的ROC曲线显示,列线图模型预测患者1、2、3年预后的AUC分别为0.879、0.778、0.953, AJCC第八版TNM分期系统预测患者1、2、3年预后的AUC分别为0.745、0.621、0.612(图8),提示该模型预测胆管癌术后患者生存较传统TNM分期效能更佳。

3 讨论

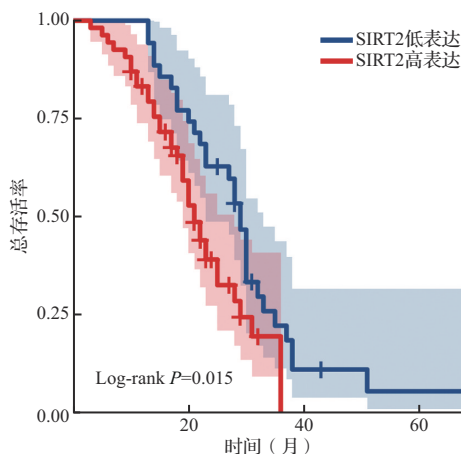
SIRT2是NAD⁺依赖的组蛋白去乙酰化酶,其表达异常与包括肿瘤在内的多种疾病有关^[11]。

表1 SIRT2表达与胆管癌患者临床病理特征的关系

Table 1 The relationship between SIRT2 expression level and the clinicopathological characteristics in patients with cholangiocarcinoma

变 量	[n(%)]		P 值
	低表达 (n=35)	高表达 (n=54)	
年龄≥60岁	20(57.1)	35(64.8)	>0.05
性别			
女性	14(40.0)	25(46.3)	>0.05
男性	21(60.0)	29(53.7)	
CA199升高	31(88.6)	43(79.6)	>0.05
癌胚抗原升高	8(22.9)	10(18.5)	>0.05
总胆红素升高	25(71.4)	39(72.2)	>0.05
总胆固醇升高*	17(48.6)	23(42.6)	>0.05
三酰甘油升高*	21(60.0)	17(31.5)	<0.05
肿瘤位置			
肝内	8(22.9)	10(18.5)	>0.05
肝外	27(77.1)	44(81.5)	
肿瘤大小≥40 mm	3(8.6)	16(29.6)	<0.05
多发肿瘤	11(31.4)	13(24.1)	>0.05
脉管侵犯	11(31.4)	8(14.8)	>0.05
淋巴结转移	2(5.7)	15(27.8)	<0.05
神经侵犯	7(20.0)	21(38.9)	>0.05
组织分化			
高分化	18(51.4)	25(46.3)	>0.05
中低分化	17(48.6)	29(53.7)	
TNM分期			
I期	30(85.7)	38(70.4)	>0.05
II~IV期	5(14.3)	16(29.6)	

*共11位患者生化检测缺少脂质分析,故低表达组和高表达组中总胆固醇、三酰甘油统计例数分别为32和46例。SIRT:沉默信息调节因子;CA:糖类抗原。



SIRT:沉默信息调节因子。

图5 基于研究者队列SIRT2高、低表达组胆管癌患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure 5 Kaplan-Meier survival curves in high and low SIRT2 expression groups based on the study cohort

表2 影响胆管癌患者预后的单因素回归分析结果

Table 2 Univariate regression analysis results of prognostic factors in patients with cholangiocarcinoma

变 量	HR(95%CI)	P 值
年龄≥60岁	1.625(0.973~2.713)	>0.05
男性	1.552(0.942~2.555)	>0.05
CA199升高	0.954(0.497~1.834)	>0.05
癌胚抗原升高	1.111(0.576~2.144)	>0.05
总胆红素升高	0.777(0.455~1.326)	>0.05
胆固醇升高*	0.861(0.511~1.451)	>0.05
三酰甘油升高*	0.791(0.464~1.349)	>0.05
肿瘤位置	0.915(0.507~1.654)	>0.05
肿瘤大小≥40 mm	1.057(0.560~1.996)	>0.05
多发肿瘤	1.330(0.779~2.272)	>0.05
脉管侵犯	1.024(0.573~1.829)	>0.05
淋巴结侵犯	0.986(0.512~1.896)	>0.05
神经侵犯	1.266(0.748~2.142)	>0.05
中低分化	1.981(1.181~3.323)	<0.05
TNM分期II~IV期	2.521(1.392~4.566)	<0.01
接受后续治疗	0.586(0.351~0.977)	<0.05
SIRT2高表达	1.897(1.127~3.193)	<0.05

*共11位患者生化检测缺少脂质分析,故胆固醇、三酰甘油统计例数为78例。SIRT:沉默信息调节因子;CA:糖类抗原。

表3 影响胆管癌患者预后的多因素回归分析结果

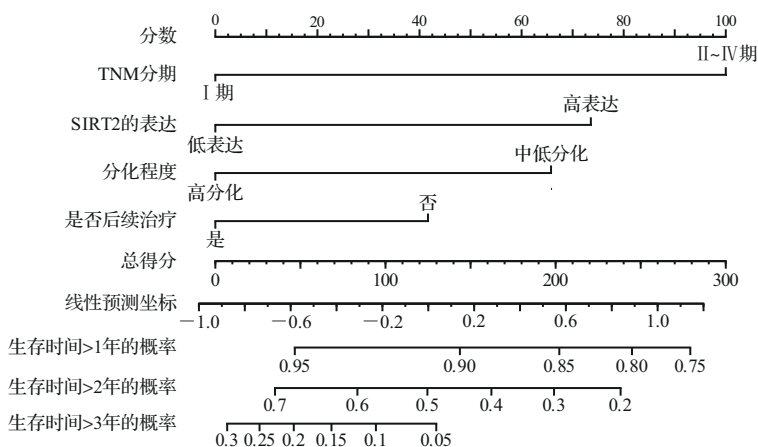
Table 3 Multivariate regression analysis results of prognostic factors in patients with cholangiocarcinoma

变 量	HR(95%CI)	P 值
中低分化	1.629(0.943~2.813)	>0.05
TNM分期II~IV期	2.100(1.129~3.904)	<0.05
接受后续治疗	0.734(0.419~1.285)	>0.05
SIRT2高表达	1.726(1.012~2.944)	<0.05

SIRT:沉默信息调节因子。

本研究通过TCGA、GEO公共数据库组学数据及研究者队列免疫组织化学染色结果综合分析表明,胆管癌患者肿瘤组织中SIRT2表达较癌旁组织显著增高。这一结果与既往关于SIRT2在胆管癌中的初步探索结果一致^[8],证实了SIRT2在胆管癌中显著过表达,提示SIRT2高表达可能促进了胆管癌的发生。

研究发现,SIRT2可以通过去乙酰化不同的内源性底物,参与糖、脂代谢等生物学功能的调节^[12]。在胆管癌中,Xu等^[8]发现SIRT2/cMYC诱导的代谢重编程可以促进细胞增殖和抑制凋亡;王平安^[9]发现,SIRT2可能通过调控乙酰化P53水平影响肝内胆管癌肿瘤细胞的增殖和侵袭。本研究通过基因集富集分析发现,SIRT2高表达显著富集



SIRT: 沉默信息调节因子.

图6 基于研究者队列胆管癌患者预后因素构建的列线图模型

Figure 6 Prognostic nomogram of cholangiocarcinoma patients based on the study cohort

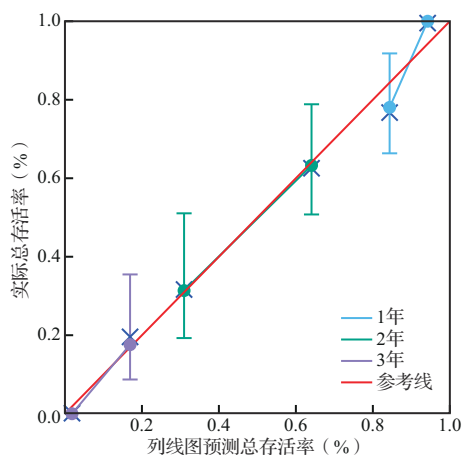


图7 列线图模型用于预测胆管癌患者术后总存活率的校准曲线

Figure 7 Calibration plots of the developed nomogram model for predicting overall survival rate of postoperative patients with cholangiocarcinoma

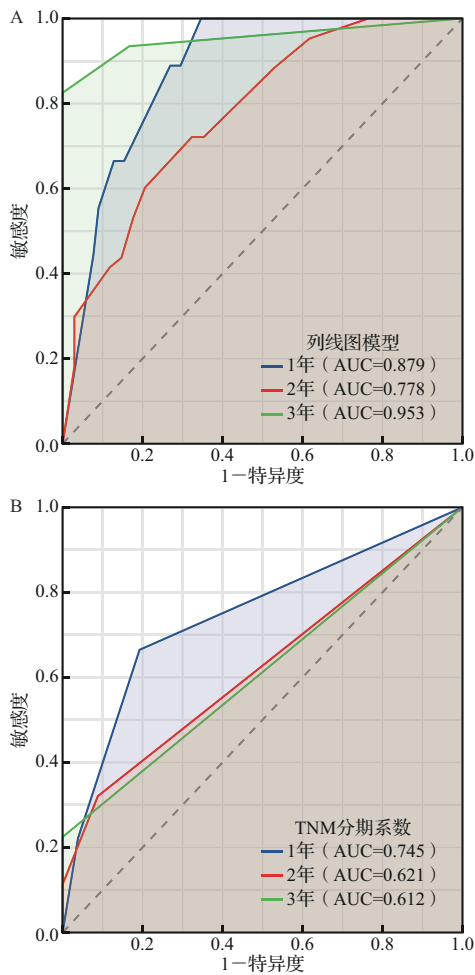
多种代谢相关通路,如核糖体、脂肪酸代谢、氧化磷酸化、氨基酸代谢、丙酮酸代谢等。众所周知,肿瘤细胞在癌症发生发展过程中可以通过代谢重编程赋予肿瘤细胞存活和增殖的能力。如癌细胞会通过“Warburg效应”促进糖酵解,从而提供肿瘤增殖所需的养分及能量^[13]。此外,研究发现某些脂肪酸和氨基酸如谷氨酰胺、丝氨酸和甘氨酸是促进癌细胞生长的代谢调节剂^[14-15]。结合现有研究及本文生物信息学分析结果,推测SIRT2可能在胆管癌中通过调控糖、脂质、氨基酸等物质的异常代谢促进肿瘤的发生发展,这值得进一步研究。

本研究临床病理特征分析提示,SIRT2的表

达与患者术前血三酰甘油水平、淋巴结是否转移和肿瘤大小存在相关性。既往研究发现,SIRT2表达与肿瘤分化程度、肿瘤大小存在关联^[8],本研究结果与其部分一致,共同提示SIRT2可能与胆管癌患者某些恶性表型相关。针对SIRT2表达与胆管癌患者血清三酰甘油水平的关系,与基因集富集分析结果部分相符,进一步佐证了SIRT2可能参与了胆管癌患者的脂质代谢紊乱调控。本研究基于大数据分析得到了SIRT2的关联分子,为后续SIRT2的深入机制研究提供了方向。

研究提供了方向。

本研究分析了SIRT2表达与胆管癌术后患者预后的相关性。国外一项最新研究报道了1124例切缘阴性的胆管癌患者中位总生存期为45.1个月^[16]。本研究纳入的89例胆管癌患者中位总生存期为23个月,较前者总生存期短,可能与本研究纳入胆管癌患者病例数较少、样本特点不同以及国内外疾病的综合管理差异有关。与此同时,国内一项研究报道胆管癌患者术后中位总生存期为13个月^[17],与本研究相比较低,可能原因是该研究纳入人群时间跨度较大(2013—2021年),而近些年国内胆管癌的治疗有所发展。研究发现,SIRT2高表达的胆管癌患者预后较SIRT2低表达患者差,这与Xu等^[8]的研究一致,共同揭示了SIRT2在胆管癌患者中的预后预测价值。基于研究者队列的胆管癌患者预后单因素COX回归分析表明,TNM分期、SIRT2表达、肿瘤分化程度、是否接受后续治疗与胆管癌患者生存相关,多因素COX回归分析结果提示SIRT2表达和TNM分期是术后胆管癌患者生存的独立预测因素。可见,无论从单因素还是多因素COX分析结果来看,SIRT2均有预测胆管癌术后患者预后的重要价值。探寻有效的生存预测模型对于胆管癌风险预测、疾病分层管理以及改善预后尤为重要。因此,本研究最后基于SIRT2构建了一个新型列线图预后模型,并且该模型被证实有较好的预测准确性,可能较AJCC第八版TNM分期系统预测效能更佳。但本研究仍存在部分不足:①本研究数据基于生物



A: 列线图模型的时间依赖性ROC曲线; B: TNM分期系统的时间依赖性ROC曲线. ROC曲线: 受试者操作特征曲线; AUC: 曲线下面积.

图8 列线图模型及TNM分期系统预测胆管癌患者术后预后情况的ROC曲线

Figure 8 Receiver operating characteristic curves for predicting the postoperative prognosis of patients with cholangiocarcinoma using nomogram model and TNM staging system

信息学分析及单中心队列研究,实验结果在推广前仍需进一步验证;②本研究纳入人群为胆管癌患者,尚未对亚类进行细分,因此结果的广泛适用性存在一定局限;③本研究虽然揭示了SIRT2在胆管癌中的预后价值并基于生物信息学分析初探了其可能的作用机制,但具体分子机制仍有待设计精良的体内外研究进一步揭示。

综上所述,本研究通过公共数据库及研究者队列数据揭示了SIRT2在胆管癌中的表达及临床价值,并基于SIRT2构建了有效生存预测模型,研究不仅丰富了胆管癌发病机制研究,也为临床医生更好地管理该类疾病患者提供新的预后预测

工具。

志谢 研究得到安徽省教育厅高校自然科学研究重大项目(2023AH040291)、安徽省高校优秀青年人才支持计划(gxyq2022042)、蚌埠医学院“512人才培养计划”(by51202208)支持

Acknowledgements This study was supported by the Natural Science Research Major Project of Universities of Anhui Province (2023AH040291), Excellent Youth Talents Support Program in Higher Education Institutions of Anhui Province (gxyq2022042), and 512 Talent Cultivation Plan of Bengbu Medical College (by51202208)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2024. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献 (References)

- [1] MAZZAFERRO V, GORGEN A, ROAYAIE S, et al. Liver resection and transplantation for intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(2): 364-377.
- [2] ELVEVI A, LAFFUSA A, SCARAVAGLIO M, et al. Clinical treatment of cholangiocarcinoma: an updated comprehensive review[J]. *Ann Hepatol*, 2022, 27(5): 100737.
- [3] AVENTAGGIATO M, VERNUCCI E, BARRECA F, et al. Sirtuins' control of autophagy and mitophagy in cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 221: 107748.
- [4] WANG Y, YANG J, HONG T, et al. SIRT2: controversy and multiple roles in disease and physiology[J]. *Ageing Res Rev*, 2019, 55: 100961.
- [5] ZHANG L, KIM S, REN X. The clinical significance of SIRT2 in malignancies: a tumor suppressor or an oncogene?[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1721.
- [6] LI Z, XIE Q R, CHEN Z, et al. Regulation of SIRT2 levels for human non-small cell lung cancer therapy [J]. *Lung Cancer*, 2013, 82(1): 9-15.
- [7] LUO J, BAO Y C, JI X X, et al. SPOP promotes SIRT2 degradation and suppresses non-small cell lung cancer cell growth[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(2): 880-884.
- [8] XU L, WANG L, ZHOU L, et al. The SIRT2/cMYC pathway inhibits peroxidation-related apoptosis in cholangiocarcinoma through metabolic reprogramming[J]. *Neoplasia*, 2019, 21(5): 429-441.
- [9] 王平安. 剪接因子SRSF2在肝癌中的作用及SIRT2在肝内胆管癌发生发展中的作用及机制研

- 究[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- WANG Ping'an. The role of splicing factor SRSF2 in hepatocellular carcinoma and the role of SIRT2 in intrahepatic cholangiocarcinoma[D]. Jinan: Shandong University, 2018. (in Chinese)
- [10] 周 奇, 王卫东. FFAR4、HDGF 在胆管癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系[J]. *川北医学院学报*, 2022, 37(6): 729-733.
- ZHOU Qi, WANG Weidong. Expression of FFAR4 and HDGF in cholangiocarcinoma and their relationship with clinicopathological features[J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2022, 37(6): 729-733. (in Chinese)
- [11] CHEN G, HUANG P, HU C. The role of SIRT2 in cancer: a novel therapeutic target[J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(12): 3297-3304.
- [12] GOMES P, FLEMING OUTEIRO T, CAVADAS C. Emerging role of Sirtuin 2 in the regulation of mammalian metabolism[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36(11): 756-768.
- [13] PAVLOVA N N, ZHU J, THOMPSON C B. The hallmarks of cancer metabolism: still emerging[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(3): 355-377.
- [14] LI Z, ZHANG H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(2): 377-392.
- [15] GYAMFI J, KIM J, CHOI J. Cancer as a metabolic disorder[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1155.
- [16] IZQUIERDO-SANCHEZ L, LAMARCA A, LA CASTA A, et al. Cholangiocarcinoma landscape in Europe: diagnostic, prognostic and therapeutic insights from the ENSCCA registry[J]. *J Hepatol*, 2022, 76(5): 1109-1121.
- [17] 牛英杰, 查 勇, 李思嘉, 等. 胆管癌根治性切除术后患者预后相关因素分析和生存预测模型构建[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(4): 979-987.
- NIU Yingjie, ZHA Yong, LI Sijia, et al. Analysis on prognosis related factors of patients with cholangiocarcinoma after radical resection and establishment of survival prediction model[J]. *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2022, 48(4): 979-987. (in Chinese)

[本文编辑 余方沈敏]

· 学术动态 ·

陆华松研究员团队合作成果揭示 TAZ 凝聚体物质属性与功能偶联新机制

2024年1月3日,浙江大学生命科学研究院陆华松研究员与杨兵研究员团队合作在《自然·细胞生物学》(*Nature Cell Biology*)发表题为“A chaperone-like function of FUS ensures TAZ condensate dynamics and transcriptional activation”的研究论文(DOI: 10.1038/s41556-023-01309-3),揭示了生物大分子凝聚体物质属性与其功能维持的紧密联系,发现FUS具有“分子伴侣样”的新功能,能够维持TAZ凝聚体的流动性,从而促进其转录活性的重要功能。

研究人员首先优化了具有邻近增强效应的化学交联剂,建立了一套针对TAZ凝聚体的体外重构和交联质谱方案,并利用该技术绘制了TAZ凝聚体的蛋白互作图谱。研究者筛选并验证了多个与TAZ凝聚体存在互作的候选因子,证实了该方案在无膜凝聚体组分解析中的应用价值。他们发现FUS的低复杂性结构域(LCD)可与TAZ的CC结构域直接互作,并受上游DNA-PK介导的LCD磷酸化调控。通过识别CC结构域,FUS能够显著地限制CC结构域对TAZ凝聚体形成的驱动作用,并且该过程不受Hippo信号通路上游的调控。FUS能够促进TAZ凝聚体内的分子流动性;相反,当FUS缺失时,TAZ凝聚体的流动性显著降低,呈现由“液态”向“固态”转换的特征。研究人员发现FUS通过维持TAZ凝聚体的“液态”物质属性,能显著促进由TAZ驱动的转录激活和肿瘤生长能力。

浙江大学生命科学研究院邵阳晴博士研究生、舒鑫博士和同济大学卢毅博士为论文第一作者。研究得到国家自然科学基金等支持。