

候选生物标志物TMSB15A的鉴定及其在乳腺癌中的预后价值

王 颜^{1*}, 李 健^{2#}

¹山东农业大学, 山东 泰安

²泰安市中心医院, 山东 泰安

收稿日期: 2021年11月7日; 录用日期: 2021年12月7日; 发布日期: 2021年12月16日

摘 要

目的: 乳腺癌(BC)是女最常见的恶性肿瘤。胸腺素 β 15A (TMSB15A)在多个癌症中起重要作用。本研究旨在分析TMSB15A mRNA表达在BC中的表达和预后价值。方法: 我们利用癌症基因组图谱(TCGA)数据库和基因型组织表达(GTEX)数据分析TMSB15A mRNA的表达。Kaplan-Meier分析用于确定TMSB15A mRNA表达在BC中的预后价值。利用TCGA数据进行基因集富集分析(GSEA)。结果: 我们的结果显示TMSB15A mRNA在BC组织中的表达显著高于正常组织。TMSB15A高表达与BC的分子分型中的3个主要分子检测指标(ER, PR, HER2)有关, 并且在Basal (三阴性)亚型中表达量最高。GSEA分析表明TMSB15A高表达患者中主要富集在细胞周期, DNA复制, p53通路和多个代谢通路等肿瘤增殖相关通路。结论: 总之, 我们的结果表明TMSB15A是一种有前途的BC预后生物标志物。

关键词

TMSB15A, TCGA, 乳腺癌, 预后

Identification of Candidate Biomarker TMSB15A and Its Prognostic Value in Breast Cancer

Yan Wang^{1*}, Jian Li^{2#}

¹Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong

²Tai'an Central Hospital, Tai'an Shandong

*第一作者。

#通讯作者。

Abstract

Objective: Breast Cancer (BC) is the most common malignant tumor in women. Thymosin β 15A (TMSB15A) mRNA plays an important role in many cancers. This study aims to analyze the expression and prognostic value of TMSB15A mRNA in BC. **Methods:** We explored the expression of TMSB15A mRNA through the Cancer Genome Atlas (TCGA) and Genotype-Tissue Expression (GTEx) database. Kaplan-Meier analysis was used to determine the prognostic value of TMSB15A mRNA expression in BC. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) was performed by TCGA data. **Results:** Our results showed that the expression of TMSB15A mRNA in BC tissues was significantly higher than that in normal tissues. The high expression of TMSB15A is related to the three main molecular detection indicators (ER, PR, HER2) in the molecular subtype of BC, and the expression level was the highest in the Basal (Triple Negative) subtype. GSEA analysis showed that patients with high expression of TMSB15A were mainly enriched in tumor proliferation-related pathways such as cell cycle, DNA replication, 5p3 pathway and multiple metabolic pathways. **Conclusion:** In summary, our results indicated that TMSB15A was a promising prognostic biomarker for BC.

Keywords

TMSB15A, TCGA, Breast Cancer, Prognosis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乳腺癌(BC)是最常见的癌症,也是女性癌症死亡的主要原因,占全球所有癌症的 25%,占癌症死亡的 15% [1]。目前乳腺癌的治疗有多种方法,如手术、化疗、内分泌治疗、放疗和靶向治疗等,虽然治疗效果较之前有很大提高,但由于乳腺癌是一种异质性很强的疾病,仍有部分患者很快出现复发及转移。目前临床治疗选择主要基于分子分型和病理分期系统,虽然出现了很多新的预后分子标志物,如 PIP [2], CD24 [3], CXCR4 [4]和 AR [5]等,但有效的个性化乳腺癌治疗仍然难以实现。因此,寻找新的乳腺癌治疗标志物对乳腺癌早期诊断和治疗是有重要作用的。

TMSB15A 编码胸腺素 β 15A (TMSB15A),是 β 胸腺素调节蛋白家族的成员[6]。作为肌动蛋白螯合蛋白,它有抑制肌动蛋白聚合并破坏 F-肌动蛋白的形成的作用[7]。有研究表明 TMSB15A 在肝癌中的表达明显高于癌旁组织[8] [9],在再生障碍性贫血患者中显著下调[10],也是右侧结肠癌与左侧结肠癌基因组中表达显著差异的一个基因[11],在前列腺癌中也是高度表达,并且与 Gleason 分级有关,可能是前列腺癌的候选生物标志物[12]。对子宫内膜癌、卵巢癌和肾上腺皮质癌的预后预测作用[13] [14] [15]。但 TMSB15A 在乳腺癌患者中的具体表达、预后预测作用尚不清楚,还有待进一步阐明。

在本研究中,我们比较了 BC 和正常组织中 TMSB15A mRNA 的表达,评估了 BC 患者的临床特征与 TMSB15A mRNA 表达之间的相关性。我们使用 GSEA 分析了 TMSB15A 参与的主要相关的生物途径。我们的结果表明, TMSB15A 是一种有前途的 BC 诊断和预后生物标志物。

2. 资料与方法

2.1. TMSB15A 在泛癌和乳腺癌(BC)各临床特征亚组中的表达

我们从 UCSC XENA 的癌症基因组图谱(TCGA)数据库和基因型组织表达(GTEX)数据库下载了 33 种肿瘤类型和正常组织的 RNA-seq 数据和相关临床数据。TPM (transcripts per million reads)格式的 RNAseq 数据进行 log2 转化后进行分析比较。使用 Wilcoxon 秩和检验检测 TMSB15A 在泛癌和正常组织, 及乳腺癌(BC)各临床特征亚组中的表达差异, $p < 0.05$ 被认为具有统计学意义(ns, $p \geq 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)。

2.2. 生存预后分析

我们使用 Kaplan-Meier 方法评估 TMSB15A 表达与 BC 患者预后之间的关系。Kaplan-Meier 方法是一种用于估计生存的函数, 可分析单个因素及分层控制混杂因素的生存分析方法,是生存分析的常用方法。此外, 我们进一步研究了 BC 不同临床亚组中 TMSB15A 表达与预后之间的关系。survminer 包用于可视化及统计分析。 $p < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2.3. 基因集富集分析

我们使用 GSEA4.1.0 软件进行基因集富集分析(GSEA)以分析 TCGA 队列中高 TMSB15A 组和低 TMSB15A 组之间差异基因的富集通路。错误发现率 < 0.25 和 nom p 值 < 0.05 的基因集被认为是显著的。

2.4. 统计学分析

所有统计分析使用 R (4.0.2 版)软件进行, 可视化使用 ggplot2 包。Wilcoxon 秩和检验用于比较两组数据的差异, $p < 0.05$ 被认为具有统计学意义(ns, $p \geq 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)。

3. 结果

3.1. TMSB15A mRNA 在泛癌及乳腺癌各临床亚组中的表达

TMSB15A 在泛癌和癌旁正常组织中的 mRNA 表达差异见图 1(A), 可见相较于正常组织, TMSB15A mRNA 在绝大部分癌症(包括乳腺癌, 图 1(B))中表达水平显著升高($p < 0.001$)。进一步分析其在乳腺癌(BC)各临床亚组中的表达, 可见 TMSB15A 在雌激素受体(ER)阴性, 孕激素受体(PR)阴性亚组中表达显著高于阳性亚组($p < 0.001$), 在人表皮生长因子受体(HER2)阳性亚组中表达水平显著高于阴性亚组, 有统计学意义($p < 0.01$), 在 PAM50 分子分型中的 Basal (三阴性)亚型中表达量最高, 显著高于其他所有亚型(均 $p < 0.05$)。

3.2. TMSB15A 高表达是 BC 患者的不良预后因素

TMSB15A 表达水平与 BC 生存关系的 Kaplan-Meier 分析显示, TMSB15A 低表达患者的总生存(OS), 疾病特异性生存(DSS)和无进展生存期(PFI)均优于高表达组(图 2(A)~(C)), $p < 0.01$ 。进一步的临床亚组 Kaplan-Meier 分析显示 TMSB15A 在 T1-2, T3-4, N1-3, M0, Stage III-IV, 年龄 ≤ 60 , Luminal B 型和绝经后亚组中低表达的患者预后 OS 均优于高表达患者(图 2(D)~(K)), $p < 0.05$ 。

3.3. 基因集富集分析(GSEA)

在本研究中, GSEA 用于分析 TMSB15A 高表达和低表达患者之间的显著生物学途径和功能差异。结果显示在 TMSB15A 高表达患者中主要富集在细胞周期, DNA 复制, p53 通路和多个代谢通路等肿瘤增殖相关通路(图 3)。

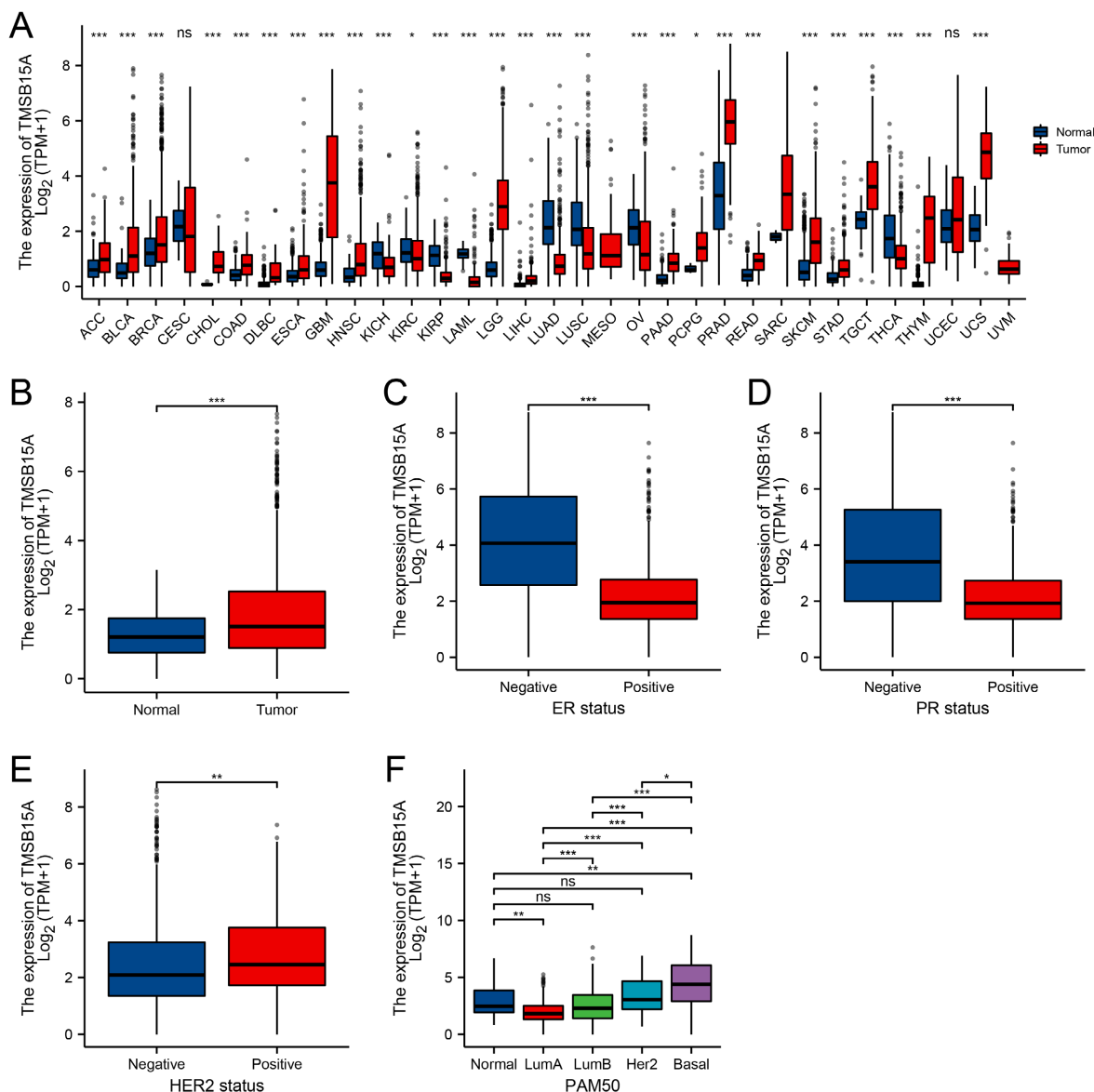


Figure 1. Differences in the expression of TMSB15A mRNA. (A) In pan-cancer and normal tissues; (B) In BC and normal tissues; (C) In ER subgroup; (D) In PR subgroup; (E) In HER2 subgroup; (F) In PAM50 subgroup ($p < 0.05$).

图 1. TMSB15A mRNA 的表达差异。(A) 泛癌和正常组织中; (B) BC 和正常组织中; (C) ER 亚组中; (D) PR 亚组中; (E) HER2 亚组中; (F) PAM50 亚组中(p 均 < 0.05)。

4. 讨论

在这项研究中, 我们的结果证实 TMSB15A mRNA 在 BC 组织中的表达显著高于正常组织, 并主要与分子分型中的 3 个主要分子检测指标(ER, PR, HER2)有关, 与其他临床特征如 TNM 分期, 年龄等无明显关联。TMSB15A 在 Basal 乳腺癌, 也就是在三阴性乳腺癌中表达量最高, 说明了它可能作为三阴性乳腺癌(TNBC)的一个新的治疗靶向。这与先前的研究一致, 研究表明在 TNBC 中 TMSB15A 的表达显著高于管腔型乳腺癌[6]。此外, TMSB15A mRNA 高表达与较差的 OS, DSS 和 PFI 相关, 进一步的临床亚组分析显示 TMSB15A 在所有的 T 分期, 淋巴结转移, 无远处转移, 病理分期较晚, 年轻患者, Luminal B 型和绝经后亚组中更加适用, 表明 TMSB15A 确实是 BC 的一个不良预后预测因素。

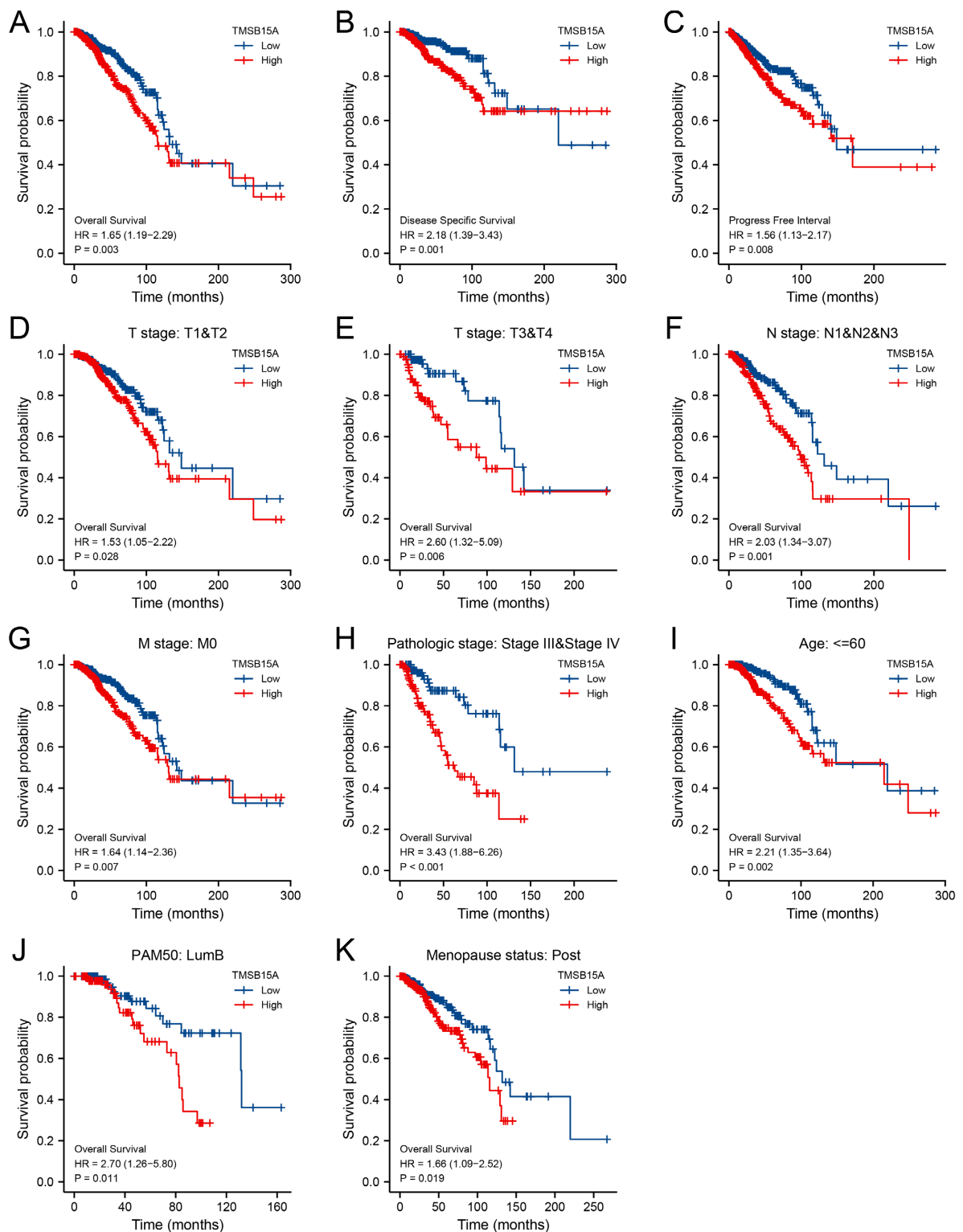


Figure 2. Prognostic analysis of TMSB15A mRNA expression. (A), (B), (C) Kaplan-Meier curves of OS, DSS and PFI of patients between high and low expression of TMSB15A group in BC; (D) T1-2; (E) T3-4; (F) N1-3; (G) M0; (H) Stage III-IV; (I) Age ≤ 60 ; (J) Luminal B subtype; (K) Postmenopausal

图 2. TMSB15A mRNA 表达的预后分析。(A), (B), (C) BC 中 TMSB15A 高低表达患者的 OS, DSS 和 PFI 的 Kaplan-Meier 曲线; (D) T1-2; (E) T3-4; (F) N1-3; (G) M0; (H) Stage III-IV; (I) 年龄 ≤ 60 ; (J) Luminal B 亚型; (K) 绝经后

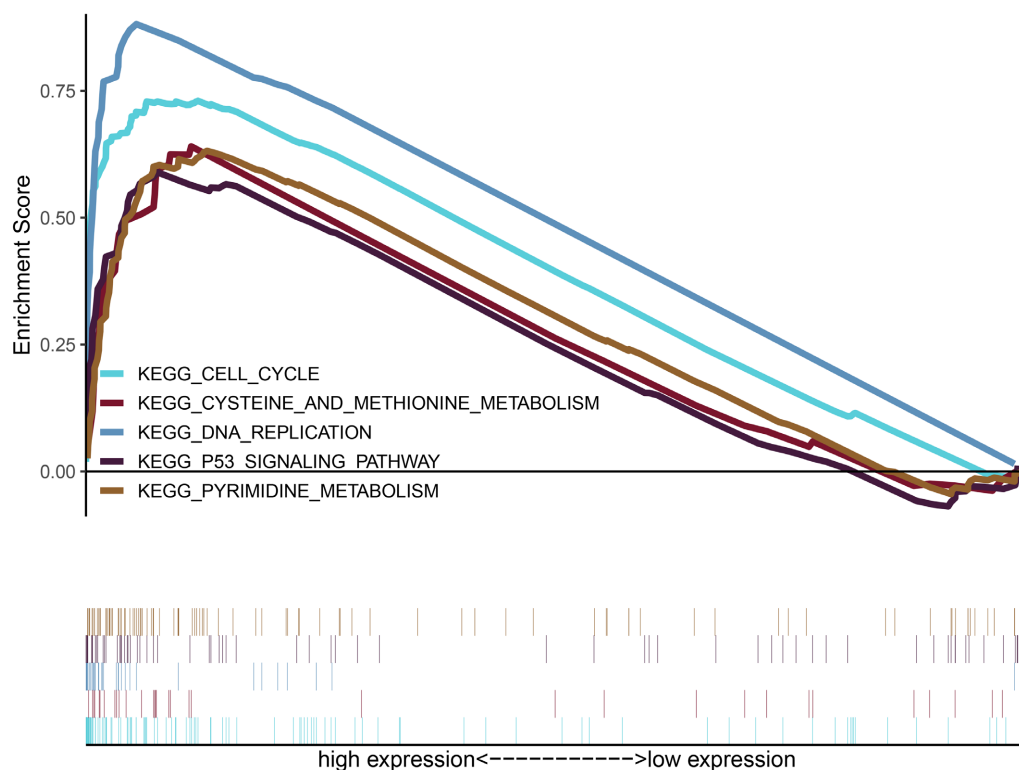


Figure 3. Analysis of the main enrichment pathways in patients with high expression of TMSB15A by GSEA method
图 3. 用 GSEA 方法分析 TMSB15A 高表达患者的主要富集通路

为了研究 TMSB15A 在乳腺癌中的作用机制, 我们进行了 GSEA 分析显示 TMSB15A 主要是通过促进 DNA 复制, 细胞周期和代谢及 p53 等相关肿瘤通路来促进乳腺癌的发生及进展的。此外, 先前研究表明 TMSB15A 基因表达是 TNBC 对新辅助化疗药物如蒽环, 紫杉类和卡铂类治疗反应的阳性预测因子[6] [16] [17]。并且是原发性乳腺癌中有淋巴结转移和无淋巴结转移的中的一个显著差异基因, 说明其在乳腺癌中确实是起重要作用的。TMSB15A 还有另一种同种型, 命名为 TMSB15B, 它们在不同的肿瘤细胞系和组织中具有不同的表达模式, 这两种基因同种型也受不同的转录调控, 并且用转化生长因子 $\beta 1$ 处理 MCF-7 乳腺癌细胞抑制了 TMSB15A 表达[18]。

总的来说, 我们的研究证实了 TMSB15A mRNA 在 BC 患者的表达和预后价值。然而, 也有一些限制。例如, 我们只进行了生物信息学挖掘, 我们的结果将来需要在临床样本中进行验证, 还有本研究关注的是 TMSB15A 的 mRNA 水平, 而不是蛋白水平, 它在 BC 中的具体机制有待进一步研究。

5. 结论

TMSB15A mRNA 在 BC 组织中表达升高。而且, 较高的 TMSB15A 表达与 BC 患者的总生存率较低相关。此外, TMSB15A mRNA 的表达是 BC 独立的预后因素, 使其成为未来具有巨大潜力的生物标志物。

基金项目

泰安市科技发展规划(引导计划)项目(2018NS0222)。

参考文献

- [1] Sparano, J., O'Neill, A., Alpaugh, K., Wolff, A.C., Northfelt, D.W., Dang, C.T., Sledge, G.W. and Miller, K.D. (2018)

- Association of Circulating Tumor Cells with Late Recurrence of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*, **4**, 1700-1706. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.2574>
- [2] Sharif, R., Bak-Nielsen, S., Sejersen, H., Ding, K., Hjortdal, J. and Karamichos, D. (2019) Prolactin-Induced Protein Is a Novel Biomarker for Keratoconus. *Experimental Eye Research*, **179**, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.10.015>
- [3] Gallardo, M., Kemmerling, U., Aguayo, F., *et al.* (2020) Curcumin Rescues Breast Cells from Epithelial-Mesenchymal Transition and Invasion Induced by Anti-miR-34a. *International Journal of Oncology*, **56**, 480-493. <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4939>
- [4] Liu, X.Q., Fourel, L., Dalonneau, F., Sadir, R., Leala, S., Lortat-Jacob, H., Weidenhaupt, M., Albiges-Rizo, C. and Picart, C. (2017) Biomaterial-Enabled Delivery of SDF-1 α at the Ventral Side of Breast Cancer Cells Reveals a Crosstalk between Cell Receptors to Promote the Invasive Phenotype. *Biomaterials*, **127**, 61-74. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.02.035>
- [5] Liao, Y., Xia, X., Liu, N., *et al.* (2018) Growth Arrest and Apoptosis Induction in Androgen Receptor-Positive Human Breast Cancer Cells by Inhibition of USp14-Mediated Androgen Receptor Deubiquitination. *Oncogene*, **37**, 1896-1910. <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0069-z>
- [6] Darb-Esfahani, S., Kronenwett, R., von Minckwitz, G., *et al.* (2012) Thymosin Beta 15A (TMSB15A) Is a Predictor of Chemotherapy Response in Triple-Negative Breast Cancer. *British Journal of Cancer*, **107**, 1892-1900. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.475>
- [7] Safer, D. and Nachmias, G. (1990) Isolation of a 5-Kilodalton Actin-Sequestering Peptide from Human Blood Platelets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **87**, 2536-2540. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.7.2536>
- [8] 魏臻, 王锋, 于世平, 等. TMSB15A 基因在肝癌中的表达及其生物信息学分析[J]. *中国药物与临床*, 2017, 17(1): 35-38.
- [9] Liu, T., Wu, H., Qi, J., *et al.* (2020) Seven Immune-Related Genes Prognostic Power and Correlation with Tumor-Infiltrating Immune Cells in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Medicine*, **9**, 7440-7452. <https://doi.org/10.1002/cam4.3406>
- [10] Adhikari, S., Nayek, K., Bandyopadhyay, A., *et al.* (2021) Implication of Therapeutic Outcomes Associated with Molecular Characterization of Paediatric Aplastic Anaemia. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **25**, Article ID: 100899. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100899>
- [11] Peng, Q., Lin, K., Chang, T., *et al.* (2018) Identification of Genomic Expression Differences between Right-Sided and Left-Sided Colon Cancer Based on Bioinformatics Analysis. *Oncotargets and Therapy*, **11**, 609-618. <https://doi.org/10.2147/OTT.S154207>
- [12] Wang, X. and Gotoh, O. (2009) Accurate Molecular Classification of Cancer Using Simple Rules. *BMC Medical Genomics*, **2**, 1-23. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-2-64>
- [13] Liu, J., Chen, X., Jiang, Y. and Cheng, W. (2020) Development of an Immune Gene Prognostic Classifier for Survival Prediction and Respond to Immunocheckpoint Inhibitor Therapy/Chemotherapy in Endometrial Cancer. *International Immunopharmacology*, **86**, Article ID: 106735. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106735>
- [14] Kunze, C.A. (2015) Aldehyde Dehydrogenase 1 A1, Thymosin- β 15A and Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 as Prognostic Markers in Ovarian Carcinoma.
- [15] Fu, Y., Sun, S., Bi, J., *et al.* (2020) Construction of a Risk Signature for Adrenocortical Carcinoma Using Immune-Related Genes. *Translational Andrology and Urology*, **9**, 1920-1930. <https://doi.org/10.21037/tau-20-485>
- [16] Darb-Esfahani, S., Kronenwett, R., Minckwitz, G.V., Kuemmel, S., Budczies, J., Gehrmann, A.R., Denkert, C., Bois, A.D. and Loibl, S. (2010) Identification of Thymosin Beta 15 A (TMSB15A) mRNA Expression as a Predictor for Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Operable Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **28**, Article No. 10514. https://doi.org/10.1200/jco.2010.28.15_suppl.10514
- [17] Petrosyan, V., Dobrolecki, L.E., Thistlethwaite, L., (2021) A Network Approach to Identify Biomarkers of Differential Chemotherapy Response Using Patient-Derived Xenografts of Triple-Negative Breast Cancer. <https://doi.org/10.1101/2021.08.20.457116>
- [18] Banyard, J., Barrows, C. and Zetter, B. (2009) Differential Regulation of Human Thymosin Beta 15 Isoforms by Transforming Growth Factor Beta 1. *Genes Chromosomes Cancer*, **48**, 502-509. <https://doi.org/10.1002/gcc.20659>