

拓扑异构酶 II α 与非小细胞肺癌预后及免疫浸润相关性的研究

Analysis of correlation between topoisomerase II alpha and the prognosis and immune infiltration in non-small cell lung cancer

刘钟桢¹, 朱青², 刘新民¹,
焦红梅¹

(1. 北京大学第一医院老年病内科, 北京 100034; 2. 上海交通大学医学院附属仁济医院内科, 上海 200001)

LIU Zhong-hui¹, ZHU Qing²,
LIU Xin-min¹, JIAO Hong-mei¹

(1. Department of Geriatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 2. Department of Internal Medicine, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200001, China)

基金项目: 北京大学第一医院交叉研究专项课题资助项目(2024IR40)

作者简介: 刘钟桢(1990-), 男, 主治医师, 主要从事老年呼吸系统疾病的相关研究

通信作者: 焦红梅, 主任医师, 博士生导师
MP: 13651199908
E-mail: jiaohm@139.com

摘要:目的 用生物信息学方法分析拓扑异构酶 II α (*TOP2A*) 基因与肺癌预后及免疫细胞浸润的相关性。方法 用肿瘤免疫估算资源(TIMER)数据库分析肺癌患者 *TOP2A* 的表达差异。通过 Kaplan-Meier Plotter 和 PrognScan 数据库评估 *TOP2A* 表达与肺癌预后的相关性。用 TIMER 数据库分析免疫浸润相关基因标记集与 *TOP2A* 表达的相关性。分别通过 GeneMANIA 和 STRING 工具构建基因和蛋白质之间的相互作用网络。通过 miRWalk 和 DIANA-LncBase v2 数据库分析 *TOP2A* 可能的表达调控网络。结果 *TOP2A* 在肺腺癌及鳞癌中的表达显著上调, 且高 *TOP2A* 表达与肺癌患者的总生存期、首次进展生存期和进展后生存期降低显著相关。*TOP2A* 的表达与肺癌中多种免疫细胞浸润显著相关, 包括单核细胞、中性粒细胞、肿瘤相关巨噬细胞、辅助 T 细胞 1、调节 T 细胞和耗竭 T 细胞。此外, *TOP2A* 相关的基因或蛋白质网络主要与基因转录和细胞周期的调节有关, 一个长链非编码 RNA(lncRNA) ENSG00000279978 被确定与肺腺癌和肺鳞癌的发展有关。结论 *TOP2A* 是肺癌预后及免疫浸润相关的生物标志物, 可能成为肺癌免疫治疗的潜在靶点。

关键词: 拓扑异构酶 II α ; 肺癌; 免疫浸润; 预后; 生物标志物

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.04.024

中图分类号: R97 **文献标志码:** B

文章编号: 1001-6821(2025)04-565-05

Abstract: **Objective** To analyze the correlations between topoisomerase II alpha (*TOP2A*) and prognosis and immune infiltration in lung cancer. **Methods** The expression difference of *TOP2A* in lung cancer patients was examined by tumor immune estimation resource (TIMER) database. The prognostic value of *TOP2A* in lung cancer was evaluated using the Kaplan-Meier Plotter and PrognScan databases. Additionally, the correlation between immune infiltration related gene marker sets and *TOP2A* expression was analyzed by TIMER database. The gene-gene and protein-protein interactions were determined using GeneMANIA and STRING for network construction, respectively. The possible regulatory network of *TOP2A* was explored by miRWalk and DIANA-LncBase v2 databases. **Results** The expression of *TOP2A* in lung adenocarcinoma (LUAD) and squamous cell carcinoma (LUSC) was significantly upregulated and high expression of *TOP2A* was significantly associated with reduced overall survival, first progression survival, and post-progression survival in lung cancer patients. *TOP2A* expression was significantly correlated with the infiltration of immune cells

in lung cancer, including monocytes, neutrophils, tumor-associated macrophages, helper T cells 1, regulatory T cells, and exhausted T cells. The majority of genes or proteins associated with TOP2A were involved in the regulation of gene transcription and cell cycle. An lncRNA (ENSG00000279978) was identified as being related to the progression of LUAD and LUSC. **Conclusion** TOP2A is an immune infiltration-related prognostic biomarker for lung cancer and may serve as a potential therapeutic target.

Key words: topoisomerase II alpha; lung cancer; immune infiltration; prognosis; biomarker

肺癌是全球最常见的癌症之一,其发病率和死亡率均位居前列^[1],其中80%~85%为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),主要包括肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)^[2]。在肿瘤免疫微环境中,免疫细胞的浸润和功能状态对肿瘤的发展和反应具有重要影响。尽管免疫检查点抑制剂为肺癌治疗带来了新希望,但是个体差异和肿瘤异质性导致效果有限,肺癌患者的生存率仍然较低^[3]。拓扑异构酶II α (topoisomerase II alpha, TOP2A)编码DNA拓扑异构酶并在转录过程中调节DNA的拓扑状态^[4],已发现其与多种癌症预后不良相关。本研究通过生物信息学分析,探讨TOP2A在肺癌中的表达及其与免疫细胞浸润的关系,旨在评估TOP2A在调节肺癌免疫浸润中的潜在作用,为肺癌免疫治疗寻找新的靶点。

材料和方法

1 肿瘤免疫估算资源(tumor immune estimation resource, TIMER)数据库分析

用TIMER数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>),通过“Diff Exp.”模块分析不同癌症中TOP2A的表达水平。通过“Gene”模块分析LUAD和LUSC中TOP2A水平与免疫细胞浸润水平之间的相关性,包括B细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞。通过“Correlation”模块分析TOP2A表达与不同免疫细胞的基因标记集之间的相关性,包括单核细胞、中性粒细胞、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)、辅助T细胞(helper T cell 1, Th1)、调节T细胞(regulatory T cell, Treg)和耗竭T细胞。

2 基因表达分析交互式分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA)数据库分析

用GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>),通过“Expression DIY”模块的log2(TPM+1)选项对比LUAD或LUSC与正常癌旁组织

之间TOP2A表达的差异。

3 Kaplan-Meier plotter 分析

通过Kaplan-Meier plotter(<http://kmplot.com/analysis/>)对TOP2A表达与LUAD和LUSC的生存时间进行分析,包括总生存期(overall survival, OS)、首次进展生存期(first progression survival, FPS)和进展后生存期(post progression survival, PPS)。

4 PrognoScan 数据库分析

用PrognoScan数据库(<http://www.abren.net/PrognoScan/>)研究TOP2A表达与LUAD和LUSC的OS之间的相关性,选择LUAD的GSE13213、GSE31210数据集以及LUSC的GSE17710、GSE4573数据集。

5 TOP2A 基因和蛋白质相互作用网络构建

用GeneMANIA数据库(<http://www.genemania.org>)构建TOP2A基因相互作用网络,用STRING数据库(<https://string-db.org/>)构建TOP2A的蛋白质相互作用网络。

6 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络

通过癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库提供的LUSC和LUAD的miRNA数据集,探索肺癌和癌旁组织之间的差异。通过miRWalk数据库(<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)预测与TOP2A匹配的靶向miRNA,通过DIANA-lncBase v2数据库提取在LUSC和LUAD长链非编码RNA(long non-coded RNA, lncRNA)预测中显著不同的miRNA,以构建lncRNA-miRNA-mRNA网络。

结 果

1 TOP2A 在肺癌中表达上调

用TIMER数据库对比人类癌症中TOP2A mRNA表达水平,结果发现,LUAD和LUSC中的TOP2A mRNA表达水平均较相应正常组织显著上调(均 $P<0.05$),见图1A。在GEPIA数据库中,LUAD和LUSC中TOP2A mRNA水平也均较相应正常组织显著上调,见图1B。

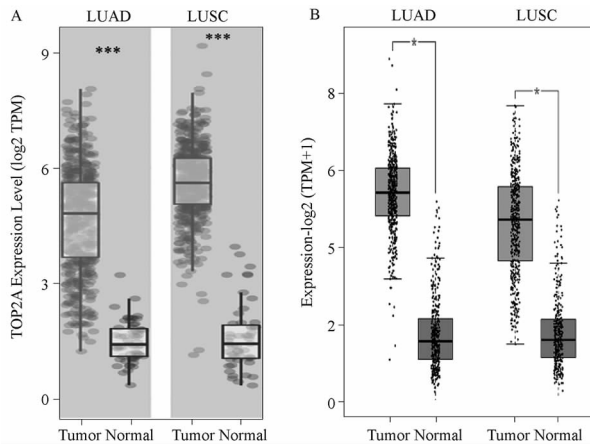


图1 肺腺癌(LUAD)和肺鳞状细胞癌(LUSC)中拓扑异构酶Ⅱα(*TOP2A*)mRNA表达水平

Figure 1 The mRNA expression of topoisomerase II alpha (*TOP2A*) in lung adenocarcinoma (LUAD) and lung squamous cell carcinoma (LUSC)

A: Tumor immune estimation resource database; B: Gene expression profiling interactive analysis database; *: $P < 0.05$, **: $P < 0.001$.

2 *TOP2A* 水平与肺癌患者预后不良相关

根据 Kaplan - Meier Plotter 的分析,*TOP2A* 高表达肺癌患者的 OS、FPS 和 PPS 均显著劣于低表达肺癌患者(均 $P < 0.01$; 见图 2A ~ C)。对于 LUAD 患者,*TOP2A* 高表达患者的 OS 和 FPS 均较低表达患者显著降低(均 $P < 0.01$; 见图 2D ~ E),而 PPS 无显著性差异($P > 0.05$; 见图 2F);*TOP2A* 低、高表达 LUSC 患者的 OS、FPS 和 PPS 均无显著性差异(均 $P > 0.05$; 见图 2G ~ I)。

在 GSE13213 数据集中,*TOP2A* 高表达的 LUAD 患者表现出显著较低的 OS [风险比 (hazard ratio, HR) = 1.78 (1.35 ~ 2.35), $P < 0.001$]; 在 GSE31210 数据集中,*TOP2A* 高表达也与 LUAD 患者 OS 降低显著相关 [HR = 1.88 (1.30 ~ 2.72), $P < 0.001$]。对于 LUSC 患者,*TOP2A* 高表达的患者表现出较低的 OS, 但在 GSE17710 数据集 [HR = 1.36 (0.93 ~ 1.97), $P > 0.05$] 和 GSE4573 数据集 [HR = 1.07 (0.76 ~ 1.51), $P > 0.05$] 中均无显著性差异。

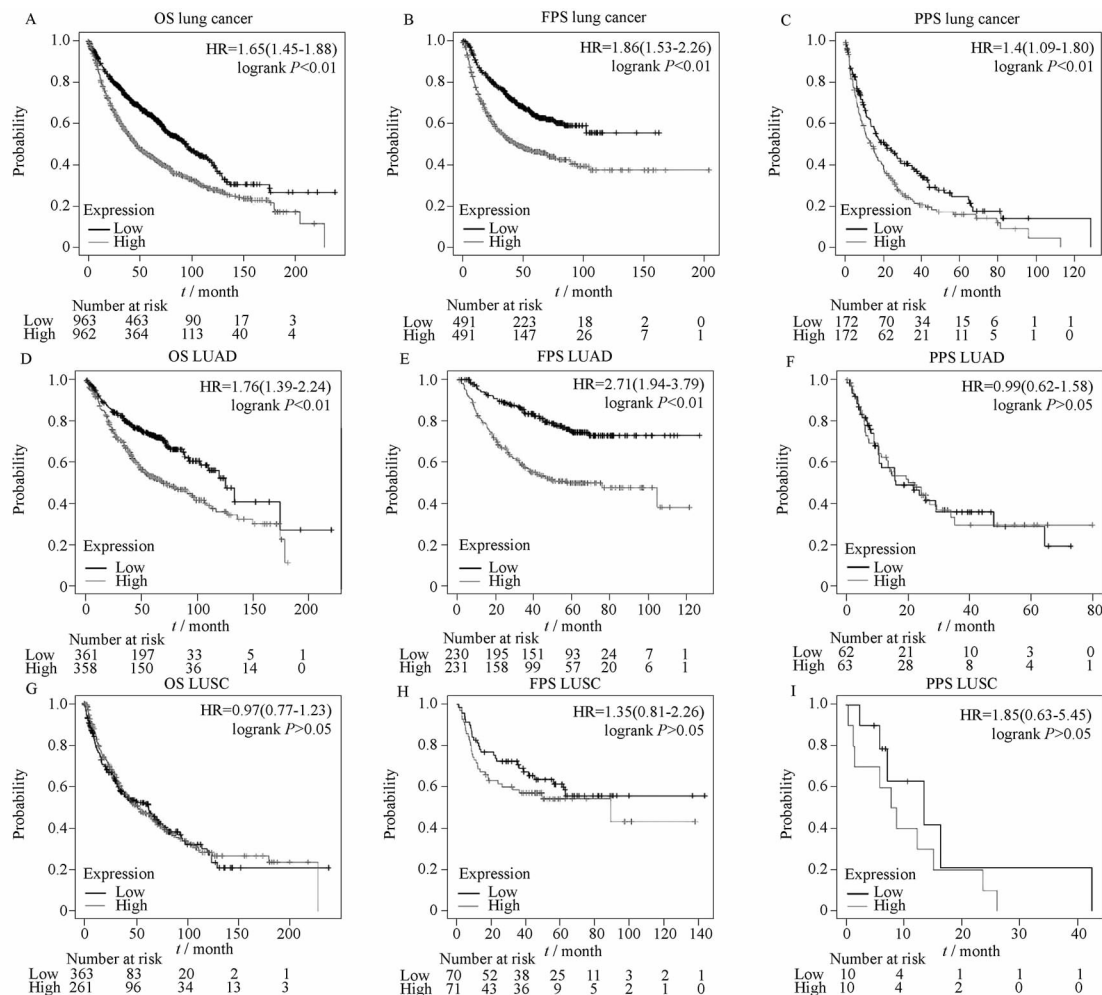


图2 Kaplan - Meier Plotter 中肺癌患者 *TOP2A* 表达的预后价值

Figure 2 Prognosis value of *TOP2A* expression in lung cancer patients in Kaplan - Meier plotter database

OS: Overall survival; HR: Hazard ratio; FPS: First progression survival; PPS: Post progression survival.

3 *TOP2A* 表达与肺癌中的免疫浸润相关

基于TIMER数据库,*TOP2A*表达与LUAD中的B细胞($r = -0.104, P < 0.05$)、CD8⁺T细胞($r = 0.11, P < 0.05$)和中性粒细胞($r = 0.165, P < 0.001$)显著相关,而*TOP2A*表达仅与LUSC中的巨噬细胞显著相关($r = -0.152, P < 0.001$)。LUAD中*TOP2A*与单核细胞标记CD86($r = 0.121, P < 0.01$),中性粒细胞标记癌胚抗原相关细胞黏附分子8(carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8, CEACAM8; $r = -0.249, P < 0.001$)和CC趋化因子受体7(CC chemokine receptor 7, CCR7; $r = -0.127, P < 0.01$), TAMs标记信号转导和转录活化因子6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6; $r = -0.193, P < 0.001$), Th1标记干扰素 γ (interferon gamma, IFN- γ ; $r = 0.290, P < 0.001$)和STAT1($r = 0.490, P < 0.001$), Treg标记CCR8($r = 0.175, P < 0.001$)和STAT5B($r = 0.145, P < 0.001$),以及耗竭T细胞标记甲型肝炎病毒细胞受体2(hepatitis A virus cellular receptor 2, HAVCR2; $r = 0.099, P < 0.05$)、程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death 1, PDCD1; $r = 0.190, P < 0.001$)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA4; $r = 0.156, P < 0.001$)之间均存在显著相关性。

4 *TOP2A* 相互作用基因和蛋白质网络构建

用GeneMANIA构建的基因相互作用网络显示,与*TOP2A*密切相关的最常改变的基因参与基因转录和细胞周期阻滞,如酪蛋白激酶2 α 1(casein kinase 2 alpha 1, CSNK2A1)、拓扑异构酶II β (topoisomerase II beta, TOP2B)、DNA断裂因子 β (DNA fragmentation factor subunit beta, DFFB)、LIN52基因、E2F转录因子4和叉头转录因子M1(forkhead box M1, FOXM1)。

通过STRING数据库构建的蛋白质相互作用网络显示,与*TOP2A*相关的蛋白质也涉及细胞周期的调节,如周期蛋白依赖性激酶1(cyclin-dependent kinase 1, CDK1)、驱动蛋白分子KIF4A(kinesin family member 4A, KIF4A)、细胞周期蛋白B2(cyclin b2, CCNB2)和PDZ结合激酶(PDZ binding kinase, PBK)。

5 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络

基于TCGA提供的LUSC(肿瘤样本336例,正常组织44例)和LUAD(肿瘤样本518例,正常组织46例)肿瘤和健康样本的miRNA集,得到肿瘤组织中特异性表达的miRNA($|\log FC| > 0.585, P < 0.05$)。LUSC中的14个miRNA识别了225个相互作用的lncRNA(得分 > 0.95),而LUAD中的3个miRNA识

别了103个lncRNA(得分 > 0.95)。其中,ENSG00000279978作为lncRNA与LUAD和LUSC中的肿瘤特异性miRNA显著相关,并且与*TOP2A*基因的表达相关。

讨 论

*TOP2A*作为在DNA复制、染色体凝集、有丝分裂和转录启动中发挥关键作用的基因^[5],其在多种癌症中的促进作用已被广泛研究^[6-8]。这些研究表明*TOP2A*不仅参与了肿瘤细胞的增殖和侵袭,还可能作为治疗的潜在靶点。本研究通过跨数据库的生物信息学分析,深入探讨了*TOP2A*基因在肺癌中的表达及其与肺癌患者预后以及肺癌免疫微环境的相关性。

*TOP2A*在LUAD和LUSC中的表达显著上调,这在既往研究中已得到证实^[9]。同时,与既往研究一致,本研究结果显示,*TOP2A*与肺癌患者的不良预后相关,特别是高*TOP2A*表达与肺癌患者的OS、FPS和PPS显著降低相关,这支持了其作为预后生物标志物的潜力。MA等^[10]研究表明,NSCLC组织中*TOP2A*的水平增加,并且这些患者展现了更差的OS。此外,有报道了*TOP2A*基因的启动子多态性与NSCLC患者的生存时间相关,携带*TOP2A*基因rs34300454位点C/C基因型的患者有显著更高的中位PFS和更长的中位OS^[11]。本研究还发现,相较于LUSC,*TOP2A*与LUAD患者的预后更显著相关。

肿瘤微环境中的免疫浸润在肿瘤发生和发展中起着关键作用,并影响着癌症患者的生存率^[12]。程序性细胞死亡受体蛋白-1(programmed cell death 1, PD-1)和程序性细胞死亡配体蛋白-1(programmed death ligand 1, PD-L1)抑制药等肿瘤免疫疗法的快速发展,既往已有众多研究聚焦在NSCLC的肿瘤免疫^[13],希望探索新的治疗靶点。本研究结果显示,*TOP2A*的表达与多种免疫细胞浸润标志物的表达显著相关,包括B细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞,这些发现与*TOP2A*在其他肿瘤中的免疫细胞浸润研究^[14]一致。同时,有研究发现,*TOP2A*可能通过上调分泌蛋白Wnt家族成员3a(WNT family member 3a, Wnt3a)和PD-L1的表达,在NSCLC的免疫治疗中发挥重要作用^[15]。*TOP2A*与免疫细胞浸润的相关性可能影响肺癌患者对免疫检查点抑制药治疗的反应。

通过 GeneMANIA 和 STRING 数据库构建的基因和蛋白质网络分析,本课题组发现了与 TOP2A 密切相关的一系列基因和蛋白质,其参与了细胞周期调控和基因转录等关键生物过程。这些发现为理解 TOP2A 在肺癌发展中的作用机制提供了新的视角,并可能有助于发现新的治疗靶点。同时,本研究还揭示了 TOP2A 相关的 lncRNA - miRNA - mRNA 调控网络,这为 TOP2A 基因表达调控提供了新的分子标记,为未来的研究提供了新的分子标记和治疗干预的潜在途径。

本研究提示:TOP2A 在肺癌发展中的重要作用,其可能成为肺癌预后相关生物标志物。TOP2A 与肺癌的免疫浸润相关,可能通过调节免疫微环境中的免疫细胞和免疫检查点分子的表达来影响免疫治疗的效果, TOP2A 相关的基因和蛋白质网络以及 lncRNA - miRNA - mRNA 调控网络的发现,为深入理解肺癌的分子机制和开发新的治疗策略提供了有价值的信息。未来的研究需要进一步验证这些发现,并探索 TOP2A 在肺癌治疗临床应用中的潜力。

参考文献:

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394—424.
- [2] ZHENG M. Classification and pathology of lung cancer [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2016, 25(3):447—468.
- [3] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, *et al.* Lung cancer: Current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389(10066):299—311.
- [4] RICCIO A A, SCHELLENBERG M J, WILLIAMS R S. Molecular mechanisms of topoisomerase 2 DNA - protein crosslink resolution [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(1):81—91.
- [5] MADABHUSHI R. The roles of DNA topoisomerase II β in transcription [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7):1917.
- [6] MURPHY A J, HUGHES C A, BARRETT C, *et al.* Low - level TOP2A amplification in prostate cancer is associated with HER2 duplication, androgen resistance, and decreased survival [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(6):2893—2898.
- [7] BRASE J C, SCHMIDT M, FISCHBACH T, *et al.* ERBB2 and TOP2A in breast cancer: A comprehensive analysis of gene amplification, RNA levels, and protein expression and their influence on prognosis and prediction [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(8):2391—2401.
- [8] CARVALHO R F, DO CANTO L M, CURY S S, *et al.* Drug repositioning based on the reversal of gene expression signatures identifies TOP2A as a therapeutic target for rectal cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(21):5492.
- [9] 杨凯, 杨明, 苏学会, 等. TOP2A: 肺癌筛选及验证的新型预后标志物 [J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(9):2139—2146.
- [10] MA W, WANG B, ZHANG Y, *et al.* Prognostic significance of TOP2A in non - small cell lung cancer revealed by bioinformatic analysis [J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19:239. 2019 - 09 - 11 [2024 - 07 - 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31528121/>.
- [11] GREND A, BŁACH J, SZCZYREK M, *et al.* Promoter polymorphisms of TOP2A and ERCC1 genes as predictive factors for chemotherapy in non - small cell lung cancer patients [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(2):605—614.
- [12] ZHANG Y, ZHANG Z. The history and advances in cancer immunotherapy: Understanding the characteristics of tumor - infiltrating immune cells and their therapeutic implications [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(8):807—821.
- [13] 母光妍, 张卓, 张涵煦, 等. 基于生信分析探索 PNPT1 表达对非小细胞肺癌的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(9):1219—1222.
- [14] MENG J, WEI Y, DENG Q, *et al.* Study on the expression of TOP2A in hepatocellular carcinoma and its relationship with patient prognosis [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):29.
- [15] WU J, ZHANG L, LI W, *et al.* The role of TOP2A in immunotherapy and vasculogenic mimicry in non - small cell lung cancer and its potential mechanism [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):10906.

(收稿日期 2024 - 08 - 15)