

DOI:10.12113/202005003

MAML2 基因表达及临床参数与低级别胶质瘤 (LGG) 患者的诊断及预后价值

李文才, 夏少怀, 夏学巍*, 王文波, 陈力

(桂林医学院附属医院 神经外科, 广西 桂林 541001)

摘要: 脑胶质瘤 (Glioma) 是最常见的中枢系统恶性肿瘤, *MAML2* 是 NOTCH 信号通路的共激活因子, 通过癌基因组数据库 (TCGA) 分析验证 *MAML2* 基因表达及相关临床参数与低级别胶质瘤 (LGG) 的诊断及预后价值。从癌基因组数据库 LGG 数据库中下载患者基因表达量数据及患者临床数据, 采用统计学方法验证 *MAML2* 基因表达差异及临床参数与胶质瘤的诊断与预后关系。在 TCGA LGG 队列中, 发现 LGG 组织中的 *MAML2* 基因较正常组织明显上调 ($P < 0.001$), 其差异表达可作为低级别胶质瘤的潜在诊断标志物。同时, *MAML2* 低表达组的 LGG 患者总体生存率低于高表达组 ($P = 0.0052$)。此外, 单因素多因素分析提示肿瘤分级, 初治后肿瘤再发事件及 *MAML2* 低表达是低级别胶质瘤患者的独立危险因素。研究结果表明 *MAML2* 基因有可能成为诊断及预测低级别胶质瘤的一个潜在分子标记物。

关键词: 低级别胶质瘤; *MAML2* 基因; TCGA 数据库; 诊断; 预后

中图分类号: S857.14+1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-5565(2021)04-276-05

Diagnostic and prognostic value of *MAML2* gene expression and clinical parameters in low-grade gliomas

LI Wencai, XIA Shaohuai, XIA Xuewei*, WANG Wenbo, CHEN Li

(Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, Guangxi, China)

Abstract: Gliomas are the most common malignant tumors of the central system. *MAML2* is a co-activator of the NOTCH signaling pathway. This study aimed to verify the diagnostic and prognostic value of *MAML2* gene expression and clinical parameters in low-grade glioma (LGG). First, the gene expression data and clinical data of patients were downloaded from TCGA LGG database, and statistical methods were used to verify the difference of *MAML2* gene expression as well as the relationship between clinical parameters and the diagnosis and prognosis of LGGs. In the TCGA LGG cohort, it was found that the expression of *MAML2* gene in LGG was significantly higher than that in the normal tissues ($P < 0.001$), whose differential expression could be used as potential diagnostic marker for LGG. Meanwhile, the overall survival rate of LGG patients in the low expression group of *MAML2* was lower than that in the high expression group ($P = 0.0052$). In addition, univariate and multivariate analyses suggested that tumor grade, recurrence, and low expression of *MAML2* were independent risk factors for LGGs. The results of this study suggest that *MAML2* gene may be a potential molecular marker for the diagnosis and prediction of LGGs, but further experiments are needed.

Keywords: Low-grade glioma; *MAML2* gene; TCGA database; Diagnostic; Prognostic

据 2015 年国家癌症中心统计, 2015 年全国新发恶性肿瘤约 392.9 万例, 脑恶性肿瘤发病率位于

收稿日期: 2020-05-12; 修回日期: 2020-09-14.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 81860449); 广西自然科学基金项目 (No. 2016GXNSFCA380028); 广西高校科学技术项目 (No. LX2014273).

作者简介: 李文才, 男, 硕士研究生, 研究方向: 神经胶质瘤, 三叉神经痛等. E-mail: 15917906835@163.com.

* 通信作者: 夏学巍, 博士生导师, 主任医师, 研究方向: 神经外科. E-mail: xxw7456@163.com.

第10位^[1],脑胶质瘤(Glioma)是最常见的中枢系统恶性肿瘤,约占脑恶性肿瘤的30%^[2],神经胶质瘤的新发病例和死亡病例分别约为101 600和61 000,新发男女比例约为1:1,死亡男女比例约为3:2^[1]。胶质瘤患者通常预后差,其发病可归因于遗传或环境因素的不同^[3],已有相关研究报道,遗传因素促进神经胶质瘤的发展,并与神经胶质瘤的预后相关^[4]。

Mastermind-like 转录共激活因子2(MAML2)是mastermind-like 蛋白家族的成员,该家族是NOTCH信号通路的共激活因子,在许多不同的肿瘤中,NOTCH信号激活与癌变有关,其主要在细胞增殖,转移和上皮间质转化中起着至关重要的作用^[5,6]。本研究旨在通过癌基因组数据库(TCGA)分析验证MAML2基因表达与低级别胶质瘤(Low-grade glioma, LGG)的诊断与预后关系,并分析TCGA数据库的相关临床参数与胶质瘤患者诊断与预后价值。

1 资料与方法

1.1 资料来源

从癌基因组数据库(TCGA, <https://cancergenome.nih.gov>)下载胶质瘤低级别胶质瘤(LGG)队列的MAML2基因表达量数据及相关临床参数数据,并将基因表达量数据与患者编号及临床参数数据匹配,得到具有患者编号、临床参数、基因表达量相对应的数据。从基因型-组织表达数据库(GTEX, <https://commonfund.nih.gov/gtex>)下载正常组织中MAML2基因表达量数据。在TCGA数据库LGG数据中下载LGG患者529个,将基因表达量数据匹配后纳入256例患者,256例患者均有总体生存率(OS)及生存时间数据。在GTEX数据库中下载具有MAML2基因表达量患者1 152个。将MAML2基因表达数据进行 $\lg_2(X+1)$ 标准化转化,并计算MAML2的中位表达量,将高于中位数定义为高表达组,低于中位数定义为低表达组。

1.2 统计学方法

使用IBM SPSS Statistics 20(SPSS, Inc, Chicago, IL, USA)将LGG队列及GBM队列的MAML2基因表达量数据进行方差齐性验证,若方差齐,使用独立样本T检验验证两者表达量差异,若方差不齐,使用秩和检验验证两者表达量差异。使用GraphPad Prism 8.0软件(GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA)绘制Kaplan-Meier生存曲线。使用COX单因素及多因素分析对各相关临床参数及基因表达与LGG队列患者预后关系进行验证,计算

风险比(Hazard Ratio, HR)与95%置信区间(95% Confidence Interval, 95% CI)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果分析

2.1 MAML2在低级别胶质瘤中的表达

将正常组织及低级别胶质瘤(LGG)组织的MAML2基因表达量分组,进行秩和检验,结果显示LGG组织中的MAML2基因较正常组织明显上调,具有统计学差异($P < 0.001$) (见图1),同时使用ROC曲线评估MAML2基因差异在低级别胶质瘤中的诊断价值,提示具有良好的诊断价值($P < 0.000 1$, $AUC = 0.997 8$) (见图2)。

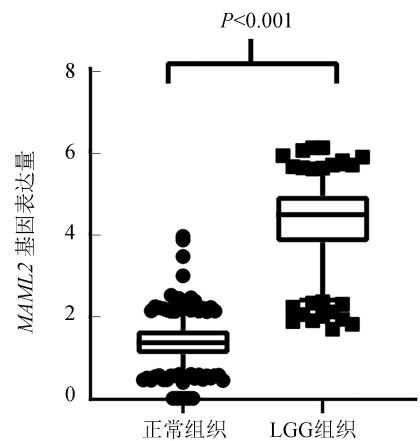


图1 MAML2在LGG组织正常组织中的表达

Fig.1 MAML2 gene expression in LGG and normal tissues

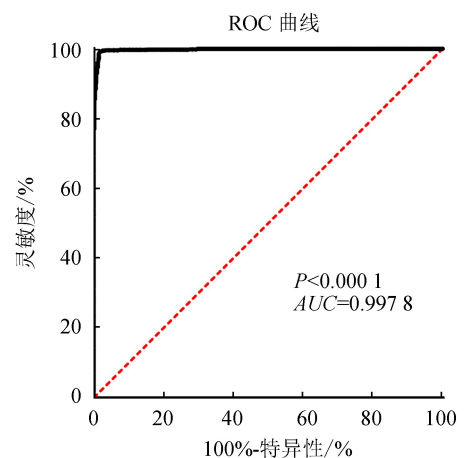


图2 MAML2诊断ROC曲线

Fig.2 ROC curve of MAML2

2.2 Kaplan-Meier生存分析验证MAML2基因表达与低级别胶质瘤患者预后关系

以患者生存状态(生存或死亡)分组,分为死亡组与生存组,并使用秩和检验验证MAML2在两组

间的表达量存在差异,死亡组患者 *MAML2* 表达量低于生存组 ($P = 0.0252$) (见图3)。同时,以 *MAML2* 表达量为自变量,以总体生存时间为因变量,以生存状态(生存或死亡)为终点事件,进行 Kaplan-Meier 生存分析,结果显示在 LGG 队列中, *MAML2* 低表达组的总体生存率低于高表达组,差异具有统计学意义 ($P = 0.0052$) (见图4)。

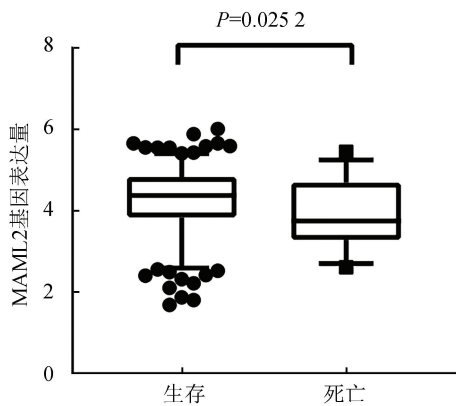


图3 低级别胶质瘤中生存组与死亡组的基因表达量
Fig.3 Gene expression levels of survival and death groups in LGGs

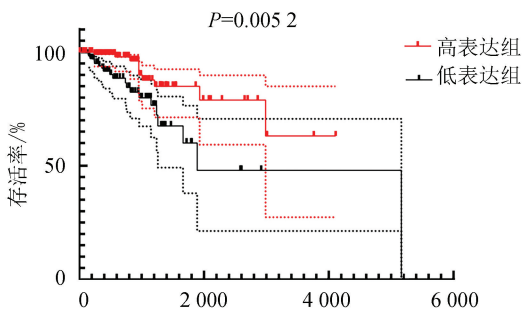


图4 *MAML2* 基因高表达组与低表达组的生存分析
Fig.4 Survival analysis of high and low expression groups of *MAML2* gene

2.3 *MAML2* 基因表达与临床参数的关系

低级别胶质瘤患者有男性 142 名,女性 114 名,平均年龄为 40 岁。纳入 TCGA 数据库的 256 个临床数据,并分析性别、年龄、肿瘤分级、初治后肿瘤再发时间 4 个临床参数与 *MAML2* 基因表达进行分析,结果显示年龄与 *MAML2* 基因表达差异密切相关 ($P = 0.011$),其余 3 个临床参数无统计学差异 (见表 1)。

2.4 COX 单因素及多因素分析验证 *MAML2* 基因及各临床参数与低级别胶质瘤的预后关系

将性别、年龄、组织学类型、肿瘤患侧、肿瘤分级、初治后肿瘤再发或进展事件、术前抗癫痫药物史、术前糖皮质激素史, *MAML2* 基因表达等相关临床因素纳入 LGG 队列患者的 COX 单因素分析,结

果显示,年龄 ≥ 40 岁、肿瘤分级为 G3 级、初治后肿瘤有再发或进展事件发生及 *MAML2* 基因低表达与患者总体生存率降低相关 ($P < 0.05$),将 $P < 0.01$ 的临床因素纳入多因素分析,结果显示,肿瘤分级为 G3 级、初治后肿瘤有再发或进展事件发生、*MAML2* 基因低表达均为低级别胶质瘤患者预后差的独立危险因素 ($P < 0.05$) (见表 2)。

表1 *MAML2* 基因表达量与临床参数的关系

Table 1 Relationship between *MAML2* gene expression and clinical parameters

临床参数	<i>MAML2</i>		<i>P</i>
	低表达 1	高表达 2	
性别			0.556
男性	142	67	75
女性	114	61	53
年龄 (岁)			0.011
≥ 40	129	71	58
< 40	127	57	70
肿瘤分级			0.221
G2	134	60	73
G3	122	68	54
初治后肿瘤再发事件			0.510
有	42	17	25
无	178	89	89
缺失值	36		

3 讨论

脑胶质瘤包括胶质母细胞瘤 (WHO 4 级) 及低级别胶质瘤 (WHO 2 级及 3 级)^[7],由于遗传或环境因素导致胶质瘤临床行为的异质性,从而对医生的治疗提出挑战,并且其预后是可变的,不同级别之间,胶质瘤的生存范围广泛^[8]。本研究旨在 TCGA 数据分析研究遗传相关因素 *MAML2* 基因表达及相关临床因素与胶质瘤的预后关系。

MAML2 (Mastermind-like transcriptional co-activator 2),位于 11q21,通常作为 Notch 受体的共活化剂激活 Notch 靶基因,参与形成的 Notch 相关 RBP-J/CBF 的复合物^[9-10]。Tonon G 等人^[11-12]最早在粘液表皮样癌中发现了 *MAML2* 的致癌作用, *MECT1-MAML2* 融合可破坏细胞正常周期,诱导肿瘤发生。Kuma Y 等人^[13]在研究中验证了 *CRTC1/3-MAML2* 融合基因可以作为诊断淋巴结瘤的有用方法。Yang Shen 等人^[14]研究发现 *MECT1-MAML2* 高表达的膀胱癌患者预后明显较差。这些研究为 *MECT1-MAML2* 在可能的致癌分子机制和与肿瘤预后关系中所发挥的作用提供了一些生物学证据。在一项基于神经胶质瘤微阵列数据的差异表达基因分析中提出 *MAML2* 在神经胶质瘤中异常表达^[15]。

表 2 影响低级别胶质瘤患者总体生存率的临床参数单因素及多因素分析

Table 2 Univariate and multivariate analyses of clinical parameters affecting the overall survival rate of patients with LGG

临床参数	例数 (<i>n</i> = 256)	单因素分析		多因素分析	
		HR (95% CI)	Log-rank <i>P</i>	校正 HR (95% CI)	校正 <i>P</i>
性别			0.827		
男性	142	1			
女性	114	0.919(0.432-1.956)			
年龄(岁)			0.005		0.060
≥40	129	1		1	
<40	127	0.326(0.143-0.745)		0.446(0.192-1.034)	
组织学类型			0.276		
星形细胞瘤	104	1			
少突-星形细胞瘤	59	0.497(0.166-1.489)			
少突胶质瘤	93	0.585(0.252-1.359)			
肿瘤患侧			0.819		
左侧	135	1			
中线	3	1.570(0.195-12.630)			
右侧	117	0.862(0.407-1.827)			
缺失值	5				
肿瘤分级			0.004		0.037
G2	134	1		1	
G3	122	3.039(1.387-6.662)		2.466(1.054-5.768)	
缺失值	1				
初治后肿瘤再发事件			0.004		0.001
有	42	1		1	
无	178	0.355(0.171-0.738)		0.277(0.132-0.581)	
缺失值	36				
术前抗癫痫用药史			0.650		
有	108	1			
无	54	1.243(0.484-3.196)			
缺失值	94				
术前糖皮质激素用药史			0.377		
有	61	1			
无	106	1.522(0.595-3.896)			
缺失值	89				
MAML2 基因			0.005		0.032
低表达	128	1		1	
高表达	128	0.347(0.159-0.754)		0.408(0.180-0.952)	

注:HR:危险比;95%CI:95%可信区间。

通过 TCGA 数据库分析,发现与正常组织相比,*MAML2* 基因表达在 LGG 队列患者中明显上调,ROC 曲线结果显示 *MAML2* 基因具有良好的诊断潜力($P < 0.000 1$, $AUC = 0.997 8$)。同时我们将 *MAML2* 进行了 KM 生存分析,结果表明 *MAML2* 低表达与低级别胶质瘤的总体生存率差有关($P = 0.005 2$)。

在表 1 中,以中位数 40 岁分界将年龄进行分组,发现 ≥ 40 岁与 < 40 岁的患者之间 *MAML2* 存在表达差异,*MAML2* 与年龄密切相关($P = 0.011$),另外在 COX 单因素分析中,年龄及 *MAML2* 基因表达与总体生存率差均有关系,存在统计学意义,但是进一步的 COX 多因素分析中,年龄不具有统计学差异,

从而明确 *MAML2* 低表达是低级别胶质瘤患者总体生存率的独立危险因素。

近些年来,胶质瘤的靶向治疗越来越受关注^[16-18],已有许多学者关注胶质瘤的治疗靶点^[19],本研究以生物信息学数据分析验证 *MAML2* 在胶质瘤的发展和预后中起着重要的作用,但是还需要更多的前瞻性实验验证。

4 结 论

MAML2 基因可能有助于判断胶质瘤患者诊断及预后情况,有可能成为一个潜在的分子标记物,但仍需进一步的前瞻性实验验证。

参考文献(References)

- [1] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.008.
- ZHENG Rongshou, SUN Kexin, ZHANG Siwei, et al. Report of cancer epidemiology in China, 2015[J]. Chinese Journal of Oncology, 2019, 41(1): 19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.008.
- [2] WELLER M, WICK W, ALDAPE K, et al. Glioma[J]. Nature Reviews. Disease Primers, 2015, 1: 15017. DOI: 10.1038/nrdp.2015.17.
- [3] OSTROM Q T, GITTLEMAN H, STETSON L, et al. Epidemiology of gliomas [J]. Cancer Treatment and Research, 2015, 163: 1-14. DOI: 10.1007/978-3-319-12048-5_1.
- [4] JIN Tianbo, WANG Yuan, LI Gang, et al. Analysis of difference of association between polymorphisms in the XRCC5, RPA3 and RTEL1 genes and glioma, astrocytoma and glioblastoma[J]. American Journal of Cancer Research, 2015, 5(7): 2294-2300.
- [5] OYAMA T, HARIGAYA K, SASAKI N, et al. Mastermind-like 1 (MamL1) and mastermind-like 3 (MamL3) are essential for Notch signaling in vivo[J]. Development (Cambridge, England), 2011, 138(23): 5235-5246. DOI: 10.1242/dev.062802.
- [6] ZHANG Weikang, LIU Hongliang, LIU Zhensheng, et al. Functional variants in Notch pathway genes NCOR2, NCSTN, and MAML2 predict survival of patients with cutaneous melanoma[J]. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2015, 24(7): 1101-1110. DOI: 10.1158/1055-9965.Epi-14-1380-t.
- [7] BRAT D J, VERHAAK R G W, ALDAPE K D, et al. Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas [J]. The New England Journal of Medicine, 2015, 372(26): 2481-2498. DOI: 10.1056/NEJMoa1402121.
- [8] OSTROM Q T, GITTLEMAN H, TRUITT G, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the united states in 2011-2015 [J]. Neuro-oncology, 2018, 20: iv1-iv86. DOI: 10.1093/neuonc/ny131.
- [9] WU Lizi, SUN Tao, KOBAYASHI K, et al. Identification of a family of mastermind-like transcriptional coactivators for mammalian notch receptors[J]. Molecular and Cellular Biology, 2002, 22(21): 7688-7700. DOI: 10.1128/mcb.22.21.7688-7700.2002.
- [10] ZENG Ling, NIKOLAEV A, XING C, et al. CHK1/2 Inhibitor prexasertib suppresses NOTCH signaling and enhances cytotoxicity of cisplatin and radiation in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2020, 19(6): 1279-1288. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0946.
- [11] TONON G, MODI S, WU Lizi, et al. t(11;19)(q21;p13) translocation in mucoepidermoid carcinoma creates a novel fusion product that disrupts a Notch signaling pathway [J]. Nature Genetics, 2003, 33(2): 208-213. DOI: 10.1038/ng1083.
- [12] CIPRIANI N A, LUSARDI J J, MCELHERNE J, et al. Mucoepidermoid carcinoma: A comparison of histologic grading systems and relationship to MAML2 rearrangement and prognosis[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2019, 43(7): 885-897. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001252.
- [13] KUMA Y, YAMADA Y, YAMAMOTO H, et al. A novel fusion gene CRTC3-MAML2 in hidradenoma; histopathological significance[J]. Human Pathology, 2017, 70: 55-61. DOI: 10.1016/j.humpath.2017.10.004.
- [14] SHEN Yang, LU Qian, YE Hesong, et al. Genetic variant of MAML2 in the NOTCH signaling pathway and the risk of bladder cancer: A STROBE-compliant study[J]. Medicine, 2020, 99(2): e18725. DOI: 10.1097/md.00000000000018725.
- [15] JIANG Chunming, WANG Xiaohua, SHU Jin, et al. Analysis of differentially expressed genes based on microarray data of glioma [J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015, 8(10): 17321-17332.
- [16] ZENG Tao, CUI Daming, GAO Liang. Glioma: An overview of current classifications, characteristics, molecular biology and target therapies [J]. Frontiers in Bioscience (Landmark Ed), 2015, 20: 1104-1115. DOI: 10.2741/4362.
- [17] CUI Lishan, XU Songbai, SONG Zhengmao, et al. Pituitary tumor transforming gene: A novel therapeutic target for glioma treatment [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica. (Shanghai), 2015, 47: 414-21. DOI: 10.1093/abbs/gmv026.
- [18] HE Hua, YAO Maojin, ZHANG Wenhao, et al. MEK2 is a prognostic marker and potential chemo-sensitizing target for glioma patients undergoing temozolomide treatment[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2016, 13(5): 658-668. DOI: 10.1038/cmi.2015.46.
- [19] 柯帅, 王文波, 廖红展, 等. 生物信息学方法筛选胶质母细胞瘤的核心基因[J]. 生物信息学, 2020, 18(1): 56-64. DOI: 10.12113/201907004.
- KE Shuai, WANG Wenbo, LIAO Hongzhan, et al. Identifying core genes of glioblastoma by bioinformatics analysis[J]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2020, 18(1): 56-64. DOI: 10.12113/201907004.