

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.18.013

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230505.1055.014\(2023-05-05\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230505.1055.014(2023-05-05))

MeCP2 基因在脑胶质瘤中的表达及临床意义*

黄冠又,刘家骏,杜永贵,苏恒,葛学成,张欣,甘鸿川

(贵阳市第二人民医院神经外科,贵阳 550081)

[摘要] **目的** 探讨甲基化 CpG 结合蛋白 2 (MeCP2) 在胶质瘤患者中的表达,及其与临床病理特征和预后的相关性。**方法** 纳入癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库中胶质瘤的数据和 GTEx 数据集中正常脑组织数据,分析 MeCP2 基因在胶质瘤和正常脑组织的表达差异,分析 MeCP2 水平与胶质瘤患者临床病理特征和预后的相关性;采用单因素和多因素 Cox 比例风险回归模型分析影响患者预后的相关因素,通过差异表达基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路富集分析,探讨 MeCP2 参与调控的分子信号通路,应用 CIBERSORT 数据库进行肿瘤免疫细胞浸润分析。**结果** MeCP2 在胶质瘤中的表达高于正常脑组织,MeCP2 表达水平随胶质瘤病理分级升高而降低,MeCP2 高表达水平与低龄 (≤ 60 岁)、异柠檬酸脱氢酶 (IDH) 突变型和 1p/19q 共缺失均相关 ($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)。生存分析显示,MeCP2 低表达的患者预后较差 ($P < 0.001$)。多因素 Cox 回归分析显示,年龄、WHO 分级和 IDH 突变型是胶质瘤患者生存的独立影响因素,但 MeCP2 表达水平不是。GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析显示,MeCP2 相关的差异表达基因在细胞因子和趋化因子信号通路显著富集。肿瘤免疫细胞浸润分析表明,MeCP2 低表达组有更多的免疫细胞浸润和更高的免疫评分。**结论** MeCP2 参与调控细胞因子或趋化因子信号通路,并且与免疫细胞浸润密切相关。

[关键词] 胶质瘤;甲基化 CpG 结合蛋白 2;预后;免疫浸润**[中图分类号]** R739.41**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)18-2789-06

Expression and clinical significance of MeCP2 in glioma patients*

HUANG Guanyou, LIU Jiajun, DU Yonggui, SU Heng, GE Xuecheng, ZHANG Xin, GAN Hongchuan

(Department of Neurosurgery, The Second People's Hospital of Guiyang,

Guiyang, Guizhou 550081, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) in glioma patients and its correlation with clinicopathological features and prognosis of patients. **Methods** The differential expression of MeCP2 in glioma and normal brain tissues was analyzed based on the glioma data in TCGA database and the normal brain tissue data in the GTEx database. The expression of MeCP2 gene and its correlation with clinicopathological characteristics and prognosis of glioma patients were analyzed. Univariate and multivariate Cox proportional hazards regression models were used to analyze the related factors affecting the prognosis of patients. The molecular signaling pathway of MeCP2 involved in regulation in glioma was discussed by gene ontology (GO) analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis of differentially expressed genes. CIBERSORT database was used to analyze the tumor immune cell infiltration. **Results** The expression level of MeCP2 in glioma was higher than that in normal brain tissue, and the expression level of MeCP2 decreased with the increase of the pathological grade of glioma. High expression level of MeCP2 was associated with younger age (≤ 60 years), IDH mutant and 1p/19q co-deletion ($P < 0.001$ or $P < 0.01$). Survival analysis showed that the prognosis of patients with low expression of MeCP2 was poor ($P < 0.001$). Multivariate Cox regression analysis showed that age, WHO grade and IDH mutation were the independent factors influencing the survival of patients with glioma, but MeCP2 expression was not. Go function analysis and KEGG pathway enrichment showed that MeCP2-related differentially expressed genes were significantly

* 基金项目:贵州省卫生健康委员会科学技术基金项目(gzkwj2022-348)。 作者简介:黄冠又(1982-),副主任医师,博士,主要从事颅脑肿瘤基础和临床研究。

enriched in cytokine and chemokine signaling pathways. Tumor immune cell infiltration analysis showed that the MeCP2 low-expression group had more immune cell infiltration and higher immune score.

Conclusion MeCP2 is involved in the regulation of cytokine or chemokine signaling pathways and is closely related to immune cell infiltration.

[Key words] glioma; methyl-CpG-binding protein 2; prognosis; immune infiltration

神经胶质瘤(glioma)起源于神经上皮组织,是一种位于成人原发性中枢神经系统中的恶性肿瘤,具有发病率高、恶性程度高、致残致死率和复发率高等特点,严重威胁患者的生命健康^[1-2]。目前胶质瘤的治疗方案是在手术切除肿瘤的基础上,结合病理和分子病理结果,辅助放疗和(或)化疗。但由于肿瘤异质性、耐药性及血脑屏障等因素,导致患者对各种治疗的敏感性差异较大。据报道,低级别胶质瘤患者5年生存率为60%~74%^[3],而高级别的胶质瘤患者的中位生存时间仅为15个月左右,5年生存率低于6%^[4]。因此,深入了解胶质瘤发生、发展的特点和分子机制,发现新的分子标记物,对于开发更好的胶质瘤治疗方法至关重要。

甲基化 CpG 结合蛋白 2 (methyl-CpG-binding protein 2, MeCP2) 是甲基化结合蛋白家族中的主要成员,是维系大脑功能所必需的,并参与神经元的成熟和突触发生,在基因转录调控中发挥重要作用^[5]。当 MeCP2 基因功能异常时,不能对相应的下游靶基因产生抑制作用,会造成 DNA 甲基化改变,进而影响 DNA 的转录和翻译,从而使基因的表达异常,与肿瘤的发生密切相关,并促进肿瘤细胞的增殖和迁移,如肺癌、结肠癌、卵巢癌等^[6-7]。目前关于 MeCP2 与神经胶质瘤的相关研究较少,其在胶质瘤中的具体作用和机制仍不明确。

本研究基于对癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库进行挖掘分析,同时结合 GTEX 数据集,分析 mRNA 在胶质瘤(低级别胶质瘤 LGG 和高级别胶质瘤 GBM)和正常脑组织的表达差异,目的在于分析 MeCP2 在胶质瘤患者中的表达与临床病理特征和预后的关系,通过对样本数据的挖掘,探讨 MeCP2 在胶质瘤中的潜在作用,为胶质瘤的靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源及临床资料

从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov>)中下载神经胶质瘤患者基因表达谱数据(TCGA-GBMLGG、level3、RNA-seq)及临床和生存信息,共获得 696 例胶质瘤患者组织和 5 例癌旁组织 mRNA 转录组数据。纳入标准:(1)有完整的患者临床和基因

表达数据;(2)病理结果为 LGG 或 GBM。对 TCGA 数据库中基因表达水平的标准化是通过对 FPKM 值以 2 为底(log₂)取对数实现的。本研究获贵阳市第二人民医院伦理委员会批准(审批号:202153)。

1.2 MeCP2 的表达情况与胶质瘤临床病理和预后关系

从 UCSC XENA 数据库(<https://xenabrowser.net/datapages/s>)经 Toil 流程^[8]统一处理的 TCGA 和 GTEX 的 TPM 格式的 RNAseq 数据,提取 TCGA 中 GBM、LGG(696 例)和 GTEX 中对应的正常组织(1157 例)数据。对数据进行 log₂ 转化后进行胶质瘤和正常脑组织样本间的表达比较。

696 例胶质瘤临床数据中,男 398 例,女 498 例;≤60 岁 553 例,>60 岁 143 例;WHO 中枢神经系统分类中,WHO II 级 224 例,WHO III 级 243 例,WHO IV 级 168 例;IDH 突变者 440 例,野生型 246 例;1p/19q 联合缺失 171 例,非联合缺失 518 例。经合并后分析 GBM 和 LGG 两组数据中 MeCP2 表达量的中位值为 4.114,将 >4.114 设置为高表达组,≤4.114 为低表达组,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,对 MeCP2 不同表达组进行总生存期(overall survival, OS)和疾病特异生存期(disease specific survival, DSS)分析。

1.3 差异表达基因的筛选和富集分析

应用 R 软件(4.1.3)limma 包进行数据归一化和标准化进行差异表达基因筛选,按基因表达差异倍数的绝对值(log₂FC>2, P<0.05)的标准,得到有统计学意义的差异基因。基于 R 软件使用 ggplot2 包对于差异基因进行 GO 功能富集和 KEGG 信号通路富集分析。

1.4 MeCP2 表达与免疫浸润和肿瘤微环境的相关性

根据 TCGA 数据库中胶质瘤的免疫浸润情况进行评估,通过 CIBERSORT 工具分析免疫浸润状况。通过 Wilcoxon 秩和检验比较和分析 MeCP2 低表达组和高表达组之间免疫细胞浸润差异。每个样本的肿瘤免疫微环境(TME)评分,包括基质评分、免疫评分和 ESTIMATE 评分,通过 Restimate 包来确定。

1.5 统计学处理

使用 R 软件(版本 4.1.2)进行统计分析。两组

间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验;log-rank 检验 MeCP2 与胶质瘤患者预后的关系,并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线;采用单因素和多因素 Cox 回归模型分析相关临床病理因素和 MeCP2 表达与胶质瘤患者预后的关系;相关性分析采用 Spearman 相关系数。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MeCP2 在胶质瘤组织中表达情况

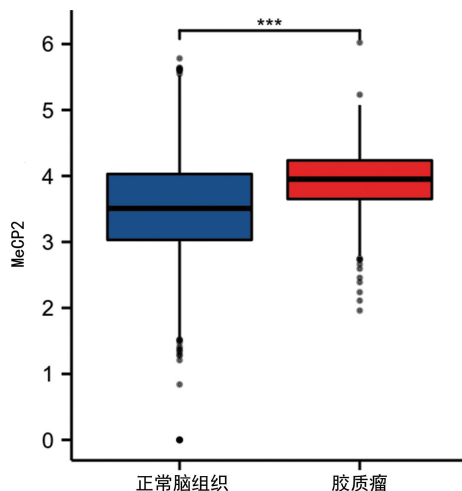
TCGA 数据库及 GTEx 数据集联合分析结果表明,与正常脑组织相比,MeCP2 基因在胶质瘤组织中明显上调,两组间差异有统计学意义 ($P < 0.001$),见图 1。

2.2 MeCP2 的表达情况与胶质瘤临床病理特征的关系

对 TCGA 数据库中与胶质瘤患者相关的临床病理特征数据进行分析,结果表明 MeCP2 表达与性别无关,但与年龄、病理分级和分子分型相关。MeCP2 高表达与低龄 (≤ 60 岁)、低级别胶质瘤 (WHO II、III 级)、异柠檬酸脱氢酶 (IDH) 突变型和 1p/19q 共缺失相关 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),见图 2。

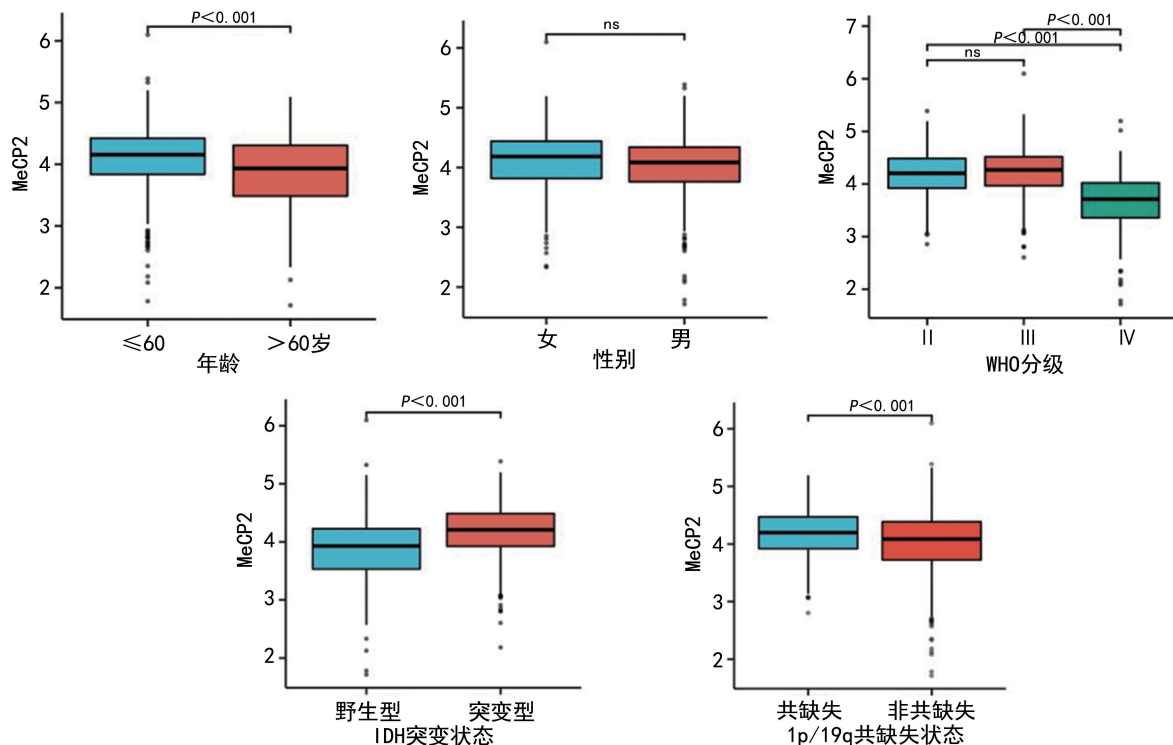
2.3 MeCP2 表达水平对胶质瘤患者生存期的影响

对 696 例胶质瘤患者进行 Kaplan-Meier 生存分析显示,MeCP2 高表达组 (红线) 患者的生存曲线在低表达组 (蓝线) 之上,即 MeCP2 低表达组 OS 较 MeCP2 高表达组明显缩短,差异有统计学意义 ($P < 0.001$),见图 3。



***: $P < 0.001$.

图 1 MeCP2 在胶质瘤和正常脑组织中的表达



ns: 差异无统计学意义。

图 2 TCGA 数据库中 MeCP2 基因表达与胶质瘤患者临床病理特征关系

2.4 MeCP2 表达水平与患者预后的关系

将患者的 MeCP2 表达水平及相关临床病理因素纳入 Cox 单因素、多因素风险比例回归模型分析,结

果显示高龄 (> 60 岁)、WHO 分级 (III、IV 级) 和 IDH 突变型是胶质瘤患者生存的独立影响因素。单因素分析显示 MeCP2 的危险度 (HR) = 0.412 (95% CI:

0.319~0.533),见表1。

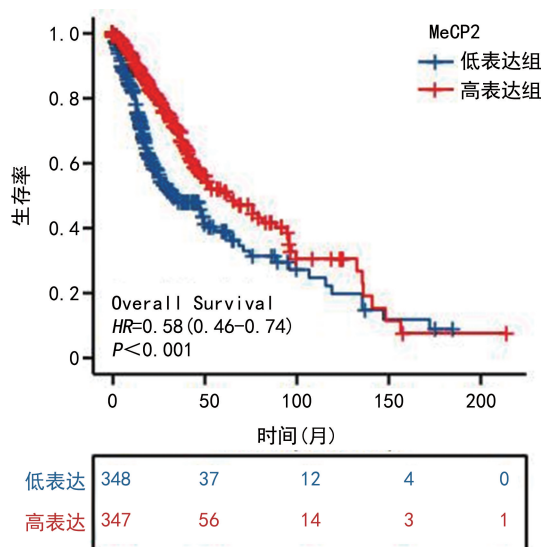


图3 MeCP2在TCGA数据库中的生存分析

2.5 MeCP2的差异表达基因和富集分析

根据TCGA数据库中696个胶质瘤样本,比较样

本中MeCP2高表达和低表达组中基因转录水平差异,进行差异分析,筛选条件为基因差异倍数的绝对值($\log_{2}FC > 1, P < 0.05$),共筛选到1025个差异表达基因,表达水平升高的有266个,表达水平降低的有759个。GO分析显示,这些差异表达基因参与生物学过程包含白细胞迁移、细胞外结构/基质组织、细胞趋化等。KEGG信号通路分析显示,差异表达基因参与的分子信号通路包括细胞因子受体相互作用、神经活性配体受体相互作用、趋化因子信号通路等。

2.6 MeCP2表达与胶质瘤中免疫细胞浸润和肿瘤微环境相关性

CIBERSORT分析结果表明,MeCP2基因高表达组中静止树突状细胞、中性粒细胞和M2巨噬细胞较多($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$),而低表达组中记忆B细胞、初始B细胞和浆细胞较多($P < 0.01$)。与MeCP2高表达组相比,低表达组的免疫评分、基质评分和ESTIMATE评分都较高($P < 0.001$),见图4。

表1 MeCP2表达水平与患者预后的单因素和多因素分析

相关因素	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
MeCP2(高表达 vs. 低表达)	0.412(0.319~0.533)	<0.001	0.995(0.724~1.366)	0.974
年龄(>60岁 vs. ≤60岁)	4.716(3.609~6.161)	<0.001	1.533(1.120~2.099)	0.008
性别(男 vs. 女)	1.230(0.955~1.585)	0.109	—	—
WHO分级(Ⅲ级 vs. Ⅱ级)	3.102(2.030~4.739)	<0.001	2.095(1.343~3.267)	0.001
WHO分级(V级 vs. Ⅱ级)	19.164(12.573~29.209)	<0.001	4.917(2.870~8.425)	<0.001
IDH突变(野生型 vs. 突变型)	9.850(7.428~13.061)	<0.001	3.961(2.611~6.010)	<0.001
1p/19q共缺失(非共缺失 vs. 共缺失)	4.635(2.963~7.251)	<0.001	1.433(0.847~2.425)	0.180

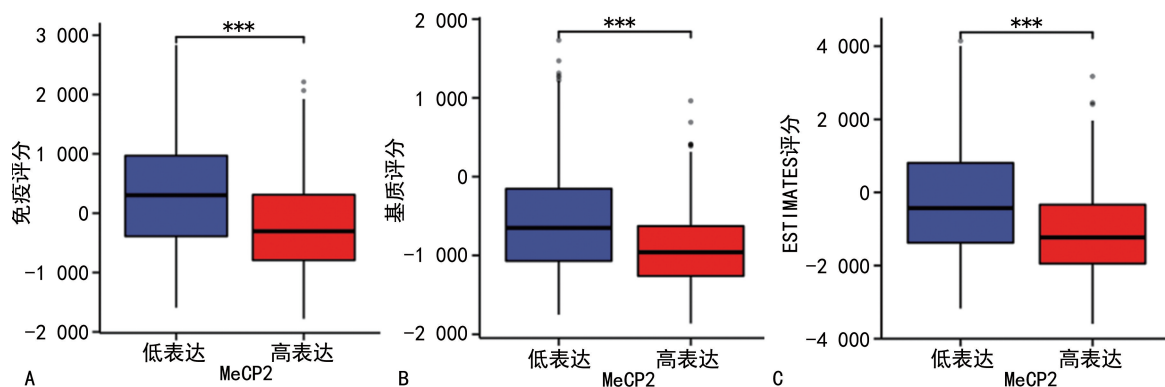


图4 胶质瘤中MeCP2高表达和低表达组中免疫相关评分

3 讨论

胶质瘤的发生发展是多基因参与的异常复杂过程,一些重要基因的缺失或改变能导致细胞异常增殖,该过程可能涉及癌基因EGFR激活和抑癌基因如p53、p16等失活改变或异常表达。此外,与胶质瘤风

险增加相关的基因,如表皮生长因子受体EGFR基因扩增/突变、1p/19q缺失、IDH突变、端粒酶逆转录酶(TERT)启动子突变等,这些基因突变也是胶质瘤发病机制的重要因素和判断预后的重要标志物^[9-10]。由于胶质瘤高度异质性,其致病基因突变复杂,针对胶

质瘤的特异性靶点仍需更多研究,为其个性化治疗提供依据。

MeCP2 基因是一种转录调节因子,能够调控基因表达,具有转录激活或抑制双重作用。神经元中 MeCP2 缺失会导致神经发育障碍、Rett 综合征及主要的神经精神疾病(例如自闭症和精神分裂症)^[11]。MeCP2 可以在 DNA 中结合甲基化的 CpG 二核苷酸,有研究认为 MeCP2 通过招募转录抑制因子 Sin3A 和组蛋白脱乙酰化酶(HDAC)作为转录抑制启动子^[12]。除了在神经元中的作用外,MeCP2 还在胶质细胞(星形胶质细胞、少突胶质细胞和微胶质细胞)中发挥调节作用,MeCP2 基因调节失调会损害胶质细胞和神经元功能^[13]。KIM 等^[14]研究发现丙戊酸可以使 C6 胶质瘤细胞中褪黑激素 MT1 受体、HDAC 1、HDAC 2、HDAC 3 和 MeCP2 的 mRNA 表达出现明显的时间依赖性变化。BIAN 等^[15]研究揭示 MeCP2 是脑胶质瘤上皮间质转化(EMT)的 1 个新的调节因子,提示抑制 MeCP2 可能是抑制脑胶质瘤 EMT 的治疗选择。从以上研究报道可知,MeCP2 可能是胶质瘤中治疗的一个新的靶点,但其在胶质瘤中的作用目前鲜有相关研究。

本研究基于 TCGA 数据库和 GTEX 数据集分析 MeCP2 在胶质瘤和正常脑组织间表达的差异性,结果显示 MeCP2 在胶质瘤中表达水平高于正常脑组织,且表达水平与患者年龄、病理分级和分型相关,在低龄(<60 岁)、低级别胶质瘤、IDH 突变型和 1p/19q 共缺失中表达水平明显增高。通过 Kaplan-Meier 生存分析发现,MeCP2 的表达水平可以反映预后,表现为 MeCP2 高表达水平的患者预后总生存时间明显高于 MeCP2 低水平患者,差异有统计学意义。考虑在上述因素中胶质瘤患者预后较好,该结果同 MeCP2 表达上调预示患者预后较好相吻合。研究表明表达抑制或缺失是 MeCP2 在恶性肿瘤中的主要表达失调形式^[16],本研究中,MeCP2 在 GBM 患者中表达水平低于 LGG,表明其表达水平随着胶质瘤的发展有逐步下降趋势,提示 MeCP2 的表达抑制可能参与胶质瘤的发生发展。但通过 Cox 风险比例回归模型分析,并未证实 MeCP2 是影响胶质瘤患者生存的独立影响因素,提示 MeCP2 并不能简单地归结为肿瘤抑制因子,MeCP2 高表达改善胶质瘤患者预后的机制尚需进一步研究证实。

对 MeCP2 高表达和低表达组筛选出的差异表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,结果显示,差异表达基因明显富集在白细胞迁移和趋化的生物学过程及相关分子信号通路,如细胞因子和趋化因子信号通

路等。研究证实多种趋化因子及受体与胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭密切相关,并在胶质瘤中表达升高,抑制趋化因子及受体的表达有助于胶质瘤的抗血管生成治疗^[17-18]。并且一些细胞因子和趋化因子具有免疫调节作用,能影响 GBM 的肿瘤微环境,有望成为 GBM 免疫治疗靶向的候选分子^[19]。因此,MeCP2 可能参与调控细胞因子或趋化因子信号通路并在胶质瘤中起作用,为今后胶质瘤的免疫靶向治疗提供新的靶点。

目前已知,肿瘤微环境对免疫治疗有重要影响,因此,本研究最后还分析了 MeCP2 表达与胶质瘤免疫浸润和肿瘤微环境的关系。结果表明,低表达组有更多的免疫细胞浸润和更高的免疫评分,表明低表达组患者可能对免疫疗法有更好的治疗反应,提示 MeCP2 可能是胶质瘤的一个免疫治疗靶点。

综上所述,高级别胶质瘤中,MeCP2 表达水平低于低级别胶质瘤,其低表达水平预示胶质瘤恶性程度高,患者生存期短。MeCP2 参与调控细胞因子或趋化因子信号通路,并与免疫细胞浸润密切相关,MeCP2 可能与胶质瘤的侵袭和发展有关,可能是一个潜在的胶质瘤基因治疗靶点。但 MeCP2 在胶质瘤中的具体生物学功能和作用机制还需进一步研究证实。

参考文献

- [1] WANG K, WANG Q, LI Q, et al. Cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits human glioma cell growth by triggering ROS-mediated signal pathways[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021:6612592.
- [2] ZHANG L, CAO H, TAO H, et al. Effect of the interference with DRP1 expression on the biological characteristics of glioma stem cells [J]. Exp Ther Med, 2021, 22(1):696.
- [3] YOUSSEF G, MILLER J J. Lower grade gliomas[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2020, 20(7):21.
- [4] SHAH H A, MISHRA A, GOUZOU LIS M J, et al. Analysis of factors leading to early termination in glioblastoma-related clinical trials[J]. J Neurooncol, 2022, 158(3):489-495.
- [5] SÁNCHEZ-LAFUENTE C L, KALYNCHUK L E, CARUNCHO H J, et al. The role of MeCP2 in regulating synaptic plasticity in the context of stress and depression [J]. Cells,

- 2022,11(4):748.
- [6] KINDE B, WU D Y, GREENBERG M E, et al. DNA methylation in the gene body influences MeCP2-mediated gene repression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(52):15114-15119.
- [7] YANG Q, WU X, SUN J, et al. Epigenetic features induced by ischemia-hypoxia in cultured rat astrocytes[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1):436-445.
- [8] VIVIAN J, RAO A A, NOTHAFT F A, et al. Toil enables reproducible, open source, big biomedical data analyses[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(4):314-316.
- [9] KOMOR T. Grading of adult diffuse gliomas according to the 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(2):126-133.
- [10] 钱王芳, 王臻, 肖红. 胶质瘤发病机制的研究进展[J]. *长春中医药大学学报*, 2022, 38(5):585-590.
- [11] DANIELI T, DOWNS J, BAYNAM G, et al. A brief history of MECP2 duplication syndrome: 20-years of clinical understanding[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2022, 17(1):131.
- [12] GODINO A, JAYANTHI S, CADET J L. Epigenetic landscape of amphetamine and methamphetamine addiction in rodents[J]. *Epigenetics*, 2015, 10(7):574-580.
- [13] SHARMA K, SINGH J, FROST E E, et al. MeCP2 in central nervous system glial cells: current updates[J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2018, 78(1):30-40.
- [14] KIM B, RINCÓN CASTRO L M, JAWED S, et al. Clinically relevant concentrations of valproic acid modulate melatonin MT (1) receptor, HDAC and MeCP2 mRNA expression in C6 glioma cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 589(1/3):45-48.
- [15] BIAN E, CHEN X, XU Y, et al. A central role for MeCP2 in the epigenetic repression of miR-200c during epithelial-to-mesenchymal transition of glioma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):366.
- [16] QIN Y, ZHAO L, WANG X, et al. MeCP2 regulated glycogenes contribute to proliferation and apoptosis of gastric cancer cells[J]. *Glycobiology*, 2017, 27(4):306-317.
- [17] TAKACS G P, FLORES-TORO J A, HARRISON J K. Modulation of the chemokine/chemokine receptor axis as a novel approach for glioma therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 222:107790.
- [18] GROBLEWSKA M, LITMAN-ZAWADZKA A, MROCZKO B. The role of selected chemokines and their receptors in the development of gliomas[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10):3704.
- [19] YEO E C F, BROWN M P, GARGETT T, et al. The role of cytokines and chemokines in shaping the immune microenvironment of glioblastoma: implications for immunotherapy[J]. *Cells*, 2021, 10(3):607.

(收稿日期:2022-12-10 修回日期:2023-06-20)

(编辑:石芸)