[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.12.009
http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.12.009

· 论著 ·

谷胱甘肽过氧化物酶-1 在急性髓系白血病中的表达及临床意义

吐尔逊阿依·肉孜　吴八路　梁雨星　周芙玲

[**摘要**]　**目的**　通过在线数据库挖掘分析急性髓系白血病(AML)中谷胱甘肽过氧化物酶-1(GPX1)的表达水平并探讨其临床意义。**方法**　通过癌症基因组图谱(TCGA)数据库、基因组织表达(GTEx)数据库及阿拉巴马大学伯明翰分校癌症分析(UALCAN)数据库检索并下载 151 例 AML 患者(AML 组)和 70 例正常受试者(正常对照组)的临床资料,以 AML 患者骨髓细胞中 GPX1 表达水平的中位数为界,将 151 例 AML 患者分为高表达组(76 例)和低表达组(75 例)。通过数据库收集所有受试者 GPX1 表达水平及 AML 组患者的 FAB 分型、临床资料(性别、年龄、FLT3 突变情况、WBC 计数、骨髓及外周血原始细胞比例、细胞遗传学中高风险情况)、中位生存时间、1、2、3 年生存期及免疫细胞(未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞、记忆 T 细胞)的单样本基因集富集分析(ssGSEA)评分。采用受试者工作特征(*ROC*)曲线进行效能诊断。采用单因素和多因素 *Cox* 分析探讨影响 AML 患者预后的因素。采用 *Kaplan-Meier* 生存分析曲线比较高表达组和低表达组 AML 患者的生存时间。采用 *Spearman* 相关分析评估不同免疫细胞 ssGSEA 评分与 AML 患者 GPX1 表达水平的相关性。**结果**　AML 组患者 GPX1 表达水平显著高于正常对照组,GPX1 在非 M3 型 AML 组患者中表达水平显著高于 M3 型 AML 组($P<0.001$)。*ROC* 曲线分析结果显示,GPX1 预测 AML 的 *ROC* 曲线下面积(*AUC*)为 0.987(95% *CI* 0.976～0.998),GPX1 预测 M5 型 AML 的 *AUC* 为 0.713(95% *CI* 0.543～0.882)。高表达组 AML 患者 WBC 计数高于低表达组($P=0.001$)。单因素和多因素 *Cox* 分析结果显示,年龄、细胞遗传学及 GPX1 表达水平均为 AML 患者预后的独立预测因素($P<0.001$)。*Kaplan-Meier* 生存分析曲线结果显示,高表达组患者的中位生存时间低于低表达组($P<0.001$)。*ROC* 曲线分析结果显示 GPX1 表达水平预测 AML 患者 1、2、3 年生存期的 *AUC* 分别为 0.669、0.653、0.636。高表达组患者未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节性 T 细胞的富集评分均高于低表达组,辅助性 T 细胞及记忆 T 细胞的富集评分均低于低表达组($P<0.01$)。*Spearman* 相关分析结果显示,GPX1 在 AML 患者中的表达水平与未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节性 T 细胞的富集评分均呈显著正相关,而与辅助性 T 细胞、记忆 T 细胞的富集评分均呈显著负相关($P<0.05$)。**结论**　通过对在线数据库进行挖掘分析发现,GPX1 在 AML 中显著高表达且与患者预后呈负相关,为 AML 发病机制研究和抗肿瘤治疗提供了理论依据。

[**关键词**]　急性髓系白血病;　谷胱甘肽过氧化物酶-1;　预后标志;　免疫浸润
[**中图分类号**]　R733.71　　[**文献标识码**]　A

基金项目:武汉大学中南医院医学人才攀登计划资助项目(PDJH202217)

作者单位:430071 武汉,武汉大学中南医院血液内科
通讯作者:周芙玲,E-mail:zhoufuling@whu.edu.cn

[11]Li G, Wu HK, Wu XW, et al. Small dense low density lipoprotein-cholesterol and cholesterol ratios to predict arterial stiffness progression in normotensive subjects over a 5-year period[J]. Lipids Health Dis, 2018, 17(1):27.
[12]Ivanova EA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, et al. Small dense low-density lipoprotein as biomarker for atherosclerotic diseases[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017:1273042.
[13]Chaudhary R, Mathew D, Bliden K, et al. Low-density lipoprotein 4: a novel predictor of coronary artery disease severity[J]. Curr Med Opin, 2017, 33(11):1979-1984.
[14]安宁,邹德玲. 小而密低密度脂蛋白与冠心病的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(7):639-644.
[15]Sharma SB, Garg S. Small dense LDL: risk factor for coronary artery disease(CAD) and its therapeutic modulation[J]. Indian J Biochem Biophys, 2012, 49(2):77-85.

(收稿日期:2021-08-04)
(本文编辑:余晓曼)

急性髓性白血病(AML)是以骨髓母细胞克隆性增殖为特征的血液系统恶性疾病,是成人中最常见的恶性髓性疾病[1]。目前研究及临床实践表明,结合融合基因表达、基因突变、染色体核型和特异分子标志物等对患者进行危险分层能够为患者治疗方案的选择和预后评估提供重要依据[1-2]。由于 AML 的异质性,目前近一半的患者无法根据现有分层因素进行准确分类[2]。因此,我们需要探索更多有效指标来区分预后良好和预后不良患者,并为其提供个性化治疗。谷胱甘肽过氧化物酶-1(GPX1)是 GXP 的家族成员,主要分布于细胞的内质网上,目前被认为是一种与氧化应激相互作用的酶[3]。越来越多的研究表明,GPX1 表达的改变或异常与恶性肿瘤、心血管疾病、神经退行性疾病、自身免疫性疾病和糖尿病等密切相关[4]。然而,目前关于 GPX1 在 AML 中的研究较少。通过挖掘在线数据库,获得疾病相关性基因已在多种肿瘤中得到应用[5-7]。本研究主要采用生物信息学方法,通过在线数据库挖掘分析 GPX1 在 AML 中的表达及其对患者预后的影响,构建与之相互作用的蛋白网络图,富集其参与的主要生物学过程,探索其临床价值,为进一步研究 GPX1 在 AML 发生发展过程中的作用提供理论基础。

材料与方法

1. 材料:通过癌症基因组图谱(TCGA)数据库、基因组织表达(GTEx)数据库及阿拉巴马大学伯明翰分校癌症分析(UALCAN)数据库检索并下载 151 例 AML 患者(AML 组)和 70 例正常受试者(正常对照组)的临床资料。以 AML 患者骨髓细胞中 GPX1 表达水平的中位数(8.575)为界,将 151 例 AML 患者分为高表达组(76 例)和低表达组(75 例)。

2. 方法:通过数据库收集 AML 组和正常对照组受试者的 GPX1 表达水平,收集 AML 组患者的 FAB 分型、临床资料(性别、年龄、FLT3 突变情况、WBC 计数、骨髓及外周血原始细胞比例、细胞遗传学中高风险情况)、中位生存时间、1、2、3 年生存期及免疫细胞(未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞、记忆 T 细胞)的单样本基因集富集分析(ssGSEA)评分。

3. 统计学处理:应用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用*Mann-Whitney U*检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征(*ROC*)曲线进行效能诊断。采用单因素和多因素 *Cox* 分析探讨影响 AML 患者预后的因素。采用 *Kaplan-Meier* 生存分析曲线比较高表达组和低表达组 AML 患者的生存时间。采用 *Spearman* 相关分析评估不同免疫细胞 ssGSEA 评分与 AML 患者 GPX1 表达水平的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结　果

1. GPX1 在 AML 组和正常对照组中的表达水平比较和诊断价值:通过 TCGA 和 GTEx 数据库检索发现 AML 组患者 GPX1 表达水平显著高于正常对照组(8.575 ±0.885 比 0.623 ±0.338,$P<0.001$)。UALCAN 数据库检索结果显示,GPX1 在非 M3 型 AML 组患者中表达水平显著高于 M3 型 AML 组(9.098 ±0.771 比 7.792 ±0.986,$P<0.001$)。*ROC* 曲线分析结果显示,GPX1 能准确区别 AML 患者和健康人群,GPX1 预测 AML *ROC* 曲线下面积(*AUC*)为 0.987(95% *CI* 0.976 ~0.998),见图 1。此外,进一步的 *ROC* 曲线分析结果显示,GPX1 鉴别 M4 型 AML 和 M5 型 AML 时也具有一定的诊断价值,GPX1 预测 M5 型 AML 的 *AUC* 为 0.713(95% *CI* 0.543 ~0.882),见图 2。

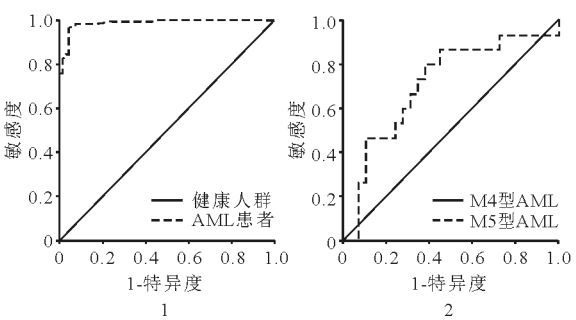


图 1　GPX1 预测 AML 的 *ROC* 曲线　**图 2**　GPX1 预测 M4 型 AML 及 M5 型 AML 的 *ROC* 曲线

2. 低表达组和高表达组 AML 患者的临床资料比较:高表达组 AML 患者 WBC 计数高于低表达组($P=0.001$),而两组间性别、年龄、骨髓及外周血原始细胞比例、细胞遗传学中高风险及 FLT3 突变患者比例比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

3. 影响 AML 患者预后的单因素和多因素分析:单因素和多因素 *Cox* 分析结果显示,年龄、细胞遗传学及 GPX1 表达水平均为 AML 患者预后的独立预测因素($P<0.001$)。见表 2。

4. GPX1 的表达水平与 AML 患者生存期的关系:*Kaplan-Meier* 生存分析曲线结果显示,高表达组中位生存时间(9.2 个月)低于低表达组(27.4 个月,*HR*=2.19,95% *CI* 1.42 ~3.38,$P<0.001$)。见图 3。*ROC* 曲线分析结果显示,GPX1 表达水平预测 AML 患者 1、2、3 年

表 1　低表达组和高表达组 AML 患者的临床特征比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

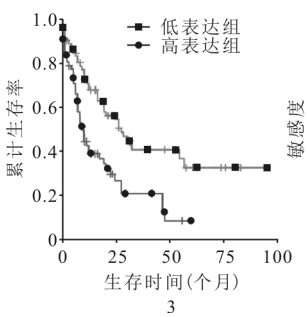
组别	例数	性别（男/女）	年龄（岁）	FLT3 突变[例,(%)]	WBC 计数（$\times10^9$/L）	骨髓原始细胞比例(%)	外周血原始细胞比例(%)	细胞遗传学中高风险[例,(%)]
低表达组	75	41/34	54(40,64)	19(25.3)	13(3,34)	35(6,69)	71(47,86)	18(24.0)
高表达组	76	42/34	59(44,68)	26(34.2)	31(8,76)	41(12,61)	72(52,83)	13(17.1)
χ^2/U 值		<0.001	1.015	0.830	1.942	1.795	0.060	0.110
P 值		0.998	0.183	0.363	0.001	0.526	0.826	0.575

表 3　低表达组和高表达组 AML 患者不同免疫细胞的富集评分比较(分,$\bar{x} \pm s$)

组别	例数	未成熟树突状细胞	巨噬细胞	自然杀伤细胞	调节性 T 细胞	辅助性 T 细胞	记忆 T 细胞
低表达组	75	0.142 ±0.060	0.176 ±0.056	0.261 ±0.028	0.154 ±0.055	0.558 ±0.019	0.484 ±0.030
高表达组	76	0.202 ±0.059	0.217 ±0.057	0.282 ±0.023	0.180 ±0.057	0.541 ±0.022	0.465 ±0.035
t 值		0.975	0.980	0.975	0.964	0.979	0.982
P 值		<0.001	<0.001	0.005	0.002	<0.001	0.002

表 2　影响 AML 患者预后的单因素和多因素分析

因素	单因素分析		多因素分析	
	HR（95% *CI*）	P 值	*HR*（95% *CI*）	P 值
性别	1.030（0.674～1.572）	0.892	–	–
年龄	3.333（2.164～5.134）	<0.001	2.921（1.867～4.572）	<0.001
WBC 计数	1.161（0.760～1.772）	0.490	–	–
骨髓原始细胞比例	1.165（0.758～1.790）	0.486	–	–
外周血原始细胞比例	1.230（0.806～1.878）	0.338	–	–
细胞遗传学情况	3.209（1.650～6.242）	<0.001	2.462（1.246～4.866）	0.010
FLT3 状态	1.271（0.801～2.016）	0.309	–	–
GPX1 表达水平	2.194（1.424～3.381）	<0.001	2.210（1.419～3.442）	0.011



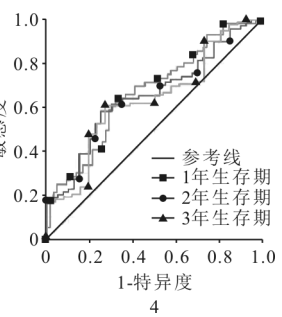


图 3　高表达组和低表达组患者 *Kaplan-Meier* 生存分析曲线

图 4　GPX1 预测 AML 患者 1、2、3 年生存期价值的 *ROC* 曲线

生存期的 *AUC* 分别为 0.669(95% *CI* 0.573～0.765)、0.653(95% *CI* 0.550～0.757)、0.636(95% *CI* 0.516～0.756)。见图 4。

5. 低表达组和高表达组 AML 患者不同免疫细胞的富集评分比较：高表达组患者未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节性 T 细胞的富集评分均高于低表达组，辅助性 T 细胞及记忆 T 细胞的富集评分均低于低表达组($P<0.01$)。见表 3。

6. AML 患者 GPX1 表达水平与免疫细胞的相关性分析：*Spearman* 相关分析结果显示，GPX1 在 AML 患者中的表达水平与未成熟树突状细胞($r=0.489$)、巨噬细胞($r=0.385$)、自然杀伤细胞($r=0.342$)、调节性 T 细胞($r=0.350$)的富集评分均呈显著正相关，而与辅助性 T 细胞($r=-0.375$)、记忆 T 细胞($r=-0.332$)的富集评分均呈显著负相关($P<0.05$)。

讨　论

根据最新的统计数据，每年新发的白血病约占全球所有新发恶性肿瘤病例的 2.5%，而新发的白血病死亡患者约为 3.1%[8]。随着社会老龄化，AML 的发病率可能呈显著上升趋势，对人民的健康危害越来越凸显。近年来，随着人们对 AML 研究的进一步深入，越来越多的生物学分子被发现在白血病的发生、发展过程中起着关键作用，有一部分已经被应用于白血病的靶向治疗，给患者带来希望。

目前研究表明，活性氧(ROS)在肿瘤细胞内可能是一把双刃剑：一方面，高水平的 ROS 与肿瘤的发生、转化和化疗耐药有关[9-11]；另一方面，过量的 ROS 可引起肿瘤细胞的凋亡，而抗氧化酶催化的还原反应能够抵消肿瘤细胞中过量的 ROS 水平，以避免氧化应激产生的不利影响[12]。抗氧化酶系统主要由超氧化物歧化酶、硫氧还蛋白过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等组成[10]。在哺乳动物中，GPX 家族由 8 个成员(GPX1～GPX8)组成，其中 5 个(GPX1～GPX4 和 GPX6)在催化中心含有硒代半胱氨酸，另外三个则是含半胱氨酸的蛋白质[3]。GPX1 是迄今为止鉴定出的 5 种 GPX 同工酶中表达水平最丰富的并且普遍存在于各种细胞中的一种酶，并广泛表达在细胞

的细胞质和线粒体上,是细胞抗氧化防御的重要组分,且和多种疾病的发生发展密切相关[13-15]。研究发现,GPX1 参与肿瘤的多种生物学功能,如增殖、侵袭、转移、凋亡和化疗耐药性[13,16]。例如 GPX1 的 mRNA 和蛋白质在急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)细胞中明显过表达,功能试验结果表明 GPX1 沉默显著抑制 T-ALL 细胞的增殖能力并诱导其凋亡[17]。基因调控网络表明,GPX1 主要参与包括谷胱甘肽代谢、细胞周期调控、铁死亡、TP53 调控代谢基因、ROS 代谢过程和其他几个信号通路在内的多种通路[4,13,18]。

本研究中我们通过生物信息学分析发现 GPX1 在正常人群中低表达,而在 AML 患者中显著高表达,且其表达水平在 AML 各亚型中也不同。*ROC* 曲线分析结果显示 GPX1 预测 AML 的 *AUC* 较高。此外,GPX1 在鉴别 M4 型 AML 和 M5 型 AML 方面也具有一定价值。*Kaplan-Meier* 生存分析曲线结果显示,高表达组患者的中位生存时间低于低表达组,提示 GPX1 可能是 AML 患者潜在的分子预后标志物。单因素和多因素 *Cox* 分析结果显示,GPX1 的表达水平对于 AML 患者而言是除了年龄、细胞遗传学外的又一个重要的独立预测因子。*Spearman* 相关分析结果显示,GPX1 的表达水平与未成熟树突状细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、调节 T 细胞富集评分均呈正相关,而与辅助 T 细胞、记忆 T 细胞富集评分均呈负相关。这些结果均提示我们,GPX1 可能在 AML 肿瘤微环境中免疫细胞的募集和调节中发挥了重要作用。已有研究表明,活化的调节性 T 细胞和树突状细胞能够促进肿瘤转移[19-20],提示 GPX1 可能在 AML 患者肿瘤细胞浸润、转移方面也起到一定作用。

综上所述,本研究通过对在线数据库中 AML GPX1 基因信息的深入挖掘和系统分析,发现 GPX1 在 AML 中高表达,且与 AML 患者不良预后密切相关,可能在 AML 的发生发展过程中发挥了促癌作用。此外,我们对不同免疫细胞 ssGSEA 评分与 AML 患者 GPX1 表达水平的相关分析发现 GPX1 可能在 AML 的发生发展中通过调节白血病细胞免疫微环境而发挥作用。总之,对于 AML 患者而言,GPX1 可能是一种独立的预后因子和一种新的潜在生物标志物,能够用于预测 AML 患者的疾病进展,并可为 AML 的新药设计和治疗策略的选择提供参考。本研究也存在一定的局限性:研究结果均由生物信息学分析在线数据获得,尚需进一步的临床样本及试验验证。

参 考 文 献

[1] Fleischmann M, Schnetzke U, Hochhaus A, et al. Management of Acute Myeloid Leukemia: Current Treatment Options and Future Perspectives [J]. Cancers, 2021, 13(22): 5722.

[2] Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(9): 934-946.

[3] Ansong E, Yang W, Diamond A. Molecular cross-talk between members of distinct families of selenium containing proteins[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58(1): 117-123.

[4] Alehagen U, Opstad T, Alexander J, et al. Impact of Selenium on Biomarkers and Clinical Aspects Related to Ageing[J]. Biomolecules, 2021, 11(10): 1478.

[5] 孙向飞,龚伟,董济民,等. B 细胞淋巴瘤因子 3 基因 mRNA 在肾透明细胞癌中的表达及其与预后的关系[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(12): 855-858.

[6] 贾佳,王琦,卢光新,等. WD 重复结构域相关蛋白 3 对胃恶性肿瘤细胞增殖的影响[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(12): 876-879.

[7] 曾梓航,李佳丽,刘嘉彬,等. 桥蛋白基因对膀胱尿路上皮癌预后评估的意义及功能研究[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(1): 19-22.

[8] Erratum: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA, 2020, 70(4): 313.

[9] Lennicke C, Cochemé H. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function[J]. Mol Cell, 2021, 81(18): 3691-3707.

[10] Harris I, DeNicola G. The Complex Interplay between Antioxidants and ROS in Cancer[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(6): 440-451.

[11] Liao Z, Chua D, Tan N. Reactive oxygen species: a volatile driver of field cancerization and metastasis[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 65.

[12] Chio I, Tuveson D. ROS in Cancer: The Burning Question[J]. Trends Mol Med, 2017, 23(5): 411-429.

[13] Lei X, Cheng W, Mc Clung J. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1[J]. Annu Rev Nutr, 2007, 27: 41-61.

[14] Ekoue D, He C, Diamond A, et al. Manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase-1 contribute to the rise and fall of mitochondrial reactive oxygen species which drive oncogenesis[J]. Biochim Biophys Acta Bioenerg, 2017, 1858(8): 628-632.

[15] Lubos E, Loscalzo J, Handy D. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 15(7): 1957-1997.

[16] Wei R, Qiu H, Xu J, et al. Expression and prognostic potential of GPX1 in human cancers based on data mining[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(4): 124.

[17] Zhuang M, Chaolumen Q, Li L, et al. MiR-29b-3p cooperates with miR-29c-3p to affect the malignant biological behaviors in T-cell acute lymphoblastic leukemia via TFAP2C/GPX1 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 527(2): 511-517.

[18] Aktar K, Kafi A, Dahiya R. Association of Gpx1 fluctuation in cell cycle progression[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2019, 55(2): 94-103.

[19] Li C, Jiang P, Wei S, et al. Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 116.

[20] Dai E, Zhu Z, Wahed S, et al. Epigenetic modulation of antitumor immunity for improved cancer immunotherapy[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 171.

(收稿日期:2022-05-12)

(本文编辑:余晓曼)