

## • 临床研究 •

## M2 型丙酮酸激酶在宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌中临床意义的生物信息学分析

苏 川<sup>1</sup> 齐元麟<sup>2</sup>

**【摘 要】 目的** 基于生物信息学方法分析 M2 型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase M2, PKM2) 在宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌 (cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, CESC) 中的临床意义。**方法** 通过 R 软件分析 PKM2 基因在 CESC 和正常宫颈组织中的表达差异; GEPIA 平台分析 PKM2 基因对 CESC 病人总生存期 (overall survival, OS) 的影响; TIMER 平台验证 PKM2 基因表达对 CESC 病人 OS 的影响; HPA 平台分析 PKM2 蛋白表达对 CESC 病人 OS 的影响; TIMER 平台分析免疫细胞浸润水平与 PKM2 基因表达及病人 OS 的相关性。**结果** CESC 病人中 PKM2 基因和蛋白质高表达病人的 OS 均劣于低表达者, CESC 中 PKM2 基因表达还与免疫细胞浸润水平有关, 而免疫细胞浸润水平又与病人的 OS 有关。**结论** PKM2 是 CESC 预后的不利因素, 在 CESC 的诊断和治疗中可作为潜在的指标和靶点。

**【关键词】** M2 型丙酮酸激酶; 宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌; 临床意义; 生物信息学

**【中图分类号】** R319; R737.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2024)02-0001-05

## Bioinformatics analysis of the clinical significance of PKM2 in cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma

SU Chuan<sup>1</sup>, QI Yuanlin<sup>2</sup><sup>1</sup> Minjiang Teachers College, Fuzhou, Fujian 350109, China; <sup>2</sup> Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350122, China

Corresponding author: QI Yuanlin, Email: 2287557@qq.com

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical significance of M2 type pyruvate kinase (PKM2) in cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma (CESC) based on bioinformatics method. **Methods** The expression differences of PKM2 gene between CESC and normal cervical tissue were analyzed using R software; the impact of PKM2 gene expression on overall survival (OS) of CESC patients was analyzed on GEPIA platform; the impact of PKM2 gene expression on the OS of CESC patients was verified on TIMER platform; the impact of PKM2 protein expression on the OS of CESC patients was analyzed on HPA platform; the correlation between immune cell infiltration levels, PKM2 gene expression, and patient OS was analyzed on TIMER platform. **Results** The OS of patients with high expression of PKM2 gene and protein in CESC was inferior to those with low expression, PKM2 gene expression in CESC is also related to the level of immune cell infiltration, which in turn is related to the OS of patients. **Conclusion** PKM2 is an unfavorable prognostic factor for CESC and can serve as a potential indicator and target in the diagnosis and treatment of CESC.

**【Key words】** M2 type pyruvate kinase; cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma; clinical significance; bioinformatics

根据世界卫生组织发布的癌症负担数据, 2020 年全球女性宫颈癌新发病例数 60 万, 死亡人数 34 万, 均排在所有癌症类型中的第 4 位, 是女性癌症死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。中国是宫颈癌高发区, 大多数在 35 岁以后发病, 但近年来的数据显示, 其发病率呈年轻化趋势<sup>[2]</sup>, 极大地威胁女性健康。宫

颈癌有多种病理类型, 其中以宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌 (cervical squamous cell and endocervical adenocarcinoma, CESC) 最为常见, 其他如腺鳞癌和小细胞癌等较少见<sup>[3]</sup>。肿瘤代谢重编程的重要特征是有氧糖酵解, 即在氧气充足时仍然以糖酵解作为主要的能量产生方式。M2 型丙酮酸激酶 (pyru-

作者单位: 1 闽江师范高等专科学校, 福州 350109; 2 福建医科大学, 福州 350122

通信作者: 齐元麟, Email: 2287557@qq.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.02.001

vate kinase M2, PKM2) 是糖酵解途径中重要的限速酶, 有研究显示, 其在多种肿瘤细胞中过表达, 在肿瘤细胞的增殖、迁移等方面具有重要作用<sup>[4]</sup>, 被认为是肺、肾、卵巢、皮肤和胃肠道等恶性肿瘤的潜在诊断标志物, 并与部分肿瘤的不良预后有关<sup>[5-6]</sup>。目前已有研究证实, 在 CESC 中 PKM2 过表达<sup>[7]</sup>, 阴道、血液分泌物中的 PKM2 是其诊断中具有潜力的标志物, 并与临床分期有关<sup>[8-9]</sup>。PKM2 一方面可能通过在细胞质中改变 CESC 细胞的糖代谢方式促进肿瘤转移相关蛋白的合成<sup>[10]</sup>, 另一方面还可能进入细胞核, 通过磷酸化表皮生长因子等方式促进肿瘤细胞的增殖<sup>[11]</sup>。本研究采用生物信息学的方法, 分析 PKM2 在 CESC 中潜在的临床意义, 为进一步探究 CESC 发生的分子机制和治疗靶点提供新思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 UCSC Xena 平台

从 UCSC Xena 平台 (<https://xenabrowser.net/>) 获取 TCGA (The cancer genome atlas, 癌症基因组图谱) 与 GTEx [The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project, 基因型-组织表达 (GTEx) 项目] 数据库中 33 种肿瘤的肿瘤样本与配对正常组织样本的转录组测序 (RNA sequencing, RNAseq) 数据。

### 1.2 GEPIA 平台

在 GEPIA 平台 (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 的 “Survival” 模块下分析 PKM2 基因对 CESC 病人总生存期 (overall survival, OS) 的影响。设置筛选条件如下, Genesymbol (基因符号): PKM; Cancer name (癌症名称): CESC; Methods (方法): Overall survival (总体生存率); Matched normal data (匹配的正常数据): Match TCGA normal and GTEx data (匹配 TCGA 正常数据和 GTEx 数据)。其他均选择默认参数。

### 1.3 HPA 平台

通过 HPA 平台 (<https://www.proteinatlas.org/>) 分析 PKM2 蛋白表达对 CESC 病人 OS 的影响。设置筛选条件如下, Gene name (基因名称): PKM; Cancer: Cervical cancer (宫颈癌)。

### 1.4 TIMER 平台

在 TIMER 平台的 “Survival” 模块下分析 PKM2 基因表达对 CESC 病人 OS 的影响, “Gene” 模块下分析 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸

润水平的相关性, 以及 CESC 中免疫细胞浸润水平与其病人 OS 的相关性。设置筛选条件如下, Cancer Types (癌症类型): CESC; Gene Symbols: PKM2; Immune Infiltrates (免疫浸润): B Cell (B 细胞), CD8<sup>+</sup> T Cell (CD8<sup>+</sup> T 细胞), CD4<sup>+</sup> T Cell (CD4<sup>+</sup> T 细胞), Macrophage (巨噬细胞), Neutrophil (中性粒细胞), Dendritic Cell (树突状细胞)。

### 1.5 统计学分析

使用 R 语言 v4.0.3 版分析 PKM2 在泛癌中的表达差异; GEPIA 平台上使用 Cox 回归模型分析 PKM2 表达与 CESC 病人 OS 之间的关系; TIMER 平台使用 Kaplan-Meier 模型分析 PKM2 表达及免疫细胞浸润水平与 CESC 病人 OS 之间的关系, 使用 Spearman 相关性分析方法分析 PKM2 基因表达与免疫细胞浸润的关系。

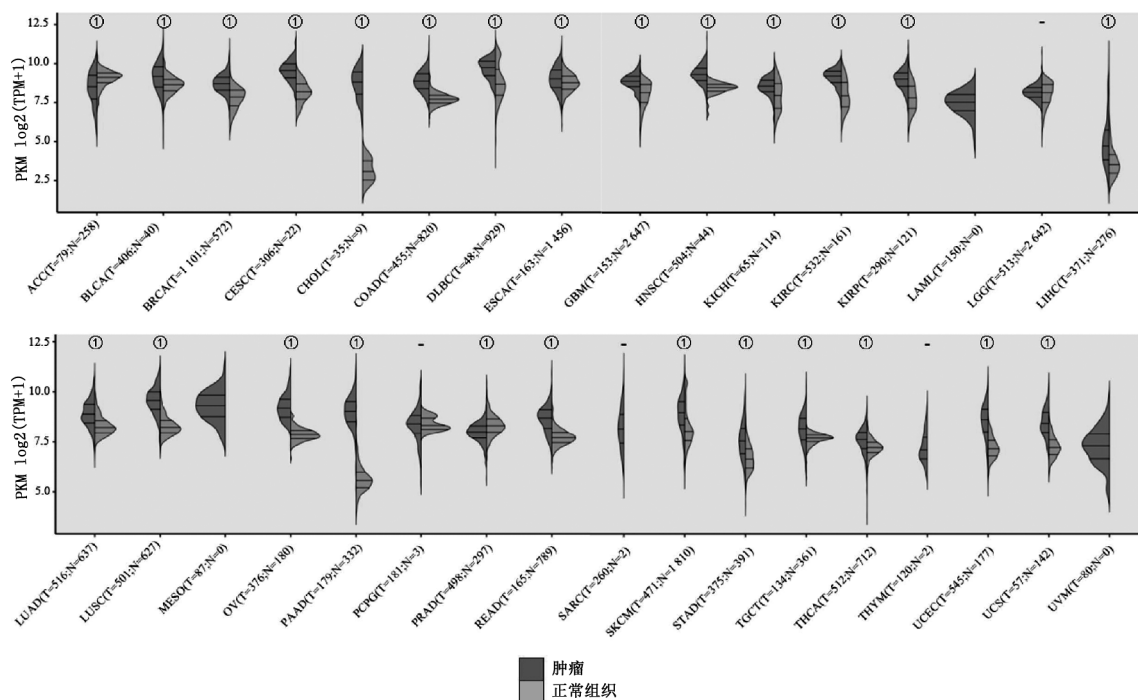
## 2 结果

### 2.1 PKM2 基因在泛癌特别是 CESC 中的表达情况

使用 R 软件统计分析 TCGA 和 GTEx 数据库中 33 种癌症共 10 228 例样本的 RNAseq 数据, 初步分析 PKM2 基因在泛癌中的表达情况, 结果提示 PKM2 基因在多种癌症中高表达 (图 1)。其中 CESC 肿瘤样本 306 例, 对应正常组织样本 22 例, 尽管肿瘤样本与正常组织样本数量差异较大, 但也提示 CESC 病人中的 PKM2 基因可能与其他大多数肿瘤一样, 存在高表达的情况。

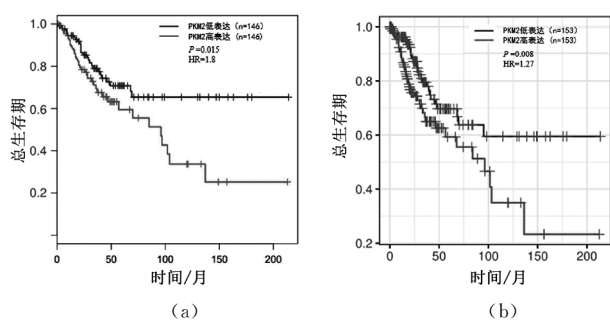
### 2.2 PKM2 基因表达与 CESC 病人 OS 的关系

通过 GEPIA 平台对 TCGA 和 GTEx 数据库中 146 例 PKM2 基因高表达 CESC 样本和 146 例 PKM2 基因低表达 CESC 样本进行对比分析, 结果显示, CESC 病人中 PKM2 基因高表达组 OS 劣于低表达组 (图 2A), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。风险比 (hazard ratio, HR) 大于 1, 提示 PKM2 过表达可能是影响 CESC 病人预后的不利因素。另一方面, 通过 TIMER 平台对 TCGA 和 GTEx 数据库中 153 例 PKM2 基因高表达 CESC 样本和 153 例 PKM2 基因低表达 CESC 样本进行对比分析, 结果显示, CESC 病人中 PKM2 基因高表达组 OS 劣于低表达组 (图 2B), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 且风险比同样大于 1, 验证了 GEPIA 平台分析得出的结论。



注：T，肿瘤样本；N，正常组织样本；① $P < 0.001$ ；ACC，肾上腺皮质癌；BLCA，膀胱尿路上皮癌；BRCA，乳腺浸润癌；CESC，宫颈鳞癌和腺癌；CHOL，胆管癌；COAD，结肠癌；DLBC，弥漫性大 B 细胞淋巴瘤；ESCA，食管癌；GBM，多形性胶质细胞瘤；HNSC，头颈鳞状细胞癌；KICH，肾嫌色细胞癌；KIRC，肾透明细胞癌；KIRP，肾乳头状细胞癌；LAML，急性髓细胞样白血病；LGG，脑低级别胶质瘤；LIHC，肝细胞癌；LUAD，肺腺癌；LUSC，肺鳞癌；MESO，间皮瘤；OV，卵巢浆液性囊腺癌；PAAD，胰腺癌；PCPG，嗜铬细胞瘤和副神经节瘤；PRAD，前列腺癌；READ，直肠癌；SARC，肉瘤；SKCM，皮肤黑色素瘤；STAD，胃癌；TGCT，睾丸癌；THCA，甲状腺癌；THYM，胸腺癌；UCEC，子宫内膜癌；UCS，子宫肉瘤；UVM，葡萄膜黑色素瘤。

图 1 PKM2 基因在泛癌中的表达



注：(a) GEPIA 平台上的分析结果；(b) TIMER 平台上的分析结果。

图 2 PKM2 基因表达对 CESC 病人 OS 的影响

### 2.3 PKM2 蛋白质表达与 CESC 病人 OS 的关系

通过 HPA 平台对 TCGA 数据库中 102 例 PKM2 蛋白质低表达样本和 189 例高表达样本进行对比分析，结果显示，CESC 病人中 PKM2 蛋白质高表达组 OS 劣于低表达组（图 3），差异具有统计学意义（ $P < 0.01$ ），与基因表达的对比分析结果相吻合。

### 2.4 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸润的相关性

通过 TIMER 平台分析 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸润水平的关系，发现 PKM2 基因表达与 B 细胞（ $P < 0.001$ ）、 $CD8^+$  T 细胞（ $P < 0.05$ ）、 $CD4^+$  T 细胞（ $P < 0.05$ ）和巨噬细胞（ $P < 0.001$ ）的浸润水平呈负相关，与巨噬细胞浸润水平的相关性最高（ $\text{partial. cor} = -0.217$ ）（图 4）。

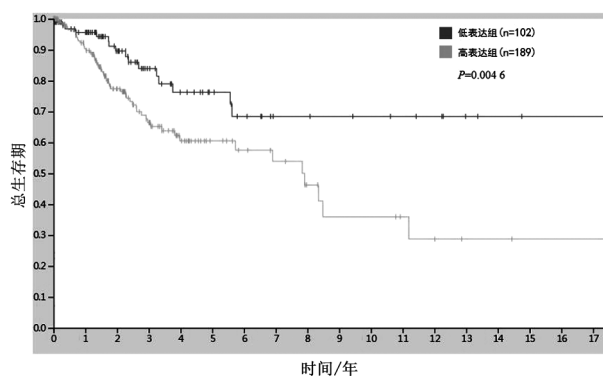
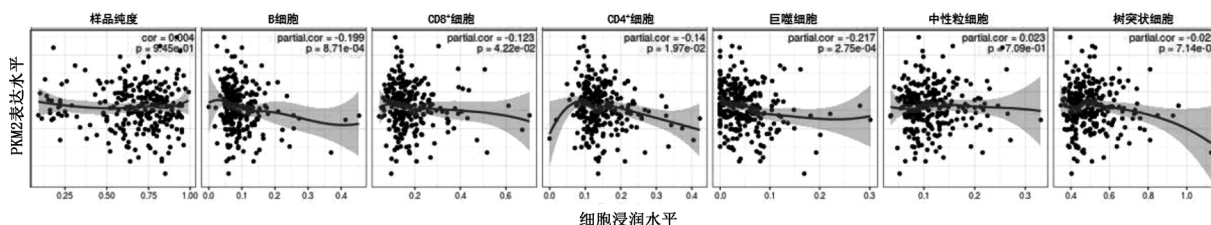


图 3 PKM2 蛋白质表达对 CESC 病人 OS 的影响

## 2.5 CESC 中免疫细胞浸润水平与其病人 OS 的相关性

通过 TIMER 平台分析 CESC 中免疫细胞浸润水平与其病人 OS 之间的关系,发现  $CD4^+$  T 细胞浸润水平低的组别其 OS 劣于浸润水平高的组别

(图 5), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结合前面的分析结果,提示 PKM2 高表达时,可能通过降低 CESC 中的  $CD4^+$  T 细胞浸润水平,导致病人的总生存期变短。



注: cor, 相关性; partial.cor, 偏相关性。

图 4 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸润的相关性

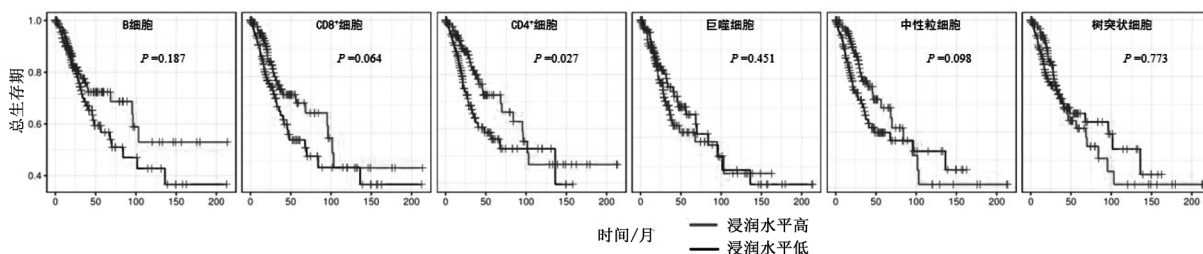


图 5 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸润的相关性

## 3 讨论

PKM2 在肿瘤细胞异常的代谢编程中具有非常重要的地位,已有研究发现 PKM2 在肺癌、乳腺癌等肿瘤细胞中过表达,并作为肿瘤细胞代谢的关键调节因子,促进肿瘤的生长和迁移<sup>[12-13]</sup>。在胃癌细胞中,抑制 PKM2 的活性,则可以通过抑制有氧糖酵解来抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[14]</sup>。除了在细胞质中发挥代谢功能,PKM2 在一定条件下还能够转移到细胞核内发挥非代谢功能,在致癌信号转导、基因转录、染色体分离、胞质分裂等过程中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。本研究中首先通过 R 软件初步分析 PKM2 基因在泛癌中的表达情况,发现 PKM2 在多种癌症中高表达,同时分析结果也提示 PKM2 在 CESC 可能同样存在高表达的情况,这也与目前已有的一些研究结果相符<sup>[11]</sup>。

有研究发现,PKM2 在多种肿瘤中高表达并影响肿瘤的预后<sup>[16]</sup>。CESC 病人血清及宫颈分泌物中的 PKM2 水平显著升高,与 CESC 病人的临床特征和预后密切相关<sup>[8,17]</sup>。本研究中通过 GEPIA 平台提取 TCGA 和 GTEx 数据库中 292 例 CESC 样本的数据,分析 PKM2 基因表达对 CESC 病人 OS 的

影响,发现 PKM2 基因表达与 OS 之间存在负相关性,PKM2 基因过表达可能是影响 CESC 病人预后的不利因素。通过 TIMER 平台提取 306 例 CESC 样本的数据,统计分析结果验证了这个结论。而在 HPA 平台上,我们还分析了 PKM2 蛋白质表达对 CESC 病人 OS 的影响,其结果仍然与前述研究相吻合。以上分析结果提示 PKM2 可作为 CESC 筛查及预后的潜在指标。

此外,有研究发现,抑制 PKM2 可以抑制 CESC 肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[18]</sup>,而高表达的 PKM2 与 CESC 的放射抵抗有关<sup>[19]</sup>,表明 PKM2 可能成为 CESC 治疗中的一个新靶点。本研究中通过 TIMER 平台分析 PKM2 基因表达与 CESC 中免疫细胞浸润水平的关系,发现 PKM2 基因表达与 CESC 中 B 细胞、 $CD8^+$  T 细胞、 $CD4^+$  T 细胞和巨噬细胞的浸润水平呈负相关,并且 PKM2 高表达时可能通过降低 CESC 中  $CD4^+$  T 细胞浸润水平而导致病人总生存期变短,表明 PKM2 在 CESC 的免疫治疗中也具有一定的应用潜力。由于本文是基于生物信息学方法进行的研究,后续还需要对 PKM2 在 CESC 中的作用进行进一步的实验验证。



证,才能为之后的临床应用提供更可靠的依据。

综上所述,本研究通过多个生物信息学数据平台分析发现,PKM2 是 CESC 预后的不利因素,在 CESC 的诊断和治疗中可作为潜在的指标和靶点。

#### 参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] 李想, 刘灿, 周维, 等. 2005—2015 年中国宫颈癌发病与死亡趋势分析 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2021, 50 (3): 325-330.
- [3] 罗玲, 潘嘉怡, 陈新亮, 等. 六项肿瘤标志物在宫颈癌病理分型鉴别中的意义 [J]. 岭南急诊医学杂志, 2023, 28 (4): 325-328.
- [4] ZAHRA K, DEY T, ASHISH, et al. Pyruvate kinase M2 and cancer: The role of PKM2 in promoting tumorigenesis [J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 159.
- [5] WU J Y, HU L R, CHEN M Y, et al. Pyruvate kinase M2 overexpression and poor prognosis in solid tumors of digestive system: Evidence from 16 cohort studies [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 4277-4288.
- [6] AMIN S, YANG P, LI Z. Pyruvate kinase M2: A multifarious enzyme in non-canonical localization to promote cancer progression [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019, 1871 (2): 331-341.
- [7] LI R, LI P, WANG J, et al. STIP1 down-regulation inhibits glycolysis by suppressing PKM2 and LDHA and inactivating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in cervical carcinoma cells [J]. Life Sciences, 2020, 258: 118190.
- [8] 孙红娜, 王月荣, 黄勇华, 等. 血清中 PKM2 和 TSGF 水平与宫颈癌患者病情进展的相关性 [J]. 实用癌症杂志, 2021, 36 (7): 1072-1075.
- [9] 蔡尚霞, 姜海英, 杨浩. 宫颈、阴道分泌物和血清 PKM2 检测在子宫内膜癌、宫颈癌诊断中的意义 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24 (4): 622-623.
- [10] 谷守娟. PKM2 在子宫内膜癌发病中的作用及其机制研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [11] 毛赛平. PKM2、PTB 在宫颈癌组织中的表达及意义 [D]. 长沙: 中南大学, 2015.
- [12] HUANG P, ZHAO X, XIAO W, et al. 18F-fluorodeoxyglucose uptake predicts PKM2 expression in lung adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8 (24): 39618-39626.
- [13] XIAO H, ZHANG L, CHEN Y, et al. PKM2 promotes breast cancer progression by regulating epithelial mesenchymal transition [J]. Analytical cellular pathology (Amsterdam), 2020, 2020: 8396023.
- [14] LU J, CHEN M, GAO S M, et al. LY294002 inhibits the Warburg effect in gastric cancer cells by downregulating pyruvate kinase M2 [J]. Oncol Lett, 2018, 15 (4): 4358-4364.
- [15] 孟雨, 李燕京, 白玉贤. M2 型丙酮酸激酶非代谢功能在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30 (17): 3230-3234.
- [16] 王彩虹, 陈剑飞, 鞠久君, 等. PKM2 促进肿瘤发展的作用机制研究 [J]. 生物技术进展, 2022, 12 (3): 411-418.
- [17] 刘琼, 刘桂佑. 宫颈分泌物中 M2-PK 的定量检测及在宫颈癌中的应用研究 [J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2019, 16 (6): 16-19.
- [18] GUO M, ZHAO X, YUAN X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in cervical cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8 (17): 28226-28236.
- [19] ZHAO Y, SHEN L, CHEN X, et al. High expression of PKM2 as a poor prognosis indicator is associated with radiation resistance in cervical cancer [J]. Histology and Histopathology, 2015, 30 (11): 1313-1320.

#### • 临床研究 •

## 分泌蛋白 II 在结直肠神经内分泌肿瘤中表达情况和临床分析

黄盛泉 王建 王佳音 林娜 吴春林

**【摘要】目的** 探讨分泌蛋白 II (secretogranin II, SG II) 在结直肠神经内分泌肿瘤 (colorectal neuroendocrine tumors, CRNETs) 中的表达及诊断价值。**方法** 采用免疫组织化学 EnVision 两步法检测 SG II、突触素 (synapsin, Syn)、神经细胞粘附因子 (neural cell adhesion molecule, CD56)、嗜铬素 A (chromogranin A, CgA) 及 Ki-67 在 165 例结直肠原

作者单位: 福建医科大学附属第二医院病理科, 泉州 362000

通信作者: 吴春林, Email: wuchunlin120@sina.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.02.002