



·论著·

TRIM38非CpG岛DNA甲基化与胶质瘤异柠檬酸脱氢酶突变的关系研究

胡维红¹, 吴元明², 殷安安³, 张静¹

1. 延安大学医学院, 陕西 延安 716000

2. 空军军医大学生物化学与分子生物学实验室, 陕西 西安 710032

3. 空军军医大学西京医院 神经外科, 陕西 西安 710032

摘要:目的 探讨TRIM38基因非CpG岛DNA甲基化与胶质瘤异柠檬酸脱氢酶(IDH)基因突变之间的关系。方法 利用中国胶质瘤基因组图谱计划(CGGA)数据库的多组学数据和临床资料,比较在IDH野生型或突变型的胶质瘤中,TRIM38非CpG岛DNA甲基化的改变模式以及与基因表达和临床预后的关系。结果 共纳入CGGA胶质瘤325例及非肿瘤对照脑组织(NTB组)11例,分析发现IDH野生型胶质瘤TRIM38非CpG岛DNA甲基化和基因表达,相对NTB组分别发生低甲基化($P=0.000$)和高表达($P=0.007$),且两者之间呈负相关($P=0.017$)。生存分析显示,TRIM38非CpG岛DNA甲基化水平与IDH野生型肿瘤的预后有关($P=0.061$)。结论 IDH突变可能通过限制TRIM38基因非CpG岛DNA低甲基化介导的肿瘤促癌基因表达上调,为IDH突变相关的胶质瘤提供“保护作用”。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(5): 415-418.]

关键词:胶质瘤; TRIM38; 非CpG岛DNA甲基化; IDH基因突变

中图分类号: R739.41

DOI: 10.16636/j.cnki.jjnn.1673-2642.2021.05.001

Association between non-CpG island DNA methylation of TRIM38 and isocitrate dehydrogenase gene mutations in glioma

HU Wei-Hong¹, WU Yuan-Ming², YIN An-An³, ZHANG Jing¹

1. Medical College of Yanan University, Yan'an, Shaanxi 716000, China

2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

3. Department of Neurosurgery, Xijing Institute of Clinical Neuroscience, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

Corresponding author: ZHANG Jing, Email: yadxzj@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the association between non-CpG island DNA methylation of TRIM38 and isocitrate dehydrogenase (IDH) gene mutations in glioma. **Methods** The multi-omics and clinical data from Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA) were used to compare the differences in the non-CpG island DNA methylation pattern of TRIM38 and its association with gene expression and clinical prognosis between glioma with wild-type or mutant-type IDH. **Results** A total of 325 patients with glioma and 11 non-tumor brain (NTB) tissue samples from CGGA were included for analysis. It was found that compared with the NTB tissue samples, the glioma with wild-type IDH had a significant reduction in the non-CpG island DNA methylation of TRIM38 ($P=0.000$) and a significant increase in the gene expression of TRIM38 ($P=0.007$), with a significant negative correlation between them ($P=0.017$). The survival analysis showed that the non-CpG island DNA methylation level of TRIM38 was associated with the prognosis of glioma with wild-type IDH ($P=0.061$). **Conclusions**

基金项目: 中国博士后科学基金(2019M653971); 山东省自然科学基金青年项目(ZR2020QH233)

收稿日期: 2021-04-19; 修回日期: 2021-09-28

作者简介: 胡维红(1995—), 女, 硕士在读, 主要从事胶质瘤表观遗传机制基础研究。

通信作者: 张静(1982—), 男, 教授, 博士, 主要从事肿瘤的表观遗传学研究, 电话: 0911-2331261 邮箱: yadxzj@163.com。

IDH mutations might exert a “protective effect” on gliomas associated with *IDH* mutation by inhibiting the upregulated expression of pro-oncogenic genes mediated by the non-CpG island DNA hypomethylation of *TRIM38*.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(5): 415–418.]

Keywords: glioma; *TRIM38*; non-CpG island DNA methylation; *IDH* gene mutation

胶质瘤是临床最常见的原发性中枢神经系统恶性肿瘤,约占所有颅内恶性肿瘤的80%^[1]。虽然从病理学的角度统称为胶质瘤,但不同胶质瘤之间存在着巨大的临床和分子特征差异。肿瘤分子标志物的发现使我们能够突破传统病理学分型,从更加本质的分子角度对胶质瘤进行描述^[2]。2008年,Parsons等^[3]在胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)外显子测序研究中首次报道了异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, *IDH*)基因突变。突变的*IDH*能够引起胶质瘤表观遗传组发生高甲基化改变,特别是能够同时引起许多CpG岛区域发生超甲基化,最终形成胶质瘤CpG岛超甲基化表型(glioma CpG island methylator phenotype, G-CIMP)^[4-5]。目前尚不清楚*IDH*突变与基因非CpG岛DNA甲基化改变之间的关系及生物学意义。本研究基于前期结果^[6-8],选取*TRIM38*基因非CpG岛DNA甲基化作为研究对象,利用中国胶质瘤基因组图谱计划(China Glioma Genome Atlas, CGGA)多组学数据和临床资料,探讨其在*IDH*突变型或野生型胶质瘤中的改变模式以及与基因表达和临床预后的关系。

1 材料与方法

1.1 纳入CGGA多组学数据和临床资料

本研究纳入CGGA数据库^[9](<http://www.cgga.org.cn/>; 获取时间:2020年2月21日)具有*IDH*突变状态的胶质瘤病例(共325例),其中*IDH1*基因突变型143例,野生型182例(*IDH*包括*IDH1*和*IDH2*,突变数据来自外显子或RNA测序结果);WHO II级118例,WHO III及62例,WHO IV级142例,未知3例;星形细胞瘤81例,少突胶质细胞瘤33例,少突星形细胞瘤66例,GBM 142例,未知3例;女性130例,男性195例;年龄9~70岁,中位年龄42岁;具有全基因组表达谱数据的胶质瘤样本299例(数据来自Agilent Whole Human Genome Microarray 4x44K平台),具有全基因组DNA甲基化数据的样本145例(数据来自Illumina Infinium Human Methylation27k BeadChip平台),同时具有上述两种组学数据的样本119例。另外,共纳入非肿瘤对照脑组织(non-tumor brain, NTB)样本11例(NTB组),其中3例具有全基因组表达谱数据,8例具有全基因组DNA甲基化数据。

1.2 *TRIM38*基因非CpG岛DNA甲基化及基因表达数据

基于前期研究^[6-7],选取位于距离*TRIM38*基因转录调控区1500碱基对范围内的单CpG位点(探针cg22502502)为主要研究对象,DNA甲基化水平由DNA甲基化芯片探针beta值决定,*TRIM38*基因表达水平由表达谱芯片探针

Z-score值决定,上述数据均经过芯片数据标准化处理,具体步骤详见CGGA数据库(<http://www.cgga.org.cn/>)^[9]。

1.3 统计学及生物信息学分析

应用GraphPad Prism软件进行数据分析。连续变量由Mann-Whitney检验或标准*t*检验比较。关联性分析采用Spearman检验。生存分析由生存曲线和log-rank检验进行比较。生物信息学分析由基因簇富集分析(Gene set enrichment analysis, GSEA)比较^[10]。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *TRIM38*非CpG岛DNA甲基化在*IDH*突变型或野生型胶质瘤中的改变模式

相对于NTB组,*TRIM38*基因非CpG岛在*IDH*突变型的胶质瘤中DNA甲基化改变并不明显($P=0.123$),其甲基化丢失主要发生在*IDH*野生型的胶质瘤中($P=0.000$)。进一步分析发现:在不同级别的胶质瘤之间,该位点的甲基化丢失也存在着突变型和野生型之间的差别趋势,但差异无统计学意义(WHO II级: $P=0.486$; WHO III级: $P=0.857$)。见图1a~b。

2.2 不同的*IDH1*基因突变状态的胶质瘤中,*TRIM38*非CpG岛DNA甲基化与基因表达的关系

与DNA甲基化变化趋势正好相反,相较于NTB组,*TRIM38*基因表达在*IDH*突变的肿瘤中仅具有上调趋势($P=0.077$),但其高表达主要发生在*IDH*野生型肿瘤中($P=0.007$)。同样,在不同级别的胶质瘤之间,*TRIM38*基因表达上调的程度也存在着突变型和野生型之间的差别,特别是WHO III级和IV级肿瘤(WHO II级: $P=0.384$; WHO III级: $P=0.001$)。见图1c~d。

关联分析后发现:在*IDH*野生型肿瘤中,*TRIM38*基因表达水平与非CpG岛DNA甲基化水平呈负相关($r_s = -0.3457$; $P=0.017$),而在*IDH*突变型肿瘤中,两者之间无相关性($P=0.656$)。见图1e~f。

2.3 不同的*IDH1*基因突变状态的胶质瘤中,*TRIM38*非CpG岛DNA甲基化与总体生存时间的关系

为了减少众多因素(如治疗方案、人口学特征等)对生存分析的干扰,我们选取同时接受化疗且临床资料齐全的59例患者进行分析,并以中位甲基化值(0.274)作为高低甲基化的分组界值。生存分析发现,在*IDH*野生型的胶质瘤中,*TRIM38*非CpG岛低甲基化可能与患者较短的生存时间有关($P=0.061$),而在*IDH*突变的肿瘤中,

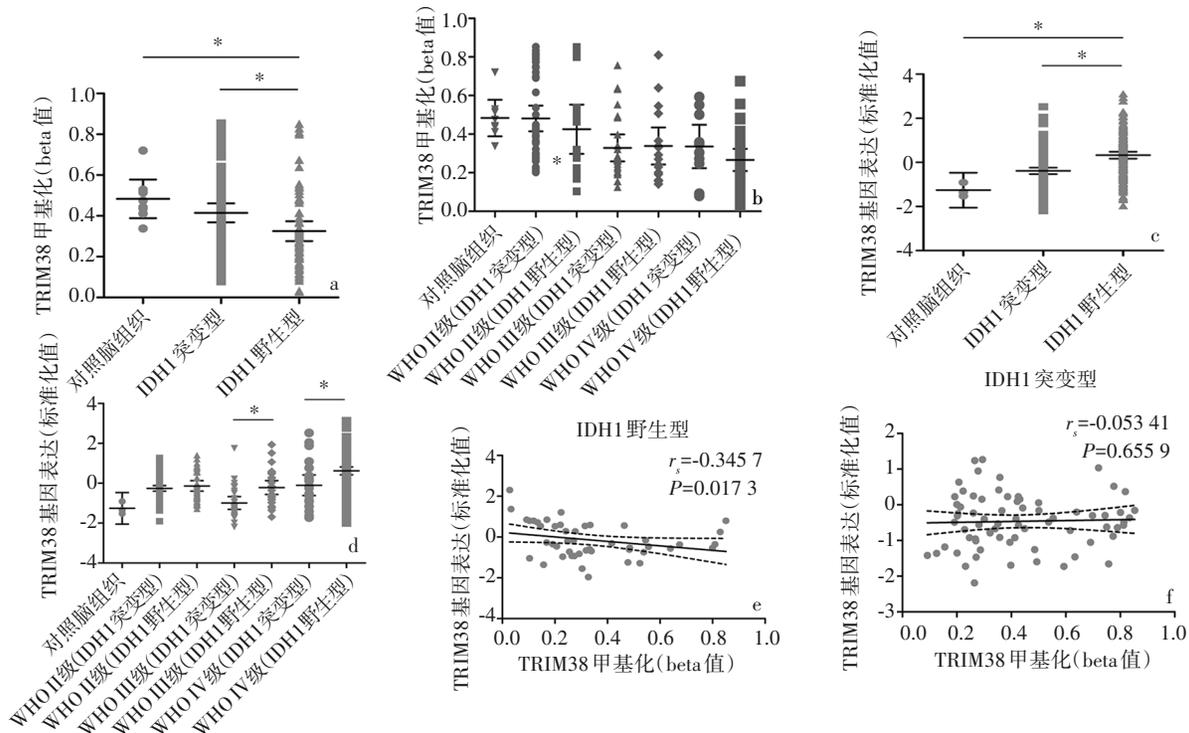


图1 *TRIM38*非CpG岛DNA甲基化和基因表达在*IDH*突变型或野生型胶质瘤中的改变模式和相互关系;*TRIM38*非CpG岛DNA甲基化在(a)所有胶质瘤及(b)不同级别胶质瘤之间的改变模式;*TRIM38*基因表达在(c)所有胶质瘤及(d)不同级别胶质瘤之间的改变模式;*TRIM38*非CpG岛DNA甲基化与该基因表达在(e)*IDH*野生型以及(f)*IDH*突变型胶质瘤中的关系;*表示组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图1 *TRIM38*基因非CpG岛DNA甲基化和基因表达在*IDH*突变型或野生型胶质瘤中的改变模式和相互关系

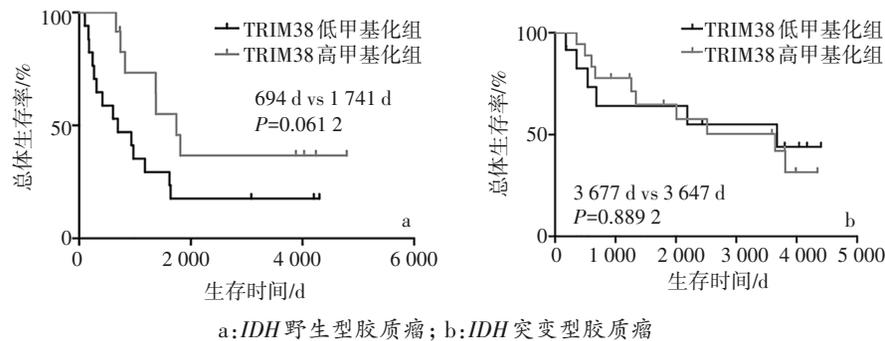


图2 *TRIM38*基因非CpG岛DNA甲基化与不同胶质瘤患者总体生存时间的关系

其甲基化水平与生存时间未相关性($P=0.889$)。见图2。

2.4 不同*IDH1*基因突变状态的胶质瘤中,*TRIM38*非CpG岛DNA甲基化与肿瘤基因表达谱的关系

分别将*IDH*基因突变型或野生型胶质瘤的全基因组表达谱数据按照*TRIM38*基因非CpG岛DNA甲基化分组的情况进行GSEA分析,结果发现:在*IDH*野生型肿瘤中,*TRIM38*低甲基化样本中富集肿瘤或免疫调控相关功能的基因簇,如与细胞凋亡相关的半胱氨酸内肽酶活性($P=0.033$)、髓性细胞分化负性调控($P=0.012$)以及白介素7介导的信号通路($P=0.006$)等;而在*IDH*突变型肿瘤中,未发现肿瘤或免疫调控相关的基因簇在*TRIM38*低甲

甲基化样本中富集。

3 讨论

胶质瘤是一类异质性极大的肿瘤疾病,特别是不同肿瘤之间巨大的分子异质性^[2]。肿瘤分子异质性是现代肿瘤分子病理学诊断的基础。许多重要分子标志物的发现都极大地推动了胶质瘤的临床诊疗发展,其中,*IDH*基因突变因为其里程碑式的意义,已经被写入2016版WHO中枢神经系统肿瘤分类标准,首次构建了分子病理和组织病理并重的肿瘤分型体系^[2]。*IDH*基因原本编码三羧酸循环中的关键限速酶,催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -酮戊二酸(α -ketoglutaric acid, α -KG)及二氧化碳,参与机

体能量代谢^[4, 11]。人类 *IDH* 主要包括 *IDH1*、*IDH2* 和 *IDH3*, 其中, *IDH1* 基因第 132 位精氨酸残基突变 (*R132H*) 约占所有 *IDH1/2* 基因突变总数的 90%, *IDH3* 基因尚未发现突变^[1]。在胶质瘤中, 突变的 *IDH* 能够在 NADPH 氧化为 NADP⁺ 的过程中产生促癌代谢中间物质 2-羟基戊二酸 (2-hydroxyglutaric acid, 2-HG)^[4, 11-13]。2-HG 能够竞争性抑制正常代谢产物 α -KG 依赖性酶, 如 DNA 去甲基化酶 TET2 及组蛋白去甲基化酶等, 通过促进表观遗传组高甲基化的方式影响转录组表达, 最终导致胶质瘤发生发展^[4, 11]。上述机制也奠定了 *IDH* 突变与胶质瘤 G-CIMP 表型之间的因果关系。有趣的是, 尽管 *IDH* 突变具有促癌属性, 但具有 *IDH* 突变的胶质瘤患者却具有更长的生存期和更好的化疗反应。目前尚不清楚上述矛盾出现的机制背景。近年来, 包括本课题组在内的许多研究团队, 通过全基因组 DNA 甲基化数据分析发现: 基因非 CpG 岛 DNA 低甲基化可能是胶质瘤重要的表观遗传学特征, 与肿瘤促癌基因表达激活及患者的预后不良有关^[8, 14-15]。目前尚不清楚 *IDH* 突变是否能够通过调控促癌基因非 CpG 岛 DNA 甲基化, 影响胶质瘤发生发展。

TRIM38 来自 TRIM 蛋白家族, 具有典型的氨基端三结构域和 E3 泛素连接酶活性, 主要参与机体炎症和固有免疫反应^[6, 16]。前期研究中, 笔者报道了 *TRIM38* 基因非 CpG 岛 DNA 低甲基化与该基因在 GBM 中的上调表达、肿瘤免疫表达谱差异以及患者不良预后有关^[6-8]。本研究进一步发现: *IDH* 野生型的胶质瘤中, *TRIM38* 非 CpG 岛 DNA 甲基化和基因表达, 相较于 NTB, 分别发生低甲基化和基因的高表达改变, 且两者之间呈负相关; 而在 *IDH* 突变的胶质瘤中, 其甲基化和基因表达水平变化较小, 且两者之间无相关性。生存分析发现: *TRIM38* 非 CpG 岛 DNA 甲基化水平与 *IDH* 野生型肿瘤的生存期密切相关, 而与 *IDH* 突变的肿瘤预后无明显相关。上述结果提示: 在 *IDH* 野生型的肿瘤中, 缺少了 *IDH* 突变相关的高甲基化作用, *TRIM38* 非 CpG 岛区域迅速发生甲基化丢失, 没有了甲基化的限制, 使得该基因在其他肿瘤相关调控因子的影响下发生表达上调, 从而发挥其促进胶质瘤恶性演进的作用; 而在 *IDH* 突变的肿瘤中, 突变的 *IDH* 通过其促甲基化作用可能参与保护了 *TRIM38* 非 CpG 岛 DNA 甲基化的丢失, 使该基因呈现较高的甲基化水平, 进而限制了该基因在肿瘤中的表达上调以及促肿瘤功能的发挥。因此, *IDH* 突变介导的促甲基化作用可能通过保护基因非 CpG 岛 DNA 甲基化的丢失的方式限制促癌基因表达激活, 进而一定程度上限制胶质瘤向更坏的方向发展。

综上, 本研究从影响非 CpG 岛 DNA 低甲基化介导的促癌基因 (如 *TRIM38*) 表达上调的角度, 为 *IDH* 突变相关的胶质瘤“保护作用”提供了表观遗传学水平的可能解释。

参 考 文 献

- [1] 刘凯飞, 张焯, 陈一, 等. *IDH1* 突变在胶质瘤中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(8): 1454-1457.
- [2] LOUIS DN, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [3] PARSONS DW, JONES S, ZHANG XS, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme[J]. Science, 2008, 321(5897): 1807-1812.
- [4] TURCAN S, ROHLE D, GOENKA A, et al. *IDH1* mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype[J]. Nature, 2012, 483(7390): 479-483.
- [5] 王振, 许在华, 孙靖驰, 等. *IDH1* 基因突变及 MGMT 基因启动子甲基化在胶质瘤中的临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2018, 24(11): 1118-1121.
- [6] 殷安安, 陆南, 贺亚龙, 等. *TRIM38* 基因非 CpG 岛 DNA 甲基化与胶质母细胞瘤临床预后的关系[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(2): 76-78, 81.
- [7] YIN AA, LU N, ETCHEVERRY A, et al. A novel prognostic six-CpG signature in glioblastomas[J]. CNS Neurosci Ther, 2018, 24(3): 167-177.
- [8] 殷安安. 人脑胶质母细胞瘤转录组 DNA 甲基化改变的临床研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2017.
- [9] ZHANG W, YAN W, YOU G, et al. Genome-wide DNA methylation profiling identifies *ALDH1A3* promoter methylation as a prognostic predictor in G-CIMP- primary glioblastoma[J]. Cancer Lett, 2013, 328(1): 120-125.
- [10] SUBRAMANIAN A, TAMAYO P, MOOTHA VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(43): 15545-15550.
- [11] 彭海芹, 付军, 李战战, 等. *IDH1* 基因突变在胶质瘤中的作用机制及其靶向治疗研究[J]. 转化医学电子杂志, 2018, 5(7): 23-26.
- [12] KIM HJ, PARK JW, LEE JH. Genetic architectures and cell-of-origin in glioblastoma[J]. Front Oncol, 2020, 10: 615400.
- [13] LECA J, FORTIN J, MAK TW. Illuminating the cross-talk between tumor metabolism and immunity in *IDH*-mutated cancers [J]. Curr Opin Biotechnol, 2021, 68: 181-185.
- [14] CHEN Q, ZHAO M, YIN CL, et al. Hypomethylation of 111 probes predicts poor prognosis for glioblastoma[J]. Front Neurosci, 2019, 13: 1137.
- [15] NOMURA M, SAITO K, AIHARA K, et al. DNA demethylation is associated with malignant progression of lower-grade gliomas[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1903.
- [16] HU MM, SHU HB. Multifaceted roles of *TRIM38* in innate immune and inflammatory responses[J]. Cell Mol Immunol, 2017, 14(4): 331-338.

责任编辑: 王荣兵