

• 论 著 •

HAUS5 在肾透明细胞癌中的表达及其对预后的意义

杨 川¹, 张元峰^{1△}, 张唯力^{1△}, 郑 俊², 唐纳贤¹(1. 重庆医科大学附属第二医院泌尿外科, 重庆 400010; 2. 南方医科大学
南方医院泌尿外科, 广东 广州 510000)

[摘要] **目的** 探讨肾透明细胞癌中奥格明类复合亚基 5 (HAUS5) 基因的表达及其对预后的意义。通过生物信息学方法和多种分析手段, 揭示其在肾透明细胞癌发生、发展中的潜在机制。**方法** 通过 TIMER2 网站进行泛癌分析, 利用人蛋白质图谱数据库获取基于免疫组织化学的肾透明细胞癌抗体特异性染色评分。同时, 从肿瘤基因组数据库下载关于肾透明细胞癌的基因 mRNA 表达量及相关临床数据。通过 R 语言及 Excel 软件整理得到 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中的 mRNA 表达量及相关临床数据。根据中位 HAUS5 表达量将患者分为高表达组和低表达组。使用 SPSS27.0 和 R 语言等软件进行生存分析和功能分析, 并进行可视化。**结果** HAUS5 在肾透明细胞癌组织和细胞中均呈高表达, 肾透明细胞癌 HAUS5 表达越高发生死亡的风险越高, 差异有统计学意义 (风险比 = 1.744, 95% 可信区间: 1.286 ~ 2.365, $P < 0.001$)。对整体生存明显相关的其他临床变量 [远处转移 (M 分期)、临床分期 (stage 分期)、肿瘤原发灶状况 (T 分期)] 也有影响 (风险比 = 1.551, 1.866, 1.891, 95% 可信区间: 1.302 ~ 1.846, 1.637 ~ 2.126, 1.608 ~ 2.225, $P < 0.001$)。**结论** HAUS5 在肾透明细胞癌组织和细胞中均呈高表达, 且与肾透明细胞癌的进展及不良预后相关, 是临床治疗肾透明细胞癌的潜在靶点。

[关键词] 肾透明细胞癌; 奥格明类复合亚基 5; 基因表达; 预后; 计算生物学

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.10.007

中图法分类号: R737.11

文章编号: 1009-5519(2024)10-1654-06

文献标识码: A

Expression and prognostic significance of HAUS5 in renal clear cell carcinoma

YANG Chuan¹, ZHANG Yuanfeng^{1△}, ZHANG Weili^{1△}, ZHEN Jun², TANG Naxian¹

(1. Department of Urology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 2. Department of Urology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Augmin like complex subunit 5 (HAUS5) gene and its prognostic significance in renal clear cell carcinoma (RCCC), elucidating its potential mechanisms in the occurrence and development of RCCC through bioinformatics methods and various analytical approaches. **Methods** Pan-cancer analysis was conducted using the TIMER2 website. Human protein atlas database was utilized to obtain immunohistochemistry-based antibody-specific staining scores for RCCC. Additionally, gene mRNA expression levels and related clinical data for RCCC were downloaded from the Cancer Genome Atlas database. mRNA expression levels and associated clinical data of HAUS5 gene in RCCC were organized using R and Excel software. Patients were categorized into the high and the low expression groups based on the median HAUS5 expression level. SPSS27.0 and R software were used for survival analysis, functional analysis, and visualization. **Results** HAUS5 exhibited high expression in both RCCC tissues and cells. Higher expression of HAUS5 in RCCC was associated with an increased risk of mortality, with statistically significant differences (hazard ratio = 1.744, 95% confidence interval: 1.286 - 2.365, $P < 0.001$). Other clinical variables significantly associated with overall survival [such as distant metastasis (M stage), clinical stage, and primary tumor status (T stage)] also had an impact (hazard ratio = 1.550, 1.866, 1.891, 95% confidence interval: 1.302 - 1.846, 1.637 - 2.126, 1.608 - 2.225, $P < 0.001$). **Conclusion** HAUS5 is highly expressed in both RCCC tissues and cells and is closely associated with the progression and adverse prognosis of RCCC, suggesting it as a potential target for clinical treatment of RCCC.

[Key words] Kidney renal clear cell carcinoma; Augmin like complex subunit 5; Gene expression; Prognosis; Computational biology

肾癌是泌尿系统肿瘤中致死率最高的恶性肿瘤^[1],其发病率占成人肿瘤的 2%~3%。肾透明细胞癌是肾癌中最常见、恶性程度最高的一种亚型。每年全世界大约有 102 000 例患者因此而死亡。目前,肾癌的病因尚不明确,已证实的肾癌危险因素有遗传、肥胖、高血压、抗高血压药物等^[1-2]。但尚未发现与肾癌有明确关系的致癌物质^[3]。有关遗传在肾癌中的作用机制尚需进行进一步研究。

奥格明类复合亚基 5(HAUS5)也称为 Dgt5 或 KIAA0841,是奥格明复合物的 8 个亚基之一^[4]。先前的研究表明,在细胞分裂过程中 HAUS5 主要参与了纺锤体组装、中心体完整性和细胞质分裂^[5]。HAUS5 的异常表达可导致中心体微管碎裂和中心体体积增加,从而引起染色体错位和双极纺锤体功能缺陷^[6],可能导致染色体错误分裂和非整倍体的产生,进而引发癌症。已有研究发现,HAUS5 与乳腺癌^[7]、肝癌^[8]患者的预后具有明显的相关性,但肾透明细胞癌中 HAUS5 的表达与临床结果或免疫浸润的关系尚不清楚。本研究探讨了肾透明细胞癌中 HAUS5 基因的表达及其对预后的意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 数据来源 肾透明细胞癌的表达谱和临床数据均来源于肿瘤基因图谱(TCGA)数据库,共 614 个样本。

1.2 方法

1.2.1 HAUS5 的表达量与临床数据及数据预处理 使用 R 语言软件进行数据排序和提取后,将 HAUS5 基因的表达数据与临床数据合并。在这个过程中剔除 8 个接受过新辅助治疗的肿瘤组织样本和 1 个临时保留的肿瘤组织样本,最终保留 72 个癌旁组织样本和 533 个初次手术切除的肿瘤样本。根据 HAUS5 基因表达量的高低将 533 个初次手术切除肿瘤的样本分为高表达组(267 例)和低表达组(266 例)。

1.2.2 泛癌分析 通过 TIMER2 网站(<http://timer.cistrome.org/>)对 TCGA 数据库中不同类型的肿瘤或特定亚型肿瘤进行泛癌分析,比较这些肿瘤及其癌旁组织中 HAUS5 基因表达的差异。此外,还从人类蛋白质图谱网站(<https://www.proteinatlas.org/>)下载正常肾组织(对照组)和肾透明细胞癌组织,利用抗 HAUS5 抗体(HPA067250)进行特异性染色。

1.2.3 生存分析 为探究 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中的表达水平是否影响患者的预后,利用 SPSS 27.0 软件绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,以肾透明细胞癌患者的特异性生存期作为主要终点,进而评估 HAUS5 基因表达对患者生存率的潜在影响。

1.2.4 单因素 Cox 回归分析 采用 R 语言软件中的“survival”包进行单变量 Cox 回归分析,探索影响患者整体生存的各种预后因素的相关性。分析肾透明细胞癌患者的特异性生存时间与 HAUS5 表达水平、年龄、性别、临床分期、病理分级,以及是否为原发或复发状态等因素的相关性。同时,探讨 HAUS5 表达

水平与其他临床参数的相关性。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

1.2.5 通过基因集富集分析(GSEA)进行功能和通路分析 对 HAUS5 基因高、低表达的肾透明细胞癌样本进行差异表达基因的 GSEA。通过使用 R 语言软件的“ggplot2”包(版本 4.2.3)进行,目的是揭示 2 组样本的功能差异和生物学通路。将 HAUS5 基因表达水平作为表型标记,并使用归一化富集评分对每个表型富集的通路进行分类。标准化 P 值小于 0.05 的基因集被认为显著富集。

1.2.6 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析 利用 R 语言软件进行 Pearson 相关系数的相关性分析,探究肾透明细胞癌中与 HAUS5 基因相关的变量。基于 Pearson 分析的结果进一步在 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)中探索与 HAUS5 基因相关联的潜在生物信号通路,从而深入理解其在肾透明细胞癌中的作用。

2 结果

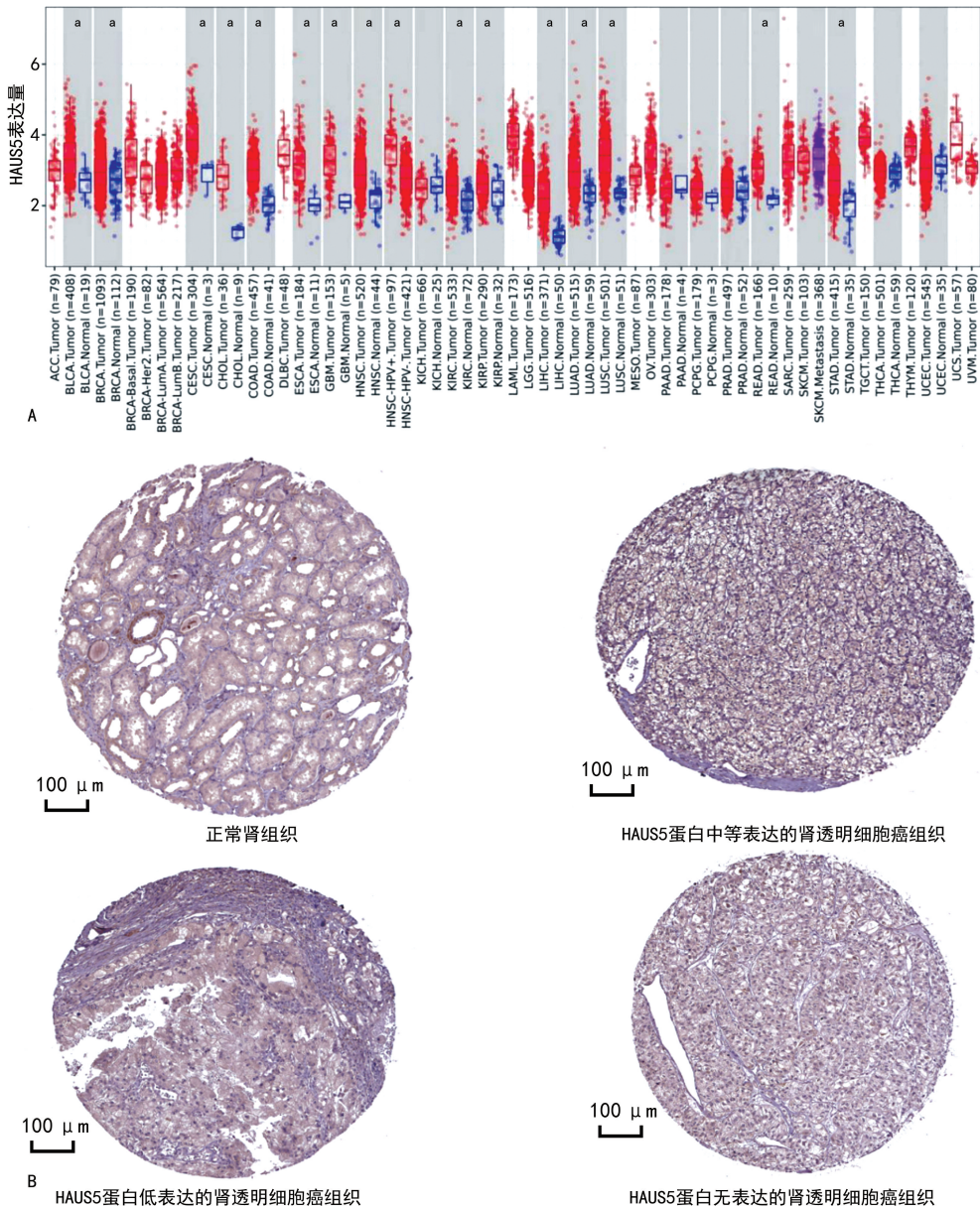
2.1 泛癌分析 与正常肾组织比较,HAUS5 在 14 种癌症中明显过表达,涉及的癌症类型包括膀胱尿路上皮癌、膀胱浸润性癌、胆管癌、结肠腺癌、食管癌等。与癌旁组织比较,肾透明细胞癌 HAUS5 的过表达尤为明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。正常肾组织 HAUS5 蛋白表达均为低表达,肾透明细胞癌样本中部分样本 HAUS5 蛋白表达增加,部分样本下降,这种差异性表达提示 HAUS5 可能与肾透明细胞癌的发生、发展有关,可能在细胞增殖、分化或凋亡等过程中起作用。见图 1。

2.2 生存及预后分析 HAUS5 高表达组中 75% 的患者生存时间(885 d)明显短于低表达组(1 639 d),差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 2A。HAUS5 表达水平越高患者死亡风险相应增加(风险比=1.744,95%可信区间:1.286~2.365, $P<0.001$)。对整体生存明显相关的其他临床变量[远处转移(M 分期)、临床分期(stage 分期)、肿瘤原发灶状况(T 分期)]也有影响(风险比=1.551、1.866、1.891,95%可信区间:1.302~1.846、1.637~2.126、1.608~2.225, $P<0.001$)。HAUS5 可被视为肾透明细胞癌中的一个独立预后因素。见图 2B。

2.3 基于 GSEA 的 HAUS5 相关生物信号通路 上调的前 5 个通路为 α -亚麻酸代谢、碱基切除修复、同源重组、亚油酸代谢和味觉传导。见图 3A。下调的前 5 个通路为抗坏血酸和醛糖酸代谢、柠檬酸循环、戊糖和葡萄糖醛酸互转换、肾素-血管紧张素系统及缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解。见图 3B。在肾透明细胞癌中与 HAUS5 基因共表达的基因火山图见图 4A。高表达组患者 PABPC1L、DHPS、TTLL3、AC008105.3、LMNTD2-AS1、FER1L4、HSF4、AC009084.2、GOLGA8A 等基因明显上调。这些基因的明显上调可能与肾透明细胞癌的发生、发展或预后密切相关。同时,高表达组患者 ALDOB、

SLC13A1、CYP4A11 等基因明显下调。这些下调的基因同样值得重视,因其可能对肾透明细胞癌的生物特性产生重要影响。肾透明细胞癌中 HAUS5 基

因阳性和阴性共表达的排前 30 位基因的热图见图 4B,热图全面呈现了与 HAUS5 相关的差异表达基因及其在不同样本中的表达模式。



注:A. TCGA 数据库中不同肿瘤或特定肿瘤亚型的肿瘤与癌旁组织中 HAUS5 基因表达的差异,^a $P<0.05$ 。B. 正常肾组织及肾透明细胞癌组织利用抗 HAUS5 抗体(HPA067250)进行特异性染色结果(图片来源于人类蛋白质图谱数据库)。

图 1 泛癌分析

2.4 GO 富集分析及 KEGG 富集分析 GO 功能富集分析显示,HAUS5 基因表达在分子功能中与核酸结合、RNA 结合、金属离子结合、蛋白质结合、ATP 酶活性、DNA 引导的 DNA 聚合酶活性等通路相关。见图 5A。表明 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中可能与核酸代谢、蛋白质相互作用及细胞能量代谢等多个关键生物学过程有关,这些功能的异常可能与肾透明细胞癌的发展有关。HAUS5 基因表达在生物过程中与 mRNA 加工、DNA 修复、DNA 模板的转录调控、DNA 复制、RNA 剪接、纤毛组装等通路相关。见图 5B。表明 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中可能与 mRNA 的处理、DNA 修复和复制、转录调控、RNA 剪

接及细胞结构的组装等多个关键生物学过程有关。这些过程的异常可能与肾透明细胞癌的发生、发展相关。HAUS5 基因表达在细胞组成中与核质、细胞核、核斑、中心体、纤毛、细胞质相关。见图 5C。表明 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中可能在多个细胞结构中发挥作用,涉及基因表达调控、RNA 处理、细胞周期控制、细胞结构维护等多个方面。这些细胞结构的异常定位或功能可能与肾透明细胞癌的发生、发展有关。但具体机制需要进一步的实验研究来阐明。KEGG 富集分析显示,HAUS5 基因表达与单纯疱疹病毒 1 型感染、mRNA 监视、碱基切除修复、同源重组、核苷酸切除修复、范科尼贫血等通路相关。见

图 5D。表明 HAUS5 基因可能在肾透明细胞癌中与多个关键的 DNA 修复和 mRNA 处理通路有关,这些通路的异常可能与肾透明细胞癌的发生、发展和癌细胞的生物行为有关,提供了进一步研究 HAUS5 基因在肾透明细胞癌中作用机制的基础。

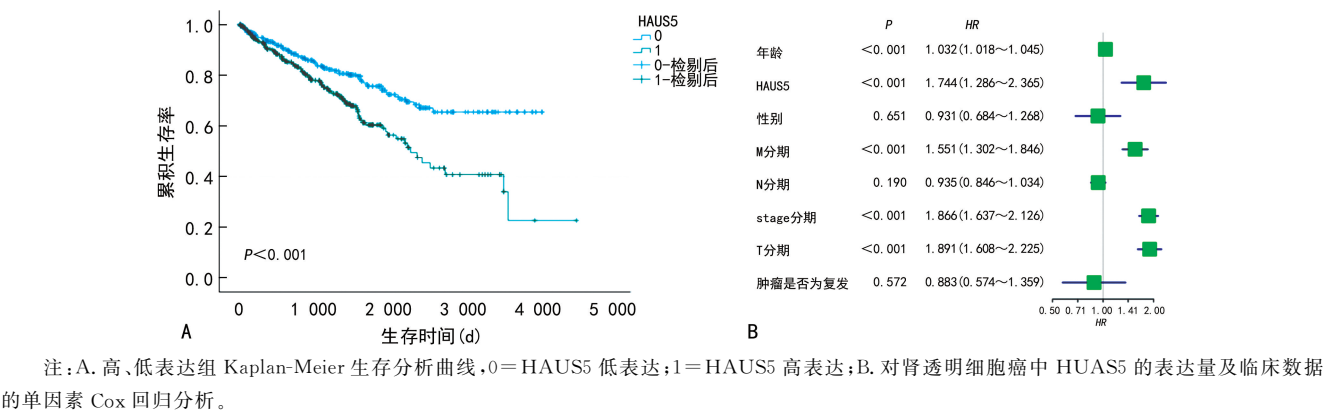


图 2 生存及预后分析

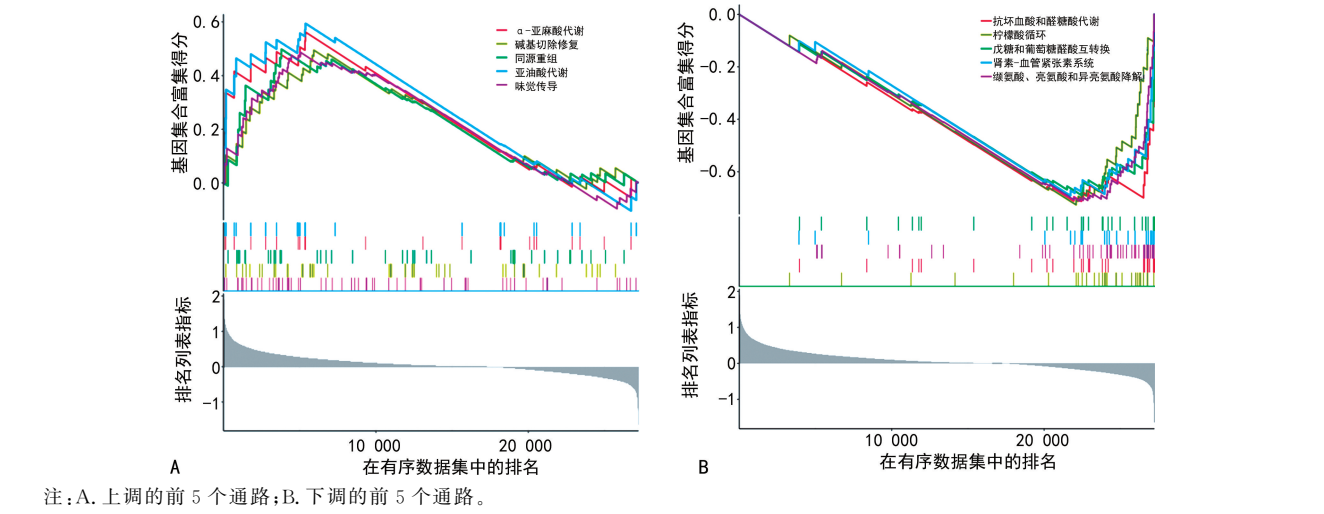


图 3 肾透明细胞癌样本中 HAUS5 基因的 GSEA

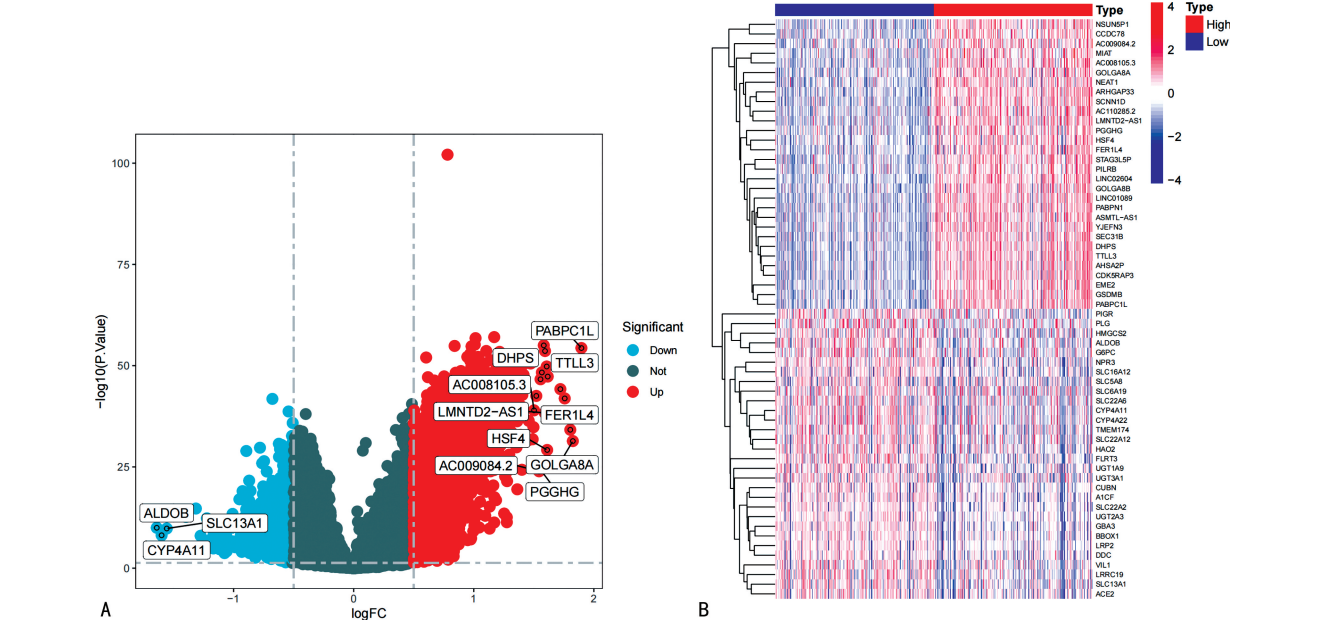
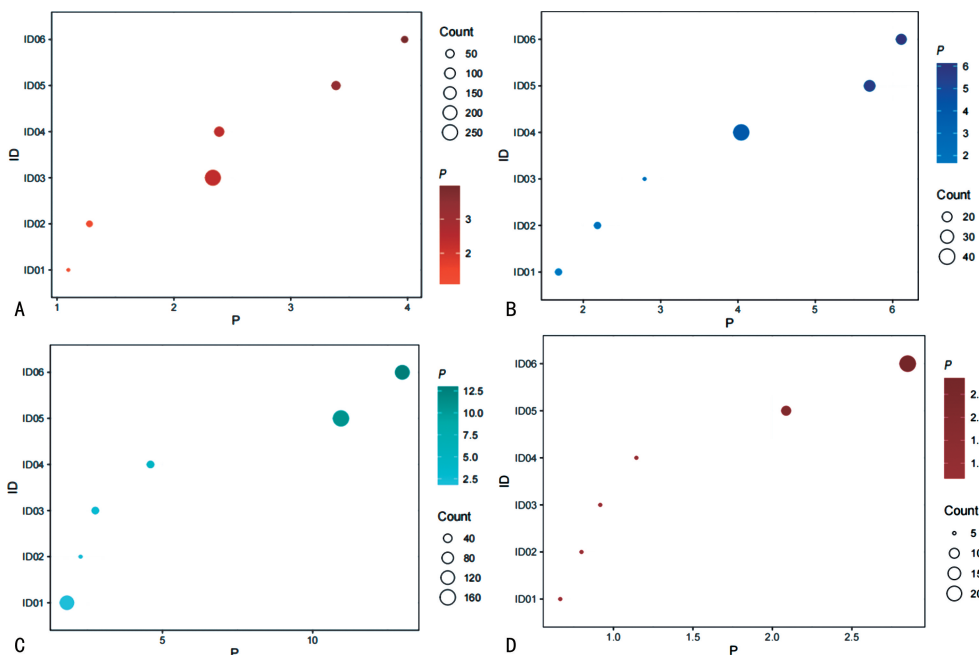


图 4 其他可能与 HAUS5 基因相互作用导致肾透明细胞癌的基因分析



注：A. 分子功能相关通路，ID06=核酸结合，ID05=RNA 结合，ID04=金属离子结合，ID03=蛋白质结合，ID02=ATP 酶的活性，ID01=DNA 引导的 DNA 聚合酶活性；B. 生物过程相关通路，ID06=mRNA 加工，ID05=DNA 修复，ID04=DNA 模板的转录调控，ID03=DNA 复制，ID02=RNA 剪接，ID01=纤毛组装；C. 细胞组成相关通路，ID06=核质，ID05=细胞核，ID04=核斑，ID03=中心体，ID02=纤毛，ID01=细胞质；D. KEGG，ID06=单纯疱疹病毒 1 型感染，ID05=mRNA 监视，ID04=碱基切除修复，ID03=同源重组，ID02=核苷酸切除修复，ID01=范科尼贫血。

图 5 HAUS5 基因的 GO 富集分析及 KEGG 富集分析

3 讨 论

本研究结果显示，肾透明细胞癌 HAUS5 表达量明显高于癌旁组织。已有研究表明，HAUS5 基因在包括乳腺癌^[7]、肝癌^[8]在内的多种癌症中均表现出过度表达的特征。通过免疫组织化学结果观察到部分肾透明细胞癌组织中相对于正常肾组织 HAUS5 蛋白表达量显著提高。

本研究生存分析结果显示，高表达组患者较低表达组的总体生存期明显缩短；单因素 Cox 回归分析结果显示，HAUS5 在肾透明细胞癌中可能是一个独立预后因子，高表达组与肾透明细胞癌的高临床分期、远处转移、T 分期对肾透明细胞癌的风险方向相同，可进一步进行多因素回归分析探究 HAUS5 高表达与肾透明细胞癌的高临床分期、远处转移、T 分期的关系。

有研究表明，HAUS5 基因参与了有丝分裂期间中心体的完整性、纺锤体的组装和细胞质分裂过程的完成^[9]。HAUS5 过表达可能通过促进染色体的错误分裂和非整倍体的形成，从而推动肾透明细胞癌细胞的生长。本研究基因富集分析结果也显示，肾透明细胞癌样本中的 HAUS5 基因与中心体、纤毛相关通路明显富集。纤毛是中心体的组成部分，对细胞骨架的组织 and 细胞的运动具有重要作用。因此，HAUS5 的高表达可能促进肾透明细胞癌细胞的增殖和错误分裂，进而影响癌症的分级、T 分期和远程转移，在肾透明细胞癌的发生、发展中具有重要作用。本研究通过基因富集分析发现，HAUS5 明显富集在 α-亚麻酸代

谢、碱基切除修复、同源重组、亚油酸代谢、味觉传导等通路上。已有研究表明，糖代谢、氨基酸代谢和脂肪酸降解等过程影响肾透明细胞癌的组织学分级、临床分期、远处转移及预后^[9-10]。

α-亚麻酸是一种重要的多不饱和脂肪酸，参与细胞膜的构建和炎症反应的调节^[11]。在肾透明细胞癌中这一代谢途径的改变可能与癌细胞的生存、增殖及抗炎反应有关。碱基切除修复是细胞修复 DNA 中的小擦伤(如碱基损伤、断裂等)的一种方式。在肾透明细胞癌中此修复机制的上调可能反映了癌细胞为适应高突变负荷和 DNA 损伤而增强的 DNA 修复能力。同源重组是一种修复 DNA 双链断裂的重要机制^[12]，其在癌细胞中的上调可能意味着癌细胞利用此途径维持基因组的稳定性，有助于癌细胞生存和增殖。亚油酸是另一种重要的多不饱和脂肪酸，其在多种细胞功能中扮演重要角色，包括细胞信号传导和炎症反应^[13]。在肾透明细胞癌中亚油酸代谢的变化可能与癌症的发展和代谢重编程有关。味觉传导通路的上调比较意外，因味觉传导通常与感官系统相关。可能暗示了在肾透明细胞癌中存在一些非典型的信号传导路径或某些与味觉传导相关基因在肿瘤生物学中可能发挥作用。同时，GSEA 结果下调的前 5 个通路中抗坏血酸(维生素 C)在许多生物化学过程中扮演着重要角色，包括作为抗氧化剂。这一代谢途径在肾透明细胞癌中的下调可能与氧化应激的增加和细胞抗损伤能力的下降有关。柠檬酸循环是细胞内部主要的能量生产途径之一。在癌细胞中柠檬酸循

环的改变通常与能量代谢的重编程和癌细胞特有的代谢需求有关。戊糖和葡萄糖醛酸互转换这一代谢途径涉及糖的转换和代谢,其在维持细胞内的糖平衡和提供必需的生物分子原料方面发挥作用。在肾透明细胞癌中这一途径的下调可能反映了癌细胞代谢的特异性调整。肾素-血管紧张素系统主要调节血压和体液平衡。在癌症中肾素-血管紧张素系统的调节可能影响肿瘤的微环境,包括血液供应和炎症反应^[14]。缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸均是支链氨基酸,其代谢在维持肌肉和其他组织的功能中非常重要。在肾透明细胞癌中这些氨基酸代谢途径的下调可能与癌细胞的生长和生存策略相关。根据 GSEA 结果获得的火山图和热图展示了其他可能与 HAUS5 基因相互作用导致肾透明细胞癌的基因,这需要通过进一步的实验来验证其相关性。

综上所述,HAUS5 在肾透明细胞癌中可能是一个关键的生物标志物和预后因子。HAUS5 高表达与癌症的分级、T 分期、远程转移均密切相关,其在肾透明细胞癌的发生、发展中扮演着重要角色,为未来的肾透明细胞癌研究和治疗提供了新的方向。

参考文献

[1] MCDOUGAL W, SCOTT W, ALAN J, et al. Campbell-walsh urology 11th edition review [M]. Amsterdam: Elsevier, 2015.

[2] 夏术阶, 纪志刚. 坎贝尔-沃尔什泌尿外科学 (第 11 版) 中文编译版 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2019.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 肾癌诊疗规范 (2018 年版) [Z]. 2018-12-13.

[4] LAWOW S, BASHKUROV M, MULLIN M, et al. HAUS, the 8-subunit human Augmin complex, regulates centrosome and spindle integrity [J]. Curr Biol, 2009, 19(10): 816-826.

[5] TIAN J, KONG Z S. The role of the augmin complex in establishing microtubule arrays [J]. J Exp Bot, 2019, 70(12): 3035-3041.

[6] SCHWEIZER N, HAREN L, DUTTO I, et al. Sub-centrosomal mapping identifies augmin-γTuRC as part of a centriole-stabilizing scaffold [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6042.

[7] HUANG Z J, YANG J S, QIU W J, et al.

HAUS5 is a potential prognostic biomarker with functional significance in breast cancer [J]. Front Oncol, 2022, 12: 829777.

[8] ZHANG W B, YANG C, HU Y, et al. Comprehensive analysis of the correlation of the pan-cancer gene HAUS5 with prognosis and immune infiltration in liver cancer [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 2409.

[9] CUI H, SHAN H J, MIAO M Z, et al. Identification of the key genes and pathways involved in the tumorigenesis and prognosis of kidney renal clear cell carcinoma [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 4271.

[10] ZHOU J T, ZHU Y T, LIU Y, et al. High PRAS40 mRNA expression and its role in prognosis of clear cell renal cell carcinoma [J]. Transl Androl Urol, 2020, 9(4): 1650-1660.

[11] LIN H, LIANG Y, KALIAPERUMAL K, et al. Linoleic acid from the endophytic fungus Diaporthe sp. HT-79 inhibits the growth of Xanthomonas citri subsp. citri by destructing the cell membrane and producing reactive oxygen species (ROS) [J]. Pestic Biochem Physiol, 2023, 192: 105423.

[12] DOIG K D, FELLOWES A P, FOX S B. Homologous recombination repair deficiency: An overview for pathologists [J]. Mod Pathol, 2023, 36(3): 100049.

[13] KIKUT J, KOMORNIK N, ZIETEK M, et al. Inflammation with the participation of arachidonic (AA) and linoleic acid (LA) derivatives (HETEs and HODEs) is necessary in the course of a normal reproductive cycle and pregnancy [J]. J Reprod Immunol, 2020, 141: 103177.

[14] PARK C H, KIM H W, PARK J T, et al. Intrarenal renin-angiotensin system activation alters relationship between systolic blood pressure and progression of chronic kidney disease [J]. Hypertension, 2023, 80(5): 1024-1034.

(收稿日期: 2023-12-12 修回日期: 2024-03-25)