

· 数据挖掘 ·

基于多种生物信息学数据探究BUB1基因在乳腺癌中的表达意义及双旋复花内酯甲的干预分析

余旭¹, 周俞², 余春波^{2*}

(1. 遵义市第一人民医院(遵义医科大学第三附属医院), 贵州遵义 563000;
2. 遵义医科大学基础医学院, 贵州遵义 563000)

[摘要] 目的:探讨细胞周期有丝分裂纺锤体检测点丝氨酸/苏氨酸激酶(BUB1)基因在乳腺癌中的表达及与预后的关系,并进一步探究双旋复花内酯甲对乳腺癌细胞中BUB1基因的干预作用。方法:从Oncomine, GEPIA, GEO数据库, bc-GenExMiner v4.5和Kaplan-Meier Plotter数据库深入挖掘BUB1基因表达的相关数据,探寻BUB1基因在乳腺癌组织与正常乳腺组织中的表达差异及与患者预后的关系;利用癌症细胞系百科全书(CCLE)分析BUB1分别在乳腺癌组织T细胞和B细胞中的表达,利用STRING数据库绘制BUB1相关蛋白网络图及基因本体(GO)功能注释,并对京都基因和基因组百科全书(KEGG)相关通路进行分析。采用肿瘤免疫评估资源(TIMER)数据库分析BUB1在免疫浸润物中的表达及对乳腺癌患者生存预后的影响,最后,进一步分析双旋复花内酯甲对乳腺癌细胞中BUB1基因表达水平的影响。结果:①乳腺癌组织中BUB1的mRNA水平明显高于正常组织样本,但不同分子亚型的乳腺癌患者中BUB1的表达水平不同;②BUB1表达升高可导致luminal A亚型有较长的无转移生存期(DMFS),总体生存期(OS)和无复发生存率(RFS);③BUB1与染色质结构维持蛋白4(sSMC4)mRNA表达水平呈正相关,并可能与NUF2等10种蛋白相互作用且具有最强的相互作用关系;④在乳腺浸润癌(BRCA),BRCA-基底细胞(basal)中CD8⁺T细胞、中性粒细胞中BUB1 mRNA高表达相对于低表达组的患者2年生存预后较好;在BRCA-HER-2中B细胞中BUB1 mRNA低表达相对于高表达组的患者2年生存预后较好;⑤GEO数据库分析数据集GSE85871发现双旋复花内酯甲可使乳腺癌MCF7细胞BUB1基因表达下调。结论:乳腺癌组织中BUB1基因呈现高表达,且与乳腺癌的预后及免疫细胞浸润相关,这可能是双旋复花内酯甲干预乳腺癌细胞的一个新的潜在治疗靶点。

[关键词] 丝氨酸/苏氨酸激酶(BUB1); 乳腺癌; Oncomine; 双旋复花内酯甲; 生物信息学

[中图分类号] R737.9; R22; R966; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)18-0152-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210614

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210313.0903.001.html>

[网络出版日期] 2021-03-15 11:59

A Analysis on Expression Significance of BUB1 in Breast Cancer and Intervention of Japonicone A Based on Data-mining from Bioinformatics

YU Xu¹, ZHOU Yu², YU Chun-bo^{2*}

(1. The First People's Hospital of Zunyi (The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University), Zunyi 563000, China; 2. School of Preclinical Medicine of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of the cell cycle mitotic spindle checkpoint serine/threonine kinase (BUB1) gene in breast cancer and its relationship with the prognosis, and further explore the intervention effect of japonicone A on BUB1 gene in breast cancer cells. **Method:** Through Oncomine, GEPIA,

[收稿日期] 20200820(019)

[基金项目] 遵义市市校联合基金[遵市科合HZ字(2020)87号];贵州省科技计划项目(黔科平台人才[2019]-026号)

[第一作者] 余旭,主管护师,从事小儿传染病研究, Tel:0851-23230840, E-mail:489577765@qq.com

[通信作者] *余春波,硕士,实验师,从事肿瘤生物学研究, Tel:0851-28642709, E-mail:yucb@zmu.edu.cn

GEO database, bc-GenExMiner v4.5 and Kaplan-Meier Plotter database, in-depth mining was conducted for BUB1 gene expression-related data, in order to explore the difference in the expression of BUB1 gene in breast cancer tissues and normal breast tissues and its relationship with patient prognosis. Encyclopedia of Cancer Cell Lines (CCLE) was used to analyze the expression of BUB1 in T cells and B cells of breast cancer tissues, STRING database was used to draw BUB1-related protein network diagram and gene ontology (GO) function annotation and analyze relevant pathways in Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). The tumor immune assessment resource (TIMER) database was used to analyze the expression of BUB1 in immune infiltrates and its impact on the survival and prognosis of patients with gastric cancer. Finally, the effect of japonicone A on the expression level of BUB1 gene in breast cancer cells was further analyzed. **Result:** ① The mRNA level of BUB1 in breast cancer tissues was significantly higher than that of normal tissue samples, but the expression levels of BUB1 in breast cancer patients with different molecular subtypes varied. ② Increased expression of BUB1 could lead to longer distant metastasis-free survival (DMFS), overall survival (OS), and recurrence free survival (RFS) in luminal A subtypes. ③ BUB1 was positively correlated with structural maintenance of chromosome 4 (SMC4) mRNA expression level, and might be interacted with 10 proteins, such as NUF2, with the strongest interaction relationship. ④ The high expression of BUB1 mRNA in CD8⁺ T cells and neutrophils in breast invasive carcinoma (BRCA) and BRCA-basal had a better two-year survival prognosis than the low expression group; the low expression of BUB1 mRNA in B cells in BRCA-Her2 had a better two-year survival prognosis than the high expression group. ⑤ GEO database analysis data set GSE85871 found that japonicone A could down-regulate the expression of BUB1 gene in breast cancer MCF7 cells. **Conclusion:** BUB1 gene is highly expressed in breast cancer tissues and related to the prognosis of breast cancer and immune cell infiltration. This may be a new potential therapeutic target for japonicone A to intervene breast cancer cells.

[Keywords] serine/threonine kinase (BUB1); breast cancer; Oncomine; japonicone A; bioinformatics

乳腺癌不但是常见的恶性肿瘤,也是女性中发病率最高的恶性肿瘤^[1],多发于乳腺上皮组织。2015年中国肿瘤统计数据显示乳腺癌已升至女性恶性肿瘤发病率第一位,发病率高达17.1%^[2]。根据雌激素受体、孕激素受体和人类表皮生长因子受体2 (HER-2) 的表达情况,可以将乳腺癌分为管腔A型 (luminal A), 管腔B型 (luminal B), HER-2 阳性和三阴乳腺癌共计4种亚型。乳腺癌发病较为隐匿,发现确诊时的患者多数为中晚期,故预后相对较差,寻找更有效、灵敏的乳腺癌预后生物标志物是乳腺癌研究的迫切需要^[3]。近几十年来,新型治疗靶点的发现和新型靶向药物的开发利用已大大改善了抗乳腺癌战场的局面^[4-5]。乳腺癌的中医证候常见于冲任失调、肝郁气滞、正虚毒炽、肝肾阴虚、气阴两虚证等^[6],中医药具有多靶点、多成分、多通路的特点,且中医药在乳腺癌综合治疗中发挥着重要作用,日益受到人们的重视,因此寻求中医药治疗乳腺癌的方法和药物势在必行,寻找乳腺癌的新治疗靶点和潜在药物具有重要意义。

BUB1 是一种纺锤体检测点蛋白,在有丝分裂维持染色体正确分离、减少异倍体等生物学功能起

着重要作用^[7]。有研究证实BUB1基因表达的改变可影响非整倍体传代及染色体不稳定性,从而促进肾癌、胃癌、肝癌等多种肿瘤的发生发展,尤其在肝细胞肝癌组织中,BUB1呈现出显著高表达水平,并参与了免疫细胞肿瘤内浸润,并影响机体的微环境和血管生成^[7]。在乳腺癌中,BUB1表达水平与乳腺癌病理分级显著相关,且BUB1的表达在乳腺癌组织中比在相邻的肺肿瘤组织中更高,体外对MDA-MB-231和MDA-MB-468乳腺癌细胞株实验表明,通过siRNA降低这些基因的表达可减少肿瘤细胞的生长,并抑制细胞的迁移和侵袭^[8]。进一步使用BUB1短发夹RNA (shRNA) 表达质粒可降低MDA-MB-231乳腺癌细胞株的癌症干细胞潜能,抑制肿瘤细胞增殖,并抑制免疫缺陷小鼠中异种移植物的形成^[9]。在低级别的乳腺癌患者中BUB1的高蛋白表达与更长的总生存期有关,而更低的表达则导致较差的预后^[10]。但目前关于BUB1基因在乳腺癌中表达水平与多种免疫细胞、免疫细胞浸润的关系,以及是否与乳腺癌患者预后相关的研究匮乏。本研究拟利用Oncomine, GEPIA, GEO数据库, bc-GenExMiner v4.5 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库

中乳腺癌临床数据进行分析,评估BUB1在不同亚型乳腺癌中的表达水平和潜在的临床价值,在分析的过程中,发现双旋复花内酯甲对乳腺癌细胞BUB1基因表达存在影响,因此本研究一并探讨,以期为中医药治疗乳腺癌提供新的治疗靶点和研究思路。

1 资料与方法

1.1 Oncomine 分析 Oncomine 数据库 (www.oncomine.org) 是一个用于DNA或RNA序列分析的综合在线癌症微阵列数据库,旨在促进全基因表达分析^[11]。Oncomine 设定的筛选条件为① gene: BUB1; ② cancer type: breast cancer; ③ analysis type: cancer vs. normal analysis; ④ data type: mRNA; ⑤ sample type: clinical specimen。

1.2 GEPIA 分析 设定检索条件为 breast cancer, 以基因表达变化倍数的对数值的绝对值 \log_2FC (fold change) ≥ 1 , $P < 0.05$ 为标准对 BUB1 基因进行表达水平的验证。

1.3 bc-GenExMiner v4.5 分析 bc-GenExMiner v4.5 (bcgenex.centregauducheau.fr/BC-GEM/GEM-Accueil.php?js=1) 在 2020 年 6 月进行数据更新,是一种数据挖掘工具,包含 36 个已发表的注释基因组数据^[12]。根据临床标准(如激素受体、淋巴结状态等),用 3 个模块来呈现统计的数据,使用表达模块分析 BUB1 基因的临床参数,如 ScarffBloom & Richardson 分级(SBR),诺丁汉预后指数(NPI),HER-2,基底细胞样(basal-like);使用预后模块评估 BUB1 表达模块与转移复发事件的相关性。

1.4 Kaplan-Meier 分析 Kaplan-Meier 绘图仪 (<http://kmplot.com/analysis/>) 能够评估癌症样本对 54 675 个基因对存活率的影响。Kaplan-Meier 绘图仪网站设定的筛选条件:① start KM plottery for breast cancer; ② gene symbol: BUB1 (209642_at); ③ survival: 无转移生存期(DMFS),总体生存期(OS),无复发生存率(RFS)。

1.5 CCLE 分析 CCLE (<https://portals.broadinstitute.org/ccle>) 是 Board Institute 维护的一个癌症细胞系的数据库,目前有 1 457 细胞系,在搜索栏检索 BUB1,利用 CCLE 对 BUB1 基因在乳腺肿瘤组织 T 细胞和 B 细胞中的表达进行分析。

1.6 STRING 分析 STRING 数据库是分析基因或蛋白相互作用的在线检索工具,并设定限定条件为① protein name: BUB1; ② organism: human; ③ pathway: 京都基因和基因组百科全书(KEGG);

④ $P < 0.05$ 。进行基因本体(GO)功能注释和 KEGG 通路富集分析。

1.7 TIMER 分析 设定条件① cancer: breast invasive carcinoma (BRCA), BRCA-basal, BRCA-luminal, BRCA-HER-2; ② gene: BUB1; ③ survival time between: 0-12/24/36 months; ④ correlation。

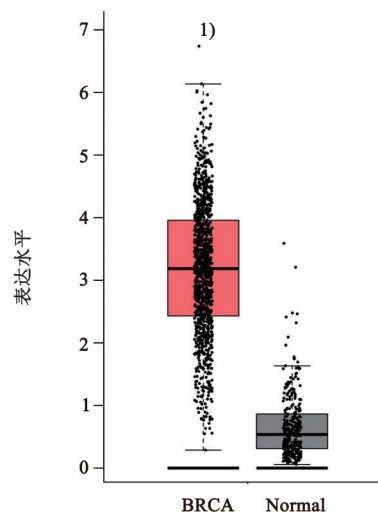
1.8 GEO 分析 GEO datasets 并在检索栏输入筛选条件如下① japonicone A; ② organism: homo sapiens, 然后找出目标数据集并下载。

1.9 统计学分析 采用 t 检验来比较乳腺癌组织与正常乳腺组织之间 BUB1 表达的差异, Kaplan-Meier 方法计算 BUB1 表达与乳腺癌预后的关系。统计学分析用 SPSS 22.0 进行,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 与正常乳腺组织比较, BUB1 在乳腺癌组织中显著高表达 Oncomine 数据库中 BUB1 表达有统计学差异的结果有 90 项,其中 BUB1 有 78 项表达增高的,表达降低的有 12 项,在乳腺癌中高表达的研究有 10 项,低表达的研究有 1 项。此类研究分别发表于 TCGA, Nature^[13], Cancer Cell^[14], 与正常组织相比, BUB1 mRNA 在所有差异基因中位数值排名 139.5, $P = 8.77 \times 10^{-16}$, 差异有统计学意义,提示 BUB1 在乳腺癌组织中显著高表达。

2.2 BUB1 mRNA 在乳腺癌组织表达情况 GEPIA 数据库分析结果显示,与乳腺正常组织相比,乳腺癌组织中 BUB1 mRNA 表达水平明显升高 ($P < 0.05$), 见图 1。



¹⁾ $P < 0.05$

图1 BUB1在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的不同表达情况

Fig. 1 Different expression patterns of BUB1 in breast cancer and normal breast tissue

2.3 BUB1在不同分子亚型的乳腺癌患者中的表达不同 使用bc-GenExminer v4.5进行分析,根据不同的临床病理特征,比较各组患者BUB1的转录水平。结果表明,≤51岁组与>51岁组间($P=0$),雌激素受体(+)($P=0$),孕酮受体(+)($P=0$)与BUB1 mRNA表达呈负相关相反,淋巴结阳性(Nodal status+)的乳腺癌患者中BUB1 mRNA水平高于淋巴结阴性者(Nodal status-)($P=0$),与HER-2(-)患者相比,BUB1 mRNA水平在HER-2(+)患者中表达较高($P=0$)。组间比较还表明,在三阴性乳腺癌(TNBC)中,BUB1 mRNA表达显著高于非TNBC($P=0$),而在basal-like亚型中BUB1 mRNA表达显著高于其他亚型($P=0$),见表1。

表1 BUB1 mRNA表达与乳腺癌临床特征参数的关系
Table 1 Relationship between BUB1 mRNA expression and clinical characteristic parameters of breast cancer

病理特征	指标/类别	mRNA	例数
年龄	≤51	无显著差异	1 099
	>51	下降	3 208
淋巴结状态	阴性	无显著差异	2 415
	阳性	下降	1 646
雌激素受体	阴性	无显著差异	551
	阳性	下降	3 911
孕酮受体	阴性	无显著差异	828
	阳性	下降	3 498
表皮生长因子受体2	阴性	无显著差异	3 582
	阳性	增高	661
三阴性受体状态	Not	无显著差异	4 119
	三阴性乳腺癌	增高	317
basal-like 状态	Not	无显著差异	3 837
	basal-like	增高	832

注: P 均<0.05。

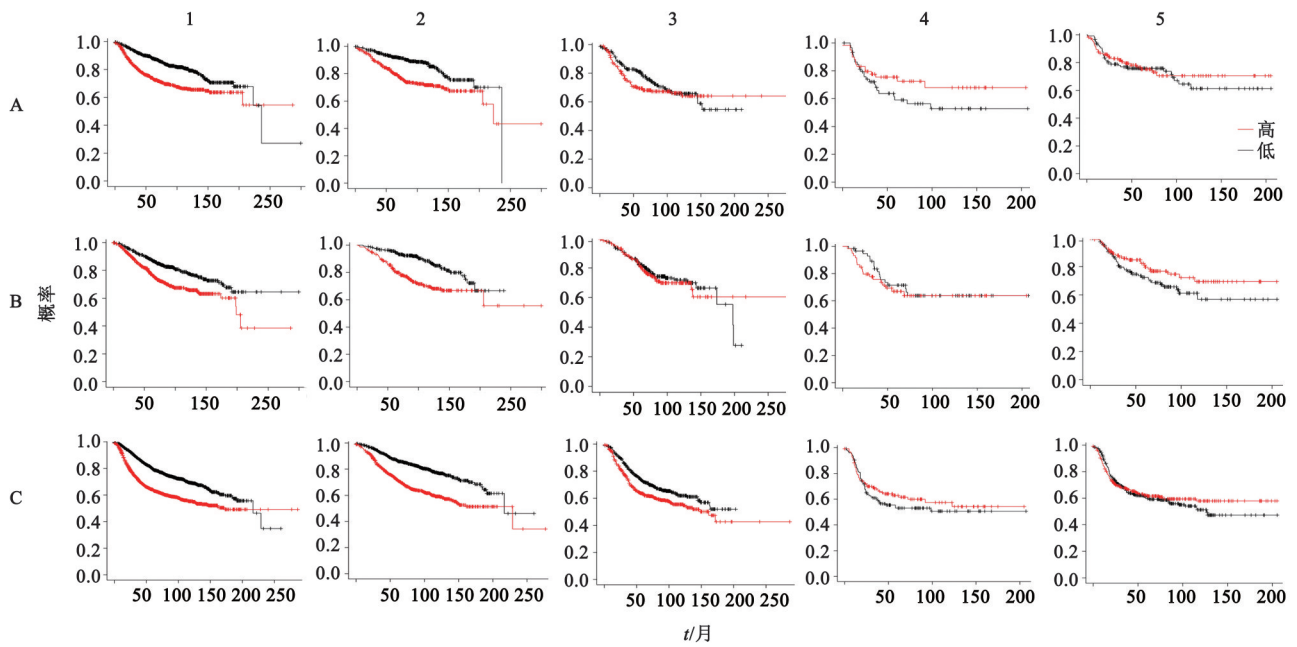
2.4 BUB1的表达与乳腺癌患者的DMFS,OS,RFS预测 Kaplan-Meier plotter分析表明,BUB1基因的表达水平与乳腺癌患者的DMFS,OS,RFS之间存在关联,在所有乳腺癌患者中,BUB1 mRNA的高表达与DMFS的缩短有关($HR=1.88, P=0$)图2A;但在luminal A亚型乳腺癌患者中($HR=2.11, P=0$)时,BUB1 mRNA的低表达与DMFS的缩短有关,见图2B。然而,在luminal B亚型乳腺癌患者($HR=1.2, P=0.32$),HER-2(+)亚型乳腺癌患者($HR=0.65, P=0.18$)或basal-like亚型乳腺癌患者($HR=0.9, P=0.67$)中,BUB1 mRNA的高表达或低表达与

DMFS的缩短差异无统计学意义。在所有乳腺癌患者中BUB1 mRNA的高表达与OS有关($HR=1.73, P=0$),但在luminal A亚型乳腺癌患者中($HR=2.42, P=0$)时,BUB1 mRNA的低表达与OS有关。然而,在luminal B亚型乳腺癌患者($HR=1.07, P=0.71$),HER-2(+)亚型乳腺癌患者($HR=1.2, P=0.58$)或basal-like亚型乳腺癌患者($HR=0.67, P=0.12$)中,BUB1 mRNA的高表达或低表达与OS差异无统计学意义,见图2(h, i, j)。在所有乳腺癌患者中BUB1 mRNA的高表达与RFS有关($HR=1.79, P=0$),在luminal A亚型乳腺癌患者中($HR=2.12, P=0$),在luminal B亚型乳腺癌患者($HR=1.37, P=0.001$),BUB1 mRNA的高表达与RFS有关,见图3(k, l, m)。然而在HER-2(+)亚型乳腺癌患者($HR=0.84, P=0.36$)或basal-like亚型乳腺癌患者($HR=0.94, P=0.62$)中,BUB1 mRNA的高表达或低表达与RFS差异无统计学意义。见图2。

2.5 BUB1蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析 仅通过共表达分析并不能完全揭示出BUB1作用于乳腺癌的机制。STRING数据库分析其蛋白的相互作用,发现10个蛋白与BUB1相互作用,包含NUF2,细胞分裂周期蛋白20(CDC20),癌症易感性候选基因5(CASC5),核分裂周期蛋白80(NDC80),有丝分裂终止缺失2样蛋白1(MAD2L1),BUB1B,PLK1,着丝粒蛋白E(CENPE),BUB3,周期蛋白依赖性激酶(CDK1)等;与BUB1具有最强的相互作用关系(score=0.999)。

2.6 BUB1 mRNA在乳腺癌组织中与多种免疫细胞的关系 利用TIMER数据库研究发现,BUB1 mRNA在乳腺浸润癌(BRCA)免疫微环境中与B细胞,中性粒细胞,CD8⁺T细胞,肿瘤纯度,CD4⁺T细胞和树突状细胞在乳腺癌组织的免疫微环境中的表达明显相关($P<0.05$);而与巨噬细胞在乳腺浸润癌组织免疫环境中的表达无确切关系。其中BUB1 mRNA表达水平与巨噬细胞呈负相关(偏相关系数=-0.009)表达量下降;而与其余免疫细胞呈正相关(偏相关系数均为正值),表达量增加,见图3。

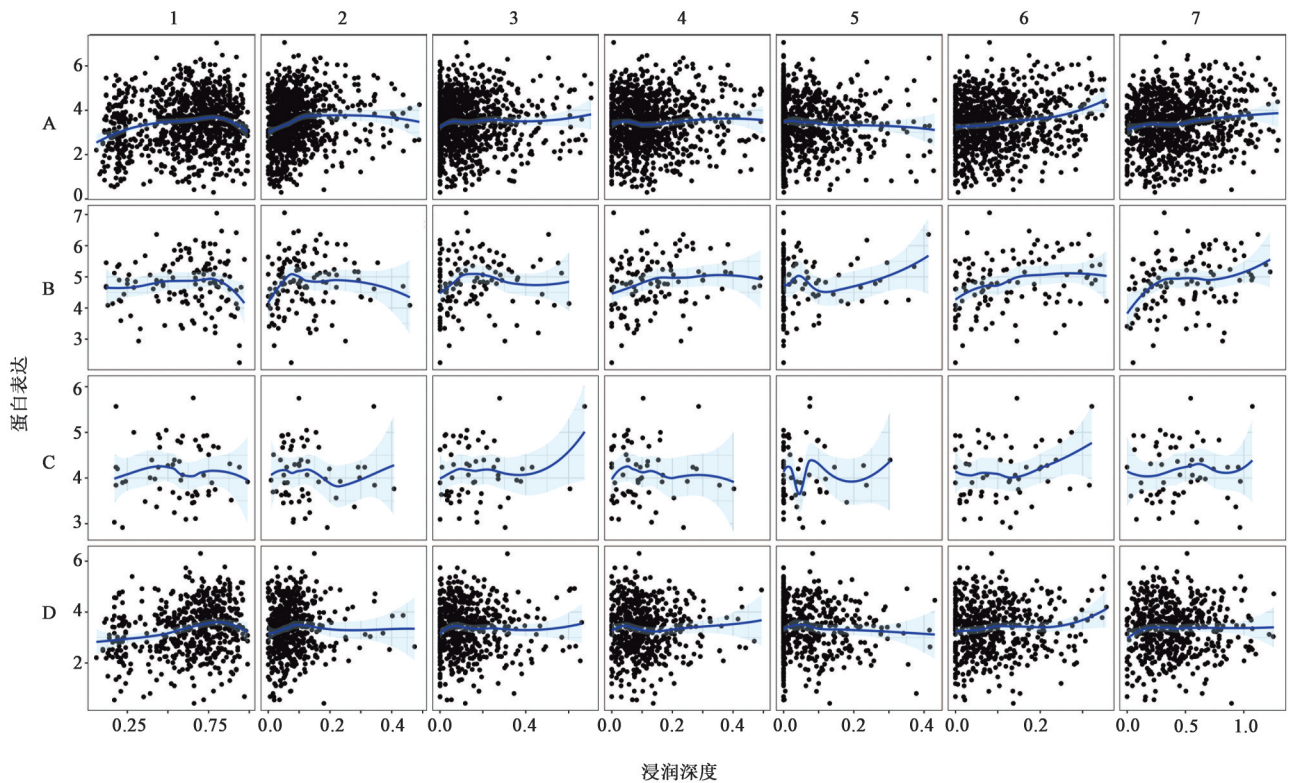
BUB1 mRNA在BRCA-basal免疫微环境中与B细胞,中性粒细胞,CD8⁺T细胞,CD4⁺T细胞和树突状细胞在乳腺癌组织的免疫微环境中的表达明显相关($P<0.05$);而与肿瘤纯度、巨噬细胞在乳腺浸润癌组织免疫环境中的表达无确切关系。其中BUB1 mRNA表达水平与免疫细胞呈正相关,表达量增加,见图3。



A. DMFS; B. OS; C. RFS; 1. 所有患者; 2. luminal A 亚型; 3. luminal B 亚型; 4. HER-2; 5. basal-like 亚型

图2 乳腺癌患者BUB1与DMFS, OS, RFS的关系

Fig. 2 Relationship between BUB1 expression and DMFS, OS, RFS in breast cancer patients



A. BRCA; B. BRCA-basal; C. BRCA-HER-2; D. BRCA-luminal; 1. 肿瘤纯度; 2. B 细胞; 3. CD8⁺T 细胞; 4. CD4⁺T 细胞; 5. 巨噬细胞; 6. 中性粒细胞; 7. 树突状细胞

图3 BUB1与肿瘤免疫细胞间的相关性

Fig. 3 Correlation between BUB1 and tumor immune cells

BUB1 mRNA 在 BRCA-HER-2 免疫微环境中与 B 细胞, 中性粒细胞, CD8⁺T 细胞, 肿瘤纯度, 巨

噬细胞, CD4⁺T 细胞和树突状细胞在乳腺癌组织的免疫微环境中的表达无确切关系, 见图 3。

BUB1 mRNA在BRCA-luminal免疫微环境中与B细胞,中性粒细胞,CD8⁺T细胞,肿瘤纯度,巨噬细胞,CD4⁺T细胞和树突状细胞在乳腺癌组织的免疫微环境中的表达明显相关($P<0.05$);其中BUB1 mRNA表达水平与免疫细胞呈正相关,表达量增加,见图3。

2.7 双旋复花内酯甲对乳腺癌MCF7细胞中BUB1基因表达的影响 对GEO数据库中的GSE85871数据集进行GEO2R在线分析,并从双旋复花内酯甲对乳腺癌MCF7细胞的基因表达谱中采集探针号为209642_at的BUB1基因表达数据信息,进一步用*t*检验对照组和双旋复花内酯甲组之间的基因表达差异情况,发现双旋复花内酯甲可使乳腺癌MCF7细胞BUB1基因表达下调($P<0.01$)。

3 讨论

乳腺癌是女性癌症相关死亡的主要原因之一,据认为是一种具有多种生物学亚型,具有不同临床,病理和分子特征的多方面疾病,基于雌激素受体/孕激素受体和HER-2的表达,乳腺癌的分子分类提供了不同的预后/预测意义和治疗信息^[15-16]。随着肿瘤细胞学的不断深入研究,科研工作者们认识到肿瘤细胞遗传学特征为基因组的不稳定性和异倍体细胞的存在,而对BUB1蛋白的表达情况进行研究对于肿瘤的诊断和治疗具有重要意义^[9]。

BUB1基因定位于人类染色体2q14上,其编码的蛋白是纺锤体检查点的一种平台蛋白,是纺锤体检查点其他细胞组分能精确定位于纺锤体的基础,在有丝分裂期维持染色体正确分离、减少异倍体形成等方面起着不可或缺作用^[7]。有研究表明,BUB1水平与癌症患者预后不良有关^[17]。BUB1表达上调能够促进胶质母细胞瘤的生长和增殖,并和胶质母细胞瘤患者的不良预后相关^[18]。BUB1基因表达与子宫内膜癌的病理类型、分化程度、肿瘤分期密切相关^[19]。通过生物信息学分析发现BUB1是肾乳头状细胞癌关键的预后生物标志之一^[20]。BUB1可能通过参与卵母细胞减数分裂和细胞周期参与原发性肝癌的发生与发展。BUB1 mRNA表达影响原发性肝癌的预后^[21]。敲除BUB1会降低肿瘤干细胞的潜能,BUB1可能成为针对乳腺癌干细胞的治疗靶点^[9]。卵巢癌中,高表达BUB1基因的卵巢浆液性癌分化程度越低,与肿瘤的侵袭深度和淋巴结转移呈正相关^[22]。BUB1在胃癌组织中高表达,且与胃癌的预后及免疫细胞浸润密切相关^[23]。上述研究提示BUB1基因在不同类型的肿瘤中可能发挥着不

同的作用。

免疫系统在肿瘤的治疗和预后中发挥着重要的作用,因此基于现目前研究背景,本研究通过Oncomine, GEPIA, GEO数据库, bc-GenExMiner v4.5和Kaplan-Meier Plotter数据库深入挖掘BUB1基因表达的相关数据,探寻BUB1基因在乳腺癌组织与正常乳腺组织中的不同表达及免疫细胞浸润与患者预后的关系。研究发现,BUB1在多数肿瘤中高表达,表达增高的有78项,表达降低的有12项,在乳腺癌中高表达的研究有10项,低表达的研究有1项,与GEPIA数据库分析结果一致,在分子亚型分析中,BUB1在HER-2亚型和basal-like亚型中的表达明显高于乳腺癌的luminal A亚型和luminal B亚型,而在NPI, SBR分析中,NPI水平越高,SBR分级越高,BUB1 mRNA水平越高,在Kaplan-Meier plotter分析中,BUB1基因的表达水平与乳腺癌患者的OS, DMFS, RFS之间存在关联,BUB1 mRNA的高表达对乳腺癌患者DMFS, OS, RFS显著延长,表明BUB1高表达对乳腺癌患者的预后可能会更好,进一步CCLE数据库分析BUB1 mRNA在乳腺癌组织中的T细胞和B细胞中较正常乳腺组织显著高表达,在此基础上挖掘BUB1相关联的蛋白,并进行功能注释和KEGG通路富集分析,发现主要涉及的KEGG信号通路有细胞周期信号通路、卵母细胞减数分裂信号通路、孕激素介导的卵母细胞成熟信号通路等;有研究报道NUF2, CDC20, CASC5, NDC80, MAD2L1, BUB1B等在乳腺癌中发挥重要的作用,BUB1B基因编码的蛋白是SAC复合体的重要成员,BUB1B表达增加是恶性程度高的乳腺癌的特征之一^[24]。MAD2L1在浸润性导管癌中显著高表达,调控肿瘤细胞的增殖能力,并与患者的总体生存期相关^[25]。NUF2基因在乳腺癌中高表达,其表达水平对预测乳腺癌患者的预后具有重要意义^[26]。NDC80基因编码的NDC80蛋白参与构成微管与动粒连接复合体,为染色体正常分离所必需,在细胞有丝分裂过程中起着至关重要的作用^[23];NDC80的异常表达会造成染色体的异常分离,从而使染色体不稳定,最终导致肿瘤的发生^[27]。MAD2L1和CDC20蛋白是纺锤体检查点(SAC)复合体的组成成分,SAC负责确保姐妹染色单体的动粒和纺锤体结合并准确分离到2个子细胞中,shRNA敲除MAD2L1可以抑制乳腺癌细胞的生长和侵袭能力^[8,28]。CDC20的高表达与乳腺癌患者较差的预后相关,且由他介导的B细胞转位基因3

(BTG3)相关核蛋白(SMAR1)降解可以促进乳腺癌细胞迁移和侵袭^[29]。基于TIMER数据库进一步探讨BUB1与肿瘤微环境免疫细胞浸润之间的关系。发现在BRCA中CD8⁺T细胞、中性粒细胞中BUB1 mRNA高表达相对于低表达组的患者2年生存预后较好,说明高表达BUB1的肿瘤浸润CD8⁺T细胞和中性粒细胞对肿瘤细胞增殖具有抑制作用,可能成为乳腺癌免疫治疗药物新的靶点。

目前中医药在乳腺癌综合治疗中发挥着重要作用,日益受到人们的重视,因此在中医中药中寻求治疗乳腺癌的方法和药物势在必行。中药品种很多,单个品种中成分也非常复杂,为抗肿瘤治疗方法和药物的研发提供了丰富的来源^[30]。2015年版《中华人民共和国药典》收载品种菊科植物旋覆花 *Inula japonica*,具有降气、消痰、行水、止呕的功效,用于风寒咳嗽、痰饮蓄结、胸膈痞闷、喘咳痰多、呕吐噎气、心下痞硬,旋覆花富含甾醇、倍半萜及黄酮类化合物,药理研究表明,旋覆花属植物的提取物及单体成分在抗肿瘤、抗炎、抗血脂和护肝及治疗糖尿病等方面具有良好的生物活性^[31-33]。旋复花抗癌有效成分主要为其双倍半萜内酯类天然产物—双旋复花内酯甲,可靶向抑制核因子- κ B(NF- κ B)信号通路,体内体外对淋巴瘤细胞具有显著的抗癌作用,从而达到抑制肿瘤细胞生长和转移^[34]。双旋复花内酯甲直接靶向该细胞因子并选择性破坏其与肿瘤坏死因子受体(TNFR)1的相互作用来拮抗TNF- α 的活性,但不影响宿主对病毒的防御能力^[35]。双旋复花内酯甲通过线粒体介导的途径抑制非小细胞肺癌细胞的生长^[36]。本研究通过数据挖掘双旋复花内酯甲可使乳腺癌MCF7细胞BUB1基因的表达下调,这在一定程度上预示了BUB1基因将成为双旋复花内酯甲干预乳腺癌潜在靶点的可能性。

综上所述,笔者通过对乳腺癌中BUB1相关基因芯片信息的深入挖掘,提出BUB1在乳腺癌组织中高表达,且与乳腺癌的预后及免疫细胞浸润密切相关,发现双旋复花内酯甲可作用于乳腺癌的新的潜在治疗靶点BUB1基因,并结合文献资料推测可能存在的新抗肿瘤机制。相对于传统的单个实验样本的研究,肿瘤数据库具有样本量大,可信度高的优点,对疾病的诊治提供有力的生物学依据,也为进一步探索BUB1基因与乳腺癌的关系奠定了前期的基础,进而为乳腺癌的中医药物研发提供一定的理论支持和思路借鉴。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [3] DUFFY M J, WALSH S, MCDERMOTT E W, et al. Biomarkers in breast cancer: where are we and where are we going?[J]. Adv Clin Chem, 2015, 71: 1-23.
- [4] MAYANK, JAITAK V. Drug target strategies in breast cancer treatment: recent developments[J]. Anti-Cancer Agent Me, 2014, 14(10): 1414-1427.
- [5] MARUTHANILA V L, ELANCHERAN R, KUNNUMAKKARA A B, et al. Recent development of targeted approaches for the treatment of breast cancer[J]. Breast Cancer, 2017, 24(2): 191-219.
- [6] 李春阳,董梦婷,江科,等. 基于文献分析的乳腺癌中医证候规范化研究[J]. 云南中医学院学报, 2020, 43(3): 41-45.
- [7] LEONTIOU I, LONDON N, MAY K M, et al. The BUB1-TPR domain interacts directly with Mad3 to generate robust spindle checkpoint arrest [J]. Curr Biol, 2019, 29(14): 2407-2414.
- [8] WANG Z, KATSAROS D, SHEN Y, et al. Biological and clinical significance of MAD2L1 and BUB1, genes frequently appearing in expression signatures for breast cancer prognosis [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0136246.
- [9] HAN J Y, HAN Y K, PARK G Y, et al. Bub1 is required for maintaining cancer stem cells in breast cancer cell lines [J]. Sci Rep-UK, 2015, 5: 15993.
- [10] MUKHERJEE A, JOSEPH C, CRAZE M, et al. The role of BUB and CDC proteins in low-grade breast cancers [J]. Lancet, 2015, 385: S72.
- [11] RHODES D R, YU J, SHANKER K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J]. Neoplasia, 2004, 6(1): 1-6.
- [12] J Z QUEL P, FR NEL J S, CAMPION L, et al. bc-GenExMiner3.0: new mining module computes breast cancer gene expression correlation analyses [J]. Database (Oxford), 2013, doi: 10.1093/database/bas060.
- [13] CURTIS C, SHAH S P, CHIN S F, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups [J]. Nature, 2012, 486(7403): 346-352.

- [14] RICHARDSON A L, WANG Z C, DE NICOLO A, et al. X chromosomal abnormalities in basal-like human breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(2): 121-132.
- [15] 林永丽, 杨灿, 李艳. miR-219a-5p对皮肤鳞状细胞癌细胞凋亡的影响及机制[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(1): 74-78, 92.
- [16] ONITILO A A, ENGEL J M, GREENLEE R T, et al. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival[J]. *Clin Med Res*, 2009, 7(1/2): 4-13.
- [17] OVERLACK K, PRIMORAC I, VLEUGEL M, et al. A molecular basis for the differential roles of Bub1 and BubR1 in the spindle assembly checkpoint[J]. *eLife*, 2015, 4:e05269.
- [18] 白晓斌, 霍龙伟, 谢万福, 等. BUB1在胶质母细胞瘤中高表达并促进胶质母细胞瘤的增殖[J]. *西安交通大学学报:医学版*, 2019, 40(2): 278-283.
- [19] 殷复粉, 赵丽君, 李小平, 等. BUB1基因在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2019, 20(2): 186-187.
- [20] GAO Z, ZHANG D, DUAN Y, et al. A five-gene signature predicts overall survival of patients with papillary renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0211491.
- [21] 庾麒, 李琴, 蒋凯, 等. 原发性肝癌的发病机制和BUB1表达的临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(4): 322-327.
- [22] ALBERTO O, JAVIER P P, ANA A S, et al. In silico analyses identify gene-sets, associated with clinical outcome in ovarian cancer: role of mitotic kinases[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 22865-22872.
- [23] 李小燕, 何杰, 余觅, 等. BUB1基因在胃癌组织中高表达: 基于Oncomine数据库及生物信息学方法[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(5): 683-92.
- [24] SCINTU M, VITALE R, PRENCIPE M, et al. Genomic instability and increased expression of BUB1B and MAD2L1 genes in ductal breast carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2007, 254(2): 298-307.
- [25] LI C, LUO L, WEI S, et al. Identification of the potential crucial genes in invasive ductal carcinoma using bioinformatics analysis [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(6): 6800-6813.
- [26] 孙景波, 陈嘉炜, 王植治, 等. NUF2基因在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(5): 591-597.
- [27] JU L L, CHEN L, LI J H, et al. Effect of NDC80 in human hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(20): 3675-3683.
- [28] KIM Y, CHOI J W, LEE J H, et al. Spindle assembly checkpoint MAD2 and CDC20 overexpressions and cell-in-cell formation in gastric cancer and its precursor lesions[J]. *Human Pathol*, 2019, 85: 174-183.
- [29] PAUL D, GHORAI S, DINESH U S, et al. Cdc20 directs proteasome-mediated degradation of the tumor suppressor SMAR1 in higher grades of cancer through the anaphase promoting complex [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6): e2882.
- [30] 余涛, 李丹, 邹小娟, 等. 基于Oncomine和GEO数据库分析SEC24D基因在乳腺癌中的表达意义及穿心莲内酯的干预研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5): 1703-1707.
- [31] 吴茜, 姜梅, 陈海梅, 等. 旋覆花、湖北旋覆花和线叶旋覆花的叶绿体基因组比较分析和系统发育研究 [J]. *药学学报*, 2020, 55(5): 1042-1049.
- [32] 杨茜, 刘慧, 何雅君, 等. HPLC法同时测定旋覆花属植物中5种倍半萜内酯成分的含量[J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(2): 116-120.
- [33] 张蓓斐. 一种桃花粳米粉及其制备方法: 中国, CN109966418A[P]. 2019-07-05.
- [34] LI X, YANG X, LIU Y, et al. Japonicone A suppresses growth of Burkitt lymphoma cells through its effect on NF- κ B [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(11): 2917-2928.
- [35] HU Z, QIN J, ZHANG H, et al. Japonicone A antagonizes the activity of TNF- α by directly targeting this cytokine and selectively disrupting its interaction with TNF receptor-1 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(11): 1482-1491.
- [36] DU Y, GONG J, TIAN X, et al. Japonicone A inhibits the growth of non-small cell lung cancer cells via mitochondria-mediated pathways [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(10): 7473-7482.

[责任编辑 顾雪竹]