

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.010

## 基于生物信息学数据分析ATM在胃癌组织中的表达及其临床意义

何小凤<sup>a</sup>, 陈定宇<sup>a</sup>, 周建奖<sup>ab</sup>, 赵艳<sup>a</sup>, 鲍利雅<sup>b</sup>, 王琴容<sup>a</sup>, 谢渊<sup>a</sup>(贵州医科大学 a. 地方病与少数民族性疾病教育部重点实验室&分子生物学重点实验室; b. 附属医院 感染科实验室, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** **目的:**探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染对胃癌细胞共济失调毛细血管扩张突变(ataxia-telangiectasia mutated, ATM)基因表达的影响及其临床意义。**方法:**从TCGA数据库中获取胃癌相关RNAseq数据,比较ATM基因的表达差异,分析ATM表达与患者临床病理参数的相关性及其预后价值,用Kaplan-Meier法进行生存分析,LinkedOmics数据库分析ATM相关基因,用R语言进行GO、KEGG富集分析。选用2019年3月至2019年12月贵州医科大学附属12例手术切除的胃癌及癌旁组织标本,以及胃癌细胞系AGS和BGC823,用感染复数40:1的Hp GZ7菌感染细胞,用免疫组织化学染色法检测胃癌组织中ATM蛋白的表达,qPCR法检测胃癌组织和细胞中ATM mRNA的表达。**结果:**TCGA数据显示胃癌和Hp感染胃癌组织中ATM miRNA表达水平均显著高于癌旁组织(均 $P<0.01$ );胃癌组织中ATM miRNA表达与患者的T分期、AJCC分期等病理参数呈正相关(均 $P<0.05$ ),ATM高表达时生存率显著降低( $P<0.05$ )。实验检测显示,胃癌组织标本中ATM蛋白的表达水平明显高于癌旁组织( $P<0.01$ );Hp感染胃癌细胞中ATM miRNA表达水平显著高于未感染胃癌细胞( $P<0.01$ )。胃癌中ATM基因与NPAT等12461个基因呈正相关( $P<0.05$ ),与MIF等7764个基因呈负相关( $P<0.05$ )。GO、KEGG富集分析显示,ATM富集到DNA修复复合体、癌症中的转录失调等信号通路。**结论:**ATM基因在胃癌组织中高表达,患者生存率随表达水平的增高而降低,其与患者的T分期、AJCC分期等病理参数相关,且Hp感染引起ATM表达水平升高可能是Hp引起胃癌的原因之一。

**[关键词]** 胃癌;AGS细胞;BGC823细胞;共济失调毛细血管扩张突变基因;TCGA数据库;预后

**[中图分类号]** R735.2; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)07-0714-07

## Analysis of the expression and clinical significance of ATM in gastric cancer tissues based on bioinformatics data

HE Xiaofeng<sup>a</sup>, CHEN Dingyu<sup>a</sup>, ZHOU Jianjiang<sup>ab</sup>, ZHAO Yan<sup>a</sup>, BAO Liya<sup>b</sup>, WANG Qinrong<sup>a</sup>, XIE Yuan<sup>a</sup> (a. Key Laboratory of Endemic and Minority Diseases of the Ministry of Education & Key Laboratory of Molecular Biology; b. Laboratory of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (Hp) infection on gene expression of ataxia-telangiectasia mutant (ATM) in gastric cancer cells and its clinical significance. **Methods:** The gastric cancer related RNAseq data was obtained from the TCGA database to compare the differential expressions of ATM. The correlation between ATM expression and clinicopathological parameters as well as the prognostic value of ATM was analyzed. Kaplan-Meier method was used for survival analysis, LinkedOmics database was utilized to analyze ATM-related genes, and R language was used for GO and KEGG enrichment analysis. Twelve pairs of gastric cancer tissues and para-cancerous tissues resected in the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University from March 2019 to December 2019 as well as gastric cancer cell lines (AGS and BGC823) were collected for this study. Bacterial Hp GZ7 at a MOI (multiplicity of infection) of 40:1 was used to infect the cells. The protein expression of ATM in gastric cancer tissues was detected using immunohistochemical staining, and the mRNA expression of ATM in gastric cancer tissues and cells was determined using qPCR. **Results:** TCGA data showed that the miRNA expression of ATM in gastric cancer tissues and Hp-infected gastric cancer tissues was significantly higher than that in para-cancerous tissues (all  $P<0.01$ ). The miRNA expression of ATM in the gastric cancer tissues was positively correlated with pathological parameters such as T and AJCC staging (all  $P<0.05$ ); High ATM expression was accompanied

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.31960028, No.31660031);贵州省科技基金资助项目(No. 黔科合基础[2020]1Z010, No. 黔科合基础[2020]1Y333);贵阳市科技计划项目(筑科合同[2017]30-4)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31960028, No.31660031), the Science and Technology Foundation of Guizhou Province (No. Qiankehe Foundation [2020]1Z010, No. Qiankehe Foundation [2020]1Y333), and the Guiyang Science and Technology Planning Project (Construction Contract[2017]30-4)

**[作者简介]** 何小凤(1993—),女,硕士生,主要从事胃癌的发病机制研究,E-mail: 605284006@qq.com

**[通信作者]** 谢渊(XIE Yuan, corresponding author),硕士,教授,硕士生导师,主要从事肿瘤分子发病机制研究,E-mail: 37408126@qq.com

with significantly reduced survival rate ( $P < 0.05$ ). Experiment results showed that the protein expression of ATM in gastric cancer tissues was significantly higher than that in para-cancerous tissues ( $P < 0.01$ ), and the miRNA expression of ATM in Hp-infected gastric cancer cells was significantly higher than that in the uninfected gastric cancer cells ( $P < 0.01$ ). In gastric cancer, ATM gene was positively correlated with 12 461 genes such as NPAT ( $P < 0.05$ ), and negatively correlated with 7 764 genes such as MIF ( $P < 0.05$ ). The GO and KEGG enrichment analyses showed that ATM is enriched in the pathways such as DNA repair complexes, transcription disorders in cancer. **Conclusion:** ATM gene is highly expressed in GC tissues, and its high expression results in decreased survival rate of patients. ATM gene is associated with pathological parameters such as patient's T stage and AJCC stage, and the increase in ATM expression level caused by Hp infection may be one of the reasons for Hp caused gastric cancer.

**[Key words]** gastric cancer; AGS cell; BGC823 cell; ataxia telangiectasia mutant (ATM) gene; TCGA database; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(7): 714-720. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.010]

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,其发病率在中国居于第2位,在全球位列第5位<sup>[1]</sup>。手术切除和化学疗法是胃癌患者主要的治疗选择<sup>[2]</sup>,胃癌预后较差,患者5年总生存率仍低于30%,严重威胁着人们的生命和健康<sup>[3]</sup>。目前研究<sup>[4]</sup>发现,胃癌发生与幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染密切相关。本课题组前期经cagA转染胃癌细胞后转录组测序发现,cagA可引起共济失调毛细血管扩张突变(ataxia-telangiectasia mutated, ATM)基因表达上调。ATM基因是细胞管家基因,编码在细胞周期检查点的早期信号转导中起关键作用的ATM蛋白质激酶<sup>[5-7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>发现ATM是胃癌的一个潜在标志物,但是目前研究Hp感染对ATM表达影响的相关报道较少。因此,本研究通过肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库联合临床胃癌及癌旁组织标本检测ATM在胃癌和癌旁组织中的表达差异,分析ATM表达与患者临床病理参数及预后的相关性;同时结合LinkedOmics数据库分析其相关基因,通过用Hp感染人胃癌细胞系AGS和BGC823后观察Hp感染对ATM表达的影响,旨在探讨Hp调控ATM表达在胃癌发生发展和靶向治疗中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 TCGA数据库中胃癌数据的获取及预处理

从TCGA数据库(<https://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>)中下载并预处理胃癌数据集中胃癌标本的ATM mRNA表达RNAseqV2数据,其中胃癌组织标本415例(包括20例Hp感染胃癌组织)、癌旁组织标本34例,再筛选出性别、年龄、瘤体大小(T1、T2、T3、T4)、淋巴结转移(N0、N1、Nx)、远处转移(M0、M1、Mx)及美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)病理特征分期完整的348例作为胃癌组。胃癌组中,男222例、女126例,年龄 $\leq 60$ 岁115例、 $> 60$ 岁233例;T1+T2期88例,T3+T4期260例;N0期115例,N1期88例,N2期73例和N3期72例;M0期308例,M1期24例及Mx期16例;Stage I +Stage

II 163例,Stage III+Stage IV 187例。此外,按胃癌组患者ATM mRNA表达量中位数将胃癌组分为高表达组(高于中位数)174例和低表达组(低于中位数)174例。

### 1.2 细胞系、菌株、组织标本及主要试剂

人胃癌细胞系AGS、BGC823购于美国菌种保藏中心(ATCC)细胞库,由本实验室保存。野生型Hp GZ7菌株由本实验室分离培养。

收集2019年3月至2019年12月贵州医科大学附属医院病理科12例手术切除的胃癌及相应的癌旁组织标本,其中男性9例、女性3例,中位年龄66岁,所有标本均经病理学确诊为胃癌,术前均告知并签署知情同意书,研究方案获得所在医院伦理委员会的批准。

DMEM培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司,青、链霉素及胰蛋白酶均购自美国Hyclone公司,兔抗ATM抗体(ET1606-20)购自杭州华安生物技术有限公司,山羊抗兔二抗(SA00001-4)购自Proteintech公司,逆转录试剂盒购自GenStar公司,PCR引物序列由上海生工生物工程技术有限公司合成。

### 1.3 细胞及细菌培养

人胃癌细胞AGS、BGC823培养在DMEM培养液中(10%胎牛血清、1%青链霉素),置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的恒温培养箱内培养。

Hp GZ7菌株接种于含有10%绵羊血、0.4% Hp选择剂的哥伦比亚血琼脂平板上,置于37℃、5%O<sub>2</sub>、10%CO<sub>2</sub>的微需氧环境中培养,细菌接种后3 d待生长旺盛时,通过接种环将菌收集至含PBS的无菌离心管中,3 800×g离心2 min后重悬3次,后在分光光度计上确定菌液浓度。

### 1.4 细胞感染

在哥伦比亚血琼脂培养基上刮下Hp GZ7菌株,用分光光度计测量菌的浓度。取胃癌AGS和BGC823细胞计数后按 $1 \times 10^6$ 个/孔接种于6孔板,设置3个复孔,过夜培养使细胞贴壁后,经感染复数(multiplicity of infection, MOI)40:1感染AGS和

BGC823 种细胞, 24 h 后收集样品, 进行后续实验。

### 1.5 qPCR 法检测胃癌组织与 AGS 和 BGC823 细胞中 ATM mRNA 的表达水平

按照 TRIzol 试剂说明书提供的操作流程提取胃癌组织和 AGS、BGC823 细胞中总 RNA, 并逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 qPCR 反应。ATM 上、下游引物序列分别为 5'-CAGGGTAGTTTAGTTGAG GTTGACAG-3' 和 5'-CTATACTGGTGGTCAGTGCC AAAGT-3'; GAPDH 上、下游引物序列分别为 5'-CAA TGACCCCTTCATTCATTGACC-3' 和 5'-GACAAGC TTCCCGTTCTCAG-3'。PCR 反应条件: 95 °C 2 min、95 °C 5 s、60 °C 30 s, 共 39 个循环。用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算目的基因 mRNA 的相对表达量。实验重复 3 次。

### 1.6 免疫组织化学染色法检测胃癌组织中 ATM 蛋白的表达水平

将石蜡包埋的组织切片常规脱蜡、梯度乙醇下行至水, 经高温高压抗原修复。3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 冷却 10 min, 1×PBS 洗涤 10 min, 加入 ATM 一抗(1:300)室温孵育 2 h, PBS 洗涤 3 次(10 min/次), 再加入山羊抗兔二抗(1:200)室温孵育 2 h。DAB 显色 1~3 min, PBS 终止显色, 苏木精染色 3 min, ddH<sub>2</sub>O 终止反应。氨水返蓝 1~2 min, ddH<sub>2</sub>O 终止反应, 常规梯度乙醇上行脱水、二甲苯透明、封片。用 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统计算 DAB 显色后的平均灰度值并进行免疫组化阳性表达分析。

### 1.7 统计学处理

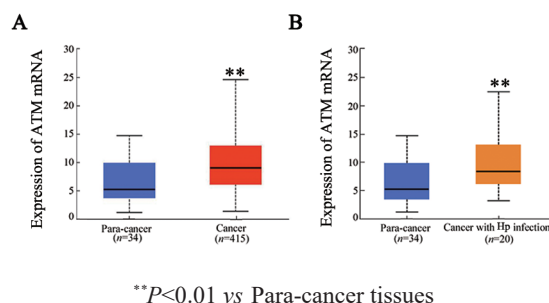
采用 SPSS18.0 软件对实验数据进行统计分析。呈正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验; 用  $\chi^2$  检验分析 ATM 表达与胃癌患者临床病理特征的关联情况; 用 Kaplan-Meier 法进行生存分析; 依据皮尔逊关联分析与 ATM 表达相关的基因; 用

R 语言进行 GO、KEGG 基因富集分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TCGA 数据库胃癌组织中 ATM mRNA 高表达

TCGA 数据库中共收集 415 例胃癌具有临床病理参数的病例及其 34 例对应的癌旁组织 ATM mRNA 表达数据, 其中 20 例 Hp 感染胃癌组织。生物信息学分析结果显示, 415 例胃癌组织中 ATM mRNA 表达水平显著高于癌旁组织 ( $P < 0.01$ , 图 1A); 20 例 Hp 感染胃癌组织中 ATM mRNA 表达水平显著高于癌旁组织 ( $P < 0.01$ , 图 1B)。结果表明, ATM mRNA 在胃癌组织和 Hp 感染胃癌组织中均高表达。



A: Expression of ATM mRNA in gastric cancer tissues and para-cancer tissues; B: Expression of ATM mRNA in Hp infected tissues and para-cancer tissues

图1 胃癌组织中 ATM mRNA 表达  
Fig.1 Expression of ATM mRNA in gastric cancer tissues

### 2.2 ATM 蛋白在人胃癌组织中高表达

免疫组化染色结果(图 2)显示, ATM 蛋白阳性染色为棕黄色颗粒, 主要定位于细胞核。胃癌组织中 ATM 蛋白的表达水平显著高于癌旁组织 ( $t = 14.73, P < 0.01$ )。

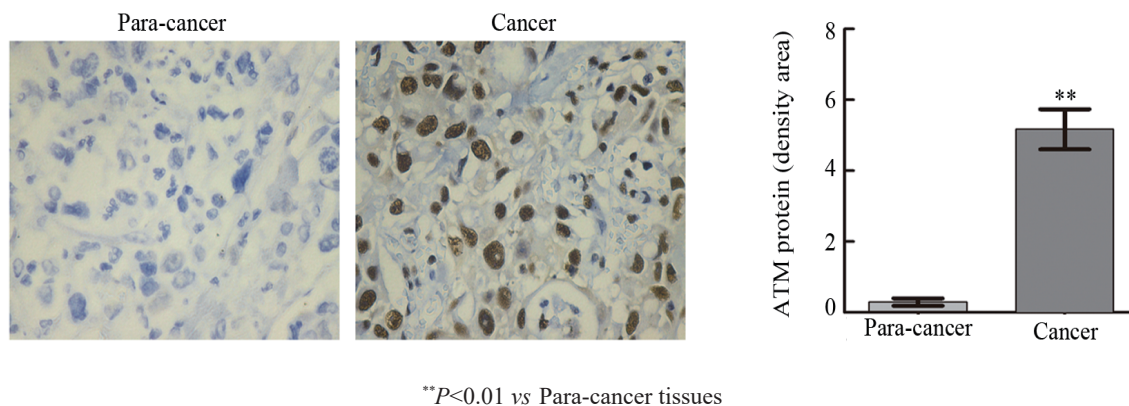


图2 ATM 蛋白在人胃癌组织中的表达(免疫组织化学染色, ×400)

Fig.2 Expression of ATM protein in human gastric cancer tissues (immunohistochemical staining, ×400)

### 2.3 Hp 感染胃癌 AGS 和 BGC823 细胞中 ATM mRNA 均高表达

以 MOI 为 40:1 Hp 感染胃癌 AGS、BGC823 细胞 24 h 后, qPCR 法检测结果(图 3)显示, Hp 感染细胞中 ATM mRNA 表达水平显著高于未感染细胞( $t=15.06$ 、 $12.11$ , 均  $P<0.01$ )。

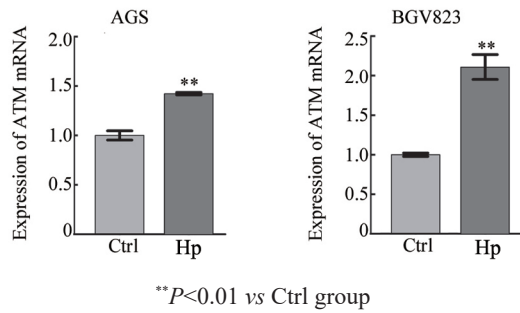


图 3 Hp 感染对胃癌 AGS、BGC823 细胞 ATM mRNA 表达的影响

Fig.3 Effect of Hp infection on expression of ATM mRNA in gastric cancer AGS and BGC823 cells

### 2.4 TCGA 数据库中 ATM mRNA 表达与胃癌患者临床病理参数的关系

用  $\chi^2$  检验分析 TCGA 数据库中 ATM mRNA 表达与胃癌患者临床病理特征的相关性, 结果发现 ATM mRNA 表达高低与胃癌患者的 T 分期、AJCC 分期等病理参数呈正向关联(均  $P<0.05$ ), 而与患者年龄、性别、N 分期及 M 分期等病理参数无关联(均  $P>0.05$ , 表 1)。

### 2.5 TCGA 数据库中 ATM mRNA 表达与胃癌患者预后的关系

对 TCGA 数据库中胃癌患者的预后进行 Kaplan-Meier 分析结果(图 4)表明, ATM mRNA 高表达患者的生存率显著低于低表达患者( $P<0.05$ )。

### 2.6 胃癌组 ATM 相关基因分析

使用 LinkedOmics 数据库依据皮尔逊的关联分析对胃癌患者 ATM 进行相关基因分析, 以  $P<0.05$  为界限, 共检索到 ATM 基因表达与 NPAT、NR2C2、REV3L 等 12 461 个基因表达量呈正相关性(皮尔逊相关系数  $>0$ ,  $P<0.05$ ); 与 MIF、TUBB4B、TMUB1 等 7 764 个基因表达量呈负相关性(皮尔逊相关系数  $<0$ ,  $P<0.05$ )。见图 5。

### 2.7 ATM 基因的 GO 富集和 KEGG 通路分析

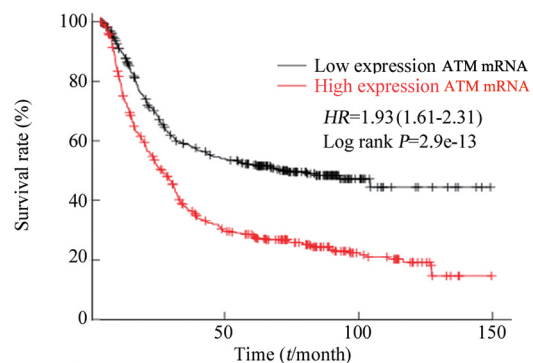
GO 富集结果(图 6A)显示, ATM 基因生物进程显著富集到减数分裂染色体端粒聚类等, ATM 基因细胞成分显著富集到 DNA 修复复合体、核染色体、端粒区等, ATM 基因分子功能显著富集到 1-磷

脂酰肌醇 3-激酶活性、蛋白 N 末端结合等。KEGG 通路分析结果(图 6B)显示, ATM 基因参与 NF- $\kappa$ B 信号通路、细胞周期、细胞凋亡、癌症中的转录失调、癌症中的 miRNA 等与癌症发生发展相关通路。

表 1 ATM mRNA 表达水平与胃癌临床病理参数的关系( $n=174$ )

Tab.1 Relationship between mRNA expression of ATM and clinicopathological parameters of gastric cancer ( $n=174$ )

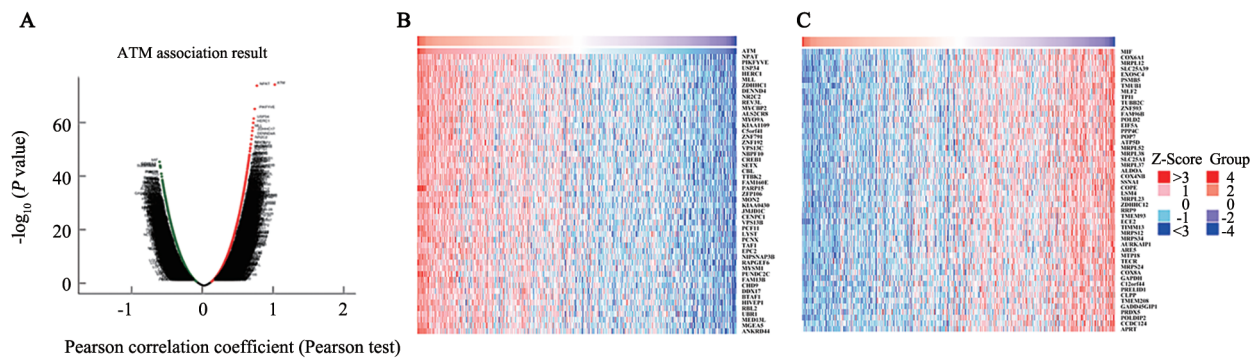
Clinicopathological feature	ATM mRNA		$\chi^2$	P
	Low	High		
Gender				
Male	115	107	0.796	0.372
Female	59	67		
Age (t/a)				
>60	116	117	0.013	0.909
≤60	58	57		
T stage				
T1+T2	52	36	3.891	0.049
T3+T4	122	138		
N stage				
N0	66	49	5.636	0.131
N1	44	44		
N2	35	38		
N3	29	43		
M stage				
M0	151	157	1.034	0.596
M1	14	10		
Mx	9	7		
AJCC stage				
I + II	94	67	8.426	0.004
III+IV	80	107		



\*\* $P<0.01$  vs Low expression

图 4 ATM mRNA 高、低表达组胃癌患者预后的 Kaplan-Meier 分析

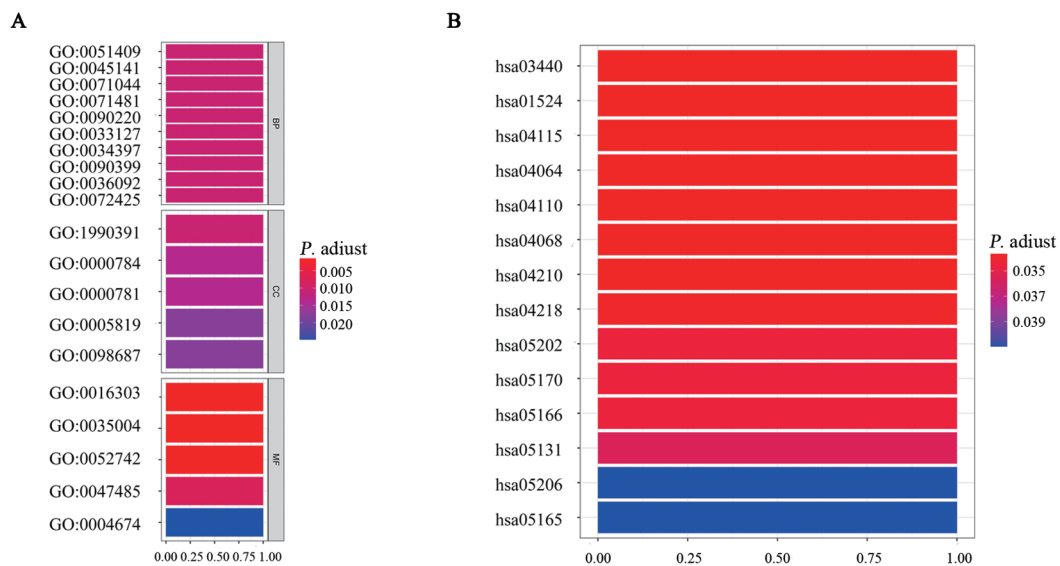
Fig.4 Kaplan-Meier analysis of overall survival in gastric cancer patients with high or low ATM mRNA expression



A: ATM related genes; B: Positively related genes; C: Negatively related genes

图5 胃癌患者ATM相关基因分析结果

Fig.5 Analysis of genes related to ATM in gastric cancer patients



A: GO enrichment analysis

GO:0051409: Response to nitrosative stress; GO:0045141: Meiotic telomere clustering; GO:0071044: Histone mRNA catabolic process; GO:0071481: Cellular response to X-ray; GO:0090220: Chromosome localization to nuclear envelope involved in homologous chromosome segregation; GO:0033127: Regulation of histone phosphorylation; GO:0034397: Telomere localization; GO:0090399: Replicative senescence; GO:0036092: Phosphatidylinositol-3-phosphate biosynthetic process; GO:0072425: Signal transduction involved in G2 DNA damage checkpoint; GO:1990391: DNA repair complex; GO:0000784: Nuclear chromosome, telomeric region; GO:0000781: Chromosome, telomeric region; GO:0005819: Spindle; GO:0098687: Chromosomal region; GO:0016303: 1-phosphatidylinositol-3-kinase activity; GO:0035004: Phosphatidylinositol 3-kinase activity; GO:0052742: Phosphatidylinositol kinase activity; GO:0047485: Protein N-terminus binding; GO:0004674: Protein serine/threonine kinase activity

B: KEGG pathway analysis

hsa03440: Homologous recombination; hsa01524: Platinum drug resistance; hsa04115: p53 signaling pathway; hsa04064: NF-κB signaling pathway; hsa04110: Cell cycle; hsa04068: FoxO signaling pathway; hsa04210: Apoptosis; hsa04218: Cellular senescence; hsa05202: Transcriptional misregulation in cancer; hsa05170: Human immunodeficiency virus 1 infection; hsa05166: Human T-cell leukemia virus 1 infection; hsa05131: Shigellosis; hsa05206: MicroRNAs in cancer; hsa05165: Human papillomavirus infection

图6 ATM基因的GO富集和KEGG通路分析

Fig.6 GO enrichment and KEGG pathway analysis of ATM gene

### 3 讨论

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤, 尽管其发病率和病死率在过去的50年中在世界范围内呈下降

趋势, 但仍然是导致肿瘤相关死亡的第3大原因。对胃癌治疗及预后的研究也正是全世界面临的一个重要的科研课题<sup>[9]</sup>。DNA复制是细胞增殖的关键环节。正常情况下DNA复制受到严密调控, 以确保机体内

进行正常的细胞增殖。DNA 复制错误造成的 DNA 损伤可导致癌转化、发育障碍和衰老<sup>[10]</sup>。ATM 激酶是在 DNA 双链断裂修复的早期被募集到受损部位, ATM 蛋白在细胞周期检查点的信号转导、受损 DNA 修复和细胞凋亡中起着至关重要的作用<sup>[11]</sup>。研究<sup>[12]</sup>发现, ATM 基因的突变导致共济失调毛细血管扩张症(AT 症)患者 ATM 蛋白的功能和结构变化, 然后导致细胞周期检查点的异常和 DNA 损伤修复、凋亡敏感性增加。有研究<sup>[13]</sup>表明, SMYD3 的缺乏可以通过 ATM 相关通路抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 并停止 G2/M 阶段的细胞。本研究通过生物信息学分析发现, ATM 在胃癌中高表达, 且胃癌患者生存率随着表达水平的增高而降低; 免疫组化染色结果发现胃癌组织中 ATM 的表达水平明显高于癌旁组织; 通过对 ATM 高、低表达组胃癌患者间的临床病理参数比较结果显示, ATM 的表达高低与患者的 T 分期、AJCC 分期等病理参数呈正相关性(均  $P < 0.05$ ), 但与年龄、性别、N 分期及 M 分期等病理参数无相关性 ( $P > 0.05$ )。提示 ATM 可能是胃癌发生发展及预后过程中的一个重要的生物标志物。

越来越多的研究<sup>[14]</sup>发现, 基因表达的定量分析对于理解基因组调控背后的分子机制至关重要。由于传统疗法的诊断延迟和主观评估不可靠, 生物标志物引导肿瘤治疗走向个性化靶向药物。因此, 从大量分子中高效、准确地筛选出特定的生物标志物非常重要<sup>[15]</sup>。本研究通过生物信息学分析发现, ATM 在胃癌中表达异常, 并与胃癌患者的预后、T 分期、AJCC 分期等病理参数相关; 通过对胃癌中 ATM 基因相关基因表达分析发现, ATM 与 NPAT、NR2C2、REV3L 等 12 461 个基因表达量呈正相关性, 与 MIF、TUBB4B、TMUB1 等 7 764 个呈负相关性。其中 MIF 与炎症反应密切相关<sup>[16]</sup>, NPAT、NR2C2、REV3L、TUBB4B、TMUB1 等基因与细胞增殖、周期、分化等息息相关<sup>[17-21]</sup>。以上相关基因可能为 ATM 潜在的上下游分子。通过 GO 富集显示, ATM 基因参与减数分裂染色体端粒聚类、DNA 修复复合体等与细胞的增殖分化相关途径中; KEGG 通路分析显示, ATM 基因参与 NF- $\kappa$ B 信号炎症通路、细胞周期、细胞凋亡、癌症中的转录失调、癌症中的 miRNA 等与癌症发生发展相关通路。据此推测, ATM 基因在胃癌中的表达异常可能通过以上相关基因、通路等促进胃癌的进展。

Hp 感染是迄今为止胃癌发生最重要的危险因素。Hp 利用各种毒性因子调控宿主细胞增殖、凋亡、迁移和炎症反应, 从而靶向多种细胞成分。现有研究<sup>[22]</sup>表明, Hp 根治疗法可降低胃癌的发病率, 胃癌相

关死亡率似乎也在下降。研究<sup>[23-24]</sup>发现, Hp 分泌的多种细菌毒力因子可以引起胃上皮细胞的 DNA 双链断裂损伤, 这种损伤会激活细胞周期检验点、凋亡和一系列 DNA 修复机制, 如果这种 DNA 修复机制不能与细胞周期和凋亡等生理过程保持在一个动态平衡中时, 就容易导致肿瘤的发生<sup>[25]</sup>。因此, Hp 感染对 DNA 修复相关基因 ATM 表达的影响在其致病进程中可能发挥极为重要的作用。本研究用 Hp 感染胃癌 AGS、BGC823 细胞证实 Hp 感染可引起 ATM 的表达上调, 这与 SANTOS 等<sup>[11]</sup>、HANADA 等<sup>[26]</sup>的研究报道一致。

综上所述, 本研究通过对 TCGA 数据库的数据挖掘联合免疫组化等实验结果发现, ATM 不仅在胃癌组织中高表达, 亦在 Hp 感染的胃癌细胞中高表达, 且与胃癌患者的预后及 T 分期、AJCC 分期等病理参数相关, 通过挖掘大量的 ATM 相关基因及通路, 为后续探明胃癌的发生发展和靶向治疗提供了新的理论依据。

#### [参 考 文 献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] BIAGIONI A, SKALAMERA I, PERI S, et al. Update on gastric cancer treatments and gene therapies[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2019, 38(3): 537-548. DOI:10.1007/s10555-019-09803-7.
- [3] LI Y, LIU H, CHEN H, et al. DERL3 functions as a tumor suppressor in gastric cancer[J]. *Comput Biol Chem*, 2020, 84: 107172. DOI:10.1016/j.compbiolchem.2019.107172.
- [4] KATO M, ASAKA M. Recent development of gastric cancer prevention[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2012, 42(11): 987-994. DOI: 10.1093/jjco/hys151.
- [5] 唐石伏, 吴婉君, 阳建伶, 等. ATM 蛋白激酶促细胞增殖作用研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(2): 249-252, 258. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2020.02.029.
- [6] ZHENG C, ZHOU Y, HUANG Y, et al. Effect of ATM on inflammatory response and autophagy in renal tubular epithelial cells in LPS-induced septic AKI[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(6): 4707-4717. DOI:10.3892/etm.2019.8115.
- [7] RIMKUS S A, WASSARMAN D A. A pharmacological screen for compounds that rescue the developmental lethality of a Drosophila ATM mutant[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0190821[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5770031/>. DOI:10.1371/journal.pone.0190821.
- [8] KUBOTA E, WILLIAMSON C T, YE R, et al. Low ATM protein expression and depletion of p53 correlates with olaparib sensitivity in gastric cancer cell lines[J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(13): 2129-2137. DOI:10.4161/cc.29212.
- [9] THRIFT A P, EI-SERAG H B. Burden of gastric cancer[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3): 534-542. DOI: 10.1016/j.

- cgh.2019.07.045.
- [10] 柳家翠, 黄奔, 许培培. 基于TCGA数据库的肺腺癌组织中CDT1表达及相关信号通路分析[J]. 山东医药, 2020, 60(27): 19-23. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2020.27.005.
- [11] SANTOS J C, GAMBELONI R Z, ROQUE A T, et al. Epigenetic mechanisms of ATM activation after *Helicobacter pylori* infection[J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(2): 329-335. DOI:10.1016/j.ajpath.2017.10.005.
- [12] 汤屹. ATM与癌症[J]. 中国实验血液学杂志, 2002(1): 77-80. DOI: 10.3969/j.issn.1009-2137.2002.01.018.
- [13] WANG L, WANG Q T, LIU Y P, et al. ATM signaling pathway is implicated in the SMYD3-mediated proliferation and migration of gastric cancer cells[J/OL]. *J Gastric Cancer*, 2017, 17(4): 295-305[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5746651/>. DOI:10.5230/jgc.2017.17.e33.
- [14] JI F, SADREYEV R I. RNA-seq: basic bioinformatics analysis[J/OL]. *Curr Protoc Mol Biol*, 2018, 124(1): e68[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6168365/>. DOI: 10.1002/cpmb.68.
- [15] ZHONG L, LIU Y, WANG K, et al. Biomarkers: paving stones on the road towards the personalized precision medicine for oral squamous cell carcinoma[J/OL]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 911. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30241505/>. DOI: 10.1186/s12885-018-4806-7.
- [16] TILSTAM P V, PANTOURIS G, CORMAN M, et al. A selective small-molecule inhibitor of macrophage migration inhibitory factor-2 (MIF-2), a MIF cytokine superfamily member, inhibits MIF-2 biological activity[J/OL]. *J Biol Chem*, 2019, 294(49): 18522-18531[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6901300/>. DOI: 10.1074/jbc.RA119.009860.
- [17] JIANG X H, YIN S, FAN S X, et al. *Npat*-dependent programmed Sertoli cell proliferation is indispensable for testis cord development and germ cell mitotic arrest[J]. *FASEB J*, 2019, 33(8): 9075-9086. DOI: 10.1096/fj.201802289RR.
- [18] WANG G L, XU G H, WANG W G. Long noncoding RNA CDKN2B-AS1 facilitates lung cancer development through regulating miR-378b/NR2C2[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 10641-10649[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7585785/>. DOI:10.2147/OTT.S261973.
- [19] WANG F T, LI P, SHAO Y, et al. Site-specific proteolytic cleavage prevents ubiquitination and degradation of human REV3L, the catalytic subunit of DNA polymerase Z[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7): 3619-3637[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7144948/>. DOI:10.1093/nar/gkaa096.
- [20] SOBIERAJSKA K, CISZEWSKI W M, WAWRO M E, et al. TUBB4B downregulation is critical for increasing migration of metastatic colon cancer cells[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(8): E810[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6721557/>. DOI:10.3390/cells8080810.
- [21] FU H, XU J, CHEN J, et al. Microarray analysis reveals Tmub1 as a cell cycle-associated protein in rat hepatocytes[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 4337-4344[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5802207/>. DOI:10.3892/mmr.2018.8451.
- [22] FORD A C, YUAN Y, MOAYYEDI P. *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer: systematic review and meta-analysis [J]. *Gut*, 2020, 69(12): 2113-2121. DOI:10.1136/gutjnl-2020-320839.
- [23] KALISPERATI P, SPANOUE E, PATERAS I S, et al. Inflammation, DNA damage, *Helicobacter pylori* and gastric tumorigenesis[J/OL]. *Front Genet*, 2017, 8: 20[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5326759/>. DOI:10.3389/fgene.2017.00020.
- [24] BUTCHER L D, DEN HARTOG G, ERNST P B, et al. Oxidative stress resulting from *Helicobacter pylori* infection contributes to gastric carcinogenesis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2017, 3(3): 316-322. DOI:10.1016/j.jcmgh.2017.02.002.
- [25] NEGRINI S, GORGOLIS V G, HALAZONETIS T D. Genomic instability--an evolving hallmark of cancer[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(3): 220-228. DOI:10.1038/nrm2858.
- [26] HANADA K, UCHIDA T, TSUKAMOTO Y, et al. *Helicobacter pylori* infection introduces DNA double-strand breaks in host cells [J/OL]. *Infect Immun*, 2014, 82(10): 4182-4189[2021-01-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4187860/>. DOI: 10.1128/iai.02368-14.

[收稿日期] 2021-01-08

[修回日期] 2021-05-12

[本文编辑] 党瑞山