

# 髓样锌指蛋白1在卵巢癌中的表达及其与预后的关系

陈瑞芳 岳荟然 李文质 鹿欣 李俊<sup>△</sup>

(复旦大学附属妇产科医院妇科 上海 200011)

**【摘要】 目的** 探索髓样锌指蛋白1(myeloid zinc finger 1, MZF1)在卵巢癌中的表达及其与预后的关系。**方法** 利用基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)GSE10971和GSE12172和癌症基因组数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA),分析MZF1在正常输卵管上皮、低度恶性潜能的卵巢肿瘤(卵巢交界性肿瘤)和卵巢癌中的表达差异,并探讨其表达高低与卵巢癌预后的关系。同时,采用基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA),探究MZF1高表达和MZF1低表达的卵巢癌患者相关信号通路的差异。**结果** (1)MZF1在卵巢癌中的表达明显低于正常输卵管上皮和卵巢交界性肿瘤中的表达;(2)在达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中,MZF1高表达的卵巢癌患者无病进展生存期和总生存期长;(3)GSEA提示在MZF1低表达的患者中,炎症反应相关基因、上皮间充质转化相关基因、血管生成相关基因和脂肪形成相关基因均显著富集。**结论** MZF1在卵巢癌组织中呈低表达,高表达MZF1的卵巢癌患者预后好,提示其可能在卵巢癌中发挥抑癌基因的作用。

**【关键词】** 卵巢癌; 髓样锌指蛋白1(MZF1); 预后; 基因富集分析(GSEA)

**【中图分类号】** R737.31 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2021.05.004

## The expression and prognostic value of myeloid zinc finger 1 in ovarian cancer

CHEN Rui-fang, YUE Hui-ran, LI Wen-zhi, LU Xin, LI Jun<sup>△</sup>

(Department of Gynaecology, Obstetrics and Gynecology Hospital, Fudan University, Shanghai 200011, China)

**【Abstract】 Objectives** To evaluate the expression and prognostic value of myeloid zinc finger 1 (MZF1) in ovarian cancer. **Methods** We first analyzed the differential expression of MZF1 among fallopian tube epitheliums, low malignant potential ovarian tumors (borderline ovarian tumor), and ovarian cancers using Gene Expression Omnibus (GEO) database (GSE10971 and GSE12172 datasets). Then, we assessed the relationship between MZF1 expression and overall survival (OS) of ovarian cancer patients using GEO database and The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Finally, gene set enrichment analysis (GSEA) was performed to identify the potential MZF1-associated signaling pathways in ovarian cancer patients. **Results** (1) MZF1 expression was decreased in ovarian cancers compared with that in fallopian tubes and low malignant potential ovarian tumors; (2) In optimally debulked ovarian cancer patients, increased expression of MZF1 was associated with improved progression free survival and overall survival; (3) GSEA indicated that the genes involved in inflammatory response, epithelial-to-mesenchymal transition, angiogenesis, and adipogenesis were strongly enriched in ovarian cancer tissues with relatively low expression of MZF1. **Conclusion** MZF1 expression was decreased in ovarian cancer tissues, and increased MZF1 expression was associated with a better clinical outcome. MZF1 may play a tumor-suppressive role in ovarian cancer.

**【Key words】** ovarian cancer; myeloid zinc finger 1 (MZF1); prognosis; gene set enrichment analysis (GSEA)

国家自然科学基金青年项目(81802596)

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: lijunfky@fudan.edu.cn

网络首发时间:2021-09-07 17:06:32 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20210907.1551.006.html

\* This work was supported by the Youth Program of National Natural Science Foundation of China (81802596).

卵巢癌是妇科致死性最高的恶性肿瘤,多数患者就诊时已处于发生侵袭转移的晚期阶段。经过初始的瘤体减灭术联合铂类为基础的化疗,大多数得到临床缓解的患者仍面临着较高的复发和死亡风险,其5年生存率始终徘徊在20%~30%。尽管化疗方案在不断更新和改进,但是患者生存预后的改善却十分有限<sup>[1]</sup>。因此,寻找新的卵巢癌预后标记物,从分子水平阐明影响卵巢癌患者预后的机制,进而开发新的靶向治疗药物以提高卵巢癌患者的预后显得尤为重要。

髓样锌指蛋白1(myeloid zinc finger 1, MZF1)属于扫描锌指蛋白(scan-zinc finger, SCAN-ZF)家族。MZF1最初被发现是参与造血发育过程的转录因子<sup>[2]</sup>,可以调节造血细胞的分化和增殖<sup>[3]</sup>,上调MZF1的表达可诱发白血病。近年来,越来越多的研究证实MZF1参与了肿瘤恶性进展的多个过程,包括侵袭转移、化疗耐药、炎症反应等,其异常表达与多种实体恶性肿瘤的发生密切相关,如神经母细胞瘤<sup>[4]</sup>、胶质瘤<sup>[5]</sup>、胃癌<sup>[6]</sup>、乳腺癌<sup>[7]</sup>和前列腺癌<sup>[8]</sup>等。但是,MZF1在卵巢癌中的表达及其与卵巢癌患者预后的关系尚不清楚。

本研究利用基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)和癌症基因组数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA),分析MZF1在正常输卵管上皮、低度恶性潜能的卵巢肿瘤(卵巢交界性肿瘤)和卵巢癌中的表达差异,并探讨其表达高低与卵巢癌预后的关系。同时,采用基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA),探究MZF1高表达和MZF1低表达的卵巢癌患者相关信号通路的差异。旨在探索MZF1是否可以作为预测卵巢癌预后的标记物。

## 资料和方法

**差异表达分析** GSE10971数据集用于分析输卵管上皮和卵巢癌组织中MZF1的表达差异;GSE12172数据集用于分析低度恶性潜能卵巢肿瘤(卵巢交界性肿瘤)和卵巢癌组织中MZF1的表达差异;GSE10971和GSE12172数据均可在Pubmed的GEO数据库公开免费获取。

**生存分析** Kaplan Meier Plotter (<http://kmplot.com/analysis/>)包含了1 656例卵巢癌患者的生存数据。

我们利用Kaplan Meier Plotter数据库分析了MZF1表达高低与卵巢癌无进展生存期(progression free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)的关系。Kaplan-Meier Plotter数据库可免费公开获取。

**MZF1相关信号通路分析** 我们选取了GSE26712数据集中达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者的芯片数据,并根据MZF1的表达值,分别选取了MZF1表达最低的10例样本和MZF1表达最高的10例样本,采用GSEA分析了MZF1相关的潜在信号通路。

**统计学分析** 差异表达分析采用两独立样本 $t$ 检验,生存分析采用Kaplan-Meier分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。GSEA分析中FDR- $q<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### MZF1在输卵管上皮和卵巢癌中的表达差异

既往文献已经证实,卵巢癌起源于恶变的输卵管上皮。所以,我们首先对比了MZF1在输卵管上皮和卵巢癌中的表达差异。GSE10971数据集包含了24例输卵管上皮和13例卵巢癌的基因表达数据。我们提取MZF1的表达值分析发现,MZF1在卵巢癌中的表达明显低于输卵管上皮(图1)。

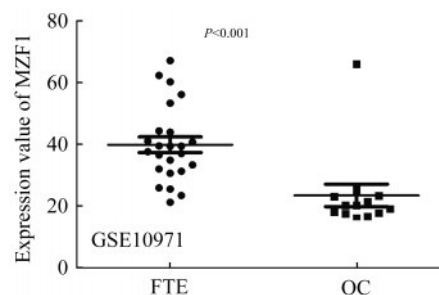


图1 MZF1在输卵管上皮和卵巢癌中的表达差异

Fig 1 The differential expression of MZF1 between fallopian tubes epithelium and ovarian cancer tissues

**MZF1在低度恶性潜能的卵巢交界性肿瘤和卵巢癌中的表达差异** 我们对比了MZF1在低度恶性潜能的卵巢交界性肿瘤和卵巢癌中的表达差异。GSE12172数据集包含了30例低度恶性潜能的卵巢交界性肿瘤和60例卵巢癌的基因表达数据。我们提

取了MZF1的表达值分析发现,MZF1在卵巢癌中的表达明显低于卵巢交界性肿瘤中的表达(图2)。

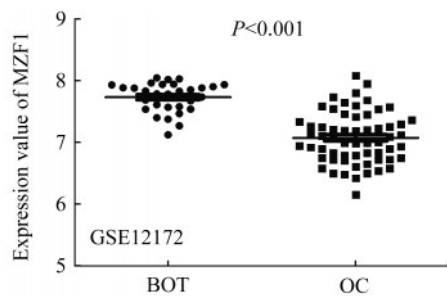
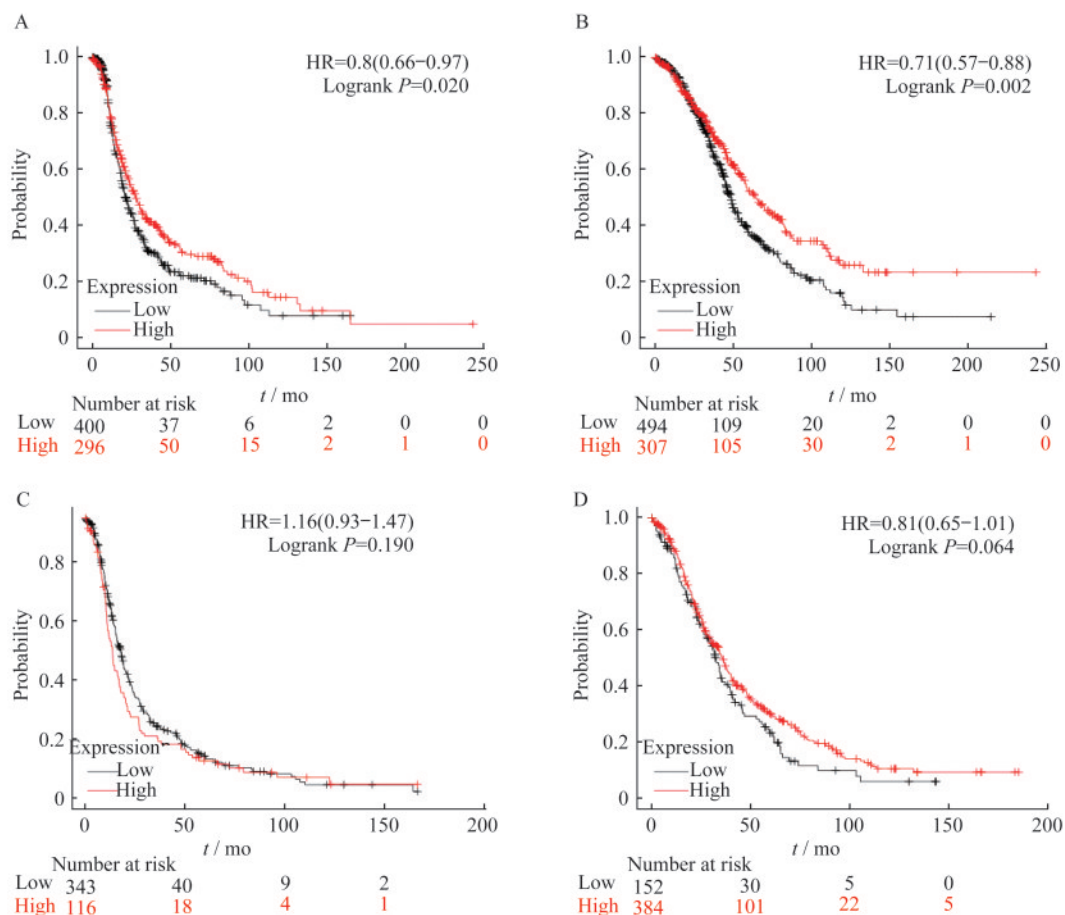


图2 MZF1在低度恶性潜能的卵巢交界性肿瘤和卵巢癌中的表达差异

Fig 2 The differential expression of MZF1 between borderline ovarian tumors (BOT) and ovarian cancer tissues

**MZF1表达与卵巢癌预后的关系** 我们分析了MZF1表达与卵巢癌无进展生存期及总生存期的关

系。Kaplan-Meier Plotter数据库收集了GEO数据库和TCGA数据中1 000多例卵巢癌组织的芯片表达数据和临床预后数据。由于卵巢癌患者术后残留病灶大小与卵巢癌的预后密切相关,所以我们将上述数据库的病例分成了两组:达到满意瘤体减灭术组(残留病灶小于等于1 cm)和未达到满意瘤体减灭术组(残留病灶大于1 cm)。我们发现:在达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中,MZF1高表达患者其PFS(图3A,HR=0.80;95%CI:0.66-0.97; $P=0.020$ ;  $n=696$ )和OS(图3B,HR=0.71;95%CI:0.57-0.88; $P<0.01$ ;  $n=801$ )均明显高于MZF1低表达患者;在未达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中,MZF1表达高低与卵巢癌患者的PFS(图3C,HR=1.16;95%CI:0.93-1.47; $P=0.190$ ;  $n=459$ )和OS(图3D,HR=0.81;95%CI:0.65-1.01; $P=0.064$ ;  $n=536$ )无明显相关性。



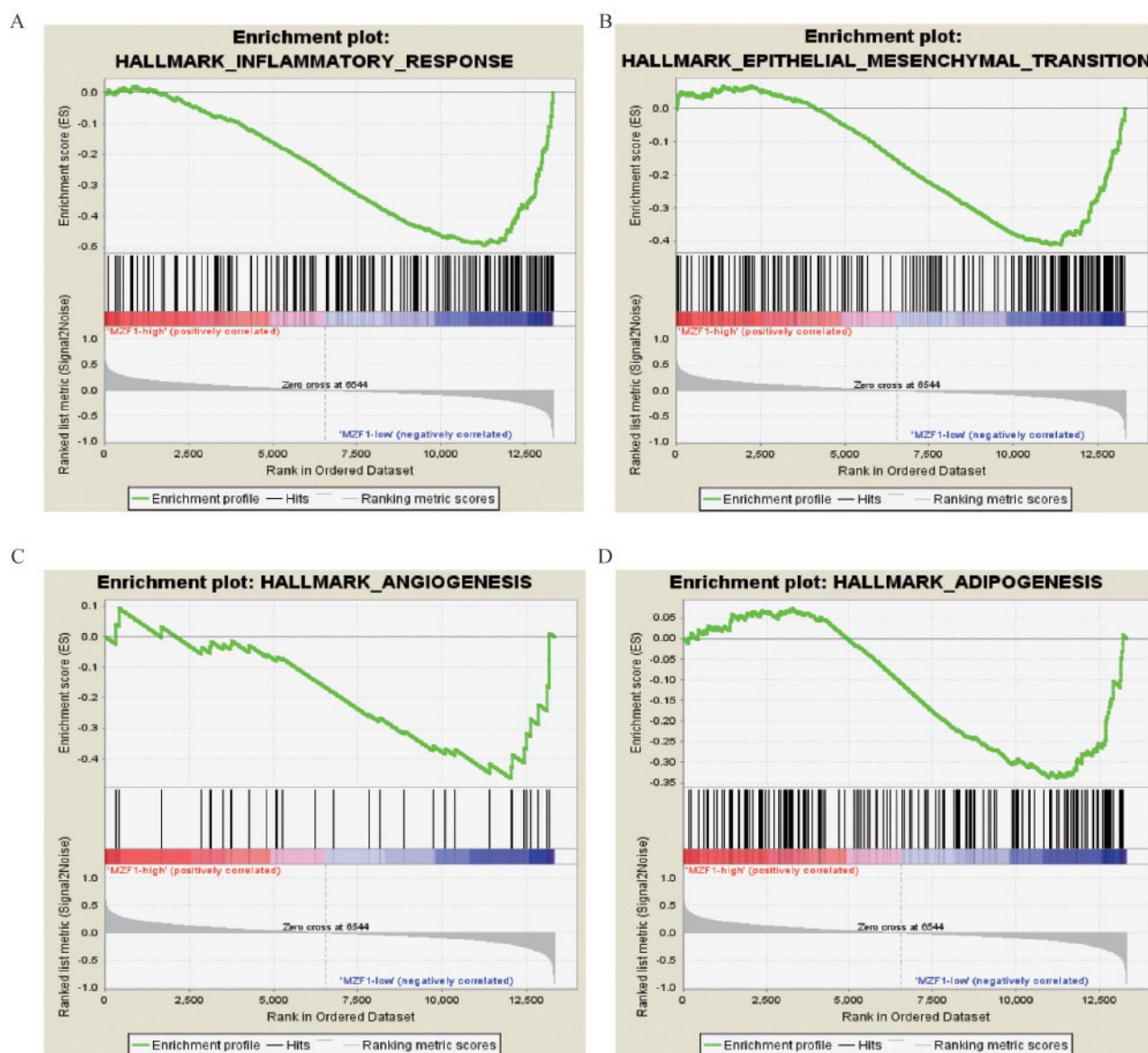
A,B: In optimally debulked ovarian cancer patients, increased expression of MZF1 was associated with improved PFS (A) and OS (B). C,D: In suboptimally debulked ovarian cancer patients, both PFS (C) and OS (D) were not significantly different between patients with low MZF1 expression and high MZF1 expression.

图3 MZF1表达高低与卵巢癌患者PFS和OS的关系

Fig 3 The association of MZF1 expression with the survival of patients with ovarian cancer

**MZF1 相关信号通路分析** 由于在达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中,MZF1 高表达的卵巢癌患者其OS 明显高于 MZF1 低表达的卵巢癌患者。因此,我们进一步用 GSEA 分析了在达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中,MZF1 低表达和 MZF1 高表达卵巢癌组织中基因富集的差异,以便找到 MZF1 相关的信号通路。我们提取了 GSE26712 数据库中达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者的芯片数据,并根据 MZF1 的表达值,分别选取了 MZF1 表

达最低的 10 例样本和 MZF1 表达最高的 10 例样本进行 GSEA 富集分析。结果提示,MZF1 低表达组和 MZF1 高表达组基因富集呈显著差异。在 MZF1 低表达的患者中,炎症反应相关基因(图 4A, FDR- $q < 0.01$ )、上皮间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)相关基因(图 4B, FDR- $q < 0.01$ )、血管生成相关基因(图 4C, FDR- $q < 0.05$ )和脂肪形成相关基因(图 4D, FDR- $q < 0.05$ )均显著富集。



GSEA indicated that the genes involved in inflammatory response (A), epithelial-to-mesenchymal transition (B), angiogenesis (C), and adipogenesis (D) were strongly enriched in ovarian cancer tissues with relatively low expression of MZF1.

图4 GSEA分析MZF1低表达和MZF1高表达的卵巢癌组织间基因富集差异

Fig 4 GSEA between tumors with high MZF1 expression and tumors with low MZF1 expression



## 讨 论

本研究利用 GEO 数据库和 TCGA 数据库,并结合 GSEA 分析发现:(1) MZF1 在卵巢癌中的表达明显低于正常输卵管上皮和卵巢交界性肿瘤中的表达;(2) 在达到满意瘤体减灭术的卵巢癌患者中, MZF1 高表达的卵巢癌患者 PFS 和 OS 长;(3) 在 MZF1 低表达的患者中,炎症反应相关基因、EMT 相关基因、血管生成相关基因和脂肪形成相关基因均显著富集。

既往研究证实, MZF1 参与了肿瘤的侵袭转移、增殖、耐药等多个过程,其异常表达与多种肿瘤的发生发展及其预后密切相关<sup>[9]</sup>。但是, MZF1 在不同肿瘤中的作用并不一致, MZF1 既可以作为抑癌基因,也可以作为促癌基因。在 T 细胞淋巴瘤中, MZF1 在肿瘤细胞株和原发肿瘤组织中的表达明显低于正常对照 T 淋巴细胞中的表达<sup>[10]</sup>。过表达 MZF1 能显著抑制 T 细胞淋巴瘤的增殖、迁移和克隆形成能力。在前列腺癌中的研究结果与上述结果一致,抑制 MZF1 的表达能显著促进肿瘤细胞的增殖<sup>[11]</sup>。而在结直肠癌中, MZF1 则发挥相反的作用。过表达 MZF1 能明显增强结肠癌细胞的浸润和迁移能力<sup>[12]</sup>。在乳腺癌中, MZF1 则可以通过调节肿瘤微环境,促进乳腺癌的增殖和侵袭转移<sup>[13]</sup>。即使在同一肿瘤中, MZF1 既可以发挥抑癌基因的作用,也可以发挥促癌基因的作用。如在宫颈癌 SiHa 细胞中,过表达 MZF1 能显著抑制其浸润和迁移能力<sup>[14]</sup>。而在宫颈癌 HeLa 细胞中,其作用则完全相反<sup>[12]</sup>。在胃癌中,观察到了与宫颈癌类似的结果,即 MZF1 既可以作为促癌基因,也可以作为抑癌基因发挥作用<sup>[15-16]</sup>。引起上述结果差异的原因可能与不同肿瘤间的异质性以及同一肿瘤内的异质性有关。我们的研究证实 MZF1 在卵巢癌组织中呈低表达,高表达 MZF1 的卵巢癌患者预后好,提示其可能在卵巢癌中发挥抑癌基因的作用,并可能成为预测卵巢癌患者预后的潜在分子标记物。

在上述研究基础上,我们还探索了与 MZF1 表达相关的潜在信号通路。发现 MZF1 低表达的卵巢癌患者中,炎症反应相关基因、EMT 相关基因、血管生成相关基因和脂肪形成相关基因均显著富集。而既往文献已经证实,卵巢癌的发生发展与炎

症<sup>[17]</sup>、EMT<sup>[18]</sup>、血管生成<sup>[19]</sup>及脂肪代谢<sup>[20]</sup>均密切相关。Zhang 等<sup>[17]</sup>发现 UCHL3 通过稳定 TRAF2,激活 NF- $\kappa$ B 信号通路及炎症反应,进而促进卵巢癌的恶性进展。Taki 等<sup>[18]</sup>发现 Snail 通过促进 CXCR2 表达,促进卵巢癌细胞发生 EMT,进而促进卵巢癌的恶性进展。Chen 等<sup>[19]</sup>研究证实, miR-204-5p 通过调节 THBS1 的表达,促进卵巢癌的血管生成;动物实验进一步表明抑制 miR-204-5p 的表达,能显著抑制卵巢癌的生长。Mukherjee 等<sup>[20]</sup>发现脂代谢相关蛋白 FABP4 通过影响 DNA 中 5-羟甲基胞嘧啶的水平,上调侵袭转移和细胞生长相关基因,促进卵巢癌的侵袭转移和对铂类药物的耐药,进而影响卵巢癌的预后。既往研究也表明, MZF1 参与了炎症反应<sup>[6]</sup>、EMT<sup>[21]</sup>和血管生成<sup>[15]</sup>的调控过程。在胃癌中, MZF1 与 MT2A 相互形成复合体,调控 NF $\kappa$ B 的表达,进而影响 NF- $\kappa$ B 信号通路,提示 MZF1 可能参与炎症反应<sup>[6]</sup>。Ko 等<sup>[21]</sup>发现, MZF1 可以上调 EMT 相关基因 N-cadherin 的表达,促进肿瘤细胞发生 EMT,进而影响患者预后。研究发现<sup>[15]</sup>在胃癌中发现, miR-337-3p 下调 MZF1 的表达,抑制血管生成,进而抑制胃癌的恶性进展。MZF1 是否也可以通过影响上述通路调控卵巢癌的恶性进展,有待分子生物学实验进一步证实。

本研究证实 MZF1 是预测卵巢癌预后的一个潜在分子标记物。未来可在细胞水平和动物实验中进一步探索 MZF1 的卵巢癌发生发展中的功能和潜在分子机制。

**作者贡献声明** 陈瑞芳,李俊 数据采集和分析,论文构思、撰写和修订。岳荟然,李文质 数据采集和分析。鹿欣 统计分析。

**利益冲突声明** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] COLEMAN RL, MONK BJ, SOOD AK, *et al.* Latest research and treatment of advanced-stage epithelial ovarian cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(4): 211-224.
- [2] HROMAS R, COLLINS SJ, HICKSTEIN D, *et al.* A retinoic acid-responsive human zinc finger gene, MZF-1, preferentially expressed in myeloid cells[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(22): 14183-14187.

- [ 3 ] PERROTTI D, MELOTTI P, SKORSKI T, *et al.* Overexpression of the zinc finger protein MZF1 inhibits hematopoietic development from embryonic stem cells: Correlation with negative regulation of CD34 and c-myc promoter activity[J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(11): 6075-6087.
- [ 4 ] FANG E, WANG X, WANG J, *et al.* Therapeutic targeting of YY1/MZF1 axis by MZF1-uPEP inhibits aerobic glycolysis and neuroblastoma progression [J]. *Theranostics*, 2020, 10(4): 1555-1571.
- [ 5 ] LI J, LIAO T, LIU H, *et al.* Hypoxic glioma stem cell-derived exosomes containing Linc01060 promote progression of glioma by regulating the MZF1/c-Myc/HIF-1 $\alpha$ [J]. *Cancer Res*, 2021, 8(1): 114-128.
- [ 6 ] LIN S, WANG X, PAN Y, *et al.* Transcription factor myeloid Zinc-Finger 1 suppresses human gastric carcinogenesis by interacting with metallothionein 2A [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(3): 1050-1062.
- [ 7 ] LUAN H, MOHAPATRA B, BIELECKI TA, *et al.* Loss of the nuclear pool of ubiquitin ligase CHIP/STUB1 in breast cancer unleashes the MZF1-Cathepsin pro-oncogenic program [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(10): 2524-2535.
- [ 8 ] EGUCHI T, PRINCE TL, TRAN MT, *et al.* MZF1 and SCAND1 reciprocally regulate CDC37 gene expression in prostate cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6): 792.
- [ 9 ] EGUCHI T, PRINCE T, WEGIEL B, *et al.* Role and regulation of myeloid zinc finger protein 1 in cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(10): 2146-2154.
- [ 10 ] VISHWAMITRA D, CURRY CV, ALKAN S, *et al.* The transcription factors Ik-1 and MZF1 downregulate IGF-IR expression in NPM-ALK+ ) T-cell lymphoma [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 53.
- [ 11 ] CHEN Y, ZHANG Z, YANG K, *et al.* Myeloid zinc-finger 1 (MZF-1) suppresses prostate tumor growth through enforcing ferroportin-conducted iron egress[J]. *Oncogene*, 2015, 34(29): 3839-3847.
- [ 12 ] MUDDULURU G, VAJKOCZY P, ALLGAYER H. Myeloid zinc finger 1 induces migration, invasion, and in vivo metastasis through Axl gene expression in solid cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(2): 159-169.
- [ 13 ] WEBER CE, KOTHARI AN, WAI PY, *et al.* Osteopontin mediates an MZF1-TGF- $\beta$ 1-dependent transformation of mesenchymal stem cells into cancer-associated fibroblasts in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2015, 34(37): 4821-4833.
- [ 14 ] TSAI SJ, HWANG JM, HSIEH SC, *et al.* Overexpression of myeloid zinc finger 1 suppresses matrix metalloproteinase-2 expression and reduces invasiveness of SiHa human cervical cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425(2): 462-467.
- [ 15 ] ZHENG L, JIAO W, MEI H, *et al.* MiRNA-337-3p inhibits gastric cancer progression through repressing myeloid zinc finger 1-facilitated expression of matrix metalloproteinase 14 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 40314-40328.
- [ 16 ] LEE JH, KIM SS, LEE HS, *et al.* Upregulation of SMAD4 by MZF1 inhibits migration of human gastric cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(1): 272-282.
- [ 17 ] ZHANG MH, ZHANG HH, Du XH, *et al.* UCHL3 promotes ovarian cancer progression by stabilizing TRAF2 to activate the NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Oncogene*, 2020, 39(2): 322-333.
- [ 18 ] TAKI M, ABIKO K, BABA T, *et al.* Snail promotes ovarian cancer progression by recruiting myeloid-derived suppressor cells via CXCR2 ligand upregulation [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1685.
- [ 19 ] CHEN X, MANGALA LS, MOOBERRY L, *et al.* Identifying and targeting angiogenesis-related microRNAs in ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(33): 6095-6108.
- [ 20 ] MUKHERJEE A, CHIANG CY, DAIFOTIS HA, *et al.* Adipocyte-Induced FABP4 expression in ovarian cancer cells promotes metastasis and mediates carboplatin resistance [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(8): 1748-1761.
- [ 21 ] KO H, KIM S, YANG K, *et al.* Phosphorylation-dependent stabilization of MZF1 upregulates N-cadherin expression during protein kinase CK2-mediated epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(3): 27.

(收稿日期:2020-06-15; 编辑:沈玲)