

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322439

· 头颈肿瘤专栏 ·

# 20种 *m6A* 甲基化调节基因与甲状腺乳头状癌的相关性分析

李祖飞, 赵晓畅, 何帅

(首都医科大学北京朝阳医院耳鼻咽喉头颈外科, 北京 100020)

**摘要:** **目的** 分析20种N6-甲基腺苷(*m6A*)甲基化调节基因在甲状腺乳头状癌(PTC)中的发生、发展和预后中的作用。**方法** 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库集中获取395例PTC患者的数据,其中包括59例癌旁组织数据。比较20种*m6A*甲基化调节基因在PTC组织与癌旁组织之间的差异表达及其与PTC患者临床参数之间的相关性。筛选预后相关的*m6A*甲基化调节基因,使用最小绝对收缩和选择算子(LASSO)回归算法建立PTC患者预后预测模型。分析预后相关*m6A*甲基化调节基因与肿瘤免疫浸润之间的关系。采用R语言软件完成统计学分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。**结果** 共15种*m6A*甲基化调节基因在PTC中表达上调,3种表达下调。*HNRNPC*与*IGF2BP2*及*ALKBH5*的表达与PTC淋巴结转移呈负相关。*HNRNPC*和*IGF2BP2*的表达与PTC的T分期相关;*YTHDF1*的表达与性别相关;*METTL14*、*YTHDC1*、*YTHDF2*和*HNRNPA2B1*的表达与PTC的临床分期相关;*FTO*、*IGF2BP1*和*YTHDF3*与PTC患者预后相关。由此建立的预后预测模型显示预测PTC患者3年和5年生存率的ROC曲线下面积分别为0.753(95%CI 0.615-0.891)和0.729(95%CI 0.613-0.846)。*YTHDF3*与内皮细胞、巨噬细胞、NK细胞和CD4<sup>+</sup>T细胞在肿瘤中的浸润相关;*FTO*与巨噬细胞、NK细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞相关。**结论** *m6A*甲基化调节基因在PTC的发生发展及预后中起重要作用,可能是PTC治疗的潜在生物标志物。

**关键词:** 甲状腺乳头状癌;*m6A*甲基化调节基因;生物标志物;预后模型;生物信息学  
中图分类号:R739.91

## Bio-informatic analysis of the roles of 20 *m6A* methylation regulators in papillary thyroid cancer

LI Zufei, ZHAO Xiaochang, HE Shuai

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the roles of 20 *m6A* methylation regulators in the occurrence, development, and prognosis of papillary thyroid cancer (PTC). **Methods** Data of 395 PTC patients, including para-carcinoma tissue in 59 cases, were obtained from the TCGA dataset. The differentiated expressions of the 20 *m6A* regulators were compared, and their correlations to the clinical data of PTC (gender, T stage, cervical lymph node metastasis, etc.) were analyzed. The prognostic-related *m6A* regulators were identified, and the predictive model for prognosis of PTC was established using the least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression. In addition, the relationships between the prognostic-related *m6A* regulators and the immune cells were further explored. All the statistical analysis work was performed by the R foundation. **Results** A total of 15 *m6A*-regulated genes were up-regulated in PTC, and 3 genes were down-regulated. *HNRNPC* and *IGF2BP2* were positively and *ALKBH5* was negatively correlated to the lymph node metastasis of PTC. *HNRNPC* and *IGF2BP2* were correlated to the T stage. *YTHDF1* was correlated to gender. *METTL14*, *YTHDC1*, *YTHDF2*, and *HNRNPA2B1* were correlated to the clinical stage of PTC. High expressions of *FTO*, *IGF2BP1* and *YTHDF3* resulted in poor prognosis. The established prognostic model revealed that the areas under the ROC curve of three-year and five-year survival rates were 0.753 (95% CI 0.615 - 0.891) and 0.729 (95% CI 0.613 - 0.846). *YTHDF3* was correlated to the infiltrations of endothelial cell, macrophage cell, NK cell and T cell CD4<sup>+</sup>, while *FTO* was

第一作者简介:李祖飞,男,博士,主治医师。

通信作者:何帅,Email:xiaoshuaihe\_ent@outlook.com

correlated to the infiltrations of macrophage cell, NK cell, T cell CD4<sup>+</sup> and T cell CD8<sup>+</sup>. **Conclusion** The *m6A* regulators play important roles in the occurrence and development of PTC, and may be severed as potential biomarkers for PTC treatment.

**Keywords:** Papillary thyroid cancer; *m6A* methylation regulators; Biomarkers; Prognostic model; Bio-informatic

甲状腺癌是一种常见的内分泌系统恶性肿瘤, 约占所有恶性肿瘤的1%<sup>[1]</sup>。由于近年来甲状腺超声检查的普及, 甲状腺癌的发病率在过去几十年中不断上升, 从1990年的5人/10万人上升到2014年的15人/10万人<sup>[2]</sup>。其中女性发病率明显高于男性, 在美国甲状腺癌已被列为女性最常见的第五种癌症<sup>[1-2]</sup>。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的甲状腺癌病理类型, PTC的预后相对好于其他类型的甲状腺恶性肿瘤, 但由于一些患者存在隐性淋巴结转移(cervical lymph node metastasis, CLNM), 这导致术后复发可能性较高, 可能需行二次手术。与初次手术相比, 二次手术难度增大, 并发症风险增加<sup>[3-4]</sup>。此外, 少部分患者常规治疗的效果不佳, 尤其是累及气管/食管晚期PTC患者预后较差。因此, 有必要进一步研究并挖掘潜在的PTC疾病发生、发展与预后相关的分子标志物及生物治疗靶点。

N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, *m6A*)是一种RNA修饰, 最早发现于20世纪70年代, 已被证实与哺乳动物的多种生理功能有关<sup>[5]</sup>。*m6A*甲基化调节基因主要包括3种: ①甲基转移酶, 也称为“书写”蛋白, 如 *METTL3*、*METTL4*、*WTAP* 等, 负责将 *m6A* 标记装配到 mRNA 的特定位点; ②去甲基化酶, 也称为“擦除”蛋白, 如 *FTO* 等, 负责去除书写复合物装配的 *m6A* 标记; ③甲基结合蛋白, “读取”蛋白, 如 YTS21-B 同源性(YTH)的结构域家族, 包含 *YTHDF1*、*YTHDF2*、*YTHDF3* 等, 负责 RNA 转录物中 *m6A* 标记的读取<sup>[6]</sup>。

近年来, 有研究发现 *m6A* 甲基化调节基因与各种癌症的发生和发展相关, 包括乳腺癌、膀胱癌等<sup>[7-8]</sup>。*m6A* 甲基化调节基因在 PTC 发生和发展中的作用尚不清楚。尽管 Yu 等<sup>[9]</sup>研究了 *m6A* 甲基化调节基因在甲状腺癌中的功能和预后价值, 但他们只分析了 13 个 *m6A* 甲基化调节基因(*METTL3*、*YTHDF1*、*VIRMA*、*YTHDC2*、*ALKBH5*、*YTHDF2*、*YTHDC1*、*ZC3H13*、*METTL4*、*FTO*、*WTAP*、*RBM15* 与 *HNRNPC*), 且研究对象是所有类型的甲状腺癌, 而非单纯 PTC 这一种类型, 而且并未研究 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 患者 CLNM、临床分期、性别之间的

相关性。Xu 等<sup>[10]</sup>分析了 *m6A* 甲基化调节基因在分化型甲状腺癌中的预后作用, 但同样只分析了 13 种 *m6A* 甲基化调节基因。随着对 *m6A* 甲基化的深入研究, 研究人员发现更多的 *m6A* 甲基化调节基因<sup>[11-13]</sup>。除以上 13 种外, “书写”基因 *RBM15B*<sup>[11]</sup> 以及 6 种“读取”基因 *IGF2BP2*、*HNRNPA2B1*、*IGF2BP3*、*YTHDF3*、*IGF2BP1*、*RBMX* 也被认为与肿瘤的发生发展存在一定相关性<sup>[12-13]</sup>。因此, *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 中的具体作用应得到进一步研究与更新。

本研究的主要目的是通过从癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库下载的患者数据, 系统地探讨 20 种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 中的作用。包括分析 20 种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织和癌旁正常组织之间的差异表达, 不同临床参数(包括淋巴结转移、性别、T 分期和临床分期)与 *m6A* 甲基化调节基因之间的差异表达与相关性分析, 对 20 种 *m6A* 甲基化调节基因进行聚类分析, 探索不同聚类组与 PTC 预后之间的相关性; 识别与预后相关的 *m6A* 甲基化调节基因, 建立 PTC 预后模型, 探索各预后标记基因与肿瘤免疫浸润之间的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据收集

从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.com>)中获得 395 例 PTC 组织以及 59 例癌旁组织的基因表达谱数据, 其中女性患者 286 例, 男性患者 109 例。下载 RNA 测序表达谱以及各 PTC 患者相应的临床信息。

### 1.2 20 种 *m6A* 甲基化调节基因筛选

本研究中共选取 20 种 *m6A* RNA 甲基化调节基因作为深入研究, 包括 2 个“擦除”基因: *FTO* 和 *ALKBH5*; 7 种“书写”基因: *METTL3*、*METTL4*、*RBM15*、*RBM15B*、*VIRMA*、*WTAP* 和 *ZC3H13*; 11 种“读取”基因: *IGF2BP2*、*YTHDC1*、*HNRNPA2B1*、*IGF2BP3*、*YTHDF3*、*YTHDC2*、*IGF2BP1*、*YTHDF1*、*HNRNPC*、*RBMX*、*YTHDF2*。

### 1.3 生物信息学综合分析

本研究中的生物信息学分析主要分为 5 个步

骤。首先,比较各 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织和癌旁正常组织之间的差异表达,并绘制热图进行可视化分析,通过网络图展示各基因在 PTC 组织表达中的相关性。其次,进一步比较 *m6A RNA* 甲基化调节基因在 PTC 组织中表达与患者各临床参数的关系,包括性别、是否存在 CLNM、T 分期和临床分期。由于本次纳入的 PTC 患者数据中只有 4 例有远处转移,例数过少,因此未分析 *m6A* 甲基化调节基因的表达与 PTC 患者远处转移状态之间的相关性。第三,对 20 种 *m6A* 甲基化调节基因表达进行聚类分析,分析每个聚类的 PTC 患者其不同的生存状态。第四,进一步分析 *m6A* 甲基化调节基因表达在 PTC 患者中的预后作用,用 Log-rank 检验分析各组间的生存差异,用基于 R 语言的 time-ROC (V0.4) 工具包分析各组 *m6A* 甲基化调节基因的预测准确性和风险评分。使用最小绝对收缩和选择算子 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 回归算法,使用 Kaplan-Meier 进行生存分析,使用对数秩检验和单变量 Cox 比例风险回归计算生存曲线的 *P* 值和 95% 置信区间 (confidence interval, CI) 的风险比 (hazard ratio, HR)。最后,采用 Spearman 相关性分析探索 3 种预后相关 *m6A* 甲基化调节基因与 PTC 肿瘤免疫浸润之间的相关性。

#### 1.4 统计学分析

所有统计分析方法均由 R 语言 (4.0.3 版) 进行,使用 ggplot2 和 heatmap 软件包计算并绘制 PTC 组织和正常组织之间 *m6A* 甲基化调节基因表达的热图。Wilcox 检验用于计算不同临床数据之间 *m6A* 调节基因的差异表达。使用 Spearman 相关分析定量变量之间的关系。Consensus Cluster Plus R 包 (v1.54.0) 用于 *m6A* 甲基化调节基因的聚类分析,最大聚类数设置为 6。Heatmap 工具包 (v1.0.12) 用于聚类热图绘制。采用 Log-rank 检验分析各组之间的生存差异,采用 timeROC (v0.4) 分析软件包分析各组 *m6A* 甲基化调节基因的预测准确性和风险评分。LASSO 回归算法采用 glmnet R 软件包完成。生存分析采用 Kaplan-Meier 算法。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PTC 与正常组织 *m6A* 甲基化调节基因的比较

在 395 例 PTC 组织和 59 例癌旁组织中,除 *RB-*

*MX* ( $Z = -1.313, P = 0.189$ ) 与 *YTHDF2* ( $Z = -0.475, P = 0.635$ ) 外,共鉴定出 18 种差异表达的 *m6A* 甲基化调节基因。其中 15 种表达上调,分别为:*RBM15* ( $Z = -9.869, P = 0.000$ ), *YTHDC1* ( $Z = -8.477, P = 0.000$ ), *METTL14* ( $Z = -8.208, P = 0.000$ ), *FTO* ( $Z = -7.391, P = 0.000$ ), *HNRNPA2B1* ( $Z = -6.895, P = 0.000$ ), *IGF2BP3* ( $Z = -6.791, P = 0.000$ ), *ZC3H13* ( $Z = -6.709, P = 0.000$ ), *ALKBH5* ( $Z = -6.460, P = 0.000$ ), *WTAP* ( $Z = -6.325, P = 0.000$ ), *YTHDF3* ( $Z = -5.011, P = 0.000$ ), *YTHDC2* ( $Z = -4.917, P = 0.000$ ), *VIRMA* ( $Z = -4.885, P = 0.000$ ), *IGF2BP1* ( $Z = -4.853, P = 0.000$ ), *YTHDF1* ( $Z = -4.739, P = 0.000$ ), *METTL3* ( $Z = -4.610, P = 0.000$ ); 3 种表达下调:*IGF2BP2* ( $Z = -11.008, P = 0.000$ ), *HNRNPC* ( $Z = -4.556, P = 0.000$ ) 和 *RBM15B* ( $Z = -2.087, P = 0.037$ )。图 1A 显示了 20 种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织与癌旁组织中的差异,图 1B 示 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织中的表达热图,图 1C 和图 1D 分别示各 *m6A* 甲基化调节基因之间的相关性。

### 2.2 *m6A* 甲基化调节基因表达与 PTC 患者临床资料的相关性

分别分析 *m6A* 甲基化调节基因的表达与 PTC 患者临床资料 (包括 PTC 患者的性别、T 分期、有无淋巴结转移、临床分期) 之间的相关性。如图 2 所示,*HNRNPC* 和 *IGF2BP2* 的表达与 PTC 的淋巴结转移呈显著正相关,*ALKBH5* 与 PTC 淋巴结转移负相关。*HNRNPC* 和 *IGF2BP2* 与 T 分期相关。*YTHDF1* 与性别相关。*METTL14*、*YTHDC1*、*YTHDF2* 与 PTC 临床分期相关,与早期 (I、II 期) 相比,3 者表达量在晚期 (III、IV 期) PTC 组织中有所下降。

### 2.3 基于 *m6A* 甲基化调节基因的聚类分析

为深入了解 20 种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 中的亚组分型特点,本研究采用一致性聚类法根据 20 种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织中的表达进行聚类分组,该方法的原理为:采取重抽样方法抽取数据,计算 *k* 值计以及不同聚类数目下的合理性<sup>[14]</sup>。结果显示:分为 2 组时,组间差异最显著 (图 3A、B)。图 3C 示不同组别各基因的表达热图,可见亚组 1 中的大多数基因表达上调,而亚组 2 中的大部分基因表达下调。图 3D 显示不同分组之间各 PTC 患者的生存曲线,可见亚组 2 的 PTC 患者总体生存率显著高于亚组 1 的 PTC 患者。

### 2.4 m6A 甲基化调节基因在 PTC 预后中的作用

Cox 单变量分析用于探讨 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 预后中的作用 (图 4), 结果发现 *FTO*、*IGF2BP1* 和 *YTHDF3* 高表达的 PTC 患者生存率较差。这 3 个 *m6A* 甲基化调节基因被进一步用于构建生存预测模型, 以预测 PTC 患者的预后。根据中位评分将 PTC 患者分为高风险和低风险亚组, 低风险组预后较好 (图 4B,  $P < 0.05$ )。最后通过 LASSO 回归算法构建 PTC 患者预后预测模型 (图 5), 公式为:  $Riskscore = 0.0908 \times FTO + 0.6881 \times YTHDF3 + 0.6295 \times IGF2BP1$ 。该预后模型预测 PTC 患者 3 年生存率的 ROC 曲线下面积为 0.753 (95% CI

0.615 - 0.891), 预测 PTC 患者 5 年生存率的 ROC 曲线下面积为 0.729 (95% CI 0.613 - 0.846), 说明该预后预测模型可较准确预测 PTC 患者的预后。

### 2.5 3 种预后相关 m6A 甲基化调节基因与免疫系统的相关性

我们进一步探讨了前述 3 种预后相关 *m6A* 甲基化调节基因与 PTC 组织肿瘤免疫浸润之间的相关性, 通过 Spearman 相关分析发现 *YTHDF3* 与内皮细胞、巨噬细胞、NK 细胞、 $CD4^+$ T 细胞相关; *FTO* 与巨噬细胞、NK 细胞、 $CD4^+$ T 细胞和  $CD8^+$ T 细胞相关。说明这 3 个基因不仅与 PTC 患者的预后相关, 还与肿瘤免疫浸润相关 (图 6)。

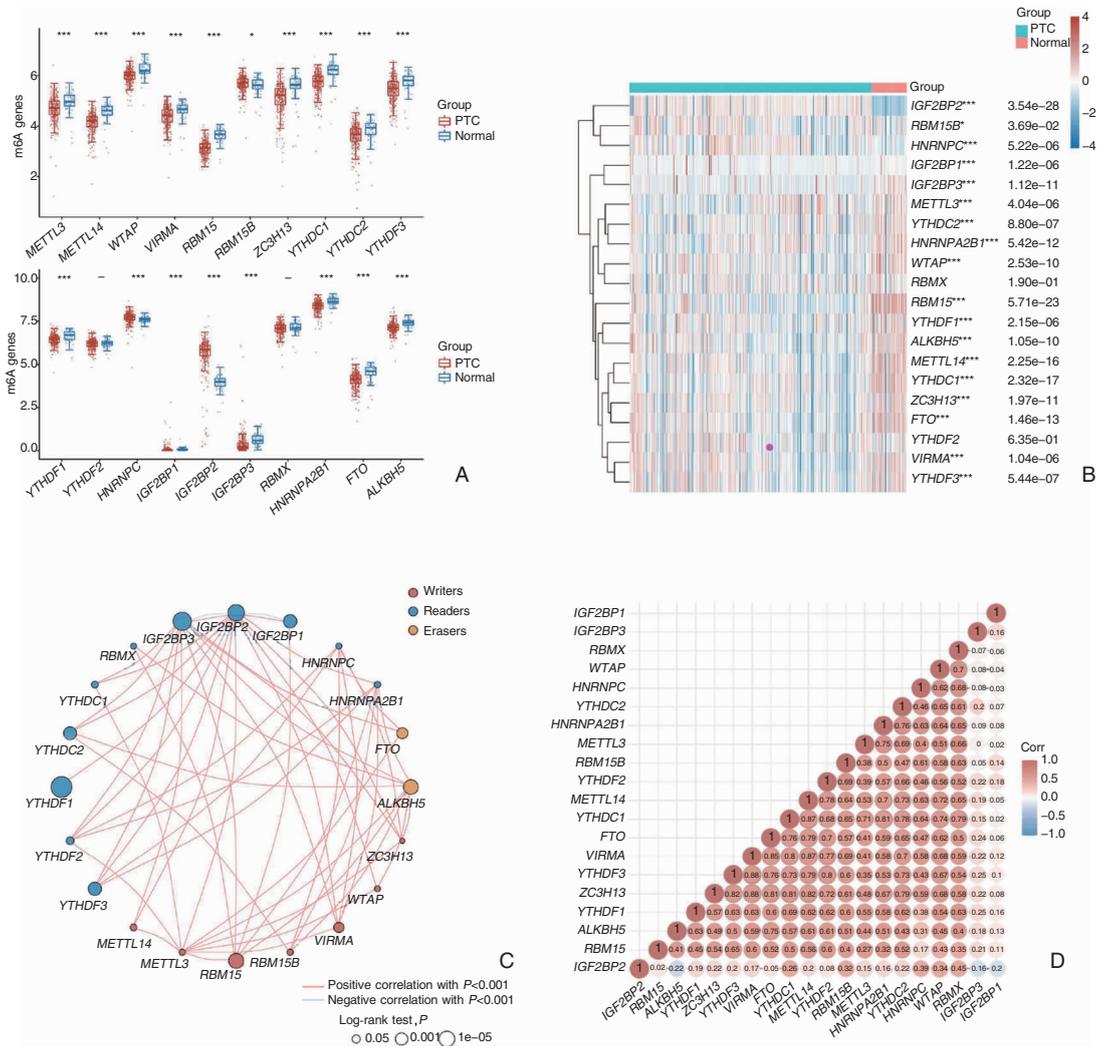


图 1 20 种 *m6A* RNA 甲基化调节基因在 PTC 组织中的表达 A: 癌旁组织和 PTC 组织中各 *m6A* 甲基化调节基因的差异表达; B: 热图展示 PTC 中差异表达的 *m6A* 甲基化调节基因; C、D: 各基因在 PTC 表达之间的相关性 注: \*  $P < 0.05$ ; \*\* \*  $P < 0.001$ 。  
*m6A* (N6-甲基腺苷); PTC (甲状腺乳头状癌)。下同。

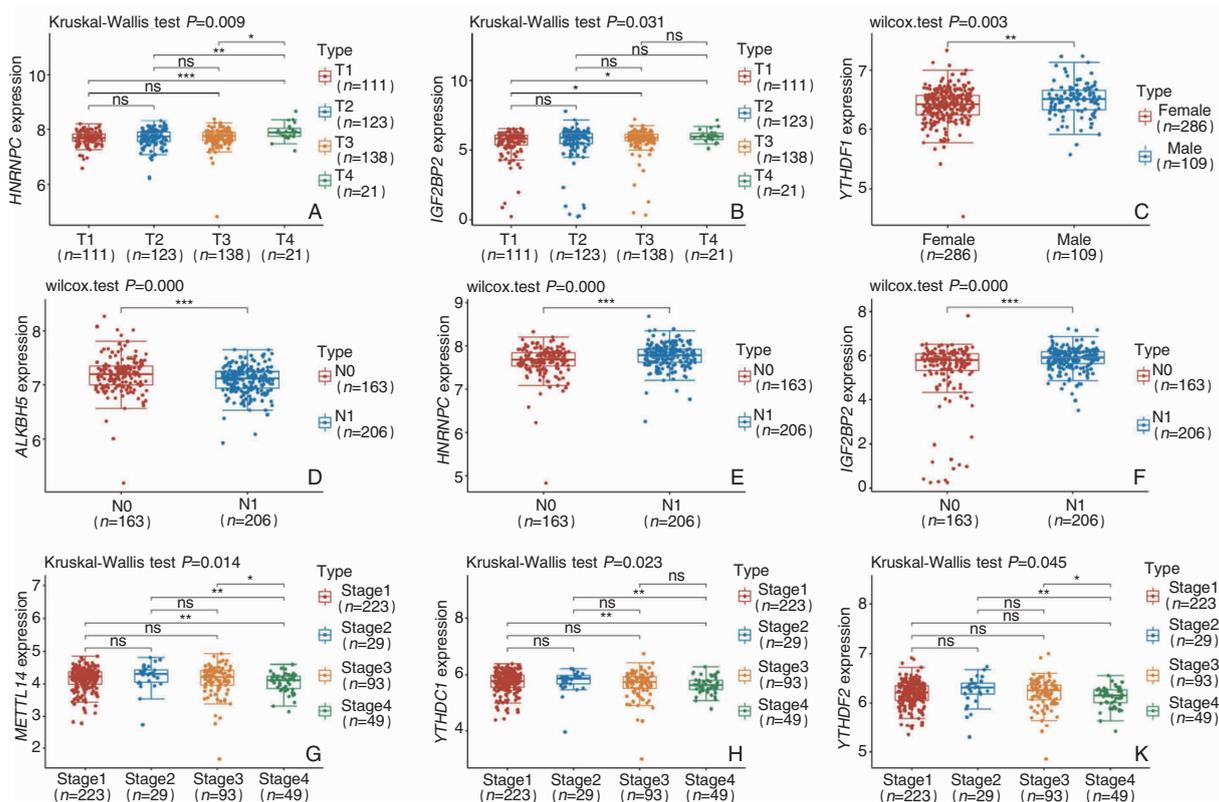


图2 *m6A* 甲基化调节基因与 PTC 患者临床病理参数之间的关系 A、B:与 T 分期的相关性; C:与性别的相关性; D~F:与是否合并颈部淋巴结转移的相关性; G~K:与临床分期的相关性 注:stage1、stage2、stage3、stage4 分别代表 I、II、III、IV 期;TCGA 数据库中 T 分期存在 2 例 Tx 分期不明数据,26 例 Nx 淋巴结转移情况不明数据,临床分期 1 例不明数据,故均未纳入分析。

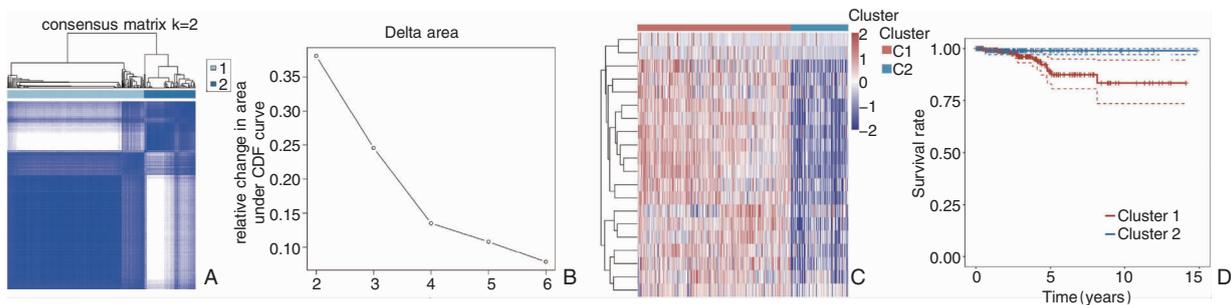


图3 20种 *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 组织中表达的一致性聚类分析 A:当  $k$  为 2 时,一致性聚类结果矩阵; B:当  $k$  取值 2~6 时,CDF 曲线下的相对面积变化,可见当  $k$  值为 2 时聚类效果最佳; C:热图显示不同亚组 *m6A* 甲基化调节基因在各 PTC 患者中的表达模式。C1(亚组 1);C2(亚组 2); D:不同聚类亚组 PTC 患者的生存曲线 注:CDF(累积分布函数)。

### 3 讨论

本研究为首次对目前已知更多种类的(20种) *m6A* 甲基化调节基因在 PTC 中的作用进行综合生物信息学分析的研究。本研究发现 20 种 *m6A* 甲基化调节基因中,有 18 种在 PTC 组织和癌旁组织之间差异表达。既往研究仅对 13 种 *m6A* 甲基化调节基因进行研究,并仅发现 12 种在 PTC 组织中差异

表达<sup>[9-10]</sup>,它们是 *METTL3*、*YTHDC2*、*HNRNPC*、*WTAP*、*YTHDF1*、*ALKBH5*、*METTL14*、*YTHD11*、*FTO*、*ZC3H13*、*RBM15*、*KIAA1429*(也称为 *VIRMA*)。本研究结果发现,除了上述 12 种 *m6A* 甲基化调节基因外,PTC 组织和癌旁组织之间还存在 6 种差异表达的 *m6A* 甲基化调节基因:*IGF2BP1*、*IGF2BP2*、*IGF2BP3*、*RBM15B*、*YTHDF3* 和 *HNRNPA2B1*。这些发现弥补了以往研究在这方面的不足。

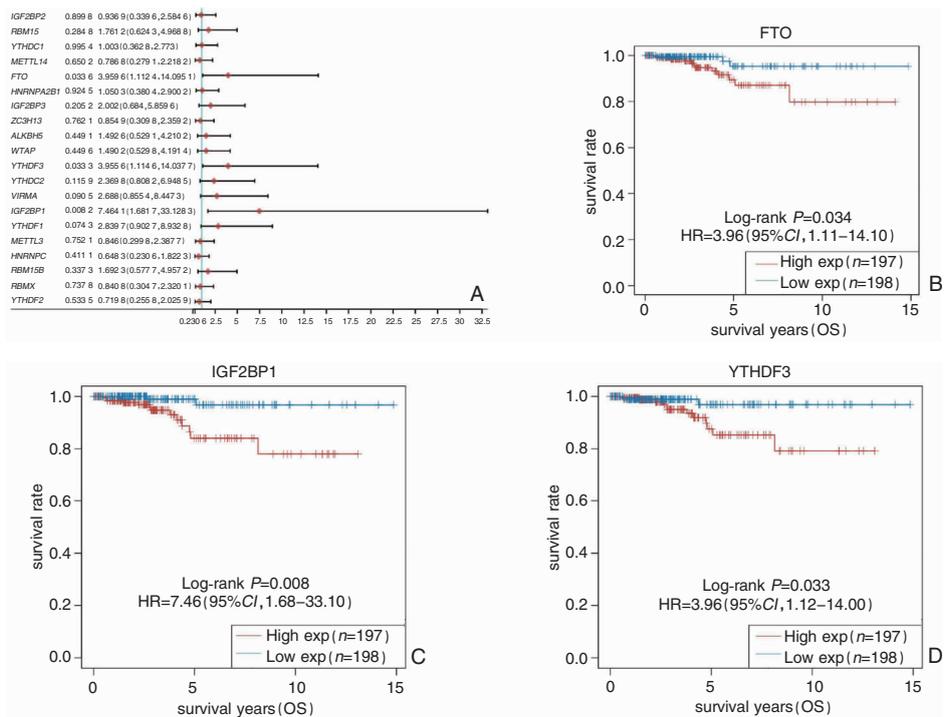


图 4 PTC 患者 20 种 m6A 甲基化调节基因表达与预后相关性分析结果 A:PTC 患者 20 种 m6A 甲基化调节基因的单变量 Cox 分析; B ~ D:生存曲线图示 *FTO*、*IGF2BP1* 和 *YTHDF3* 的高表达的 PTC 患者预后较差 注:HR(风险比);CI(置信区间);OS(总体生存率)。下同。

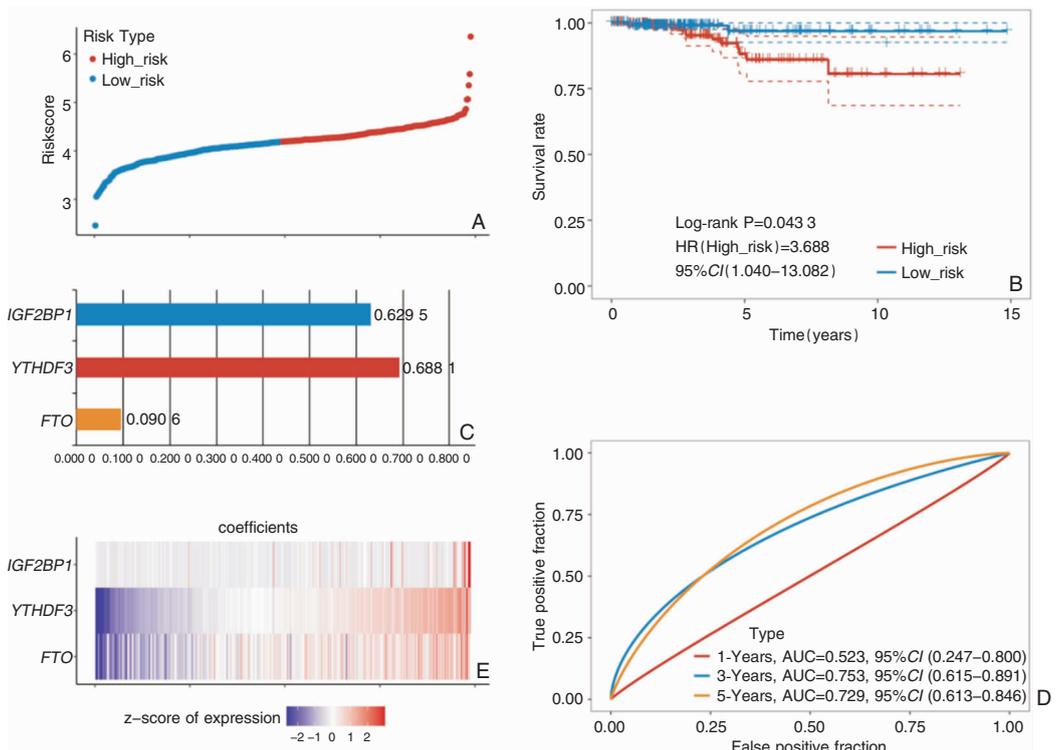


图 5 基于 LASSO 回归算法建立的由 3 个预后相关的 m6A 甲基化调节基因构建的生存预测模型 A:预后指数的等级和组的分布; B:高风险组和低风险组患者的生存曲线; C:3 种预后相关 m6A 甲基化调节基因在模型中的系数值; D:PTC 预后预测模型的 ROC 曲线; E:*FTO*、*YTHDF3* 与 *IGF2BP1* 的基因表达谱热图

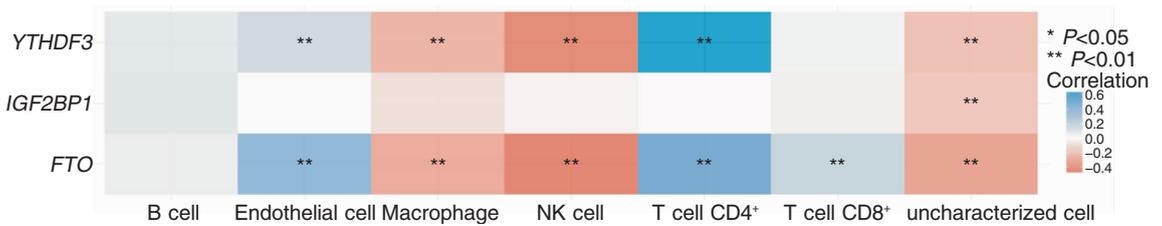


图6 3种预后相关 *m6A* 甲基化调节基因与肿瘤免疫浸润之间的关系

此外本研究还发现3种 *m6A* 甲基化调节基因与PTC患者CLNM相关,其中 *ALKBH3* 与其呈负相关,而 *HNRNPC* 和 *HGF2BP2* 与CLNM呈正相关。CLNM是PTC术后局部复发的重要原因之一,据报道约30%~80%的PTC患者会出现CLNM<sup>[15-17]</sup>。因此,术前对患者进行CLNM转移预测非常重要。尽管术前超声检查可对PTC患者CLNM状态进行初步评估,但研究发现仅20%~31%的CLNM可通过术前超声检查检测,仅通过超声检查远不足以正确预测CLNM<sup>[18-19]</sup>。因此,探索更多的方法来预测PTC患者是否存在CLNM非常重要,本研究结果发现3种 *m6A* 甲基化调节基因(*ALKBH3*、*HNRNPC*、*IGF2BP2*)与PTC患者的CLNM状态相关,而这3种 *m6A* 甲基化调节基因可能是预测PTC患者是否存在CLNM的分子标记物。此外,本研究还发现 *HNRNPC* 和 *IGF2BP2* 不仅与CLNM相关,还与PTC患者的T分期相关,因此,值得通过更多实验进一步探讨这2个 *m6A* 甲基化调节基因在PTC中的作用。

本研究发现男性和女性PTC患者之间存在差异表达的 *m6A* 甲基化调节基因,男性患者的 *YTHDF1* 表达水平高于女性患者。既往研究提示男性PTC与女性相比,具有侵袭性更高,预后更差的特点,但其潜在机制尚不清楚<sup>[20]</sup>。本研究认为男性PTC患者中 *YTHDF1* 的表达高于女性患者可能是解释男性PTC恶性程度高于女性的原因,但一观点还需要进一步的实验对此进行验证。

本研究发现3种与预后相关的 *m6A* 甲基化调节基因, *FTO*、*IGFBP1* 和 *YTHDF3* 高表达的PTC患者预后更差。*FTO*,也称为脂肪团和肥胖相关蛋白,其功能为 *m6A* 脱甲基酶。既往研究结果提示 *FTO* 是一种促癌基因,以 *m6A* 依赖性的方式在多种癌症中高度表达,如乳腺癌、肺癌、宫颈癌等,抑制 *FTO* 可以抑制肿瘤进展<sup>[21]</sup>。*IGFBP1*,也称为胰岛素样生长因子结合蛋白-1,是胰岛素样生长因子(IGF)系统的一员,已被证实与各种癌症的病理生理学相

关<sup>[22]</sup>。*YTHDF3* 是一种 *m6A*“读取”蛋白,在多种肿瘤中也表达上调,并且与患者的不良预后有关<sup>[18]</sup>。本研究结果表明,3种 *m6A* 甲基化调节基因 *FTO*、*IGFBP1* 和 *YTHDF* 不仅在PTC组织中高表达,而且与PTC患者的不良预后相关。基于上述3种基因建立的PTC患者预后预测模型,其预测PTC患者5年及3年的生存率ROC曲线下面积均大于0.7,提示其可较为准确预测PTC患者预后。

最后,本研究对3种PTC预后相关的 *m6A* 甲基化调节基因与肿瘤免疫浸润之间的相关性进行分析,发现 *YTHDF3* 与内皮细胞、巨噬细胞、NK细胞和CD4<sup>+</sup>T细胞相关;*FTO* 与巨噬细胞、NK细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞相关。癌症的一个共同特征是免疫逃逸,研究表明CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞的负调节可能有助于肿瘤的进展,这种现象在甲状腺癌患者中也可以观察到<sup>[23]</sup>。此外,巨噬细胞,特别是肿瘤相关巨噬细胞,是主要的免疫逃逸因子。3种预后相关的 *m6A* 甲基化调节基因中有2种与免疫细胞相关:*YTHDF3* 与内皮细胞、巨噬细胞、NK细胞和T细胞CD4<sup>+</sup>相关;*FTO* 与巨噬细胞、NK细胞、T细胞CD4<sup>+</sup>和T细胞CD8<sup>+</sup>相关。癌症的共同特征之一是免疫逃逸,研究表明CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞的负调节可能有助于肿瘤的进展,这种现象在PTC患者中也可以观察到<sup>[23]</sup>。此外,巨噬细胞,尤其是肿瘤相关巨噬细胞,是肿瘤微环境的主要成分,也在肿瘤恶性进展中发挥作用<sup>[24]</sup>。本研究结果表明, *FTO* 和 *YTHDF3* 均与CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞以及巨噬细胞和NK细胞相关,这表明,其可能通过与免疫细胞相互作用的方式,在PTC患者的预后中发挥作用。

综上所述,本研究分析了20种 *m6A* 甲基化调节基因在PTC中的作用,发现 *m6A* 甲基化调节基因在PTC的发生和发展中起着重要作用,为PTC的深入研究提供了新的思路,具有较为重要的意义,未来需大量实验进行进一步研究验证。

## 参考文献:

- [1] Rajabi S, Shakib H, Dastmalchi R, et al. Metastatic propagation of thyroid cancer; organ tropism and major modulators[J]. *Future Oncol*, 2020, 16(18): 1301 - 1319.
- [2] Cabanillas ME, McFadden DG, Durante C. Thyroid cancer[J]. *Lancet*, 2016, 388(10061): 2783 - 2795.
- [3] Grant CS. Recurrence of papillary thyroid cancer after optimized surgery[J]. *Gland Surg*, 2015, 4(1): 52 - 62.
- [4] Lin HC, Liou MJ, Hsu HL, et al. Combined analysis of circulating epithelial cells and serum thyroglobulin for distinguishing disease status of the patients with papillary thyroid carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13): 17242 - 17253.
- [5] Oerum S, Meynier V, Catala M, et al. A comprehensive review of m6A/m6Am RNA methyltransferase structures[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(13): 7239 - 7255.
- [6] Karthiya R, Khandelia P. m6A RNA methylation; ramifications for gene expression and human health[J]. *Molecular Biotechnol*, 2020, 62(10): 467 - 484.
- [7] Sun T, Wu R, Ming L. The role of m6A RNA methylation in cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108613.
- [8] Liu ZX, Li LM, Sun HL, et al. Link between m6A modification and cancers[J]. *Front Bioeng iotechnol*, 2018, 6: 89.
- [9] Yu ZH, Feng ST, Zhang D, et al. The functions and prognostic values of m6A RNA methylation regulators in thyroid carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 385.
- [10] Xu N, Chen J, He G, et al. Prognostic values of m6A RNA methylation regulators in differentiated thyroid carcinoma[J]. *J Cancer*, 2020, 11(17): 5187 - 5197.
- [11] Zhang B, Gu Y, Jiang G. Expression and prognostic characteristics of m6 A RNA methylation regulators in breast cancer[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 604597.
- [12] Li Y, Xiao J, Bai J, et al. Molecular characterization and clinical relevance of m6A regulators across 33 cancer types[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 137.
- [13] Yan Q, Zeng P, Zhou X, et al. RBMX suppresses tumorigenicity and progression of bladder cancer by interacting with the hnRNP A1 protein to regulate PKM alternative splicing[J]. *Oncogene*, 2021, 40(15): 2635 - 2650.
- [14] Brière G, Darbo é, Thébault P, et al. Consensus clustering applied to multi-omics disease subtyping[J]. *BMC bioinformatics*, 2021, 22(1): 361.
- [15] Feng JW, Yang XH, Wu BQ, et al. Predictive factors for central lymph node and lateral cervical lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma[J]. *Clin Transl Oncol*, 2019, 21(11): 1482 - 1491.
- [16] 王开银,林凯,宋彬,等. 甲状腺乳头状癌患者甲状腺肿瘤特征对颈侧区淋巴结转移的影响[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2022, 28(3): 73 - 76.
- [17] 任婉丽,戴皓,杨郁偈,等. 甲状腺微小乳头状癌颈部淋巴结转移危险因素分析[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2021, 27(1): 6 - 11.
- [18] Solorzano CC, Carneiro DM, Ramirez M, et al. Surgeon-performed ultrasound in the management of thyroid malignancy[J]. *Am Surg*, 2004, 70(7): 576 - 580.
- [19] O'Connell K, Yen TW, Quiroz F, et al. The utility of routine preoperative cervical ultrasonography in patients undergoing thyroidectomy for differentiated thyroid cancer[J]. *Surgery*, 2013, 154(4): 697 - 703.
- [20] Ding J, Wu W, Fang J, et al. Male sex is associated with aggressive behaviour and poor prognosis in Chinese papillary thyroid carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4141.
- [21] Lan N, Lu Y, Zhang Y, et al. FTO-a common genetic basis for obesity and cancer[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 559138.
- [22] Lin YW, Weng XF, Huang BL, et al. IGFBP-1 in cancer: expression, molecular mechanisms, and potential clinical implications[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(3): 813 - 832.
- [23] Anita R, Paramasivam A, Priyadharsini JV, et al. The m6A readers YTHDF1 and YTHDF3 aberrations associated with metastasis and predict poor prognosis in breast cancer patients [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(8): 2546 - 2554.
- [24] Arena A, Stigliano A, Belcastro E, et al. p53 activation effect in the balance of T regulatory and effector cell subsets in patients with thyroid cancer and autoimmunity[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 728381.

(收稿日期:2022-11-24)

本文引用格式:李祖飞,赵晓畅,何帅. 20种 m6A 甲基化调节基因与甲状腺乳头状癌的相关性分析[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2023, 29(2): 57 - 64. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202322439

**Cite this article as:** LI Zufe, ZHAO Xiaochang, HE Shuai. Bio-informatic analysis of the roles of 20 m6A methylation regulators in papillary thyroid cancer[J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2023, 29(2): 57 - 64. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202322439