

网络出版时间:2025-11-13 11:28:36 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251202.1333.011

MAGED4 通过 SIRT7 激活 PI3K/AKT 信号通路 促进胶质瘤细胞增殖

叶爱, 钟子亮, 李枫, 谢欢, 邹小琼, 王国鉴, 王紫, 罗彬, 张庆梅, 谢小薰
(广西医科大学组织学与胚胎学教研室, 广西高校区域性疾病基础研究重点实验室, 南宁 530021)

摘要 目的 分析黑色素瘤相关抗原 D4 (MAGED4) 和去乙酰化酶 7 (SIRT7) 在胶质瘤中的表达情况及二者之间的相关性, 探讨 MAGED4 和 SIRT7 对胶质瘤细胞增殖的潜在作用。方法 通过中国胶质瘤基因组图谱 (CGGA)、人类蛋白质图谱 (HPA) 和 UALCAN 数据库分析 MAGED4 和 SIRT7 表达水平及二者的相关性; 采用生存分析、ROC 曲线分析和 Cox 回归分析 MAGED4 和 SIRT7 对胶质瘤患者预后的影响; 采用基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析探究胶质瘤中 MAGED4 和 SIRT7 的生物学功能; 采用 Western blot 法探讨 MAGED4 蛋白是否通过 SIRT7 对磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 和蛋白激酶 B (AKT) 信号通路的活性产生调控作用; 通过 CCK-8 法探究 MAGED4 通过 SIRT7 对胶质瘤细胞增殖的影响。结果 CGGA、UALCAN 和 HPA 数据库分析结果显示, 胶质瘤组织中 MAGED4 和 SIRT7 表达水平均高于正常脑组织 ($P < 0.05$), 且二者表达呈正相关; 生存分析、ROC 曲线分析和 Cox 回归分析结果显示, MAGED4 和 SIRT7 高表达是胶质瘤预后不良的危险因素; KEGG 富集分析结果显示, MAGED4 和 SIRT7 可能参与胶质瘤中 PI3K/AKT 信号通路的调控; Western blot 结果显示, MAGED4 通过 SIRT7 激活 PI3K/AKT 信号通路; CCK-8 结果显示, MAGED4 通过 SIRT7 促进胶质瘤细胞增殖。结论 MAGED4 和 SIRT7 在胶质瘤中高表达且与胶质瘤预后不良相关, MAGED4 通过 SIRT7 激活 PI3K/AKT 信号通路促进胶质瘤细胞增殖。

关键词 MAGED4; SIRT7; PI3K/AKT; 胶质瘤; KEGG 富集分析; 细胞增殖

中图分类号 R 739.41

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)12-2235-12

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.12.006

胶质瘤是成人最常见的原发性颅内恶性肿瘤之一, 具有侵袭能力强、易复发等特点, 现有治疗手段难以有效改善患者预后^[1]。黑色素瘤相关抗原 D4 (melanoma-associated antigen D4, MAGED4) 是一种肿瘤相关抗原, 在胶质瘤中特异性高表达, 而在正常脑组织中几乎不表达, 下调 MAGED4 可抑制胶质瘤细胞增殖和移植瘤生长^[2], 提示 MAGED4 参与调控胶质瘤的发生发展, 但具体机制尚不明确。去乙酰化酶 7 (sirtuin 7, SIRT7) 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的 sirtuin 家族中的一员, 通常作为致癌基因或抗癌基因参与调节肿瘤细胞增殖和自噬, 在多种肿瘤的恶性进展中发挥了重要作用^[3-4]。目前, MA-

GED4 和 SIRT7 在胶质瘤中的作用及潜在机制尚不清楚。该研究首次阐明 MAGED4 能够通过 SIRT7 激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 和蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号通路, 进而促进胶质瘤细胞增殖, 为寻找胶质瘤潜在治疗靶点提供新思路。

1 材料与方法

1.1 生物信息学资料 从中国胶质瘤基因组图谱 (Chinese glioma genome atlas, CGGA) 数据库中下载 mRNA-seq_693 数据集及相应的临床信息, 共纳入 693 例胶质瘤样本和 20 例正常脑组织样本。从癌症基因组图谱 (cancer genome atlas, TCGA) 数据库中下载胶质瘤转录表达谱数据及相应的临床信息, 共纳入 700 例胶质瘤样本和 5 例正常脑组织样本。然后, 使用 2 个在线工具, UALCAN 利用来自 TCGA 数据集的数据提供了 mRNA 表达分析, 利用来自临床蛋白质组学肿瘤分析联盟 (clinical proteomic tumor analysis consortium, CPTAC) 数据集的数据提供了蛋白表达分析。另一方面, 人类蛋白质图谱 (human protein atlas, HPA) 可以根据使用策略下载

2025-08-08 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82260608); 广西自然科学基金项目 (编号: 2022GXNSFAA035639); 广西研究生教育创新计划项目 (编号: YCSW2024251)

作者简介: 叶爱, 女, 硕士研究生;

谢小薰, 女, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: 1695261181@qq.com;

张庆梅, 女, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: 940478522@qq.com

免疫组化染色组织的图像。

1.2 预后相关性分析 基于 TCGA 数据库信息,根据转录本表达谱的中位数将胶质瘤样本分为 MAGED4 或 SIRT7 高表达组和低表达组,并将分组数据与临床数据合并。使用 R 中的“survival”包对所获得的 2 个数据集进行生存分析、ROC 曲线分析和 Cox 回归分析。通过生存分析验证 MAGED4 和 SIRT7 表达对胶质瘤预后的预测能力,研究队列共纳入 645 例经病理确诊的胶质瘤患者临床样本及对应生存随访数据(存活病例 406 例,死亡病例 239 例),生存时间跨度为 1 ~ 6 423 d(中位生存时间 566 d)。ROC 曲线是以真阳性率(敏感性)为纵坐标,假阳性率(特异性)为横坐标绘制的曲线,ROC 曲线下的面积(area under the ROC curve, AUC)是敏感性和特异性的综合衡量指标,因此本研究用其评估 MAGED4 和 SIRT7 预测胶质瘤预后的特异性和敏感性。Cox 回归模型主要用于预后分析,结合胶质瘤患者的 MAGED4 和 SIRT7 表达数据和临床信息,预测患者的生存率。

1.3 差异表达与功能富集分析 根据转录本表达谱的中位数将胶质瘤样本分为 MAGED4 或 SIRT7 高表达组和低表达组,筛选 MAGED4 或 SIRT7 相关的差异表达基因,筛选标准为 $P < 0.05$, $Log_2 |FC| > 1$ 。随后,对所获取的差异表达基因集进行基因本体(gene ontology, GO)分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)信号通路富集分析,寻找涉及靶基因的通路。

1.4 细胞培养与转染 本研究所使用的人源胶质瘤细胞系 U87-MG 与 U251 均购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。随后在广西医科大学组织胚胎学课题组的实验室中进行传代和冻存处理。细胞使用含 10% 胎牛血清(加拿大 Wisent 公司)和 1% 青-链霉素的 DMEM 培养基(加拿大 Wisent 公司)进行培养,培养箱条件设置为:5% CO_2 , 37 °C。稳定下调 MAGED4 的 U87-MG 和 U251 胶质瘤细胞(shRNA-MAGED4 组)及其对照(shRNA-NC 组)由实验室前期构建完成^[2]。按照 Lipofectamine™ 3000 转染试剂说明书将 siRNA-阴性对照(siRNA-NC 组)和 SIRT7 小干扰(siRNA-SIRT7 组)转入胶质瘤细胞;将过表达质粒(oeSIRT7)及其阴性对照(oeNC)转入稳定下调 MAGED4 的胶质瘤细胞(shRNA-MAGED4 + oeSIRT7 和 shRNA-MAGED4 + oeNC 组), 48 ~ 72 h 后收集各组细胞进行后续实验。siRNA-

SIRT7、siRNA- NC 和 oeSIRT7 由苏州吉玛生物技术有限公司设计合成,序列见表 1。

表 1 siRNA 序列

Tab. 1 siRNA sequences

Name	Primer sequence (5'-3')
siRNA-SIRT7	F: GGGAGUACGUGCGGUGUUTT
	R: AACACCCGCACGUACUCCCTT
siRNA-NC	F: UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	R: ACGUGACACGUUCGAGAATT

1.5 Western blot 实验 依照蛋白提取试剂盒(货号:BC3710,北京索莱宝科技有限公司)说明书步骤提取细胞总蛋白,测定蛋白浓度后加入上样缓冲液,煮沸变性。样本经变性后在 12% SDS-PAGE 凝胶上样电泳,然后转移至聚偏二氟乙烯印迹膜,5% 脱脂牛奶溶液进行封闭。将带有蛋白质条带的聚偏二氟乙烯印迹膜放入一抗稀释液在 4 °C 孵育 12 h,洗膜后再经二抗稀释液冰上避光孵育 2 h,经 ECL 试剂(货号:FD8000,中国弗德生物科技有限公司)反应后应用凝胶成像系统(型号:XRS + 1708265,美国 Biorad 公司)进行显影。MAGED4 抗体(货号:sc-393203,美国 Santa Cruz 公司;1 : 100),SIRT7 抗体(货号:12994-1-AP,中国 Proteintech 公司;1 : 1 000),GADPH 抗体(货号:sc-345303,美国 Santa Cruz 公司;1 : 2 000),兔抗小鼠二抗、山羊抗兔二抗(货号:ab6728、ab6721,英国 Abcam 公司;均 1 : 5 000)。

1.6 CCK-8 实验 细胞消化并制成细胞悬液,细胞密度调整为 3×10^3 个/mL,按 100 μ L 孔接种于 96 孔板。种板完成后,放入含 5% CO_2 的 37 °C 细胞培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,放入细胞培养箱中继续孵育 2 h 后使用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。

1.7 统计学处理 应用 R 语言和 GraphPad Prism 8.3.0 软件进行数据分析和绘图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验。采用 Pearson 相关分析探讨 MAGED4 和 SIRT7 表达水平的相关性。生存分析、ROC 曲线分析和 Cox 回归分析检验均采用 R 4.4.3 进行,包括连续数据的 Wilcoxon 秩和检验,分类数据的 Fisher 精确检验,Kaplan-Meier 曲线的对数秩检验,以及估计风险比(hazard ratio, HR)和 95% 置信区间(confidence interval, CI)的 Cox 比例风险回归。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织中 MAGED4 和 SIRT7 的表达情况

利用 CGGA 数据库分析 MAGED4 和 SIRT7 mRNA 在胶质瘤中的表达情况,结果显示,与正常脑组织比较,MAGED4 mRNA ($P < 0.01$) 和 SIRT7 mRNA ($P < 0.0001$) 表达水平在胶质瘤组织中升高,见图 1A、1B。UALCAN 数据库分析结果显示,MAGED4 和 SIRT7 在胶质瘤的表达水平高于正常脑组织(均 $P < 0.05$),见图 1C、1D,但该数据库无关于低级别胶质瘤(low grade glioma, LGG)的表达谱数据信息。UALCAN 数据库中 CPTAC 数据集蛋白分析结果显示,在 GBM 中,MAGED4 蛋白表达高于正常脑组织($P < 0.05$),见图 1E,该数据库无关于 SIRT7 蛋白表达情况的记录。此外,HPA 数据库蛋白表达分析结果显示:在 10 例胶质瘤样本中,有 1 例 MA-

GED4 蛋白强阳性表达,5 例 MAGED4 蛋白中等阳性表达,3 例 MAGED4 蛋白弱阳性表达,1 例 MAGED4 蛋白阴性表达,见图 2A、2B;在 23 例胶质瘤样本中,有 4 例 SIRT7 蛋白强阳性表达,11 例 SIRT7 蛋白中等阳性表达,1 例 SIRT7 蛋白弱阳性表达,7 例 SIRT7 蛋白阴性表达,见图 2C、2D。以上结果表明,MAGED4 和 SIRT7 在胶质瘤组织中高表达。

2.2 MAGED4 和 SIRT7 表达的相关性分析 为进一步探究 MAGED4 和 SIRT7 之间的关系,通过 CGGA 数据库分析了二者表达的相关性(693 例胶质瘤样本),结果如图 3 所示,MAGED4 与 SIRT7 mRNA 表达呈正相关。其中,在所有 WHO 分级中相关系数 $r = 0.337$, $P < 0.0001$,WHO II 级中 $r = 0.308$, $P < 0.01$,WHO III 级中 $r = 0.129$, $P = 0.185$,WHO IV 级中 $r = 0.490$, $P < 0.0001$ 。

2.3 胶质瘤高表达 MAGED4 和 SIRT7 与预后的

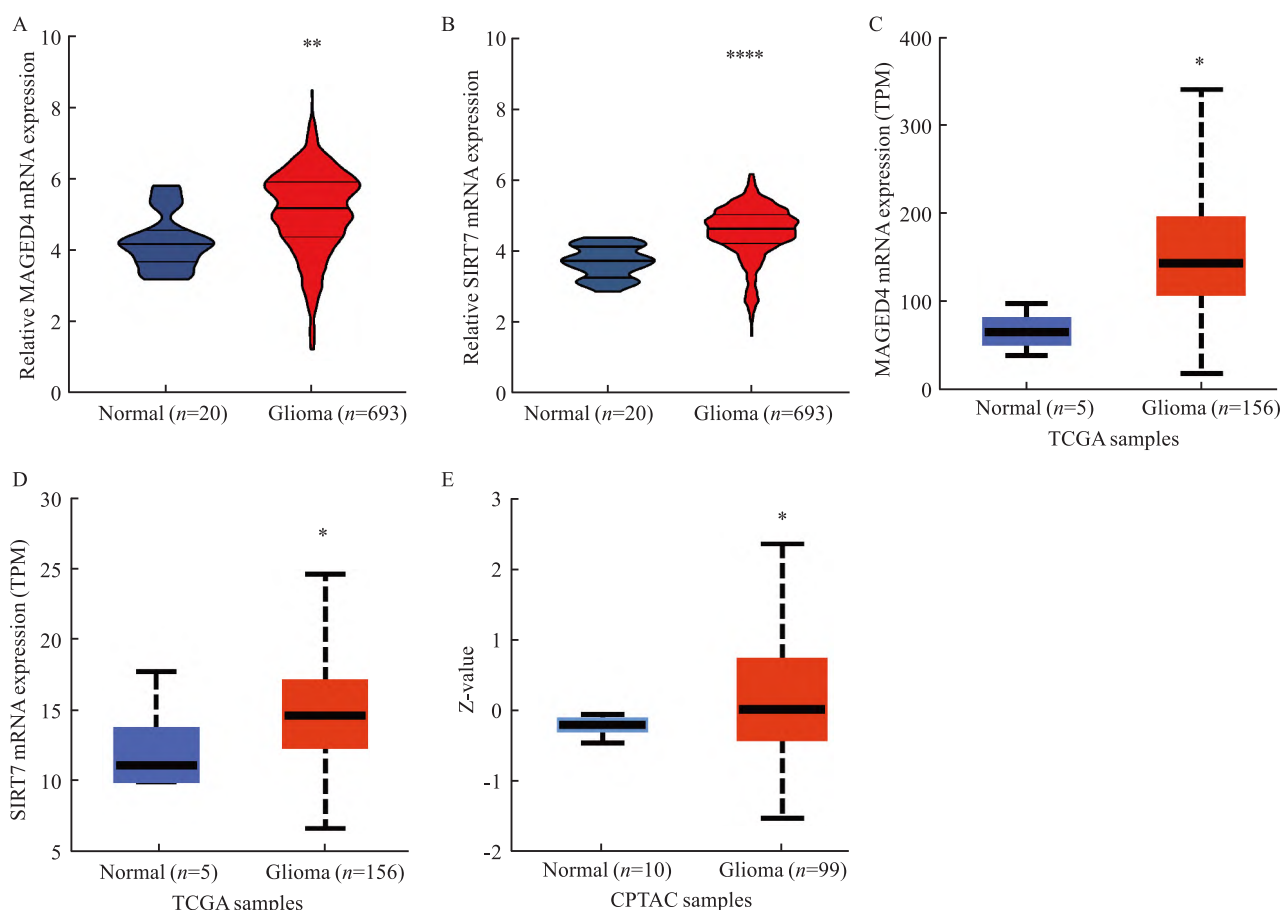


图1 MAGED4 和 SIRT7 在胶质瘤组织中的表达

Fig.1 MAGED4 and SIRT7 expressed in glioma tissues

A, B: CGGA database analysis of MAGED4 and SIRT7 mRNA expression in glioma and normal brain tissue; C, D: UALCAN database analysis of MAGED4 and SIRT7 mRNA expression in glioma and normal brain tissue; E: CPTAC dataset analysis of protein expression of MAGED4 in glioma and normal brain tissues; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ vs Normal brain tissue.

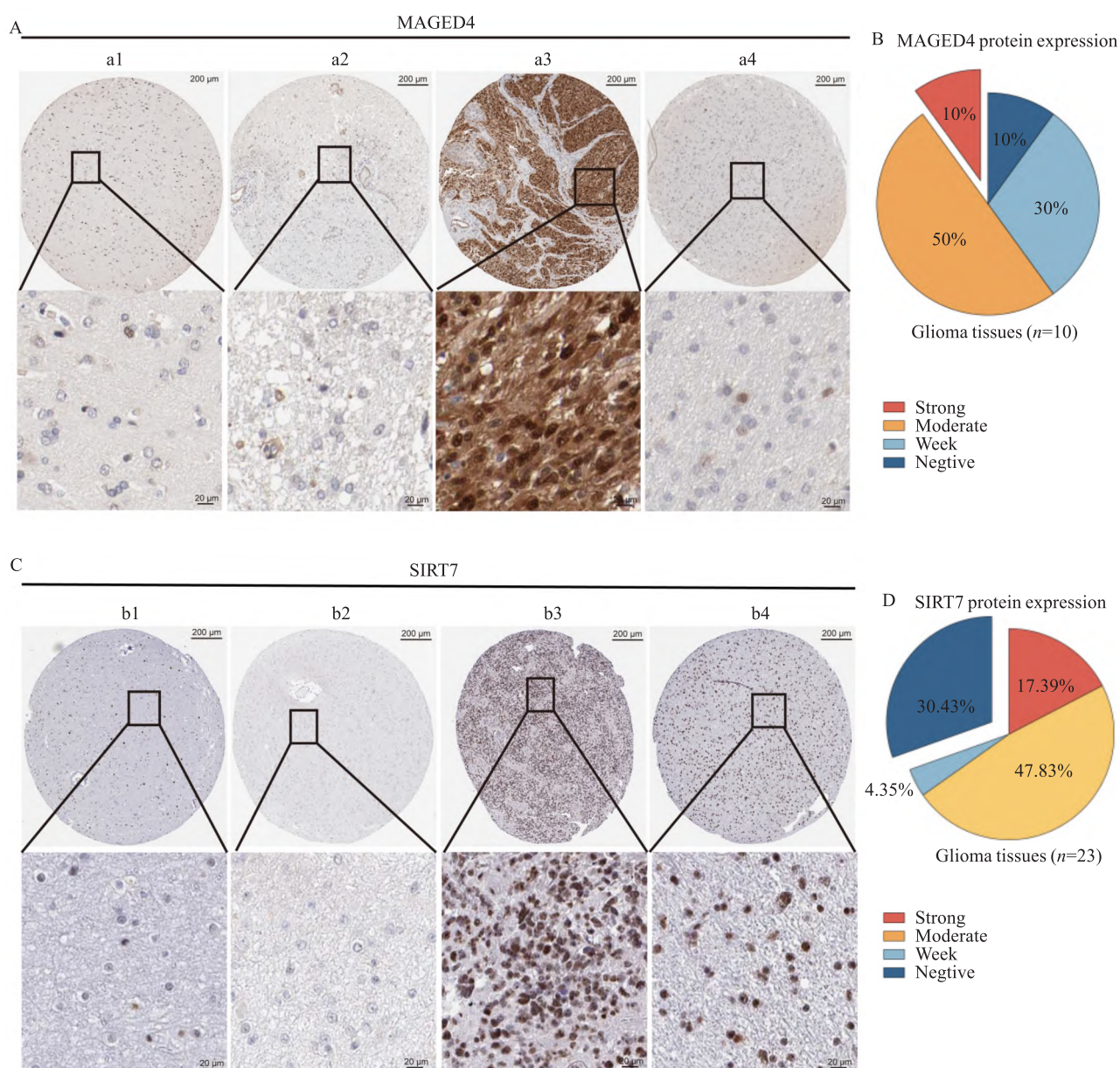


图2 MAGED4 和 SIRT7 蛋白在胶质瘤组织中的表达

Fig.2 MAGED4 and SIRT 7 proteins expressed in glioma tissues

A: HPA database analyzed MAGED4 protein expression in glioma tissues (a1: Staining of MAGED4 protein in normal brain tissue; a2: Negative staining of MAGED4 in glioma tissue; a3: Positive staining of MAGED4 in HGG tissue; a4: Positive staining of MAGED4 in LGG tissue); B: Pie chart of protein expression distribution of MAGED4 in 11 cases of glioma tissues; C: HPA database analyzed SIRT7 protein expression in glioma tissues (b1: Staining of SIRT7 protein in normal brain tissue; b2: Negative staining of SIRT7 in glioma tissue; b3: Positive staining of SIRT7 in HGG tissue; b4: Positive staining of SIRT7 in LGG tissue); D: Pie chart of protein expression distribution of SIRT7 in 23 cases of glioma tissues.

相关性分析 Kaplan-Meier 生存分析结果显示, MAGED4 和 SIRT7 mRNA 高表达组患者的总生存期 (overall survival, OS) 低于低表达组 ($P < 0.05$), 组间的生存曲线呈现分离趋势, 见图 4A、4B。ROC 分析结果显示, MAGED4 和 SIRT7 具有较高的 AUC, MAGED4 的 5 年 AUC 为 0.768, SIRT7 的 5 年 AUC 为

0.702, 提示 MAGED4 和 SIRT7 在预测胶质瘤 5 年生存率方面有较好的特异性和敏感性, 见图 4C、4D。单因素 Cox 回归分析结果显示, MAGED4 和 SIRT7 的 HR 均大于 1, 且 $P < 0.05$, 提示 MAGED4 和 SIRT7 是胶质瘤预后不良的危险因素, 见图 4E、4F。多因素 Cox 回归分析结果显示 MAGED4 和 SIRT7

的 HR 均大于 1, 但 $P > 0.05$, 提示 MAGED4 和 SIRT7 不是胶质瘤预后不良的独立危险因素, 见图 4G、4H。综上所述, MAGED4 和 SIRT7 高表达提示胶质瘤患者预后不良, 二者作为致癌因子在预测胶质瘤生存率方面具有较高特异性和敏感性。

2.4 MAGED4 和 SIRT7 参与调控 PI3K/AKT 信号通路 鉴于 MAGED4 和 SIRT7 高表达提示胶质瘤患者预后不良, 本研究进一步探究了二者在胶质瘤组织中潜在作用机制。根据转录本表达谱的中位数将胶质瘤分为 MAGED4 或 SIRT7 高表达组和低表达组, 获取 MAGED4 高低表达组和 SIRT7 高低表达组的差异表达基因集进行功能富集分析, 见图 5A、5B。

GO 富集分析结果显示, MAGED4 高低表达组差异基因富集的生物过程 (biological process, BP) 主要涉及胚胎骨骼系统的发育和胚胎器官发育等, 分

子功能 (molecular function, MF) 主要涉及染色质的结构成分和神经递质受体活性等; 细胞组分 (cellular component, CC) 则富集于核小体和含有染色质的 CENP-A 等成分, 见图 5C。SIRT7 高低表达组差异基因所富集的 BP 主要涉及信号释放和轴突生成信号通路的调节等, MF 主要涉及核苷三磷酸酶调节活性和 GTPase 调节活性等; CC 则富集于线粒体基质和细胞底物连接等成分, 见图 5D。

KEGG 富集分析结果显示 MAGED4 高低表达组的差异基因主要涉及胶质瘤中的转录失调、PI3K-AKT 信号通路和 IL-17 等信号通路, 见图 6A。SIRT7 低表达组的差异基因主要涉及 Wnt 信号通路、PI3K-Akt 信号通路和 JAK-STAT 等信号通路, 见图 6B, 提示胶质瘤中 MAGED4 和 SIRT7 可能均参与 PI3K/AKT 信号通路的调控。

2.5 MAGED4 通过 SIRT7 影响 PI3K/AKT 信号

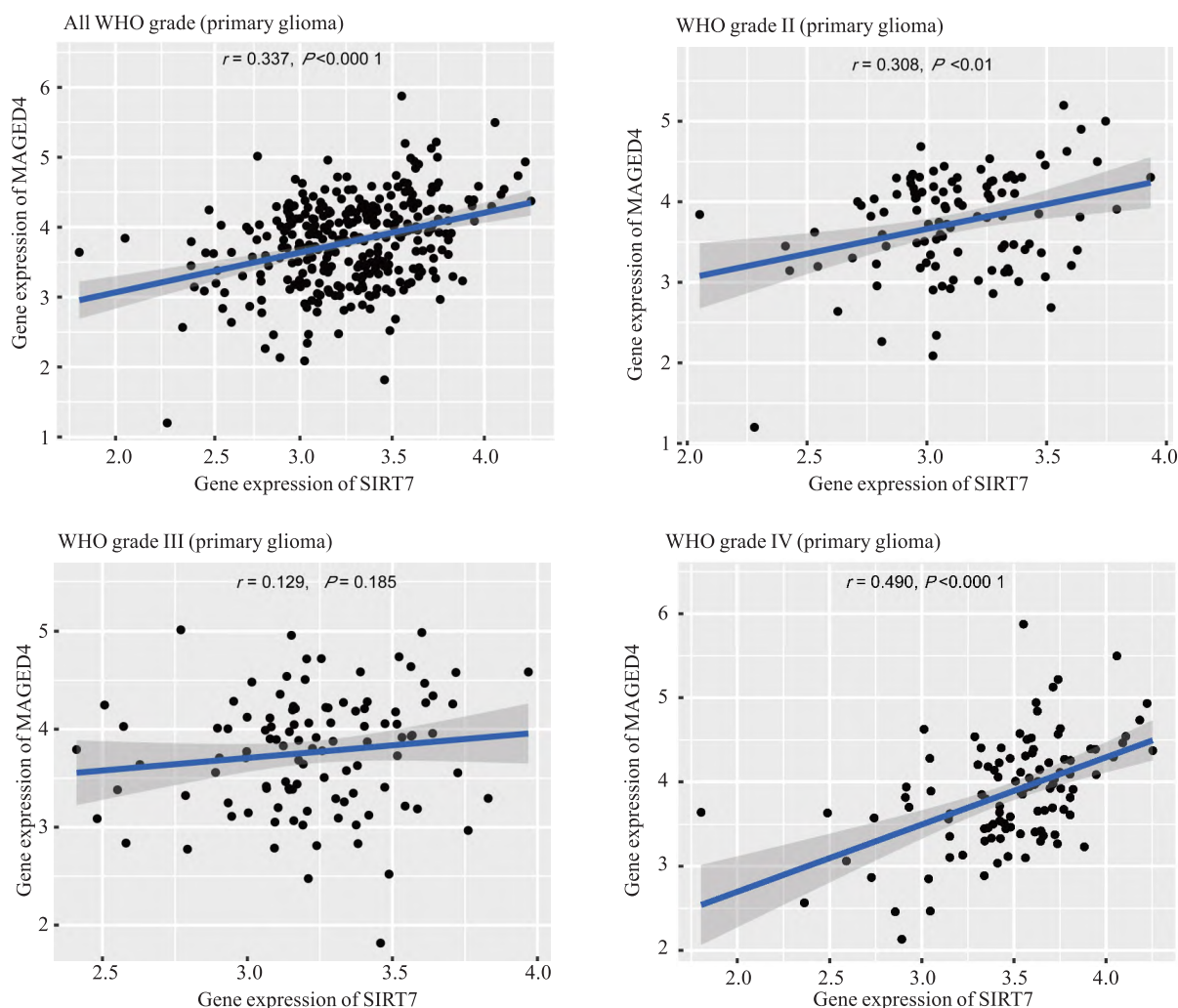


图3 MAGED4 和 SIRT7 表达的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of MAGED4 and SIRT7 expression

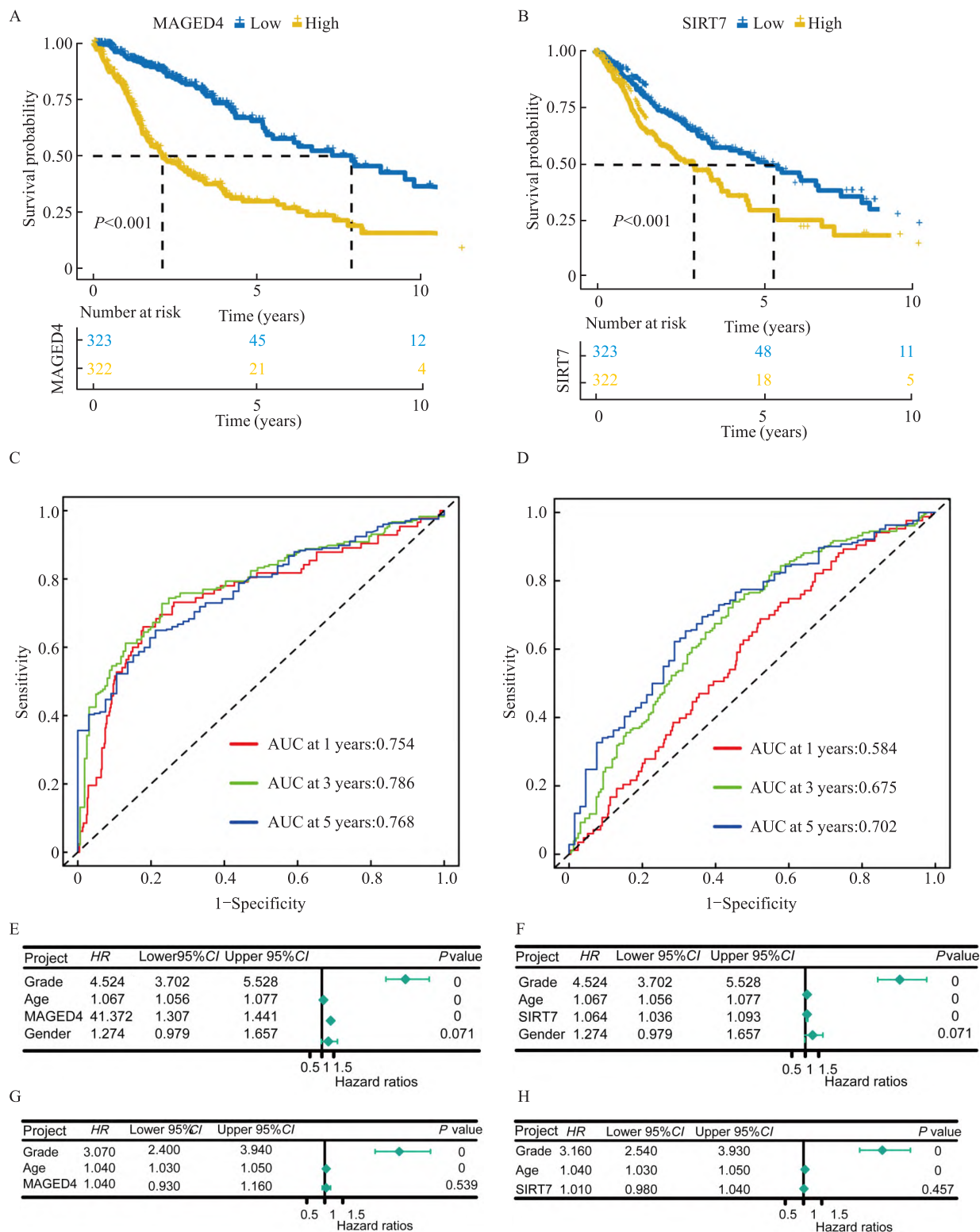


图4 MAGED4 和 SIRT7 高表达患者预后情况

Fig. 4 Prognosis of patients with high expression of MAGED4 and SIRT7

A: Survival analysis of MAGED4; B: Survival analysis of SIRT7; C: ROC curve analysis of MAGED4; D: ROC curve analysis of SIRT7; E: Univariate Cox regression analysis of MAGED4; F: Univariate Cox regression analysis of SIRT7; G: Multivariate Cox regression analysis of MAGED4; H: Multivariate Cox regression analysis of SIRT7.

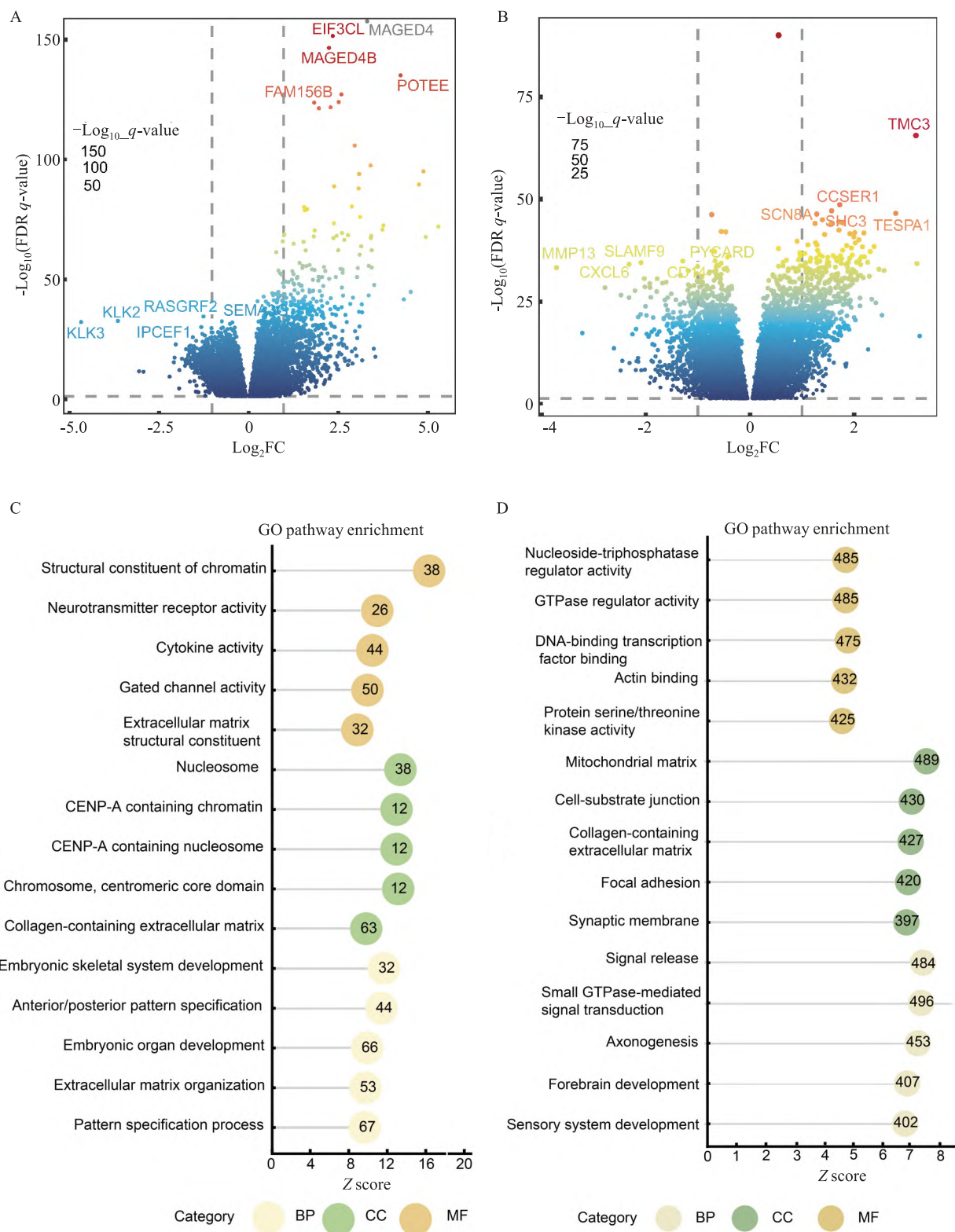


图5 MAGED4 和 SIRT7 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis of MAGED4 and SIRT7

A: Volcano plot of MAGED4 differential expression; B: Volcano plot of SIRT7 differential expression; C: GO enrichment analysis of MAGED4 in glioma; D: GO enrichment analysis of SIRT7 in glioma.

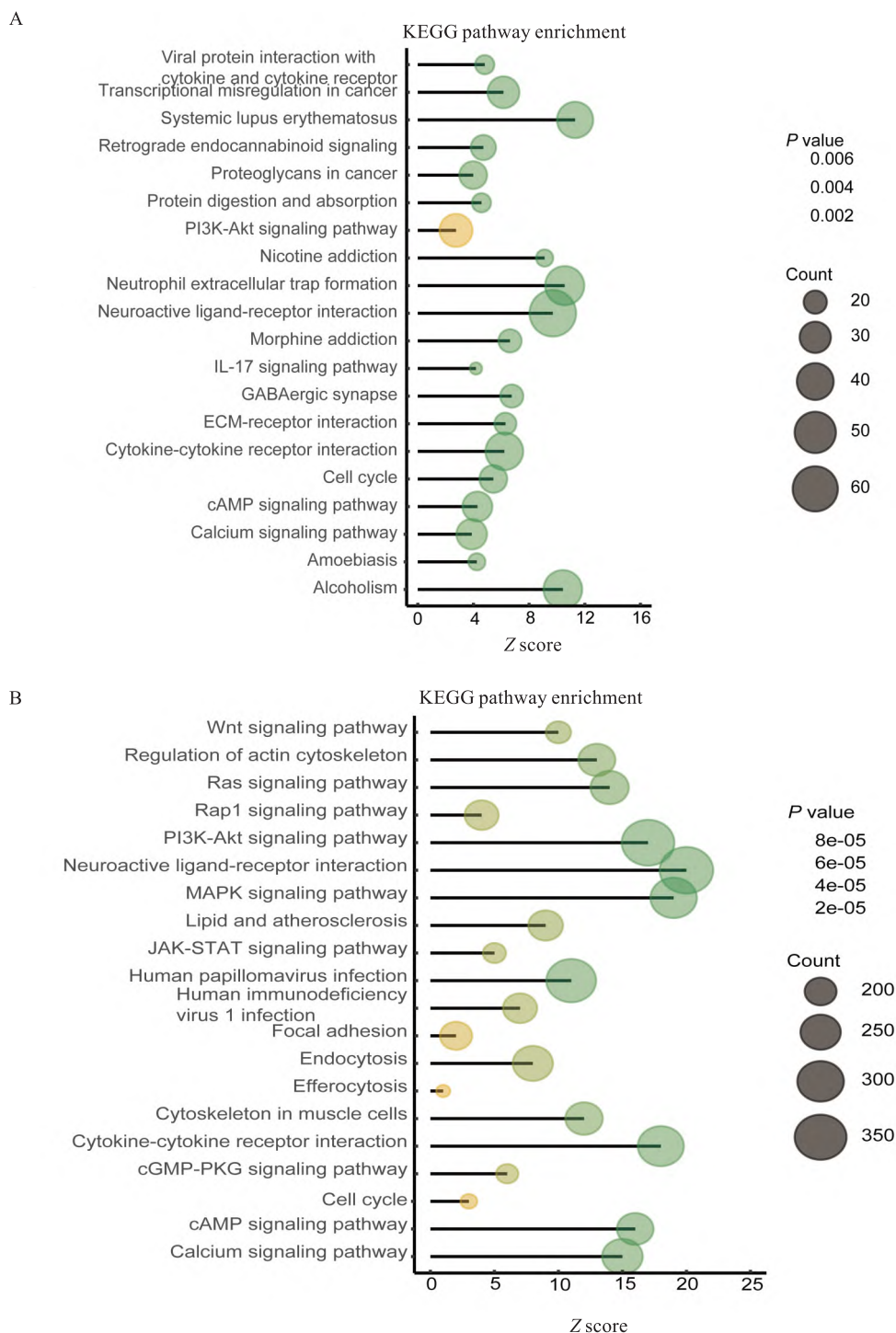


图6 MAGED4 和 SIRT7 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of MAGED4 and SIRT7

A: KEGG enrichment analysis of MAGED4 in glioma; B: KEGG enrichment analysis of SIRT7 in glioma.

通路 上述 KEGG 富集分析结果显示 MAGED4 和 SIRT7 均富集于 PI3K/AKT 信号通路。本研究首先通过 siRNA 转染技术下调胶质瘤细胞中 SIRT7 的表达。Western blot 结果显示,转染 72 h 后,U87-MG

($t = 56.45$, $P < 0.0001$) 和 U251 ($t = 107.60$, $P < 0.001$) 两种胶质瘤细胞系中 SIRT7 蛋白表达均被抑制,因此选定该时间节点进行后续实验,见图 7A。进一步分析显示,在 U87-MG 细胞中,与 siRNA-NC

相比, SIRT7 敲降导致 P-PI3K ($t = 63.38, P < 0.001$)、PI3K ($t = 7.235, P < 0.05$)、P-AKT ($t = 4.62, P < 0.05$) 和 AKT ($t = 34.05, P < 0.01$) 的蛋白表达水平下调;在 U251 细胞中, SIRT7 敲降导致 P-PI3K ($t = 45.87, P < 0.001$)、PI3K ($t = 26.07, P < 0.01$) 和 P-AKT ($t = 21.92, P < 0.001$) 的蛋白表达水平下降,但 AKT 蛋白水平 ($t = 1.00, P = 0.372$) 未发生显著改变,这可能是由于细胞类型特异性的调控差异的存在,见图 7B。

为了探究 MAGED4 对 PI3K/AKT 信号通路的影响以及 MAGED4 能否调控 SIRT7 激活 PI3K/AKT 信号通路。在稳定下调 MAGED4 的胶质瘤细胞中上调 SIRT7 表达, Western blot 结果显示, U87-MG ($t = 141.60, P < 0.0001$) 细胞转染 48 h 后 SIRT7 蛋白表达升高; U251 ($t = 211.20, P < 0.0001$) 细胞转染 72 h 后 SIRT7 蛋白表达升高,因此选定 48 ~ 72 h 时间节点进行后续实验,见图 8。进一步分析显示, MAGED4 下调可显著抑制 P-PI3K ($t_{U87-MG} = 27.21, P < 0.01$; $t_{U251} = 253.70, P < 0.0001$)、PI3K ($t_{U87-MG} = 69.11, P < 0.0001$; $t_{U251} = 16.95, P <$

0.001)、P-AKT ($t_{U87-MG} = 55.22, P < 0.001$; $t_{U251} = 22.73, P < 0.001$) 和 AKT ($t_{U87-MG} = 54.71, P < 0.0001$; $t_{U251} = 6.621, P < 0.001$) 的表达。而上调 SIRT7 则逆转了 MAGED4 下调对 P-PI3K ($t_{U87-MG} = 15.54, P < 0.01$; $t_{U251} = 68.14, P < 0.001$)、PI3K ($t_{U87-MG} = 69.78, P < 0.0001$; $t_{U251} = 17.83, P < 0.001$)、P-AKT ($t_{U87-MG} = 53.92, P < 0.001$; $t_{U251} = 23.65, P < 0.001$) 和 AKT ($t_{U87-MG} = 21.22, P < 0.001$; $t_{U251} = 7.625, P < 0.001$) 的抑制作用,见图 9。以上结果表明, MAGED4 可能通过 SIRT7 影响 PI3K、P-PI3K、AKT 和 P-AKT 的表达,进而激活 PI3K/AKT 信号通路。

2.6 MAGED4 通过 SIRT7 影响胶质瘤细胞增殖

为进一步了解 MAGED4/SIRT7 轴是否在胶质瘤细胞增殖中发挥作用,本研究在下调 MAGED4 表达的胶质瘤细胞中上调 SIRT7 表达,通过 CCK-8 检测胶质瘤细胞的增殖情况。结果显示,与 shRNA-NC 组比较, shRNA-MAGED4 组的细胞增殖能力明显下降,而过表达 SIRT7 则能部分逆转 MAGED4 下调对胶质瘤细胞增殖的抑制作用,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 10。以上结果说明 MAGED4 通

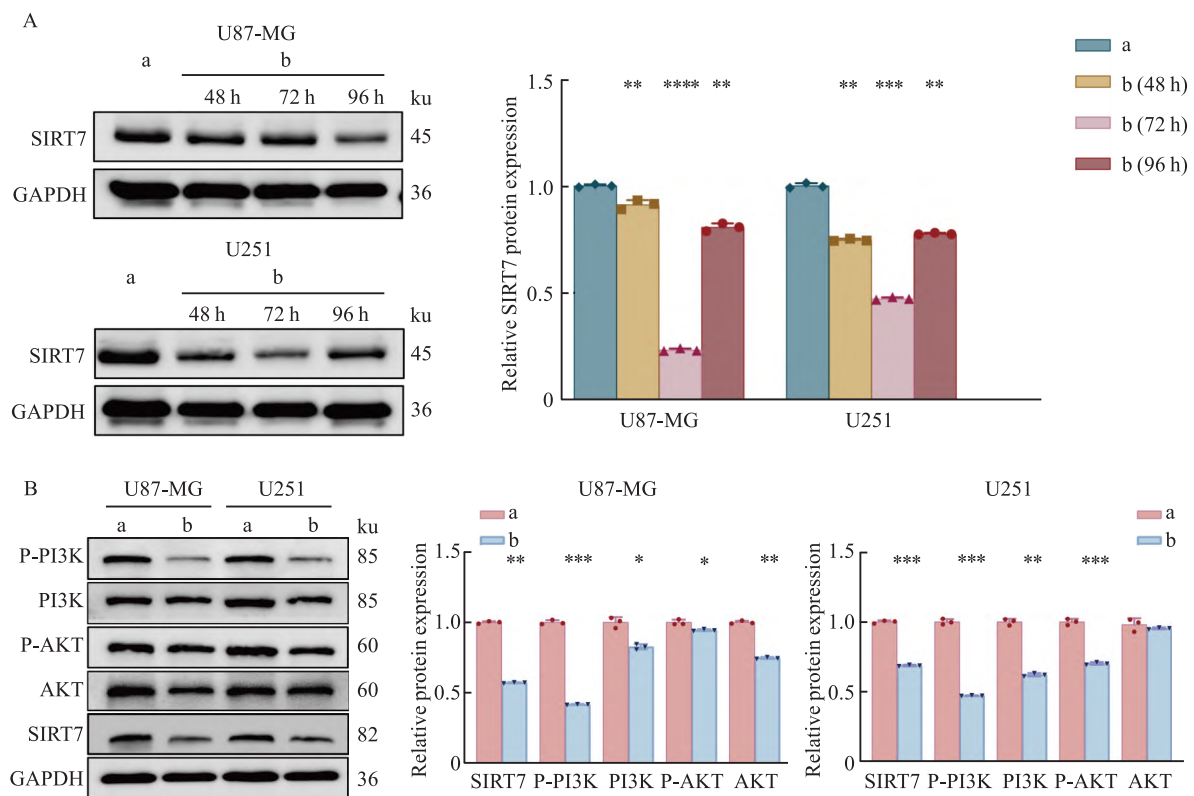


图7 下调 SIRT7 表达影响 PI3K/AKT 信号通路

Fig. 7 Downregulation of SIRT7 expression affected PI3K/AKT signaling pathway

A: Western blot detected the gene silencing efficiency of siRNA-SIRT 7 in the glioma cell lines U87-MG and U251; B: The expression of PI3K/P-PI3K/AKT/P-AKT was determined after the downregulation of SIRT7 expression; a: siRNA-NC group; b: siRNA-SIRT7 group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs siRNA-NC group.

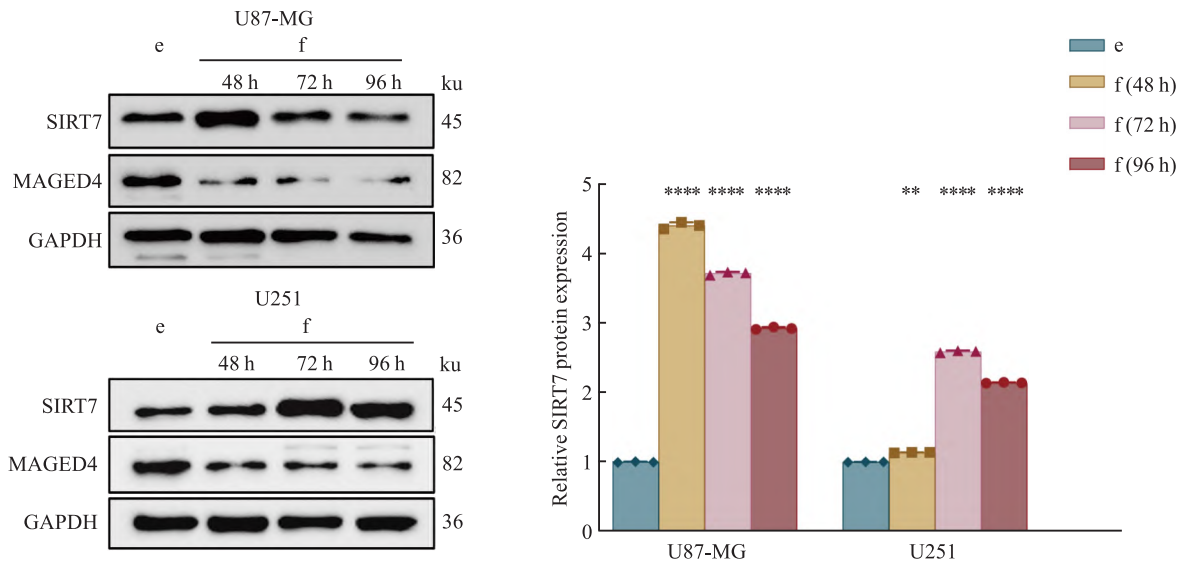


图8 稳定下调 MAGED4 的胶质瘤细胞中过表达 SIRT7

Fig. 8 SIRT 7 overexpressed in glioma cells with stable downregulation of MAGED4

e: shRNA-MAGED4 + oeNC group; f: shRNA-MAGED4 + oeSIRT7 group; * $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ vs shRNA-MAGED4 + oeNC group.

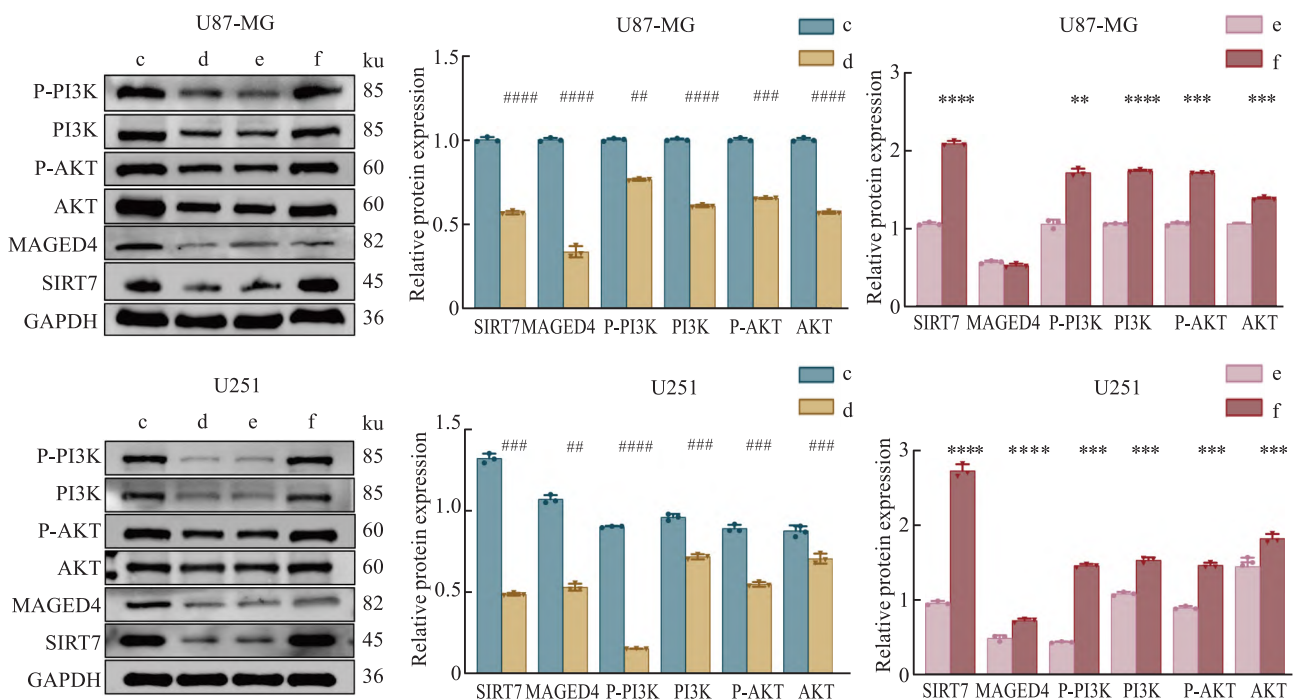


图9 MAGED4 通过 SIRT7 影响 PI3K/AKT 信号通路

Fig. 9 MAGED4 affected the PI3K/AKT signaling pathway through SIRT7

c: shRNA-NC group; d: shRNA-MAGED4 group; e: shRNA-MAGED4 + oeNC group; f: shRNA-MAGED4 + oeSIRT7 group; ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs shRNA-NC group; * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$ vs shRNA-MAGED4 + oeNC group.

过 SIRT7 影响胶质瘤的细胞增殖。

3 讨论

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤,目前主要治疗手段是手术切除辅以术后化疗或放疗,但患者的生存时间并未得到显著提高^[5]。近年来,

分子治疗受到广泛关注,因此靶点开发成为肿瘤治疗的研究重点。肿瘤相关抗原 MAGED4 因其特异性表达于肿瘤组织,被认为是理想靶点。本研究通过 CGGA、HPA 和 UCLCAN 数据库数据证实 MAGED4 在胶质瘤组织中高表达,而在正常脑组织中低表达,这与相关文献报道结果相似^[6],并且通过

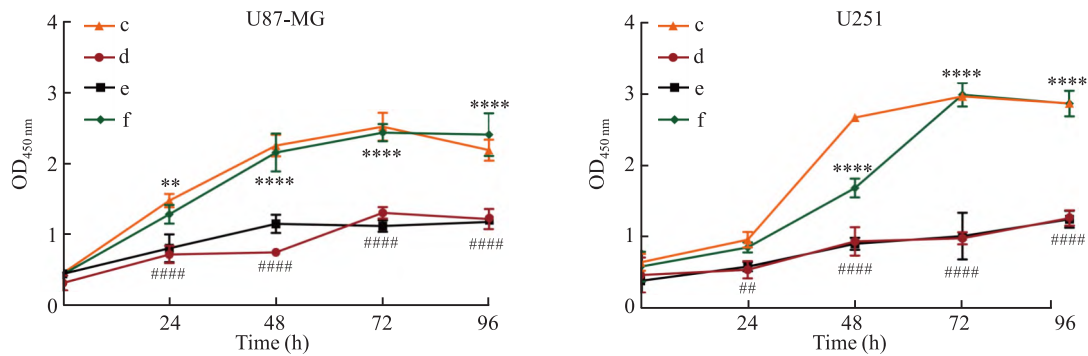


图 10 MAGED4 通过 SIRT7 影响胶质瘤细胞增殖

Fig. 10 MAGED4 affected glioma cell proliferation through SIRT7

c: shRNA-NC group; d: shRNA-MAGED4 group; e: shRNA-MAGED4 + oeNC group; f: shRNA-MAGED4 + oeSIRT7 group; ## $P < 0.01$, #### $P < 0.0001$ vs shRNA-NC group; * $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$ vs shRNA-MAGED4 + oeNC group.

TCGA 数据库证实了 MAGED4 的高表达与胶质瘤患者预后不良密切相关, MAGED4 作为致癌因子在预测胶质瘤生存率方面具有较高特异性和敏感性。

肿瘤中基因间的相互作用会显著影响蛋白功能。本研究通过 CGGA 数据库分析发现 MAGED4 和 SIRT7 mRNA 表达具有较强的相关性。SIRT7 是细胞内稳态的关键调控因子, 其高表达与肝癌等多种肿瘤细胞增殖和致癌活性有关^[7]。在胶质瘤中, SIRT7 通过激活 ERK/STAT3 信号通路促进胶质瘤的增殖和侵袭^[8]。但 SIRT7 在胶质瘤中的表达情况和作用机制国内外文献研究并不多。本研究通过分析 CGGA、HPA 和 UCLCAN 数据库数据发现 SIRT7 在胶质瘤中特异性高表达且与 MAGED4 表达呈正相关, TCGA 数据库证实 SIRT7 高表达与胶质瘤预后不良相关。

以上结果提示 MAGED4 和 SIRT7 可能是很有价值的预后标志物和很有前途的治疗靶点, 但二者在胶质瘤组织中的潜在作用机制仍然不清楚。本研究通过 KEGG 富集分析发现 MAGED4 和 SIRT7 均参与胶质瘤 PI3K/AKT 信号通路调控。WB 结果显示 MAGED4 通过 SIRT7 调节 P-PI3K、PI3K、P-AKT 和 AKT 蛋白表达, 激活 PI3K/AKT 信号通路。PI3K/AKT 信号通路主要参与细胞的生命活动, 包括细胞增殖、活化和凋亡等, 是细胞组织生命及生长的调控中枢及网络系统^[9]。在胶质瘤中, PI3K/AKT 信号通路的激活可进一步活化 mTOR, 进而促进细胞增殖^[10]。此外, PI3K/AKT 信号通路的异常激活引起 Bad 蛋白^[11] 和 GSK-3^[12] 等多种下游信号分子活化, 进而促进胶质瘤细胞增殖、抑制细胞凋亡。此外, 有研究发现下调 SIRT7 表达能够抑制胶质瘤

细胞增殖^[7]。以上结果提示 MAGED4 可能通过 SIRT7 促进胶质瘤细胞增殖。因此, 本研究在下调 MAGED4 的胶质瘤细胞中过表达 SIRT7, 进一步证明了 MAGED4 通过 SIRT7 影响胶质瘤细胞增殖, 以上结果提示 MAGED4 通过 SIRT7 激活 PI3K/AKT 信号通路, 进而促进胶质瘤的细胞增殖。

参考文献

- [1] Weller M, Wen P Y, Chang S M, et al. Glioma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10: 33. doi: 10.1038/s41572-024-00516-y.
- [2] 严峻. MAGED-4 对胶质母细胞瘤恶性生物学行为的影响及相关机制的研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2015. doi: 10.27038/d.cnki.ggxyu.2015.000004.
- [2] Yan J. MAGE-D4 influence on malignant behavior and its related mechanism in glioblastoma[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2015. doi: 10.27038/d.cnki.ggxyu.2015.000004.
- [3] Yi X, Wang H, Yang Y, et al. SIRT7 orchestrates melanoma progression by simultaneously promoting cell survival and immune evasion via UPR activation[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 107. doi: 10.1038/s41392-023-01314-w.
- [4] Yu J, Yuan S, Song J, et al. USP39 interacts with SIRT7 to promote cervical squamous cell carcinoma by modulating autophagy and oxidative stress via FOXM1[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 807. doi: 10.1186/s12967-023-04623-4.
- [5] Yang K, Wu Z, Zhang H, et al. Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 39. doi: 10.1186/s12943-022-01513-z.
- [6] Liu C, Ge Y, Luo B, et al. Synergistic regulation of methylation and SP1 on MAGE-D4 transcription in glioma[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(4): 2241-55.
- [7] Gu Y, Ding C, Yu T, et al. SIRT7 promotes Hippo/YAP activation and cancer cell proliferation in hepatocellular carcinoma via suppressing MST1[J]. Cancer Sci, 2024, 115(4): 1209-23. doi: 10.1111/cas.16091.

- [8] Mu P, Liu K, Lin Q, et al. Sirtuin 7 promotes glioma proliferation and invasion through activation of the ERK/STAT3 signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 1445–52. doi: 10.3892/ol.2018.9800.
- [9] Glaviano A, Foo A S C, Lam H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 138. doi: 10.1186/s12943-023-01827-6.
- [10] 吴国敏, 史珂蔓, 刘娟, 等. PI3K 信号通路的关键信号分子 AKT 和 mTOR 在胶质瘤中的表达及意义[J]. *贵州医科大学学报*, 2020, 45(12): 1422–5, 1432. doi: 10.19367/j.cnki.2096-8388.2020.12.011.
- [11] Wu G M, Shi K M, Liu J, et al. Expression of signaling molecular AKT and mTOR of PI3K signaling pathway in glioma[J]. *J Guizhou Med Univ*, 2020, 45(12): 1422–5, 1432. doi: 10.19367/j.cnki.2096-8388.2020.12.011.
- [12] Yang T, Xu R, Su Q, et al. Chelerythrine hydrochloride inhibits proliferation and induces mitochondrial apoptosis in cervical cancer cells via PI3K/BAD signaling pathway[J]. *Toxicol In Vitro*, 2020, 68: 104965. doi: 10.1016/j.tiv.2020.104965.
- [13] Lee M J, Jin N, Grandis J R, et al. Alterations and molecular targeting of the GSK-3 regulator, PI3K, in head and neck cancer[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(6): 118679. doi: 10.1016/j.bbamer.2020.118679.

MAGED4 activates the PI3K/AKT signaling pathway through SIRT7 to promote glioma cell proliferation

Ye Ai, Zhong Ziliang, Li Feng, Xie Huan, Zou Xiaoqiong, Wang Guojian,

Wang Zi, Luo Bin, Zhang Qingmei, Xie Xiaoxun

(*Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Key Laboratory of Regional Basic Diseases Research in Guangxi University, Nanning 530021*)

Abstract *Objective* To determine the expression of melanoma-associated antigens D4 (MAGED4) and SIRT7 in human glioma, and to analyze the potential effects of MAGED4 and SIRT7 on glioma cell proliferation. *Methods* The MAGED4 and SIRT7 expression levels and their correlation were compared by the China glioma genome atlas (CGGA), human protein atlas (HPA), and UALCAN databases. Survival analysis, ROC curve analysis, and Cox regression analysis were used to predict the outcome of MAGED4 and SIRT7 in glioma patients. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) signaling pathway enrichment analysis were used to explore the biological functions of MAGED4 and SIRT7 in glioma. Western blot experiment was used to investigate whether MAGED4 protein exerted its regulatory effects on the activity of the PI3K/AKT signaling pathway via SIRT7. The effect of MAGED4 on cell proliferation in glioma through SIRT7 was explored by CCK-8. *Results* The analysis results of CGGA, UALCAN, and HPA databases showed that the expression levels of MAGED4 and SIRT7 in glioma tissues were higher than those in normal brain tissue, and the expression were positively correlated. Results of survival, ROC, and Cox analysis showed that high expression of MAGED4 and SIRT7 mRNA were risk factors for poor prognosis in glioma. Results of KEGG enrichment analysis showed that MAGED4 and SIRT7 were associated with the PI3K/AKT signaling in glioma, and Western blot results showed that MAGED4 activated the PI3K/AKT signaling pathway by regulating SIRT7. The CCK-8 results showed that MAGED4 promotes the proliferation of glioma cells through SIRT7. *Conclusion* MAGED4 and SIRT7 are highly expressed in glioma and associated with poor prognosis, and MAGED4 promotes glioma cell proliferation through activation of the PI3K/AKT signaling pathway by SIRT7.

Key words MAGED4; SIRT7; PI3K/AKT; glioma; KEGG enrichment analysis; cell proliferation

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82260608); Natural Science Foundation of Guangxi (No. 2022GXNSFAA035639); Innovation Project of Guangxi Graduate Education (No. YCSW2024251)

Corresponding authors Xie Xiaoxun, E-mail: 1695261181@qq.com; Zhang Qingmei, E-mail: 940478522@qq.com