

· 临床研究 ·

泪腺良性淋巴上皮病变与黏膜相关淋巴瘤组织型淋巴瘤差异基因表达

柳睿¹ 吴昊² 赵鹏翔² 葛心¹ 张敬学¹ 马建民¹¹首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所 北京市眼科学与视觉科学重点实验室 100730; ²北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124

通信作者: 马建民, Email: jmama@sina.com

【摘要】 目的 利用全外显子测序技术(WES)对比检测泪腺良性淋巴上皮病变(LGBLEL)和黏膜相关淋巴瘤组织(MALT)淋巴瘤的基因序列,筛选差异表达基因并进行分析。**方法** 采用横断面研究方法,连续纳入2015年1月至2017年11月就诊于首都医科大学附属北京同仁医院的5例LGBLEL患者和5例泪腺MALT淋巴瘤患者,收集患者外周血标本和临床资料。提取外周血DNA,利用WES进行基因测序,应用BWA软件进行差异基因筛选,应用HaplotypeCaller软件进行基因组变异筛查,用ANNOVAR软件对变异结果进行注释,用VarScan软件筛查单核苷酸变异和小插入/缺失基因,用ExomeCNV软件鉴定外显子拷贝数变异。通过蛋白互作网络分析以及功能模块网络构建,筛选出最大团中心值最高的突变枢纽基因。**结果** 平均每个样本检出16.63 Gb数据。单核苷酸变异结果显示各样本常见的突变类型为同义突变和错义突变,LGBLEL组和MALT淋巴瘤组同义突变、错义突变的基因个数比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),LGBLEL组终止密码子缺失的基因个数多于MALT淋巴瘤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。小插入/缺失基因结果显示常见的突变类型是移码突变、非移码突变的插入突变和缺失突变,LGBLEL组与MALT淋巴瘤组的插入/缺失基因个数比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。LGBLEL组和MALT淋巴瘤组发生外显子拷贝数变异的个数均较少,对最终结果无明显影响。对蛋白互作网络分析和功能模块网络的结果进行综合分析,最终共得到6个差异表达的关键基因,即IGFN1、TCP10、SLC45A4、BTBD7、PHGR1和PIEZ02基因。**结论** IGFN1、TCP10、SLC45A4、BTBD7、PHGR1及PIEZ02基因是LGBLEL和MALT的差异表达关键基因,可能与LGBLEL发展为MALT淋巴瘤的机制有关。

【关键词】 良性淋巴上皮病变; 泪腺; 黏膜相关淋巴瘤组织型淋巴瘤; 全外显子测序; 基因表达**基金项目:** 北京市自然科学基金项目(7182038); 北京市医院管理中心“登峰”计划项目(DFL20190201)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200329-00221

Differentially expressed genes between benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland and mucosa-associated lymphoid tissue lymphomaLiu Rui¹, Wu Hao², Zhao Pengxiang², Ge Xin¹, Zhang Jingxue¹, Ma Jianmin¹¹Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Ophthalmology, Beijing Ophthalmology & Vision Science Key Lab, Beijing 100730, China; ²College of Life Science and Bio-Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Corresponding author: Ma Jianmin, Email: jmama@sina.com

[Abstract] Objective To screen and analyze the differentially expressed genes between lacrimal gland benign lymphoepithelial lesions (LGBLEL) and mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. **Methods** A cross-sectional study was performed. Ten consecutive patients were included in Beijing Tongren Hospital Affiliated to Capital Medical University from January 2015 to November 2017, including five patients with LGBLEL and five patients with MALT lymphoma. Clinical data and peripheral blood sample were collected from each patient. DNA was extracted from peripheral blood. The whole-exome sequencing (WES) was employed for gene sequencing. The BWA software was used for the screen of differentially expressed gene; GATK software was used to detect genomic variation; ANNOVAR software was used to annotate and predict the effects of the variation; VarScan software was used to analyze

single nucleotide polymorphisms (SNPs) and insertion-deletions (InDels), and ExomeCNV software was used to identify copy number variations (CNVs). The mutated hub gene with the maximal clique centrality was screened out by the analysis of protein interaction network and construction of functional module network. This study was approved by an Ethics Committee of Beijing Tongren Hospital Affiliated to Capital Medical University. Written informed consent was obtained from each patient prior to any medical examination. **Results** There was 16.63 Gb sequencing data per sample on average. Synonymous mutation and missense mutation were the most common SNPs mutation types in the LGBLEL group and MALT lymphoma group, and no significant difference was found in gene number of synonymous mutation and missense mutation between the two groups. The number of terminating codon missing mutation genes in the LGBLEL group was more than that in the MALT lymphoma group ($P < 0.05$). The most common InDels types were frameshift mutation, non-frameshift insertion and non-frameshift deletion, and there was no significant difference in gene number of InDels between the LGBLEL group and MALT lymphoma group. The number of exon CNVs was few in both two groups and showed no significant influence in final result. Six differentially expressed hub genes were found, including *IGFN1*, *TCP10*, *SLC45A4*, *BTBD7*, *PHGR1* and *PIEZ02*. **Conclusions** *IGFN1*, *TCP10*, *SLC45A4*, *BTBD7*, *PHGR1* and *PIEZ02* genes may participate in the development of LGBLEL into MALT lymphoma.

[Key words] Benign lymphoepithelial lesion; Lacrimal gland; Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; Whole-exome sequencing; Gene expression

Fund program: Natural Science Foundation of Beijing (7182038); Beijing Hospitals Authority Ascent Plan (DFL20190201)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200329-00221

泪腺良性淋巴上皮病变 (lacrimal gland benign lymphoepithelial lesion, LGBLEL) 是一种良性病变, 表现为泪腺无痛性肿大, 多双眼发病^[1]。研究显示 LGBLEL 的发生可能与体内 IgG4 水平升高和雌激素水平紊乱等因素有关, 因此认为 IgG4 升高的 LGBLEL 属于 IgG4 相关性疾病^[2-3]。本课题组在 LGBLEL 系统研究过程中发现, LGBLEL 可以发展为黏膜相关淋巴组织型 (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) 淋巴瘤。研究还显示 MALT 淋巴瘤的发生与 IgG4 相关性疾病存在一定联系^[4-5]。以上结果说明 LGBLEL 具有发展为 MALT 淋巴瘤的可能性, 但其发病机制未明。本课题组利用基因表达谱芯片技术对 LGBLEL 和淋巴瘤进行了对比分析, 初步筛查出差异常表达相关的信号通路^[6]。由于良性病变发展为恶性肿瘤是一个涉及基因复制、转录、翻译及翻译后修饰等多个水平变异的复杂过程, 任意水平的变异都可能引起肿瘤, 因此单一的基因组学研究难以完全覆盖 LGBLEL 恶性发展的生物学过程。表达谱芯片测序技术是从 RNA 水平研究基因表达的情况, 全外显子测序 (whole-exome sequencing, WES) 可将基因组 1% 编码区中多数的致病突变基因鉴别出来, 可弥补转录组水平不能解决的科学问题, 如基因突变分析、基因插入缺失、体细胞拷贝数变异等, 从基因组水平分析 LGBLEL 恶变发生机制中 DNA 的变化^[7-8]。本研究拟进一步利用 WES 分别对 LGBLEL 和泪腺 MALT 淋

巴瘤患者外周血 DNA 进行测序, 从分子水平筛选出差异常表达基因。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用横断面研究方法, 根据纳入和排除标准连续选取 2015 年 1 月至 2017 年 11 月于首都医科大学附属北京同仁医院就诊的经组织病理学诊断为 LGBLEL 和泪腺 MALT 淋巴瘤患者各 5 例。收集患者的详细临床病例资料, 包括年龄、性别、眼别、临床表现、影像学表现、病理学表现、预后等信息。5 例 LGBLEL 患者中男 3 例, 女 2 例; 平均年龄 (55.60 ± 7.23) 岁; 单眼发病 4 例, 双眼发病 1 例; 2 例为复发性疾病, 曾有手术切除病变联合糖皮质激素用药史; 3 例为原发性疾病, 免疫组织化学染色显示病变泪腺组织中 IgG4 阳性浆细胞 ≥ 50 个/400 倍视野, IgG4/IgG 百分比为 30% ~ 40%。5 例泪腺 MALT 淋巴瘤患者中男 4 例, 女 1 例; 平均年龄 (46.20 ± 18.06) 岁; 单眼发病 4 例, 双眼发病 1 例; 2 例经组织病理学检查诊断为 LGBLEL, 有糖皮质激素用药史, 恶变发生时间距初次确诊分别为 2 年和 6 年, 免疫组织化学检查显示病变泪腺组织中 IgG4 散在阳性表达, 可能与糖皮质激素用药史有关; 1 例双眼 MALT 淋巴瘤患者, 免疫组织化学检查显示 IgG4 阳性浆细胞 > 50 个/400 倍视野, IgG4/IgG $> 30\%$; 其他 2 例恶性患者病变组织 IgG4 表达水平不详。

LGBLEL 患者纳入标准:(1)影像学表现为泪腺体积增大;(2)病理学表现为大量淋巴细胞和浆细胞浸润,纤维结缔组织增生,泪腺腺体萎缩。泪腺 MALT 淋巴瘤纳入标准:(1)影像学表现为泪腺体积增大;(2)泪腺组织病理学明确诊断为 MALT 淋巴瘤者;(3)既往无其他部位 MALT 淋巴瘤。排除标准:(1)有泪腺其他炎性疾病者;(2)有泪腺其他肿瘤性疾病者。

所有患者均充分了解本研究目的及意义并自愿签署知情同意书。本研究经首都医科大学附属北京同仁医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 手术切除病变泪腺过程中由专业护理人员采集受检者外周静脉血 4~5 ml,置于 EDTA 抗凝管,迅速转移至北京工业大学生命科学与生物工程学院基础实验室,置于-80℃冰箱保存备用。

1.2.2 DNA 提取和质量检测 CTAB 法提取外周血 DNA,用 NanoDrop 2000 微量紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)和 Invitrogen Qubit 3.0 分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)对 DNA 进行质量检测,合格标准为电泳条带清晰可见且无明显拖尾、DNA 质量浓度 ≥ 50 ng/ μ l、 $A_{260/280} = 1.8 \sim 2.0$ 。取合格的基因组 DNA 样品进行 PCR 扩增,制备杂交文库,采用外显子芯片进行捕获。PCR 扩增产物经磁珠纯化后,利用 Invitrogen Qubit 3.0 分光光度计测定文库浓度、Agilent 2100 生物分析仪器(美国 Agilent Technologies 公司)测定文库 DNA 片段长度、NanoDrop 2000 微量紫外分光光度计测定 $A_{260/280}$ 值。

1.2.3 全外显子测序 取质控合格的 DNA 文库,用 Illumina HiSeq 系列平台(北京博云华康基因科技公司)进行高通量测序。采用 Varscan 软件检测单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)和小插入/缺失(insertion-deletions, InDels),采用 ExomeCNV 软件鉴定外显子拷贝数变异体(copy number variations, CNVs),并对 SNPs 和 InDels 检测结果进行综合分析。SNPs 包括同义突变、错义突变、终止密码子增加、终止密码子缺失、起始密码子缺失和剪接位点突变。InDels 包括移码突变、非移码突变的插入突变、非移码突变的缺失突变、终止密码子缺失、起始密码子缺失和剪接位点突变。初步筛查 2 个组突变基因数的差异,最后通过蛋白互作网络分析以及功能模块网络构建,筛选出差异常表达的突变关键基因。

1.2.4 数据分析 采用 BWA (Burrows-Wheeler Aligner)序列比对软件、GATK v3.4.0 HaplotypeCaller 软件、IGV 软件、CNVnator 软件和 ExomeCNV 软件对测序结果进行分析,主要分析 SNPs 及 InDels 所造成的编码区突变,提取各突变位点的基因信息。将 MALT 淋巴瘤组与 LGBLEL 组的突变基因进行比对,筛选出在 MALT 淋巴瘤组各样本中全部检测到同时在 LGBLEL 组各样本中均未检测到的突变基因。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 8.0.1 统计学软件进行统计分析,本研究中计量资料数据经 W 检验呈正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。LGBLEL 组与 MALT 淋巴瘤组间不同突变基因数比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本研究共检测 10 个样本,平均每个样品产出 16.63 Gb 数据,且 99.76% 的数据可与参考基因组相匹配。

2.1 SNPs 基因分析

各组常见的 SNPs 类型是同义突变和错义突变(图 1)。LGBLEL 组和 MALT 淋巴瘤组平均同义突变基因数分别为 $(11\ 175.2 \pm 123.9)$ 个和 $(11\ 146.4 \pm 61.6)$ 个,平均错义突变基因数分别为 $(10\ 441.2 \pm 21.2)$ 个和 $(10\ 386.40 \pm 63.058)$ 个,平均终止密码子

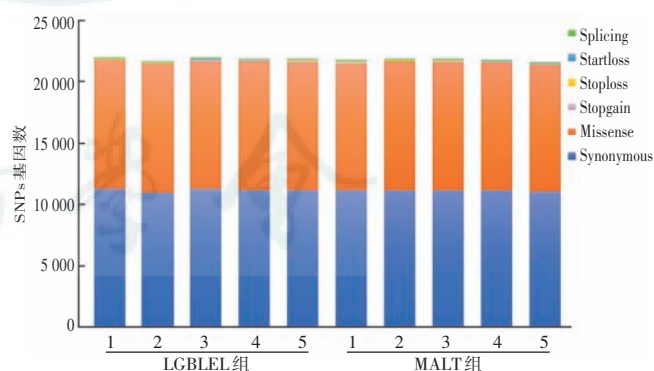


图 1 2 个组不同 SNPs 类型基因数分布 SNPs: 单核苷酸多态性; LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织淋巴瘤; Synonymous: 同义突变; Missense: 错义突变; Stopgain: 终止密码子增加; Stoploss: 终止密码子缺失; Startloss: 起始密码子缺失; Splicing: 剪接位点突变

Figure 1 Distribution of the differentially expressed genes with different SNPs between the two groups SNPs: single nucleotide polymorphisms; LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; Synonymous: synonymous mutation; Missense: missense mutation; Stopgain: termination codon increasing; Stoploss: termination codon missing; Startloss: initiation codon missing; Splicing: splicing locus mutation

增加突变基因数分别为 (84.4 ± 4.5) 个和 (80.8 ± 6.3) 个, 平均起始密码子缺失突变基因数分别为 (20.0 ± 2.9) 个和 (20.0 ± 1.9) 个, 平均剪切位点突变基因数分别为 (90.6 ± 7.4) 个和 (90.0 ± 3.4) 个, 2 个组比较差异

均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); LGBLEL 组和 MALT 淋巴瘤组平均终止密码子缺失突变基因数分别为 (37.0 ± 1.0) 个和 (35.4 ± 0.5) 个, 差异有统计学意义 ($P = 0.014$) (图 2)。

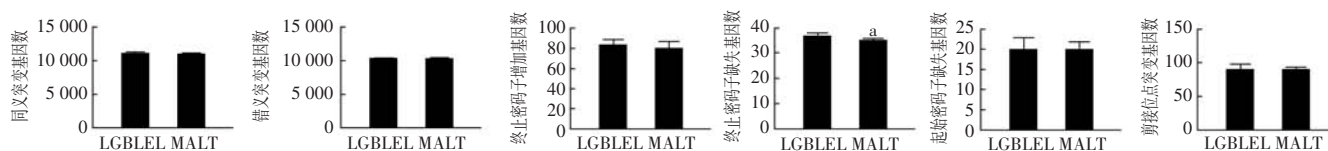


图 2 2 个组不同 SNPs 类型基因个数差异比较 与 LGBLEL 组比较, $^a P < 0.05$ (独立样本 t 检验, $n = 5$) LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织型淋巴瘤

Figure 2 Comparison of the different SNPs genes between two groups Compared with the LGBLEL group, $^a P < 0.05$ (Independent sample t test, $n = 5$) LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma

2.2 InDels 基因分析

各组常见的 InDels 突变类型是移码突变、非移码突变的插入突变和非移码突变的缺失突变 (图 3)。LGBLEL 组和 MALT 淋巴瘤组平均移码突变基因数分别为 (312.0 ± 5.4) 个和 (304.2 ± 13.8) 个, 平均非移码突变的插入基因数分别为 (170.6 ± 7.3) 个和 (170.8 ± 5.5) 个, 平均非移码突变的缺失基因数分别为 (186.2 ± 7.3) 个和 (187.2 ± 8.3) 个, 平均终止密码子缺失基因数分别为 (2.2 ± 0.8) 个和 (2.2 ± 0.4) 个, 平均起始密码子缺失基因数分别为 (0.6 ± 0.5) 个和 (0.2 ± 0.4) 个, 平均剪切位点突变基因数分别为 (71.0 ± 2.4) 个和 (69.8 ± 1.1) 个, 2 个组各不同 InDel 突变类型基因个数比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (图 4)。

2.3 CNVs 基因分析

LGBLEL 组有 1 例、MALT 组有 3 例发生 CNVs, LGBLEL 和 MALT 淋巴瘤发生基因拷贝数变异的个数较少, 尤其是发生在外显子区域内的基因 (表 1)。

2.4 综合分析差异基因筛选

综合蛋白质互作网络分析以及功能模块网络的结果, 筛选出最大团中心值最高的突变枢纽基因共 6 个, 分别为 *IGF1*、*TCP10*、*SLC45A4*、*BTBD7*、*PHGR1* 和 *PIEZO2* 基因 (表 2)。

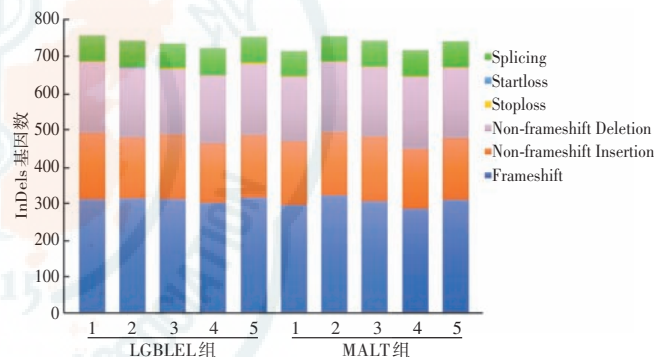


图 3 2 个组不同 InDels 类型基因数分布 InDels: 小插入/缺失; LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织型淋巴瘤; Frameshift: 移码突变; Non-frameshift insertion: 非移码突变的插入突变; Non-frameshift deletion: 非移码突变的缺失突变; Stopgain: 终止密码子增加; Stoploss: 终止密码子缺失; Startloss: 起始密码子缺失; Splicing: 剪接位点突变

Figure 3 Distribution of different InDels genes in the two groups InDels: insertion-deletions; LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; Frameshift: frameshift mutation; Non-frameshift insertion: insertion mutation of non-frameshift mutation; Non-frameshift deletion: deletion mutation of non-frameshift mutation; Synonymous: synonymous mutation; Missense: missense mutation; Stopgain: termination codon increasing; Stoploss: termination codon missing; Startloss: initiation codon missing; Splicing: splicing locus mutation

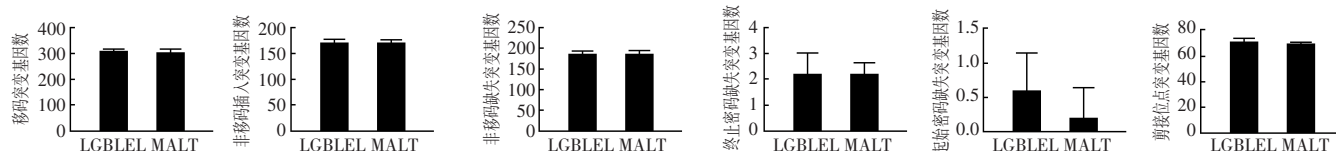


图 4 各组不同 InDel 突变类型基因个数差异比较 (独立样本 t 检验, $n = 5$) LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织型淋巴瘤

Figure 4 Comparison of different InDels between two groups (Independent sample t test, $n = 5$) LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma

表 1 各样本不同区域 CNVs 数量分布 (n)
Table 1 The distribution of CNVs in different regions of each sample (n)

样本序号	外显子区	外显子区和剪接位点	剪接位点	非编码 RNA 区	内含子区	Upstream	Upstream and downstream	Downstream	基因间区	总数
LGBLEL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LGBLEL2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LGBLEL3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LGBLEL4	4	0	37	30	133	7	1	5	439	656
LGBLEL5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MALT1	0	0	1	0	8	1	0	0	39	49
MALT2	2	0	1	0	13	3	0	1	70	90
MALT3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MALT4	4	0	0	0	1	1	0	0	19	25
MALT5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注: CNVs: 拷贝数变异; LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织型淋巴瘤; Upstream: 基因的转录起始位置上游 1 000 bp 的区域; Upstream and downstream: 基因的转录终止位置上游 1 000 bp 和下游 1 000 bp 的区域; Downstream: 基因的转录终止位置下游 1 000 bp 的区域。

Note: CNV: copy number variations; LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; Upstream: the region of 1 000 bp upstream of the initial locus of gene transcription; Upstream and downstream: the region of 1 000 bp upstream and 1 000 bp downstream of gene transcription termination locus; Downstream: A 1 000 bp region downstream of the locus of gene transcription termination

表 2 差异表达基因的突变类型
Table 2 Mutation types in differentially expressed genes

差异基因	SNPs 分类	密码子改变 (LGBLEL/MALT)
<i>IGFN1</i>	同义突变	gtG/gtA
<i>TCP10</i>	错义突变	cAt/cCt
<i>SLC45A4</i>	同义突变	ggG/ggT
<i>BTBD7</i>	同义突变	ggC/ggT
<i>PHGR1</i>	错义突变	Ccc/Tcc
<i>PIEZO2</i>	错义突变	Gtt/Att

注: SNPs: 单核苷酸多态性; LGBLEL: 泪腺良性淋巴上皮病变; MALT: 黏膜相关淋巴组织型淋巴瘤;

Note: SNPs: single nucleotide polymorphisms; LGBLEL: benign lymphoepithelial lesions of lacrimal gland; MALT: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma

3 讨论

近些年不少研究显示 BLEL 可作为 MALT 淋巴瘤发生前的基础疾病。Ussmüller 等^[9]在 67 例涎腺 BLEL 患者中发现有 26.9% 发展为 MALT 淋巴瘤; Sato 等^[10]报道 3 例腮腺 BLEL 患者术后 2 例患者恶变为腮腺 MALT 淋巴瘤; Sato 等^[11]也在 17 例眼部 BLEL 患者中发现 2 例发展为 MALT 淋巴瘤, 恶变率约为 12%。

MALT 淋巴瘤是眼附属器淋巴瘤中常见的类型, 约占眼部原发性淋巴瘤的 80%^[12]。虽然有研究报道

BLEL 的恶变发生率较低, 但其恶变后仍对患者生命安全造成潜在威胁, 值得临床持续关注。既往研究报道无 IgG4 相关性疾病史的原发性 MALT 淋巴瘤组织中 IgG4 表达水平升高, 由此推测原发性 MALT 淋巴瘤发生可能与 IgG4 水平紊乱相关^[13]。目前有关 IgG4 相关性疾病发展为 MALT 淋巴瘤作用机制的研究极为少见, 值得我们进一步探究。

本课题组前期采用全基因组表达谱芯片技术对 13 例 LGBLEL 和 14 例泪腺淋巴瘤患者的病变泪腺组织进行了差异性表达基因及信号通路测定, 筛查出与恶变相关的上调信号通路包括 B 细胞受体信号通路、转录因子 P65 信号通路、NF- κ B 信号通路、Fc γ R 介导的细胞吞噬通路、Fc ϵ RI 信号通路、EB 病毒感染信号通路、癌症相关信号通路^[6]。本研究采用 WES 将外显子区域的突变基因筛查出来, 以进一步研究 LGBLEL 恶变发生机制。

本研究对 5 例 LGBLEL 患者和 5 例泪腺 MALT 淋巴瘤的差异表达基因进行对比筛查, 发现 *IGFN1*、*TCP10*、*SLC45A4*、*BTBD7*、*PHGR1* 和 *PIEZO2* 基因可能与 LGBLEL 恶变发生机制相关, 其中 *TCP10*、*PHGR1*、*PIEZO2* 为错义突变, 可能通过改变蛋白质的结构来发挥作用; *IGFN1*、*SLC45A4*、*PHGR1* 为同义突变, 可能会使原来的密码子变成稀有密码子、通过改变 mRNA 的稳定性或基因内顺式调控元件的活性来影响蛋白质的功能^[14]。未来我们需要对这 6 个基因进一步分析, 研究其在 LGBLEL 恶性发展机制中的具体作用。

研究显示, *IGFN1* 是一种功能复杂的基因, 可编码多种剪切变异的免疫球蛋白和纤维连接蛋白样结构域, 参与乳腺癌转移的过程, 与原发性腹膜后脂肪肉瘤的易感性有关^[15-17], 并且 *IGFN1* 内含子 15 中含有稳定的 G-四链体, 影响 *IGFN1* 的剪接效率和表达, 从而参与滤泡淋巴瘤的发病机制^[16]。t(14;18) 易位是滤泡性淋巴瘤常见的染色体易位, 研究发现在 18 号染色体上 *BCL2* 基因主要断裂点形成 G-四链体, *IGFN1* 通过参与 G-四链体的形成过程, 进而导致染色体 t(14;18) 易位^[18]。*BTBD7* 被认为是一种促进上皮组织重构和分支形成的调控基因, 与多种恶性肿瘤的上皮-间质转化, 如肺癌等密切相关, 是一种恶性肿瘤预后的

监测指标^[19]。文献报道 *BTBD7* 通过 *Wnt/β-catenin* 信号通路在乳腺癌转移过程中起作用^[20]。

PHGR1 可能与囊泡转运、细胞分泌和细胞代谢相关。研究发现其可作为结直肠癌淋巴结转移和预后的监测指标^[21]。*SLC45A* 是一种新发现的恶性黑色素瘤相关基因,与前列腺癌的发生和发展紧密相关^[22-23]。*TCP10* 是一个复合体,主要与细胞代谢水平异常有关^[24];研究发现 *TCP10* 具有转录调控作用,与肿瘤细胞增生分化相关^[25]。*PIEZO2* 编码的蛋白为压电蛋白,在肿瘤细胞中高表达,是一种调节细胞增生和肿瘤血管生成、高渗透性的蛋白^[26]。本研究筛选出的 6 个差异基因和细胞代谢或肿瘤的发生和发展过程具有一定的联系,但现有文献仅显示 *IGFN1* 基因与淋巴瘤的发生机制有关。未来,我们需要在此基础上进一步验证以上 6 个基因的功能。

综上所述,本研究采用全外显子测序技术筛选出 *LGBLEL* 和 *MALT* 淋巴瘤的差异表达基因 *IGFN1*、*TCP10*、*SLC45A4*、*BTBD7*、*PHGR1* 和 *PIEZO2*。但本研究过程尚存在以下不足之处:首先,由于 *LGBLEL* 恶变例数较少且发生周期较长,因此未能选取同一患者恶变发生前后的 DNA 样本进行比对,降低了分析结果的可信度;其次,本研究仅查找到 *IGFN1* 基因与淋巴瘤发生机制相关,且未对筛选出的差异表达基因进一步验证功能。未来,本课题组将在此研究结果的基础上继续深入研究差异基因的功能。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cui YX, Ma JM. Research progress in benign lymphoepithelial lesion [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31 (1): 96-100. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 01. 023.
- [2] Yamamoto M, Tabeya T, Naishiro Y, et al. Value of serum IgG4 in the diagnosis of IgG4-related disease and in differentiation from rheumatic diseases and other diseases [J]. Mod Rheumatol, 2012, 22 (3): 419-425. DOI: 10. 1007/s10165-011-0532-6.
- [3] Li J, Ma JM, Ge X. Role of IgG4 serology in identifying common orbital lymphoproliferative disorders [J]. Int J Ophthalmol, 2016, 9 (2): 275-277. DOI: 10. 18240/ijo. 2016. 02. 18.
- [4] Sohn EJ, Ahn HB, Roh MS, et al. Immunoglobulin G4 (IgG4)-positive ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and idiopathic orbital inflammation [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2018, 34 (4): 313-319. DOI: 10. 1097/IOP. 0000000000000965.
- [5] Go H, Kim JE, Kim YA, et al. Ocular adnexal IgG4-related disease: comparative analysis with mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and other chronic inflammatory conditions [J]. Histopathology, 2012, 60 (2): 296-312. DOI: 10. 1111/j. 1365-2559. 2011. 04089. x.
- [6] Adzavon YM, Zhao P, Zhang X, et al. Genes and pathways associated with the occurrence of malignancy in benign lymphoepithelial lesions [J]. Mol Med Rep, 2018, 17 (2): 2177-2186. DOI: 10. 3892/mmr. 2017. 8149.
- [7] Fu F, Li R, Li Y, et al. Whole exome sequencing as a diagnostic adjunct to clinical testing in fetuses with structural abnormalities [J]. Ultrasound Obstet Gynecol. 2018; 51 (4): 493-502. DOI: 10. 1002/uog. 18915.
- [8] Besnard T, García-García G, Baux D, et al. Experience of targeted Usher exome sequencing as a clinical test [J]. Mol Genet Genomic Med, 2014, 2 (1): 30-43. DOI: 10. 1002/mgg3. 25.
- [9] Ussmüller J, Reinecke T, Donath K, et al. Chronic myoepithelial sialadenitis -symptomatology, clinical signs, differential diagnostics [J]. Laryngorhinootologie, 2002, 81 (2): 111-117. DOI: 10. 1055/s-2002-23111.
- [10] Sato K, Kawana M, Sato Y, et al. Malignant lymphoma in the head and neck associated with benign lymphoepithelial lesion of the parotid gland [J]. Auris Nasus Larynx, 2002, 29 (2): 209-214. DOI: 10. 1016/s0385-8146 (01) 00144-4.
- [11] Sato Y, Ohshima K, Ichimura K, et al. Ocular adnexal IgG4-related disease has uniform clinicopathology [J]. Pathol Int, 2008, 58 (8): 465-470. DOI: 10. 1111/j. 1440-1827. 2008. 02257. x.
- [12] 郑玲然, 牛蔓, 蔡凤梅, 等. 眼附属器黏膜相关边缘区 B 细胞性淋巴瘤临床病理研究 [J]. 山西医药杂志, 2019, 48 (16): 1988-1991. DOI: 10. 3969/j. issn. 0253-9926. 2019. 16. 015.
- [13] Oyama T, Takizawa J, Nakamura N, et al. Multifocal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma associated with IgG4-related disease: a case report [J]. Jpn J Ophthalmol, 2011, 55 (3): 304-306. DOI: 10. 1007/s10384-011-0003-9.
- [14] Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, et al. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity [J]. Science, 2007, 315 (5811): 525-528. DOI: 10. 1126/science. 1135308.
- [15] Miao C, Liu D, Zhang F, et al. Association of FPGS genetic polymorphisms with primary retroperitoneal liposarcoma [J/OL]. Sci Rep, 2015, 5: 9079 [2020-03-27]. https://pubmed. ncbi..nlm.nih.gov/25765001. DOI: 10. 1038/srep09079.
- [16] Verma SP, Das P. Novel splicing in *IGFN1* intron 15 and role of stable G-quadruplex in the regulation of splicing in renal cell carcinoma [J/OL]. PLoS One, 2018, 13 (10): e0205660 [2020-03-27]. https://pubmed. ncbi..nlm.nih.gov/30335789. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0205660.
- [17] Wen X, Liu Y, Yan Q, et al. Association of *IGFN1* variant with polypoidal choroidal vasculopathy [J/OL]. J Gene Med, 2018, 20 (2-3): e3007 [2020-03-29]. http://www. ncbi..nlm.nih.gov/pubmed/29323771. DOI: 10. 1002/jgm. 3007.
- [18] Nambiar M, Goldsmith G, Moorthy BT, et al. Formation of a G-quadruplex at the *BCL2* major breakpoint region of the t (14; 18) translocation in follicular lymphoma [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39 (3): 936-948. DOI: 10. 1093/nar/gkq824.
- [19] Shu J, Wang L, Han F, et al. *BTBD7* downregulates E-cadherin and promotes epithelial-mesenchymal transition in lung cancer [J/OL]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 5937635 [2020-03-29]. http://www. ncbi..nlm.nih.gov/pubmed/31886230. DOI: 10. 1155/2019/5937635.
- [20] 李峻, 李刚, 谢玉莲, 等. *BTBD7* 基因通过作用于 *Wnt/β-catenin* 信号通路促进人乳腺癌 MCF-7 细胞的侵袭转移 [J]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2015, (6): 357-362. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-0807. 2015. 06. 002.
- [21] Li J, Li G, Xie YL, et al. *BTBD7* promotes the invasion and metastasis of breast cancer MCF-7 cells by targeting *Wnt/β-catenin* signaling [J]. Chin J Breast Dis (Elect Ver), 2015, (6): 357-362. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-0807. 2015. 06. 002.
- [22] Olteanu S, Körner H, Aasprong OG, et al. The prognostic relevance of sentinel lymph node metastases assessed by *PHGR1* mRNA quantification in stage I to III colon cancer [J]. Transl Oncol, 2018, 11 (2): 436-443. DOI: 10. 1016/j. tranon. 2018. 01. 015.
- [23] Fernandez LP, Milne RL, Pita G, et al. *SLC45A2*: a novel malignant melanoma-associated gene [J]. Hum Mutat, 2008, 29 (9): 1161-1167. DOI: 10. 1002/humu. 20804.
- [24] Hernández S, Font-Tello A, Juanpere N, et al. Concurrent *TPR2S2-ERG* and *SLC45A3-ERG* rearrangements plus *PTEN* loss are not found in low grade prostate cancer and define an aggressive tumor subset [J]. Prostate, 2016, 76 (9): 854-865. DOI: 10. 1002/pros. 23176.
- [25] Doukeris CE, Planchart A. Characterization of a novel DNA motif in the *Tctex1* and *TCP10* gene complexes and its prevalence in the mouse genome [J]. Adv Biol Res (Rennes), 2007, 1 (1-2): 1-16.
- [26] Yeon SY, Jo YS, Choi EJ, et al. Frameshift mutations in repeat sequences of *ANK3*, *HACD4*, *TCP10L*, *TP53BP1*, *MFN1*, *LCMT2*, *RNMT*, *TRMT6*, *METTL8* and *METTL16* genes in colon cancers [J]. Pathol Oncol Res, 2018, 24 (3): 617-622. DOI: 10. 1007/s12253-017-0287-2.
- [27] Yang H, Liu C, Zhou RM, et al. Piezo2 protein: A novel regulator of tumor angiogenesis and hyperpermeability [J]. Oncotarget, 2016, 7 (28): 44630-44643. DOI: 10. 18632/oncotarget. 10134.

(收稿日期: 2020-03-29 修回日期: 2020-10-06)

(本文编辑: 张宇)