

·基础研究·

核孔蛋白93在神经母细胞瘤患者中的表达及临床意义

梁敏婷¹, 杨洋¹, 刘晓君¹, 梁惠雅¹, 张哈毅², 孙一涵², 史修羽², 杨霞^{1,3}

(1. 中山大学中山医学院生物化学与分子生物学教研室, 广东广州 510080; 2. 中山大学中山医学院, 广东广州 510080; 3. 广东省基因操作和生物大分子产物工程技术研究中心, 广东广州 510080)

摘要:【目的】基于基因表达数据库(GEO)筛选神经母细胞瘤(NB)诊断和预后相关的关键基因,探讨关键基因核孔蛋白93(*NUP93*)在NB患者组织中的表达及临床意义。【方法】从GEO数据库中获取NB基因芯片数据(GSE73517、GSE49710、GSE19274),筛选高风险组共同上调的差异表达基因(DEGs),结合R2基因组分析和可视化平台进一步分析在*MYCN*扩增组中共同上调的DEGs的预后价值,筛选出关键基因;最后通过免疫组织化学法(IHC)检测60例NB、25例神经节神经母细胞瘤(GNB)和26例神经节神经瘤(GN)组织中*NUP93*的表达水平。【结果】①筛选出25个高风险组共同上调的DEGs,其中10个在*MYCN*扩增组中高表达($P<0.05$),分别为*SIVA1*、*NUP93*、*STIP1*、*LSM4*、*RAI14*、*MYOZ3*、*KNTC1*、*TNFRSF10B*、*TACC3*、*CEP152*;生存分析显示,*NUP93*高表达患者总生存期显著缩短($HR=4.0, 95\%CI: 3.0, 5.3, P=1.80\times 10^{-34}$)。②免疫组化结果显示,*NUP93*在NB组织中的表达水平高于GN和GNB($P<0.001$),且与高有丝分裂-核碎裂指数(MKI)($P=0.040$)、低分化程度($P<0.001$)及*MYCN*表达($r_s=0.793, P<0.001$)呈正相关。【结论】经筛选获得的关键基因*NUP93*的高表达与高MKI及分化程度低相关,并预示NB患儿的不良预后,可能通过调控*MYCN*促进肿瘤进展,有望成为NB诊断标志物及治疗靶点。

关键词:神经母细胞瘤;核孔蛋白93;分化;预后;生物学标志物

中图分类号:R739.4 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2025)03-0420-11

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2025.0307

Expression and Clinical Significance of Nucleoporin 93 in Patients with Neuroblastoma

LIANG Minting¹, YANG Yang¹, LIU Xiaojun¹, LIANG Huiya¹, ZHANG Hanyi²,
SUN Yihan², SHI Xiuyu², YANG Xia^{1,3}

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Gene Manipulation and Bio-macromolecular Products, Guangzhou 510080, China)

Correspondence to: YANG Xia; E-mail: yangxia@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】To screen key genes associated with neuroblastoma (NB) diagnosis and prognosis using the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and to investigate the expression and clinical significance of nucleoporin 93 (*NUP93*) in NB tissues.【Methods】NB gene chip data (GSE73517, GSE49710, GSE19274) were retrieved from the GEO database. Differentially expressed genes (DEGs) commonly upregulated in high-risk groups were screened. The R2 database was then used to assess the prognostic value of DEGs that were commonly upregulated in the *MYCN* amplification group. Finally, *NUP93* expression levels in the tissues from 60 NB, 25 ganglioneuroblastoma (GNB), and 26 ganglioneuroma (GN) cases were measured by immunohistochemistry.【Results】Twenty-five DEGs were identified as commonly upregulated in high-risk groups. Among these, 10 genes (*SIVA1*, *NUP93*, *STIP1*, *LSM4*, *RAI14*, *MYOZ3*,

收稿日期:2025-02-26

录用日期:2025-04-02

基金项目:国家自然科学基金(82273116);广东省自然科学基金(2024A1515010149);大学生创新创业训练计划项目(202310652)

作者简介:梁敏婷,第一作者,研究方向:神经母细胞瘤发生发展机制研究,E-mail: liangmt6@mail2.sysu.edu.cn;杨霞,通信作者,教授,博士生导师,研究方向:病理性血管新生抑制和代谢调控研究,E-mail: yangxia@mail.sysu.edu.cn

KNTC1, *TNFRSF10B*, *TACC3* and *CEP152*) showed significantly higher expression in MYCN-amplified subgroups ($P < 0.05$). Survival analysis revealed that high *NUP93* expression was associated with shorter overall survival (HR = 4.0, 95% CI: 3.0, 5.3, $P = 1.80 \times 10^{-3.4}$). Immunohistochemistry results revealed that *NUP93* expression in NB tissues was significantly higher than in GNB and GN tissues ($P < 0.001$). *NUP93* expression was positively correlated with high mitosis-karyorrhexis index (MKI; $P = 0.040$), poor differentiation ($P < 0.001$), and MYCN expression ($r_s = 0.793$, $P < 0.001$).【Conclusions】 High expression of *NUP93* is associated with high MKI and poor differentiation, and predicts unfavorable prognosis in patients with NB, suggesting it may promote tumor progression by regulating *MYCN*. *NUP93* has the potential to be a novel diagnostic biomarker and therapeutic target for NB.

Key words: neuroblastoma; nucleoporin 93; differentiation; prognosis; biomarker

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2025, 46(3):420-430]

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是儿童常见的颅外神经系统肿瘤,同时也是婴儿期发病率最高的癌症^[1]。NB最大的特点是具有临床异质性,在生物学特征良好的小婴儿中,即使肿瘤已发生转移,无须治疗即可自发消退。相比之下,对于诊断时>18个月,肿瘤在生物学上存在不利因素(定义为不利的病理学和/或MYCN扩增)的儿童,需要强化放疗、化疗、手术和自体造血干细胞移植等多学科治疗,并且总生存期要低得多^[2-3]。根据国际神经母细胞瘤风险组分期系统(International Neuroblastoma Risk Group Staging System, INRGSS)将患者分为低危、中危或高危组,以帮助临床医生决定最佳治疗方案^[4]。低风险和中等风险NB患儿的5年生存率达到75%~98%,而大约40%的NB患儿被归类为高危患者,尽管近年来靶向治疗和化疗方案不断优化,但高危NB患者的5年生存率仍不足50%,其分子机制和生物标志物研究亟待突破^[4-5]。*MYCN*扩增是NB的核心分子特征之一,无论患者年龄、肿瘤分期或其他生物学指标如何,只要存在*MYCN*扩增则被纳入高危组^[2]。*MYCN*的异常表达与肿瘤侵袭性和化疗耐药密切相关,是NB的核心恶性驱动因素^[6-7]。核孔复合体(nuclear pore complex, NPC)作为核质物质交换的核心通道,近年来被发现通过调控癌基因的核转运参与肿瘤发生^[8-9]。核孔蛋白93(nucleoporin 93, *NUP93*)作为NPC支架蛋白的关键组分^[10],在乳腺癌^[11-12]、肝癌^[13]、宫颈癌^[14]、膀胱癌^[15]等多种实体瘤中呈现异常表达并促进肿瘤的恶性进展。研究发现,*NUP93*与*MYC*增强子结合并促进*MYC*基因的表达^[16-17],但其在NB中的表达及与*MYCN*的相关性目前尚无报道。本研究拟从基因表达数据库

(Gene Expression Omnibus, GEO)中下载NB相关数据集,寻找高危NB中上调的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG),并对DEGs进行生物信息学分析筛选得到与NB患者的生存预后显著相关的核心基因*NUP93*。最后利用免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)检测NB患者组织中*NUP93*的表达,探讨其与患者临床分期、病理分型及与*MYCN*表达的关系,为NB的诊断、预后评估以及靶向治疗提供新的理论依据和潜在靶点。

1 材料与方法

1.1 数据获取和基因筛选

1.1.1 数据的获取 从GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中获取3组原发性神经母细胞瘤转录组测序数据集:GSE73517、GSE49710和GSE19274。GSE73517共有105例样本,包括高风险组56例、低风险组40例;GSE49710共有498例样本,包括高风险组176例、低风险组322例;GSE19274共有100例样本,包括高风险组80例、低风险组20例(表1)。使用GEOquery(R package),从GEO数据库中批量下载上述3个数据集的原始表达矩阵文件以及相关的样本信息文件。运用Affy(R package)中的稳固多阵列平均算法(Robust Multi-array Averag, RMA)分析原始探针数据,得到表达值。同一基因的多个探针测量表达值的平均值即为该基因的表达值。

1.1.2 差异表达基因分析 使用limma(R package)分别对3个数据集的高风险组和低风险组的基因表达数据进行差异分析,以校正后的 P 值(adj. P value) <0.05 且 $|\log_2FC|>0.5$ 为筛选标准分别对3

表1 神经母细胞瘤表达芯片数据集信息
Table 1 NB-related microarray information in GEO dataset

GSE ID	Platform ID	Experiment type	Sample	High risk	Low risk	Year
GSE73517	GPL16876	array	105	56	40	2016
GSE49710	GPL16876	array	498	176	322	2014
GSE19274	GPL6102	array	100	80	20	2009

组数据集进行DEG筛选,其中 $\log_2FC > 0.5$ 的基因被标记为上调基因, $\log_2FC < -0.5$ 的基因被标记为下调基因。通过绘制火山图可视化差异基因的表达情况,并通过绘制韦恩图筛选3组数据集中共有DEGs作为共表达差异基因集。

1.1.3 关键基因的筛选与预后分析 R2数据库(R2: Genomics Analysis and Visualization Platform)是一个整合多组学数据与临床信息的交互式基因组分析平台,支持基因表达谱分析、生存曲线绘制及分子标志物筛选,广泛用于肿瘤分子分型与预后研究^[18]。由于MYCN扩增是高危NB的核心分子特征之一^[2],使用R2数据库进一步分析3组数据集中共同上调的差异表达基因在MYCN扩增组与非扩增组患者中的表达情况,并通过绘制韦恩图得到在3个数据集的MYCN扩增组中均上调的关键基因。通过分析这些关键基因的表达水平与NB患者的总生存期(overall survival, OS)之间的关系,得出对预后影响最显著的基因。

1.2 免疫组织化学法验证基因表达

1.2.1 病例资料 选取2010年3月至2015年5月就诊于广州市妇女儿童医疗中心病理诊断明确、肿瘤标本保存完好的病例111例,其中NB 60例、神经节神经母细胞瘤(ganglioneuroblastoma, GNB)25例、神经节神经瘤(ganglioneuroma, GN)26例。本研究经广州市妇女儿童医疗中心科研伦理委员会批准,所有患者均已签署知情同意书。这些临床肿瘤组织标本交由上海芯超生物科技有限公司制作成组织芯片(tissue microarray, TMA)用于后续的免疫组化检测。

1.2.2 试剂 免疫组织化学实验所需的NUP93抗体(工作浓度1:100)购自Proteintech公司,MYCN抗体(工作浓度1:100)购自Santa Cruz公司,免疫

组化鼠兔通用型检测(二抗)ENVISION试剂盒购自基因科技上海有限公司。

1.2.3 免疫组织化学检测 采用免疫组织化学法进行染色,在组织芯片中检测NUP93和MYCN蛋白表达。简要步骤如下:组织芯片经烤片、二甲苯脱蜡、水化后使用高压热修复法进行组织抗原修复;内源性过氧化物酶的阻断、室温封闭1h;孵育一抗,4℃过夜;孵育二抗,37℃1h;经DAB显色、苏木素复染、脱水、二甲苯脱水透明等步骤后用中性树胶封片。使用全自动玻片扫描系统(KF-FL-400)对组织芯片进行扫描。

1.2.4 免疫组化结果判读 每张免疫组化片随机选5个高倍视野($\times 400$),通过平均染色指数评判表达结果,染色指数是染色强度和染色范围的乘积。评分标准如参考文献^[19]所述:无着色计0分,淡黄色计1分,棕黄色计2分,棕褐色计3分;着色细胞 $< 5\%$ 计0分,5%~25%计1分,26%~50%计2分,51%~75%计3分, $> 75\%$ 计4分。总得分 < 6 分为低表达;总得分 ≥ 6 分为高表达。

1.3 统计学方法

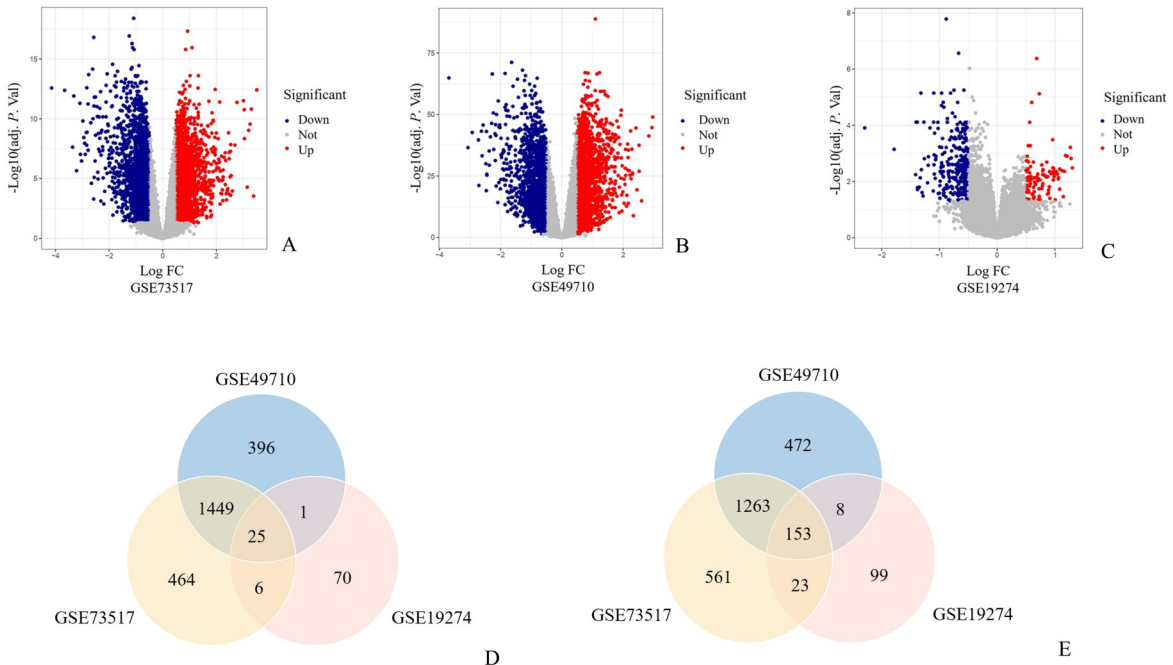
应用SPSS 27.0统计学软件进行分析。对所有连续性变量首先进行正态性检验,对于服从正态分布的变量采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)进行描述,不服从正态分布的变量应用中位数和四分位间距 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 进行描述,计数资料采用例进行描述。计量资料多组比较:如服从正态分布且方差齐则使用单因素方差分析,否则使用Kruskal-Wallis检验。计数资料两组率的比较:当样本量 $n \geq 40$ 且所有期望频数 $T \geq 5$ 时,用Pearson χ^2 检验;当 $n \geq 40$ 但有 $1 \leq T < 40$ 时,用连续性校正 χ^2 检验;当 $n < 40$ 或 $T < 1$ 时,用Fisher's精确检验。计数资料多组率的比较:不超过20%单元格的期望频数 $T < 5$ 时,使用Pearson χ^2 检验;若超过20%单元格的期望频数 $T < 5$,或者至少一个 $T < 1$ 时,采用Fisher's精确检验。NUP93组化评分和MYCN组化评分总体服从正态分布,则采用Pearson相关进行分析,否则采用Spearman秩相关进行相关性分析。采用Kaplan-Meier曲线和Log-rank检验方法比较基因高表达组和低表达组的生存差异,并采用单因素回归分析方法评估的预后价值。使用GraphPad Prism 9.0软件进行数据绘图。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 差异表达基因分析

通过对 GSE73517、GSE49710 和 GSE19274 数据集的高风险组和低风险组的基因表达数据进行差异分析,得到在高风险组中表达上调和下调的差异基因,绘制火山图显示 GSE73517 共筛选出 3 944

个 DEGs,包括上调基因 1 944 个,下调基因 2 000 个;GSE49710 共筛选出 3 767 个 DEGs,包括上调基因 1 871 个,下调 1 896 个;GSE19274 共筛选出 385 个 DEGs,包括上调基因 102 个,下调基因 283 个(图 1A-C)。将 3 个数据集筛选结果取交集制作韦恩图,得到差异共表达基因 178 个,其中上调基因 25 个(图 1D)、下调基因 153 个(图 1E)。



A, B and C: Volcano Plots of the data sets GSE73517, GSE49710 and GSE19274. Blue color represents the downregulated genes ($\log_2\text{FC} < -0.5, P < 0.05$) and red color represents the upregulated genes ($\log_2\text{FC} > 0.5, P < 0.05$) in NB tissues; D: Venn diagram of co-upregulated differential genes; E: Venn diagram of co-downregulated differential genes.

图 1 NB 相关 DEGs 的筛选

Fig. 1 Screening of DEGs related to NB

2.2 关键基因的筛选及预后分析

为了探究高危 NB 发病机制中的关键基因,发现 NB 高危预警和有效治疗的分子标志物,以 25 个差异共表达上调基因为后续研究对象,通过 R2 数据库进一步分析这些基因在 3 个数据集的 *MYCN* 扩增组和非扩增组患者中的表达情况。R2 数据库分析结果显示,在 GSE73517 中有 19 个上调 DEGs 在 *MYCN* 扩增组里高表达,GSE49710 中有 21 个上调 DEGs 在 *MYCN* 扩增组里高表达,而在 GSE19274 中有 11 个上调 DEGs 在 *MYCN* 扩增组里高表达,将这些在 3 个数据集的 *MYCN* 扩增组里高表达的 DEGs 取交集制作韦恩图,得到 10 个既在高危组里上调又在 *MYCN* 扩增组里高表达的关键基因(图

2),分别为 *SIVA1*、*NUP93*、*STI1*、*LSM4*、*RAI14*、*MYOZ3*、*KNTC1*、*TNFRSF10B*、*TACC3*、*CEP152*。为了评估这些关键基因的预后价值,在 R2 数据库中选取 GSE49710 分析关键基因对 NB 患者总生存期的影响。生存曲线结果显示,10 个关键基因的高表达均与 NB 患者的不良预后高度相关($P < 0.05, \text{HR} > 1$;表 2,图 3),其中 *NUP93* 对 NB 患者的预后影响最为显著($\text{HR}=4, 95\% \text{CI}: 3.0, 5.3, P=1.80 \times 10^{-34}$),提示 *NUP93* 可作为 NB 治疗的潜在靶点及预后判断的分子标志物。

2.3 免疫组化验证 *NUP93* 基因表达

2.3.1 *NUP93* 在 GN、GNB 和 NB 中的表达差异 免疫组织化学显示 *NUP93* 主要表达于细胞核,部分

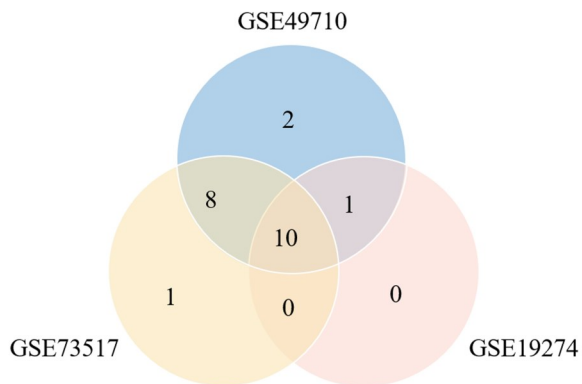


图2 3个数据集的MYCN扩增组里高表达的DEGs

Fig. 2 DEGs with high expression in the MYCN-amplified groups of the 3 datasets

表2 R2数据库分析关键基因对NB患者总生存期的影响

Table 2 Overall survival analysis of key genes by R2

DEGs	HR	P
<i>NUP93</i>	4.0 (3.0, 5.3)	1.80×10^{-34}
<i>LSM4</i>	4.0 (3.1, 5.3)	3.64×10^{-30}
<i>MYOZ3</i>	2.0 (1.7, 2.3)	2.76×10^{-29}
<i>SIVA1</i>	4.2 (3.2, 5.5)	8.85×10^{-27}
<i>TACC3</i>	2.9 (2.3, 3.6)	1.20×10^{-24}
<i>CEP152</i>	2.2 (1.8, 2.6)	1.33×10^{-21}
<i>KNTC1</i>	2.1 (1.8, 2.6)	2.51×10^{-20}
<i>RAI14</i>	1.6 (1.3, 2.0)	4.79×10^{-14}
<i>STIP1</i>	2.4 (1.8, 3.1)	6.93×10^{-12}
<i>TNFRSF10B</i>	1.7 (1.5, 2.0)	1.53×10^{-12}

HR: hazard ratio.

可见细胞浆同时着色(图4)。NUP93在37例(61.7%)NB患儿中高表达,在23例(38.3%)NB患儿中低表达;在25例GNB中,只有1例高表达NUP93(4%),而26例GN均低表达NUP93(表3;图4)。因此,NUP93在NB中的表达高于GN和GNB,差异有统计学意义($\chi^2=44.441$, $P<0.001$)。

2.3.2 NUP93表达水平和NB临床病理特征的关系 NUP93表达在不同等级有丝分裂-核碎裂指数(mitosis karyorrhexis index, MKI)的患者组织中的差异具有统计学意义($\chi^2=5.732$, $P=0.040$;表4),在43例低/中MKI患者中有22例(51.2%)高表达NUP93,而在11例高MKI患者中有10例(90%)高表达NUP93。NUP93的表达与肿瘤细胞分化程度相关($\chi^2=18.261$, $P<0.001$;表4),在23例分化良好和部分分化的NB组织中有6例(26.1%)高表达NUP93,31例低分化的NB组织中有26例(83.9%)高表达NUP93。分化程度越低的NB组织其表达NUP93越强(图5-6)。NUP93表达在年龄($P=0.872$)、性别($P=0.822$)、INSS分期(International Neuroblastoma Staging System, INSS)($P=0.603$)、局部淋巴结转移($P=0.936$)以及远处转移($P=0.936$)的差异无统计学意义。虽然NUP93的表达与MYCN扩增的差异无统计学差异($P=0.065$;表4),但在6例MYCN扩增的NB组织中均高表达NUP93。免疫组化检测NB组织中MYCN蛋白的表达,统计MYCN的免疫组化评分和NUP93免疫组化评分发现,NUP93表达与MYCN表达呈正相关($r_s=0.793$, $P<0.001$;图7),在同一个低分化的NB组织中,MYCN和NUP93均高表达(图6)。

3 讨论

目前,高风险NB的治疗主要包括强化化疗、手术、自体造血干细胞移植和免疫治疗等,但治疗效果仍不理想^[20-21]。高风险NB患者的5年生存率不足50%,而低风险组患者则通常表现为良好的预后^[22],因此探讨高危型NB发病机制的分子事件并针对高危型NB开发新的治疗靶点以提高患者生存率至关重要。本研究通过分析来自GEO数据库的

表3 NUP93在GN、GNB和NB中的表达水平

Table 3 Expression levels of NUP93 in GN, GNB and NB

Expression of NUP93/n	GN (n=26)	GNB (n=25)	NB (n=60)	χ^2	P
High expression	0	1	37		
Low expression	26	25	23	44.441	<0.001

with Pearson's Chi-square test. GN: ganglioneuroma; GNB: ganglioneuroblastoma; NB: neuroblastoma.

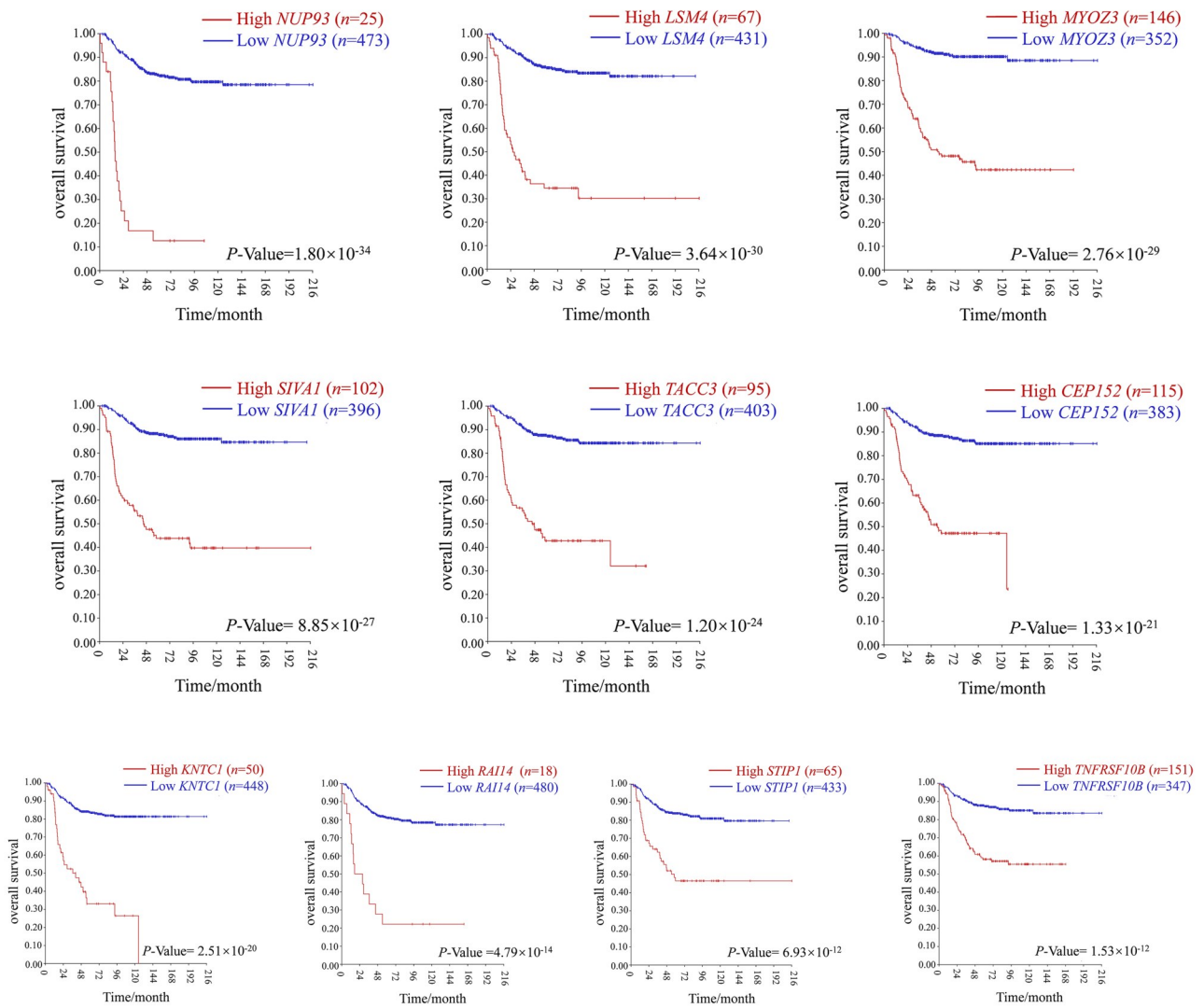
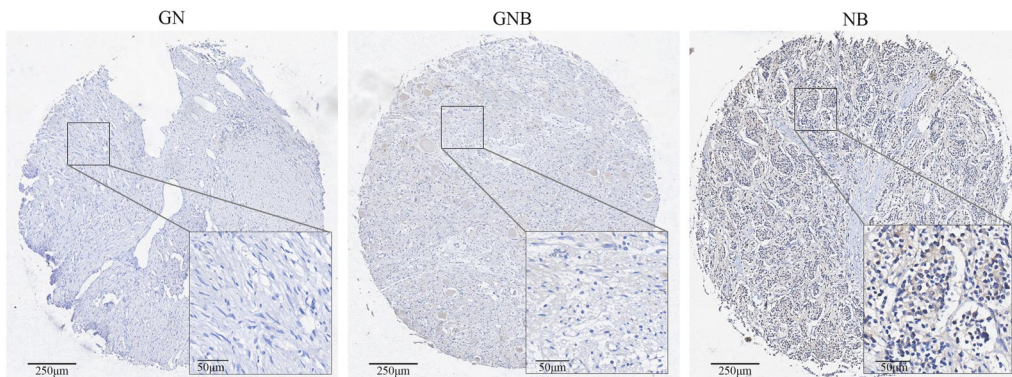


图3 R2数据库中关键基因的表达水平与NB患者总生存期的关系

Fig. 3 Relationship between key genes expression levels and OS in patients with NB in R2 database



NUP93 expression levels in NB were significantly higher than those in GN and GNB (200×).

图4 免疫组化染色显示NUP93在GN、GNB和NB中的表达差异

Fig. 4 The different expression of NUP93 detected by immunohistochemical staining in GN, GNB and NB tissues

表4 NUP93表达与NB患儿临床病理特征的关系

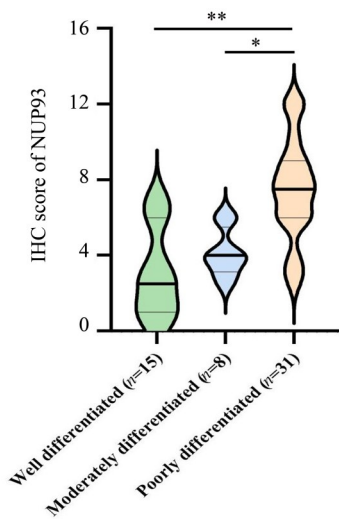
Table 4 Relationship between NUP93 expression and the clinicopathological characteristics of patients with NB

Clinical features	<i>n</i>	Expression of NUP93 / <i>n</i>		χ^2	<i>P</i>
		High(<i>n</i> =39)	Low(<i>n</i> =21)		
Age of diagnosis/month				0.026	0.872
<18 month	41	25	16		
≥18 month	19	12	7		
Gender				0.050	0.822
Male	35	22	13		
Female	25	15	10		
Degree of differentiation				18.261	<0.001
Well/moderately diff	23	6	17		
Poorly diff	31	26	5		
Unknown	6				
MKI				5.732	0.040*
Low/Intermediate	43	22	21		
High	11	10	1		
Unknown	6				
INSS stage				0.270	0.603
1, 2, 4 s	44	26	18		
3, 4	15	10	5		
Unknown	1				
MYCN amplification				—	0.065#
Not amplified	31	17	14		
Amplified	6	6	0		
Unknown	23				
Local lymph node metastasis				0.006	0.936
Yes	16	10	6		
No	44	27	17		
Distant metastases				0.006	0.936
Yes	16	10	6		
No	44	27	17		

* Chi-square test for continuity correction; # Fisher's exact test; others with Pearson's Chi-square test. Unknown refers to the missing tissue samples or tissue samples lacking clinical information; MKI: mitosis karyorrhexis index; INSS: International Neuroblastoma Risk Group Staging System.

3个NB相关基因芯片数据,筛选出25个在高风险组中共同上调的差异表达基因,其中有10个基因同时在MYCN扩增组里高表达。预后分析显示NUP93显著影响NB的预后(图3;表2),提示NUP93可能是NB潜在的分子标志物及治疗靶点。NPC嵌入在核膜孔中,是核质运输的唯一双向通

道。构成NPC的基础结构元件有细胞质环、细胞核环、内环、核篮、以及细胞质丝^[23]。NUP93是NPC的关键支架蛋白,参与内环^[24]、细胞核环^[25]及细胞质环^[26]的形成,并且将细胞质丝锚定到NPC的细胞质表面^[23],在细胞核与细胞质之间的物质转运方面发挥着重要作用。近年来,在乳腺癌^[12]、肝癌^[13]、膀



Compared with well-differentiated and partially differentiated NB tissues, NUP93 was highly expressed in poorly differentiated NB tissues. The data demonstrated normal distribution and homoscedasticity. One-way ANOVA was used ($F=18.358$, $P < 0.001$). * $P < 0.01$; ** $P < 0.001$.

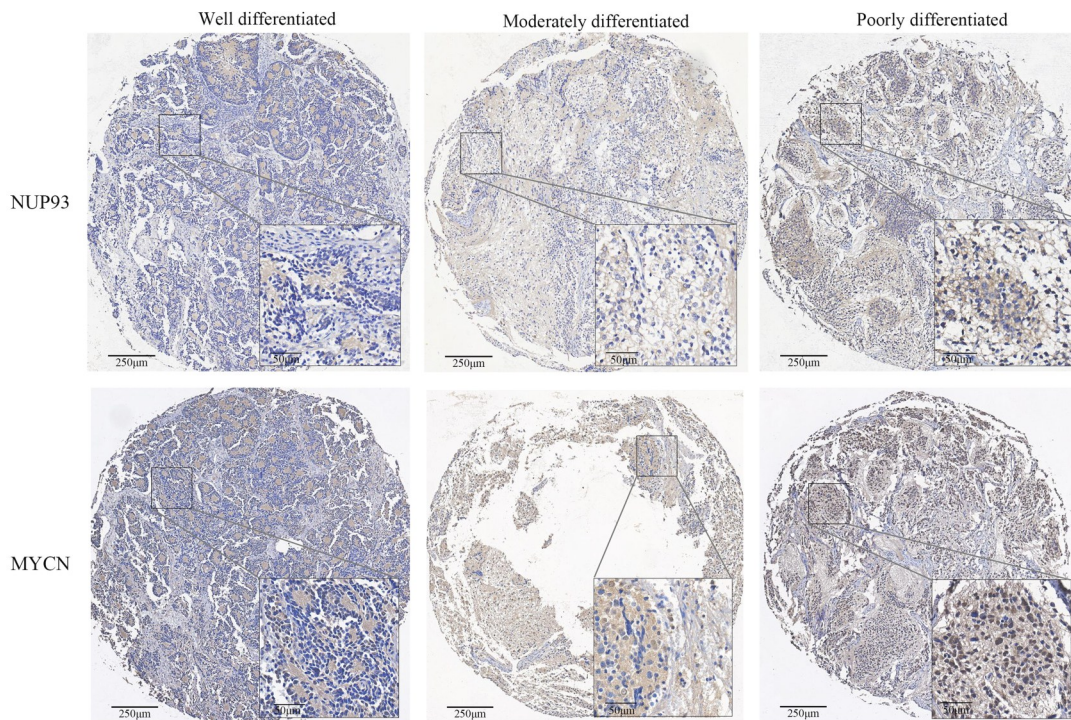
图5 NUP93在不同分化程度的NB组织中的表达水平
Fig. 5 Expression levels of NUP93 in neuroblastoma tissues with different degrees of differentiation

胱癌^[15]等多种实体瘤中报道了NUP93的异常高表达并与肿瘤的不良预后相关,提示NUP93可作为促癌因子发挥作用,但目前尚未有关于NUP93与NB的相关文献报道。本研究结果与这些研究结果一致,推测NUP93可作为新的癌基因参与NB的发生发展过程。

周围神经母细胞瘤(peripheral neuroblastic tumours, PNT)是源自原始神经嵴的交感神经系统肿瘤家族,包括NB、GNB(结节性和混合性)和GN^[27]。只有NB和非常罕见的结节性GNB被认为是恶性的,因为它们往往在不治疗的情况下进展为死亡。相比之下,混合性GNB和GN由成熟细胞组成,被认为是良性的,仅通过手术即可治愈^[28]。我们的免疫组化结果发现,NUP93在NB中的表达水平高于GN及GNB(表3;图4),说明NUP93与NB的恶性表型相关,也可能在NB的发生发展以及组织分化中起到重要作用。神经嵴衍生的交感肾上腺谱系的分化停滞有助于NB的形成^[29]。根据国际神经母细胞瘤病理学分类(International Neuroblastoma Pathology Classification, INPC),基于神经母细胞分化程度可将NB类别分为三种亚

型:未分化、低分化和分化^[30]。NB肿瘤细胞的分化程度与肿瘤的恶性程度^[4]、对药物的敏感性^[31]及预后^[32-33]密切相关。在INRGSS中肿瘤的分化程度是评价风险程度的指标之一,对于年龄>18个月的局限性肿瘤患者,如果肿瘤细胞分化程度低则被归类为高风险^[4]。NB由两种超级增强子相关的分化状态组成,分别是未分化的间充质型细胞和定型的肾上腺素能细胞。间充质型NB细胞类似于肾上腺素能谱系的前体,对标准神经母细胞瘤药物顺铂、多柔比星和依托泊苷的耐药性高于肾上腺素能型细胞^[31]。我们的组化结果显示NUP93与神经母细胞瘤的分化程度相关,在分化程度低的NB组织中高表达(图5-6)。有相关文献报道NUP93与细胞分化有关,当原代人类角质形成细胞从祖细胞状态转向分化时,NUP93被强烈下调^[34]。多梳复合体是发育基因沉默的关键调节因子,研究发现NUP93将多梳组因子拴在核膜处,从而抑制发育相关基因表达^[35]。此外,有文献报道NUP93在分化过程中起染色质锚的作用,人类HOXA基因对发育和分化至关重要,NUP93通过栓系HOXA基因簇成紧凑的染色质状态,从而抑制其表达和分化^[36-37]。这些研究表明NUP93发挥着抑制细胞分化的作用,提示NUP93可能参与了NB的分化过程。高MKI也是NB患者预后不良的指标^[30],NUP93的表达与高MKI呈正相关(表4),也提示NUP93高表达或许可以预测NB患者的不良预后。

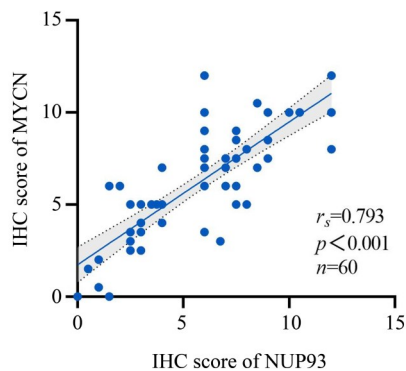
MYCN扩增是所有临床试验组风险分层系统的核心,已被证明与所有年龄、任何疾病阶段患者的快速肿瘤进展和不良预后密切相关^[38]。有文献表明,NUP93存在MYC超级增强子的结合位点,能促进MYC的表达^[16-17];而NUP93与MYC癌基因家族的成员——MYCN的关系尚无文献报道。MYCN在NB中的扩增率为20%~30%^[39]。本研究所用到的组织芯片中MYCN扩增率为10%(6/60),由于MYCN扩增组的样本量较少,NUP93在MYCN扩增组和非扩增组中的表达差异无统计学意义,但6例MYCN扩增的NB组织均高表达NUP93。进一步通过免疫组化检测NB组织中MYCN的表达水平,发现NUP93与MYCN的表达呈正相关(图7)。大量文献表明MYCN在抑制NB分化方面发挥着重



Expression of NUP93 and MYCN in the same NB tissue (200 \times). NUP93 and MYCN were lowly expressed in well-differentiated and moderately differentiated NB tissues, but highly expressed in poorly differentiated NB tissues.

图6 NUP93、MYCN在不同分化程度的NB组织中的典型表达

Fig. 6 Typical expressions of NUP93 and MYCN in NB tissues with different degrees of differentiation



The data exhibited a non-normal distribution; therefore, Spearman rank correlation analysis was employed to evaluate the association between NUP93 and MYCN expression levels.

图7 NB患者组织中NUP93表达与MYCN表达的相关性

Fig. 7 Correlation between NUP93 expression and MYCN in patients with NB

要的作用^[40-45]。在不同分化程度的同一例NB组织中, NUP93和MYCN在分化程度低的NB组织中高

表达,而在分化良好的NB组织中低表达(图6),提示NUP93与MYCN之间可能存在调控关系。

综上所述,本研究通过对生物信息数据库的挖掘,发现NUP93在NB高风险组及MYCN扩增组中表达上调,且与NB患者的不良预后相关。进一步通过免疫组化验证NUP93在NB组织中的表达情况,发现NUP93在NB中表达升高,与高MKI、分化程度低等临床特征密切相关,并与MYCN表达呈正相关,提示NUP93可能通过调控MYCN的表达,从而促进NB的恶性进展,但NUP93对NB的作用仍需进一步的体内外实验验证。

致谢:衷心感谢广州市妇女儿童医疗中心儿童肿瘤外科的邹焱主任,感谢其慷慨提供神经母细胞瘤组织样本,这对我们的研究工作给予了极大的支持。

参考文献

- [1] Siegel DA, King JB, Lupo PJ, et al. Counts, incidence rates, and trends of pediatric cancer in the United States, 2003–2019 [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2023, 115(11):1337–1354.
- [2] Qiu B, Matthay KK. Advancing therapy for neuroblastoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(8): 515–533.
- [3] Louis CU, Shohet JM. Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy [J/OL]. *Annu Rev Med*, 2015, 66:49–63. [2025–02–20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25386934/>.
- [4] Irwin MS, Naranjo A, Zhang FF, et al. Revised neuroblastoma risk classification system: a report from the children’s oncology group [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(29): 3229–3241.
- [5] Ramesh S, Dyer E, Pomaville M, et al. Artificial intelligence-based morphologic classification and molecular characterization of neuroblastic tumors from digital histopathology [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2024, 8(1): 1–6.
- [6] Yogev O, Almeida GS, Barker KT, et al. In vivo modeling of chemoresistant neuroblastoma provides new insights into chemorefractory disease and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(20): 5382–5393.
- [7] Qin X, Lam A, Zhang X, et al. CKLF instigates a “cold” microenvironment to promote MYCN-mediated tumor aggressiveness [EB/OL]. *Sci Adv*, 2024, 10(11): eadh9547. [2025–02–20]. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.adh9547>.
- [8] Iklipikawati DK, Hirai N, Makiyama K, et al. Nuclear transport surveillance of p53 by nuclear pores in glioblastoma [J/OL]. *Cell Rep*, 2023, 42(8): 112882 [2025–02–20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37552992/>.
- [9] Khakwani MMAK, Ji XY, Khattak S, et al. Targeting colorectal cancer at the level of nuclear pore complex [J]. *J Adv Res*, 2024: S2090–1232(24)00245–5.
- [10] Kosinski J, Mosalaganti S, von Appen A, et al. Molecular architecture of the inner ring scaffold of the human nuclear pore complex [J]. *Science*, 2016, 352(6283): 363–365.
- [11] Nataraj NB, Noronha A, Lee JS, et al. Nucleoporin-93 reveals a common feature of aggressive breast cancers: robust nucleocytoplasmic transport of transcription factors [J/OL]. *Cell Rep*, 2022, 38(8): 110418 [2025–02–21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35196484/>.
- [12] Bersini S, Lytle NK, Schulte R, et al. Nup93 regulates breast tumor growth by modulating cell proliferation and actin cytoskeleton remodeling [J/OL]. *Life Sci Alliance*, 2020, 3(1) [2025–02–21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31959624/>.
- [13] Lin CS, Liang Y, Su SG, et al. Nucleoporin 93 mediates β -catenin nuclear import to promote hepatocellular carcinoma progression and metastasis [J/OL]. *Cancer Lett*, 2022, 526: 236–247 [2025–02–21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34767927/>.
- [14] Ouyang X, Hao X, Liu S, et al. Expression of Nup93 is associated with the proliferation, migration and invasion capacity of cervical cancer cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(12): 1276–1285.
- [15] Wang Z, Zhang J, Luo L, et al. Nucleoporin 93 regulates cancer cell growth and stemness in bladder cancer via Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Mol Biotechnol*, 2025, 67(5): 2072–2084.
- [16] Zhu X, Qi C, Wang R, et al. Acute depletion of human core nucleoporin reveals direct roles in transcription control but dispensability for 3D genome organization [J]. *Cell Rep*, 2022, 41(5): 111576.
- [17] Ibarra A, Benner C, Tyagi S, et al. Nucleoporin-mediated regulation of cell identity genes [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(20): 2253–2258.
- [18] Molenaar JJ, Koster J, Zwijnenburg DA, et al. Sequencing of neuroblastoma identifies chromothripsis and defects in neurogenesis genes [J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 589–593.
- [19] 陈盛, 严志龙, 吴晔明, 等. HIF-1 α /SHH 信号通路在神经母细胞瘤中的表达及临床意义 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41(8): 1056–1061.
- [20] Chen S, Yan ZL, Wu YM, et al. Expression and clinical significance of HIF-1 α /SHH signaling pathway in neuroblastoma [J]. *J Shanghai Jiao Tong Univ (Med Sci)*, 2021, 41(8): 1056–1061.
- [21] Katta SS, Nagati V, Paturi ASV, et al. Neuroblastoma: emerging trends in pathogenesis, diagnosis, and therapeutic targets [J]. *J Control Release*, 2023, 357: 444–459.
- [22] 沈安乐, 韩亚丽, 于丽婷, 等. 达妥昔单抗 β 治疗神经母细胞瘤的安全性分析 [J/OL]. *重庆医科大学学报*, 1–5 [2025–03–30].
- [23] Shen AL, Han YL, Yu LT, et al. Analysis of the safety of dinutuximab β for the treatment of neuroblastoma [J]. *J Chongqing Med Univ*, 1–5 [2025–03–30].
- [24] Tolbert VP, Matthay KK. Neuroblastoma: clinical and biological approach to risk stratification and treatment [J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(2): 195–209.
- [25] Bley CJ, Nie S, Mobbs GW, et al. Architecture of the cytoplasmic face of the nuclear pore [J]. *Science*, 2022, 376(6598): eabm9129.
- [26] Huang G, Zhan X, Zeng C, et al. Cryo-EM structure of the inner ring from the *Xenopus laevis* nuclear pore complex [J]. *Cell Res*, 2022, 32(5): 451–460.
- [27] Huang G, Zhan X, Zeng C, et al. Cryo-EM structure of the

- nuclear ring from *Xenopus laevis* nuclear pore complex [J]. *Cell Res*, 2022, 32(4): 349–358.
- [26] Zhu X, Huang G, Zeng C, et al. Structure of the cytoplasmic ring of the *Xenopus laevis* nuclear pore complex[J]. *Science*, 2022, 376(6598): eabl8280.
- [27] Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, et al. Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee [J]. *Cancer*, 1999, 86(2): 349–363
- [28] Luksch R, Castellani MR, Collini P, et al. Neuroblastoma (peripheral neuroblastic tumours) [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 107: 163–181.
- [29] Zeineldin M, Patel AG, Dyer MA. Neuroblastoma: when differentiation goes awry[J]. *Neuron*, 2022, 110(18): 2916–2928.
- [30] Irwin MS, Naranjo A, Zhang FF, et al. Revised neuroblastoma risk classification system: a report from the children's oncology group[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(29): 3229–3241.
- [31] Van Groningen T, Koster J, Valentijn LJ, et al. Neuroblastoma is composed of two super-enhancer-associated differentiation states [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(8): 1261–1266.
- [32] Sainero-Alcolado L, Mushtaq M, Liaño-Pons J, et al. Expression and activation of nuclear hormone receptors result in neuronal differentiation and favorable prognosis in neuroblastoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 226.
- [33] Jin Z, Lu Y, Wu Y, Che J, et al. Development of differentiation modulators and targeted agents for treating neuroblastoma[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 207: 112818.
- [34] Neely AE, Zhang Y, Blumensaadt LA, et al. Nucleoporin downregulation modulates progenitor differentiation independent of nuclear pore numbers [J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1): 1033.
- [35] Gozalo A, Duke A, Lan Y, et al. Core components of the nuclear pore bind distinct states of chromatin and contribute to polycomb repression [J]. *Mol Cell*, 2020, 77(1): 67–81.e7.
- [36] Labade AS, Karmodiya K, Sengupta K. HOXA repression is mediated by nucleoporin Nup93 assisted by its interactors Nup188 and Nup205 [J]. *Epigenetics & Chromatin*, 2016, 9: 54.
- [37] Labade AS, Salvi A, Kar S, Karmodiya K, et al. Nup93 and CTCF modulate spatiotemporal dynamics and function of the HOXA gene locus during differentiation[J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(23): jcs259307.
- [38] Ambros PF, Ambros IM, Brodeur GM, et al. International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(9): 1471–1482.
- [39] Bartolucci D, Montemurro L, Raieli S, et al. MYCN impact on high-risk neuroblastoma: from diagnosis and prognosis to targeted treatment[J]. *Cancers*, 2022, 14(18): 4421.
- [40] Jansky S, Sharma AK, Körber V, et al. Single-cell transcriptomic analyses provide insights into the developmental origins of neuroblastoma [J]. *Nat Genet*, 2021, 53(5): 683–693.
- [41] Körber V, Stainczyk SA, Kurilov R, et al. Neuroblastoma arises in early fetal development and its evolutionary duration predicts outcome[J]. *Nat Genet*, 2023, 55(4): 619–630.
- [42] Kildisiute G, Kholosy WM, Young MD, et al. Tumor to normal single-cell mRNA comparisons reveal a pan-neuroblastoma cancer cell [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(6): eabd3311.
- [43] Olsen TK, Otte J, Mei S, et al. Joint single-cell genetic and transcriptomic analysis reveal pre-malignant SCP-like subclones in human neuroblastoma[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 180.
- [44] Villalard B, Boltjes A, Reynaud F, et al. Neuroblastoma plasticity during metastatic progression stems from the dynamics of an early sympathetic transcriptomic trajectory[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 9570.
- [45] 陈宇涛, 杨洋, 夏滢, 等. 脂代谢相关基因 ABHD5 在泛癌中的表达模式及其与预后和免疫浸润的相关性分析[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2022, 43(3): 400–411.
- Chen YT, Yang Y, Xia G, et al. Prognostic and immunological role of abhd5: a pan-cancer analysis[J]. *J Sun Yat-Sen Univ (Med Sci)*, 2022, 43(3): 400–411.