

· 临床研究 ·

SMARCA4 突变的非小细胞肺癌患者临床特征及相关生物信息分析

陈雪松, 陈玲, 何梦钰*

南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)SMARCA4 突变患者临床特征及预后,并应用生物信息学方法探究其临床意义。方法:回顾性分析 35 例 SMARCA4 基因突变 NSCLC 患者临床资料,根据伴随基因突变类型分组,采用 Kaplan-Meier 法行生存分析。应用 TIMER 数据库、GEPIA 数据库分析 SMARCA4 基因在 NSCLC 及正常肺组织中的表达差异。cBioPortal 数据库分析 SMARCA4 基因突变情况及与预后的相关性。STRING 数据库构建 SMARCA4 相互作用蛋白网络。结果:SMARCA4 突变 NSCLC 患者以老年男性为主,主要病理类型为腺癌;主要伴随突变基因有 EGFR(14 例)、TP53(11 例)、KRAS(4 例)、ERBB2(4 例)等。生存分析发现伴随 EGFR 突变患者预后较野生型好,而伴随 KRAS 突变患者预后较野生型差。生物信息学分析发现 8% 的 NSCLC 患者携带 SMARCA4 基因突变,突变类型包括错义突变、剪接突变、删除突变等;含 SMARCA4 突变的肺腺癌患者预后较野生型差。结论:SMARCA4 突变影响 NSCLC 患者预后,且伴随基因种类对患者预后产生不同影响,这为肺癌的精准化治疗提供更多依据。

[关键词] 非小细胞肺癌;SMARCA4;预后;生物信息分析**[中图分类号]** R734.2**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2023)11-1520-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20231107

Clinical features of non-small cell lung cancer harboring SMARCA4 mutation and related bioinformatics analysis

CHEN Xuesong, CHEN Ling, HE Mengyu*

Department of Respiratory & Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To analyze the clinical features and prognosis of non-small lung cancer (NSCLC) patients harboring SMARCA4 mutation, and detect the clinical significance of SMARCA4 gene *via* bioinformatics method. **Methods:** Clinical data from 35 patients with NSCLC harboring SMARCA4 mutations were retrospectively reviewed. According to the type of co-mutated gene, the patients were divided into several groups. The survival rate was calculated by Kaplan-Meier method. The expression of SMARCA4 in NSCLC tissue and normal lung tissue was investigated by TIMER database and GEPIA database. The cBioPortal database was used to analyze frequencies and types of SMARCA4 gene mutation, as well as the relationship of SMARCA4 mutation and prognosis. SMARCA4-related protein-protein interaction network was constructed by STRING database. **Results:** SMARCA4-mutated NSCLC patients were mainly old males, and lung adenocarcinoma was the main pathological type. The accompanying mutated genes included EGFR (14 cases), TP53 (11 cases), KRAS (4 cases), ERBB2 (4 cases), etc. Survival analysis found that the prognosis of patients with EGFR mutation was better than that of wild type, while the prognosis of patients with KRAS mutation was worse than that of wild type. Bioinformatics analysis showed that 8% of NSCLC patients carried SMARCA4 gene mutation, including missense mutations, splicing mutations and deletion mutations. In general, lung adenocarcinoma patients with SMARCA4 mutations had a poorer prognosis than wild-type patients. **Conclusion:** SMARCA4 mutations may affect the prognosis of NSCLC patients, and the accompanied mutations may have different effects on the prognosis, providing specific evidence for the precise treatment of lung cancer.

[Key words] non-small cell lung cancer; SMARCA4; prognosis; bioinformatics analysis

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(11): 1520-1526]

[基金项目] 国家自然科学基金(82000061);江苏省科教能力提升工程(CXZX202206)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hemengyunj@126.com

肺癌是最常见的恶性肿瘤,也是癌症相关死亡的主要原因之一。WHO统计2022年我国新增肺癌人数约87万,因肺癌死亡人数约50万,肺癌仍是威胁国民健康的重要疾病^[1]。根据病理类型,肺癌分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),其中NSCLC占85%,主要包括肺腺癌及肺鳞癌。近年来,NSCLC的诊断策略及治疗手段不断发展,但患者5年生存率仍不尽人意。NSCLC的发生发展是一个多因素、多基因共同参与的过程,因而探究其中的分子机制、寻找关键基因,对NSCLC诊疗具有重要价值。

SWI/SNF(Switch/sucrose nonfermentable)染色体重塑复合体是ATP依赖性染色体重塑复合物五大亚家族的成员之一,参与染色质修复、调控细胞增殖分化过程。SMARCA4(SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily A member 4)编码BRG1(brahma-related gene-1)蛋白,催化ATP水解,是为整个SWI/SNF复合物提供能量的核心基因^[2]。由此可见,SMARCA4对肿瘤发生发展过程中的基因调控起重要作用,然而目前SMARCA4基因与NSCLC的相关研究仍不深入。本研究分析了含SMARCA4基因突变NSCLC患者的临床特征及预后,同时采用生物信息学方法探究SMARCA4基因在NSCLC中的差异表达、突变、与预后相关情况及潜在的生物学功能,为NSCLC诊断及治疗提供新思路。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2020年1月—2022年12月于南京医科大学第一附属医院就诊且符合条件的35例患者临床资料。纳入经组织病理或细胞病理确诊为NSCLC[根据WHO(2021版)肺肿瘤组织学分型^[3]]且经二代测序(next generation sequencing, NGS)方法检测有SMARCA4基因突变的患者。本研究获得南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准(2023-SR-318)。

1.2 方法

1.2.1 患者资料收集

本研究共纳入35例经NGS确诊为SMARCA4基因突变的NSCLC患者,记录其性别、年龄、吸烟史、组织学类型、SMARCA4突变类型、突变位点、共突变基因等指标。对35例患者进行电话或门诊随访,

统计患者生存时间。总生存期(overall survival, OS)指诊断NSCLC开始直至由于任何原因死亡的时间。

1.2.2 差异表达分析

运用TIMER数据库(<http://timer.cistrome.org>)获取SMARCA4在不同肿瘤中的相对表达水平;TIMER数据库、GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn>)分析SMARCA4在肺腺癌组织与正常组织、肺鳞癌组织与正常组织间的表达差异。

1.2.3 遗传突变分析

通过cBioPortal数据库(<https://www.cbioportal.org>)的“cancer types summary”模块分析SMARCA4基因在所有TCGA NSCLC的突变类型和拷贝数改变(copy number alteration, CNV)信息,并进一步分析肺腺癌及肺鳞癌中的遗传突变信息。同时,在数据库“comparison”模块进行SMARCA4突变型及野生型肺腺癌及肺鳞癌患者的生存分析。

1.2.4 蛋白相互作用分析

运用STRING数据库(Version: 11.5)探索与SMARCA4潜在相互作用的蛋白并构建网络图,相互作用蛋白网络构建条件为置信度大于0.7。

1.3 统计学方法

运用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析,计量资料用均数±标准误($\bar{x} \pm S_x$)表示。生存分析采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,Log-rank法进行生存时间的比较。SMARCA4基因差异表达采用非参数Mann-Whitney检验分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共纳入35例SMARCA4突变的NSCLC患者(表1),其中男23例,女12例,年龄(64.26 ± 1.70)岁(39~78岁),有吸烟史患者18例,否认吸烟史患者17例。35例患者NSCLC组织学类型为腺癌27例(77.1%),鳞癌4例(11.4%),其他类型4例(11.4%); I~III A期8例(22.9%), III B~IV B期27例(77.1%)。

2.2 基因分析

在35例含SMARCA4基因突变NSCLC患者中进行基因表达谱分析(表1),伴随EGFR基因突变14例(40.0%);伴随TP53基因突变11例(31.4%);伴随KRAS基因突变4例(11.4%);伴随ERBB2基因突变4例(11.4%);伴随STK11基因突变3例(8.6%);伴随CDKN2A基因突变3例(8.6%);伴随ALK基因突

表1 SMARCA4突变的NSCLC患者临床特征汇总
Table 1 Clinical characteristics of SMARCA4-mutated NSCLC patients

类别	例数	百分比 (%)	类别	例数	百分比 (%)
性别			分期		
男	23	65.7	I~III A	8	22.9
女	12	34.3	III B~IV B	27	77.1
年龄			共突变基因		
<60岁	12	34.3	EGFR	14	40.0
≥60岁	23	65.7	TP53	11	31.4
吸烟史			KRAS	4	11.4
否	17	48.6	ERBB2	4	11.4
是	18	51.4	STK11	3	8.6
组织学类型			CDKN2A	3	8.6
腺癌	27	77.1	ALK	2	5.7
鳞癌	4	11.4	c-MET	1	2.9
其他	4	11.4	ARID1A	1	2.9
			PTEN	1	2.9
			FGFR	1	2.9

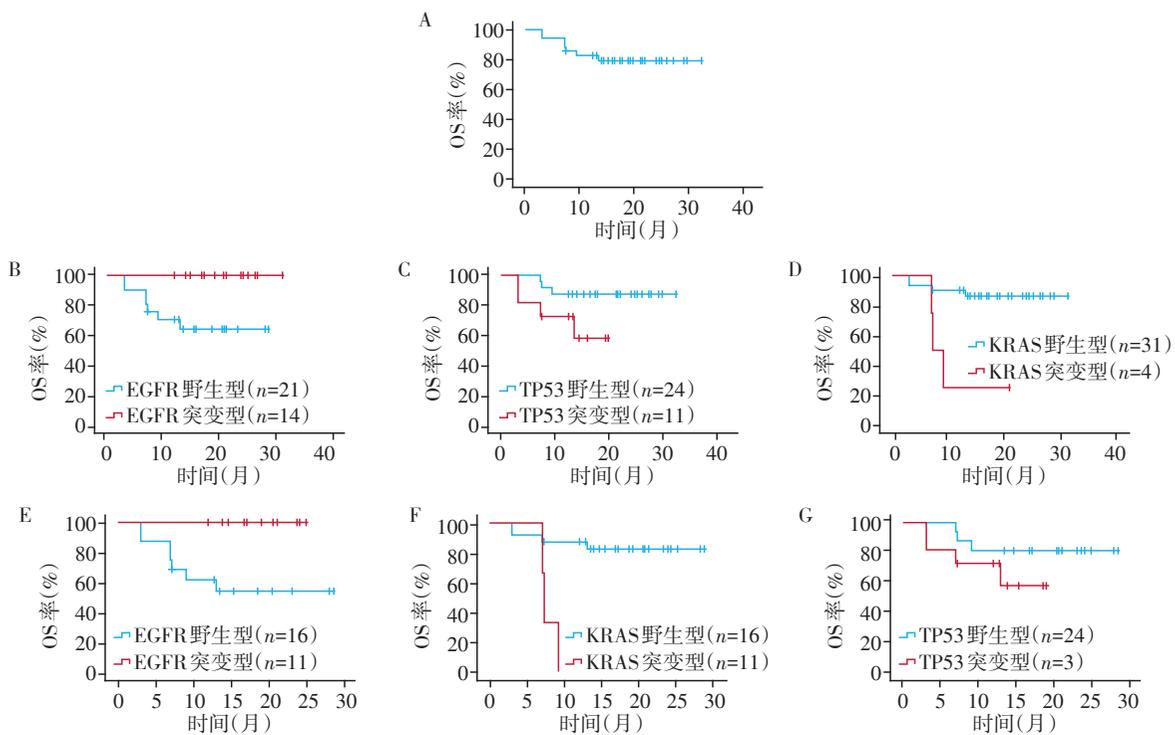
变2例(5.7%),其余共突变基因包括c-MET、ARID1A、PTEN、FGFR等(表1)。SMARCA4基因突变类型包括非同义突变16例(45.71%),移码突变11例

(31.43%)、非移码突变5例(14.29%)、终止密码子突变2例(5.71%)、剪接突变1例(2.86%)。

2.3 预后生存分析

本研究纳入35例SMARCA4基因突变患者,1年生存率80%(图1A)。其中伴随EGFR基因突变患者1年生存率100%,EGFR野生型患者1年生存率71.4%,生存分析提示EGFR野生型与突变型患者预后差异有统计学意义($P=0.016$,图1B)。伴随TP53基因突变患者1年生存率72.7%,OS(14.2±2.0)个月,TP53野生型患者1年生存率87.5%,OS(28.3±1.6)个月,两者差异无统计学意义($P=0.067$,图1C)。伴随KRAS基因突变患者1年生存率25.0%,OS(11.0±2.9)个月,KRAS野生型患者1年生存率87.1%,OS(27.9±1.6)个月,生存分析提示KRAS野生型与突变型患者预后差异有统计学意义($P=0.003$,图1D)。

进一步对III B~IV B期SMARCA4基因突变NSCLC患者进行亚组分析,发现伴随EGFR基因突变患者1年生存率仍为100%,EGFR野生型患者1年生存率56.2%,EGFR野生型与突变型患者预后差异有统计学意义($P=0.012$,图1E)。伴随KRAS基因突变患者1年内生存率0%,OS(7.8±0.7)个月,KRAS



A: 含SMARCA4突变NSCLC患者的生存分析;B~D:含EGFR突变(B)、TP53突变(C)、KRAS突变(D)的SMARCA4突变NSCLC患者与野生型患者的生存分析;E~G:含EGFR突变(E)、KRAS突变(F)、TP53突变(G)的III B~IV B期SMARCA4突变NSCLC患者与野生型患者的生存分析。

图1 SMARCA4突变NSCLC患者生存分析

Figure 1 Survival analysis of SMARCA4-mutated NSCLC patients

野生型患者1年生存率87.5%,OS(24.9±1.8)个月,合并KRAS突变患者预后较野生型差,差异有统计学意义($P=0.001$,图1F)。伴随TP53基因突变与TP53野生型患者的OS差异无统计学意义($P=0.227$,图1G)。

2.4 SMARCA4基因在NSCLC中的生物信息学分析

应用TIMER数据库分析SMARCA4基因差异性表达发现,肺腺癌及肺鳞癌组织中SMARCA4基因表达水平相比正常肺组织均明显上调($P < 0.001$,图2A)。利用UALCAN数据库进一步验证,提示肺鳞癌组织中SMARCA4基因表达水平显著高于癌旁正常肺组织($P < 0.05$,图2B);肺腺癌组织中SMARCA4基因表达水平同样高于癌旁正常肺组织($P < 0.05$,图2C)。

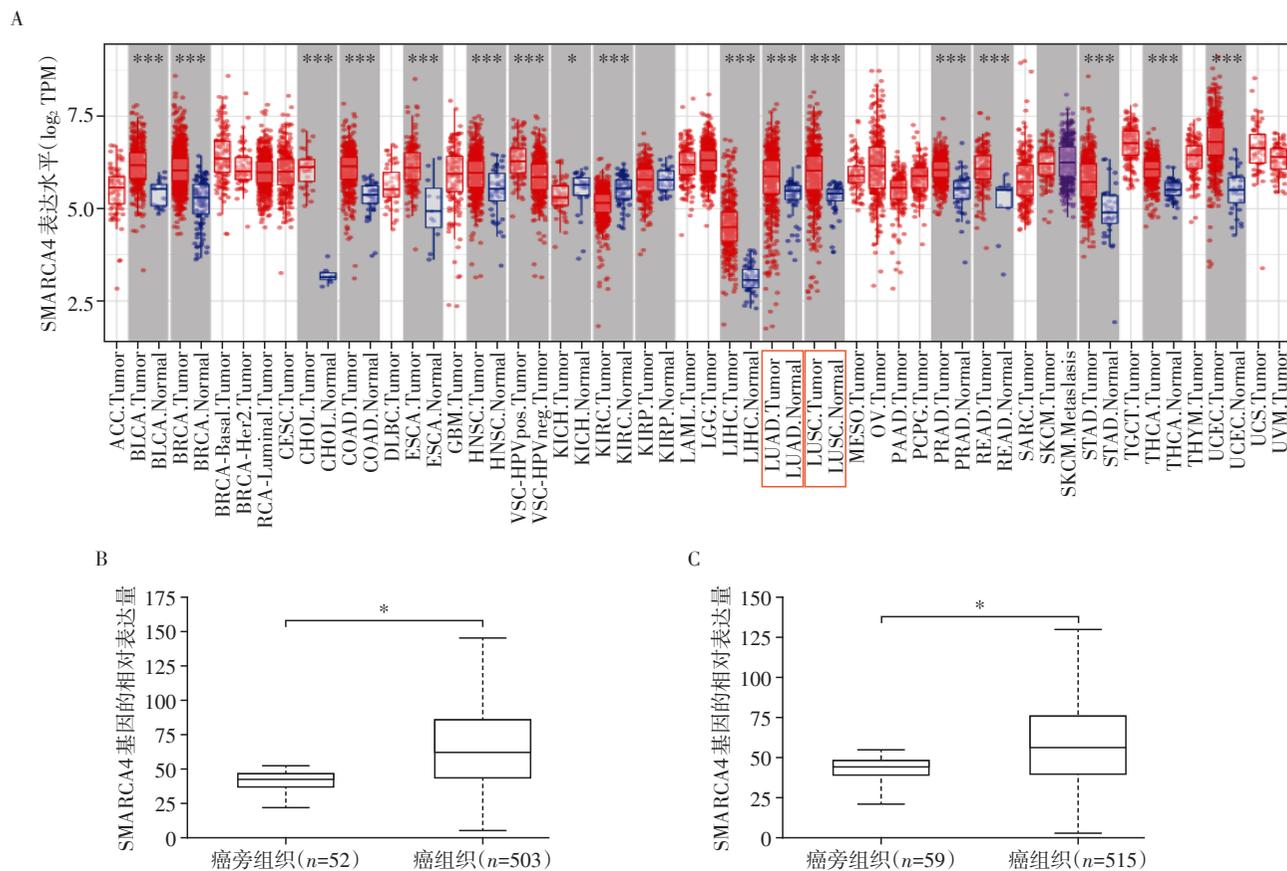
在TCGA数据库的基础上应用cBioPortal数据库分析SMARCA4基因突变情况,8%的NSCLC患者携带SMARCA4基因突变,其中10.3%的肺腺癌患者携带SMARCA4基因突变,5.37%的肺鳞癌患者携带SMARCA4基因突变,突变类型包括错义突变、剪接

突变、截短突变等(图3A、B)。进一步分析SMARCA4基因突变对NSCLC患者预后的影响,提示含SMARCA4突变的肺腺癌患者OS及无进展生存时间(progression-free survival, PFS)较野生型患者更短,差异有统计学意义($P=0.035, P=0.007$,图3C、D);在肺鳞癌中,SMARCA4突变型及野生型患者OS率及PFS率差异无统计学意义($P=0.693, P=0.677$,图3E、F)。

采用STRING数据库分析与SMARCA4相互作用的蛋白,包括ARID1A、ARID1B、ARID2、CTNNB1、SMARCB1、SMARCC1、SMARCC2、SMARCD3、SMARCE1、TERT等($P < 0.001$,图4A)。进一步分析SMARCA4参与的生物学过程,包括细胞间连接蛋白组装、染色质重塑等(图4B)。

3 讨论

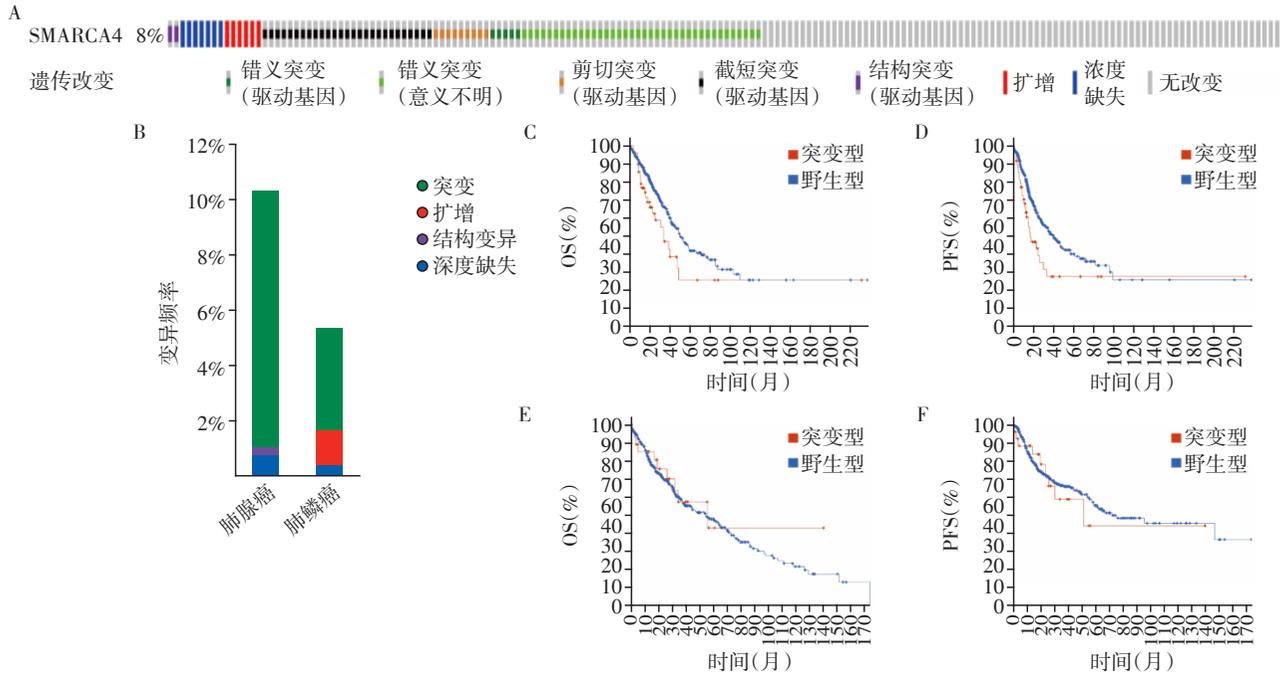
SMARCA4是构成SWI/SNF染色质重塑复合体的重要亚单位,其组成结构域包括1个ATP酶基团、保守的C端溴基团、AT-hook基序和N端的QLQ、



A: SMARCA4在不同肿瘤中的表达(LUAD:肺腺癌;LUSC:肺鳞癌);B: UALCAN数据库中肺鳞癌患者癌组织与癌旁组织中SMARCA4的表达差异;C: UALCAN数据库中肺腺癌患者癌组织与癌旁组织中SMARCA4的表达差异;两组比较, $P < 0.05$ 。

图2 SMARCA4基因在NSCLC中的表达情况

Figure 2 Expression of SMARCA4 gene in NSCLC



A: NSCLC中SMARCA4基因遗传突变情况; B: SMARCA4在肺腺癌及肺鳞癌中的遗传突变分析; C、D: SMARCA4突变型及野生型肺腺癌患者OS率(C)及PFS率(D)比较; E、F: SMARCA4突变型及野生型肺鳞癌患者OS率(E)及PFS率(F)比较。

图3 SMARCA4基因在NSCLC中的突变分析

Figure 3 Mutational analysis of SMARCA4 gene in NSCLC

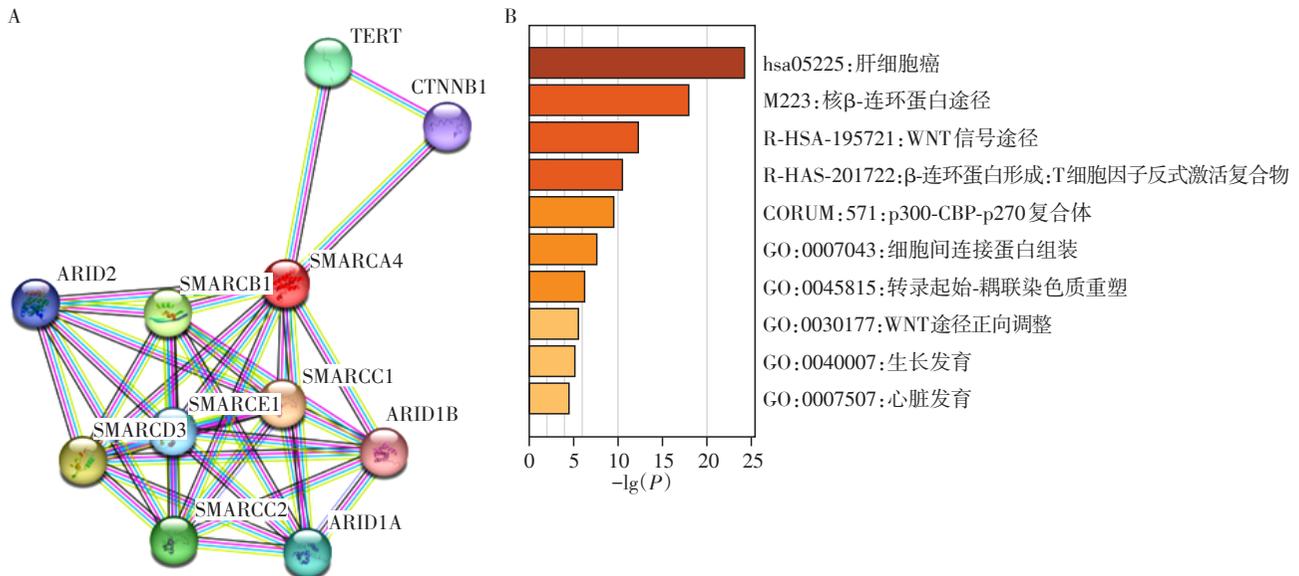


图4 SMARCA4蛋白相互作用网络(A)及SMARCA4蛋白相关生物学功能(B)

Figure 4 Protein-protein interaction networks of SMARCA4(A) and SMARCA4-related biological function(B)

HSA、BRK 结构域。ATP 酶基团高度保守参与水解 ATP 提供能量;溴区结构域参与组蛋白 H3 和 H4 羧基端乙酰化的赖氨酸的识别过程^[4]。研究报道 SMARCA4 基因突变与膀胱尿路上皮癌、乳腺浸润性导管癌、胃癌、前列腺癌和结肠癌等多种恶性肿瘤发生发展密切相关^[5]。SMARCA4 基因在 NSCLC

中的突变发生率为 6%~8%,好发于男性吸烟者,平均年龄 65 岁,病理类型以肺腺癌为主,且其纯合缺失、融合或截短突变与蛋白缺失及更高的肿瘤突变负荷紧密联系^[6-7]。本研究纳入 35 例经 NGS 检测含 SMARCA4 突变的 NSCLC 患者,男性占 65.7%,年龄 (64.26±1.70) 岁,其中腺癌 77.1%,鳞癌 11.4%,其他

病理类型11.4%,与既往研究结果基本一致。目前关于SMARCA4基因突变及伴随基因的相关报道仍较少。Schoenfeld等^[8]运用NGS方法检测407例含SMARCA4突变的NSCLC患者,其中56%合并TP53突变,41%合并KEAP1突变,39%合并STK11突变,36%合并KRAS突变。蒋杰等^[9]报道66例有SWI/SNF复合体亚基突变的NSCLC患者,发现EGFR、KRAS、ALK为最常见的伴随突变基因。本研究发现EGFR、TP53、KRAS为常见的伴随突变基因,其中以EGFR频率最高,此结果与既往研究不完全相同。首先,可能是Schoenfeld等^[8]研究对象为西方人群,与我国人种存在差异。欧美人群的肺癌基因突变研究显示TP53、KRAS、KEAP1和STK11基因为最常见的突变驱动基因;亚洲人群中EGFR突变为最主要的驱动基因,占比为50%~60%^[10]。其次,本研究及国内研究纳入的SMARCA4突变患者例数较少,后续需要多中心多样本的深入分析。

最初研究认为SMARCA4为一种抑癌基因。肺BRG1蛋白条件敲除的杂合子小鼠的肿瘤体积明显增加,提示蛋白表达缺失促进了肿瘤发生^[11]。在高钙型卵巢小细胞癌和乳腺癌等肿瘤类型中均观察到SMARCA4缺失促进了肿瘤发生^[12-13]。然而近期研究发现SMARCA4基因在不同肿瘤组织中作用不同。在结直肠癌组织中SMARCA4呈现高表达,且肿瘤细胞增殖及侵袭过程依赖于SMARCA4相关分子途径;SMARCA4缺失引起结直肠肿瘤细胞自噬缺陷,加速氧化应激损伤^[14-15]。在小肠组织中,SMARCA4缺失可抑制Wnt信号通路异常活化,预防肿瘤的发生^[16]。由此可见,SMARCA4可能在不同类型的组织细胞、不同的微环境中扮演致癌基因或抑癌基因角色。目前SMARCA4突变分为两类,第一类突变包括移码突变、无义突变、基因融合、纯和缺失等,通常引起蛋白表达缺失及功能丧失;第二类突变包括错义突变和拷贝数丢失,可能引起功能异常。SMARCA4突变被认为是晚期NSCLC患者预后不佳的独立危险因素,且含第一类突变的患者预后更差^[8]。本研究通过生物信息学分析发现肺腺癌及肺鳞癌组织中SMARCA4 mRNA含量明显高于正常组织,表明SMARCA4基因与NSCLC发生密切相关。预后分析发现含SMARCA4突变的肺腺癌患者预后较野生型更差,而在肺鳞癌中并未发现SMARCA4突变与预后的相关性。这种预后相关性的差异可能与肺腺癌及肺鳞癌间的遗传异质性相关。肿瘤测序及生物信息分析提示肺腺癌蛋白

质编码区中平均存在7 755个突变基因,携带非沉默突变基因中位数为105个;肺鳞癌蛋白质编码区中平均存在11 125个基因突变,携带非沉默突变基因中位数为181个,推测肺鳞癌具有更高的基因突变频率和更复杂的基因突变种类,因而仅通过一个或少量基因表达水平推测其预后较为困难^[17]。

本研究进一步分析了SMARCA4伴随基因与NSCLC患者预后的关系,发现伴随EGFR基因共突变患者与EGFR野生型相比OS更长;伴随KRAS基因共突变患者OS相比KRAS野生型患者更短。近期研究发现EGFR可能是SMARCA4下游转录的直接靶点,SMARCA4表达水平与EGFR水平呈正相关,SMARCA4突变可能增加了EGFR酪氨酸激酶抑制剂敏感性^[14]。这可能是含SMARCA4与EGFR共突变患者获得更好预后的原因。Liu等^[18]研究显示在晚期NSCLC患者中,SMARCA4合并KRAS突变患者与野生型患者相比,无病生存期及OS均更短,原因可能是SMARCA4、KRAS共同影响肿瘤免疫微环境,诱导肿瘤细胞免疫逃避与免疫抑制。

综上所述,本研究结果表明含SMARCA4基因突变的NSCLC患者以老年男性为主,常见伴随基因为EGFR、TP53、KRAS等,且伴随基因种类可影响患者预后;进一步生物信息学分析揭示,SMARCA4突变以错义突变为主,携带SMARCA4突变的肺腺癌患者预后不佳。本研究分析了SMARCA4突变对NSCLC患者预后的影响,为肺癌的精准化治疗提供了更多依据。

[参考文献]

- [1] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. *Chin Med J*, 2022, 135(5):584-590
- [2] MITTAL P, ROBERTS C W M. The SWI/SNF complex in cancer-biology, biomarkers and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7):435-448
- [3] ETTINGER D S, WOOD D E, AISNER D L, et al. NCCN guidelines insights: non-small cell lung cancer, version 2.2021[J]. *J Natl Compr Cancer Netw*, 2021, 19(3):254-266
- [4] MARDINIAN K, ADASHEK J J, BOTTA G P, et al. SMARCA4: implications of an altered chromatin-remodeling gene for cancer development and therapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(12):2341-2351
- [5] PENG L, LI J S, WU J, et al. A pan-cancer analysis of SMARCA4 alterations in human cancers[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:762598

- [6] ALESSI J V, RICCIUTI B, SPURR L F, et al. SMARCA4 and other Switch/sucrose nonfermentable family genomic alterations in NSCLC: clinicopathologic characteristics and outcomes to immune checkpoint inhibition[J]. *J Thorac Oncol*, 2021, 16(7): 1176-1187
- [7] 马 骏,袁光达,朱栋麟,等. 肺部原发的SMARCA4缺失型胸部肉瘤1例并文献复习[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2022, 42(4): 600-602
- [8] SCHOENFELD A J, BANDLAMUDI C, LAVERY J A, et al. The genomic landscape of SMARCA4 alterations and associations with outcomes in patients with lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(21): 5701-5708
- [9] 蒋 杰,高玲玲,陈 宇,等. SWI/SNF复合体不同亚基突变晚期非小细胞肺癌的预后及免疫标志物分析[J]. *循证医学*, 2022, 22(2): 119-125
- [10] XU J Y. Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma[J]. *Cell*, 2020, 182(1): 245-261
- [11] GLAROS S, CIRRINCIONE G M, PALANCA A, et al. Targeted knockout of BRG1 potentiates lung cancer development[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(10): 3689-3696
- [12] WITKOWSKI L, CARROT-ZHANG J, ALBRECHT S, et al. Germline and somatic SMARCA4 mutations characterize small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(5): 438-443
- [13] KIM J, JANG G, SIM S H, et al. SMARCA4 depletion induces cisplatin resistance by activating YAP1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(21): 5474
- [14] YAO B, GUI T, ZENG X W, et al. PRMT1-mediated H4R3me2a recruits SMARCA4 to promote colorectal cancer progression by enhancing EGFR signaling [J]. *Genome Med*, 2021, 13(1): 1-21
- [15] LIU M, SUN T Y, LI N, et al. BRG1 attenuates colonic inflammation and tumorigenesis through autophagy-dependent oxidative stress sequestration [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 4614
- [16] HOLIK A Z, YOUNG M, KRZYSTYNIAK J, et al. Brg1 loss attenuates aberrant wnt-signalling and prevents wnt-dependent tumorigenesis in the murine small intestine [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(7): e1004453
- [17] XING H. DrGaP: a powerful tool for identifying driver genes and pathways in cancer sequencing studies[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(3): 439-451
- [18] LIU L, AHMED T, PETTY W J, et al. SMARCA4 mutations in KRAS-mutant lung adenocarcinoma: a multi-cohort analysis[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(2): 462-472

[收稿日期] 2023-03-07

(本文编辑:陈汐敏)