DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20250308

*TTK*高表达导致导管癌初级纤毛缺失：基于TCGA/GTEx数据库的整合分析

李正阳[1,3]，俞鸿玮[1,3]，赵慧明[1,3]，潘飞飞[1,3]，刘昊天[1,3]，
武乐乐[1,3]，石文贵[2,3]，焦作义[1,2,3]*

［1.兰州大学，兰州大学第二医院（第二临床医学院），甘肃 兰州 730030；
2.兰州大学第二医院萃英生物医学研究中心，甘肃 兰州 730030；
3.甘肃省肿瘤免疫基础学科研究中心，甘肃 兰州 730030］

【摘要】目的 探究导管癌（乳腺、胰腺及胆管癌）中初级纤毛缺失的机制。**方法** 通过整合癌症基因组图谱和基因型–组织表达数据库中乳腺导管癌、胰腺导管腺癌和胆管癌及其对应正常组织的转录组数据，筛选差异表达的纤毛相关基因（纤毛成分基因和调控基因）。进行基因本体论和京都基因与基因组百科全书富集分析、生存分析（单变量Cox回归、Kaplan-Meier生存曲线）、相关性分析。利用组织芯片免疫组化和免疫荧光在临床样本（胆管癌、乳腺癌）和人肾小管上皮细胞中验证关键因子苏氨酸/酪氨酸激酶（TTK）的蛋白表达、定位及其与预后的关系。**结果** 在3类导管癌中鉴定出显著差异表达的纤毛相关基因（共同差异纤毛成分基因25个，其中上调10个、下调4个；共同差异纤毛调控基因7个，上调4个；其中*TTK*归类于共同上调的差异纤毛成分基因）。富集分析显示，纤毛相关差异基因主要涉及纤毛组装、微管运动、刺猬信号通路、泛素–蛋白酶体降解通路等。生存分析显示，*TTK*高表达是3类导管癌共同的不良预后因子（乳腺导管癌：P=0.045；胰腺导管腺癌：P=0.006；胆管癌：P=0.073），且*TTK*在乳腺导管癌、胰腺导管、胆管癌中的对数倍数值（$\log_2 FC$）分别为4.73、3.65、3.16（均P<0.001）均为高表达，同时，TTK蛋白高表达与患者不良预后显著相关（P<0.001）。免疫荧光证实TTK定位于纤毛基体区。相关性分析显示，*TTK*表达与多个核心纤毛基因显著相关。**结论** *TTK*过表达通过定位于纤毛基体区发挥作用，干扰了纤毛的正常组装，从而影响了导管癌的纤毛缺失，靶向抑制TTK可成为恢复纤毛功能、阻断导管癌进展的新型治疗策略。

【关键词】TTK蛋白激酶；初级纤毛；乳腺癌；胰腺肿瘤；胆管癌

中图分类号：R73　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**2096−8965（2025）03−0056−15

High *TTK* expression drives primary cilia deficiency in ductal carcinomas: An integrated analysis based on TCGA/GTEx data

Li Zhengyang[1,3], Yu Hongwei[1,3], Zhao Huiming[1,3], Pan Feifei[1,3],
Liu Haotian[1,3], Wu Lele[1,3], Shi Wengui[2,3], Jiao Zuoyi[1,2,3]*

(1. The Second Hospital & Clinical Medical School,
Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu, China;
2. Cuiying Biomedical Research Center, The Second Hospital & Clinical Medical School,
Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu, China;
3. Gansu Tumor Immunology Basic Disciplines Research Center, Lanzhou 730030, Gansu, China)

收稿日期：2025-09-01；**修回日期：**2025-09-11

基金项目：中央高校基本科研业务费专项项目（lzujbky-2024-ey05；lzujbky-2022-ey04）

通信作者：焦作义（1977-），男，甘肃秦安人，教授，主任医师，博士研究生导师，主要从事胃癌发病的分子机制研究，
E-mail: jiaozy@lzu.edu.cn

【**Abstract**】**Objective** To investigate the mechanism underlying primary cilia loss in ductal carcinomas (breast, pancreatic, and cholangiocarcinoma). **Methods** Transcriptomic data from ductal carcinomas (breast ductal carcinoma, pancreatic ductal adenocarcinoma, cholangiocarcinoma) and corresponding normal tissues were integrated from The Cancer Genome Atlas and Genotype-Tissue Expression databases. Differentially expressed cilia-related genes (ciliary component genes and regulatory genes) were screened out. Gene Ontology / Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes enrichment analyses, survival analyses (univariate Cox regression, Kaplan-Meier), and correlation analyses were performed. Tissue microarray-based immunohistochemistry and immunofluorescence were utilized to validate the protein expression, subcellular localization, and prognostic significance of the key factor *TTK* in clinical samples (cholangiocarcinoma, breast cancer) and human renal tubular epithelial cells. **Results** Significantly differentially expressed cilia-related genes were identified across the three ductal carcinomas (25 common differentially expressed ciliary component genes, comprising 10 upregulated genes and 4 downregulated genes; 7 common differentially expressed ciliogenesis regulatory genes, comprising 4 upregulated genes, among which *TTK* was categorized as a shared upregulated, differentially expressed ciliary component gene). Enrichment analyses revealed that these genes were primarily involved in ciliary assembly, microtubule-based movement, the Hedgehog signaling pathway, and the ubiquitin-proteasome degradation pathway. Survival analysis demonstrated that high *TTK* expression was a common adverse prognostic factor in all three ductal carcinomas (breast ductal carcinoma: P=0.045; pancreatic ductal adenocarcinoma: P=0.006; cholangiocarcinoma: P=0.073). Moreover, *TTK* exhibited significant overexpression with $\log_2$fold-change ($\log_2FC$) values of 4.73 (P<0.001) in breast ductal carcinoma, 3.65 (P<0.001) in pancreatic ductal adenocarcinoma, and 3.16 (P<0.001) in cholangiocarcinoma. High TTK protein expression was also significantly associated with poor prognosis of patients (P<0.001). Immunofluorescence confirmed TTK localization to the ciliary basal body region. Correlation analysis revealed significant associations between *TTK* expression and multiple core ciliary genes. **Conclusion** *TTK* overexpression localizes to the basal body region, perturbs normal ciliogenesis, and consequently contributes to ciliary loss in ductal carcinoma. Targeted inhibition of *TTK* may represent a novel therapeutic approach to restoring ciliary function and impeding the progression of ductal carcinomas.

【**Keywords**】TTK protein kinase; Primary cilia; Breast carcinoma; Pancreatic carcinoma; Cholangiocarcinoma

0 引言

初级纤毛是以微管为基础的细胞表面突起，广泛存在于哺乳动物细胞的静息期和分化细胞中[1]，常见于导管上皮细胞（如胆管、胰管、乳腺导管、肾小管）、软骨细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞及神经元。其结构起源于母中心粒衍生形成的基体，并延伸形成由9组二联微管构成的轴丝，外包纤毛膜[2]。尽管初级纤毛仅占据细胞表面积的微小区域，但其膜上富集了多种信号通路受体（如G蛋白偶联受体、受体酪氨酸激酶）、离子通道及下游效应器，使其成为感知胞外信号的关键枢纽[3]。初级纤毛的结构或功能异常与多种人类疾病相关[4-5]。

作为信号枢纽，初级纤毛在细胞周期进程中受到动态调控。在正常细胞中，纤毛形成与细胞周期紧密偶联，其存在可阻止细胞从静息期进入有丝分裂，反映了纤毛发生与细胞周期的双向调控关系[1,6-7]。然而，初级纤毛在肿瘤发生中的作用仍存在争议。既往研究[8-10]表明，包括胰腺导管腺癌、乳腺癌和胆管癌在内的多种导管源性恶性肿瘤普遍存在纤毛缺失现象。值得注意的是，在导管癌模型中恢复纤毛形成可显著抑制肿瘤的发生和进展[11]。

本研究通过整合生物信息学分析与实验验证，旨在探究导管癌中初级纤毛缺失的机制。我们鉴定出苏氨酸/酪氨酸激酶（Threonine Tyrosine Kinase，TTK）在导管癌中异常高表达，通过生物信息学筛选将其作为纤毛缺失的候选驱动因子。TTK通过抑制纤毛形成发挥作用，其过表达可能是导管癌细胞纤毛缺失的关键原因。该发现不仅揭示了导管癌中纤毛缺失的新机制，为理解其发病机制提供了新视角，也提示了潜在的治疗干预靶点。

1 材料与方法

1.1 原始数据

转录组数据：从癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）数据库（https://portal.gdc.

cancer.gov）获取RNA-测序数据。乳腺癌样本：1 081例患者，经病理亚型筛选后，保留993例乳腺导管癌样本。胰腺癌样本：178例患者中筛选获得142例胰腺导管腺癌样本。胆管癌样本：44例患者数据，包含35例肿瘤样本及9例配对的癌旁组织样本。

正常组织数据：从基因型–组织表达（Genotype-Tissue Expression，GTEx）数据库（https://gtexportal.org/home/datasets）获取465例正常乳腺组织和346例正常胰腺组织的RNA测序数据。

数据处理：RNA-测序原始计数数据采用DESeq2进行标准化处理，并利用limma包校正批次效应。

纤毛相关基因集：303个纤毛组分基因来源于Syscilia数据库[12]。121个纤毛调控基因基于文献[13]整理获得。

1.2 差异表达分析

使用R语言limma包进行差异表达分析。对比组设置：乳腺导管癌（n=993）与GTEx正常乳腺组织（n=465）。胰腺导管腺癌（n=142）与GTEx正常胰腺组织（n=346）。胆管癌（n=35）与TCGA癌旁组织（n=9）。显著差异表达基因（Differentially Expressed Genes，DEGs）筛选标准：$|\log_2 FC|>1$且错误发现率（False Discovery Rate，FDR）<0.05。

1.3 热图可视化

使用R语言pheatmap包对3类导管癌中鉴定出的显著DEGs绘制热图。

1.4 基因本体论（Gene Ontology，GO）与京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析

使用R语言clusterProfiler、enrichplot和ggplot2包对显著差异表达的纤毛相关基因（包括纤毛组分基因和调控基因）进行GO和KEGG通路富集分析。显著富集标准：P<0.05且FDR<0.05。

1.5 生存分析

使用R语言survival和survminer包进行总生存期分析，并绘制Kaplan-Meier生存曲线。采用时序检验评估组间生存差异的统计学显著性（P<0.05视为差异具有统计学意义）。

1.6 COX回归分析

使用R语言survival包进行单因素Cox比例风险回归分析。

1.7 临床样本

组织芯片：130例乳腺癌样本（HBreD130Su09，上海芯超生物科技有限公司，中国），90例胆管癌样本（HIBDA180SU01，上海芯超生物科技有限公司，中国）。

1.8 伦理合规性

本研究方案经上海芯超科技有限公司生物医学伦理委员会审查批准（批准号：SHYJS-CP-1701016；SHYJS-CP-1904012）。本研究遵循《赫尔辛基宣言》原则。所有样本采集前均获得患者的书面知情同意书。

1.9 细胞系

人肾小管上皮细胞（Human Renal Tubular Epithelial Cells，HK-2）购自中国科学院细胞库。细胞株经支原体检测和短串联重复序列鉴定，培养于含10%胎牛血清（AUS01S02，Cell-Box，中国）和1%青/链霉素（G4003，Servicebio，中国）的DMEM培养基（C11995500BT，Gibco，美国），置于37℃、5%CO_2培养。

1.10 免疫组化（Immunohistochemistry，IHC）

TMA切片经脱蜡、水化及抗原热修复处理。与一抗孵育：兔抗TTK多克隆抗体1∶100稀释（10381-1-AP，武汉三鹰生物技术有限公司，中国），4℃过夜。使用免疫显色试剂盒（2404289710C，MXB Biotechnologies，中国）进行显色。苏木素染色液（ZLI-9610，北京中杉金桥生物技术有限公司，中国）复染、脱水、透明后封片。显微镜下采集图像，使用Image J软件计算平均光密度（Average Optical Density，AOD）定量染色强度。

1.11 免疫荧光

细胞固定与透化：细胞经4%多聚甲醛（BL539A，Biosharp，中国）固定、0.1% Triton X-100（GC204003，Servicebio，中国）透化处理。使用QuickBlock™免疫染色封闭液（P0260，碧云天生物技术有限公司，中国）封闭。4℃过夜孵育一抗：鼠抗ADP核糖基化因子样GTP酶13B（ADP-Ribosylation Factor Like GTPase 13B，ARL13B）抗体1∶100（66739-1-Ig，武汉三鹰生物技术有限公司，中国）、兔抗TTK抗体1∶200（10381-1-AP，武汉三鹰生物技术有限公司，中国）。洗涤后，与荧光标记的二抗分别为兔抗Alexa Fluor® 488（ab150077，Abcam，中国）与鼠抗Alexa Fluor® 594（ab150116，Abcam，中国）室温避光孵育1 h。封片与成像：DAPI核染色剂（C0060，Solarbio，中国）复染细胞核。使用Zeiss LSM 880激光共聚焦显微镜（配备63×油镜，数值孔径=1.4）采集图像。

1.12 数据可用性

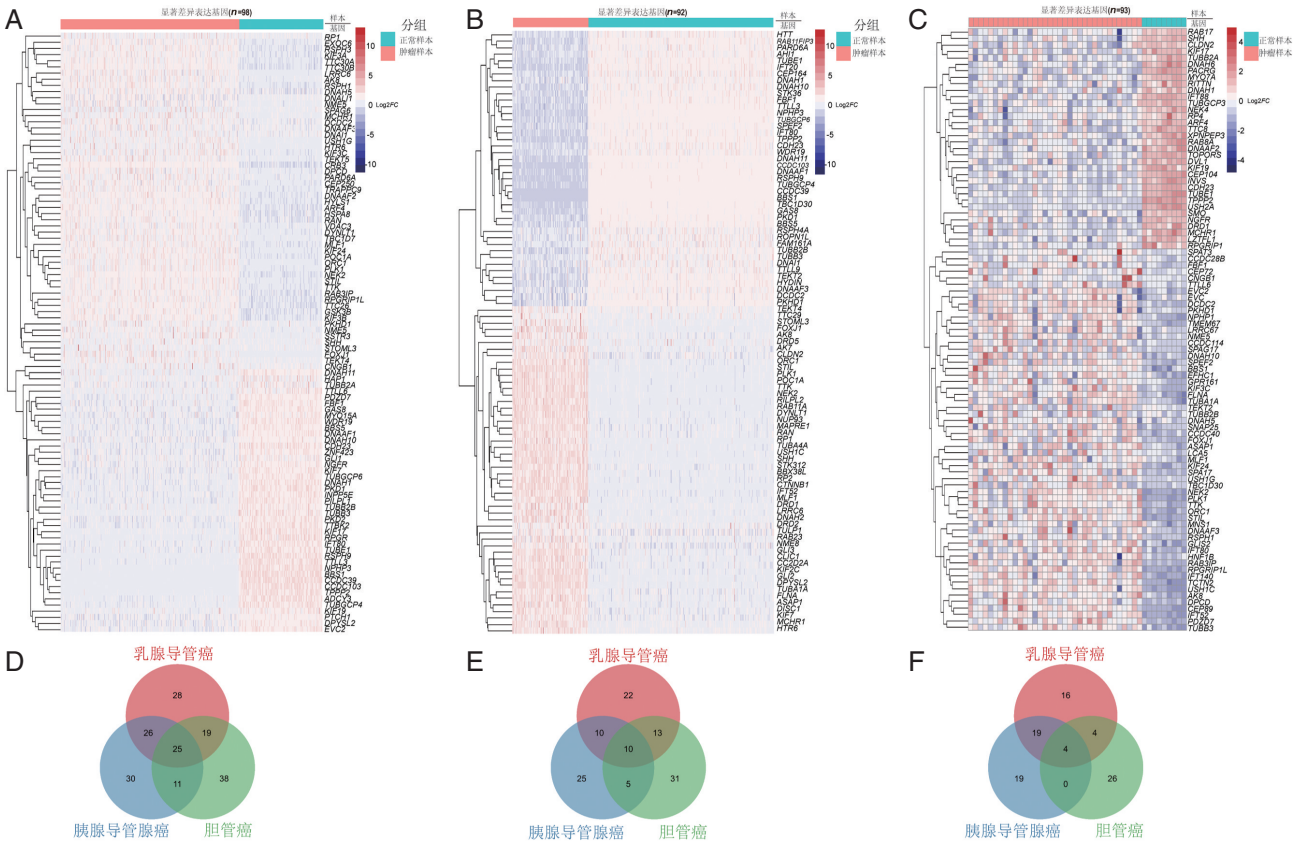
本研究使用的数据集公开存储于TCGA（https://portal.gdc.cancer.gov）和GTEx数据库。

2 结果

2.1 导管癌中纤毛相关基因的差异表达

为探究肿瘤组织中初级纤毛基因的表达情况，我们整合了纤毛相关基因集：从Syscilia数据库[12]获取303个纤毛结构成分基因（简称“纤毛成分基因”）；基于文献[13]整理121个纤毛发生调控基因（简称“纤毛调控基因”）。从TCGA数据库获取乳腺癌（1 081例）、胰腺癌（178例）和胆管癌（35例）的转录组数据，经病理亚型筛选后纳入乳腺导管癌（993例）和胰腺导管腺癌（142例）。正常组织数据来自GTEx数据库（乳腺465例，胰腺346例）。胆管癌的正常对照取自TCGA癌旁组织（n=9）。通过标准化生物信息学处理最小化批次效应。

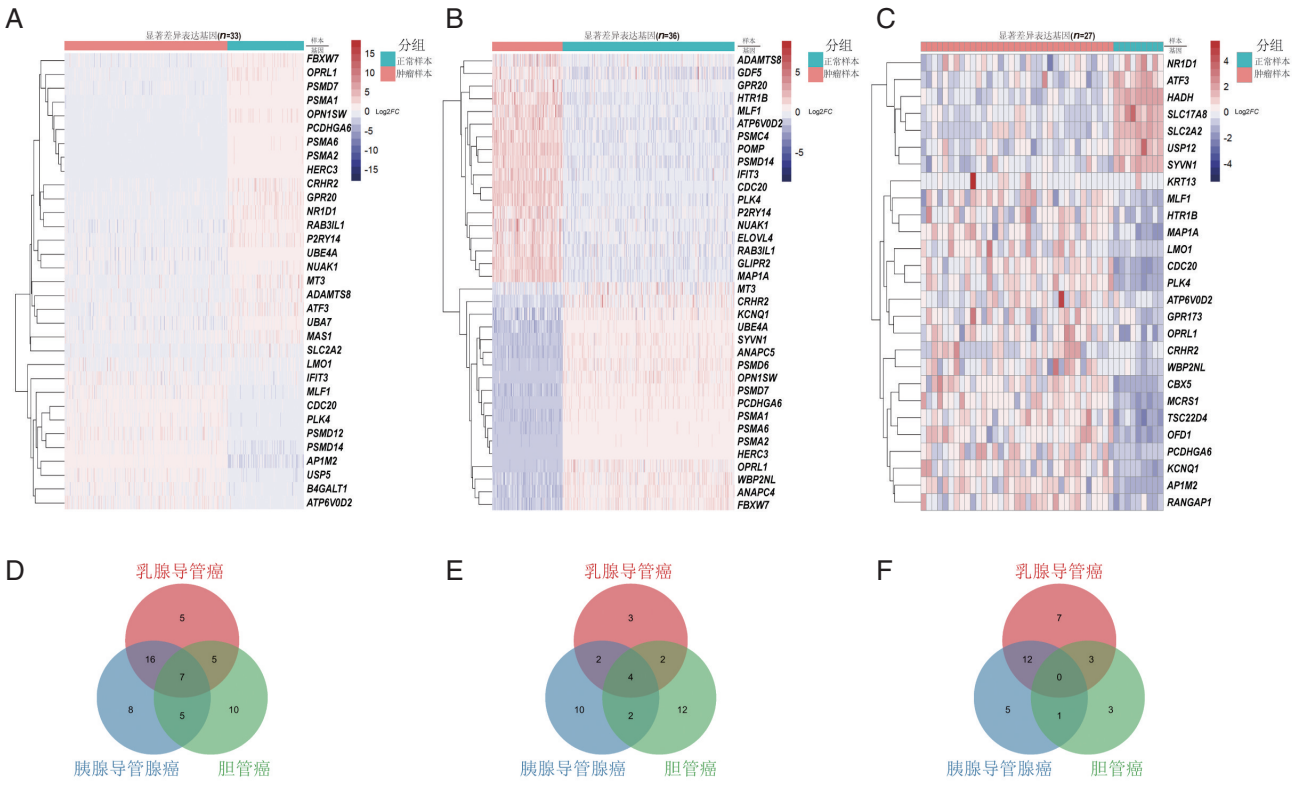
通过肿瘤组织与对应正常/癌旁组织的比较（FDR<0.05，$|\log_2FC|>1$），鉴定出显著差异表达的纤毛相关基因：乳腺导管癌（TCGA）与正常乳腺组织（GTEx）对比得到98个差异纤毛成分基因和33个纤毛调控基因。为简洁呈现，表中仅展示$|\log_2FC|>2$的基因（纤毛成分基因见图1A，表1，调控基因见图2A，表2）。类似地，胰腺导管腺癌（TCGA）与正常胰腺组织（GTEx）对比得到92个差异纤毛成分基因和36个调控基因，表中仅展示$|\log_2FC|>2$的基因（见图1B和表3，图2B和表4）。胆管癌（TCGA）与癌旁组织对比得到93个差异纤毛成分基因和27个调控基因，表中仅展示$|\log_2FC|>2$的基因（见图1C和表5，图2C和表6）。韦恩图分析揭示了3类导管源性肿瘤（乳腺导管癌、胰腺导管腺癌、胆管癌）的差异基因交集：25个纤毛成分基因在3类肿瘤中共同差异表达（见图1D，表7），含10个共同上调（见图1E，表7）和4个共同下调基因（见图1F，表7）。7个纤毛调控基因在3类肿瘤中共同差异表达（见图2D，表8），含4个共同上调基因（见图2E，表8），无共同下调基因。



A：乳腺导管癌与正常乳腺差异纤毛成分基因热图（Wilcoxon秩和检验，FDR<0.05，$|\log_2FC|>1$）；B：胰腺导管腺癌与正常胰腺差异纤毛成分基因热图（标准同A）；C：胆管癌与癌旁组织差异纤毛成分基因热图（标准同A）；D：3类导管癌共同差异纤毛成分基因韦恩图（FDR<0.05，$|\log_2FC|>1$）；E：3类导管癌共同上调纤毛成分基因韦恩图（FDR<0.05，$\log_2FC>1$）；F：3类导管癌共同下调纤毛成分基因韦恩图（FDR<0.05，$\log_2FC<1$）。图D~F中，数字表示交集基因数目。

图1 3类导管癌中纤毛成分基因的差异表达分析

Figure 1 Differential expression analysis of ciliary components in three ductal carcinomas



A：乳腺导管癌与正常乳腺差异纤毛调控基因热图（Wilcoxon秩和检验，FDR<0.05，|$\log_2FC$|>1）；B：胰腺导管腺癌与正常胰腺差异纤毛调控基因热图（标准同A）；C：胆管癌与癌旁组织差异纤毛调控基因热图（标准同A）；D：3类导管癌共同差异纤毛调控基因韦恩图（FDR<0.05，|$\log_2FC$|>1）；E：3类导管癌共同上调纤毛调控基因韦恩图（FDR<0.05，$\log_2FC$>1）；F：3类导管癌共同下调纤毛调控基因韦恩图（FDR<0.05，$\log_2FC$<1）。图D~F中，数字表示交集基因数目。

图2　3类导管癌中纤毛调控基因的差异表达分析

Figure 2　Differential expression analysis of ciliogenesis regulators in three ductal carcinomas

表1　乳腺导管癌中差异表达的纤毛成分基因

Table 1　Differentially expressed ciliary components in breast ductal carcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	$\log_2FC$	$\log_2$的标准误	*P*值	校正后*P*值
FOXJ1	1 119.20	6.29	0.15	<0.01	<0.01
NEK2	4 651.48	6.26	0.08	<0.01	<0.01
TTK	2 955.64	4.73	0.07	<0.01	<0.01
HTR6	82.01	3.23	0.12	<0.01	<0.01
USH1G	56.83	3.13	0.14	<0.01	<0.01
PLK1	4 651.53	3.05	0.06	<0.01	<0.01
ORC1	1 278.28	3.02	0.06	<0.01	<0.01
RSPH1	1 374.02	2.96	0.07	<0.01	<0.01
STIL	3 330.80	2.89	0.05	<0.01	<0.01
SPAG6	970.14	2.78	0.16	<0.01	<0.01
SSTR3	65.35	2.77	0.15	<0.01	<0.01
POC1A	2 403.52	2.64	0.04	<0.01	<0.01
CRB3	2 865.87	2.55	0.08	<0.01	<0.01
TEKT5	158.75	2.36	0.08	<0.01	<0.01

续表

差异表达基因	标准化平均表达量	log_2FC	log_2的标准误	*P*值	校正后*P*值
MCHR1	230.02	2.33	0.10	<0.01	<0.01
LRRC6	2 669.63	2.23	0.06	<0.01	<0.01
DNAAF1	2 043.82	-2.05	0.07	<0.01	<0.01
DNAH1	4 543.94	-2.22	0.04	<0.01	<0.01
RPGR	4 928.93	-2.25	0.04	<0.01	<0.01
PKD1	23 806.27	-2.26	0.04	<0.01	<0.01
KIF17	872.03	-2.37	0.05	<0.01	<0.01
CDH23	3 554.73	-2.40	0.06	<0.01	<0.01
ADCY3	18 458.71	-2.83	0.04	<0.01	<0.01
TUBB3	362.18	-3.10	0.08	<0.01	<0.01
NPHP3	6 534.16	-3.71	0.03	<0.01	<0.01
TTLL3	13 605.86	-3.77	0.04	<0.01	<0.01
RSPH9	1 246.30	-3.85	0.06	<0.01	<0.01
TPPP2	320.75	-5.78	0.11	<0.01	<0.01
BBS1	3 371.69	-6.07	0.04	<0.01	<0.01
CCDC103	176.37	-8.27	0.08	<0.01	<0.01
CCDC39	1 614.25	-14.33	0.18	<0.01	<0.01

表2　乳腺导管癌中差异表达的纤毛调控基因

Table 2　Differentially expressed ciliogenesis regulators in breast ductal carcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	log_2FC	log_2的标准误	*P*值	校正后*P*值
CDC20	6 658.58	4.24	0.07	<0.01	<0.01
AP1M2	19 592.26	2.81	0.09	<0.01	<0.01
ATP6V0D2	189.98	2.59	0.14	<0.01	<0.01
PLK4	2 099.55	2.34	0.05	<0.01	<0.01
GPR20	98.48	-2.32	0.07	<0.01	<0.01
SLC2A2	3.13	-2.36	0.31	<0.01	<0.01
PSMA1	8 983.37	-2.76	0.03	<0.01	<0.01
OPRL1	275.46	-2.83	0.06	<0.01	<0.01
NR1D1	15 420.27	-3.10	0.06	<0.01	<0.01
CRHR2	210.96	-3.26	0.07	<0.01	<0.01
PSMA6	6 185.42	-4.24	0.03	<0.01	<0.01
PCDHGA6	11 763.12	-5.83	0.05	<0.01	<0.01
OPN1SW	125.74	-6.08	0.08	<0.01	<0.01
PSMA2	5 661.34	-6.61	0.04	<0.01	<0.01
HERC3	9 534.48	-8.86	0.04	<0.01	<0.01

表3 胰腺导管中差异表达的纤毛成分基因

Table 3 Differentially expressed ciliary components in pancreatic ductal adenocarcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	$\log_2FC$	$\log_2$的标准误	*P*值	校正后*P*值
SHH	5 783.86	5.44	0.17	<0.01	<0.01
RP1	389.62	5.33	0.41	<0.01	<0.01
NEK2	2 521.82	5.27	0.21	<0.01	<0.01
STOML3	42.08	3.95	0.53	<0.01	<0.01
DRD1	654.29	3.83	0.21	<0.01	<0.01
TTK	1 686.39	3.65	0.11	<0.01	<0.01
USH1C	28 551.95	3.51	0.08	<0.01	<0.01
FOXJ1	3 386.40	3.34	0.12	<0.01	<0.01
HTR6	68.95	3.32	0.36	<0.01	<0.01
MCHR1	153.57	3.12	0.32	<0.01	<0.01
DNAH2	4 705.45	3.04	0.11	<0.01	<0.01
GLI2	5 065.25	3.02	0.09	<0.01	<0.01
POC1A	2 774.48	2.83	0.06	<0.01	<0.01
CLDN2	59 122.55	2.70	0.17	<0.01	<0.01
GLI1	4 306.08	2.56	0.12	<0.01	<0.01
PLK1	6 676.50	2.36	0.06	<0.01	<0.01
TTC29	26.38	2.18	0.43	<0.01	<0.01
KIF3C	8 302.69	2.09	0.06	<0.01	<0.01
STIL	3 632.13	2.09	0.05	<0.01	<0.01
ORC1	1 365.66	2.02	0.07	<0.01	<0.01
TUBB3	2 958.63	-2.21	0.11	<0.01	<0.01
TUBGCP4	33 675.48	-2.28	0.02	<0.01	<0.01
TTLL3	57 482.67	-2.29	0.06	<0.01	<0.01
IFT20	61 298.06	-2.41	0.06	<0.01	<0.01
CDH23	33 205.42	-2.69	0.08	<0.01	<0.01
NPHP3	36 021.10	-2.89	0.05	<0.01	<0.01
DNAH11	9 316.01	-3.24	0.09	<0.01	<0.01
RSPH9	7 298.46	-3.47	0.04	<0.01	<0.01
DNAAF1	8 599.85	-3.84	0.07	<0.01	<0.01
TBC1D30	30 644.68	-3.94	0.06	<0.01	<0.01
TPPP2	1 179.98	-4.62	0.09	<0.01	<0.01
BBS1	27 341.46	-6.21	0.03	<0.01	<0.01
CCDC103	1 365.10	-8.49	0.23	<0.01	<0.01
CCDC39	9 669.19	-14.08	0.58	<0.01	<0.01

表4 胰腺导管腺癌中差异表达的纤毛调控基因

Table 4 Differentially expressed ciliogenesis regulators in pancreatic ductal adenocarcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	log_2FC	log_2的标准误	*P*值	校正后*P*值
CDC20	4 854.48	4.39	0.11	<0.01	<0.01
HTR1B	507.97	3.52	0.21	<0.01	<0.01
ATP6V0D2	258.12	3.18	0.24	<0.01	<0.01
P2RY14	710.23	2.43	0.16	<0.01	<0.01
GPR20	495.80	2.25	0.15	<0.01	<0.01
GLIPR2	10 867.13	2.21	0.08	<0.01	<0.01
MAP1A	13 726.90	2.19	0.08	<0.01	<0.01
IFIT3	16 022.66	2.16	0.08	<0.01	<0.01
PLK4	1 757.92	2.05	0.07	<0.01	<0.01
SYVN1	205 432.30	-2.04	0.04	<0.01	<0.01
UBE4A	70 973.01	-2.15	0.04	<0.01	<0.01
PSMA1	42 846.34	-2.36	0.03	<0.01	<0.01
PSMD6	208 386.60	-2.76	0.06	<0.01	<0.01
CRHR2	2 906.25	-3.79	0.14	<0.01	<0.01
PSMA6	31 073.03	-3.87	0.03	<0.01	<0.01
OPRL1	2 321.52	-4.47	0.10	<0.01	<0.01
PCDHGA6	42 162.90	-4.81	0.05	<0.01	<0.01
OPN1SW	542.92	-5.92	0.16	<0.01	<0.01
PSMA2	39 509.74	-6.38	0.04	<0.01	<0.01
HERC3	57 896.64	-7.91	0.04	<0.01	<0.01

表5 胆管癌中差异表达的纤毛成分基因

Table 5 Differentially expressed ciliary components in cholangiocarcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	log_2FC	log_2的标准误	*P*值	校正后*P*值
FOXJ1	738.02	4.90	0.77	<0.01	<0.01
USH1C	4 307.27	4.81	0.46	<0.01	<0.01
CNGB1	39.73	4.79	0.80	<0.01	<0.01
SSTR3	10.69	4.59	1.04	<0.01	<0.01
NEK2	343.19	4.54	0.44	<0.01	<0.01
SPAG17	102.35	4.11	0.83	<0.01	<0.01
USH1G	7.10	3.72	1.62	<0.01	<0.01
DCDC2	8 765.37	3.56	0.57	<0.01	<0.01
TUBB3	28.23	3.53	0.69	<0.01	<0.01
PLK1	477.66	3.48	0.41	<0.01	<0.01
TTK	163.12	3.16	0.45	<0.01	<0.01
TTLL6	76.07	3.05	0.97	<0.01	<0.01
KIF3C	1 084.18	2.92	0.50	<0.01	<0.01
ORC1	197.20	2.86	0.38	<0.01	<0.01

续表

差异表达基因	标准化平均表达量	$\log_2FC$	$\log_2$的标准误	*P*值	校正后*P*值
SNAP25	1 152.49	2.73	0.53	<0.01	<0.01
STIL	387.68	2.68	0.32	<0.01	<0.01
PDZD7	65.88	2.65	0.48	<0.01	<0.01
CCDC114	71.33	2.60	0.67	<0.01	<0.01
AK8	63.62	2.44	0.46	<0.01	<0.01
TCTN2	719.12	2.41	0.29	<0.01	<0.01
KIF19	38.33	-2.37	0.51	<0.01	<0.01
PACRG	64.99	-2.50	0.47	<0.01	<0.01
MCHR1	41.40	-2.51	0.74	<0.01	<0.01
DRD1	37.98	-2.63	0.75	<0.01	<0.01
DNAH6	163.63	-2.81	0.38	<0.01	<0.01
TUBE1	936.82	-3.09	0.26	<0.01	<0.01
CDH23	416.42	-3.46	0.49	<0.01	<0.01
TPPP2	92.84	-5.85	0.48	<0.01	<0.01
USH2A	723.91	-6.89	0.40	<0.01	<0.01

表6　胆管癌中差异表达的纤毛调控基因

Table 6　Differentially expressed ciliogenesis regulators in cholangiocarcinoma

差异表达基因	标准化平均表达量	$\log_2FC$	$\log_2$的标准误	*P*值	校正后*P*值
LMO1	12.84	5.37	1.52	<0.01	<0.01
CDC20	685.91	4.54	0.42	<0.01	<0.01
AP1M2	1 815.96	4.47	0.52	<0.01	<0.01
KCNQ1	1 494.91	3.00	0.47	<0.01	<0.01
PLK4	173.40	2.43	0.31	<0.01	<0.01
MAP1A	284.71	2.00	0.37	<0.01	<0.01
HADH	3 494.64	-2.91	0.23	<0.01	<0.01
SLC17A8	7.97	-3.63	0.67	<0.01	<0.01
SLC2A2	10 941.38	-4.80	0.88	<0.01	<0.01

表7　3类导管癌中显著差异表达的纤毛成分基因

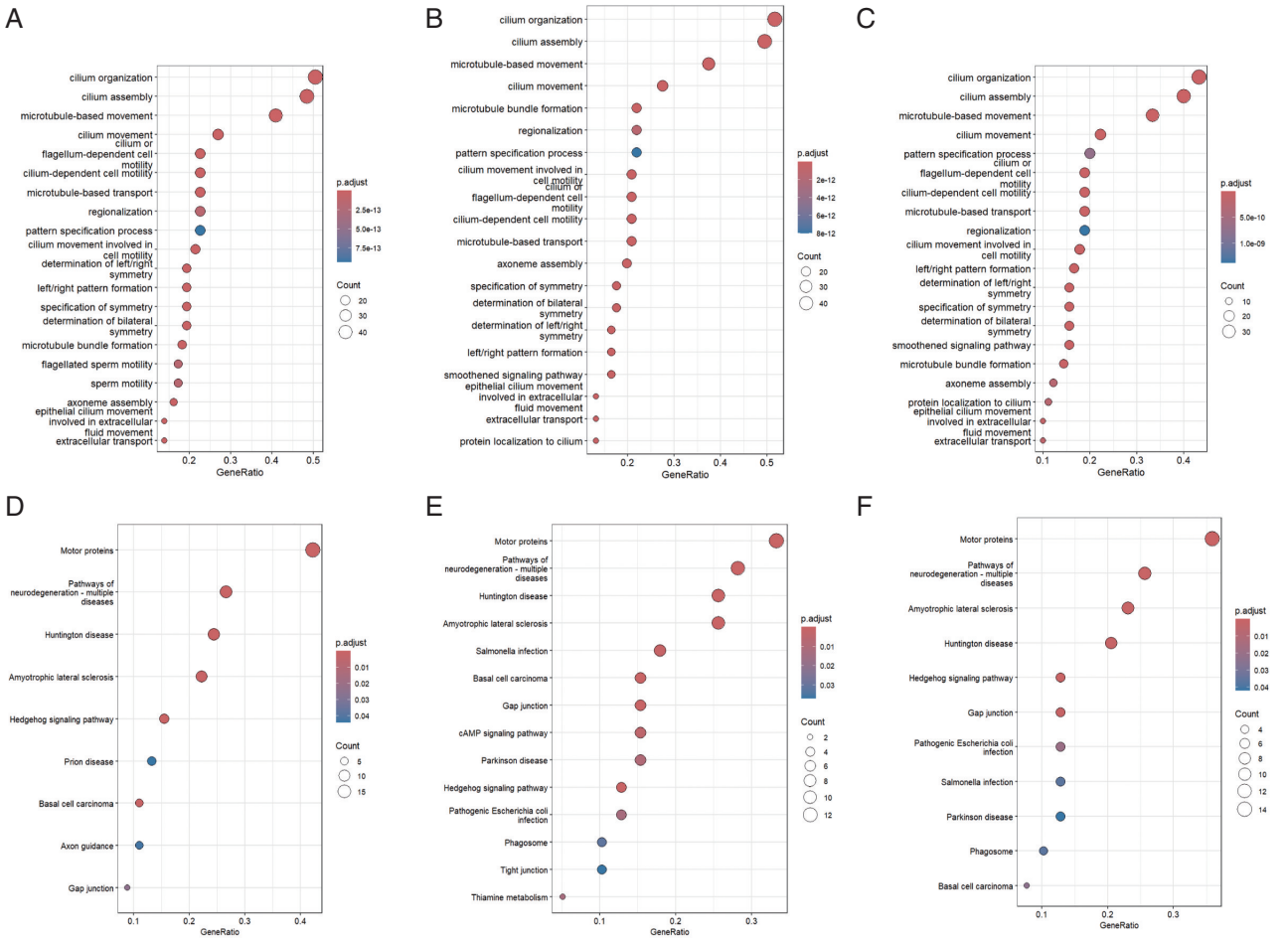
Table 7　Significantly differentially expressed ciliary components in three ductal carcinomas

共有DEGs	*AK8*	*BBS1*	*CDH23*	*DCDC2*	*DNAAF3*	*DNAH1*	*DNAH10*	*FBF1*	*FOXJ1*	*IFT80*	*KIF3C*	*LRRC6*	*MCHR1*
	MLF1	*NEK2*	*ORC1*	*PKHD1*	*PLK1*	*SHH*	*STIL*	*TPPP2*	*TTK*	*TUBB2B*	*TUBB3*	*TUBE1*	
共同上调DEGs	*KIF3C*	*AK8*	*MLF1*	*LRRC6*	*STIL*	*ORC1*	*PLK1*	*TTK*	*NEK2*	*FOXJ1*			
共同下调DEGs	*TPPP2*	*CDH23*	*DNAH1*	*TUBE1*									

表8　3类导管癌中显著差异表达的纤毛调控基因

Table 8　Significantly differentially expressed ciliogenesis regulators in three ductal carcinomas

共有DEGs	*MLF1*	*ATP6V0D2*	*CDC20*	*CRHR2*	*OPRL1*	*PCDHGA6*	*PLK4*
共同上调DEGs	*MLF1*	*PLK4*	*ATP6V0D2*	*CDC20*			



A：乳腺导管癌差异纤毛成分基因的GO富集分析（P<0.05，FDR<0.05）；B：胰腺导管腺癌差异纤毛成分基因的GO富集分析（标准同A）；C：胆管癌差异纤毛成分基因的GO富集分析（标准同A）；D：乳腺导管癌差异纤毛成分基因的KEGG通路富集分析（标准同A）；E：胰腺导管腺癌差异纤毛成分基因的KEGG富集分析（标准同A）；F：胆管癌差异纤毛成分基因的KEGG富集分析（标准同A）

图3　3类导管癌差异纤毛成分的GO/KEGG富集分析

Figure 3　GO and KEGG enrichment analysis of differential ciliary components in three ductal carcinomas

2.2　差异表达基因的功能富集分析

对3类导管癌中显著失调的纤毛成分基因进行GO和KEGG通路富集分析。纤毛组分基因：GO分析显示在3类导管癌中共同显著富集于纤毛成分、纤毛组装和微管运动等生物学过程（见图3A~3C），表明这些基因主要参与维持纤毛结构完整性和组装过程。KEGG分析显示这些基因主要富集于运动蛋白、神经退行性疾病和亨廷顿病相关通路且富集于刺猬信号通路，其异常激活与多种肿瘤密切相关（见图3D~3F）。

纤毛调控基因：GO分析显示，显著富集于泛素依赖性蛋白酶体降解过程（见图4A~4C），提示泛素–蛋白酶体系统参与纤毛发生的调控。KEGG分析显示主要富集于蛋白酶体、神经退行性疾病及帕金森病相关通路（见图4D~4E）。

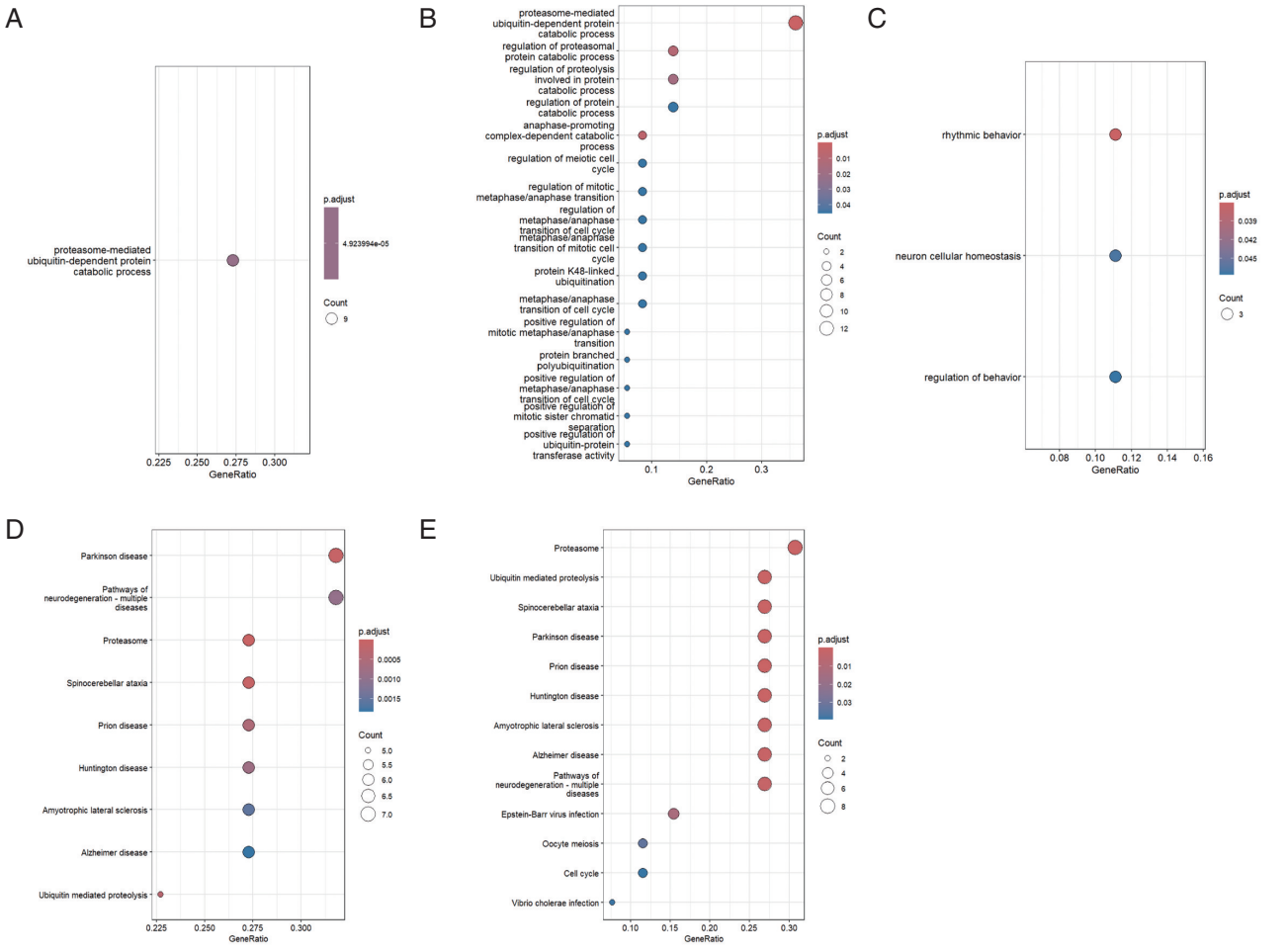
2.3　*TTK*作为关键预后因子的鉴定

对3类导管癌中显著失调的纤毛相关基因进行单变量Cox回归分析，发现*TTK*在所有癌种中均表现为显著风险因子（见图5A~5C）。在3类导管癌中按中位表达量将患者分为*TTK*高/低表达组，生存分析显示，*TTK*低表达组生存期显著延长（见图5D~5F）。胆管癌虽因样本量小（n=35）未达显著差异（P=0.073），但趋势一致支持*TTK*的预后价值。

2.4　*TTK*介导纤毛抑制的实验验证

基于上述生物信息学分析提示，*TTK*是关键的不良预后因子，我们进一步通过实验探究其分子功能。TTK作为双特异性激酶，是纺锤体组装检验点的核心组分，参与调控染色体精确分离[14-20]。该蛋白在多种癌症中过表达[21-25]，并可驱动中心粒过度复制[16,26]。研究[27-28]发现，*TTK*过表达可促进纤毛解离并抑制增殖细胞的纤毛形成，直接关联了TTK与纤毛动态调控。

为明确TTK的亚细胞定位，在HK-2细胞中进行TTK与纤毛标志物ARL13B的免疫荧光共染色（HK-2细胞是肾小管上皮细胞的代表，具有高效且可重复的纤毛形成能力，且其贴壁生长的特性和形



A：乳腺导管癌差异纤毛调控基因的GO富集分析（P<0.05，FDR<0.05）；B：胰腺导管腺癌差异纤毛调控基因的GO富集分析（标准同A）；C：胆管癌差异纤毛调控基因的GO富集分析（标准同A）；D：乳腺导管癌差异纤毛调控基因的KEGG通路富集分析（标准同A）；E：胰腺导管腺癌差异纤毛调控基因的KEGG富集分析（标准同A）；F：胆管癌差异纤毛调控基因的KEGG富集分析（标准同A）

图4　3类导管癌差异纤毛调控基因的GO/KEGG富集分析

Figure 4　GO and KEGG enrichment analysis of differential ciliogenesis regulators in three ductal carcinomas

态扁平的特点，十分便于在共聚焦显微镜下清晰地观察和拍摄初级纤毛）。结果显示，TTK特异性共定位于初级纤毛的基体区（见图6A），支持其直接参与纤毛功能调控。

基于*TTK*在纤毛动态调控中的潜在作用，我们通过组织芯片分析胆管癌和乳腺癌临床样本的TTK蛋白表达，在胆管癌（n=90配对样本）中IHC结果证实，肿瘤组织*TTK*表达显著高于癌旁组织（见图6B、6D），且*TTK*高表达提示不良预后（见图6C）。在乳腺导管癌（n=130）中IHC结果显示，*TTK*高表达与导管结构紊乱相关（见图6E），且患者总生存期显著缩短（见图6F）。

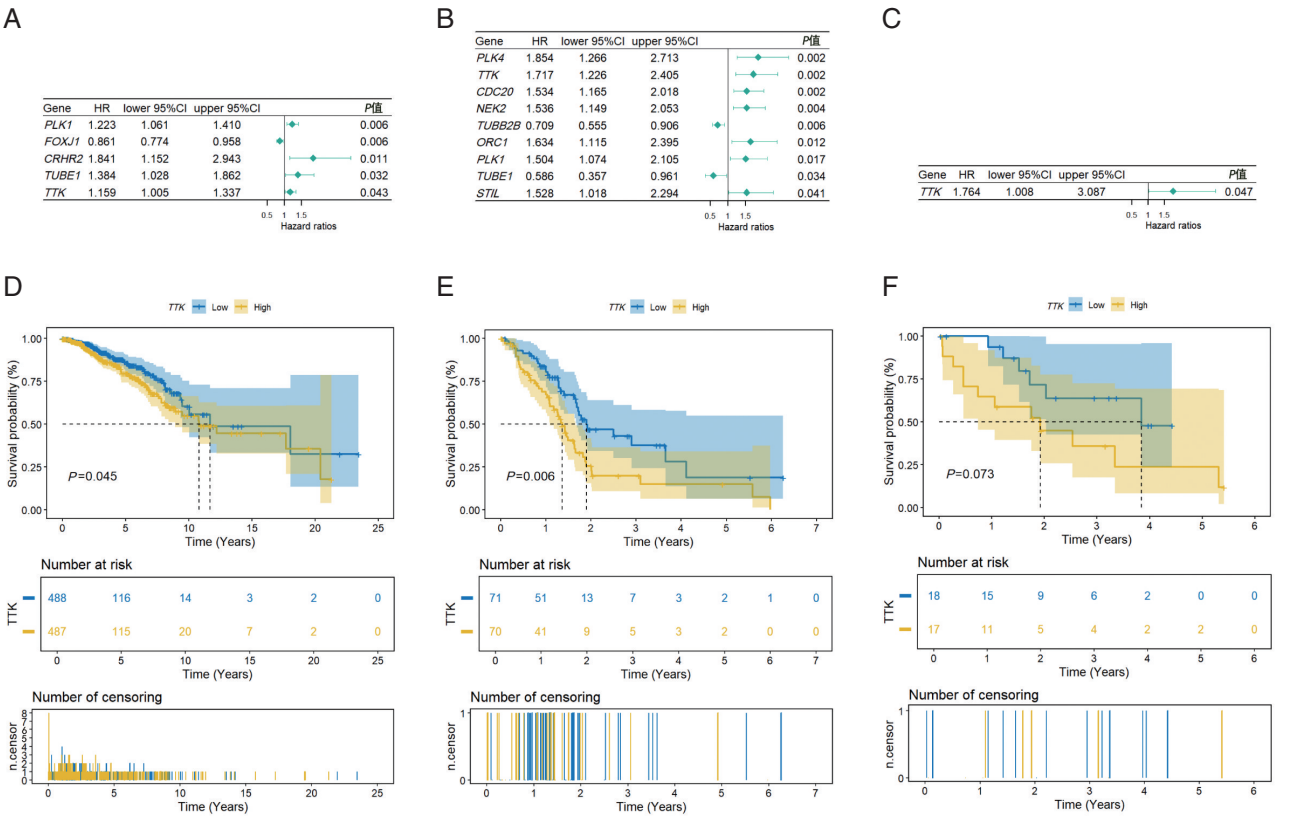
2.5　*TTK*与纤毛形成通路的相关性分析

利用TCGA数据集系统分析3类导管癌中*TTK*表达与关键纤毛结构基因及调控基因的相关性。结果显示，尽管并非所有纤毛相关基因均与*TTK*显著相关，但多个核心纤毛成分基因，例如鞭毛内运输蛋白88、鞭毛内运输蛋白43、RAB26，RAS癌基因家族成员、驱动蛋白家族成员17和调控因子，例如含I型血小板结合蛋白基序的解整合素样金属蛋白酶8、CTD小磷酸酶1、溶质载体家族2成员2、Polo样激酶3与*TTK*表达水平显著相关（见图7）。该结果进一步支持*TTK*在调控导管癌初级纤毛形成中的核心作用。

3　讨论

初级纤毛作为导管上皮细胞的关键抑癌细胞器，通过调控细胞周期进程和信号转导维持组织稳态[29-31]。尽管不同肿瘤类型的纤毛缺失现象存在差异[32]，但有研究[33-35]证实其在导管癌中普遍缺失，尤为重要的是，在导管癌模型中恢复纤毛形成可显著改善预后[11,36]，然而，其缺失的具体机制尚未阐明。

本研究通过比较导管癌与对应正常/癌旁组织



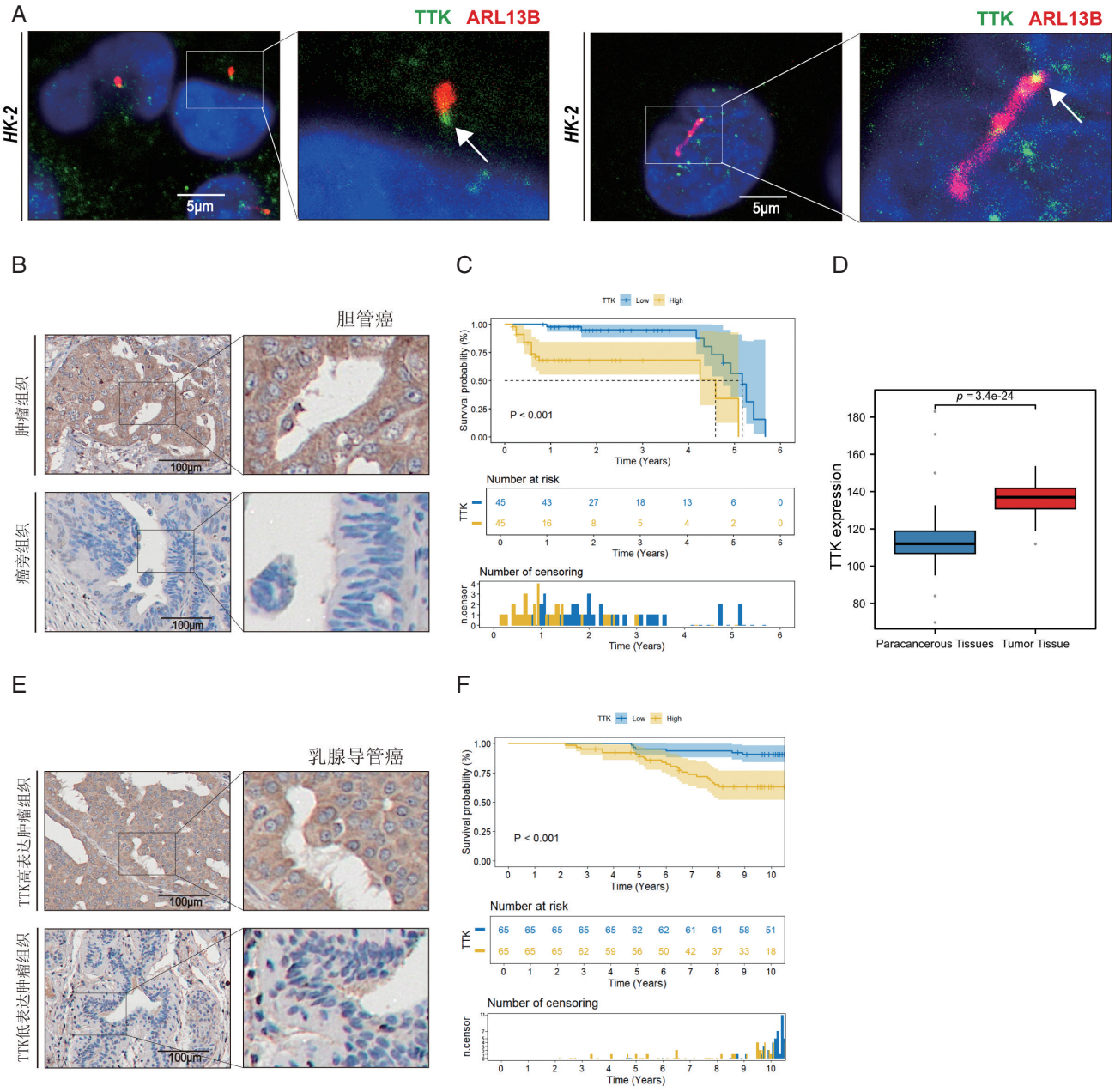
A~C：3类导管癌共同差异纤毛基因的单变量Cox回归（显著预后因子筛选条件：P<0.05）；D：乳腺导管癌按*TTK* mRNA中位表达分组的KM生存曲线（时序检验P=0.045）；E：胰腺导管腺癌按*TTK* mRNA中位表达分组的KM曲线（时序检验P=0.006）；F：胆管癌按TTK mRNA中位表达分组的KM曲线（时序检验P=0.073）。

图5　纤毛基因预后分析及*TTK*的生存意义

Figure 5　Prognostic analysis of ciliary genes and survival significance of *TTK*

的纤毛相关基因表达谱，鉴定出一组显著DEGs。KEGG/GO富集分析揭示：纤毛成分相关DEGs显著富集于纤毛组装、微管蛋白等功能项，并涉及刺猬信号通路（与纤毛通过该通路参与肿瘤发生的作用一致）[37]；纤毛调控相关DEGs主要富集于泛素介导的蛋白酶体降解通路，提示其可能通过泛素依赖性降解影响肿瘤纤毛形成。

预后分析进一步鉴定出，*TTK*作为纤毛相关DEGs中的一个独立不良预后因子，在3类导管癌中均呈现显著过表达，并与不良预后强相关。尽管在胆管癌患者的生存分析中*TTK*的预后价值差异无统计学意义（P>0.05），但其趋势与不良预后一致，可能与胆管癌样本量较小（n=35）有关。基于*TTK*过表达驱动中心粒过度复制[16,26]，以及初级纤毛形成严格依赖中心粒功能的认知[27,38]，我们提出假说：*TTK*驱动的中心粒异常可能直接导致导管癌的纤毛缺失。随后，在肾小管上皮细胞模型HK-2细胞中进行的免疫荧光染色显示，TTK定位于纤毛基体区，虽然增加基体标志物（如γ-tubulin、CEP或Centrin 2）对于精确判定TTK的亚细胞定位具有重要意义。然而，3种蛋白的高质量共定位难以实现。尽管如此，在现有的免疫荧光实验中，能够清晰地观察到TTK信号与ARL13B标记的初级纤毛结构的一端存在共定位。该结果初步明确了TTK在纤毛相关结构中的分布，为其调控作用提供了关键的亚细胞定位证据。此外，在肿瘤中极光激酶A（Aurora Kinase A，Aurora A）、Polo样激酶1（Polo-Like Kinase 1，PLK1）、细胞分裂周期蛋白20（Cell Division Cycle 20，CDC20）、Nim相关激酶2（NimA-related Kinase 2，NEK2）等蛋白激酶所构成的调控网络常常失调，进而促进肿瘤细胞无限增殖并增强侵袭能力[39]。其中，PLK家族成员作为纤毛组成相关因子可激活Aurora A进而促进肿瘤细胞分裂[40]；NEK2可协同Aurora A促使初级纤毛解聚[41]；而CDC20作为细胞周期关键调控蛋白，可间接稳定纤毛抑制因子[42]。相关性分析进一步显示，*TTK*与多个核心纤毛基因（包括*PLK*家族成员、*CDC20*及*NEK2*）的表达显著相关。这些证据共同提示，*TTK*过表达可能是驱动导管癌纤毛缺失的一个重要机制。本研究首次通过整合多组学分析



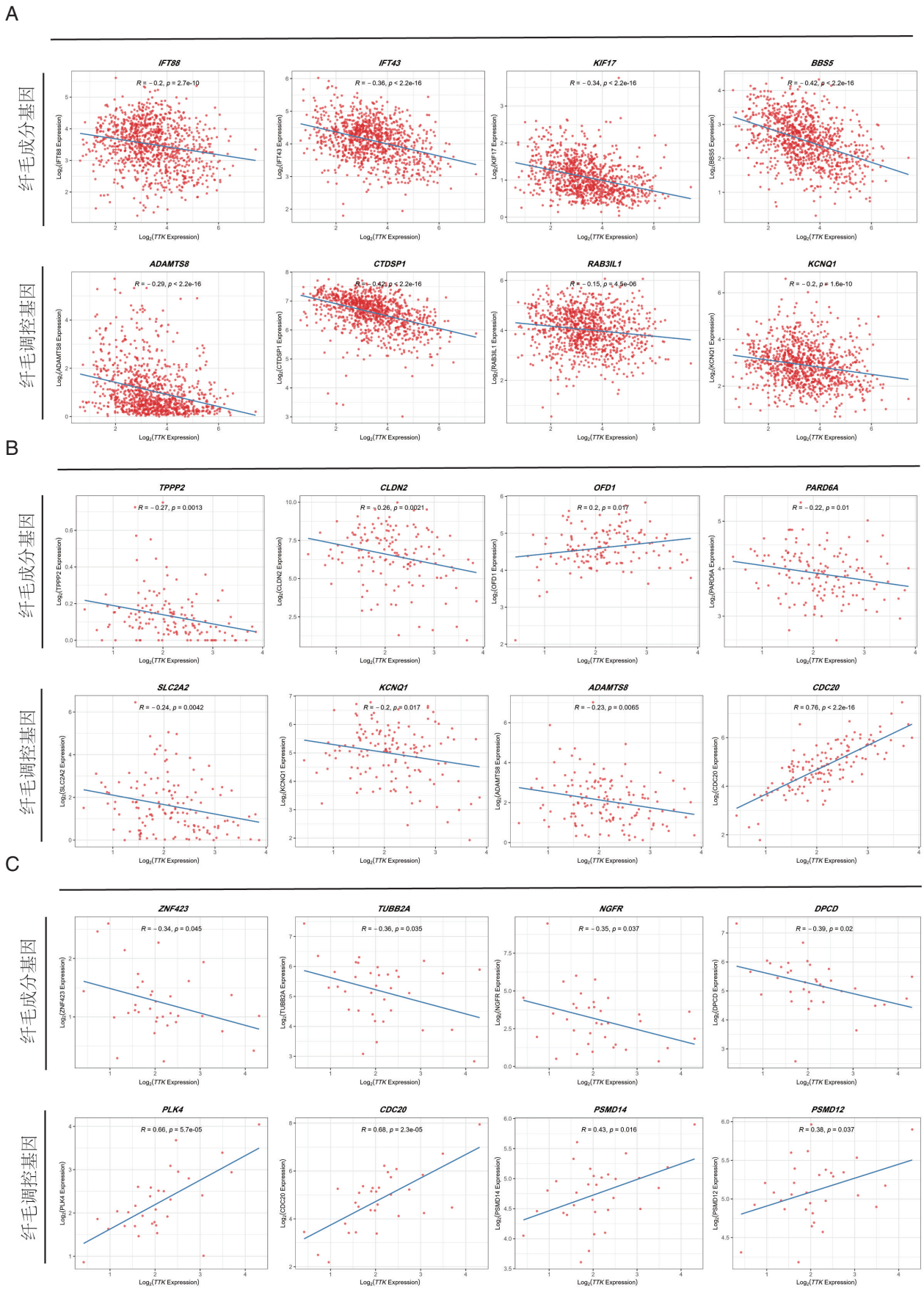
A：HK-2细胞中TTK（绿）与纤毛标志物ARL13B（红）共定位（白箭头示纤毛结构）；B：胆管癌肿瘤组织（上图）与癌旁组织（下图）TTK IHC代表性染色；C：胆管癌患者按TTK蛋白表达（AOD值）分组的KM生存曲线（时序检验P<0.001）；D：胆管癌肿瘤与癌旁组织TTK蛋白表达（AOD值）箱线图（Wilcoxon秩和检验P<0.000 1）；E：乳腺导管癌TTK高表达（上图）与低表达（下图）组织代表性IHC染色；F：乳腺导管癌患者按TTK蛋白表达分组的KM曲线（时序检验P<0.001）。

图6　TTK的纤毛定位及其在导管癌中的预后价值

Figure 6　Ciliary localization of TTK and its prognostic value in ductal carcinomas

（转录组、生存分析、相关性）与组织水平验证（免疫荧光、IHC）系统阐释了*TTK*过表达与导管癌中初级纤毛缺失的显著关联，多项证据表明，*TTK*过表达通过定位于纤毛基体区发挥作用，干扰了纤毛的正常组装，从而影响了导管癌的纤毛缺失。TTK在纤毛基体区的特异性定位（见图6A）为其参与纤毛解离或抑制纤毛组装提供了潜在的分子基础。基于上述发现，我们在乳腺癌和胰腺导管腺癌组织芯片中进一步验证了TTK蛋白的过表达及其与患者不良预后的显著相关性。

本研究仍存在一定的局限性。尽管通过免疫荧光技术观察到TTK定位于纤毛基体，且其表达水平与纤毛缺失和不良预后相关，但仍缺乏在细胞模型中通过敲低或过表达*TTK*直接调控纤毛发生的功能实验证据。这将是未来研究中需优先解决的关键问题。基于此，我们提出治疗假说：靶向抑制*TTK*活性可恢复纤毛形成，进而抑制导管源性肿瘤进展，为开发新型治疗策略提供理论依据。



A：乳腺导管癌中 *TTK* 与关键纤毛基因的显著相关性散点图（P<0.05；红线示线性趋势）；B：胰腺导管腺癌中 *TTK* 与纤毛基因显著相关性散点图；C：胆管癌中 *TTK* 与纤毛基因显著相关性散点图。

图7　*TTK* 表达与纤毛基因在3类导管癌中的相关性分析

Figure 7　Correlation analysis between *TTK* expression and ciliary genes in three ductal carcinomas

参考文献

[1] INOKO A, MATSUYAMA M, GOTO H, et al. Trichoplein and Aurora A block aberrant primary Cilia assembly in proliferating cells[J]. The Journal of Cell Biology, 2012, 197(3): 391-405.

[2] SATIR P, CHRISTENSEN S T. Overview of structure and function of mammalian Cilia[J]. Annual Review of Physiology, 2007, 69: 377-400.

[3] WANG B, LIANG Z, LIU P. Functional aspects of primary cilium in signaling, assembly and microenvironment in cancer[J]. Journal of Cellular Physiology, 2021, 236(5): 3207-3219.

[4] LOVERA M, LÜDERS J. The ciliary impact of nonciliary gene mutations[J]. Trends in Cell Biology, 2021, 31(11): 876-887.

[5] MILL P, CHRISTENSEN S T, PEDERSEN L B, et al. Primary cilia as dynamic and diverse signalling hubs in development and disease[J]. Nature Reviews. Genetics, 2023, 24(7): 421-441.

[6] SEELEY E S, NACHURY M V. The perennial organelle: Assembly and disassembly of the primary Cilium[J]. Journal of Cell Science, 2010, 123(Pt 4): 511-518.

[7] LEE K H, JOHMURA Y, YU L R, et al. Identification of a novel Wnt5a-CK1ε-Dvl2-Plk1-mediated primary Cilia disassembly pathway[J]. The EMBO Journal, 2012, 31 (14): 3104-3117.

[8] MICHAUD E J, YODER B K. The primary Cilium in cell signaling and cancer[J]. Cancer Research, 2006, 66(13): 6463-6467.

[9] EMOTO K, MASUGI Y, YAMAZAKI K, et al. Presence of primary Cilia in cancer cells correlates with prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Human Pathology, 2014, 45(4): 817-825.

[10] YUAN K, FROLOVA N, XIE Y, et al. Primary cilia are decreased in breast cancer: Analysis of a collection of human breast cancer cell lines and tissues[J]. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2010, 58(10): 857-870.

[11] SHI W, LI L, ZHAO H, et al. Targeting SHCBP1 inhibits tumor progression by restoring ciliogenesis in ductal carcinoma[J]. Cancer Research, 2024, 84(24): 4156-4172.

[12] VAN DAM T J, WHEWAY G, SLAATS G G, et al. The SYSCILIA gold standard (SCGSv1) of known ciliary components and its applications within a systems biology consortium[J]. Cilia, 2013, 2(1): 7.

[13] GUPTA G D, COYAUD É, GONÇALVES J, et al. A dynamic protein interaction landscape of the human centrosome-Cilium interface[J]. Cell, 2015, 163(6): 1484-1499.

[14] YANG C H, KASBEK C, MAJUMDER S, et al. Mps1 phosphorylation sites regulate the function of centrin 2 in centriole assembly[J]. Molecular Biology of the Cell, 2010, 21(24): 4361-4372.

[15] KASBEK C, YANG C H, YUSOF A M, et al. Preventing the degradation of mps1 at centrosomes is sufficient to cause centrosome reduplication in human cells[J]. Molecular Biology of the Cell, 2007, 18(11): 4457-4469.

[16] YOSHIDA S, NAKAGAWA R, ASAI K, et al. MPS1 promotes timely spindle bipolarization to prevent kinetochore-microtubule attachment errors in oocytes[J]. The EMBO Journal, 2025, 44(13): 3794-3823.

[17] KANG J, CHEN Y, ZHAO Y, et al. Autophosphorylation-dependent activation of human Mps1 is required for the spindle checkpoint[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104 (51): 20232-20237.

[18] LEÇA N, BARBOSA F, RODRIGUEZ-CALADO S, et al. Proximity-based activation of AURORA A by MPS1 potentiates error correction[J]. Current Biology, 2025, 35 (8): 1935-1947.e8.

[19] LIU X, WINEY M. The MPS1 family of protein kinases [J]. Annual Review of Biochemistry, 2012, 81: 561-585.

[20] HSU J Y, SUN Z W, LI X, et al. Mitotic phosphorylation of histone H3 is governed by Ipl1/aurora kinase and Glc7/PP1 phosphatase in budding yeast and nematodes[J]. Cell, 2000, 102(3): 279-291.

[21] QI G, MA H, LI Y, et al. TTK inhibition increases cisplatin sensitivity in high-grade serous ovarian carcinoma through the mTOR/autophagy pathway[J]. Cell Death and Disease, 2021, 12(12): 1135.

[22] ZHANG L, JIANG B, ZHU N, et al. Mitotic checkpoint kinase Mps1 / TTK predicts prognosis of colon cancer patients and regulates tumor proliferation and differentiation via PKCα/ERK1 / 2 and PI3K / Akt pathway[J]. Medical Oncology, 2019, 37(1): 5.

[23] CHEN S, WANG J, WANG L, et al. Silencing TTK expression inhibits the proliferation and progression of prostate cancer[J]. Experimental Cell Research, 2019, 385 (1): 111669.

[24] MAIRE V, BALDEYRON C, RICHARDSON M, et al. TTK/hMPS1 is an attractive therapeutic target for triple-negative breast cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63712.

[25] DANIEL J, COULTER J, WOO J H, et al. High levels of the Mps1 checkpoint protein are protective of aneuploidy in breast cancer cells[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(13): 5384-5389.

[26] FISK H A, WINEY M. The mouse Mps1p-like kinase regulates centrosome duplication[J]. Cell, 2001, 106(1): 95-104.

[27] MAJUMDER S, SLABODNICK M, PIKE A, et al.

（下转第79页）