

基于数据挖掘分析 HMGB1 表达对胃癌预后的影响

王 珊^{1,2} 范修德¹ 尹盼盼³ 王小云¹ 许君望^{1△}

(¹ 西安交通大学第一附属医院, 西安 710061; ² 西安航天总医院, 西安 710100; ³ 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

摘要 目的 本文基于数据挖掘探索高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) 在胃癌中的表达及对预后的影响。方法 Oncomine 数据库提取 HMGB1 在胃癌组织和正常组织中转录水平的变化数据, 并对数据库中的基因表达信息进行二次分析; 利用 Kaplan-Meier Plotter 分析 HMGB1 表达水平与胃癌预后的关系。结果 Oncomine 数据库中共收集了 443 项不同类型的研究结果, 其中关于 HMGB1 表达有统计学差异的研究结果有 20 项, HMGB1 表达增高的研究有 17 项、表达降低的研究有 3 项, 在胃癌中高表达的研究有 1 项, 低表达的有 0 项。11 项研究涉及 HMGB1 在胃癌组织和正常组织中的转录水平的表达, 共包括 318 个样本, 与正常组织相比, HMGB1 在胃癌组织中高表达 ($P=0.002$)。不仅如此, Kaplan-Meier Plotter 数据库分析结果显示, HMGB1 的 mRNA 表达量与胃癌总体生存率存在相关性, 即高表达 HMGB1 的患者总体生存率较好, 低表达 HMGB1 的患者预后较差 ($P=1.8E-05$)。结论 HMGB1 mRNA 在胃癌组织中高表达, 而且与肠型胃癌预后相关, 这为探索 HMGB1 在胃癌中的作用提供了基础, 也为今后胃癌的临床治疗和预后研究提供重要理论依据。

关键词 胃癌; HMGB1; Oncomine; 数据库

中图分类号: R573 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2018)02-064-05

The expression and prognostic significance of HMGB1 in gastric carcinoma utilizing Oncomine datasets

WANG Shan^{1,2}, FAN Xiude¹, YIN Panpan³, WANG Xiaoyun¹, XU Junwang^{1△}

(¹ The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; ² Xi'an Aerospace General Hospital, Xi'an 710100, China; ³ The Affiliated of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and prognostic significance of HMGB1 mRNA in gastric carcinoma utilizing Oncomine datasets. **Methods** The data about the expression of HMGB1 in gastric carcinoma and normal tissues were extracted from Oncomine. The prognostic roles of HMGB1 in gastric cancer patients were analyzed by using Kaplan-Meier Plotter. **Results** In Oncomine database, there were 443 studies of different types concerning expression of HMGB1, of which 20 studies were of statistically significance (17 up-regulated and 3 down-regulated). In gastric carcinoma, 1 were up-regulated and 0 were down-regulated. A total of 11 studies were involved HMGB1 in gastric carcinoma tissues and normal tissues, including a total of 318 samples. Overall, HMGB1 expression in gastric carcinoma is higher than in normal tissue ($P=0.002$). Moreover, in Kaplan-Meier Plotter study, patients with low expression of HMGB1 have a better survival ($P=1.8E-05$). **Conclusion** HMGB1 mRNA was found highly expressed in gastric carcinoma tissue and the expression of HMGB1 mRNA has a significant impact on survival of intestinal-type gastric carcinoma, which provides the basis for exploring the role of HMGB1 in gastric cancer, and provides an important theoretical basis for future clinical treatment and prognostic studies of gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer; HMGB1; Oncomine database

△[通信作者] 许君望, E-mail: xujwdoctor@aliyun.com

胃癌是全球常见的消化系统恶性肿瘤,我国每年新发病例约 40 万,占世界总发病例约 42%^[1]。基于胃癌的组织结构和生物学行为的不同,将其分为肠型胃癌、弥漫型胃癌及混合型胃癌^[2]。早期胃癌主要通过内镜下治疗或手术治疗,但多数患者在确诊时已发生远处转移,总体疗效并不理想。胃癌患者一旦发生转移不仅预后差,而且严重影响其生活质量。近年来对于胃癌转移机制的研究结果显示,肿瘤的浸润及转移是一个多步骤的涉及多种因素的复杂过程,如肿瘤细胞微环境中基质的降解、免疫逃逸、细胞间黏附作用的丧失、细胞迁移能力的增强等。

高迁移率族蛋白 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 是细胞内广泛存在的非组蛋白结合蛋白,作为损伤相关分子模式 (DAMPs) 中的一员,当分泌到细胞外时,主要发挥致炎作用,参与脓毒症及自身免疫性疾病的致病过程^[3]。研究发现 HMGB1 在胰腺癌、结直肠癌等多种肿瘤组织中高表达^[4-5],在肿瘤的发生发展过程中起到了关键作用,既往研究认为其作用机制可能通过促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移,从而促进肿瘤的发生发展;近期研究发现 HMGB1 也可通过增强机体的免疫反应,诱导肿瘤细胞凋亡,进而抑制肿瘤的发生发展^[6]。有研究发现 HMGB1 的血清学水平可作为早期诊断胃癌的标志物^[7],其可促进胃癌的侵袭和转移;但也有研究发现高水平表达 HMGB1 的胃癌患者比低水平表达的胃癌患者预后较好^[8]。因此本实验拟联合 Oncomine 数据库和 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 HMGB1 在胃癌中的表达及其对预后的影响,为进一步研究 HMGB1 在胃癌发生发展过程中的作用机制提供线索和思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

Oncomine 数据库分析: Oncomine 数据库 (<https://www.oncomine.org>) 既是一个基于基因芯片的数据库,也是一个整合多个肿瘤基因数据库的挖掘平台,我们可以根据课题需要在此数据库中设定筛选数据和挖掘数据的条件。本研究中我们为明确 HMGB1 在胃癌组织及癌旁正常组织中的表达水平,故设定的筛选条件为: 1) “Cancer Type: Gastric Cancer”; 2) “Gene: HMGB1”; 3) “DataType: mRNA”; 4) “Sample Type: Clinical Specimen”; 5)

“Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis”; 6) 临界值设定条件 (P value $< 1E-4$, fold change > 2 , gene rank = top 10%) 选择柱状图展示结果。

1.2 方法

Kaplan-Meier Plotter 数据库进行患者生存周期分析: 利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库 (<http://km-plot.com/analysis/>) 中的胃癌数据资料, 在线分析 HMGB1 对胃癌患者预后的影响。筛选条件如下: 1) “Cancer: Gastric Cancer”; 2) “Gene: HMGB1”; 3) “Survival: OS”; 4) “Lauren classification: all/intestinal/diffuse/mixed”。

1.3 统计学方法

胃癌组织和癌旁正常组织之间的 HMGB1 表达水平的差异采用 t 检验。HMGB1 的表达水平与胃癌患者预后的关系采用 Kaplan-Meier 模型分析。所用数据采用 Oncomine 数据库和 Kaplan-Meier Plotter 数据库在线统计学分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMGB1 在所有肿瘤类型中的表达结果

在 Oncomine 数据库中共收集了 443 项不同类型的研究结果, 其中关于 HMGB1 表达有统计学差异的研究结果有 20 项, HMGB1 表达增高的研究有 17 项, 表达降低的研究有 3 项。在消化系统肿瘤组织中, 结肠癌组织中, HMGB1 高水平表达的研究有 5 项, 低水平表达的研究有 0 项; 胃癌组织中, HMGB1 高水平表达的研究有 1 项, 低水平表达的研究有 0 项; 食管癌组织中, HMGB1 的表达没有差异。见图 1。

2.2 HMGB1 在 Oncomine 数据库中胃癌中的表达结果

Oncomine 数据库分析结果显示, 共有 11 项研究涉及 HMGB1 在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达, 共包括 318 个样本, 荟萃 11 项研究结果发现与癌旁正常组织相比, HMGB1 在胃癌组织中高水平表达 ($P = 0.002$)。见图 2。

2.3 HMGB1 在不同胃癌研究芯片中癌组织和正常组织之间的表达差异

Oncomine 数据库中 HMGB1 在不同胃癌组织芯片中的表达结果显示, 在 4 项研究中 HMGB1 在胃癌组织中的表达量高于癌旁正常组织 ($P_{\text{均}} < 0.05$), 但是在肠型、弥漫性及混合型胃癌组织之间,

HMGB1 的表达量并无显著性差别。见图 3。

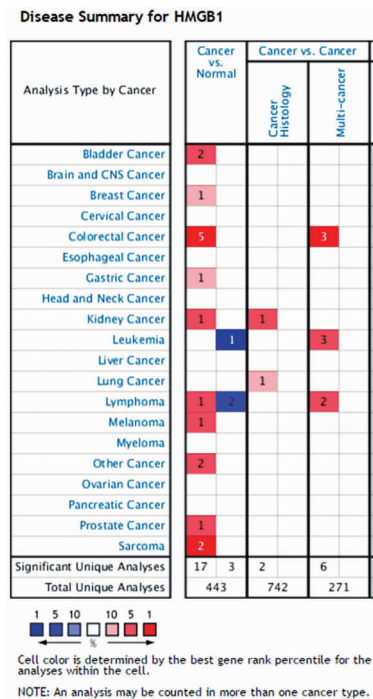


图 1 OncoPrint 数据库中 HMGB1 在所有肿瘤研究中的表达

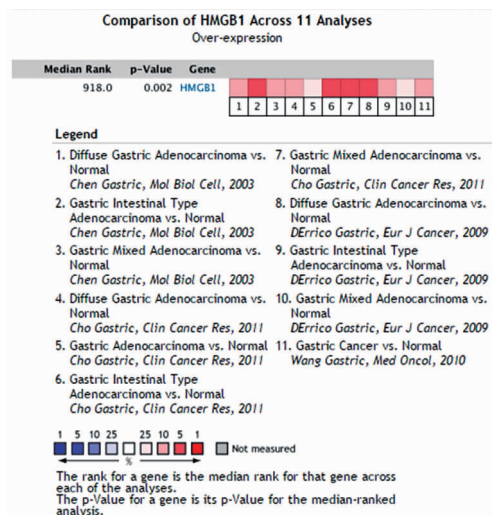


图 2 HMGB1 在 OncoPrint 数据库中胃癌中的表达

2.4 HMGB1 和胃癌预后的关系

我们利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库的胃癌数据集进行在线生存分析。Kaplan-Meier Plotter 数据结果显示:HMGB1 表达水平对患者的总生存时间有较大的影响。与低表达组相比, HMGB1 高表达组胃癌患者的总存活时间有所延长 ($P = 1.8 \times 10^{-5}$), 同样 HMGB1 的表达水平对肠型胃癌患者 ($P = 6.6 \times 10^{-8}$) 也具有同样的影响; 但是对于弥漫型胃癌和混合型胃癌, HMGB1 的表达水平与胃癌患者

的预后并无统计学相关性 ($P = 0.16$ 和 $P = 0.075$)。见图 4。

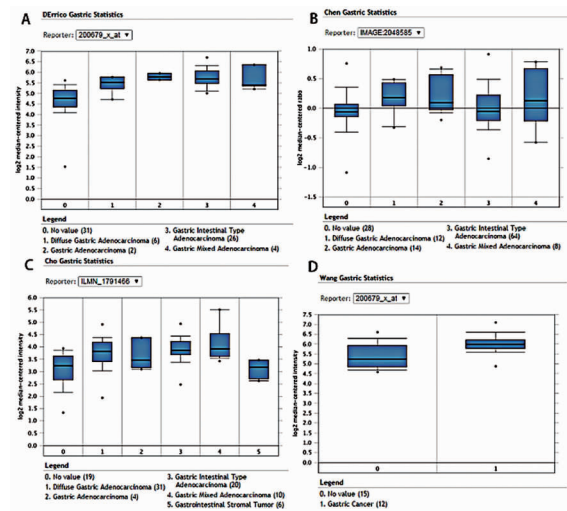


图 3 OncoPrint 数据库中 HMGB1 在不同胃癌研究芯片中的表达 ($P_{\text{均}} < 0.05$)

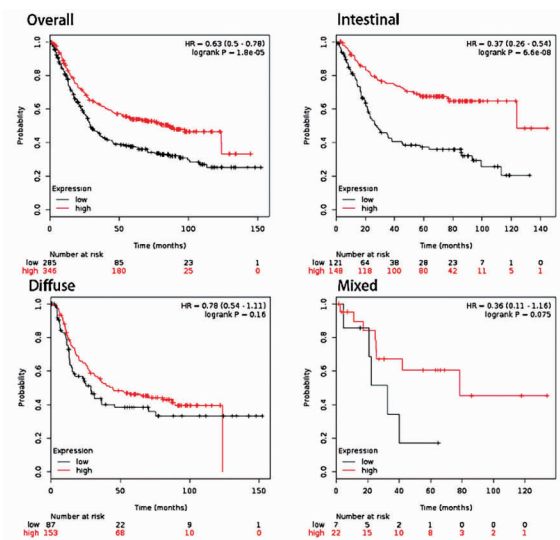


图 4 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 HMGB1 对胃癌患者预后的影响

3 讨论

胃癌由于起病隐匿、病情发展迅速、较高的手术复发率和转移率高等特点, 中晚期胃癌的治疗效果并不理想。流行病学调查发现, 全球胃癌新发病例约 67.9 万例, 胃癌死亡病例约 49.8 万例, 超过 70% 的胃癌新发病例发生在发展中国家, 约 50% 的病例发生在东亚地区, 主要集中在日本、中国和韩国^[1]。我国作为胃癌高发国家, 每年发病人数和死亡人数约占世界的 50%, 疾病负担严重, 故现

在迫切需要探索新的有效治疗途径和方法。

HMGB1 因其在聚丙烯酰胺凝胶中迁移速率快而得名^[3,9]。HMGB1 广泛存在于细胞内,同染色体 DNA 非特异结合,它属于 HMG 家族一员,在细胞内, HMGB1 自由穿梭于细胞核和细胞质之间,在线粒体、溶酶体、细胞膜以及细胞外基质中均可见 HMGB1 分布。在细胞核内, HMGB1 参与调控 DNA 的复制、重组及修复过程。HMGB1 通过 A box 和 B box 和不同构象的 DNA 结合,而且这种结合是结构特异性而非序列特异性^[10]。HMGB1 广泛存在于各组织,生理情况下在脾脏和胸腺中含量较高,随着年龄的增长, HMGB1 的水平呈下降趋势。近些年来研究发现 HMGB1 在胰腺癌、结直肠癌、肝癌、乳腺癌等多种肿瘤中存在高表达, HMGB1 可能与部分肿瘤侵袭、转移密切相关^[4,5,7],也有研究发现 HMGB1 可能通过诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤的发生发展^[8],这提示我们 HMGB1 在肿瘤的发生发展中扮演着“双刃剑”的角色。

HMGB1 影响肿瘤的生物机制目前尚未明确,其分子机制可能是肿瘤炎症微环境中的白细胞主动分泌到细胞外的 HMGB1 和坏死的肿瘤细胞被动释放的 HMGB1 可能通过与受体 RAGE (receptor for advanced glycation end products) 结合激活 ERK-1/2 等信号通路,继而引起基质金属蛋白酶 MMP2 和 MMP9 激活,直接诱导细胞运动和间接促进细胞外基质降解,参与肿瘤的侵袭和转移^[11];而且 HMGB1 与肿瘤血管生成有关, HMGB1 及其受体 RAGE 的结合会导致 NF- κ B 的激活,进而使白细胞黏附分子和前炎症反应分子及血管生成因子表达上调^[12-13]; HMGB1 与肝素形成的复合物也能促进血管生成,在体内外实验中,人们利用抗体封闭 HMGB1 后,发现血管生成受到抑制^[4],这些研究均提示 HMGB1 参与了肿瘤侵袭和转移。但是研究发现 HMGB1 也有诱导肿瘤细胞凋亡的可能性,其机制可能与其诱导的抗肿瘤免疫有关, HMGB1 可诱导树突状细胞成熟,通过改变其表面分子的表达,促进细胞因子的分泌;也可以通过成熟的树突状细胞诱导 T 细胞向 Th1 分化,增强 T 细胞免疫应答反应;这些作用均有望增强机体的免疫反应,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤的发生发展^[6,8]。

在本文中,我们用 Oncomine 数据库提取 HMGB1 基因在胃癌组织及正常组织中的转录数据,结果显示 HMGB1 表达在胃癌组织中高于正常

组织。而且通过对 Kaplan-Meier Plotter 数据库的胃癌数据集进行在线生存分析,我们发现 HMGB1 高表达可延长胃癌患者的存活时间,提示 HMGB1 的表达升高可能是胃癌患者预后良好的因素,但是本文只针对 mRNA 的表达水平进行了分析,缺乏对蛋白水平的进一步分析,而且本文只是采用数据库进行大样本分析,缺乏对相关生物学机制的基础研究,仍需要更多基于 HMGB1 表达与胃癌预后的研究进一步验证二者关系。

综上所述,我们通过对胃癌组织中 HMGB1 相关信息的深入挖掘,提出 HMGB1 在胃癌组织中高表达,且与胃癌预后相关, HMGB1 的表达在一定程度上可用作反映胃癌预后的重要生物学指标。本文结果为探索 HMGB1 在胃癌中的作用提供基础,对今后胃癌的临床治疗和预后研究提供重要理论依据。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386. DOI: 10. 1002/ijc. 29210.
- [2] Ua Cidón E. Gastric cancer and the search for a good prognostic classification: a challenge [J]. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 2010: 113. DOI: 10. 2147/ceg. s11929.
- [3] Goodwin GH, Johns EW. Isolation and characterisation of two calf-thymus chromatin non-histone proteins with high contents of acidic and basic amino acids [J]. *Eur J Biochem*, 1973, 40 (1): 215-219. DOI: 10. 1111/j. 1432-1033. 1973. tb03188. x.
- [4] van Beijnum JR, Dings RP, van der Linden E, et al. Gene expression of tumor angiogenesis dissected: specific targeting of colon cancer angiogenic vasculature [J]. *Blood*, 2006, 108(7): 2339-2348. DOI: 10. 1182/blood-2006-02-004291.
- [5] Breikers G, van Breda SG, Bouwman FG, et al. Potential protein markers for nutritional health effects on colorectal cancer in the mouse as revealed by proteomics analysis [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (9): 2844-2852. DOI: 10. 1002/pmic. 200500067.
- [6] Dumitriu IE, Bianchi ME, Bacci M, et al. The secretion of HMGB1 is required for the migration of maturing dendritic cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81 (1): 84-91. DOI: 10. 1189/jlb. 0306171.

- [7] Chung HW, Lee SG, Kim H, et al. Serum high mobility group box-1 (HMGB1) is closely associated with the clinical and pathologic features of gastric cancer[J]. J Transl Med, 2009, 7: 38. DOI: 10. 1186/1479-5876-7-38.
- [8] Bao G, Qiao Q, Zhao H, et al. Prognostic value of HMGB1 overexpression in resectable gastric adenocarcinomas[J]. World J Surg Oncol, 2010, 8: 52. DOI: 10. 1186/1477-7819-8-52.
- [9] Yu SH, Spring TG. The interaction of nonhistone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 with subfractions of H1 histone immobilized on agarose[J]. Biochim Biophys Acta, 1977, 492(1): 20-28. DOI: 10. 1016/0005-2795(77)90210-0.
- [10] Bustin M, Lehn DA, Landsman D. Structural features of the HMG chromosomal proteins and their genes[J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 1049(3): 231-243. DOI: 10. 1016/0167-4781(90)90092-g.
- [11] Riuzzi F, Sorci G, Donato R. The amphotericin (HMGB1)/receptor for advanced glycation end products (RAGE) pair modulates myoblast proliferation, apoptosis, adhesiveness, migration, and invasiveness. Functional inactivation of RAGE in L6 myoblasts results in tumor formation in vivo[J]. J Biol Chem, 2006, 281(12): 8242-8253. DOI: 10. 1074/jbc.M509436200.
- [12] Zhang Z, Wang M, Zhou L, et al. Increased HMGB1 and cleaved caspase-3 stimulate the proliferation of tumor cells and are correlated with the poor prognosis in colorectal cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34: 51. DOI: 10. 1186/s13046-015-0166-1.
- [13] van Beijnum JR, Buurman WA, Griffioen AW. Convergence and amplification of toll-like receptor (TLR) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathways via high mobility group B1 (HMGB1) [J]. Angiogenesis, 2008, 11(1): 91-99. DOI: 10. 1007/s10456-008-9093-5.

(收稿日期 2017-10-09)

(本文编辑:甘慧敏)

(上接第 63 页)

- [11] Huang L, Sui W, Wang Y, et al. Preparation of chitosan/chondroitin sulfate complex microcapsules and application in controlled release of 5-fluorouracil[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(1): 168-173. DOI: 10. 1016/j. carbpol. 2009. 11. 007.
- [12] Xu Z, Zhang J, Cong L, et al. Preparation and characterization of magnetic chitosan microsphere sorbent for separation and determination of environmental estrogens through SPE coupled with HPLC[J]. J Sep Sci, 2011, 34(1): 46-52. DOI: 10. 1002/jssc. 201000640.
- [13] 俞怡晨, 姚炎庆, 张亚琼, 等. 壳聚糖-海藻酸盐纳米粒子的制备及其对 BSA 的载药与释放特性[J]. 功能高分子学报, 2005(4): 598-601.
- [14] 全先高, 王慧云, 丁林, 等. 甲氧蝶呤/蒙脱土纳米插层化合物的制备及缓释作用研究[J]. 济宁医学院学报, 2014, 37(4): 251-255, 259.

(收稿日期 2017-09-15)

(本文编辑:石俊强)

· 简讯 ·

《济宁医学院学报》影响因子创历史新高

据 2017 年版中国科技期刊引证报告(CJCR)统计:《济宁医学院学报》全年载文总被引频次 591, 影响因子达到 0.577, 创历史新高。

本刊编辑部