

本文引用:姚坤厚,李昊,王晨宇,等.原纤维蛋白1基因在胃癌组织中的表达、功能富集及信号通路生物信息学分析[J].新乡医学院学报,2022,39(7):669-672. DOI:10.7683/xyxyxb.2022.07.014.

【临床研究】

原纤维蛋白1基因在胃癌组织中的表达、功能富集及信号通路生物信息学分析

姚坤厚,李昊,王晨宇,张军杰,李兴旺

(河南大学淮河医院普通外科,河南 开封 475000)

摘要: **目的** 探讨原纤维蛋白1(FBN1)基因在胃癌组织中的表达、相关生物学功能和信号通路以及 FBN1 表达与胃癌患者生存期的关系。**方法** 应用生物信息大数据挖掘技术分析癌症基因组图谱数据库(TCGA)中人胃癌癌组织和癌旁正常组织中 FBN1 mRNA 表达水平。应用蛋白相互作用数据库 STRING 构建 FBN1 基因相关蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络并对蛋白网络中的编码基因进行功能富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路分析。根据胃癌组织中 FBN1 mRNA 表达水平的中位数将胃癌患者分为高表达组($n = 126$)和低表达组($n = 118$),采用 Cox 回归模型比较 FBN1 高表达组与低表达组患者总生存期(OS)和无疾病进展生存期(DFS)。**结果** FBN1 mRNA 在胃癌癌组织中的表达显著高于癌旁正常组织($P < 0.05$)。FBN1 基因 PPI 网络中共有 21 个蛋白和 143 个相互作用关系,各蛋白平均相互作用指数为 0.816,网络中各个蛋白功能富集明显($P < 0.05$)。FBN1 基因生物学过程主要富集于翻译后蛋白质修饰、解剖结构发育等;细胞组分主要富集于内质网内腔、细胞外基质和内质网等;分子功能主要富集于细胞黏附分子结合和整合素结合等;KEGG 分析显示,FBN1 基因 KEGG 主要富集于细胞外基质受体相互作用、黏着及胃肠道肿瘤等。FBN1 mRNA 表达与 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及树突状细胞浸润呈正相关($r = 0.248, 0.412, 0.665, 0.353, 0.412, P < 0.05$)。FBN1 高表达组患者的 OS 和 DFS 均显著短于低表达组($P < 0.05$)。**结论** FBN1 基因在胃癌组织中表达水平显著升高,且高表达患者的 OS 和 DFS 显著短于低表达患者。FBN1 基因编码蛋白功能富集明显。

关键词: 胃癌;原纤维蛋白1;信号通路

中图分类号: R735.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2022)07-0669-04

Bioinformatics analysis of the expression, functional enrichment and signal pathway of fibrillin 1 gene in gastric cancer

YAO Kunhou, LI Hao, WANG Chenyu, ZHANG Junjie, LI Xingwang

(Department of General Surgery, Huaihe Hospital, Henan University, Kaifeng 475000, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression, related biological function and signal pathway of fibrillin 1 (FBN1) gene in gastric cancer tissue, and the relationship between the FBN1 expression and survival time of gastric cancer patients. **Methods** The expression of FBN1 gene in cancer tissue and adjacent normal tissue of gastric cancer was analyzed through the Cancer Genome Atlas Database (TCGA). FBN1 gene-related protein-protein interaction (PPI) network was constructed by protein interaction database STRING, and the functional enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signal pathway analysis of coding genes in PPI were performed. The gastric cancer patients were divided into high expression group ($n = 126$) and low expression group ($n = 118$) according to the median FBN1 mRNA expression level in gastric cancer tissue, and the overall survival (OS) and progression free survival (DFS) of patients were compared between the high expression group and the low expression group by Cox regression model. **Results** The expression of FBN1 mRNA in gastric cancer tissue was significantly higher than that in adjacent normal tissue ($P < 0.05$). There were 21 proteins and 143 interactions in the PPI network encoded by FBN1 mRNA; the average interaction index of each protein was 0.816, and the functional enrichment of each protein in the network was obvious ($P < 0.05$). The biological process of FBN1 gene was mainly enriched in the post-translational protein modification and anatomical structure development, etc; cell components were mainly enriched in the endoplasmic reticulum lumen, extracellular matrix and endoplasmic reticulum, etc; molecular functions were mainly enriched in the structural components of cell adhesion molecule binding and integrin binding, etc; KEGG analysis results showed that the FBN1 gene was mainly enriched in the extracellular matrix receptor interaction, adhesion and gastrointestinal tumor. The expression of FBN1 mRNA was positively correlated with the infiltration of CD8⁺T cells, CD4⁺T cells, macrophages, neu-

DOI:10.7683/xyxyxb.2022.07.014

收稿日期:2021-06-19

基金项目:河南省科技厅科技公关计划项目(编号:182102310372,192102310091)。

作者简介:姚坤厚(1981-),男,河南信阳人,硕士,副主任医师,主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

trophils and dendritic cells ($r=0.248, 0.412, 0.665, 0.353, 0.412; P<0.05$). The OS and DFS of patients in the high expression group were significantly shorter than those in the low expression group ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of FBN1 gene in gastric cancer tissue is significantly increased, and the OS, DFS of patients with high expression of FBN1 gene are significantly shorter than those with low expression. The protein encoded by FBN1 gene has obvious function enrichment.

Key words: gastric cancer; fibrillin 1; prognosis

胃癌是临床上较为常见的一类消化系统恶性肿瘤^[1]。胃癌发生的危险因素包括幽门螺杆菌感染、吸烟、饮食因素、肥胖和遗传等。约10%的胃癌患者有胃癌家族史。全球范围内胃癌的发病率在癌症中居第5位,病死位居第3位^[2]。目前,胃癌发生、发展和侵袭转移的分子机制仍未完全阐明。随着分子生物学技术、高通量测序技术、基因组技术以及转录组技术的不断进步,越来越多的证据表明,某些驱动基因时空表达的失调是胃癌发生的重要原因。原纤维蛋白1(fibrillin 1, FBN1)是原纤维蛋白家族的成员之一,是一种细胞外基质糖蛋白,是钙结合微纤维的结构成分^[3-4]。微纤维在全身弹性和非弹性结缔组织中提供承重结构支撑。已有研究报道,FBN1的异常表达与多种实体肿瘤的发生、发展有关^[5-6],但其与胃癌的关系鲜有报道。基于此,本研究采用生物信息学分析方法探讨了FBN1基因在胃癌组织中的表达、功能富集及信号通路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在癌症基因组图谱数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA)中检索FBN1 mRNA表达水平,比较胃癌组织及癌旁正常组织中FBN1基因相对表达情况。TCGA数据库中检索词为“胃癌”和“FBN1 mRNA”,检索物种为人类。

1.2 FBN1基因相关蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建 应用STRING数据库(<http://string-db.org/cgi/input.pl>)^[7]对FBN1 mRNA及相关基因编码蛋白进行PPI网络构建,物种选择人,作用蛋白不少于21个,相互作用关系置信度大于0.4。

1.3 基因本体论(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)分析 应用David数据库对FBN1基因进行GO功能富集和KEGG分析。GO功能富集包括细胞组分富集、分子功能富集和生物学过程富集。

1.4 FBN1 mRNA表达水平与淋巴细胞浸润关系分析 应用肿瘤免疫评估资源数据库(tumor immune estimation resource, TIMER) ([https://cistrome.](https://cistrome.shinyapps.io/timer/)

[shinyapps.io/timer/](https://cistrome.shinyapps.io/timer/))分析FBN1 mRNA表达水平与胃癌患者淋巴细胞浸润关系。检索词为“stomach cancer”和“FBN1 mRNA”。

1.5 生存分析 根据胃癌组织中FBN1 mRNA表达水平的中位数,将胃癌患者分为高表达组($n=126$)和低表达组($n=118$)。胃癌组织中FBN1 mRNA表达水平大于等于中位数为高表达组,反之为低表达组。记录2组胃癌患者总生存期(overall survival, OS)和无疾病进展生存期(disease free survival, DFS)。

1.6 统计学处理 本研究所涉及数据分析应用R软件完成(<https://www.r-project.org/>)。FBN1基因的功能富集采用Chisquare检验;采用Pearsn相关进行相关性分析,采用Cox回归模型的log-rank进行生存分析,并计算风险比(hazard ratio, HR); $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FBN1 mRNA在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达比较 结果见图1。FBN1 mRNA在胃癌组织中的表达显著高于癌旁正常组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。

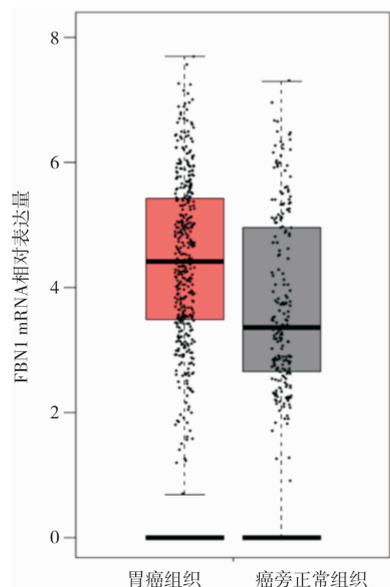


图1 FBN1 mRNA在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达
Fig.1 Expression of FBN1 mRNA in gastric cancer tissues and adjacent normal tissues

2.2 PPI 网络分析 结果见图 2。FBN1 基因 PPI 中共有 21 个蛋白和 143 个相互作用关系。21 个蛋白分别为重组人黏结蛋白聚糖 2 (syndecan 2, SDC2)、 γ -纤维蛋白原多肽 (fibrinogen gamma chain, FGG)、层黏连蛋白 β 1 (laminin-beta-1, LAMB1)、整合素 β 1 (integrin subunit beta 1, ITGB1)、整合素 α 5 (subunit alpha 5, ITGA5)、III 型胶原蛋白 α 1 (type III collagen alpha-1, COL3A1)、微纤丝相关蛋白 2 (microfibril associated protein 2, MFAP2)、微纤丝相关蛋白 5 (microfibril associated protein 5, MFAP5)、FBN1、弗林蛋白酶 (Furin)、釉蛋白 (enamelin, ENAM)、整合素和金属蛋白酶 10 (a disintegrin and metalloproteinase 10, ADAM10)、淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、骨形态发生蛋白 4 (bone morphogenetic protein 4, BMP4)、基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP1)、层粘连蛋白 γ 1 (laminin- γ -1, LAMC1)、纤维连接蛋白 1 (fibronectin 1, FN1)、FBN1、潜在转化生长因子 β 结合蛋白-1 (latent transforming growth factor-beta binding protein 1, LTBP1)、卵泡抑制素样蛋白 1 (follistatin-like protein 1, FSTL1)、多能蛋白聚糖 (versican, VCAN)。各蛋白平均相互作用指数为 0.816, 网络中各个蛋白功能富集明显 ($P < 0.05$)。

集于细胞黏附分子结合、整合素结合和结构分子活性等。

表 1 FBN1 基因生物学过程功能富集分析

Tab.1 Enrichment analysis of biological process of FBN1 gene

生物学过程	涉及基因数/个	背景基因数/个	Q	P
翻译后蛋白质修饰	14	365	1.552	<0.05
解剖结构发育	20	5 085	0.564	<0.05
细胞基质黏附	7	162	1.603	<0.05
细胞黏附	10	843	1.038	<0.05
多细胞生物发育	18	4 726	0.552	<0.05
解剖结构形态发生	13	1 992	0.777	<0.05
细胞蛋白修饰	15	2 999	0.667	<0.05
细胞蛋白质代谢	16	3 603	0.623	<0.05

表 2 FBN1 基因细胞组分富集分析

Tab.2 Enrichment analysis of cell components of FBN1 gene

细胞组分	涉及基因数/个	背景基因数/个	Q	P
内质网内腔	15	299	1.672	<0.05
细胞外基质	11	283	1.555	<0.05
内质网	17	1 796	0.954	<0.05
微纤丝	5	10	2.666	<0.05
胞外区	16	2 505	0.768	<0.05
含胶原细胞外基质	6	144	1.591	<0.05
基膜	5	91	1.708	<0.05
血小板 α 颗粒腔	4	68	1.743	<0.05

表 3 FBN1 基因分子功能组分富集分析

Tab.3 Enrichment analysis of molecular function of FBN1 gene

分子功能	涉及基因数/个	背景基因数/个	Q	P
细胞黏附分子结合	8	200	1.567	<0.05
整合素结合	7	122	1.732	<0.05
结构分子活性	9	679	1.091	<0.05
糖胺聚糖结合	6	219	1.406	<0.05
蛋白酶结合	5	135	1.542	<0.05
肝素结合	5	161	1.458	<0.05
信号受体结合	10	1 513	0.788	<0.05
赋予弹性的细胞外基质成分	2	5	2.567	<0.05
金属离子结合	13	4 087	0.467	<0.05

2.4 FBN1 基因生物学功能富集 KEGG 分析 结果见表 4。FBN1 基因 KEGG 信号通路主要富集于细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 受体相互作用、黏着、胃肠道肿瘤等。

表 4 KEGG 所富集的 FBN1 基因生物学功能

Tab.4 Biological function of FBN1 gene enriched by KEGG

FBN1 基因涉及生物学过程	涉及基因数/个	背景基因数/个	Q	P
ECM 受体相互作用	4	81	1.656	<0.05
黏着	4	197	1.278	<0.05
胃肠道肿瘤	3	92	1.478	<0.05
血小板活化	3	123	1.363	<0.05
人乳头瘤病毒感染	4	317	1.074	<0.05
细胞黏附分子	3	139	1.334	<0.05
癌症中的蛋白多糖	3	195	1.156	<0.05

2.5 FBN1 mRNA 表达与淋巴细胞浸润 FBN1 mRNA 表达与 CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及树突状细胞浸润呈正相关 ($r = 0.248, 0.412, 0.665, 0.353, 0.412, P < 0.05$)。

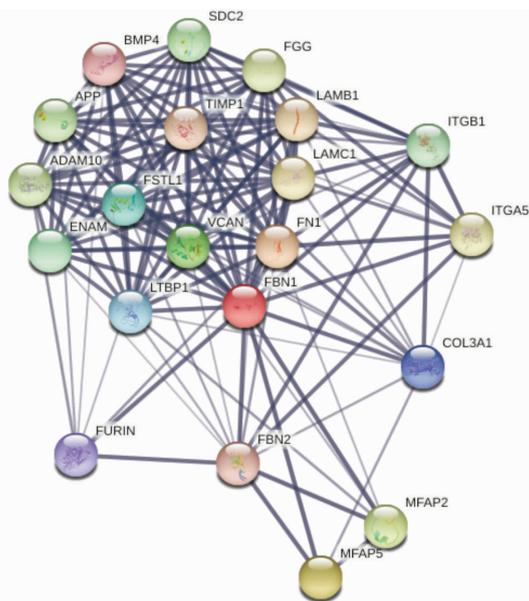


图 2 FBN1 基因编码蛋白 PPI 网络

Fig.2 PPI network of protein encoded by FBN1 gene

2.3 FBN1 基因功能富集分析 结果见表 1、表 2 和表 3。FBN1 基因功能富集分析显示, FBN1 基因生物学过程主要富集于翻译后蛋白质修饰、解剖结构发育和细胞基质黏附等; 细胞组分主要富集于内质网内腔、细胞外基质和内质网等; 分子功能主要富

2.6 生存分析 FBN1 高表达组胃癌患者 OS 显著短于低表达组 ($HR = 1.86, 95\%$ 置信区间 $1.50 \sim 2.31, P < 0.05$); 高表达组胃癌患者 DFS 显著短于低表达组 ($HR = 1.93, 95\%$ 置信区间 $1.50 \sim 2.45, P < 0.05$)。

3 讨论

FBN1 蛋白由位于 15 号染色体上的 FBN1 基因编码, FBN1 有 65 个编码外显子, 编码一个含 2 871 个氨基酸的前蛋白 profibrillin, profibrillin 被 furin 转化酶进行蛋白质水解切割, 产生 FBN1 蛋白和蛋白质激素 asprosin^[8-9]。FBN1 蛋白是一种大分子的细胞外基质糖蛋白, 是 10 ~ 12 nm 钙结合微纤维的结构成分^[10-11]。近年来陆续有文献报道, FBN1 mRNA 表达水平与多种实体肿瘤的预后有关^[12-13]。郭栋等^[14]研究发现, FBN1 蛋白在胃癌组织中的表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期密切相关, 并可作为胃癌患者术后生存时间的评估指标。WANG 等^[15]研究发现, Aurora-A 可诱导 FBN1 的表达, 但在被 BRCA2 抑制的情况下可促进卵巢癌转移。

本研究采用生物信息大数据挖掘技术探讨了 FBN1 基因在胃癌中的表达、相关生物学功能和信号通路及其与患者生存期的关系, 结果显示, FBN1 mRNA 在胃癌患者癌组织中的表达水平显著上调。提示 FBN1 可能参与了人胃癌的发生与发展。本研究生存分析显示, FBN1 mRNA 高表达组患者 OS 和 DFS 均显著低于低表达组, 提示 FBN1 mRNA 的高表达与胃癌患者生存期短有关, 并有望成为胃癌相关药物研发的潜在靶点。

综上所述, FBN1 基因在胃癌患者癌组织中表达水平显著升高, 且高表达患者 OS 和 DFS 显著降低。因此, 推测 FBN1 与患者的预后不良有关, 抑制胃癌患者 FBN1 的表达, 有望改善患者生存期。但本研究主要从生物信息方面进行了数据挖掘和分析, 缺乏细胞实验和临床试验验证, 后续应进行相关的细胞、动物实验对本次研究结果进行进一步的证实。

参考文献:

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.

[2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.

[3] PENG Q, DENG Y, YANG Y, *et al.* A novel fibrillin-1 gene missense mutation associated with neonatal Marfan syndrome: a case report and review of the mutation spectrum[J]. *BMC Pediatr*, 2016, 16: 60.

[4] JENSEN S A, HANDFORD P A. New insights into the structure, assembly and biological roles of 10 - 12 nm connective tissue microfibrils from fibrillin-1 studies[J]. *Biochem J*, 2016, 473(7): 827-838.

[5] 崔守斌, 姜英, 武昕. 丝切蛋白 1 及前纤维蛋白 1 在外阴鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. *中国医科大学学报*, 2015, 44(1): 10-14.

CUI S B, JIANG Y, WU X. Cofilin-1 and profilin-1 expression in vulvar squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *J China Med Univ*, 2015, 44(1): 10-14.

[6] HISATO T, HIDEAKI M, SEISHIRO S, *et al.* Coexistent aortic dissection and hepatocellular carcinoma with elevated plasma transforming growth factor beta level: possible roles of fibrillin 1 and transforming growth factor beta[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 129(2): 462-463.

[7] HOFFMANN R, VALENCIA A. A gene network for navigating the literature[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(7): 664.

[8] BARRETT P M, TOPOL E J. The fibrillin-1 gene: unlocking new therapeutic pathways in cardiovascular disease[J]. *Heart*, 2013, 99(2): 83-90.

[9] HUBMACHER D, APTE S S. Genetic and functional linkage between ADAMTS superfamily proteins and fibrillin-1: a novel mechanism influencing microfibril assembly and function[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(19): 3137-3148.

[10] WHITEMAN P, HUTCHINSON S, HANDFORD P A. Fibrillin-1 misfolding and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(3/4): 338-346.

[11] HANDFORD P A. Fibrillin-1, a calcium binding protein of extracellular matrix[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1498(2/3): 84-90.

[12] GUO Q, SONG Y, ZHANG H, *et al.* Detection of hypermethylated fibrillin-1 in the stool samples of colorectal cancer patients[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 695.

[13] TAMMINEN J A, PARVIAINEN V, RÖNTY M, *et al.* Gremlin-1 associates with fibrillin microfibrils *in vivo* and regulates mesothelioma cell survival through transcription factor slug[J]. *Oncogenesis*, 2013, 2(8): e66.

[14] 郭栋, 魏鹏, 梁刚, 等. 原纤维蛋白 1 在胃癌组织中的表达及与预后的关系[J]. *陕西医学杂志*, 2021, 50(4): 499-502.

GUO D, WEI P, LIANG G, *et al.* Expression of fibrillin 1 in gastric cancer and its relationship with prognosis[J]. *Shaanxi Med J*, 2021, 50(4): 499-502.

[15] WANG Z, LIU Y, LU L, *et al.* Fibrillin-1, induced by Aurora-A but inhibited by BRCA2, promotes ovarian cancer metastasis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 6670-6683.