

基于数据挖掘分析 FOXO1 在成熟 B 细胞肿瘤中的表达及靶基因预测

宋慧慧^{1,2}, 李 原², 葛 峥^{1,2}, 黄培林^{2*}

¹东南大学附属中大医院血液内科, 江苏 南京 210009; ²东南大学医学院, 江苏 南京 210009

[摘要] **目的:**利用数据挖掘分析 FOXO1 在 B 细胞肿瘤中的表达情况,并进一步探讨 FOXO1 对 B 细胞肿瘤的影响。**方法:**利用 Oncomine 数据库分析 FOXO1 基因在 B 细胞肿瘤中 mRNA 水平的变化。通过 BIOGPS 分析人体正常组织和其相应的肿瘤组织中 FOXO1 基因的表达差异。利用 GEPIA 做 FOXO1 基因的表达水平与 B 细胞肿瘤患者生存期的相关性分析。在 String-DB 数据库中探索 FOXO1 基因在细胞信号转导通路中的位置以及与其关系密切的上下游基因。**结果:**与正常组织相比, B 细胞肿瘤组织中 FOXO1 基因在 mRNA 水平呈低表达, FOXO1 基因的表达水平与 B 细胞肿瘤患者的总体生存时间无明显相关性(Log-rank $P=0.39$)。EP300、JUN、MYC、STAT1、FOS、SPI1、E2F1 等基因与 FOXO1 有明显或潜在的相互作用。**结论:**大样本数据挖掘能迅速获取 B 细胞肿瘤组织中 FOXO1 表达的相关信息,为探索 FOXO1 在 B 细胞肿瘤发生发展中的作用提供科学的理论基础。

[关键词] FOXO1; 数据挖掘; 成熟 B 细胞肿瘤; 数据库

[中图分类号] R733

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)12-1692-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20181206

The analysis of FOXO1 in mature B-cell neoplasms and its target genes based on data mining

Song Huihui^{1,2}, Li Yuan², Ge Zheng^{1,2}, Huang Peilin^{2*}

¹Department of Hematology, the Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, Nanjing 210009; ²School of Medicine, Internal Medicine, Southeast University, Nanjing 210009, China

[Abstract] **Objective:** To explore the expression and significance of FOXO1 in mature B-cell neoplasms. **Methods:** The expression of FOXO1 in mature B-cell neoplasms was mined in Oncomine database. The different expressions of FOXO1 between the normal tissue and B-cell neoplasms were analyzed by BIOGPS database. The survival time of patients with mature B-cell neoplasms was detected by GEPIA. The FOXO1 interacting proteins were analyzed by String-DB database. **Results:** At the mRNA level, FOXO1 was lower in mature B-cell neoplasms than in normal tissue, and the expression level was not notable correlated with the prognosis of mature B-cell neoplasms (Logrank $P=0.39$). FOXO1 related proteins are EP300, JUN, MYC, STAT1, FOS, SPI1, E2F, etc. **Conclusion:** The information of FOXO1 expression in mature B-cell neoplasms could be quickly extracted by using data mining and would be an scientific and theoretical support for the further research.

[Key words] FOXO1; data mining; mature B-cell neoplasms; database

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(12): 1692-1695]

成熟 B 细胞肿瘤(mature B-cell neoplasms)是一组异质性的血液系统恶性疾病,各亚型常常以发

[基金项目] 南京市医学科技发展专项资金资助(YKK15251)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hpl@seu.edu.cn

热、消瘦、盗汗、淋巴结肿大等表现作为首发临床症状,肿瘤细胞之间也呈现出类似的免疫表型。然而,这些发病起源相同的肿瘤细胞对患者的生存却产生了极大的差异作用^[1]。这种差异性的结果已经被广泛证实,但是导致差异性的机制尚未被清楚地

阐述。虽然,大量的研究显示^[2-5]各亚型之间存在不同的分子学异常现象,生物靶点的差异可能直接导致异质的病理生理学行为,但具体的原因还需要进一步的探索。

FOXO1 (forkhead box O1, FOXO1) 是叉头框家族中的一员,它在乳腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌、消化道肿瘤等多种恶性疾病中呈低表达状态^[6-9]。作为一种转录因子,它在调节细胞增殖、细胞凋亡、细胞周期以及细胞代谢方面均发挥着至关重要的作用。FOXO1水平下调可以减少肿瘤细胞的凋亡、促进其增殖,所以FOXO1蛋白的缺失被认为是导致肿瘤细胞不可控性增殖的重要原因^[10]。目前,有报道显示FOXO1在血液系统肿瘤中也产生了一定的调控作用^[11]。本研究使用数据库分析FOXO1在成熟B细胞肿瘤的表达情况,探讨FOXO1与B细胞肿瘤生存时间的相关性,进而预测可能与FOXO1相互作用的靶基因。

1 资料和方法

1.1 资料

1.1.1 Oncomine数据库中筛选基因

在本研究中,设置的检索条件如下:①Concept: signal transduction-GO Biological Process;②Analysis Type: vs. Normal Analysis;③Data Type: mRNA;④设定条件: under-expression。

1.1.2 Oncomine数据库提取数据

设置条件如下:①Gene: FOXO1;②Analysis Type: Cancer vs. Normal Analysis;③Cancer Type: Diffuse Large B-Cell Lymphoma;④Data Type: mRNA。

1.2 方法

1.2.1 Oncomine数据库分析FOXO1基因在B细胞肿瘤中的表达

在Oncomine数据库提取出的数据里选择不同研究逐一分析FOXO1基因在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达。

1.2.2 BIOGPS数据库分析FOXO1基因在B细胞肿瘤组织中的表达

通过BIOGPS分析FOXO1基因在B细胞肿瘤和正常淋巴组织中的表达差异,以及人体其他正常组织和其相应的肿瘤组织中FOXO1的表达差异。

1.2.3 GEPIA数据库分析FOXO1基因的表达与B细胞肿瘤患者预后的关系

从GEPIA数据库中选择在TCGA数据样本中的弥漫大B细胞淋巴瘤项目,输入FOXO1基因,高表达

组与低表达组都设为50%,最终得到23例FOXO1基因高表达和23例FOXO1基因低表达样本进行分析。

1.2.4 FOXO1信号转导通路初探

利用String-DB数据库分析FOXO1基因在细胞信号转导通路中的位置以及与其关系密切的上下游基因,预测潜在的靶基因。

1.3 统计学方法

采用SPSS 17.0对数据进行统计分析。在Oncomine数据库的分析中,采用 t 检验进行肿瘤样本和对照样本数据集基因表达水平的比较,表达变化倍数设定为2倍以上且 $P < 0.01$ 。GO分析和KEGG信号转导通路分析中用Fisher确切概率计算, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FOXO1基因符合研究条件

在Oncomine数据库中设置的检索条件所得到的相关基因中,按排名从前往后依次筛选,排除已经报道过的基因,最终选择FOXO1基因深入挖掘。利用Oncomine数据库分析FOXO1在不同类型肿瘤中的表达水平,结果表明B细胞淋巴瘤组织较对照的正常组织FOXO1表达水平显著下降。

2.2 Oncomine数据库分析FOXO1 mRNA的表达

对Oncomine数据库的数据挖掘显示,多个研究显示相比外周血中B淋巴细胞、淋巴结生发中心B淋巴细胞,FOXO1基因的mRNA水平在弥漫大B细胞淋巴瘤中呈显著低表达($P = 0.003$),差异具有统计学意义。

2.3 人体各正常组织和其相应的肿瘤组织中FOXO1蛋白的差异性表达结果

通过BIOGPS数据库分析显示,FOXO1蛋白在健康人的子宫、甲状腺、T淋巴细胞及B淋巴细胞组织中呈现高表达水平,而在B细胞淋巴瘤中呈显著低表达状态。

2.4 FOXO1表达水平与B细胞肿瘤患者预后的关系

GEPIA数据库检索结果显示,FOXO1基因低表达的弥漫大B细胞淋巴瘤患者的总体生存率低于FOXO1高表达的患者(图1),但是二者之间的差异并不具有统计学意义(Log-rank $P = 0.39$)。这说明了FOXO1基因的表达差异可能没有对B细胞肿瘤的预后产生影响。

2.5 细胞信号转导通路中FOXO1基因相互作用蛋白网络

通过String分析发现,FOXO1基因在细胞信

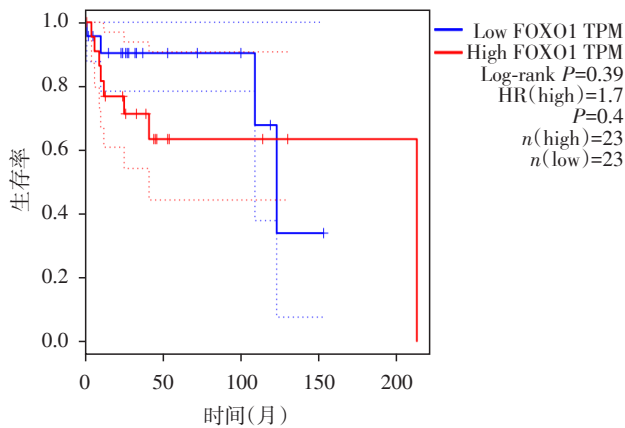


图1 FOXO1不同表达水平的弥漫大B细胞淋巴瘤患者总体生存期曲线

Figure 1 The overall survival curve of different FOXO1 gene expression in patients with diffuse larger B-cell lymphoma

号转导通路中处于重要位置,PPI富集 $P=1.0 \times 10^{-16}$,节点数为52个。如表1所示,在PPI网络中与FOXO1相互作用的有EP300、JUN、MYC、STAT1、FOS、SPI1、E2F1等基因。这些靶基因蛋白主要参与了负性调控细胞蛋白代谢、促细胞死亡及细胞周期调节等生物学过程,正如表2所示。而表3的结果进一步阐明了这些潜在靶基因蛋白的分子功能。

表1 FOXO1潜在靶基因蛋白分子及其所参与的信号通路

Table 1 The target genes of FOXO1 and signaling pathway

通路ID	通路类型	基因数	错误发现率	匹配蛋白
05200	肿瘤信号通路	7	1.15×10^{-6}	EP300, JUN, MYC, STAT1, FOS, SPI1, E2F1
05202	转录失调	4	1.15×10^{-6}	MYC, SPI1, CEBPB, ERG
04152	AMPK 信号通路	2	0.043	HNF4A, ELAVL1

表2 FOXO1潜在靶基因蛋白分子参与的生物学过程

Table 2 The biological characteristics of target genes of FOXO1

通路ID	通路类型	基因数	错误发现率	匹配蛋白
GO:0032269	蛋白代谢负调控	5	3.59×10^{-5}	EP300, JUN, MYC, SPI1, QKI
GO:0050794	细胞过程调节	7	9.57×10^{-4}	EP300, JUN, MYC, STAT1, FOS, HNF4A, ELAVL1
GO:0010942	细胞死亡正调控	4	0.030 4	EP300, JUN, MYC, E2F1
GO:0007166	细胞表面受体信号通路	7	0.038 1	EP300, JUN, MYC, HNF4A, FOS, E2F1, IRF4

表3 FOXO1潜在靶基因蛋白的分子功能

Table 3 The molecular function of target genes of FOXO1

通路ID	通路类型	基因数	错误发现率	匹配蛋白
GO:0000989	转录因子活性	5	9.43×10^{-9}	EP300, JUN, JUN, CTCF, TFAP2A
GO:0005515	蛋白绑定	11	9.19×10^{-9}	EP300, JUN, MYC, STAT1, FOS, JUN, HNF4A, IGF2GP2, ELAVL1, SPI1, CEBPB
GO:0003682	细胞死亡正调控	5	2.28×10^{-4}	JUN, CTCF, CEBPB, FOS, TFAP2A

3 讨论

目前研究表明^[12-14],FOXO1在B细胞肿瘤中产生着抗肿瘤效应。磷酸化后的FOXO1会被转移到细胞核直接降解,进而失活。下调FOXO1的磷酸化水平,可以激活Caspase-6及Caspase-8的水平促进细胞凋亡。同时,FOXO1还可以经由Bim途径发挥促进B细胞肿瘤凋亡的作用。而FOXO1活性降低,会加快细胞G1期向S期的转换,提高细胞周期蛋白D1的表达水平,直接导致肿瘤细胞的快速增殖。此外,FOXO1还可以抑制肿瘤细胞的迁移。简而言之,FOXO1基因可以诱导肿瘤细胞的凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖,限制肿瘤细胞的迁移和侵袭。

生物信息学在医学科研中已成为不可或缺的一项利器,Oncomine数据库(<http://www.oncomine.org>)整合了GEO、TCGA和已发表的文献等来源的RNA和DNA-seq数据,是分析肿瘤和正常组织差异表达的肿瘤基因芯片数据库。BIOGPS数据库(<http://biogps.org>)可分析FOXO1基因在各种肿瘤组织中的表达。GEPIA数据库(<https://www.gepia.org>)可对肿瘤数据集进行在线生存分析。String-DB数据库(<https://string-db.org>)是分析基因或蛋白相互作用的工具,包含已证实的和可以预测的蛋白质-

蛋白质相互作用的生物数据库和网络资源。本研究首先利用 Oncomine 数据库筛选出转录水平上在 B 细胞肿瘤低表达的 FOXO1 作为研究基因,并具体分析该基因在各类 B 细胞肿瘤组织中的表达差异。结果显示,无论是弥漫大 B 细胞淋巴瘤还是骨髓瘤,肿瘤组织中 FOXO1 表达水平均显著低于正常对照组织 ($P < 0.05$)。接着,通过 BIOGPS 数据库分析发现 FOXO1 在不同肿瘤组织中的表达情况具有显著差异性,但是在结果显示所有淋巴相关肿瘤中 FOXO1 基因都呈现低表达状态。鉴于上述研究结果,对 FOXO1 基因信号转导通路进行了初步探索,利用 String-DB 数据库分析发现,FOXO1 基因在细胞信号转导通路中处于重要节点位置,参与调节许多生理过程,包括细胞增殖、迁移和分化,EP300、JUN、MYC、STAT1、FOS、SPI1、E2F1 等基因可能与 FOXO1 有密切关系。

综上所述,应用数据库可进行大样本分析,科学地证明了 FOXO1 在成熟 B 细胞肿瘤中呈低表达状态,但其对患者的生存影响无统计学意义,而利用 String-DB 数据库分析获得了与 FOXO1 相关的作用靶基因,为进一步研究 FOXO1 在 B 细胞肿瘤发生发展中的作用提供了线索和依据。

[参考文献]

- [1] Onaindia A, Medeiros LJ, Patel KP. Clinical utility of recently identified diagnostic, prognostic, and predictive molecular biomarkers in mature B-cell neoplasms [J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(10): 1338-1366
- [2] Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2375-2390
- [3] Al-Hamadani M, Habermann TM, Cerhan JR, et al. Non-Hodgkin lymphoma subtype distribution, geodemographic patterns, and survival in the US: longitudinal analysis of the National Cancer Data Base from 1998 to 2011 [J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(9): 790-795
- [4] Lohr JG, Stojanov P, Carter SL, et al. Widespread genetic heterogeneity in multiple myeloma: implications for targeted therapy [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 91-101
- [5] Park HY, Lee SB, Yoo HY, et al. Whole-exome and transcriptome sequencing of refractory diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 86433-86445
- [6] Lu Y, Chen J, Xian T, et al. Epigallocatechin-3-gallate suppresses differentiation of adipocytes via regulating the phosphorylation of FOXO1 mediated by PI3K-AKT signaling in 3T3-L1 cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 9(7): 7411-7423
- [7] Santer FR, Erb HH, McNeill RV. Therapy escape mechanisms in the malignant prostate [J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35(2): 133-144
- [8] Li S, Lei X, Zhang J, et al. Insulin-like growth factor 1 promotes growth of gastric cancer by inhibiting foxo1 nuclear retention [J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(6): 4519-4523
- [9] Chan CY, Huang SY, Sheu JJ, et al. Transcription factor HBPI is a direct anti-cancer target of transcription factor FOXO1 in invasive oral cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14537-14548
- [10] Li G, Jin M, He Y, et al. Fork head box class O1 (FOXO1) activates Bim expression to mediate cardiac apoptosis in chronic intermittent hypoxia-induced cardiac hypertrophy [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23(9): 3603-3616
- [11] Kohrer S, Havranek O, Seyfried F, et al. Pre-BCR signaling in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia regulates PI3K/AKT, FOXO1 and MYC, and can be targeted by SYK inhibition [J]. *Leukemia*, 2016, 30(6): 1246-1254
- [12] Zhao Z, Li C, Xi H, et al. Curcumin induces apoptosis in pancreatic cancer cells through the induction of forkhead box O1 and inhibition of the PI3K/Akt pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4): 5415-5422
- [13] 梁婷婷, 梁金花, 朱华渊, 等. 68 例儿童、青少年非霍奇金淋巴瘤临床及预后分析 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(11): 1473-1476
- [14] Uddin S, Bhat AA, Krishnankutty R, et al. Involvement of F-BOX proteins in progression and development of human malignancies [J]. *Semin Cancer Biol*, 2016, 36(1): 18-32

[收稿日期] 2018-05-13