

本文引文格式:郑凯,袁仕国,欧阳怡佩,等.基于生物信息学分析 TGF β 1 在肝脏肝细胞癌中的表达及其预后价值[J].右江民族医学院学报,2023,45(2):319-324.

【论著与临床报道】

基于生物信息学分析 TGF β 1 在肝脏 肝细胞癌中的表达及其预后价值

郑凯¹,袁仕国²,欧阳怡佩¹,黄世稳¹

(1.右江民族医学院基础医学院,广西百色 533000;

2.海南省中医院,海口 570203)

摘要:目的 基于多个在线数据库探讨转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF β 1)在肝脏肝细胞癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)中的表达及其预后价值。方法 应用TIMER2.0数据库检索分析TGF β 1基因在泛癌组织中的表达情况;利用数据库UALCA分析TGF β 1在LIHC和正常组织中的表达及其与患者临床特征及癌症病理分期分型的相关性;利用KM Plotter数据库分析TGF β 1基因的表达及其与临床LIHC预后关系;最后,利用数据库STRING构建TGF β 1相关蛋白质网络,并利用数据库DAVID功能富集分析。结果 TGF β 1基因在正常组织中及泛癌中表达存在差异,其在LIHC中的表达水平显著高于正常组织,并与LIHC病患的临床病理特征、疾病分期及基因表达型和预后生存有密切相关性。TGF β 1及其相关基因的功能富集表明,它们主要参与7个信号通路、2个分子功能、5个细胞组分和7个生物学过程。结论 TGF β 1在LIHC中的高表达可能是患者罹患LIHC及不良预后的危险因素,为今后深入探讨LIHC发病分子机制以及靶向治疗提供一定的理论依据。

关键词:转化生长因子 β 1;癌,肝细胞;生物信息学

中图分类号:R730.261

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)02-0319-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.026

Bioinformatic analysis of TGF β 1 expression and its prognostic value in liver hepatocellular carcinoma

Zheng Kai¹, Yuan Shiguo², Ouyang Yipei¹, Huang Shiwen¹

(1. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities,

Baise 533000, Guangxi, China; 2. Hainan Traditional Chinese

Medicine Hospital, Haikou 570203, Hainan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and prognostic value of transforming growth factor β 1 (TGF β 1) in liver hepatocellular carcinoma (LIHC) based on several online databases. **Methods** The expression of TGF β 1 gene in pan-carcinoma tissues was analyzed by searching the TIMER2.0 database. The UALCA database was used to analyze the expression of TGF β 1 in LIHC and normal tissues and its correlation with clinical characteristics and pathological stage classification of cancer. The KM Plotter database was used to analyze the expression of TGF β 1 gene and its relationship with the clinical prognosis of LIHC. Finally, the STRING

基金项目:广西研究生教育创新计划项目(YCSW2021332)

第一作者简介:郑凯(1986-),女,在读硕士研究生,研究方向:黄根多糖抗肝纤维化,E-mail:kaizheng0228@163.com

通讯作者简介:黄世稳(1962-),男,本科,教授,硕士研究生导师,研究方向:组织炎症与纤维化及天然药物研究,E-mail:shi.wen.huang@163.com

database was used to construct TGF β 1-related protein network, and the DAVID database was used for functional enrichment analysis. **Results** The expression of TGF β 1 gene was different in normal tissues and pancreatic carcinoma, and its expression in LIHC were significantly higher than that in normal tissues. TGF β 1 gene expression was closely related to clinicopathologic features, disease stages, gene expression type and prognostic survival of LIHC patients. Functional enrichment of TGF β 1 and its related genes showed that they were mainly involved in 7 signaling pathways, 2 molecular functions, 5 cellular components and 7 biological processes.

Conclusion The high expression of TGF β 1 in LIHC may be a risk factor for patients with LIHC and poor prognosis, providing a theoretical basis for further discussion on the molecular mechanism of LIHC pathogenesis and targeted therapy.

Key words: transforming growth factor β 1; cancer, hepatocellular; bioinformatics

肝脏肝细胞癌(liver hepatocellular carcinoma, LIHC)占原发性肝癌的 70%~90%,是全球癌症死亡的三大原因^[1]。其发病机制尚不明确,临床观察显示其为肝脏长期慢性肝病的终末期^[2]。研究表明^[3-4],肝癌发生发展的分子机制可能是肝癌诊疗与预后评估的瓶颈。LIHC 严重威胁患者的健康,虽然手术治疗已取得较好的成效,但预后效果仍很差^[2]。因此,LIHC 的治疗仍为目前全世界面临的难题。研究发现 LIHC 的相关基因对 LIHC 的早期诊断及预后十分重要。转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF β 1)在机体大多数细胞中均可表达,广泛参与机体生物学进程,是在胚胎发育、正常生长发育、免疫调控和维持机体平衡中起主导作用的多功能蛋白,控制着多种细胞类型的增殖、分化、凋亡和其他功能^[5]。许多细胞合成 TGF β 1,并有专门的受体,它积极或消极地调节许多其他生长因子^[6]。TGF β 1 在包括肝癌在内的肝脏疾病的发生、发展中同样发挥主导作用^[7-8]。因此,了解 TGF β 1 及其信号通路在肝脏疾病中的具体作用机制,对肝脏疾病的进一步研究及治疗具有重大临床意义。近年来 TGF β 1 参与 LIHC 并指示其预后价值的研究报道少见,故本研究拟通过多个数据库对 TGF β 1 基因进行数据挖掘,分析 TGF β 1 在 LIHC 中的表达及其预后价值,为临床诊断和治疗提供有效的依据。

1 资料与方法

1.1 研究方法

1.1.1 分析 TGF β 1 在正常组织和泛癌中的表达差异 利用数据库 TIMER 2.0 的 Cancer Exploration 模块中的 Gene DE 界面进行泛癌和正常组织中 TGF β 1 中的表达差异情况检索,获取在泛癌组织和正常组织中的表达情况的方框图^[9]。

1.1.2 分析 TGF β 1 在 LIHC 中的差异表达 使用 UALCAN 数据库中的 TCGA 模块进行 TCGA Gene 分析 TGF β 1 在 LIHC 和正常组织中的表达差异情况。

输入 TGF β 1 基因名并在 TCGA 窗口选择 Liver hepatocellular carcinoma,选取 Expression 获取 TGF β 1 在正常组织和 LIHC 中的表达差异,并就患者年龄、性别、肿瘤分级、淋巴转移情况、癌症分期、T53 突变状态和组织学亚型分别分析 TGF β 1 在 LIHC 表达中的情况,分析 TGF β 1 在不同临床病理特征中的差异表达^[10-12]。

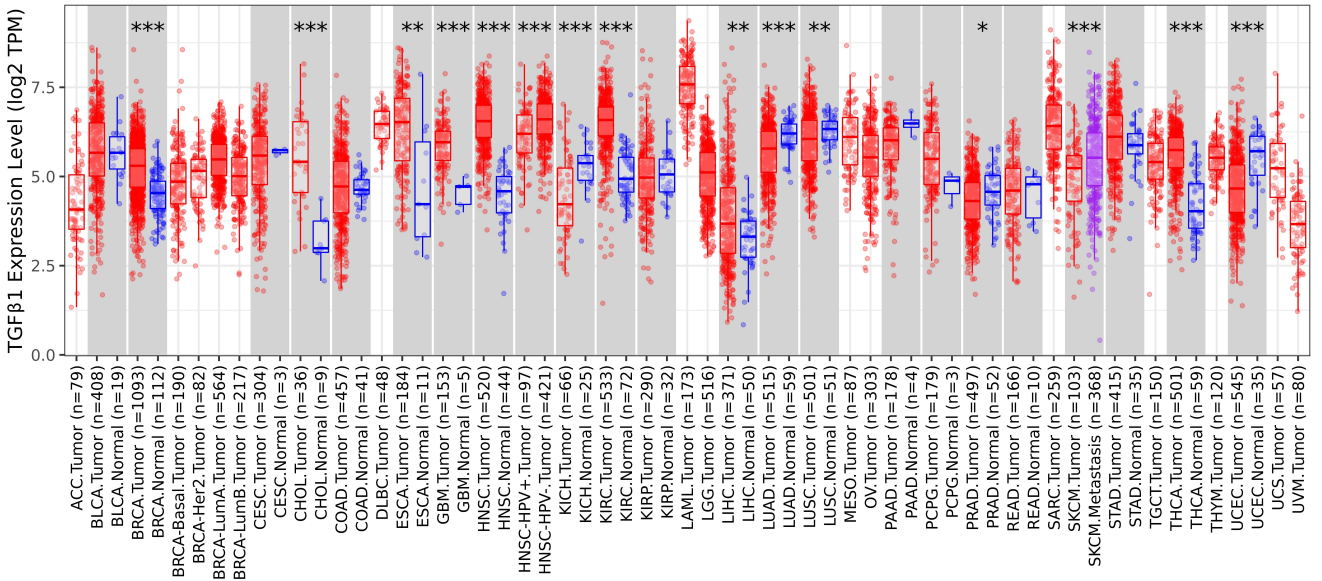
1.1.3 分析 TGF β 1 与 LIHC 预后的关系 利用数据库 Kaplan-Meier Plotter 中 mRNA 系类组块中的 Liver cancer 模块,在 Survival 选项选取 OS 和 RSF 选项分析 TGF β 1 对 LIHC 患者总生存期的影响及无病生存期的影响,并绘制 TGF β 1 表达与生存关系 KM 的生存曲线^[11-12]。

1.1.4 构建 TGF β 1 蛋白互作网络以及进行功能富集分析 在数据库 STRING 中 Protein Name 输入 TGF β 1,Organism 选择 Homosapiens 进行检索,具体参数设定为:置信度为 0.7,首级及次级互动蛋白数量分别选择不超过 20 和不超过 10,绘制蛋白互作图并筛选出与 TGF β 1 基因的密切相关的基因^[13]。将上述与 TGF β 1 紧密的互作基因输入 DAVID 数据库,以 FDR<0.05 显著性作为富集标注将进行 GO 功能富集和 KEGG 通路功能富集及分析^[14]。

1.2 统计学方法 数据的统计学分析均采用数据库默认的统计学分析方法进行:TGF β 1 在泛癌组织和正常组织中的表达水平差异,采用 Wilcoxon 检验(TIMER 2.0);TGF β 1 在 LIHC 与正常组织中的表达水平比较,采用单因素方差分析(UALCAN 数据库);TGF β 1 高表达与生存率的比较,采用 Logrank 检验(TIMER 2.0)。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF β 1 在泛癌症中的表达情况 结果显示,TGF β 1 在 LIHC 等多种癌症组织中相较于正常组织都有较高的表达,见图 1。



注：与正常肝组织比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

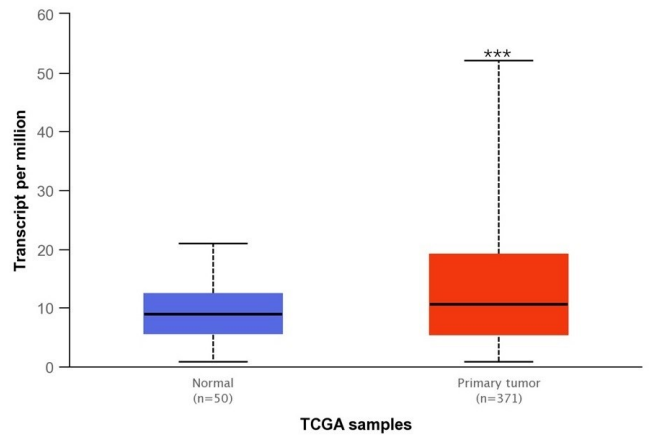
图 1 TGFβ1 在多种癌组织中与正常组织中的表达情况

2.2 TGFβ1 在 LIHC 中的表达情况 TGFβ1 在正常肝组织中的表达显著低于 LIHC 组织 ($P < 0.001$)。见图 2。

2.3 TGFβ1 表达水平与患者临床病理学特征的关系 在 UALCAN 数据库中选择性别、年龄、体重、肿瘤分期、淋巴转移、个体癌症分期、T53 突变状态及组织学亚型等方面进行相关性分析显示，TGFβ1 在上述不同临床病理特征分期中存在差异表达。UALCAN 结果显示，TGFβ1 表达水平与患者的上述临床病理学特征有关，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，见图 3。

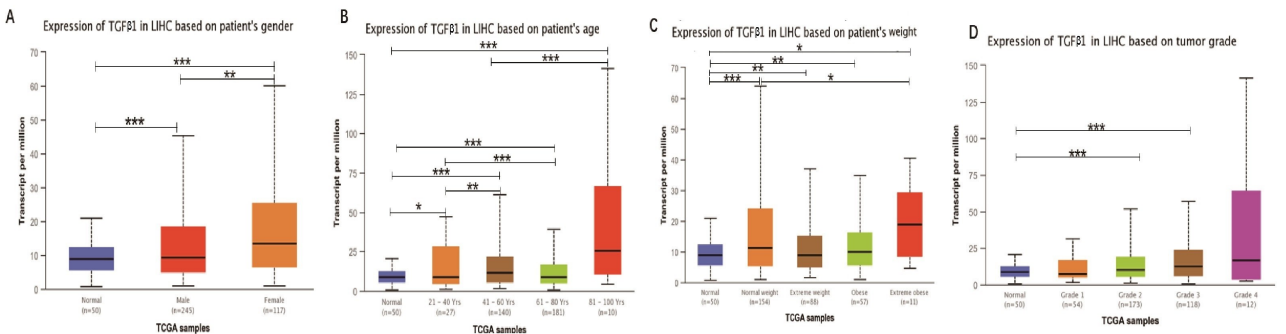
2.4 TGFβ1 对 LIHC 患者生存期的影响结果 TGFβ1 的表达与 LIHC 患者的总体生存率有关 ($P < 0.05$)，总体上减短患者的总生存期。而对患者无病生存期并无统计学差异 ($P > 0.05$)。见图 4。

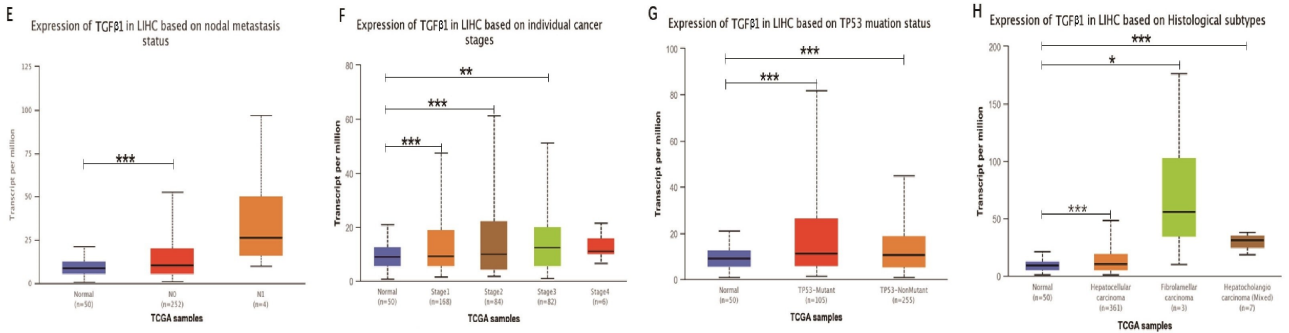
Expression of TGFβ1 in LIHC based on Sample types



注：TGFβ1 在 LIHC 组织中与正常肝组织比较，*** $P < 0.001$ 。

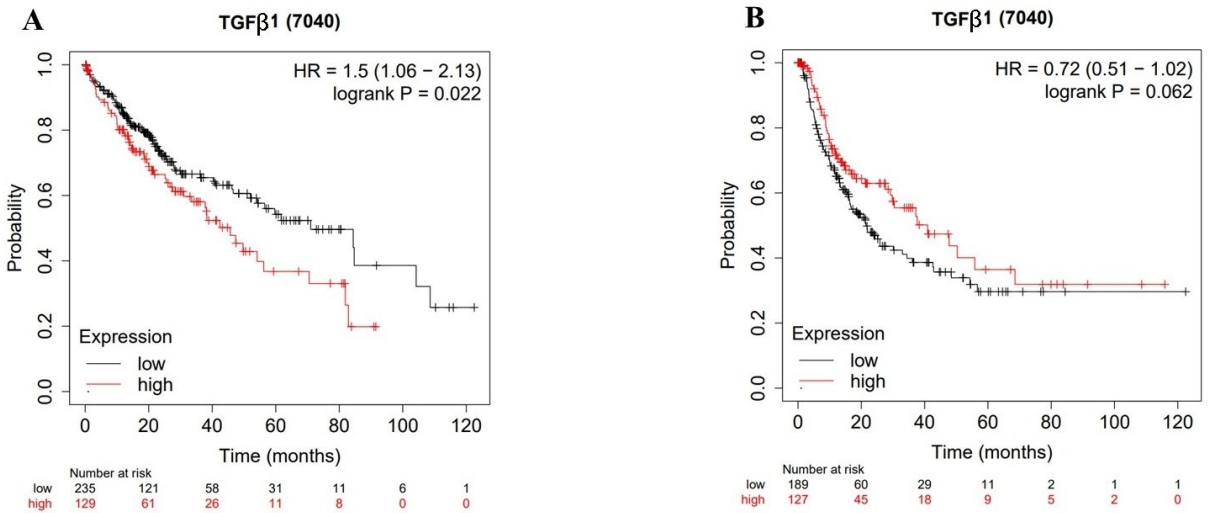
图 2 TGFβ1 在正常组织中与 LIHC 组织的表达差异





注：* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 3 TGFβ1 在正常组织中与 LIHC 组织中不同临床病理特征及分期等的表达差异



注：A 为总生存期，B 为无病生存期。

图 4 TGFβ1 表达与 LIHC 患者生存率的相关性

2.5 蛋白互作网络与功能富集分析结果 结果发现 30 个蛋白与 TGFβ1 基因存在紧密互作关系(见图 5)。TGFβ1 的互作蛋白被用于 GO 和 KEGG 功能富集分析(见图 6),其中 KEGG 富集的通路主要包括:癌症相关通路(hsa05200)、癌症中的蛋白聚糖(hsa05205)、TGFβ1 信号通路(hsa04350)、转化生长因子受体 β 信号通路(GO:0007179)、FoxO 信号通路(hsa04068)、AGE-RAGE 信号通路(hsa04933)、乙型肝炎(hsa05161)、人类 t 细胞白血病病毒 1 感染(hsa05166)等信号通路。GO 富集的通路包括:2 个分子功能、5 个细胞组分和 7 个生物学过程,其中分子功能包括:蛋白结合(GO:0005515)和同源蛋白结合(GO:0042802)。细胞组分包括:胞核(GO:0005634)、细胞表面(GO:0000086)、质膜(GO:0005886)及细胞内外区域(GO:0005615,GO:0005576)。生物学过程包括:参与 TGFβ1 受体信号道路(GO:007179)、细胞增殖的负性调控(GO:0008285)、老化(GO:0007568)、转录正调控及 DNA 模板化(GO:0045893)、伤口愈合(GO:0042060)、正向调控 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控(GO:0045944)、缺氧反应(GO:0001666)。

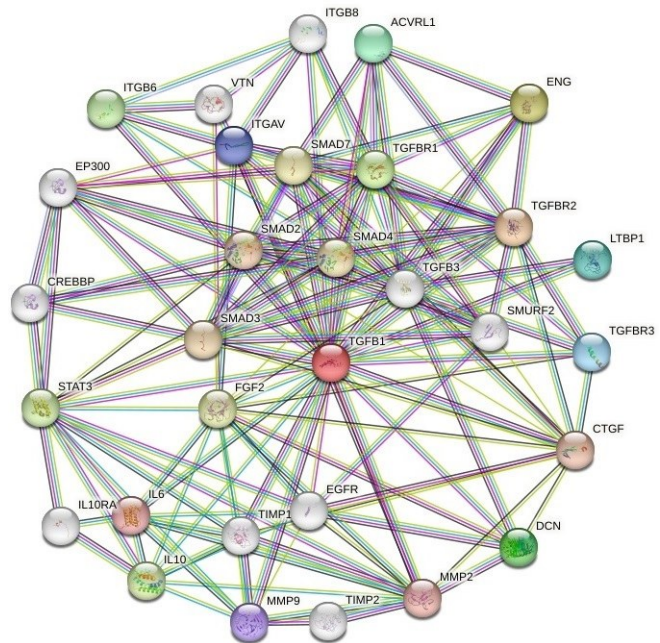
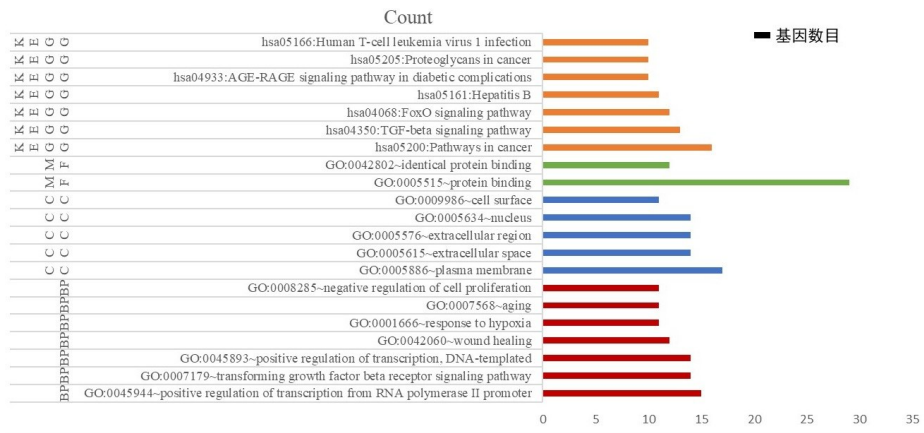


图 5 与 TGFβ1 基因存在紧密互作关系的蛋白



注:BP, 生物学功能, CC, 细胞组分, MF, 分子功能, KEGG, 信号通路。

图 6 TGFβ1 基因及相关基因的功能富集

3 讨论

研究表明, LIHC 的发生是多因素、多机制的调控过程。其中, 肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 的活化在肝纤维化发生和发展过程中发挥关键作用^[15], 对于慢性肝病的进程以及发展为肝硬化和 LIHC 等终末期肝病的进程的调节非常重要^[16], 而 TGFβ1 是活化 HSC 的重要蛋白因子, 在急慢性肝损伤发生的早期, 肝脏的固有细胞即肝细胞、库普弗细胞 (kupffe cell) 及炎症反应招募的免疫细胞、巨噬细胞和中性粒细胞等分泌 TGFβ1。TGFβ1 参与 HSC 活化发生的多条细胞通路, 引起早期肝纤维化的发生^[17]。LIHC 的晚期, TGFβ1 在加速肝纤维化的发生、促进肝癌细胞的增殖、肝癌干细胞的扩增、血管的异常增生等方面发挥促进作用^[18-19]。同时, TGFβ1 可抑制免疫应答, 为肝癌细胞的生长创造肿瘤微环境^[20]; TGFβ1 还可以增强水解蛋白与细胞黏附分子结合的活性, 为肝癌细胞的侵袭及转移创造条件^[21]。基于上述生理过程, TGFβ1 对于 LIHC 的分子靶向治疗具有重要的价值, 由此, TGFβ1 具有重要的研究价值。本研究结果显示, TGFβ1 在 LIHC 中的表达水平与正常组织相比较较高。且高表达的 TGFβ1 与性别、年龄、体重、肿瘤分级、淋巴转移情况、个体癌症分期、组织学亚型及 T53 突变状态等都有关系。进一步分析发现 Smad2、Smad3、TGFβR1 和 TGFβR2 等为 TGFβ1 的紧密互作蛋白, 经功能富集分析, 发现它们主要参与核酸转录调控、细胞增殖、老化、凋亡过程, 是细胞核、质膜的组成成分, 而且在癌症相关通路、癌症中的蛋白聚糖、TGFβ1 信号通路、FoxO 信号通路、AGE-RAGE 等信号通路起作用。多种癌症的发生都与 TGFβ1 信号通路有关, TGFβ1 信号通路已被证明与肝细胞癌^[22]、结直肠癌^[23-24]、非小细胞肺癌^[25] 的发病机制有关, 还参与了慢性肾癌的发生发展^[26]。FoxO 信号通路是主要的神经活动信号通路, 同时也是细胞癌变、癌症发生发展的

重要通路, 其促进了前列腺癌的进展^[27]。而且 TGFβ1 的相关基因 MMP2 被发现介导直肠癌淋巴转移的发生^[28], EP300 被报道通过 FBXW7-NOTCH-CCL2/CSF1 轴改变肿瘤相关巨噬细胞极化, 促进弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的肿瘤进展^[29]。由此可见, 与 TGFβ1 紧密互作的这些蛋白大都与肿瘤的发生发展有关。

综上所述, TGFβ1 基因可能是导致 LIHC 患者预后不良的危险因素。另外, SMRF2 和 TIMP1 等多个基因与 TGFβ1 紧密相关, 本研究可为进一步探讨 LIHC 发病机制以及预后价值提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] YANG J D, HAINAUT P, GORES G J, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 589-604.
- [2] GARCIA-LEZANA T, LOPEZ-CANOVAS J L, VILLANUEVA A. Signaling pathways in hepatocellular carcinoma [J]. Adv Cancer Res, 2021, 149: 63-101.
- [3] LIU Z Y, LIU X, LIANG J X, et al. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future prospects [J]. Front Immunol, 2021, 12: 765101.
- [4] 梁寻杰, 覃小珊, 黄赞松. 肝癌预后影响因素研究进展 [J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(5): 642-645.
- [5] MOREAU J M, VELEGRAKI M, BOLYARD C, et al. Transforming growth factor-β1 in regulatory T cell biology [J]. Sci Immunol, 2022, 7(69): eai4613.
- [6] VELEGRAKI M, SALEM M, ANSA-ADDO E A, et al. Autocrine transforming growth factor β1 in regulatory T cell biology-gone but not missed [J]. Immunity, 2021, 54(3): 395-396.
- [7] 叶森, 王宏宾, 付永. TGF-β 及其信号通路在肝脏疾病中的研究进展 [J]. 临床荟萃, 2022, 37(1): 72-76.
- [8] 王晓冰. 转化生长因子 β1 及其受体在肿瘤发生发展中的研究进展 [J]. 右江民族医学院学报, 2001, 23(5): 816-

- 817.
- [9] 豆雅楠,费晓炜,魏嘉良,等.基于多数据库分析 PARK2 在泛癌中的表达与突变[J].中华脑科疾病与康复杂志(电子版),2021,11(3):139-146.
- [10] ZHENG H,ZHANG G S,ZHANG L,et al. Comprehensive review of web servers and bioinformatics tools for cancer prognosis analysis[J].Front Oncol,2020,10:68.
- [11] 刘洁兰,李钰颖,卢诗丽,等.基于生物信息学分析 NAA15 在肝脏肝细胞癌中的表达及其预后价值[J].中国医药科学,2022,12(23):153-156,117.
- [12] 张丹娅,李飞,徐汉杰,等. XPNPEP2 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].实用肿瘤杂志,2022,37(5):389-396.
- [13] KONOSHENKO M,LAKTIONOV P. The miRNAs involved in prostate cancer chemotherapy response as chemoresistance and chemosensitivity predictors [J]. Andrology,2022,10(1):51-71.
- [14] 冯文敏,吴铠悦,黄月萍,等.基于网络药理学和生物信息学探究西黄丸治疗肝癌作用机制[J].中国中医药图书情报杂志,2023,47(1):13-20.
- [15] AHMED H,UMAR M I,IMRAN S,et al. TGF- β 1 signaling can worsen NAFLD with liver fibrosis backdrop [J]. Exp Mol Pathol,2022,124:104733.
- [16] VALLEE A,LECARPENTIER Y. TGF- β in fibrosis by acting as a conductor for contractile properties of myofibroblasts[J]. Cell Biosci,2019,9:98.
- [17] 秦利静,张露,侯鹏,等.肝纤维化发病机制的研究进展[J].吉林医药学院学报,2021,42(5):369-371.
- [18] 董学花,常慧,朱洁波,等.转化生长因子 β /Smad 信号通路对肝癌的影响研究进展[J].延边大学医学学报,2019,42(1):69-72.
- [19] 鲁丽娟,王田园,陈欣菊.转化生长因子 β 在肝癌中的机制研究[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(81):189-191.
- [20] GURZU S,KOBORI L,FODOR D,et al. Epithelial mesenchymal and endothelial mesenchymal transitions in hepatocellular carcinoma; a review[J]. Biomed Res Int, 2019,2019:2962580.
- [21] LI J N,HU K,HE D R,et al. Prognostic value of PLXND1 and TGF- β 1 coexpression and its correlation with immune infiltrates in hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol,2021,10:604131.
- [22] 程变巧,黄志腾,林园香. TGF- β 1 诱导肝星状细胞活化调控肝癌的炎症和免疫反应[J].中国疗养医学,2021,30(8):798-800.
- [23] PEREZ L G,KEMPSKI J,MCGEE H M,et al. TGF- β signaling in Th17 cells promotes IL-22 production and colitis-associated colon cancer[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):2608.
- [24] XU J,SHAO T T,SONG M X,et al. MIR22HG acts as a tumor suppressor via TGF β /SMAD signaling and facilitates immunotherapy in colorectal cancer[J]. Mol Cancer,2020,19(1):51.
- [25] HWANG K E,KIM H J,SONG I S,et al. Salinomycin suppresses TGF- β 1-induced EMT by down-regulating MMP-2 and MMP-9 via the AMPK/SIRT1 pathway in non-small cell lung cancer[J]. Int J Med Sci, 2021, 18(3):715-726.
- [26] PATEL S,TANG J Q,OVERSTREET J M,et al. RacGTPase promotes fibrotic TGF- β 1 signaling and chronic kidney disease via EGFR, p53, and Hippo/YAP/TAZ pathways[J]. FASEB J,2019,33(9):9797-9810.
- [27] YAN Y Q,HUANG H J. Interplay among PI3K/AKT, PTEN/FOXO and AR signaling in prostate cancer[J]. Adv Exp Med Biol,2019,1210:319-331.
- [28] SUN J W,ZHANG Z Z,CHEN J Y,et al. ELTD1 promotes invasion and metastasis by activating MMP2 in colorectal cancer[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(12):3048-3058.
- [29] HUANG Y H,CAI K,XU P P,et al. CREBBP/EP300 mutations promoted tumor progression in diffuse large B-cell lymphoma through altering tumor-associated macrophage polarization via FBXW7-NOTCH-CCL2/CSF1 axis[J]. Signal Transduct Target Ther,2021,6(1):10.

收稿日期:2023-01-06;修回日期:2023-03-09