

# 基于生物信息学分析 FBXO45 蛋白在胰腺导管腺癌中的表达及其临床意义

侯丽艳, 贾如江, 尹清臣, 王景梅\*

邯郸市中心医院 重症医学科, 河北 邯郸 056102

**【摘要】 目的** 探讨 FBXO45 蛋白变异对胰腺导管腺癌预后的影响, FBXO45 蛋白参与胰腺导管腺癌发生发展的可能作用机制。**方法** GEPIA 数据库在线分析 FBXO45 mRNA 在不同肿瘤中的表达, UALCAN 在线分析 FBXO45 mRNA 在胰腺导管腺癌中与正常胰腺组织中的表达差异, 进一步 GEPIA 数据库扩大正常胰腺组织对比标本数目, 分析 FBXO45 mRNA 在胰腺导管腺癌中与正常胰腺组织中的表达差异, 分析 FBXO45 基因表达与胰腺导管腺癌患者无病生存期 (Disease-free survival, DFS)、总生存期 (Overall Survival, OS) 的关系。Human Protein Atlas 数据库中确定 FBXO45 蛋白在细胞中的定位表达, 并检索 FBXO45 蛋白在胰腺导管腺癌与正常胰腺组织中的表达差异, 分析 FBXO45 蛋白的表达与胰腺导管腺癌患者生存的关系。在 cBioPortal 数据库中检索 FBXO45 基因在胰腺癌中的改变, 并分析 FBXO45 基因变异与胰腺导管腺癌预后的关系。从 String 数据库中分析 FBXO45 蛋白在信号转导中关系密切的蛋白网络, 探讨可能的作用机制。**结果** GEPIA 数据库在线分析 FBXO45 mRNA 在 24 种恶性肿瘤中的表达不同, 胰腺导管腺癌组织 FBXO45 基因的表达明显高于正常胰腺组织 ( $P < 0.05$ ), FBXO45 mRNA 表达水平与胰腺癌患者的无病生存期 (DFS)、总生存期 (OS) 显著相关 ( $P < 0.05$ )。Human Protein Atlas 数据库分析结果显示, FBXO45 蛋白主要表达于细胞的细胞质中, FBXO45 蛋白在胰腺癌组织中显著表达增高 ( $P < 0.05$ ), 通过生存分析进一步证明高表达 FBXO45 蛋白的胰腺导管腺癌患者总生存期较差 ( $P < 0.05$ )。在 cBioPortal 数据库中分析显 4% (7/175) 的胰腺导管腺癌患者表现出 FBXO45 基因改变, FBXO45 基因变异的患者总生存预后较差 ( $P < 0.05$ )。String 数据库显示在 PPI 网络中与 FBXO45 蛋白相互作用的蛋白有 MYCBP2、TP73、SKP1、CUL1、SPRYD3、KCTD6、MAP3K12、MPP3、UNC13A、UNC13B 等。**结论** FBXO45 蛋白在胰腺癌组织中呈现高表达, 与患者预后显著相关。FBXO45 基因变异的患者总生存预后较差。FBXO45 基因变异的患者总生存预后较差, 与 FBXO45 相互作用比较密切的前 3 位蛋白有 MYCBP2、TP73、SKP1, FBXO45 蛋白参与蛋白质泛素化途径, 是蛋白质修饰的一部分, 推测 FBXO45 通过基因变异、促进蛋白泛素化, 在胰腺癌的发生发展中起重要作用, 影响其预后。

**【关键词】** 胰腺癌; 美国癌症基因组图谱数据库; 人类蛋白质图谱数据库; cBioPortal 数据库

## Expression and clinical significance of FBXO45 in pancreatic cancer based on bioinformatics analysis

Hou Liyan, Jia Rujiang, Yin Qingchen, Wang JingMei\*

Intensive Care Unit, Handan Central Hospital Hebei, Handan 056102, Hebei, China

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of its variation on the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma was determined. To explore the possible mechanism of FBXO45 protein involved in the development of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Methods** GEPIA database online analysis of FBXO45 mRNA expression in different tumors, UALCAN online analysis of FBXO45 mRNA expression difference in pancreatic ductal adenocarcinoma and normal pancreatic tissue, further GEPIA the database to expand the number of normal pancreatic tissue contrast specimens, analysis of the difference in expression between pancreatic ductal adenocarcinoma and normal pancreatic tissue, analysis the relationship of FBXO45 gene expression and the disease-free survival (DFS)、total survival (OS). Human Protein Atlas location expression of

第一作者: 侯丽艳, 副主任医师

\* 通信作者: 王景梅, 主任医师, E-mail: handanhouliyan@126.com

FBXO45 protein in cells was determined in the database, and the difference of FBXO45 protein expression in pancreatic ductal adenocarcinoma and normal pancreatic tissue was retrieved. The relationship between the expression of FBXO45 protein and the survival of pancreatic ductal adenocarcinoma patients was analyzed. The changes of FBXO45 genes in pancreatic cancer were retrieved in cBioPortal database and the relationship between FBXO45 gene variation and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma was analyzed. FBXO45 analysis from String database to explore possible mechanisms of action. **Results** GEPIA expression of FBXO45 genes in pancreatic ductal adenocarcinoma tissues was significantly higher than that in normal pancreatic tissues ( $P < 0.05$ ). FBXO45 mRNA expression levels were significantly associated with disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in pancreatic cancer patients ( $P < 0.05$ ). The results of Human Protein Atlas database analysis showed that FBXO45 protein was mainly expressed in the cytoplasm of cells, and the expression of FBXO45 protein was significantly increased in pancreatic cancer tissues. The survival of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma with high expression of FBXO45 protein was  $P < (0.05)$ . The analysis of 4% (7/175) of pancreatic ductal adenocarcinoma in cBioPortal database showed FBXO45 gene changes, and the total survival prognosis of patients with FBXO45 gene variation was poor ( $P < 0.05$ ). String database shows MYCBP2, TP73, SKP1, CUL1, SPRYD3, KC of proteins interacting with FBXO45 proteins in PPI networks TD6, MAP3K12, MPP3, UNC13A, UNC13B etc. **Conclusion** FBXO45 protein showed high expression in pancreatic cancer tissue, which was significantly related to the prognosis of patients. FBXO45 the total survival prognosis of patients with gene variation is poor. the total survival prognosis of patients with FBXO45 gene variation is poor. the top three proteins with close interaction with FBXO45 have MYCBP2, TP73, SKP1, FBXO45 proteins involved in the protein ubiquitination pathway and are part of protein modification. it is speculated that FBXO45 play a role in the occurrence and development of pancreatic cancer and affect its prognosis through gene variation and promoting protein ubiquitination.

**【Key words】** Pancreatic cancer; FBXO45; American cancer genome atlas (TCGA) database; Human Protein Atlas database; cBioPortal database

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PAAD)恶性度高,其5年生存率仅为6%。由于生活方式和饮食结构的改变,近年来发病率逐年升高,而其死亡率却居高不下,预计2030年胰腺导管腺癌将成为全球癌症相关死亡的第二大原因<sup>[1]</sup>。F-box蛋白作为E3泛素连接酶复合物的组成,在成熟神经元的神经传递调节中起作用,近年来研究表明其可以特异性地与底物结合,调节多种肿瘤生物学行为。研究发现FBXO45水平与多种细胞增殖过程有关,包括与肿瘤发生途径相关的细胞增殖过程,如细胞周期进展、凋亡、转录、迁移、侵袭和转移等<sup>[2-3]</sup>。在胰腺癌中,FBXO45蛋白的表达及其临床意义尚不清楚。本研究基于生物信息学分析FBXO45蛋白在胰腺导管腺癌中的表达及其临床意义,并探讨FBXO45蛋白参与胰腺导管腺癌发生发展的可能作用机制。

## 1 材料与方法

1.1 在线UALCAN软件和GEPIA数据库 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)是一个有效

的癌症数据在线分析和挖掘的网站,主要是基于TCGA数据库中的相关癌症数据进行分析,它可以对相关基因进行生物标志鉴定、表达谱分析、生存分析等。GEPIA([gepia.cancer-pku.cn/](http://gepia.cancer-pku.cn/))数据库即基因表达谱数据动态分析,由北京大学开发的在线数据库结合TCGA和GTEX数据库分析基因在不同肿瘤中的表达情况。本研究利用GEPIA数据库在线分析FBXO45 mRNA在31种恶性肿瘤中的表达,利用在线软件UALCAN统计FBXO45在胰腺导管腺癌组织和正常组织中的表达量,进一步利用GEPIA数据库扩大分析FBXO45 mRNA在胰腺导管腺癌中与正常胰腺组织中的表达差异分析FBXO45基因表达与胰腺导管腺癌患者无病生存期(DFS)、总生存期(OS)的关系。

1.2 人类蛋白质图谱数据库 人类蛋白质图谱数据库(Human protein Atlas, HPA),简称HPA数据库,它致力于提供人类蛋白质的组织和细胞分布信息,并免费提供公众查询。使用特制的抗体,用免疫组化的技术,检查每一种蛋白质在人类正常组织、肿瘤组织、细胞系和血液细胞内的分布和

表达,其结果用免疫组化染色图表示,并经专业人员阅读和标引。在本研究中,输入FBXO45,选择细胞数据库,A-431细胞为人皮肤鳞癌细胞,贴壁生长,所以选择A-431细胞,以确定其在细胞中的表达定位,再次选择正常组织库和病理组织数据库,以检索FBXO45蛋白在正常胰腺组织和胰腺导管腺癌中的表达,进一步检索FBXO45基因在TCGA RNA标本库中表达量,分析FBXO45RNA表达与胰腺导管腺癌患者生存的关系。

**1.3 cBioPortal 数据库** cBioPortal数据库(美国国家癌症研究所,https://www.cbioportal.org)的数据来源于癌症基因组图(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库、ICGC、GEO等数据库,整合的基因组数据类型包括细胞突变、DNA拷贝数改变(CNAs)、mRNA和miRNA表达量、DNA甲基化、蛋白质丰度和磷蛋白丰度等。本研究利用cBioPortal数据库在线分析TCGA数据集中胰腺导管腺癌患者FBXO45基因变异数据,生存分析比较FBXO45基因变异与无变异胰腺导管腺癌患者的生存差异。

**1.4 String-DB 数据库** String-DB数据库(https://string-db.org)是生物基因和蛋白质相互作用分析的检索平台,包含了已证实和可预测的蛋白-蛋白相互作用生物数据库,也包括蛋白质之间的间接功能相关性,它除了包含有实验数据、从PubMed摘要中挖掘的结果和综合其他数据库数据外,还包括利用生物信息学的方法预测的结果。本研究中输入“FBXO45”,物种选择“Homo sapiens”,置信度选择“Medium0.4”,最大数相互作用选择连接数不超过10,进行检索。

**1.5 统计学分析** 在线分析工具中计量资料均以均数±标准差表示,两组间比较采用t检验,生

存分析采用Kaplan-Meier法分析FBXO45表达水平与胰腺导管腺癌患者DFS和OS的关系。

## 2 结果

**2.1 应用 GEPIA 数据库分析 FBXO45 基因在不同肿瘤中的表达情况** 结果显示,FBXO45基因在多数肿瘤中表达水平升高,如卵巢癌、胶质瘤、乳腺癌等,其中也包括胰腺导管腺癌(图1)。

**2.2 在线软件 UALCAN 和 GEPIA 数据库统计分析** 在线软件UALCAN分析TCGA数据库中,FBXO45基因在178例胰腺导管腺癌组织和4例正常组织中的表达量差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。本研究使用GEPIA数据库在线分析179例胰腺导管腺癌组织和171正常胰腺组织中分析FBXO45基因的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图2)。

**2.3 GEPIA 数据库中分析** 利用Kaplan-Meier法分析了FBXO45 mRNA表达水平与胰腺导管腺癌患者DFS和OS的关系,结果提示FBXO45基因高表达组的胰腺导管腺癌患者DFS( $P = 0.015$ )明显差于低表达组,FBXO45基因高表达组的胰腺导管腺癌患者OS( $P = 0.013$ )明显差于低表达组(图3)。

**2.4 HPA 数据库分析** 该数据库采用免疫荧光定位检测FBXO45蛋白在A-431细胞中定位表达于细胞质。FBXO45蛋白在胰腺导管腺癌组织中的表现 Human Protein Atlas 数据库中通过FBXO45免疫组织化学分析胰腺导管腺癌组织芯片与正常胰腺组织的表达,该数据库中共9例胰腺导管腺癌患者标本,16个标本切片,染色强度9例中7例呈中等强度染色,2例呈弱染色,染色阳性细胞所

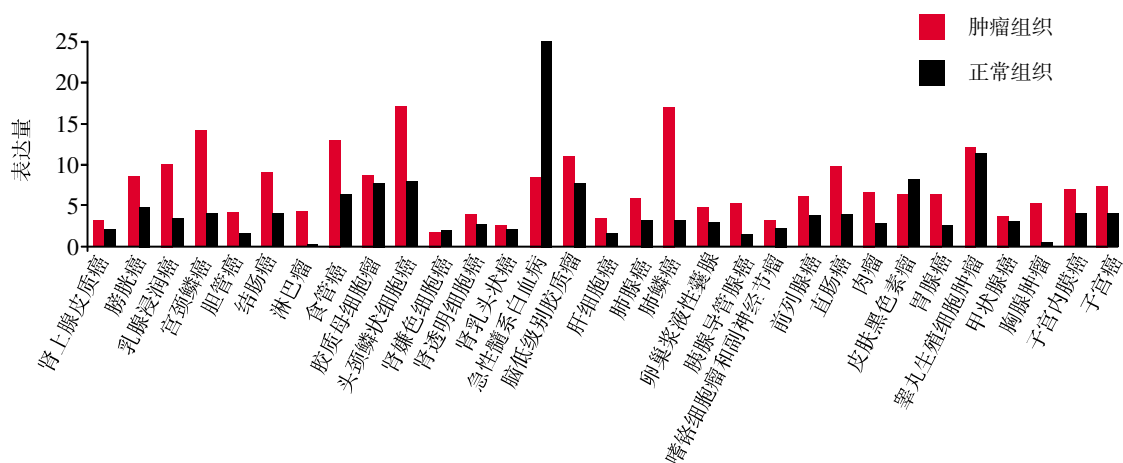
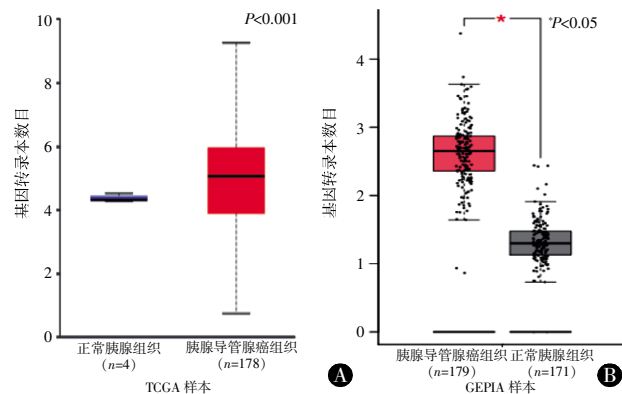


图1 FBXO45基因在不同肿瘤中表达

占比>75%的4例,25%~75%的2例,<25%的3例。可见胰腺导管腺癌组织中FBXO45蛋白呈现明显高表达,正常胰腺组织中不表达FBXO45蛋白(图4)。

**2.5 FBXO45表达与胰腺癌患者预后分析** 为进一步分析FBXO45基因表达与胰腺导管腺癌患者远期预后的关系,HPA数据库中共分析176例患者的胰腺导管腺癌组织,FBXO45RNA平均表达数值为3.1 FPKM,用Kaplan-Meier分析患者预后情况,



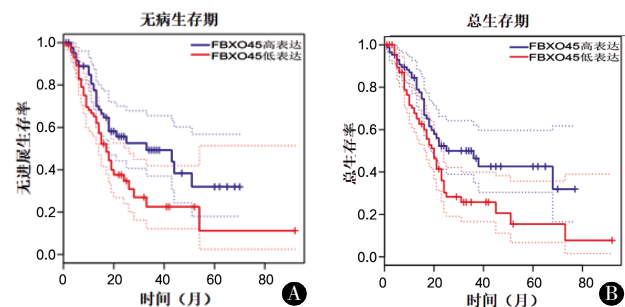
**图2** FBXO45基因在胰腺导管腺癌组织和正常胰腺组织中的表达

注:A为UALCAN分析FBXO45基因在胰腺导管腺癌和正常组胰腺中的表达差异(红色箱体为胰腺导管腺癌组织,黑色箱体为正常胰腺组织);B为GEPIA分析FBXO45基因在胰腺导管腺癌和正常胰腺中的表达差异(红色箱体为胰腺导管腺癌组织,黑色箱体为正常胰腺组织)

结果显示:表达节点设定为3.61 FPKM时,FBXO45基因表达与胰腺癌患者预后存在明显相关性,FBXO45高表达组5年生存率15%,FBXO45低表达组5年生存率34%,FBXO45基因高表达组预后较差( $P=0.0012$ ,图5)。

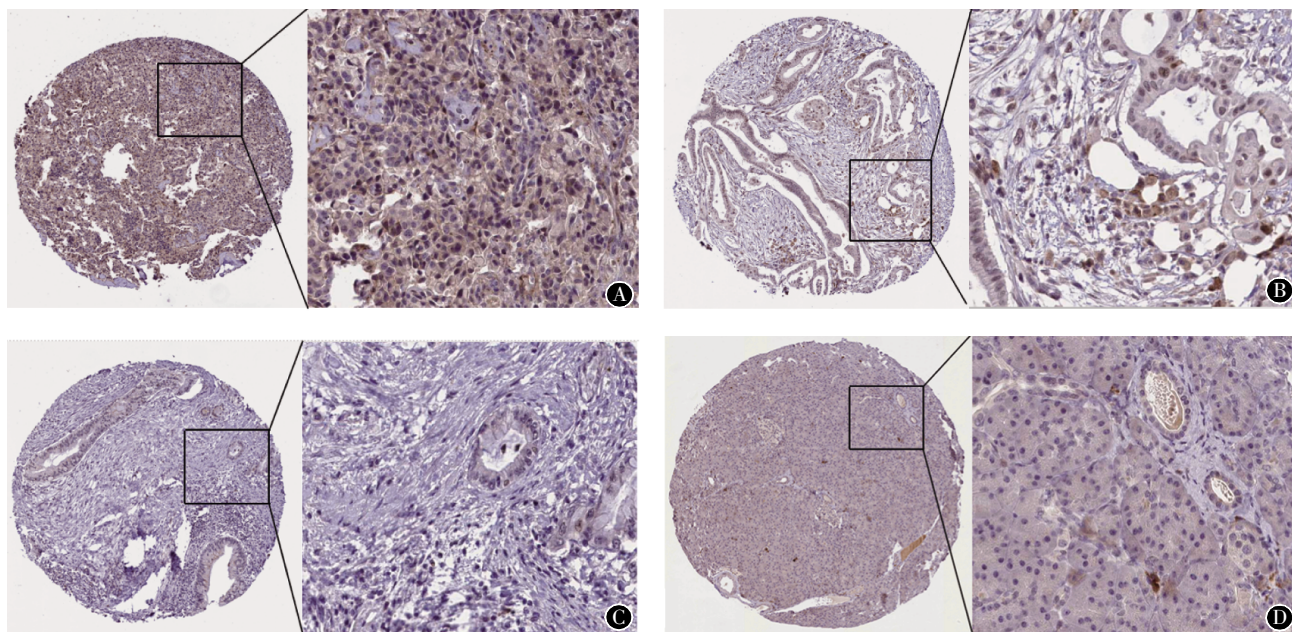
**2.6 FBXO45在cBioPortal数据库中的变异** cBioPortal数据库包含168例胰腺导管腺癌患者的FBXO45基因表达数据。该队列中7.1%(12/168)的PAAD病例表现出FBXO45改变,其中包括8例mRNA扩增,4例错义突变(图6)。

**2.7 FBXO45变异与胰腺癌预后的关系分析** 在cBioPortal数据库中12例FBXO45基因变异的胰腺导管腺癌患者的中位生存期16.37个月,156例基因未变异的胰腺导管腺癌患者的中位生存期



**图3** GEPIA分析FBXO45基因表达对胰腺癌患者DFS(A)和OS(B)的影响

注:A为FBXO45高表达 $n=89$ ,FBXO45低表达 $n=89$ ;B为FBXO45高表达 $n=89$ ,FBXO45低表达 $n=89$



**图4** HPA数据库分析在胰腺导管腺癌组织的表达

注:A为高表达;B为中表达;C为低表达;D为FBXO45正常胰腺组织中表达(免疫组化,二氨基联苯胺染色法,左 $\times 40$ ,右 $\times 100$ )

21.44个月,基因变异组患者总生存预后较差( $P=0.0459$ )(图7)。

2.8 String-DB 数据库 本研究检索得到如下结果(图8):PPI富集  $P=0.00979$ 。其中在PPI网络中与预测的于FBXO45具有相互作用的蛋白及相关系数如下 MYCBP2 (0.962)、TP73 (0.955)、SKP1 (0.923)、CUL1 (0.748)、SPRYD3 (0.736)、KCTD6 (0.712)、MAP3K12 (0.662)、MPP3 (0.648)、UNC13A (0.644)、UNC13B (0.643)等。

### 3 讨论

据最新数据<sup>[4]</sup>,2019年美国胰腺癌男性与女性发病分别为29 940例和26 830例,发病率分别居肿瘤排行榜的第10位和第9位,而预计胰腺癌的死亡率居第4位。目前,中国胰腺癌总发病率和死亡率在所有恶性肿瘤中分别居第10位和第6位<sup>[5]</sup>。胰腺癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一,极度缺氧<sup>[6]</sup>和基质细胞分泌大量致密结缔组织<sup>[7]</sup>,是其特有的生物学特性,导致其治疗效果极差。因此,探讨胰腺癌发病的分子机制,发掘有效的基因靶向治疗方法迫在眉睫。

肿瘤细胞表观遗传改变,与肿瘤发展中的基因突变<sup>[8]</sup>,导致肿瘤发生发展、侵袭和转移的各种信号通路的不当激活和抑制<sup>[9]</sup>。Kogure等<sup>[10]</sup>发现在胃癌组织中FBXO45高表达,认为FBXO45有望成为胃癌分子靶向治疗的候选药物。Kai<sup>[11]</sup>研究

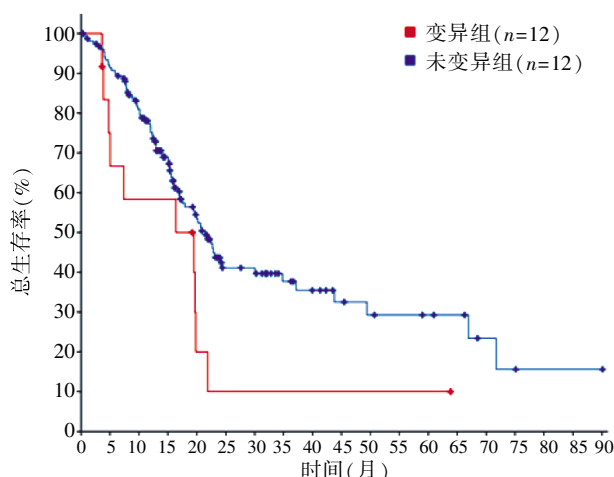


图7 cBioPortal 数据库分析 FBXO45 变异与预后有关

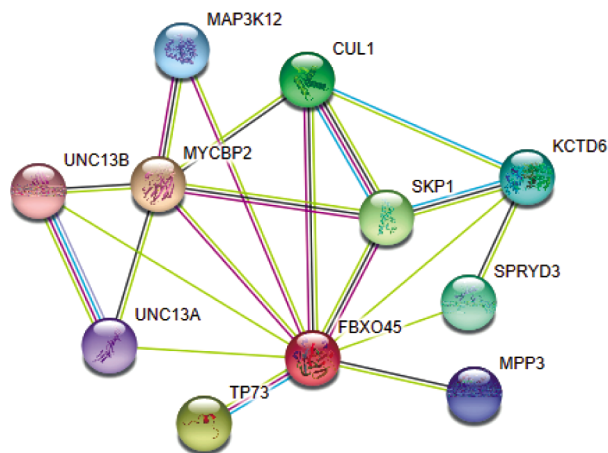


图8 与FBXO45相关蛋白网络分析

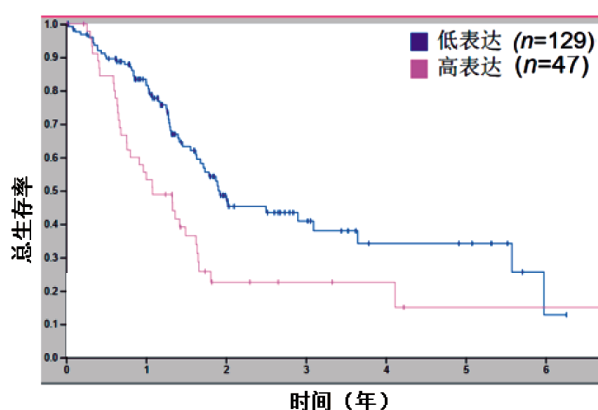


图5 FBXO45 基因高表达组与低表达组胰腺癌患者的总体生存曲线比较



图6 cBioPortal 数据库分析 FBXO45 表达的变异

认为在肺鳞状细胞癌中FBXO45高表达,FBXO45基因敲除可促进上皮-间质转化的过程,FBXO45与肺鳞状细胞癌的发生及预后密切相关。Lin M等<sup>[12]</sup>报道FBXO45基因在胰腺癌等多种肿瘤中表达升高,FBXO45在肿瘤的发生和发展中起着重要作用,FBXO45可能成为一种新的肿瘤治疗靶点。本研究中我们通过分析来自TCGA和GTEX数据库的数据,确定FBXO45基因在胰腺导管腺癌中的高表达,GEPIA数据库分析结果表明FBXO45高表达组的PAAD患者DFS明显差于低表达组,FBXO45高表达组的胰腺导管腺癌患者OS明显差于低表达组。本研究进一步的HPA数据库分析结果显示,FBXO45蛋白主要表达于细胞的细胞质中,FBXO45蛋白在胰腺导管腺癌组织中显著表达增高,生存分析进一步证明高表达FBXO45的胰腺导管腺癌患者总生存期较差。这些结果充分表明FBXO45在胰腺导管腺癌中高表达,并且与患者不良预后有关。

目前研究支持 FBXO45 能够调控表观遗传过程,调节与肿瘤发生相关的细胞过程,但具体在胰腺癌中通过何种方式来发挥调控作用,目前尚不清楚。E3 泛素连接酶在肿瘤发生发展中起着关键作用,FBXO45 是 F-box 蛋白家族的成员之一,F-box 蛋白作为 E3 泛素连接酶的核心组成部分,在调控肿瘤细胞增殖、迁移侵袭、血管生成等方面发挥重要作用<sup>[13]</sup>。与其他 F-box 蛋白成员相比,FBXO45 含有 MYC (MYC 原癌基因,MYC Proto-Oncogene) 结合蛋白 2 和 S 相激酶相关蛋白 1,在 E3 泛素连接酶中起连接蛋白的重要作用<sup>[14-15]</sup>。为了进一步探讨 FBXO45 在胰腺癌中的作用机制,我们在 cBioPortal 数据库检索到 7.1% (12/168) 的胰腺癌病例表现出 FBXO45 改变,其中包括 8 例 mRNA 扩增,4 例错义突变,这 12 例 FBXO45 基因变异的患者总生存预后较差,通过 String-DB 数据库检索在 PPI 网络中与预测的与 FBXO45 具有相互作用的蛋白及相关系数,发现 MYCBP2 (0.962)、TP73 (0.955)、SKP1 (0.923) 蛋白与 FBXO45 关系更为密切,FBXO45 蛋白参与蛋白质泛素化途径,是蛋白质修饰的一部分,推测 FBXO45 通过基因变异、促进蛋白泛素化,可能与这些蛋白共同作用,促进肿瘤的增殖、迁移、侵袭等生物学行为。

本研究利用生物信息学数据库分析了 FBXO45 在胰腺导管腺癌患者中的表达差异及其与胰腺导管腺癌患者预后的相关性,并推测其可能存在的作用机制,为胰腺导管腺癌精准治疗提供了新的方向,但是仍需要进一步实验研究证实,以期胰腺导管腺癌的临床治疗提供新的靶点。

#### 参考文献

- [1] RAHIB L, SMITH BD, AIZENBERG R, et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States [J]. Cancer Res, 2014, 74(11): 2913-2921.
- [2] KOGURE N, YOKOBORI T, OGATA K, et al. Low expression of FBXO45 is associated with gastric cancer progression and poor prognosis [J]. Anticancer Res, 2017, 37(1): 191-196.
- [3] CHEN X, SAHASRABUDDHE AA, SZANKASI P, et al. Fbxo45-mediated degradation of the tumor-suppressor Par-4 regulates cancer cell survival [J]. Cell Death Differ, 2014, 21(10): 1535-1545.
- [4] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69: 7-34.
- [5] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [6] 翟振胜, 张宏伟. 缺氧微环境调控肿瘤转移研究进展 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(2): 191-193.
- [7] ERKAN M, KURTOGLU M, KLEEFF J. The role of hypoxia in pancreatic cancer: A potential therapeutic target [J]? Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2016, 10(3): 301-316.
- [8] KELLY AD, ISSA JJ. The promise of epigenetic therapy: reprogramming the cancer epigenome [J]. Curr Opin Genet Dev, 2017, 42: 68-77.
- [9] CHIAPPINELLI KB, ZAHNOW CA, AHUJA N, et al. Combining epigenetic and immunotherapy to combat cancer [J]. Cancer Res, 2016, 76(7): 1683-1689.
- [10] KOGURE N, YOKOBORI T, OGATA K, et al. Low expression of FBXO45 is associated with gastric cancer progression and poor prognosis [J]. Anti cancer Res, 2017, 37(1): 191-196.
- [11] KAI W, XIAO Q, SHAORUI L, et al. Identification of aberrantly expressed F-box proteins in squamous-cell lung carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(8): 1509-1521.
- [12] LIN M, WANG ZW, ZHU X. FBXO45 is a potential therapeutic target for cancer therapy [J]. Cell Death Discov, 2020, 6: 55.
- [13] XIYUE C, PEI P, JUAN Y, et al. F-box protein FBXO30 mediates retinoic acid receptor  $\gamma$  ubiquitination and regulates BMP signaling in neural tube defects [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(8): 551.
- [14] XU M, ZHU C, ZHAO X, et al. Atypical ubiquitin E3 ligase complex Skp1-Pam-Fbxo45 controls the core epithelial-to-mesenchymal transition inducing transcription factors [J]. Oncotarget, 2015, 6(2): 979-994.
- [15] CHUNG FZ, SAHASRABUDDHE AA, MA K, et al. Fbxo45 inhibits calcium-sensitive proteolysis of N-cadherin and promotes neuronal differentiation [J]. J Biol Chem, 2014, 289(41): 28448-28459.