

基于 Oncomine 数据库分析 RAB31 在胃癌中的表达和意义

李晟, 余超, 程元光, 文刚

安徽医科大学附属第三医院 胃肠外科, 安徽 合肥 230061

【摘要】 目的 探讨 RAB31 基因在胃癌中的表达及其临床意义。方法 通过 Oncomine 数据库检索并分析 RAB31 基因在胃癌的各项研究中的表达情况。利用 Kaplan-Meier Plotter 对患者进行生存周期分析。结果 Oncomine 数据库中共收集了 455 个不同肿瘤类型的研究结果, 关于 RAB31 表达有统计学差异的结果共有 78 项, 其中 RAB31 表达增高的研究有 56 项, 表达降低的研究有 22 项。共有 6 项研究涉及 RAB31 在胃癌组织和在正常组织的表达, 共包括 458 个样本, 与对照组相比, RAB31 在胃癌组织中高表达且差异具有统计学意义。利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 RAB31 表达对胃癌患者生存时间的影响发现, 和低表达组相比, RAB31 高表达组的胃癌患者的总生存时间显著降低且差异具有统计学意义。结论 RAB31 基因在胃癌组织中高表达, 且表达水平与患者预后相关。

【关键词】 RAB31; 胃癌; Oncomine 数据库

Expression of RAB31 and its prognostic role in Gastric Cancer: an analysis based on the Data mining of Oncomine

Li Sheng, YU Chao, CHENG Yuan-guang, WEN Gang

The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Department of Gastrointestinal Surgery, Hefei, 230000, China

【Abstract】 **Objective** Explore the expression and significance of RAB31 in GS. **Method** Using Oncomine database analyzed and extract the expression of RAB31 in gastric cancer. Using Kaplan-Meier Plotter database analyzed the prognostic roles of RAB31 in gastric cancer patients. **Result** Oncomine database contained 455 studies involved in different types of tumors. The RAB31 expression was statistically significant in 78 studies, overexpressed in 56 studies and low-expressed in the other 22 studies. A total of 6 studies were involved RAB31 in gastric cancer tissues and normal tissues, including 458 samples, compare with normal tissues, the expression of RAB31 in gastric cancer tissue was significantly higher. Then using Kaplan Meier-Plotter database to analyze the prognostic roles of RAB31 in gastric cancer patients, we discover that high expression of RAB31 is closely associated with poor survival in gastric cancer compare with low expression. **Conclusion** RAB31 was found highly expressed in gastric cancer tissues, and the expression level of RAB31 protein was correlated with the prognosis of gastric cancer.

【Key words】 RAB31; gastric cancer; Oncomine database

胃癌是起源于胃粘膜上皮的恶性肿瘤, 据 2015 年中国癌症统计数据, 其发病率和死亡率均排在所有恶性肿瘤的第二位^[1]。尽管随着医疗技术水平的发展, 近年胃癌的诊治手段有所补充完善, 但由于早期症状不典型, 加上我国的胃镜筛查普及率不高, 使得大部分胃癌患者确诊时已处于疾病中晚期, 此时的淋巴结转移率高达 70%^[2], 预

后生存率已经不容乐观。因此从分子生物水平研究胃癌的发生发展相关机制、分子标志物以及治疗靶点对患者的临床诊治、改善预后有着重要的现实意义。

RAB31 是 RAB 蛋白家族成员之一, 属于 Ras 超家族^[3]。研究发现 RAB31 蛋白在细胞的膜运输过程以及维持细胞器的稳定性方面起到了十分重要的作用, 其异常在多种肿瘤的发生发展中扮演重要的角色, 如在乳腺癌^[4]、肝癌^[5]、食管癌^[6]、胰

腺癌^[7]等多种类型癌症中,其蛋白质表达异常可能与肿瘤的增殖、转移有密切联系,进而影响患者预后生存率。

Oncomine 数据库是当今世界上最大的基因芯片数据库,其包含的数据和文献被广泛引用并得到学界的认可。本文拟通过 Oncomine 数据库筛选、探寻 RAB31 基因在胃癌中的表达及意义,通过大数据样本证明 RAB31 基因和胃癌的发生、发展及其对患者预后有着密切联系。

1 资料与方法

1.1 从 Oncomine 数据库提取数据 通过 Oncomine 数据库检索 RAB31 基因在各种肿瘤组织中的表达信息,再单独提炼 RAB31 基因在胃癌的各项研究中的表达情况并进行二次分析。我们依次设定数据的筛选条件:①“Gene: RAB31”;②“Cancer Type: Gastric Cancer”;③“Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis”;④“Data Type: mRNA 和 DNA copy number”;⑤临界值设定条件(P value<1E-4, fold change>2, gene rank=top 10%)。选择以柱状图的形式展示搜索结果。

1.2 生存分析 通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库胃癌数据进行患者生存分析,研究 RAB31 基因在胃癌患者的不同表达水平对患者的总生存期(overall survival, OS)的影响,并进一步针对不同的病理类型做亚组分析。依次设定的筛选条件为:①“Cancer: Gastric Cancer”;②“Gene symbol: RAB31”;③“Affy ID:217762_s_at”;④Split patients condition: Auto select best cutoff; ⑤ Follow up threshold: all; ⑥Probe set options: use user selected probe set; ⑦ Array quality control: exclude biased arrays;⑧“Survival: OS”;⑨“Stage: all”;⑩“Lauren classification:”依次选择“all、intestinal、diffuse、mixed”。以生存曲线图的形式展示表达水平和总生存期的关系。

1.3 统计学分析 胃癌病例组与正常组织之间的 RAB31 表达差异采用 t 检验。RAB31 的表达高低与胃癌预后的关系采用 Kaplan-Meier 模型分析,所有数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,当 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RAB31 在常见肿瘤类型中的表达结果 Oncomine

数据库中一共收集了 455 项 RAB31 基因在肿瘤病例与正常组织表达比较的研究结果(图 1),关于 RAB31 表达有统计学差异的结果共有 78 项,其中有 56 项研究发现 RAB31 表达增高,22 项发现表达降低。在胃癌中,6 项研究均发现 RAB31 基因表达上调。

Disease Summary for RAB31

Analysis Type by Cancer	Cancer vs. Normal
Bladder Cancer	
Brain and CNS Cancer	9
Breast Cancer	13
Cervical Cancer	1
Colorectal Cancer	4 2
Esophageal Cancer	1
Gastric Cancer	6
Head and Neck Cancer	5
Kidney Cancer	4
Leukemia	2 9
Liver Cancer	1
Lung Cancer	
Lymphoma	3
Melanoma	1
Myeloma	
Other Cancer	4 5
Ovarian Cancer	
Pancreatic Cancer	3
Prostate Cancer	
Sarcoma	
Significant Unique Analyses	56 22
Total Unique Analyses	455

图 1 RAB31 在 Oncomine 数据库中所有肿瘤研究中的表达

2.2 RAB31 在胃癌中的表达结果 进一步分析 RAB31 在胃癌中高表达的研究,我们发现,自 2000 年开始,共有 5 项研究,7 个胃癌分型数据集涉及 RAB31 在胃癌组织和正常组织中的表达(图 2),这 7 个数据集一共收录了 458 个病例样本。相关文章分别发表于 Mol Biol Cell^[8]、Med Oncol^[9]、Clin Cancer Res^[10]、Eur J Cancer^[11]和 Nucleic Acids

Comparison of RAB31 Across 7 Analyses
Over-expression

Median Rank	p-Value	Gene
66.0	3.61E-9	RAB31

Legend

1. Diffuse Gastric Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
2. Gastric Intestinal Type Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
3. Gastric Mixed Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
4. Diffuse Gastric Adenocarcinoma vs. Normal
Cho Gastric, Clin Cancer Res, 2011
5. Gastric Cancer vs. Normal
Cui Gastric, Nucleic Acids Res, 2011
6. Gastric Intestinal Type Adenocarcinoma vs. Normal
DErrico Gastric, Eur J Cancer, 2009
7. Gastric Cancer vs. Normal
Wang Gastric, Med Oncol, 2010

图 2 RAB31 基因在 Oncomine 数据库中胃癌中的表达

Res^[12]。在 Oncomine 数据库中对这 7 个胃癌分型数据集结果进行 meta 分析发现,与对照组相比,RAB31 基因在所有差异表达基因中,其中位数位排 66 位, $P < 0.001$,提示 RAB31 基因在胃癌中高表达。

2.3 RAB31 在不同 Gastric Cancer 研究芯片中的表达差异 图 3 所示为 Oncomine 数据库中 RAB31 在不同胃癌研究芯片中的表达结果。在 Chen^[8]、Wang^[9]、Cho^[10]和 DErrico^[11]等人的 4 项研究,RAB31 在胃癌中的表达量均明显高于正常组,差异具有统计学意义($P < 0.001$)。

2.4 RAB31 与胃癌患者预后的关系 图 4 所示在 Kaplan–Meier Plotter 数据库中收录的 876 例胃

癌患者数据中,RAB31 基因的表达水平对患者的总生存时间有着显著影响。与低表达组相比,RAB31 高表达组的胃癌患者的总生存时间显著降低。进一步亚组分析发现,RAB31 的表达水平对肠型和弥漫型胃癌患者预后有着显著影响 ($P < 0.05$),而在混合型胃癌患者中,其表达水平与预后无显著相关性($P = 0.54$)。

3 讨论

胃癌是世界上常见的恶性肿瘤,根据国际癌症研究机构 2012 年的统计数据,1995–2009 年期间,胃癌在全部恶性肿瘤中的发病率和死亡率分别占据第 5 位和第 3 位。其中,超过 70% 的病例发

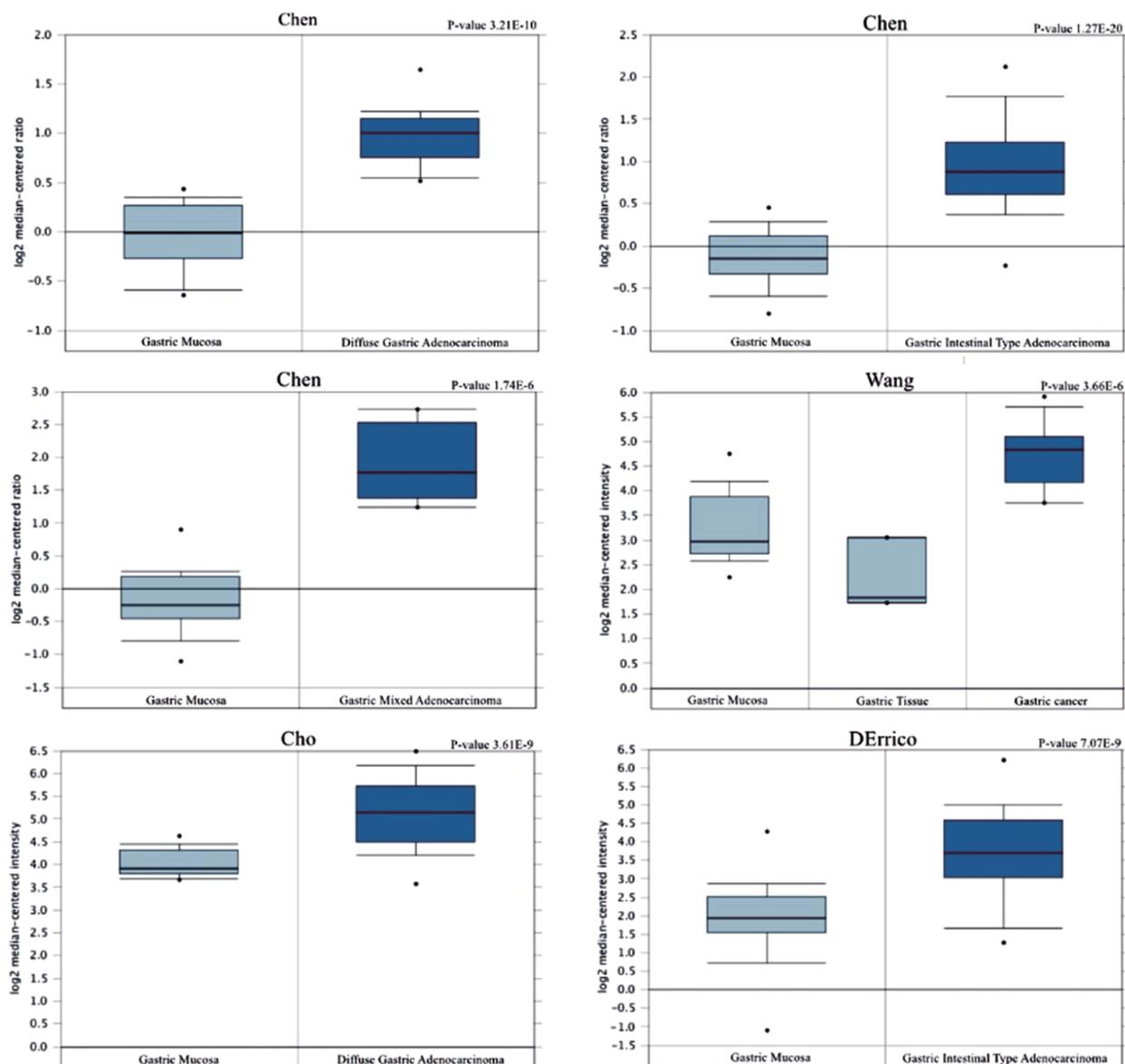


图 3 Oncomine 数据库中 RAB31 在不同胃癌研究数据子集中的表达

生在发展中国家,50%发生在东亚(主要集中在中
国)^[13]。最新的2018年报告指出,随着医疗水平的
进步,世界范围内胃癌的发病率及死亡率呈逐年
下降的趋势,但国家、地区之间的差距依旧巨大,
和其他东亚国家(韩国68.9%、日本60.3%)相比,
中国的胃癌患者5年生存率仍然偏低(35.9%)^[14]。
因此,寻找胃癌发生、发展过程中的相关基因,进

而通过研制药物对相关基因、通路进行有效调控,
这对改善胃癌患者诊治流程及预后生存率有着重
要意义^[15,16]。

RAB31是RAB蛋白家族成员之一,属于Ras超
家族。目前人类大概发现了70多种RAB蛋白,这
些RAB蛋白通常都具备GTP酶折叠结构,可以调
节膜运输的步骤,例如囊泡形成、沿微管蛋白和肌

表1 RAB31基因在7个数据集中的高表达情况

研究者	肿瘤类型	正常组(例)	肿瘤组(例)	P值	差异倍数	发表杂志
Chen	弥漫型胃癌	26	13	3.21E-10	2.015	Mol Biol Cell
	肠型胃癌	27	65	1.27E-20	2.099	
	混合型胃癌	25	8	1.74E-6	4.184	
Wang	胃癌(未分型)	15	12	3.66E-6	3.237	Med Oncol
Cho	弥漫型胃癌	19	31	3.61E-9	2.156	Clin Cancer Res
DErrico	肠型胃癌	31	26	7.07E-9	3.248	Eur J Cancer
Cui	胃癌(未分型)	80	80	0.019	1.257	Nucleic Acids Res

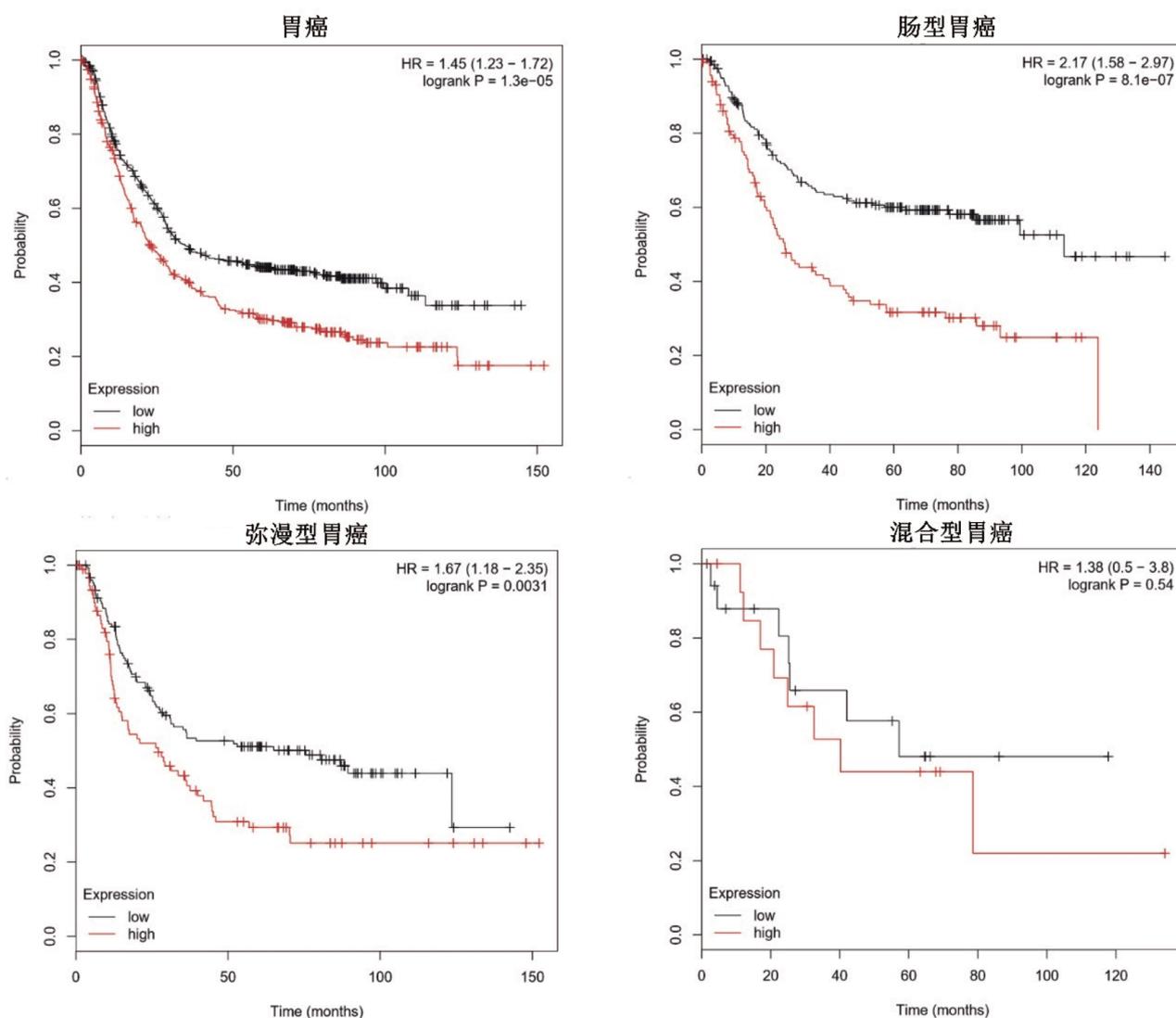


图4 RAB31表达与胃癌预后之间的关系

动蛋白的囊泡运动和膜融合, 这些步骤构成了将细胞蛋白质从高尔基体运输到质膜并在此循环的过程。因此, RAB 蛋白及其功能对维持正常的细胞器功能是必不可少的, 在 RAB 蛋白循环过程中出现任何偏差, 生理疾病就会随之而来^[17,18]。RAB31 最早是从人黑素细胞的 cDNA 中分离出来, 因为其与 RAB22 的密切同源性命名为 Rab22B^[19]。人 RAB31 定位于人类 18 号染色体上 18 p11.22 区域, 包含了 8 个外显子, 编码的 RAB31 蛋白是一个分子质量为 21.6 kDa 的由 194 个氨基酸组成的蛋白质, RAB31 定位于反式高尔基网络结构和胞质的小管囊泡中, 从反式高尔基体到内吞区室的膜的运输通过含有 RAB31 的小管状囊泡器进行, 此外, 反式高尔基体中的囊泡的形成也受到 RAB31 的调节。

多项研究表明, RAB31 的表达与多种恶性肿瘤的发生与预后相关。Sui 等^[5]发现 RAB31 可以抑制通过 PI3K/AKT/Bcl-2/BAX 途径凋亡的细胞, 以此促进肝细胞癌发展。而 Grismayer B 等^[20]研究也表明, RAB31 参与乳腺癌的发展过程, 当过表达 RAB31 时会使肿瘤细胞从侵袭性表型转变为增殖性表型, 表现为细胞增殖增加, 体外粘连、侵袭减少以及肿瘤肺转移能力降低, 在淋巴结阴性的乳腺癌患者中, 高 RAB31 mRNA 表达与预后不良显著相关。还有研究^[3]发现, RAB31 能通过多种方式调节细胞增殖: 比如激活 G1/S 检查点转换促进 U87 和 SiHa 细胞增殖, 诱导 N-钙粘蛋白、波形蛋白和 Snail 蛋白的表达调节细胞增殖和迁移以及通过 ERK1/2 和 PI3K/AKT 途径调节细胞增殖。在体内, 通过降低 RAB31 的表达可以抑制肿瘤的生长, 减少癌症的恶性程度。我们通过 Oncomine 数据库分析也得知 RAB31 在多种肿瘤中有表达上调的趋势。这些都提示着 RAB31 在人体中是一个原癌基因, 通过多种通路、多种靶点调控肿瘤细胞的增殖和发展。

Oncomine 是一个癌症微阵列数据库和在线数据挖掘平台, 旨在促进全基因组表达分析的发现^[21], 整合了 GEO、TCGA 和各种已发表文献的数据, 迄今为止已收录 715 个基因数据集, 86733 个各种肿瘤组织和正常组织样本。在本次研究中, 我们首先搜索 RAB31 基因在各种肿瘤中的表达情况, 结果发现有 78 个统计结果关于 RAB31 基因表达差异有统计学意义, 其中 56 个统计结果提示 RAB31

在常见肿瘤中处于高表达状态。在胃癌中, 则是 6 个统计结果提示 RAB31 基因的表达差异有统计学意义, 且全部为高表达。进一步利用 Oncomine 数据库的 meta 分析功能对这些有统计学差异的研究进行分析, 结果提示在这 458 个胃癌与正常组织样本中, RAB31 在肿瘤组织的表达量高于正常组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

为了进一步明确 RAB31 与胃癌患者的总生存期之间的关系, 我们在 The KaplanMeier Plotter 数据库中选取了关于 RAB31 的 217762_s_at 探针, 对 876 个胃癌患者进行 RAB31 表达量与患者的预后生存(OS)分析。结果显示, RAB31 的表达量与胃癌患者的总体生存率明确相关, RAB31 高表达患者的总生存时间明显低于低表达患者。即患者的 RAB31 表达水平越高, 预后就越差。进一步亚组分析可得知, RAB31 在不同的 Lauren 分型的胃癌患者中的预后有所差异, 在肠型胃癌患者中, RAB31 高表达的患者预后生存时间短, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 在弥漫型胃癌患者中, RAB31 的表达亦与患者预后生存时间密切相关 ($P = 0.0031$), 而在混合型胃癌患者中, RAB31 高表达患者与低表达患者的生存时间的差异无统计学意义 ($P = 0.54$), 这可能和收录的混合型胃癌患者样本数量较少 ($n = 32$) 有关。

总而言之, 本文通过对 Oncomine 数据库、The KaplanMeier Plotter 数据库中的肿瘤相关数据进行挖掘, 得出了在 RAB31 在胃癌患者中的表达增高且与患者的预后负相关的结论, 为进一步探讨 RAB31 在胃癌的发生发展中的作用及其相关机制提供了理论基础, 为胃癌的临床诊治工作提供了一个新的思路。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 唐小波, 李威. 进展期胃窦癌 No.14 v 组淋巴结的研究现状[J]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2016, (4): 286-288.
- [3] Pan Y, Zhang Y, Chen L, et al. The Critical Role of Rab31 in Cell Proliferation and Apoptosis in Cancer Progression [J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(7): 4431-4437.
- [4] Kotzsch M, Kirchner T, Soelch S, et al. Inverse association of rab31 and mucin-1 (CA15-3) antigen levels in estrogen receptor -positive (ER +) breast cancer tissues with clinicopathological parameters and patients' prognosis[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(9): 1959-1970.

- [5] Sui Y, Zheng X, Zhao D. Rab31 promoted hepatocellular carcinoma (HCC) progression via inhibition of cell apoptosis induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11): 8661-8670.
- [6] Liu Y, Tang Y, Li P. Inhibitory effect of microRNA-455-5 p on biological functions of esophageal squamous cell carcinoma Eca109 cells via Rab31 [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4959-4966.
- [7] Li H, Zhang SR, Xu HX, et al. SRPX2 and RAB31 are effective prognostic biomarkers in pancreatic cancer [J]. *J Cancer*, 2019, 10(12): 2670-2678.
- [8] Chen X, Leung SY, Yuen ST, et al. Variation in gene expression patterns in human gastric cancers [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(8): 3208-3215.
- [9] Wang Q, Wen YG, Li DP, et al. Upregulated INHBA expression is associated with poor survival in gastric cancer [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(1): 77-83.
- [10] Cho JY, Lim JY, Cheong JH, et al. Gene expression signature-based prognostic risk score in gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1850-1857.
- [11] D'Errico M, de Rinaldis E, Blasi MF, et al. Genome-wide expression profile of sporadic gastric cancers with microsatellite instability [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(3): 461-469.
- [12] Cui J, Chen Y, Chou WC, et al. An integrated transcriptomic and computational analysis for biomarker identification in gastric cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(4): 1197-1207.
- [13] Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) [J]. *Lancet*, 2015, 385(9972): 977-1010.
- [14] Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries [J]. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023-1075.
- [15] 陈伟, 戴伟钢, 张常华, 等. LncRNA 在胃癌中的表达及其预后价值 [J]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2016, 8(4): 254-261.
- [16] 王军, 王蓓. MiR-138 在胃癌患者血清中的表达和临床意义 [J]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2019, 11(2): 100-103.
- [17] Hutagalung AH, Novick PJ. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(1): 119-149.
- [18] Tzeng HT, Wang YC. Rab-mediated vesicle trafficking in cancer [J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23(1): 70.
- [19] Chen D, Guo J, Miki T, et al. Molecular cloning of two novel rab genes from human melanocytes [J]. *Gene*, 1996, 174(1): 129-134.
- [20] Grismayer B, Solch S, Seubert B, et al. Rab31 expression levels modulate tumor-relevant characteristics of breast cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2012, 11: 62.
- [21] Rhodes DR, Yu J, Shanker K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J]. *Neoplasia*, 2004, 6(1): 1-6.