

· 论 著 ·

## CBX1 在胃癌中的表达及与胃癌患者病理特征相关性的生物信息学分析\*

吴爽<sup>1</sup>, 张涛元<sup>2</sup>, 李俏<sup>1</sup>, 曹三成<sup>1</sup>, 祝颖英<sup>1△</sup>

1. 西安交通大学附属西安市儿童医院检验科, 陕西西安 710003;

2. 日照心脏病医院麻醉科, 山东日照 276800

**摘要:**目的 利用生物信息学技术分析 CBX1 在胃癌中的表达, 探讨 CBX1 与胃癌临床病理特征的相关性, 阐明 CBX1 对胃癌早期诊断和预后的影响。**方法** 利用 Oncomine 数据库、GEPIA 数据库分析 CBX1 在胃癌组织和正常胃组织中转录水平的表达差异; 利用 Western blot 检测 CBX1 在正常胃黏膜细胞 GES-1 和胃癌细胞 SGC7901 中的蛋白表达差异; 利用 Human Protein Atlas 网站分析 CBX1 在胃癌组织及正常胃组织中翻译水平的表达差异; 利用 UALCAN 数据库及 Kaplan Meier-Plotter 在线分析工具, 阐明 CBX1 高表达与胃癌患者病理参数及患者生存率之间的关系; 利用 GEPIA 数据库寻找与 CBX1 有紧密作用关系的蛋白, 利用 STRING 数据库, 构建蛋白质互作(PPI)网络, Scytoscape 软件对 PPI 可视化, 并利用 Metascape 网站进行基因本体富集分析, Starbase 网站进行京都基因与基因组百科全书通路富集分析。**结果** CBX1 在胃癌中高表达, 且与胃癌的肿瘤分级、分期相关; 生存分析结果显示 CBX1 高表达与胃癌患者生存率密切相关; 富集分析结果显示与 CBX1 相互作用的蛋白主要发挥组蛋白修饰、mRNA 组装功能。**结论** CBX1 在胃癌中呈高表达, 并与胃癌多个病理学指标相关。

**关键词:** 胃癌; CBX1; 生物信息学分析

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.01.016

**中图法分类号:**R735.2

**文章编号:**1673-4130(2021)01-0070-05

**文献标志码:**A

### Bioinformatics analysis of the expression and prognosis for CBX1 in gastric cancer\*

WU Shuang<sup>1</sup>, ZHANG Taoyuan<sup>2</sup>, LI Qiao<sup>1</sup>, CAO Sancheng<sup>1</sup>, ZHU Xieying<sup>1△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Children Hospital of Xi'an Jiaotong

University, Xi'an, Shaanxi 710003, China; 2. Department of Anesthesiology, Rizhao

International Heart Hospital, Rizhao, Shandong 276800, China

**Abstract: Objective** To analyze the expression of Chromobox 1 (CBX1) protein in gastric cancer by bioinformatics, to explore its relationship with the clinicopathological features of gastric cancer, and to elucidate the effect of CBX1 on the early diagnosis and prognosis of gastric cancer. **Methods** Oncomine database and GEPIA database were used to analyze the expression differences of CBX1 in gastric cancer tissues and normal gastric tissues. Differences in protein expression of CBX1 between normal gastric mucosal cell line GES-1 and gastric cancer cell line SGC7901 were detected by Western blot. The Human Protein Atlas website analyzed the expression differences of CBX1 in gastric cancer tissues and normal gastric tissues. UALCAN database and Kaplan-Meier-plotter online analysis tools were used to elucidate the relationship between high expression of CBX1 and pathological parameters and overall survival rate of gastric cancer patients. The GEPIA database was used to search for proteins with close functional relationship with CBX1, and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed by using Scytoscape software, and the gene ontology enrichment analysis was carried out on Metascape website, while the Kyoto encyclopedia of genes and genomes pathway enrichment analysis was carried out on Starbase website. **Results** CBX1 highly expressed in gastric cancer and cor-

\* 基金项目: 陕西省社会发展科技攻关项目(2016SF-036); 西安交通大学基本科研业务费自由探索与创新-教师类项目(xzy012019129)。

作者简介: 吴爽, 女, 主管技师, 主要从事蛋白交互网络与肿瘤相关研究。△ 通信作者, E-mail: 562440858@qq.com。

本文引用格式: 吴爽, 张涛元, 李俏, 等. CBX1 在胃癌中的表达及与胃癌患者病理特征相关性的生物信息学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(1): 70-74.

related with tumor grade and stage of gastric cancer. Survival analysis showed that high mRNA expression of CBX1 associated with poor overall survival rate in gastric cancer patients. Enrichment analysis showed that interact with CBX1 protein could participate in the histone modification, mRNA assembly process. **Conclusion** CBX1 highly expressed in gastric cancer and related to several pathologic indexes of gastric cancer.

**Key words:** gastric cancer; CBX1; bioinformatics analysis

胃癌的恶性程度和病死率均较高,由于胃癌在早期缺乏特异性症状,导致其早期诊断率较低<sup>[1]</sup>。目前已发现许多基因参与了胃癌的发生、发展,但胃癌的发病机制仍未完全被揭示<sup>[2]</sup>。人类基因组中 CBX 家族共包含 8 个基因,均与异染色质、基因表达及生长发育等生物过程密切相关。生物信息学技术分析结果表明 CBX1 在肝细胞癌、乳腺癌等多种癌症中发挥重要作用<sup>[3]</sup>,然而其在胃癌中的作用机制仍不明确。

微阵列技术和生物信息学技术已被广泛用于鉴定基因组的表达水平,帮助识别与癌症相关的差异表达基因和相关信号通路<sup>[4]</sup>。本研究利用生物信息学技术,分析胃癌中 CBX1 的表达情况,探究 CBX1 与胃癌患者病理参数和预后的关联,聚焦其在胃癌中可能参与的生物学过程,提供胃癌早期诊断和预后相关的标志物。

## 1 材料与方法

**1.1 CBX1 在转录水平表达差异的验证** 利用 Oncomine 数据库<sup>[5]</sup>,比较 CBX1 在胃癌组织与正常胃组织中转录水平的表达差异,同时获取胃癌组织与正常胃组织中 CBX1 的研究数据,参数设置如下:*t* 检验, $P=0.01$ ,变化倍数为 1.5 倍,基因等级为 10%,类型为 mRNA。利用 GEPIA 数据库中肿瘤基因组图谱与基因表达项目(GTEX)的数据,分析验证 CBX1 在正常胃组织与胃癌组织中的转录水平的表达差异,参数设置如下:方差分析,|Log<sub>2</sub>(FC)|最佳临界值为 1.0, $q=0.01$ 。

**1.2 蛋白质印迹法(Western blot)验证 CBX1 在正常胃黏膜细胞 GSE-1 和胃癌细胞 SGC7901 中的表达差异** 兔抗人 CBX1(PA5-28448)抗体购自美国 Invitrogen Ebioscience 公司,GAPDH 抗体购自英国 Abcom 公司。将等量的正常胃黏膜细胞 GSE-1 及胃癌细胞 SGC7901 接种于 10 cm 培养皿,培养 48 h 以后提取蛋白,检测浓度后,进行 Western blot 实验,以 GAPDH 为内参,分析两种细胞中 CBX1 蛋白表达水平的差异。

**1.3 免疫组化验证 CBX1 在正常胃组织和胃癌组织中的表达差异** 在 Human Protein Atlas<sup>[6]</sup>网站(<https://www.proteinatlas.org>)中,利用免疫组化数据,从蛋白表达水平验证 CBX1 在胃癌组织与正常胃

组织中的表达差异,所用抗体为 HPA031762。

**1.4 CBX1 与胃癌患者临床病理参数的分析** 利用 UALCAN 数据库<sup>[7]</sup>,分析 CBX1 的 mRNA 表达情况与胃癌患者的癌症分期和肿瘤分级之间的相关性。利用 Kaplan Meier-Plotter 在线分析工具,分析 CBX1 与胃癌患者总生存期(OS)的相关性。依据胃癌患者 CBX1 表达值的中位数,分为高表达和低表达 2 组,计算风险比、95%置信区间和相应 *P* 值,制作生存曲线。

**1.5 CBX1 关联基因的筛选及富集分析** 使用 GEPIA 数据库获取与 CBX1 在胃癌中具有相似表达的基因,应用 STRING 数据库<sup>[8]</sup>及 Scytoscape<sup>[9]</sup>软件,构建并可可视化蛋白质互作(PPI)网络;利用 Metascape 网站对相似基因进行基因本体(GO)富集分析;利用 Starbase 网站进行相似基因的京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。

**1.6 统计学处理** 使用 SPSS22.0 统计软件对数据进行处理分析,各数据的比较采用 *t* 检验和方差分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CBX1 的 mRNA 水平在胃癌组织的表达情况** Oncomine 数据库分析显示:与正常组织比较,CBX1 的 mRNA 水平在大多数肿瘤组织中高表达,见图 1A;其中有 6 组数据显示 CBX1 的 mRNA 在胃癌组织中高表达,见图 1B、表 1。利用 GEPIA 数据库对胃癌中 CBX1 的 mRNA 表达情况加以验证,结果表明,CBX1 的 mRNA 在胃癌组织高表达,见图 1C。

表 1 不同类型胃癌与正常胃组织 CBX1 转录水平的变化(Oncomine 数据库)

不同类型胃癌组织	变化倍数	<i>P</i>	<i>t</i>
胃腺癌	2.42	4.52E-6	6.91
弥漫性胃癌	1.52	2.83E-8	6.99
混合型胃腺癌	1.66	2.25E-6	7.03
胃腺癌	1.61	2.38E-13	9.53
胃腺癌	2.12	2.21E-13	10.20
弥漫性胃癌	1.73	5.0E-3	3.76

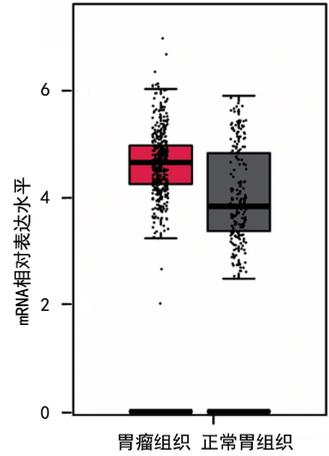
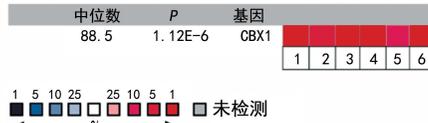
**2.2 CBX1 的 Western blot 结果** Western blot 结果显示,CBX1 在 GSE-1 细胞中的表达水平低于 SGC7901 细胞,即 CBX1 在胃癌细胞中高表达,见图 2。

### 2.3 CBX1 的免疫组化结果 免疫组化结果显示, CBX1 在正常胃组织中低表达, 胃癌组织中高表达, 见图 3。

CBX1 在多种肿瘤中的表达情况



6组胃癌数据中CBX1的表达情况



注:A为CBX1在多种肿瘤中的表达情况;B为6组胃癌数据中CBX1的表达情况;C为CBX1在胃癌组织与正常胃组织中mRNA表达情况。

图1 CBX1在肿瘤组织与正常组织中mRNA的表达差异

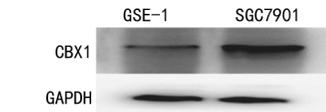
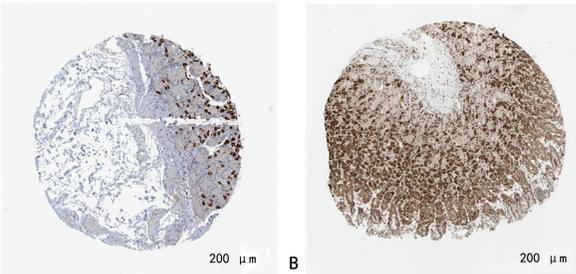


图2 CBX1的Western blot结果

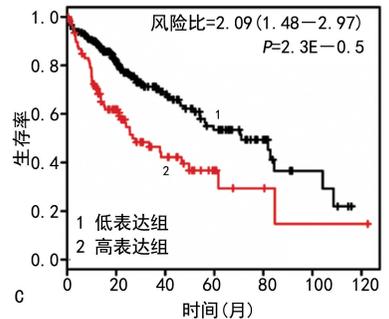
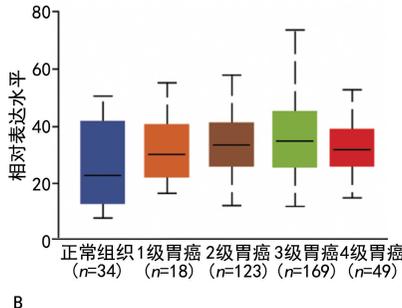
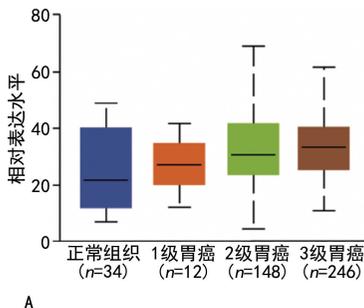


注:A为CBX1在正常胃组织中的表达情况;B为CBX1在胃癌组织中的表达情况。

图3 CBX1的免疫组化结果

### 2.4 CBX1与胃癌患者病理参数的相关性分析 利

用UALCAN数据库对CBX1进行胃癌患者临床病理参数相关性分析,结果显示在肿瘤分级中,正常组织 vs. 2级胃癌组织( $P=1.56E-4$ )、正常组织 vs. 3级胃癌组织( $P=4.12E-5$ )、1级胃癌组织 vs. 3级胃癌组织( $P=0.00$ )的mRNA水平比较,差异有统计学意义,见图4A;在癌症分期中,正常组织 vs. 2期胃癌组织( $P=9.98E-5$ )、正常组织 vs. 3期胃癌组织( $P=5.58E-5$ )、正常组织 vs. 4期胃癌组织( $P=9.46E-3$ )、3期胃癌组织 vs. 4期胃癌组织( $P=4.22E-2$ )的mRNA水平比较,差异有统计学意义,见图4B。利用Kaplan Meier-Plotter在线分析工具进行CBX1与胃癌患者预后的相关分析,并绘制生存曲线图,结果显示:CBX1高表达组患者的生存率远低于CBX1低表达组,见图4C。



注:A为CBX1在不同的肿瘤分级中的mRNA相对表达水平;B为CBX1在不同癌症分期中的mRNA相对表达水平;C为CBX1表达与胃癌患者生存率的关系。

图4 CBX1与胃癌患者病理参数的相关分析

**2.5 CBX1 在胃癌中的相似基因及其 PPI 网络构建** 利用 GEPIA 数据库,在胃癌组织中共获得与 CBX1 表达有相似性的基因 50 个,在 STRING 网站中这些基因共构建出含有 51 个点,985 条边的 PPI 网络,Cytoscape 的 MCODE 插件,获取其中相互作用程度最高的 43 个点,877 条边组成的核心网络,见图 5。

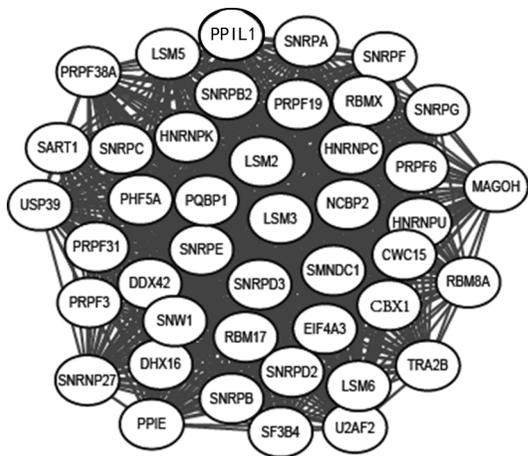
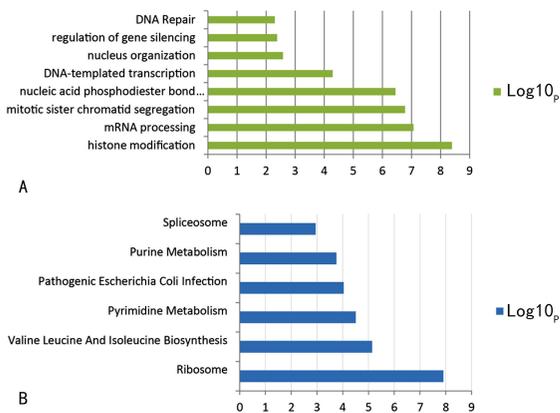


图 5 CBX1 的 PPI 可视化结果

**2.6 GO 富集分析及 KEGG 通路富集分析** GO 富集分析结果显示,43 个基因的生物学功能主要聚集在组蛋白修饰、mRNA 组装及染色体有丝分裂过程,见图 6A。KEGG 通路富集分析发现,43 个基因主要涉及的通路包括核糖体及氨基酸的生物合成途径,见图 6B。



注:A 为 GO 富集分析图;B 为 KEGG 通路富集分析图。

图 6 富集分析结果

### 3 讨论

目前,分子生物标志物在疾病的诊断、预后和精准治疗中发挥重要的作用。随着检测技术和治疗手段的提高,胃癌发病率有所下降,但仍是世界范围内严重威胁人类健康的恶性肿瘤<sup>[10]</sup>。胃癌的危险因素主要包括幽门螺杆菌感染、不当饮食、不洁饮食及吸烟等,而早期诊断的缺乏和肿瘤的转移、扩散则是其主要致死原因<sup>[11]</sup>。因此,亟须探索更多的分子标志物用于胃癌的早期诊断和靶向治疗。

CBX1 参与了染色质结构和基因表达的遗传调控过程<sup>[12]</sup>,有研究证实,CBX1 能够在肝癌细胞中高表达,且其高表达与肝癌患者预后不良相关<sup>[3]</sup>;而在关于垂体瘤的一项研究中发现,高表达的 CBX1 能够导致垂体瘤的发生<sup>[13]</sup>;在前列腺癌中,CBX1 高表达与组蛋白 H3K3 的甲基化密切相关<sup>[14]</sup>。本研究通过两组不同来源的数据库——Oncomine 数据库及 GEPIA 数据库,发现 CBX1 的 mRNA 水平在胃癌组织中明显升高,之后利用 Western blot 和免疫组化实验发现 CBX1 蛋白在胃癌细胞 SGC7901 及胃癌组织中高表达,这些数据表明 CBX1 的高表达与胃癌有相关性。UALCAN 数据库的临床数据分析显示,CBX1 的 mRNA 表达在胃癌的不同分级、分期中均有差异,即随着肿瘤的发展,CBX1 的 mRNA 水平也随之升高,预示着 CBX1 可以作为胃癌早期诊断及癌症进展的标志物。生存分析结果显示,CBX1 高表达与胃癌患者的生存率相关,风险比高达 2.09,提示 CBX1 可以作为胃癌预后不良的危险因素。通过寻找在胃癌中与 CBX1 有相似表达的基因,筛选出 43 个作用紧密的基因集,富集分析显示,这些基因主要参与组蛋白修饰、mRNA 组装及染色体有丝分裂等生物过程,这与 CBX1 参与染色质结构和基因表达调控的功能类似,同时也与目前已经报道的组蛋白和染色体对肿瘤细胞的调控机制相吻合<sup>[13-14]</sup>。组蛋白的去乙酰化与肿瘤的发生、发展密切相关,组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化修饰被证实参与了胃癌的发生。染色体的非整倍性是肿瘤细胞的常见特征,也是肿瘤发生的原因之一,而一些针对有丝分裂纺锤体聚合物的药物也早已被频繁地用来治疗各类肿瘤。

本研究应用生物信息学方法,分析了正常胃组织与胃癌组织中 CBX1 的表达差异,发现 CBX1 与胃癌的分级、分期和患者远期预后相关,并分析了 CBX1 在胃癌中可能参与的生物学过程,有助于进一步揭示胃癌发生、发展可能涉及的分子机制,为胃癌提供早期诊断和预后相关的标志物。但是,本研究有一定局限,缺乏有效的分子生物学实验,对这些基因在胃癌组织中的功能进行分析验证;同时,在进行 CBX1 与胃癌患者临床病理参数相关分析时,由于此数据分期与分级所纳入病例数较少,有可能对结果的准确性造成影响。尽管如此,本研究仍有利于全面深入了解胃癌的潜在分子机制,并为后续分子生物实验提供指导。

综上所述,本研究通过生物信息学分析,阐明了 CBX1 的表达与胃癌发生及胃癌患者病理参数之间的相关性,初步证实了 CBX1 可作为胃癌早期诊断及预

后的标志物。

## 参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65 (2): 87-108.
- [2] LI M L, ZHANG J C, LI S G, et al. Characteristic gene expression profiles in the progression from normal gastric epithelial cells to moderate gastric epithelial dysplasia and to gastric cancer [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125 (10): 1777-1783.
- [3] YANG Y F, PAN Y H, TIAN Q H, et al. CBX1 indicates poor outcomes and exerts oncogenic activity in hepatocellular carcinoma [J]. *Transl Oncol*, 2018, 11 (5): 1110-1118.
- [4] 李丹丹, 丁世家, 陈维贤. 基于生物信息学分析的卵巢癌微小 RNA 调控网络的初步构建 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40 (2): 132-135.
- [5] RHODES D R, YU J, SHANKER K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J]. *Neoplasia*, 2004, 6 (1): 1-6.
- [6] ASPLUND A, EDQVIST P H, SCHWENK J M, et al. Antibodies for profiling the human proteome—the human protein atlas as a resource for cancer research [J]. *Proteomics*, 2012, 12 (13): 2067-2077.
- [7] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALASUBRAMANYA S, et al. UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. *Neoplasia*, 2017, 19 (8): 649-658.
- [8] FRANCESCHINI A, SZKLARCZYK D, FRANKILD S, et al. STRING v9. 1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (2): D808-D815.
- [9] SMOOT M E, ONO K, RUSCHEINSKI J, et al. Cytoscape 2. 8: new features for data integration and network visualization [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (3): 431-432.
- [10] YANG D, HENDIFAR A, LENZ C, et al. Survival of metastatic gastric cancer: significance of age, sex and race/ethnicity [J]. *J Gastrointest Oncol*, 2011, 2 (2): 77-84.
- [11] 罗会芹, 何义富. 晚期胃癌转化治疗策略的研究进展 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2019, 32 (8): 718-724.
- [12] MULLER J, VERRIJZER P. Biochemical mechanisms of gene regulation by polycomb group protein complexes [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2009, 19 (2): 150-158.
- [13] HU A, ZHANG Y, ZHAO X, et al. CBX1 is a direct target of miR-205-5p and contributes to the progression of pituitary tumor [J]. *Pharmazie*, 2019, 74 (3): 154-156.
- [14] SHIOTA M, SONG Y, YOKOMIZO A, et al. Human heterochromatin protein 1 isoform HP1beta enhances androgen receptor activity and is implicated in prostate cancer growth [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 17 (2): 455-467.
- (收稿日期: 2020-05-09 修回日期: 2020-08-10)
- (上接第 69 页)
- [16] DABBAH S, HAMMERMAN H, MARKIEWICZ W, et al. Relation between red cell distribution width and clinical outcomes after acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105 (3): 312-317.
- [17] XI Q, LIU Z, ZHAO Z, et al. Red blood cell distribution width predicts responsiveness of acute pulmonary vasodilator testing in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 446: 272-276.
- [18] WONG C M, PRESTON I R, HILL N S, et al. Iron chelation inhibits the development of pulmonary vascular remodeling [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53 (9): 1738-1747.
- [19] TAKEDA Y, TAKEDA Y, TOMIMOTO S, et al. Bilirubin as a prognostic marker in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *BMC Pulm Med*, 2010, 10: 22.
- [20] ZPELIT E, AKDENIZ B, ZPELIT M E, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in pulmonary arterial hypertension [J]. *Int Med Res*, 2015, 43 (5): 661-671.
- [21] 温林芳, 刘双. 中性粒细胞/淋巴细胞比值对肺动脉高压病情和预后的影响 [J]. *心肺血管病杂志*, 2016, 35 (3): 180-184.
- [22] 刘玲燕, 黄天鹏, 郝家乐, 等. 低氧性肺动脉高压小鼠肺组织 apoE 蛋白表达的变化及其意义 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34 (6): 492-495.
- (收稿日期: 2020-05-02 修回日期: 2020-08-28)