

基于多数据库联合挖掘研究PTP4A3的表达对肝细胞癌发生发展的影响

韩铭^{1,2,3}, 成军^{1,2}, 郭江^{3,4} (1.北京大学北京地坛医院教学医院, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 传染病研究所, 北京 100015; 3.新发突发传染病研究北京市重点实验室, 北京 100015; 4.首都医科大学附属北京地坛医院 肿瘤介入科, 北京 100015)

摘要: **目的** 通过多数据库联合挖掘探索PTP4A3在肝细胞癌发生发展中的作用。**方法** 基于Oncomine及癌症和肿瘤基因图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库联合数据分析PTP4A3在肝细胞癌组织和正常组织中的表达水平; 通过Human Protein Atlas数据库, 进一步研究PTP4A3在肝细胞癌和正常组织中的表达; 同时基于Kaplan-Meier Plotter数据库进一步分析PTP4A3表达水平与肝细胞癌预后的关系。**结果** 基于Oncomine数据库分析PTP4A3在肝细胞癌中高表达的研究有1项, 低表达的0项。涉及PTP4A3在肝细胞癌组织和正常组织中转录水平的5项研究中, 共包括768个样本, 与正常组织相比, PTP4A3在肝细胞癌组织中高表达($P = 1.06 \times 10^{-5}$)。基于TCGA数据库(正常组50例, 肝细胞癌组371例), PTP4A3在肝细胞癌组织中显著高表达($P < 0.0001$)。在Human Protein Atlas数据库的免疫组织化学数据中, 相对于正常肝组织, PTP4A3在肝细胞癌中显著高表达。Kaplan-Meier Plotter数据库($n = 364$)分析显示, PTP4A3的mRNA表达量与肝细胞癌患者总体生存率存在相关性, 即高表达PTP4A3的患者总体生存率较低, 预后较差($P = 0.049$)。**结论** 数据库挖掘显示PTP4A3基因具有促进肝细胞癌发生发展的作用, 是肝细胞癌的关键基因之一, 为以PTP4A3作为肝细胞癌药物靶点研究和治疗提供基础。

关键词: PTP4A3; 肝细胞癌; Oncomine; 癌症和肿瘤基因图谱

Effects of PTP4A3 expression on the carcinogenesis and development of hepatocellular carcinoma based on multi-database joint mining

HAN Ming^{1,2,3}, CHENG Jun^{1,2}, GUO Jiang^{3,4} (1.Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 2.Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 3.Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing 100015, China; 4.Department of Oncology Intervention, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of PTP4A3 expression on the carcinogenesis and development of hepatocellular carcinoma based on multi-database joint mining. **Methods** The expression of PTP4A3 in hepatocellular carcinoma tissues and normal tissues were analyzed based on the combined data of Oncomine and the Cancer Genome Atlas (TCGA) databases. The expression of PTP4A3 in hepatocellular carcinoma tissues and normal tissues were researched based on Human Protein Atlas database. Meanwhile, the relationship between PTP4A3 expression and prognosis of hepatocellular carcinoma were furtherly analyzed based on Kaplan-Meier Plotter database. **Results** Based on the Oncomine database, there was one study on the high expression of PTP4A3 in hepatocellular carcinoma tissues, and there was no low expression. In five studies involving the expression of PTP4A3 in the transcriptional levels of hepatocellular carcinoma and normal tissues, a total of 768 samples were included, and PTP4A3 was highly expressed in hepatocellular carcinoma tissues compared with normal tissues ($P = 1.06 \times 10^{-5}$). Based on the TCGA database (normal

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2019.01.009

基金项目: 首都医科大学附属北京地坛医院内科研基金“桥梁计划”项目(DTQL201601); 北京市医院管理局“登峰”人才培养计划团队项目(肝病专业)(DFL20151701)

通讯作者: 郭江 Email: guojiang2002105@aliyun.com

group: 50 cases, hepatocellular carcinoma group: 371 cases), PTP4A3 was highly expressed in hepatocellular carcinoma tissues ($P < 0.0001$). In the immunohistochemical data of the Human Protein Atlas database, PTP4A3 was significantly expressed in hepatocellular carcinoma compared with normal liver tissue. The Kaplan-Meier Plotter database ($n = 364$) analysis showed that the mRNA expression of PTP4A3 was correlated with the overall survival rate of hepatocellular carcinoma. The overall survival rate of patients with low expression of PTP4A3 was poor, and the prognosis of patients with high expression of PTP4A3 was poor ($P = 0.049$). **Conclusions** This study explored the role of PTP4A3 gene in promoting the development of hepatocellular carcinoma through database mining and showed that PTP4A3 gene is one of the key genes in hepatocellular carcinoma. These results provide a basis for future research and a drug target for hepatocellular carcinoma.

Key words: PTP4A3; Hepatocellular carcinoma; Oncomine; TCGA

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 在我国发病率较高, 病死率在消化系统恶性肿瘤中居第2位。HCC 恶性程度高, 易转移、复发, 严重危害人类生命健康, 其发病与乙型肝炎、丙型肝炎、长期过量饮酒及过度肥胖等因素相关^[1]。HCC 的发生发展是多因素、多基因和多阶段共同作用的复杂过程, 具体发病机制仍未明确。目前已有研究表明, 细胞增殖、迁移及代谢等信号转导通路异常在HCC的发生发展中起关键作用。肿瘤的发生与慢性炎症密切相关, HCC被认为是肝炎病毒感染、酒精滥用及有害化学物质不断诱导肝脏慢性炎症反应的最终结果^[2]。近年来, 随着对HCC基础与临床研究的不断深入, 外科手术和非手术治疗均取得了较大进展, 但治疗结果仍不容乐观, 尤其是HCC的转移与复发, 是临床治疗面临的巨大挑战^[3]。已有的分子诊断标志物如甲胎蛋白, 其灵敏度和特异度均不理想, 在诊断和预后监测方面有一定局限性^[4,5]。因此, 进一步探索HCC发生发展的分子机制至关重要。

研究表明, 蛋白酪氨酸磷酸酶IVA成员3 (protein tyrosine phosphatase type IVA member 3, PTP4A3) 与肿瘤的发生发展密切相关。PTP4A3是蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTPs) 中促肝再生磷酸酶 (phosphatases of regenerating livers, PRL) 亚族的成员, 其参与不同类型肿瘤的增殖、生长调节、细胞活力增加、转移和侵袭等过程^[6-10]。PTP4A3在结直肠癌、胃癌、前列腺癌、霍奇金淋巴瘤、乳腺癌和卵巢癌中均有特异性过表达^[11-16]。此外, PTP4A3也是预测部分癌症患者复发和预后的指标^[17-19]。Zhao等研究表明, PTP4A3与HCC的侵袭和血管生成密切相关, 但其研究较单一且样本量有限^[20]。因此, 如联合

Oncomine肿瘤数据库、TCGA肿瘤数据库、Kaplan-Meier Plotter肿瘤生存曲线数据库及Human Protein Atlas蛋白数据库进行数据挖掘, 分析PTP4A3在HCC中的表达规律及对生存预后的影响, 可为进一步探索PTP4A3在HCC发生发展中的作用提供新思路^[21]。

1 材料与方法

1.1 从 Oncomine 肿瘤数据库中提取数据 Oncomine 肿瘤数据库 (<https://www.oncomine.org>) 是一个基于各种肿瘤基因芯片的数据库和数据挖掘平台。本研究设定的筛选条件为: ① “Cancer Type: liver Cancer”; ② “Gene: PTP4A3”; ③ “Data Type: mRNA”; ④ “Sample Type: Clinical Specimen”; ⑤ “Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis”; ⑥ 临界值设定条件 ($P \text{ value} < 1 \times 10^{-4}$, fold change > 2 , gene rank = top 10%), 选择柱状图进行相关结果展示。

1.2 从 UCSC xena 中下载肝细胞癌的 TCGA 从 RNASEqV2 数据库中获取 HCC 组织和正常组织中 PTP4A3 的表达量并进行分析。

1.3 生成免疫组织化学图 Human Protein Atlas 数据库 (www.proteinatlas.org) 的免疫组织化学数据中, 在 “Tissue Atlas” 和 “Pathology Atlas” 中输入 PTP4A3, 分别选择 “liver” 和 “liver cancer”, 生成免疫组织化学图。

1.4 Kaplan-Meier Plotter 生存曲线数据库对 HCC 患者生存周期的分析 利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库 (<http://kmplot.com/analysis/>) 中 HCC 的数据集进行在线生存分析。筛选条件为: ① “Cancer: liver Cancer”; ② “Gene: PTP4A3”; ③ “Split patients by: Auto select best cutoff”; ④ “Survival: OS”。

1.5 统计学处理 所有数据采用数据库在线分析及

SPSS 19.0 进行统计学分析, 正常组与 HCC 组患者间 PTP4A3 表达的差异采用 t 检验, PTP4A3 表达与 HCC 预后的关系采用 Kaplan-Meier Plotter 分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTP4A3 在所有类型肿瘤中的表达 在 Oncomine 肿瘤数据库中, 共获得包括各种肿瘤在内的共计 424 项不同类型的研究结果, 按照筛选条件 “ P value $< 1 \times 10^{-4}$, fold change > 2 ”, 关于 PTP4A3 表达有统计学差异的研究共计 29 项, PTP4A3 表达增高的研究 28 项、表达降低的研究 1 项, 在 HCC 中高表达的研究 1 项, 无低表达的研究, 见表 1。

2.2 Oncomine 数据库中 PTP4A3 在肝细胞癌的表达 在 Oncomine 肿瘤数据库中, 共发现 5 项涉及

表 1 Oncomine 肿瘤数据库中 PTP4A3 表达有差异的研究 ($n = 29$)

肿瘤类型	上调	下调
乳腺癌	1	0
结直肠癌	16	0
头颈癌	1	0
肾癌	4	1
白血病	3	0
肝细胞癌	1	0
前列腺癌	1	0
肉瘤	1	0
总计	28	1

PTP4A3 在 HCC 组织和正常组织中表达的研究, 共包括 768 个样本, 汇总分析后发现, 与正常组相比, PTP4A3 在 HCC 组织中高表达 ($P = 1.06 \times 10^{-5}$), 见图 1。

2.3 Oncomine 数据库中 PTP4A3 在 HCC 组和正常组间的表达差异 在 Oncomine 数据库中, 获取人 PTP4A3 在不同 HCC 研究芯片中的表达结果, 对相关数据作箱图比较分析 (图 2)。结果显示, 在不同类型的 HCC 中, 相较于正常肝组织, PTP4A3 蛋白均呈现高表达, 且差异具有统计学意义 (图 2A, $P = 1.99 \times 10^{-11}$; 图 2B, $P = 2.78 \times 10^{-6}$; 图 2C, $P = 1.06 \times 10^{-5}$; 图 2D, $P = 5.37 \times 10^{-25}$; 图 2E, $P = 5.68 \times 10^{-4}$)

2.4 TCGA 数据库中 PTP4A3 在癌组织和正常组织的表达差异 在 TCGA 的肝细胞癌数据库 (正常组: 50 例, 肝细胞癌组: 371 例) 中, 相对于正常组中, PTP4A3 在肝细胞癌组中显著高表达 ($t = 8.894$, $P < 0.0001$) (图 3)。

2.5 Human Protein Atlas 免疫组化数据库中 PTP4A3 在肝细胞癌组织和正常组织的表达差异 在 Human Protein Atlas 数据库中, 肝细胞癌组织中 PTP4A3 相对于正常肝组织呈更多的阳性染色结果, 提示 PTP4A3 在肝细胞癌组织中显著高表达, 见图 4。

2.6 PTP4A3 mRNA 水平和 HCC 预后的关系 为了进一步明确 PTP4A3 基因的 mRNA 表达水平与肝细胞癌患者生存周期的关系, 利用 Kaplan-Meier Plotter

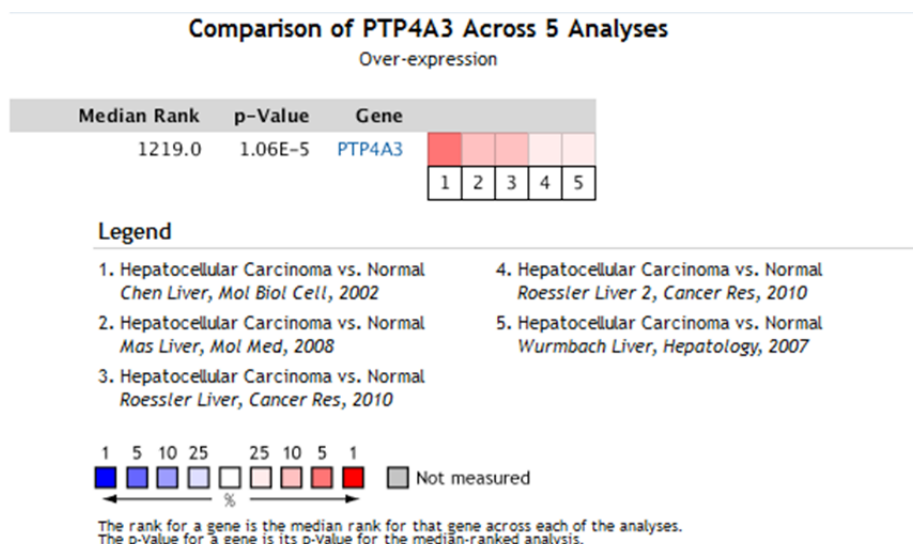


图 1 Oncomine 数据库中 PTP4A3 基因在 HCC 组织中的表达

注: 1 ~ 5 分别表示 5 项研究结果, 红色越深表示 PTP4A3 基因在该芯片中表达越高

数据库对肝细胞癌患者进行在线生存分析。结果显示：PTP4A3 mRNA 表达水平对肝细胞癌患者的总生存时间有显著影响。与PTP4A3 mRNA 高表达组相比，

低表达组肝细胞癌患者的总存活时间均有所延长，差异有统计学意义（ $P=0.049$ ），见图5。

3 讨论

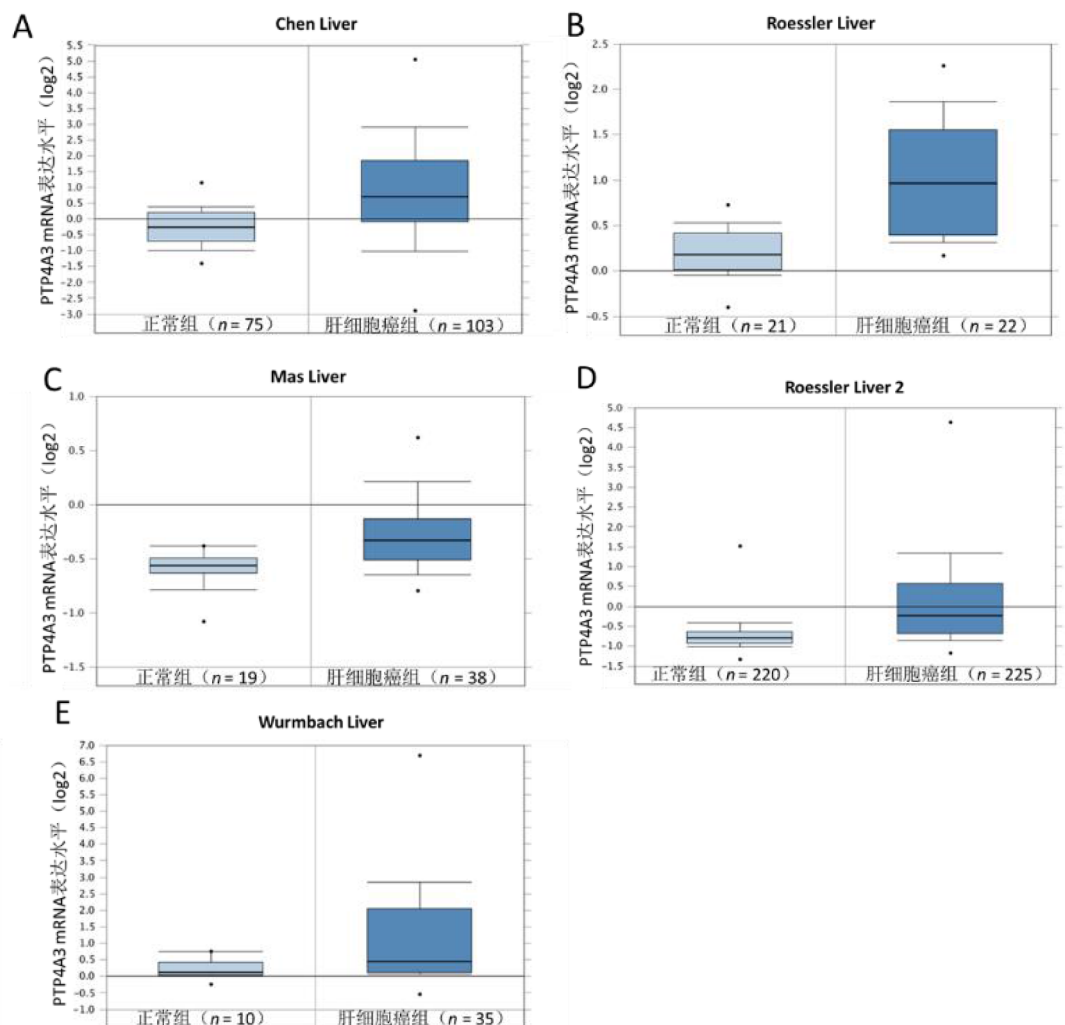


图2 Oncomine 芯片数据库中 PTP4A3 在不同 HCC 研究芯片中的表达
注：图 A ~ E P 值分别为 1.99×10^{-11} 、 2.78×10^{-6} 、 1.06×10^{-5} 、 5.37×10^{-25} 、 5.68×10^{-4}

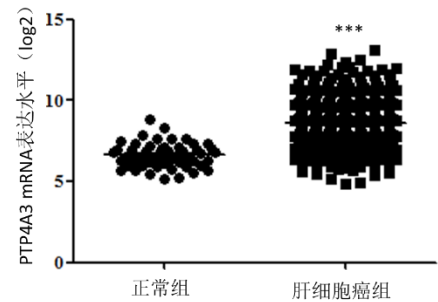


图3 TCGA 数据库中 PTP4A3 在肝细胞癌中的表达
注：*** $P < 0.0001$

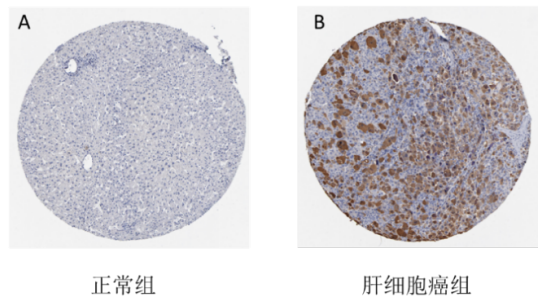


图4 PTP4A3 在正常肝组织和肝细胞癌中的表达（免疫组化图来自 Human Protein Atlas 数据库，免疫组织化学染色， $\times 40$ ）

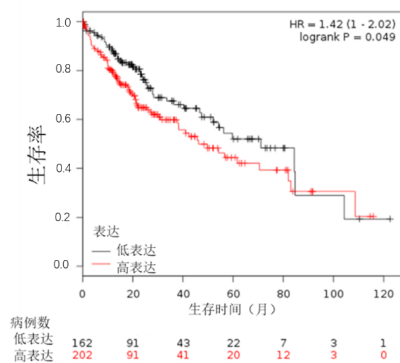


图5 HCC患者预后与PTP4A3 mRNA表达水平的关系

HCC是高病死率的恶性肿瘤,大多数HCC患者有肝炎、肝硬化等基础肝脏疾病,发病初期较隐匿,临床诊断时多已发展至中晚期,且常伴有肝内或肝外转移,治疗效果差。随着各种检测技术的发展,在多种肿瘤中均发现了有效的分子标志物,但HCC的诊断及预后仍缺乏有效的分子标志物。研究表明,PTP4A3基因在肿瘤增殖、侵袭和上皮-间充质转化等方面均有重要作用,其与肿瘤转移过程关系密切^[8-10]。目前已有研究提示PTP4A3基因与HCC相关,马盼等^[22]研究表明PTP4A3与索拉非尼抑制HCC的增殖侵袭有关,沉默PTP4A3基因可抑制HCC的侵袭^[20,23-25];PTP4A3在GATAD1促进HCC发生发展中发挥关键作用^[26];同时也有研究表明PTP4A3与HCC的治疗和预后存在一定相关性^[27]。但相关研究主要局限于部分基础研究,缺乏更多数据库的支持。本研究通过Oncomine和TCGA肿瘤数据库,提取了PTP4A3基因在HCC组织及正常组织中的mRNA数据,数据分析显示PTP4A3基因在HCC组织中的表达水平高于正常组织。通过Human Protein Atlas蛋白数据库发现,PTP4A3在HCC组织中显著高表达,进一步提示PTP4A3基因可促进HCC的发生发展。为进一步探索PTP4A3基因与HCC患者生存周期的关系,对Kaplan-Meier Plotter数据库中HCC患者的数据集进行了在线分析,结果表明PTP4A3基因低表达可延长HCC患者的总体存活时间,这一结果提示PTP4A3表达降低可能是HCC患者预后良好的因素之一。然而本研究仅是联合多种数据库进行的分析,未涉及对相关作用机制的研究,仍需要基于PTP4A3与HCC发生发展的基础研究进一步验证。

综上,本研究通过对HCC组织中PTP4A3的相关信息进行一定深度的挖掘,发现PTP4A3在HCC组织中高表达,且与HCC患者的生存预后相关,表

明PTP4A3基因在一定程度上可作为HCC发生发展过程中的一个重要生物学指标。本研究结果为探索PTP4A3在HCC发生发展中的作用提供了一定的数据支撑,为今后HCC的诊断和预后研究提供了重要理论基础。

参考文献

- [1] Marrero JA, Kudo M, Bronowicki JP. The challenge of prognosis and staging for hepatocellular carcinoma[J]. *Oncologist*,2010,15 (Supplement 4):23-33.
- [2] Mak LY, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, et al. Global epidemiology, prevention, and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*,2018,(38):262-279.
- [3] Scaggiante B, Kazemi M, Pozzato G, et al. Novel hepatocellular carcinoma molecules with prognostic and therapeutic potentials[J]. *World J Gastroenterol*,2014,20(5):1268-1288.
- [4] De Stefano F, Chacon E, Turcios L, et al. Novel biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Liver Dis*,2018,50(11):1115-1123.
- [5] 王健, 张升敏, 吴佳勉, 等. 基于癌症基因图集数据库与免疫组织化学方法分析 SMARCB1 对肝细胞癌早期诊断及预后的作用[J]. *中国病理生理杂志*,2017,33(4):754-757.
- [6] 宋秀军, 刘建红, 吕进. PRL-3在肿瘤中作用机制的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*,2017,22(6):566-569.
- [7] 郭瑜冰, 徐丹, 孙野青, 等. PTP4A3基因对肿瘤生长及转移的影响[J]. *中国病理生理杂志*,2017,33(11):2103-2109.
- [8] Rubio T, Köhn M. Regulatory mechanisms of phosphatase of regenerating liver (PRL)-3[J]. *Biochem Soc Trans*,2016,44(5):1305-1312.
- [9] Al-Aidaros AQ, Zeng Q. PRL-3 phosphatase and cancer metastasis[J]. *J Cell Biochem*,2010,111(5):1087-1098.
- [10] Bessette DC, Wong PCW, Pallen CJ. PRL-3: a metastasis-associated phosphatase in search of a function[J]. *Cells Tissues Organs*,2007,185(1-3):232-236.
- [11] Xu H, Zeng Y, Liu L, et al. PRL-3 improves colorectal cancer cell proliferation and invasion through IL-8 mediated glycolysis metabolism[J]. *Int J Oncol*,2017,51(4):1271-1279.
- [12] Wang Z, Cai SR, He YL, et al. High expression of PRL-3 can promote growth of gastric cancer and exhibits a poor prognostic impact on patients[J]. *Ann Surg Oncol*,2009,16(1):208-219.
- [13] Vandsemb EN, Bertilsson H, Abdollahi P, et al. Phosphatase of regenerating liver 3 (PRL-3) is overexpressed in human prostate cancer tissue and promotes growth and migration[J]. *J Transl Med*,2016,14:71.
- [14] Hjort MA, Hov H, Abdollahi P, et al. Phosphatase of regenerating liver-3 (PRL-3) is overexpressed in classical Hodgkin lymphoma and promotes survival and migration[J]. *Exp Hematol Oncol*,2018,7:8.
- [15] Radke I, Götte M, Smollich M, et al. Expression of PRL-3 regulates proliferation and invasion of breast cancer cells in vitro[J]. *Arch Gynecol Obstet*,2017,296(6):1153-1160.
- [16] Ren T, Jiang B, Xing X, et al. Prognostic significance of phosphatase of regenerating liver-3 expression in ovarian cancer[J]. *Pathol Oncol Res*,2009,15(4):555-560.
- [17] Guzinska-Ustymowicz K, Pryczynicz A. PRL-3, an emerging marker of carcinogenesis, is strongly associated with poor prognosis[J]. *Anticancer Agents Med Chem*,2011,11(1):99-108.
- [18] Bessette DC, Qiu D, Pallen CJ. PRL PTPs: mediators and markers of cancer progression[J]. *Cancer Metastasis Rev*,2008,27(2):231-252.
- [19] Stephens BJ, Han H, Gokhale V, et al. PRL phosphatases as potential molecular targets in cancer[J]. *Mol Cancer Ther*,2005,4(11):1653-

- 1661.
- [20] Zhao WB, Li Y, Liu X, et al. Evaluation of PRL-3 expression, and its correlation with angiogenesis and invasion in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Med,2008,22(2):187-192.
- [21] 王姗, 范修德, 尹盼盼, 等. 基于数据挖掘分析HMGB1表达对胃癌预后的影响[J]. 济宁医学院学报,2018,41(1):64-68.
- [22] 马盼, 贾云宏. 索拉非尼对M肝细胞癌97-H肝癌细胞增殖、侵袭以及PRL-3蛋白表达的影响研究[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(19):23-27.
- [23] 黄德好, 张琪, 李华, 等. 慢病毒介导靶向PRL-3基因的siRNA抑制肝癌细胞的侵袭性[J]. 中山大学学报(医学科学版),2010,31(3):309-314.
- [24] 黄德好, 苏树英, 陈规划. PRL-3基因RNA干扰慢病毒载体的构建及稳定感染HepG2单克隆细胞株的建立[J]. 中国临床药理学杂志,2011,27(11):862-866.
- [25] 范钰, 张允历, 张伟, 等. RNAi沉默促肝细胞再生磷酸酶-3基因抑制肝癌细胞侵袭[J]. 中华肝脏病杂志,2008,16(3):227-229.
- [26] Sun W, Zhang Y, Wong KC, et al. Mo1432-GATAD1 promotes hepatocellular carcinogenesis through directly inducing PTP4A3 and activating Akt pathway[J]. Gastroenterology,2017,152(5):S1182.
- [27] Mayinuer A, Yasen M, Mogushi K, et al. Upregulation of protein tyrosine phosphatase type IVA member 3 (PTP4A3/PRL-3) is associated with tumor differentiation and a poor prognosis in human hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg Oncol,2013,20(1):305-317.

收稿日期: 2018-09-21

韩铭, 成军, 郭江. 基于多数据库联合挖掘研究PTP4A3的表达对肝细胞癌发生发展的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2019,11(1):47-52.

· 消息 ·

《中国肝脏病杂志(电子版)》征稿启事

《中国肝脏病杂志(电子版)》为国家卫生健康委员会主管、人民卫生出版社有限公司主办的肝脏病学专业学术电子期刊,是一本在载体形式上与纸媒体相互补充的多媒体光盘期刊(CD-ROM)。本刊以电子期刊特有的表现形式,运用影视语言和多媒体技术登载有关肝脏病的专业论著、专家讲坛、临床病理讨论及学术会议等,图文声像并茂,是广大肝脏病工作者了解当前学科前沿、掌握最新技术的有效工具。本刊内容主要包括各种肝脏病的病原学、流行病学、免疫学、临床诊断及预防的实践经验和研究成果,以及本领域新技术、新方法的重要进展。本刊常设的主要栏目有述评、专家讲座、论著、指南、继续医学教育、经验交流、短篇报道、综述、临床病理讨论、设备技术介绍、国内外学术动态等。

本刊特色栏目:

(1)继续医学教育(视频);

(2)临床病理讨论(病例分析、典型图像分析、专家点评)。

本刊的办刊宗旨是:

贯彻党和国家的卫生工作方针政策,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的办刊方针,紧跟国际医学发展趋势,及时反映我国肝脏病临床和科研工作的重大进展,促进国内外肝脏病学学术交流。

本杂志为季刊,逢季末月20日出版。每期定价20元,全年定价80元。

本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)。

通讯地址:北京市朝阳区京顺东街8号《中国肝脏病杂志(电子版)》编辑部

邮编:100015

电话:010-84322058

传真:010-84322059

网址:www.j-ditan.com

Email:editordt@126.com