

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.24.006

基于数据挖掘分析 HMGB1 在急性淋巴细胞白血病患者中的表达及意义

邓茹丹, 张楠, 陈影, 邓建川[△]

重庆医科大学附属第二医院血液内科, 重庆 400010

摘要:目的 基于数据挖掘方法分析高迁移率族蛋白 1(HMGB1)在健康人群及急性淋巴细胞白血病(ALL)患者体内的表达及意义。方法 通过 Oncomine v4.5 数据库提取 HMGB1 在白血病和健康人群中转录水平的相关数据,对数据库中的基因表达信息进行荟萃分析,并通过 KEGG PATHWAY 分析 HMGB1 参与的重要信号通路。结果 在 443 项关于 HMGB1 在各种恶性肿瘤患者与健康人群之间的对比研究中,有 38 项研究提示 HMGB1 在恶性肿瘤患者和健康人群中的表达水平差异有统计学意义($P < 0.05$),其中在白血病患者中表达增高的有 3 项。在 271 项关于 HMGB1 在多种不同恶性肿瘤患者之间表达情况的对比研究中,有 15 项研究提示 HMGB1 在不同恶性肿瘤患者中的表达差异有统计学意义($P < 0.05$),其中有 4 项提示 HMGB1 在白血病患者中的表达高于其他肿瘤患者。5 项关于 HMGB1 在 ALL 与健康人群中表达情况的研究提示, HMGB1 在 ALL 中的表达量显著高于健康人。KEGG PATHWAY 通路分析提示, HMGB1 主要参与了自噬、碱基切除修复、程序性坏死等通路。结论 HMGB1 在 ALL 中呈现高表达,且参与 ALL 的发生、发展,通过诱导自噬、DNA 损伤修复等促进化疗药物耐药。

关键词:急性淋巴细胞白血病; 高迁移率族蛋白 1; 化疗药物耐药

中图法分类号:R825.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)24-3569-04

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Expression and significance of HMGB1 in acute lymphoblastic leukemia: evidence from data mining

DENG Rudan, ZHANG Nan, CHEN Ying, DENG Jianchuan[△]

Department of Hematology, Second Affiliated Hospital of Chongqing

Medical University, Chongqing 400010, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and significance of high mobility group protein box 1 (HMGB1) in acute lymphoblastic leukemia (ALL) and normal tissues based on data mining. **Methods** Expression data of HMGB1 in ALL and normal tissues were extracted from Oncomine v4.5 database. Crucial signaling pathways of HMGB1 in ALL were analyzed by KEGG PATHWAY analysis. **Results** A total of 38 of 443 studies about expression of HMGB1 in different cancers and healthy volunteers enrolled from Oncomine database were statistically different ($P < 0.05$), with 3 highly expressed HMGB1 in leukemia. A total of 15 of 271 studies on HMGB1 expression among various of cancers were statistical different ($P < 0.05$), and 4 of these studies were associated with leukemia. Totally 5 studies about HMGB1 expression levels in ALL patients and healthy volunteers were compared, HMGB1 expression in ALL patients were higher than healthy volunteers. KEGG PATHWAY analysis showed that HMGB1 was mainly involved in autophagy, base excision repair, necroptosis, etc. **Conclusion** HMGB1 is highly expressed in ALL, and its expression level is associated with the pathogenesis and chemotherapy resistance promotion of ALL by inducing autophagy and base excision repair.

Key words: acute lymphoblastic leukemia; high mobility group protein box 1; chemotherapy resistance

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童最常见的恶性肿瘤之一,也是儿童急性白血病的主要类型,约占其中的 80%^[1]。在成人中, ALL 占有成人急性白血病的 20%~30%^[2]。随着诊疗水平的提高, ALL 治疗方案日趋成熟, 儿童 ALL 的治疗效果较好, 长期无事件生存率可达 70%~80%^[1], 成人 ALL 完全缓解

率可达 70%~90%, 3~5 年无病生存率为 30%~60%^[2]。尽管如此, 仍有相当一部分患者无法获得较为满意的疗效。因此, 从分子水平研究 ALL 发生、发展的机制, 有利于发现新的分子靶点, 提供新的治疗方法, 对于减少患者痛苦和延长患者生存时间极为重要。

高迁移率族蛋白 1(HMGB1)是一种高度保守的蛋白质,其编码基因位于人类 13 号染色体长臂(13q12)上,是由 215 个氨基酸残基构成的单链多肽,属于细胞核内的一种非组蛋白染色体结合蛋白^[3]。它普遍存在于哺乳动物组织细胞中,广泛参与了晚期炎症介导、肿瘤发生调控、肿瘤耐药、细胞迁移和分化等多种生理及病理过程。目前,已有各种临床试验及研究表明, HMGB1 在人类多种不同类型的肿瘤中均存在过表达,如胰腺癌^[4]、结直肠癌^[5]、骨髓瘤^[6]等,在白血病中, HMGB1 也逐渐被更多的人所关注^[7],而 HMGB1 与 ALL 的关联,目前鲜有文献报道。本文通过对 Oncomine v4.5 基因芯片和信号通路的研究,分析 HMGB1 在 ALL 中的表达水平,并探讨其表达水平与化疗药物耐药的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 Oncomine v4.5 数据库(<http://www.oncomine.org>)、京都基因与基因组百科全书 KEGG 数据库(<https://www.kegg.jp>)。

1.2 方法

1.2.1 通过 Oncomine v4.5 数据库分析 HMGB1 基因在白血病患者中的表达 从 Oncomine v4.5 数据库提取数据,截止时间为 2019 年 2 月 17 日。设置搜索条件:(1)Gene 为 HMGB1;(2)Analysis Type 为 Cancer vs. Normal Analysis;(3)Cancer Type 为 Acute Lymphoblastic Leukemia;(4)Date Type 为 all;(5)Sample Type 为 Clinical Specimen;(6)临界值设定条件(P value<1E-5,fold change 1.5, gene rank=top 10%);选择柱状图展示结果。分析 HMGB1 在正常组织和白血病中的表达变化。

1.2.2 通过 Oncomine v4.5 数据库分析 HMGB1 基因在各种肿瘤组织中的表达 通过 Oncomine v4.5 数据库,分析 HMGB1 在人体其他肿瘤组织与白血病中的 HMGB1 表达差异及在 ALL 中的表达水平。

1.2.3 通过 KEGG PATHWAY 分析 HMGB1 参与的信号通路 通过 KEGG PATHWAY 工具分析通路可以直观观测到查询基因所富集的通路信息,分析 HMGB1 参与的信号通路。

2 结 果

2.1 白血病患者与健康人群 HMGB1 水平的比较 从 Oncomine v4.5 数据库中共收集了 443 项关于 HMGB1 在多种恶性肿瘤患者与健康者之间的对比研究结果,见图 1。其中有 38 项研究提示 HMGB1 在恶性肿瘤患者和健康人群中的表达水平差异有统计学意义($P<0.05$),其中肿瘤表达增高的有 33 项,包括乳腺癌、结直肠癌、胃癌、脑部及中枢神经系统癌症、白血病等,低表达的结果有 5 项,且主要集中在肺癌和淋巴瘤。在所有 33 项高表达 HMGB1 的恶性肿瘤中,有 3 项研究与白血病相关。

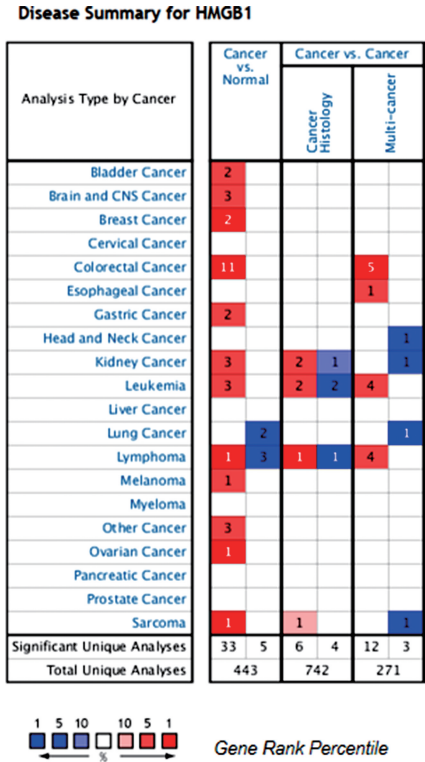


图 1 Oncomine v4.5 数据库中 HMGB1 在多种肿瘤研究中的表达情况

2.2 白血病患者与其他恶性肿瘤患者 HMGB1 水平的比较 在 Oncomine v4.5 数据库中共收集了 271 项关于 HMGB1 在各恶性肿瘤患者之间的表达对比的研究结果,有 15 项研究提示 HMGB1 在不同恶性肿瘤患者中的表达差异有统计学意义($P<0.05$),其中有 4 项研究提示 HMGB1 在白血病患者中的表达水平要高于其他肿瘤患者($P<0.05$),其结果分别发表于《Nature》^[8]、《Proc Natl Acad Sci U S A》^[9]、《Clin Cancer Res》^[10]及未公开发表,见表 1。HMGB1 在白血病患者中的表达高于其他肿瘤患者(BARRETINA 等^[8]于 2012 年 3 月 28 日发表于《Nature》,提示 HMGB1 在白血病的发生、发展过程中可能有重要意义。见图 2。

2.3 HMGB1 表达水平在 ALL 患者与健康人群的比较 在 Oncomine v4.5 数据库中,共有 5 项研究涉及 HMGB1 表达水平在 ALL 患者与健康人群中的比较^[11-12],见表 2。荟萃 5 项研究结果,比较 HMGB1 在不同研究中的表达情况,发现 HMGB1 在 ALL 患者体内呈高表达,在所有差异表达基因中其中位数值排名为 1 323.0($P=2.48E-26$)。

2.3 HMGB1 介导 ALL 发生、发展及耐药机制分析 通过 KEGG PATHWAY 通路分析发现, HMGB1 主要参与自噬、碱基切除修复、程序性坏死等信号通路,其 PATHWAY map 分别为 map04140、map03410、map04217。其中自噬的发生和发展与多种疾病均具有一定相关性,包括炎症、肿瘤和耐药^[13],其主要调控通路有 mTOR 通路和 Beclin1 多蛋白复合物通路^[14]。

KEGG map04140 提示, HMGB1 还受 ROS 调控, ROS 在调节细胞存活和死亡的通路中是一种重要的信号分子。而碱基切除修复是 DNA 损伤修复的主要

途径, 化学修饰产生的单个碱基损伤会影响碱基形成氢键的能力, 导致碱基配对错误^[15]。

表 1 HMGB1 在白血病患者与其他肿瘤患者中表达差异的研究

第一作者	肿瘤种类	样本量(n)	差异倍数	P	t	所发表期刊
BARRETINA	18	875	2.499	3.68E-24	13.216	Nature ^[8]
RAMASWAMY	12	169	4.608	9.87E-22	13.101	Proc Natl Acad Sci U S A ^[9]
NEALE	4	60	1.664	2.88E-09	7.638	Clin Cancer Res ^[10]
WOOSTER	19	298	2.007	1.08E-06	5.635	未公开发表

表 2 HMGB1 在 ALL 患者与健康人群中表达情况的研究

第一作者	健康人群(n)	ALL 患者(n)	ALL 类型	差异倍数	P	所发表期刊
HAERLACH	74	70	Pro-B ALL	1.945	2.84E-31	J Clin Oncol ^[11]
HAERLACH	74	174	T-Cell ALL	1.625	6.58E-23	J Clin Oncol ^[11]
HAERLACH	74	359	B-Cell ALL	1.705	2.48E-26	J Clin Oncol ^[11]
ANDERSSON	6	11	T-Cell ALL	5.827	3.01E-05	Leukemia ^[12]
ANDERSSON	6	85	B-Cell ALL	6.522	9.08E-05	Leukemia ^[12]

注: Pro-B ALL 为前 B 型急性淋巴细胞白血病; T-Cell ALL 为 T 细胞急性淋巴细胞白血病; B-Cell ALL 为 B 细胞急性淋巴细胞白血病

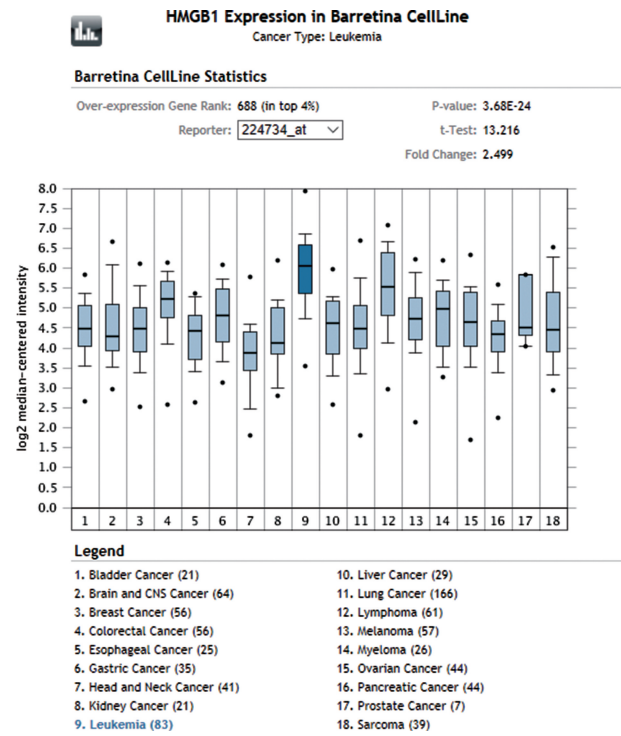


图 2 Oncomine v4.5 数据库中白血病与其他肿瘤患者的 HMGB1 表达差异

3 讨 论

ALL 是儿童常见的血液系统肿瘤, 急性期病情凶险, 在大多数儿童中治疗满意, 但成人 ALL 的治疗效果欠佳, 预后不良, 仅有 25% 的患者能长期生存, 而化疗药物耐药是 ALL 治疗失败的主要原因之一^[16]。HMGB1 在自噬中发挥重要作用, 有研究显示肿瘤细胞在受到化疗药物刺激时, 自噬信号通路被激活, 自噬水平提高, 从而分解这些药物分子, 提高其自身对

药物的敏感性, 促进细胞存活^[12]。GUO 等^[17]研究表明, HMGB1 参与自噬和 DNA 损伤修复, HMGB1 的下调增强了多发性骨髓瘤细胞对地塞米松的敏感性。自噬是一种细胞分解代谢途径, 涉及蛋白质降解、细胞器更新和细胞质组分的非选择性分解。自噬一方面为细胞本身代谢和某些细胞器更新提供能源; 另一方面当细胞处于应激(如内质网应激、氧化应激和饥饿等)过剩状态时, 细胞通过自噬方式“自杀”诱导细胞凋亡。LIU 等^[18]研究发现, HMGB1 能够通过 PI3K/MAPK/ERK 途径在自噬中发挥作用。HMGB1 作为一种新的 Beclin1 结合蛋白, 干扰 Bcl-2 与 Beclin 的结合。当 HMGB1 过表达时, 参与自噬的关键基因(Beclin1、VSP34)的 mRNA 水平及 p-Bcl-2、LC3-II 的蛋白水平增加, 也提示 HMGB1 过表达能够促进肿瘤细胞内的自噬发生^[19]。因此, 抑制自噬可以提高肿瘤细胞对应激的耐受能力, 增加肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性, 提高抗癌治疗效果; 另外, HMGB1 在 DNA 损伤修复中也起着关键作用, 它能与多种 DNA 损伤修复蛋白结合(PAG、XPA 等)促进损伤 DNA 修复, 而很多化疗药物通过造成肿瘤细胞 DNA 损伤发挥毒性作用, 比如阿霉素、环磷酰胺等, 导致 DNA 双链断裂, 有效的 DNA 修复可能导致肿瘤细胞对其产生耐受。

Oncomine v4.5 数据库是目前世界上最大的基因芯片数据库和数据挖掘整合平台, 可用于基因表达差异分析、离群值分析、组织类型分类等临床数据整理, 利用数据库分析可避免因样本量问题导致的误差。通过提取 HMGB1 在常见肿瘤与健康人群之间

的表达水平结果发现, HMGB1 在多种肿瘤中表达水平增加, 在白血病中的表达也显著高于其他肿瘤患者, 推测 HMGB1 可能通过某种机制参与了白血病的发生、发展过程, 且在 ALL 中明显高于健康人群, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$), 其表达水平与治疗预后相关, 可能成为一种潜在的生物标志物用于辅助诊断和排除与白血病相似的其他肿瘤。根据 KEGG PATHWAY 数据库分析及相关研究, HMGB1 主要通过参与自噬、凋亡、碱基损伤修复等过程激活相应的信号通路促进肿瘤细胞生长、增殖、转移及血管新生, 但是更深入地阐述 HMGB1 在 ALL 发生、发展及化疗耐药过程中的具体机制, 需更多的试验依据。

综上所述, 通过 Oncomine v4.5 数据库对白血病中 HMGB1 相关信息的挖掘, 发现 HMGB1 在 ALL 中呈现高表达, 且在白血病中的表达水平更高; 通过 KEGG PATHWAY 分析 HMGB1 可能通过诱导自噬、参与 DNA 损伤修复等促进 ALL 细胞化疗耐药。由于本研究仅局限于从 miRNA 水平探讨 HMGB1 在 ALL 的表达及意义, 后续将通过 Western blot 和免疫组织化学技术等从蛋白质表达水平进一步验证, 同时探讨 HMGB1 在 ALL 化疗耐药细胞株中的表达情况及分子机制, 分析 HMGB1 对 ALL 发生、发展的影响, 为 ALL 的治疗和诊断提供思路及依据。

参考文献

- [1] JANKOWSKI M, DRESSE M F, FORGET P, et al. Epidemiology of childhood cancer, a single-center study (1985–2016)[J]. *Rev Med Liege*, 2019, 74(3):146-151.
- [2] PAUL S, KANTARJIAN H, JABBOUR E J. Adult acute lymphoblastic leukemia [J]. *Mayo Clin Proc*, 2016, 91(11):1645-1666.
- [3] FERRARI S, FINELLI P, ROCCHI M, et al. The active gene that encodes human high mobility group 1 protein (HMGI) contains introns and maps to chromosome 13 [J]. *Genomics*, 1996, 35(2):367-371.
- [4] KANG R, XIE Y C, ZHANG Q H, et al. Intracellular HMGB1 as a novel tumor suppressor of pancreatic cancer [J]. *Cell Res*, 2017, 27(7):916-932.
- [5] VAN BEIJNUM J R, DINGS R P, VAN DER LINDEN E A, et al. Gene expression of tumor angiogenesis dissected: specific targeting of colon cancer angiogenic vasculature [J]. *Blood*, 2006, 108(7):2339-2348.
- [6] GUO X, HE D H, ZHANG E F, et al. HMGB1 knock-down increases MM cell vulnerability by regulating autophagy and DNA damage repair [J]. *J Exper Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):205-211.
- [7] YU Y, XIE M, KANG R, et al. HMGB1 is a therapeutic target for leukemia [J]. *Am J Blood Res*, 2012, 2(1):36-43.
- [8] BARRETINA J, CAPONIGRO G, STRANSKY N, et al. The cancer cell line encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity [J]. *Nature*, 2012, 483(7391):603-607.
- [9] RAMASWAMY S, TAMAYO P, RIFKIN R, et al. Multi-class cancer diagnosis using tumor gene expression signatures [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(26):15149-15154.
- [10] NEALE G, SU X, MORTON C L, et al. Molecular characterization of the pediatric preclinical testing panel [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(14):4572-4583.
- [11] HAFERLACH T, KOHLMANN A, WIECZOREK L A, et al. Clinical utility of Microarray-Based gene expression profiling in the diagnosis and subclassification of leukemia: report from the international microarray innovations in leukemia study group [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(15):2529-2537.
- [12] ANDERSSON A, RITZ C, LINDGREN D, et al. Microarray-based classification of a consecutive series of 121 childhood acute leukemias: prediction of leukemic and genetic subtype as well as of minimal residual disease status [J]. *Leukemia*, 2007, 21(6):1198-1203.
- [13] BOYA P, REGGIORI F, CODOGNO P. Emerging regulation and functions of autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7):713-720.
- [14] FUNDERBURK S F, WANG Q J, YUE Z. The beclin 1-VPS34 complex-at the crossroads of autophagy and beyond [J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20(6):355-362.
- [15] LIU Y, PRASAD R, WILSON S H. HMGB1: roles in base excision repair and related function [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2):119-130.
- [16] SARANG Z, GYURINA K, SCHOLTZ B, et al. Altered expression of autophagy-related genes might contribute to glucocorticoid resistance in precursor B-cell-type acute lymphoblastic leukemia [J]. *Eur J Haematol*, 2016, 97(5):453-460.
- [17] GUO X L, LI D, HU F, et al. Targeting autophagy potentiates chemotherapy-induced apoptosis and proliferation inhibition in hepatocarcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2012, 320(2):171-179.
- [18] LIU L, YANG M, KANG R, et al. HMGB1-induced autophagy promotes chemotherapy resistance in leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2011, 25(1):23-31.
- [19] YANG L C, YU Y, KANG R, et al. Up-regulated autophagy by endogenous high mobility group box-1 promotes chemoresistance in leukemia cells [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(2):315-322.

(收稿日期:2019-03-05 修回日期:2019-07-02)