



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.05.08

文章编号: 2095-1264(2022)05-0608-05

基于数据挖掘分析 GPR87 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[★]

焦南林¹, 张有为^{2*}

(¹皖南医学院附属弋矶山医院 病理科, 安徽 芜湖, 241001; ²徐州市中心医院 肿瘤内科, 江苏 徐州, 221009)

摘要: **目的** 探索 G 蛋白偶联受体 87(GPR87)在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及意义。**方法** 通过 GE-IA 在线工具分析 TCGA 数据库中 GPR87 mRNA 在 NSCLC 和正常肺组织中的表达情况,并进一步分析 GPR87 基因表达与 NSCLC 患者 TNM 分期和总生存期(OS)之间的关系。利用 String 在线工具分析与 GPR87 相互作用的蛋白。**结果** GPR87 mRNA 在肺腺癌(LUAD)和肺鳞癌(LUSC)组织中的表达水平均明显高于正常肺组织($P < 0.01$)。GPR87 mRNA 高表达倾向于与 NSCLC 患者临床进展期有关,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。TCGA 数据库中,GPR87 mRNA 高表达组 LUAD 患者的 OS 明显短于低表达组($P = 0.0065$),并在 Kaplan-Meier Plotter 数据库中得到了进一步验证($P = 0.029$)。然而,在 TCGA 数据库中,GPR87 mRNA 高表达组 LUSC 患者的 OS 明显长于低表达组($P = 0.036$),但在 Kaplan-Meier Plotter 数据库中差异无统计学意义($P = 0.35$)。String 分析显示,LPAR1、LPAR2、LPAR3、SCIN、OR56A3、OR52W1、OR52L1、OR56B4、OR56A1、OR52B2 等蛋白与 GPR87 有明显的相互作用。**结论** 基于肿瘤基因数据库信息挖掘,GPR87 在 NSCLC 组织中呈高表达,并与 LUAD 患者预后不良相关,可能是 LUAD 的潜在分子标志物。

关键词: 非小细胞肺癌; G 蛋白偶联受体 87; 生物信息学; 预后

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A

Expression status and clinical significance of GPR87 in non-small cell lung cancer: Evidence from data mining[★]

JIAO Nanlin¹, ZHANG Youwei^{2*}

(¹Department of Pathology, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu, 241001, Anhui, China; ²Department of Medical Oncology, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou, 221009, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To explore the expression and significance of G protein-coupled receptors 87 (GPR87) in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The differences in the expressions of GPR87 mRNA between NSCLC and normal lung tissues were compared through The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Genotype-Tissue Expression (GTEx) databases by Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA). The relationships of GPR87 gene expression with the TNM stage and overall survival (OS) of patients were further analyzed. Then proteins that interacted with GPR87 were analyzed by using the String database. **Results** The expression levels of GPR87 mRNA were significantly increased in lung adenocarcinoma (LUAD) and lung squamous cell carcinoma (LUSC) tissues, as compared with that in normal lung tissues ($P < 0.01$). The up-regulation of GPR87 mRNA tended to be associated with the advanced stage of patients, but without statistical significance. In TCGA database, the OS of LUAD patients with high expression of GPR87 mRNA was significantly shorter than that of LUAD patients with low expression of GPR87 mRNA ($P = 0.0065$), which was further verified in Kaplan-Meier

[★]基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973346);江苏省徐州市社会发展面上项目(KC19139)。

作者简介:焦南林,男,医学硕士,副主任医师,研究方向:肿瘤病理学。

*通信作者:张有为,男,医学博士,副主任医师,研究方向:肺癌基础与临床研究。

er Plotter database ($P=0.029$). However, in the TCGA database, the OS of LUSC patients with high expression of GPR87 mRNA was significantly longer than that of LUSC patients with low expression of GPR87 mRNA ($P=0.036$), but such difference was not statistically significant in Kaplan-Meier Plotter database ($P=0.35$). String database showed that LPAR1, LPAR2, LPAR3, SCIN, OR56A3, OR52W1, OR52L1, OR56B4, OR56A1, OR52B2 had obvious interaction with GPR87.

Conclusion Based on the data mining in the gene databases, GPR87 mRNA was highly expressed in NSCLC tissue and closely associated with the poor prognosis of LUAD patients. GPR87 may be a potential molecular marker for LUAD.

Keywords: Non-small cell lung cancer; GPR87; Bioinformatics; Prognosis

前言

肺癌是全球恶性肿瘤相关死亡的最主要原因,其发病率和死亡率逐年升高^[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)包括肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)和肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC),约占肺癌总发病率的85%^[2]。近年来,基于肿瘤驱动基因如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)等的相关研究推动了相应分子靶向药物的研发及应用,为改善 NSCLC 患者的生存做出了积极贡献^[3-5],但继续探索 NSCLC 发生发展中的关键基因仍意义重大。

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)是细胞膜表面最庞大的受体家族,涉及多种信号传导通路,与肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移密切相关^[6-7]。GPR87 是 2001 年通过表达序列标签数据分析发现的一种新的 GPCR^[8],在多种肿瘤组织中表达上调,但具体的生理作用尚未完全明确^[9-11]。为深入研究 GPR87 在 NSCLC 发生发展中的功能和机制,探索潜在的治疗靶点,本文拟通过在线数据库系统性分析 GPR87 在 NSCLC 中的表达及其与患者预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 GPR87 基因在肺组织中的表达及与 NSCLC 预后的相关性分析 测试数据集通过基因表达谱动态分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)工具(<http://gepia2.cancer-pku.cn>)完成,其中肿瘤组织信息来源于 The Cancer Genome Atlas (TCGA)数据库,对照正常组织信息则来源于 TCGA 数据库和 The Genotype-Tissue Expression (GTEx)数据库。验证数据集来自 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)。

1.2 与 GPR87 相互作用的蛋白互作网络分析 利用 String 数据库(<https://string-db.org/>)对 GPR87 基

因相关信号转导通路进行初步探索,构建相关蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。

1.3 统计学方法 所用数据采用在线统计学分析,两样本均数间比较采用 t 检验,组间比较采用单因素方差分析,GPR87 基因表达与预后的关系采用 Kaplan-Meier 生存分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GPR87 基因在 NSCLC 中的表达 TCGA 数据库中包含 483 例 LUAD 和 486 例 LUSC 样本。设定参数:Log₂FC Cutoff=1、 P -value Cutoff=0.01,GEPIA 在线工具分析结果显示,GPR87 基因在 LUAD 和 LUSC 组织中的表达水平均较正常肺组织中明显升高(图 1)。

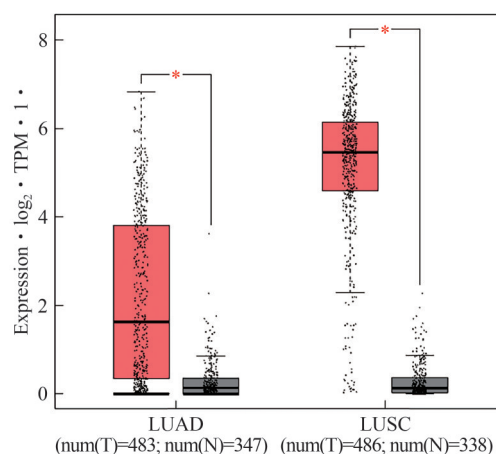


图 1 LUAD、LUSC 和正常肺组织中 GPR87 mRNA 的表达水平
(* $P<0.01$)

Fig. 1 Expression of GPR87 mRNA in LUAD, LUSC and normal lung tissues (* $P<0.01$)

2.2 GPR87 基因表达水平与 NSCLC 分期的关系 GEPIA 分析结果显示,GPR87 mRNA 在不同 TNM 分期 LUAD 患者肿瘤组织中的表达水平无显著差异,但在 III、IV 期患者肿瘤组织中的表达水平有高于

I、II 期的趋势($P=0.0526$),其在 IV 期 LUSC 患者肿

瘤组织中的表达也存在升高趋势($P=0.068$)(图 2)。

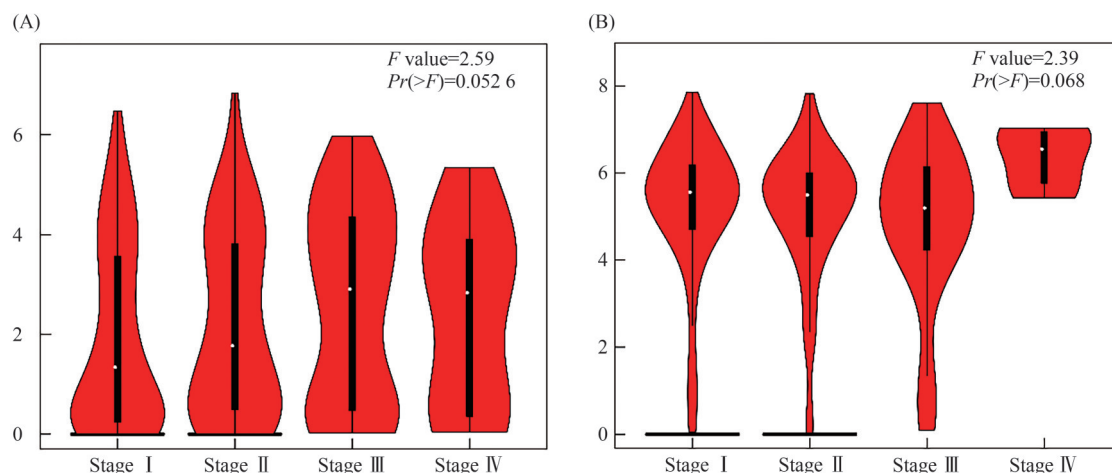


图 2 GPR87 mRNA 在不同 TNM 分期 LUAD (A)、LUSC (B) 中的表达

Fig. 2 Expression of GPR87 mRNA in LUAD (A) and LUSC (B) patients with different TNM stages

2.3 GPR87 基因表达与 NSCLC 预后的关系 以 mRNA 表达水平的中位数(median)作为 Cutoff 值。TCGA 数据库中,GPR87 mRNA 高表达组 LUAD 患者的总生存期(overall survival, OS)相对于低表达组明显缩短($P=0.0065$),并在 Kaplan-Meier Plotter 数据库中得到了进一步验证($P=0.029$);GPR87 mRNA 高表达组 LUSC 患者的 OS 明显长于低表达组($P=0.036$),但在 Kaplan-Meier Plotter 数据库中无显著差异($P=0.35$)(图 3)。

2.4 与 GPR87 相互作用的 PPI 网络 利用 String 数据库分析构建与 GPR87 相互作用的 PPI 网络。PPI 富集 $P=0.0253$,节点数为 12 个,与 GPR87 相互作用的蛋白有 LPAR1、LPAR2、LPAR3、SCIN、OR56A3、OR52W1、OR52L1、OR56B4、OR56A1、OR52B2,主要参与的生物学过程包括细胞内钙离子浓度的调节、腺苷酸环化酶活性的负调控、细胞生理过程的调节、MAPK 的激活、细胞骨架组织的正向调节、催化活性的调节、磷酸酯酶 C 的激活、腺苷酸环化酶抑制 GPCR 信号通路(图 4)。

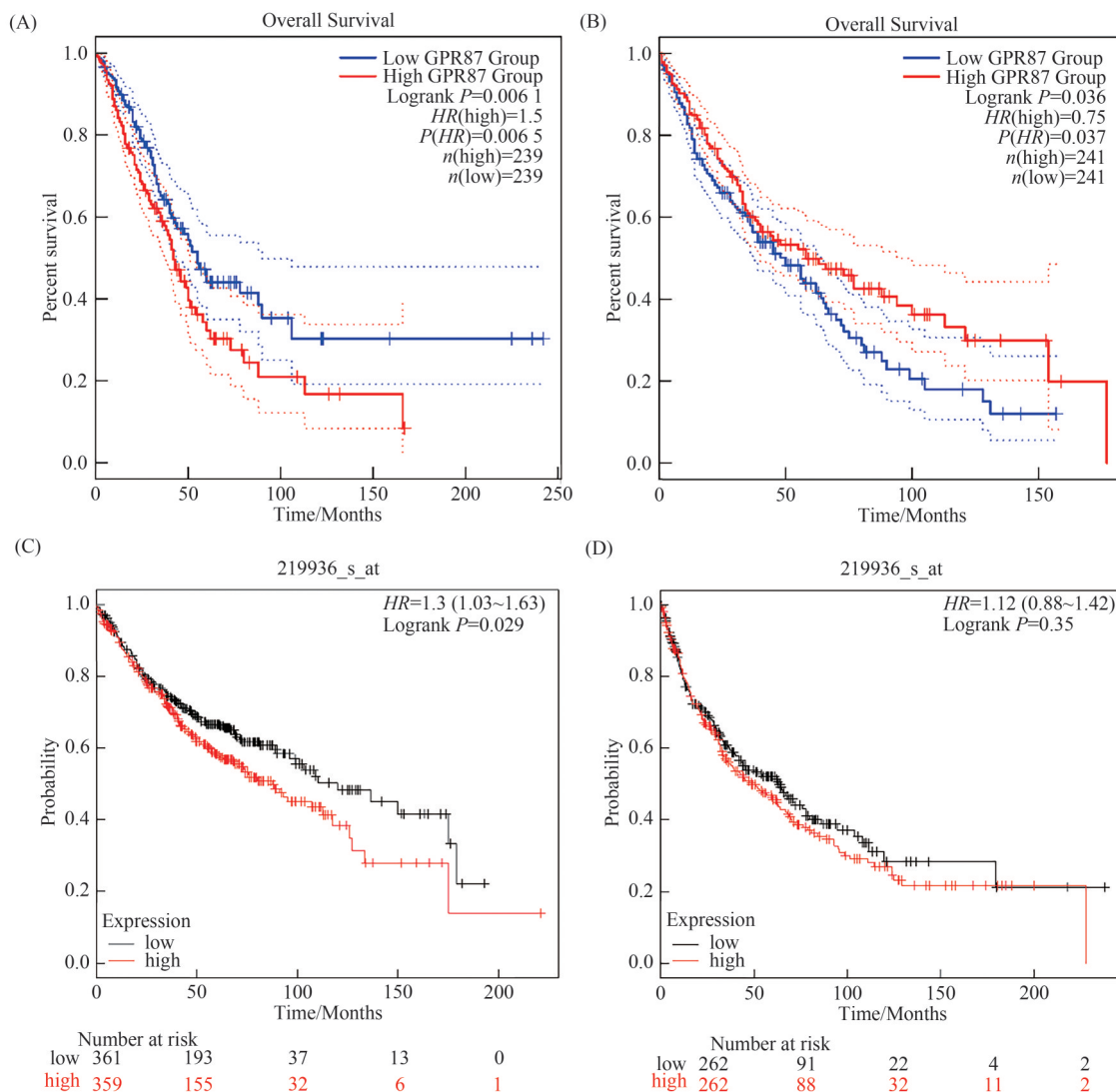
3 讨论

GPCRs 是细胞膜表面参与信号传导的最大家族,有 800 多个成员,占人类基因组总编码基因的 2%,可通过与其它信号蛋白协同作用调节多种生理功能^[12]。大量证据表明,GPR87 是一种抗凋亡基因,能诱导细胞增殖,在肿瘤生长、转移和血管生成等过程中发挥重要作用^[13-14]。在 DNA 损伤反应中,GPR87 对于 p53 依赖性细胞的存活至关重要^[15]。

GPR87 还可促进 CD133⁺肿瘤干细胞样细胞的生长和转移^[16]。Wang 等^[17]通过免疫组化发现 GPR87 在胰腺癌组织中表达显著上调,GPR87 表达水平与淋巴结转移、临床进展期以及 OS 缩短有关;功能实验证实,过表达 GPR87 可促进胰腺癌细胞体外增殖,而沉默内源性 GPR87 则可抑制其体外增殖、血管生成和对吉西他滨的耐药性;此外,GPR87 还可通过激活 NF- κ B 信号通路增强胰腺癌细胞的侵袭性。

在肺癌中,一项回顾性研究对 1999 年—2004 年接受手术的 123 例 NSCLC 患者(LUAD58 例、LUSC53 例、其他类型 12 例)进行免疫组化分析,发现其中 51.2%(63 例)为 GPR87 阳性,且 GPR87 阳性在 LUSC 中较 LUAD 更为常见(62.3% vs. 43.1%, $P=0.044$);与 GPR87 阴性患者相比,阳性患者的肿瘤分化程度更低,Ki-67 增殖指数更高,OS 更短。COX 回归分析显示,GPR87 是 NSCLC 患者的重要预后因素(风险比=2.053, $P=0.018$)^[10]。Gugger 等^[18]通过激光捕获显微切割术和以 GPCRs 为重点的 Affymetrix 芯片发现 GPR87 在 LUSC 组织中过表达。一项最新研究发现,GPR87 在约 50%(10/20)的恶性肿瘤细胞株中过表达,尤其是肺癌细胞株[70%(7/10)],通过 siRNA 敲降 GPR87 的表达可抑制肺癌细胞 H358 和 PC9 的增殖,表明 GPR87 可能是肺癌的潜在治疗靶点^[19]。

近年来,伴随着高通量测序技术的广泛应用以及数据共享机制的不断成熟,以 TCGA 和 Gene Expression Omnibus(GEO)为代表的国际公共数据库积累了大规模的多组学肿瘤数据,数据驱动型



注：(A) TCGA LUAD 数据集；(B) TCGA LUSC 数据集；(C) Kaplan-Meier Plotter LUAD 数据集；(D) Kaplan-Meier Plotter LUSC 数据集

Note: (A) TCGA LUAD dataset; (B) TCGA LUSC dataset; (C) Kaplan-Meier Plotter LUAD dataset; (D) Kaplan-Meier Plotter LUSC dataset

图 3 GPR87 表达水平与患者 OS 的 Kaplan-Meier Plotter 分析

Fig. 3 Kaplan-Meier Plotter analysis of GPR87 expression and overall survival of patients

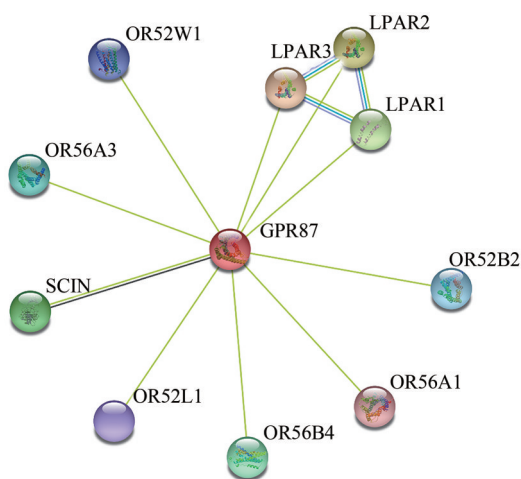


图 4 与 GPR87 相互作用的 PPI 网络图

Fig. 4 PPI network diagram related to GPR87 gene expression protein

(data-driven) 研究逐渐成为肿瘤生物信息学研究的重要模式。对肿瘤“大数据”进行重新挖掘、整合利用,从中发现更多有价值的信息,可能为破解肿瘤异质性的成因、开发新的诊断和治疗手段提供重要线索^[20]。本研究以肿瘤公共数据库和相应的生物信息学技术为基础,通过数据挖掘发现,与正常肺组织相比,GPR87 mRNA 在 LUAD 和 LUSC 组织中的表达均显著上调。并且,GRP87 高表达与 LUAD 患者较差的 OS 有关,提示其可能促进 LUAD 细胞生长;对于 LUSC 患者,GRP87 高表达却是潜在保护因素,虽然在 Kaplan-Meier Plotter 验证数据集中未得到证实,这与既往的认识有所不同,推测与肿瘤异质性有关,需要进一步研究。我们继而对 GPR87 相

关信号转导通路进行了初步探索,结果显示 GPR87 参与的生物学过程主要包括细胞内钙离子浓度调节、MAPK 通路的激活等。

综上所述,本文通过对 NSCLC 相关基因信息进行深入挖掘,证实 GPR87 基因在 NSCLC 组织中呈高表达,但对 LUAD 和 LUSC 患者的预后意义不同,为进一步的实验研究提供了理论依据。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7–34. DOI: 10.3322/caac.21551.
- [2] 钟锐, 邹麟, 王伟, 等. 含铂化疗及其联合治疗在晚期非小细胞肺癌治疗中的研究进展[J]. 肿瘤药学, 2019, 9(6): 839–844. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2019.06.02.
- [3] 刘新福, 尹婵, 张辉, 等. EGFR-TKI 同步放疗治疗不可手术的 EGFR 突变型 III 期非小细胞肺癌的临床观察[J]. 肿瘤药学, 2019, 9(4): 636–640. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2019.04.22.
- [4] ROSAS G, RUIZ R, ARAUJO J M, et al. ALK rearrangements: Biology, detection and opportunities of therapy in non-small cell lung cancer [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2019, 136: 48–55. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2019.02.006.
- [5] PASQUINI G, GIACCONE G. C-MET inhibitors for advanced non-small cell lung cancer [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2018, 27(4): 363–375. DOI: 10.1080/13543784.2018.1462336.
- [6] 张敏, 梁丽鸿, 鲁雅洁, 等. G 蛋白偶联受体相关分选蛋白功能特征与相关疾病的研究进展[J]. 遗传, 2020, 42(8): 713–724. DOI: 10.16288/j.yczz.20-020.
- [7] REINECKE B A, WANG H, ZHANG Y. Recent advances in the drug discovery and development of dualsteric/ bitopic activators of G protein-coupled receptors [J]. Curr Top Med Chem, 2019, 19(26): 2378–2392. DOI: 10.2174/1568026619666191009164609.
- [8] WITTENBERGER T, SCHALLER H C, HELLEBRAND S. An expressed sequence tag (EST) data mining strategy succeeding in the discovery of new G-protein coupled receptors [J]. J Mol Biol, 2001, 307(3): 799–813. DOI: 10.1006/jmbi.2001.4520.
- [9] GLATT S, HALBAUER D, HEINDL S, et al. hGPR87 contributes to viability of human tumor cells [J]. Int J Cancer, 2008, 122(9): 2008–2016. DOI: 10.1002/ijc.23349.
- [10] NII K, TOKUNAGA Y, LIU D, et al. Overexpression of G protein-coupled receptor 87 correlates with poorer tumor differentiation and higher tumor proliferation in non-small-cell lung cancer [J]. Mol Clin Oncol, 2014, 2(4): 539–544. DOI: 10.3892/mco.2014.292.
- [11] NISS ARFELT K, FARES S, SPARRE-ULRICH A H, et al.

Signaling via G proteins mediates tumorigenic effects of GPR87 [J]. Cell Signal, 2017, 30: 9–18. DOI: 10.1016/j.cellsig.2016.11.009.

- [12] SEYEDABADI M, GHAHREMANI M H, ALBERT P R. Biased signaling of G protein coupled receptors (GPCRs): Molecular determinants of GPCR/transducer selectivity and therapeutic potential [J]. Pharmacol Ther, 2019, 200: 148–178. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.05.006.
- [13] ZHANG Y, SCOUMANNE A, CHEN X. G protein-coupled receptor 87: a promising opportunity for cancer drug discovery [J]. Mol Cell Pharmacol, 2010, 2(3): 111–116.
- [14] JIANG J, YU C, GUO X, et al. G protein-coupled receptor GPR87 promotes the expansion of PDA stem cells through activating JAK2/STAT3 [J]. Mol Ther Oncolytics, 2020, 17: 384–393. DOI: 10.1016/j.omto.2020.01.006.
- [15] ZHANG Y, QIAN Y, LU W, et al. The G protein-coupled receptor 87 is necessary for p53-dependent cell survival in response to genotoxic stress [J]. Cancer Res, 2009, 69(15): 6049–6056. DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-0621.
- [16] YAN M, LI H, ZHU M, et al. G protein-coupled receptor 87 (GPR87) promotes the growth and metastasis of CD133⁺ cancer stem-like cells in hepatocellular carcinoma [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61056. DOI: 10.1371/journal.pone.0061056.
- [17] WANG L, ZHOU W, ZHONG Y, et al. Overexpression of G protein-coupled receptor GPR87 promotes pancreatic cancer aggressiveness and activates NF- κ B signaling pathway [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 61. DOI: 10.1186/s12943-017-0627-6.
- [18] GUGGER M, WHITE R, SONG S, et al. GPR87 is an overexpressed G-protein coupled receptor in squamous cell carcinoma of the lung [J]. Dis Markers, 2008, 24(1): 41–50. DOI: 10.1155/2008/857474.
- [19] KITA Y, GO T, NAKASHIMA N, et al. Inhibition of cell-surface molecular GPR87 with GPR87-suppressing adenoviral vector disturb tumor proliferation in lung cancer cells [J]. Anticancer Res, 2020, 40(2): 733–741. DOI: 10.21873/anticancer.14004.
- [20] 王晓飞, 赵辉, 张国勇, 等. 基于数据挖掘分析 ERO1L 在肺腺癌中的表达及临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23: 2229–2233.

收稿日期: 2020-01-08 校稿: 李征 于静

本文引用格式: 焦南林, 张有为. 基于数据挖掘分析 GPR87 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 肿瘤药学, 2022, 12(5): 608–612. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.05.08.

Cite this article as: JIAO Nanlin, ZHANG Youwei. Expression status and clinical significance of GPR87 in non-small cell lung cancer: Evidence from data mining [J]. Anti-tumor Pharmacy, 2022, 12(5): 608–612. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.05.08.