



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004
China Journal of General Surgery, 2023, 32(9):1313-1323.

· 专题研究 ·

ATP结合盒转运蛋白A5在胰腺癌中的预后意义的生物信息学分析与验证

费浩然¹, 孙丹¹, 仲成成², 杨海深², 司鑫鑫³, 胡伟²

(1. 锦州医科大学, 辽宁 锦州 121001; 2. 江苏省连云港市第一人民医院 肝胆外科, 江苏 连云港 222001; 3. 江苏海洋大学 药学院, 江苏 连云港 222005)

摘要

背景与目的: ATP结合盒(ABC)转运蛋白家族的成员ABCA5在多种肿瘤中发挥着重要的作用。然而, ABCA5在胰腺癌中的研究尚不清楚。因此, 本研究通过生物信息学分析及临床样本验证, 探讨ABCA5在胰腺癌中的表达及与患者预后的关系, 同时对ABCA5在胰腺癌中的可能作用机制进行分析。

方法: 使用TCGA和GEO数据库, 分析ABCA5在胰腺癌组织及正常组织中的表达情况, 并用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, Cox比例风险模型进行单因素与多因素分析。采用免疫组织化学法检测65例胰腺癌组织和癌旁组织中ABCA5的表达, 并分析其与预后及胰腺癌临床病理特征的关系。使用TIMER、STRING和Gene MANIA数据库对ABCA5与免疫细胞浸润、蛋白互作用网络(PPI)和基因-基因互作网络进行分析。利用基因富集分析(GSEA)和相关性分析对ABCA5在胰腺癌中可能参与的信号通路及其可能的作用机制进行探索。通过癌症药物敏感性基因组学(GDSC)分析ABCA5与治疗药物敏感性的关系。

结果: 在TCGA和GEO数据集中, ABCA5在胰腺癌组织中的表达明显低于正常组织(均 $P<0.05$)。在TCGA和GSE62452数据集中, ABCA5低表达的患者生存时间明显缩短(均 $P<0.05$); ABCA5的表达是胰腺癌患者预后的独立影响因素($HR=0.458, P=0.001$; $HR=0.439, P=0.017$)。65例临床病例分析显示, ABCA5在癌组织与癌旁组织相比处于低表达水平, 且ABCA5低表达患者的预后更差(均 $P<0.05$), 单因素与多因素Cox回归分析表明ABCA5的表达是胰腺癌患者预后的独立影响因素($HR=0.327, P=0.032$)。TIMER数据库结果显示, ABCA5表达与免疫浸润密切相关。PPI蛋白互作用网络显示, 有14个与ABCA5相关的互作蛋白; 基因-基因互作关系网络图得到20个与ABCA5相关的互作基因。基因富集分析与相关性分析结果显示, ABCA5在胰腺癌中可能与细胞周期和铁死亡有关。ABCA5高表达患者对5种治疗药物的 IC_{50} 明显低于ABCA5低表达患者(均 $P<0.05$)。

结论: ABCA5在胰腺癌组织中低表达并与患者不良预后相关, 其表达水平是胰腺癌患者预后的独立影响因素, ABCA5在胰腺癌中的作用机制可能与细胞周期、免疫调节和铁死亡有关。

关键词

胰腺肿瘤; 预后; ATP结合盒转运蛋白A5; 计算生物学; 铁死亡

中图分类号: R735.9

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81703557); 江苏省连云港市卫生计生科技基金资助项目(201906; 202102); 江苏省连云港市科技局科技计划基金资助项目(SF2119); 江苏省连云港市第一人民医院科研基金资助项目(BS202003; LC04)。

收稿日期: 2023-05-27; **修订日期:** 2023-08-27。

作者简介: 费浩然, 锦州医科大学硕士研究生, 主要从事肝胆外科方面的研究。

通信作者: 胡伟, Email: huwei1125@163.com

Bioinformatics analysis and validation of the prognostic significance of ATP-binding cassette transporter A5 in pancreatic cancer

FEI Haoran¹, SUN Dan¹, ZHONG Chengcheng², YANG Haishen², SI Xinxin³, HU Wei²

(1. Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222001, China; 3. School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu 222005, China)

Abstract

Background and Aims: ATP-binding cassette transporter A5 (ABCA5), a member of the ABC transporter, plays a crucial role in various cancers. However, the role of ABCA5 in pancreatic cancer remains unclear. Therefore, this study was conducted to explore the expression of ABCA5 in pancreatic cancer and its relationship with prognosis of patients, using both bioinformatics analysis and clinical sample validation. Additionally, the potential mechanisms of ABCA5 in pancreatic cancer were analyzed.

Methods: The expression of ABCA5 in pancreatic cancer tissues and normal tissues was analyzed using TCGA and GEO databases. Kaplan-Meier survival curves and Cox proportional hazards models were used for univariate and multivariate analyses of the survival of patients. Immunohistochemistry was employed to detect ABCA5 expression in 65 pancreatic cancer and adjacent tissue samples, and its association with prognosis and clinicopathologic features was assessed. TIMER, STRING, and Gene MANIA databases were used to analyze ABCA5 in relation to immune cell infiltration, protein-protein interaction networks (PPI), and gene-gene interaction networks. Gene set enrichment analysis (GSEA) and correlation analysis were performed to explore the potential signaling pathways and mechanisms involving ABCA5 in pancreatic cancer. The relationship between ABCA5 and drug sensitivity was analyzed using the Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC).

Results: In both TCGA and GEO datasets, ABCA5 expression was significantly lower in pancreatic cancer tissues compared to normal tissues (both $P < 0.05$); patients with low ABCA5 expression had significantly shorter overall survival in both TCGA and GSE62452 datasets (both $P < 0.05$); ABCA5 expression was identified as an independent prognostic factor for pancreatic cancer patients ($HR = 0.458$, $P = 0.001$; $HR = 0.439$, $P = 0.017$). Clinical analysis of 65 cases revealed that ABCA5 was downregulated in cancer tissues compared to adjacent tissues, and patients with low ABCA5 expression had worse prognoses (both $P < 0.05$). Univariate and multivariate Cox regression analyses indicated that ABCA5 expression was an independent prognostic factor for pancreatic cancer patients ($HR = 0.327$, $P = 0.032$). TIMER database results showed a close association between ABCA5 expression and immune infiltration. The PPI network revealed 14 interacting proteins associated with ABCA5, while the gene-gene interaction network identified 20 interacting genes. Gene enrichment and correlation analyses suggested that ABCA5 may be related to the cell cycle and ferroptosis in pancreatic cancer. Patients with high ABCA5 expression showed significantly lower IC_{50} values for five therapeutic drugs than those with low ABCA5 expression (all $P < 0.05$).

Conclusion: The expression of ABCA5 is downregulated in pancreatic cancer tissue and is associated with poor prognosis in patients. ABCA5 expression is an independent prognostic factor for pancreatic cancer, and its potential mechanism in pancreatic cancer may involve the cell cycle, immune regulation, and ferroptosis.

Key words Pancreatic Neoplasms; Prognosis; ABCA5; Computational Biology; Ferroptosis

CLC number: R735.9

胰腺癌是一种具有高度侵袭性且致命性的消化系统恶性肿瘤^[1],总体5年生存率约为12%^[2]。胰腺癌在全球男性恶性肿瘤发病率中排名第7,女性中排名第11,占总体恶性肿瘤相关死亡的第4位,在全球范围内的发病率和病死率均呈明显上升趋势^[3]。由于缺乏明显的特异性症状,大多数胰腺癌患者在被确诊时已经出现了血管播散或远处转移^[4],即使15%~20%的患者在确诊后有接受手术切除的机会,但最终约80%的患者术后会发生复发和(或)转移,总体的预后极差^[5]。因此,需要对胰腺癌有新的认识,寻找新的生物学标志物作为临床研究领域的预后指标,从而探索个体化精准治疗的方法,以进一步提高胰腺癌的诊治效果。

ATP结合盒(ABC)转运蛋白家族由48个跨膜转运的蛋白质组成,广泛分布在真核生物和原核生物中,主要与物质的转运有关^[6]。ABC蛋白水解ATP所获得的能量被用来克服浓度梯度并将底物运输到内外膜,ABC蛋白促进包括代谢物、氨基酸、多肽和蛋白质、固醇和脂类、有机和无机离子、糖、金属和药物等物质穿过细胞膜转运^[7]。已有研究提出,ABC转运蛋白A5(ABCA5)在结直肠癌、乳腺癌中低表达^[8-9],在结直肠癌和肺癌、卵巢癌中的低表达与不良预后有关^[10-11],同时它可作为前列腺癌的癌前病变—前列腺上皮内瘤变的诊断标志物^[12]。目前ABCA5在胰腺癌中的表达和具体作用机制尚不清楚。

本研究通过TCGA数据库和GEO数据库中的数据,研究ABCA5在胰腺癌中的表达,及其在胰腺癌患者预后中的意义,并通过免疫组织化学方法检测ABCA5在胰腺癌组织中的表达情况,分析其与胰腺癌患者临床病理特征及预后的关系,同时对ABCA5在胰腺癌中的可能作用机制进行探索分析,以为胰腺癌的预后判定和治疗提供潜在的新的分子标志物。

1 资料与方法

1.1 数据集下载及整理

胰腺癌患者的基因表达信息来源于TCGA数据

库和GEO数据库中的胰腺癌患者的数据。GEO数据库包括GSE15471和GSE62452的数据,分析具有临床预后资料的数据集GSE62452。从TCGA数据库中下载患者的基因表达信息和临床信息。去除没有足够临床或(和)生存资料的样本。

1.2 病例资料

选取采用的胰腺癌组织标本为江苏省连云港市第一人民医院中2019年2月—2022年4月经病理确诊为胰腺癌的65例患者的组织标本。临床病理资料包括年龄、性别、淋巴结分期、临床分期、组织分化、神经侵犯情况等。胰腺癌临床分期按照国际抗癌联盟(UICC)第8版分期标准。所有入选的患者术前均未接受任何针对肿瘤的治疗。本研究经我院医学伦理委员会批准(伦理审批号:KY20190924002)。

1.3 免疫组织化学检查和评分

将手术切除的胰腺癌与癌旁组织标本经过4%多聚甲醛固定包埋在石蜡后切成4 μm厚的切片。将切片在二甲苯中脱石蜡并在梯度乙醇中进行再水合。用3%过氧化氢溶液阻断内源性过氧化物酶的活性,并用3%山羊血清阻断非特异性结合。样品与抗ABCA5抗体(Bioss有限公司,BS-7940R,1:200稀释),一起在4℃下孵育过夜。将磷酸盐缓冲盐水孵育的切片设定为阴性对照。将切片与过氧化物酶缀合的二抗一起温育。二氨基联苯胺用作色原体,苏木素复染后,切片脱水、中性胶封闭并用盖玻片覆盖,再放入显微镜下观察。由2位不了解临床信息的病理医师对染色强度和阳性细胞百分比进行标准评分。免疫组化评分根据阳性细胞比率:<25%为1分,25%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;染色强度评分:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;将ABCA5表达的阳性细胞比率和染色强度相乘,最终得分低于5分的定义为阴性低表达,而得分高于5分的定义为阳性高表达^[13]。

1.4 免疫浸润分析

通过TIMER数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)分析ABCA5的表达水平与8种免疫细胞(CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、M0型巨噬细胞、M1型

巨噬细胞、M2型巨噬细胞、髓源性抑制细胞、NK细胞和中性粒细胞)浸润水平的相关性。

1.5 构建蛋白质-蛋白质互作网络(PPI)、基因-基因互作网络

使用 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org>) 中蛋白质互作信息对 ABCA5 构建蛋白质互作网络 (PPI)。使用 Gene MANIA 数据库 (<http://genemania.org>) 绘制 ABCA5 的基因-基因互作关系网络图。

1.6 基因富集分析

使用 GSEA 4.2.2 软件对 TCGA 数据集、GSE62452 数据集中的 ABCA5 进行基因富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA)。KEGG 富集分析使用的注释基因集为 c2.cp.kegg.v2023.1.Hs.symbols.gmt。 $P < 0.05$ 且伪发现率 (false discovery rate, FDR) $< 25\%$ 认为差异有统计学意义。

1.7 药物治疗结果预测

根据 ABCA5 的表达预测药物治疗结果, 基于抗癌药物敏感性基因组学 (<https://www.cancerrxgene.org>), 即 Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC), 使用 R 包 “oncoPredict” 对奥拉帕尼、吉西他滨、伊立替康等药物进行预测。从 GDSC 中下载药物的半最大抑制浓度 (IC_{50} 值) 的自然对数。箱形图由 R 软件包 “ggplot2” 绘制。

1.8 统计学处理

统计分析采用 SPSS 25.0 软件和 R 软件。使

用 R 语言中的 “survival” 包取最佳截断值区分高低表达组, 并绘制 Kaplan-Meier 生存率曲线。采用 Pearson 相关系数分析基因间的相关性, $0.1 \leq |r| \leq 1.0$ 时定义为存在相关; 临床病理特征资料表采用 χ^2 检验, 使用单因素和多因素 Cox 回归分析比较 ABCA5 对预后的影响, 计算 95% 置信区间 (CI) 的危险比 (HR) 和 P 值。有意义的单因素被纳入多因素分析中, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABCA5在胰腺癌组织中低表达

通过对 TCGA 和 GEO 数据库中的癌组织与正常组织中的 ABCA5 表达水平进行分析, 利用 GEPIA2 在线网站分析 TCGA 数据库中胰腺癌患者组织与 GTEx 数据库中正常胰腺组织 ABCA5 基因表达情况。发现在 GSE15471、GSE62452 和 TCGA 数据集中与正常组织相比 ABCA5 在癌组织中呈低表达 (均 $P < 0.05$) (图 1A-C)。通过免疫组化方法检测我院 65 例胰腺癌组织和癌旁组织中 ABCA5 的表达, 结果显示, 蛋白阳性颗粒定位于细胞质中。ABCA5 蛋白在胰腺癌组织中的阳性表达率为 38.46% (25/65); 而在癌旁组织中 ABCA5 阳性表达率为 61.53% (40/65), 胰腺癌组织较癌旁组织表达同样明显降低 ($P < 0.001$) (图 1D-H)。

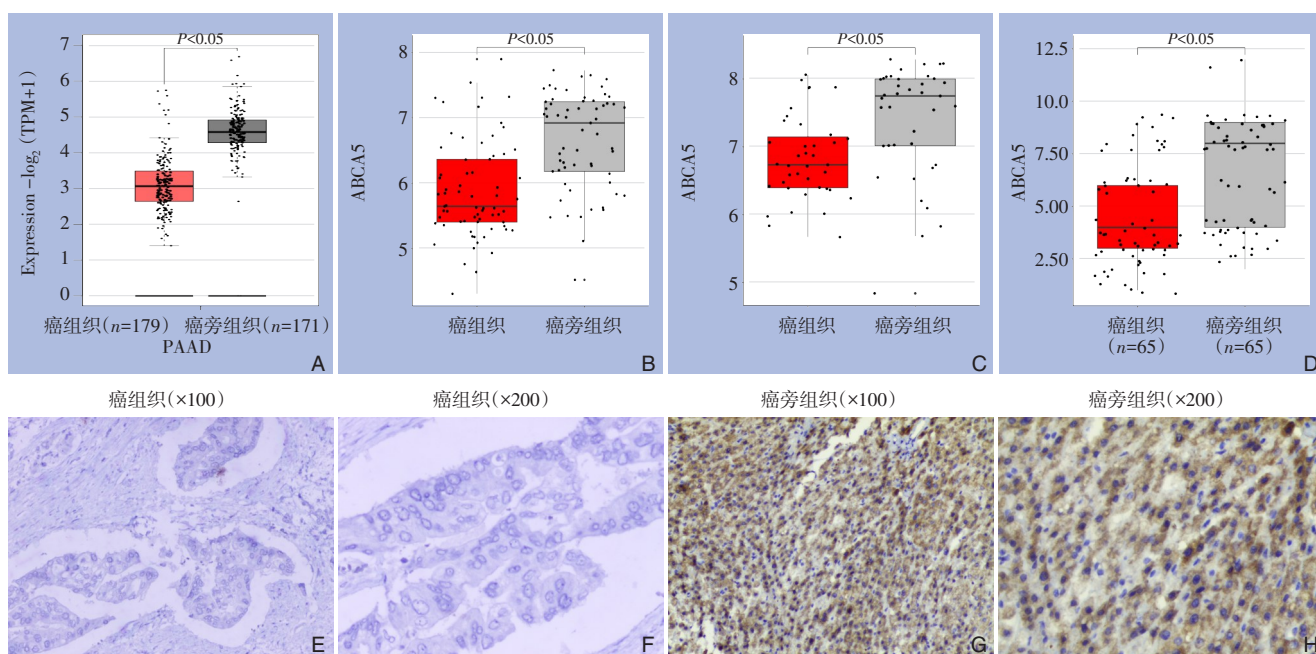


图1 ABCA5在胰腺癌组织与正常组织的表达情况 A: TCGA; B: GSE62452; C: GSE15471; D: 65例临床样本; E-H: 免疫组化检测 ABCA5 的表达

Figure 1 Expression of ABCA5 in pancreatic cancer and normal tissues A: TCGA; B: GSE62452; C: GSE15471; D: Clinical samples of 65 cases; E-H: Immunohistochemical staining for ABCA5 expression

2.2 ABCA5的表达与胰腺癌患者的生存关系

为了进一步确定ABCA5的表达与胰腺癌患者的预后关系,选取具有患者临床预后资料的GSE62452和TCGA数据集,绘制Kaplan-Meier生存率曲线。结果显示,在TCGA和GSE62452数据集

中,低表达患者与不良的预后明显有关(均 $P < 0.05$)。同样,在我院65例临床样本中,通过免疫组化标准评分法区分高低表达组,低表达组患者的预后明显差于高表达组患者($P=0.0026$) (图2A-C)。

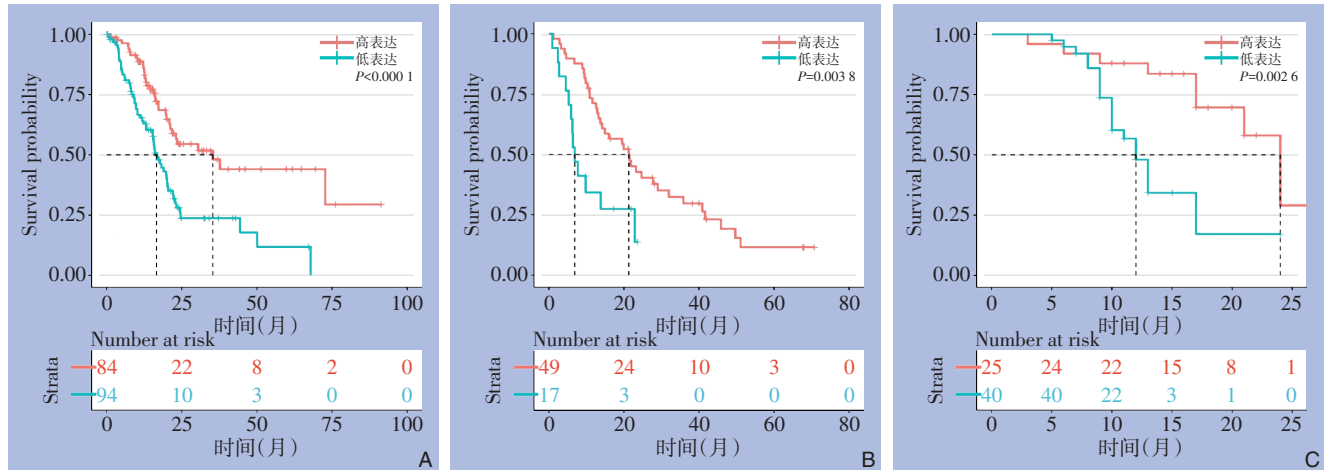


图2 ABCA5表达与预后的关系 A: TCGA; B: GSE62452; C: 65例临床样本

Figure 2 The relationship between ABCA5 expression and prognosis A: TCGA; B: GSE62452; C: Clinical samples of 65 cases

2.3 ABCA5与胰腺癌患者的预后分析和临床病理特征分析

通过对TCGA、GSE62452及我院65例临床病例中的临床病理特征进行单因素与多因素Cox分析,单因素Cox分析结果显示,在TCGA数据库中,ABCA5的表达、肿瘤分期和肿瘤分级与胰腺癌患者预后相关($P < 0.05$);在GSE62452中,ABCA5的表达和肿瘤分级与胰腺癌患者预后有关(均 $P < 0.05$)。多因素Cox分析显示,在TCGA数据库中,ABCA5的表达和肿瘤分期是影响胰腺癌患者预后的独立因素($P < 0.05$),在GSE62452中,ABCA5的

表达和肿瘤分级是影响胰腺癌患者预后的独立因素(均 $P < 0.05$)。同样,在我院65例临床病例中,单因素Cox分析结果显示,ABCA5的表达、肿瘤分期、淋巴结分期和组织分化与患者预后有关,多因素Cox分析结果显示,ABCA5的表达和肿瘤分期是影响胰腺癌患者预后的独立因素(均 $P < 0.05$) (表1-3)。此外,通过 χ^2 检验分析ABCA5的表达水平与临床病理特征的关系,结果提示,ABCA5表达与组织分化程度和肿瘤分期相关(均 $P < 0.05$),与性别、年龄、淋巴结转移、神经浸润等无关(均 $P > 0.05$) (表4)。

表1 TCGA数据单多因素Cox回归分析

Table 1 Univariate and multivariate Cox regression analysis of TCGA data

变量	单因素		多因素	
	P	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)
年龄	0.129	1.376(0.911~2.079)	—	—
性别	0.455	0.856(0.568~1.289)	—	—
肿瘤分级	0.011	1.448(1.089~1.926)	0.06	1.332(0.987~1.796)
肿瘤分期	0.004	1.421(1.122~1.799)	0.033	1.307(1.022~1.671)
ABCA5	0.001	0.413(0.268~0.637)	0.001	0.458(0.296~0.707)

表2 GSE62452数据单多因素Cox回归分析

Table 2 Univariate and multivariate Cox regression analysis of GSE62452 data

变量	单因素		多因素	
	P	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)
肿瘤分期	0.527	1.146(0.751~1.747)	—	—
肿瘤分级	0.014	1.787(1.122~2.847)	0.032	1.697(1.047~2.75)
ABCA5	0.007	0.394(0.201~0.773)	0.017	0.439(0.223~0.865)

表3 65例临床数据单多因素Cox回归分析

Table 3 Univariate and multivariate Cox regression analysis of clinical samples of 65 cases data

变量	单因素		多因素	
	P	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)
年龄	0.567	0.8(0.373~1.717)	—	—
性别	0.742	0.88(0.41~1.888)	—	—
淋巴结分期	0.009	1.96(1.186~3.239)	0.561	1.191(0.661~2.144)
肿瘤分期	0.001	3.057(1.902~4.915)	0.001	2.606(1.482~4.583)
组织分化	0.04	0.57(0.333~0.974)	0.653	0.851(0.421~1.719)
神经浸润	0.941	0.971(0.448~2.106)	—	—
ABCA5	0.005	0.281(0.116~0.681)	0.032	0.327(0.117~0.91)

表4 ABCA5表达与胰腺癌患者的临床病理特征关系[n (%)]
Table 4 Relationship between ABCA5 expression and clinical characteristics of patients with pancreatic cancer [n (%)]

因素	n	低表达(n=40)	高表达(n=25)	P
年龄(岁)				
<65	28	20(50.0)	8(32.0)	0.154
≥65	37	20(50.0)	17(68.0)	
性别				
女	26	13(32.5)	13(52.0)	0.181
男	39	27(67.5)	12(48.0)	
淋巴结转移				
无	37	19(47.5)	18(72.0)	0.052
有	28	21(52.5)	7(28.0)	
肿瘤分期				
I~IIA	32	15(37.5)	17(68.0)	0.017
IIB~IV	33	25(62.5)	8(32.0)	
组织分化				
低中	41	32(80.0)	9(36.0)	<0.001
高	24	8(20.0)	16(64.0)	
神经浸润				
无	33	17(42.5)	16(64.0)	0.092
有	32	23(57.5)	9(36.0)	

2.4 ABCA5与免疫浸润细胞的相关性

既往有研究^[14]发现ABC家族与肿瘤免疫微环境密切相关。ABCA5与肿瘤免疫相关性如何仍不清楚,使用TIMER数据库进行分析,结果显示,ABCA5与7种免疫细胞(CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、M0型巨噬细胞、M1型巨噬细胞、髓源性抑制细胞、NK细胞和中性粒细胞)密切相关。此外,尽管ABCA5与M2型巨噬细胞存在相关性,但相关性无统计学意义($P>0.05$)。与CD4⁺T细胞($r=0.463$, $P=1.66e-10$)、CD8⁺T细胞($r=0.328$, $P=1.13e-05$)、NK细胞($r=0.44$, $P=1.5e-09$)、中性粒细胞($r=0.414$, $P=1.6e-08$)和M1型巨噬细胞($r=0.224$, $P=3.2e-03$)的浸润水平呈正相关,而与M0型巨噬细胞($r=-0.275$, $P=2.57e-04$)、M2型巨噬细胞($r=-0.101$, $P=1.88e-01$)和髓源性抑制细胞($r=-0.388$, $P=1.45e-07$)的浸润水平呈负相关(图3)。

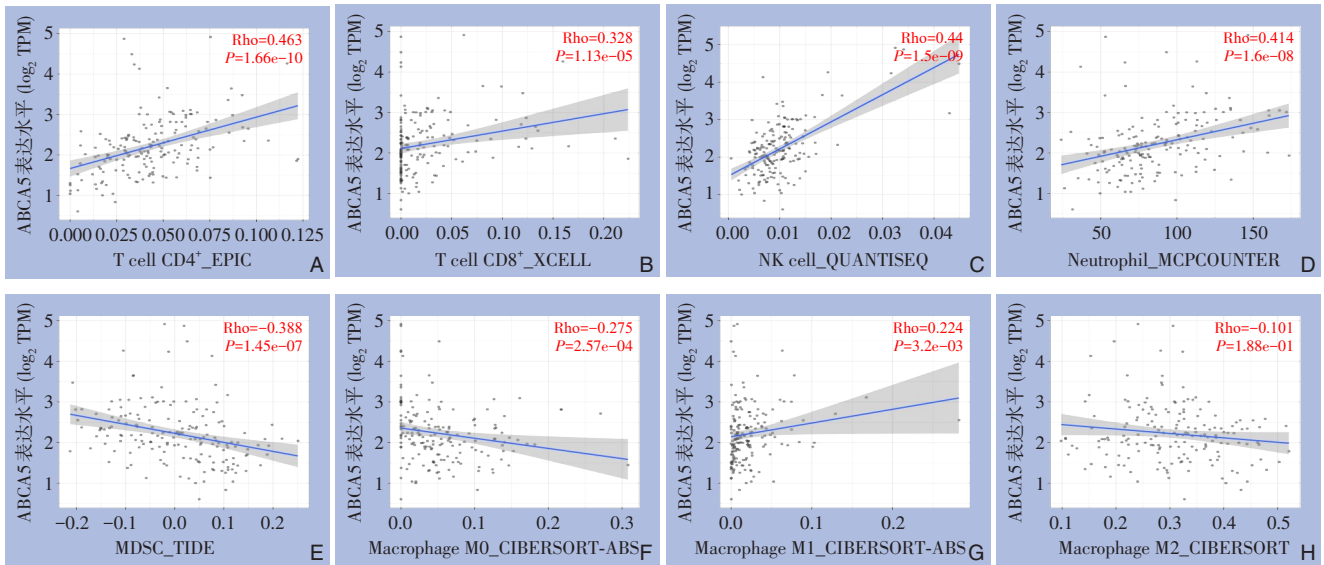


图3 ABCA5与免疫浸润细胞 A: CD4⁺T细胞; B: CD8⁺T细胞; C: NK细胞; D: 中性粒细胞; E: 髓源性抑制细胞; F: M0型巨噬细胞; G: M1型巨噬细胞; H: M2型巨噬细胞

Figure 3 ABCA5 and immune cell infiltration A: CD4⁺ T cells; B: CD8⁺ T cells; C: NK cells; D: Neutrophils; E: Myeloid derived suppressor cells; F: M0 macrophages; G: M1 macrophages; H: M2 macrophages

2.5 ABCA5的蛋白PPI网络

构建PPI, 与ABCA5有关的互作蛋白有14个, 分别是: ABCA13、ABCD4、ABCF1、ABCF3、CCDC137、CCDC3、CHD7、ELP6、FAM26E、MAP2K6、PAH、PLXNA4、TMEM163, TRAPPC1 (图4A)。构建基因-基因互作网络, 与ABCA5

关互作基因有20个, 即ABCA10、ABCD3、ABCG1、ARFGAP3、CLDN12、DMXL1、DNAJB9、DOP1A、GALT、HSPA4L、MAP2K6、PCSK9、RASGRP3、RUFY3、SARAF、SGK3、SLC25A16、STXBP3、TMEM59、WWC2 (图4B)。

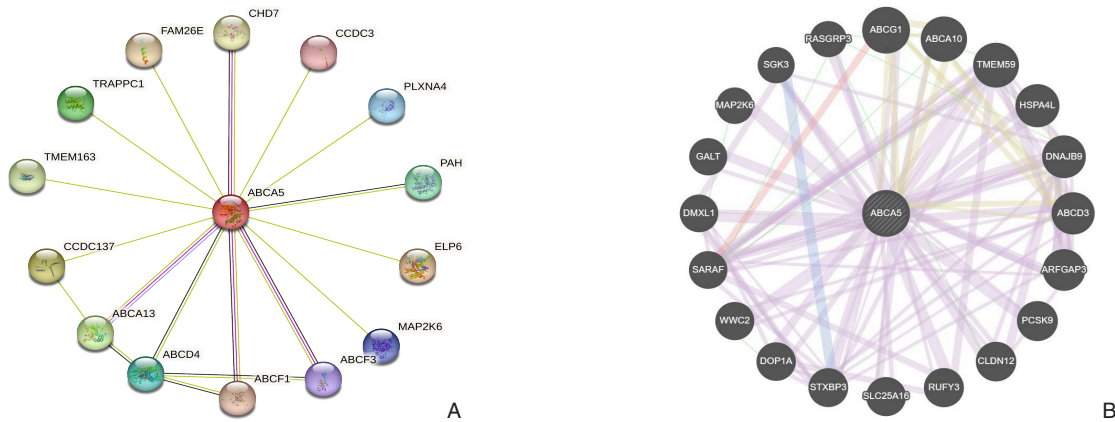


图4 ABCA5的PPI分析和基因-基因互作网络分析 A: PPI网络; B: 基因-基因互作网络

Figure 4 PPI and gene-gene interaction network analysis of ABCA5 A: PPI network; B: Gene-gene interaction network

2.6 ABCA5在胰腺癌中的基因集富集分析

通过使用GSEA4.2软件对在TCGA数据集和GSE62452数据集中的ABCA5进行基因富集分析,

了解其在胰腺癌患者中的基因通路富集情况, 结果显示在ABCA5低表达样本中均富集到细胞周期 ($P < 0.05$, $FDR < 25%$) (图5)。

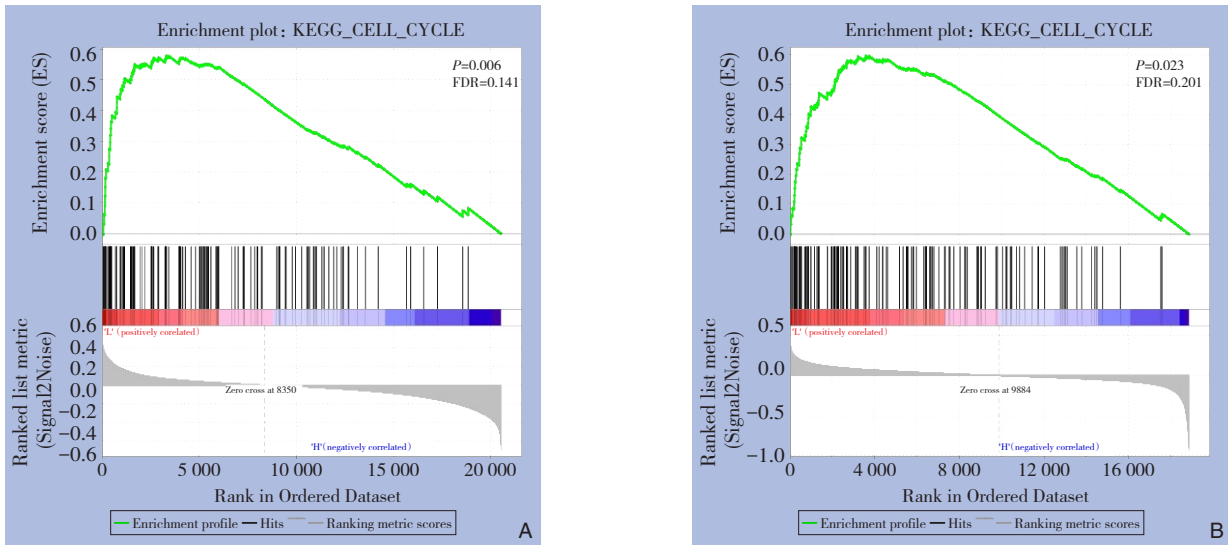


图 5 ABCA5的基因富集分析 A: TCGA; B: GSE62452
 Figure 5 Gene set enrichment analysis of ABCA5 A: TCGA; B: GSE62452

2.7 ABCA5与细胞周期

通过对 TCGA 数据库和 GSE62452 数据集中 ABCA5 与细胞周期关键基因进行分析，并绘制相关性热图。发现在两个数据集中 ABCA5 与细胞周期的关键蛋白如 CDK1、CDK2、CHEK1、CHEK2、CCNB1、CCNB2 等均呈负相关 (图 6A-B)。

2.8 ABCA5与铁死亡

ABC 转运蛋白家族和铁死亡之间的联系最近才被研究所报道^[15]，ABC 家族所具有的离子、脂质

等转运功能可能参与这种新的细胞死亡形式。ABCA5 与铁死亡是否相关仍不清楚，我们对胰腺癌 TCGA 数据库和 GSE62452 数据集中 ABCA5 铁死亡相关基因进行分析。ABCA5 与促进铁死亡相关的基因如 ULK2、FBW7、CIRBP、GLS2、ACADSB 等正相关，与抑制铁死亡相关的基因如 SLC16A1、FTH1、PRDX1、PML、RELA 等负相关。表明 ABCA5 与铁死亡高度相关，并可能通过促进铁死亡从而发挥抑癌基因的作用 (图 6C-D)。

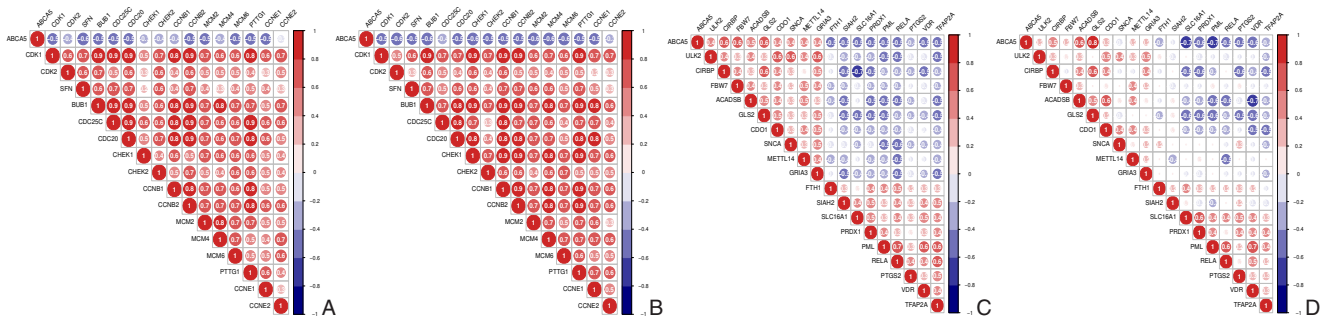


图 6 ABCA5与细胞周期和铁死亡相关性热图 A: TCGA与细胞周期; B: GSE62452与细胞周期; C: TCGA与铁死亡; D: GSE62452与铁死亡

Figure 6 Heat map of the relations of ABCA5 with cell cycle and ferroptosis A: TCGA and cell cycle; B: GSE62452 and cell cycle; C: TCGA and ferroptosis; D: GSE62452 and ferroptosis

2.9 ABCA5与药物治疗效果预测

ABCA5 是一种 ATP 结合盒转运蛋白，与药物转运和代谢有关^[16]。为了研究 ABCA5 表达与治疗药物敏感性的关系，利用 GDSC 对常见的胰腺癌治

疗药物进行了治疗效果预测。结果共有 5 种常用药物 (奥拉帕尼、吉西他滨、伊立替康、奥沙利铂、顺铂) 在 ABCA5 高表达组与低表达组之间的 IC₅₀ 估计值差异有统计学意义 (均 P<0.05) (图 7)。

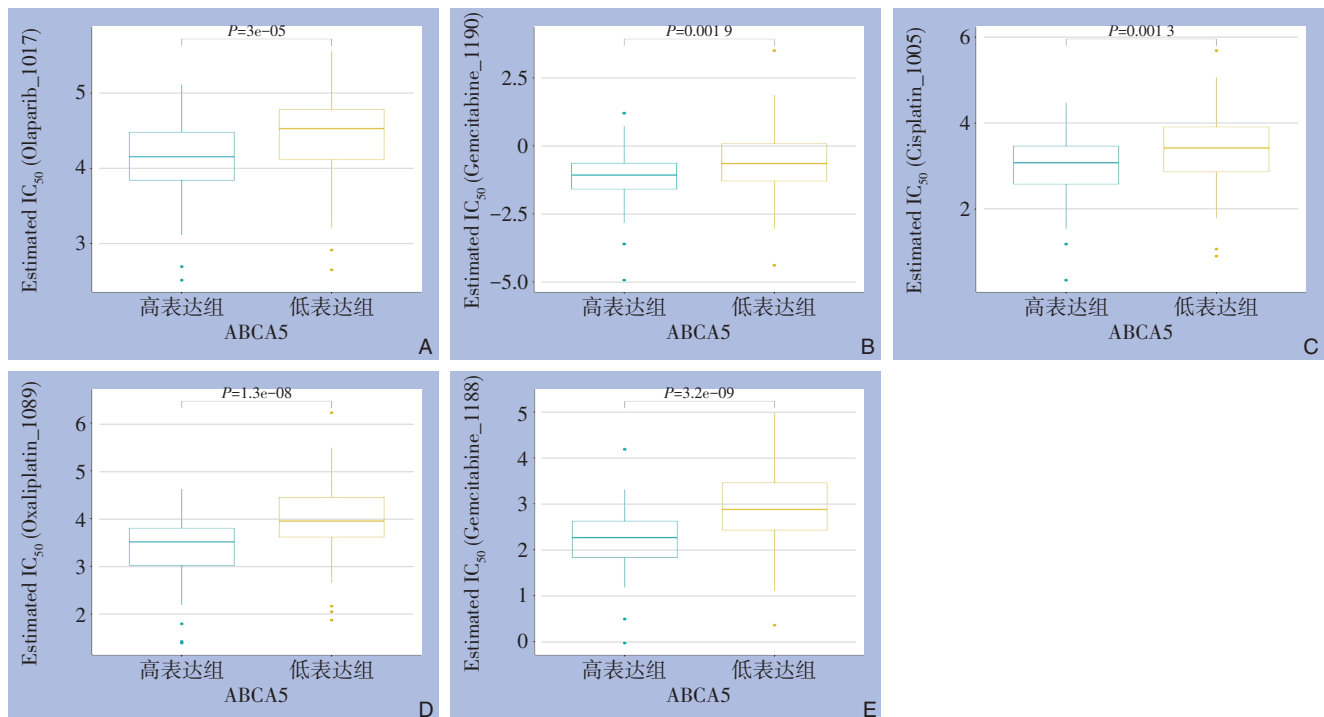


图7 ABCA5表达和药物的IC₅₀ A: 奥拉帕尼; B: 吉西他滨; C: 顺铂; D: 奥沙利铂; E: 伊立替康

Figure 7 ABCA5 expression level and IC₅₀ values of drugs A: Olaparib; B: Gemcitabine; C: Cisplatin; D: Oxaliplatin; E: Irinotecan

3 讨论

胰腺癌患者具有诊断晚,治疗成功率低,生存预后差等特点^[17-18]。其最常见、最有效的治疗方法仍是手术切除,但大多数患者被确诊时已经是晚期,手术切除较为困难^[19]。此外,尽管目前已经有多种治疗方法,如化疗、分子靶向治疗、免疫治疗、手术治疗和联合治疗等,但是,患者的中位生存期仍然只有20多个月^[20]。因此,寻找新的预后标志物和治疗靶点,对于改善胰腺癌患者的生存预后是极其重要的。

ABC家族根据ATP结合域的氨基酸序列分为ABC亚家族A~G^[21]。ABCA5基因位于17号染色体上,编码1642个氨基酸组成的ABCA5蛋白。它属于ABC转运蛋白亚家族A成员,在结构上与其他ABC转运蛋白相似,由一个核苷酸结合区和两组6个跨膜片段组成^[22]。既往有研究通过比较基因组分析证明ABCA5基因在进化上相对保守,表明ABCA5在生物体中的重要性和稳定性^[23]。

本研究对ABCA5在TCGA数据库和GEO数据库中进行分析,ABCA5在胰腺癌组织与正常组织相比显著低表达,且与不良的预后有关,Cox回归分析发现ABCA5的表达是影响胰腺癌患者预后的

独立因素。表明了ABCA5在胰腺癌中发挥作用,并且是潜在的预后标志物。胰腺癌患者标本免疫组化分析可知,ABCA5在癌组织中低表达,低表达组患者预后更差;Cox回归分析也发现ABCA5的表达是影响胰腺癌患者预后的独立因素,这与数据库中的结果一致。此外,ABCA5与胰腺癌患者的组织分化程度和肿瘤分期密切相关。基因富集分析发现ABCA5与胰腺癌细胞周期有关。通过STRING数据库和Gene MANIA数据库构建ABCA5的PPI,其中与其高度相关的CCDC137基因和ELP6基因,在既往研究与多种癌症有关,如肾癌、肝癌^[24]、结直肠癌^[25]、胃癌^[26]等。这些发现表明,ABCA5可能在调节胰腺癌进展中发挥着重要的作用。

胰腺癌的一个组织学标志性特征是显著的肿瘤微环境(TME)^[27]。TME周围的巨噬细胞通常被称为肿瘤相关巨噬细胞(TAMs),活化型巨噬细胞通常分为M1型和M2型,M1型巨噬细胞促进对侵袭病原体和肿瘤细胞的炎症反应,起到抑制肿瘤作用,而M2型巨噬细胞倾向于发挥免疫抑制表型,促进组织修复和肿瘤进展^[28]。ABCA5的表达水平与CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞等具有抗肿瘤作用的免疫细胞的浸润水平呈正相关。此外,ABCA5与M1型巨噬细胞的浸润水平呈正相

关，而与具有免疫抑制和促肿瘤特性的髓源性抑制细胞的浸润水平呈负相关。这些可能是 ABCA5 低表达患者预后不良的重要原因。值得注意的是，ABCA5 与 M2 型巨噬细胞的浸润水平之间存在负相关趋势，但未达统计学意义。这些结果表明 ABCA5 可能在胰腺癌的免疫细胞浸润反应中发挥调节作用，从而对胰腺癌的发展和预后产生影响。

铁死亡是一种铁依赖性的，区别于细胞凋亡、细胞坏死、细胞自噬的新型的细胞程序性死亡方式，主要是由铁离子过载、脂质过氧化和活性氧堆积引起的^[29]。既往有研究者^[30]提出 ABCB6 可能通过出转运含铁的卟啉促进铁的消耗来抑制肝癌患者中的铁死亡的过程。ABCC1 被认为是一个铁死亡的驱动基因，它能够在肺癌细胞中产生谷胱甘肽（GSH）的外排并促进铁死亡的敏感性。此外，研究人员在动物模型实验中发现，通过敲除 GPX4，采用高铁饮食，或静脉注射铁死亡抑制剂 lipoxstatin-1 等方法，可以抑制小鼠模型中胰腺癌细胞的铁死亡，并且能延缓肿瘤的进展速度^[31]。OoKo 等^[32]在 *K-ras* 突变的胰腺癌细胞中发现，青蒿琥酯可以诱导 ROS 产生并引发铁死亡，值得注意的是，此过程对正常胰腺导管上皮细胞无显著毒性作用。近期研究^[33]表明，铁死亡可与其他抗肿瘤药物协同作用，从而提高胰腺癌化疗的敏感性。因此，推测当 ABCA5 低表达时可能通过调节铁死亡，促进肿瘤的生长发育，从而导致患者的不良预后。

奥拉帕尼、吉西他滨、伊立替康、奥沙利铂和顺铂等药物已成为胰腺癌治疗中常用的药物^[34]，并被收录于最新版的胰腺癌诊疗指南中。本研究表明，ABCA5 的表达水平对 5 种常用药物的敏感性具有显著影响，高表达组患者可能对这 5 种药物更加敏感，从而在经过药物治疗后显示更好的预后疗效。这表明 ABCA5 在预测胰腺癌治疗获益方面具有很大的潜力。借助 ABCA5 的表达水平，可以更准确地预测药物治疗的结果。

综上所述，ABCA5 在胰腺癌中低表达且可以作为判断胰腺癌患者预后的独立因素，其在胰腺癌中的机制可能与细胞周期、免疫调节和铁死亡有关，ABCA5 的表达水平与多种治疗药物明显相关，为胰腺癌的治疗奠定基础。但本研究关于 ABCA5 在胰腺癌中的作用机制仅局限于生物信息学分析，其在胰腺癌中发挥作用的具体机制还需进一步研究加以阐明。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：费浩然负责采集及分析数据，文章撰写；孙丹、仲成成、杨海深负责生物信息学和统计分析数据；司鑫鑫负责对文章的知识性内容作批评性审阅及指导；胡伟负责项目研究经费、审校稿件和指导课题实施。

参考文献

- [1] Kong B, Michalski CW, Erkan M, et al. From tissue turnover to the cell of origin for pancreatic cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8(8):467-472. doi: 10.1038/nrgastro.2011.114.
- [2] Siegel R, Miller K, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023[J]. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73:17-48. doi: 10.3322/caac.21763.
- [3] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
- [4] 李铭旭, 仲成成, 张功铭, 等. DEP 结构域蛋白质 1B 在胰腺癌中的表达及其临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(3):261-268. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.003.
Li MX, Zhong CC, Zhang GM, et al. Expression of DEP domain protein 1B in pancreatic cancer and its clinical significance[J]. *China Journal of General Surgery*, 2021, 30(3): 261-268. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.003.
- [5] Raufi AG, Liguori NR, Carlsen L, et al. Therapeutic targeting of autophagy in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:751568. doi: 10.3389/fphar.2021.751568.
- [6] Vasilioi V, Vasilioi K, Nebert DW. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family[J]. *Hum Genomics*, 2009, 3(3):281-290. doi: 10.1186/1479-7364-3-3-281.
- [7] Higgins CF. ABC transporters: from microorganisms to man[J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1992, 8: 67-113. doi: 10.1146/annurev.cb.08.110192.000435.
- [8] Hlaváč V, Brynychová V, Václavíková R, et al. The expression profile of ATP-binding cassette transporter genes in breast carcinoma[J]. *Pharmacogenomics*, 2013, 14(5): 515-529. doi: 10.2217/pgs.13.26.
- [9] Bu P, Xiao Y, Hu S, et al. Identification of ABCA5 among ATP-binding cassette transporter family as a new biomarker for colorectal cancer[J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 3399311. doi: 10.1155/2022/3399311.
- [10] Zhang L, Luo Y, Cheng T, et al. Development and validation of a prognostic N6-methyladenosine-related immune gene signature for lung adenocarcinoma[J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2021, 14: 1549-1563. doi: 10.2147/PGPM.S332683.
- [11] Hedditch EL, Gao B, Russell AJ, et al. ABCA transporter gene expression and poor outcome in epithelial ovarian cancer[J]. *J Natl*

- Cancer Inst, 2014, 106(7):dju149. doi: [10.1093/jnci/dju149](https://doi.org/10.1093/jnci/dju149).
- [12] Karatas OF, Guzel E, Duz MB, et al. The role of ATP-binding cassette transporter genes in the progression of prostate cancer[J]. Prostate, 2016, 76(5):434–444. doi: [10.1002/pros.23137](https://doi.org/10.1002/pros.23137).
- [13] 仲成成, 李铭旭, 张功铭, 等. 膜联蛋白A5在胰腺癌中的预后意义及机制的生物信息学分析[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(9): 1194–1202. doi:[10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.008](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.008).
- Zhong CC, Li MX, Zhang GM, et al. Bioinformatics analysis of prognostic significance and mechanism of annexin A5 in pancreatic cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(9): 1194–1202. doi:[10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.008](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.008).
- [14] Fan J, To KKW, Chen ZS, et al. ABC transporters affects tumor immune microenvironment to regulate cancer immunotherapy and multidrug resistance[J]. Drug Resist Updat, 2023, 66: 100905. doi: [10.1016/j.drug.2022.100905](https://doi.org/10.1016/j.drug.2022.100905).
- [15] Huang W, Chen K, Lu Y, et al. ABC5 facilitates the acquired resistance of sorafenib through the inhibition of SLC7A11-induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma[J]. Neoplasia, 2021, 23(12): 1227–1239. doi: [10.1016/j.neo.2021.11.002](https://doi.org/10.1016/j.neo.2021.11.002).
- [16] Nigam SK. What do drug transporters really do?[J]. Nat Rev Drug Discov, 2015, 14(1):29–44. doi: [10.1038/nrd4461](https://doi.org/10.1038/nrd4461).
- [17] Goral V. Pancreatic cancer: pathogenesis and diagnosis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14): 5619–5624. doi: [10.7314/apjcp.2015.16.14.5619](https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.14.5619).
- [18] 魏伟, 欧政林, 窦晓淋, 等. 基于机器学习的胰腺癌特征基因筛选初步研究[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(9):1203–1209. doi: [10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009).
- Wei W, Ou ZL, Dou XL, et al. Machine learning-based feature gene screening of pancreatic cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(9): 1203–1209. doi: [10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009).
- [19] Hu W, Li M, Wang Y, et al. Comprehensive bioinformatics analysis reveals the significance of forkhead box family members in pancreatic adenocarcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(1): 92–107. doi: [10.18632/aging.204455](https://doi.org/10.18632/aging.204455).
- [20] Jin Y, Gong S, Shang G, et al. Profiling of a novel circadian clock-related prognostic signature and its role in immune function and response to molecular targeted therapy in pancreatic cancer[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(1): 119–133. doi: [10.18632/aging.204462](https://doi.org/10.18632/aging.204462).
- [21] Liu X. ABC family transporters[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1141: 13–100. doi: [10.1007/978-981-13-7647-4_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-7647-4_2).
- [22] Du Z, Kuang S, Li Y, et al. Family-based whole genome sequencing identified novel variants in ABCA5 gene in a patient with idiopathic ventricular tachycardia[J]. Pediatr Cardiol, 2020, 41(8):1783–1794. doi: [10.1007/s00246-020-02446-4](https://doi.org/10.1007/s00246-020-02446-4).
- [23] DeStefano GM, Kurban M, Anyane-Yeboah K, et al. Mutations in the cholesterol transporter gene ABCA5 are associated with excessive hair overgrowth[J]. PLoS Genet, 2014, 10(5): e1004333. doi: [10.1371/journal.pgen.1004333](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004333).
- [24] Bai L, Yang ZX, Liu JS, et al. Prognostic significance of CCDC137 expression and its association with immune infiltration in hepatocellular carcinoma[J]. Dis Markers, 2022, 2022: 5638675. doi: [10.1155/2022/5638675](https://doi.org/10.1155/2022/5638675).
- [25] Dai W, Wu J, Peng X, et al. CDK12 orchestrates super-enhancer-associated CCDC137 transcription to direct hepatic metastasis in colorectal cancer[J]. Clin Transl Med, 2022, 12(10): e1087. doi: [10.1002/ctm2.1087](https://doi.org/10.1002/ctm2.1087).
- [26] Di J, Chai Y, Yang X, et al. ELP6 and PLIN5 mutations were probably prognostic biomarkers for patients with gastric cancer[J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9: 803617. doi: [10.3389/fmed.2022.803617](https://doi.org/10.3389/fmed.2022.803617).
- [27] Hessmann E, Buchholz SM, Demir IE, et al. Microenvironmental determinants of pancreatic cancer[J]. Physiol Rev, 2020, 100(4): 1707–1751. doi: [10.1152/physrev.00042.2019](https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2019).
- [28] Lin Y, Xu J, Lan H. Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 76. doi: [10.1186/s13045-019-0760-3](https://doi.org/10.1186/s13045-019-0760-3).
- [29] Zheng J, Conrad M. The metabolic underpinnings of ferroptosis[J]. Cell Metab, 2020, 32(6):920–937. doi: [10.1016/j.cmet.2020.10.011](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.10.011).
- [30] Zhang J, Zhang X, Li J, et al. Systematic analysis of the ABC transporter family in hepatocellular carcinoma reveals the importance of ABCB6 in regulating ferroptosis[J]. Life Sci, 2020, 257:118131. doi: [10.1016/j.lfs.2020.118131](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118131).
- [31] Dai E, Han L, Liu J, et al. Ferroptotic damage promotes pancreatic tumorigenesis through a TMEM173/STING-dependent DNA sensor pathway[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):6339. doi: [10.1038/s41467-020-20154-8](https://doi.org/10.1038/s41467-020-20154-8).
- [32] Ooko E, Saeed ME, Kadioglu O, et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells[J]. Phytomedicine, 2015, 22(11): 1045–1054. doi: [10.1016/j.phymed.2015.08.002](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.08.002).
- [33] Song Z, Xiang X, Li J, et al. Ruscogenin induces ferroptosis in pancreatic cancer cells[J]. Oncol Rep, 2020, 43(2): 516–524. doi: [10.3892/or.2019.7425](https://doi.org/10.3892/or.2019.7425).
- [34] Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, et al. Pancreatic cancer[J]. Lancet, 2020, 395(10242): 2008–2020. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30974-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30974-0).

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 费浩然, 孙丹, 仲成成, 等. ATP结合盒转运蛋白A5在胰腺癌中的预后意义的生物信息学分析与验证[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(9): 1313–1323. doi: [10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004)

Cite this article as: Fei HR, Sun D, Zhong CC, et al. Bioinformatics analysis and validation of the prognostic significance of ATP-binding cassette transporter A5 in pancreatic cancer[J]. Chin J Gen Surg, 2023, 32(9):1313–1323. doi:[10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004](https://doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.004)