

# The Expression and Clinical Significance of ENC1 in Gastrointestinal Tumors Were Analyzed Based on Bioinformatics

Yingji Ma, Wensheng Qiu\*

Second Department of Oncology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong  
Email: [wsqiuqd@163.com](mailto:wsqiuqd@163.com)

Received: May 27<sup>th</sup>, 2020; accepted: Jun. 11<sup>th</sup>, 2020; published: Jun. 18<sup>th</sup>, 2020

## Abstract

**Objective:** Analysis of the expression and clinical significance of ENC1 in gastrointestinal tumors. **Methods:** Analyze the relevant data of ENC1 gene in gastric cancer and colorectal cancer in Onco-mine and TCGA databases, and perform correlation analysis of ENC1 expression level and clinical biological characteristics of gastrointestinal tumors; use survival data in the database for survival analysis; use online analysis software to evaluate the correlation between ENC1 expression and immune infiltration; use the String database to construct a protein network that interacts with the ENC1 gene. **Results:** The expression of ENC1 was increased in gastric cancer, colon cancer and other cancers, and down-regulated in tumors of the central nervous system. The high expression of ENC1 was positively correlated with the poor prognosis of patients with gastric cancer (OS HR = 1.49, 95%CI = 1.25 - 1.76, P = 4.3e-06; PFS HR = 1.39, 95%CI = 1.14 - 1.7, P = 0.0012), and had nothing to do with the prognosis of patients with colon cancer (OS HR = 0.81, P = 0.81; DFS HR = 0.88, P = 0.59). The expression of ENC1 was significantly correlated with the infiltration of various immune cells. **Conclusion:** ENC1 gene is highly expressed in gastrointestinal tumors, and high expression of ENC1 may be a risk factor for poor prognosis of gastric cancer.

## Keywords

Gastric Cancer, Colon Cancer, Ectodermal-Neural Cortex 1, Bioinformatics Analysis

# 基于生物信息学分析ENC1在胃肠道肿瘤中的表达及临床意义

马英骥, 邱文生\*

青岛大学附属医院肿瘤二科, 山东 青岛  
Email: [wsqiuqd@163.com](mailto:wsqiuqd@163.com)

收稿日期: 2020年5月27日; 录用日期: 2020年6月11日; 发布日期: 2020年6月18日

\*通讯作者。

## 摘要

**目的:** 分析外胚层神经皮质基因1 (Ectodermal-neural cortex 1, ENC1)在胃肠道肿瘤中的表达情况及临床意义。**方法:** 挖掘Oncomine及TCGA数据库中关于ENC1基因在胃癌及结直肠癌中的相关数据, 进行ENC1表达水平与胃肠道肿瘤临床生物学特性的相关性分析; 利用数据库中生存数据进行生存分析; 运用在线分析软件评价ENC1的表达与免疫浸润的相关性; 运用String数据库构建与ENC1基因相互作用的蛋白网络。**结果:** ENC1在胃癌、结肠癌等多种癌症中表达上升, 在中枢神经系统肿瘤中表达下调; 高表达的ENC1与胃癌患者的不良预后呈正相关(OS HR = 1.49, 95%CI = 1.25~1.76, P = 4.3e-06; PFS HR = 1.39, 95%CI = 1.14~1.7, P = 0.0012), 与结肠癌患者的预后无关(OS HR = 0.81, P = 0.81; DFS HR = 0.88, P = 0.59); 进一步分析发现, ENC1的表达与多种免疫细胞浸润显著相关。**结论:** ENC1基因在胃肠道肿瘤中高表达, 高表达的ENC1可能是胃癌预后不良的危险因素。

## 关键词

胃癌, 结肠癌, ENC1, 生信分析

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胃癌和结直肠癌是消化系统两大重要疾病, 据 2018 年全球癌症统计数据报告[1], 胃癌每年新发病例超过 1,000,000 例, 发病率位居常见肿瘤第 5 位, 死亡率占全球恶性肿瘤相关死亡的第 3 位, 而结肠癌的发病率和死亡率更高。早期胃肠道肿瘤患者的发病症状隐匿, 大部分患者首诊时已到晚期, 因此, 揭示胃肠肿瘤发生的关键分子机制, 对于早期诊断、判断预后和精准治疗均有重要意义。外胚层神经皮质基因 1 又称为脑细胞核限制性蛋白, 定位于染色体 5q13, 为一种肌动蛋白结合蛋白, 在神经元和脂肪细胞分化中起着关键作用[2]。既往的研究显示[3], ENC1 受  $\beta$ -catenin/Tcf 通路的调控, 其表达的改变可能通过抑制结肠细胞的分化而促进结直肠癌的发生。本研究通过对肿瘤基因芯片数据库(Oncomine)与癌症基因组图谱(TCGA)中的数据进行分析, 研究 ENC 1 在胃肠肿瘤的表达、临床意义及对预后影响, 为胃肠道肿瘤的精准治疗提供了新的靶点。

## 2. 研究方法

### 2.1. ENC1 在多种癌症中的表达分析

利用 Oncomine 数据库(<http://www.oncomine.org/>)分析 ENC1 在不同癌症类型中的表达水平。检索条件为: Gene: ENC1, Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis; 利用 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)进一步验证在 TCGA 数据库中不同肿瘤类型中 ENC1 的表达情况, 以箱式图展现胃癌和结肠癌与其正常组织相比 ENC1 的表达差异。

### 2.2. 评价胃癌和结肠癌中 ENC 1 的表达与患者生存关系

通过 Kaplan-Meier plotter 在线数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)分析 ENC1 的表达与胃癌之间的相关

性; 使用 GEPIA 平台(<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)分析 TCGA 数据库中结肠癌患者的 ENC1 表达水平与预后关系。

### 2.3. 评价 ENC1 的表达与免疫浸润的相关性

肿瘤免疫细胞浸润是指免疫细胞从血液中移向肿瘤组织并开始发挥作用, 这种过程不仅对患者的生存具有预测价值, 还可影响肿瘤对治疗的反应, 肿瘤中浸润的免疫细胞有可能作为药物靶标来提高患者的生存率。我们通过 TIMER 数据库分析 ENC1 的表达与免疫浸润的相关性, 其中包括与肿瘤纯度、B 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞的关系。

### 2.4. 构建与 ENC1 基因相互作用的蛋白网络

通过使用 String 数据库分析与 ENC1 相互作用的蛋白。在数据库检索页面“Protein by name”选项中输入“ENC1”, 在“organism”选项中选择“Homo sapiens”, 在得出结果设置中对“minimum required interaction score”的选项中选择“Medium confidence (0.400)”选项得出分析结果。

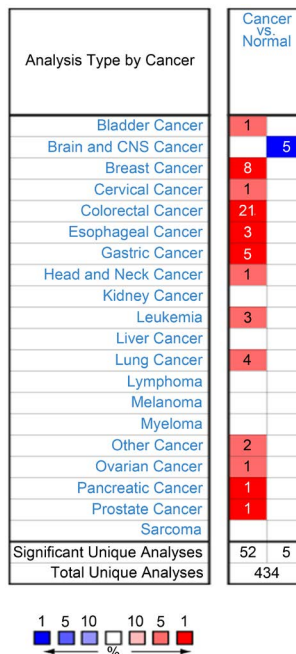
### 2.5. 统计学方法

胃肠道肿瘤组织和正常组织 ENC1 基因表达差异采取 t 检验。ENC1 表达量的高低与胃癌及结肠癌的预后关系采用 Log rank 检验, 检验参数 P = 0.05, 所有检验均采用 SPSS 22.0 进行统计分析。

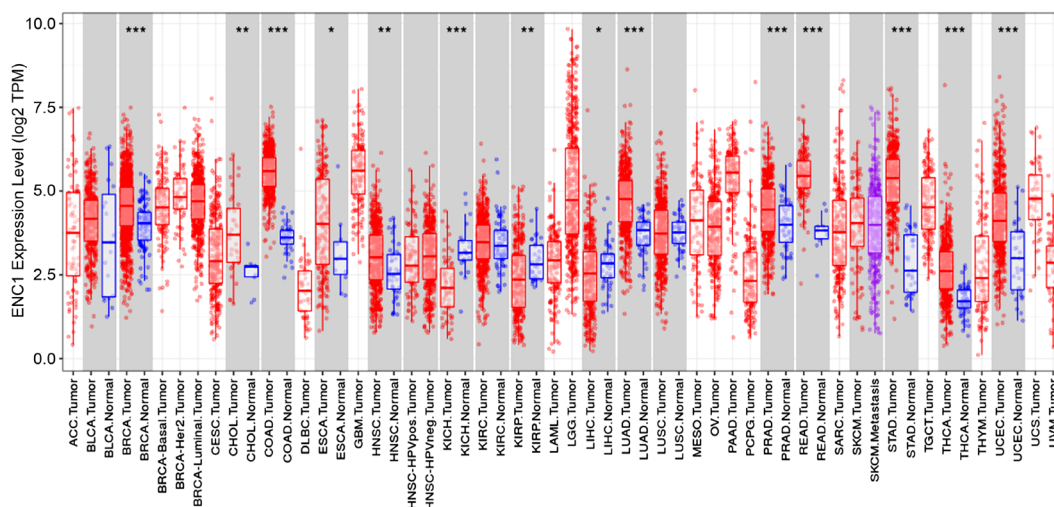
## 3. 结果

### 3.1. ENC1 在不同肿瘤中的表达情况

与正常组织相比, 在乳腺癌、结直肠癌、胃癌、食管癌、胰腺癌、肺癌和卵巢癌中 ENC1 表达较高, 在颅脑及中枢神经系统肿瘤中表达下调(图 1)。此外, 为了进一步验证 ENC1 在人类癌症中的表达, 我们对 TCGA 数据库中 ENC1 在多种恶性肿瘤的表达情况进行分析, 发现了与 Oncomine 数据库相似的结果(图 2)。



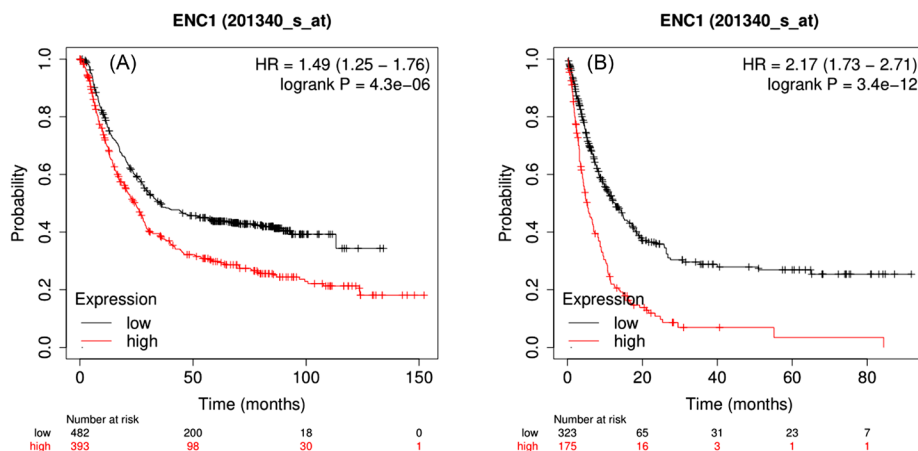
**Figure 1.** The expression of ENC1 in different tumor tissues compared with normal tissues in the Oncomine database  
**图 1.** 与 Oncomine 数据库中正常组织相比, ENC1 在不同肿瘤组织中表达情况



**Figure 2.** The expression level of ENC1 in different tumor types in TCGA database  
**图 2.** TCGA 数据库中不同肿瘤类型中 ENC1 的表达水平

### 3.2. ENC1 在胃肠肿瘤中的潜在预后价值

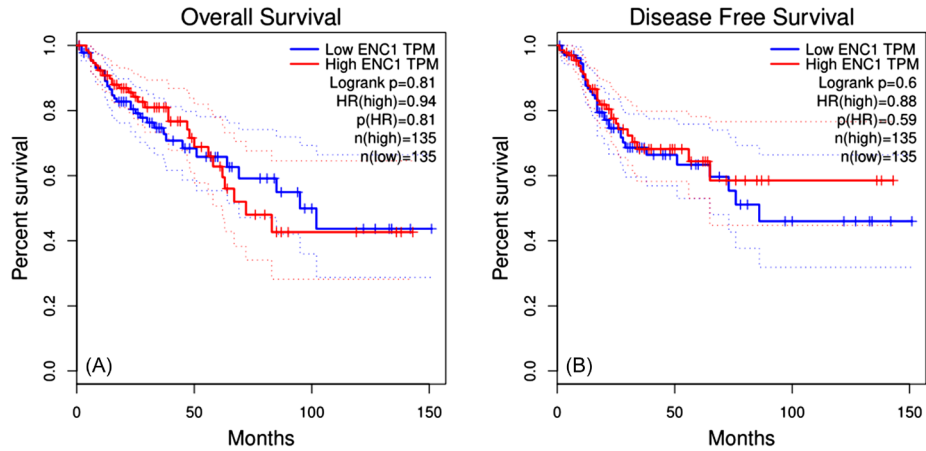
通过 Kaplan-Meier plotter 在线数据库分析 ENC1 表达水平与胃癌的预后关系, 结果显示: 高表达的 ENC1 与胃癌的不良预后有关(OS HR = 1.49, 95%CI = 1.25~1.76, P = 4.3e-06; PFS HR = 1.39, 95%CI = 1.14~1.7, P = 0.0012) (图 3), 而 ENC1 的表达水平对结肠癌的影响较小(OS HR = 0.81, P = 0.81; DFS HR = 0.88, P = 0.59) (图 4)。因此, 推测高表达的 ENC1 可能是胃癌预后不良的危险因素。



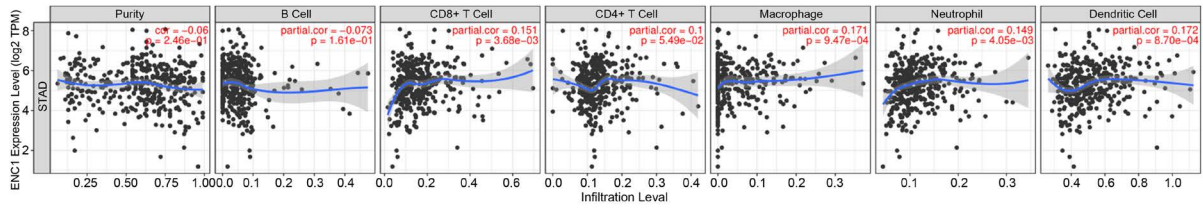
**Figure 3.** The correlation between the expression of ENC1 and the prognosis of gastric cancer: (A) OS; (B) PFS  
**图 3.** ENC1 表达与胃癌预后的相关性研究: (A) 总生存期; (B) 无进展生存期

### 3.3. 结肠癌和胃癌中 ENC1 表达与免疫浸润水平的相关性

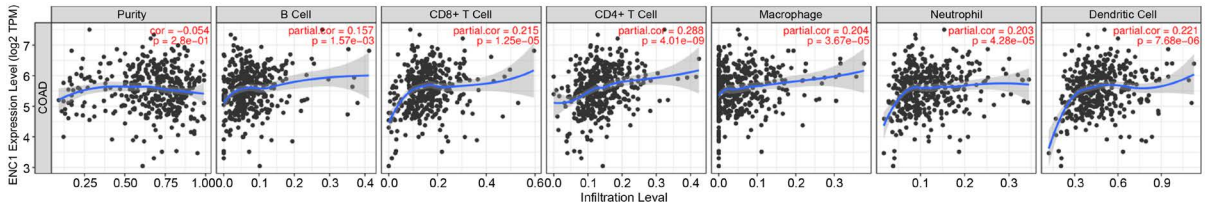
淋巴细胞浸润是癌症患者生存和淋巴结转移的独立预测因素[4], 通过 TIMER 数据库评估 ENC1 表达与免疫浸润水平的相关性, 发现 ENC1 表达水平与结肠癌和胃癌中各免疫细胞和不同 T 细胞的大部分免疫标记集显著相关。ENC1 表达与肿瘤纯度呈显著负相关, 与胃癌中 CD8<sup>+</sup>T 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞浸润水平呈显著正相关, 与 B 细胞浸润水平无显著相关(图 5); 与结肠癌中 B 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞浸润水平呈显著正相关(图 6)。



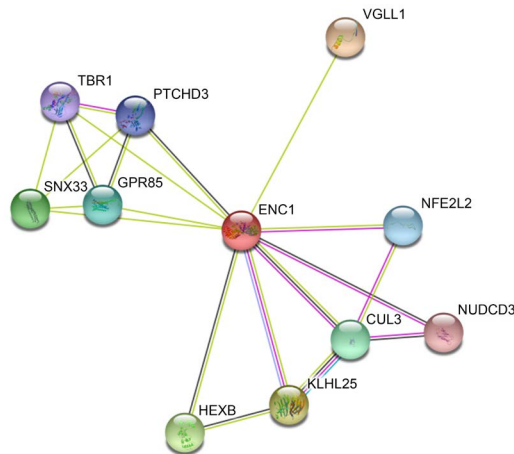
**Figure 4.** The correlation between the expression of ENC1 and the prognosis of colon cancer: (A) OS; (B) PFS  
**图 4.** ENC1 表达与结肠癌预后的相关性研究: (A) 总生存期; (B) 无进展生存期



**Figure 5.** The correlation between the expression of ENC1 and the level of immune infiltration in gastric cancer  
**图 5.** ENC1 的表达与胃癌免疫浸润水平的相关性研究



**Figure 6.** The correlation between the expression of ENC1 and the level of immune infiltration in colon cancer  
**图 6.** ENC1 的表达与结肠癌免疫浸润水平的相关性研究



**Figure 7.** ENC1 protein-protein interaction network  
**图 7.** ENC1 的蛋白 - 蛋白相互作用网络



### 3.4. ENC1 蛋白相互作用网络

对 String 数据库进行检索, 研究 ENC1 蛋白相互作用网络, 结果显示: 共有 11 个节点, 发现 10 个蛋白与 ENC1 有较为确定的关联, 分别为: VGLL1、KLHL25、HEXB、SNX33、CUL3、CPR85、NFE2L2、PTCHD3、TBR1、NUDCD3(PPI 富集值  $P = 0.00605$ ) (图 7)。提示 ENC1 可能参与调节神经突起的形成和神经嵴细胞的分化。

## 4. 讨论

ENC1 属于 BTB-Kelch 蛋白家族成员之一, 主要参与人体中枢神经细胞的分化过程和细胞恶性转化, 在包括胶质瘤和星型细胞瘤在内的多种颅脑肿瘤组织中表达异常[5]。ENC1 通过抑制转录因子 Nrf2 蛋白的翻译, 对 Nrf2 蛋白起负调控作用, 而 Nrf2 能够介导细胞抗氧化反应, 具有保护细胞免受有毒和致癌的伤害以及维持细胞氧化还原稳态的功能[6]。既往的研究发现[5], ENC1 的表达失调, 如突变、过表达和定位错误, 被认为通过促进细胞增殖和抑制细胞凋亡促进了颅脑肿瘤的发生。Fan 等[7]的研究也发现, 下调 ENC1 的表达可以显著抑制卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 而低表达的 ENC1 与卵巢癌患者良好的预后相关。因此, 推测 ENC1 在肿瘤发生发展中是一个至关重要的致癌基因。近年来生物信息学技术飞速发展, 采用数据库进行大样本分析, 可以避免单一研究较小样本量产生的误差, 能为临床诊疗提供重要理论依据。本研究通过挖掘 Oncomine 及 TCGA 数据库中多个数据集组成的大样本, 分析 ENC1 在胃癌及结肠直肠癌中的表达情况, 研究显示 ENC1 基因在胃癌及结肠癌等多种肿瘤组织中的表达明显高于正常组织, 在颅脑肿瘤组织中表达下调。通过 Kaplan-Meier 法分析了 ENC1 基因与胃癌及结肠癌的预后关系, 发现 ENC1 基因表达水平对胃癌患者的总生存期及无进展生存期存在明显的影响, ENC1 基因高表达组无进展生存期、总生存期均明显缩短, ENC1 基因低表达患者预后可能会更好; 而 ENC1 基因表达水平与结肠癌患者的预后无显著相关性。这些发现表明, ENC1 的表达水平可能是胃肠道肿瘤重要预后指标; 因此, 抑制 ENC1 的表达将是预防或治疗恶性肿瘤的有效途径之一。

基于生信分析技术深度挖掘 ENC1 在胃肠道肿瘤中的表达情况, 发现 ENC1 在胃肠道肿瘤中高表达; 此外, 高表达的 ENC1 与胃癌的不良预后相关。提示 ENC1 基因可能在胃肠肿瘤的发生和演进过程中发挥着重要作用, 有可能为临床治疗提供新的分子靶点。

## 5. 展望

随着基因组学、蛋白组学及分子生物学的发展, 肿瘤治疗已进入精准医学时代, 包括基因治疗、免疫细胞治疗、细胞因子治疗、生长因子治疗、分子靶向治疗日趋完善。这些治疗手段不断延长患者的生存时间, 改善临床预后。借助癌症基因组测序和信息分析技术, 能够解析癌症发生、发展、侵袭、转移和复发的机制, 为肿瘤精准治疗提供有效的靶点。

## 基金项目

北京市希斯科临床肿瘤学研究基金会资助项目(Y-HR2018-185)。

## 参考文献

- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., *et al.* (2018) Global Cancer Statistics 2018: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Zhao, L., Gregoire, F. and Sul, H.S. (2000) Transient Induction of ENC-1, a Kelch-Related Actin-Binding Protein, Is Required for Adipocyte Differentiation. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 16845-16850. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.22.16845>

- [3] Fujita, M., Furukawa, Y., Tsunoda, T., *et al.* (2001) Up-Regulation of the Ectodermal-Neural Cortex 1 (ENC1) Gene, a Downstream Target of the Beta-Catenin/T-Cell Factor Complex, in Colorectal Carcinomas. *Cancer Research*, **61**, 7722-7726.
- [4] Azimi, F., Scolyer, R.A., Rumcheva, P., *et al.* (2012) Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade Is an Independent Predictor of Sentinel Lymph Node Status and Survival in Patients with Cutaneous Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 2678-2683. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.8539>
- [5] Kim, T., Ota, S., Jiang, S., *et al.* (2000) Genomic Organization, Chromosomal Localization and Regulation of Expression of the Neuronal Nuclear Matrix Protein NRP/B in Human Brain Tumors. *Gene*, **255**, 105-116. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00297-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00297-3)
- [6] Wang, X.J. and Zhang, D.D. (2009) Ectodermal-Neural Cortex 1 Down-Regulates Nrf2 at the Translational Level. *PLoS ONE*, **4**, e5492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005492>
- [7] Fan, S., Wang, Y., Sheng, N., *et al.* (2019) Low Expression of ENC1 Predicts a Favorable Prognosis in Patients with Ovarian Cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, **120**, 861-871. <https://doi.org/10.1002/jcb.27447>