DOI:10.16016/j.1000-5404.202011021

基于整合生物信息学的肝内胆管癌关键通路和潜在生物标志物的鉴定及其诊断价值

刘 波[1],付婷婷[2],郭晓冬[1],何 平[1],王洪林[3] 611730 成都,成都医学院第三附属医院(成都市郫都区人民医院):肝胆胰外科[1],感染管理部[2];400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院肝胆外科[3]

[**摘要**] **目的** 整合生物信息学分析法鉴定出肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)发生发展的关键通路和具有诊断价值的潜在生物学标志物。**方法** 从美国国立生物技术信息中心基因表达数据库(gene expression omnibus,GEO)数据库下载 3 个高质量的肝内胆管癌基因芯片数据集(GSE26566、GSE32879 和 GSE45001)和 TCGA 数据库的胆管癌的高通量测序数据集。在 R 软件内使用 Limma 程序包筛选出差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),采用 Cluster Profiler 程序包进行基因本体论和京都基因与基因组百科全书富集分析,采用基因相互作用数据库检索工具(search tool for the retrieval of interacting genes,STRING)对 DEGs 进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction,PPI)网络分析,并通过 Cytoscape 软件作图。通过 GEPIA 工具进一步验证枢纽基因的转录表达情况。绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析评估枢纽基因对胆管癌诊断价值。利用 Diseasemeth 2.0 工具评价枢纽基因的甲基化水平。**结果** 本研究共筛选并验证了 382 个 DEGs,包括 90 个上调基因和 292 个下调基因。上调基因主要显著富集在 PI3K-Akt 信号通路,而碳代谢途径是下调基因的明显富集通路。构建了 289 个节点的 PPI 网络。通过 PPI 网络分析鉴定出了 6 个枢纽基因:PRSS23、LGALS1、VCAN、COL5A1、ITGB1 和 EHHADH。ROC 结果显示 6 个枢纽基因都可以区分肿瘤组织和非肿瘤组织。**结论** 通过整合生物信息学分析鉴定了 6 个枢纽基因,这些差异基因可能是 ICC 早期诊断的潜在分子生物标志物。

[**关键词**] 胆管癌;生物信息学;生物标志物;GEO;TCGA
[**中图法分类号**] R318.04; R730.43; R735.8 [**文献标志码**] A

Identification of key pathways and potential biomarkers for intrahepatic cholangiocarcinoma based on integrated bioinformatics and evaluation of their diagnostic value

LIU Bo[1], FU Tingting[2], GUO Xiaodong[1], HE Ping[1], WANG Honglin[3] [1]Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, [2]Department of Nosocomial Infection Control, the Third Affiliated Hospital of Chengdu Medical College (Chengdu Pidu District People's Hospital), Chengdu, Sichuan Province, 611730; [3]Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To identify the key pathways and potential biomarkers with diagnotic value for the development of intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) by integrating bioinformatics analysis. **Methods** We downloaded 3 high-quality datasets of ICC gene microarray (GSE26566, GSE32879 and GSE45001) from Gene Expression Omnibus (GEO) and the high-throughput sequencing data of cholangiocarcinoma (CCA) from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Differentially expressed genes (DEGs) were screened using the Limma package in R software; Gene Ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and

[**基金项目**] 四川省卫健委科研课题普及应用项目(18PJ568)
[**通信作者**] 刘 波,E-mail:mlguy8@163.com

1000-5404/Copyright © 2021,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Genomes (KEGG) analysis were performed with Cluster Profiler package. Protein-protein interaction (PPI) network analysis of DEGs was subsequently carried out using the Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes (STRING) database and subsequently visualized with Cytoscape. In addition, the transcriptional expression of hub genes was further verified by Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA), and their diagnostic value was assessed by receiver operating characteristic (ROC) curve. Finally, the methylation level of the hub genes was determined using Diseasemeth 2.0. **Results** In total, 382 DEGs were screened and validated, including 90 up-regulated and 292 down-regulated genes. The up-regulated genes were noticeably enriched in PI3K-Akt signaling pathway, while the down-regulated in the carbon metabolism pathway. A PPI network was constructed with 289 nodes, and 6 hub genes were identified by PPI analysis: PRSS23, LGALS1, VCAN, COL5A1, ITGB1 and EHHADH. ROC curve results showed that all the hub genes distinguished tumor tissues from non-tumorous tissues. **Conclusion** Six hub genes are identified by integrative bioinformatics analysis, which may be potential molecular biomarkers for early diagnosis of ICC.

[**Key words**] cholangiocarcinoma; bioinformatics; biomarker; Gene Expression Omnibus; Cancer Genome Atlas database

Supported by the Popularization and Application Project of Scientific Research Program of Sichuan Provincial Health Commission (18PJ568). Corresponding author: LIU Bo, E-mail: mlguy8@163.com

胆管癌(cholangiocarcinoma, CCA)其发病率和病死率在世界范围内呈上升趋势[1],新近的研究将起源于肝内或肝外胆管上皮的 CCA 分为肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)和肝外胆管癌[2-3]。由于早期症状不典型,不少患者是在疾病已经处于进展期或发生转移时确诊的[4]。早期诊断对于改善患者的预后尤为重要。然而,大多数现有标志物诊断价值有限且特异性低[5]。探索更多对 ICC 具有临床诊断价值的潜在生物标志物是制定有效的诊断策略和治疗靶点的关键。微阵列和高通量测序技术已被广泛使用探索 ICC 的新的生物标志物和治疗靶点。由于样本量、微阵列芯片平台和分析技术不同,分析结果存在一定的差异。整合生物信息学方法[6]最近在癌症遗传学研究领域开始广泛采用。本研究从美国国立生物技术信息中心基因表达数据库(gene expression omnibus,GEO)获得 3 个高质量 ICC 数据集(GSE26566, GSE32879 和 GSE45001),通过 R 软件分析 ICC 组织与癌旁组织之间的差异基因。随后,采用 GO 和 KEGG 富集分析差异基因的潜在生物学功能和关键信号通路。建立 PPI 网络并在 Cytoscape 软件中鉴定出枢纽基因。通过受试者工作曲线分析枢纽基因的诊断价值,并采用 Diseasemeth 2.0 工具评估枢纽基因的甲基化水平。

1 材料与方法

1.1 分析数据集资料

从 GEO 数据库下载 3 个肝内胆管癌数据集(GSE26566、GSE32879 和 GSE45001)的基因表达谱数据,共包括 130 个肿瘤组织样本和 76 个癌旁组织样本。所有数据集均符合以下标准:①所有样本均为人体 ICC 组织和癌旁组织;②使用的平台可检测至少 8 000 个基因;③每个数据集包含至少 10 个肿瘤和癌旁组织。此外,从 TCGA 数据库中获得包含 33 个肿瘤样本和 8 个癌旁样本的 RNA 高通量测序数据。数据集的特征如表 1 所示。

表 1 数据集特征

数据集	肿瘤样本(例)	正常样本(例)	检测平台
GSE26566	104	59	GPL6104
GSE45001	10	10	GPL14550
GSE32879	16	7	GPL6244
TCGA-CHOL	33	8	Illumina HiSeq

1.2 鉴别差异基因

在 R 软件中采用 Limma 程序包[7]标准化矩阵数据,并鉴定每个数据集的肿瘤组织和癌旁组织之间的差异基因(differentially expressed genes,DEGs)。使用 BH 法调整 P 值[8]。调整后 $P<0.05$ 和|log2 foldchange|>1 表示基因差异具有统计学意义。

1.3 差异基因功能富集分析及蛋白互作网络构建

使用 Cluster profiler[9]进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。STRING(search tool for the retrieval of interacting genes)是一个在线生物数据库,提供基因分析并构建蛋白质水平基因相互作用的网络[10]。在本研究中,我们利用 STRING 构建了 DEGs 的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,置信度评分≥0.9。然后,通过 Cytoscape 软件可视化 PPI 网络[11]。应用分子复合物检测插件(MCODE)筛选 PPI 网络中

的重要模块。利用 Cytohubba 插件筛选网络中的关键基因。此外,通过 Cluster profiler 程序包对前三个模块中的 DEGs 进行 KEGG 通路富集分析。

1.4　枢纽基因表达验证和诊断 ROC 曲线分析

GEPIA 在线数据库包含来自 TCGA 和基因型-组织表达数据库(GTEx)的 9 736 个肿瘤和 8 587 个正常样本的 RNA 测序表达数据[12]。我们利用 GEPIA 工具进一步验证肿瘤组织和正常组织之间枢纽基因的 mRNA 表达水平。进一步对枢纽基因进行受试者工作特征曲线分析 ROC 曲线分析,通过 pROC 程序包[13]在 R 软件内计算 ROC 曲线下面积(AUC),评估枢纽基因的诊断价值。

1.5　枢纽基因甲基化相关性分析

Diseasemeth 2.0 版(http://bio-bigdata.hrbmu.edu.cn/diseasemeth/)包含 88 种疾病的 32 701 个样本的甲基化数据[14]。DNA 启动子的异常甲基化可引起基因的异常表达。本研究采用 Diseasemeth 工具进一步探索枢纽基因的甲基化状态。

2　结果

2.1　差异基因的鉴定

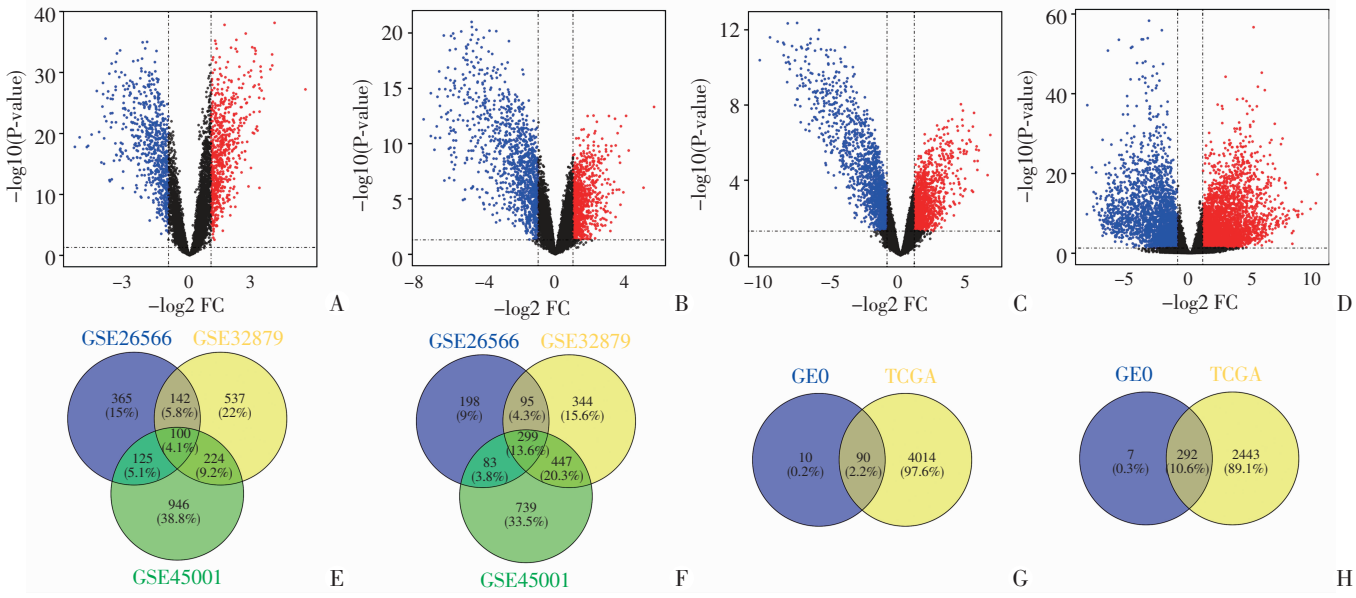
在 GEO 数据库中的 3 个胆管癌数据集(GSE26566、GSE32879 和 GSE45001)中,我们共鉴定出 399 个 DEGs,包括 100 个上调基因和 299 个下调基因(图 1A~C)。进一步在从 TCGA 数据库下载的 CHOL 数据集中鉴定出 DEGs(图 1D)。GEO 三个数据集和 TCGA 的 CHOL 数据集分别鉴定出差异基因后,取交集共计 382 个 DEGs,包括 90 个上调基因和 292 个下调基因(图 1E~H)。

2.2　功能及通路富集分析

通过 Cluster profiler 程序包对 DEGs 进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。结果显示,上调的 DEGs 的生物学过程方面主要富集在细胞外基质组织、细胞外结构组织、细胞-底物黏附等生物学过程(图 2A)。相反,下调的 DEGs 的生物学过程方面主要富集在小分子分解代谢过程、有机酸分解代谢过程、羧酸分解代谢过程。根据 KEGG 通路富集分析,上调的 DEGs 主要参与 PI3K-Akt 信号通路和 ECM-受体相互作用(图 2B)。下调的 DEGs 显著富集在碳代谢和脂肪酸降解途径中。

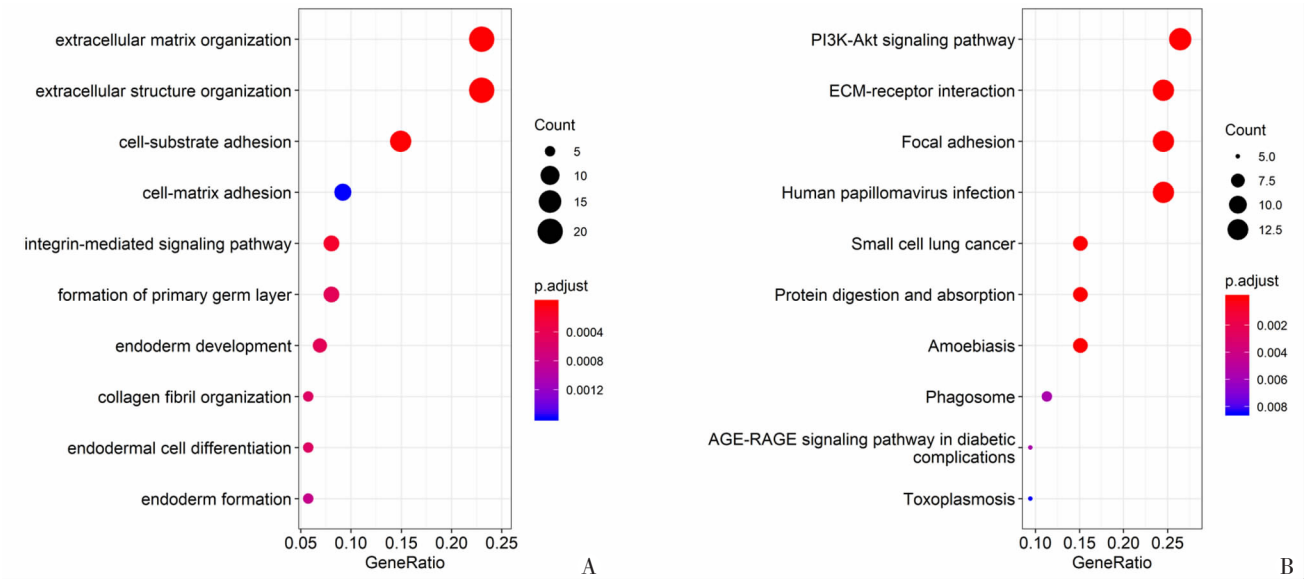
2.3　PPI 网络、关键模块和枢纽基因分析

应用在线数据库 STRING 构建由 289 个节点和 500 个连接组成的 DEGs 的 PPI 网络,置信度评分>0.9(图 3A)。对前三个模块内基因进行 KEGG 通路富集分析,结果显示与过氧化物酶体途径和 ECM-受体相互作用途径显著相关(图 3B)。通过 MCODE 插件,参数设置 degree cut-off=2, node score cut-off=0.2, k-core=2, max depth=100 共获得 11 个模块,前三个模块如图 3C~E。通过 Cytoscape 的 Cytohubba 插件,选择插件内 BETWEEEN、DMNC 算法筛选排序靠前的基因,结合文献进一步筛选鲜有报道的作为关键枢纽基因。筛选出 6 个枢纽基因,即 PRSS23、LGALS1、VCAN、COL5A1、ITGB1 和 EHHADH。



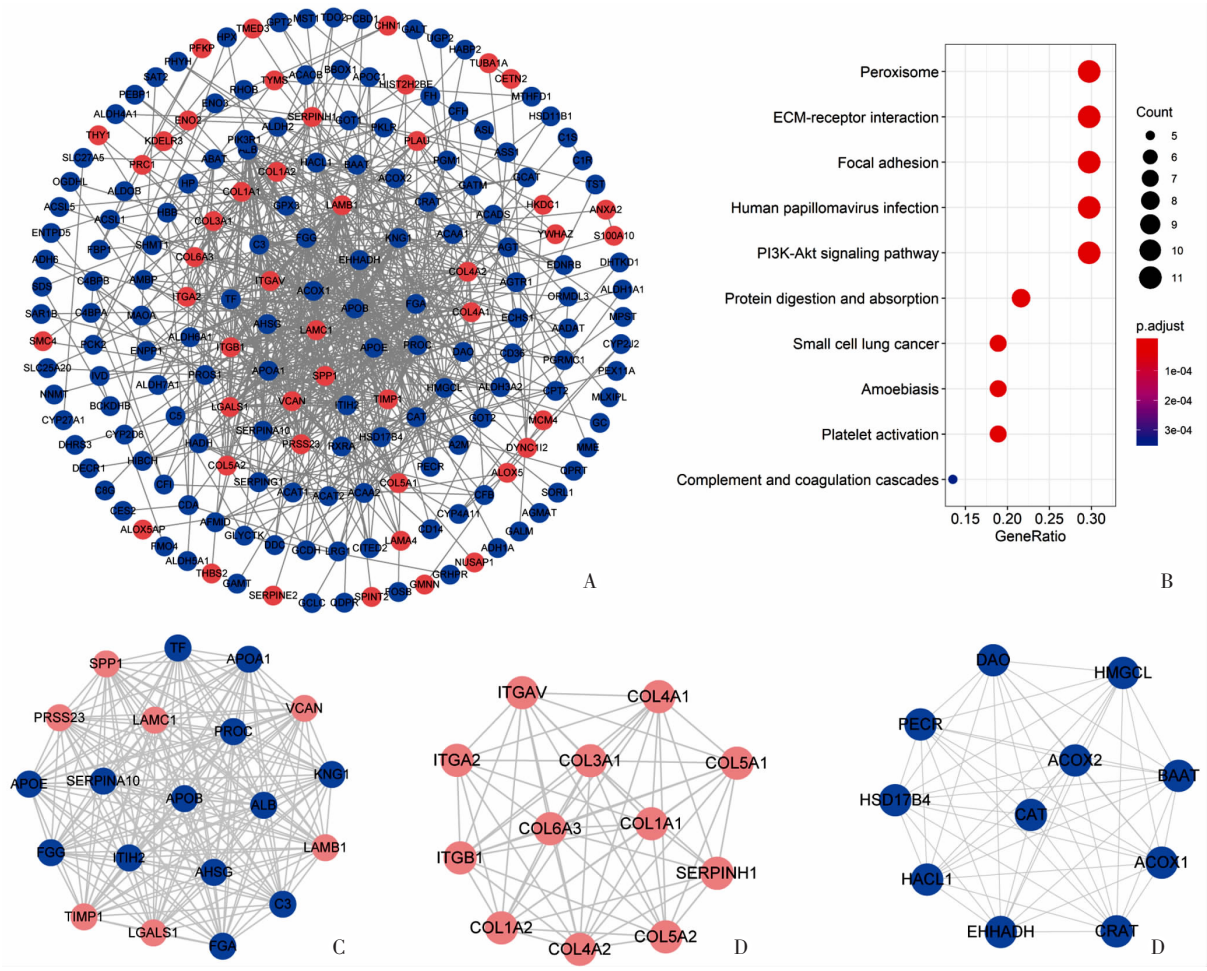
A~C: 数据集 GSE26566、GSE32879 和 GSE45001 的差异基因火山图; D: TCGA - CHOL 数据集差异基因的火山图; E~H:3 个 GEO 数据集和 TCGA 数据集中上调 DEG 和下调 DEG 交集的维恩图

图 1　差异表达基因(DEGs)的鉴定



A：排名前 10 位的生物学过程(BP)富集条目；B：排名前 10 位 KEGG 富集通路

图 2　上调差异表达基因(DEGs)的 GO 和 KEGG 富集分析



A：DEGs 的 PPI 网络；B：前三个模块基因的 KEGG 通路分析；C~E：使用 MCODE 方法从 PPI 网络中鉴定出的前三个模块；红色和蓝色节点分别代表上调和下调基因

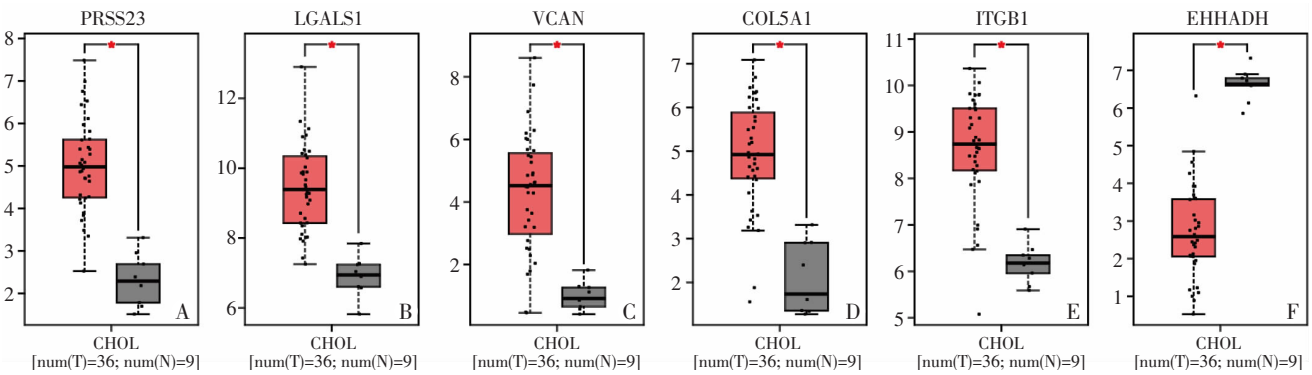
图 3　枢纽基因的蛋白质相互作用网络(PPI)和关键模块分析

2.4　枢纽基因的转录表达水平和临床诊断价值分析

在 GEPIA 工具内验证 6 个枢纽基因的 mRNA 表达水平。如图 4 所示,ICC 组织中 PRSS23、LGALS1、VCAN、COL5A1 和 ITGB1 的表达显著增加,而 ICC 组织中 EHHADH 的表达水平较正常组织明显降低。通过受试者工作曲线(ROC)分析显示,所有的枢纽基因都可以区分肿瘤组织和正常组织。PRSS23、LGALS1、VCAN、COL5A1、ITGB1、EHHADH 的 AUC 值分别为:0.898、0.803、0.932、0.883、0.898、1.000(图 5)。

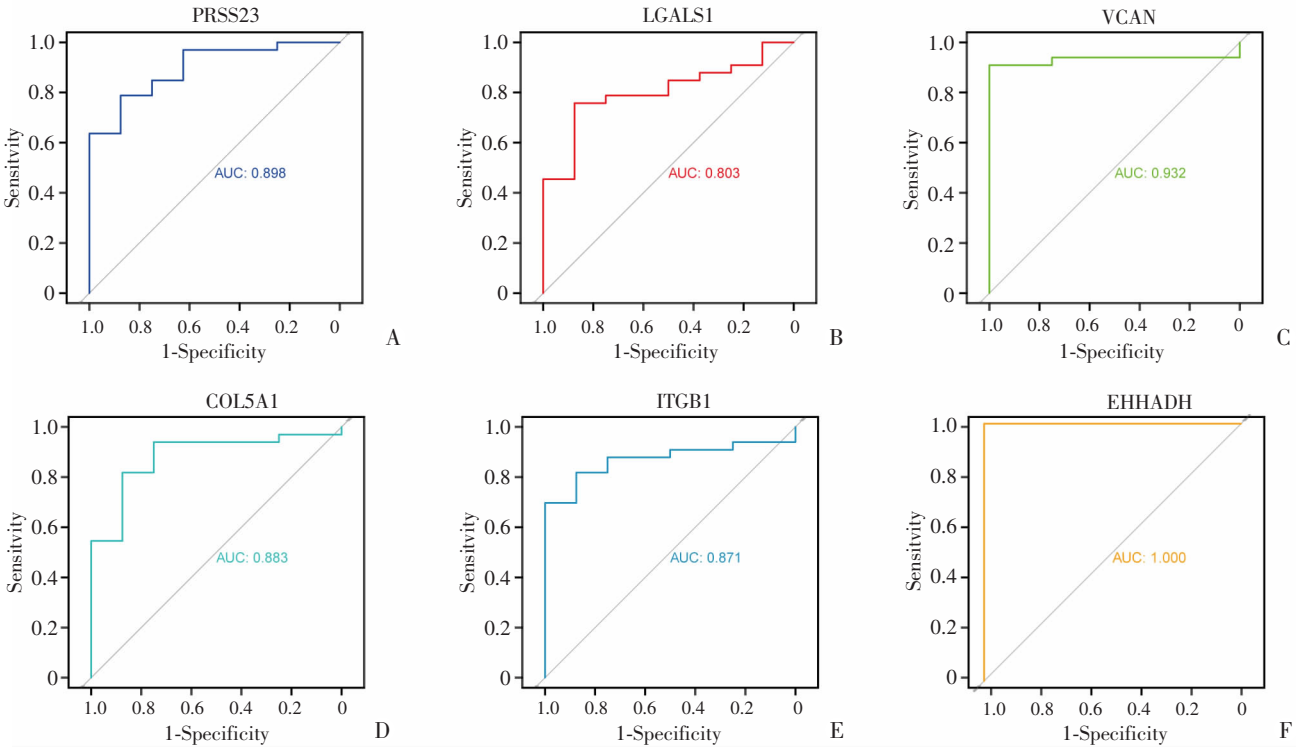
2.5　枢纽基因甲基化相关性分析

采用 Diseasemeth 2.0 分析 6 个枢纽基因 mRNA 表达水平与其甲基化状态的相关性。分析结果表明,ICC 组织中 PRSS23 的平均甲基化水平明显低于正常组织(图 6A),而 LGALS1, VCAN, ITGB1 和 EHHADH 的甲基化水平较正常组织中高(图 6B、C、E 、F),两组中 COL5A1 的平均甲基化水平未见明显差异(图 6D)。



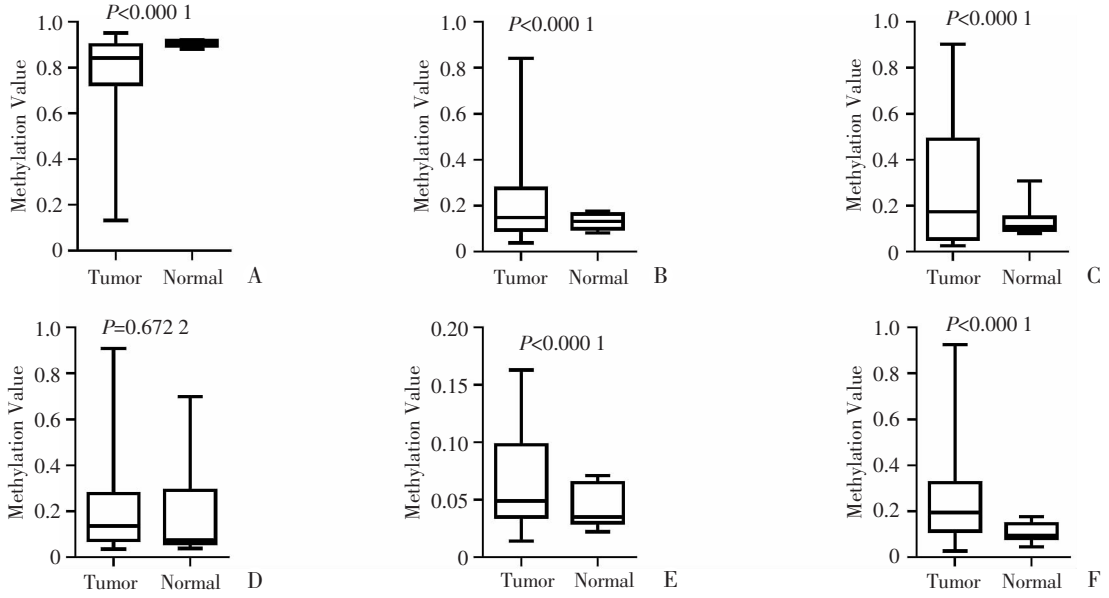
A: PRSS23, B: LGALS1, C: VCAN, D: COL5A1, E: ITGB1, F: EHHADH; 红色框和灰色框分别代表肿瘤和正常组织; *: $P<0.05$

图 4　基于 TCGA 和 GTEx 数据库的枢纽基因表达验证分析



A: PRSS23; B: LGALS1; C: VCAN; D: COL5A1; E: ITGB1; F: EHHADH

图 5　枢纽基因诊断价值的 ROC 分析



A: PRSS23; B: LGALS1; C: VCAN; D: COL5A1; E: ITGB1; F: EHHADH

图 6 枢纽基因的甲基化分析

3 讨论

胆管癌是一种高度恶性肿瘤,由于胆管癌患者缺乏特异性临床表现,大多数患者在出现症状时已处于进展阶段或发生转移。在本研究中,我们用 R 软件分析了 GEO 数据库中 3 个独立的肝内胆管癌(ICC)数据集以鉴别显著差异基因(DEGs),并在 TCGA 数据库的 CHOL 数据集中进一步验证,共得到 90 个上调基因和 292 个下调基因。

本研究发现上调的 DEGs 的生物学过程方面主要富集在细胞外基质组织、细胞外结构组织、细胞-底物黏附等生物学过程(图 2A)。相反,下调的 DEGs 主要富集在小分子分解代谢过程、有机酸分解代谢过程、羧酸分解代谢过程。研究表明,ECM 在疾病过程中发挥关键作用,包括纤维化、心血管疾病和癌症[15-16]。ECM 重塑促进并介导肿瘤细胞的迁移和侵袭[15]。根据 KEGG 通路富集分析,上调的 DEGs 主要参与 PI3K-Akt 信号通路和 ECM-受体相互作用(图 2B)。下调的 DEGs 显著富集在碳代谢和脂肪酸降解途径中。PI3K-Akt 信号通路在各种癌症中被激活,被证实参与肿瘤转移和侵袭[17-18],而 ECM 受体相互作用途径与癌细胞增殖、侵袭和进展相关[19]。转录调节、DNA 复制和 DNA 修复与碳代谢有关[20]。增加脂肪酸的降解可能有助于减弱癌细胞增殖[21]。

在肿瘤组织里上调的基因中,PRSS23 编码一种丝氨酸蛋白酶,在乳腺[22]、甲状腺癌[23]和胰腺癌等[24]组织中过表达。PRSS23 参与人胃癌的肿瘤发生和进展,对胃癌的预后至关重要[25]。LGALS1 也被命名为 Galectin-1(GAL-1),是 β-半乳糖苷结合蛋白半乳糖凝集素家族的一员[26]。有研究表明 LGALS1 在胰腺癌[12]、肺癌[27]、胃癌[28]和 HCC[29]中过表达,并且其表达与肿瘤发生、侵袭、进展和血管生成拟态高度相关。因此,LGALS1 可能是一个潜在的治疗靶点。VCAN 是 ECM 的主要成分之一[30],可以促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭[31]。COL5A1 是一种参与 ECM 形成胶原的家族蛋白[32]。一项研究表明 COL5A1 与细胞增殖、迁移和侵袭显著相关[33]。整合素介导细胞黏附,并在跨膜连接至细胞骨架中发挥关键作用[34]。ITGB1 是整合素的亚基之一。ITGB1 的过表达与细胞迁移和化疗耐药相关[35]。EHHADH 编码过氧化物酶体双功能酶,EHHADH 参与 PPAR 信号通路[36],对乳腺癌和肺癌的发生发展至关重要[37-38]。

在本研究中采用 ROC 曲线分析证明 6 个枢纽基因均能敏感、准确地区分肿瘤组织和非肿瘤组织。由此可见,枢纽基因作为 ICC 的标志物具有较高的诊断价值。我们利用 Diseasemeth 2.0 来进一步确定 DNA 启动子的异常甲基化模式是否引起了 ICC 中枢纽基因的异常表达。我们发现 EHHADH 呈高甲基化,PRSS23 呈低甲基化,这与观察到的 ICC 中这些基因的差异表达一致。而 COL5Al 的甲基化水平在 ICC 中无明显变化。相反,LGALS1、VCAN 和 ITGB1 在 ICC 中表现为高甲基化。这些差异可能是由于其他原因所致,如非编码 RNA 和组蛋白修饰[39-40]。

综上,通过生物信息学分析的分析,本研究鉴定了

6个可能在ICC发生发展中至关重要的基因和重要信号通路。这些基因可能是诊断ICC的潜在分子生物标志物。然而,还需要更多的试验研究来验证这些结果,进一步揭示关键基因在ICC中的分子机制和生物学功能。

参考文献:

[1] BEAL E W, TUMIN D, MORIS D, *et al*. Cohort contributions to trends in the incidence and mortality of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2018, 7(4): 270-276. DOI: 10.21037/hbsn.2018.03.16.

[2] EL-DIWANY R, PAWLIK T M, EJAZ A. Intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Surg Oncol Clin N Am, 2019, 28(4): 587-599. DOI: 10.1016/j.soc.2019.06.002.

[3] RAZUMILAVA N, GORES G J. Cholangiocarcinoma[J]. Lancet, 2014, 383(9935): 2168-2179. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61903-0.

[4] BANALES J M, CARDINALE V, CARPINO G, *et al*. Expert consensus document: Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA)[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016, 13(5): 261-280. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.51.

[5] RAHNEMAI-AZAR A A, WEISBROD A, DILLHOFF M, *et al*. Intrahepatic cholangiocarcinoma: Molecular markers for diagnosis and prognosis[J]. Surg Oncol, 2017, 26(2): 125-137. DOI: 10.1016/j.suronc.2016.12.009.

[6] HUANG Q X, CUI J Y, MA H, *et al*. Screening of potential biomarkers for cholangiocarcinoma by integrated analysis of microarray data sets[J]. Cancer Gene Ther, 2016, 23(2/3): 48-53. DOI: 10.1038/cgt.2015.66.

[7] RITCHIE M E, PHIPSON B, WU D, *et al*. Limma Powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(7): e47. DOI: 10.1093/nar/gkv007.

[8] BENJAMINI Y, HOCHBERG Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing[J]. J Royal Stat Soc B, 1995, 57(1): 289-300. DOI: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.

[9] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, *et al*. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. OMICS, 2012, 16(5): 284-287. DOI: 10.1089/omi.2011.0118.

[10] SZKLARCZYK D, FRANCESCHINI A, WYDER S, *et al*. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(Database issue): D447-D452. DOI: 10.1093/nar/gku1003.

[11] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, *et al*. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res, 2003, 13(11): 2498-2504. DOI: 10.1101/gr.1239303.

[12] TANG D, YUAN Z X, XUE X F, *et al*. High expression of Galectin-1 in pancreatic stellate cells plays a role in the development and maintenance of an immunosuppressive microenvironment in pancreatic cancer[J]. Int J Cancer, 2012, 130(10): 2337-2348. DOI: 10.1002/ijc.26290.

[13] ROBIN X, TURCK N, HAINARD A, *et al*. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves[J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12: 77. DOI: 10.1186/1471-2105-12-77.

[14] XIONG Y C, WEI Y J, GU Y, *et al*. DiseaseMeth version 2.0: a major expansion and update of the human disease methylation database[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D888-D895. DOI: 10.1093/nar/gkw1123.

[15] COX T R, ERLER J T. Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: implications for fibrotic diseases and cancer[J]. Dis Model Mech, 2011, 4(2): 165-178. DOI: 10.1242/dmm.004077.

[16] PICKUP M W, MOUW J K, WEAVER V M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer[J]. EMBO Rep, 2014, 15(12): 1243-1253. DOI: 10.15252/embr.201439246.

[17] JIANG J, XU Y T, REN H J, *et al*. MKRN2 inhibits migration and invasion of non-small-cell lung cancer by negatively regulating the PI3K/Akt pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 189. DOI: 10.1186/s13046-018-0855-7.

[18] SUN R J, ZHAI R R, MA C L, *et al*. Combination of aloin and metformin enhances the antitumor effect by inhibiting the growth and invasion and inducing apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma through PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cancer Med, 2020, 9(3): 1141-1151. DOI: 10.1002/cam4.2723.

[19] ZHANG H J, TAO J, SHENG L, *et al*. Twist2 promotes kidney cancer cell proliferation and invasion by regulating ITGA6 and CD44 expression in the ECM-receptor interaction pathway[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 1801-1812. DOI: 10.2147/OTT.S96535.

[20] KONIECZNA A, SZCZEPAŃSKA A, SAWIUK K, *et al*. Enzymes of the central carbon metabolism: are they linkers between transcription, DNA replication, and carcinogenesis?[J]. Med Hypotheses, 2015, 84(1): 58-67. DOI: 10.1016/j.mehy.2014.11.016.

[21] CURRIE E, SCHULZE A, ZECHNER R, *et al*. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. Cell Metab, 2013, 18(2): 153-161. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.05.017.

[22] ZAJCHOWSKI D A, BARTHOLDI M F, GONG Y, *et al*.

Identification of gene expression profiles that predict the aggressive behavior of breast cancer cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(13): 5168-5178.

[23] JARZAB B, WIENCH M, FUJAREWICZ K, *et al*. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications[J]. Cancer Res, 2005, 65(4): 1587-1597. DOI: 10.1158/0008-5472.can-04-3078.

[24] JONES S, ZHANG X S, PARSONS D W, *et al*. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses[J]. Science, 2008, 321(5897): 1801-1806. DOI: 10.1126/science.1164368.

[25] HAN B, YANG Y, CHEN J, *et al*. PRSS23 knockdown inhibits gastric tumorigenesis through EIF2 signaling[J]. Pharmacol Res, 2019, 142: 50-57. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.02.008.

[26] EARL L A, BI S G, BAUM L G. Galectin multimerization and lattice formation are regulated by linker region structure[J]. Glycobiology, 2011, 21(1): 6-12. DOI: 10.1093/glycob/cwq144.

[27] ZHOU X F, LI D, WANG X G, *et al*. Galectin-1 is overexpressed in CD133+ human lung adenocarcinoma cells and promotes their growth and invasiveness[J]. Oncotarget, 2015, 6(5): 3111-3122. DOI: 10.18632/oncotarget.3076.

[28] LEUNG Z, KO F C F, TEY S K, *et al*. Galectin-1 promotes hepatocellular carcinoma and the combined therapeutic effect of OTX008 galectin-1 inhibitor and sorafenib in tumor cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 423. DOI: 10.1186/s13046-019-1402-x.

[29] ZHANG P F, LI K S, SHEN Y H, *et al*. Galectin-1 induces hepatocellular carcinoma EMT and sorafenib resistance by activating FAK/PI3K/AKT signaling[J]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2201. DOI: 10.1038/cddis.2015.324.

[30] FOULCER S J, DAY A J, APTE S S. Isolation and purification of versican and analysis of versican proteolysis glycosaminoglycans, 2015(1229): 587-604. DOI: 10.1007/978-1-4939-1714-3_46.

[31] LAPIERRE D P, LEE D Y, LI S Z, *et al*. The ability of versican to simultaneously cause apoptotic resistance and sensitivity[J]. Cancer Res, 2007, 67(10): 4742-4750. DOI: 10.1158/0008-5472.can-06-3610.

[32] ZHANG J J, YANO H, SASAKI T, *et al*. The pro-α1(V) collagen gene (Col5a1) is coordinately regulated by miR-29b with core promoter in cultured cells[J]. Connect Tissue Res, 2018, 59(3): 263-273. DOI: 10.1080/03008207.2017.1370465.

[33] FENG G, MA H M, HUANG H B, *et al*. Overexpression of COL5A1 promotes tumor progression and metastasis and correlates with poor survival of patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 1263-1274. DOI: 10.2147/cmar.s188216.

[34] HYNES R O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines[J]. Cell, 2002, 110(6): 673-687. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00971-6.

[35] LIU M Y, ZHANG Y Q, YANG J X, *et al*. ZIP4 increases expression of transcription factor ZEB1 to promote integrin α3β1 signaling and inhibit expression of the gemcitabine transporter ENT1 in pancreatic cancer cells[J]. Gastroenterology, 2020, 158(3): 679-692.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.10.038.

[36] JIA Y Z, QI C, ZHANG Z Y, *et al*. Overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha)-regulated genes in liver in the absence of peroxisome proliferation in mice deficient in both L- and D-forms of enoyl-CoA hydratase/dehydrogenase enzymes of peroxisomal beta-oxidation system[J]. J Biol Chem, 2003, 278(47): 47232-47239. DOI: 10.1074/jbc.M306363200.

[37] REKA A K, GOSWAMI M T, KRISHNAPURAM R, *et al*. Molecular cross-regulation between PPAR-γ and other signaling pathways: implications for lung cancer therapy[J]. Lung Cancer, 2011, 72(2): 154-159. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.01.019.

[38] CHEN Y Z, XUE J Y, CHEN C M, *et al*. PPAR signaling pathway may be an important predictor of breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2012, 70(5): 637-644. DOI: 10.1007/s00280-012-1949-0.

[39] KONDO Y. Epigenetic cross-talk between DNA methylation and histone modifications in human cancers[J]. Yonsei Med J, 2009, 50(4): 455-463. DOI: 10.3349/ymj.2009.50.4.455.

[40] PESCHANSKY V J, WAHLESTEDT C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation[J]. Epigenetics, 2014, 9(1): 3-12. DOI: 10.4161/epi.27473.

(收稿:2020-11-04;修回:2021-01-19)

(编辑 张艺霖)