

本文引文格式:徐婷,华高艳.MTND4P12在肝细胞癌患者肝脏中的表达及作用[J].
右江民族医学院学报,2022,44(5):697-702.

【论著与临床报道】

MTND4P12在肝细胞癌患者肝脏中的表达及作用

徐婷¹, 华高艳²

1. 安徽卫生健康职业学院, 安徽 池州 247099;
2. 安徽省池州市人民医院肿瘤科, 安徽 池州 247099)

摘要:目的 探讨假基因 MTND4P12 在肝细胞癌中的表达及临床意义。方法 采用癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库提供的临床和 RNA-seq 数据,以预测肝细胞癌可能标志物 MTND4P12 及其调控靶基因。随后利用免疫组织化学染色、蛋白免疫印迹等技术对本院肝癌患者样本中 MTND4P12 及其靶基因表达情况进行检测和验证。最后采用肝癌细胞基因干扰和过表技术,进一步验证 MTND4P12 在肝癌中的作用。结果 MTND4P12 在肝细胞癌组织中的表达阳性率为 78.00%,明显高于癌旁组织(32.00%),组间比较差异具有统计学意义($P < 0.001$);在 MTND4P12 阳性组中,31 例(79.49%)合并肝转移($P < 0.001$),且患者的 TNM 分期多为 IV 期患者,占 84.62%,与 MTND4P12 阴性组比较差异具有统计学意义($P < 0.001$)。Kaplan-Meier 生存分析表明,MTND4P12 高表达与预后不良有关,且 MTND4P12 与癌基因 PSMD11 的表达呈正相关。同时,细胞实验证明,MTND4P12 可使肝癌细胞增殖能力上升,迁移能力增强,伤口愈合能力增强。结论 假基因 MTND4P12 在肝细胞癌组织中异常表达,影响患者预后,其机制可能与调控癌基因 PSMD11 的表达有关。

关键词:假基因;MTND4P12;PSMD11;肝肿瘤

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2022)05-0697-006
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.014

The expression and role of MTND4P12 in liver of patients with hepatocellular carcinoma

Xu Ting¹, Hua Gaoyan²

1. Anhui Health College, Chizhou 247099, Anhui, China;
2. Department of Oncology, The People's Hospital of Chizhou, Chizhou 247099, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of pseudogene MTND4P12 in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The clinical and RNA-seq data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database were used to predict the possible marker of hepatocellular carcinoma MTND4P12 and its regulatory target genes. Then, the expression of MTND4P12 and its target genes in the samples of patients with HCC in our hospital were tested and verified by immunohistochemical staining and Western blot and other techniques. Finally, the role of MTND4P12 was verified by gene interference and overexpression techniques of liver cancer cells. **Results** The positive rate of MTND4P12 expression in HCC tissues (78.00%) was significantly higher than their adjacent tissues (32.00%); The difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.001$). In the MTND4P12 positive group, there were 31 cases (79.49%) with liver metastasis ($P < 0.001$). The TNM stage of patients was mostly IV (84.62%), which was statistically significant compared with the MTND4P12 negative group ($P < 0.001$). Kaplan Meier survival analysis showed that the high expression of MTND4P12 was associated with poor prognosis, and the expression of MTND4P12 was positively

基金项目:安徽省高校优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2019124);安徽省级示范基层教学组织(教研室)项目(2020SJSFJXZZ196)

第一作者简介:徐婷(1983-),女,硕士,副教授,研究方向:基础医学,E-mail:xuting6421@126.com

correlated with the expression of oncogene PSMD11. And cell experiments proved that MTND4P12 enhanced the abilities of proliferation, migration and wound healing of HCC cells. **Conclusion** The abnormal expression of pseudogene MTND4P12 in HCC affects the prognosis of patients, and its mechanism may be related to the regulation of the expression of oncogene PSMD11.

Key words: pseudogene; MTND4P12; PSMD11; hepatocellular carcinoma

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界范围内常见的恶性肿瘤, 在我国 HCC 发病率逐年升高^[1]。晚期 HCC 的预后仍然很差, 远处转移患者 5 年生存率低于 10%^[2]。尽管近年来在治疗 HCC 患者方面取得了相当大的进展, 但考虑到晚期患者的高死亡率, 仍然迫切需要更好的治疗方法。竞争性内源性 RNA (ceRNAs) 假说揭示了一种 RNA 间相互作用的新机制。CeRNAs 网络将编码蛋白质的 mRNAs 的功能与非编码 RNA (ncRNAs) 的功能联系起来, 如微 RNA (miRNAs)、长非编码 RNA (lncRNAs)、假基因 RNA 和环状 RNA (circRNAs)^[3]。ncRNA 水平的增加可以作为 RNA 海绵吸附 miRNA, 并调控靶基因表达。假基因 RNA 被定义为在随机复制进化过程和突变中的蛋白质编码基因^[4], 这些基因长期以来被称为“垃圾 DNA”。然而越来越多的证据表明假基因作为 ceRNAs 影响着它们的同源基因和无关基因, 在癌症的发生和发展中发挥重要作用^[5]。例如, 假基因 PTENP1 作为 miR-499-5p 海绵用于操纵小鼠亲代癌基因 PTEN 的表达^[6]。然而, 它们与 HCC 的相关性在很大程度上仍然未知。在这项研究中, 根据 TCGA 数据确定了 7 个上调的假基因, 其中, MTND4P12 的表达量与 HCC 患者的总体生存时间呈负相关, 但 MTND4P12 在 HCC 中的作用和机制尚不清楚。因此, 本研究将探讨 MTND4P12 表达与 HCC 临床病理的相关性及可能机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料 以回顾性研究手段, 选取 2020 年 1 月—2021 年 6 月在安徽省池州市人民医院肿瘤科确诊和手术切除的患者 HCC 组织 50 例, 并取癌旁组织 25 例 (通过 RT-PCR 收集和分析新鲜配对组织) 为对照。所有病例均经本院病理科主任级两位专家共同确诊。其中, 男 29 例, 女 21 例; I 期 2 例, II 期 5 例, III 期 10 例, IV 期 33 例; 患者年龄 40~86 岁, 平均 (59.22 ± 9.11) 岁。本研究经医院伦理委员会批准, 伦理批号: 池医伦审 (2019) 第 (048) 号。

1.2 细胞来源和培养 肝癌细胞 SMMC-7721 来源于上海细胞生物研究所。SMMC-7721 细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 RPMI-1640 培养基中培养。所有细胞均在含有 5% CO₂ 的 37 °C 培养箱中培养。将处于对数生长期的细胞接种到含有完

全培养基的 6 孔板。当细胞达到 40%~70% 汇合后, 使用 Lipofectamine 2000 Kit (Invitrogen) 进行细胞转染。Si-MTND4P12、MTND4P12 的过表达质粒及它们所对应的阴性对照均由上海吉玛基因提供。

1.3 qRT-PCR 转染的 SMMC-7721 细胞 24 h 后经过 TRIzol 消化, 收集并至 -80 °C 环境下保存。使用 PrimeScript RT Reagent 试剂盒 (Bio-Rad, 中国杭州) 进行互补 DNA (cDNA) 的合成。接下来, 在 LigtCycler480 上使用 SYBR PremixExTaq II 试剂盒 (Takara, 中国杭州), 进行了 qRT-PCR 检测。采用归一化对 qRT-PCR 数据进行分析, 18S 作为内源性对照。

1.4 CCK-8 实验 为研究细胞增殖能力, 经转染的 SMMC-7721 细胞接种于 96 孔板中, 分别在 24 h、48 h、74 h 将 10 μL 的 CCK-8 试剂添加到每孔中, 并孵育 3 h, 使用多功能酶标仪测定 450 nm 处吸光度。

1.5 伤口愈合实验 对于伤口愈合试验, 经转染的 SMMC-7721 细胞接种在 6 孔中板直到 80%~90% 汇合, 使用无菌微量移液器吸头均匀刮除, 用 PBS 洗涤细胞两次。图像是伤口形成后 0 h 和 24 h 获得。

1.6 Transwell 实验 将经过转染的细胞重悬于无血清培养基中, 将细胞密度调整至 3×10^5 细胞/毫升。接下来, 将 100 μL 细胞悬液加入 24 孔 transwell 室的上室, 同时将 600 μL 含有 10% FBS 的 1640 培养基加入下室。37 °C、5% CO₂ 孵育 24 h 后, 取出小室, PBS 洗 2 次, 甲醇固定 15 min, 结晶紫染色 15 min。在显微镜的引导下进行细胞计数。

1.7 生物信息学分析 THE HUMAN PROTEIN-ATLAS 在线工具 (<https://www.proteinatlas.org/>) 评估 HCC 肿瘤中 MTND4P12 的 mRNA 和蛋白水平。此外, 通过 GEPIA (Gene Expression Profiling) 提供的在线工具交互分析 (<http://gepia.cancerpk.cn/>) 和 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 获得在线工具用于确定 MTND4P12 表达和 TCGA 队列中患者的临床病理要素以及 MTND4P12 表达的生存曲线使用, $|\log_{2}FC| \geq 1$ 和 $P \leq 0.01$ 作为截止标准。再利用 Starbase 数据库 (<https://starbase.sysu.edu.cn/panGeneCoExp.php>) 预测 MTND4P12 的调控靶基因。

1.8 免疫组化方法 组织标本利用 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋。切片脱蜡和水化后, 通过 3% 过氧

化氢抑制内源性过氧化物酶活性,PBS 冲洗 3 次后,将组织与兔抗人 MTND4P12 (1 : 100;Santa Cruz,CA) 在 4 °C 下孵育过夜,经 PBS 缓冲液冲洗 3 次,5 分钟/次,再与抗兔 IgG 辣根过氧化物酶(1 : 100;Dako, Glostrup,Denmark) 在室温下孵育 1 h,使用 3,3'-二氨基联苯胺显示。苏木精复染后,观察切片。结果判断:MTND4P12 定位于细胞浆或细胞核,随机选取 10 个高倍镜视野,每个视野观察 100 个细胞,采用半定量评分方法。

1.9 Western blot 使用组织匀浆器将肿瘤组织捣碎在一起,再补充含有 1 mM 的放射免疫沉淀(RIPA)、苯甲基磺酰氟(Beyotime)和磷酸酶抑制剂鸡尾酒(罗氏,巴塞尔,瑞士)缓冲液中溶解和超声。蛋白质浓度使用 Pierce BCA 蛋白质测定法测量套件(瑞士雷纳赫赛默飞世尔科技公司)。这些蛋白质用 12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后电转移至聚偏氟乙烯膜(微孔,美国马萨诸塞州伯灵顿),220 mA 电压下持续 2 h,在 5%的脱脂牛奶中封闭 2 h。之后用 TBST 清洗,将膜与抗 MTND4P12 抗体(1 : 500 稀释,A-AO1709a,艾美捷,中国武汉)在 4 °C 下孵育 12 h。膜在辣根过氧化物酶标记的山羊抗 Rabbit 二级抗体(β -Actin,1 : 50000 稀释)(ZSGB-BIO,TA-09,中国北京)。中室温下孵育 1 h。通过增强化学发光检测

信号。

1.10 统计学方法 采用 SPSS 20.0,计数资料以频率和/或百分率表示,采用 χ^2 检验, t 检验和单因素方差分析用于比较计量资料数据。以 Kaplan-Meier 分析进行患者生存时间。单变量和多变量 Cox 应用回归分析来衡量 MTND4P12 表达和其他临床参数, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

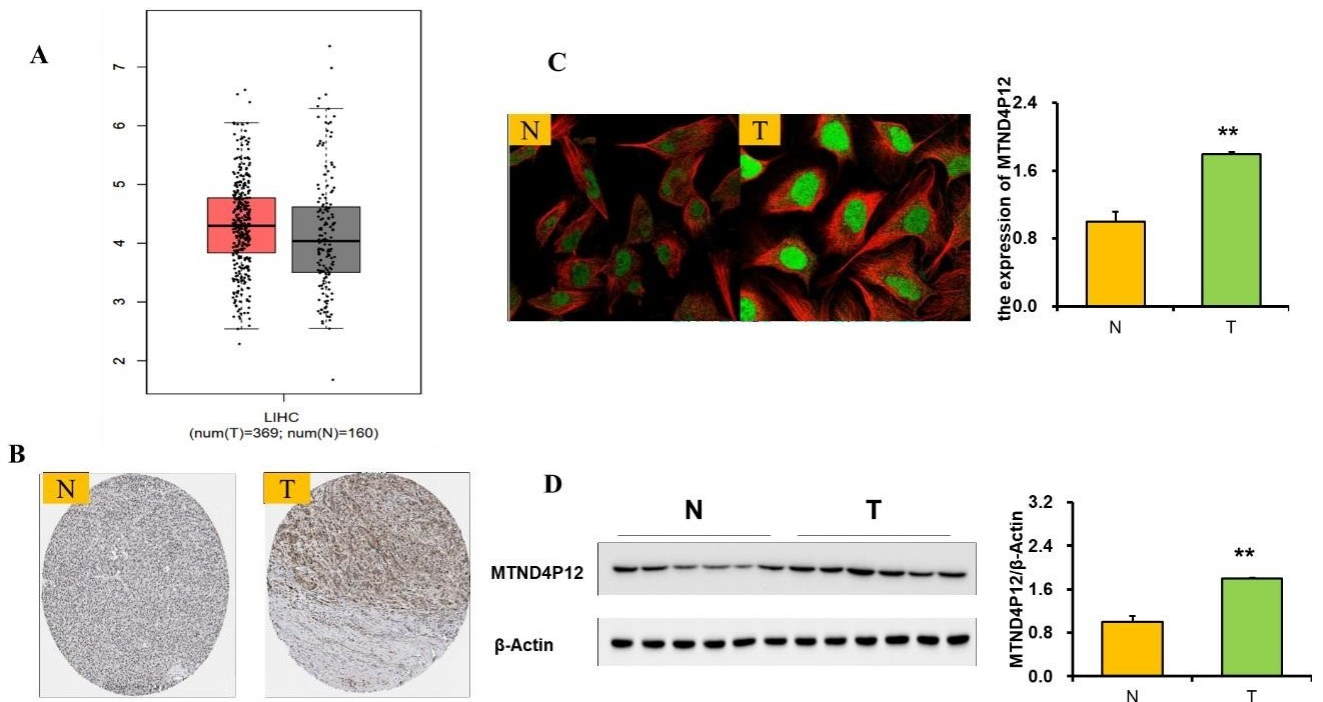
2 结果

2.1 MTND4P12 在 HCC 组织中的表达 TCGA 和 THE HUMAN PROTEINATLAS 数据库结果显示,MTND4P12 在 HCC 组织和癌旁组织中以及 HCC 细胞中表达明显升高,且本院样本 WB 结果表明,MTND4P12 在 HCC 组织中的表达阳性率为 78.00%,较癌旁组织(32.00%)明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.001$),见表 1、图 1。

表 1 HCC 组织中 MTND4P12 的表达

组别	n	MTND4P12		χ^2	P
		阳性	阴性		
HCC 组织	50	39(78.00)	11(22.00)	15.074	<0.001
癌旁组织	25	8(32.00)	17(68.00)		

注:表内计数资料数据用[n(%)]表示。



A:TCGA 数据库中 HCC 癌旁组织(N,160 例)与肿瘤组织(T,369 例)中 MTND4P12 表达情况;B:THE HUMAN PROTEINATLAS 数据库中 HCC 癌旁组织与肿瘤组织中 MTND4P12 表达情况,IHC,阳性染色为细胞呈棕褐色;C:THE HUMAN PROTEINATLAS 数据库中 HCC 肿瘤细胞和正常肝细胞中 MTND4P12 表达情况,免疫荧光,绿色为细胞阳性表达;D:WB 检测本院样本中 HCC 癌旁组织与肿瘤组织中 MTND4P12 表达情况,** $P < 0.01$ 。

图 1 HCC 组织中 MTND4P12 的表达

2.2 MTND4P12 的表达与 HCC 临床病理参数的关系 TCGA 和 THE HUMAN PROTEINATLAS 数据库结果显示,MTND4P12 的表达水平与 HCC 的分期未见显著差异;但在本院 39 例 MTND4P12 阳性组中,31 例(79.49%)合并肝转移,且患者的 TNM 分期多为 IV 期患者,占 84.62%,与 MTND4P12 阴性组比较差异具有统计学意义($P < 0.001$),但 MTND4P12 的表达与 HCC 组织的分化程度和淋巴结转移情况未见统计学相关,见表 2、图 2。

表 2 MTND4P12 表达与临床病理特征的关系

组别	n	阳性 (n=39)	阴性 (n=11)	χ^2	P
肝转移	50			15.526	<0.001 ^a
有		31(79.49)	1(9.09)		
无		8(20.51)	10(90.91)		
TNM 分期	50			15.007	<0.001 ^a
IV 期		33(84.62)	2(18.18)		
II~III 期		6(15.38)	9(81.82)		
淋巴结转移	50			0.799	0.372 ^a
有		15(38.46)	2(18.18)		
无		24(61.54)	9(81.82)		
分化程度	50			0.557	0.455
好-中等		14(35.90)	2(18.18)		
差		25(64.10)	9(81.82)		

注:①表内计数资料数据用[n(%)]表示;②a表示采用连续校正 χ^2 检验。

2.3 MTND4P12 的表达与预后的关系 TCGA 数据库结果显示,与 MTND4P12 低表达患者相比,高表达患者生存时间明显缩短($P = 0.006$),见图 3。

2.4 MTND4P12 调控的机制预测 Starbase 数据库和 TCGA 数据库分析结果显示,MTND4P12 与 PSM-

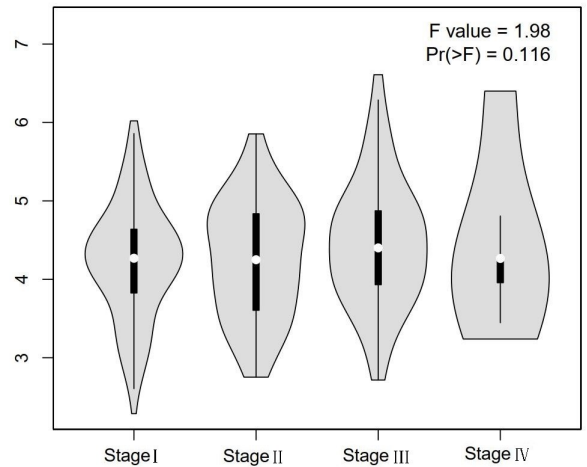


图 2 HCC 组织中各期 MTND4P12 的表达情况

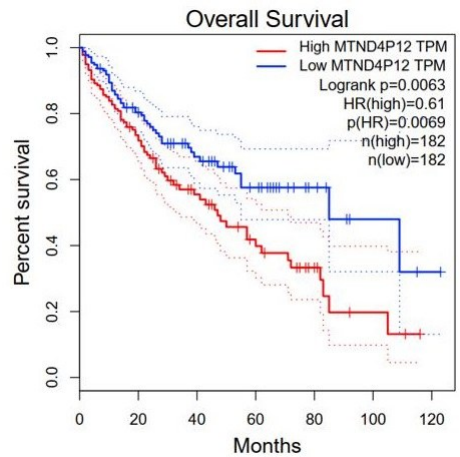
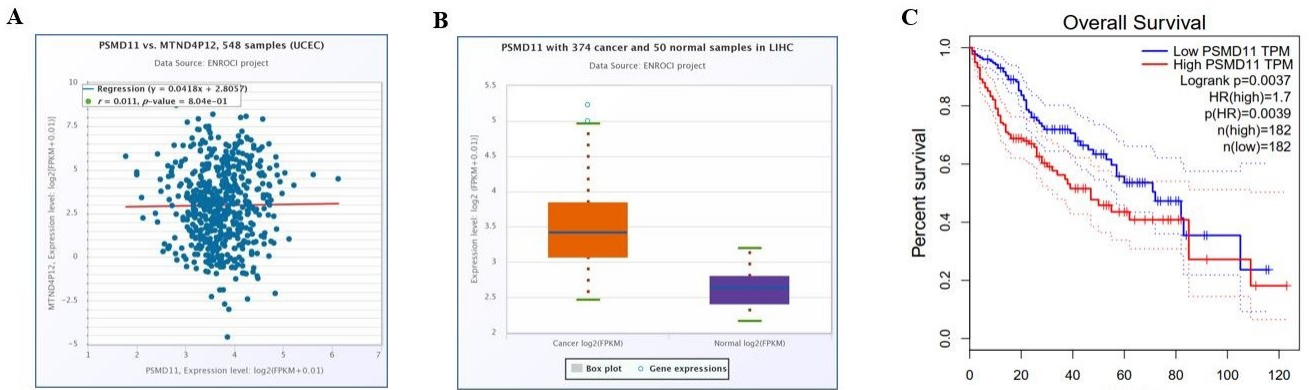


图 3 MTND4P12 的表达与预后的关系

D11 表达呈正相关($P < 0.01$)(见图 4A),且 PSMD11 在 HCC 癌组织中高表达(见图 4B),PSMD11 高表达患者生存时间明显缩短(见图 4C)。



A:MTND4P12 与 PSMD11 的关联性;B:PSMD11 在 HCC 癌组织中高表达;C:PSMD11 的表达与预后的关系。

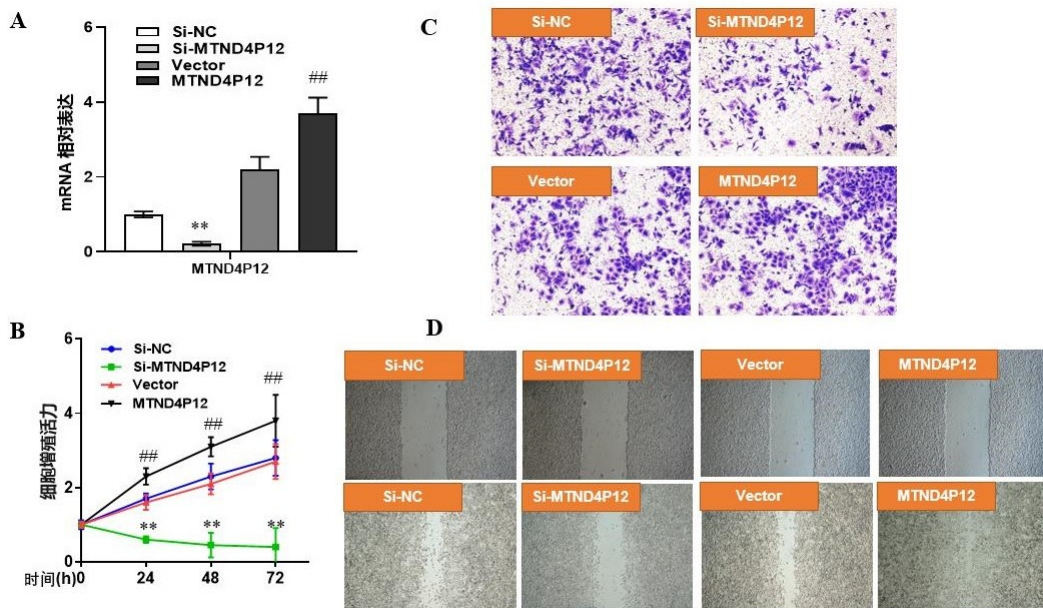
图 4 MTND4P12 调控的机制

2.5 MTND4P12 在 HCC 细胞中的表达及作用 为了研究 MTND4P12 在 HCC 中的作用,在 HCC 细胞

中转染 si-MTND4P12 或过表达 MTND4P12,qRT-PCR 检测数据显示转染 si-MTND4P12 后,MT-

ND4P12 的表达显著降低,过表达 MTND4P12 后,MTND4P12 的表达显著升高(见图 5A)。CCK-8 实验表明,沉默 MTND4P12 后,SMMC-7721 细胞活力下降(见图 5B)。MTND4P12 敲低和过表达同时抑制了

肝癌细胞的伤口愈合能力和迁移能力(见图 5C 和 5D)。相比之下,本研究在其亲本细胞中转染了 MTND4P12 过表达质粒,发现 HCC 细胞增殖能力上升,迁移能力加强,伤口愈合能力变强。



A: 细胞转染后效果评价;B: 细胞转染后 24~72 h 增殖能力评价;C: 细胞转染后 24 h 侵袭能力评价;D: 细胞转染后 24 h 迁移能力评价。Si-NC: 干扰阴性对照组;Si-MTND4P12: MTND4P12 干扰组;Vector: 过表达阴性对照组;MTND4P12: MTND4P12 过表达组。

与 Si-NC 组比较, ** $P < 0.05$, 与 Vector 组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 5 MTND4P12 在 HCC 细胞中的表达及作用

3 讨论

近年,随着对非编码 RNA 研究的深入,越来越多的证据支持假基因在肿瘤发生、侵袭转移和耐药等方面发挥作用,且随着大量与癌症相关的新的假基因被发现,有希望找到更多地治疗癌症的靶点。本研究结果表明,假基因 MTND4P12 在 HCC 癌组织中高表达,且与 HCC 的不良预后相关。在构建假基因 miRNA-mRNA 调控网络后,发现 MTND4P12 通过充当 ceRNA 来调控癌基因异质核糖核蛋白 X(PSMD11) 的表达,值得注意的是,PSMD11 是新的肝癌生物标志物^[7]。因此,MTND4P12 在 HCC 中的作用值得探究。为此,本研究收集了本院 50 例肝细胞癌组织样本进行验证,研究结果显示,MTND4P12 在 HCC 组织中的表达阳性率为 78.00%,明显高于癌旁组织组。本研究进一步根据 MTND4P12 蛋白的表达进行了二次分组,分为 MTND4P12 阳性组和 MTND4P12 阴性组,对比两组的临床病理参数。结果显示,在 MTND4P12 阳性组中,31 例(79.49%)合并肝转移,且患者的 TNM 分期多为 IV 期患者,占 84.62%,与 MTND4P12 阴性组比较差异具有统计学意义。提示,MTND4P12

可能参与了 HCC 的发生发展。

为了进一步研究 MTND4P12 在 HCC 中的作用,在 HCC 细胞中转染 si-MTND4P12 或 MTND4P12 过表达质粒,qRT-PCR 检测数据显示转染 si-MTND4P12 后,MTND4P12 的表达显著降低,过表达 MTND4P12 后,MTND4P12 的表达显著升高。CCK-8 实验表明,沉默 MTND4P12 后,SMMC-7721 细胞活力下降。MTND4P12 敲低和过表达抑制或促进了 HCC 细胞的伤口愈合能力和迁移能力。相比之下,本研究在其亲本细胞中转染了 MTND4P12 过表达质粒,发现 HCC 细胞增殖能力上升,迁移能力增强,伤口愈合能力增强。提示,MTND4P12 在调控 HCC 细胞增殖、迁移和转移中发挥重要作用。

近年来,PSMD11 的致癌作用吸引了大量研究。PSMD11 属于 PTP 蛋白家族^[8],且 PSMD11 是蛋白酶体复合物的关键成分,参与细胞蛋白质的降解^[9]。微粒是细胞外囊泡的类型,它们是从细胞释放到细胞外空间,可以作为载体传递供体细胞信息^[10]。有研究发现^[11],微粒中 PSMD11 的增加会导致生存结局变差,其机制可能与抑制细胞蛋白质的降解,促进肿瘤细胞

增殖有关。本研究中观察到的 PSMD11 水平升高。PSMD11 过度表达可能导致在非整倍体中,可能导致癌症开始或进展^[12]。PSMD11 也是通过调节参与促进细胞周期相关靶点,从而促进肿瘤细胞生存^[13]。大量研究证实,PSMD11 促增殖作用已经在癌症中证实,包括膀胱癌、肺癌、乳腺癌、结肠直肠癌等^[14-18]。这些发现表明 PSMD11 抑制剂可能具有抑制癌症的治疗作用。目前,PSMD11 抑制剂已经开始被评估为在癌症临床管理中的潜力药物,假基因 MTND4P12 调控 PSMD11 的表达。本研究课题 MTND4P12 作为 ceRNA 上调癌基因 PSMD11 的表达。PSMD11 抑制剂和 MTND4P12 抑制剂对 HCC 细胞可能具有协同治疗作用,因此为 HCC 治疗提供新的策略。

总的来说,本研究表明,假基因 MTND4P12 可以调节 HCC 中的 ceRNA 机制通过上调癌基因 PSMD11。MTND4P12 可能是一个 HCC 患者的新型转移和预后生物标志物。但本研究患者数量有限,有必要基于大样本调查进一步确定 MTND4P12 是否可以作 HCC 患者 OS 的预测因子。同时在未来,课题组将在体内和体外进行 MTND4P12 和 PSMD11 的实验,进一步研究其在 HCC 中的作用,以通过更积极的治疗改善提高患者的生存率。

参考文献:

[1] VAN LAETHEM J L, BORBATH I, KARWAL M, et al. Pembrolizumab (pembro) monotherapy for previously untreated advanced hepatocellular carcinoma (HCC): phase II KEYNOTE-224 study[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(suppl 3):297.

[2] BELLO H R, MAHDI Z K, LVI S K, et al. Hepatocellular carcinoma with atypical imaging features: review of the morphologic hepatocellular carcinoma subtypes with radiology-pathology correlation[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2022, 55(3):681-697.

[3] FENG J F, BIAN Q, HE X W, et al. A LncRNA-miRNA-mRNA ceRNA regulatory network based tuberculosis prediction model[J]. *Microb Pathog*, 2021, 158:105069.

[4] 李轶. 长非编码 RNA 表征及其在结直肠癌发生发展中的作用和临床意义[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, 37(5):556-563.

[5] XU G, XU W Y, XIAO Y, et al. The emerging roles of non-coding competing endogenous RNA in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:496.

[6] WANG L, ZHANG N, WANG Z, et al. Pseudogene PTE-NP1 functions as a competing endogenous RNA (ceRNA)

to regulate PTEN expression by sponging miR-499-5p[J]. *Biochemistry Moscow*, 2016, 81(7):739-747.

[7] J·博拉克. 新的肝癌生物标志物 CN103370335A[P]. 2013-10-23.

[8] WU J X, PASCOVICI D, IGNJATOVIC V, et al. Improving protein detection confidence using swath-mass spectrometry with large peptide reference libraries[J]. *Proteomics*, 2017, 17(19):10.1002/pmic.201700174.

[9] SAHNI S, KRISP C, MOLLOY MP, et al. PSMD11, PTPRM and PTPRB as novel biomarkers of pancreatic cancer progression[J]. *Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj*, 2020, 1864(11):129682.

[10] 张欢妍,汪雪峰,马永宾,等. 胞外囊泡作为药物传递天然纳米载体的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(6):757-760.

[11] PERNEMALM M, LEHTIÖ J. Mass spectrometry-based plasma proteomics: state of the art and future outlook[J]. *Expert Rev Proteom*, 2014, 11(4):431-448.

[12] FLEITAS T, MARTÍNEZ-SALES V, VILA V, et al. Circulating endothelial cells and microparticles as prognostic markers in advanced non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47365.

[13] REYNÉS G, VILA V, FLEITAS T, et al. Circulating endothelial cells and procoagulant microparticles in patients with glioblastoma: prognostic value[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):e69034.

[14] BARBOSA-SILVA A, MAGALHÃES M, DA SILVA G F, et al. A data science approach for the identification of molecular signatures of aggressive cancers[J]. *Cancers*, 2022, 14(9):2325.

[15] SALAH FARARJEH A, AL-KHADER A, AL-SALEEM M, et al. The prognostic significance of proteasome 26s subunit, non-atpase (PSMD) genes for bladder urothelial carcinoma patients[J]. *Cancer Inform*, 2021, 20:11769351211067692.

[16] YE Q, SINGH S, QIAN P R, et al. Immune-omics networks of CD27, PD1, and PDL1 in non-small cell lung cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(17):4296.

[17] DIREITO I, MONTEIRO L, MELO T, et al. Protein aggregation patterns inform about breast cancer response to antiestrogens and reveal the RNA ligase RTCB as mediator of acquired tamoxifen resistance[J]. *Cancers*, 2021, 13(13):3195.

[18] ZHOU C F, LI H X, HAN X, et al. Prognostic value and molecular mechanisms of proteasome 26s subunit, non-atpase family genes for pancreatic ductal adenocarcinoma patients after pancreaticoduodenectomy[J]. *J Investing*, 2022, 35(2):330-346.

收稿日期:2022-06-07;修回日期:2022-06-13