

本文引文格式:王珊,欧明煜,符蓉,等.基于 TCGA 数据库探索舌癌干细胞关键基因的表达及其意义[J].右江民族医学院学报,2023,45(1):92-98.

【论著与临床报道】

## 基于 TCGA 数据库探索舌癌干细胞关键基因的表达及其意义

王珊<sup>1,2</sup>, 欧明煜<sup>1</sup>, 符蓉<sup>1,2</sup>, 张钊银<sup>1,2</sup>, 王洪伟<sup>1,2</sup>, 姚金光<sup>1,2</sup>

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院口腔科, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 通过生物信息学方法研究舌癌中干细胞相关的关键基因,并利用关键基因的生物学作用和功能富集初步探索舌癌干细胞关键基因的功能。方法 舌癌 RNA-seq 数据和相关临床信息从癌症基因组图谱(TCGA)下载。利用 R 语言分析舌癌病例,WGCNA 用于模块化差异基因。基于 mRNAsi 确定重要舌癌干性相关的模块和关键基因。对关键基因 GO 以及 KEGG 功能富集。结果 在 TCGA 数据库中的差异表达分析显示,正常组织和舌癌组织的 mRNAsi 具有显著差异,舌癌组织明显要高于正常组织( $P < 0.05$ )。在生存分析中,观察到 mRNAsi 评分高的患者比 mRNAsi 评分低的患者总体生存更差( $P < 0.05$ )。基于 mRNAsi 确定了 40 个关键基因,GO 以及 KEGG 功能富集发现关键基因都集中在细胞周期、范可尼贫血通路和 Wnt 通路, $P < 0.05$ , $FDR < 0.25$ 。结论 舌癌患者的 mRNAsi 高评分可能预示着预后不良,mRNAsi 在舌癌的发生发展中起着重要的作用,并以此鉴定了 40 个舌癌干性相关的关键基因,这些基因有望成为舌癌治疗的靶点。

**关键词:**舌肿瘤;肿瘤干细胞;干性指数

中图分类号:R739.86

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)01-0092-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.01.016

### Exploration of the expression and significance of key genes in stem cells of tongue cancer based on TCGA database

Wang Shan<sup>1,2</sup>, Ou Mingyu<sup>1</sup>, Fu Rong<sup>1,2</sup>, Zhang Zhaoyin<sup>1,2</sup>,

Wang Hongwei<sup>1,2</sup>, Yao Jingguang<sup>1,2</sup>

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Department of Stomatology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To study the key genes related to tongue cancer stem cells by bioinformatics methods, and to preliminarily explore the function of key genes in tongue cancer stem cells by using biological function and functional enrichment of key genes. **Methods** RNA-seq data on tongue cancer and related clinical information were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA). The R language was used to analyze the cases of tongue cancer, and WGCNA was used to modularize differential genes. Important modules and key genes related to stemness of tongue carcinoma were identified based on mRNAsi. GO and KEGG functional enrichment for key genes was performed. **Results** Differential expression analysis in the TCGA database showed that there was significant difference in mRNAsi between the normal tissue and the tongue cancer tissue, and the mRNAsi of the tongue cancer tissue was significantly higher than that of the normal tissue ( $P <$

基金项目:国家自然科学基金项目(81660495)

第一作者简介:王珊(1995-),女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:口腔颌面外科方向,E-mail:375926227@qq.com

通讯作者简介:姚金光(1965-),男,博士,教授,主任医师,博士、硕士研究生导师,研究方向:头颈肿瘤侵袭、转移分子机制研究,E-mail:yao7760698@126.com

0.05)。In the survival analysis, it was observed that patients with high mRNAsi scores had worse overall survival than patients with low mRNAsi scores ( $P < 0.05$ ). 40 key genes were identified based on mRNAsi, and GO and KEGG functional enrichment showed that the key genes were concentrated in cell cycle, Fanconi anemia pathway and Wnt pathway ( $P < 0.05$ ,  $FDR < 0.25$ ). **Conclusion** High mRNAsi score in patients with tongue cancer may indicate poor prognosis, and mRNAsi plays an important role in the occurrence and development of tongue cancer. Based on mRNAsi, 40 key genes related to the stemness of tongue cancer have been identified, and these genes are expected to become targets for tongue cancer treatment.

**Key words:** tongue cancer; cancer stem cells; mRNAsi

舌癌是一种常见的口腔颌面部恶性肿瘤,其病理分型主要为舌鳞状细胞癌,约占所有口腔癌的 52%,尽管近年来口腔癌总体发病率有下降的趋势,但舌癌的发病率却在增加,在年轻患者中的占比也有所增长<sup>[1]</sup>。舌鳞状细胞癌的特点是高复发率和淋巴结转移率,此外还有肿瘤细胞的免疫逃逸,这导致了高死亡率。目前,舌癌的治疗手段仍以手术治疗为主,放/化疗以辅,但这些都存在严重的并发症,而且并没有改善 5 年生存率。因为舌癌在发生的前期症状相对隐秘,部位也不易被察觉,这造成患者往往就诊时已经错过了早期治疗阶段,最终引起患者的预后不佳<sup>[2]</sup>。这突出了开发与疾病进展和患者生存相关的新型诊疗模式的重要性,需要寻求更有效的治疗方法。

肿瘤干细胞被认为是许多癌症的起源,它在肿瘤的发生发展过程中有丝分裂的活性低于其他的癌细胞,并且通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力,肿瘤干细胞驱动了包括舌癌在内的大部分癌症的生长,对肿瘤的增殖、转移及复发等起重要作用,常被认为是研究治疗方法的重要模式细胞,肿瘤干细胞靶向治疗新策略的开发也引起了人们的高度关注<sup>[3]</sup>。干细胞指数是 Tathiane M 团队基于创新的一类逻辑回归机器学习的生物信息学方法开发的,用以量化干性特征<sup>[4]</sup>。在这项研究中,本课题组旨在利用基于 mRNA 表达的干性指数(mRNAsi)探索与舌癌干细胞相关的关键基因并进行功能分析。生物信息学是以计算机为工具,利用数学、计算机科学以及统计学等学科的方法,对各类组学生物信息进行储存、检索和分析的科学<sup>[5-6]</sup>。本研究利用生物信息学分析的方法探索舌癌的发生与发展的机制,为舌癌的治疗靶点提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 数据采集和整理 从 TCGA 数据库 (<http://www.tcg.org>) 下载了 13 个正常和 127 个人舌癌标本的 RNA-seq 数据。TCGA 中正常和舌癌标本的 mRNAsi 分别从以前的研究下载,并从同一数据库中检索了 132 例患者的临床数据,包括性别、年龄、分级、TNM 分期、病理分期、生存时间和生命状态。使用

Perl 语言的合并脚本将每个样本的 RNA-seq 数据合并到一个矩阵文件中。为了将基因名称从 Ensembl ID 更改为基因符号,在矩阵配置文件中使用了 Ensembl 数据库。

1.2 mRNAsi 的表达与临床相关分析 R 中的“beeswarm”包用于比较舌癌组织与非癌组织中的 mRNAsi 指数以及临床相关性分析,包括性别、年龄、分级、TNM 分期。因 TCGA 数据库提供的舌癌患者资料中,远处转移的患者只有 1 例,故在本研究中没有对舌癌患者的 M 分期进行单因素 Cox 回归分析。“survminer”和“survival”包用于绘制 mRNAsi 相关的“Kaplan-Meier”生存曲线。通过“limma”包对从 TCGA 数据库下载的舌癌患者数据进行差异表达分析,鉴定肿瘤和正常组织之间的差异基因,错误发现率 ( $FDR < 0.05$ ,  $P < 0.05$  和  $|\log_2 FC| > 1$ )。选择符合标准的差异基因进行进一步分析,分别使用“pheatmap”和“limma”包绘制热图和火山图。

1.3 WGCNA 分析筛选关键基因 使用 WGCNA 进行聚类,并通过 R 软件绘制与 mRNAsi 和模块一性状相关性。本节使用的 R 包为“matrixStats”、“Hmisc”、“foreach”、“doParallel”、“fastcluster”、“dynamicTreeCut”、“survival”和“WGCNA”。首先删除了正常数据集和检查并删除缺失值,然后删除离散样品,根据样本的基因表达水平进行聚类。根据基因间的 Pearson 相关系数选择幂值构建无尺度网络,考虑相关系数  $R^2$  在无尺度网络拟合过程和无标度网络模型中的平均连通性中,选择 5 作为幂值。根据幂值构建基因之间的距离矩阵并聚类,动态剪切模块确定最小 50 个基因,计算模块之间的相关性并合并相似度高的模块。选择 mRNAsi 相关性最高的一个模块,将这个模块和 mRNAsi 相关并过滤出关键基因。

1.4 关键基因表达情况 计算模块的显著性并确定关键模块,再利用 R 中的“pheatmap”和“ggpubr”包用于绘制关键基因表达情况的箱形图以及热图。最后利用在线数据库 STRING 对关键基因行蛋白质相互作用(PPI)网络构建并对结果进行可视化,根据计算的结果绘制 PPI 网络中相邻节点图,选择相邻节点数最

多的作为关键基因。

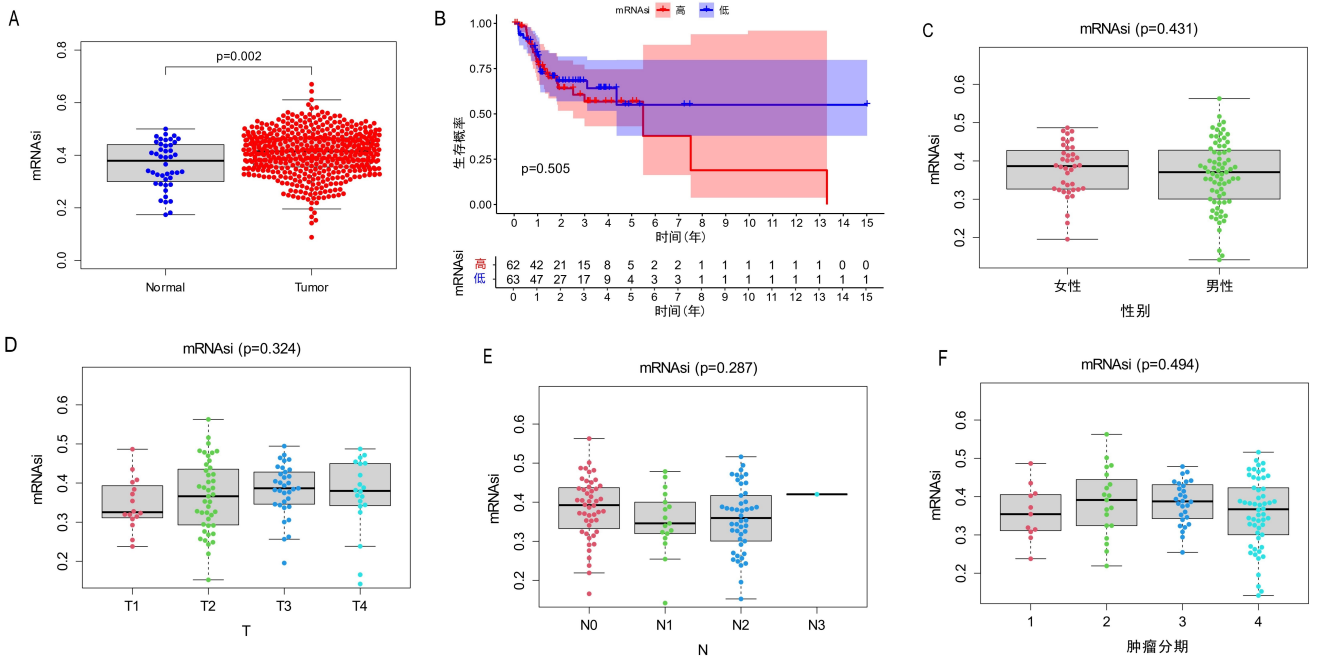
1.5 功能注释和通路富集分析 为了探究 mRNA<sub>si</sub> 的生物学功能,利用 GO 和 KEGG 数据库,这两个数据库含有每个基因相关的功能信息,而富集分析就是一个把这些功能进行整合计算的算法。GO 分析可以了解基因在机体内的功能,主要从细胞组分 (cellular component)、分子功能 (molecular function)、生物过程 (biological process) 这 3 个方面。KEGG 分析可以知道基因参与了哪些信号通路。因此对 TCGA 数据库中的资料继续进一步分析。R 包“org. Hs. eg. db”用于基因注释,映射具有 Ensemble ID 的关键基因。“clusterProfiler”包、“enrichplot”包、“ggplot2”包进行 GO 功能注释和 KEGG 分析,以探索和确定每个关键基因的潜在生物学功能。条形图是使用 R 软件绘制的,以显示最直观的结果。

1.6 统计学方法 使用 R 软件完成分析;应用 Wilcoxon 检验来评估舌癌样本和正常样本之间 mRNA<sub>si</sub> 评分的差异;使用 Kaplan-Meier 分析和对数秩检验分析

低与高风险评分患者的总生存率差异;选择 Kruskal-Wallis 检验来检查风险评分与临床病理学特征的相关性;基于 COX 比例风险模型进行单变量和多变量分析;所有数据集的合并都是使用 Perl 语言的合并脚本执行的,统计学显著性设定为  $P < 0.05$ 。

### 2 结果

2.1 舌癌组织与正常组织之间的 mRNA<sub>si</sub> 差异以及 mRNA<sub>si</sub> 的临床相关性 mRNA<sub>si</sub> 表示肿瘤细胞和干细胞的相似程度,可以量化癌症干细胞。在图 1A 中可以看出,与正常样本相比,舌癌样本的 mRNA<sub>si</sub> 升高 ( $P < 0.05$ )。在生存分析中,观察到 mRNA<sub>si</sub> 评分高的患者比 mRNA<sub>si</sub> 评分低的患者总体生存更差 ( $P < 0.05$ ),见图 1B。在临床特征方面,123 例舌癌患者分别按性别、TNM 分期、肿瘤分期、组织病理学类型进行分类,其中 mRNA<sub>si</sub> 与性别、T、N 以及阶段无关,仅仅随着肿瘤分期的改善而呈下降趋势(见图 1C~图 1F),所有的单因素 COX 分析结果表明,上述分析结果均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。



注:A. 正常舌组织和舌癌组织 mRNA<sub>si</sub> 的差异; B. 舌癌病例 Kaplan-Meier 生存曲线; C. 舌癌病例性别的 mRNA<sub>si</sub> 分布; D. 舌癌病例 T 分期的 mRNA<sub>si</sub> 分布; E. 舌癌病例 N 分期的 mRNA<sub>si</sub> 分布; F. 舌癌病例肿瘤分期的 mRNA<sub>si</sub> 分布。

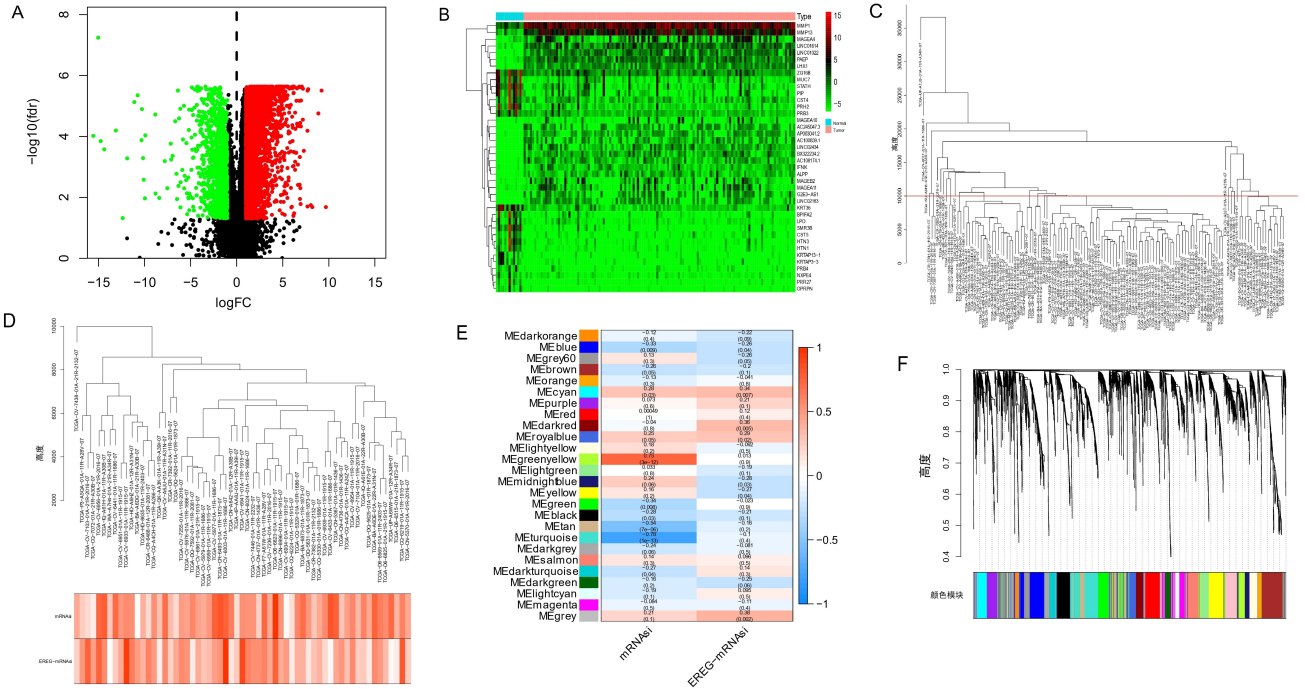
图 1 mRNA<sub>si</sub> 表达差异以及 mRNA<sub>si</sub> 的临床相关性

2.2 筛选舌癌中的差异基因和干性相关模块 为了更有针对性地构建舌癌的基因共表达网络,首先在 13 例正常病例和 127 例舌癌病例的数据集中筛选出差异基因。共筛选出 4 329 个差异基因(见图 2A),其中上调 3 282 个,下调 1 047 个,提取了上调和下调的前 20 个差异基因,并将其展示为热图(见图 2B)。然后对过滤的差异基因进行 WGCNA 共表达网络分析。首先

删除正常样品以消除干扰(见图 2C),再对现有样品进行聚类后再此删除一批离散程度较高的样品(见图 2D),接下来再次对样品进行聚类并对用 mRNA<sub>si</sub> 对其干性进行评分,并利用热图进行展现,准备这些样品是为了后续与基因进行性状相关性分析。由于无尺度网络遵循幂律,考虑到相关系数  $R^2$  在无标度网络拟合过程和无标度网络模型中的连通性,选取 5 作为幂值。

使用幂值,计算出基因之间的相关性,并得出距离矩阵,将差异基因聚类为基因树,并将树动态剪切成最小为 50 个基因的模块并用不同的颜色进行标注(见图 2E)。此外,本研究还计算了模块的相似度然后合并相似度高(临界值 = 0.25)的模块,对这些模块与 mR-

NA<sub>Si</sub> 进行了相关性分析,并用热图展现(见图 2F),可以看出 MEgreenyellow 模块与 mR<sub>NA</sub><sub>Si</sub> 最显著相关。此外,MEturquoise 模块与 mR<sub>NA</sub><sub>Si</sub> 呈现出相对较高的负相关性,因此,选择 MEgreenyellow 模块作为本研究最感兴趣的模块,并使用该模块进行后续分析。

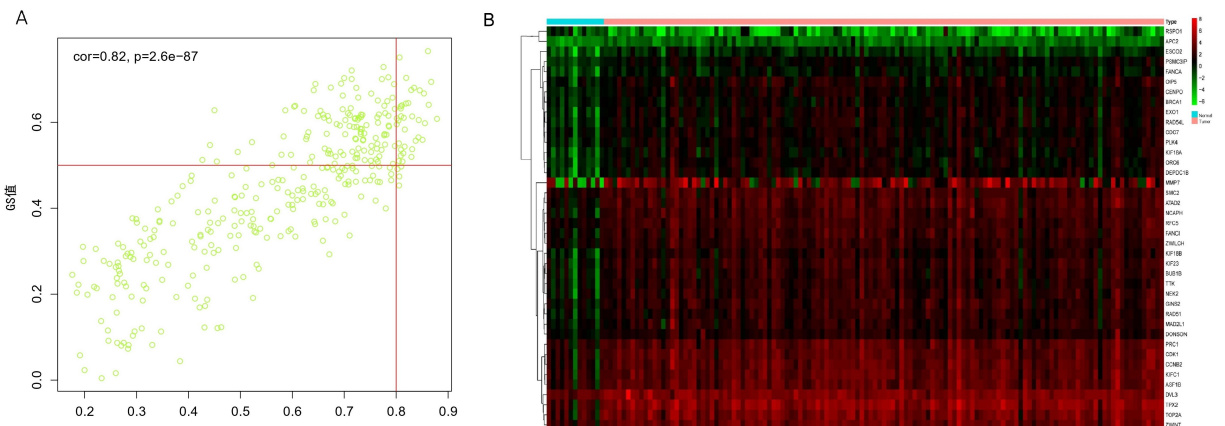


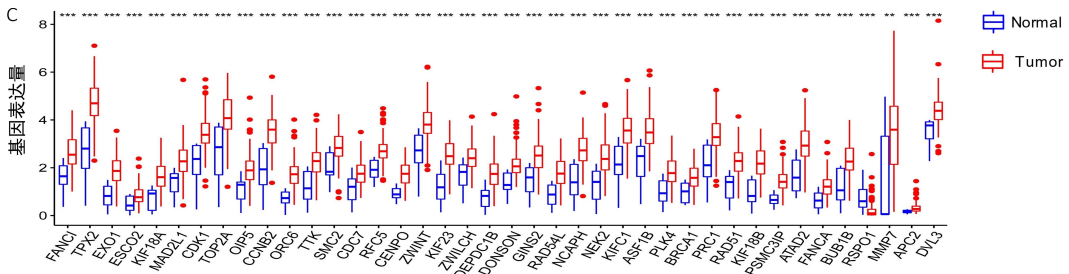
注:A.舌癌病例中 4 329 个差异表达基因火山图;B.差异表达基因前 20 名热图;C.样本聚类树分析图,去除大于 10 000 离群样本;D.样本 mRNA<sub>Si</sub> 热图;E.基因模块与临床特征之间的相关性热图;F.22 个基因模块聚类树状。

图 2 舌癌中的差异基因和干性相关模块

2.3 提取关键基因及共表达分析 MEgreenyellow 模块共有 354 个基因。用模块成员(MM)分数代表基因与其模块的相关性,基因显著性(GS)分数代表基因与 mR<sub>NA</sub><sub>Si</sub> 的相关性。为了进一步缩小关键基因的范围,本研究按照两个标准筛选每个基因:MM > 0.8 和 GS > 0.5, 以此得出了 40 个基因,对其进行共表达

可视化(见图 3A、图 3B)。用热图和箱线图显示这些关键基因在舌癌样本和正常组织样本中的不同表达(见图 3C)。MEgreenyellow 模块正相关基因除了 RSPO1 外均在肿瘤组织中表达上调 ( $P < 0.05$ ),而 RSPO1 在肿瘤组织中下调 ( $P < 0.05$ )。



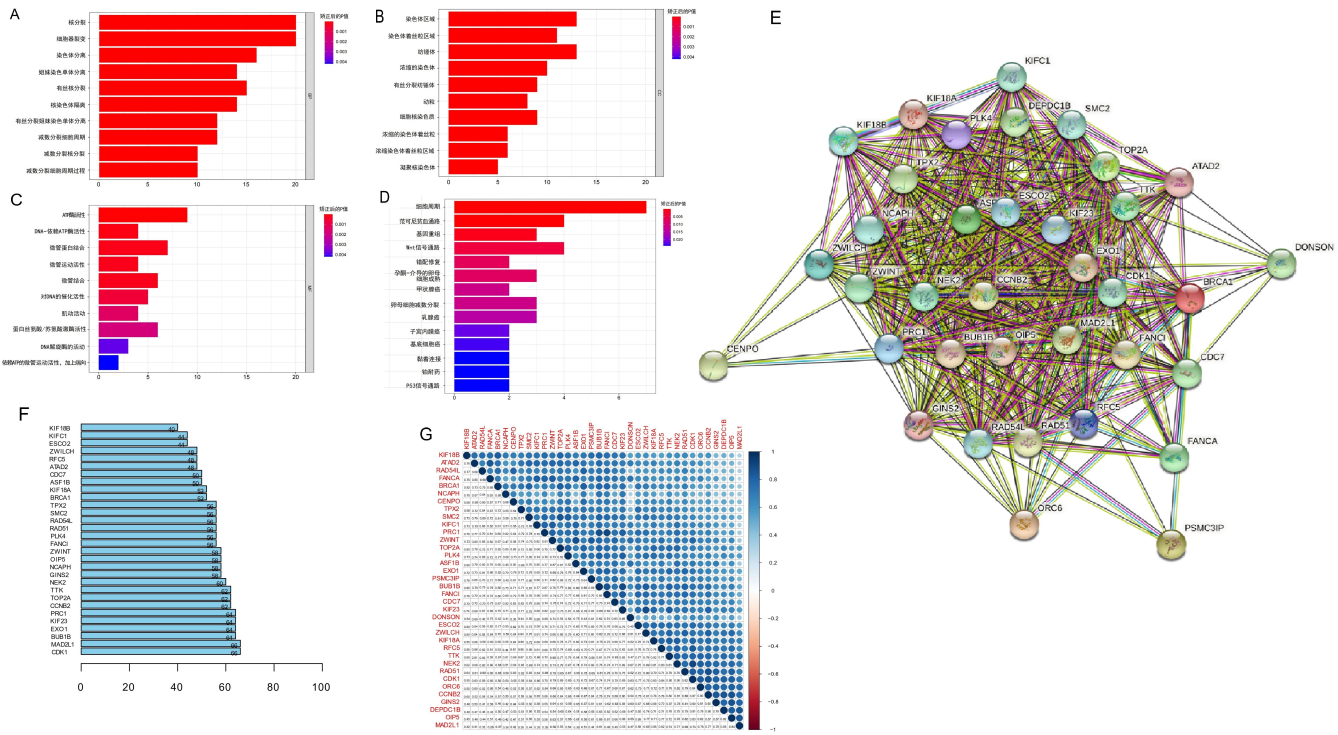


注:A. 基因显著性(GS)分数与基因显著性(GS)分数进一步筛选关键基因;B. 关键基因在舌癌病例中表达热图;C. 关键基因在舌癌病例中表达箱线图。

图 3 关键基因的表达

2.4 关键基因的 GO/KEGG 富集分析和关键基因 PPI 网络可视化 GO 富集分析包括以下 3 个部分:生物过程、细胞成分和分子功能。关键基因的主要生物学作用(排名第一)是核分裂和细胞器裂变,细胞组分是染色体区域和纺锤体和,而分子功能是 ATP 酶活性和微管蛋白结合(见图 4A~图 4C)。关键基因参与的 KEGG 富集通路主要包括细胞周期、范可尼贫血通路和 Wnt 通路等(见图 4D)。这些生物学作用以及通路

进一步表明 40 个关键基因在舌癌干细胞中发挥了重要作用。除了 RSP01、MMP7、APC2H 和 DVL3,剩下的 36 个关键基因均参与了 PPI 网络的构建,利用 R 语言对其进行可视化(见图 4E),并选取与周围蛋白互作关系最密切的、具有更多邻接节点数的绘制柱状图(见图 4F)。此外还绘制了热图表达这 36 个关键基因的相关性(见图 4G)。



注:A. 关键基因 GO 分析的生物学过程; B. 关键基因 GO 分析的细胞组分; C. 关键基因 GO 分析的分子功能; D. 关键基因 KEGG 通路分析; E. 关键基因 PPI 网络; F. 关键基因 PPI 网络直方图,纵坐标为基因名,横坐标为邻接节点数; G. 关键基因上下基因相关性热图。

图 4 功能注释和通路富集

### 3 讨论

大多数舌癌患者因其发病部位的隐蔽性导致确诊时已经是晚期,常有较高的复发率和或转移率,造成患

者的预后不佳,临床上对其的治疗方法常采取手术扩大切除和或放/化疗,往往存在许多并发症,如术后的功能性残疾或美容缺陷,切除不彻底时容易复发,而化

疗容易导致吞咽功能障碍、耳毒性、神经毒性、肾毒性。对癌症的治疗目的是延长生命,同时保持生活质量,这意味着需要探索新的治疗以及提高癌症的早期检测率以延长患者的生命和提高患者的生活质量。随着生物信息学技术的发展,通过挖掘数据库中的相关基因逐渐成为改善恶性肿瘤治疗方案的重要步骤,WGCNA 全程为加权基因相关性网络分析,它作为一种常用的生信分析方法,可以鉴定数据库中所提供的癌症患者的共表达的基因集合,它已经成功用于肿瘤、小鼠遗传学、酵母细胞学等方面的研究,并取得了一定的成果<sup>[7]</sup>。研究表明,肿瘤干细胞驱动了包括舌癌在内的大部分癌症的生长<sup>[8]</sup>。本研究主要着力于生物信息学对 TCGA 来源的数据集(包含了 13 例正常样本、123 例舌癌样本以及 132 例患者的临床信息)进行分析,从而筛选出干性最相关的关键基因,并利用这些基因对 ERN 条件以及候选利基因子进行初步验证。

首先,本课题组分析了舌癌中临床病理特征与 mRNAsi 之间的关系,与正常样本相比,舌癌样本具有更高的干性指数。而生存分析发现,mRNAsi 高的舌癌患者比 mRNAsi 低的舌癌患者总体生存率更差,这可能意味 mRNAsi 高往往代表着患者的不良预后。此外,就临床特征而言,mRNAsi 与性别、TNM 分期和肿瘤级别以及分期无关,总体而言却呈现一个正比上升的趋势。mRNAsi 相关基因可能在舌癌患者的发生发展和预后中发挥非常重要的作用。

在 13 例正常病例和 127 例肺舌癌病例的数据集中共筛选出 4 329 个差异基因,其中上调基因 3 282 个,下调基因 1 047 个。可以看出 MMP1、MMP13、MAGEA4、LINC01614、LINC01322、PAEP、LHX1 等基因在上调基因里排名最高。基质金属蛋白酶家族因需要金属辅助因子而得名,主要功能是降解基质中的蛋白质,这一特性在肿瘤中被用于摧毁防止肿瘤侵袭的组织屏障<sup>[9-10]</sup>。结果表明 MMP1、MMP13 在舌癌中高表达且十分显著,它们可能在舌癌的高侵袭性以及高转移性中起到了重要的作用,这一结论与已有的研究结果一致<sup>[11]</sup>,但可能需要更多的研究来阐明它们的机制。MAGEA4 是属于黑色素瘤抗原基因 A 家族的基因,癌症患者可对其产生免疫反应<sup>[12]</sup>,这将有助于开发癌症靶向免疫疗法药物。遗憾的是,在舌癌中 MAGEA4 仍然属于盲区,包括 LINC01614、LINC01322、PAEP、LHX1,目前没有研究证明其在转录水平以及翻译水平的变化,这些可能是一个很好的研究方向。此外,LHX1 被认为与细胞的定位以及定向迁移有关<sup>[13]</sup>。

本课题组对这些差异基因通过 WGCNA 进行了样品以及基因的模块化分析,WGCNA 是一种通过将

基因表达数据转换为共表达模块来分析基因和表型之间复杂相关性的工具<sup>[14]</sup>。通过 WGCNA 可以将样品和基因通过相似度进行聚类分成不同的模块,将模块与样品性状相关联,在这里性状指的就是 mRNAsi。通过 GS 和 MM 进一步的筛选,得出 40 个基因,它们在肿瘤组织中除了 RSPO1 外均呈高表达与 mRNAsi 协调一致,这也初步证明了它们的干性特征<sup>[15-16]</sup>。进一步对它们进行功能注释和富集发现,40 个关键基因的主要生物学作用是核分裂和细胞器裂变,而主要的分子功能是 ATP 酶活性和微管蛋白结合。关于信号通路富集,富集的通路主要包括细胞周期、范可尼贫血通路和 Wnt 信号通路。Wnt 信号通路、裂变以及细胞周期毋庸置疑地都参与了干性研究,有研究表明,其通过 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号传导调节舌鳞状细胞癌的生长、迁移和侵袭、上皮间质转化和干细胞样特性,而微管蛋白也有研究表明与干性特性有关<sup>[17-19]</sup>。对于范可尼贫血通路,它的突变将会引起范可尼贫血症,这类患者易于患上癌症。因为范可尼贫血通路蛋白主要是保护基因组的稳定性,通过同源重组最大限度地修复 DNA 损伤,协调 DNA 复制并微调有丝分裂检查点,以确保细胞分裂过程中无错误的染色体分离<sup>[18]</sup>。研究表明<sup>[20]</sup>,未接受造血干细胞移植治疗的范可尼贫血患者口腔白斑发生率较高,而白斑是口腔癌的癌前病变,这说明范可尼贫血通路可能与口腔癌的发生密切相关。此外,有研究发现,相对于普通肿瘤细胞而言,富含范可尼贫血基因的肿瘤细胞在小鼠体内异种移植中具有更高的肿瘤球形成能力,而且其含有更大比例的具有癌干表型的肿瘤细胞<sup>[18]</sup>。这些证据均进一步证实了这 40 个基因干性相关方面的可靠性。

综上所述,本研究结果表明舌癌患者的 mRNAsi 高评分可能预示着预后不良,通过筛选和分析 40 个舌癌干性相关的关键基因的功能发现它们在舌癌的发生与发展中起着重要的作用,有可能作为舌癌治疗的靶点,但以上的结果还停留在生物信息学分析得出的结论,因此还需要通过实验进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] PADERNO A, MORELLO R, PIAZZA C. Tongue carcinoma in young adults: a review of the literature[J]. Acta Otorhinolaryngol Ital, 2018, 38(3): 175-180.
- [2] 凌小芳,姚金光. 舌癌复发转移相关机制的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(2): 284-288.
- [3] MARTINS-NEVES S R, CLETON-JANSEN A M, GOMES C. Therapy-induced enrichment of cancer stem-like cells in solid human tumors: where do we stand? [J]. Pharmacol Res, 2018, 137: 193-204.
- [4] OUZOUNIS C A, VALENCIA A. Early bioinformatics:

- the birth of a discipline—a personal view[J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(17): 2176-2190.
- [5] GAUTHIER J, VINCENT A T, CHARETTE S J, et al. A brief history of bioinformatics[J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(6): 1981-1996.
- [6] OLIVER G R, HART S N, KLEE E W. Bioinformatics for clinical next generation sequencing[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(1): 124-135.
- [7] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [8] HUBERT C G, RIVERA M, SPANGLER L C, et al. A three-dimensional organoid culture system derived from human glioblastomas recapitulates the hypoxic gradients and cancer stem cell heterogeneity of tumors found in vivo[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2465-2477.
- [9] BASSIOUNI W, ALI M A M, SCHULZ R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease[J]. *FEBS J*, 2021, 288(24): 7162-7182.
- [10] ZHOU Z H, MA X C, WANG F M, et al. A matrix metalloproteinase-1 polymorphism, *MMP1-1607 (1G>2G)*, is associated with increased cancer risk: a meta-analysis including 21,327 patients[J]. *Dis Markers*, 2018, 2018: 7565834.
- [11] CULHACI N, METIN K, COPCU E, et al. Elevated expression of MMP-13 and TIMP-1 in head and neck squamous cell carcinomas may reflect increased tumor invasiveness[J]. *BMC Cancer*, 2004, 4: 42.
- [12] OUNAP K, KURG K, VOSA L, et al. Antibody response against cancer-testis antigens MAGEA4 and MAGEA10 in patients with melanoma[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 211-218.
- [13] SYMMANK J, GÖLLING V, GERSTMANN K, et al. The transcription factor LHX1 regulates the survival and directed migration of POA-derived cortical interneurons[J]. *Cereb Cortex*, 2019, 29(4): 1644-1658.
- [14] ZHAO W, LANGFELDER P, FULLER T, et al. Weighted gene coexpression network analysis: state of the art[J]. *J Biopharm Stat*, 2010, 20(2): 281-300.
- [15] NALEPA G, CLAPP D W. Fanconi anaemia and cancer: an intricate relationship[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(3): 168-185.
- [16] NAGANO K. R-spondin signaling as a pivotal regulator of tissue development and homeostasis[J]. *Jpn Dent Sci Rev*, 2019, 55(1): 80-87.
- [17] WANG Y L, ZHOU Y, ZHENG Z N, et al. Sulforaphane metabolites reduce resistance to paclitaxel via microtubule disruption[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1134.
- [18] ZHANG Y T, TSENG J T C, LIEN I C, et al. mRNA<sub>si</sub> index: machine learning in mining lung adenocarcinoma stem cell biomarkers[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(3): 257.
- [19] AL-SAMADI A, SALO T. Understanding the role of the R-spondin 2-LGR4 system in tongue squamous cell carcinoma progression[J]. *EBioMedicine*, 2019, 44: 8-9.
- [20] GREIN C L, LYKO K F, ARAUJO R L F, et al. Oral leukoplakia in patients with Fanconi anaemia without hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62(6): 1024-1026.

收稿日期: 2022-10-22; 修回日期: 2022-11-27