

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.02.038

• 生物信息学 •

宫颈癌差异表达基因筛选及功能分析*

王会平 邵赵伟 李锐成 刘 冲 董 轲 张惠中 顾炳权[△]

(空军军医大学第二附属医院检验科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:筛选参与宫颈癌发生、发展的关键基因,为临床诊疗提供新的靶点。**方法:**在 NCBI-GEO 数据库中筛选多组宫颈癌基因表达检测数据集,利用 GEO2R 分析工具筛选各组数据集的差异表达基因;应用 R 分析筛选不同数据集之间共有的差异表达基因;利用 DAVID 在线分析对差异表达基因进行功能聚类 and 通路分析;利用 STRING 分析差异表达基因编码蛋白之间的相互作用关系。**结果:**共选择 6 组表达数据集,筛选得到 59 个差异表达基因(宫颈癌组织 vs 正常组织),表达差异至少达 2 倍,其中包含 50 个表达上调基因及 9 个表达下调基因。这些差异表达基因参与细胞周期、DNA 复制、细胞分裂等生物进程。蛋白互作分析表明,这些差异表达基因多数存在相互作用。**结论:**利用生物信息学方法对不同来源的基因检测数据进行整合分析,有助于更准确的筛选对宫颈癌发生、发展过程具有重要作用的关键基因,本文筛选的宫颈癌差异基因为进一步研究宫颈癌发生、发展的分子机制及临床诊疗提供思路。

关键词:宫颈癌;差异表达;基因功能;通路

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)02-379-06

Screening of Differential Expressed Genes in Cervical Cancer and Functional Analysis*

WANG Hui-ping, GAO Zhao-wei, LI Rui-cheng, LIU Chong, DONG Ke, ZHANG Hui-zhong, GU Bing-quan[△]

(Department of Clinical Laboratories, The Second Affiliated Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To screen the key genes which contribute to cervical cancer progression, and provide novel potential target for clinical diagnosis and therapy. **Methods:** GEO datasets of cervical cancer were obtained from NCBI-GEO database. GEO2R was used to screen the genes with increased and decreased expression level in cervical cancer tissues. R was used to identify the common genes between different GEO datasets. DAVID was used to analyze gene ontology and pathway for these genes. STRING was used to analyze the interaction of proteins which is encoding by these genes. **Results:** 59 common genes were indentified from 6 GEO datasets, which contained 50 genes with increased expression level and 9 genes with decreased expression level in cervical cancer tissues. These genes were found to be involved in cell cycle, DNA replication, cell division processes. Protein - protein interaction reveals the network between these genes. **Conclusion:** Bioinformatics analysis can be used to effective screen cancer related genes. These candidate genes in our data would be helpful in disclosing the molecular mechanism of cervical cancers, and also, helpful for clinical diagnosis and treatment.

Key words: Cervical cancer; Expression changed; Gene function; Pathway

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)02-379-06

前言

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤之一^[1],全球发病率和死亡率居女性恶性肿瘤的第四位^[2],且发病年龄趋于年轻化^[3]。恶性肿瘤的发生、发展是一个多分子参与且复杂的生物学过程,众多的肿瘤相关基因在此过程中发生突变^[4,5]、扩增^[6-8]、过表达^[9]或表达下调^[10,11]等变化。通过比较分析宫颈癌组织和正常对照组织

中的基因差异,可以筛选出参与宫颈癌发生、发展的基因。然而,由于肿瘤异质性、样本数量和检测技术的差异,不同的研究报道所得到差异基因具有很大的不同。因此,通过将多组检测数据进行整合分析,筛选出其中共有的差异基因,可以更准确的寻找出在宫颈癌发生、发展过程中发挥关键作用的基因。本文对多组 NCBI-GEO 数据库中的宫颈癌表达数据进行了分析,筛选出与宫颈癌发生、发展相关的关键基因,为进一步的分

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81702732)

作者简介:王会平(1985-),硕士研究生,主管技师,主要研究方向:恶性肿瘤发生、发展机制,

电话:13991923440, E-mail: huiping0419@126.com

[△] 通讯作者:顾炳权(1956-),副主任技师,主要从事临床检验诊断学相关工作, E-mail: 603660825@qq.com

(收稿日期:2019-03-28 接受日期:2019-04-23)

子机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

在 NCBI-GEO 数据库 (NCBI - Gene Expression Omnibus database) 中搜索以宫颈癌为研究对象的基因表达数据, 筛选 2008 年 ~ 2018 年间发表的表达数据集进行分析, 本文共选取了 6 组表达数据集进行分析: GSE9750^[12], GSE7410^[13], GSE63514^[14], GSE67522^[15], GSE39001^[16], GSE52903^[17]。

1.2 方法

1.2.1 差异表达基因筛选 利用 GEO2R 分析工具对每个数据集中差异表达基因进行筛选 (宫颈癌 vs 正常组织), 差异表达基因的筛选参数设置为基因表达水平上调或下调 2 倍 ($\text{LogFC} > 1$ 或 < -1), Student's T 检验 $P < 0.01$ 。然后利用 R 分析语言^[18]对 6 组数据进行整合分析, 筛选出 6 组数据中共有的表达上调基因及表达下调基因。

1.2.2 基因功能分析^[19, 20] 利用 DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) 在线分析工具对筛选出的差异表达基因进行功能注释聚类分类 (Gene ontology, GO) 和通路分析 (KEGG pathway and REACTOME pathway)。分析宫颈癌组织中表达发生显著改变的基因所涉及的主要功

能及信号通路 ($P < 0.01$, $\text{FDR} < 0.05$)。

1.2.3 蛋白互作分析^[21] 利用 String 在线分析 (<https://string-db.org/>) 对差异表达基因的编码蛋白进行互作分析, 分析宫颈癌表达变异基因之间的相互作用 ($P < 0.01$)。

1.3 统计学分析方法

差异基因筛选利用 Student's t 双尾检验 ($P < 0.01$), 且基因表达水平差异超过 2 倍 (即 $\text{LogFC} > 1$ 或 < -1)。基因功能和蛋白互作分析是将筛选出的差异基因列表分别输入 DAVID 数据库和 String 数据库中, 利用数据库默认的统计学方法计算 P 值, $P < 0.01$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌中表达变异的基因分析

选择 NCBI-GEO 数据库中的 6 组表达数据 (GSE9750、GSE7410、GSE63514、GSE67522、GSE39001、GSE52903), 共包含 219 例宫颈癌组织和 104 例正常对照组织。筛选出各组数据中表达差异达 2 倍以上的基因 ($P < 0.01$, $\text{LogFC} \geq 1$ 或 ≤ -1), 数据的基本信息如表 1 所示。然后筛选 6 组数据中共有的差异表达基因, 共 59 个, 其中包含上调基因 50 个, 下调基因 9 个 (表 2)。

表 1 数据集基本信息

Table 1 Information of GEO datasets

GEO ID	The number of tumor samples	The number of normal samples	The number of up-regulated genes in cervical cancer	The number of down-regulated genes in cervical cancer
GSE9750	33	24	579	1654
GSE7410	40	5	608	1239
GSE63514	28	24	2515	1297
GSE67522	20	22	515	534
GSE39001	43	12	296	268
GSE52903	55	17	366	593

表 2 差异表达基因列表

Table 2 The list of differentially expressed genes

Up-regulated genes	Down-regulated genes
AIM2, BIRC5, BUB1, CCNB2, CDC45, CDK1, CDKN2A, CDKN3, CKS1B, CKS2, CXCL10, CXCL9, EZH2, FEN1, GINS2, GMNN, HMMR, KIF11, KIF15, KIF20A, KIF23, KIF2C, LAMP3, LMNB1, MAD2L1, MCM3, MCM5, MCM6, MMP12, NCAPG, NDC80, NEK2, NUSAP1, PBK, PCNA, PRC1, RACGAP1, RAD51AP1, RFC4, RFC5, RNASEH2A, SMC4, STAT1, STMN1, TIMELESS, TK1, TOP2A, TPX2, TTK, TYMS	ALOX12, CFD, CRNN, CRYAB, EDN3, ENDOU, MAL, PPP1R3C, SLIT2

2.2 差异表达基因功能分析

利用 DAVID 分析将筛选出的 59 个差异表达基因进行功能聚类分析 ($P < 0.01$, $\text{FDR} < 0.05$), 如图 1A 所示, 差异基因主要参与细胞分裂、DNA 复制、核分裂等生物学进程, 主要组成核质、细胞质基质、微管、纺锤体等细胞组分。通过对差异基因进行 KEGG 和 REACTOME 通路分析, 发现 7 条相关通路 (图 1B, 表 3), 主要与细胞周期、DNA 复制、细胞分裂等生物学进程相关, 表明细胞周期、DNA 复制进程的改变在宫颈癌发生、

发展过程中发挥重要作用。

2.3 差异表达蛋白互作分析

利用 STRING 在线分析工具将 59 个差异表达基因编码蛋白进行互作分析。结果显示 (图 2), 在此 59 个差异表达基因编码的蛋白中, 14 个蛋白与其他蛋白无相互作用, 有 45 个蛋白与另外至少一种蛋白存在相互作用, 其中 25 个蛋白至少与其他 5 种蛋白存在相互作用, 此 25 个基因主要参与细胞周期和 DNA 复制相关的信号通路中。此 25 个基因分别为: MCM6,

RFC4, MCM3, PCNA, DC45, MCM5, NCAPG, TOP2A, SMC4, KIF23, BIRC5, CCNB2, KIF20A, RACGP1, KIF2C, NEK2, TTK, PRC1, BUB1, CDK1, NDC80, KIF11, CCNB2, MAD2L1, KIF15。

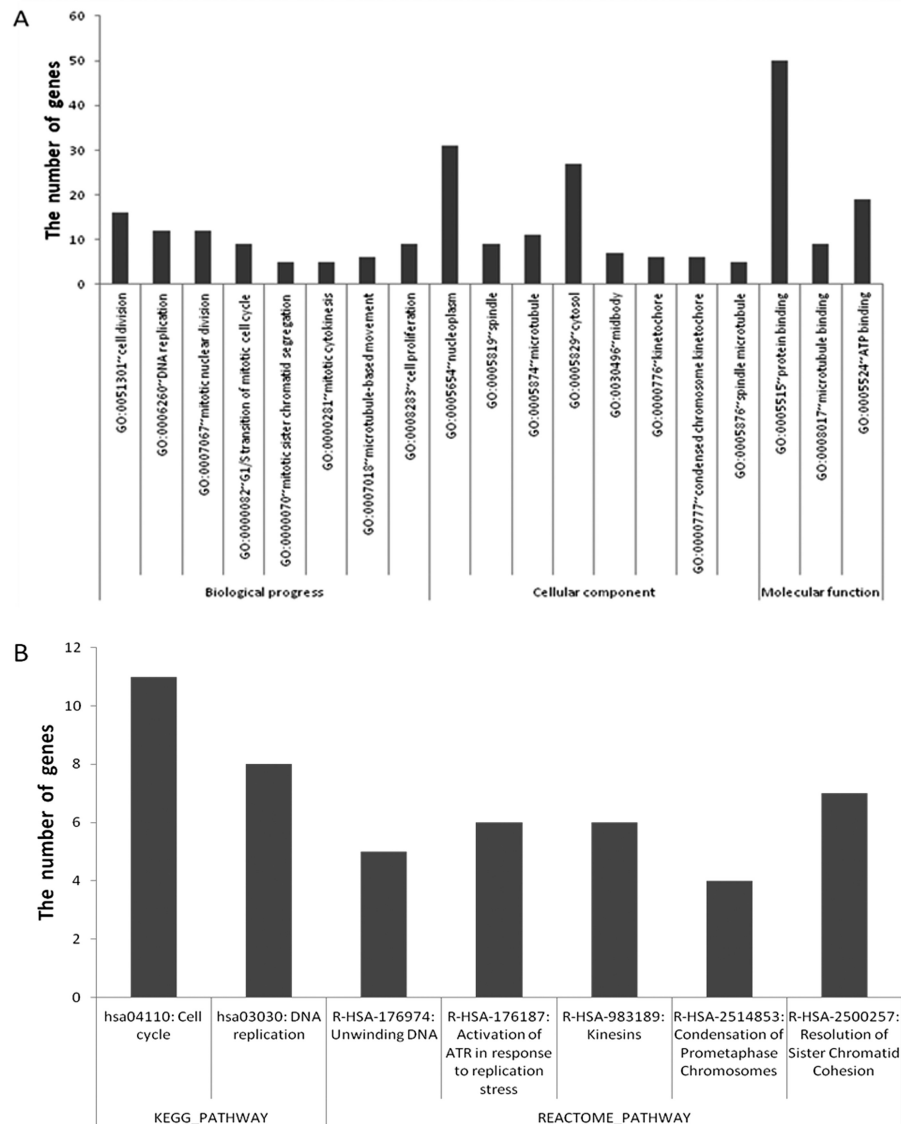


图 1 差异表达基因功能聚类及通路分析

Fig. 1 Function clustering and pathway analysis of differentially expressed genes

表 3 差异表达基因的通路富集分析

Table 3 The significant enriched pathway analysis of differential expressed genes

Pathway	Genes
hsa04110: Cell cycle	CDK1, CDC45, CDKN2A, MAD2L1, CCNB2, PCNA, BUB1, TTK, MCM3, MCM5, MCM6
hsa03030: DNA replication	RFC5, RFC4, PCNA, MCM3, RNASEH2A, MCM5, FEN1, MCM6
R-HSA-176974: Unwinding DNA	GINS2, CDC45, MCM3, MCM5, MCM6
R-HSA-176187: Activation of ATR in response to replication stress	RFC5, CDC45, RFC4, MCM3, MCM5, MCM6
R-HSA-983189: Kinases	KIF23, KIF2C, KIF11, KIF15, RACGAP1, KIF20A
R-HSA-2514853: Condensation of Prometaphase Chromosomes	CDK1, CCNB2, NCAPG, SMC4
R-HSA-2500257: Resolution of Sister Chromatid Cohesion	CDK1, KIF2C, MAD2L1, CCNB2, BUB1, BIRC5, NDC80

3 讨论

宫颈癌是严重威胁女性健康和生命的生殖系统恶性肿瘤，

其发病率仅次于乳腺癌，在妇科恶性肿瘤中排名第二，近年来发病患者趋于年轻化。宫颈癌发生发展的机制目前并不清楚。人乳头瘤病毒(Human Papilloma Virus, HPV)感染，尤其是

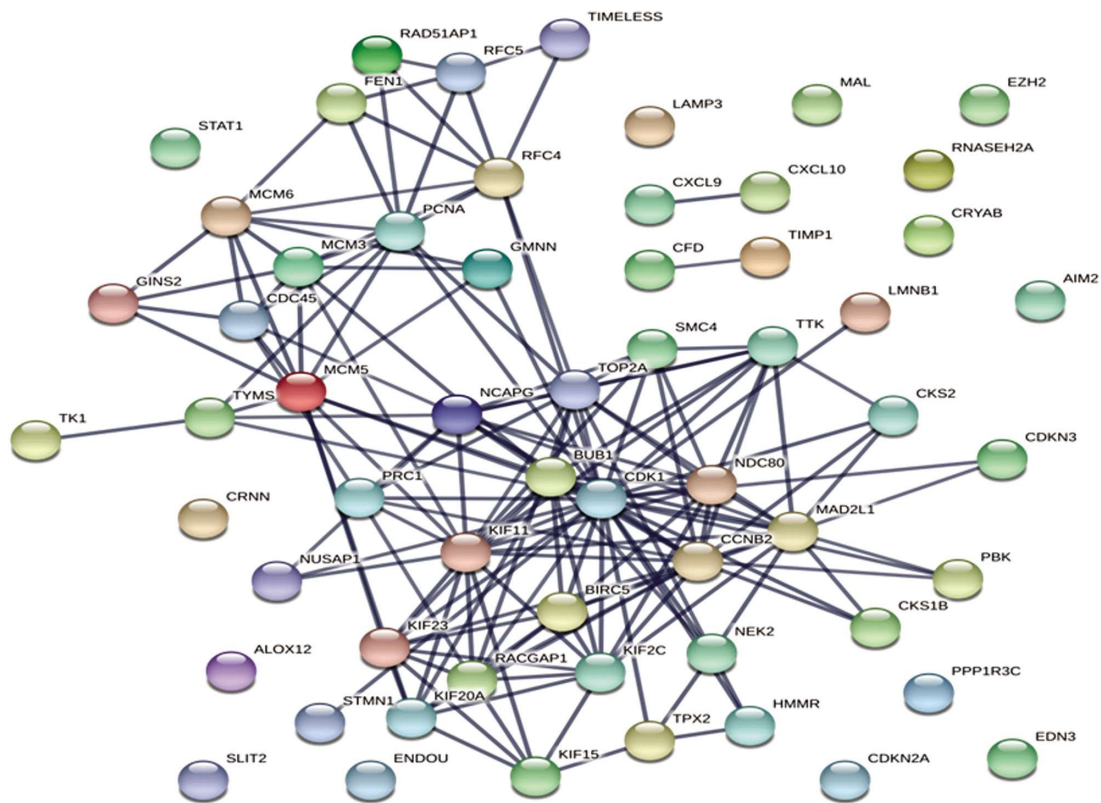


图 2 差异表达基因编码蛋白相互作用网络

Fig. 2 Protein - protein interaction network of differential expressed genes

HPV16 和 18 型的持续感染被认为是宫颈癌发生的重要原因之一, 目前针对 HPV 病毒的疫苗已经获准应用于适龄女性的 HPV 感染预防。然而, HPV 感染并非宫颈癌发生、发展的全部原因, 一方面, HPV 感染并不一定导致宫颈癌, 另一方面, 宫颈癌患者并非全部是 HPV 感染阳性。恶性肿瘤的发生、发展机制复杂, 影响因素众多, 其中, 肿瘤细胞不受控的快速增殖、逃避程序性凋亡、免疫逃逸、增强的迁移能力等均是肿瘤发生、发展的关键, 这其中涉及到多分子、多信号通路的变异。由此可见, 宫颈癌的发生、发展是一个多分子参与的复杂生物学过程, 系统研究宫颈癌发生、发展过程的分子变化, 对于宫颈癌的临床诊断和靶向治疗具有十分重要的意义。

随着高通量基因检测技术的不断发展,大量的宫颈癌临床样本被测序,相关基因的检测数据被报道,其中包括基因突变、基因扩增、表达水平变化等。其中,宫颈癌组织中基因表达水平的变化是一项重要的研究内容。由于肿瘤的高度异质性,不同研究团队所报道的在宫颈癌组织中表达水平发生变化的基因数量和种类有很大的差异。因此,整合分析来源于不同报道基因表达数据集,筛选其中共有的差异表达基因和信号通路,可以发现在宫颈癌发生、发展过程中发挥关键作用的基因和信号通路,从而为宫颈癌的诊断和治疗提供新的靶点及思路。

本文通过对近十年内发表的 6 组基因表达数据集进行整合分析,包含 219 例宫颈组织样本,通过统计学分析,共筛选出 59 个在 6 组基因表达数据集中共有的、表达水平差异达 2 倍以上的基因(宫颈组织 vs 正常组织),其中包括在宫颈组织中表达水平上调的基因 50 个,下调的基因 9 个。此结果提示我们上述 59 个共有差异表达基因在不同宫颈癌患者的发

病、发展过程中发挥共性的关键作用。为了进一步了解宫颈癌发生发展过程中的生物学过程变化,本研究采用 DAVID 对基因功能和信号通路进行了富集分析。结果显示,表达差异基因与细胞周期(hsa04110:Cell cycle)、DNA 复制(hsa03030:DNA replication)、DNA 解旋(R-HSA-176974:Unwinding DNA)等生物学过程密切相关。

细胞周期、DNA 复制调控的紊乱是肿瘤发生的重要因素。本研究发现,参与细胞周期调控、DNA 复制的相关基因 CDK1, CDC45, CDKN2A, MAD2L1, CCNB2, PCNA, BUB1, TTK, MCM3, MCM5, MCM6, RFC5, RFC4, RNASEH2A, FEN1 在宫颈癌组织中的表达水平发生了显著的变化,表明这些基因表达变化引起的细胞周期、DNA 复制紊乱在宫颈癌发生、发展过程中发挥重要作用。既往研究表明,CDK1(cyclin-dependent kinases1,细胞周期依赖性激酶 1)通过形成 cyclinB1-CDK1 复合物,调控细胞周期 G2/M 期,若细胞 G2/M 期调节失控,可导致在 DNA 复制错误或复制不完全的情况下仍然启动 M 期,导致细胞的恶性增殖,最终发展成为肿瘤。Zhong 等研究人员发现,提升 CDK1 基因表达水平可以促进宫颈癌细胞系 -Hela 的 G2/M 周期转化,并且促进 Hela 细胞的增殖能力^[22]。张冬雅等研究人员利用免疫组化技术检测临床组织标本中的 CDK1 表达水平,结果显示,CDK1 在宫颈上皮不典型增生(CIN)和宫颈鳞癌组织中的表达水平显著高于其在正常宫颈组织中的表达水平^[23]。CDC45(cell division cycle 45)对 DNA 复制的起始和延伸具有调控作用,既往研究报道显示 CDC45 是宫颈癌的致癌基因^[24]。PCNA(Proliferating Cell Nuclear Antigen,增殖细胞核抗原)是一种细胞核蛋白,对细胞增殖的启动具有调控作用,其

表达水平变化可反映细胞内 DNA 合成的状态,可作为评价细胞增殖状况的指标^[25,26]。肿瘤细胞具有旺盛的、不受控的增殖能力,因此 PCNA 表达水平在肿瘤组织细胞中可能发生显著改变。刘东伯等研究人员的实验结果显示,与正常宫颈及 CIN 组织相比,宫颈癌组织中 PCNA 表达水平显著升高,并且 PCNA 表达水平与宫颈癌患者的恶性程度呈现正相关,PCNA 表达的升高程度随宫颈癌分化程度的下降以及 TNM (Tumor Node Metastasis)分期的升高而升高,表明 PCNA 在宫颈癌的发展、浸润、转移过程中发挥了重要作用^[27]。MCM(minichromosome maintenance,微小染色体维系蛋白)基因家族是影响染色体有丝分裂稳定性的主要基因,其编码的 MCM 蛋白家族是一组与启动 DNA 复制密切相关的蛋白质。目前发现 MCM 蛋白家族包括 MCM2、MCM3、MCM4、MCM5、MCM6、MCM7。本文的研究结果显示 MCM3、MCM5、MCM6 在宫颈癌组织中表达显著上调。郭冲等研究人员检测了宫颈炎、CIN、宫颈癌临床组织标本的 MCM5 蛋白表达水平,结果显示,MCM5 蛋白表达水平随着组织病理学分级的升高而逐步提高,差异有统计学意义^[28]。刘丽娜的临床研究结果也显示,随着宫颈病变程度的加重,MCM5 的 mRNA 表达水平逐渐升高(表达:正常宫颈 < CIN < 宫颈癌)。提示我们 MCM5 可用于宫颈癌前病变和宫颈癌的鉴别诊断,对宫颈癌的早诊、早治具有重要价值^[29]。RFC(replication factor C)是一种复合体蛋白,包含 5 个亚基,对 DNA 复制具有重要作用。本文发现,RFC 的两个亚基 RFC4 和 RFC5 表达水平显著上调。Liu 等研究发现,SIX1 基因过表达可以上调 RFC4 及 RFC5 的表达水平,促进 DNA 复制,进而促进宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[30]。由此可见,细胞周期、DNA 复制相关的调控基因在宫颈癌发生、发展过程中具有关键的作用,此类基因有望成为宫颈癌临床诊断的分子标志物和临床治疗的靶点。

此外,本文通过对蛋白互作的分析发现,在 59 个差异表达基因编码蛋白中,45 个基因编码蛋白与其他蛋白存在相互作用,其中 25 个蛋白至少与其他 5 种蛋白存在相互作用,此 25 个基因分别为:MCM6、RFC4、MCM3、PCNA、DC45、MCM5、NCAPG、TOP2A、SMC4、TTK、PRC1、BUB1、CDK1、NDC80、KIF11、CCNB2、MAD2L1、KIF23、BIRC5、CCNB2、KIF20A、RACGP1、KIF2C、NEK2、KIF15,所筛选出的 25 个蛋白主要参与细胞周期、DNA 复制相关的信号通路,提示此 25 个基因在宫颈癌发生发展过程中可能发挥更为核心的调控作用。如在细胞纺锤体组装调控中发挥关键作用的 Nek2,Nek2 在多种恶性肿瘤中高表达^[31],研究显示 NEK2 表达水平的上调与宫颈癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力密切相关^[32]。TOP2A(DNA topoisomerase 2- α)调控 DNA 解螺旋,对 DNA 复制具有重要作用。马菁雯等研究人员发现^[33],宫颈鳞状细胞癌(CSCC)组织中 TOP2A 的蛋白表达明显高于正常宫颈组织, TOP2A 的表达水平与 FIGO 分期以及淋巴结转移呈正相关性。

综上所述,本研究利用生物信息学方法整合分析了宫颈癌基因表达相关数据,筛选出了 59 个在宫颈癌中表达发生显著变化的基因,通过功能分析发现,这些基因主要与细胞周期、DNA 复制的生物学过程相关,表明细胞周期、DNA 复制调控的紊乱是促进宫颈癌发生、发展的重要分子生物学机制。因此

参与细胞周期调控的相关分子,如 TOP2A、CDK1、MCM3 等未来可能成为宫颈癌临床诊断、治疗的分子标志物和作用靶点。

参考文献(References)

- [1] 周晖,白守民,林仲秋.《2018 NCCN 宫颈癌临床实践指南(第一版)》解读[J].中国实用妇科与产科杂志,2017(12): 1255-1261
- [2] Verma J, Monk B J, Wolfson A H. New Strategies for Multimodality Therapy in Treating Locally Advanced Cervix Cancer [J]. Semin Radiat Oncol, 2016, 26(4): 344-348
- [3] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30
- [4] Szafranski P, Herrera C, Proe L A, et al. Narrowing the FOXF1 distant enhancer region on 16q24.1 critical for ACDMPV [J]. Clin Epigenetics, 2016, 8: 112
- [5] Szafranski P, Gambin T, Dharmadhikari A V, et al. Pathogenetics of alveolar capillary dysplasia with misalignment of pulmonary veins[J]. Hum Genet, 2016, 135(5): 569-586
- [6] Qi Y, Zhu Q, Zhang K, et al. Activation of Foxo1 by insulin resistance promotes cardiac dysfunction and beta-myosin heavy chain gene expression[J]. Circ Heart Fail, 2015, 8(1): 198-208
- [7] Johnson S F, Cruz C, Greifengberg A K, et al. CDK12 Inhibition Reverses De Novo and Acquired PARP Inhibitor Resistance in BRCA Wild-Type and Mutated Models of Triple-Negative Breast Cancer[J]. Cell Rep, 2016, 17(9): 2367-2381
- [8] Zhang T, Kwiatkowski N, Olson C M, et al. Covalent targeting of remote cysteine residues to develop CDK12 and CDK13 inhibitors[J]. Nat Chem Biol, 2016, 12(10): 876-884
- [9] Dias D S, Bueloni-Dias F N, Dias R, et al. Usefulness of clinical, ultrasonographic, hysteroscopic, and immunohistochemical parameters in differentiating endometrial polyps from endometrial cancer[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2014, 21(2): 296-302
- [10] Mudduluru G, Abba M, Batliner J, et al. A Systematic Approach to Defining the microRNA Landscape in Metastasis [J]. Cancer Res, 2015, 75(15): 3010-3019
- [11] Robertson E, Perry C, Doherty R, et al. Transcriptomic profiling of Forkhead box transcription factors in adult glioblastoma multiforme [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2015, 12(3): 103-112
- [12] Scotto L, Narayan G, Nandula S V, et al. Identification of copy number gain and overexpressed genes on chromosome arm 20q by an integrative genomic approach in cervical cancer: potential role in progression[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2008, 47(9): 755-765
- [13] Biewenga P, Buist M R, Moerland P D, et al. Gene expression in early stage cervical cancer [J]. Gynecologic Oncology, 2008, 108(3): 520-526
- [14] den Boon J A, Pyeon D, Wang S S, et al. Molecular transitions from papillomavirus infection to cervical precancer and cancer: Role of stromal estrogen receptor signaling [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(25): E3255-E3264
- [15] Sharma S, Roy C R, Ranjan M N, et al. Bridging Links between Long Noncoding RNA HOTAIR and HPV Oncoprotein E7 in Cervical Cancer Pathogenesis[J]. Sci Rep, 2015, 5: 11724
- [16] Espinosa A M, Alfaro A, Roman-Basaure E, et al. Mitosis is a source of potential markers for screening and survival and therapeutic targets in cervical cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55975

- [17] Medina-Martinez I, Barron V, Roman-Bassare E, et al. Impact of gene dosage on gene expression, biological processes and survival in cervical cancer: a genome-wide follow-up study[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97842
- [18] Sipos B, Massingham T, Jordan G E, et al. PhyloSim - Monte Carlo simulation of sequence evolution in the R statistical computing environment[J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12: 104
- [19] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 44-57
- [20] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(1): 1-13
- [21] 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
- [22] Zhong Y, Yang J, Xu W W, et al. KCTD12 promotes tumorigenesis by facilitating CDC25B/CDK1/Aurora A-dependent G2/M transition [J]. Oncogene, 2017, 36(44): 6177-6189
- [23] 张冬雅, 史惠蓉. CyclinB1、CDK1、P27 在宫颈鳞癌组织的表达及其意义[J]. 医药论坛杂志, 2011, 32(16): 50-53
- [24] Zhang Y X, Zhao Y L. Pathogenic Network Analysis Predicts Candidate Genes for Cervical Cancer[J]. Comput Math Methods Med, 2016, 2016: 3186051
- [25] Zhan Z, Li Q, Wu P, et al. Autophagy-mediated HMGB1 release antagonizes apoptosis of gastric cancer cells induced by vincristine via transcriptional regulation of Mcl-1 [J]. Autophagy, 2012, 8(1): 109-121
- [26] 赵雪春. 早期宫颈癌患者外周血中 HtrA1 和 HMGB1 基因的表达及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2015(11): 1602-1605
- [27] 刘东伯, 杨丽, 周洋媚, 等. HMGB1、Notch1、PCNA 在宫颈癌组织的表达及临床意义[J]. 中国计划生育学杂志, 2018(09): 793-797
- [28] 郭冲, 尹格平. MCM5 蛋白和 hTERC 基因检测在预测 CIN 恶性潜能的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(11): 2696-2701
- [29] 刘丽娜, 刘爽, 李瑶, 等. 宫颈癌组织中 MCM5 和 P16~(INK4A) mRNA 的表达及其临床意义 [J]. 现代生物医学进展, 2014(33): 6437-6440
- [30] Liu D, Zhang X X, Xi B X, et al. Sine oculis homeobox homolog 1 promotes DNA replication and cell proliferation in cervical cancer[J]. Int J Oncol, 2014, 45(3): 1232-1240
- [31] Li G, Zhong Y, Shen Q, et al. NEK2 serves as a prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2017, 50(2): 405-413
- [32] 玛伊热·努尔艾合麦提, 宋丹, 彭瑞娟, 等. 细胞增殖相关基因 Nek2 的表达与宫颈癌发生的相关性研究 [J]. 生物技术, 2018(03): 230-235
- [33] 马菁雯, 赵艳. TOP2A 和 VEGF 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及其意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2018(26): 2876-2881

(上接第 348 页)

- [16] Hassan A, Latif MT, Soo CI, et al. Short communication: Diagnosis of lung cancer increases during the annual southeast Asian haze periods[J]. Lung Cancer, 2017, 113: 1-3
- [17] Du Q, Yu R, Wang H, et al. Significance of tumor associated autoantibodies in the early diagnosis of lung cancer [J]. Clinical Respiratory Journal, 2018, 12(2): 2020-2028
- [18] 孙秀丽. 肺部 CT 检查低剂量与常规剂量的对照分析[J]. 医学理论与实践, 2014, 22(6): 799-800
- [19] 郑丹. 超声引导下锁骨上区淋巴结穿刺活检在非小细胞肺癌患者临床分期中的应用价值 [J]. 影像研究与医学应用, 2017, 1(18): 116-117
- [20] Wildeboer RR, Postema AW, Libertario Demi, et al. Multiparametric dynamic contrast-enhanced ultrasound imaging of prostate cancer[J]. European Radiology, 2017, 27(8): 3226-3234
- [21] Pecere S, Holleran G, Ainora ME, et al. Usefulness of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in Inflammatory Bowel Disease (IBD) [J]. Digestive & Liver Disease, 2018: S1590865818306649
- [22] Gong P, Song P, Chen S. Hadamard-encoded multi-pulses for contrast-enhanced ultrasound imaging [C]// Ultrasonics Symposium. 2017
- [23] Zhao CY, Jiang YX, Li J C, et al. Role of Contrast-enhanced Ultrasound in the Evaluation of Inflammatory Arthritis [J]. Chinese Medical Journal, 2017, 130(14): 1722-1730
- [24] 雷志锴, 蒋天安, 楼军, 等. 超声造影在中央型肺癌伴肺不张中的应用价值[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2018, 15(03): 49-53
- [25] 张怡, 毕珂, 汤春红, 等. 超声造影在胸膜下肺结核与肺癌鉴别诊断中的价值[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(10): 13-18
- [26] Zhen L, Shijie N, Shuijun Z. Tumor PHD2 expression is correlated with clinical features and prognosis of patients with HCC receiving liver resection[J]. Medicine, 2014, 93(29): e179
- [27] Kakasheva-Mazhenkovska L, Basheska N, Crvenkova S, et al. Correlation Between Microvessel Density and Morphological Features in Skin Squamous Cell Carcinoma [J]. Prilozi, 2017, 38(1): 63-73
- [28] Cai XJ, Wang Z, Cao JW, et al. Anti-angiogenic and anti-tumor effects of metronomic use of novel liposomal zoledronic acid depletes tumor-associated macrophages in triple negative breast cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(48): 84248-84257
- [29] 顾艳, 周胜利, 袁刚, 等. CT 灌注强化指标和微血管密度与非小细胞肺癌淋巴结转移的相关性 [J]. 放射学实践, 2014, 29(10): 1173-1176
- [30] 许华燕, 庄华, 杨志刚, 等. 超声造影时间信号强度曲线对人肺腺癌裸鼠异位移植瘤微血管生成特点的定量研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2016, 33(2): 332-336