

应用生物信息学方法鉴定食管鳞状细胞癌生物标志物

张玉俊¹, 王岩², 地力亚尔·吾斯曼江¹, 刘广超¹, 聂艳武¹, 朱琳²

1.新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830054; 2.新疆医科大学附属肿瘤医院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: **目的** 采用生物信息学方法鉴定与食管鳞状细胞癌 (ESCC) 相关的生物标志物, 为ESCC诊断和靶向治疗提供依据。**方法** 从GEO数据库筛选并下载基因芯片数据集GSE23400、GSE45670、GSE20347和GSE17351, 使用在线分析工具GEO2R筛选ESCC的差异表达基因 (DEGs), 并采用韦恩图确定4个数据集共同的DEGs。通过DAVID数据库对DEGs进行基因本体论 (GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析; 采用STRING数据库进行蛋白相互作用 (PPI) 分析, 采用Cytoscape软件的MCODE插件识别关键模块; 采用CytoHubba插件筛选连接度最高的关键基因, 并通过UALCAN平台进行表达验证; 采用Kaplan-Meier plotter数据库对关键基因进行生存分析。**结果** 共获得146个共同DEGs, 包括102个上调基因和44个下调基因。GO功能注释分析显示, 共同DEGs主要参与细胞周期过程、有丝分裂后期姐妹染色单体分离和细胞周期调控过程, 存在于纺锤体、中心体细胞组分, 发挥酶结合和腺苷三磷酸 (ATP) 结合的分子功能。KEGG通路分析显示基因显著富集于细胞周期、ECM-受体相互作用和卵母细胞减数分裂。筛选出10个关键基因, 经基因表达水平验证和生存分析, 有7个基因与ESCC预后有关, 分别为CCNB1、CDK1、BUB1B、ZWINT、AURKA、MAD2L1和MCM4, 且均在ESCC组织中表达升高。**结论** 通过生物信息学方法鉴定获得ESCC的7个关键基因, 可作为ESCC潜在生物标志物和治疗靶点。

关键词: 食管鳞状细胞癌; 生物信息学; 生物标志物; 差异表达基因

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 09-0906-08

Identification of biomarkers for esophageal squamous cell carcinoma based on bioinformatics

ZHANG Yujun¹, WANG Yan², Diliyaer Wusimanjiang¹, LIU Guangchao¹, NIE Yanwu¹, ZHU Lin²

1.School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China; 2.Affiliated Cancer Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China

Abstract: Objective To identify biomarkers for esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) using bioinformatics tools, so as to provide insights into diagnosis and targeted therapy of ESCC. **Methods** The gene expression datasets GSE23400, GSE45670, GSE20347 and GSE17351 were screened and downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. Differentially expressed genes (DEGs) of ESCC were screened using the online tool GEO2R, and the common DEGs among the four datasets were determined using Venn diagram. Gene Ontology (GO) annotations and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis were performed using the DAVID database, and protein-protein interaction (PPI) analysis was performed using the STRING database. The key modules were identified using molecular complex detection (MCODE) plugin in the Cytoscape software, and hub genes with the highest connectivity degree were identified using the CytoHubba plugin, and the gene expression was validated on the UALCAN platform. Survival analysis of hub genes was performed using the Kaplan-Meier plotter database. **Results** Totally 146 common DEGs were screened, including 102 up-regulated genes and 44 down-regulated genes. GO annotation analysis showed

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.09.009

基金项目: 省部共建中亚高发成因与防治国家重点实验室开放课题项目 (SKL-HIDCA-2020-ER3, SKL-HIDCA-2020-33); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2021D01C379)

作者简介: 张玉俊, 硕士研究生在读

通信作者: 朱琳, E-mail: 476674539@qq.com

that the common DEGs were mainly enriched in biological processes of cell cycle, sister chromatid separation in the late mitotic phase and cell cycle regulation, enriched in cellular components of spindle and centrosome, and molecular functions of enzyme binding and ATP binding. KEGG pathway analysis showed that DEGs was significantly enriched in cell cycle, extracellular matrix (ECM)-receptor interactions and oocyte meiosis. A total of 10 hub genes were screened, and gene expression validation and survival analysis identified 7 genes associated with prognosis of ESCC, including CCNB1, CDK1, BUB1B, ZWINT, AURKA, MAD2L1 and MCM4, which were all highly expressed in ESCC specimens. **Conclusion** Seven hub genes of ESCC are identified based on bioinformatics, which may serve as biomarkers and therapeutic targets for ESCC.

Keywords: esophageal squamous cell carcinoma; bioinformatic; biomarker; differentially expressed gene

2020年统计数据显示,中国食管癌新发病例和死亡病例分别占全球病例总数的53.70%和55.35%^[1],其中食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)占食管癌患者病理类型的90%以上。大多数ESCC患者在确诊时已处于晚期,治疗效果差,生存率低^[2-3]。研究表明,基因和信号传导通路改变可对ESCC的发生发展产生影响^[4],因此进一步探讨ESCC的分子机制,有助于精准预测ESCC患者的发病和进展,找到治疗的关键靶点。

生物信息学是生物学和信息学相结合的一门学科,在疾病诊断、预后判断和药物筛选等方面起重要作用,已被广泛应用于多种恶性肿瘤生物标志物筛选和疾病诊断^[5-6]。采用生物信息学方法可明确ESCC发生发展过程中的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)并找到用于诊断的生物标志物^[7],但GEO数据库中单个微阵列数据集分析结果

具有较高的假阳性率^[8]。因此,本研究下载了4个基因芯片微阵列数据集,采用生物信息学方法筛选出ESCC组织和正常食管组织间的DEGs,并分析这些DEGs的功能、表达及与预后的关系,鉴定ESCC发生发展过程中的生物标志物,为ESCC诊断和靶向治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 以“esophageal squamous cell carcinoma, Homo”为关键词,检索GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>,截至2022年3月1日)中人ESCC基因芯片表达阵列数据集。纳入标准:(1)同时具备ESCC组织和正常组织标本;(2)全基因组RNA表达谱芯片。筛选获得4个微阵列数据集GSE23400、GSE45670、GSE20347和GSE17351,基本信息见表1。

表1 ESCC数据集基本信息
Table 1 Basic information of ESCC dataset

基因芯片号 Number of dataset	ESCC组织 样本量	正常食管 组织样本量	检测平台信息 Platform information		最后 更新时间
	ESCC tissue samples	Normal sophageal tissue samples			Last update date
GSE23400	53	53	GPL96 [HG-U133A]	Affymetrix Human Genome U133A Array	2019-06-28
GSE45670	28	10	GPL570 [HG-U133_Plus_2]	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	2019-03-25
GSE20347	17	17	GPL571 [HG-U133A_2]	Affymetrix Human Genome U133A 2.0 Array	2018-12-06
GSE17351	5	5	GPL570 [HG-U133_Plus_2]	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	2019-03-25

1.2 方法

1.2.1 DEGs 筛选 采用GEO数据库的在线分析工具GEO2R分析4个数据集,以 $|\log_2$ 差异倍数(fold change, FC) >1 ($\log_2FC > 1$ 为上调DEGs, $\log_2FC < -1$ 为下调DEGs)和调整后 $P < 0.01$ 为条件,筛选ESCC组织与正常食管组织样本的DEGs。采用“ggplot”R包将GEO2R分析结果绘制成火山图,采用韦恩图在线分析工具(<http://bioinformatic.s.psb.>

<http://www.ebi.ac.uk/bioinformatics/psb/venn/>)对4个数据集的DEGs取交集获得共同DEGs。

1.2.2 DEGs 间相互作用分析和关键模块筛选 以medium confidence >0.4 为条件,通过STRING数据库(<http://string-db.org>)进行共同DEGs的蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)分析,了解基因间是否存在相互作用及其密切程度。Cytoscape是用于分子相互作用网络可视化的开放生物信息学分析软

件,其中 MCODE 是一种分子复合物检测插件,可识别相互作用网络中节点连接度最高的基因集合,即关键模块。本研究使用 MCODE 插件筛选 PPI 网络中的关键模块,设置 Degree Cut-off 为 2, Node Score Cut-off 为 0.2, K-Core 为 2, Max Depth 为 100。

1.2.3 DEGs 功能与信号通路分析 通过 DAVID 数据库 (https://david.ncifcrf.gov),以人源基因为背景,采用“enrichGO”和“enrichKEGG”函数对共同 DEGs 和关键模块基因进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路分析,了解 ESCC 组织与正常食管组织间差异富集的功能和通路。GO 功能注释主要包括生物学的 3 个方面:生物过程、细胞成分和分子功能。 $P < 0.05$ 提示富集的功能与通路在 ESCC 组织与正常食管组织间存在差异。

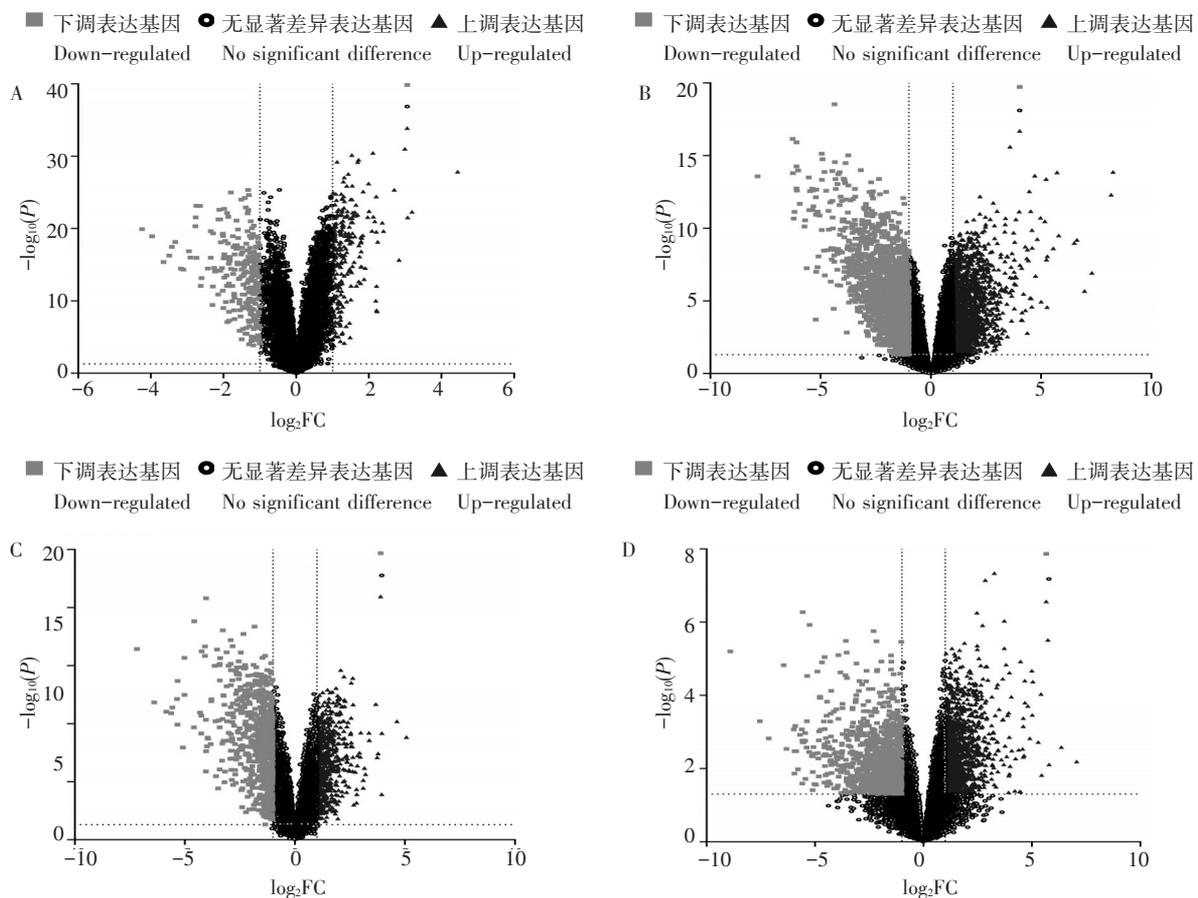
1.2.4 关键基因筛选与 TCGA 数据库表达验证 采用 Cytoscape 软件中 Cytohubba 插件的 MCC 算法,按基因节点连接度筛选出关键模块中连接度最高的基因,即关键基因,其对 ESCC 的发生发展具有重要影响。利用 UALCAN 平台 (http://ualcan.path.uab.edu),挖

掘 TCGA 数据库中 ESCC 组织与正常食管组织中关键基因的表达数据进行表达验证。关键基因 mRNA 相对表达量采用中位数和四分位数间距 [$M(Q_R)$] 描述,组间比较采用 R 4.0.2 软件进行 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.2.5 关键基因生存分析 采用 Kaplan-Meier plotter 数据库 (http://kmplot.com/analysis) 分析关键基因的表达与 ESCC 患者总生存率的关系,采用 log-rank 检验比较关键基因高表达与低表达的患者总生存率差异。

2 结果

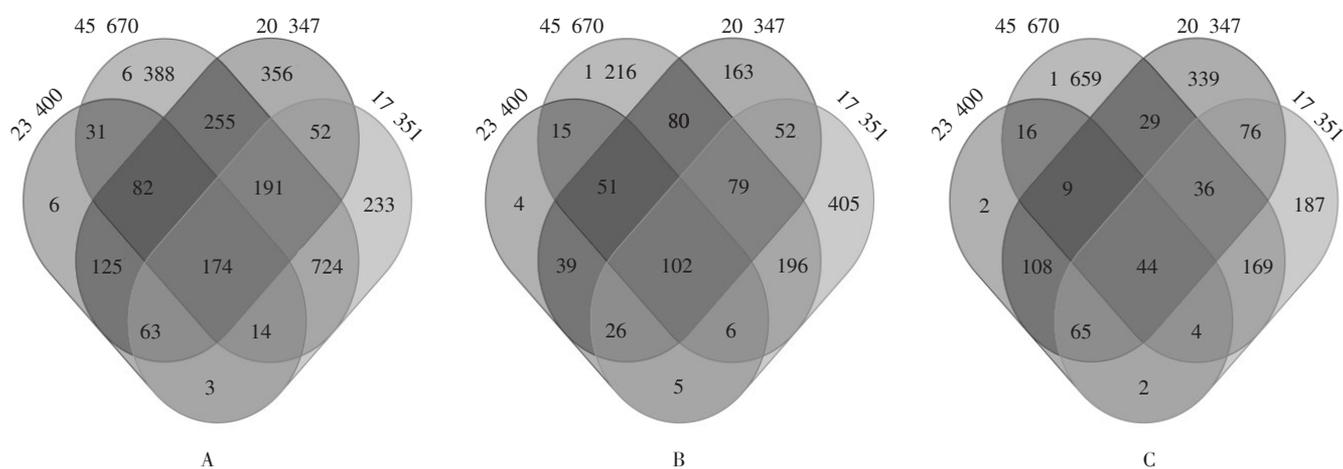
2.1 ESCC 组织与正常食管组织的 DEGs 鉴定 火山图显示,数据集 GSE23400、GSE45670、GSE20347 和 GSE17351 分别含有 498、7 859、1 298、1 454 个 DEGs,见图 1。韦恩图显示,共获得 174 个共同 DEGs,其中 28 个共同 DEGs 在 4 个数据集中的表达水平不一致,为保证筛选基因的准确性予以剔除,最终获得 146 个共同 DEGs,包括 102 个上调基因和 44 个下调基因,见图 2。



注: A为GSE23400; B为GSE45670; C为GSE20347; D为GSE17351。Note: A, GSE23400; B, GSE45670; C, GSE20347; D, GSE17351.

图 1 ESCC 组织与正常食管组织 DEGs 的火山图

Figure 1 Volcano map of DEGs in normal and ESCC tissues



注：A为共同DEGs；B为共同上调DEGs；C为共同下调DEGs。Note: A, common DEGs; B, common up-regulated DEGs; C, common down-regulated DEGs.

图2 ESCC组织与正常食管组织DEGs的韦恩图
Figure 2 Venn diagram of DEGs in normal and ESCC tissues

2.2 DEGs的生物过程和信号通路 GO功能注释分析结果显示，共同DEGs主要参与的生物过程包括细胞周期过程、有丝分裂后期姐妹染色单体分离和细胞周期调控过程；细胞成分主要作为纺锤体、中心体发挥作用；介导的分子功能主要包含调控组蛋白激酶活

性、酶结合、腺苷三磷酸（adenosine triphosphate, ATP）结合和腺苷核苷酸结合等。KEGG通路分析结果显示，共同DEGs主要富集于细胞周期、细胞外基质（extracellular matrix, ECM）-受体相互作用和卵母细胞减数分裂等信号通路。见表2。

表2 共同DEGs的GO功能注释和KEGG通路分析结果
Table 2 GO functional annotation and KEGG pathway analysis results of common DEGs

项目Item	条目Term	特征描述Description	基因数目Count	P值
生物过程 Biological process	GO: 1903047	有丝分裂细胞周期过程 Mitotic cell cycle process	34	<0.001
	GO: 0022402	细胞周期过程 Cell cycle process	39	<0.001
	GO: 0000819	姐妹染色单体分离 Sister chromatid segregation	19	<0.001
	GO: 0010564	细胞周期过程的调节 Regulation of cell cycle process	41	<0.001
	GO: 0098813	核染色体分离 Nuclear chromosome segregation	20	<0.001
细胞成分 Cellular component	GO: 0005819	纺锤体 Spindle	21	<0.001
	GO: 0030496	中体 Midbody	12	<0.001
	GO: 0005694	染色体 Chromosome	25	<0.001
	GO: 0000779	浓缩染色体，着丝粒区域 Condensed chromosome, centromeric region	11	<0.001
	GO: 0098687	染色体区域 Chromosomal region	16	<0.001
分子功能 Molecular function	GO: 0035173	组蛋白激酶活性 Histone kinase activity	5	<0.001
	GO: 0019899	酶结合 Enzyme binding	26	<0.001
	GO: 0005524	ATP结合 ATP binding	22	<0.001
	GO: 0032559	腺苷核糖核苷酸结合 Adenyl ribonucleotide binding	22	<0.001
	GO: 0030554	腺苷酸核苷酸结合 Adenyl nucleotide binding	22	<0.001
KEGG	hsa04110	细胞周期 Cell cycle	11	<0.001
	hsa04512	ECM-受体相互作用 ECM-receptor interaction	7	<0.001
	hsa04114	卵母细胞减数分裂 Oocyte meiosis	7	<0.001
	hsa03030	DNA复制 DNA replication	4	<0.001
	hsa04914	黄体酮介导的卵母细胞成熟 Progesterone-mediated oocyte maturation	5	<0.001

2.3 PPI 网络分析和关键模块构建 PPI 网络包括 110 个节点 (26 个下调基因和 84 个上调基因), 979 条边。关键模块筛选得到 40 个关键基因, 分别为 MAD2L1、MCM2、BUB1、CCNB1、FOX M1、AURKB、KPNA2、GINS1、KIF4A、DTL、KIF14、TTK、CDC20、RAD51AP1、CDK1、PRC1、BUBIB、ATAD2、CKS1B、PBK、NEK2、CDKN3、CENPF、

ZWINT、KIF20A、UBE2C、ECT2、AURKA、CEP55、NUSAP1、TOP2A、KIAA0101、TPX2、MCM4、GMNN、TRIP13、FEN1、FANCI、BIRC5 和 RFC4。GO 功能注释结果显示, 该模块基因主要富集于细胞周期、纺锤体和 ATP 结合等。KEGG 通路分析结果显示, 该模块基因主要富集于细胞周期、卵母细胞减数分裂和黄体酮介导的卵母细胞成熟等。见表 3。

表 3 关键模块 GO 功能注释和 KEGG 通路分析结果

Table 3 GO functional annotation and KEGG pathway analysis results of key modules

项目 Item	条目 Term	特征描述 Description	基因数目 Count	P 值
生物过程 Biological process	GO: 0022402	细胞周期过程 Cell cycle process	34	<0.001
	GO: 0007049	细胞周期 Cell cycle	35	<0.001
	GO: 1903047	有丝分裂细胞周期过程 Mitotic cell cycle process	30	<0.001
细胞成分 Cellular component	GO: 0005819	纺锤体 Spindle	18	<0.001
	GO: 0005694	染色体 Chromosome	22	<0.001
	GO: 0015630	微管细胞骨架 Microtubule cytoskeleton	22	<0.001
分子功能 Molecular function	GO: 0005524	ATP 结合 ATP binding	19	<0.001
	GO: 0032559	腺苷核糖核苷酸结合 Adenyl ribonucleotide binding	19	<0.001
	GO: 0030554	腺苷酸核糖核苷酸结合 Adenyl nucleotide binding	19	<0.001
KEGG	hsa04110	细胞周期 Cell cycle	9	<0.001
	hsa04114	卵母细胞减数分裂 Oocyte meiosis	6	<0.001
	hsa03030	黄体酮介导的卵母细胞成熟 Progesterone-mediated oocyte maturation	4	<0.001

2.4 关键基因筛选与表达验证 筛选出连接度最高 (且连接度一致) 的 10 个关键基因, 见图 3。从 UALCAN 平台获得 11 份正常食管组织样本和 162 份 ESCC 组织样本, 10 个关键基因在 ESCC 组织中的表达均显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 关键基因生存分析 与预后相关的关键基因有 7 个, 分别为 CCNB1、CDK1、BUB1B、ZWINT、AURKA、MAD2L1 和 MCM4, 这 7 个基因的高表达组患者总生存率均高于低表达组 ($P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

由于各种微阵列研究中样本的差异, 通过对微阵列数据集的综合分析可以获得比单个微阵列更大的样本量和更准确的疾病相关调节因子^[9]。本研究选择了 4 个高质量的 GEO 数据集, 通过综合生物信息学分析, 鉴定出与 ESCC 相关的 146 个共同 DEGs, 包括 102 个上调基因和 44 个下调基因。这些基因主要

富集于细胞周期、纺锤体、中心体、酶结合和 ECM-受体相互作用相关的生物学过程中, 其中来自 PPI 网络的关键模块主要与 DNA 复制、细胞周期、上皮细胞-间充质转化等现象有关, 与 YANG 等^[10]研究

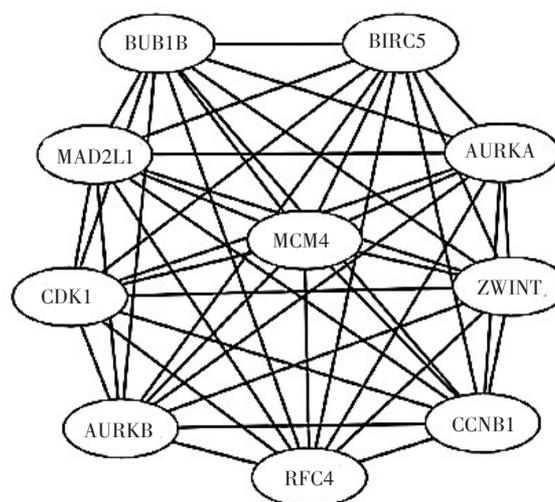


图 3 关键基因网络连接图

Figure 3 Link diagram of key gene network

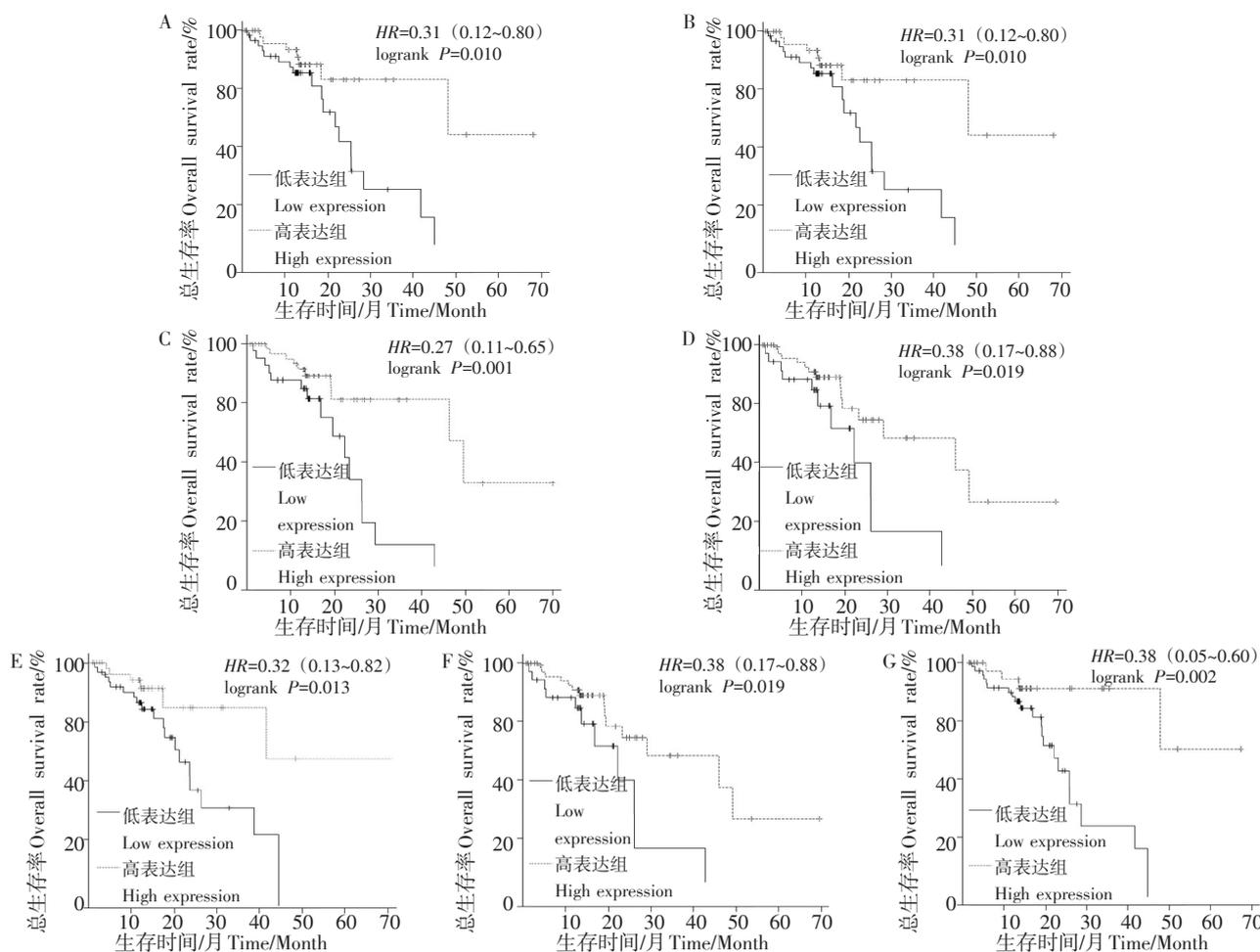
表 4 ESCC 组织与正常食管组织关键基因 mRNA 相对表达量比较 [M(Q_n)]

Table 4 Comparison of relative mRNA expression of hub genes in normal and ESCC tissues [M(Q_n)]

关键基因 Hub genes	正常食管组织 Normal tissues (n=11)	ESCC组织 ECSS tissues (n=162)	Z值	P值
CCNB1	3.857 (6.254)	22.567 (16.379)	-4.934	<0.001
CDK1	2.110 (3.574)	15.619 (11.086)	-5.091	<0.001
BUB1B	0.793 (2.209)	6.959 (5.177)	-4.751	<0.001
BIRC5	1.154 (4.037)	11.501 (9.045)	-5.202	<0.001
AURKB	1.320 (2.274)	11.885 (8.484)	-5.124	<0.001
RFC4	1.628 (1.371)	8.538 (6.715)	-5.019	<0.001
ZWINT	3.706 (6.192)	16.372 (13.538)	-4.535	<0.001
AURKA	1.741 (2.207)	12.360 (9.433)	-4.875	<0.001
MAD2L1	0.929 (2.112)	6.723 (5.031)	-4.960	<0.001
MCM4	2.906 (8.825)	21.319 (16.334)	-4.639	<0.001

结果一致。经关键基因筛选和生存分析, CCNB1、CDK1、BUB1B、ZWINT、AURKA、MAD2L1 和 MCM4 是与 ESCC 预后相关的 7 个生物标志物, 其高表达组患者的生存率均显著高于低表达组, 提示这些基因在 ESCC 的进展中可能起抑癌作用^[11]。

由 CCNB1 基因编码的细胞周期蛋白 B1 已被证明在肿瘤发生和发展中起重要作用, 细胞周期蛋白 B1 的失调可导致不受限制的细胞周期进展和恶性转化^[11]。大量研究表明, 细胞周期蛋白 B1 与恶性肿瘤细胞的分化、生长、凋亡、转移、化学耐药性有关, 并在多种恶性肿瘤细胞中高表达^[12-13]。CDK1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在细胞周期 G2/M 点的细胞增殖中起关键作用, 可与细胞周期蛋白 B 结合形成细胞周期蛋白 B-CDK1 复合物, 调节细胞周期进展^[14]。既往研究发现, 与正常组织相比, CDK1 在恶性肿瘤组织中的表达也明显高于正常组织^[15-16]。



注: A 为 CCNB1; B 为 CDK1; C 为 BUB1B; D 为 ZWINT; E 为 AURKA; F 为 MAD2L1; G 为 MCM4。Note: A, CCNB1; B, CDK1; C, BUB1B; D, ZWINT; E, AURKA; F, MAD2L1; G, MCM4.

图 4 ECSS 关键基因生存分析
Figure 4 Survival analysis of ESCC Hub genes

BUB1B、MAD2L1 和 ZWINT 是纺锤体主轴装配检查点 (spindle-assembly checkpoint, SAC) 的重要核心组件, SAC 在有丝分裂和减数分裂中主要通过延迟细胞分裂进程维持基因组的稳定性, 确保染色体的准确分离^[7]。BUB1B 主要在细胞周期中发挥作用, 在包括 ESCC 在内的多种恶性肿瘤组织中, BUB1B 的表达明显高于邻近的正常组织, 而 BUB1B 突变会导致有丝分裂过程中染色体分离异常, 增加肿瘤易感性^[17]。MAD2L1 可确保在细胞分裂过程中染色体在赤道板上正确对齐, 同时其与 CDC20、BUB1B 的相互作用影响多种恶性肿瘤的发展^[18]。ZWINT 用于调节有丝分裂纺锤体检查点活性, 在恶性肿瘤组织中过度表达, 可能是支持早期诊断和预后评估的生物标志物^[19]。

AURKA 主要调节有丝分裂过程中中心体和微管的功能, 确保中心体的正确分离和细胞质的完全分裂^[20]。它在调节有丝分裂的许多环节中起着关键作用, 特别是在从 G2 到 M 的过渡期间, AURKA 活性显著增加。有文献报道, AURKA 的高表达促进 ESCC 的增殖^[21]。

MCM 蛋白家族参与 DNA 复制的许多基本步骤, 能够成为增殖标记点。本研究中, 与正常食管组织相比, MCM4 在 ESCC 组织中的表达显著增加。MCM4 的表达与传统增殖标志物 Ki-67 具有相似的分布, 且与 Ki-67 相关, 表明 MCM4 可能是潜在的增殖标志物。据报道, MCM 蛋白与传统增殖标志物相比可以更准确地测定肿瘤增殖分数, 这是因为后者无法在早期 G1 阶段标记细胞或在分化早期下调^[22]。因此, MCM4 表达增加提示 MCM4 在区分食管疾病进展的各个阶段可能是更敏感的标志。

综上所述, 本研究共确定了 7 个 ESCC 分子生物标志物 (CCNB1、CDK1、BUB1B、ZWINT、AURKA、MAD2L1 和 MCM4), 并且这些基因的高表达与较好的临床预后相关, 能为 ESCC 诊断和靶向治疗提供一定的理论依据。但本研究结果未经体内和体外试验验证, 标志物的生物学功能还需要进一步阐明。今后将收集和扩展临床样本, 尝试通过外部实验验证基因在蛋白质水平上的表达和预后作用。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] 杨亮, 毛晓锋, 邓静, 等. 2011—2019 年长寿区居民食管癌死亡率及早死疾病负担趋势分析 [J]. *预防医学*, 2021, 33 (5): 500-503.
- [3] YANG L, MAO X F, DENG J, et al. Trend analysis of mortality and death burden of esophageal cancer from 2011 to 2019 Changshou District [J]. *Prev Med*, 2021, 33 (5): 500-503.
- [3] 倪建晓, 吴文秀, 苏依所, 等. 2013—2020 年瓯海区居民恶性肿瘤死亡趋势及减寿分析 [J]. *预防医学*, 2022, 34 (4): 413-418.
- [4] NI J X, WU W X, SU Y S, et al. Trends in mortality and life lost due to cancer in Ou Hai District from 2013 to 2020 [J]. *Prev Med*, 2022, 34 (4): 413-418.
- [4] 满君, 张晓梅, 宋龙飞. 食管鳞状细胞癌差异表达基因的生物信息学分析 [J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28 (12): 2031-2038.
- [4] MAN J, ZHANG X M, SONG L F. Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Mod Oncol*, 2020, 28 (12): 2031-2038.
- [5] 邱洁萍, 孙梦雨, 左瑞东, 等. 基于 GEO 数据库的胃癌差异表达基因的生物信息学分析 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36 (19): 2394-2399.
- [5] QIU J P, SUN M Y, ZUO R D, et al. Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in gastric cancer based on GEO database [J]. *China J Immunol*, 2020, 36 (19): 2394-2399.
- [6] 谢长利, 李祖茂. 基于 GEO 数据库与生物信息学方法分析食管鳞状细胞癌中的核心基因 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2021, 30 (9): 1012-1023.
- [6] XIE C L, LI Z M. Analysis of key genes in esophageal squamous cell carcinoma based on GEO database and bioinformatics method [J]. *Chin J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 30 (9): 1012-1023.
- [7] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28: 27-30.
- [8] AL DULAIMI D. Recent advances in oesophageal diseases [J]. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2014, 7 (3): 186-189.
- [9] STEWART S A, WEINBERG R A. Telomeres: cancer to human aging [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2006, 22 (1): 531-557.
- [10] YANG W, ZHAO X, HAN Y, et al. Identification of hub genes and therapeutic drugs in esophageal squamous cell carcinoma based on integrated bioinformatics strategy [J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19 [2022-06-25]. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0854-6>.
- [11] FANG L, LIU Q, CUI H, et al. Bioinformatics analysis highlight differentially expressed CCNB1 and PLK1 genes as potential anti-breast cancer drug targets and prognostic markers [J/OL]. *Genes*, 2022, 13 (4) [2022-06-25]. <https://doi.org/10.3390/genes13040654>.
- [12] DONG Y, SUI L, WATANABE Y, et al. Clinical relevance of cyclin B1 overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2002, 177 (1): 13-19.
- [13] BEGNAMI M D, FREGNANI J H, NONOGAKI S, et al. Evaluation of cell cycle protein expression in gastric cancer: cyclin B1 expression and its prognostic implication [J]. *Hum Pathol*, 2010, 41 (8): 1120-1127.
- [14] SISINNI L, MADDALENA F, CONDELLI V, et al. TRAP1 con-

- trols cell cycle G2-M transition through the regulation of CDK1 and MAD2 expression/ubiquitination [J]. *J Pathol*, 2017, 243 (1): 123-134.
- [15] LEE M, CHO Y, KIM D, et al. Menadione induces G2/M arrest in gastric cancer cells by down-regulation of CDC25C and proteasome mediated degradation of CDK1 and cyclin B1 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (12): 5246-5255.
- [16] FU S, JIN L, GONG T, et al. Effect of sinomenine hydrochloride on radiosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39 (4): 1601-1608.
- [17] HU M, LIU Q, SONG P, et al. Abnormal expression of the mitotic checkpoint protein BubR1 contributes to the anti-microtubule drug resistance of esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29 (1): 185-192.
- [18] VLEUGEL M, HOEK T A, TROMER E, et al. Dissecting the roles of human BUB1 in the spindle assembly checkpoint [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128 (16): 2975-2982.
- [19] URBANUCCI A, SAHU B, SEPPÄLÄ J, et al. Overexpression of androgen receptor enhances the binding of the receptor to the chromatin in prostate cancer [J]. *Oncogene*, 2012, 31 (17): 2153-2163.
- [20] GOLDENSON B, CRISPINO J D. The aurora kinases in cell cycle and leukemia [J]. *Oncogene*, 2015, 34 (5): 537-545.
- [21] ZHONG X. Identification of crucial miRNAs and genes in esophageal squamous cell carcinoma by miRNA-mRNA integrated analysis [J/OL]. *Medicine*, 2019, 98 (27) [2022-06-25]. <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000016269>.
- [22] KIKUCHI J, KINOSHITA I, SHIMIZU Y, et al. Minichromosome maintenance (MCM) protein 4 as a marker for proliferation and its clinical and clinicopathological significance in non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2011, 72 (2): 229-237.
- 收稿日期: 2022-03-24 修回日期: 2022-06-25 本文编辑: 徐文璐

(上接第 905 页)

- [26] CUNHA V, RODRIGUES P, SANTOS M M, et al. Fluoxetine modulates the transcription of genes involved in serotonin, dopamine and adrenergic signalling in zebrafish embryos [J]. *Chemosphere*, 2018, 191: 954-961.
- [27] DE FARIAS N O, OLIVEIRA R, SOUSA-MOURA D, et al. Exposure to low concentration of fluoxetine affects development, behaviour and acetylcholinesterase activity of zebrafish embryos [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2019, 215: 1-8.
- [28] THOMPSON W A, SHVARTS BURD Z, VIJAYAN M M. The antidepressant venlafaxine perturbs cardiac development and function in larval zebrafish [J/OL]. *Aquat Toxicol*, 2022, 242 [2022-06-16]. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106041>.
- [29] DI POI C, EVARISTE L, SERPENTINI A, et al. Toxicity of five antidepressant drugs on embryo-larval development and metamorphosis success in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2014, 21 (23): 13302-13314.
- [30] BEST C, MELNYK-LAMONT N, GESTO M, et al. Environmental levels of the antidepressant venlafaxine impact the metabolic capacity of rainbow trout [J]. *Aquat Toxicol*, 2014, 155: 190-198.
- [31] INGS J S, SERVOS M R, VIJAYAN M M. Exposure to municipal wastewater effluent impacts stress performance in rainbow trout [J]. *Aquat Toxicol*, 2011, 103 (1/2): 85-91.
- [32] AL SHURAIQI A, AL-HABSI A, BARRY M J. Time-, dose- and transgenerational effects of fluoxetine on the behavioural responses of zebrafish to a conspecific alarm substance [J/OL]. *Environ Pollut*, 2021, 270 [2022-06-16]. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116164>.
- [33] MCCALLUM E S, BAAOSE A P H, WARRINER T R, et al. An evaluation of behavioural endpoints: The pharmaceutical pollutant fluoxetine decreases aggression across multiple contexts in round goby (*Neogobius melanostomus*) [J]. *Chemosphere*, 2017, 175: 401-410.
- [34] BEAN T G, BOXALL A B A, LANE J, et al. Behavioural and physiological responses of birds to environmentally relevant concentrations of an antidepressant [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014, 369 (1656) [2022-06-16]. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0575>.
- [35] ARNOLD K E, BROWN A R, ANKLEY G T, et al. Medicating the environment: assessing risks of pharmaceuticals to wildlife and ecosystems [J]. *Int J Epidemiol*, 2021, 50 (1): 199-211.
- 收稿日期: 2022-04-26 修回日期: 2022-06-16 本文编辑: 徐文璐