

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.008

食管鳞状细胞癌差异性表达 circRNA 的初步筛选和分析

张德海¹, 付正², 王健¹, 王国君¹, 黄军贤¹, 陈熹² (1. 江苏大学附属金坛医院 胸外科, 金坛 213200; 2. 南京大学生命科学学院, 南京 210023)

[摘要] **目的:** 构建食管鳞状细胞癌的 circRNA 表达谱, 分析差异性表达的 circRNA。 **方法:** 标本取自 2018 年 6 月至 2019 年 2 月在江苏大学附属金坛医院胸外科住院的 3 例食管鳞状细胞癌手术患者, 利用高通量测序技术构建 circRNA 表达谱, 检测 3 对食管鳞状细胞癌组织和癌旁组织中差异表达的 circRNA, 并运用 GO 和 KEGG 技术分析这些 circRNA 涉及的生物学作用和相关的信号通路。 **结果:** 通过构建的表达谱分析比较食管鳞状细胞癌组织与癌旁组织 circRNA 的表达水平, 共发现了 905 个差异表达的 circRNA, 其中 404 个表达上调、501 个表达下调, hsa_circ_0004390 是上调倍数最大的 circRNA (FC=7.9712), novel_circ_0012687 是下调倍数最大的 circRNA (FC=5.8796)。GO 和 KEGG 分析表明, 这些 circRNA 可能涉及癌细胞的细胞周期、细胞组分、蛋白质结合作用等生物学过程和 Hippo、cGMP-PKG 等信号通路。 **结论:** 食管鳞状细胞癌组织 circRNA 表达谱分析得到的高度显著差异表达的 circRNA 似可以作为食管鳞状细胞癌潜在的生物标志物。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; 环状 RNA; 差异表达; 生物学作用; 高通量测序

[中图分类号] R735.1; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1012-06

Preliminary screening and analysis of differentially expressed circRNAs in esophageal squamous cell carcinoma

ZHANG Dehai¹, FU Zheng², WANG Jian¹, WANG Guojun¹, HUANG Junxian¹, CHEN Xi² (1. Department of Thoracic Surgery, Jintan Hospital Affiliated to Jiangsu University, Jintan 213200, Jiangsu, China; 2. College of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To construct a circRNA profile of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and analyze differentially expressed circRNAs. **Methods:** Samples were taken from 3 patients with esophageal squamous cell carcinoma who were hospitalized in the Department of Thoracic Surgery, Jintan Hospital, Jiangsu University from June 2018 to February 2019. The circRNA expression profile was constructed by high-throughput sequencing technique, and the circRNA differentially expressed in 3 pairs of esophageal squamous cell carcinoma tissues and adjacent tissues was detected. The biological functions and related signal pathways of these circRNA were analyzed by GO and KEGG techniques. **Results:** By comparing the expression levels of circRNA between esophageal squamous cell carcinoma and adjacent tissues, 905 differentially expressed circRNA were found, of which 404 were up-regulated and 501 were down-regulated. hsa_circ_0004390 was the CIRC RNA with the highest up-regulation factor (FC=7.9712), and novel_circ_0012687 was the one with the highest down-regulation factor. GO and KEGG analysis showed that these circRNA may be involved in biological processes such as cell cycle, cell components and protein binding of cancer cells, and signal pathways such as Hippo and cGMP-PKG. **Conclusion:** The expression profile analysis of circRNA in esophageal squamous cell carcinoma showed that the significantly differentially expressed circRNA could be used as a potential biomarker of esophageal squamous cell carcinoma.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma; circRNA; differential expression; biological function; high throughput sequencing

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(9): 1012-1017. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.008]

食管癌是临床上常见的消化系统恶性肿瘤, 严重危害人类的生命健康。中国是食管癌高发的国家之一, 其中以食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)多见^[1]。由于 ESCC 早期的症状难以察觉, 很多患者在发现时已处于晚期, 耽误了疾病的治疗^[2]。目前, 临床上 ESCC 的诊断方法由于价格昂贵、有侵入性损伤等原因难以推广实施, 因

[基金项目] 常州市金坛区科学技术局社会发展项目 (No. KJ201727), Project supported by Social Development Project of Jintan Science and Technology Bureau of Changzhou City

[作者简介] 张德海 (1966-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食管肿瘤的基础及临床研究, E-mail: zhangdehai1966@163.com

[通信作者] 张德海 (ZHANG Dehai, corresponding author), 男, 博士, 副教授, 主要从事食管肿瘤的基础及临床研究, E-mail: zhangdehai1966@163.com

此,寻找能有效用于筛查和早期诊断 ESCC 的分子标志物成为临床研究的热点^[3]。环状 RNA (circular RNAs, circRNAs) 是一类不含 5' 和 3' 端的单链共价闭合环状特异性分子,广泛存在于人体的各种细胞中^[4]。越来越多的证据表明, circRNAs 参与了包括各种肿瘤在内的多种人类疾病的发病机制^[5]。circRNAs 的高稳定性、高丰度和组织特异性表达等优势使科学家们意识到其在作为疾病生物标志物方面的巨大潜力^[6]。本课题通过高通量测序技术构建 ESCC 的 circRNA 表达谱,探索 circRNA 作为生物标志物的潜能,以期能加深对 ESCC 病理机制的理解,更好地对其进行诊断和防治。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2018 年 6 月至 2019 年 2 月在江苏大学附属金坛医院胸外科住院治疗进行 ESCC 手术 3 例患者的癌灶及癌旁组织,要求癌旁组织距离肿瘤边缘大于 5 cm。采集后立即置于装有组织保存液的冻存管中,保存在 -80°C 冰箱内。每例患者的样本都有明确的病理学诊断依据,参照 2017 年国际抗癌联盟 (Union for International Cancer Control, UICC) 和美国肿瘤联合会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) 第 8 版食管癌 TNM 分期标准^[7]确定肿瘤 TNM 分期。病例纳入和排除标准为:病例信息保存完整;未接受过放疗或化疗等措施、且无其他肿瘤史和胃与食管相关疾病;艾滋病病毒检测阴性;近期内未使用相关免疫抑制剂。该研究方案取得了患者的知情同意,并且得到江苏大学附属金坛医院医学伦理委员会的批准。

1.2 以 Illumina 技术测序获取 ESCC 组织 circRNAs 表达谱

将 3 对 ESCC 组织和相邻癌旁组织做好标记、记录相关信息后,采用干冰将其转运至北京诺禾致源科技有限公司实验室,委托该公司进行 circRNAs 高

通量测序。样本运送和保存参照制造商的说明进行。本研究基于 Illumina 技术测序平台,利用双末端测序 (paired-end) 的方法,不仅能分析已知的 circRNA,更能获得新的 circRNA,进一步丰富 ESCC 组织中 circRNAs 表达谱。

1.3 生物信息学分析

对这些差异表达的 circRNA 进行了基因本体分析 (gene ontology, GO; <http://www.geneontology.org>) 和京都基因与基因组百科全书分析 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG; <http://www.genome.jp/kegg>)。GO 富集分析方法用来构建生物体中基因的有意义注释,包括生物过程、细胞成分和分子功能等领域。log₁₀(p 值)表示 GO 条目富集与产生差异表达 circRNA 相关基因的差异性。KEGG 分析产生差异表达 circRNA 的分子相互作用和反应网络的途径。

1.4 circRNA 的筛选和差异表达分析

使用 find_circ 和 CIRI2 两种软件对 circRNAs 进行鉴定,对两款软件鉴定 circRNAs 的结果进行合并来减少假阳性。用 TPM (transcripts per million) 对各样本中已知和新 circRNA 的表达量进行归一化处理,从差异倍数 (fold change, FC) 和校正后的显著水平 (padj/qvalue) 两个水平进行评估,对差异 circRNA 进行筛选。当 6 个组织样本有生物学重复时,使用 padj < 0.05 来筛选 circRNAs; 当 6 个组织样本无生物学重复时,使用 qvalue < 0.01 和 log₂FC > 1 筛选。

2 结果

2.1 患者的基本临床信息

本次研究共招募了 3 名食管鳞状细胞癌患者,患者的基本情况 (表 1) 可以看出,其中男性 2 例、女性 1 例,年龄范围为 63~71 岁,中位年龄 66.7 岁。患者均为 T2 期。

表 1 用于高通量测序患者的基本临床信息

Tab.1 The basic clinical information of patients for high-throughput sequencing technology

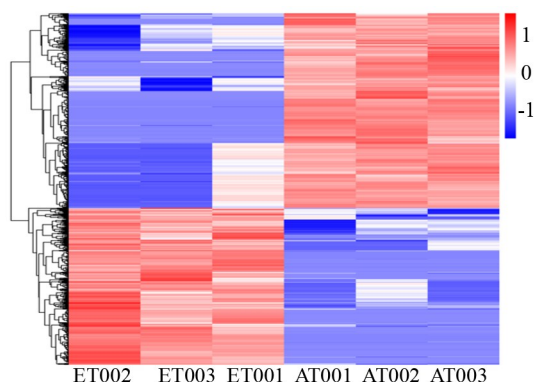
Age	Gender	TNM staging	Tumor location	Degree of differentiation	Pathological type
71	Female	T2N1M0	Middle segment	Low	Squamous-cell Ca
66	Male	T2N0M0	Middle-lower segment	Medium-low	Squamous-cell Ca
63	Male	T2N0M0	Middle segment	Low	Squamous-cell Ca

2.2 circRNA 测序数据的聚类分析

聚类分析 (图 1) 用于比较不同样本具有的共同表达特征。circRNAs 表达量的值由色标表示,从红

色到蓝色表示表达量的值逐渐降低。每一列代表一个组织样本,每一行代表一种 circRNAs。结果显示差异表达的 circRNAs 能区别 ESCC 癌组织和相邻正

常癌旁组织,数据结果符合逻辑。



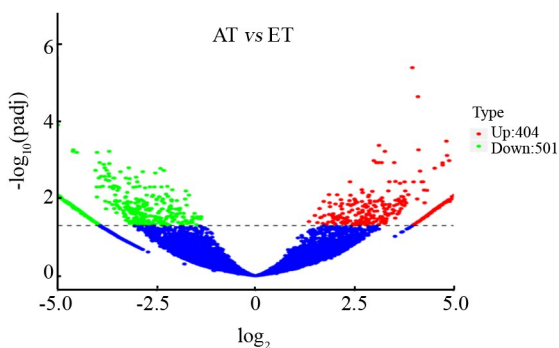
Note: Based on the cluster analysis of $\log_{10}(\text{TPM}+1)$
 ET: ESCC tissues; AT: adjacent normal-appearing tissues

图1 差异表达 circRNA 的聚类分析图

Fig.1 Hierarchical cluster of differentially expressed circRNAs

2.3 差异表达 circRNAs 的总体分析

火山图(图2)用于描述差异 circRNAs 的整体分布情况,从FC和 padj/qvalue 两个水平进行评估,对差异 circRNAs 进行筛选。图中横坐标为对应 circRNAs 的倍数变化,纵坐标为对应 circRNAs 差异表达的统计学意义。红点和绿点代表差异表达具有统计学意义的 circRNAs,红色代表表达水平显著上调的 circRNAs,绿点代表表达水平显著下调的 circRNAs,蓝点代表差异表达没有统计学意义的 circRNAs。



ET: ESCC tissues; AT: Adjacent normal-appearing tissues

图2 差异表达 circRNAs 的火山图

Fig.2 Scatterplot of differentially expressed circRNAs

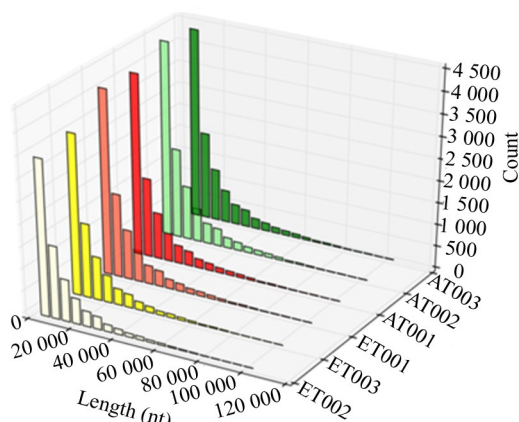
2.4 差异表达 circRNAs 的长度分布

X轴代表 circRNAs 总长度的长度分布,y轴代表6个不同的样本,z轴代表 circRNAs 数目,长度分布图(图3)中可见大部分 circRNAs 都分布在0~20 000个核苷酸的长度之间。

2.5 ESCC 组织中差异表达的 circRNAs

设置如下筛选标准:当6个组织样本的明细分析

有生物学重复时,使用 $\text{padj} < 0.05$ 来筛选 circRNAs;当6个组织样本无生物学重复时,使用 $\text{qvalue} < 0.01$ 和 $\log_2 \text{FC} > 1$ 来筛选。当使用以上标准筛选测序数据时,共发现905个差异表达的 circRNAs,其中表达上调的有404个、表达的下调有501个。这些差异表达的 circRNAs 大部分来自于外显子的剪接,其中前10位表达上调的 circRNAs 及前10位表达下调的 circRNAs 见表2。其中 hsa_circ_0004390 是上调 circRNAs 中表达倍数最大的($\text{FC} = 7.9712$), novel_circ_0012687 是下调 circRNAs 中表达倍数最大的($\text{FC} = 5.8796$)。



The distribution of length in per 5 000 nt

ET: ESCC tissues; AT: Adjacent normal-appearing tissues

图3 差异表达 circRNAs 的长度分布图

Fig.3 The length distribution of differentially expressed circRNAs

2.6 差异表达 circRNAs 涉及的生物学作用和主要信号通路

进一步使用GO分析来探讨差异表达 circRNAs 的生物学作用。GO分析(图4)所示,横坐标为GO三个大类的下一层级的GO术语(生物学过程:BP,细胞成分:CC;分子功能:MP),纵坐标为注释到该术语下来源基因的个数及其个数占来源基因总数的比例。KEGG结果(图5)所示,纵轴表示信号通路名称,横轴表示富集点,点的大小表示此通路中来源基因个数多少,点的颜色表示不同的qvalue范围。在GO分析中,ESCC中差异表达的 circRNAs 与细胞周期、细胞组分、蛋白质结合相关。在KEGG通路分析中,ESCC中差异表达的 circRNAs 与 Hippo 信号通路、cGMP-PKG 信号通路和钙离子信号通路等通路有关。

3 讨论

circRNAs 是一类特殊的非编码 RNA 分子,分子

呈封闭环状结构, 不受 RNA 外切酶影响, 表达更稳定, 不易降解^[8]。近年来 circRNAs 的作用机制已经越来越明朗, 其最主要的功能是在许多真核生物中起到微小 RNA (microRNA, miRNA) 海绵的作用。circRNAs 富含 miRNA 结合位点, 通过和特异性 miRNA

结合, 进而解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用, 在转录水平上对靶基因进行调控^[9]。circRNAs 在肿瘤中的作用得到了广泛关注, 目前已有报道 circRNAs 在肺癌^[10]、胃癌^[11]等肿瘤中表达异常, 参与了肿瘤的多种生物学功能。

表2 ESCC 组织中表达上调和下调倍数较大的前10个 circRNAs
Tab.2 The top 10 upregulated and downregulated circRNAs for ESCC

Upregulation circRNA	Log ₂ FC	Chromosome	Downregulation circRNA	Log ₂ FC	Chromosome
hsa_circ_0004390	7.9172	chr1	novel_circ_0012687	5.8796	chr16
novel_circ_0032733	7.1067	chr3	hsa_circ_0073222	5.8705	chr5
novel_circ_0024471	7.0489	chr21	novel_circ_0031240	5.6521	chr3
hsa_circ_0057123	6.8441	chr2	novel_circ_0027846	5.4361	chr2
hsa_circ_0063865	6.6923	chr22	hsa_circ_0058773	5.4087	chr2
novel_circ_0026808	6.4316	chr2	novel_circ_0046536	5.3536	chr9
novel_circ_0035252	6.3692	chr4	novel_circ_0021318	5.3019	chr1
novel_circ_0026352	6.3195	chr2	hsa_circ_0002339	5.2153	chr7
novel_circ_0024480	6.1833	chr21	novel_circ_0025171	5.1742	chr22
novel_circ_0026918	6.1594	chr2	novel_circ_0001981	5.1707	chr10

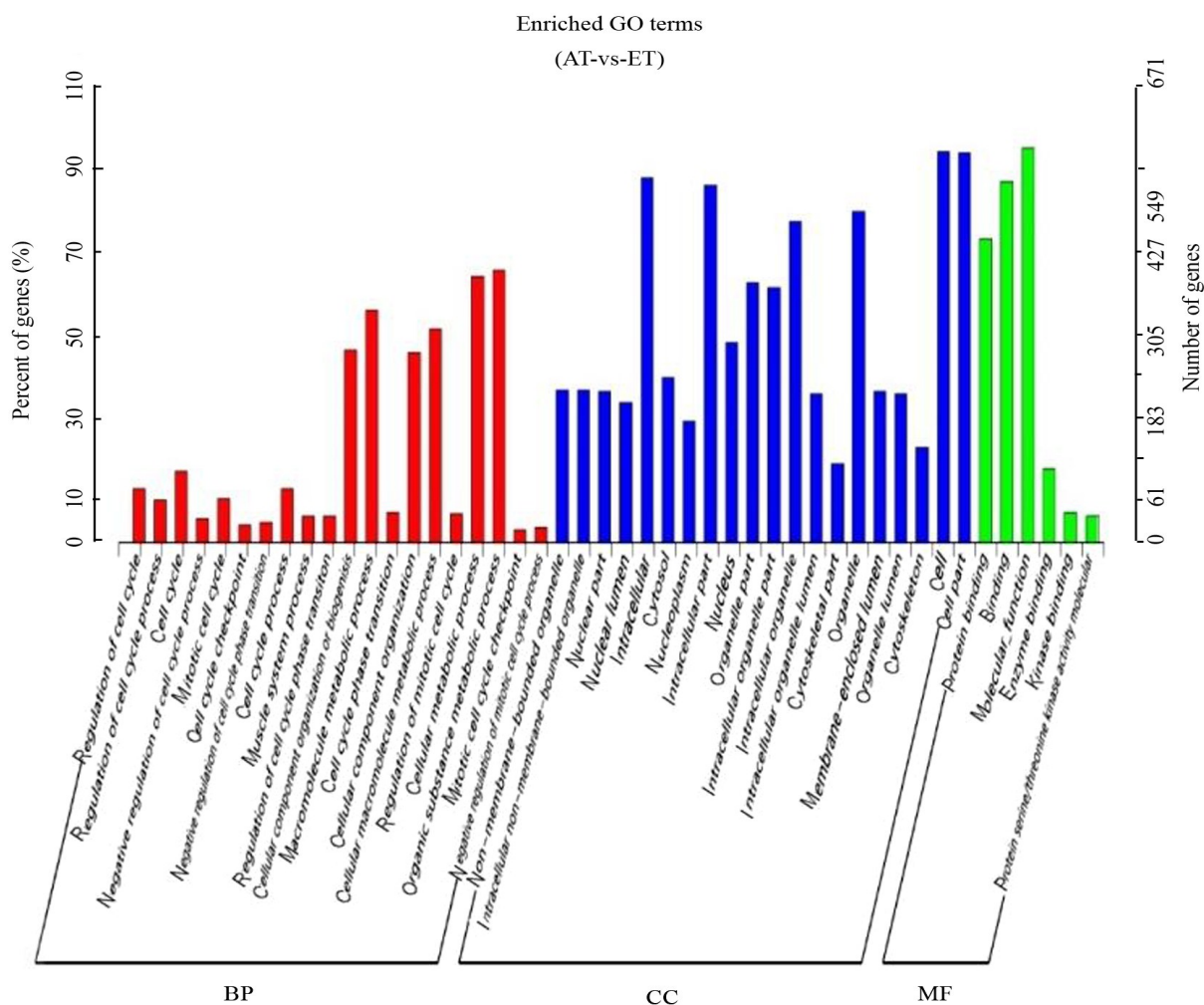


图4 来源基因 GO 富集柱状图
Fig.4 Histogram of GO terms of circRNAs target genes

目前 ESCC 与 circRNAs 的研究尚处于起步阶段,存在着巨大的研究空间。大部分 circRNAs 在 ESCC 中发挥类似原癌基因作用,如 hsa_circ_0067934^[12]、circ-DLG1^[13]、circRNA_100876^[14]、circ-PRKC^[15]、circFNDC3B^[16]和环状-TTBK2^[17]在 ESCC 肿瘤组织中的表达水平上调,促进了 ESCC 的发生和发展。也有一部分 circRNAs 在食管癌发挥类似抑癌基因作用,如 cir-ITCH^[18]、circ0043898^[19]和 hsa_circ_0030162^[20]在 ESCC 肿瘤组织的表达水平显著低于癌旁组织,抑制了 ESCC 的发生和发展。总体而言,以上这些研究为 circRNAs 和 ESCC 之间的关联提供了依据,为 circRNAs 作为 ESCC 分子生物标志物提供了实验依据。

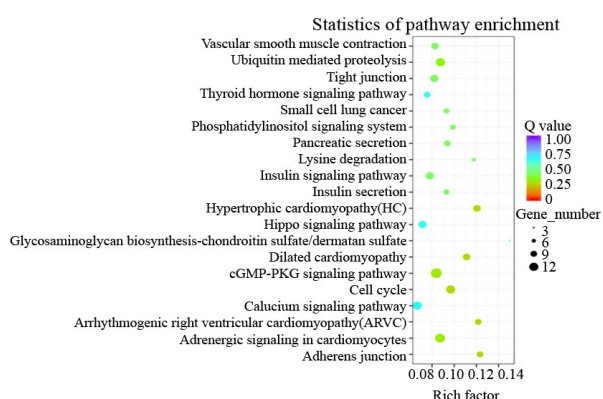


图5 来源基因KEGG富集散点图

Fig.5 Scatterplot of KEGG terms of circRNAs target genes

为了深入研究 ESCC 与 circRNAs 的关联,寻找与 ESCC 诊断和预后相关的 circRNAs,本研究应用高通量测序技术初筛 ESCC 组织和相邻正常癌旁组织的配对样本,构建了 ESCC circRNA 表达谱,共发现了 905 个差异表达的 circRNAs,其中 404 个表达上调、501 个表达下调。

hsa_circ_0004390 是上调 circRNAs 中表达倍数最大的 circRNAs (FC=7.9712),其位于 1 号染色体,来源于溶血磷脂酸受体基因(lysophosphatidic acid receptor 3,3LPAR3)。溶血磷脂酸参与多种生物学过程,可能与癌细胞的迁移和侵袭有关,通过 6 种不同的溶血磷脂酸受体激活细胞^[21]。有研究^[22]发现溶血磷脂酸通过 LPAR3 促进口腔鳞状癌细胞的迁移。novel_circ_0012687 是下调 circRNAs 中表达倍数最大的 circRNA (FC=5.8796),位于 16 号染色体,来源于肌球蛋白重链 11 基因(smooth-muscle myosin heavy chain,MYH11),编码平滑肌肌球蛋白重链,属于传统肌球蛋白家族。MYH11 低表达与结肠直肠癌预后不良相关^[25]。以上研究为 Hsa_circ_0004390、novel_circ_0012687 影响 ESCC 的发生发展提供了证据。

GO 分析表明差异表达的 circRNAs 与细胞功能有关,已有 ESCC 与 circRNAs 的研究中所做的细胞功能学实验也验证了这一观点,提示可以进一步在细胞中探寻这些 circRNAs 的功能。KEGG 分析表明这些 circRNAs 的相关通路与癌症有关。比如 Hippo 信号通路在控制细胞生长和器官大小方面发挥着关键作用,与胶质母细胞瘤^[24]、肝癌^[24]等多种肿瘤有关。先前 ESCC 与 circRNAs 的研究已经发现 circRNA_100876 敲除后抑制了 ESCC 细胞的上皮-间质转化^[14],cir-ITCH 通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路参与 ESCC 的发展^[18]。结果提示,研究这些 circRNAs 参与的信号通路,可深入挖掘 circRNAs 影响 ESCC 发生、发展的机制。

本研究也存在着一些缺陷,首先由于研究样本量是太小,所发现的 circRNAs 可能意义不够大,需要后期进一步实验验证;其次,关于 circRNAs 在人类癌症中作用的研究是仍处于起步阶段,报告和命名 circRNAs 缺乏通用的标准;最后,本研究使用的是组织样本,今后需要寻找更易获得的非侵入性临床样本,如血液、尿液或唾液等等,则具有更大的临床应用意义。

[参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] LIANG H, FAN J H, QIAO Y L. Epidemiology, etiology, and prevention of esophageal squamous cell carcinoma in China[J]. Cancer Biol Med, 2017, 14(1): 33-41. DOI:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0093.
- [3] CODIPILLY D C, QIN Y, DAWSEY S M, et al. Screening for esophageal squamous cell carcinoma: recent advances[J]. Gastrointest Endosc, 2018, 88(3): 413-426. DOI:10.1016/j.gie.2018.04.2352.
- [4] ZHANG H D, JIANG L H, SUN D W, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer[J]. Breast Cancer, 2018, 25(1): 1-7. DOI: 10.1007/s12282-017-0793-9.
- [5] KULCHESKI F R, CHRISTOFF A P, MARGIS R. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker [J]. J Biotechnol, 2016, 238 (1): 42-51. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.09.011.
- [6] OJHA R, NANDANI R, CHATTERJEE N, et al. Emerging role of circular RNAs as potential biomarkers for the diagnosis of human diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1087(1): 141-157. DOI: 10.1007/978-981-13-1426-1_12.
- [7] DONOHOE C L, PHILLIPS A W. Cancer of the esophagus and esophagogastric junction: an 8(th) edition staging primer[J]. J Thorac Dis, 2017, 9(3): E282- E284. DOI:10.21037/jtd.2017.03.39.
- [8] LI L, GUO J, CHEN Y, et al. Comprehensive CircRNA expression profile and selection of key CircRNAs during priming phase of rat liver regeneration[J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 80-84. DOI: 10.1186/s12864-016-3476-6.

- [9] KRISTENSEN L S, HANSEN T B, VENO M T, et al. Circular RNAs in cancer: opportunities and challenges in the field[J]. *Oncogene*, 2018, 37(5): 555-565. DOI:10.1038/onc.2017.361.
- [10] MA X, YANG X, BAO W, et al. Circular RNA circMAN2B2 facilitates lung cancer cell proliferation and invasion via miR-1275/FOXK1 axis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(4): 1009-1015. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.03.105.
- [11] ZHOU L H, YANG Y C, ZHANG R Y, et al. CircRNA_0023642 promotes migration and invasion of gastric cancer cells by regulating EMT[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(8): 2297-2303. DOI:10.26355/eurrev_201804_14818.
- [12] XIA W, QIU M, CHEN R, et al. Circular RNA has_circ_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:35576. DOI:10.1038/srep35576.
- [13] RONG J, WANG Q, ZHANG Y, et al. Circ-DLG 1 promotes the proliferation of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 6723-6730. DOI:10.2147/OTT.S175826.
- [14] CAO S, CHEN G, YAN L, et al. Contribution of dysregulated circRNA_100876 to proliferation and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 7385-7394. DOI:10.2147/ott.S177524.
- [15] SHI N, SHAN B, GU B, et al. Circular RNA circ-PRKCI functions as a competitive endogenous RNA to regulate AKT3 expression by sponging miR-3680-3p in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10021-10030. DOI: 10.1002/jcb.28285.
- [16] 罗刚. 基于高通量测序的食管鳞癌环状RNA组学分析及circF-NDC3B功能研究[D]; (广州)南方医科大学, 2018.
- [17] 徐勇军, 彭琴, 谭峥嵘, 等. 食管癌组织环状-TTBK2和miR-217表达及临床病理意义[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(5): 156-161. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.037.
- [18] LI F, ZHANG L, LI W, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 6001-6013. DOI:10.18632/oncotarget.3469.
- [19] WANG W, MA J, LU J, et al. Circ0043898 acts as a tumor inhibitor and performs regulatory effect on the inhibition of esophageal carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(12): 1117-1127. DOI:10.1080/15384047.2018.1480889.
- [20] 施佩仪. 食管鳞状细胞癌circRNAs表观遗传生物标志物的筛选及功能研究[D]. (南京)南京医科大学, 2019.
- [21] HOUBEN A J, MOOLENAAR W H. Autotaxin and LPA receptor signaling in cancer[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30(3/4): 557-565. doi:10.1007/s10555-011-9319-7.
- [22] BRUSEVOLD I J, TVETERAAS I H, AASRUM M, et al. Role of LPAR3, PKC and EGFR in LPA-induced cell migration in oral squamous carcinoma cells[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(3):432-437. DOI:10.1186/1471-2407-14-432.
- [23] WANG R J, WU P, CAI G X, et al. Down-regulated MYH11 expression correlates with poor prognosis in stage II and III colorectal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(17): 7223-7228. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.17.7223.
- [24] XU Y, STAMENKOVIC I, YU Q. CD44 attenuates activation of the hippo signaling pathway and is a prime therapeutic target for glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6): 2455-2464. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-09-2505.

[收稿日期] 2020-03-18

[修回日期] 2020-07-14

[本文编辑] 韩丹