

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.09.008

肝细胞癌患者预后相关增强子RNA和对应靶基因的筛选及其预后预测意义

白易¹, 吴昊², 张雅敏¹ (1. 天津市第一中心医院 肝胆外科, 天津 300192; 2. 天津医科大学第一中心临床学院 肝胆外科, 天津 300192)

[摘要] **目的:** 筛选与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)预后相关的增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)及其对应的靶基因,并探究其调控作用及功能。**方法:** 通过UCSC数据库下载HCC的转录本数据和临床病例数据,提取eRNA及其预测的相应靶基因表达矩阵,用Kaplan-Meier和Spearman相关性分析方法筛选HCC预后相关的eRNA和靶基因,并采用最小化绝对收缩和选择算子回归分析及多因素Cox多元回归分析构建HCC预后风险评分模型。设计合成针对筛选所获关键eRNA AP003469.2的小干扰RNA并转染肝癌SMMC-7721细胞,采用RT-PCR方法验证敲减效率,qPCR法检测AP003469.2靶基因YWHAZ的表达水平,CCK-8法检测转染后SMMC-7721细胞的增殖情况。**结果:** 筛选获得4个与预后相关基因,包括两个eRNA(AP003469.2和SPRY4-AS1)和两个靶基因(PPARGC1A和SLC2A1)($P<0.05$),其中PPARGC1A高表达提示预后较好,AP003469.2、SPRY4-AS1和SLC2A1基因高表达则提示预后较差。基于4个基因构建的预后风险评分模型,第1、3和5年的AUC分别为0.730、0.699和0.679,提示模型具备良好的预测效能。在敲减AP003469.2后,SMMC-7721细胞中YWHAZ的表达无明显改变,且对细胞的增殖无影响。**结论:** 基于生物信息学分析共筛选出4个关键基因,其中eRNA AP003469.2是HCC预后预测效能较高的标志物,其无促癌功能且对YWHAZ基因无调控作用。

[关键词] 肝细胞癌;SMMC-7721细胞;生物信息学;预后;增强子RNA;靶基因

[中图分类号] R735.7;R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)09-0914-06

Screening of prognosis-related enhancer RNAs and their corresponding target genes in patients with hepatocellular carcinoma and its prognostic significance

BAI Yi¹, WU Hao², ZHANG Yamin¹ (1. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Central Hospital of Tianjin City, Tianjin 300192, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Center Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the enhancer RNAs (eRNAs) and their corresponding target genes related to the prognosis hepatocellular carcinoma (HCC), and to explore their regulatory effect and function. **Methods:** The transcript data and clinical data of HCC were downloaded from UCSC database to extract the expression matrix of eRNAs and their predicted corresponding target genes. Kaplan-Meier and Spearman correlation analysis were used to screen HCC prognosis-related eRNAs and the target genes, and the least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression analysis and multivariate Cox multiple regression analysis were utilized to construct a HCC prognostic risk scoring system. A short interfering RNA (siRNA) targeting eRNA AP003469.2 was designed and synthesized to transfect liver cancer SMMC-7721 cells. Then, RT-PCR was used to verify the knockdown efficiency, qPCR was used to detect the expression of the target gene YWHAZ, and CCK-8 was adopted to examine the proliferation of SMMC-7721 cells after transfection. **Results:** Four prognosis-related genes were screened, including two eRNAs (AP003469.2 and SPRY4-AS1) and two target genes (PPARGC1A and SLC2A1) ($P<0.05$). Among them, the high expression of PPARGC1A indicated a better prognosis, while the high expression of AP003469.2, SPRY4-AS1 and SLC2A1 genes indicated a poor prognosis. The prognostic risk scoring system constructed based on the 4 genes exhibited AUC of 0.730, 0.699 and 0.679 at the 1st, 3rd and the 5th year respectively, indicating good predictive performance of the system. After AP003469.2 knockdown in SMMC-7721 cells, the expression of its predicted target gene YWHAZ did not change significantly, and it had no significant effect on the proliferation of SMMC-7721 cells. **Conclusion:** Among

[基金项目] 天津市自然科学基金资助项目(No. 20JCYBJC01310);天津市重大疾病防治科技重大专项(No. 19ZXDBSY00010)。Project supported by the Natural Science Foundation of Tianjin City (No. 20JCYBJC01310), and the Tianjin Major Science and Technology Project for Prevention and Treatment of Major Disease (No. 19ZXDBSY00010)

[作者简介] 白易(1984—),男,博士,主治医师,主要从事肝胆肿瘤的多组学研究,E-mail: baiyipumch@sina.com

[通信作者] 张雅敏(ZHANG Yamin, corresponding author),博士,主任医师,博士生导师,主要从事肝胆肿瘤防治和肝移植的研究,E-mail: 13802122219@163.com

the 4 key genes were screened out based on bioinformatics analysis, eRNA AP003469.2 is a biomarker with high prognostic performance for HCC; however, it has no cancer-promoting function or regulatory effect on YWHAZ.

[Key words] hepatocellular carcinoma (HCC); SMMC-772 cell; bioinformatics; prognosis; enhancer RNA; target gene

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(9): 914-919. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.09.008]

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的肝癌亚型,其在中国每年的发病例数和病死例数分别约占全球总数的1/2^[1-2]。目前HCC主要的治疗手段包括手术切除、介入、放疗、化疗、靶向和免疫治疗等^[3]。增强子元件是非编码区的一段DNA序列,可以强化不同距离或不同方向的靶基因转录^[4]。lncRNA是一种转录本长度超过200多个核苷酸且无蛋白质编码能力的RNA分子^[5],从多个维度调控DNA、RNA和蛋白质,在肿瘤生物学进程中发挥作用^[6]。增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)是由增强子元件转录产生的一种特殊类型的lncRNA,在介导靶基因激活和转录方面发挥重要作用^[7]。肿瘤细胞增强子的激活和eRNA的产生也会引起促癌或抑癌基因的激活,如在乳腺癌中ESR1的激活就可以增强肿瘤进展相关eRNA的转录^[8];在多种肿瘤细胞中,TP53则可以诱导eRNA,协同p53阻滞细胞周期,抑制肿瘤细胞增殖^[9]。上述研究表明,eRNA在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,以eRNA作为生物标志物或治疗靶点具有极大的临床转化潜能。本研究通过整合分析癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中HCC的eRNA转录组和临床数据,筛选与预后相关的eRNA及靶基因,并初步探索其生物学功能,以期对HCC预后评估和靶向治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 HCC数据的下载及处理

从UCSC数据库(<https://xenabrowser.net/datapages/>)下载HCC的转录本数据(HTSeq-FPKM)和临床数据(phenotype和survival data)。参考人类基因组注释文件将转录本数据中的基因Ensembl ID转换为基因名,参考文献[10-11],提取HCC数据中含eRNA以及预测对应靶基因的基因表达矩阵,然后进行后续分析。

1.2 HCC患者预后相关基因的筛选

去除在所有HCC患者中表达量均为零的基因后,将对应的生存时间和生存状态与上述基因表达矩阵合并。然后根据基因表达量中位值将上述基因分为高表达组和低表达组,通过Kaplan-Meier法和Log-Rank检验,以 $P < 0.05$ 为条件筛选HCC预后相关基因。

1.3 HCC eRNA和靶基因相关性分析

将上述具有生存预后意义的eRNA和靶基因进行Spearman相关性分析($r > 0.4$, $P < 0.05$)。存在正相

关性的基因对以桑基图呈现。

1.4 HCC预后风险评估模型的建立

进一步将存在正相关的eRNA和靶基因进行最小化绝对收缩和选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)回归分析,确定合适的 λ 值后将保留的回归系数非0的基因进行多因素Cox多元回归分析,计算权重系数,构建风险评估模型,并以热图呈现风险分组情况及纳入基因表达谱。绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,计算第1、3和5年曲线下面积(area under curve, AUC),评估模型效能。

1.5 细胞系及主要试剂

人肝癌SMMC-7721细胞购自北京北纳生物技术有限公司,用含10%胎牛血清和1%的青、链霉素的1640培养基置于37℃、5%CO₂培养箱中培养。

3对针对AP003469.2的短干扰RNA(short interfering RNA, siRNA)以及阴性对照(negative control, NC)由苏州吉玛基因股份有限公司设计并合成。siRNA1(S1)干扰序列为GCAGAUUCUGCAGUGCUGUTTACAGCACUGCAGAAUCUGCTT; siRNA2(S2)干扰序列为:GGCAUGAGUCGACAGAGAATTUUCUCUGUCGACUCAUGCCTT; siRNA3(S3)干扰序列为:GCACUUAGCAAGCACUUAUTTAUAAGUGCUUGCUAAGUGCTT; NC干扰序列为:UUCUCCGAACGUGUCACGUTTACGUGACACGUCGAGGAATT。Interferin转染试剂和Gibco Opti-MEM购自北京达科为生物技术有限公司,CCK-8溶液购自天津柏瑞特生物技术有限公司。

1.6 细胞转染

按照转染试剂说明书方法,分别将S1、S2、S3和NC siRNA转染处于对数生长期的肝癌SMMC-7721细胞,转染48 h后,用于后续实验。

1.7 RT-PCR和qPCR法检测SMMC-7721细胞中AP003469.2和YWHAZ mRNA的表达水平

用TRIzol裂解各组细胞并提取细胞总RNA,将2 μg总RNA逆转录为cDNA。分别加入AP003469.2、YWHAZ和GAPDH的引物进行PCR扩增。反应条件:95℃预变性5 min,然后95℃15 s、55℃15 s、72℃20 s,共50个循环。PCR结束后,样本中加入加样缓冲液进行2%琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像仪中观察、拍照。

样本加入SYBR Green I进行qPCR,反应条件同

前,检测 YWHAZ 的相对表达。AP003469.2 上游引物序列为 GCACTTTACAAAGGAGGAACTGCAG, 下游为 CAGTTTCCTCCTTTGTAAAGTGCGAAT; YWHAZ 上游引物序列为 TGTAGGAGCCCGTAG GTCATC, 下游为 GTGAAGCATTGGGGATCAAGA; GAPDH 上游引物序列为 AGAAGGCTGGGGC TCATTG, 下游为 AGGGGCCATCCACAGTGTTTC。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因 mRNA 的相对含量。

1.8 CCK-8 法检测 SMMC-7721 细胞的增殖活力

将转染后各组对数生长期 SMMC-7721 细胞以 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 接种于 96 孔中, 培养 48 h 后分别在培养孔中加入 10 μl CCK-8 溶液, 孵育 1.5 h 后, 通过酶标仪检测各孔波长 450 nm 处的光密度(D)值。

1.9 统计学处理

所有实验均独立重复 3 次。采用秩和检验分析 AP003469.2 和 YWHAZ 在正常对照、低风险组和高风险组患者中表达的差异, 两独立样本比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选出 HCC 预后相关 12 个 eRNA 和 13 个靶基因

按照分析流程和文献[10-11]的方法, 从 UCSC 数据库中筛选出 424 个 TCGA-HCC 样品组成的转录组矩阵, 从中提取 1 580 个 eRNA 和 1 791 个靶基因。随后, 在 368 个 HCC 样品中对上述基因进行批量生存分析, 其中 124 个 eRNA 和 427 个靶基因具有预后预

测意义。由于 eRNA 对靶基因具有潜在的增强作用, 进一步分析两者的相关性, 发现 12 个 eRNA 和 13 个靶基因存在表达正相关性(均 $P < 0.05$, 图 1)。

2.2 筛选出 4 个 HCC 预后相关的关键基因

对存在正相关的基因进行 LASSO 回归分析, 发现当纳入基因数为 8 时, 模型效能最好(图 2A、B)。经多因素 Cox 多元回归分析后最终锁定 4 个关键基因, 包括两个 eRNA (AP003469.2 和 SPRY4-AS1) 和两个靶基因 (PPARGC1A 和 SLC2A1)。值得注意的是, 上述 4 个关键基因来自 4 个不同的共表达关系对(图 1), 提示它们对 HCC 患者预后具有很高的贡献权重。

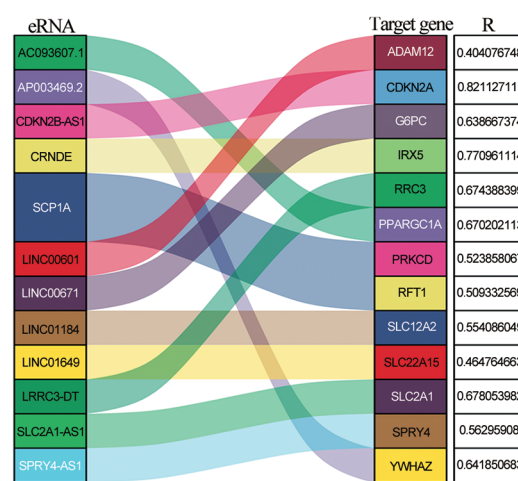
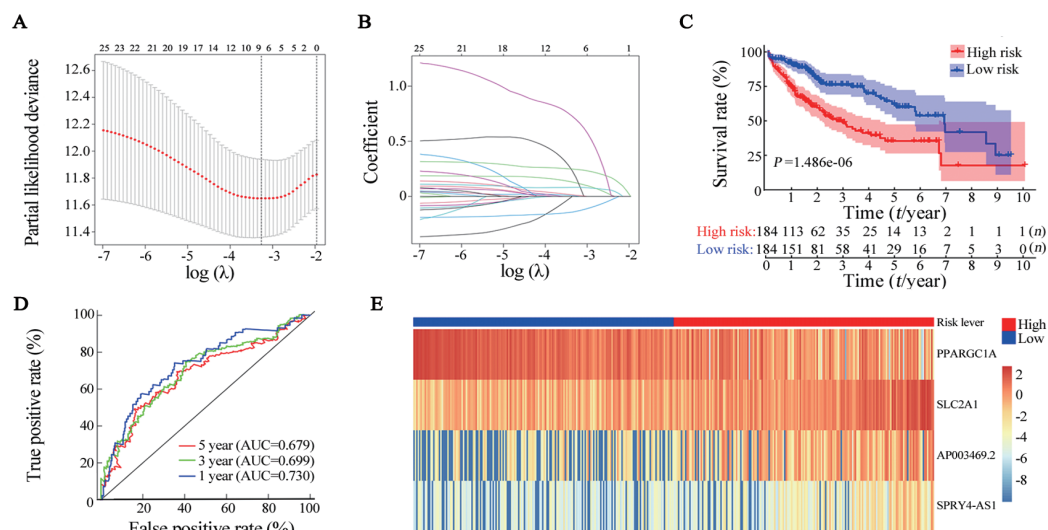


图 1 HCC 预后相关 eRNA 和靶基因的相关性桑基图

Fig.1 Sankey diagram of correlation between eRNAs and target genes related to the prognosis of HCC



A: Selection of parameter λ was cross validated by LASSO regression analysis; B: Dynamic process diagram of LASSO screening variables; C and D: Survival curve and ROC curve based on prognostic risk scoring system; E: Heat map of selected genes based on risk grouping

图 2 LASSO 回归、预后风险评分模型的构建以及关键基因的表达

Fig.2 LASSO regression, construction of prognostic risk scoring model and expression of key genes

2.3 成功构建HCC预后风险评分模型

基于HCC预后4个关键基因的表达量以及多因素Cox回归系数,建立了HCC预后风险评分模型:风险评分=0.2337×AP003469.2表达量+0.3176×SLC2A1表达量+1.184×SPRY4-AS1表达量-0.2477×PPARGC1A表达量。根据风险评分的中位值,将HCC患者分为高风险组和低风险组,分析发现高风险组患者的预后更差($P<0.01$,图2C)。

通过ROC曲线评估4个基因的预后预测能力,结果发现第1、3和5年的AUC分别为0.730、0.699和0.679,提示该风险评分模型具备良好的预测效能(图2D)。结合4个基因表达热图(图2E)不难发现,

PPARGC1A低表达风险低,是潜在的抑癌基因,而其余3个基因均高表达风险高,是潜在的促癌基因。4个基因的生存分析也证实了这一现象(图3)。

2.4 AP003469.2无促癌功能而有预后预测功能

建立患者预后相关的4个基因的共表达散点图(图4),通过Spearman相关性分析发现,HCC预后关键eRNA AP003469.2及其对应的靶基因YWHAZ相关性最好,且与另一个eRNA SPRY4-AS1相比,AP003469.2在正常对照组、低风险组和高风险组的表达量递增趋势更为明显(均 $P<0.01$,图5),故选取AP003469.2作为候选研究eRNA。

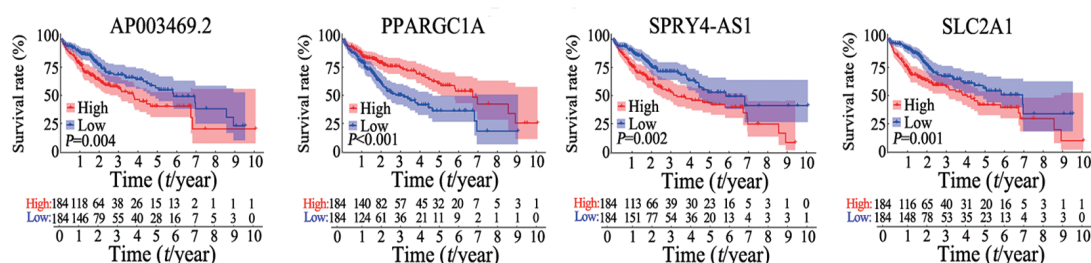


图3 HCC患者预后风险评分模型入选基因与患者生存的关系

Fig.3 Correlation between patients' survival and selected genes in the HCC prognostic scoring system

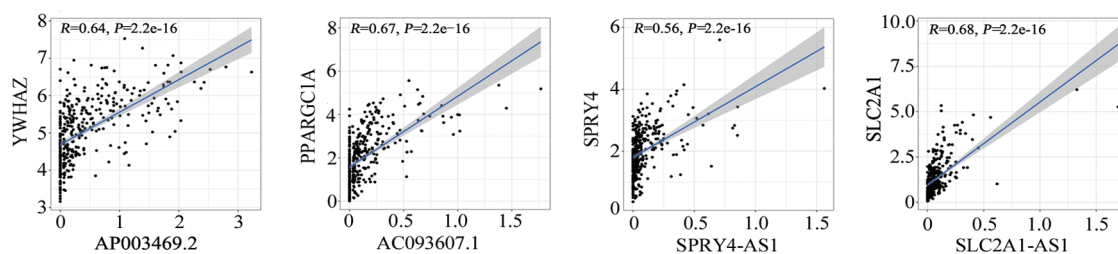


图4 HCC预后风险模型入选eRNA-靶基因对的共表达散点图

Fig.4 Scatter plot of co-expressed of eRNA-target gene pairs selected in the HCC prognostic scoring system

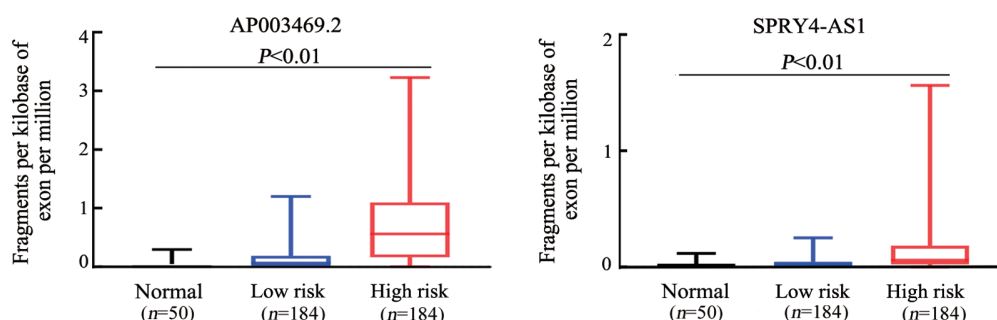


图5 eRNA在HCC患者高、低风险组中的表达差异

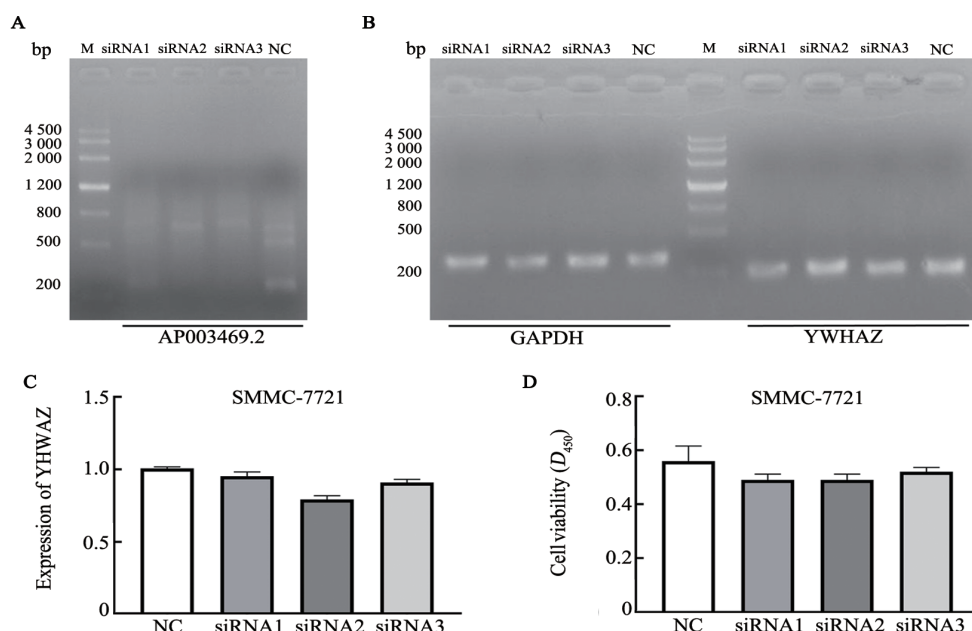
Fig.5 Differential expression of eRNAs in high and low risk groups

转染siRNA后,RT-PCR检测结果显示,与对照组相比,转染组SMC-7721细胞3条siRNA均可以有效地对AP003469.2进行敲减(图6A),而其对应的

靶基因YWHAZ则无明显改变(图6B);qPCR验证也得到了类似的结果(图6C),结果提示YWHAZ并非AP003469.2的下游基因,两者的共表达相关性很可

能是特定增强子同时激活转录所致。同时发现, 敲减 AP003469.2 后 SMMC-7721 细胞的增殖并未受明

显影响(图 6D), 说明 AP003469.2 只是一个可靠的 HCC 预后预测标志物, 其无促癌功能。



A: siRNA knockdown efficiency of AP003469.2; B: RT-PCR was used to detect the expression of YWHAZ after AP003469.2 knockdown; C: qPCR was used to detect the expression of YWHAZ after AP003469.2 knockdown; D: CCK-8 was used to detect the proliferation of SMMC-7721 cells after knocking down AP003469.2

图6 敲减AP003469.2对SMMC-7721细胞YWHAZ表达和细胞增殖活力无显著影响

Fig.6 Knockdown of AP003469.2 had no significant effect on YWHAZ expression and proliferation activity of SMMC-7721 cells

3 讨论

HCC是最常见的恶性肿瘤之一,病死率极高,且呈上升趋势^[12]。越来越多的研究结果^[13-14]证实, lncRNA在HCC的发生发展中具有重要功能。eRNA是DNA增强子区域转录的lncRNA的一个特殊亚类,既可影响一些基因的转录,也与肿瘤的预后相关^[15]。本研究基于TCGA数据库中肝癌及癌旁组织中的基因表达和临床数据,将提取出来的eRNA和其相应靶基因进行批量生存分析,并进一步对具有预后意义的eRNA及其靶基因进行相关性分析,对存在表达相关性的eRNA和靶基因再进行LASSO回归和多因素Cox多元回归分析,最终筛选出具有预后意义的AP003469.2和SPRY4-AS1两个eRNA以及PPARGC1A和SLC2A1两个靶基因,并根据其表达量和多因素Cox回归系数构建了肝癌预后风险评分模型,该模型对肝癌患者的预后具有很好的预测能力,其第1、3和5年的AUC分别为0.730、0.699和0.679。其中,PPARGC1A基因的高表达提示预后较好,而AP003469.2、SPRY4-AS1和SLC2A1基因的高表达提示预后较差。

研究结果^[16]表明,SPRY4-AS1在喉鳞状细胞癌中高表达,并与患者预后不良相关。该结果与本研究HCC中观察到的现象一致,即SPRY4-AS1高表达

预后差。YWHAZ在乳腺癌、胃癌和结直肠癌等多种癌种中显著上调,且已被证实可作为癌基因参与肿瘤的发生、发展进程^[17-20]。在HCC中,YWHAZ的表达同样上调并可以通过与 α B-晶体蛋白结合诱导上皮-间质转化,促进HCC的转移和侵袭^[21-22]。也有研究^[23]发现,PPARGC1A在结肠癌患者中高表达,并参与其预后模型的构建。SLC2A1在胃癌患者组织中高表达,与患者预后不良相关^[24]。而目前有关AP003469.2的相关报道较少。

为了进一步探索AP003469.2在HCC中的功能,本研究将siRNA转染至肝癌SMMC-7721细胞,经PCR法检测发现,敲降AP003469.2后,细胞中YWHAZ的表达并无明显变化,这就说明AP003469.2对YWHAZ并无调控作用,不能作为eRNA调控YWHAZ的表达,两者很可能受到同一个增强子的激活,处于同级水平。进一步通过CCK-8实验发现,敲除AP003469.2后,SMMC-7721细胞的增殖并未受明显影响,说明AP003469.2并不能作为一种有促癌功能的eRNA,对肝癌细胞的增殖产生影响。

综上所述,本研究基于生物信息学分析方法筛选出在HCC中与预后相关的eRNA和靶基因,并构建了预后风险评分系统,该模型具有很好的预后预测效能;通过实验进一步探索了eRNA AP003469.2对肝癌细胞

的影响,虽然其无明显促癌作用,但有较好的预后预测功能。本研究结果为开展eRNA在肝癌及其他类型肿瘤中的研究提供了实验参考。相信随着研究的深入,越来越多的预后相关功能性eRNA会被发现,其参与肿瘤发生发展的相关机制也会更加明确。

[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. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] ZHENG R S, QU C F, ZHANG S W, et al. Liver cancer incidence and mortality in China: Temporal trends and projections to 2030[J/OL]. *Chung Kuo Yen Cheng Yen Chiu*, 2018, 30(6): 571-579[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6328503/>. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2018.06.01.
- [3] SANGRO B, SAROBE P, HERVÁS-STUBBS S, et al. Advances in immunotherapy for hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(8): 525-543[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8042636/>. DOI: 10.1038/s41575-021-00438-0.
- [4] LEE D, ZHANG M S, TSANG F H, et al. Adaptive and constitutive activations of malic enzymes confer liver cancer multilayered protection against reactive oxygen species[J]. *Hepatology*, 2021, 74(2): 776-796. DOI:10.1002/hep.31761.
- [5] JIANG C Y, LI X, ZHAO H, et al. Long non-coding RNAs: potential new biomarkers for predicting tumor invasion and metastasis[J/OL]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 62[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5043609/>. DOI:10.1186/s12943-016-0545-z.
- [6] QUAN M Y, CHEN J H, ZHANG D Q. Exploring the secrets of long noncoding RNAs[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(3): 5467-5496[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4394487/>. DOI:10.3390/ijms16035467.
- [7] LI W, NOTANI D, ROSENFELD M G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives[J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(4): 207-223. DOI:10.1038/nrg.2016.4.
- [8] LI W B, HU Y R, OH S, et al. Condensin II complexes license full estrogen receptor α -dependent enhancer activation[J/OL]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 188-202[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5770188/>. DOI:10.1016/j.molcel.2015.06.002.
- [9] BAL E, PARK H S, BELAID-CHOUCAIR Z, et al. Mutations in ACTR1 and its enhancer RNA elements lead to aberrant activation of Hedgehog signaling in inherited and sporadic basal cell carcinomas[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1226-1233. DOI:10.1038/nm.4368.
- [10] ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome[J/OL]. *Nature*, 2012, 489(7414): 57-74[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3439153/>. DOI:10.1038/nature11247.
- [11] VUČIĆEVIĆ D, CORRADIN O, NTINI E, et al. Long ncRNA expression associates with tissue-specific enhancers[J/OL]. *Cell Cycle*, 2015, 14(2): 253-260[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4614992/>. DOI:10.4161/15384101.2014.977641.
- [12] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29. DOI:10.3322/caac.21254.
- [13] GUTTMAN M, RINN J L. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs[J/OL]. *Nature*, 2012, 482(7385): 339-346[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4197003/>. DOI:10.1038/nature10887.
- [14] PENG L, YUAN X Q, ZHANG C Y, et al. The emergence of long non-coding RNAs in hepatocellular carcinoma: an update[J/OL]. *J Cancer*, 2018, 9(14): 2549-2558[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6036883/>. DOI:10.7150/jca.24560.
- [15] GU X L, WANG L X, BOLDRUP L, et al. AP001056.1, A prognosis-related enhancer RNA in squamous cell carcinoma of the head and neck[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(3): E347[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6468641/>. DOI: 10.3390/cancers11030347.
- [16] GONG S Q, XU M, ZHANG Y Y, et al. The prognostic signature and potential target genes of six long non-coding RNA in laryngeal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Front Genet*, 2020, 11: 413[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7198905/>. DOI:10.3389/fgene.2020.00413.
- [17] GAN Y, YE F, HE X X. The role of YWHAZ in cancer: a maze of opportunities and challenges[J/OL]. *J Cancer*, 2020, 11(8): 2252-2264[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7052942/>. DOI:10.7150/jca.41316.
- [18] LI Y Y, WANG J J, DAI X R, et al. miR-451 regulates FoxO3 nuclear accumulation through Ywhaz in human colorectal cancer[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(12): 2775-2785[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4731674/>.
- [19] GUO F, GAO Y J, SUI G Q, et al. miR-375-3p/YWHAZ/ β -catenin axis regulates migration, invasion, EMT in gastric cancer cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2019, 46(2): 144-152. DOI: 10.1111/1440-1681.13047.
- [20] BERGAMASCHI A, FRASOR J, BORGES K, et al. 14-3-3 ζ as a predictor of early time to recurrence and distant metastasis in hormone receptor-positive and-negative breast cancers[J/OL]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 137(3): 689-696[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3632437/>. DOI:10.1007/s10549-012-2390-0.
- [21] ZHAO J F, ZHAO Q, HU H, et al. The ASH1-miR-375-YWHAZ signaling axis regulates tumor properties in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 538-553[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5944419/>. DOI:10.1016/j.omtn.2018.04.007.
- [22] HUANG X Y, KE A W, SHI G M, et al. α B-crystallin complexes with 14-3-3 ζ to induce epithelial-mesenchymal transition and resistance to sorafenib in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 57(6): 2235-2247. DOI:10.1002/hep.26255.
- [23] CHANG K L, YUAN C, LIU X G. A new RBPs-related signature predicts the prognosis of colon adenocarcinoma patients[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 627504[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7985171/>. DOI:10.3389/fonc.2021.627504.
- [24] MIN K W, KIM D H, SON B K, et al. High SLC2A1 expression associated with suppressing CD8 T cells and B cells promoted cancer survival in gastric cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(3): e0245075[2021-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7971512/>. DOI:10.1371/journal.pone.0245075.

[收稿日期] 2021-05-26

[修回日期] 2021-09-10

[本文编辑] 党瑞山