

• 论 著 •

基于 IPA 分析 SF3B4 作为胃癌潜在生物标志物的分子机制^{*}李德红, 鲁彦, 颜丽, 林赋桂, 杨兴文, 杨晓燕, 杨阳, 袁秀梅[△]

甘肃省医学检验临床医学研究中心/甘肃省人民医院检验中心, 甘肃兰州 730000

摘要:目的 基于 IPA (Ingenuity Pathway Analysis) 进行生物信息学分析, 探讨剪接因子 3b 亚基 4 (SF3B4) 作为胃癌潜在生物标志物对人胃癌细胞的分子调控机制。方法 采用免疫组化法分析 SF3B4 蛋白在人胃癌组织和癌旁正常组织中的表达情况, 荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法检测 SF3B4 mRNA 在人胃癌细胞系 AGS、HGC-27、KATO III、NCI-N87 和 MKN-74 的表达水平。采用短发夹 RNA (shRNA) 技术沉默 SF3B4 基因, RNA 测序 (RNA-seq) 检测 SF3B4 沉默后 AGS 细胞基因表达谱变化, 输入 IPA 系统进行经典通路、疾病与功能、互作网络等分析, 并筛选出关键基因进行 RT-qPCR 验证。结果 SF3B4 蛋白在胃癌组织中的表达显著高于癌旁正常组织 ($P < 0.05$), SF3B4 mRNA 在人胃癌细胞系 AGS、HGC-27、KATO III 和 MKN-74 中呈高表达, 在 NCI-N87 中表达水平一般。RNA-seq 显示, 与对照组比较, SF3B4 沉默组中 105 个基因为差异表达基因, 其中上调基因 64 个, 下调基因 41 个。IPA 经典通路分析显示, SF3B4 沉默后, 坏死性凋亡信号通路、衰老途径显著抑制。疾病功能和互作网络分析显示, SF3B4 在胃癌中发挥重要作用, 主要影响自噬、细胞周期等功能。RT-qPCR 验证发现, DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 基因在 SF3B4 沉默后表达下调。结论 SF3B4 在胃癌组织和胃癌细胞系中高表达, 可能是潜在的胃癌生物标志物, 可通过调控凋亡信号通路、衰老途径、自噬等通路参与胃癌的发生发展, 并可能与 DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 等基因相关。

关键词: 胃癌; 剪接因子 3b 亚基 4; 生物信息学分析; 生物标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.19.008 **中图法分类号:** R735.2

文章编号: 1673-4130(2023)19-2343-06

文献标志码: A

Molecular mechanism of SF3B4 as a potential biomarker of gastric cancer based on IPA analysis^{*}

LI Dehong, LU Yan, YAN Li, LIN Fugui, YANG Xingwen, YANG Xiaoyan,

YANG Yang, YUAN Xiumei[△]

Gansu Provincial Clinical Research Center for Laboratory Medicine/Department of
Clinical Laboratory, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou, Gansu 730000, China

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of splicing factor 3b subunit 4 (SF3B4) as a potential biomarker of human gastric cancer cells by bioinformatics analysis based on the Ingenuity Pathway Analysis (IPA). **Methods** SF3B4 protein expression in human gastric cancer tissues and adjacent normal tissues was analyzed by immunohistochemical method. The expression levels of SF3B4 mRNA in human gastric cancer cell lines AGS, HGC-27, KATO III, NCI-N87 and MKN-74 were detected by RT-qPCR. SF3B4 gene was silenced by shRNA technique, and the changes in gene expression profile of AGS cells were detected by RNA sequencing (RNA-seq) after SF3B4 silencing. The classical pathway, disease and function, and interaction network were analyzed by IPA system. The expression levels of selected differential RNAs were verified by RT-qPCR. **Results** The expression of SF3B4 protein in gastric cancer tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues ($P < 0.05$). SF3B4 mRNA was highly expressed in four gastric cancer cell lines (AGS, HGC-27, KATO III, and MKN-74) and was moderately expressed in NCI-N87 cells. RNA-seq showed

^{*} 基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(20JR5RA146); 甘肃省兰州市城关区科技计划项目(2021SHFZ0002)。

作者简介: 李德红, 女, 主任技师, 主要从事胃肠道肿瘤的生物标志物筛选及其作用机制研究。 [△] 通信作者, E-mail: yuanxiumei13579@126.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20230801.1426.004.html> (2023-08-02)

that the expression of 105 genes in SF3B4 silenced group was significantly different from that in the control group, including 64 up-regulated genes and 41 down-regulated genes. IPA classical pathway analysis showed that the necrotic apoptosis signaling pathway and senescence pathway were significantly inhibited after SF3B4 silencing. The analysis of disease function and interaction network showed that SF3B4 played an important role in gastric cancer, mainly affecting autophagy, cell cycle and other functions. RT-qPCR results further confirmed that DNAJA3, PPP3CB, VDAC1, FOXO3, EI24 and DRAM2 genes were down-regulated after SF3B4 silencing. **Conclusion** SF3B4 is highly expressed in gastric cancer tissues and gastric cancer cell lines, which may be a potential biomarker of gastric cancer. SF3B4 may be involved in the occurrence and development of gastric cancer by regulating apoptosis signaling pathway, aging pathway, autophagy and other pathways, and related to genes such as DNAJA3, PPP3CB, VDAC1, FOXO3, EI24 and DRAM2.

Key words: gastric cancer; splicing factor 3b subunit 4; bioinformatics analysis; biomarker

可变剪接因子 SF3B4 是 U2 型剪接体的重要组成部分,参与前体 mRNA 剪接^[1]。SF3B4 在不同肿瘤中的作用不同,是卵巢癌的潜在癌基因^[2],但在胰腺癌中可能充当阻遏物^[3]。因此, SF3B4 在不同肿瘤中的独特作用需要进一步研究。SF3B4 在人胃癌组织和细胞中的表达及在胃癌发生发展中的作用尚鲜见文献报道。为探讨 SF3B4 对人胃癌的分子调控机制,本研究首先检测 SF3B4 在人胃癌组织和细胞系中的表达情况,进一步基于 IPA 系统的生物信息学分析,探讨 SF3B4 对胃癌发生的可能分子调控机制及作为潜在分子标志物的价值。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2018 年 5 月至 2019 年 5 月在甘肃省人民医院行手术切除的 34 例胃癌患者癌组织及癌旁正常组织标本。本研究经甘肃省人民医院伦理审查委员会批准。

1.2 主要仪器与试剂 LightCycler 480 II Real time PCR 仪(Roche); NovaSeq 6000 Illumina 二代测序仪、NEBNext[®] Ultra[™] RNA Library Prep Kit 建库试剂盒(Illumina); AGS、HGC-27、KATO III、MKN-74 和 NCI-N87 胃癌细胞株(上海吉凯基因化学技术有限公司); Bulge-Loop[™] miRNA qPCR Primer Set 试剂盒(广州锐博); QIAGEN's Ingenuity[®] 通路分析系统。

1.3 免疫组化法检测 SF3B4 蛋白表达 切片脱蜡,用柠檬酸缓冲液进行热介导抗原修复,用过氧化物酶阻断液在室温下阻断 10 min,并按照制造商的方案用正常的非免疫动物血清处理。然后,用稀释的 SF3B4 一抗 4 ℃ 过夜染色组织切片,然后用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗切片,生物素化二抗室温下孵育 10 min。清洗后,组织切片用 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)染色,用苏木精反染色,乙醇脱水,用树脂固定。使用 NanoZoomer 2.0-HT(日本 Hamamatsu)捕获图像。

通过免疫组化评分(IRS 评分,强度评分×程度评分)评估 SF3B4 表达水平。染色强度分为 0~3 分(0 分:阴性;1 分:弱;2 分:中度;3 分:强)。染色细胞阳性程度分为 5 类:0 分(0%)、1 分(>0%~25%)、2 分(>25%~50%)、3 分(>50%~75%)、4 分(>75%~100%)。根据 IRS 评分,将染色结果定义为低表达(IRS 评分:0~6 分)和高表达(IRS 评分:8~12 分)。

1.4 荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 SF3B4 在人胃癌细胞系中的表达水平 胃癌细胞以 2×10^5 /mL 密度制成细胞悬液,接种于 6 孔板,每种细胞设置 3 个复孔,置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养。待细胞生长达 80%时收集细胞, TRIzol 法提取总 RNA,逆转录(Promega M-MLV)为 cDNA 后采用 RT-qPCR 仪检测 SF3B4 的相对表达水平。以 GAPDH 为内参。GAPDH:上游引物 5'-TGACTTCAACAGCGACAC-CCA-3',下游引物 5'-CACCCTGTTGCTGTAGC-CAAA-3'; SF3B4:上游引物 5'-GGGAAGCCAAT-ACGGGTGAA-3',下游引物 5'-GTGATAGGACG-GTTACAGAGGT-3'。

1.5 应用短发夹 RNA(shRNA)技术沉默 AGS 细胞 SF3B4 表达 取对数生长期的人胃癌细胞 AGS 制成 $3 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ /mL 的细胞悬液接种于 6 孔板中。细胞分为 SF3B4 沉默组(KD 组, SF3B4 shRNA 干扰序列为 CTGAGATTGATGAGAAGTT)和对照组(NC 组,含阴性对照病毒 CON053),每组设置 3 个复孔。继续培养保证感染时细胞铺板量达到 15%~30%,更换感染培养基,加入最适病毒量(慢病毒三质粒系统)进行感染,感染复数(MOI)为 10。感染后 8~16 h 更换普通培养基培养,72 h 收集细胞在荧光显微镜下观察并应用 RT-qPCR 检测 SF3B4 基因沉默效率。引物序列同上。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 SF3B4 相对表达水平。

1.6 RNA 测序(RNA-seq) 收集 KD 组和 NC 组细胞, TRIzol 法抽提总 RNA, 检测 RNA 纯度和完整性后, 获取 mRNA。NEBNex[®] Ultra[™] RNA Library Prep Kit 建立测序文库, Qubit2.0 Fluorometer 初步定量, 稀释至 1.5 ng/ μ L, Agilent 2100 生物分析仪对文库的插入片段检测, 符合预期后, RT-qPCR 法对文库有效浓度进行准确定量(有效浓度高于 2 nmol/L), 以保证文库质量。应用 Illumina 测序仪对两组细胞进行 RNA-seq。

1.7 IPA(Ingenuity Pathway Analysis)分析 倍数变化 $|FC| > 1.00$ (上调或下调)和错误发现率(FDR)调整 P 值 < 0.05 被认为是差异表达, 输入 IPA 系统(<https://digitalinsights.qiagen.com/products-overview/discovery-insights-portfolio/analysis-and-visualization/qiagen-ipa/>)进行分析。IPA 包括经典通路分析、疾病功能分析和互作网络分析。经典通路分析: 首先, 基于差异基因列表与各个通路包含的基因集合, 通过计算显著性($P < 0.05$)来找到表达差异基因主要富集在哪些通路中; 接着, 基于差异基因受调控信息(上调或下调), 与文献[4]的调控信息相比较($|Z$ 分数 > 2), 明确调控通路。根据 P 值鉴定和评价差异表达基因富集的典型信号通路, 确定参与典型信号通路的 Z 分数和占比。 Z 分数表示信号通路的激活(Z 分数 > 0)或抑制(Z 分数 < 0)。通过将典型信号通路中的差异表达基因(DEGs)数除以通路中总基因数来计算占比。疾病功能分析: 基于数据库分析差异基因在不同疾病与功能分类中的富集情况($P < 0.05$, $|Z$ 分数 > 2)。互作网络分析: 对每一个调控

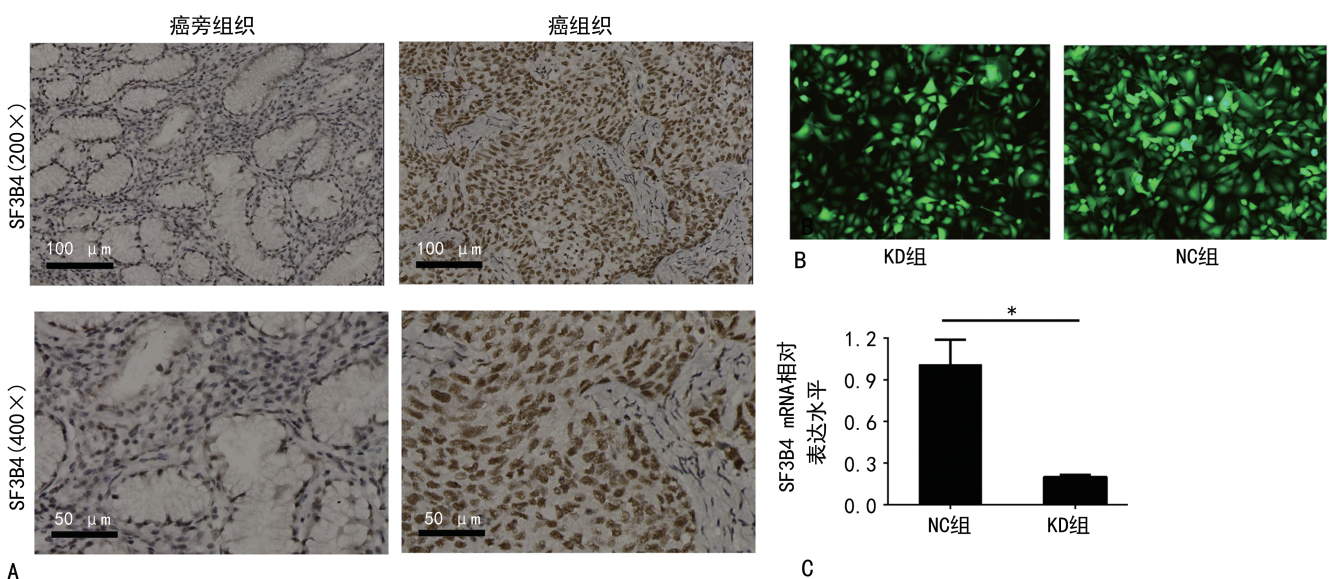
网络进行打分, 该分值反映了同一个网络中 DEGs 的数量, 同一个网络中包含差异基因的数量越多, 则得分越高。

1.8 关键基因验证 通过分析经典通路、疾病功能、互作网络等, 选取 SF3B4 沉默后发生显著变化的多条通路中共同出现的部分关键基因, 在 AGS 细胞上通过 RT-qPCR 检测 SF3B4 沉默后各关键基因的 mRNA 变化, 与测序结果进行比较。

1.9 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, Shapiro-Wilk 检验进行正态性检验, Levene 检验进行方差齐性检验, 满足正态分布、方差齐性时采用独立样本 t 检验, 不满足时采用 Mann-Whitney U 秩和检验。生物信息学分析采用 IPA 软件。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SF3B4 在人胃癌组织和细胞系中的表达水平及 SF3B4 基因沉默效率 SF3B4 蛋白在胃癌组织中的表达显著高于癌旁组织($P < 0.05$), 见图 1A。SF3B4 mRNA 在人胃癌细胞系 AGS、HGC-27、KATO III 和 MKN-74 中呈高表达, 在 NCI-N87 细胞系中表达水平一般, ΔCt 值分别为 4.53 ± 0.06 、 6.62 ± 0.07 、 4.15 ± 0.16 、 6.38 ± 0.19 和 14.88 ± 0.32 。慢病毒感染 AGS 细胞后荧光显微镜显示 KD 组和 NC 组大部分细胞表达绿色荧光蛋白, 提示慢病毒感染效率较高, RT-qPCR 检测结果显示, KD 组 SF3B4 基因沉默效率达到 80.0%, 差异有统计学意义($P = 0.015$), 见图 1B、C。



注: A 为 SF3B4 蛋白在人胃癌组织和癌旁组织中的表达; B、C 为 NC 组和 KD 组 AGS 细胞的慢病毒感染效率及 SF3B4 mRNA 表达情况; 与 NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 1 SF3B4 在胃癌组织、AGS 细胞系的表达情况及沉默效率

2.2 RNA-seq 测序结果 慢病毒介导 shRNA 技术在 SF3B4 高丰度表达的常见胃癌细胞 AGS 中进行沉默,比较 KD 组和 NC 组的 SF3B4 RNA-seq 结果,结果显示两组的基因表达分布标准化程度较好(图 2A)。以表达 $|FC| \geq 1.00$ 倍(上调或下调)且 $FDR < 0.05$ 作为标准,鉴定出 DEGs 共 105 个,其中上调基因数 64 个,下调基因数 41 个,见图 2B。

2.3 显著富集的经典通路的鉴定 IPA 经典信号通路分析显示在富集到的 203 条经典通路中,29 条转导通路中 DEGs 富集达到显著水平,主要为小窝蛋白介导的内吞信号、FAK 信号通路、ERK/MAPK 信号通路、神经源性一氧化氮合成酶(nNOS)信号传导、钙蛋白酶调控细胞力学等。本研究中两条转导通路 Z 分

数=-1,说明这两条通路显著抑制,分别为坏死性凋亡信号通路和衰老通路。见表 1。

2.4 疾病与功能分析 IPA 分析显示,DEGs 与 500 种疾病和功能相关,根据其 P 值对这些相关疾病和功能进行评级,并选择前 30 个丰富的疾病和功能类别,见图 3。结果表明,细胞生长、增殖、发育、运动等与 SF3B4 相关。除了这些关键的生物学过程,SF3B4 与癌症、损伤、感染和代谢性疾病等多种疾病密切相关。通过 Z 分数分析发现,被激活的功能主要集中在细胞周期中,与细胞周期进程、有丝分裂相关,被抑制的功能主要集中在细胞形态、细胞功能和维持以及细胞运动中,与自噬、肿瘤细胞的迁移相关。

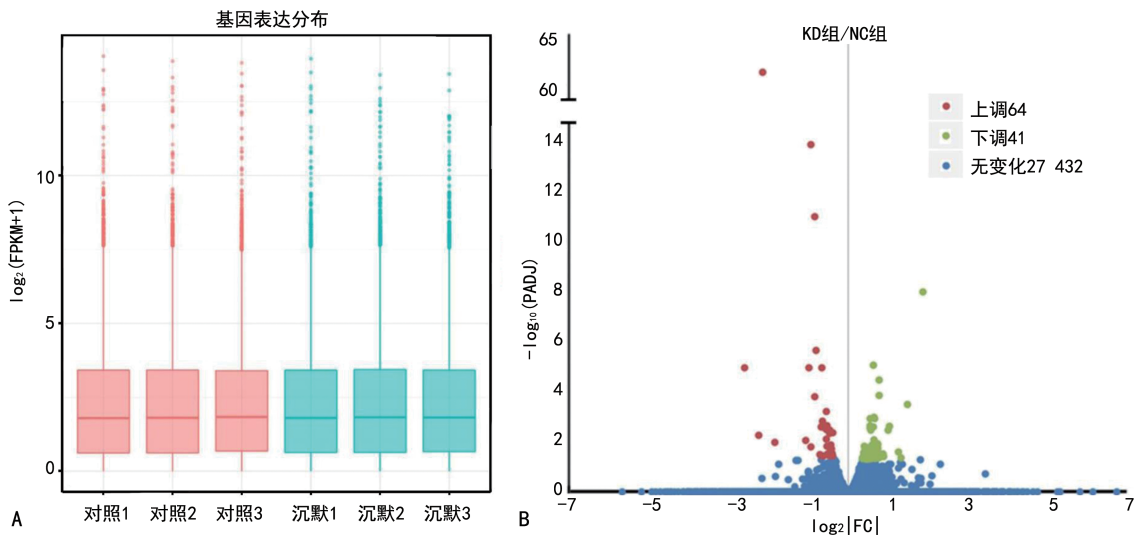


图 2 KD 组和 NC 组的基因表达图及火山图

表 1 经典通路分析

通路	$-\log_{10}(P)$	Z 分数	DEGs
坏死性凋亡信号通路	2.35	-1	钙蛋白酶-7、钙调神经磷酸酶催化 β 亚基、线粒体内膜转运酶 M13、电压依赖性阴离子通道 1
衰老通路	1.53	-1	钙蛋白酶-7、真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 1、FOXO3、钙调神经磷酸酶催化 β 亚基

2.5 互作网络分析 对 DEGs 进一步进行相互连接,构建 IPA 功能网络。共确定了 6 个 IPA 网络。这些 IPA 网络根据它们的得分进行排名。得分最高的 IPA 网络共包含 22 个 DEGs,得分为 47 分,最低的 IPA 网络得分为 17 分,表明这些基因高度相关,见表 2。共有 3 个 IPA 网络的得分 >30 分(网络 1、2 和 3,得分分别为 47、44 和 31 分)。5 个 IPA 网络富集了与细胞和组织生长相关的疾病和功能,包括细胞周期、细胞发育、细胞功能维持等,表明 SF3B4 对胃癌细胞发育的动态变化起重要作用。

2.6 关键基因的验证 选取多条通路中同时出现的

关键基因进行 mRNA 的验证,结果表明 SF3B4 沉默后, DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 基因表达抑制,见图 4。

表 2 SF3B4 抑制后的 IPA 功能网络

得分	DEGs 数量(个)	疾病与功能
47 分	22	细胞周期,细胞形态,结缔组织发育和功能
44 分	21	细胞间信号和相互作用,细胞运动,生殖系统发育和功能
31 分	16	细胞形态,细胞发育,细胞功能和维护
26 分	14	皮肤病,传染性疾病,机体损伤和异常
26 分	14	细胞形态,蜂窝组织,细胞发育
17 分	10	心脏扩张,蜂窝组织,蛋白质合成

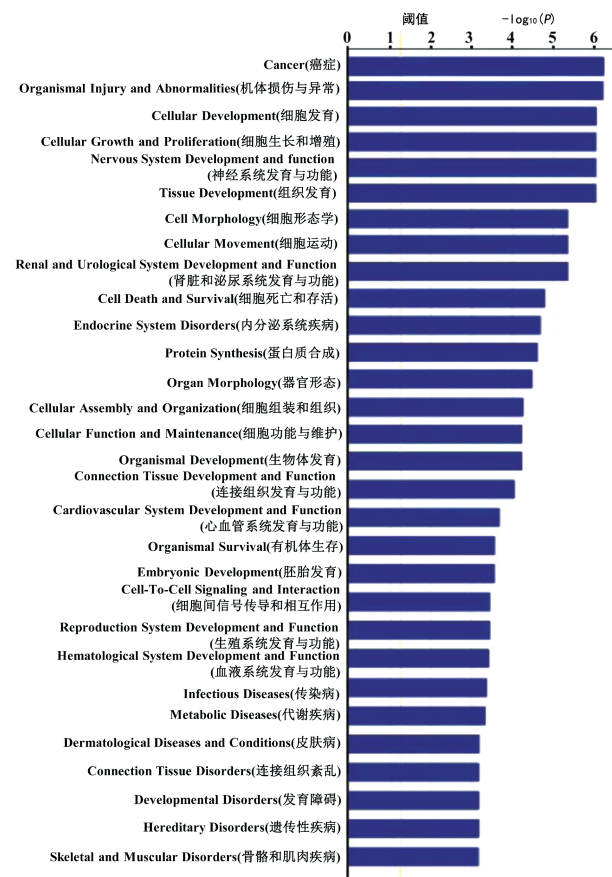


图 3 富集的前 30 个疾病与功能通路

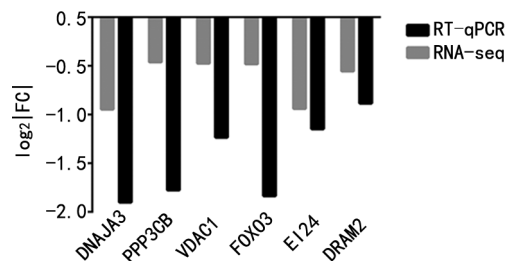


图 4 RT-qPCR 与 RNA-seq 的结果比较

3 讨论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一。胃癌发病机制的深入研究对胃癌早期诊断标志物的寻找极为重要。本研究基于免疫组化和 IPA 分析,探讨了 SF3B4 作为生物标志物的潜能及在人胃癌发生中的可能作用和机制,结果显示, SF3B4 蛋白在胃癌组织中高表达, SF3B4 mRNA 在人胃癌细胞系中呈高表达,其可能通过坏死性凋亡信号和衰老、自噬通路在肿瘤发生发展中起重要作用。SF3B4 是 U2 型剪接体的重要组成部分^[1],在 pre-mRNA 剪接中起关键作用^[5]。同时, SF3B4 还在转录、翻译和细胞信号传导等方面发挥作用^[6],并参与细胞周期、细胞分化和免疫缺陷的调控^[7]。SF3B4 突变与异常细胞生长有关,可造成肿瘤在内的多种疾病。但 SF3B4 是否在胃癌中发挥作用还鲜见报道。本研究显示, SF3B4 在胃癌细胞中高

表达,沉默 SF3B4 后坏死性凋亡信号和衰老通路显著抑制。进一步疾病与功能分析发现, SF3B4 对细胞周期、细胞功能与维持、自噬和肿瘤细胞迁移通路有显著影响。IPA 互作网络分析结果也发现 SF3B4 主要影响细胞周期、细胞形态、细胞运动、结缔组织发育和功能等。

本研究通过对 IPA 功能网络三个维度的研究发现, DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 在经典通路、疾病与功能、互作网络中高频出现。DNAJA3 属于热休克蛋白家族,在细胞生长、增殖、分化、衰老、存活、凋亡和运动中起重要作用^[8]。VDAC1 位于线粒体外膜中,充当线粒体“看门人”,是线粒体功能的重要调节剂^[9],除了控制能量来源和代谢外,该蛋白在线粒体介导的细胞凋亡中发挥关键作用^[10]。VDAC1 的失调可造成肿瘤发生、转移^[11]。FOXO3 是叉头框 O 转录蛋白家族的成员,参与调节自噬、细胞凋亡、细胞增殖、细胞周期进展、细胞存活和 DNA 损伤^[12]。FOXO3 在胃癌中的作用与不同的分子机制有关,可能同时作为抑癌因子和癌基因。一方面, FOXO3 与 Parkin 协同可抑制胃癌发展^[13];但另一方面 FOXO3 可通过诱导组织蛋白酶 L 促进胃癌细胞迁移和侵袭^[14]。DRAM2 定位于溶酶体膜,在自噬诱导中发挥重要作用^[15]。EI24 在细胞生长的负调控和细胞凋亡的诱导中起重要作用, EI24 还有一种自噬相关的跨膜蛋白,在自噬中发挥重要作用^[16]。PPP3CB 是钙调神经磷酸酶 (CaN) 催化亚基 PPP3C 中的三种亚型之一^[17], CaN 可使不同的转录因子去磷酸化,这些转录因子与重塑过程(包括炎症、肥大和自噬)具有病理生理学相关性, PPP3CB 的失调与肿瘤有密切关系^[18]。

本研究结果发现, DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 通过参与自噬、凋亡、增殖、细胞周期等生理作用,在肿瘤的发生发展中起作用。同时,本研究对以上 6 个基因进行了 RT-qPCR 验证,与测序结果一致, SF3B4 沉默后,可引起这 6 个基因的表达下调。以上结果表明这 6 个基因可能与 SF3B4 促进胃癌发生的机制相关。

综上所述, SF3B4 在胃癌组织和细胞系中高表达,可能是胃癌的潜在生物标志物。SF3B4 可能通过细胞凋亡通路和自噬调控通路参与胃癌的发生发展,并与 DNAJA3、PPP3CB、VDAC1、FOXO3、EI24 和 DRAM2 等基因相关,可为胃癌发生发展的分子机制研究提供新思路。

参考文献

[1] XIONG F, LI S. SF3b4: a versatile player in eukaryotic

- cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:14.
- [2] DIAO Y, LI Y, WANG Z, et al. SF3B4 promotes ovarian cancer progression by regulating alternative splicing of RAD52[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(2):179.
- [3] ZHOU W, MA N, JIANG H, et al. SF3B4 is decreased in pancreatic cancer and inhibits the growth and migration of cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(3): 1010428-317695913.
- [4] CHEN C, CUI S, LI W, et al. Ingenuity pathway analysis of human facet joint tissues: insight into facet joint osteoarthritis[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(4):2997-3008.
- [5] YAN L, YANG X, YANG X, et al. The role of splicing factor SF3B4 in congenital diseases and tumors[J]. *Discov Med*, 2021, 32(167):123-132.
- [6] BERNIER F P, CALUSERIU O, NG S, et al. Haploinsufficiency of SF3B4, a component of the pre-mRNA spliceosomal complex, causes Nager syndrome[J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 90(5):925-933.
- [7] TERADA Y, YASUDA Y. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr induces G₂ checkpoint activation by interacting with the splicing factor SAP145[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(21):8149-8158.
- [8] WANG S F, HUANG K H, TSENG W C, et al. DNA-JA3/Tid1 is required for mitochondrial DNA maintenance and regulates migration and invasion of human gastric cancer cells[J]. *Cancers*, 2020, 12(11):3463.
- [9] SHOSHAN-BARMATZ V, KRELIN Y, SHTEINFER-KUZMINE A, et al. Voltage-dependent anion channel 1 as an emerging drug target for novel anti-cancer therapeutics[J]. *Front Oncol*, 2017, 7:154.
- [10] SHOSHAN-BARMATZ V, SHTEINFER-KUZMINE A, VERMA A. VDAC1 at the intersection of cell metabolism, apoptosis, and diseases[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11):1485.
- [11] CAMARA A K S, ZHOU Y, WEN P C, et al. Mitochondrial VDAC1: a key gatekeeper as potential therapeutic target[J]. *Front Physiol*, 2017, 8:460.
- [12] 施锦涛, 沈纹君, 张静霞. FoxO3a 在非小细胞肺癌治疗中的研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2021, 42(17): 1518-1521.
- [13] DING D, AO X, LI M, et al. FOXO3a-dependent Parkin regulates the development of gastric cancer by targeting ATP-binding cassette transporter E1[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(4):2740-2755.
- [14] YU S, YU Y, ZHANG W, et al. FOXO3a promotes gastric cancer cell migration and invasion through the induction of cathepsin L[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23):34773-34784.
- [15] YOON J H, HER S, KIM M, et al. The expression of damage-regulated autophagy modulator 2 (DRAM2) contributes to autophagy induction[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(2):1087-1093.
- [16] ZANG Y, ZHU L, LI T, et al. EI24 Suppresses tumorigenesis in pancreatic cancer via regulating c-Myc[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2018, 2018:2626545.
- [17] HANG J, LAU S Y, YIN R, et al. The role of phosphoprotein phosphatases catalytic subunit genes in pancreatic cancer[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(1):BSR20203282.
- [18] NOLZE A, KOHLER C, RUHS S, et al. Calcineurin (PPP3CB) regulates angiotensin II-dependent vascular remodelling by potentiating EGFR signalling in mice [J]. *Acta physiol (Oxford, England)*, 2021, 233(3): e13715.

(收稿日期:2023-02-10 修回日期:2023-06-16)

(上接第 2342 页)

- [24] QUHAL F, PRADERE B, LAUKHTINA E, et al. Prognostic value of albumin to globulin ratio in non-muscle-invasive bladder cancer [J]. *World J Urol*, 2021, 39(9): 3345-3352.
- [25] DURAN-GÜELL M, FLORES-COSTA R, CASULLERAS M, et al. Albumin protects the liver from tumor necrosis factor α -induced immunopathology[J]. *FASEB J*, 2021, 35(2):e21365.
- [26] OH J S, PARK D J, BYEON K H, et al. Decrease of pre-operative serum albumin-to-globulin ratio as a prognostic indicator after radical cystectomy in patients with urothelial bladder cancer[J]. *Urol J*, 2021, 18(1):66-73.
- [27] 李生平, 周业江. 手术前后白蛋白与球蛋白比值变化对结肠癌预后的评估价值[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(5): 783-788.
- [28] 庞振文, 郭鹏, 何东生, 等. 术前白蛋白与球蛋白比值对喉鳞状细胞癌患者预后的评估价值[J]. *中国癌症防治杂志*, 2019, 11(5):407-411.
- [29] ESAWY M M, ABDEL-SAMD K M. The diagnostic and prognostic roles of serum irisin in bladder cancer[J]. *Curr Probl Cancer*, 2020, 44(4):100529.
- [30] AZUMA T, SATO Y, OHNO T, et al. Serum soluble B7-H3 is a prognostic marker for patients with non-muscle-invasive bladder cancer [J]. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0243379.
- [31] 张景波, 韩博, 安瑞华. 术前白蛋白/球蛋白比值在非肌层浸润性膀胱癌患者预后评估中的价值[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2019, 24(4):275-279.

(收稿日期:2023-03-27 修回日期:2023-06-19)