

肺腺癌组织中 MCM4 的表达及其与预后、免疫微环境的相关性分析

苗毅^a, 杨淑梅^a, 王晶^b, 武润苗^a, 孙皎琳^a, 吴军芳^a

(陕西省人民医院 a. 呼吸与危重症医学科; b. 检验科, 西安 710068)

摘要: **目的** 探讨肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 组织中微小染色体维持蛋白 4 (minichromosome maintenance proteins 4, MCM4) 的表达及其与预后、免疫微环境的相关性。**方法** 选取 2021 年 1 ~ 7 月陕西省人民医院收治的 LUAD 患者 4 例, 应用转录组测序检测 LUAD 患者癌组织和癌旁组织 MCM4 表达水平。癌症基因组图谱肺腺癌 (the cancer genome atlas- LUAD, TCGA-LUAD) 数据用于验证 LUAD 中 MCM4 表达并探究其与生存期的相关性。采用 LinkedOmics 分析 LUAD 中 MCM4 共表达基因、功能富集及调控因子靶向富集情况。STRING 用于构建蛋白质-蛋白质互作网络。采用 TIMER 分析 MCM4 与 LUAD 肿瘤免疫微环境的相关性。COX 回归分析 LUAD 患者预后的影响因素。**结果** 与癌旁组织比较, LUAD 癌组织中 MCM4 表达水平 (6.50 ± 0.86 vs 4.22 ± 0.66) 升高, 差异有统计学意义 ($U=16$, $P=0.029$)。TCGA-LUAD 发现相似结果 (癌组织 3.63 ± 0.92 vs 癌旁组织 1.90 ± 0.28), 差异有统计学意义 ($U=30\ 355$, $P<0.001$)。生存分析显示, MCM4 高表达 LUAD 患者总生存期和无病生存期 200 个月的累积生存率 (8.79% 和 19.25%) 均低于 MCM4 低表达患者 (28.87% 和 36.82%), 差异有统计学意义 (风险比=1.7, 1.4, 均 $P<0.05$)。共表达分析显示, LUAD 中与 MCM4 正相关的基因主要参与 P53 信号通路、DNA 复制、错配修复等通路。肿瘤免疫微环境分析显示, MCM4 与中性粒细胞浸润呈正相关 (partial.cor=0.14, $P=0.002$), 与 B 细胞浸润呈负相关 (partial.cor=-0.152, $P<0.001$)。COX 回归分析显示, MCM4 是影响 LUAD 患者预后的独立因子。**结论** LUAD 癌组织中 MCM4 表达升高, 与预后及免疫微环境显著相关, 可作为 LUAD 患者不良预后评估的分子标志物。

关键词: 肺腺癌; 微小染色体维持蛋白 4; 肿瘤免疫微环境

中图分类号: R734.2; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 05-115-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.05.022

Expression of MCM4 in Lung Adenocarcinoma and Its Correlation with Prognosis and Immune Microenvironment

MIAO Yi^a, YANG Shumei^a, WANG Jing^b, WU Runmiao^a, SUN Jiaolin^a, WU Junfang^a

(a. Department of Respiratory and Critical Care Medicine; b. Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To explore the expression of minichromosome maintenance proteins 4 (MCM4) in lung adenocarcinoma (LUAD) and its correlation with prognosis and immune microenvironment. **Methods** From January to July 2021, four LUAD patients admitted to Shaanxi Provincial People's Hospital were selected and transcriptome sequencing was used to detect the expression level of MCM4 in LUAD cancer tissue and paracancerous tissue. TCGA-LUAD data was performed to validate the expression of MCM4 and explore its relevance to survival periods in LUAD. Co-expressed genes of MCM4, functional enrichment, and regulator target enrichment in LUAD were analyzed using LinkedOmics. STRING tool was adopted to construct the protein-protein interaction network. TIMER tool was utilized to investigate the relationship between MCM4 and the tumor immune microenvironment in LUAD. COX regression was used to analyze the influencing factors of prognosis for LUAD patients. **Results** Compared with the paracancerous tissues, the expression level of MCM4 in LUAD cancer tissues was increased (6.50 ± 0.86 vs 4.22 ± 0.66), and the difference was statistically significant ($U=16$, $P=0.029$). TCGA-LUAD data found a similar result (cancer tissues 3.63 ± 0.92 vs paracancerous tissues 1.90 ± 0.28), and the difference was statistically significant ($U=30\ 355$, $P<0.001$). Survival analysis showed that the 200-month cumulative survival rate of OS and DFS of LUAD patients with high-expression MCM4 (8.79% and 19.25%) was lower than that with low-expression MCM4 (28.87% and

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (NO.2020DLSF01-06); OPN/FOXO1 信号通路在慢性阻塞性肺疾病气道重塑中的机制研究及临床价值。

作者简介: 苗毅 (1984-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 慢性气道疾病及肺部肿瘤研究, E-mail: Stella_hx@163.com。

通讯作者: 吴军芳 (1983-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 肺恶性疾病发病机制, E-mail: lddaltt060215@163.com。

36.82%), and the differences was statistically significant ($HR=1.7, 1.4$, all $P<0.05$). Co-expression analysis revealed that the genes that were positively correlated with MCM4 in LUAD, were mainly involved in the P53 signaling pathway, DNA replication, and mismatch repair. Tumor immune microenvironment analysis showed that MCM4 was positively correlated with the infiltration of Neutrophils (partial.cor=0.14, $P=0.002$), and negatively correlated with the infiltration of B cells (partial.cor=-0.152, $P<0.001$). COX regression analyses found that MCM4 was an independent factor affecting the prognosis of LUAD patients. **Conclusion** The expression of MCM4 was increased in LUAD cancer tissues, and it was obviously related to the prognosis and immune microenvironment, which can be applied as a molecular marker to evaluate the poor prognosis of LUAD patients.

Keywords: lung adenocarcinoma; minichromosome maintenance proteins 4; tumor immune microenvironment

全球癌症统计报告 (GLOBOCAN 2020) 数据显示, 肺癌新发病例数高达 220 万, 约占总新发癌症病例数的 11.4%, 位列第二; 死亡病例数占所有癌症死亡病例数的 18%, 位列第一^[1]。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌的主要类型, 约占 80% ~ 85%^[2-3]; 肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LUAD) 作为 NSCLC 的主要亚型 (约占 40% ~ 45%), 将被纳入本次研究。随着医疗手段的不断进步, 部分患者的预后水平已得到较大提高, 但是能够持续性获益的患者仍是少数。LUAD 新型靶点的研究有望为患者提供新的诊疗方案, 提高疗效, 改善预后。

微小染色体维持蛋白 4 (minichromosome maintenance proteins 4, MCM4) 是一个高度保守的蛋白编码基因, 属于 MCM 蛋白家族, 主要参与调控真核生物的 DNA 复制起始^[4-5]。最新研究发现, MCM4 在包括黑色素瘤、乳腺癌、食管癌、肝细胞癌、卵巢癌和胰腺导管腺癌等多种癌症中异常表达且具有作为其预后标志物的潜力^[6-11]。除此之外, 有研究发现 MCM4 在 NSCLC 中高表达, 且高表达 MCM4 患者的生存期明显缩短^[12-14]。本研究通过结合临床样本和多种公共数据库分析, 探究 LUAD 癌组织中 MCM4 的表达及其与预后、免疫微环境的相关性, 旨在为 LUAD 的临床诊疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2021 年 1 ~ 7 月在陕西省人民医院行手术切除治疗的 4 例 LUAD 患者, 其中男性 2 例, 女性 2 例。患者手术前均未接受任何治疗, 且均无其他恶性肿瘤。术中采集 LUAD 癌组织以及距离癌组织 2 cm 以上癌旁组织, 后者作为癌组织的对照。患者对本研究知情, 并签署知情同意书。本研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 RNA 提取、定量、纯度检测和完整性检测试剂盒 RNeasy Plus Universal Kits (Qiagen, 德国), QubitTM RNA HS 检测试剂盒 (美国赛默飞世尔科学公司), Take3 (BioTek, 美国), Qseq100 Bio-Fragment Analyzer (Bioptic, 中国) 的 RNA Cartridge。建库试剂盒 VAHTS mRNA-seq V3

Library Prep Kit for Illumina (Vazyme, 中国), 测序仪器 Illumina Hiseq 2000 (Illumina, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 组织 RNA 提取、建库和测序及分析: 利用 RNeasy Plus Universal Kits 在新鲜的癌组织和癌旁组织中提取总 RNA, 利用 QubitTM RNA HS 检测试剂盒定量提取的 RNA 浓度。分别用 Take3 和 Qseq100 Bio-Fragment Analyzer 的 RNA Cartridge 检测 RNA 的纯度和完整性。应用 VAHTS mRNA-seq V3 Library Prep Kit for Illumina 构建 RNA-seq 文库并在 Illumina Hiseq 2000 进行双端 100bp 测序。采用 TrimGalore-0.6.0 (https://MCM4www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/) 去除原始数据中的测序接头和低质量 reads。Kallisto v.0.46.2 用于统计基因的 TPM (transcript per million) 值, 并用 Mann-Whitney U 检验比较 LUAD 癌组织和癌旁组织中 MCM4 的表达差异。

1.3.2 TCGA-LUAD 数据分析: 使用 TCGA-LUAD 数据 (<https://xenabrowser.net/>) 验证 LUAD 癌组织和癌旁组织中 MCM4 的表达差异。Gene Expression Profiling Interactive Analysis2 (GEPIA2, <http://gepia2.cancer-pku.cn/>) 数据库用于探究 MCM4 及其共表达基因和 LUAD 患者总生存期 (OS) 及无病生存期 (DFS) 的相关性, 并绘制生存曲线。

1.3.3 LUAD 中 MCM4 的共表达、功能富集及调控分析: 采用 LinkedOmics (<http://www.linkedomics.org/login.php>) 数据库的 Pearson 相关分析模块鉴定 LUAD 中 MCM4 的共表达基因, 并通过 STRING (<https://string-db.org/>) 构建蛋白质互作网络。采用 LinkInterpreter 中的 Gene set enrichment analysis (GSEA) 模块对 MCM4 及其共表达基因进行 GO_BP 富集分析、KEGG pathway 富集分析、miRNA-target 富集分析和转录因子-target 富集分析。过滤条件设置为 FDR (false discovery rate)、最小基因数为 10、模拟次数为 1 000 次。

1.3.4 MCM4 与 LUAD 免疫微环境的相关性分析: 采用 TIMER (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>) 数据库分析 MCM4 与 LUAD 肿瘤免疫微环境的相关

性,包括肿瘤纯度和6种免疫细胞(B细胞、CD8⁺ T细胞、CD4⁺ T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞)。

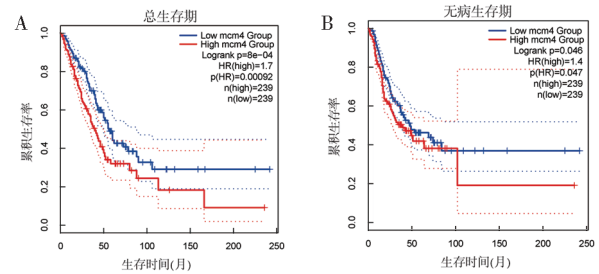
1.4 统计学分析 采用R 4.1.2软件进行数据分析。计量资料以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。Mann-Whitney *U*检验比较LUAD癌组织和癌旁组织中MCM4的表达差异;Log-rank检验比较两组间的累积生存率;单因素和多因素COX回归分析LUAD患者预后的影响因素;森林图(forestplot包)在R中绘制。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LUAD癌组织和癌旁组织中MCM4表达水平的比较 在实验样本中,LUAD癌组织MCM4的表达量(6.50 ± 0.86)高于癌旁组织(4.22 ± 0.66),差异有统计学意义($U=16$, $P=0.029$)。TCGA-LUAD数据分析显示与实验样本相似的结果,LUAD癌组织MCM4的表达量(3.63 ± 0.92)高于癌旁组织(1.90 ± 0.28),差异有统计学意义($U=30\,355$, $P<0.001$)。

2.2 LUAD中MCM4表达与其生存期的相关性 见图1。生存分析显示,MCM4高表达LUAD患者OS 200个月的累积生存率是8.79%(21/239),低于MCM4低表达患者的28.87%(69/239),差异有统计学意义($HR=1.7$, $P=0.001$),见图1A。MCM4高表达LUAD患者DFS 200个月的累积生存率是19.25%(46/239),低于MCM4低表达患者的36.82%(88/239),差异有统计学意义($HR=1.4$,

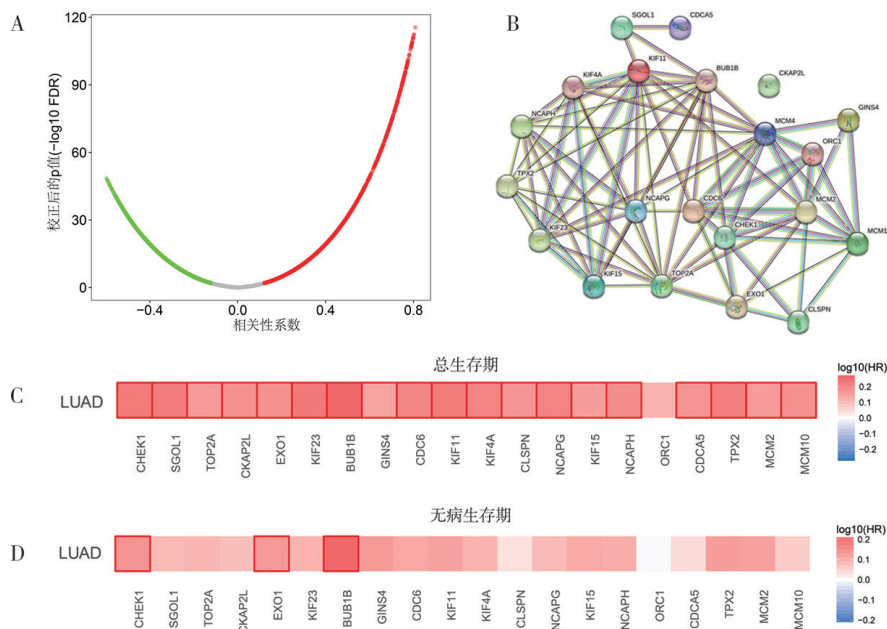
$P=0.046$),见图1B。



A: MCM4表达与LUAD患者OS的生存曲线; B: MCM4表达与LUAD患者DFS的生存曲线。

图1 MCM4表达情况LUAD患者生存曲线

2.3 LUAD中MCM4的共表达及功能富集 见图2。共表达分析显示,LUAD中与MCM4呈正相关的基因有4 868个,负相关的基因有5 892个,见图2A ($FDR<0.01$)。与MCM4呈正相关的前20个基因中,MCM2, MCM10, GINS4, CDC6和ORC1与MCM4的相互作用最强,见图2B。生存分析显示,与MCM4呈正相关的前20个基因中,19个基因表达量升高与LUAD的OS短有关,见图2C (均 $P<0.05$);3个基因表达量升高与LUAD的DFS短有关,见图2D (均 $P<0.05$)。GO-BP富集分析显示,MCM4共表达基因主要参与染色体分离、DNA复制、细胞周期检查点等通路(均 $FDR<0.05$)。KEGG富集分析显示,MCM4的共表达基因主要参与细胞周期、DNA复制、P53信号通路和错配修复等通路(均 $FDR<0.05$)。



A: LUAD中MCM4共表达基因的火山图。横轴:相关性系数,纵轴: $-\log_{10}$ (校正后 P value); B: LUAD中与MCM4正相关的前20个基因的蛋白质互作网络; C: LUAD中与MCM4正相关的前20个基因表达与OS的相关性;红色:高表达组OS短,蓝色:高表达组OS长。D: LUAD中与MCM4正相关的前20个基因表达与DFS的相关性。红色:高表达组DFS短,蓝色:高表达组DFS长。

图2 LUAD中MCM4的共表达分析

2.4 LUAD中MCM4的调控作用 调控分析显示, LUAD中与MCM4及其共表达基因相关的miRNA靶点为“TACTTGA, MIR-26A, MIR-26B”, “CAGCAGG, MIR-370”, “ATCATGA, MIR-433”和“AGGGCCA, MIR-328”(均 $P<0.05$)。LUAD中与MCM4及其共表达基因相关性最强的前5个转录因子靶点为“V\$E2F_Q4”, “V\$E2F_Q6”, “V\$E2F1_Q6”, “V\$E2F4DP1_01”和“V\$E2F_02”(均FDR=0)。

2.5 LUAD中MCM4表达与肿瘤免疫微环境的相关性 见图3。TIMER分析结果显示, LUAD中MCM4表达与中性粒细胞的浸润水平(Neutrophil)呈正相关($\text{partial.cor}=0.14, P=0.002$);与B细胞的浸润水平呈负相关($\text{partial.cor}=-0.152, P<0.001$);与肿瘤纯度、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、巨噬细胞以及树突细胞的浸润水平无相关性(均 $P>0.05$)。

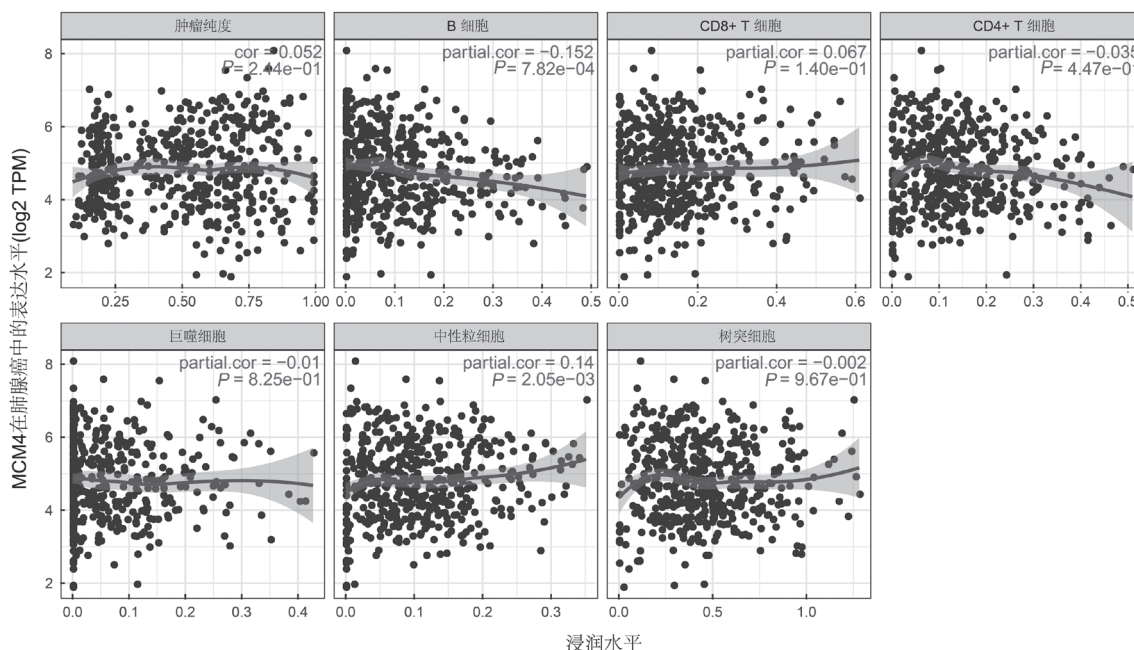
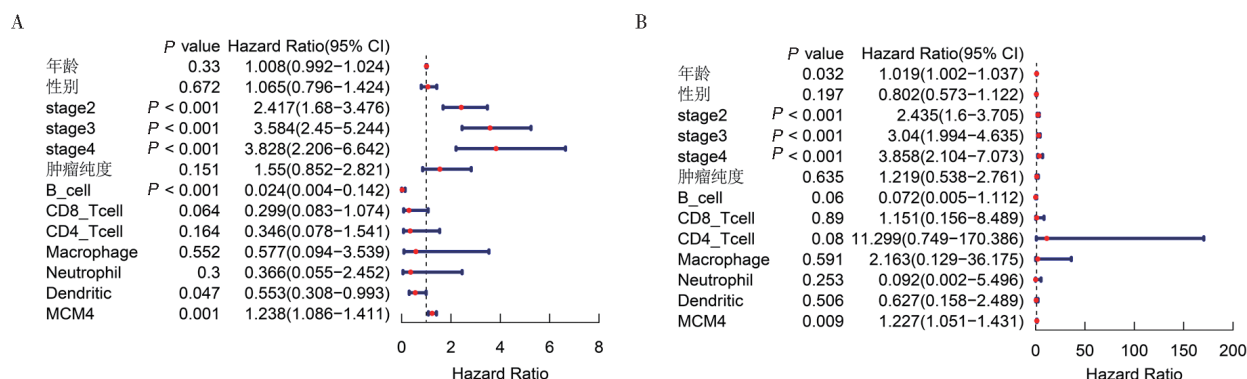


图3 MCM4表达水平与LUAD肿瘤免疫细胞浸润的相关性

2.6 影响LUAD患者预后的COX回归分析 见图4。单因素COX回归分析显示, MCM4的HR和95%的置信区间为1.238和1.086~1.411, 见图4A。多因素COX回归分析显示, MCM4的HR

和95%的置信区间为1.227和1.051~1.431, 见图4B。综上, MCM4是影响LUAD患者预后的独立因子(均 $P<0.05$)。



A: 单因素COX回归分析影响LUAD患者预后的危险因素; B: 多因素COX回归分析影响LUAD患者预后的危险因素。

图4 影响LUAD患者预后的危险因素

3 讨论

微小染色体维持蛋白4(MCM4)是一个高度保守的蛋白编码基因,属于MCM蛋白家族。通过

结合实验样本和公共数据库分析,我们发现MCM4在LUAD癌组织中表达量升高,且其表达与LUAD的OS及DFS有关。这些发现与之前报道中的发现

一致^[13-15]。

通过共表达网络和功能富集分析发现, MCM4与多种蛋白存在相互作用, 且这些蛋白质主要参与肿瘤发生相关通路。LUAD中与MCM4正相关的前20个基因中有3个基因的表达水平升高同时与OS和DFS短有关, 它们分别是BUB1B, EXO1和CHEK1。BUB1B基因编码一种与纺锤体检查点功能有关的激酶, 有研究发现纺锤体检查点功能受损出现在多种癌症中。除此之外, 有研究报道BUB1B与多种癌症的发生发展有关, 如肝细胞癌、前列腺癌、肺癌等^[16-18]。CHEN^[19]等通过meta分析发现BUB1B是LUAD患者不良预后的重要标志物。EXO1(核酸外切酶1)是Rad2核酸外切酶家族成员之一。有研究报道EXO1在多个癌症中异常表达, 如胃食管癌、乳腺癌、宫颈癌等^[20-22]。ZHOU等^[23]发现EXO1是LUAD潜在的预后标志物, 并报道其与LUAD的免疫细胞浸润有关。CHEK1(检查点激酶1)基因编码的蛋白属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员。研究报道CHEK1在乳腺癌、卵巢癌等癌症中异常表达^[24-25]。综上提示, BUB1B, EXO1和CHEK1可能是LUAD的新型分子标志物, 其功能仍需进一步研究探讨。

通过调控分析发现, 在LUAD中E2F转录因子家族是MCM4失调的主要转录因子。E2F家族在决定细胞何时分裂方面起着关键作用, 肿瘤中E2F表达和/或E2F靶表达升高与预后不良有关^[26]。例如, E2Fs在乳腺癌、肺癌、前列腺癌的癌组织中均高表达^[27-28]; E2F1与NSCLC的不良预后有关^[29]; E2F2是肺癌的肿瘤激活因子和独立预后标志物^[30]。MCM4可能是通过E2F调控因子影响LUAD患者的预后, 后续需要进一步探究。

多研究发现肿瘤免疫微环境与肿瘤的发生发展以及预后水平密切相关, 探究MCM4与LUAD肿瘤免疫细胞浸润的相关性具有一定价值。结果显示MCM4与中性粒细胞呈正相关, 与B细胞浸润呈负相关。新近研究发现中性粒细胞可以通过释放活性氧导致DNA的碱基突变, 促进肿瘤发生^[31]。此外, 中性粒细胞还可与肿瘤免疫微环境中的其他免疫细胞发生相互作用, 如中性粒细胞通过CXCR4-CXCL12配受体相互作用分泌IL-10, 从而抑制细胞毒性T细胞的功能, 促进肿瘤发生^[31]。识别MCM4高表达群体中的“immune-hot”亚群患者, 并对其进行有针对性的免疫治疗, 可能会提高这部分患者的生存率。此方面的临床意义值得探索和研究。

综上所述, LUAD癌组织中MCM4表达升高, 与预后及免疫微环境显著相关, 可作为LUAD患者不良预后评估的分子标志物。但本研究仍存在一定

的局限性, 如本文中部分结果是基于公共数据库展开, 故而缺乏相关的分子实验验证; 同时受临床样本量的限制, 可能导致分析统计的误差, 后续需要扩大样本展开进一步研究。

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-A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] DUMA N, SANTANA-DAVILA R, MOLINA J R. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment[J]. Mayo Clinic Proceedings, 2019, 94(8): 1623-1640.
- [3] SWANTON C, GOVINDAN R. Clinical implications of genomic discoveries in lung cancer[J]. New England Journal of Medicine, 2016, 374(19): 1864-1873.
- [4] CHAMPASA K, BLANK C, FRIEDMAN L J, et al. A conserved MCM4 motif is required for MCM2-7 double-hexamer formation and origin DNA unwinding [J]. Elife, 2019, 8:e45538.
- [5] ISHIMI Y. Regulation of MCM2-7 function[J]. Genes & Genetic Systems, 2018, 93(4): 125-133.
- [6] CHENG Lin, TAN Zhangmin, HUANG Zenan, et al. Expression profile and prognostic values of Minichromosome maintenance families (MCMs) in breast cancer[J]. Medical Science Monitor, 2020, 26: e923673.
- [7] ISSAC M S M, YOUSEF E, TAHIR M R, et al. MCM2, MCM4, and MCM6 in breast cancer: clinical utility in diagnosis and prognosis[J]. Neoplasia, 2019, 21(10): 1015-1035.
- [8] KWOK H F, ZHANG Shudong, MCCRUDDEN C M, et al. Prognostic significance of minichromosome maintenance proteins in breast cancer[J]. American Journal of Cancer Research, 2015, 5(1): 52-71.
- [9] XIE L, LI T, YANG L H. E2F2 induces MCM4, CCNE2 and WHSC1 upregulation in ovarian cancer and predicts poor overall survival[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2017, 21(9): 2150-2156.
- [10] ZHOU Huandi, JIANG Le, WANG Guohui, et al. Identification of MCM4 as a prognostic marker of hepatocellular carcinoma[J]. BioMed Research International, 2021, 2021: 7479326.
- [11] 刘宾, 刘辉, 李宝玉. 微小染色体维持蛋白4在胰腺导管腺癌中的表达及其与预后相关性研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2021, 44(1): 28-33.
LIU Bin, LIU Hui, LI Baoyu. Expression of minichromosome maintenance protein 4 in pancreatic ductal adenocarcinoma and its correlation with prognosis[J].

- International Journal of Biomedical Engineering, 2021, 44(1): 28-33.
- [12] HUANG Chen, LEI Chuqi, PAN Boyu, et al. Potential prospective biomarkers for non-small cell lung cancer: mini-chromosome maintenance proteins[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 587017.
- [13] LIU Kang, KANG Min, LIAO Xiwen, et al. Genome-wide investigation of the clinical significance and prospective molecular mechanism of minichromosome maintenance protein family genes in patients with lung Adenocarcinoma[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219467.
- [14] LI Shu, JIANG Zhou, LI Yirun, et al. Prognostic significance of minichromosome maintenance mRNA expression in human lung adenocarcinoma[J]. *Oncology Reports*, 2019, 42(6): 2279-2292.
- [15] 赖凯, 宋从宽, 高明朗, 等. 肺腺癌关键基因及潜在药物的生物信息学分析 [J]. *中华实验外科杂志*, 2022, 39(6): 1176-1179.
- LAI Kai, SONG Congkuan, GAO Minglang, et al. Bioinformatics analysis of hub genes and potential drugs in lung adenocarcinoma[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2022, 39(6): 1176-1179.
- [16] QIU Jiannan, ZHANG Shaopeng, WANG Peng, et al. BUB1B promotes hepatocellular carcinoma progression via activation of the mTORC1 signaling pathway[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(21): 8159-8172.
- [17] FU Xin, CHEN Guo, CAI Zhiduan, et al. Overexpression of BUB1B contributes to progression of prostate cancer and predicts poor outcome in patients with prostate cancer[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2016, 9: 2211-2220.
- [18] CHEN Honglin, LEE J, KLJAVIN N M, et al. Requirement for BUB1B/BUBR1 in tumor progression of lung adenocarcinoma[J]. *Genes & Cancer*, 2015, 6(3/4): 106-118.
- [19] CHEN Jie, LIAO Yi, FAN Xianming. Prognostic and clinicopathological value of BUB1B expression in patients with lung adenocarcinoma: a meta-analysis[J]. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 2021, 21(7): 795-803.
- [20] DRACEA A, ANGELESCU C, DANCULESCU M, et al. Mismatch repair gene expression in gastroesophageal cancers[J]. *the Turkish Journal of Gastroenterology*, 2015, 26(5): 373-377.
- [21] QI Lina, ZHOU Biting, CHEN Jiani, et al. Significant prognostic values of differentially expressed-aberrantly methylated hub genes in breast cancer[J]. *Journal of Cancer*, 2019, 10(26): 6618-6634.
- [22] LUO Xiping, HONG Xiaoshan, XIONG Xingdong, et al. A single nucleotide polymorphism in EXO1 gene is associated with cervical cancer susceptibility in Chinese patients[J]. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2012, 22(2): 220-225.
- [23] ZHOU Changshuai, FENG Mingtao, CHEN Xin, et al. Exonuclease 1 (EXO1) is a potential prognostic biomarker and correlates with immune infiltrates in lung adenocarcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 1033-1048.
- [24] YANG Xiaosong, PAN You, QIU Zhaojun, et al. RNF126 as a biomarker of a poor prognosis in invasive breast cancer and CHEK1 inhibitor efficacy in breast cancer cells[J]. *Clinical Cancer Research*, 2018, 24(7): 1629-1643.
- [25] JIANG Jiahong, WANG Shaohai, WANG Zehua, et al. HOTAIR promotes paclitaxel resistance by regulating CHEK1 in ovarian cancer[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2020, 86(2): 295-305.
- [26] KENT L N, LEONE G. The broken cycle: E2F dysfunction in cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2019, 19(6): 326-338.
- [27] LIANG Yuxiang, LU Jianming, MO Rujun, et al. E2F1 promotes tumor cell invasion and migration through regulating CD147 in prostate cancer[J]. *International Journal of Oncology*, 2016, 48(4): 1650-1658.
- [28] 张涛元, 丁雪梅, 李俏, 等. 人非小细胞肺癌组织中转录因子 E2F 家族表达与临床病理特征及预后的相关性分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(4): 87-91.
- ZHANG Taoyuan, DING Xuemei, LI Qiao, et al. Correlation analysis of transcription factor E2F family expression with clinicopathological features and prognosis in human non-small cell lung cancer [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(4): 87-91.
- [29] GORGOLIS V G, ZACHARATOS P, MARIATOS G, et al. Transcription factor E2F-1 acts as a growth-promoting factor and is associated with adverse prognosis in non-small cell lung carcinomas[J]. *Journal of Pathology*, 2002, 198(2): 142-156.
- [30] FELICIANO A, GARCIA-MAYEA Y, JUBIERRE L, et al. MiR-99a reveals two novel oncogenic proteins E2F2 and EMR2 and represses stemness in lung cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3141.
- [31] 汪倩玲, 张逸寅, 王华, 等. 中性粒细胞在肿瘤微环境、肿瘤发生发展及诊治中的作用 [J]. *生理科学进展*, 2022, 53(1): 1-6.
- WANG Qianling, ZHANG Yiyin, WANG Hua, et al. Role of neutrophils in microenvironment progression, diagnosis and treatment of tumors [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2022, 53(1): 1-6.

收稿日期: 2022-12-15

修回日期: 2023-06-04