

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.011

· 临床研究 ·

## 基于GEO数据库筛选乳腺癌分子标志物

韩明盛<sup>1</sup>, 麻慧慈<sup>1</sup>, 胡鑫<sup>1</sup>, 李瑞华<sup>1</sup>, 李冬<sup>2</sup>, 马艳琴<sup>1</sup> (1. 山西农业大学 生命科学学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西白求恩医院 乳腺外科, 山西 太原 030032)

**[摘要]** **目的:** 运用生物信息学方法筛选与乳腺癌发生发展有关的差异表达基因, 并对其相关生物学分析以获得乳腺癌相关分子标志物。 **方法:** 从GEO数据库中寻找出3个乳腺癌相关芯片数据集, 使用GEO2R筛选差异表达基因并作Venn图获取交集差异共表达基因。通过DAVID进行GO功能富集分析和KEGG信号通路分析。在STRING网站中对差异表达基因构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络图, 并通过MCODE分析PPI中最重要的模块, 其中评分 $\geq 10$ 的鉴定为枢纽基因(Hub基因)。利用UCSC对Hub基因进行层次聚类分析, 利用cBioPortal构建Hub基因的共表达网络和生存曲线。 **结果:** 筛选出3个数据集的差异共表达基因65个。通过分析获得CTNNB1、CDKN1A、CXCR4、RUNX3、CASP8、TNFRSF10B、CFLAR和NRG1等共8个Hub基因, 这些基因在细胞黏附、细胞增殖、凋亡调控等方面有重要作用。聚类分析表明, 基因CTNNB1、CFLAR、NRG1和CXCR4表达的改变与乳腺癌的发生有关。生存曲线分析表明, CDKN1A表达的升高使得乳腺癌患者总体生存率显著降低( $P < 0.01$ )。 **结论:** 本研究中鉴定的Hub基因可作为乳腺癌分子标志物, 为乳腺癌的诊断和治疗靶点选择及预后判断提供参考。

**[关键词]** 乳腺癌; 基因表达数据库; 分子标志物; 差异表达基因; 枢纽基因

**[中图分类号]** R737.9; R730.43 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)02-0170-07

## Screening of molecular markers in breast cancer based on GEO database

HAN Mingsheng<sup>1</sup>, MA Huici<sup>1</sup>, HU Xin<sup>1</sup>, LIRuihua<sup>1</sup>, LI Dong<sup>2</sup>, MA Yanqin<sup>1</sup> (1. College of Life Science, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, Shanxi, China; 2. Department of Breast Surgery, Shanxi Bethune Hospital, Taiyuan 030032, Shanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the differentially expressed genes (DEGs) associated with the occurrence and development of breast cancer and to screen the molecular markers for breast cancer by bioinformatic analysis. **Methods:** Three breast cancer microarray datasets were downloaded from Gene Expression Omnibus (GEO) database. GEO2R was used to identify DEGs. The differentially co-expressed genes in the three datasets were screened by Venn diagram. GO function enrichment analysis and KEGG signal pathway analysis were performed using DAVID. The protein-protein interaction (PPI) network of DEGs was constructed using STRING. The most important modules in the PPI network were analyzed using Molecular Complex Detection (MCODE), and the genes with degree  $\geq 10$  were identified as Hub genes. Hierarchical clustering analysis of hub genes was conducted using UCSC Cancer Genomics Browser. The survival curve and the co-expression network of hub genes were constructed using cBioPortal. **Results:** A total of 65 DEGs were screened from the three data sets. Eight hub genes, CTNNB1, CDKN1A, CXCR4, RUNX3, CASP8, TNFRSF10B, CFLAR and NRG1, were finally obtained, which exerted important roles in cell adhesion, proliferation and apoptosis regulation etc. Clustering analysis showed that the differential expression levels of CTNNB1, CFLAR, NRG1 and CXCR4 were associated with the occurrence of breast cancer. The overall survival analysis indicated that the patients with elevated CDKN1A expression had significantly shorter overall survival time ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The hub genes identified in the present study can be used as molecular markers for breast cancer, providing candidate targets for diagnosis, treatment and prognostic prediction of breast cancer.

**[Key words]** breast cancer; Gene Expression Omnibus (GEO); molecular marker; differentially expressed gene (DEG); Hub gene

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(2): 170-176. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.02.011]

**[基金项目]** 山西省“136”兴医工程资助项目(No.2019XY010)。Project supported by the “136” Revitalization of Medical Projects of Shanxi Province (No.2019XY010)

**[作者简介]** 韩明盛(1995-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤生物信息学研究, E-mail: 1653989675@qq.com

**[通信作者]** 马艳琴(MA, Yanqin, corresponding author), 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事生物化学与分子肿瘤学方面的研究, E-mail: mayanqin466@163.com

乳腺癌是世界范围内女性发病率最高的恶性肿瘤,对女性的生命健康造成严重威胁<sup>[1-2]</sup>。由于乳腺癌早期症状不易被发现,易导致患者耽误最佳就诊时间。因此,提高早期诊断率对该病的治疗有重大意义<sup>[3]</sup>。相较于传统的乳腺癌诊断方法,分子标志物有着独特的优势,如特异性强、易于动态监测等<sup>[4]</sup>。随着精准医学时代的到来,探究与乳腺癌发生相关的异常基因表达谱,构建基因互作网络,并寻找互作网络中连接度最高的模块,发掘新的分子标志物对于乳腺癌的个体化治疗具有重要的指导意义。

利用基因芯片储存的大量数据,通过生物信息学工具深入挖掘肿瘤分子标志物,极大地缩短了对疾病标志物的研究时间,并且节约了研究成本。本研究从基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中筛选3个乳腺癌相关芯片数据集并进行分析以获得差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。随后利用DAVID数据库对这些基因进行GO和KEGG功能富集分析,最后利用STRING数据库构建蛋白质-蛋白质互作网络(protein-protein interaction network, PPI)网络图,并用Cytoscape软件对网络进行模块分析,筛选出与乳腺癌发生发展有关的枢纽基因(Hub gene)及通路,并对Hub基因进行相关生物学分析,为乳腺癌的诊断和治疗提供可能的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据集的获取

从GEO(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)数据库中查找并筛选以物种“人类”为研究对象且同时具有乳腺癌和正常对照组织样本的3个数据集: GSE70905、GSE73613及GSE65517。GSE70905数据集来源于GPL4133平台[Agilent-014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112F (Feature Number version)],包含着47例乳腺癌样本和47例正常对照组织样本。GSE73613数据集来源于GPL570平台[HG-U133\_Plus\_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array,包含2例乳腺癌样本和2例正常对照组织样本。GSE65517数据集来源于GPL10558平台(Illumina HumanHT-12 V4.0 expression bead-chip),包含10例乳腺癌样本和3例正常对照组织样本。

### 1.2 利用差异表达分析工具GEO2R筛选乳腺癌组织DEGs

使用GEO2R工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r>)分别筛选上述3个数据集中乳腺癌和非癌组织样本之间的DEGs。将筛选条件设置为 $P \leq 0.05$ 、

$|FC| \geq 2$ ,用SangerBox软件绘制火山图。为降低结果的假阳性率,运用Draw Venn Diagram在线软件对上述3个数据集的DEGs做Venn图取交集。

### 1.3 利用DAVID工具进行乳腺癌DEGs的GO功能富集分析和KEGG信号通路分析

利用DAVID(<http://david.ncifcrf.gov>)在线分析工具对DEGs进行GO功能富集分析,以了解其分子功能(molecular function, MF)、参与的生物学过程和途径(biological process, BP)及在细胞中组分和定位(cellular component, CC),并进行KEGG通路分析,以 $P < 0.05$ 作为纳入标准。

### 1.4 构建乳腺癌DEGs的PPI并进行Hub基因模块分析

将获得的DEGs导入STRING数据库(<https://string-db.org/>)构建PPI,设定筛选条件为“combined score>0.4”。

分子复杂性检测(molecular complex detection, MCODE)是Cytoscape里的一个应用程序,用于对给定网络进行聚类,以找到联系最紧密的模块,该模块中的基因即为筛选的Hub基因。将STRING所得的蛋白质互作网络信息数据导入Cytoscape中,利用MCODE筛选DEGs中的Hub基因,筛选条件为: MCODE score>5, degree cut-off=2, node score cut-off=0.2, Max depth=100, k score=2, 下载保存Hub基因。

### 1.5 Hub基因的相关生物学分析

1.5.1 Hub基因的聚类分析 将基因导入UCSC癌症基因组浏览器(UCSC Cancer Genomics Browser, <http://genome-cancer.ucsc.edu>),对Hub基因进行层次聚类,分析Hub基因表达与肿瘤或性别等的关系。

1.5.2 Hub基因的共表达分析和生存率分析 在cBioPortal(<http://www.cbioportal.org>)在线分析软件中选择乳腺癌数据后将Hub基因输入,分别查看“Network”和“Survival”的分析结果,分析Hub基因的共表达网络和整体生存率。

## 2 结果

### 2.1 筛选获得65个乳腺癌DEGs

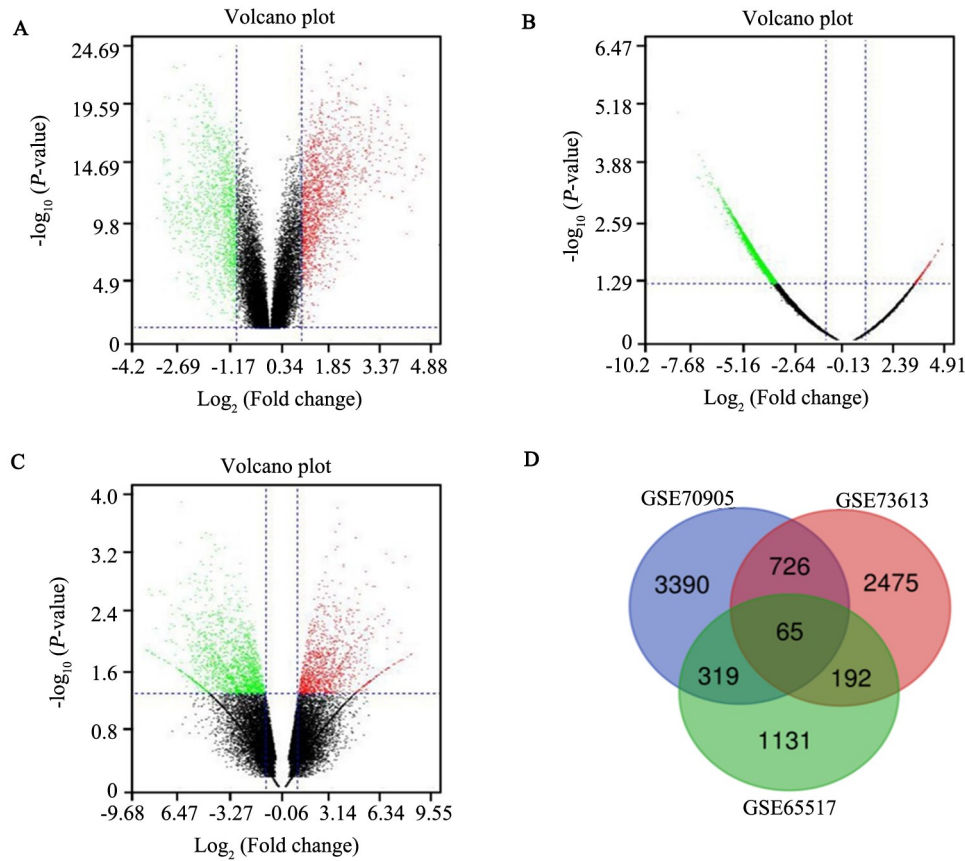
分别绘制3个数据集GSE70905、GSE73613和GSE65517基因表达的火山图(图1A、B和C),红色为上调基因、绿色为下调基因。将3个数据集取交集制作维恩图(图1D),得到65个共表达的DEGs。

### 2.2 DEGs涉及的主要分子功能、生物学过程、细胞组分及通路

GO分析结果表明,DEGs的分子功能主要表现在蛋白结合、离子通道、趋化因子活性等方面;其参与的生物学过程主要涉及死亡域受体对外源性凋亡

信号通路的影响、转录阳性调控 DNA 模板、乳腺发育等; 其影响细胞组分的变化主要集中在细胞质、细胞溶质、核质等。表 1 展示部分 GO 分析结果。

KEGG 通路分析表明, DEGs 主要在癌症通路、HTLV-I 感染、NF-κB 信号通路、TNF 信号通路等方面富集。表 2 展示部分 KEGG 富集分析结果。



A, B, and C: Volcanic maps of the data sets GSE70905, GSE73613 and GSE65517, respectively;

D: Wayne map of differentially co-expressed genes

图 1 乳腺癌 DEGs 分析

Fig.1 Analysis of DEGs in breast cancer

表 1 乳腺癌组织中 DEGs 的 GO 分析

Tab.1 GO analysis of DEGs in breast cancer tissues

GO ID	Description	Count	P
GO:0005515	Protein binding	44	8.594663416240272E-4
GO:0044325	Ion channel binding	4	0.007232376829990477
GO:0008009	Chemokine activity	3	0.012710598906002447
GO:1902041	Regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors	3	0.0017044676111328475
GO:0045893	Positive regulation of transcription, DNA-templated	8	0.002553259347160052
GO:0030879	Mammary gland development	3	0.0026074236212722634
GO:0005737	Cytoplasm	32	6.247664293794493E-4
GO:0005829	Cytosol	23	0.0014657816784760225
GO:0005654	Nucleoplasm	20	0.0025349483030337495

表2 乳腺癌样本中 DEGs 的 KEGG 通路分析  
Tab.2 KEGG pathway analysis of DEGs in breast cancer samples

Pathway ID	Description	Count	P
hsa05200	Pathways in cancer	8	0.0031430512845565194
hsa05166	HTLV-I infection	6	0.008646878980585616
hsa04064	NF-kappa B signaling pathway	4	0.009551447497336435
hsa04668	TNF signaling pathway	4	0.01669221769459886

2.3 DEGs 构建的 PPI 中获得 10 个 Hub 基因

通过检索工具 STRING 网站对 DEGs 构建 PPI (图 2A)。用 Cytoscape 中的 MCODE 插件寻找密集连接的区域, 筛选 PPI 中最重要的模块, 一共获得了 10 个 Hub 基因(图 2B), 分别为连环蛋白  $\beta$ 1 (catenin beta 1, CTNNB1)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)、C-X-C 基序趋化因子受体 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)、runt 相关性转录因子 3 (runt-related tran-

scription factor 3, RUNX3)、半胱天冬酶 8 (caspase8, CASP8)、肿瘤坏死因子受体超家族成员 10b (TNF receptor superfamily member 10b, TNFRSF10B)、CASP8 和 FADD 样凋亡调节因子 (CASP8 and FADD like apoptosis regulator, CFLAR)、神经调节蛋白 1 (neuregulin 1, NRG1)、朊病毒蛋白 (prion protein, PRNP) 及干扰素激活外切核酸酶基因 20 (interferon stimulated exonuclease gene 20, ISG20)。

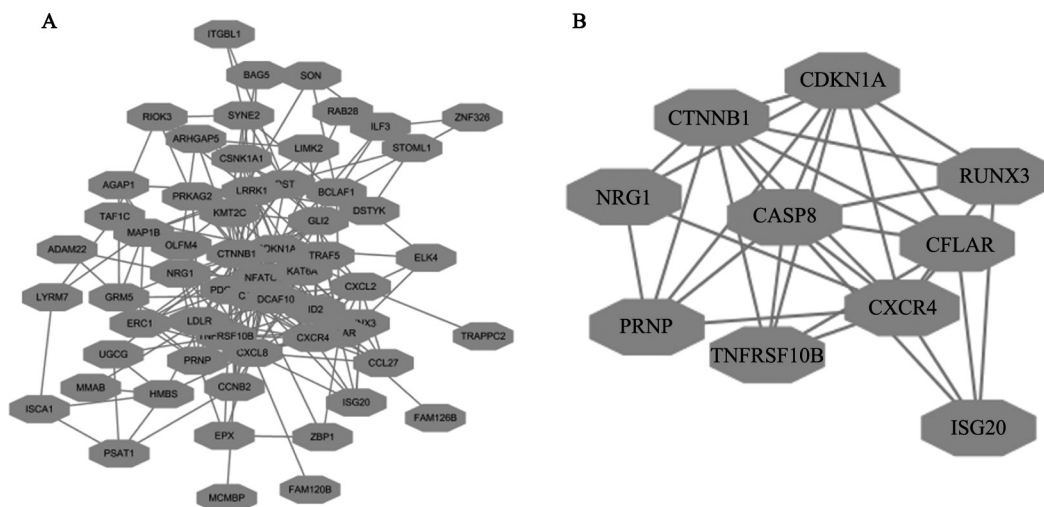


图 2 蛋白质互作网络图(A)及紧密连接度最高的基因模块(B)

Fig. 2 Protein-protein interaction network (A) and the gene module with the highest connection degree (B)

2.4 Hub 基因的分析 and 选择

2.4.1 层次聚类分析 对 10 个 Hub 基因进行层次聚类分析, 结果如图 3 所示。第一列中蓝色代表女性, 红色代表男性; 第二列中蓝色代表原发肿瘤组织, 粉色代表正常组织; 第三列中红色代表基因表达上调, 蓝色代表基因表达下调。结果显示, 乳腺癌患者绝大多数是女性, 也有很小比例的男性患者。在原发乳腺癌组织中, 基因 CTNNB1、PRNP、CFLAR 和 NRG1 表达下调, 基因 CXCR4 和 ISG20 表达上调, 表明这些基因的表达改变与乳腺癌的发生有关。

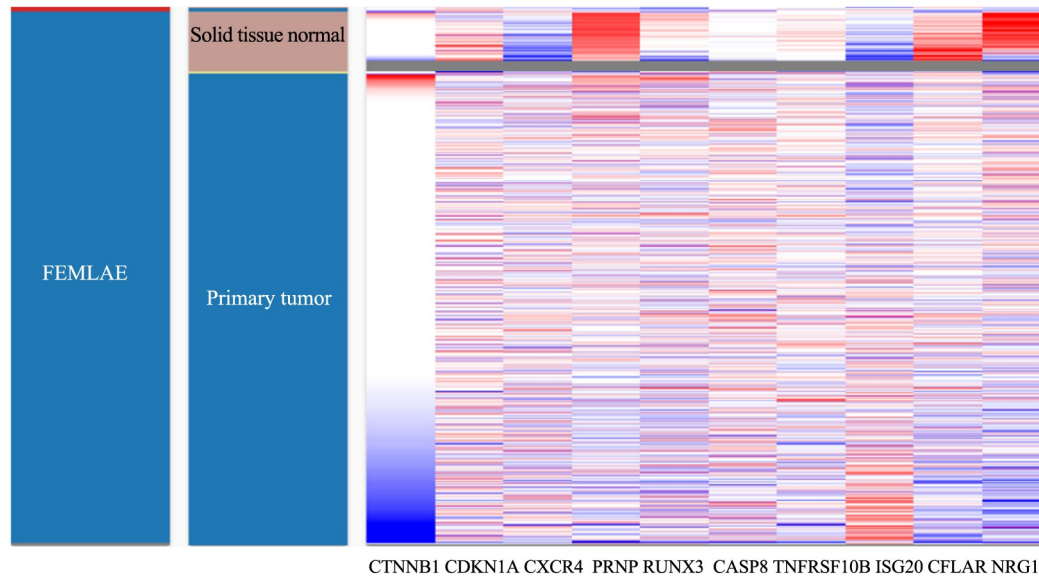
2.4.2 Hub 基因的共表达分析及功能注释 使用 cBioPortal 网站分析上述 10 个 Hub 基因及其共表达

网络, 结果见图 4, 评分  $\geq 10$  的基因共 8 个, 分别为 CTNNB1、CDKN1A、CXCR4、RUNX3、CASP8、TNFRSF10B、CFLAR 和 NRG1。图 4 中, 粗体黑色圆圈节点代表本研究中的 Hub 基因, 细框黑色节点代表其共表达基因。从图中可以看出, 部分基因有着紧密的联系, 分子网络密集。

通过 NCBI 查询评分  $\geq 10$  的 8 个 Hub 基因的功能信息如下: CTNNB1 是组成黏附连接体 (adherens junction, AJ) 的蛋白质复合体的一部分; CDKN1A 为 G1 期细胞周期进展的调节因子; CXCR4 与 CD4 蛋白相互作用, 支持 HIV 进入细胞, 在乳腺癌细胞中有高表达; RUNX3 作为一种肿瘤抑制因子, 在肿瘤细胞

DNA 中经常被删除或转录沉默,从而可能导致癌症的发生;CASP8 在细胞凋亡的执行阶段被连续激活并起着核心作用;TNFRSF10B 是肿瘤坏死因子受体超家族的成员,含有细胞内死亡结构域;CFLAR 是细

胞凋亡的调节因子;NRG1 编码一种膜糖蛋白,介导细胞之间的信号传递,在多个器官的生长发育中起着关键作用。



Up-regulation of genes is marked in red; Down-regulation of genes is marked in blue.

图3 Hub 基因的层次聚类图

Fig.3 Hierarchical clustering diagram of Hub genes

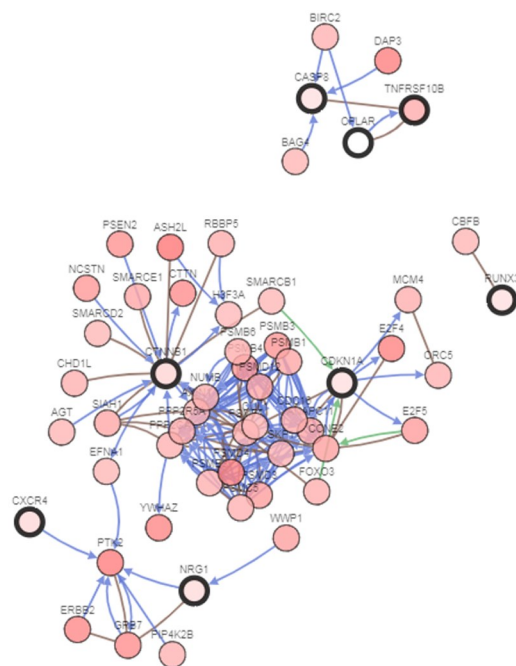


图4 cBioPortal分析共表达网络

Fig.4 Hub genes and their co-expression genes were analyzed using cBioPortal

2.4.3 Hub 基因与患者总生存率的相关 通过 cBio-Portal 在线分析软件分析 Hub 基因与乳腺癌患者的总

生存率的关系并建立 Kaplan-Meier 曲线,结果如图 5 所示。图中横坐标代表生存时间,纵坐标代表总体生存率,红色表示基因表达发生改变时的整体生存率,蓝色表示基因表达未发生改变时的情况。结果表明,基因 CDKN1A 表达的升高使得乳腺癌患者总体生存率显著降低( $P<0.01$ ),其他基因的表达改变对乳腺癌患者的总体生存率无明显影响。由此推测,CDKN1A 的高表达可能在乳腺癌患者预后发展中起到重要作用。

### 3 讨论

本研究从 GEO 数据库中获取 3 个乳腺癌数据集,筛选出 65 个乳腺癌 DEGs。通过 DAVID 在线平台对 DEGs 进行 GO 分析发现,DGEs 涉及的分子功能的变化主要表现在蛋白结合、离子通道、趋化因子活性等方面;生物学过程主要在死亡域受体对外源性凋亡信号通路的影响、转录阳性调控 DNA 模板、乳腺发育等过程中显著富集;细胞组分的变化主要集中在细胞质、细胞溶质、核质等,这些都和肿瘤的发生发展有着紧密的关系。为了阐明这些差异基因对信号通路的调节进行了 KEGG 通路分析,DEGs 主要在 HTLV-I 感染、NF- $\kappa$ B 信号通路、TNF 信号通路等方面富集。通过进一步层次聚类分析和共表达分析,选

取评分 $\geq 10$ 的8个基因为Hub基因: CTNNB1, CDKN1A, CXCR4, RUNX3, CASP8, TNFRSF10B,

CFLAR和NRG1。这些基因功能涉及细胞黏附、细胞增殖、细胞凋亡的调控等。

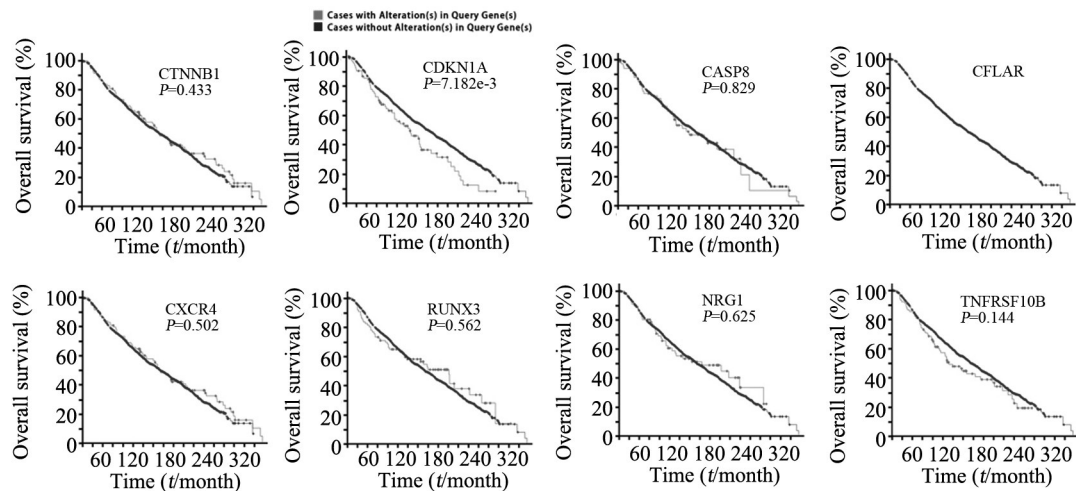


图5 cBioPortal分析患者的总生存率  
Fig.5 Overall survival analyzed on patients by cBioPortal

CTNNB1介导E-钙黏蛋白(E-cadherin, CDH1)与细胞骨架肌动蛋白的连接,在细胞间黏附中发挥主要作用,并作为Wnt信号通路的中枢蛋白调节细胞增殖、分化和凋亡<sup>[5]</sup>。有研究<sup>[6]</sup>表明,CTNNB1表达改变与乳腺癌的转移有关。CTNNB1的活化与三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)的生长、迁移、肿瘤干细胞样性质及化疗敏感性有关<sup>[7]</sup>。WEI等<sup>[8]</sup>和朱潇等<sup>[9]</sup>的研究发现,CDKN1A表达升高与乳腺肿瘤体积增大、肿瘤去分化程度升高、淋巴结转移、生存期缩短显著相关。本研究中生存曲线分析表明,CDKN1A表达的升高会明显降低乳腺癌患者的总体生存率,与其他学者研究结果一致,提示CDKN1A可作为乳腺癌患者预后判断的分子标志物。CXCR4是趋化因子CXCL12的受体,为G蛋白偶联受体,在乳腺癌细胞中高表达<sup>[10]</sup>。CXCL12/CXCR4信号轴被认为与乳腺癌的转移相关<sup>[11-12]</sup>。YANG等<sup>[13]</sup>应用CRISPR/Cas9技术敲除CXCR4显著降低了TNBC细胞的增殖、生长、迁移及浸润,并降低了CXCR4与其配体CXCL12的结合能力,显著抑制了乳腺癌细胞的恶性进展,表明CXCR4可作为乳腺癌治疗的潜在靶点。RUNX3为一种抑癌基因,通过启动子异常甲基化而沉默,失去对肿瘤细胞的抑制作用,已在胃癌、肝癌、肺癌、膀胱癌、结肠癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中发现<sup>[14]</sup>。另外,RUNX3基因的缺失促进了肿瘤的转移,减少肿瘤细胞凋亡并增加化疗药物抗性<sup>[15]</sup>。RUNX3高表达与乳腺癌患者的病死率呈高度负相关<sup>[16]</sup>。以上均提示RUNX3在乳腺癌治疗及预后判断中的临床应用价值。NRG1作为潜在的癌症

Hub基因,研究中发现其有两种截然相反的作用,既可作为候选癌基因,又可作为候选肿瘤抑制基因<sup>[17]</sup>。有报道<sup>[18]</sup>称,定位于8号染色体短臂(8p)的NRG1在乳腺癌中作为一种抑癌基因,通过甲基化而失活,从而失去对乳腺癌细胞的抑制作用;另一方面,NRG1在乳腺癌中可作为染色体易位的靶点而发挥癌基因的作用。本研究中聚类分析结果显示,与正常组织相比,乳腺癌组织中NRG1基因表达下调,表现为抑癌基因的作用,其确切机制还需要进一步的研究的验证。TNFRSF10B为细胞表面受体,与肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)结合,可介导细胞凋亡的外源性途径。CASP8是细胞凋亡的调节因子,据报道其遗传变异与各种癌症的风险有关。CASP7、CASP8和TNFRSF10B单独或联合的低表达与乳腺癌患者无复发生存率降低相关。TNFRSF10B和CASP8通过其促凋亡作用诱导肿瘤细胞的凋亡,提示二者可作为乳腺癌治疗的新靶标<sup>[19]</sup>。CFLAR<sub>L</sub>是CFLAR的L型异构体,在外源性细胞凋亡信号通路中起重要调控作用,与CASP8结合形成异源二聚体抑制CASP8的活化,影响后续caspase的级联激活反应,起抗凋亡蛋白的功能。组蛋白去乙酰化酶抑制剂伏立诺他(vorinostat)和TRAIL联合可通过泛素/蛋白酶体依赖的机制调节CFLAR<sub>L</sub>的泛素化和降解,从而促进乳腺癌细胞的凋亡<sup>[20]</sup>。这些发现提示了一种通过CFLAR<sub>L</sub>靶向乳腺癌细胞诱导凋亡的新策略。以上研究结果提示这8个Hub基因作为乳腺癌诊断标志物、治疗靶点和预后判断的潜在可能性。

综上所述,本研究运用生物信息学的方法筛选出可能参与乳腺癌发生或发展的8个Hub基因:CTNNB1、CDKN1A、CXCR4、RUNX3、CASP8、TNFRSF10B、CFLAR和NRG1。这些基因作为潜在分子标志物将有助于乳腺癌的早期诊断、个体化治疗和预后判断,并为后续的研究提供指导。此外,本研究为利用生物信息学方法对现有数据库的二次挖掘,为阐明乳腺癌发生发展的机制还需实验室和临床的进一步研究验证。

### [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1): 7-34. DOI:10.3322/caac.21551.
- [2] 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.
- [3] 翟齐西, 黄崑, 毛晓韵, 等. 257个常规超声BI-RADS4类乳腺肿块自动乳腺全容积成像检查结果分析[J]. *山东医药*, 2017, 57(24): 92-94. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2017.24.031.
- [4] SHIMOMURA A, SHIINO S, KAWAUCHI J, et al. Novel combination of serum microRNA for detecting breast cancer in the early stage[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(3):326-334. DOI: 10.1111/cas.12880.
- [5] LIM J P, NAIR S, SHYAMASUNDAR S, et al. Silencing Y-box binding protein-1 inhibits triple-negative breast cancer cell invasiveness via regulation of MMP1 and beta-catenin expression[J]. *Cancer Lett*, 2019, 452: 119-131. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.03.014.
- [6] ROBERTS M R, SUCHESTON-CAMPBELL L E, ZIRPOLI G R, et al. Single nucleotide variants in metastasis-related genes are associated with breast cancer risk, by lymph node involvement and estrogen receptor status, in women with European and African ancestry[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(3): 1000-1009. DOI: 10.1002/mc.22565.
- [7] SRIROOPREDDY R, SUDANDIRADOSS C. Integrative network-based approach identifies central genetic and transcriptomic elements in triple-negative breast cancer[J]. *Funct Integr Genomics*, 2018, 18(2): 113-124. DOI: 10.1007/s10142-017-0579-3.
- [8] WEI C Y, TAN Q X, ZHU X, et al. Expression of CDKN1A/p21 and TGFBR2 in breast cancer and their prognostic significance[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14619-14629. DOI: 10.1108/00483480910943377.
- [9] 朱萧, 杨伟萍, 覃庆洪, 等. CDKN1A基因在乳腺癌组织中的表达及其与乳腺癌生物学特性的关系[J]. *广西医科大学学报*, 2017, 34(11): 1546-1549. DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2017.11.02.
- [10] ZHANG J, PANG Y X, XIE T, et al. CXCR4 antagonism in combination with IDO1 inhibition weakens immune suppression and inhibits tumor growth in mouse breast cancer bone metastases[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 4985-4992. DOI: 10.2147/OTT.S200643.
- [11] HINTON C V, AVRAHAM S, AVRAHAM H K. Role of the CXCR4/CXCL12 signaling axis in breast cancer metastasis to the brain [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2010, 27(2): 97-105. DOI: 10.1007/s10585-008-9210-2.
- [12] WU R, YU W Y, YAO C S, et al. Amide-sulfamide modulators as effective anti-tumor metastatic agents targeting CXCR4/CXCL12 Axis[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2020, 185: 111823[2019-10-29]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223-5234\(19\)30975-4](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223-5234(19)30975-4). DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111823.
- [13] YANG M, ZENG C, LI P T, et al. Impact of CXCR4 and CXCR7 knockout by CRISPR/Cas9 on the function of triple-negative breast cancer cells[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3849-3858[2019-10-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6527053/>. DOI:10.2147/OTT.S195661.
- [14] KIM M S, LEE W S, JIN W. TrkB promotes breast cancer metastasis via suppression of Runx3 and Keap1 expression[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(3): 258-265. DOI:10.14348/molcells.2016.2310.
- [15] LIU H, YAN Z T, YIN Q Q, et al. RUNX3 epigenetic inactivation is associated with estrogen receptor positive breast cancer[J]. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66(10): 709-721. DOI:10.1369/0022155418797315.
- [16] BAI X D, HAN G H, LIU Y, et al. MiRNA-20a-5p promotes the growth of triple-negative breast cancer cells through targeting RUNX3[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 1482-1489[2019-11-01]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322\(17\)36691-X](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322(17)36691-X). DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.165.
- [17] WANG Y D, ZHANG Y, LU Q, et al. NRG-1 stimulates serum DJ-1 increase in breast cancers[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(1): 71-79. DOI:10.1007/s12253-017-0326-z.
- [18] CHUA Y L, ITO Y, POLE J C M, et al. The NRG1 gene is frequently silenced by methylation in breast cancers and is a strong candidate for the 8p tumour suppressor gene[J]. *Oncogene*, 2009, 28(46): 4041-4052. DOI: 10.1038/onc.2009.259.
- [19] BREUNIG C, PAHL J, KÜBLBECK M, et al. MicroRNA-519a-3p mediates apoptosis resistance in breast cancer cells and their escape from recognition by natural killer cells[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e2973[2019-11-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5596553/>. DOI:10.1038/cddis.2017.364.
- [20] YERBES R, LÓPEZ-RIVAS A. Itch/AIP4-independent proteasomal degradation of cFLIP induced by the histone deacetylase inhibitor SAHA sensitizes breast tumour cells to TRAIL[J]. *Invest New Drugs*, 2012, 30(2): 541-547. DOI:10.1007/s10637-010-9597-x.

[收稿日期] 2019-11-16

[修回日期] 2020-02-24

[本文编辑] 黄静怡