

· 基础研究 ·

长链非编码RNA MIR4713HG 调节结直肠癌进展及预后的生物信息学分析

史维俊¹, 李欣灿², 陆飞¹, 吴华彰^{3*}, 刘牧林^{1*}

¹蚌埠医学院第一附属医院胃肠外科, 安徽 蚌埠 233003; ²蚌埠医学院第二附属医院全科医学科, 安徽 蚌埠 233003; ³蚌埠医学院生物医学系, 安徽 蚌埠 233003

[摘要] 目的:通过生物信息学方法,分析长链非编码RNA(long no-coding RNA, lncRNA)MIR4713HG对结直肠癌(colorectal cancer, CRC)进展及预后的作用,并进一步预测可能的分子机制。方法:从肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库下载CRC基因表达数据及临床数据,应用Perl及R软件对数据进行整理后筛选出差异表达的基因;进一步对差异基因行生存、独立预后及临床病理相关性分析,选取相关性最强的差异基因作为目的基因;分析目的基因的表达与CRC不同临床病理特征的相关性及对患者预后的影响;利用R软件对不同的临床病理特征行独立预后分析;最后,对目的基因行基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA),并利用R软件分析目的基因与潜在靶基因的相关性,预测目的基因调控CRC进展及预后可能的机制。结果:通过对基因表达数据进行分析获得7 866个差异表达基因;对差异基因行生存、独立预后及临床病理特征相关性分析发现, MIR4713HG与CRC的生存预后及临床病理特征均显著相关。选取MIR4713HG作为目的基因,通过TCGA数据库发现MIR4713HG在CRC组织中显著高表达($P < 0.001$);MIR4713HG与CRC的分级、TNM分期具有相关性($P < 0.05$),而与患者的年龄无相关性($P=0.999$);独立预后分析提示患者预后与MIR4713HG、年龄、肿瘤分级、TNM分期相关($P < 0.05$),MIR4713HG及年龄可作为评价患者预后的独立风险因子。GSEA显示, MIR4713HG在P53信号通路中被富集;MIR4713HG与潜在靶基因的相关性分析显示, MIR4713HG与BAK1、FAS具有相关性($|r| > 0.25, P < 0.001$)。结论:lncRNA MIR4713HG可作为评价CRC进展及预后的靶标,其可能通过P53/BAK1/FAS信号通路发挥作用。

[关键字] MIR4713HG;生物信息学分析;结直肠癌;P53;进展;预后

[中图分类号] R735.37

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)08-1149-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20200812

Bioinformatics analysis of long no-coding RNA MIR4713HG regulating colorectal cancer progression and prognosis

SHI Weijun¹, LI Xincan², LU Fei¹, WU Huazhang^{3*}, LIU Mulin^{1*}

¹Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233003;

²Department of General Medicine, the Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233003;

³Department of Biomedical Sciences, Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China

[Abstract] **Objective:** To analyze the role of long no-coding RNA (lncRNA) MIR4713HG in the progression and prognosis of colorectal cancer (CRC) by bioinformatics methods, and further predict the possible molecular mechanisms. **Methods:** The gene expression data and clinical data of CRC were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The data were analyzed by Perl and R software, and the differentially expressed genes were screened. Further, the differential gene survival, independent prognosis and clinicopathological correlation analysis were performed. The most relevant differential gene was selected as the target gene. The correlation between the expression of the target gene and the different clinicopathological features of CRC and its influence on the prognosis of CRC patients were analyzed. The independent prognosis analysis was performed on different clinicopathological

[基金项目] 安徽省自然科学基金(1908085MH257);安徽省教育厅科研基金(KJ2017A219);蚌埠医学院科研创新团队及转化医学重点项目(BYKC201909, BYTM2019008)及研究生科研创新计划(Bycyc1902)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: whzhang1025@163.com; liumulin66@aliyun.com

features by R software. Gene set enrichment analysis (GSEA) enrichment analysis of the target gene was used to predict the possible mechanism by which the target gene regulated the progression and prognosis of CRC. **Results:** By analyzing the gene expression data, we obtained 7 866 differentially expressed genes. The correlation analysis of differential gene survival, independent prognosis and clinicopathological features found that MIR4713HG was significantly associated with survival prognosis and clinicopathological features of CRC. MIR4713HG was used as the target gene. MIR4713HG was found to be highly expressed in CRC tissues by TCGA database ($P < 0.001$). MIR4713HG was associated with CRC grade and TNM stage ($P < 0.05$), but no age correlation with patients ($P = 0.999$). Independent prognostic analysis suggested that the prognosis was associated with MIR4713HG, age, tumor grade, TNM stage ($P < 0.05$), MIR4713HG and age as independent risk factors for evaluating patient prognosis. GSEA enrichment analysis showed that MIR4713HG was enriched in the P53 signaling pathway. **Conclusion:** The gene of lncRNA MIR4713HG can be used as a target for evaluating the progression and prognosis of CRC, which may play a role through the P53 signaling pathway.

[Key words] MIR4713HG; bioinformatics analysis; colorectal cancer; P53; progression; prognosis

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(08): 1149-1155]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化系统第二大恶性肿瘤,在肿瘤相关死因中居于第三位。目前对于CRC尚缺少较早期的诊断手段,大多数患者被诊断时已属晚期,失去手术等治愈性治疗的最佳时机,致使其病死率较高^[1]。我国每年约有新发病例37.6万,死亡病例19.1万,其发病率和病死率均保持上升趋势^[2]。故此,寻找CRC进展及预后新的分子靶点及探索其发生发展的机制对CRC的早期诊断和治疗至关重要。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度大于200 nt的非编码RNA分子,曾被认为是RNA聚合酶II转录的副产物,不具有生物学功能。近年来许多研究表明,lncRNA以RNA的形式调控蛋白编码基因在表观遗传调控、转录调控及转录后调控等多种层面的表达水平,并参与转录激活、转录干扰及癌基因活化等重要的过程。在许多疾病中lncRNA的表达异常,尤其在癌症中^[3]。通过对肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中的CRC基因表达数据进行分析发现,lncRNA MIR4713HG与患者生存、预后及临床病理均有显著相关性^[4],但尚缺乏MIR4713HG与CRC的相关研究。

本研究利用Perl及R软件^[5-6]对TCGA数据库中的CRC基因表达数据及临床病理数据进行整理,分析MIR4713HG在CRC组织中的表达水平,与患者临床病理特征的相关性,及对CRC进展及预后的作用,进一步预测其可能的分子机制。

1 资料和方法

1.1 资料

本研究利用TCGA数据库下载CRC基因表达数

据;利用Perl软件完成数据的提取及整合,通过网站(<https://www.perl.org/>)下载安装;R软件完善的分析包用于数据的分析及可视化,通过网站(<https://www.r-project.org/>)下载安装。

1.2 方法

1.2.1 筛选CRC组织与正常结直肠组织间差异表达的基因

从TCGA数据库下载CRC基因表达数据(包含41个正常结直肠样本,473个CRC样本),安装Perl软件提取在正常结直肠样本及CRC组织中共表达的基因;安装R软件应用limma包^[7]删除重复基因并进一步按 $|\text{Fold Change}| > 2, P < 0.05$ 的标准筛选在CRC组织中差异表达的基因,将差异基因绘制热图及火山图进行可视化。

1.2.2 筛选目的基因

从TCGA下载CRC临床病理数据,利用Perl软件将临床病理数据与表达数据进行合并,应用R软件survival包批量筛选与患者生存、预后及临床病理特征相关的基因;选取与生存、预后及临床病理均显著相关的基因作为目的基因进行后续分析。

1.2.3 目的基因在CRC组织中的表达

应用Perl软件整理CRC基因表达数据,获得差异基因表达矩阵(含有55 269个基因);应用R软件BiocManager及limma包提取目的基因表达数据并利用Perl软件提取目的基因在CRC组织及其对应正常结直肠组织中的表达数据(共获得41对配对数据)。应用R软件对目的基因表达数据及配对数据进行可视化。

1.2.4 目的基因与临床病理特征相关性分析及生存预后分析

利用Perl软件将目的基因表达数据分别与年

龄、性别、病理分级、TNM分期等临床病理数据及生存时间合并;进一步应用R软件对临床病理特征进行Wilcoxon秩和检验并作箱式图进行可视化,应用R软件survival程序包对目的基因进行生存分析并作生存曲线进行可视化^[8]。

1.2.5 临床病理特征的独立预后分析

利用Perl软件将临床病理特征与目的基因表达进行整合后获得独立预后分析输入文件,利用R软件(survival,survminer包)对输入文件进行单因素及多因素Cox回归分析并对结果作森林图进行可视化^[9]。

1.2.6 目的基因单基因富集分析

利用Perl软件准备目的基因的单基因富集分析的表达数据集文件及表型数据文件,下载安装基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)软件(<http://software.broadinstitute.org/gsea>)及Java 8运行环境^[10];对目的基因进行KEGG通路富集分析,进一步将富集结果以 $P < 0.05$, $FDR < 0.25$ 的标准筛选后利用R软件(plyr,ggplot2,grid,gridExtra包)进行可视化。

1.2.7 目的基因与潜在靶基因的相关性分析

利用Perl软件提取目的基因相关信号通路中经典信号分子的表达数据,通过R软件分析其与目的基因的相关性并用散点图对分析结果进行可视化;结果以线性相关系数(r)及 P 值表示^[11], $0.1 \leq |r| \leq 1.0$ 时表示目的基因与潜在靶基因具有相关性, $P < 0.05$ 表示统计结果有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选差异基因

按照差异基因的筛选标准,获得7 866个差异表达基因,结果以热图(图1A)和火山图(图1B)展示,其中2 284个基因在CRC组织中低表达,5 582个基因在CRC组织中高表达。

2.2 目的基因筛选

对差异基因进行生存、预后及临床病理相关性过滤分析,结果显示共有11个基因与生存、预后及临床病理均相关($P < 0.05$,表1)。通过分析发现,lncRNA MIR4713HG与生存及预后相关性显著,并且与分级、TNM分期均有显著相关性。故此,选取lncRNA MIR4713HG作为目的基因进行后续研究。

2.3 lncRNA MIR4713HG在结直肠癌中差异表达

进一步研究MIR4713HG在TCGA数据库中的表达,通过分析发现MIR4713HG在CRC组织中显著高表达($P < 0.001$,图2A)。此外,MIR4713HG在41对配对CRC组织中也呈显著高表达($P < 0.001$,

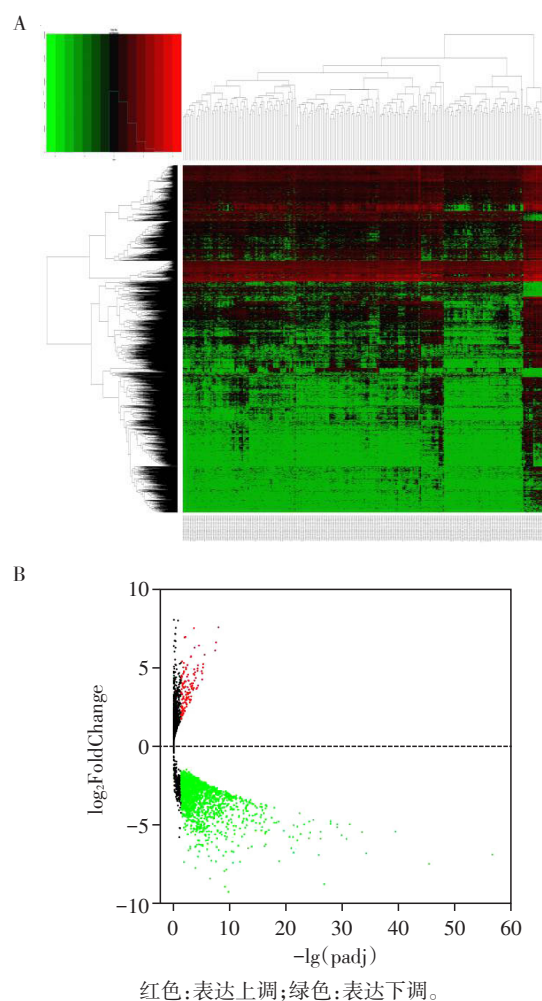


图1 差异表达基因的热图(A)及火山图(B)

Figure 1 Heat map (A) and volcano map (B) of differentially expressed genes

图2B)。因此推测,lncRNA MIR4713HG可能参与CRC发生发展。

2.4 lncRNA MIR4713HG的表达与临床病理相关性分析及生存分析

lncRNA MIR4713HG在CRC中显著高表达,其可能作为一种癌基因影响结直肠癌的预后。为了研究其对预后的影响,我们分析了不同临床病理特征与基因的表达之间的关系(图3)。结果显示,基因MIR4713HG的表达与患者肿瘤分级、TNM分期呈正相关($P < 0.05$),与患者年龄无关($P=0.999$);生存分析显示,基因MIR4713HG与患者生存相关($P=0.001$),高表达预示不良预后。由此推测,lncRNA MIR4713HG可作为调节CRC进展并影响患者预后的潜在靶标。

2.5 独立预后分析

为了进一步分析各临床病理特征对患者预后的影响,我们对临床病理特征做了单因素及多因素

表1 与生存、独立预后及临床病理特征相关基因的筛选结果

Table 1 Screening results of genes related to survival, independent prognosis and clinicopathological features (P值)

基因	生存相关	独立预后	年龄	性别	分级	TNM分期		
						T	M	N
MIR4713HG	0.000 6	0.010 7	0.772 7	0.954 1	0.001 1	0.016 8	0.000 2	0.014 8
AL360181.1	0.002 3	0.019 8	0.555 6	0.916 5	0.014 3	0.011 0	0.007 8	0.003 7
SIX2	0.000 0	0.032 7	0.565 5	0.349 7	0.014 6	0.163 9	0.014 6	0.002 4
ELFN1	0.003 1	0.029 2	0.674 6	0.172 6	0.048 3	0.286 2	0.018 8	0.010 4
CILP2	0.001 6	0.010 5	0.519 3	0.162 0	0.009 0	0.014 9	0.020 0	0.004 6
AGAP3	0.008 8	0.017 5	0.796 1	0.933 2	0.001 7	0.529 0	0.067 4	0.005 2
PPF1A4	0.001 1	0.029 3	0.199 8	0.633 1	0.013 7	0.037 5	0.162 9	0.002 6
RNF224	0.000 1	0.015 3	0.442 6	0.422 6	0.054 4	0.313 7	0.188 7	0.001 8
NOTCH3	0.031 0	0.031 0	0.790 9	0.033 0	0.041 2	0.020 7	0.207 3	0.003 2
AL645608.7	0.000 0	0.014 5	0.458 2	0.192 2	0.320 9	0.005 8	0.276 0	0.001 6
CHSY3	0.024 5	0.003 7	0.824 0	0.521 9	0.045 9	0.106 0	0.390 9	0.001 2

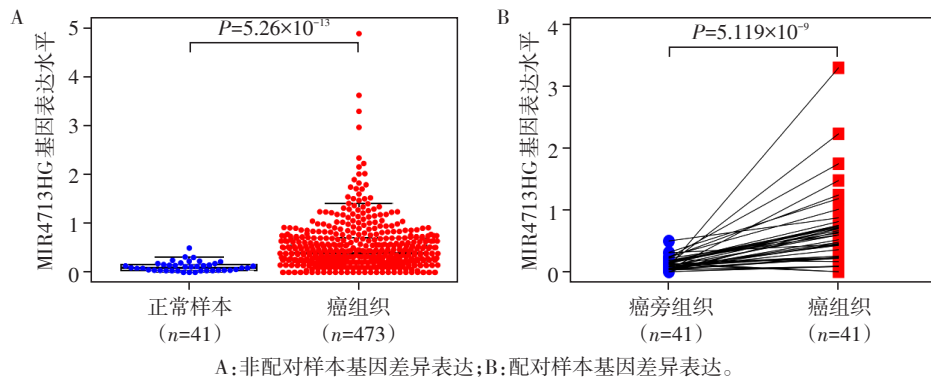
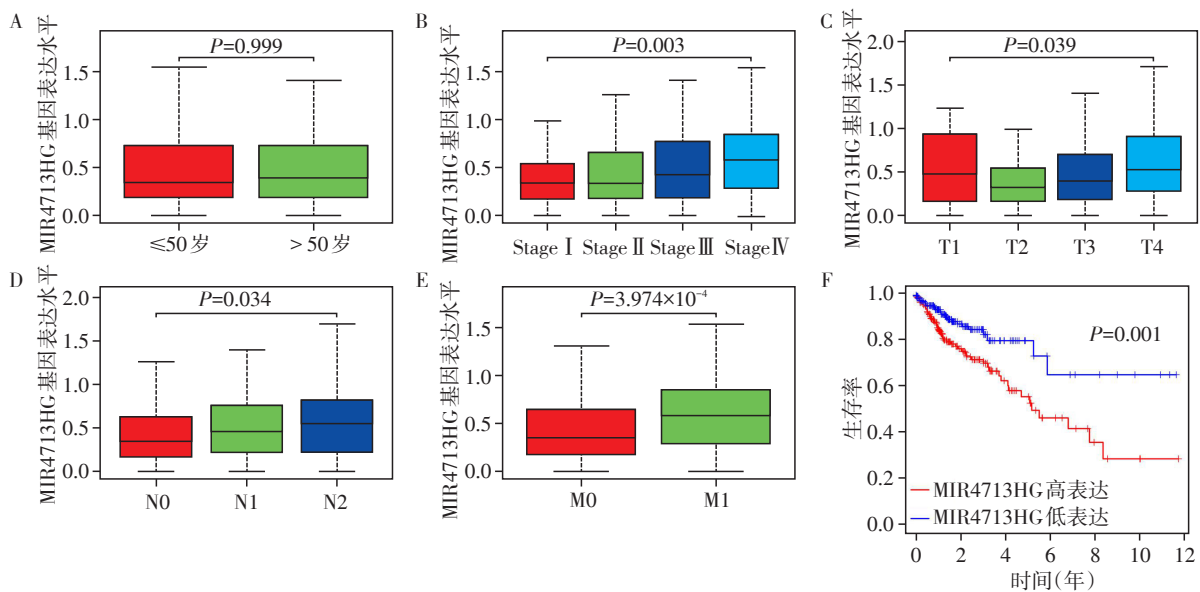


图2 TCGA数据库中lncRNA MIR4713HG在结直肠癌中的差异表达

Figure 2 Differential expression of lncRNA MIR4713HG in CRC in TCGA database



A:年龄; B:肿瘤分级; C~E:TNM分期; F:生存分析。

图3 lncRNA MIR4713HG与临床病理特征相关性分析及生存分析

Figure 3 Correlation between lncRNA MIR4713HG and clinicopathological features and survival analysis

独立预后分析。单因素独立预后分析显示, MIR4713HG、年龄、分级及TNM分期与患者预后相关($P < 0.05$, 图4A), 患者性别与预后无关($P=0.653$);多因素独立预后分析显示, MIR4713HG、年龄可作为评价患者预后的独立危险因子(图4B)。结合以上研究结果认为, lncRNA MIR4713HG可作为调节CRC进展及预后的潜在靶标。

2.6 lncRNA MIR4713HG单基因富集分析

为了探究MIR4713HG调节结直肠癌恶性进展的机制,我们利用GSEA软件对MIR4713HG进行通路富集分析。结果显示, MIR4713HG在P53信号通路中被富集(表2,图5),可抑制P53信号通路的激活。根据已知研究P53可抑制细胞生长、促进细胞凋亡及诱导细胞分化,我们推测lncRNA MIR4713HG可能通过抑制P53信号通路激活进而调控结直肠癌进展。

2.7 lncRNA MIR4713HG与潜在靶基因的相关性分析

为了进一步分析MIR4713HG通过P53信号通

路调控CRC进展可能的机制,我们利用Perl软件提取P53相关分子在CRC中的表达数据并进一步通过R软件分析与MIR4713HG的相关性。结果显示, MIR4713HG与P53信号通路中的BAK1、BAX、BCL2、FAS呈负相关($r=-0.261$ 、 -0.119 、 -0.108 、 -0.286 , P 均 <0.001 , 图6)。综合以上分析结果, lncRNA MIR4713HG可能通过抑制P53/BAK1/BAX/BCL2/FAS信号网络抑制细胞的凋亡调控结直肠癌的发生发展。

3 讨论

本研究通过对TCGA数据库中lncRNA MIR4713HG的分析发现, lncRNA MIR4712HG可能作为一种癌基因促进CRC的发生发展。进一步分析发现, MIR4713HG在较高肿瘤分级及TNM分期晚期患者中表达水平较高,并且高表达预示患者预后不良;独立预后分析显示, MIR4713HG可作为评价患者预后的独立危险因子。通过以上分析,推测lncRNA

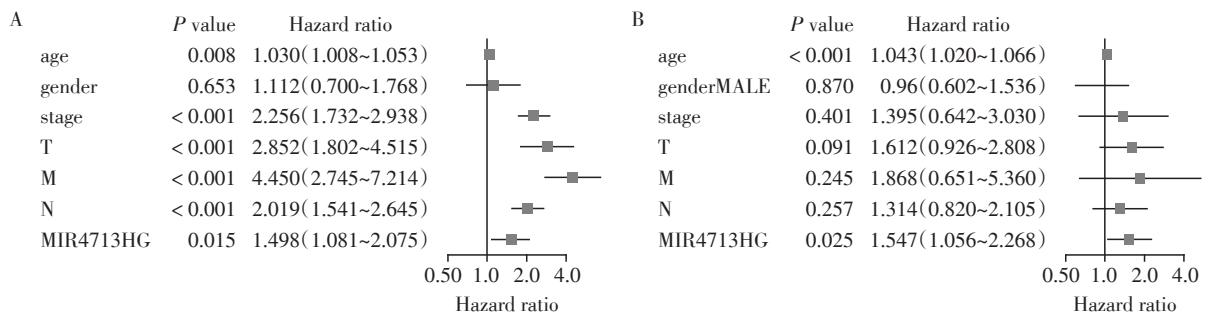


图4 单因素(A)与多因素(B)独立预后分析

Figure 4 Single-factor (A) and multi-factor (B) independent prognostic analysis

表2 lncRNA MIR4713HG单基因富集分析结果(部分)

Table 2 GSEA enrichment analysis results of lncRNA MIR4713HG (part)

通路名称	富集分数	校正富集分数	P值
KEGG_BIOSYNTHESIS_OF_UNSATURATED_FATTY_ACIDS	-0.613 1	-1.734 0	0.022 6
KEGG_FRUCTOSE_AND_MANNOSE_METABOLISM	-0.563 1	-1.684 5	0.024 5
KEGG_AMINO_SUGAR_AND_NUCLEOTIDE_SUGAR_METABOLISM	-0.528 4	-1.671 8	0.026 2
KEGG_CYTOKINE_CYTOKINE_RECEPTOR_INTERACTION	-0.477 8	-1.774 3	0.029 0
KEGG_PROTEASOME	-0.699 2	-1.713 5	0.029 8
KEGG_GLYCOSYLPHOSPHATIDYLINOSITOL_GPI_ANCHOR_BIOSYNTHESIS	0.566 5	1.650 4	0.033 9
KEGG_P53_SIGNALING_PATHWAY	-0.456 4	-1.653 0	0.036 3
KEGG_GLUTATHIONE_METABOLISM	-0.492 6	-1.550 5	0.039 5
KEGG_ASTHMA	-0.685 6	-1.676 4	0.040 3
KEGG_PROXIMAL_TUBULE_BICARBONATE_RECLAMATION	-0.500 6	-1.542 8	0.040 6
KEGG_CYTOSOLIC_DNA_SENSING_PATHWAY	-0.419 7	-1.512 8	0.042 1
KEGG_VIRAL_MYOCARDITIS	-0.566 4	-1.764 2	0.047 1
KEGG_LEISHMANIA_INFECTION	-0.588 2	-1.731 5	0.048 1

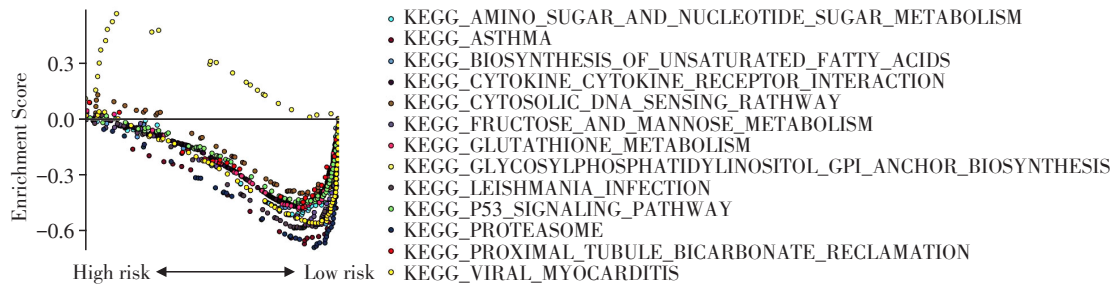


图5 lncRNA MIR4713HG的通路富集分析

Figure 5 Pathway enrichment analysis of lncRNA MIR4713HG

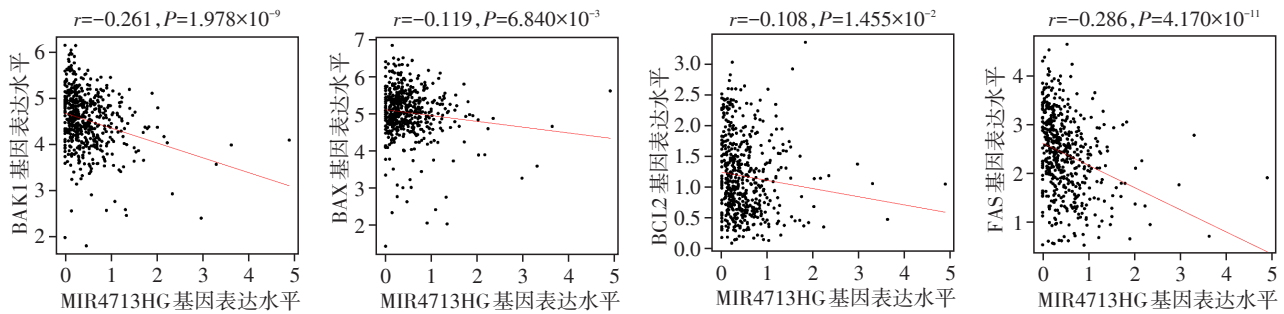


图6 lncRNA MIR4713HG与BAK1、BAX、BCL2、FAS的相关性

Figure 6 Correlation between lncRNA MIR4713HG and BAK1, BAX, BCL2, FAS

MIR4713HG参与调控结直肠癌的进展及预后。最后,通过GSEA软件发现MIR4713HG高表达可抑制P53信号通路的激活,MIR4713HG与P53信号通路中的信号分子BAK1、BAX、BCL2、FAS呈负相关。

根据已有研究,P53是重要的肿瘤抑制途径与人类半数的肿瘤有关,如肝癌、乳腺癌、膀胱癌、结肠癌、前列腺癌等^[12-16]。P53是一种肿瘤抑制基因,可调节多种基因的表达,包括促进细胞凋亡,抑制细胞生长、细胞周期进程,促进细胞分化等^[17-19]。在肿瘤中,P53发生基因突变转变为癌基因失去生长抑制作用而促进肿瘤的发生发展。目前,对P53促进细胞凋亡的功能研究进行得比较深入,激活P53可通过外部和内部两个途径启动细胞凋亡;BAK1、BAX、BCL2是内部途径启动凋亡相关分子,FAS是外部途径启动凋亡相关分子^[20-21]。BCL2、BAK及BAX均是BCL2家族中重要的细胞凋亡调节因子。BCL2是细胞死亡的负向调节因子,通过与BAK及BAX的相互作用调节肿瘤细胞的凋亡。BAK基因具有广泛促进细胞凋亡的功能,可通过缓解BCL2抑制细胞凋亡活性,从而促进细胞的凋亡。BAX的过度表达可拮抗BCL2的保护效应而使细胞趋于死亡。BAX基因是人体最主要的凋亡基因,属于BCL2基因家族,编码的BAX蛋白可与BCL2形成异二聚体,对BCL2产生阻抑作用。研究发现BAX/

BCL2两蛋白之间的比例关系是决定对细胞凋亡抑制作用强弱的关键因素。FAS是一种膜表面分子,可促进多种人细胞系发生凋亡。在CTL细胞识别靶细胞后,细胞表面表达的高水平FASL与靶细胞表面的FAS相互识别,通过FAS触发靶细胞内部的凋亡程序,使靶细胞发生程序性细胞死亡^[22]。

综上,我们发现MIR4713HG基因在结直肠癌组织中高表达预示患者预后不良,并与临床病理显著相关且可作为评价结直肠癌预后的独立风险因子;同时,我们发现MIR4713HG基因过表达可抑制P53信号通路的激活,并且与BAK1、BAX、BCL2、FAS呈负相关。我们推测,MIR4713HG基因通过抑制P53及其通路相关分子的激活导致其对细胞凋亡及细胞增殖的调节失控促进结直肠癌的发生发展。本研究应用生物信息学对MIR4713HG基因进行了深入分析,虽然缺乏实验验证,但该分析结果可对结直肠癌的实验研究提供一个重要的研究方向,有望成为结直肠癌的诊断、治疗新的靶标。

[参考文献]

[1] ISSA I A, NOUREDDINE M. Colorectal cancer screening: an updated review of the available options [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(28): 5086-5096
[2] WANG Z J, AN K, LI R, et al. Analysis of 72 patients with colorectal high - grade neuroendocrine neoplasms

- from three Chinese hospitals [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(34): 5197-5209
- [3] 许桃,何帮顺,林康,等.长链非编码RNA遗传多态性作为肿瘤标志物的研究进展[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(4): 556-561
- [4] DENG M, BRÄGELMANN J, SCHULTZE J L, et al. Web-TCGA: an online platform for integrated analysis of molecular cancer data sets [J]. *BMC Bioinformatics*, 2016, 17: 72
- [5] MACDONALD J M, BOUTROS P C. Log: : ProgramInfo: a Perl module to collect and log data for bioinformatics pipelines [J]. *Source Code Biol Med*, 2016, 11: 9
- [6] CHAN B K C. Data analysis using R programming [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1082: 47-122
- [7] RITCHIE M E, PHIPSON B, WU D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): e47
- [8] KOLETSI D, PANDIS N. Survival analysis, part 3: Cox regression [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2017, 152(5): 722-723
- [9] BUCHAKJIAN M R, GINADER T, TASCHE K K, et al. Independent predictors of prognosis based on oral cavity squamous cell carcinoma surgical margins [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018, 159(4): 675-682
- [10] REIMAND J, ISSERLIN R, VOISIN V, et al. Pathway enrichment analysis and visualization of omics data using g: profiler, GSEA, cytoscape and enrichmentmap [J]. *Nat Protoc*, 2019, 14(2): 482-517
- [11] SCHOBER P, BOER C, SCHWARTE L A. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation [J]. *Anesth Analg*, 2018, 126(5): 1763-1768
- [12] HOLZER K, ORI A, COOKE A, et al. Nucleoporin nup155 is part of the p53 network in liver cancer [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2147
- [13] DUFFY M J, SYNNOTT N C, CROWN J. Mutant p53 in breast cancer: potential as a therapeutic target and biomarker [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 170(2): 213-219
- [14] DAIZUMOTO K, YOSHIMARU T, MATSUSHITA Y, et al. A DDX31/Mutant-p53/EGFR axis promotes multistep progression of muscle-invasive bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(9): 2233-2247
- [15] SCHULZ-HEDDERGOTT R, STARK N, EDMUNDS S J, et al. Therapeutic ablation of gain-of-function mutant p53 in colorectal cancer inhibits stat3-mediated tumor growth and invasion [J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(2): 298-314
- [16] GUEDES L B, ALMUTAIRI F, HAFFNER M C, et al. Analytic, preanalytic, and clinical validation of p53 IHC for detection of TP53 missense mutation in prostate cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(16): 4693-4703
- [17] SUBBARAYAN S, SUBRAMANIAN S, SENTHIL K N. Recombinant pierisin-5 induces apoptosis and differential expression of Bcl-2, Bax, and p53 in human cancer cells [J]. *DNA Cell Biol*, 2019, 38(8): 773-785
- [18] ZHANG Y, ZHANG Y, XU H. LIMCH1 suppress the growth of lung cancer by interacting with HUWE1 to sustain p53 stability [J]. *Gene*, 2019, 712: 143963
- [19] ENGELAND K. Cell cycle arrest through indirect transcriptional repression by p53: I have a dream [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 114-132
- [20] ZHANG G H, YUAN J M, QIAN G, et al. Phthalazino[1, 2-b]quinazolinones as p53 activators: cell cycle arrest, apoptotic response and Bak-Bcl-xl complex reorganization in bladder cancer cells [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(16): 6853-6866
- [21] CHATTERJEE S, PATRA D, CHAKRABORTI U, et al. Association of p38MAPK-p53-Fas aggregation in S-allyl cysteine mediated regulation of hepatocarcinoma [J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(8): 928-940
- [22] MICHITA R T, FMB Z, FRAGA L R, et al. The role of FAS, FAS-L, BAX, and BCL-2 gene polymorphisms in determining susceptibility to unexplained recurrent pregnancy loss [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(5): 995-1002

[收稿日期] 2019-11-21