

· 基础研究 ·

## 基于TCGA数据库挖掘胰腺癌预后相关甲基化位点

时国东<sup>1</sup>, 陈群<sup>1</sup>, 胡青桥<sup>2</sup>, 卢诚<sup>3</sup>, 袁昊<sup>1</sup>, 孟令东<sup>1</sup>, 黄徐敏<sup>1</sup>, 陆怡超<sup>1</sup>, 沈鹏<sup>1</sup>, 张奕晗<sup>1</sup>, 张凯<sup>1</sup>, 张静静<sup>1</sup>, 苗毅<sup>1</sup>, 蒋奎荣<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学第一附属医院胰胆中心, <sup>2</sup>核医学科, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup>南京同仁医院普外科, 江苏 南京 211102

**[摘要]** 目的:通过对肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库内胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)相关数据的研究,从全基因组水平发现影响PDAC预后的甲基化位点及基因。方法:从TCGA网站下载2016年1月28日更新版本的有关PDAC的临床数据、甲基化数据(基于Illumina Methylation 450芯片)及转录组数据(基于Illumina HiSeq测序)。纳入兼具预后数据和甲基化数据的患者179例,应用Cox比例风险模型分析每个位点甲基化水平与PDAC患者总体生存率的关系。进一步纳入兼具甲基化数据及转录组数据的患者173例,分析甲基化水平与对应mRNA表达水平的关系。最后分析mRNA表达水平与PDAC患者总体生存率的关系。结果:用于甲基化预后分析的179例患者年龄为(64.64±10.96)岁,用于相关性分析和mRNA预后分析的173例患者年龄为(64.46±10.91)岁,两者中位生存时间均为20.1个月。本研究发现的与PDAC预后关系最显著的前20个甲基化位点中,11个位点的高甲基化水平为PDAC预后的危险因素,9个为保护因素。位于ZNF438基因5'UTR区的cg01656216探针靶向的位点与PDAC预后相关最显著(HR=0.37, 95%CI:0.24~0.56, P=4.11×10<sup>-6</sup>)。进一步发现8个位点甲基化水平与相应mRNA表达水平呈负相关(r<-0.3, P<0.05),其中PKP3(cg20268054)和EFNB2(cg22179913)的mRNA表达水平还与预后有关(HR=1.66, 95%CI:1.06~2.61, P=0.027; HR=1.86, 95%CI:1.21~2.88, P=0.005)。结论:通过对TCGA数据库PDAC样本的分析发现,PKP3和EFNB2基因的甲基化水平与PDAC预后相关,可进一步发掘其作为PDAC预后相关生物标志物的潜能。

**[关键词]** 胰腺导管腺癌;TCGA;甲基化;mRNA;预后

**[中图分类号]** R735.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)08-1135-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20200810

## Identification of DNA methylation sites related to the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma based on the TCGA database

SHI Guodong<sup>1</sup>, CHEN Qun<sup>1</sup>, HU Qingqiao<sup>2</sup>, LU Cheng<sup>3</sup>, YUAN Hao<sup>1</sup>, MENG Lingdong<sup>1</sup>, HUANG Xumin<sup>1</sup>, LU Yichao<sup>1</sup>, SHEN Peng<sup>1</sup>, ZHANG Yihan<sup>1</sup>, ZHANG Kai<sup>1</sup>, ZHANG Jingjing<sup>1</sup>, MIAO Yi<sup>1</sup>, JIANG Kuirong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Pancreatobiliary Center, Department of General Surgery, <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; <sup>3</sup>Department of General Surgery, Nanjing Tongren Hospital, Nanjing 211102, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the DNA methylation sites related to the prognosis of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) at the whole-genome level by utilizing The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. **Methods:** The clinical data, DNA methylation data detected on Illumina HumanMethylation450k beadchip and transcriptome data produced by Illumina HiSeq of PDAC patients were downloaded from TCGA database (version 2016\_01\_28). We finally chose 179 cases containing both of clinical data and methylation expression profiles to analyze the effect of methylation level on survival by Cox's proportional hazards model. Five factors including age, sex, location, histological grade and pathological stage were used to correct hazard ratio and P value. Next we chose 173 cases containing both of gene expression and methylation expression profiles to explore correlation between methylation level and mRNA expression level. Furthermore, we also evaluated the expression level of mRNAs with the prognosis.

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81902455, 81871980);江苏省医学重点人才项目(ZDRCB2016004);江苏省医学重点学科-普通外科学(ZDXKA2016005)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail:jiangkuirongnjmu@sina.com

**Results:** The age of 179 patients was  $64.64 \pm 10.96$  years and that of 173 patients was  $64.46 \pm 10.91$  years. The median survival times were both 20.1 months. Among the top 20 methylation sites, hypermethylation of 11 sites and hypomethylation of other 9 sites were associated with worse prognosis. The strongest site influencing the survival for PDAC in this study was cg01656216, which was located in the 5' UTR region of ZNF438 ( $P=4.11 \times 10^{-6}$ , HR=0.37, 95% CI: 0.24-0.56). The methylation levels of 8 sites showed significant inverse correlation with mRNA expression levels ( $r < -0.3$ ,  $P < 0.05$ ). In addition, the mRNA expression level of PKP3 (cg20268054) and EFN2 (cg22179913) were also related to the survival of PDAC (HR=1.66, 95% CI: 1.06-2.61,  $P=0.027$ ; HR=1.86, 95% CI: 1.21-2.88,  $P=0.005$ ). **Conclusion:** Based on the analysis of TCGA database, methylation sites in PKP3 and EFN2 genes regions are significantly associated with PDAC prognosis, whose potential for predicting prognosis of PDAC can be further studied.

[**Key words**] pancreatic ductal adenocarcinoma; TCGA; methylation; mRNA; prognosis

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(08): 1135-1139, 1162]

胰腺癌是一种临床表现隐匿、进展迅速、恶性程度很高的消化道肿瘤,90%以上为胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)类型。2020年美国最新统计数据 displays, 胰腺导管腺癌居恶性肿瘤病死率(男女性合并)第3位,仅次于肺癌和结直肠癌。目前胰腺癌5年生存率仅为9%,手术治疗仍为唯一可能治愈的手段<sup>[1]</sup>。近年来PDAC的发病率呈逐渐上升趋势,研究PDAC发生发展机制、开发新型治疗手段、提高生存率已显得尤为重要。多项研究表明DNA甲基化在肿瘤发生发展中起重要作用,某些基因的异常DNA甲基化水平可影响胰腺癌患者预后<sup>[2-4]</sup>,肿瘤细胞可发生异常甲基化使得基因表达的稳态失衡,从而获得强增殖活性及免疫逃避等能力。从人类基因组计划完成以来,针对全基因组的芯片及测序技术日趋成熟,为识别早期检测的生物标志物和新治疗靶点提供了便利。然而现阶段的研究大多只分析了个别基因的甲基化,尚缺乏在人类全基因组水平对PDAC预后影响的研究。基于此,通过深入挖掘肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库,探索与PDAC预后相关的基因甲基化,进一步研究甲基化与相关mRNA水平的关系,以及影响PDAC预后的mRNAs。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料

从TCGA数据库下载有关PDAC数据(2016-01-28更新版本),其中有临床预后信息的癌样本185例,全基因组甲基化数据184例,全基因组转录组表达谱数据178例(图1)。三者数据均包含的178例样本共剔除5例,其中2例组织学分级无法评估、2例病理分期缺失和1例样本随访0天。没有转录组数据的7例样本中有1例因组织学分级无法评估而被剔

除。因此可用于甲基化预后分析的样本有179例,可用于基因甲基化与mRNA相关性分析和mRNA预后分析的样本有173例。甲基化数据以β值来表示甲基化程度,转录组数据以log<sub>2</sub>(RSEM+1)形式来衡量基因表达量。共发现485 577个甲基化位点探针,按照UCSC基因组研究数据库(University of California, Santa Cruz Genome Browser)过滤探针/位点的方法:①超过5%样本的beta值为NA的探针;②匹配基因位于性染色体X或Y的探针;③无匹配基因的探针。根据上述方法过滤剩下298 508个探针。

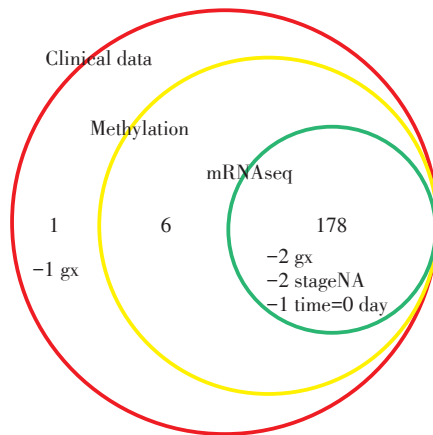


图1 本研究纳入TCGA数据库中PDAC相关数据样本例数的示意图

Figure 1 A schematic diagram of the number of samples of PDAC-related data from TCGA database included in our study

### 1.2 方法

所有分析均在R程序(3.3.2版本)上完成。采用多元Cox比例风险回归模型分析各甲基化位点的甲基化水平或基因的mRNA水平对PDAC总体生存率的影响。根据甲基化水平或mRNA水平的中位

数分成高低表达两组。用年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级以及病理分期5个变量来校正危险比和P值。危险比均是高表达组比低表达组,年龄为连续性变量,用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,其余4个为分组变量。校正后的P值 $\leq 1.667 \times 10^{-7}$  (0.05/300 000)表示对PDAC预后影响有统计学意义。采用程序包ggm的偏相关分析来评估各位点甲基化水平与对应基因 mRNA 表达的相关性。同样地,用上述5个临床变量来做相关系数和P值的校正。 $|r| \geq 0.3$ 且 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 纳入人群的基本特征

用于甲基化位点预后分析的179例胰腺癌患者,男98例(54.7%),女81例(45.3%);年龄(64.64±10.96)岁;胰头肿瘤142例(79.3%),胰体或胰尾肿瘤27例(15.1%),多灶性等其他肿瘤10例(0.6%);组织学分级G1+G2有126例(70.4%),G3+G4有53例(29.6%);病理分期I期20例(11.2%),II期140例(78.2%),III+IV期10例(0.6%)。中位生存时间20.1个月。

用于 mRNA 相关分析的173例胰腺癌患者,男94例(54.3%),女79例(45.7%),年龄(64.46±10.91)岁;胰头肿瘤136例(78.6%),胰体或胰尾肿瘤27例(15.6%),多灶性等其他肿瘤10例(0.6%);组织学分级G1+G2有123例(71.1%),G3+G4有50例(28.9%);病理分期I期20例(11.6%),II期145例(83.8%),III+IV期8例(0.5%)。中位生存时间20.1个月。

### 2.2 与PDAC预后相关的甲基化位点

本研究模型中纳入了各位点甲基化水平、年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级以及病理分期6个变量行多因素分析。将甲基化位点按照Cox生存分析结果的P值从小到大进行排序,选取P值最小的前20个甲基化位点(表1)。位于基因ZNF438的甲基化位点cg01656216与PDAC的预后分析显示P值最小( $P=4.110 \times 10^{-6}$ ),对应的HR值为0.37(0.24~0.56)。所有20个甲基化位点中,9个甲基化位点对应的HR值在0.37~0.42,提示这些甲基化位点的高甲基化水平可能是PDAC预后的保护性因素。另外有11个甲基化位点对应的HR值在2.42~2.69之间,提示这些甲基化位点的高甲基化水平为可能影响

表1 与PDAC患者预后有关的前20个甲基化位点

Table 1 Top 20 methylation sites associated with prognosis of PDAC patients

甲基化位点	基因	染色体	Genomic_Coordinate	HR	95%CI	P值
cg01656216	ZNF438	10	31 273 710	0.37	0.24~0.56	$4.110 \times 10^{-6}$
cg20914464	NOL4	18	31 803 674	2.69	1.76~4.10	$4.589 \times 10^{-6}$
cg08279008	POLR1A	2	86 263 224	2.64	1.73~4.04	$7.415 \times 10^{-6}$
cg02550425	DPP6	7	154 455 543	0.38	0.24~0.58	$1.018 \times 10^{-5}$
cg22379708	AGRN	1	982 918	2.59	1.69~3.98	$1.330 \times 10^{-5}$
cg00778995	POU3F3	2	105 470 558	2.55	1.67~3.91	$1.620 \times 10^{-5}$
cg20268054	PKP3	11	393 029	0.39	0.26~0.60	$1.773 \times 10^{-5}$
cg12699371	GALR1	18	74 961 424	2.52	1.65~3.86	$2.103 \times 10^{-5}$
cg21850852	ITGB4	17	73 746 186	2.50	1.64~3.82	$2.156 \times 10^{-5}$
cg07467482	DPP6	7	154 006 066	0.39	0.25~0.60	$2.479 \times 10^{-5}$
cg14769121	SMURF1	7	98 722 470	0.41	0.27~0.62	$2.777 \times 10^{-5}$
cg11304682	PDZRN3	3	73 451 011	0.41	0.27~0.62	$3.147 \times 10^{-5}$
cg22179913	EFNB2	13	107 183 635	0.41	0.27~0.62	$3.303 \times 10^{-5}$
cg18547371	SSBP4	19	18 539 843	2.49	1.62~3.82	$3.342 \times 10^{-5}$
cg01031032	CD200	3	112 051 894	2.47	1.60~3.80	$4.129 \times 10^{-5}$
cg14144352	PLEC1	8	145 045 851	0.42	0.28~0.63	$4.346 \times 10^{-5}$
cg20048037	ENPP2	8	120 605 539	0.41	0.26~0.63	$4.794 \times 10^{-5}$
cg08521684	MUC4	3	195 488 725	2.43	1.58~3.73	$4.883 \times 10^{-5}$
cg11597131	HOXD9	2	176 988 939	2.54	1.62~3.97	$4.909 \times 10^{-5}$
cg15504747	PLXND1	3	129 312 979	2.42	1.58~3.72	$5.293 \times 10^{-5}$

调整了年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级、病理分期。

PDAC 预后的危险因素。

### 2.3 甲基化水平与相应 mRNA 表达水平的关系

进一步分析不同位点的甲基化水平与相应 mRNA 表达水平之间的关系,具体结果见表2。甲基化位点所在的20个基因中,甲基化水平与其相应 mRNA 表达水平有显著相关性的基因有12个。其中 SMURF1 (cg14769121)、PLEC (cg14144352)、PKP3 (cg20268054)、EFNB2 (cg22179913)、CD200 (cg01031032)、GALR1 (cg12699371)、NOL4 (cg20914464)、SSBP4 (cg18547371) 共8个基因的甲基化水平与相应 mRNA 表达负相关; MUC4 (cg08521684)、ITGB4 (cg21850852)、AGRN (cg22379708)、DPP6 (cg07467482) 共4个基因的甲基化水平与相应 mRNA 表达正相关。

表2 前20个预后相关甲基化位点表达水平与对应的 mRNA 表达水平的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of the expression level of the top 20 prognostic-related methylation sites and the expression level of their respective mRNAs

甲基化位点	基因	Entrez_ID	r值	P值
cg14769121	SMURF1	57 154	-0.640	1.050×10 <sup>-20</sup>
cg14144352	PLEC	5 339	-0.569	8.326×10 <sup>-16</sup>
cg20268054	PKP3	11 187	-0.509	1.914×10 <sup>-12</sup>
cg22179913	EFNB2	1 948	-0.489	1.705×10 <sup>-11</sup>
cg01031032	CD200	4 345	-0.428	7.477×10 <sup>-9</sup>
cg12699371	GALR1	2 587	-0.326	1.629×10 <sup>-5</sup>
cg20914464	NOL4	8 715	-0.319	2.498×10 <sup>-5</sup>
cg18547371	SSBP4	170 463	-0.314	3.421×10 <sup>-5</sup>
cg00778995	POU3F3	5 455	-0.239	0.002
cg15504747	PLXND1	23 129	-0.199	0.010
cg11597131	HOXD9	3 235	-0.125	0.106
cg01656216	ZNF438	220 929	-0.070	0.368
cg08279008	POLR1A	25 885	0.068	0.378
cg11304682	PDZRN3	23 024	0.122	0.116
cg02550425	DPP6	1 804	0.230	0.003
cg20048037	ENPP2	5 168	0.230	0.003
cg07467482	DPP6	1 804	0.353	2.763×10 <sup>-6</sup>
cg22379708	AGRN	375 790	0.358	1.903×10 <sup>-6</sup>
cg21850852	ITGB4	3 691	0.486	2.307×10 <sup>-11</sup>
cg08521684	MUC4	4 585	0.589	4.479×10 <sup>-17</sup>

调整了年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级、病理分期。

### 2.4 相应基因 mRNA 表达水平与 PDAC 预后的关系

采用Cox比例分析模型分析了各基因 mRNA 表达水平与 PDAC 预后之间的关系(表3)。模型中调整了年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级、病理分期5

个变量。结果显示,与 PDAC 预后相关的基因有 PKP3 (cg20268054, HR=1.66, 95% CI: 1.06~2.61, P=0.027)、PDZRN3 (cg11304682, HR=0.61, 95% CI: 0.39~0.95, P=0.028)、EFNB2 (cg22179913, HR=1.86, 95% CI: 1.21~2.88, P=0.005)、ENPP2 (cg20048037, HR=0.64, 95% CI: 0.41~0.98, P=0.042) 共4个基因。

表3 前20个预后相关甲基化位点对应 mRNA 表达水平在 PDAC 患者中的预后分析

Table 3 Prognostic analysis of the expression level of mRNAs corresponding to the top 20 prognostic-related methylation sites in PDAC patients

基因	Entrez_ID	甲基化位点	HR	95%CI	P值
ZNF438	220 929	cg01656216	0.94	0.61~1.46	0.782
NOL4	8 715	cg20914464	0.85	0.56~1.30	0.458
POLR1A	25 885	cg08279008	1.15	0.76~1.74	0.523
DPP6	1 804	cg02550425	0.76	0.49~1.16	0.205
DPP6	1 804	cg07467482	0.76	0.49~1.16	0.205
AGRN	375 790	cg22379708	1.45	0.94~2.23	0.089
POU3F3	5 455	cg00778995	—	—	—
PKP3	11 187	cg20268054	1.66	1.06~2.61	0.027
SSBP4	170 463	cg18547371	0.70	0.45~1.08	0.107
ITGB4	3 691	cg21850852	1.16	0.76~1.79	0.486
SMURF1	57 154	cg14769121	1.20	0.78~1.83	0.403
PDZRN3	23 024	cg11304682	0.61	0.39~0.95	0.028
EFNB2	1 948	cg22179913	1.86	1.21~2.88	0.005
GALR1	2 587	cg12699371	1.02	0.67~1.56	0.913
CD200	4 345	cg01031032	0.92	0.60~1.41	0.701
PLEC	5 339	cg14144352	1.35	0.89~2.04	0.158
ENPP2	5 168	cg20048037	0.64	0.41~0.98	0.042
MUC4	4 585	cg08521684	1.49	0.98~2.29	0.064
HOXD9	3 235	cg11597131	0.78	0.51~1.19	0.253
PLXND1	23 129	cg15504747	0.86	0.56~1.32	0.488

调整了年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级、病理分期; POU3F3 因中位表达值为0而无法分组。

综合上述分析结果可以发现, PKP3 (cg20268054) 和 EFNB2 (cg22179913) 的甲基化位点不仅与 PDAC 预后有关, 同时也与相应的 mRNA 表达水平呈负相关, 说明这些相应基因的 mRNA 表达水平可能会影响 PDAC 预后(表4)。

## 3 讨论

PDAC 由于其生物学特性, 目前诊断和治疗仍面临着巨大挑战。深入了解 PDAC 发生发展的生物学机制、寻找高特异性及敏感性的诊断标志物以及开发个性化的靶向治疗是研究热点<sup>[5]</sup>。

表4 部分甲基化位点汇总

Table 4 Summary of partial methylation sites

甲基化位点	基因	HR(95%CI)	P值	r值	P值	HR'(95%CI)	P值
cg20268054	PKP3	0.39(0.26~0.60)	$1.77 \times 10^{-5}$	-0.509	$1.91 \times 10^{-12}$	1.66(1.06~2.61)	0.027
cg22179913	EFNB2	0.41(0.27~0.62)	$3.30 \times 10^{-5}$	-0.489	$1.71 \times 10^{-11}$	1.86(1.21~2.88)	0.005

调整了年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级、病理分期。

研究表明,人类基因组至少有60%的基因启动子区含有CpG岛,而理论上这些CpG岛均是潜在的甲基化位点。但在实际情况中,仅有5%的基因启动子区发生甲基化。异常的高甲基化常发生于基因启动子区的CpG岛上,抑癌基因启动子的高甲基化将导致该基因的表达下调或沉默,而癌基因启动子区的低甲基化则会使得该基因的表达上调,两者都可促进肿瘤发生发展<sup>[6-9]</sup>。部分启动子异常的甲基化已经被实验室检测出,所以研究基因甲基化位点对指导胰腺癌治疗具有深远意义<sup>[10]</sup>。

本研究通过对TCGA数据库内与PDAC有关的基因数据的研究,初步发现20个与PDAC预后关联性最强的基因甲基化位点,并在此基础上进一步分析这些甲基化位点中哪些位点与相应mRNA的表达水平相关,以及对应mRNA的表达水平对PDAC预后的影响,最后发现位于PKP3、EFNB2基因的甲基化位点的甲基化水平不仅与PDAC预后有关,同时与相应的mRNA表达水平相关,对应mRNA表达水平也与PDAC的预后有关。由于样本量的限制,本研究甲基化位点的P值未能达到标准 $\leq 1.667 \times 10^{-7}$ ,最小P值为 $4.110 \times 10^{-6}$ 。但结合相关的分析结果,本研究发现的甲基化位点的甲基化水平与PDAC预后的相关性仍具有一定的生物学意义。

本研究发现了若干基因的表达水平可以影响PDAC预后,相关功能研究支持这一相关性。比如PKP3基因,其是染色体配体和功能的基础。研究发现,PKP3表达上调与肿瘤进展阶段和淋巴结转移相关<sup>[11-12]</sup>。这表明,高表达的PKP3在促进肿瘤发生发展中起重要作用。EFNB2基因定位于人类13号染色体q33,是目前已知的酪氨酸蛋白激酶家族中最大的一个Eph/ephrin亚家族成员之一。胰腺癌中高表达的EFNB2可通过靶向调控p53/p21通路和上皮间充质转变从而促进胰腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力<sup>[13-14]</sup>。此外,有研究表明SMURF1基因的主要功能是通过结构域靶向降解底物蛋白来调节信号通路<sup>[15]</sup>,SMURF1还可介导硼替佐米对大鼠慢性移植肾间质纤维化的拮抗作用<sup>[16]</sup>。本研究发现PDZRN3基因是肿瘤保护性因素,先前文献并未有

PDZRN3基因对肿瘤作用的报道,也期待于进一步的研究。PDZRN3基因是含有PDZ结构域的RING蛋白家族的成员,介导蛋白质-蛋白质相互作用<sup>[17]</sup>。已经在不同组织(包括心脏、脑、肝脏、肾脏等)中鉴定了PDZRN3的几种蛋白质配体,表明其在不同的转导信号中特异性的作用<sup>[18]</sup>。MUC4是本课题组一直研究的基因,在促进肿瘤发生发展中起重要作用<sup>[19-20]</sup>。

总之,本研究立足于TCGA数据库内与PDAC预后相关数据的探究,在全基因组水平上初步发现了一些影响PDAC预后的基因甲基化位点,为今后研究PDAC预后影响因素提供了理论基础。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30
- [2] Epigenomic changes prime PDAC metastasis [J]. Cancer Discov, 2017, 7(4): OF3
- [3] KOTTAKIS F, NICOLAY B N, ROUMANE A, et al. LKB1 loss links serine metabolism to DNA methylation and tumorigenesis [J]. Nature, 2016, 539(7629): 390-395
- [4] KOUTSIOMPA M, HATZIAPOSTOLOU M, POLYTARCHOU C, et al. Lysine methyltransferase 2D regulates pancreatic carcinogenesis through metabolic reprogramming [J]. Gut, 2019, 68(7): 1271-1286
- [5] HALBROOK C J, LYSSIOTIS C A. Employing metabolism to improve the diagnosis and treatment of pancreatic cancer [J]. Cancer Cell, 2017, 31(1): 5-19
- [6] 殷灵瑜, 陈文柏, 赵 耀, 等. 前列腺癌相关基因PAX5启动子甲基化的临床意义 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(1): 72-76
- [7] WU J, LI H, SHI M, et al. TET1-mediated DNA hydroxy-methylation activates inhibitors of the Wnt/beta-catenin signaling pathway to suppress EMT in pancreatic tumor cells [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 348
- [8] AZMI A S, LI Y, ABOUKAMEEL A, et al. DNA-methylation-caused downregulation of mir-30 contributes to the high expression of XPO1 and the aggressive growth of tumors in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(8). DOI: 10.3390/cancers11081101

(下转第1162页)

- based clinical practice guidelines for inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(3):305-353
- [2] MATSUOKA K, UEMURA Y, KANAI T, et al. Efficacy of *Bifidobacterium breve* fermented milk in maintaining remission of ulcerative Colitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2018, 63(7):1910-1919
- [3] PICARD C, FIORAMONTI J, FRANCOIS A, et al. *Bifidobacteria* as probiotic agents-physiological effects and clinical benefits [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2005, 22(6):495-512
- [4] ZHANG C, YU Z, ZHAO J, et al. Colonization and probiotic function of *Bifidobacterium longum* [J]. *J Funct Foods*, 2019, 53:157-165
- [5] 杨红, 钱家鸣. 2018年炎症性肠病诊断与治疗的共识意见解读[J]. *中华炎症肠病杂志*, 2018, 2(3):145-147
- [6] SARTOR R B, WU G D. Roles for intestinal bacteria, viruses, and fungi in pathogenesis of inflammatory bowel diseases and therapeutic approaches [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(2):327-339
- [7] JOOSSENS M, HUYS G, CNOCKAERT M, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives [J]. *Gut*, 2011, 60(5):631-637
- [8] CHEN X, FU Y, WANG L, et al. *Bifidobacterium longum* and VSL#3<sup>®</sup> amelioration of TNBS-induced colitis associated with reduced HMGB1 and epithelial barrier impairment [J]. *Dev Comp Immunol*, 2019, 92(1):77-86
- [9] QIU X, ZHANG M, YANG X, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* upregulates regulatory T cells and anti-inflammatory cytokines in treating TNBS-induced colitis [J]. *J Crohns Colitis*, 2013, 7(11):e558-e568
- [10] 赵小静, 马晶晶, 朱云娟, 等. 克罗恩病患者外周血 Th17/Treg 细胞比例、血清炎症活动指标改变及其临床意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(8):1000-1004
- [11] KWON H K, LEE C G, SO J S, et al. Generation of regulatory dendritic cells and CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T cells by probiotics administration suppresses immune disorders [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(5):2159-2164
- [12] 夏菲, 李芳, 张东波, 等. LFA-1 对小鼠 Treg 细胞功能可塑性的影响及其机制探讨 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(12):1543-1547
- [收稿日期] 2019-06-07

(上接第 1139 页)

- [9] BARARIA A, DEY S, GULATI S, et al. Differential methylation landscape of pancreatic ductal adenocarcinoma and its precancerous lesions [J/OL]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2020. DOI: 10.1016/j.hbpd.2020.03.010
- [10] YI J M, GUZZETTA A A, BAILEY V J, et al. Novel methylation biomarker panel for the early detection of pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(23):6544-6555
- [11] DEMIRAG G G, SULLU Y, YUCELI I. Expression of plakophilins (PKP1, PKP2, and PKP3) in breast cancers [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3):1518-1522
- [12] LEE L, WOOLLEY C, STARKEY T, et al. Serum- and glucocorticoid-induced kinase Sgk1 directly promotes the differentiation of colorectal cancer cells and restrains metastasis [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(2):629-640
- [13] ZHU F, DAI S N, XU D L, et al. EFNB2 facilitates cell proliferation, migration, and invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma via the p53/p21 pathway and EMT [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125:109972
- [14] ZHANG Y, ZHANG R, DING X, et al. EFNB2 acts as the target of miR-557 to facilitate cell proliferation, migration and invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma by bioinformatics analysis and verification [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(11):3514-3528
- [15] TIAN M, BAI C, LIN Q, et al. Binding of RhoA by the C2 domain of E3 ligase Smurf1 is essential for Smurf1-regulated RhoA ubiquitination and cell protrusive activity [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(14):2199-2204
- [16] 周嘉俊, 桂泽平, 顾民, 等. 硼替佐米通过下调 Smurf1 拮抗大鼠慢性移植肾间质纤维化 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(5):636-640
- [17] OTSUKA Y, FURIHATA T, NAKAGAWA K, et al. Sodium-coupled monocarboxylate transporter 1 interacts with the RING finger- and PDZ domain-containing protein PDZRN3 [J]. *J Physiol Sci*, 2019, 69(4):635-642
- [18] KO J A, KIMURA Y, MATSUURA K, et al. PDZRN3 (LNX3, SEMCAP3) is required for the differentiation of C2C12 myoblasts into myotubes [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 24):5106-5113
- [19] ZHU Y, ZHANG J J, PENG Y P, et al. NIDO, AMOP and vWD domains of MUC4 play synergic role in MUC4 mediated signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6):10385-10399
- [20] ZHANG J J, ZHU Y, XIE K L, et al. Yin Yang-1 suppresses invasion and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma by downregulating MMP10 in a MUC4/ErbB2/p38/MEF2C-dependent mechanism [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13:130
- [收稿日期] 2019-11-19