

阿尔茨海默病

阿尔茨海默病差异表达基因的生物信息学分析

朱士胜¹, 张丽², 代亚磊², 张怡¹, 徐妍¹, 石雪萍¹, 廖勇¹

(1. 重庆医药高等专科学校医学技术学院生物化学教研室、重庆市药物制剂工程技术研究中心, 重庆 401331;

2. 重庆医科大学基础医学院法医学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:应用生物信息学方法分析阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)不同病情程度的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs), 在分子水平上探讨 AD 的发病机制, 为研究 AD 提供新思路。**方法:**从基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)下载基因芯片数据集 GSE28146, 使用在线分析工具 GEO2R 分别筛选 AD 轻度组、中度组和重度组与正常对照组比较的 DEGs。运用 DAVID 数据库对筛选出的 DEGs 进行基因本体(gene ontology, GO)富集分析和京都基因与基因百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路分析, 通过 STRING 数据库构建蛋白相互作用网络, 并采用 Cytoscape 软件筛选关键基因。**结果:**AD 轻度组、中度组和重度组分别筛选出 881、896 和 1142 个 DEGs。GO 功能富集显示:轻度组与凋亡相关过程的激活、调节免疫反应、蛋白质磷酸化等生物过程密切相关, 中度组与炎症反应、凋亡调节、钙离子的释放等生物过程密切相关, 重度组与 NF- κ B 的激活、蛋白质磷酸化和去磷酸化、细胞外基质的降解等生物过程密切相关。KEGG 分析显示:轻度组主要富集到 p53 和 TGF- β 等信号通路, 中度组主要富集到癌症途径、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、细胞黏附分子等信号通路, 重度组主要富集到细胞周期、Hippo 信号通路、神经活性配体-受体相互作用等信号通路。蛋白互作网络分析各组富集程度最高的前 5 个关键基因:轻度组为 GART、EHMT2、KRAS、ESR1、CD44; 中度组为 CBLB、HERC1、UBE2G1、UBE2M、HECW2; 重度组为 UBE2C、SOCS3、FBXW7、UBE3B、UBA6。**结论:**采用生物信息学方法分析不同病情程度的 AD, 所富集的信号通路和筛选出的关键基因可能在 AD 发生发展过程中起重要作用, 为进一步深入研究 AD 提供了依据和思路。

【关键词】阿尔茨海默病; 差异表达基因; 生物信息学; 蛋白质相互作用; 关键基因**【中图分类号】**R749.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-12-31

A bioinformatics analysis of differentially expressed genes in Alzheimer's disease

Zhu Shisheng¹, Zhang Li², Dai Yalei², Zhang Yi¹, Xu Yan¹, Shi Xueping¹, Liao Yong¹

(1. Teaching and Research Section of Biochemistry, Faculty of Medical Technology, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing Engineering Research Center of Pharmaceutical Sciences; 2. Teaching and Research Section of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the differentially expressed genes (DEGs) in different stages of Alzheimer's disease (AD) through a bioinformatics analysis and the pathogenesis of AD at the molecular level, and to provide new ideas for the research on AD. **Methods:** The microarray dataset GSE28146 was downloaded from gene expression omnibus (GEO), and the GEO2R online software was used to screen out DEGs between the control group and the mild/moderate/severe AD groups. The DAVID database was used to perform genetic ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis of DEGs, the STRING database was used to establish a protein-protein interaction network, and the Cytoscape software was used to screen out the hub genes. **Results:** A total of 881, 896, and 1142 DEGs were screened out in the mild, moderate, and severe AD groups, respectively, compared with the control group. The GO functional enrichment analysis showed that the DEGs in the mild AD group were closely associated with the activation of apoptosis-related processes, regulation of immune response, and protein phosphorylation, those in the moderate AD group were closely associated with inflammatory response, apoptosis regulation, and release of calcium ions, and those in the severe AD group were closely associated with the activation of nuclear factor- κ B, protein phosphorylation and dephosphorylation, and degradation of extracellular matrix. The KEGG analysis showed that the DEGs in the mild AD group were mainly enriched

in the p53 and TGF- β signaling pathways, those in the moderate group were mainly involved in the signaling pathways of cancer, natural killer cell-mediated cytotoxicity, and cell adhesion molecules, and those in the severe AD group were mainly enriched in the signaling pathways involving cell cycle, Hippo

作者介绍: 朱士胜, Email: 2395191256@qq.com,

研究方向: 基因组学、蛋白质组学和代谢组学。

通信作者: 廖勇, Email: 2245464573@qq.com。

signaling pathway, and neuroactive ligand-receptor interaction. The protein-protein interaction network analysis showed that the top 5 hub genes with the highest degree of enrichment were GART, EHMT2, KRAS, ESR1, and CD44 in the mild AD group, CBLB, HERC1, UBE2G1, UBE2M, and HECW2 in the moderate AD group, and UBE2C, SOCS3, FBXW7, UBE3B, and UBA6 in the severe AD group. **Conclusion:** The bioinformatics analysis of different stages of AD shows that the enriched signal pathways and the hub genes may play an important role in the development and progression of AD, which provide a basis and new ideas for further research on AD.

【Key words】Alzheimer's disease; differentially expressed gene; bioinformatics; protein-protein interaction; hub gene

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 由德国病理学和精神病学医师 Alois Alzheimer^[1]于 1907 年首次报道, 是一种以记忆障碍、进行性认知功能损害、人格和行为改变等神经精神障碍为主要临床表现的中枢神经系统退行性疾病^[2]。AD 是老年痴呆最常见的病因, 据统计, 60%~80% 的痴呆症由 AD 导致, 而痴呆已经成为 65 岁以上人群的第 5 大死亡原因^[3]。近年来, 随着我国人口老龄化进程加剧, AD 患者数量迅速增加, 目前已超过 700 万人, AD 病程长、合并症多样且需要长期护理, 给社会和家庭带来沉重的经济负担^[4], 已成为不可忽视的社会问题。AD 主要病理特征为神经元丢失、 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, β A) 聚集成老年斑和神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)。AD 的发病机制尚不明确, β A 瀑布理论、tau 蛋白学说、氧化应激、炎症机制、线粒体功能障碍和基因突变等多种假说被认为参与 AD 的发生和发展^[5]。

目前, 高通量基因芯片技术和生物信息学分析已广泛应用于疾病的发病机制、分子诊断、治疗药物靶点寻找和预后预测分析等方面, 且以基因组学方法为代表的新的科学技术手段为 AD 的机制研究提供了大规模临床数据, 利用生物信息学对这些临床检测数据进行进一步分析, 探讨 AD 发病机制, 可为 AD 的早期诊断、治疗及实验研究提供理论依据^[6]。本研究通过对美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 公共数据平台中 GSE28146 原始数据进行生物信息学分析, 探讨不同病情程度 AD 的分子机制, 为 AD 发生发展分子机制的进一步研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 基因芯片数据来源

从 NCBI 公共数据平台 GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载访问号为 GSE28146 的基因芯片数据集, 此数据集基于 GPL570 平台, 本实验是采用 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix

Human Genome U133 Plus 2.0 Array 的 30 例人海马 CA1 区灰质样本, 其中对照组 8 例, 根据简明精神状态量表 (Mini-Mental Status Exam, MMSE) 和 NFT 将 22 例 AD 患者按病情进展程度分为轻度组 (incipient group) 7 例, 中度组 (moderate group) 8 例, 重度组 (severe group) 7 例。

1.2 DEGs 的筛选

GEO2R 是一个交互式的在线工具, 允许用户比较 GEO 系列中的 2 个或更多样品组, 并利用默认的 Benjamini-Hochberg 方法测定错误发现率^[7]。运用 GEO 自带分析功能 GEO2R 行 DEGs 的筛选, AD 轻度组、AD 中度组和 AD 重度组分别与对照组比较分析。DEGs 的筛选条件为: $P < 0.05$ 且 $|\log FC| \geq 1.5$, 其中 $\log FC \geq 1.5$ 为上调, $\log FC \leq -1.5$ 为下调。

1.3 DEGs 的 GO 富集分析和 KEGG 通路分析

将筛选出的 DEGs 上传至 DAVID6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库, 对 DEGs 行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析, 筛选条件均为 $P < 0.05$ 。

1.4 蛋白质-蛋白质互作网络分析

相互作用基因库检索工具 (search tool for the retrieval of interacting genes, STRING) 数据库能够构建已知蛋白质与预测蛋白质之间的相互作用, 通过对蛋白质之间相互作用的可能性进行打分, 评价相互作用可能性的大小^[8]。构建 DEGs 编码蛋白相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 的筛选条件为代表中度相互作用可能性的阈值 (结合分值 > 0.4)。然后将 STRING 数据库构建出的蛋白质相互作用网络结果导入 Cytoscape (3.2.1 版本) 软件^[9]中进行可视化, 运用 Cytoscape 中 cytoHubba 插件, 选用 Degree 算法, 筛选前 30 个关键基因 (hub gene), 用颜色的深浅表示 Degree 算法预测的评分高低。

2 结果

2.1 筛选的 DEGs

通过 GEO2R 在线分析工具, AD 轻度组筛选出 DEGs 881 个 (图 1A、D), 其中上调 392 个, 下调 489 个; AD 中度组筛选出 DEGs 896 个 (图 1B、E), 其中上调 471 个, 下调 425 个; AD 重度组筛选出 DEGs 1 142 个 (图 1C、F), 其中上调 606 个, 下调 536 个。

2.2 DEGs 的 GO 富集分析

GO 富集分析如图 2 至图 4 所示, AD 轻度组: 生物过程

(biological process, BP)层面上调 DEGs 主要涉及凋亡相关过程的激活、调节免疫反应等 20 个功能族,下调 DEGs 主要涉及蛋白质磷酸化、胆固醇稳态和脂蛋白代谢过程等 17 个功能族;细胞组分 (cellular component, CC)层面上调 DEGs 主要参与细胞外泌体、高尔基体等 6 个功能族,下调 DEGs 主要参与线粒体基质、蛋白性细胞外基质等 4 个功能族;分子功能 (molecular function, MF)层面上调 DEGs 主要发挥与 DNA 结合、转录因子结合等 8 个功能族,下调 DEGs 主要发挥与胆固醇结合、GTP 酶活化剂激活等 7 个功能族。AD 中度组: BP 层面上调 DEGs 主要涉及炎症反应、凋亡调节等 28 个功能族,下调 DEGs 主要涉及胆固醇分解代谢过程和钙离子的释放等 15 个功能族;CC 层面上调 DEGs 主要参与骨架、细胞质等 8 个功能族,下调 DEGs 主要参与树突、泛素连接酶复合体和树突等 3 个功能族;MF 层面上调 DEGs 主要发挥与 DNA 结合、蛋白激酶结合等 12 个功能族,下调 DEGs 主要发挥与雄激素受体结合、泛素蛋白体连接酶结合等 8 个功能族。AD 重度组: BP 层面上调 DEGs 主要涉及 NF- κ B 的激活、凋亡相关途径等 30 个功能族,下调 DEGs 主要涉及细胞粘附、突触组织等 13 个功能族;CC 层面上调 DEGs 主要参与内体膜、细胞质等 5 个功能族,下调 DEGs 主要参与高尔

基体及其相关囊泡、突触后膜等 9 个功能族;MF 层面上调 DEGs 主要发挥与蛋白质结合、转录因子结合等 10 个功能族,下调 DEGs 主要发挥与金属离子结合、蛋白质结合等 4 个功能族。

2.3 DEGs 的 KEGG 通路分析

KEGG 通路分析见表 1,轻度组 DEGs 主要参与 p53 信号通路、糖鞘脂生物合成-乳糖和新乳糖等信号通路。中度组 DEGs 主要参与癌症途径、胆汁分泌等信号通路。重度组 DEGs 主要参与病毒致癌作用、神经活性配体-受体相互作用等信号通路。

2.4 编码蛋白相互作用网络图构建及关键基因的筛选

STRING 数据库构建的 PPI 网络图:轻度组包括 677 个节点蛋白的 1 144 条关系(图 5A);中度组包括 706 个节点蛋白的 1 490 条关系(图 5B);重度组包括 917 个节点蛋白的 2 095 条关系(图 5C)。利用 Cytoscape 软件中 cytoHubba 插件,各组筛选出前 30 个关键基因(hub gene)构建相互作用网络图(图 5D、E、F),各组排在前 5 位的关键基因情况如下:轻度组为 GART、EHMT2、KRAS、ESR1 和 CD44,中度组为 CBLB、HERC1、UBE2G1、UBE2M 和 HECW2,重度组为 UBE2C、SOCS3、FBXW7、UBE3B 和 UBA6。

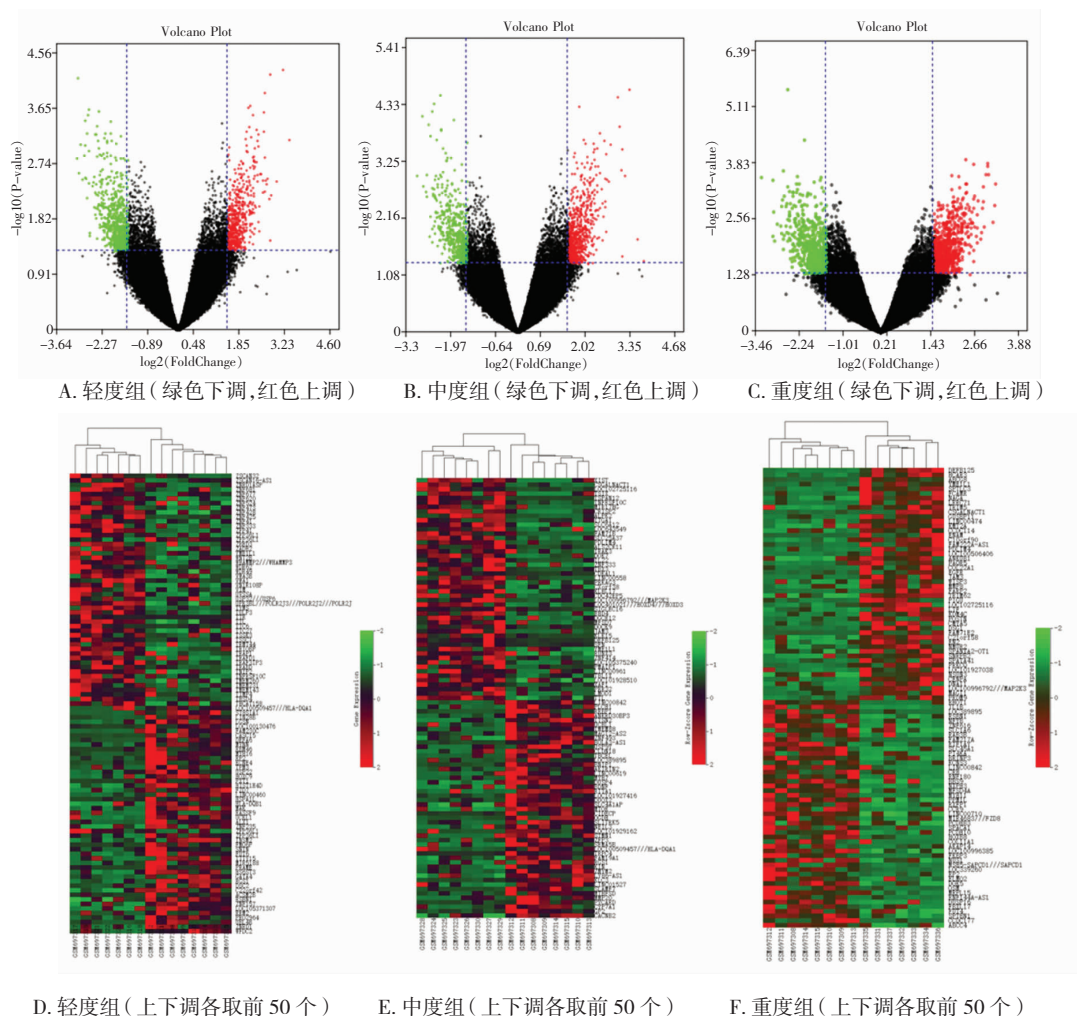


图 1 差异表达基因的火山图和热图

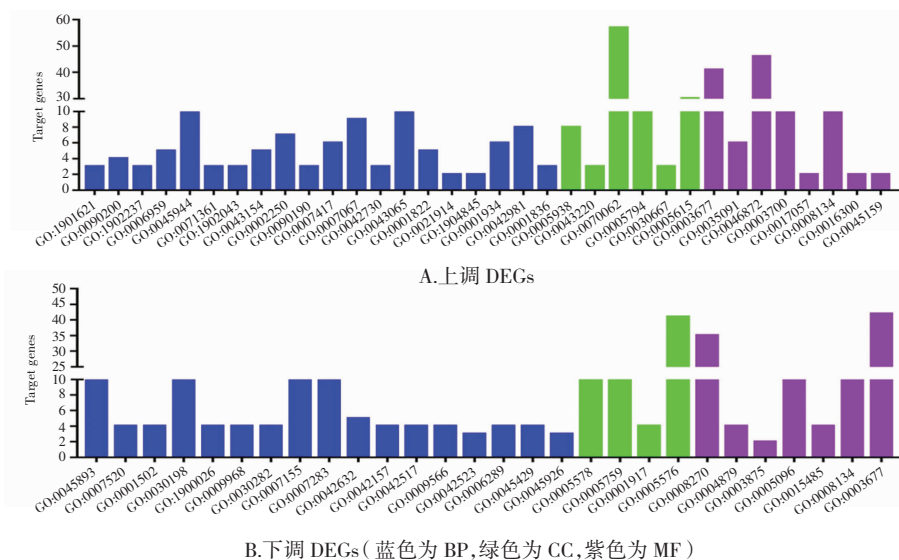


图 2 轻度组 DEGs GO 功能分析

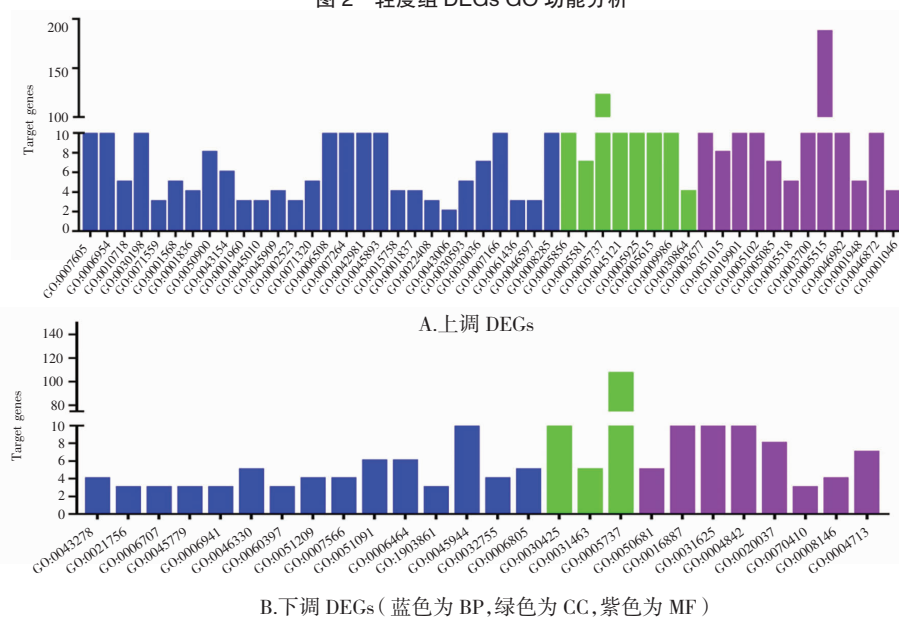


图 3 中度组 DEGs GO 功能分析

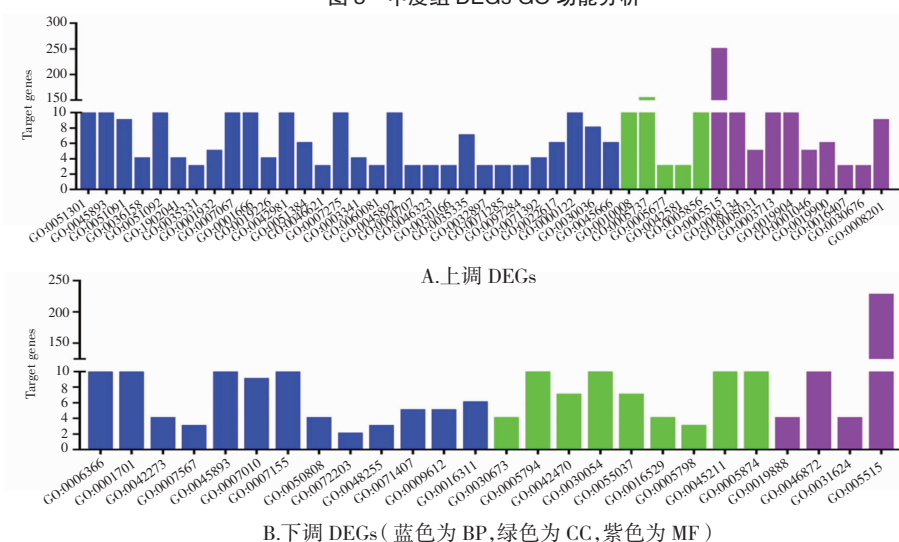
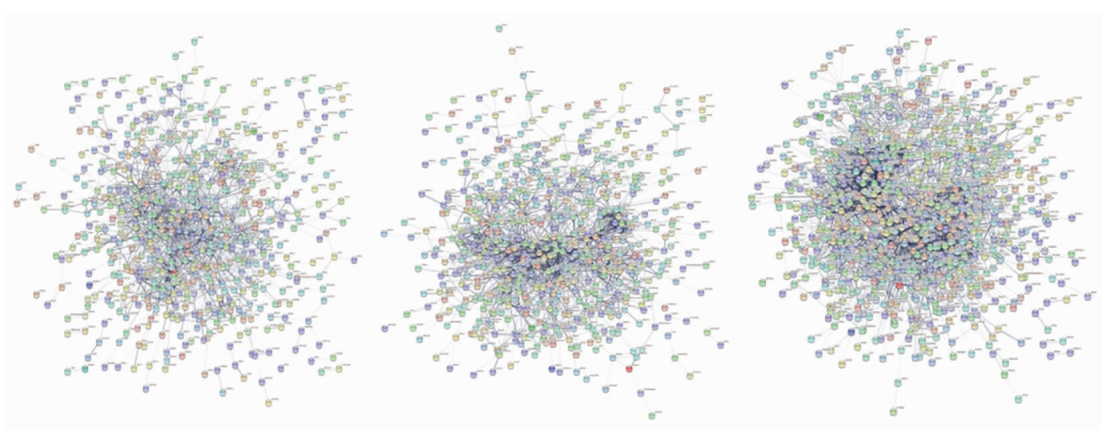


图 4 重度组 DEGs GO 功能分析

表 1 DEGs 的 KEGG 信号通路分析

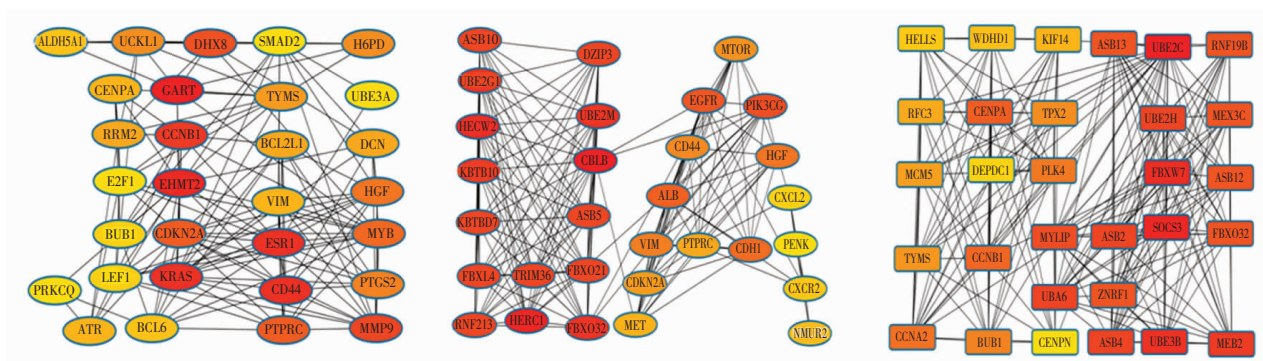
组别	趋势	通路 ID 及名称	基因数	P 值
Incipient	UP	hsa04115:p53 signaling pathway	5	1.71E-02
	UP	hsa04350:TGF- β signaling pathway	5	3.57E-02
	DOWN	hsa00601:Glycosphingolipid biosynthesis – lacto and neolacto series	4	1.44E-02
	DOWN	hsa05222:Small cell lung cancer	6	2.68E-02
	DOWN	hsa05212:Pancreatic cancer	5	4.01E-02
	DOWN	hsa05200:Pathways in cancer	14	4.87E-02
Moderate	UP	hsa05200:Pathways in cancer	17	1.90E-03
	UP	hsa04650:Natural killer cell mediated cytotoxicity	8	6.59E-03
	UP	hsa04514:Cell adhesion molecules	8	1.45E-02
	UP	hsa05210:Colorectal cancer	5	2.58E-02
	UP	hsa05203:Viral carcinogenesis	9	3.27E-02
	UP	hsa04510:Focal adhesion	9	3.35E-02
	UP	hsa05218:Melanoma	5	3.97E-02
	UP	hsa04520:Adherens junction	5	3.97E-02
	UP	hsa05146:Amoebiasis	6	4.33E-02
	DOWN	hsa05144:Malaria	5	1.64E-02
	DOWN	hsa04976:Bile secretion	5	4.93E-02
Severe	UP	hsa05203:Viral carcinogenesis	11	4.32E-02
	UP	hsa04110:Cell cycle	8	4.46E-02
	UP	hsa04390:Hippo signaling pathway	9	4.53E-02
	DOWN	hsa04080:Neuroactive ligand–receptor interaction	13	1.52E-02



A. 轻度组 PPI

B. 中度组 PPI

C. 重度组 PPI



D. 轻度组 PPI (前 30 个)

E. 中度组 PPI (前 30 个)

F. 重度组 PPI (前 30 个)

D、E、F 颜色越深表示 Degree 算法预测的评分越高

图 5 差异基因编码蛋白相互作用网络图

3 讨论

AD是痴呆症的主要原因,也是21世纪医疗保健领域最重要的挑战之一^[10]。其发病是多基因、多途径、多步骤、多阶段相互作用和相互影响的复杂过程,目前尚缺乏有效诊疗手段,其发病机制、早期分子诊断和精准治疗成为亟待解决的难题。当前,高通量基因芯片技术和成熟的生物信息学分析能够从分子水平更加深入探索疾病的发生发展。

本研究对 GEO 数据库中基因芯片数据文件 GSE28146 进行生物信息学分析,与正常对照组比较,AD 轻度组、中度组和重度组筛选出 DEGs 分别是 881 个(上调 392 个、下调 489 个)、896 个(上调 471 个、下调 425 个)、1 142 个(上调 606 个、下调 536 个)。运用 DAVID 进行 GO 功能富集分析发现,凋亡途径的激活(轻度组中的 GO:1902237、GO:1902043 等,中度组中的 GO:0034154、GO:0042981,重度组中的 GO:1902041、GO:0042981 等)贯穿 AD 的始终,炎症反应(GO:0006954、GO:0030593 等)、免疫反应调节(GO:0006959、GO:0002250)、钙超负荷(GO:0051209)、葡萄糖转运(GO:0015758)、脂质代谢(GO:0042632、GO:0006707)、蛋白质磷酸化和去磷酸化(GO:0001932、GO:0001934)等都参与到 AD 的发生发展过程中,这与以往的研究一致^[5]。进一步分析发现,AD 轻度组在凋亡途径激活的生物学过程富集显著(GO:1902237、GO:1902043、GO:0043154、GO:0043065、GO:0042981),AD 中度组在炎症反应的生物学过程富集明显(GO:0006954、GO:0050900、GO:0002523、GO:0030593、GO:0032755),而 AD 重度组更多富集在蛋白质磷酸化或去磷酸化(GO:0001932、GO:0035335、GO:0016311)等修饰及突触组织(GO:0050808)、细胞骨架组织(GO:0007010、GO:0030036)和细胞外基质的降解(GO:0022617)等生物学过程。这种不同病情程度生物学过程富集的差异在以往的研究中鲜有报道,而这种差异为进一步深入揭示 AD 发生发展过程的机制、不同病情阶段治疗靶点的精准筛查提供了新的思路 and 方向。

通过 Cytoscape 软件对 STRING 数据库构建的蛋白质相互作用网络进行分析,各组筛选的 DEGs 中得分最高的前 5 个关键基因分别是:轻度组为

GART、EHMT2、KRAS、ESR1 和 CD44,中度组为 CBLB、HERC1、UBE2G1、UBE2M 和 HECW2,重度组为 UBE2C、SOCS3、FBXW7、UBE3B 和 UBA6。

轻度组中的 GART(磷酸核糖基甘氨酸酰胺甲酰基转移酶)位于染色体 21q22.11 上,该基因编码的蛋白是一种三官能团的多肽。它需要磷酸核糖基甘氨酸酰胺甲酰基转移酶、磷酸核糖甘氨酸合成酶和氨基咪唑核苷酸合成酶通过从头合成途径合成嘌呤核苷酸^[11]。嘌呤的合成从头几个步骤突变导致人类天生代谢错误,发生精神发育迟滞、肌无力、耳聋、视神经萎缩以及其他功能错误^[12]。在一项唐氏综合征的研究中,GART 参与中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白的功能表达^[13],编码蛋白质和过氧化氢过程,引起肝细胞和肾小管上皮细胞的炎症和细胞损伤。在另一项研究中,Collier^[14]也发现 GART 可能与胰岛素依赖型糖尿病患者血浆中的免疫反应水平相关。这些研究表明 GART 基因在炎症反应、免疫调节和神经系统发育等方面发挥重要作用,这与轻度组通路富集于 p53 信号通路(hsa04115)和 TGF- β 信号通路(hsa04350)相一致。

中度组中的 CBLB 基因编码的 CBLB 蛋白属于环指(RING)型泛素连接酶 E3,CBLB 通过 N-端酪氨酸激酶结合(tyrosine kinase binding,TKB)结构域识别并结合底物蛋白酪氨酸激酶,RING 结构域募集泛素结合酶 E2,从而启动底物泛素化降解,参与细胞内信号转导的负向调控^[15]。Fan 等^[16]发现 CBLB 可通过泛素化降解 FAK,促进胃癌细胞解离,从而促进胃癌转移。然而 CBLB 蛋白也可作为连接蛋白招募信号分子至蛋白酪氨酸激酶,从而激活/抑制一系列下游信号通路分子,发挥促进细胞增殖、转移和抗凋亡等作用^[17-18]。Kang 等^[19]发现乳腺癌中 CBL/CBLB 高表达,其可作为连接蛋白与 Smad3 结合抑制 TGF- β 信号通路从而参与乳腺癌发病过程。但另外一项研究发现在乳腺癌中,H19/miR-675 通过降解 c-CBL 和 CBLB 表达,提高 EGFR 和 c-Met 稳定性和活性,从而导致 Akt 和 Erk 持续激活,促进了细胞增殖和迁移,提示 CBLB 在乳腺癌中可能起到抑制乳腺癌侵袭和转移的作用^[20]。本研究发现,中度组通路显著富集于癌症途径(hsa05200),分子功能主要富集于泛素蛋白连接酶结合(GO:0031625),这表明 CBLB 可能在 AD 中度期发挥重要作用。

重度组中的 UBE2C(别名 UbcH10)是参与细胞有丝分裂蛋白降解的泛素偶联酶家族成员之一,该酶是细胞周期进展和周期蛋白降解所必需的^[21]。有研究证实 UBE2C 参与细胞增殖、侵袭等生物学行为的调控^[22-23]。本研究 GO 富集分析显示 UBE2C 参与了细胞分裂(GO:00051301)的生物学过程,细胞组丰富集于细胞质(GO:0005737),发挥与蛋白质结合(GO:0005515)的分子功能。

综上所述,本研究基于生物信息学方法富集的信号通路和筛选的关键基因可为进一步深入揭示 AD 发生发展的分子机制、预防诊断、治疗靶点的确定提供研究方向和理论依据。

参 考 文 献

- [1] Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, et al. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde"[J]. *Clinical Anatomy*, 1995, 8(6): 429-431.
- [2] Dos Santos Picanco LC, Ozela PF, de Fatima de Brito Brito M, et al. Alzheimer's disease: a review from the pathophysiology to diagnosis, new perspectives for pharmacological treatment[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2018, 25(26): 3141-3159.
- [3] GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet Neurology*, 2019, 18(1): 88-106.
- [4] Jia J, Wei C, Chen S, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(4): 483-491.
- [5] Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, et al. Neuropathological alterations in Alzheimer disease[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2011, 1(1): a006189.
- [6] Farrer LA. Expanding the genomic roadmap of Alzheimer's disease[J]. *The Lancet Neurology*, 2015, 14(8): 783-785.
- [7] Zhang H, Liu J, Fu X, et al. Identification of key genes and pathways in tongue squamous cell carcinoma using bioinformatics analysis[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 5924-5932.
- [8] Fazekas D, Koltai M, Türei D, et al. SignalLink 2—a signaling pathway resource with multi-layered regulatory networks[J]. *BMC Systems Biology*, 2013, 7(1): 7.
- [9] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [10] Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2016, 388(10043): 505-517.
- [11] Welin M, Grossmann JG, Flodin S, et al. Structural studies of tri-functional human GART[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(20): 7308-7319.
- [12] Knox AJ, Graham C, Bleskan J, et al. Mutations in the Chinese hamster ovary cell GART gene of de novo purine synthesis[J]. *Gene*, 2009, 429(1-2): 23-30.
- [13] Dogliotti G, Galliera E, Licastro F, et al. Serum neutrophil gelatinase-B associated lipocalin (NGAL) levels in Down's syndrome patients[J]. *Immunity Ageing*, 2010, 7(S1): 7.
- [14] Collier A, Leach JP, Mclellan A, et al. Plasma endothelinlike immunoreactivity levels in IDDM patients with microalbuminuria[J]. *Diabetes Care*, 1992, 15(8): 1038-1040.
- [15] Liyasova MS, Ma K, Lipkowitz S. Molecular pathways: cbl proteins in tumorigenesis and antitumor immunity—opportunities for cancer treatment[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(8): 1789-1794.
- [16] Fan Y, Qu X, Ma Y, et al. Cbl-b promotes cell detachment via ubiquitination of focal adhesion kinase[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12(2): 1113-1118.
- [17] Tsygankov AY, Teckchandani AM, Feshchenko EA, et al. Beyond the RING: CBL proteins as multivalent adapters[J]. *Oncogene*, 2001, 20(44): 6382-6402.
- [18] Thien CB, Langdon WY. Cbl: many adaptations to regulate protein tyrosine kinases[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2(4): 294-307.
- [19] Kang JM, Park S, Kim SJ, et al. CBL enhances breast tumor formation by inhibiting tumor suppressive activity of TGF- β signaling[J]. *Oncogene*, 2012, 31(50): 5123-5131.
- [20] Vennin C, Spruyt N, Dahmani F, et al. H19 non coding RNA-derived miR-675 enhances tumorigenesis and metastasis of breast cancer cells by downregulating c-Cbl and Cbl-b[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 29209-29223.
- [21] Berlingieri MT, Pallante P, Guida M, et al. UbcH10 expression may be a useful tool in the prognosis of ovarian carcinomas[J]. *Oncogene*, 2007, 26(14): 2136-2140.
- [22] Mo CH, Gao L, Zhu XF, et al. The clinicopathological significance of UBE2C in breast cancer: a study based on immunohistochemistry, microarray and RNA-sequencing data[J]. *Cancer Cell International*, 2017, 17: 83.
- [23] Qin T, Huang G, Chi L, et al. Exceptionally high UBE2C expression is a unique phenomenon in basal-like type breast cancer and is regulated by BRCA1[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 95: 649-655.

(责任编辑: 冉明会)