

食管疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002271

食管癌差异表达基因的生物信息学分析

甘 毅, 冯 伟, 代 佳, 金龙玉

(中南大学湘雅三医院心胸外科, 长沙 410013)

【摘要】目的:应用生物信息学技术挖掘食管癌差异表达基因,为食管癌治疗提供新靶点。**方法:**从 GEO 数据库中下载基因芯片数据集 GSE20347、GSE92396 和 GSE1420,使用在线分析工具 GEO2R 筛选出食管癌组织与正常食管组织的差异表达基因。利用在线数据库 DAVID 和 STRING 分别进行功能、通路富集分析和蛋白互作分析,使用 Cytoscape 软件来筛选蛋白相互作用网络中的核心网络基因,并在 TCGA 数据库中验证其差异表达情况。**结果:**本实验共发现 274 个差异表达基因,269 个基因有相同的表达趋势,其中 96 个上调基因,173 个下调基因(调整后 $P < 0.05$, $|\log_2 \text{FC}| > 1$)。通过 GO 富集分析($P < 0.05$)发现它们主要参与了表皮发育、肽键交联结合、角质细胞分化、细胞外基质组织生成等生物学过程。分子功能包括细胞外基质结构组分、分子活性、钙离子及血小板源性生长因子结合等的功能;而细胞组成分析提示这些差异基因主要集中在细胞外基质。KEGG 富集通路分析($P < 0.05$)显示主要的信号通路包括阿米巴病信号通路、细胞外基质作用信号通路、糖酵解和糖异生等信号通路过程。MCODE 分析发现金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP metalloproteinase inhibitor 1, TIMP1)、基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase 3, MMP3)、分泌性磷酸化蛋白-1(secreted phosphoprotein 1, SPP1)、丝氨酸蛋白酶抑制蛋白 E1(serin family E member 1, SERPINE1)、骨膜蛋白(perioestin, POSTN)、类胰岛素生长因子结合蛋白-3(insulin like growth factor binding protein 3, IGF-BP3)、Ⅲ型胶原 $\alpha 1$ (collagen type Ⅲ alpha 1 chain, COL3A1)、沉默桥粒芯糖蛋白-2(desmoglein 2, DSG2)这 8 个基因可能为诱导食管癌发生发展的关键基因($P < 0.05$)。通过 TCGA 数据库验证这 8 个基因,进一步筛选出 COL3A1、IGFBP3、MMP3、SPP1、TIMP1 关键基因,且这 5 个基因同时在食管鳞状细胞癌和腺癌中高表达($P < 0.05$)。**结论:**采用生物信息学方法能够有效分析食管癌与正常食管组织差异表达的基因,本次研究中共筛选出 COL3A1、IGFBP3、MMP3、SPP1、TIMP1 等 5 个关键基因,表明其可能是食管癌发病机制的新的生物标记物。

【关键词】生物信息学分析;食管癌;差异表达基因**【中图分类号】**R318.04**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-03-10

Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in esophageal cancer

Gan Yi, Feng Wei, Dai Jia, Jin Longyu

(Department of Cardio-Thoracic Surgery, The Third Xiangya Hospital of Central South University)

【Abstract】Objective: To identify differentially expressed genes in esophageal cancer as targets for further treatment of esophageal cancer. **Methods:** Gene data sets GSE20347, GSE92396 and GSE1420 were downloaded from the GEO database, and differentially expressed genes in esophageal cancer tissues and normal esophageal tissues were selected on the basis of GEO2R analysis tools. GO analysis and KEGG pathway analysis were performed using the DAVID online database. the protein-protein interaction analysis was carried out via the STRING online database. Cytoscape software was used to screen the core network genes in the protein-protein interaction network, and the differential expression was verified in the TCGA database. **Results:** A total of 274 differentially expressed genes were revealed. 269 genes had the same expression trend, of which 96 were up-regulated and 173 were down-regulated ($P < 0.05$ after adjustment, $|\log_2 \text{FC}| > 1$). GO enrichment analysis ($P < 0.05$) showed they were mainly involved in biological processes such as epidermal development, peptide bond cross-linking, keratinocyte differentiation, and extracellular matrix tissue formation. Molecular functions include extracellular matrix structural components and molecular activities, the function of calcium ion and platelet-derived

作者介绍: 甘 毅, Email: markisshan@outlook.com,

研究方向: 心胸外科。

通信作者: 金龙玉, Email: jinlongyu123@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(编号: 81472774)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190917.1042.006.html>

(2019-09-18)

growth factor binding, and cell composition analysis suggested that these differential genes are mainly concentrated in the extracellular matrix. The KEGG enrichment pathway analysis ($P < 0.05$) showed that the main signaling pathways include those of amebiasis, the extracellular matrix, glycolysis and gluconeogen-

esis. MCODE analysis revealed that TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1), matrix metalloproteinase 3 (MMP3), secreted phosphoprotein 1 (SPP1), serpin family E member 1 (SERPINE1), periostin (POSTN), insulin like growth factor binding protein 3 (IGFBP3), collagen type III alpha 1 chain (COL3A1) and desmoglein 2 (DSG2) may be the key genes for the development of esophageal carcinoma ($P < 0.05$). These eight genes were verified by TCGA database, and COL3A1, IGFBP3, MMP3, SPP1 and TIMP1 were further screened as key genes, all of which were highly expressed in esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma ($P < 0.05$).

Conclusion: Bioinformatics method can effectively screen the differentially expressed genes between esophageal cancer and normal esophageal tissue. In this study, five genes including COL3A1, IGFBP3, MMP3, SPP1 and TIMP1 were screened, indicating that they may be new biomarkers for the pathogenesis of esophageal cancer.

[Key words] bioinformatics analysis; esophageal cancer; differentially expressed gene

食管癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,全球每年因食管癌死亡的人数在所有恶性肿瘤中位居第 6 位^[1]。尽管在治疗上取得了较大临床进展,但食管癌 5 年生存率仅为 15%~20%^[2],造成这种困境的主要原因是因为大多数食管癌患者被确诊时已属于晚期^[3]。食管癌的病因及发生发展机制尚不完全明确。相关研究表明,吸烟、饮酒、微量元素缺乏、遗传等因素都与食管癌发病有关^[3]。食管癌由多个基因参与调节其发生发展,虽然已经出现针对食管癌的基因靶向治疗药物,但由于基因的表达水平存在一定的差异^[4],单一分子靶向药物治疗食管癌可能不会产生良好的临床效果。尽管目前已经上市了多个针对食管癌的靶向治疗药物,如吉非替尼、帕妥珠单抗等^[5],但其应用主要针对于血管内皮生长因子受体-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)、环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin kinase, mTOR) 和类表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2) 等少量靶向基因^[5-6],而部分患者又由于原发性耐药性失去该部分基因的靶向治疗机会^[7],因此,当前迫切需要研发寻找食管癌治疗的新靶点,通过单独或与现有药物联合应用,来调节食管癌发生发展的异常信号激活途径。

近几十年来,基因芯片技术和生物信息学分析迅速发展,为深入研究食管癌的发病机制提供了新的手段。本研究从公共基因数据库下载包含食管癌组织、正常食管组织的基因芯片,利用生物信息学

分析方法筛选出食管癌发生发展相关驱动基因,为食管癌的发病机制和新的治疗靶点提供新理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

从 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)^[8] 下载基因芯片数据集 GSE20347^[9]、GSE92396^[10] 和 GSE1420^[11]。GSE20347 包含 17 个食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 组织标本和 17 个正常组织标本, GSE92396 包含 12 个食管腺癌 (esophageal adenocarcinoma, EAC) 组织标本和 9 个正常组织标本, GSE1420 包含 8 个食管腺癌标本、8 个正常组织标本及 8 个 Barrett 食管组织,本次实验选取 3 个数据集中的食管癌组织样本和正常食管组织样本作为后续分析的样本。

1.2 筛选差异表达基因

利用 GEO 自带的分析工具 GEO2R 对 GSE20347、GSE92396 和 GSE1420 三个数据集进行数据分析,以调整后 $P < 0.05$, $|\log_2 \text{FC}| > 1$ 为条件分别筛选出 3 个数据集中差异表达的基因 (differentially expressed genes, DEG)。

1.3 差异表达基因的 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析

利用在线分析软件 DAVID (6.8) (<https://david-d.ncifcrf.gov/>)^[12] 对差异表达基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析,以 $P < 0.05$ 认为有意义。

1.4 蛋白相互作用网络构建与关键基因分析

将筛选出的差异表达基因导入在线数据库 String (<http://www.string-db.org/>)^[13] 中进行蛋白相互作用分析。并利用 Cytoscape^[14] 软件构建蛋白互作网络,其中上调基因标记为紫色,下调基因标记为蓝色,使用插件 MCODE 对蛋白互作网络进行模块分析 (参数为: DegreeCutoff: 2, Node Score Cutoff: 0.2,

K-Core;2,Max.Depth;100)。

1.5 验证

从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中下载 11 例正常食管组织、51 例食管腺癌组织及 78 例食管鳞状细胞癌组织转录组数据,运用 R 语言 DESeq2 包对 8 个关键基因进行归一化处理,继而用 GGPLOT2 包作箱线图比较基因在食管鳞状细胞癌和腺癌中相对于正常组织的表达量,以 $P < 0.05$ 认为有意义。

2 结果

2.1 食管癌与正常组织的差异表达基因

在基因芯片数据集 GSE20347、GSE92396、GSE1420 中

分别筛选出 1 348、1 482 及 1 478 个差异表达基因,将 3 个数据集基因取交集。在 3 个基因芯片数据集中共筛选出 274 个基因,269 个基因有相同的表达趋势,其中上调 96 个基因,下调 173 个基因(图 1)。

2.2 差异表达基因的 GO 和 KEGG 分析结果

GO 富集分析表明食管癌中差异表达基因主要参与了表皮发育、肽键交联结合、角质细胞分化等生物学过程(图 2A);分子功能包括细胞外基质结构组分、分子活性、钙离子及血小板源性生长因子结合等的功能(图 2B);而细胞组成分析提示这些差异基因主要集中在细胞外基质(图 2C)。KEGG 富集通路分析显示主要的信号通路包括阿米巴病信号通路、细胞外基质作用信号通路、糖酵解和糖异生等信号通路过程(图 2D)。

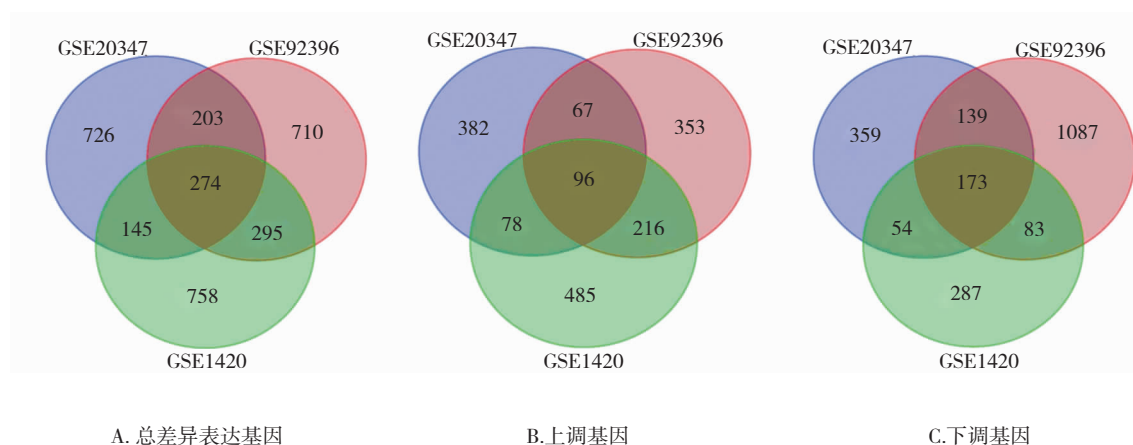


图 1 GSE20347、GSE92396、GSE1420 中差异表达基因的表达

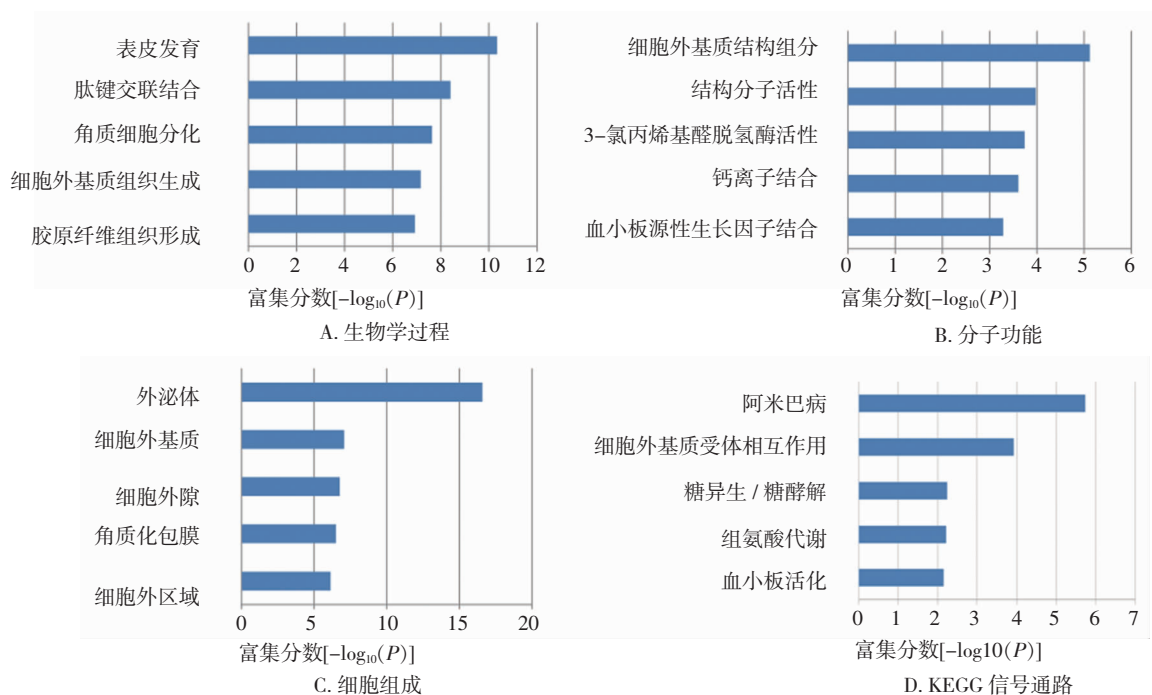
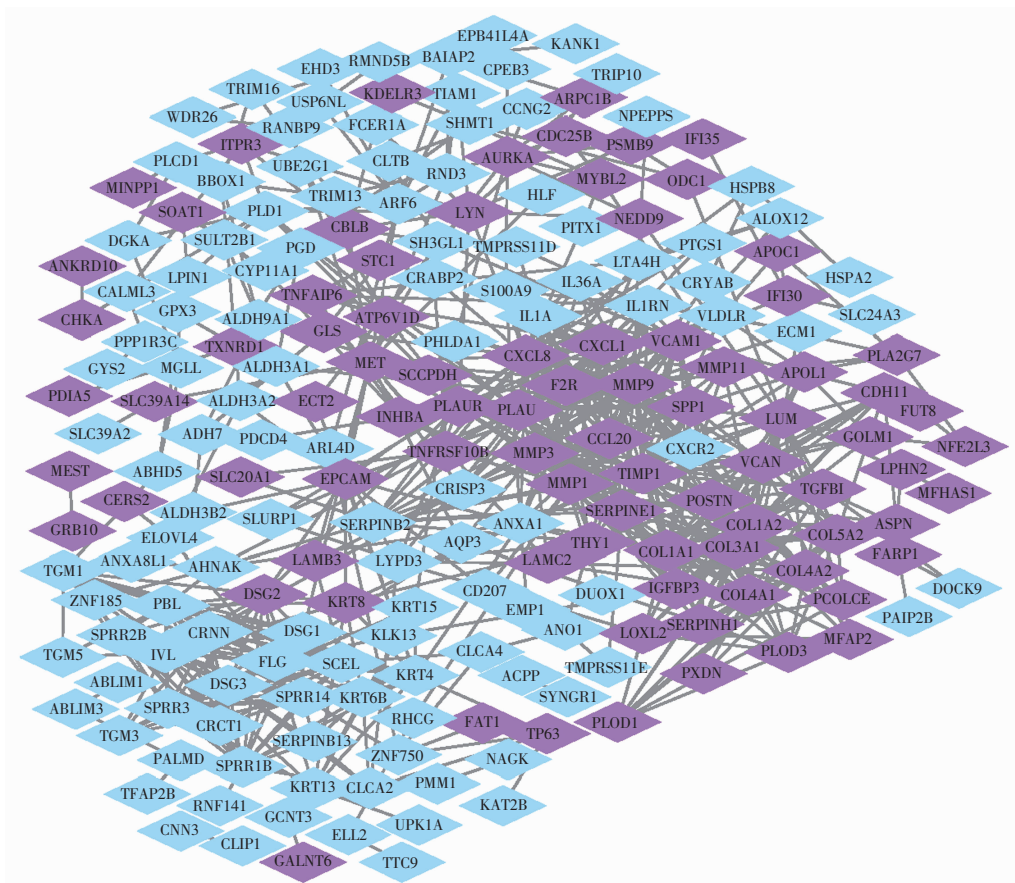
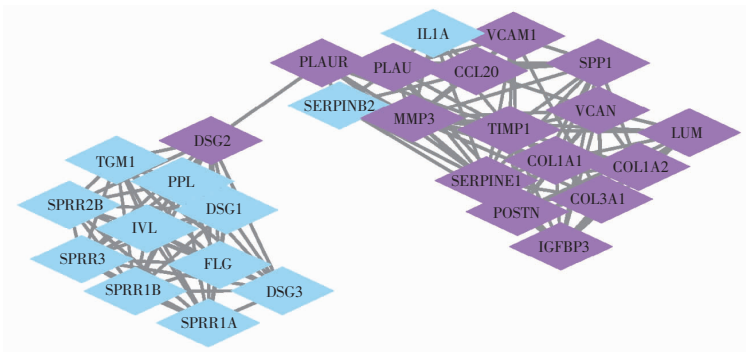


图 2 GO 和 KEGG 分析



A. 编码蛋白相互作用网络



B. 插件确认的网络核心模块图

图 3 差异表达基因蛋白-蛋白相互作用图和子模块相互作用图

2.3 差异表达基因的蛋白相互作用网络分析

机体功能的实现是多个蛋白相互作用的结果,将差异表达基因导入 STRING 和 Cytoscape 构建出蛋白-蛋白相互作用网络,该网络由 206 个节点蛋白和 695 个边构成(图 3A),MCODE 插件分析出最显著的相互作用模块,该模块网络由 28 个节点、141 条边组成,其中 16 个基因为上调基因,12 个基因为下调基因,这些基因存在着复杂的相互作用(图 3B)。28 个基因中,以度值大于 10 作为核心表达基因,分别得出 *TIMP1*、*MMP3*、*SPP1*、*SERPINE1*、*POSTN*、*IGFBP3*、*COL3A1*、*DSG2* 这 8 个基因,此 8 个基因皆为上调基因(表 1)。

表 1 8 个核心基因的列表

序列	基因名称	度值	中文名称
1	<i>TIMP1</i>	15	金属蛋白酶组织抑制因子 -1
2	<i>MMP3</i>	15	基质金属蛋白酶 -3
3	<i>SPP1</i>	13	分泌性磷酸化蛋白 -1
4	<i>SERPINE1</i>	13	丝氨酸蛋白酶抑制蛋白 E1
5	<i>POSTN</i>	12	骨膜蛋白
6	<i>IGFBP3</i>	11	类胰岛素生长因子结合蛋白 -3
7	<i>COL3A1</i>	11	Ⅲ型胶原 α1
8	<i>DSG2</i>	11	沉默桥粒芯糖蛋白 -2

2.4 核心基因表达情况验证

将筛选出的 8 个基因通过 R 语言包分析其在 TCGA 数据库中表达情况,以 $P < 0.05$ 认为有统计学意义,进一步筛选出 *COL3A1*、*IGFBP3*、*MMP3*、*SPPI*、*TIMP1* 这 5 个基因,且 5 个基因在食管鳞状细胞癌和腺癌中皆为高表达(图 4)。

3 讨论

本研究通过分析 3 个不同食管癌与癌旁组织的基因芯片结果,发现与正常对照相比,食管癌中

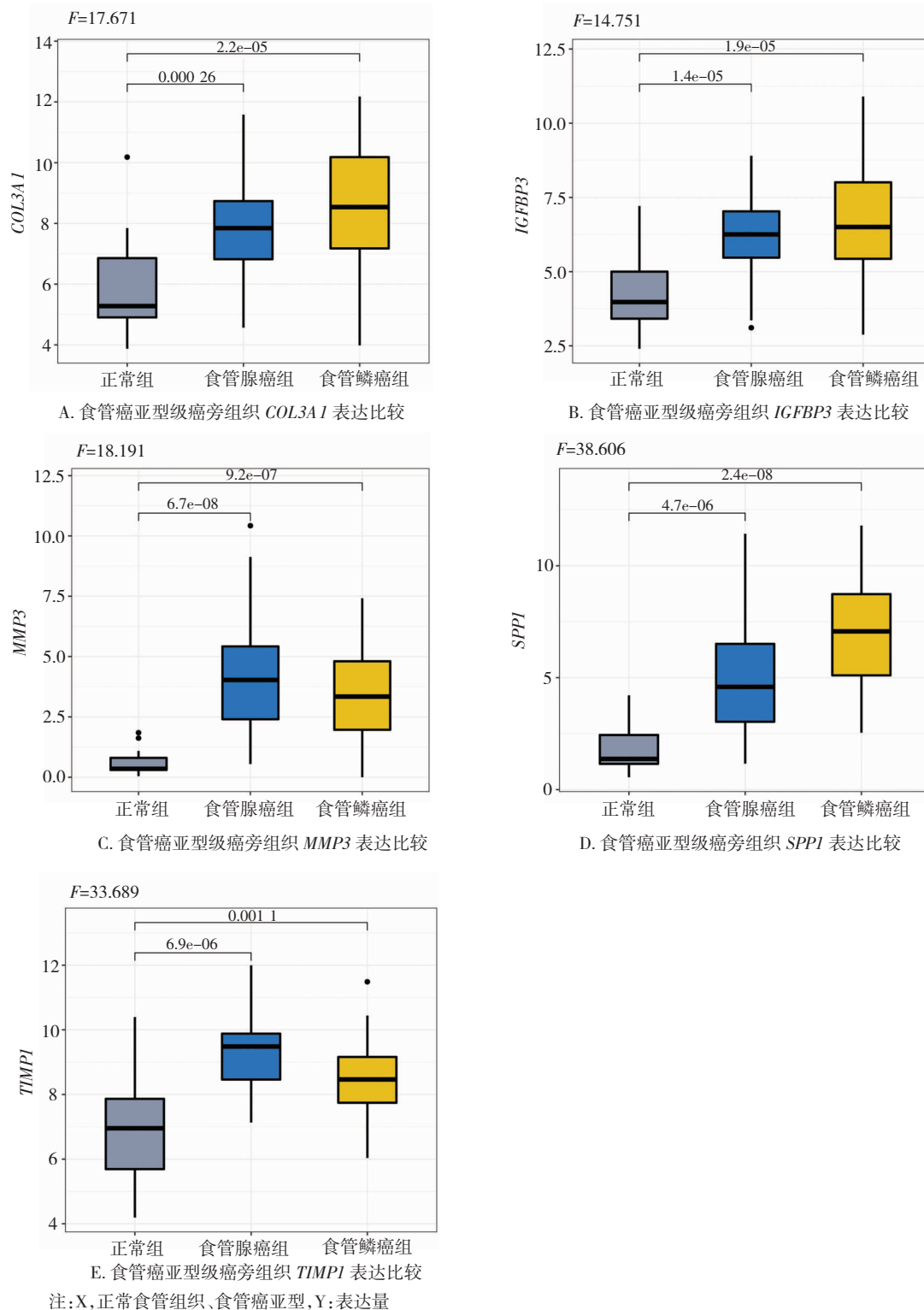


图 4 核心基因在 TCGA 数据库中表达情况

有 96 个表达上调差异基因,173 个表达下调基因。GO 和 KEGG 富集分析提示这些基因主要受细胞外基质及能量代谢等过程调控。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是一种为细胞提供生化和基本结构支持的复杂网络结构,主要成分包括胶原蛋白、蛋白多糖、层粘连蛋白和纤维连接蛋白。一方面,细胞外基质是阻止肿瘤转移的重要组织屏障^[15];另一方面,细胞外基质参与调控细胞的结构、形态、增殖、分化、迁移等多方面过程影响肿瘤的发生发展,在肿瘤形成过程中,伴随着纤维连接蛋白和胶原蛋白的分泌及降解,细胞外基质通过自身重塑形成特定的组织微环境促进肿瘤进展,而且还通过激发生化和物理信号以影响细胞黏附和迁移^[16-17]。

通过构建的蛋白-蛋白相互作用网络图,筛选得到 8 个核心差异基因:TIMP1、MMP3、SPPI、SERPINE1、POSTN、IGFBP3、COL3A1、DSG2。研究表明,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)在食管癌发生中起着重要作用。基质金属蛋白酶通过识别并切割各种细胞外基质蛋白组分的特定肽序列,从基底膜和细胞外基质中降解胶原蛋白 IV,进而促进肿瘤侵袭、转移、生长和血管生成^[18],而基质金属蛋白酶组织抑制因子通过形成非共价复合物来抑制 MMPs 的蛋白水解活性,进而调节细胞外基质的降解平衡。除了对已知 MMPs 的抑制作用外,TIMPs 在促进肿瘤细胞增殖、转移和抗凋亡方面也起着重要作用^[19-20]。分泌性磷酸化蛋白-1(secreted phosphoprotein 1, SPP1)是一种高度保守的基因,其编码的骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种具有分泌功能的磷酸化 ECM 蛋白,OPN 被报道参与包括食管癌在内的多数生命体的生物和病理过程,包括组织再生、炎症、血管生成、免疫,以及肿瘤的发展、浸润和转移,而 SPP1 则通过调节 OPN 来促进肿瘤细胞的侵袭和传播^[21]。丝氨酸蛋白酶抑制蛋白 E1(serpin family E member 1, SERPINE1)也称为纤溶酶原激活物抑制剂 1 型(PAI-1),作为组织纤溶酶原激活物(tPA)和尿激酶(uPA)的抑制剂起作用。研究表明,SERPINE1 通过调控纤溶酶溶解细胞外基质的活性促进细胞迁移,从而诱导恶性肿瘤发生^[22]。目前已在多种恶性肿瘤中检测到 SERPINE1 的高表达,例如 SERPINE1 被发现在结肠直肠癌、食

管癌等恶性肿瘤中高表达并且与肿瘤侵袭性和转移相关^[23-24]。骨膜蛋白(periostin, POSTN)最早被发现在骨膜中表达,因此又被称为骨膜素,在 ECM 结构和组织中起重要作用。研究发现 POSTN 通过维持增殖信号、激活肿瘤细胞侵袭和转移、诱导血管生成、抵抗细胞凋亡、避免免疫破坏等多种途径促进恶性肿瘤的发生发展,目前已有研究表明 POSTN 在肺癌、膀胱癌、食管癌、肝癌等恶性肿瘤中高表达,且多与预后不良相关^[25]。

类胰岛素生长因子结合蛋白-3(insulin like growth factor binding protein 3, IGFBP3)是 6 种 IGFBP 之一,IGFBP3 主要通过依赖 IGF 和非依赖 IGF 性机制 2 种方式调节细胞增殖和凋亡。研究发现,缺氧环境诱导 IGFBP3 转录和蛋白合成,进而促进食管癌增殖^[26]。Ⅲ型胶原 $\alpha 1$ (collagen type III alpha 1 chain, COL3A1)是胶原蛋白家族的成员之一,主要在皮肤和血管等可扩张的结缔组织中表达,研究发现 COL3A1 在胶质瘤中表达上调并与分期直接相关,且 COL3A1 表达沉默可导致细胞增殖和迁移的抑制^[13]。桥粒芯蛋白(desmoglein, DSG)是钙黏蛋白黏附蛋白家族成员之一,最先在桥粒中被发现,其主要为心肌细胞和上皮细胞提供连接稳定性以耐受机械应力,有研究将 DSG2 鉴定为人黑素瘤中血管生成活性的关键调节因子,并建议将该分子作为治疗靶向目标以减少肿瘤血液供应和转移扩散^[27]。

以上研究表明 TIMP1、MMP3、SPPI、SERPINE1、POSTN、IGFBP3、COL3A1、DSG2 等基因参与的生物过程、分子功能细胞组成及信号通路可能与食管癌的发病密切相关。本研究进一步分析了这 8 个基因在 TCGA 数据库中表达情况,得出 COL3A1、IGFBP3、MMP3、SPPI、TIMP1 这 5 个基因,表明其可能为食管癌的新的生物标记物。5 个基因中,IGFBP3、MMP3、SPPI、TIMP1 在参与食管癌的发生发展中已有相关研究,COL3A1 则未见明显报道。虽然他们在食管癌中的具体临床意义仍需通过大量的实验研究和临床病例验证,但本次生物信息学研究也为食管癌发病机制研究提供了新的方向。

参 考 文 献

- [1] Chen J, Kwong DL, Cao T, et al. Esophageal squamous cell carcinoma

- (ESCC): advance in genomics and molecular genetics[J]. *Dis Esophagus*, 2015, 28(1): 84–89.
- [2] Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, et al. Oesophageal carcinoma[J]. *Lancet*, 2013, 381(9864): 400–412.
- [3] Liang H, Fan JH, Qiao YL. Epidemiology, etiology, and prevention of esophageal squamous cell carcinoma in China[J]. *Cancer Biol Med*, 2017, 14(1): 33–41.
- [4] Testa U, Castelli G, Pelosi E. Esophageal cancer: genomic and molecular characterization, stem cell compartment and clonal evolution[J]. *Medicines (Basel)*, 2017, 4(3): 67–97.
- [5] Belkhir A, El-Rifai W. Advances in targeted therapies and new promising targets in esophageal cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(3): 1348–1358.
- [6] Mohamed A, El-Rayes B, Khuri FR, et al. Targeted therapies in metastatic esophageal cancer: advances over the past decade[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2014, 91(2): 186–196.
- [7] Abdo J, Agrawal DK, Mittal SK. Basis for molecular diagnostics and immunotherapy for esophageal cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2017, 17(1): 33–45.
- [8] Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository[J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 207–210.
- [9] Hu N, Clifford RJ, Yang HH, et al. Genome wide analysis of DNA copy number neutral loss of heterozygosity (CNNLOH) and its relation to gene expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 576–586.
- [10] Peng D, Guo Y, Chen H, et al. Integrated molecular analysis reveals complex interactions between genomic and epigenomic alterations in esophageal adenocarcinomas[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40729–40741.
- [11] Kimchi ET, Posner MC, Park JO, et al. Progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma is associated with the suppression of the transcriptional programs of epidermal differentiation[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3146–3154.
- [12] Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44–57.
- [13] Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): 362–368.
- [14] 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.
- [15] Morrissey MA, Hagedorn EJ, Sherwood DR. Cell invasion through basement membrane; the netrin receptor DCC guides the way[J]. *Worm*, 2013, 2(3): e26169.
- [16] Geiger B, Yamada KM. Molecular architecture and function of matrix adhesions[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(5): 5033–5053.
- [17] Karagiannis GS, Poutahidis T, Erdman SE, et al. Cancer-associated fibroblasts drive the progression of metastasis through both paracrine and mechanical pressure on cancer tissue[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(11): 1403–1418.
- [18] Isaacson KJ, Martin Jensen M, Subrahmanyam NB, et al. Matrix-metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: an analysis of upregulation and expression[J]. *J Control Release*, 2017, 259: 62–75.
- [19] Song G, Xu S, Zhang H, et al. TIMP1 is a prognostic marker for the progression and metastasis of colon cancer through FAK-PI3K/AKT and MAPK pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 148–159.
- [20] Batra J, Robinson J, Soares AS, et al. Matrix metalloproteinase-10 (MMP-10) interaction with tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-1 and TIMP-2: binding studies and crystal structure[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(19): 15935–15946.
- [21] Lin J, Myers AL, Wang Z, et al. Osteopontin (OPN/SPPI) isoforms collectively enhance tumor cell invasion and dissemination in esophageal adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(26): 22239–22257.
- [22] Pavon MA, Arroyo-Solera I, Cespedes MV, et al. uPA/uPAR and SERPINE1 in head and neck cancer: role in tumor resistance, metastasis, prognosis and therapy[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35): 57351–57366.
- [23] Mazzocchi G, Pazienza V, Panza A, et al. ARNTL2 and SERPINE1: potential biomarkers for tumor aggressiveness in colorectal cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(3): 501–511.
- [24] Klimczak-Bitner AA, Kordek R, Bitner J, et al. Expression of MMP9, SERPINE1 and miR-134 as prognostic factors in esophageal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 4133–4138.
- [25] Gonzalez-Gonzalez L, Alonso J. Periostin: a matricellular protein with multiple functions in cancer development and progression[J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 225–239.
- [26] Natsuzaka M, Naganuma S, Kagawa S, et al. Hypoxia induces IGFBP3 in esophageal squamous cancer cells through HIF-1 α -mediated mRNA transcription and continuous protein synthesis[J]. *FASEB J*, 2012, 26(6): 2620–2630.
- [27] Tan LY, Mintoff C, Johan MZ, et al. Desmoglein 2 promotes vasculogenic mimicry in melanoma and is associated with poor clinical outcome[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29): 46492–46508.

(责任编辑: 冉明会)