

基于 GEO 数据库筛选子宫平滑肌肉瘤与平滑肌瘤差异基因

莫劲思^{1,2}, 彭冬先^{1*}, 王玳玮³

作者单位: 1. 510282 广东 广州, 南方医科大学珠江医院妇产科; 2. 529500 广东 阳江, 阳江市人民医院妇科; 3. 510550 广东 广州, 广州迪安医学检验实验室有限公司医学部

作者简介: 莫劲思, 南方医科大学硕士研究生在读, 主任医师, 主要研究方向为妇科肿瘤及妇科微创治疗

* 通信作者, E-mail: pengdx1969@163.com

【摘要】目的 筛选 GEO 数据库关键基因, 结合临床样本探讨子宫平滑肌肉瘤的发生机制, 寻找新的分子标志物。**方法** 利用 GEO 数据库中的 GSE207350 和 GSE205596 数据集筛选差异表达基因 (DEGs), 进行 GO、KEGG、DO 和 Reactome 富集分析。构建蛋白互作网络 (PPI), 筛选关键枢纽基因, 选取 128 例临床病理样本对筛选结果进行转录及蛋白水平验证。**结果** 从两个数据集中共鉴定出 10 397 个 DEGs, 包括 5 875 个上调和 4 522 个下调 DEGs。生物学功能富集分析揭示, 这些 DEGs 主要与细胞增殖、细胞黏附和细胞周期调控等过程相关。重点分析发现 12 个核心枢纽基因, 包括 ACTG2、IGF1、CDH11 等。qPCR 实验表明, CDH11 和 SFRP4 在子宫平滑肌肉瘤组织中的表达显著降低, ACTG2 表达显著升高; 但蛋白水平上仅 SFRP4 在子宫平滑肌肉瘤组织中的表达显著降低。**结论** SFRP4 基因在子宫平滑肌肉瘤的发展中起重要作用, 可能成为潜在的生物标志物, 为诊断和治疗提供了新靶点。

【关键词】 子宫平滑肌肉瘤; 子宫平滑肌瘤; SFRP4; 生物标志物

【中图分类号】 R 737.33; R 394 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-4020 (2024) 11-095-05

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2024.11.24

Screening of differential genes between uterine leiomyosarcoma and leiomyoma in GEO database

Mo Jinsi^{1,2}, Peng Dongxian^{1*}, Wang Daiwei³

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou Guangdong 510282; 2. Department of Gynecology, People's Hospital of Yangjiang City, Yangjiang Guangdong 529500; 3. Medical Department, Guangzhou Dian Diagnostics Group, Guangzhou Guangdong 510550, P. R. China

* Corresponding author, E-mail: pengdx1969@163.com

【Abstract】Objective This study aims to uncover the pathogenesis of uterine leiomyosarcoma by identifying key genes via the GEO database and clinical samples, offering new molecular markers for diagnosis and treatment. **Methods** The study extracted differential expression genes (DEGs) from GEO datasets GSE207350 and GSE205596, followed by GO, KEGG, DO, and Reactome analyses for enrichment in key biological functions and pathways. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed using STRING and Cytoscape to identify hub genes, which were validated with 128 clinical pathological specimens. **Results** The two datasets analysis identified 10 397 DEGs, with 5 875 upregulated and 4 522 downregulated genes. Biological functional enrichment analysis reveals that these DEGs were mainly related to cell proliferation, adhesion, and cycle regulation. Twelve central hub genes, including ACTG2, IGF1, and CDH11, were highlighted. qPCR experiments showed significantly reduced CDH11 and SFRP4 expression and increased ACTG2 expression in uterine leiomyosarcoma tissues. However, only SFRP4 showed a significant reduction at the protein level. **Conclusion** This study elucidates the critical role of SFRP4 in the progression of uterine leiomyosarcoma, underscoring its potential utility as a biomarker. These findings present promising molecular targets for the advancement of diagnostic and therapeutic strategies.

[Key words] uterine leiomyosarcoma; uterine leiomyoma; SFRP4; biomarkers

子宫平滑肌肉瘤(uterine leiomyosarcoma, ULMS)是一种起源于子宫肌层的恶性肿瘤,具有平滑肌分化特征,在所有子宫恶性肿瘤中所占比例为3%~7%^[1-3]。根据流行病学资料,ULMS主要影响40岁以上的女性,年发病率约0.00064%^[4]。典型症状包括异常子宫出血、盆腔肿块或疼痛等^[5]。而子宫平滑肌瘤(uterine leiomyoma, ULM)为育龄期女性最常见的良性生殖道肿瘤,患病率在30%~50%之间,且有年轻化趋势^[6-8]。

ULMS与ULM在临床症状、妇科检查和辅助检测方面表现出高度相似性,目前尚缺乏高特异性和灵敏性的区分手段^[9]。目前诊断的金标准主要依靠术中快速冰冻切片分析及术后的石蜡包埋组织学检查^[10]。因目前ULM的治疗趋向于采用微创手术,为避免腹腔镜手术可能引起的肿瘤播散风险,或因选择子宫动脉栓塞等保守治疗方法而导致的治疗延误,术前正确区分ULMS尤为重要^[11]。但术中冰冻切片检查存在漏诊、侵入性及重复性低等局限。因此,开发一种高效可靠的鉴别技术至关重要,这不仅能优化治疗策略,还能显著提高患者的生活质量和总体生存率。

本研究利用GEO数据库对ULMS和ULM的基因表达差异进行综合比较分析,旨在发现能准确区分这两种疾病的新型分子生物标志物。通过对CDH11和SFRP4等关键基因的表达差异进行深入分析,本研究不仅揭示了ULMS的潜在发病机制,还为临床诊断提供了新的分子工具,可为未来的治疗策略制定提供科学依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 数据采集

本研究采用特定检索策略,在GEO数据库中搜索与ULMS及ULM相关的mRNA表达谱数据。使用关键词“uterine fibroid OR uterine leiomyosarcoma”。纳入标准:①样本必须包含ULMS或ULM组织或细胞;②样本来源应是人类组织;③数据类型限于基因表达谱芯片。在淘汰了不符合质量控制标准的数据集后(如GSE172043和GSE214779),最终选定两个数据集进行深入分析:数据集GSE207350,包含108个样本,其中包含15例正常子宫肌层样本(不纳入本研究),20例子宫肌瘤样本(选取白人和黑人各3例纳入分析对象,分别为GSM6281445、GSM6281446、GSM6281447、GSM6281452、GSM6281453及GSM6281454),及73例进行加甲基化分析的子宫肌层及子宫肌瘤样本(不纳入本研究);数据集GSE205596,包含18个样本,包含9例永生化的子宫肌细胞样本(不纳入本研究)及9例ULMS细胞样本(其中3例未经药物处理的样本

GSM6215328、GSM6215334及GSM6215340纳入分析对象)。

1.2 差异基因筛选

使用R软件对收集的原始基因表达矩阵进行归一化处理。采用DESeq2软件包筛选差异表达基因(DEGs)^[12]。筛选标准为:绝对值log₂变化倍数(log₂FC)大于2,校正后的P值小于0.05,以识别ULMS与ULM之间的差异表达基因。

1.3 DEGs的功能富集分析

1.3.1 GO富集分析 将筛选出的差异表达基因(DEGs)映射到GO数据库(Gene Ontology, <http://www.geneontology.org/>)中。通过计算每个GO条目中差异基因的数量,生成具有特定GO功能的差异基因列表。然后应用超几何检验方法,以识别在差异基因中相比于背景基因集显著富集的GO条目。

1.3.2 KEGG功能富集分析 使用R软件中的“ClusterProfiler”包对mRNA进行KEGG富集分析,从而明确mRNA参与的具体Pathway代谢通路,以及针对其上调与抑制及其编码的上游、下游代谢产物进行对比分析研究。通过这一过程,揭示差异mRNA参与的最主要生化代谢途径和信号转导途径。

1.3.3 结果呈现 上述功能富集分析结果利用R语言中“ggplot2”包实现图形可视化。以阈值 $P < 0.05$ 为统计学标准。

1.4 PPI网络的构建及Hub基因的筛选

通过STRING^[13]数据库对DEGs的蛋白质互作网络(PPI)进行分析。对于STRING数据库已覆盖的物种,直接提取了DEGs集合,并利用Cytoscape软件构建了PPI网络图。对于数据库未覆盖的物种,则先使用blastx工具将目标基因集中的序列与STRING数据库中的参考物种蛋白序列进行比对。基于这些比对结果,根据匹配到的参考物种蛋白质的互作关系,构建PPI网络。利用Cytoscape插件“CytoHubba”及其提供的“Degree”“Betweenness”“Closeness”“Stress”“MNC”等五种算法,筛选出PPI网络中的关键Hub基因。

1.5 样本收集

选取2023年7月至11月在阳江市人民医院妇科医院的ULM患者30例。所有患者均符合ULM的诊断标准,并获得了患者的知情同意。样本收集包括ULM组织标本的手术切除,并在手术后迅速冷冻保存或使用适当的缓冲液处理,随后在实验室进行组织学和分子分析。对于ULMS病例,通过购买组织芯片的方式获得了相关样本,这些芯片由青岛斯派特生物科技有限公司提供,包含了ULMS及相匹配的癌旁正常组织的微阵列(每例一个点,共98例/98点)。患者的临床信息详见下页表1。

表 1 ULMS 患者临床信息

临床参数	例数 (n)	百分比 (%)
平均年龄 (区间)		
53.26 (31, 70)		
≤50	37	37.76
>50	61	62.24
分化程度		
高分化	43	43.88
中分化	41	41.84
低分化	8	8.16
未分化	6	6.12
临床分期		
I ~ II	86	87.76
III ~ IV	12	12.24
TNM-T		
T1-2	87	88.78
T3-4	11	11.22

1.6 免疫组化

处理 ULM 组织石蜡块包埋切片及 ULMS 定制组织芯片,遵循以下步骤。脱蜡:切片先后在二甲苯 I、二甲苯 II 和 1/2 二甲苯中各浸泡 10 min;复水:经脱蜡的切片依次在 100% 乙醇 I、100% 乙醇 II、95% 乙醇 I、95% 乙醇 II、85% 乙醇、75% 乙醇中各浸泡 5 min;以双蒸水清洗 3 次,每次 2 min;进行抗原煮沸修复 30 min;用 3% 过氧化氢处理 15 min 以阻断内源性过氧化物酶活性;用 PBS 清洗标本 3 次,每次 5 min;用山羊血清封闭 30 min 以减少非特异性结合;去除封闭液(无需漂洗),一抗孵育(稀释比 1:200)于 4℃ 过夜;再次用 PBS 清洗标本 3 次,每次 5 min;二抗(稀释比 1:200)工作液孵育 1.5 h 于室温;用 PBS 清洗标本 3 次,每次 5 min;使用 DAB 进行显色 1 min(避光)用自来水冲洗 5 min;用苏木精复染 1 min;自来水洗返蓝 10 min;自然风干后用中性树脂封片;镜检时,细胞核呈现蓝色,阳性部位显示棕黄色。

1.7 统计学方法

使用 GraphPad Prism 5 软件进行数据的统计分析,结果符合正态分布以“ $\bar{x} \pm s$ (SEM)”描述。两组间比较采用双尾学生 *t* 检验 (Two-tailed student's *t*-test),多组比较采用单向方差分析 (One-way ANOVA) 和 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 差异表达基因筛选结果

对数据集中的 6 例 ULM 与 3 例 ULMS 样本进行了基因表达差异性分析,筛选出了共 10 397 个差异表达的 mRNAs,包括 5 875 个上调和 4 522 个下调基因。差异基因的火山图与雷达图(差异最显著的前 20 个基因)结果见图 1(彩插?)。

2.2 差异基因 GO、KEGG、DO 及 Reactome 富集分析结果

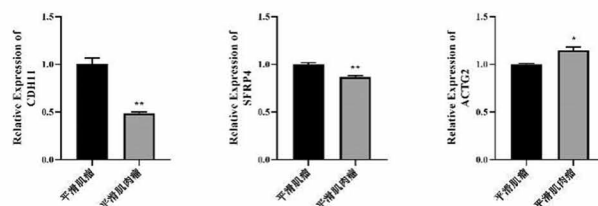
对样本间的基因功能差异进行了详尽的评估,包括 GO 功能富集分析(涵盖生物过程、细胞组分和分子功能三个维度)、KEGG 信号通路分析、DO 富集分析和 Reactome 富集分析。GO 分析结果表明,差异基因在生物过程中主要参与细胞活动、调节、代谢、应答和生殖过程;在分子功能方面,这些基因涉及结合、催化、调节和传输功能;而在细胞组成方面,它们与细胞结构和蛋白复合物密切相关(见图 2A,彩插)。KEGG 分析揭示,这些 mRNAs 在多个关键信号通路中发挥作用,例如黏着斑、癌症相关 miRNA、细胞外基质受体相互作用、剪接体调控、蛋白酶体和细胞周期调控,这些通路的参与显著关联于细胞运动、周期调控以及肿瘤的恶化程度(见图 2B,彩插)。DO 富集分析强调了这些差异 mRNAs 在多种肿瘤类型中的重要作用,如细胞增殖异常、肺癌、肾癌和血液癌等(见图 3A,彩插)。Reactome 富集分析进一步揭示,这些 mRNAs 在细胞周期、DNA 复制、核糖体解聚和线粒体翻译等关键生物过程中扮演着重要角色,从而影响细胞的生长和凋亡(见图 3B,彩插)。

2.3 差异基因核心模块构建及核心基因筛选

利用 STRING 数据库构建共表达 DEGs 的 PPI 网络,通过 Cytoscape 软件个性化展示网络。结果显示,构建的 PPI 网络包含 40 个节点和 30 条边(图 4A,彩插)。此外,使用 Cytoscape 软件的 CytoNCA 插件对网络中的差异表达 mRNAs 进行核心基因分析,成功鉴定出度值 (degree value) 排名前 12 的关键基因,分别为 ACTG2、IGF1、CDH11、CHRD12、GCG、SFRP4、PSMA4、PSMA3、PSMA2、PSMA6、PSMB1 和 PSMC4(图 4B,彩插)。

2.4 核心基因筛选及验证

对 ULM 与 ULMS 的 12 个差异表达基因:ACTG2、IGF1、CDH11、CHRD12、GCG、SFRP4、PSMA4、PSMA3、PSMA2、PSMA6、PSMB1 和 PSMC4 进行深入分析。尤其 CDH11、SFRP4 和 ACTG2 这 3 个基因在两种疾病样本中的 mRNA 水平展现出了显著差异(见图 5),具体表现为相比 ULM 样本,CDH11 和 SFRP4 的表达量在 ULMS 样本中下调,而 ACTG2 的表达量上调。

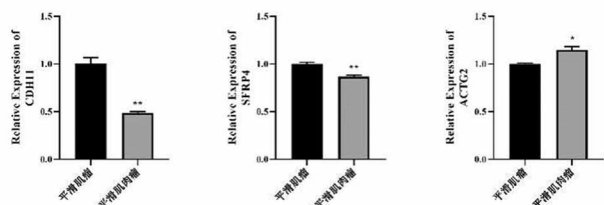


注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,以平滑肌瘤为参照

图 5 各组 mRNA 相对表达量柱状图

进一步采用免疫组织化学技术,对 CDH11、SFRP4 和 ACTG2 这 3 个基因在蛋白水平上的表达情况进行评

估,包括对其染色强度的详细打分。结果表明,相较于 ULM 样本,在 ULMS 样本中,SFRP4 蛋白的表达水平显著降低(见图 6)。但 CDH11 和 ACTG2 两个基因,其在蛋白水平上的表达在两种疾病状态间未显示出显著差异。



注: *** $P < 0.001$,以平滑肌瘤为参照

图 6 CDH11、SFRP4、ACTG2 基因蛋白水平表达变化

3 讨论

ULMS 是一种罕见的恶性肿瘤,年发病率约为 1/10 万,主要影响绝经后妇女,其病因至今不明^[14]。尽管发病率低,但 ULMS 高度恶性,早期诊断极具挑战,患者预后较差,严重威胁身体健康和生命安全。研究表明,ULMS 是一种基因组不稳定的肿瘤,表现为染色体拷贝数变化和基因突变频率的改变,这种不稳定性不仅是肿瘤形成的早期事件,也是肿瘤发展的驱动力^[15]。相比于 ULM 和正常子宫平滑肌组织,ULMS 的 mRNA 表达谱显著不同。例如,CKS2 和 MELK 基因在动物模型中显示出高度异常表达,影响 ULMS 的发生和发展^[16-17]。然而,关于 ULMS 与 ULM 及正常平滑肌组织之间的基因组和转录组差异的研究仍然不充分,尤其是在临床样本中的研究较为有限^[18]。

本研究从 ULMS 的转录组中筛选出与 ULM 表达差异显著的基因,运用生物信息学技术进行深入分析。通过在临床样本中对这些差异表达基因的 mRNA 及其下游蛋白质表达变化进行验证,探究这些基因变化与 ULMS 患者的临床特征之间的相关性,以期更加深入地揭示 ULMS 的发病及进展机制,为未来的诊断和治疗提供科学依据。

本研究从 GEO 数据库获取了 ULMS 和 ULM 的转录组数据和临床信息。利用 R 语言将转录组数据由 FRKM 格式转换为 TPM 格式,并计算各样本中基因的表达水平。通过 DEGs 分析,设定特定阈值,发现 ULMS 和 ULM 之间存在 10 397 个显著差异的 DEGs,其中包括 5 875 个上调的 mRNAs 和 4 522 个下调的 mRNAs。这一结果表明,ULMS 和 ULM 在基因表达层面存在显著差异。

通过 GO、KEGG、DO 和 Reactome 分析显示,ULMS 和 ULM 的 DEGs 主要富集于细胞过程、分子功能调节、细胞组成、细胞周期、DNA 复制、蛋白质合成及癌症相关通路。综上所述,本研究发现 ULMS 和 ULM 的 DEGs 主

要富集在与细胞运动和细胞周期调控相关的通路上,与细胞增殖相关疾病和多种癌症显著相关,揭示了与肿瘤恶性程度密切相关的分子机制。

随后,通过 PPI 分析,本研究筛选出 12 个网络中的核心基因,包括 ACTG2、IGF1、CDH11、CHRD12、GCG、SFRP4、PSMA4、PSMA3、PSMA2、PSMA6、PSMB1 和 PSMC4。这些基因与多种肿瘤的发生发展密切相关,本研究结果提示它们可能在 ULMS 的生物学过程中发挥重要作用。通过 qPCR 和免疫组织化学(IHC)方法验证这些候选基因的 mRNA 及蛋白表达水平,发现 ACTG2、CDH11、SFRP4 在 ULMS 和 ULM 样本间的 mRNA 水平呈现显著差异;而在蛋白水平上,只有 SFRP4 在两组样本之间差异表达。造成该现象发生的原因可能如下:首先,ACTG2 和 CDH11 可能在转录后或翻译后受到调控,导致 mRNA 水平高但蛋白质水平低。其次,这些基因编码的蛋白质可能更容易被降解,导致其在蛋白质水平上表现出较低的表达。此外,不同样本和检测方法或是抗体结构可能导致结果差异。这一发现提示,SFRP4 可能成为 ULMS 潜在的生物标志物,在疾病诊断或治疗策略制定中发挥重要作用。

分泌型卷曲相关蛋白 4 (secreted frizzled-related protein 4, SFRP4) 是一种细胞外糖蛋白,属于 SFRP 家族成员。该家族因其结构与 Wnt 受体 Frizzled 家族相似而得名,并通常拮抗 Wnt 信号通路,影响细胞增殖、分化、迁移及组织修复等关键生物学过程^[19]。在多种疾病,特别是肿瘤的发生和发展中,SFRP4 扮演着重要角色。研究发现,SFRP4 在某些肿瘤类型中表达下调(如间皮瘤和胃癌),而在其他类型中则表达上调(例如结直肠癌、乳腺癌和前列腺癌)。有研究表明,结肠癌组织中 SFRP4 的 mRNA 及蛋白表达水平低于癌旁正常组织,暗示其可能具有抑癌作用^[20-23]。而在胃癌中,SFRP4 的表达与肿瘤的侵袭性正相关,并可能作为预测早期胃癌复发的指标^[22]。SFRP4 通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,介导肿瘤细胞的凋亡,抑制其增殖、分化和迁移^[24]。不过,尽管 SFRP4 的甲基化沉默可能导致其表达减少或缺失,影响正常的 Wnt 信号抑制功能,促进肿瘤发展,但关于 SFRP4 在 ULMS 和 ULM 中的作用尚未见详细报道,表明这一领域仍有待深入探究。

由于现有研究鲜有直接对比 ULMS 和 ULM,我们从不同研究中的多个数据集进行挖掘分析,这可能影响结果的统计学意义和说服力。为克服这一限制,我们会在后续研究中加大样本量进行验证,在获取足够数量的 ULMS 样本后,继续使用高通量测序技术进行基因表达分析。这将提高数据的精确性和可靠性,并识别出更多潜在的差异基因。

此外,未来的研究将进一步探索 SFRP4 在 ULMS 中的具体作用机制及其与其他核心枢纽基因如 ACTG2、

IGF1 和 CDH11 之间的相互作用,深入理解 ULMS 的发生和发展机制,初步评估 SFRP4 及其他关键基因作为治疗靶点的潜力,为开发新的治疗策略提供参考。尽管本研究观察到 SFRP4 在 ULMS 和 ULM 之间的表达差异,但其机制及在子宫肌瘤恶变过程中的作用尚不明确,相关结论仍需进一步验证。本研究通过基因表达分析,为 ULMS 的早期诊断提供了初步的分子基础和研究方向。我们期待这些研究能够进一步验证和扩展当前的研究发现,并为 ULMS 的诊断和治疗提供更加有力的科学依据。

综上所述,本研究通过深入的基因表达差异分析,鉴定出在 ULMS 发展中起关键作用的基因,特别是 SFRP4。通过综合应用 GEO 数据库中的数据集、生物信息学分析方法和实验室的临床样本验证,发现 SFRP4 基因表达显著变化,为诊断和治疗提供了新的视角。SFRP4 的发现,特别是在蛋白水平上的显著表达变化,提示其可能是 ULMS 发病机制中的潜在生物标志物。这一成果不仅丰富了我们对于 ULMS 生物学特性的认识,还可能为患者提供更为精准的诊断工具和治疗策略。

利益冲突 作者均声明无利益冲突。

【参考文献】

- [1] Dall G, Vandenberg CJ, Nesic K, et al. Targeting homologous recombination deficiency in uterine leiomyosarcoma [J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2023, 42(1): 112.
- [2] Choi J, Manzano A, Dong W, et al. Integrated mutational landscape analysis of uterine leiomyosarcomas [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2021, 118(15): e2025182118.
- [3] Iasonos A, Keung EZ, Zivanovic O, et al. External validation of a prognostic nomogram for overall survival in women with uterine leiomyosarcoma [J]. *Cancer*, 2013, 119(10): 1816-1822.
- [4] Desai IME, Ottevanger PB, Benson C, et al. Systemic treatment in adult uterine sarcomas [J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2018, 122: 10-20.
- [5] Ali M, Ciebiera M, Wlodarczyk M, et al. Current and emerging treatment options for uterine fibroids [J]. *Drugs*, 2023, 83(18): 1649-1675.
- [6] Vafaei S, Ciebiera M, Omran MM, et al. Evidence-based approach for secondary prevention of uterine fibroids (The ESCAPE Approach) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(21): 15972.
- [7] Kuznetsova MV, Tonoyan NM, Trubnikova EV, et al. Novel approaches to possible targeted therapies and prophylaxis of uterine fibroids [J]. *Diseases*, 2023, 11(4): 156.
- [8] Bi Q, Xiao Z, Lv F, et al. Utility of clinical parameters and multiparametric MRI as predictive factors for differentiating uterine sarcoma from atypical leiomyoma [J]. *Academic Radiology*, 2018, 25(8): 993-1002.
- [9] Anchan RM, Spies JB, Zhang S, et al. Long-term health-related quality of life and symptom severity following hysterectomy, myomectomy, or uterine artery embolization for the treatment of symptomatic uterine fibroids [J]. *American Journal of Obstetrics And Gynecology*, 2023, 229(3): 275.e1-275.e17.
- [10] 刘文文, 李玲, 马杏, 等. 术前鉴别子宫平滑肌肉瘤与子宫平滑肌瘤的研究进展 [J]. *海南医学*, 2023, 34(5): 744-749.
- [11] Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 [J]. *Genome Biology*, 2014, 15: 1-21.
- [12] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(Database issue): D447-D452.
- [14] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [15] 马迪. 子宫平滑肌瘤、富于细胞型平滑肌瘤、子宫平滑肌肉瘤的临床病例分析 [D]. 张家口: 河北北方学院, 2018.
- [16] 罗攀, 沈艳, 华腾. 子宫平滑肌肉瘤系统治疗 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2018, 45(5): 495-499.
- [17] 邓玉鹏. CKS2 在子宫平滑肌肉瘤中的表达及其对肿瘤生物学行为影响的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [18] 孙成功. 29 例子宫平滑肌肉瘤的临床资料回顾性分析及 P53 和 MED12 基因突变研究 [D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [19] 谢扬. 沉默 MBD2 和 EZH2 通过恢复 SFRP 基因家族的表达抑制结直肠肿瘤细胞的增殖 [D]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- [20] 李秀芬, 侯安丽, 李振环, 等. SFRP4 和 DKK1 在宫颈鳞癌中的表达及临床病理意义 [J]. *南方医科大学学报*, 2015, 35(7): 1063-1067.
- [21] 朱恩宇, 郑斯卓, 高凯, 等. miR-346 及分泌型卷曲相关蛋白 4 在结肠癌中的表达及其对结肠癌细胞增殖的作用 [J]. *国际消化病杂志*, 2019, 39(1): 43-48.
- [22] Busuttill RA, George J, House CM, et al. SFRP4 drives invasion in gastric cancer and is an early predictor of recurrence [J]. *Gastric Cancer*, 2021, 24(3): 589-601.
- [23] 高美, 陈茜, 王颖. 子宫内膜癌中 SFRP4 和 miR-421 的表达与意义 [J]. *山西医科大学学报*, 2023, 54(2): 156-161.
- [24] Wu ZH, Zhang YJ, Yue JX, et al. Comprehensive analysis of the expression and prognosis for SFRPs in breast carcinoma [J]. *Cell Transplantation*, 2020, 29: 963689720962479.
- [25] 张孝霞, 白银, 朱艺丹, 等. miR-519d-3p 通过靶向 MECP2 抑制口腔鳞状细胞癌增殖、迁移与侵袭的研究 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(16): 2617-2625.

(收稿日期: 2024-05-08 编辑: 陈郢霖)