

生物信息学分析 IGF-2R 在乳腺癌中的作用机制

肖海燕¹, 王 潇², 曹中伟^{3*}

(1. 包头医学院, 内蒙古 包头 014040; 2. 内蒙古自治区人民医院 内镜中心, 内蒙古 呼和浩特 010017;
3. 内蒙古自治区人民医院 甲状腺外科, 内蒙古 呼和浩特 010017)

【摘要】目的 确定 IGF-2R 基因对乳腺癌的调控作用, 挖掘参与乳腺癌发生发展潜在的基因及通路。方法 利用“GEOquery”“idmap2.0”“Limma”“Clusterprolifer”等 R 包筛选乳腺肿瘤组织与正常组织的差异表达基因, 并进行 GO 和 KEGG 分析。采用 STRING、GEPIA 和 UALACN 数据库绘制蛋白互作网络, 分析 IGF-2R 基因与乳腺癌 Hub 基因的相关性, 以及 IGF2R 表达水平与乳腺癌患者基本情况的相关性。结果 筛选得到 128 个上调差异表达基因, 256 个下调差异表达基因; IGF-2R 基因与核心基因 ASPM、RRM2 相关性显著; IGF-2R 基因表达水平在乳腺癌组织中显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); IGF-2R 表达水平与患者年龄 (20~80 岁)、临床分期 (I、II、III)、绝经情况和淋巴结转移密切相关, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。IGF-2R 基因的表达水平仅在 Luminal 型 (Luminal A 型、Luminal B-HER2 阴性型) 乳腺癌中显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 IGF-2R 通过与 ASPM 和 RRM2 正相关参与乳腺癌的调控作用, 有望为乳腺癌的防治提供新的思路。

【关键词】 乳腺癌; 生物信息学; 胰岛素样生长因子受体 2

中图分类号: R66.4

文献标识码: A

文章编号: 2095-512X(2022)04-0347-06

THE ROLE OF IGF-2R IN BREAST CANCER WAS ANALYZED BY BIOINFORMATICS

XIAO Haiyan¹, WANG Xiao², CAO Zhongwei^{3*}

(1. Baotou Medical College, Baotou 014040, China; 2. Endoscopy Center, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010017, China; 3. Department of Surgical Thyroid Gland, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010017, China)

【Abstract】 Objective We explored the potential genes and pathways involved in the development of breast cancer to determine the role of IGF-2R gene in breast cancer. **Methods** The differentially expressed genes between breast cancer and normal tissues were screened by "GEOquery", "idmap2.0", "Limma", "Clusterprolifer" and other R packages, and GO and KEGG analysis were performed. String, gepia and ualacn databases plot protein interaction networks, and analyze the correlation between IGF-2R gene and breast cancer hub gene, and the correlation between IGF2R expression level and basic conditions of breast cancer patients. **Results** The 128 up-regulated differentially expressed genes and the 256 down-regulated differentially expressed genes were obtained from fruit screening. IGF-2R gene was significantly correlated with core genes ASPM and RRM2; The expression level of IGF-2R gene was significantly decreased in breast cancer ($P < 0.05$). The expression level of IGF-2R was closely related to the patient's age (20-80 years), clinical stage (I, II, III), menopause and lymph node metastasis, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of IGF-2R gene was significantly decreased only in luminal type (luminal A and luminal b-her2 negative) breast cancer, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** IGF-2R participates in the regulation of breast cancer through positive correlation with ASPM and RRM2, which is expected to provide new ideas for the prevention and treatment of breast cancer.

【Keywords】 Breast cancer; Bioinformatics; Insulin-like growth factor receptor 2

收稿日期: 2022-04-12; 修回日期: 2022-06-12

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2019MS08005)

第一作者: 肖海燕 (1995-), 女, 2019 级在读硕士研究生。E-mail: xhy1245827207@163.com

*通信作者: 曹中伟, 男, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师。研究方向: 乳腺癌临床和基础研究。E-mail: caozhongwei9999@163.com

1 引言

全球癌症报告数据显示,2020年全球新发乳腺癌病例210万,死亡病例31.6万,其发病率和病死率均为女性癌症首位,且发病年龄趋于年轻化。我国乳腺癌患者占全球新诊断病例的24%,占癌症相关死亡病例的30%,仅次于肺癌,成为严重影响女性健康的恶性肿瘤之一^[1,2]。尽管各种新的治疗药物不断出现,临床治疗方法逐渐完善,我国乳腺癌患者的5年生存率有所提高,但由于乳腺肿瘤存在异质性,治疗周期长,不良反应多,长期使用各类化疗及靶向药物导致患者出现耐药,致使乳腺癌在治疗过程中出现复发和转移,严重影响乳腺癌患者的生存率^[3,4]。同时,乳腺癌的诊断和治疗给患者带来了巨大压力,尤其是情绪变化,如焦虑、抑郁、恐惧等,严重影响患者的生活质量。因此,探究乳腺癌发生发展机制、挖掘可能的潜在靶点,对于有效防治乳腺癌、降低乳腺癌的发病率和病死率至关重要。

胰岛素样生长因子受体2(insulin-like growth factor receptor 2, IGF-2R)是一种不依赖于阳离子的甘露糖-6-磷酸受体,参与溶酶体酶转运、胎儿器官形成、T细胞诱导细胞凋亡和肿瘤抑制等^[5]。IGF-2R在多种恶性肿瘤组织中呈现低表达水平,并与肿瘤患者的不良预后密切相关,可能在恶性肿瘤中起到一个抑癌基因的作用。研究表明,IGF-2R表达缺失会减少清除IGF-2,导致癌症发生^[6]。过表达则抑制细胞增殖、侵袭和迁移,促进细胞凋亡^[7]。另有研究表明 IGF-2R 过表达导致 IGF-2 利用率降低,使 IGF-1R 抑制 PI3K/Akt 信号通路,刺激细胞增殖,抵御细胞凋亡^[8]。但是,IGF-2R 对乳腺癌的调控作用仍然存在争议。近些年,随着生物信息学技术的发展,通过计算机实现对生物信息,如基因、蛋白等数据采集、处理、分析和存储,并对数据作出注释^[9-11],挖掘生物学行为相关的基因和调控机制,解决临床中的基础医学问题,为疾病诊治、药物研发提供新思路。本研究基于基因表达综合数据库(gene expression omnibus database, GEO)、癌症基因组图谱数据库(the cancer genome atlas, TCGA),应用生物信息学技术分析 IGF-2R 在乳腺癌发生发展中的作用和通路,为优化乳腺癌治疗方案提供新的方向。

2 数据筛选及生物信息学分析

2.1 数据筛选

通过美国国家生物信息中心(national center for biotechnology information, NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),检索 GEO 的芯片表达数据。选择 GEO datasets 条目,筛选限定条件得到基于芯片 HG-U133_Plus_2 Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array (GPL 570 平台)的数据集 GSE31192^[12]和 GSE42568^[13]。其中 GSE31192 数据集由 20 例乳腺肿瘤组织和 13 例正常乳腺组织组成。GSE42568 基因芯片由 104 例乳腺肿瘤组织和 17 例正常乳腺组织组成。

2.2 生物信息学分析

2.2.1 乳腺癌组织芯片数据处理及差异表达基因分析 使用“GEOquery”R包下载 GSE31192 和 GSE42568 数据集。使用“Limma”R包分别对两个数据集进行标准化、合并和去批次效应处理,获取共同的基因表达谱;通过“idmap2.0”R包对基因表达谱进行基因注释。将芯片中的组织分为乳腺癌组织(Tumour)、乳腺癌旁组织(Normal),用“Limma”R包进行差异分析得到差异表达基因(different expression genes, DEGs);采用“FC法”对两组数据进行比较, $P < 0.01$, $|\log_2FC| \geq 2$ (FC 值为 4) 作为截断值的标准,用“ggpuber”R包绘制差异表达基因火山图,用“pheatmap”R包绘制差异表达基因热图。

2.2.2 乳腺癌差异表达基因富集分析及信号通路分析 基因本体论 GO(gene ontology)是对基因及蛋白质在细胞中的功能进行注释和描述的数据库。GO分析主要包括细胞成分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)、生物过程(biological process, BP)^[14,15]。京都基因与基因组百科全书 KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)是以基因信息及其表达为整体预测分子信号所富集的通路,从而得到目标基因的相关功能与作用通路^[16]。采用 GO 与 KEGG 富集分析目标基因的生物学功能及信号通路。采用“Clusterprolifer”R包读取 DEGs 数据集,对其进行 KEGG 和 GO 富集分析。以 $P < 0.05$ 为筛选标准,并将 DEGs 的 P 值由小到大排序,取前 10 项可视化结果做气泡图。

2.2.3 差异表达基因相关蛋白的相互作用网络分析 蛋白相互作用数据库 STRING (<http://string-db.org>)是检索蛋白相互作用关系的数据库。Cytoscape 是可视化基因、蛋白等分子之间的相互作用关系结构的生物信息学软件^[17]。使用 STRING 数据库构建 DEGs 所表达的蛋白质之间的相互作用关系,并采用数据库中的 Cytoscape 插件绘制蛋白质互作网络

(predicted physical interactions, PPI)。Cytohubba 插件对所有 DEGs 根据节点 (Degree) 多少进行筛选, 以 Degree 排序得到 TOP10 的 DEGs 为核心 (Hub) 基因。

2.2.4 Hub 基因表达水平与 IGF-2R 基因表达水平的相关性分析 基因表达谱交互式分析 (gene expression profiling interactive analysis 2, GEPIA2) 是一个对癌症相关信息进行分析的大数据综合数据库^[18], 用于分析来自 TCGA 数据库的基因表达数据。GEPIA2 可以针对特定的物种、癌症进行特定基因的个性化分析, 如两种不同组织中差异基因表达分析、不同细胞的肿瘤类型或分子病理的阶段分析、患者生存分析、基因功能差异较小的基因检测、基因 (组) 之间的相关分析等。用 GEPIA2 基因表达谱交互式分析数据库分析 IGF-2R 基因表达水平与 Hub 基因表达水平的相关性。

2.2.5 IGF-2R 基因与乳腺癌病理特性相关性分析 应用 TCGA 数据库下的 UALCAN 数据库 (<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>) 可以对癌症转录组数据进行相关性分析, 该数据库可直接从 TCGA 数据库建立链接, 分析在 UALCAN 数据库分子亚型数据模块下, IGF-2R 基因表达水平与乳腺癌患者的性别、年龄、临床分期、分子亚型、是否绝经以及淋巴结转移等病理特性的相关性^[19]。

3 结果

3.1 乳腺癌组织芯片数据差异基因表达结果

GSE31192 和 GSE42568 数据集共包含 124 例乳腺癌组织和 30 例正常乳腺组织的基因表达谱, 对基因表达谱进行预处理及筛选得到 393 个 DEGs。与正常乳腺组织相比, 乳腺癌组织中显著上调的基因有 128 个, 而显著下调的基因有 265 个。DEGs 表达结果如图 1 所示。

3.2 差异表达基因的 GO 和 KEGG 通路富集分析

通过“Clusterprolifer”R 包对 DEGs 进行 GO 分析, 结果如图 2a 所示。DEGs 主要富集的生物学过程包含多细胞生物的体内平衡 (multicellular organismal homeostasis)、酸化反应 (response to acid chemical)、脂质定位 (lipid localization)、调节脂质代谢过程 (regulation of lipid metabolic process)、上皮细胞增殖调控 (regulation of epithelial cell proliferation)、泌尿生殖系统发育 (urogenital system development)、酒精反应 (response to alcohol)、细胞对酸性物质的反应 (cellular response to acid chemical)、脂肪酸反应

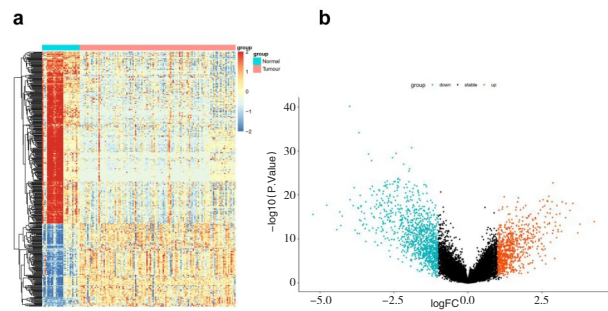


图 1 差异表达基因表达热图和火山图

Fig. 1 Heat map and volcano map of differentially expressed genes

(a) 差异表达基因表达热图, 蓝色表示低表达, 红色表示高表达, 差异值越小, 颜色越浅; (b) 为差异表达基因表达火山图, 蓝色表示明显低表达, 红色表示明显高表达, 黑色表示差异不显著。

(a) The heat map of differentially expressed genes. Blue indicates low expression and red indicates high expression. The smaller the difference, the lighter the color; (b) The volcano map of differentially expressed genes. Blue indicates significantly low expression, red indicates significantly high expression, and black indicates no significant difference.

(response to fatty acid)、脂质存储 (lipid storage)。

DEGs 富集的细胞组分主要集中在胶原蛋白-包含细胞外基质 (collagen-containing extracellular matrix)、细胞-细胞联结 (cell-cell junction)、细胞膜筏 (membrane raft)、膜微结构域 (membrane microdomain)、膜区域 (membrane region)、顶端等离子体膜 (apical plasma membrane)、中体 (midbody)、脂滴 (lipid droplet)、浓缩的染色体着丝点区域 (condensed chromosome, centromeric region)、横向等离子体膜 (lateral plasma membrane)。

DEGs 主要富集的分子功能 (molecular functions, MF) 有: 糖胺聚糖绑定 (glycosaminoglycan binding)、硫化物绑定 (sulfur compound binding)、细胞外基质结构 (extracellular matrix structural constituent)、肝素结合 (heparin binding)、激酶调节活动 (kinase regulator activity)、生长因子结合 (growth factor binding)、蛋白激酶调节因子活性 (protein kinase regulator activity)、整合素结合 (integrin binding)、跨膜受体蛋白激酶活性 (transmembrane receptor protein kinase activity)、钙粘蛋白结合参与细胞间粘附 (cadherin binding involved in cell-cell adhesion)。

进一步通过“Clusterprolifer”R 包对 DEGs 富集的 KEGG 信号通路进行分析、比对, 结果如图 2b 所示。过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路 (PPAR signaling pathway)、磷脂酰肌醇 3-激酶信号

通路(PI3K-Akt signaling pathway)、蛋白多糖在癌症中的作用(Proteoglycans in cancer)、腺苷酸激活蛋白激酶信号通路(AMPK signaling pathway)、脂肪细胞脂解调节(Regulation of lipolysis in adipocytes)、膀胱癌(Bladder cancer)、前列腺癌(Prostate cancer)、细胞外基质-受体相互作用(ECM-receptor interaction)、醛固酮-调节钠重吸收(Aldosterone-regulated sodium reabsorption)、局灶黏附性(Focal adhesion)。

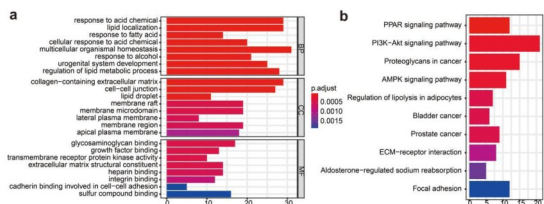


图2 差异表达基因富集分析及信号通路分析
Fig. 2 Enrichment analysis and signal pathway of differentially expressed genes

(a)GO分析,横坐标为富集到GO term的差异基因个数,纵坐标为富集到GO term的描述;(b)KEGG分析信号通路,横坐标为富集到该pathway的差异基因个数,纵坐标为富集到pathway的描述。

(a)Go analysis. The abscissa is the number of differentially expressed genes enriched to term, and the ordinate is the description to term; (b)KEGG analyzes the signal pathway. The abscissa is the number of differentially expressed genes enriched to the pathway, and the ordinate is the description of the pathway.

3.3 蛋白质相互作用分析与Hub基因鉴定

通过Cytoscape软件以STRING数据库为基础构建DEGs的PPI网络(见图3a)。通过Cytohubba模块以Degree值排序,筛选得到TOP10的基因作为Hub基因(见图3b),分别为TOP2A、NUSAP1、ASPM、MELK、UBE2C、CCNB1、CDC20、BIRC5、CDK1、RRM2。

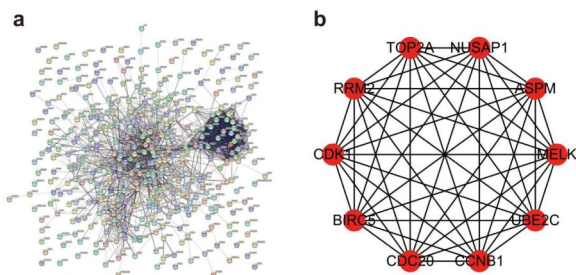


图3 DEGs蛋白互作分析
Fig. 3 Analysis of DEGs protein interaction

(a)DEGs的蛋白互作图,圆圈代表蛋白,线段代表蛋白间具有相互作用;(b)Hub基因相互作用关系图,圆圈代表蛋白,线段代表蛋白间具有相互作用。

(a)In the protein interaction network. The circle represents the protein, and the line represents the interaction between proteins; (b)Hub gene interaction network. The circle represents the protein, and the line represents the interaction between proteins.

3.4 乳腺癌Hub基因表达水平与IGF-2R基因表达水平相关性分析结果

通过GEPIA数据库分析IGF-2R基因的表达与Hub基因表达的相关性发现,ASPM和RRM2基因与IGF-2R基因表达水平相关指数较高,均为0.31。

3.5 IGF-2R基因表达水平与乳腺癌临床病理特性的相关性分析结果

利用UALCAN数据库分析比对IGF-2R基因的表达水平与乳腺癌临床特性(癌症分期、年龄、癌症亚型、患者绝经情况与淋巴结转移)的相关性,结果如图4所示。与正常乳腺组织相比,IGF-2R基因表达水平在乳腺癌组织中显著降低($P < 0.05$)。IGF-2R表达水平与患者年龄(20~80岁)、临床分期(I、II、III)、绝经情况和淋巴结转移密切相关($P < 0.05$)。但在乳腺癌患者出现远处转移(IV期)时,IGF-2R基因虽然表达降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。IGF-2R基因的表达水平仅在Luminal型(LuminalA型、LuminalB-HER2阴性型)乳腺癌中显著降低($P < 0.05$),与HER2阳性型、三阴性乳腺癌的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

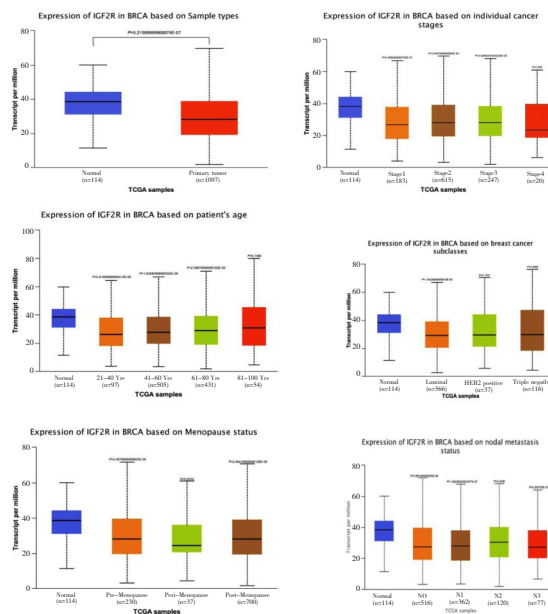


图4 IGF-2R基因表达水平与乳腺癌临床病理特性的相关性
Fig. 4 Correlation between IGF-2R gene expression and clinicopathological characteristics of breast cancer

4 讨论

乳腺癌的发病率位于全球女性恶性肿瘤之首。由于缺乏准确和可靠的生物标志物,使得早期乳腺癌筛查、分型和是否转移的诊断非常困难,严重威胁着女性生命健康。随着诊疗水平的提高,患

者5年生存率逐渐提高。但是由于乳腺癌存在异质性,导致耐药性的出现,致使乳腺癌在治疗过程中出现复发及转移,从而增加了乳腺癌患者的病死率。IGF-2R基因调控乳腺癌的作用存在争议。研究通过生物信息学分析发现,IGF-2R与ASPM和RRM2表达呈现正相关。

ASPM是引起人类2型常染色体隐性原发性小头畸形的突变基因。ASPM在神经细胞中具有肿瘤干细胞标记物的作用^[20]。ASPM下调激活驱动蛋白在极点处发挥作用,介导减数分裂过程中胞质分裂。在有丝分裂过程中对微管的组织和梭形极的聚焦起着重要作用^[21]。随着进一步研究发现,ASPM的同源物包括近20种,且在这些组织的肿瘤细胞中ASPM呈现出表达旺盛的状态,而且ASPM在相同组织但病理类型不同的细胞中表达也不同,表达量与肿瘤细胞侵袭、迁移及预后相关^[22]。本研究发现,IGF-2R与ASPM表达呈现正相关。但是,IGF-2R在乳腺肿瘤组织中表达却呈现降低。这与ASPM在肿瘤细胞中的高表达结论并不一致。已有研究证实,ASPM在wnt/ β -catenin信号通路的上游发挥正向调节的作用,促进肿瘤细胞自我更新和疾病发生发展的信号通路^[23,24]。但是,乳腺肿瘤组织中IGF-2R低表达。这表明IGF-2R对肿瘤细胞的抑制作用。

核酸还原酶(ribonucleotide reductase, RR)可催化核苷二磷酸向脱氧核苷二磷酸转化,是DNA合成和修复的限速酶,对细胞分裂、增殖及分化具有重要作用。全酶的活性由小亚基M2(ribonucleotide reductase M2, RRM2)表达水平决定^[25]。已有研究表明,RRM2是DNA合成与损伤修复调控的限速酶,RRM2基因在膀胱恶性肿瘤、消化系统恶性肿瘤(胃癌、直肠癌、胰腺癌)、乳腺恶性肿瘤及绒毛膜癌等多种肿瘤细胞中高表达。敲低RRM2有利于降低RR的活性,加速肿瘤细胞的凋亡^[26]。RRM2被认为是癌症治疗的重要靶点,在目前已经发现的癌症中对于肿瘤细胞的发生发展具有重要的作用。IGF-2R与RRM2正相关,也表明IGF-2R对肿瘤细胞凋亡的促进作用。与正常乳腺组织相比,乳腺肿瘤组织中IGF-2R表达降低,恰好证明了这一结论。进一步探索IGF-2R和RRM2的作用及关系对乳腺癌的发生发展及其病理机制具有重要意义,也为乳腺癌的预防、治疗提供新的可能。

研究发现,与正常乳腺组织相比,乳腺癌组织中IGF-2R基因的表达水平降低,表明IGF-2R作为抑癌基因在乳腺癌发生发展进程中发挥作用。

Phung等^[27]研究认为年龄低于40岁的患者表现出更差的预后。虽然40岁以下乳腺癌患者的发病率低于4%,但年龄小是生存期较差的独立危险因素,特别是在35岁以下的患者^[28-30]。与正常乳腺组织相比,虽然IGF-2R基因的表达水平在各个年龄阶段患者乳腺癌组织中均较低,但是在21~40岁患者乳腺癌组织中表达最低。这表明21~40岁乳腺癌患者预后最差。I期、II期、III期和IV期乳腺癌组织中IGF-2R基因表达水平均降低,且IGF-2R基因在IV期乳腺癌组织中表达最低。结合上述研究结果可知,IV期乳腺癌预后最差。但是由于与IV期乳腺癌相关性的结果无统计学意义,可能与样本量太少有关。不同分子亚型的乳腺癌,会选择不同的治疗方法,产生不同的预后效果。IGF-2R基因表达量在Luminal型(Luminal A型、Luminal B-HER2阴性型)乳腺癌中显著降低。但是,临床工作中发现Luminal型乳腺癌患者5年的无病生存率(disease free survival, DFS)与总体生存率(overall survival, OS)相比较其他类型乳腺癌更高,短期内不容易复发转移。本研究结果与临床结论相悖,可能与多种复杂信号通路共同参与调控有关,导致IGF-2R基因低表达对Luminal型乳腺癌患者产生了积极的作用。Li等^[31]对中国乳腺癌临床病理亚型研究证实,HER-2阳性和基底细胞样型乳腺癌与Luminal型相比更容易早期频繁复发和转移。因此,除了传统的TNM分期、病理分级等预后指标外,分子分型这一指标可能有助于乳腺癌的临床实践研究。一项关于绝经状态对乳腺癌转移复发风险的研究显示,ER阳性和/或PR阳性患者的绝经状态与转移复发的风险存在显著相关性。ER阳性和/或PR阳性患者绝经后,转移复发的风险增加IGF-2R基因表达量^[32]。在围绝经期的乳腺癌患者组织中表达量最低,可能与围绝经期的乳腺癌患者体内激素代谢紊乱有关,致使预后较差。此外,IGF-2R基因表达量也与淋巴结转移有关。IGF-2R基因低表达患者没有淋巴结转移或者很少有淋巴结转移。

本研究通过生物信息学分析发现,IGF-2R与ASPM、RRM2存在明显相关性,其中与RRM2的相关性更加可靠。IGF-2R基因表达与患者年龄、乳腺癌临床分期、病理类型、是否绝经等因素具有不同程度的相关性。虽然还需要更多的基础及临床实验结果去验证,但研究已经表明,IGF-2R在乳腺癌的发生发展中扮演着重要角色,有望成为乳腺癌研究新生物学指标。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, **71**(3): 209–249
- [2] Miller KD, Fidler BM, Keegan TH, et al. Cancer statistics for adolescents and young adults 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, **70**(6): 443–459
- [3] Bigaard J, Stahlberg C, Jensen MB, et al. Breast cancer incidence by estrogen receptor status in Denmark from 1996 to 2007[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, **136**(2): 559–564
- [4] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, **71**(1): 7–33
- [5] Chiu YF, Wu CC, Kuo MH, et al. Critical role of SOX2-IGF2 signaling in aggressiveness of bladder cancer[J]. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 8261
- [6] Haisa M. The type 1 insulin-like growth factor receptor signalling system and targeted tyrosine kinase inhibition in cancer[J]. *J Int Med Res*, 2013, **41**(2): 253–264
- [7] Lee JS, Weiss J, Martin JL, et al. Increased expression of the mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor in breast cancer cells alters tumorigenic properties in vitro and in vivo[J]. *Int J Cancer*, 2003, **107**(4): 564–570
- [8] 朱婵, 徐勇飞, 渠利利, 等. IGF2的生物学特性及其与疾病关系的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, **31**(9): 966–969
- [9] Armand EJ, Li J, Xie F, et al. Single-cell sequencing of brain cell transcriptomes and epigenomes [J]. *Neuron*, 2021, **109**(1): 11–26
- [10] Ulintz PJ, Wu W, Gates CM. Bioinformatics analysis of whole exome sequencing data[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, **18**(81): 277–318
- [11] Brandi J, Manfredi M, Speziali G, et al. Proteomic approaches to decipher cancer cell secretome[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, **78**(6): 93–101
- [12] Harvell DM, Kim J, O'Brien J, et al. Genomic signatures of pregnancy-associated breast cancer epithelia and stroma and their regulation by estrogens and progesterone[J]. *Horm Cancer*, 2013, **4**(3): 140–153
- [13] Clarke C, Madden SF, Doolan P, et al. Correlating transcriptional networks to breast cancer survival: a large-scale co-expression analysis[J]. *Carcinogenesis*, 2013, **34**(10): 2300–2308
- [14] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, **37**(1): 1–13
- [15] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009, **4**(1): 44–57
- [16] Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**(1): 27–30
- [17] Scardoni G, Tosadori G, Faizan M, et al. Biological network analysis with CentiScaPe: centralities and experimental dataset integration[J]. *Res*, 2014, **3**(6): 139–140
- [18] Tang Z, Li C, Kang B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(W1): 98–102
- [19] Guilford P. The inherited susceptibility to cancer[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, **57**(4): 589–603
- [20] Garrett L, Chang YJ, Niedermeier KM, et al. A truncating aspm allele leads to a complex cognitive phenotype and region-specific reductions in parvalbuminergic neurons[J]. *Transl Psychiatry*, 2020, **10**(1): 66–68
- [21] Naveed M, Kazmi SK, Amin M, et al. Comprehensive review on the molecular genetics of autosomal recessive primary microcephaly (MCPH)[J]. *Genet Res (Camb)*, 2018, **100**(11): e7–e9
- [22] Bikeye SN, Colin C, Marie Y, et al. ASPM-associated stem cell proliferation is involved in malignant progression of gliomas and constitutes an attractive therapeutic target[J]. *Cancer Cell Int*, 2010, **10**(6): 1–10
- [23] Kim W, Kim M, Jho EH. Wnt/ β -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus[J]. *Biochem J*, 2013, **450**(1): 9–21
- [24] Zhou JW, Wang H, Sun W, et al. ASPM is a predictor of overall survival and has therapeutic potential in endometrial cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2020, **12**(5): 1942–1953
- [25] 李军成, 薛刚. ERCC1、RRM1、TUBB3、TYMS和TOP2A基因与乳腺癌化疗及预后的研究进展[J]. *西南国防医药*, 2020, **30**(9): 864–866
- [26] Wang N, Zhan T, Ke T, et al. Increased expression of RRM2 by human papillomavirus E7 oncoprotein promotes angiogenesis in cervical cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, **110**(4): 1034–1044
- [27] Phung MT, Tin TS, Elwood JM. Prognostic models for breast cancer: a systematic review[J]. *BMC Cancer*, 2019, **19**(1): 230
- [28] Arciero CA, Guo Y, Jiang R, et al. ER+/HER2+ breast cancer has different metastatic patterns and better survival than ER-/HER2+ breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer*, 2019, **19**(4): 236–245
- [29] Han W, Kang SY. Relationship between age at diagnosis and outcome of premenopausal breast cancer: age less than 35 years is a reasonable cut-off for defining young age-onset breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, **119**(1): 193–200
- [30] Han W, Kim SW, Park IA, et al. Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2004, **12**(4): 82–88
- [31] Li J, Chen Z, Su K, et al. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, **8**(7): 8500–8505
- [32] Bell RJ. Menopausal status at diagnosis of breast cancer and risk of metastatic recurrence[J]. *Menopause*, 2021, **28**(10): 1079–1080