

ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中高表达:基于OncoPrint数据库及生物信息学方法

王卉¹, 陈学平¹, 陈运¹, 曹颖诗¹, 陈瑶¹, 刘国炳², 黄莉萍²

¹南方医科大学第一临床医学院, 广东 广州 510515; ²南方医科大学南方医院妇产科, 广东 广州 510515

摘要:目的 探讨ENTPD5在上皮性卵巢癌中的表达及临床价值。方法 通过OncoPrint、TCGA数据库对ENTPD5在上皮性卵巢癌中的表达水平进行分析,UALCAN数据库分析ENTPD5表达水平与上皮性卵巢癌患者临床性状的相关性,基因富集分析(GSEA)软件分析ENTPD5在上皮性卵巢癌中的可能作用机制,CIBERSORT包探讨ENTPD5的表达量与免疫浸润的相关性。为进一步验证生物信息挖掘结果,RT-qPCR及Western blot检测23例上皮性卵巢癌组织和15例正常卵巢组织中ENTPD5的表达水平,免疫组化检测50例上皮性卵巢癌石蜡样本和6例正常卵巢石蜡样本中ENTPD5的表达水平。结果 OncoPrint、TCGA数据库发现与正常卵巢组织相比,ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中表达显著增高($P<0.05$),ENTPD5表达水平与上皮性卵巢癌患者生存呈负相关($P<0.05$)。UALCAN数据库发现ENTPD5表达水平与患者年龄相关。GSEA软件分析发现ENTPD5参与ABC转运蛋白、WNT信号通路、胰岛素信号通路以及糖降解等过程,并在其中高度富集。CIBERSORT包分析显示ENTPD5表达水平与NK细胞、肥大细胞及嗜酸性粒细胞的含量呈负相关($P<0.05$)。RT-qPCR结果提示ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中的表达水平(2.592 ± 0.339)显著高于其在正常卵巢组织表达水平(1.00 ± 0.123)($t=4.312, P<0.01$)。Western blot结果提示上皮性卵巢癌组织中的ENTPD5表达显著高于正常卵巢组织($P<0.05$)。免疫组化结果提示ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中高表达。结论 ENTPD5在上皮性卵巢癌中高表达,其可能通过参与细胞多种功能过程以及细胞免疫浸润,参与上皮性卵巢癌的发生发展。

关键词:ENTPD5基因;卵巢癌;生存;生物信息学

ENTPD5 gene is highly expressed in epithelial ovarian cancer: analysis based on OncoPrint database and bioinformatics

WANG Hui¹, CHEN Xueping¹, CHEN Yun¹, CAO Yingshi¹, CHEN Yao¹, LIU Guobing², HUANG Liping²

¹The first clinical college of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Southern Medical University of Nanfang Hospital, Obstetrics and Gynecology Department, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the expression of ENTPD5 in epithelial ovarian cancer and explore its clinical implications. **Methods** The expression level of ENTPD5 in epithelial ovarian cancer was analyzed based on data from OncoPrint and TCGA databases. The relationship between the expression level of ENTPD5 and clinical characteristics of the patients was analyzed using UALCAN database. Gene enrichment analysis (GSEA) was performed to explore the possible role of ENTPD5 in the occurrence and progression of epithelial ovarian cancer. CIBERSORT package was used to analyze the relationship between the expression of ENTPD5 and immune infiltration. The expression patterns of ENTPD5 were verified in 23 epithelial ovarian cancer tissues and 15 normal ovarian tissues using RT-qPCR and Western blotting; the expression of ENTPD5 protein was also detected immunohistochemically in 50 paraffin-embedded samples of epithelial ovarian cancer and 6 normal ovarian tissues. **Results** Analysis of OncoPrint and TCGA databases showed that the expression of ENTPD5 was significantly higher in epithelial ovarian cancer tissues than in normal ovarian tissues ($P<0.05$), and its expression level was negatively correlated with the survival rate of the patients ($P<0.05$). Data from UALCAN database showed that the expression level of ENTPD5 was related with the age of patients. The results of GSEA suggested that ENTPD5 was involved in ABC transporter, WNT signaling pathway and insulin signaling, and the expression of ENTPD5 was negatively correlated with the contents of NK cells, mast cells and eosinophils ($P<0.05$). In clinical samples of epithelial ovarian cancer tissues, the expression of ENTPD5 was significantly higher than that in normal ovarian tissues at both the mRNA ($P<0.01$) and protein ($P<0.05$) levels. The paraffin-embedded samples also showed significantly higher expressions of ENTPD5 in epithelial ovarian cancer than in normal ovarian tissues ($P<0.05$). **Conclusion** ENTPD5 is highly expressed in epithelial ovarian cancer, which may promote the occurrence and progression of epithelial ovarian cancer by participating in multiple functional processes and cellular immune infiltration.

Keywords: ENTPD5 gene; epithelial ovarian cancer; survival; bioinformatics

收稿日期:2020-11-03

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(81703078);广东省科技计划项目(2017A010105025)

Supported by Youth Program of National Natural Science Foundation of China (81703078).

作者简介:王卉,在读硕士研究生,E-mail: 2723780009@qq.com

通信作者:黄莉萍,主任医师,E-mail: lphuanguang2006@126.com

卵巢癌是妇科三大恶性肿瘤之一,死亡率居妇科恶性肿瘤之首,其中,上皮性卵巢癌(EOC)是卵巢癌中最常见的类型,发病率占85%以上^[1]。卵巢癌发病早期临床症状不明显,确诊时多为晚期^[2]。早期卵巢癌患者的5年生存率可达92%,而晚期卵巢癌患者的5年生存率仅为29%^[3]。因此,卵巢癌的早发现、早诊断、早治疗对

于提高患者的生存预后至关重要。ENTPD5作为一种内质网酶,可将UDP水解为UMP^[4],促进蛋白质的糖基化以及糖蛋白的折叠,其高表达可以抑制内质网应激介导的细胞凋亡,从而促进肿瘤细胞的生存和转移^[5]。ENTPD5参与多种细胞功能过程,在宫颈癌、乳腺癌、脑肿瘤、结肠癌、肺癌以及前列腺癌等肿瘤中均表达增高^[6-8]。但目前尚未见ENTPD5在卵巢癌中的相关研究报告,ENTPD5是否在卵巢癌组织中呈高表达?ENTPD5是否可以成为卵巢癌早期诊断的新靶点?这些问题值得我们进一步研究探讨。

Oncomine数据库整合了全球最大的癌基因芯片信息和数据挖掘平台,可以较为全面的挖掘常见癌症亚型和正常组织差异基因的表达^[9]。本研究通过收集以Oncomine为主的多个数据库信息,挖掘ENTPD5在上皮性卵巢癌中的表达情况,并分析ENTPD5在上皮性卵巢癌中的可能作用途径及其与肿瘤细胞免疫浸润的相关性,为后续ENTPD5基因与上皮性卵巢癌的相关性研究提供证据支持。

1 资料和方法

1.1 生物信息学分析

1.1.1 生物信息学分析资料 通过 Oncomine 及 TCGA 数据库分析ENTPD5在上皮性卵巢癌组织与正常卵巢组织中的表达情况和生存意义;通过UALCAN数据库分析基因表达水平与患者年龄、种族及分期、分级的相关性;采用GSEA富集分析软件分析基因在上皮性卵巢癌中可能作用机制;CIBERSORT包分析ENTPD5与免疫细胞浸润的关系。

1.1.2 Oncomine数据库检索条件为:(1)Cancer Type: Ovarian cancer; (2) Gene: ENTPD5; (3) Data Type: mRNA; (4) 临界值设定条件 (P value $<1E-4$, fold change >2 , gene rank= top10%),采用箱式图描述结果。

1.1.3 TCGA网站下载上皮性卵巢癌相关数据,使用“surivial”包对数据进行生存分析。

1.1.4 UALCAN数据库检索目录,检索条件为:(1) Cancer Type: Epithelial ovarian cancer; (2) Gene: ENTPD5。

1.1.5 从TCGA下载379例上皮性卵巢癌患者相关表达

数据,整理后导入GSEA软件,参照由GSEA网站数据库提供与生物信号传导相关的基因集,按照省缺加权富集统计法,重复分析1000次。GSEA分析结果包括3个关键统计量,分别为标准化富集得分(NES),错误发现率得分(FDR q-val)和p-val值。(NES >1 为标准富集, FDR q-val 越小表明富集越明显, p-val <0.05 表明存在统计学意义)

1.1.6 Bioconductor网站下载CIBERSORT包对TCGA数据库中相关上皮性卵巢癌数据进行免疫浸润分析。

1.2 实验验证

1.2.1 一般资料 为验证 Oncomine 数据库 ENTPD5 基因芯片结果,收集2018年7月~2019年7月在南方医科大学南方医院行手术治疗的上皮性卵巢癌患者23例,获取癌巢标本23份,同期获取正常卵巢标本15份作为对照(因宫颈癌、子宫内膜癌等疾病切除卵巢者,术后病理结果提示无肿瘤细胞浸润)。手术标本切下后,立即将新鲜组织进行冻存。于病理科收集2017年7月~2019年7月的石蜡标本,其中上皮性卵巢癌组织50份,正常卵巢组织6份(因宫颈癌、子宫内膜癌等疾病切除卵巢者,术后病理结果提示无肿瘤细胞浸润)以进行预后及临床病例特征分析。纳入标准:(1)经术后病理确诊为上皮性卵巢癌;(2)手术前未接受过放疗、化疗、靶向药物治疗及免疫治疗。排除标准:(1)其他部位恶性肿瘤伴有卵巢转移;(2)合并自身免疫性疾病。本研究经南方医科大学南方医院伦理委员会批准通过,所有的组织样本采集过程均获得患者本人同意并签署知情同意书。

1.2.2 试剂 Trizol、RT-qPCR所用试剂;RIPA裂解缓冲液(ThermoFish);抗ENTPD5抗体(Abcam)。

1.2.3 引物的设计和合成 根据 GenBank 中人 ENTPD5 mRNA 序列,采用PrimerPremier3.0软件设计特异性引物,由北京六合华大基因科技有限公司广州分公司合成,以18s为内参照,设计的引物序列见表1。

1.2.4 Western blot检测 取上皮性卵巢癌组织及正常卵巢组织行蛋白提取、变性、SDS-PAGE电泳、转膜,将转好的膜于室温下脱色,摇床上用5%的脱脂牛奶(0.5% TBST配),封闭1h。稀释一抗、二抗,加入混合好的ECL溶液充分反应,1~2 min后开始曝光,曝光后

表1 RT-qPCR使用的特异性引物序列

Tab.1 Specific primer sequence

Gene	Primer
18S	F:AGTCCCTGCCCTTTGTACACA
	R:CGATCCGAGGGCCTCACTA
ENTPD5	F:TTGGTTTGAGGGTATCTTCCTGT
	R:CCTTGAACGGTCTCAGCACC

的胶片用显影、定影试剂进行显影和定影,根据不同的发光强度调整曝光条件。将胶片进行扫描存档,Photoshop整理去色,ImageJ软件处理系统分析目的条带的灰度值。

1.2.5 RT-qPCR 检测 实验方法按照商品使用说明书,Trizol试剂从上皮性卵巢癌组织与正常卵巢组织中分别提取总RNA,ND-1200核酸定量检测仪(Thermo)测定总RNA浓度和吸光度值,以 $1.8 \leq \text{吸光度值} \leq 2.0$ 为合格。总RNA经过1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,18 S、28 S两条区带清晰可见,所有样本所提取的总RNA质量合格。根据PrimeScript™ RT Master Mix商品使用说明书合成cDNA,使用SYBR® PremixExTaq™ 10 μL进行RT-qPCR,反应在ABI7500实时定量PCR仪进行,以18 s为内参,上游引物(10 μmol/L)0.4 μL,下游引物(10 μmol/L)0.4 μL,cDNA 1 μL,RNase Free Water 8.4 μL。反应条件设定为:95 °C预变性30 s;95 °C、5 s;60 °C、34 s;共40个循环;60 °C退火30 s。选择18 s作为内参,采用计算 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值方法进行表达量相对定量分析。

1.2.6 免疫组化 将上皮性卵巢癌组织及正常卵巢组织进行脱蜡、水化后,PBS洗涤,放入pH为6.0的柠檬酸盐缓冲液中,在微波炉中加热10 min,再次PBS洗涤,在3%的双氧水中浸泡10 min进行淬灭以阻断内源性过氧

化物酶,2%的牛血清蛋白液封闭30 min,加入ENTPD5单克隆抗体4 °C 孵育过夜,加入通用型二抗室温下孵育30 min,滴加DAB显色后用苏木精液体复染,浓度梯度乙醇脱水,中性树脂胶封片后显微镜下观察。结果判读标准:每张病理切片至少用4个高倍视野进行观察,当染色细胞数目小于或等于总细胞数目的5%时,判读结果为ENTPD5阴性,当染色细胞数目大于总细胞数目的5%时,判读结果为阳性。

1.2.7 统计学分析 采用SPSS20.0软件进行统计学分析。使用配对样本卡方检验分析ENTPD5在上皮性卵巢癌及正常卵巢组织中的表达差异,蛋白印迹结果采用ImageJ软件作图分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物信息学手段挖掘结果

通过Oncomine数据库发现,正常卵巢组织中ENTPD5的表达显著低于上皮性卵巢癌组织($P < 0.05$),且ENTPD5高表达时上皮性卵巢癌患者生存率显著降低。由于Oncomine数据库所分析出来的生存曲线存在ENTPD5高表达与低表达曲线交叉现象,故使用TCGA数据库再次对其生存意义进行评估,证实ENTPD5高表达时患者生存率显著降低(图1, $P < 0.05$)。

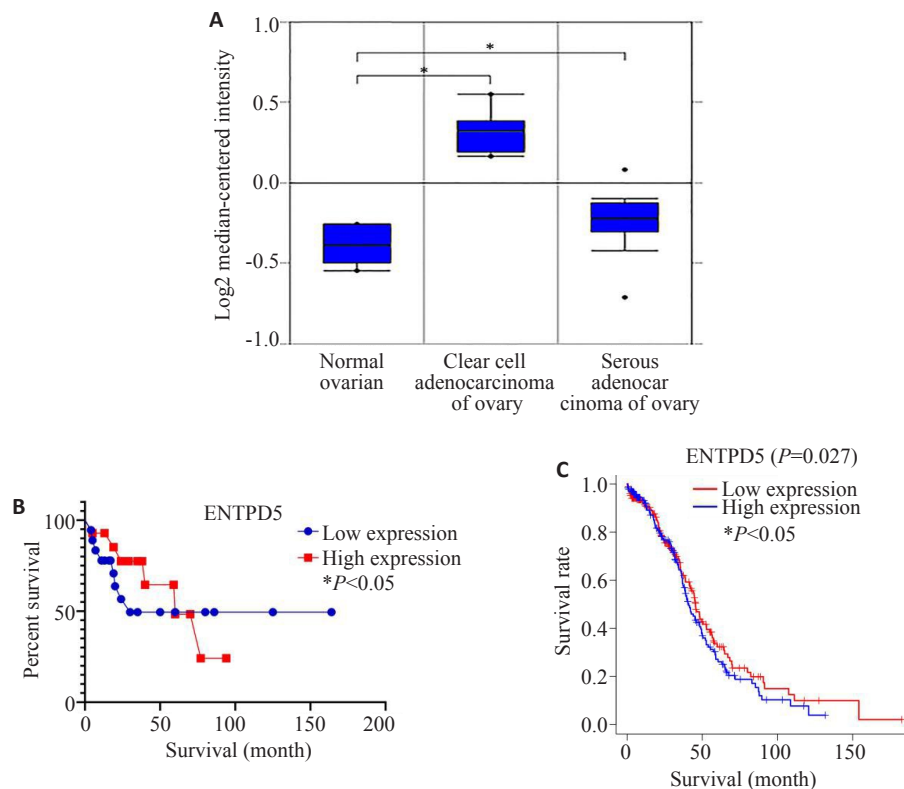


图1 ENTDP5在上皮性卵巢癌中表达升高并影响患者总生存期

Fig.1 Expression levels of ENTDP5 is upregulated in epithelial ovarian cancer (EOC) and related with the overall survival of the patients. **A:** Box plots showing much higher expressions of ENTDP5 in clear cell adenocarcinoma and serous adenocarcinoma of the ovary than in normal ovarian tissues. **B:** Overall survival curves for EOC patients with low and high ENTDP5 expression based on Oncomine dataset. **C:** Overall survival curves for EOC patients with low and high ENTDP5 expression based on TCGA dataset. $*P < 0.05$.

使用UALCAN数据库分别对ENTPD5表达水平与上皮性卵巢癌患者年龄、种族、癌症分期、分级的相关

性进行分析,发现ENTPD5表达水平与患者年龄相关(图2, $P < 0.05$)。

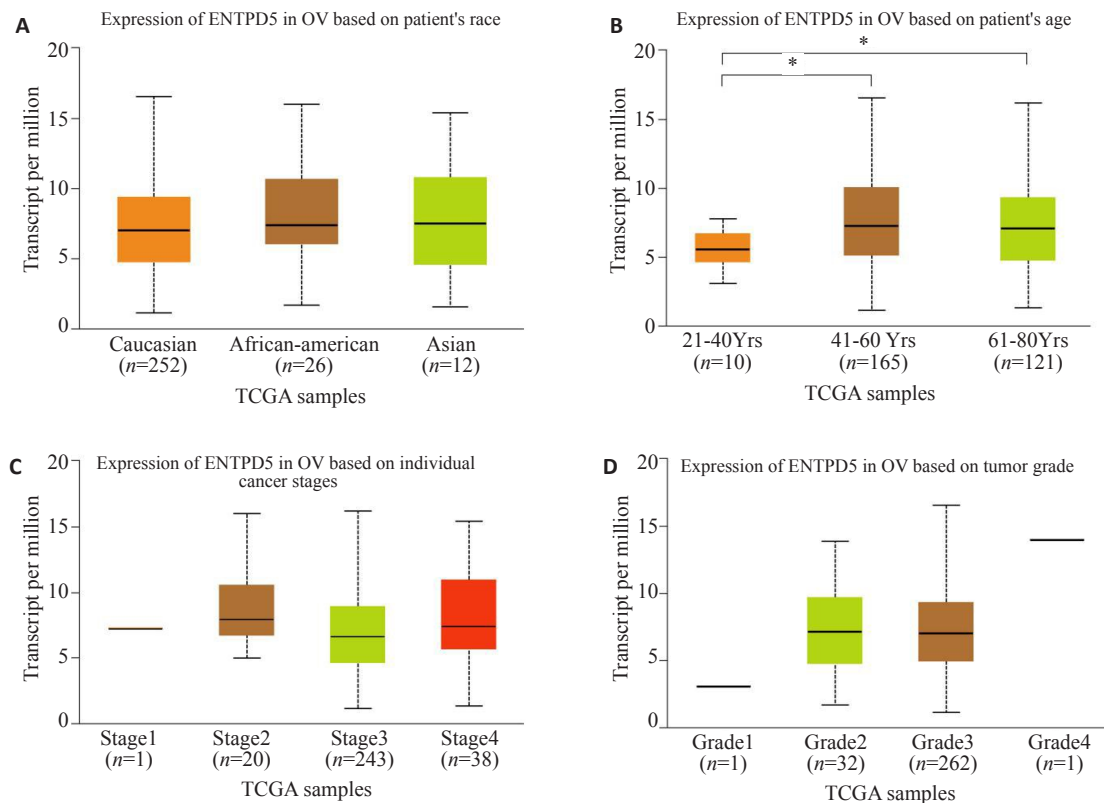


图2 ENTPD5表达水平与临床特性的关系

Fig.2 Correlation analysis of ENTPD5 with clinical characteristics of patients with EOC. A-D: Correlation analysis of the ENTPD5 expression with race (A), age (B), clinical stages (C) and tumor grade (D) of patients with ovarian serous adenocarcinoma based on TCGA dataset. * $P < 0.05$.

通过GSEA分析,发现在上皮性卵巢癌中ENTPD5在B、T细胞介导的信号通路,ABC转运蛋白、MAPK信号通路、VEGF信号通路、WNT信号通路、胰岛素信号

通路、TOLL样受体信号通路,以及基因转录、糖降解、肿瘤恶性转化等过程中高度富集(表2)。

通过CIBERSOR包分析,发现在上皮性卵巢癌中

表2 ENTPD5表达在上皮性卵巢癌患者基因表达图谱的相关基因通路的富集分析

Tab.2 Enrichment analysis of Entpd5 gene by GSEA

KEGG	NES	NOM p	FDR q
VEGF signaling pathway	1.99	0	0.005
Cancer pathway	1.96	0	0.005
Toll like receptor signaling pathway	1.98	0.006	0.005
Pathogenesis of type II diabetes mellitus	1.96	0	0.005
B cell signaling pathway	2.1	0	0.002
Sugar degradation	1.7	0.02	0.03
Cell cycle	1.7	0.03	0.03
Insulin mediated signaling pathway	2.27	0.001	0.001
ABC transporters	2.0	0	0.004
MAPK signaling pathway	1.89	0	0.009
ERBB signaling pathway	2.11	0	0.001
T cell mediated signaling pathway	2.01	0	0.002
Oxidative phosphorylation process	-2.21	0	0.001
WNT signaling pathway	1.78	0.011	0.019

Note: Is considered meaningful that INESI>1, NOM $p < 0.05$, FDR $q < 0.25$.

ENTPD5的表达量与肿瘤局部的嗜酸性粒细胞、NK细胞及肥大细胞的含量呈显著负相关,结果具有统计学意义(图3, $P < 0.05$)。

2.2 基础实验验证结果

通过RT-qPCR分析,发现上皮性卵巢癌组织中

ENTPD5的表达水平(2.592 ± 0.339)显著高于正常卵巢组织(1.00 ± 0.123),结果具有统计学意义($t = 4.312, P < 0.01$,图4A);Western blot提示上皮性卵巢癌组织中ENTPD5表达水平亦显著增高,结果具有统计学意义($t = 2.566, P < 0.05$,图4B)。

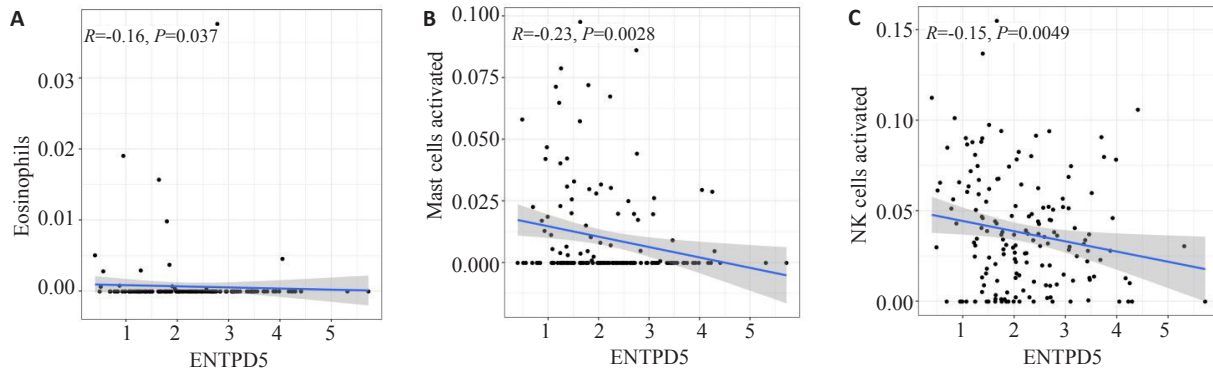


图3 ENTPD5表达与免疫细胞含量的相关性

Fig.3 ENTPD5 expression is negatively correlated with the contents of NK cells (A), mast cells (B) and eosinophils (C).

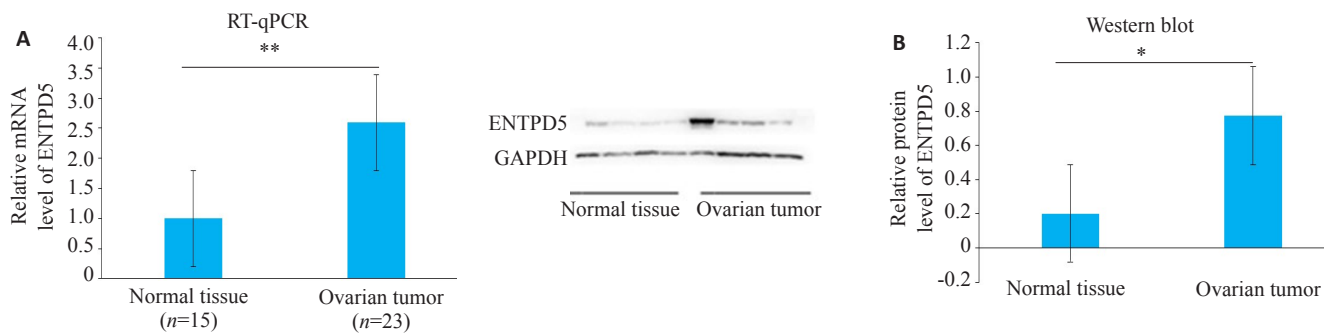


图4 RT-qPCR和Western blot检测卵巢癌及正常组织中ENTPD5的表达水平

Fig.4 Results of RT-qPCR (A) and Western blotting (B) showing higher ENTPD5 expressions in clinical samples of ovarian cancer than in normal ovarina tissues. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

对收集的6例正常卵巢组织、50例上皮性卵巢癌组织标本行免疫组化染色分析结果显示:ENTPD5在上皮性卵巢癌I、II、III、IV期中的表达均显著高于正常卵巢组织(图5, $P < 0.05$)。进一步评估ENTPD5表达与上皮性卵巢癌关键临床参数之间的相关性结果显示,ENTPD5的表达与上皮性卵巢癌组织浸润程度、CA125水平、临床FIGO分期、淋巴结转移程度无明显相关,而与病人年龄有相关性,ENTPD5在年龄56岁以上的患者组织中表达显著增高(表3)。

3 讨论

虽然近年来卵巢癌的治疗取得一些进展^[10],但由于其发病隐匿,多数患者确诊时已处于肿瘤中晚期,甚至伴有局部或全身转移,五年生存率低下^[11-13]。寻找与卵巢癌发病相关的有效生物标志物,提高卵巢癌的早期诊

断,对改善其预后具有重要意义。

ENTPD5主要存在于内质网中,编码内质网的核苷酸水解酶,在其家族中唯一被描述为原癌蛋白成员,介导细胞内核苷酸的分解代谢^[14],通过PI3K信号通路的激活,以及Mut-p53与Sp1-ENTPD5启动子区相互作用两条途径过度表达后^[15],在多个层次参与细胞过程,抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤细胞发生、发展和转移,ENTPD5表达的下调可以降低肿瘤细胞的存活能力^[8]。Villar等^[16]在前列腺癌的相关研究中发现,ENTPD5表达水平与前列腺病变程度呈正相关性。2016年PNAS研究报道,作为突变的肿瘤抑制基因p53的靶分子,ENTPD5可以被突变的p53调控以调节胰腺癌的发展和转移^[17]。此外,在黑色素瘤、宫颈癌、乳腺癌、结肠癌等多项研究中亦发现ENTPD5呈高表达,提示ENTPD5可能参与癌症的发生发展^[6-8]。

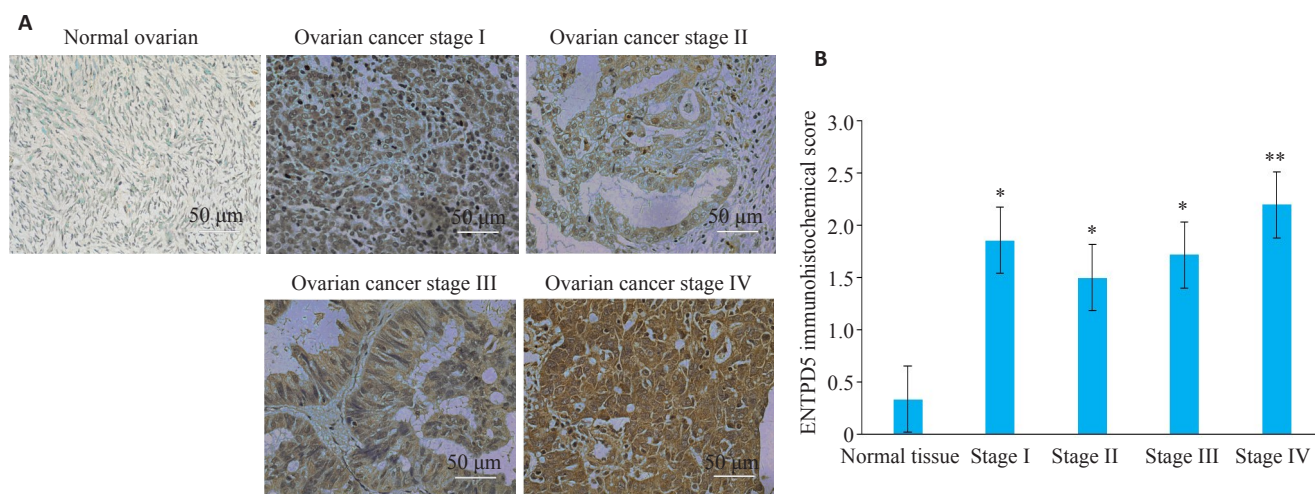


图5 ENTPD5在上皮性卵巢癌及正常卵巢组织中表达的免疫组化染色

Fig.5 Immunohistochemical staining showing ENTPD5 expression in epithelial ovarian cancer and normal ovarian tissues. A: Immunohistochemical staining showed ENTPD5 expression in epithelial ovarian cancer and normal ovary tissue (Original magnification: ×100). B: Column chart showed higher ENTPD5 expression in epithelial ovarian cancer than normal ovarian tissues. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal tissue.

表3 ENTPD5的表达与卵巢癌患者的临床病理特征之间的关系

Tab.3 Association of ENTPD5 expression with clinicopathological characteristics of 50 patients with EOC (χ^2 -test)

Clinicopathological features		ENTPD5 expression		P
		Low expression	High expression	
Age (year)	<56	13	13	0.01
	≥56	4	20	
FIGO staging	I+II	5	8	0.74
	III+IV	12	25	
CA125 (U/mL)	<600	12	22	0.78
	≥600	5	11	
Lymph node metastasis	Positive	6	5	0.15
	Negative	11	28	
Omentum metastasis	Positive	12	21	0.62
	Negative	5	12	

目前,国内外尚未见ENTPD5与卵巢癌相关性的研究报道,ENTPD5是否可以成为上皮性卵巢癌早期诊断的新靶点值得进一步研究。基于上述研究背景,首先我们通过Oncomine及TCGA数据库证明,ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中的表达显著高于正常卵巢组织,与患者生存呈负相关。进一步使用GSEA软件分析发现,ENTPD5参与B、T细胞介导的信号通路、ABC转运蛋白、WNT信号通路、胰岛素信号通路以及糖降解等过程。其中,在糖代谢的异常以及II型糖尿病的发生过程中,机体长期暴露于高水平的血糖环境,可引起Ras-MAPK和PI 3-K-mTOR途径的激活,促进卵巢癌细胞增殖和疾病进展^[18-19]。ABC转运蛋白也被发现具有促进肿瘤细胞的增殖、转移、免疫逃避、肿瘤耐药及维持肿瘤细胞低分化程度的功能^[20-23]。WNT/PCP信号的激

活被证实可通过增强上皮性卵巢癌细胞的自我更新和持续迁移、侵袭能力^[24-27]。以上结果表明,ENTPD5可能通过上述多条通路参与上皮性卵巢癌的发生和发展。分析ENTPD5与上皮性卵巢癌免疫浸润的相关性发现,ENTPD5的表达与NK细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞呈显著负相关。此类细胞可通过裂解、分泌或结合肿瘤坏死因子,介导肿瘤干细胞的选择和分化,抑制肿瘤细胞向远处组织的增殖、迁移和定植^[28-32]。由此猜测,ENTPD5也可能通过影响肿瘤细胞局部微环境的方式,参与上皮性卵巢癌的发生和发展。通过RT-qPCR、Western blot及免疫组化等实验方法,对上述结论进行验证,证实ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中表达显著增高。

综上所述,我们通过使用生物信息学手段深入挖掘

上皮性卵巢癌组织中ENTPD5表达信息以及实验验证相结合的手段,证明ENTPD5在上皮性卵巢癌组织中表达显著增高,为ENTPD5成为上皮性卵巢癌早期诊断的新靶点提供了理论支持证据。相对于传统的单个实验样本的研究,肿瘤数据库具有样本量大、可信度高的优点,对疾病的诊治可提供有力的生物学依据,可为进一步探索ENTPD5基因与上皮性卵巢癌的关系奠定基础。

参考文献:

- [1] 孙瑶琦,王炼,刘洁,等.脂肪细胞与脂肪来源的干细胞在卵巢癌嗜脂性转移中的作用[J].中国肿瘤临床,2020,47(9):477-80.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 6(8): 394-424.
- [3] 陈莹,黄静莹,吕育纯. STAT2在卵巢癌中表达升高并与卵巢癌患者生存不良有关[J].南方医科大学学报,2020,40(1):34-41.
- [4] MacCarthy CM, Notario V. The ENTPD5/mt-PCPH oncoprotein is a catalytically inactive member of the ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase family[J]. Int J Oncol, 2013, 43(4): 1244-52.
- [5] Fang M, Shen Z, Huang S, et al. The ER UDPase ENTPD5 promotes protein N-glycosylation, the Warburg effect, and proliferation in the PTEN pathway[J]. Cell, 2010, 143(5): 711-24.
- [6] Curry NL, Mino-Kenudson M, Oliver TG, et al. Pten-null tumors cohabiting the same lung display differential AKT activation and sensitivity to dietary restriction[J]. Cancer Discov, 2013, 3(8): 908-21.
- [7] Villar J, Arenas MI, MacCarthy CM, et al. PCPH/ENTPD5 expression enhances the invasiveness of human prostate cancer cells by a protein kinase C delta-dependent mechanism[J]. Cancer Res, 2007, 67(22): 10859-68.
- [8] Xue Y, Wu L, Liu Y, et al. ENTPD5 induces apoptosis in lung cancer cells via regulating caspase 3 expression[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120046.
- [9] 李小燕,何杰,余觅,等. BUB1基因在胃癌组织中高表达:基于Oncomine数据库及生物信息学方法[J].南方医科大学学报,2020,40(5):683-92.
- [10] Chen S, Dai X, Gao Y, et al. The positivity of estrogen receptor and progesterone receptor may not be associated with metastasis and recurrence in epithelial ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 16922.
- [11] Qian F, Rookus MA, Leslie G, et al. Mendelian randomisation study of height and body mass index as modifiers of ovarian cancer risk in 22, 588 BRCA1 and BRCA2 mutation carriers[J]. Br J Cancer, 2019, 121(2): 180-92.
- [12] Zhu CS, Pinsky PF, Cramer DW, et al. A framework for evaluating biomarkers for early detection: validation of biomarker panels for ovarian cancer[J]. Cancer Prev Res: Phila, 2011, 4(3): 375-83.
- [13] Cramer DW, Bast RC, Berg CD, et al. Ovarian cancer biomarker performance in prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial specimens[J]. Cancer Prev Res: Phila, 2011, 4(3): 365-74.
- [14] YuLiya K, Kenneth P. Epigenetic crosstalk between the tumor microenvironment and ovarian cancer cells: a therapeutic road less traveled[J]. Cancers, 2018, 10(9): 295-6.
- [15] Durst MA, Ratia K, Lavie A. Identifying small molecule probes of ENTPD5 through high throughput screening[J]. PLoS One, 2019, 14(6): e0210305.
- [16] Villar J, Quadri HS, Song I, et al. PCPH/ENTPD5 expression confers to prostate cancer cells resistance against cisplatin-induced apoptosis through protein kinase Calpha-mediated Bcl-2 stabilization[J]. Cancer Res, 2009, 69(1): 102-10.
- [17] Vogiatzi F, Brandt DT, Schneikert J, et al. Mutant p53 promotes tumor progression and metastasis by the endoplasmic Reticulum UDPase ENTPD5[J]. PNAS, 2016, 113(52): E8433-42.
- [18] Teplinsky E, Muggia F. Targeting HER2 in ovarian and uterine cancers: challenges and future directions[J]. Gynecol Oncol, 2014, 135(2): 364-70.
- [19] Minlikeeva AN, Freudenheim JL, Cannioto RA, et al. History of hypertension, heart disease, and diabetes and ovarian cancer patient survival: evidence from the ovarian cancer association consortium[J]. Cancer Causes Control, 2017, 28(5): 469-86.
- [20] Taichi M, Hiroshi M. The role of androgen receptor signaling in ovarian cancer[J]. Cells, 2019, 8(2): 1-76.
- [21] Muriithi W, Macharia LW, Heming CP, et al. ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance[J]. Cancer Biol Med, 2020, 17(2): 253-69.
- [22] Ford RC, Beis K. Learning the ABCs one at a time: structure and mechanism of ABC transporters[J]. Biochem Soc Trans, 2019, 47(1): 23-36.
- [23] Romana B, Marco F. ABC transporters in cancer stem cells: beyond chemoresistance[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11): 23-62.
- [24] Bahrami A, Hasanzadeh M, ShahidSales S, et al. Clinical significance and prognosis value of wnt signaling pathway in cervical cancer[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(10): 3028-33.
- [25] Asem M, Buechler S, Wates B, et al. Wnt5a signaling in cancer[J]. Cancers, 2012, 8(9): 79-80.
- [26] Kotrbová A, Ovesná P, Gybel' T, et al. WNT signaling inducing activity in ascites predicts poor outcome in ovarian cancer[J]. Theranostics, 2020, 10(2): 537-52.
- [27] Ford C, Henry C, Llamas E, et al. Wntsignalling in gynaecological cancers: a future target for personalisedmedicine[J]? Gynecol Oncol, 2016, 85(9): 345-51.
- [28] Anahid J, Janko K, Kawaljit K, et al. Natural killer cells: diverse functions in tumor Immol/Lunity and defects in pre-neoplastic and neoplastic stages of tumorigenesis[J]. Mol Ther Oncolytics, 2020, 27(5): 41-52.
- [29] Song W, Tong F, Yi J, et al. Natural killer cells in cancer biology and therapy[J]. Mol Cancer, 2020, 7(6): 2-26.
- [30] Chiossone L, Dumas PY, Vienne M, et al. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(11): 671-88.
- [31] Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S, et al. Eosinophils: The unsung heroes in cancer[J]? Oncoimmunology, 2018, 7(2): e1393134.
- [32] Platzer B, Elpek K, Cremasco V, et al. IgE/F cepsilon RI-mediated antigen cross-presentation by dendritic cells enhances anti-tumor immol/lune responses[J]. Cell Rep, 2015, 10(9): 1487-95.

(编辑:余诗诗)