

SLC52A2 基因表达与葡萄膜黑色素瘤患者预后的关联

梁晓翠, 肖泽锋, 周 山

引用: 梁晓翠, 肖泽锋, 周山. SLC52A2 基因表达与葡萄膜黑色素瘤患者预后的关联. 国际眼科杂志 2023; 23(8): 1399-1404

作者单位: (430023) 中国湖北省武汉市第一医院眼科
作者简介: 梁晓翠, 硕士, 住院医师, 研究方向: 斜弱视、眼眶眼整形。

通讯作者: 肖泽锋, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障、眼底病、眼眶眼整形. xiao-zefeng@126.com

收稿日期: 2023-02-16 修回日期: 2023-07-07

摘要

目的: 基于癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库分析 SLC52A2 与葡萄膜黑色素瘤 (UM) 的相关性, 初步探讨 SLC52A2 对 UM 患者预后的影响及可能的机制。

方法: 通过 TCGA 数据库下载收集 80 例 UM 患者的临床信息资料和 SLC52A2 的 mRNA 表达数据, 根据 SLC52A2 表达量采用中位数法将 80 例患者分为 SLC52A2 高、低表达组, 分析 SLC52A2 的表达水平与患者临床病理特征及预后的关系。对患者的年龄、性别、临床分期、病理分期、SLC52A2 的 mRNA 表达进行 Cox 单因素和多因素分析, 寻找 UM 预后因子。GSEA 富集分析预测 SLC52A2 在 UM 中可能的调控通路。

结果: SLC52A2 低表达患者生存预后优于 SLC52A2 高表达患者 ($P < 0.05$)。SLC52A2 高、低表达组患者的年龄、性别、临床分期、病理分期均无差异 ($P > 0.05$)。Cox 多因素分析表明, SLC52A2 高表达是 UM 患者预后的危险因素。结合 SLC52A2 表达和临床病理学特征开发的列线图预测模型, 可较为准确地预测 UM 患者的生存概率。SLC52A2 高、低表达组 Th2 细胞、Treg 细胞的浸润丰度分别比较有差异 (均 $P < 0.001$)。GSEA 分析表明, SLC52A2 高表达的组织中存在 JAK-STAT 信号通路 ($FDR = 0.028, P = 0.004$) 和 PI3K/AKT 信号通路 ($FDR = 0.017, P = 0.002$) 相关基因富集。

结论: SLC52A2 高表达是 UM 患者预后的危险因素。SLC52A2 可作为 UM 预后相关的生物标志物, 有望成为 UM 治疗的新靶点。

关键词: 葡萄膜黑色素瘤; SLC52A2; 癌症基因组图谱 (TCGA); 预后

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2023.8.31

Correlation analysis between SLC52A2 gene expression and prognosis of patients with uveal melanoma

Xiao-Cui Liang, Ze-Feng Xiao, Shan Zhou

Department of Ophthalmology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430023, Hubei Province, China

Correspondence to: Ze-Feng Xiao. Department of Ophthalmology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430023, Hubei Province, China. xiao-zefeng@126.com

Received: 2023-02-16 Accepted: 2023-07-07

Abstract

• **AIM:** To analyze the correlation between SLC52A2 and uveal melanoma (UM) based on the cancer genome atlas (TCGA) database, and preliminarily explore the influence of SLC52A2 on the prognosis of UM patients and potential mechanism.

• **METHODS:** The clinical information on 80 patients with UM and mRNA expression data of SLC52A2 were collected from TCGA database. According to the expression level of SLC52A2, 80 patients were divided into high and low expression groups by median method. The relationship between the expression of SLC52A2 and clinical pathological features, as well as the prognosis was analyzed. The age, sex, clinical stage, pathological stage, and mRNA expression of SLC52A2 were analyzed by univariate and multivariate Cox analysis to search the prognostic factors of UM. Enrichment analyses were used to predict the possible regulatory pathway of SLC52A2 in UM.

• **RESULTS:** The survival prognosis of patients with low expression of SLC52A2 was better than that of patients with high expression of SLC52A2 ($P < 0.05$). The level of SLC52A2 has no significant correlation with the age, sex, clinical stage, and pathological stage of patients in both groups ($P > 0.05$). Multivariate Cox analysis showed that the high expression of SLC52A2 was a risk factor for poor prognosis. The nomogram prediction model developed by combining the expression of SLC52A2 with clinical pathological features could accurately predict the survival probability of UM patients. The infiltration abundance of Th2 and Treg cells in both groups has difference (all $P < 0.001$). GSEA analysis showed that the gene of JAK-STAT ($FDR = 0.028, P = 0.004$) and PI3K/AKT ($FDR = 0.017, P = 0.002$) were rich in samples with high expression of SLC52A2.

• **CONCLUSION:** The high expression of SLC52A2 is a risk factor for the prognosis of UM patients. SLC52A2 can be used as a biomarker to predict the prognosis and to become a new target for the treatment of patients with UM.

• **KEYWORDS:** uveal melanoma; SLC52A2; the cancer genome atlas (TCGA); prognosis

Citation: Liang XC, Xiao ZF, Zhou S. Correlation analysis between SLC52A2 gene expression and prognosis of patients with uveal melanoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023; 23(8): 1399-1404

0 引言

葡萄膜黑色素瘤 (uveal melanoma, UM) 是成人最常见的眼内原发性恶性肿瘤^[1-2], 它起源于葡萄膜 (虹膜、睫状体和脉络膜) 的黑色素细胞, 其中 90% 发病于脉络膜, 通常单眼发病, 病因尚不明确, 易转移至眼外多个器官或组织^[3], 预后差, 严重危害患者的视功能甚至危及生命^[4]。UM 的治疗方式主要有激光、放疗、眼球摘除及眶内容物剜除术^[5]。近年来, 随着诊疗技术的进步, UM 局部控制率有所提高, 但 UM 的转移率和病死率仍较高^[6]。目前已知 UM 的基因表达变化与该病的发展、转移密切相关^[7-9]。因此, 深入研究 UM 的发病机制, 探索影响 UM 的预后因子, 寻找敏感分子标志物, 对 UM 的治疗和预后具有重要意义。SLC52A2 基因是人类溶质的特定转运蛋白载体系列 52 (SLC52) 的一员^[10], 参与介导核黄素摄取, 对核黄素的组织分布至关重要^[11]。而核黄素 (也称为维生素 B₂) 是人机体参与碳水化合物、氨基酸和脂质代谢的关键元素, 机体受病理应激时易引起核黄素缺乏, 核黄素缺乏是癌症、心血管疾病、神经退行性疾病的危险因素^[12]。研究发现 SLC52A2 异常表达是肾上腺皮质癌、宫颈鳞癌和宫颈腺癌、肾透明细胞癌、肾乳头状细胞癌、脑胶质瘤、肝细胞癌、间皮瘤等多种肿瘤不利预后的影响因素^[10]。然而, SLC52A2 基因对于 UM 预后的影响及相关分子机制尚不完全清楚。本研究通过癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库进行了生物信息学分析探索 SLC52A2 与 UM 的潜在联系, 旨在查找影响 UM 预后的因素并进一步探讨可能的发生机制, 进而发掘 UM 新的治疗及预后监测的靶点。

1 对象和方法

1.1 对象

从 TCGA 数据库下载获取 UM 患者 SLC52A2 mRNA 的表达水平数据及患者临床信息, 临床信息包括: 年龄、性别、病理分期、临床分期。通过对临床数据进行筛选, 剔除病例参数不详或不完整的病例以及缺乏预后随访资料的病例, 仅保留 TCGA 数据库中包含临床参数和生存资料的病例, 最后得到含有完整临床资料的病例共计 80 例。下载时间为 2022-04-05。

1.2 方法

1.2.1 SLC52A2 的表达与 UM 患者生存预后的关系

按 SLC52A2 mRNA 的表达水平的中位数将 80 例 UM 患者分为高、低表达组, 采用 R (3.6.3 版本) 软件分析 SLC52A2 基因与 UM 的临床病理特征的相关性。利用 Kaplan-Meier 曲线对 SLC52A2 表达与 UM 患者的预后进行生存分析, 得到总生存期 (OS)、疾病特异性生存期 (DSS)、无进展生存期 (PFI) 的 Kaplan-Meier 生存曲线。对 TCGA 数据库中患者的临床信息进行单变量和多变量 Cox 回归分析, 分析影响 UM 预后的因素。通过 TCGA 数据库构建列线图, 应

用 R 软件分析变量, 根据多变量 Cox 比例风险分析的结果, 开发列线图预测 UM 患者 1、2、3a 的 OS, 并构建校准图, 评估列线图的效率。

1.2.2 分析 SLC52A2 与肿瘤组织中免疫细胞的相关分析

计算 SLC52A2 高、低表达组 ssGSEA 得分 (GSVA 包内置算法), 分析肿瘤组织中免疫细胞的浸润丰度。

1.2.3 GSEA 富集分析

为探索 SLC52A2 基因在 UM 中的表达及影响临床预后的潜在分子机制, 使用 GSEA 软件对 SLC52A2 基因在 UM 中的潜在功能进行信号通路富集分析, 寻找显著富集在 SLC52A2 高表达组和低表达组的相关通路。设置过滤条件为错误发现率 (false discovery rates, FDR) < 0.05 且 P < 0.05。

统计学分析: 采用仙桃学术平台提供的生信工具 (<https://www.xiantao.love/products>), 应用 R 软件包 (3.6.3 版本) 进行统计学分析。临床病理参数分析, 组间比较采用 χ^2 检验, 生存分析采用 Kaplan-Meier 和 Log-rank 检验法, 单因素和多因素分析采用 Cox 回归模型, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。建立列线图模型预测 UM 患者的 OS, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料

将 TCGA 数据库中 UM 患者进行临床特征归类。80 例患者中女 35 例, 男 45 例; 年龄 ≤ 60 岁 40 例、 > 60 岁 40 例; 病理分期 II 期 39 例、III 期 36 例、IV 期 4 例 (80 例患者中有 1 例病理分期资料缺失, 予以排除); 临床分期 II 期 36 例、III 期 40 例、IV 期 4 例; SLC52A2 的表达水平按照中位数法分为 SLC52A2 高、低表达组 (各 40 例); 具体分组情况见表 1。分析 SLC52A2 在 UM 患者不同临床特征组的 mRNA 表达情况, 发现 SLC52A2 表达与 UM 患者的年龄、性别、病理分期及临床分期均无明显相关性 (表 1)。

2.2 SLC52A2 的表达与 UM 患者预后分析

与 SLC52A2 低表达组相比, 高表达组 UM 患者的 OS、DSS、PFI ($\chi^2 = 8.50, P = 0.004; \chi^2 = 7.52, P = 0.006; \chi^2 = 8.61, P = 0.003$) 均显著缩短。提示 SLC52A2 的表达与 UM 患者不良预后显著相关, SLC52A2 低表达患者生存预后明显优于 SLC52A2 高表达患者 (图 1)。

2.3 Cox 回归分析

对影响 UM 患者生存的因素进行单因素和多因素分析, 经单因素分析发现, 与低表达组相比, SLC52A2 高表达患者的 OS [$HR = 3.847 (1.462 \sim 10.122), P = 0.006$]、DSS [$HR = 3.624 (1.364 \sim 9.627), P = 0.010$]、PFI [$HR = 3.412 (1.428 \sim 8.150), P = 0.006$] 均存在明显差异, 患者的年龄、性别、病理分期及临床分期均未对患者的生存预后产生影响, 将上述 P < 0.1 的因素纳入 Cox 回归模型进行多因素分析, 结果显示 SLC52A2 高表达是影响 UM 患者预后的危险因素 (P < 0.05, 表 2~4)。

表 1 SLC52A2 高、低表达组与临床病理特征的相关性

分组	n	眼 (%)									
		年龄		性别		病理分期			临床分期		
		≤ 60 岁	> 60 岁	男	女	II 期	III 期	IV 期	II 期	III 期	IV 期
高表达组	40	21 (52)	19 (48)	24 (60)	16 (40)	21 (52)	15 (38)	3 (8)	19 (48)	18 (45)	3 (8)
低表达组	40	19 (48)	21 (52)	21 (52)	19 (48)	18 (45)	21 (52)	1 (2)	17 (42)	22 (55)	1 (2)
χ^2		0.200		0.457		2.218			1.511		
P		0.655		0.499		0.331			0.470		

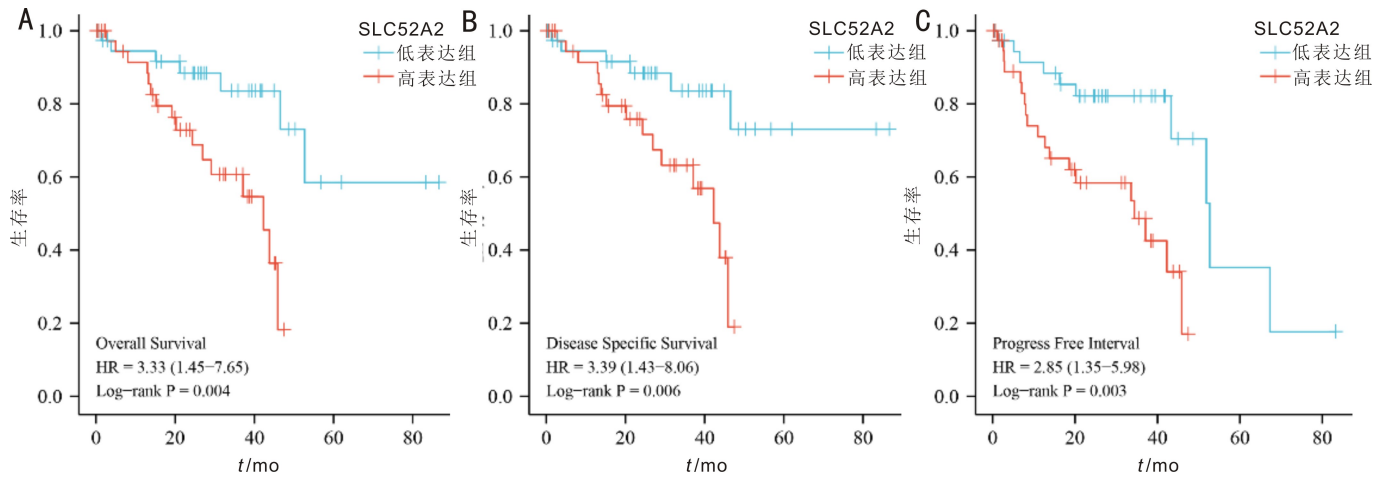


图1 SLC52A2的高表达和低表达组UM患者的生存曲线 A:OS;B:DSS;C:PFI。

表2 UM患者OS的单因素及多因素分析

分组	例数	单因素分析		多因素分析		
		HR(95%CI)	P	系数β	HR(95%CI)	P
SLC52A2 表达						
高表达组	40					
低表达组	40	3.847(1.462~10.122)	0.006	1.376	3.960(1.519~10.322)	0.005
年龄(岁)						
≤60	40					
>60	40	2.123(0.914~4.933)	0.080	0.817	2.266(0.968~5.303)	0.059
性别						
男	45					
女	35	1.542(0.651~3.652)	0.325			
病理分期						
II期	39					
III& IV期	40	1.502(0.629~3.585)	0.360			
临床分期						
II期	36					
III& IV期	44	1.718(0.704~4.193)	0.234			

表3 UM患者DSS的单因素及多因素分析

分组	例数	单因素分析		多因素分析		
		HR(95%CI)	P	系数β	HR(95%CI)	P
SLC52A2 表达						
高表达组	40					
低表达组	40	3.624(1.364~9.627)	0.010	1.288	3.624(1.364~9.627)	0.010
年龄(岁)						
≤60	40					
>60	40	1.872(0.785~4.461)	0.157			
性别						
男	45					
女	35	1.351(0.558~3.275)	0.505			
病理分期						
II期	39					
III& IV期	40	1.607(0.640~4.033)	0.312			
临床分期						
II期	36					
III& IV期	44	2.318(0.848~6.337)	0.101			

2.4 Nomogram 图的构建与验证 为建立适用于临床可以预测 UM 患者生存概率的方法,我们根据单因素和多变量 Cox 回归分析的结果,结合 SLC52A2 表达和临床病理学特征,开发了列线图预测模型[C-index:0.759(0.705~0.813), $P=0.0018$],预测1、2、3a的OS(图2A)。校准图显示预测生存率曲线与实际生存率曲线具有较好的一致性(图2B)。

2.5 SLC52A2 表达与免疫浸润及生物学功能分析 在 UM 中,SLC52A2 高、低表达组 Th2 细胞、Treg 细胞的浸润丰度分别比较,差异有统计学意义(均 $P<0.001$,图3A)。GSEA 分析表明,SLC52A2 高表达的组织中存在酪氨酸激

酶-信号转导与转录激活子(JAK-STAT)信号通路($FDR=0.028, P=0.004$)和磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸激酶(PI3K/AKT)信号通路($FDR=0.017, P=0.002$)相关基因富集(图3B、C),提示 JAK-STAT 和 PI3K/AKT 信号通路可能是 SLC52A2 参与 UM 预后的潜在调节通路。

3 讨论

随着基因测序技术的发展,目前已经发现一些对 UM 患者具有潜在预测价值的基因标志。现有的研究发现 UM 致癌基因突变主要包括 GNAQ 或 GNA11 功能获得性突变、抑癌基因组蛋白去泛素化酶 BAP1 缺失、剪切因子 SF3B1 基因突变^[13]。值得注意的是,部分 UM 患者并未发

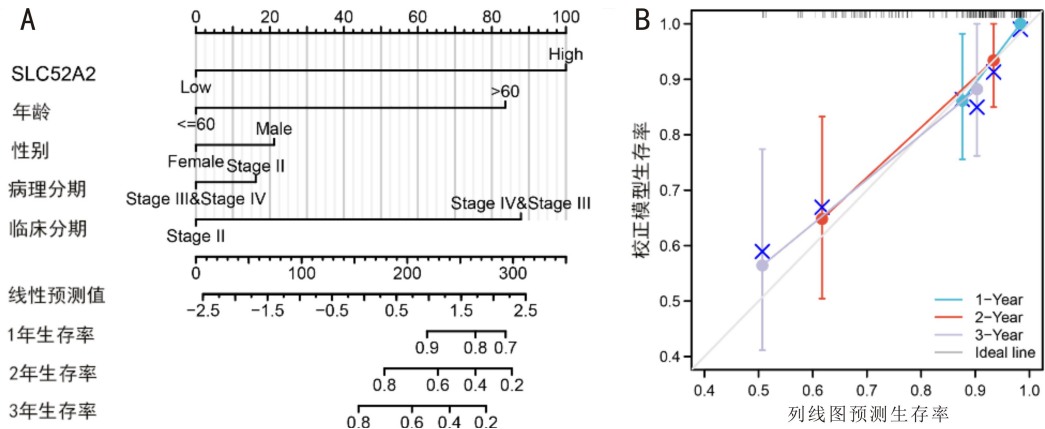


图2 预后列线图构建及预测能力 A:UM患者OS的预测模型;B:OS列线图与校准图。

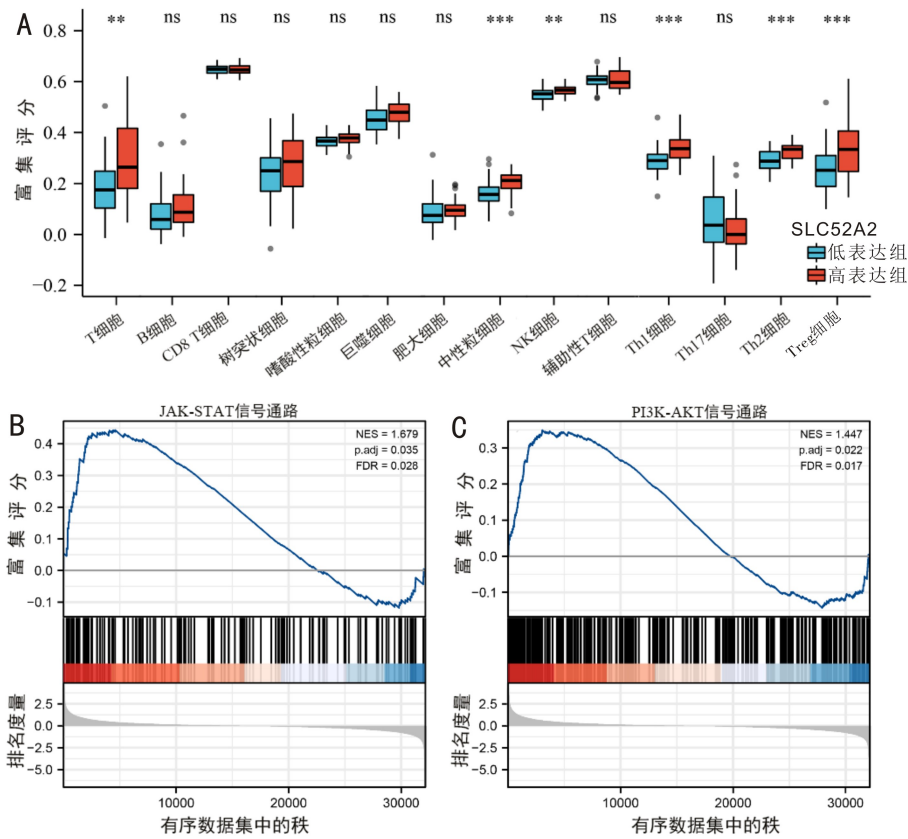


图3 SLC52A2 相关免疫细胞浸润及富集基因 A:不同 SLC52A2 表达水平的 UM 患者免疫浸润差异分析 (ns: 差异无统计学意义; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$); B: JAK-STAT 信号通路富集图; C: PI3K/AKT 信号通路富集图。

表4 UM患者PFI的单因素及多因素分析

分组	例数	单因素分析		多因素分析			
		HR (95%CI)	P	系数 β	HR (95%CI)	P	
SLC52A2 表达	高表达组	40	3.412 (1.428~8.150)	0.006	1.227	3.412 (1.428~8.150)	0.006
	低表达组	40					
年龄 (岁)	≤ 60	40	1.387 (0.663~2.902)	0.386			
	> 60	40					
性别	男	45	0.820 (0.393~1.710)	0.597			
	女	35					
病理分期	II 期	39	1.398 (0.654~2.987)	0.387			
	III & IV 期	40					
临床分期	II 期	36	1.619 (0.748~3.507)	0.222			
	III & IV 期	44					

生典型的遗传学基因突变,但预后属于最差类型^[13],这提示存在其他因素参与UM的发病及进展。因此寻找更多具有较高预测准确性的生物标志物不仅利于UM的早期诊断和预后判断,而且有望发现新的治疗靶点,加深对UM进展机制的认识。

SLC52A2基因在肝癌、宫颈鳞癌、宫颈腺癌及肾透明细胞癌等多种恶性肿瘤中表达,与肿瘤的发生发展密切相关^[10]。本研究对TCGA数据库中80例UM患者的临床信息进行Cox单因素回归分析,提示SLC52A2的表达是UM的预后影响因素,患者的年龄、性别、病理分期、临床分期均未对UM的预后产生影响($P>0.05$)。进一步将各项因素纳入Cox多因素回归分析,结果显示SLC52A2的高表达是影响UM预后的危险因素。开发线列图预测模型,并通过校准图比对验证一致性,提示SLC52A2作为UM预后标志物具有一定的准确性。因此,在临床上,我们可以对UM患者行基因检测,筛查出SLC52A2高表达的患者,术后加强随访,并适时接受相应辅助治疗,可能对延长患者的总存活时间具有一定的积极作用。

免疫细胞浸润和肿瘤微环境在癌症的发生发展中发挥着关键作用^[14]。本研究分析多个数据库表明SLC52A2的表达水平与Treg细胞、Th2细胞浸润增加有关。既往的研究证实Tregs通过抑制自然杀伤细胞(NK)、CD4⁺及CD8⁺T淋巴细胞等表达、迁移到肿瘤局部,发挥抗肿瘤免疫逃逸作用^[15]。在肝癌中肿瘤相关巨噬细胞(TAM)浸润可以通过表达细胞因子和趋化因子吸引Tregs至癌症部位,Tregs通过释放转化生长因子- β (TGF- β)、白介素-10(IL-10)和白介素-35(IL-35)来限制抗肿瘤免疫反应,从而促进肝癌进展和远处转移^[16]。Th2表达增高可以介导肿瘤的免疫逃逸^[17]。Th2主要介导机体体液免疫,分泌IL-4、IL-6和IL-10等细胞因子,主要作用是限制Th1的保护性免疫。在恶性肿瘤患者中,免疫应答通常向Th2偏倚,Th2表达上调,形成一种免疫豁免微环境^[18],机体处于免疫抑制状态,肿瘤细胞脱离免疫监视发生免疫逃逸,促进了肿瘤细胞的生长与转移^[19-21]。在UM患者中,SLC52A2高表达,Treg细胞和Th2细胞浸润水平亦高,患者的预后越差。因此我们推测Treg细胞、Th2细胞浸润增高可能是SLC52A2致UM患者预后不佳的机制之一。

GSEA富集分析显示,SLC52A2正相关的基因富集在PI3K/AKT信号通路和JAK-STAT信号通路上,提示PI3K/AKT和JAK-STAT信号通路可能是UM的潜在调节途径。PI3K/AKT通路具有复杂的生物学功能,包括调控细胞凋亡、迁移与侵袭、调节细胞周期,参与肿瘤耐药与肿瘤免疫逃逸等^[22]。目前已证实,PI3K/AKT通路与食管癌、卵巢癌、肺癌等肿瘤的发生、发展存在密切联系^[23-25]。在UM中,PI3K/AKT信号通路也是被活化的,且该通路的活化与GNAQ突变密切相关^[22]。因此SLC52A2可能通过参与调节PI3K/AKT通路的活化来影响UM患者的预后。JAK-STAT通路是由细胞因子刺激的信号转导通路,参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等许多重要的生物学过程^[26-27]。当PI3K/AKT、JAK-STAT信号通路被阻断时,可使多种肿瘤相关mRNA转录中断,从而干扰肿瘤细胞增殖和转移^[28-31]。PI3K/AKT和JAK-STAT信号通路作为肿瘤治疗的新靶点,也是目前研究的热点方向^[27,32-33]。我们推测SLC52A2可能通过激活PI3K/AKT和JAK-STAT信号通路,破坏UM患者免疫微环境,促进

肿瘤细胞增殖和转移。但是SLC52A2基因对UM患者预后产生影响的具体机制,以及各信号通路的明确作用有待进一步探索。

综上所述,本研究通过TCGA数据库,挖掘SLC52A2表达水平的信息,发现SLC52A2的表达量与UM患者的总体生存期有关,SLC52A2高表达是UM患者预后的危险因素,并初步分析了可能的机制,为靶向药物的研发提供了新思路,在未来开展联合靶向治疗可能发挥优势,对提高患者的远期生存率具有重要意义。本研究数据虽来源于数据库,但临床资料客观完整,在一定程度上具有代表性,能为进一步的研究提供参考依据,在后续研究中,仍需进一步丰富临床资料,并增加动物模型体内实验深入验证。

参考文献

- 1 Xue MJ, Shang J, Chen BL, et al. Identification of prognostic signatures for predicting the overall survival of uveal melanoma patients. *J Cancer* 2019;10(20):4921-4931
- 2 张举,魏文斌,李彬,等.葡萄膜黑色素瘤和视网膜组织相关性的病理学分析. *国际眼科杂志* 2020;20(2):197-202
- 3 余霄.葡萄膜黑色素瘤的治疗现状. *眼科新进展* 2019;39(4):398-400
- 4 季赛燕,鲍泳扬,任伟民,等.老年患者葡萄膜黑色素瘤的临床病理分析. *中国临床研究* 2023;36(3):421-424, 429
- 5 陈源,黄正如.上皮细胞型与混合型葡萄膜黑色素瘤的生物信息学分析. *国际眼科杂志* 2020;20(2):300-306
- 6 Liu YM, Li Y, Wei WB, et al. Clinical characteristics of 582 patients with uveal melanoma in China. *PLoS One* 2015;10(12):e0144562
- 7 Salvatorelli L, Puzzo L, Russo A, et al. Immunoexpression of SPANX-C in metastatic uveal melanoma. *Pathol Res Pract* 2019;215(7):152431
- 8 Violanti SS, Bononi I, Gallenga CE, et al. New insights into molecular oncogenesis and therapy of uveal melanoma. *Cancers* 2019;11(5):694
- 9 王玉凤,乔建治,梁莉.miR-126-3p靶向AKT2对葡萄膜黑色素瘤细胞增殖、迁移、侵袭的影响. *中国老年学杂志* 2022;42(19):4802-4806
- 10 Zhang LL, Li M, Cui ZJ, et al. Systematic analysis of the role of SLC52A2 in multiple human cancers. *Cancer Cell Int* 2022;22(1):8
- 11 Yao Y, Yonezawa A, Yoshimatsu H, et al. Identification and comparative functional characterization of a new human riboflavin transporter hRFT3 expressed in the brain. *J Nutr* 2010;140(7):1220-1226
- 12 Powers HJ. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am J Clin Nutr* 2003;77(6):1352-1360
- 13 中国医药教育协会眼科专业委员会,中华医学会眼科学分会眼整形眼眶病学组,中国抗癌协会眼肿瘤专业委员会.中国葡萄膜黑色素瘤诊疗专家共识(2021年). *中华眼科杂志* 2021;57(12):886-897
- 14 Klauschen F, Müller KR, Binder A, et al. Scoring of tumor-infiltrating lymphocytes: from visual estimation to machine learning. *Semin Cancer Biol* 2018;52(Pt 2):151-157
- 15 张卓,王夫景,康悦.大肠癌肿瘤微环境中Th17细胞与调节性T细胞的作用及临床意义. *国际免疫学杂志* 2017;40(4):459-462
- 16 王琦琦,叶必成,王昌成.基于TCGA数据库分析AHS1表达与肝细胞癌预后的相关性. *实用临床医药杂志* 2022;26(1):8-17
- 17 Li XN, Pan X, Qiu D. Imbalances of Th17 and Treg cells and their respective cytokines in COPD patients by disease stage. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(12):5324-5329
- 18 Kiyomi A, Makita M, Ozeki T, et al. Characterization and clinical implication of Th1/Th2/Th17 cytokines produced from three-dimensionally cultured tumor tissues resected from breast cancer patients. *Transl Oncol* 2015;8(4):318-326
- 19 刘小丽,杨志明,王黎黎,等.卵巢癌细胞转移与组织、外周血中

T淋巴细胞亚群失衡的相关性分析. 中国医师进修杂志 2017;40(5):390-394

20 Lin W, Niu ZY, Zhang HL, *et al.* Imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg during the development of uterine cervical cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2019;12(9):3604-3612

21 Xue B, Liu XL, Dong WW, *et al.* EGCG maintains Th1/Th2 balance and mitigates ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium through TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in rats. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2017;2017:3057268

22 Qiu HF, Li J, Clark LH, *et al.* JQ1 suppresses tumor growth via PTEN/PI3K/AKT pathway in endometrial cancer. *Oncotarget* 2016;7(41):66809-66821

23 Zhu XB, Li ZZ, Li TT, *et al.* Osthole inhibits the PI3K/AKT signaling pathway via activation of PTEN and induces cell cycle arrest and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2018;102:502-509

24 Cai J, Xu LJ, Tang HJ, *et al.* The role of the PTEN/PI3K/Akt pathway on prognosis in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. *Oncologist* 2014;19(5):528-535

25 de Marco C, Laudanna C, Rinaldo N, *et al.* Specific gene expression signatures induced by the multiple oncogenic alterations that occur within the PTEN/PI3K/AKT pathway in lung cancer. *PLoS One* 2017;12(6):e0178865

26 王思亮, 朱喜科. JAK-STAT 信号转导通路调控胰腺癌的研究进展. 国际免疫学杂志 2018;41(5):582-585

27 Yeh CM, Chang LY, Lin SH, *et al.* Epigenetic silencing of the NR4A3 tumor suppressor, by aberrant JAK/STAT signaling, predicts prognosis in gastric cancer. *Sci Rep* 2016;6:31690

28 Deng FL, Ouyang MW, Wang XF, *et al.* Differential role of intravenous anesthetics in colorectal cancer progression: implications for clinical application. *Oncotarget* 2016;7(47):77087-77095

29 Jeon SH, Yoo JK, Kim CM, *et al.* The novel hsa-miR-12528 regulates tumorigenesis and metastasis through hypo-phosphorylation of AKT cascade by targeting IGF-1R in human lung cancer. *Cell Death Dis* 2018;9(5):493

30 Mamane Y, Petroulakis E, Rong LW, *et al.* eIF4E—from translation to transformation. *Oncogene* 2004;23(18):3172-3179

31 Wang GM, Ren ZX, Wang PS, *et al.* Plasmid-based Stat3-specific siRNA and GRIM-19 inhibit the growth of thyroid cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Rep* 2014;32(2):573-580

32 Dituri F, Mazzocca A, Giannelli G, *et al.* PI3K functions in cancer progression, anticancer immunity and immune evasion by tumors. *Clin Dev Immunol* 2011;2011:947858

33 Khanna P, Chua PJ, Bay BH, *et al.* The JAK/STAT signaling cascade in gastric carcinoma (Review). *Int J Oncol* 2015;47(5):1617-1626