

# 差异甲基化区域与肺腺癌发生发展的关系

李晓晗<sup>1</sup>, 曹国磊<sup>2</sup>, 牛海文<sup>1</sup>, 何丽丽<sup>2</sup>, 曹嘉芮<sup>1</sup>, 罗琴<sup>2</sup>

(1. 新疆医科大学第三临床医学院, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学附属肿瘤医院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘要:** [目的] 探讨差异化甲基区域与肺腺癌发生发展的关系。 [方法] 收集新疆医科大学附属肿瘤医院 2019 年 1—12 月肺腺癌患者及健康对照组外周血各 4 例, 采用 Illumina 高通量测序平台和 850K 芯片甲基化检测平台分别检测 8 例外周血基因谱数据, 并以  $P < 0.05$  为标准筛选差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 及差异甲基化区域, 进一步行 DNA 甲基化-基因表达联合分析得到目的基因。 [结果] 筛选出 1 111 个有意义的 DEGs; 针对 DEGs 各个区段甲基化的情况, 筛选出 4 519 个差异甲基化基因, 对比各组 DNA 甲基化和组间差异表达的全部基因, 筛选出显著性差异表达基因和差异甲基化的基因, 筛选得到 6 个目的基因, 即 *CCR7*、*CD27*、*DSC1*、*LEF1-AS1*、*SLC8A1* 和 *LRRN3*。GO 功能分析显示差异甲基化区域在生物学途径、细胞成分和分子功能等方面密切相关。在 GO 功能和 KEGG 通路中, 肺癌发生可能涉及 CCL19 和 CCL21 信号通路、缝隙连接、桥粒等分子机制, 以及参与 cGMP·PKG 信号通路和钙离子信号通路等相关通路。 [结论] *CCR7*、*CD27*、*DSC1* 等甲基化的状态以及 NFKB1-CCR7、STAT3-DSC1、SP1-CCR7 等转录因子-基因表达调控网络可能参与肺癌的发生发展; 差异甲基化区域在 JNK 通路及钙离子等信号通路中发挥着重要作用。

**关键词:** 肺腺癌; DNA 甲基化; 基因表达; 生物信息学

**中图分类号:** R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)07-0574-05

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.07.B008

## Relationship of Differentially Methylated Regions with Lung Adenocarcinoma

LI Xiao-han<sup>1</sup>, CAO Guo-lei<sup>2</sup>, NIU Hai-wen<sup>1</sup>, HE Li-li<sup>2</sup>, CAO Jia-rui<sup>1</sup>, LUO Qin<sup>2</sup>

(1. The Third Clinical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the relationship of differentially methylated regions with lung adenocarcinoma. [Methods] Peripheral blood samples were collected from 4 patients with lung adenocarcinoma and 4 healthy controls in the Affiliated Cancer Hospital of Xinjiang Medical University from January 2019 to December 2019. Illumina high-throughput sequencing platform and 850K chip (Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip chip) and methylation detection platform were used to detect the peripheral blood gene profile. The differentially expressed genes (DEGs) and differentially methylated regions were screened when  $P < 0.05$ . Further DNA methylation-gene expression combined analysis was performed to obtain the target gene. [Results] A total of 1 111 significant DEGs and 4 519 differentially methylated genes were screened out, the genes with DNA methylation and differential expression were compared between two groups. Six significantly differentially expressed genes and significantly differentially methylated genes were identified, namely *CCR7*, *CD27*, *DSC1*, *LEF1-AS1*, *SLC8A1*, and *LRRN3*. Gene Ontology analysis of target gene showed that these genes were closely related in biological pathways, cellular components and molecular functions. KEGG pathway indicated their roles in signaling pathways such as cGMP·PKG pathway and calcium ions. [Conclusion] The methylation status of *CCR7*, *CD27*, *DSC1*, NFKB1-CCR7, STAT3-DSC1, SP1-CCR7 and other transcription factor-gene expression regulatory networks may be involved in the occurrence and development of lung cancer; differentially methylated regions have important role in JNK signaling pathway and calcium ions signaling pathway and other related pathways.

**Subject words:** lung adenocarcinoma; DNA methylation; gene expression; bioinformatics

DNA 甲基化是表观遗传修饰的主要形式, 基因

甲基化是导致细胞增殖失控的重要原因, 甲基化改变基因表达的速率, 并使重要的细胞过程失活, 如细胞周期调节、DNA 修复、细胞黏附、侵袭和迁移、凋亡, 进而导致包括癌症在内的各种人类疾病的基因

**基金项目:** 国家自然科学基金(81760014); 新疆自治区科技支撑项目计划(2019E0281)

**通信作者:** 罗琴, E-mail: 1046258997@qq.com

**收稿日期:** 2021-11-15; **修回日期:** 2022-05-01

组不稳定<sup>[1]</sup>。DNA 甲基化可能参与包括肺腺癌在内的恶性肿瘤发生。本研究拟通过 Illumina 高通量测序平台筛选肺腺癌患者组与健康对照组外周血中差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs), 850K 芯片甲基化检测平台(Illumina Infinium Methylation EPIC BeadChip 芯片)在全基因组水平检测差异甲基化区域,根据差异表达基因各个区段的差异甲基化情况筛选出显著性相关的目的基因,同时对目的基因行转录因子-靶基因进行预测,从而构建转录因子-基因表达调控网络,并利用 Gene Ontology 数据库和 KOBAS 软件对差异甲基化区域所对应目的基因行进一步 GO 功能(gene ontology, GO)和 KEGG 通路分析,旨在探讨差异甲基化引起的基因表达在肺腺癌发病中的作用机制,为肺腺癌的诊治提供参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取新疆医科大学附属肿瘤医院 2019 年 1—12 月肺腺癌患者与正常对照人群外周血标本各 4 例,并对外周血白细胞进行 DNA 提取。

纳入标准:经组织病理学诊断为肺腺癌且无其他病理学类型肿瘤;排除标准:无心脑血管疾病、传染病、肝肾疾病、肺栓塞的患者。对照组选取标准:同时期就诊新疆医科大学附属肿瘤医院的无恶性肿瘤病史,无心脑血管疾病、肝肾疾病、传染病、血液病等年龄相当者作为对照组。研究获取新疆医科大学附属肿瘤医院伦理委员会批准(伦理审批号:2019BC007),研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 实验方法

DNA 提取:抽取患者及对照组人群外周血液标本于全血 DNA 试管内,储存于-80℃冰箱,由北京博奥晶典技术公司对样本进行总 DNA 提取和质量检查。

DNA 甲基化:采用 850K 芯片甲基化检测平台对各样本差异甲基化区域进行检测和分析,经过芯片扫描和数据提取得到原始数据,通过 R 包 ChAMP,获得每个位点的原始信号值和 DetectionP 等信息,然后对数据进行质控,再对探针类型偏倚校正后得到最终可用于差异分析的甲基化水平(Beta 值),采用 Bumphunter 方法寻找差异甲基化区域( $P <$

0.05),其中  $\text{Log}_2\text{FC} > 0$  为高甲基化, $\text{Log}_2\text{FC} < 0$  为低甲基化。

差异表达基因的筛选:采用 Illumina 高通量测序对 8 个样本进行测序,结果数据在质控后与参考基因组序列比对及序列组装,采用 StringTie 软件进行表达量 Readcount 计算,然后计算基因和转录本的碱基片段(FPKM)。通过样品间的皮尔逊相关系数  $|r| \leq 1$  来评估样本一致性。利用 Limma 包进行生物学重复或配对的差异比较,差异基因筛选标准为: $|\text{Log}_2\text{FC}| \geq 1$  且  $P = 0.05$ ,分析上调和下调的 DEGs,提取的 DEGs 进行基因名注释。

DNA 甲基化-基因表达联合分析:整理 DEGs 各个区段的差异甲基化情况,根据 DNA 甲基化和基因表达数据共表达分析,计算基因上游区域(mRNA 指基因的 TSS1500、TSS200、5' UTR 和 1stExon)DNA 甲基化 Beta 值和基因表达值的 Pearson 相关性,筛选显著性负相关的基因。

构建转录因子-基因表达调控网络:采用 JASPAR 或 TRANSFAC 数据库对筛选到的基因进行转录因子-靶基因预测,从而构建转录因子-基因表达调控网络。

功能富集分析:采用 KOBAS 软件,根据筛选出来的 DEGs 进行 GO 功能分析和 KEGG 通路分析,了解其功能及可能参与的通路。

### 1.3 统计学处理

符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间独立样本均数间比较采用  $t$  检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验,两变量之间的相关性采用 Spearman 相关性分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肺腺癌患者和健康对照组基因表达谱比较

DNA 测序及 R 语言筛选结果显示,对比健康对照组外周血标本,肺腺癌组共筛选出 1 111 个有意义的 DEGs( $P < 0.05$ ),包括 561 个上调基因( $\text{Log}_2\text{FC} > 0$ )和 550 个下调基因( $\text{Log}_2\text{FC} < 0$ )。

针对 DEGs 各个区段甲基化的情况,筛选出 4 519 个差异甲基化基因( $P < 0.05$ ),其中 3 223 个表现为高甲基化(甲基化  $\Delta\text{Beta}$  值  $> 0$ ),1 296 个表现为低甲基化(甲基化  $\Delta\text{Beta}$  值  $< 0$ )。mRNA 可将基因

区域分为 TSS1500、TSS200、5' UTR、1st Exon 和 3'UTR。

对 DNA 甲基化和基因表达数据进行联合分析，筛选出 TSS 区域以及 5'UTR 区域差异甲基化且与表达负相关的基因，结果发现 6 个目的基因，即位于 17 号染色体的 *CCR7* (TSS1500,  $P=0.017$ )、位于 12 号染色体的 *CD27*(TSS1500,  $P=0.017$ )、位于 18 号染色体的 *DSC1* (TSS1500,  $P=0.017$ )、位于 4 号染色体的 *LEF1-AS1* (TSS1500,  $P=0.003$ )、位于 2 号染色体的 *SLC8A1*(TSS1500,  $P=0.015$ )、位于 7 号染色体的 *LRRN3*(TSS1500,  $P=0.024$ )(Table 1)。

根据 TSS 区域与基因表达显著性负相关表达分析出来的结果，采用 JASPAP 或者 TRANSFAC 数据库对以上筛选出来的目的基因进行预测调控这部分基因的转录因子(transcription factor, TF),筛选到 STAT3、NFKB1、SP1、MAX、BCL11A 等 28 个,进而构建转录因子-基因表达调控网络,即 NFKB1-CCR7、STAT3-DSC1、SP1-CCR7、CTCF-LRRN3 等调控网络(Figure 1)。

## 2.2 TSS 区域差异甲基化且差异表达基因的 GO 功能和 KEGG 通路分析

### 2.2.1 GO 功能分析

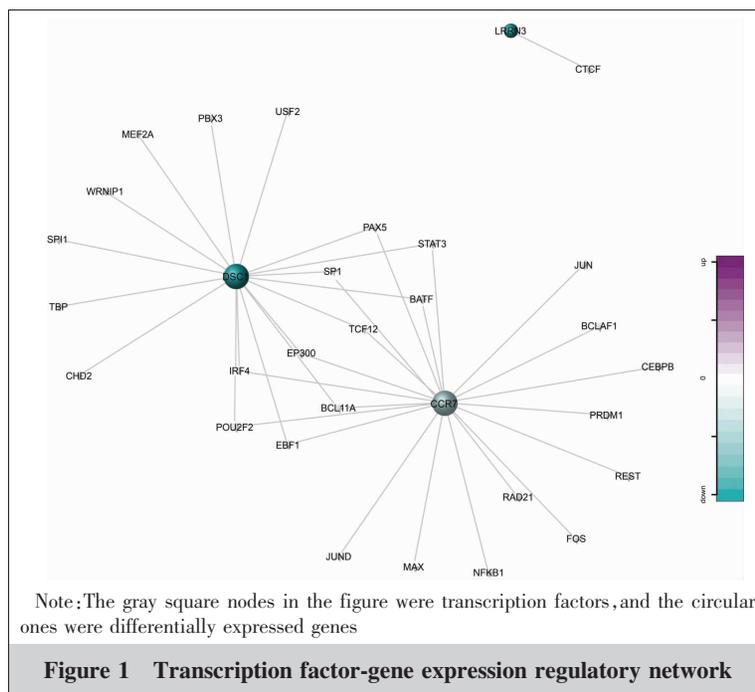
GO 功能分析主要包括三个部分,即生物学途径、细胞成分和分子功能。GO 功能以  $P<0.05$  为标准筛选出的 6 个目的基因,即 *CCR7*、*CD27*、*DSC1*、*LEF1-AS1*、*SLC8A1* 和 *LRRN3*。在生物学途径方面,主要在 CCL21、JNK 等途径中发挥作用;在细胞成分中,主要与桥粒、缝隙连接等组分密切相关;在分子功能中,主要在 CCL19、CCL21 等功能中有着一定的关系(Table 2)。

### 2.2.2 KEGG 通路分析

根据筛选出的 6 个目的基因,即 *CCR7*、*CD27*、*DSC1*、*LEF1-AS1*、*SLC8A1*、*LRRN3* 进行 KEGG 通路分析,以  $P<0.05$  为筛选标准得到最显著性的 30 条通路。目的基因主要富集于 cGMP·PKG 信号通路,钙通道以及肾上腺素能等信号通路,与肺腺癌的发生、转移、预后等存在密切的联系(Table 3)。

**Table 1** Result of significant negative correlation between TSS region of differential gene and gene expression in healthy control and lung adenocarcinoma

Gene name	Chr	Log <sub>2</sub> FC	Beta_Difference	P	Correlation	UCSC_REF-GENE_NAME
<i>CCR7</i>	17	-1.029	0.114	0.017	-0.801	TSS1500
<i>CD27</i>	12	-1.108	0.066	0.017	-0.802	TSS1500
<i>DSC1</i>	18	-4.824	0.060	0.017	-0.800	TSS1500
<i>LEF1-AS1</i>	4	-2.188	0.022	0.003	-0.889	TSS1500
<i>SLC8A1</i>	2	1.165	-0.028	0.015	-0.811	TSS1500
<i>CD27</i>	12	-1.108	0.141	0.041	-0.727	TSS200
<i>LRRN3</i>	7	-3.125	0.026	0.024	-0.776	5'UTR



**Figure 1** Transcription factor-gene expression regulatory network

## 3 讨论

基因表达是指 DNA 通过转录编码为有生物学活性的 RNA,再经过翻译合成蛋白质的过程<sup>[2]</sup>。本研究利用高通量甲基化检验平台检测肺腺癌患者及健康对照在全基因组中的 DEGs 及目的基因甲基化水平,进而得到 6 个 DEGs,即 *CCR7*、*CD27*、*DSC1*、*LEF1-AS1*、*SLC8A1* 和 *LRRN3*。已有研究表明 *CCR7* 基因在肺腺癌中表达上调,随着肿瘤进展而表达降低,其中 *CCR7* 中有一个 miRNA 靶点可作为预测肺癌靶向治疗的指标<sup>[3]</sup>。本研究结果显示 *CCR7* 高甲基化,据此推测 *CCR7* 高甲基化可能使该基因表达降低,或与晚期肺腺癌发生密切相关。本研究表明 *CD27* 高甲基化与肺腺癌的发生密切相关。研究表

**Table 2 GO functional analysis of significant enrichment of DEGs in lung adenocarcinoma compared with healthy control**

GO category	Item description
Biological_process GO Term	
GO:2000107	Negative regulation of leukocyte apoptotic process
GO:0038116	Chemokine (C-C motif) ligand 21 signaling pathway
GO:0038115	Chemokine (C-C motif) ligand 19 signaling pathway
GO:0097022	Lymphocyte migration into lymph node
GO:0046330	Positive regulation of JNK cascade
Cellular_component GO Term	
GO:0009897	External side of plasma membrane I
GO:0016021	Integral component of membrane
GO:0005921	Gap junction
GO:0005911	Cell-cell junction
GO:0030057	Desmosome
Molecular_function GO Term	
GO:0038117	C-C motif chemokine 19 receptor activity
GO:0038121	C-C motif chemokine 21 receptor activity
GO:0005031	Tumor necrosis factor-activated receptor activity
GO:0001637	G-protein coupled chemoattractant receptor activity
GO:0043027	Cysteine-type endopeptidase inhibitor activity involved in apoptotic process

**Table 3 KEGG pathway analysis with significant enrichment of DEGs in lung adenocarcinoma versus healthy control**

KEGG pathway ID	Pathway description
hsa04060	Cytokine e-cytokine receptor interaction
hsa04974	Protein digestion and absorption
hsa04022	cGMP·PKG signaling pathway
hsa05202	Transcriptional misregulation in cancer
hsa04062	Chemokine signaling pathway
hsa04961	Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption
hsa04978	Mineral absorption
hsa04020	Calcium signaling pathway
hsa04740	Olfactory transduction
hsa04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes

明 CD27 作为新一代免疫检查点抑制剂,目前正作为肺癌在内的多种肿瘤辅助疗法,研究证实阿霉素、米托蒽醌和伊立替康在 NSCLC 患者中对 CD27 有抑制作用<sup>[4]</sup>。已有学者研究发现 *DSC1* 在肺腺癌中高表达,其表达降低与肺癌的预后不良有关<sup>[5]</sup>。本研究结果表明 *DSC1* 高甲基化导致其水平降低。已有大量研究证实 *LEF1-AS1* 在肺癌中过表达,可通过 *LEF1-AS1/miR-544a/FOXP1* 轴、*LEF1-AS1* 调节 *miR-221/PTEN* 信号通路等促进肺肿瘤细胞的增殖、转移等<sup>[6-7]</sup>。本研究结果显示 *LEF1-AS1* 高甲基化在肺癌

患者外周血中高表达,我们推测 *LEF1-AS1* 可能通过自身的表观遗传学修饰等机制在肺癌中有着双面效应。研究表明吸烟者的 *LRRN3* 启动子区域 DNA 低甲基化,其作为 CDPC1 相关的转录本<sup>[8-9]</sup>。CDPC1 是一种跨膜非催化受体,已被证明在肺癌细胞中高表达。*SLC8A1* 在原发性膀胱癌组织和细胞中均下调<sup>[10]</sup>,*SLC8A1* 低甲基化对肺癌的影响较少报道,有待进一步研究。

转录因子是一类具有特殊功能的蛋白质,可以与 DNA 序列的特定区域结合,进而对靶基因的表达及转录进行调节。根据 TSS 区域显著性差异甲基化且差异表达的基因有 *DSC1*、*CCR7* 和 *LRRN3*,根据基因筛选可调控这部分基因的转录因子有 *STAT3*、*NFKB1*、*SP1* 等 28 个,共同构建了转录因子-基因表达调控网络。研究表明 *NFKB1* 是一类重要的 TF,参与肺腺癌 TF-基因表达调控网络,*NFKB1* 作为 *CCR7* 的关键调节因子,对目的基因 *CCR7* 在肺癌中的高表达起着重要作用<sup>[3]</sup>,与肺癌的发生及淋巴结转移有着密切联系,本研究结果与其一致。*JAK/STAT3* 信号通路可导致炎症产生,*STAT3* 作为 TF 可抑制 *DSC1* 的表达<sup>[11]</sup>。我们推测转录因子 *STAT3* 调控 *DSC1* 在肺癌中低表达,从而影响肺癌的发生。*CCR7* 和

*JAK/STAT3* 信号通路在肺癌治疗中起着重要作用<sup>[12]</sup>。在癌细胞中转录因子 *SP1* 可正向调节 *CCR7* 转录<sup>[13]</sup>,*CCR7* 可能通过 *SP1* 上调乙酰肝素酶的表达,并有助于肺癌细胞的侵袭<sup>[14]</sup>。*SP1-CCR7* 调控网在本研究中也得到了证实。本研究所筛选出来的转录因子 *TBP*、*CHD2*、*BCL11A*、*MAX*、*CTCF* 等与目的基因 *DSC1*、*CCR7*、*LRRN3* 形成的转录因子-基因表达调控网络。

根据 GO 功能及 KEGG 通路分析,*CCR7/CCL19*、*CCR7/CCL21* 轴与 NSCLC 侵袭、转移有着密切

切的联系,同时 CCL21 通过改变细胞内  $Ca^{2+}$  的浓度促进肺癌的迁移<sup>[15-16]</sup>。研究表明 JNK 通路、cGMP·PKG 在肺癌中高表达<sup>[17-18]</sup>, Nilsson 等<sup>[19]</sup> 学者研究证实肺癌细胞表达  $\beta$ -肾上腺素能受体( $\beta$ -ARs)。钙是调节许多细胞过程所需的第二信使,可在体外和体内促进肿瘤细胞分裂、抑制细胞凋亡和加速肿瘤生长<sup>[20]</sup>。已有大量研究表明,调节桥粒、缝隙连接的基因表达等对肿瘤的产生、转移等有着重要的影响<sup>[21]</sup>。本研究 GO 功能细胞成分显示,细胞成分的变化和细胞之间的连接方式等对肿瘤有着一定的影响。

综上所述, DNA 甲基化、TF 等都可能是导致肺腺癌发生的重要因素。CCR7、CD27、DSC1 等甲基化的状态,以及 NFKB1-CCR7、STAT3-DSC1、SP1-CCR7、CTCF-LRRN3 等转录因子-基因表达调控网络等调控着肺癌的发生发展。在 GO 功能和 KEGG 通路中, DNA 甲基化状态及转录因子可能参与肺腺癌的发生。

## 参考文献:

- [1] Ebrahimi V, Soleimani A, Ebrahimi T, et al. Epigenetic modifications in gastric cancer: focus on DNA methylation[J]. *Gene*, 2020, 742: 144577.
- [2] Liang W, Lin Z, Du C, et al. mRNA modification orchestrates cancer stem cell fate decisions[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 38.
- [3] Liu F, Wu H. CC chemokine receptors in lung adenocarcinoma: the inflammation-related prognostic biomarkers and immunotherapeutic targets[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 267-285.
- [4] Ye Q, Singh S, Qian PR, et al. Immune-omics networks of CD27, PD1, and PDL1 in non-small cell lung cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(17): 4296.
- [5] Cui T, Chen Y, Yang L, et al. Diagnostic and prognostic impact of desmocollins in human lung cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(12): 1100-1106.
- [6] Wang A, Zhao C, Gao Y, et al. LEF1-AS1 contributes to proliferation and invasion through regulating miR-544a/FOXP1 axis in lung cancer[J]. *Invest New Drugs*, 2019, 37(6): 1127-1134.
- [7] Xiang C, Zhang Y, Zhang Y, et al. lncRNA LEF1-AS1 promotes proliferation and induces apoptosis of non-small-cell lung cancer cells by regulating miR-221/PTEN signaling[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 3845-3850.
- [8] Ohmomo H, Harada S, Komaki S, et al. DNA methylation abnormalities and altered whole transcriptome profiles after switching from combustible tobacco smoking to heated tobacco products [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2022, 31(1): 269-279.
- [9] Dagnino S, Bodinier B, Guida F, et al. Prospective identification of elevated circulating CDCP1 in patients years before onset of lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(13): 3738-3748.
- [10] He H, Wu S, Ai K, et al. lncRNA ZNF503-AS1 acts as a tumor suppressor in bladder cancer by up-regulating  $Ca^{2+}$  concentration via transcription factor GATA6 [J]. *Cell Oncol (Dordrecht)*, 2021, 44(1): 219-233.
- [11] Dao T, Song K, Kim JY, et al. Igalan from *Inula helenium* (L.) suppresses the atopic dermatitis-like response in stimulated HaCaT keratinocytes via JAK/STAT3 signaling [J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(3): 309-319.
- [12] Zhang Y, Yang X, Liu H, et al. Inhibition of tumor lymphangiogenesis is an important part that EGFR-TKIs play in the treatment of NSCLC[J]. *Cancer*, 2020, 11(1): 241-250.
- [13] Al Akoum C, Akl I, Rouas R, et al. NFAT-1, Sp-1, Sp-3, and miR-21: new regulators of chemokine C receptor 7 expression in mature human dendritic cells [J]. *Hum Immunol*, 2015, 76(5): 307-317.
- [14] Chuang C, Pan M, Hou M, et al. Cyclooxygenase-2 up-regulates CCR7 expression via AKT-mediated phosphorylation and activation of Sp1 in breast cancer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(2): 341-348.
- [15] Baran K, Kiszalkiewicz J, Migdalska-Sek M, et al. An assessment of the relationship between the expression of CCR7/CCL19 axis and selected regulatory miRNAs in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(5): 5389-5396.
- [16] Liu J, Zhang L, Wang C. CCL21 modulates the migration of NSCLC cancer by changing the concentration of intracellular  $Ca^{2+}$ [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(2): 481-486.
- [17] Bayarri MA, Milara J, Estornut C, et al. Nitric oxide system and bronchial epithelium; more than a barrier [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 687381.
- [18] Ochieng JK, Kundu ST, Bajaj R, et al. MBIP (MAP3K12 binding inhibitory protein) drives NSCLC metastasis by JNK-dependent activation of MMPs[J]. *Oncogene*, 2020, 39(43): 6719-6732.
- [19] Nilsson MB, Le X, Heymach JV. Beta-adrenergic signaling in lung cancer: a potential role for beta-blockers[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2020, 15(1): 27-36.
- [20] Wang WJ, Mao LF, Lai HL, et al. Dolutegravir derivative inhibits proliferation and induces apoptosis of non-small cell lung cancer cells via calcium signaling pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105129.
- [21] Hao X, Han F, Ma B, et al. SOX30 is a key regulator of desmosomal gene suppressing tumor growth and metastasis in lung adenocarcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 111.