

肿瘤实验室研究专题 · 论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.07.001

基于 TCGA 数据库分析 ANO1 在结肠癌中的表达及临床意义^{*}

张 喆,陈俊杰,武冠廷,支 尹,陈国梁,董晓强[△],何宋兵[#]
苏州大学附属第一医院普外科,江苏苏州 215006

摘要:**目的** 研究 ANO1 基因在结肠癌中的表达情况,进一步分析 ANO1 对结肠癌患者生存及预后的影响。**方法** 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库获得结肠癌 mRNA 表达谱数据和相应的临床信息,分析 ANO1 的差异表达及其与临床病理因素的相关性;进一步探索 ANO1 表达量对结肠癌患者预后的影响,利用基因集富集分析(GSEA)预测可能与 ANO1 密切相关的信号通路。**结果** 结肠癌肿瘤组织中 ANO1 相对表达量明显高于癌旁组织($P<0.01$);ANO1 表达水平与 N 分期即淋巴结转移情况有关($P<0.05$),与年龄、性别、肿瘤分期,以及肿瘤是否突破肌层、是否存在远处转移均无相关性($P>0.05$);ANO1 高表达患者总生存期明显缩短($P<0.05$);Cox 多因素分析可见年龄及 ANO1 表达状态是结肠癌患者不良预后的独立影响因素($P<0.05$);ANO1 高表达样本富集至钙离子信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、WNT 及多个癌症相关通路等基因集。**结论** ANO1 在结肠癌肿瘤中高表达是患者不良预后的指标,且与淋巴结转移情况明显相关。ANO1 有望成为结肠癌重要的预后标志物。

关键词: ANO1; 结肠癌; TCGA 数据库; 预后
中图法分类号: R735.3+5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2021)07-0865-05

Analysis of the expression and clinical significance of ANO1 in colon cancer based on TCGA database^{*}

ZHANG Zhe, CHEN Junjie, WU Guanting, ZHI Yin, CHEN Guoliang,
DONG Xiaoqiang[△], HE Songbing[#]
Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215006, China

Abstract:**Objective** To investigate the influence of ANO1 gene expression on survival and prognosis of colon cancer patients. **Methods** The colon cancer data set was downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA) to obtain the ANO1 expression profile and clinical information. The difference of ANO1 expression and its correlation with clinical pathological factors were analyzed to elucidate the influence of ANO1 expression on the prognosis of patients with colon cancer. Gene set enrichment analysis (GSEA) was used to predict the regulatory signaling pathways of ANO1. **Results** The expression level of ANO1 mRNA in tumor tissues of colon cancer was significantly higher than in para-carcinoma tissues ($P<0.01$). N stage, also referred to lymph node metastasis correlated with ANO1 expression level ($P<0.05$), while age, gender, tumor stage, muscularis breakthrough and distant metastasis) were not correlated ($P>0.05$). The overall survival of patients with high ANO1 expression significantly shortened ($P<0.05$). Cox multivariate analysis showed that age and ANO1 expression status were the independent factor affecting poor prognosis in colon cancer patients ($P<0.05$). GSEA showed that high expression samples of ANO1 were enriched to such gene sets as calcium ion signaling pathway, MAPK, WNT and multiple cancer-related pathways. **Conclusion** ANO1 significantly up-regulated in colon cancer and correlated with lymph node metastasis. Its high expression is an indicator of poor prognosis in patients. ANO1 could be a potential prognostic marker of colon cancer.

Key words: ANO1; colorectal cancer; TCGA database; prognosis

结肠癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,在所有 癌症相关病死率中的排名仅次于肺癌^[1],特别是已经

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81672348);江苏省自然科学基金项目(BK20191172);江苏省“科教强卫工程”青年医学人才项目(QN-RC2016735);江苏省研究生科研创新项目(KYCX19_1993)。

作者简介:张喆,男,硕士研究生在读,主要从事胃肠外科临床研究。 [△] 通信作者, E-mail: dongxq@hotmail.com。 [#] 共同通信作者, E-mail: hesongbing1979@suda.edu.cn。

本文引用格式:张喆,陈俊杰,武冠廷,等. 基于 TCGA 数据库分析 ANO1 在结肠癌中的表达及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18 (7): 865-868.

发生远处转移的晚期患者,5 年生存率更是不足 10%,且近年来发病年龄呈现年轻化趋势^[2]。结肠癌具有高度异质性的特点,即使同一类型具有相似特征的肿瘤也会出现不同的生物学行为。随着精准医疗时代下全基因组测序技术的飞速发展,传统的诊疗手段已经不能满足人们个体化治疗的需求。因此从分子水平区分个体差异,探索肠癌相关特异性基因,是完善结肠癌诊疗及预后评估体系的重要途径。

ANO1 也被称为跨膜蛋白 16A(TMEMP16A),是钙激活的氯离子通道的分子基础,该基因定位于染色体 11q13,编码具有 8 个结构域的跨膜蛋白^[3]。ANO1 在体内各组织中广泛存在,参与不同的信号传导途径,调节跨膜离子转运、细胞增殖、平滑肌收缩、神经和心脏兴奋性等多种生理功能^[4],近年来其在前列腺癌^[5]、头颈鳞癌^[6]、食管鳞癌^[7]、乳腺癌^[8]等多类肿瘤的进展中发挥作用也已有证实^[9-10]。ANO1 在胃肠道间质瘤(GIST)中的显著表达,被作为 GIST 临床诊断的特异性标志^[11],而有关 ANO1 在结肠癌中的表达及其临床意义的报道相对少见。本课题组利用癌症基因组图谱(TCGA)数据库研究了 ANO1 在结肠癌中的差异表达及其对患者预后的影响,旨在探讨 ANO1 在结肠癌发生、发展中的意义,以期对精准医疗下结肠癌的个体化诊疗提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 数据材料收集 从 TCGA 数据库(网址:https://portal.gdc.cancer.gov/)下载结肠癌数据集的 mRNA 表达 RNA-seq 数据及临床数据,得到 RNA-seq 研究样本共 437 例,纳入相关临床样本 385 例。

1.2 数据整理和基因差异分析 整理 RNA-seq 样本并使用 R 语言进行归一化处理,同时对患者临床数据进行筛选和整理,删除临床资料中失访及目标信息不完整的病例。提取 ANO1 单基因样本及相对应的临床资料样本,利用 R 语言 Wilcox. Test 方法鉴别目标基因在肿瘤和癌旁组织的表达差异。

1.3 ANO1 与临床病理参数和预后的相关性分析 根据 ANO1 表达数据由低至高排列,以表达量中位数为界限分别定义高、低表达组,研究 ANO1 表达与各临床病理参数的相关性。将各样本 ANO1 表达量和生存信息结合,利用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库对结肠癌数据集进行生存分析,进一步验证 ANO1 的预后价值。

1.4 基因集富集分析(GSEA) 使用 GSEA 3.0 版软件对应分析 ANO1 高表达组和低表达组对相关基因集的影响。选用 GSEA 中 c2. cp. kegg. V7. 0. symbols. gmt 规范化基因集,运用缺省加权富集统计方法,每次分析对基因组进行 1 000 次排列。

1.5 统计学处理 统计学分析使用 R3. 6. 1 版本软件。对 ANO1 基因在肿瘤组织和癌旁组织中表达量的差异分析采用 R 语言 Wilcox. Test 方法。采用 Kruskal. Test 和 Logistic 回归方法分析基因表达与临床特征的关系。结肠癌患者生存分析采用 Kaplan-

Meier 曲线联合 Log-rank 检验,单因素和多因素分析采用 Cox 回归模型。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。GSEA 中将错误发现率(FDR) <0.05 且 $P<0.05$ 作为显著性富集的判断标准。

2 结果

2.1 ANO1 在结肠癌肿瘤组织和癌旁组织中的表达 对 TCGA 中 ANO1 在结肠癌癌旁组织(39 例)和结肠癌肿瘤组织(398 例)中的相对表达量分析显示,在肿瘤组织中,ANO1 的表达量明显增高($P<0.01$),提示 ANO1 表达上调可能与结肠癌的发生有关。见图 1。

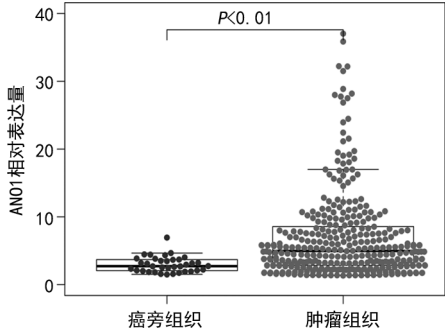


图 1 ANO1 在结肠癌肿瘤组织和癌旁组织中的表达

2.2 ANO1 表达与结肠癌临床病理因素的相关性 将 398 例结肠癌肿瘤样本 ANO1 mRNA 表达情况与相对应的临床病理参数进行分析,结果显示 ANO1 的表达与 N 分期即淋巴结转移情况有关,随着 N 分期的升高 ANO1 相对表达量递增($P<0.05$),见图 2。Logistic 回归分析结果显示,ANO1 的表达量与患者淋巴结转移情况相关($P<0.05$),而与年龄、性别、分期,以及肿瘤是否突破肌层、是否存在远处转移均无明显相关性($P>0.05$),见表 1。

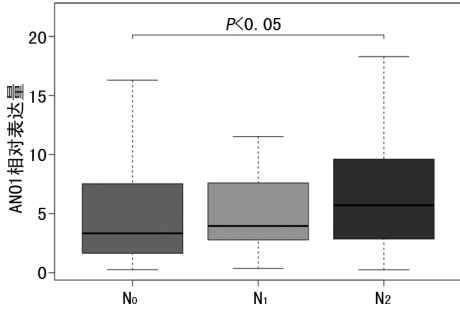


图 2 ANO1 相对表达量与 N 分期的相关性

表 1 ANO1 表达与结肠癌临床病理因素的相关性分析

项目	n	ANO1 表达量 OR(95%CI)	P
年龄(>60 岁 vs. ≤60 岁)	385	0.97(0.63~1.52)	0.912
性别(女性 vs. 男性)	385	1.12(0.83~1.50)	0.304
位置(肿瘤组织 vs. 癌旁组织)	437	3.17(1.56~7.01)	0.002
分期(Ⅲ期 vs. Ⅰ期)	167	1.57(0.84~2.94)	0.160
突破肌层(有 vs. 无)	384	1.21(0.73~2.01)	0.457
远处转移(有 vs. 无)	340	1.26(0.70~2.29)	0.441
淋巴结转移(有 vs. 无)	385	1.67(1.12~2.58)	0.012

注:OR 为比值比。

2.3 ANO1 表达对结肠癌患者预后的影响 以 ANO1 相对表达量中位数为界将结肠癌患者分为高表达和低表达组,生存分析结果显示,ANO1 高表达和低表达患者 1、3、5 年生存率分别为 0.83、0.70、0.52 和 0.90、0.82、0.70,差异有统计学意义($P<0.05$),提示 ANO1 高表达可能与结肠癌的不良预后有关,见图 3。单因素 Cox 分析结果提示,年龄、T 分期、N 分期、M 分期及 ANO1 表达量能够影响患者总体生存时间($P<0.05$),而性别对预后情况并无明显影响。将以上因素纳入 Cox 回归模型进行多变量分析,结果显示,除年龄外,只有 ANO1 表达量是患者预后的独立影响因素($HR=1.03$,95%CI:1.00~1.06, $P=0.047$)。见表 2。

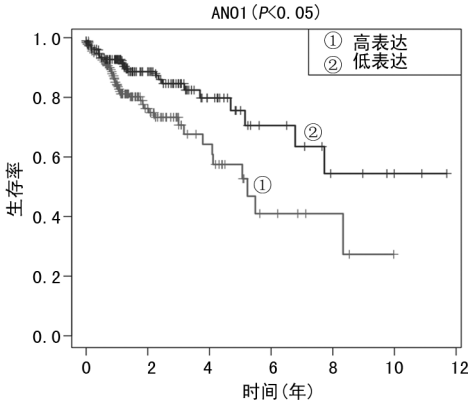


图 3 ANO1 表达量与结肠癌患者预后的关系

表 2 影响预后参数的单因素和多因素分析

项目	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄	1.03	1.01~1.06	0.018	1.04	1.01~1.06	0.004
性别	1.13	0.67~1.90	0.655	1.00	0.59~1.70	0.998
肿瘤分期	2.50	1.85~3.38	<0.001	1.71	0.73~4.03	0.220
T 分期	2.93	1.74~4.92	<0.001	1.42	0.75~2.66	0.279
N 分期	2.18	1.61~2.94	<0.001	1.19	0.71~1.99	0.518
M 分期	5.22	3.06~8.91	<0.001	1.64	0.51~5.29	0.409
ANO1 表达量	1.04	1.01~1.08	0.001	1.03	1.01~1.06	0.047

注:HR 为风险比。

2.4 ANO1 相关富集基因集 GSEA 结果显示,ANO1 高表达样本富集至钙离子信号通路和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、WNT、JAK/STAT、HEDGEHOG、NOTCH 肠癌相关信号通路等基因集;同时,ANO1 对胰腺癌、前列腺癌等多个癌症通路的激活亦有促进作用,提示 ANO1 高表达可能与肠癌发生和进展密切相关。见表 3。

表 3 GSEA 中 ANO1 相关富集基因集

富集通路	ES	NES	P	FDR
癌症通路	0.555	2.223	0.002	<0.001
钙离子信号通路	0.573	2.214	<0.001	<0.001
WNT 信号通路	0.507	2.113	0.002	0.002
JAK/STAT 信号通路	0.555	2.111	<0.001	0.002
MAPK 信号通路	0.505	2.051	0.002	0.002
胰腺癌通路	0.561	2.018	0.004	0.005
HEDGEHOG 信号通路	0.581	2.017	0.002	0.005
前列腺癌通路	0.532	1.976	0.004	0.006

注:ES 为富集分数;NES 为标准化富集分数;FDR 为多重假设检验校正后的 P 值。

3 讨论

结肠癌的发生是一个多基因共同参与的多阶段复杂过程,涉及遗传学和表观遗传学相关分子表达的改变,具有高度异质性^[12]。结肠癌起病隐匿,多数患

者出现临床症状时已错过最佳的治疗时机。精准医疗的时代背景下,医学研究者对于疾病的转归需要有更深层次的认识,因此,从基因水平研究结肠癌的发生、发展,以期获得更有效的预后标志物和治疗靶点,是近年来结肠癌的研究热点。

2008 年,CAPUTO 等^[13]研究证实 ANO1 是经典的钙激活氯离子通道蛋白家族中的一员,肿瘤细胞内外离子转运的异常对肿瘤细胞增殖和凋亡等活动有重要影响,上皮细胞钙离子稳态被破坏及细胞膜表面离子通道表达异常是诱导癌症进展的原因之一^[14]。ANO1 所位于的人类染色体 11q13 区域,其在多种上皮组织来源癌症中发生扩增和该区域部分基因在相关肿瘤发生、发展中的作用,已引起众多学者的关注。

ANO1 通过其氯离子通道蛋白活性参与肿瘤细胞增殖和侵袭,影响相关肿瘤的进展^[15]。LIU 等^[16]在前列腺癌的研究中,通过不同方法沉默内源性 ANO1 可抑制肿瘤细胞增殖和转移,证明了 ANO1 在前列腺癌肿瘤中过表达,并与肿瘤细胞增殖及高风险转移密切相关,可作为前列腺癌诊断和预后的潜在生物标志物。一项关于头颈鳞癌的研究表明,ANO1 可作为头颈鳞癌远处转移的标志物,是影响淋巴结转移和晚期分期的因素之一^[17]。此外,ANO1 在乳腺癌^[8]、肺癌^[18]等肿瘤中的促癌作用已被证实,ANO1 过表达有望成为肿瘤不良预后的标志物^[19]。SUI 等^[20]关

于 ANO1 与结肠癌关系的研究发现,敲除大肠癌 ANO1 后可明显抑制肿瘤细胞的增殖。

本研究利用 TCGA 数据库进一步验证了 ANO1 在结肠癌中的表达对预后生存的影响,结果发现肿瘤组织中 ANO1 表达明显高于癌旁组织,ANO1 高表达可促进淋巴结转移,与 N 分期相关。本研究结果与 AYOUB 等^[17] 和 RODRIGO 等^[21] 的结论相似。ANO1 过表达促进癌细胞增殖和淋巴结转移,从而增加患者不良预后的可能性。在进一步的生存和预后分析中可以看到,ANO1 高表达结肠癌患者的远期生存率显著下降,是不良预后的独立影响因素,进一步说明 ANO1 基因可作为评价结肠癌患者临床预后的指标。

恶性肿瘤的发生、发展往往受特定的信号转导通路影响,钙离子和氯离子通路参与细胞凋亡,在癌症发生和进展中发挥作用^[22-23]。MAPK 信号通路在肿瘤的发生和进展中具有重要意义。通过自身氯离子通道活性来激活和影响 MAPK 细胞内信号传导通路可能是 ANO1 参与调节结肠癌细胞增殖和转移的另一条重要途径^[24]。此外,ANO1 还可通过干扰 CAMK、HEDGEHOG、EGFR 等其他信号通路的活动来影响癌细胞的生物学行为^[19],部分结果在本研究中也得到了验证。GSEA 结果显示,ANO1 高表达样本除了在钙离子信号通路高度富集,同时也富集至 MAPK、WNT、JAK/STAT、HEDGEHOG、NOTCH 等肠癌相关通路等基因集,不仅如此,ANO1 对前列腺癌、胰腺癌、肾细胞癌、小细胞肺癌对多个癌症通路的激活亦有促进作用。由此可以推测 ANO1 可以通过对多条信号通路的调节影响多种肿瘤的发生和进展。

综上所述,本研究利用 TCGA 数据库,通过生物信息学分析,进一步证实了 ANO1 基因在结肠癌中高表达且与患者淋巴结转移相关,是结肠癌患者不良预后的标志物,补充了结肠癌的诊疗和预后体系。另外,ANO1 参与调节多条癌症相关信号通路有可能成为结肠癌靶向治疗的新药物靶点,为精准时代下个体化诊疗提供方向。本研究选择的数据库样本量较大,数据库的可信度较高,但仍存在不足之处,因 TCGA 数据库所提供的数据均为 mRNA 水平,并不能完全反映 ANO1 在蛋白水平的实际表达情况,后续本课题组将结合病理免疫组织化学方法进一步研究和探讨 ANO1 在结肠癌中的临床意义及其相关分子机制。

参考文献

- [1] 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, 68(6): 394-424.
- [2] The Lancet Oncology. Colorectal cancer; a disease of the young[J]. Lancet Oncol, 2017, 18(4): 413.
- [3] PEDEMONTE N, GALIETTA L J. Structure and func-

- tion of TMEM16 proteins(anoctamins)[J]. Physiol Rev, 2014, 94(2): 419-459.
- [4] PICOLLO A, MALVEZZI M, ACCARDI A. TMEM16 proteins: unknown structure and confusing functions[J]. J Mol Biol, 2015, 427(1): 94-105.
- [5] SONG Y, GAO J, GUAN L, et al. Inhibition of ANO1/TMEM16A induces apoptosis in human prostate carcinoma cells by activating TNF- α signaling[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(6): 703.
- [6] PÉREZ SAYÁNS M, CHAMORRO PETRONACCI C M, LORENZO POUSO A I, et al. Comprehensive genomic review of TCGA Head and Neck Squamous Cell Carcinomas(HNSCC)[J]. J Clin Med, 2019, 8(11): 1896.
- [7] SONG Y, LI L, OU Y, et al. Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer[J]. Nature, 2014, 509(7498): 91-95.
- [8] BAE J S, PARK J Y, PARK S H, et al. Expression of ANO1/DOG1 is associated with shorter survival and progression of breast carcinomas[J]. Oncotarget, 2018, 9(1): 607-621.
- [9] BILL A, ALEX GAITHER L. The mechanistic role of the calcium-activated chloride channel ANO1 in tumor growth and signaling[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 966: 1-14.
- [10] SHIWARSKI D J, SHAO C, BILL A, et al. To "grow" or "go": TMEM16A expression as a switch between tumor growth and metastasis in SCCHN[J]. Clin Can Res, 2014, 20(17): 4673-4688.
- [11] ZHANG W, SCHMELZEISEN S, PARTHIER D, et al. Anoctamin calcium-activated chloride channels may modulate inhibitory transmission in the cerebellar cortex[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142160.
- [12] PORCELLINI E, LAPROVITERA N, RIEFOLO M, et al. Epigenetic and epitranscriptomic changes in colorectal cancer: diagnostic, prognostic, and treatment implications[J]. Cancer Lett, 2018, 419: 84-95.
- [13] CAPUTO A, CACI E, FERRERA L, et al. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity[J]. Science, 2008, 322(5901): 590-594.
- [14] FRASER S P, DISS J K, CHIONI A M, et al. Voltage-gated sodium channel expression and potentiation of human breast cancer metastasis[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(15): 5381-5389.
- [15] WANG H, ZOU L, MA K, et al. Cell-specific mechanisms of TMEM16A Ca(2+)-activated chloride channel in cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 152.
- [16] LIU W, LU M, LIU B, et al. Inhibition of Ca(2+)-activated Cl(-) channel ANO1/TMEM16A expression suppresses tumor growth and invasiveness in human prostate carcinoma[J]. Cancer Lett, 2012, 326(1): 41-51.
- [17] AYOUB C, WASLYLYK C, LI Y, et al. ANO1 amplification and expression in HNSCC with a high propensity for future distant metastasis and its functions in HNSCC cell lines[J]. Br J Cancer, 2010, 103(5): 715-726.

(下转第 873 页)

- [9] 秦娟,王昕. 个体化循环肿瘤 DNA 标志物动态预测妇科肿瘤患者治疗[J]. 国际妇产科学杂志, 2016, 43(4): 478.
- [10] CASTLE P E, PIERZ A. (At least) once in her lifetime: global cervical cancer prevention[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2019, 46(1): 107-123.
- [11] 段伟,胡海峰,年亮,等. 763 例宫颈癌患者预后影响因素分析[J]. 延安大学学报(医学科学版), 2018, 16(1): 32-34.
- [12] 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, 68(6): 394-424.
- [13] 王宏景,夏林,耿建祥. 宫颈腺癌组织中人乳头瘤病毒感染型别分布的研究[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(12): 1291-1294.
- [14] LI Z, HONG N, ROBERTSON M, et al. Preoperative red cell distribution width and neutrophil-to-lymphocyte ratio predict survival in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7: 43001.
- [15] GRIVENNIKOV S I, GRETEN F R, KARIN M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. Cell, 2010, 140(6): 883-899.
- [16] RIBATTI D. The concept of immune surveillance against tumors. The first theories[J]. Oncotarget, 2017, 8(4): 7175-7180.
- [17] KHORANA A A, SOFF G A, KAKKAR A K, et al. Rivaroxaban for thromboprophylaxis in high-risk ambulatory patients with cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 380(8): 720-728.
- [18] VALLE-MENDIOLA A, GUTIERREZ-HOYA A, LAGUNAS-CRUZ M, et al. Pleiotropic effects of IL-2 on cancer: its role in cervical cancer[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 2849523.
- [19] LEE S, OH S Y, KIM S H, et al. Prognostic significance of neutrophil lymphocyte ratio and platelet lymphocyte ratio in advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX chemotherapy[J]. BMC Cancer, 2013, 13: 350.
- [20] GIESE M A, HIND L E, HUTTENLOCHER A. Neutrophil plasticity in the tumor microenvironment[J]. Blood, 2019, 133(20): 2159-2167.
- [21] TIAN C, SONG W, TIAN X, et al. Prognostic significance of platelet-to-lymphocyte ratio in patients with ovarian cancer: a meta-analysis[J]. Eur J Clin Invest, 2018, 48(5): e12917.
- [22] MEI Z B, DUAN C Y, LI C B, et al. Prognostic role of tumor PIK3CA mutation in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Oncol, 2016, 27(10): 1836-1848.
- [23] SHAO Y, GENG Y, GU W, et al. Assessment of lymph node ratio to replace the pN Categories system of classification of the TNM system in esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(10): 1774-1784.
- [24] LUÉ A, SERRANO M T, BUSTAMANTE F J, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts survival in European patients with hepatocellular carcinoma administered sorafenib[J]. Oncotarget, 2017, 8(61): 103077-103086.
- [25] KÄSMANN L, BOLM L, SCHILD S E, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts outcome in limited disease small-cell lung cancer[J]. Lung, 2017, 195(2): 217-224.

(收稿日期: 2020-07-24 修回日期: 2020-12-22)

(上接第 868 页)

- [18] JIA L, LIU W, GUAN L, et al. Inhibition of calcium-activated chloride channel ANO1/TMEM16A suppresses tumor growth and invasion in human lung cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0136584.
- [19] BRITSCHGI A, BILL A, BRINKHAUS H, et al. Calcium-activated chloride channel ANO1 promotes breast cancer progression by activating EGFR and CAMK signaling[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(11): E1026-E1034.
- [20] SUI Y, SUN M, WU F, et al. Inhibition of TMEM16A expression suppresses growth and invasion in human colorectal cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e115443.
- [21] RODRIGO J P, MARTÍNEZ P, ALLONCA E, et al. Immunohistochemical markers of distant metastasis in laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinomas[J]. Clin Exp Metastasis, 2014, 31(3): 317-325.
- [22] FUCHS Y, STELLER H. Live to die another way: modes of programmed cell death and the signals emanating from dying cells[J]. Nature Rev Mol Cell Biol, 2015, 16(6): 329-344.
- [23] WANITCHAKOOL P, OUSINGSAWAT J, SIRIANANT L, et al. Cl(-) channels in apoptosis[J]. Eur Biophys J, 2016, 45(7): 599-610.
- [24] DUVVURI U, SHIWARSKI D J, XIAO D, et al. TMEM16A induces MAPK and contributes directly to tumorigenesis and cancer progression[J]. Cancer Res, 2012, 72(13): 3270-3281.

(收稿日期: 2020-08-20 修回日期: 2020-12-28)