

六价铬致肺上皮细胞恶性转化的关键基因筛选——基于 GEO 数据库

刘妍, 朱勇, 徐艳琼, 张恒东, 朱宝立, 韩磊

江苏省疾病预防控制中心职业病防治所, 江苏省预防医学会, 江苏 南京 210028

摘要:

[背景] 六价铬 [Cr(VI)] 能够诱导肺上皮细胞恶性转化, 但其分子机制仍不十分明确。

[目的] 运用生物信息学分析方法挖掘 Cr(VI) 诱导肺上皮细胞恶性病变的关键基因并探讨其发生机制。

[方法] 从公共基因表达数据库 (GEO) 中下载与 Cr(VI) 毒效应相关的高通量基因表达谱数据, 通过对各数据集中差异表达基因取交集获得共表达的差异表达基因; 利用 DAVID 6.8 软件对所选择的差异表达基因进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路分析; 采用 STRING 数据库和 Cytoscape 3.8.2 构建蛋白质相互作用集合并进行可视化分析; 借助 GEPIA2 在线分析工具得到核心基因 (Hub 基因) 在肺癌中的表达情况。

[结果] 筛选出 GSE24025 和 GSE36684 数据集中差异共表达的差异表达基因共 234 个, 其中上调基因 99 个, 下调基因 135 个。GO 及 KEGG 分析结果主要富集在细胞黏附、负调节细胞增殖及转录失调等条目。基于 STRING 数据库生成蛋白相互作用 (PPI) 集合, 经 Cytoscape 软件筛选出 4 个得分较高的功能模块和 6 个 Hub 基因, 其中 *FBLN1* 在肺部各亚型肿瘤中的表达趋势均与表达谱筛选的结果一致。

[结论] Cr(VI) 染毒引起肺上皮细胞多个基因的差异表达, 涉及细胞形态、运动、生存及与癌症相关的表型功能和信号通路受到影响。*FBLN1* 可能是细胞恶性病变的核心基因。

关键词: 六价铬; 公共基因表达数据库; 生物信息学分析; 差异表达基因; 核心基因

Key genes in malignant transformation of lung epithelial cells induced by hexavalent chromium based on GEO database LIU Xin, ZHU Yong, XU Yanqiong, ZHANG Hengdong, ZHU Baoli, HAN Lei (Institute of Occupational Disease Prevention, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Preventive Medicine Association, Nanjing, Jiangsu 210028, China)

Abstract:

[Background] Hexavalent chromium [Cr(VI)] can induce malignant transformation of lung epithelial cells, but its molecular mechanism is still unclear.

[Objective] This study aims to explore the key genes of Cr(VI)-induced malignant transformation of lung epithelial cells and the mechanism of the transformation by bioinformatics analysis.

[Methods] High-throughput gene expression profile data related to Cr(VI)-induced toxic effect was downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and the co-expressed genes were obtained by the intersection of differentially expressed genes in each dataset. DAVID 6.8 was used to analyze the function enrichment of gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways of the selected differential expression genes. STRING, and Cytoscape 3.8.2 were applied to construct and visualize the protein-protein interaction network. The expressions of Hub genes in lung tumor were obtained by GEPIA2.

[Results] A total of 234 differentially expressed genes were screened out from the GSE24025 and GSE36684 datasets, among which 99 genes were up-regulated while 135 genes were down-regulated. The results of GO and KEGG analyse were mainly concentrated in cell adhesion, negative regulation of cell proliferation, and transcription disorders. A rotein-protein interaction network was generated by STRING database and Cytoscape software. Four functional modules with high scores and 6 Hub genes were finally retrieved. The expression trend of *FBLN1* in lung

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21144

基金项目

中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所项目 (20210103)

作者简介

刘妍 (1983—), 男, 博士, 副主任医师;
E-mail: liux@jscdc.cn

通信作者

韩磊, E-mail: hanlei@jscdc.cn

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-04-05

录用日期 2021-09-13

文章编号 2095-9982(2021)12-1356-07

中图分类号 R114

文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21144

►引用

刘妍, 朱勇, 徐艳琼, 等. 六价铬致肺上皮细胞恶性转化的关键基因筛选——基于 GEO 数据库 [J]. 环境与职业医学, 2021, 38(12): 1356-1362.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21144

Funding

This study was funded.

Correspondence to

HAN Lei, E-mail: hanlei@jscdc.cn

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-04-05

Accepted 2021-09-13

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21144

► To cite

LIU Xin, ZHU Yong, XU Yanqiong, et al. Key genes in malignant transformation of lung epithelial cells induced by hexavalent chromium based on GEO database [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(12): 1356-1362.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21144

cancer subtypes was consistent with the results of transcriptome screening.

[Conclusion] Cr(VI) exposure causes the differential expression of multiple genes in lung epithelial cells, involving cell morphology, movement, survival fate, phenotype function and signal pathway related to cancer development. *FBLN1* may be the critical gene related to malignant cytopathy.

Keywords: hexavalent chromium; Gene Expression Omnibus; bioinformatics analysis; differentially expressed gene; Hub gene

铬及其化合物具有良好的化学特性,在金属表面处理、颜料及防腐材料、鞣革、有机合成等诸多方面应用广泛,是国民经济发展不可或缺的重要原料^[1]。全球各类铬盐年产量约 1600 万 t,数以百万计的工人有职业性铬化合物接触史。铬工业生产中主要产生六价铬 [Cr(VI)],是铬主要的毒性形式,其毒作用是三价铬 [Cr(III)] 的 100 倍,Cr(VI)也是常见的环境、职业重金属污染物^[2]。

Cr(VI)常以铬酸盐或重铬酸盐的形式存在,具有强氧化性,对畜禽有较强的毒性,并能诱导 DNA 突变,甚至引发肿瘤^[3]。国际癌症研究机构于 1990 年将 Cr(VI)明确归为 I 类致癌物(Group 1)。在我国已确定的 11 种职业性肿瘤中就有 Cr(VI)所致的肺癌。铬酸盐生产、色素生产、铬铁生产和镀铬等行业的工人在职业活动中,可通过呼吸道吸入含铬的气溶胶,引起途经器官的刺激症状,诱发鼻炎、气管炎、皮炎,严重者可造成鼻黏膜溃疡、穿孔等铬鼻病症状,甚至发生肺癌^[4]。流行病学研究表明,暴露于 Cr(VI)的工人肺癌发病率比正常人群高出 30~40 倍^[5]。实验数据揭示,Cr(VI)能够通过细胞膜特异性离子通道进入胞内,被逐步还原成五价铬 [Cr(V)]、四价铬 [Cr(IV)] 与 Cr(III);长期接触 Cr(VI)可诱导人肺上皮细胞产生氧化应激、DNA 损伤等一系列细胞事件,促进其恶性转化,进而导致肺脏的组织病理学改变^[6-8]。尽管对于 Cr(VI)化合物致癌作用的研究起步较早,通过人群流行病学调查和分子机制探索也取得了一些成果,但对 Cr(VI)暴露所致肺部损伤的毒作用机制尚不完全清楚。

因此,借助公共基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)收录的大量实验数据,利用生物信息学工具寻找相关资源并实施深度分析,有助于提炼研究成果的共性,降低单次实验的偶然性,提高过程效率和结果准确性,并且可以节约实验成本^[9]。本研究以 Cr(VI)暴露对人肺上皮细胞转录组的影响为切入点,利用 GEO 数据库寻找 Cr(VI)染毒模型相关的表达谱,鉴定差异表达基因并进一步进行功能和通路富集分析,进而构建相关蛋白网络去挖掘关键靶点,发现

Cr(VI)作用下基因表达的变化及细胞功能受到的关键影响,预测与 Cr(VI)诱导细胞表型改变及临床恶性转化相关的基因特征及价值,以期在 mRNA 层面发现细胞恶性转化过程的分子标志物,为早期干预 Cr(VI)引起的不良健康效应提供思路。

1 材料与方法

1.1 数据集的获取和资料整合

以“chromium OR Cr OR chromate”作为搜索关键词,以物种“Homo sapiens”为研究对象,从 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)中查找并选择研究类型为“Expression profiling by array”或“Expression profiling by high throughput sequencing”的数据集,获得针对人肺上皮细胞系 BEAS-2B 的表达谱数据 GSE24025 和 GSE36684^[10-11]。所取得的数据集均来自 GPL 6244 平台(Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array),其在原始实验设计阶段皆为低浓度 Cr(VI)诱导 BEAS-2B 细胞恶性转化模型。依据细胞转化实验的结果,选择软琼脂克隆形成实验中较小集落所关联的样本,作为化学物刺激早期事件来探讨 Cr(VI)的致癌机制。经筛选,GSE24025 包含 3 例 Cr(VI)处理样本,3 例对照样本;GSE36684 包含 6 例 Cr(VI)处理样本,11 例对照样本。最终合并纳入 9 例 Cr(VI)处理细胞株作为实验组,14 例正常细胞株作为对照组。

1.2 差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)的筛选

首先分别获取 GSE24025 和 GSE36684 数据集的 DEGs,然后将上调及下调基因各自取交集得到共表达的 DEGs。GEO 表达谱数据的下载采用 R 语言 AnnoProbe 包,基因差异表达分析采用 Tinyarray 包。DEGs 的筛选条件为差异倍数 $|\log_2 FC| \geq 1$ 及调整后 $P < 0.05$ 。

1.3 功能富集分析

利用 DAVID 6.8(<http://david.ncifcrf.gov>)在线分析工具对 DEGs 进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析^[12],并了解相关基因参与的生物学过程、关联的细胞组分和涉及的分子功能,以 $P < 0.05$ 及功能

条目涉及的基因数量作为纳入标准;同时进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,以通路涉及的基因数目作为纳入标准。通过在线数据库 TRRUST 2.0(<https://www.grnpedia.org/trrust/>)挖掘调控 DEGs 的关键转录因子^[13]。

1.4 蛋白质相互作用分析

将获得的 DEGs 上传至 STRING 数据库(<http://string-db.org/>)^[14],构建蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)集合,设定筛选条件为 combined score > 0.4。同时应用 Cytoscape 3.8.2 绘制 PPI 网络图^[15];借助 MCODE 插件对网络图中的相互作用基因进行筛选。依据 MCODE score 得到显著模块,将得分最高模块中的基因视为核心基因(Hub 基因)。

1.5 Hub 基因在肺癌中的表达分析

本研究选取的 GEO 数据集切入点均是基于肺上皮细胞构建的染毒模型,得到的 DEGs 很可能参与了 Cr(VI) 诱导的上皮细胞恶性转化。为进一步考证作为关键节点的 Hub 基因在肺部肿瘤中的潜在作用,从 GEPIA2(<http://gepia2.cancer-pku.cn/>)在线分析工具中选择肺癌数据后将 Hub 基因输入^[16],查看各基因在肿瘤组织与正常组织中的表达情况,与其在共表达谱中的表达趋势进行比对,并根据一致性遴选出关键的 Hub 基因。

1.6 数据分析方法

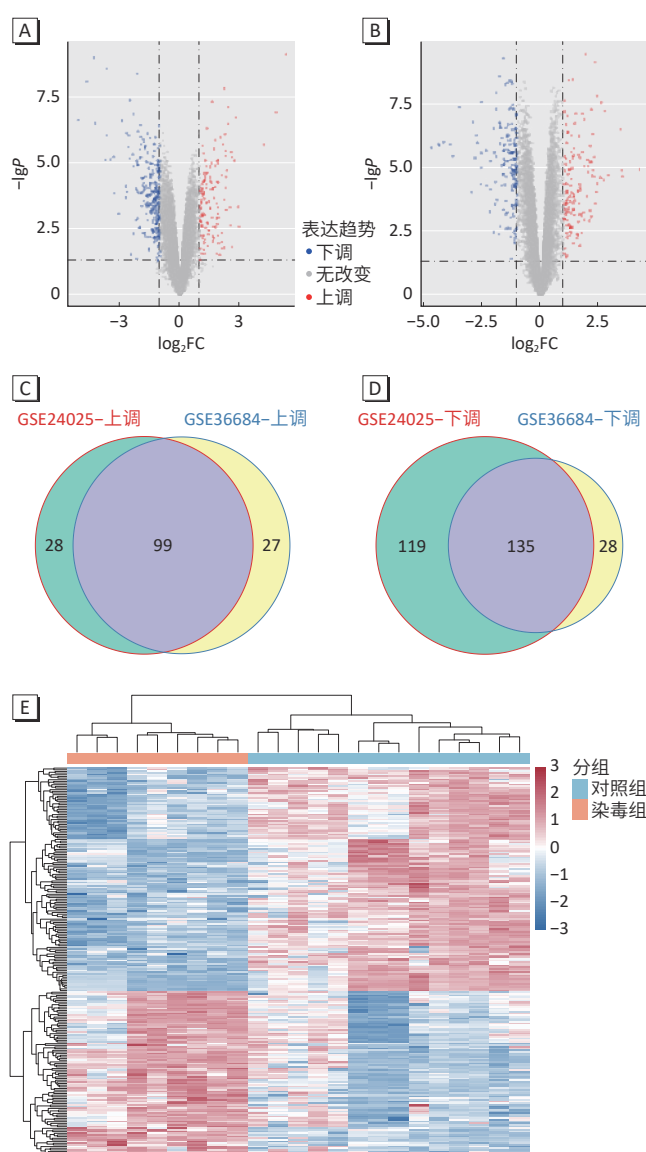
GEO 数据的清洗采用 dplyr 包,数据统计运算通过 R 包中的各个统计模块实现。数据结果的可视化采用 ggplot2、ggpubr 及 Vennerable 包等。

2 结果

2.1 DEGs 的筛选及共表达 DEGs 的获取

通过 AnnoProbe 包从 GEO 数据库得到 GSE24025 和 GSE36684 表达矩阵。以调整后 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| \geq 1$ 作为判断 DEGs 的条件,从 GSE24025 数据集中筛选出 DEGs 381 个,其中上调基因 127 个,下调基因 254 个;从 GSE36684 数据集中筛选出 DEGs 289 个,其中上调基因 126 个,下调基因 163 个。

分别绘制 GSE24025 和 GSE36684 数据集 DEGs 的火山图,上调基因标为红色,下调基因标为蓝色(图 1A、图 1B)。将 2 组 DEGs 取交集后利用 Vennerable 包制作维恩图,得到 234 个共表达 DEGs,其中上调基因 99 个,下调基因 135 个(图 1C、图 1D)。利用 Tinyarray 包绘制共表达 DEGs 的聚类热图(图 1E)。



[注] A: GSE24025 基因表达的火山图(红色为上调基因,蓝色为下调基因); B: GSE36684 基因表达的火山图(红色为上调基因,蓝色为下调基因); C: 上调 DEGs 的维恩图; D: 下调 DEGs 的维恩图; E: 共表达 DEGs 的聚类热图(色块为基因表达值:红色为表达上调,蓝色为表达下调)。

图 1 GSE24025 及 GSE36684 数据集的 DEGs 分析

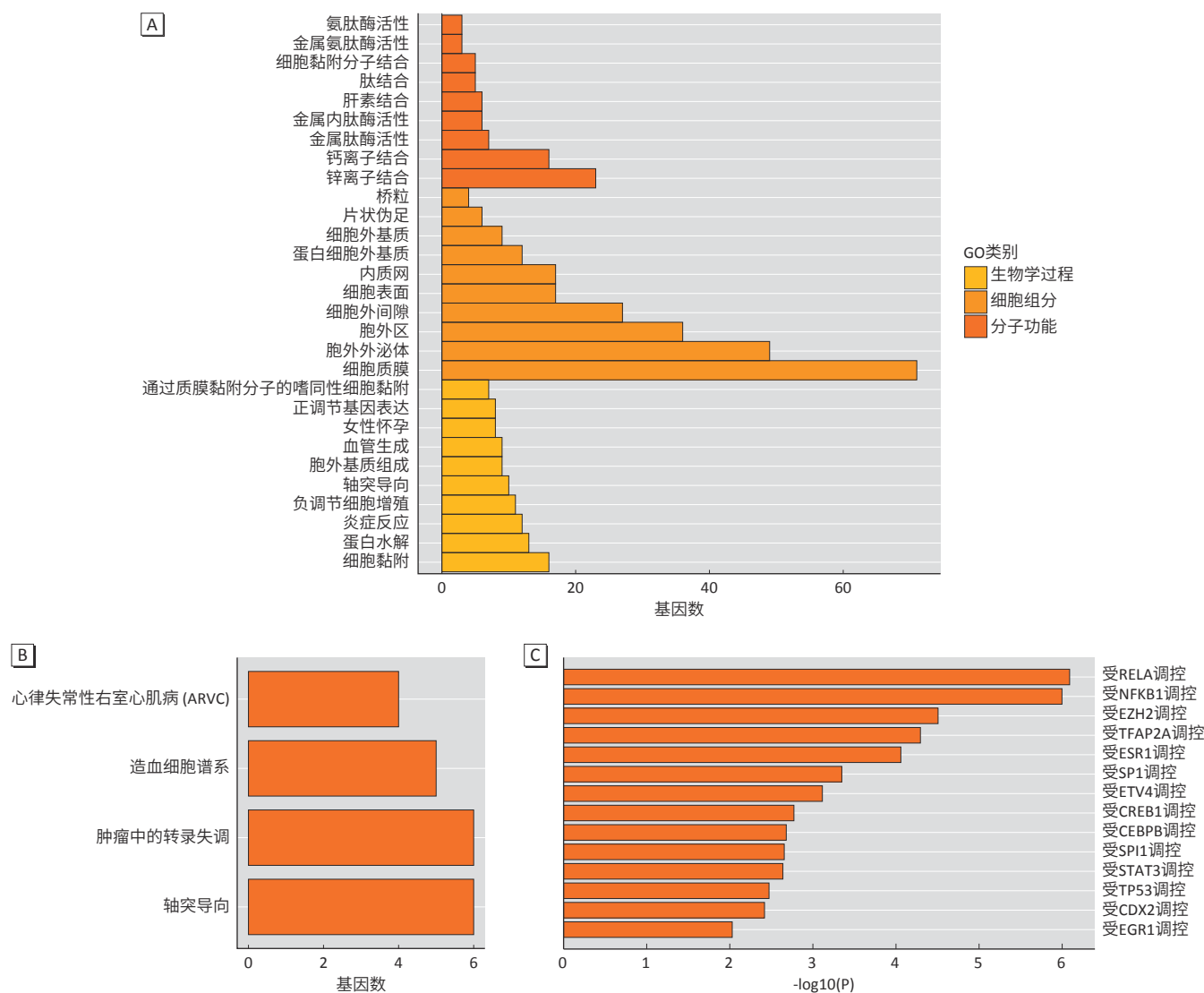
Figure 1 DEGs analysis of GSE24025 and GSE36684 datasets

2.2 共表达 DEGs 的功能富集分析结果

将 234 个 DEGs 导入 DAVID 6.8 数据库中进行 GO 及 KEGG 富集分析。对于 GO 分析的结果,选择 $P < 0.05$ 的条目,并按其在各个类别中富集到的基因数目进行排序,结果显示,这些基因参与细胞黏附、蛋白水解、免疫反应、负调节细胞增殖、轴突导向等生物学过程;分子功能涉及锌离子结合、钙离子结合、金属肽酶活性、金属内肽酶活性、肝素结合等;细胞组分结果提示 DEGs 主要与细胞质膜、外泌体、胞外区域、胞外空间、细胞表面等有关(图 2A)。对于 KEGG 分析的结果显示,信号通路富集共涉及 4 条通路,但 P 值均大于 0.05。

按照各条通路涉及的基因数目,包括轴突导向、肿瘤中的转录失调、造血细胞谱系及致心律失常性右室心肌病通路(图 2B)。将 DEGs 上传至人工注释的转录调

控网络数据库 TRRUST, 查询可能调节该组基因的关键转录因子。结果显示,RELA、NFKB1 及 EZH2 等蛋白因子最有可能影响上述差异表达基因的转录过程(图 2C)。



[注] A: 共表达 DEGs 的 GO 富集分析; B: 共表达 DEGs 的 KEGG 信号通路分析; C: 共表达 DEGs 的上游转录因子分析。

图 2 共表达 DEGs 的功能富集分析

Figure 2 Functional enrichment analysis of co-expressed DEGs

2.3 PPI 网络

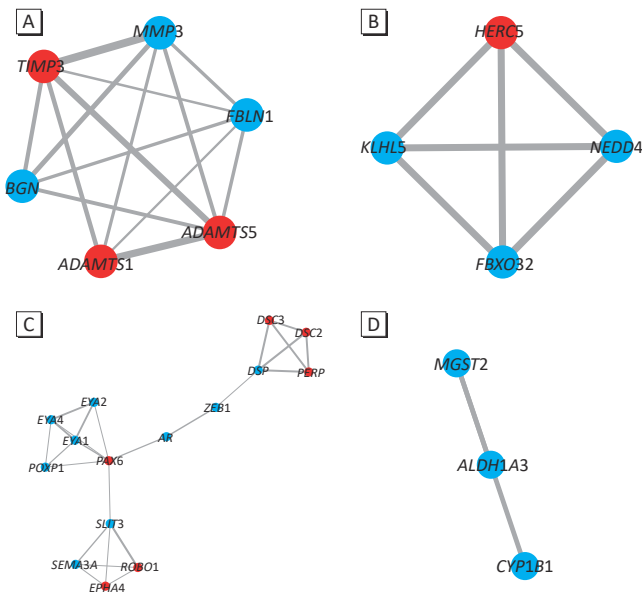
将 234 个 DEGs 导入 STRING 数据库获得 PPI 网络, 该网络共有 223 个节点(靶点蛋白, 其中 11 个 DEGs 未在 STRING 查询库中匹配到相应的蛋白)和 255 条边(蛋白与蛋白间的相互作用, 见补充材料图 S1A)。从 STRING 数据库下载蛋白节点和相互作用关系对文件, 将其导入 Cytoscape 进行网络图的优化展示(见补充材料图 S1B)。依据输出联结度(layout degree)筛选联结度最高的蛋白, 基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase

2, MMP2)、配对盒 6(paired box 6, PAX6)、toll 样受体 4(toll like receptor 4, TLR4)、KIT 原癌基因受体酪氨酸激酶(KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase, KIT)、双糖素(biglycan, BGN)、整合素亚单位 $\alpha 4$ (integrin subunit alpha 4, ITGA4)及雄激素受体(androgen receptor, AR)均与 10 个以上的节点分子产生关联。

2.4 MCODE 功能模块分析

用 Cytoscape 中的 MCODE 插件寻找密集连接的区域, 对 PPI 网络模型进行评价, 共筛选出 4 个显著

模块(图 3)。将 MCODE score 评分最高的模块视为最重要的功能集合,共包括 6 个 DEGs,可以作为重点关注的 Hub 基因。其中 TIMP 金属肽酶抑制剂 3(TIMP metalloproteinase inhibitor 3, *TIMP3*)、具有血小板反应蛋白 1 型基序 1 的 ADAM 金属肽酶(ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 1, *ADAMTS1*)、具有血小板反应蛋白 1 型基序 5 的 ADAM 金属肽酶(ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 5, *ADAMTS5*)为上调基因, *MMP2*、腓骨蛋白-1(fibulin-1, *FBLN1*)、*BGN* 为下调基因(图 4A)。图 3B-3D 为评分略低(基因间相互连接关系不强)的 3 个模块,分别包括 4 个、15 个及 3 个 DEGs。



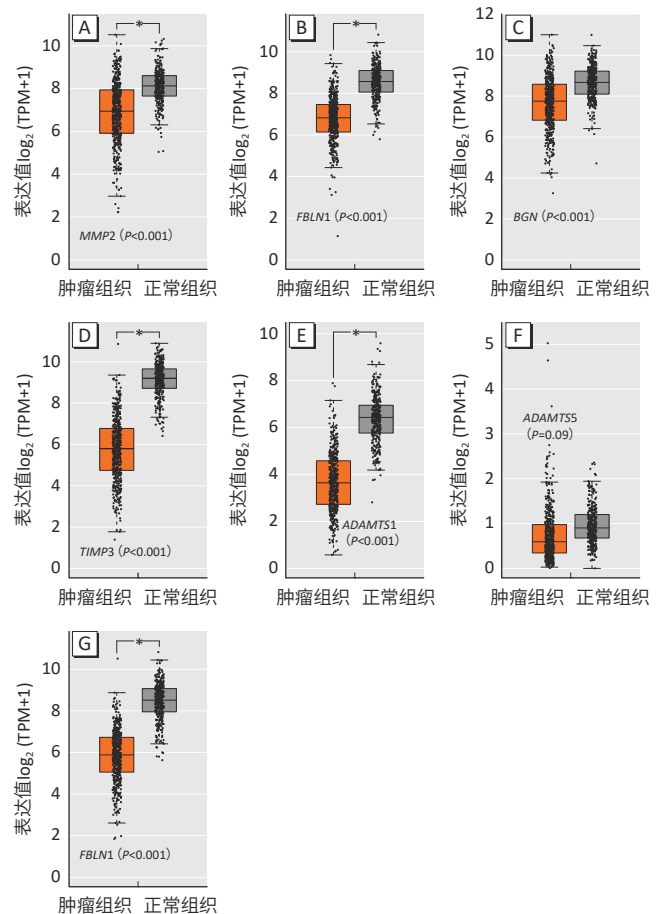
[注] 红色为上调基因,蓝色为下调基因。

图 3 MCODE 分析共表达 DEGs 的关键子模块

Figure 3 MCODE analysis on key modules of co-expressed DEGs

2.5 Hub 基因在肺癌中的表达

通过 GEPIA2 中的表达分析功能,借助内部链接的 TCGA 数据库,发现在原发性肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)组织中,基因 *MMP2*、*FBLN1*、*BGN* 均为表达下调($P < 0.05$, 图 4A-4C),这与 Cr(VI) 作用于肺上皮细胞所产生的改变完全一致;而在体外模型中因 Cr(VI) 暴露激活表达的基因(*TIMP3*、*ADAMTS1*、*ADAMTS5*)却在肿瘤样本中呈现相反的表达趋势(图 4D-4F)。进一步观察存在一致趋势的 Hub 基因在原发性肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)中的调控情况,可见只有 *FBLN1* 在肿瘤组织中的表达明显低于癌旁对照(图 4G)。



[注] A: *MMP2* 在 LUSC 中的表达; B: *FBLN1* 在 LUSC 中的表达; C: *BGN* 在 LUSC 中的表达; D: *TIMP3* 在 LUSC 中的表达; E: *ADAMTS1* 在 LUSC 中的表达; F: *ADAMTS5* 在 LUSC 中的表达; G: *FBLN1* 在 LUAD 中的表达。TMP: 在转录分析中用来衡量基因表达量。A-F: 肿瘤组织 $n=486$, 正常组织 $n=338$; G: 肿瘤组织 $n=483$, 正常组织 $n=347$ 。

图 4 Hub 基因在肺癌组织中的表达

Figure 4 The expression of Hub genes in lung cancer tissues

3 讨论

Cr(VI) 是一种常用的工业金属,也是确认的人类肺癌致癌物。作为职业性化学毒物,其主要是通过呼吸途径进入人体,入侵过程中不仅造成沿途器官(鼻、支气管、肺)的损伤,同时还可引起皮肤、肝、肾、神经及生殖系统的多系统毒性^[17]。刘佳兴等^[1]发现,长期接触低剂量铬酸盐可造成不良健康影响,表现为炎症反应、肺功能及遗传损伤等。人群流行病学和动物研究表明,颗粒状 Cr(VI) 的化合物,尤其是难溶和不溶性化合物,是强致癌物质^[18]。比如乙酸铬,能够在细胞内存在较长时间,缓慢溶解释放,因而比易溶的 Cr(VI) 化合物致癌性更强。多项研究试图厘清 Cr(VI) 的致癌机制,尝试从多个角度进行阐释,包括氧化应激^[19-21]、DNA 损伤^[22]、染色体畸变、表观遗传调控^[23-24]等,关注点更偏向于上游和间接的因素。对于直接效应分子

和下游基因介导的 Cr(VI) 促细胞恶性转化机制缺乏综合的理解,表型改变的节点事件还有待阐明。

本研究通过搜集 GEO 公共数据库中铬染毒人肺组织细胞相关的数据集,确定以肺上皮细胞 BEAS-2B 为研究对象,筛选得到 GSE24025 和 GSE36684 表达矩阵。在获得 234 个共表达 DEGs 的基础上,发现铬诱导表达的基因主要富集于细胞黏附、负调节细胞增殖及转录失调等与细胞恶性行为相关的通路上通过 PPI 和模块分析发掘节点分子和 Hub 基因,证实 Cr(VI) 诱导下调的基因 *FBLN1* 在不同亚型肺癌组织中均保持低表达。综合一系列生物信息学分析的手段,有理由认为 Cr(VI) 可能通过调节 *FBLN1* 参与了肺上皮细胞的恶性转化;*FBLN1* 的失调具有促进肺癌发生发展的潜能。

FBLN1 全称为 Fibulin-1, 定位于染色体 22q13, 编码一种分泌型糖蛋白, 参与形成细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 作为基底膜和弹性纤维的构成部分, 在维持组织结构中发挥重要作用^[25]。Liu 等^[26] 发现 *FBLN1* 能介导肺组织重塑, 参与慢性阻塞性肺疾病。作为相对分子质量较小的 ECM 蛋白, *FBLN1* 可与纤维蛋白原、层黏连蛋白-1 等结合, 传递细胞信号并调节细胞生长、迁移和侵袭, 因而可能在肿瘤细胞与周围微环境的相互作用中起关键作用^[27]。*FBLN1* 可抑制细胞外信号调节激酶和肌球蛋白轻链激酶的磷酸化, 还能降低细胞内钙水平, 对于信号级联反应的激活 (如 Ras/丝裂原活化蛋白激酶通路) 非常重要。有研究认为在平滑肌细胞中, *FBLN1* 受到磷酸化核因子 κ B 分子的调节^[28], 这与本研究在共表达 DEGs 上游转录因子分析中的结果一致 (图 2C)。有文献报道, *FBLN1* 能诱导乳腺癌细胞化疗耐药, 上调 ECM 组分的含量, 促进肿瘤细胞的存活^[29]。此外在胃癌^[30]、结肠癌^[31]、前列腺癌^[27] 及皮肤黑色素瘤^[32] 中, *FBLN1* 的表达下调与启动子区甲基化的影响有关, 其上调表达可明显降低肿瘤细胞增殖、侵袭及转移等生物学行为。

本研究利用 TCGA 数据库进行探索, 发现在 LUSC 病例中患者总体生存呈现与预期相反的改变, 即 *FBLN1* 低表达却与较好的远期预后相关 (结果未给出)。目前关于 *FBLN1* 在肺部恶性肿瘤中的作用与机制的研究尚十分有限。这可能是由于 *FBLN1* 高表达的患者存在 *FBLN1* 突变, 而突变型 *FBLN1* 缺乏调节 ECM 的能力, 造成肿瘤细胞行为进一步不受限制; 此外, 亦有可能是 *FBLN1* 的上调表达反馈性地激活了某些参与肺癌细胞恶性表型的基因。以上假设均需要更为深入的实验设计加以验证。

多芯片联合筛选是采用生信技术寻找差异基因的趋势, 也是本研究的优势。但是本研究的局限性在于仅利用生信技术进行数据挖掘和解读, 缺乏动物实验或者病人组织样本的交叉验证, 未能实现体内和体外层面实验数据的融合; 对于数据挖掘的结果应在未来的研究规划中予以检验, 最终论证 *FBLN1* 成为 Cr(VI) 致肺癌的早期干预靶点及个体化治疗标志物的潜能。

参考文献

- [1] 刘佳兴, 胡贵平, 赵琳, 等. 铬酸盐低水平长期职业接触与劳动者早期健康效应[J]. 北京大学学报(医学版), 2019, 51(2): 307-314.
LIU JX, HU GP, ZHAO L, et al. Early effects of low-level long-term occupational chromate exposure on workers' health[J]. J Peking Univ (Health Sci), 2019, 51(2): 307-314.
- [2] 龚伟, 吉俊敏, 吴林林, 等. 某电镀企业工人低水平六价铬接触调查[J]. 中国职业医学, 2018, 45(2): 235-238.
GONG W, JI JM, WU LL, et al. Investigation on workers exposed to low-level hexavalent chromium in an electroplating enterprise[J]. China Occup Med, 2018, 45(2): 235-238.
- [3] 陈志鸿, 卢维雪, 夏菠, 等. 六价铬化合物致肺癌的研究进展[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2017, 35(11): 875-878.
CHEN ZH, LU WX, XIA B, et al. Research progress of lung cancer induced by hexavalent chromium compounds[J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2017, 35(11): 875-878.
- [4] 杜仙梅, 张济, 马衍辉, 等. 呼吸系统损伤与铬盐职业接触水平评价指标间的相关性研究[J]. 中国职业医学, 2009, 36(2): 91-94.
DU XM, ZHANG J, MA YH, et al. Correlation between respiratory injury and evaluation indexes of occupational chromate exposure[J]. China Occup Med, 2009, 36(2): 91-94.
- [5] 巴特, 顾永恩, 余善法, 等. 铬酸盐接触工人肺通气功能的动态观察[J]. 北京大学学报(医学版), 2012, 44(3): 444-447.
BA T, GU YE, YU SF, et al. Dynamic observation of pulmonary ventilation function in workers contacting chromate[J]. J Peking Univ (Health Sci), 2012, 44(3): 444-447.
- [6] SON YO, PRATHEESHKUMAR P, WANG L, et al. Reactive oxygen species mediate Cr(VI)-induced carcinogenesis through PI3K/AKT-dependent activation of GSK-3 β / β -catenin signaling[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 271(2): 239-248.
- [7] WANG X, SON YO, CHANG Q, et al. NADPH oxidase activation is required in reactive oxygen species generation and cell transformation induced by hexavalent chromium[J]. Toxicol Sci, 2011, 123(2): 399-410.
- [8] ZHENG P, KANG Y, HAN S, et al. A novel transcriptome integrated network approach identifies the key driver lncRNA involved in cell cycle with chromium (VI)-Treated BEAS-2 B cells[J]. Front Genet, 2020, 11: 597803.

- [9] 高强, 钟英英, 丁华杰, 等. 肺腺癌相关基因的生物信息学分析[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(2): 190-195.
GAO Q, ZHONG YY, DING HJ, et al. Bioinformatic analysis on related genes of lung adenocarcinoma[J]. *Chin J Cancer Biother*, 2019, 26(2): 190-195.
- [10] SUN H, CLANCY HA, KLUZ T, et al. Comparison of gene expression profiles in chromate transformed BEAS-2 B cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17982.
- [11] CLANCY HA, SUN H, PASSANTINO L, et al. Gene expression changes in human lung cells exposed to arsenic, chromium, nickel or vanadium indicate the first steps in cancer[J]. *Metalomics*, 2012, 4(8): 784-793.
- [12] JIAO X, SHERMAN BT, HUANG DW, et al. DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(13): 1805-1806.
- [13] HAN H, CHO JW, LEE S, et al. TRRUST v2: an expanded reference database of human and mouse transcriptional regulatory interactions[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D380-D386.
- [14] SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [15] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [16] TANG Z, KANG B, LI C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560.
- [17] ALVAREZ CC, BRAVO GÓMEZ ME, HERNÁNDEZ ZAVALA A. Hexavalent chromium: regulation and health effects[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 65: 126729.
- [18] CHAPPELL GA, WIKOFF DS, THOMPSON CM. Assessment of mechanistic data for hexavalent chromium-induced rodent intestinal cancer using the key characteristics of carcinogens[J]. *Toxicol Sci*, 2021, 180(1): 38-50.
- [19] DING SZ, YANG YX, LI XL, et al. Epithelial-mesenchymal transition during oncogenic transformation induced by hexavalent chromium involves reactive oxygen species-dependent mechanism in lung epithelial cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 269(1): 61-71.
- [20] PRATHEESHKUMAR P, SON YO, DIVYA SP, et al. Luteolin inhibits Cr(VI)-induced malignant cell transformation of human lung epithelial cells by targeting ROS mediated multiple cell signaling pathways[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 281(2): 230-241.
- [21] XU J, ZHAO M, PEI L, et al. Oxidative stress and DNA damage in a long-term hexavalent chromium-exposed population in North China: a cross-sectional study[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(6): e021470.
- [22] HU G, LI P, CUI X, et al. Cr(VI)-induced methylation and down-regulation of DNA repair genes and its association with markers of genetic damage in workers and 16 HBE cells[J]. *Environ Pollut*, 2018, 238: 833-843.
- [23] ZHANG Y, ZHENG P, SU Z, et al. Perspectives of genetic damage and epigenetic alterations by hexavalent chromium: time evolution based on a bibliometric analysis[J]. *Chem Res Toxicol*, 2021, 34(3): 684-694.
- [24] 哈飞再, 冯慧敏, 王天成, 等. 六价铬暴露所致表观遗传改变研究进展[J]. *中国职业医学*, 2020, 47(3): 358-361, 367.
HA FZ, FENG HM, WANG TC, et al. Research progress on epigenetic changes induced by hexavalent chromium exposure[J]. *China Occup Med*, 2020, 47(3): 358-361, 367.
- [25] 韩亮, 张德龙, 桑卫东, 等. *FBLN1* mRNA在胃腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. *北京医学*, 2020, 42(8): 720-723, 727.
HAN L, ZHANG DL, SANG WD, et al. Expression of *FBLN1* mRNA in stomach adenocarcinoma tissues and its clinical significance[J]. *Beijing Med J*, 2020, 42(8): 720-723, 727.
- [26] LIU G, COOLEY MA, JARNICKI AG, et al. Fibulin-1 regulates the pathogenesis of tissue remodeling in respiratory diseases[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(9): e86380.
- [27] WLAZLINSKI A, ENGERS R, HOFFMANN MJ, et al. Downregulation of several fibulin genes in prostate cancer[J]. *Prostate*, 2007, 67(16): 1770-1780.
- [28] SATOKO I, UTAKE Y, TAICHI N, et al. Fibulin-1 integrates subendothelial extracellular matrices and contributes to anatomical closure of the ductus arteriosus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(9): 2212-2226.
- [29] PUPA SM, GIUFFRÉ S, CASTIGLIONI F, et al. Regulation of breast cancer response to chemotherapy by fibulin-1[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(9): 4271-4277.
- [30] CHENG YY, JIN H, LIU X, et al. Fibulin 1 is downregulated through promoter hypermethylation in gastric cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(12): 2083-2087.
- [31] XU Z, CHEN H, LIU D, et al. Fibulin-1 is downregulated through promoter hypermethylation in colorectal cancer: a CONSORT study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(13): e663.
- [32] LIU XT, LIU TT, WU MY, et al. Identifying *FBLN1* (Gene ID: 2192) as a potential melanoma biomarker for melanoma based on an analysis of microRNA expression profiles in the GEO and TCGA databases[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2021, 25(1): 68-78.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)