

DOI:10.12113/202208002

卵巢癌侵袭转移机制的生物信息学研究进展

严玉娟, 赵健*, 宋晓峰*
(南京航空航天大学 自动化学院, 南京 211106)

摘要: 卵巢癌因其侵袭转移特性, 致死率极高, 居所有妇科恶性肿瘤之首。近年来随着高通量测序技术及生物信息学方法的快速发展, 越来越多调控卵巢癌侵袭转移机制的相关生物大分子被发现。本文对卵巢癌侵袭转移机制的研究背景及现状进行了综述, 归纳总结了侵袭转移机制相关调控因素, 并对蛋白质组学和单细胞组学的生物信息学分析工具及数据库进行了汇总和介绍, 以期能为卵巢癌侵袭转移机制的深入研究提供理论依据和科研线索。

关键词: 卵巢癌; 侵袭转移机制; 生物信息学工具; 数据库

中图分类号: Q279 文献标志码: A 文章编号: 1672-5565(2023)03-161-10

Progress in bioinformatics research on the invasion and metastasis mechanism of ovarian cancer

YAN Yujuan, ZHAO Jian*, SONG Xiaofeng*

(College of Automation Engineering, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 211106, China)

Abstract: Ovarian cancer is the most lethal of all gynecologic malignancies due to its aggressive and metastatic nature. In recent years, with the rapid development of high-throughput sequencing technology and bioinformatics methods, an increasing number of biomolecules regulating the mechanisms of ovarian cancer invasion and metastasis have been discovered. In this paper, we review the background and current state of research of ovarian cancer invasion and metastasis mechanisms, summarize the regulatory factors for invasion and metastasis mechanisms, collect and describe bioinformatics analysis tools and databases of proteomics and single-cellomics, in order to provide theoretical basis and scientific clues for the in-depth study of ovarian tumor cell invasion and metastasis mechanisms.

Keywords: Ovarian cancer; Mechanisms of invasion and metastasis; Bioinformatics tools; Database

卵巢癌是一种起源于卵巢的恶性肿瘤, 常见于卵巢表面上皮细胞。虽然卵巢癌发病率仅次于宫颈癌和子宫内膜癌, 但其死亡率居所有妇科恶性肿瘤之首。国家癌症中心统计数据显示, 近年来随着我国医疗质量和诊疗能力的提升, 恶性肿瘤五年生存率提升近 10%, 但卵巢癌患者五年生存率仅提高 0.4%, 几乎无明显改善。卵巢癌仍是妇科癌症中最危险、患者愈后表现最差的疾病之一, 严重威胁着女

性生命健康。在我国, 每年约 5 万余名女性被确诊患有卵巢癌^[1]。

卵巢癌具有极强的侵袭转移特性, 极易以血行转移、淋巴转移等方式将肿瘤细胞“运输”到全身多个脏器组织中, 进而引发各类不良症状, 如血栓栓塞、血液并发症和感染等, 这些由癌症转移或侵袭引发的并发症是导致卵巢癌患者死亡的主要原因^[2-3]。因此, 了解清楚卵巢癌侵袭转移机制, 对于

收稿日期: 2022-08-03; 修回日期: 2022-10-26; 网络首发日期: 2022-12-15.

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail//23.1513.Q.20221214.1229.003.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 62273175, No. 61973155, No. 62003165), 江苏省重点研发计划项目(No. BE2022843).

* 通信作者: 赵健, 男, 博士后, 研究方向: 模式识别与生物信息学. E-mail: zhaojian@nuaa.edu.cn.

宋晓峰, 男, 教授, 研究方向: 生物信息学. E-mail: xfsong@nuaa.edu.cn.

引用格式: 严玉娟, 赵健, 宋晓峰. 卵巢癌侵袭转移机制的生物信息学研究进展[J]. 生物信息学, 2023, 21(3): 161-170.

YAN Yujuan, ZHAO Jian, SONG Xiaofeng. Progress in bioinformatics research on the invasion and metastasis mechanism of ovarian cancer[J]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2023, 21(3): 161-170.

卵巢癌的诊治及预后意义重大,不仅有助于改善现有的临床治疗方法,还可为新药研发提供有价值的科研线索,进而提高卵巢癌患者的五年生存率。为

此绘制了卵巢癌发生侵袭转移的简要示意图,并对转录组和蛋白质组层面的生物大分子调控因素、生信工具和数据库进行了总结(见图1)。

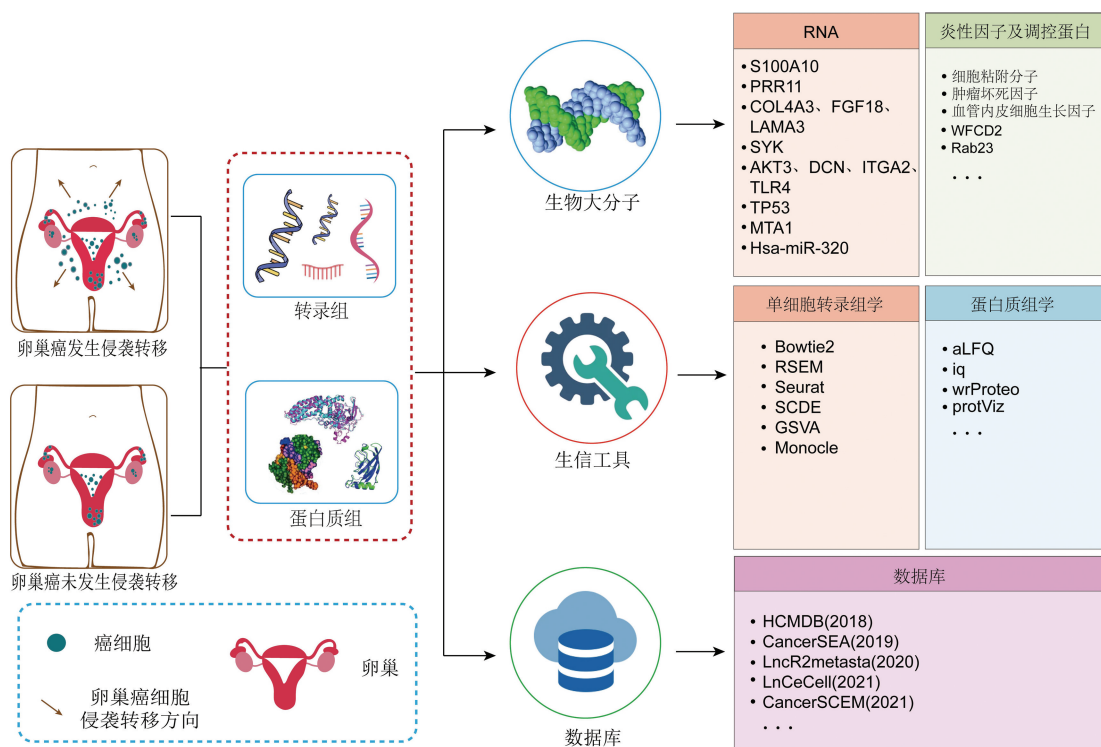


图1 卵巢癌侵袭转移机制的生物信息学研究进展

Fig.1 Progress in bioinformatics research on the invasion and metastasis mechanisms of ovarian cancer

1 卵巢癌侵袭转移机制

1.1 卵巢癌侵袭机制

卵巢癌侵袭是指癌细胞离开原发卵巢部位向周围组织进攻的过程,其标志是癌细胞突破基底膜。基底膜是围绕大多数组织细胞外基质的薄层,是一层物理屏障,其刚度是由关键因子 Netrin-4 所调节的^[4]。癌细胞借助自身所形成的肌动蛋白和蛋白酶侵入体,以此突破基底膜^[5]。此外,在上皮-间充质转化过程中,上皮细胞黏附分子如 E-钙黏蛋白、细胞角蛋白等上皮标志物表达水平降低,波形蛋白、N-钙黏蛋白等间质标志物表达水平升高。通过上皮-间充质转化,上皮细胞失去了细胞极性,失去了与基底膜的连接等上皮表型,而卵巢癌细胞在这一过程中获得了部分干细胞的生理特征,提高了自身的侵袭能力^[6]。

1.2 卵巢癌转移机制

卵巢癌细胞扩散到身体其它部位并形成新的转移灶,这个过程称为转移。同样地,卵巢癌细胞从病灶的脱落也与肿瘤上皮-间充质转化的机制密切相关。上皮-间充质转化是一种细胞重编程过程,与

卵巢癌微环境有一定的相关性。转化后基质金属蛋白酶表达上调,加速细胞外基质降解速度,细胞之间失去了相互黏附的作用,卵巢癌细胞从病灶脱落,导致了卵巢癌转移灶^[7]。脱落的卵巢癌细胞在自身或者间质细胞分泌的蛋白质水解酶的作用下降解新生血管的基底膜与内皮,癌细胞得以进入血液循环或者淋巴系统^[8],形成循环的卵巢癌细胞。循环的卵巢癌细胞在一些运动因子的作用下,通过信号传导途径到达新的转移靶器官,并穿出血管,通过膜受体结合基质蛋白,刺激血管增生,形成新的转移灶^[9],这些过程与黏附、降解、运动等行为密切相关。

2 卵巢癌侵袭转移相关调控因素

卵巢癌侵袭转移机制是一个多因素参与的极其复杂的过程,涉及到多种生物学过程。目前已知的卵巢癌侵袭转移相关调控因素有以下两类。

2.1 卵巢癌干细胞

恶性肿瘤能够“挣脱”机体束缚,进行无限增殖和分化,其中承担主要作用的“角色”是肿瘤干细胞(Cancer stem cell, CSC)。CSC 是存在于恶性肿瘤组

织中的一小群具有干细胞特性的细胞,被认为是肿瘤发生、发展、侵袭和转移能力的根源。卵巢癌干细胞(Ovarian cancer stem cells, OCSC)于2005年被Bapat等^[10]首次发现,随后Dean和Gupta等证实OCSC具有自我更新、增殖、分化和耐药的能力^[11-12]。研究发现卵巢癌干细胞特征基因在卵巢表面上皮细胞及输卵管上皮细胞中均显著表达,预示卵巢表面上皮细胞和输卵管上皮细胞可能是卵巢癌发生的根源所在^[13]。Flesken-Nikitin等^[14]进一步通过小鼠实验证实了上述推论,结果表明OCSC可能来源于卵巢表面上皮细胞、输卵管上皮细胞及周围组织中的多能干细胞。

Medema Jan Paul和Vermeulen Louis^[15]发现卵巢上皮细胞不断重复着损伤-修复过程,这一动态过程随着女性月经周期反复出现。中国科学院曾艺研究组近来发现,成年小鼠卵巢的周期性排卵过程会诱导卵巢表面上皮细胞发生周期性破裂和再生修复^[16]。这一过程往往伴随着卵巢干细胞的增生分化,若受到炎性因子刺激、间质内皮转化和缺氧等细胞环境变化的影响,则可能导致干细胞走向持续增生、停止分化的结局,引发癌变。

2.2 生物大分子

2.2.1 RNA

正常卵巢细胞失去机体对其的控制,逃脱免疫细胞的监管,进而变成不受控的癌细胞,这一过程必然少不了基因的调控。多个研究报道了新型癌基因S100A10参与调节细胞增殖、分化、凋亡、炎症、血管生成、运动、迁移和侵袭等多种生物学过程^[17-20]。其表达量的增加会显著增强卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。同时还发现S100A10基因表达下调的同时,卵巢癌细胞对卡铂(卵巢癌患者最重要、最基本的治疗药物)的敏感性反而得到了提升^[19]。作为卵巢癌中新发现的致癌基因PRR11(Proline-rich protein 11)^[20],抑制其表达,卵巢癌细胞的增殖和体外细胞迁移行为会受到抑制。Peng等^[21]通过转录组测序技术鉴定出了多种与卵巢癌侵袭转移过程相关的基因。其中,上调的基因有COL4A3、FGF18、LAMA3、SYK等关键基因,这些基因参与细胞外基质-受体相互作用途径^[22-25]。而识别出的下调基因包括AKT3、DCN、ITGA2、TLR4、TP53,与PI3K-Akt信号传导过程有着密切的联系^[26-29]。这些基因通过参与生物学过程对卵巢癌细胞的侵袭转移能力进行调控,可能会成为卵巢癌潜在的治疗靶点。

研究报道,MTA1(Metastasis-associated gene1)基因与卵巢癌的侵袭转移机制有着密切的关系。Song等^[30]以20个原发性卵巢癌样本、20个转移到

淋巴结的卵巢癌样本和8个正常卵巢样本为例,发现MTA1过表达率在有转移的原发性卵巢癌中为100%,而在无转移的卵巢癌中仅为38.5%。同样地,来自慕尼黑大学的Christine Dannenmann等^[31],通过对115个处于不同癌症分期和FIGO分级的卵巢癌组织样本分析,得到一致的结论:MTA1的表达在转移性卵巢癌组织中显著增强。随着生物学检测技术的不断发展,华中科技大学团队^[32]通过体外基因转染技术将MTA1导入卵巢癌细胞株中,研究发现MTA1表达量的上调不影响癌细胞的生长活性,但是促进了癌细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力。

microRNA(miRNA)作为一类小的、非编码RNA,被发现在细胞控制基因表达的过程中承担着关键性的角色。Inoue等^[33]对癌症相关的miRNA进行了综述,发现:miRNA不仅与肿瘤的发生、发展密切相关,还参与肿瘤的细胞增殖、细胞存活和细胞侵袭过程,并且在多种肿瘤中存在miRNA表达异常的现象。Wang等^[34]在探究卵巢癌侵袭转移机制的过程中发现,Hsa-miR-320与卵巢癌迁移和侵袭高度相关,其高表达表征卵巢癌的不良预后和转移高风险。

2.2.2 蛋白质

19世纪德国病理学之父鲁道夫·维尔肖提出肿瘤起源于慢性炎症这一假说,认为侵袭转移传导通路的激活源自炎性因子的上调。侵袭转移传导通路被激活后,进一步促进肿瘤细胞的侵袭、迁移和上皮间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)。常见的重要炎性因子有细胞黏附分子、肿瘤坏死因子以及血管内皮细胞生长因子等。

细胞黏附分子是一类细胞表面蛋白,起着粘附、识别的作用,能够介导细胞间相互作用以及细胞和细胞外基质之间的通讯,其数量众多,种类繁多,在多个生物学过程中都起着重要的作用^[35]。近来,Nakamura K等^[36]发现细胞黏附分子CD24在卵巢癌中高度表达。通过手术切除的原发性卵巢癌的组织切片进行免疫组织化学分析,CD24被发现在卵巢癌I-IV期患者中高表达,且在75%的卵巢癌转移患者中均检测到CD24,研究结果预示黏附分子CD24参与了卵巢癌细胞的增殖、侵袭转移过程。

1975年发现了对体外培养的多种肿瘤细胞株均具有细胞毒性作用的肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor alpha, TNF- α)。研究表明,TNF- α 是由单核细胞和巨噬细胞产生的一种具有多种生物活性的因子。Jiang等检测了20名恶性上皮性卵巢癌患者和20名良性卵巢囊肿患者中肿瘤组织的TNF- α 的mRNA和蛋白质表达量,发现在恶性上皮性卵

巢癌患者中 TNF- α 的 mRNA 和蛋白质的表达显著升高^[37]。Mamta Gupta 研究团队^[38]发现,随着上皮性卵巢癌患者体内 TNF- α 的表达量增加,白细胞介素 6 (Interleukin 6, IL-6) 的血清水平也在不断地升高,而 TNF- α 和 IL-6 正是全身炎症反应标志物。Kyeong A So 等^[39]深入探究了 IL-6 在上皮-间质转化过程中的作用,实验结果表明卵巢肿瘤细胞在 IL-6 的刺激下,上皮细胞标志物减少,间充质细胞标志物增加。此外,经 IL-6 处理的癌细胞,基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinases, MMP-2 和 MMP-9) 显著增加,迁移能力显著增强。上述结果说明 IL-6 可使癌细胞获得间充质特性,通过加速 EMT 过程促进卵巢癌的侵袭转移。

卵巢癌的生长和增殖往往伴随着血管的新生,而后者需要血管生长因子的刺激。血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种促血管生长因子,具有高度特异性,能够通过促进肿瘤血管新生来加快肿瘤的增殖生长,从而协助癌细胞进入血液并转移到其他组织,加速肿瘤的浸润与转移^[40]。在卵巢癌细胞中,VEGF 能够刺激卵巢细胞中的血管内皮细胞增生,诱导新血管的生成。同时还会增强血管通透性,加快血浆蛋白向外渗出,促

使蛋白水解酶生成,降解细胞外基质,从而加快卵巢癌的浸润与侵袭转移。

癌症作为一场“失控”的进化过程必然涉及对蛋白质的异常调控。Chen 等^[41]发现 WAP 四二硫键核心结构域蛋白 2 (WAP four-disulfide core domain protein 2, WFCD2) 能够促进卵巢癌的转移。相比于原发性卵巢癌样本,侵袭转移到腹膜和淋巴结的卵巢癌样本中的 WFCD2 染色评分显著升高;而敲除 WFCD2 后,则会减少卵巢癌细胞的迁移、侵袭。这些结果表明 WFCD2 可能在原发性卵巢癌细胞向腹膜和淋巴结转移的过程中发挥着举足轻重的作用,参与了卵巢癌肿瘤细胞的侵袭和转移过程。已被多个研究报道过在多种肿瘤中起到重要作用的蛋白质 Rab23,是 Rab GTPase 家族的成员。在卵巢癌中,通过敲低 Rab23 会出现卵巢癌细胞增殖、侵袭和转移能力下降的现象,并会抑制上皮间质转化的恶性过程^[42],这表明 Rab23 与卵巢癌的增殖、侵袭转移过程密切相关。同时 Zhang 等^[43]还发现 Rab23 可以通过 Shh-Gli1-ABCG2 通路促进卵巢癌细胞对铂类药物产生耐药性,导致卵巢癌患者生存率低,生存质量差。对于这些调控卵巢癌侵袭转移机制的生物大分子因素,我们从种类、内容和功能三个方面进行了总结 (见表 1)。

表 1 卵巢癌侵袭转移机制的生物大分子调控因素

Table 1 Biomolecular regulators of the mechanisms of ovarian cancer invasion and metastasis

种类	内容	功能
	S100A10 ^[17-20]	参与调节细胞增殖、分化、凋亡、炎症、血管生成、运动、迁移和侵袭等多种生物学过程
	PRR11 ^[20]	调控卵巢癌细胞的增殖和体外细胞迁移行为
RNA	COL4A3、FGF18、LAMA3、SYK ^[22-25]	参与细胞外基质-受体相互作用途径
	AKT3、DCN、ITGA2、TLR4、TP53 ^[26-29]	与 PI3K-Akt 信号传导过程有着密切的联系
	MTA1 ^[30-32]	表达量上调促进卵巢癌细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力
	Hsa-miR-320 ^[34]	与卵巢癌迁移和侵袭高度相关
	细胞黏附分子 ^[35]	粘附、识别的作用,能够介导细胞间相互作用以及细胞和细胞外基质之间的通讯
炎症因子	肿瘤坏死因子 α ^[37]	全身炎症反应的标志物
蛋白质	血管内皮细胞生长因子 ^[40]	通过促进肿瘤血管新生来加快肿瘤的增殖生长,从而协助癌细胞进入血液并转移到其他组织,加速肿瘤的浸润与转移
	WFCD2 ^[41]	在原发性卵巢癌细胞向腹膜和淋巴结转移的过程中发挥着举足轻重的作用,参与了卵巢癌肿瘤细胞的侵袭和转移过程
相关调控蛋白	Rab23 ^[42-43]	与卵巢癌的增殖、侵袭转移过程密切相关

3 生物信息学工具及数据库

3.1 组学分析工具

测序技术的发展使得生物信息学工具也处于不断更新的状态,目前已涌现出大量生物信息学工具

可用于癌症相关的蛋白质组和单细胞转录组等多种组学数据的处理、分析与可视化。

蛋白质组学是通过高通量检测方法对蛋白质的特征进行研究,包括蛋白质的表达水平、翻译后修饰、蛋白间相互作用等。开展蛋白质组学的研究不仅有助于更好地了解生命活动规律,同时也阐明了

多种疾病的发病机制,为疾病的治疗开拓了新的思路和方法。近年来,适用于分析癌症相关蛋白质组学数据的生物信息学工具逐渐成熟。

芝加哥大学研究团队^[44]采用液相色谱-质谱联用/质谱方法,使用显微切割技术提取卵巢癌组织和基质的蛋白质组学数据,发现 NNMT 蛋白是调控卵巢癌转移过程中的关键蛋白。这为卵巢癌细胞的转移过程提供了一个非常有价值的干预靶点。通过对蛋白质组学进行可视化分析,将会使得研究人员对具有侵袭转移性质的癌症的发病机制有着更加深入的理解。目前对蛋白质的定量工具如下:2014年,George Rosenberger 等^[45]发现:虽然相对定量已普遍用于蛋白质组学,但是很少有测量绝对蛋白质数量的蛋白质组学数据集被报道。然而对于生物样品中蛋白质的绝对量的测定对于多种类型的科学研究是非常有必要的。因此 George Rosenberger 团队设计了一款可支持从无标记的液相色谱-质谱联用/质谱(LC-MS/MS)方法获得的蛋白质组学数据来估计绝对蛋白质数量的用户友好型且透明的软件。此软件提供一个包括 48 种蛋白质,由 8 个蛋白质组成的动态范围为 5 个数量级的示例数据集。用户可以输入从各种质谱测量模式和分析软件工具所得到的输入数据,根据示例数据可将输入数据转换成合适的格式。通过 aLFQ 软件可实现无标记的蛋白质的绝对量。同样地,2020 年出现了由 Thang V Pham 团队开发的以实现基于无标记数据独立采集(Data-independent acquisition, DIA)质谱的蛋白质组学的准确蛋白质定量的 iq 软件^[46]、2022 年更新的由 Wolfgang Raffelsberger 开创的 wrProteo 软件^[47]都是对基于 LC-MS/MS 方法产生的蛋白质组学数据进行蛋白质的绝对量的测量。除此之外,wrProteo 软件还可以对由于某些样品中给定肽的物理缺失、灵敏度限制或其他原因造成的定量蛋白质组学测量中经常出现的多个 NA 值进行处理,提供了以图形的方式来检查数据。并且通过各自的重复测量来研究 NA 值的性质,并帮助确认用低随机值替换 NA 的选择。2020 年,Christian Panse 等^[48]创建了一款可以根据蛋白质组学中质谱相关数据,可对数据进行可视化操作与分析的软件——protViz,大大完善了蛋白质组学数据的分析体系。aLFQ 和 iq 软件还可以诊断和校正大规模蛋白质组学数据中的批次效应^[49]。这些对蛋白质组学数据分析的软件可以在网络上轻松获取下载链接与帮助文档。

单细胞测序技术能够很好地分析肿瘤的异质性、获取肿瘤微环境中的细胞状态以及细胞之间的通讯行为等这些可以揭示肿瘤侵袭转移现象的机

制。目前,用于处理、分析以及可视化单细胞转录组测序数据的生物信息学工具十分常见,数量众多,且形成了一套相对较为固定的处理流程。

Pang 等^[50]针对具有高度侵袭转移性质的胶质母细胞瘤的单细胞转录组测序数据进行了侵袭转移轨迹的构建以及找寻分子机制,确定了控制肿瘤侵袭潜力的关键因素。整体的处理流程包括对于获取到的胶质母细胞瘤的单细胞转录组测序数据,先使用 Bowtie2^[51]将其与人类基因组数据进行超快速和高效比对。Bowtie2 允许 CPU 以每小时超过 2 500 万次的读取速度来对齐 35 个碱基对。在相同条件下,相较于同类型的读取软件 Maq^[52]、SOAP^[53] 分别提升了 35 倍和 300 倍。对于比对之后的数据使用 RSEM^[54]进行转录本定量,将基因表达水平量化到每百万转录本的量级。接着,以 GTEx Consortium (Genotype-tissue expression consortium),基因型-组织表达研究联盟^[55]中的脑组织正常样本为参照,基于拷贝数变异筛选肿瘤细胞。最后,对筛选出的胶质母细胞瘤细胞的单细胞转录组数据,通过阈值过滤进行预处理,得到单细胞转录组表达矩阵,并用 Seurat 对其进行深入处理。Seurat^[56]作为最常用的单细胞转录组数据分析工具,可对单细胞转录组表达矩阵进行多种处理:包括使用特定的函数对数据进行线粒体基因含量的检测和每一细胞所处细胞周期的确定等预处理工作,以及对数据进行标准化、聚类和根据需要进行可视化分析。

Kharchneko 等^[57]还采用了 SCDE 进行了差异表达基因的鉴定与筛选。SCDE 作为特定的用于分析单细胞转录组测序数据差异表达基因的分析工具,能够解决单细胞测序中由于细胞本身不表达某些基因或者在测序过程中未测到而出现的许多零值的问题。同时为了评估不同特征与通路的活性,试图采用 GSVA^[58]软件。GSVA(Gene set variation analysis, 基因集变异分析)软件,采用了非参数、无监督的算法,进行数据特征和通路活性的描述。在重建细胞的伪时间轨迹时,使用公认的 Monocle 软件^[59]。Monocle 使用了一种简单的、无偏的和高度可扩展的统计程序来对细胞的伪时间轨迹进行构建。当试图描述胶质母细胞瘤中干细胞入侵现象背后的分子事件,采用隐马尔可夫算法^[60](HMM)以无偏的方式确定每个基因的状态,同时使用 ClueGO^[61]进行动态过程的分析。所形成的完整的分析流程可以应用到任何一种具有侵袭转移特性的癌症的单细胞转录组测序数据上,卵巢癌也不例外。

对卵巢癌侵袭转移机制研究方面常用的生物信息学工具进行了列表总结(见表 2)。

3.2 数据库

卵巢癌侵袭转移的发生是多种因素复杂调控的结果,涉及基因组、转录组、蛋白质组等多个组学层面。随着新一代测序技术的出现和发展,癌症相关组学测序数据近十年来呈指数型增长,特别是单细胞测序技术的出现,使得人们得以更细微的从单细胞角度深入研究肿瘤细胞侵袭转移的分子机制。目前已有大量卵巢癌相关组学数据存储于各类数据库中,可用于探索卵巢癌侵袭转移的分子机制。此外,还有一些数据库对目前已知的侵袭转移相关调控因素进行了整理归纳,方便研究人员查询及进一步研究(见表 3)。

侵袭和转移是肿瘤恶性发展的一个重要特征,相关研究大都基于 TCGA 数据库(网址 <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>)中收集的组学数据。此外,

华东师范大学董东教授团队从 GEO 和 TCGA 数据库以及 7 081 篇文献中,收集了 29 种肿瘤、45 种肿瘤亚型和 38 个转移部位的测序数据,构建了 HCMDDB 数据库^[62]。该数据库共有 124 个数据集,涵盖了 mRNA、miRNA、lncRNA 等多种 RNA 的表达数据。

哈尔滨医科大学的李霞、肖云团队^[63]在 2019 年开发了 CancerSEA 数据库则旨在全面解码癌细胞在单细胞水平上的不同功能状态,此数据库提供了 14 种癌症相关功能状态:血管生成、细胞凋亡、细胞周期、细胞分化、DNA 损伤、DNA 修复、EMT、细胞缺氧、炎症发生、癌细胞侵袭、转移、增殖、细胞静息、干细胞特性。数据包括 25 种癌症类型的 900 个癌症单细胞,此数据库允许查询不同癌症的不同功能状态的相关基因。其中,可以查询到 54 个与卵巢癌侵袭转移过程相关的基因。

表 2 卵巢癌侵袭转移机制研究常用生物信息学工具

Table 2 Bioinformatics tools commonly used in studies of the invasion and metastasis mechanisms of ovarian cancer

适用组学	工具名称	工具用途	网址	发表年	更新年
		从无标记 LC-MS/MS 蛋白质组学数据估算蛋白质的绝对量			
	aLFQ ^[45]		https://cran.r-project.org/web/packages/aLFQ/index.html	2014	2014
	iq ^[46]	蛋白质定量分析	https://cran.r-project.org/web/packages/iq/index.html	2020	2022
蛋白质组学	wrProteo ^[47]	采用质谱法获得的蛋白质组学数据的分析神器	https://github.com/cran/wrProteo	2020	2022
	protViz ^[48]	蛋白质组学中质谱相关数据的可视化与分析	https://cran.r-project.org/web/packages/protViz/index.html	2020	2022
	Bowtie2 ^[51]	将读数映射到参考转录组上,进行比对	http://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/index.shtml	2011	2022
	RSEM ^[54]	将基因表达量化到每百万转录本上	https://github.com/deweylab/RSEM	2011	2020
单细胞转录组学	Seurat ^[56]	单细胞转录组数据的黄金分析工具,可以对数据进行整合、降维、聚类等	https://satijalab.org/seurat/index.html	2015	2021
	SCDE ^[57]	筛选与鉴定差异表达基因	https://github.com/hms-dbmi/scde	2014	2016
	GSEA ^[58]	评估特征或通路的活性	https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/GSEA.html	2013	2015
	Monocle ^[61]	构建细胞的伪时间轨迹	https://github.com/cole-trapnell-lab/monocle-release	2017	2017

武汉科技大学的邓文生教授课题组^[64]于 2020 年开发了 LncR2metasta 数据库,记录了 54 种人类癌症亚型中的 304 个 lncRNAs 和 39 个包括癌细胞侵袭、内渗、外渗和增殖等过程的癌症转移事件(Cancer metastatic events, CME)之间的 1 238 个关联。通过检索此数据库,共找到 4 个与卵巢癌转移至淋巴结过程相关的 lncRNA: SNHG20、DLX6-AS1、HOTTIP、LEF1-AS1。

自 2009 年汤富酬教授开创单细胞转录组测序技术^[65]以来,该技术便开始井喷式地应用于各个方面,现已成为研究肿瘤微环境、癌症发病机制、侵袭转移事件以及各种癌症精准治疗与诊断方面必不可少的工具。基于大规模的癌症单细胞转录组测序数据出现爆炸式增长,迫切需要对这些数据进行整合,据此中国科学院北京基因组研究所于 2021 年 12 月正式上线了 CancerSCEM 数据库^[66]。该数据库

整合分析了 208 个癌症单细胞转录组测序数据集,涵盖了卵巢癌(OV)、恶性胶质瘤(GBM)等在内的 20 种人类癌症。通过标准化分析流程处理,获得了癌症的精确细胞类型注释信息以及细胞类型间基因差异表达分析、细胞表面受体-配体基因对表达谱、样本内细胞互作网络构建等结果,可为用户提供丰富的肿瘤微环境相关信息。利用此数据库,可以进一步从单细胞层面分析卵巢癌侵袭转移的分子机制。

细胞特异性调控网络的识别有助于加深对疾病

病理学的理解,哈尔滨医科大学李霞教授团队开发的单细胞层面的 lncRNA 相关内源性竞争 RNA (ceRNA) 调控网络数据库 LnCeCell^[67]。总共包含卵巢癌在内的 25 种癌症类型,细胞数量大于 94 000 个,并提供超过 9 000 种由实验支持与肿瘤转移、复发、预后、循环和耐药性等相关的 lncRNA 生物标志物。该数据库能够对每种癌症细胞展示 ceRNA 在细胞内位置的全景图,并描述其在单个癌细胞中的功能状态。同时, LnCeCell 还支持通过特定的细胞背景推断 ceRNA 功能。

表 3 卵巢癌侵袭转移机制研究相关数据库

Table 3 Data resources related to the invasion and metastasis mechanisms of ovarian cancer

数据库名称	样本信息		数据库用途	网址	发表年	更新年
	样本来源	样本数量				
HCMDB ^[62]	GEO 数据库、TCGA 数据库	38 个转移部位的 29 种肿瘤以及 45 种肿瘤亚型	存储和分析肿瘤转移大规模表达数据查询和浏览肿瘤转移相关基因	https://hcmdb.i-sanger.com	2018	2018
CancerSEA ^[63]	—	25 种癌症类型、900 个癌症单细胞	14 种癌症相关单细胞功能状态、不同癌症的不同功能状态相关基因	http://biocc.hrbmu.edu.cn/CancerSEA	2019	2019
LncR2metasta ^[64]	—	54 种人类癌症亚型、304 个 lncRNAs 和 39 个与 CME 之间的 1 238 个关联	浏览、搜索和下载以及提交与癌症转移相关的 lncRNA	http://lncr2metasta.wchoda.com	2020	2020
LnCeCell ^[67]	—	25 种癌症类型、> 9 000 种由实验支持的 lncRNA 生物标志物	ceRNA 在细胞内位置的全景图、单个癌细胞的功能状态、ceRNA 功能	http://bio-bigdata.hrbmu.edu.cn/LnCeCell	2021	2021
CancerSCEM ^[66]	—	208 个癌症的单细胞转录组测序数据集	癌症细胞类型注释信息、细胞类型间差异表达基因、细胞表面受体-配体基因对表达谱、细胞互作网络、生存分析结果	https://ngdc.cncb.ac.cn/cancerscem	2021	2021

4 总结与展望

卵巢癌极强的侵袭转移特性是其高致死率的重要原因,调控机理甚为复杂。已有研究表明,卵巢癌的侵袭转移特性根源于卵巢癌肿瘤干细胞的无限增殖分化,并在炎性因子的刺激下得到活化和加强。近年来,随着高通量测序技术出现和发展,以及分子纯化方法的革新,又陆续在基因组层面发现诸如 S100A10、MTA1 等关键调控基因,在转录组层面发现与卵巢癌迁移和侵袭高度相关的 Hsa-miR-320 等

非编码 RNA,以及在蛋白质组层面发现 WFCD2、Rab23 等关键蛋白。然而,不同层面因素间的互作关系、协作模式及调控网络仍然未知,这些问题的探讨有助于我们更深入地理解卵巢癌侵袭转移的分子机制。目前,已积累了相当多的卵巢癌相关不同组学层面的高通量测序数据,且已有部分成熟的生信分析工具及数据库可供使用。相信随着研究的更进一步深入,未来将有更多的组学整合分析方法出现,深入揭示卵巢癌的侵袭转移机制,助力癌症治疗药物的研发,提高患者生存率。

参考文献(References)

- [1] CAO Wei, CHEN Hongda, YU Yiwen, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: A secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chinese Medical Journal*, 2021, 134 (7) : 783 – 791. DOI: 10.1097/CM9.0000000000001474.
- [2] LHEUREUX S, BRAUNSTEIN M, OZA A M. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2019, 69 (4) : 280–304. DOI:10.3322/caac.21559.
- [3] FILIPPOVA O T, KIM S W, COWAN R A, et al. Hematologic changes after splenectomy for ovarian cancer debulking surgery, and association with infection and venous thromboembolism [J]. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2020, 30 (8) : 1183 – 1188. DOI: 10.1136/ijgc – 2020 – 001368.
- [4] MEHLEN P, FATTET L. Netrin – 4 regulates stiffness and metastasis [J]. *Nature Mater*, 2021, 20 (6) : 722 – 723. DOI: 10.1038/s41563–021–01012–4.
- [5] WEAVER A, M. Invadopodia: Specialized cell structures for cancer invasion [J]. *Clinical & Experimental Metastasis*, 2006, 23 (2) : 97–105. DOI:10.1007/s10585–006–9014–1.
- [6] MATĚJKA V M, FÍNEK J, KRÁLÍČKOVÁ M. Epithelial-mesenchymal transition in tumor tissue and its role for metastatic spread of cancer [J]. *Klinická Onkologie*, 2017, 30 (1) : 20–27. DOI:10.14735/amko201720.
- [7] KUMARI A, SHONIBARE Z, MONAVARIAN M, et al. TGF β signaling networks in ovarian cancer progression and plasticity [J]. *Clinical & Experimental Metastasis*, 2021, 38 (2) : 139–161. DOI:10.1007/s10585–021–10077–z.
- [8] FU Y, NAGY J A, BROWN L F, et al. Proteolytic cleavage of versican and involvement of ADAMTS-1 in VEGF-A/VPF-induced pathological angiogenesis [J]. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry : Official Journal of the Histochemistry Society*, 2011, 59 (5) : 463 – 473. DOI: 10.1369/0022155411401748.
- [9] WU Tong, CHENG Bin, FU Liwu. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells in Pharmacotherapy: Challenges and Perspectives [J]. *Molecular Pharmacology*, 2017, 92 (3) : 232–239. DOI:10.1124/mol.116.108142.
- [10] BAPAT S A, MALI A M, KOPPIKAR C B, et al. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Research*, 2005, 65 (8) : 3025 – 3029. DOI: 10.1158/0008 – 5472.CAN–04–3931.
- [11] DEAN M, FOJO T, BATES S. Tumour stem cells and drug resistance [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5 (4) : 275 – 284. DOI:10.1038/nrc1590.
- [12] GUPTA P B, CHAFFER C L, WEINBERG R A. Cancer stem cells: mirage or reality? [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15 (9) : 1010–1012. DOI:10.1038/nm0909–1010.
- [13] AUERSPERG N. The stem-cell profile of ovarian surface epithelium is reproduced in the oviductal fimbriae, with increased stem-cell marker density in distal parts of the fimbriae [J]. *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, 2013, 32 (5) : 444 – 453. DOI: 10.1097/PGP.0b013e3182800ad5.
- [14] FLESKEN-NIKITIN A, HWANG C I, CHENG C Y, et al. Ovarian surface epithelium at the junction area contains a cancer-prone stem cell niche [J]. *Nature*, 2013, 495 (7440) : 241–245. DOI:10.1038/nature11979.
- [15] MEDEMA J P, VERMEULEN L. Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer [J]. *Nature*, 2011, 474 (7351) : 318 – 326. DOI: 10.1038/nature10212.
- [16] WANG Jingqiang, WANG Daisong, CHU Kun, et al. Pro-cancer-expressing progenitor cells are responsible for murine ovariectomy rupture repair of ovarian surface epithelium [J]. *Nature Communications*, 2019, 10 (1) : 4966. DOI:10.1038/s41467–019–12935–7.
- [17] BAI Yang, LI Liangdong, LI Jun, et al. Prognostic values of S100 family members in ovarian cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18 (1) : 1256. DOI: 10.1186/s12885–018–5170–3.
- [18] MADUREIRA P A, BHARADWAJ A G, BYDOUN M, et al. Cell surface protease activation during RAS transformation: Critical role of the plasminogen receptor, S100A10 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (30) : 47720 – 47737. DOI: 10.18632/oncotarget.10279.
- [19] WANG Lingzhi, YAN Wei, LI Xukun, et al. S100A10 silencing suppresses proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells and enhances sensitivity to carboplatin [J]. *Journal of Ovarian Research*, 2019, 12 (1) : 113. DOI: 10.1186/s13048–019–0592–3.
- [20] ZHAN Yu, WU Xueyuan, ZHENG Gang, et al. Proline-rich protein 11 overexpression is associated with a more aggressive phenotype and poor overall survival in ovarian cancer patients [J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2020, 18 (1) : 318. DOI:10.1186/s12957–020–02077–2.
- [21] PENG Xiandong, YU Min, CHEN Jiazhou. Transcriptome sequencing identifies genes associated with invasion of ovarian cancer [J]. *The Journal of International Medical Research*, 2020, 48 (9) : 300060520950912. DOI: 10.1177/0300060520950912.
- [22] ZHENG Huachuan, YANG Ning, XUE Hang, et al. The oncogenic roles of GPR176 in ovarian cancer: A molecular target for aggressiveness and gene therapy [J/OL]. <https://www.researchsquare.com/article/rs-1488668/v1>. 2022 – 04–13. DOI:10.21203/rs.3.rs-1488668/v1.

- [23] ESTIENNE A, RELAV L, BENKOURA M, et al. Endothelial cell-derived fibroblast growth factor-18 regulates ovarian function in sheep[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2022, 237(5):2528–2538. DOI:10.1002/jcp.30718.
- [24] TANG Lin, WANG Pin, WANG Qilin, et al. Correlation of LAMA3 with onset and prognosis of ovarian cancer [J]. *Oncology Letters*, 2019, 18(3):2813–2818. DOI:10.3892/ol.2019.10600.
- [25] YU Y, SURYO RAHMANTO Y, SHEN Y A, et al. Spleen tyrosine kinase activity regulates epidermal growth factor receptor signaling pathway in ovarian cancer [J]. *EBioMedicine*, 2019, 47:184–194. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.08.055.
- [26] LI Yaowei, LI Li. Prognostic values and prospective pathway signaling of MicroRNA-182 in ovarian cancer: a study based on gene expression omnibus (GEO) and bioinformatics analysis [J]. *Journal of Ovarian Research*, 2019, 12(1):106. DOI:10.1186/s13048-019-0580-7.
- [27] KULUS M, SUJKA-KORDOWSKA P, KONWERSKA A, et al. New molecular markers involved in regulation of ovarian granulosa cell morphogenesis, development and differentiation during short-term primary in vitro culture-transcriptomic and histochemical study based on ovaries and individual separated follicles [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16):3966. DOI:10.3390/ijms20163966.
- [28] KASHANI B, ZANDI Z, BASHASH D, et al. Small molecule inhibitor of TLR4 inhibits ovarian cancer cell proliferation: new insight into the anticancer effect of TAK-242 (Resatorvid) [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2020, 85(1):47–59. DOI:10.1007/s00280-019-03988-y.
- [29] OZA A M, ESTEVEZ-DIZ M, GRISCHKE E M, et al. A biomarker-enriched, randomized phase II trial of adavosertib (AZD1775) plus paclitaxel and carboplatin for women with platinum-sensitive tp53-mutant ovarian cancer [J]. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2020, 26(18):4767–4776. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-0219.
- [30] SONG Yi, HUANG Guangqi, HE Guoli, et al. The association of the expression of MTA1, nm23H1 with the invasion, metastasis of ovarian carcinoma [J]. *Chinese Medical Sciences Journal*, 2003, 18(2):87–92.
- [31] DANNENMANN C, SHABANI N, FRIESE K, et al. The metastasis-associated gene MTA1 is upregulated in advanced ovarian cancer, represses ERbeta, and enhances expression of oncogenic cytokine GRO [J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2008, 7(9):1460–1467. DOI:10.4161/cbt.7.9.6427.
- [32] HE X, ZHOU C, ZHENG L, et al. Overexpression of MTA1 promotes invasiveness and metastasis of ovarian cancer cells [J]. *Irish Journal of Medical Science*, 2014, 183(3):433–438. DOI:10.1007/s11845-013-1034-7.
- [33] INOUE J, INAZAWA J. Cancer-associated miRNAs and their therapeutic potential [J]. *Journal of Human Genetics*, 2021, 66(9):937–945. DOI:10.1038/s10038-021-00938-6.
- [34] WANG Wei, YANG Juan, XIANG Yuanyuan, et al. Overexpression of Hsa-miR-320 Is Associated With Invasion and Metastasis of Ovarian Cancer [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2017, 118(11):3654–3661. DOI:10.1002/jcb.26009.
- [35] BOROWSKA R, JEDRYCH B, CEERNY K, et al. The role of integrins in the physiologic and pathogenic processes [J]. *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 2006, 21(124):362–366.
- [36] KIYOKO N, YOSHITO T, AKIKO T, et al. CD24 expression is a marker for predicting clinical outcome and regulates the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer via both the Akt and ERK pathways [J]. *Oncology Reports*, 2017, 37(6):3189–3200. DOI:10.3892/or.2017.5583.
- [37] JIANG Caixia, QU Xiaoyan, KE Huihui, et al. Association between the HMGB1/TLR4 signaling pathway and the clinicopathological features of ovarian cancer [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 18(3):3093–3098. DOI:10.3892/mmr.2018.9271.
- [38] GUPTA M, BABIC A, BECK A H, et al. TNF- α expression, risk factors, and inflammatory exposures in ovarian cancer: evidence for an inflammatory pathway of ovarian carcinogenesis? [J]. *Human Pathology*, 2016, 54:82–91. DOI:10.1016/j.humpath.2016.03.006.
- [39] SO K A, MIN K J, HONG J H, et al. Interleukin-6 expression by interactions between gynecologic cancer cells and human mesenchymal stem cells promotes epithelial-mesenchymal transition [J]. *International Journal of Oncology*, 2015, 47(4):1451–1459. DOI:10.3892/ijo.2015.3122.
- [40] ABIDI A. Hedgehog signaling pathway: A novel target for cancer therapy: vismodegib, a promising therapeutic option in treatment of basal cell carcinomas [J]. *Indian J Pharmacol*, 2014, 46(1):3–12. DOI:10.4103/0253-7613.124884.
- [41] CHEN Yao, HUANG Liping, WANG Suihai, et al. WAP four-disulfide core domain protein 2 promotes metastasis of human ovarian cancer by regulation of metastasis-associated genes [J]. *Journal of Ovarian Research*, 2017, 10(1):40. DOI:10.1186/s13048-017-0329-0.
- [42] GAO Lingling, ZHENG Mingjun, GUO Qian, et al. Down-regulation of Rab23 inhibits proliferation, invasion, and metastasis of human ovarian cancer [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2019, 116:105617. DOI:10.1016/j.biocel.2019.105617.

- [43] ZHANG Wenjie, YU Feng, WANG Yu, et al. Rab23 promotes the cisplatin resistance of ovarian cancer via the Shh-Gli-ABC2 signaling pathway [J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(4): 5155–5160. DOI: 10.3892/ol.2018.7949.
- [44] ECKERT M A, COSCIA F, CHRYPLEWICZ A, et al. Proteomics reveals NNMT as a master metabolic regulator of cancer-associated fibroblasts [J]. *Nature*, 2019, 569(7758): 723–728. DOI: 10.1038/s41586-019-1173-8.
- [45] ROSENBERGER G, LUDWIG C, RÖST H L, et al. aLFQ: An R-package for estimating absolute protein quantities from label-free LC-MS/MS proteomics data [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(17): 2511–2513. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu200.
- [46] PHAM T V, HENNEMAN A A, JIMENEZ C R. IQ: An R package to estimate relative protein abundances from ion quantification in DIA-MS-based proteomics [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(8): 2611–2613. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz961.
- [47] WrProteo; Proteomics data analysis functions [EB/OL]. <https://cran.r-project.org/web/packages/wrProteo>, 2020-04-29/2022-11-24.
- [48] CHRISTIAN P. ProtViz: Visualizing and analyzing mass spectrometry related data in proteomics [EB/OL]. <https://mirrors.sjtug.sjtu.edu.cn/cran/web/packages/protViz/index.html>. 2020-05-19/2022-04-04.
- [49] ČUKLINA J, LEE C H, WILLIAMS E G, et al. Diagnostics and correction of batch effects in large-scale proteomic studies: a tutorial [J]. *Molecular Systems Biology*, 2021, 17(8): e10240. DOI: 10.15252/msb.202110240.
- [50] PANG Bo, XU Jinyuan, HU Jing, et al. Single-cell RNA-seq reveals the invasive trajectory and molecular cascades underlying glioblastoma progression [J]. *Molecular Oncology*, 2019, 13(12): 2588–2603. DOI: 10.1002/1878-0261.12569.
- [51] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 [J]. *Nature Methods*, 2012, 9(4): 357–359. DOI: 10.1038/nmeth.1923.
- [52] LI H, RUAN J, DURBIN R. Mapping short DNA sequencing reads and calling variants using mapping quality scores [J]. *Genome Research*, 2008, 18(11): 1851–1858. DOI: 10.1101/gr.078212.108.
- [53] LI R, LI Y, KRISTIENSEN K, et al. SOAP: Short oligonucleotide alignment program [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(5): 713–714. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn025.
- [54] LI B, DEWEY C, N. RSEM: Accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome [J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12: 323. DOI: 10.1186/1471-2105-12-323.
- [55] LONSDALE J, THOMAS J, SALVATORE M, et al. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(6): 580–585. DOI: 10.1038/ng.2653.
- [56] SATIJA R, FARRELL J A, GENNERT D, et al. Spatial reconstruction of single-cell gene expression data [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(5): 495–502. DOI: 10.1038/nbt.3192.
- [57] KHARCHENKO P V, SILBERSTEIN L, SCADDEN D T. Bayesian approach to single-cell differential expression analysis [J]. *Nature Methods*, 2014, 11(7): 740–742. DOI: 10.1038/nmeth.2967.
- [58] HÄNZELMANN S, CASTELO R, GUINNEY J. GSEA: Gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7. DOI: 10.1186/1471-2105-14-7.
- [59] QIU X, HILL A, PACKER J, et al. Single-cell mRNA quantification and differential analysis with Census [J]. *Nature Methods*, 2017, 14(3): 309–315. DOI: 10.1038/nmeth.4150.
- [60] SHIN J, BERG D A, ZHU Y, et al. Single-cell rna-seq with waterfall reveals molecular cascades underlying adult neurogenesis [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(3): 360–372. DOI: 10.1016/j.stem.2015.07.013.
- [61] BINDEA G, MLECNIK B, HACKL H, et al. ClueGO: A Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(8): 1091–1093. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp101.
- [62] ZHENG G, MA Y, ZOU Y, et al. HCCMDB: the human cancer metastasis database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(D1): D950–D955. DOI: 10.1093/nar/gkx1008.
- [63] YUAN H, YAN M, ZHANG G, et al. CancerSEA: A cancer single-cell state atlas [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): D900–D908. DOI: 10.1093/nar/gky939.
- [64] ZHANG Shihua, HE Xiaolong, ZHANG Rui, et al. LncR2metasta: A manually curated database for experimentally supported lncRNAs during various cancer metastatic events [J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(3): bbaa178. DOI: 10.1093/bib/bbaa178.
- [65] TANG F, BARBACIORU C, WANG Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell [J]. *Nature Methods*, 2009, 6(5): 377–382. DOI: 10.1038/nmeth.1315.
- [66] ZENG J, ZHANG Y, SHANG Y, et al. CancerSCEM: A database of single-cell expression map across various human cancers [J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D1147–D1155. DOI: 10.1093/nar/gkab905.
- [67] WANG P, GUO Q, HAO Y, et al. LnCeCell: A comprehensive database of predicted lncRNA-associated ceRNA networks at single-cell resolution [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1): D125–D133. DOI: 10.1093/nar/gkaa1017.