

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.027

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.027>

## TOP2A: 肺癌筛选及验证的新型预后标志物

杨凯<sup>1</sup>, 杨明<sup>1</sup>, 苏学会<sup>1</sup>, 温辉<sup>1</sup>, 单娜<sup>1</sup>, 牛春密<sup>2</sup>

(1. 秦皇岛市第二医院呼吸科, 河北 秦皇岛 066600; 2. 秦皇岛市第一医院呼吸科, 河北 秦皇岛 066000)

**[摘要]** **目的:** 肺癌是目前对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一, 它的发病率高、病死率高, 且预后不佳。本研究旨在筛选并验证新的肺癌预后标志物, 为肺癌精准治疗提供依据。**方法:** 根据检索GEO数据库中120例肺癌组织和正常组织的表达谱的芯片数据, 利用生物信息学和基因组学分析, 筛选得到TOP2A基因。通过TCGA数据库对TOP2A基因的表达产物DNA topoisomerase 2-alpha进一步分析, 探索了其在肺癌患者中的表达水平, 分析该蛋白与预后生存期和肺癌增殖标志物的共表达关系, 评价该基因对肺癌细胞系的影响。**结果:** 肺癌组织中TOP2A的表达水平显著高于正常组织, 且TOP2A表达量高的患者, 其生存期较短。TOP2A表达水平与肺癌增殖能力密切相关。**结论:** TOP2A基因有望成为新型肺癌预后标志物, 为肺癌精准治疗策略选择提供重要依据。

**[关键词]** 肺癌; 预后标志物; GEO; TCGA; TOP2A

## TOP2A: A new prognostic marker for lung cancer

YANG Kai<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>1</sup>, SU Xuehui<sup>1</sup>, WEN Hui<sup>1</sup>, SHAN Na<sup>1</sup>, NIU Chunmi<sup>2</sup>

(1. Department of Pneumology, Second Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao Hebei 066000;

2. Department of Pneumology, First Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao Hebei 066000, China)

**Abstract** **Objective:** Lung cancer is one of the most dangerous malignant tumors with high incidence of mortality and poor prognosis. The purpose of this study is to screen and verify a new prognostic marker of lung cancer, and provide evidence for accurate diagnosis treatment of lung cancer. **Methods:** In this study, the microarray data of 120 cases of lung cancer and normal tissues in GEO were analyzed, and a potential prognostic marker of lung cancer, TOP2A was obtained. Furthermore, the expression of DNA topoisomerase 2-alpha (coded by TOP2A gene) in patients with lung cancer, the prognostic survival time and the co-expression of proliferation markers of lung cancer were analyzed by TCGA. Moreover, the effect of TOP2A on lung cancer cell line was also evaluated. **Results:** The results showed that TOP2A was highly expressed in lung cancer tissues, and the survival time of patients with high expression of TOP2A was shorter. TOP2A was closely related to the survival time and proliferation of lung cancer.

收稿日期 (Date of reception): 2021-03-08

通信作者 (Corresponding author): 杨明, Email: yangkai\_6@126.com

基金项目 (Foundation item): 河北省卫生和计划生育委员会科研基金 (20191370). This work was supported by Scientific Research Fund of Hebei Health and Family Planning Commission, China (20191370).

**Conclusion:** TOP2A is expected to become a new prognostic marker of lung cancer, which provides a reference for the timely diagnosis and treatment of lung cancer.

**Keywords** lung cancer; prognostic markers; GEO; TCGA; TOP2A

原发性肺癌(以下简称肺癌)是目前对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤,发病率高,病死率高,且预后不佳<sup>[1]</sup>。其发病率连续50多年均在上升<sup>[2]</sup>,自20世纪70年代以来,我国肺癌发生率呈显著上升趋势。肺癌对人类健康的危害日益加剧,手术、化疗、放疗是肺癌主要治疗手段,但是临床适宜手术治疗的患者只有20%~30%,且总体预后欠佳,5年生存率仅从4%上升到12%<sup>[3]</sup>。

随着分子生物学和免疫学的不断发展,肿瘤标志物在肿瘤的普查、诊断、判断预后和转归、评价疗效和随诊等方面占有越来越重要的位置。胚胎抗原、糖蛋白类抗原、角蛋白类抗原、酶类抗原等都是目前报道应用较多的肿瘤标志物<sup>[4-5]</sup>,但尚存在大量的肿瘤标志物未得到临床验证。由于肺癌组织病理的多样性、异质性和复杂性,目前还没有找到一种敏感性和特异性均很高的肺癌肿瘤标志物。因此,筛选出可以临床应用的高特异性肺癌标志物,成为了肺癌治疗领域的重要课题。

医疗大数据的发展为解决多种临床难题提供了新思路<sup>[6]</sup>,为肿瘤的诊断和治疗提供了创新性方案,改变了传统的肿瘤诊疗模式。通过整合分析现有数据库中的样本,筛选与肿瘤相关的关键性差异基因,进而对其进行验证,将帮助我们对肿瘤的异质性和复杂性进行更全面深入的认识。为了更高效的对肿瘤进行预防、诊治,还可以利用差异基因对肿瘤进行分类<sup>[7]</sup>。无论是肿瘤的预测与诊断,治疗与监测,通过对医学资源发掘、收集、整理和利用,都可以更精准和高效地进行分析。

TOP2A是Topoisomerase II Alpha的缩写,位于17q21.2,其在转录过程中控制和改变DNA的拓扑状态。TOP2A被认为参与了诸如染色体凝缩、染色体单体分离以及DNA转录和复制过程中扭转应力的解除等过程。有研究<sup>[8]</sup>显示TOP2A在PD-L1阴性的非小细胞肺癌中可以作为潜在的标志物,但是并没有更加深入的研究。

为了筛选并验证新的肺癌标志物,本研究在60例非小细胞肺癌患者的肿瘤组织和癌旁组织临床标本中进行筛选,利用生物信息学和基因组学分析,确定了TOP2A有潜力成为新型肺癌预后标志物。同时,在细胞水平上对该标志物进行验证,结果显示TOP2A与肿瘤增殖和转移密切相关,进一

步证实了TOP2A基因有望成为肺癌的新型预后标志物,为肺癌精准治疗策略选择提供重要依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 基因表达数据

检索GEO数据库中有关“lung cancer”和“genome-wide screening”的相关数据信息,并筛选出与肺癌有关的mRNA。根据研究样本及研究方向最终确定由Lu等<sup>[9]</sup>提供的序列号为GSE55457的芯片,该芯片由120个样本构成。

### 1.2 差异基因筛选

利用R语言中的“limma”和“impute”包分析芯片的差异基因。显著差异基因的筛选条件设定为 $|\log_{2}FC(\text{Fold Change})| > 1$ 且 $P < 0.01$ ,通过贝叶斯显著性检验,筛选差异表达的基因,并进行火山图的绘制。

### 1.3 关键基因筛选

借助Cytoscape软件获得差异基因的相互作用网络图。利用CentiScape和MCODE插件,分析基因网络节点的连接度,筛选得到关键的差异基因。

### 1.4 TCGA 数据库数据分析

通过检索TCGA数据库中含有关键基因的样本,得到了肺癌癌旁组织样本320例和肺癌组织样本1 028例,并收集到以上样本所对应的病理数据和预后资料。为了得到含有临床参数和生存资料的病例,对肺癌组织样本进行了筛选,得到994例含有完整资料的病例。

美国Broad研究所基因数据分析中心Firehose网站(<http://gdac.Broadinstitute.org/>)和Memorial SloanKettering癌症研究中心cBioPortal肿瘤基因组网站(<http://www.cbioportal.org/>)提供了肺癌基因表达数据和患者临床数据。The Human Protein atlas数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)提供了人肺癌组织免疫组织化学结果。

### 1.5 质粒信息

pRS-shTOP2A(TR308699)、pCMV6-

TOP2A(SC127832)质粒购买自北京傲锐东源生物科技有限公司。

### 1.6 细胞培养及转染

人源大细胞肺癌细胞系(NCI-H460)、人源肺腺癌细胞系(A549)均购买自南京凯基生物科技发展有限公司。两种细胞均使用RPMI 1640细胞培养基(含10%胎牛血清, 1%青霉素-链霉素), 在37 °C CO<sub>2</sub>细胞培养箱中进行培养。相关质粒使用罗氏X-tremeGENE 9转染试剂进行转染。

### 1.7 细胞增殖实时监测

使用RTCA xCELLigence细胞培养实时监测系统(艾森生物, 美国)对细胞增殖进行实施监测。其中背景电阻参数使用50 μL培养基进行测量。将不同处理的肿瘤细胞接种到专用细胞培养板中(E-plate 16, ACEA Biosciences), 每孔100 μL培养基。随后将细胞培养板连同检测系统放置于细胞培养箱中进行培养, 定期更换细胞培养基。

### 1.8 细胞存活检测

细胞存活率通过MTT比色法进行分析。不同处理的细胞接种于96孔细胞培养板, 每孔8 000个细胞, 置于37 °C二氧化碳细胞培养箱中培养。培养48 h后, 向每孔加入20 μL MTT溶液并在培养箱中孵育4 h。随后移除溶液, 向每孔加入150 μL二甲基亚砷。利用酶标仪进行吸光度检测。

### 1.9 细胞凋亡检测

凋亡检测试剂盒采用南京凯基生物的Annexin V/PI双染细胞凋亡检测试剂盒(KGAV116), 检测方法详见说明书。

### 1.10 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行统计学分析。采用 $t$ 检验比较癌组织和癌旁组织中的表达水平。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 差异基因聚类分析、筛选及相互作用网络分析

利用基因芯片筛选60组肺癌组织和正常组织的差异基因, 并以FPKM为表达量, 对其进行层次聚类分析。如图1A所示, 红色和蓝色分别代表高表达基因和低表达基因, 可见肺癌组织和正常组织之间的基因表达谱存在显著差异。

为了更直观地显示差异基因的表达情况, 我们将差异基因数据进行火山图分析。以表达倍数变化为横坐标, 变化差异的 $P$ 值为纵坐标, 绘制火山图, 共筛选差异基因268个。如图1B所示, 灰色表示无显著性差异的基因; 红色代表显著上调基因, 共216个; 绿色代表显著下调基因, 共52个。

为了进一步缩小筛选基因的范围, 对筛选出来268的差异基因通过Cytoscape软件中的CentiScape和MCODE插件进行分析, 绘制出了差异基因的相互作用网络进行分析。如图1C和表1所示, 在整个网络中IL6、COL1A1、GNG11、LRRK2、TOP2A、CDH5、CXCR2、CAV1、PPBP、TIMP1、CD36、THBS2、CXCL2、MMP1连接度最高, 这些差异基因可能是正常肺组织癌变及肺癌恶化过程中的关键基因。

### 2.2 TOP2A 基因在肺癌预后中的作用

通过分析TCGA数据库中肺癌患者生存情况和TOP2A表达水平的相关性, 结果显示, 高表达TOP2A的肿瘤患者与低表达TOP2A肿瘤患者相比, 生存期显著缩短(图2A)。

本研究中分析的GEO数据为120例女性数据。我们利用TCGA数据库, 对TOP2A在男性和女性中的表达情况进行了分析, 结果显示, 与男性肺癌患者相比, 女性肺癌患者TOP2A的表达量较低(图2B)。同时利用TCGA数据库和The Human Protein Atlas数据库进行分析, TOP2A的表达量在肺癌组织中显著高于正常组织(图2C~2E)。

通过TCGA数据库分析TOP2A基因与MKI67(Ki-67蛋白的基因)和PCNA基因表达水平的关系, 结果显示TOP2A基因表达水平与MKI67、PCNA基因表达水平呈正相关(图3A、3B), 由此可见, TOP2A基因与肺癌细胞的增殖水平显著相关。

### 2.3 TOP2A 基因促进肿瘤细胞增殖和转移

分别在人源肺癌细胞系NCI-H460、A549细胞中过表达TOP2A基因和低表达TOP2A基因, 利用细胞培养实时检测RTCA系统检测不同细胞的增殖能力。结果显示: 与对照组肺癌肿瘤细胞相比, 过表达TOP2A基因后, NCI-H460、A549细胞的增殖能力均显著升高; 与此同时, 通过shRNA降低TOP2A基因表达后, NCI-H460、A549细胞的增殖能力均显著降低(图4A、4B)。

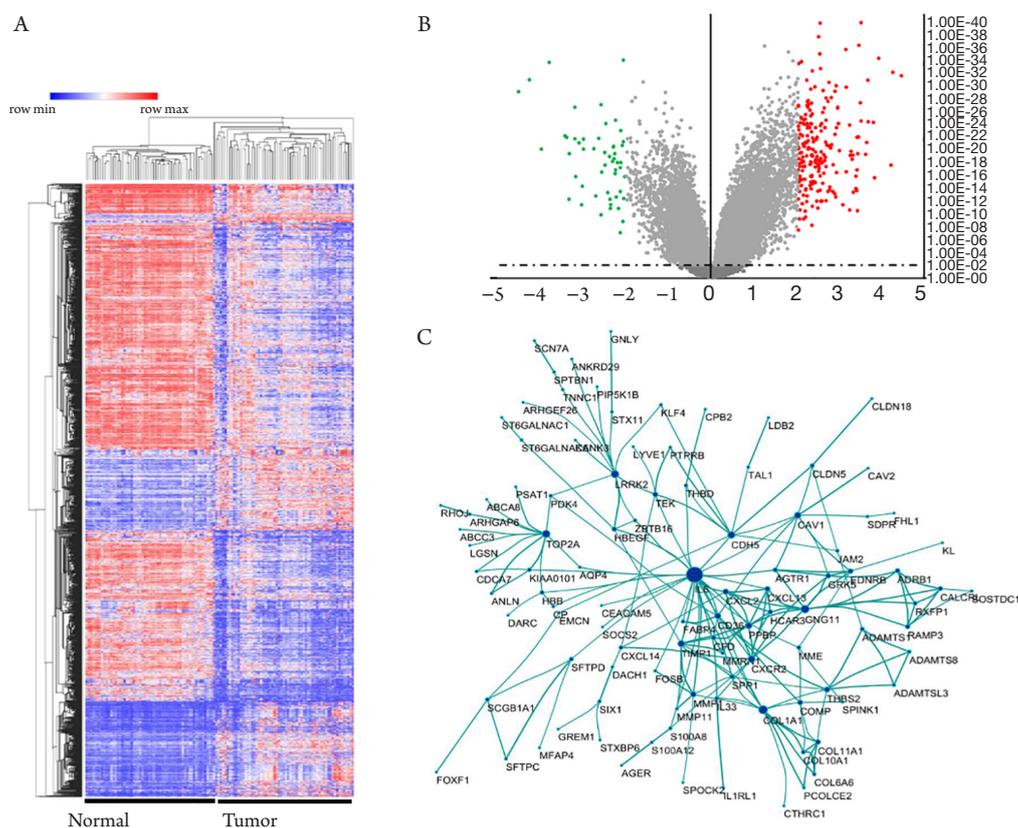


图1 差异基因聚类分析、筛选及相互作用网络分析

Figure 1 Cluster analysis, screening and interaction network analysis of differential genes

(A) 差异基因聚类分析结果; (B) 差异基因火山图; (C) 差异基因相互作用网络分析结果。

(A) Results of cluster analysis; (B) Volcanic map of differential genes; (C) Results of interaction network analysis.

表1 连接度最高的14个基因列表

Table 1 List of 14 genes which has the highest degree of connectivity

基因	连接度	校正P值
IL6	28	3.34E-12
COL1A1	13	1.60E-18
GNG11	12	8.96E-25
LRRK2	11	8.48E-11
TOP2A	11	5.36E-20
CDH5	10	1.29E-24
CXCR2	10	8.44E-14
CAV1	9	1.46E-22
PPBP	9	3.57E-11
TIMP1	9	4.24E-10
CD36	8	4.42E-02
THBS2	7	1.25E-16
CXCL2	7	3.77E-03
MMP1	7	1.25E-10

利用MTT分析检测过表达TOP2A基因和低表达TOP2A基因后肿瘤细胞对化疗药奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)的敏感性, 结果显示, 与正常的A549、NCI-H460细胞系相比, 过表达TOP2A基因后, 肿瘤细胞对OXA的敏感性降低, 相同药物浓度下细胞存活率显著提高。低表达TOP2A基因后, 肿瘤细胞对OXA的敏感性提高, 相同药物浓度下细胞存活率显著下降(图4C、4D)。

利用细胞凋亡检测试剂盒检测过表达TOP2A基因和低表达TOP2A基因后肿瘤细胞在OXA作用下, 细胞凋亡的程度, 结果显示, 在给予20  $\mu\text{mol/L}$  OXA的情况下, 与正常的A549、NCI-H460细胞系相比, 过表达TOP2A基因后, 肿瘤细胞凋亡的比例显著降低。低表达TOP2A基因后, 肿瘤细胞凋亡的比例显著升高(图4E)。

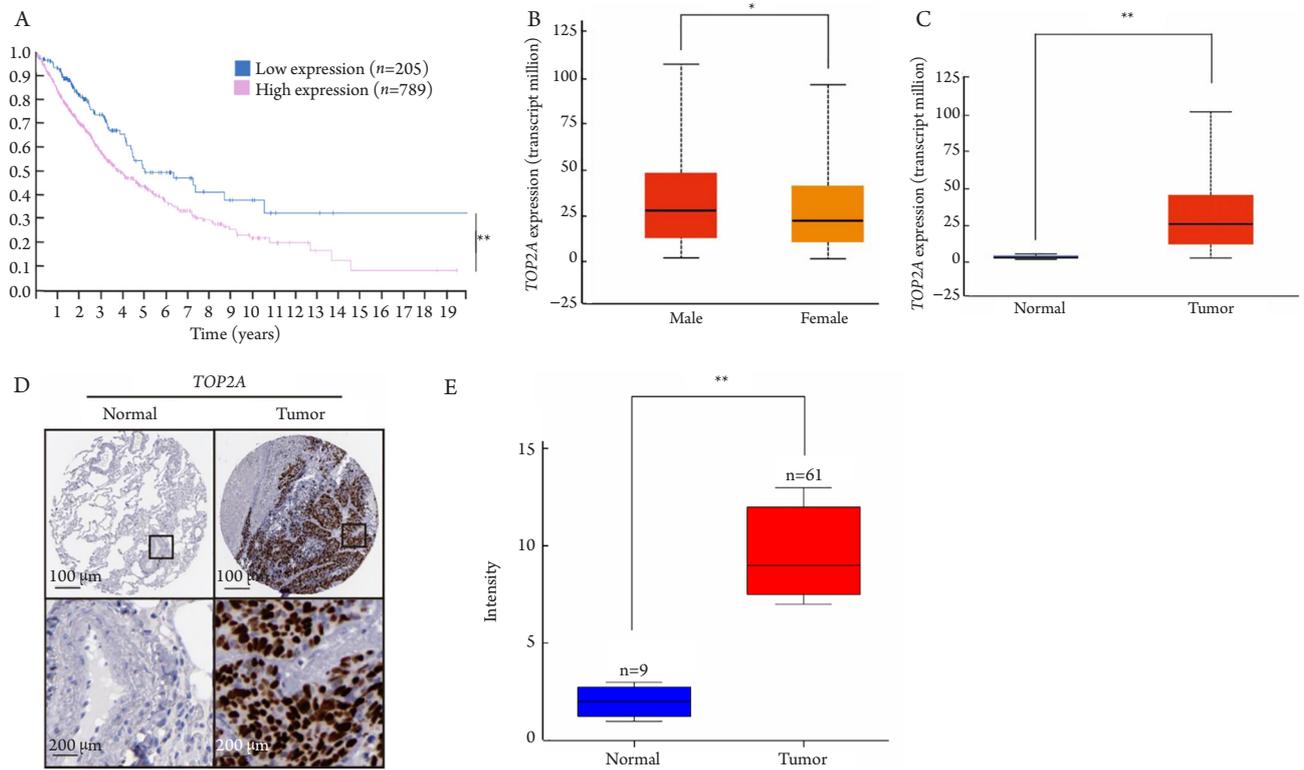


图2 TOP2A基因在肺癌预后中的作用

Figure 2 Role of TOP2A in lung cancer prognosis

(A) TOP2A预后生存分析; (B) TOP2A在男性与女性中的表达情况; (C-E) TOP2A在正常组织与肿瘤组织中的表达情况。与对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

(A) Prognostic survival analysis of TOP2A; (B) The expression of TOP2A in male and female; (C-E) Expression of TOP2A in normal tissue and tumor tissue. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Normal group.

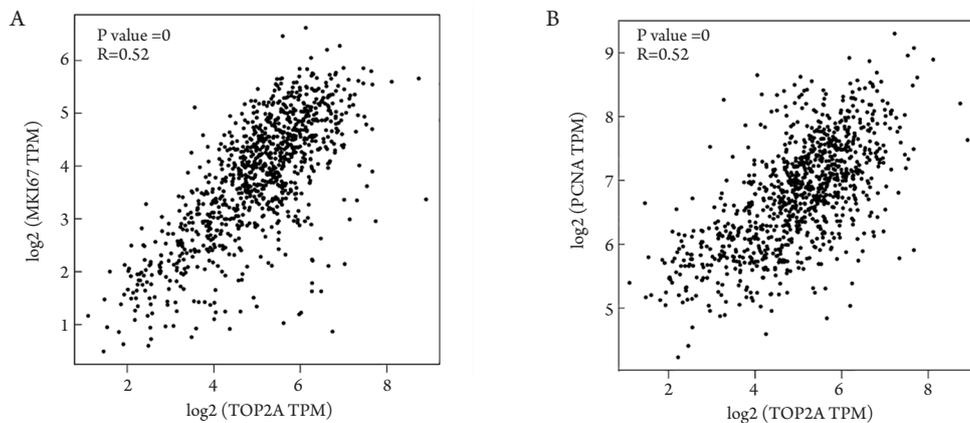


图3 TOP2A与Ki-67、PCNA的相关性

Figure 3 Correlation of TOP2A and Ki-67, PCNA

(A) 人体组织中TOP2A与Ki-67表达的相关性。(B) 人体组织中TOP2A与PCNA表达的相关性。

(A) Correlation of TOP2A and Ki-67; (B) Correlation of TOP2A and PCNA.

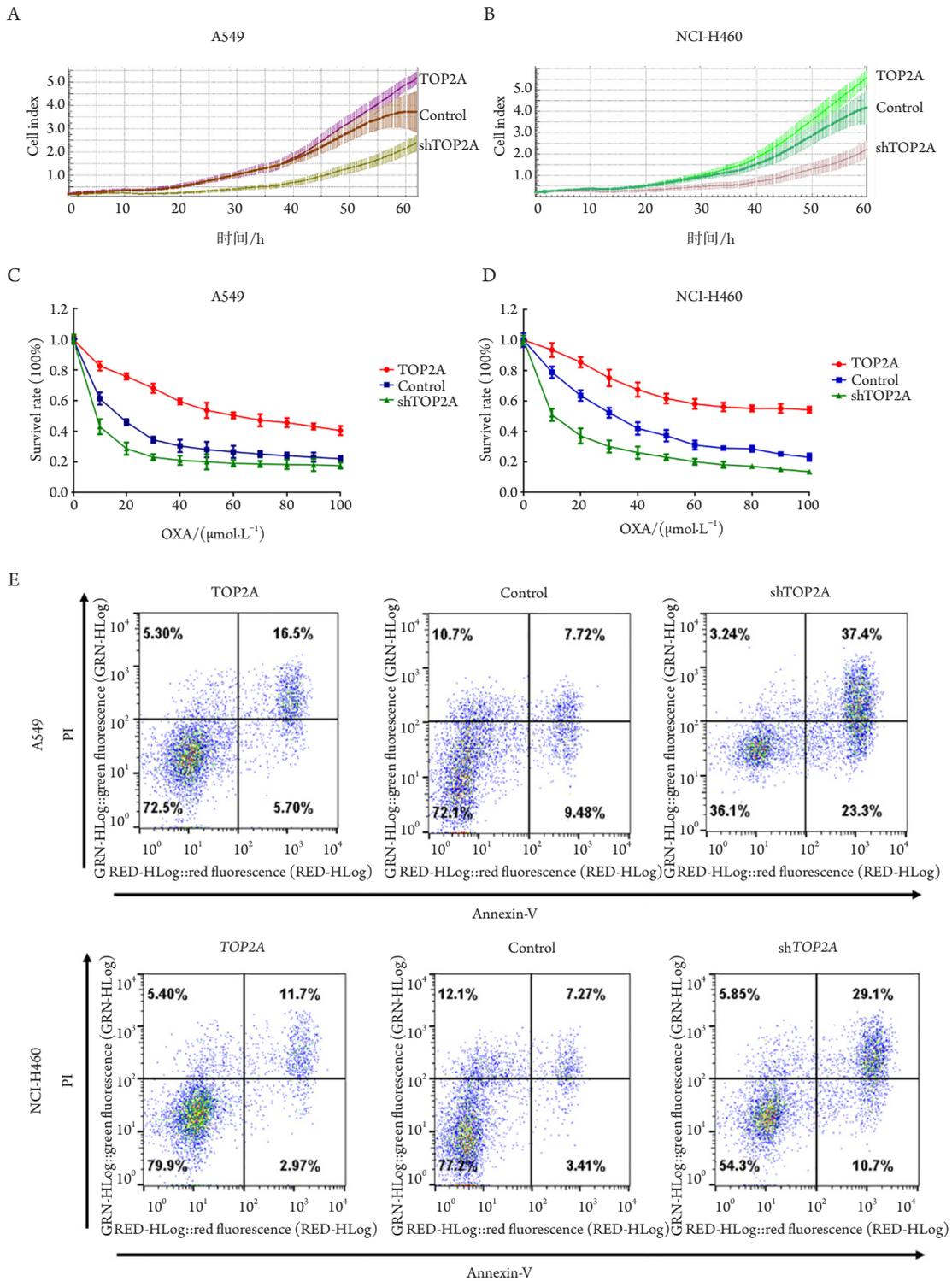


图4 TOP2A基因促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡

Figure 4 TOP2A promotes tumor cell proliferation and inhibits apoptosis

(A, B) TOP2A促进肿瘤细胞增殖; (C, D)TOP2A降低OXA敏感性; (E)TOP2A抑制OXA诱导的细胞凋亡。

(A, B) TOP2A promotes tumor cell proliferation; (C, D) TOP2A reduces OXA effectiveness; (E) TOP2A inhibits apoptosis.

### 3 讨论

肺癌是呼吸系统最常见的肿瘤, 肺癌严重威胁人类的身体健康, 发病率和致死率均列居首位<sup>[10-11]</sup>。尽管多年来, 随着医学现代化进程的加强, 肺癌的诊疗能力大大提高, 但其预后差的问题始终未得到根本解决。因此, 从根本上分析肺癌的发生和发展机制, 抑制相关的蛋白质通路, 进一步提高患者生存期成为目前治疗肺癌的主要研究方向。

在IL6、COL1A1、GNG11、LRRK2、TOP2A、CDH5、CXCR2、CAV1、PPBP、TIMP1、CD36、THBS2、CXCL2、MMP1中, CXCR2、CD36、CXCL2、MMP1等基因与肺癌的关系已多次被印证<sup>[12-15]</sup>。Ki-67蛋白和PCNA蛋白是目前报道较多的与肿瘤增殖相关的标志蛋白<sup>[16-17]</sup>, 而GNG11、LRRK2、PPBP、THBS2、TOP2A基因却鲜有报道, 因此本文将重点验证TOP2A基因在肺癌预后中的作用。

本研究对GEO数据库中60例肺癌组织和相应的60例癌旁组织的表达谱芯片数据进行分析, 通过对差异基因聚类分析、绘制相互作用网络、细胞学验证等方法, 筛选得到有望成为新型肺癌标志物的TOP2A基因。TOP2A与乳腺癌的关系密切, 它通常与ERBB2同时被删除或扩增, 因此这两个基因通常在乳腺癌患者中联合检测, 以便进一步指导使用抗癌药物赫赛汀<sup>[18-20]</sup>。在胶质母细胞瘤中, TOP2A可以被miR-144-3p等肿瘤抑制因子靶向抑制, 进而引起肿瘤细胞凋亡<sup>[21]</sup>。

通过TCGA数据库中芯片数据的分析, 结果发现TOP2A的表达水平与患者的生存期呈正相关。同时, 通过对男性和女性肺癌患者中TOP2A表达水平的分析, 发现TOP2A在男性肺癌患者中的表达量高于女性肿瘤患者, 这一点需要在临床诊治过程中予以考虑。通过比较TOP2A在肺癌组织和正常肺组织中的表达水平, 结果显示TOP2A在肺癌中的表达水平显著高于正常组织, 并且在TOP2A表达水平高的组织中, 肺癌增殖相关的蛋白质表达水平也相对较高。利用人源肺癌细胞系, 升高和降低肿瘤细胞内TOP2A的表达, 结果显示TOP2A基因可以促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡, 该结论与前期生物信息学和基因组学分析结果一致。前期研究<sup>[22]</sup>显示: 拓扑异构酶, 特别是TOP2A和TOP3A在肺癌组织中高表达, 且与不良预后显著相关。这与我们的结论是一致的。在此基础上, 本研究进一步发现TOP2A与肺癌的转移

可能存在密切关系, 这也解释了高表达TOP2A患者预后较差的原因。同时, 本研究利用肺癌细胞系在体外进行研究, 为进一步研究TOP2A在肺癌中的作用机制奠定了基础。本研究利用生物信息学还筛选得到一些其他的具有类似功能的基因, 这些结果为我们后续研究提供了一定的思路。

近年来, 针对肺癌的治疗方法主要包括手术、化疗、放疗、介入、物理消融、分子靶向治疗、免疫治疗等<sup>[23-24]</sup>, 但肺癌的生存率尚未得到较大提高, 仍然停留在12%左右, 且肺癌患者预后较差, 治疗的不良反应较大, 生存质量难以保障。因此, 肺癌的早期诊断和早期治疗是降低肺癌病死率、改善肺癌患者生活质量的最有效手段。

综上, TOP2A与肺癌患者的生存期密切相关, 且显著影响了肺癌细胞的增殖、凋亡过程。基于TOP2A在肺癌中的作用, 其有望成为肺癌新型的预后标志物, 具有广阔的开发和利用前景。

### 参考文献

1. Huang TT, Lan YW, Chen CM, et al. Antrodia cinnamomea induces anti-tumor activity by inhibiting the STAT3 signaling pathway in lung cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5145.
2. Zheng L, Qi YX, Liu S, et al. miR-129b suppresses cell proliferation in the human lung cancer cell lines A549 and H1299[J]. *Genet Mol Res*, 2016. doi: 10.4238/gmr15048367.
3. Scott MG, Le Rouzic E, Périanin A, et al. Differential nucleocytoplasmic shuttling of beta-arrestins. Characterization of a leucine-rich nuclear export signal in beta-arrestin2[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(40): 37693-37701.
4. Cedrés S, Nuñez I, Longo M, et al. Serum tumor markers CEA, CYFRA21-1, and CA-125 are associated with worse prognosis in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Clin Lung Cancer*, 2011, 12(3): 172-179.
5. Cho A, Hur J, Hong YJ, et al. Prognostic impact of cytological fluid tumor markers in non-small cell lung cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3205-3213.
6. International Cancer Genome Consortium; Hudson TJ, Anderson W, et al. International network of cancer genome projects[J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 993-998.
7. DeRisi J, Penland L, Brown PO, et al. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer[J]. *Nat Genet*, 1996, 14(4): 457-460.
8. Pabla S, Conroy JM, Nesline MK, et al. Proliferative potential and resistance to immune checkpoint blockade in lung cancer patients[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 27.

9. Lu TP, Tsai MH, Lee JM, et al. Identification of a novel biomarker, SEMASA, for non-small cell lung carcinoma in nonsmoking women[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(10): 2590-2597.
10. Yasumoto K, Hanagiri T, Takenoyama M, et al. Lung cancer-associated tumor antigens and the present status of immunotherapy against non-small-cell lung cancer[J]. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 57(9): 449-457.
11. Kocaturk CI, Gunluoglu MZ, Cansever L, et al. Survival and prognostic factors in surgically resected synchronous multiple primary lung cancers[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011, 39(2): 160-166.
12. Keane MP, Belperio JA, Xue YY, et al. Depletion of CXCR2 inhibits tumor growth and angiogenesis in a murine model of lung cancer[J]. *J Immunol*, 2004, 172(5): 2853-2860.
13. Zhang HH, Zhang ZY, Che CL, et al. Array analysis for potential biomarker of gemcitabine identification in non-small cell lung cancer cell lines[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(9): 1734-1746.
14. 彭再梅, 杨竹林, 刘友文, 等. MMP1, TIMP1在肺癌组织中的表达及临床生物学意义[J]. *湖南医科大学学报*, 2002, 27(2): 159-161. PENG Zaimei, YANG Zhulin, LIU Youwen, et al. Expression of MMP1 and TIMP1 proteins in lung cancer and its biological significance[J]. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2002, 27(2): 159-161.
15. Xu Z, Wu R. Alteration in metastasis potential and gene expression in human lung cancer cell lines by ITGB8 silencing[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2012, 295(9): 1446-1454.
16. Soomro IN, Holmes J, Whimster WF, et al. Predicting prognosis in lung cancer: use of proliferation marker, Ki67 monoclonal antibody[J]. *J Pak Med Assoc*, 1998, 48(3): 66-69.
17. Satelli A, Li S, et al. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(18): 3033-3046.
18. Chen JR, Chien HP, Chen KS, et al. Amplification of HER2 and TOP2A and deletion of TOP2A genes in a series of Taiwanese breast cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(2): e5582.
19. Huijsmans CJ, van den Brule AJ, Rigter H, et al. Allelic imbalance at the HER2/TOP2A locus in breast cancer[J]. *Diagn Pathol*, 2015, 10: 56.
20. Kotoula V, Bobos M, Alexopoulou Z, et al. Adjusting breast cancer patient prognosis with non-HER2-gene patterns on chromosome 17[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103707.
21. Song J, Ma Q, Hu M, et al. The inhibition of miR-144-3p on cell proliferation and metastasis by targeting TOP2A in HCMV-positive glioblastoma cells[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3259.
22. Hou GX, Liu P, Yang J, et al. Mining expression and prognosis of topoisomerase isoforms in non-small-cell lung cancer by using OncoPrint and Kaplan-Meier plotter[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174515.
23. Zhu JC, Yan TD, Morris DL, et al. A systematic review of radiofrequency ablation for lung tumors[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(6): 1765-1774.
24. Galluzzi L, Vacchelli E, Bravo-San Pedro JM, et al. Classification of current anticancer immunotherapies[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(24): 12472-12508.

本文引用: 杨凯, 杨明, 苏学会, 温辉, 单娜, 牛春密. TOP2A: 肺癌筛选及验证的新型预后标志物[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(9): 2139-2146. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.027

Cite this article as: YANG Kai, YANG Ming, SU Xuehui, WEN Hui, SHAN Na, NIU Chunmi. TOP2A: A new prognostic marker for lung cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(9): 2139-2146. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.027