doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2020.03.015

论著・临床研究

# MYCN 扩增型神经母细胞瘤潜在 预后生物标志物的综合性分析

范煦1 鹿洪亭1 侯琳2 张丽2 杨槟伊1 陈伟明1 张桓瑜1 陈鑫1 李富江1

(1. 青岛大学附属医院小儿外科,山东青岛 266000;2. 青岛大学生物化学与分子生物学实验室,山东青岛 266000)

[摘要] 目的 分析比较 MYCN 扩增型神经母细胞瘤(NB)和 MYCN 非扩增型 NB 表达 mRNA 的差别, 筛选具有预测 MYCN 扩增型 NB 预后功能的基因并分析其对预后的预测价值。方法 从 TARGET 数据库获得 NB 转录组数据和患儿临床资料,根据有无 MYCN 扩增分为 MYCN 扩增组(*n*=33)和 MYCN 非扩增组(*n*=121), 对两组 mRNA 进行差异分析,得到差异表达基因(DEGs)。采用 GO 和 KEGG 数据库分析 DEGs 的主要功能。 采用 Cox 比例风险回归模型分析影响 MYCN 扩增组 NB 预后的基因,根据风险评分的中位值分为高风险组(*n*=77) 和低风险组(*n*=77),采用生存分析法比较两组生存率,ROC 曲线分析风险评分对 MYCN 扩增型 NB 患儿预后 的预测价值。结果 共筛选出 582 个 DEGs,这些 DEGs 参与了核糖体组成、细胞黏附蛋白的表达以及膜蛋白受 体活动等重要生物功能。多因素 Cox 回归模型分析结果显示 FLVCR2、SCN7A、PRSS12、NTRK1、XAGE1A 基 因对 MYCN 扩增组 NB 患儿预后具有显著性影响(均*P*<0.05)。生存分析发现,高风险组的总生存率低于低风 险组(*P*<0.05)。ROC 分析显示,风险评分对 MYCN 扩增组 NB 患儿预后有预测价值(*P*<0.05),曲线下面积为0.729, 最佳截断值为 1.316,灵敏度为 53.2%,特异度为 84.4%。结论 FLVCR2、SCN7A、PRSS12、NTRK1、XAGE1A

[中国当代儿科杂志,2020,22(3):262-268] [关键词] 神经母细胞瘤;mRNA; MYCN 基因;预后;儿童

# A comprehensive analysis of potential prognostic biomarkers for MYCN-amplified neuroblastoma

FAN Xu, LU Hong-Ting, HOU Lin, ZHANG Li, YANG Bin-Yi, CHEN Wei-Ming, ZHANG Huan-Yu, CHEN Xin, LI Fu-Jiang. Department of Pediatric Surgery, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China (Lu H-T, Email: luhongting@126.com)

**Abstract: Objective** To study the differentially expressed mRNAs between MYCN-amplified neuroblastoma (NB) and non-amplified NB, to screen out the genes which can be used to predict the prognosis of MYCN-amplified NB, and to analyze their value in predicting prognosis. **Methods** NB transcriptome data and the clinical data of children were obtained from the TARGET database. According to the presence or absence of MYCN amplification, the children were divided into two groups: MYCN amplification (n=33) and non-MYCN amplification (n=121). The expression of mRNAs was compared between the two groups to obtain differentially expressed genes (DEGs). Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome (KEGG) analysis was performed to investigate the main functions of DEGs. The Cox proportional-hazards regression model analysis was used to investigate the genes influencing the prognosis of MYCN-amplified NB. The children were divided into a high-risk group (n=77) and a low-risk group (n=77) based on the median of risk score. A survival analysis was used to investigate the value of risk score in predicting the prognosis of children with MYCN-amplified NB. **Results** A total of 582 DEGs were screened out, and they were

<sup>[</sup>收稿日期] 2019-09-03; [接受日期] 2020-02-05

<sup>[</sup>基金项目]青岛市科技局民生科技计划项目(18-6-1-71-nsh)。

<sup>[</sup>作者简介]范煦,女,硕士研究生。

<sup>[</sup>通信作者] 鹿洪亭, 男, 主任医师, 教授。Email: luhongting@126.com。

involved in important biological functions such as ribosome composition, expression of cell adhesion molecules, and activity of membrane receptor protein. The multivariate Cox regression model analysis showed that FLVCR2, SCN7A, PRSS12, NTRK1, and XAGE1A genes had a marked influence on the prognosis of the children with NB in the MYCN amplification group (P<0.05). The survival analysis showed that the high-risk group had a significantly lower overall survival rate than the low-risk group (P<0.05). The ROC curve analysis showed that risk score had a certain value in predicting the prognosis of the children with NB in the MYCN amplification group (P<0.05), with an area under the ROC curve of 0.729, an optimal cut-off value of 1.316, a sensitivity of 53.2%, and a specificity of 84.4%. Conclusions The mRNA expression of FLVCR2, SCN7A, PRSS12, NTRK1, and XAGE1A genes can be used as biomarkers to predict the prognosis of MYCN-amplified NB, which can help to refine clinical risk stratification.

Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(3): 262-268]

Key words: Neuroblastoma; mRNA; MYCN gene; Prognosis; Child

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是儿童 最常见的颅外实体肿瘤<sup>11</sup>,大量研究揭示了人类 神经母细胞瘤的分子特征,包括基因组、表观基 因组和转录组水平的异常<sup>[2]</sup>。约 25% 的 NB 患儿 存在 MYCN 基因扩增,而 MYCN 基因的扩增和高 危型风险分组、预后差有关<sup>[3]</sup>。自 MYCN 扩增被 发现以来,越来越多的 MYCN 扩增型 NB 分子机 制得到了阐释。MYCN 编码的 mRNA 和其表达的 蛋白质,参与多个基因的调控,如 MYCN 编码的 转录因子 N-myc 调节下游 p53、S 期相关蛋白激 酶 2 (S-phase associated kinase 2, SKP2)、双微体 2 (murine double minute 2, MDM2)等基因,还调节一 些微小 RNA (miRNA)和长链非编码 RNA (lncRNA) 的表达<sup>[4]</sup>。而许多基因的失调,也可导致 MYCN 的 扩增。虽然 MYCN 扩增型 NB 的分子机制一直是研 究热点,但机制非常复杂,至今仍不明确。

MYCN 扩增是 NB 预后不良的标志<sup>[5]</sup>, 但 MYCN 扩增型 NB 患者的 5 年生存率也可达 50%<sup>[6]</sup>。所以需要确定新的生物标志物,以便更好 地进行风险分层,并进一步深入了解 NB 的生物学 基础。本文将 MYCN 扩增型 NB 和 MYCN 非扩增 型 NB 表达的 mRNA 相比较,初步探究这些差异 表达基因 (differentially expressed genes, DEGs)的 功能,并进一步筛选影响 MYCN 扩增型 NB 预后 的基因,评估这些基因对其预后的预测价值。

# 1 资料与方法

### 1.1 数据来源

NB 患儿临床资料和基因数据均来自 TARGET 数据库(https://ocg.cancer.gov/programs/target)。共 获取 154 例 NB 患儿的数据,其中女 63 例,男 91 例;诊断年龄 3 d至 16.5岁,中位诊断年龄为 2.9岁。 根据国际 NB 分期系统(International Neuroblastoma Staging System, INSS)分期, II b 期 1 例, III 期 6 例, IV 期 126 例, IV -s 期 21 例; 根据儿童肿瘤组 (Children's Oncology Group, COG) 危险分层, 高 危型 127 例, 中危型 13 例, 低危型 14 例。RNA 转录组数据来自 TARGET 数据库中 RNA 测序数据, 共包括 18911 个 mRNA。根据 NB 患儿有无 MYCN 扩增分为 MYCN 扩增组 (n=33)和 MYCN 非扩增 组 (n=121)。

#### 1.2 差异表达分析

采用 edgeR 3.9 (http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/edgeR.html) 识别 MYCN 扩 增组与 MYCN 非扩增组间 DEGs<sup>[7]</sup>。使用 multtest 2.36.0 (http://www.bioconductor.org/packages/release/ bioc/html/multtest.html) 将 *P* 值调整为假发现率 (false discovery rate, FDR)<sup>[8]</sup>; 以 FDR<0.05 和差 异倍数 (fold change, FC)的对数绝对值 (llogFCl) >1 为差异有统计学意义。

### 1.3 功能富集分析和信号转导通路分析

应用 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 数据 库(http://david.ncifcrf.gov)进行 Gene Ontology(GO) 功能分析和 KEGG 信号转导通路富集分析,并在 Cytoscape 中使用 BiNGO 插件预测潜在的功能<sup>[9]</sup>。 FDR<0.05 为差异有统计学意义。

#### 1.4 统计学分析

应用 SPSS 22.0 和 R 3.6.0 软件进行数据处理。 计数资料以例数表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。非 正态分布计量资料以中位数和四分位数间距 [M( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )]表示,组间比较采用 Mann-Whitney U秩和检验。采用单因素和多因素 Cox 比例风险 回归模型(简称 Cox 回归模型)分析影响 MYCN 扩增型 NB 患儿预后的基因。根据多因素 Cox 回归 模型分析的结果,计算风险评分。风险评分=基 因表达量 × 多因素 Cox 回归系数,是预测预后的 指标。根据 Akaike 信息准则(Akaike information criterion, AIC), AIC 值越小,模型越好。多因素 Cox 回归模型分析得到的基因,风险评分最低<sup>[10]</sup>。 按风险评分的中位值将患儿分为高风险组和低风 险组,采用 R 软件的 survminer 包绘制生存分析曲 线。ROC 曲线分析基于 DEGs 的风险评分对 MYCN 扩增型 NB 预后的预测价值。 $P \le 0.05$  为差异有统 计学意义。

# 2 结果

# 2.1 MYCN 扩增组和 MYCN 非扩增组一般情况 比较

两组间患儿诊断年龄、性别、INSS分期差 异无统计学意义(P>0.05)。MYCN扩增组COG 危险分层中高危型患儿比例高于MYCN非扩增组 (P<0.05)。见表1。

#### 2.2 差异分析

与 MYCN 非扩增组比较, MYCN 扩增组共发 现 582 个 DEGs, 其中 206 个 DEGs 表达上调, 376 个 DEGs 表达下调。部分 DEGs 见表 2。

#### 表 1 MYCN 扩增组和 MYCN 非扩增组一般资料比较

项目	MYCN 扩增 组 (n=33)	MYCN 非 扩增组 (n=121)	χ <sup>2</sup> /Z值	<i>P</i> 值
性别(男/女,例)	19/14	72/49	0.400	0.842
诊断年龄 [ <i>M</i> (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), d]	752 (645, 1 099)	1 155 (679, 1 730)	-1.823	0.068
INSS 分期 [n(%)]				
Ⅱь期	0(0)	1(0.8)		
Ⅲ期	2(6.1)	4(3.3)	1667	0 109
Ⅳ期	30(90.9)	96(79.3)	4.00/	0.198
IV -S 期	1(3.0)	20(16.5)		
COG 危险分层 [n(%)]				
高危型	33(100)	94(77.7)		
中危型	0(0)	13(10.7)	8.929	0.012
低危型	0(0)	14(11.6)		

表 2	MYCN	扩增组与	MYCN	非扩增组	中部分	DEGs
-----	------	------	------	------	-----	------

基因状态	基因	P值	llogFC  值	基因状态	基因	<i>P</i> 值	logFC  值
上调	ALB	< 0.001	4.913	下调	MUC15	< 0.001	-6.398
	MYCN	< 0.001	4.602		APOD	< 0.001	-5.708
	NBAS	< 0.001	3.484		PMP2	< 0.001	-5.429
	FLVCR2	< 0.001	3.363		HBG2	< 0.001	-4.265
	HSD3B2	< 0.001	3.074		S100B	< 0.001	-3.932
	HOXD10	< 0.001	2.835		HBG1	< 0.001	-3.922
	CRABP1	< 0.001	2.827		ORM1	0.007	-3.826
	FAM49A	< 0.001	2.714		KRT19	< 0.001	-3.753
	SLC38A5	< 0.001	2.504		ORM2	0.016	-3.546
	DDX1	< 0.001	2.499		PENK	< 0.001	-3.542
	CPNE7	< 0.001	2.395		SERPINA3	< 0.001	-3.489
	CLIP4	< 0.001	2.345		PLP1	< 0.001	-3.379
	COMP	< 0.001	2.342		SCN7A	< 0.001	-3.353
	PRSS12	< 0.001	2.294		ST6GALNAC2	< 0.001	-3.302
	PHGDH	< 0.001	2.262		SEMA3D	< 0.001	-3.225
	ETV1	< 0.001	2.219		MAGEA4	< 0.001	-3.111
	SLC30A3	< 0.001	2.145		SOX10	< 0.001	-3.032
	PRRX2	< 0.001	2.062		MAL	< 0.001	-2.987
	LPIN1	< 0.001	1.990		FGL1	0.002	-2.977
	COL11A1	< 0.001	1.947		SLC18A2	< 0.001	-2.958
	SIX3	< 0.001	1.919		HPCAL4	< 0.001	-2.919
	SFRP2	< 0.001	1.863		HP	0.003	-2.870
	CYP17A1	0.010	1.832		PLA2G2D	< 0.001	-2.848
	EBF3	< 0.001	1.818		XAGE1A	< 0.001	-2.827

第22卷第3期	中国当代儿科杂志	Vol.22 No.3
2020年3月	Chin J Contemp Pediatr	Mar. 2020

#### 2.3 GO 分析和 KEGG 分析

GO 功能富集分析结果表明,上调的 DEGs 主 要富集在翻译起始(44个)、蛋白质转移(40个)、 核糖体(40个)、细胞外基质构成(19个)等(图 1A);表达下调的 DEGs,主要富集在质膜蛋白复 合物(34个)、突触组织(32个)、神经递质水 平(28个)、受体调节活性(25个)和抗原处理 和呈递(18个)等(图1B)。



**图 1 DEGs 的 GO 分析** 图 A 为上调 DEGs 的 GO 富 集分析结果,图 B 为下调 DEGs 的 GO 富集分析结果。

KEGG 信号转导通路分析,上调的 DEGs 主要 涉及核糖体(41个)、蛋白质的消化和回收(8个) 等(图 2A),而细胞黏附分子(27个)、类风湿 关节炎(19个)等是表达下调基因参与的主要通 路(图 2B)。



**图 2 DEGs 的 KEGG 分 析** 图 A 为 上 调 DEGs 的 KEGG 分析结果,图 B 为下调 DEGs 的 KEGG 分析结果。

# 2.4 影响 MYCN 扩增型 NB 预后的的单因素 Cox 回归模型分析

以 llogFCl>2 为条件,进一步筛选得到 89 个 差异表达的 mRNA。经单因素 Cox 回归模型分析, 发现 15 个基因的 mRNA 对 MYCN 扩增型 NB 预后 产生显著性影响 ( $P \le 0.05$ ),分别为 FLVCR2、 FAM49A、PKIB、SCN7A、C17orf107、RGS9、 INSRR、PRSS12、NTRK1、CRABP1、MBP、 RP11-566K11.2、ERBB3、XAGE1A 和 XAGE1B, 见表 3。

衣 3 影响 MICON 5 增至 ND 顶口的半凶系 COX 凹归候空力	表 3	影响 MYCN	扩增型 NB	预后的单因素	Cox 回归模型分	沂
---------------------------------------	-----	---------	--------	--------	-----------	---

基因	回归系数	标准误	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	OR 值的 95% 可信区间
FLVCR2	0.216	0.077	7.849	0.005	1.241	1.067~1.443
FAM49A	-0.315	0.149	4.455	0.035	0.730	0.544~0.978
PKIB	-0.145	0.065	5.018	0.025	0.865	0.762~0.982
SCN7A	-0.304	0.088	11.848	0.001	0.738	0.621~0.877
C17orf107	-0.278	0.100	7.653	0.006	0.758	0.622~0.922
RGS9	-0.221	0.081	7.424	0.006	0.802	0.684~0.940
INSRR	-0.146	0.070	4.427	0.035	0.864	0.754~0.990
PRSS12	0.223	0.073	9.334	0.002	1.250	1.083~1.442
NTRK1	-0.111	0.050	5.007	0.025	0.895	0.812~0.986
CRABP1	0.105	0.047	4.962	0.026	1.111	1.013~1.218
MBP	-0.215	0.104	4.299	0.038	0.806	0.658~0.988
RP11-566K11.2	0.180	0.084	4.643	0.031	1.197	1.016~1.411
ERBB3	-0.158	0.081	3.854	0.050	0.854	0.729~1.000
XAGE1A	0.131	0.057	5.300	0.021	1.140	1.020~1.275
XAGE1B	0.130	0.056	5.391	0.020	1.139	1.020~1.271

# 2.5 影响 MYCN 扩增型 NB 预后的的多因素 Cox 回归模型分析

对单因素分析结果中差异具有统计学意义的 15 个基因进行多因素 Cox 回归模型分析,发

现 5 个基因的 mRNA 可用于预测 MYCN 扩增型 NB 的预后,分别为 FLVCR2、SCN7A、PRSS12、 NTRK1、XAGE1A,见表4。

表 4	影响 MYCN 拮	广增型 NB	预后的单因素	Cox 回归模型分析
-----	-----------	--------	--------	------------

基因	回归系数	标准误	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	OR 值的 95% 可信区间
FLVCR2	0.246	0.087	7.955	0.005	1.278	1.078~1.516
SCN7A	-0.354	0.111	10.150	0.001	0.702	0.565~0.873
PRSS12	0.301	0.083	13.164	< 0.001	1.351	1.148~1.590
NTRK1	0.145	0.074	3.880	0.049	1.156	1.001~1.335
XAGE1A	0.225	0.064	12.436	< 0.001	1.253	1.105~1.420

### 2.6 高风险组和低风险组的生存分析

基于 AIC, 多因素 Cox 回归模型分析得到的 FLVCR2、SCN7A、PRSS12、NTRK1 和 XAGE1A 的风险评分最低,为预测预后的最佳生物标志物。 根据风险评分的中位值将患儿分为高风险组和低 风险组。两组间患儿诊断年龄、性别差异无统计 学意义(P>0.05);高风险组 INSS 分期中IV期患 儿比例及 COG 危险分层中高危型患儿比例均高于 低风险组(P<0.05)。见表 5。生存分析发现,高 风险组的总生存率明显低于低风险组(P<0.05), 见图 3。

#### 表 5 高风险组和低风险组患儿一般资料的比较

项目	高风险组 (n=77)	低风险组 (n=77)	χ <sup>2</sup> /Z 值	<i>P</i> 值
性别(男/女,例)	42/35	49/28	1.316	0.251
诊断年龄 [M(P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), d]	1 030 (696, 1 531)	1 123 (361, 1 713)	-0.034	0.973
INSS 分期 [n(%)]				
<b>Ⅱ</b> ь期	1(1)	0(0)		
Ⅲ期	3(4)	3(4)	10 100	0.017
IV期	69(90)	57(74)	10.190	0.017
IV -S 期	4(5)	17(22)		
COG 危险分层 [n(%)]				
高危型	69(90)	58(75)		
中危型	6(8)	7(9)	8.173	0.017
低危型	2(3)	12(16)		



图 3 高风险组和低风险组生存曲线

# 2.7 基于 5 个 mRNA 的风险评分对 MYCN 扩增型 NB 患儿预后的 ROC 曲线分析

基于5个mRNA的风险评分的ROC曲线 下面积为0.729(95%可信区间:0.650~0.808, P<0.001),当约登指数为0.376时,风险评分的 最佳截断值为1.316,灵敏度为53.2%,特异度 为84.4%,阴性预测值为84.4%,阳性预测值为 53.2%,见图4。



图 4 基于 5 个 mRNA 风险评分预测 MYCN 扩增型 NB 预后的 ROC 曲线

#### 3 讨论

本研究发现 MYCN 扩增型 NB 和 MYCN 非扩 增型 NB 在基因表达上有许多不同,因此存在很多 差异明显的 mRNA。这些 mRNA 与 MYCN 扩增关 系密切。虽然 MYCN 扩增与预后不良相关,但研 究发现 MYCN 无法作为靶向治疗的直接靶标,需 要找寻其他有效靶标<sup>[11]</sup>。而本研究为未来进一步 研究 NB 的分子靶标提供参考。经过 DEGs 功能分 析,初步探讨了促进 MYCN 扩增型 NB 发生的分子 机制。本研究发现,FLVCR2、SCN7A、PRSS12、 NTRK1、XAGE1A 基因 对 MYCN 扩增组 NB 患儿 预后具有显著性影响,基于上述 5 个 mRNA 的风 险评分对 MYCN 扩增组 NB 患儿预后有预测价值, 故这 5 个 mRNA 可以作为 MYCN 扩增型 NB 的预 测预后的生物标志物。

在 GO 分析中,上调的 DEGs 生物功能主要富 集在蛋白质的翻译以及转运至膜的过程,细胞构 成主要富集在核糖体,分子功能主要富集在核糖 体和细胞外基质的结构组成,KEGG 结果也显示上 调的 DEGs 主要参与了核糖体通路的表达。因此, 可以预测,MYCN 扩增型 NB 的核糖体功能表达更 加活跃,蛋白质的的翻译和转移也更加高效。而 已有研究表明,MYCN 扩增的 NB 细胞真核转录延 长<sup>[12]</sup>。下调的 DEGs 生物功能主要富集在突触组织, 神经递质的转移,分子功能主要富集在膜受体的 活动上,由此可知,MYCN 扩增型 NB 神经细胞表 达更加活跃,侵袭能力更加强大。而已有研究表明, MYCN 扩增促进 NB 细胞代谢和侵袭<sup>[13]</sup>。

研究表明, FLVCR2、SCN7A、PRSS12、 NTRK1和 XAGE1A 参与多种生物过程和分子机 制。FLVCR2 主要促进主要易化子超家族(MFS) 的跨膜转运蛋白,参与生长、钙交换和体内平衡 的调节<sup>[14]</sup>: SCN7A/Nax 通道可作为体液的钠水平 传感器,通过改变神经元兴奋性来控制钠摄入, 增强的 SCN7A / Nax 表达通过增加背根神经节中神 经元的兴奋性而导致骨癌疼痛<sup>[15]</sup>; PRSS12 编码的 蛋白是由神经细胞分泌的, 被认为对认知功能很 重要,因为其功能丧失会导致严重的非综合征性 精神发育迟滞<sup>[16]</sup>。高水平的 NTRK1/TrkA 受体在 低阶段 NB 中表达, NTRK1/TrkA 的表达影响 NB 细胞的免疫原性,其特征在于患者预后良好并且 经常发生自发消退<sup>[17]</sup>。NTRK1还通过表观遗传学 来调节 NB 的分化<sup>[18]</sup>;有外显子水平分析将 MYCN 和 NTRK1 鉴定为替代外显子表达的主要决定因 素,并且可以有力地预测原发性 NB 的预后<sup>[19]</sup>。 XAGE1 在头颈部鳞状细胞癌中的表达和预后有相 关性, 它和 GAGE1 是头颈部鳞状细胞癌预后的独 立危险因素<sup>[19]</sup>。

自引入 RNA 测序和表达微列阵以来,使用 mRNA 表达特征作为个体患者结局的预测因子已 成为目前研究的热点。本研究讨论了 MYCN 扩增 型 NB 和 MYCN 非扩增型 NB 表达基因的差别并 且筛选出可以预测 MYCN 扩增型 NB 预后的 5 个 mRNA,分析了这 5 个基因作为预后生物标志物的 预测价值。目前 NB 的临床治疗仍然存在很大的挑 战,特别是高危患儿,即使运用多种治疗模式, 也很难进一步提高生存率<sup>[20]</sup>。近年来,分子靶向 治疗一直是研究热点,原因在于其可以精准地在 某个关键环节上发挥作用。本研究通过层层筛选 出的基因,也为 NB 的分子靶向治疗提供了新的素 材和思路。

TARGET是大型和全面的癌症基因组数据库, 基于这5个mRNA的风险评分是一个稳妥的生存 预测模型。但即使通过一系列统计学算法,确定 了这5个mRNA可以作为预测预后的生物标志物, 临床试验等实验研究仍然是必要的,以避免假阳 性的可能。并且需要一系列的实验来揭示这些 mRNA在NB中的作用及机制。

### [参考文献]

- Matthay KK, Maris JM, Schleiermacher G, et al. Neuroblastoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2: 16078.
- [2] Tsubota S, Kadomatsu K. Origin and initiation mechanisms of neuroblastoma[J]. Cell Tissue Res, 2018, 372(2): 211-221.
- [3] Huang M, Weiss WA. Neuroblastoma and MYCN[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3(10): a014415.
- [4] 赖祥萍,赖天霞,廖伟.神经母细胞瘤中 N-mye 的作用机制 研究进展 [J]. 医学综述, 2017, 23(5): 926-930.
- [5] Campbell K, Gastier-Foster JM, Mann M, et al. Association of MYCN copy number with clinical features, tumor biology, and outcomes in neuroblastoma: a report from the Children's Oncology Group[J]. Cancer, 2017, 123(21): 4224-4235.
- [6] Maris JM. Recent advances in neuroblastoma[J]. N Engl J Med, 2010, 362(23): 2202-2211.
- [7] Nikolayeva O, Robinson MD. edgeR for differential RNA-seq and ChIP-seq analysis: an application to stem cell biology[J]. Methods Mol Biol, 2014, 1150: 45-79.

- [8] Rosenblum M, Qian T, Du Y, et al. Multiple testing procedures for adaptive enrichment designs: combining group sequential and reallocation approaches[J]. Biostatistics, 2016, 17(4): 650-662.
- [9] Maere S, Heymans K, Kuiper M. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks[J]. Bioinformatics, 2005, 21(16): 3448-3449.
- [10] Xia L, Wang Y, Meng Q, et al. Integrated bioinformatic analysis of a competing endogenous RNA network reveals a prognostic signature in endometrial cancer[J]. Front Oncol, 2019, 9: 448.
- [11] Fletcher JI, Ziegler DS, Trahair TN, et al. Too many targets, not enough patients: rethinking neuroblastoma clinical trials[J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(6): 389-400.
- [12] Delaidelli A, Negri GL, Jan A, et al. MYCN amplified neuroblastoma requires the mRNA translation regulator eEF2 kinase to adapt to nutrient deprivation[J]. Cell Death Differ, 2017, 24(9): 1564-1576.
- [13] Ruiz-Pérez MV, Henley AB, Arsenian-Henriksson M. The MYCN protein in health and disease[J]. Genes (Basel), 2017, 8(4). pii: E113.
- [14] Meyer E, Ricketts C, Morgan NV, et al. Mutations in FLVCR2 are associated with proliferative vasculopathy and hydranencephaly-hydrocephaly syndrome (Fowler syndrome)[J]. Am J Hum Genet, 2010, 86(3): 471-478.
- [15] Ke CB, He WS, Li CJ, et al. Enhanced SCN7A/Nax expression contributes to bone cancer pain by increasing excitability of neurons in dorsal root ganglion[J]. Neuroscience, 2012, 227: 80-89.
- [16] Mitsui S, Osako Y, Yuri K. Mental retardation-related protease, motopsin (prss12), binds to the BRICHOS domain of the integral membrane protein 2a[J]. Cell Biol Int, 2014, 38(1): 117-123.
- [17] Pajtler KW, Rebmann V, Lindemann M, et al. Expression of NTRK1/TrkA affects immunogenicity of neuroblastoma cells[J]. Int J Cancer, 2013, 133(4): 908-919.
- [18] Li Z, Takenobu H, Setyawati AN, et al. EZH2 regulates neuroblastoma cell differentiation via NTRK1 promoter epigenetic modifications[J]. Oncogene, 2018, 37(20): 2714-2727.
- [19] Schramm A, Schowe B, Fielitz K, et al. Exon-level expression analyses identify MYCN and NTRK1 as major determinants of alternative exon usage and robustly predict primary neuroblastoma outcome[J]. Br J Cancer, 2012, 107(8): 1409-1417.
- [20] 姚伟,李凯,郑珊.神经母细胞瘤靶向治疗的应用现状和展望[J].中华小儿外科杂志,2018,39(10):792-796.

(本文编辑:王颖)