

# 层粘连蛋白基因家族在低级别胶质瘤中的表达及功能的生物信息学分析

王金朝<sup>1,2\*</sup>, 许尚臣<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>山东第一医科大学附属省立医院神经外科, 山东 济南

<sup>2</sup>山东第一医科大学研究生院, 山东 济南

收稿日期: 2023年3月21日; 录用日期: 2023年4月17日; 发布日期: 2023年4月25日

## 摘要

为了分析层粘连蛋白基因家族在低级别胶质瘤中的表达和预后评估价值, 我们使用生物信息学数据挖掘方法。具体而言, 我们从不同数据库下载了低级别胶质瘤的表达数据和临床信息, 然后使用R验证了不同级别胶质瘤的表达情况, 并测算了低级别胶质瘤的生存情况。接着, 我们使用ROC预测模型验证了我们的结果。此外, 我们还利用了cBioPortal、String、GeneMANIA和DAVID数据库, 分析了层粘连蛋白基因家族在低级别胶质瘤中的基因变异、蛋白-蛋白相互作用, 并进行了功能富集分析。研究结果表明, LAMA4、LAMA5、LAMB1、LAMB2、LAMB4、LAMC1、LAMC2和LAMC3是低级别胶质瘤中的明显促癌基因, 与临床WHO分期密切相关, 并且在2、3、4级中的表达逐级升高。另外, LAMA3是抑癌基因, 表达量随着WHO级别的升高而降低。预后分析表明, 除了LAMC2基因以外, 所有基因和低级别胶质瘤的生存都具有统计学意义。TCGA数据库和cBioPortal工具的分析显示, 这些基因的变异率相对较低。功能富集分析表明, 层粘连蛋白基因家族的主要癌症相关功能涉及细胞外基质、细胞黏附和癌症相关信号等。因此, 我们得出结论: 层粘连蛋白家族分子可以作为低级别患者肿瘤分级和预后判断的潜在靶标, 这一发现可能为胶质瘤的研究和个体化治疗提供一个新的视角。

## 关键词

低级别胶质瘤, 层粘连蛋白基因家族, 生物信息学, 细胞外基质

## Bioinformatics Analysis of Expression and Function of Laminin Family Genes in Low-Grade Glioma

Jinchao Wang<sup>1,2\*</sup>, Shangchen Xu<sup>1#</sup>

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 王金朝, 许尚臣. 层粘连蛋白基因家族在低级别胶质瘤中的表达及功能的生物信息学分析[J]. 临床医学进展, 2023, 13(4): 6406-6416. DOI: 10.12677/acm.2023.134901

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan Shandong

<sup>2</sup>Graduate School of Shandong First Medical University, Jinan Shandong

Received: Mar. 21<sup>st</sup>, 2023; accepted: Apr. 17<sup>th</sup>, 2023; published: Apr. 25<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

To investigate the expression and prognostic value of laminin family genes in low-grade glioma, we conducted a bioinformatics data mining analysis. We obtained expression data and clinical information for low-grade glioma from various databases, validated the expression of different grades of glioma using R, calculated survival outcomes for low-grade glioma, and applied an ROC prediction model for validation. Furthermore, we analyzed gene variations and protein-protein interactions of laminin family genes in low-grade glioma using cBioPortal, String, GeneMANIA, and DAVID databases, and performed functional enrichment analysis. Our results showed that LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB4, LAMC1, LAMC2, and LAMC3 were significantly oncogenic in low-grade glioma, closely associated with clinical WHO staging, and exhibited progressively increasing expression levels in grades 2 to 4. Conversely, LAMA3 was found to be a tumor suppressor, with expression levels decreasing with increasing WHO grade. Survival analysis indicated that all genes except LAMC2 were statistically significant in low-grade glioma. The TCGA database and cBioPortal analysis revealed relatively low mutation rates for these genes. Functional enrichment analysis revealed that the main cancer-related functions of laminin family genes involved extracellular matrix, cell adhesion, and cancer-related signaling. In conclusion, laminin family molecules may serve as potential targets for low-grade glioma grading and prognosis, providing a new perspective for research and personalized treatment of glioma.

## Keywords

Low-Grade Glioma, Laminin Family Genes, Bioinformatics, Extracellular Matrix

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胶质瘤是颅内原发性肿瘤中最常见的类型,起源于少突胶质细胞、星形胶质细胞及其前体细胞[1]。在众多胶质瘤分型中,低级别胶质瘤占据了大多数,约占30%~50% [2]。目前,手术切除、放疗、化疗等方法是治疗低级别胶质瘤的主要手段[3] [4] [5]。虽然预后相对较好,但在胶质瘤发展的过程中,突变基因的不断积累,肿瘤微环境的变化,可能使低级别胶质瘤逐渐发展为高级别胶质瘤[6] [7]。尽管在过去几十年的研究中,由于其独特的致病性,肿瘤的致死率没有显著变化。

层粘连蛋白最初从板条炎小鼠的肿瘤和胚胎癌细胞系表皮细胞中分离和纯化[8] [9],由一个 $\alpha$ 、一个 $\beta$ 和一个 $\gamma$ 链组成的分泌型多域异三聚蛋白[10]。迄今为止,在人类中发现了五条 $\alpha$ 链、四条 $\beta$ 链和三条 $\gamma$ 链,它们形成了至少16种不同的三聚体[11]。作为基底膜的主要成分,层粘连蛋白影响基底膜的多种特性,对组织的维持和生存至关重要。在肿瘤和癌细胞的存活和增殖、血管生成、癌细胞迁移和破坏脑

转移瘤的发展以及癌症进展的许多其他阶段,层粘连蛋白都有重要作用[12]。由于其广泛参与肿瘤细胞恶性转化,层粘连蛋白在诊断、预后和作为生物标志物的潜力方面已在广泛的癌症中得到广泛研究。例如,在非小细胞肺癌、结直肠癌甚至整个胃肠道癌中,测量患者血清中的层粘连蛋白水平有助于预测治疗反应和总体生存率[13]。目前尚无关于层粘连蛋白在低级别胶质瘤中的研究。本研究的主要目的是探讨层粘连蛋白在低级别胶质瘤诊断和预后方面的相关性研究。

## 2. 材料和方法

### 2.1. TCGA、CGGA 和 GEO 数据库的挖掘和分析

本研究分别从 TCGA 数据库(<https://www.proteinatlas.org>)、CGGA 数据库(<http://www.cgga.org.cn/>)和 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>, GSE4290)中获取胶质瘤病人的表达和临床数据。数据库样本的纳入标准如下:1) 计算从数据库下载的重复测序的平均值;2) 选择进行分析的样本必须包含有关患者的完整临床信息,包括生存时间、生存状态、年龄和性别。没有这些临床信息的样本将被排除。然后使用 R 软件来整理和规范数据。

### 2.2. R

R 是一种开源的软件编程语言和数据分析环境,用于统计分析、映射和数据挖掘。在本研究中,我们基于 TCGA 中 693 个 mRNAseq 样本的低级别胶质瘤数据,使用 R 4.0.2 对层粘连家族基因进行了生存分析和 ROC 曲线分析,以验证其作为预后基因的准确性。

### 2.3. cBioPortal

cBioPortal (<https://www.cbioportal.org/>)是一个多功能可视化工具,用于分析肿瘤样本的基因组数据,实现复杂的肿瘤基因组和临床特征的整合分析。本研究利用该平台中低级别胶质瘤数据库(TCGA, Firehose Legacy)的患者基因表达信息,其中包括突变、拷贝数变异和 mRNA 表达数据,以进一步分析层粘连家族基因的变异情况。

### 2.4. String

String 数据库(<https://string-db.org/>)是一个可搜索的工具,已知和预测了 2031 个物种中蛋白质的相互作用,其中包括 960 万个蛋白质和 1380 万个蛋白质相互作用关系。它包含实验数据、PubMed 摘要文本挖掘的结果、从其他数据库合成的数据以及通过生物信息学方法进行的预测结果。本研究利用 String 数据库绘制了层粘连基因家族的蛋白质-蛋白质相互作用网络。

### 2.5. GeneMANIA

利用 GeneMANIA (<http://www.genemania.org>)可预测蛋白质之间的相互作用,并分析层粘连基因家族的共表达、共定位、通路、物理相互作用。该网站可用于预测基因的潜在蛋白质功能和探索其他图谱。

### 2.6. DAVIN

DAVIN 是一个综合性的在线工具,支持基因集富集分析和网络分析。本研究使用该工具对层粘连家族基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。

### 2.7. 统计分析

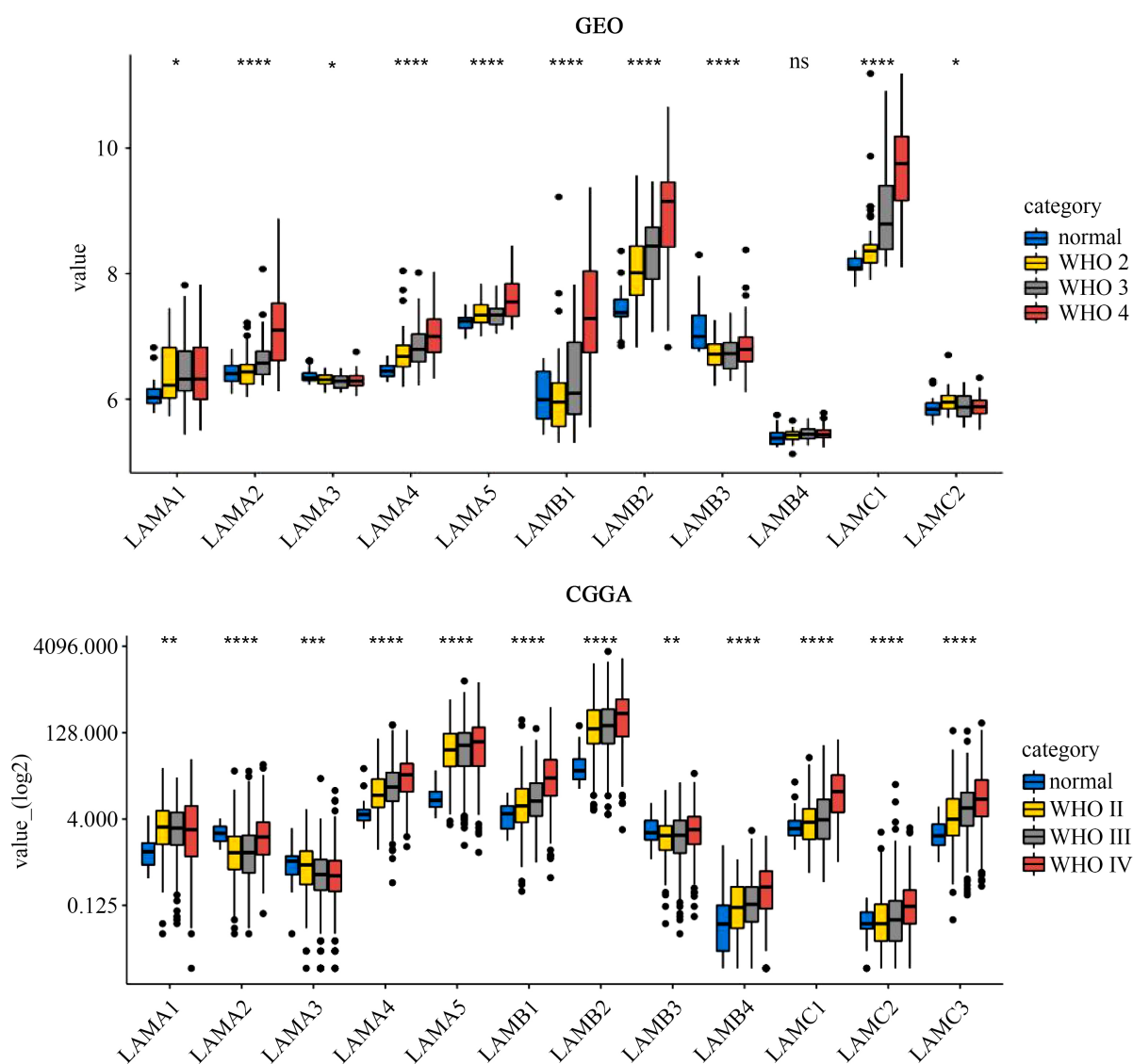
使用 Wilcoxon 秩和检验检测两组之间的统计学显著性,使用 Kruskal-Wallis 检验比较多组之间的差

异。基于 Kaplan-Meier 分析, 我们确定了变量单独预后的意义。为了评估多个独立预后因素对生存结果的影响, 逐步应用 Cox 比例风险模型。所有的统计分析都使用 R 软件, P 值小于 0.05 被认为是具有统计学意义的。

### 3. 结果

#### 3.1. 层粘连蛋白基因家族在低级别胶质瘤中的表达

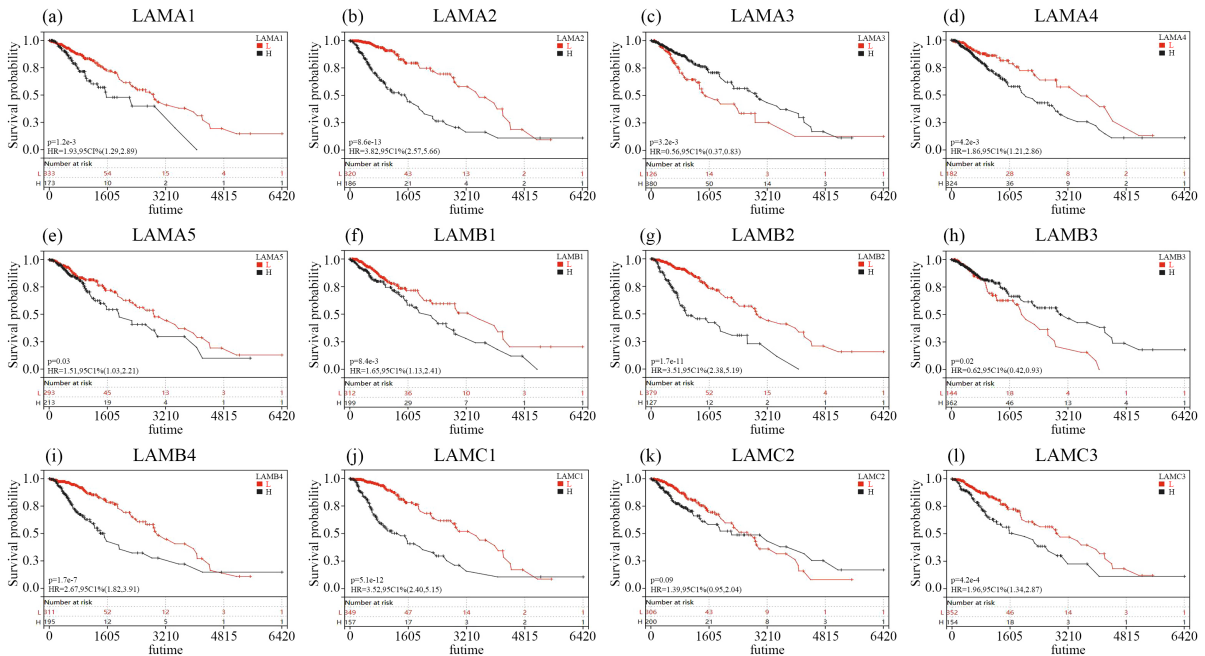
通过分析从 GEO 和 CGGA 下载的数据, 发现在低级别胶质瘤组织中, LAMA4、LAMA5、LAMB1、LAMB2、LAMB4、LAMC1、LAMC2 和 LAMC3 都是明显的促癌基因, 而 LAMA3 则是抑癌基因(见图 1)。此外, 低级别胶质瘤中每个层粘连蛋白基因家族成员的表达丰度各不相同, 结果显示 LAMB4 的相对表达量在层粘连蛋白基因家族成员中最低, 而 LAMB2 的表达量最高(见图 1)。



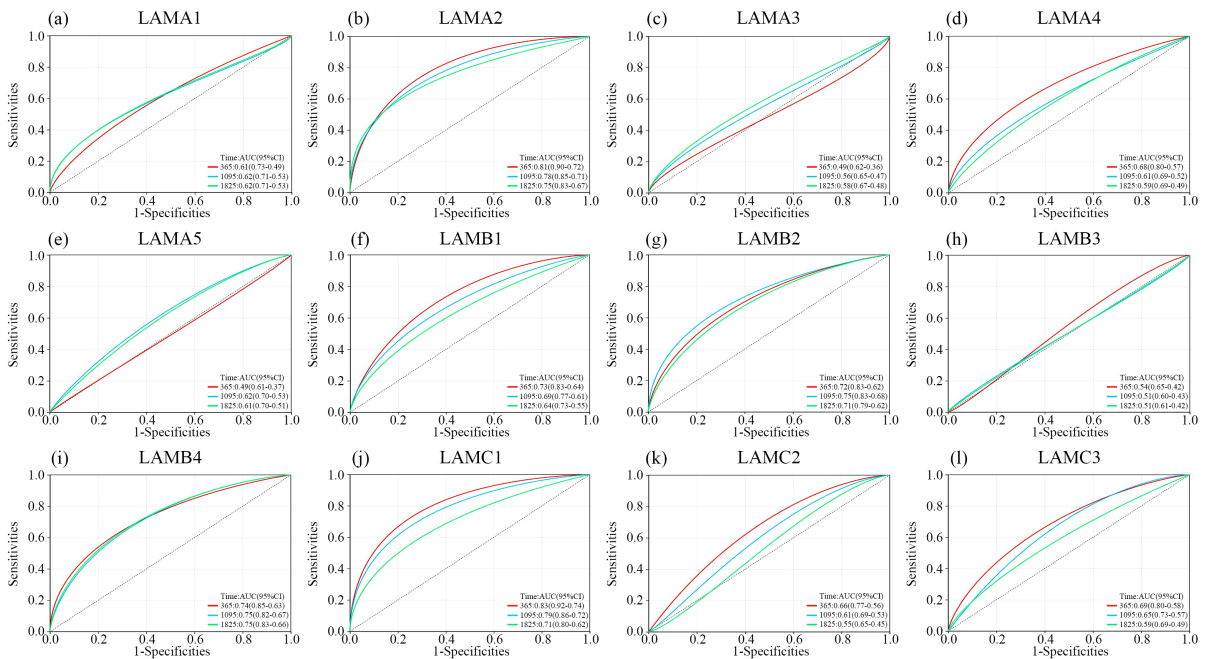
**Figure 1.** Differential expression of laminin family genes in the GEO database and TCGA database in LGG, GBM and normal tissues

**图 1.** GEO 数据库和 TCGA 数据库中中层粘连蛋白家族基因在 LGG、GBM 和正常组织中的差异表达

### 3.2. 层粘连家族基因的表达与癌症患者的生存相关性分析



**Figure 2.** Prognostic significance of laminin mRNA expression in patients with low-grade gliomas in the TCGA database  
**图 2.** TCGA 数据库中低级别胶质瘤患者层粘连蛋白 mRNA 表达的预后意义



**Figure 3.** ROC prognostic model of laminin family genes in patients with low-grade gliomas from the TCGA database  
**图 3.** TCGA 数据库中低级别胶质瘤患者层粘连蛋白 ROC 预后模型

结合分析层粘连家族基因在 TCGA 数据库中的表达数据和癌症患者的生存时间数据, 我们发现除了 LAMC2 基因以外, 所有基因在低级别胶质瘤患者中的表达与生存期都有统计学意义(见图 2)。其中,



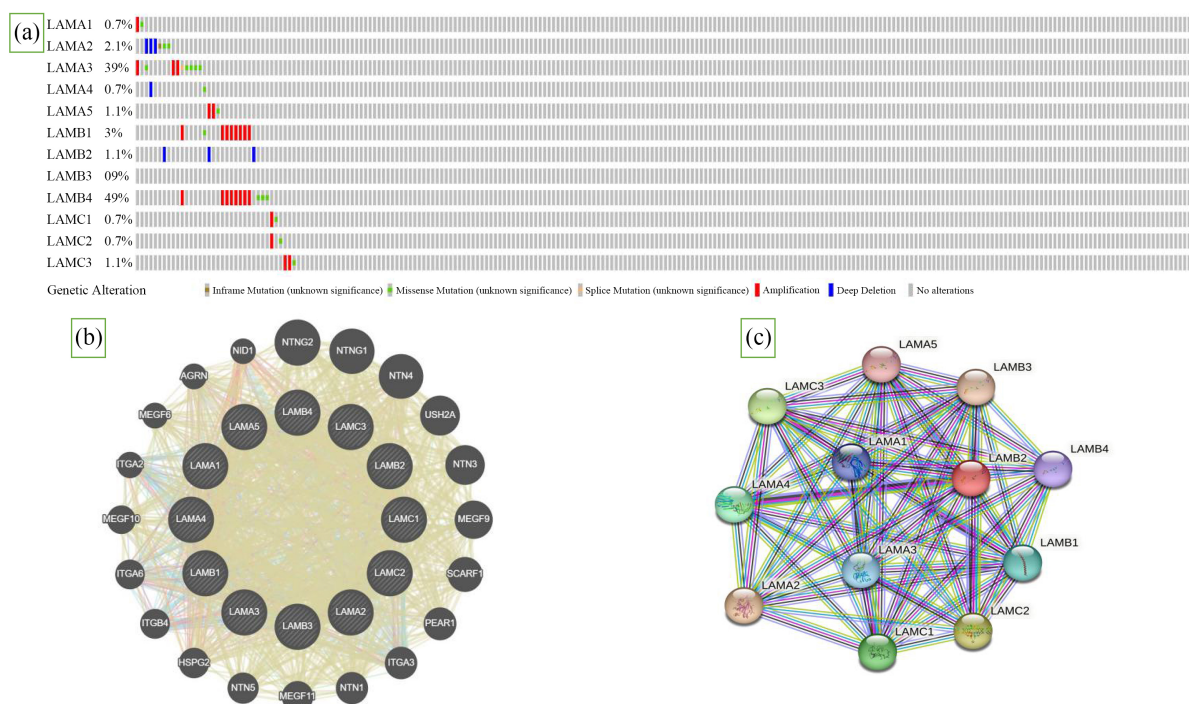
LAMA3 和 LAMB3 的高表达相比低表达具有更长的生存期, 而其他基因则相反。随后进行的 ORC 预后模型分析表明, LAMA1、LAMA2、LAMA4、LAMA5、LAMB1、LAMB2、LAMB4、LAMC1、LAMC2 和 LAMC3 的 1、3 和 5 年 AUC 值有两个时间点均大于 0.6, 提示该预后模型在 TCGA 验证集中具有较高的可信度(见图 3)。

### 3.3. 层粘连家族基因在低级别胶质瘤中的遗传学改变

通过 cBioPortal 数据库分析低级别胶质瘤患者数据集的基因改变状况(TCGA, Firehose Legacy, 539 例), 结果显示在 369 例低级别胶质瘤患者中, 共有 283 例(52.5%)患者存在基因改变。其中, 层粘连家族基因变异率最高的是 LAMB4 (4%), 其次是 LAMA3 和 LAMB1 (3%), 而 LAMB3 最低(0%) (见图 4(a))。此外, 结果还显示 LAMB1 和 LAMB4、LAMC1 和 LAMC2 之间存在明显的正相关。

### 3.4. 蛋白质相互作用网络分析

我们使用 sting 和 GeneMANIA 对层粘连家族进行了蛋白质相互作用(PPI)网络分析, 以探索其潜在的相互作用并寻找网络相关基因。通过字符串数据库识别出的 PPI 网络显示有 12 个层粘连家族蛋白节点和 65 条边(见图 4(c))。层粘连家族蛋白质的功能与细胞外基质受体相互作用、粘着斑等功能有关。此外, GeneMANIA 也得出了相似的结果(见图 4(b))。



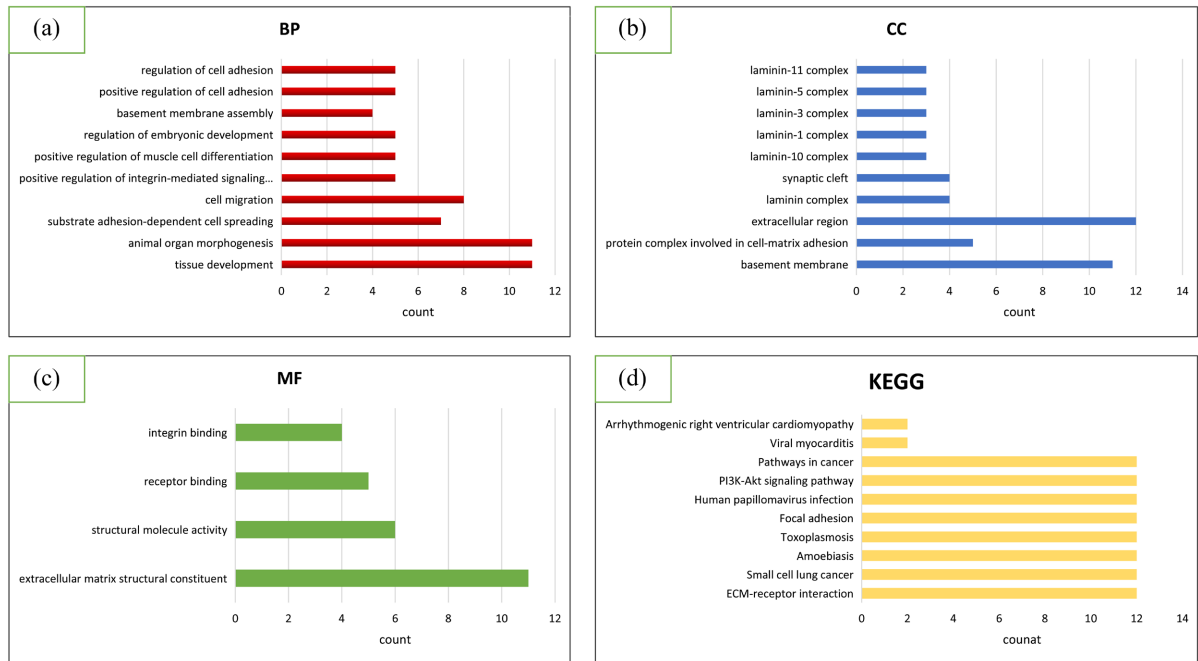
**Figure 4.** (a) Mutations in the laminin family of genes in low-grade gliomas; (b) PPI network of laminin family genes in the String database; (c) Protein-protein interactions of laminin family genes in the GeneMANIA database

**图 4.** (a) 低级别胶质瘤中层粘连蛋白家族基因突变; (b) String 数据库中中层粘连蛋白家族基因的 PPI 网络; (c) GeneMANIA 数据库中中层粘连蛋白家族基因的 PPI 网络

### 3.5. 层粘连家族基因的功能及通路富集分析

我们使用 DAVIN 数据库对层粘连家族基因进行了 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 进一步探究其相关生物学功能。结果表明, 层粘连家族基因主要参与组织发育、器官形态发生、基质粘附依

赖性细胞扩散和细胞迁移等生物学过程(见图 5(a))。层粘连家族基因相关蛋白主要参与组成的细胞成分包括参与细胞基质粘附的蛋白质复合物、层粘连蛋白复合物和突触裂等(见图 5(b))，而层粘连家族基因相关蛋白主要参与的分子功能包括细胞外基质结构成分、结构分子活性、受体结合和整合素等(见图 5(c))。此外，KEGG 通路富集分析结果显示，层粘连家族基因相关分子在低级别胶质瘤中主要涉及细胞外基质、细胞黏附和癌症相关信号通路(见图 5(d)，表 1)。



**Figure 5.** Enrichment analysis of laminin family genes and protein network-related genes. (a) BP; (b) CC; (c) MF; (d) KEGG

**图 5.** 层粘连蛋白家族基因和蛋白网络相关基因的富集分析。(a) BP; (b) CC; (c) MF; (d) KEGG

**Table 1.** Results of the enrichment analysis data

**表 1.** 富集分析结果

| Category | Term       | Description  | Count | P Value  | FDR      |
|----------|------------|--|-------|----------|----------|
| BP term  | GO:0009888 | tissue development   | 11    | 1.02E-27 | 4.48E-26 |
| BP term  | GO:0009887 | animal organ morphogenesis                                 | 11    | 2.73E-21 | 6.00E-20 |
| BP term  | GO:0034446 | substrate adhesion-dependent cell spreading                | 7     | 2.57E-13 | 3.77E-12 |
| BP term  | GO:0016477 | cell migration   | 8     | 2.81E-11 | 3.10E-10 |
| BP term  | GO:2001046 | positive regulation of integrin-mediated signaling pathway | 5     | 4.07E-11 | 3.58E-10 |
| BP term  | GO:0051149 | positive regulation of muscle cell differentiation         | 5     | 7.76E-11 | 5.69E-10 |
| BP term  | GO:0045995 | regulation of embryonic development                        | 5     | 7.65E-09 | 4.81E-08 |
| BP term  | GO:0070831 | basement membrane assembly                                 | 4     | 1.65E-08 | 9.06E-08 |
| BP term  | GO:0045785 | positive regulation of cell adhesion                       | 5     | 2.55E-08 | 1.25E-07 |

## Continued

|         |            |  |    |            |            |
|---------|------------|--|----|------------|------------|
| BP term | GO:0030155 | regulation of cell adhesion                      | 5  | 2.93E-08   | 1.29E-07   |
| CC term | GO:0005604 | basement membrane                                | 11 | 2.98E-23   | 3.87E-22   |
| CC term | GO:0098637 | protein complex involved in cell-matrix adhesion | 5  | 5.58E-12   | 3.62E-11   |
| CC term | GO:0005576 | extracellular region                             | 12 | 1.43E-11   | 6.21E-11   |
| CC term | GO:0043256 | laminin complex                                  | 4  | 3.98E-09   | 1.29E-08   |
| CC term | GO:0043083 | synaptic cleft                                   | 4  | 1.10E-07   | 2.86E-07   |
| CC term | GO:0043259 | laminin-10 complex                               | 3  | 7.80E-07   | 1.01E-06   |
| CC term | GO:0005606 | laminin-1 complex                                | 3  | 7.80E-07   | 1.01E-06   |
| CC term | GO:0005608 | laminin-3 complex                                | 3  | 7.80E-07   | 1.01E-06   |
| CC term | GO:0005610 | laminin-5 complex                                | 3  | 7.80E-07   | 1.01E-06   |
| CC term | GO:0043260 | laminin-11 complex                               | 3  | 7.80E-07   | 1.01E-06   |
| MF term | GO:0005201 | extracellular matrix structural constituent      | 11 | 3.43E-21   | 3.43E-20   |
| MF term | GO:0005198 | structural molecule activity                     | 6  | 3.99E-08   | 1.99E-07   |
| MF term | GO:0005102 | receptor binding                                 | 5  | 5.67E-05   | 1.89E-04   |
| MF term | GO:0005178 | integrin binding                                 | 4  | 9.57E-05   | 2.39E-04   |
| kegg    | hsa04512   | ECM-receptor interaction                         | 12 | 1.20E-22   | 1.41E-21   |
| kegg    | hsa05222   | Small cell lung cancer                           | 12 | 2.01E-22   | 1.41E-21   |
| kegg    | hsa05146   | Amoebiasis                                       | 12 | 6.67E-22   | 3.11E-21   |
| kegg    | hsa05145   | Toxoplasmosis                                    | 12 | 1.96E-21   | 6.87E-21   |
| kegg    | hsa04510   | Focal adhesion                                   | 12 | 1.54E-18   | 4.30E-18   |
| kegg    | hsa05165   | Human papillomavirus infection                   | 12 | 4.14E-16   | 9.66E-16   |
| kegg    | hsa04151   | PI3K-Akt signaling pathway                       | 12 | 8.77E-16   | 1.75E-15   |
| kegg    | hsa05200   | Pathways in cancer                               | 12 | 7.99E-14   | 1.40E-13   |
| kegg    | hsa05416   | Viral myocarditis                                | 2  | 0.07798259 | 0.12130626 |
| kegg    | hsa05412   | Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy  | 2  | 0.09904928 | 0.13866899 |

## 4. 讨论

恶性胶质瘤是最常见的原发性脑肿瘤类型, 它是一种非常具有挑战性的肿瘤。在临床试验中, 各种实验治疗并未能显示出明显的有效性。在胶质瘤早期阶段的形成过程中, 肿瘤细胞侵袭和血管生成对于胶质瘤的发展和生长具有关键作用[14] [15]。这个过程会产生大量的粘附分子和细胞外基质成分, 包括钙粘蛋白、免疫球蛋白超家族成员和整合素[16] [17]。

肿瘤微环境是肿瘤发生和发展过程中所处的环境, 主要由细胞外基质、成纤维细胞、血管内皮细胞



和免疫细胞等组成。细胞外基质是一个复杂的网络结构, 由调节组织发育和稳态的大分子组成。在正常生理条件下, 它可以调节细胞的粘附、迁移、增殖和分化。当细胞外基质的动态超越控制范围时, 会出现结构和成分的重塑, 并对恶性肿瘤的进展产生巨大影响[18]。层粘连蛋白是存在于细胞外基质的基底膜上的主要糖蛋白家族之一, 它能够将上皮细胞和内皮细胞从结缔组织中分离出来。在肿瘤血管生成、侵袭和转移中具有重要意义[19]。我们的研究发现, 在 kegg 和 go 分析中, 层粘连蛋白家族基因与低级别胶质瘤的细胞外基质密切相关。这可能是层粘连蛋白家族基因通过细胞外基质来影响低级别胶质瘤的形成和发展的原因之一。

层粘连蛋白在正常细胞和组织中扮演着重要的角色, 其中最重要的作用之一是促进细胞的黏附和迁移。在肿瘤细胞中, 这一作用也被广泛证实[20]。除了参与早期癌症的发展, 层粘连蛋白及其特定的细胞表面受体在很大程度上参与了癌症的进展、侵袭性和转移性。细胞和层粘连蛋白之间的相互作用失调是恶性疾病的主要特征。已有研究报道由于各种层粘连蛋白异构体诱导的信号通路与癌细胞表面的相关受体相互作用, 从而促进肿瘤的形成和发展[21]。

整合素是使胶质瘤细胞粘附在细胞外基质上最常见的分子。它们在细胞与周围基质之间的相互作用中发挥着关键作用[22]。整合素本身能够与细胞外基质配体、细胞表面配体和一些可溶性配体结合, 以发挥其作用。整合素与细胞外基质蛋白的结合促进信号转导, 并影响基因表达、增殖、凋亡、血管生成、侵袭和转移[23]。在胶质瘤中, 整合素 avb3 和 avb5 的过表达已被检测到[24]。同时, 这些整合素在肿瘤血管生成和侵袭周围组织的过程中在激活的内皮细胞上表达[25]。我的研究发现, 层粘连蛋白参与了整合素的合成, 可能通过影响整合素来影响低级别胶质瘤的发生和进展。

目前针对层粘连蛋白家族的治疗, 主要集中在整合素拮抗剂上, 并已经取得了相关进展[26]。整合素 avb3 和 avb5 是调节细胞粘附的重要蛋白[27], 在一些临床前模型中, 应用这些整合素的抑制剂可以抑制肿瘤生长[28]。西伦吉肽是一种选择性抑制整合素 avb3 和 avb5 的药物, 已经在临床前研究中表现出对恶性胶质瘤的治疗潜力[29]。西伦吉肽具有多方面的抗胶质瘤活性, 包括细胞毒性、抗血管生成、抗侵袭和协同作用[25]。对人恶性胶质瘤 U87DEGFR 细胞系进行的 DNA 芯片分析显示, 西伦吉肽可以激活半胱氨酸蛋白酶 8, 并诱导细胞凋亡相关通路[30]。这些结果为胶质瘤的治疗提供了新的方向。

总之, 本研究的结果表明, 层粘连蛋白基因家族可作为判断胶质瘤患者预后的分子标志物, 可能在低级别胶质瘤的发生和发展中发挥着重要作用。在未来的研究中, 我们将进一步探索层粘连蛋白基因家族调控低级别胶质瘤的分子机制以及其所涉及的信号通路, 这可能为低级别胶质瘤的研究和个体化治疗提供了新的思路。

## 基金项目

本文课题受国家青年自然科学基金(No. 81902531)的项目资助。

## 参考文献

- [1] Griveau, A., Seano, G., Shelton, S.J., Kupp, R., Jahangiri, A., Obernier, K., Krishnan, S., Lindberg, O.R., Yuen, T.J., Tien, A.-C., *et al.* (2018) A Glial Signature and Wnt7 Signaling Regulate Glioma-Vascular Interactions and Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*, **33**, 874-889. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.020>
- [2] Schiff, D. (2017) Low-Grade Gliomas. *Continuum*, **23**, 1564-1579. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000537>
- [3] Schiff, D., Van den Bent, M., Vogelbaum, M.A., Wick, W., Miller, C.R., Taphoorn, M., Pope, W., Brown, P.D., Platten, M., Jalali, R., *et al.* (2019) Recent Developments and Future Directions in Adult Lower-Grade Gliomas: Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Association of Neuro-Oncology (EANO) Consensus. *Neuro-Oncology*, **21**, 837-853. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz033>
- [4] Jakola, A.S., Myrnes, K.S., Kloster, R., Torp, S.H., Lindal, S., Unsgard, G. and Solheim, O. (2012) Comparison of a Strategy Favoring Early Surgical Resection vs a Strategy Favoring Watchful Waiting in Low-Grade Gliomas. *JAMA*,

- 308, 1881-1888. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.12807>
- [5] Dhawan, S., Patil, C.G., Chen, C. and Venteicher, A.S. (2020) Early Versus Delayed Postoperative Radiotherapy for Treatment of Low-Grade Gliomas. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, No. 1, Article No. CD009229. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009229.pub3>
- [6] Nejo, T., Matsushita, H., Karasaki, T., Nomura, M., Saito, K., Tanaka, S., Takayanagi, S., Hana, T., Takahashi, S., Kitagawa, Y., *et al.* (2019) Reduced Neoantigen Expression Revealed by Longitudinal Multiomics as a Possible Immune Evasion Mechanism in Glioma. *Cancer Immunology Research*, 7, 1148-1161. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0599>
- [7] Appolloni, I., Alessandrini, F., Ceresa, D., Marubbi, D., Gambini, E., Reverberi, D., Loiacono, F. and Malatesta, P. (2019) Progression from Low- to High-Grade in a Glioblastoma Model Reveals the Pivotal Role of Immunoeediting. *Cancer Letters*, 442, 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.10.006>
- [8] Timpl, R., Rohde, H., Robey, P.G., Rennard, S.I., Foidart, J.M. and Martin, G.R. (1979) Laminin—A Glycoprotein from Basement Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*, 254, 9933-9937. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)83607-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)83607-4)
- [9] Chung, A.E., Jaffe, R., Freeman, I.L., Vergnes, J.P., Braginski, J.E. and Carlin, B. (1979) Properties of a Basement Membrane-Related Glycoprotein Synthesized in Culture by a Mouse Embryonal Carcinoma-Derived Cell Line. *Cell*, 16, 277-287. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(79\)90005-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(79)90005-9)
- [10] Aumailley, M., Bruckner-Tuderman, L., Carter, W.G., Deutzmann, R., Edgar, D., Ekblom, P., Engel, J., Engvall, E., Hohenester, E., Jones, J.C., *et al.* (2005) A Simplified Laminin Nomenclature. *Matrix Biology*, 24, 326-332. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2005.05.006>
- [11] Yurchenco, P.D. (2011) Basement Membranes: Cell Scaffoldings and Signaling Platforms. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology*, 3, a004911. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004911>
- [12] Qin, Y., Rodin, S., Simonson, O.E. and Hollande, F. (2017) Laminins and Cancer Stem Cells: Partners in Crime? *Seminars in Cancer Biology*, 45, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2016.07.004>
- [13] Korbakis, D., Dimitromanolakis, A., Prassas, I., Davis, G.J., Barber, E., Reckamp, K.L., Blasutig, I. and Diamandis, E.P. (2015) Serum LAMC2 Enhances the Prognostic Value of a Multi-Parametric Panel in Non-Small Cell Lung Cancer. *British Journal of Cancer*, 113, 484-491. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.171>
- [14] Bello, L., Giussani, C., Carrabba, G., Pluderi, M., Costa, F. and Bikfalvi, A. (2004) Angiogenesis and Invasion in Gliomas. *Cancer Treatment and Research*, 117, 263-284. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8871-3\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8871-3_16)
- [15] Onishi, M., Kurozumi, K., Ichikawa, T. and Date, I. (2013) Mechanisms of Tumor Development and Anti-Angiogenic Therapy in Glioblastoma Multiforme. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 53, 755-763. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra2013-0200>
- [16] Kurozumi, K., Onishi, M., Ichikawa, T., Fujii, K., Ishida, J., Shimazu, Y. and Date, I. (2013) [III. Molecular Targeting Therapy for Glioma-Bevacizumab and Cilengitide]. *Japanese Journal of Cancer and Chemotherapy*, 40, 718-722.
- [17] Varner, J.A. and Cheresch, D.A. (1996) Integrins and Cancer. *Current Opinion in Cell Biology*, 8, 724-730. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(96\)80115-3](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(96)80115-3)
- [18] Lu, P., Weaver, V.M. and Werb, Z. (2012) The Extracellular Matrix: A Dynamic Niche in Cancer Progression. *Journal of Cell Biology*, 196, 395-406. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102147>
- [19] Patarroyo, M., Tryggvason, K. and Virtanen, I. (2002) Laminin Isoforms in Tumor Invasion, Angiogenesis and Metastasis. *Seminars in Cancer Biology*, 12, 197-207. [https://doi.org/10.1016/S1044-579X\(02\)00023-8](https://doi.org/10.1016/S1044-579X(02)00023-8)
- [20] Oikawa, Y., Hansson, J., Sasaki, T., Rousselle, P., Domogatskaya, A., Rodin, S., Tryggvason, K. and Patarroyo, M. (2011) Melanoma Cells Produce Multiple Laminin Isoforms and Strongly Migrate on  $\alpha 5$  Laminin(s) via Several Integrin Receptors. *Experimental Cell Research*, 317, 1119-1133. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.12.019>
- [21] Givant-Horwitz, V., Davidson, B. and Reich, R. (2004) Laminin-Induced Signaling in Tumor Cells: The Role of the M(r) 67,000 Laminin Receptor. *Cancer Research*, 64, 3572-3579. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3424>
- [22] Takada, Y., Ye, X. and Simon, S. (2007) The Integrins. *Genome Biology*, 8, Article No. 215. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-5-215>
- [23] Hood, J.D. and Cheresch, D.A. (2002) Role of Integrins in Cell Invasion and Migration. *Nature Reviews Cancer*, 2, 91-100. <https://doi.org/10.1038/nrc727>
- [24] Schnell, O., Krebs, B., Wagner, E., Romagna, A., Beer, A.J., Grau, S.J., Thon, N., Goetz, C., Kretschmar, H.A., Tonn, J.C. and Goldbrunner, R.H. (2008) Expression of Integrin  $\alpha_v\beta_3$  in Gliomas Correlates with Tumor Grade and Is Not Restricted to Tumor Vasculature. *Brain Pathology*, 18, 378-386. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00137.x>
- [25] Kurozumi, K., Ichikawa, T., Onishi, M., Fujii, K. and Date, I. (2012) Cilengitide Treatment for Malignant Glioma: Current Status and Future Direction. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 52, 539-547. <https://doi.org/10.2176/nmc.52.539>

- [26] Meyer, A., Auernheimer, J., Modlinger, A. and Kessler, H. (2006) Targeting RGD Recognizing Integrins: Drug Development, Biomaterial Research, Tumor Imaging and Targeting. *Current Pharmaceutical Design*, **12**, 2723-2747. <https://doi.org/10.2174/138161206777947740>
- [27] Leavesley, D.I., Ferguson, G.D., Wayner, E.A. and Cheresch, D.A. (1992) Requirement of the Integrin  $\beta 3$  Subunit for Carcinoma Cell Spreading or Migration on Vitronectin and Fibrinogen. *Journal of Cell Biology*, **117**, 1101-1107. <https://doi.org/10.1083/jcb.117.5.1101>
- [28] Tabatabai, G., Weller, M., Nabors, B., Picard, M., Reardon, D., Mikkelsen, T., Ruegg, C. and Stupp, R. (2010) Targeting Integrins in Malignant Glioma. *Targeted Oncology*, **5**, 175-181. <https://doi.org/10.1007/s11523-010-0156-3>
- [29] MacDonald, T.J., Taga, T., Shimada, H., Tabrizi, P., Zlokovic, B.V., Cheresch, D.A. and Laug, W.E. (2001) Preferential susceptibility of Brain Tumors to the Antiangiogenic Effects of an  $\alpha v$  Integrin Antagonist. *Neurosurgery*, **48**, 151-157. <https://doi.org/10.1227/00006123-200101000-00026>
- [30] Onishi, M., Kurozumi, K., Ichikawa, T., Michiue, H., Fujii, K., Ishida, J., Shimazu, Y., Chiocca, E.A., Kaur, B. and Date, I. (2013) Gene Expression Profiling of the Anti-Glioma Effect of Cilengitide. *SpringerPlus*, **2**, Article No. 160. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-160>