

CISD2基因对膀胱癌预后和诊断的系统性分析

于鹏^{1,2}, 贺天珍³, 李兆峰¹, 赵凯¹, 张宗亮¹, 尹心宝¹, 王振林¹, 张玉莲⁴, 杨瀚¹,
李雪禹¹, 王庆雷¹, 王科^{1*}

¹青岛大学附属医院泌尿外科, 山东 青岛

²山东威海市妇幼保健院, 山东 威海

³南通大学特种医学研究院, 江苏 南通

⁴青岛大学附属医院妇科, 山东 青岛

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月30日

摘要

目的: 研究CISD2在膀胱癌(bladder cancer, BLCA)中的表达水平与生存预后的关系, 预测患者的生存期, 并分析CISD2的表达水平与免疫细胞浸润的相关性, 从而研究该基因对肿瘤进展的影响。方法: 用R分析CISD2在TCGA-BLCA数据库中的mRNA表达水平和临床数据, 并对CISD2在膀胱癌中的共表达基因进行功能和信号通路富集分析。进一步用R语言分析CISD2与免疫细胞浸润的关系。结果: 生物信息学分析表明CISD2在膀胱癌组织中表达水平显著高于相对应的癌周正常膀胱组织($P < 0.001$)。CISD2的表达与Th2 cells、Th1 cells、aDC、NK CD56^{dim} cells、T helper cells、Tgd、Neutrophils、Macrophages等免疫细胞浸润呈正相关关系, 与pDC、NK CD56^{bright} cells、Mast cells及B cells的浸润水平呈负相关关系。结论: CISD2在BLCA中可能与不良预后相关, 并可能为BLCA的诊断和治疗提供新分子靶点。

关键词

膀胱癌, CISD2, TCGA, 预后, 诊断

Systematic Analysis of CISD2 Gene on the Prognosis and Diagnosis of Bladder Cancer

Peng Yu^{1,2}, Tianzhen He³, Zhaofeng Li¹, Kai Zhao¹, Zongliang Zhang¹, Xinbao Yin¹,
Zhenlin Wang¹, Yulian Zhang⁴, Han Yang¹, Xueyu Li¹, Qinglei Wang¹, Ke Wang^{1*}

¹Department of Urology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Weihai Maternal and Child Health Hospital, Weihai Shandong

³Institute of Special Environmental Medicine, Nantong University, Nantong Jiangsu

⁴Department of Gynecology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

*通讯作者 Email: wangke@qdu.edu.cn

文章引用: 于鹏, 贺天珍, 李兆峰, 赵凯, 张宗亮, 尹心宝, 王振林, 张玉莲, 杨瀚, 李雪禹, 王庆雷, 王科. CISD2 基因对膀胱癌预后和诊断的系统性分析[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 737-748. DOI: 10.12677/acm.2023.131107

Abstract

Objective: To investigate the relationship between CISD2 expression level and survival prognosis, and predict the survival time of patients in bladder cancer (BLCA), we analyzed the correlation between CISD2 expression level and immune cell infiltration. Consequently, the effect of CISD2 on the development of tumor was studied. **Methods:** The mRNA expression profile and clinical data of CISD2 were obtained from TCGA-BLCA database by using R language. The function and signal pathway enrichment analysis of CISD2 and co-expressed genes in bladder cancer were further analyzed by using R language. The relationship between CISD2 expression and immune cell infiltration was further analyzed by using R language. **Results:** Compared with the normal group, CISD2 expression in BLCA was significantly increased ($P < 0.001$). High CISD2 expression predicted poor prognosis in BLCA. CISD2 expression level has significant positive correlations with infiltrating levels of Th2 cells, Th1 cells, aDC, NK CD56dm cells, T helper cells, Tgd, Neutrophils and Macrophages cells. In addition, CISD2 expression level has significant negative correlation with pDC, NK CD56 bright cells, Mast cells and B cells. **Conclusion:** This study implied that CISD2 may be a promising prognosis predictor and potential therapy target for BLAC patients.

Keywords

Bladder Cancer, CISD2, TCGA, Prognosis, Diagnosis

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

膀胱癌(bladder cancer, BLCA)是泌尿生殖系统肿瘤中仅次于前列腺癌的诊断最多的恶性肿瘤,在世界上最常见的恶性肿瘤中排位第 11 位[1]。2020 年,全球约有 57.3 万例 BLCA 新确诊病例和 21.3 万例 BLCA 患者死亡[2]。BLCA 的主要病理组织学类型是尿路上皮癌(Urothelial carcinoma, UC), 占有膀胱癌的 90% 以上。根据膀胱壁的浸润深度, BLCA 可分为非肌肉浸润性膀胱癌(NMIBC)和肌肉浸润性膀胱癌(MIBC)。超过 70% 的新诊断 BLCA 为 NMIBC, 复发率高, 但死亡率低[3]。然而, 只有 20%~25% 的患者在最初诊断时被确定为 MIBC, 这是 BLCA 导致大多数死亡的原因[4]。尽管接受了积极的治疗, 一半的 MIBC 患者在 2 年内发生远处转移, 60% 的患者在 5 年内死亡[5] [6]。目前, 基于顺铂的化疗仍然是不能手术的局部晚期或转移性尿路上皮癌患者的标准一线治疗方法[1]。不幸的是, 几乎所有患者最终都会进展并死于 BLCA [7]。考虑到 BLCA 的高突变负担, 免疫治疗已成为晚期或转移性 UC 患者的替代治疗方法, 特别是免疫检查点抑制剂(Immune cell checkpoint inhibitors, ICIs)。尽管靶向程序性细胞死亡-1 (PD-1)/程序性死亡配体-1 (PD-L1)轴的 ICIs 在 UC 的治疗中显示出有希望的结果[8], 但在 UC 患者中, ICI 治疗的部分或完全缓解率仅为 20%~30% [9]。因此, 迫切需要找到能够预测临床转归、指导临床靶向治疗的可靠预后分子标记物, 以改善 BLCA 的预后。

CDGSH 铁硫结构域 2 (CISD2)是 CDGSH 铁硫结构域蛋白家族成员之一, 是一种编码小蛋白的进化保守的基因, 其位于人类染色体 4q24 的区域内[10] [11], 它包含跨膜的结构域, CDGSH 结构域和铁结

合的保守氨基酸序列[12]。由于 CISD2 在维持钙代谢、线粒体、氧化还原的完整性和功能中的作用, CISD2 当初被认为是一种存活基因和维持长寿的基因[13]。另外, B 细胞淋巴瘤 2 (Bcl-2) 可以与其相互作用, 调节自噬和钙离子稳态, 以及调节细胞内铁和活性氧的水平, 这也是肿瘤细胞增殖和疾病进展的重要因素 [14] [15] [16]。在国内外研究中该基因与肿瘤的发生、发展关系密切, 只在宫颈癌, 乳腺癌, 原发性肝癌, 食道癌, 胰腺癌和胃癌等组织中有不同程度的表达, 但是该基因对膀胱癌的发生发展尚未见报道。因此, 本研究拟采用生物信息学方法, 通过公共数据库研究 CISD2 的 mRNA 表达情况, 并将 CISD2 不同表达水平与肿瘤免疫微环境中免疫细胞浸润进行相关性分析, 探讨基因 CISD2 与膀胱癌诊断的作用及其与膀胱癌预后生存的关系。

2. 资料方法

2.1. 数据来源

我们从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)公开生物信息学数据库获得膀胱癌(BLCA)样本基因表达信息及预后信息。TCGA 提供了 414 个包含预后信息的 BLCA 样本和 19 个正常膀胱组织样本。

2.2. CISD2 在 BLCA 和正常膀胱组织的 mRNA 表达情况

CISD2 在 BLCA 和正常膀胱的 mRNA 表达谱通过 TCGA 数据库获得, 使用 R 语言(3.6.3 版本)进行分析比较目的基因表达情况及其与临床病理参数的相关性。

2.3. 膀胱癌病人标本收集

收集新鲜的膀胱癌病人的癌和癌旁组织标本分别放入冻存管中, 液氮速冻后于 -80°C 冰箱保存。

2.4. qRT-PCR

根据说明书的操作步骤进行总 RNA 的提取(Takara RNAiso Plus kit)。之后, 使用 AG Biotechnology 的 RT-PCR 试剂盒进行 qRT-PCR。内参使用 GAPDH (Sangon Biotech, B661104)。人 CISD2 的引物为: forward primer GTTCGCTAGGCTCACAGTTTC; reverse primer ACGTTTTAGAACGCCAACACC。

2.5. CISD2 的生存预后分析

提取 TCGA-BLCA 数据集中所有膀胱肿瘤患者的生存数据, 根据 CISD2 的 mRNA 表达量均值分为高低两组进行 Kaplan-Meier 生存预后分析, 然后使用 R 语言的 survminer 和 survival R 包绘制生存曲线。

2.6. CISD2 相关分子的富集分析

为进一步探究 CISD2 基因在膀胱癌发生发展中的潜在作用, 我们对 TCGA-BLCA 数据进行单基因差异分析, 根据 CISD2 的表达中位值分为高表达组和低表达组, 使用 R 语言 ggplot2 包(3.3.3 版本)、clusterProfiler 包(3.14.3 版本)进行 GO/KEGG 富集分析。利用 String 数据库和 Cytoscape 软件 CISD2 单基因差异分子进行 PPI 网络分析。

2.7. 免疫相关性分析

对 TCGA 中的每个膀胱癌样本, 利用 R 语言的 GSVA 包(1.34.0 版本)通过 ssGSEA 算法对免疫浸润细胞进行量化, 采用 Pearson/Spearman 相关分析计算风险评分与 CISD2 的相关性, 得到其 Pearson/Spearman 相关系数(r)。

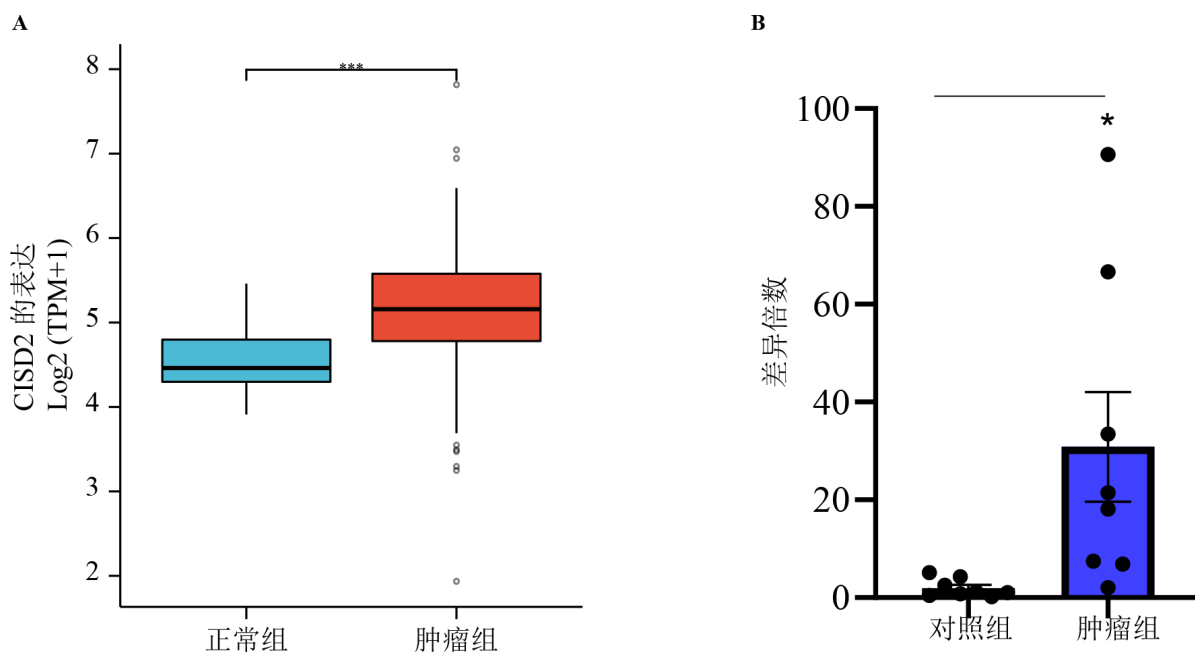
2.8. 统计学处理

R 软件包“survival”和“survminer”进行 Kaplan-Meier 生存分析。全部统计分析均采用 Graphpad prism (8.0 版本)进行, 采用 t 检验或单因素方差分析。P < 0.05 被认为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. CISD2 在 BLCA 中的表达情况

从 TCGA 数据库的研究中, 与非癌组织相比, CISD2 在 BLCA 中的表达升高(图 1(A)和图 1(B))。该结果表明 CISD2 可能在 BLCA 过程中起促进作用。



(A) 与对照组相比, CISD2 在 BLCA 中的 mRNA 表达升高(TCGA BLCA 中的 RNA-seq 数据)。其中, 414 个 BLCA 样本和 19 个正常膀胱组织样本。(B) qRT-PCR 实验验证膀胱癌患者癌及癌旁组织中 CISD2 基因的表达水平(癌旁/癌组织; n = 8)。Error bars 代表 means \pm SEM。与指定组相比, *P < 0.05, ***p < 0.001。

Figure 1. Expression level of CISD2 in BLCA

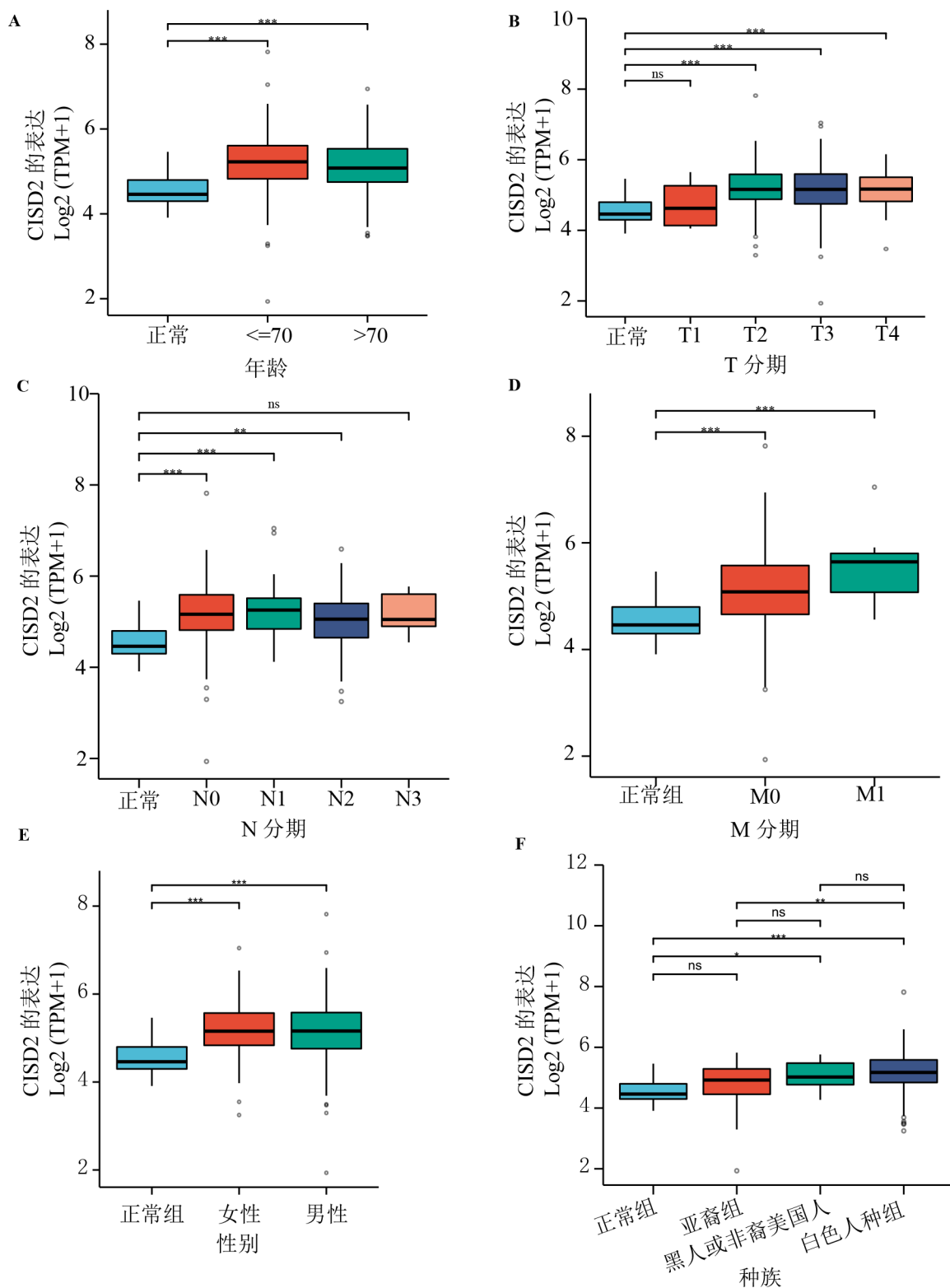
图 1. CISD2 在 BLCA 中的表达水平

3.2. BLCA 患者中 CISD2 表达与临床病理参数的相关性

由于 CISD2 在 BLCA 中的作用尚不清楚, CISD2 表达水平与临床病理特征的相关性研究可以帮助我们揭示 CISD2 在 BLCA 进展中的作用。结果表明, CISD2 表达水平与 TCGA-BLCA 数据中年龄、性别、种族和 TNM 的阶段变化显著相关(图 2(A)~(F))。因此, CISD2 可能参与了促进 BLCA 疾病的进展。

3.3. CISD2 表达在 BLCA 中的预后分析

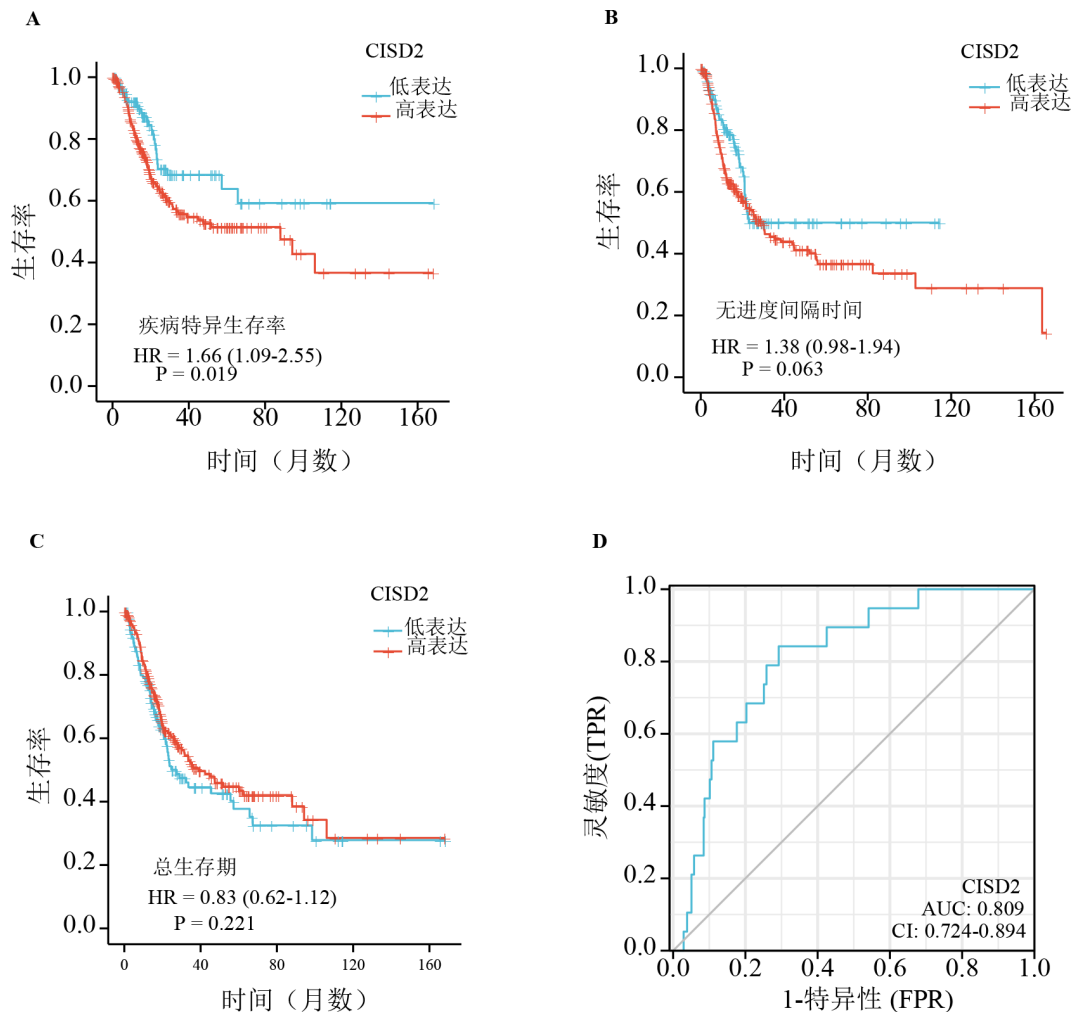
为了了解 CISD2 表达在 BLCA 中的预后作用, 我们进行了 Kaplan-Meier 生存分析。结果表明, 与 CISD2 低表达组相比, BLCA 患者高表达 CISD2 时预后更差(图 3(A)~(C))。进一步, 我们进行了 BLCA 患者的 CISD2 的 ROC 曲线分析, 结果 AUC > 0.8 (图 3(D)), 表明 CISD2 作为预测 BLCA 肿瘤进展的分子靶点具有一定的准确性。



(A)~(F) CISD2 在 BLCA 中的表达水平与年龄、TNM 分期、性别及种族相关。Error bars 代表 means ± SEM。与指定组相比, *P < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001。

Figure 2. Analysis of correlation between CISD2 and clinicopathologic data subgroups

图 2. CISD2 与临床病理资料亚组的相关性分析



(A)~(C) CISD2 表达水平与疾病生存特异生存率、无进展间隔时间、总生存期相关性分析(Kaplan-Meier 曲线, $n = 433$)。 (D) CISD2 的 ROC 曲线分析。

Figure 3. Prognostic analysis of CISD2 in BLCA
图 3. CISD2 在 BLCA 中的预后分析

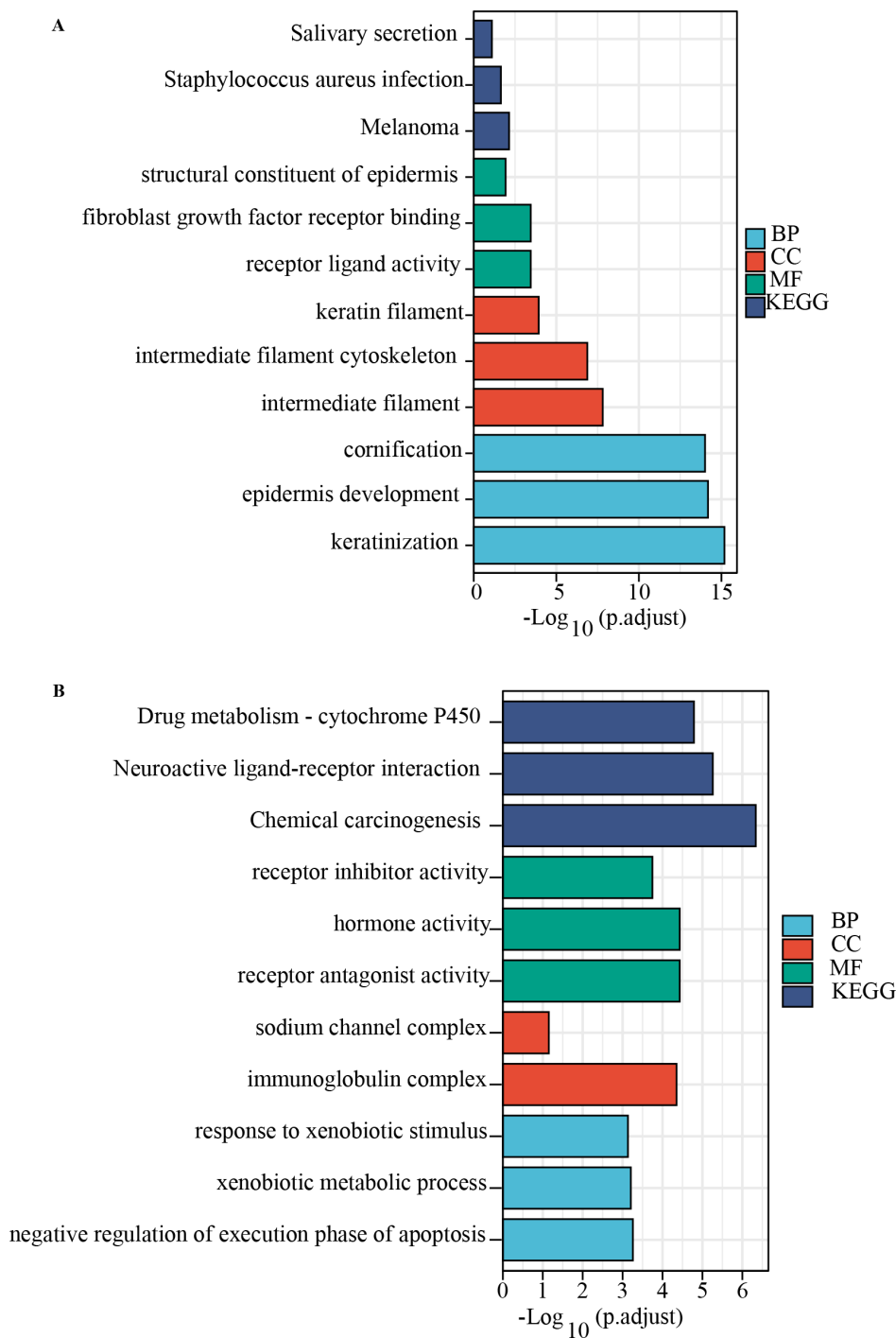
3.4. CISD2 基因功能富集分析

在 TCGA-BLCA 中, 将 CISD2 按中位数表达值分为高表达组和低表达组, 利用 R 语言 DESeq2 包分析这两组中的差异表达分子, 之后将与 CISD2 高表达正相关的分子和负相关的分子分别进行 GO/KEGG 富集分析和 PPI 网络分析(图 4 和图 5)。与 CISD2 高表达正相关的分子主要富集在成纤维细胞生长因子受体信号通路, 提示 CISD2 基因可能通过上述通路发挥促进肿瘤发生发展的作用。

3.5. CISD2 与免疫浸润水平之间的关联

我们通过 R 语言 GSVA 包分析探讨了 CISD2 表达是否会影响 BLCA 中的各种免疫细胞浸润水平。Pearson 相关分析证实了 CISD2 表达与 Th2 cells ($r = 0.443, p < 0.001$)、Th1 cells ($r = 0.200, p < 0.001$)、aDC ($r = 0.183, p < 0.001$)、NK CD56^{dim} cells ($r = 0.156, p = 0.001$)、T helper cells ($r = 0.144, p = 0.003$)、Tgd ($r = 0.151, p = 0.002$)、Neutrophils ($r = 0.104, p = 0.034$)、Macrophages ($r = 0.124, p = 0.011$)等呈显著正相关关系; 而与 B cells ($r = -0.103, p = 0.036$)、mast cells ($r = -0.130, p = 0.008$)、NK CD56^{bright} cells ($r = -0.168, p$

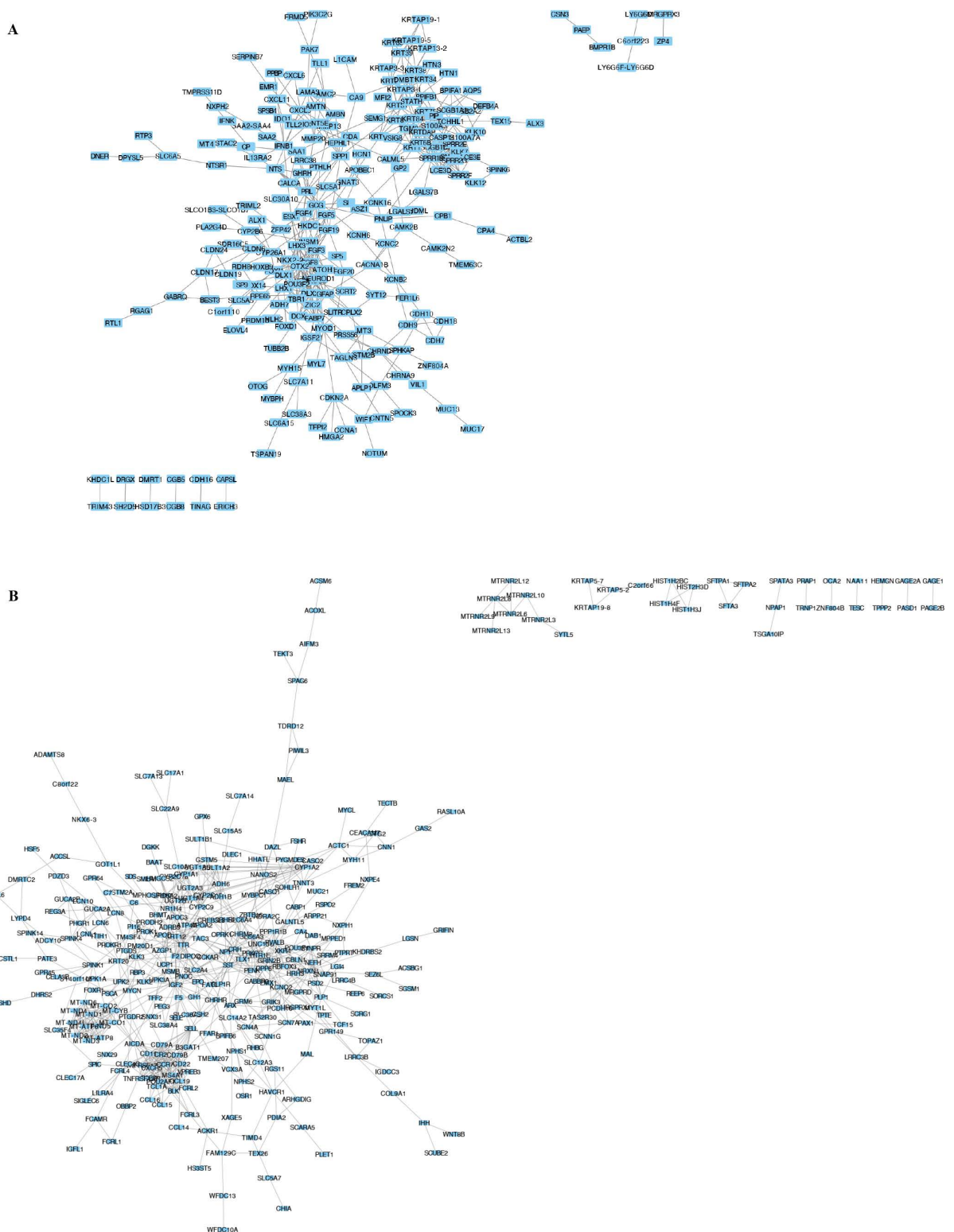
< 0.001)、pDC ($r = -0.238$, $p < 0.001$)呈显著负相关关系(图 6(A), 图 6(B))。Spearman 相关性分析与 Pearson 相关分析结果基本一致。这些结果证实 CISD2 参与调节 BLCA 中的各种免疫细胞浸润。



(A) 在 TCGA-BLCA 中与 CISD2 高表达正相关分子的 GO/KEGG 富集分析。(B) 在 TCGA-BLCA 中与 CISD2 高表达负相关分子的 GO/KEGG 富集分析。

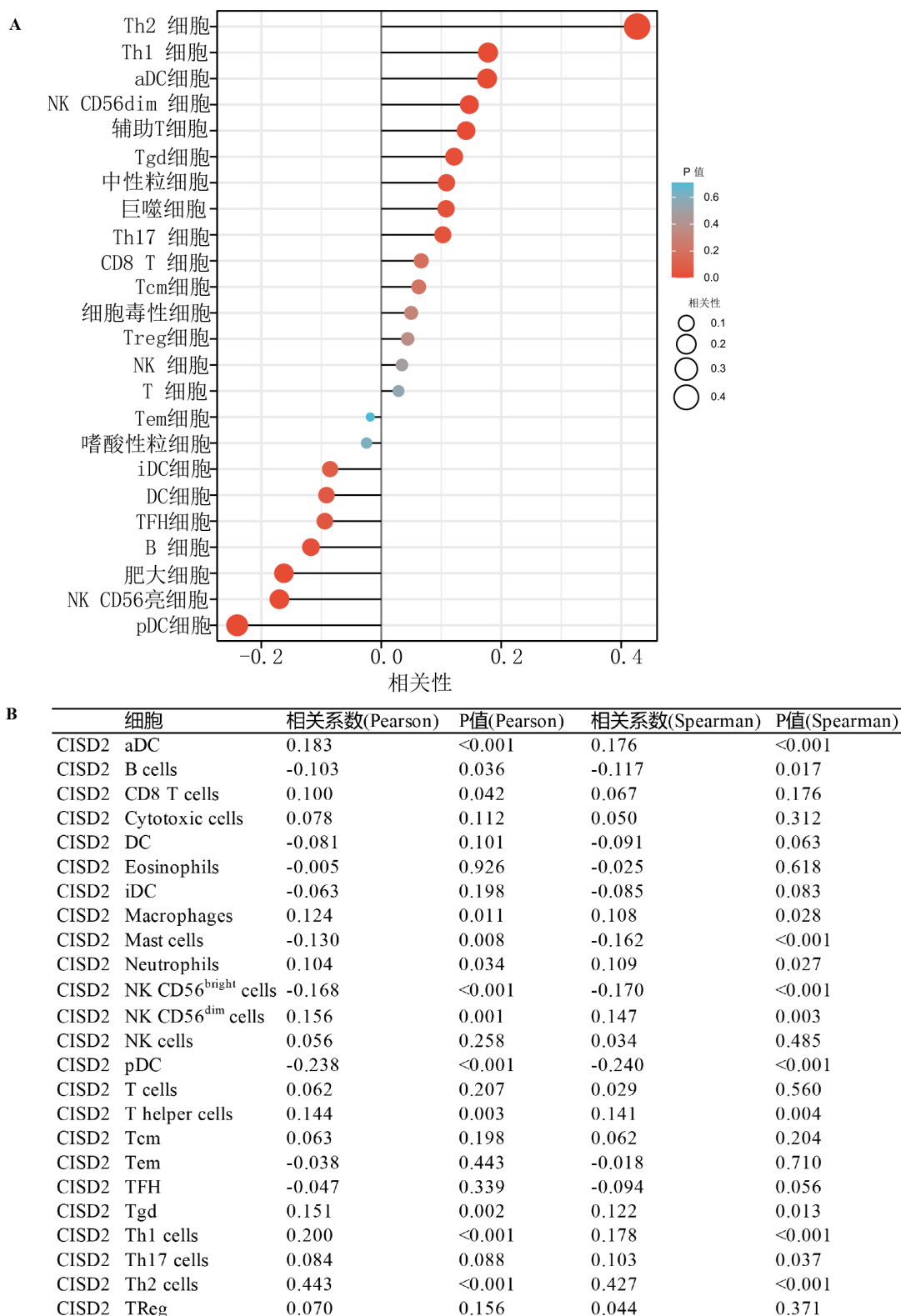
Figure 4. GO/KEGG enrichment analysis was conducted after CISD2 difference analysis in TCGA-BLCA

图 4. TCGA-BLCA 中 CISD2 差异分析后进行 GO/KEGG 富集分析



(A) 在 TCGA-BLCA 中与 CISD2 高表达正相关分子的 PPI 网络分析。(B) 在 TCGA-BLCA 中与 CISD2 高表达负相关分子的 PPI 网络分析。

Figure 5. PPI network analysis after CISD2 difference analysis in TCGA-BLCA
图 5. TCGA-BLCA 中 CISD2 差异分析后进行的 PPI 网络分析



(A) (B) CISD2 表达与肿瘤免疫细胞浸润水平分析。与指定组相比，* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ 。

Figure 6. CISD2 expression was correlated with the levels of immunocyte infiltration in various tumors

图 6. CISD2 表达与多种肿瘤免疫细胞浸润水平相关

4. 讨论

膀胱癌(BLCA)是泌尿生殖系统肿瘤中仅次于前列腺癌的诊断最多的恶性肿瘤,在世界上最常见的恶性肿瘤中排位第11位[1]。2020年,全球约有57.3万例BLCA新确诊病例和21.3万例BLCA患者死亡[2]。因此,找到能够可靠的BLCA预后分子标记物,以改善BLCA的预后具有非常重要的临床意义。

CISD2在几种已知类型的人类癌症中都有异常表达。在早期宫颈癌、乳腺癌、原发性肝细胞癌、食道癌、胰腺癌和胃癌等肿瘤中,CISD2的表达水平显著升高,并且通常预后较差[17]-[24]。过去的研究表明,CISD2被认为是早期宫颈癌患者转移和预后相关的新指标[17];CISD2的表达增加会促进前列腺癌细胞的侵袭和迁移[15];在胰腺癌中,CISD2(NAF-1)过表达与晚期临床和T期、血管浸润、远处转移和肿瘤大小有关[19]。过表达CISD2在人胃癌中具有预后价值,在对261例胃组织和患者肿瘤进行免疫组织化学分析,发现高CISD2表达与癌症的分期、分类、静脉和淋巴浸润转移等临床显著相关;过表达和抑制胃癌细胞系NAF-1的研究进一步表明,NAF-1水平与细胞增殖呈正相关[19];且对196例HCC患者进行的CISD2表达和肝癌进展的临床病理分析表明,CISD2的表达可以用作生存的独立预后标志物,高NAF-1表达的患者比低CISD2表达的患者表现出较短的整体生存率和较高的复发率[18];还发现CISD2沉默通过Wnt/ β -catenin途径显著抑制EMT[19]。在国内外研究中CISD2与肿瘤的发生、发展关系密切,只在宫颈癌、乳腺癌、原发性肝细胞癌、食道癌、胰腺癌和胃癌等组织中有不同程度的表达,但是该基因对膀胱癌的发生发展尚未见报道。

在这项研究工作中,我们利用公共数据对CISD2进行了生物信息学分析。结果表明,BLCA中的CISD2 mRNA水平明显高于非癌性膀胱组织。并且CISD2的表达水平对原发肿瘤状态、淋巴结转移情况和肿瘤病理分期等临床参数有显著影响。另外,生存分析进一步表明CISD2表达影响BLCA患者总体生存率。因此,我们的结果表明,CISD2参与BLCA组织的病理进展,可作为潜在的预后生物标志物,CISD2参与BLCA肿瘤进展的机制值得进一步研究验证。

我们进一步分析了CISD2高表达组和CISD2低表达组中差异共表达分子的富集情况。结果,BLCA中与CISD2共表达的大部分基因,不论是正相关还是负相关,都与BLCA肿瘤进展有显著相关性。其中,与CISD2高表达正相关的分子主要富集在成纤维细胞生长因子受体信号通路。CISD2对于维持钙离子的稳态平衡起重要的作用,钙离子可促进成纤维细胞生长因子的表达,进而激活成纤维细胞生长因子受体信号通路,最终促进肿瘤的进展。CISD2-Ca²⁺-纤维细胞生长因子受体信号通路这一信号轴在膀胱癌进展中的作用值得未来进一步研究和探索。

免疫疗法在膀胱癌治疗过程中有着悠久的历史,随着卡介苗(BCG)的使用,免疫疗法在非肌层浸润性膀胱癌的治疗中发挥了重要作用。后来发现阻断免疫检查点可治疗多种肿瘤,包括膀胱癌等。免疫检查点抑制剂在晚期膀胱癌中的应用开启了晚期膀胱癌治疗的新纪元。但仍有一部分病人对免疫检查点抑制剂不起反应,因此,为了取得更好的疗效,寻找新的分子标记物直接或预测患者对免疫检查点抑制剂的响应率显得非常重要。多项研究发现免疫细胞浸润水平(比如CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞)与阻断免疫检查点的治疗疗效呈正相关。在我们的研究中发现TCGA-BLCA数据集中的CISD2表达水平与Th2 cells、Th1 cells、aDC、NK CD56^{dim} cells、T helper cells、Tgd、Neutrophils、Macrophages等免疫细胞浸润水平呈正相关,而与B cells、mast cells、NK CD56^{bright} cells、pDC呈显著负相关关系。这些结果表明CISD2的高表达可以通过提高免疫细胞的浸润水平来改变BLCA患者肿瘤的免疫微环境,从而有可能提高BLCA患者使用免疫检查点抑制剂进行治疗的效果和影响患者的预后。这一结果清楚地表明,CISD2对BLCA的肿瘤微环境中免疫细胞的浸润具有广泛的作用,值得在肿瘤免疫治疗领域进一步研究。

我们得出的结论是,CISD2可能是BLCA的潜在预后分子靶标。CISD2表达提高导致临床特征恶化

(原发肿瘤范围、远处转移、肿瘤病理分期和预后)。CISD2 已被证实参与调节多种免疫细胞的浸润。在这项研究中,我们发现 CISD2 的表达水平升高与肿瘤组织中各种肿瘤浸润免疫细胞(TIICs)的浸润水平升高明显相关。因此,在我们的临床工作中,我们可以尝试通过测量 BLCA 患者手术标本中 CISD2 的表达来评估患者的恶性程度,预测患者的预后,甚至更好地评估免疫微环境的状态,并开发针对 CISD2 的免疫治疗药物。我们强烈建议肿瘤免疫学领域的研究人员进一步研究 CISD2 在 BLCA 中的作用,逐步阐明 CISD2 在 BLCA 患者免疫微环境中的生物学功能和预后。

基金项目

山东省卫计委首批齐鲁卫生与健康领军人才项目(2019020217);南通市科技计划项目(JC2021018)。

参考文献

- [1] Witjes, J.A., Bruins, H.M., Cathomas, R., *et al.* (2021) European Association of Urology Guidelines on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines. *European Urology*, **79**, 82-104. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.03.055>
- [2] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [3] Kamat, A.M., Hahn, N.M., Efstathiou, J.A., *et al.* (2016) Bladder Cancer. *The Lancet (London, England)*, **388**, 2796-2810. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30512-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30512-8)
- [4] Knowles, M.A. and Hurst, C.D. (2015) Molecular Biology of Bladder Cancer: New Insights into Pathogenesis and Clinical Diversity. *Nature Reviews. Cancer*, **15**, 25-41. <https://doi.org/10.1038/nrc3817>
- [5] Stein, J.P., Lieskovsky, G., Cote, R., *et al.* (2001) Radical Cystectomy in the Treatment of Invasive Bladder Cancer: Long-Term Results in 1,054 Patients. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **19**, 666-675. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.3.666>
- [6] Madersbacher, S., Hochreiter, W., Burkhard, F., *et al.* (2003) Radical Cystectomy for Bladder Cancer Today—A Homogeneous Series without Neoadjuvant Therapy. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **21**, 690-696. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.101>
- [7] Lopez-Beltran, A., Cimadamore, A., Blanca, A., *et al.* (2021) Immune Checkpoint Inhibitors for the Treatment of Bladder Cancer. *Cancers*, **13**, 131. <https://doi.org/10.3390/cancers13010131>
- [8] Sharma, P., Retz, M., Siefker-Radtke, A., *et al.* (2017) Nivolumab in Metastatic Urothelial Carcinoma after Platinum Therapy (CheckMate 275): A Multicentre, Single-Arm, Phase 2 Trial. *The Lancet. Oncology*, **18**, 312-322. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30065-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30065-7)
- [9] Mariathasan, S., Turley, S.J., Nickles, D., *et al.* (2018) TGF β Attenuates Tumour Response to PD-L1 Blockade by Contributing to Exclusion of T Cells. *Nature*, **554**, 544-548. <https://doi.org/10.1038/nature25501>
- [10] Yang, L., Hong, S., Wang, Y., *et al.* (2016) A Novel Prognostic Score Model Incorporating CDGSH Iron Sulfur Domain2 (CISD2) Predicts Risk of Disease Progression in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Oncotarget*, **7**, 22720-22732. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8150>
- [11] Yeh, C.-H., Shen, Z.-Q., Hsiung, S.-Y., *et al.* (2019) Cisd2 Is Essential to Delaying Cardiac Aging and to Maintaining Heart Functions. *PLoS Biology*, **17**, e3000508. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000508>
- [12] Sun, A.-G., Meng, F.-G. and Wang, M.-G. (2017) CISD2 Promotes the Proliferation of Glioma Cells via Suppressing Beclin-1-Mediated Autophagy and Is Targeted by microRNA-449a. *Molecular Medicine Reports*, **16**, 7939-7948. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7642>
- [13] Sun, Y., Jiang, Y., Huang, J., *et al.* (2017) CISD2 Enhances the Chemosensitivity of Gastric Cancer through the Enhancement of 5-FU-Induced Apoptosis and the Inhibition of Autophagy by AKT/mTOR Pathway. *Cancer Medicine*, **6**, 2331-2346. <https://doi.org/10.1002/cam4.1169>
- [14] Wang, C.-H., Chen, Y.-F., Wu, C.-Y., *et al.* (2014) Cisd2 Modulates the Differentiation and Functioning of Adipocytes by Regulating Intracellular Ca²⁺ Homeostasis. *Human Molecular Genetics*, **23**, 4770-4785. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu193>
- [15] Zhu, Q.-Q., Tian, L., Li, D.-L., *et al.* (2020) Elevated CISD2 Expression Predicts Poor Diagnosis and Promotes Invasion and Migration of Prostate Cancer Cells. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 6597-6604.

- [16] Mozzillo, E., Delvecchio, M., Carella, M., *et al.* (2014) A Novel CISD2 Intragenic Deletion, Optic Neuropathy and Platelet Aggregation Defect in Wolfram Syndrome Type 2. *BMC Medical Genetics*, **15**, 88. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-15-88>
- [17] Liu, L., Xia, M., Wang, J., *et al.* (2014) CISD2 Expression Is a Novel Marker Correlating with Pelvic Lymph Node Metastasis and Prognosis in Patients with Early-Stage Cervical Cancer. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, **31**, 183. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0183-5>
- [18] Chen, B., Shen, S., Wu, J., *et al.* (2015) CISD2 Associated with Proliferation Indicates Negative Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8**, 13725-13738.
- [19] Wang, L., Ouyang, F., Liu, X., *et al.* (2016) Overexpressed CISD2 Has Prognostic Value in Human Gastric Cancer and Promotes Gastric Cancer Cell Proliferation and Tumorigenesis via AKT Signaling Pathway. *Oncotarget*, **7**, 3791-3805. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6302>
- [20] Li, S.-M., Chen, C.-H., Chen, Y.-W., *et al.* (2017) Upregulation of CISD2 Augments ROS Homeostasis and Contributes to Tumorigenesis and Poor Prognosis of Lung Adenocarcinoma. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 11893. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12131-x>
- [21] Chen, Y.-F., Wu, C.-Y., Kirby, R., *et al.* (2010) A Role for the CISD2 Gene in Lifespan Control and Human Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1201**, 58-64. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05619.x>
- [22] Kim, E.H., Shin, D., Lee, J., *et al.* (2018) CISD2 Inhibition Overcomes Resistance to Sulfasalazine-Induced Ferroptotic Cell Death in Head and Neck Cancer. *Cancer Letters*, **432**, 180-190. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.06.018>
- [23] 刘璐欣, 何勉, 刘军秀, 等. CISD2 在早期宫颈腺癌中的表达和临床意义[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2015, 36(5): 728-733.
- [24] 刘壮凯, 白静慧, 张瑞山, 等. CISD2 在乳腺癌组织中的表达及其对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖与侵袭的影响[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(2): 140-142.