

基于生物信息学分析筛选与鉴定宫颈癌的预后生物标志物

陈学维^{1*}, 刘云聪^{1,2#}, 朱国庆²

¹贵州中医药大学第二临床医学院, 贵州 贵阳

²贵州省人民医院肿瘤科, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年12月19日; 录用日期: 2024年1月19日; 发布日期: 2024年1月29日

摘要

宫颈癌发病率是女性排名第四的恶性肿瘤, 宫颈癌死亡率也是女性恶性肿瘤的第四大恶性疾病。此外, 近几十年来, 年轻女性患宫颈癌的发病率有所增加。目前, 有一些生物标志物(如鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag))用于宫颈癌的诊断和预后。但是这些生物标志物缺乏敏感性和特异性, 限制了它们的效用。因此, 利用生物信息学更好地了解HPV (+)的非肿瘤宫颈组织和HPV (+)的宫颈癌肿瘤组织中差异基因表达及筛选关键诊断和预后基因, 为寻找宫颈癌的新机制、更多预后因素和潜在治疗靶点提供进一步的研究思路。

关键词

宫颈癌, 生物信息分析, 差异基因表达, 生物标志物, 预后与诊断

Screening and Identification of Prognostic Biomarkers of Cervical Cancer Based on Bioinformatics Analysis

Xuewei Chen^{1*}, Yuncong Liu^{1,2#}, Guoqing Zhu²

¹The Second Clinical Medical School of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Department of Oncology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang Guizhou

Received: Dec. 19th, 2023; accepted: Jan. 19th, 2024; published: Jan. 29th, 2024

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 陈学维, 刘云聪, 朱国庆. 基于生物信息学分析筛选与鉴定宫颈癌的预后生物标志物[J]. 世界肿瘤研究, 2024, 14(1): 55-65. DOI: 10.12677/wjcr.2024.141009

Abstract

The incidence of cervical cancer is the fourth most malignant disease in women, and the mortality rate of cervical cancer is also the fourth most malignant disease in women. In addition, the incidence of cervical cancer in young women has increased in recent decades. Currently, there are some biomarkers (such as squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag)) used for the diagnosis and prognosis of cervical cancer. However, the lack of sensitivity and specificity of these biomarkers limits their utility. Therefore, using bioinformatics to better understand the differential gene expression in HPV (+) non-tumor cervical tissues and HPV (+) cervical cancer tissues and screen key diagnostic and prognostic genes provides further research ideas for finding new mechanisms of cervical cancer, more prognostic factors and potential therapeutic targets.

Keywords

Cervical Cancer, Bioinformatics Analysis, Differential Gene Expression, Biomarkers, Prognosis and Diagnosis

Copyright © 2024 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

近年来, 宫颈癌(Cervical cancer, CC)的发病及其死亡比例仍呈上升的势头。世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)发布了 2020 年全球最新癌症数据。在全球患病率前十的癌症中, 宫颈癌新发病例约 60 万例, 死亡病例 34 万例, 分别占女性癌症发病和死亡总数的 6.5%和 7.7% [1]。宫颈癌是女性第四大恶性肿瘤, 几乎所有宫颈癌病例(99%)都与高危人瘤病毒(HPV)感染有关, HPV 是一种通过性接触传播的极其常见的病毒[2]。人瘤病毒(HPV)是 99%宫颈癌的原因, 超过 70%的女性在其一生中感染 HPV [3], 虽然大多数 HPV 感染会自发消退, 不会引起任何症状, 但持续感染可能会发展为癌症[4]。尽管宫颈癌早期诊断的筛查积极开展, 但其发病率依然呈向上坡线条, 亚洲人群的发病率一直居高不下, 已严重危及着女性们的健康和生活。经过长期的抗肿瘤临床研究治疗的应用, 其治疗方式有多元式发展, 包括手术、化疗、放疗、靶向药物、介入等相结合的综合治疗[5], 因此需要探索有关宫颈癌诊断与预后的敏感生物标志物。目前, 也有一些生物标志物(如鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag))用于宫颈癌的诊断和预后, 但是这些生物标志物缺乏敏感性和特异性限制了它们的效用[6]。因此需要寻找更多宫颈恶性肿瘤的相关生物标志物, 提供诊治方法及预后管理。

生物信息学是一种解释微生物数据, 在芯片上读取基因杂交信息以及将数据链接到生物过程(BPs)的方法[7]。基因表达微阵列作为有效大规模获取遗传数据的一种手段, 通常用于收集和许多人类癌症中的基因芯片分析数据。微阵列为肿瘤相关基因的研究、靶向分子、预后管理和靶向治疗提供了新的方法和良好的前景[8]。随着生物信息学快速发展, 越来越多的恶性肿瘤运用生物信息学分析筛选与鉴定关键诊断和预后基因, 如乳腺癌[9]、子宫内膜癌[10]、卵巢癌[11]、胃癌[12]、肺癌[13]、直肠癌[14]、肝癌[15]等筛选相关预后基因, 为恶性肿瘤寻找潜在治疗靶点基因。

本文利用生物信息学分析了解 HPV (+)的非肿瘤宫颈组织和 HPV (+)的宫颈癌肿瘤组织中差异基因

表达及筛选关键诊断和预后基因，为寻找宫颈癌的新机制、更多预后因素和潜在治疗靶点提供进一步的研究思路。

2. 材料与方法

2.1. 微阵列数据收集

GEO 数据库全称(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)，是由美国国立生物技术信息中心 NCBI 创建高通量实验数据并维护的基因表达数据库，这是当今最全面的公共基因表达数据资源之一。我们在 GEO 数据库中下载获得了包含 HPV (+) 的非肿瘤宫颈组织和 HPV (+) 的宫颈癌肿瘤组织样本的 RNA 测序数据集，分别为五个基因表达谱，GSE138080 由 10 个肿瘤样本和 10 个正常宫颈样本组成。GSE75132 由 1 个肿瘤样本和 10 个正常宫颈样本组成，GSE29570 由 45 个肿瘤样本和 17 个正常宫颈样本组成。GSE39001 由 43 个肿瘤样本和 6 个正常宫颈样本组成。GSE6791 由 20 个肿瘤样本和 8 个正常宫颈样本组成。

2.2. DEG 的识别

我们通过 GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) 鉴定了 DEG，GEO2R 是一种通过使用 Bioconductor 的 GEOquery 和 limma R 软件包可以获得 GEO 数据库中两个基因表达谱之间的 DEG 的方法 [16]。它被设置为通过调整后的 p 值 < 0.05 和 $\log_{2}FC$ (倍数变化) > -1 或 $\log_{2}FC$ (倍数变化) < 1 来筛选 DEG，我们使用维恩图来找到重叠的 DEG。

2.3. GO 和 KEGG 富集分析

DAVID 是(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) (版本 2021) [17] 是一个公共在线生物信息学数据库，有助于识别最重要的富集功能基因和生物学途径，为了进一步分析 DEGs，使用 DAVID 在线工具进行了基因本体 (GO) 和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。GO 分析用于注释基因的生物过程 (BP)，细胞学成分 (CC) 和分子功能 (MF) 和 KEGG 富集分析用于了解相关的信号通路。P 值 < 0.05 被认为具有统计学意义。

2.4. PPI 网络和关键模块分析及 hub 基因筛选

我们使用检索相互作用基因的搜索工具 STRING (<http://string-db.org/>) (版本 11.5) 基于置信度分数的数据库，获取 DEGs 的 PPI 信息，选择每个综合得分 > 0.4 的 PPI 为显著的相互作用对 [18]。更重要的是，我们通过 Cytoscape (版本 3.10.0) 进一步可视化了 PPI [19]。Cytoscape 中的分子复合物检测 (MCODE) 插件用于过滤网络中的关键模块，度截止值 = 2，节点得分截止值 = 0.2，k 核心 = 2，最大深度 = 100。为了从 Cytoscape 可视化 PPI 网络中识别枢纽基因，我们应用了另一种插件 CytoHubba，按 MMC 法排序，鉴定出枢纽基因。

2.5. 验证枢纽基因和蛋白表达

我们得出枢纽基因后，运用 GEPIA2 [20]、UALCAN [21]、HPA 数据库 [22] 中分析在宫颈癌在组织中的表达，验证关键枢纽基因在癌症中的生存预后分析。

3. 结果

3.1. 宫颈癌 DEG 识别

我们通过 GEO2R 在线工具对 5 个数据集的相交筛选出 39 个共同差异基因表达，并通过如下 (表 1) 及韦恩图展示 (图 1)。

Table 1. Differential gene expression (DEG)

表 1. 差异基因表达

39 个共同基因表达	
ACTL6A、BIRC5、BUB1、CCNB2、CDC6、CDK1、CDKN2A、CKS1B、CKS2、DHFR、EGR1、EZH2、FEN1、FOSB、GINS2、GMNN、H2AFZ、HLTF、HMMR、KIF15、KIF23、KIF2C、MCM2、MCM6、MMP9、NCAPG、NDC80、NUSAP1、PCNA、PRC1、PTGDS、PTTG1、RFC4、RFC5、RGS2、RNASEH2A、STMN1、TTK、ZWINT	

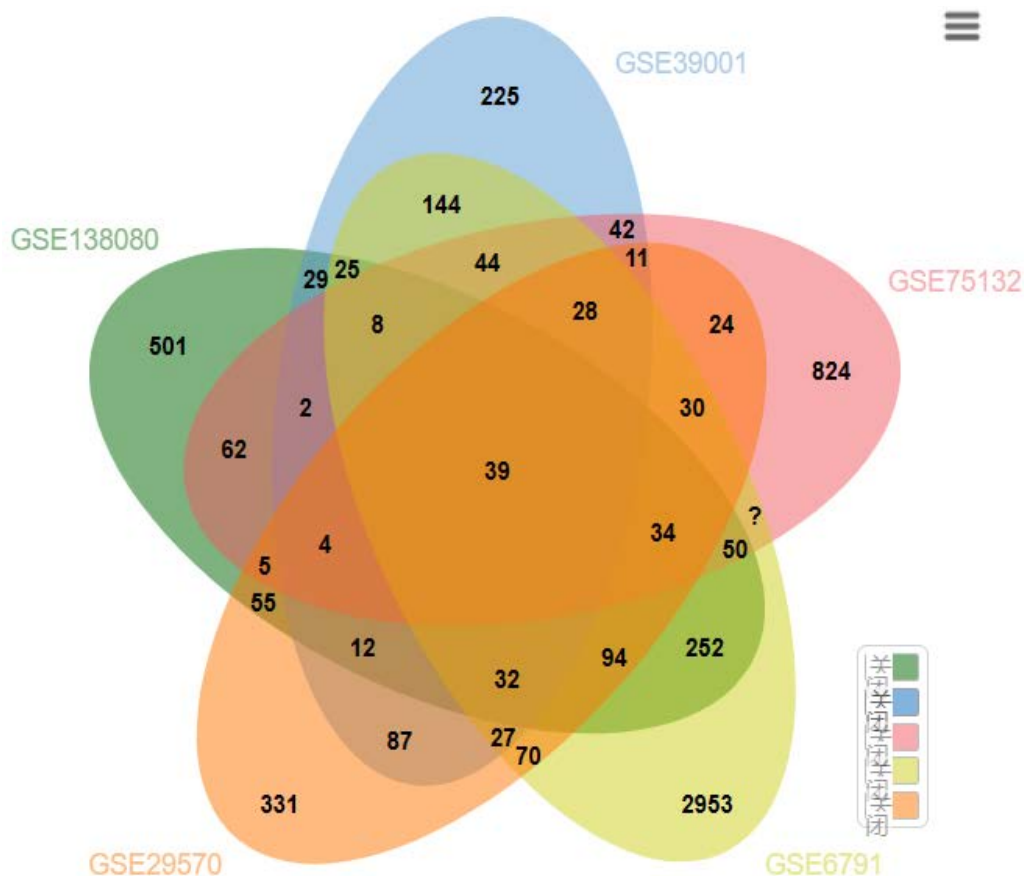


Figure 1. The Venn diagram. Identification of differentially expressed genes GSE138080, GSE75132, GSE29570, GSE39001 and GSE6791 Gene expression profile dataset. These five datasets showed 39 differentially expressed genes with overlapping

图 1. 韦恩图。中差异表达基因的鉴定 GSE138080, GSE75132, GSE29570, GSE39001 和 GSE6791 基因表达谱数据集。这 5 个数据集显示有 39 个基因重叠的差异表达基因

3.2. GO 与 KEGG 富集分析

为了分析 DEGs 的生物学分类, 使用 DAVID 进行 GO 功能和 KEGG 途径富集分析。GO 分析结果表明, 差异表达基因生物学过程(BP)的变化主要集中在细胞分裂、脱氧核糖核酸复制、脱氧核糖核酸修复等。细胞组分(CC)的变化主要集中在纺锤、核质、细胞核、动粒、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物等(图 2)。分子功能(MF)的变化主要集中在蛋白质结合、ATP 结合、ATP 水解活性、微管结合、脱氧核糖核酸结合等。KEGG 通路分析集中在细胞周期、脱氧核糖核酸复制、错配修复、癌症中的微核糖核酸、p53 信号通路、人 T 细胞白血病病毒 1 感染等(图 3)。

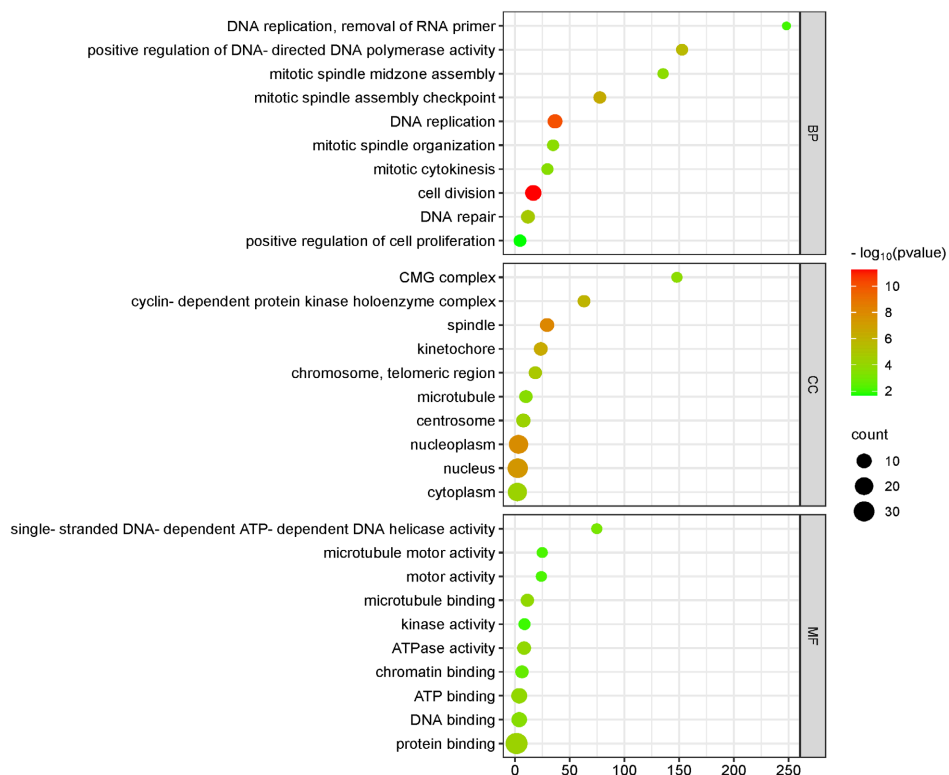


Figure 2. GO enrichment bubble diagram. BP, CC, MF enrichment significantly obtained $P < 0.05$ was statistically significant
图 2. GO 富集气泡图。BP、CC、MF 富集显著取 $P < 0.05$ 有统计学意义

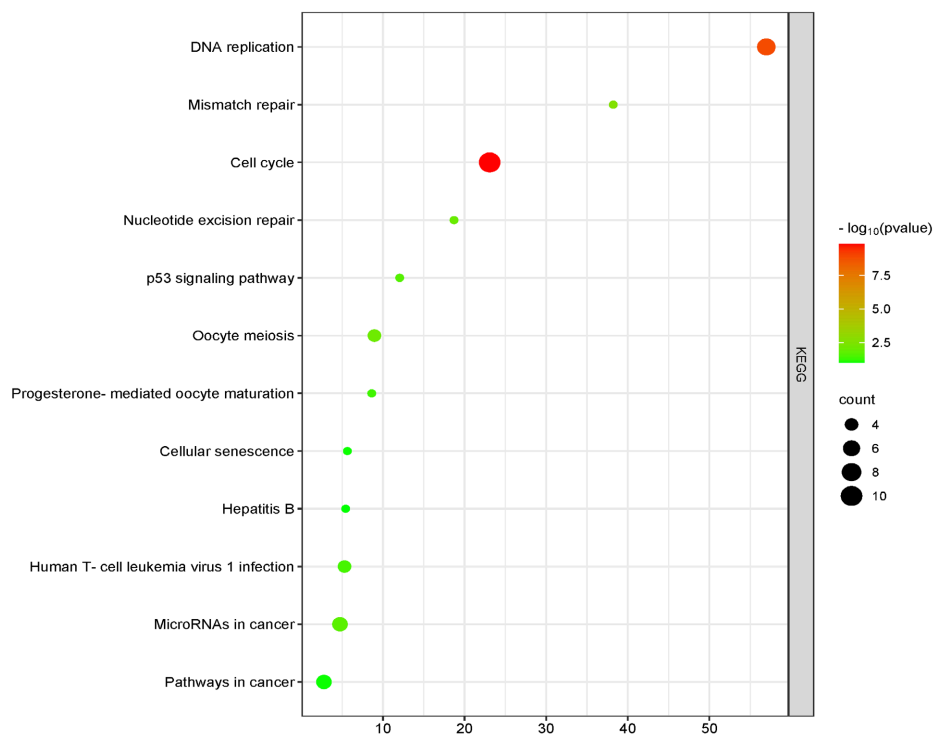


Figure 3. KEGG bubble diagram. The enrichment was significant with $P < 0.05$, indicating statistical significance
图 3. KEGG 气泡图。取富集显著以 $P < 0.05$ 有统计学意义

3.3. PPI 网络和关键模块分析及 Hub 基因筛选

为了更好地了解差异表达基因之间的关系，我们利用 STRING (<https://cn.string-db.org/cgi/>)在线工具对各种差异表达基因，构建了 39 个 DEG 的 PPI 网络(图 4)可视化，包括 39 个节点和 420 条边。为了从 PPI 网络中识别枢纽基因，我们应用后 Cytoscape 的 Cytohubba 插件。按 MMC 法排序，筛选出前 27 个枢纽基因，为了更精确验证筛选关键枢纽基因，再利用分子复合物检测(MCODE)插件过滤网络中的关键模块，由 27 个节点和 674 条边，筛选出 27 个关键枢纽 DEG 进行可视化(图 5)。

3.4. 宫颈癌与正常宫颈组织中 Hub 基因的差异表达分析

为了验证 CESE 和正常宫颈组织中枢纽基因的差异表达，我们利用基于 GEPIA2 网站的 TCGA 和 GTEx 数据库对 27 个枢纽基因进行了分析。表达分析显示这些关键基因在宫颈癌组织中均高表达，而在正常宫颈组织中均低表达。

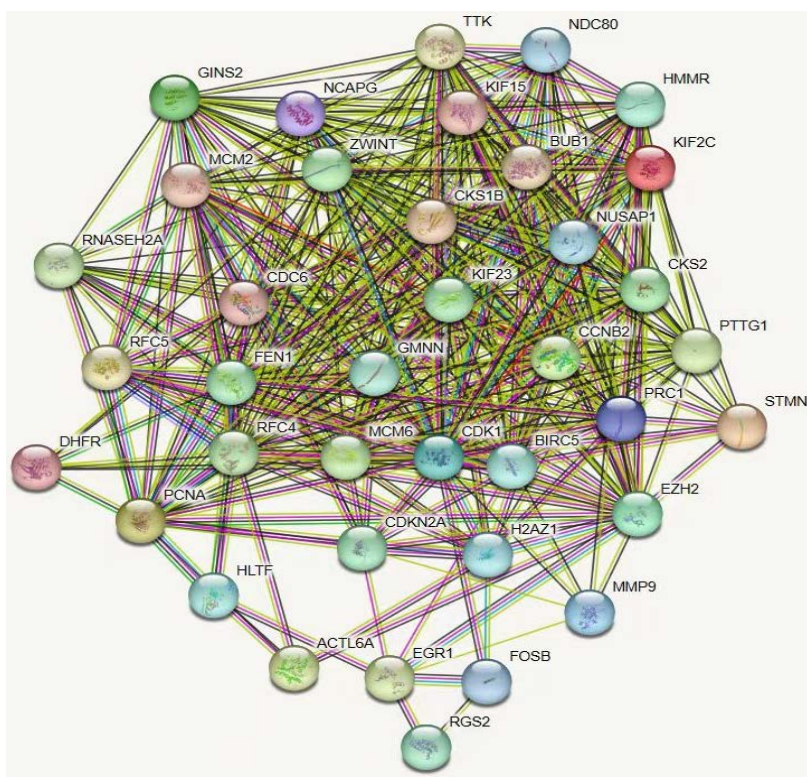


Figure 4. Protein-protein interactions (PPI networks). There were 39 nodes and 420 edges, and $P < 0.05$ was significant
图 4. 蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI 网络)。包括 39 个节点和 420 条边，P 值 < 0.05 为显著

3.5. 验证枢纽基因和蛋白表达

将 27 个关键枢纽基因分别 GEPIA2、UALCAN、HPA 数据库中验证宫颈癌差异基因分析表达。在 GEPIA2 的总生存分析表明，其 MCM2, RFC4, RFC5, PRC1, GINS2, PCNA 和 RNASEH2A 蛋白在宫颈癌有较好的预后相关性(图 6)其 P 值 < 0.05 有统计学差异，通过 UALCAN 数据库亦能验证关键基因在宫颈癌基因表达显示上调，此外，在 HPA 数据库查询宫颈癌患者的临床免疫组化标本及生存曲线验证显示，其 CDK1, MCM2, RFC4, RFC5, PCNA, GINS2, RNASEH2A 高表达预后越好，因此可能有利于宫颈癌的诊断与预相关。

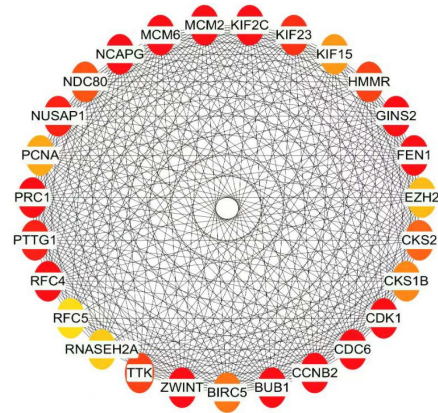


Figure 5. Hub gene. From 27 nodes and 674 edges, 27 key hub DEG is selected
图 5. 枢纽基因。由 27 个节点和 674 条边，计算筛选出 27 个关键枢纽 DEG

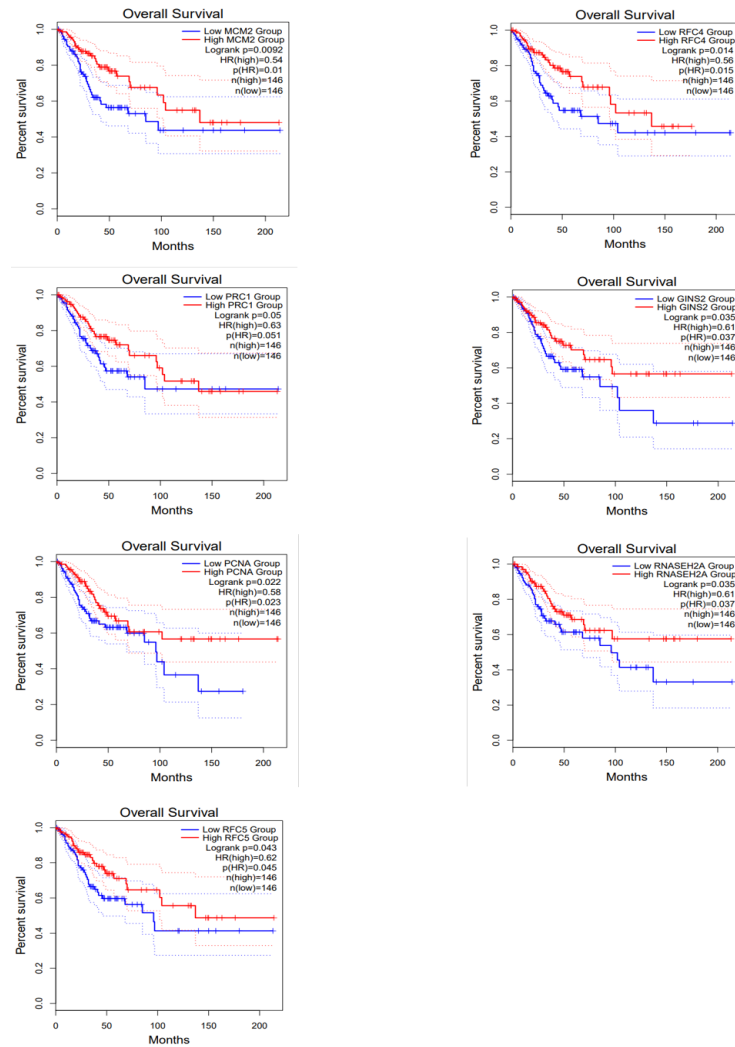


Figure 6. Kaplan-Meier curve. The P values < 0.05 in CDK1, MCM2, RFC4, RFC5, PCNA and RNASEH2A were statistically significant. There is a good prognostic relationship
图 6. Kaplan-Meier 曲线。CDK1, MCM2, RFC4, RFC5, PCNA 和 RNASEH2A 中 P 值 < 0.05 有统计学差异。有较好的预后关系

4. 讨论

宫颈癌是最常见的女性恶性肿瘤之一，宫颈癌的防治有了很大的进步[23]。然而，宫颈癌进展的分子机制尚不清楚。随着高通量技术的进步，通过分析微阵列数据集，已经确定了癌症进展的新型生物标志物。

在我们的研究中，功能富集最多的属细胞周期和脱氧核糖核酸修复，癌症的发生离不开细胞分裂的病理表现[24]，而细胞周期的不同阶段对决定细胞分裂适当性的生理线索有反应[25]。细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)是驱动所有细胞周期转换的关键调节酶，并且它们的活性受到严格控制，以确保细胞分裂成功，其 CDK1 成为有丝分裂进展的关键决定因素[26]，细胞周期蛋白治疗是细胞周期的治疗，细胞周期蛋白依赖性刺激的 CDK、Polo 样激酶和 WEE 激酶是细胞周期治疗药物的主要靶点[27]。患者对细胞周期治疗的反应支持细胞周期在宫颈癌治疗中的重要性[28]。本研究中 CDK1 在宫颈癌组织中呈高表达，其生存曲线显示高表达比低表达的预后较好，这与之前研究生物信息学鉴定宫颈癌验证预后生物标志物一致[29]。

MCM2 是 DNA 复制许可复合物的一个组成部分，小染色体维持蛋白家族是一组与 DNA 复制和基因组稳定性密切相关的蛋白质。本研究 GO 分析结果表明，差异表达基因生物学过程(BP)的变化主要集中在细胞分裂、脱氧核糖核酸复制等。而高度保守的 MCM 复合蛋白可能具有解旋酶活性，对于 DNA 复制的启动至关重要。作为真核生物 DNA 复制的主要调节因子，微染色体维持(MCM)蛋白在 DNA 复制的启动和延伸中起着重要作用[30]。MCM 在临床肿瘤的早期诊断、分类和预后中具有重要的参考价值[31]。已有研究表明，MCM 蛋白已成为宫颈癌筛查和早期诊断的非常有希望的标志物[32]。MCM2 过表达在 CC 中经常发生，特别是在持续高危 HPV 感染的病例中[33]。许多研究主要集中在癌前病变相关生物标志物的分析上，但只有少数研究证实了 MCM2 表达对侵袭性 CC 进展的预后影响[34]。相比之下，在我们的研究中，MCM2 在 CC 进展中发挥了保护作用，但我们观察到 CC 组织中 MCM2 的高表达水平，预后越好，与 Wang 等发现 MCM2 是 CC 的预后生物标志物的结论一致[35]。

人类复制因子 C (replication factor C, RFC)是由 RFC1、RFC2、RFC3、RFC4 和 RFC5 五个同步亚基组成的多聚体蛋白，这些亚基在进化过程中高度保守[36]。RFC4 在 DNA 损伤检查点途径中起重要作用，在许多癌种中也出现过表达现象。RFC5 在癌组织或细胞中的表达显著上调，并且其表达随着肿瘤进展而升高，本研究发现在 CC 等 RFC4 与 RFC5 中表达上调，相关研究也证实，RFC4 在多种肿瘤中均出现表达增高，如 Bachtary 等[37]发现，RFC4 在Ⅲ级宫颈癌中的表达高于Ⅱ级宫颈癌；Niu 等[38]发现 RFC4 在宫颈鳞癌中的表达明显高于高级别鳞状上皮内病变，且与宫颈癌的进展和预后相关；Martinez 等发现 HPV 阳性的头颈部鳞状细胞癌组织中 RFC5 表达显著上调，高于正常口腔黏膜组织和 HPV 阴性的口咽鳞状细胞癌组织[39]。此外，RFC4 可能是一种潜在的预后生物标志物和治疗靶点[40]。据报道[41]，RFC5 在癌组织或细胞中显著上调，其表达随着癌症进展而升高，其生存预后越好。

RNASEH2A 是一种编码基因的蛋白质，其 RNASEH2A 相关疾病包括与癌症进展和细胞周期相关的 Aicardi-Goutieres 综合征[42]。在我们的研究中，它与宫颈癌的总生存率有关，这与之前的研究一致[43]，并且该基因在肺癌[44]和乳腺癌[45]中起着类似的作用。同样，我们发现 RNASEH2A 在宫颈癌中高表达，并参与 RNA 分解代谢过程，有望成为宫颈癌的分子诊断标志物和治疗靶点。PCNA 是 DNA 聚合酶的辅助蛋白，可调节 DNA 合成[46]。PCNA 被认为是评估细胞增殖活性的指标。PCNA 上调与 5 年生存率、晚期疾病分期和宫颈癌更高的 WHO 分级相关，提示 PCNA 可能是宫颈癌预后和诊断的生物标志物[47]，这与本研究结果一致。

本文研究基于 GEO 数据库筛选关于宫颈健康组织与宫颈癌组织之间差异基因表达及筛选关键诊断

和预后基因，为寻找宫颈癌的新机制、更多预后因素和潜在治疗靶点提供进一步的研究思路，并最后在 UALCAN 和 HPA 数据库验证有利于宫颈癌预后标志物分别有 CDK1, MCM2, RFC4, RFC5, PCNA, RNASEH2A 蛋白基因与宫颈癌的预后相关，可能是宫颈癌诊断与预后的生物标志物。

参考文献

- [1] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-13.
- [2] Arbyn, M., *et al.* (2020) Estimates of Incidence and Mortality of Cervical Cancer in 2018: A Worldwide Analysis. *The Lancet Global Health*, **8**, E191-E203. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
- [3] Chesson, H.W., *et al.* (2014) The Estimated Lifetime Probability of Acquiring Human Papillomavirus in the United States. *Sexually Transmitted Diseases*, **41**, 660-664. <https://doi.org/10.1097/OLQ.000000000000193>
- [4] Shanmugasundaram, S. and You, J. (2017) Targeting Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*, **9**, Article 229. <https://doi.org/10.3390/v9080229>
- [5] Cibula, D., *et al.* (2023) ESGO/ESTRO/ESP Guidelines for the Management of Patients with Cervical Cancer—Update 2023. *International Journal of Gynecologic Cancer*, **33**, 649-666. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2023-004429>
- [6] Salvatici, M., *et al.* (2016) Squamous Cell Carcinoma Antigen (SCC-Ag) during Follow-Up of Cervical Cancer Patients: Role in the Early Diagnosis of Recurrence. *Gynecologic Oncology*, **142**, 115-119. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2016.04.029>
- [7] Quackenbush, J. (2001) Computational Analysis of Microarray Data. *Nature Reviews Genetics*, **2**, 418-427. <https://doi.org/10.1038/35076576>
- [8] Petryszak, R., *et al.* (2014) Expression Atlas Update—A Database of Gene and Transcript Expression from Microarray- and Sequencing-Based Functional Genomics Experiments. *Nucleic Acids Research*, **42**, D926-D932. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1270>
- [9] Oumeddour, A. (2023) Screening of Potential Hub Genes and Key Pathways Associated with Breast Cancer by Bioinformatics Tools. *Medicine*, **102**, e33291. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000033291>
- [10] Ke, Y., Zhuang, X. and You, L. (2022) Identification of Core Genes Shared by Endometrial Cancer and Ovarian Cancer Using an Integrated Approach. *Molecular and Cellular Biology*, **68**, 140-145. <https://doi.org/10.14715/cmb/2022.68.9.22>
- [11] Yang, D., *et al.* (2020) Integrated Bioinformatics Analysis for the Screening of Hub Genes and Therapeutic Drugs in Ovarian Cancer. *Journal of Ovarian Research*, **13**, Article No. 10. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-0613-2>
- [12] Liu, Y., Wan, D.X., Wa, X.J. and Meng, X.H. (2022) Identification of Candidate Biomarkers Associated with Gastric Cancer Prognosis Based on an Integrated Bioinformatics Analysis. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, **13**, 1690-1700. <https://doi.org/10.21037/jgo-22-651>
- [13] Sultana, A., *et al.* (2023) Single-Cell RNA-Seq Analysis to Identify Potential Biomarkers for Diagnosis, and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer by Using Comprehensive Bioinformatics Approaches. *Translational Oncology*, **27**, Article ID: 101571. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2022.101571>
- [14] Xu, Z., *et al.* (2020) Identifications of Candidate Genes Significantly Associated with Rectal Cancer by Integrated Bioinformatics Analysis. *Technology in Cancer Research & Treatment*, **19**. <https://doi.org/10.1177/1533033820973270>
- [15] Kumar, P., *et al.* (2022) Identification and Validation of Core Genes as Promising Diagnostic Signature in Hepatocellular Carcinoma Based on Integrated Bioinformatics Approach. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 19072. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22059-6>
- [16] Barrett, T., *et al.* (2013) NCBI GEO: Archive for Functional Genomics Data Sets—Update. *Nucleic Acids Research*, **41**, D991-D995. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>
- [17] Sherman, B.T., *et al.* (2022) DAVID: A Web Server for Functional Enrichment Analysis and Functional Annotation of Gene Lists (2021 Update). *Nucleic Acids Research*, **50**, W216-W221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>
- [18] Szklarczyk, D., *et al.* (2023) The STRING Database in 2023: Protein-Protein Association Networks and Functional Enrichment Analyses for Any Sequenced Genome of Interest. *Nucleic Acids Research*, **51**, D638-D646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000>
- [19] Shannon, P., *et al.* (2003) Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Research*, **13**, 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- [20] Tang, Z., *et al.* (2019) GEPIA2: An Enhanced Web Server for Large-Scale Expression Profiling and Interactive Analysis. *Nucleic Acids Research*, **47**, W556-W560. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz430>

- [21] Chandrashekar, D.S., *et al.* (2017) UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses. *Neoplasia*, **19**, 649-658. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.05.002>
- [22] Karlsson, M., *et al.* (2021) A Single-Cell Type Transcriptomics Map of Human Tissues. *Science Advances*, **7**, eabh2169. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abh2169>
- [23] Cohen, P.A., Jhingran, A., Oaknin, A. and Denny, L. (2019) Cervical Cancer. *The Lancet*, **393**, 169-182. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32470-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32470-X)
- [24] Hunt, T., Nasmyth, K. and Novak, B. (2011) The Cell Cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **366**, 3494-3497. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0274>
- [25] Nurse, P., Masui, Y. and Hartwell, L. (1998) Understanding the Cell Cycle. *Nature Medicine*, **4**, 1103-1106. <https://doi.org/10.1038/2594>
- [26] Asghar, U., Witkiewicz, A.K., Turne, N.C. and Knudsen, E.S. (2015) The History and Future of Targeting Cyclin-Dependent Kinases in Cancer Therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, **14**, 130-146. <https://doi.org/10.1038/nrd4504>
- [27] Wang, X., *et al.* (2020) Novel CDKs Inhibitors for the Treatment of Solid Tumour by Simultaneously Regulating the Cell Cycle and Transcription Control. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **35**, 414-423. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1705290>
- [28] Mondala, P.K., *et al.* (2021) Selective Antisense Oligonucleotide Inhibition of Human IRF4 Prevents Malignant Myeloma Regeneration via Cell Cycle Disruption. *Cell Stem Cell*, **28**, 623-636.E9. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.12.017>
- [29] Xue, H., Sun, Z., Wu, W., Du, D. and Liao, S. (2021) Identification of Hub Genes as Potential Prognostic Biomarkers in Cervical Cancer Using Comprehensive Bioinformatics Analysis and Validation Studies. *Cancer Management and Research*, **13**, 117-131. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S282989>
- [30] Forsburg, S.L. (2004) Eukaryotic MCM Proteins: Beyond Replication Initiation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **68**, 109-131. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.1.109-131.2004>
- [31] Wang, D., Li, Q., Li, Y.C. and Wang, H.Y. (2018) The Role of MCM5 Expression in Cervical Cancer: Correlation with Progression and Prognosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **98**, 165-172. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.006>
- [32] Laskey, R. (2005) The Croonian Lecture 2001 Hunting the Antisocial Cancer Cell: MCM Proteins and Their Exploitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **360**, 1119-1132. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1656>
- [33] Zheng, J. (2015) Diagnostic Value of MCM2 Immunocytochemical Staining in Cervical Lesions and Its Relationship with HPV Infection. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8**, 875-880.
- [34] Amaro, F.S., *et al.* (2014) Correlation of MCM2 Detection with Stage and Virology of Cervical Cancer. *The International Journal of Biological Markers*, **29**, 363-371. <https://doi.org/10.5301/jbm.5000081>
- [35] Wang, J., *et al.* (2020) A Novel Four-Gene Prognostic Signature as a Risk Biomarker in Cervical Cancer. *International Journal of Genomics*, **2020**, Article ID: 4535820. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-56408/v1>
- [36] Li, Y., *et al.* (2018) Multifaceted Regulation and Functions of Replication Factor C Family in Human Cancers. *American Journal of Cancer Research*, **8**, 1343-1355.
- [37] Bachtary, B., *et al.* (2006) Gene Expression Profiling in Cervical Cancer: An Exploration of Intratumor Heterogeneity. *Clinical Cancer Research*, **12**, 5632-5640. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0357>
- [38] Niu, G., Wang, D.P., Pei, Y.F. and Sun, L. (2017) Systematic Identification of Key Genes and Pathways in the Development of Invasive Cervical Cancer. *Gene*, **618**, 28-41. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.018>
- [39] Martinez, I., Wang, J., Hobson, K.F., Ferris, R.L. and Khan, S.A. (2007) Identification of Differentially Expressed Genes in HPV-Positive and HPV-Negative Oropharyngeal Squamous Cell Carcinomas. *European Journal of Cancer*, **43**, 415-432.
- [40] Liu, S.M., Chen, W. and Wang, J. (2014) Distinguishing between Cancer Cell Differentiation and Resistance Induced by All-Trans Retinoic Acid Using Transcriptional Profiles and Functional Pathway Analysis. *Scientific Reports*, **4**, Article No. 5577. <https://doi.org/10.1038/srep05577>
- [41] Marsili, S., *et al.* (2021) Gene Co-Expression Analysis of Human RNASEH2A Reveals Functional Networks Associated with DNA Replication, DNA Damage Response, and Cell Cycle Regulation. *Biology*, **10**, Article 221. <https://doi.org/10.3390/biology10030221>
- [42] Huang, Z., Li, F. and Li, Q. (2021) Expression Profile of RNA Binding Protein in Cervical Cancer Using Bioinformatics Approach. *Cancer Cell International*, **21**, Article No. 647. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02319-7>

-
- [43] Zhang, J., *et al.* (2021) Long Noncoding RNA LINC01287 Promotes Proliferation and Inhibits Apoptosis of Lung Adenocarcinoma Cells via the miR-3529-5p/RNASEH2A Axis under the Competitive Endogenous RNA Pattern. *Environmental Toxicology*, **36**, 2093-2104. <https://doi.org/10.1002/tox.23325>
- [44] Yang, M. (2021) Long Noncoding RNA LINC01287 Promotes Proliferation and Inhibits Apoptosis of Lung Adenocarcinoma Cells via the miR-3529-5p/RNASEH2A Axis under the Competitive Endogenous RNA Pattern. *Environmental Toxicology*, **36**, 2093-2104. <https://doi.org/10.1002/tox.23325>
- [45] Chen, Y.X., *et al.* (2020) An Integrative Multi-Omics Network-Based Approach Identifies Key Regulators for Breast Cancer. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **18**, 2826-2835. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.10.001>
- [46] Perucca, P., *et al.* (2018) A Damaged DNA Binding Protein 2 Mutation Disrupting Interaction with Proliferating-Cell Nuclear Antigen Affects DNA Repair and Confers Proliferation Advantage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, **1865**, 898-907. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.03.012>
- [47] Oleynikova, N.A., *et al.* (2018) Coexpression of CD44 and Ki-67 in Colons Neoplast. *Arkhiv Patologii*, **80**, 27-36. <https://doi.org/10.17116/patol201880127-36>