

基于生物信息学分析DFNA5基因在肝癌中的表达及其与预后的关系

李茵佳^{1*}, 杨雪佳¹, 李玉杰², 周素芳^{1,2#}

¹广西医科大学, 国家生物靶向诊治国际联合研究中心, 广西生物靶向诊治研究人才小高地, 广西肿瘤靶向诊治协同创新中心, 广西生物靶向诊治重点实验室, 广西 南宁

²广西医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 广西高校生物分子医学研究重点实验室, 广西 南宁
Email: 361705280@qq.com, #zsf200000@163.com

收稿日期: 2021年3月25日; 录用日期: 2021年4月20日; 发布日期: 2021年4月27日

摘要

目的: 对DFNA5基因与肝癌的发生发展及临床治疗预后之间的关系进行分析及预测。方法: 通过HPA、TCGA、Oncomine、CCLE和Kaplan Meier-plotter数据库, 分析DFNA5基因在人体组织中的表达分布及其在肝癌中的表达, 探讨DFNA5与生存预后的关系。结果: DFNA5在正常人体中的分布没有显著组织特异性, 在肝脏中的表达量略高于中位值; DFNA5蛋白主要分布于细胞质基质中, 其蛋白表达量在甲状腺肿瘤中为最高, 在肝癌中的表达水平则位于17种常见肿瘤组织中的第6位; 核酸表达水平则是在神经胶质瘤中最高, 在肝癌中的RNA表达水平与大多数肿瘤类型无显著区别。生存分析中, DFNA5基因与患者的生存时间表现为负相关($P = 0.002$), 且与患者的性别分布有关, DFNA5的表达水平对于女性患者的生存预后具有显著影响($P = 0.00013$), 但对于男性患者的影响不显著($P = 0.051$)。结论: DFNA5在正常机体中的表达分布没有明显组织特异性; 在不同肿瘤组织中表达状况不一, 在肝癌组织中的表达水平要高于癌旁组织; 蛋白分布定位于细胞质基质, 其高表达与肝癌患者的不良生存预后有关。

关键词

肝癌, 生物信息学, DFNA5, 预后

Analysis of DFNA5 Gene Expression in Liver Cancer and Its Relationship with Prognosis Based on Bioinformatics

Yinjia Li^{1*}, Xuejia Yang¹, Yujie Li², Sufang Zhou^{1,2#}

¹National Center for International Research of Bio-Targeting Theranostics, Guangxi Key Laboratory of Bio-Targeting Theranostics, Collaborative Innovation Center for Targeting Tumor Diagnosis and Therapy, Guangxi Talent Highland of Bio-Targeting Theranostics, Guangxi Medical University, Nanning Guangxi

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李茵佳, 杨雪佳, 李玉杰, 周素芳. 基于生物信息学分析 DFNA5 基因在肝癌中的表达及其与预后的关系[J]. 临床医学进展, 2021, 11(4): 1934-1943. DOI: 10.12677/acm.2021.114279

²School of Basic Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Biochemistry, Guangxi University Key Laboratory of Biological Molecular Research, Guangxi Medical University, Nanning Guangxi
Email: 361705280@qq.com, #zsf200000@163.com

Received: Mar. 25th, 2021; accepted: Apr. 20th, 2021; published: Apr. 27th, 2021

Abstract

Objective: To analyze the relationship between *DFNA5* gene and the occurrence and development of liver cancer and predict the prognosis of clinical treatment. **Methods:** Through HPA, TCGA, Oncomine, CCLE, and Kaplan Meier-plotter, to analyze the expression distribution of *DFNA5* gene in normal human tissues and its expression in liver cancer, the relationship between *DFNA5* and survival prognosis was analyzed and discussed. **Results:** The distribution of *DFNA5* in humans has no significant tissue specificity, and its expression in the liver is slightly higher than the median value; the protein is mainly distributed in the cytoplasmic matrix, and its protein expression is the highest in thyroid tumor, and its expression level in liver cancer is located at the 6th position among 17 general tumor tissues; the nucleic acid expression level is the highest in glioma cancer; the expression level of RNA in liver cancer is not significantly different from most tumor types. Survival analysis showed that the *DFNA5* gene was negatively correlated with the patient's survival time ($P = 0.002$) and was related to the gender distribution of the patients. The expression level of *DFNA5* had a significant impact on the survival prognosis of female patients ($P = 0.00013$), and effect on male patients was not significant ($P = 0.051$). **Conclusion:** The expression distribution of *DFNA5* in healthy organisms has no tissue specificity; the expression status in different tumor tissues is distinct, and the expression level in liver cancer tissues is higher than that in adjacent tissues; the protein distribution is located in the cytoplasmic matrix, and its expression is high. It is related to the poor survival prognosis of liver cancer patients.

Keywords

Liver Cancer, Bioinformatics, *Dfna5*, Prognosis

Copyright © 2021 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. 前言

肝癌作为一种恶性程度高而生存预后差的恶性肿瘤,其发病机制复杂,原因多样化[1],且发病率在全球范围内多年保持居高不下的态势[2]。2020年的 global cancer statistics 中的数据显示,肝癌发病率位居全球第六[3]; *DFNA5* 基因全名为耳聋相关肿瘤抑制因子(Deafness Tumor Inhibitor Suppressor, *DFNA5*) [4],又名 GSDME (Gasdermin E), Gene ID: 1687,是 GSDM 家族成员,早期研究集中于家族遗传性耳聋[5] [6],后期研究发现, *DFNA5* 基因可能与肿瘤炎性环境的形成有关[7] [8] [9],其可通过自身蛋白剪切活化,引发肿瘤细胞打孔功能而展示出肿瘤抑制潜能[9] [10]。也有研究集中探讨 *DFNA5* 甲基化与肿瘤的关系[11] [12]以及 *DFNA5* 作为 GSDME 蛋白可能参与不同细胞死亡方式的相关实验研究[13] [14],包括细胞凋亡[14],铁死亡[15]或继发性坏死[16]与细胞焦亡的死亡形式之间的转化,甚至于 GSDME 基因直接参与细胞焦亡的发生过程[17] [18] [19],大量实验研究论证了 *DFNA5* 基因的甲基化与结直肠癌[20],

胃癌[21]及乳腺癌[22] [23]之间的关系, 少有研究探讨其在肝癌中的表达及其与预后之间的关系。

生物信息学是随着计算机科学中的软硬件升级高速发展的学科, 适当利用生物信息学有利于加速基础实践研究的早期进程, 而现有的研究内容中鲜有见到对 *DFNA5* 基因与肝癌关系预测的相关研究。本研究使用生物信息学, 利用 BioGPS、HPA、Oncomine、TCGA、CCLE 等数据库, 对 *DFNA5* 基因在人体组织及肿瘤组织中的表达分布进行分析, 进一步对其在肝癌及实验肝癌细胞系中的相关表达进行综合分析, 最后分析 *DFNA5* 基因表达量与肝癌患者的生存预后之间的关系, 为后期实验研究寻找敏感性更高, 特异性更强的早期诊断指标以及治疗靶点。

2. 资料与方法

2.1. 在线网络数据库数据资料收集与整理

- 1) 在 BioGPS 数据库中搜索“*DFNA5*”, 选择 Gene ID 为 1687 的人源 GSDME 作为筛选对象。
- 2) 在 Human Protein Atlas (HPA)数据库中检索“*DFNA5*”基因, 提取其作为 Gasdermin E 在肝癌中的表达情况和细胞中的蛋白质定位情况。
- 3) 在 Oncomine 数据库中搜索 *DFNA5* 基因(Gene ID: 1687), 筛选 Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis; Cancer Type: Liver Cancer; Data Type: mRNA, 收集 *DFNA5* 基因在不同肝癌研究中的表达并对结果进行集中分析。
- 4) 在 TCGA 数据库中检索下载肝癌的转录组数据, 统计分析 *DFNA5* 基因在癌组织和癌旁组织中的表达差异。
- 5) 在 CCLE 中搜索 *DFNA5* 基因, 下载其在各类肿瘤细胞中的 mRNA 表达数据。提取 *DFNA5* 在肝癌细胞中的表达数据并进行统计分析; 下载并收集 *DFNA* 在各类肿瘤细胞中的 DNA 甲基化数据进行进一步统计分析。
- 6) 在 Kaplan Meier-Plotter 数据库中选择“Liver cancer”条目, Gene symbol: *DFNA5*; 筛选“Gender”, 分别收集“Male”, “Female”相关结果。

2.2. 统计分析

所有数据采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。*DFNA5* 基因的表达与肝癌的预后的关系采用 Kaplan-Meier 模型分析, 并且绘制生存曲线。以 P 值 <0.05 作为统计学标准, 存在统计学意义。

3. 结果

3.1. *DFNA5* 在人体中的整体表达情况

3.1.1. BioGPS 数据库

在 BioGPS 数据库中搜索 *DFNA5* 基因, 进行在线分析, 结果如图 1 所示, *DFNA5* 基因在人体绝大部分组织中表达, 而其中, 在肝脏组织中的表达水平为 14.65 ± 0.106 略高于整体表达水平的中位值: Median = 12.1。

3.1.2. HPA 数据库

在 HPA 数据库中搜索 *DFNA5* 基因, 其中对 TCGA 数据在线分析结果提示, *DFNA5* 基因组织特异性低; GSDME 作为耳聋相关肿瘤抑制因子, 可能是肝癌的不利预后指标, 并且其可能通过与 *TP53* 联合作用, 影响到 *TP53* 参与调节的针对 DNA 损伤的细胞应答[24]。对数据库中的多种肿瘤组织中的 *DFNA5* 的表达情况进行综合分析, RNA 表达状况统计包含 17 种常见肿瘤组织的数据, 如图 2 所示, *DFNA5* 基

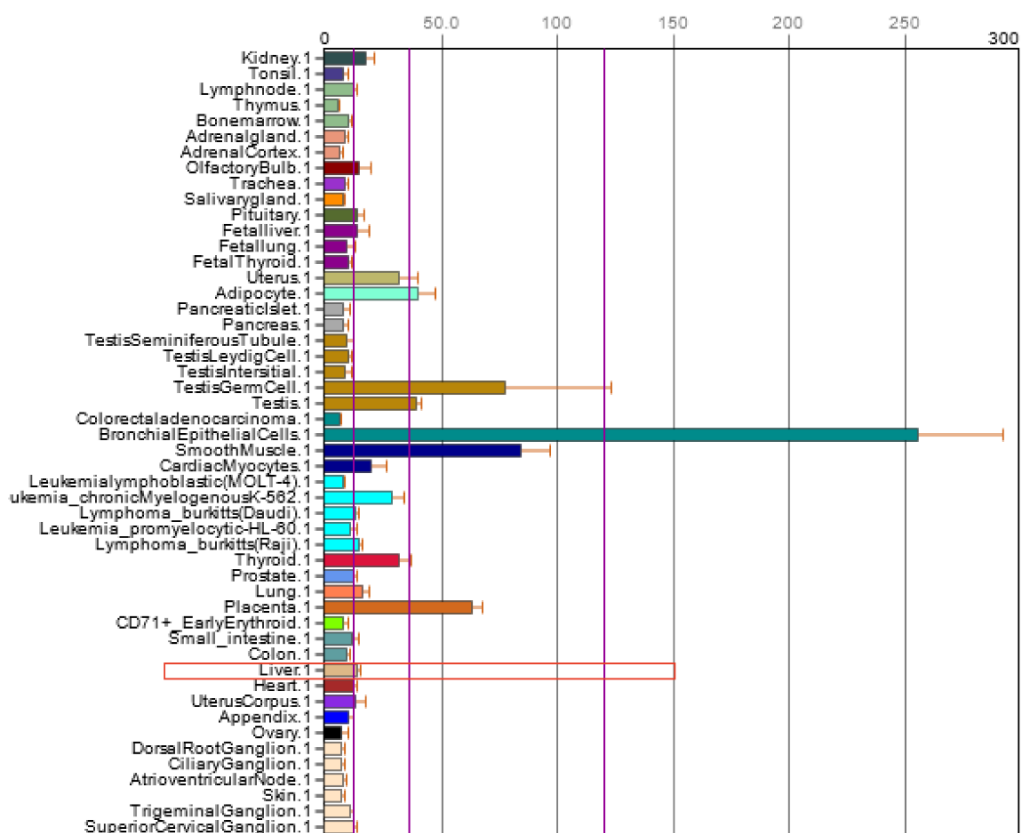


Figure 1. Differential expression distribution of *DFNA5* in human tissues

图 1. *DFNA5* 在人体组织中的差异表达分布

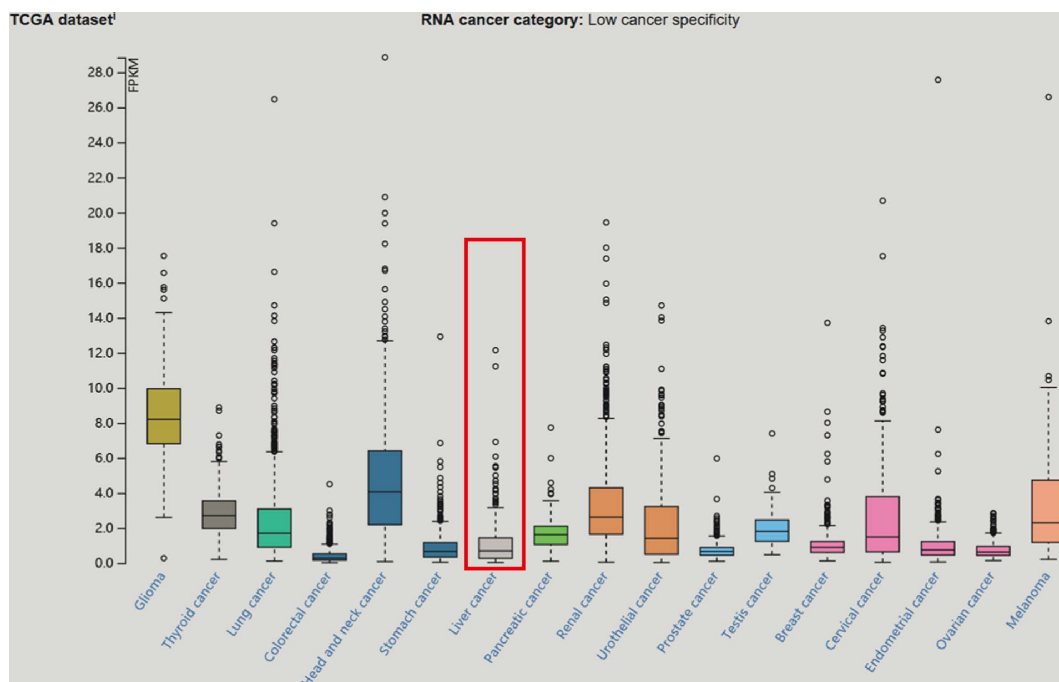


Figure 2. RNA expression in various tumor tissues *DFNA5*

图 2. 不同肿瘤组织中 *DFNA5* 的 RNA 的表达情况

因在其中均有表达, *DFNA5* 的 RNA 表达水平在 17 种常见癌症中处于第 13 位; 对 *DFNA5* 在蛋白水平的表达进行统计, 如图 3 所示, *GSDME* 蛋白在肝癌中的表达强度位于第六位; 在免疫荧光图片中选择“Antibody”、“Nucleus”和“ER”, 联合模型示意图 4(a), 图 4(b)可见, *DFNA5* 的蛋白表达主要分布于细胞质基质中。

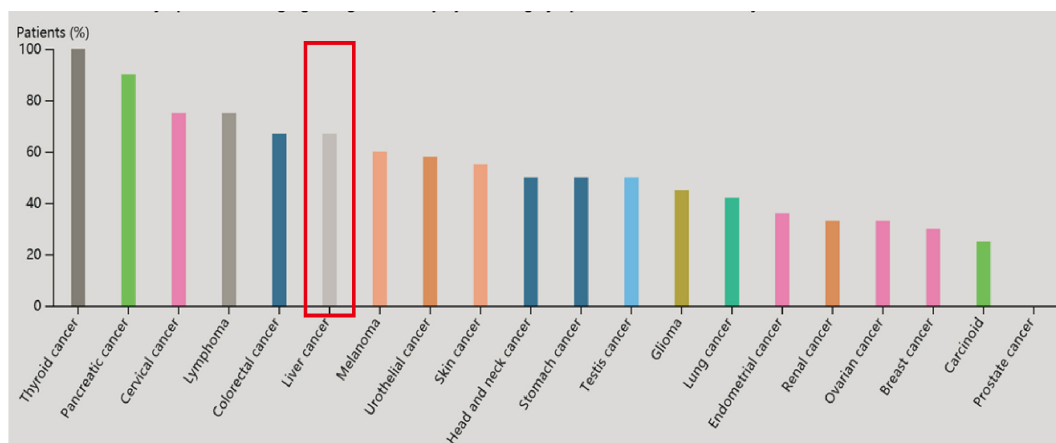


Figure 3. The expression of *DFNA5* protein in various tumor tissues

图 3. *DFNA5* 蛋白在各类肿瘤组织中的表达情况

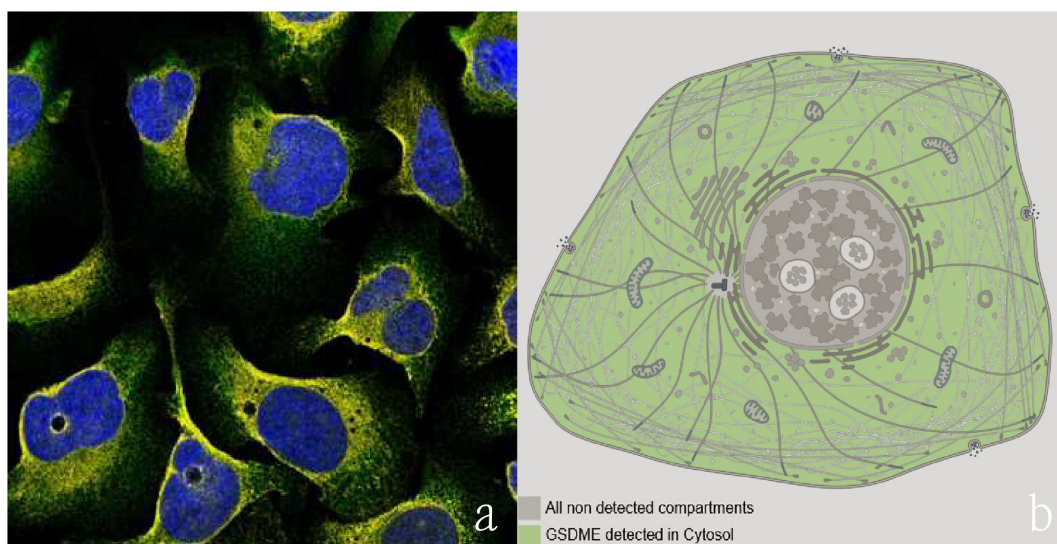


Figure 4. (a) Immunofluorescence staining of *DFNA5* protein in human cells (for example, U-2 OS cells, the antibody is HPA1326 showing green fluorescence, rabbit anti-*DFNA5*; nucleus stained blue, endoplasmic reticulum stained yellow); (b) *DFNA5* protein localization in the cell Schematic model diagram

图 4. (a) 人类细胞中 *DFNA5* 蛋白免疫荧光染色(例: U-2 OS 细胞, 抗体为 HPA1326 显示为绿色荧光, 兔抗 *DFNA5*; 细胞核染蓝色, 内质网染黄色); (b) *DFNA5* 蛋白在细胞中定位示意模型图

3.2. *DFNA5* 在肝癌中的分布

3.2.1. Oncomine 数据库

在 Oncomine 数据库中进行分析发现, *DFNA5* mRNA 在肝癌组织和正常肝组织之间的表达差异的相关研究为包含了 678 个数据样本的 4 项研究。针对这 4 项研究在 Oncomine 数据库中进行综合分析发现, *DFNA5* mRNA 在肝癌组织中的表达量高于在正常肝组织中的表现(见图 5), 该差异具有统计学意义($P =$

0.004, Median Rank = 3109.0)。

3.2.2. TCGA 数据库

TCGA 数据库中比较肝癌与正常肝组织中 *DFNA5* 的 mRNA 数据表达差异，结果可见图 6，*DFNA5* 的 mRNA 表达相对于正常肝组织，在肝癌组织中表达量更高， $P < 0.05$ ，有统计学意义。

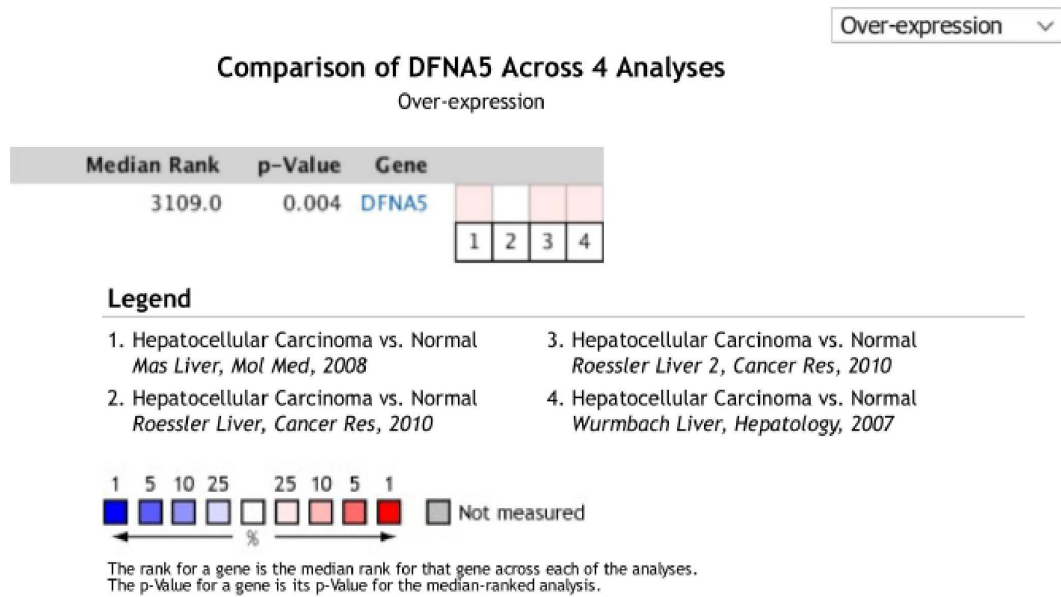


Figure 5. Comprehensive expression analysis of *DFNA5* in liver cancer research (Oncomine database)

图 5. *DFNA5* 在肝癌研究中的综合表达分析(Oncomine 数据库)

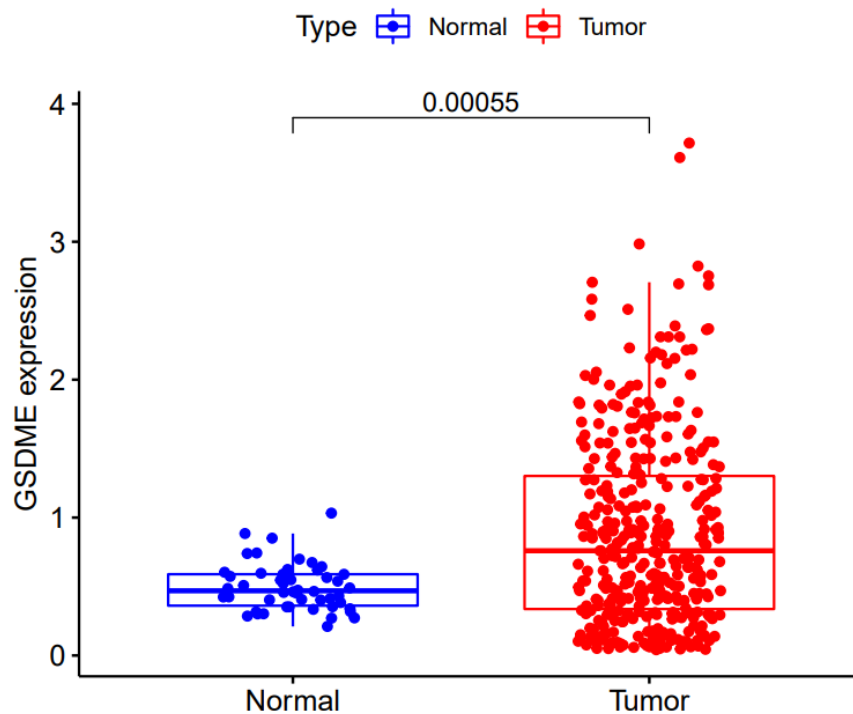


Figure 6. *DFNA5* mRNA expression status in liver cancer (TCGA database)

图 6. 肝癌中 *DFNA5* 的 mRNA 表达状况(TCGA 数据库)

3.3. *DFNA5* mRNA 在 CCLE 的不同肿瘤细胞系中的表达分布

DFNA5 mRNA 在 CCLE 的不同肿瘤细胞系中的表达分布,在 CCLE 数据库中搜索 *DFNA5*,结果显示, *DFNA5* 的 mRNA 在不同肿瘤细胞系中表达状态不一;肝癌细胞系中 *DFNA5* mRNA 高表达,且表达量为肿瘤细胞系中排名第 12 位(见图 7)。

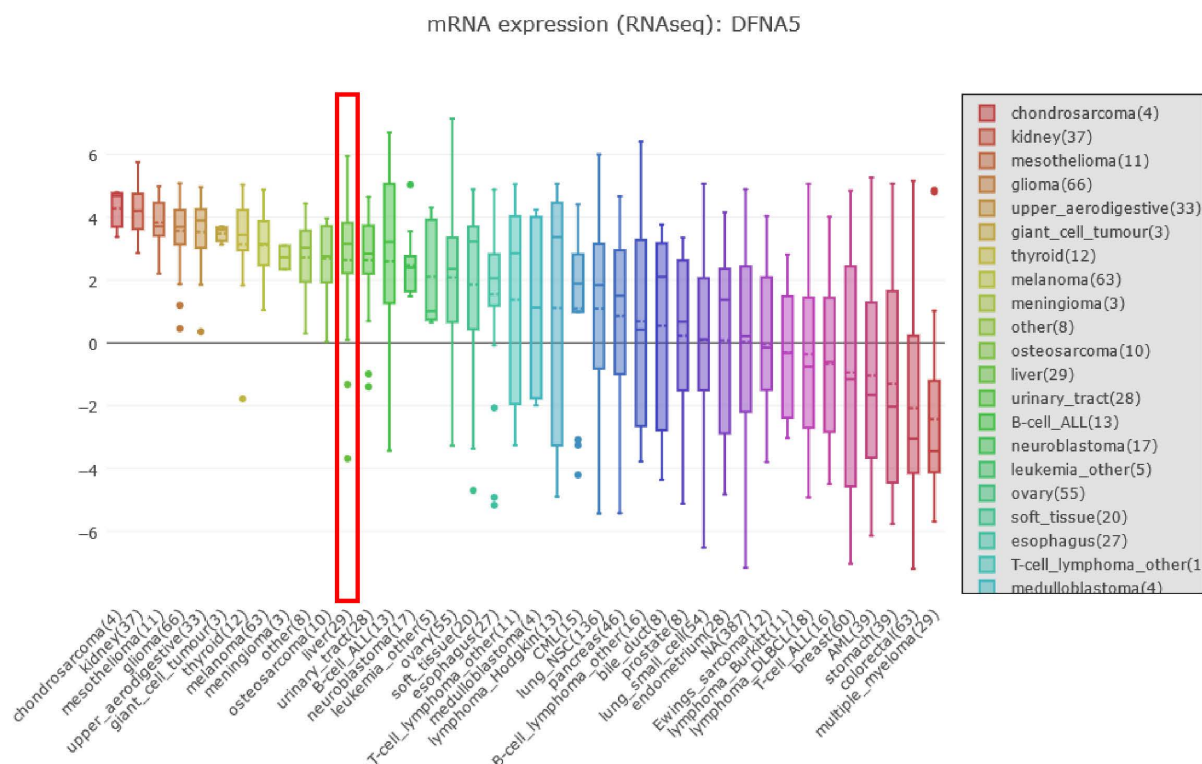


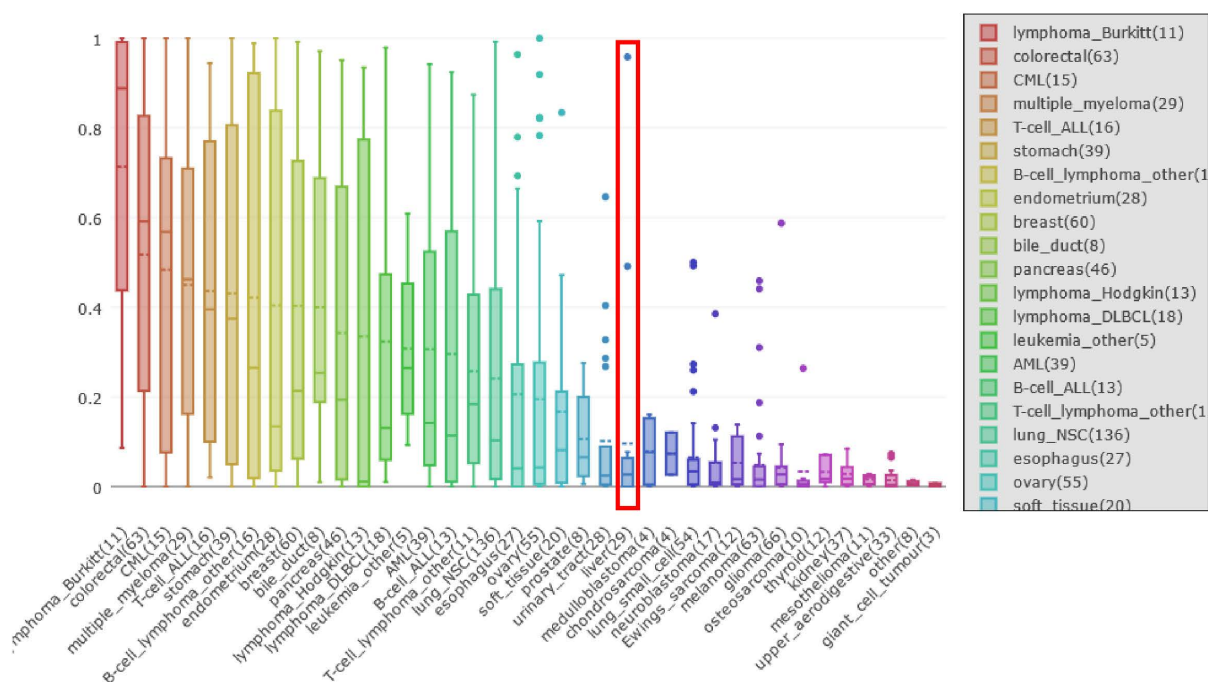
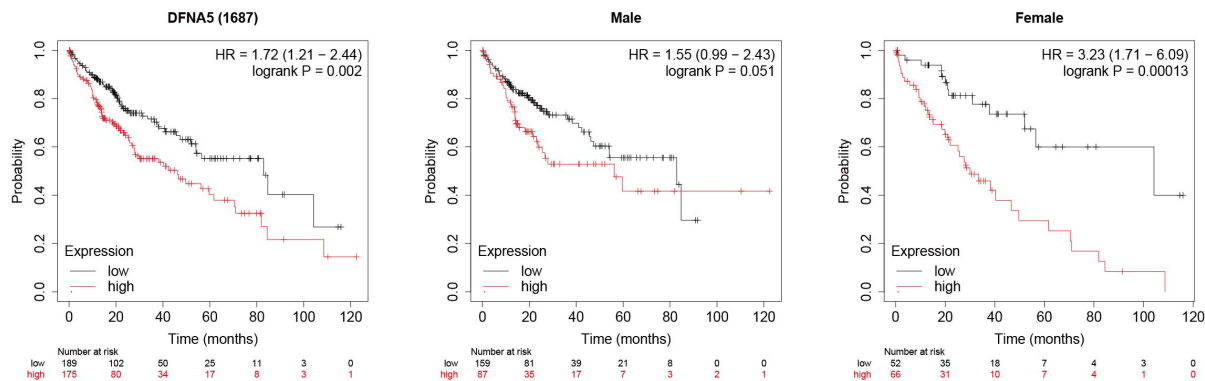
Figure 7. Distribution of *DFNA5* mRNA in different tumor cell lines
图 7. *DFNA5* mRNA 在不同肿瘤细胞系中的分布

3.4. *DFNA5* 的 DNA 甲基化状态在 CCLE 的不同肿瘤细胞系中的汇总分析

CCLE 数据库中搜索 *DFNA5*,选择数据类型(DNA methylation RRBS: *DFNA5*), *DFNA5* 的 DNA 甲基化程度分布在不同肿瘤细胞系中不同;以结直肠癌为例,其 *DFNA5* 的 mRNA 表达量处倒数第二,但 DNA 甲基化程度处第二位,提示大多数细胞系中 *DFNA5* 的 DNA 甲基化与 mRNA 的表达可能是负相关;肝癌细胞系中 *DFNA5* 的甲基化程度有限,且 38 种肿瘤细胞系中排名第 24 位(见图 8)。

3.5. *DFNA5* 对肝癌患者预后的影响及其性别分析

在 Kaplan-Meier-Plotter 数据库中[25],选择 Liver,对其中包含的 364 例肝癌患者的生存数据进行分析,如图 9, *DFNA5* 的表达水平对肝癌患者的生存预后具有显著影响。 *DFNA5* 的高表达是肝癌患者生存预后的不利指标, ($P < 0.05$): 且 *DFNA5* 的表达对生存预后的影响具有明显的性别差异, *DFNA5* 基因的高表达对于女性的生存预后影响显著,在女性患者中高表达组的生存率显著降低, $P = 0.00013$,而在男性患者中特别是在长期生存后进行数据统计发现 *DFNA5* 的高表达对于男性肝癌患者生存率影响有限, $P = 0.051$,从统计数据上来看, *DFNA5* 基因的表达量在女性肝癌患者中对生存预后的影响更为显著。

DNA methylation (RRBS): *DFNA5***Figure 8.** Degree of methylation *DFNA5* DNA in different tumor cell lines distribution**图 8.** *DFNA5* 在不同肿瘤细胞系中的 DNA 的甲基化程度的分布**Figure 9.** *DFNA5* expression level and overall survival rate of the patients survival curve**图 9.** *DFNA5* 表达量与患者总体生存率生存曲线

4. 讨论

肝癌作为我国常见的恶性肿瘤，其死亡率位居全球肿瘤死亡率的第三位，且肝癌是一种恶性程度非常高的疾病，发病机制由多种基因共同调控，肝癌形成的原因十分复杂且可能包括多种因素在不同阶段的共同作用。

DFNA5 基因是家族遗传性耳聋的关键基因，近些年研究发现 *DFNA5* 蛋白的 N 端结构域是细胞焦亡发生的一种关键蛋白，*DFNA5* 的 N 端蛋白可导致细胞膜性结构打孔，诱导细胞焦亡的发生，从而参与机体的某些生理或病理进程。而相关研究发现，细胞焦亡进程在肿瘤细胞中受到抑制，对于肿瘤的形成与发展有重要意义[10]。目前对于焦亡的研究迅速开展，但大多基础实验专注于 *DFNA5* 基因在肿瘤细胞参

与细胞焦亡的发生或介导细胞从不同死亡形式向细胞焦亡的转化过程[13]-[18], 有研究指出 GSDME (*DFNA5*)可通过启动焦亡进程后激活抗肿瘤免疫抑制肿瘤的生长, 对于肿瘤周围炎性环境的形成有重要意义[7] [8] [9] [10] [20]; 而 *DFNA5* 与肿瘤关联的相关研究集中于 *DFNA5* 甲基化[11] [12]与乳腺癌, 结肠癌, 胃癌的发生发展转移的关系[21] [22] [23] [24], 有研究提出 *DFNA5* 基因参与 *P53* 协同作用的肿瘤细胞抑制作用[19]。

本研究通过对公共数据库中的焦亡相关基因 *DFNA5* 的相关数据进行挖掘统计荟萃分析, 首先在 BioGPS 中分析发现 *DFNA5* 基因在正常组织中的分布表现无显著组织特异性, 而通过在 HPA 数据库中进一步分析发现 *DFNA5* 在细胞中的相关定位表现为编码的蛋白广泛存在于细胞质基质中, 且 *DFNA5* 在不同肿瘤中表达情况不一, 其蛋白表达在甲状腺肿瘤中表现比例最高, 肝癌表达则位于第 6 位; 核酸表达水平上, 则是在神经胶质瘤中最高, 在肝癌中的 RNA 表达水平与大多数肿瘤类型无显著区别。综合多项数据库分析发现, *DFNA5* 基因在肝癌与正常肝组织中的表达存在一定差异, *DFNA5* 在大多数肝癌中表现为高表达, 可以对其在肝癌发生发展机制中的作用做进一步研究。基于 Kaplan Meier 在线网络对 364 名肝癌患者进行生存预后分析, 发现 *DFNA5* 基因高表达时, 患者的生存时间缩短, 且与患者的性别分布有关, *DFNA5* 的表达水平对于女性患者的生存预后具有显著影响, *DFNA5* 高表达的女性患者相对于低表达组, 总体生存率明显降低, 提示 *DFNA5* 直接表达对于肝癌预后的影响, 可能与性别之间存在某种联系, 在进一步研究中可以考察该基因的表达与性别相关部分表达或指标之间的联系。总而言之, *DFNA5* 在一定程度上可能影响肝癌的发生发展与治疗预后, 在不同肿瘤组织中表达状况不同, 在肝癌中高表达, 但表达相对于其他肿瘤没有组织特异性, 但是 *DFNA5* 高表达直接影响女性患者的总体生存预后。因此, *DFNA5* 不适宜作为肝癌诊断的特异性肿瘤标志物, 但存在作为女性肝癌患者治疗后生存预后的检测指标的潜力。

DFNA5 对于肿瘤发生发展变化的影响机制有待进一步探索发掘, 其在不同肿瘤中的表达影响有区别。深入研究 *DFNA5* 基因相关分子机制与信号通路, 通过不断完善通路实验研究, 期望在后续研究支持下找到高敏感度, 特异性强的肿瘤早期诊断指标与治疗靶点。

基金项目

国家自然科学基金项目(编号: 81872491); 重大新药创制国家科技重大专项(2018ZX09733001-004-002); 广西科技研究基地和人才专项计划(AD18126021); 区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室(GKE2018-03, GKE2019-09)。

参考文献

- [1] Farazi, P.A. and DePinho, R.A. (2006) Hepatocellular Carcinoma Pathogenesis: From Genes to Environment. *Nature Reviews Cancer*, **6**, 674-687. <https://doi.org/10.1038/nrc1934>
- [2] Valer, P.C., Laversanne, M., Clark, P.J., et al. (2017) Projections of Primary Liver Cancer to 2030 in 30 Countries Worldwide. *Hepatology*, **67**, 600-611. <https://doi.org/10.1002/hep.29498>
- [3] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., et al. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [4] Laer, L.V., Huizing, E.H., Verstreken, M., et al. (1998) Nonsyndromic Hearing Impairment Is Associated with a Mutation in *DFNA5*. *Nature Genetics*, **20**, 194-197. <https://doi.org/10.1038/2503>
- [5] De Beeck, K.O., Van Laer, L. and Van Camp, G. (2012) *DFNA5*, a Gene Involved in Hearing Loss and Cancer: A Review. *The Annals of Otology, Rhinology, and Laryngology*, **121**, 197-207. <https://doi.org/10.1177/000348941212100310>
- [6] Wang, H., Guan, J., Guan, L., et al. (2018) Further Evidence for "Gain-of-Function" Mechanism of *DFNA5* Related Hearing Loss. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 8424. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26554-7>

- [7] Schutter, E.D., Croes, L., Ibrahim, J., *et al.* (2020) GSDME and Its Role in Cancer: From Behind the Scenes to the Front of the Stage. *International Journal of Cancer*.
- [8] Minton, K. (2020) Pyroptosis Heats Tumour Immunity. *Nature Reviews Drug Discovery*, **19**.
<https://doi.org/10.1038/d41573-020-00062-8>
- [9] Zhang, Z., Zhang, Y., Xia, S., *et al.* (2020) Gasdermin E Suppresses Tumour Growth by Activating Anti-Tumour Immunity. *Nature*, **579**, 415-420. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2071-9>
- [10] Croes, L., Fransen, E., Hylebos, M., *et al.* (2019) Determination of the Potential Tumor-Suppressive Effects of *Gsdme* in a Chemically Induced and in a Genetically Modified Intestinal Cancer Mouse Model. *Cancers*, **11**, 1214.
<https://doi.org/10.3390/cancers11081214>
- [11] Kim, M.S., Chang, X., Yamashita, K., *et al.* (2008) Aberrant Promoter Methylation and Tumor Suppressive Activity of the *DFNA5* Gene in Colorectal Carcinoma. *Oncogene*, **27**, 3624-3634. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1211021>
- [12] Croes, L., Beyens, M., Fransen, E., *et al.* (2018) Large-Scale Analysis of *DFNA5* Methylation Reveals Its Potential as Biomarker for Breast Cancer. *Clinical Epigenetics*, **10**, Article No. 51. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0479-y>
- [13] Rogers, C., Fernandes-Alnemri, T., Mayes, L., *et al.* (2017) Cleavage of *DFNA5* by Caspase-3 during Apoptosis Mediates Progression to Secondary Necrotic/Pyroptotic Cell Death. *Nature Communications*, **8**, Article No. 14128.
<https://doi.org/10.1038/ncomms14128>
- [14] Li, Y.Q., Peng, J.J., Peng, J. and Luo, X.J. (2019) The Deafness Gene *GSDME*: Its Involvement in Cell Apoptosis, Secondary Necrosis, and Cancers. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, **392**, 1043-1048.
<https://doi.org/10.1007/s00210-019-01674-7>
- [15] Zhou, B., Zhang, J.Y., Liu, X.S., *et al.* (2018) Tom20 Senses Iron-Activated ROS Signaling to Promote Melanoma Cell Pyroptosis. *Cell Research*, **28**, 1171-1185. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0090-y>
- [16] Chen, K.W., Demarco, B. and Broz, P. (2019) Beyond Inflammasomes: Emerging Function of Gasdermins during Apoptosis and NETosis. *The EMBO Journal*, **39**, e103397. <https://doi.org/10.15252/emboj.2019103397>
- [17] Wang, Y., Gao, W., Shi, X., *et al.* (2017) Chemotherapy Drugs Induce Pyroptosis through Caspase-3 Cleavage of a Gasdermin. *Nature*, **547**, 99-103. <https://doi.org/10.1038/nature22393>
- [18] De Beeck, K.O., Van Camp, G., Thys, S., *et al.* (2011) The *DFNA5* Gene, Responsible for Hearing Loss and Involved in Cancer, Encodes a Novel Apoptosis-Inducing Protein. *European Journal of Human Genetics*, **19**, 965-973.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.63>
- [19] Masuda, Y., Futamura, M., Kamino, H., *et al.* (2006) The Potential Role of *DFNA5*, a Hearing Impairment Gene, in p53-Mediated Cellular Response to DNA Damage. *Journal of Human Genetics*, **51**, 652-664.
<https://doi.org/10.1007/s10038-006-0004-6>
- [20] Peng, Z., Wang, P., Song, W., *et al.* (2020) GSDME Enhances Cisplatin Sensitivity to Regress Non-Small Cell Lung Carcinoma by Mediating Pyroptosis to Trigger Antitumor Immunocyte Infiltration. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **5**, Article No. 159. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00274-9>
- [21] Kim, M.S., Chang, X., Yamashita, K., *et al.* (2008) Aberrant Promoter Methylation and Tumor Suppressive Activity of the *DFNA5* Gene in Colorectal Carcinoma. *Oncogene*, **27**, 3624-3634. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1211021>
- [22] Akino, K., Toyota, M., Suzuki, H., *et al.* (2010) Identification of *DFNA5* as a Target of Epigenetic Inactivation in Gastric Cancer. *Cancer Science*, **98**, 88-95. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2006.00351.x>
- [23] Kim, M.S., Lebron, C., Nagpal, J.K., *et al.* (2008) Methylation of the *DFNA5* Increases Risk of Lymph Node Metastasis in Human Breast Cancer. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, **370**, 38-43.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.026>
- [24] Labos, C., Dasgupta, K., Nedjar, H., *et al.* (2008) Aberrant Hypermethylation in the *DFNA5* Gene Promoter Increases Risk of Lymph Node Metastasis in Human Breast Cancer. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, **370**, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.026>
- [25] Menyhárt, O., Nagy, Á. and Györffy, B. (2018) Determining Consistent Prognostic Biomarkers of Overall Survival and Vascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma. *Royal Society Open Science*, **5**.
<https://doi.org/10.1098/rsos.181006>