

基于生物信息学数据库分析TOP2A在肾透明细胞癌中的表达及临床意义

宋诗璋, 李汶轩, 杨桂楠, 姜波, 翁博文, 侯四川*

青岛大学附属青岛市市立医院, 山东 青岛

收稿日期: 2021年9月13日; 录用日期: 2021年10月6日; 发布日期: 2021年10月15日

摘要

目的: 探讨拓扑异构酶IIA (Topoisomerase IIA, TOP2A)在肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)组织中的表达及临床意义。方法: 通过GEPIA、UALCAN以及Human Protein Atlas (HPA)数据库分析TOP2A在正常肾组织和ccRCC组织中的表达。通过UALCAN数据库进行TOP2A mRNA与ccRCC临床病理特征的相关性分析。采用GEPIA、Kaplan-Meier及UALCAN分析TOP2A表达与ccRCC预后的关系。通过TIMER数据库分析TOP2A表达与ccRCC免疫水平的相关性。以及通过STRING和Metascape数据库分别进行TOP2A蛋白质互作网络的构建及其功能机制的探索。结果: 与正常肾组织相比, TOP2A在ccRCC组织中显著高表达($P < 0.05$), 且TOP2A mRNA的表达水平与ccRCC的病理分期、临床分期以及淋巴结分期呈正相关。生存分析显示, TOP2A低表达的患者的总体生存率明显高于高表达患者($P < 0.05$)。TIMER数据库分析显示TOP2A的表达与B细胞($r = 0.356, P < 0.01$)、CD4⁺ T细胞($r = 0.232, P < 0.01$)、CD8⁺ T细胞($r = 0.285, P < 0.01$)、巨噬细胞($r = 0.304, P < 0.01$)、中性粒细胞($r = 0.43, P < 0.01$)以及树突状细胞($r = 0.466, P < 0.01$)的免疫浸润水平呈正相关。此外, 通过STRING数据库构建了TOP2A蛋白互作网络, 富集功能分析显示TOP2A及其相互作用的基因主要参与细胞代谢过程、正负向调节生物进程、多生物过程、繁殖过程、节律过程、代谢过程、对刺激的反应、生物调节以及生长等途径。结论: TOP2A在ccRCC中高表达, 并与其发生发展以及不良预后相关, 因此TOP2A可能成为ccRCC的新型治疗靶点及预后标志物。

关键词

肾透明细胞癌, TOP2A, 数据库, 生物信息学

Expression and Clinical Significance of TOP2A in Clear Renal Cell Carcinoma Based on Bioinformatics Database

*通讯作者。

文章引用: 宋诗璋, 李汶轩, 杨桂楠, 姜波, 翁博文, 侯四川. 基于生物信息学数据库分析 TOP2A 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[J]. 临床医学进展, 2021, 11(10): 4470-4479. DOI: 10.12677/acm.2021.1110655

Shizhang Song, Wenxuan Li, Guinan Yang, Bo Jiang, Bowen Weng, Sichuan Hou*

Department of Urology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Sep. 13th, 2021; accepted: Oct. 6th, 2021; published: Oct. 15th, 2021

Abstract

Objective: To explore the expression and clinical significance of Topoisomerase IIA (TOP2A) in clear renal cell carcinoma (ccRCC). **Methods:** The mRNA and protein expression of TOP2A in ccRCC tissues were detected using databases including GEPIA, UALCAN and Human protein atlas (HPA). UALCAN database was applied to analyze the correlation between TOP2A mRNA and clinicopathological characteristics of ccRCC patients. The relationship between TOP2A expression and prognosis of ccRCC was analyzed with GEPIA, Kaplan-Meier and UALCAN. TIMER database was used to investigate correlations between TOP2A expression and various types of immune cell infiltration in ccRCC. Additionally, STRING and Metascape databases were used to construct a functional protein interaction network of TOP2A and investigate its functional mechanism. **Results:** TOP2A expression level in ccRCC tissues was significantly higher than in normal renal tissues ($P < 0.05$), and TOP2A mRNA expression level was positively correlated with the histological grade, clinical stage and N stage of ccRCC. Survival analysis showed that the overall survival rate of patients with low TOP2A expression was significantly higher than that of patients with high TOP2A expression ($P < 0.05$). TIMER database shows that the TOP2A expression had a positive correlation with infiltrating levels of B cells ($r = 0.356, P < 0.01$), CD4⁺ T cells ($r = 0.232, P < 0.01$), CD8⁺ T cells ($r = 0.285, P < 0.01$), macrophages ($r = 0.304, P < 0.01$), neutrophils ($r = 0.43, P < 0.01$) and dendritic cells ($r = 0.466, P < 0.01$) in ccRCC. In addition, the TOP2A protein interaction network was constructed through the STRING database and enrichment analysis indicated that TOP2A and its related genes were mainly involved in cellular process, regulation of biological process, positive regulation of biological process, negative regulation of biological process, multi-organism process, reproductive process, rhythmic process, metabolic process, response to stimulus, biological regulation, and growth. **Conclusion:** TOP2A is up-expressed in ccRCC and related to its occurrence, development and poor prognosis, which is expected to become a new therapeutic target and prognostic marker for ccRCC.

Keywords

Clear Cell Renal Cell Carcinoma, Topoisomerase IIA, Database, Bioinformatics

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

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是常见的泌尿系恶性肿瘤之一,大约占成人恶性肿瘤的2%~3%,其中肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是最常见的一种病理类型,约占全部RCC的75% [1] [2] [3]。目前据统计显示, ccRCC的发病率正在逐年升高[4]。ccRCC早期临床表现不明显,据统计, ccRCC患者有六分之一在确诊的同时发现转移,而转移的ccRCC对传统的放化疗不敏感,故缺乏有效的治疗方法[1]。目前尽管免疫治疗和靶向治疗取得一些进展,但是ccRCC转移及复发患者的预后仍不理想。

因此寻找新型治疗靶点及分子标志物仍是当前研究的关键。

拓扑异构酶 2A (Topoisomerase IIA, TOP2A)是一种基因编码 DNA 拓扑异构酶 II α , 对应的编码基因是 TOP2A 基因, 其位于 17 号染色体(17q21-q22)上, 可以编码一个 170 kDa 的 DNA 拓扑异构酶 II α [5]。TOP2A 主要作用是参与各种细胞生物过程, 如 DNA 复制、重组、转录, 染色质的浓缩、分离以及染色体的结构维护等[6] [7]。并且, TOP2A 是一种细胞周期依赖性蛋白, 其表达高度依赖于细胞的增殖, 当细胞增殖或分裂停止时可被抑制[8]。不少研究发现, TOP2A 在多种不同恶性肿瘤如肺癌、肝癌、乳腺癌、肠癌等中都具有高表达, 而且其表达水平与肿瘤的发生和发展密切相关[9] [10] [11] [12] [13]。目前关于 TOP2A 与 ccRCC 的相关研究和报道较少, 为积极探索 ccRCC 新型治疗靶点及高灵敏度分子标志物, 本研究利用现有的各种肿瘤生物信息数据库, 通过生物信息学方法探讨 TOP2A 在 ccRCC 中的表达、预后以及作用机制, 为 ccRCC 的靶向治疗以及预后发生分子机制提供一定的理论基础。

2. 材料与方法

2.1. 应用 GEPIA 与 UALCAN 数据库分析 TOP2A 基因的表达水平

GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn>)是由北京大学研制开发的可用于在线分析的数据库。主要用于分析肿瘤和正常样本的 RNA 表达差异、肿瘤不同时期中 RNA 表达差异以及生存曲线分析[14]。本研究利用此数据库的默认参数分析了 TOP2A 在 ccRCC 患者和正常患者中的表达情况。UALCAN 数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)是一个分析肿瘤转录组数据的网站, 收录来自 31 种类型肿瘤的 RNA-seq 和临床数据, 可以分析某个基因在正常组织和肿瘤组织中的表达情况并进行生存分析[15]。本研究利用此数据库分析了 TCGA 数据库中 TOP2A 在正常肾组织与 ccRCC 组织中的表达情况。

2.2. 应用人类蛋白质表达图谱(Human Protein Atlas, HPA)数据库分析 TOP2A 的表达

HPA 数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)是一个基于免疫组化抗体分析和 RNA 测序分析的大型转录组和蛋白组数据库, 其包含了所有 24,000 个人类蛋白的组织分布信息, 并可以提供至少 576 张免疫组化染色图片, 供专业人员进行检查和索引[16]。也可用于分析正常组织及肿瘤组织的蛋白质表达差异。本研究利用此数据库中的 TOP2A 组化抗体(HPA026773)对正常肾组织和 ccRCC 组织进行免疫组化实验, 从蛋白水平分析 TOP2A 在正常肾组织和 ccRCC 组织中的表达。

2.3. 利用 UALCAN 分析 TOP2A 的表达和临床病理特征、预后的关系

进入 UALCAN 数据库, 通过设置条件 1) gene: TOP2A; 2) TCGA dataset: Kidney renal clear cell carcinoma。获得 TOP2A 基因在不同性别、年龄、病理分期、临床分期以及种族等临床病理特征中的表达情况。并分析 ccRCC 组织中 TOP2A 与患者预后的关系。

2.4. 利用 Kaplan-Meier Plotter、GEPIA 数据库分析 TOP2A 与 ccRCC 的预后关系

Kaplan-Meier 数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)可用于分析多种癌症的 mRNA 表达情况及预后。其包含 18764 份癌症样本, 以供于评估 54,675 个基因对患者生存率的影响[17]。本研究利用 Kaplan-Meier Plotter 分析了 ccRCC 患者的总生存率(overall survival, OS)与 TOP2A 表达的相关性。以及利用 GEPIA 中的 Survival Analysis 分析 TOP2A 的表达与 ccRCC 患者的预后相关性。

2.5. 通过 TIMER 数据库中的基因模块分析 TOP2A 表达与 ccRCC 免疫细胞浸润的关系

TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)是评估各种癌症类型免疫浸润的综合数据库, 其涵盖了 TCGA 中的 32 种肿瘤, 共计 10,897 个样本[18]。本研究利用该数据库的基因模块分析了 ccRCC 中

TOP2A 表达与免疫细胞浸润水平的相关性, 其中免疫细胞包括 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞。

2.6. 通过 STRING 数据库进行蛋白质 - 蛋白质相互作用 (Protein-Protein Interaction, PPI)网络的构建

STRING 数据库(<https://string-db.org>)是将已知蛋白和预测蛋白之间相互作用的数据组成的数据库, 包括直接和间接的相互作用[19]。本研究通过使用该数据库分析与 TOP2A 相互作用的蛋白并构建 PPI 网络, 设置条件: 1) Protein Name: TOP2A; 2) Organism: Homo sapiens; 3) Minimum required interaction score: medium confidence (0.400); 4) Max number of interactors: no more than 10 interactors。

2.7. 利用 Metascape 对 TOP2A 及其关联基因进行富集功能分析

Metascape 网站(<http://metascape.org>)是一个基于 Web 的门户, 旨在为实验生物学家提供全面的基因列表注释和分析资源[20]。通过在 GEPIA 网站分析 TOP2A 基因的关联表达基因的相关性并利用 Metascape 对 TOP2A 及其关联基因进行富集功能分析, 以探讨在 ccRCC 发生发展中的潜在作用机制。

3. 结果

3.1. TOP2A 在正常肾组织和 ccRCC 组织中的表达差异

利用 UALCAN 对 533 例 ccRCC 患者的 TOP2A mRNA 表达进行了生物信息学分析。结果显示, 与匹配的正常肾组织相比, ccRCC 组织中 TOP2A mRNA 的表达显著增加($P < 0.05$) (图 1(a))。在 GEPIA 数据库中检测到 100 例正常肾组织和 523 例 ccRCC 肿瘤标本中 TOP2AmRNA 的表达。结果同样表明, 与正常肾组织相比, ccRCC 中的 TOP2A 的表达明显升高($P < 0.05$) (图 1(b))。采用 HPA 数据库中的 TOP2A 免疫组织化学抗体(HPA026773)进行免疫组织化学分析 TOP2A 在正常肾组织和 ccRCC 组织中的蛋白表达, 结果发现在正常肾组织的肾小球细胞中未被检测出, 在肾小管细胞中着色弱, 未检测出(图 2(a)); 在 ccRCC 组织中, 抗体染色程度呈高水平(图 2(b))。

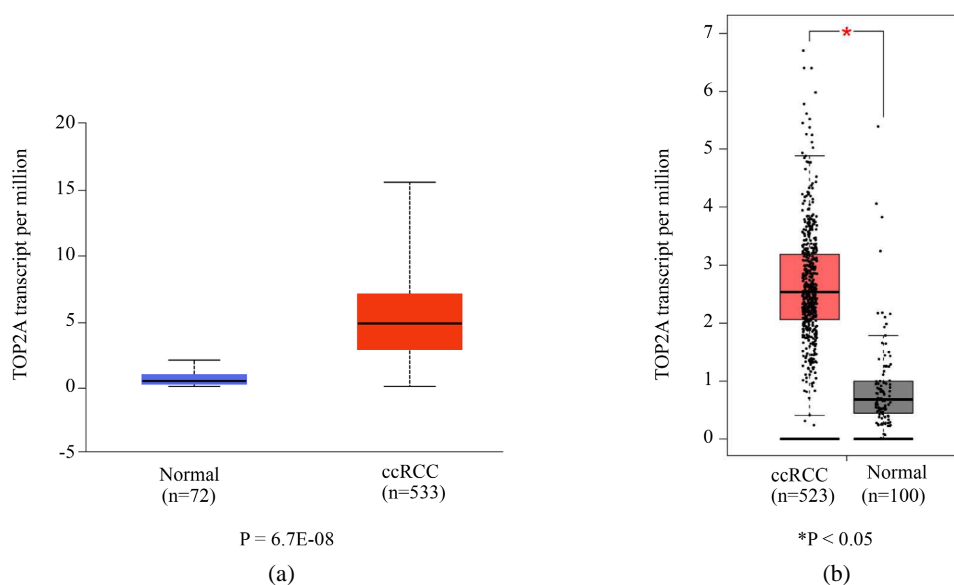


Figure 1. Expression of TOP2A mRNA in ccRCC tumor tissue and normal kidney tissue. (a) UALCAN database; (b) GEPIA database

图 1. TOP2A mRNA 在 ccRCC 组织和正常肾组织中的表达。(a) 来自 UALCAN 数据库; (b) 来自 GEPIA 数据库

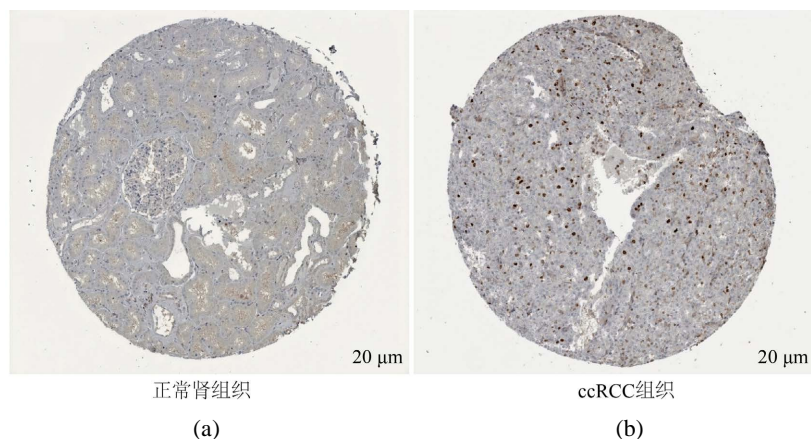


Figure 2. Expression of TOP2A mRNA in ccRCC tumor tissue and normal kidney tissue (immunohistochemistry)

图 2. TOP2A 蛋白在正常肾组织和 ccRCC 组织中的表达(免疫组化染色)

3.2. TOP2A 的表达与 ccRCC 临床病理的相关

通过 UALCAN 数据库分析了 TOP2A mRNA 与 ccRCC 病理特征的关联,发现 TOP2A 与性别、年龄、病理分期、亚型、临床分期和淋巴结分期中存在差异表达,且差异具有统计学意义($P < 0.05$) (图 3);而在性别分组间、年龄分组间相互进行对比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。并且随着病理分期、临床分期(图 3(c)、图 3(e))以及淋巴结转移分期(图 3(f))的升高, TOP2A 的表达水平呈上升趋势,这表明 TOP2A 的高表达可能与 ccRCC 进展有关。

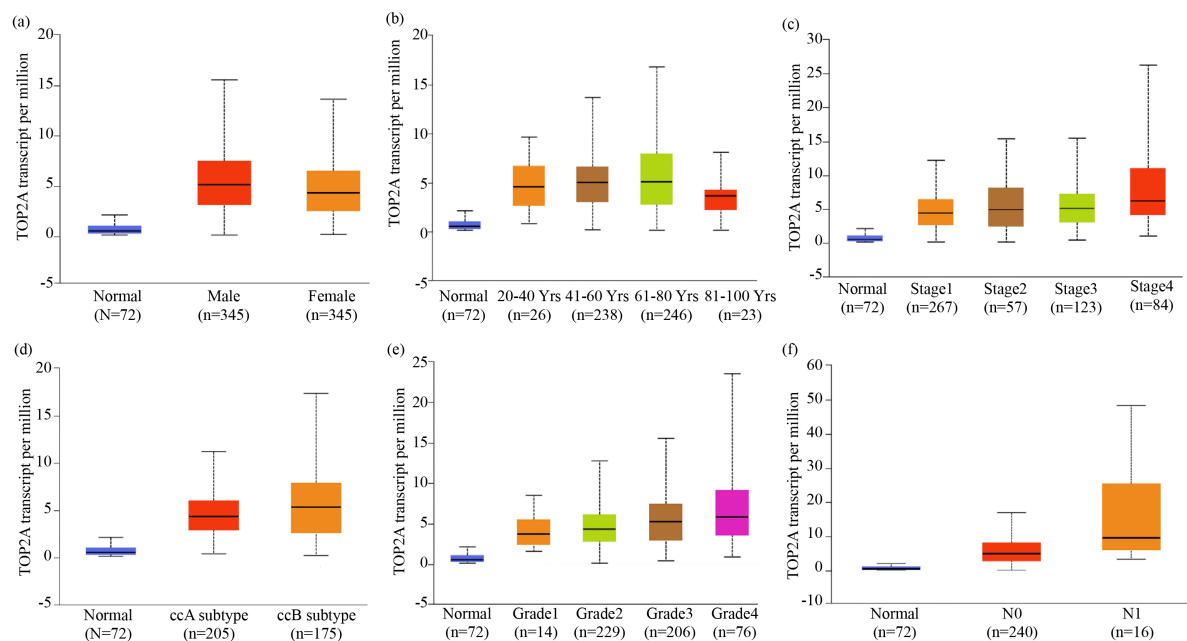


Figure 3. Correlation between TOP2A mRNA expression and clinicopathological features in ccRCC. (a) TOP2A mRNA with gender; (b) TOP2A mRNA with age; (c) TOP2A mRNA with individual cancer stage; (d) TOP2A mRNA with subtypes; (e) TOP2A mRNA with tumor grade; (f) TOP2A mRNA with nodal metastasis status

图 3. TOP2A mRNA 的表达与 ccRCC 各个临床病理之间的关系。(a) TOP2A 表达与性别的关系; (b) TOP2A 表达与年龄的关系; (c) TOP2A 表达与病理分期的关系; (d) TOP2A 表达与亚型的关系; (e) TOP2A 表达与临床分期的关系; (f) TOP2A 表达与淋巴结分期的关系

3.3. TOP2A 的表达与 ccRCC 预后的相关

通过 Kaplan-Meier Plotter、GEPIA 以及 UALCAN 数据库, 分别分析了 TOP2A mRNA 表达水平对 ccRCC 患者的生存的影响, 发现三个数据库的结果一致, TOP2A 的表达与 ccRCC 患者的总体生存率相关(OS)相关, 且与高表达 TOP2A 的 ccRCC 患者相比, 低表达 TOP2A 的 ccRCC 患者的总体生存率(OS)更高(图 4(a)~(c)), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

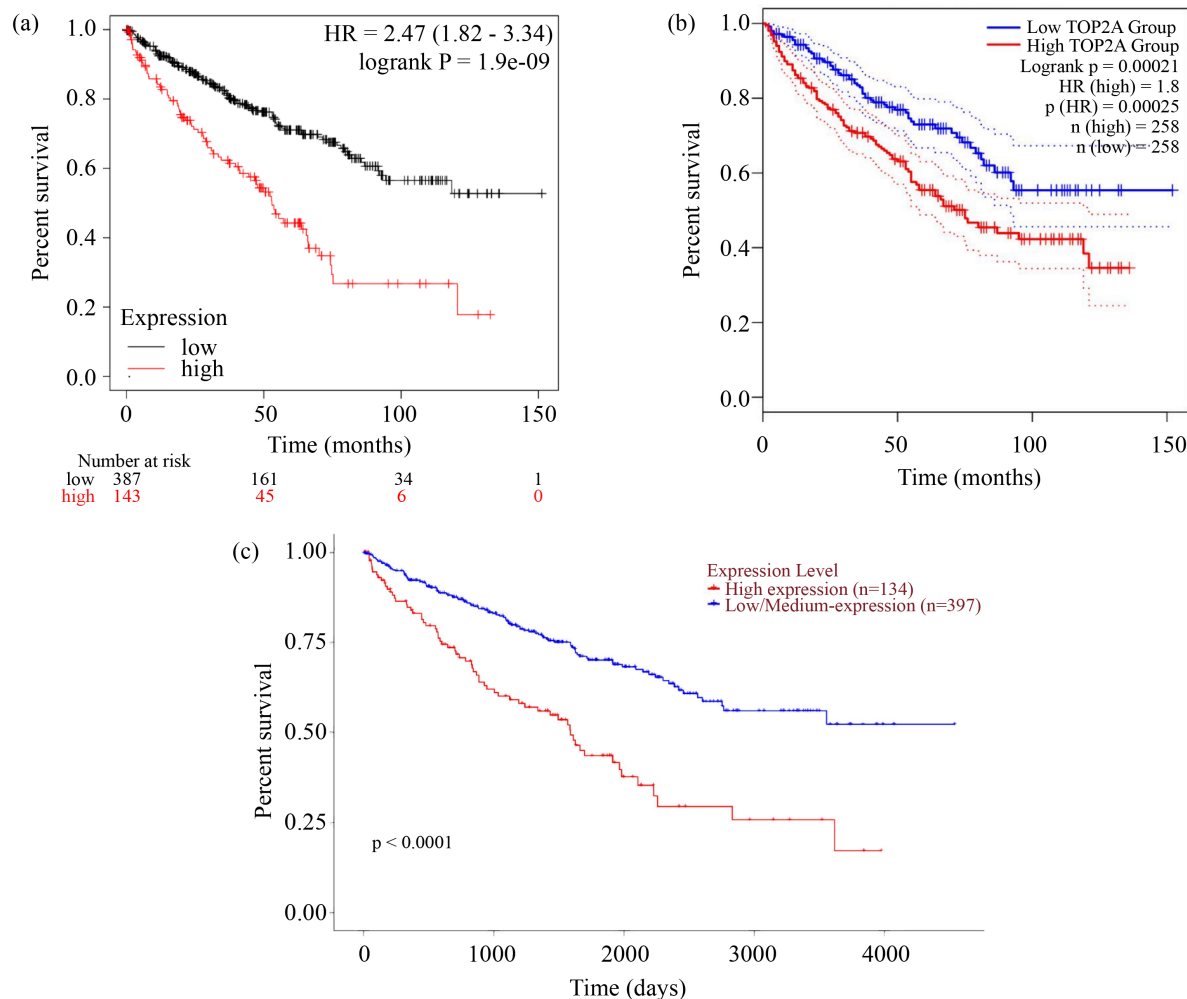


Figure 4. The relationship between expression level of TOP2A and prognosis of ccRCC patients. (a) Kaplan-Meier database; (b) GEPIA database; (c) UALCAN database

图 4. TOP2A mRNA 表达水平与 ccRCC 患者生存的关系。(a) 来自 Kaplan-Meier 数据库; (b) 来自 GEPIA 数据库; (c) 来自 UALCAN 数据库

3.4. TOP2A 在 ccRCC 的表达与免疫细胞浸润的关系

通过 TIMER 数据库“Gene”模块, 分析 TOP2A 表达量在 ccRCC 中免疫浸润水平的相关性, 结果发现 TOP2A 的表达与细胞纯度呈负相关($r = -0.166, P < 0.01$), 与 B 细胞($r = 0.356, P < 0.01$)、 $CD4^+$ T 细胞($r = 0.232, P < 0.01$)、 $CD8^+$ T 细胞($r = 0.285, P < 0.01$)、巨噬细胞($r = 0.304, P < 0.01$)、中性粒细胞($r = 0.43, P < 0.01$)以及树突状细胞($r = 0.466, P < 0.01$)的免疫浸润水平呈正相关, 说明以上各项免疫细胞在 ccRCC 组织中越多, TOP2A 的表达则越高, 提示 TOP2A 可能参与 ccRCC 的免疫浸润过程(图 5)。

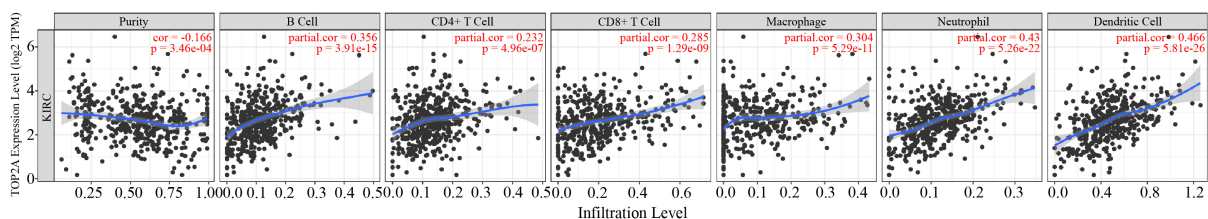


Figure 5. The correlation analysis between TOP2A expression and various types of immune cell infiltration in ccRCC
图 5. TOP2A 表达与 ccRCC 免疫细胞浸润的关系

3.5. PPI 网络的构建及 TOP2A 关联基因的富集分析

通过 STRING 数据库分析与 TOP2A 密切联系的基因, 获得到一个包含 11 个节点、47 种相互作用的 PPI 网络($P < 0.01$), 其中与 TOP2A 相互作用的有(score > 0.900) TPX2、TOP1、CDK1、UBE2C、PBK、BUB1、NCAPG、DLGAP5、CCNB1、CCNB2 (图 6(a)). 通过 GEPIA 数据库的“Correlation”模块分析, TOP2A 与上述 PPI 网络中相互作用的基因均呈正相关。其中 CDK1 与 TOP2A 的关系最为密切(Pearson 系数 = 0.85, $P < 0.001$) (图 6(b)). 以及利用 Metascape 对 TOP2A 及其以上密切关联的基因进行 GO 功能富集分析, 结果发现 TOP2A 及其相互作用的基因主要参与细胞代谢过程、正负向调节生物进程、多生物过程、繁殖过程、节律过程、代谢过程、对刺激的反应、生物调节以及生长等途径(图 6(c)).

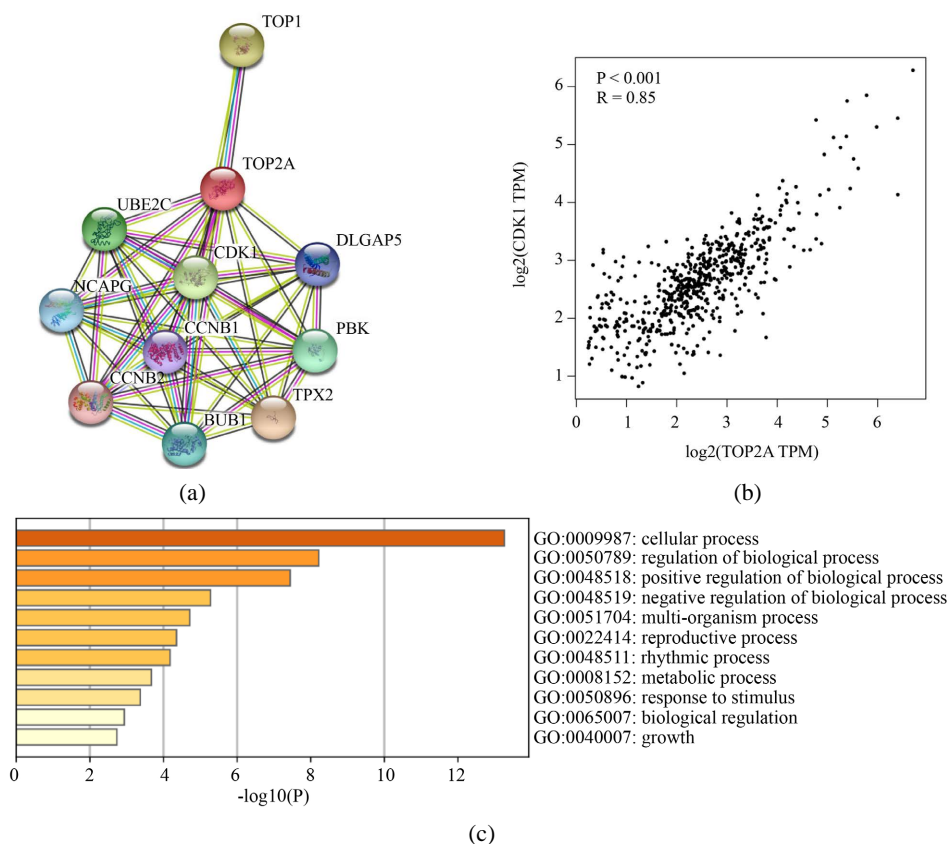


Figure 6. Construction and functional analysis of TOP2A related protein network. (a) TOP2A related protein network; (b) Correlation between TOP2A and its co-expressed gene CDK1; (c) The functional analysis of TOP2A related protein network (GO enrichment analysis)

图 6. TOP2A 相关蛋白网络的构建及功能分析。(a) TOP2A 相关的 PPI 网络; (b) TOP2A 与其共表达基因 CDK1 的相关性; (c) TOP2A 相关蛋白网络功能分析(GO 富集)

4. 讨论

肾细胞癌(RCC)是一种致死性疾病,在世界范围内新发病例超过 40 万例,每年死亡人数超过 175,000 人[4]。肾细胞癌(RCC)是最常见的肾癌类型,包括 ccRCC、乳头状肾细胞癌和嫌色细胞癌等多种病理亚型,而 ccRCC 在肾细胞癌中约占居 75% [3]。在早期诊断并采取肾切除术是针对 ccRCC 最有效的措施[21]。然而,由于缺乏相关的生物标志物,导致对 ccRCC 的早期诊断有限。并且与早期诊断所带来的挑战是有六分之一的患者在诊断时出现远处转移性疾病[1]。而转移的 ccRCC 对传统的放化疗不敏感,故缺乏有效的治疗方法。因此,寻找新型分子标志物为临床治疗 ccRCC 提供新思路至关重要。

TOP2A 是一种关键的核酶,参与着 DNA 代谢过程中的复制、转录以及染色体分离等过程[7]。TOP2A 在增值细胞中的表达有着明显的周期特异性,在 G1 期低表达, S 期时表达增加,到 G2/M 期是表达达到顶峰[22]。当人类细胞中 TOP2A 蛋白表达被沉默时,细胞分裂停止,所以 TOP2A 被认为是正常组织中细胞增值的标志物,与非肿瘤细胞相比, TOP2A 在癌细胞中具有明显高表达[23]。既往研究表明, TOP2A 高表达于多种肿瘤组织中,而且与肿瘤的分化、肿瘤的侵袭性以及生存预后密切相关[8]。Zhang 等[13]人发现 TOP2A 在结肠癌组织的表达明显高于癌旁组织,以及随着结肠癌肿瘤的分期增加 TOP2A 的表达随之升高。Romero 等[24]人发现 TOP2A 在不同乳腺癌亚型中都呈现高表达,但在高增值亚型乳腺癌中的 TOP2A 表达则更高。同样很多研究发现 TOP2A 的高表达与前列腺癌、胃癌以及甲状腺乳头状癌的不良预后有着密切关联[25] [26] [27]。目前 TOP2A 在 ccRCC 中的研究报道较少,故本研究通过现有的各种肿瘤生物信息数据库,通过生物信息学方法探讨 TOP2A 在 ccRCC 组织中的表达并探讨其潜在的生物学机制,为更深入研究 TOP2A 在 ccRCC 中的作用机制提供理论帮助。

本研究首先通过 GEPIA、UALCAN、The Human Protein Atlas 以及 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析,发现 TOP2A 在 ccRCC 组织中较正常肾组织呈高表达,以及分析 TOP2A 与 ccRCC 病理特征及 ccRCC 患者预后的关联,发现其表达水平与病理分期、临床分期以及淋巴结转移分期具有正相关性,说明 TOP2A 的表达与患者肿瘤的进展相关;三个数据库预后分析结果一致表明低表达 TOP2A 的 ccRCC 患者比高表达 TOP2A 的 ccRCC 患者的总体生存率(OS)更高,提示 TOP2A 与 ccRCC 患者的不良预后相关。以及通过 TIMER 数据库结果发现 TOP2A 的表达与 B 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞以及树突状细胞的免疫浸润水平呈正相关,提示 TOP2A 可能参与 ccRCC 的免疫浸润过程。通过 STEING 数据库分析,结果发现 TOP2A 可能与 TPX2、TOP1、CDK1、UBE2C、PBK、BUB1、NCAPG、DLGAP5、CCNB1、CCNB2 等基因存在着相关作用,其中 CDK1 与 TOP2A 的关系最为密切,CDK1 是细胞周期素依赖性激酶 1,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白家族,其在人多能干细胞的多个事件中具有调节有丝分裂、维持 G2/M 检查点、细胞凋亡、细胞多能性和维持基因组稳定性的作用[28]。Heo 等[29]人研究表明 CDK1 介导的 TFCP2L1 磷酸化是干细胞多能性和膀胱癌细胞发生所必需的。Pan 等[30]人研究表明,在肾癌细胞中,通过敲除 EIF3D 基因可以下调 CyclinB1/CDK1 通路从而导致 G2/M 期阻滞,最终抑制肾癌细胞的发生。上述已证明 TOP2A 与 CDK1 关系密切,并且 TOP2A 在细胞中 G2/M 期的表达最高,若抑制 TOP2A 的表达,是否同样可以抑制肾癌细胞的发生这一问题值得进一步研究。最后利用 Metascape 对 TOP2A 密切关联的基因进行 GO 功能富集分析发现, TOP2A 与其密切相关基因可能参与细胞代谢过程、正向负向调节生物进程、多生物过程、繁殖过程、节律过程、代谢过程、对刺激的反应、生物调节以及生长等途径,这些过程与肿瘤的发生和发展均有着密切关系。

5. 结论

综上所述,本研究通过数据库以及生物学信息方法分析, TOP2A 在 ccRCC 的呈高表达,并与 ccRCC

的发生进展有着密切相关, 以及与 ccRCC 患者的不良预后相关, 有望成为 ccRCC 的新型治疗靶点及预后标志物。为深层次研究 TOP2A 在 ccRCC 中的作用机制提供线索和理论基础。但本研究仍有不足之处, 本研究局限于数据库发掘的结果, 属于探索性研究, 之后仍需要通过临床体内外实验进一步开展来验证 TOP2A 在 ccRCC 中的具体作用机制。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E. and Jemal, A. (2021) Cancer Statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21654>
- [2] Hsieh, J.J., Purdue, M.P., Signoretti, S., Swanton, C., Albiges, L., Schmidinger, M., *et al.* (2017) Renal Cell Carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, **3**, Article No. 17009. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.9>
- [3] Diaz-Montero, C.M., Rini, B.I. and Finke, J.H. (2020) The Immunology of Renal Cell Carcinoma. *Nature Reviews Nephrology*, **16**, 721-735. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0316-3>
- [4] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [5] Panvichian, R., Tantiwetrueangdet, A., Angkathunyakul, N. and Leelaudomlipi, S. (2015) Top2a Amplification and Overexpression in hepatocellular Carcinoma Tissues. *BioMed Research International*, **2015**, Article ID: 381602. <https://doi.org/10.1155/2015/381602>
- [6] Wang, J.C. (2002) Cellular Roles of DNA Topoisomerases: A Molecular Perspective. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **3**, 430-440. <https://doi.org/10.1038/nrm831>
- [7] Morimoto, S., Tsuda, M., Bunch, H., Sasanuma, H., Austin, C. and Takeda, S. (2019) Type II DNA Topoisomerases Cause Spontaneous Double-Strand Breaks in Genomic DNA. *Genes*, **10**, Article No. 868. <https://doi.org/10.3390/genes10110868>
- [8] Chen, T., Sun, Y., Ji, P., Kopetz, S. and Zhang, W. (2015) Topoisomerase IIalpha in Chromosome Instability and Personalized Cancer Therapy. *Oncogene*, **34**, 4019-4031. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.332>
- [9] Heestand, G.M., Schwaederle, M., Gatalica, Z., Arguello, D. and Kurzrock, R. (2017) Topoisomerase Expression and Amplification in Solid Tumours: Analysis of 24,262 Patients. *European Journal of Cancer*, **83**, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.06.019>
- [10] Kou, F., Sun, H., Wu, L., Li, B., Zhang, B., Wang, X., *et al.* (2020) TOP2A Promotes Lung Adenocarcinoma Cells' Malignant Progression and Predicts Poor Prognosis in Lung Adenocarcinoma. *Journal of Cancer*, **11**, 2496-2508. <https://doi.org/10.7150/jca.41415>
- [11] Hooks, K.B., Audoux, J., Fazli, H., Lesjean, S., Ernault, T., Dugot-Senant, N., *et al.* (2018) New Insights into Diagnosis and Therapeutic Options for Proliferative Hepatoblastoma. *Hepatology*, **68**, 89-102. <https://doi.org/10.1002/hep.29672>
- [12] Ogino, M., Fujii, T., Nakazawa, Y., Higuchi, T., Koibuchi, Y., Oyama, T., *et al.* (2020) Implications of Topoisomerase (TOP1 and TOP2 α) Expression in Patients with Breast Cancer. *In Vivo*, **34**, 3483-3487. <https://doi.org/10.21873/invivo.12188>
- [13] Zhang, R., Xu, J., Zhao, J. and Bai, J.H. (2018) Proliferation and Invasion of Colon Cancer Cells Are Suppressed by Knockdown of TOP2A. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 7256-7263. <https://doi.org/10.1002/jcb.26916>
- [14] Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C. and Zhang, Z. (2017) GEPIA: A Web Server for Cancer and Normal Gene Expression Profiling and Interactive Analyses. *Nucleic Acids Research*, **45**, W98-W102. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx247>
- [15] Chandrashekar, D.S., Bashel, B., Balasubramanya, S., Creighton, C.J., Ponce-Rodriguez, I., Chakravarthi, B.V.S.K., *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>
- [16] Thul, P.J. and Lindskog, C. (2018) The Human Protein Atlas: A Spatial Map of the Human Proteome. *Protein Science*, **27**, 233-244. <https://doi.org/10.1002/pro.3307>
- [17] Nagy, A., Lanczky, A., Menyhart, O. and Györfy, B. (2018) Validation of miRNA Prognostic Power in Hepatocellular Carcinoma Using Expression Data of Independent Datasets. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 11515. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29514-3>
- [18] Li, T., Fan, J., Wang, B., Traugh, N., Chen, Q., Liu, J.S., *et al.* (2017) TIMER: A Web Server for Comprehensive Analysis of Tumor-Infiltrating Immune Cells. *Cancer Research*, **77**, e108-e110.

- <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-0307>
- [19] Szklarczyk, D., Franceschini, A., Wyder, S., Forslund, K., Heller, D., Huerta-Cepas, J., *et al.* (2015) STRING v10: Protein-Protein Interaction Networks, Integrated over the Tree of Life. *Nucleic Acids Research*, **43**, D447-D452. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1003>
- [20] Zhou, Y., Zhou, B., Pache, L., Chang, M., Khodabakhshi, A.H., Tanaseichuk, O., *et al.* (2019) Metascape Provides a Biologist-Oriented Resource for the Analysis of Systems-Level Datasets. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1523. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6>
- [21] Lou, N., Ruan, A.M., Qiu, B., Bao, L., Xu, Y.C., Zhao, Y., *et al.* (2017) miR-144-3p as a Novel Plasma Diagnostic Biomarker for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Urologic Oncology*, **35**, 36.e7-36.e14. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.07.012>
- [22] Wang, J., Yang, H., Si, Y., Hu, D., Yu, Y., Zhang, Y., *et al.* (2017) Iodine Promotes Tumorigenesis of Thyroid Cancer by Suppressing Mir-422a and Up-Regulating MAPK1. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **43**, 1325-1336. <https://doi.org/10.1159/000481844>
- [23] Turley, H., Comley, M., Houlbrook, S., Nozaki, N., Kikuchi, A., Hickson, I.D., *et al.* (1997) The Distribution and Expression of the Two Isoforms of DNA Topoisomerase II in Normal and Neoplastic Human Tissues. *British Journal of Cancer*, **75**, 1340-1346. <https://doi.org/10.1038/bjc.1997.227>
- [24] Romero, A., Martin, M., Cheang, M.C., López García-Asenjo, J.A., Oliva, B., He, X., *et al.* (2011) Assessment of Topoisomerase II Alpha Status in Breast Cancer by Quantitative PCR, Gene Expression Microarrays, Immunohistochemistry, and Fluorescence *In Situ* Hybridization. *American Journal of Pathology*, **178**, 1453-1460. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.042>
- [25] de Resende, M.F., Vieira, S., Chinen, L.T., Chiappelli, F., da Fonseca, F.P., Guimarães, G.C., *et al.* (2013) Prognostication of Prostate Cancer Based on TOP2A Protein and Gene Assessment: TOP2A in Prostate Cancer. *Journal of Translational Medicine*, **11**, Article No. 36. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-36>
- [26] Cao, Y., Zhang, G., Wang, P., Zhou, J., Gan, W., Song, Y., *et al.* (2017) Clinical Significance of UGT1A1 Polymorphism and Expression of ERCC1, BRCA1, TYMS, RRM1, TUBB3, STMN1 and TOP2A in Gastric Cancer. *BMC Gastroenterology*, **17**, Article No. 2. <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0561-x>
- [27] Gong, M.C., Chen, W.Q., Jin, Z.Q., Lyu, J., Meng, L., Wu, H., *et al.* (2021) Prognostic Value and Significant Pathway Exploration Associated with TOP2A Involved in Papillary Thyroid Cancer. *International Journal of General Medicine*, **14**, 3485-3496. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S316145>
- [28] Neganova, I., Tilgner, K., Buskin, A., Paraskevopoulou, I., Atkinson, S.P., Peberdy, D., *et al.* (2014) CDK1 Plays an Important Role in the Maintenance of Pluripotency and Genomic Stability in Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Death & Disease*, **5**, Article ID: e1508. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.464>
- [29] Heo, J., Noh, B.J., Lee, S., Lee, H.Y., Kim, Y.H., Lim, J., *et al.* (2020) Phosphorylation of TFCEP2L1 by CDK1 Is Required for Stem Cell Pluripotency and Bladder Carcinogenesis. *EMBO Molecular Medicine*, **12**, Article ID: e10880. <https://doi.org/10.15252/emmm.201910880>
- [30] Pan, X.W., Chen, L., Hong, Y., Xu, D.F., Liu, X., Li, L., *et al.* (2016) EIF3D Silencing Suppresses Renal Cell Carcinoma Tumorigenesis via Inducing G2/M Arrest through Downregulation of Cyclin B1/CDK1 Signaling. *International Journal of Oncology*, **48**, 2580-2590. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3459>