

# 乙肝病毒(HBV)感染对肝细胞癌(HCC)患者 A-to-I RNA 编辑的影响

马 婷<sup>1,2</sup> 黄 海<sup>1</sup> 郝 沛<sup>2Δ</sup>

(<sup>1</sup> 上海大学生命科学学院发育神经生物学实验室 上海 200444; <sup>2</sup> 中国科学院上海巴斯德研究所病原大数据实验室 上海 200031)

**【摘要】 目的** 探究乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)感染对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝脏正常组织和癌组织中腺嘌呤转变为次黄嘌呤(adenine to inosine, A-to-I) RNA 编辑活性的影响。**方法** 从基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)收集 28 套成对正常组织和癌组织的转录组数据,分为 HBV 阴性正常组织(HBV - N)组、HBV 阴性癌组织(HBV - T)组、HBV 阳性正常组织(HBV + N)组和 HBV 阳性癌组织(HBV + T)组。用 SPRINT 软件进行位点鉴定后,从催化酶表达水平、位点编辑水平和位点所在基因的基因本体论(gene ontology, GO)富集通路层面进行分析。**结果** 在正常组织和癌组织中均发现 HBV 感染时腺苷酸脱氨酶 1 (adenosine deaminases acting on RNA 1, ADAR1)表达水平更高。癌组织中 HBV 阳性样本的 A-to-I RNA 编辑水平上升,正常组织中则无此现象。两类组织中 HBV 阳性样本编辑基因显著富集在细胞增殖、基因调控相关信号通路。**结论** HBV 感染上调 ADAR1 的表达,从而改变宿主编辑事件活性,这对 HCC 的发生发展可能有促进作用。

**【关键词】** RNA 编辑; 乙肝病毒(HBV); 肝细胞癌(HCC); 腺苷酸脱氨酶(ADAR); 转录组

**【中图分类号】** R735.7, R373.2+1 **【文献标识码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2019.06.004

## Effects of hepatitis B virus (HBV) infection on A-to-I RNA editing in patients with hepatocellular carcinoma (HCC)

MA Ting<sup>1,2</sup>, HUANG Hai<sup>1</sup>, HAO Pei<sup>2Δ</sup>

(<sup>1</sup> Laboratory of Developmental Neurobiology, School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

<sup>2</sup> Laboratory of Pathogen Big Data, Institut Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of hepatitis B virus (HBV) infection on the activity of adenine to inosine (A-to-I) RNA editing events in normal and tumor liver tissues of patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** We collected transcriptome sequencing data of 28 pairs of HCC normal and tumor liver tissues from gene expression omnibus (GEO) database. These samples were divided into HBV negative and normal liver tissues (HBV - N) group, HBV negative and tumor liver tissues (HBV - T) group, HBV positive and normal liver tissues (HBV + N) group and HBV positive and tumor liver tissues (HBV + T) group. Using a pipeline called SPRINT, we identified RNA editing sites and then analyzed them from expression level of catalytic enzyme, editing level of sites and gene ontology (GO) enrichment pathway of editing genes. **Results** Adenosine deaminases acting on

“重大新药创制”国家重大科技专项(2018ZX09711003-003-002)

ΔCorresponding author E-mail: phao@ips.ac.cn

RNA 1 (ADAR1) was expressed at a higher level under HBV infection in both normal and tumor liver tissues. Editing level of A-to-I RNA editing sites increased under HBV infection in tumor samples, while there was no similar phenomenon in normal samples. The editing genes in HBV positive samples were significantly enriched in cell proliferation and gene regulation signaling pathways in the two types of tissues. **Conclusions** HBV infection up-regulates the expression of ADAR1 and changes the activity of host editing events, which may promote the development of HCC, and its intrinsic molecular mechanism remains to be studied.

**【Key words】** RNA editing; hepatitis B virus (HBV); hepatocellular carcinoma (HCC); adenosine deaminases acting on RNA (ADAR); transcriptome

\* This work was supported by National Major Scientific and Technological Special Project for "Significant New Drugs Development" (2018ZX09711003-003-002).

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是原发性肝癌中最主要的组织学亚型<sup>[1]</sup>。纤维板层肝细胞癌 (fibrolamellar-HCC, FL-HCC) 是 HCC 的一种特殊类型, 常见于青年群体, 通常不伴随肝硬化和乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染<sup>[2-3]</sup>。已知 HBV 感染后会增加 HCC 的发病率<sup>[4]</sup>。

RNA 编辑是指通过转录后修饰引起转录 RNA 序列改变, 致使 RNA 携带信息改变的生物学现象<sup>[5]</sup>。脊椎动物中最常见的 RNA 编辑类型是腺嘌呤 (adenine, A) 转变为次黄嘌呤 (inosine, I), 即 A-to-I RNA 编辑。A-to-I RNA 编辑发生在具有双链特征的 RNA 区域。底物 RNA 在腺苷酸脱氨酶 (adenosine deaminases acting on RNA, ADAR) 催化下将 A 水解脱氨基转化为 I, 后续翻译过程中被识别为鸟嘌呤 (guanine, G)<sup>[6]</sup>。在病毒感染期间, 不同的病毒与宿主组合后, ADAR 可能发挥促病毒或抗病毒作用<sup>[7-8]</sup>。目前对 HCC 患者 RNA 编辑的研究主要集中在癌组织和正常组织间的编辑活性变化<sup>[9-10]</sup>, 而 HBV 感染对 HCC 患者 A-to-I RNA 编辑事件的影响尚无研究报道。

我们从数据库下载了 HBV 阴性和阳性患者的转录组数据<sup>[11-12]</sup>, 采用 SPRINT 软件<sup>[13]</sup>鉴定 A-to-I RNA 编辑事件, 比较正常组织和癌组织中 HBV 阴性、HBV 阳性样本组的 ADAR1 表达值及共有 RNA 编辑位点 (RNA editing site, RES) 的编辑水平差异情况。本研究首次分析了 HBV 感染的 HCC 患者 A-to-I RNA 编辑的变化情况, 对深入研究 HBV 感染对 HCC 发生发展的分子作用机制有一定的意义。

## 材料和方法

**材料** 转录组数据来自美国国家生物技术信息中心 (National Center of Biotechnology Information, NCBI) 的 GEO 数据库, 数据集编码为 GSE63018 和 GSE77509。为区分两套数据, 分别用 FL-HCC 和 HCC 来表示。FL-HCC 数据集为  $2 \times 50$  的双端非特异性测序数据, 测序数据来自 FL-HCC 患者, 由于该类 HCC 的特殊性, 8 位患者均为 HBV 阴性。HCC 数据集则为  $2 \times 100$  的双端非特异性测序数据, 包含 19 位 HBV 阳性患者和 1 位 HBV 阴性患者。每位患者均有配对的正常和癌症肝组织的测序数据。

**A-to-I RESs 的鉴定和注释** 采用 SPRINT 0.7.16 软件鉴定 RNA 编辑事件。将匹配到参考基因组的读段 (reads) 和未匹配、处理后二次匹配的读段分为两条检测途径进行位点寻找, 因此该法能找出数目更多的位点用于后续分析。在 SPRINT 中使用 Burrows-Wheeler algorithm (BWA) 算法<sup>[14]</sup>进行比对。人类参考基因组和基因组注释信息版本为 hg19。采用 Annovar 软件对得到的位点进行注释<sup>[15]</sup>。

**基因差异分析** 使用 Trim\_galore v0.4.3 ([http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim\\_galore/](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/)) 去除测序质量低于 20 的读段, 得到清洁数据。采用 "-fastqc" 参数对清洁数据进行测序质量评估。采用 Hisat2 v2.0.5<sup>[16]</sup> 比对到人类参考基因组得到 SAM 文件。用 Samtools

v1.5<sup>[17]</sup>的“samtools view”和“samtools sort”命令将 SAM 文件转化为 BAM 文件并进行排序。使用 Picard v1.127 软件(<https://broadinstitute.github.io/picard/>)去除样本制备过程中产生的 PCR 重复序列。HTSeq-0.6.1<sup>[18]</sup>用于计算基因比对到每个基因的读段数。使用转录组表达定量值 CPM(counts per million)来实现基因表达值的标准化,即原始读段数÷总读段数×1 000 000。

**标准化编辑水平计算** 编辑水平定义为每个发生 A-to-I RNA 编辑的读段数与比对到该位点的所有读段数的比值。为更好比较不同患者的编辑水平变化,我们选出正常组织和癌组织共有的 RES。将共有 RES 最高的值作为标准,其他 RES 与之相除,得到标准化编辑水平<sup>[19]</sup>。

**GO 富集分析** 使用 R 包 clusterProfiler 软件<sup>[20]</sup>对每个患者正常组织和癌症肝组织的 RES 所在基因分别进行 GO 富集分析。找出在 HBV 阴性和 HBV 阳性样本组中均出现的 GO 富集通路,其中校正后  $P<0.05$  的通路为显著富集通路。

**图形展示和统计学方法** 使用 R 开源包 ggplot2 和 GraphPad prism8.0.1 绘制图片。本研究在 R 环境下进行统计学分析,相关性检验使用 Kruskal-Wallis 检验, $P$  值阈值设置为 0.1。

结 果

**两套数据集 A-to-I RESs 概况** 我们检测了 FL-HCC 和 HCC 数据集中 56 个样本的 RNA 编辑事件,分别找出 299 528 和 122 265 509 个 RES(表 1)。为验证 RES 的可靠性,将每个样本的检测位点与目前主要的 RES 数据库 DARNED(<http://darned.ucc.ie/>)、RADAR(<http://rnaedit.com/>)、REDIportal([http://srv00.recas.ba.infn.it/py\\_script/REDIdb/](http://srv00.recas.ba.infn.it/py_script/REDIdb/))以及 3 个数据库的并集进行比较(表 1)。结果发现,FL-HCC 数据集与数据库的平均交集为 76.04%,而 HCC 数据集与数据库的平均交集仅为 52.47%。这是由于数据库中的位点主要是匹配到参考基因组的读段所找出的 RES,而 SPRINT 还包含未匹配到基因组而进行二次匹配的读段所找出的 RESs。所以两套数据集与数据库的交集并不高,这说明相对于以往的 RES 鉴定方法<sup>[21-22]</sup>,本研究可检测出更多的 RES 来进行后续分析。

为进一步验证检测位点的准确性,我们分析了两套数据集 RES 的位点分类特征(图 1)。将 RES 分为 Alu 区、重复非 Alu(repetitive non Alu, REP-NON-Alu)区和非重复(non repetitive, NON-REP)区,FL-HCC 和 HCC 数据集分别有超过 72%和 82%的位点位于 Alu 区,两套数据集 RES 的分布特征具有一致性。这说明由于 Alu 区的序列具有相似特征,其在基因和基因间易形成双链 RNA,是 ADAR 酶的理想底物。因此,大部分位点发生在基因组的 Alu 区域,该现象与已有研究结果一致<sup>[23]</sup>。大部分位点分布在内含子和基因间区域,其次是 3'-UTR 和非编码 RNA(non coding RNA, ncRNA)区域,外显子和 5'-UTR 区域分布最少。这些分布特性都表明我们所鉴定出的位点具有可信度。

表 1 A-to-I RESs 与数据库的交集  
Tab 1 Percentage of A-to-I RESs overlap with databases

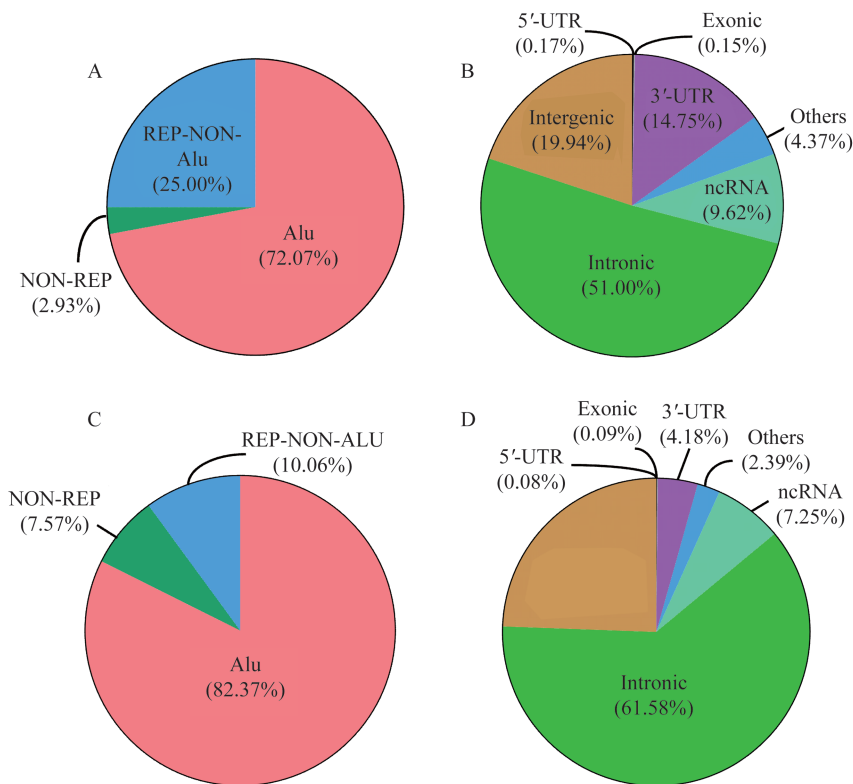
Data set	SPRINT	DARNED	RADAR	REDIportal	Total
FL-HCC	299 528	24.23%	67.75%	75.91%	76.04%
HCC	12 226 509	9.99%	39.12%	52.43%	52.47%

FL-HCC:RNA-seq data collected from GSE63018;HCC:RNA-seq data collected from GSE77509. SPRINT: Number of RESs identified by SPRINT.

**ADAR 酶表达水平的变化** HCC 组织中 ADAR1 表达量升高与 RNA 编辑水平上调有明显相关性<sup>[9]</sup>,但 HBV 感染后 HCC 样本 ADAR1 的表达变化与 RNA 编辑水平之间的关系尚不清楚。我们将两套数据集的样本按照不同组织来源和 HBV 感染情况,分为 HBV 阴性正常组织(HBV - N)、HBV 阴性癌组织(HBV - T)、HBV 阳性正常组织(HBV + N)和 HBV 阳性癌组织(HBV + T)等 4 个样本群体。考虑到两套数据集的批次效应,我们使用标准化的基因表达值来观察在不同组织和 HBV 感染情况下 ADAR1 的表达变化。在比较 HBV - N 和 HBV + N、HBV - T 和 HBV + T 群体后,我们发现在正常和癌组织中 HBV 感染均引起 ADAR1 的表达上调。在 HBV 阴性群体中,ADAR1 在正常组织和癌组织之间无明显差异。在 HBV 阳性群体中,RNA 编辑酶的整体活性更高,且癌组织的 ADAR1 表达水平相对于正常组织有明显上升(图 2A)。这都说明 HBV 感染促进 ADAR1 表达,该现象在癌组织中更显著。此外,我们还观察到不同样本群体中 ADAR2 和 ADAR1 的表达趋势并不一致(图 2B)。在 HBV 阴性群体中 ADAR2 在癌组织中

的表达水平相对于正常组织更高,而 HBV 阳性群体中则相反。在不同组织中,HBV 感染后 ADAR2 的表达水平更低。总体上,ADAR2 的表达值明显

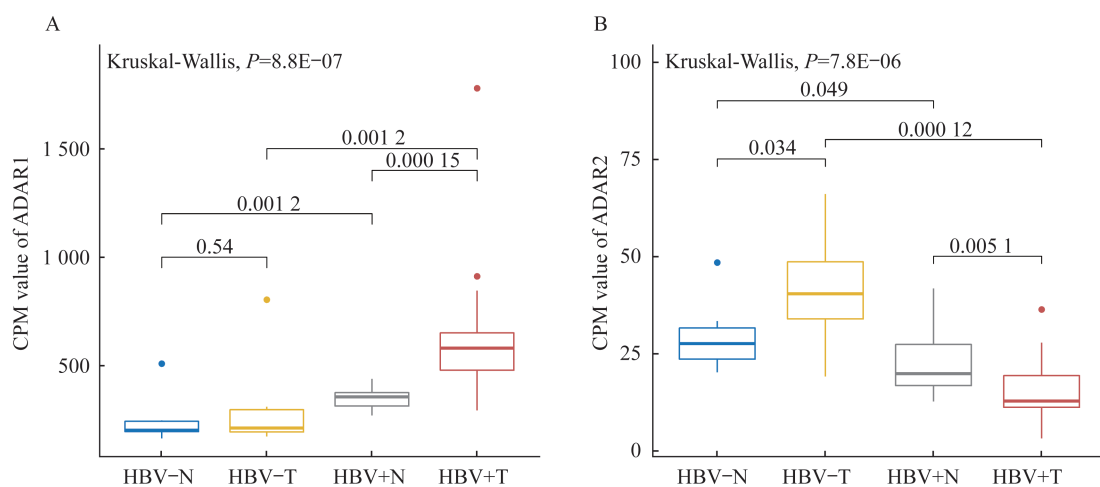
低于 ADAR1 的表达值,这表明在催化编辑反应中 ADAR1 发挥主要作用,ADAR2 的作用有待进一步分析研究。



Distribution (A) and genomic distribution (B) of RESs in FL-HCC data set; distribution (C) and genomic distribution (D) of RESs in HCC data set.

图 1 FL-HCC 和 HCC 数据集中 A-to-I RESs 分布情况

Fig 1 The distribution of A-to-I RESs in FL-HCC and HCC data sets



HBV - N: HBV negative and normal tissue; HBV - T: HBV negative and tumor tissue; HBV + N: HBV positive and normal tissue; HBV + T: HBV positive and tumor tissue. CPM: Count-per-million.

图 2 不同 HBV 感染状态下正常组织和癌组织中 ADAR1 (A) 和 ADAR2 (B) 的表达水平

Fig 2 The expression levels of ADAR1 (A) and ADAR2 (B) in normal and tumor tissues in response to HBV infection



**A-to-I RESs 编辑水平的变化** 由于 ADAR1 在催化 A-to-I RNA 编辑反应中起主要作用,进一步分析 ADAR1 的上调是否导致编辑水平的显著变化。我们取出每位患者正常组织和癌组织共有的 A-to-I RESs 后,计算出这些位点的标准化编辑水平。根据共有 RESs 的编辑水平计算出均值,比较不同感染状况和不同组织来源样本群体的 RESs 编辑水平变化(图 3)。不同感染状态下样本的编辑水平在 0.30~0.45,多集中在低于 0.5 的区域中。虽然 HBV 感染时 ADAR1 在两类组织中均显著上升,但仅在癌组织中发现编辑水平上升( $P<0.1$ )。在 HBV 阳性群体中,癌组织的编辑水平相对于正常组织有所提升( $P<0.1$ ),但在 HBV 阴性群体中则没有类似现象。这说明 ADAR1 表达变化对癌症样本和 HBV 感染样本的 RESs 作用更为明显。

**A-to-I RESs 所在基因的 GO 富集情况** 分析 RESs 所在基因的 GO 富集情况,找出在 HBV 阴性和阳性样本中均出现的 GO 富集通路(表 2):HBV 阴性样本的编辑基因显著富集在细胞氨基酸代谢过程通路( $P<0.05$ );HBV 阳性样本的编辑基因则富集在蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、转录后调控基因表达及去磷酸化相关信号通路( $P<0.05$ )。这些

通路与细胞增殖、基因调控过程相关。这说明 HBV 感染使细胞增殖并调控基因表达相关的编辑基因活性发生改变,这可能会对 HCC 的发生造成影响。

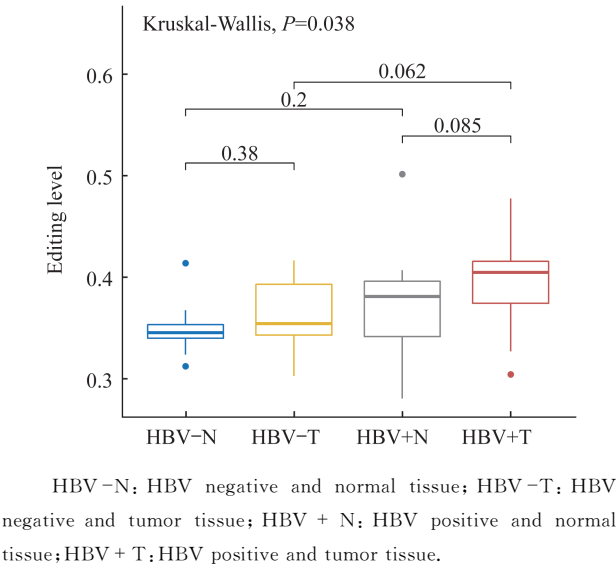


图 3 在不同 HBV 感染状态下正常和癌症组织中 RESs 的编辑水平变化

Fig 3 The editing level of RESs in normal and tumor tissues in response to HBV infection

表 2 不同 HBV 感染状态下 RESs 所在基因的 GO 富集通路

Tab 2 The GO enrichment pathway of genes with RESs in response to HBV infection

Type	ID	Description	P <sup>(1)</sup>
HBV -	GO:0006520	Cellular amino acid metabolic process	5.47E-04
HBV +	GO:0004674	Protein serine/threonine kinase activity	6.70E-04
HBV +	GO:0010608	Posttranscriptional regulation of gene expression	1.87E-04
HBV +	GO:0016311	Dephosphorylation	5.20E-03

HBV - :HBV negative;HBV + :HBV positive. <sup>(1)</sup> Adjusted P.

讨 论

HCC 是一种异质性肿瘤,在遗传信息和表观遗传层面表现出复杂多样的变化。在癌组织中,异常的转录后修饰(如 RNA 编辑),可能导致肿瘤转录组的多样性<sup>[23]</sup>。RNA 编辑在病毒感染过程中同样起着重要作用<sup>[7]</sup>。目前对 HCC 患者 RNA 编辑的研究多为癌组织相对于正常组织的 RNA 编辑事件变化,对 HBV 感染后患者 RNA 编辑的变化研究较少。

我们使用 SPRINT 软件来检测编辑位点,相对于以往的位点鉴定方法<sup>[21]</sup>,该法能发现更多 RES,有利于后续位点的统计分析。通过分析每位患者 RES 的数目和分布特征,发现两套数据集的 RES

数目有明显差异,数据测序深度大的样本能检测到更多的 RES,这与数据本身测序深度和读数长度有关,因而从位点数量分析 HBV 感染对患者 RNA 编辑的影响并不合适。通过分析位点在基因组上的分布,发现不同数据集的样本分布趋势具有较强的一致性,RES 大部分落在内含子区域和基因间区域。这与以往研究结果一致<sup>[9]</sup>。不同 HBV 感染状态下,正常组织和癌组织中 ADAR1 表达水平均显著上升。HBV 感染后,癌组织中 ADAR1 表达上调,同时其共同 RES 的编辑水平也会随之升高,而在未感染 HBV 群体中则没有类似发现。这说明 HBV 感染极可能通过上调 ADAR1 表达,对编辑基因的表达活性产生影响。HBV 感染样本的编辑基因显著富集在基因调控和细胞增殖相关通路,说明编辑

基因的活性改变可能影响了细胞的正常生长,进而影响 HCC 的发生。这提示在治疗 HBV 感染患者的过程中抑制 ADAR1 的表达对预防 HCC 的发生可能会起到作用。

本研究收集的数据来自 FL-HCC 和 HCC 两套公开数据集。考虑到不同数据集对后续分析的影响,分别对两套数据集在基因组上的分布进行了分析,发现它们在基因功能区的分布是一致的。这在一定程度上表明样本组织来源的不同对 RESs 分布影响不大。考虑到批次影响,我们在分析基因表达水平时采用标准化基因表达值 CPM 来衡量 ADAR 表达水平。在分析 RESs 的编辑水平时,将正常组织作为背景,选取肿瘤和正常组织共有的 RESs 来分析,这在一定程度上能够去除由于样本的组织类型差异所造成的编辑水平变化。由于患者年龄、性别和病毒感染等因素也可能对分析造成一定的影响,因此我们在选取数据时尽量选择范围一致的样本。由于公共数据库的数据有限且未感染 HBV 的临床样本不易获取,本研究收集到的不同 HBV 感染情况的患者样本数目并不一致。更多未感染 HBV 的 HCC 患者样本有助于校正分析过程中的偏差。

总之,本研究利用转录组数据描述 HBV 阳性和阴性 HCC 样本 A-to-I RNA 编辑事件的区别,发现 HBV 感染上调 ADAR1 的表达,从而改变宿主编辑事件的活性,这对 HCC 的发生发展可能有促进作用,也为进一步探索宿主 RNA 编辑对 HBV 感染的响应机制提供了线索。

## 参 考 文 献

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, *et al.* Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69–90.
- [2] TORBENSON M. Fibrolamellar carcinoma: 2012 update [J]. *Scientifica*, 2012, 2012: 1–15.
- [3] LIM IIP, FARBER BA, LAQUAGLIA MP. Advances in fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a review[J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2014, 24(6): 461–466.
- [4] OTT JJ, STEVENS GA, GROEGER J, *et al.* Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity[J]. *Vaccine*, 2012, 30(12): 2212–2219.
- [5] SIMPSON L, EMESON RB. RNA Editing[J]. *Annu Rev Neurosci*, 1996, 19: 27–52.
- [6] ZINSHTEYN B, NISHIKURA K. Adenosine-to-inosine RNA editing[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2009, 1(2): 202–209.
- [7] SAMUEL CE. Adenosine deaminases acting on RNA (ADARs) are both antiviral and proviral[J]. *Virology*, 2011, 411(2): 180–193.
- [8] SAMUEL CE. ADARs: viruses and innate immunity[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2012, 353: 163–195.
- [9] KANG L, LIU X, GONG Z, *et al.* Genome-wide identification of RNA editing in hepatocellular carcinoma [J]. *Genomics*, 2015, 105(2): 76–82.
- [10] CHEN L, LI Y, LIN CH, *et al.* Recoding RNA editing of AZIN1 predisposes to hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Med*, 2013, 19(2): 209–216.
- [11] YANG Y, CHEN L, GU J, *et al.* Recurrently deregulated lncRNAs in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14421.
- [12] SORENSON EC, KHANIN R, BAMBOAT ZM, *et al.* Genome and transcriptome profiling of fibrolamellar hepatocellular carcinoma demonstrates p53 and IGF2BP1 dysregulation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0176562.
- [13] ZHANG F, LU Y, YAN S, *et al.* SPRINT: an SNP-free toolkit for identifying RNA editing sites [J]. *Bioinformatics*, 2017, 33(22): 3538–3548.
- [14] LI H, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(14): 1754–1760.
- [15] WANG K, LI M, HAKONARSON H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(16): e164.
- [16] KIM D, LANGMEAD B, SALZBERG SL. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements[J]. *Nat Methods*, 2015, 12(4): 357–360.
- [17] LI H, HANDSAKER B, WYSOKER A, *et al.* The sequence alignment/map format and SAMtools [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(16): 2078–2079.
- [18] ANDERS S, PYL PT, HUBER W. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(2): 166–169.
- [19] CHEN JY, PENG Z, ZHANG R, *et al.* RNA editome in rhesus macaque shaped by purifying selection[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(4): e1004274.
- [20] YU G, WANG LG, HAN Y, *et al.* ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 284–287.
- [21] RAMASWAMI G, ZHANG R, PISKOL R, *et al.* Identifying RNA editing sites using RNA sequencing data alone[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(2): 128–132.
- [22] PISKOL R, RAMASWAMI G, LI JB. Reliable identification of genomic variants from RNA-seq data[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(4): 641–651.
- [23] HAN L, DIAO L, YU S, *et al.* The Genomic landscape and clinical relevance of A-to-I RNA editing in human cancers [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(4): 515–528.

(收稿日期: 2019-03-20; 编辑: 段佳)