

CHAC1 在膀胱尿路上皮癌恶性进展中的潜在作用*

于旭东^{1,2} 张耀圣^{1,2**} 刘蕊嘉¹ 王旭昀³ 贾连城³

¹北京中医药大学东直门医院, 北京 100700; ²北京市中西医肿瘤微创医学中心, 北京 100700; ³首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010

[摘要] **目的** 探究 CHAC1 在膀胱尿路上皮癌 (BLCA) 中的生物学特征及其临床相关性。**方法** 从肿瘤基因组图谱和人类蛋白质图谱等数据库获取 CHAC1 的原始数据, 应用 R 软件、MEXPRESS 平台和 TISIDB 平台, 对 CHAC1 在 BLCA 中的潜在作用进行基因表达分析、生存分析、基因拷贝数变异及甲基化分析、基因富集分析、免疫浸润分析。**结果** 与正常组织相比, CHAC1 在多种肿瘤组织中异常表达 ($P < 0.05$), 尤其在 BLCA 中呈现高表达 ($P < 0.001$); CHAC1 高表达预示着 BLCA 的不良预后, 且与 CHAC1 低甲基化水平有关; CHAC1 富集分析发现其参与了包括氨基酸代谢、GSH 代谢等多种代谢相关的生物学过程; CHAC1 在 BLCA 中的表达水平与多种免疫细胞的过度浸润有关, 包括树突状细胞, 活化的树突状细胞, 中性粒细胞, 巨噬细胞, 调节性 T 细胞, Th1 细胞, Th2 细胞, B 细胞和 NK CD56dim 细胞。**结论** CHAC1 可能成为评估 BLCA 预后和调节免疫浸润水平的潜在生物标志物和治疗靶点。

[关键词] CHAC1; 膀胱尿路上皮癌; 免疫特征; 生物标志物

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.03.014

Potential Role of CHAC1 in Malignant Progression of Bladder Urothelial Carcinoma

Yu Xudong^{1,2}, Zhang Yaosheng^{1,2**}, Liu Ruijia¹, Wang Xuyun³, Jia Liancheng³

¹Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700; ²Beijing Minimally Invasive Medical Center of Traditional Chinese and Western Oncology, Beijing 100700; ³Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010

** Corresponding author: Zhang Yaosheng, email: zhangyaosheng@bucm.edu.cn

[Abstract] **Objective** To investigate the biological characteristics and clinical relevance of CHAC1 in bladder urothelial carcinoma (BLCA). **Methods** The original data of CHAC1 was obtained from the Cancer Genome Atlas and the Human Protein Atlas. R software, MEXPRESS platform and TISIDB platform were used for gene expression analysis, survival analysis, copy number variation and methylation analysis, gene enrichment analysis and immune infiltration analysis of CHAC1. **Results** Compared with normal tissues, CHAC1 is abnormally expressed in a variety of tumor tissues ($P < 0.05$), especially in BLCA ($P < 0.001$). High expression of CHAC1 predicts poor prognosis of BLCA, which is related to CHAC1 hypomethylation level. CHAC1 enrichment analysis showed that it was involved in a variety of metabolism-related biological processes, including amino acid metabolism and GSH metabolism. The expression level of CHAC1 in BLCA was associated with excessive infiltration of a variety of immune cells, including dendritic cells, activated dendritic cells, neutrophils, macrophages, regulatory T cells, Th1 cells, Th2 cells, B cells, and NK CD56dim cells. **Conclusion** CHAC1 may become a potential biomarker and therapeutic target for evaluating BLCA prognosis and modulating levels of immune infiltration.

[Key words] CHAC1; Bladder urothelial carcinoma; Immune features; Biomarker

膀胱尿路上皮癌 (Bladder urothelial carcinoma, BLCA) 是泌尿系统的常见恶性肿瘤, 因组织学来源于尿路上皮细胞而得名。BLCA 早期无特异性的临床症状, 缺乏良好的早期发现、诊断的生物学指标。部分切除或根治性切除术是 BLCA 的主要治疗

方法, 然而, 该病术后的高复发率一直是困扰临床医生的重要问题, 严重影响患者的生活质量和生存期^[1]。目前的主要挑战是找到与 BLCA 相匹配的特异性生物标志物, 为 BLCA 患者提供更早、更积极、更精准的治疗。CHAC1 是一种编码蛋白质的

* 长江学者奖励计划 (TC2019056); 首都医科大学附属北京中医医院科技发展基金 (LYYB202214)

** 通讯作者: 张耀圣, 电子邮箱 zhangyaosheng@bucm.edu.cn

基因, 该基因编码的蛋白质是一种谷氨酰胺酶, 可以将 GSH 分解成半胱氨酸和 γ -谷氨酰胺。GSH 是一种重要的抗氧化剂, 可以帮助细胞对抗氧化应激, 而 CHAC1 的活性则可以降低细胞内 GSH 的水平, 从而影响细胞的抗氧化能力^[2-3]。这些与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 跟已有研究报道的 CHAC1 在肾透明细胞癌、肝癌及胃癌中的促癌机制基本一致^[4-6]。

为探究 CHAC1 在 BLCA 中的临床生物学功能和治疗潜力, 本研究使用 R 语言对其进行了生物信息学分析, 首先明确了 CHAC1 在 BLCA 组织和癌旁组织中的基因表达差异, 并分析了 CHAC1 的基因表达与 BLCA 临床预后的相关性。此外, 本研究进行了免疫浸润和功能富集分析, 以进一步了解 CHAC1 在 BLCA 发生发展中的潜在机制。

1 对象与方法

1.1 数据集来源

BLCA 的原始测序数据和临床病理的原始数据集来源于肿瘤基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas Program, TCGA) 数据库 (<https://www.cancer.gov/tcga>); 膀胱组织的 CHAC1 免疫组织化学染色数据来源于人类蛋白质图谱 (Human Protein Atlas, HPA) 数据库 (<http://www.proteinatlas.org>)。将这些数据集用于 CHAC1 的基因表达分析和临床病理数据分析。

1.2 CHAC1 的基因表达分析

本研究使用 GEPIA 平台评估了 CHAC1 在 33 种肿瘤类型的正常组织 (或癌旁非肿瘤组织) 与肿瘤组织中的差异表达, 并分别进行了配对比较和非配对比较^[7]。根据不同的癌症危险因素分组, 通过多重比较评估 CHAC1 mRNA 表达与 BLCA 危险因素的相关性。

1.3 CHAC1 基因拷贝数变异及甲基化分析

本研究通过 MEXPRESS 平台 (<https://mexpress.be>) 下载了 CHAC1 基因拷贝数变异 (Copy number variation, CNV) 和甲基化水平数据^[8]; 通过 UALCAN 平台分析了 CHAC1 的甲基化水平, 并使用 MethSurv 平台对 CHAC1 的甲基化水平和 BLCA 的相关性进行了分析^[9-10]。

1.4 蛋白互作网络和基因富集分析

CHAC1 基因编码的蛋白数据来源于 STRING 平台, 使用 Cytoscape 软件 (3.7.1) 构建了蛋白互作网络; 通过 clusterProfiler R 包 (3.14.3) 和 Hs.eg.db R 包 (3.10.0) 进行基因注释和基因富集分析^[11]。

1.5 免疫浸润分析

本研究使用 GSVA R 软件包 (1.34.0) 计算了 BLCA 免疫细胞浸润与 CHAC1 表达水平的

Spearman 相关性^[12]。使用 TISIDB 平台评估了 CHAC1 表达与 BLCA 中免疫抑制剂或免疫刺激剂之间的相关性^[13]。

1.6 统计学分析

使用 R 语言 (3.6.3) 和 Graphpad Prism 软件 (9.1.0) 对所有数据进行统计学分析。两组间比较采用 *t* 检验和 Wilcoxon 秩和检验, 配对样本间差异的比较采用配对样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。本项研究使用 pROC R 包 (1.17.0.1) 和 ggplot2 R 包 (3.3.3) 绘制 BLCA 患者的受试者操作特征 (ROC) 曲线, 评估 CHAC1 对 BLCA 的诊断价值; 通过 KM 生存曲线分析 CHAC1 对 BLCA 患者生存和预后的预测价值^[14]。使用 rms R 包 (6.2.0) 构建预测预后的列线图^[15]。

2 结果

2.1 CHAC1 在恶性肿瘤中的基因表达情况

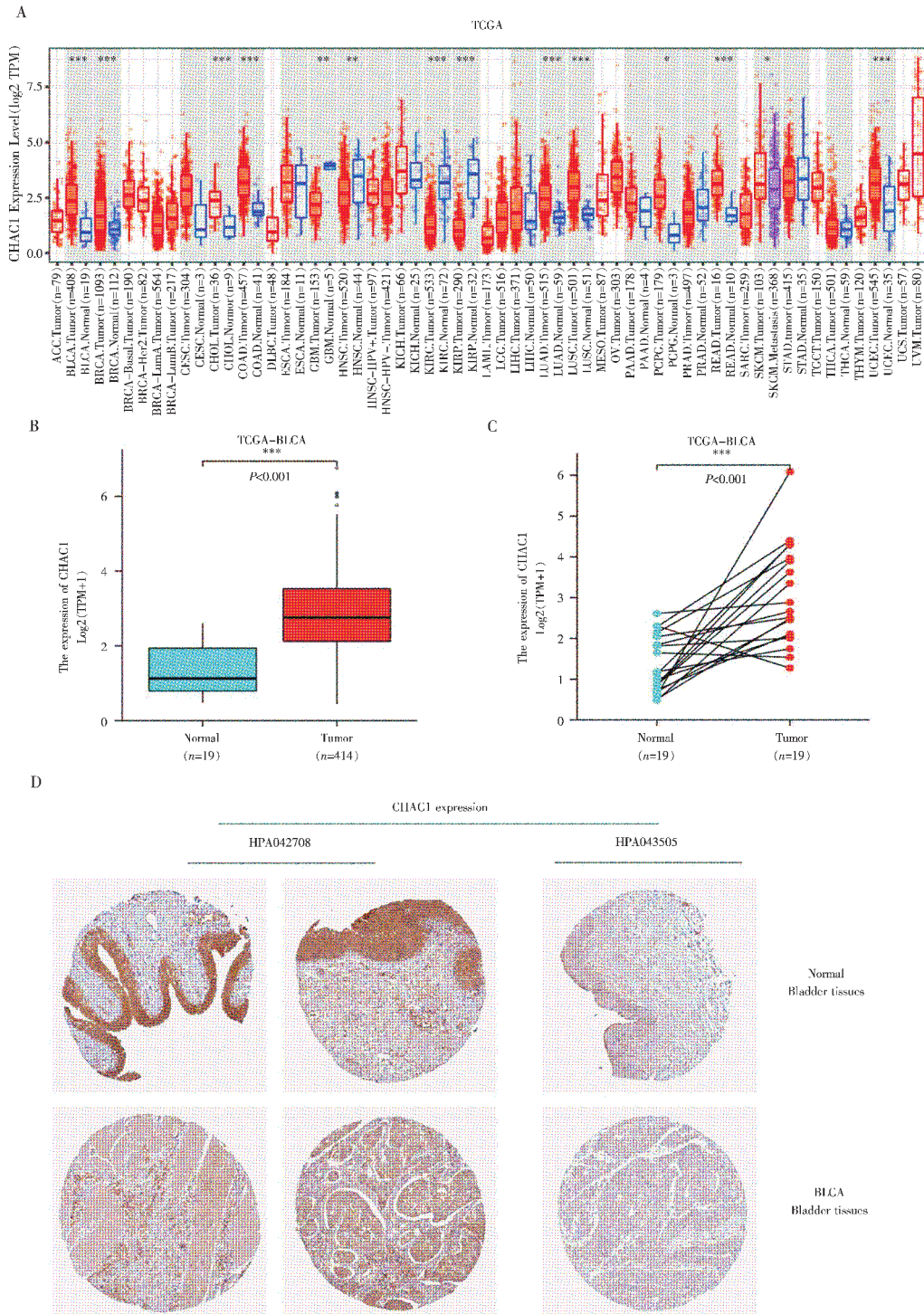
基于 TCGA 数据库的测序数据, 比较 CHAC1 在不同类型肿瘤样本及其对应的正常样本中的表达。结果显示, CHAC1 在多种肿瘤类型中异常表达 ($P < 0.05$), 见图 1A。随后, 本研究聚焦于 CHAC1 在 BLCA 中的表达。结果显示, 与癌旁组织相比, CHAC1 mRNA 在 BLCA 中表达显著升高 ($P < 0.001$), 见图 1B。与配对的癌旁非肿瘤组织相比, CHAC1 在 BLCA 组织中的表达也相对高表达 ($P < 0.001$), 见图 1C。同时, 基于 HPA 数据库中的免疫组织化学染色结果发现, CHAC1 基因编码的蛋白在 BLCA 组织中的表达水平显著高于正常组织, 见图 1D。此外, 本研究分析了 CHAC1 表达与 BLCA 患者临床特征之间的关系。CHAC1 的高表达与 BLCA 患者的组织学分级和总生存期 (Overall survival, OS) 均显著相关 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 CHAC1 mRNA 的表达与 BLCA 患者的预后分析

ROC 结果显示, CHAC1 对 BLCA 具有较高的临床诊断价值 (AUC: 0.889), 见图 2A。生存分析显示, CHAC1 高表达与 BLCA 患者较差的 OS 相关 ($HR = 1.39, P = 0.026$), 见图 2B。本研究还构建了整合 CHAC1 和其他预后因素的列线图来预测 BLCA 临床患者的生存风险, 见图 2C。OS 的 C-index 为 0.651, 表明 CHAC1 表达对预后预测的能力优于传统的个体预后因素。同时, 列线图的校准曲线显示了预测生存率与实际生存率具有良好的一致性, 见图 2D。此外, 本研究还探讨了 CHAC1 mRNA 表达与不同临床亚型 BLCA 预后的关系。结果提示, 高突变负荷亚组中 CHAC1 表达越高, BLCA 患者的预后越差 ($HR = 1.67, P =$

0.023), 见图 2E。相反, 在低突变负荷亚组中, CHAC1 表达与预后之间无显著关系 ($HR = 1.35$, $P = 0.152$), 见图 2F。综上所述, 结果提示

CHAC1 在 BLCA 中表达上调, 具有较高的临床诊断价值, 并与不良预后相关。



注: A. CHAC1 表达的泛癌分析; B. CHAC1 在非肿瘤样本和 BLCA 样本中的表达; C. CHAC1 在 BLCA 样本及其配对的邻近样本中的表达; D. HPA 数据库中 CHAC1 蛋白的表达; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

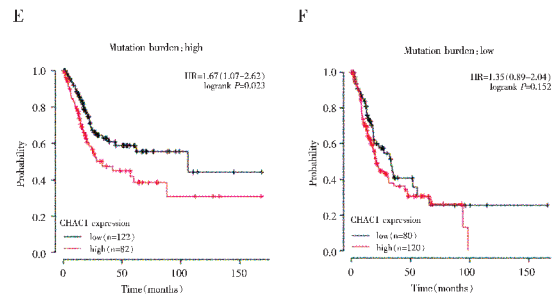
图 1 CHAC1 在 BLCA 和其他不同肿瘤中的基因表达情况

Fig. 1 Gene expression of CHAC1 in BLCA and other different tumors

表 1 CHAC1 表达与 BLCA 患者临床病理特征的相关性 [例 (%)]

Tab. 1 Correlation between CHAC1 expression and clinicopathological features of BLCA patients [n (%)]

临床特征	CHAC1		χ^2 值	P 值
	低表达 (206 例)	高表达 (206 例)		
T 分期			1.350	0.717
T1	2(0.9)	3(1.5)		
T2	62(30.1)	56(27.2)		
T3	92(44.7)	104(50.5)		
T4	31(15)	28(13.6)		
缺失	19(9.2)	15(7.3)		
N 分期			2.820	0.420
N0	124(60.2)	114(55.3)		
N1	26(12.6)	20(9.7)		
N2	33(16)	44(21.4)		
N3	4(1.9)	3(1.5)		
缺失	19(9.2)	25(12.1)		
M 分期			0.001	0.984
M0	109(52.9)	92(44.7)		
M1	6(2.9)	5(2.4)		
缺失	91(44.2)	109(52.9)		
组织学分级			8.550	0.003
高级别	187(90.8)	201(97.6)		
低级别	17(8.3)	4(1.9)		
缺失	2(0.9)	1(0.5)		
OS 事件			5.669	0.017
生存	127(61.7)	103(50.0)		
死亡	79(38.3)	103(50.0)		



注: A. CHAC1 在 BLCA 中表达的 ROC 曲线; B. CHAC1 的表达和 BLCA 的 OS 的相关性分析; C. CHAC1 和 BLCA 的其他预后因素的列线图; D. 列线图的校准曲线; E. CHAC1 的表达在高突变负荷的 BLCA 患者中的 OS 分析; F. CHAC1 的表达在低突变负荷的 BLCA 患者中的 OS 分析

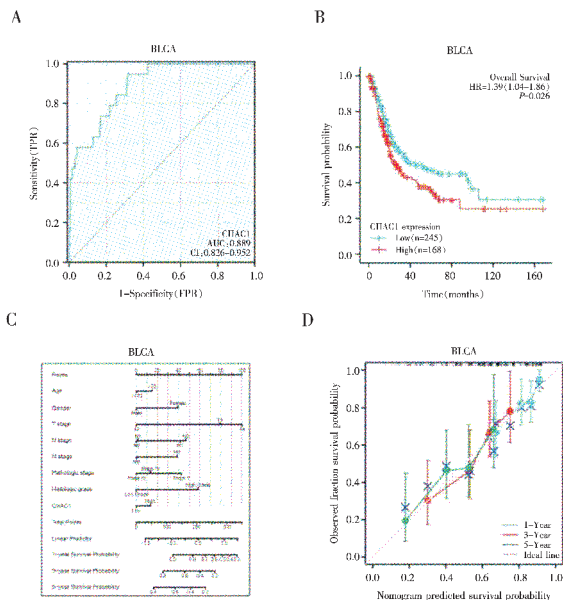
图 2 CHAC1 在 BLCA 中的诊断价值和预后价值
Fig. 2 Diagnostic and prognostic value of CHAC1 in BLCA

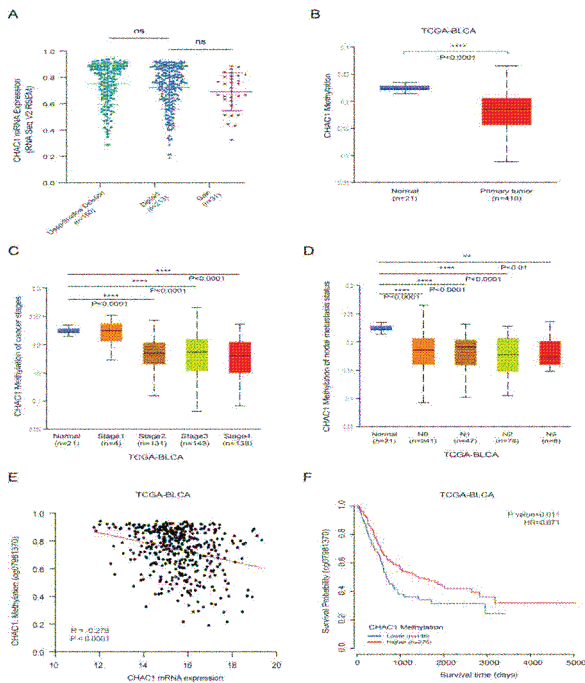
2.3 CHAC1 mRNA 的表达与 DNA 甲基化分析

CHAC1 基因扩增或缺失的患者比例相似, 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), CHAC1 表达与 CNV 的关系见图 3A; BLCA 组织中 CHAC1 的 DNA 甲基化水平显著低于正常组织 ($P < 0.0001$), 见图 3B; 同时, 根据不同的临床甲基化病理参数, 与正常组织相比, CHAC1 甲基化水平在中晚期 BLCA 中显著降低 ($P < 0.0001$), 见图 3C; CHAC1 甲基化水平在 BLCA 的不同 N 分期中显著降低, 见图 3D; 此外, 本研究结果显示 CHAC1 mRNA 表达与其甲基化状态呈显著负相关 ($r = -0.279, P < 0.0001$), 见图 3E; 此外, 本研究构建了 BLCA 中 CHAC1 甲基化水平的预后分析, 结果提示 CHAC1 低甲基化水平与 BLCA 患者的不良预后相关 ($HR = 0.671, P = 0.011$), 见图 3F。

2.4 CHAC1 相关基因功能富集分析

本研究使用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件探索了 50 个 CHAC1 的靶向结合蛋白, 见图 4A, 并进行了 GO 和 KEGG 功能富集分析, 见图 4B。结果表明与 CHAC1 可能参与了包括氨基酸代谢、GSH 代谢等多种代谢相关的生物学过程, 与 CHAC1 最相关的分子功能为外肽酶活性、抗氧化活性、转移酶活性和碳氮裂合酶活性。本研究根据 CHAC1 的表达水平分析了 DEGs: 与 CHAC1 低表达组相比, 本研究得到 425 个 DEGs, 其中 224 个基因表达上调, 201 个基因表达下调, 见图 4C。根据排序, 将前 16 个数据集可视化, 见图 4D。热图显示前 25 个基因与 CHAC1 表达呈正或负相关, 见图 4E。





注: A. TCGA - BLCA 数据库中基因拷贝中性、缺失和倍增肿瘤组织中 CHAC1 mRNA 表达情况; B. BLCA 和正常组织中 CHAC1 甲基化水平; C. LCA 不同病理阶段 CHAC1 甲基化水平; D. BLCA 不同 N 分期的 CHAC1 甲基化水平; E. BLCA 中 CHAC1 mRNA 表达与基因甲基化的相关性; F. BLCA 中 CHAC1 甲基化的 Kaplan - Meier 曲线

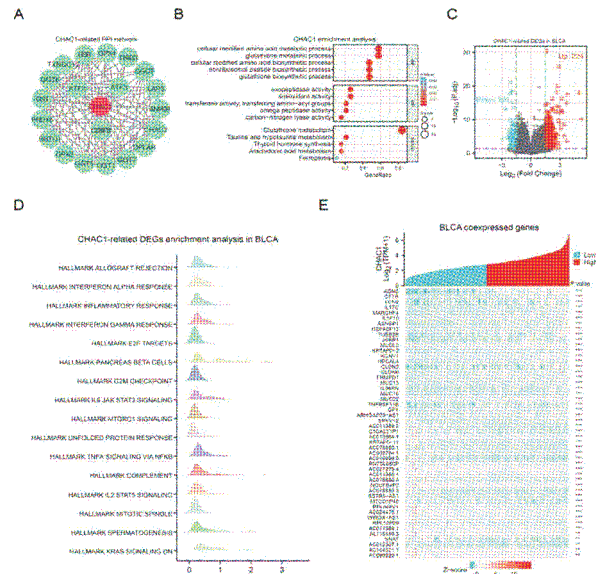
图 3 BLCA 中 CHAC1 mRNA 表达与基因拷贝数变异和甲基化的关系

Fig. 3 CHAC1 mRNA expression and gene copy number variation and methylation in BLCA

2.5 CHAC1 的表达与 BLCA 的免疫细胞浸润分析

本研究分析了 TCGA 数据库中 CHAC1 表达与免疫细胞浸润水平的相关性。结果显示, 在 CHAC1 高表达组中, T 细胞、树突状细胞 (Dendritic cells, DC)、活化的树突状细胞 (Activated dendritic cells, aDC)、B 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、NK CD56dim 细胞、调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞 (T helper cells, Th) 1 细胞和 Th2 细胞的

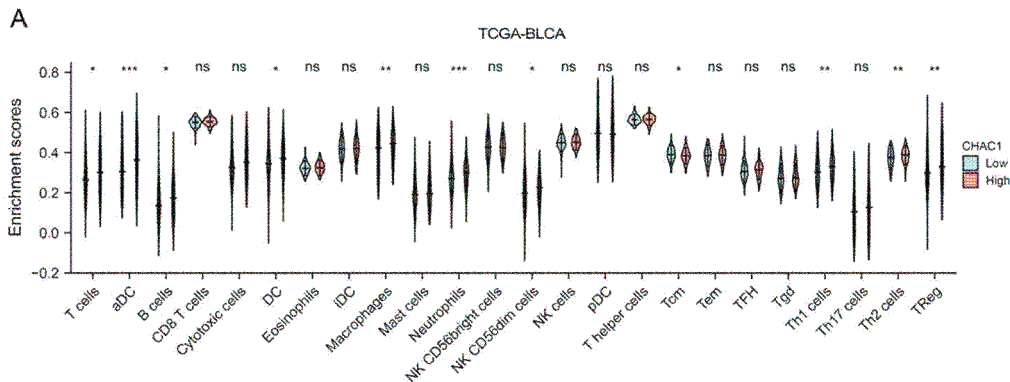
比例显著高于 CHAC1 低表达组 ($P < 0.05$), 见图 5A; 免疫细胞浸润与 CHAC1 表达的相关性, 见图 5B; CHAC1 的表达与以下免疫细胞的浸润程度呈显著正相关: DC ($r = 0.123, P = 0.012$), aDC ($r = 0.218, P < 0.001$), 中性粒细胞 ($r = 0.172, P < 0.001$), 巨噬细胞 ($r = 0.184, P < 0.001$), 调节性 T 细胞 ($r = 0.162, P < 0.001$), Th1 细胞 ($r = 0.195, P < 0.001$), Th2 细胞 ($r = 0.186, P < 0.001$), B 细胞 ($r = 0.130, P = 0.008$), NK CD56dim 细胞 ($r = 0.139, P = 0.005$), 见图 5C - K; CHAC1 与中央记忆性 T 细胞的浸润水平呈显著负相关 ($r = -0.159, P = 0.001$), 见图 5L。

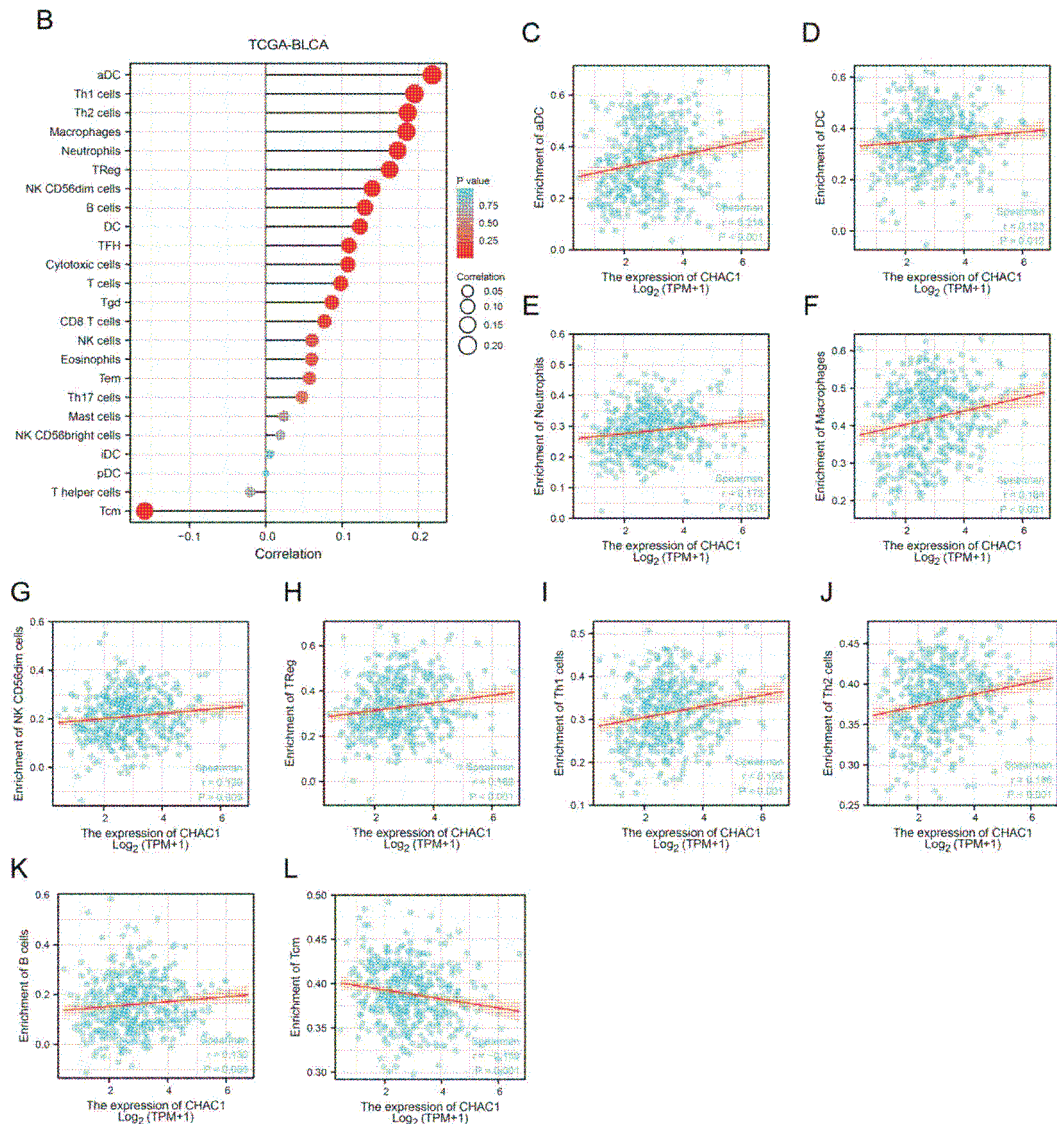


注: A. 蛋白互作网络; B. GO 和 KEGG 富集分析; C. CHAC1 相关 DEGs 的火山分布图; D. CHAC1 相关 DEGs 的富集数据集; E. CHAC1 相关 DEGs 的表达热图

图 4 BLCA 中 CHAC1 相关 DEGs 的蛋白互作网络及功能富集分析

Fig. 4 Protein interaction network and functional enrichment analysis of CHAC1 - related DEGs in BLCA





注: A. BLCA 中 CHAC1 高表达组和低表达组的免疫细胞浸润水平; B. CHAC1 mRNA 表达水平与 BLCA 中免疫细胞的浸润; C-L. CHAC1 表达与 aDC (C)、DC (D)、中性粒细胞 (E)、巨噬细胞 (F)、NK CD56dim 细胞 (G)、调节性 T 细胞 (H)、Th1 细胞 (I)、Th2 细胞 (J)、B 细胞 (K)、中央记忆性 T 细胞 (L) 浸润的相关性; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 5 CHAC1 mRNA 表达与免疫细胞浸润的关系

Fig. 5 CHAC1 mRNA expression and immune cell infiltration

3 讨论

本研究对 CHAC1 在 BLCA 中的潜在作用进行了全面的生物信息学分析。本研究发现与正常膀胱组织相比, CHAC1 mRNA 和蛋白在 BLCA 组织中表达上调, CHAC1 高表达的 BLCA 患者预后较差。CNV 和甲基化水平是影响基因表达的重要因素, 本研究的结果显示 CHAC1 的高表达与基因低甲基化有关, 但与 CNV 状态无关。功能富集分析结果提示 CHAC1 可能通过调节谷胱甘肽代谢、铁死亡、干扰素 α 反应和炎症反应影响 BLCA 的发展。一些现有的报告也间接支持这一推断, Scheffer 等^[16]的研究发现 CHAC1 是一个新发现的内质网诱

导基因, 参与降解谷胱甘肽并促进细胞凋亡或铁毒性的 γ -谷氨酰胺循环。此外, CHAC1 还参与了肿瘤发生过程中的多种分子生物学过程, 包括氧化应激、细胞凋亡、caspase-3 活化和信号转导等^[17]。Chen 等^[18]通过敲低 CHAC1 的表达, 削弱了半胱氨酸缺乏引起的谷胱甘肽水平降低和细胞死亡。这进一步表明 CHAC1 参与了代谢通路相关的作用, 进而影响肿瘤细胞的发展。此外, 本研究进一步探究 CHAC1 表达与免疫细胞浸润的关系。CHAC1 的表达与多种免疫细胞的浸润水平呈正相关。B 细胞在肿瘤微环境中通过多种方式减弱免疫反应, 进而促进肿瘤进展^[19]。Miyake 等^[20]证实肿

瘤相关巨噬细胞在人膀胱肿瘤微环境中通过其诱导的旁分泌作用促进肿瘤进展, 并与 BLCA 的不良预后相关。综上所述, 认为 CHAC1 可能参与了 BLCA 的免疫微环境的形成, 进而影响了 BLCA 的恶性进程。

较高的敏感性使 CHAC1 具备成为 BLCA 诊断性生物学指标的可能性; CHAC1 的高表达预示 BLCA 患者的预后不良, 在 BLCA 的临床管理中追踪 CHAC1 可以为患者的预后提供参考; 此外, BLCA 中上调的 CHAC1 能够促进 B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞的浸润。CHAC1 是 BLCA 恶性进展中的关键靶基因, 有望成为 BLCA 的生物标志物和新的免疫治疗靶点。

参考文献

- [1] Powles T, Bellmunt J, Comperat E, et al. Bladder cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2022, 33: 244–258.
- [2] Wang CK, Yang SC, Hsu SC, et al. CHAC2 is essential for self-renewal and glutathione maintenance in human embryonic stem cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 113: 439–451.
- [3] Wada Y, Takemura K, Tummala P, et al. Helicobacter pylori induces somatic mutations in TP53 via overexpression of CHAC1 in infected gastric epithelial cells [J]. *FEBS Open Bio*, 2018, 8 (4): 671–679.
- [4] Li D, Liu S, Xu J, et al. Ferroptosis-related gene CHAC1 is a valid indicator for the poor prognosis of kidney renal clear cell carcinoma [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25 (7): 3610–3621.
- [5] Wang Z, Li M, Liu Y, et al. Dihydroartemisinin triggers ferroptosis in primary liver cancer cells by promoting and unfolded protein response induced upregulation of CHAC1 expression [J]. *Oncol Rep*, 2021, 46 (5): 240.
- [6] Ogawa T, Wada Y, Takemura K, et al. CHAC1 overexpression in human gastric parietal cells with Helicobacter pylori infection in the secretory canaliculi [J]. *Helicobacter*, 2019, 24 (4): e12598.
- [7] Li C, Tang Z, Zhang W, et al. GEPIA2021: integrating multiple deconvolution-based analysis into GEPIA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49 (W1): W242–W246.
- [8] Koch A, De Meyer T, Jeschke J, et al. MEXPRESS: visualizing expression, DNA methylation and clinical TCGA data [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16 (1): 636.
- [9] Chandrashekar DS, Karthikeyan SK, Korla PK, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform [J]. *Neoplasia*, 2022, 25: 18–27.
- [10] Modhukur V, Iljasenko T, Metsalu T, et al. MethSurv: a web tool to perform multivariable survival analysis using DNA methylation data [J]. *Epigenomics*, 2018, 10 (3): 277–288.
- [11] 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.
- [12] Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7.
- [13] Ru B, Wong CN, Tong Y, et al. TISIDB: an integrated repository portal for tumor-immune system interactions [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35 (20): 4200–4202.
- [14] Wang L, Wang Y, Wang J, et al. Identification of a prognosis-related risk signature for bladder cancer to predict survival and immune landscapes [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 3236384.
- [15] Liu J, Lichtenberg T, Hoadley KA, et al. An integrated TCGA pan-cancer clinical data resource to drive high-quality survival outcome analytics [J]. *Cell*, 2018, 173 (2): 400–416. e11.
- [16] Scheffer D, Kulcsár G, Nagyéri G, et al. Active mixture of serum-circulating small molecules selectively inhibits proliferation and triggers apoptosis in cancer cells via induction of ER stress [J]. *Cell Signal*, 2020, 65: 109426.
- [17] Chen PH, Shen WL, Shih CM, et al. The CHAC1-inhibited Notch3 pathway is involved in temozolomide-induced glioma cytotoxicity [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 116: 300–314.
- [18] Chen MS, Wang SF, Hsu CY, et al. CHAC1 degradation of glutathione enhances cystine-starvation-induced necroptosis and ferroptosis in human triple negative breast cancer cells via the GCN2-eIF2 α -ATF4 pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (70): 114588–114602.
- [19] Shen M, Sun Q, Wang J, et al. Positive and negative functions of B lymphocytes in tumors [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (34): 55828–55839.
- [20] Miyake M, Hori S, Morizawa Y, et al. Corrigendum to “CXCL1-mediated interaction of cancer cells with tumor-associated macrophages and cancer-associated fibroblasts promotes tumor progression in human bladder cancer” [Neoplasia 18 (2016) 636–646] [J]. *Neoplasia*, 2017, 19 (3): 250–251.