GBCDB: 胆囊癌转录组/单细胞测序数据分析及耐药性预测平台

路　峥[1,2], 宋方茗[3], 付　静[4], 刘春良[4*], 陈啸飞[2*]

(1. 上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093;　2. 海军军医大学药学院, 上海 200433;　3. 广西医科大学生命科学与医学工程学院, 广西 南宁 530021;　4. 海军军医大学国家肝癌科学中心, 东方肝胆外科医院, 上海 200438)

摘要: 胆囊癌 (gallbladder cancer, GBC) 是一类高度侵袭性的消化系统恶性肿瘤, 化疗在其中晚期治疗中具有重要地位, 但患者间的药物反应差异明显, 耐药问题突出。目前尚缺乏专门面向GBC的系统性转录组数据库及药物反应预测工具。为此, 作者开发了胆囊癌数据库 (GBCDB,http://www.gbcdb.com/)。该平台整合了5个批量转录组数据集 (126份样本) 及1个单细胞数据集 (24份样本, 涵盖8大细胞谱系共140 870个细胞), 全面覆盖癌变组织、邻近正常组织及胆囊炎组织。GBCDB提供用户友好界面, 支持单基因、双基因及多基因等灵活查询模式。该平台通过多种可视化工具实现全面比较分析: 箱线图展示样本类型间的表达分布, 相关性散点图呈现基因间关联, 热图将基因表达可视化, 统一流形逼近与投影图 (UMAP) 则用于单细胞转录组数据。同时引入RefDNN模型, 成功对吉西他滨、顺铂、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素C与紫杉醇共5种胆囊癌常用化疗药物进行耐药性预测。GBCDB为胆囊癌分子机制研究与化疗耐药性评估提供了系统化的数据资源与分析工具, 有望为个体化治疗策略的制定提供科学依据。

关键词: 胆囊癌; 数据库; 转录组学; 单细胞转录组学; 耐药性预测

中图分类号: R735.8　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2026)07-2668-07

GBCDB: Gallbladder cancer transcriptome/single-cell sequencing data analysis and drug resistance prediction platform

LU Zheng[1,2], SONG Fang-ming[3], FU Jing[4], LIU Chun-liang[4*], CHEN Xiao-fei[2*]

(*1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;　2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China;　3. School of Life Sciences and Medical Engineering, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;　4. National Center for Liver Cancer, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200438, China*)

Abstract: Gallbladder cancer (GBC) is a highly invasive malignant tumor of the digestive system. Chemotherapy plays a crucial role in its advanced treatment, yet significant interpatient variability in drug response and prominent drug resistance issues persist. Currently, there is a lack of systematic transcriptomic databases and drug response prediction tools specifically tailored for GBC. To address this gap, we developed the Gallbladder Cancer Database (GBCDB,http://www.gbcdb.com/). This platform integrates five bulk-transcriptome datasets (126 samples) and one single-cell dataset (24 samples, encompassing 140 870 cells across eight major cell lineages), comprehensively covering neoplastic tissues, adjacent normal tissues, and cholecystitis tissues. GBCDB offers a user-friendly interface supporting flexible query modes for single-gene, dual-gene, and multi-gene analyses. The platform enables comprehensive comparative analysis through multiple visualization tools: Box plots display expression distributions across sample types, correlation scatter plots reveal gene associations, heatmaps visualize gene expression patterns, and

收稿日期: 2026-02-10;　修回日期: 2026-04-09.

基金项目: 科技部国家重点研发计划项目 (2022YFC2704603, 2022YFC3400902); 国家自然科学基金项目 (82473884); 上海市教育委员会“曙光计划”项目 (22SG34); 宁夏重点研发计划项目 (2023BEG02014).

*通讯作者 E-mail: 2451633693@qq.com; xfchen2010@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2026-0179

Unified Manifold Approximation and Projection (UMAP) is applied to single-cell transcriptomic data. Additionally, the RefDNN model predicts resistance to five commonly used gallbladder cancer chemotherapeutics — gemcitabine, cisplatin, 5-fluorouracil, mitomycin C, and paclitaxel. GBCDB provides systematic data resources and analytical tools for molecular mechanism research and chemotherapy resistance assessment in gallbladder cancer, offering scientific foundations for developing personalized treatment strategies.

Key words: gallbladder cancer; database; transcriptomics; single-cell transcriptomics; drug resistance prediction

胆囊癌是一种侵袭性极强的恶性上皮肿瘤, 起源于胆囊上皮细胞, 具有高度临床异质性和转移潜能[1]。尽管总体发病率较低, 但占胆道肿瘤的80%～95%, 是胆道系统中最常见的恶性肿瘤[2]。由于缺乏特异性早期症状, 多数患者确诊时已处于晚期, 错失手术切除的最佳时机[3]。当前包括手术、化疗和放疗在内的临床治疗手段疗效有限, 晚期胆囊癌患者五年生存率不足20%[4]。因此, 系统揭示胆囊癌分子机制, 寻找早期诊断和靶向治疗的关键生物标志物, 对改善患者预后至关重要[5]。

近年来, 随着高通量测序技术的快速发展, 研究者开始从分子层面重新定义胆囊癌的生物学特征[6]。基于转录组学、甲基化组学及突变谱的研究揭示了胆囊癌显著的分子亚型差异, 这些差异与临床预后及药物敏感性密切相关[7]。然而相较于胃癌、胰腺癌等常见消化道恶性肿瘤, 胆囊癌的分子研究仍处于起步阶段[8]。公共癌症数据库 (如TCGA、ICGC) 收录的GBC样本极少, 而其他RNA测序数据分散于GEO等公共库及独立文献中[9]。这种数据碎片化与非标准化处理严重制约了跨队列分析、分子亚型比较及潜在靶点发现的深度与可靠性。

此外, 传统转录组测序技术 (微阵列和批量RNA测序) 虽能反映全局基因表达变化, 却无法捕捉肿瘤组织内的细胞异质性。单细胞RNA测序技术的兴起, 为探索肿瘤微环境构成、细胞通讯网络及免疫细胞动态提供了前所未有的解析能力[10]。单细胞RNA测序不仅能够在单细胞水平解析肿瘤组织内的细胞异质性, 而且在药物与靶点筛选、药物不良反应机制解析及耐药性研究中展现重要价值[11]。然而, 与胆囊癌相关的单细胞研究数量有限, 且因样本量小、数据处理流程不一致及元数据不完整, 这些宝贵数据尚未得到系统整合与充分利用。如何有效整合批量与单细胞层面的多组学数据, 建立统一、标准化、可视化且交互式的胆囊癌分子数据平台, 已成为关键挑战。

近期报道的多组学资源GBCdb整合了批量mRNA、miRNA、lncRNA和circRNA表达谱, 结合调控相互作用及SEER数据库生存分析[12]。该平台虽为非编码RNA介导的调控网络及临床关联提供了重要见解, 但仅依赖批量测序数据且缺乏单细胞分辨率, 无法解析支撑胆囊癌进展与耐药性的细胞异质性。

为填补这一研究空白, 作者构建了首个专注于胆囊癌的综合转录组数据库——GBCDB (Gallbladder Cancer Database,http://www.gbcdb.com/)。该数据库整合了来自GEO和欧洲基因组档案库的五个批量转录组数据集, 以及本团队的高质量单细胞RNA测序数据集。所有数据均经过严格标准化与质量控制, 并在统一框架下进行分析。数据库配备箱线图、相关性分析、UMAP分析、共定位分析及热图分析等交互式可视化功能, 助力研究者从宏观与微观双重视角探索胆囊癌的分子特征。RefDNN模型能够基于表达矩阵输出个体样本对5种胆囊癌化疗药物的耐药性预测结果, 具有较好的可解释性与扩展性。

材料与方法

数据来源　GBCDB整合了来自不同平台和文献的数据资源, 以确保数据的全面性和代表性。该数据库的核心数据来源包括5个批量转录组学数据集和一个单细胞RNA测序 (scRNA-seq) 数据集[13], 如表1所示。

Table 1　Data Sources

Datasets	Type	Sample size	Source
GBCDB1	Bulk transcriptomics	6	GSE74048
GBCDB2	Bulk transcriptomics	8	GSE100363
GBCDB3	Bulk transcriptomics	6	GSE132223
GBCDB4	Bulk transcriptomics	10	GSE166915
GBCDB5	Bulk transcriptomics	96	EGAS00001003004
GBCDBsc	Single-cell transcriptomics	24	Cell Discovery[13]

通过整合这些高质量转录组数据, GBCDB为GBC研究领域提供了更全面的数据支持和更高分辨率的生物信息学分析能力。

数据分析　针对微阵列和RNA测序数据, 通过原始表达值的箱线图进行初始质量评估, 以可视化样本间的分布一致性。采用limma包中的normalizeBetweenArrays函数对数据进行标准化处理, 以校正技

术变异和批次效应[14]。标准化后, 表达值经 $\log_2$ 转换 [$\log_2(x + 1)$] 以稳定方差并缩小动态范围。单细胞 RNA 测序数据则参照先前文献所述方法进行分析, 详情见表 1[13]。

统计学方法 本研究使用皮尔逊相关系数评估两组数据之间的线性相关程度。首先对原始数据进行 $\log_2(x + 1)$ 转换, 然后计算转换后两组数据的皮尔逊相关系数及其统计显著性, P 值通过 t 检验方法获得。同时, 采用最小二乘法拟合一条线性回归线, 用于可视化两组变量之间的趋势关系。回归线的斜率和截距由数据直接计算得出。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

预测模型构建方法 耐药性预测模块基于 RefDNN 构建, 模型的训练与预测需要使用到 3 个文件: ① 基因表达矩阵; ② 药物−细胞系反应文件; ③ 药物分子指纹文件。使用 GDSC 中收集到的细胞系表达矩阵文件以及药物−细胞系反应文件进行训练。训练前先对药物−细胞系文件进行二分标签处理: 将半数抑制浓度 (IC_{50}) 与最大筛选浓度 (Max Conc) 作比较, 前者数值大于后者的被归类为耐药性类别, 其余的被分配到药物敏感性类别。对于基因表达矩阵中的数据进行特征筛选则依据文献中报道的胆囊癌发病相关的基因, 将 GBCDB1-5 数据集中基因与文献基因取交集得到了 12 个特征基因, 分别是: *CDKN2A*, *BRAF*, *MYC*, *PTEN*, *DCC*, *KNTC1*, *KRAS*, *ATM*, *MSH2*, *TP53*, *EGFR*, *CTNNB1*[15]。最后使用 PaDEL 工具计算了吉西他滨、顺铂、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素 C、紫杉醇这五种胆囊癌常用化疗药物的分子指纹结构。采用训练集/验证集划分用 5 折交叉验证优化超参数并防止过拟合; 由于基准模型的性能取决于其超参数, RefDNN 采用了嵌套交叉验证方法, 其中包含一个用于模型选择的内循环和一个用于模型评估的外循环。内循环中的超参数优化采用贝叶斯优化方法, 外循环中的预测性能通过平均 5 折交叉验证的结果计算得出。使用了 5 个指标: 准确率、精确率、召回率、f1 分数和受试者工作特征曲线下面积 (AUCROC)。最终将样本的预测反应值进一步归一化为“耐药分数”。

数据库实现 GBCDB 采用 LAMP 框架构建, 包含 Apache2 (一款免费开源的跨平台 Web 服务器软件; https://www.apache.org/)、MySQL (关系型数据库管理系统;https://www.mysql.com/) 以及 PHP (一种流行的通用脚本语言;https://www.php.net/)。所有数据均存储于 Linux 平台的 MySQL 数据库中, 以实现高效管理、检索与展示。网页采用 HTML5、CSS3、JavaScript 及 jQuery (用于简化 HTML DOM 树遍历的 JavaScript 库; http://jquery.com, 版本 3.7.1) 创建, 可动态呈现查询结果。图表渲染采用 Echarts (可视化库;https://echarts.apache.org/zh/index.html)。

结果

1 构建胆囊癌数据库

GBCDB 不仅提供丰富的 RNA 测序数据资源, 还配备灵活高效的分析工具, 以及基于 RefDNN 模型的耐药预测模型。GBCDB 支持对批量 RNA 测序和单细胞 RNA 测序数据进行多维基因查询。该数据库包含 3 种主要基因查询类型: 单基因查询、双基因查询和多基因查询。每种查询类型均能根据特定数据特征动态生成定制化可视化输出, 助力研究人员通过多重分析维度探究胆囊癌发病机制并识别潜在生物标志物 (图 1)。

2 数据库的单基因查询模块

单基因查询功能支持用户深入分析特定基因在不同 GBC 样本中的表达情况。针对批量 RNA 测序数据, 用户可生成箱线图直观呈现不同组别间的基因表达差异, 从而识别肿瘤与正常组织间或不同临床阶段间存在显著表达差异的基因。箱线图展示中位数、四分位数及潜在异常值, 清晰呈现组间基因表达变异 (图 2A)。如图 2A 所示, 胆囊癌的重要标志物 *KRT19* 基因在 GBCDB2 中的肿瘤组高表达, 在正常组低表达。

针对单细胞 RNA 测序数据, 单基因查询通过 UMAP 图进行可视化。UMAP 作为非线性降维方法, 能高效将高维单细胞表达数据映射至二维空间, 使用户识别不同细胞群体的基因表达差异。UMAP 图不仅呈现单细胞层面的基因表达模式, 更助力探索基因在不同细胞群中的作用, 揭示其在肿瘤微环境中的潜在功能 (图 2B1)。如图 2B2 所示, *KRT19* 基因在上皮细胞中高表达。

3 数据库的双基因查询模块

双基因查询可深入分析两个基因之间的关联性。针对批量 RNA 测序数据, 该查询会生成相关性图谱, 展示两个基因在不同样本中的表达关联。通过计算基因间的皮尔逊相关系数, 可构建基因相关性图谱, 从而直观反映基因间的正负相关关系。该分析有助于识别胆囊癌中可能存在协同调控的基因群体, 进而揭示其潜在的分子功能与生物学意义 (图 3A)。如图 3A 所示, *RPL10A* 基因和 *RPS9* 基因在 GBCDB5 中有很强的线性关系。

针对单细胞 RNA 测序数据, 双基因查询通过共定位分析图与相关性分析图实现可视化呈现。共定位图展示不同细胞群体中基因的共表达模式 (图 3B)。相

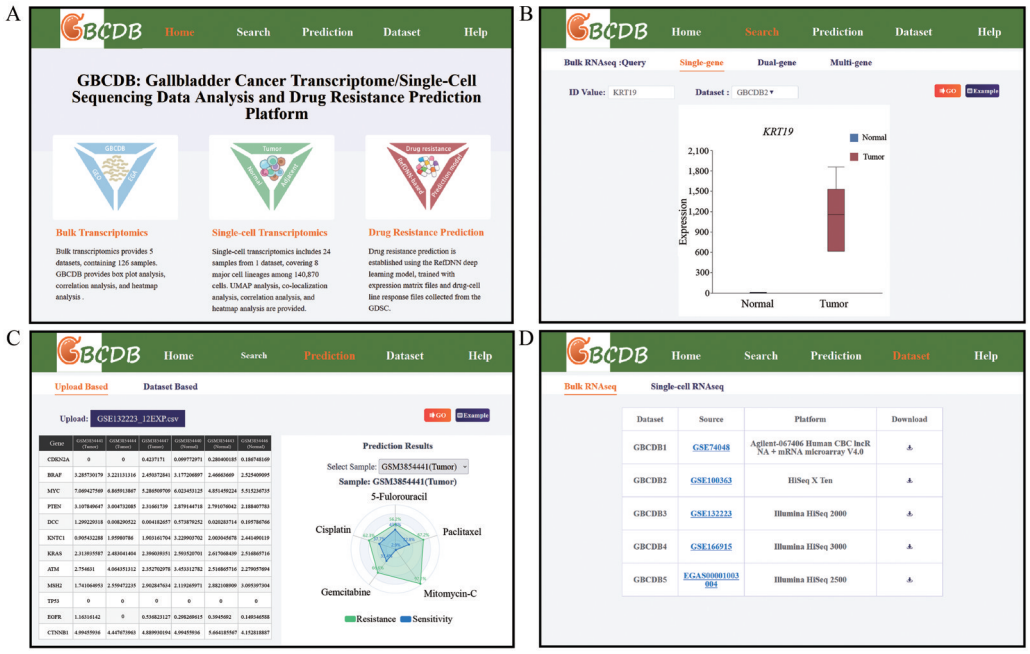


Figure 1　An overview of GBCDB. A: Homepage of GBCDB; B: Single-gene search interface for bulk transcriptomics; C: Prediction interface for chemotherapy drug resistance in gallbladder cancer; D: Bulk transcriptomics dataset interface. GBCDB: Gallbladder cancer database

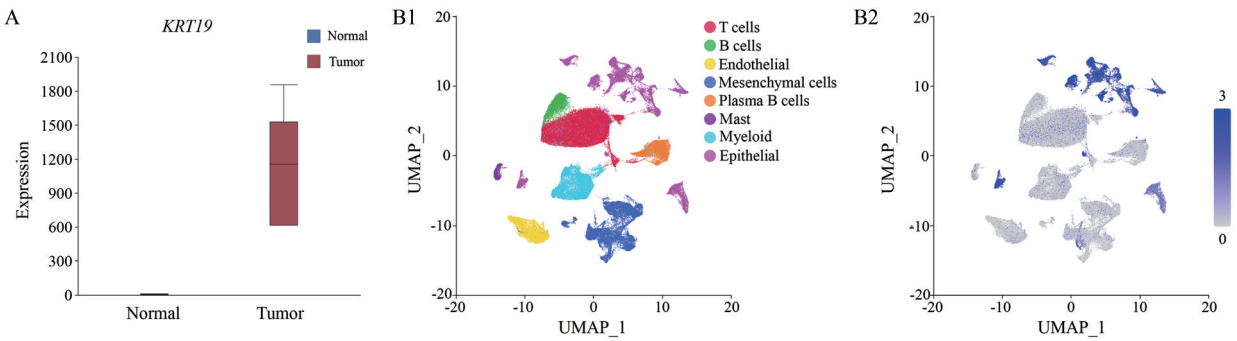


Figure 2　Boxplot colored by *KRT19* gene from the GBCDB2 dataset (A), UMAP colored by cell types from the GBCDBsc dataset (B1) and UMAP colored by expression of *KRT19* gene from the GBCDBsc dataset (B2). UMAP: Uniform Manifold Approximation and Projection

关性分析图则在单细胞层面探索基因关联性, 揭示特定细胞亚群中基因间的相互作用机制及其对肿瘤异质性的贡献。如图3B3所示, *RPL10A*基因和*RPS9*基因在B细胞中同时高表达。

4　数据库的多基因查询模块

多基因查询可同时分析多个基因, 提供基因表达模式的全局视图。无论是批量RNA测序还是单细胞RNA测序数据, 该查询均能生成热图, 直观呈现不同样本中多个基因的表达情况。热图通过色彩梯度有效展示基因表达强度, 红色区域代表高表达水平, 蓝色区域则表示低表达水平。对于批量RNA测序数据, 热图不仅揭示多基因差异表达, 还可识别与临床特征 (如肿瘤分期和预后) 相关的基因簇 (图4A)。针对单细胞RNA测序数据, 热图能将不同细胞群体的基因表达特征可视化, 便于深入分析细胞亚群中的基因功能分布 (图4B)。如图4所示, 基因高表达的区域为红色, 基因低表达的区域为蓝色。

通过多基因查询功能, 用户可从全局视角识别与胆囊癌相关的关键基因网络及调控机制。该功能同时支持探索基因共表达模式与基因调控网络, 为深入开展系统生物学研究提供强大工具。

5　数据库的化疗药物耐药性预测模块

用户通过输入指定格式的样本表达矩阵预测该样本对五种胆囊癌常用化疗药物: 吉西他滨、顺铂、5-氟尿嘧啶、丝裂霉素C、紫杉醇的潜在反应趋势。耐药性预测结果以雷达图形式图形化呈现, 同时提供数值化

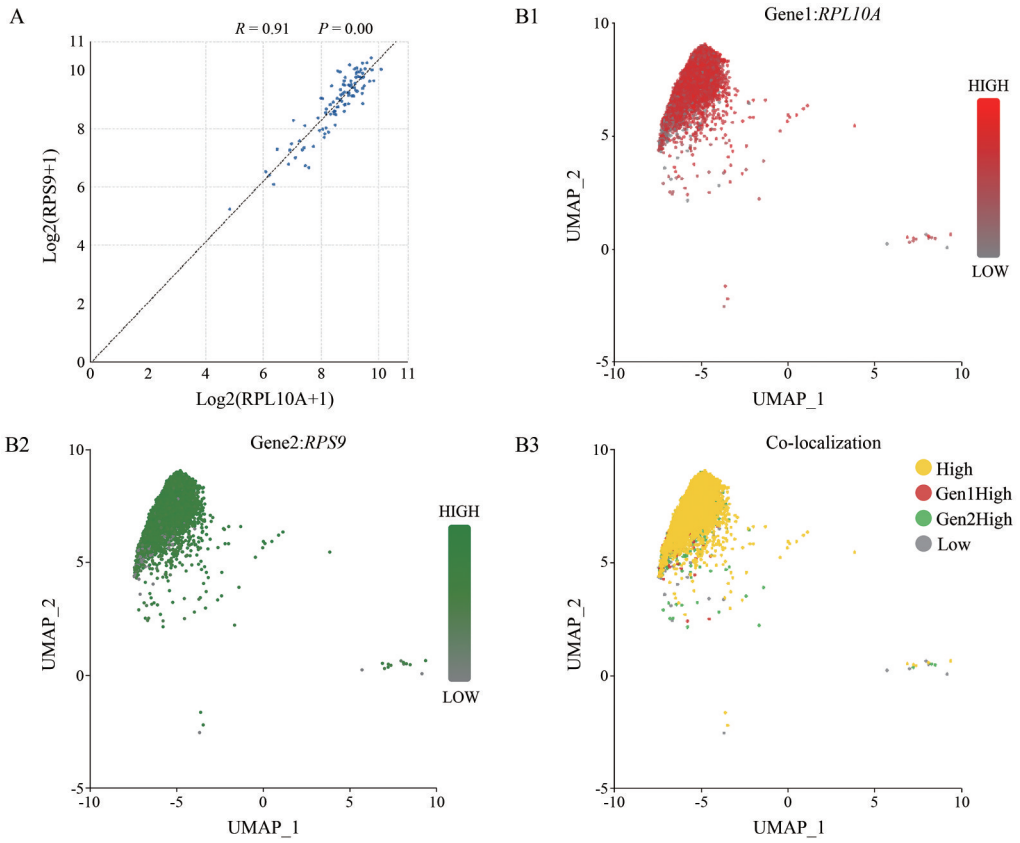


Figure 3 Correlation plot of *RPL10A* and *RPS9* genes from the GBCDB5 dataset (A). UMAP colored by expression of *RPL10A* gene in B cells from the GBCDBsc dataset (B1). UMAP colored by expression of *RPS9* gene in B cells from the GBCDBsc dataset (B2). Co-localization analysis of *RPL10A* and *RPS9* genes in B cells from the GBCDBsc dataset (B3)

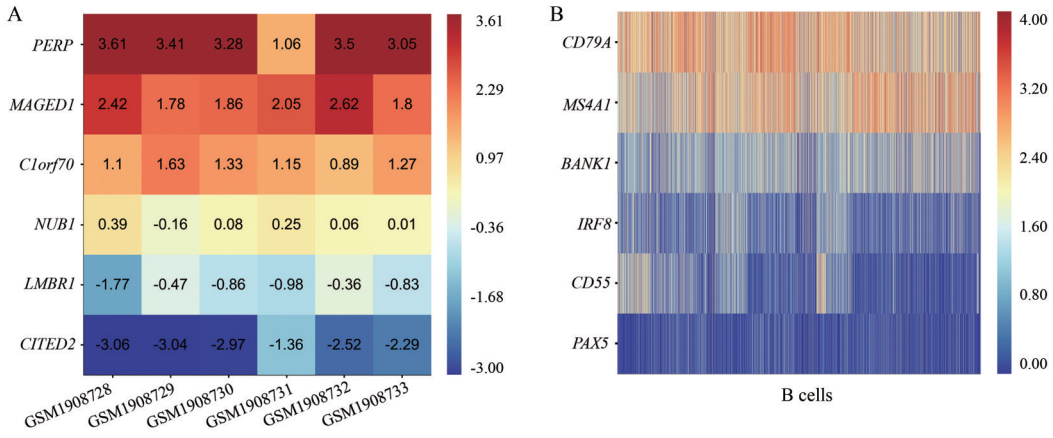


Figure 4 Heatmap of *CITED2*, *LMBR1*, *NUB1*, *C1orf70*, *MAGED1*, *PERP* genes from the GBCDB1 dataset (A). Heatmap of *PAX5*, *CD55*, *IRF8*, *BANK1*, *MS4A1*, *CD79A* genes from the GBCDBsc dataset (B)

结果, 便于不同样本间比较。

输入 GSE132223 中的 6 个样本的基因表达数据, RefDNN 预测 GSM3854441 肿瘤样本对丝裂霉素 C 耐药最强, 对紫杉醇、吉西他滨和 5-FU 也呈中度耐药, 顺铂耐药最低。该样本的分子特征显示 *TP53* 和 *CDKN2A* 完全失活, 凋亡与细胞周期抑制途径障碍; *MYC*、*BRAF* 和 *EGFR* 显著上调, 促进细胞增殖和生存信号, 增强化疗抵抗; *ATM* 与 *MSH2* 维持中高表达水平, 说明 DNA 修复能力活跃, 使细胞能修复顺铂和丝裂霉素 C 造成的交联损伤; *CTNNB1* 活跃则与肿瘤干性增强相关, 也与紫杉醇耐药性一致。总体表明该肿瘤样本具有典型的胆囊癌多药耐药表型, 其耐药来源于修复通路激活、增殖信号增强及凋亡失控, 为后续化疗药物筛选提供分子依据 (图 5)。

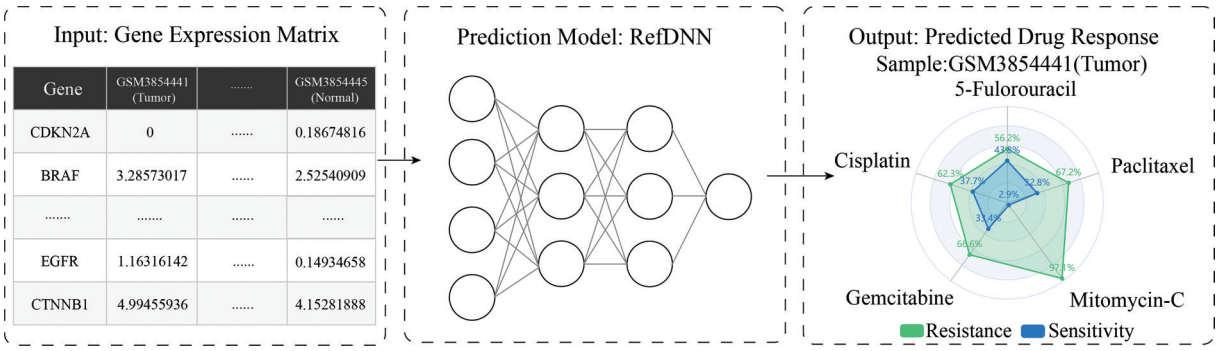


Figure 5　Chemotherapy drug resistance prediction process

讨论

本研究构建的GBCDB是面向胆囊癌研究的专业化综合数据平台, 在数据整合深度与分析功能上具有显著创新性。该数据库系统性整合了来自多渠道的RNA测序数据, 涵盖批量RNA测序与单细胞RNA测序, 为全面解析胆囊癌的分子特征与生物学机制提供了高质量的数据基础。通过严格的数据质量控制流程及多维度生物信息学分析框架, GBCDB构建了完善的基因表达分析体系, 支持单基因、双基因及多基因差异表达的灵活查询, 满足不同研究层面的分析需求。

在功能设计上, GBCDB提供了多种直观且信息丰富的可视化分析工具, 包括箱线图、热图、UMAP图、相关性分析及共定位分析等, 有助于研究者从多角度、系统性地理解胆囊癌的分子异质性与调控特征。尤为重要的是, 数据库引入了胆囊癌临床常用五种化疗药物的耐药性预测模块, 通过挖掘基因表达模式与药物反应之间的潜在关联, 为识别可能获益或耐药的患者亚群提供了数据支持, 为个体化化疗方案的制定提供了有价值的参考依据。

GBCDB的建设思路对其他低发但高度异质性的特定肿瘤数据库具有一定参考价值: 通过对分散于公共库的数据进行统一质控与标准化处理, 可显著提升数据可用性并降低重复工作成本。

为保障GBCDB的长期可用性与数据的时效性, 作者将每6～12个月检索并整合新的GBC相关转录组/单细胞数据 (GEO、EGA等公开发表的补充数据), 对新增数据执行与现有数据一致的质量控制与标准化流程后上线, 同时对服务器安全补丁、数据库漏洞及前端依赖库更新实行按需即时修复。GBCDB部署于稳定的Linux服务器环境中将长期可持续访问。

在临床转化层面, GBCDB可为胆囊癌的生物标志物开发与个体化治疗研究提供支持。平台提供的单细胞分析模块能够定位候选基因的主要表达细胞来源, 为后续开展免疫组化或空间转录组提供依据。此外, 耐药性预测模块可在研究阶段为样本提供对常用化疗药物的反应倾向结果。需要强调的是, 该预测结果目前主要用于科研与假设生成, 仍需在临床中进一步验证后方可用于临床决策。

尽管本研究取得了一定的成果, 但也存在一些不可忽视的局限性。当前版本的单/双/多基因查询均以“单一数据集”为分析单位, 暂不提供GBCDB1-5全量样本的直接合并分析。主要原因在于不同数据集之间存在测序平台差异、批次效应等问题, 直接合并可能造成表达尺度不可比。推荐在多个数据集中进行重复验证以提高结论的稳健性。由于不同数据集在样本构成、测序平台及预处理流程上存在差异, 单基因查询在不同数据集中还可能出现表达趋势不完全一致的现象。这种不一致既可能来源于胆囊癌的生物学异质性, 也可能来源于技术层面的批次与平台效应。为提升结果的可靠性, GBCDB对每个数据集采用统一的质量控制与标准化策略, 建议用户在多个数据集中对候选基因进行交叉验证, 以获得更稳健的生物学结论。

总体而言, GBCDB不仅是胆囊癌基础研究的重要数据资源, 也展现出良好的临床转化潜力。随着后续研究中样本规模的持续扩大、数据类型与功能模块的不断丰富, 以及与临床结局数据的进一步整合, 该平台有望在胆囊癌的分子分型、疗效预测及精准治疗决策中发挥更加重要的作用。

作者贡献: 路峥负责数据库构建、预测模型搭建及文章撰写; 付静、宋方茗负责课题监管、文章修改及技术指导; 陈啸飞、刘春良负责课题设计、文章审阅及技术指导。

利益冲突: 本文中所有作者声明无任何利益冲突。

References

[1] Chen P, Wang Y, Li J, et al. Diversity and intratumoral heterogeneity in human gallbladder cancer progression revealed by single-cell RNA sequencing [J]. Clin Transl Med, 2021, 11: e462.

[2] Fan DM, Li Q, Jiang XQ. CACA Guidelines for Holistic Integra-

tive Management of Cancer: Gallbladder Cancer (中国肿瘤整合诊治指南 (CACA) 胆囊癌) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 2022.

[3] Roa JC, García P, Kapoor VK, et al. Gallbladder cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2022, 8: 69.

[4] van Dooren M, de Savornin Lohman EAJ, van der Post RS, et al. Referral rate of patients with incidental gallbladder cancer and survival: Outcomes of a multicentre retrospective study [J]. BJS Open, 2024, 8: zrae013.

[5] Singh N, Sharma R, Bose S. Meta-analysis of transcriptomics data identifies potential biomarkers and their associated regulatory networks in gallbladder cancer [J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2022, 15: 311-325.

[6] Saxena R, Chakrapani B, Sarath Krishnan MP, et al. Next generation sequencing uncovers multiple miRNAs associated molecular targets in gallbladder cancer patients [J]. Sci Rep, 2023, 13: 19101.

[7] Nepal C, Zhu B, O'Rourke CJ, et al. Integrative molecular characterization of gallbladder cancer reveals microenvironment-associated subtypes [J]. J Hepatol, 2021, 74: 1132-1144.

[8] Feo CF, Ginesu GC, Fancellu A, et al. Current management of incidental gallbladder cancer: A review [J]. Int J Surg, 2022, 98: 106234.

[9] Clough E, Barrett T. The Gene Expression Omnibus database [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1418: 93-110.

[10] Zhang Y, You WH, Li X, et al. Single-cell RNA-seq reveals transcriptional landscape and intratumor heterogenicity in gallbladder cancer liver metastasis microenvironment [J]. Ann Transl Med, 2021, 9: 889.

[11] Wang ML, Yang HJ. Single cell RNA sequencing technology applicated for drug discovery [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 2551-2559.

[12] Guo L, Xiang Y, Dou Y, et al. GBCdb: RNA expression landscapes and ncRNA-mRNA interactions in gallbladder carcinoma [J]. BMC Bioinformatics, 2023, 24: 12.

[13] Wang X, Liu C, Chen J, et al. Single-cell dissection of remodeled inflammatory ecosystem in primary and metastatic gallbladder carcinoma [J]. Cell Discov, 2022, 8: 101.

[14] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43: e47.

[15] Das D, Singh P, Pal M, et al. Global perspective on the genetic, epigenetic, and transcriptomic basis of gallbladder cancer [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2025, 214: 104830.