

基于结直肠癌细胞系 MIC₅₀ 相关基因对的基础耐药评分模型构建

陈湖星, 徐蕾, 李静, 郭政, 敖露

福建医科大学基础医学院, 医学生物信息学福建省高校重点实验室, 消化道恶性肿瘤教育部重点实验室, 福州 350122

摘要: 癌细胞系模型已广泛用于药物敏感性测试及耐药标志筛选。然而研究者常忽视癌细胞系的基础耐药性, 导致许多药效标志物难以应用于临床实践。为评估肿瘤细胞系的基础耐药性水平及其与临床药效的相关性, 本研究以 48 种结直肠癌(colorectal cancer, CRC)细胞系为例, 通过计算 265 种药物 IC₅₀ 值之间的相关性系数, 以每种 CRC 细胞系对上述药物 IC₅₀ 的中值构建可反映基础耐药性水平的评估指标 MIC₅₀, 并识别出表达值与 MIC₅₀ 显著正相关的基因。然后基于样本内基因表达值的相对大小秩序关系构建临床 CRC 组织样本的基础耐药评分模型。结果表明: 在药物两两间 IC₅₀ 的相关系数中, 有 99% 以上呈显著正相关(FDR < 0.05), 证明 CRC 细胞系存在基础耐药性特征; 与 MIC₅₀ 显著相关 602 个基因, 富集到 4 个与肿瘤耐药密切相关的功能模块。根据 5368 个 MIC₅₀ 相关基因对, 筛选出一个由 21 个基因对组成的 5-FU 联合用药评分模型, 卡方检验结果表明患者基础耐药性水平的高低与用药后的响应信息显著相关, 生存分析显示低分组患者比高分组患者预后更好。本研究结果为 CRC 联合化疗耐药机制的研究及临床个体化用药提供了一定的理论依据。

关键词: 癌细胞系; 基础耐药性水平; MIC₅₀

The development of a general drug resistance score model based on MIC₅₀ related gene pairs in colorectal cancer cell lines

Huxing Chen, Lei Xu, Jing Li, Zheng Guo, Lu Ao

Fujian Key Laboratory of Medical Bioinformatics, Key Laboratory of Ministry of Education for Gastrointestinal Cancer, School of Basic Medical Sciences, Fujian Medical University, Fuzhou 350122, China

Abstract: Cancer cell line models are widely used for testing drug sensitivity and in screening for drug resistance markers. However, the general level of drug resistance in cancer cell lines is often ignored by researchers, making it difficult to apply many drug efficacy markers in clinical practice. In this study, we examined 48 colorectal cancer (CRC) cell lines to

收稿日期: 2020-01-06; 修回日期: 2020-04-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81602738), 福建省卫生计生中青年骨干人才培养项目(编号: 2017-ZQN-56)和福建医科大学启航基金项目(编号: 2018QH1005)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81602738), Young and Middle-Aged Backbone Training Project in the Health System of Fujian Province (No. 2017-ZQN-56), and Fujian Medical University (No. 2018QH1005)]

作者简介: 陈湖星, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 肿瘤生物信息学。E-mail: huxingchen@fjmu.edu.cn

通讯作者: 敖露, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤生物信息学。E-mail: lukey@fjmu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczz.19-336

网络出版时间: 2020/6/2 9:57:20

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20200601.1439.001.html>

calculate the correlation coefficients between the IC_{50} values for 265 drugs. The general drug resistance evaluation index MIC_{50} was constructed using the median value of 265 drugs' IC_{50} values. Genes with positively correlated expression values and a MIC_{50} which rose to significance were selected for further study. To analyze the effect of general drug resistance on the response status and prognosis in CRC patients, the general drug resistance scoring model was established based on within-sample relative expression orderings of gene pairs. The results demonstrate that more than 99% of the IC_{50} correlation coefficients of 265 drugs were significantly positive ($FDR < 0.05$), indicating that CRC cell lines possessed general drug resistance characteristics. Furthermore, we identified 602 general drug resistance related genes, and by using Metascape, we identified four functional modules closely related to tumor resistance. A scoring model of 5-FU-based general drug resistance levels consisting of 21 gene pairs was built. After performing χ^2 test, we found that the general drug resistance level in CRC patients was significantly correlated with the response information after accepting 5-FU-based combination drug therapy. Survival analysis showed that the low scoring cohort of patients had a better prognosis than the higher scoring cohort, indicating that the level of basic drug resistance was closely related to the prognosis and drug response status in these patients. These results provide basic theoretical support for further research on the mechanism of combined chemotherapy resistance and the individualized regimen of clinical drug use in patients with CRC.

Keywords: cancer cell lines; general levels of drug resistance; MIC_{50}

癌细胞系模型被广泛用于耐药标志物的筛选及耐药机制的研究。然而,有研究发现癌细胞系通常会呈现对多种药物普遍敏感或者普遍耐药的现象,即癌细胞存在与药物作用机制无关的一般药物敏感性水平(general levels of drug sensitivity, GLDS)^[1],本文称之为基础耐药性水平(general levels of drug resistance, GLDR)。同时在临床上,肿瘤细胞对多种化学结构不同、作用机制各异的药物产生的交叉耐受现象,即多药耐药性(multidrug resistance, MDR),是造成化疗失败的重要原因^[2]。以中晚期结直肠癌为例,目前采用 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)为基础的多药联合化疗是临床一线治疗手段,然而因个体差异,约有 50% 患者对联合化疗不敏感,进而出现 MDR 现象^[3,4]。因此研究者在利用细胞系模型识别耐药标志或研究耐药机制之前,有必要评估肿瘤细胞系的基础耐药性水平,并判断其与临床药效的相关性。

随着基因芯片与二代测序等高通量检测技术的迅猛发展,产生了大量的基因表达谱数据。利用这些数据,国内外研究者已识别出一些耐药标志物^[4-6]。但上述基于基因表达值的药效评分标志物容易受实验室条件、试剂及实验操作人员等因素所造成的批次效应影响,可重现性较差,难以被应用于临床^[7]。

但基于样本内基因表达值的相对大小秩序关系(relative gene expression orderings, REO)的基因对标志物不易受到批次效应的影响,具有很强的稳健性,在癌病的分子诊断与预后评估中应用价值明显^[8]。

本研究将根据 CRC 细胞系对不同药物 IC_{50} 值的中值,构建一个基础耐药性水平评估指标 MIC_{50} ,并识别出 MIC_{50} 相关基因;然后基于 MIC_{50} 相关基因对的 REO 构建 CRC 组织的基础耐药性评分模型,以评估基础耐药性水平与临床上以 5-FU 基础的联合化疗药效的相关性,以期对 CRC 联合化疗耐药机制的研究及临床个体化用药提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用到的细胞系数据来自 Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC, <http://www.cancerrxgene.org/>)数据库,该数据库共收录 1074 例肿瘤细胞系(含 48 例 CRC 细胞系)的基因表达谱数据及对应 265 种药物的 IC_{50} 值。265 种药物包括 24 种化疗药物与 241 种靶向药物。接受 5-FU 基础的联合化疗的 CRC 组织表达谱数据来自 Gene Expression Omnibus (GEO)数据库,具体信息如表 1 所示。

表 1 CRC 组织样本数据描述

Table 1 The data description of CRC tissue samples

数据集	平台	样本数	联合用药样本	用药类型	文献
GSE72968	GPL570	68	68 ^a	FUFOL/FOLFOX/FOLFIRI	[9]
GSE72969	GPL570	56	28 ^b	FOLFOX/FOLFIRI/FOLFIRINOX	[10]
GSE28702	GPL570	83	56 ^c	FOLFOX	[11]

a: 68 个联合用药样本, 包含 37 个响应样本和 31 个不响应样本, 有生存信息; b: 28 个联合用药样本, 包含 14 个响应样本和 14 个不响应样本, 有生存信息; c: 56 个联合用药样本, 包含 31 个响应样本和 25 个不响应样本, 无生存信息。

1.2 评估细胞系基础耐药性水平

构建指标 MIC₅₀ 表示细胞系对所有药物的基础耐药性水平(公式 1):

$$\text{MIC}_{50} = \text{Median}(\text{IC}_{50}(i, j)) \quad (1)$$

其中 i 代表第 i 个癌细胞系, j 代表第 j 种药物, $\text{IC}_{50}(i, j)$ 为第 i 个癌细胞系经药物 j 处理的 IC₅₀ 值, 利用 Spearman 相关性分析计算 CRC 细胞系中 265 种药物中任意两种药物间 IC₅₀ 值的相关系数。

1.3 MIC₅₀ 相关基因的筛选及蛋白质互作分析

在 CRC 细胞系的基因表达谱中, 利用 Spearman 相关识别表达值与 MIC₅₀ 显著相关的基因($P < 0.05$), 其中将相关系数大于 0.3 的基因定义为基础耐药相关基因。使用基因注释工具 Metascape (<http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)对基础耐药相关基因进行蛋白质互作与功能富集分析^[12]。

1.4 基于 MIC₅₀ 相关基因对构建基础耐药评分模型

将上述基础耐药相关基因进行两两组合, 构成基因对(gene pair, GP)。假设某一相关基因对由基因 a 和基因 b 组成, E_a 和 E_b 分别表示该基因的表达值, 根据每个 GP 的 REO, 将 48 种 CRC 细胞系分为 1 或 0 的两组。例如, $E_a > E_b$, 分类标签为 1; 反之, 分类标签为 0。控制 $\text{FDR} < 0.2$, 采用 T 检验判断两组细胞系的 MIC₅₀ 是否存在显著的差异。若存在显著的差异, 则判定该基因对的 REO 与 MIC₅₀ 相关。定义所有 MIC₅₀ 相关基因对为基础耐药相关基因对, 并将其方向调整一致(即以 $G_a > G_b$ 表示基础耐药模式, 支持结直肠癌细胞系具有较高基础耐药水平)。

以 GSE72968 为训练集, 评价基础耐药相关基

因对的 REO 与临床 CRC 组织样本联合用药响应状态间的对应关系。若 $G_a > G_b$, 则支持 CRC 组织具有相对较高的基础耐药水平, 将样本标记为不响应; 反之, 则标记为响应。将判定的分类标签与 CRC 组织样本真实的响应状态进行比较, 分别计算每个基础耐药相关基因对的敏感性(sensitivity)、特异性(specificity)和 F-score (公式 2), 判断其对 CRC 组织样本联合化疗响应状态的分类效能。

$$\text{F-score} = 2 \times \frac{\text{sensitivity} \times \text{specificity}}{\text{sensitivity} + \text{specificity}} \quad (2)$$

提取 $\text{F-score} > 0.5$ 的基础耐药相关基因对, 采用顺序前向搜索(sequential forward selection, SFS)获得具有最优分类效能的特征基因对组合, 定义为 5-FU-based 基础耐药相关基因对(具体流程详见图 1)。然后计算上述所有 5-FU-based 基础耐药相关

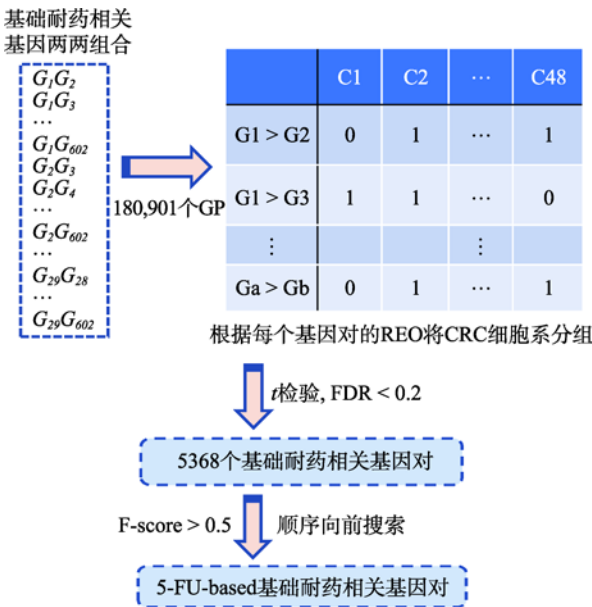


图 1 5-FU-based 基础耐药相关基因对筛选流程图
Fig. 1 The flow chart of screening 5-Fu-based general drug resistance related genes

基因对的基础耐药模式在组织样本中的保持频率,即为 CRC 组织样本的 5-FU-based 基础耐药评分。

1.5 统计分析

采用 Benjamini-Hochberg(BH)法计算多重假设检验的假阳性发生率(false discovery rate, FDR)^[13]。以每个数据集中所有组织样本基础耐药评分的算术平均值为阈值,将高于阈值的样本归为高基础耐药组(高分组),否则归为低基础耐药组(低分组)。通过 χ^2 检验判断两组 CRC 组织样本对 5-FU 基础化疗方案的响应信息是否存在显著差异。采用 Kaplan-Meier 方法评估两类患者的生存率,绘制患者的生存曲线图;log-rank 检验判断两组患者的生存率是否存在显著差异;单变量 Cox 比例风险回归模型用于计算风险比(hazard rate, HR)以及 HR 的 95%置信区间(confidence intervals, CIs)。使用 R 软件 3.5.1 版进行上述统计分析。

2 结果与分析

2.1 CRC 细胞系基础耐药水平评估

采用 Spearman 相关性分析,控制 $FDR < 0.05$,计算 CRC 细胞系中任意两种药物的 IC_{50} 值的相关性,结果发现全部药物中的 8204 对药物组合的 IC_{50} 值存在显著相关性,其中 99.80% (8185 对)呈显著正相关;靶向药物中 6770 对药物组合的 IC_{50} 值存在显著相关性,占比 99.76%;化疗药物中药物间的 IC_{50} 值相关系数则 100%呈正相关(表 2)。结果表明,若 CRC 细胞系对某种药物的 IC_{50} 值高(或低),则对其他药物的 IC_{50} 值也倾向于高(或低)。药物之间 IC_{50} 值普遍存在的正相关关系,支持 CRC 细胞系存在基础耐药性水平的假设。

表 2 CRC 细胞系药物两两间 IC_{50} 的相关系数
Table 2 Correlation coefficients of IC_{50} between drug pairwise

药物类型	总相关系数数目	正相关系数数目	正相关系数比例(%)
全部药物	8204	8185	99.80
靶向药物	6770	6754	99.76
化疗药物	107	107	100

2.2 MIC_{50} 相关基因的筛选与蛋白质互作分析

控制 $P < 0.05$,采用 Spearman 相关分析得到 1576 个表达与 CRC 细胞系 MIC_{50} 显著相关的基因。将相关系数大于 0.3 的 602 个基因定义为基础耐药相关基因。通过基因注释工具 Metascape 进行蛋白质互作分析,并利用分子复合体(MCODE) 算法识别密切联系的网络组分^[14],从 602 个基因中识别出 12 个功能模块(图 2)。

根据网络连通度排名,前 4 个 MCODE 包含的基因主要涉及的功能通路如表 3 所示。其中,MCODE1 和 MCODE3 模块中的基因与 G 蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)关系密切;MCODE2 模块中的基因涉及嘧啶(pyrimidine)、碳、磷酸核糖等代谢功能,即与细胞自身代谢相关;而 MCODE4 则主要与 mRNA 剪接相关。已有研究表明上述功能与肿瘤耐药有密切联系,如:激活 Gli 分子可通过平滑受体(smoothened, SMO)介导的 GPCR 样信号引起肿瘤细胞获得性耐药的产生^[15];嘧啶代谢通路能够促进化疗药物 5-FU 的代谢,进而导致耐药^[16];一些特定基因(*CD19*、*BIM* 和 *BRAF*)的可变剪接可导致相应治疗的失败^[17]。

2.3 CRC 组织样本的基础耐药水平与临床药效的相关性评价

将 602 个基础耐药相关基因组合,共得到 180 901 个基因对。利用 t 检验,控制 $FDR < 0.2$,从中得到了 5368 对基础耐药相关基因对。以 GSE72968 为训练集,从基础耐药基因对中筛选出 21 对 5-FU-based 基础耐药基因对,建立临床 CRC 组织样本的 5-FU-based 基础耐药评分模型(表 4)。

根据基础耐药评分模型,将训练集 GSE72968 的患者划分为基础耐药低分组(25 例)和基础耐药高分组(43 例),其中低分组患者表现为用药响应的有 21 例,高分组患者表现为用药响应的仅有 16 例。 χ^2 检验结果表明基础耐药高、低分两组患者对基于 5-Fu 联合用药的响应信息率有显著差别($P = 0.00019$),即基础耐药高分组的患者对 5-FU 联合用药的响应率显著低于基础耐药低分组的患者(表 5)。这一结果在数据集 GSE72969 与 GSE28702 中得到了验证(表 5),即基础耐药低分组患者对 5-FU 联合

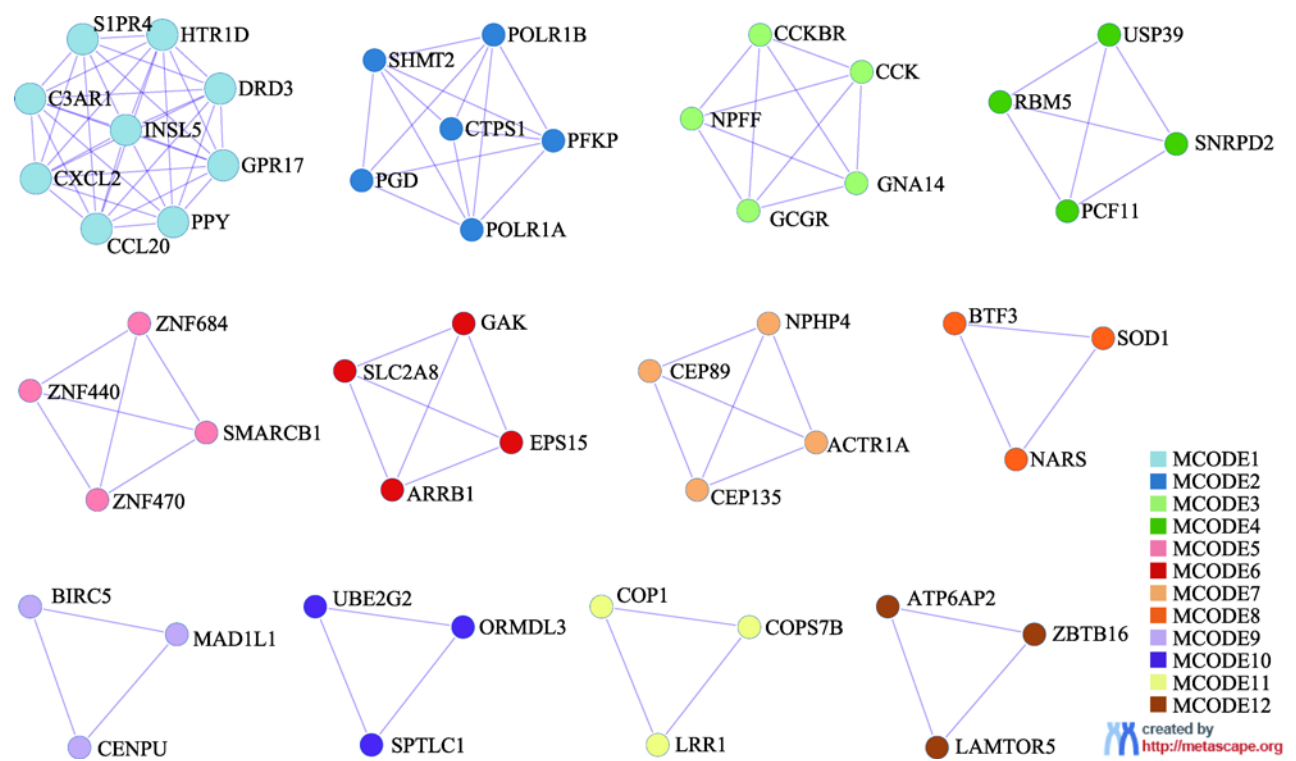


图 2 基础耐药相关基因的蛋白质互动与 MCODE 识别

Fig. 2 Protein interaction and MCODE recognition of the general drug resistance related genes

表 3 每个 MCODE 涉及基因的通路富集

Table 3 Pathway enrichment of genes that each MCODE involves

MCODE	通路 ID	通路名称	Log ₁₀ (P)值
1	R-HSA-373076	视紫红质样受体(class A/1 (rhodopsin-like receptors))	-16.9
1	R-HSA-418594	G alpha (i)信号事件(G alpha (i) signalling events)	-16
1	R-HSA-500792	GPCR 配体结合(GPCR ligand binding)	-15.5
2	hsa00240	嘧啶代谢(pyrimidine metabolism)	-5.8
2	hsa01200	碳代谢(carbon metabolism)	-5.7
2	GO:0019693	磷酸核糖代谢过程(ribose phosphate metabolic process)	-5.3
3	R-HSA-416476	G alpha (q)信号事件(G alpha (q) signalling events)	-10.3
3	R-HSA-500792	GPCR 配体结合(GPCR ligand binding)	-6.2
3	R-HSA-375276	肽配体结合受体(peptide ligand-binding receptors)	-5.3
4	R-HSA-72163	mRNA 剪接-主要途径(mRNA Splicing-Major Pathway)	-8.5
4	R-HSA-72172	mRNA 剪接(mRNA Splicing)	-8.4
4	R-HSA-72203	mRNA 前体加工(processing of capped intron-containing pre-mRNA)	-8.0

每个 MCODE 中分别选择 Log₁₀(P)值最小的 3 个通路。

用药的响应率也显著高于基础耐药高分组(χ^2 检验, $P < 0.05$)。以上结果说明患者基础耐药水平的高低与 5-FU 联合用药的临床响应信息显著相关。

此外, 上述数据集中包含 96 例有生存信息的样

本, 其中基础耐药低分组 39 例、高分组 57 例。生存分析结果表明: 低分组患者的无进展生存时间 (progression-free survival, PFS)显著长于高分组患者 (10 个月的无进展生存率 66.7% vs. 28%, HR = 1.86,

$P = 0.00423$, 图 3A)。另外, 低分组患者的总体生存时间(overall survival, OS)也显著长于高分组患者(30 个月的总体生存率 48.7% vs. 21%, $HR = 1.78$, $P = 0.0182$, 图 3B)。以上说明基础耐药水平的高低与患者联合用药的获益也显著相关, 且低基础耐药水平的患者倾向于预后良好。

3 讨论

癌细胞系实验常用于药物敏感性测试与药效标志的筛选。目前研究者已构建了许多大型药物敏感性数据库, 如 Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC)、Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)和

表 4 5-FU-based 基础耐药评分模型包含的基因对

Table 4 Gene pairs included in 5-FU-based general drug resistance score model

序号	基因对(Ga > Gb)	序号	基因对(Ga > Gb)	序号	基因对(Ga > Gb)
1	<i>BATF2</i> > <i>HDDC2</i>	8	<i>LRP4</i> > <i>ASMTL</i>	15	<i>TBC1D2B</i> > <i>ESPNL</i>
2	<i>BATF2</i> > <i>TAZ</i>	9	<i>SIM2</i> > <i>MBD2</i>	16	<i>TNFAIP8</i> > <i>KCNH2</i>
3	<i>BATF2</i> > <i>TULP3</i>	10	<i>SPRR2G</i> > <i>LMTK3</i>	17	<i>TMEM38B</i> > <i>SLC26A3</i>
4	<i>CELSR3</i> > <i>AGTRAP</i>	11	<i>WFS1</i> > <i>GOLT1A</i>	18	<i>TMEM38B</i> > <i>PCF11</i>
5	<i>EPHX2</i> > <i>KCNH2</i>	12	<i>IL1RL2</i> > <i>OR1D2</i>	19	<i>RHOA</i> > <i>PCF11</i>
6	<i>GSTM3</i> > <i>NID1</i>	13	<i>IL1RL2</i> > <i>ZDHHC14</i>	20	<i>HMGB4</i> > <i>SMIM10</i>
7	<i>GSTM3</i> > <i>NOD1</i>	14	<i>PREB</i> > <i>TMEM60</i>	21	<i>CCDC17</i> > <i>FAM110B</i>

Ga > Gb 支持 CRC 组织具有相对较高的基础耐药水平。

表 5 基础耐药性水平与样本响应信息的相关性评价

Table 5 The correlation between general drug resistance level and drug response information of samples

数据集	样本数	低分组响应率	高分组响应率	P 值
GSE72968	68	84% (21/25)	37.2% (16/43)	0.00019
GSE72969	28	71.4% (10/14)	28.5% (4/14)	0.02334
GSE28702	56	76% (19/25)	38.7% (12/31)	0.00526

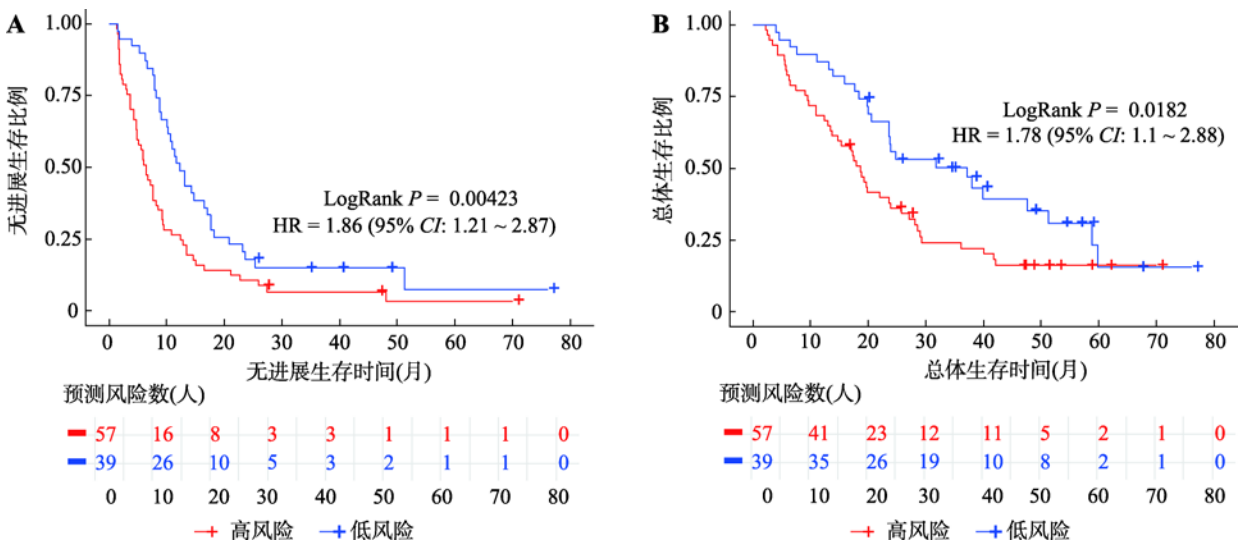


图 3 组织样本的 5-FU-based 基础耐药评分对患者生存时间的预测

Fig. 3 Prediction of survival time of patients with 5FU-based general drug resistance scores in tissue samples

A: 无进展生存时间(PFS)预测; B: 总体生存时间(OS)预测。

Cancer Therapeutics Response Portal (CTRP)数据库等,旨在通过这些数据库来实现精准医学的研究。Geleher 等^[1]通过对 CCLE、CTRP 和 CRP 等数据库进行分析,发现不同药物的 IC₅₀ 值之间普遍存在正相关关系,但是该研究未单独针对某特定癌种的细胞系进行系统分析。本研究通过计算 GDSC 数据库中 48 例 CRC 细胞系对应 265 种药物彼此间 IC₅₀ 值的 Spearman 相关系数,结果表明不同药物的 IC₅₀ 值之间的正相关比例高达 99.80%。值得注意的是,265 种药物包括氟尿嘧啶、顺铂(cisplatin)和紫杉醇(paclitaxel)等 24 种传统化疗药物,及吉非替尼(gefitinib)、索拉菲尼(sorafenib)和阿法替尼(afatinib)等 241 种靶向作用药物,其作用机制各有不同,说明 CRC 细胞系存在某种与药物作用机制无关的基础耐药特征。

绝大多数以癌细胞系为基础的临床前药效模型,虽然经过大量的实验验证,但仍在 3 期临床试验中失败^[18]。研究者分析了诸多可能导致药效模型的失败原因,如:细胞系在培养过程中发生未知的遗传变异^[19],或者培养未能包含肿瘤微环境的关键组分,再或者是丢失了在原发组织中的肿瘤异质性特征^[18]。然而,癌细胞系的基础耐药性水平(GLDR)并未受到广大研究者重视。本研究初步证实一种癌细胞系对所有药物的 IC₅₀ 值的中值(即 MIC₅₀)可以较好地代表

其基础耐药性水平,并根据 48 种 CRC 细胞系的 MIC₅₀ 值,识别出 602 个 CRC 基础耐药相关基因。通过蛋白质网络互动与功能富集发现,4 个主要的基因功能模块(MOCODE)都与肿瘤耐药相关。另外,Tong 等^[20]根据 6 对基因组成预后标志,可将 NCI-60 中的 58 细胞系分为耐药或敏感细胞系,其中 7 种结直肠癌细胞系(HCT-116、COL205、SW620、HT29、KM12、HCC2998 和 HCT-15)均被判定为敏感。而事实上,若根据 MIC₅₀ 值对本研究中的 48 种 CRC 细胞系进行高低排序,将排序前 50% 的细胞系归为低基础耐药组,Tong 等^[20]报道的 7 种结直肠癌细胞系都被分为低分组,且有 5 种排序在前 20% (图 4),说明 CRC 癌细胞系的 MIC₅₀ 值与临床药效标志的识别关系紧密。因此,在使用癌细胞系进行药敏测试或耐药标志的筛选时,有必要预先评估癌细胞系的基础 GLDR。

此外,Geleher 等^[1]发现通过主成分分析的方法校正细胞药物敏感性的一般水平(GLDS),可显著改进药物特异性药效标志的识别。Marc 等^[21]发现校正细胞周期因素也能够显著改进药效标志的识别,并建立一个判断药物敏感性的新指标 GR₅₀。但上述研究建立的校正方法需要遵循严格的实验方案,难以实现跨数据集的应用,也难以对临床组织样本进行个体化分析。相比之下,本研究提出的基于 MIC₅₀

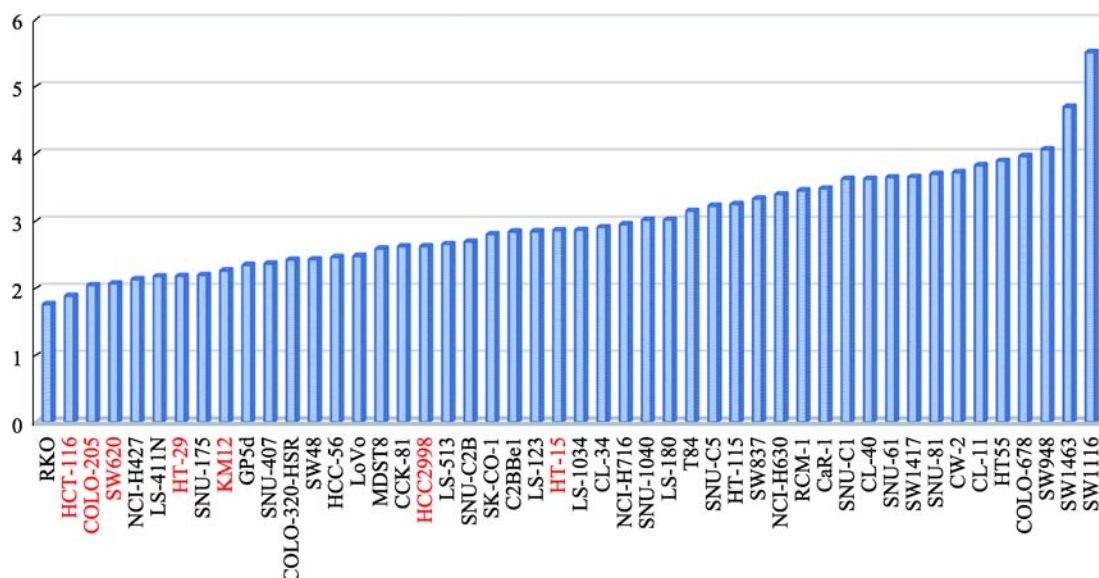


图4 CRC 细胞系的 MIC₅₀ 值分布图

Fig. 4 Distribution of MIC₅₀ values of CRC cell lines

Tong 等^[20]报道的 7 种结直肠癌细胞系名称已标为红色。

相关基因对(基础耐药相关基因对) REO 的评分模型可以对临床组织样本的基础耐药水平进行评估,具有一定的临床应用价值。通过对联合用药响应信息的分析,表明该评分模型能够有效评价 CRC 患者对基于 5FU 的联合用药的基础耐药水平。同时,经文献检索发现该评分模型中的大多数基因都与癌的发生发展、预后或者辅助化疗的耐药相关,如: *TULP3* 基因在 CRC 组织中的表达显著高于癌旁组织,且该基因的表达与血管及淋巴结侵袭相关,是一个潜在的 CRC 诊断与预后生物标志^[22]; *AGTRAP* 基因的表达与结肠癌及黑色素瘤患者的预后呈负相关^[23]; *TNFAIP8* 基因编码的 SCC-S2 蛋白是结肠癌组织中的一种重要的癌蛋白,在维持结肠癌细胞的恶性增生中发挥重要作用^[24],并且 Wang 等^[25]发现根据该蛋白的表达情况可预测卵巢癌患者新辅助化疗的耐药及预后; *BATF2* 作为一种肿瘤抑制因子,在肺腺癌、结直肠癌、食管癌中均得到了验证,近来有研究者发现 *BATF2* 可以通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号逆转胃癌细胞的多药耐药^[26]; *LMTK3* 是一种致癌激酶,涉及乳腺癌、肺癌和结直肠癌等多种癌症,其过表达能够降低乳腺癌细胞系对化疗药物的敏感性^[27]。但上述基因均尚未在 CRC 中进行较为系统的耐药研究,其更深层次的遗传机制值得进一步关注。

综上所述, CRC 细胞系存在基础耐药特征,且组织样本的基础耐药性水平与 5-FU 联合用药患者的预后及药物响应状态密切相关。但根据 MIC_{50} 值校正基础耐药性水平后, CRC 细胞系对药物特异的耐药机制分析及与临床的相关性评价尚待后续研究。

参考文献(References):

- [1] Geeleher P, Cox NJ, Huang RS. Cancer biomarker discovery is improved by accounting for variability in general levels of drug sensitivity in pre-clinical models. *Genome Biol*, 2016, 17(1): 190. [DOI]
- [2] Zhang CY, Feng YX, Li P, Fu SB. Study on the relationship between the resistance to MTX and the transport protein superfamily of ATP-binding cassette that induces multiple drug resistance. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(10): 1201–1205.
张春玉, 冯源熙, 李璞, 傅松滨. 介导多药耐药的 ABC 转运蛋白超家族与 MTX 耐药性的关系研究. *遗传*, 2006, 28(10): 1201–1205. [DOI]
- [3] Guo Q, Cao H, Qi X, Li H, Ye P, Wang Z, Wang D, Sun M. Research progress in reversal of tumor multi-drug resistance via natural products. *Anticancer Agents Med Chem*, 2017, 17(11): 1466–1476. [DOI]
- [4] Li ST, Lu XR, Chi P, Pan J. Identification of HOXB8 and KLK11 expression levels as potential biomarkers to predict the effects of FOLFOX4 chemotherapy. *Future Oncol*, 2013, 9(5): 727–736. [DOI]
- [5] Criscitiello C, Bayar MA, Curigliano G, Symmans FW, Desmedt C, Bonnefoi H, Sinn B, Pruneri G, Vicier C, Pierga JY, Denkert C, Loibl S, Sotiriou C, Michiels S, André F. A gene signature to predict high tumor-infiltrating lymphocytes after neoadjuvant chemotherapy and outcome in patients with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*, 2018, 29(1): 162–169. [DOI]
- [6] Watanabe T, Kobunai T, Yamamoto Y, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, Iinuma H, Konishi T, Horie H, Ikeuchi H, Eshima K, Muto T. Gene expression signature and response to the use of leucovorin, fluorouracil and oxaliplatin in colorectal cancer patients. *Clin Transl Oncol*, 2011, 13(6): 419–425. [DOI]
- [7] Qi LS, Chen LB, Li Y, Qin Y, Pan RF, Zhao WY, Gu YY, Wang HW, Wang RP, Chen XQ, Guo Z. Critical limitations of prognostic signatures based on risk scores summarized from gene expression levels: a case study for resected stage I non-small-cell lung cancer. *Brief Bioinform*, 2016, 17(2): 233–242. [DOI]
- [8] Eddy JA, Sung J, Geman D, Price ND. Relative expression analysis for molecular cancer diagnosis and prognosis. *Technol Cancer Res Treat*, 2010, 9(2): 149–159. [DOI]
- [9] Del Rio M, Mollevi C, Martineau P. Molecular subtypes of metastatic colorectal cancer are predictive of patient response to chemo and targeted therapies (part 1). NCBI, GEO, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE72968>. [DOI]
- [10] Del Rio M, Mollevi C, Martineau P. Molecular subtypes of metastatic colorectal cancer are predictive of patient response to chemo and targeted therapies (part 2). NCBI, GEO, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE72969>. [DOI]
- [11] Shingo Tsuji. CRC samples for FOLFOX therapy prediction. NCBI, GEO, 2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE28702>. [DOI]
- [12] Zhou YY, Zhou B, Pache L, Chang M, Khodabakhshi AH, Tanaseichuk O, Benner C, Chanda SK. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-

- level datasets. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523. [DOI]
- [13] Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B*, 1995, 57(1): 289–300. [DOI]
- [14] Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 2. [DOI]
- [15] Zhan X, Wang J, Liu Y, Peng YQ, Tan WF. GPCR-like signaling mediated by smoothened contributes to acquired chemoresistance through activating Gli. *Mol Cancer*, 2014, 13: 4. [DOI]
- [16] Shigeta K, Ishii Y, Hasegawa H, Okabayashi K, Kitagawa Y. Evaluation of 5-fluorouracil metabolic enzymes as predictors of response to adjuvant chemotherapy outcomes in patients with stage II/III colorectal cancer: a decision-curve analysis. *World J Surg*, 2014, 38(12): 3248–3256. [DOI]
- [17] Siegfried Z, Karni R. The role of alternative splicing in cancer drug resistance. *Curr Opin Genet Dev*, 2018, 48: 16–21. [DOI]
- [18] Wilding JL, Bodmer WF. Cancer cell lines for drug discovery and development. *Cancer Res*, 2014, 74(9): 2377–2384. [DOI]
- [19] Daniel VC, Marchionni L, Hierman JS, Rhodes JT, Devereux WL, Rudin CM, Yung R, Parmigiani G, Dorsch M, Peacock CD, Watkins DN. A primary xenograft model of small-cell lung cancer reveals irreversible changes in gene expression imposed by culture *in vitro*. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3364–3373. [DOI]
- [20] Tong M, Zheng W, Li H, Li X, Ao L, Shen Y, Liang Q, Li J, Hong G, Yan H, Cai H, Li M, Guan Q, Guo Z. Multi-omics landscapes of colorectal cancer subtypes discriminated by an individualized prognostic signature for 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Oncogenesis*, 2016, 5(7): e242. [DOI]
- [21] Hafner M, Niepel M, Subramanian K, Sorger PK. Designing drug-response experiments and quantifying their results. *Curr Protoc Chem Biol*, 2017, 9(2): 96–116. [DOI]
- [22] Sartor ITS, Recamonde-Mendoza M, Ashton-Prolla P. *TULP3*: A potential biomarker in colorectal cancer? *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210762. [DOI]
- [23] Zeng H, Li H, Zhao YN, Chen LY, Ma XL. Transcripto-based network analysis reveals a model of gene activation in tongue squamous cell carcinomas. *Head Neck*, 2019, 41(12): 4098–4110. [DOI]
- [24] Miao ZF, Zhao TT, Wang ZN, Xu YY, Song YX, Wu JH, Xu HM. *SCC-S2* is overexpressed in colon cancers and regulates cell proliferation. *Tumour Biol*, 2012, 33(6): 2099–2106. [DOI]
- [25] Wang J, Gao HY, Liu GH, Gu LN, Yang C, Zhang FM, Liu TB. Tumor necrosis factor α -induced protein 8 expression as a predictor of prognosis and resistance in patients with advanced ovarian cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Hum Pathol*, 2018, 82: 239–248. [DOI]
- [26] Yang W, Wu B, Ma N, Wang YF, Guo JH, Zhu J, Zhao SH. *BATF2* reverses multidrug resistance of human gastric cancer cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2019, 55(6): 445–452. [DOI]
- [27] Stebbing J, Shah K, Lit LC, Gagliano T, Ditsiou A, Wang T, Wendler F, Simon T, Szabó KS, O'Hanlon T, Dean M, Roslani AC, Cheah SH, Lee SC, Giamas G. *LMTK3* confers chemo-resistance in breast cancer. *Oncogene*, 2018, 37(23): 3113–3130. [DOI]

(责任编辑: 卢大儒)