

# 晚期非小细胞肺癌预后相关基因对顺铂及紫杉醇敏感性分析

马书杰<sup>1</sup>, 张斯娜<sup>2</sup>(1.河南理工大学医学院, 河南 焦作 454000; 2.淄博市疾病预防控制中心, 山东 淄博 255026)

**摘要:** 目的 利用生物信息学方法探讨晚期非小细胞肺癌预后相关基因的表达与化疗药物紫杉醇及顺铂敏感性变化的相关性。方法 通过肿瘤基因组图谱数据库下载非小细胞肺癌病例的基因表达谱与相应的临床信息。筛选正常组织样本和癌组织样本之间的差异表达基因。加权基因共表达网络分析确定与临床分期相关的枢纽基因, 单因素 Cox 分析确定预后相关的差异表达基因。通过抗癌药物敏感性基因组学数据库下载整合非小细胞肺癌细胞系的表达量及细胞系与药物反应的基因数据, 分析非小细胞肺癌预后和临床分期都相关的差异表达基因对紫杉醇及顺铂药物敏感度的相关性。结果 鉴定出 4 个基因与紫杉醇敏感性反应具有相关性; 8 个基因与顺铂敏感性反应具有相关性。*SPATS2* 和 *CA3* 表达量的变化与紫杉醇及顺铂敏感性反应均具有相关性, *CA3* 表达量的增加对紫杉醇及顺铂耐药性增强, *SPATS2* 表达量的增加对紫杉醇及顺铂敏感性增强。结论 晚期非小细胞肺癌患者 *CA3* 和 *SPATS2* 基因的表达量的增加对紫杉醇及顺铂的药物作用活性分别是耐药性增强和敏感性增强。

**关键词:** 非小细胞肺癌; 预后; 顺铂; 紫杉醇; 敏感性

中图分类号: R965.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)08-1115-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20220613

引用本文: 马书杰, 张斯娜. 晚期非小细胞肺癌预后相关基因对顺铂及紫杉醇敏感性分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(8): 1115-1122.

## Sensitivity Analysis of Genes Related to Prognosis of Advanced Non-small Cell Lung Cancer to Cisplatin and Paclitaxel

MA Shujie<sup>1</sup>, ZHANG Sina<sup>2</sup>(1.School of Medicine, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China; 2.Zibo Center for Disease Control and Prevention, Zibo 255026, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the correlation between the expression of prognostic genes in advanced non-small cell lung cancer and the sensitivity changes of the paclitaxel and cisplatin of chemotherapy drugs by using bioinformatics methods. **METHODS** Download the gene expression profile and corresponding clinical information of non-small cell carcinoma cases through the the cancer genome atlas. Screen hub gene between normal tissue samples and cancer tissue samples. Weighted gene co-expression network analysis determined pivot genes related to clinical stage, and univariate Cox analysis determined differential gene related to prognosis. Download genomics of drug sensitivity in cancer to integrate the expression data of non-small cell lung cancer cell line and the genetic data of cell line and drug response, to analyze the correlation between the differential gene expression related to the prognosis and clinical stage of non-small cell lung cancer to the sensitivity of paclitaxel and cisplatin drugs. **RESULTS** Four genes were identified to be related to paclitaxel sensitivity reaction; eight genes were related to cisplatin sensitivity reaction. Changes in the expression levels of *SPATS2* and *CA3* were correlated with the sensitivity responses of paclitaxel and cisplatin. Increased expression levels of *CA3* increased resistance to paclitaxel and cisplatin. Increased expression levels of *SPATS2* increased sensitivity to paclitaxel and cisplatin. **CONCLUSION** The increased expression of *CA3* and *SPATS2* genes in patients with advanced non-small cell lung cancer have enhanced drug resistance and increased sensitivity to paclitaxel and cisplatin, respectively.

**KEYWORDS:** non-small cell lung cancer; prognosis; cisplatin; paclitaxel; sensitivity

肺癌仍然是最常见的恶性肿瘤, 也是中国乃至全世界癌症死亡的主要原因之一<sup>[1-2]</sup>。其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌的 80%, 腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)和鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)是 NSCLC 的 2 种主要组织学亚型<sup>[3-4]</sup>。虽然研究人员已经做了很多努力来改进诊断方法和手

术技术并开发新的化疗和分子靶向治疗药物, 但 NSCLC 患者的 5 年总生存率<18%<sup>[5]</sup>, 部分原因是非小细胞癌细胞生长分裂较慢, 扩张转移相对较晚, 且病情初期并无明显症状, 导致大多数患者在发现时已处于晚期<sup>[6]</sup>, 失去治疗的最佳时机。因此, 针对非小细胞肺癌的治疗多采用铂类为基础的联合治疗方案, 临床以顺铂联合紫杉醇最为常

作者简介: 马书杰, 女, 硕士, 讲师 E-mail: shujma@126.com

见<sup>[7-8]</sup>。随着顺铂或紫杉醇剂量增加,机体产生较多的不良反应且肿瘤细胞产生耐药性,其抗肿瘤性明显减低,导致化疗有效率明显降低<sup>[9]</sup>。因此,本研究利用肿瘤基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)和抗癌药物敏感性基因组学(genomics of drug sensitivity in cancer, GDSC)数据库非小细胞肺癌样本的基因表达数据及药物敏感性数据,通过加权基因共表达网络分析和单因素Cox等方法分析差异表达基因与非小细胞肺癌预后的关系,以及针对紫杉醇和顺铂药物敏感性的关系,鉴定与顺铂及紫杉醇抵抗或敏感相关的基因,可以通过某些途径上调或下调这些基因的表达,抑制晚期非小细胞肺癌细胞对紫杉醇或顺铂的耐药性,从而提高肿瘤细胞的生长抑制率。

## 1 材料和方法

### 1.1 TCGA-LUAD 数据的收集和预处理

TCGA-LUAD 项目患者的 RNA-Seq-Counts 数据以及相应的临床信息从 Genomic Data Commons Data Portal 下载(<https://portal.gdc.cancer.gov/projects/TCGA-LUAD>)。利用 edge R 包进行基因差异表达分析,利用 edge R 包带有的 logCPM 功能筛选表达基因,即 logCPM 值>1 时(约 5~6 个 counts)被认为表达基因。应用临床特征数据时要剔除生存状态和临床分期不完整的样本,并纳入生存时间≥30 d 的数据样本。

### 1.2 方法

**1.2.1 差异表达基因筛选** 利用 R 语言中的“edgeR”包进行正常组织和癌组织间的差异表达显著性分析,通过设定差异表达阈值[logFC]>1.0 且校正后 *P* 值(FDR)<0.05]筛选差异基因,将得到的归一化差异表达基因矩阵进行后续分析。然后利用 R 语言“pheatmap”程序包对正常组织样本和非小细胞肺癌样本绘制聚类热图。

**1.2.2 加权基因共表达网络分析** 使用“WGCNA”R 软件包对非小细胞肺癌样本的差异基因表达谱进行网络构建,构建基因模块并验证其与临床分期的相关性。利用基于基因表达显著性(gene significance, GS)和模块身份(module membership, MM)的“networkScreening”函数寻找枢纽基因。通过此函数得出一系列的指标,包括编码基因与临床分期以及相关性的加权 *P* 值(*p*.Weighted),校正后的加权 *P* 值(*q*.Weighted),加权后的相关系数(cor.Weightd)以及加权相关性的

(Fisher Z)检验结果。*p*.Weighted 越小,说明基因与临床分期相关性越强。最后筛选 *q*.Weighted<0.01 为临床分期高度相关的基因。

**1.2.3 枢纽基因的生存分析** 使用“survival”R 软件对差异表达基因进行单变量 Cox 分析,确定与非小细胞肺癌患者总生存期之间相关的表达差异基因。以 *P*<0.01 筛选与非小细胞肺癌预后相关的基因。

**1.2.4 抗肿瘤药物敏感性数据** GDSC 数据库(<https://www.cancerrxgene.org/>)的数据来自 75 000 个试验,描述了约 200 个抗肿瘤药物在 1 000 多种肿瘤细胞中的反应,其中包括 64 个非小细胞肺癌细胞。下载该数据库中 4 个数据集包括“Annotated list of Cell lines”“Screened compounds”“log(IC<sub>50</sub>) and AUC values”“RMA normalised expression data for Cell lines”,将数据整合起来分析基因的表达量的变化对非小细胞肺癌细胞系敏感性的影响。以 *P*<0.05 为标准筛选紫杉醇和顺铂药物半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)具有相关性的基因。

### 1.3 统计学处理

应用加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)前,需要对归一化的表达数据进行对数转化,并预先加上 0.01 进行平滑使其转化为正态分布。使用“upsetR”R 软件包对预后和临床分期共同的相关基因做可视化交集处理。所有统计过程均在 R 软件中进行。

## 2 结果

### 2.1 临床信息数据准备

根据数据预处理中的纳排标准,在 TCGA 矩阵数据中最终纳入 482 例非小细胞肺癌患者参与预后分析。从整个临床特征信息中提取临床分期信息。临床分期属于等级数据,以字符型数据的形式存储,需要转换数字型数据的形式来适应 WGCNA 分析。TCGA 中非小细胞肺癌患者的临床特征数据信息见表 1。

表 1 LUAD 病例的临床分期信息数字化编译的结果  
Tab. 1 Results of digital compilation of clinical stage information for LUAD cases

| 临床分期      | 在 R 软件中的数字化编译 | LUAD 病例( <i>n</i> =482) |
|-----------|---------------|-------------------------|
| Stage I   | 1             | 263                     |
| Stage II  | 2             | 115                     |
| Stage III | 3             | 79                      |
| Stage IV  | 4             | 25                      |

2.2 差异表达基因筛选

本研究使用 edgeR 包提供的算法, 根据基因 Counts 数据计算得到差异表达基因列表。对 59 个癌旁和 533 个癌组织样本, 以 $|\log FC| > 1.0$  且  $FDR < 0.05$  为标准计算差异表达基因, 并通过  $\log CPM$  值 $>1$  的标准筛选得到 3 423 个差异表达基因, 其中上调基因 2 174 个, 下调基因 1 249 个, 正常组织样本和非小细胞肺癌样本绘制聚类热图, 见图 1。

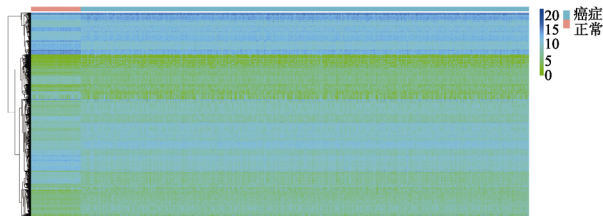


图 1 正常组织样本和非小细胞肺癌样本绘制聚类热图  
Fig. 1 Clustering heatmaps for normal tissue samples and non-small cell lung cancer samples

2.3 加权基因共表达网络分析结果

在 482 个肿瘤组织样本中 3 423 个基因表达谱用于进行共表达网络构建, 剔除 9 个离群样本后, 按照无尺度网络的标准, 本研究选择相关系数等于 0.91 的邻接矩阵权重参数(软阈值) $\beta=3$  构建基因模块(图 2), 动态树切割可以识别模块, 模块中的

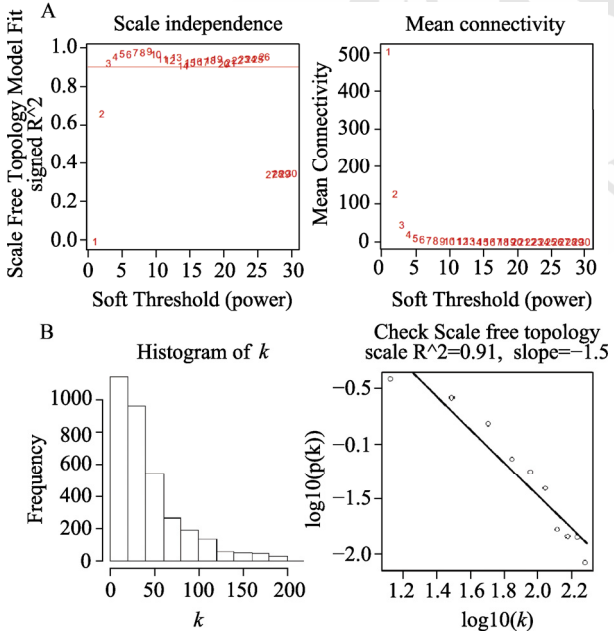


图 2 加权系数  $\beta$  以及无尺度网络特性检验  
图 A 红线显示相关系数等于 0.90,  $\beta=3$  最接近红线, 图 B 显示  $\beta=3$  时相关系数等于 0.91。  
Fig. 2 Weighting coefficient  $\beta$  and test of scale-free network characteristics  
Red line in the figure A showed that the correlation coefficient was equal to 0.90,  $\beta=3$  was the closest to the red line, and the figure B showed that the correlation coefficient was equal to 0.91 when  $\beta=3$ .

基因表达值非常相似。高度相似的模块被合并后, 一共有 11 个共表达模块被鉴定, 其大小范围从 1 个基因到 1 166 个基因, 分配每个模块一种颜色作为参考, 而模块“灰色”则保留没有共表达的基因(表 2, 图 3), 通过计算模块内各基因表达量与样本特征向量的 Pearson 相关系数, 寻找与临床分期发生显著相关的基因模块, 其中 turquoise 模块在临床分期的显著性高于其他模块(图 4), 因此 turquoise 模块与临床分期相关性较高。随后, 应用 WGCNA 的“networkScreening”函数判断枢纽基因, 研究结果显示与临床分期相关的枢纽基因有 446 个, 见表 3。

表 2 各模块基因的数量

Tab. 2 Number of genes in each module

| 模块     | black   | blue | brown | green     | greenyellow | grey |
|--------|---------|------|-------|-----------|-------------|------|
| 基因数量/个 | 143     | 626  | 480   | 197       | 90          | 1    |
| 模块     | magenta | pink | red   | turquoise | yellow      |      |
| 基因数量/个 | 103     | 139  | 183   | 1166      | 259         |      |

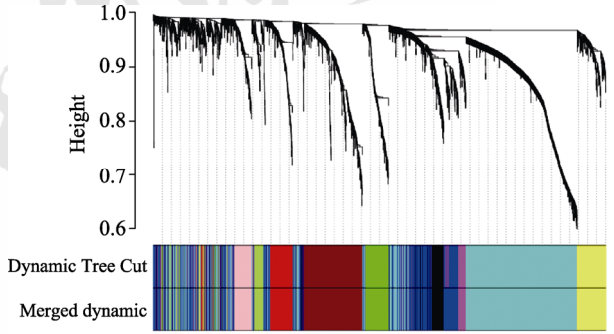


图 3 基于邻接值差异的层次聚类的基因聚类树(树状图)  
Fig. 3 Gene clustering tree(dendrogram) obtained by hierarchical clustering based on the difference of adjacent values

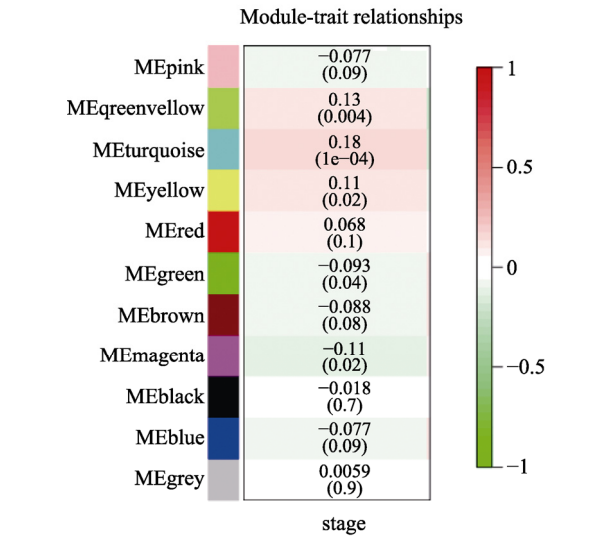


图 4 基因模块与临床分期的相关性  
Fig. 4 Correlation between gene modules and clinical stage

表 3 与临床分期相关的枢纽基因

Tab. 3 Hub genes associated with clinical stage

| 基因               | q 值    | Cor   | Z 值    |
|------------------|--------|-------|--------|
| <i>KIF23</i>     | <0.001 | 0.463 | 11.344 |
| <i>TPX2</i>      | <0.001 | 0.459 | 11.203 |
| <i>CEP55</i>     | <0.001 | 0.457 | 11.159 |
| <i>EXO1</i>      | <0.001 | 0.454 | 11.054 |
| <i>CCNB1</i>     | <0.001 | 0.454 | 11.054 |
| <i>KIF11</i>     | <0.001 | 0.452 | 11.006 |
| <i>BUB1B</i>     | <0.001 | 0.452 | 10.997 |
| <i>PLK1</i>      | <0.001 | 0.450 | 10.942 |
| <i>ARHGAP11A</i> | <0.001 | 0.449 | 10.915 |
| <i>CCNB2</i>     | <0.001 | 0.449 | 10.913 |
| <i>RRM2</i>      | <0.001 | 0.449 | 10.900 |
| <i>CCNA2</i>     | <0.001 | 0.447 | 10.856 |
| <i>HJURP</i>     | <0.001 | 0.446 | 10.823 |
| <i>NCAPG</i>     | <0.001 | 0.441 | 10.675 |
| <i>CENPA</i>     | <0.001 | 0.440 | 10.630 |

注：仅展示 q 值最小的前 15 个基因。

Note: Show only the top 15 genes with the smallest q-values.

## 2.4 枢纽基因的生存分析结果

TCGA 差异基因数据进行单因素 COX 分析，以  $P<0.01$  后筛选出 652 个基因，见表 4。临床分期是决定非小细胞肺癌患者预后的重要因素，临床分期越高，预后越差。筛选出与临床分期相关的分子生物标志物理论上属于预后相关的基因。反之，如果这些枢纽基因与预后不相关，那也不应该属于与临床分期相关的生物标志物。研究发现临床分期和预后显著相关的共同基因有 318 个，见图 5。

表 4 差异表达基因单因素 Cox 分析结果

Tab. 4 Results of univariate Cox analysis analysis of differentially expressed gene

| 基因               | HR    | Z      | P 值    |
|------------------|-------|--------|--------|
| <i>CIQTNF6</i>   | 1.501 | 5.659  | <0.001 |
| <i>EROIL</i>     | 1.527 | 5.399  | <0.001 |
| <i>ANLN</i>      | 1.342 | 5.391  | <0.001 |
| <i>LDHA</i>      | 1.703 | 5.233  | <0.001 |
| <i>ESYT3</i>     | 0.776 | -5.130 | <0.001 |
| <i>PLK1</i>      | 1.370 | 5.049  | <0.001 |
| <i>GNPNAT1</i>   | 1.610 | 5.038  | <0.001 |
| <i>DKK1</i>      | 1.131 | 5.003  | <0.001 |
| <i>ARHGAP11A</i> | 1.393 | 4.930  | <0.001 |
| <i>NTSR1</i>     | 1.143 | 4.908  | <0.001 |
| <i>RHOV</i>      | 1.207 | 4.881  | <0.001 |
| <i>HMMR</i>      | 1.348 | 4.820  | <0.001 |
| <i>GAPDH</i>     | 1.527 | 4.806  | <0.001 |
| <i>ARNTL2</i>    | 1.284 | 4.787  | <0.001 |
| <i>RGS20</i>     | 1.196 | 4.778  | <0.001 |

注：仅展示 P 值最小的前 15 个基因

Note: Show only the top 15 genes with the smallest P-values.

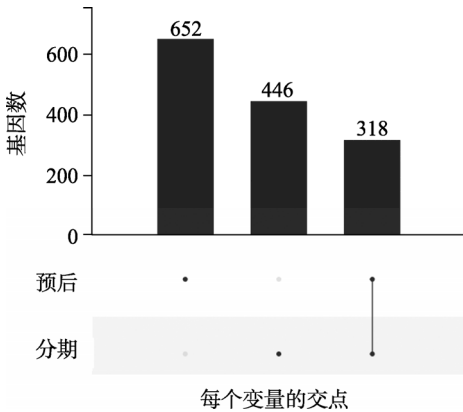


图 5 预后相关及临床分期共同基因数

Fig. 5 Number of common genes associated with prognosis and clinical stage

## 2.5 抗肿瘤药物敏感性数据结果

IC<sub>50</sub>能指示某一药物或者物质(抑制剂)在抑制某些生物程序(或者是包含在此程序中的某些物质，比如酶，细胞受体或是微生物)的半量。IC<sub>50</sub>值可以用来衡量药物诱导的能力，即诱导能力越强，该数值越低，也可以反向说明某种细胞对药物的耐受程度。GDSC 由英国桑格研究院开发，用于收集肿瘤细胞对药物的敏感度和反应<sup>[10]</sup>。

下载整合基因在非小细胞肺癌细胞系的表达量及细胞系与药物反应的数据，分析在所有非小细胞肺癌细胞系中基因表达对紫杉醇及顺铂敏感度的变化的相关性，结果显示 696 个基因表达变化对紫杉醇敏感度具有相关性( $P<0.05$ )，其中 400 个基因随着表达量的增加对紫杉醇敏感度增强，296 个基因随着表达量的增加对紫杉醇耐药性增强；787 个基因表达变化对顺铂敏感度具有相关性( $P<0.05$ )，见表 5，387 个基因随着表达量的增加对顺铂敏感度增强，400 个基因随着表达量的增加对顺铂耐药性增强，与非小细胞肺癌预后和临床分期都相关的基因中有 4 个基因(*AURKA*，*C20orf24*，*CA3*，*SPATS2*)的表达变化与紫杉醇敏感度存在相关性，与顺铂敏感度存在相关性的基因有 8 个(*SPATS2*，*METTL7A*，*MCM8*，*GAPDH*，*COL6A6*，*GPR115*，*CA3*，*SLC2A1*)，见图 6；其中 *AURKA*，*C20orf24*，*CA3* 基因对紫杉醇的耐药性随着表达量增加而增强，*SPATS2* 基因对紫杉醇的敏感性随着表达量增加而增强；*GPR115*，*CA3*，*SLC2A1* 基因对顺铂的耐药性随着表达量增加而增强，*SPATS2*，*METTL7A*，*MCM8*，*GAPDH*，*COL6A6* 基因对顺铂的敏感性随着表达量增加而

表 5 基因表达变化对紫杉醇和顺铂敏感度的相关性分析结果

Tab. 5 Correlation analysis results of gene expression changes on paclitaxel and cisplatin sensitivity

| 基因表达变化对紫杉醇敏感度的相关性 |        |        |       | 基因表达变化对顺铂敏感度的相关性 |        |        |        |
|-------------------|--------|--------|-------|------------------|--------|--------|--------|
| 基因                | Cor    | Z 值    | P 值   | 基因               | Cor    | Z 值    | P 值    |
| <i>ANXA1</i>      | -0.813 | -3.058 | 0.002 | <i>PA2G4</i>     | -0.555 | -3.679 | <0.001 |
| <i>EOMES</i>      | 0.910  | 3.014  | 0.003 | <i>SLC25A3</i>   | -0.513 | -3.401 | <0.001 |
| <i>MED19</i>      | -0.792 | -2.984 | 0.003 | <i>TACR2</i>     | 0.511  | 3.383  | <0.001 |
| <i>REXO4</i>      | -0.785 | -2.959 | 0.003 | <i>LRPPRC</i>    | -0.508 | -3.368 | <0.001 |
| <i>ACE</i>        | 0.887  | 2.933  | 0.003 | <i>SH3RF1</i>    | 0.506  | 3.350  | <0.001 |
| <i>CAMSAP1</i>    | -0.773 | -2.917 | 0.004 | <i>SPATS2</i>    | -0.502 | -3.328 | <0.001 |
| <i>TBRG1</i>      | -0.766 | -2.892 | 0.004 | <i>CAB39</i>     | 0.499  | 3.303  | 0.001  |
| <i>PIK3CA</i>     | -0.765 | -2.889 | 0.004 | <i>ZNF646</i>    | 0.496  | 3.284  | 0.001  |
| <i>CEP19</i>      | -0.765 | -2.889 | 0.004 | <i>STOML2</i>    | -0.493 | -3.269 | 0.001  |
| <i>JMY</i>        | -0.764 | -2.885 | 0.004 | <i>FAM71E1</i>   | 0.492  | 3.257  | 0.001  |
| <i>GEMIN2</i>     | -0.759 | -2.868 | 0.004 | <i>C1orf116</i>  | 0.487  | 3.224  | 0.001  |
| <i>OR2Z1</i>      | 0.863  | 2.849  | 0.004 | <i>YES1</i>      | -0.486 | -3.222 | 0.001  |
| <i>FAM206A</i>    | -0.750 | -2.836 | 0.005 | <i>SYTL2</i>     | 0.482  | 3.191  | 0.001  |
| <i>ZNF345</i>     | -0.749 | -2.832 | 0.005 | <i>LSM14A</i>    | -0.479 | -3.176 | 0.002  |
| <i>PTPN13</i>     | -0.747 | -2.825 | 0.005 | <i>CDH3</i>      | 0.478  | 3.164  | 0.002  |

注：仅展示 P 值最小的前 15 个基因。

Note: Show only the top 15 genes with the smallest P-values.

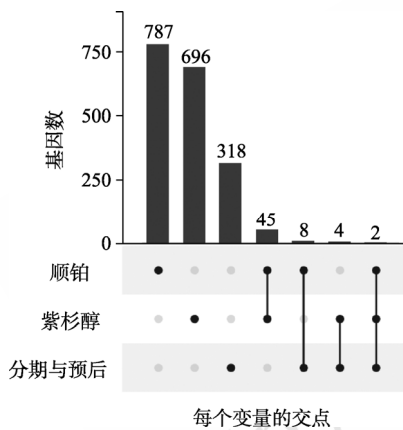


图 6 临床分期预后相关基因与紫杉醇以及顺铂药物敏感度存在相关性的共同基因

Fig. 6 Common genes associated with clinical stage prognosis-related genes and sensitivity to paclitaxel and cisplatin

增强，见图 7。*CA3* 和 *SPATS2* 基因的表达量变化与紫杉醇及顺铂敏感性反应均具有相关性，即 *CA3* 表达量的增加对紫杉醇及顺铂耐药性增强，*SPATS2* 表达量的增加对紫杉醇及顺铂敏感性增强。

## 2.6 10 个基因的分析结果

从 10 个基因的分析中可以得出，随着临床分

期等级的升高，*GPR115*、*MCM8*、*SLC2A1*、*GAPDH*、*AURKA*、*C20orf24* 和 *SPATS2* 表达量也随之增加，而 *METTL7A*、*COL6A6* 和 *CA3* 的表达量随之降低，见图 8。*AURKA* 和 *C20orf24* 表达与临床分期以及紫杉醇的  $IC_{50}$  具有显著的正相关性 ( $Cor>0$ ， $P<0.05$ )，*GPR115* 和 *SLC2A1* 表达与临床分期以及顺铂的  $IC_{50}$  也具有显著的正相关性 ( $Cor>0$ ， $P<0.05$ )，即随着 *AURKA* 和 *C20orf24* 基因的表达量的增加对紫杉醇的耐药性增强和 *GPR115* 和 *SLC2A1* 基因表达量的增加对顺铂的耐药性增强；*COL6A6* 和 *METTL7A* 表达与临床分期以及顺铂的  $IC_{50}$  具有显著的负相关性 ( $Cor<0$ ， $P<0.05$ )，即随着 *COL6A6* 和 *METTL7A* 基因表达量的降低对顺铂的耐药性增强；*MCM8*、*GAPDH* 和 *SPATS2* 表达与临床分期具有显著的正相关性关系 ( $Cor>0$ ， $P<0.01$ )，但与顺铂的  $IC_{50}$  具有显著的负相关性 ( $Cor<0$ ， $P<0.05$ )，即随着 *MCM8*、*GAPDH* 和 *SPATS2* 表达量的增加对顺铂的敏感性增强，*SPATS2* 表达的增加也对紫杉醇的敏感性增强；*CA3* 表达与临床分期具有显著的负相关性关系 ( $Cor<0$ ， $P<0.01$ )，但与紫杉醇和顺铂的  $IC_{50}$  具有显著的正相关性的敏感性增强，见表 6。

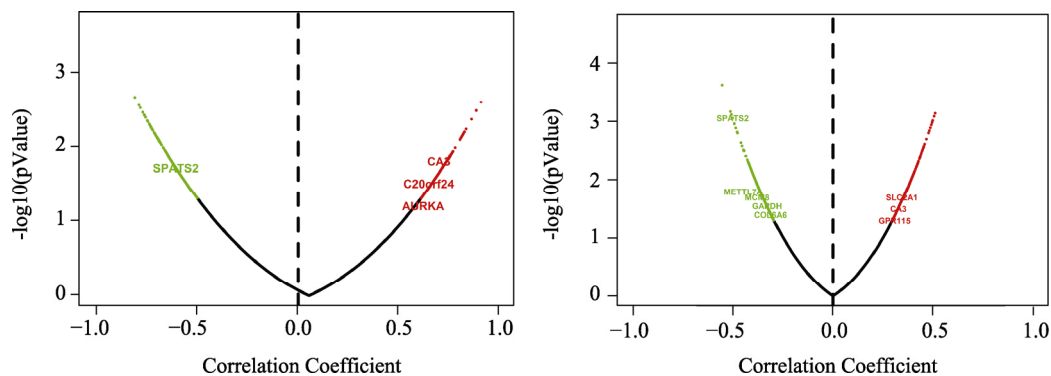


图7 紫杉醇(左)和顺铂(右)IC<sub>50</sub>与基因表达显著相关的火山图

Fig. 7 Volcano plot of significant association of paclitaxel(left) and cisplatin(right) IC<sub>50</sub> with gene expression

表6 10个基因的统计分析结果

Tab. 6 Statistical analysis results of ten genes

| 基因       | 与临床分期相关性分析 |        |        | 单因素 Cox 分析 |        |        | 与顺铂敏感度相关性分析 |        |        | 与紫杉醇敏感度相关性分析 |        |       |
|----------|------------|--------|--------|------------|--------|--------|-------------|--------|--------|--------------|--------|-------|
|          | Cor        | Z 值    | q 值    | HR         | Z 值    | P 值    | Cor         | Z 值    | P 值    | Cor          | Z 值    | q 值   |
| CA3      | -0.192     | -4.237 | <0.001 | 0.899      | -2.608 | 0.009  | 0.327       | 2.164  | 0.030  | 0.641        | 2.066  | 0.039 |
| COL6A6   | -0.182     | -4.016 | <0.001 | 0.884      | -3.159 | 0.002  | -0.313      | -2.076 | 0.038  | —            | —      | —     |
| GAPDH    | 0.301      | 6.848  | <0.001 | 1.527      | 4.806  | <0.001 | -0.322      | -2.136 | 0.033  | —            | —      | —     |
| GPR115   | 0.154      | 3.384  | 0.006  | 1.107      | 3.401  | <0.001 | 0.307       | 2.031  | 0.042  | —            | —      | —     |
| MCM8     | 0.162      | 3.556  | 0.004  | 1.267      | 2.686  | 0.007  | -0.345      | -2.288 | 0.022  | —            | —      | —     |
| METTL7A  | -0.159     | -3.493 | 0.005  | 0.739      | -4.054 | <0.001 | -0.352      | -2.335 | 0.020  | —            | —      | —     |
| SLC2A1   | 0.232      | 5.173  | <0.001 | 1.270      | 4.604  | <0.001 | 0.344       | 2.277  | 0.023  | —            | —      | —     |
| SPATS2   | 0.154      | 3.376  | 0.006  | 1.402      | 2.850  | 0.004  | -0.502      | -3.328 | <0.001 | -0.609       | -2.339 | 0.019 |
| AURKA    | 0.352      | 8.155  | <0.001 | 1.269      | 3.836  | <0.001 | —           | —      | —      | 0.622        | 1.999  | 0.046 |
| C20orf24 | 0.193      | 4.279  | <0.001 | 1.292      | 2.679  | 0.007  | —           | —      | —      | 0.634        | 2.042  | 0.045 |

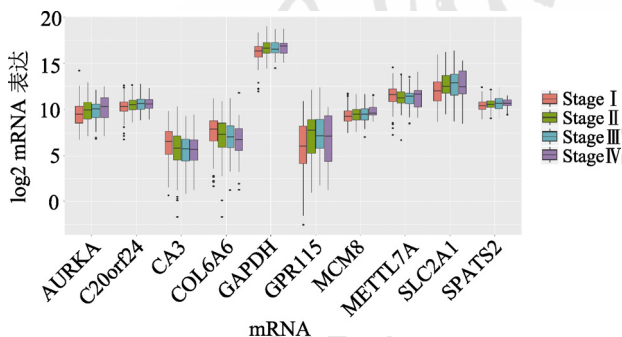


图8 10个基因在不同临床分期的表达情况

Fig. 8 Expression of ten genes in different clinical stage

### 3 讨论

紫杉醇是从红豆杉植物中分离纯化得到的人工半合成新型抗微管类药物,对肿瘤细胞活性的拮抗作用较强,紫杉醇中的紫杉烷可促进微管聚集,稳定微管,导致细胞在有丝分裂时不能形成纺锤体和纺锤丝,同时抑制微管解聚使微管束排列异常导致肿瘤细胞停滞于M期和G<sub>2</sub>期,抑制肿瘤细胞分裂及增殖,从而达到良好的抗肿瘤效果<sup>[11-13]</sup>。顺铂是一种临床常用的铂类化疗药物,

多将该药用于转移期和晚期疾病治疗过程中,广谱抗肿瘤效果显著,其细胞毒性较强,常用于非小细胞肺癌的晚期临床治疗<sup>[14]</sup>。上述药物主要作用在脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)中的嘧啶碱基和嘌呤碱基部位,可强效抑制肿瘤细胞的DNA复制,损伤肿瘤细胞的膜结构,然而,该药的单药疗效不显著,临床中多以联合用药模式给予治疗。紫杉醇联合顺铂对非小细胞肺癌的化疗治疗效果较好,有效率大致在25%~54%<sup>[12,15]</sup>,2种药物的作用机制不同,其药效互补,患者发生耐药率较低<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,随着非小细胞肺癌临床分期等级的增高,AURKA和C20orf24基因表达量也随之增加,从而对紫杉醇耐药性增强。SLC2A1和GPR115基因表达量也随之增加,从而对顺铂耐药性增强。

极光激酶a(aurora kinase A, AURKA)在许多肿瘤细胞来源的细胞系和肿瘤组织中过表达,并与肿瘤发生有关<sup>[17]</sup>。在非小细胞肺癌中,AURKA过度表达也存在于细胞系和癌组织中,并

与肿瘤发生有关<sup>[17]</sup>。在非小细胞肺癌中, AURKA 过度表达也存在于细胞系和癌组织中, 并且与癌症患者的预后不良相关<sup>[18-19]</sup>。AURKA 过度表达也会增加对紫杉烷的抗性, 紫杉烷类也是妇科恶性肿瘤的主要化疗药物<sup>[20]</sup>。最近的报道显示 AURKA 抑制剂与紫杉烷类药物联合应用于上皮性卵巢具有潜在效果<sup>[21]</sup>。葡萄糖转运蛋白 1(solute carrier family 2 member 1, SLC2A1)也称为 GLUT1, 其功能是促进葡萄糖通过细胞质膜的摄取。研究表明, 与相应的正常组织(包括非小细胞癌)相比, SLC2A1 在各种肿瘤中过表达<sup>[22-24]</sup>。SLC2A1 在肿瘤中的较高表达可能是因为生长较快的肿瘤细胞需要更多的营养支持并且比正常细胞消耗更多能量; 肿瘤细胞尤其严重依赖葡萄糖来获取能量和增殖<sup>[25-26]</sup>。尽管不同的肿瘤具有不同的葡萄糖转运蛋白表达谱, 但 SLC2A1 的过表达是大多数的特征, 包括非小细胞癌<sup>[27]</sup>。SLC2A1 水平的升高与晚期肿瘤分期, 肿瘤去分化, 复发和患者的存活率相关<sup>[28-31]</sup>。此外, SLC2A1 的过度表达可能与更大的化疗耐药性有关<sup>[32]</sup>。有研究表明, 抑制 SLC2A1 活性和表达可以使头颈癌细胞对常氧和缺氧条件下的顺铂治疗敏感<sup>[33]</sup>。之前的 1 项研究表明, 用顺铂处理的卵巢癌细胞以剂量依赖性方式降低葡萄糖摄取, 这与肿瘤细胞对顺铂治疗的化学敏感性有关<sup>[34]</sup>。

VI 型胶原蛋白  $\alpha 6$  链(collagen type VI alpha 6 chain, *COL6A6*)是一种蛋白质编码基因。*COL6A6* 属于胶原 VI(COL6)家族, 在细胞外基质中起重要作用。*COL6A6* 编码一种 2 262 个氨基酸的蛋白质, 包含多个血管性血友病因子结构域, 并形成上皮细胞基底层的一种成分<sup>[35]</sup>。这种蛋白质可能调节上皮细胞-纤连蛋白相互作用并参与细胞黏附<sup>[36]</sup>。细胞黏附与肿瘤转移密切相关<sup>[37]</sup>。通过体外实验发现, *COL6A6* 在 NSCLC 组织中的表达明显低于癌旁组织, 并且 *COL6A6* 敲除能加速 NSCLC 细胞的增殖、侵袭和迁移, 并激活 JAK 信号通路<sup>[38]</sup>。G 蛋白偶联受体 115(G protein-coupled receptor 115, GPR115)是黏附 GPCR(aGPCR)家族的成员, 该家族由具有长 *n*-末端的膜结合受体组成<sup>[39]</sup>。有研究发现 GPR115 在乳腺癌、结肠腺癌、甲状腺癌中上调, 其甲基化与肺癌的治疗密切相关<sup>[40-41]</sup>。有研究发现了 GPR115 在 NSCLC 中的表达模式, 它可作为肺腺癌患者预后标志物, 以及在肿瘤生

长和转移中发挥作用。LAMC2 与 GPR115 表达显著相关, 促进 EMT 的发展, 从而激活肿瘤的恶性进程<sup>[42]</sup>。

综上所述, 本研究采用生物信息学的方法, 通过 TCGA 和 GDSC 数据库挖掘出晚期非小细胞肺癌患者 *SLC2A1*, *GPR115*, *COL6A6* 和 *METTL7A* 基因的表达量的变化对顺铂存在耐药性, *AURKA* 和 *C20orf24* 基因的表达量的变化对紫杉醇存在耐药性。此次发现可以通过某些途径上调或下调这些基因的表达, 抑制晚期非小细胞肺癌细胞对紫杉醇或顺铂的耐药性, 从而提高肿瘤细胞的生长抑制率, 对晚期非小细胞肺癌患者的临床治疗具有一定作用。此研究还发现了 *CA3* 和 *SPATS2* 基因的表达量的增加对紫杉醇及顺铂的药物作用活性分别是耐药性增强和敏感性增强。本研究存在一定的局限性, 只通过统计计算方法对 TCGA 数据库中的非小细胞肺癌患者基因进行顺铂和紫杉醇敏感反应性分析, 需要做体外和体内实验进一步的研究验证。

## REFERENCES

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [3] ETTINGER D S. Ten years of progress in non-small cell lung cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2012, 10(3): 292-295.
- [4] SPIRA A, ETTINGER D S. Multidisciplinary management of lung cancer[J]. N Engl J Med, 2004, 350(4): 379-392.
- [5] MEHTA H J, PATEL V, SADIKOT R T. Curcumin and lung cancer: A review[J]. Target Oncol, 2014, 9(4): 295-310.
- [6] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [7] LIU Y C, ZHOU S B, GAO F, et al. Chemotherapy and late course three dimensional conformal radiotherapy for treatment of patients with stage III non-small cell lung cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2663-2665.
- [8] TAI X, CHEN M J, HONG W J, et al. Comparison of pemetrexed or paclitaxel combined with oxaliplatin treatment as a chemotherapy strategy for postoperative patients[J]. Chongqing Med(重庆医学), 2015, 44(35): 4936-4939.
- [9] SCHUMACHER M, GUENNOUN R, GHOUARI A, et al. Novel perspectives for progesterone in hormone replacement therapy, with special reference to the nervous system[J]. Endocr Rev, 2007, 28(4): 387-439.
- [10] YANG W J, SOARES J, GRENINGER P, et al. Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC): A resource for therapeutic biomarker discovery in cancer cells[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D955-D961.
- [11] OLOWOKURE O, TORREGROZA-SANCHEZ M P, BEDOYA-APRAEZ I D. Gemcitabine plus Nab-Paclitaxel

- with chemoradiation in locally advanced pancreatic cancer (LAPC)[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2013, 4(2): E16-E18.
- [12] PERCHE F, TORCHILIN V P. Cancer cell spheroids as a model to evaluate chemotherapy protocols[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(12): 1205-1213.
  - [13] ROSELL R, GATZEMEIER U, BETTICHER D C, et al. Phase III randomised trial comparing paclitaxel/carboplatin with paclitaxel/cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer: A cooperative multinational trial[J]. *Ann Oncol*, 2002, 13(10): 1539-1549.
  - [14] SHI M Y. Clinical effects and safety evaluation of concurrent radiochemotherapy with Paclitaxel and Cisplatin to treat locally advanced non-small cell lung cancer[J]. *Chin J Conval Med(中国疗养医学)*, 2016, 25(5): 462-464.
  - [15] ARRIAGADA R, BERGMAN B, DUNANT A, et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(4): 351-360.
  - [16] TAN H X, ZHANG K, TAN Y. Paclitaxel and cisplatin in treating 88 cases elderly patients with advanced NSCLC[J]. *Hebei Med(河北医学)*, 2014, 20(3): 441-444.
  - [17] MARUMOTO T, ZHANG D W, SAYA H. Aurora-A - a guardian of poles[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(1): 42-50.
  - [18] AL-KHAFAJI A S K, MARCUS M W, DAVIES M P A, et al. AURKA mRNA expression is an independent predictor of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4463-4468.
  - [19] TAGAL V, WEI S G, ZHANG W, et al. SMARCA4-inactivating mutations increase sensitivity to Aurora kinase A inhibitor VX-680 in non-small cell lung cancers[J]. *Nat Commun*, 2017(8): 14098.
  - [20] UMENE K, BANNO K, KISU I, et al. Aurora kinase inhibitors: Potential molecular-targeted drugs for gynecologic malignant tumors[J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(3): 335-340.
  - [21] DO T V, XIAO F, BICKEL L E, et al. Aurora kinase A mediates epithelial ovarian cancer cell migration and adhesion[J]. *Oncogene*, 2014, 33(5): 539-549.
  - [22] GRINBERG M, DJUREINOVIC D, BRUNNSTRÖM H R, et al. Reaching the limits of prognostication in non-small cell lung cancer: An optimized biomarker panel fails to outperform clinical parameters[J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(7): 964-977.
  - [23] OLIVER R J, WOODWARDS R T M, SLOAN P, et al. Prognostic value of facilitative glucose transporter Glut-1 in oral squamous cell carcinomas treated by surgical resection; results of EORTC Translational Research Fund studies[J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(4): 503-507.
  - [24] LI S J, GUO W, REN G X, et al. Expression of Glut-1 in primary and recurrent head and neck squamous cell carcinomas, and compared with 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose accumulation in positron emission tomography[J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2008, 46(3): 180-186.
  - [25] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033.
  - [26] SONG B J, AKBAR M, JO I, et al. Translational implications of the alcohol-metabolizing enzymes, including cytochrome P450-2E1, in alcoholic and nonalcoholic liver disease[J]. *Adv Pharmacol*, 2015(74): 303-372.
  - [27] YI J, WEI X, LI X Q, et al. A genome-wide comprehensive analysis of alterations in driver genes in non-small-cell lung cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 2018, 29(1): 10-18.
  - [28] KUNKEL M, FÖRSTER G J, REICHERT T E, et al. Detection of recurrent oral squamous cell carcinoma by [18F]-2-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography[J]. *Cancer*, 2003, 98(10): 2257-2265.
  - [29] EVANS A, BATES V, TROY H, et al. Glut-1 as a therapeutic target: Increased chemoresistance and HIF-1-independent link with cell turnover is revealed through COMPARE analysis and metabolomic studies[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, 61(3): 377-393.
  - [30] CHUNG F Y, HUANG M Y, YEH C S, et al. *GLUT1* gene is a potential hypoxic marker in colorectal cancer patients[J]. *BMC Cancer*, 2009(9): 241.
  - [31] BROPHY S, SHEEHAN K M, MCNAMARA D A, et al. GLUT-1 expression and response to chemoradiotherapy in rectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(12): 2778-2782.
  - [32] KUNKEL M, MOERGEL M, STOCKINGER M, et al. Overexpression of GLUT-1 is associated with resistance to radiotherapy and adverse prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. *Oral Oncol*, 2007, 43(8): 796-803.
  - [33] WANG Y D, LI S J, LIAO J X. Inhibition of glucose transporter 1 (GLUT1) chemosensitized head and neck cancer cells to cisplatin[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2013, 12(6): 525-535.
  - [34] EGAWA-TAKATA T, ENDO H, FUJITA M, et al. Early reduction of glucose uptake after cisplatin treatment is a marker of cisplatin sensitivity in ovarian cancer[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(10): 2171-2178.
  - [35] FITZGERALD J, RICH C, ZHOU F H, et al. Three novel collagen VI chains, alpha4(VI), alpha5(VI), and alpha6(VI)[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 20170-20180.
  - [36] NABA A, PEARCE O M T, DEL ROSARIO A, et al. Characterization of the extracellular matrix of normal and diseased tissues using proteomics[J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(8): 3083-3091.
  - [37] AKTARY Z, ALAEE M, PASDAR M. Beyond cell-cell adhesion: Plakoglobin and the regulation of tumorigenesis and metastasis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 32270-32291.
  - [38] LONG R Q, LIU Z H, LI J H, et al. COL6A6 interacted with P4HA3 to suppress the growth and metastasis of pituitary adenoma via blocking PI3K-Akt pathway[J]. *Aging*, 2019, 11(20): 8845-8859.
  - [39] HAMANN J, AUST G, ARAC D, et al. International union of basic and clinical pharmacology. XCIV. Adhesion G protein-coupled receptors[J]. *Pharmacol Rev*, 2015 67(2): 338-367.
  - [40] OZER B, SEZERMAN U. Analysis of the interplay between methylation and expression reveals its potential role in cancer aetiology[J]. *Funct Integr Genomics*, 2017, 17(1): 53-68.
  - [41] ZENG Y, MAYNE N, YANG C F J, et al. A nomogram for predicting cancer-specific survival of TNM 8th edition stage I non-small-cell lung cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2019, 26(7): 2053-2062.
  - [42] WANG Y J, SHI M Q, YANG N, et al. GPR115 contributes to lung adenocarcinoma metastasis associated with LAMC2 and predicts a poor prognosis[J]. *Front Oncol*, 2020(10): 577530.

收稿日期: 2022-02-24  
(本文责编: 陈怡心)