

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.11.011

## 非小细胞肺癌顺铂耐药相关基因生物信息学研究

朱立<sup>1,2a</sup>, 戴五敏<sup>2b</sup>, 卢德赵<sup>1</sup> [1. 浙江中医药大学 生命科学学院, 浙江 杭州 310053; 2. 中国科学院大学附属肿瘤医院(浙江省肿瘤医院), 中国科学院基础医学与肿瘤研究所 a. 医学工程部, b. 实验研究中心, 浙江 杭州 310022]

**[摘要]** **目的:**通过分析非小细胞肺癌顺铂敏感株及耐药株的基因芯片表达数据,筛选差异基因及关键通路,构建蛋白相互作用网络,探讨关键集群功能。**方法:**从GEO数据库获得基因芯片表达数据,利用GEO2R工具筛选差异基因,通过STRING数据库和Cytoscape软件构建蛋白相互作用网络,经DAVID富集得到相关特征基因与信号通路信息。**结果:**通过芯片分析共获得481个差异表达基因,相比于敏感细胞株,顺铂获得性耐药细胞株中有418个上调基因和63个下调基因。差异基因功能主要富集在piRNA代谢、DNA甲基化修饰、细胞有丝分裂及细胞周期进程等信号通路。蛋白复合物预测得到主要功能集群6个,分别与细胞趋化性、细胞角化性、piRNA代谢过程、细胞因子受体相互作用、细胞因子分泌调节及染色质沉默相关生物进程相关。**结论:**本研究利用生物信息学方法,发现顺铂耐药细胞株特征基因及信号通路,其中SAA1、KRT5、TDRD9、BCL2A1、CSF1R和HIST1H1A等显著上调基因及其功能集团可能是非小细胞肺癌顺铂耐药的潜在分子机制,为临床精准治疗提供新的理论依据。

**[关键词]** 非小细胞肺癌;顺铂耐药;差异基因;生物信息学分析

[中图分类号] R734.2;R730.53 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2020)11-1278-06

## Bioinformatics study on cisplatin resistance related genes in non-small cell lung cancer

ZHU Li<sup>1,2a</sup>, DAI Wumin<sup>2b</sup>, LU Dezhao<sup>1</sup> (1. College of Life Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China; 2. a. Medical Engineering Department; b. Experimental Research Center, The Cancer Hospital of the University of Chinese Academy of Sciences [Zhejiang Cancer Hospital], Institute of Basic Medicine and Cancer [IBMC], Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, Zhejiang, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen differentially expressed genes (DEGs) and key pathways by analyzing the gene chip expression data of cisplatin sensitive and resistant strains of non-small cell lung cancer (NSCLC), and to explore the key cluster functions by constructing protein-protein interaction (PPI) networks. **Methods:** Gene chip expression data were obtained from GEO database, and the DEGs were screened by GEO2R tool; PPI network was constructed by STRING database and Cytoscape software, and relevant characteristic genes and signal pathway information were obtained by DAVID enrichment. **Results:** A total of 481 DEGs were obtained by microarray analysis. Compared with sensitive cell lines, 418 genes were up-regulated and 63 genes were down-regulated in cisplatin resistant cell lines. The DEGs were mainly enriched in piRNA metabolism, DNA methylation modification, cell mitosis and cell cycle progression etc. The protein complex was predicted to have 6 main functional clusters, which were respectively related to chemokine, keratinization, piRNA metabolism, cytokine receptor interaction, cytokine secretion regulation and chromatin silencing related biological processes. **Conclusion:** In this study, bioinformatics methods were used to find the characteristic genes and signaling pathways of cisplatin resistant cell lines, among which the significantly up-regulated genes such as SAA1, KRT5, TDRD9, BCL2A1, CSF1R and HIST1H1A and their functional groups may be the potential molecular mechanism of cisplatin resistance in NSCLC, providing a new theoretical basis for clinical precision therapy.

**[Key words]** non-small cell lung cancer (NSCLC); cisplatin resistance; differential gene; bioinformatics analysis

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(11): 1278-1283. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.11.011]

**[基金项目]** 浙江省自然科学基金/青年基金资助项目(No. LQ19H160004)。Project supported by the Natural Science Foundation/Youth Foundation of Zhejiang Province (LQ19H160004)

**[作者简介]** 朱立(1990-),男,硕士生,工程师,主要从事中西医结合基础研究,E-mail:zhuliddgg@163.com

**[通信作者]** 卢德赵(LU Dezhao, corresponding author),博士,教授,硕士生导师,主要从事中西医结合基础研究, E-mail:ludezhao@126.com

肺癌是呼吸系统常见的恶性肿瘤,2018年全球大约有209万肺癌新发病例和176万肺癌死亡病例,发病率(11.6%)和病死率(18.4%)均居各恶性肿瘤首位<sup>[1]</sup>。在中国,肺癌发病率和病死率同样居高不下,严重危害人民健康。所有肺癌中,约80%为非小细胞肺癌,病死率较高,主要原因包括早期诊断方法缺失、患者确诊即中晚期的比例较高以及肿瘤出现侵袭转移,导致疗效不佳<sup>[2]</sup>。以顺铂(DDP)为基础的化疗方案仍是临床上治疗非小细胞肺癌的主要手段之一。

顺铂是一种细胞周期非特异性的细胞毒药物,是肺癌化疗的一线用药,但耐药现象的存在严重影响顺铂化疗疗效,有研究<sup>[3]</sup>认为由于药物摄取减少导致细胞内顺铂浓度降低、药物外排增加、损伤修复过程中DNA剪切物的增加、与调控信号转导通路相关的调节蛋白表达的改变等均可能与顺铂耐药有关。目前非小细胞肺癌对顺铂耐药的具体机制尚未完全阐明,寻找确切的耐药机制及相关特征基因有助于临床实现精准有效治疗,提高患者生存期。

基于大数据时代背景下基因芯片广泛应用于肿瘤领域,本研究从高通量基因表达(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库获得非小细胞肺癌细胞株H23和H460及其顺铂耐药细胞株(H23/DDP, H460/DDP)的基因芯片表达数据,利用GEO2R工具筛选表达显著差异的基因,通过STRING数据库得到差异基因的蛋白相互作用(protein protein interaction network, PPI)网络,导入Cytoscape软件进行PPI网络构建及蛋白复合物预测,经DAVID富集得到相关特征基因与信号通路信息,以期探究顺铂耐药机制、提高非小细胞肺癌化疗疗效提供新的思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 基因芯片数据收集

在GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中选择非小细胞肺癌顺铂耐药相关基因表达谱芯片GSE84201,将其中获得性耐药细胞株H23/DDP两株和H460/DDP两株作为实验组,顺铂敏感细胞株H23两株和H460两株作为对照组。

### 1.2 差异基因分析与筛选

利用GEO2R在线工具(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>)对敏感细胞株和顺铂获得性耐药细胞株差异基因进行分析,再对分析结果进行筛选,条件为 $\text{adj.}P\text{-Val}<0.05$ , $|\log\text{FC}|>2$ ,得到显著差异基因。在R3.6.0环境下,利用ggplot2, Cairo和ggthemes包<sup>[4-6]</sup>得到基因差异火山图,利用pheatmap包<sup>[7]</sup>得到差

异基因热图。

### 1.3 基因功能及信号通路富集

把筛选得到的显著差异基因,导入DAVID 6.8(<https://david.ncifcrf.gov>)在线基因功能富集工具,对其进行GO富集分析,得到对应的富集功能与信号通路信息。在R3.6.0环境下,利用GOplot包<sup>[8]</sup>的GOCluster功能对DAVID 6.8的富集结果进行可视化分析,得到按 $P$ 值从低到高取显著性前10的功能及信号通路的可视化结果。利用clusterProfiler包<sup>[9]</sup>对上调的差异基因进行富集,按 $P$ 值从低到高取显著性前10的功能及信号通路,再利用ggplot2包<sup>[4]</sup>对得到的结果进行可视化处理。

### 1.4 PPI网络构建及蛋白复合物预测

利用STRING v11.0(string-db.org)数据库,构建差异基因的PPI网络,再将该网络导入Cytoscape v3.6.1中进行可视化分析。利用Cytoscape软件的Centiscape2.2插件计算网络节点度值(连接度,连接节点的数量),设定节点度值越大,节点直径越大。再利用Cytoscape软件的ClusterOne Version 1.0插件<sup>[10]</sup>,进行蛋白复合物预测,得到结果红色方形节点为独立复合物的节点,黄色菱形节点为重叠复合物的节点,灰色圆形为没有预测到相应复合物的节点。筛选复合物预测 $P$ 值小于0.01的结果导出。

## 2 结果

### 2.1 非小细胞肺癌H23和H460顺铂获得性耐药细胞株和敏感细胞株中的差异基因

将表达谱芯片GSE84201中非小细胞肺癌获得性耐药细胞株H23/DDP两株(GSM2227723、GSM2227726)和H460/DDP两株(GSM2227729、GSM2227732)作为实验组,顺铂敏感细胞株H23两株(GSM2227721、GSM2227724)和H460两株(GSM2227727、GSM2227730)作为对照组。以 $\text{adj.}P\text{-Val}<0.05$ , $|\log\text{FC}|>2$ 为筛选标准在GEO2R中共获得481个差异表达基因(图1A),相比于敏感细胞株,顺铂获得性耐药细胞株中有418个上调基因和63个下调基因,分别取上调和下调显著性前20的差异基因做热图(图1B)。

### 2.2 差异基因功能及信号通路GO富集分析

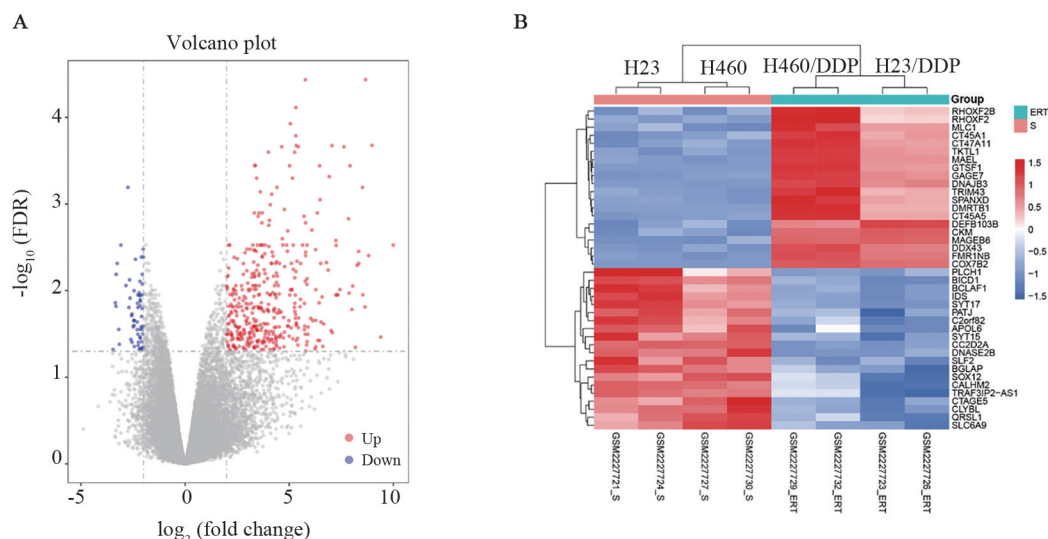
把筛选得到的差异表达基因导入DAVID在线基因功能富集工具,对其进行GO富集分析,得到对应的基因功能与信号通路信息。分析结果(图2)显示差异基因主要富集在piRNA代谢、细胞有丝分裂、免疫及炎症反应、细胞信号传导通路、DNA甲基化修饰和细胞内钙离子浓度调节等分子行为过程中。

### 2.3 上调的差异基因进行功能及信号通路富集分析

上述分析结果表明差异基因大部分为上调基

因,利用 clusterProfiler 包对上调的差异基因进行富集,取显著性前 10 的功能及信号通路。分析结果(图 3)显示上调的差异基因功能主要富集在 piRNA

代谢、DNA 甲基化修饰、细胞有丝分裂及细胞周期进程等信号通路。



A: Differential gene volcanogram; B: Heat map of the top 20 genes with up-regulation and down-regulation significance

图 1 非小细胞肺癌顺铂耐药细胞株和敏感细胞株差异基因分析结果

Fig.1 Analysis results of DEGs in cisplatin resistant and sensitive NSCLC cell lines

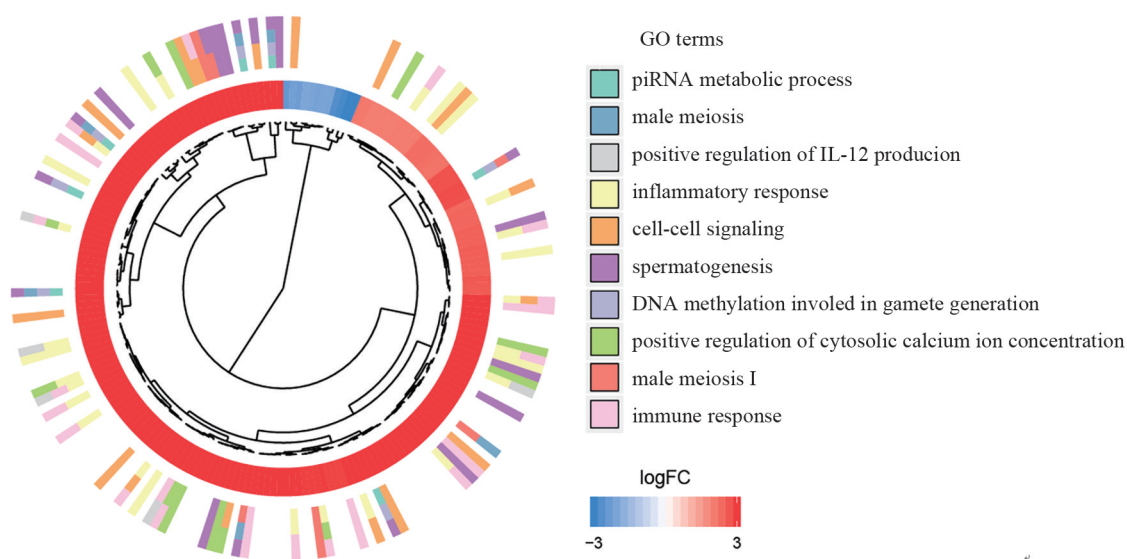


图 2 非小细胞肺癌顺铂耐药细胞株和敏感细胞株中差异基因 GO 富集分析结果

Fig.2 GO enrichment analysis results of DEGs in cisplatin resistant and sensitive NSCLC cell lines

### 2.4 PPI 网络可视化分析

全部 481 个差异基因参与构建 PPI 网络,再将该网络导入 Cytoscape 中进行可视化分析,网络节点度值越大则节点直径越大,结果见图 4。蛋白复合物预测得到 67 个集群,其中  $P < 0.01$  的集群有 6 个,集群功能分别为细胞趋化性、细胞角化性、piRNA 代谢过程、细胞因子受体相互作用、细胞因子分泌调节及染色质沉默相关生物进程,结果见图 5。

### 3 讨论

依据 2019.1 版《NCCN 非小细胞肺癌临床实践指南》及 2018 版《中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性肺癌诊疗指南》的推荐,以顺铂为基础的两药合用仍是治疗非小细胞肺癌的一线化疗方案。随着患者化疗次数的增加,顺铂耐药现象逐渐凸显,影响整体疗效且增加患者的负担。目前,关于顺铂耐药机制国内

外已有大量研究报道,然而具体机制仍未阐明。寻找确切的分子靶点实现精准治疗,已成为新时期突破非小细胞肺癌治疗难点的关键。

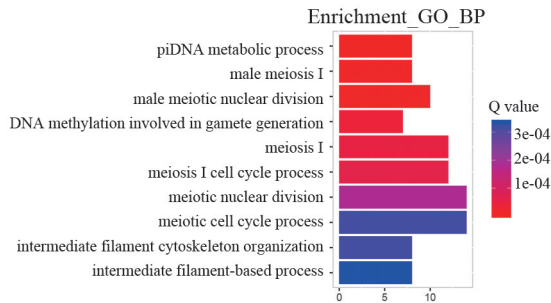


图3 上调差异基因功能及信号通路富集分析结果  
Fig.3 Enrichment analysis results of the function and signaling pathway of up-regulated DEGs

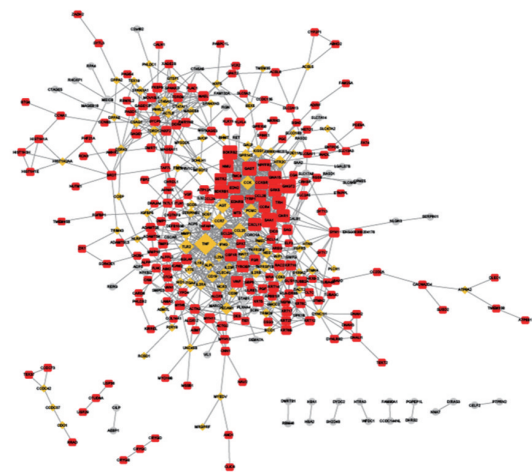
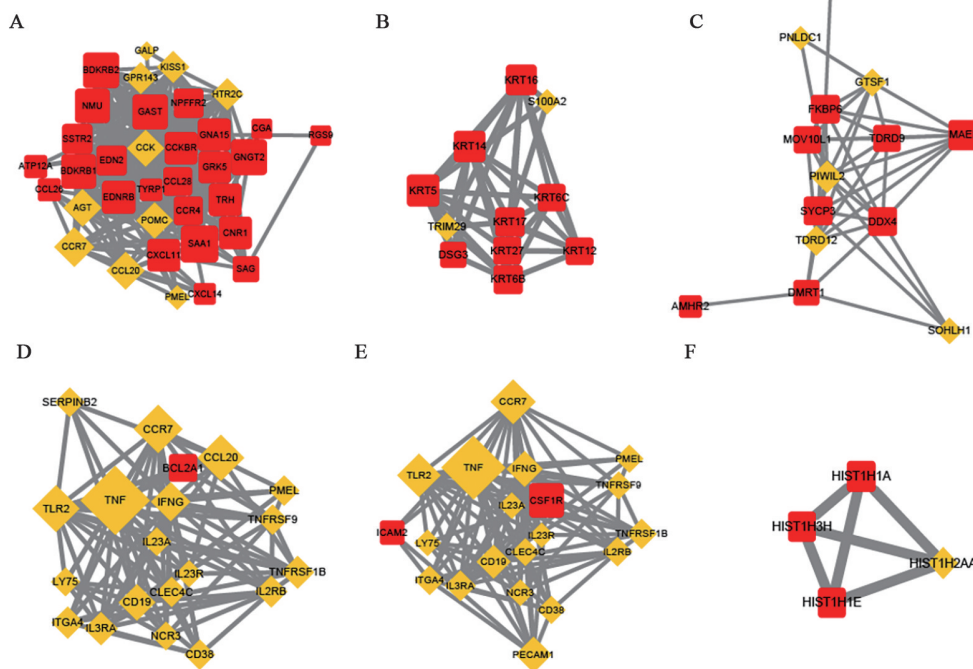


图4 非小细胞肺癌顺铂耐药细胞株和敏感细胞株中 PPI 网络可视化结果图  
Fig.4 Visual junction of PPI network in cisplatin-resistant and sensitive NSCLC cell lines



A: SAA1 related cluster; B: KRT5 related cluster; C: TDRD9 related cluster; D: BCL2A1 related cluster; E: CSF1R related cluster; F: HIST1H1A related cluster

图5 PPI网络关键集群  
Fig.5 Key clusters in PPI network

芯片技术及生物信息学方法的应用为探究顺铂耐药机制提供了新的手段。本研究通过GEO数据库检索得到非小细胞肺癌顺铂耐药相关基因表达谱芯片GSE84201,针对非小细胞肺癌细胞株H23和H460及其对应的顺铂耐药株,对基因芯片进行表达谱差异分析,特征基因功能及信号通路富集。进一步构建PPI可视化网络,筛选关键网络节点及功能集群。

研究首先筛选得到481个差异表达基因,通过基

因功能及信号通路富集分析,结果显示差异基因主要富集在piRNA代谢、细胞有丝分裂、免疫及炎症反应、细胞信号转导通路、DNA甲基化修饰和细胞内钙离子浓度调节等分子行为过程中。通过火山图及热图分析,显著差异基因主要集中在上调表达的部分,为了得到更准确的基因功能及信号通路富集结果,进一步对上调表达的418个差异基因进行GO富集分析。结果显示上调的差异基因功能主要富集在piRNA

代谢、DNA 甲基化修饰、细胞有丝分裂及细胞周期进程等信号通路。这些信号通路在肿瘤的恶性进展中发挥了关键作用,如多种 piRNA 被证明在肺癌细胞和正常支气管上皮细胞之间的表达存在显著差异<sup>[11]</sup>, piR-L-163 可以直接结合和调节磷酸化的 ERM(ezrin/radixin/moesin, 埃兹蛋白/根蛋白,膜突蛋白),并在蛋白质激活中发挥关键作用<sup>[12-13]</sup>;piR-L-138 在体内外均显著提高以顺铂为基础的化疗疗效,可能是克服肺鳞癌患者化疗耐药的潜在靶点<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>发现,非小细胞肺癌中 Wnt 抑制因子 1(Wnt inhibitory factor 1, WIF-1)基因高甲基化更易发生鳞癌,且与较差的临床预后密切相关,甲基化的 hOGG1 基因携带者发展为非小细胞肺癌患者的概率是正常人群的 2.25 倍<sup>[16]</sup>,大量结果表明甲基化检测可能是肺癌早期诊断的手段之一。SANTINA VENUTO 等<sup>[17]</sup>研究发现,E3 泛素连接酶 TRIM(tripartitemotif)蛋白家族参与调控细胞周期变化及有丝分裂过程,在肿瘤发生发展中也起了重要作用;此外,细胞周期的重编程已被证实影响肿瘤细胞的耐药性,并参与 DNA 的损伤修复进程<sup>[18]</sup>。本研究中富集结果显示,非小细胞肺癌顺铂耐药株与敏感株细胞相比,特征基因表达及信号通路功能差异显著,与现有肺癌耐药机制研究关系密切。

进一步对差异基因进行 PPI 网络构建,挖掘其中关键网络节点和功能集群。结果显示,共存在 6 个关键功能集群,分别与细胞趋化性、细胞角化性、piRNA 代谢过程、细胞因子受体相互作用、细胞因子分泌调节及染色质沉默等生物进程相关。其中网络关键节点 SAA1 已被证实与肿瘤转移相关,临床研究<sup>[19]</sup>表明化疗敏感性更高的非小细胞肺癌患者,体内 SAA1 浓度显著低于化疗耐受的患者。另一关键网络节点 KRT5 与非小细胞肺癌组织学亚型相关,WHO 指南将高表达 KRT5 的肿瘤归类为鳞状细胞癌<sup>[20]</sup>;非小细胞肺癌中鳞状细胞癌约占 35%,相比非鳞状细胞癌,突变率高、易发生化疗耐受、难以治疗<sup>[21]</sup>;本研究中,相比于敏感细胞株,非小细胞肺癌耐药细胞株 H23/DDP 和 H460/DDP 中 KRT 家族蛋白 KRT5、KRT6B、KRT6C、KRT12、KRT14、KRT16、KRT17 和 KRT27 都显著上调,该关键集群可能与细胞鳞状化密切相关,并影响细胞耐药性。第三个功能集群与 piRNA 代谢过程相关,其中关键节点 TDRD9 与 ATP 酶代谢活性相关,并在不同性别人群中表达不同<sup>[22]</sup>,上述分析结果提示该集群可能与不同性别人群非小细胞肺癌发病率及化疗耐受性有关。第四个和第五个功能集群有多个交叉网络节点,主要功能集中在细胞间相互作用及细胞因子的分泌等,其中关键节点各自为 BCL2A1 和 CSF1R;BCL2A1 是 BCL2 家族的抗凋亡

因子,参与调节细胞凋亡及线粒体活动,其表达上调可能增加细胞耐药能力<sup>[23]</sup>;另一项针对吸烟患者与非吸烟患者的非小细胞肺癌表达谱研究<sup>[24]</sup>结果表明,CSF1R 在非吸烟患者中的表达显著高于吸烟患者,此外,日本学者研究<sup>[25]</sup>证明,表达 CSF1R 的肿瘤相关巨噬细胞在从不吸烟的肺腺癌患者中发挥更强的促肿瘤免疫力,有望作为精确免疫治疗的靶点。最后一个集群与染色质沉默进程相关,其中关键节点 HIST1H1A 也有报道在顺铂耐药的细胞株中明显上调<sup>[26]</sup>。以上分析结果有待实验进一步证实,为后续探究确切分子机制提供新的思路和理论依据。

综上所述,本研究利用生物信息学方法分析非小细胞肺癌顺铂耐药相关芯片数据,筛选显著差异基因并进行 PPI 网络可视化分析,为探讨非小细胞肺癌的顺铂耐药机制提供了新的线索,也为临床精准治疗提供新的数据支持。

#### [参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] BALATA H, FONG K M, HENDRIKS L E, et al. Prevention and early detection for NSCLC: advances in thoracic oncology 2018[J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(9): 1513-1527. DOI:10.1016/j.jtho.2019.06.011.
- [3] LAJOUS H, LELIÈVRE B, VAULÉON E, et al. Rethinking alkylating (-like) agents for solid tumor management[J]. Trends Pharmacol Sci, 2019, 40(5): 342-357. DOI:10.1016/j.tips.2019.03.003.
- [4] GINESTET C. ggplot2: elegant graphics for data analysis[J]. J Royal Stat Soc: Ser A Stat Soc, 2011, 174(1): 245-246. DOI: 10.1111/j.1467-985X.2010.00676\_9.x.
- [5] URBANEK S, HORNER J. Cairo: R graphics device using cairo graphics library for creating high-quality bitmap (PNG, JPEG, TIFF), vector (PDF, SVG, PostScript) and display (X11 and Win32) output[EB/OL]. [2020-02-03]. <http://mirror.ibcp.fr/pub/CRAN/web/packages/Cairo/index.html>.
- [6] JEFFREY B. Arnold. Extra themes, scales and geoms for 'ggplot2' [R package ggthemes version 3.2.0] [EB/OL]. [2020-02-03]. <http://github.com/jrnold/ggthemes>.
- [7] RAIVO KOLDE. pheatmap: Pretty Heatmaps[EB/OL]. [2020-02-03]. <https://github.com/raivokolde/pheatmap>.
- [8] WALTER W, SÁNCHEZ-CABO F, RICOTE M. GOplot: an R package for visually combining expression data with functional analysis[J]. Bioinformatics, 2015, 31(17): 2912-2914. DOI:10.1093/bioinformatics/btv300.
- [9] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. OMICS: A J Integr Biol, 2012, 16(5): 284-287. DOI:10.1089/omi.2011.0118.
- [10] NEPUSZ T, YU H, PACCANARO A. Detecting overlapping protein complexes in protein-protein interaction networks[J]. Nat Methods, 2012, 9(5): 471-472. DOI:10.1038/nmeth.1938.

- [11] BLANDIN KNIGHT S, CROSBIE P A, BALATA H, et al. Progress and prospects of early detection in lung cancer[J/OL]. *Open Biol*, 2017, 7(9): 170070[2019-12-02]. <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.170070>. DOI:10.1098/rsob.170070.
- [12] MEI Y, WANG Y, KUMARI P, et al. A piRNA-like small RNA interacts with and modulates p-ERM proteins in human somatic cells[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7316. DOI:10.1038/ncomms8316.
- [13] NEISCH A L, FEHON R G. Ezrin, Radixin and Moesin: key regulators of membrane-cortex interactions and signaling[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23(4): 377-382. DOI:10.1016/j.ccb.2011.04.011.
- [14] MCCLATCHEY A I, FEHON R G. Merlin and the ERM proteins-regulators of receptor distribution and signaling at the cell cortex[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(5): 198-206. DOI:10.1016/j.tcb.2009.02.006.
- [15] GUO H, ZHOU S N, TAN L L, et al. Clinicopathological significance of WIF1 hypermethylation in NSCLC, a meta-analysis and literature review[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2): 2550-2557. DOI: 10.18632/oncotarget.13707.
- [16] QIN H L, ZHU J J, ZENG Y Y, et al. Aberrant promoter methylation of hOGG1 may be associated with increased risk of non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 8330-8341. DOI:10.18632/oncotarget.14177.
- [17] VENUTO S, MERLA G. E3 ubiquitin ligase TRIM proteins, cell cycle and mitosis[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 510. DOI:10.3390/cells8050510.
- [18] DÖKÜMCÜ K, FARAHANI R M. Evolution of resistance in cancer: a cell cycle perspective[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 376. DOI: 10.3389/fonc.2019.00376.
- [19] JOVANOVIĆ D, ROKSANDIĆ -MILENKOVIĆ M, KOTUR-STEVLJEVIĆ J, et al. Soluble SPD-L1 and serum amyloid A1 as potential biomarkers for lung cancer[J]. *J Med Biochem*, 2019, 38(3): 332-341. DOI:10.2478/jomb-2018-0036.
- [20] TRAVIS W D, BRAMBILLA E, NICHOLSON A G, et al. The 2015 world health organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(9): 1243-1260. DOI: 10.1097/jto.0000000000000630.
- [21] FRIEDLAENDER A, BANNA G, MALAPELLE U, et al. Next generation sequencing and genetic alterations in squamous cell lung carcinoma: where are we today?[J/OL]. *Front Oncol*, 2019, 9: 166 [2019-12-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30941314/>. DOI: 10.3389/fonc.2019.00166.
- [22] WENDA J M, HOMOLKA D, YANG Z L, et al. Distinct roles of RNA helicases MVH and TDRD9 in PIWI slicing-triggered mammalian piRNA biogenesis and function[J]. *Dev Cell*, 2017, 41(6): 623-637. DOI:10.1016/j.devcel.2017.05.021.
- [23] VOGLER M. BCL2A1: the underdog in the BCL2 family[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1): 67-74. DOI:10.1038/cdd.2011.158.
- [24] INAMURA K, SHIGEMATSU Y, NINOMIYA H, et al. CSF1R-expressing tumor-associated macrophages, smoking and survival in lung adenocarcinoma: analyses using quantitative phosphor-integrated dot staining[J/OL]. *Cancers*, 2018, 10(8): 252[2019-12-05]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/8/252>. DOI: 10.3390/cancers10080252.
- [25] INAMURA K, SHIGEMATSU Y, NINOMIYA H, et al. CSF1R-expressing tumor-associated macrophages, smoking and survival in lung adenocarcinoma: analyses using quantitative phosphor-integrated dot staining[J/OL]. *Cancers*, 2018, 10(8): 252[2019-12-10]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/8/252>. DOI: 10.3390/cancers10080252.
- [26] WU Z Z, LU H P, CHAO C C K. Identification and functional analysis of genes which confer resistance to cisplatin in tumor cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(2): 262-276. DOI:10.1016/j.bcp.2010.03.029.

[收稿日期] 2020-05-27

[修回日期] 2020-09-10

[本文编辑] 黄静怡