

·生物信息学·

基于生物信息学分析筛选结肠癌关键基因

崔忠泽,何双,路丽祯,吴淑华

(滨州医学院附属医院病理科,山东 滨州 256600)

摘要: **目的** 鉴定可能参与结肠癌发生发展的预后相关枢纽基因和免疫相关基因。**方法** 从TCGA数据库和GEO数据库(GSE41657、GSE74602、GSE106582和GSE110224)中下载结肠癌数据集,鉴定共同差异表达基因,并对其进行功能富集分析、预后相关基因筛选、免疫相关基因筛选、蛋白相互作用网络构建,进一步分析预后相关枢纽基因和免疫相关基因的表达量、免疫组化和功能富集。**结果** 共筛选102个共同差异基因,其中预后相关基因15个,免疫相关基因6个,枢纽基因16个,选取预后相关枢纽基因(SLC17A4)和免疫相关基因(NR3C2、ETFDH、SCG2)作为目标基因进一步分析,发现ETFDH主要表达于细胞质,NR3C2在细胞核和细胞质中大量表达,SCG2在细胞质中有少量表达,SLC17A4主要表达于细胞膜,上述基因在癌组织中均低表达,富集分析显示其与诸多结肠癌相关功能关联,其中免疫相关基因与结肠癌免疫密切相关并总体呈正相关。**结论** 15个预后相关基因有望作为生物标记物来预测结肠癌预后。SLC17A4在结肠癌中作为预后相关枢纽基因可能发挥重要作用,NR3C2、ETFDH、SCG2作为免疫相关预后基因可能在调控结肠癌肿瘤免疫过程中发挥着重要作用,这为探索结肠癌的分子机理提供了新的思路。

关键词: 结肠癌;免疫相关基因;预后相关基因;功能富集

中图分类号: R735.3

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.10.001

文章编号: 1006-1959(2022)10-0001-07

Screening Key Genes of Colon Cancer Based on Bioinformatics Analysis

CUI Zhong-ze, HE Shuang, LU Li-zhen, WU Shu-hua

(Department of Pathology, Affiliated Hospital, Binzhou Medical University, Binzhou 256600, Shandong, China)

Abstract: Objective To identify the prognostic hub genes and immune related genes that may be involved in the development of colon cancer.

Methods The data sets of colon cancer were downloaded from TCGA database and GEO database (GSE41657, GSE74602, GSE106582 and GSE110224), and the common differentially expressed genes were identified. Functional enrichment analysis, prognosis-related gene screening, immune-related gene screening and protein-protein interaction network construction were performed on the common differentially expressed genes. The expression levels, immunohistochemistry and functional enrichment of prognosis-related hub genes and immune-related genes were further analyzed. **Results** A total of 102 common differentially expressed genes were screened, including 15 prognosis-related genes, 6 immune-related genes and 16 hub genes. The prognosis-related hub genes (SLC17A4) and immune-related genes (NR3C2, ETFDH, SCG2) were selected as target genes for further analysis. It was found that ETFDH was mainly expressed in the cytoplasm, NR3C2 was highly expressed in the nucleus and cytoplasm, SCG2 was slightly expressed in the cytoplasm, SLC17A4 was mainly expressed in the cell membrane, and the above genes were lowly expressed in cancer tissues. Enrichment analysis showed that they were associated with many colon cancer-related functions. Among them, immune-related genes were closely related to colon cancer immunity and are generally positively correlated. **Conclusion** Fifteen prognostic genes are expected to be used as biomarkers to predict the prognosis of colon cancer. SLC17A4 may play an important role as a prognostic pivotal gene in colon cancer, while NR3C2, ETFDH and SCG2 as immunorelated prognostic genes may play an important role in the regulation of colon cancer tumor immunity, which provides a new idea for exploring the molecular mechanism of colon cancer.

Key words: Colon cancer; Immune-related genes; Prognosis-related genes; Functional enrichment

结肠癌(colon cancer)在全球男性和女性恶性肿瘤发病率中分别排名第3(13.5%)和第2(9.5%)位,是严重危害人类健康的恶性肿瘤^[1]。大量研究已经明确了与结肠癌预后和患者治疗反应相关的基因突变;此外,一些靶向治疗也被开发出来^[2-4]。然而,结肠癌进展的确切分子机制尚不清楚,这限制了晚期疾病的治疗。因此,进一步了解结肠癌发生发展过程中的基因表达,将有助于提高诊断和治疗水平。目前,微阵列技术已被广泛用于探索癌症基因表达的变化^[5-6]。高质量的芯片和高通量测序有助于发现结肠癌发生发展过程中的基因表达变化^[7-9],

甚至筛选出用于结肠癌诊断、治疗和预后的生物标志物。基因图谱可以从公共数据库中获得,如基因表达综合数据库(GEO)和癌症基因组图谱(TCGA),综合生物信息学方法的使用可以克服不同芯片平台和小样本量的限制。免疫疗法作为一种新兴的治疗某些癌症的方法已经获得显著的疗效^[10-13]。肿瘤微环境中肿瘤细胞可以直接侵入周围组织或通过血液和淋巴管转移,并可以通过释放细胞因子引起宿主的免疫反应,直接或间接地抑制或促进肿瘤细胞的发展^[14]。因此,了解肿瘤免疫微环境,寻找免疫标记物,是提高肿瘤免疫治疗效果的关键。基于此,本研究主要筛选了TCGA数据集和4个GEO数据集中结肠癌的共表达差异基因,并从中得到预后相关基因,分析目标基因在组织中的表达情况和功能。

作者简介:崔忠泽(1996.3-),男,山东蓬莱人,硕士研究生,住院医师,主要从事消化道肿瘤的诊治研究

通讯作者:吴淑华(1961.8-),女,山东滨州人,本科,教授,硕士生导师,主要从事消化道肿瘤的诊治研究

1 资料与方法

1.1 数据收集 从 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)^[15] 中获取 4 个基因芯片(GSE41657、GSE74602、GSE106582、GSE110224)。GSE41657 包含 12 个结肠癌样本和 25 个正常结肠组织样本。GSE74602 包含 30 个结肠癌样本和 30 个正常结肠组织样本。GSE106582 包含 117 个结肠癌样本和 77 个正常结肠组织样本。GSE110224 包含 17 个结肠癌样本和 17 个正常结肠组织样本。从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)^[16] 下载结肠癌表达矩阵,包括 398 个结肠癌样本和 39 个正常结肠组织样本。

1.2 差异基因获取 用 R 语言检测结肠癌与正常组织之间的差异基因。调整后 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 \text{FC}| \geq 2.0$ 认为差异有统计学意义。然后,利用在线维恩图分析网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)从个以上 5 个数据库中获得共同差异基因。

1.3 差异基因的 KEGG 和 GO 富集分析 为分析差异基因的功能,使用 R 语言对差异基因进行 KEGG 与 GO 富集分析。KEGG 是一个数据库资源,用于大规模的分子数据收集,以了解生物系统和功能^[17]。GO 是分析基因的生物学过程(BP)、分子功能(MF)和细胞成分(CC)的生物信息学工具^[18]。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

1.4 免疫相关预后差异基因筛选 将差异基因导入 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)^[19],筛选预后相关基因。将得到的预后相关基因导入 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)分析其与免疫细胞之间的关系,筛选免疫相关性高的基因,定义为免疫相关基因。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

1.5 预后相关枢纽基因筛选 利用互作基因检索工具(String v11.5;<http://string-db.org>)的在线数据库构建差异基因的蛋白互作网络。Cytoscape(v3.8.2)是一个用于可视化蛋白互作网络的开放生物信息学工具。Cytoscape 的插件 MCODE 是一个应用程序,它可以对给定的网络进行聚类,以找到紧密连接的区域。用 Cytoscape 绘制蛋白互作网络,用 MCODE 确定蛋白互作网络中的重要模块,将最重要模块中的基因认定为枢纽基因,然后,将枢纽基因中的预后相关基因筛选出来。

1.6 分析目标基因 将预后相关枢纽基因和免疫相关基因作为目标基因进一步分析。基于 TCGA 数据库基因表达数据,对目标基因表达量进行可视化。利用 HPA 数据库(<http://www.proteinatlas.org/>)^[20]观察目标基因在结肠癌及正常结肠组织的表达情况。基于 GSEA 数据库(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp>)^[21]中 c5.bp.V7.1, symbols, gmt 数据集,用 R

软件对其进行单基因 GO 富集分析,推测其在结肠癌中可能发挥的作用, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌中差异基因的鉴定 在 GSE41657 中,共鉴定出 4712 个差异基因,其中 2502 个上调基因和 2210 个下调基因。在 GSE74602 中,共鉴定出 2878 个差异基因,其中 1543 个上调基因和 1335 个下调基因。在 GSE106582 中,共鉴定出 504 个差异基因,其中 176 个上调基因和 328 个下调基因。在 GSE110224 中,共鉴定出 519 个差异基因,其中 223 个上调基因和 296 个下调基因。在 TCGA 中,共鉴定出 3572 个差异基因,其中 1343 个上调基因和 2229 个下调基因。使用维恩图网站分析 5 个基因芯片的差异基因,共鉴定出 102 个差异基因,其中 24 个上调基因和 78 个下调基因,见图 1A~图 1C。

2.2 富集分析 对 102 个差异基因进行 GO 和 KEGG 通路富集分析。在 BP 类中,差异基因主要富集于“激素代谢”“核分裂的正调控”“白细胞趋化性”和“离子跨膜运输”等。在 CC 类中,“细胞顶部”和“顶端质膜”占主导地位。在 MF 类别中,“受体配体活性”和“激素活性”是主要的。KEGG 分析显示,差异基因主要参与“药物代谢”“致病性大肠杆菌感染”和“视黄醇代谢”等,见图 1D、图 1E。

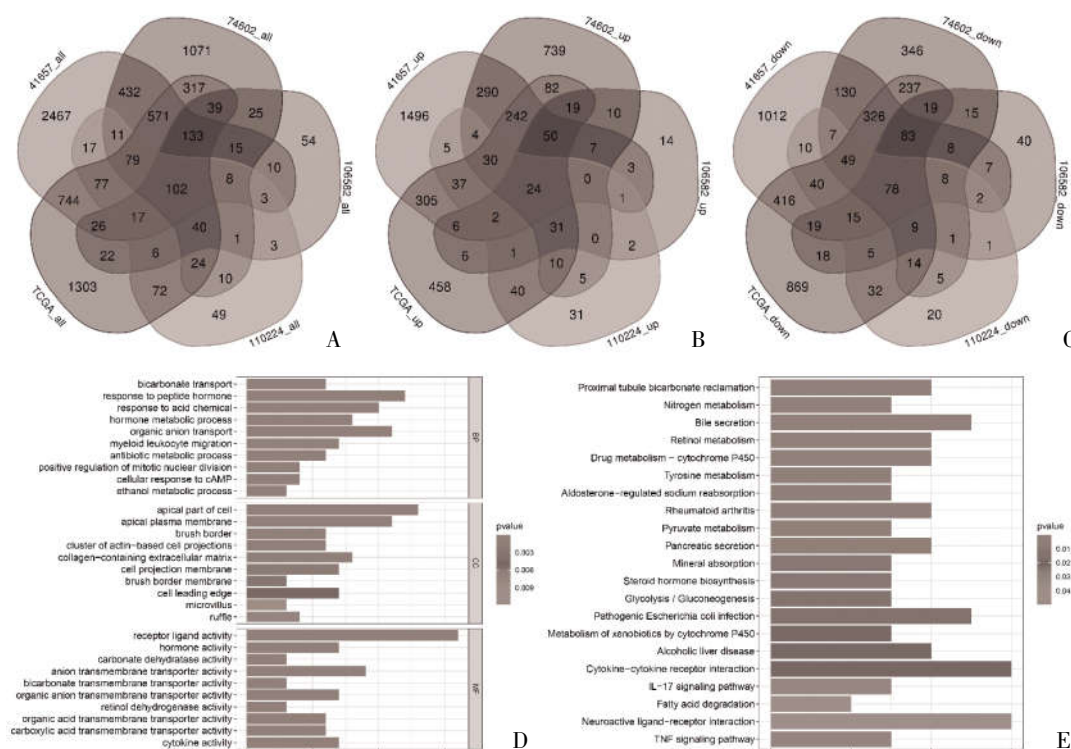
2.3 免疫相关预后差异基因筛选 使用 GEPIA 数据库对 102 个差异基因进行预后分析,共得到 15 个预后相关基因(NR3C2、ETFDH、AQP8、CLDN23、SLC17A4、TIMP1、BGN、TESC、LRRC19、BEST2、NAT2、SULT1B1、SCG2、SELENBP1、IL1B),见图 2。在 TIMER 数据库分析这些基因与 6 种免疫细胞(B 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞)的相关性,结果显示,有 6 个基因(NR3C2、ETFDH、TIMP1、BGN、SCG2、IL1B)在结肠癌中与肿瘤免疫微环境密切相关,其中 3 个基因(ETFDH、NR3C2、SCG2)在结肠癌肿瘤微环境中的作用鲜见报道,见图 3。

2.4 预后相关枢纽基因筛选 在 STRING 网站构建差异基因的 PPI 网络后,运用 Cytoscape 的 MCODE 筛选显著模块,见图 4A。将最显著模块中的 16 个基因(MEP1A、SCGN、SLC17A4、SI、MYO1A、TSPAN7、SLC26A2、STMN2、UGT2A3、CHGB、ADH1C、VSNL1、MS4A12、WNT2、ADAMDEC1、CEACAM7)定义为枢纽基因,见图 4B。其中仅有 SLC17A4 为预后相关基因,但 SLC17A4 在结肠癌中鲜见报道。

2.5 目标基因分析 将 3 个免疫相关预后基因(ETFDH、NR3C2、SCG2)和预后相关枢纽基因(SLC17A4)作为目标基因进一步分析。通过对其表达量的可视化,结果发现,与正常组织相比,其在肿

瘤组织中均呈低表达,见图 5A;通过其他 4 个 GEO 数据集的验证,均符合这一结论。通过 HPA 数据库下载的免疫组化图发现,ETFDH 主要表达于细胞质,NR3C2 在细胞核和细胞质中大量表达,SCG2 在细胞质中有少量表达,SLC17A4 主要表达于细胞膜,见图 5B、图 5C。通过 GSEA 单基因富集分析发现,

ETFDH 主要富集到“RNA 沉默”等功能,NR3C2 主要富集到“肿瘤坏死因子分泌”“血管内皮细胞增殖”等功能,SCG2 主要富集到“细胞周期相变的正调控”“RNA 聚合酶结合”等功能,SLC17A4 主要富集到“细胞周期 G₁ S 期转变的负调控”等功能,见图 6。



注:A:5 个数据集共同差异基因;B:5 个数据集上调的差异基因;C:5 数据集下调的差异基因;D:GO 功能富集;E:KEGG 通路富集

图 1 VENN 图和富集柱形图

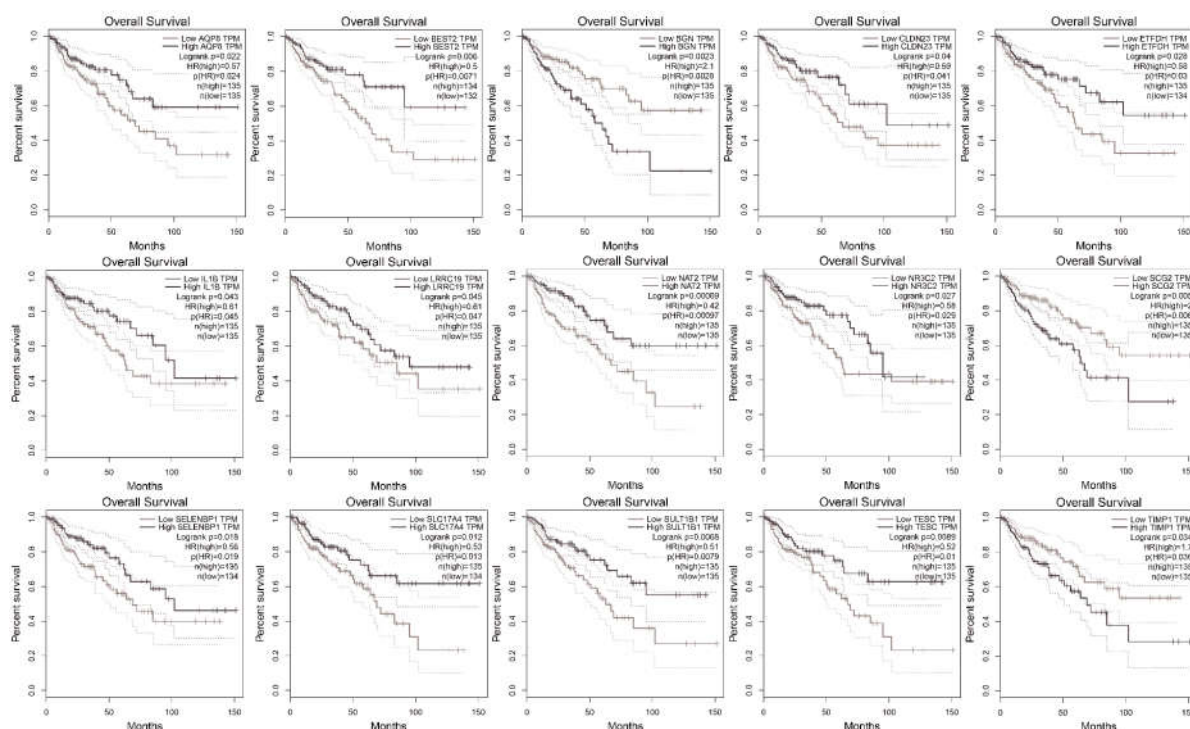


图 2 预后相关基因在结肠癌中的 Kaplan-Meier 生存分析

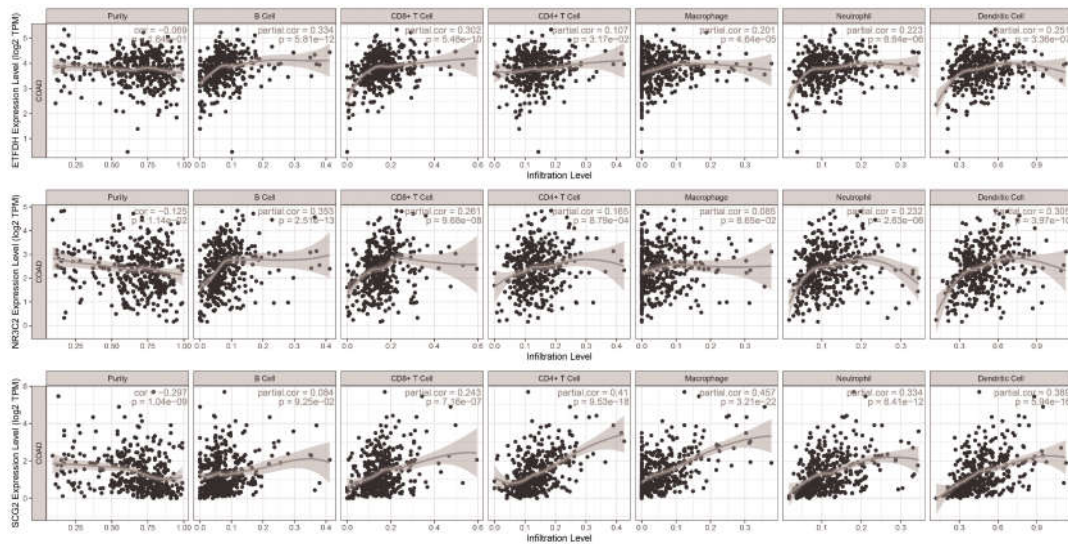
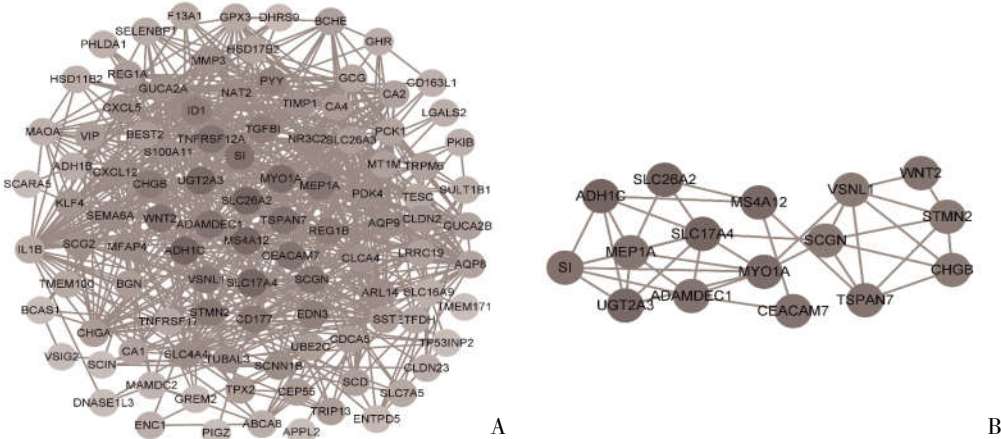
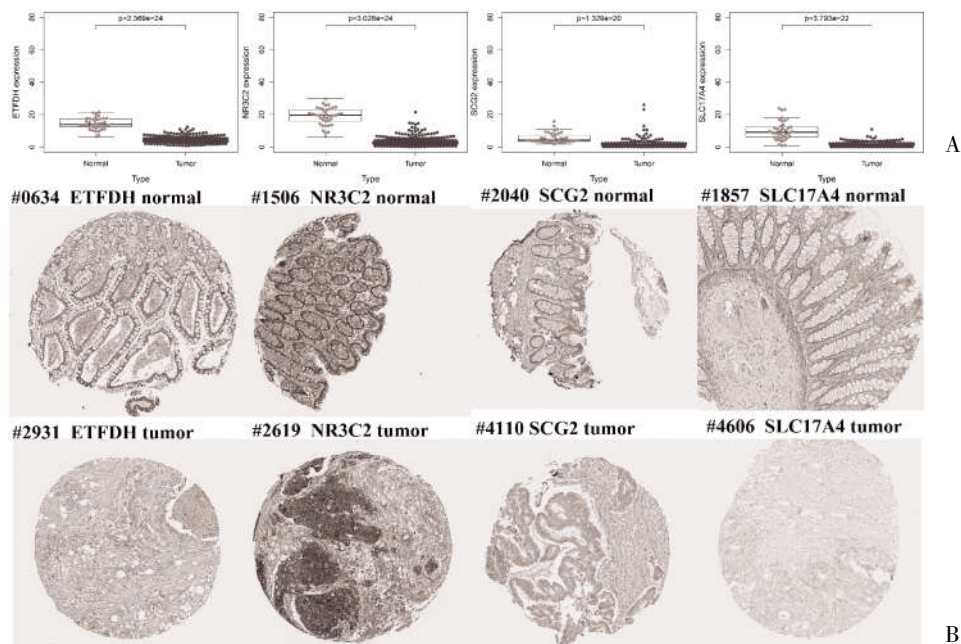


图3 免疫相关基因与免疫细胞的相关性分析



注:A:差异基因蛋白互作网络图;B:最关键模块

图4 蛋白互作网络分析图



注:A:目标基因在结肠癌中的表达;B:目标基因在正常组织和结肠癌中的免疫组化图

图5 目标基因的表达和免疫组化

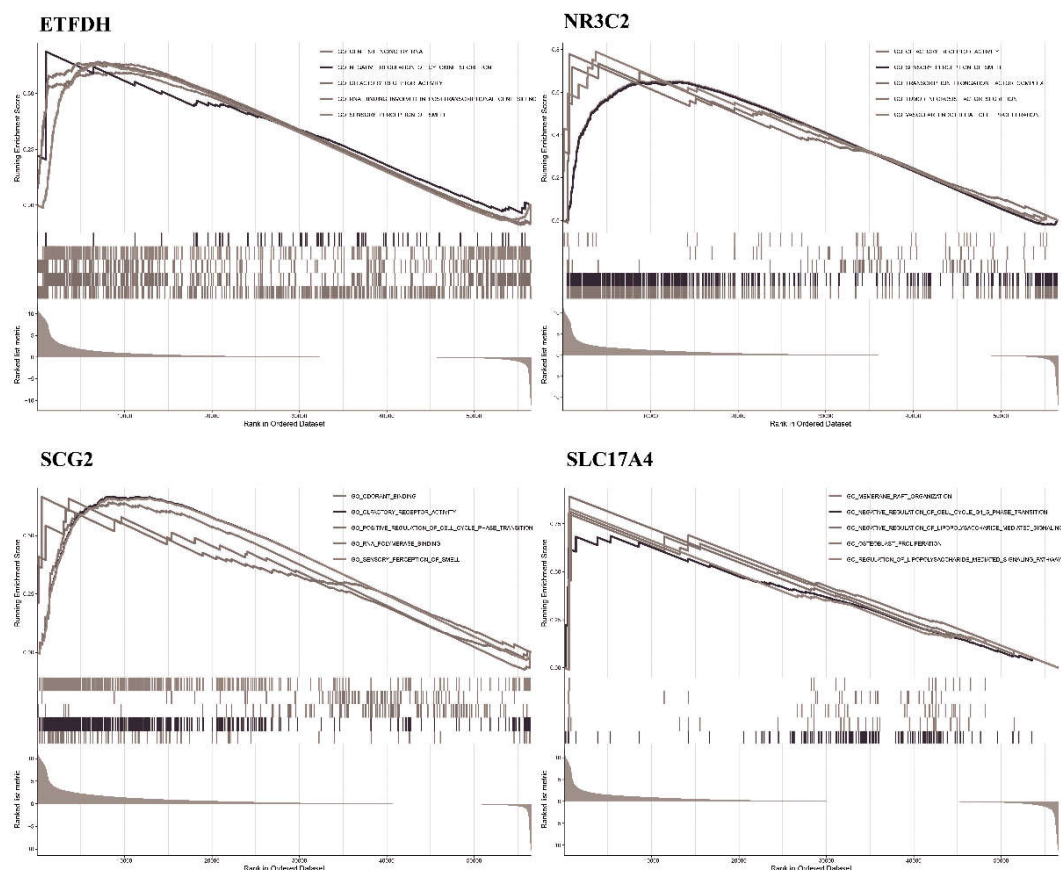


图6 目标基因的GO功能富集分析

3 讨论

结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一。近年来,生物标记物已被广泛用于癌症的诊断、治疗和预后评估中,其对揭示癌症的发生发展具有重要的意义^[22,23]。尽管已有结肠癌病因学相关研究,但其发生发展的确切机制仍未完全明确,因此寻找可靠有效的生物标记物对结肠癌的诊断、治疗和预后具有重要意义。结肠癌的治疗策略包括化疗、手术、放疗和靶向治疗,而免疫疗法作为一种新的治疗方法已用于部分结肠癌治疗中^[24,25],这让寻找新的可靠免疫靶点变得尤为重要。本研究通过生物信息学分析,筛选结肠癌预后相关枢纽基因和免疫相关生物标记物,旨在为进一步揭示结肠癌发生发展机制和鉴定新的免疫治疗潜在靶点提供理论依据。

本研究为了克服不同芯片平台和小样本量的限制,获得具有更高可信度的差异基因,下载了多个数据集(TCGA、GSE41657、GSE74602、GSE106582、GSE110224),分别进行差异分析,获得102个共同的差异基因。对这些基因进行了通路和功能的富集,结果显示这些基因富集到了许多癌症相关的通路和功能——“激素代谢”“核分裂的正调控”“白细胞趋化性”“药物代谢”“致病性大肠杆菌感染”和“视黄醇代谢”等。研究显示,甲状腺激素能够促进结肠癌干

细胞分化^[26],糖皮质激素-GR-CDK1 信号传导诱导结肠癌细胞的增殖和侵袭^[27]。而免疫细胞与结肠癌的诊断、临床治疗敏感性和预后相关^[28-30]。大量研究表明^[31,32],药物代谢与结肠癌治疗预后密切相关。另外,现在已有研究证明致病性大肠杆菌可促进结肠癌的发生^[33,34]。

为了寻找差异基因中可作为结肠癌预后靶点的生物标记物,通过GEPIA数据库从102个差异基因中筛选出了15个在结肠癌5年生存曲线具有统计学意义的基因——NR3C2、ETFDH、AQP8、CLDN23、SLC17A4、TIMP1、BGN、TESC、LRR19、BEST2、NAT2、SULT1B1、SCG2、SELENBP1、IL1B,这些预后相关基因具有成为结肠癌生物标记物的潜力。

为了得到预后相关基因中与肿瘤免疫相关的基因,通过TIMER数据库,对其与不同的免疫细胞进行相关性分析,最终得到6个免疫相关基因NR3C2、ETFDH、TIMP1、BGN、SCG2、IL1B,其中TIMP1、BGN、IL1B已被用于结肠癌肿瘤微环境或免疫相关研究^[35-38]。但NR3C2、ETFDH、SCG2在结肠癌免疫微环境中的作用鲜见报道。分析这3个基因与6种免疫细胞的关系,发现NR3C2与这6种免疫细胞均成正相关,并且与B细胞、CD8⁺T细胞关系更为

密切,ETFDH与除巨噬细胞外其他5种免疫细胞呈相关性,其与B细胞、树突状细胞关系更为密切,SCG2与B细胞不具有相关性,与其他免疫细胞呈正相关,并且与CD4⁺T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞均密切相关。

既往研究发现,肿瘤浸润的CD20⁺B淋巴细胞在结肠直肠癌中具有良好的预后价值^[39]。研究表明^[40],大量的CD4⁺T细胞浸润到肿瘤中与不良的临床预后相关,而CD8⁺T细胞作为肿瘤杀伤细胞,其缺失往往能促进肿瘤的发展^[41,42]。也有研究表明中性粒细胞与淋巴细胞的比值是结直肠癌患者的明确预测指标,肿瘤相关中性粒细胞能够促进肿瘤的发展^[43]。肿瘤相关巨噬细胞(TAM)是指被募集到肿瘤微环境中的巨噬细胞,已有研究表明肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤发生发展中发挥着重要作用^[44-46]。本研究发现,预后相关基因NR3C2、ETFDH、SCG2与这些免疫细胞密切相关,可能通过调控肿瘤免疫,在结肠癌发生发展过程中发挥重要的作用。

此外,本研究通过STRING网站构建了102个差异基因的蛋白质相互作用网络,并用Cytoscape软件寻找其中最关键的功能模块,最关键模块中包括16个(MEP1A、SCGN、SLC17A4、SI、MYO1A、TSPAN7、SLC26A2、STMN2、UGT2A3、CHGB、ADH1C、VSNL1、MS4A12、WNT2、ADAMDEC1、CEACAM7)枢纽基因,这些基因在102个差异基因中发挥着最关键的功能。在这16个枢纽基因中,SLC17A4与预后相关,并在此之前尚未在结肠癌中报道过。

为了明确预后相关枢纽基因(SLC17A4)和免疫相关基因(NR3C2、ETFDH、SCG2)在结肠癌中的表达量、表达位置和可能发挥的作用,本研究基于TCGA数据对这4个基因表达量进行可视化分析,结果发现其在癌组织中的表达量均低于正常组织。基于HPA数据库的免疫组化发现,ETFDH主要表达于细胞质,NR3C2在细胞核和细胞质中大量表达,SCG2在细胞质中有少量表达,SLC17A4主要表达于细胞膜。基于GSEA单基因富集分析发现,这些基因富集到许多与癌症的发生与进展均密切相关的功能,如ETFDH主要富集到“RNA沉默”等功能,NR3C2主要富集到“肿瘤坏死因子分泌”“血管内皮细胞增殖”等功能,SCG2主要富集到“细胞周期相变的正调控”“RNA聚合酶结合”等功能,SLC17A4主要富集到“细胞周期G₁S期转变的负调控”等功能。

综上所述,本研究共筛选出有望作为结肠癌预后靶点的15个基因,通过对15个基因进一步分析,筛选出4个结肠癌预后相关枢纽基因和免疫相关基因,这些基因具有重要的节点作用,可能与肿瘤免疫

密切相关,在肿瘤免疫微环境中起着重要的作用。然而,本研究尚未进行分子机制的实验研究,这些基因在结肠癌中具体的功能机制尚不清楚,下一步将从该方向入手,进一步明确其在结肠癌中的作用。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA A Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] Mauri G, Bonazzina E, Amatu A, et al. The evolutionary landscape of treatment for BRAFV600E mutant metastatic colorectal cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(1): E137.
- [3] Ruffinelli JC, Santos Vivas C, Sanz-Pamplona R, et al. New advances in the clinical management of RAS and BRAF mutant colorectal cancer patients [J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 15(1): 65–79.
- [4] Luo QX, Chen DK, Fan XJ, et al. KRAS and PIK3CA bi-mutations predict a poor prognosis in colorectal cancer patients: a single-site report [J]. Transl Oncol, 2020, 13(12): 100874.
- [5] Tao ZQ, Shi AM, Li R, et al. Microarray bioinformatics in cancer—a review [J]. J BUON, 2017, 22(4): 838–843.
- [6] Saito M, Momma T, Kono K. Targeted therapy according to next generation sequencing-based panel sequencing [J]. Fukushima J Med Sci, 2018, 64(1): 9–14.
- [7] Harada K, Okamoto W, Mimaki S, et al. Comparative sequence analysis of patient-matched primary colorectal cancer, metastatic, and recurrent metastatic tumors after adjuvant FOLFOX chemotherapy [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 255.
- [8] Zhao B, Baloch Z, Ma YH, et al. Identification of potential key genes and pathways in early-onset colorectal cancer through bioinformatics analysis [J]. Cancer Control, 2019, 26(1): 1073274819831260.
- [9] Cojocneanu R, Braicu C, Raduly L, et al. Plasma and tissue specific miRNA expression pattern and functional analysis associated to colorectal cancer patients [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(4): E843.
- [10] Kishore C, Bhadra P. Current advancements and future perspectives of immunotherapy in colorectal cancer research [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 893: 173819.
- [11] Wu J, Cai JT. Dilemma and challenge of immunotherapy for pancreatic cancer [J]. Dig Dis Sci, 2021, 66(2): 359–368.
- [12] Chakravarty D, Huang L, Kahn M, et al. Immunotherapy for metastatic prostate cancer: current and emerging treatment options [J]. Urol Clin North Am, 2020, 47(4): 487–510.
- [13] Esteva FJ, Hubbard-Lucey VM, Tang J, et al. Immunotherapy and targeted therapy combinations in metastatic breast cancer [J]. Lancet Oncol, 2019, 20(3): e175–e186.
- [14] Lei X, Lei Y, Li JK, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy [J]. Cancer Lett, 2020, 470: 126–133.
- [15] Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository [J].

Nucleic Acids Res,2002,30(1):207–210.

[16]Wang ZN,Jensen MA,Zenklusen JC.A practical guide to the cancer genome atlas (TCGA) [J].Methods Mol Biol,2016,1418: 111–141.

[17]Kanehisa M.The KEGG database [J].Novartis Found Symp, 2002,247:91–252.

[18]Ashburner M,Ball CA,Blake JA,et al.Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. Nat Genet,2000,25(1):25–29.

[19]Tang ZF,Li CW,Kang BX,et al.GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J].Nucleic Acids Res,2017,45(W1):W98–W102.

[20]Uhlen M,Zhang C,Lee S,et al.A pathology atlas of the human cancer transcriptome[J].Science,2017,357(6352):eaan2507.

[21]Subramanian A,Tamayo P,Mootha VK,et al.Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles [J].Proc Natl Acad Sci U S A, 2005,102(43):15545–15550.

[22]Hristova VA,Chan DW.Cancer biomarker discovery and translation: proteomics and beyond [J].Expert Rev Proteomics, 2019,16(2):93–103.

[23]Lu MX,Zhang JX,Zhang LJ.Emerging concepts and methodologies in cancer biomarker discovery [J].Crit Rev Oncog,2017,22(5–6):371–388.

[24]Ganesh K,Stadler ZK,Cercek A,et al.Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential [J].Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2019,16(6):361–375.

[25]Johdi NA,Sukor NF.Colorectal cancer immunotherapy: options and strategies[J].Front Immunol,2020,11:1624.

[26]Cicatiello AG,Ambrosio R,Dentice M.Thyroid hormone promotes differentiation of colon cancer stem cells [J].Mol Cell Endocrinol,2017,459:84–89.

[27]Tian D,Tian M,Han G,et al.Increased glucocorticoid receptor activity and proliferation in metastatic colon cancer [J].Sci Rep,2019,9(1):11257.

[28]Deng D,Luo X,Zhang SF,et al.Immune cell infiltration–associated signature in colon cancer and its prognostic implications [J].Aging (Albany NY),2021,13(15):19696–19709.

[29]Malka D,Lièvre A,André T,et al.Immune scores in colorectal cancer: where are we? [J].Eur J Cancer,2020,140:105–118.

[30]Abdul-Latif M,Townsend K,Dearman C,et al.Immunotherapy in gastrointestinal cancer: the current scenario and future perspectives[J].Cancer Treat Rev,2020,88:102030.

[31]Xie P,Mo JL,Liu JH,et al.Pharmacogenomics of 5–fluorouracil in colorectal cancer: review and update [J].Cell Oncol (Dordr),2020,43(6):989–1001.

[32]Blondy S,David V,Verdier M,et al.5–Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: from classical pathways to

promising processes[J].Cancer Sci,2020,111(9):3142–3154.

[33]Wassenaar TM.E. coli and colorectal cancer: a complex relationship that deserves a critical mindset [J].Crit Rev Microbiol, 2018,44(5):619–632.

[34]Tang L,Zhou YJ,Zhu SL,et al.E. coli diversity: low in colorectal cancer[J].BMC Med Genomics,2020,13(1):59.

[35]Mo A,Jackson S,Varma K,et al.Distinct transcriptional changes and epithelial–stromal interactions are altered in early–stage colon cancer development [J].Mol Cancer Res,2016,14(9): 795–804.

[36]Liu JH,Jiang CH,Xu CJ,et al.Identification and development of a novel invasion–related gene signature for prognosis prediction in colon adenocarcinoma[J].Cancer Cell Int,2021,21(1):101.

[37]Liang B,Zheng B,Zhou Y,et al.Characterization of a tumor–microenvironment–relevant gene set based on tumor severity in colon cancer and evaluation of its potential for dihydroartemisinin–targeting[J].Evid Based Complement Alternat Med,2021,2021: 4812068.

[38]Hardbower DM,Coburn LA,Asim M,et al.EGFR–mediated macrophage activation promotes colitis–associated tumorigenesis [J].Oncogene,2017,36(27):3807–3819.

[39]Edin S,Kaprio T,Hagström J,et al.The prognostic importance of CD20⁺ B lymphocytes in colorectal cancer and the relation to other immune cell subsets[J].Sci Rep,2019,9(1):19997.

[40]Saito T,Nishikawa H,Wada H,et al.Two FOXP3(+)CD4(+) T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers[J].Nat Med,2016,22(6):679–684.

[41]O'Malley G,Treacy O,Lynch K,et al.Stromal Cell PD–L1 Inhibits CD8⁺ T–cell Antitumor Immune Responses and Promotes Colon Cancer[J].Cancer Immunol Res,2018,6(11):1426–1441.

[42]Olesch C,Sirait–Fischer E,Berkefeld M,et al.S1PR4 ablation reduces tumor growth and improves chemotherapy via CD8⁺ T cell expansion[J].J Clin Invest,2020,130(10):5461–5476.

[43]Mizuno R,Kawada K,Itatani Y,et al.The role of tumor–associated neutrophils in colorectal cancer[J].Int J Mol Sci,2019,20 (3):E529.

[44]Locati M,Curtale G,Mantovani A.Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity [J].Annu Rev Pathol, 2020,15:123–147.

[45]Isidro RA,Appleyard CB.Colonic macrophage polarization in homeostasis, inflammation, and cancer [J].Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2016,311(1):G59–G73.

[46]Najafi M,Hashemi Goradel N,Farhood B,et al.Macrophage polarity in cancer: A review [J].J Cell Biochem,2019,120(3): 2756–2765.

收稿日期:2021–11–25;修回日期:2021–12–05

编辑/成森