

安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: 基于基因表达数据库筛选肺腺癌耐药相关分子标志物及其临床意义
作者: 韦韩东, 陈数星, 刘琳婷, 景子涵, 杨译婷, 宋琼, 王闻楚, 邹春林, 王丽惠
收稿日期: 2025-07-28
网络首发日期: 2025-09-12
引用格式: 韦韩东, 陈数星, 刘琳婷, 景子涵, 杨译婷, 宋琼, 王闻楚, 邹春林, 王丽惠. 基于基因表达数据库筛选肺腺癌耐药相关分子标志物及其临床意义[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250912.1102.009>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于基因表达数据库筛选肺腺癌耐药相关分子标志物及其临床意义

韦韩东¹, 陈数星², 刘琳婷², 景子涵³, 杨译婷¹, 宋 琼¹, 王闻楚¹, 邹春林¹, 王丽惠¹

(¹广西医科大学基础医学院, 转化医学研究中心, 长寿与老年相关疾病教育部重点实验室, 神经科学研究所“广西脑科学研究”重点实验室, 南宁 530021; ²广西医科大学第一临床医学院, 南宁 530021; ³广西医科大学生命科学研究院, 南宁 530021)

摘要 目的 以基因表达数据库中已发表的芯片数据为基础, 使用生物信息学方法筛选差异表达基因, 以期发现与肺腺癌诊断/预后及耐药性相关的分子标志物。**方法** 对基因表达综合数据库 (GEO) 中已发表的肺腺癌 mRNA 芯片数据集 GSE32863 和肺腺癌耐药 mRNA 芯片数据集 GSE77209 进行差异表达分析; 通过生物学功能注释、基因通路富集分析、蛋白质相互作用网络分析等生物信息学方法发现和识别与差异表达基因相关的生物学功能和信号通路; 在癌症基因组图谱 (TCGA) 肺腺癌数据集中验证差异表达基因在正常肺组织和癌组织中的表达及对肺腺癌患者生存的影响; 基于 CellMiner 跨数据库平台 (CellMiner CDB) 中癌症药物敏感性基因组学数据集 (GDSC) 通过 Pearson 相关分析法分析差异表达基因与抗癌药物半数抑制浓度 (IC_{50}) 之间的相关性。**结果** 共 77 个基因在肺腺癌组织和耐药细胞中显著性差异表达。差异表达基因主要富集到了微管、外泌体、细胞周期、核受体的信号传导等癌症相关生物学过程。构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络筛选分子复合物子网络 (MCODE), 其中 5 个相关性最高的基因作为耐药核心基因, 包括泛素偶联酶 E2 T (UBE2T)、驱动蛋白家族成员 20A (KIF20A)、PCNA 钳夹相关因子 (KIAA0101)、垂体瘤转化基因-1 (PTTG1) 和 NIMA 相关激酶 2 (NEK2)。生存分析结果显示这 5 个基因在肺腺癌组织和耐药细胞中均上调并与肺腺癌患者的不良预后显著相关。药敏分析结果提示高表达 PTTG1 和 UBE2T 与包括紫杉醇、多烯紫杉醇在内的多种抗肿瘤药物的敏感性显著性相关。RT-PCR 验证显示 PTTG1 和 UBE2T 在 A549 和 H358 多烯紫杉醇耐药细胞 (A549-TXR 和 H358-TXR) 中高表达。**结论** PTTG1 和 UBE2T 具备成为肺腺癌耐药分子标志物的潜能。

关键词 非小细胞肺癌; 肺腺癌; 生物信息学; 差异表达基因; 分子标志物; 耐药

2025-07-28 接收

基金项目: 广西自然科学基金区域高发疾病研究联合专项 (编号: 2023GXNSFAA026338); 国家自然科学基金项目 (编号: 81803564、82160448、82160482); 大学生创新创业训练计划项目 (编号: 202210598040、202210598038、202210598033、202110598029)

作者简介: 韦韩东, 男, 硕士研究生;

王丽惠, 女, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: hellowanglihui@hotmail.com

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A

Screening and validation of chemoresistance marker in lung adenocarcinoma based on gene expression profile

Wei Handong¹, Chen Shuxing², Liu Linting², Jing Zihan³, Yang Yiting¹, Song Qiong¹,

Wang Wenchu¹, Zou Chunlin¹, Wang Lihui¹

(¹Center for Translational Medicine, Key Laboratory of Longevity and Aging-Related Diseases, Ministry of Education, Institute of Neuroscience and Guangxi Key Laboratory of Brain Science, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021; ²The First Clinical Medical College, Guangxi Medical University, Nanning 530021; ³Life Science Institute, Guangxi Medical University, Nanning 530021)

Abstract Objective To discover molecular markers associated with lung adenocarcinoma diagnosis/prognosis and drug resistance through screening of differentially expressed genes based on published chip data in gene expression databases using bioinformatics methods. **Methods** Comprehensive analysis was performed in available mRNA microarray datasets including lung adenocarcinoma tissues dataset GSE32863 and lung adenocarcinoma taxane-platin resistance dataset GSE77209 from the gene expression omnibus (GEO) database. Gene ontology enrichment analysis, gene pathway enrichment analysis and protein interaction network analysis were performed based on significantly correlated genes. The expression level of genes was validated in the cancer genome atlas (TCGA) dataset. Survival differences were assessed by the log-rank test in TCGA lung adenocarcinoma dataset. Based on the publications genomics of drug sensitivity in cancer (GDSC) database in CellMiner cross database (CellMiner CDB), Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between differentially expressed genes and the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of anticancer drugs. **Results** There were a total of 77 genes which had a different expression in resistance lung adenocarcinoma cells and lung adenocarcinoma cancer tissues. The functional enrichment analysis showed that these co-different expression genes were mainly enriched in microtubule, extracellular exosome, cell cycle and signaling by nuclear receptors. Protein-protein

interactions (PPI) network screened 6 most connected genes as molecular complex (MCODE). Among the MCODE, overexpressed ubiquitin conjugating enzyme E2 T (UBE2T), kinesin family member 20A(KIF20A), PCNA clamp associated factor (KIAA0101), pituitary tumor-transforming gene 1 (PTTG1) and NIMA related kinase 2 (NEK2) were associated with poor outcomes. Survival analysis results showed that these five genes were upregulated in lung adenocarcinoma tissues and drug-resistant cells and were significantly associated with poor prognosis in lung adenocarcinoma patients. Drug sensitivity analysis results suggested that high expression of PTTG1 and UBE2T was significantly associated with sensitivity to multiple anticancer drugs, including paclitaxel and docetaxel. RT-PCR validation showed that PTTG1 and UBE2T were highly expressed in docetaxel-resistant cells A549-TXR and H358-TXR. **Conclusion** PTTG1 and UBE2T holds the potential to be chemoresistance markers in lung adenocarcinoma.

Key words non small cell lung cancer; lung adenocarcinoma; bioinformatics analysis; differentially expressed genes; molecular markers; chemoresistance

Fund programs Joint Special Project for Regional High-Incidence Diseases Research, Natural Science Foundation of Guangxi (No. 2023GXNSFAA026338); National Natural Science Foundation of China (Nos. 81803564, 82160448, 82160482); National College Student Innovation and Entrepreneurship Training Project (Nos. 202210598040, 202210598038, 202210598033, 202110598029)

Corresponding author Wang Lihui, E-mail: hellowanglihui@hotmail.com

肺癌是癌症死亡的主要原因。非小细胞肺癌（non small cell lung cancer, NSCLC）在所有肺癌病例中约占 85%。肺腺癌约占 NSCLC 的 55%。NSCLC 发病率较高，早期患者一般无明显临床症状或仅可见轻微症状，由于临床上缺乏高特异性的肺癌诊断/预后标志物，导致大多数肺癌患者在确诊时就已经是晚期并且发生转移，错过手术的最佳时机^[1]。紫杉烷类（紫杉醇、多烯紫杉醇）和铂类是治疗 NSCLC 重要的一线 and 二线药物。然而紫杉烷类和铂类药物联用有效率仅为 20%~40%，中位生存期仅为 8~10 个月。大部分患者在 3~4 个月内即进入病情进展期，进展期后只有 30%~40% 患者有机会接受二线化疗，可二线化疗的有效率却更不理想^[2]。化疗耐药是造成这一现象的主要原因，可见寻找肺腺癌耐药相关分子标志物尤为迫切。本项研究基于基因表达谱数据库筛选肺腺癌发生、发展和耐药相关分子标志物，为阐明肺腺癌耐药分子机制和逆转化疗耐药提供线索和方向。

1 材料与方法

1.1 已发表的芯片数据收集 GSE77209 和 GSE32863 芯片数据均来源于美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的开源基因表达综合数据库 (gene expression omnibus, GEO) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。GSE77209 为 Dalvi et al^[3]发表的包括 2 对 NSCLC 紫杉醇-卡铂耐药细胞系 (亲本细胞 H1299、H1355 及耐药细胞 H1299 T18、H1355 T16) 各 3 次重复的 Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip 芯片测序结果。GSE32863 为 Selamat et al^[4]公布的包括 58 对肺腺癌组织和癌旁组织的 Illumina HumanWG-6 v3.0 expression beadchip 芯片测序结果。下载并获得原始细胞实验文件 (cell experiment file, CEL) 之后采用 RMA 算法 (robust multi-array average, RMA) 将数据归一化用于之后分析。

1.2 差异表达基因的筛选 以 $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1.0$ 且校正后的 $P < 0.05$ 为条件筛选肺腺癌患者 GSE32863 数据库中差异表达的基因; 以 $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 0.5$ 且 $P < 0.05$ 为条件筛选耐药细胞 GSE77209 数据库中差异表达基因。在 GSE77209 和 GSE32863 中均差异表达的基因作为备选基因。之后通过 Cluster 3.0 软件进行聚类分析并用 TreeView 软件对数据进行可视化。

1.3 蛋白质相互作用 (protein protein interaction, PPI) 网络构建 通过 STRING 数据库 (<https://string-db.org>) 构建差异表达蛋白相互作用网络。通过 Cytoscape 软件对 PPI 网络数据进行可视化, 通过 Cytoscape 软件中的分子复合物子网络 (molecular complex, MCODE) 插件经 K-means 聚类算法对 PPI 网络中蛋白进行再分类并筛选关键子网络。

1.4 生物学功能注释和基因通路富集分析 采用 Metascape (<http://metascape.org/>)^[5]对共同差异表达基因进行 GO 功能分析 (gene ontology enrichment analysis, GO) 和 Ractome 信号通路富集分析。以 P 值对差异表达基因相关信号通路富集途径进行排序, $P \leq 0.05$ 视为显著富集。

1.5 差异表达基因的表达验证及患者生存分析 通过癌症基因组图谱数据 (the cancer genome atlas database, TCGA) 基因表达谱交互式分析可视化网站 (gene expression profiling interactive analysis, GEPIA, <http://gepia.cancer-pku.cn>)^[6] 进行差异表达基因验证和生存分析。筛选条件为肺腺癌数据集 (包括 483 例肺腺癌组织和 347 例癌旁组织), 当同时满足 $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$ 且 $P < 0.05$ 时为显著性差异表达。使用 Kaplan-Meier 生存分析的 Log-Rank 法来检验目的基因在肺腺癌患者中的生存差异, 当 Logrank 检验结果 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。从人类蛋白图谱数据库 (human protein atlas, HPA)^[7]中获取差异表达蛋白的免疫组织化学信息。

1.6 药物敏感性分析 通过 CellMiner CDB 平台 (VERSION: 1.7)^[8], 选用癌症药物敏感性基因组学数据集 (Genomics of Drug Sensitivity in Cancer portal, GDSC), 其中药物敏感性数值以 $-\lg(\text{IC}_{50})$ 形式进行分析; 基因表达值选用 RNA-seq 表达值, $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 形式进行分析; 细胞样本选用肺癌细胞集, 通过 Pearson 相关分析法和多元线性回归模型, 评估肺腺癌耐药核心基因与抗肿瘤药

物化疗敏感性之间的关系。

1.7 RNA 提取和 RT-PCR 实验 采用 TRIzol® Reagent (Ambion, Cat. 15596) 并根据试剂说明书提取肺腺癌亲本细胞系 A549、H358 和肺腺癌多烯紫杉醇耐药细胞系 A549-TXR、H358-TXR 中总 RNA, 使用 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit 试剂盒 (Applied Biosystems, Cat. 4374966) 合成 cDNA。采用试剂盒 PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems, Cat. A25777) 配置 qRT-PCR 反应体系, 于 ABI 7300 RT-PCR 仪中检测, 对结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法分析, GAPDH 作为内参基因。PCR 引物序列, PTTG1: Forward (5' -3') ATGAATGCGGCTGTTAAGACCTG, Reverse (5' -3') TCCCATCTAAGGCTTTGATTGAAGG ; UBE2T : Forward (5' -3') TGATTCTGCTGGAAGGATTTGTCTG, Reverse (5' -3') CAGTTGCGATGTTGAGGGATGG。

1.8 统计学处理 通过 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, GraphPad Prism 8.0 软件作图, 正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 Student *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 发现和识别潜在的肺腺癌耐药分子标志物 经过差异表达分析初步筛选, 在 GSE77209 数据集(包括肺癌亲本细胞 H1299、H1355 和耐药细胞 H1299 T18、H1355 T16) 中共得到 621 个在耐药细胞 H1299 T18 和 H1355 T16 中差异表达的基因。其中与亲本细胞相比, 在耐药细胞中共同高表达的基因 281 个, 共同低表达基因 340 个 (图 1A、1B)。之后对 GSE32863 (包括 58 对癌旁正常组织和肺腺癌组织) 进行初步筛选, 结果显示 1 438 个基因差异表达, 其中肺腺癌组织中高表达基因 554 个, 低表达基因 884 个 (图 1C)。对 GSE77209 和 GSE32863 中获得的差异表达基因取交集, 结果显示共有 28 个基因共同高表达, 49 个基因共同低表达 (图 1D)。聚类分析结果显示, 在肺腺癌组织和耐药细胞数据集中共同差异表达的 77 个基因均具有显著特异性 (图 1E)。

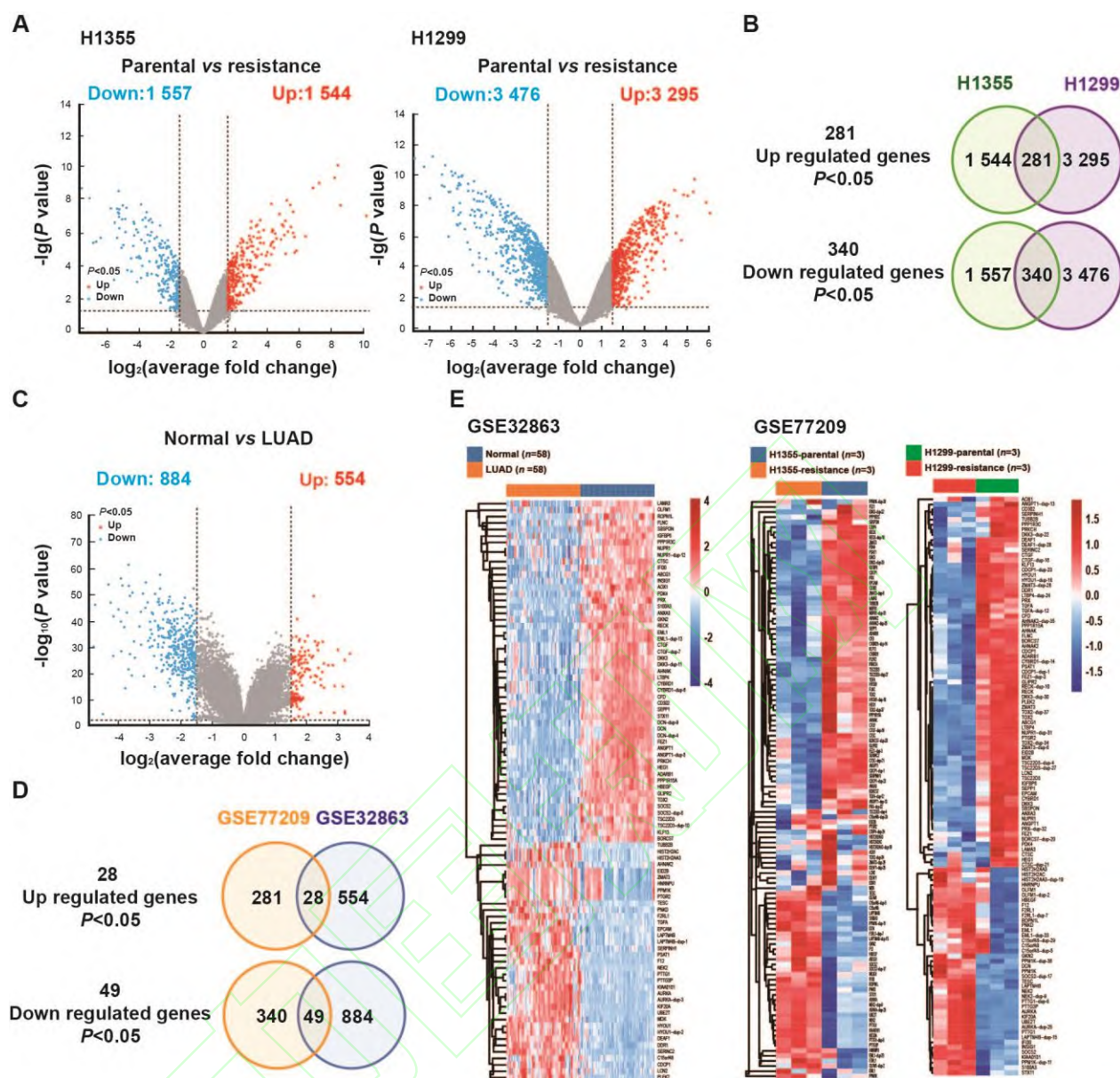


图 1 肺腺癌组织和耐药细胞中差异表达基因的鉴定

Fig. 1 Identification of differentially expressed genes in lung adenocarcinoma tissues and chemoresistant cells

A: Volcano plot reflecting differentially expressed genes in GSE77209 (H1355: left and H1299 : right); B: 281 up-regulated and 340 down-regulated genes in both H1355 and H1299 resistance cells in GSE77209; C: Volcano plot reflecting differentially expressed genes in normal lung tissues and lung adenocarcinoma tissues in GSE32863; D: 28 up-regulated and 49 down-regulated genes in both GSE77209 and GSE32863 date sets; E: Heat maps showing 77 different expressed genes from GSE77209 and GSE32863 date sets.

2.2 共同差异表达基因的 GO 分析和 Reactome 信号通路分析 通过 Metascope 在线分析工具进行 GO 分析和 Reactome 信号通路分析，结果显示在肺腺癌组织和耐药细胞中共同差异表达基因主要参与：单生物细胞过程、代谢过程的调节、细胞代谢过程的调节、初级代谢过程的调节、调控大分子代谢过程、负向调节生物过程、细胞过程的负调控、多细胞生物发育、动物器官发育、细胞组成组织的调节（图 2A）（均 $P<0.01$ ）等生物学进程；主要与细胞质、细胞外区域、细胞外的外泌体、细胞外囊泡、细胞外的细胞器、细胞外空间、超分子纤维、超分子聚合物、微管（图 2B）（均 $P<0.01$ ）等细胞组分相关；其主要分子功能为：蛋白结合、离子结合、阴离子绑定、同一蛋白质结合、分子功能调节剂、酶调节剂活性、细胞外基质结构成分、磷酸酶绑定、胶原蛋白绑定（图 2C）（均 $P<0.05$ ）。Reactome Gene Sets 分析结果显示上调差异表达基因主要与止血、细胞周期、核受体的信号传导、有丝分裂期、细胞外基质组织、MHC II 类抗原呈递、雌激素受体调节信号、APC/C 介导的细胞周期蛋白降解、有丝分裂细胞周期的调节相关（图 2D）（均 $P<0.01$ ）。

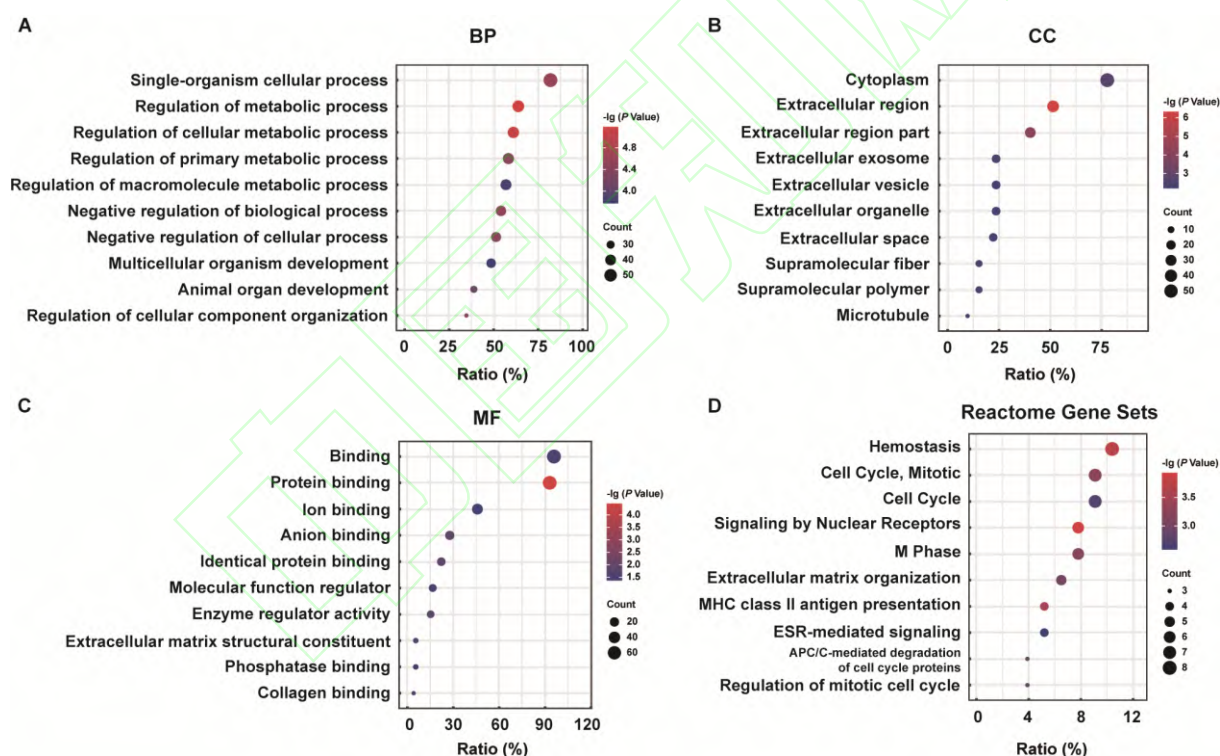


图 2 差异表达基因的 GO 分析和 Reactome 信号通路分析

Fig. 2 GO analysis and Reactome gene sets analysis of differentially expressed genes

A-D: Biological process, cellular location analysis, molecular function and Reactome gene sets analysis of 77 differentially expressed genes.

2.3 构建差异表达基因的编码蛋白相互作用网络及关键基因筛选 对筛选所得的差异表达基因构建 PPI 网络（图 3A）。使用 Cytoscape 中的 MCODE 插件再分类分析 PPI 网络中有重要功能的蛋白并进一步筛选关键子网络。MCODE 子网络中包括 8 个在肺腺癌和耐药细胞中共同上调的基因：NIMA 相关激酶 2（NIMA related kinase 2, NEK2）、极光激酶 A（aurora kinase A, AURKA）、垂体瘤转化基因-1(pituitary tumor-transforming gene 1, PTTG1)、泛素偶联酶 E2 T(ubiquitin conjugating enzyme E2 T, UBE2T)、PCNA 钳夹相关因子（PCNA clamp associated factor, KIAA0101）、驱动蛋白家族成员 20A（kinesin family member 20A, KIF20A）、微管蛋白 β 2B IIb（tubulin beta 2B class IIb, TUBB2B）、肌纤原发生调节剂 1（myofibrillogenesis regulator 1, PNKD），2 个为下调基因：脑胶质瘤发病相关蛋白 2（GLI pathogenesis related 2, GLIPR2）、棘皮类微管关联蛋白样 1（echinoderm microtubule associated protein like 1, EML1）。对 MCODE 中 10 个基因进行再次 GO 富集分析，结果显示这些基因主要与细胞周期进程调节、细胞应激反应调节、细胞形态发生、微管、聚合细胞骨架纤维相关（图 3B）（均 $P<0.01$ ）。随后对 MCODE 中 10 个基因在 TCGA LUAD 数据集、肺腺癌样本 GSE32863 数据集和耐药细胞样本 GSE77209 数据集中进行 Pearson 相关性分析，结果显示，PTTG1、KIAA0101、KIF20A、AURKA、NEK2、UBE2T 在 2 个以上数据集中均呈正相关（图 3C-3E）（ $R>0.5, P<0.01$ ），选取相关性最高的 6 个基因作为关键基因进行下一步的分析。

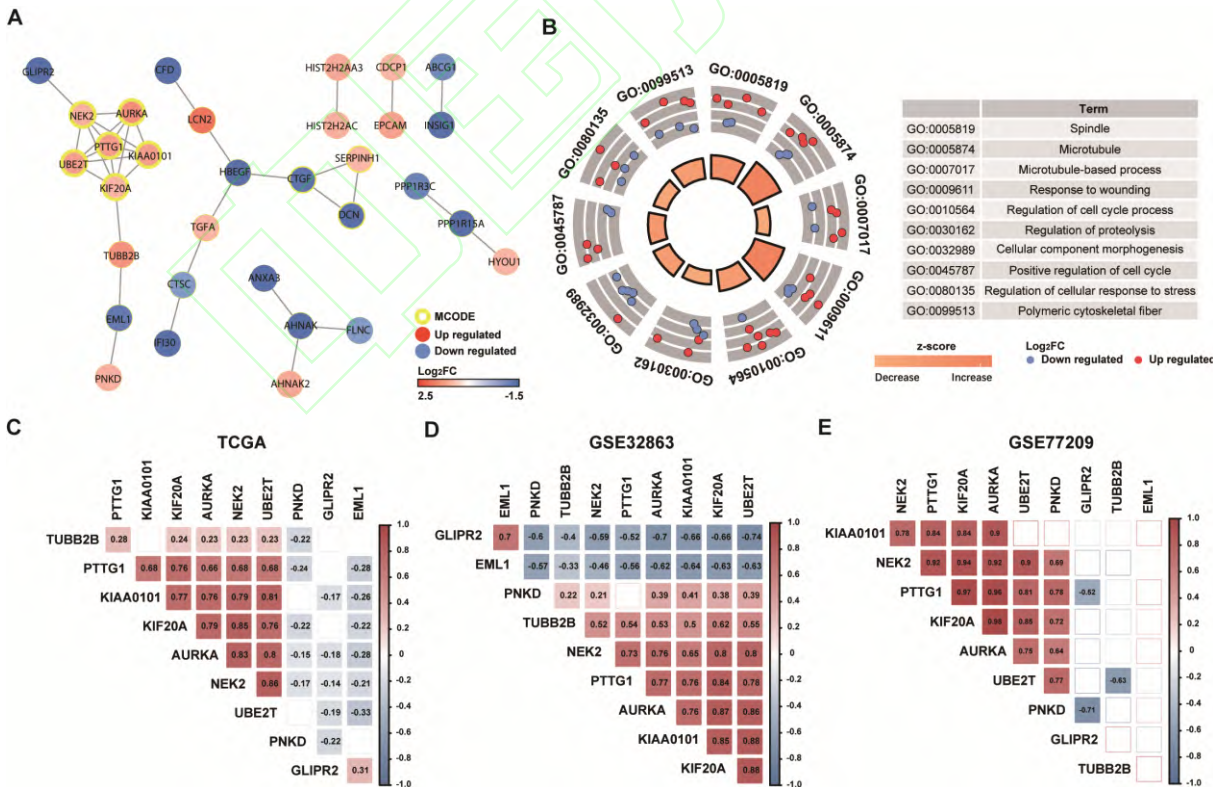


图 3 差异表达基因的 PPI 网络构建及关键基因筛选

Fig. 3 PPI network construction and key genes screening in differentially expressed genes

A: PPI network of 77 differentially expressed genes; B: GO analysis of MCODE genes; C-E: Correlation heat map of drug-resistant core genes in TCGA LUAD dataset, GSE32863 dataset and GSE77209 dataset; Red squares: significant positive correlation; Blue squares: significant negative correlation; White squares: no significant correlation; The number in the square is the *R* value.

2.4 耐药核心基因与肺腺癌预后 单因素方差分析结果显示, 在 TCGA LUAD 数据集中 UBE2T、KIF20A、KIAA0101、PTTG1 和 NEK2 在癌组织中的表达高于正常组织 (图 4A) ($P<0.05$)。该结果与 GSE32863 基因芯片结果一致, 且在 GSE32863 数据集中, 与正常肺组织相比 UBE2T、KIF20A、KIAA0101、PTTG1 和 NEK2 在 I 至 IV 期中均高表达 (图 4B) ($P<0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析结果显示, 肺腺癌中 UBE2T、KIF20A、KIAA0101、PTTG1 和 NEK2 基因高表达的患者 OS 生存期缩短 (图 4C) (总生存期, Log-rank $P<0.05$), 而 AURKA 与肺腺癌患者生存无显著相关性。随后在 HPA 数据库中检测核心基因蛋白表达情况, 除 UBE2T、KIAA0101 和 NEK2 在 HPA 数据库无蛋白表达数据外, 与正常肺组织相比, KIF20A 和 PTTG1 在肺癌组织中高表达 (图 4D、4E)。以上结果提示 UBE2T、KIF20A、KIAA0101、PTTG1 和 NEK2 在肺癌组织中高表达且与不良预后相关, 挑选上述 5 个基因作为耐药核心基因。

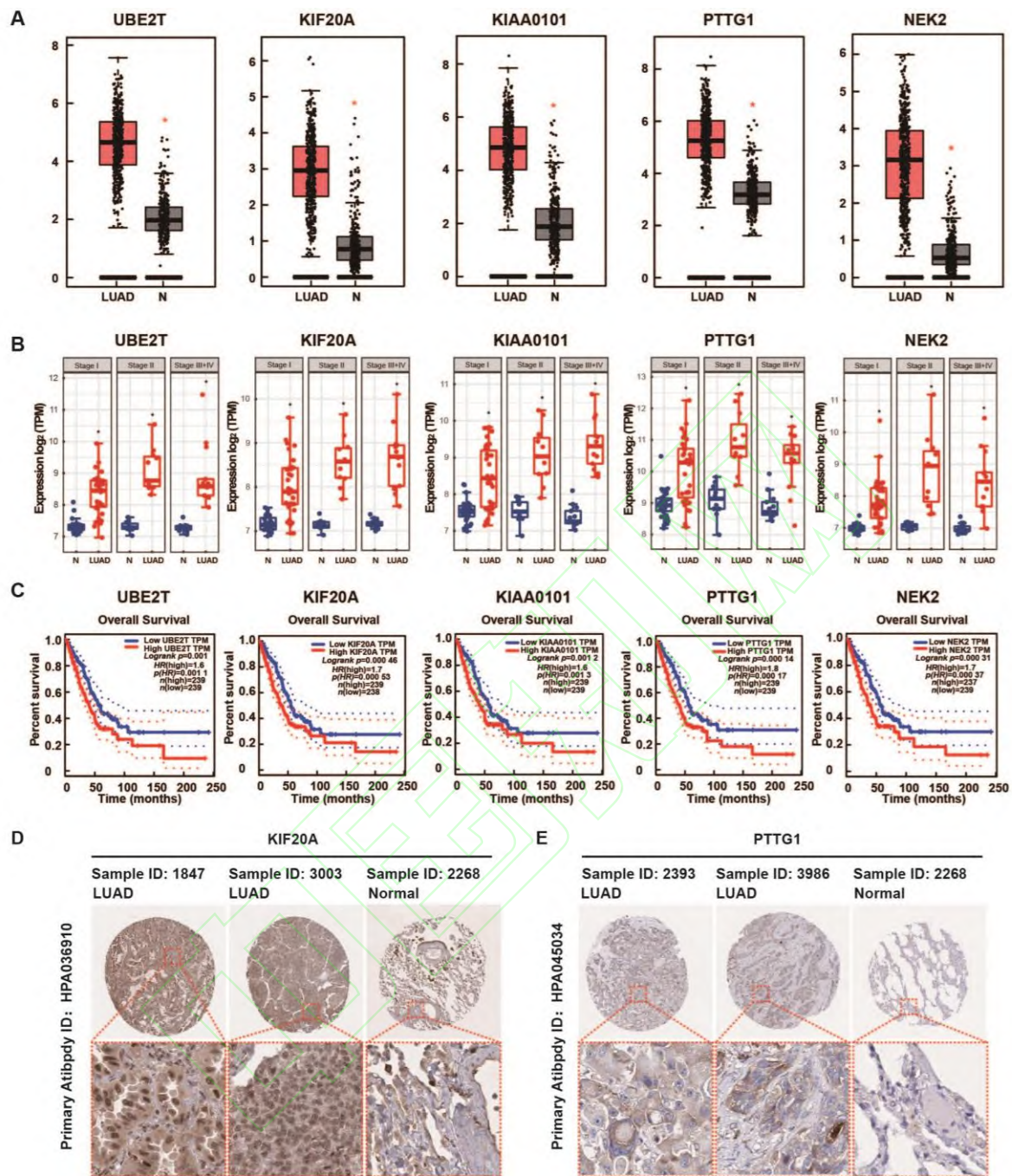


图 4 耐药核心基因 UBE2T、KIF20A、KIAA0101、PTTG1 和 NEK2 在肺腺癌中高表达并且与患者不良预后显著相关

Fig. 4 UBE2T, KIF20A, KIAA0101, PTTG1 and NEK2 were highly expressed in lung adenocarcinoma and significantly correlated with poor patient prognosis

A: The expression of UBE2T, KIF20A, KIAA0101, PTTG1 and NEK2 in TCGA LUAD dataset ; B: The expression of UBE2T, KIF20A, KIAA0101, PTTG1 and NEK2 in GSE32863 dataset; C:

Kaplan-Meier curves and log-rank test of UBE2T, KIF20A, KIAA0101, PTTG1 and NEK2 in TCGA LUAD dataset; D, E: The expression of KIF20A and PTTG1 proteins in lung adenocarcinoma and normal lung tissues, immunohistochemical staining $\times 100$; N: normal tissue; LUAD: lung adenocarcinoma; * $P < 0.05$ vs normal tissue group.

2.5 耐药核心基因 PTTG1 和 UBE2T 与肺癌化疗药物敏感性相关 基于 CDSG 数据库对 5 个耐药核心基因在 119 种化疗药物（其中包括 60 种 FDA 认证药物、58 种临床研究药物）中敏感性进行分析。Pearson 相关性分析结果显示，在 44 株肺癌细胞系中，药物敏感性与 PTTG1、UBE2T、NEK2、KIF20A、KIAA0101 表达相关的药物分别为 59 种、93 种、50 种、21 种与 16 种。其中 PTTG1 和 UBE2T 的表达值与紫杉醇（图 5A）（ $P < 0.05$ ）、多烯紫杉醇（图 5B）（ $P < 0.05$ ）的 $-Lg(IC_{50})$ 值成显著性负相关。为评估耐药核心基因对药物敏感性的响应是否是多基因的，本研究针对高表达 PTTG1 和 UBE2T 细胞敏感的化疗药物进行了多元线性回归模型评估。结果显示，PTTG1 和 UBE2T 表达值作为自变量预测得到的药物敏感性数据与真实情况下 BRAF 抑制剂达拉非尼（图 5C）（ $P < 0.05$ ）和 MEK 抑制剂 CI-1040（图 5D）（ $P < 0.05$ ）、RDEA119（瑞法替尼， $P < 0.05$ ）（图 5E、5F）的药敏数据呈正相关。

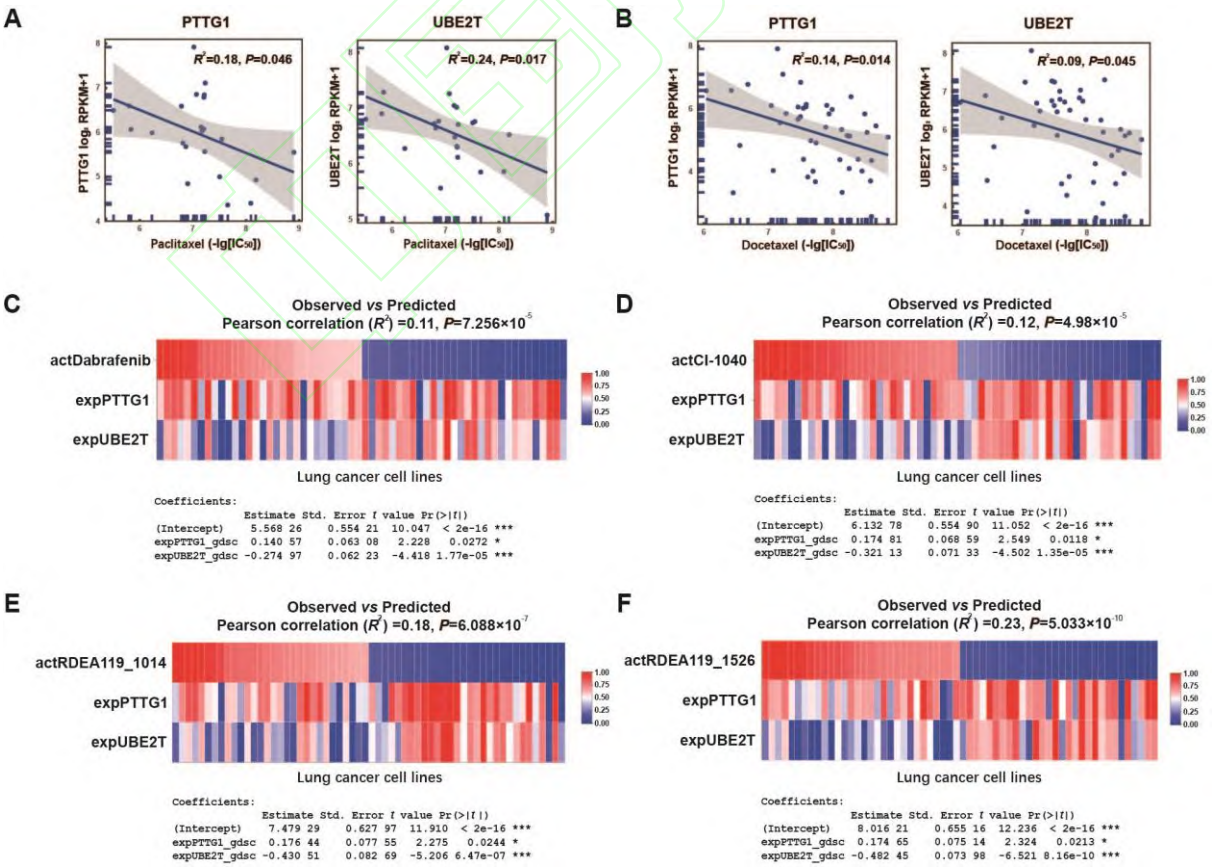


图 5 PTTG1 和 UBE2T 与化疗药物的敏感性分析

Fig. 5 Correlation of PTTG1/UBE2T and drug response

A: Correlation of PTTG1/UBE2T with the paclitaxel response in lung cancer cell lines; B: Correlation of PTTG1/UBE2T with the docetaxel response in lung cancer cell lines; C-F: Cluster image map of the multivariate analysis of dabrafenib (C), CI-1040 (D) and RDEA119 (remifatinib, E, F) response predicted by the expression of PTTG1 and UBE2T in lung cancer cell lines from the CellMinerCDB database.

2.6 PTTG1 和 UBE2T 在肺腺癌多烯紫杉醇耐药细胞中表达的验证 采用 RT-PCR 在已有肺腺癌亲本细胞 A549 [$IC_{50} = (1.65 \pm 0.32) \text{ nmol/L}$]、H358 [$IC_{50} = (1.26 \pm 0.31) \text{ nmol/L}$] 和耐药细胞 A549-TXR [$IC_{50} = (188.50 \pm 21.70) \text{ nmol/L}$]、H358-TXR [$IC_{50} = (33.28 \pm 4.47) \text{ nmol/L}$] (图 6A) 中检验了 PTTG1 和 UBE2T 的表达。结果显示,与亲本细胞 A549 和 H358 相比,多烯紫杉醇耐药细胞 A549-TXR 和 H358-TXR 中 PTTG1 和 UBE2T 高表达 ($P < 0.05$) (图 6B)。

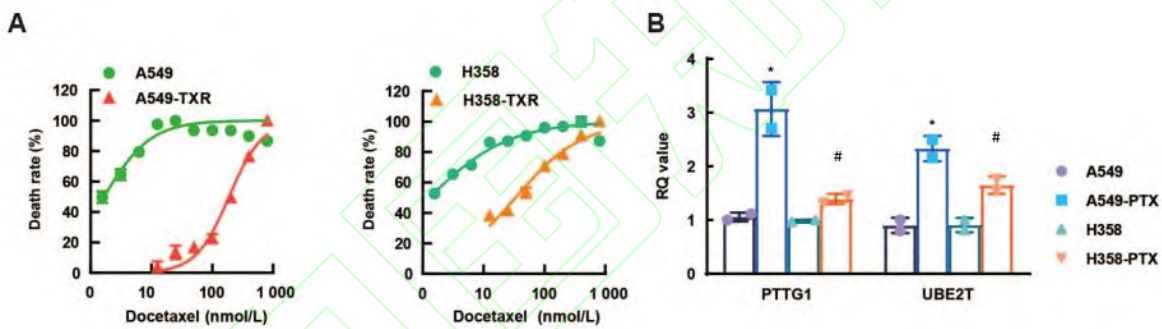


图 6 PTTG1 和 UBE2T 在肺腺癌多烯紫杉醇耐药细胞中的表达水平的验证

Fig. 6 PTTG1 and UBE2T expression levels were significantly higher in docetaxel resistant cells

A: IC_{50} of resistant cells/parental cells (A549-TXR /A549, H358-TXR /H358) to docetaxel for 72 hours; B: The expression of PTTG1 and UBE2T in parental and docetaxel resistant cells; * $P < 0.05$ vs A549 group; # $P < 0.05$ vs H358 group.

3 讨论

在中国,肺癌发病率居恶性肿瘤首位,由于肺癌早期患者一般无明显临床症状或仅可见轻微症状,导致大部分患者在确诊时已属晚期,错过了手术治疗的最佳时机。中晚期肺癌主要采用化疗药

物联合应用为主的治疗模式，但仍有 60%~80% 的患者不能从中获益。肿瘤细胞耐药是许多患者治疗失败的主要原因，并且存活的耐药细胞将进展为恶性程度更高的癌细胞^[9]。可见筛选与肺癌耐药相关的基因及有关通路，寻找潜在的生物标志物，对于肺癌治疗具有十分重要的意义^[10]。

本研究对肺腺癌组织及耐药细胞数据库进行生物信息学分析，共筛选出 77 个在肺腺癌组织和耐药细胞中共同差异表达的基因。之后构建 PPI 蛋白网络进而筛选 MCODE 关键子网络，MCODE 中包括 8 个在肺腺癌和耐药细胞中上调基因：NEK2、AURKA、PTTG1、UBE2T、KIAA0101、KIF20A、TUBB2B、PNKD，2 个下调基因：GLIPR2、EML1。GO 分析结果显示关键子网络中基因主要与细胞周期进程调节、细胞应激反应调节、细胞形态发生、微管、聚合细胞骨架纤维相关。相关性分析结果显示 PTTG1、KIAA0101、KIF20A、AURKA、NEK2 和 UBE2T 在肺腺癌组织和耐药细胞数据集中呈正相关。TCGA 数据库中验证结果显示 PTTG1、KIAA0101、KIF20A、NEK2 和 UBE2T 在肺腺癌组织中高表达且与肺腺癌不良预后显著相关，挑选上述 5 个基因作为耐药核心基因。基于 CDSG 数据库对 5 个耐药核心基因进行药物敏感性分析，发现耐药核心基因中 PTTG1 和 UBE2T 的表达值与紫杉醇、多烯紫杉醇的药物敏感性相关。体外验证显示 PTTG1 和 UBE2T 在多烯紫杉醇耐药细胞 A549-TXR 和 H358-TXR 中显著性高表达，提示 PTTG1 和 UBE2T 具备成为耐药相关分子标志物的潜能。

垂体肿瘤转化基因 1 (pituitary tumor transforming gene 1, PTTG1) 作为调控蛋白在染色体稳定性、p53 信号通路和 DNA 损伤修复中起重要作用。研究^[11]表明，PTTG1 在包括肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、肾癌在内的多种癌症中高表达并与患者不良预后显著相关。PTTG1 可作为癌基因促进肿瘤细胞增殖、侵袭、转移和治疗抵抗。PTTG1 通过调控细胞周期促进乳腺癌进展，并与他莫昔芬耐药呈正相关。靶向阻断 PTTG1 和 TGF- β 1/SMAD3 通路可改善肺腺癌肿瘤微环境中的免疫抑制，增强单次高剂量电离辐射治疗诱导的全身抗肿瘤免疫应答^[12]。PTTG1、ESPL1 和 PTTG1IP 基因表达模式可作为用药指标，用于预测酪氨酸激酶抑制剂对慢性髓性白血病患者的治疗效果^[13]。有研究表明 PTTG1 在肺腺癌中异常高表达，高表达 PTTG1 可抑制 TGF β 1/SMAD3 信号通路进而促进肺癌细胞的生长和侵袭。

UBE2T 在多种肿瘤中（肝细胞癌、胆囊癌和胃癌等）显著性高表达，且与肿瘤转移及患者不良预后相关。UBE2T 通过泛素化途径介导 RPL6 降解促进胶质母细胞瘤增殖、侵袭和转移^[14]。UBE2T 可促进肺腺癌细胞增殖、迁移、侵袭，其机制与促进癌细胞上皮-间充质转化及自噬相关^[15]。此外，UBE2T 还具备成为癌症放化疗分子标志物的潜能。UBE2T 通过诱导上皮-间充质转化，通过泛素化介导 FOXO1 降解，进而促进 NSCLC 细胞辐射抗性。高表达 UBE2T 可通过转录激活核糖核苷酸还原酶 1/2(RRM1/2)重塑嘧啶代谢，促进嘧啶生物合成，最终导致胰腺癌吉西他滨耐药^[16]。可见 PTTG1

和 UBE2T 高表达不但与紫杉醇类药物敏感性相关,更与其他化疗药物敏感性相关。之后本研究对高表达 PTTG1 和 UBE2T 细胞可能敏感的化疗药物进行了综合评估。除紫杉醇类药物之外,PTTG1 和 UBE2T 还具备成为新型靶向制剂达拉非尼、CI-1040 和瑞法替尼药物敏感性评价指标的潜能。

参考文献

- [1] Souza V G P, Forder A, Brockley L J, et al. Liquid biopsy in lung cancer: biomarkers for the management of recurrence and metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8894. doi:10.3390/ijms24108894.
- [2] Scagliotti G V, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(21): 3543-51. doi:10.1200/JCO.2007.15.0375.
- [3] Dalvi M P, Wang L, Zhong R, et al. Taxane-platin-resistant lung cancers co-develop hypersensitivity to JumonjiC demethylase inhibitors[J]. *Cell Rep*, 2017, 19(8): 1669-84. doi:10.1016/j.celrep.2017.04.077.
- [4] Selamat S A, Chung B S, Girard L, et al. Genome-scale analysis of DNA methylation in lung adenocarcinoma and integration with mRNA expression[J]. *Genome Res*, 2012, 22(7): 1197-211. doi:10.1101/gr.132662.111.
- [5] Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523. doi:10.1038/s41467-019-09234-6.
- [6] Tang Z, Li C, Kang B, et al. GEPIA a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W98-102. doi:10.1093/nar/gkx247.
- [7] Uhlén M, Fagerberg L, Hallström B M, et al. Proteomics. tissue-based map of the human proteome[J]. *Science*, 2015, 347(6220): 1260419. doi:10.1126/science.1260419.
- [8] Luna A, Elloumi F, Varma S, et al. CellMiner Cross-Database (CellMinerCDB) version 1.2: exploration of patient-derived cancer cell line pharmacogenomics[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1083-93. doi:10.1093/nar/gkaa968.
- [9] Kryczka J, Kryczka J, Czarnecka-Chrebelska K H, et al. Molecular mechanisms of chemoresistance induced by cisplatin in NSCLC cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8885. doi:10.3390/ijms22168885.
- [10] 李静娴, 陈辉广, 吴建泽, 等. 基于生物信息学分析 VCAN 作为结直肠癌顺铂耐药关键靶点研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(4): 624-33. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.006.
- [10] Li J X, Chen H G, Wu J Z, et al. Bioinformatics analysis of VCAN as a key target in colorectal cancer cisplatin resistance[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(4): 624-33. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.006.
- [11] Meng C, Zou Y, Hong W, et al. Estrogen-regulated PTTG1 promotes breast cancer progression by regulating cyclin kinase expression[J]. *Mol Med*, 2020, 26(1): 33. doi:10.1186/s10020-020-00161-7.
- [12] Chen Z, Cao K, Hou Y, et al. PTTG1 knockdown enhances radiation-induced antitumour immunity in lung adenocarcinoma[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119594. doi:10.1016/j.lfs.2021.119594.
- [13] Christiani E, Naumann N, Weiss C, et al. Gene expression pattern of ESPL1 PTTG1 and PTTG1IP can potentially predict response to TKI first-line treatment of patients with newly diagnosed CML[J]. *Cancers*, 2023, 15(9): 2652. doi:10.3390/cancers15092652.

- [14] Tao X, Wu X, Zhou P, et al. UBE2T promotes glioblastoma malignancy through ubiquitination-mediated degradation of RPL6[J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(2): 521-32. doi:10.1111/cas.15604.
- [15] Zhang J, Wang J, Wu J, et al. UBE2T regulates FANCI monoubiquitination to promote NSCLC progression by activating EMT[J]. *Oncol Rep*, 2022, 48(2). doi:10.3892/or.2022.8350.
- [16] Jiang X, Ma Y, Wang T, et al. Targeting UBE2T potentiates gemcitabine efficacy in pancreatic cancer by regulating pyrimidine metabolism and replication stress[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(7): 1232-47. doi:10.1053/j.gastro.2023.02.025.

