

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.09.010

论著·临床

多基因表达与结直肠癌患者病理特征对预后的风险模型构建分析

高艳红, 李华, 赵金来, 王阳

基金项目: 河北省医学科学研究课题(20220589)

作者单位: 063000 河北省唐山市中心医院消化内科(高艳红、李华), 胃肠外科(赵金来、王阳)

通信作者: 李华, E-mail: edith6600@163.com

【摘要】 目的 分析并构建多基因表达与结肠癌患者病理特征对预后的风险模型。方法 选择 2019 年 1 月—2021 年 1 月唐山市中心医院消化内科及胃肠外科行手术治疗的结直肠癌患者 299 例纳入研究, 根据患者预后情况分为预后良好组和预后不良组, 比较 2 组患者临床资料及 Cdc2 样激酶 1 (CLK1)、溶质载体家族 2 成员 3 (SLC2A3)、颗粒酶 B (GZMB)、趋化因子配体 11 (CXCL11) 等基因的表达水平, 采用 Cox 回归模型确定结直肠癌患者预后的预测因子并建立列线图风险预测模型, 采用受试者工作特征曲线 (ROC) 评估列线图预测模型的预测能力。结果 预后不良组患者 TNM 分期 IV 期、低分化比例及 CLK1、SLC2A3 mRNA 表达水平明显高于预后良好组 [$\chi^2(t)/P = 11.583/0.009, 16.103/<0.001, 4.161/<0.001, 4.949/<0.001$], 而 GZMB、CXCL11 mRNA 表达水平明显低于预后良好组 ($t/P = 4.877/<0.001, 5.267/<0.001$); 多因素 COX 回归分析显示, CLK1、SLC2A3 mRNA 高表达是结直肠癌患者预后的独立危险因素 [$HR(95\% CI) = 7.344(3.302 \sim 16.334), 7.594(3.043 \sim 18.952)$], 而 GZMB、CXCL11 mRNA 高表达是其保护因素 [$HR(95\% CI) = 0.001(0.000 \sim 0.019), 0.005(0.001 \sim 0.043)$]; ROC 曲线显示, CLK1、SLC2A3、GZMB、CXCL11 基因及四项联合预测结直肠癌不良预后的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.570、0.635、0.679、0.582 及 0.758, 联合检测明显优于各项指标单独检测 ($Z = 4.751, 4.129, 4.483, 5.003$, 均 $P < 0.01$)。结论 多基因表达风险模型能够有效预测行手术治疗的结直肠癌患者预后。

【关键词】 结直肠癌; Cdc2 样激酶 1; 溶质载体家族 2 成员 3; 颗粒酶 B; 趋化因子配体 11; 风险模型**【中图分类号】** R735.3⁺7 **【文献标识码】** A

Analysis of risk model construction of polygene expression and pathological characteristics of patients with colorectal cancer for prognosis Gao Yanhong*, Li Hua, Zhao Jinlai, Wang Yang. *Department of Gastroenterology, Tangshan Central Hospital, Hebei Province, Tangshan 063000, China

Corresponding author: Li Hua, E-mail: edith6600@163.com

Funding program: Research Project of Medical Science of Hebei Province (20220589)

【Abstract】 Objective To analyze and construct a risk model of polygene expression and pathological characteristics of colon cancer patients on prognosis. **Methods** A total of 299 patients with colorectal cancer who underwent surgical treatment in the Department of Gastroenterology and Surgery of Tangshan Central Hospital from January 2019 to January 2021 were selected and included in the study. According to the prognosis of the patients, they were divided into a good prognosis group and a poor prognosis group. Data and expression levels of Cdc2-like kinase 1 (CLK1), solute carrier family 2 member 3 (SLC2A3), granzyme B (GZMB), chemokine ligand 11 (CXCL11) and other genes, using Cox regression model to determine colorectal cancer Predictors of patient prognosis and established a nomogram risk prediction model, the receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the predictive ability of the nomogram prediction model. **Results** The poor prognosis group had significantly higher TNM stage IV, poorly differentiated ratio and CLK1 and SLC2A3 mRNA expression levels than the good prognosis group, while GZMB and CXCL11 mRNA expression levels were significantly lower than those in the good prognosis group [$\chi^2(t)/P = 11.583/0.009, 16.103/<0.001, 4.161/<0.001, 4.949/<0.001, 4.877/<0.001, 5.267/<0.001$]; multivariate COX regression analysis showed that high expression of CLK1 and SLC2A3 mRNA was an independent risk factor for the prognosis of colorectal cancer patients, while the high expression of GZMB and CXCL11 mRNA is its protective factor [$HR(95\% CI) = 7.344(3.302 \sim 16.334), 7.594(3.043 \sim 18.952), 0.001(0.000 \sim 0.019), 0.005(0.001 \sim$

0.043)]; The ROC curve showed that area under the curve (AUC) of CLK1, SLC2A3, GZMB, CXCL11 and combination of four gene was 0.570, 0.635, 0.679, 0.582 and 0.758, respectively, there was significant difference between the combination and single gene ($Z=4.751, 4.129, 4.483, 5.003$, all $P<0.001$). **Conclusion** The polygene expression risk model can effectively predict the prognosis of colorectal cancer patients undergoing surgical treatment.

【Key words】 Colorectal cancer; Cdc2 like kinase 1; Solute carrier family 2 member 3; Granzyme B; Chemokine ligand 11; Risk model

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是世界范围内最常见、发病率最高的癌症之一, 占有所有新发癌症的 10%, 2020 年占有所有癌症死亡人数的 9.4%^[1-2]。CRC 的发生发展受年龄、遗传等不可改变的风险因素影响, 还与环境及饮食习惯等可控因素相关^[3]。到 2030 年, 预计全球 CRC 负担将增加 60%, 每年新增病例超过 220 万例, 且超过 110 万人因此死亡^[4]。外科手术是 CRC 最重要的治疗方式之一, 不同 CRC 患者的预后差异很大, 5 年生存率在 10% ~ 90%, 故准确评估 CRC 患者预后是一项严峻的挑战^[5-6]。目前, 预后评估主要基于组织学特征及病理分期, 但即使对患者进行分层处理后, 同一危险分层的患者生存时间也存在差异, 这严重影响了患者预后的评估^[7]。基因组的不稳定性是 CRC 发展的重要特征^[8], 肿瘤 DNA、肿瘤源性细胞及血液中的 miRNA 常用于 CRC 的诊断。研究显示, 晚期恶性病变可使循环核酸水平升高约 15 倍^[9], 提示 CRC 患者预后可能与基因表达间存在一定联系。故基于此, 本研究通过对多基因表达与 CRC 患者预后间的关系进行分析, 并构建预测模型, 以便对 CRC 患者预后提供敏感、特异的预测模型, 现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2019 年 1 月—2021 年 1 月于唐山市中心医院消化内科及胃肠外科行手术治疗的 299 例结直肠癌患者纳入研究, 根据患者预后将其分为预后良好组及预后不良组, 预后不良组患者 TMN 分期 IV 期及低分化比例明显高于预后良好组 ($P<0.01$), 而 2 组患者性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、家族史、肿瘤部位、肿瘤直径、基础疾病等资料比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。本研究通过医院伦理委员会审核并批准 (20181226318), 患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①经病理确诊为结直肠癌; ②首次行手术治疗; ③年龄 18 ~ 75 岁; ④病例资料完整者。(2) 排除标准: ①合并其他肿瘤患者; ②合并炎症反应, 心、脑、肾等脏器功能障碍不耐受手术患者; ③合并血液系统或自身免疫系统疾病者; ④合

并感染性疾病者; ⑤合并精神或神经系统疾病, 不能配合者。

表 1 预后良好组及预后不良组结直肠癌患者基线资料比较
Tab. 1 Comparison of baseline data of colorectal cancer patients between good prognosis group and poor prognosis group

项 目		预后良好组 (n = 224)	预后不良组 (n = 67)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	136(60.71)	39(58.21)	0.135	0.713
	女	88(39.29)	28(41.79)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		65.01 \pm 3.36	64.72 \pm 3.25	0.624	0.533
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		22.95 \pm 3.12	23.01 \pm 3.09	0.138	0.890
吸烟史		34(15.18)	7(10.45)	0.954	0.329
饮酒史		39(17.41)	11(16.42)	0.036	0.850
家族史[例(%)]		7(3.13)	2(2.99)	0.003	0.954
肿瘤部位 [例(%)]	结肠	110(49.11)	31(46.27)	1.734	0.420
	直肠	112(50.00)	34(50.75)		
	结直肠	2(0.89)	2(2.98)		
TNM 分期 [例(%)]	I 期	31(13.84)	8(11.94)	11.583	0.009
	II 期	83(37.05)	21(31.34)		
	III 期	91(40.63)	22(32.84)		
	IV 期	19(8.48)	16(23.88)		
病理分化 [例(%)]	高分化	54(24.10)	12(17.91)	16.103	<0.001
	中分化	155(69.20)	39(58.21)		
	低分化	15(6.70)	16(23.88)		
肿瘤直径($\bar{x} \pm s$, cm)		4.67 \pm 1.05	4.89 \pm 1.11	1.485	0.139
基础疾病 [例(%)]	糖尿病	24(10.71)	7(10.45)	0.004	0.951
	高血压	56(25.00)	15(22.39)	0.191	0.662

1.3 观察指标与方法

1.3.1 相关基因表达水平检测: 采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (quantitative reverse transcription PCR, qRT-PCR) 对基因的表达量进行检测, 拟研究 Cdc2 样激酶 1 (Cdc2-like kinases, CLK1)、溶质载体家族 2 成员 3 (solute carrier family 2 member 3, SLC2A3)、颗粒酶 B (granzyme B, GZMB) 及趋化因子配体 11 (chemokine C-X-C motif ligand 11, CXCL11) 基因表达水平。患者均于入院次日清晨抽取空腹肘静脉血 5 ml, 离心留取上层血清, 置于 -20℃ 环境保存。采用 TRIzolTM 试剂 (Takara 生物有限公司生产) 提取血清总 RNA, 用 PrimeScriptTM RT 试剂盒 (Takara 生物有限公司生产) 进行反转录, 取 cDNA 作为荧光定量模板。反应条件为: 95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃

30 s, 共 45 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量(以健康对照人群基因的中位表达量为 1)。

1.3.2 随访:对患者预后情况进行为期 1 年的随访,术后前 3 个月每个月要求患者于门诊随诊,后每 3 个月至医院随访 1 次,若患者未能如期回院面访,则对患者进行电话或微信随访。预后不良定义为结直肠癌患者肿瘤发生、发展、转移、复发或患者死亡。随访过程中有 8 例患者失联,按脱落处理,最终共纳入患者 291 例,其中预后不良(组)患者 67 例,预后良好(组)患者 224 例。

1.4 统计学方法 采用 R(4.1.3 版)软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;采用 COX 回归分析影响结直肠癌患者预后的因素;采用 survival 和 ggrisk 程序包构建多基因表达风险模型;通过受试者工作特征曲线(ROC)评估预测模型的预测能力。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者基因相对表达量比较 预后不良组患者的 CLK1、SLC2A3 mRNA 表达水平明显高于预后良好组,而 GZMB、CXCL11 mRNA 表达水平明显低于预后良好组(P 均 < 0.01),见表 2。

2.3 结直肠癌患者预后影响因素 COX 回归分析 以结直肠癌患者预后为因变量,上述资料中 $P < 0.05$ 项目(病理分化程度、TNM 分期、CLK1、SLC2A3、GZMB、CXCL11)为自变量,进行单因素 COX 回归分析显示,高、中分化,TMN 分期 I 期、II 期及 III 期,高 GZMB、CXCL11 mRNA 表达是结直肠癌患者预后良好的保护

表 2 2 组结直肠癌患者基因相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of relative gene expression in colorectal cancer patients between the two groups

组别	例数	CLK1	SLC2A3	GZMB	CXCL11
预后良好组	224	1.82 ± 0.41	1.86 ± 0.32	0.89 ± 0.12	0.79 ± 0.17
预后不良组	67	2.08 ± 0.56	2.11 ± 0.48	0.81 ± 0.11	0.67 ± 0.14
t 值		4.161	4.949	4.877	5.267
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

因素,高 CLK1、SLC2A3 mRNA 表达是结直肠癌患者预后不良的危险因素(P 均 < 0.05);多因素 COX 回归分析显示,高 CLK1、SLC2A3 mRNA 表达是结直肠癌患者预后不良的危险因素,高 GZMB、CXCL11 mRNA 表达是结直肠癌患者预后不良的保护因素(P 均 < 0.01),见表 3。

2.4 风险预测因子的选择及预测风险模型图的构建

根据 COX 回归分析结果,CLK1、SLC2A3、GZMB、CXCL11 mRNA 构建多基因表达风险模型图,见图 1。风险评分公式 = CLK1 × 1.994 + SLC2A3 × 2.027 - GZMB × 7.256 - CXCL11 × 5.359。

2.5 结直肠癌患者预后预测模型预测价值分析 应用 ROC 曲线对纳入研究的患者进行内部验证,结果显示,CLK1、SLC2A3、GZMB、CXCL11 及多基因表达风险模型预测 CRC 患者预后的 AUC 分别为 0.570、0.635、0.679、0.582 及 0.758,四项联合预测价值显著优于各指标单独检测($Z = 4.751, 4.129, 4.483, 5.003$,均 $P < 0.01$),见表 4、图 2。

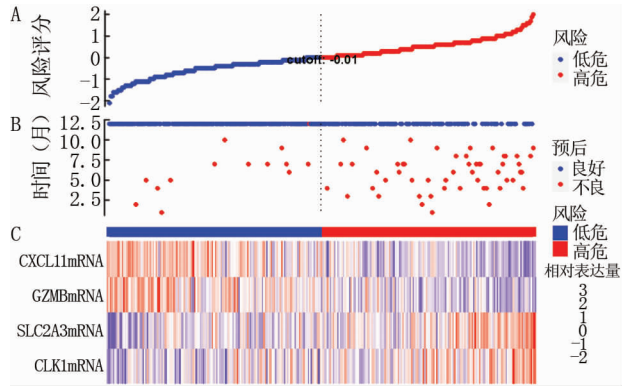
3 讨论

结直肠癌(CRC)是世界上最常见的恶性肿瘤之一,2020 年新增 CRC 病例超过 190 万,死亡 93.5 万

表 3 结直肠癌患者预后影响因素的单因素及多因素 COX 回归分析

Tab. 3 Univariate and multivariate COX regression analysis of prognostic factors in colorectal cancer patients

协变量		β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
单因素 COX 回归分析							
病理分化	高分化	-1.569	0.481	10.651	0.001	0.208	0.081 ~ 0.534
	中分化	-1.444	0.402	12.938	<0.001	0.236	0.107 ~ 0.518
TNM 分期	I 期	-1.183	0.522	5.135	0.023	0.306	0.110 ~ 0.852
	II 期	-1.202	0.418	8.272	0.004	0.300	0.132 ~ 0.682
	III 期	-1.248	0.414	9.077	0.003	0.287	0.127 ~ 0.647
CLK1	mRNA 高	1.814	0.347	27.410	<0.001	6.137	3.11 ~ 12.103
SLC2A3	mRNA 高	1.724	0.379	20.738	<0.001	5.610	2.67 ~ 11.784
GZMB	mRNA 高	-4.539	1.272	12.729	<0.001	0.011	0.001 ~ 0.129
CXCL11	mRNA 高	-4.587	0.938	23.893	<0.001	0.010	0.002 ~ 0.064
多因素 COX 回归分析							
CLK1	mRNA 高	1.994	0.408	23.902	0.000	7.344	3.302 ~ 16.334
SLC2A3	mRNA 高	2.027	0.467	18.880	0.000	7.594	3.043 ~ 18.952
GZMB	mRNA 高	-7.256	1.683	18.594	0.000	0.001	0.000 ~ 0.019
CXCL11	mRNA 高	-5.359	1.123	22.758	0.000	0.005	0.001 ~ 0.043



注:A. 患者危险评分的分布情况,蓝色代表预后不良风险较低患者,红色代表预后不良风险较高患者;B. 患者预后不良的发生情况,蓝色代表预后良好,红色代表预后欠佳;C. 患者不同基因表达情况及其危险

图 1 结直肠癌多基因表达风险评分图

Fig. 1 Polygene expression risk score chart

表 4 风险模型对结直肠癌患者预后预测价值

Tab. 4 Prognostic value of risk model for colorectal cancer patients

变量	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
CLK1	1.823	0.570	0.511 ~ 0.627	0.582	0.558	0.140
SLC2A3	1.920	0.635	0.577 ~ 0.691	0.388	0.871	0.259
GZMB	0.822	0.679	0.622 ~ 0.732	0.418	0.884	0.302
CXCL11	0.710	0.582	0.523 ~ 0.639	0.910	0.286	0.196
四项联合		0.758	0.705 ~ 0.806	0.567	0.866	0.433

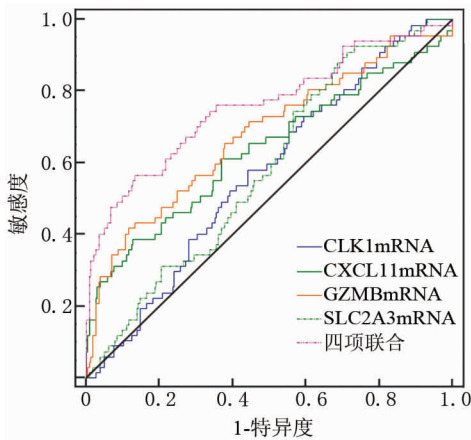


图 2 多基因表达风险模型预测 CRC 术后预后风险 ROC 曲线

Fig. 2 Polygene expression risk model for predicting CRC post-operative prognosis risk ROC curve

人,尽管近年来 CRC 的诊断及治疗取得了巨大进展,但由于 CRC 转移及复发率较高,导致其生存率仍不令人满意^[10]。总的来说,CRC 在发病率方面排名第三,但在病死率方面排名第二,其特点是疗效不佳,预后不良^[1, 11]。越来越多的数据表明,转移性 CRC 患者的 5

年生存率为 10% ~ 15%,此外,侵袭及转移导致了 90% 的 CRC 患者死亡^[12-15]。近年来随着基因组学研究的不断深入,基因技术广泛应用于临床,能有效识别肿瘤的发生、发展并进行诊断,且能对患者预后进行评估^[16-18]。因此,本研究通过对 CLK1、SLC2A3、GZMB 及 CXCL11 基因进行分析,筛选影响 CRC 患者术后预后的风险因素并构建风险预测模型,该模型可以较好地反映患者 CRC 术后预后情况,对 CRC 患者术后预测方面有一定的指导意义。同时用于构建模型的 4 个基因可以为 CRC 术后预后不良的相关基础研究提供可供选择的分子标志物。

CLK 为双特异性激酶,参与细胞存活、细胞周期控制、分化等多种细胞功能,与糖尿病、白血病及肿瘤的发生发展相关^[19-20]。研究显示^[21],CLK1 mRNA 在多种恶性肿瘤中表达异常,且不同肿瘤间表达差异巨大,本研究显示,CLK1 低表达与 CRC 预后不良有关,而在肾癌患者中高 CLK1 表达患者预后不佳,这可能与肿瘤间的异质性相关^[22-24]。CLK1 表达下降可抑制 AMPK 磷酸化,从而使下游 mTOR 信号通路激活,上调 HIF-1 α ,增加糖酵解能力,影响线粒体功能,抑制 Bcl-2 介导的细胞凋亡,而 mTOR 信号通路系细胞生长、增殖及抗凋亡的重要调节通路,与 CRC 恶化、转移密切相关^[25-27],故 CLK1 高表达可能通过介导该通路而使患者预后欠佳。SLC2A 蛋白质家族能催化葡萄糖,是细胞能量的中心调节器,SLC2A3 是膜转运蛋白,其能跨膜转运葡萄糖^[28]。研究显示^[29-30],在 CRC 患者中,SLC2A3 可以通过激活 YAP 蛋白从而使 CRC 肿瘤细胞的侵袭性增加,SLC2A3 高表达表明 CRC 具有更强的攻击性,使 CRC 患者出现更高的浸润水平及临床分期,促进 CRC 的进展,此外,SLC2A3 与 CRC 中 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的浸润相关,进一步证实,SLC2A3 高表达与 CRC 发生、发展相关。且多因素 COX 回归分析结果显示,CLK1 及 SLC2A3 高表达程度越高,其预后不佳风险越高。

GZMB 为丝氨酸蛋白酶家族成员,是一种有效的细胞毒性分子,由毒性 T 淋巴细胞及自然杀伤细胞所合成的 GZMB 能通过穿孔素形成的通道进入肿瘤细胞,靶向消灭癌细胞,除诱导细胞死亡之外,还具有促进组织发育及修复作用^[31-32]。目前认为 GZMB 是抑制肿瘤活动的主要分子,但针对不同肿瘤 GZMB 表达不同,在口腔鳞癌、胆管癌等多种癌症中,GZMB 表达更高^[33],而在肺腺癌及肺鳞癌等癌症中表达较低^[34],而这可能与肿瘤表达的异质性及患者的 FoxP3 表达相关,但大多数癌症患者,随着 GZMB 表达的增加,存活

率上升^[35],与本研究结果相一致,预后良好组患者的 GZMB 表达明显高于预后不良组。趋化因子是分泌蛋白家族的成员,除与炎性反应密切相关外,趋化因子及其受体在肿瘤细胞增殖、迁移及抗凋亡中也具有重要意义^[36]。CXCL11 是 ELR-CXC 趋化因子家族的成员,癌细胞可以通过自分泌或调节微环境中的肿瘤基质细胞释放 CXCL11, CXCL11 不仅调节癌细胞的定向运动,还参与肿瘤细胞进出血管、免疫逃逸、增殖及血管生成的过程^[37]。相关研究显示^[38],CXCL11 的表达与肺癌患者的总生存期延长呈正相关,这与本研究结果一致,CXCL11 高表达的患者其预后良好。CXCL11 是 RBP-J κ 的新靶点,RBP-J κ 是 Notch 信号通路的主要转录因子,而 Notch 通路的失调和异常激活与人类肿瘤发生、发展相关^[39],CXCL11 高表达患者预后良好可能与此相关。

将 COX 回归分析得到的风险构建模型图,可知 CLK1 及 SLC2A3 高表达与预后不良相关,而 GZMB 及 CXCL11 高表达与预后良好相关。此外,通过绘制 ROC 曲线可知,4 种基因联合预测结直肠癌患者预后具有较高的诊断价值,特异度及敏感度相较于其他单一指标具有预测优势。

综上,基于多基因表达构建的 CRC 预后预测模型,能有效对 CRC 患者术后进行预后评估,并具有较高价值。但本研究具有一定局限性,纳入样本相对较少,并未对相关基因的具体作用机制进行分析,故应进行进一步深入研究,对相关基因表达的具体靶点及其与性别、年龄、地域等因素间的关系进行分析。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

高艳红:提出研究思路,设计研究方向,课题设计,论文撰写;李华:设计研究方案、研究流程,论文审核,论文修改;赵金来:实施研究过程,资料搜集整理;王阳:分析整理试验数据,进行统计学分析

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 Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] Zygulska AL, Pierzchalski P. Novel diagnostic biomarkers in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2):852-901. DOI:10.3390/ijms23020852.
- [3] Hsu HY, Chern YJ, Hsieh CT, et al. Increased standardised incidence ratio of cardiovascular diseases among colorectal cancer patients[J]. Int J Colorectal Dis, 2022, 37(4):887-894. DOI:10.1007/s00384-022-04129-3.
- [4] Lewandowska A, Rudzki G, Lewandowski T, et al. Title: Risk factors for the diagnosis of colorectal cancer[J]. Cancer Control, 2022, 29;

- 1-15. DOI:10.1177/10732748211056692.
- [5] Chen K, Collins G, Wang H, et al. Pathological features and prognostication in colorectal cancer[J]. Curr Oncol, 2021, 28(6):5356-5383. DOI:10.3390/curroncol28060447.
- [6] 姚宏伟,李心翔,崔龙,等.中国结直肠癌手术病例登记数据库 2019 年度报告:一项全国性登记研究[J].中国实用外科杂志, 2020, 40(1):106-110, 116. DOI:10.19538/j. cjps. issn1005-2208. 2020. 01. 19.
- Yao HW, Li XX, Cui L, et al. Annual report of Chinese Colorectal Cancer Surgery Database in 2019: A nationwide registry study[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2020, 40(1):106-110, 116. DOI:10.19538/j. cjps. issn1005-2208. 2020. 01. 19.
- [7] Zamani M, Hosseini SV, Mokarram P. Epigenetic biomarkers in colorectal cancer: premises and prospects[J]. Biomarkers, 2018, 23(2):105-114. DOI:10.1080/1354750X.2016.1252961.
- [8] 徐莹,褚以恣,杨大明,等.基于差异表达基因组合构建高度微卫星不稳定结直肠癌转移预测模型[J].上海交通大学学报:医学版, 2021, 41(9):1197-1206. DOI:10.3969/j. issn. 1674-8115. 2021. 09. 010.
- Xu Y, Chu YM, Yang DM, et al. Construction of a metastasis prediction model of microsatellite instability-high colorectal cancer based on differentially expressed gene assembly[J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University: Medical Science, 2021, 41(9):1197-1206. DOI:10.3969/j. issn. 1674-8115. 2021. 09. 010.
- [9] Gan X, Wang T, Chen ZY, et al. Blood-derived molecular signatures as biomarker panels for the early detection of colorectal cancer[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(10):8159-8168. DOI:10.1007/s11033-020-05838-0.
- [10] Ji Y, Lv J, Sun D, et al. Therapeutic strategies targeting Wnt/ β -catenin signaling for colorectal cancer (Review)[J]. Int J Mol Med, 2022, 49(1):1-17. DOI:10.3892/ijmm.2021.5056.
- [11] Kasprzak A. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) signaling in glucose metabolism in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12):6434-6474. DOI:10.3390/ijms22126434.
- [12] Wang W, He Y, Rui J, et al. miR-410 acts as an oncogene in colorectal cancer cells by targeting dickkopf-related protein 1 via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):807-814. DOI:10.3892/ol.2018.9710.
- [13] Tang Q, Chen J, Di Z, et al. TM4SF1 promotes EMT and cancer stemness via the Wnt/ β -catenin/SOX2 pathway in colorectal cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1):232-248. DOI:10.1186/s13046-020-01690-z.
- [14] 李昱江,张东丽,钱云,等.结直肠癌组织 PEA15、MSI-2 的表达与肝转移及预后的关系[J].疑难病杂志, 2021, 20(9):924-928, 947. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 09. 013.
- Li YJ, Zhang DL, Qian Y, et al. Expression of PEA15 and MSI-2 in colorectal cancer tissues and its relationship with liver metastasis and prognosis[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(9):924-928, 947. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 09. 013.
- [15] 胡雪晴,赵赞博,杜俊,等.错配修复蛋白表达状态与II期结直肠癌患者临床病理特征的相关性及对预后的影响[J].中国医药, 2021, 16(5):725-728. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 05. 020.
- Hu XQ, Zhao YB, Du J, et al. Relevance between mismatch repair protein expression status and clinicopathological features of patients

- with stage II colorectal cancer and its impact on prognosis[J]. *China Medicine*, 2021, 16(5): 725-728. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 05. 020.
- [16] Philibert A. Artificial intelligence, the future of intelligence or the intelligence of the future [J]. *Orthod Fr*, 2020, 91(1-2): 139-144. DOI: 10. 1684/orthodfr. 2020. 10.
- [17] Gauthier J, Vincent AT, Charette SJ, et al. A brief history of bioinformatics [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(6): 1981-1996. DOI: 10. 1093/bib/bby063.
- [18] 刘伟,董耀,苗江雨,等. S100A4 和 MMP-2 表达与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关系[J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(2): 167-170, 175. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 013.
- Liu W, Dong Y, Miao YJ, et al. The relationship between the expression of S100A4 and MMP-2 and the clinicopathological characteristics and prognosis of patients with colorectal cancer [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20(2): 167-170, 175. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 013.
- [19] Lindberg MF, Meijer L. Dual-specificity, tyrosine phosphorylation-regulated kinases (DYRKs) and Cdc2-like kinases (CLKs) in human disease, an overview [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 6047-6071. DOI: 10. 3390/ijms22116047.
- [20] 俞士勇,彭欢,王化恺,等. 结直肠癌组织 Rab27A 的表达及意义 [J]. *中国临床医学*, 2021, 28(5): 885-889. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20201668.
- Yu SY, Peng H, Wang HK, et al. The expression and significance of Rab27A in colorectal cancer [J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2021, 28(5): 885-889. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20201668.
- [21] Dominguez D, Tsai YH, Weatheritt R, et al. An extensive program of periodic alternative splicing linked to cell cycle progression [J]. *Elife*, 2016, 5: 1-19. DOI: 10. 7554/eLife. 10288.
- [22] Czubaty A, Piekietko-Witkowska A. Protein kinases that phosphorylate splicing factors: Roles in cancer development, progression and possible therapeutic options [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 91(Pt B): 102-115. DOI: 10. 1016/j. biocel. 2017. 05. 024.
- [23] 刘莉,蒋萍,戈伟. ctDNA 在结直肠癌诊疗中的应用 [J]. *中国医药导报*, 2021, 18(21): 33-37.
- Liu L, Jiang P, Ge W. Application of ctDNA in the diagnosis and treatment of colorectal cancer [J]. *China Medical Herald*, 2021, 18(21): 33-37.
- [24] 王璐,孙小虎,白静慧,等. miR-584 下调 CCN2 对结直肠癌 SW1116 细胞增殖、侵袭的影响及机制研究 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(1): 17-23. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 01. 004.
- Wang L, Sun XH, Bai JH, et al. Effect of miR-584 down regulating CCN2 on proliferation and invasion of colorectal cancer SW1116 cells and its mechanism [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2022, 21(1): 17-23. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 01. 004.
- [25] Zhang L, Yang H, Zhang W, et al. Clk1-regulated aerobic glycolysis is involved in glioma chemoresistance [J]. *J Neurochem*, 2017, 142(4): 574-588. DOI: 10. 1111/jnc. 14096.
- [26] Song W, Mei JZ, Zhang M. Long noncoding RNA PlncRNA-1 promotes colorectal cancer cell progression by regulating the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(2): 261-268. DOI: 10. 3727/096504022X16414984936791.
- [27] Sun K, Wang S, He J, et al. NCOA5 promotes proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells via activation of PI3K/AKT pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(64): 107932-107946. DOI: 10. 18632/oncotarget. 22429.
- [28] Deng D, Sun P, Yan C, et al. Molecular basis of ligand recognition and transport by glucose transporters [J]. *Nature*, 2015, 526(7573): 391-396. DOI: 10. 1038/nature14655.
- [29] Kuo CC, Ling HH, Chiang MC, et al. Metastatic colorectal cancer rewrites metabolic program through a Glut3-YAP-dependent signaling circuit [J]. *Theranostics*, 2019, 9(9): 2526-2540. DOI: 10. 7150/thno. 32915.
- [30] Gao H, Liang J, Duan J, et al. A prognosis marker SLC2A3 correlates with EMT and immune signature in colorectal cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 638099. DOI: 10. 3389/fonc. 2021. 638099.
- [31] 刘伟,董耀,苗江雨,等. S100A4 和 MMP-2 表达与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关系 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(2): 167-170, 175. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 013.
- Liu W, Dong Y, Miao JY, et al. The relationship between the expression of S100A4 and MMP-2 and the clinicopathological characteristics and prognosis of patients with colorectal cancer [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20(2): 167-170, 175. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 013.
- [32] 王在强,金发光,傅恩清. 颗粒酶 B 在组织损伤修复中的研究进展 [J/OL]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2021, 16(4): 349-352. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1673-9450. 2021. 04. 012.
- Wang ZQ, Jin FG, Fu EQ. Research progress of granzyme B in tissue injury repair [J/OL]. *Chin J Injury Repair and Wound Healing: Electronic Edition*, 2021, 16(4): 349-352. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1673-9450. 2021. 04. 012.
- [33] Aggarwal S, Sharma SC, Das SN. Dynamics of regulatory T cells (T_{regs}) in patients with oral squamous cell carcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2017, 116(8): 1103-1113. DOI: 10. 1002/jso. 24782.
- [34] Zhou C, Li C, Zheng Y, et al. Identification of pyroptosis-related signature for cervical cancer predicting prognosis [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(22): 24795-24814. DOI: 10. 18632/aging. 203716.
- [35] Tibbs E, Cao X. Emerging canonical and non-canonical roles of granzyme B in health and disease [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(6): 1436. DOI: 10. 3390/cancers14061436.
- [36] Nagarsheth N, Wicha MS, Zou W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(9): 559-572. DOI: 10. 1038/nri. 2017. 49.
- [37] Puchert M, Obst J, Koch C, et al. CXCL11 promotes tumor progression by the biased use of the chemokine receptors CXCR3 and CXCR7 [J]. *Cytokine*, 2020, 125: 154809. DOI: 10. 1016/j. cyto. 2019. 154809.
- [38] Gao Q, Wang S, Chen X, et al. Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted CD8⁺ T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 42-58. DOI: 10. 1186/s40425-019-0511-6.
- [39] Liu MJ, Guo H, Jiang LL, et al. Elevated RBP-J κ and CXCL11 expression in colon cancer is associated with an unfavorable clinical outcome [J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 3651-3661. DOI: 10. 2147/CMAR. S298580.