

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.011

· 临床研究 ·

KDR 基因遗传变异与接受 5-FU 辅助化疗的结直肠癌患者预后的关系

李晓洁^a, 张胜威^a, 王华胜^a, 王东^a, 梅家转^b, 邓业巍^a(郑州人民医院 a. 肛肠外科; b. 肿瘤科, 河南 郑州 450000)

[摘要] **目的:** 探讨激酶插入区受体(kinase insert domain receptor, KDR)基因遗传变异与接受 5-FU 为基础辅助化疗的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)患者预后的关系。**方法:** 回顾性分析 2012 年 1 月至 2017 年 12 月在郑州人民医院肛肠外科接受手术切除治疗的 CRC 患者共 176 例的临床资料, 并收集 93 例术后癌组织标本。采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 KDR 基因多态性位点基因型, 采用 qPCR 检测癌组织中 KDR 基因 mRNA 的表达水平。通过 logistic 回归模型分析多态性位点的基因型与其他变量的相关性, 非参数检验分析 KDR 不同基因型的表达, 采用 Kaplan-Meier 生存分析单变量 KDR 基因型与患者预后的关系, 并通过 Cox 风险比例模型对其他变量进行校正。**结果:** 在 KDR 的多态性位点中, 仅发现了 rs2071559 位点具有临床意义。该位点在 176 例 CRC 患者中的分布频率: TT 基因型 95 例(53.98%), TC 基因型 70 例(39.77%), CC 基因型 11 例(6.25%); 最小等位基因频率为 0.26; 3 种基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($P=0.690$)。携带 C 等位基因的 TC/CC 基因型患者与野生型 TT 基因型患者的中位无复发生存期(mDFS)分别为 4.4 和 3.2 年($P<0.05$); TC/CC 基因型和 TT 基因型患者的中位总生存期(mOS)分别为 5.2 和 4.0 年($P<0.05$)。对 OS 构建多变量的 Cox 模型校正后, TC/CC 基因型对 mOS 具有明显影响($OR=0.55, P<0.05$)。rs2071559 位点 TC/CC 基因型患者相对于野生型 TT 基因型患者 KDR mRNA 表达水平显著降低($P<0.01$)。**结论:** KDR 基因 rs2071559 位点多态性与 CRC 患者临床治疗效果相关, 其机制是可能通过影响 KDR mRNA 表达水平进而影响 CRC 患者的预后。

[关键词] 结直肠癌; 激酶插入区受体基因; rs2071559; 遗传变异; 5-氟尿嘧啶; 预后

[中图分类号] R735.3+7; R392.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)03-0317-06

Association between genetic variation of kinase insert domain receptor and prognosis in colorectal cancer patients received 5-FU based adjuvant chemotherapy

LI Xiaojie^a, ZHANG Shengwei^a, WANG Huasheng^a, WANG Dong^a, MEI Jiazhuang^b, DENG Yewei^a (a. Department of anus and intestine surgery; b. Department of oncology, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the association between genetic variation of kinase insert domain receptor (KDR) and the prognosis in colorectal cancer (CRC) patients received 5-FU based adjuvant chemotherapy. **Methods:** The clinical data of 176 CRC patients, who underwent surgical treatment at the Department of Anus and Intestine Surgery, People's Hospital of Zhengzhou during January 2012 and December 2017, were retrospectively analyzed, and 93 cases of tumor tissues were collected for this study. The genotype of KDR polymorphism locus was detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). qPCR was used to detect the expression of KDR mRNA in colorectal cancer tissues. The correlation between the polymorphism genotypes and other variables was analyzed by logistic regression model. The expression of different genotypes of KDR was analyzed by nonparametric test. The relationship between KDR genotype and prognosis of patients was analyzed by Kaplan-Meier survival analysis, and the other variables were adjusted by Cox risk scale model. **Results:** Of the polymorphisms analyzed, only rs2071559 was of clinical significance. The distribution frequency of KDR rs2071559 in 176 CRC patients was as follows: TT genotype in 95 cases (53.98%), TC genotype in 70 cases (39.77%) and CC genotype in 11 cases (6.25%); the minor allele frequency was 0.26; and the distribution of three genotypes was in accordance with Hardy-Weinberg's Equilibrium ($P=0.690$). The median disease free survival (mDFS) of patients carrying C allele and wild type TT genotype was 4.4 and 3.2 years, respectively ($P<0.05$); The median overall survival (mOS) of patients with

[基金项目] 河南省郑州市科技发展计划资助项目(No.20150061)。Project supported by the Science and Technology Development Plan of Zhengzhou City (No.20150061)

[作者简介] 李晓洁(1983-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事结直肠肿瘤基础和临床研究, E-mail: 924362950@qq.com

[通信作者] 邓业巍(DENG Yewei, corresponding author), 学士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事结直肠肿瘤基础和临床研究, E-mail: dengyw93@163.com

TC/CC genotype and TT genotype was 5.2 and 4.0 years, respectively ($P < 0.05$). After COX model modification, the effect of TC/CC genotype on mOS was still statistically significant ($OR = 0.55$, $P < 0.05$). The mRNA expression of *KDR* in cancer tissues of the patients with TC/CC genotypes were significantly lower than those of the wild type TT genotype ($P < 0.01$). **Conclusion:** The polymorphism of *KDR* rs2071559 is associated with clinical outcomes in patients with colorectal cancer. *KDR* rs2071559 may affect the prognosis of colorectal cancer patients by affecting the mRNA expression of *KDR*.

[Key words] colorectal cancer(CRC); kinase insert domain receptor(KDR); rs2071559; genetic variation; 5-fluorouracil; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(3): 317-322. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.03.011]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球发病率排名第三的常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率与病死率均保持逐年上升的趋势。针对中国癌症的最新研究数据^[1]显示,每年约37.6万人被诊断为CRC,其发病率在所有的恶性肿瘤中排名第5位;每年约19.1万人死于CRC,其病死率在所有的恶性肿瘤中排名也是第5位。近年来,越来越多不同作用靶点的药物给大肠癌患者带来了不同的治疗选择,同时也为患者带来了更多的生存获益^[2]。2018年第1版美国国立综合癌症网络指南^[3]显示,对于低危的III期结肠癌患者,推荐3个月的卡培他滨联合奥沙利铂的辅助化疗方案。然而,在CRC治疗过程中,仍然存在一些潜在因素影响患者的预后。因此,寻找更有效的治疗靶点逐渐成为研究热点。肿瘤细胞可分泌多种血管生成生长因子,后者可促进肿瘤周围的微血管的生成与生长。在这些血管生成生长因子当中,血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)被认为是最有效的促血管生成因子。激酶插入区受体(kinase insert domain receptor, KDR)基因是VEGF的受体,两者结合后可促使血管内皮细胞发生一系列的变化,进而促进肿瘤周围微血管的生成、浸润及转移^[4]。此外,有研究^[5]证实, KDR在VEGF信号转导和血管内皮的生成过程中均发挥主导作用,因此,靶向KDR的抗肿瘤药雷莫芦单抗在结直肠癌、非小细胞肺癌、胃癌等多种癌症中均发挥重要的治疗作用。人体内大部分DNA的多态性是单点位核苷酸,相关研究^[6]已经表明,特定的多态性可以对基因表达和编码蛋白的功能产生较大的影响,进而影响了对于药物的敏感性以及不良反应;此外,多态性位点还可以通过影响血管生成的途径而引起肿瘤的易感性和异质性。KDR基因位于染色体4q12,包含了30个外显子,在不同的人群中表达水平存在明显的个体差异^[7],而单核苷酸多态性是造成个体差异的重要原因之一。先前有研究结果^[8-9]显示,位于KDR基因上游区域的rs2071559位点与胰腺病变和胶质瘤发病风险具有显著的相关性。另有研究^[10]表明, KDR rs2071559位点与前列腺癌的较好的预后存在显著的相关性。在亚洲人群肝癌的研究中,也发现该位点与较好的预后相关^[11]。然而,对高

加索人群的非小细胞肺癌研究结果^[12]显示, KDR rs2071559位点与接受放疗的患者较差的预后有关。目前在人群中KDR rs2071559位点和CRC患者预后的研究尚不深入。因此,本研究旨在探讨KDR rs2071559位点对CRC患者预后的影响,为CRC临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析2012年1月至2017年12月在郑州人民医院肛肠外科接受手术切除治疗的多态性CRC患者共176例的临床资料,并收集93例术后癌组织标本;其中男性112例,女性64例。年龄23~78岁,平均(54.1±5.6)岁。纳入标准:年龄≥18岁, ECOG评分为0~2分,接受手术切除且术后接受5-FU为基础的辅助化疗。排除标准:有家族性腺瘤性息肉病的患者,失访的患者及其他有遗传性CRC综合征的患者。基本临床资料见表1。所有患者均签署知情同意书,并上报医院伦理委员会批准。

1.2 血液样本的收集及基因型检测

收集患者的外周血样本约2 ml,采用苯酚氯仿法提DNA,并放置-80℃冰箱保存。设计包含KDR rs2071559位点的上游和下游PCR引物,上游引物序列为5'-TCACTAGGGCTCTTCGTTGG-3',下游引物序列为5'-AGGGTATTTTGTGGCCAGT-3',产物片段的长度为196 bp,通过限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)法对该位点进行基因分型。PCR反应的总体系(12.5 μl)如下:DNA模板0.5 μl, 2×PCR Taq Mix 6.25 μl, 10 pmol/L的上下游引物各0.5 μl, Taq DNA聚合酶0.5 μl, 双蒸水4.25 μl。PCR反应条件:94℃预变性7 min, 94℃变性30 s, 62℃退火60 s, 72℃延伸60 s, 共进行35个循环,然后72℃延伸10 min。使用*AluI*限制性内切酶对产物进行酶切,酶切反应体系:总体系20 μl,其中1 μl内切酶*AluI*, 2 μl 10×Buffer, 0.1% BSA 2 μl, 7 μl PCR产物, 8 μl 双蒸水, 37℃水浴酶切12 h。酶切反应结束后,取5 μl酶切反应产物加入2%琼脂糖凝胶的负极加样孔,在5 V/cm的电压下电泳30 min,然后用凝胶成像系统对PCR扩增条带进行基因型分析。实验重

复 3 次。

1.3 qPCR 检测结直肠癌组织 KDR mRNA 表达水平

收集每个患者被切除的结直肠癌组织, 最终纳入研究的为 93 例术后癌组织标本, 先放于液氮中保存。之后用 TRIzol 试剂进行 RNA 提取, 再继续逆转录为 cDNA 进行 KDR 基因表达水平的测定, 上游引物序列为 5'-ATGCAGAGCAAGGTGCTGC-3', 下游引物序列为 5'-TTAAACAGGAGGAGAGCTCAGTG-3'。qPCR 反应体系如下: SYBN Premix Ex Tag 溶液 10 μl, KDR-F primer (20 μmol/L) 0.2 μl, KDR-R primer (20 μmol/L) 0.2 μl, 双蒸水 7.6 μl, cDNA 2 μl, 反应总体积为 20 μl, 内参为 GAPDH, qPCR 仪检测 KDR mRNA 表达水平。KDR mRNA 表达量用相对定量法 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算。实验重复 3 次。

1.4 统计学处理

本研究当中所有的变量均采用 SPSS 统计分析软件进行 (IBM, Armonk, NY) 相应的统计分析。 χ^2 检验分析多态性位点基因分型是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。在基线临床资料当中, 离散型的变量和 rs2071559 位点不同基因型的分布采用 χ^2 检验, 当数据较少时用 Fisher 精确检验。连续型的变量和 rs2071559 位点不同基因型的分析采用非参检验的 Mann-Whitney *U* (2 组间) 或者 Kruskal-Wallis *H* (多组间) 检验。通过 Stata 14.0 绘制 Kaplan-Meier 曲线比

较不同基因型患者 DFS 和 OS 的差异, 曲线间的差异用对数秩检验进行比较。无复发生存期 (DFS) 的计算为从患者完成手术的时间到患者出现肿瘤复发或者死亡的时间。总生存期 (OS) 的计算为从开始做手术的时间到患者任何原因出现的死亡或者最后 1 次随访结束。多变量分析时, 对 OS 构建采用 Cox 风险比例模型, 用向后 LR 的选择步骤来筛选和校正潜在的混杂变量。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基线临床资料及 rs2071559 位点基因分型情况

入组的 176 例患者的基线临床资料如表 1 所示。结肠癌和直肠癌患者分别为 109 例和 67 例; 肿瘤中等分化患者 122 例 (69.32%)。在临床分期上, II 期患者 46 例、III 期 130 例。辅助化疗情况上, 接受 5-FU 为基础的辅助化疗患者 55 例, 接受卡培他滨为基础的辅助化疗患者 121 例。rs2071559 位点的基因分型结果为 TT 型 95 例 (53.98%), TC 型 70 例 (39.77%), CC 型 11 例 (6.25%), 最小等位基因频率为 0.26, 3 种基因型分布频率符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P = 0.690$), 表明该位点在基线临床资料的分布均衡, 这为预后差异的比较奠定了均衡性基础。

表 1 176 例晚期 CRC 患者的基线临床资料及 rs2071559 位点基因型分布比较 (n)

Tab.1 Comparison of baseline characteristics of 176 late stage CRC patients according to rs2071559 genotype distribution (n)

Clinical features	N=176	rs2071559 genotypes		P
		TT (N=95)	TC/CC (N=81)	
Age (t/a, $\bar{x} \pm s$)	54.0 ± 5.9	53.6 ± 5.2	54.3 ± 5.5	0.755
Gender				0.886
Male	112	60	52	
Female	64	35	29	
ECOG score				0.927
0	108	58	50	
1-2	68	37	31	
Tumor location				0.959
Colon cancer	109	59	50	
Rectal cancer	67	36	31	
Tumor differentiation				0.877
Well	37	20	17	
Intermediate	122	66	56	
Poor	17	9	8	
Staging				0.953
II	46	25	21	
III	130	70	60	
Adjuvant chemotherapy regimens				0.919
5-FU based	55	30	25	
Capecitabine based	121	65	56	

ECOG: eastern cooperative oncology group

2.2 KDR rs2071559位点影响CRC患者的预后

考虑到突变纯合子CC型患者相对较少(只有11例),在预后分析中将CC型和TC型患者合并,总计81例。在针对DFS的单变量分析当中,携带C等位基因的TC/CC型患者和野生型TT型患者的中位无复发生存期(mDFS)分别为4.4和3.2年($P<0.05$,图1)。在总生存期(OS)方面,TC/CC型和TT基因型患者的中位总生存期(mOS)分别为5.2和4.0年($P<0.05$,图2)。另外,本研究构建了Cox风险比例模型,将可能影响mOS的风险因素如年龄、性别、ECOG评分(1~2分归为一组)、肿瘤分期以及rs2071559位点纳入该模型,经过多变量校正,rs2071559位点对OS独立的影响具有显著意义($OR=0.55, P<0.05$),其他的在Cox模型当中有显著统计学意义的变量为年龄($OR=1.31, P=0.021$)、ECOG评分($OR=2.21, P=0.005$)和肿瘤分期($OR=2.88, P=0.003$)。见表2。

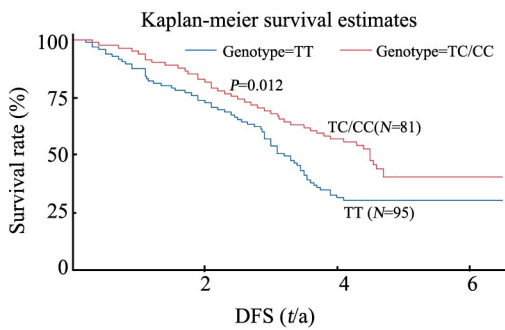


图1 KDR rs2071559多态性位点不同基因型对CRC患者mDFS的影响

Fig.1 Effects of different genotypes of KDR rs2071559 polymorphism locus on mDFS in CRC patients

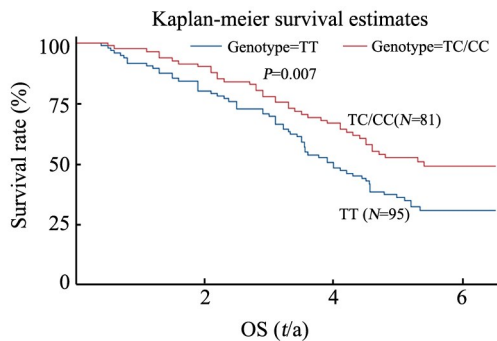


图2 KDR rs2071559多态性位点不同基因型对CRC患者mOS的影响

Fig. 2 Effects of different genotypes of KDR rs2071559 polymorphism locus on mOS in CRC patients

2.3 TC/CC基因型患者癌组织KDR mRNA表达水平降低

在93例CRC癌组织标本中,TT型52例、TC型33例、CC型8例,3种基因型分布频率同样符合Hardy-Weinberg平衡($P=0.409$)。CC型患者相对较少,同样将CC型和TC型合并,共计41例。qPCR实验检测结果(图3)显示,TC/CC基因型患者相对于野生型TT型患者,癌组织标本中KDR mRNA表达水平显著降低($P<0.01$)。

表2 影响CRC患者OS的基线临床资料以及多态性位点的多变量Cox模型

Tab.2 Multivariate Cox Regression Analysis for OS according to baseline characteristics and polymorphism

Clinical features	OR (95%CI)	df	P
Age(t/a)			
<54	1 (reference)	1	0.021
≥54	1.31 (0.99-1.78)		
ECOG score			
0	1 (reference)	1	0.005
1-2	2.21 (1.31-3.54)		
Staging			
II	1 (reference)	1	0.001
III	2.88 (1.76-4.35)		
KDR rs2071559			
TT	1 (reference)	1	0.011
TC/CC	0.55 (0.21-1.03)		

ECOG: eastern cooperative oncology group;OR: odds ratio; CI: confidence interval; df: degree of freedom

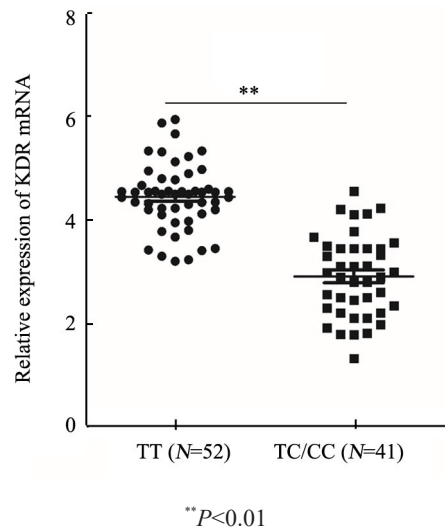


图3 KDR rs2071559多态性位点不同基因型对CRC组织KDR mRNA表达水平的影响

Fig.3 Effects of different genotypes of KDR rs2071559 polymorphism on KDR mRNA expression in cancer tissues of CRC

3 讨论

KDR 是肿瘤类疾病治疗的重要靶点, 当该靶点的基因发生变异时, 其所对应的肿瘤靶向药物的治疗结果也会产生较大的影响。本研究共纳入 176 例通过手术切除病变部位的结直肠癌患者, 对 KDR rs2071559 位点进行基因分型并探讨其与患者的预后是否相关发现, 该位点携带 TC/CC 基因型的患者与野生型的 TT 型患者相比, OS 明显延长。同时检测了 93 例癌组织样本中 KDR mRNA 的表达, 结果显示该位点不同基因型的患者 KDR mRNA 的表达水平存在明显的差异, 表明 rs2071559 位点可能通过影响 KDR mRNA 表达进而影响患者预后。本研究结果与 PARÉ-BRUNET 等^[13]的研究结果基本一致, 其研究共纳入 172 例晚期 CRC 患者, 且均接受奥沙利铂为基础的辅助化疗, 结果显示, 携带 TC/CC 基因型的患者预后与 TT 基因型患者相比得到明显改善。此外, 本研究的结果与 GUANGLONG 等^[14]的研究结果也一致, 其研究结果表明, 在 CRC 患者中, rs2071559 位点与 CRC 术后较低的复发率具有相关性, 但其研究并没有对 rs2071559 位点与 KDR 基因表达之间的关系进行分析, 因此并未揭示该位点影响 DFS 的可能机制。然而, BUTKIEWICZ 等^[11]在对高加索人群的非小细胞肺癌研究中, 共纳入 350 例不能通过手术切除方式进行治疗的 NSCLC, 结果发现 rs2071559 位点携带 TC/CC 基因型的患者与 TT 基因型的患者相比预后较差, 这与本研究的实验结果相反。其原因可能是疾病状态和种族差异以及研究所纳入的样本量不同有关。当然, 本研究除了纳入 rs2071559 位点之外, 还分析了 KDR 基因的另外 2 个在中国人群中分布频率大于 10% 的多态性位点 rs2305948 和 rs1870377, 但是这 2 个位点和预后没有明显的关联性。

在作用机制方面, 本研究检测了癌组织标本中不同基因型患者 KDR mRNA 的表达变化, 并分析其与 rs2071559 是否具有相关性, 结果显示, 与携带 TC/CC 基因型的患者相比, 野生型的 TT 基因型患者的 KDR mRNA 表达水平明显升高, 与 GLUBB 等^[15]研究结果一致, 该团队也发现了 TT 基因型患者的 KDR mRNA 表达水平较高。KDR 在血管新生过程中具有十分重要的作用, 现已表明, 肿瘤细胞中 KDR 表达水平较高, 这将促进肿瘤细胞周围血管新生, 进而促进肿瘤的复发和转移^[16]。这与先前研究^[17-19]结果一致, KDR 表达水平越高, NSCLC 患者的预后越差。

综上所述, 本研究揭示了在中国 CRC 人群中 KDR rs2071559 位点是一个独立的 OS 影响因素, 同时 KDR rs2071559 位点对 CRC 患者预后的产生影

响, 并为其临床治疗提供依据。然而, 本研究存在部分局限性, 比如纳入研究的整体样本量不够大, 在大样本当中没有对该位点的预后进行评估。此外, 本研究是采用回顾性分析, 造成偏倚无法避免。不过该研究还是比较充分地对 rs2071559 位点的预后影响进行了评估, 同时也揭示了该位点造成预后差异的潜在机制, 对 CRC 患者预后的具有一定的临床指导意义。

[参考文献]

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-32. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] LI J, QIN S, XU R, et al. Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(6): 619-629. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70156-7.
- [3] LONARDI S, SOBRERO A, ROSATI G, et al. Phase III trial comparing 3-6 months of adjuvant FOLFOX4/XELOX in stage II-III colon cancer: safety and compliance in the TOSCA trial[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(12): 3110-3116. DOI: 10.1093/annonc/mdx021.
- [4] 朱辉, 何明, 单保恩, 等. PI-88 抑制人食管癌 TE-13 细胞 Matrigel 裸鼠移植瘤血管新生及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22(2): 236-239. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.017.
- [5] ARNOLD D, FUCHS C, TABERNEO J, et al. Meta-analysis of individual patient safety data from six randomized, placebo-controlled trials with the antiangiogenic KDR-binding monoclonal antibody ramucirumab[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(12): 2932-2942. DOI: 10.1093/annonc/mdx514.
- [6] DYLAWEWSKA A, BARCZAK W, WEGNER A, et al. Association of DNA repair genes polymorphisms and mutations with increased risk of head and neck cancer: a review[J]. *Med Oncol*, 2017, 34(12): 197-203. DOI: 10.1007/s12032-017-1057-4.
- [7] ESTEVEZ-GARCIA P, CASTANO A, MARTIN A C, et al. PDGFR α / β and KDR polymorphisms in colorectal cancer: incidence and implications in clinical outcome[J/OL]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 514[2019-01-12]. <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2407-12-514>. DOI: 10.1186/1471-2407-12-514.
- [8] PADUREANU V, BOLDEANU M V, STREATA I, et al. Determination of VEGFR-2 (KDR) 604A>G polymorphism in pancreatic disorders[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): pii: E439[2019-01-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28218664>. DOI: 10.3390/ijms18020439.
- [9] XU G Z, LIU Y, ZHANG Y, et al. Correlation between KDR rs2071559 polymorphism and glioma risk among Chinese population[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 16724-16728. DOI: 10.1007/s12035-015-9240-0.
- [10] SOLINI A, SIMEON V, DEROSA L, et al. Genetic interaction of P2X7 receptor and VEGFR-2 polymorphisms identifies a favorable prognostic profile in prostate cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 28743-18754. DOI: 10.18632/oncotarget.4926.
- [11] BUTKIEWICZ D, KRZESNIAK M, DROSIK A, et al. The KDR,

- COX-2 and MMP-2 polymorphisms are associated with clinical outcome of patients with inoperable non-small cell lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(10): 2332-2342. DOI: 10.1002/ijc.29605.
- [12] ZHENG Y B, HUANG J W, ZHAN M X, et al. Genetic variants in the KDR gene is associated with the prognosis of transarterial chemoembolization treated hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(11): 11473-11481. DOI: 10.1007/s13277-014-2478-8.
- [13] PARE-BRUNET L, SEBIO A, SALAZAR J, et al. Genetic variations in the VEGF pathway as prognostic factors in metastatic colorectal cancer patients treated with oxaliplatin-based chemotherapy[J]. *Pharmacogenomic J*, 2015, 15(5): 397-404. DOI: 10.1038/tpj.2015.1.
- [14] DONG G, GUO X, FU X, et al. Potentially functional genetic variants in KDR gene as prognostic markers in patients with resected colorectal cancer[J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(3): 561-568. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02194.x.
- [15] GLUBB DM, CERRI E, GIESE A, et al. Novel functional germline variants in the VEGF receptor 2 gene and their effect on gene expression and microvessel density in lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(16): 5257-5267. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0379.
- [16] JINESH G G, MANYAM G C, MMEJE C O, et al. Surface PD-L1, E-cadherin, CD24, and KDR as markers of epithelial cancer stem cells associated with rapid tumorigenesis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9602-9608. DOI: 10.1038/s41598-017-08796-z.
- [17] 蔡华荣, 王志强, 江跃全. 长链非编码 RNA UCA1 靶向调控 miR-185-5p 对非小细胞肺癌 A549 细胞的作用及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6): 555-561. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.06.002
- [18] 李欢, 王梦杰, 张翔宇, 等. 桥接整合因子 1 通过 c-MYC 途径抑制非小细胞肺癌 A549 细胞中 PD-L1 的表达[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(8): 762-766. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.002.
- [19] ZHENG C L, QIU C, SHEN M X, et al. Prognostic impact of elevation of vascular endothelial growth factor family expression in patients with non-small cell lung cancer: an updated meta-analysis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(5): 1881-1895. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.5.1881.

[收稿日期] 2018-12-13

[修回日期] 2019-02-09

[本文编辑] 王映红