

肿瘤内科学专题

· 临床研究 ·

肿瘤微环境细胞亚群基因标签预测复发转移性头颈鳞状细胞癌 EGFR 单抗疗效*

黄环, 张琴, 肖何, 王阁[△]

400042 重庆, 陆军军医大学大坪医院 肿瘤中心

[摘要] 目的: 利用复发和转移性头颈部鳞癌肿瘤微环境中细胞亚群特征表达基因构建抗 EGFR 单抗疗效预测模型。方法: 通过 Gene Expression Omnibus 数据库搜集有抗 EGFR 单抗无进展生存时间 (progression free survival, PFS) 记录和治疗前肿瘤组织转录组微阵列芯片表达值数据集, 并从文献获取肿瘤微环境细胞亚群特征表达基因。发现集中, 在长 PFS 组和短 PFS 组间分析差异表达基因并计算各个细胞亚群敏感指数。最小绝对值收敛和选择算子 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 算法筛选与长 PFS 显著相关的细胞亚群。线性权重法构建抗 EGFR 单抗敏感评分 (anti-EGFR antibodies sensitive score, EASS), 并在独立验证集中验证。结果: 在 GSE65021 发现集中, 9 个细胞亚群中计算得到 EASS 中位值为 30.73 (范围: 26.24 ~ 41.29), ROC 曲线表明 EASS 可完全区别长 PFS 组人群与短 PFS 人群 (AUC: 1.000, 95% CI: 1.000 ~ 1.000, $P < 0.001$)。在 GSE102995 验证集中, 对分期 (IV vs II ~ III) 和 PS 评分校正后, EASS 依然是 PFS 的独立预后因素 ($HR = 0.647$, 95% CI: 0.503 ~ 0.831, $P = 0.001$)。EASS 对 PFS 预测准确性的 C 指数为 0.755 (95% CI: 0.719 ~ 0.791), 显著高于分期 C 指数 0.542 (95% CI: 0.336 ~ 0.748, $P = 0.032$)。结论: EASS 预测模型可很好地预测复发和转移性头颈部鳞癌抗 EGFR 抗体疗效, 值得进一步研究和验证。

[关键词] 头颈部鳞癌; EGFR 单抗; 肿瘤微环境; 细胞亚群

[中图分类号] R739.8; R73-36+2 **[文献标志码]** A doi: 10.3969/j.issn.1674-0904.2019.09.005

引文格式: Huang H, Zhang Q, Xiao H, et al. Gene signatures of cell subpopulations in tumor microenvironment predict response to EGFR monoclonal antibody in recurrent and metastatic squamous cell carcinoma of head and neck [J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(9): 773-780. [黄环, 张琴, 肖何, 等. 肿瘤微环境细胞亚群基因标签预测复发转移性头颈鳞状细胞癌 EGFR 单抗疗效 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(9): 773-780.]

Gene Signatures of Cell Subpopulations in Tumor Microenvironment Predict Response to EGFR Monoclonal Antibodies in Recurrent and Metastatic Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck

Huang Huan, Zhang Qin, Xiao He, Wang Ge

Cancer Center, the Third Affiliated Hospital (Daping Hospital) of the Third Military Medical University and the Research Institute of Surgery of the Academy of Military Medical Science, Chongqing 400042, China

Corresponding author: Wang Ge, E-mail: wangge70@hotmail.com

This study was supported by The General Program of National Natural Science Foundation of China (NO. 81572959).

[Abstract] **Objective:** Objective: To develop a model for predicting response to anti-epidermal growth factor receptor (anti-EGFR) antibody by using feature genes of cell subpopulations in the tumor microenvironment of recurrent and metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. **Methods:** Gene Expression Omnibus datasets with records of progression free survival after treated with anti-EGFR antibody and gene expression profiles evaluated by microarray assay were retrieved. The feature genes peculiar to each of cell subpopulations in the tumor microenvironment was obtained from previ-

[收稿日期] 2019-07-29 [修回日期] 2019-08-31

[基金项目] * 国家自然科学基金面上项目 (编号: 81572959)

[通讯作者] [△] 王阁, E-mail: wangge70@hotmail.com

ously published articles. Differentially expressed genes were firstly identified between the long progression free survival (PFS) group and the short PFS group in the discovery set and used to calculate sensitive indexes of each cell subpopulation. Least absolute shrinkage and selection operator was used to establish the anti-EGFR antibody sensitivity score (EASS) which was further verified in the validation set. Results: The median EASS deduced from the nine cell subpopulations was 30.73 (26.24 - 41.29) in the discovery set GSE65021. The long PFS group was significantly discriminated from the short PFS group through EASS revealed by ROC analysis (AUC: 1.000, 95% CI: 1.000 - 1.000, $P < 0.001$). In the validation set GSE102995, the EASS remained an independent prognostic factor for PFS after adjusted for stage (IV vs II - III) and performance status score ($HR = 0.647$, 95% CI: 0.503 - 0.831, $P = 0.001$). The consensus index of EASS for predicting PFS was 0.755 (95% CI: 0.719 - 0.791), which was significantly higher than that of stage 0.542 (95% CI: 0.336 - 0.748) ($P = 0.032$). Conclusion: The EASS is efficient to predict the response to anti-EGFR antibody in the recurrence and metastasis of squamous cell carcinoma of the head and neck, which is worthy of further study and validation.

[Key words] Head and neck squamous cell carcinoma; EGFR monoclonal antibody; Tumor microenvironment; Cell subpopulation

头颈部鳞癌解剖位置复杂、病理类型多样,是一组具有很强异质性的疾病。疾病会对患者的外貌、味觉、嗅觉等功能造成破坏,给患者造成严重的心理负担,极大影响患者的生活质量。头颈部鳞癌采取以手术、放疗、化疗及靶向治疗等综合治疗方式,不幸的是约 50%~60% 的头颈部鳞癌首次诊断时已是局部晚期或晚期,在这部分人群中靶向治疗发挥着越来越重要的作用。

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在头颈部鳞癌中高表达,且该受体的表达与预后相关,是头颈部鳞癌的一个重要治疗靶点。基于国际前瞻性 III 期随机临床实验(EX-TREME)^[1]和中国人群的 CHANGE-2 研究,2019 年《中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会头颈肿瘤诊疗指南》进行了更新,将复发转移性头颈部鳞癌西妥昔单抗联合化疗一线治疗的 2 类证据级别更新为 1A 类证据。西妥昔单抗是一种 EGFR 单克隆抗体,此更新肯定了其在头颈部鳞癌中的治疗价值。然而,并不是所有头颈部鳞癌患者均能从抗 EGFR 单抗如西妥昔单抗联合化疗获益^[2],因此如何进一步筛选出更有效的获益人群就成为了亟待解决的问题。

Lavin 等^[3]和 Chevrier 等^[4]发表在《Cell》上的两项研究表明,肿瘤微环境中的免疫细胞组成常常会决定其对某种特定疗法的疗效。由此,我们拟通过公共数据库基因表达谱数据 GSE65021(发现集)和 GSE102995(验证集),在细胞亚群的特征基因中发现抗 EGFR 单抗治疗敏感指标,构建头颈部肿瘤对抗 EGFR 单抗疗效的预测模型,为头颈部肿瘤患者抗 EGFR 靶向治疗提供预测性生物标志物提供线索。

1 材料和方法

1.1 数据集获取和预处理

数据集 GSE65021 和 GSE102995 均从 Gene Expression Omnibus(GEO)获取。GSE65021 包含 40 例接受一线铂类联合西妥昔单抗治疗的晚期复发转移性头颈鳞癌患者。其中有 14 例和 26 例患者无进展生存时间(progression free survival, PFS)时间分别大于 12 个月(LONG group)和小于 5.6 个月(SHORT group)^[5]。GSE102995 包含 25 例一线接受帕尼单抗治疗复发转移性晚期头颈鳞癌 PFS 数据^[6](表 1-2)。两个数据集均采用 Illumina HumanHT-12 WG-DASL V4.0 R2 expression beadchip 微阵列芯片,共检测 29 377 个探针表达值。采用 R 软件包'annotate'将各微阵列探针 ID 号注释到基因 ENTREZID 号上,对于多个探针对应一个基因,取四分位距最大探针代表该基因表达值。此外,过滤掉不能对应到 ENTREZID 上的探针值。两个数据集共有 19 434 个重叠基因纳入分析。从 Isella 等^[7]的研究和 Angelova 等^[8]的研究分别获取肿瘤相关成纤维细胞(carcinoma-associated fibroblasts, CAF)和肿瘤浸润淋巴细胞特异性表达基因列表。将这些细胞特异性表达基因符号转化成 ENTREZID,并剔除与 GSE65021 和 GSE102995 不重叠的基因,得到 822 个基因对应 32 个细胞亚群(表 3)。

1.2 抗 EGFR 单抗敏感指数的建立

采用 R 软件包"limma"分析 GSE65021 数据集 LONG 相对于 SHORT 组间差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。表达倍量变化大于 2 倍并且 FDR < 0.05 作为显著 DEGs。为进一步纳入合适数量的基因构建模型,将 2 179 个未校正 $P < 0.05$ DEGs 与 32 个细胞亚群特征表达基因重叠,筛选出同一个细胞亚群特征表达基因中高表达 DEGs 和低表达 DEGs,各个细胞亚群特征基因数目及其

所属的高表达和低表达基因数目见补充材料。在各个具有所属的高表达基因和低表达基因的细胞亚群中,计算高表达基因表达均值与低表达基因均值比值,作为该细胞亚群的敏感指标。共有 18 个细胞亚群可计算敏感指标,涉及 99 个基因。利用最小绝对值收敛和选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)算法筛选与 LONG 组显著相关的细胞亚群指标。利用显著细胞亚群指标回归系数与对应敏感指数的乘积之和作为预测抗 EGFR 单抗敏感评分(anti-EGFR antibodies sensitive score, EASS)。

表 1 所用数据集 GSE65021 的基线特征

Table 1. Baseline Characteristics of Datasets GSE65021 Used

Variable	GSE65021 n(%)
Gender	
Female	31 (77.5)
Male	9 (22.5)
Anatomy site of primary lesions	
Oral cavity	19 (47.5)
Oropharynx	9 (22.5)
Hypopharynx	4 (10.0)
Larynx	8 (20.0)
T stage	
T1	3 (7.5)
T2	8 (20.0)
T3	9 (22.5)
T4	20 (50.0)
Degree of differentiation	
Well	2 (5.0)
Moderately	20 (50.0)
Poorly	18 (45.0)
Radiotherapy	
No	6 (15.0)
Yes	34 (85.0)
PFS	
Long	14 (35.0)
Short	26 (65.0)
Biospy site	
Primary tumour	31 (77.5)
Recurrence or metastasis	9 (22.5)

PFS; Progression free survival.

1.3 EASS 的验证

在 GSE102995 数据集中同法计算 18 个细胞亚群可计算敏感指标和 EASS。由于 GSE102995 数据

集给出了每个患者的具体 PFS 时间和删失情况,采用 Cox 回归分析 EASS 与 PFS 的相关性,并对分期和体质评分进行校正。采用一致性指数(C-index)判断临床分期和 EASS 对 PFS 预后作用的准确性,并相互比较。

表 2 所用数据集 GSE102995 的基线特征

Table 2. Baseline Characteristics of Datasets GSE102995 Used

Variable	GSE102995 n(%)
Performance status	
0	14 (56.0)
1	11 (44.0)
Stage	
II	7 (28.0)
III	2 (8.0)
IV	9 (36.0)
IVA	6 (24.0)
IVB	1 (4.0)
Biopsy site	
Primary tumour	20 (80.0)
Recurrence or metastasis	5 (20.0)

1.4 统计学处理

18 个细胞亚群敏感指数在 LONG 和 SHORT 组间比较采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。热图采用 R 软件包 NMF(Version 0.21.0) "aheatmap" 函数完成,表达值以及聚类间相似性采用欧氏距离量度。主成分分析采用"FactoMineR"软件包"PCA"和"fviz_pca_ind"函数完成。LASSO 分析采用包"glmnet"完成。一致性指数及其 95% 置信区间以及一致性指数间比较采用软件包"survcomp"完成。其它统计学方法和图形均由 SPSS 20.0 完成, $P < 0.05$ 定为有统计学意义,所有检验均为双尾检验。

2 结果

2.1 临床病理学资料

为了筛选抗 EGFR 单抗治疗敏感性基因标记物,我们对来源于 GEO 数据库的使用抗 EGFR 单抗治疗的转移性头颈部肿瘤转录组芯片 GSE65021 和 GSE102995 芯片数据进行了分析。两个数据集纳入病例基线临床特征如表 1 所示。两个数据集均纳入了不同分期的头颈部肿瘤患者,不同之处为 GSE65021 数据集纳入患者使用的抗 EGFR 单抗为西妥昔单抗,而 GSE102995 数据集纳入患者使用的为帕尼单抗。肿瘤对药物治疗的响应评估基于患者在经抗 EGFR 单抗治疗后 PFS 时间。在 GSE65021 文献中,经抗 EGFR 单抗治疗后 PFS 时间大于 12 个

月和小于 5.6 个月的患者分别定义为对抗 EGFR 单抗治疗敏感型(LONG 组)和抵抗型(SHORT 组)。

2.2 EASS 的构建及其对 LONG 组预测作用

在 32 个细胞亚群中,有 18 亚群可计算细胞亚群敏感指数。18 个细胞亚群敏感指数在 LONG 组与 SHORT 组间分布均有显著差异(表 3,图 1)。对 18 个亚群敏感指标的主成分分析表明,前两个主成分可将 LONG 与 SHORT 人群较好区分(图 2)。LASSO 对 18 个敏感指数进行 Logistic 回归,仅有 9 个细胞亚群纳入模型(表 2)。9 个细胞亚群敏感指

标值在 LONG 与 SHORT 组间差异热图见图 3。利用这 9 个细胞亚群回归系数和对应敏感指标构建 EASS,计算得到在全体 40 例人群中 EASS 中位值为 30.73(26.24 ~ 41.29)。EASS 值分布在 LONG 与 SHORT 组间有显著差异(median: 35.02 vs 29.08, Kruskal-Wallis rank sum test $P = 2.459 \times 10^{-7}$)。ROC 曲线分析表明,EASS 可完全区别 LONG 组人群与 SHORT 人群(AUC:1.000,95% CI:1.000 ~ 1.000, $P < 0.001$)。

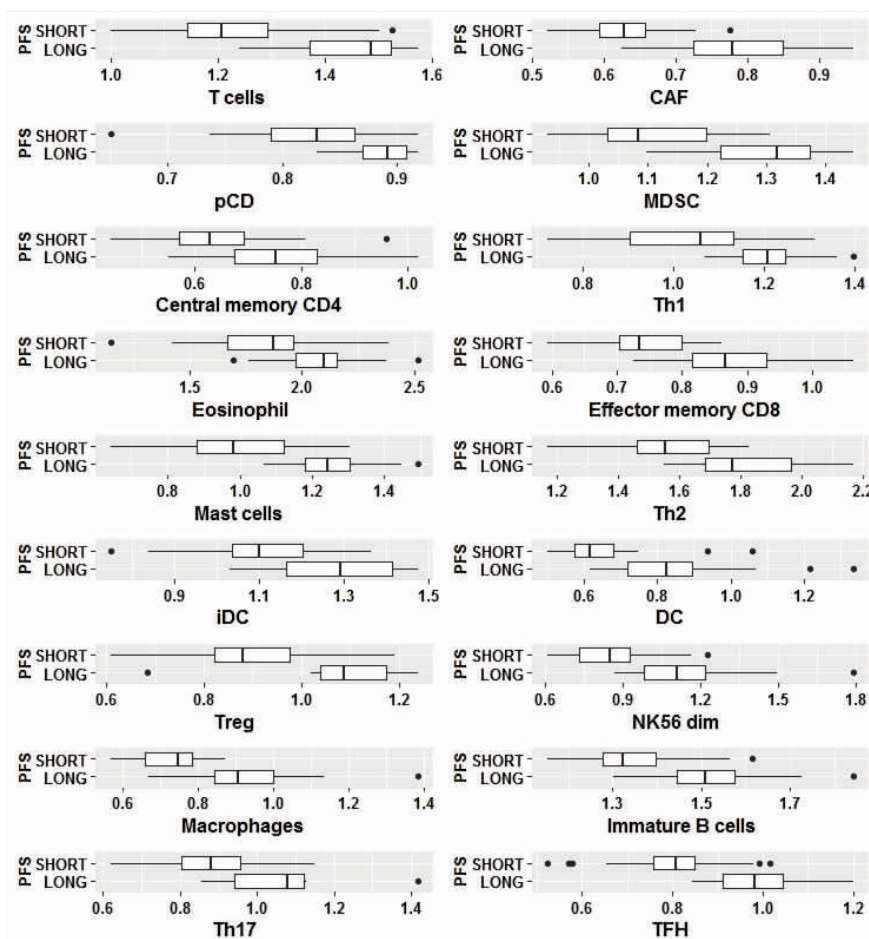


图 1 18 个细胞亚群敏感指数在 LONG 和 SHORT 组间比较 ($P < 0.01$)

Figure 1. Distribution and Comparisons of 18 Cell Subpopulations Sensitive Indexes Between LONG Group and SHORT Group ($P < 0.01$)

表 3 发现集中 18 个细胞亚群敏感指数和预测长 PFS 组 LASSO 算法回归系数

Table 3. Sensitive Indices of 18 Cell Subpopulations in Discovery Set and Coefficients Deduced from LASSO Algorithm for Predicting Long Progression Free Survival Patients

Cell subpopulation	Long median (IQR)	Short median (IQR)	P (Kruskal-Wallis)	Coefficient (LASSO)
T cells	1.485 (1.367 - 1.528)	1.208 (1.142 - 1.293)	< 0.001	-
CAF	0.779 (0.721 - 0.856)	0.628 (0.593 - 0.661)	< 0.001	4.661
pDC	0.891 (0.866 - 0.908)	0.830 (0.786 - 0.865)	< 0.001	-
MDSC	1.317 (1.213 - 1.377)	1.083 (1.027 - 1.209)	< 0.001	3.114

(Table 3 continues on next page)

(Continued from previous page)

Cell subpopulation	Long median (IQR)	Short median (IQR)	P(Kruskal-Wallis)	Coefficient (LASSO)
Central memory CD4	0.751 (0.666 – 0.830)	0.629 (0.568 – 0.692)	0.003	–
Th1	1.208 (1.148 – 1.251)	1.061 (0.897 – 1.141)	0.001	–
Eosinophil	2.096 (1.967 – 2.158)	1.872 (1.666 – 1.969)	0.002	–
Effector memory CD8	0.868 (0.814 – 0.939)	0.734 (0.702 – 0.802)	<0.001	–
Mast cells	1.244 (1.167 – 1.314)	0.982 (0.869 – 1.126)	<0.001	–
Th2	1.771 (1.682 – 1.988)	1.554 (1.461 – 1.697)	0.001	0.584
iDC	1.293 (1.161 – 1.432)	1.101 (1.025 – 1.210)	0.004	–
DC	0.825 (0.715 – 0.899)	0.616 (0.571 – 0.686)	<0.001	–
Treg	1.088 (1.033 – 1.189)	0.880 (0.814 – 0.985)	<0.001	3.687
NK56 dim	1.111 (0.962 – 1.235)	0.850 (0.731 – 0.931)	<0.001	6.054
Macrophages	0.906 (0.838 – 1.002)	0.745 (0.660 – 0.784)	<0.001	0.797
Immature B cells	1.509 (1.438 – 1.582)	1.321 (1.277 – 1.402)	<0.001	6.453
Th17	1.080 (0.934 – 1.121)	0.879 (0.795 – 0.959)	0.001	3.026
TFH	0.983 (0.906 – 1.046)	0.808 (0.758 – 0.851)	<0.001	2.089
EASS	35.02 (34.41 – 36.05)	29.08 (27.99 – 30.27)	<0.001	

EASS; Anti-EGFR antibodies sensitive score.

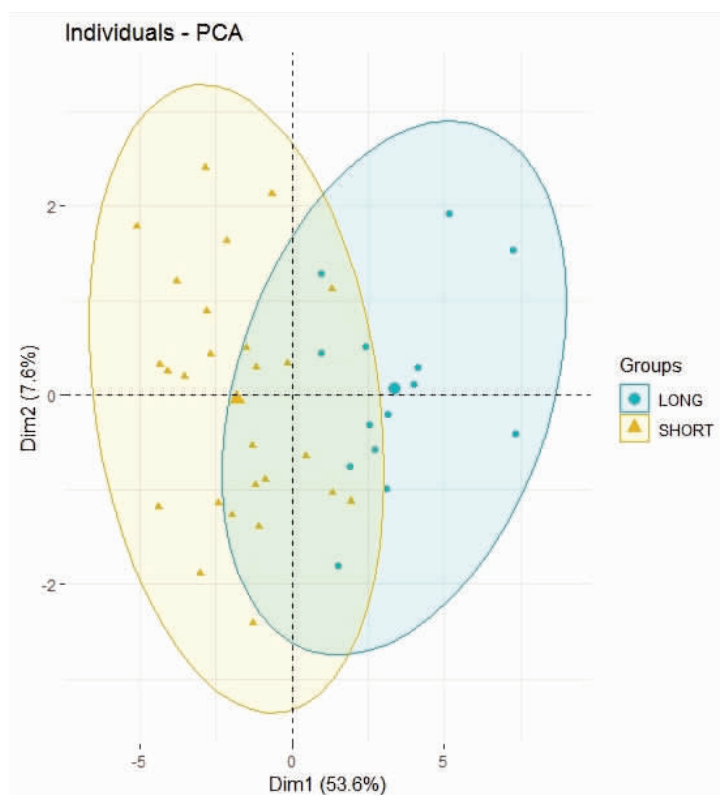


图 2 主成分分析表明 18 个细胞亚群敏感指数前两个成分可较好区别发现集 LONG 和 SHORT 组

Figure 2. Principle Component Analysis Showing Efficient Discrimination Between LONG Group and SHORT Group in the Discovery Set

2.3 对 EASS 的验证结果

在独立验证集 GSE102995 中,用与训练集相同方法计算 EASS。EASS 中位值为 35.70 (31.997 ~ 39.100),以中位值作为截断值,高于中位值组为进

展低风险组,低于中位值组为进展高风险组。高低风险组中位 PFS 时间分别为 51 天(95% CI:45.13 ~ 56.87) 和 166 天(95% CI:57.37 ~ 274.63) (Log Rank $P=0.021$) (图 4A)。而肿瘤临床分期 II ~ III

与 IV 期患者间 PFS 无显著差异 (Log Rank $P = 0.409$) (图 4B)。EASS 以连续变量 Cox 分析表明, 进展风险随 EASS 增加而降低 ($HR = 0.647, 95\% CI: 0.504 \sim 0.831, P = 0.001$)。对分期 (IV vs II ~ III) 和 PS 评分校正后, EASS 依然是 PFS 的独立预后因

素 ($HR = 0.647, 95\% CI: 0.503 \sim 0.831, P = 0.001$)。EASS 和分期对 PFS 预测准确性的 C 指数分别为 $0.755 (95\% CI: 0.719 \sim 0.791, P = 6.311)$, $0.542 (95\% CI: 0.336 \sim 0.748, P = 0.688)$ 。两个 C 指数间差异有统计学意义 ($P = 0.032$)。

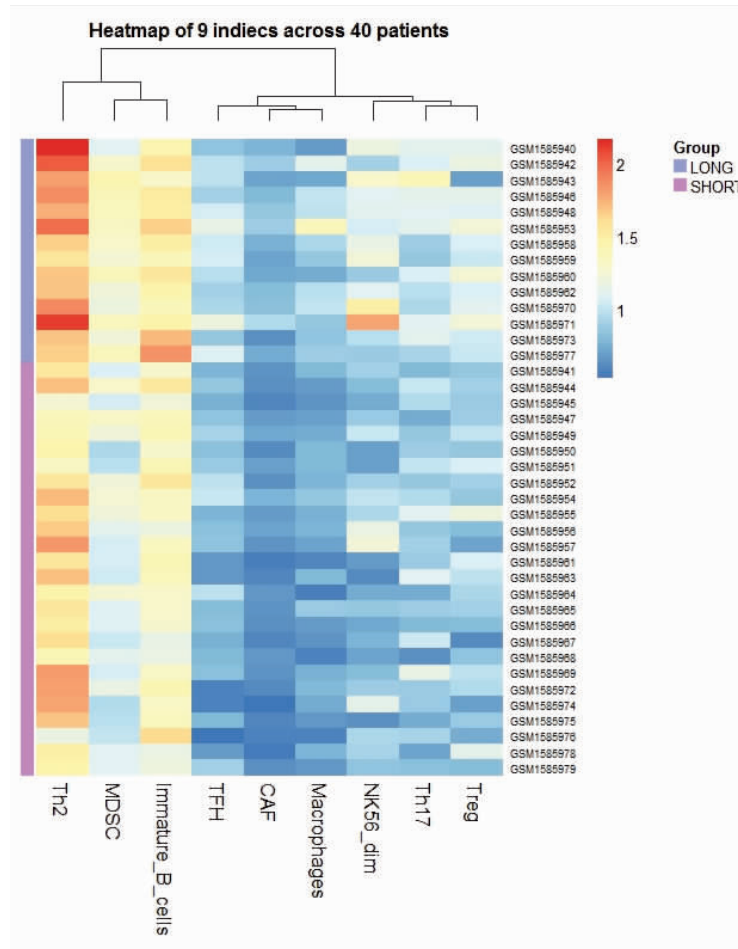


图 3 9 个细胞亚群敏感指标值在 LONG 组与 SHORT 组的热图

Figure 3. Sensitive Indexes of 9 Cell Subpopulations between LONG Group and SHORT Group

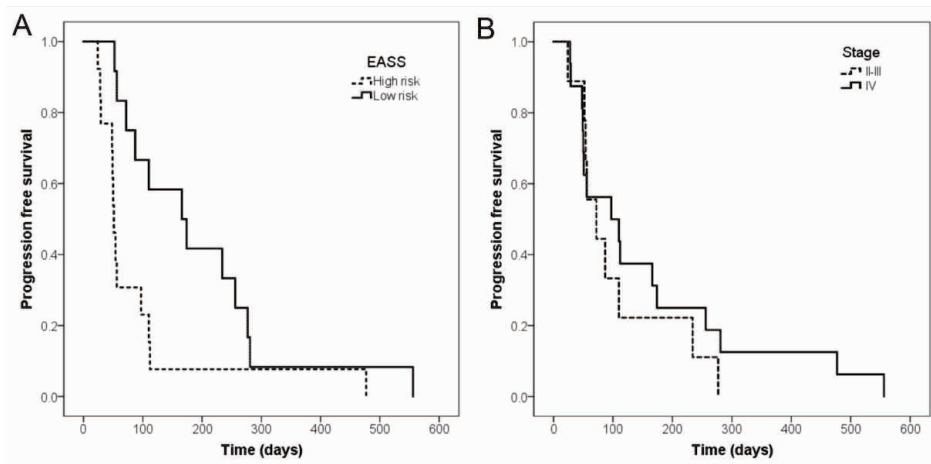


图 4 Kaplan-Meier 曲线表明 EASS 划分低危和高危组间 (A) 以及临床分期组间 (B) PFS 差异

Figure 4. Kaplan-Meier Curves Showing Differences in Progression Free Survival between Low Risk Group and High Risk Group Divided through Anti-EGFR Antibodies Sensitive Score (A) and Clinical Stage (B)

3 讨论

既往有多项研究探索了晚期头颈部肿瘤对 EGFR 单抗治疗敏感性的分子标记物。Licitra 等^[9]分别用荧光原位杂交和免疫组化的方法评价了 EGFR 拷贝数或表达水平对头颈肿瘤对 EGFR 单抗敏感性的影响,发现 EGFR 拷贝数和表达水平与头颈部肿瘤的总生存时间、PFS 以及对药物的反应均无相关性。De Cecco 等^[10]通过全转录组测序筛选差异表达基因构建模型及头颈部肿瘤的分子分型来预测头颈肿瘤对抗 EGFR 单抗治疗的敏感性,并在多线治疗后使用西妥昔单抗的晚期肠癌患者中验证其模型的有效性,发现通过分子分型来预测头颈肿瘤的准确性为 87.7%。

西妥昔单抗的抗肿瘤的主要作用包括阻断 EGFR 依赖的生长信号、抗体介导的细胞毒性作用以及活化自噬基因,诱导肿瘤细胞自噬。目前还没有研究分析免疫微环境对西妥昔单抗在头颈部肿瘤中疗效的影响。因此,我们构建基于免疫细胞亚群的头颈肿瘤抗 EGFR 单抗治疗敏感性预测评分 EASS。我们发现 EASS 不但可完全区别发现集 LONG 组人群与 SHORT 组人群,而且在验证集中是 PFS 的独立预后因素。本文中 EASS 在独立验证集中得到较好的预测效能主要归因于如下两点:一是在发现集 DEGs 筛选中使用了 PFS 极端值组别;二是在各个细胞亚群中使用了基因表达率的计算方法,该方法也被用于构建免疫预测指标的研究中^[11]。

在纳入到 EASS 计算的 9 个免疫细胞亚群中,CAF、髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)和 Th2 这 3 个细胞亚群可能发挥了更为重要的作用(表 2)。CAF 是肿瘤微环境中宿主细胞的主要成分。CAF 具有很强的异质性,来源多种多样,包括成纤维细胞、上皮细胞、间充质干细胞和骨髓来源的干细胞等^[12]。CAF 来源等异质性也部分决定其表型和功能等异质性。CAF 的功能包括:促进肿瘤发生、发展、转移、胞外基质重塑、血管生成、上皮间质转化以及肿瘤耐药等^[13]。在属于 CAF 细胞亚群特征基因中, LONG 组表现出 DPT、COL8A1、PTN、PTGIS、DDR2、EFEMP1 (fibulin-3) 和 EPHA3 等基因表达水平下调,提示这些基因可能通过影响 CAF 功能进而调控头颈鳞癌对抗 EGFR 单抗的敏感性。在一项乳腺癌的研究中^[14],间充质干细胞诱导的 DDR2 介导间质-乳腺癌的相互作用和转移生长。此外,下调 DDR2 可降低肝癌的生长速

度^[15]。以上研究提示 DDR2 基因在肿瘤的生长和转移中发挥着重要作用,而其表达下调可能对肿瘤控制有促进作用。Han 等^[16]在研究膀胱移行细胞癌时发现, Fibulin-3 表达水平与多个膀胱癌细胞株的侵袭能力相关。在小鼠原位膀胱癌模型中,下调 fibulin-3 降低了侵袭性膀胱癌的发生率。La Rocca 等^[17]发现沉默酪氨酸激酶 EPHA3 表达降低了多发性骨髓瘤细胞的体外黏附和侵袭以及体内生长和血管生成。

在肿瘤微环境中, MDSC 是免疫抑制环境的主要宿主成分^[18],它们是一群具有免疫抑制功能的未成熟细胞,通过抑制效应 T 细胞和自然杀伤细胞等抗肿瘤免疫细胞的功能介导肿瘤免疫逃逸。Li 等^[19]通过注射可溶性 FLT1 可以抑制肝癌小鼠模型的肿瘤生长和延长生存期。而该基因在 LONG 组 MDSC 细胞中上调表达,提示 FLT1 参与调控 DMSC 功能促进抗 EGFR 单抗疗效。

综上所述,头颈鳞癌肿瘤微环境免疫细胞对抗 EGFR 单抗疗效可能具有重要影响。由于头颈部鳞癌患者可能合并人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染,在未来研究中应增加 HPV 感染的因素^[20],并进一步在大量临床样本中分析 EASS 对西妥昔单抗一线治疗 PFS 的预测能力^[21]。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer [J]. N Engl J Med, 2008, 359(11):1116-1127.
- [2] Geoffrois L, Martin L, De Raucourt D, et al. Induction chemotherapy followed by cetuximab radiotherapy is not superior to concurrent chemoradiotherapy for head and neck carcinomas: results of the GORTEC 2007-02 phase III randomized trial [J]. J Clin

- Oncol, 2018, 17 : JCO2017762591.
- [3] Lavin Y, Kobayashi S, Leaderl A, et al. Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses [J]. Cell, 2017, 169(4) : 750-765.
- [4] Chevrier S, Levine JH, Zanotelli VRT, et al. An immune atlas of clear cell. Renal cell carcinoma [J]. Cell, 2017, 169(4) : 736-749.
- [5] Bossi P, Bergamini C, Siano M, et al. Functional genomics uncover the. Biology behind the responsiveness of head and neck squamous cell cancer patients to cetuximab [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(15) : 3961-3970.
- [6] Siano M, Espeli V, Mach N, et al. Gene signatures and expression of miRNAs. associated with efficacy of panitumumab in a head and neck cancer phase II trial [J]. Oral Oncol, 2018, 82 : 144-151.
- [7] Isella C, Terrasi A, Bellomo SE, et al. Stromal contribution to the colorectal cancer transcriptome [J]. Nat Genet, 2015, 47(4) : 312-319.
- [8] Angelova M, Charoentong P, Hackl H, et al. Characterization of the immunophenotypes and antigenomes of colorectal cancers reveals distinct tumor escape mechanism and novel targets for immunotherapy [J]. Genome Biol, 2015, 16 : 64.
- [9] Licitra L, Mesia R, Rivera F, et al. Evaluation of EGFR gene copy number as a predictive biomarker for the efficacy of cetuximab in combination with chemotherapy in the first-line treatment of recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck; EXTREME study [J]. Ann Oncol, 2011, 22(5) : 1078-1087.
- [10] De Cecco L, Giannoccaro M, Marchesi E, et al. Integrative miRNA-gene expression analysis enables refinement of associated biology and prediction of response to cetuximab in head and neck squamous cell cancer [J]. Genes (Basel), 2017, 8(1) : E35.
- [11] Auslander N, Zhang G, Lee JS, et al. Robust prediction of response to immune checkpoint blockade therapy in metastatic melanoma [J]. Nat Med, 2018, 24(10) : 1545-1549.
- [12] Franco OE, Shaw AK, Strand DW, et al. Cancer associated fibroblasts in. cancer pathogenesis [J]. Semin Cell Dev Biol, 2010, 21(1) : 33-39.
- [13] Hirata E, Girotti MR, Viros A, et al. Intravital imaging reveals how BRAF. inhibition generates drug- tolerant microenvironments with high integrin β 1/FAK signaling [J]. Cancer Cell, 2015, 27(4) : 574-588.
- [14] Gonzalez ME, Martin EE, Anwar T, et al. Stem cell-induced DDR2 mediates stromal-breast cancer interactions and metastasis growth [J]. Cell Rep, 2017, 18(5) : 1215-1228.
- [15] Park JW, Lee YS, Kim JS, et al. Downregulation of discoidin domain receptor 2 decreases tumor growth of. hepatocellular carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2015, 141(11) : 1973-1983.
- [16] Han AL, Veeneman BA, El-Sawy L, et al. Fibulin-3 promotes muscle-invasive bladder cancer [J]. Oncogene, 2017, 36(37) : 5243-5251.
- [17] La Rocca F, Airolidi I, Di Carlo E, et al. EphA3 targeting reduces in vitro. adhesion and invasion and in vivo growth and angiogenesis of multiple myeloma cells [J]. Cell Oncol(Dordr), 2017, 40(5) : 483-496.
- [18] Ostrand-Rosenberg S, Sinha P, Beury DW, et al. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells (MDSC), macrophages, and dendritic cells enhances tumor-induced immune suppression [J]. Semin Cancer Biol, 2012, 22(4) : 275-281.
- [19] Li G, Miao F, Zhu J, et al. Antiangiogenesis gene therapy for hepatocellular carcinoma via systemic injection of mesenchymal stem cells engineered to secrete soluble Flt1 [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5) : 5799-5806.
- [20] Mehanna H, Robinson M, Hartley A, et al. Radiotherapy plus cisplatin or cetuximab in low-risk human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (De-ESCALaTE HPV); an open-label randomised controlled phase 3 trial [J]. Lancet, 2019, 393(10166) : 51-60.
- [21] Qin S, Li J, Wang L, et al. Efficacy and tolerability of first-line cetuximab plus leucovorin, fluorouracil, and oxaliplatin (FOLFOX-4) versus FOLFOX-4 in patients with wild-type metastatic colorectal cancer: the open-label, randomized, phase III TAILOR Trial [J]. J Clin Oncol, 2018, 36(30) : 3031-3039.