

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.13.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200331.1314.018.html\(2020-03-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200331.1314.018.html(2020-03-31))

EB 病毒诱导基因 3 增强结肠癌 5-氟尿嘧啶 耐药株耐药性的研究^{*}

梁艳芳¹, 叶子瑜², 马 燕², 林碧华², 陈 灿¹, 曾今诚^{2,3}

(1. 广东省东莞市滨海湾中心医院/暨南大学附属东莞医院病理科 523905; 2. 广东医科大学
东莞市医学活性分子开发与转化重点实验室, 广东东莞 523808; 3. 广东医科大学广东省
医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808)

[摘要] **目的** 建立结肠癌(CRC)5-氟尿嘧啶(5-Fu)耐药株探讨 EB 病毒诱导基因 3(EBI3)与 CRC 5-Fu 耐药的关系。**方法** 采用 5-Fu 持续接触浓度递增诱导法建立人 CRC 耐药细胞系; CCK-8 法检测细胞增殖和耐药性; 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色观察细胞核形态学改变; 流式细胞术检测细胞周期及细胞凋亡; EBI3 CRISPR 激活质粒和 EBI3 CRISPR/Cas9 敲除质粒转染结肠癌耐药和非耐药细胞后, Western blot 检测 EBI3、细胞色素 P450 家族成员 1B1(CYP1B1)和有丝分裂原活化蛋白激酶激酶 2(MEKK2)表达。**结果** 采用 5-Fu 持续接触浓度递增诱导法建立人结肠 CRC 细胞系 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu; 细胞周期检测结果显示, 与 SW1116 和 LoVo 细胞相比, SW1116 和 SW1116/5-Fu 细胞周期各期百分比无明显差异($P>0.05$)。与 LoVo 细胞相比, LoVo/5-Fu 细胞 G₁ 期细胞百分比明显增高($P<0.05$), S 期细胞百分比明显降低($P<0.05$); Western blot 检测结果显示, 与 SW1116 和 LoVo 细胞相比, SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 EBI3、CYP1B1 和 MEKK2 表达均明显增高; SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞转染 EBI3 敲除质粒后, 5-Fu 作用细胞的半抑制浓度(IC₅₀)值明显降低($P<0.05$), 而细胞转染 EBI3 激活质粒后, 5-Fu 作用细胞的 IC₅₀ 值明显增高($P<0.05$)。**结论** EBI3 可能介导了 CRC 细胞对 5-Fu 的耐药过程。

[关键词] EB 病毒诱导基因 3; 结肠肿瘤; 5-氟尿嘧啶; 耐药细胞系

[中图法分类号] R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)13-2082-05

Study on Epstein-Barr virus-induced gene 3 enhances the drug resistance of 5-fluorouracil resistant colorectal cancer cells^{*}

LIANG Yanfang¹, YE Ziyu², MA Yan², LIN Bihua², CHEN Can¹, ZENG Jincheng^{2,3}

(1. Department of Pathology, Dongguan Hospital Affiliated to Jinan University/Marina Bay Central Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523905, China; 2. Dongguan Key Laboratory of Medical Bioactive Molecular Developmental and Translational Research, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) and the drug resistance of 5-Fluorouracil (5-Fu) in colorectal cancer cells via establishing 5-Fu drug-resistant colon cancer strains. **Methods** The human colorectal cancer drug-resistant cellswere established by continuously exposing the colorectal cancer cells to ascending doses of 5-Fu. Cell proliferation and drug resistance were detected by CCK-8. Changes in nuclear morphology was observed by 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining. Cell cycle was detected by using flow cytometry. APC Annexin V-7AAD double staining was used to detect apoptosis. EBI3 CRISPR activation plasmid and EBI3 CRISPR/Cas9 knockout plasmid were transfected into colorectal cancer resistant and non-resistant cells, and Western blot was used to detect EBI3, CYP1B1 and MEKK2 expression. **Results** The human colorectal cancer 5-Fu resistant cell lines SW1116/5-Fu and LoVo/5-Fu were successfully constructed after continuous exposure to increased concentration of 5-Fu. The cell cycle

^{*} **基金项目:** 东莞市社会科技发展(一般)项目(2018507150251294); 广东省医学科研基金项目(A2018123); 广东省基础与应用基础研究基金联合基金(粤莞)项目(2019A1515110042)。 **作者简介:** 梁艳芳(1984—), 副主任医师, 硕士, 主要从事肿瘤病理学研究。

test results showed that there was no significant difference in the percentages of cell cycle stages between SW1116 and SW1116/5-Fu cells ($P>0.05$). However, compared with LoVo cells, the percentage of cells in the G1 phase of LoVo/5-Fu cells was significantly increased ($P<0.05$), and the percentage of cells in the S phase was significantly decreased ($P<0.05$). Western blot showed that, compared with SW1116 and LoVo cells, the expression of EBI3, CYP1B1 and MEKK2 in SW1116/5-Fu and LoVo/5-Fu cells were significantly increased. The IC₅₀ values of 5-Fu were significantly decreased after SW1116, SW1116/5-Fu, LoVo and LoVo/5-Fu cells transfected with EBI3 knockout plasmid ($P<0.05$), and the IC₅₀ value of 5-Fu was significantly increased after cells transfected with EBI3 activating plasmid ($P<0.05$). **Conclusion** EBI3 may mediate the resistance of colorectal cancer cells to 5-Fu.

[Key words] Epstein-Barr virus-inducible gene 3; colonic neoplasms; 5-fluorouracil; drug-resistant cell line

结肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,近年来其发病率和病死率均呈逐年上升趋势。虽然早期发现后手术治疗可使多数 CRC 患者得到根治,但 25% 的 CRC 患者在初诊时已发生转移,且约 50% 的 CRC 患者最终发展为不能切除的转移病例^[1]。对于晚期或复发转移的 CRC 患者,化疗依旧是其主要的治疗手段。目前,5-氟尿嘧啶(5-Fu,单药有效率 12%)、奥沙利铂(L-OHP,单药有效率 12%)和伊立替康(Irinotecan,单药有效率 18%)是 CRC 主要联合化疗方案的基础^[2]。然而,其化疗后中位肿瘤进展时间(TTP)仍很短(6~8 个月),提示 CRC 患者可能存在内在耐药性或获得性耐药。CRC 耐药是影响化疗疗效和患者预后的重要原因之一,因此,研究 CRC 耐药的发生及其机制是化疗增敏或逆转耐药的基础。EB 病毒诱导基因 3(EBI3)蛋白是一种相对分子质量为 34×10^3 的可溶分泌性糖蛋白,主要表达于淋巴器官、胎盘和多种肿瘤。EBI3 与白细胞介素(IL)-12p35、IL-12p40、IL-23p19 及 IL-27p28 同属于 IL-12 家族亚基成员。EBI3 分别与 IL-27p28、IL-12p35 异源结合形成细胞因子 IL-27(EBI3/IL-27p28)和 IL-35(EBI3/IL-12p35)^[3]。近年来发现,EBI3 在 CRC 患者和乳腺癌患者中均高表达^[4-5],且 EBI3 可双向调节信号转导子与激活子 3(STAT3)信号通路,抑制肿瘤微环境细胞毒性 T 淋巴细胞免疫应答,促进肿瘤发生、发展,协助 CRC 细胞逃逸免疫监视^[5]。另外,作者研究团队也发现,CRC 细胞 STAT3 信号通路异常与 5-Fu 的耐药有关^[6]。本文旨在通过构建结肠癌 5-Fu 耐药株探讨其与 EBI3 的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

人 CRC 细胞株 SW1116(Duke 分期 A 期)和 LoVo(Duke 分期 D 期)由广东医科大学东莞市医学活性分子开发与转化重点实验室惠赠。DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)和 0.25% 胰蛋白酶(Trypsin EDTA)购自美国 Gibco 公司;RIPA 裂解液(强)、青霉素-链霉素溶液(100×)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、CCK-8 试剂盒和蛋白裂解液购

自碧云天生物公司;APC Annexin V-7AAD 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BioLegend 公司;5-Fu 和碘化丙啶(PI)购自美国 Sigma 公司;质粒转染培养基(sc-10806)、UltraCruz[®] 转染试剂(sc-395739)、EBI3 CRISPR 激活质粒(sc-401552-ACT)、对照 CRISPR 激活质粒(sc-437275)、EBI3 CRISPR/Cas9 敲除质粒(sc-401552)、EBI3 抗体、细胞色素 P450 家族成员 1B1(CYP1B1)抗体和有丝分裂原活化蛋白激酶激酶 2(MEKK2)抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 耐药细胞系建立

采用 5-Fu 持续接触浓度递增诱导法建立人 CRC 耐药细胞系 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu。将 2×10^5 个 SW1116 和 LoVo 细胞接种于六孔板,37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养 48 h 后,更换含 0.5 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液(10% FBS)继续培养 48 h 后,弃上清液,磷酸盐缓冲溶液(PBS)洗涤。更换含 1.0 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液(10% FBS)继续培养 72 h 后,弃上清液,PBS 洗涤。随后,依次采用含 2.0、4.0 和 6.0 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液持续诱导,最终得到对 6.0 mg/L 5-Fu 耐药的 W1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞系。

1.2.2 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色

将 1×10^5 个细胞接种于含细胞爬片的六孔板,于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 48 h 后,收集细胞爬片,4% 甲醛固定 30 min,PBS 洗涤后平衡 30 min,加入适量 DAPI 染色液孵育 3 min,盖玻片封片后,荧光显微镜观察样品。

1.2.3 细胞增殖检测

将 1×10^3 个 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种于 96 孔板,于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 24、48、72 和 96 h 后,分别采用 CCK-8 试剂盒和酶标仪检测 450 nm 处的最佳吸光度(A₄₅₀)值,比较各组细胞的生长情况。

1.2.4 细胞周期检测

将 1×10^5 个 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种于六孔板,于 37℃、5% CO₂ 饱

和湿度的培养箱中培养 24、48 和 72 h 后,分别收集细胞,75%冷乙醇 4 ℃ 固定 1 h,PBS 洗涤后,加入 200 μg/mL RNAase 于 37 ℃ 孵育 30 min 后,加入 20 μg/mL PI 染色液室温避光孵育 30 min 后流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.5 细胞凋亡检测

将 1×10⁵ 个 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种于六孔板,于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 24、48 和 72 h 后,分别收集细胞,PBS 洗涤后,采用 APC Annexin V-7AAD 细胞凋亡检测试剂盒进行细胞染色后,流式细胞仪检测细胞凋亡。采用 FlowJo 7.6.1 软件对流式细胞仪检测结果进行分析。

1.2.6 细胞转染

转染前将 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种至六孔板中进行培养,待细胞密度达 70%~80% 时,使用 UltraCruz[®] 转染试剂进行 EBI3 CRISPR 激活质粒和 EBI3 CRISPR/Cas9 敲除质粒转染(质粒 1 μg/mL)。具体转染流程参见对应质粒转染说明书进行,稳定转染 72 h 后进行后续实验。

1.2.7 细胞耐药性检测

取 1.2.6 各组细胞,分别采用含 0.5 和 6.0 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液持续培养 24 h 和 48 h,采用 CCK-8 检测细胞增殖。用正态概率转化法计算半抑制浓度(IC₅₀)。

1.2.8 Western blot 检测

各组 CRC 细胞经 PBS 洗涤后,加入适量裂解液,置于冰上裂解后提取总蛋白质并测定蛋白质浓度。10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-

PAGE)分离蛋白质(120 V,1 h),转膜(90 V,2 h)后 10%脱脂牛奶封闭 1 h,一抗摇床孵育过夜(1:200),TBST 洗涤后二抗(1:1 000)室温孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次,最后采用电化学发光(ECL)显色液显色。

1.3 统计学处理

以上所有试验进行 3 次重复。采用 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞系的建立

采用 5-Fu 持续接触浓度递增诱导法建立人结肠癌耐药细胞系 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu。DAPI 染色显示,SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞的细胞核体积明显大于非耐药的 SW1116 和 LoVo 细胞,见图 1。

2.2 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞的生物学特征

SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞生物学特征比较,见表 1。与 SW1116 和 LoVo 细胞相比,5-Fu 作用的 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞其 IC₅₀ 值明显增高($P<0.05$)。细胞凋亡率检测结果显示,SW1116 和 LoVo 细胞在常规培养基(DMEM+10% FBS)中的凋亡率与 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞在含 6.0 mg/L 5-Fu 的常规培养基中的凋亡率无明显差异($P>0.05$)。细胞周期检测结果显示,SW1116 和 SW1116/5-Fu 细胞周期各期百分比无明显差异($P>0.05$);然而,与 LoVo 细胞相比,LoVo/5-Fu 细胞 G₁ 期细胞百分比明显增高($P<0.05$),S 期细胞百分比明显降低($P<0.05$)。

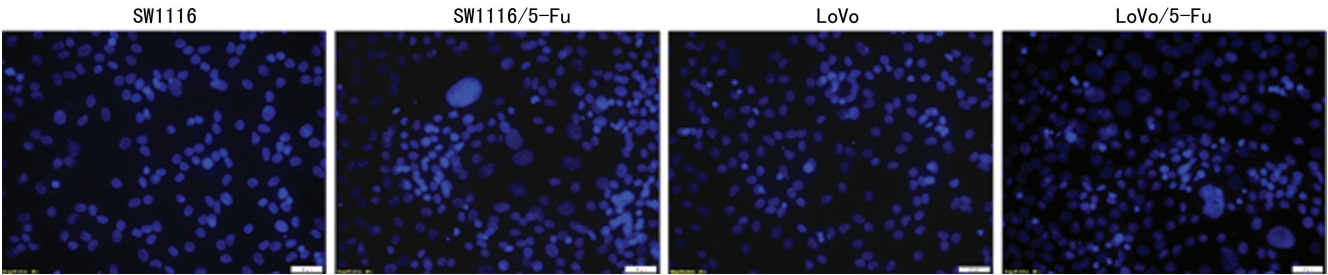
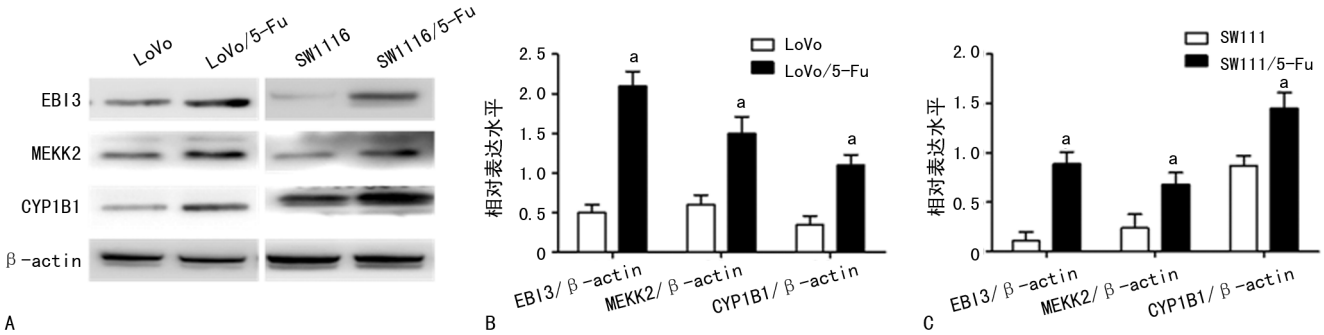


图 1 细胞核形态学观察(×200)

表 1 细胞生物学特征比较($\bar{x} \pm s$)

细胞	5-Fu IC ₅₀ (mg/L)	细胞凋亡率(%)	细胞周期(%)		
			G ₁	S	G ₂ /M
SW1116	1.34±0.11	2.34±0.16	64.77±3.28	20.23±2.20	15.01±1.09
SW1116/5-Fu	24.20±2.35 ^a	2.87±0.42	68.54±2.76	19.07±1.78	12.39±1.12
LoVo	1.67±0.16	2.76±0.18	59.76±4.17	27.22±2.09	13.02±1.12
LoVo/5-Fu	38.20±5.18 ^a	2.97±0.92	69.22±3.33 ^a	20.31±1.67 ^a	10.47±1.07

^a: $P<0.01$,与对应的非耐药细胞比较。



A: Western blot 检测 EBI3、CYP1B1 和 MEKK2 表达;B:LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞 EBI3、CYP1B1、MEKK2 相对表达水平比较;C:SW1116 和 SW1116/5-Fu 细胞 EBI3、CYP1B1、MEKK2 相对表达水平比较;^a: $P<0.01$,与非耐药细胞比较。

图 2 5-Fu 耐药和非耐药细胞 EBI3、CYP1B1 和 MEKK2 表达

2.3 EBI3 在 5-Fu 耐药和非耐药细胞中的表达

Western blot 检测结果显示,与 SW1116 和 LoVo 细胞相比,SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 EBI3、CYP1B1 和 MEKK2 相对表达水平均明显增高 ($P<0.05$),见图 2。

2.4 EBI3 对 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞耐药性的影响

EBI3 对 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞耐药性的影响结果见表 2。SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞转染 EBI3 敲除质粒后,与对照质粒组相比,5-Fu 作用细胞的 IC_{50} 值明显降低 ($P<0.05$);然而,SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞转染 EBI3 激活质粒后,与对照质粒组相比,5-Fu 作用细胞的 IC_{50} 值明显增高 ($P<0.05$)。

表 2 不同质粒处理后 5-Fu 作用细胞的 IC_{50} 比较($\bar{x}\pm s$,mg/L)

细胞	EBI3 敲除质粒	EBI3 激活质粒	对照质粒
SW1116	0.89±0.14 ^b	3.76±0.11b	1.97±0.18
SW1116/5-Fu	10.12±1.24 ^{ab}	39.30±2.87 ^{ab}	23.17±3.33 ^a
LoVo	1.06±0.15 ^b	5.22±0.11 ^b	2.37±0.14
LoVo/5-Fu	8.12±5.77 ^{ab}	48.30±8.21 ^{ab}	35.12±6.45 ^a

^a: $P<0.05$,与对应的非耐药细胞比较;^b: $P<0.05$,与对照质粒组比较。

3 讨 论

自从引入 5-FU 作为抗癌剂以来,CRC 的化疗方法一直在不断发展。尽管取得了较大进展,但对化疗的抵抗性仍然是阻止 CRC 患者有效治疗的最大障碍之一。据估计,目前超过 90% 的转移性 CRC 患者的治疗失败与耐药性有关^[7]。因此,阐明耐药机制并开发更有效的治疗剂或程序是癌症研究的主要挑战。大量研究已发现,肿瘤化疗药物耐药机制多样,主要涉及三磷酸腺苷(ATP)结合性盒型转运蛋白超家族、DNA 甲基化、细胞凋亡、拓扑异构酶 II、谷胱甘肽及其相关酶类对化疗药物的解毒作用,以及相关逆转肿瘤多药耐药的信号通路等^[8]。此外,miRNA 通过调节靶基因的异常表达介导药物外排及药物靶点变化,

调控细胞凋亡与 DNA 修复能力,调控肿瘤干细胞生长分化,激发保护性自噬等多种方式调控多药耐药。5-Fu 是 CRC 主要一线化疗药物。近年来,研究人员发现 p38 α 丝裂原活化蛋白激酶(p38 α MAPK)信号通路,Hedgehog 信号通路,核因子- κ B(NF- κ B)信号通路,STAT3 信号通路,ATM-CHK2-P53 信号通路等均参与了 5-Fu 对 CRC 的耐药过程^[9]。然而,EBI3 是否介导 CRC 细胞 5-Fu 耐药未知。

EBI3 是一种分泌型糖蛋白质,已被鉴定在结直肠癌、乳腺癌和肝癌等多种肿瘤中过表达且与患者不良预后密切相关^[4-5,10-11]。目前较为明确的是 EBI3 可分别与 IL-27p28、IL-12p35 异源结合形成 IL-27 和 IL-35。WANG 等^[12]发现,EBI3 还可以与 IL-23p19 异源结合形成 IL-39。IL-39 可通过促进癌细胞生长和抑制癌细胞凋亡来促进胰腺癌的生长^[13]。

近年来,作者研究发现 EBI3 可双向调节 STAT3 信号通路抑制肿瘤微环境细胞毒性 T 淋巴细胞免疫应答和促进肿瘤发生、发展,协助 CRC 细胞逃免疫监视^[5]。研究亦发现,5-Fu 可抑制 CRC 细胞 STAT3 和 Akt 信号通路增强抗端粒酶活性、抑制细胞凋亡和抑制上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition,EMT),从而增加癌细胞 5-Fu 耐药性^[14-15]。

本研究采用 5-Fu 持续接触浓度递增诱导法建立了两株能在 6.0 mg/L 5-Fu 稳定生长的耐药结肠癌细胞 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu,该两株细胞的耐药倍数(耐药细胞 IC_{50} /亲本细胞 IC_{50})与亲本细胞相比均明显升高。目前,有关 EBI3 介导 CRC 细胞 5-Fu 耐药的研究国内外均未见明确报道。本研究发现,SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞转染 EBI3 敲除质粒后,5-Fu 作用细胞的 IC_{50} 值明显降低 ($P<0.05$),而细胞转染 EBI3 激活质粒后,5-Fu 作用细胞的 IC_{50} 值明显增高 ($P<0.05$)。特别是,本研究发现 CRC 耐药细胞株均高表达 EBI3 及耐药相关蛋白 CYP1B1 和 MEKK2,且与 EBI3 表达密切相关。前期研究作者亦证实,EBI3 介导了 CRC 细胞的发生、发展^[5]。此外,研究还发现 EMT 相关蛋白质(E-cadherin 和 vimentin)、肿瘤干细胞相关蛋白(Promi-

nin-1 和透明质酸受体)和细胞代谢水平均发生了明显的改变(结果未报道)。因此,本研究推测 5-Fu 可能通过调控 EBI3 表达调节 CRC 细胞耐药相关蛋白、CRC 细胞生物学活性及代谢水平,从而介导 CRC 细胞 5-Fu 耐药。这些研究提示,EBI3 有望成为对抗恶性肿瘤化疗过程中出现化疗药物耐药的一个新治疗靶点。

参考文献

- [1] ZHANG S,ZHANG D,YANG Z,et al. Tumor budding,micropapillary pattern,and polyploidy giant cancer cells in colorectal cancer: current status and future prospects[J]. *Stem Cells Int*, 2016(2016):4810734.
- [2] ONESTI C E,BOTTICELLI A,LA TORRE M,et al. 5-Fluorouracil degradation rate could predict toxicity in stages II—III colorectal cancer patients undergoing adjuvant FOLFOX [J]. *Anticancer Drugs*, 2017,28(3):322-326.
- [3] OMURA K. Advances in chemotherapy against advanced or metastatic colorectal cancer[J]. *Digestion*, 2008,77(Suppl 1):S13-22.
- [4] CHEN G,LIANG Y,GUAN X,et al. Circulating low IL-23: IL-35 cytokine ratio promotes progression associated with poor prognosis in breast cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2016,8(5): 2255-2264.
- [5] LIANG Y,CHEN Q,DU W,et al. Epstein-barr virus-induced gene 3 (EBI3) blocking leads to induce antitumor cytotoxic T lymphocyte response and suppress tumor growth in colorectal cancer by bidirectional reciprocal-regulation STAT3 signaling pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2016(2016):3214105.
- [6] REN D,LIN B,ZHANG X,et al. Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017,8(30):49807-49823.
- [7] HAMMOND W A,SWAIKA A,MODY K. Pharmacologic resistance in colorectal cancer: a review[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2016,8(1): 57-84.
- [8] SILVA R,VILAS-BOAS V,CARMO H,et al. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy [J]. *Pharmacol Ther*, 2015,149:1-123.
- [9] OLIVER METZIG M,FUCHS D,TAGSCHERER K E,et al. Inhibition of caspases primes colon cancer cells for 5-fluorouracil-induced TNF- α -dependent necroptosis driven by RIP1 kinase and NF- κ B[J]. *Oncogene*, 2016,35(26):3399-3409.
- [10] SONG Q,CHEN X,HU W,et al. Downregulation of Epstein-Barr virus-induced gene 3 is associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection [J]. *Oncol Lett*, 2018,15(5):7751-7759.
- [11] JIANG J,LIU X. Upregulated EBI3 correlates with poor outcome and tumor progression in breast cancer [J]. *Oncol Res Treat*, 2018, 41(3):111-115.
- [12] WANG X,WEI Y,XIAO H,et al. A novel IL-23p19/Ebi3 (IL-39) cytokine mediates inflammation in Lupus-like mice[J]. *Eur J Immunol*, 2016,46(6):1343-1350.
- [13] MANNING A A,ZHAO L,ZHU Z,et al. IL-39 acts as a friend to pancreatic cancer [J/OL]. *Med Oncol*, 2019, 36: 12. (2018-12-01) [2019-09-20]. <https://doi.org/10.1007/s12032-018-1236-y>.
- [14] CHUNG S S,DUTTA P,AUSTIN D,et al. Combination of resveratrol and 5-fluorouracil enhanced anti-telomerase activity and apoptosis by inhibiting STAT3 and Akt signaling pathways in human colorectal cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2018,9(68):32943-32957.
- [15] ZHANG Q,LIU R,CHAN K,et al. Exosomal transfer of p-STAT3 promotes acquired 5-FU resistance in colorectal cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019,38:320.

(收稿日期:2019-12-24 修回日期:2020-03-19)