

基于生物信息学构建铜代谢相关基因肺腺癌预后模型及免疫分析

董雨晴, 刘浩然, 孙继宏, 张瀚文, 王萍玉
滨州医学院公共卫生学院, 山东 烟台 264003

【摘要】目的:构建预后风险模型探索铜代谢相关基因在肺腺癌(LUAD)中预后价值,为LUAD患者制定个性化治疗方案提供参考。**方法:**通过癌症基因组图谱(TCGA)数据库和基因型-组织表达资料库(GTEX)下载LUAD组织和癌旁或正常肺组织的RNA-seq数据,通过单因素Cox回归分析、Lasso分析和多因素Cox回归分析构建风险评分模型,绘制接受者操作特征(ROC)曲线及列线图模型对风险模型进行评价,并利用基因表达综合数据库(GEO)中的LUAD数据、肿瘤免疫单细胞中心(TISCH)单细胞测序分析、人类蛋白质图谱(HPA)免疫组化分析等进行外部验证。此外,对高、低风险组的免疫微环境和药物敏感性进行分析。**结果:**构建了一个由6个基因组成的风险模型,低风险组的总体生存率高于高风险组($P<0.001$),训练集风险模型1、3、5年ROC曲线下的面积分别为0.729、0.749、0.707,C-index曲线的C指数为0.721(95%CI: 0.678~0.764),免疫微环境在高、低风险组之间有统计学意义($P<0.001$),药物敏感性分析发现高、低风险组患者对吉西他滨、吉非替尼、克唑替尼、沃利替尼等药物有统计学意义($P<0.001$)。**结论:**基于6个铜代谢相关基因构建的风险模型能较为准确地预测LUAD患者预后,免疫微环境在高、低风险组之间有差异,高风险组患者对吉西他滨、吉非替尼、克唑替尼、沃利替尼等药物更为敏感,为LUAD患者的个性化治疗提供参考。

【关键词】肺腺癌;铜代谢相关基因;预后模型;免疫微环境;生物信息学

【中图分类号】R318

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2024)10-1296-11

Prognostic model and immune analysis of copper metabolism related genes in lung adenocarcinoma based on bioinformatics

DONG Yuqing, LIU Haoran, SUN Jihong, ZHANG Hanwen, WANG Pingyu
School of Public Health, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China

Abstract: Objective To construct a prognostic risk model for exploring the prognostic value of copper metabolism related genes (CMRGs) in lung adenocarcinoma (LUAD), thereby providing a reference for personalized treatment of LUAD patients. **Methods** The RNA-seq data of LUAD tissues and adjacent or normal lung tissues were downloaded from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database and Genotype-tissue Expression (GTEx) database. The risk scoring model was established using univariate Cox regression analysis, Lasso analysis and multivariate Cox regression analysis, and the receiver operating characteristic (ROC) curves and nomogram were used to evaluate the model performance. The LUAD data in the Gene Expression Omnibus (GEO), the Tumor Immune Single-cell Hub (TISCH) single-cell sequencing analysis, and the Human Protein Atlas (HPA) immunohistochemistry analysis were used for external validation. Additionally, the immune microenvironment and drug sensitivity of high- and low-risk groups were analyzed. **Results** A risk model consisting of 6 genes was constructed. The overall survival rate of low-risk group was higher than that of high-risk group ($P<0.001$). ROC analysis showed that the area under curve of the risk model in training set reached 0.729, 0.749 and 0.707 at 1-, 3- and 5-year, respectively, and the C index of C-index curve was 0.721 (95%CI: 0.678-0.764). The immune microenvironment differed significantly between high- and low-risk groups ($P<0.001$), and the drug sensitivity analysis in high- and low-risk groups revealed that there was statistically significant for gemcitabine, gefitinib, crizotinib and savolitinib ($P<0.001$). **Conclusion** The risk model constructed with 6 CMRGs enable the prediction of the prognosis of LUAD patients. The immune microenvironment differs in high- and low-risk group, and high-risk patients are more sensitive to drugs such as gemcitabine, gefitinib, crizotinib and savolitinib, which provide a reference for the personalized treatment of LUAD patients. **Keywords:** lung adenocarcinoma; copper metabolism related gene; prognostic model; immune microenvironment; bioinformatics

【收稿日期】2024-05-20

【基金项目】国家自然科学基金(81772281);山东省自然科学基金重点项目(ZR2020KH015)

【作者简介】董雨晴,硕士研究生,研究方向:流行病与卫生统计学方向,E-mail: 15653363613@163.com

【通信作者】王萍玉,博士,教授,研究方向:流行病与卫生统计学方向,E-mail: wpingyugirl@163.com

前言

肺癌是最常见的呼吸系统恶性肿瘤,根据病理类型可分为小细胞肺癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC),肺腺癌(Lung Adenocarcinoma, LUAD)是NSCLC的主要病理类型,约占全部肺癌确诊病例的50%^[1]。早期LUAD通过手术治疗能取得良好的疗效,但由于早期难以发现,易发生转移,且缺乏系统性的治疗等因素,LUAD患者生存率仍然较差,五年存活率只有18%^[2-3]。因此,LUAD仍然是人类健康的沉重负担,需要发现可靠的预后生物标志物来改善LUAD患者的预后。

铜是人体所需的微量元素之一,在线粒体呼吸、抗氧化防御和生物化合物合成等生物过程中发挥着关键作用^[4],铜代谢涉及铜的吸收、分布、隔离和排泄^[5]。细胞内铜通过稳态机制限制在低浓度,以防止游离铜的积累和铜诱导的细胞毒性^[6]。有研究表明癌症患者的血清和肿瘤组织中具有相对较高浓度的铜,这可能与其发病机制有关^[7-9]。免疫反应的抗肿瘤作用取决于有效的线粒体功能,而铜缺乏会抑制免疫反应^[10]。目前铜代谢相关基因在LUAD中的作用和临床意义尚不明确。

本研究将癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)和基因型-组织表达资料库(Gnotype-Tissue Expression, GTEx)LUAD转录组和临床数据进行合并,并进行生物信息学分析,构建铜代谢相关基因(Copper Metabolism Related Genes, CMRGs)的LUAD患者预后模型,预测LUAD患者的预后、免疫微环境和免疫治疗。通过基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)进行模型的验证。本研究有助于为LUAD患者的预后和治疗提供相关依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源

通过查阅最新相关文献共获得133个CMRGs^[11],LUAD患者的RNA-seq数据和临床数据下载自TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/repository>)(59个正常和541个LUAD样本)和GTEx数据库(<https://xenabrowser.net>)(288个正常样本)。从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)下载2个LUAD患者队列的数据:GSE30219(274个LUAD样本)及GSE31210(226个LUAD样本)。

1.2 CMRGs差异分析

在R语言中通过“limma”包将从TCGA数据库和

GTEx数据库中下载的RNA-seq数据进行合并,然后设置过滤条件为FDR<0.05且|logFC|>2来识别正常组与LUAD组之间的差异表达基因。通过“venn”包将差异表达基因与133个CMRGs取交集绘制韦恩图,并通过火山图将结果进行可视化。

1.3 建立和评估TCGA-LUAD风险预后模型

使用“caret”R包将TCGA数据库中的LUAD患者按1:1随机分为训练集和验证集,参考研究团队之前的预后模型构建方法^[12],并使用两个GEO队列(GSE30219、GSE31210)作为外部验证。

1.4 列线图的构建与验证

为更好地评估模型的预测能力,使用“rms”R包构建列线图。

1.5 免疫组化分析

通过人类蛋白质图谱(the Human Protein Atlas, HPA)(<https://www.proteinatlas.org/>)检查LUAD组织中预后相关基因的蛋白质表达^[13]。

1.6 单细胞测序分析

通过肿瘤免疫单细胞中心(Tumor Immune Single-cell Hub, TISCH)(<http://tisch.comp-genomics.org/home/>)进行单细胞RNA-seq分析,UMAP分布图对不同细胞的mRNA表达进行可视化^[14]。

1.7 免疫微环境分析

使用“limma”和“estimate”R包基于ESTIMATE算法计算LUAD患者的基质评分、免疫评分和肿瘤纯度,绘制小提琴图比较高低风险组之间在基质评分、免疫评分和肿瘤纯度是否存在差异^[15]。免疫细胞浸润相关性分析和免疫检查点分析参考了研究团队之前的研究方法^[12]。

1.8 药物敏感性分析

通过“oncoPredict”R包获得LUAD患者常用化疗药物的半数抑制浓度(Half Maximal Inhibitory Concentration, IC₅₀)进行药物敏感性分析,评估高低风险组患者间对药物敏感性的不同反应效果^[16]。

1.9 统计学分析

通过perl5.30版本和R软件4.3.1版本进行统计学分析,P<0.05被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选LUAD中CMRGs

对TCGA和GTEx数据库中的肿瘤样本和正常样本进行差异分析,得到18914个差异表达基因,将上述差异表达基因与133个CMRGs取交集得到105个LUAD有关的CMRGs,结果以韦恩图和火山图的形式展示(图1)。

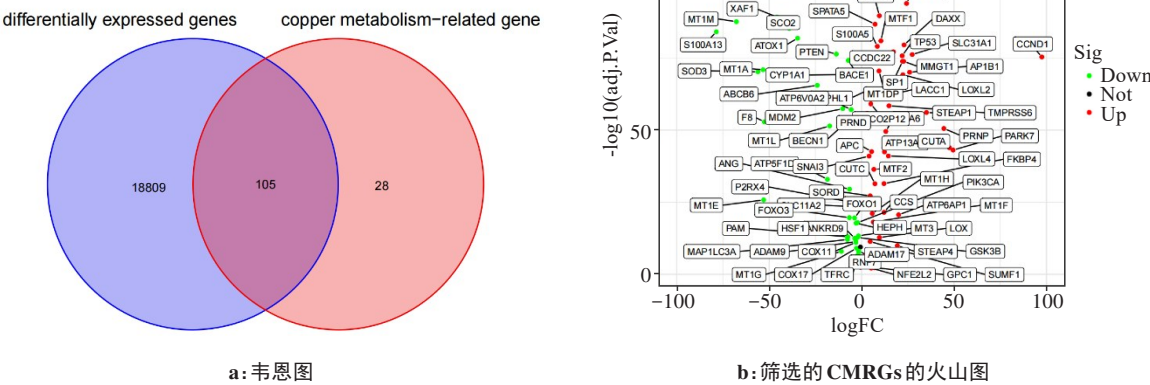


图 1 LUAD 的 CMRGs 的筛选
Figure 1 Screening of CMRGs for LUAD

2.2 LUAD 的 CMRGs 预后模型构建

将存活少于 30 d 和临床资料缺失的病例去除后，对剩下 472 名 LUAD 患者进行单因素 Cox 回归，筛选出 14 个 CMRGs，对其进行 Lasso 分析，获得 11 个 CMRGs（图 2），最后纳入多因素 Cox 回归，获得 6 个影响 LUAD 独立预后的 CMRGs 构建模型（表 1），其中，CYP1A1、

SNAI3 为保护因素，FKBP4、GPC1、MT2A、CDK1 为危险因素。根据这 6 个基因得到 LUAD 患者预后的风险评分 = $(0.443 \times \text{ExpFKBP4}) + (0.354 \times \text{ExpGPC1}) + (0.162 \times \text{ExpMT2A}) - (0.200 \times \text{ExpCYP1A1}) - (0.366 \times \text{ExpSNAI3}) + (0.253 \times \text{ExpCDK1})$ 。

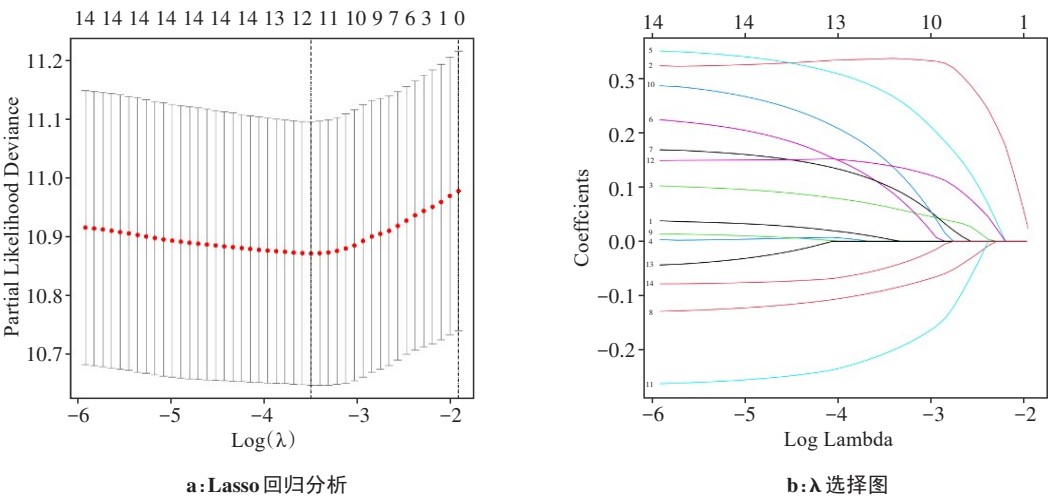


图 2 根据 6 个 CMRGs 构建 LUAD 预后模型
Figure 2 LUAD prognostic model constructed with 6 CMRGs

2.3 预后模型评估

根据模型中基因的表达量和回归系数来计算 LUAD 患者的风险评分，依据风险评分的中位数将患者分为高风险组和低风险组。图 3 展示了训练集和验证集高、低风险组在生存风险得分、生存时间和预后基因表达分布方面的差异。生存分析结果显示低

风险组的总体生存率高于高风险组（训练集 $P < 0.001$ ，验证集 $P = 0.009$ ）。对于训练集和验证集，分别绘制接受者操作特征（Receiver Operating Characteristic, ROC）曲线来预测患者 1、3、5 年生存率，训练集 1、3、5 年生存率的曲线下面积（AUC）分别为 0.729、0.749、0.707，验证集 1、3、5 年生存率的 AUC 分别为 0.626、

表1 多因素Cox回归分析影响LUAD预后的CMRGs
Table 1 Multivariate Cox regression analysis on CMRGs affecting LUAD prognosis

CMRGs	HR	95%CI	P值
FKBP4	1.390	1.060~1.830	0.019
GPC1	1.270	1.020~1.590	0.036
MT2A	1.160	1.010~1.330	0.039
CYP1A1	0.870	0.750~1.010	0.062
SNAI3	0.700	0.550~0.900	0.006
CDK1	1.240	0.980~1.560	0.076

HR为风险比(Hazard Ratio), HR>1基因为危险因素, HR<1基因为保护因素

0.674、0.625。进一步评估预后模型的预测能力,使用GEO数据库中的GSE31210和GSE30219进行外部验证;绘制ROC曲线,GSE31210数据集1、3、5年生存率的AUC分别为0.703、0.665、0.679,GSE30219数据集1、3、5年生存率的AUC分别为0.652、0.649、0.672。详见图4。

2.4 列线图构建

为进一步分析LUAD患者预后的独立危险因素,将可能的危险因素年龄、性别、是否吸烟等进行单因素Cox回归和多因素Cox回归分析,从结果中得知TNM分期中II期(HR=1.98, 95%CI: 1.35~2.90, P<0.001),III期(HR=2.74, 95%CI: 1.82~4.14, P<0.001),

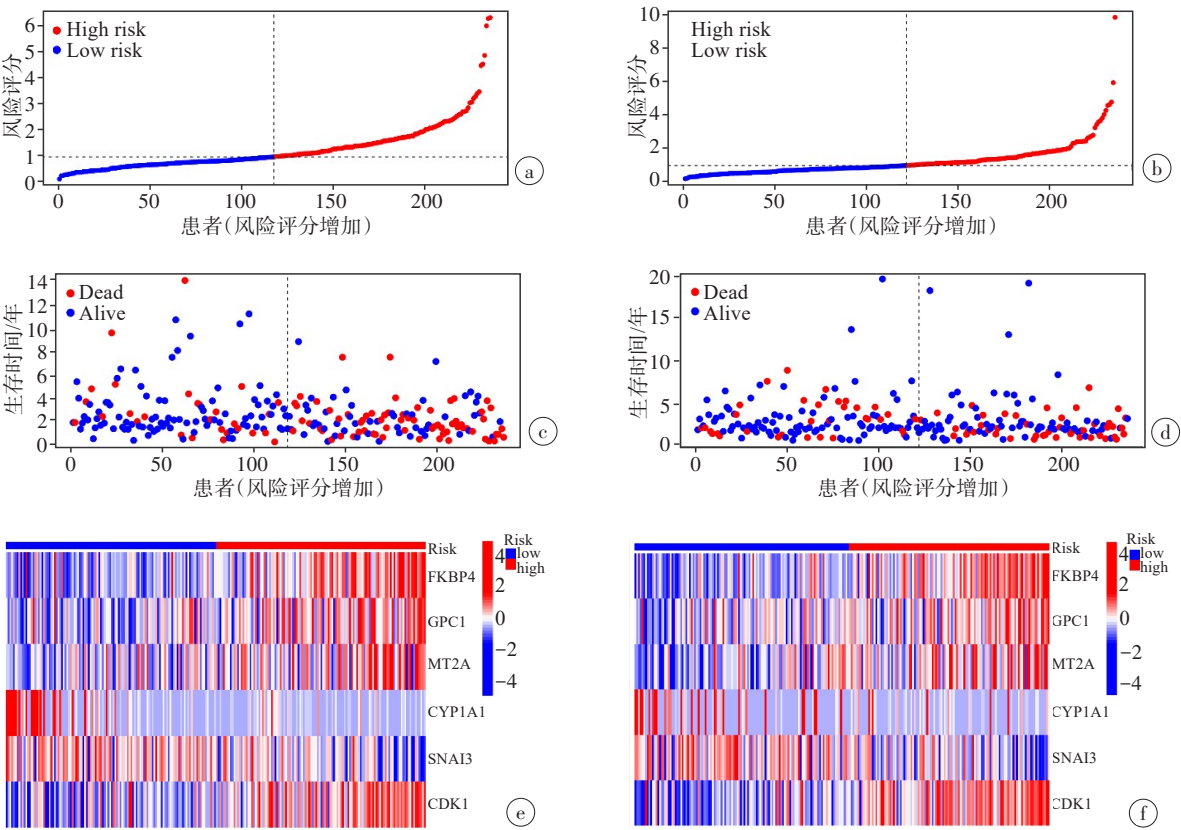


图3 生存风险得分、生存时间和预后基因表达分布

Figure 3 Survival risk scores, survival time, and prognostic gene expression distributions

a:训练集高、低风险组风险评分;b:验证集高、低风险组风险评分;c:训练集高、低风险组生存时间;d:验证集高、低风险组生存时间; e:训练集高、低风险组预后模型基因表达水平的 heatmap;f:验证集高、低风险组预后模型基因表达水平的 heatmap

IV期(HR=3.11, 95%CI: 1.72~5.63, P<0.001)被确定为预后的独立危险因素,之后将结合预后模型以及年龄、性别、风险评分、TNM分期构建列线图(图5a),绘制C-index曲线,C指数为0.721(95%CI: 0.678~0.764)(图5b),校准曲线显示,列线图能做出较为准确的预测。基于上述结果,列线图可为临床决策提供参考。

2.5 免疫组化分析

通过HPA(<https://www.proteinatlas.org>),将LUAD组织与正常肺组织进行比较,结果发现FKBP4、CYP1A1、GPC1、CDK1在LUAD组织中蛋白质表达水平较高(图6)。

2.6 预后模型中基因的单细胞测序分析

通过TISCH(tisch.comp-genomics.org)中的

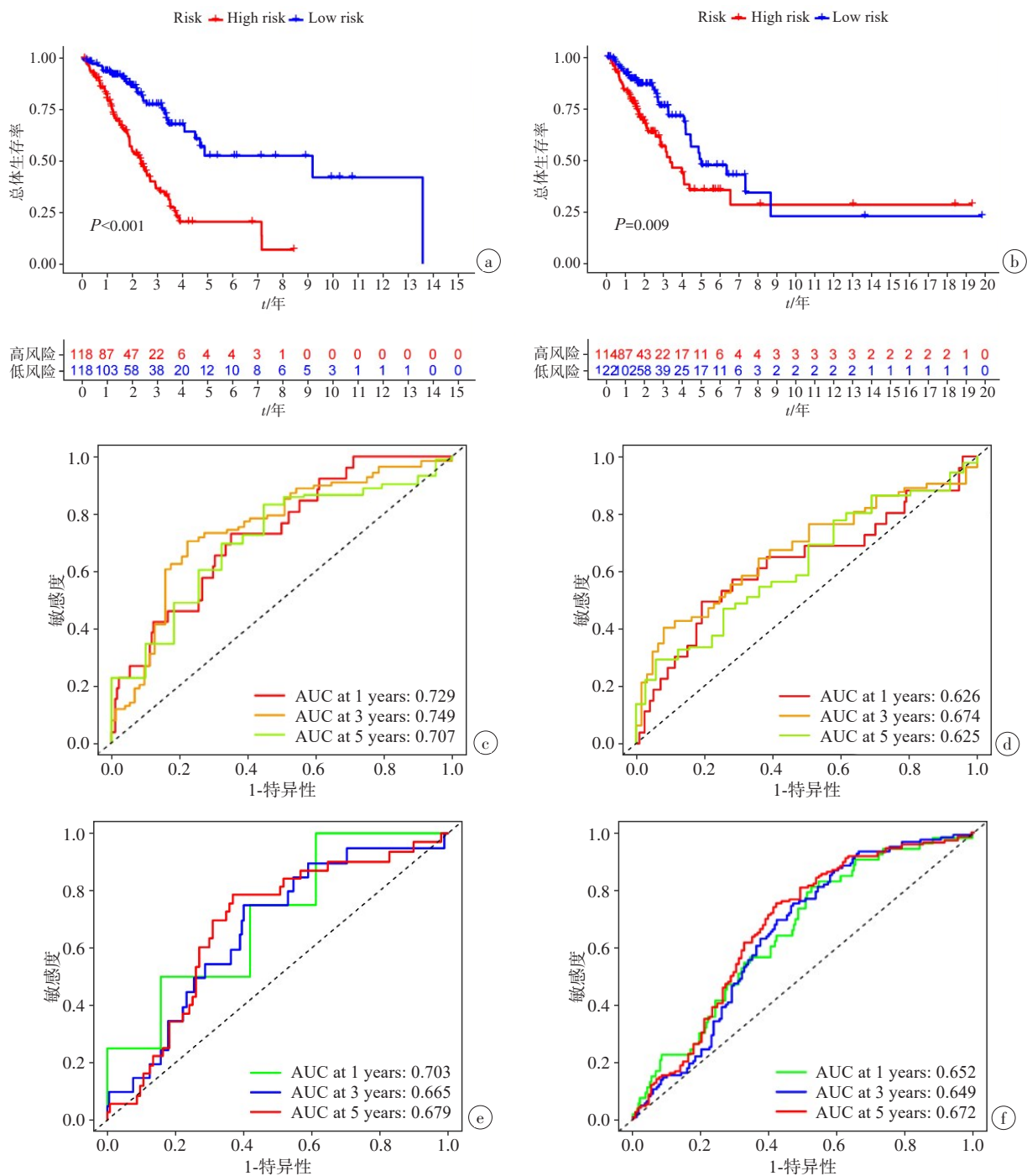


图4 LUAD预后模型的评估与验证

Figure 4 Evaluation and validation of LUAD prognostic model

a: 训练集总体生存率曲线;b: 验证集总体生存率曲线;c: 训练集预测患者1、3、5年生存率ROC曲线;d: 验证集预测患者1、3、5年生存率ROC曲线;
e: GSE31210数据集中ROC曲线;f: GSE30219数据集中ROC曲线

NSCLC_GSE131907数据集,分析LUAD的CMRGs预后模型中6个基因的表达。NSCLC_GSE131907数据集包含25个主要细胞群和12中主要细胞类型(图7a及b)。通过图7c~h可以观察到每个基因在各细胞群中的表达情况。MT2A主要在成纤维细胞和少突胶质细胞中表达,FKBP4主要在少突胶质细胞中表达,CDK1主要在浆细胞中表达(图7i)。

2.7 免疫微环境分析

肿瘤微环境(Tumor Micro-Environment, TME)会影响患者的临床结果及其对治疗的反应^[17]。计算LUAD患者的TME得分以及免疫微环境在高、低风险组之间的差异,结果显示免疫细胞得分($P<0.01$)和肿瘤纯度得分($P<0.05$)在高、低风险组之间均有意义(图8a),表明在TME中低风险组中的免疫细胞和肿

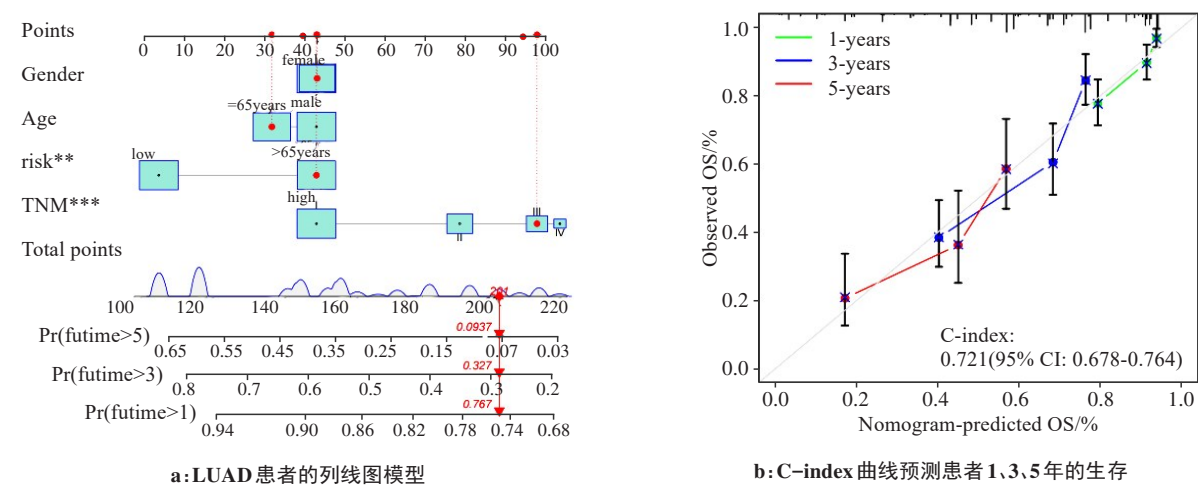


图5 列线图的构建
Figure 5 Nomogram construction

瘤纯度要高于高风险组。对高、低风险组间的免疫浸润水平进行比较,结果显示其在CD8⁺T细胞、CD4⁺记忆性静息T细胞、巨噬细胞、浆细胞、单核细胞等细胞中具有统计学意义(图8b)。比较49个免疫检查点基因(Immune Checkpoint Genes, ICGs)在高、低风险组之间的表达情况,结果显示有22个ICGs在高、低风险组之间存在差异,其中有15个ICGs在低风险组中高表达,7个ICGs在高风险组中高表达(图8c)。

2.8 药物敏感性分析

本研究对LUAD患者进行药物敏感性分析,计算198种抗肿瘤药物在高、低风险组之间的IC₅₀值,结果显示高风险组患者对吉西他滨、吉非替尼、克唑替尼、沃利替尼等药物更为敏感($P<0.001$)(图9)。

3 讨论

LUAD是肺癌中常见的亚型,近年来,随着肺癌普查及分子靶向治疗和免疫治疗领域的不断发展,LUAD患者的预后有所改善,但由于肺癌的异质性,只有小部分患者可以从中受益^[18]。有研究指出铜代谢紊乱会激活肿瘤增殖相关信号通路、导致肿瘤微血管和炎症微环境生成,从而促进肿瘤的发展。铜代谢相关蛋白缺乏会导致铜离子在肿瘤细胞中聚集,使肿瘤对放疗产生耐药性^[19]。因此,本研究分析了CMRGs在LUAD中的预后价值,以寻找潜在的治疗靶点,为LUAD患者的治疗提供参考。

本研究结合TCGA和GTEx数据库中基因表达和生存数据进行生物信息学分析,构建LUAD预后风险模型,预后模型由6个基因组成:FKBP4、GPC1、MT2A、CYP1A1、SNAI3、CDK1。研究发现FKBP4可能通过激活NSCLC中的Akt/mTOR信号通路来调节肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭^[20]。GPC1属

于GPC基因家族,与健康组织相比,GPC1在原发性实体瘤样本中的表达显着升高,抑制GPC1可以使ECM介导的许多复杂和多方面的有丝分裂因子(如TGFβ和MAPK)受到抑制,进而使恶性细胞的增殖、侵袭性信号传导激活减少^[21]。MT2A作为抗氧化剂,保护细胞免受羟基自由基的侵害,在细胞中金属的稳态控制中很重要,可以与HMBOX1相结合,调控锌离子浓度,抑制细胞凋亡^[22-23]。CYP1A1基因编码肺组织中存在的大量I期内质异生代谢酶,该酶催化活性亲电化合物的活化,促进DNA加合物的形成,从而产生遗传毒性作用,可能导致DNA损伤并导致肺癌^[24]。SNAI3是SNAI家族的成员,与正常组织相比,SNAI3表达在多种肿瘤中下调,且其在乳腺癌中的表达与良好预后相关,在肿瘤发生和进展中的潜在作用与SNAI1和SNAI2相反^[25]。CDK1作为CDK家族中的一员,CDK1主要驱动细胞周期从间期到有丝分裂的转变^[26],参与细胞分裂、DNA复制、能量代谢和自噬,CDK1表达与TME的关系复杂,CDK1重塑的TME是多种免疫相关分子相互作用的结果^[27]。

有研究表明TME是影响多种肿瘤表型的关键因素。TME中的免疫细胞浸润是其显著的免疫学特征,对于肿瘤细胞的免疫逃逸形成的发展至关重要^[28]。通过计算高、低风险组的TME得分发现,低风险组具有较高的微环境评分,包括免疫细胞得分和肿瘤纯度得分。免疫细胞浸润分析结果发现,在低风险组中CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺记忆性静息T细胞等在表达较高。免疫检查点分析发现,CD274、CD276、CD70、TNFSF9、TNFSF4、TNFRSF18、IDO1在高风险组中高表达,TNFSF9在LUAD组织中高表达,与M1巨噬细胞极化有关^[29]。TNFSF4是一种共刺激免疫检查点蛋白,已被证明可

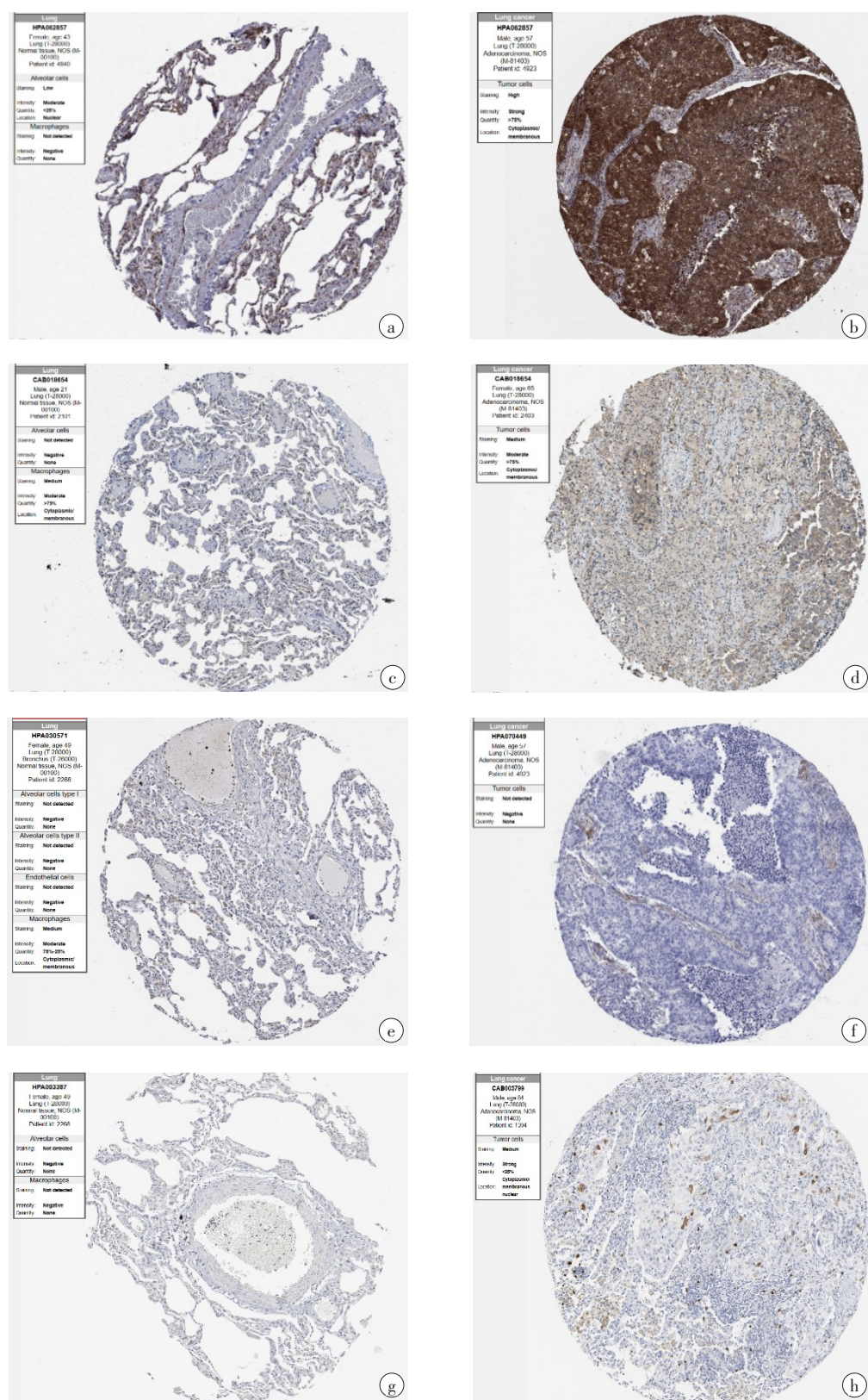


图 6 预后模型中基因的蛋白质表达

Figure 6 Protein expressions of genes in the prognostic model

a:FKBP4在正常肺组织中的蛋白质表达;b:FKBP4在LUAD组织中的蛋白质表达;c: CYP1A1在正常肺组织中的蛋白质表达;d: CYP1A1在LUAD组织中的蛋白质表达;e:GPC1在正常肺组织中的蛋白质表达;f:GPC1在LUAD组织中的蛋白质表达;g:CDK1在正常肺组织中的蛋白质表达;h:CDK1在LUAD组织中的蛋白质表达

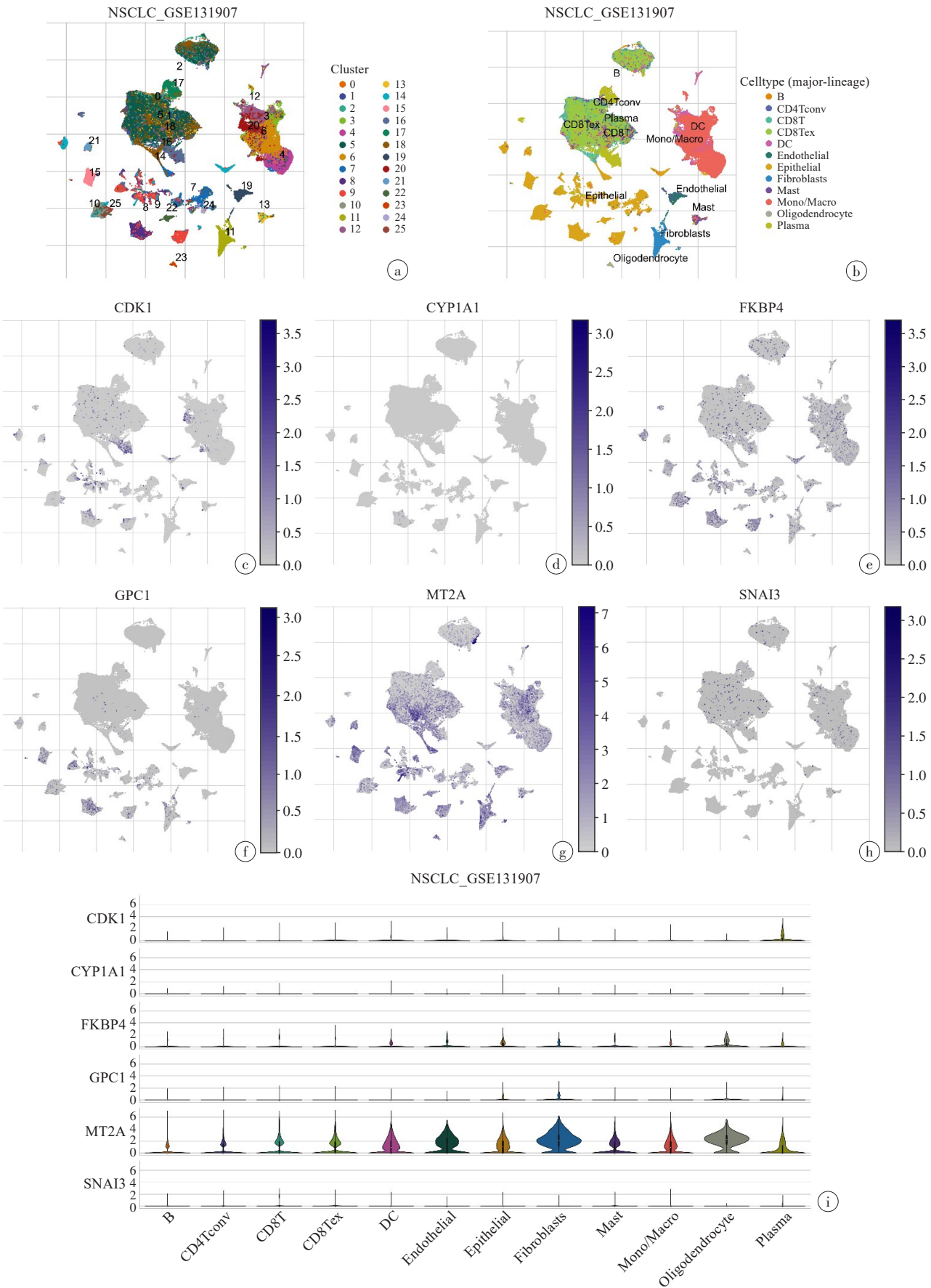


图7 单细胞测序分析

Figure 7 Single-cell sequencing analysis

a: NSCLC_GSE131907 数据集中的细胞群; b: NSCLC_GSE131907 数据集中的细胞类型; c: CDK1 在各细胞群中的表达情况; d: CYP1A1 在各细胞群中的表达情况; e: FKBP4 在各细胞群中的表达情况; f: GPC1 在各细胞群中的表达情况; g: MT2A 在各细胞群中的表达情况; h: SNAI3 在各细胞群中的表达情况; i: NSCLC_GSE131907 数据集中 CDK1、CYP1A1、FKBP4、GPC1、MT2A、SNAI3 在每种细胞中的表达

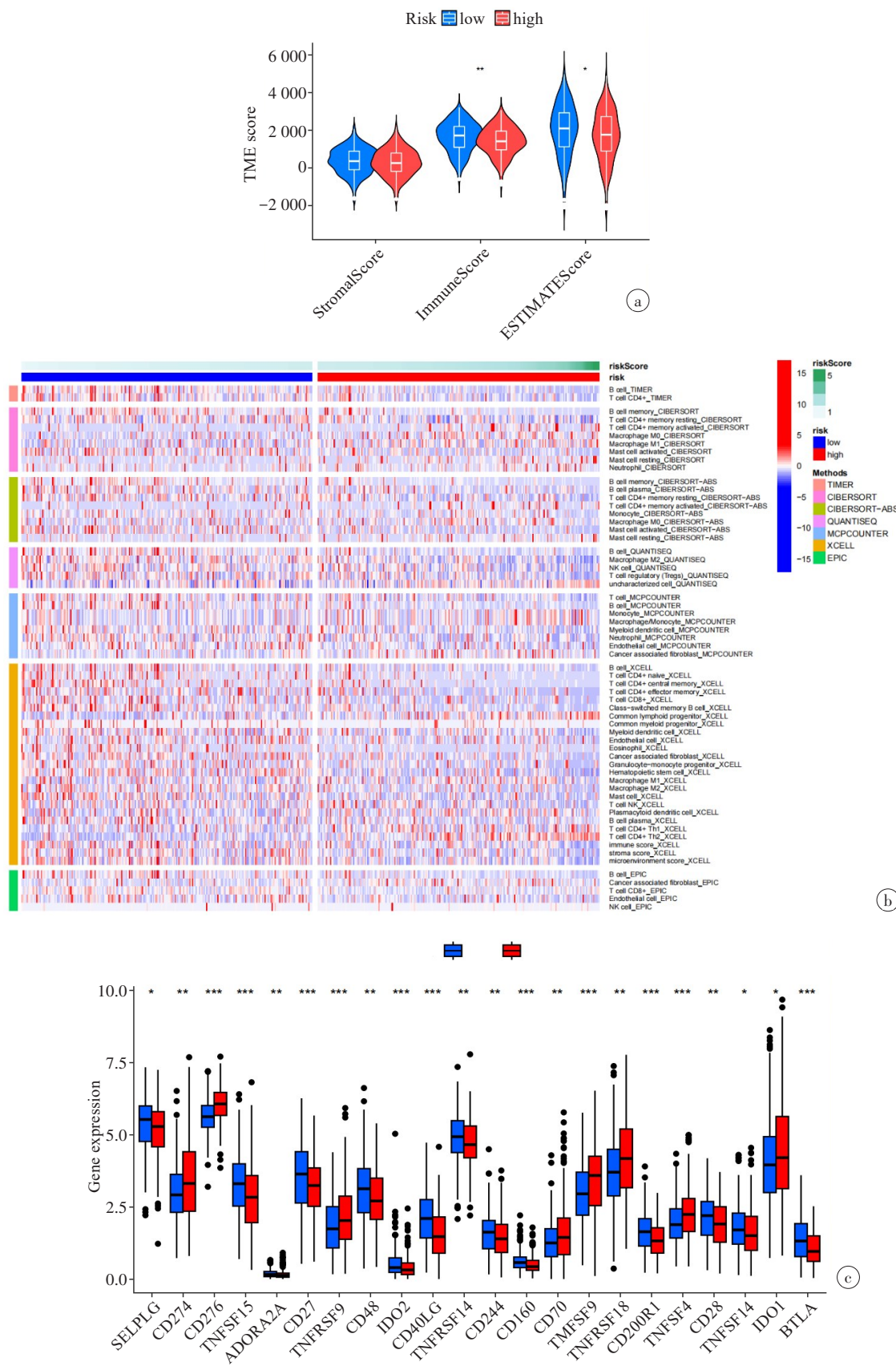


图 8 免疫微环境分析

Figure 8 Immune microenvironment analysis

a: 高、低风险组之间 TME 评分; b: 高、低风险组免疫细胞浸润分析; c: 高、低风险组间免疫检查点差异分析

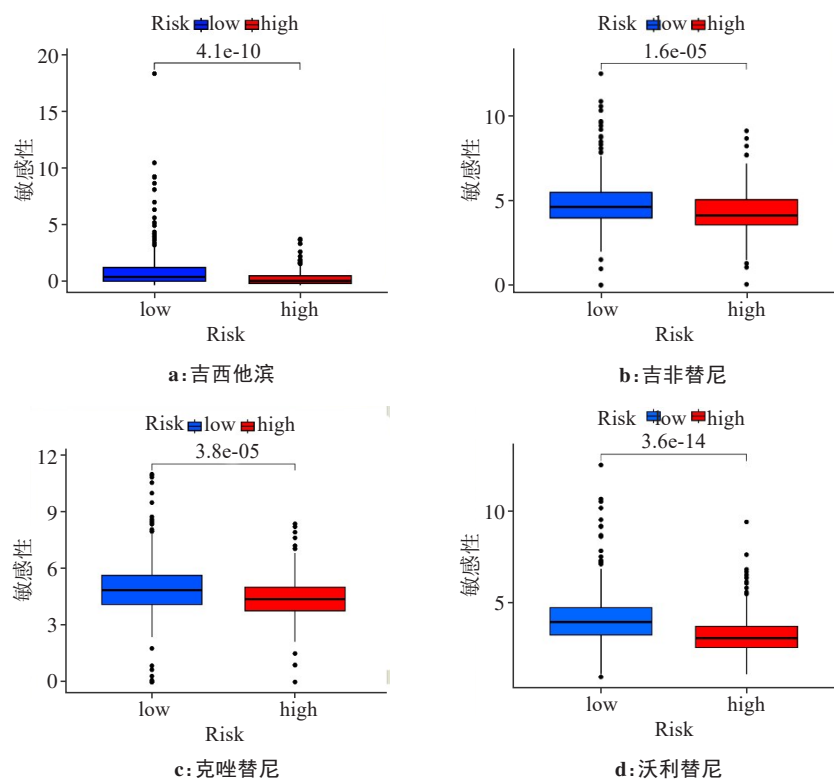


图9 药物敏感性分析
Figure 9 Drug sensitivity analysis

以增强T细胞的抗肿瘤活性^[30]。通过肿瘤免疫功能障碍和排除打分(Tumor Immune Dysfunction and Exclusion, TIDE)分析发现,低风险组患者更适合免疫治疗。这些发现表明靶向免疫抑制微环境可能会增强LUAD的免疫治疗反应,特别是在免疫检查点抑制剂的背景下,这在促进抗LUAD免疫反应方面有了更大的希望。本研究还评估了临床常用药物与风险评分之间的相关性,发现高风险组患者对吉西他滨、吉非替尼、克唑替尼、沃利替尼药物更敏感,为临床抗肿瘤药物的选择提供理论依据。

本研究构建了LUAD的CMRGs预后模型,在预测LUAD患者预后方面较为准确,但仍存在一些局限性。首先,本研究的数据来自于公共数据库,未收集临床标本进行实验验证,后续将进一步通过体内和体外实验来验证模型中的基因在LUAD中的作用机制。其次,所用的机器学习算法较少,之后可以通过更多的机器学习算法来提高生物标志物的可靠性,进而推进LUAD的研究。

【参考文献】

[1] Chen PY, Quan Z, Song XY, et al. MDFI is a novel biomarker for poor prognosis in LUAD[J]. Front Oncol, 2022, 12: 1005962.
[2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
[3] Li YX, Yang Y, Ma Q, et al. HNRNPK/CLCN3 axis facilitates the

progression of LUAD through CAF-tumor interaction[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(16): 6084-6101.
[4] Ge EJ, Bush AI, Casini A, et al. Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia[J]. Nat Rev Cancer, 2022, 22(2): 102-113.
[5] Chen J, Jiang YH, Shi H, et al. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases[J]. Pflugers Arch, 2020, 472(10): 1415-1429.
[6] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. Science, 2022, 375(6586): 1254-1261.
[7] Li L, Leng WY, Chen JY, et al. Identification of a copper metabolism-related gene signature for predicting prognosis and immune response in glioma[J]. Cancer Med, 2023, 12(8): 10123-10137.
[8] Zablocka-Słowińska K, Prescha A, Płaczowska S, et al. Serum and whole blood Cu and Zn status in predicting mortality in lung cancer patients[J]. Nutrients, 2020, 13(1): 60.
[9] Jouybari L, Kiani F, Islami F, et al. Copper concentrations in breast cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Curr Med Chem, 2020, 27(37): 6373-6383.
[10] Shanbhag VC, Gudekar N, Jasmer K, et al. Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2021, 1868(2): 118893.
[11] Zhao SY, Zhang X, Gao F, et al. Identification of copper metabolism-related subtypes and establishment of the prognostic model in ovarian cancer[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1145797.
[12] 孙继宏, 张瀚文, 刘浩然, 等. 基于铜死亡相关基因构建肺腺癌预后模型和药物敏感性分析[J]. 中国肺癌杂志, 2023, 26(8): 591-604.
Sun JH, Zhang HW, Liu HR, et al. Construction of lung adenocarcinoma prognosis model and drug sensitivity analysis based on cuproptosis related genes[J]. Chinese Journal of Lung Cancer, 2023, 26(8): 591-604.
[13] Asplund A, Edqvist PH, Schwenk JM, et al. Antibodies for profiling the human proteome-the human protein atlas as a resource for cancer research[J]. Proteomics, 2012, 12(13): 2067-2077.
[14] Liu ZQ, Xu H, Weng SY, et al. Stemness refines the classification of colorectal cancer with stratified prognosis, multi-omics landscape,

- potential mechanisms, and treatment options[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828330.
- [15] Yu ZL, Zhu ZM. N6-methyladenosine related long non-coding RNAs and immune cell infiltration in the tumor microenvironment of gastric cancer[J]. *Biol Proced Online*, 2021, 23(1): 15.
- [16] Chen M, Nie ZY, Li Y, et al. A new ferroptosis-related lncRNA signature predicts the prognosis of bladder cancer patients[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 699804.
- [17] Low V, Li ZC, Blenis J. Metabolite activation of tumorigenic signaling pathways in the tumor microenvironment[J]. *Sci Signal*, 2022, 15(759): eabj4220.
- [18] Miller M, Hanna N. Advances in systemic therapy for non-small cell lung cancer[J]. *BMJ*, 2021, 375: n2363.
- [19] Yang M, Wu XX, Hu JL, et al. COMMD10 inhibits HIF1 α /CP loop to enhance ferroptosis and radiosensitivity by disrupting Cu-Fe balance in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2022, 76(5): 1138-1150.
- [20] Zong S, Jiao YL, Liu X, et al. FKBP4 integrates FKBP4/Hsp90/IKK with FKBP4/Hsp70/RelA complex to promote lung adenocarcinoma progression *via* IKK/NF- κ B signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(6): 602.
- [21] Cheng F, Hansson VC, Georgolopoulos G, et al. Attenuation of cancer proliferation by suppression of glypican-1 and its pleiotropic effects in neoplastic behavior[J]. *Oncotarget*, 2023, 14: 219-235.
- [22] Yao BY, Wang LX, Wang HY, et al. Seven interferon gamma response genes serve as a prognostic risk signature that correlates with immune infiltration in lung adenocarcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(8): 11381-11410.
- [23] Ma HL, Su L, Yue HW, et al. HMBOX1 interacts with MT2A to regulate autophagy and apoptosis in vascular endothelial cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15121.
- [24] Sengupta D, Banerjee S, Mukhopadhyay P, et al. A comprehensive meta-analysis and a case-control study give insights into genetic susceptibility of lung cancer and subgroups[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 14572.
- [25] Tu YF, Fang PF, Zhang L, et al. Analysis of the effect of SNAI family in breast cancer and immune cell[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 906885.
- [26] Galarreta A, Valledor P, Ubieto-Capella P, et al. USP7 limits CDK1 activity throughout the cell cycle[J]. *EMBO J*, 2021, 40(11): e99692.
- [27] Du QW, Liu WT, Mei T, et al. Prognostic and immunological characteristics of CDK1 in lung adenocarcinoma: a systematic analysis[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1128443.
- [28] Chi H, Jiang PY, Xu K, et al. A novel anoikis-related gene signature predicts prognosis in patients with head and neck squamous cell carcinoma and reveals immune infiltration[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 984273.
- [29] Wu J, Wang YP, Jiang Z. Immune induction identified by TMT proteomics analysis in *Fusobacterium nucleatum* autoinducer-2 treated macrophages[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2020, 17(2): 175-185.
- [30] Yin P, Gui LM, Wang CH, et al. Targeted delivery of CXCL9 and OX40L by mesenchymal stem cells elicits potent antitumor immunity[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(12): 2553-2563.

(编辑:谭斯允)