

铜死亡相关lncRNA 预测骨肉瘤患者预后及免疫途径

廖 军,冯彦斌,席德双,宗少晖

(广西医科大学第一附属医院脊柱骨病外科,南宁 530021)

摘要 目的: 鉴定铜死亡相关的lncRNAs,并利用其构建模型预测骨肉瘤(OS)患者的生存状况。方法: 从TARGET数据库下载OS患者的RNA-seq数据以及相关临床资料。从相关研究报告中获取铜死亡相关基因集。使用共表达分析以及单因素Cox回归,筛选出OS生存相关的铜死亡相关lncRNA。在LASSO-Cox回归构建OS预后模型,并通过受试者工作特征曲线(ROC)和Kaplan-Meier(K-M)生存分析评估模型效能。利用单样本基因集富集分析(ssGSEA),探讨铜死亡相关的lncRNAs模型评分与OS中信号通路的关系。通过基因本体(GO)和京都基因组百科全书(KEGG)进行不同风险组OS患者的功能与通路富集分析。通过ESTIMATE算法,推测OS患者肿瘤样本中免疫细胞浸润水平。利用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)实验验证4个铜死亡相关的lncRNAs在不同细胞系中的表达情况。结果: 在85例OS患者中,与10个铜死亡相关RNA共表达的lncRNA共有374个。根据Cox回归分析结果,鉴定出62个与OS患者预后相关的铜死亡相关的lncRNAs。共识聚类分析发现OS患者具有2种铜死亡相关的lncRNAs表达模式,并且2种铜死亡相关的lncRNAs表达模式的患者预后有显著差异。采用LASSO-Cox回归分析构建铜死亡相关的lncRNAs预后模型。t-ROC曲线评估模型效能,结果显示,1年、3年和5年的AUC值分别为0.78、0.83和0.85,并且高、低风险组间的K-M生存分析结果具有显著差异($P<0.05$)。GSEA功能富集分析显示,抗原受体介导的信号传导途径、B淋巴细胞活化以及阳性T淋巴细胞选择在高风险组中富集。GO与KEGG富集分析发现,不同风险组中肿瘤相关通路在呈现差异。在3种铜死亡相关的lncRNAs细胞系中验证了预后模型中的铜死亡相关的lncRNAs表达水平。结论: 铜死亡相关lncRNA与OS患者预后密切相关;基于铜死亡相关的lncRNAs构建的预后模型能够准确预测OS患者的预后,进一步深入研究铜死亡相关的lncRNAs在OS中的作用可能有助于开发更可靠的个性化治疗方案。

关键词 骨肉瘤;lncRNA;铜死亡;预后模型

中图分类号:R738.1 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2024)08-1141-10

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.08.006

Cuproptosis-related lncRNA predicts prognosis and immune pathways in osteosarcoma patients

LIAO Jun, FENG Yanbin, XI Deshuang, ZONG Shaohui. (Department of Spine and Orthopedic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To identify cuproptosis-related lncRNAs (CRLs) and use them to construct models to predict survival in osteosarcoma (OS) patients. Methods: RNA-seq data of OS patients were downloaded from the TARGET database along with relevant clinical information. Cuproptosis-related gene sets were obtained from related studies. (CRLs) associated with OS survival were screened using co-expression analysis as well as univariate Cox regression. The OS prognostic models were constructed using LASSO-Cox regression, and the model efficacy was assessed by receiver operating characteristic curve (ROC) and Kaplan-Meier (KM) survival analysis. Single-sample gene set enrichment analysis (ssGSEA) was utilized to explore the relationship between CRLs model scores and signaling pathways in OS. Functional and pathway enrichment analyses were performed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genomes (KEGG) in OS patients of different risk groups. The level of immune cell infiltration in tumor samples from OS patients was inferred by the ESTIMATE algorithm. Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to verify the expression of the four CRLs in different cell lines. Results: A total of 374 lncRNAs co-expressed with 10 cuproptosis-related

[通信作者] 宗少晖, E-mail:xiaohui3008@126.com

[收稿日期] 2024-07-11

RNAs were identified in 85 OS patients. Based on the results of Cox regression analysis, 62 CRLs associated with the prognosis of OS patients were identified. Consensus clustering analysis revealed that OS patients had two CRLs expression patterns, and there was a significant difference in the prognosis of patients with 2 CRLs expression patterns. LASSO-Cox regression analysis was used to construct a prognostic model for CRLs. The t-ROC curves were used to assess the model's efficacy, and the results showed AUC values of 0.78, 0.83, and 0.85 for years 1, 3, and 5, respectively, and the results of the KM survival analyses differed significantly between the high- and low-risk groups ($P < 0.05$). GSEA functional enrichment analysis found antigen receptor-mediated signaling pathway, B lymphocyte activation, and positive T lymphocytes were enriched in the high-risk group. GO and KEGG enrichment analyses revealed that the tumor-related pathways were presenting differences in different risk groups. The expression levels of CRLs in prognostic models were verified in three OS cell lines. **Conclusion:** CRLs are closely associated with the prognosis of OS patients. A prognostic model constructed based on CRLs accurately predicts the prognosis of OS patients, and further in-depth study of the role of CRLs in OS may contribute to the development of more reliable and personalized therapeutic regimens.

Keywords osteosarcoma; lncRNA; cuproptosis; prognostic model

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是最常见的恶性骨肿瘤,发病率为0.000 4%,主要好发于儿童与青少年^[1-2]。虽然目前通过放化疗与手术等综合治疗后,OS患者的5年生存率可达60%^[3-4],但是在肿瘤远处转移或者产生化疗药物耐药时,患者5年生存率仅有20%^[5]。针对OS患者,早期的诊断与进行风险分层可有效提高患者预后与生活质量。因此,目前迫切需要开发出高效的OS诊断与预后的生物标志物。铜诱导细胞死亡是近期发现的一种全新的细胞死亡方式,其与细胞凋亡或是自噬存在明显差异^[6]。铜死亡涉及铜离子与脂肪酰化物质的反应并导致其持续积聚在细胞内。该过程会引发蛋白质毒性应激,进而诱导细胞发生程序性死亡。此前的研究发现,铁毒素1、酰化蛋白以及其他与铜离子载体诱导的细胞死亡相关的基因与多种肿瘤病理过程密切相关。在具有铜死亡代谢特征的恶性肿瘤中,以铜离子载体为靶点可开发出具有重要应用前景的治疗方案。

长链非编码RNA(lncRNA)是一类长度超过200 nt,并且本身不编码蛋白质的RNA分子^[7]。它们在多种生物学功能中扮演着重要角色,特别是在调节恶性肿瘤发生发展过程中的基因表达方面^[8-9]。最新的研究发现,与铁代谢紧密相关的长链非编码RNA具有作为预后标志物的潜力,并且有望成为转移性黑色素瘤的治疗靶点^[10]。由此,推测铜死亡相关的lncRNA可能在OS中扮演着至关重要的角色,但目前尚未有研究探讨铜死亡相关的lncRNAs在OS中的预测价值。本研究通过分析OS患者中与铜死亡相关基因共表达的铜死亡相关的

lncRNAs,并探索铜死亡相关的lncRNAs在OS患者中的异质性。利用核心铜死亡相关的lncRNAs构建OS患者的预后模型,并对不同风险患者进行免疫浸润以及通路富集等分析,以探讨不同风险组患者预后差异的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 数据收集与处理

85份OS样本的RNA-seq数据和临床数据来自TARGET数据库(<https://ocg.cancer.gov/programs/target/data-matrix>)。患者的临床信息包括性别、年龄、肿瘤发生位置、是否转移和生存状况等(表1)。从Tsvetkov先前发表的研究中获取了与铜死亡相关的10个基因,包括*FDX1*、*LIAS*、*LIPT1*、*DLD*、*DLAT*、*PDHA1*、*PDHB*、*MTF1*、*GLS*、*CDKN2A*。

表1 85例OS患者的临床特征

临床特征	n(%)	
性别	男	48(56.5)
	女	37(43.5)
年龄/岁	≥18	19(22.4)
	<18	66(77.6)
是否转移	转移	21(24.7)
	未转移	64(75.3)
肿瘤发生位置	上肢/手	6(7.1)
	下肢/足	77(90.6)
	骨盆	2(2.3)
生存状况	存活	56(65.9)
	死亡	29(34.1)

1.2 OS患者预后相关的铜死亡相关的lncRNAs鉴定与筛选

通过SangerBox在线工具提取了85例OS患者的表达矩阵。本研究将与铜死亡相关的上述10个基因的表达值有显著相关性的lncRNA定义为铜死亡相关的lncRNAs(相关系数 >0.04 且 $P<0.05$)。采用R软件中的limma软件包进行相关性分析。通过单因素Cox回归分析鉴定与OS患者预后相关的lncRNA($P<0.05$)。两个基因组的交叉基因被保留为与OS患者预后相关的铜死亡相关的lncRNAs。

1.3 共识聚类分析

为了描述85例OS患者中与预后相关的铜死亡相关的lncRNAs的表达差异,我们根据这些铜死亡相关的lncRNAs与OS患者预后相关的表达矩阵选取K=2将患者分为C1和C2两组。利用主成分分析(PCA)研究不同样本的聚类分布情况,以观察OS患者转录组水平的异质性。采用R软件中的pheatmap软件包可视化所有与预后相关的铜死亡相关的lncRNAs的表达水平。

1.4 构建基于铜死亡相关的lncRNAs的预后模型

采用R软件的glmnet包进行模型构建。应用LASSO-Cox回归模型筛选出与患者预后显著相关的铜死亡相关的lncRNAs。基于构建的预后模型,为每位患者计算了风险评分。通过将患者的风险评分与总体中位数进行比较,并根据风险评分的中位数将患者分为高风险组和低风险组。

1.5 生存分析

使用R软件survival包中的survfit函数对OS患者的低风险组和高风险组进行了生存率分析,并通过log-rank检验评估了两组之间预后差异性。为验证预后模型的准确性,首先应用了PCA,然后通过计算基因表达谱的Z分数,进行降维分析,以揭示不同风险人群的分布模式。根据两个预后风险组的随访数据,绘制OS患者确诊后1年、3年和5年3个时间点的时间依赖受试者工作特征曲线(tROC),并通过曲线下面积(AUC)及其置信区间(CI)来评估模型的预测性能。通过决策曲线分析(DCA)评估模型的临床应用潜力。利用桑基图描绘了铜死亡相关的lncRNAs与铜死亡相关基因之间的关联,以及这些基因对OS患者总生存期的影响。

1.6 OS样本中的免疫浸润分析

采用ESTIMATE算法对OS患者的不同风险分

组样本进行基质评分、免疫评分以及ESTIMATE评分的评估,以量化肿瘤微环境中的基质和免疫细胞成分。利用R软件中的GSVA包对不同风险组样本的免疫功能进行了分析。

1.7 列线图绘制与预后模型评估

采用Cox方法绘制列线图。绘制的列线图用于预测OS患者1年、3年和5年的总生存率。通过3年和5年的校准曲线来检验柱状线图的准确性。采用桑基图绘制铜死亡相关的lncRNAs、铜死亡相关基因及OS患者预后之间的关系。

1.8 基因集富集分析(GSEA)

通过下载的GSEA软件(3.0版)完成。利用从分子特征数据库中下载的2个基因集进行富集分析,根据表达矩阵计算评估两个风险组之间不同的分子功能和生物通路分布($P<0.05$ 和 $FDR<0.25$)。利用R软件中的limma软件包($|\log_2(\text{fold-change})|>1.5$ 和 $FDR<0.05$)确定两个风险组中的差异表达基因(差异基因)。根据基因本体(GO)和京都基因组百科全书(KEGG)分析,使用R软件中的clusterProfiler软件包对这些差异基因的生物功能和通路进行了富集注释。

1.9 细胞系和细胞培养

人成骨细胞系(hFOB1.19)和人OS细胞系(HOS、MG-63、SJS-1)购自中国上海国家认证细胞培养物保藏中心。OS细胞系在含10%FBS(澳大利亚VWR公司)、100 U/mL青霉素和100 pg/mL链霉素(Gibco公司)的DMEM培养基(Gibco公司,美国)中培养,培养环境设定为温度37 °C、湿度95%、二氧化碳浓度5%。成骨细胞系则在成骨细胞诱导培养基和成骨细胞培养基(MUBMX-90021,CyagenBiosciences,美国)中培养。培养条件与OS细胞相同。

1.10 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)

用RNAisoPlus试剂(TAKARA,日本)提取成骨细胞和OS细胞的总RNA,用紫外光谱仪(Nano-Drop2000; ThermoFisherScience)分析提取RNA的纯度和浓度。RT-qPCR在美国ThermoFisherScientific公司的StepOnePlusReal-TimePCRSSystem上进行。PCR实验的循环条件设置:95 °C初始饱和5 min,然后在95 °C重复循环40次,每次10 s,60 °C 30 s,95 °C 15 s,最后在60 °C延长1 min。RT-qPCR引物序列,见表2。

表2 RT-qPCR 引物序列

基因名称	(5'~3')正向	(5'~3')反向
AC083900.1	AACCAGGCAGATTCATGGG	GGGCATGTCTACGTGAACAA
AL512330.1	TGTGGTGTCTCATGGACTCT	ACAGACGTCCTGGGTCTTA
AC114803.1	CCTCTGGGGACTTGGACTGAT	TGCTCTGGTGTCCCTCTCTGTA
LINC01060	ACATCTGGGCAAGTCAACAG	GTGGGGTAGGCAATTCCCTTC
GAPDH	AGGTGGTGTGAACGGATTG	GGGGTCGTTGATGGCAACA

1.11 统计学方法

采用 R 软件(版本 4.0.2)和各种 R 包对数据进行统计分析和可视化处理,相关性分析采用单因素 Cox 回归分析,计量资料比较采用 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 识别与 OS 患者预后相关的铜死亡相关 lncRNA

相关性检验分析结果表明,374 个 lncRNA 的表达水平与铜死亡相关基因的表达水平存在显著的相关性(*P*<0.05)。这 374 个 lncRNA 被筛选为铜死亡相关 lncRNA(*r*>0.4, *P*<0.001)。单因素 Cox 回归分析结果显示,有 1 957 个 lncRNA 的表达水平与 OS 患者的总体生存率之间显著相关(*P*<0.05)。对两者取交集鉴定出 62 个与 OS 患者预后显著相关的铜死亡相关 lncRNA,见图 1。

2.2 基于 62 个铜死亡相关 lncRNA 的分子亚型聚类

选择了两个聚类单元进行一致性聚类分析(图 2A~图 2C)。聚类 1 包含 45 例患者,而聚类 2 包含 40 例患者。如热图所示,62 个铜死亡相关 lncRNA 在两个聚类间存在明显的表达差异(图 2D)。除 *MSC-AS1*、*NKILA* 和 *AC087392.5* 外,62 个铜死亡相关 lncRNA 中的大多数在群组 2 中都有较高的表达。PCA 结果显示,两个群组的分布模式明显不同(图 2E)。此外,K-M 生存分析表明,第 2 群 OS 患者的总生存概率明显低于第 1 群患者(图 2F)。这些结果表明,OS 患者可分为两个分子亚型,且不同铜死亡相关 lncRNA 表达亚型患者的总生存率存在显著差异。

2.3 基于 62 个铜死亡相关 lncRNA 建立预后模型

通过 LASSO-Cox 回归分析,共筛选出 10 个铜死亡相关 lncRNA 作为构建预后模型的候选铜死亡相关 lncRNA(图 3A、图 3B)。在这 10 个铜死亡相关

lncRNAs 中, *LINC01143*、*AC114803.1*、*AL512330.1*、*DST-AS1*、*AC083900.1*、*RPII-69E11.4*、*LINC00837* 和 *LINC01060* 的系数为正, *AL391069.2* 和 *CARD8-AS1* 的系数为负。基于预后模型的风险评分,85 个 OS 样本被分为高风险组(43 个样本)和低风险组(42 个样本)。PCA 结果表明,两组样本的分布模式存在显著差异(图 3C)。此外,图 3D 展示了两组风险组中 10 个铜死亡相关 lncRNA 的生存时间和表达谱的差异,进一步揭示了上述基因在不同风险组中的生物学意义。

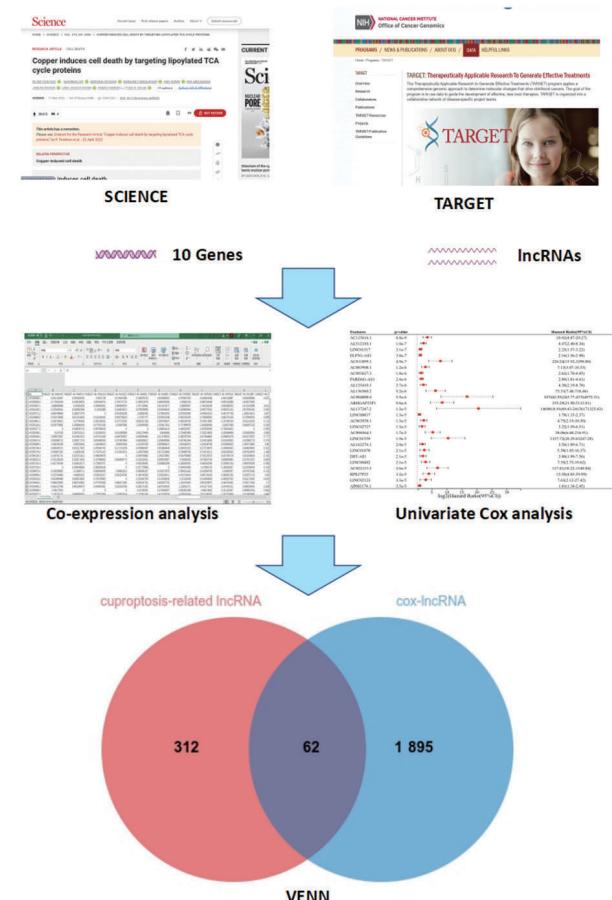
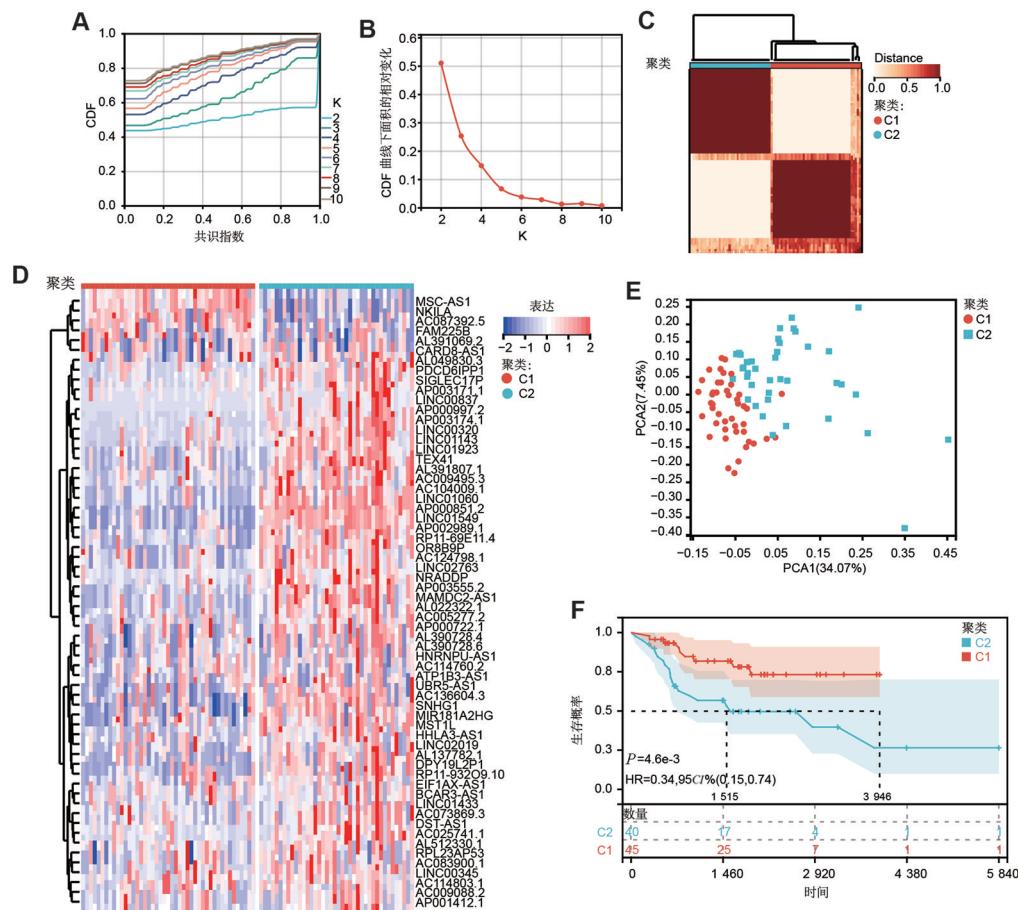
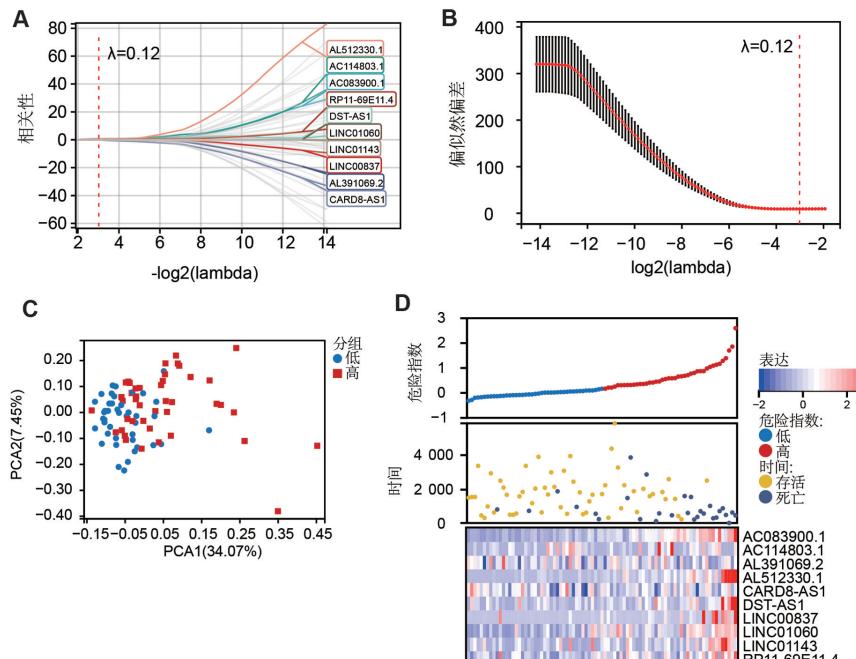


图 1 识别与 OS 患者预后相关的铜死亡相关 lncRNA 的流程图



A~C:当K值设置为2时,一致聚类分析所得到的聚类结果;D:描绘了不同聚类中lncRNAs的表达差异,以热图形式呈现;E:PCA;F:K-M曲线。

图2 OS患者一致聚类分析



A、B: LASSO-Cox回归分析筛选相关lncRNAs;C:PCA;D:所有患者生存状况的散点图及相关lncRNAs的表达差异。

图3 鉴定OS中具有预后价值的铜死亡相关的lncRNA

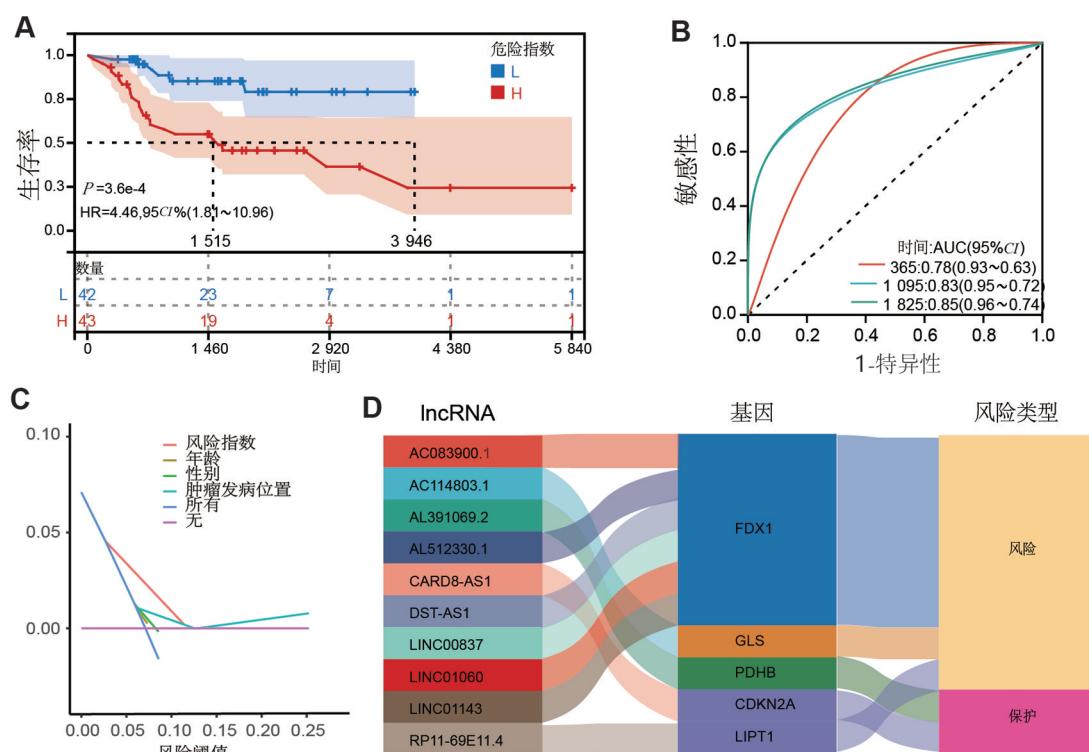
2.4 铜死亡相关lncRNA预后模型的诊断能力

相关的预后生存分析结果显示,拥有较低风险的患者的总生存率更高($P<0.05$)(图4A)。此外,1年、3年和5年的t-ROC的AUC值分别为0.78、0.83和0.85(图4B),表明基于铜死亡相关lncRNA构建的预后模型能够准确预测OS患者的预后。DCA进一步证实了该风险模型在不同阈值下对OS患者具有最大的净获益(图4C)。桑基图显示了10个铜死亡相关lncRNA与5个铜死亡相关基因之间的复

杂相互作用,其中 GLS 、 $PDHB$ 、 $CDKN2A$ 和 $LIPT1$ 4个基因被认为是OS患者的预后保护因素(图4D)。

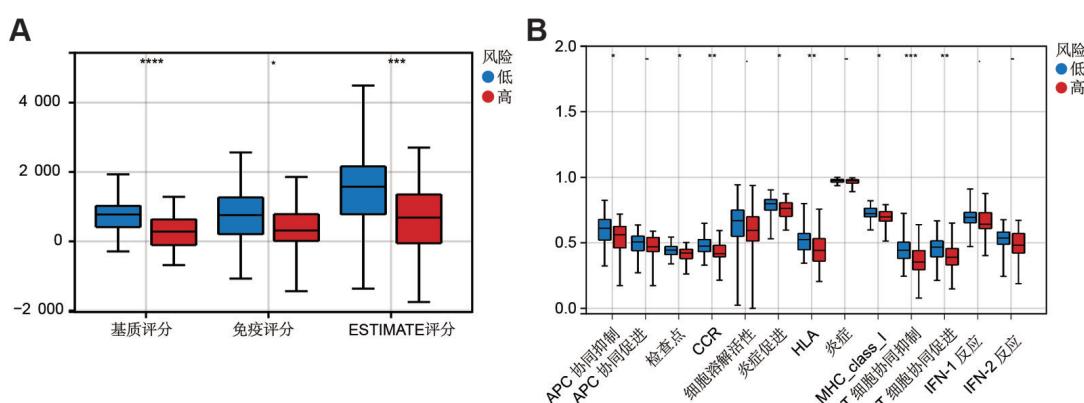
2.5 不同风险组患者的免疫状态

如图5A所示,ESTIMATE评分分析免疫评估结果表明,高风险组的ESTIMATE评分、免疫评分和基质评分显著低于对照组($P<0.05$)。免疫功能分析发现高风险组中的APC协同抑制、APC协同激活、CCR、检查点、T细胞协同抑制、T细胞协同激活等免疫功能显著上调($P<0.05$)(图5B)。



A:K-M曲线;B:ROC曲线;C:DCA;D:相关基因和lncRNA的桑基图展示。

图4 OS患者铜死亡相关lncRNA的预后相关分析



A:不同风险组的ESTIMATE评分结果;B:免疫途径的相关分析;组间比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,**** $P<0.0001$ 。

图5 免疫学差异的相关分析

2.6 不同风险组的GSEA富集分析

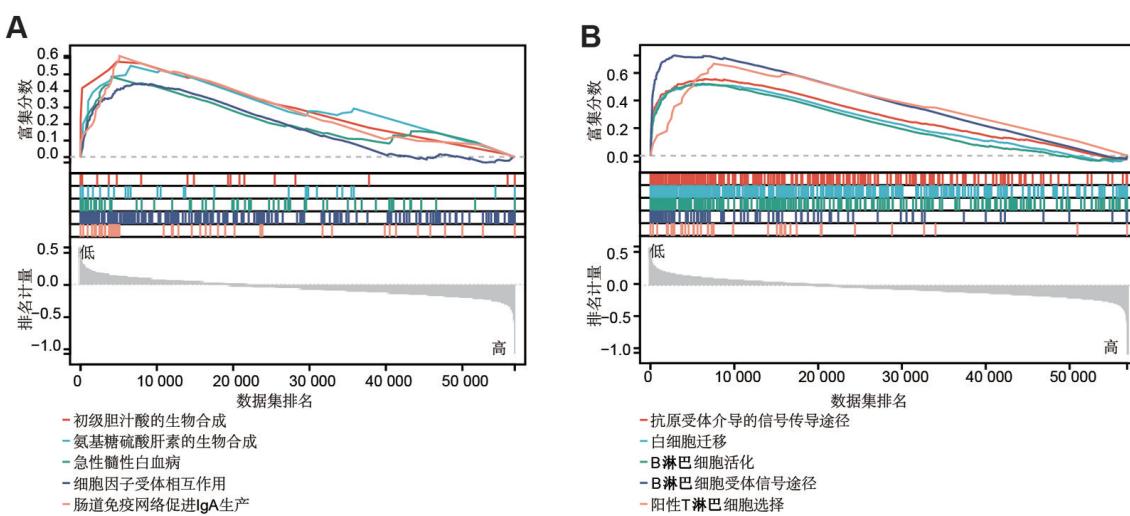
GSEA结果表明,一些信号通路,如胆汁酸代谢、细胞因子受体相互作用等免疫相关通路在OS低风险组中被富集(图6A)。抗原受体介导的信号传导途径、B淋巴细胞活化以及阳性T淋巴细胞选择在高风险组中明显富集(图6B)。

2.7 不同风险组的KEGG和GO富集分析

在全面分析两个风险组之间差异表达基因的基础上,深入探究了这些基因在生物学过程(BP)中的特定作用、其分子功能(MF)以及通路中的富集情况。富集分析发现,在TGF- β 信号通路、Wnt信号通路、

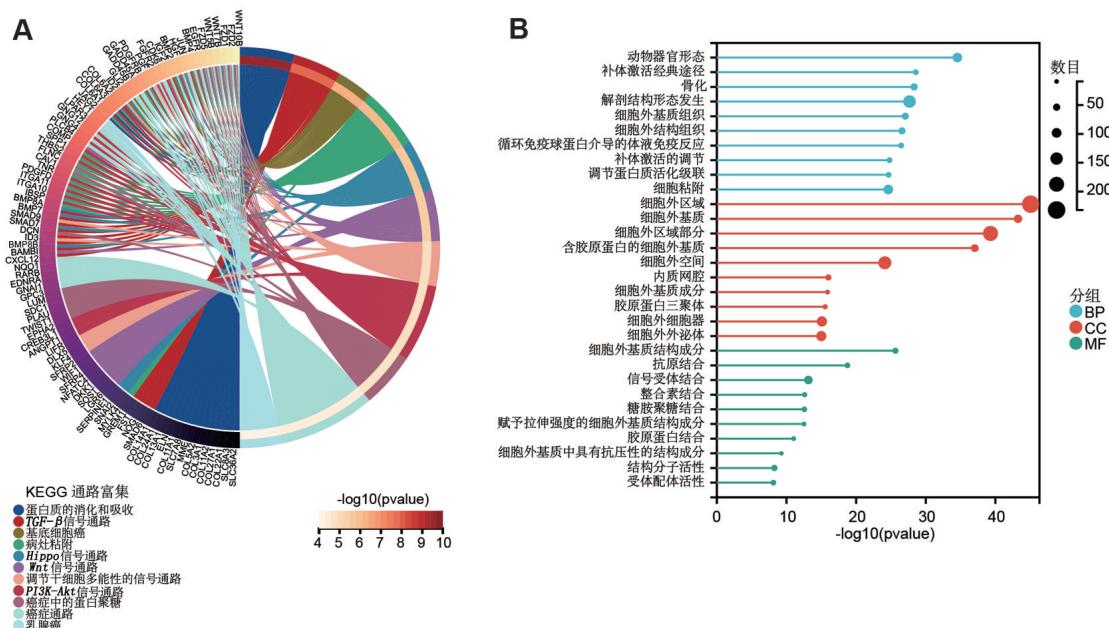
PI3K-Akt信号通路和Hippo信号通路中富集显著(图7A)。

除了上述在关键信号通路中的显著富集外,两个风险组的差异基因还与多个基因本体术语呈现出显著的相关性。这些差异基因在BP方面与补体激活显著相关,在细胞组分(CC)方面与细胞外成分高度相关,在MF方面,不仅与抗原结合显著相关,还与糖胺聚糖结合相关(图7B)。结果表明,这些差异基因在肿瘤微环境和癌症进展中可能扮演着关键角色。



A:低风险患者组中GSEA富集分析的结果;B:高风险患者组中GSEA富集分析的结果。

图6 不同风险组的GSEA分析结果



A:KEGG通路富集;B:差异基因的生物学过程。

图7 不同风险组的GO和KEGG分析

2.8 预后模型的评估

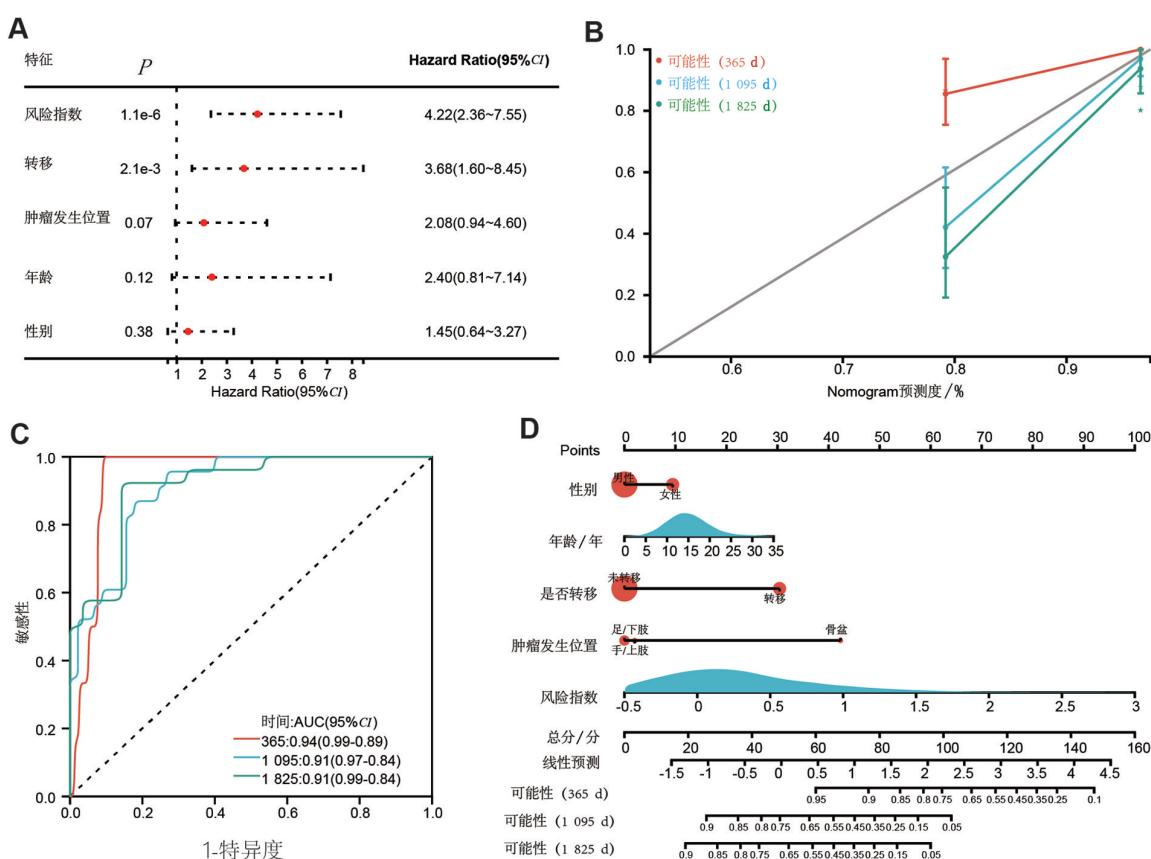
多变量Cox回归分析结果表明,在众多潜在的影响因素中,仅有预后特征和肿瘤转移这两个因素被显著地识别为OS患者的独立且有效的预后预测因子(图8A)。而基于风险评分和关键临床特征(年龄、性别和肿瘤发生位置等)构建的列线图展现了良好的预测能力(图8B),其一致性指数(C-index)为0.864 32(95%CI:为0.817 79~0.910 86, $P<0.001$)。

1年、3年和5年生存率的校准曲线进一步验证了该

列线图在精确预测OS患者预后方面的可靠性(图8C和图8D)。

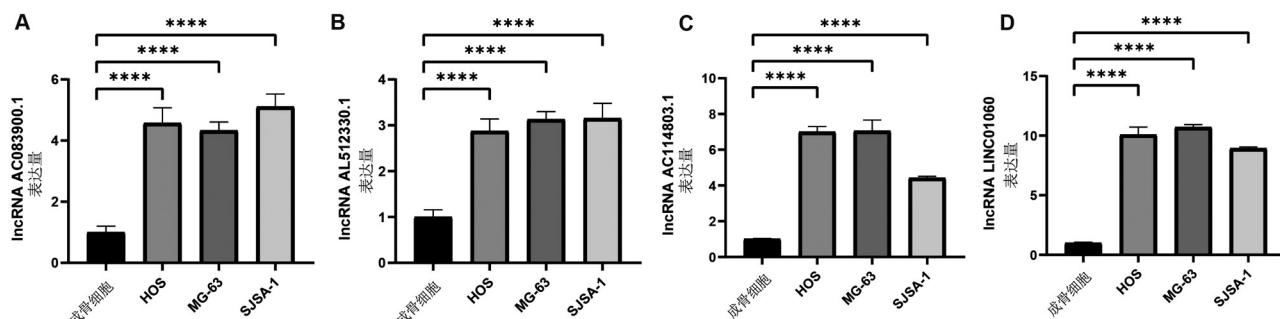
2.9 铜死亡相关lncRNA表达水平的验证

RT-qPCR结果显示,在与正常成骨细胞的比较时,OS细胞系中预后模型的几个组成铜死亡相关lncRNA(*AC083900.1*、*AL512330.1*、*AC114803.1*和*LINC01060*)的表达水平显著更高($P<0.05$)(图9A~图9D)。



A: 多重Cox分析5种相关因素;B:当时间长达1年、3年、5年时校准列线图;C:ROC曲线;D:列线图。

图8 预后模型列线图的构建



A: lncRNA AC083900.1 表达量;B: lncRNA AL512330.1 表达量;C: lncRNA AC114803.1 表达量;D: lncRNA LINC01060 表达量;组间比较, *** $P<0.0001$ 。

图9 成骨细胞和OS细胞中的lncRNA的差异

3 讨论

OS系一类源自间质的恶性肿瘤,其恶性程度较高。虽然现代医学发展迅速,不断涌现出诸多前沿的治疗手段,但患者的预后状况仍然不容乐观。这一困境主要源于OS具有显著的远处转移能力和产生耐药性的能力,这使得治疗过程变得尤为复杂和艰难。为了显著改善OS患者的生存质量,并为其预后赢得更多的时间与机会,制定一套精准、个体化的靶向治疗策略显得尤为迫切和重要。

最近的研究揭示了铜死亡在恶性肿瘤发生中的潜在关键作用^[11-13]。铜作为人体必需的微量元素,其代谢的紊乱可能对细胞生长、增殖以及凋亡等多个方面产生深远影响。而作为一种新近发现的细胞死亡机制,铜死亡在OS患者中的研究尚属空白。本研究首次在OS患者中发现了铜死亡相关的lncRNAs的存在,并成功构建了一个预测准确性良好的预后模型。研究结果显示,铜死亡相关的lncRNAs通过其独特的生物学功能,参与了OS肿瘤微环境的调控,影响了肿瘤细胞的生长、转移以及耐药性等关键生物学行为。此外,本研究通过生物信息学分析发现多个与OS发生、发展密切相关的lncRNA,这些lncRNA在OS的进展过程中起着至关重要的作用。

铜死亡相关的lncRNA在细胞功能的调控中扮演着关键角色,特别是在肿瘤生物学中。有研究揭示了AC083900.1在结直肠癌中的潜在作用,它作为一种与铁离子相关的生物标志物,对于评估结直肠癌的预后具有重要价值^[14]。而在卵巢癌和肺癌的研究中,CARD8-ASI被证实可以显著抑制肿瘤向别处侵袭^[15-17]。近年来有文献报道,RP11-69E11.4在OS病例中呈现出明显上升的趋势,而在高危险的OS患者中LINC00837的表达明显上升^[18-19]。本文构建的预后模型通过多种实验手段验证了其良好的效能,而且证实了该模型的稳定预测能力。

本研究对不同患者组别中的多种免疫细胞浸润水平进行比较分析,研究的出发点基于当前肿瘤研究领域的广泛共识,即肿瘤免疫微环境中的免疫细胞在恶性肿瘤的启动和进展中扮演着举足轻重的角色^[20-21]。同时,随着治疗技术的不断进步,OS相关的诊疗方案正在向着肿瘤免疫的方向进化^[22-24]。尽管免疫疗法在OS治疗中的潜力日益凸显,但铜死亡与OS中免疫细胞浸润之间的关系尚不明晰。

值得注意的是,有研究表明,肿瘤细胞中的铁死亡与CD8⁺T细胞在免疫治疗过程中的生物过程密切相关^[25]。本研究观察到OS患者的免疫细胞激活和浸润水平在高危险组中显著上升。具体而言,CD8⁺T细胞等免疫细胞在肿瘤免疫微环境中的缺失或功能减弱可能增加了OS患者的高风险状态,并可能进一步影响患者的预后。

有研究指出,间质恶性肿瘤中的CD4⁺T细胞与免疫疗法的疗效息息相关^[26]。本研究对所有免疫检查点进行了深入的分析,结果显示,低危组中的免疫检查点表达明显升高。这一观察结果与低危组较高的ESTIMATE评分相吻合。本研究结果表明,高危险组的OS患者倾向于免疫耐受的表型。因此,对铜死亡相关的lncRNAs的免疫浸润特征进行深入分析,不仅有助于更好地理解肿瘤与免疫系统之间的相互作用,更为OS患者的免疫治疗策略提供了宝贵的指导。此外,本研究还进行了功能富集分析,结果表明,与预后相关的铜死亡相关的lncRNAs可能是通过某些特定的肿瘤相关生物过程来发挥其作用。

本研究采用计算和生物信息学分析的方法,成功构建了一个基于铜死亡相关的lncRNAs的OS相关预后模型。为了验证该模型及其分析结果的可靠性,本研究采用RT-qPCR实验验证不同OS细胞系中几种关键铜死亡相关的lncRNAs的变化。本研究所构建的包含10个铜死亡相关的lncRNAs的预后模型在OS患者的预后判断及免疫状况等方面显示出较为可靠的预测效能,这为我们理解OS的发病机制提供了新的视角。

参考文献:

- [1] WHELAN J S, DAVIS L E. Osteosarcoma, Chondrosarcoma, and Chordoma[J]. Journal of clinical oncology, 2018, 36(2): 188-193.
- [2] RATHORE R, VAN TINE B A. Pathogenesis and Current Treatment of Osteosarcoma: Perspectives for Future Therapies[J]. Journal of clinical medicine, 2021, 10(6): 1182.
- [3] SAYLES L C, BREESE M R, KOEHNE A L, et al. Genome- Informed Targeted Therapy for Osteosarcoma[J]. Cancer discovery, 2019, 9(1): 46-63.
- [4] VANCLEAVE A, PALMER M, FANG F, et al. Development and characterization of the novel human osteosarcoma cell line COS- 33 with sustained activation of the mTOR pathway[J]. Oncotarget, 2020, 11(27): 2597-2610.

- [5] KUMAR R, KUMAR M, MALHOTRA K, et al. Primary osteosarcoma in the elderly revisited: current concepts in diagnosis and treatment[J]. Current oncology reports, 2018, 20(2): 13.
- [6] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. Science (New York, N.Y.), 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [7] RAFIEE A, RIAZI-RAD F, HAVASKARY M, et al. Long noncoding RNAs: regulation, function and cancer[J]. Biotechnology & genetic engineering reviews, 2018, 34(2): 153-180.
- [8] ROY R K, YADAV R, SHARMA U, et al. Impact of non-coding RNAs on cancer directed immune therapies: Now then and forever[J]. International journal of cancer, 2022, 151(7): 981-992.
- [9] LIU Y, CHENG L, ZHAN H, et al. The roles of noncoding RNAs in systemic sclerosis[J]. Frontiers in immunology, 2022, 13: 856036.
- [10] HONG-BIN S, WAN-JUN Y, CHEN-HUI D, et al. Identification of an iron metabolism-related lncRNA signature for predicting osteosarcoma survival and immune landscape[J]. Frontiers in genetics, 2022, 13: 816460.
- [11] MICHNIEWICZ F, SALETTA F, ROUAEN J R C, et al. Copper: an intracellular achilles' heel allowing the targeting of epigenetics, kinase pathways, and cell metabolism in cancer therapeutics[J]. Chem med chem, 2021, 16(15): 2315-2329.
- [12] GE E J, BUSH A I, CASINI A, et al. Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia[J]. Nature reviews. cancer, 2022, 22(2): 102-113.
- [13] SALEH S A K, ADLY H M, ABDELKHALIQ A A, et al. Serum levels of selenium, zinc, copper, manganese, and iron in prostate cancer patients[J]. Current urology, 2020, 14(1): 44-49.
- [14] LI N, SHEN J, QIAO X, et al. Long non-coding RNA signatures associated with ferroptosis predict prognosis in colorectal cancer[J]. International journal of general medicine, 2022, 15: 33-43.
- [15] CHEN H, ZHOU C, HU Z, et al. Construction of an algorithm based on oncosis-related lncRNAs comprising the molecular subtypes and a risk assessment model in lung adenocarcinoma[J]. Journal of clinical laboratory analysis, 2022, 36(6): e24461.
- [16] LI N, ZHAN X. Identification of clinical trait-related lncRNA and mRNA biomarkers with weighted gene co-expression network analysis as useful tool for personalized medicine in ovarian cancer[J]. The EPMA journal, 2019, 10(3): 273-290.
- [17] LIN X, JIANG T, BAI J, et al. Characterization of transcriptome transition associates long noncoding RNAs with glioma progression[J]. Molecular therapy. nucleic acids, 2018, 13: 620-632.
- [18] HE Y, ZHOU H, XU H, et al. Construction of an immune-related lncRNA signature that predicts prognosis and immune microenvironment in osteosarcoma patients[J]. Frontiers in oncology, 2022, 12: 769202.
- [19] YING T, DONG J L, YUAN C, et al. The lncRNAs RP1-261G23.7, RP11-69E11.4 and SATB2- AS1 are a novel clinical signature for predicting recurrent osteosarcoma [J]. Bioscience reports, 2020, 40(1): BSR20191251.
- [20] GRETEN F R, GRIVENNIKOV S I. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences[J]. Immunity, 2019, 51(1): 27-41.
- [21] GRIVENNIKOV S I, GRETEN F R, KARIN M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. Cell, 2010, 140(6): 883-899.
- [22] CHEN C, XIE L, REN T, et al. Immunotherapy for osteosarcoma: fundamental mechanism, rationale, and recent breakthroughs[J]. Cancer letters, 2021, 500: 1-10.
- [23] LU Y, ZHANG J, CHEN Y, et al. Novel immunotherapies for osteosarcoma [J]. Frontiers in oncology, 2022, 12: 830546.
- [24] WEDEKIND M F, WAGNER L M, CRIPE T P. Immunotherapy for osteosarcoma: where do we go from here?[J]. Pediatric blood & cancer, 2018, 65(9): e27227.
- [25] WANG W, GREEN M, CHOI J E, et al. CD8⁺ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy[J]. Nature, 2019, 569(7755): 270-274.
- [26] OSTROUMOV D, FEKETE-DRIMUSZ N, SABOROWSKI M, et al. CD4 and CD8 T lymphocyte interplay in controlling tumor growth[J]. Cellular and molecular life sciences, 2018, 75(4): 689-713.

本文引用格式：

廖军, 冯彦斌, 席德双, 等. 铜死亡相关lncRNA预测骨肉瘤患者预后及免疫途径[J]. 广西医科大学学报, 2024,

41(8):1141-1150. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.08.

006

LIAO J, FENG Y B, XI D S, et al. Cuproptosis-related lncRNA predicts prognosis and immune pathways in osteosarcoma patients[J]. Journal of Guangxi medical university,

2024, 41(8): 1141-1150. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.

2024.08.006