

网络出版时间: 2024-07-18 09:58:45 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20240717.1523.014>

# 双硫死亡相关 LncRNA 的胃癌预后模型构建与验证

凤亮<sup>1</sup>, 曹志国<sup>2</sup>, 石小琪<sup>3</sup>, 张启坤<sup>1</sup>, 陈昌裕<sup>1</sup>, 余昌俊<sup>1</sup>

**摘要** 目的 基于二硫化物应激导致的新型细胞死亡类型, 探究与其相关的长链非编码 RNA (LncRNA) 在胃癌中的作用, 建立双硫死亡相关的胃癌预后模型, 为胃癌治疗的预后情况评估提供新的方式。方法 使用公开数据库 TCGA 获得胃癌与正常组织样本的转录组数据, 并通过 Pearson 分析与 LASSO-Cox 回归分析挑选双硫死亡相关 LncRNA。基于上述 LncRNA 构建出相关的胃癌预后模型, 并通过功能富集分析、肿瘤微环境和免疫细胞浸润分析、药物敏感性分析、定量逆转录 PCR (RT-qPCR) 等进行验证。结果 本研究识别出 400 个双硫死亡相关的 LncRNA, 并筛选出其中 5 个构建预后模型, 用于评估胃癌患者的预后情况。模型在验证中显示, 高风险评分组的生存期明显短于低风险评分组 ( $P < 0.05$ )。此外, 预后模型的预测能力 ( $AUC = 0.725$ ) 优于仅依据年龄和性别等基本特征进行预测。双硫死亡相关 LncRNA 在正常组织与胃癌组织中的表达水平存在显著差异 ( $P < 0.001$ )。结论 该研究构建的双硫死亡相关 LncRNA 预后模型可以用于评估胃癌患者的预后情况和肿瘤微环境, 为胃癌新的免疫治疗策略提供潜在的靶点和理论基础。

**关键词** 长链非编码 RNA; 细胞死亡; 胃癌

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)08-1429-11

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.021

胃癌的病死率在恶性肿瘤中位居前列, 是全球第三大癌症相关死亡原因<sup>[1]</sup>。对于晚期胃癌患者, 通常采用分子靶向治疗或免疫治疗等措施延长患者的生命。在胃癌治疗中, 虽然已经使用了包括 CT-LA4、PD-1 等在内的多种免疫检查点抑制剂, 但很多

患者的治疗效果并不理想。双硫死亡是一种新的细胞死亡形式<sup>[2-3]</sup>, 当细胞中的二硫键分子过量时, 会引发细胞骨架崩溃和细胞凋亡。与双硫死亡类似的铜死亡、铁死亡等细胞凋亡机制已经被证明和癌症的发展密切相关<sup>[4-5]</sup>。LncRNA 是非编码 RNA 的一种, LncRNA 的异常表达与肿瘤的发生、侵犯、转移、耐药性等方面密切相关<sup>[6]</sup>。LncRNA 还可以参与肿瘤微环境的调节与重塑, 从而影响肿瘤细胞的免疫应答、免疫逃逸等过程<sup>[7]</sup>。该研究对双硫死亡相关的 LncRNA 进行分析, 并构建用于预测胃癌患者的临床预后相关预后模型, 为指导患者的个性化免疫治疗策略提供新的见解。

## 1 材料与方法

**1.1 数据的收集与处理** 首先, 在 TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 数据库中下载了胃癌患者的转录组数据。共获得 32 个正常样本和 375 个胃癌样本数据。将原始数据转换为每百万千碱基的片段的标准化格式。根据生存时间不明确或小于 30 d 的排除标准将不符合的样本排除, 共得到 337 例样本数据。通过 R 软件中的“insert symbol”包将剩余样本随机分为训练集 ( $n = 169, 50.14%$ ) 和测试集 ( $n = 168, 49.86%$ ) 两组。

**1.2 双硫死亡相关 LncRNA 的筛选** 使用 Pearson 分析 (相关系数  $> 0.3, P < 0.001$ ) 获得与双硫死亡基因相关的 LncRNA。通过 R 语言中的“limma” ( $P < 0.05$ , 错误发生率  $< 0.05$ ) 对 LncRNA 进一步区分。将获得的 192 个 LncRNA 称为具有显著差异表达的双硫死亡相关 LncRNA。用 pheatmap 包和 limma 包绘制差异表达的火山图和热图。

**1.3 构建及验证预后模型** 对训练集中的 LncRNA 进行单因素 Cox 回归分析。使用 R 中的 glmnet 包对得到的 LncRNA 进行最小绝对收缩和选择算子回归分析。使用的风险评分计算公式如下: 风险评分 =  $\sum (\text{coef} |\gamma| \times \text{Exp} |\gamma|)$ 。以中位风险评分为标准, 将训练集和测试集中的所有样本分为低风险组和高风险组。再通过生存分析, 对两组患者的总生存时间进行比较并绘制 ROC 曲线。通过 R 中

2024-05-19 接收

基金项目: 安徽省转化医学研究院科研基金 (编号: 2022zhxy-C69); 安徽高等学校自然科学基金项目 (编号: 2022AH051174、KJ2021ZD0025、KJ2021A1363); 安徽省高校学科 (专业) 拔尖人才学术资助项目 (编号: gxbjZD2022125)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院<sup>1</sup> 胃肠外科,<sup>3</sup> 放射肿瘤科, 合肥 230022

<sup>2</sup> 皖西卫生职业学院附属医院血管外科, 六安 237010

作者简介: 凤亮, 男, 硕士研究生;

余昌俊, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: yuchangjun321@163.com;

陈昌裕, 男, 副教授, 主治医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: chenchangyu1987@163.com

“survival”包进行单变量和多变量 Cox 回归分析,评估模型对风险评分及不同临床特征的独立预测能力。最后 将所有独立预后因素汇总,通过 R 中的“regplot”、“timeROC”、“rms”等包构建模型。运用校准曲线,对模型预测患者 1、3、5 年的总生存率的准确性进行评估。决策曲线分析可以计算多种风险阈值概率的净效益来评估模型的临床效果。

**1.4 富集分析和主成分分析** 通过使用基因集富集分析软件对所有患者进行基因本体(GO)、京都基因和基因组百科全书通路(KEGG)富集分析,以明确分子功能和相关信号通路。其中  $P < 0.01$  被认为富集明显。另外,根据双硫死亡相关 LncRNA 的表达方式,通过主成分分析进行降维处理,将基因表达谱、双硫死亡相关基因、双硫死亡相关 LncRNA 和风险模型的数据可视化,观察两组数据的区分度。

**1.5 聚类分析** 通过使用 R 中的 ConsensusCluster-Plus 包,根据预后相关的双硫死亡 LncRNA 的表达水平将肿瘤样本分为 C1、C2 等两个不同的亚组。再通过生存曲线、桑基图、主成分分析和 T 分布随机近邻嵌入等对不同亚群之间的差异进行描述。

**1.6 肿瘤微环境与免疫相关分析** 研究肿瘤微环境与肿瘤浸润免疫细胞对风险评分造成的影响,以此评价它们之间有没有相关性。运用 pheatmap 包和 TIMER、CIBERSORT、QUANTISEQ 等算法对 C1 和 C2 亚组中免疫细胞浸润的情况进行评估并绘制热图。之后,通过 R 软件中的 ggpubr 和 ggplot2 包对 C1、C2 分组进行免疫检查点的表达水平的比较。

**1.7 药物敏感性分析** 通过对癌症药物敏感性基因组学网站(<https://www.cancerrxgene.org/>)中有关数据的收集,得到胃癌患者的半数最大抑制浓度( $IC_{50}$ )值,为了进一步推测胃癌治疗中哪些药物有效,使用 R 中的 limma、ggpubr、pRRophetic、ggplot2 等软件包进行数据分析。

**1.8 定量逆转录 PCR(quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)检测** 本研究收集了安徽医科大学第一附属医院高新院区 8 位胃癌患者的肿瘤组织和癌旁正常组织。根据手册的操作细节,提取胃癌患者的总组织 RNA。并且使用 Evo M-MLV RT Premixc DNA 检测试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司)逆转录 RNA。SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR 试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司)在反应前按照使用说明配置反应液。用于检测的引物序列见表 1。

**1.9 统计学处理** 所有统计分析均在 R 4.2.3 中

表 1 引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')
GAPDH	F: CCCTCCAAAATCAAGTGGGG
	R: CATGGTGGTGAAGACGCCAG
IGFL2AS1	F: CCCACGATATCACCAGCTCC
	R: AGTGGGTGATCAGCAGGTCT
VPS9DIAS1	F: GCCTCCCTGCAGAATCAGAA
	R: GGATGTCTTCTGCATGGCCT

进行。根据风险评分和一致性分析将患者分为不同的组别。在正态分布的数据中选用  $t$  检验,否则进行不稳定性测试。在训练组和测试组中,使用卡方检验对比分组变量。在没有特殊说明的情况下,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TCGA 数据库胃癌样本一般临床信息** 在 TCGA 数据库中得到 32 个正常样本和 375 个胃癌样本数据。通过排除标本筛选后共得到 337 例样本的数据。这些数据中,男性共有 218 例(65%),女性有 119 例(35%)。大于 65 岁的患者共有 184 例(54.5%)。所有患者的病理分级较为平均,其中处于 I ~ II 阶段的共有 152 例(45.1%),处于 III ~ IV 阶段的有 171 例(54.9%)。

**2.2 胃癌中双硫死亡相关的差异表达的 LncRNA** 筛选的标准首先是有双硫死亡相关基因表达的样本,其次是在肿瘤组织和正常组织中的表达存在差异。共筛选出 228 个表达上调的 LncRNA 和 112 表达下调的 LncRNA,共 400 个符合条件的 LncRNA。见图 1。

**2.3 构建和验证双硫死亡相关 LncRNA 的预后模型** 森林图描述显示 4 个 LncRNA 对预后发挥消极影响,5 个 LncRNA 发挥积极影响(图 2A)。箱式图和热图体现了这 9 个 LncRNA 在正常组织和胃癌组织中表达的差异情况(图 2B、C)。桑基图体现了这 9 个 LncRNA 与部分双硫死亡相关基因之间的关联(图 2D)。通过对这些 LncRNA 进行 LASSO COX 回归分析以达到降低过度拟合预后模型的目的,并且保证  $\text{Log}(\lambda)$  第一等级值最小可能会出现误差的情况下选择出了 5 种 LncRNA(图 2E、F)。在上述 5 种 LncRNA 的基础上,使用风险评分公式对测试组、训练组和全部样本进行风险评分的计算: 风险评分 =  $(-0.834551 \times \text{Exp AL355574.1}) + (-0.884654 \times \text{Exp AC016027.3}) + (2.128783 \times \text{Exp AC129507.1}) + (0.355215 \times \text{Exp VPS9D1-AS1}) + (0.295328 \times \text{Exp IGFL2-AS1})$ 。对比高风险组

和低风险组的风险评分、生存时间和有关 LncRNA 的表达水平(图 3A),结果显示高风险组患者死亡人数大于低风险组( $P < 0.05$ )。生存分析显示低风险组的生存时间长于高风险组患者( $P < 0.001$ )(图 3B)。在绘制的 ROC 曲线和 C 指数曲线中可以看出,风险评分对患者生存时间的预测能力明显优于其他临床特征( $AUC = 0.725$ )(图 3C、E)。

**2.4 预后模型的临床价值及独立性研究** 在研究风险评分与生存时间的相关性中,本研究证实了预后模型在临床应用中的价值。临床变量包括患者年龄是否大于 65 岁或小于等于 65 岁(图 4A),性别为男性或女性(图 4B)。根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)与美国癌症联合

委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)的第八版肿瘤分期和分级标准,肿瘤分级(G)评估了肿瘤细胞的分化程度,直接影响肿瘤的侵袭性与预后。肿瘤分级范围从  $G_1$  至  $G_3$ ,其中  $G_1$  表示良好分化,而  $G_3$  则表示分化程度较差。肿瘤分期则分为 I ~ II 期与 III ~ IV 期(图 4C),具体也包括肿瘤浸润深度  $T_{1-2}$  与  $T_{3-4}$ 、淋巴结转移情况  $N_0$  与  $N_{1-3}$ ,以及是否存在远处转移  $M_0$  与  $M_1$ (图 4D ~ G)。结果显示,在每一种临床特征下,低风险组的生存时间长于高风险组( $P < 0.05$ )。单因素及多因素 Cox 回归分析确认了风险评分作为一个独立预后因素的可靠性(图 4H)。

**2.5 对模型的评价** 通过对年龄、性别、TMN 分

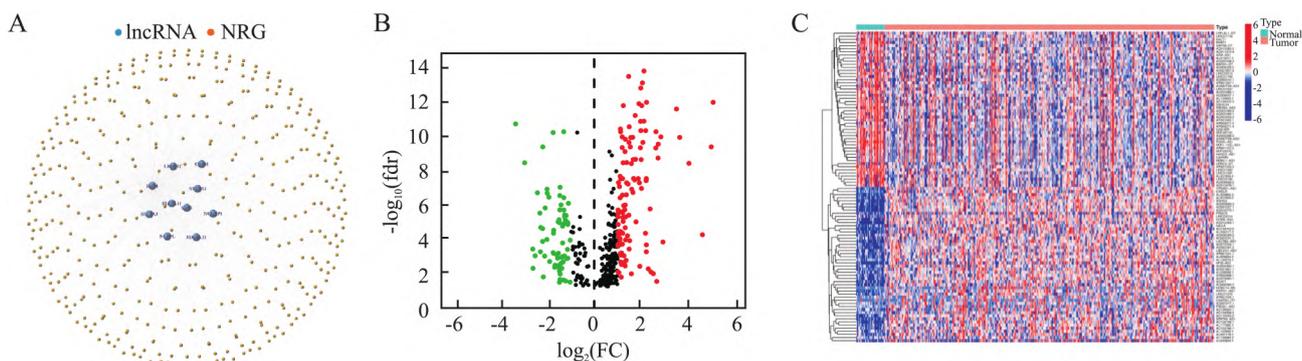


图 1 筛选双硫死亡相关 LncRNA

A: 双硫死亡相关 LncRNA 与新生基因互作网络图; B: 火山图: 红色: 表达上调的 LncRNA; 黑色: 无差异基因; 绿色: 表达下调的 LncRNA; C: 不同基因存在差异表达的热图

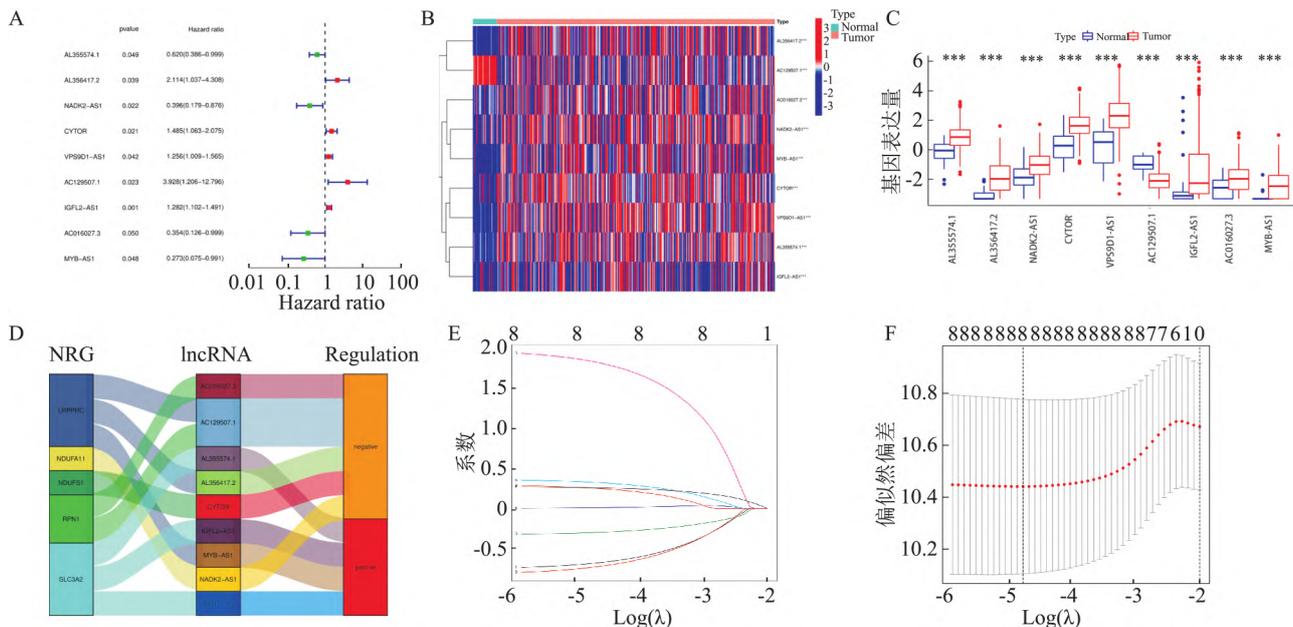


图 2 提取和分析与双硫死亡相关的 LncRNA

A: 9 种与预后相关的 LncRNA 森林图; B: 双硫死亡相关 LncRNA 差异表达热图; C: 胃癌组织和正常组织中九种 LncRNA 的表达差异箱线图; D: 双硫死亡相关基因与 LncRNA 之间的关系桑基图; E: LASSO 系数路径图; F: 双硫死亡相关 LncRNA 的 Lasso 回归分析交叉验证曲线; 与正常组织比较: \*\*\*  $P < 0.001$

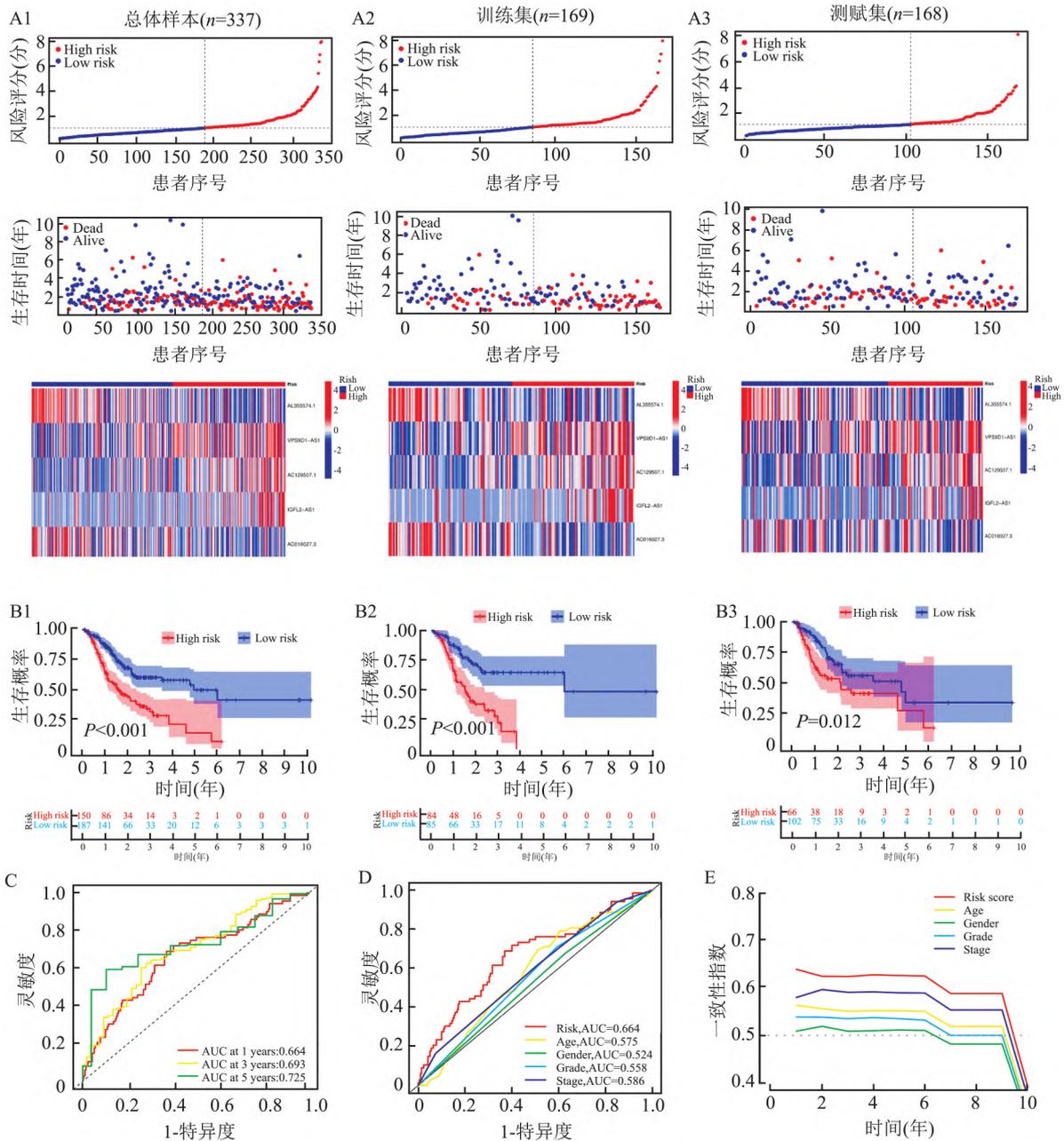


图3 构建和评估风险模型

A: 双硫死亡基因相关高低风险组的风险评分、生存时间与LncRNA 表达比较图; B: 预后相关双硫死亡基因的KM 生存曲线; 1: 总体样本(  $n = 337$  ); 2: 训练集(  $n = 169$  ); 3: 测试集(  $n = 168$  ); C: 风险评分的1、3、5年ROC 曲线; D: 风险评分对多种临床特征的ROC 曲线; E: 风险评分的C 指数曲线

期、分级、风险评分等进行加权 绘制出 nomogram 图 (图 5A)。在 ROC 图中 ,nomogram 图的图形下面积最大 ,AUC = 0.725(图 5B)。表明模型评估胃癌患者的预后情况准确性大于年龄、性别等临床特征。在时间依赖的 ROC 曲线中 ,1、3、5 年的 ROC 曲线 ,其 AUC 分别为 0.725、0.701、0.773(图 5C)。在校准曲线中 ,nomogram 图的连线与 45 度线基本符合 (图 5D)。同时 ,DCA 曲线表明 ,nomogram 图在评估患者预后情况方面具有较高的实用性(图 5E)。

2.6 富集分析和主成分分析 对四个组(所有基因、双硫死亡相关基因、双硫死亡相关 LncRNA 及 LASSO 回归分析筛选的 5 个 LncRNA) 进行主成分分析(图 6A ~ D)。被筛选出的 5 个 LncRNA 所绘制的主成分分析图可以较好的体现出高风险组和低风险组之间的差异。GO 分析显示了双硫死亡相关 LncRNA 的生物过程、细胞组分和分子功能(图 6E)。而 KEGG 分析则显示了不同分组中排名前五的显著富集的通路(图 6F)。低风险组排名前五的

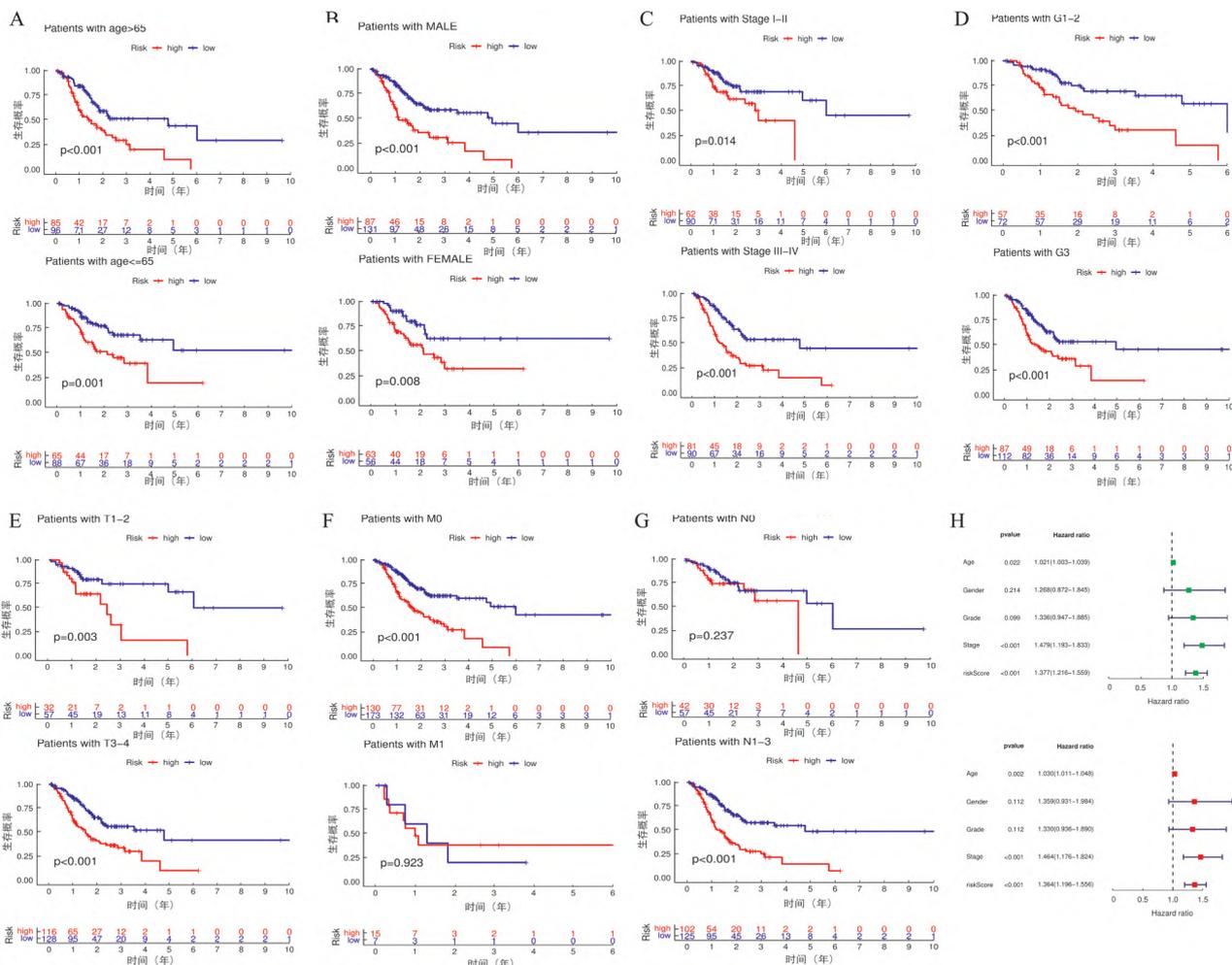


图4 预后模型的临床价值和独立性研究

A: 年龄 >65 岁及 ≤65 岁患者 KM 曲线; B: 不同性别的 KM 曲线; C: I ~ II 期及 III ~ IV 期患者 KM 曲线; D: G<sub>1-2</sub> 期与 G<sub>3</sub> 期患者 KM 曲线; E: T<sub>1-2</sub> 期及 T<sub>3-4</sub> 期患者 KM 曲线; F: M<sub>0</sub> 期及 M<sub>1</sub> 期患者 KM 曲线; G: N<sub>0</sub> 期及 N<sub>1-3</sub> 期患者 KM 曲线; H: 风险评分的单变量及多因素回归分析森林图

通路分别是 ATP 结合盒转运蛋白、糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定生物合成、N 聚糖生物合成、原发性免疫缺陷和味觉转导。高风险组中排名前五的分别是精氨酸和脯氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、核糖体、帕金森病 ( $P < 0.01$ ; 显著性水平  $< 0.05$ ; 标准化效应  $> 1.5$ )。

**2.7 聚类分析** 通过对聚类变量 (K) 进行调控, K 值从 2 到 9 共得到 8 张图, 其中, K 值为 2 时, 图像中矩阵的边界最清晰, 且可以获得最小的聚类函数数值 (图 7A)。生存分析得到 KM 曲线提示 C1 组的生存时间明显优于 C2 组 ( $P < 0.05$ ) (图 7B)。C1 组大部分关联于低风险组, C2 组大部分关联于高风险组 (图 7C)。这一结果与 KM 曲线的生存时间相对应。高低风险评分组之间的对比结果显示, 聚类分析分组的 C1 与 C2 组对胃癌样本的区分度更高

(图 7D)。

**2.8 肿瘤微环境与免疫相关分析** C1 和 C2 分组的 ESTIMATEScore、ImmuneScore、StromalScore 之间存在明显差异 (图 8A)。C1 组得分均高于 C2 组 ( $P < 0.001$ )。C1 组中的免疫细胞明显比 C2 组更加活跃 (图 8B)。

**2.9 药物敏感性分析** C1 和 C2 组免疫检查点分子的表达水平存在显著差异 (图 9)。说明免疫治疗的效果在两组患者之间可能同样存在差异。通过 pRRophetic 算法, 分析了 C1 和 C2 两组患者对不同治疗药物的敏感性。结果显示, 有 8 种药物的敏感性在两组患者之间存在显著差异 ( $P < 0.001$ )。IC<sub>50</sub> 值在 6 种药物中表现为 C1 < C2, 仅有两种药物的 IC<sub>50</sub> 值表现为 C1 > C2 (图 10A ~ D)。

**2.10 RT-qPCR 检测结果** 如图 11 展示, 本研究

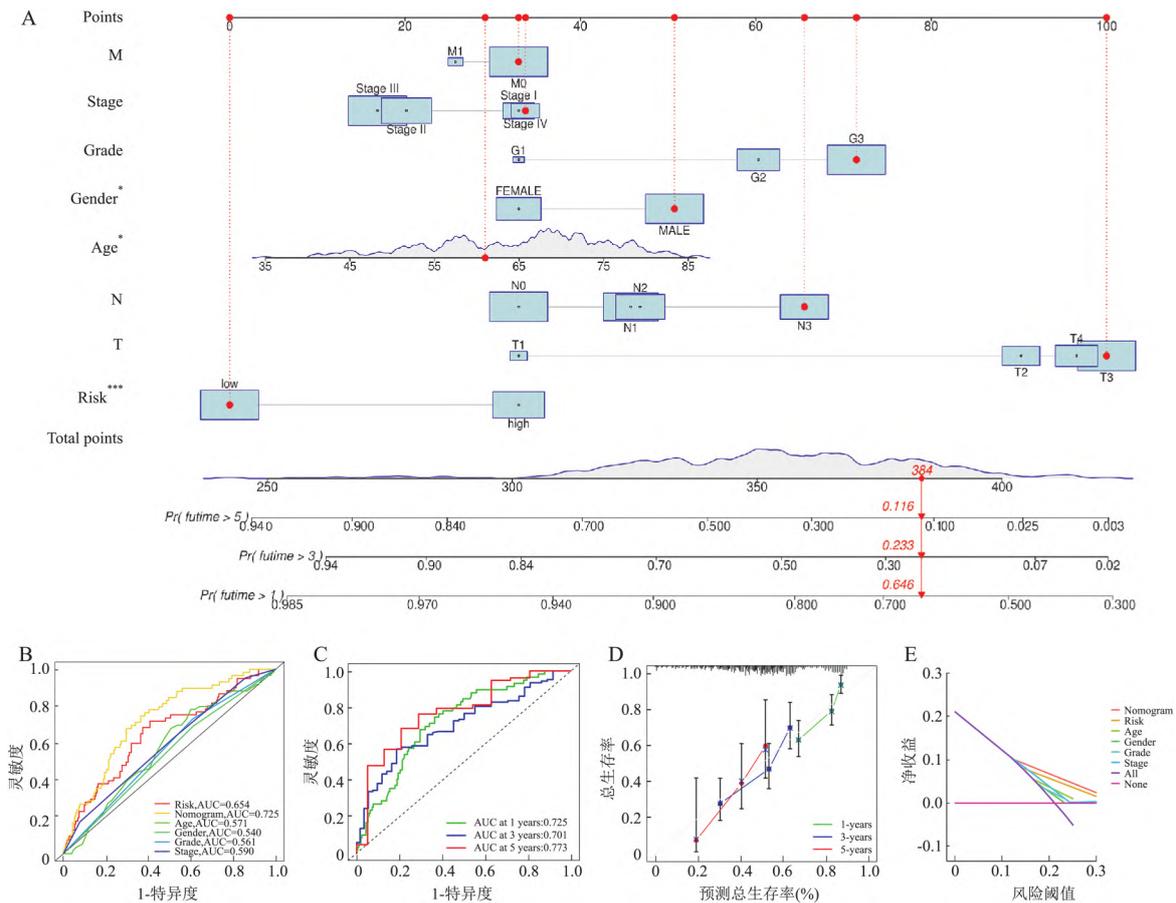


图5 胃痛患者预后模型的构建与评估

A: 列线(包含独立预后因素的预后模型); B: 具有多种临床特征的ROC曲线; C: 预后模型的1、3、5年ROC曲线; D: 预后模型用于预测生存时间的校准曲线; E: 用于评估预后模型临床功能的决策曲线

收集了8对样本,分别来自人类的正常组织与胃癌组织。在分析中,将正常组织中*IGFL2*和*VPS9DI-ASI*的表达水平定为基准值1。结果显示,在胃癌组织中,*IGFL2*(平均值4.09,标准差1.87, $t$ 值=-4.672)和*VPS9DI-ASI*(平均值4.86,标准差2.42, $t$ 值=-4.510)的表达水平高于正常组织,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。在胃癌组织中,*IGFL2*和*VPS9DI-ASI*明显升高,说明*IGFL2*和*VPS9DI-ASI*两种LncRNA与肿瘤细胞密切相关。

### 3 讨论

当前胃癌的治疗方式主要包括手术切除、放射治疗、化学治疗及靶向治疗等,但由于其早期诊断困难,许多晚期胃癌及转移性胃癌患者已失去手术治疗机会。有研究<sup>[8]</sup>表明,免疫系统在胃癌发展中起着重要作用。近10年来,随着免疫检查点抑制剂在肿瘤进展期治疗的不断深入,胃癌免疫治疗已有显著进展。但由于存在个体差异,部分患者对免疫治

疗并不敏感,此类患者免疫治疗药物敏感性及其临床预后仍需进一步研究。探寻新的胃癌免疫治疗的有效因子和预后生物标志是目前的主要研究方向。LncRNA已经被证明在胃癌的预后中可以发挥重要作用,特别是与双硫死亡相关的LncRNA领域。因此,该研究鉴定出双硫死亡相关LncRNA,结合患者的年龄、性别等影响预后的临床数据,构建预后模型。目的是探索双硫死亡及有关LncRNA与胃癌患者预后之间的关系,并揭示潜在的预后标志物,为胃癌的治疗提供新的思路。

该研究在TCGA数据库中获得了407个样本数据。根据一定标准对参与双硫死亡相关LncRNA的预后能力鉴定的样本进行筛选。共筛选出9个双硫死亡预后相关LncRNA,并选择其中5个(*AL355574.1*、*VPS9DI-ASI*、*AC129507.1*、*IGFL2-ASI*、*AC016027.3*)通过LASSO回归分析构建预后模型。根据最新的研究<sup>[9]</sup>结果,*IGFL2-ASI*可以作为*miR-802*的分子海绵发挥作用,其在胃癌细胞中

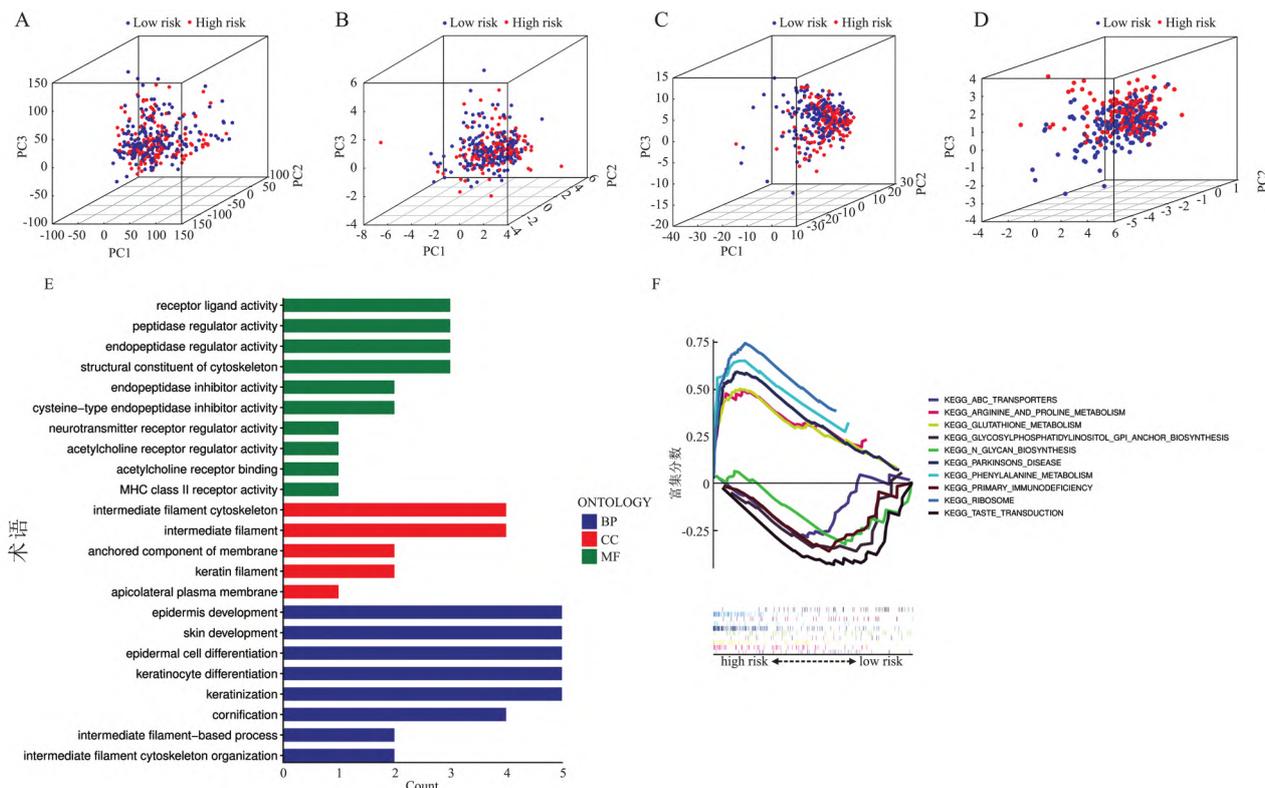


图 6 主成分分析与富集分析

A: 所有基因的主成分分析散点图; B: 二硫化物相关基因的主成分分析散点图; C: 与二硫化物相关的非编码 RNA 的主成分分析散点图; D: 风险长非编码 RNA 的主成分分析散点图; E: GO 富集分析; 蓝色表示生物学过程 (BP); 红色表示细胞组分 (CC); 绿色表示分子功能 (MF); F: KEGG 富集分析

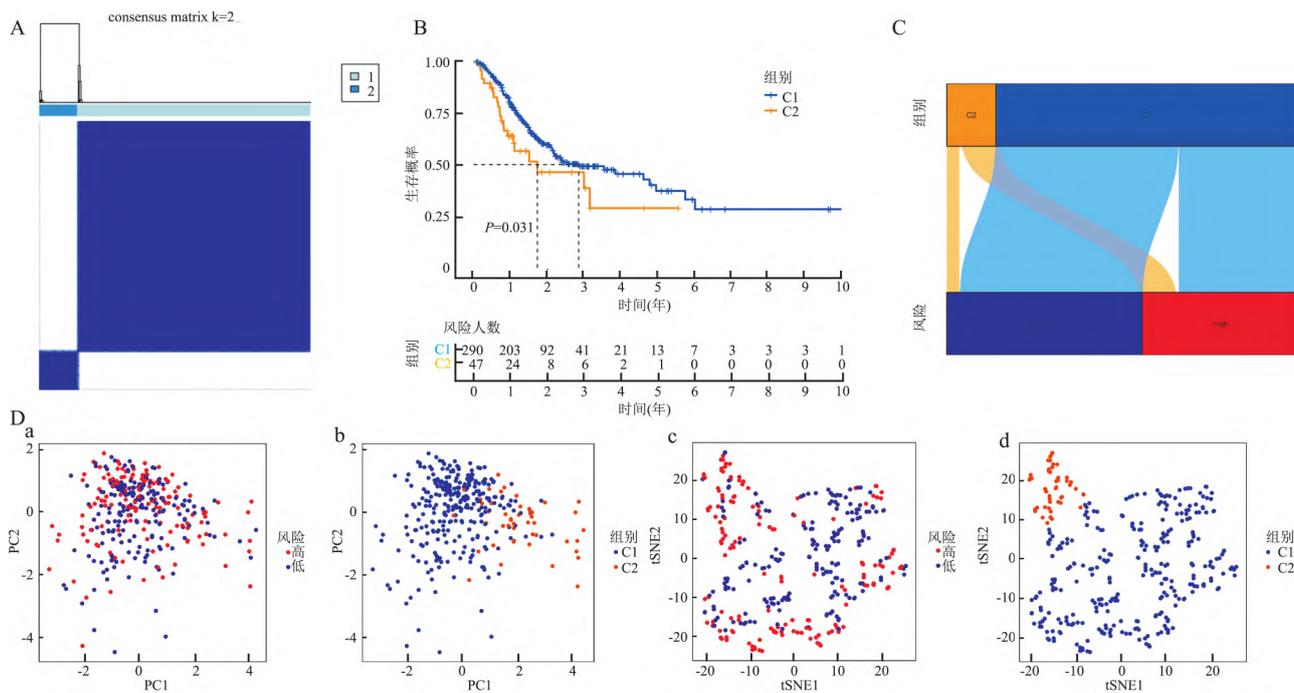


图 7 聚类分析

A: 一致性聚类分析结果; B: 不同聚类分析亚组的 KM 生存曲线; C: 两个聚类亚组与高低风险组的桑基图; D: PCA 图显示不同亚型的分布情况; a: 高低风险组主成分分析; b: 聚类分析亚组主成分分析; c: 高低风险组的 t 分布随机邻域嵌入图; d: 聚类分析亚组 t 分布随机邻域嵌入图

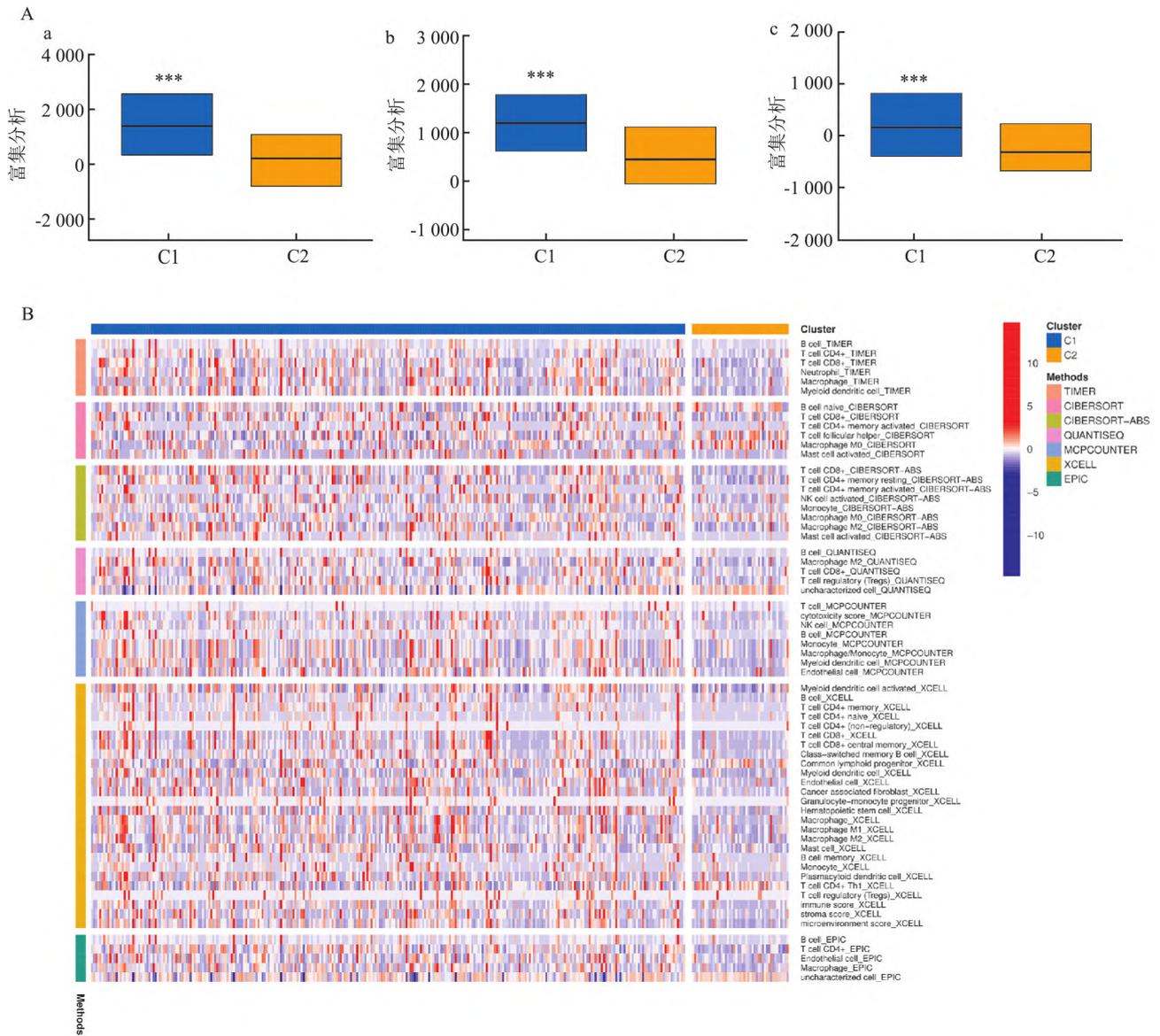


图 8 肿瘤微环境和免疫关联分析

A: 不同聚类分析亚组的 ESTIMATEScore、ImmuneScore、StromalScore 差异表达; a: ESTIMATEScore; b: ImmuneScore; c: StromalScore; B: 不同聚类分析亚组免疫细胞热图; 与 C2 组比较: \*\*\* P < 0.001

的表达水平较高。IGFL2-ASI 的低表达可以抑制肿瘤细胞的增殖和转移。IGFL2-ASI 可以通过上调 IGFL1 的表达水平促进乳腺癌细胞的生长和存活<sup>[10]</sup>。Zha et al<sup>[11]</sup>发现 AC129507.1 的表达水平与胃癌患者的总生存期呈负相关,说明这种 LncRNA 的高表达与胃癌患者总生存率降低有关。VPS9DI-ASI 在胃癌细胞中的表达水平低于癌旁的正常组织,表明 VPS9DI-ASI 在胃癌细胞中的表达水平被抑制,与 AL355574.1 一样,被认为是有利的预后因素<sup>[12]</sup>。目前,对于 AC016027.3 在胃癌中的研究尚未开展,无法明确该 LncRNA 在胃癌中的表达情况。

未来的研究中,仍值得进一步探索。本研究通过对预后模型进行评估,绘制 ROC 曲线和 C 指数曲线评估胃癌患者的总生存时间的预测准确性。AUC 和一致性指数证明构建的风险模型比其他风险模型在预测胃癌患者生存时间方面更加准确。临床特征生存分析、独立预后分析证明该模型的敏感度高。而临床特征的 ROC 曲线、DCA 曲线及校准曲线证明模型的临床实用性较高,可以用于评估患者的预后情况。

为了更准确地鉴定不同患者对免疫治疗的反应,将所有的胃癌样本通过聚类分析分为两个不同

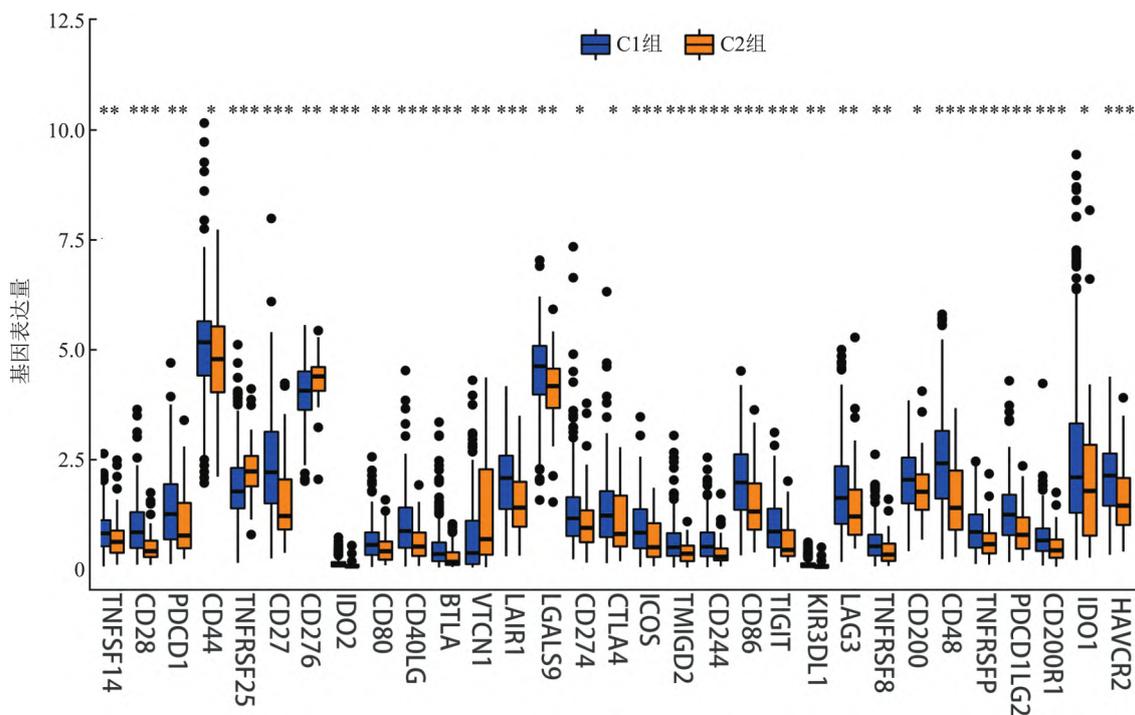


图9 免疫检查点分析不同聚类分析亚组免疫检查点基因的差异表达图  
与 C2 组比较: \*  $P < 0.05$  , \*\*  $P < 0.01$  , \*\*\*  $P < 0.001$

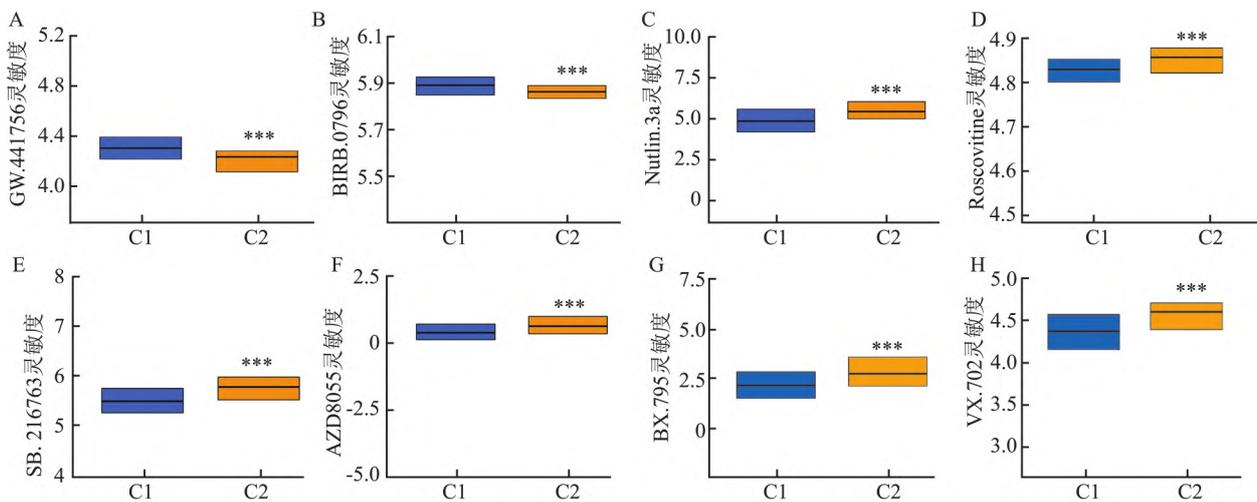


图10 免疫检查点分析及药物敏感性

A、B: GW. 441756、BIRB. 0796 在不同聚类分析亚组中敏感性分析图; C、D、E、F、G、H: Nutlin. 3a、Roscovitine、SB. 216763、AZD8055、BX. 795、VX. 702 在不同聚类分析亚组中敏感性分析图; 与 C1 组比较: \*\*\*  $P < 0.001$

的组。这两个组在生存分析、肿瘤微环境分析、免疫细胞浸润、免疫检查点分子表达等方面均存在显著差异。在大多数分析中,均可以发现 C1 组的样本情况更好,免疫细胞的表达水平也更高。这说明免疫治疗等措施对 C1 组的患者可能更加有效。这一结论也符合后续相关药物的敏感性研究的结果,在这 8 种小分子化合物中 6 种的  $IC_{50}$  值在 C1 组中都更低。其中, SB. 216763 通过抑制甘油醛-3-磷酸激

酶(GSK-3)的活性,能够有效减缓胃癌细胞的增殖速度并促进这些细胞的凋亡,显示出其潜在的抗肿瘤效果<sup>[13]</sup>。而 Roscovitine 作为 Cyclin 依赖性激酶(CDK)的抑制剂,可以通过抑制 CDK 活性阻断胃癌细胞的增殖过程,并推动其向凋亡的方向发展,从而抑制肿瘤的进一步生长<sup>[14]</sup>。VX. 702 通过特异性抑制 p38 MAP 激酶信号传导路径,有助于减慢胃癌细胞的增殖并促使它们凋亡,展现出其在抗肿瘤治疗

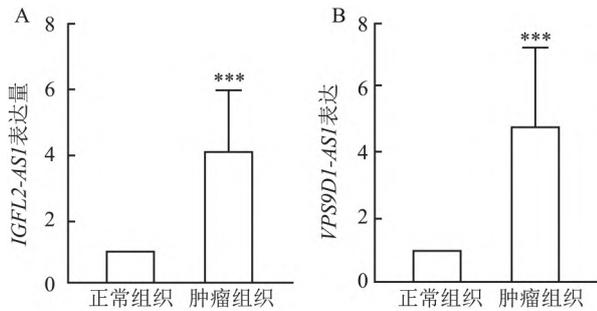


图 11 RT-qPCR 结果

A: 8 对胃癌及其配对癌旁正常组织中 *IGFL2-AS1* 的表达水平;  
B: 8 对胃癌及其配对癌旁正常组织中 *VPS9D1-AS1* 的表达水平; 与正常组织比较: \*\*\*  $P < 0.001$

中的潜力<sup>[15]</sup>。此外 *AZD8055* 作为一种靶向哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 的双重抑制剂,能够同时阻断 mTORC1 和 mTORC2 两个复合体,这不仅能够抑制胃癌细胞的生长和增殖,还可以切断肿瘤细胞生存的信号通路,促进它们的死亡,并抑制肿瘤的扩展<sup>[16]</sup>。本研究为识别和发现治疗胃癌的有效药物靶点提供了实质性的帮助,未来仍需要对这些靶点进行更为深入的研究。

该研究通过构建一个基于双硫死亡相关 LncRNA 的预后模型,为胃癌患者提供了一种新的生存时间预测方法,并对肿瘤微环境的评估及免疫治疗策略的制定提供了有价值的理论依据。研究仍存在不足之处,研究的数据均来自于 TCGA 数据库,没有选用其他数据库,数据来源存在一定局限性。

### 参考文献

[1] Cao W, Chen H D, Yu Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134( 7): 783 - 91.  
[2] Liu X, Nie L, Zhang Y, et al. Actin cytoskeleton vulnerability to disulfide stress mediates disulfidptosis [J]. *Nat Cell Biol* 2023 25 ( 3): 404 - 14.

[3] Machesky L M. Deadly actin collapse by disulfidptosis [J]. *Nat Cell Biol* 2023 25( 3): 375 - 6.  
[4] 孙皓,赵志娟,孟莲,等. 基于生物信息学筛选与胶质母细胞瘤预后及免疫相关的铁死亡基因 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59( 3): 506 - 14.  
[5] Xie J, Yang Y, Gao Y, et al. Cuproptosis: mechanisms and links with cancers [J]. *Mol Cancer* 2023 22( 1): 46.  
[6] Chen F, Yang J, Fang M, et al. Necroptosis-related lncRNA to establish novel prognostic signature and predict the immunotherapy response in breast cancer [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36( 4): e24302.  
[7] Pang J, Pan H, Yang C, et al. Prognostic value of immune-related multi-lncRNA signatures associated with tumor microenvironment in esophageal cancer [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 722601.  
[8] He Z, Hu X H, He T Y, et al. Cellular plasticity and fate determination in gastric carcinogenesis [J]. *iScience*, 2024, 27( 4): 109465.  
[9] Ma Y, Liu Y, Pu Y S, et al. LncRNA IGFL2-AS1 functions as a ceRNA in regulating ARPP19 through competitive binding to miR-802 in gastric cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59( 3): 311 - 22.  
[10] Wang H, Shi Y, Chen C H, et al. KLF5-induced lncRNA IGFL2-AS1 promotes basal-like breast cancer cell growth and survival by upregulating the expression of IGFL1 [J]. *Cancer Lett*, 2021, 515: 49 - 62.  
[11] Zha Z, Zhang P, Li D, et al. Identification and construction of a long noncoding RNA prognostic risk model for stomach adenocarcinoma patients [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021: 8895723.  
[12] Liao T, Lu Y, Li W, et al. Construction and validation of a glycolysis-related lncRNA signature for prognosis prediction in stomach adenocarcinoma [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 794621.  
[13] Phyu S M, Tseng C C, Smith T A D. CDP-choline accumulation in breast and colorectal cancer cells treated with a GSK-3-targeting inhibitor [J]. *MAGMA*, 2019, 32( 2): 227 - 35.  
[14] Cicenias J, Kalyan K, Sorokinas A, et al. Roscovitine in cancer and other diseases [J]. *Ann Transl Med* 2015 3( 10): 135.  
[15] Wang X, Veeraraghavan J, Liu C C, et al. Therapeutic targeting of nemo-like kinase in primary and acquired endocrine-resistant breast cancer [J]. *Clin Cancer Res* 2021 27( 9): 2648 - 62.  
[16] Hu W, Zhang Y, Ning J, et al. Anti-tumor effect of AZD8055 against bladder cancer and bladder cancer-associated macrophages [J]. *Heliyon* 2023 9( 3): e14272.

## Construction and validation of a gastric cancer prognosis model based on disulfidptosis-related LncRNAs

Feng Liang<sup>1</sup>, Cao Zhiguo<sup>2</sup>, Shi Xiaoqi<sup>3</sup>, Zhang Qikun<sup>1</sup>, Chen Changyu<sup>1</sup>, Yu Changjun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Gastrointestinal Surgery, <sup>3</sup>Dept of Radiation Oncology, Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Dept of Vascular Surgery, Affiliated Hospital of West Anhui Health Vocational College, Lu'an 237010)

**Abstract Objective** Based on a novel type of cell death induced by disulfide stress, known as disulfidptosis, this

网络出版时间: 2024 - 07 - 18 09: 58: 05 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20240717.1524.015>

## 慢性肾功能衰竭并肌肉减少症大鼠模型的实验研究

郭喜<sup>1</sup>, 翁敏<sup>1</sup>, 祁荟颖<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探究 5/6 肾切除法是否能建立慢性肾功能衰竭并肌肉减少症大鼠模型。方法 大鼠随机分为对照组、假手术组和 5/6 肾切除模型组, 进一步验证慢性肾功能衰竭及肌肉减少症。结果 与假手术组相比: ① 模型组的尿蛋白定性、血肌酐、血尿素氮、血尿酸水平升高 ( $P < 0.05$ ); ② 模型组的肾脏纤维化程度、凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ); ③ 模型组的肌肉力量和功能降低 ( $P < 0.05$ ); ④ 模型组肌肉组织的纤维化程度明显 ( $P < 0.05$ )。结论 通过 5/6 肾切除法可以构建慢性肾功能衰竭并肌肉减少症动物模型, 为进一步防治该疾病提供了实验依据。

**关键词** 5/6 肾切除; 慢性肾功能衰竭; 肌少症; 动物模型

中图分类号 R 361.2

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2024)08 - 1439 - 07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2024.08.022

2024 - 05 - 13 接收

基金项目: 云南省科技厅科技计划项目(编号: 202101AY070001 - 024)

作者单位: 昆明医科大学第一附属医院<sup>1</sup> 临床营养科、<sup>2</sup> 肾内科, 昆明 650032

作者简介: 郭喜, 女, 硕士, 主治医师;

翁敏, 女, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: 1442745711@qq.com

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)是一种对人类健康和生命构成严重威胁的疾病。在我国, CKD 的患者人数约为 1.2 亿, 患病率高达 10.8%。随着人口老龄化加剧以及生活方式的转变, 糖尿病、肥胖等代谢性疾病的流行导致肾功能衰竭患者的数量持续上升。

CKD 患者常因胰岛素抵抗、代谢性酸中毒、透析治疗、炎症反应等多种因素, 而出现肌肉减少症(sarcopenia, SP), 其发生率高达 42%。SP 是一种以肌肉力量减弱、肌肉质量降低及功能衰退为特征的疾病<sup>[1]</sup>。该疾病的发生与代谢失衡、衰老、营养素缺乏及体力活动不足等因素密切相关<sup>[1]</sup>。在 SP 的发展过程中, 患者可能会因骨骼肌显著萎缩而经历跌倒、骨折等风险增加, 从而导致身体残疾、代谢紊乱、认知障碍、住院时间延长等健康风险, 甚至导致死亡。

CKD 伴 SP 会严重影响患者的生活质量, 增加蛋白质 - 能量消耗营养不良及心血管疾病的发生, 从而提高患者的住院率和病死率<sup>[2-3]</sup>。慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是指 CKD 中肾小

study explores the role of long non-coding RNA (LncRNA) in gastric cancer and establishes a prognosis model related to disulfidptosis, providing a new method for assessing the prognosis of gastric cancer treatment. **Methods** Transcriptomic data from gastric cancer and normal tissue samples were obtained from the public database TCGA, and disulfidptosis-related LncRNAs were selected through Pearson analysis and LASSO-Cox regression analysis. A relevant prognostic model for gastric cancer was constructed based on the above LncRNAs and validated by functional enrichment analysis, tumour microenvironment and immune cell infiltration analysis, drug sensitivity analysis and quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR). **Results** In this study, 400 disulfide death-associated LncRNAs were identified and five of them were screened to construct a prognostic model for assessing the prognosis of gastric cancer patients. The models showed in validation that the survival of the high-risk score group was shorter than that of the low-risk score group ( $P < 0.05$ ). In addition, the predictive ability of the prognostic model (AUC = 0.725) was better than that based only on basic characteristics such as age and gender. The expression levels of disulfide death-associated LncRNAs differed between normal and gastric cancer tissues ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** The disulfidptosis-related LncRNA prognosis model developed in this study can effectively assess the prognosis of gastric cancer patients and the tumor microenvironment, providing potential targets and a theoretical basis for new immunotherapeutic strategies for gastric cancer.

**Key words** long non-coding RNA; cell death; gastric cancer