

基于TCGA数据库生物信息学分析构建肾癌N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型及其预后预测价值研究

钟双泽¹, 陈尚金², 林汉胜¹, 罗远成¹, 胡国帆¹, 何京伟¹

(1. 广东医科大学, 广东湛江 524023; 2. 广东医科大学附属阳江医院, 广东阳江 529599)

摘要: **目的** 探究基于癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库生物信息学分析构建肾癌N6-甲基腺苷相关长链非编码RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 配对模型及其预后预测价值。**方法** 从TCGA数据库中下载肾癌的RNA-seq转录组数据及相关临床信息, 后通过Perl软件对转录组数据进行数据整理、分离LncRNA和信使RNA (messenger RNA, mRNA)。总共得到564例肾癌患者的肾癌组织和72例正常组织, 最终纳入540例肾癌患者。使用caret将540例肾癌患者采用随机数据表法分为训练集 ($n=275$) 和验证集 ($n=265$)。根据单因素和多因素COX回归分析建立N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型。以LASSO回归算法获取风险评估方程。根据该方程分别计算出风险评分, 并以中位风险值最佳临界点将所有患者分为高风险组及低风险组。采用Kaplan-Meier生存分析对总体样本中高、低风险组患者的生存差异作出生存曲线图。利用Cluster Profiler软件包中对基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 进行通路富集分析。运用R软件分析N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型与免疫细胞浸润的关系。**结果** 根据Kaplan-Meier生存分析显示, 在训练集中, 低风险组患者总生存期明显高于高风险组患者 ($P < 0.05$)。与高风险组相比, 低风险组G1 ~ 2, G3 ~ 4, I ~ II期、III ~ IV期、年龄 ≤ 65 岁、 > 65 岁患者总生存期较高 ($P < 0.05$)。对高、低风险组获取差异基因富集分析: 主要富集含有肌收缩、横纹肌细胞分化、肌原纤维、受体激活活性、血管平滑肌收缩等。高风险组和低风险组最高的驱动基因进行展示变异频率及变异信息, 其风险评分与T细胞、浆细胞的浸润程度呈正相关 ($r=0.638$, $P=0.001$)。**结论** 基于生物信息学分析N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型有助于预测肾癌患者的预后。为肾癌预后评估和最佳治疗策略提供了新思路, 有助于未来进一步分析胃癌发生及发展的分子机制。

关键词: 肾癌; 生物信息学; N6-甲基腺苷; 长链非编码RNA

中图分类号: R737.11; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 02-068-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.02.013

Construction of N6-methyladenosine Related LncRNA Pairing Model for Renal Cell Carcinoma Based on Bioinformatics Analysis of TCGA Database and Its Prognostic Value Research

ZHONG Shuangze¹, CHEN Shangjin², LIN Hansheng¹, LUO Yuancheng¹, HU Guofan¹, HE Jingwei¹

(1. Guangdong Medical University, Guangdong Zhanjiang 524023, China; 2. Yangjiang Hospital Affiliated to Guangdong Medical University, Guangdong Yangjiang 529599, China)

Abstract: Objective To construct N6-methyladenosine related long non-coding RNA (LncRNA) pairing model for renal cell carcinoma based on bioinformatics analysis of the cancer genome atlas (TCGA) database and to explore its prognosis value.

Methods Transcriptome data of RNA-seq for renal cell carcinoma and its related clinical information were downloaded from the TCGA database. Perl software was used to organize and separate LncRNA and messenger RNA (mRNA) from the transcriptome data. A total of 564 tissues from renal cell carcinoma cases and 72 normal tissues were obtained, and thus 540 renal cancer patients were eventually included. Random data table method was used to divide 540 patients with renal cancer into a training group ($n=275$) and a validation group ($n=265$) by caret. M6A related LncRNA pairing models were established based on the single factor and multivariate COX regression analysis. The risk assessment equation was obtained using the LASSO regression algorithm. The risk scores were calculated based on this equation, and the optimal critical point of the median risk value was applied to divide all patients into high-risk and low-risk groups. Kaplan-Meier survival analysis was used to make a

基金项目: 阳江市科技立项: 单基因在肾癌中的生物信息学及免疫预后相关性分析。

作者简介: 钟双泽 (1997-), 男, 主治医师, 主要从事肾癌医学相关的临床研究, E-mail: 2894452518@qq.com。

通讯作者: 何京伟 (1974-), 男, 主任医师, 主要从事肾癌医学相关的临床研究, E-mail: 18900808800@163.com。

survival curve for the differences between high and low risk groups in the overall sample. The gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were conducted using the Cluster Profiler software package. The relationship between N6-methyladenosine related LncRNA pairing model and immune cell infiltration was analyzed by R software. **Results** Kaplan-Meier survival analysis showed the total survival time of patients in the low-risk group was significantly higher than that of patients in the high-risk group of the training group ($P<0.05$). Compared with high risk group, the overall survival time of patients (G1 ~ 2, G3 ~ 4, I ~ II, or III ~ IV, age ≤ 65 years, or patients >65 years old) in low risk group was higher ($P<0.05$). Differential gene enrichment analysis was obtained for high and low risk groups, which mainly enriched with many differential genes such as muscle contraction, rhabdomytic cell differentiation, myofibril, receptor activation activity, and vascular smooth muscle contraction. The highest driver genes in high risk group and low risk group exhibited mutation frequency and mutation information, and their risk score was positively correlated with the degree of T cell and plasma cell infiltration ($r=0.638$, $P=0.001$). **Conclusion** Bioinformatics-based analysis of the N6-methyladenosine related LncRNA pairing models can be helpful to predict the prognosis of patients with renal cancer. It provides new ideas for the prognosis evaluation and optimal treatment strategy of renal cancer, and contributes to further analyzing the molecular mechanism of the occurrence and development of gastric cancer in the future.

Keywords: renal cell carcinoma; bioinformatics; N6-methyladenosine; long non-coding RNA

肾癌起源于肾小管上皮细胞,是常见的泌尿系统恶性肿瘤之一,其发病率在所有泌尿系统恶性肿瘤中稳居高位^[1]。目前肾癌的临床诊断主要依靠影像学检查,早期常采用手术治疗,中晚期患者以药物治疗为主^[2]。由于早期无明显临床症状,一旦出现症状时,肾癌往往处于较晚期阶段^[3-4]。寻找与早期诊断和预后相关的新生物学标志物是研究的重点。N6-甲基腺苷是存在于所有高等真核生物的mRNA、长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)中最普遍的内部非帽修饰,这些修饰在不同生物过程中起作用,包括调节胚胎干细胞的自我更新和分化,可影响RNA分值的转录、翻译、代谢^[5]。N6-甲基腺苷调节的LncRNA可能对癌症的增殖和转移至关重要。然而,迄今为止鲜有研究利用N6-甲基腺苷相关LncRNA表达谱来预测肾癌患者预后。基于此,本研究通过生物信息学分析N6-甲基腺苷相关LncRNA,构建N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型对肾癌患者预后进行预测。

1 材料与方法

1.1 材料来源 研究所用的数据均来自癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中下载肾癌的RNA-seq转录组数据,并同时下载相对应的临床数据,临床信息主要包括年龄、性别、生存时间、生存状态、组织学分级、肿瘤TNM分期。随后通过Perl软件对转录组数据进行数据整理、分离LncRNA和mRNA。总共得到564例肾癌组织和72例正常组织,纳入标准:①经病理学确诊并诊断为肾癌;②获取关于mRNA表达谱和总生存期信息。最终纳入540例肾癌患者进一步分析。使用caret将540例肾癌患者采用随机数据表法分为训练集和验证集两组,其中训练集患者为275例,验证集患者为265

例。训练集患者年龄30~69(42.82 ± 4.16)岁;男性148例,女性127例;TNM分期:I~II期168例,III~IV期107例;验证集患者30~70(42.95 ± 4.14)岁;男性137例,女性128例;TNM分期:I~II期164例,III~IV期101例。两组年龄、性别、TNM分期均衡可比,差异无统计学意义($t=0.364$, $P=0.735$; $\chi^2=0.243$, 0.036 , $P=0.622$, 0.849)。

根据N6-甲基腺苷相关参考文献确定了“写入器”“擦除器”“读取器”等23个相关基因,并从TCGA数据库中获取相应表达,评估N6-甲基腺苷与LncRNA的相关性。

1.2 方法

1.2.1 肾癌预后N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型的建立: 筛选肾癌患者预后相关的N6-甲基腺苷修饰的LncRNA,在肾癌组织和正常组织其表达水平相差较大,10个LncRNA呈低表达,21个LncRNA呈高表达。在训练集中,对N6-甲基腺苷相关LncRNA使用软件对“生存”R包进行单因素COX回归分析,以 $P<0.05$ 为过滤标准,获取预后相关LncRNA,随后使用LASSO回归通过10倍交叉估计验证惩罚参数,并进一步筛选过渡拟合数据。最后使用多因素COX回归建立N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型。以LASSO回归算法获取风险评估方程:风险回归系数 \times N6-甲基腺苷相关LncRNA表达值总和。根据该方程分别计算出风险评分,并以中位风险值最佳临界点将所有患者分为高风险组、低风险组。

1.2.2 预后风险模型的评估及临床价值分析: 应用Kaplan-Meier生存分析对总体样本中高、低风险组患者的生存差异做出生存曲线图,进行分层确认每组患者总生存期。进一步探讨构建的基于生物信息学分析N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型的准确

性;采用独立变量分别对单因素、多因素回归分析进行评估。分析 N6-甲基腺苷相关预后 LncRNA 的共识聚类与肾癌患者特征和生存期相关性。

1.2.3 功能、基因富集分析:为更好理解高、低风险组的潜在功能及分子机制,进行功能、基因富集分析。利用 Cluster Profiler 软件包中对基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百库全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 进行分析,通路富集,GO 包括生物学过程、细胞组成、分子功能。

1.2.4 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型与免疫细胞浸润的关系分析:采用 MCP-counter, QUANTISER, EPIC 等得到样本中免疫细胞类型比例,将样本按照千次排列算法计算每个患者的免疫细胞浸润水平。基于 B 细胞特异性 LncRNA 特征证实肾癌细胞浸润参与了肾癌的发展与预后相关,并评估两组免疫细胞浸润程度。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件、R4.0.2 软件、Perl 软件进行分析处理。采用 Mann-Whitney *U* 检验计算筛选获取 N6-甲基腺苷相关 LncRNA。采用 Pearson 相关性分析临床病理特征、免疫浸润程度相关性。运用 LASSO 回归、单因素、多因素分析构建 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型。采用 ROC 曲线评估基于生物信息学分析 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型构建及肾癌患者预后预测。采用 Kaplan-Meier 生存分析对总体样本中高、低风险组患者的生存差异作出生存曲线图, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选肾癌患者预后 N6-甲基腺苷相关的 LncRNA 数据集中筛选出与肾癌患者总生存期相关的 N6-甲基腺苷相关 LncRNA,在肾癌组织和正常组织其表达水平相差较大,见图 1。与正常邻近组织相比,肾癌组织中 CASC15, THBS4-AS1, AC092614.1, DN3M3OS, LINC01354, AP001189.3, AL049838.1, AP000894.2, CHROMR, AL121821.2, HAGLR, AC020550.2, AC008808.1, FLJ42969, AL590705.3, GAS1RR, AL139147.1, LINC01537, AC009961.3, AL133482.1, AP001189.1 表达水平较高;而 LRNC00571, FAM160A1-DT, AC073896.3, AL445231.1, THAP9-AS1, AC011476.3, LINC00412, AC016394.2, REPIN1-AS1, AL513165.1 表达水平较低,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.2 构建肾癌预后 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型 通过 LASSO 回归获取相关 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 与肾癌患者总生存期相关因素,利

用多因素 COX 回归分析进行分析。使用 LASSO 算法得到的系数计算 TCGA 训练集和验证集的风险评分,计算公式:风险评分 = $1.754\ 3 \times \text{THBS4}$ 表达水平 + $0.546\ 9 \times \text{LRNC00571}$ 表达水平 + $1.345\ 5 \times \text{FAM160A1-DT}$ 表达水平 + $0.625\ 4 \times \text{AC009948.2}$ 表达水平 + $1.880\ 6 \times \text{AC011476.3}$ 表达水平 + $0.469\ 1 \times \text{AL133243.3}$ 表达水平 + $0.659\ 2 \times \text{DNM3OS}$ 表达水平 + $0.689\ 2 \times \text{FLJ42969}$ 表达水平 + $0.265\ 4 \times \text{AP001189.1}$ 表达水平。根据该方程计算患者风险评分,以中位风险值最佳临界点将所有患者分为高风险组、低风险组。表 1 及图 2 所示,在低风险组中肾癌患者存活人数高于高风险组,风险值与存活人数呈反比,根据 Kaplan-Meier 生存分析显示,在训练组中,低风险组患者总生存期明显高于高风险组患者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

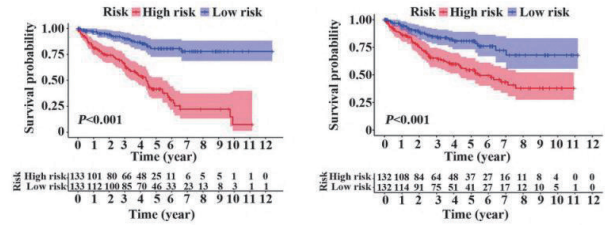
	Pvalue	Hazard ratio
CASC15	0.019	1.879(1.108-3.189)
THBS4-AS1	0.026	1.418(1.043-1.928)
LINC00571	0.011	0.473(0.266-0.840)
AC092614.1	0.044	1.468(1.011-2.131)
FAM160A1-DT	0.037	0.770(0.602-0.985)
AC073896.3	0.008	0.645(0.465-0.894)
AL445231.1	0.016	0.517(0.303-0.884)
DNM3OS	0.034	1.291(1.020-1.635)
THAP9-AS1	0.037	0.776(0.612-0.985)
LINC01354	0.050	1.590(1.001-2.528)
AC011476.3	0.030	0.702(0.510-0.967)
AP001189.3	0.032	1.227(1.018-1.480)
AL049838.1	0.007	1.419(1.100-1.829)
AL121821.2	0.015	2.835(1.223-6.573)
CHROMR	0.048	1.342(1.002-1.797)
AP000894.2	0.007	2.066(1.216-3.509)
HAGLR	0.005	1.227(1.063-1.417)
AC020550.2	0.030	1.588(1.045-2.414)
AC008808.1	0.005	2.195(1.267-3.802)
LINC00412	0.048	0.648(0.421-0.996)
FLJ42969	0.049	1.551(1.002-2.401)
AC016394.2	0.017	0.726(0.558-0.944)
AL590705.3	0.010	1.688(1.132-2.516)
GAS1RR	0.028	1.542(1.048-2.267)
AL139147.1	0.011	1.786(1.144-2.788)
REPIN1-AS1	0.025	0.752(0.586-0.965)
LINC01537	0.032	1.632(1.042-2.557)
AL513165.1	0.046	0.774(0.602-0.995)
AC009961.3	0.036	1.362(1.021-1.818)
AL133482.1	0.007	1.680(1.149-2.457)
AP001189.1	0.046	1.390(1.006-1.921)

图 1 肾癌患者总生存期相关的 N6-甲基腺苷修饰的 LncRNA

2.3 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 预后风险模型的评估分析 见图 3。为更好评估 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 对肾癌患者预后能力,进行分层确认每组患者总生存期。与高风险组相比,低风险组 G1 ~ 2, G3 ~ 4, I ~ II 期, III ~ IV 期, 年龄 ≤ 65 岁, >65 岁患者总生存期较高,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。数据表明 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 可作为肾癌患者的预测指标。

表1 多因素 COX 回归分析肾癌预后风险相关 LncRNA

LncRNA	风险评分系数	HR	95%CI	P
THBS4	1.754 3	0.657	0.469 ~ 0.864	0.042
LRNC00571	0.546 9	0.468	0.264 ~ 0.629	0.001
FAM160A1-DT	1.345 5	1.247	1.039 ~ 1.468	0.045
AC009948.2	0.625 4	1.359	1.124 ~ 1.627	0.040
AC011476.3	1.880 6	2.164	1.896 ~ 2.346	0.001
AL133243.3	0.469 1	1.597	1.301 ~ 1.877	0.032
DNM3OS	0.659 2	1.648	1.345 ~ 1.921	0.031
FLJ42969	0.689 2	1.549	1.206 ~ 1.924	0.036
AC016394.2	1.120 3	2.648	2.349 ~ 2.967	0.001
AL133482.1	0.235 4	1.614	1.298 ~ 1.899	0.038
AC092614.1	0.615 6	1.752	1.489 ~ 2.033	0.006
LINC01354	0.582 0	1.649	1.427 ~ 1.954	0.005
AL513165.1	0.867 5	2.688	2.416 ~ 2.957	0.001
FLJ42969	0.536 4	1.665	1.346 ~ 1.948	0.031
AL133482.1	0.9523	2.696	2.468 ~ 2.969	0.001
AP001189.1	0.265 4	1.958	1.724 ~ 2.247	0.001



左：基于训练集的风险评分总生存期；右：基于验证集的风险评分总生存期

图2 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 风险评分及其对肾癌患者预后的影响

2.4 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型预后临床价值分析 根据 N6-甲基腺苷相关预后 LncRNA 水平表达与模糊聚类的相似性，聚类稳定性在 $k=2 \sim 9$ 间具有较好的稳定性。

2.5 功能、基因富集分析 对高、低风险组获取 439 个差异基因富集分析：主要富集含有肌收缩、横纹肌细胞分化、肌原纤维、受体激活活性、血管平滑肌收缩等。

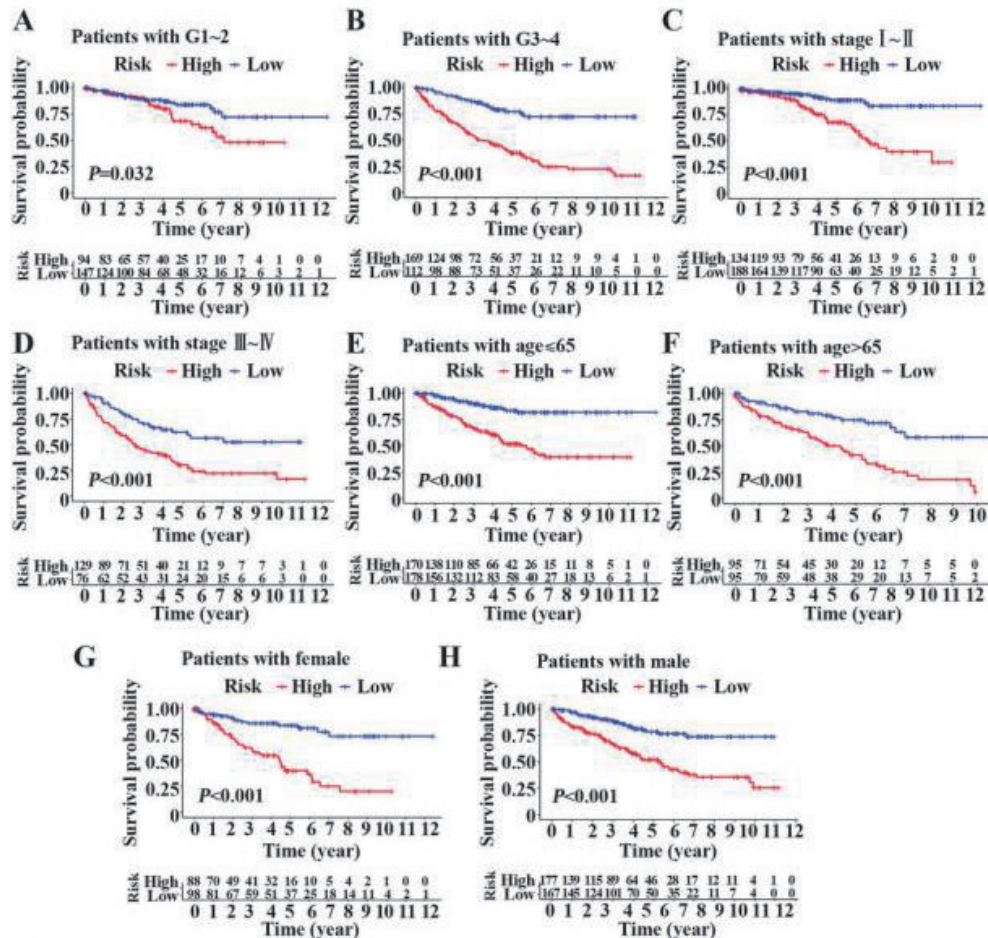


图 A ~ D：高风险肾癌患者在 G1 ~ 2 和 G3 ~ 4，I ~ II 期和 III ~ IV 期亚组的总生存期；图 E ~ F：年龄 ≤ 65 岁或 > 65 岁患者总生存期；图 G ~ H：不同性别总生存期。

图3 模型验证的生存曲线和多变量独立预后分析

2.6 分析 N6-甲基腺苷相关 LncRNA 配对模型与免疫细胞浸润的关系 运用 R 软件对数据库突变数

据进行分析汇总，高风险组和低风险组最高的驱动基因进行展示变异频率及变异信息，其风险评分与

T细胞、浆细胞的浸润程度呈正相关($r=0.638, 0.657$, $P=0.001$)。

3 讨论

肾癌可发生肾实质任何部位,其中透明细胞癌最为常见,其致病原因尚未阐明,但有部分资料显示与吸烟、病毒、射线等因素有关。由于肾癌早期临床症状不明显,定期体检有助于患者及时发现病情,尽早治疗^[6]。目前来说治疗肾癌的主要方式是外科手术,随着对肾肿瘤认识的深入,近十年来,迅速进展的靶向药物治疗技术和近年来发现的免疫治疗方法给转移性肾癌的防治带来了全新的方式和策略,未来还需要在靶向分子和免疫检查节点等方向进一步研究肾癌的分子病理、遗传和免疫相关的机制,为肾癌的临床诊治提供理论基础。

肿瘤的发生具有复杂的调控机制,同一种肿瘤的致癌基因和分子机制也可能存在着不同。病理分期是临床上预测肾癌预后的关键依据。然而,相同分期的患者预后不同,表明目前的分期系统在反映肾癌的异质性方面不甚准确。随着科学技术的不断发展,越来越多N6-甲基腺苷修饰的LncRNAs将被发现,基于此开展相关试验^[7]。RNA具有100多种修饰,在绝大多数真核生物中,5'的Cap以及3'的polyA修饰在转录调控中起到了十分重要的作用,mRNA在5'的Cap处存在甲基化修饰,3'polyA发生的修饰有助于出核转运、翻译起始以及与polyA结合蛋白一起维持mRNA的结构稳定^[8]。N6-甲基腺苷修饰是在甲基转移酶介导下发生的S-腺苷甲硫氨酸第六位氮原子上的甲基化修饰,随后通过N6-甲基腺苷结合蛋白及去甲基化酶进行后续修饰调控。N6-甲基腺苷的修饰过程是可逆的、动态的,N6-甲基腺苷修饰的mRNA和LncRNAs使其具有多种功能,能够影响mRNA的代谢并且调控RNA转录,从细胞核到细胞质的输出、剪切、衰变及翻译,是真核生物中最丰富的修饰^[9]。研究表明,N6-甲基腺苷修饰及其相关蛋白在肝癌、肾癌、胃癌等恶性肿瘤的发展中均起着至关重要作用^[10]。LncRNAs是特殊的非编码RNA序列,长度超过200个核苷酸,通常在人类基因组中转录与多种疾病的发生与发展以及预后高度相关^[11]。N6-甲基腺苷甲基化复合体由核心甲基转移酶样蛋白3及其接头组成,将N6-甲基腺苷添加到细胞核中的靶RNA上,在细胞质中,LncRNA能够与蛋白质互作,调节其功能,与不同特异性阅读器蛋白结合,介导LncRNA的稳定、翻译和衰退^[12-13]。N6-甲基腺苷的失调驱动异常的转录和翻译程序,促进癌症的发生和发展^[14]。N6-甲基腺苷能够加速mRNA前体的加工时间,加快LncRNA在细胞中的转运速度和出核速度^[15]。

N6-甲基腺苷相关LncRNA配对模型对调节肿瘤的免疫原性和参与抗肿瘤反应的免疫细胞及在基因表达调控中的功能方面起关键作用^[16]。

为预测肾癌患者的预后情况,在TCGA数据库中筛选N6-甲基腺苷相关LncRNA构建配对模型^[17]。根据该方程分别计算出两组患者风险评分,以中位风险值最佳临界点将所有患者分为高风险组、低风险组。本文研究中,使用COX回归对肾癌患者总生存率具有显著影响,其中,LRNC00571, DN3M3OS, HAGLR, FLJ42969, GAS1RR和REPIN1-AS1对肿瘤的进展具有重要的调控作用。多基因预后预测模型预测能力优于单基因模型^[16, 18]。LRNC00571是一种关键的免疫相关LncRNA,其表达与N期呈正相关,可能通过剪接途径影响肾癌患者预后。这些LncRNA可能是预测肾癌患者预后的潜在生物标志物。因此,本研究结果可能有助于识别与N6-甲基腺苷相关的LncRNA,为深入了解其在肾癌中发生、发展的潜在作用提供见解。N6-甲基腺苷相关预后LncRNA水平表达与模糊聚类的相似性,与肾癌患者特征和生存期具有相关性。高风险组、低风险组的风险评分与T细胞、浆细胞的浸润程度呈正相关,巨噬细胞中的甲基转移酶样蛋白3通过靶向Toll样受体4(TLR4)的抑制因子,促进促炎细胞因子的产生,而重塑肿瘤微环境并抑制肿瘤的进展^[19]。T细胞中的甲基转移酶样蛋白3抑制肾癌组织中细胞因子信号转导抑制蛋白表达,从而促进CD4⁺T细胞的动态平衡和分化^[20]。甲基转移酶样蛋白3介导的N6-甲基腺苷甲基化促进巨噬细胞中Ebi3的降解,促进CD8⁺T细胞活化,抑制肿瘤生长^[21]。调节性T细胞通过N6-甲基腺苷修饰降低细胞因子信号转导抑制蛋白的稳定性,激活信号通路,抑制了T细胞效应细胞因子的分泌,降低了肿瘤微环境中效应T细胞的抗肿瘤反应^[22]。CD4⁺记忆T细胞、CD8⁺T细胞、Treg和滤泡辅助T细胞与风险评分呈正相关。TME中浸润的活化CD4⁺记忆T细胞、CD8⁺T细胞、Treg和滤泡辅助性T细胞的减少可能不利于肾癌的预后。

综上所述,本研究构建肾癌预后相关的N6-甲基腺苷修饰的LncRNA模型,为预测肾癌提供了生物标志物和治疗靶点,并为未来对LncRNA的N6-甲基腺苷修饰机制的研究提供见解。然而,本研究也存在一些缺陷和局限性,N6-甲基腺苷修饰相关LncRNA的生物学机制尚未完全阐明。因此,在后续工作中收集临床数据并扩大样本量,通过外部试验验证模型的准确性。

参考文献:

[1] LI Fengzhi, ALJAHDAI I A M, ZHANG Renyuan,

- et al. Kidney cancer biomarkers and targets for therapeutics: survivin (BIRC5), XIAP, MCL-1, HIF1 α , HIF2 α , NRF2, MDM2, MDM4, p53, KRAS and AKT in renal cell carcinoma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2021, 40(1): 254.
- [2] TIAN Xi, XU Wenhao, XU Fujian, et al. Identification of prognostic biomarkers in papillary renal cell carcinoma and PTTG1 may serve as a biomarker for predicting immunotherapy response[J]. *Annals of Medicine*, 2022, 54(1): 211-226.
- [3] GUI Chengpeng, WEI Jinhuan, CHEN Yuhang, et al. A new thinking: extended application of genomic selection to screen multiomics data for development of novel hypoxia-immune biomarkers and target therapy of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, 22(6): bbab173.
- [4] DUDANI S, DE VELASCO G, WELLS J C, et al. Evaluation of clear cell, papillary, and chromophobe renal cell carcinoma metastasis sites and association with survival[J]. *JAMA Network Open*, 2021, 4(1): e2021869.
- [5] HASANOV E, YEBOA D N, TUCKER M D, et al. An interdisciplinary consensus on the management of brain metastases in patients with renal cell carcinoma[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2022, 72(5): 454-489.
- [6] WANG Qi, TANG Hanmin, LUO Xuehui, et al. Immune-associated gene signatures serve as a promising biomarker of immunotherapeutic prognosis for renal clear cell carcinoma[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 890150.
- [7] REUSTLE A, MENIG L S, LEUTHOLD P, et al. Nicotinamide-N-methyltransferase is a promising metabolic drug target for primary and metastatic clear cell renal cell carcinoma[J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2022, 12(6): e883.
- [8] WANG Bingran, XUE Yizheng, ZHAI Wei. Integration of tumor microenvironment in patient-derived organoid models help define precision medicine of renal cell carcinoma[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 902060.
- [9] COOLEY L S, RUDEWICZ J, SOULEYREAU W, et al. Experimental and computational modeling for signature and biomarker discovery of renal cell carcinoma progression[J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20(1): 136.
- [10] HUA Shan, XIE Zhiwen, ZHANG Yongqing, et al. Identification and validation of an immune-related gene prognostic signature for clear cell renal carcinoma[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 869297.
- [11] 岳蔷薇, 徐乐, 张东升. 基于 YTHDC2, IGF2BP2 和 HNRNPC 的头颈部鳞状细胞癌 N6-甲基腺苷风险模型构建及临床应用评估[J]. *华西口腔医学杂志*, 2022, 40(6): 704-709.
- YUE Qiangwei, XU Le, ZHANG Dongsheng. Construction and clinical evaluation of N6-methyladenosine risk signature of YTHDC2, IGF2BP2, and HNRNPC in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2022, 40(6): 704-709.
- [12] 高明珠, 王进有, 张涛, 等. 肾癌组织 YAP1/TAZ 蛋白表达与临床病理特征及患者远期生存的相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(6): 1-6, 51.
- GAO Mingzhu, WANG Jinyou, ZHANG Tao, et al. Study on the expressions of YAP1/TAZ proteins in renal cell carcinoma and its relationships with clinicopathology and long-term survival of patients[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(6): 1-6, 51.
- [13] 肖胜英, 闫志广, 曾福仁, 等. N6-甲基腺苷相关 LncRNAs 是预测肾癌患者预后和免疫浸润的潜在生物标志物[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(19): 2358-2365.
- XIAO Shengying, YAN Zhiguang, ZENG Furen, et al. N6-methyladenosine-related LncRNAs are potential biomarkers for predicting prognoses and immune infiltrates in patients with renal cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2022, 38(19): 2358-2365.
- [14] 韦韡, 张雯, 曹飞. N6-甲基腺苷甲基化对结直肠癌癌细胞中程序性死亡配体 1 表达的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(3): 391-394.
- WEI Wei, ZHANG Wen, CAO Fei. Effect of N6-methyladenosine methylation on the expression of programmed death ligand 1 in colorectal cancer cells[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2023, 39(3): 391-394.
- [15] 王小艳, 崔洪银, 谢青文, 等. N6-甲基腺苷依赖性 pri-miR-17-92 成熟激活 AKT/mTOR 途径促进子宫内膜癌进展[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2022, 16(6): 698-702.
- WANG Xiaoyan, CUI Hongyin, XIE Qingwen, et al. N6-methyladenosine-dependent pri-miR-17-92 mature activates AKT/mTOR pathway to promote endometrial cancer progression[J]. *Chinese Journal of Endocrine Surgery*, 2022, 16(6): 698-702.
- [16] 李念燊, 韩杏倩, 何金阳, 等. 基于 N6-甲基腺苷相关长链非编码核糖核酸表达的喉鳞状细胞癌预后分析[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2023, 29(1): 81-91.
- LI Nianshen, HAN Xingqian, HE Jinyang, et al. Prognostic analysis of laryngeal squamous cell carcinoma based on the expression of N6-methyladenosine-related LncRNAs[J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-skull Base Surgery*, 2023, 29(1): 81-91.
- [17] 阎柄睿, 王鹏, 李雨珊, 等. m6A 修饰调控 RP11-426A6.5 在喉鳞状细胞癌中的作用及机制研究[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2022, 57(12): 1470-1478.
- YAN Bingrui, WANG Peng, LI Yushan, et al. Roles and mechanisms of m6A modification regulating RP11-426A6.5 in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 2022, 57(12): 1470-1478.
- [18] 倪书勤, 何元. N6-甲基腺苷诱导 LncRNA PVT1 靶向作用 MYC 对氯胺酮治疗的乳腺癌细胞干性的影响[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2022, 16(2): 174-179.

- NI Shuqin, HE Yuan. Effects of N6-methyladenosine-induced LncRNA PVT1 targeting MYC on the stemness of ketamine-treated breast cancer cells[J]. Chinese Journal of Endocrine Surgery, 2022, 16(2): 174-179.
- [19] 刘宁, 江帆, 陈之巨, 等. M6A 甲基化调控因子对结直肠癌预后及细胞生物学行为的影响[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(11): 1126-1135.
- LIU Ning, JIANG Fan, CHEN Zhiju, et al. Effects of N6-methyladenosine methylation regulators on prognosis and cell biological behaviors of colorectal cancer[J]. Journal of Third Military Medical University, 2022, 44(11): 1126-1135.
- [20] 刘郴郴, 宋正帅, 章小平. 肾透明细胞癌舒尼替尼耐药的分子标志物筛选及相关生物学功能分析[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2021, 50(2): 142-151.
- LIU Chenchen, SONG Zhengshuai, ZHANG Xiaoping. Screening of new biomarkers for sunitinib resistance in clear cell renal cell carcinoma and analysis of related biological functions[J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ Et Technologiæ Huazhong(Medical Edition), 2021, 50(2): 142-151.
- [21] 邹元章, 卢倅, 陈兵海. 基于生物信息学分析 miR-130b-3p 在肾透明细胞癌中的表达、靶基因及预后价值[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(13): 1614-1618.
- ZOU Yuanzhang, LU Qiu, CHEN Binghai. Expression, target genes and prognostic value of miR-130b-3p in renal clear cell carcinoma based on bioinformatics method[J]. Chinese Journal of Immunology, 2021, 37(13): 1614-1618.
- [22] 张文珺, 牛小伟, 刘永铭. N6-甲基腺苷甲基化在射血分数保留性心力衰竭中的作用的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2022, 43(1): 44-47.
- ZHANG Wenjun, NIU Xiaowei, LIU Yongming. Role of N6-methyladenosine methylation in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Advances in Cardiovascular Diseases, 2022, 43(1): 44-47.
- 收稿日期: 2023-09-02
修回日期: 2023-11-08
-
- (上接第 50 页)
- [12] EVISON M, ASTRAZENECA U L. The current treatment landscape in the UK for stage III NSCLC[J]. British Journal of Cancer, 2020, 123(Suppl 1): 3-9.
- [13] 宗曾艳. 非编码 RNA 及 DNA 甲基化在鼻咽癌中的作用机制研究[D]. 安徽: 安徽理工大学, 2021: 1-53.
- ZONG Zengyan. Analysis on the mechanism of non-coding RNA and DNA methylation in nasopharyngeal carcinoma[D]. Anhui: Anhui University of Science & Technology, 2021: 1-53.
- [14] YANG Wuping, ZHANG Kenan, ZHANG Zedan, et al. Claudin-10 overexpression suppresses human clear cell renal cell carcinoma growth and metastasis by regulating ATP50 and causing mitochondrial dysfunction[J]. International Journal of Biological Sciences, 2022, 18(6): 2329-2344.
- [15] XIANG Zhaolan, ZHONG Cheng, CHANG Aoshuang, et al. Immune-related key gene CLDN10 correlates with lymph node metastasis but predicts favorable prognosis in papillary thyroid carcinoma[J]. Aging(Albany NY), 2020, 12(3): 2825-2839.
- [16] 徐争光, 李灿植, 李晓, 等. 基于数据挖掘分析 CLDN10 基因在肾透明细胞癌的表达及临床意义[J]. 海南医学, 2021, 32(20): 2589-2596.
- XU Zhengguang, LI Canxuan, LI Xiao, et al. Analysis of CLDN10 gene expression and clinical significance in clear cell renal cell carcinoma based on data mining[J]. Hainan Medical Journal, 2021, 32(20): 2589-2596.
- [17] 袁刚军, 韩娜, 谭星亮, 等. 肿瘤微环境中 M2 巨噬细胞调控 CLDN10 通路促进膀胱癌细胞的上皮-间质转化[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(23): 2525-2531.
- YUAN Gangjun, HAN Na, TAN Xingliang, et al. M2 macrophages promotes bladder cancer EMT through CLDN10 involved signaling pathway in tumor micro-environment[J]. Journal of Third Military Medical University, 2021, 43(23): 2525-2531.
- [18] ZHUANG Xinguo, JI Wenxiao, FANG Ziqian, et al. Claudin-10 in the blood brain barrier function of cerebral endothelial cells and transendothelial invasion of breast cancer cells[J]. Anticancer Research, 2023, 43(9): 3923-3934.
- [19] ZHANG Hongyu, WU Zhenyu, HU Deyu, et al. Immunotherapeutic targeting of NG2/CSPG4 in solid organ cancers[J]. Vaccines, 2022, 10(7): 1023.
- [20] 李军彦, 陈文超, 李中辉, 等. 胰腺导管腺癌中 PTK7, CSPG4 表达及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(6): 880-883.
- LI Junyan, CHEN Wenchao, LI Zhonghui, et al. Expression and clinical significance of PTK7 and CSPG4 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Practical Journal of Cancer, 2022, 37(6): 880-883.
- [21] 谢奇, 樊鑫梅, 韩永红, 等. Lnc-NEAT1 通过 miR-29c-3p/CSPG4 信号轴调节黑色素瘤 B16 细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2023, 43(4): 492-501.
- XIE Qi, FAN Xinmei, HAN Yonghong, et al. Lnc-NEAT1 regulates the proliferation, migration and invasion of melanoma B16 cells through the miR-29c-3p/CSPG4 signaling axis[J]. Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences), 2023, 43(4): 492-501.
- [22] 张玲玲, 张小霞, 於潇潇, 等. 非小细胞肺癌患者血浆 miR-520f, miR-143-3p 表达与病理特征和预后的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(3): 69-72, 78.
- ZHANG Lingling, ZHANG Xiaoxia, YU Xiaoxiao, et al. Correlation study on plasma miR-520f and miR-143-3p expression with pathological features and prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(3): 69-72, 78.
- 收稿日期: 2023-09-07
修回日期: 2023-10-27