

· 基础研究 ·

骨肉瘤铁死亡相关非编码 RNA 基因预测及免疫浸润[△]

魏建全¹, 邹永刚¹, 李扬², 王勇平^{3*}

(1. 河西学院附属张掖人民医院骨科, 甘肃张掖 734000; 2. 兰州大学第二医院骨科, 甘肃兰州 730000;
3. 兰州大学第一医院骨科, 甘肃兰州 730000)

摘要: [目的] 探讨预测铁死亡相关 lncRNA, 并构建骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 预后预测模型及其竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 调控网络。[方法] 从大型数据库 TARGET 下载高通量测序数据及对应的临床数据。运用 R 软件过滤低丰度基因并整理对应的临床信息后获得 85 例测序数据, 提取 lncRNA 和 FRGs。基因本体论 (GO) 功能和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。对最终筛选得到的 lncRNA、miRNA 以及 FRGs 基因进行 Spearman 相关性分析。[结果] 从 TARGET-OS 数据集中提取到 7 658 个 lncRNA 和 175 个 FRGs, 得到了 1 158 个与铁死亡显著相关的 lncRNA。GO 分析结果表明, CC 主要包括细胞外基质组织、成骨、细胞-基质粘附、受体介导的内吞作用; BP 主要包括细胞-基底连接、黏着斑、含胶原蛋白的细胞外基质、细胞接触前缘、游离核糖体。发现 lncRNA PVT1 与 miRNA (hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20a-5p) 有确定结合靶点, 进一步分析发现, lncRNA PVT1 基因与 OS 免疫有关 ($R=-0.27, P=0.014$)。高风险组 PDCD1LG2 和 CD27 表达量低于低风险组 (T -test, $P<0.05$)。[结论] 铁死亡相关 lncRNA 预后模型具有较好的预测能力, 为优化 OS 的管理提供了依据。铁死亡相关 lncRNA ceRNA 网络, 可能为 OS 发生发展的分子机制提供有价值的技术支持。

关键词: 骨肉瘤, lncRNA, ceRNA, 铁死亡, 免疫浸润

中图分类号: R738.1 文献标志码: A 文章编号: 1005-8478 (2023) 18-1703-06

A ferroptosis-associated lncRNA genes-based prediction and immune infiltration in osteosarcoma // WEI Jian-tong¹, ZOU Yong-gang¹, LI Yang², WANG Yong-ping³. 1. Department of Orthopaedics, People's Hospital of Zhangye City, Hexi University, Zhangye 734000, China; 2. Department of Orthopaedics, The Second Affiliated Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Department of Orthopaedics, The First Affiliated Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: [Objective] To explore the prognostic model of lncRNA for osteosarcoma (OS), and create competing endogenous RNA (ceRNA) regulatory networks. **[Methods]** High-throughput sequencing data and corresponding clinical data were downloaded from the TARGET database after R software was used to filter low-abundance genes and collate corresponding clinical information, sequencing data of 85 cases were obtained, and lncRNA and FRGs were extracted. Gene Ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were conducted and the lncRNA, miRNA and FRGs genes were finally screened by Spearman correlation analysis. **[Results]** A total of 7 658 lncRNA and 175 FRGs were extracted from the TARGET-OS database and 1 158 lncRNAs were significantly associated with ferroptosis. GO analysis showed that CC mainly involved extracellular matrix, osteogenesis, cell-matrix adhesion and receptor-mediated endocytosis, while BP mainly involved cell-base junction, adhesion plaque, extracellular matrix containing collagen, cell contact front and free ribosome. lncRNA PVT1 was found to have certain binding targets with miRNA (hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20a-5p). Further analysis showed that lncRNA PVT1 gene was associated with OS immunity ($R=-0.27, P=0.014$). The expressions of PDCD1LG2 and CD27 in high-risk group were lower than those in low-risk group (T -test, $P<0.05$). **[Conclusion]** The prognosis model of lncRNA related to ferroptosis has good predictive ability, which provides a basis for optimizing the management of OS. lncRNA ceRNA networks related to ferroptosis may provide valuable data support for the molecular mechanism of OS occurrence and development.

Key words: osteosarcoma, lncRNA, ceRNA, ferroptosis, immune infiltration

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.18.13

[△]基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (编号: 22JR5RG570); 河西学院校长基金青年项目 (编号: QN2022006); 兰州市人才创新创业项目 (编号: 2021-RC-114); 兰州大学第一医院科研计划项目 (编号: LDYYN2021-12)

作者简介: 魏建全, 副主任医师, 研究方向: 骨科基础研究, (电话) 13321360016, (电子信箱) 792326556@qq.com

* 通信作者: 王勇平, (电话) 13519407076, (电子信箱) wangyp312@163.com

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是儿童和成人最常见的恶性骨肿瘤, 恶性程度高并易转移, 由于晚期 OS 患者对部分化疗药物的耐药性, 给临床治疗带来了更大的挑战^[1, 2]。特别是出现合并转移的 OS 至今仍是治疗难点^[3]。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 几乎参与细胞中所有的生理活动, 其已成为疾病诊断、治疗和预后的潜在新标志物和治疗靶点, 在 OS 发生和发展中具有重要作用^[4-6]。研究发现促进肿瘤细胞发生铁死亡在一定程度上可降低肿瘤治疗中的耐药性^[7-10], 目前 OS 铁死亡相关 lncRNA 与免疫浸润在 OS 中的作用有待研究。因此, 本文从 lncRNA 调控铁死亡角度出发, 以期对 OS 的诊断与治疗提供潜在靶点, 同时也为研究铁死亡相关 lncRNA 在 OS 中的作用机制提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 数据来源

从数据库 (Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments, TARGET) (<https://ocg.cancer.gov/programs/target>) 下载高通量测序数据及对应的临床数据, 共 93 例测序数据 (包括 lncRNA、mRNA 和 miRNA 测序数据) 及相关临床数据。从 FerrDb 数据库 (<http://www.datjar.com:40013/bt2104/download/>) 中获得 255 个铁死亡驱动基因 (Ferroptosis-related genes, FRGs)。从 CIBERSORTx 在线网站 (<https://cibersortx.stanford.edu/>) 获取 OS 中 22 种免疫细胞浸润数据。

1.2 铁死亡相关 lncRNA 预后特征的建立及验证

运用 R 软件 (版本: 4.0.2) 过滤低丰度基因并整理对应的临床信息后获得 85 例测序数据, 提取 lncRNA 和 FRGs, 以斯皮尔曼相关系数 ($P \leq 0.001$, $cor > 0.3$) 筛选与 FRGs 显著相关的 lncRNA, 并对其单因素 Cox 分析。随后, 采用 R 软件中 “glmnet” 包以 lambda 最小时的系数进行 lasso 回归分析以及多因素 Cox 回归分析^[11, 12]。最后, 计算每个 OS 患者的风险评分, 根据风险评分将 OS 患者分为高、低风险组, 通过 R 软件中 “timeROC”、“rms” 程序包构建 1、3、5 年受试者工作特征曲线、列线图和校准曲线^[13]。

1.3 基因富集分析

采用 R 软件中 “limma” 程序包对高、低风险组的差异表达基因进行鉴定, 筛选标准为 $|\log_2FC| > 1$ 且 P -Value < 0.05 , $\log_2FC > 1$ 的差异基因被认为是上调基

因, $\log_2FC < -1$ 的差异基因被认为是下调基因。为了进一步揭示对高、低风险组的差异表达基因的重要功能和生物学途径, 作者对其进行了基因本体论 (GO) 功能和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。GO 是一种常用的基因注释和功能基因组学分析方法, 包括细胞成分 (cellular component, CC)、生物学过程 (biological process, BP) 和分子功能 (molecular function, MF)^[14]。KEGG (<http://www.genome.jp/>) 是一个广泛使用的数据库, 存储了大量关于基因组信息与生物途径、化学物质、疾病和药物的数据^[15]。利用 R 软件中的 “clusterProfiler” “org.Hs.eg.db” “ggplot2” 程序包对差异表达基因进行 GO 和 KEGG 通路富集分析及可视化, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

1.4 构建 OS 铁死亡相关的 lncRNA ceRNA 网络及验证

对最终筛选得到的 lncRNA、miRNA 以及 FRGs 基因进行斯皮尔曼相关性分析 ($P \leq 0.001$, $cor > 0.5$), 构建 OS ceRNA 调控网络。为了进一步验证构建的铁死亡相关的 lncRNA ceRNA 网络, 通过 RNA 交互百科全书 (The Encyclopedia of RNA Interactomes, ENCORI) 网站 (<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 验证 microRNA 和 lncRNA 验证结合位点序列。

1.5 OS 与免疫微环境

ESTIMATE 是一种基于基因表达数据预测肿瘤纯度和 TME 中浸润基质细胞/免疫细胞的工具, 该算法基于单样本基因集富集分析 (ssGSEA), 生成 3 个评分, 分别是基质细胞评分、免疫细胞评分和 ESTIMATE 评分^[16]。将 OS 基因表达数据集上传到 CIBERSORT 网站门户网站 (<http://cibersort.stanford.edu/>), 该算法基于 1 000 种排列下的默认 signature 矩阵。在 CIBERSORT (Perm=1 000) 中, 将基因表达基质转化为免疫细胞基质, 基因过滤标准为 ($P < 0.05$), 然后对 22 个免疫细胞组分的基质进行可视化。

2 结果

2.1 铁死亡相关 lncRNA 预后特征的建立及验证

从 TARGETOS 数据集中提取到 7 658 个 lncRNA 和 175 个 FRGs, 根据斯皮尔曼相关系数 ($P \leq 0.001$, $cor > 0.3$) 得到了 1 158 个与铁死亡显著相关的 lncRNA。通过单因素 Cox 分析确定了 85 个 OS 预后有关的 lncRNA。考虑到得到的基因较多, 作者通过

lasso 回归分析联合多因素 Cox 分析进一步筛选关键基因，最后得到 8 个关键 lncRNA (表 1) 随后作者计算每个 OS 患者的风险评分并为高、低风险组。生存分析表明，低风险组 45 例患者的总生存期显著优于 40 例高风险组患者 ($P<0.001$)。通过时间依赖性 ROC 分析评估预后模型的预测效率，其中，1、3、5 年的 ROC 曲线下面积分别为 81.6、88.3 和 91.4 (图 1)。

表 1 骨肉瘤铁死亡相关的独立预后 lncRNA 多因素 Cox 分析

基因	OR	95%CI		P 值
		下限	上限	
GAS5	1.94	1.34	2.79	<0.001
UNC5B-AS1	1.55	1.24	1.92	<0.001
AC096564.1	1.92	1.36	2.71	<0.001
SNHG6	2	1.34	2.98	<0.001
PVT1	1.54	1.21	1.97	<0.001
EDIL3-DT	0.63	0.49	0.79	<0.001
LINC00565	0.72	0.62	0.84	<0.001
AC009159.3	0.76	0.66	0.87	<0.001

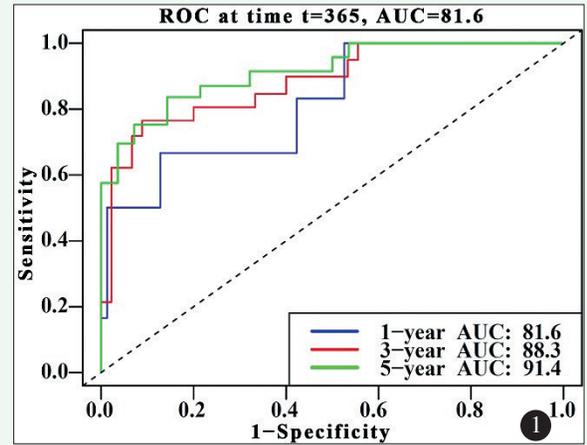


图 1 ROC 曲线分析显示风险评分在预测 OS 患者的生存时间中的准确性，蓝色线代表预测 1 年生存，红色线代表预测 3 年生存，绿色线代表预测 5 年生存。

2.2 构建列线图

基于临床因素，包括性别、年龄和风险评分构建预测 OS 患者的 5 年生存率列线图 (图 2a)。根据每个项目的实际情况进行评分，患者可以获得预测其 5 年内生存率的总分。绿线、蓝线和红线表示 1、3 和 5 年列线图校准曲线 (图 2b)。C 指数为 0.846。

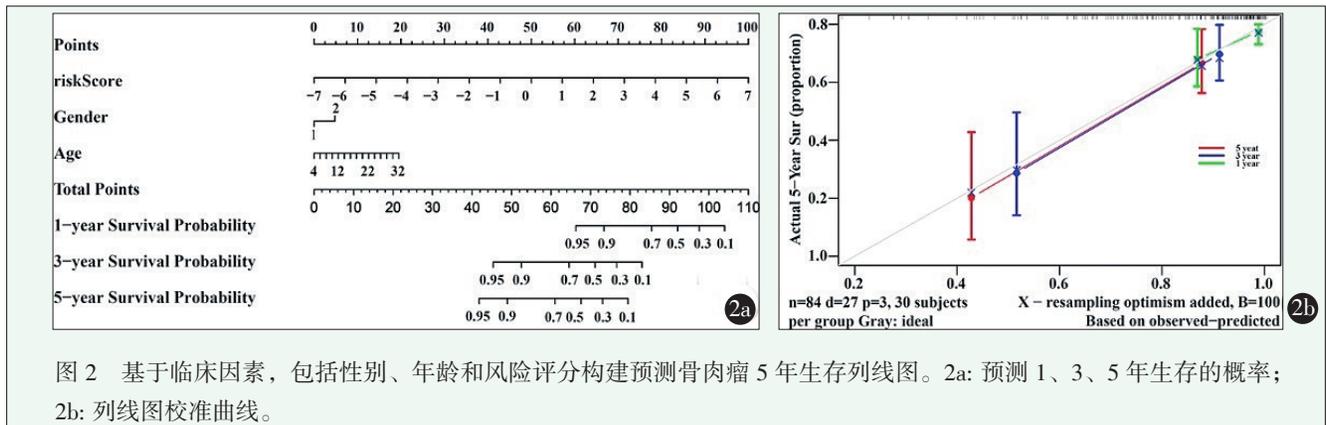


图 2 基于临床因素，包括性别、年龄和风险评分构建预测骨肉瘤 5 年生存列线图。2a: 预测 1、3、5 年生存的概率；2b: 列线图校准曲线。

2.3 高低风险组差异分析和富集分析

根据风险评分定义高低风险组，阈值设置为 $|\log\text{-FC}|>1$ 且 $P<0.05$ 的为表达差异具有统计学意义，得到 223 个上调基因和 214 个下调基因。为进一步分析风险评分在 OS 中的主要功能机制，对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析结果表明，CC 主要包括细胞外基质组织、细胞外结构组织、成骨、细胞-基质粘附、受体介导的内吞作用；BP 主要包括细胞-基底连接、黏着斑、含胶原蛋白的细胞外基质、细胞接触前缘、游离核糖体；MF 主要包括氧化还原酶活性，作用于供体 CH-NH₂ 基团，氧作为受体 (图 3a)。KEGG 主要涉及的通路为单纯疱疹病毒 1 型感染、新型冠状病毒感染、肌动蛋白细胞骨架的调

节、轴突引导和癌症中的蛋白聚糖 (图 3b)。

2.4 构建 OS 铁死亡相关的 lncRNA ceRNA 网络及验证

作者以 $P\leq 0.001$ 且相关性系数 >0.5 构建了 OS lncRNA ceRNA 调控网络，其中包括 4 个 lncRNA、13 个 miRNA 和 8 个铁死亡相关的 mRNA (图 4)。随后在 ENCORI 在线网站检索 lncRNA 与 miRNA 结合位点，发现 lncRNA PVT1 与 miRNA (hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20a-5p) 有确定结合靶点，进一步分析发现，lncRNA PVT1 基因与 OS 免疫有关 ($R=-0.27, P=0.014$)，并与患者生存可能有关 ($P=0.005$)。

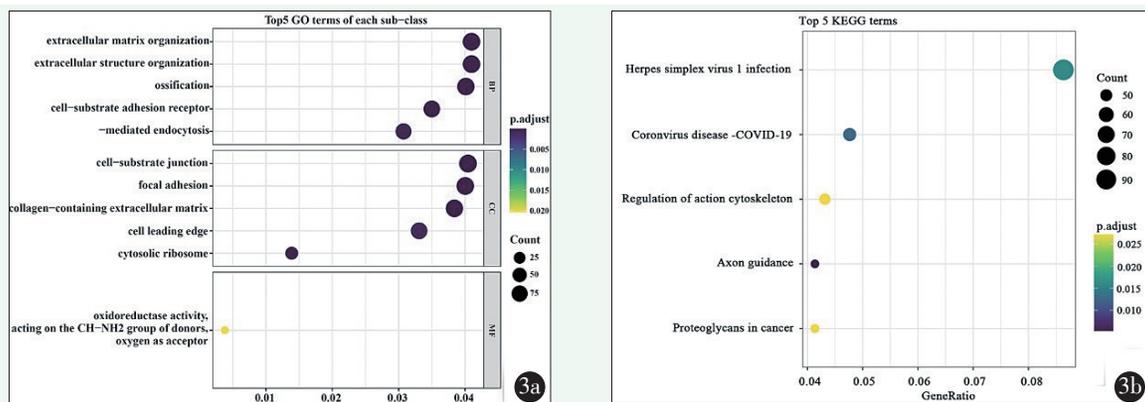


图 3 基于风险评分分组差异分析基因富集分析。3a: 差异基因 GO 分析; 3b: 差异基因 KEGG 分析。球的大小代表富集的基因个数, 颜色代表 P 值。

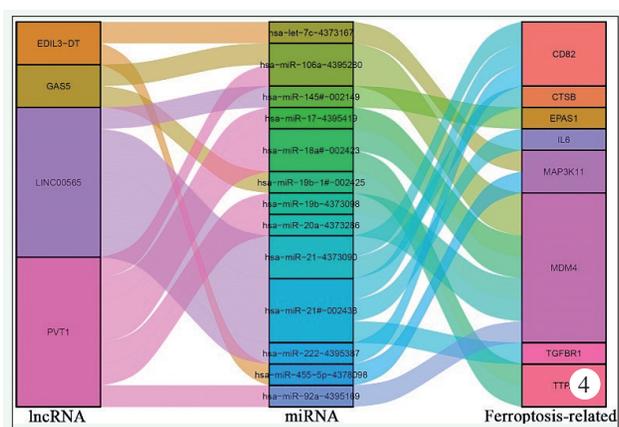


图 4 骨肉瘤铁死亡相关 lncRNA ceRNA 网络, 包括铁死亡相关的 lncRNA、miRNA 和 FRGs。

2.5 OS 与免疫分析

为进一步探讨风险评分与免疫状态之间的关系, 采用 ssGSEA 计算免疫细胞浸润评分。作者发现高风险组基质评分 (T -test, $P=0.00026$) 和 ESTIMATE (T -test, $P=0.0051$) 免疫评分更低 (图 5a), 表明风险评分可能与 OS 免疫有关。因此, 作者通过 CIBERSORT 分析了 OS22 种免疫细胞浸润水平, 发现 OS 主要为巨噬细胞浸润较高, 随后进一步分析风险评分与肿瘤微环境之间的关系, 结果表明高风险组 M0 型巨噬细胞免疫浸润深度较高 (图 5b)。对关键的免疫检查点基因分析发现, 高风险组 PDCD1LG2 和 CD27 表达量低于低风险组 (T -test, $P<0.05$), 表明风险评分可能与关键免疫检查点基因的表达水平有关。

3 讨论

lncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的 ncRNA, 与人类疾病的发生发展密不可分^[17, 18]。lncRNA 在转录和转录后调控方面和 mRNA 具有许多共

同特征, 其蛋白质编码潜力随着研究发现正不断升高^[19, 20]。而铁死亡是一种由铁依赖性脂质过氧化驱动的凋亡途径, 可调节多种癌症的表观遗传程序和代谢表达^[21, 22]。越来越多的证据表明 lncRNA 在铁死亡调节中的发挥重要作用^[23-25]。

本研究从铁死亡相关 lncRNA 角度出发, 构建了 OS 患者预后预测模型, 在总生存率上高、低风险组间存在显著差异, 其中 1、3 和 5 年的 OS 风险预测模型的 AUC 分别为 0.82、0.89 和 0.91, 显示出了较好的疾病预测效果, 该模型由 8 个铁死亡相关的 lncRNA 组成: GAS5, UNC5B-AS1, AC096564.1, SNHG6, PVT1, EDIL3-DT, LINC00565, AC009159.3。本研究随后构建了 OS lncRNA ceRNA 网络, 该网络包含 4 个 lncRNA、13 个 miRNA 和 8 个 FRGs。其中 PVT1 是一种重要的致癌 lncRNA, 可下调 Myc 基因表达和 CD4⁺T 细胞的增殖^[26, 27]。Zhang 等^[28]发现 PVT1 在肾透明细胞癌组织中显著上调, 其高表达与肾透明细胞癌患者预后不良有关, 而 HIF2 α 特异性抑制剂可以抑制 PVT1 的表达及其致癌功能, 可用于抗癌治疗。Amer 等^[29]发现在多形性胶质母细胞瘤中, LINC00565 表达量随着大肿瘤大小 (≥ 5 cm) 而增加, 有望成为多形性胶质母细胞瘤患者预后新型生物标志物。此外, Hu 等^[30]发现 LINC00565 是伊维菌素抑制卵巢癌作用机制中关键的 lncRNA 之一。GAS5 是近年来备受关注的关键基因, 在控制肿瘤进展及预后、侵袭转移等方面发挥重要作用^[31, 32]。Fang 等^[33]发现 GAS5 通过海绵效应下调 miRNA-21 的表达, 刺激 PTEN 的表达, 可抑制肿瘤的增殖和代谢, 并与化疗敏感性有关。Ellinger 等^[34]验证了透明细胞肾细胞癌中包括 lnc-ZNF180-2 和 EDIL3-DT 在内的具有潜在预后意义的 6 种 lncRNA。以上研究进

一步验证了本研究构建的 ceRNA 网络的可靠性。

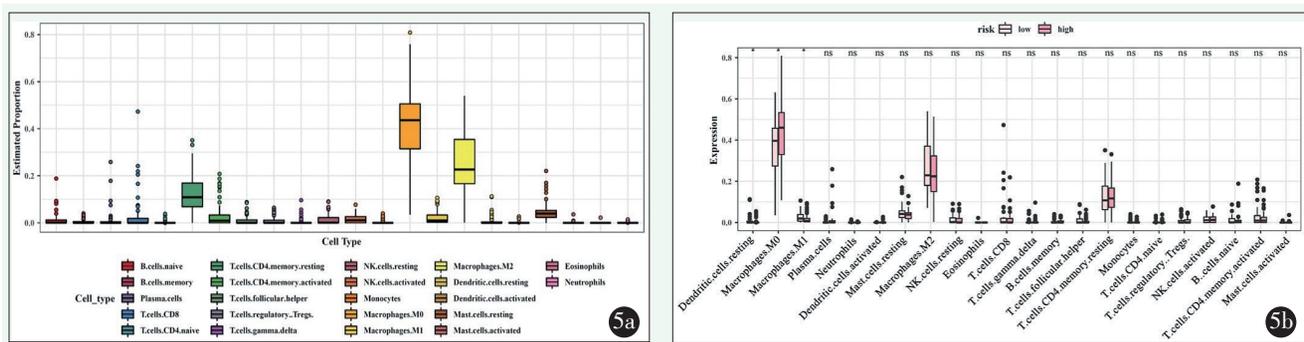


图 5 骨肉瘤免疫细胞浸润水平。5a: 骨肉瘤 22 种免疫细胞浸润水平; 5b: 高低风险组 22 种免疫细胞浸润差异。

铁死亡相关 lncRNA 可参与调节肿瘤免疫相关基因 (如 PD-1, CTLA4, LAG3 和 BTLA) 的表达 [35]。Tang 等 [36] 认为免疫检查点抑制剂与铁死亡诱导剂联合使用可能会协同减缓肿瘤进展。本研究发现, 风险评分与 OS 免疫微环境有关, 高风险组中 M0 型巨噬细胞浸润较高。既往研究发现, M0 浸润高的患者预后较差并参与肿瘤细胞的免疫逃逸, 在晚期具有促癌作用 [37, 38]。本研究评估了高、低风险组免疫检查点基因的表达情况, 发现 PDCD1LG2 (PD-L2) 和 CD27 在高风险组低表达。PD-L2 可与 PD-L1 竞争结合 PD-1, 还可抑制 CD28 介导的 PI3K 磷酸化, 削弱 CD28 信号对免疫细胞的活化作用 [39, 40]。CD27 是 TNF 受体超家族的成员, 该受体是 T 细胞免疫产生和长期维持所必需的, 介导了 NF-κB 和 MAPK8/JNK 信号通路的激活 [41, 42]。目前, 探索免疫检查点、化疗和铁死亡之间关系的研究有限, 因此, 值得进一步研究 OS 免疫调控过程中铁死亡相关的关键的 lncRNA。

综上所述, 本研究根据 FRGs 相关 lncRNA 表达矩阵构建了 OS 预后风险模型和 ceRNA 网络, 进一步整合 OS 患者的临床特征, 构建列线图, 并从铁死亡相关 lncRNA 角度分析对 OS 免疫微环境的影响。本研究为未来 OS 分子靶向治疗的研究提供新的视角和方向。但尚需进一步的体内外实验来证实这些关键基因在人 OS 中调控的具体功能及机制, 以期 OS 靶向药物的研发和联合治疗提供新思路。

参考文献

[1] Belayneh R, Fourman MS, Bhogal S, et al. Update on osteosarcoma [J]. *Curr Oncol Rep*, 2021, 23 (6): 71.
 [2] 李纯璞, 张立清, 侯存强, 等. 乏氧与 Notch 通路在骨肉瘤表达及耐药作用的研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2019, 27 (16): 1512-1517.
 [3] 赵海恩, 赵新文, 周勇, 等. 骨肉瘤转移的相关分子及临床应用

研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2014, 22 (5): 434-440.
 [4] Huang X, Wu W, Jing D, et al. Engineered exosome as targeted lncRNA MEG3 delivery vehicles for osteosarcoma therapy [J]. *J Control Release*, 2022, 343: 107-117.
 [5] Pan X, Guo J, Liu C, et al. lncRNA HCG18 promotes osteosarcoma growth by enhanced aerobic glycolysis via the miR-365a-3p/PGK1 axis [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27 (1): 1-16.
 [6] 邵林, 李同相, 肖睿, 等. 沉默 lncRNA TUG1 对 OS 细胞放射敏感性影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (14): 1313-1318.
 [7] Zhang H, Deng T, Liu R, et al. CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemo-resistance in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1): 43.
 [8] Zhang C, Liu X, Jin S, et al. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1): 1-12.
 [9] Chen Y, Li L, Lan J, et al. CRISPR screens uncover protective effect of PSTK as a regulator of chemotherapy-induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1): 1-17.
 [10] 闵楚惟, 谷文光. Erastin 诱导细胞铁死亡在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (1): 48-51.
 [11] Wang Y, Zhang Y, Wang L, et al. Development and experimental verification of a prognosis model for cuproptosis-related subtypes in HCC [J]. *Hepato Int*, 2022, 16: 1435-1447.
 [12] Engebretsen S, Bohlin J. Statistical predictions with glmnet [J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11 (1): 123.
 [13] Ye Y, Dai Q, Qi H. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7 (1): 71.
 [14] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The gene ontology consortium [J]. *Nat Genet*, 2000, 25 (1): 25-29.
 [15] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG: integrating viruses and cellular organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49 (D1): D545-D551.
 [16] Yoshihara K, Shahmoradgoli M, Martínez E, et al. Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2612.
 [17] Ling H, Vincent K, Pichler M, et al. Junk DNA and the long non-coding RNA twist in cancer genetics [J]. *Oncogene*, 2015, 34 (39): 5003-5011.
 [18] Fernandes JCR, Acuña SM, Aoki JI, et al. Long non-coding RNAs

- in the regulation of gene expression: physiology and disease [J]. *Noncoding RNA*, 2019, 5 (1): 17.
- [19] Statello L, Guo CJ, Chen LL, et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22 (2): 96–118.
- [20] Xing J, Liu H, Jiang W, et al. LncRNA-encoded peptide: functions and predicting methods [J]. *Front Oncol*, 2021, 10: 622294.
- [21] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22 (4): 266–282.
- [22] Zheng J, Conrad M. The metabolic underpinnings of ferroptosis [J]. *Cell Metab*, 2020, 32 (6): 920–937.
- [23] Zuo YB, Zhang YF, Zhang R, et al. Ferroptosis in cancer progression: role of noncoding RNAs [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18 (5): 1829–1843.
- [24] Gao S, Wang Z. Comprehensive analysis of regulatory network for LINC00472 in clear cell renal cell carcinoma [J]. *J Healthc Eng*, 2021, 2021: 3533608.
- [25] Huang J, Wang J, He H, et al. Close interactions between lncRNAs, lipid metabolism and ferroptosis in cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17 (15): 4493–4513.
- [26] Fu J, Shi H, Wang B, et al. LncRNA PVT1 links Myc to glycolytic metabolism upon CD4⁺T cell activation and Sjögren's syndrome-like autoimmune response [J]. *J Autoimmun*, 2020, 107: 102358.
- [27] Shigeyasu K, Toden S, Ozawa T, et al. The PVT1 lncRNA is a novel epigenetic enhancer of MYC, and a promising risk-stratification biomarker in colorectal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1): 155.
- [28] Zhang M, Zhang L, Fu L, et al. Positive feedback regulation of lncRNA PVT1 and HIF2 α contributes to clear cell renal cell carcinoma tumorigenesis and metastasis [J]. *Oncogene*, 2021, 40 (37): 5639–5650.
- [29] Amer RG, Ezz El Arab LR, Abd El Ghany D, et al. Prognostic utility of lncRNAs (LINC00565 and LINC00641) as molecular markers in glioblastoma multiforme (GBM) [J]. *J Neurooncol*, 2022, 158 (3): 435–444.
- [30] Hu J, Ni G, Mao L, et al. LINC00565 promotes proliferation and inhibits apoptosis of gastric cancer by targeting miR-665/AKT3 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 7865–7875.
- [31] Lorusso D, Petrelli F, Coinu A, et al. A systematic review comparing cisplatin and carboplatin plus paclitaxel-based chemotherapy for recurrent or metastatic cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133 (1): 117–123.
- [32] Mourtada-Maarabouni M, Hedge VL, Kirkham L, et al. Growth arrest in human T-cells is controlled by the non-coding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5) [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121 (Pt7): 939–946.
- [33] Fang X, Zhong G, Wang Y, et al. Low GAS5 expression may predict poor survival and cisplatin resistance in cervical cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (7): 531.
- [34] Ellinger J, Alam J, Rothenburg J, et al. The long non-coding RNA lnc-ZNF180-2 is a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5 (9): 2799–2807.
- [35] Tang Y, Li C, Zhang YJ, et al. Ferroptosis-related long non-coding RNA signature predicts the prognosis of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17 (3): 702–711.
- [36] Tang R, Xu J, Zhang B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13 (1): 110.
- [37] Bercovici N, Guérin MV, Trautmann A, et al. The remarkable plasticity of macrophages: a chance to fight cancer [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1563.
- [38] Jiang X, Wang M, Cyrus N, et al. Human keratinocyte carcinomas have distinct differences in their tumor-associated macrophages [J]. *Heliyon*, 2019, 5 (8): e02273.
- [39] Xu Y, Gao Z, Hu R, et al. PD-L2 glycosylation promotes immune evasion and predicts anti-EGFR efficacy [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9 (10): e002699.
- [40] Fan Z, Wu C, Chen M, et al. The generation of PD-L1 and PD-L2 in cancer cells: From nuclear chromatin reorganization to extracellular presentation [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12 (3): 1041–1053.
- [41] Buchan SL, Rogel A, Al-Shamkhani A. The immunobiology of CD27 and OX40 and their potential as targets for cancer immunotherapy [J]. *Blood*, 2018, 131 (1): 39–48.
- [42] Benhamouda N, Sam I, Epailard N, et al. Plasma CD27, a surrogate of the intratumoral CD27–CD70 interaction, correlates with immunotherapy resistance in renal cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 6: CCR-22-0905.

(收稿:2022-06-21 修回:2023-03-15)

(同行评议专家: 廉永云, 周海宇, 党跃修)

(本文编辑: 宁桦)