

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.08.012

论著·临床

自噬相关基因的表达量化及其对肾透明细胞癌的预后价值分析

伍艳婷,舒文莹,王艳平,周毅,简晓顺



基金项目: 白求恩·求索—药学科研能力建设项目资助(B-19-H-20200622)

作者单位: 510095 广州医科大学附属肿瘤医院(伍艳婷、舒文莹、王艳平、简晓顺); 511436 广州医科大学药学院

(伍艳婷、王艳平、周毅)

通信作者: 简晓顺, E-mail: 18922713968@189.cn

【摘要】目的 采用生物信息学方法分析预后相关的自噬相关基因在泛癌中的表达并构建肾透明细胞癌(KIRC)的预后模型以准确评估患者的预后。**方法** 于 GEPIA 数据库筛选与预后相关的自噬相关基因,得到的基因用 ssGSEA 计算其在各癌症中的自噬评分,以量化其在癌症中的表达。单因素、多因素 Cox 回归分析筛选出自噬评分与 KIRC 患者预后的相关性。edgeR 包分析 KIRC 患者差异表达的自噬基因,再进行逐步、LASSO 和多因素 Cox 回归分析以构建风险预后模型,生存曲线、受试者工作特征曲线(ROC)评估模型的预测价值。CIBERSORT 计算高低风险组间免疫细胞的浸润情况,采用 CellMiner 数据库筛选模型基因的敏感性药物。**结果** 与预后相关的自噬相关基因在各癌症中的表达存在差异,其中在 KIRC 中表达最高,且自噬评分与其预后密切相关。经逐步回归分析、LASSO 分析筛选出 4 个 KIRC 的预后模型基因,并经多因素 Cox 回归分析显示,BIRC5 和 EIF4EBP1 高表达是影响 KIRC 预后的危险因素[$HR(95\% CI) = 1.021(1.010 \sim 1.033)$ 、 $1.003(1.001 \sim 1.005)$],而 BAG1 和 BNIP3 高表达是影响 KIRC 预后的保护因素[$HR(95\% CI) = 0.963(0.942 \sim 0.985)$ 、 $0.997(0.994 \sim 0.999)$]。模型基因风险评分、M 分期和 N 分期可作为 KIRC 预后的独立影响因素($P < 0.05$)。ROC 曲线显示,模型基因预测 KIRC 患者 1、3、5 年生生存率的曲线下面积(AUC)分别为 0.743、0.740、0.699。高低风险组患者在多种免疫细胞浸润中存在差异,与低风险组比较,高风险组中 CD8⁺ T 细胞、辅助性滤泡 T 细胞、调节性 T 细胞和 M0 巨噬细胞等比例显著增加,而静息杀伤细胞、单核细胞和静息肥大细胞等比例显著降低。模型基因与多种癌细胞系药物的敏感性相关,尤其是在肾癌细胞系中,相关性系数可达到 0.9 以上。**结论** 自噬相关基因分析可为 KIRC 患者提供独立、可靠的生物标志物和治疗靶点,为探索 KIRC 个性化治疗提供新思路。

【关键词】 肾透明细胞癌;自噬相关基因;预后;免疫浸润;药物敏感性**【中图分类号】** R737.11**【文献标识码】** A

Quantification of the expression of autophagy-related genes and its prognostic value in renal clear cell carcinoma Wu Yanting*, Shu Wenying, Wang Yanping, Zhou Yi, Jian Xiaoshun. *Affiliated Cancer Hospital and Institute of Guangzhou Medical University, Guangdong Province, Guangzhou 510095, China

Corresponding author: Jian Xiaoshun, E-mail: 18922713968@189.cn

Funding program: Bethune Quest-Pharmaceutical Research Capacity Building Project (B-19-H-20200622)

【Abstract】 Objective Using bioinformatics methods to analyze the expression of prognostic autophagy related genes in pancancer and construct a prognostic model for renal clear cell carcinoma (KIRC) to accurately assess the prognosis of patients. **Methods** The autophagy related genes related to prognosis were screened from the GEPIA database, and the obtained genes were used to calculate their autophagy scores in various cancers using ssGSEA to quantify their expression in cancer. Univariate and multivariate Cox regression analysis screened the correlation between autophagy scores and prognosis in patients with KIRC. The edgeR package analyzed autophagy genes differentially expressed in patients with KIRC, and then conducted stepwise, LASSO, and multivariate Cox regression analysis to construct a risk prognosis model. The survival curve, and subject work characteristic curve (ROC) were used to evaluate the predictive value of the model. CIBERSORT calculates the infiltration of immune cells between high-risk and high-risk groups, and uses the CellMiner database to screen sensitive drugs for model genes. **Results** The expression of autophagy related genes related to prognosis varies among various cancers, with the highest expression in KIRC, and autophagy scores are closely related to prognosis. Four prognostic model genes for

KIRC were selected through stepwise regression analysis and LASSO analysis. Multivariate Cox regression analysis showed that the high expression of BIRC5 and EIF4EBP1 was a risk factor affecting the prognosis of KIRC [$HR(95\% CI) = 1.021 (1.010 - 1.033), 1.003 (1.001 - 1.005)$], while the high expression of BAG1 and BNIP3 was a protective factor affecting the prognosis of KIRC [$HR(95\% CI) = 0.963 (0.942 - 0.985), 0.997 (0.994 - 0.999)$]. Model gene risk score, M stage, and N stage can be independent influencing factors for the prognosis of KIRC ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of the model gene predicting the 1, 3, and 5 year survival rates of KIRC patients were 0.743, 0.740, and 0.699, respectively. There are differences in the infiltration of multiple immune cells in patients with high and low risk. Compared with the low risk group, the proportion of $CD8^+$ T cells, auxiliary follicular T cells, regulatory T cells, and M0 macrophages in the high risk group significantly increased, while the proportion of resting killer cells, monocytes, and resting mast cells significantly decreased. Model genes are associated with the sensitivity of various cancer cell lines to drugs, especially in renal cancer cell lines, with a correlation coefficient of more than 0.9. **Conclusions** Autophagy related gene analysis can provide independent and reliable biomarkers and treatment targets for patients with KIRC, and provide new ideas for exploring personalized treatment of KIRC.

【Key words】 Renal clear cell carcinoma; Autophagy related genes; Prognosis; Immune infiltration; Drug sensitivity

在全球大多数国家,恶性肿瘤是导致死亡的主要原因^[1],迄今为止,恶性肿瘤还没有绝对的治愈方法。肾细胞癌是泌尿系统最常见的肿瘤之一,具有隐匿性,对放化疗不敏感。其中肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)是肾细胞癌最常见的亚型,占 70% ~ 75%,易发生转移^[2]。针对多种激酶和雷帕霉素靶点的抑制剂可提高 KIRC 的总体存活率,但治疗反应因个体而异,大多数患者最终会产生耐药性^[3]。因此,探索分析对个体化治疗或临床诊断有意义的生物标志物,对 KIRC 的早期诊断和提高生存率十分重要。

自噬在肿瘤的发生、耐药性、微环境相互作用等多个过程中发挥着至关重要的作用。自噬的发生是一个复杂的多步骤过程,受一系列自噬相关基因的严格控制,既可以抑制肿瘤的进展亦能促进肿瘤的进展^[4],恶性肿瘤可以诱导微环境的非肿瘤细胞自噬,从而进一步促进肿瘤的生长和进展^[5]。自噬相关的化疗耐药性是癌症治疗的一大挑战。目前,自噬相关基因在多药耐药中的作用越来越受重视,研究发现,自噬基因有望成为癌症的治疗靶点^[6-8]。

但由于传统研究的局限性,大多集中在单基因对肿瘤影响的研究上,很少使用大规模基因表达队列研究自噬与 KIRC 预后的关系。近年来,随着自噬在肿瘤中的作用不断被研究,研究人员发现自噬相关基因可以作为预后生物标志物并成为潜在的治疗靶点^[9]。为了更好地探索自噬相关基因对临床预后的影响,利用大型公共数据库筛选和验证 KIRC 自噬相关预后标志物已成为基础研究的重要补充和发展趋势。

本研究通过构建一个新的预后模型用于预测 KIRC 患者的总生存期(OS),并探索了由该模型基因

定义的独特分子特征,包括免疫浸润和潜在的药物靶点。这为 KIRC 预后、免疫治疗和药物敏感性评价提供了一种新的思路和方法,报道如下。

1 资料与方法

1.1 数据收集 从 UCSC xena 数据库(<https://xenabrowser.net/datapages/>)下载 24 种常见癌种的表达数据 $\log_2(FPKM + 1)$ (FPKM: 每千个碱基的转录每百万映射读取的 fragments)、表型数据和生存数据,通过 R 软件 4.1.2 将其表达数据转换为 TPM(每千个碱基的转录每百万映射读取的 Transcripts)数据;从人类自噬数据库(<http://autophagy.lu/>)中下载 222 个自噬相关基因,于 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)中做与 24 种常见癌种的生存分析,最终得到 159 个与癌症预后相关的自噬相关基因(ARGs)。

1.2 自噬基因集在癌症中的表达情况 使用 R 包“GSVA”进行单样本基因集富集分析(ssGSEA)得到自噬评分(autophagy score)以量化 ARGs 在 24 种癌症中的表达水平,Kruskal-Wallis 分析各癌症间的表达是否存在差异;Mann-Whitney U 检验评估 23 种癌症的肿瘤样本与正常样本间的差异[其中肾上腺皮质癌(ACC)无正常样本,故未纳入后面的分析];以自噬评分的中位数来定义高分组与低分组。

1.3 筛选 KIRC 差异表达基因 使用“edgeR”包比较 KIRC 患者的肿瘤样本和正常样本的基因表达差异(来自 UCSC xena 数据库的 counts 数据),筛选条件为 $|\log_2FC| > 1$,错误发现率(FDR) < 0.05 。

1.4 预后模型的构建 将 531 例 KIRC 患者数据随机分为训练集 354 个(占总 KIRC 数据的 2/3)和测试集 177 个(占总 KIRC 数据的 1/3);将 159 个 ARGs 与 KIRC 的差异表达基因取交集得到差异表达自噬相关

基因(DEARGs);对训练集进行逐步回归分析、LASSO 回归分析确定最终模型基因,根据多因素 Cox 回归分析的回归系数和基因的表达量,建立风险预后模型,建立预后模型公式为:风险评分(risk score) = $\sum$ (基因表达量 $\times$ 回归系数),测试集用于验证其预后能力。

1.5 预后模型的评估和验证 根据预后模型公式计算风险评分,以风险评分的中位数来定义高风险组和低风险组。绘制生存曲线和受试者工作特征曲线(ROC),并计算曲线下面积(AUC)以评估模型的特异度和敏感度。根据风险评分值进行排序,分布曲线、散点图和热图显示不同风险组的风险评分分布,患者生存状态及模型基因的表达情况。将风险评分与肿瘤大小(T)、淋巴结转移(N)、远处转移(M)、种族(Race)、年龄(Age)、性别(Sex)、临床分期(Stage)、病理分级(Grade)做单因素和多因素 Cox 回归分析,确定预后的独立影响因素。列线图、ROC 曲线预测患者 1、3、5 年的生存率,并对临床特征进行分层做生存曲线分析,以进一步分析风险评分的临床潜力。

1.6 预后模型基因的表达验证 使用 HPA 数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)验证模型基因在肿瘤组织和正常组织中的蛋白表达是否与差异表达分析的结果一致。

1.7 免疫细胞浸润分析 使用 CIBERSORT 计算免疫细胞在每个 KIRC 患者中的浸润情况。每种免疫细胞类型的总比例等于 1。Mann-Whitney *U* 检验比较高低风险组患者免疫细胞的浸润差异情况。

1.8 药物敏感性分析 从 CellMiner 数据库(<http://discover.nci.nih.gov/cellminer/>)中下载 NCI-60 细胞系的 RNA 表达数据和药物分析数据,选取经过临床试验和 FDA 批准的 792 个药物结果。提取模型基因的表达数据,计算药物敏感性(IC₅₀),并进行 Pearson 相关性分析,最终得到每个模型基因的表达与药物敏感性之间的相关性。以 $P < 0.01$ 对分析结果进行筛选。

1.9 统计学分析 使用 R 软件 4.1.2 对数据进行统计分析和结果可视化。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ARGs 在癌症中的表达差异情况 ssGSEA 结果显示,ARGs 在 KIRC 中表达最高,肾嫌色细胞癌(KICH)中表达最低(图 1A)。Mann-Whitney *U* 检验结果发现,ARGs 在 14 种癌症的肿瘤样本与正常样本之间表达存在差异(图 1B),其中 ARGs 在多形性成胶质细胞瘤(GBM)、KIRC、肾乳头状细胞癌(KIRP)和甲状腺癌(THCA)的肿瘤样本中表达水平高于正常样

本,在膀胱尿路上皮癌(BLCA)、乳腺浸润癌(BRCA)、结肠癌(COAD)、头颈鳞状细胞癌(HNSC)、肝细胞肝癌(LIHC)、肺腺癌(LUAD)、肺鳞癌(LUSC)、前列腺癌(PRAD)、直肠癌(READ)、胃癌(STAD)的肿瘤样本中表达水平低于正常样本(图 1C),而在宫颈鳞癌和腺癌(CESC)、食管癌(ESCA)、KICH、胰腺癌(PAAD)、嗜铬细胞瘤和副神经节瘤(PCPG)、肉瘤(SARC)、皮肤黑色素瘤(SKCM)、胸腺癌(THYM)、子宫内膜癌(UCEC)中表达无差异性。对有差异表达的癌种进行单因素 Cox 回归分析,发现自噬评分与 KIRC、LUSC 的 OS 相关(图 1D)。

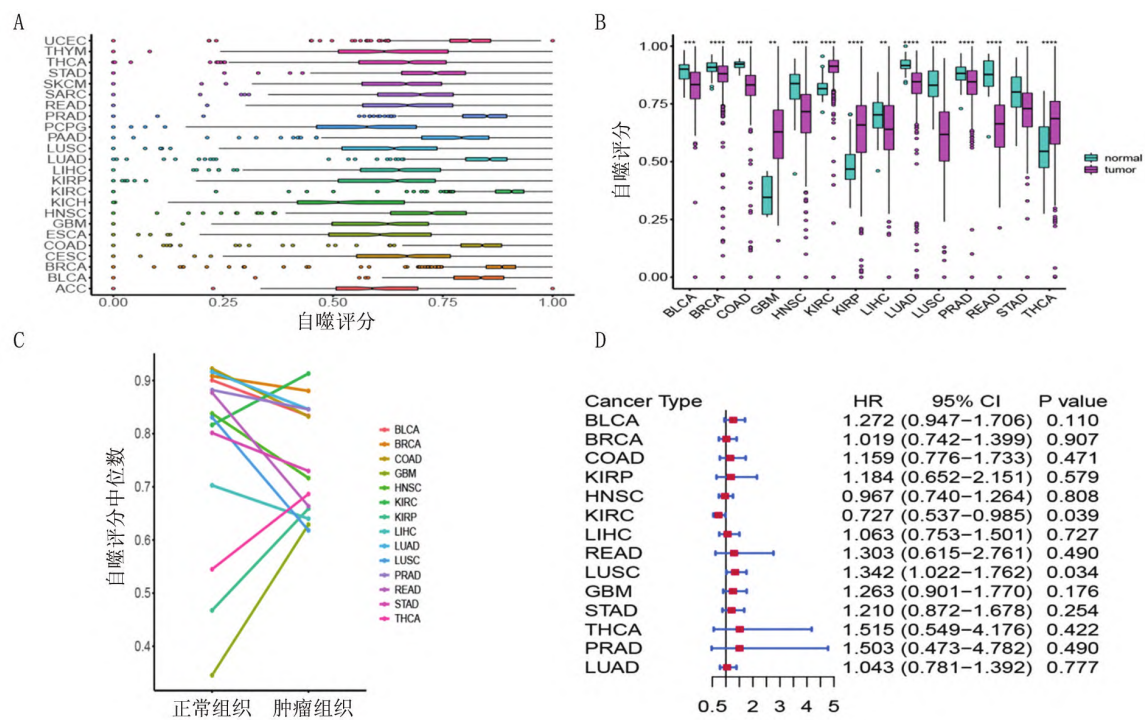
2.2 自噬评分对 KIRC 患者预后的影响 生存曲线分析结果显示,KIRC 低评分患者的预后比高分患者差($P = 0.039$)(图 2A),LUSC 高评分患者的预后比低评分患者差($P = 0.034$)(图 2D),这与已有文献结果一致^[10-11]。单因素、多因素 Cox 回归分析结果发现,自噬评分可以作为 KIRC 患者预后的独立影响因素(图 2B、2C),但不能作为 LUSC 患者的独立预后因素(图 2E、2F)。

2.3 确定 KIRC 差异表达的自噬相关基因并构建预后模型 KIRC 的正常样本与肿瘤样本差异表达分析结果得到 9 632 个差异表达基因,将其与上述 ARGs 取交集,得到 35 个 DEARGs(图 3A)。其中有 6 个基因在肿瘤组织中下调,29 个基因在肿瘤组织中上调(图 3B)。对 DEARGs 进行逐步回归分析、LASSO 回归分析,最终确定 4 个模型基因: BAG1、BIRC5、BNIP3、EIF4EBP1。基于多因素 Cox 回归分析结果(表 1)构建预后模型,发现 BIRC5 和 EIF4EBP1 是高风险基因($HR > 1$),而 BAG1 和 BNIP3 是低风险基因($HR < 1$)。风险评分 = $(-0.037) \times \text{BAG1 表达量} + 0.021 \times \text{BIRC5 表达量} + (-0.003) \times \text{BNIP3 表达量} + 0.003 \times \text{EIF4EBP1 表达量}$ 。免疫组化结果表明,与正常组织相比,KIRC 组织中的 BAG1(HPA018121)、BIRC5(HPA002830)、BNIP3(HPA003015)和 EIF4EBP1(CAB005032)的蛋白水平上调(图 3C),除 BAG1 外,其他 3 个基因的蛋白表达与 DEARGs 的表达结果一致。

表 1 多因素 Cox 回归分析预后模型基因对预后的影响

Tab. 1 Multivariate Cox Regression Analysis of the Effect of Prognosis Model Genes on Prognosis

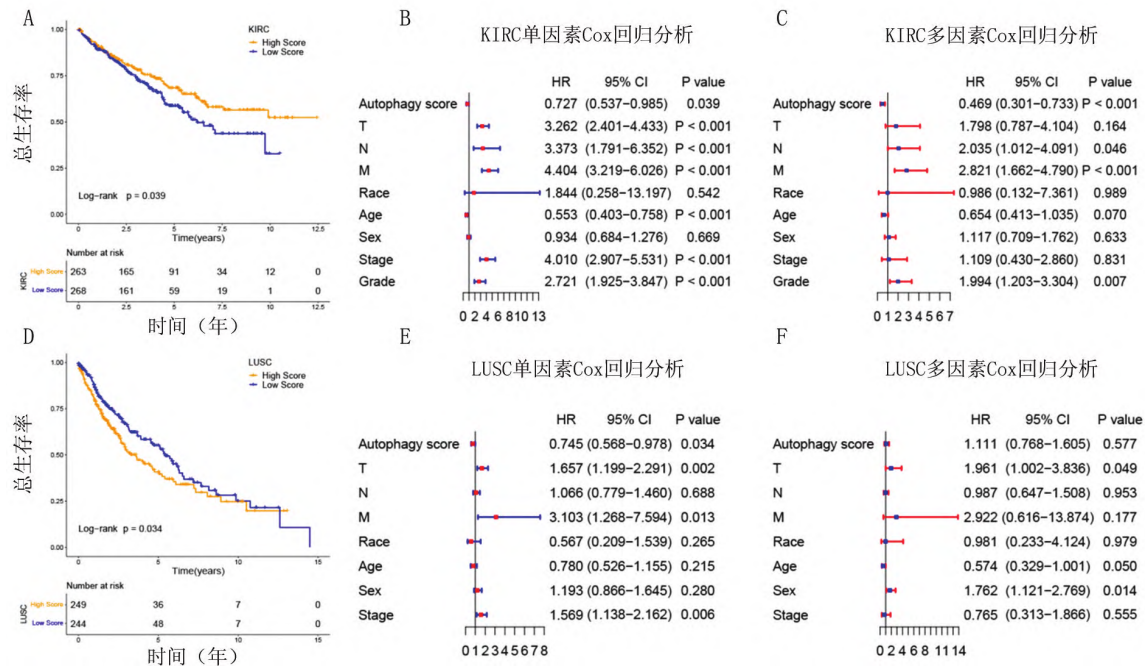
基因	回归系数	P 值	HR(95% CI)
BAG1	-0.037	<0.001	0.963(0.942 ~ 0.985)
BIRC5	0.021	<0.001	1.021(1.010 ~ 1.033)
BNIP3	-0.003	0.014	0.997(0.994 ~ 0.999)
EIF4EBP1	0.003	0.002	1.003(1.001 ~ 1.005)



注:A. ARGs 在各癌症中的自噬评分;B. 正常样本与肿瘤样本之间自噬评分存在差异的癌症;C. 正常样本与肿瘤样本自噬评分的中位数;D. 单因素 Cox 回归分析森林图。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。BLCA. 膀胱尿路上皮癌;BRCA. 乳腺浸润癌;COAD. 结肠癌;KIRC. 肾乳头状细胞癌;HNSC. 头颈鳞状细胞癌;KIRC. 肾透明细胞癌;LIHC. 肝细胞肝癌;READ. 直肠腺癌;LUSC. 肺鳞癌;GBM. 多形性成胶质细胞瘤;STAD. 胃癌;THCA. 甲状腺癌;PRAD. 前列腺癌;LUAD. 肺腺癌。

图 1 ARGs 在癌症中的表达及自噬评分与癌症患者 OS 的相关性

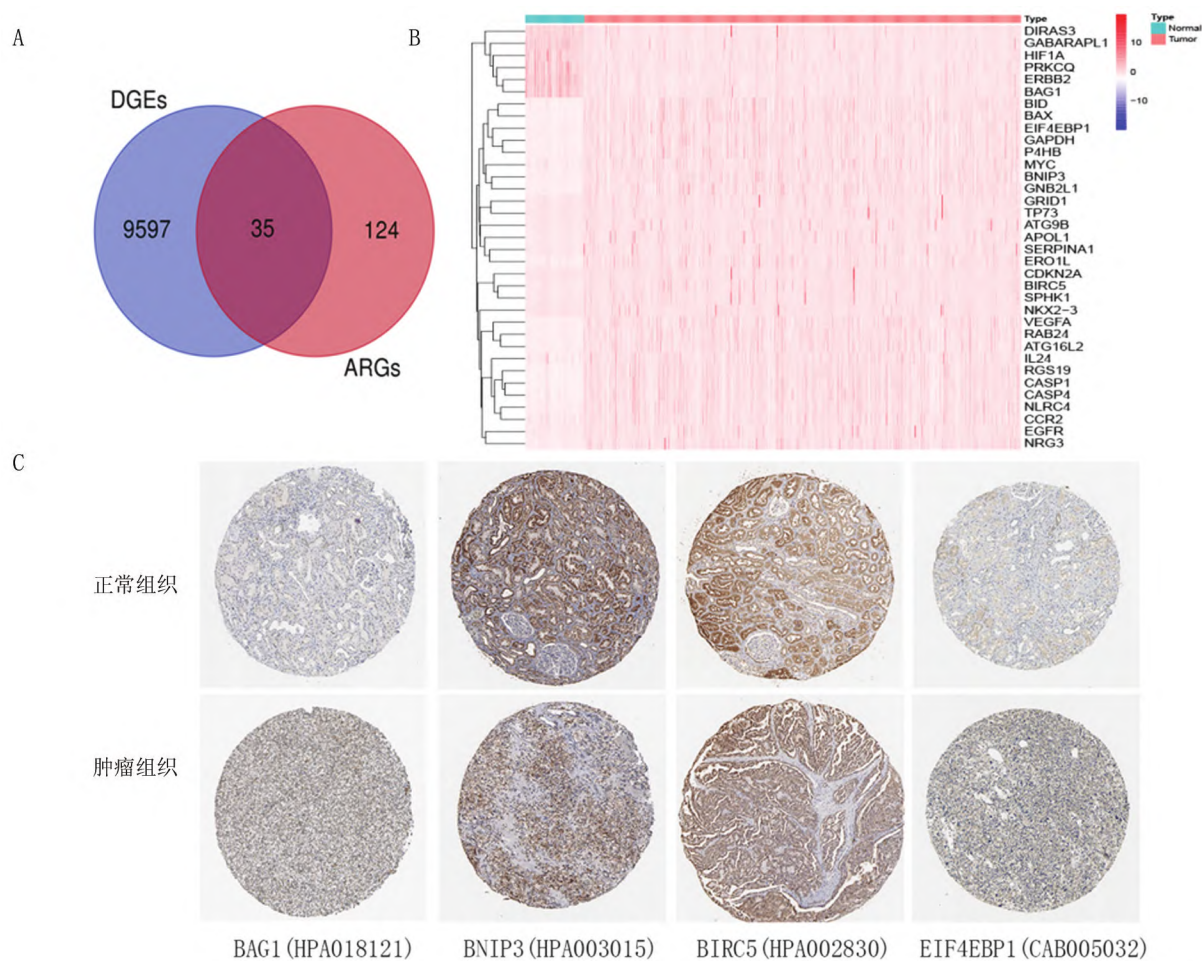
Fig. 1 Expression of ARGs in cancer and correlation between autophagy score and OS in cancer patients



注:A. KIRC 高低自噬评分组的生存曲线;B、C. 影响 KIRC 预后的单、多因素 Cox 回归分析森林图;D. LUSC 高低自噬评分组的生存曲线;E、F. 影响 LUSC 预后的单、多因素 Cox 回归分析森林图。

图 2 自噬评分对 KIRC、LUSC 患者预后的影响

Fig. 2 Effect of Autophagy Score on Prognosis of KIRC and LUSC Patients



注:A. 差异表达基因与自噬相关基因维恩图;B. 35 个差异表达自噬相关基因热图;C. 正常组织和肿瘤组织 4 个模型基因的蛋白水平比较。

图 3 差异表达自噬相关基因的确定及模型基因的蛋白水平比较

Fig. 3 Identification of Differentially Expressed Autophagy Related Genes and Comparison of Protein Levels of Model Genes

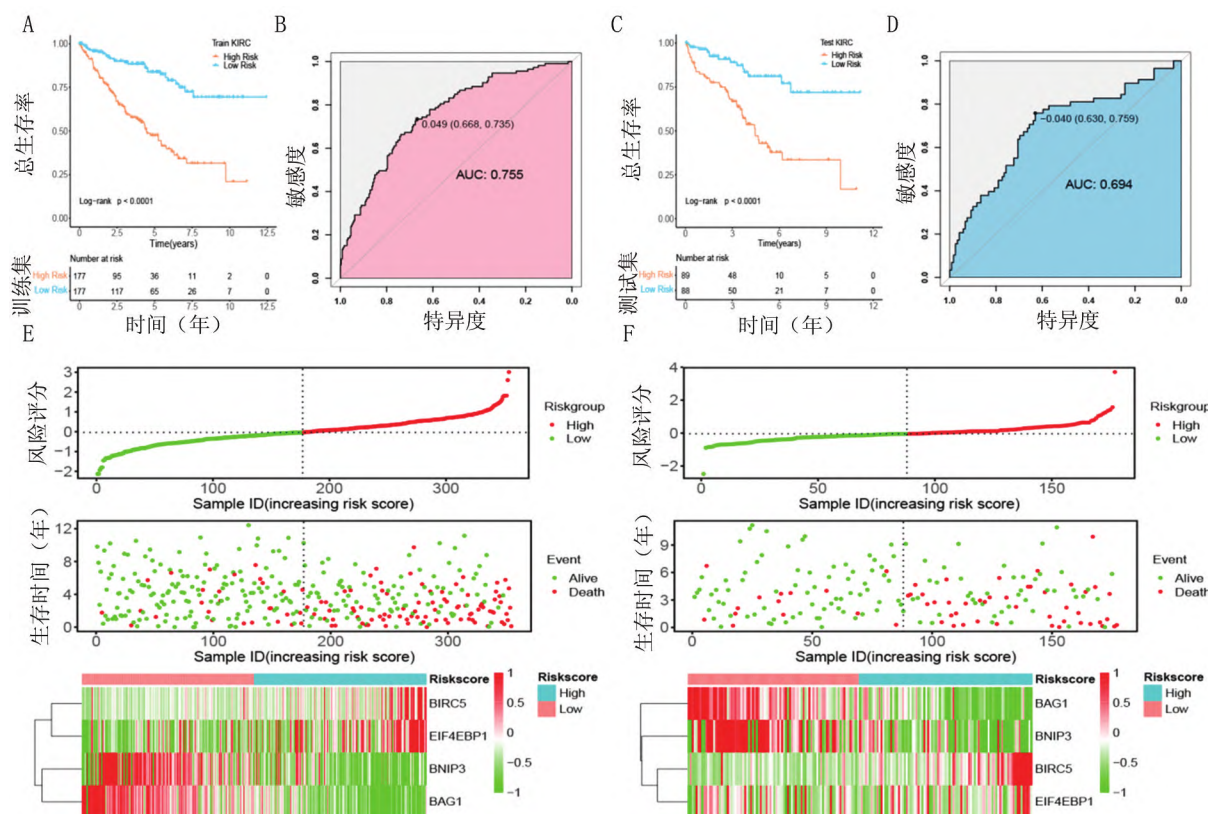
2.4 模型对 KIRC 患者的临床预后价值 生存曲线结果显示,高风险组患者的预后比低风险组患者差(训练集 $P < 0.001$, $AUC = 0.755$,见图 4A、4B;测试集 $P < 0.001$, $AUC = 0.695$,见图 4C、4D)。风险因子关联图结果显示,风险评分值越高,患者死亡数越多,训练集(图 4E)与测试集(图 4F)结果基本一致。其中热图显示,BIRC5 和 EIF4EBP1 在高风险组中上调,是危险因素,而 BAG1 和 BNIP3 在高风险组中下调,是有利因素,与多因素 Cox 回归结果一致。

单因素和多因素 Cox 回归分析结果发现,构建的模型风险评分、M 分期和 N 分期均可作为 KIRC 患者预后的独立影响因素($P < 0.05$)(图 5A、5B)。为了更好地预测 KIRC 患者 1、3、5 年的生存率,构建了列线图(图 5C)并绘制 ROC 曲线, AUC 分别为 0.743、0.740、0.699(图 5D)。为了进一步研究风险评分的临床预后潜力,基于临床特征(TNM 分期、临床分期、肿瘤分级)进行生存曲线分析,发现风险评分似乎更适

合用于预测临床分期、肿瘤分级、T 期、M0 期和 N0 期的总生存时间,除 M1、N1 期外,高风险评分患者的预后均比低风险评分患者差($P < 0.05$)(图 5E)。

2.5 高低风险组免疫细胞浸润情况比较 基于自噬与免疫细胞浸润的相关性,计算了每个样本中肿瘤免疫微环境 22 种免疫细胞的浸润情况(图 6A),评估了不同风险组中免疫微环境的组成。与低风险组比较,高风险组中 CD8⁺T 细胞、辅助性滤泡 T 细胞、调节性 T 细胞和 M0 巨噬细胞等比例显著升高,而静息杀伤细胞、单核细胞和静息肥大细胞等比例显著降低(图 6B、C)。

2.6 模型基因的表达与多种药物敏感性的关系 表 2 显示每个基因与药物敏感性(IC_{50})最相关的前 4 个结果。在 60 个癌细胞系中 BAG1 与白屈菜红碱、AM-5992、7-羟基星形孢菌素呈正相关,与 INK-128(mTOR 抑制剂)呈负相关;BIRC5 与 SNS-314(极光激酶抑制剂)、5-氟脱氧尿苷 10、博来霉素呈正相关,与司美替尼呈反比;BNIP3 与 P-529(mTOR 抑制剂)、特拉替尼、



注:A、B. 训练集生存曲线和 ROC 曲线;C、D. 测试集生存曲线和 ROC 曲线;E、F. 训练集和测试集风险因子关联图,分布曲线(上)、散点图(中)和热图(下)。

图 4 风险评分对 KIRC 患者预后的预测价值

Fig. 4 The predictive value of Risk score for the prognosis of KIRC patients

IDH-C227 (IDH1R132H 抑制剂) 呈正相关,与 AM-5992 呈负相关;EIF4EBP1 与 SNS-314、氟尿苷、奎扎替尼、维甲酰胺胺呈正相关。

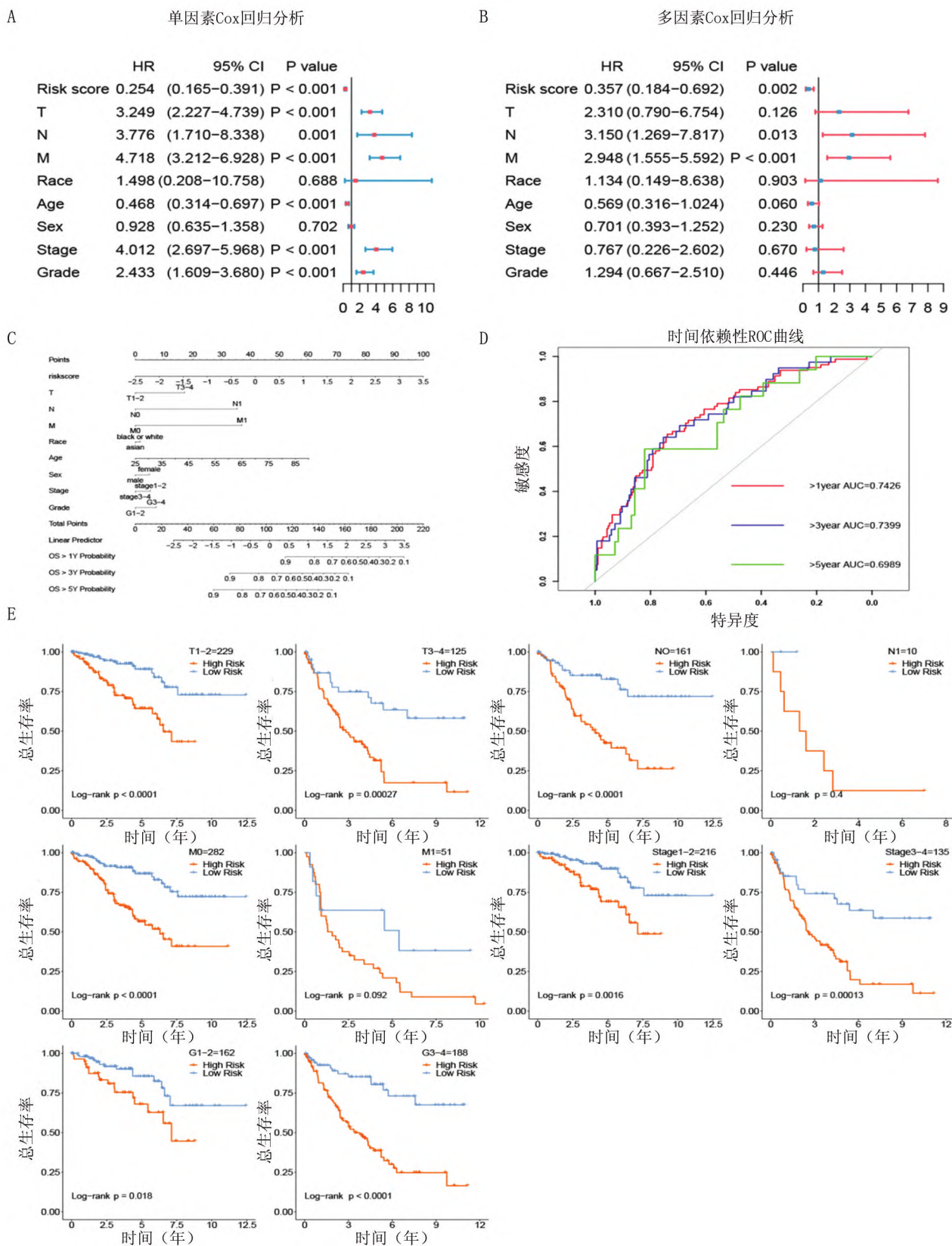
在 8 个肾癌细胞系中 BAG1 与丁硫氨酸—亚砷亚胺、PF-2771 (CENP-E 抑制剂)、三氧化二砷呈负相关,与帕博西尼呈正相关;BIRC5 与恩曲替尼、Gandotinib (JAK2 抑制剂)、AMD-070 (CXCR4 选择性抑制剂)、替沃扎尼呈负相关;BNIP3 与 Saridegib (Smo 特异性抑制剂)、阿扎胞苷、卡铂呈正相关,与 CH-5132799 (PI3K 抑制剂) 呈负相关;EIF4EBP1 与 AZD-5363、GSK-2141795、Afuresertib、Ipatasertib (AKT 抑制剂) 呈负相关,见表 2。

3 讨论

目前,尽管有大量研究表明自噬参与了 KIRC 的恶性进展,但以往的研究中仅探索了单个自噬相关基因与 KIRC 之间的相关性^[12-16],缺乏对自噬相关基因在各癌症中的表达分析,且与多种癌症预后相关的自噬相关基因与 KIRC 患者预后之间的相关性尚未明确。虽然目前有文献报道了自噬相关基因对 KIRC 患

者预后的影响^[17-19],但涉及的基因多,临床经济实用性欠缺,且未曾发现有相关研究解释上述所有 4 个基因在 KIRC 中的预后价值。在本研究中,笔者发现自噬相关基因在不同癌症中的表达存在差异,其中在 KIRC 患者中表达最高。因此构建了由 BAG1、BIRC5、BNIP3 和 EIF4EBP1 组成的风险预后模型。发现在 KIRC 患者中 BAG1 和 BNIP3 是低风险基因,其表达越高,患者风险值越低;BIRC5 和 EIF4EBP1 属于高风险基因,其表达越高,患者风险值越高。风险评分、M 分期、N 分期可以作为 KIRC 患者的独立预后因素。

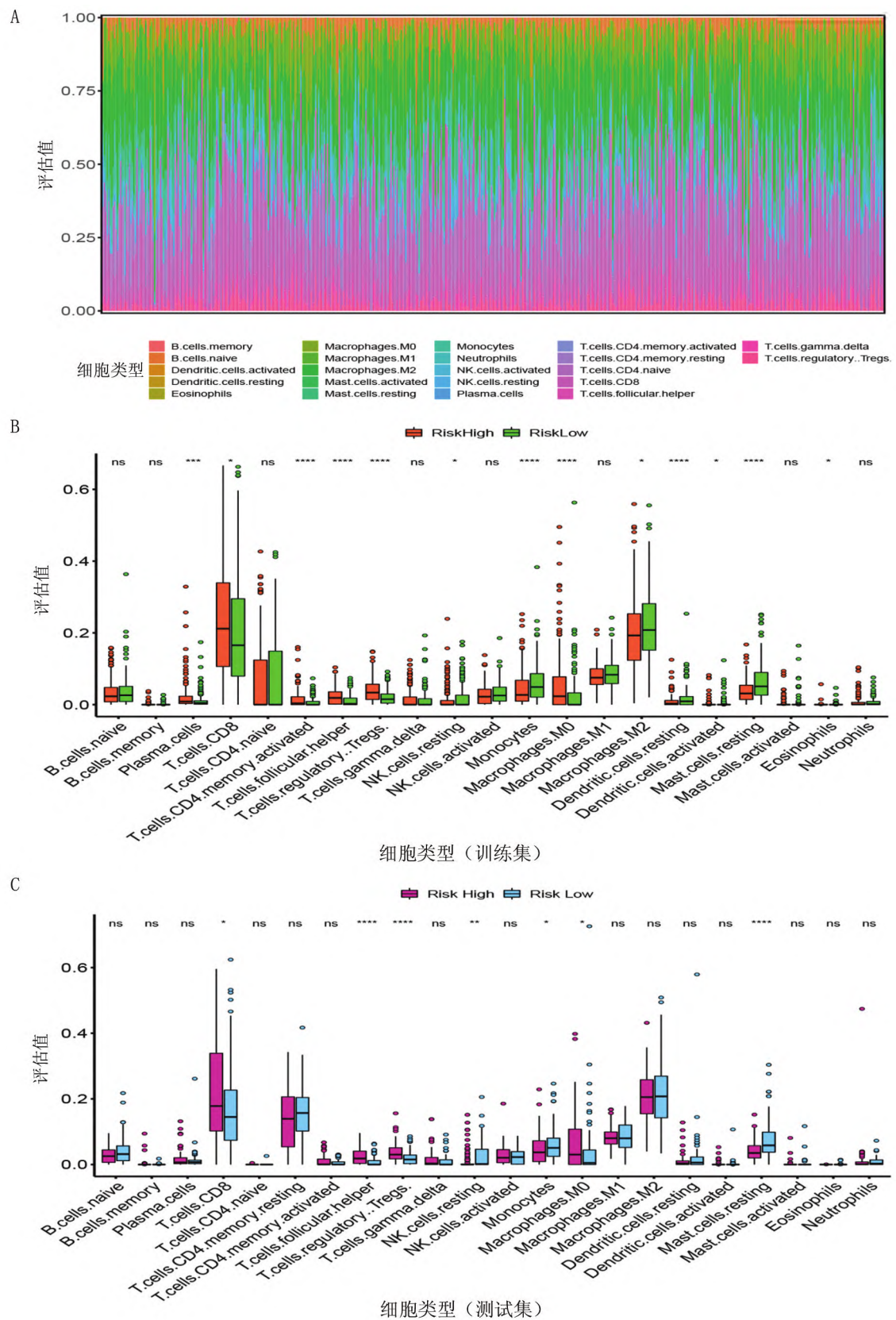
肿瘤微环境中包含各种细胞,其中浸润性免疫细胞占很大比例且特定细胞对患者的生存有重大影响^[20]。例如,肿瘤相关的巨噬细胞可通过多种方式帮助肿瘤细胞发生免疫逃逸、肿瘤血管生成和转移^[21-23]。上述免疫浸润分析结果表明,与低风险组比较,高风险组中 CD8⁺ T 细胞、辅助性滤泡 T 细胞、调节性 T 细胞和 M0 巨噬细胞浸润比例升高。高风险组的评分与患者预后呈反比,提示这些免疫细胞浸润增加可能与 KIRC 患者的不良预后有关。而静息杀伤细



注:A、B. 单因素、多因素 Cox 回归分析森林图;C、D. 列线图和 ROC 曲线;E. 生存曲线。

图5 风险评分对 KIRC 患者的临床预后价值

Fig. 5 The clinical prognostic value of Risk score in patients with KIRC



注: A. KIRC 患者 22 种免疫细胞浸润比例; B、C. 训练集、测试集高低风险组免疫细胞浸润差异。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图 6 免疫细胞浸润分析
Fig. 6 Immunocyte Infiltration Analysis

表 2 基因表达与药物敏感性的相关性

Tab. 2 Correlation between gene expression of and drug sensitivity

基因	60 个癌细胞系			8 个肾癌细胞系		
	药物	相关系数	P 值	药物	相关系数	P 值
BAG1	白屈菜红碱	0.557	<0.001	丁硫氨酸-亚砷亚胺	-0.872	0.005
BAG1	AM-5992	0.468	<0.001	PF-2771	-0.863	0.006
BAG1	7-羟基星形孢菌素	0.443	<0.001	三氧化二砷	-0.857	0.007
BAG1	INK-128	-0.481	<0.001	帕博西尼	0.854	0.007
BIRC5	SNS-314	0.423	<0.001	恩曲替尼	-0.955	<0.001
BIRC5	5-氟脱氧尿苷 10	0.376	0.003	Gandotinib	-0.942	<0.001
BIRC5	博来霉素	0.342	0.008	AMD-070	-0.939	<0.001
BIRC5	司美替尼	-0.362	0.004	替沃扎尼	-0.937	<0.001
BNIP3	P-529	0.542	<0.001	Saridegib	0.913	0.002
BNIP3	特拉替尼	0.473	<0.001	阿扎胞苷	0.846	0.008
BNIP3	IDH-C227	0.472	<0.001	卡铂	0.836	0.010
BNIP3	AM-5992	-0.436	<0.001	CH-5132799	-0.856	0.007
EIF4EBP1	SNS-314	0.443	<0.001	AZD-5363	-0.969	<0.001
EIF4EBP1	氟尿苷	0.412	0.001	GSK-2141795	-0.960	<0.001
EIF4EBP1	奎扎替尼	0.391	0.002	Afuresertib	-0.958	<0.001
EIF4EBP1	维甲酰胺胺	0.340	0.008	Ipatasertib	-0.955	<0.001

胞、单核细胞和静息肥大细胞在高风险组中浸润比例降低,说明这些免疫细胞的浸润增加可能与 KIRC 患者的良好预后有关。

近年来,自噬相关基因在多药耐药中的作用受到越来越多的关注。以往研究报道,在乳腺癌、结肠癌和卵巢癌细胞系中,星形孢菌素可以通过介导自噬蛋白 p62 的表达来逆转顺铂的耐药性^[24],说明可以通过改变自噬水平或抑制自噬相关基因的表达,在一定程度上提高药效,从而为临床用药提供理论依据^[25]。在本研究中构建的 4 个模型基因分别与多种癌细胞系的药物敏感性相关,其中在肾癌细胞系中,与 BAG1 表达呈正相关的药物 2 个,负相关的 11 个;与 BIRC5 表达呈正相关的 3 个,负相关的 51 个;与 BNIP3 表达呈正相关的 3 个,负相关的 1 个;与 EIF4EBP1 表达呈正相关的 4 个,负相关的 21 个。且相关系数可达到 0.9 以上。这可能为肾癌的预后提供潜在的药物治疗靶点,但仍需要更多的试验加以验证,以评估该模型基因对临床试验中新药的影响,为新药筛选提供选择。

综上所述,在本研究中,笔者从分析预后自噬相关基因在泛癌中的表达差异,聚焦到对 KIRC 患者的生存预后分析,确定了一种由 4 个差异自噬基因(BAG1、BIRC5、BNIP3 和 EIF4EBP1)组成的新预后标志物模型,同时证明了该模型与 KIRC 患者的 OS 独立相关,并发现其在肿瘤免疫微环境、药物敏感性等方面也具有重要意义。但潜在的分子机制还需要进一步的实验研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

伍艳婷:提出研究方案并设计课题,实施研究过程,论文撰写;舒文莹:确定分析方法,论文修改;王艳平:文献调研,资料搜集和数据整理;周毅:课题设计审核;简晓顺:提出研究思路,论文审核

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] Barata PC, Rini BI. Treatment of renal cell carcinoma: Current status and future directions[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2017, 67(6):507-524. DOI:10.3322/caac.21411.
- [3] Sharma R, Kadife E, Myers M, et al. Determinants of resistance to VEGF-TKI and immune checkpoint inhibitors in metastatic renal cell carcinoma[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research; CR, 2021, 40(1):186. DOI:10.1186/s13046-021-01961-3.
- [4] Amaravadi RK, Kimmelman AC, Debnath J. Targeting autophagy in cancer: Recent advances and future directions[J]. Cancer Discovery, 2019, 9(9):1167-1181. DOI:10.1158/2159-8290.cd-19-0292.
- [5] Mowers EE, Sharifi MN, Macleod KF. Functions of autophagy in the tumor microenvironment and cancer metastasis[J]. The FEBS Journal, 2018, 285(10):1751-1766. DOI:10.1111/febs.14388.
- [6] Li X, Zhou Y, Li Y, et al. Autophagy: A novel mechanism of chemoresistance in cancers[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 119:109415. DOI:10.1016/j.biopha.2019.109415.
- [7] Ho CJ, Gorski SM. Molecular mechanisms underlying autophagy-mediated treatment resistance in cancer[J]. Cancers, 2019, 11(11):1775. DOI:10.3390/cancers11111775.
- [8] Huang X, Gan G, Wang X, et al. The HGF-MET axis coordinates liver cancer metabolism and autophagy for chemotherapeutic resistance[J]. Autophagy, 2019, 15(7):1258-1279. DOI: 10.1080/15548627.

2019. 1580105.
- [9] Guo JC, Wei QS, Dong L, et al. Prognostic value of an autophagy-related five-gene signature for lower-grade glioma patients [J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 644443. DOI: 10. 3389/fonc. 2021. 644443.
 - [10] Yang J, Rao S, Cao R, et al. miR-30a-5p suppresses lung squamous cell carcinoma via ATG5-mediated autophagy [J]. *Aging*, 2021, 13 (13): 17462-17472. DOI:10. 18632/aging. 203235.
 - [11] Yuan Y, Li X, Xu Y, et al. Mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1 promotes autophagy flux to suppress the development of clear cell renal cell carcinomas [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110 (11): 3533-3542. DOI: 10. 1111/cas. 14192.
 - [12] Gui CP, Liao B, Luo CG, et al. circCHST15 is a novel prognostic biomarker that promotes clear cell renal cell carcinoma cell proliferation and metastasis through the miR-125a-5p/EIF4EBP1 axis [J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20 (1): 169. DOI: 10. 1186/s12943-021-01449-w.
 - [13] Wang J, Chen M, Dang C, et al. The early diagnostic and prognostic value of BIRC5 in clear-cell renal cell carcinoma based on the cancer genome atlas data [J]. *Urologia Internationalis*, 2022, 106 (4): 344-351. DOI:10. 1159/000517310.
 - [14] Wang X, Wu F, Deng Y, et al. Increased expression of PSME2 is associated with clear cell renal cell carcinoma invasion by regulating BNIP3-mediated autophagy [J]. *International Journal of Oncology*, 2021, 59 (6): 106. DOI:10. 3892/ijo. 2021. 5286.
 - [15] Wu H, Liu M, He Y, et al. Expression of BAG1 is associated with prognosis in kidney renal clear cell carcinoma based on bioinformatics [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21 (1): 160. DOI: 10. 1186/s12885-021-07874-w.
 - [16] 陈敏, 张勇. 基于 TCGA 数据库分析 BIRC5 在肾透明细胞癌中的表达及预后 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25 (4): 344-349. DOI:10. 3969/j. issn. 1009-8291. 2020. 04. 015.
 - [17] Xing Q, Ji C. Identification of small molecule drugs and development of a novel autophagy-related prognostic signature for kidney renal clear cell carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2020, 9 (19): 7034-7051. DOI:10. 1002/cam4. 3367.
 - [18] 陈俊逸, 陈晶, 张蒙, 等. 基于 TCGA 数据库构建肾透明细胞癌自噬相关基因风险预测模型 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56 (5): 757-761. DOI: 10. 19405/j. cnki. issn1000-1492. 2021. 05. 016.
 - [19] 段万里, 任伟, 邓骞, 等. 基于 TCGA 数据库的肾癌自噬相关基因预后模型的建立与应用 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25 (10): 870-875, 889. DOI:10. 3969/j. issn. 1009-8291. 2020. 10. 003.
 - [20] Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment [J]. *Current Biology*, 2020, 30 (16): R921-R925. DOI: 10. 1016/j. cub. 2020. 06. 081.
 - [21] Han C, Yang Y, Sheng Y, et al. The mechanism of lncRNA-CRND in regulating tumour-associated macrophage M2 polarization and promoting tumour angiogenesis [J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2021, 25 (9): 4235-4247. DOI:10. 1111/jcmm. 16477.
 - [22] Salmaninejad A, Valilou SF, Soltani A, et al. Tumor-associated macrophages: Role in cancer development and therapeutic implications [J]. *Cellular Oncology (Dordrecht)*, 2019, 42 (5): 591-608. DOI: 10. 1007/s13402-019-00453-z.
 - [23] Zhu Y, Yang J, Xu D, et al. Disruption of tumour-associated macrophage trafficking by the osteopontin-induced colony-stimulating factor-1 signalling sensitises hepatocellular carcinoma to anti-PD-L1 blockade [J]. *Gut*, 2019, 68 (9): 1653-1666. DOI: 10. 1136/gutjnl-2019-318419.
 - [24] Alsamman K, El-masry OS. Staurosporine alleviates cisplatin chemoresistance in human cancer cell models by suppressing the induction of SQSTM1/p62 [J]. *Oncology Reports*, 2018, 40 (4): 2157-2162. DOI:10. 3892/or. 2018. 6615.
 - [25] Jia J, Yang X, Zhao Q, et al. BNIP3 contributes to cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells [J]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10 (8): 1463-1473. DOI:10. 1002/2211-5463. 12881.

(收稿日期: 2022-10-27)

(上接 851 页)

- [42] 李强, 张志凌, 郭宏怡. 超声造影评价糖尿病合并高血压患者颈动脉斑块内新生血管形成的临床观察 [J]. *中国临床医生杂志*, 2019, 47 (5): 556-558. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-8552. 2019. 05. 017.
- [43] Kumagai S, Amano T, Takashima H, et al. Impact of cigarette smoking on coronary plaque composition [J]. *Coron Artery Dis*, 2015, 26 (1): 60-65. DOI: 10. 1097/MCA. 0000000000000168.
- [44] Matthews KA, Crawford SL, Chae CU, et al. Are changes in cardiovascular disease risk factors in midlife women due to chronological aging or to the menopausal transition [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54 (25): 2366-2373. DOI:10. 1016/j. jacc. 2009. 10. 009.
- [45] 宫玉霞, 张德龙, 王世锋, 等. 银杏叶片联合阿托伐他汀对冠心病伴代谢综合征患者血清 BPA、ADMA、visfatin 水平及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20 (1): 7-12. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 01. 002.
- [46] 米日喀米力·玉苏甫, 亚森江·买买提, 穆克达·阿布力提甫. 老年冠心病伴 OSAHS 患者 AHI 变化及对 MACE 发生风险的预警价值 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21 (6): 593-598. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 008.
- [47] 刘翰. 冠脉造影证实的冠心病稳定型心绞痛患者相关危险因素与其中医证型关系研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [48] 鲁津津, 夏勇. 血小板指标与冠心病患者冠状动脉病变程度相关性研究 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15 (7): 1009-1011. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 07. 039.

(收稿日期: 2023-02-24)