

本文引文格式:罗倩,詹雪冰,况云舒,等.头颈部鳞状细胞癌焦亡相关 lncRNA 对预后风险模型的构建与评估[J].右江民族医学院学报,2022,44(5):666-674.

【论著与临床报道】

头颈部鳞状细胞癌焦亡相关 lncRNA 对预后风险模型的构建与评估

罗倩¹,詹雪冰¹,况云舒¹,陶香香¹,王俊¹,梁箫¹,王俊杰¹,孙恩涛²,陈冰¹

(1. 皖南医学院病理教研室,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院检验学院,安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 基于生物信息学方法构建头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)焦亡相关 lncRNA 对预后风险模型并进行评估。方法 从TCGA数据库中获取HNSCC的转录组数据,与焦亡相关基因进行共表达和差异分析,并以焦亡相关 lncRNA 对展示。将HNSCC患者随机分为训练集(246例)和验证集(245例),采用Cox回归分析和改良Lasso惩罚回归进行预后模型构建。根据训练集风险评分的中位数将HNSCC患者分为高、低风险组,并计算所有样本的风险得分,采用Kaplan-Meier法对两组患者进行生存分析并绘制生存曲线。通过绘制ROC曲线评估模型的准确性。单因素和多因素Cox回归分析患者临床病理资料和风险评分与总生存率的关系,探索HNSCC预后危险因素。结果 在HNSCC中共提取到53个差异焦亡相关的lncRNA(FDR<0.05,logFC>2),并以lncRNA对形式进行展示。通过Cox回归分析和改良Lasso惩罚回归筛选出18个预后相关lncRNA对用于预后风险模型构建。训练集和验证集结果表明,低风险组患者生存时间高于高风险组患者(P<0.05);预后风险模型1年总生存ROC曲线下面积>0.7;单因素和多因素Cox回归分析显示风险评分是HNSCC的独立预后因素。结论 基于18个焦亡相关lncRNA对建立的预后模型可以有效预测HNSCC患者的预后情况,且风险评分是HNSCC的独立预后因素。

关键词:头颈部鳞状细胞肿瘤;细胞焦亡;免疫检查点

中图分类号:R739.91

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2022)05-0666-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.009

Construction and evaluation of the prognostic risk model of lncRNA related to pyroptosis of head and neck squamous cell carcinoma

Luo Qian¹, Zhan Xuebing¹, Kuang Yunshu¹, Tao Xiangxiang¹, Wang Jun¹,
Liang Xiao¹, Wang Junjie¹, Sun Entao², Chen Bing¹

(1. Department of Pathology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

2. School of Laboratory Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To construct and evaluate a prognostic risk model of lncRNA related to pyroptosis of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) based on bio-informatics methods. **Methods** The transcriptome data of HNSCC were obtained from TCGA database. Co-expression and differential analysis were performed with pyroptosis-related genes, and they are displayed as pyroptosis-related lncRNA pairs. HNSCC patients were randomly divided into a training set (246 cases) and a validation set (245 cases). Cox regression analysis and modified Lasso penalty regression were used to construct the prognostic model. According to the median risk score of the training set, patients with HNSCC were divided into high and low risk groups, and the risk scores of all samples were calculated. Kaplan-Meier method was used to analyze the survival of patients in

基金项目:国家自然科学基金项目(31870352);安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021b059);安徽省高校科学研究项目(研究生科研项目)(YJS20210552)

第一作者简介:罗倩(1997-),女,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤病理学,E-mail:1730906896@qq.com

通讯作者简介:陈冰(1974-),男,硕士,教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤病理学,E-mail:chenbing@wnmc.edu.cn

two groups and draw the survival curve. The accuracy of the model was evaluated by drawing ROC curve. Univariate and multivariate Cox regression analysis were used to analyze the relationship between clinical pathological data, risk score, on the one hand, and overall survival rate, on the other hand. And the prognostic risk factors of HNSCC were explored. **Results** A total of 53 differential lncRNAs ($FDR < 0.05$, $\log FC > 2$) related to pyroptosis were extracted from HNSCC and displayed in the form of lncRNA pairs. Eighteen prognostic-related lncRNA pairs were screened out by Cox regression analysis and modified Lasso penalty regression for the construction of prognostic risk model. The results of training set and validation set showed that the survival time of patients in the low-risk group was higher than that in the high-risk group ($P < 0.05$). The area under ROC curve of prognostic risk model for one-year overall survival was > 0.7 . Univariate and multivariate Cox regression analysis showed that risk score was an independent prognostic factor for HNSCC. **Conclusion** The prognostic model based on 18 pyroptosis-related lncRNA pairs can effectively predict the prognosis of HNSCC patients, and the risk score is an independent prognostic factor for HNSCC.

Key words: head and neck squamous cell carcinoma; pyroptosis; immune checkpoint

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是全球第六大最常见的恶性肿瘤,年发病率超过 60 万^[1]。它通常与人类乳头瘤病毒(HPV)感染、酗酒或接触烟草致癌物有关^[2]。目前手术、放疗和同步全身治疗技术在不断进步,但大多数 HNSCC 患者的早期临床症状不明显,发现时已处于中晚期,预后较差,且 HNSCC 患者的 5 年总生存率为 50%^[3-4]。因此,寻找有效的生物标志物和建立可靠的新的预后模型是十分必要的。

细胞焦亡(pyroptosis)又称细胞炎性坏死,是一种程序性细胞死亡,表现为细胞不断胀大直至细胞膜破裂,导致细胞内容物释放进而激活强烈的炎症反应^[5]。据报道^[6],细胞焦亡可被部分非编码 RNA 及其他分子调控进而影响肿瘤的增殖、侵袭和迁移。长链非编码 RNA(long noncodingRNAs, lncRNAs)是转录长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,没有或几乎没有蛋白质编码能力,且在正常的生物环境和包括肿瘤发生在内的病理过程中, lncRNAs 是调控靶基因不可或缺的^[7-8]。REN N S 等^[9]发现 lncRNAADAMTS9-AS2 通过激活 NLRP3 介导的细胞焦亡,与 miR-223-3p 结合,抑制胃癌细胞增殖,提高顺铂敏感性。CHEN Z H 等^[10]发现,在肝癌中, NLRP3 依赖的细胞焦亡通过 lncRNA SNHG7/miR-34a/SIRT1 轴被抑制。以上例子说明 lncRNAs 可作为肿瘤发生、发展的关键分子,通过直接或间接作用介导细胞焦亡。

为了寻找 HNSCC 新的治疗靶标,并准确预测 HNSCC 患者的预后,制定精准的治疗方案,本研究利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库^[11]的转录组测序数据进行分析,构建了一种新的预后风险模型。但转录组测序数据是采用高通量基因测序技术得到的,而这一技术得到的基因表达数据有一定的局限性,即基因表达检测的平台和时间

不同,对检测到的基因表达水平存在批次效应,可能导致分析结果不准确^[12]。所以本研究采用了一种新的方法,以克服不同平台的批量效应。该方法是根据基因表达水平的相对排序对表达矩阵进行归一化和缩放^[13],即将每个样本中的焦亡相关 lncRNAs (prlncRNA)的基因表达水平进行两两比较并构建焦亡相关 lncRNA 对(PRLPs)。在某样本中,如果某 PRLPs 的第一个 lncRNA 的表达值大于第二个 lncRNA,则该 PRLPs 在该样本中的得分为 1;否则为 0。计算所有样本中每个 PRLPs 的得分,剔除低变异性的 PRLPs,即在任意数据集中,某一 PRLPs 的得分为 1 或 0 的样本低于 20%,被剔除。最后,鉴定出具有较高变异性的 PRLPs,以供进一步分析。该方法构建的预后风险模型具有临床实用性,能够区分临床病例的高低风险,且已被证明是可行的^[14-15]。基于此,本研究从 TCGA 数据库获取 HNSCC 的转录组测序数据及临床资料,筛选出 prlncRNA 并以成对的形式显示,构建 HNSCC 预后 PRLPs 预后风险模型并进行评估,有望为 HNSCC 治疗策略的制定提供帮助。

1 材料和方法

1.1 数据来源 HNSCC 的转录组测序数据及临床资料于 2021 年 5 月 18 日从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载。转录组数据共 546 例,包含 44 例正常头颈部组织和 502 例头颈部鳞状细胞癌组织。临床资料包括年龄、性别、生存时间、生存状态、肿瘤病理分期、肿瘤分级、TNM 分期,剔除生存时间未知或小于 30 d 的患者肿瘤样本,纳入 491 例 HNSCC 样本,并以 1:1 的比例随机分为训练集(246 例)和验证集(245 例)。

1.2 数据预处理 使用 perl 语言脚本提取 HNSCC 的基因表达矩阵。从 Ensembl (<http://asia.ensembl.org>)下载基因注释文件,将 HNSCC 基因表达矩阵

中的 ID 转换为基因名称,并区分 lncRNA 和 mRNA,获取 HNSCC lncRNA 表达矩阵。引用 YE Y 等^[16]总结的 33 个焦亡相关基因,并采用与前述相同方法得到 33 个焦亡相关基因的 HNSCC 基因表达矩阵。使用 perl 语言脚本提取 HNSCC 的临床信息,用于后续研究分析。

1.3 PRLPs 的获取 利用 R 语言“limma”包,对 HNSCC lncRNA 表达矩阵与 33 个焦亡相关基因的 HNSCC 基因表达矩阵进行共表达分析,筛选出 prlncRNA(相关系数 $Cor > 0.4$ 和 $P < 0.001$),并利用 R 包“igraph”可视化共表达关系,得到共表达网络。同时以 $FDR < 0.05$ 和 $\log FC > 2$ 作为临界值对 prlncRNA 进行差异分析,得到差异表达的 prlncRNA。为了解决数据批次校正问题,将所有差异 prlncRNA 以两两组合的形式进行分析,即 lncRNA A | lncRNA B,称之为 PRLPs。当 lncRNA A 的表达高于 lncRNA B 时,将 PRLPs 记为 1;否则,记为 0。得分为 0 或 1 的总数占有所有样品的 20%~80%,是有效组合。

1.4 PRLPs 预后风险模型的构建及评估 对 PRLPs 进行单因素 Cox 回归分析,得到与预后相关的 PRLPs。再进行 10 次交叉验证的 Lasso 回归分析,在此之前需要进行 Lasso 回归过滤,使相对不显著的变量系数为 0 的 PRLPs 排除在建模之外,得到最小的误差值去构建 Lasso 回归预测模型,并采用分步法生成 Cox 比例风险模型。计算每个 HNSCC 样本的风险评分,并根据风险评分的中位数将 HNSCC 患者分为高、低风险组。风险评分大于中位数为高风险组;反之,则为低风险组。风险评分 = $coef1 * Exp1 + coef2 * Exp2 \dots + coefN * ExpN$ (Exp:某 PRLPs 比较之后的值;ef:回归系数)。计算所有样本的风险得分,并以散点图的形式显示出来。Kaplan-Meier 分析显示高风险组与低风险组的预后情况。绘制 ROC 曲线评估 PRLPs 模型的灵敏度和特异度,其通过 ROC 曲线下方面积大小展示,即 AUC 值。进行单因素和多因素独立预后分析,并绘制多指标 ROC 曲线。对不同临床病理特征进行相关性分析,并以箱线图和热图的形式展现。以上使用了 R 语言“limma”、“survival”、“timeROC”、“caret”、“survminer”、“glmnet”和“survivalROC”包。

1.5 风险评估模型与免疫检查点相关生物标志物之间的分析 免疫检查点相关的生物标志物有 CTLA4、PDCD1、LAG3、HAVCR2 和 TIGIT。采用相关检验方法和差异分析方法对免疫检查点相关生物标志物进行相关性分析。分析免疫治疗与肿瘤微环境和干细胞指数的关系。采用免疫亚型分析来评估免疫治疗的疗效。上述分析用到了 UCSC Xena 数据库 (<https://>

xena.ucsc.edu/) 的 Subtype 和 StemnessScores 数据。

2 结果

2.1 差异 prlncRNA 的鉴定及 PRLPs 的建立 本研究的流程图,见图 1。TCGA 中 HNSCC 的详细临床特征,见表 1。本研究用到的 33 个焦亡基因见表 2。首先对 HNSCC 样本中的 lncRNA 和 33 个焦亡基因进行 Person 相关性分析(相关系数 $Cor > 0.4$ 和 $P < 0.001$),共鉴定出 187 个 prlncRNA,结果见共表达网络图(见图 2A)。随后以 $FDR < 0.05$ 和 $\log FC > 2$ 作为临界值进行差异分析,得到 53 个差异 prlncRNA(见图 2B),其中 4 个下调,49 个上调(见图 2C)。最后对差异 prlncRNA 进行循环,以 $0.2 < pairRatio < 0.8$ 为有效范围,筛选出 877 对有效 PRLPs 用于后续分析。

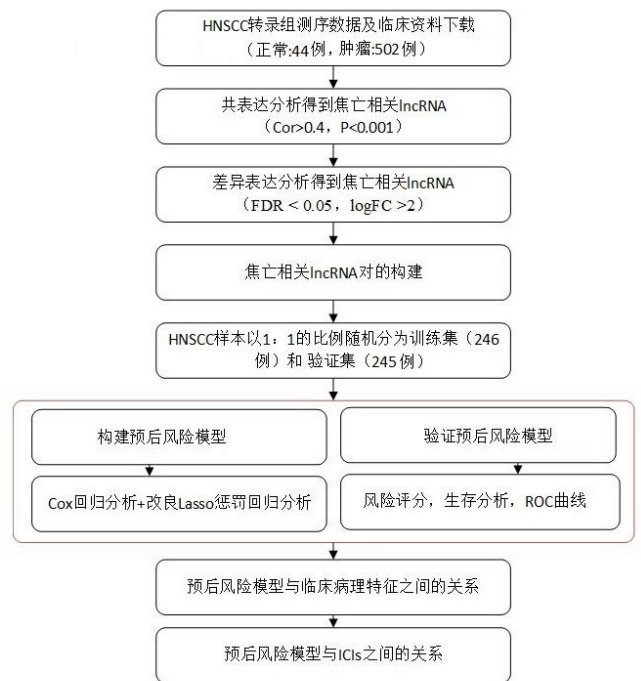


图 1 研究流程图

2.2 风险评估模型的建立 将 HNSCC 患者生存时间未知或小于 30 d 的样本删除,随后以 1 : 1 的比例随机分为训练集(246 例)和验证集(245 例)。然后对上述筛选出的 877 对 PRLPs 进行单因素 Cox 回归分析,得到 124 个预后相关的 PRLPs,其中 60 个 PRLPs 是高风险($HR > 1, P < 0.05$),64 个是低风险($HR < 1, P < 0.05$)。再对预后相关的 PRLPs 进行 Lasso 回归分析得到最小误差值 18,并计算相应回归系数(见图 3A、图 3B)。最后,利用上述得到的 18 个 PRLPs 构建 Lasso 回归预测模型,并采用分步法生成 Cox 比例风险模型(见图 3C)。

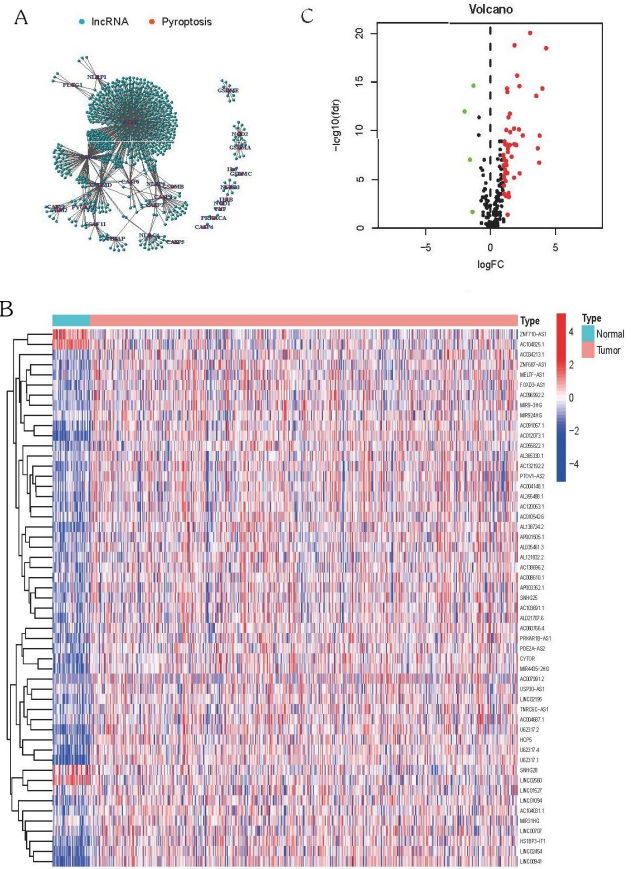
表 1 491 例 HNSCC 患者临床病理特征

变量		例(%)
年龄/岁	≤65	321(65.38)
	>65	170(34.62)
性别	女	130(26.48)
	男	361(73.52)
肿瘤分级	1	60(12.22)
	2	293(59.68)
	3	117(23.83)
	4	2(0.40)
	NA	19(3.87)
	肿瘤分期	I
II		69(14.05)
III		78(15.89)
IV		251(51.12)
NA		68(13.85)
T 分期		T1
	T2	129(26.27)
	T3	96(19.55)
	T4	166(33.81)
	NA	56(11.41)
	N 分期	N0
N1		65(13.24)
N2		159(32.38)
N3		7(1.43)
NA		93(18.94)
M 分期		M0
	M1	1(0.20)
	NA	309(62.94)

表 2 33 个焦亡基因

基因名称	基因名称	基因名称	基因名称
AIM2	GPX4	NLRC4	PLCG1
CASP1	GSDMA	NLRP1	PRKACA
CASP3	GSDMB	NLRP2	PYCARD
CASP4	GSDMC	NLRP3	SCAF11
CASP5	GSDMD	NLRP6	TIRAP
CASP6	GSDME	NLRP7	TNF
CASP8	IL18	NOD1	
CASP9	IL1B	NOD2	
ELANE	IL6	PJVK	

2.3 风险评估模型的验证 在训练集(246 例)和验证集(245 例)中,根据训练集的风险评分的中位数将 HNSCC 患者分为高风险组和低风险组(见图 4A、图 4B)。结果发现低风险组患者预后更好(见图 4C、图 4D)。说明低风险组的临床治疗效果更好。随后,进一步通过 1 年、3 年和 5 年 ROC 曲线评估 PRLPs 模型的灵敏度和特异度,在训练集中 1 年、3 年和 5 年总生存 AUC 值分别为 0.746、0.761、0.762(见图 4E),



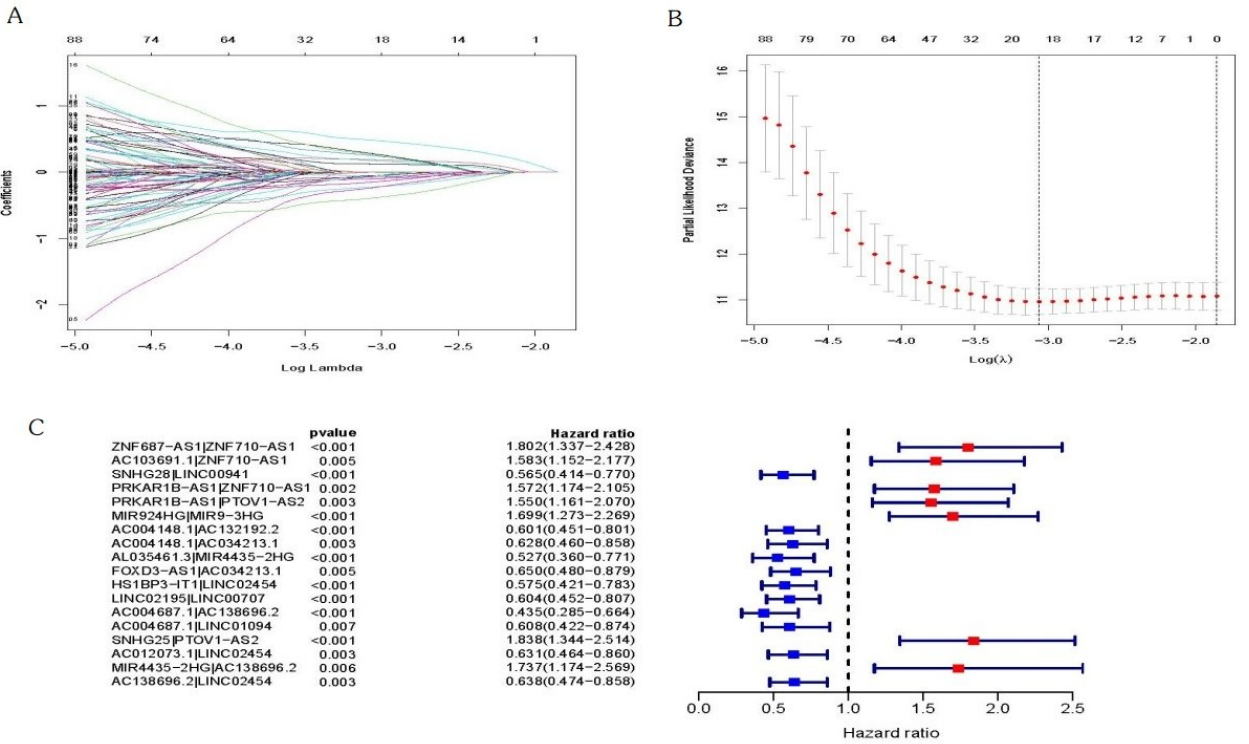
注:33 个焦亡相关基因和 lncRNA 的共表达网络图(A);筛选出 53 个差异 prlncRNAs 的热图(B)和火山图(C)。

图 2 prlncRNAs 的筛选

在验证集中 1 年、3 年和 5 年总生存 AUC 值分别为 0.715、0.660、0.660(见图 4F)。表明 PRLPs 预后风险模型能较准确地预测 HNSCC 患者的生存预后。

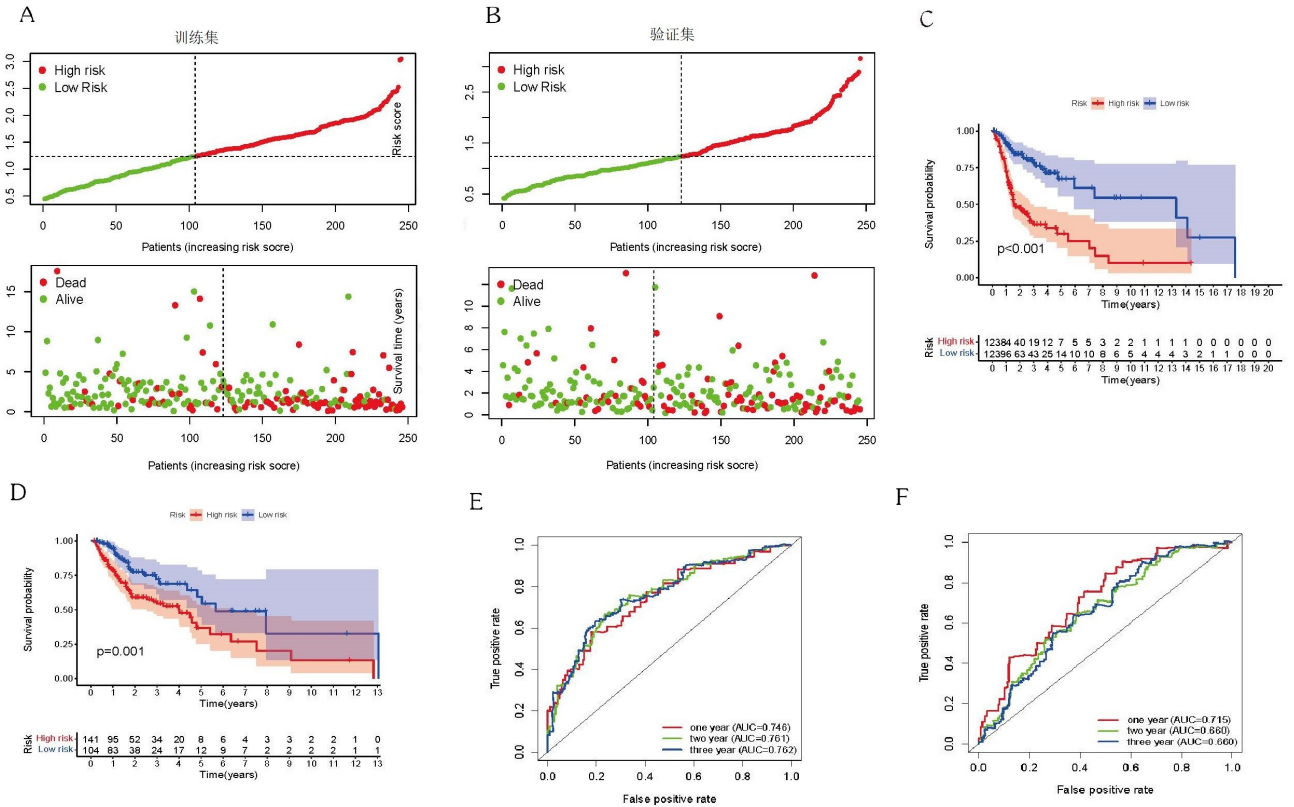
2.4 HNSCC 患者的独立预后因素 为验证 PRLPs 预后风险模型是否可以独立于其他的临床性状作为独立的预后因子,进行单因素和多因素独立预后分析。图 5A 和图 5B 分别是训练集和验证集单因素和多因素独立预后分析的结果,结果表明模型风险评分与患者总生存时间相关($P < 0.05$)。多指标联合分析的 ROC 曲线结果表明训练集(见图 5C)和验证集(见图 5D)各自的 1 年总生存 AUC 值分别为 0.746 和 0.715,均高于其他临床病理参数。以上结果表明, PRLPs 预后风险模型可作为预测 HNSCC 患者预后的独立预后因素。

2.5 风险评估模型与临床病理特征的关系 根据临床病理资料对 HNSCC 患者进行了分层分析。在年龄 ≤65 岁、年龄 >65 岁、男性、G1-2、G3-4、T1-2、T3-4、M0、N0、N1-3 和 III~IV 期中, HNSCC 高风险组患者的总生存时间较低风险组患者的总生存时间短($P < 0.001$),见图 6。而女性、M1 和 I~II 期这 3 个分层中,输出结果无统计学意义,说明所构建的风险模型只



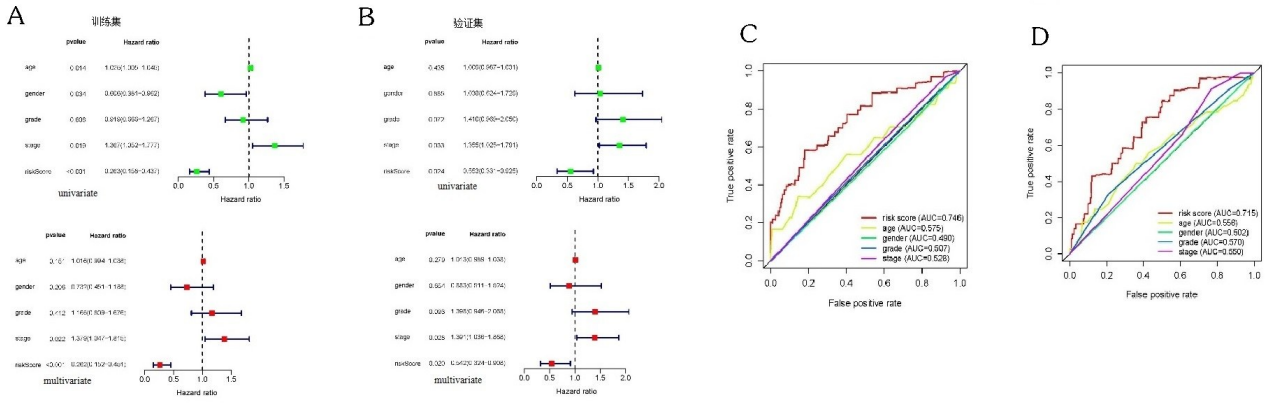
A: Lasso 回归系数分布的剖面图; B: 10 倍交叉验证选择最优 λ 值; C: 分步法生成的 Cox 比例风险模型。

图 3 预后风险模型的构建



A、B 为头颈部鳞状细胞癌中位风险评分的分布情况及风险评分与生存时间的关系，黑色虚线是把患者分为高风险组和低风险组的最佳分界线；C、D 为头颈部鳞状细胞癌的生存曲线，红色代表高风险组，蓝色代表低风险组；E、F 为预后模型的 ROC 曲线。

图 4 预后风险模型的验证



A、B 为单因素和多因素 Cox 回归分析；C、D 为多指标 ROC 曲线。
图 5 prlncRNA 对模型是预测 HNSCC 患者生存的独立预后因素

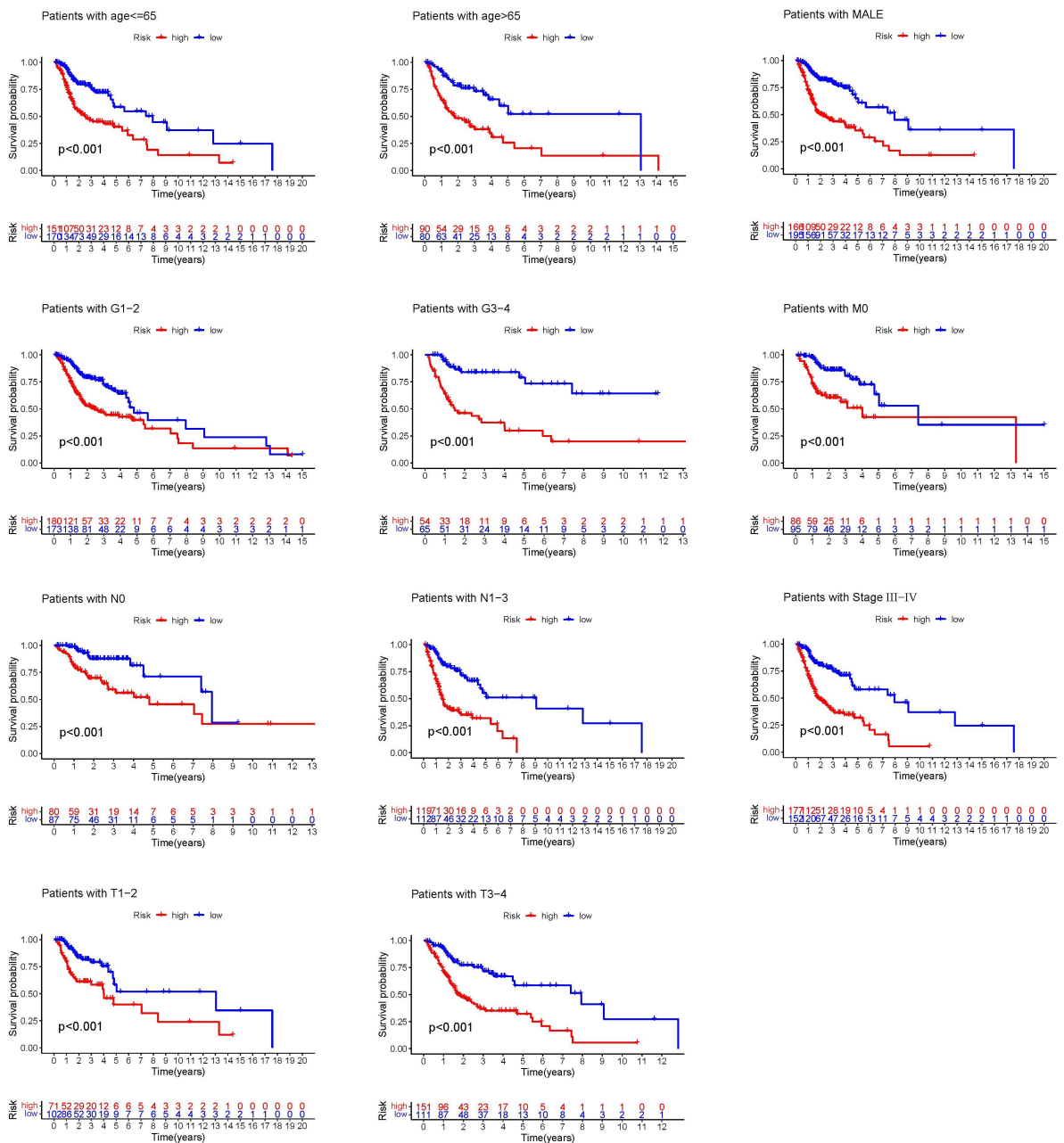
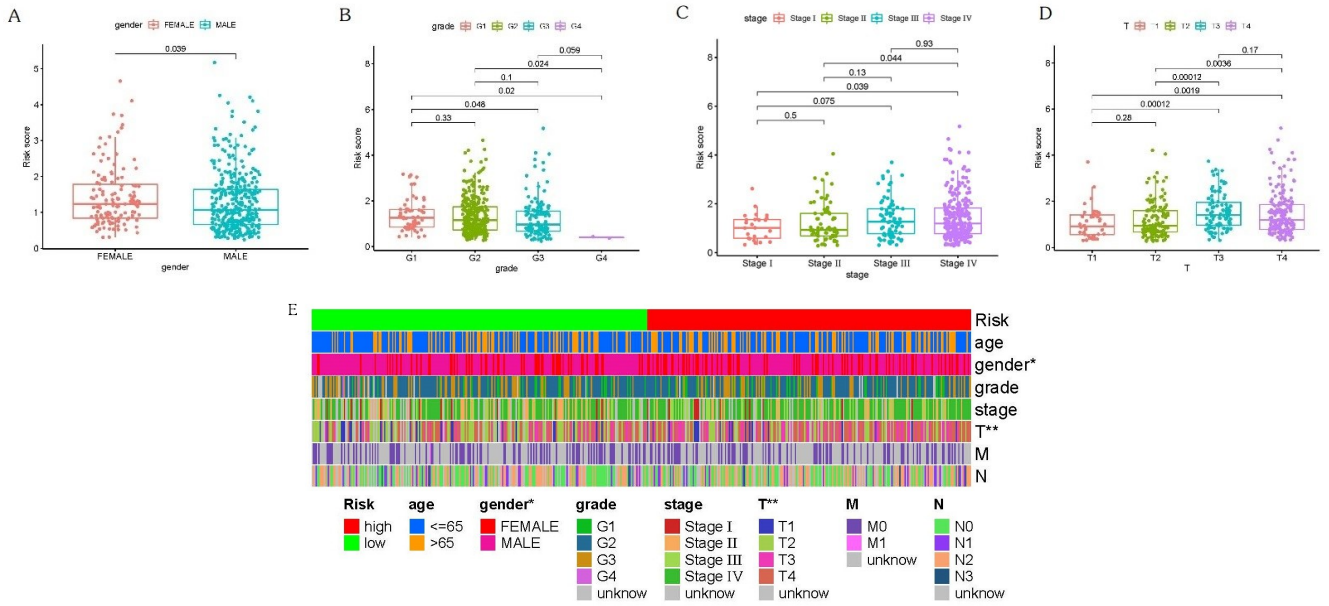


图 6 头颈部鳞状细胞癌患者不同病理特征分层的高低风险生存分析

能在某些人群中适用,存在局限性。以上结果表明, PRLPs 预后风险模型在不同分层中具有较好的预测能力。根据 Wilcoxon 符号秩检验计算不同临床病理特征之间的风险评分差异。结果显示,性别(见图 7A)、分级(见图 7B)、分期(见图 7C)、T 分期(见图 7D)与风险评分存在显著相关性($P < 0.05$)。采用卡方检验来探讨 HNSCC 发病风险与临床病理特征之间的关系。结果如图 7E 所示。

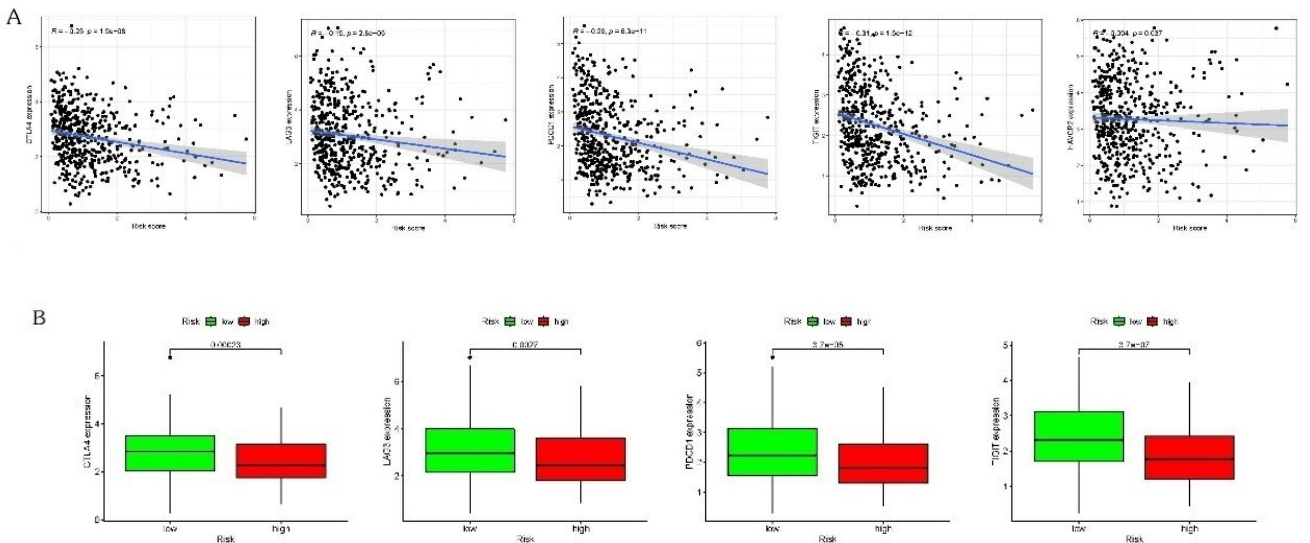
2.6 风险模型与免疫治疗的关系 免疫检查点相关生物标志物的相关性检验和差异分析结果分别如图

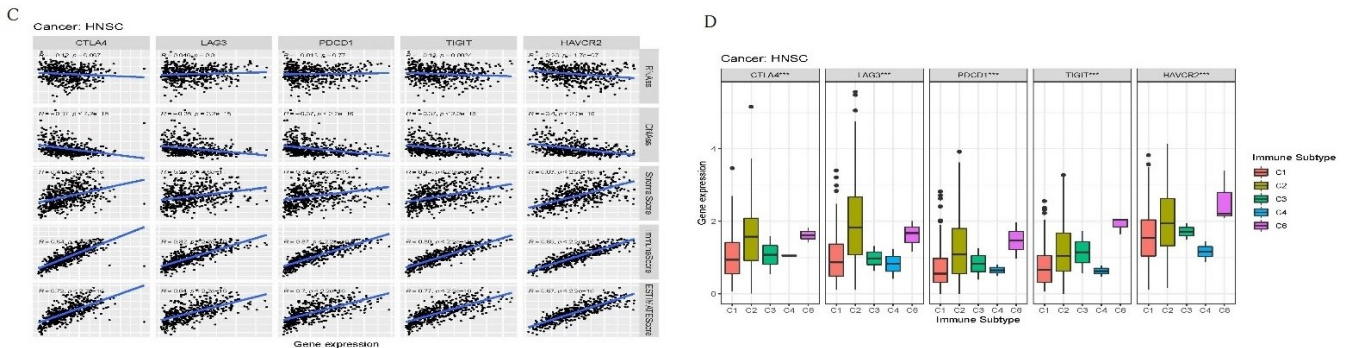
8A 和图 8B 所示,结果表明免疫检查点相关生物标志物的表达与风险评分存在显著相关性和差异性。图 8C 显示了 HNSCC 中免疫检查点相关生物标志物与 DNA stemness score(DNA_{ss})、RNA stemness score(RNA_{ss})、StromalScore、ImmuneScore 和 ESTIMATEScore 之间的相关性。免疫分型表明 HNSCC 中的 CTLA4、LAG3、PDCD1、TIGIT 和 HAVCR2 的表达在不同免疫亚型中存在明显差异,其中 CTLA4、PDCD1、TIGIT 和 HAVCR2 在 C6 中高表达,LAG3 在 C2 中高表达(见图 8D)。



A~D: Wilcoxon 符号秩检验, 性别(A)、分级(B)、分期(C)和 T 分期(S)与风险评分存在显著相关性 ($P < 0.05$); E: χ^2 检验, 结果以热图展示 ($< 0.01 = **$, $< 0.05 = *$)。

图 7 头颈部鳞状细胞癌患者与不同临床病理特征之间的关系





A: 免疫检查点相关生物标志物的相关性检验; B: 免疫检查点相关生物标志物的差异分析;
C: 免疫检查点相关生物标志物与 DNAss、RNAss、Stromal Score、Immune Score 和
ESTIMATEScore 之间的相关性; D: 免疫检查点相关生物标志物的免疫分型。

图 8 风险模型与免疫治疗的关系

3 讨论

随着高通量基因测序技术的发展和大规模基因表达数据集的建立, 肿瘤研究人员能够准确识别与肿瘤预后相关的生物标志物^[17]。但高通量基因测序技术得到的转录组测序数据有一定的局限性, 即存在批次效应, 可能会导致结果不准确^[12]。因此, 为了更精准地预测 HNSCC 患者的预后和疗效, 本研究采用一种有效的新方法去构建预后风险模型。研究表明, 在癌症预测模型的准确性方面, 基因对组合形式优于单基因组合形式^[12]。与传统的由单基因组成的预后模型不同, 由基因对组成的预后模型不需要在不同患者基因表达矩阵测序平台上进行归一化处理, 即: 只需要在基因对的构建过程中考虑数据内基因的比较, 而不需要对数据间的基因进行批量校正。因此本研究采用基因对去构建预后风险模型, 以期更精准地预测肿瘤患者的预后和疗效。

细胞焦亡是一种程序性细胞死亡, 由炎症小体诱导。研究表明, 诱导肿瘤细胞焦亡去消灭肿瘤细胞在肿瘤治疗中尤为重要^[18]。如在非小细胞肺癌中, 转录因子 p53 通过促进肿瘤细胞焦亡抑制肿瘤生长^[19]; 在肾细胞癌中, 抑制 BRD4 可增强 NLRP3 炎症小体的转录活性, 诱导细胞焦亡进而一直肿瘤细胞的增殖和上皮-间质转化^[20]。目前研究主要从分子机制方面阐明细胞焦亡对肿瘤的影响, 对肿瘤患者的预后研究仍较少, 因此, 利用细胞焦亡构建预后模型对于肿瘤患者的个性化治疗和预后预测具有重要意义。

LncRNAs 是转录长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 没有或几乎没有蛋白质编码能力^[7]。WANG B L 等^[21]研究表明在多种癌症类型中 lncRNA-ATB 的高表达是不良预后的标志, 且标志着肿瘤患者淋巴结转移和神经浸润的高风险。ZHANG Y 等^[22]研究表明 lncRNADSCAM-AS1 可能作为一种新的预后标志物和潜在的治疗靶点, lncRNADSCAM-AS1 主要是通过 YBX1 相互作用, 调节 FOXA1 和

ER α 的表达, 促进肿瘤进展。以上研究表明, lncRNAs 在肿瘤的发生、发展和预后中具有重要作用。

鉴于 lncRNA 和细胞焦亡在肿瘤的发生发展中都起着重要作用。因此, 本研究利用生物信息学分析 prlncRNA 在 HNSCC 进展预后中的预测效能。首先对 TCGA 数据库中 HNSCC lncRNA 表达矩阵与 33 个焦亡基因的表达矩阵进行共表达分析, 筛选出 prlncRNA, 进行差异表达分析, 并以 lncRNA 对的形式进行展示, 其中具有较高变异性的 lncRNA 对用于后续分析。然后, 将 HNSCC 样本分为训练集和验证集, 进行单因素 Cox 回归分析和 Lasso 回归分析, 得到 18 个预后相关的 PRLPs 并构建预后风险模型。随后用中位风险评分区分高风险组和低风险组并进行生存分析, 结果表明低风险组患者的总生存时间更长, 表明其临床治疗效果更好, 且训练集和验证集的 AUC 值均 > 0.7。说明所构建的 PRLPs 模型对于 HNSCC 患者的预后具有较好的预测效能。此外, 采用单因素和多因素 Cox 回归分析及多指标联合分析的 ROC 曲线, 研究发现 PRLPs 预后风险模型可以独立于其他的临床性状作为独立的预后因子。最后, 据临床病理资料对 HNSCC 患者进行分层分析, 发现 PRLPs 预后风险模型在不同分层中具有较好的预测能力。

此外, 本研究还对风险评估模型和免疫检查点相关生物标志物之间的关系进行了联合分析。风险评估模型和免疫检查点相关生物标志物结果显示, 高风险组中 LAG3、PDCD1、TIGIT、CTLA4 表达上调。在 RNA 或 DNA 水平上, 免疫检查点相关的生物标志物也与干细胞指数评分呈负相关, 与 StromalScore、ImmuneScore 和 ESTIMATEScore 呈正相关。此外, 本研究还分析了免疫检查点相关生物标志物的免疫亚型: C1 (伤口愈合型)、C2 (IFN- γ 主控型)、C3 (炎症型)、C4 (淋巴细胞消减型)、C5 (免疫静默型) 和 C6 (TGF- β 主导型)^[23]。C1、C2 和 C3 型对免疫治疗敏感, 若术前确定患者病理标本属于这 3 种亚型, 可采用

新辅助免疫治疗;若为 C4、C5 和 C6 型,则不适合新辅助免疫治疗术^[23-25]。但是,免疫亚型仅仅适用于手术前,而手术后还需要 ctDNA 监测。ctDNA 不仅是早期癌症的重要筛查指标,还可用于预测肿瘤患者术后病情的变化^[26]。由于 ctDNA 是动态监测,因此收集 HNSCC 患者血液存在一定困难。

综上所述,本研究采用一种新颖的、可靠的方法构建了一个 PRLPs 预后风险模型,该模型可能为 HNSCC 患者早期诊断和预后提供新思路,并可能为 HNSCC 的预后诊疗提供新的方法和新的理论依据。

参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] JOHNSON D E, BURTNESS B, LEEMANS C R, et al. Head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 1-22.
- [3] MUZAFFAR J, BARI S, KIRTANE K, et al. Recent advances and future directions in clinical management of head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(2): 338.
- [4] EBNOETHER E, MULLER L. Diagnostic and therapeutic applications of exosomes in cancer with a special focus on head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4344.
- [5] ZHANG X W, ZHANG P, AN L, et al. Miltirone induces cell death in hepatocellular carcinoma cell through GS-DME-dependent pyroptosis[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(8): 1397-1413.
- [6] FANG Y, TIAN S, PAN Y, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109595.
- [7] WANG Y, SUN X L. The functions of LncRNA in the heart[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020, 168: 108249.
- [8] FU S J, WANG Y H, LI H, et al. Regulatory networks of LncRNA MALAT-1 in cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 10181-10198.
- [9] REN N S, JIANG T, WANG C B, et al. LncRNA AD-AMTS9-AS2 inhibits gastric cancer (GC) development and sensitizes chemoresistant GC cells to cisplatin by regulating miR-223-3p/NLRP3 axis [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(11): 11025-11141.
- [10] CHEN Z H, HE M, CHEN J H, et al. Long non-coding RNA SNHG7 inhibits NLRP3-dependent pyroptosis by targeting the miR-34a/SIRT1 axis in liver cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 893-901.
- [11] 况云舒,詹雪冰,罗倩,等.基于生信分析 ANKRD26 在肝细胞癌中的表达、预后及与化学物质的相互作用[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(5): 605-610, 616.
- [12] WANG X Y, CAO K L, GUO E, et al. Identification of immune-related lncrna pairs for predicting prognosis and immunotherapeutic response in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 658631.
- [13] HEINANIEMI M, NYKTER M, KRAMER R, et al. Gene-pair expression signatures reveal lineage control [J]. *Nat Methods*, 2013, 10(6): 577-583.
- [14] HONG W F, LIANG L, GU Y J, et al. Immune-related lncrna to construct novel signature and predict the immune landscape of human hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 937-947.
- [15] POPOVICI V, BUDINSKA E, TEJPAR S, et al. Identification of a poor-prognosis BRAF-mutant-like population of patients with colon cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(12): 1288-1295.
- [16] YE Y, DAI Q J, QI H B. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 71.
- [17] ITZEL T, SPANG R, MAASS T, et al. Random gene sets in predicting survival of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *J Mol Med*, 2019, 97(6): 879-888.
- [18] XU D D, JI Z P, QIANG L. Molecular Characteristics, Clinical Implication, and Cancer Immunity Interactions of Pyroptosis-Related Genes in Breast Cancer [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 702638.
- [19] ZHANG T Z, LI Y C, ZHU R D, et al. Transcription factor p53 suppresses tumor growth by prompting pyroptosis in non-small-cell lung cancer[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8746895.
- [20] TAN Y F, WANG M, CHEN Z Y, et al. Inhibition of BRD4 prevents proliferation and epithelial-mesenchymal transition in renal cell carcinoma via NLRP3 inflammasome-induced pyroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 239.
- [21] WANG B L, LU Z, HUANG Y, et al. Prognostic impact of lncRNA-ATB expression in malignant solid tumors: A meta-analysis [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(4): 152897.
- [22] ZHANG Y, HUANG Y X, WANG D L, et al. LncRNA DSCAM-AS1 interacts with YBX1 to promote cancer progression by forming a positive feedback loop that activates FOXA1 transcription network [J]. *Theranostics*, 2020, 10(23): 10823-10837.
- [23] SOLDEVILLA B, CARRETERO-PUCHE C, GOMEZ-LOPEZ G, et al. The correlation between immune subtypes and consensus molecular subtypes in colorectal cancer identifies novel tumour microenvironment profiles, with prognostic and therapeutic implications [J]. *Eur J Cancer*, 2019, 123: 118-129.
- [24] THORSSON V, GIBBS D L, BROWN S D, et al. The immune landscape of cancer [J]. *Immunity*, 2018, 48(4): 812-830. e14.
- [25] LEE A Y, BRADY M S. Neoadjuvant immunotherapy for melanoma [J]. *J Surg Oncol*, 2021, 123(3): 782-788.
- [26] PESSOA L S, HERINGER M, FERRER V P. ctDNA as a cancer biomarker: A broad overview [J]. *Crit Rev Oncol*, 2020, 155: 103109.

收稿日期: 2022-03-07; 修回日期: 2022-03-29