

本文引文格式:曹骏,张豪,郭泽皓,等.基于DNA损伤应答的肝细胞癌预后基因筛选和预后模型构建[J].右江民族医学院学报,2024,46(1):24-31.

【论著与临床报道】

基于DNA损伤应答的肝细胞癌预后基因筛选和预后模型构建

曹骏^{1,2},张豪^{1,2},郭泽皓^{1,2},王小燕²,李康智²,莫之婧^{1,2}

1. 桂林医学院智能医学与生物技术学院,广西 桂林 541199;
2. 广西高校生物化学与分子生物学重点实验室,广西 桂林 541199)

摘要:目的 筛选差异表达的DDR相关基因(differential expressed-DNA damage response associated genes, DEDDR)构建肝细胞癌(HCC)预后模型。方法 使用limma R软件包从TCGA-LIHC数据集中筛选HCC样本和正常样本之间的差异表达基因(DEGs),将其与276个DDR基因取交集获得差异表达DEDDR。通过单因素Cox分析和Lasso回归分析以确定DEDDR预后模型,ROC曲线评估模型的准确性。单因素、多因素Cox回归分析DEDDR预后模型风险评分是否为HCC的预后独立危险因素,并采用国际癌症基因组联盟(ICGC)中LIHC数据作为外部数据进行验证。最后对low-DEDDR组和high-DEDDR组进行GSEA和免疫浸润分析。结果 1361个DEGs与276个DDR基因取交集获得25个DEDDR,Lasso回归分析得到4个DEDDR(TTK、NSMCE2、NUDT1、NEIL3)用于构建预后模型。low-DEDDR组比high-DEDDR组患者具有更高的生存率。ROC曲线显示该模型预测HCC患者1年、2年和3年生存率的AUC值分别为0.77、0.70和0.68;单因素和多因素Cox回归分析结果显示DEDDR预后模型风险评分是HCC患者的独立预后危险因素,且其AUC值高于其他临床病理特征,ICGC中LIHC数据进一步验证了该模型的准确性和临床适用性较好。GSEA分析显示high-DEDDR组主要富集细胞周期、细胞衰老、DNA复制等信号通路,此外high-DEDDR组中2型辅助性T细胞(Th2)丰度更高,而嗜酸性粒细胞丰度更低。结论 DEDDR预后模型在预测HCC患者的预后方面具有较好的表现,可为评估HCC患者预后、识别高危患者提供参考。

关键词: DNA损伤;肝肿瘤;预后

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2024)01-0024-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2024.01.005

Identification of prognostic genes and construction of prognostic model of hepatocellular carcinoma based on DNA damage response

Cao Jun^{1,2}, Zhang Hao^{1,2}, Guo Zehao^{1,2}, Wang Xiaoyan², Li Kangzhi², Mo Zhijing^{1,2}

1. College of Intelligent Medicine and Biotechnology, Guilin Medical University, Guilin 541199, Guangxi, China;
2. Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Guilin Medical University, Guilin 541199, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To screen differential expressed-DNA damage response associated genes (DEDDR) and construct a prognostic model for hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The “limma” R package was employed to identify differentially expressed genes (DEGs) between HCC samples and normal samples from the TCGA-LIHC dataset, and the DEGs were taken to intersect with 276 DDR genes to obtain DEDDR. Univariate Cox analysis and Lasso regression analysis were performed to establish the DEDDR prognostic model. The accuracy of the model was evaluated using ROC curves. Univariate and multivariate Cox regression analyses were conducted to determine whether the DEDDR prognostic model risk score was an independent prognostic factor for HCC. External validation was carried out using the LIHC data provided by the International

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(32060159)

第一作者:曹骏,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤的分子生物学,E-mail:caojun@stu.glmc.edu.cn

通讯作者:莫之婧,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤的分子生物学,E-mail:mozhijing@glmc.edu.cn

Cancer Genome Consortium (ICGC). Lastly, GSEA and immune infiltration analysis were conducted on the low-DEDDR and high-DEDDR groups. **Results** The intersection of 1 361 DEGs with 276 DDR genes resulted in 25 DEDDR genes. LASSO regression analysis identified 4 DEDDR (TTK, NSMCE2, NUDT1, NEIL3) for constructing the prognostic model. Patients in the low-DEDDR group exhibited higher survival rates compared to the high-DEDDR group. ROC curves indicated that the model predicted that 1-year, 2-year, and 3-year survival rates for HCC patients had the AUC values of 0.77, 0.70, and 0.68, respectively. Univariate and multivariate Cox regression analyses demonstrated that the DEDDR prognostic model risk score was an independent prognostic factor for HCC patients with higher AUC values than other clinical pathological features. Further validation using LIHC data of ICGC confirmed the model's accuracy and clinical applicability. GSEA analysis revealed that the high-DEDDR group was mainly enriched in pathways related to cell cycle, cellular senescence, and DNA replication. Additionally, the abundance of type 2 helper T cells (Th2) was higher in the high-DEDDR group, while the abundance of eosinophils was lower. **Conclusion** The DEDDR prognostic model has showed good performance in predicting the prognosis of HCC patients, and can serve as a reference for prognostic evaluation and identification of high-risk individuals.

Key words: DNA damage response; liver tumor; prognosis

肝癌是全球最具侵袭性的实体恶性肿瘤之一,预计到 2025 年其发病病例将超过 100 万。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的肝癌形式,也是癌症致死的第四大原因^[1]。尽管在 HCC 治疗综合方案以及对其流行病学、病因学、生物学、诊断学和治疗方面取得了显著进展,但 HCC 患者的长期预后仍然不容乐观。近几十年来,研究人员一直致力于研究 HCC 发病机制的分子通路,发现基因突变、表观遗传变化以及编码或非编码基因的失调对 HCC 的生长产生影响^[2]。然而,由于 HCC 在患者之间、肿瘤之间和肿瘤内部都具有不同程度的异质性,目前广泛使用的几种预后生物标志物仍然不能满足需求。因此,深度挖掘公共基因表达数据库以寻找分子标志物对于 HCC 的早期诊断、生存预测和复发监测非常重要,这有助于指导患者个性化治疗。

据报道^[3],基因组不稳定性是癌症的基本标志。基因组不稳定性是指由于 DNA 损伤反应导致基因组结构频繁发生有害变化。为了维持基因组稳定性,真核细胞进化出多种机制来检测 DNA 损伤、呈现损伤信号并介导细胞反应以消除损伤。这个过程称为 DNA 损伤应答(DDR)。DDR 是细胞对 DNA 损伤的自主反应,包括内源性和外部性。DDR 信号通路由 8 个分支通路组成,即错配修复(MMR)、碱基切除修复(BER)、核苷酸切除修复(NER)、同源重组修复(HRR)、非同源末端连接(NHEJ)、检查点因子(CPF)、范可尼贫血(FA)和跨损伤合成(TLS)^[4]。这些 DDR 通路的存在主要是为了执行基因组维护功能,从而保持基因组完整性。尽管 DNA 损伤发生的频率相对较低,但应该尽快修复,以保证遗传信息的准确传递。此外,研究表明 DDR 损伤在肿瘤发生、肿瘤发展和对治疗的反应中起着重要作用^[3]。对于肿瘤

治疗,基因毒性药物 30 多年来一直是癌症化疗的支柱,其造成的 DNA 损伤通常需要 DDR 系统来进行修复^[5]。DDR 系统通路与肝癌的化疗耐药有关,某些肝癌细胞通过增强 DDR 能力来对抗化疗药物引起的 DNA 损伤,从而导致化疗耐药的情况经常发生^[6]。可见 DDR 通路可能通过影响肿瘤的发展和治疗反应来影响肝癌患者的生存,因此基于 DDR 的肝细胞癌预后相关基因筛选及构建预后模型具有重要意义。

本研究从差异表达基因(DEGs)与 DDR 的交集基因中筛选出关键 DDR 相关基因(differential expressed-DNA damage response associated genes, DE-DDR)构建预后模型,分析该模型在评估 HCC 患者预后中的价值,并进一步探讨 DEDDR 预后模型不同分组在信号通路和免疫浸润方面的特征,为临床医师评估 HCC 患者预后提供参考。

1 材料与方法

1.1 数据的收集和预处理 从 TCGA 数据库和 ICGC 数据库中下载了 2 个公开的 LIHC 数据集,包含了 LIHC 患者样本的临床和基因表达数据集信息,并删除了没有临床数据的样本。当两个或更多探针对应同一个基因时,取两个或更多探针的平均值分配对应的基因。TCGA 中 LIHC 数据包含了 401 例 HCC 患者样本的临床和基因表达数据集信息,其中包括 HCC 肿瘤患者组织样本数据 356 例及正常组织样本数据 45 例,作为训练集进行分析。在 356 例 HCC 肿瘤样本中,有 29 例样本的部分临床因素有缺失,在合并整合的基因表达谱后,仅纳入 327 个 HCC 肿瘤样本进行后续分析。ICGC 中 LIHC 数据包含 212 例肝细胞癌患者组织样本,作为外部验证集进行验证。根据 KNJNENBURG T A 等^[4]的先前研究数据,搜集了包括 MMR、BER、NER、HRR、NHEJ、CPF、FA 和

TLS 在内的 8 个 DDR 通路的 276 个相关基因。

1.2 DEDDR 预后模型构建 在 TCGA 数据库中,使用 limma R 软件包筛选 HCC 样本和正常样本之间的差异表达基因(DEGs)。校正后 P 值(adjP-value) <0.05 且 \log_2 转换差异倍数 $|\log_2(FC)| > 1$ 作为阈值。为了进一步筛选基因异基因 DEGs 和 DDR 之间的交集基因 DEDDR。使用单变量 Cox 回归分析来识别与生存相关的 DEDDR 基因,同时为了降低交叉基因的维数,使用 R 软件中的 glmnet 包进行 Lasso 回归分析,glmnet 函数的 family 参数设定为 Cox。用 10 折交叉验证法,绘制均方误差,寻找系数不为零的基因,得到 Lasso 回归系数并构建 DEDDR 预后模型。每个样本的风险评分可以通过以下公式计算,其中 n 为 DEDDR 特征数, $Exp(DEDDRgene_i)$ 为 DEDDR 的基因表达值, $Coef(DEDDRgene_i)$ 为 Lasso 回归系数:

$$DDRscore = \sum_{i=1}^n [Coef(DEDDRgene_i) * Exp(DEDDRgene_i)]$$

1.3 生存分析 根据风险评分的中位值将 TCGA 数据集中样本分为 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组。使用 survival 软件包通过 Kaplan-Meier 生存曲线计算每组的总生存期。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。同时,使用 1 年、2 年和 3 年的时间依赖性受试者工作特征(ROC)曲线来评估模型的准确性。曲线下的计算面积(AUC)值范围在 0.5~1.0 表示 50%~100%的预测能力。最后,利用 ICGC 中 LIHC 数据作为外部验证集对其预测准确性进行验证,根据风险评分的中位值将 ICGC 数据集中样本分为 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组。每个样本的风险评分计算方法与 TCGA 训练集的计算方法相同 Lasso 回归系数为方法 1.2 所得到的系数。

1.4 独立预后分析 使用 survival R 软件包(版本 3.4.0)对预后模型风险评分进行单变量和多变量 Cox 回归分析,以研究性别、年龄、病理分期、T 分期和 DEDDR 预后模型风险评分与 HCC 患者总生存期之间的相关性。以评估预后模型风险评分是否与患者的总生存期相关,并确定其可以被视为 HCC 的独立预后危险因素。Cox 模型是一种常用的生存分析方法,它可以用于评估不同危险因素对生存时间的影响。

1.5 功能富集分析 为了更好地描述两个 HCC 风险组的分子特征。使用 clusterProfiler 软件包进行基因集富集分析(GSEA)。GSEA 是一种计算方法,可以进一步确定基因集的两个组之间差异表达的通路。来自分子特征数据库(MSigDB)的基因集显示了 DDRscore 组 and 低 DDRscore 组之间高低组富集通路的差异。确定排列数的截止值=1000,并且错误发现率(FDR) <0.25 ,富集分数的绝对值 $(|NES|) > 1$,

$pvalue < 0.05$ 的通路是显著富集的。此外,使用基因集变异分析(GSVA)方法,使用 R 包“GSVA”为每个队列生成富集分数。探讨两个风险组在不同的 DDR 通路的富集程度。选择 MSigDB 数据库中的 REACTOME 基因集作为参考数据集。

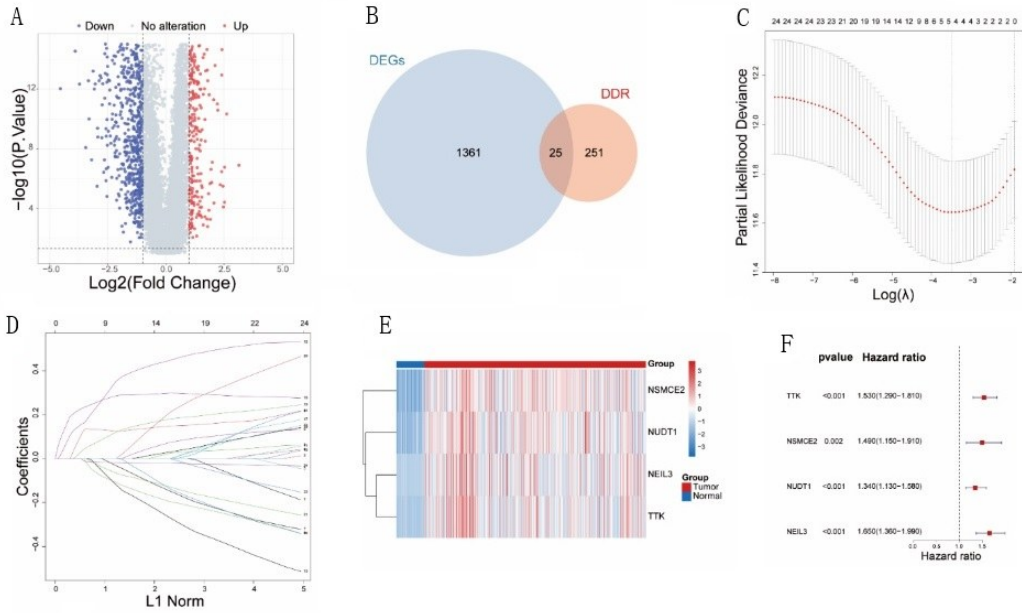
1.6 免疫浸润分析 使用 R 包中的 GSVA 包,通过其中的 ssgsea 函数进行 ssGSEA 分析,以评估 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组之间 28 种免疫细胞亚型的浸润程度。在此分析中,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

1.7 统计学方法 本研究中所有统计分析均使用 R 软件(版本 4.2.2)使用 survminer 和 survival R 包进行单变量和多变量 Cox 回归计算风险比(HR)、95% 置信区间(CI)和 P 值。使用 Kaplan-Meier 方法和对数秩检验比较 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组的总生存期。应用时间相关的受试者工作特征(time ROC)来评估基于 DDR score 的生存预测的敏感性和特异性,并利用“survival ROC”包量化曲线下面积(AUC)。ROC 曲线用于评估 DDR 评分和临床特征的预后分类性能。本文中的所有统计数据显著性定义为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 差异表达的 DEDDR 的筛选 经 limma R 软件从 45 个正常样本和 356 个 HCC 样本中筛选出 1386 个 DEGs(见图 1A)。随后将 DEGs 和 276 个 DDR 相关基因取交集,得到了 25 个在 HCC 中差异表达的 DEDDR(见图 1B)。单变量 Cox 回归分析识别到了 24 个与生存相关的 DEDDR 基因,最后使用 Lasso 回归分析鉴定出 TTK、NSMCE2、NUDT1 和 NEIL3 共 4 个 DEDDR,随着 lambda(λ)参数自然对数变化的情况,当 λ 最小值为 0.03,即其对数值为 -3.49 时,MSE 为最低(左侧虚线),右侧虚线为 1 个标准误差内的 λ 值 Lasso 回归系数(见图 1C、图 1D)。这 4 个基因在 HCC 中的表达均高于正常组织(见图 1E),并且这 4 个基因与 HCC 患者预后显著相关,均是 HCC 患者预后的危险基因(见图 1F)。

2.2 DEDDR 预后模型构建和验证 将筛选出的 4 个 DEDDR(TTK、NSMCE2、NUDT1 和 NEIL3)用于构建 DEDDR 预后模型。根据 TCGA 中患者的风险评分中值划分为 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组。Kaplan-Meier 曲线显示,low-DEDDR 组比 high-DEDDR 组患者具有更高的生存率($P < 0.05$)(见图 2A)。DEDDR 预后模型的 ROC 曲线显示该模型预测 HCC 患者 1 年、2 年和 3 年生存率的 AUC 值分别为 0.77、0.70 和 0.68,表明该模型可以较好地评估 HCC 患者预后(见图 2B)。采用 ICGC 中 LIHC 数据集作为外

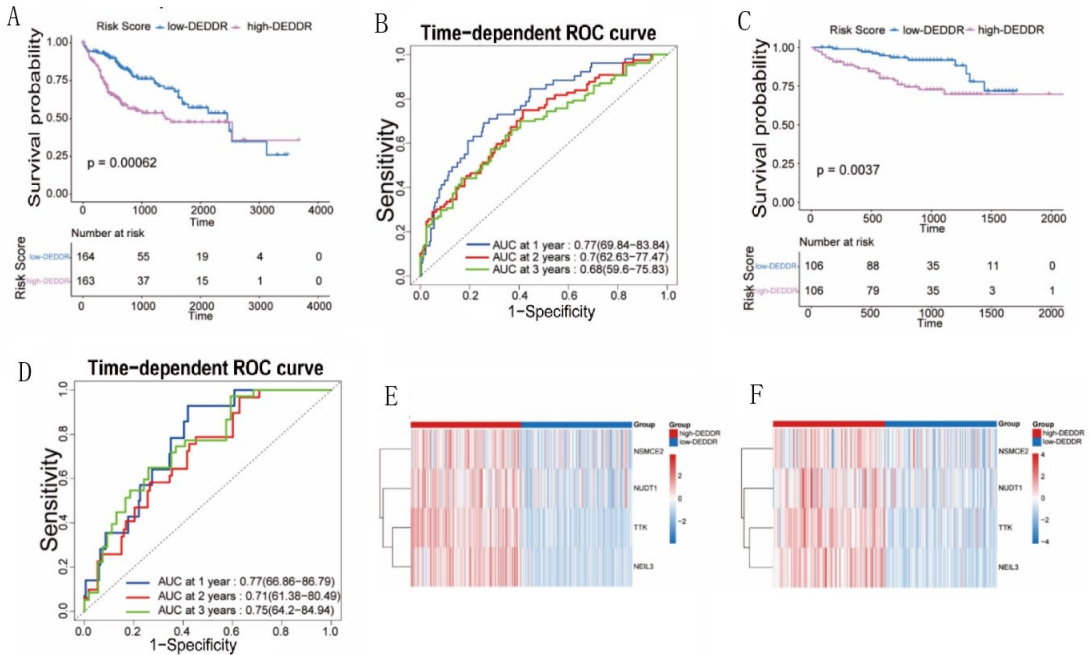


注:A为TCGA数据库中HCC转录组数据的火山图谱分析;B为DDR和DEGs的交集基因;C为Lasso模型最佳参数选择(lambda);D为Lasso系数分布特征;E为4个DEDDR的表达谱的热图;F为森林图显示OS与DEDDR表达之间关联。

图1 DEDDR的筛选

部数据集进行验证,Kaplan-Meier曲线显示,low-DEDDR组比high-DEDDR组患者具有更高的生存率($P < 0.05$)(见图2C)。ROC曲线显示该模型预测HCC患者1年、2年和3年生存率的AUC值分别为0.77、0.71和0.75(见图2D),表明该模型具有临床适

用性,可以较好地评估HCC患者预后。此外构成DEDDR预后模型的4个基因,在TCGA和ICGC数据中的表达趋势一致,均为在high-DEDDR组中的表达高于在low-DEDDR组中的表达(见图2E、图2F)。

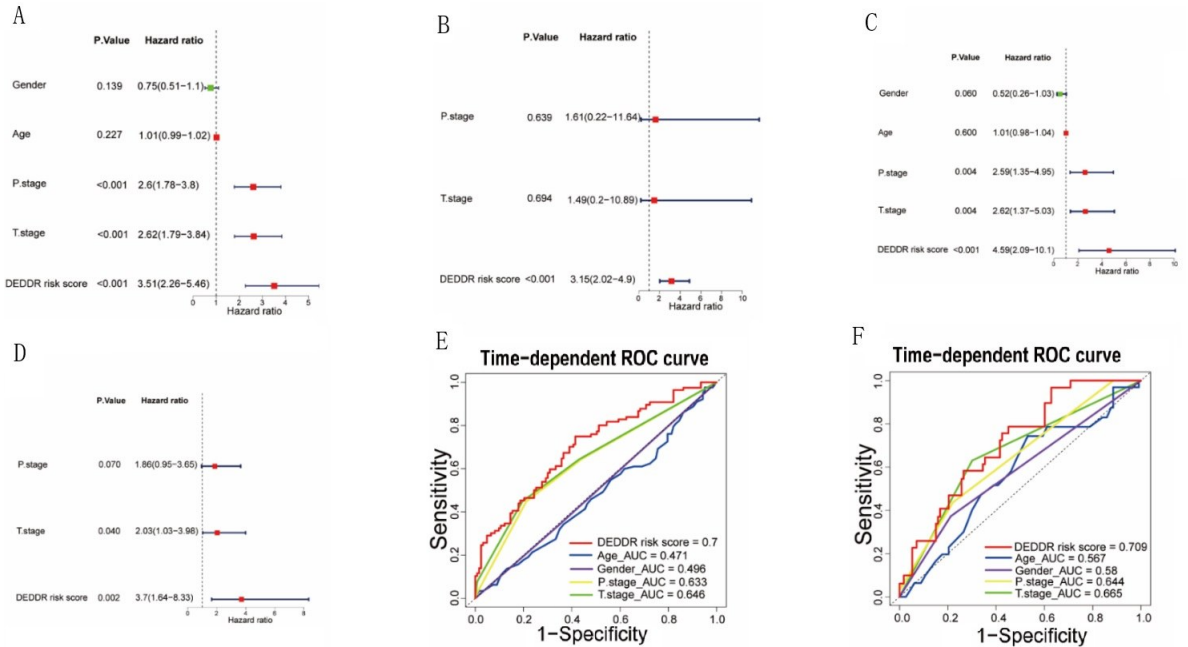


注:A为基于TCGA数据集的Kaplan-Meier生存曲线;B为TCGA数据集中1年、3年、5年的ROC曲线;C为基于ICGC数据集的Kaplan-Meier生存曲线;D为ICGC数据集中1年、3年、5年的ROC曲线;E、F为热图显示了4个DEDDR在low-DEDDR,high-DEDDR组的表达谱。

图2 DEDDR预后模型构建和验证

2.3 独立危险因素分析 采用单因素和多因素 Cox 回归分析 DEDDR 预后模型风险评分和其他临床病理因素与 TCGA 数据集中 HCC 患者预后的关系。单变量 Cox 分析结果显示,病理分期、T 分期和 DEDDR 预后模型风险评分与预后显著相关 ($P < 0.05$) (见图 3A)。再将这 3 个因素纳入多因素 Cox 回归分析,结果显示只有 DEDDR 预后模型风险评分与预后显著相关 ($P < 0.001$) (见图 3B),表明 DEDDR 预后模型风险评分是 HCC 患者预后的独立危险因素。此外,

ROC 曲线结果显示 DEDDR 预后模型风险评分、年龄 (Age)、性别 (Gender)、病理分期 (P. stage) 和原发肿瘤分期 (T. stage) 预测 HCC 患者 2 年生存率的 AUC 值分别为 0.7、0.471、0.496、0.633 和 0.646,其中 DEDDR 预后模型风险评分的 AUC 值最大,说明其预后预测准确性高于其他临床病理特征 (见图 3E)。随后用 ICGC 数据进行验证,也得到了类似的结果 (见图 3C、图 3D、图 3F)。

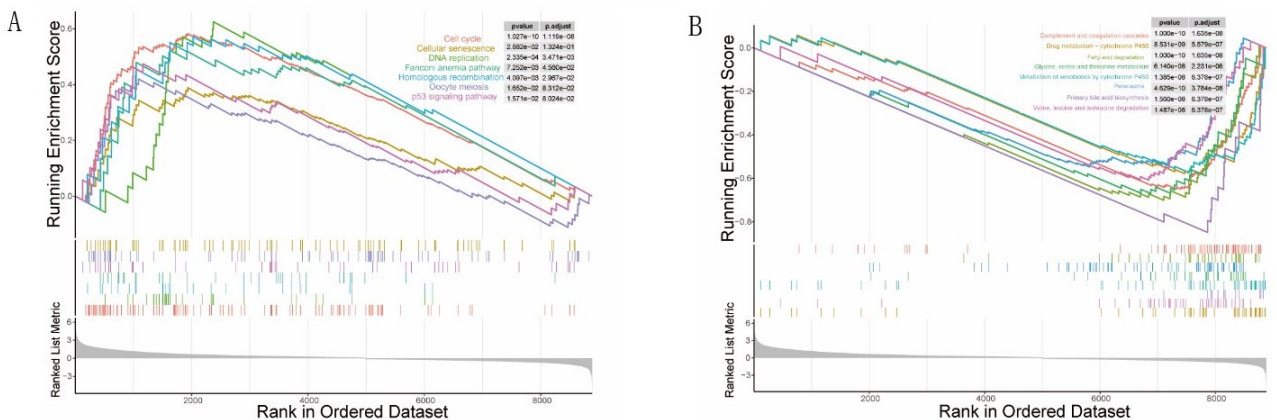


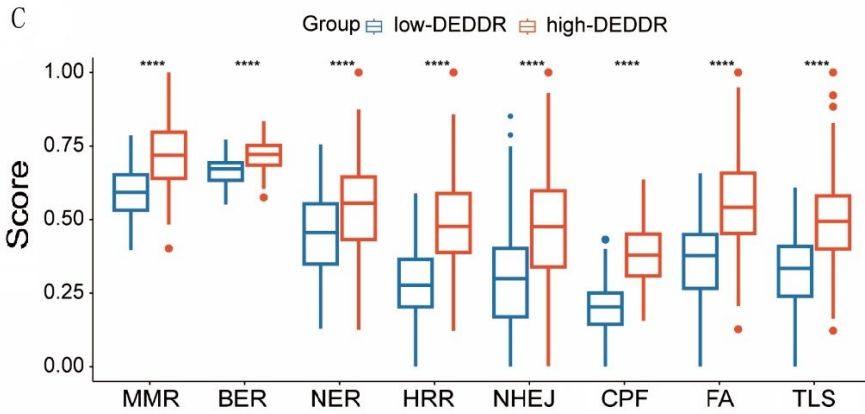
注:A、B为 TCGA 数据集的单因素和多因素 Cox 回归分析;C、D为 ICGC 数据集的单因素和多因素 Cox 回归分析;E为 TCGA 数据集中的受试者工作特征曲线;F为 ICGC 数据集中的受试者工作特征曲线。

图 3 独立危险因素分析

2.4 DEDDR 预后模型不同分组富集分析的分子特征 为探究 DEDDR 预后模型不同分组的分子特征,通过 GSEA 方法分析 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组参与的信号通路。结果表明 high-DEDDR 组主要富集细胞周期、细胞衰老、DNA 复制、同源重组修复通路、范可尼贫血机制通路、P53 信号通路、卵母细胞减

数分裂等通路 (见图 4A)。low-DEDDR 组主要富集了以下通路:过氧化物酶体,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解和补体和凝血级联反应等信号通路 (见图 4B)。使用 GSVA 算法对 8 个 DDR 核心通路进行量化。结果表明 high-DEDDR 组在所有 8 个通路的评分均高于 low-DEDDR 组 (见图 4C)。





注:A 为 GSEA 分析 high-DEDDR 组主要富集的信号通路;B 为 GSEA 分析 low-DEDDR 组主要富集的信号通路;
 C 为 GSVA 分析的两组 DDR 通路箱线图, **** $P < 0.0001$, MMR 错配修复 (mismatch repair),
 BER 碱基切除修复 (base excision repair), NER 核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair),
 HRR 同源重组修复 (homologous recombination repair), NHEJ 非同源末端连接
 (non-homologous end joining), CPF 检查点因子 (checkpoint factors), FA 范
 可尼贫血 (fanconi anemia, FA), TLS 跨损伤合成 (translesion synthesis)。
 图 4 TCGA 中 high-DEDDR 组和 low-DEDDR 组之间不同的功能通路

2.5 免疫浸润分析 为分析 DEDDR 预后模型不同分组的免疫浸润情况,进行 ssGSEA 分析。结果表明 low-DEDDR 组和 high-DEDDR 组之间有 9 种免疫细胞丰度存在显著差异,如 high-DEDDR 组中活化 CD4

T 细胞、中央记忆 CD4 T 细胞、效应记忆 CD4 T 细胞、记忆 B 细胞、活化的树突状细胞、2 型辅助性 T 细胞 (Th2),自然杀伤细胞丰度更高,而嗜酸性粒细胞丰度更低。见图 5。

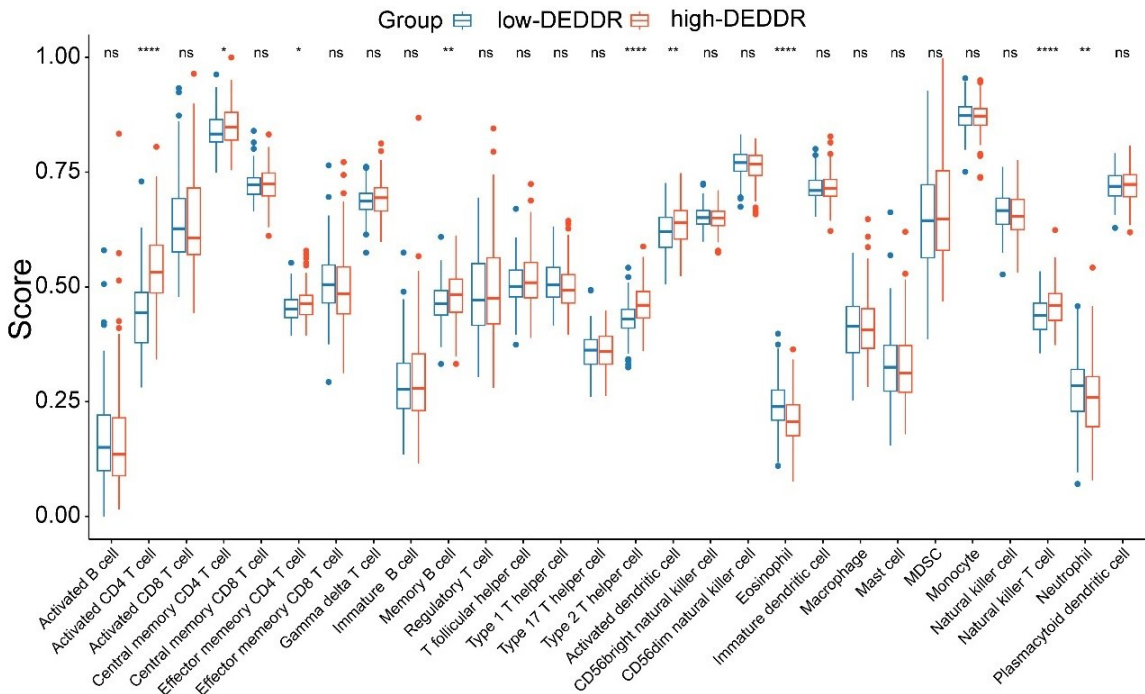


图 5 DEDDR 预后模型不同分组的免疫浸润分析

3 讨论

尽管在 HCC 预防、早期筛查和治疗方案方面取得了很大的进展,但 HCC 仍然是最常见的恶性疾病之一,死亡率高、预后差,每年导致超过 50 万人死亡。在

我国,HCC 的发病主要集中在 30~60 岁人群,5 年生存率较低,仅为 14.1%^[7]。为了提高 HCC 患者的总生存期,有必要寻找新的、有效的预后标志物。近年来,许多研究探索 HCC 的诊断或预后生物标志物,包

括基因组 DNA^[8]、mRNA^[9]、lncRNA^[10] 和甲基化^[11] 等。一些 DDR 相关基因与肿瘤的研究表明,DDR 相关的 BRCA2 基因种系突变与前列腺癌不良预后相关^[12]。此外 DDR 相关的 ATM 体细胞突变被证明是预测Ⅲ期结直肠癌患者化疗反应的生物标志物^[13]。但很少有研究关注 DDR 基因表达与 HCC 预后之间的关联。

本研究通过分析 TCGA 数据库中 DDR 相关基因的表达谱,探讨 DDR 相关基因与 HCC 患者预后的关系。基于 Lasso 分析构建了由 TTK、NSMCE2、NUDT1 和 NEIL3 组成的 DEDDR 预后模型。low-DEDDR 组比 high-DEDDR 组患者具有更高的生存率,而在 high-DEDDR 组中 TTK、NSMCE2、NUDT1 和 NEIL3 均为高表达。研究发现 TTK 的抑制会损害同源重组(HR)和修复效率,在修复 DNA 损伤和维持基因组完整性方面发挥着至关重要的作用^[14]。此外,之前的研究报告称,TTK 在肿瘤组织中过度表达,并被确定为与 HCC 相关的不良预后,并且 TTK 抑制剂被证明是一种有效的抗癌剂,可抑制肿瘤的生长^[15]。一些研究结果表明,NSMCE2 在与 UBE2I 相关的基因网络中高水平的表达可能与肝细胞癌的不良预后有关,可能会影响 HCC 的生存率和复发率以及肿瘤的病理生物学特征,包括细胞增殖、侵袭和转移等现象,从而对 HCC 的预后产生影响^[16]。有研究表明了 NUDT1 是一种对 HCC 患者具有治疗潜力的预后生物标志物^[17]。NUDT1 的高表达与晚期原发肿瘤、肿瘤分级、血管侵袭程度和 AJCC 肿瘤分期密切相关。NEIL3(内切核酸酶 VIII 样蛋白 3)属于 DNA 碱基切除修复(BER)途径中的一个蛋白,负责检测和修复 DNA 链中的氧化损伤,根据 ZHAO Z J 等^[18] 的研究表明:NEIL3 在肝细胞癌中过度表达,并与预后不良有关。由此推测这 4 个 DEDDR 高表达后可能通过参与上述作用影响了 high-DEDDR 组患者的预后。

GSEA 显示在 high-DEDDR 组中,细胞周期、DNA 复制和同源重组修复等信号通路增强,并且 high-DEDDR 组在 8 个 DDR 核心通路的 GSEA 评分更高,表明了 high-DEDDR 组可能经历了更多的 DNA 损伤应答。HCC 中的 DNA 损伤应答能力可维持其基因组稳定性,减少致命的突变积累,并在恶劣的环境下更好地存活和繁殖,从而为癌细胞提供了一种对抗放射疗法和化疗药物的机制。虽然放射疗法和化疗药物常常通过引发 DNA 损伤来攻击癌细胞,但 HCC 可能通过激活这些通路,增强其对 DNA 损伤的应答和修复能力,从而逃避治疗的效果^[6]。这种适应性反应可能导致癌细胞对治疗的抵抗性增强,使得原本应该有效的治疗策略变得不再有效。综合而言,这些通路在

HCC 中的活化可能导致肿瘤细胞对治疗的抵抗,从而限制了放射疗法和化疗药物等标准治疗方法的疗效。因此,深入了解这些通路如何影响 DNA 损伤应答以及其与癌细胞逃避治疗的相互关系,对于开发新的治疗策略以克服治疗抵抗具有重要意义。

免疫浸润分析表明,在 high-DEDDR 组中,2 型辅助性 T 细胞(Th2)丰度更高,Th2 细胞通常参与体液免疫应答,调节 B 细胞产生抗体,以及促进抗体产生和炎症反应。HCC 患者中的 Th2 细胞的富集经常被报道,并且与肿瘤侵袭和转移有关^[19]。还有研究表明 Th2 细胞的富集是 HCC 预后较差的生物标志物^[20]。Th2 细胞可能会抑制细胞免疫响应,减弱 T 细胞和自然杀伤细胞 NKT 等免疫细胞的活性,降低对肿瘤的攻击能力。此外,Th2 细胞的存在可能起到促进肿瘤微环境中免疫抑制性细胞的增加,如调节性 T 细胞,从而削弱抗肿瘤免疫应答,对预后产生不良影响。嗜酸性粒细胞是一种白细胞,在免疫系统应对感染、过敏和其他炎症性疾病的反应中发挥关键作用。嗜酸性粒细胞可能通过促进 T 细胞向肿瘤的迁移间接参与抗肿瘤免疫反应^[21]。有研究表明,当嗜酸性粒细胞耗竭后,抗肿瘤反应将会逐渐减弱甚至消失^[22]。在 high-DEDDR 组中嗜酸性粒细胞的富集较低,这可能会导致肿瘤细胞的生长,从而对预后产生不利影响。

多基因预后标志物可以提高预测能力,与单基因相比具有更强大的预测能力。本研究基于 4 个 DEDDR 构建的预后模型,有较好的准确性和临床适用性,并且 DEDDR 预后模型风险评分是 HCC 患者一个独立预后因素,其预测准确性要高于年龄(Age)、性别(Gender)、病理分期(P. stage)和原发肿瘤分期(T. stage)这些常用临床病理特征。但这 4 个 DEDDR 在 HCC 中的具体作用机制仍需进一步的实验验证。

参考文献:

- [1] LLOVET J M, KELLEY R K, VILLANUEVA A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1):6.
- [2] ZHAO J L, LI H C, ZHAO S J, et al. Epigenetic silencing of miR-144/451a cluster contributes to HCC progression via paracrine HGF/MIF-mediated TAM remodeling[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1):46.
- [3] O'CONNOR M J. Targeting the DNA damage response in cancer[J]. Mol Cell, 2015, 60(4):547-560.
- [4] KNIJNENBURG T A, WANG L H, ZIMMERMANN M T, et al. Genomic and molecular landscape of DNA damage repair deficiency across the cancer genome atlas[J]. Cell Rep, 2018, 23(1):239-254. e6.
- [5] PEARL L H, SCHIERZ A C, WARD S E, et al. Thera-

- peutic opportunities within the DNA damage response [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(3):166-180.
- [6] CHEN Y F, WANG X, DENG X F, et al. DNA damage repair status predicts opposite clinical prognosis immunotherapy and non-immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. *Fron Immunol*, 2021, 12:676922.
- [7] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018, 391(10125):1023-1075.
- [8] JOHNSON P, ZHOU Q, DAO D Y, et al. Circulating biomarkers in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(10):670-681.
- [9] LI D, LI K, ZHANG W, et al. The m6A/m5C/m1A regulated gene signature predicts the prognosis and correlates with the immune status of hepatocellular carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:918140.
- [10] LI X W, ZHANG Z Q, LIU M C, et al. Establishment of a lncRNA-based prognostic gene signature associated with altered immune responses in HCC[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:880288.
- [11] XU R H, WEI W, KRAWCZYK M, et al. Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Mater*, 2017, 16(11):1155-1161.
- [12] NOMBELA P, LOZANO R, AYTES A, et al. BRCA2 and other DDR genes in prostate cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(3):352.
- [13] MAURI G, ARENA S, SIENA S, et al. The DNA damage response pathway as a land of therapeutic opportunities for colorectal cancer[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(9):1135-1147.
- [14] CHANDLER B C, MOUBADDER L, RITTER C L, et al. TTK inhibition radiosensitizes basal-like breast cancer through impaired homologous recombination [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(2):958-973.
- [15] GRETEN T F, ABOU-ALFA G K, CHENG A L, et al. Society for immunotherapy of cancer (SITC) clinical practice guideline on immunotherapy for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(9):e002794.
- [16] YANG H, GAO S, CHEN J, et al. UBE2I promotes metastasis and correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:234.
- [17] OU Q F, MA N, YU Z, et al. Nudix hydrolase 1 is a prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma[J]. *Aging*, 2020, 12(8):7363-7379.
- [18] ZHAO Z J, GAD H, BENITEZ-BUELGA C, et al. NEIL3 prevents senescence in hepatocellular carcinoma by repairing oxidative lesions at telomeres during mitosis [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(15):4079-4093.
- [19] ZHU H F, LIU Y P, LIU D L, et al. Role of TGF β 3-Smads-Sp1 axis in DcR3-mediated immune escape of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogenesis*, 2019, 8(8):43.
- [20] YIN T, ZHAO H N. miR-152-3p impedes the malignant phenotypes of hepatocellular carcinoma by repressing round about guidance receptor 1 [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1):22.
- [21] CARRETERO R, SEKTIOGLU I M, GARBI N, et al. Eosinophils orchestrate cancer rejection by normalizing tumor vessels and enhancing infiltration of CD8(+) T cells [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(6):609-617.
- [22] HOLLANDE C, BOUSSIER J, ZIAI J, et al. Inhibition of the dipeptidyl peptidase DPP4 (CD26) reveals IL-33-dependent eosinophil-mediated control of tumor growth [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3):257-264.

收稿日期:2023-11-21;修回日期:2023-12-01