

基于内质网应激相关基因的鼻咽癌预后模型的构建与验证

王 月¹, 喻国冻²

(1. 贵州医科大学临床医学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵州 贵阳 550004)

摘要: [目的] 探究内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)相关基因对鼻咽癌(nasopharynx cancer, NPC)患者生存预测价值, 构建基于 ERS 相关基因的 NPC 预后模型。[方法] 从 MsigDB 和 Genecards 数据库中筛选 ERS 相关基因, 并纳入到单因素 Cox 回归和 LASSO 回归, 构建基于相关基因的 NPC 预后相关的风险评分模型, 并用外部数据集进行验证。此外, 纳入临床数据和风险评分构建列线图模型, 探索风险评分与免疫治疗反应之间的关系。最后, 通过 qRT-PCR 探索 NPC 特征基因的表达情况和功能。[结果] 经分析获得 1 631 个 ERS 相关基因, 其中 167 个 ERS 相关基因在鼻咽组织中差异表达, 上调 26 个, 下调 141 个。筛选出 5 个具有统计学差异的基因, 其中 SPAG8、P4HTM、MLF1、GOLGA2 在 NPC 组织内表达水平低于正常鼻咽组织, 而 GADD45A 在 NPC 组织内表达水平高于正常鼻咽组织。基于这 5 个 ERS 相关基因构建风险评分模型。风险评分= $(1.597 \times \text{GADD45A} + 1.202 \times \text{SPAG8} + 1.309 \times \text{P4HTM} + 1.47 \times \text{MLF1} - 1.586 \times \text{GOLGA2})$ 。风险评分模型预测 1~3 年生存率受试者工作特征曲线, 曲线下面积分别为 0.756 9, 0.809 3 和 0.718 7。高风险组 B 记忆细胞显著性低于低风险组 ($P < 0.001$), 而树突状细胞浸润比例显著性高于低风险组 ($P < 0.05$)。qRT-PCR 验证 4 种 ERS 相关基因 (SPAG8、P4HTM、MLF1、GOLGA2) 在 NPC 组织中的表达水平均低于癌旁组织 ($P < 0.05$), 1 种 ERS 相关基因 (GADD45A) 在 NPC 组织中的表达水平高于癌旁组织 ($P < 0.01$)。[结论] 基于 GEO 数据库构建 5 个 ERS 相关基因组成的风险评分模型, 列线图模型均能较准确地预测 NPC 患者预后, 对 NPC 预后评估以及高风险群体筛查具有一定的参考价值, 对 NPC 患者免疫治疗有一定的指导价值。

关键词: 鼻咽癌; 内质网应激; 风险评分模型; 免疫疗法

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)09-0767-10

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.09.B008

Construction and Validation of A Prognostic Model for Nasopharyngeal Carcinoma Based on Endoplasmic Reticulum Stress-Related Genes

WANG Yue¹, YU Guodong²

(1. Department of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;

2. Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract: [Purpose] To construct and validate a prognostic model for nasopharynx cancer(NPC) based on the expression of endoplasmic reticulum stress(ERS)-related genes.[Methods] The expression of ERS-related genes in NPC were screened from MsigDB and Genecards databases. Univariate Cox regression and LASSO regression were used to construct a NPC prognosis-related risk score model based on these genes. The model was validated with external datasets. In addition, clinical data and risk scores were applied to construct nomogram model to explore the relationship between risk scores and immunotherapy response. Finally, the expression and function of NPC characteristic genes were explored by qRT-PCR.[Results] A total of 1 631 ERS-related genes were obtained, among which 167 ERS-related genes were differentially expressed in nasopharyngeal tissues, with 26 up-regulated and 141 down-regulated. Five genes with statistical differences were screened out. Among them, the expression level of SPAG8, P4HTM, MLF1 and GOLGA2 in NPC tissues was lower than that in normal nasopharynx tissues, while the expression level of GADD45A in NPC tissues was higher than that in normal nasopharynx tissues. A risk score model was constructed based on these 5 ERS related genes. Risk score= $(1.597 \times \text{GADD45A} + 1.202 \times \text{SPAG8} + 1.309 \times \text{P4HTM} + 1.47 \times \text{MLF1} - 1.586 \times \text{GOLGA2})$. The area under receiver operating characteristic curve (AUC) of the risk score model for predicting 1-, 2-, 3-year survival of NPC patients was 0.756 9, 0.809 3, and 0.718 7, respectively. B memory cells in high-risk group was significantly lower than that in low-risk group ($P < 0.001$), and the proportion of dendritic cells activated in cell infiltration was significantly higher than that in low-risk group ($P < 0.05$). According to the results of qRT-PCR, the expression level of ERS-related genes SPAG8, P4HTM, MLF1 and GOLGA2 in NPC tissues was lower than that in pericancerous tissues ($P < 0.05$), and the expression level of ERS-related gene GADD45A in NPC tissues was higher than that in pericancerous tissues ($P < 0.01$). [Conclusion] The risk score model of 5 ERS-related genes based on GEO database and nomogram models could predict the prognosis of NPC patients accurately. It has certain reference value for NPC prognosis assessment and screening of high-risk groups, and has certain guiding value for immunotherapy of NPC patients.

Subject words: nasopharyngeal carcinoma; endoplasmic reticulum stress; risk score model; immunotherapy

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 434)

通信作者: 喻国冻, E-mail: yuguodong@gmc.edu.cn

收稿日期: 2023-05-06; **修回日期:** 2023-08-08

内质网是重要的亚细胞单位，参与胞内分泌蛋白和膜转运蛋白的合成、折叠与修饰。内质网的功能调控机制受多种影响因素影响，外界因素和细胞内反应均可打破细胞器内蛋白质的正常折叠，并触发内质网应激状态。肿瘤细胞暴露于缺氧、氧化应激、缺乏生长信号、氨基酸供应不足、葡萄糖剥夺和乳酸酸中毒、恶劣的肿瘤微环境对内质网中的蛋白质加工构成挑战，导致内质网中错误折叠蛋白质(unfolded protein response,UPR)积累引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)^[1-2]。研究表明恶性肿瘤疾病中的遗传变异可能参与慢性 ERS 的建立^[3-4]。而由 ERS 触发的分子传感器或 UPR 相关因子的调节使侵袭性肿瘤对细胞毒性药物、靶向治疗和免疫治疗敏感^[1]。

鼻咽癌(nasopharyngeal cancer,NPC)是起源于鼻咽上皮的恶性肿瘤^[5],因疾病自身的隐匿性及侵袭能力,超过 70%NPC 患者确诊时已进入中晚期^[6]。目前尚无准确有效的 NPC 早期诊断和预后预测方法。因此,筛选生物分子标志物开发预后模型,有助于 NPC 早期诊断和评估 NPC 预后,以适当疗法有效干预 NPC 进展。

本研究基于 ERS 相关基因构建与 NPC 预后风险评分模型和列线图模型,通过外部验证集验证,发现风险评分模型和列线图模型均可较好地预测 NPC 患者预后,且有助于筛选与 NPC 进展相关生物分子标志物。此外,通过对 NPC 高低风险组免疫检查点表达和免疫治疗反应性分析发现,风险评分对 NPC 患者的免疫治疗具有潜在价值。

1 资料与方法

1.1 数据源和采集

GEO 数据库下载得到 GSE102349^[7]数据集,纳入113 例 NPC 样本,临床信息包含病理形态、随访时间、疾病分期(Table 1)。下载GSE12452^[8]数据集,选取 10 例正常鼻咽样本和 31 例 NPC,临床信息包含组织学分期和分期,用于差异基因表达分析 (Table 2)。将 MsigDB 数据库收集 HALLMARK_unfolded_protein_response(113 个)、REACTOME_unfolded_protein_re-

sponse(92 个)相关基因集取并集;将 Genecards 数据库下载 ERS 相关基因 (ERS 8 591 个、UPR 3 827 个)取并集,并选择相关分数>5 的 ERS 相关基因。最后将以上两个数据库中的 ERS 相关基因取并集进行后续分析。

1.2 基于转录组分析 ERS 相关基因在 NPC 中表达失调

利用 R 语言的“limma”包对 GSE12452 数据集进行差异基因表达分析。满足 |Log₂FC (fold-change)|>0.585 同时满足 P<0.05 条件的为差异表达 ERS 相关基因,分别利用 R 语言中“ggplot2”、“pheatmap”和“ggbiplot”包对差异表达 ERS 相关基因的数据进行可视化处理。

1.3 风险评分模型的构建与验证

利用 R 软件中“survival”包对差异表达的 ERS 相关基因使用 GSE102349 数据集仅含 NPC 样本的表达矩阵和生存信息作为输入数据进行单因素 Cox 回归分析,获得 P 值和 95%置信区间,将 P<0.05 的

Table 1 Clinical information for GSE102349 data[n(%)]

Feature	Total (n=113)	Disease progression (n=16)	Last follow-up (n=72)
Morphology			
Mixed(Round & Spindle)	41(36.3)	4(25.0)	28(38.9)
Not evaluated	1(0.9)	0	0
Undifferentiated, round	36(31.9)	6(37.5)	22(30.6)
Undifferentiated, spindle	13(11.5)	2(12.5)	6(8.3)
Differentiated	10(8.8)	2(12.5)	8(11.1)
Missing	12(10.6)	2(12.5)	8(11.1)
Stage			
I	5(4.4)	0	5(6.9)
II	2(1.8)	0	2(2.8)
III	41(36.3)	7(43.8)	32(44.4)
IV	25(22.1)	7(43.8)	15(20.8)
Missing	40(35.4)	2(12.5)	18(25.0)

Table 2 Clinical information from GSE12452 data[n(%)]

Feature	GSE12452(n=41)
Stage	
T ₁	12(29.3)
T ₂	5(12.2)
T ₃	4(9.8)
Missing	20(48.8)
WHO histology	
II A	16(39.0)
II B	15(36.6)
Missing	10(24.4)

基因视作与预后显著性相关的基因。利用 R 软件中“forestplot”包绘制森林图,采用“survival”和“survminer”包绘制预后 ERS 相关基因的 Kaplan-Meier (K-M)生存曲线,“ggpubr”包绘制 ERS 相关基因表达水平的箱式图。

基于单因素 Cox 分析的 ERS 相关基因,进一步利用 R 包 glmnet 的十倍交叉验证构建 LASSO 回归模型,最终根据最优 λ 值构建风险评分模型。利用每个基因回归系数值和基因表达量计算风险评分,并根据风险评分的中位数将 NPC 患者分为高低风险组,采用 R 软件中“ggsurvplot”包绘制高低风险组生存曲线。“ggplot”用于绘制风险评分曲线和生存状态散点图,并利用“pheatmap”绘制高低风险组建立风险评分模型基因的表达热图。利用“time ROC”包绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。

GSE12452 临床信息只有组织学分期和分期,无法验证。故使用外部数据集 TCGA-HNSC 进行风险评分模型的验证。

1.4 临床亚组中的生存分析和风险评分差异

对 GSE102349 临床信息进行进一步处理,其中病理类型分为未分化组和混合组;提取Ⅲ期和Ⅳ期组。根据风险评分模型,利用“ggsurvplot”包绘制各组高低风险组生存曲线。用“ggboxplot”包绘制分期和病理风险评分的箱式图。

1.5 风险评分和临床特征的多指标列线图构建

列线图在肿瘤学中广泛应用于预后预测和诊断。对训练集中风险评分、分期、病理类型进行单因素和多因素 Cox 回归分析,利用 R 软件中“forestplot”包绘制森林图,“survival”包构建模型,构建风险评分、分期、病理类型 3 个指标的列线图,并绘制了 1、2、3 年生存率的校准曲线,以检验列线图的预测能力。

1.6 风险组间免疫浸润

对 NPC 样本高低风险组进行免疫浸润分析,利

用 Cibersort 算法计算高低风险组的免疫细胞浸润比例。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

1.7 风险评分与免疫治疗

参考 Hu 等^[9]利用哺乳动物提供的免疫检查点基因,根据已划分的高低风险组,利用“ggboxplot”包绘制散点图。利用构建的风险评分模型,选择 IMv-gior210 数据集进行验证。利用“ggsurvplot”包绘制高低风险组生存曲线,并利用“ggboxplot”包分析不同治疗预后组的风险评分,最后利用 TIDE 分析免疫反应评分。

1.8 RNA 提取和定量实时荧光定量 PCR

收取贵州医科大学附属医院 NPC 患者癌组织与癌旁组织标本,根据标准方案使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,使用 PrimeScript RT 试剂盒将总 mRNA 逆转录为 cDNA (Takara, 中国),目的基因 (*GADD45A*、*SPAG8*、*P4HTM*、*MLF1* 和 *GOLGA2*) 的扩增采用 SYBR Premix Ex Taq II (Takara, 中国)在 ABI Prism 7500 (Applied Biosystems, Thermo scientific) 机上进行。 α -Tubulin 用作 mRNA 的内源性对照 (Table 3)。mRNA 表达的相对倍数变化由 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算。所有 PCR 一式 3 份进行。所有独立实验一式 3 份进行。

1.9 统计学处理

采用 R 软件 (version 4.1.2) 进行数据分析。符合正态分布的计量资料采用非配对 t 检验,不符合正态分布的计量资料采用 Wilcoxon 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基于转录组分析 ERS 相关基因在 NPC 中表达失调

经分析获得 1 631 个 ERS 相关基因,其中 167 个 ERS 相关基因在鼻咽组织中差异表达,上调 26

Table 3 Primer sequences of five ERS-related genes

Gene	Forward sequence	Reverse sequence	Melting temperature (T _m , °C)
<i>GADD45A</i>	5'GGACCCAGACAGCGTGCTCCTCT3'	5'GTGACCAGGAGACAATGCAGGTCT3'	57
<i>SPAG8</i>	5'ATGGAGACCACCGAGTCTACAGAG3'	5'GTGCGCCACACACACCGGTAGC3'	57
<i>P4HTM</i>	5'TTTAGTTTGGGAAGAGAAGTTTGTAG3'	5'CACCATCAACACCAAAAAATAAAC3'	68
<i>MLF1</i>	5'AGATGGAGAGTGTGAAGTCTGTGTG3'	5'CAATTGAGTCGCTGTCAAAACTTG3'	57
<i>GOLGA2</i>	5'AACGACCGCACTACCATC3'	5'GGTGATCTCCATGTTCTCATTAG3'	56
α -Tubulin	5'CACACATTGCCACATACAAAT3'	5'AGGAAGAAGGAGAGGAATACTAA3'	58

个,下调 141 个(Figure 1~2)。以差异表达 ERS 相关基因绘制 PCA 图 (Figure 1C), 表明其可区分 NPC 和正常鼻咽组织。

2.2 风险评分模型的构建与验证

对 167 个差异表达 ERS 相关基因进行单因素 Cox 回归分析,筛选出 5 个具有统计学差异的基因,其中 SPAG8、P4HTM、MLF1、GOLGA2 在 NPC 组织表达水平低于正常鼻咽组织,而 GADD45A 在 NPC 组织表达水平高于正常鼻咽组织(Figure 2)。利用 5 个候选基因绘制森林图(Figure 3),结果提示,4 个 ERS 相关基因 HR>1,1 个 ERSRG HR<1(Table 4)。筛选出的候选基因采用套索算法 (least absolute shrinkage and selection operator,LASSO)构建回归模型(Figure 3B)。利用 cv.glmnet 函数获得训练集最优 λ 保留特征数目为 5(Figure 3C)。基于这 5 个 ERS

Table 4 Five ERS-related genes screened by Cox analysis		
Gene	Hazard ratio	P
GOLGA2	0.205(0.071~0.588)	0.013
SPAG8	3.327(1.287~8.604)	0.037
P4HTM	3.702(1.429~9.592)	0.024
MLF1	4.350(1.517~12.477)	0.022
GADD45A	4.940(1.716~14.222)	0.013

相关基因构建风险评分模型,并得出风险评分公式:

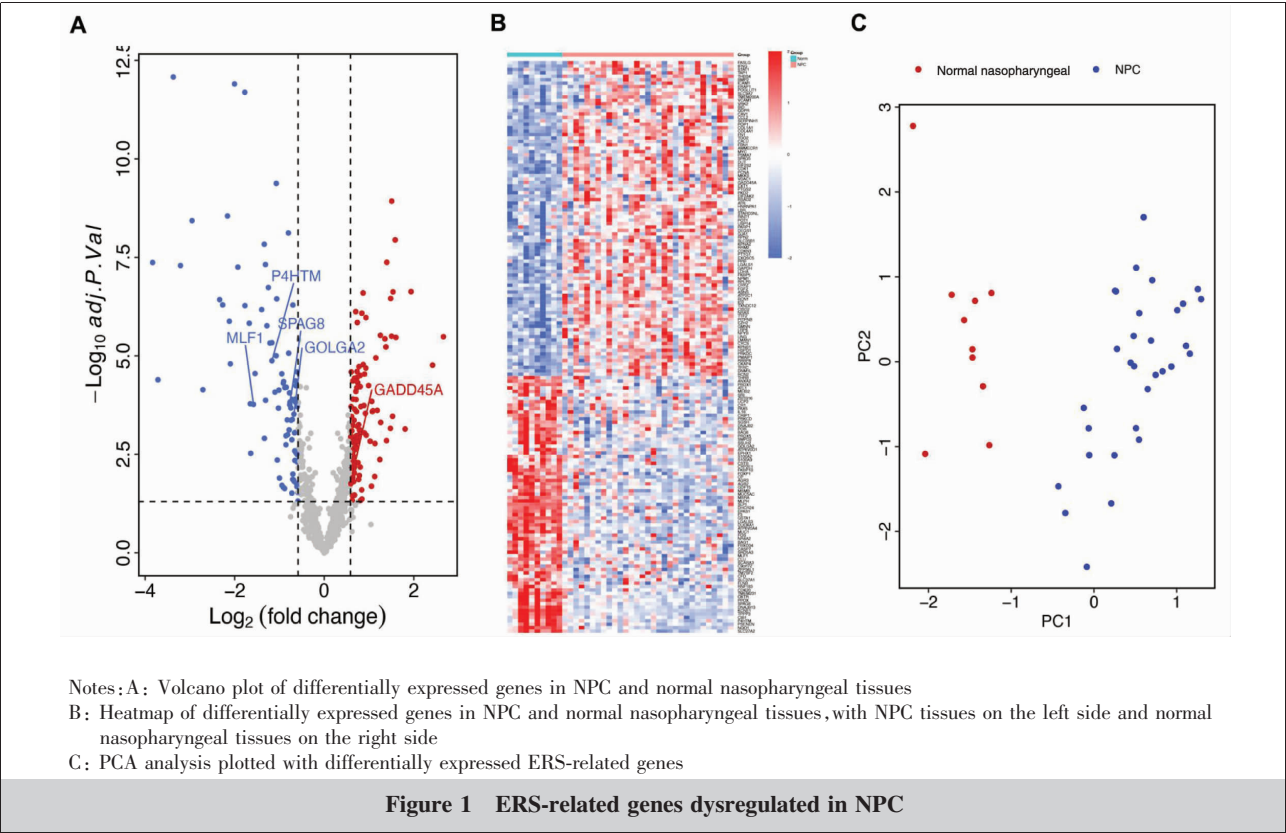
风险评分 =(1.597×GADD45A+1.202×SPAG8+1.309×P4HTM+1.47×MLF1-1.586×GOLGA2)

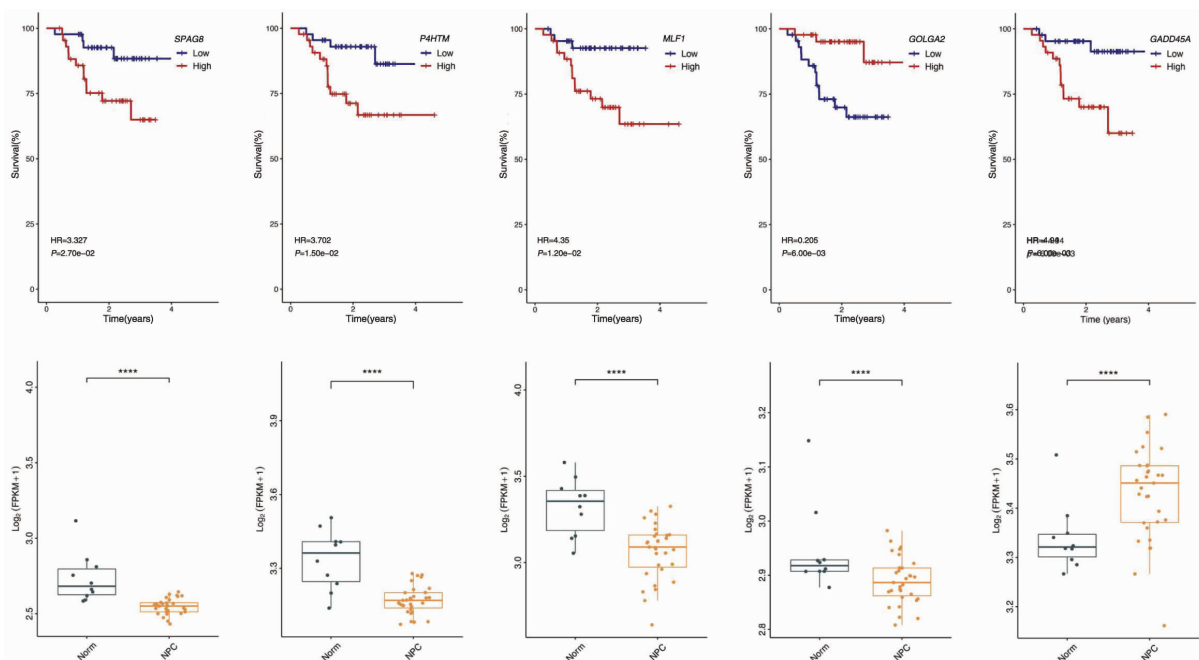
依据风险评分的中位数将患者分为高低风险组,绘制患者生存状态分布图与风险评分分布图(Figure 3D~3E),结果表明风险评分模型能较好地区分患者状态。高低风险组生存率差异有显著性(P<0.01)(Figure 3E)。ROC 曲线表明该模型对于预测患者生存预后具有一定的稳定性,1、2、3 年生存率 ROC 曲线的曲线下面积分别为 0.756 9、0.809 3 和 0.718 7(Figure 3F)。热图结果提示 5 个 ERS 相关基因在高低风险组 NPC 组织中的表达水平具有很好的区分度(Figure 3G)。

利用 TCGA-HNSC 数据集对风险评分模型进行验证,该模型在 TCGA-HNSC 数据集中生存率差异显著(P=0.036)(Figure 4A)。不同 T 分期和 N 分期的风险评分无显著性差异(Figure 4B~4C),而Ⅳ期组 NPC 患者风险评分显著性高于 I 期组(P=0.042)(Figure 4D)。

2.3 临床亚组生存分析和风险评分差异

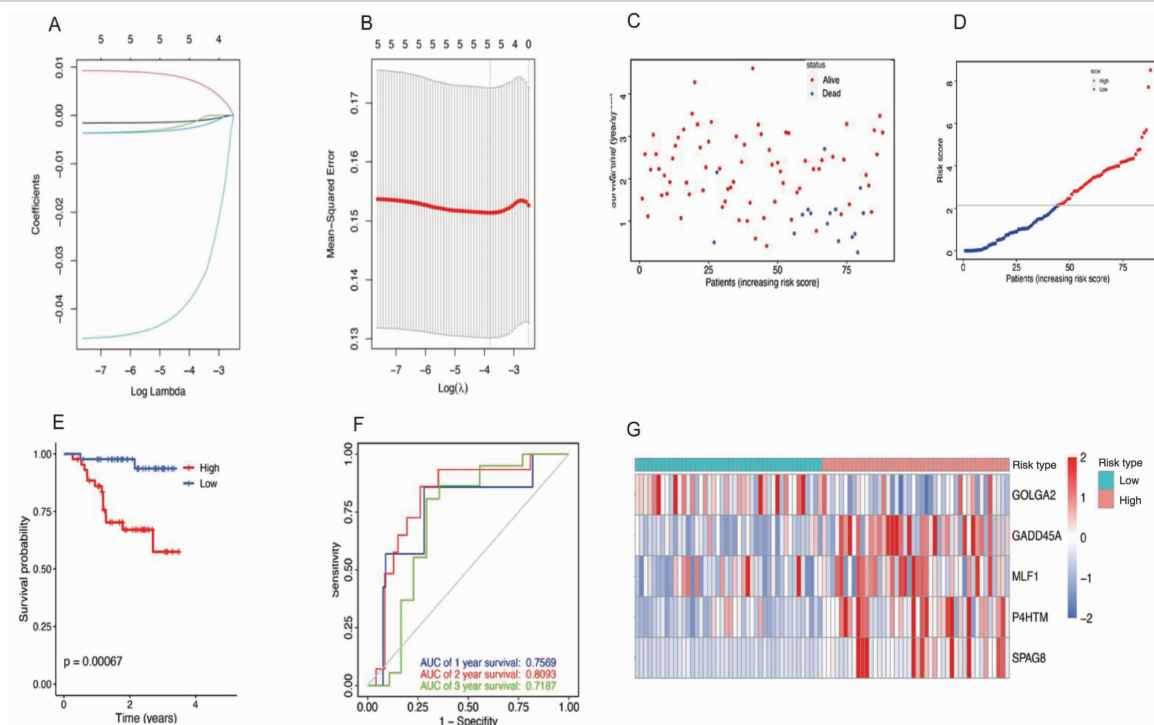
病理类型混合组 (P=0.046) 和 I ~Ⅲ期组 (P=





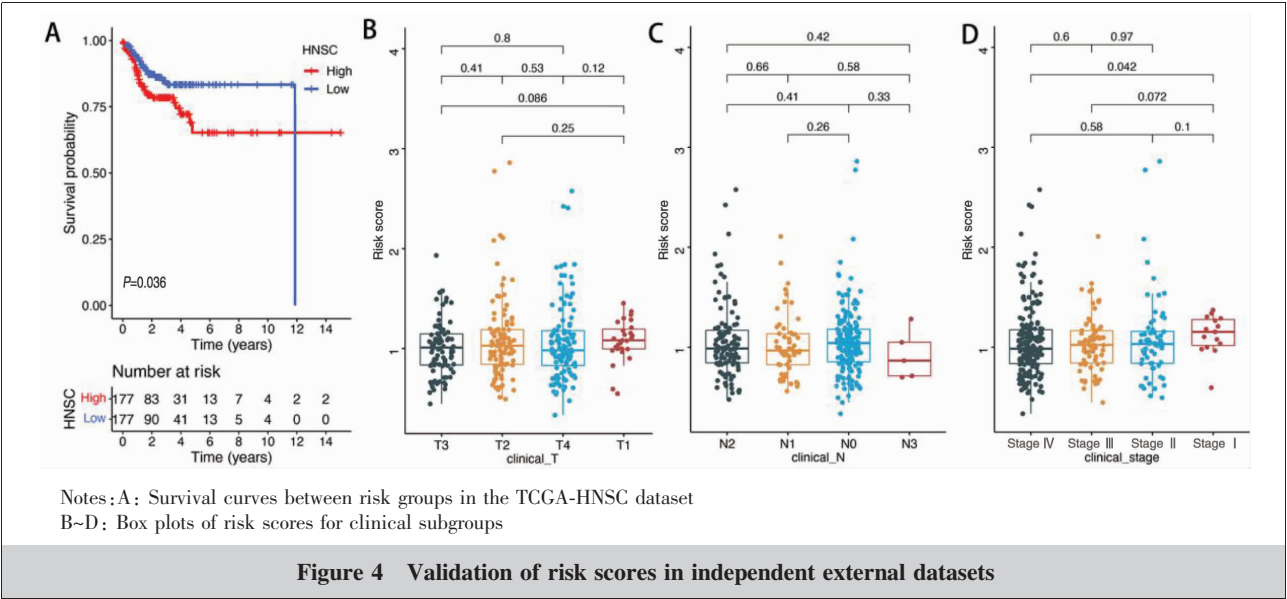
Note: Norm: normal nasopharyngeal tissues

Figure 2 Survival analysis of differentially expressed ERS-related genes and expression levels in NPC



Notes: A: LASSO gene coefficient plots
 B: LASSO cross-validation curves
 C, D: Distribution of patients' survival status and distribution of risk scores
 E: Survival curves of the high-risk and low-risk groups
 F: ROC curves of the risk scoring model's survival rates
 G: Expression levels of five ERS-related genes in NPC tissues between risk groups

Figure 3 Construction of risk scoring model ERSRG using machine learning and efficacy analysis



0.044)中的高风险评分亚组生存率低于低风险评分组($P<0.05$)(Figure 5~6)。
2.4 风险评分和临床特征多指标列线图构建

调整了其他临床特征后,采用单因素和多因素 Cox 回归分析验证得到风险评分可作为 NPC 独立的预后因子 ($P=0.011$)(Table 5~6)。

为了更好地评估 NPC 患者预后,我们构建了一个包含分期、病理类型和风险评分 3 个变量的列线图模型,此模型可用于预测 NPC 患者生存率(Figure 7A)。分期、病理类型和风险评分预测 NPC 患者预后 ROC 曲线的 AUC 值分别为 0.611、0.509、0.780(Figure 7B)。此外,我们校正 1、2、3 年的列线图数据用于可视化列线图(Figure 7C~7E),校正曲线结果表明,列线图模型预测结果与实际结果的拟合度良好。

2.5 风险组间免疫浸润

NPC 风险评分模型与 22 种免疫细胞之间关联。免疫浸润箱线图结果表明,高风险组中 B 记忆细胞显著性低于低风险组($P<0.001$);同时,高风险组中树突状细胞浸润比显著性高于低风险组($P<0.05$)(Figure 8)。

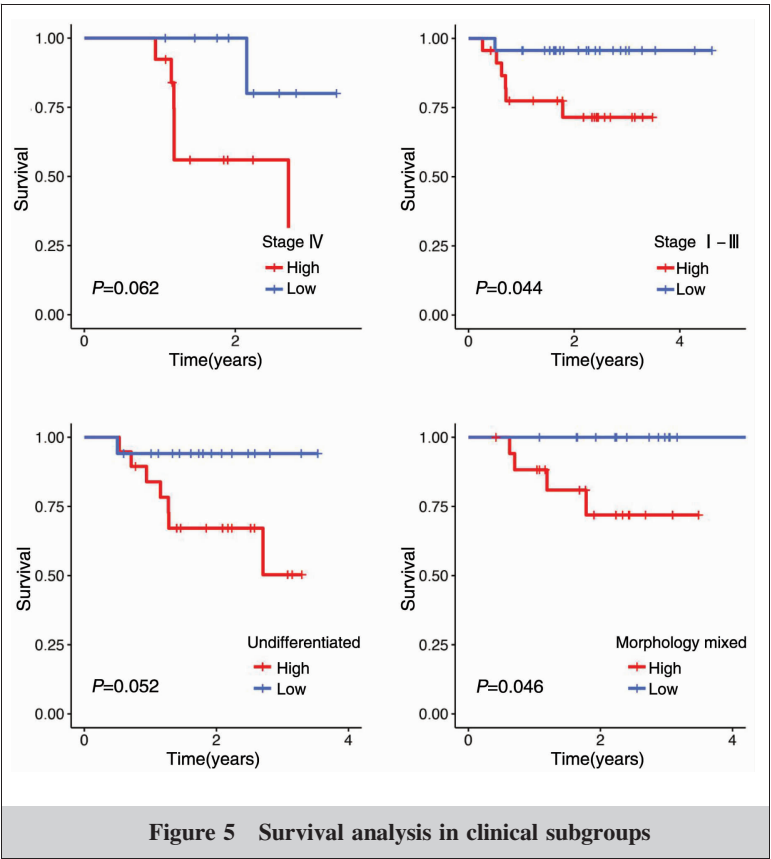


Table 5 Independent prognostic factors by univariate Cox regression analysis

Factors	Hazard ratio	P
Stage (IV/ I ~ III)	2.18 (0.76~6.24)	0.145
Morphology (Undifferentiated/differentiated)	1.06 (0.24~4.74)	0.941
Risk score (Low/high)	1.31 (1.07~1.61)	0.009

2.6 风险评分与免疫治疗

免疫检查位点基因 *HLA-DRB1*、*TNFSF14*、*PDCD1* 等在高低风险评分组表达水平存在显著性差异 ($P<0.05$) (Figure 9)。

利用 IMvigor210 数据集验证风险评分的免疫治疗预后, 高风险组生存率显著性低于低风险组 ($P<0.001$) (Figure 10A)。在免疫治疗预后方面, 低风险评分 NPC 患者对免疫治疗更为敏感 ($P=0.043$) (Figure 10B)。风险评分预测患者预后的能力较好, AUC 值为 0.624 (Figure 10C), 但 TIDE 结果表明高、低风险组免疫反应无显著性差异 ($P=0.516$) (Figure 10D)。

2.7 ERS 相关基因在 NPC 中表达分析

为了进一步阐明 5 种 ERS 相关基因的表达, 我们通过 qRT-PCR 分别检测 NPC 和癌旁组织, *SPAG8*、*P4HTM*、*MLF1*、*GOLGA2* 高表达于癌旁组织, 而 *GADD45A* 高表达于 NPC 组织 (Figure 11)。

3 讨论

对 NPC 的预后评估是选择治疗方法的关键。近年来, 基因靶点在癌症的发生与进展方面的研究受到了广泛关注, 并被用作疾病诊断、预后评估和化疗的生物标志物。恶性肿瘤细胞的遗传变异与 ERS 有一定的关系, 肿瘤暴露于不同的时间条件, 影响了蛋白质的稳定性, 从而引发 ERS^[10]。研究表明肿瘤微环境可诱导 ERS 并激发免疫反应, ERS 成为基因治疗研究的新靶点^[11]。ERS 相关基因可能是评估肿瘤预后变化和化疗药物疗效的特异性生物标志物。但是, ERS 相关基因在 NPC 中作为新型生物标志物的作用还有待进一步证实。

本研究中, 首先通过分析数据集 GSE102349, 获得 167 个差异表达基因, 其中上调基因 26 个, 下调基因 141 个。经单因素回归分析共筛选出 5 个 ERS 相关基因, 分别为 *GADD45A*、*SPAG8*、*P4HTM*、*MLF1*

Table 6 Prognostic factors by multifactorial Cox regression analysis

Factor	Hazard ratio	P
Stage (IV/I~III)	2.55(0.83~7.81)	0.101
Morphology (Undifferentiated/differentiated)	0.78(0.16~3.77)	0.754
Risk score (Low/high)	1.36(1.07~1.73)	0.011

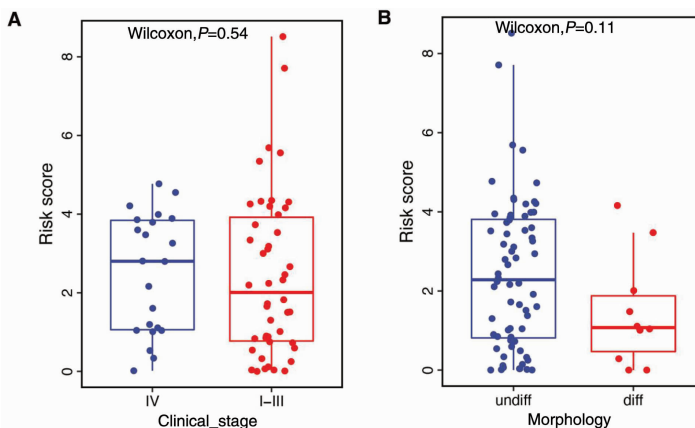
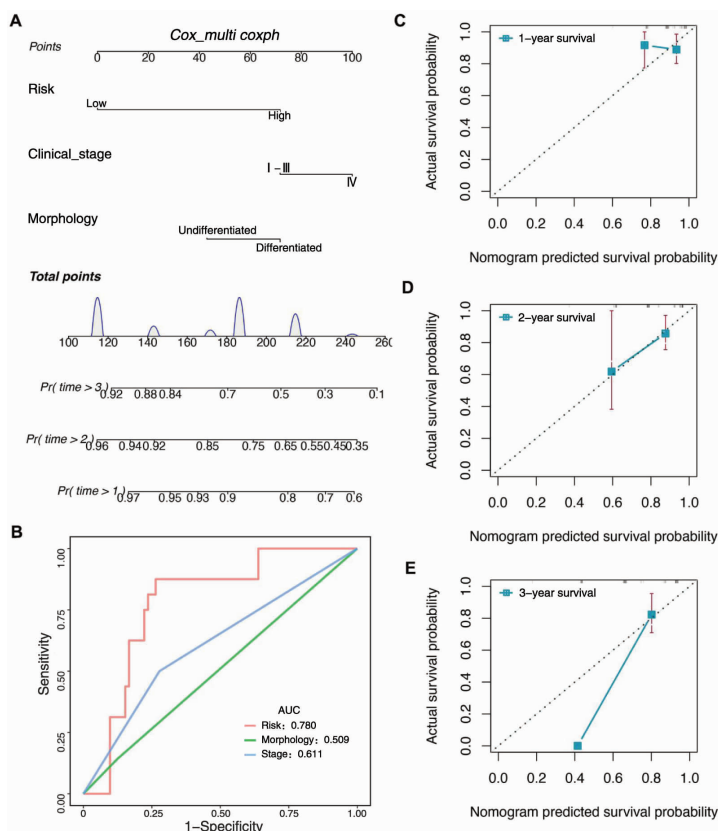


Figure 6 Box plot of risk scores for clinical subgroups



Notes: A: Column line plot
B: ROC curves of stage, morphology, and risk score predicting prognosis of patients with NPC
C~E: Calibrated curves of column line plots with survival time

Figure 7 Multicriteria column line plot construction of risk score and clinical characteristics

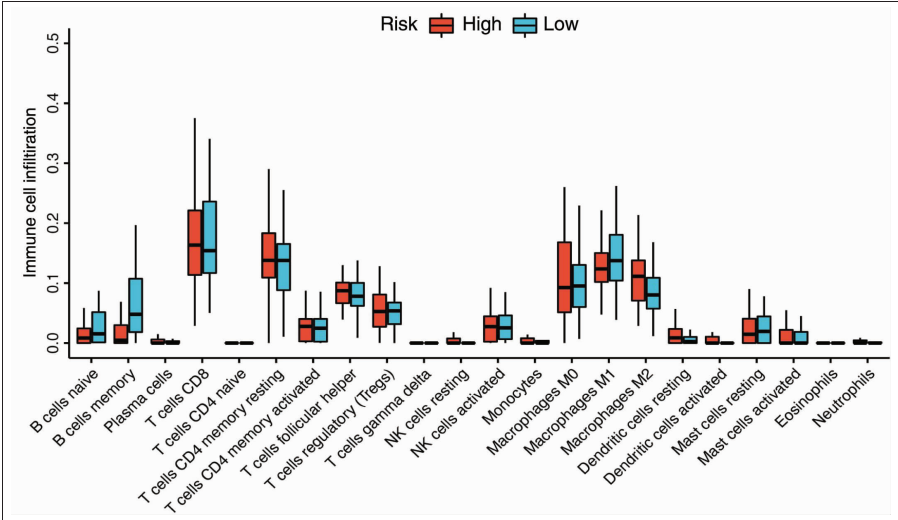


Figure 8 Immune cell infiltration between high risk and low risk score groups

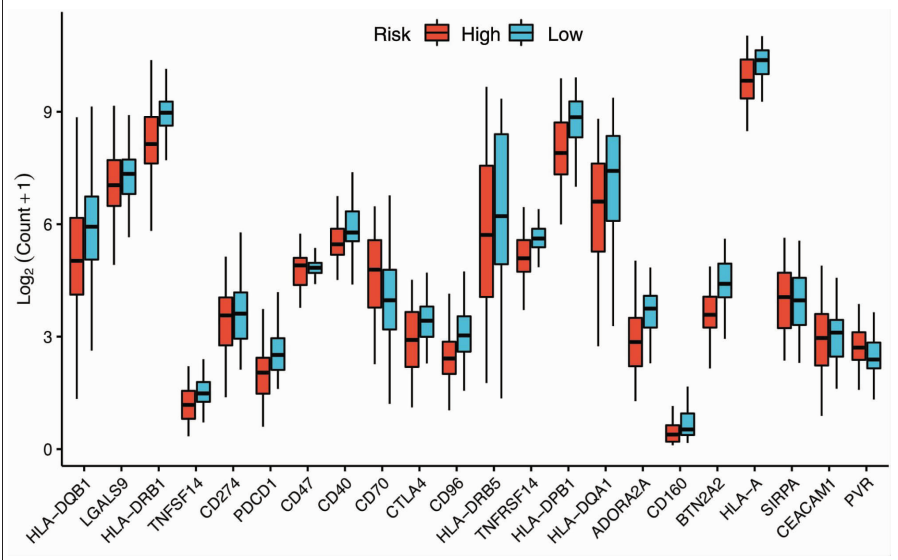


Figure 9 Expression of immune check loci between high risk and low risk score groups

和 *GOLGA2*, 其中 *GADD45A* 在鼻咽癌组织中显著性上调,另外 4 个基因均在 NPC 组织中显著性下调,并与 NPC 组织相关。利用机器学习方法构建与预后相关风险评分模型。风险评分模型预测 NPC 患者 1、2、3 年生存率的 AUC 值分别为 0.756 9, 0.809 3 和 0.718 7, 优于同类预后模型的 0.604^[12]。将临床因素和风险评分模型结合构建的列线图模型预测 NPC 患者生存率。风险评分模型和列线图模型均可较准确地预测 NPC 患者的预后。为了验证风险评分模型,我们对风险评分模型中差异基因的表达进行验证,结果显示 *SPAG8*、*P4HTM*、*MLF1*、*GOLGA2* 高表达于癌旁组织,而 *GADD45A* 高表达于 NPC 组织,风险评分模型得到有效验证。本研究采用 Cox 回归与 LASSO 相结合的方法,克服 Cox 回归的一些局限^[13]。目前 LASSO 回归分析广泛运用于构建模型各个变量的筛选过程^[14]。

目前,NPC 预后风险评估模型主要基于临床特征,而利用基因组特征对 NPC 进行风

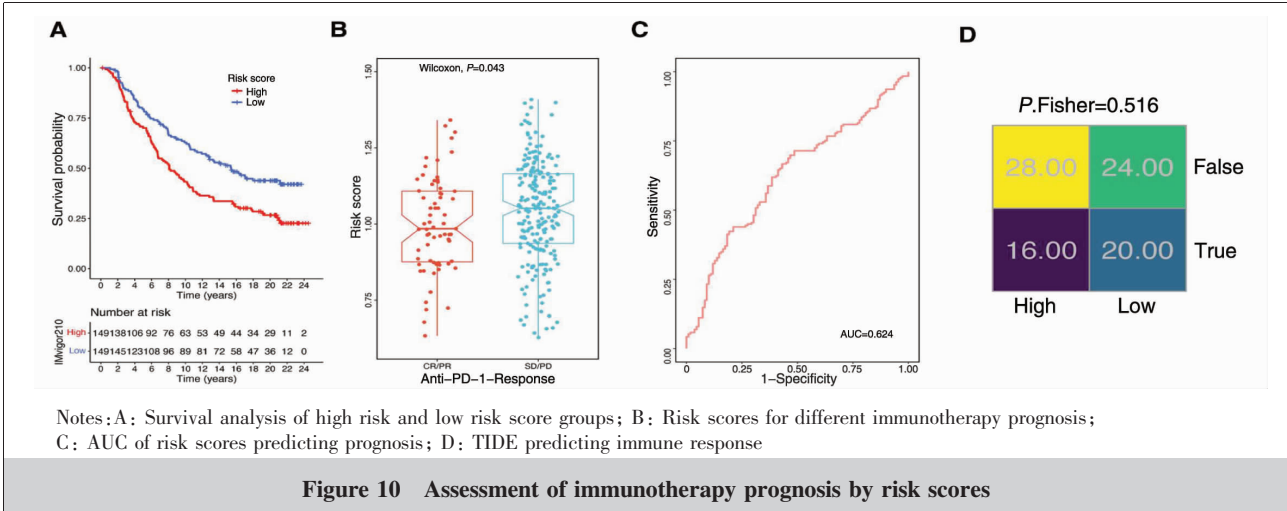
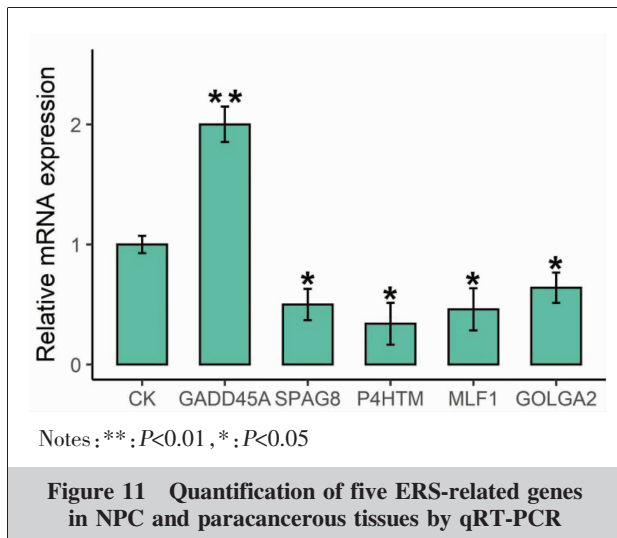


Figure 10 Assessment of immunotherapy prognosis by risk scores



险评估模型的构建相关研究较少。随着肿瘤分子生物学研究的发展,肿瘤分子生物学特点在疾病的治疗中发挥了越来越重要的指导作用。本研究中,通过对基因组数据构建列线图对 NPC 患者进行分层和预后风险评分,聚焦于肿瘤分子学特征,对 NPC 的个体化和靶向治疗具有指导意义。

GADD45 家族(包括 *GADD45A*、*GADD45B* 以及 *GADD45A*)参与许多生物过程,如基因组稳定性、细胞凋亡等。Lou 等^[15]发现,在敲除 *GADD45G* 的 NPC 细胞内,肿瘤细胞自身的耐辐射敏感性增强,可能与细胞分裂、增殖、迁移变化相关,为深入研究 NPC 提供了新方向。*BRCA1* 和 *GADD45A* 相互作用对于乳腺癌的发病机制有重要影响^[16]。*GADD45A* 可以作为一种功能性肿瘤抑制因子^[17],在 T 细胞内通过抑制 p88 磷酸化和活性作为 p38-MAPK 的调节剂。*GADD45A* 可能影响 PCNA 与某些细胞分裂蛋白激酶复合物间的相互作用。*SPAG8* 是一种精子发生过程中的转录激活因子,主要参与生殖细胞分化过程^[18]。*P4HTM* 作为一种对氧敏感基因,参与缺氧环境诱导的转录因子的降解,可能对于肿瘤缺氧与放疗和化疗的耐药性相关联^[19]。*MLF1* 是一种癌蛋白,与造血谱系肿瘤的发生相关,主要在骨髓细胞分化中发挥作用^[20-21]。*GOLGA2* 参与内质网到高尔基体和细胞膜的正常蛋白质运输,能够对肿瘤发生产生抑制作用,*GOLGA2* 的下调可能会降低癌症患者的体外血管生成和癌细胞侵袭^[22]。目前,这些相关基因在 NPC 发生、进展及治疗中的作用及其机制尚不清楚;同时,针对这些分子靶点的药物尚缺乏。在今后

的研究中,针对这些靶点的研究有望为 NPC 治疗提供新的思路。

此外,我们通过比较不同风险组的免疫浸润程度、免疫检查点基因的表达水平和免疫治疗的效果,发现高风险组和低风险组在免疫浸润方面有显著性差异;低风险组的免疫检查点基因更活跃,并且对免疫治疗更敏感。这些结果提示了该模型在预测免疫治疗效果方面的潜力。

本研究存在的局限性:①本研究是基于 GEO 数据库进行生物信息学的分析,并对 5 个 ERS 相关基因 mRNA 表达水平进行了验证,但没有进一步阐明 ERS 相关基因调控 NPC 的机制,需进一步生物学实验验证;②两个数据集均源自北美洲的样本,存在数据可靠性较低的劣势,其普适性还有待进一步验证。

综上所述,本研究基于 GEO 数据库构建了 NPC 预后相关的风险评分模型,通过外部数据集验证,风险评分模型和列线图模型能较好地预测 NPC 患者的预后。此外,风险评分模型高低风险组的基因表达水平差异能够影响免疫细胞浸润水平,影响免疫活性。风险评分模型建立有助于筛选诊断 NPC 以及治疗评估,为临床上 NPC 患者的治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(2): 71-88.
- [2] Oakes SA. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer cells[J]. Am J Pathol, 2020, 190(5): 934-946.
- [3] Senovilla L, Vitale I, Martins I, et al. An immunosurveillance mechanism controls cancer cell ploidy [J]. Science, 2012, 337(6102): 1678-1684.
- [4] Jaud M, Philippe C, Di Bella D, et al. Translational regulations in response to endoplasmic reticulum stress in cancers[J]. Cells, 2020, 9(3): 540.
- [5] Guo R, Mao YP, Tang LL, et al. The evolution of nasopharyngeal carcinoma staging[J]. Br J Radiol, 2019, 92(1102): 20190244.
- [6] Tan Z, Xiao L, Tang M, et al. Targeting CPT1A-mediated fatty acid oxidation sensitizes nasopharyngeal carcinoma to radiation therapy[J]. Theranostics, 2018, 8(9): 2329-2347.
- [7] Dai Y, Chen W, Huang J, et al. Identification of key pathways and genes in nasopharyngeal carcinoma based on WGCNA[J]. Auris Nasus Larynx, 2023, 50(1): 126-133.

- [8] Salam DSDA, San HS, Bhavne M, et al. NF- κ B pathway analysis and biomarker identification in nasopharyngeal carcinoma[J]. GEN Open, 2023, 3(1): 11–20.
- [9] Hu FF, Liu CJ, Liu LL, et al. Expression profile of immune checkpoint genes and their roles in predicting immunotherapy response[J]. Brief Bioinform, 2021, 22(3): bbaa176.
- [10] Salvagno C, Mandula JK, Rodriguez PC, et al. Decoding endoplasmic reticulum stress signals in cancer cells and antitumor immunity[J]. Trends Cancer, 2022, 8(11): 930–943.
- [11] Marciniak SJ, Chambers JE, Ron D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease [J]. Nat Rev Drug Discov, 2022, 21(2): 115–140.
- [12] Chen J, Li S, Xiao Y, et al. p53R2 as a novel prognostic biomarker in nasopharyngeal carcinoma[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 846.
- [13] Bloniarz A, Liu H, Zhang CH, et al. LASSO adjustments of treatment effect estimates in randomized experiments[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(27): 7383–7390.
- [14] Lao JW, Chen YS, Li ZC, et al. A deep learning-based radiomics model for prediction of survival in glioblastoma multiforme[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 10353.
- [15] Lou D, Zhu D, Wang Z, et al. Effect of GADD45G on the radioresistance of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Anticancer Drugs, 2022, 33(1): e84–e93.
- [16] Pietrasik S, Zajac G, Morawiec J, et al. Interplay between BRCA1 and GADD45A and its potential for nucleotide excision repair in breast cancer pathogenesis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 870.
- [17] Zhang X, Li Y, Ji J, et al. GADD45A initiates embryonic stem cell differentiation and inhibits breast cell carcinogenesis[J]. Cell Death Discovery, 2021, 7(1): 271.
- [18] Faraji S, Sharafi M, Shahverdi A, et al. Sperm associated antigens: vigorous influencers in life[J]. Cell Journal(Yakhteh), 2021, 23(5): 495.
- [19] Chang WH, Forde D, Lai AG. Dual prognostic role of 2-oxoglutarate-dependent oxygenases in ten cancer types: implications for cell cycle regulation and cell adhesion maintenance[J]. Cancer Commun, 2019, 39(1): 1–14.
- [20] Li Z, Yang Y, Wu K, et al. Myeloid leukemia factor 1: a “double-edged sword” in health and disease[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1124978.
- [21] Gug G, Solovan C. From benign inflammatory dermatosis to cutaneous lymphoma. DNA copy number imbalances in mycosis fungoides versus large plaque parapsoriasis [J]. Medicina, 2021, 57(5): 502.
- [22] Higa N, Shinsato Y, Kamil M, et al. Formin-like 1 (FMNL1) is associated with glioblastoma multiforme mesenchymal subtype and independently predicts poor prognosis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6355.