

Cuproptosis 基因和特征基因预测急性髓系白血病 预后、免疫和肿瘤微环境的价值

李寅臻¹, 农卫霞², 张眉¹, 芮东升¹, 雷伟¹, 摆文丽¹, 李瑞¹, 张亚洲¹, 王奎¹

摘要 **目的** 筛选急性髓系白血病(AML)中的差异预后 Cuproptosis 基因和特征基因并探索其在 AML 中的预后情况以及在免疫和肿瘤微环境中的生物学作用和相关性。**方法** 利用从 TCGA、GEO 和 UCSC 3 个主要数据库下载的 AML 临床、转录组、基因组和拷贝数数据,并从已发表的研究中收集 Cuproptosis 基因,从多组学的角度,通过各种生物信息学方法、Meta 分析和二次分型,研究 Cuproptosis 基因和特征基因在生存、免疫、肿瘤微环境、干细胞相关性和药物敏感性等方面作用。**结果** 1 个 Cuproptosis 基因被鉴定为 AML 的差异预后基因和 5 个通过影响 Cuproptosis 进而影响 AML 患者预后的特征基因,并建立了预后模型。差异基因主要富集于线粒体活性、氧化还原酶和能量代谢。在免疫方面,巨噬细胞 M0、中性粒细胞、活化记忆 CD4 T 细胞和 Tregs 与风险评分呈正相关,巨噬细胞 M2、静息肥大细胞、辅助滤泡 T 细胞和记忆 B 细胞与风险评分呈负相关;在肿瘤微环境方面,低危组的免疫细胞评分低于高危组,并且在总评分中,低危组的肿瘤微环境得分同样低于高危组,说明高危组的肿瘤纯度低于低危组;然而,干细胞在高风险和低风险组之间没有显著相关性,共有 14 种药物对治疗 AML 敏感。**结论** 通过构建 AML 预后模型,显示 AML 中的差异预后 Cuproptosis 基因和特征基因与免疫和肿瘤微环境密切相关。

关键词 Cuproptosis; 急性髓系白血病; 差异基因; 免疫浸润; 肿瘤微环境

中图分类号 R 733.71

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)06-1013-10
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.016

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种由造血干细胞或祖细胞突变引起的血液系统异质性恶性肿瘤,5 年相对生存率小于 30%^[1]。目前,阿糖胞苷与蒽环类药物的“7+3”联合化疗的效果并不理想,不能有效提高患者的生存

率^[2]。随着高通量测序技术的发展,在基因表达水平上寻找影响 AML 发生发展的分子标志物对临床治疗具有更现实的指导意义。调节性细胞死亡(regulatory cell death, RCD)作为目前 AML 预防和治疗的一个新方向,是一种基因调控的细胞死亡模式,根据信号通路的不同可分为自噬、铁死亡(Ferroptosis)和铜死亡(Cuproptosis)等^[3]。

Cuproptosis 是不同于 Ferroptosis 的一种依赖于线粒体呼吸的新型调节死亡,过量的铜可能具有细胞毒性,增加细胞内铜离子浓度并实现特异性杀伤作用^[4]。最近的研究发现一些与 Cuproptosis 相关的基因在白血病中异常表达,这些基因可能参与铜离子转运和细胞内铜离子调控,从而影响白血病细胞的生长和死亡。Wei et al^[5]、Wang^[6]分别建立了两种预测 AML 患者预后的预后模型,以预测 Cuproptosis 基因对 AML 的影响。尽管 AML 相关 Cuproptosis 基因与 lncRNA 和 mRNA 的相关性已经初步探索,但是, Cuproptosis 基因与 AML 的关系研究仍不够完善,系统探索 Cuproptosis 基因在 AML 中的表达,对于揭示 Cuproptosis 参与 AML 的发展和提供潜在的治疗方案仍具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 数据采集与预处理 通过 TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>)数据库下载 AML 转录组数据和基因突变数据;通过 GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库检索和下载用于构建预后模型和差异表达基因的基因表达数据;AML 基因拷贝数数据从 UCSC Xena (<https://xena.ucsc.edu/>)数据库下载 Cuproptosis 基因主要基于 Tsvetkov et al^[4]研究提供的 13 个基因,并将已发表的有关 Cuproptosis 的研究中提到的 7 个 Cuproptosis 基因合并,采用 R 语言对数据预处理。

1.2 AML 相关 Cuproptosis 基因的突变负荷和拷贝数变异分析 从突变数据中选择 Cuproptosis 基因,利用“maftools”软件包和 perl 语言分析突变的数量、频率、类型、碱基变化和突变负荷,并将结果以瀑

2024-01-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860374)

作者单位:¹ 石河子大学医学院预防医学系,石河子 832000

² 石河子大学第一附属医院风湿血液科,石河子 832000

作者简介:李寅臻,男,硕士研究生;

王奎,男,博士,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:

kwang_shzu@163.com

布图的形式呈现。基于拷贝数数据,通过 Perl 提取 Cuproptosis 基因的拷贝数,然后使用“RCircos”软件包将结果绘制为变异频率图和圆图。

1.3 AML 相关 Cuproptosis 基因的差异分析 通过“limma”软件包分别对所有下载的 GEO 数据集进行差异分析,并通过 Meta 分析检查每个 GEO 数据集中 Cuproptosis 基因的差异表达的结果,以获得更可靠的 Cuproptosis 基因差异表达。

1.4 AML 相关 Cuproptosis 基因的生存分析 利用 R 语言的“limma”和“sva”包,将 TCGA 和 GEO 的转录组学数据剔除批效应后合并,提取 Cuproptosis 基因表达数据。根据生存数据,采用 R 语言的“survival”、“limma”和“survminer”软件包进行生存分析,绘制生存曲线和预后网络图。

1.5 AML 相关 Cuproptosis 基因样本分型 基于 1.4 的 Cuproptosis 基因表达数据和生存数据,使用 R 中的“ConsensusClusterPlus”软件包对样本进行分型,聚类算法为 PAM 法,距离计算为欧几里得法。生存分析比较不同分型的生存差异,分型结果进一步通过基因集变异分析(gene set variation analysis, GSVA)进行分析,探索富集的功能和途径;通过单样本基因集富集分析(single sample gene set enrichment analysis, ssGSEA)来探索不同类型之间免疫细胞的差异,最后通过差异分析筛选不同分型之间的差异基因。

1.6 富集分析 将 1.5 项中的差异基因分别用“clusterProfiler”包、“org.hs.egg.db”包和 GO (Gene Ontology, GO) 和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 途径的生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞成分(cellular component, CC)的“enrichment”包进行富集。 P 值设为 < 0.05 , 同时考虑 Count 或 GeneRatio, 结果绘制气泡图和柱状图。

1.7 AML 相关 Cuproptosis 基因的二次分型和生存分析 根据 1.5 项中差异分析结果中差异基因的表达情况,使用“ConsensusClusterPlus”包对样本进行二次分型。根据分型结果,使用“survival”包对不同分型结果的生存进行比较。

1.8 预测模型的构建 根据 1.7 项中获得的单因素显著基因,按 70% 分配法将样品随机分为训练组和验证组。利用 R 语言中的“glmnet”包和“caret”包构建基因表达的 Lasso 回归模型并进行交叉验证,选取误差最小的点对应的基因作为模型的特征基因,并根据特征基因及其表达量构建 COX 回归模

型。构建模型的过程:首先根据 Cuproptosis 基因的表达情况对样品进行分型,然后通过差异分析鉴定不同分型中存在的差异基因,再根据差异基因的表达情况对样品进行两次分型;根据二次分型中显著基因的表达情况,将这些显著基因作为特征基因,并通过单向 COX 分析构建预后相关模型。根据预后模型将患者分为高危组和低危组(将模型中的基因表达量与系数相乘并求和分别得到训练组和验证组的得分,并根据训练组和验证组得分的中位数将样本分为高危组和低危组)。基于风险评估,比较不同亚型的风险评分差异,进一步分析验证组与训练组高、低风险生存差异。通过“timeROC”包构建了 ROC 曲线,并构建风险曲线验证模型的准确性。

1.9 免疫细胞浸润分析 使用 R 语言 CIBERSORT 命令,得到 1.4 项中合并数据的相对免疫细胞含量(求和为 1);将相对免疫细胞含量结果按 $P < 0.05$ 进行过滤,并与模型构建中涉及的 Cuproptosis 基因的风险评分结果相交,计算一个回路中所有免疫细胞的风险评分、基因与免疫细胞之间的相关性。

1.10 肿瘤微环境、肿瘤突变负荷、干细胞相关性 & 药物敏感性分析 对 1.4 项中合并数据采用 R 语言的“estimate”包进行肿瘤微环境分析,并根据微环境评分结果,分析模型中高、低风险组的差异;分析肿瘤突变负荷,确定高、低风险组间突变程度是否存在差异及相关性;利用泛癌干细胞评分数据分析高风险组和低风险组在干细胞含量方面的相关性。通过 R 语言“proraphetic”软件包分析高危组和低危组之间的 IC50 差异,预测可用于治疗的药物,IC50 值越低表明对这些药物的敏感性越高。

2 结果

2.1 获得数据 从 TCGA 数据库中下载了 151 份 AML 转录组数据样本(病例 151 份,对照组 0 份)和 153 份基因突变数据样本。从 GEO 数据库中检索并下载 2 组用于构建预后模型的基因表达数据(GSE71014 和 GSE37642)和 11 组用于验证差异表达基因的基因表达数据(GSE9476、GSE14924、GSE17054、GSE24395、GSE65409、GSE79605、GSE84881、GSE90062、GSE92778、GSE97485 和 GSE122917)。共收集到 20 个 Cuproptosis 基因:SLC31A1、PDHB、PDHA1、LIPT1、FDX1、DLD、DLST、DBT、LIAS、DLAT、GCSH、ATP7A、ATP7B、NFE2L2、NLRP3、LIPT2、MTF1、GLS、CDKN2A 和 MPC1。

2.2 AML 相关 Cuproptosis 基因的突变负荷和拷

贝数变异分析 基因突变率分析显示,只有两个样本发生突变,NFE2L2 和 DLD 的突变频率均为 1% (图 1A)。拷贝数变异分析显示存在拷贝数变异,其中 NLRP3、FDX1、DLAT、MTF1 和 LIPT2 拷贝数增

加的频率大于拷贝数缺失的频率;PDHB、DLD、CDKN2A 和 GCSH 拷贝数缺失的频率高于拷贝数增加的频率(图 1B)。通过(图 1C)可以观察到拷贝数变异所在染色体的位置。

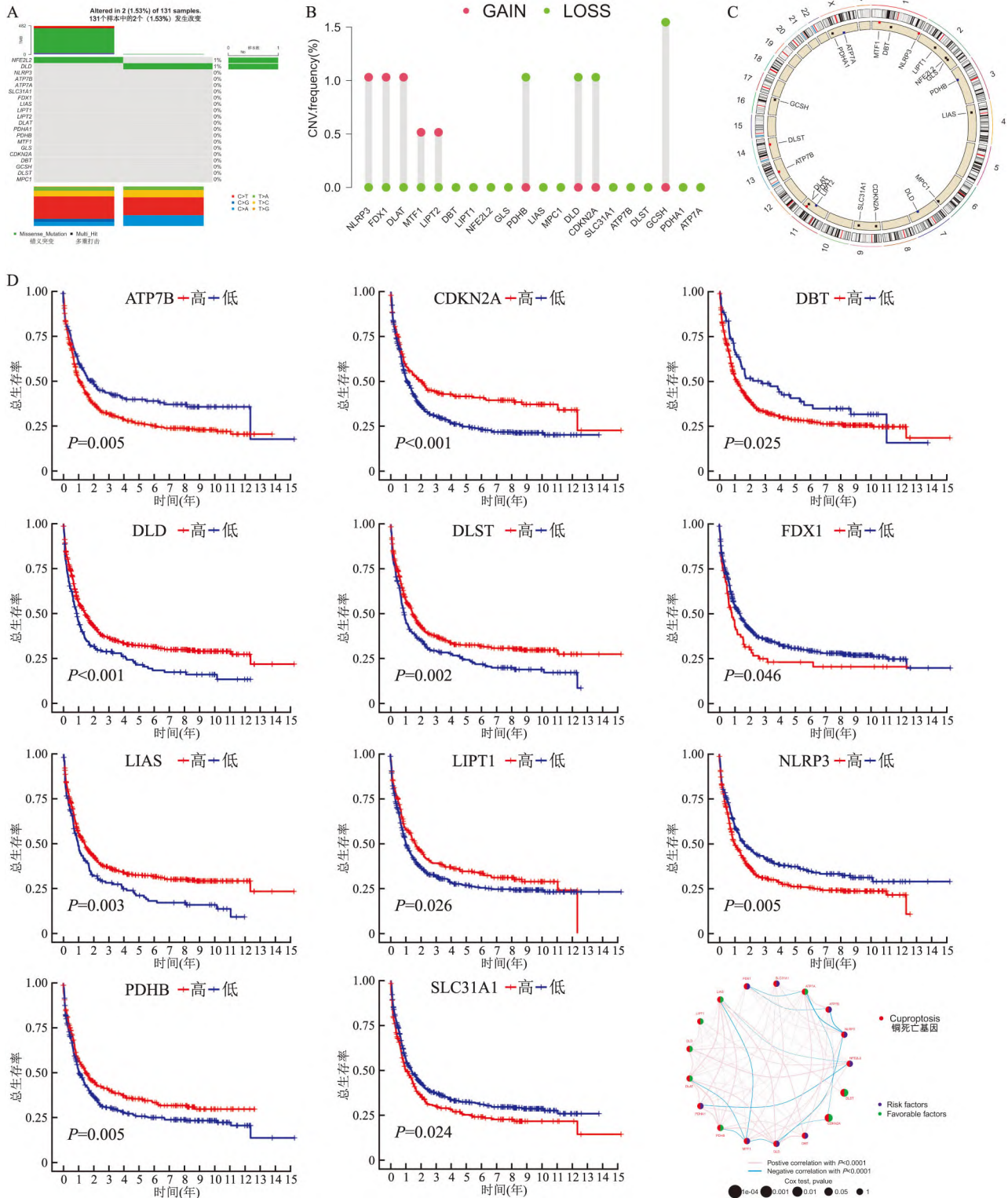


图 1 AML 相关 Cuproptosis 基因突变负荷、拷贝数变异、差异表达及生存分析

A: AML 相关 Cuproptosis 基因突变负荷的瀑布图; B: AML 相关 Cuproptosis 基因拷贝数变异频率图; C: AML 相关 Cuproptosis 基因拷贝数变异位置的圆形图; D: AML 相关 Cuproptosis 基因存活曲线及网络图

2.3 AML 相关 Cuproptosis 基因的差异分析 使用“limma”软件包分别分析 11 个 GEO 基因表达数据集。由于 Cuproptosis 基因较少,在将 LogFC 设为 0.5 时,结果较少,因此将 LogFC 设为 0,P 值设为 0.05。4 个数据集在 Cuproptosis 基因上没有差异(GSE17054、GSE92778、GSE97485 和 GSE122917)。由于部分基因同时上调和下调,无法准确得到上调和下调的基因,因此进行 meta 分析,结果显示 MPC1 为上调基因,LIAS 为下调基因(表 1)。MPC1 和 LIAS 这两个基因是 AML 相关的差异表达 Cuproptosis 基因。

表 1 AML 相关铜死亡差异基因的 meta 分析

基因名	上调(N)	下调(N)	HR(95% CI)
ATP7A	1	1	-0.24(-0.64,0.16)
ATP7B	0	3	-0.47(-0.75,-0.18)
CDKN2A	3	1	0.11(-0.49,0.71)
DBT	1	0	0.08(-0.25,0.41)
DLAT	1	1	-0.15(-0.52,0.21)
DLD	1	1	0.13(-0.29,0.55)
DLST	2	0	0.73(-0.11,1.57)
FDX1	0	0	-0.09(-0.44,0.25)
GCSH	3	0	0.24(-0.55,1.02)
GLS	0	2	-0.11(-0.75,0.53)
LIAS	1	1	-0.32(-0.58,-0.05)
LIPT1	1	3	-0.56(-1.22,0.10)
LIPT2	1	1	-0.16(-1.11,0.79)
MPC1	1	0	0.46(0.05,0.86)
MTF1	2	0	0.28(-0.21,0.77)
NFE2L2	1	1	-0.19(-0.62,0.23)
NLRP3	1	3	-0.05(-0.59,0.50)
PDHA1	0	1	-0.14(-0.40,0.13)
PDHB	0	1	-0.15(-0.46,0.15)
SLC31A1	0	0	0.16(-0.12,0.44)

N:GEO 数据集的数量

2.4 AML 相关 Cuproptosis 基因的生存分析

ATP7B、DBT、FDX1、NLRP3、SLC31A1 低表达预后较好,DLD、DLST、CDKN2A、LIPT1、LIAS、PDHB 高表达预后较好。此外,根据生存分析结果绘制预后网络图,可以看到部分基因之间的共表达关系(图 1D),根据差异基因的表达和生存预后,最终认为 LIAS 是 AML 的差异预后 Cuproptosis 基因。

2.5 AML 相关 Cuproptosis 基因样本分型 通过聚类将样本分为 A、B 两种亚型(图 2A),两种亚型之间差异有统计学意义($P < 0.05$),且 A 亚型预后优于 B 亚型(图 2B)。在 GSVA 的通路分析中,A 亚型在 RNA 聚合酶、柠檬酸循环 TCA 循环和氧化磷酸化相关的通路中高表达,而 B 亚型低表达;GSVA

的功能分析显示,在 BP 中,A 亚型在调节成骨细胞增殖和干细胞分裂等功能上低表达,而 B 亚型则高表达;A 亚型在线粒体组织、线粒体钙稳态和硫化化合物分解代谢的负调控中高表达,B 亚型低表达。在 MF 中,A 亚型在作用于硫基供体的氧化还原酶活性、二硫氧化还原酶活性和分子内氧化还原酶活性的功能上高表达,而 B 亚型表达较低;在 CC 中,亚型 A 在 RNA 聚合酶 ii 核心复合物的功能中高度表达(图 2C、D)。在 ssGSEA 分析中,8 个免疫细胞在 A、B 型之间差异有统计学意义,包括活化的 B 细胞、活化的 CD4T 细胞、CD56dim 自然杀伤细胞、嗜酸性粒细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、未成熟树突状细胞、单核细胞和 2 型 T 辅助细胞;其中活化的 B 细胞、活化的 CD4T 细胞、嗜酸性粒细胞、成熟树突状细胞和 2 型 T 辅助细胞的 B 亚型含量高,而 CD56dim 自然杀伤细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和单核细胞的 A 亚型含量高(图 2E)。通过差异分析最终得到 27 个差异基因。

2.6 AML 相关 Cuproptosis 样本分数差异分析结果富集分析 对上述 27 个差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,在功能富集中发现差异基因参与 BP,主要参与成骨细胞增生与调控、肿瘤坏死因子产生与调控、肿瘤坏死因子超家族细胞因子产生与调控、骨髓细胞发育;在 CC 中,主要在质膜外侧;在 MF 中,主要是硫化物结合和碳水化合物结合。通路富集主要涉及造血细胞系、 γ -氨基丁酸能突触、黑色素生成、谷氨酸能突触和 5-羟色胺能突触(图 2F-G)。

2.7 AML 相关 Cuproptosis 分型差异分析结果

根据 27 个差异基因的表达情况,进一步将样本分为 C、D、E 3 种亚型(图 3A)。生存分析显示,D 型患者预后优于 C、E 型患者;E 型预后优于 C 型(图 3B)。

2.8 构建预测模型 通过 Lasso 回归和交叉验证构建特征基因的 COX 回归模型(图 3C),得到训练组和验证组的风险值,COX 回归模型公式为 $PI = (0.153 \times HOPX) + (-0.06 \times CTSW) + (0.135 \times SCRNI) + (0.075 \times VNN1) + (0.068 \times EREG)$,模型构建过程用桑基图(图 3D)表示。风险评分差异分析显示,A、B 两个亚组差异有统计学意义,A 亚组风险评分较低($P < 0.01$)(图 3E);C、D、E 三个亚组间差异也有统计学意义,其中 D 亚组风险评分最低($P < 0.01$)(图 3E)。在高危组和低危组的生存分析中发现,在训练组、验证组和总体组中,低危组的生存预后优于高危组(图 3F),训练组、验证组和总体预测 1 年、3 年和 5 年的曲线下面积分别为 0.657、

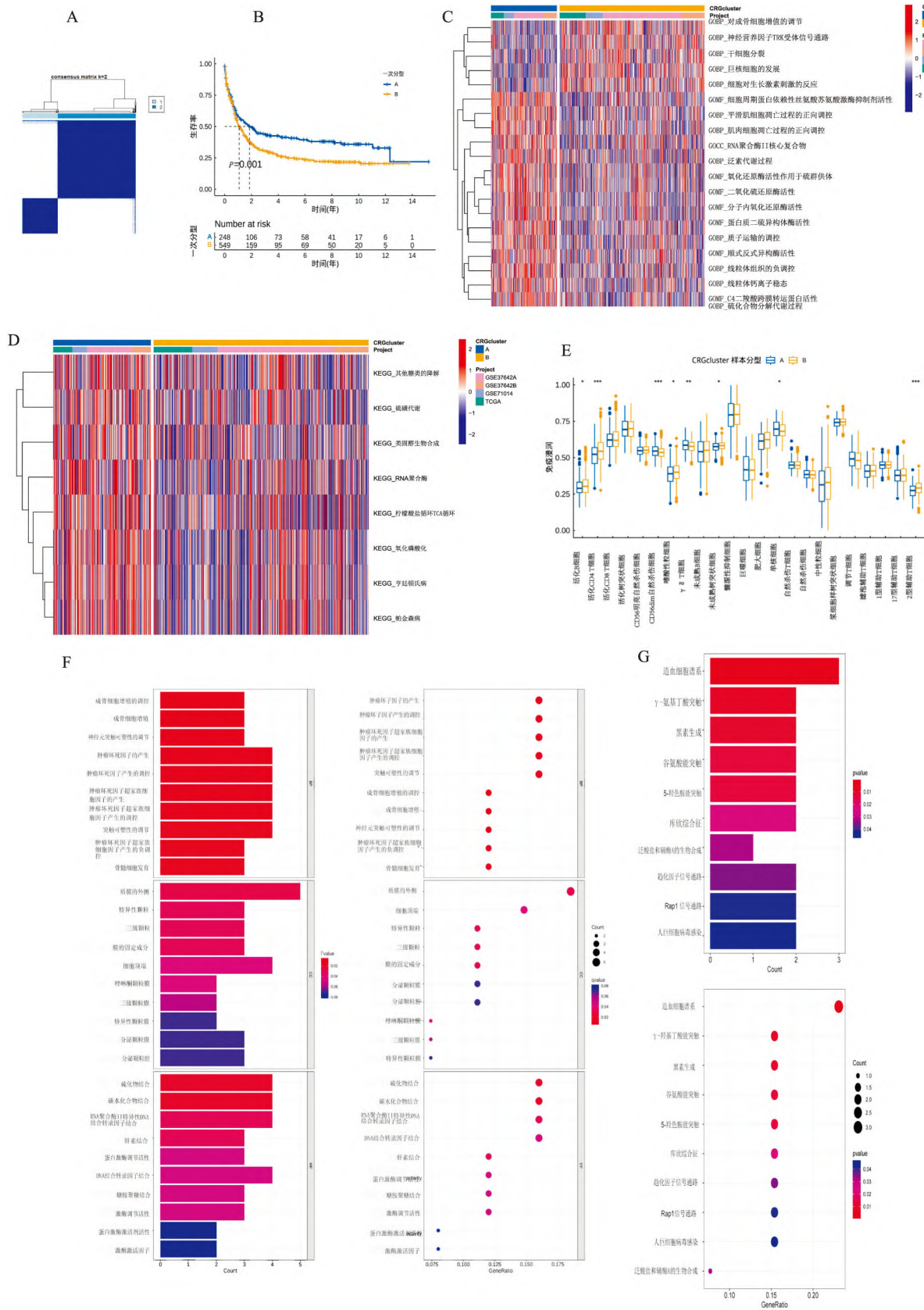


图2 AML 相关 Cuproptosis 基因分型、GSVA、ssGSEA 及富集分析

A: 第一次分型的结果; B: 不同亚型间的生存曲线; C: 不同分型在 GSVA 功能富集中的表达; D: 不同分型在 GSVA 通路富集中的表达; E: 不同分型间免疫细胞表达的 ssGSEA 分析; F: GO 富集分析中 27 个差异基因柱状图; G: 27 个差异基因 KEGG 富集分析柱状图

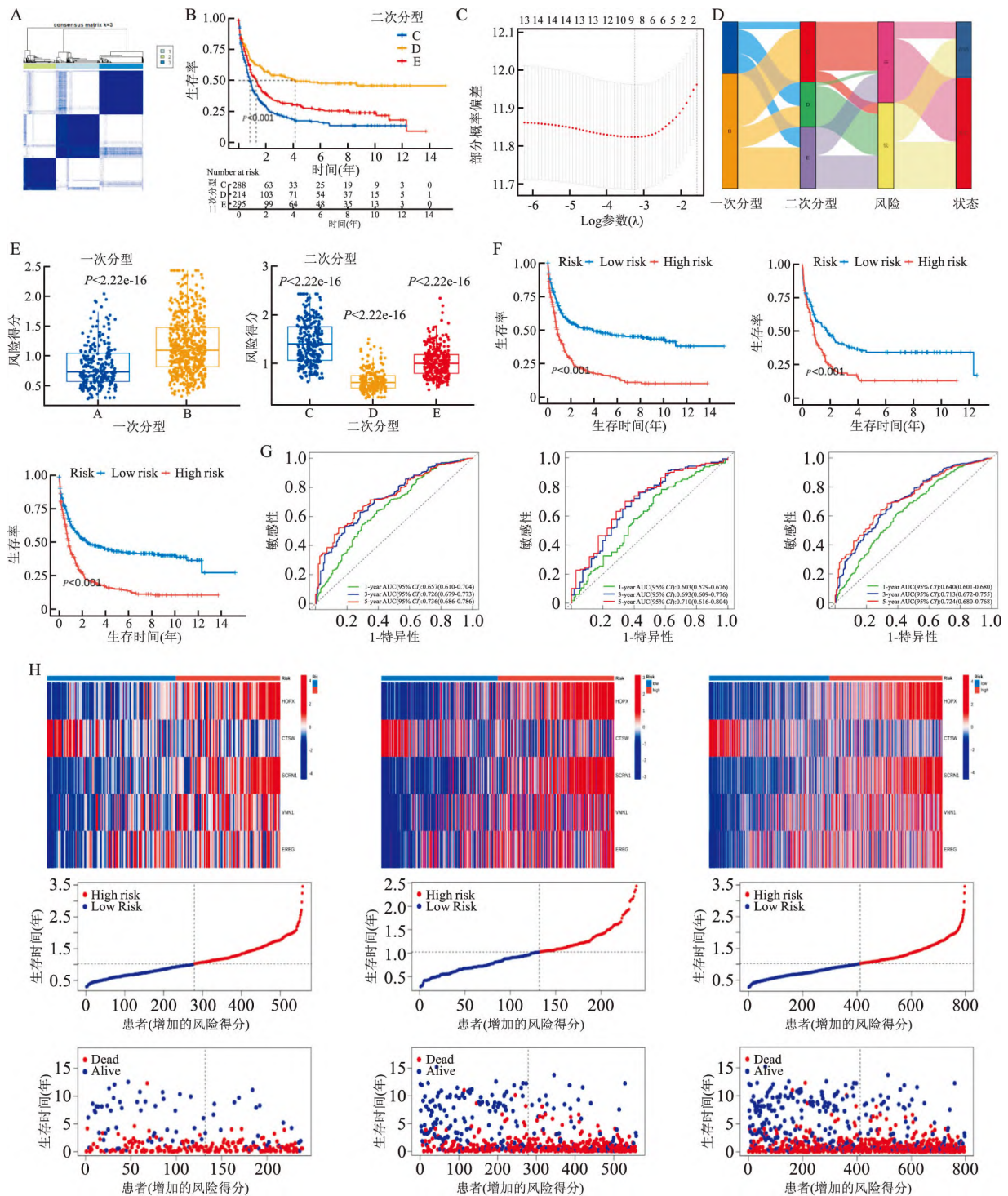


图3 二次分型、生存分析及特征基因模型构建

A: 二次分型的结果; B: 不同亚型间的生存曲线; C: Lasso 回归曲线; D: 模型构建过程的 Sankey 图; E: 两种类型的风险评分差异; F: 训练组、验证组和总体组中高、低风险组的生存分析; G: 训练组、验证组和总体组在 1 年、3 年和 5 年总生存特征验证的 ROC 曲线; H: 训练组、验证组和总体组风险增加情况的风险曲线

0.726 和 0.736; 0.603、0.693 和 0.710; 0.640、0.713 和 0.724 (图 3G)。从风险曲线可以看出, 无论是训练组、验证组还是总体, 患者死亡人数都随着风险的增加而增加, 从热图可以看出, HOPX、

SCRNI、VNN1 和 EREG 这四个基因都是高危基因, 而 CTSW 基因是保护基因(图 3H)。

2.9 免疫细胞浸润 巨噬细胞 M0、中性粒细胞、活化记忆 CD4 T 细胞、单核细胞和 Tregs 细胞与风险

评分呈正相关,巨噬细胞 M2、记忆 B 细胞、静息肥大细胞和滤泡辅助性 T 细胞与风险评分呈负相关; HOPX 主要与 Tregs 细胞、CD8 T 细胞和静息记忆 CD4 T 细胞呈正相关,与幼稚记忆 CD4 T 细胞呈负相关;CTSW 主要与静息肥大细胞、记忆 B 细胞、CD8 T 细胞和静息 NK 细胞呈正相关,与活跃记忆 CD4 T 细胞、中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞 M0 呈负相关;SCRN1 与 Tregs 细胞、活化肥大细胞、中性粒细胞和巨噬细胞 M0 呈正相关,与静息肥大细胞、巨噬细胞 M2 负相关;VNN1 与幼稚 CD4 T 细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞呈正相关,与 Tregs 细胞、CD8 T 细胞、静息 NK 细胞、浆细胞和未成熟 B 细胞呈负相关;EREG 主要与单核细胞和嗜酸性粒细胞呈正相关,与 CD8 T 细胞、静息记忆 CD4 T 细胞、静息 NK 细胞和记忆 B 细胞呈负相关

(图 4A)。

2.10 肿瘤微环境、肿瘤突变负荷、干细胞相关性及药物敏感性分析 在肿瘤微环境结果中,免疫细胞评分在高危组和低危组之间存在差异,低危组肿瘤微环境评分低于高危组。在总估计得分中,低危组的肿瘤微环境得分同样低于高危组,说明高危组的肿瘤纯度低于低危组(图 4B)。在肿瘤突变负荷分析中,高危组和低危组之间差异无统计学意义(图 4C、D);在干细胞相关性分析中,干细胞指数与风险评分无显著相关性(图 4E)。药物敏感性分析显示,有 51 种药物在高、低危组之间存在差异,其中多西他赛、来他替尼和雷帕霉素等 37 种药物的 IC₅₀ 值在低危组中低表达,维利帕尼、顺铂和吉非替尼等 14 种药物的 IC₅₀ 值在低危组中低表达(图 5)。

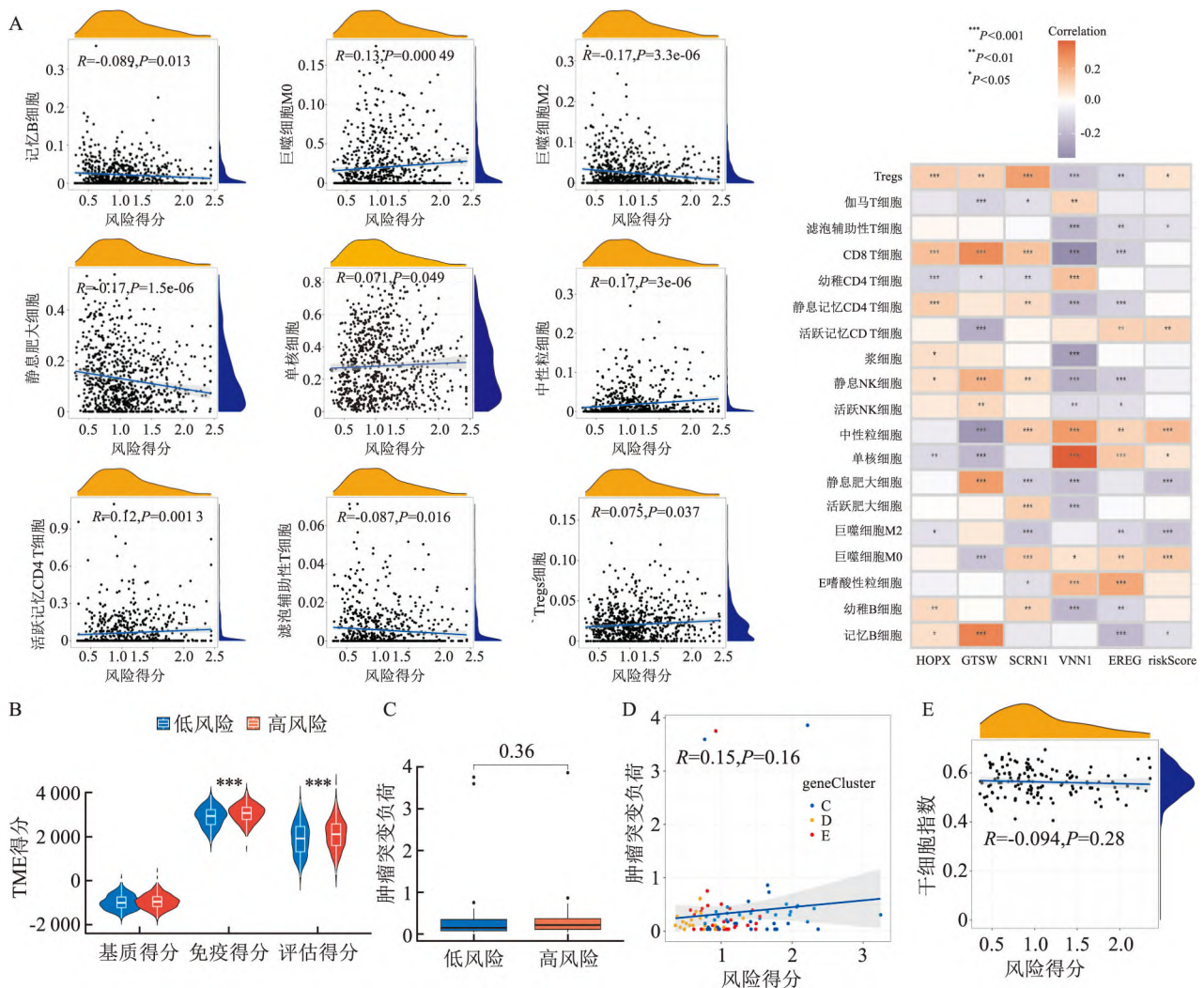


图 4 免疫细胞浸润、肿瘤微环境、肿瘤突变负荷分析、微卫星不稳定性、干细胞相关性分析等模型构建相关特征基因的风险评分

A: 特征基因免疫细胞免疫浸润分析结果; B: 高、低风险人群肿瘤微环境差异的小提琴图; C、D: 高危组与低危组肿瘤突变负荷分析差异中风险评分与肿瘤突变负荷的相关性; E: 干细胞指数与风险评分的相关结果图; 高低风险组间比较; *** $P < 0.001$

3 讨论

通路和功能富集分析显示,增加氧化还原酶活性和线粒体调控,降低干细胞和巨核细胞的表达,有利于 AML 患者的预后。与 LIAS 不同的是,模型中的 4 个基因为高危基因,而 CTSW 和 LIAS 为保护基因。Cai et al^[7]在泛癌症研究中发现,LIAS 在不同的癌症中表达不同,患者的生存和预后也不同,在 AML 等绝大多数癌症中表达下调。在生存分析中,LIAS 表达高的患者 OS 更好,并且 LIAS 表达与免疫细胞浸润有很强的相关性,包括 B 细胞、CD8 T 细胞、DC 细胞、巨噬细胞和 Tregs,LIAS 的表达可以预测癌症患者免疫治疗的效果,但 LIAS 表达高的患者免疫治疗的效果可能更差,本研究结果与之一致。关于 CTSW 在 AML 中的研究还较少,其在 AML 的作用同样尚不清楚,在部分肿瘤的研究中,CTSW 参与结直肠癌的转移和免疫治疗^[8],并且与胰腺癌的不良预后有关^[9],这说明 CTSW 可以作为肿瘤治疗的新型标志物,有深入研究的临床价值。EREG 主要激活 EGFR 信号通路,影响肿瘤微环境,促进肿瘤进展^[10]。然而,关于 SCRN1 和 EREG 与 AML 的研究很少,需要更多的研究来探索它们在 AML 中的作用机制。与 SCRN1 和 EREG 不同,HOPX 和 VNN1 的功能在不同的疾病和癌症中有不同的作用。HOPX 和 VNN1 均可作为肿瘤抑制基因,阻止肿瘤的发生和发展,如 HOPX 在胃癌、结直肠癌、肺癌、食管癌等大多数癌症中均下调,可抑制肿瘤的增殖和侵袭^[11];VNN1 抑制侵袭性软组织肉瘤的生长,低水平的 VNN1 与患者转移性复发增加有关^[12]。而在 AML 中,高表达的 HOPX 和 VNN1 均与 AML 患者预后不良相关,可作为 AML 患者的独立危险因素^[13],本研究构建的模型与之是一致的。

众所周知,肿瘤微环境对肿瘤生存至关重要,而免疫细胞浸润是肿瘤微环境的关键组成部分之一,全面分析肿瘤微环境中的免疫特性,有助于提出有效的免疫治疗策略,提高患者生存率。在 ssGSEA 分析和免疫浸润分析中,部分免疫细胞不具有肿瘤杀伤作用,风险评分与 Tregs、中性粒细胞和巨噬细胞 MO 呈高度正相关。本文推测这是因为 Tregs 细胞的高表达抑制了其他免疫细胞的表达和功能,导致患者预后不良。Tregs 细胞是免疫抑制细胞,其高表达已被证明可引起肿瘤细胞逃逸,研究^[14]表明,与健康个体相比,AML 患者 Tregs 细胞表达较高,Tregs 细胞可通过抑制抗白血病治疗实现免疫逃

逸^[14]。巨噬细胞在炎症和肿瘤微环境中也起着重要作用。巨噬细胞通过调节 NADPH 氧化活性来维持活性氧水平,从而维持巨噬细胞的氧化还原状态,建立有利于肿瘤进展的微环境,还通过破坏炎症信号通路,以不正确的形式释放过量的促炎细胞因子,从而促进肿瘤的增殖、侵袭和迁移^[15]。

本研究结合对多个数据集的 Meta 分析,与以往的研究相比,更准确、高效地鉴定差异预后 Cuproptosis 基因,对寻找 AML 患者的新型生物标志物和精准治疗具有重要意义。由于发挥致癌和功能的基因往往是由多个基因相互作用引起的,因此本研究将样本按 Cuproptosis 基因进行二次分型,并基于特征基因建立模型,有助于揭示基因相互作用的复杂现象和作用,并为 AML 患者的治疗提供见解。然而,本研究也存在一些局限性。本研究仅在转录组和基因组中进行,而 AML 与肠道微生物密切相关,后续的研究和分析可以包括微生物组学,例如 16S 或宏观基因组学研究,两者的结合将提供更大的价值。严格和完整的实验是验证分析结果的必要条件,而本研究的所有数据均来自公共数据库,依然需要临床数据和实验的进一步验证和支持。

参考文献

- [1] Pollyea D A, Bixby D, Perl A, et al. NCCN guidelines insights: acute myeloid leukemia, version 2. 2021 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021, 19(1): 16-27.
- [2] Medinger M, Heim D, Halter J P, et al. Diagnosis and therapy of acute myeloid leukemia [J]. *Ther Umsch*, 2019, 76(9): 481-6.
- [3] Tang D, Kang R, Berghe T V, et al. The molecular machinery of regulated cell death [J]. *Cell Res*, 2019, 29(5): 347-64.
- [4] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-61.
- [5] Wei Y, Miao Z, Guo X, et al. Exploration of cuproptosis-related genes for predicting prognosis and immunological characteristics in acute myeloid leukaemia based on genome and transcriptome [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(13): 6467-86.
- [6] Wang Q. Five cuproptosis-related lncRNA signatures for prognosis prediction in acute myeloid leukaemia [J]. *Hematology*, 2023, 28(1): 2231737.
- [7] Cai Y, He Q, Liu W, et al. Comprehensive analysis of the potential cuproptosis-related biomarker LIAS that regulates prognosis and immunotherapy of pan-cancers [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 952129.
- [8] Pan B, Yue Y, Ding W, et al. A novel prognostic signatures based on metastasis- and immune-related gene pairs for colorectal cancer [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1161382.

- [9] Khojasteh-Leylakooi F, Mohit R, Khalili-Tanha N, et al. Down regulation of Cathepsin W is associated with poor prognosis in pancreatic cancer [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 16678.
- [10] Cheng W L, Feng P H, Lee K Y, et al. The role of EREG/EGFR pathway in tumor progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12828.
- [11] Caspa Gokulan R, Yap L F, Paterson I C. HOPX: a unique homeodomain protein in development and tumor suppression [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(11): 2764.
- [12] Giessner C, Millet V, Mostert K J, et al. Vnn1 pantetheinase limits the Warburg effect and sarcoma growth by rescuing mitochondrial activity [J]. *Life Sci Alliance*, 2018, 1(4): e201800073.
- [13] Izzi V, Lakkala J, Devarajan R, et al. Vanin 1 (VNN1) levels predict poor outcome in acute myeloid leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(1): E4-7.
- [14] Wang M, Zhang C, Tian T, et al. Increased regulatory T cells in peripheral blood of acute myeloid leukemia patients rely on tumor necrosis factor (TNF)- α -TNF receptor-2 pathway [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1274.
- [15] Wang D, Yang L, Yue D, et al. Macrophage-derived CCL22 promotes an immunosuppressive tumor microenvironment *via* IL-8 in malignant pleural effusion [J]. *Cancer Lett*, 2019, 452: 244-53.

Value of Cuproptosis genes and characteristic genes in predicting prognosis, immunity and tumor microenvironment in acute myeloid leukemia

Li Yinzhen¹, Nong Weixia², Zhang Mei¹, Rui Dongsheng¹, Lei Wei¹,
Bai Wenli¹, Li Rui¹, Zhang Yazhou¹, Wang Kui¹

¹*Dept of Preventive Medicine, Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000;*

²*Dept of Rheumatology, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)*

Abstract Objective To screen Cuproptosis genes and characteristic genes for differential prognosis in acute myeloid leukemia (AML) and explore their prognosis in AML as well as their biological roles and correlations in the immune and tumor microenvironment. **Methods** AML clinical, transcriptome, genomic, and copy number data were downloaded from three major databases, TCGA, GEO, and UCSC, and Cuproptosis genes were collected from published studies. From the perspective of multiomics, the effects of Cuproptosis gene and characteristic gene on survival, immunity, tumor microenvironment, stem cell correlation and drug sensitivity were studied by various bioinformatics methods, meta-analysis and secondary typing. **Results** One Cuproptosis gene was identified as a differential prognostic gene in AML and five characteristic genes were identified as influencing the prognosis of AML patients by influencing Cuproptosis, and a prognostic model was established. The differential genes were mainly concentrated in mitochondrial activity, REDOX enzyme and energy metabolism. In terms of immunity, macrophage M0, neutrophils, activated memory CD4 T cells and Tregs were positively correlated with risk score, while macrophage M2, resting mast cells, immature CD4 T cells, helper follicular T cells and memory B cells were negatively correlated with risk score. In terms of tumor microenvironment, the immune cell score of the low-risk group was lower than that of the high-risk group, and in the total score, the tumor microenvironment score of the low-risk group was also lower than that of the high-risk group, indicating that the tumor purity of the high-risk group was lower than that of the low-risk group. However, there was no significant association between stem cells in the high-risk and low-risk groups, and a total of 14 drugs were found to be sensitive to treat AML. **Conclusion** Cuproptosis gene and characteristic gene are closely related to immune and tumor microenvironment in AML by constructing a prognostic model of AML.

Key words Cuproptosis; acute myeloid leukemia; differential gene; immune infiltration; tumor microenvironment