

安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: NETosis 相关 LncRNA 对胃癌的预测价值及风险模型构建
作者: 胡润林, 吴文涌
网络首发日期: 2025-11-13
引用格式: 胡润林, 吴文涌. NETosis 相关 LncRNA 对胃癌的预测价值及风险模型构建 [J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251112.1715.024>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式 (包括网络呈现版式) 排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊 (光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊 (网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊 (网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物 (ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

NETosis 相关 LncRNA 对胃癌的预测价值及风险模型构建

胡润林, 吴文涌

(安徽理工大学医学院, 淮南 232001)

摘要 目的 用 NETosis 相关长链非编码 RNA (LncRNA) 构建胃癌的预后模型, 并探究其在胃癌中的表达及作用。**方法** 通过 TCGA 数据库获取胃癌患者数据, 利用 Gene card 数据库获得 85 种与 NETosis 相关的基因, 并通过 Pearson 相关分析筛选出与 NETosis 相关的 LncRNA。构建 1 个基于 LncRNA 的预后模型, 并通过生存分析、ROC 曲线、C-index 和列线图评估模型的预测效果, 同时探讨高低风险组在基因集富集分析的差异。此外, 利用 RT-qPCR 实验验证胃癌患者 LncRNA 的表达差异, 利用 CCLE 数据库探究 LncRNA 在不同肿瘤细胞系中的表达情况。**结果** 利用 12 个 LncRNA 构建了胃癌的风险预后模型, 根据风险评分, 在不同数据集里, 将样本数据分别划分为高风险组和低风险组。验证结果显示, 高风险组的生存预后差于低风险组, 风险预后模型预测能力优秀可靠 ($AUC=0.758$, $95\%CI: 0.688\sim0.828$)。基因富集分析的结果显示, 高风险组富集了与炎症进展高相关的基因集, 而低风险组富集了与 DNA 正常发挥功能高相关的基因集。RT-qPCR 检测的 LncRNA 在肿瘤组织和癌旁正常组织的表达存在差异 ($P<0.001$)。通过 CCLE 数据库探究发现 LncRNA 的表达在不同肿瘤细胞系中存在较大差异。**结论** 通过 12 种 LncRNA 构建的预后模型可以用来评估胃癌患者的预后以及免疫情况, 基因的富集分析可为 NETosis 的后续机制研究提供思路, LncRNA 在胃癌患者癌组织组织和正常组织的差异表达以及 LncRNA 在不同肿瘤细胞系的差异表达, 可为新的亚型分型及治疗提供思路。

关键词 NETosis; 细胞死亡; 胃癌; 长链非编码 RNA; 预后模型; 肿瘤预后

中图分类号 R 735.2

The predictive value of NETosis-related LncRNAs for gastric cancer and the construction of risk model

Hu Runlin, Wu Wenying

(School of Medicine Anhui University of Science & Technology, Huainan 232001)

Abstract Objective To construct a prognostic model for gastric cancer using NETosis-related long non-coding

基金项目: 安徽省高校自然科学基金项目 (编号: 2023AH010084); 合肥综合性国家科学中心大健康研究院职业医学与健康联合研究中心开放基金重大项目 (编号: OMH-2023-07)

作者简介: 胡润林, 男, 硕士研究生;

吴文涌, 男, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: wuwenyong@ahmu.edu.cn

lncRNAs (lncRNAs) and to investigate their expression and functional roles in gastric cancer progression. **Methods** Data from gastric cancer patients were obtained from the TCGA database, and 85 NETosis-related genes were identified from the GeneCards database. NETosis-associated lncRNAs were screened using Pearson correlation analysis. A lncRNA-based prognostic model was constructed and evaluated through survival analysis, ROC curves, C-index, and nomogram analysis. Differences in gene set enrichment between high- and low-risk groups were further explored. Additionally, RT-qPCR was performed to validate lncRNA expression in gastric cancer patients, and the CCLE database was utilized to investigate lncRNA expression across various tumor cell lines. **Results** A risk prognostic model for gastric cancer was constructed using 12 lncRNAs. Based on risk scores, samples were stratified into high- and low-risk groups across multiple datasets. Validation results demonstrated significantly worse survival outcomes in the high-risk group compared to the low-risk group, with excellent predictive performance of the model ($AUC = 0.758$, 95% CI : 0.688–0.828). Gene set enrichment analysis revealed that the high-risk group was enriched in gene sets strongly associated with inflammatory progression, whereas the low-risk group showed enrichment in gene sets related to normal DNA function. RT-qPCR confirmed differential expression of lncRNAs between tumor and adjacent normal tissues ($P < 0.001$). Furthermore, analysis of the CCLE database indicated substantial variations in lncRNA expression across different tumor cell lines. **Conclusion** The prognostic model constructed with 12 lncRNAs demonstrates potential for assessing prognosis and immune status in gastric cancer patients. Gene enrichment analysis provides insights into further mechanistic studies on NETosis. The differential expression of lncRNAs between cancerous and normal tissues, as well as across tumor cell lines, may inform novel subtype classification and therapeutic strategies.

Key words NETosis; cell death; gastric cancer; long non-coding RNA; prognostic model; prognosis of tumor

Found programs Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No.2023AH010084); Open Fund of the Joint Research Center for Occupational Medicine and Health, Institute of Health and Medicine, Hefei Comprehensive National Science Center (No. OMH-2023-07)

Corresponding author Wu Wenyong, E-mail: wuwenyong@ahmu.edu.cn

胃癌是全球第五大常见恶性肿瘤，且在中国发病率和病死率较高^[1]。虽然目前已经有手术、免疫、靶向治疗、抗血管生成治疗、化疗、放疗等多种疗法，但是诊断手段的局限及胃癌的侵袭性与异质性，患者预后依然面临诸多挑战^[2]。NETosis 是细胞程序性死亡的一种模式，中性粒细胞在 NETosis 过程中通过排出中性粒细胞胞外陷阱（Neutrophil extracellular traps, NET）来产生作用，虽然在 NETosis 过程中排出 NET 可以实现宿主的防御作用，但是 NET 释放会促进血栓形成，并可介导组织损伤，产生多种不良效应^[3-4]。

现有研究^[4-5]提示中性粒细胞通过 NETosis 过程影响胃癌发展以及患者的预后，是胃癌研究的新方向。长链非编码 RNA (Long non-coding RNA, LncRNA) 是无法编码蛋白质的转录本，参与调控基因表达和肿瘤的发生、转移、耐药性等过程。研究^[6]发现 LncRNA 在肿瘤微环境中具有重要作用。该研究针对 NETosis 相关的 LncRNA 进行数据分析，构建并验证胃癌患者相关的预后风险模型，探究这些 LncRNA 的功能以及不同情况下的表达，为胃癌治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 数据获得与处理 在 TCGA 数据库下载胃癌患者相关的数据，包括 32 例正常样本的数据和 375 例胃癌样本的数据。根据临床数据进行筛选排除，排除生存时间 < 30 d 以及临床数据不确定的个体，最后获得 352 例符合要求的样本数据。利用 Gene card 数据库获得与 NETosis 相关基因，总计 85 种。

1.2 NETosis 相关 LncRNA 的筛选 利用 CRAN 软件包 "BiocManager"、"limma"，对获得的 NETosis 相关基因与 LncRNA 数据进行 Pearson 相关分析 ($r > 0.4, P < 0.001$)，筛选得到 NETosis 相关的 LncRNA。

1.3 构建预后模型 利用 CRAN 软件包 "caret" 将之前获得的符合要求的包含 352 例样本数据的数据集按 1:1 随机分为训练集和测试集。训练集在训练过程中主要被用于数据的曲线拟合，测试集主要用于对获得的模型进行数据验证。利用 CRAN 软件包 "survival"，首先在训练组中，进行单因素 COX 回归分析，筛选获得与预后显著相关的 LncRNA。利用 CRAN 软件包 "glmnet" 和 "survival" 对获得的 LncRNA 数据进行 Lasso 回归，进一步进行特征选择和正则化。利用 CRAN 软件包 "survival" 和 "survminer" 进行多变量 COX 回归分析，构建预后模型。训练集、测试集和全集中，样本数据根据中位风险评分，被划分到高风险组和低风险组。

1.4 对预后模型进行评估 利用 CRAN 软件包 "survival" 和 "survminer" 对训练集、测试集以及全集数据进行 Kaplan-Meier 生存分析。通过利用 CRAN 软件包 "survival"、"survminer" 和 "timeROC" 进行受试者操作特征曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 分析，计算 ROC 曲线下面积，以评估预后模型的诊断效能。利用 CRAN 软件包 "survival"、"rms" 和 "pec" 进行一致性指数分析 (concordance index, C-index)。利用 CRAN 软件包 "survival" 进行独立预后分析。利用 "survival"、"regplot"、"rms" 和 "survcomp" 进行列线图分析，用于预测胃癌患者生存率，并使用 ROC 曲线和校准曲线对 Nomogram 图进行评价。

1.5 基因集富集分析 利用 CRAN 软件包 "BiocManager"、"limma"、"org.Hs.eg.db"、"DOSE"、"clusterProfiler"、"enrichplot" 进行基因集富集分析，获得高低风险组富集的不同通路。

1.6 肿瘤微环境以及其他一些免疫相关的分析 利用 CRAN 软件包 "reshape2"、"ggpubr" 进行 ESTIMATE 分析，对肿瘤免疫微环境进行评分。利用 CRAN 软件包 "reshape2"、"ggpubr" 进行高低风险组免疫细胞的差异分析。利用 CRAN 软件包 "BiocManager"、"limma"、"GSVA"、"GSEABase"、"ggpubr"、"reshape2" 进行高低风险组免疫功能差异分析。

1.7 RT-qPCR 检测 本研究收集了安徽省第二人民医院 12 位胃癌患者的肿瘤组织和癌旁正常组织的标本，根据说明书操作。使用动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒（货号：G3640-50T，武汉赛维尔生物科技有限公司），分别提取胃癌患者的组织总体 RNA。使用 SweScript All-in-One RT SuperMix for qPCR（货号：G3337-50，武汉赛维尔生物科技有限公司），逆转录 RNA，同时去除基因组 DNA。使用 2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix（货号：G3326-01，武汉赛维尔生物科技有限公司），合成新 DNA，示踪。使用实时荧光定量 PCR 仪（型号：CFX Connect,美国 Bio-rad Laboratories 公司）进行扩增，以 GAPDH 作为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值法计算 AC104758.1 和 TTC3-AS1 两种 lncRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab.1 Primer sequences of the genes	
Genes	Primer sequences (5'-3')
GAPDH	F: ACCCTGAAGTACCCCATCGAG
	R: AGCACAGCCTGGATAGCAAC
AC104758.1	F: GCTCTACTGTGTCTGTCCCA
	R: GCCAGGTGACTCTCTCCTTT
TTC3-AS1	F: TTCTGCCATGAGAAACCTCACT
	R: CATGGAGTCACAAGCAGAAGCCT

1.8 lncRNA 在不同肿瘤细胞系的表达 从 DepMap 网站 CCLE 数据库接口进入，获得基因的表达量全集，对数据进行处理，根据基础癌症的不同肿瘤细胞系差异性表达 lncRNA 的结果作图。

1.9 统计学处理 数据的分析在软件 R4.3.1 中进行，依靠 CRAN 软件包对数据处理分析，并根据软件包内含的函数获得有统计学意义的模型，做出不同的统计学评价。患者通过预后风险评分进行分组，按中位风险评分将患者分为高风险组和低风险组。组间比较分别采用 χ^2 检验（生存状态）、Wilcoxon 秩和检验（微环境评分等非正态分布连续变量）及 t 检验（RT-qPCR 数据等正态分布变量）。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据处理 共收集了 407 例胃癌样本，根据要求保留了 352 例样本数据，并将其随机分配至测试集（ $n = 176$ ）和训练集（ $n = 176$ ），基线变量之间差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

2.2 NETosis 相关 lncRNA 的筛选及预后模型构建 从 Genecard 网站获得 85 个 NETosis 基因，进行共表达分析，筛选出 1 754 个与 NETosis 相关的 lncRNA。对 lncRNA 进一步进行单因素 Cox 预后分析，从中获得

了 55 个与预后相关的。随后，通过 Lasso 回归确定最佳回归系数并进行交叉验证（图 1 A、1B），接着进行多变量 Cox 回归分析。根据风险评分构建了有 12 个 lncRNA 作为解释变量的多因素 Cox 回归预后模型（图 1C）。

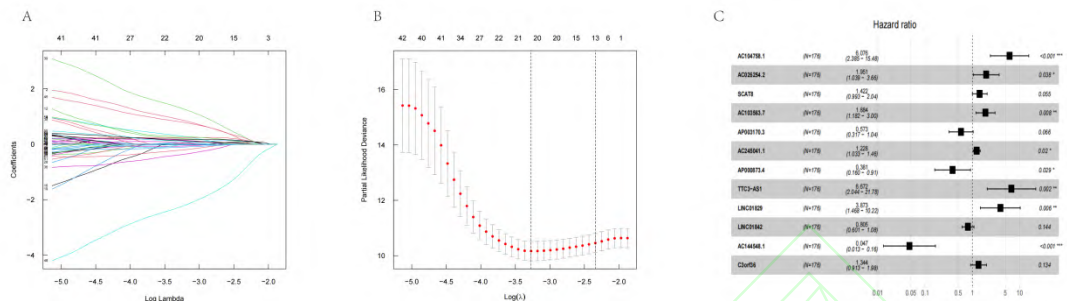


图 1 筛选 lncRNA 构建预后模型

Fig.1 Screening lncRNA to construct a prognostic model

A: Distribution chart of λ coefficients in Lasso regression; B: Cross-validation curve of Lasso regression; C: Forest plot of 12 lncRNAs related to prognosis.

2.3 生存分析验证预后模型 Kaplan-Meier 生存分析结果显示，无论是在训练集、测试集还是全集，高风险组和低风险组的生存分析结果差异均有统计学意义，且高风险组的预后较差（ $P<0.01$ ，图 2A）。风险评分曲线图显示高低风险组分配均衡，风险评分能够比较良好地应用于评价（图 2B）。生存状态散点图显示，随着风险评分的上升，胃癌患者的总体生存状态也发生变化，患者病死率上升（图 2C）。相关性热图反映了在高低风险组中 lncRNA 相对于该种 lncRNA 在所有样本中整体平均水平表达的高低（图 2D）。

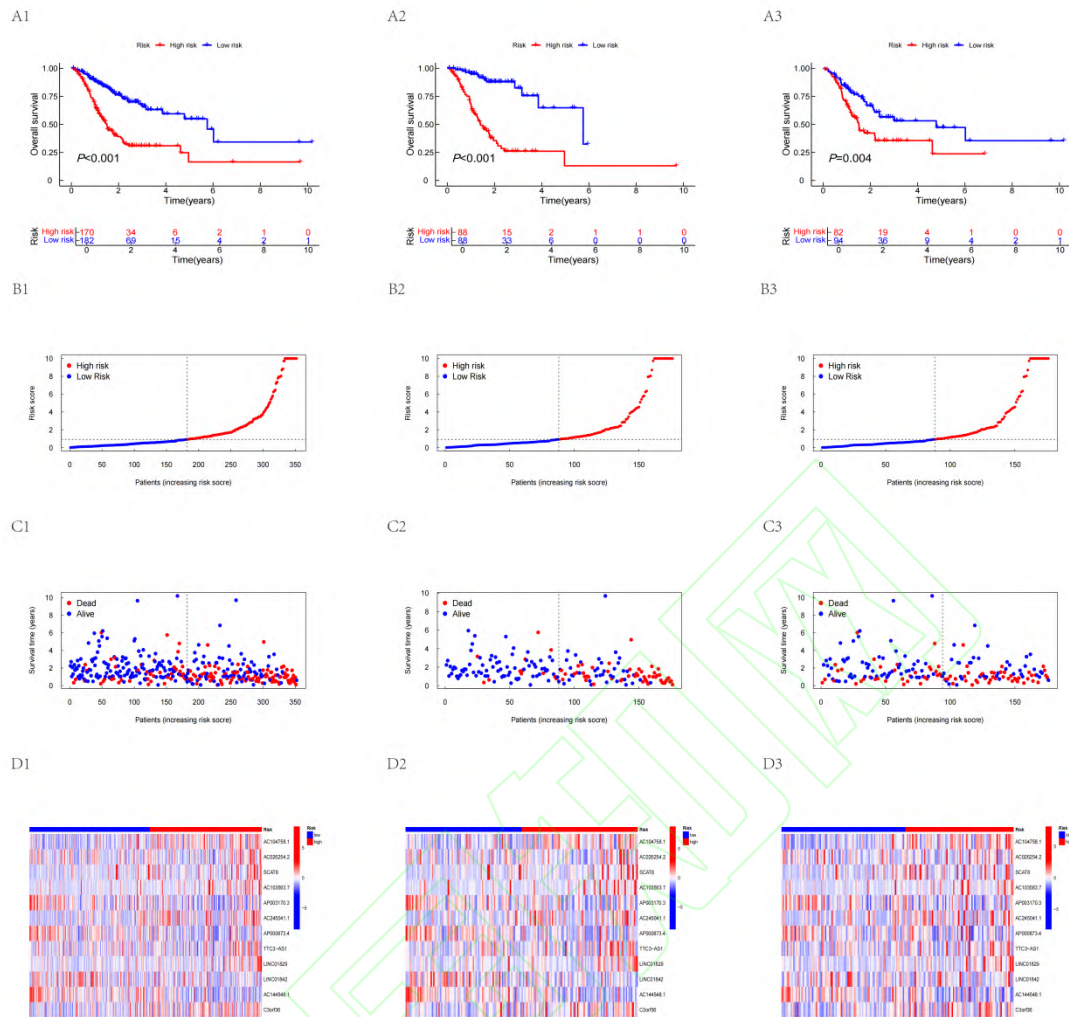


图 2 生存分析以及生存状态

Fig.2 Survival analysis and survival status

A: Kaplan-Meier curves of the high-risk and low-risk groups; B: Risk score curves of the high-risk and low-risk groups; C: Scatter plot of survival status of the high-risk and low-risk groups; D: Heatmap of lncRNA related to the high-risk and low-risk groups; 1: Overall sample ($n = 352$); 2: Training set ($n = 176$); 3: Test set ($n = 176$).

2.4 预测模型的临床价值及独立性研究

绘制 ROC 曲线，对临床特征（风险评分、年龄、性别、肿瘤分级、分期等）的诊断价值作比较。结果显示，风险评分的 AUC 值是 0.758(95%CI 0.688~0.828)，而肿瘤分期的 AUC 值是 0.630(95%CI 0.560~0.700)，表明该预后模型在这些临床特征中具有良好的预测价值（图 3A）。再分年绘制该风险评分的 ROC 曲线，1、3、5 年的 AUC 值分别为 0.689(95%CI 0.612~0.766)、0.758(95%CI 0.688~0.828)和 0.815(95%CI 0.701~0.929)

(图 3B)，进一步验证了该模型的预测具有时间维度上的广泛适应性。C-index 分析表明在预测结果与观察结果相一致的概率方面，风险评分的预测能力要强于年龄、性别、肿瘤分级和分期（图 3C）。综合考虑年龄、性别、TMN 分期、肿瘤分级和风险评分，绘制列线图（图 4A）。在基于每个患者的特征计算风险评分后，获得 Nomo risk，基于列线图风险评分，进行 ROC 验证。临床特征 ROC 曲线中，风险评分的 AUC 值是 0.757 (95%CI 0.682~0.832)（图 4B），在时序 ROC 曲线中，1、3、5 年的 AUC 值分别为 0.685(95%CI 0.608~0.762)、0.757(95%CI 0.682~0.832)和 0.814(95%CI 0.700~0.928)（图 4C）。表明这一套基于列线图的风险评分可以很好的用于预测个人生存概率。校准曲线显示列线图预测准确，具有良好的校准度和区分度。（图 4D）。

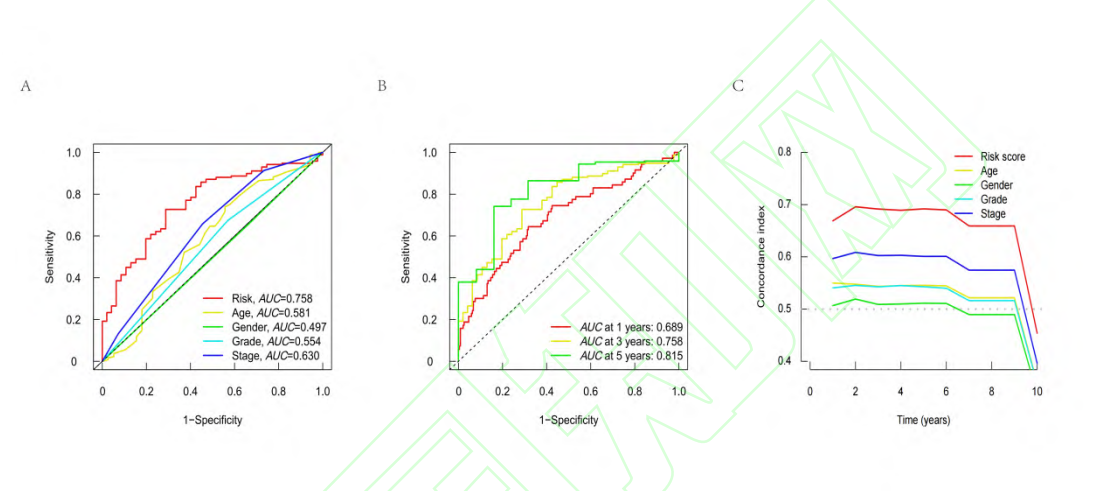


图 3 预后模型的临床价值评价

Fig.3 Evaluation of the clinical value of the prognostic model

A: The ROC curves for multiple clinical characteristics; B: The ROC curves for risk scores at 1, 3 and 5 years; C: The C-index of risk scores for multiple clinical characteristics.

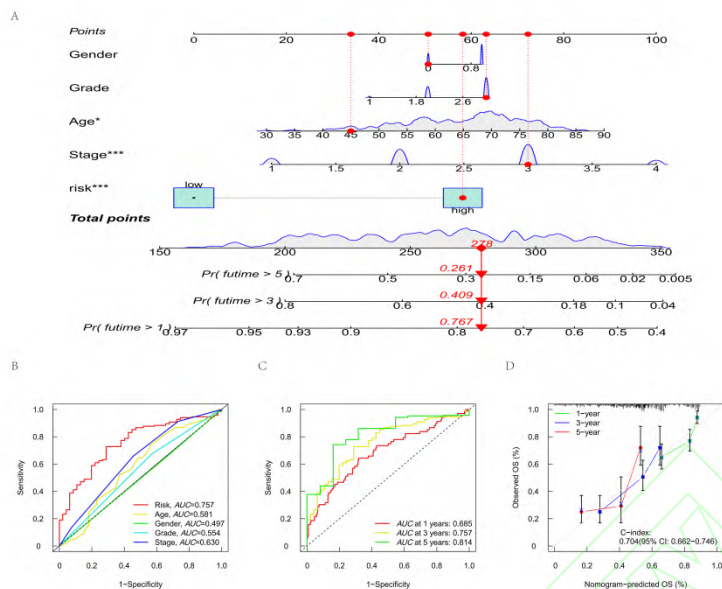


图 4 胃癌患者预后模型的个体化预测

Fig.4 Individualized prediction for the prognostic model of gastric cancer patients

A: A nomogram derived from clinical variables; B: Clinical characteristics of the ROC curve of the risk score derived from the nomogram; C: The time-series ROC curve of the risk score of the nomogram; D: Calibration curve for predicting survival time; * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs Null hypothesis.

2.5 基因集富集分析

基因集富集分析发现，钙信号通路相关基因集、扩张型心肌病相关基因集、焦点黏附信号相关基因集、肥厚型心肌病相关基因集、神经活性配体-受体相互作用相关基因集在高风险组显著富集（图 5A），这些基因集可能是通过调节肿瘤微环境，释放微小物质造成组织纤维化、炎症反应，进而促使癌细胞增殖、迁徙、侵袭。而在低风险组中，显著富集氨基酰基-tRNA 生物合成、细胞周期、DNA 复制、嗅觉传导、剪接体等相关基因集，表明 DNA 损伤和压力负荷较轻，细胞更接近正常生理状态，能够正常发挥功能的胃癌患者预后较好（图 5B）。

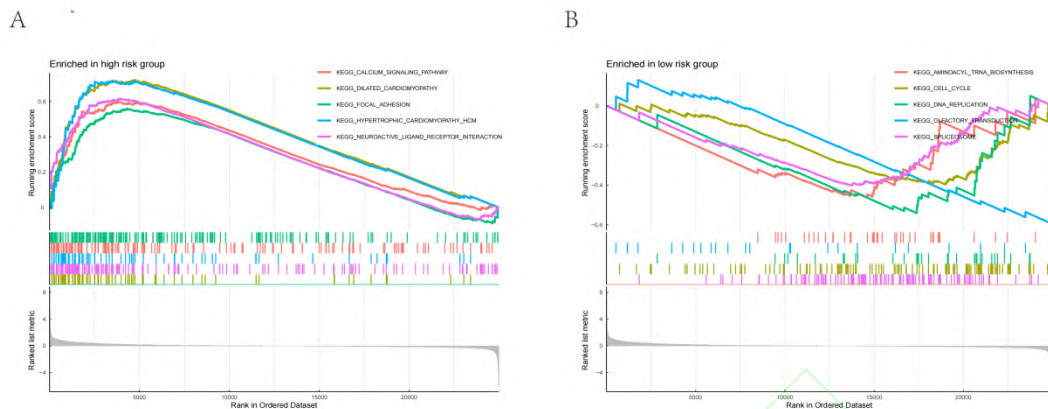


图 5 基因富集分析

Fig.5 Gene set enrichment analysis

A: Gene set enrichment analysis of the high-risk group; B: Gene set enrichment analysis of the low-risk group.

2.6 免疫浸润分析及基因表达情况

在 ESTIMATE 分析中，高低风险组，在基质评分、免疫评分和肿瘤纯度上都存在差异，基质评分和肿瘤纯度更显著 ($P < 0.05$, 图 6A)；参考肿瘤微环境中的免疫细胞，高低风险组的共刺激分子识别抗原呈递细胞、肥大细胞、中性粒细胞、副炎症、I 型干扰素响应、II 型干扰素响应等免疫功能具有较大差异 (图 6B-6D)。

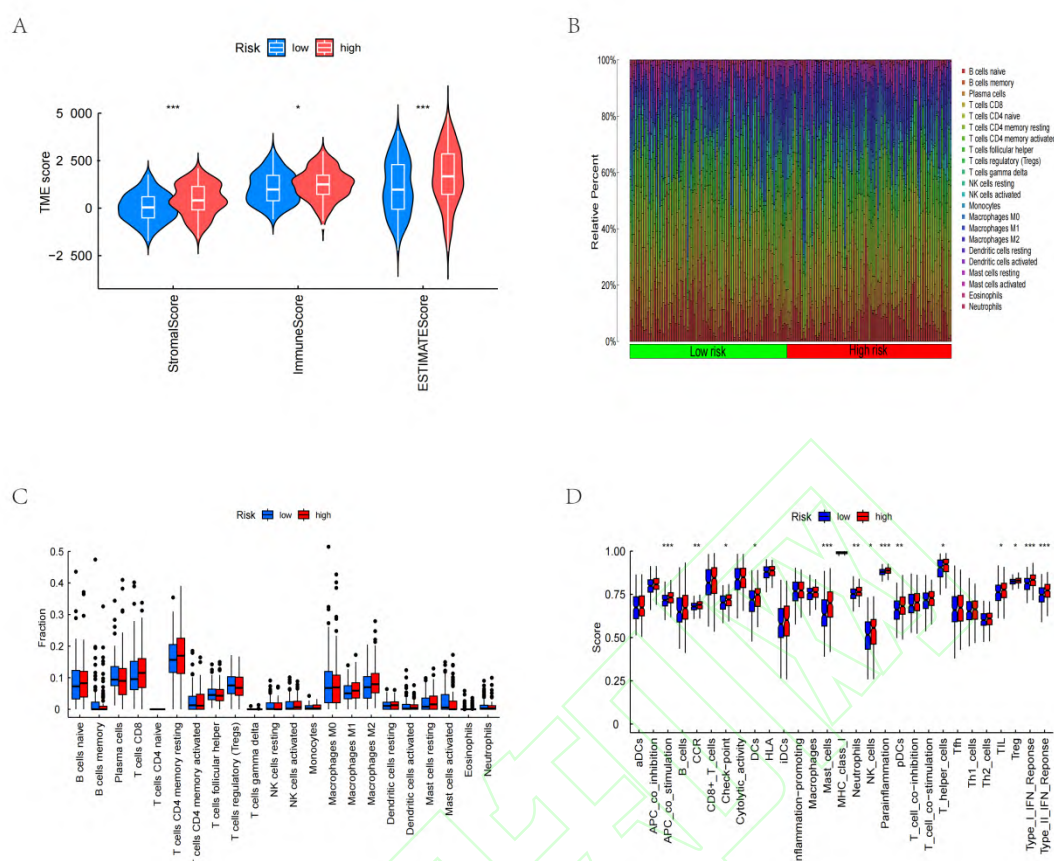


图 6 免疫相关分析

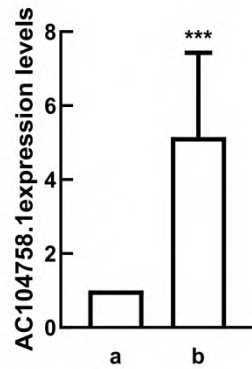
Fig.6 Immune-related analysis

A: Immune microenvironment scores of the high-risk and low-risk groups; B: Differences in the content of immune cells between the high-risk and low-risk groups; C: Differences in immune cells between high-risk and low-risk groups; D: Differences in immune function between the high-risk and low-risk groups; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Low-risk group.

2.7 RT-q PCR 检测情况

本研究收集了 12 对样本，每一对都是对应的胃癌患者的肿瘤组织和癌旁正常胃组织。在 12 种 LncRNA 中，根据得到的预后模型，选择风险系数大、 P 值低的 2 种 LncRNA，AC104758.1 和 TTC3-AS1 做 RT-q PCR 检测。在分析中，将癌旁正常胃组织的 AC104758.1 和 TTC3-AS1 的表达定为 1。在胃癌组织里，AC104758.1 和 TTC3-AS1 的表达量高于正常组织，差异有统计学意义（均 $P < 0.001$ ，图 7）。

A



B

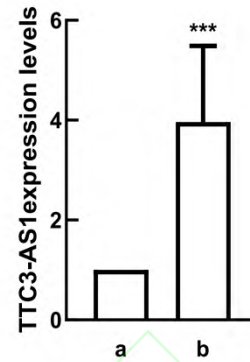


图 7 RT-qPCR 结果

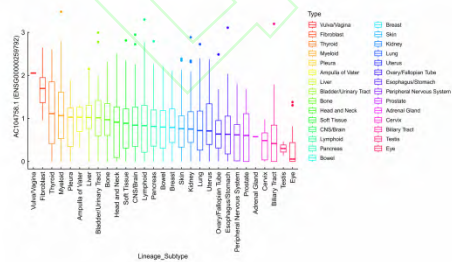
Fig.7 RT-qPCR results

A: The expression level of AC104758.1 in gastric tissue; B: The expression level of TTC3-AS1 in gastric tissue; a: Adjacent non-cancerous tissue group; b: Gastric tumor tissue group; *** $P < 0.001$ vs Adjacent non-cancerous tissue

2.8 LncRNA 在不同肿瘤细胞系的表达情况

对下载的 CCLE 数据库表达数据处理，制作箱线图（图 8A、8B），显示了 AC104758.1、TTC3-AS1 在不同肿瘤细胞系中的表达情况。在同一类癌症的不同肿瘤细胞系中，表达量有较大差异。胃癌的箱体上较低，同时存在离群值，说明在胃癌的不同肿瘤细胞中，AC104758.1、TTC3-AS1 表达量差异明显。

A



B

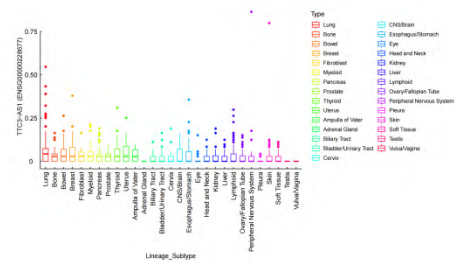


图 8 LncRNA 在不同肿瘤细胞系中的表达情况

Fig.8 The expression of LncRNA in different tumor cell lines

A: The expression of AC104758.1 in different tumor cell lines; B: The expression status of TTC3-AS1 in different

tumor cell lines.

3 讨论

胃癌的治疗方案多样,具体方案取决于分期和患者状况。早期胃癌通过微创手术或内镜切除预后良好,而局部进展期患者通常需手术联合围手术期化疗以降低复发风险。分期密切相关患者预后,早期胃癌 5 年生存率超 90%,但晚期患者生存期较短。综合治疗和个体化方案对改善预后至关重要^[2]。lncRNA 是一类能够调控癌细胞生长、发育和存活的非编码 RNA 分子,在肿瘤发生发展的各个环节发挥重要作用,被认为是肿瘤诊断和预后的新型生物标志物^[6-7]。NETosis 是一种由中性粒细胞触发的程序性死亡方式,通过中性粒细胞激活、信号转导与酶激活、染色质解聚、细胞膜破裂与网状结构(neutrophil extracellular traps,NETs)释放、捕猎与杀伤这些核心过程,在免疫防御等方面产生积极作用。但是失控的 NETosis 对于癌症预后有着不利的影响,在肿瘤微环境中,NETs 可以促进肿瘤转移、形成转移前微环境并抑制免疫细胞活性^[3, 4, 8]。

LncRNA 已被证实广泛参与胃癌的预后调控。本研究通过系统筛选,获得 12 个与 NETosis 相关的预后 LncRNA,并据此构建风险评分模型^[9]。该模型中多个 LncRNA 的功能已有文献支持:SCAT8 可调控胃肠道肿瘤微环境及炎症进程^[10-11];AC103563.7 与肾细胞癌微环境变化相关^[12];AC245041.1 和 TTC3-AS1 均被报道与胃癌预后及细胞侵袭迁移有关^[13-14];LINC01829 和 LINC01842 分别参与结肠腺癌免疫微环境浸润及肺腺癌发生调控^[15-16];AC144548.1 与椎间盘退变及纤维化炎症相关^[17];C3orf36 则涉及胃癌缺氧应激、免疫微环境重塑及血管生成^[18]。上述 8 个 LncRNA 均与肿瘤微环境及炎症反应密切相关,既验证了本研究结果与 NETosis 这一细胞死亡方式在机制上的关联,也进一步表明其在癌症预后评估中的重要价值。生存分析基于 NETosis 相关 LncRNA 的风险评分,在训练集与测试集中能够显著区分高低风险患者,验证了模型的广泛适用性。ROC 曲线和 C-index 的结果表明,本研究风险评分模型在预测的准确性上优于传统的临床指标,包括肿瘤分期指标,具有重要临床意义。传统 TNM 分期是治疗决策和预后评估的重要标准,但是 TMN 分期无法精准反映肿瘤的生物异质性,通过风险评分模型补充分子信息,能够为胃癌患者提供更加个体化的风险评估方法。基因集富集分析揭示了,高风险组主要富集于钙信号通路、焦点黏附通路相关基因集,这些信号通路的激活与肿瘤细胞侵袭性增强相关;而低风险组则富集于细胞周期、DNA 修复相关基因集,能够反映出其具有较为完整的细胞功能,解释了这一分组较好的生存结局。RT-qPCR 实验,选择验证了风险系数大和 p 值低的关键 LncRNA (AC104758.1 和 TTC3-AS1),发现它们在胃癌组织中高表达,验证了模型的生物学合理性。CCLE 数据库的分析,显示 LncRNA 在不同胃癌细胞系中的差异性表达,提示其具备作为胃癌亚型分型的潜力,同时也可能作为潜在的治疗靶点。

NETosis 机制与胃癌预后密切相关。基于 NETosis 相关 LncRNA 表达谱的胃癌亚型分型,未来有望辅

助传统 TNM 分期, 提升预后判断和治疗反应预测的准确性。该分型可反映不同患者免疫微环境特征及对化疗、免疫疗法的敏感性差异, 为个体化治疗提供依据。此外, 部分 NETosis 相关 LncRNA 不仅可作为预后生物标志物, 也具有治疗靶点潜力。通过干预肿瘤相关中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 的形成, 或许能够逆转免疫抑制微环境, 增强抗肿瘤免疫效应, 从而改善患者生存结局。目前, 本研究已经在训练集和测试集中验证了模型的有效性, 但 LncRNA 和 NETosis 通路模型还缺乏外部验证, 尤其是来自独立数据集的验证; 不同实验条件、平台和数据处理方法可能会影响模型的稳定性。因此, 后续研究应当在外部数据集上进一步验证模型的预后价值, 确保风险预后模型的广泛适应性。同时考虑到肿瘤免疫微环境的复杂性, 未来可以通过免疫组学方法^[19], 进一步探讨不同 LncRNA 调控下免疫微环境的变化, 揭示免疫逃逸和免疫抑制的机制。

参考文献

- [1] Yang W J, Zhao H P, Yu Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(16): 2452-68. doi:10.3748/wjg.v29.i16.2452.
- [2] Wang F H, Zhang X T, Tang L, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer, 2023[J]. Cancer Commun, 2024, 44(1): 127-72. doi:10.1002/cac2.12516.
- [3] Liew P X, Kubes P. The neutrophil's role during health and disease[J]. Physiol Rev, 2019, 99(2): 1223-48. doi:10.1152/physrev.00012.2018.
- [4] Singhal A, Kumar S. Neutrophil and remnant clearance in immunity and inflammation[J]. Immunology, 2022, 165(1): 22-43. doi:10.1111/imm.13423.
- [5] Rayes RF, Mouhanna JG, Nicolau I, Bourdeau F, Giannias B, Rousseau S, Quail D, Walsh L, Sangwan V, Bertos N, Cools-Lartigue J, Ferri LE, Spicer JD. Primary tumors induce neutrophil extracellular traps with targetable metastasis promoting effects[J]. JCI Insight. 2019 Jul 25;5(16):e128008. doi:10.1172/jci.insight.128008.
- [6] Bhan A, Soleimani M, Mandal S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. Cancer Res, 2017, 77(15): 3965-81. doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-2634.
- [7] Park E G, Pyo S J, Cui Y, et al. Tumor immune microenvironment lncRNAs[J]. Brief Bioinform, 2022, 23(1): bbab504. doi:10.1093/bib/bbab504.
- [8] Thiam H R, Wong S L, Wagner D D, et al. Cellular mechanisms of NETosis[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2020, 36: 191-218. doi:10.1146/annurev-cellbio-020520-111016.

- [9] Cai C, Yang L, Zhuang X, et al. A five-lncRNA model predicting overall survival in gastric cancer compared with normal tissues[J]. *Aging*, 2021, 13(21): 24349-59. doi:10.18632/aging.203685.
- [10] Mohammadi P, Mohammadi S, Eghbalian A, et al. Potential use of SCAT1, SCAT2, and SCAT8 as diagnostic and prognosis markers in colorectal cancer[J]. *Cancer Genet*, 2024, 288-289: 106-9. doi:10.1016/j.cancergen.2024.10.004.
- [11] Luo X, Xie D, Su J, et al. Inflammatory genes associated with pristine multi-walled carbon nanotubes-induced toxicity in ocular cells[J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 2465-84. doi:10.2147/IJN.S394694.
- [12] Fang X, Liu X, Lu L, et al. Identification of a somatic mutation-derived long non-coding RNA signatures of genomic instability in renal cell carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 728181. doi:10.3389/fonc.2021.728181.
- [13] Han C, Zhang C, Wang H, et al. Angiogenesis-related lncRNAs predict the prognosis signature of stomach adenocarcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 1312. doi:10.1186/s12885-021-08987-y.
- [14] Wang J, Xiao K, Hou F, et al. POU2F1 promotes cell viability and tumor growth in gastric cancer through transcriptional activation of lncRNA TTC3-AS1[J]. *J Oncol*, 2021, 2021: 5570088. doi:10.1155/2021/5570088.
- [15] Liu C, Liu D, Wang F, et al. The interferon gamma-related long noncoding RNA signature predicts prognosis and indicates immune microenvironment infiltration in colon adenocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 876660. doi:10.3389/fonc.2022.876660.
- [16] Wang X, Su R, Guo Q, et al. Competing endogenous RNA (CeRNA) hypothetic model based on comprehensive analysis of long non-coding RNA expression in lung adenocarcinoma[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e8024. doi:10.7717/peerj.8024.
- [17] Zhao W, Wei J, Ji X, et al. Machine learning algorithm predicts fibrosis-related blood diagnosis markers of intervertebral disc degeneration[J]. *BMC Med Genomics*, 2023, 16(1): 274. doi:10.1186/s12920-023-01705-6.
- [18] Guo J, Xing W, Liu W, et al. Prognostic value and risk model construction of hypoxic stress-related features in predicting gastric cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(12): 8599-610.
- [19] 张雪, 陈森, 汪小莉, 等. LncRNA XR_378418 对肝星状细胞生物学行为及转录组学影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(1): 127-32. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.020.
- Zhang X, Chen S, Wang X L, et al. Effects of LncRNA XR_378418 on biological behavior and transcriptomics of hepatic stellate cells[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(1): 127-32. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.020.