

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.10.002

❖ 基础研究 ❖

铜死亡相关基因 SLC31A1 在肾细胞癌中的功能及预后价值

樊佳, 郑良建, 袁梦珍, 詹庭亭, 张榕珂, 张军
(成都市第三人民医院肿瘤科, 四川 成都 610000)

【摘要】目的: 探讨铜死亡相关基因 SLC31A1 在肾细胞癌的表达水平、肿瘤浸润免疫细胞相关性及其对预后的影响, 并在体外实验中验证 SLC31A1 在肾细胞癌中的功能。**方法:** 采用 TCGA 数据库收集肾细胞癌的临床数据及铜死亡相关基因转录组数据; 采用 HPA 数据库收集蛋白表达数据; 采用 ssGSEA 和 Spearman 分析计算免疫细胞浸润水平及其与铜死亡相关基因的关系; 采用 R 语言比较肾细胞癌患者不同临床分期中 SLC31A1 的 mRNA 表达水平差异; 采用 Kaplan-Meier (KM) 分析探索 SLC31A1 对肾细胞癌预后的影响; 采用 COX 分析判断 SLC31A1 是否是独立预后因素; 采用 RT-qPCR 检测 SLC31A1 mRNA 的表达水平。过表达质粒调控 SLC31A1 在细胞中的表达后采用克隆形成及划痕实验检测调控 SLC31A1 后对细胞增殖侵袭能力的影响。**结果:** 铜死亡相关基因 FDX1、DLD、DBT、SLC31A1、ATP7A、GCSH、DLST、DLAT、PDHA1、PDHB 在肾细胞癌中的 mRNA 和蛋白水平均低于正常组织 ($P < 0.05$)。SLC31A1 与 17 种瘤内免疫浸润细胞正相关 ($P < 0.05$)。SLC31A1 与 T 分期、M 分期和 TNM 分期负相关 ($P < 0.05$)。SLC31A1 高表达的肾细胞癌患者的 PFS 和 OS 均优于 SLC31A1 低表达的患者 ($P < 0.05$)。单因素与多因素 COX 分析均显示 SLC31A1 是肾细胞癌的独立预后因素 ($P < 0.05$)。过表达 SLC31A1 后抑制了 769-P 细胞的增殖侵袭能力 ($P < 0.05$)。**结论:** 铜死亡相关基因 SLC31A1 不仅与肾细胞癌免疫微环境和患者预后具有相关性, 且可能参与调控肾细胞癌的增殖侵袭。

【关键词】 肾细胞癌; 铜死亡相关基因; SLC31A1; 预后分析

【中图分类号】 R737.14 **【文献标志码】** A

Functional and prognostic value of cuproptosis-related gene SLC31A1 in renal cell carcinoma

FAN Jia, ZHENG Liang-jian, YUAN Meng-zhen, ZHAN Ting-ting, ZHANG Rong-ke, ZHANG Jun
(Department of Oncology, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To explore the expression level of copper death related gene SLC31A1 in renal cell carcinoma (RCC), the correlation between tumor infiltration and immune cells, and its impact on prognosis, and further validate the function of SLC31A1 in RCC in vitro cell experiments. **Methods:** Clinical and transcriptome data of cuproptosis-related genes in RCC were collected from the TCGA database, while protein expression data were obtained from the HPA database. ssGSEA and Spearman's analysis was used to calculate the immune cell infiltration levels and their correlation with cuproptosis-related genes. The R language was used to compare the differences in SLC31A1 mRNA expression among RCC patients at different clinical stages. Kaplan-Meier (KM) analysis was employed to assess the impact of SLC31A1 on RCC prognosis. Cox analysis was conducted to determine whether SLC31A1 was an independent prognostic factor. RT-qPCR was used to detect the expression level of the SLC31A1. Overexpression plasmids were used to regulate the expression of SLC31A1 in cells. Clone formation and wound-healing assays were used to detect the proliferation and invasion ability of regulated cells. **Results:** Cuproptosis-related genes FDX1, DLD, DBT, SLC31A1, ATP7A, GCSH, DLST, DLAT, PDHA1, and PDHB were found to be downregulated at the mRNA and protein levels in RCC compared to normal tissues ($P < 0.05$). SLC31A1 exhibited a positive correlation with 17 types of tumor-infiltrating immune cells ($P < 0.05$). SLC31A1 showed a negative correlation with the T stage, M stage, and TNM stage ($P < 0.05$). RCC patients with high expression of SLC31A1 had better progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) than low expression ($P < 0.05$). Univariate and multivariate Cox analyses demonstrated that SLC31A1 was an independent prognostic factor for RCC ($P < 0.05$). Overexpression of SLC31A1 inhibited the proliferative and invasive abilities of 769-P cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** SLC31A1 is not only associated with the immune microenvironment and prognosis of RCC, but also po-

基金项目: 四川省成都市科技局重点研发项目(2022-YF05-02119-SN)

作者简介: 樊佳(1982-), 女, 主治医师。E-mail: 7876305@qq.com

通讯作者: 张军。E-mail: zhj316316@163.com

tentially involved in regulating RCC proliferation and invasion.

【Key words】 Renal cell carcinoma; Cuproptosis-related genes; SLC31A1; Prognostic analysis

肾细胞癌是常见的泌尿道恶性肿瘤,大约 15% 的肾细胞癌患者诊断时已发生远处转移^[1]。随着早癌筛查的不断普及,肾细胞癌的死亡率有了很大改善^[2]。但由于肿瘤的异质性,肾细胞癌的复发率仍较高^[3]。因此,预测肾细胞癌预后并指导个体化精准治疗方案,探索新的生物标志物显得尤为重要。铜死亡是一种新型细胞程序性死亡方式^[4]。铜在正常范围内是一种机体代谢必须的辅助因子,当铜离子在细胞内含量超过阈值时会与线粒体中的脂酰化蛋白结合。脂酰化蛋白的聚集和铁硫簇蛋白的丢失共同诱导了蛋白质毒性应激反应,最终导致细胞铜死亡的发生^[5]。本研究以免疫微环境相关性的角度出发,发现 SLC31A1 与部分肾细胞癌免疫浸润细胞呈正相关。SLC31A1 是一种存在于细胞膜上的铜转运蛋白,在以往的研究中被发现与顺铂的耐药相关^[6]。SCL31A1 被认为与乳腺癌、肺腺癌、胰腺癌的预后相关^[7-9]。但 SCL31A1 在肾细胞癌中的作用尚不清楚。基于此,本研究拟通过生物信息学分析和细胞实验的干湿结合方法共同探讨 SCL31A1 在肾细胞癌的预后生存和细胞功能中的作用。

1 材料与方法

1.1 数据来源

从 UCSC Xena 数据库 (<https://xena.ucsc.edu/>) 下载癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库中的 RNA-seq 数据和临床数据^[10]。

1.2 铜死亡相关基因在正常组织和肿瘤组织中表达差异分析

使用 R 语言中的“limma”包完成铜死亡基因在正常组织和肿瘤组织中的表达差异分析^[11]。

1.3 免疫组化图像

铜死亡相关基因在正常肾组织和肾癌中的免疫组化图像下载自 The human protein atlas (HPA) 数据库^[12]。

1.4 肿瘤免疫浸润分析

使用 ssGSEA 计算肾癌患者免疫细胞浸润得分^[13],使用 Spearman 相关性分析计算免疫细胞浸润得分与铜死亡相关基因表达之间的关系。

1.5 临床分期相关性分析

使用 R 语言计算并比较不同临床分期组之间 SLC31A1 的表达情况,使用 ggplot 包进行数据可视化。

1.6 生存与独立预后分析

使用 Kaplan-Meier (KM) 分析 SLC31A1 表达和预后之间的关系。独立预后分析采用单因素与多因

素 COX 分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.7 细胞实验相关药品及试剂盒

细胞培养基采用 DMEM (Hyclone, USA); 10% 胎牛血清 (FBS) (Hyclone, USA); 抗生素采用青-链霉素双抗(索莱宝); 胰酶(美国 Gbico); RNA 提取采用总 RNA 提取试剂盒(上海飞捷); RNA 逆转录采用 Takara 逆转录试剂盒。RT-qPCR 采用 Takara 荧光实时定量 qPCR 试剂盒; 细胞转染采用 Lipofectamine™ 3000 转染试剂(赛默飞); 转染用培养基 opti-MEM(美国 Gbico); 转染细胞筛选采用嘌呤霉素(索莱宝); 克隆形成实验固定细胞采用 4% 多聚甲醛(索莱宝); 克隆染色采用草酸铵结晶紫染色液(索莱宝)。

1.8 细胞培养及 RT-qPCR 实验

将 HK-293T 细胞(Human embryonic kidney 293 cell)、786-O 细胞(Renal cell carcinoma 786-O cell)、A498 细胞(Human kidney carcinoma A498 cell) 和 769-P 细胞(Renal cell carcinoma 769-P cell) 置于 5% CO₂ 的 37 °C 恒温孵箱中采用完全培养基培养。RNA 提取: 每例样本胰酶消化约 5×10^6 个细胞, 采用硅胶柱纯化技术试剂盒提取总 RNA。逆转录采用 RT-qPCR 技术将 RNA 提取物逆转录为 cDNA。逆转录体系: 2 μg 总 RNA 提取物溶解于 16 μL 无酶水然后加 4 μL Script™ Master Mix。实时荧光定量 PCR: 每组样品设置 4 个复孔。PCR 体系为: cDNA 5 μL、无酶水 3.2 μL、TB II SYBR® Premix ExTaq™ 1 μL、前引物与后引物各 0.4 μL。

1.9 肾癌细胞中过表达 SLC31A1 分子

SLC31A1 过表达质粒购买自吉凯基因(上海吉凯基因医学科技股份有限公司)。采用 6 孔板进行细胞转染, 在 6 孔板中细胞密度至 70% ~ 90% 开始转染, 主要体系为 A: 125 μL opti-MEM + 5 μL lipofectamine 3000, B: 125 μL opti-MEM + 1 ~ 2.5 μg DNA + 2 ~ 5 μL P3000。将 A 和 B 轻柔混匀 30 min 后加入 6 孔板上清开始进行转染。24 h 后采用嘌呤霉素筛选转染成功并转录过表达质粒的 769-P 细胞。

1.10 克隆形成实验及划痕实验

769-P 野生型细胞株及 SLC31A1 过表达细胞株消化后分别置于 6 孔板中用于克隆形成实验及划痕实验。克隆形成实验细胞密度 1 000 个/孔, 培养 7 d 或肉眼发现明显克隆形成后取出孵箱, 弃培养基后 PBS 洗 3 遍, 多聚甲醛固定后 PBS 洗 3 遍, 随后数清楚各孔中克隆个数并完成统计学分析。划痕实验细胞密度 1 000 个/孔, 待细胞贴壁后用枪头于孔中央划出划痕, 于划痕后 0 h 和 24 h 观察划痕修复情况。

1.11 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行统计学分析。两组间比较采用独立样本 *t* 检验;临床分期相关分析采用秩和检验 (Kruskal-Wallis test);评估对肾细胞癌预后采用 Kruskal-Meier 分析,影响预后因素采用 COX 分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 铜死亡相关基因在肾细胞癌中的表达情况

TCGA 数据库转录组数据显示除 ATP7B 在肿瘤组织中呈相对高表达外,FDX1、DLD、DBT、SLC31A1、ATP7A、GCSH、DLST、DLAT、PDHA1、PDHB 在肿瘤组织中表达水平均低于正常组织,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。HPA 数据库免疫组化数据集验证了 TCGA 的转录组数据,FDX1、DLD、DBT、SLC31A1、ATP7A、GCSH、DLST、DLAT、PDHA1、PDHB 在肿瘤组织中的蛋白水平均低于正常组织 ($P < 0.05$)。见图 1。

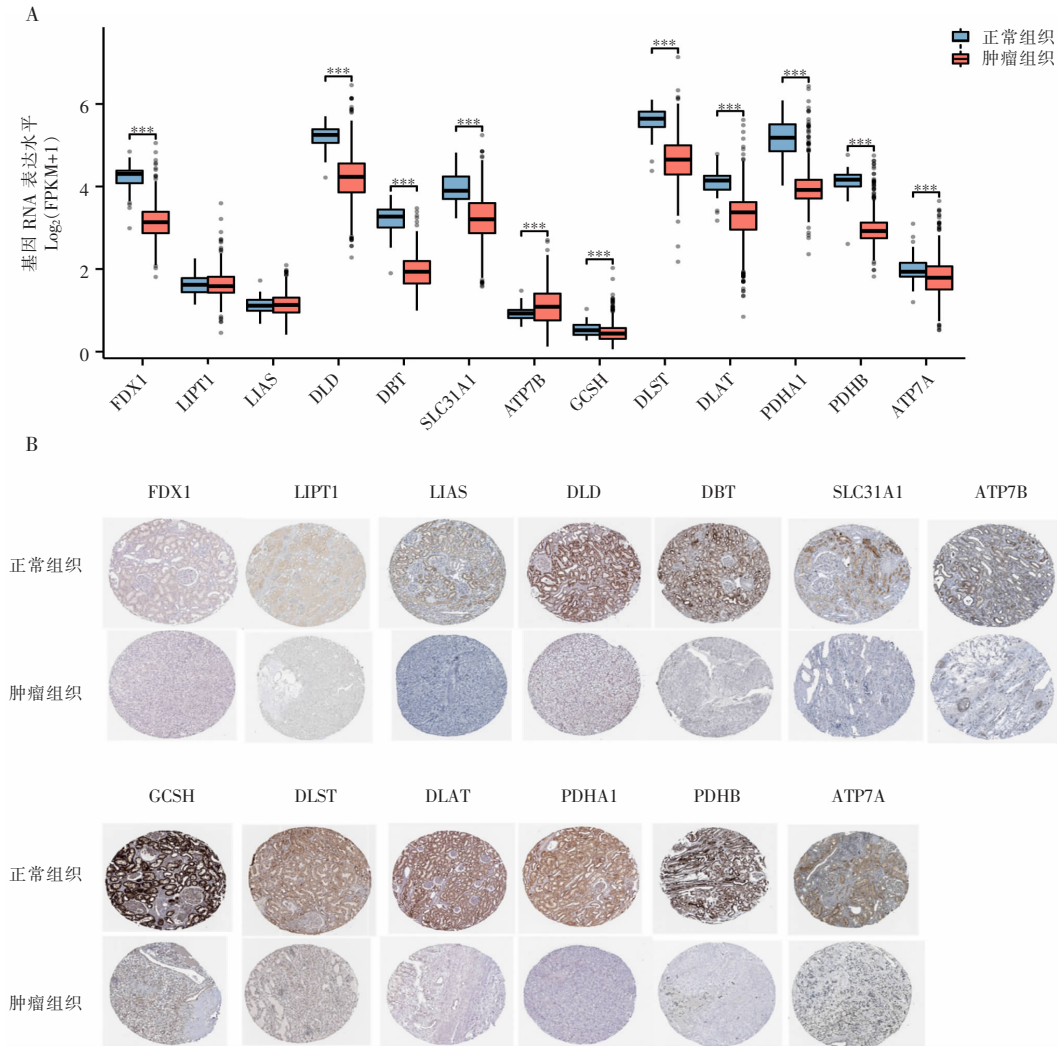


图 1 铜死亡相关基因在肾细胞癌中的表达情况

A. TCGA 转录组数据显示铜死亡相关基因在肾细胞癌中的 mRNA 表达水平;B. HPA 免疫组化数据显示铜死亡相关基因在肾细胞癌中的蛋白表达水平。*** $P < 0.001$,与正常组织比较。

2.2 铜死亡相关基因在肾细胞癌中与肿瘤浸润免疫细胞的关系

在肾细胞癌中 LIPT1、LIAS、GCSH、PDHA1、ATP7B 等铜死亡相关基因主要与浸润免疫细胞负相关。而 SLC31A1 主要与浸润免疫细胞呈正相关,且正相关免疫细胞种类最多。SLC31A1 与包括巨噬细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞及 B 细胞等 17

种免疫细胞正相关 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 SLC31A1 与肾细胞癌的临床分期相关性

鉴于 SLC31A1 在肾细胞癌中免疫浸润细胞呈正相关,通过 TCGA 转录组数据和临床信息对 SLC31A1 与肾细胞癌患者临床分期的相关性进行了进一步分析。结果显示在 T 分期中,SLC31A1 在 T3-4 期中的表达水平低于 T1 期,差异有统计学意

义($P < 0.05$)。在 M 分期中,SLC31A1 在有转移 M1 期中的表达水平低于无转移 M0 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SLC31A1 在 N 分期中差异无统

计学意义。在 TNM 分期中,SLC31A1 在 III 期及 IV 期的表达水平低于 I 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。

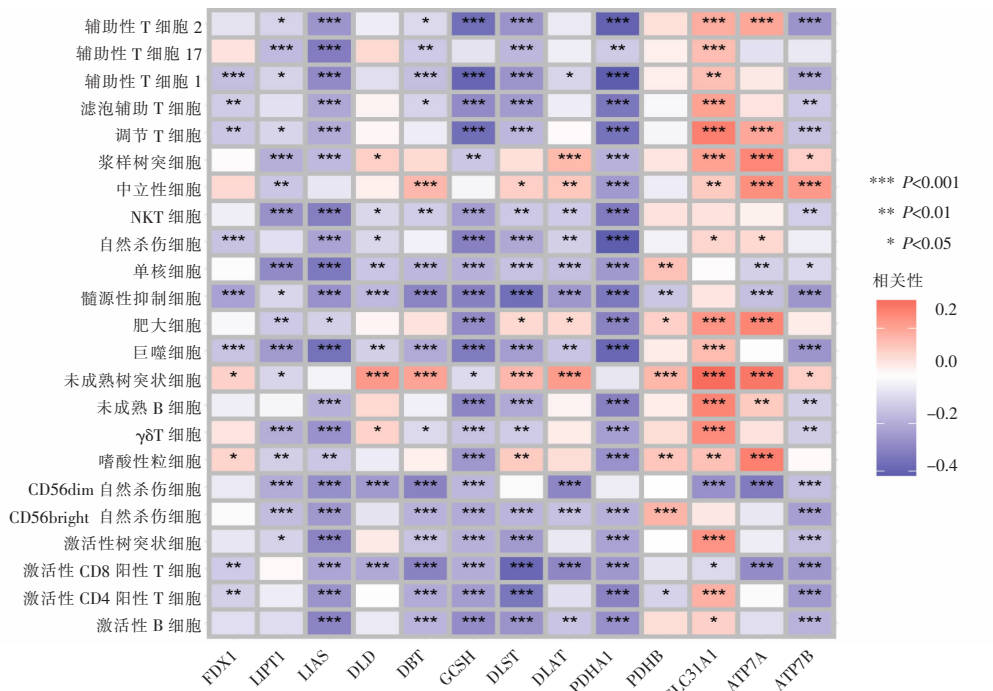


图 2 肾细胞癌中铜死亡相关基因与免疫浸润的关系

红色代表基因表达与免疫浸润正相关;蓝色代表基因表达与免疫浸润负相关。

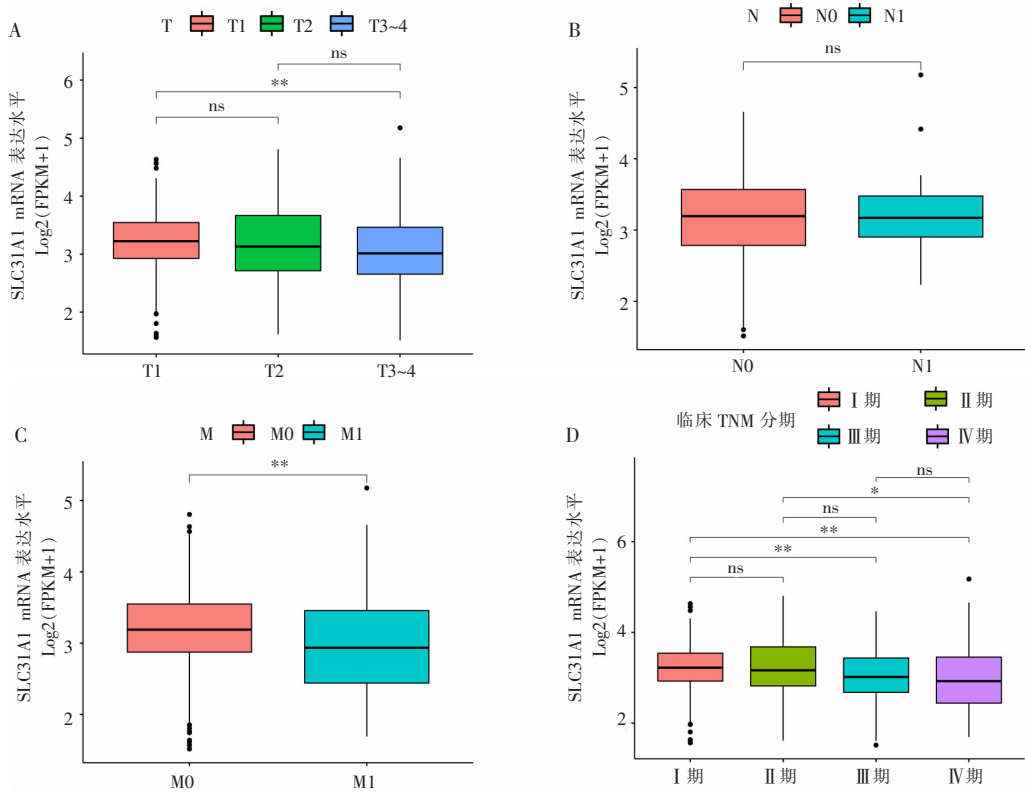


图 3 SLC31A1 在肾细胞癌各临床分期中表达水平

A. SLC31A1 在肾细胞癌各 T 分期的表达水平;B. SLC31A1 在肾细胞癌各 N 分期的表达水平;C. SLC31A1 在肾细胞癌各 M 分期的表达水平;D. SLC31A1 在肾细胞癌各 TNM 分期的表达水平。ns $P > 0.05$;* $P < 0.05$;** $P < 0.01$ 。

2.4 SLC31A1 在肾细胞癌中的预后价值

为进一步探索 SLC31A1 在肾细胞癌中的预后

价值,通过对 TCGA 的转录组数据与临床数据进行分析。生存分析显示,SLC31A1 高表达肾细胞癌患

者的 PFS 优于 SLC31A1 低表达的患者 [HR:0.43 (0.31~0.60), $P < 0.05$]。SLC31A1 高表达肾细胞癌患者的 OS 也同样优于 SLC31A1 低的患者 [HR:

0.51(0.38~0.70), $P < 0.05$]。森林图结果显示 SLC31A1 在单因素和多因素 COX 分析中都是肾细胞癌预后的独立保护因素 ($P < 0.05$)。见图 4。

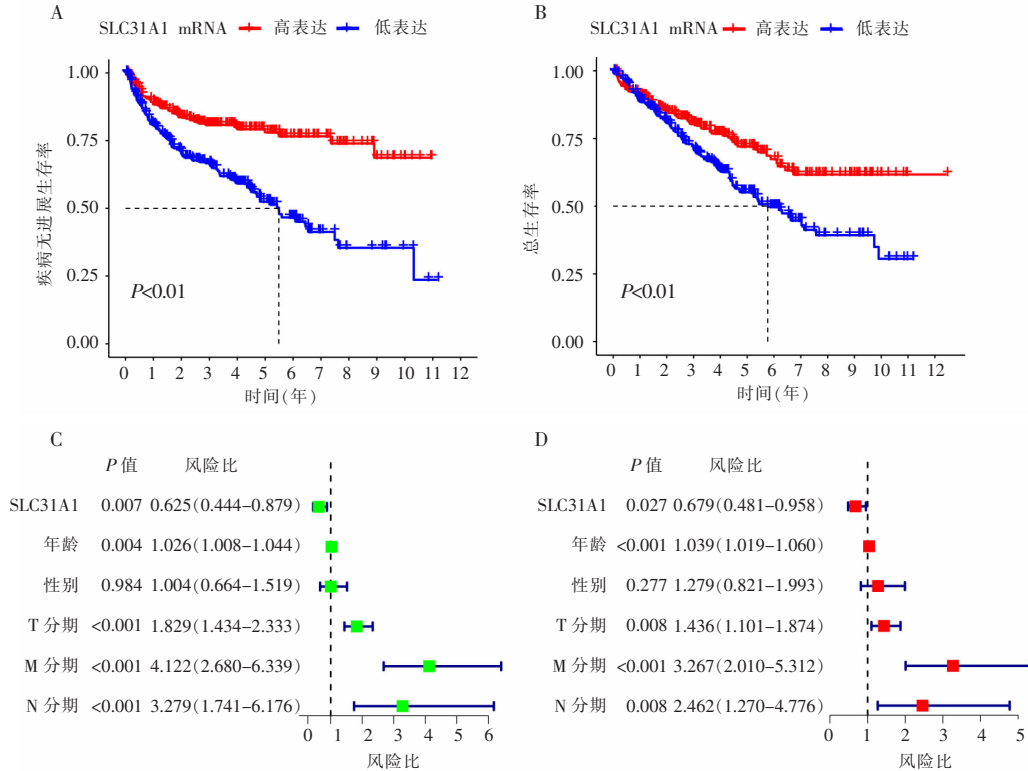


图 4 SLC31A1 在肾细胞癌患者的预后价值分析

A. SLC31A1 高表达组和低表达组之间 PFS 的 KM 生存曲线; B. SLC31A1 高表达组和低表达组之间 OS 的 KM 生存曲线; C. 单变量 COX 分析的森林图; D. 多变量 COX 分析的森林图。

2.5 SLC31A1 在肾正常细胞与肾癌细胞系中的表达

通过 RT-qPCR 检测 SLC31A1 在肾正常细胞与肾癌细胞系的表达结果与免疫组化一致, SLC31A1 在肾正常细胞 HK293T 的表达水平高于肾癌细胞系 786-O、A498 及 769-P, 其中 SLC31A1 在 769-P 细胞中的表达最低。故选用 769-P 细胞进行后续实验。见图 5。

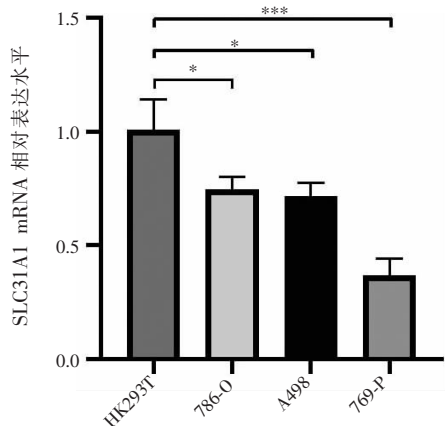


图 5 RT-qPCR 验证 SLC31A1 在各肾细胞系中的相对表达水平。

* $P < 0.05$, 与 HK293T 比较; *** $P < 0.001$, 与 HK293T 比较。

2.6 肾癌细胞模型中过表达 SLC31A1

对 SLC31A1 表达量最低的肾癌细胞 769-P 转染 SLC31A1 过表达质粒并通过 RT-qPCR 检测 SLC31A1 的表达情况, 结果显示转染过表达质粒后 769-P 细胞中 SLC31A1 的表达高于野生型 769-P 细胞, 成功构建过表达 SLC31A1 769-P 细胞株。见图 6。

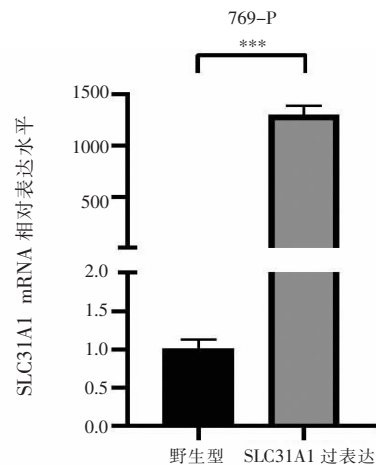


图 6 过表达 SLC31A1 769-P 细胞株成功上调表达 SLC31A1 水平

*** $P < 0.001$, 与野生型比较。

2.7 过表达 SLC31A1 抑制肾癌细胞的增殖、侵袭能力

采用克隆形成试验和划痕实验检测并比较野生型 769-P 细胞株和过表达 SLC31A1 的 769-P 细胞株的细胞增殖和侵袭能力。克隆形成实验结果显示过

表达 SLC31A1 的 769-P 细胞克隆形成数量低于野生型的 769-P 细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$)。划痕实验结果也显示类似的趋势,过表达 SLC31A1 的 769-P 细胞株相对于野生型,其划痕修复能力下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

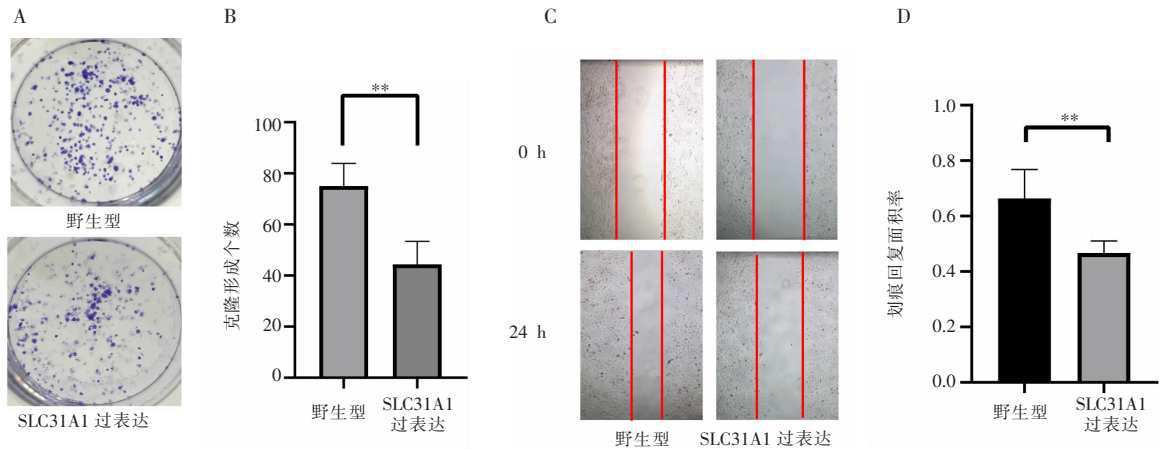


图7 SLC31A1对肾癌细胞株769-P的细胞增殖、侵袭能力的影响。

A. 769-P野生型细胞株与过表达SLC31A1细胞株的克隆形成实验;B. 两组克隆形成个数比较;C. 769-P野生型细胞株与过表达SLC31A1细胞株的划痕实验;D. 两组划痕实验恢复面积比较。** $P < 0.01$,与野生型比较。

3 讨论

肾细胞癌作为常见的泌尿道恶性肿瘤,复发转移仍是主要的失败模式^[14]。细胞死亡一直是探索生物标记物的主要研究领域,多种程序性细胞死亡被发现在肿瘤预后及免疫预测上具有重要价值,包括焦亡、铁死亡等^[15-16]。铜死亡作为新型细胞死亡方式,在作为生物标记物的作用并不明确。

铜死亡相关基因已在多种肿瘤中被发现与肿瘤的预后和免疫作用相关,如Hu等^[17]发现铜死亡基因与肺腺癌的预后显著相关。Lv等^[18]发现在铜死亡相关基因LIPT1、PDHA1和SLC31A1与黑色素瘤的预后显著相关,其中LIPT1与黑色素瘤的瘤内免疫抑制细胞Treg呈负相关。Li等^[19]通过对胃癌转录组和单细胞测序数据分析发现,铜死亡相关基因可用于将胃癌分为两种不同的免疫微环境亚组,并建立预后模型准确判断胃癌的预后。

本研究全面分析SLC31A1在肾癌预后中的预测价值和肾癌细胞系的主要功能。我们发现在mRNA表达水平上,除了LIPT1,LIAS和ATP7B外的铜死亡相关基因在肾细胞癌中相对于正常组织呈低表达。来自HPA的数据也证实了这一点。这说明肾细胞癌的发生发展可能抑制了铜死亡相关基因的表达。我们在随后的免疫浸润细胞相关性分析中发现,SLC31A1与多达17种免疫浸润细胞正相关,包括了固有免疫中的巨噬细胞、树突状细胞等抗原提呈细胞,也包括适应性免疫中的CD4⁺T细胞、 $\gamma\delta$ T

细胞及B细胞等肿瘤杀伤细胞。这可能是由于SLC31A1诱导铜死亡后产生免疫源性细胞死亡导致的。因此,本研究将重点研究SLC31A1在肾细胞癌中的作用。

临床特征相关性分析显示,SLC31A1表达水平与T分期、M分期和TNM分期负相关,说明SLC31A1可能在一定程度上具有抑制肾细胞癌侵袭或转移的能力。这种抑制能力可能实现了对生存分析的获益,随后的生存分析显示,SLC31A1高表达的患者无论是PFS还是OS都显著优于SLC31A1低表达的患者。单因素和多因素的COX分析森林图也显示SLC31A1是肾细胞癌预后独立保护因素。

为进一步验证SLC31A1对肾细胞癌侵袭增殖的抑制作用,本研究在肾细胞癌细胞系中对SLC31A1的表达水平进行调控。由于SLC31A1在肾细胞癌中呈低表达且可能的抑制癌细胞增殖功能,故上调了SLC31A1在肾细胞癌细胞系的表达水平,并观察其侵袭增殖能力。结果发现SLC31A1过表达的肾癌细胞相对于野生型细胞的克隆形成和划痕修复能力出现了被抑制的现象。这从体外实验层面证实了SLC31A1具有抑制肾细胞癌增殖侵袭的功能。

SLC31A1是一种存在于细胞膜上的高亲和力铜转运蛋白,SLC31A1的上调可以正向调整铜离子进入细胞内从而导致铜死亡的发生^[20]。因此,SLC31A1对肾细胞癌的抑制作用的机制可能与铜死亡的发生相关,这种抗原性细胞死亡模式同时可能也

是 SLC31A1 与免疫细胞浸润正相关的主要原因。

综上所述,SLC31A1 可能具有对肾细胞癌侵袭增殖的抑制作用。另一方面,SLC31A1 同样为作为一个强有力的预后生物标志物用于预测肾细胞癌患者的预后,有助于肾细胞癌的临床决策。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] Usher-Smith J, Simmons RK, Rossi SH, et al. Current evidence on screening for renal cancer [J]. Nature Reviews Urology, 2020, 17(11): 637-642.
- [3] Yoo GS, Park W, Pyo H, et al. Risk factors and patterns of locoregional recurrence after radical nephrectomy for locally advanced renal cell carcinoma [J]. Cancer Research and Treatment, 2022, 54(1): 218-225.
- [4] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. Science, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [5] Chen L, Min J, Wang F. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease [J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7(1): 378.
- [6] Cheng C, Ding Q, Zhang Z, et al. PTBP1 modulates osteosarcoma chemoresistance to cisplatin by regulating the expression of the copper transporter SLC31A1 [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020, 24(9): 5274-5289.
- [7] Li L, Li L, Sun Q. High expression of cuproptosis-related SLC31A1 gene in relation to unfavorable outcome and deregulated immune cell infiltration in breast cancer; an analysis based on public databases [J]. BMC Bioinformatics, 2022, 23(1): 350.
- [8] Yun Y, Wang Y, Yang E, et al. Cuproptosis-related gene - SLC31A1, FDX1 and ATP7B - polymorphisms are associated with risk of lung cancer [J]. Pharmacogenomics and Personalized Medicine, 2022, 15: 733-742.
- [9] Yu Z, Zhou R, Zhao Y, et al. Blockage of SLC31A1-dependent copper absorption increases pancreatic cancer cell autophagy to resist cell death [J]. Cell Proliferation, 2019, 52(2): e12568.
- [10] Goldman MJ, Craft B, Hastie M, et al. Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform [J]. Nature Biotechnology, 2020, 38(6): 675-678.
- [11] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies [J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(7): e47.
- [12] Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome [J]. Science, 2015, 347(6220): 1260419.
- [13] Jin Y, Wang Z, He D, et al. Identification of novel subtypes based on ssGSEA in immune-related prognostic signature for tongue squamous cell carcinoma [J]. Cancer Medicine, 2021, 10(23): 8693-8707.
- [14] Qi N, Chen Y, Gong K, et al. Concurrent renal cell carcinoma and urothelial carcinoma: long-term follow-up study of 27 cases [J]. World Journal of Surgical Oncology, 2018, 16(1): 16.
- [15] Zheng S, Xie X, Guo X, et al. Identification of a pyroptosis-related gene signature for predicting overall survival and response to immunotherapy in hepatocellular carcinoma [J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 789296.
- [16] Ye Y, Dai Q, Qi H. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer [J]. Cell Death Discovery, 2021, 7: 71.
- [17] Hu Q, Wang R, Ma H, et al. Cuproptosis predicts the risk and clinical outcomes of lung adenocarcinoma [J]. Frontiers in Oncology, 2022, 12: 922332.
- [18] Lv H, Liu X, Zeng X, et al. Comprehensive analysis of cuproptosis-related genes in immune infiltration and prognosis in melanoma [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 930041.
- [19] Li J, Kong C, Song W, et al. Identification of cuproptosis-related subtypes, establishment of a prognostic signature and characterization of the tumor microenvironment in gastric cancer [J]. International Journal of General Medicine, 2023, 16: 1631-1652.
- [20] Clifford RJ, Maryon EB, Kaplan JH. Dynamic internalization and recycling of a metal ion transporter: Cu homeostasis and CTR1, the human Cu⁺ uptake system [J]. Journal of Cell Science, 2016, 129(8): 1711-1721.

(收稿日期: 2023-05-04

修回日期: 2023-06-09)