四川大学学报（医学版） 2026，57（3）：725－735
J Sichuan Univ（Med Sci） doi: 10.12182/20260560504

在线全文

铜死亡相关关键基因在卵巢癌中的作用及预后模型的构建*

王慧敏，姜 英，陈金鑫，穆 鹏，张菁茹△
辽宁省肿瘤医院 妇科（沈阳 110042）

【摘要】 **目的** 利用公共数据库中的卵巢癌数据集，确定卵巢癌组织中的铜死亡相关基因，并基于这些基因构建卵巢癌患者临床预后风险评分模型。**方法** 从TCGA OC数据库和GEO数据库中的GSE26193、GSE63885数据集，筛选出10个铜死亡相关基因，并基于数据集分析其染色体定位、表达相关性和突变模式。基于这些基因，我们对卵巢癌样本进行聚类，以识别铜诱导死亡的不同分子亚型。分析不同亚型之间的差异表达基因和功能富集，并通过生存回归分析获得了具有预后预测能力的特征基因。基于这些特征基因，我们构建了一个风险评分模型，并结合患者的临床特征，共同预测其生存率。**结果** 在卵巢癌样本中，10个铜死亡相关基因可将样本稳定区分为两种分子亚型，二者临床及免疫特征、药物敏感性等方面差异明显。进一步筛选获得7个预后基因（*RARRES1*、*CXCL10*、*PI3*、*CXCL11*、*THEMIS2*、*GBP2*、*RPL39L*），基于其建立的风险模型结合年龄后对患者1、3、5年生存率预测的曲线下面积均大于0.7，显示良好临床应用前景。**结论** 铜死亡的机制及其关键基因可能成为卵巢癌的治疗靶点。该分型为临床个体化治疗提供了理论依据。由关键预后基因构建的预测模型具有良好的临床应用效果。

【关键词】 卵巢癌 铜死亡相关基因 免疫浸润

The Role of Cuproptosis Related Key Genes in Ovarian Cancer and the Construction of a Prognostic Model

WANG Huimin, JIANG Ying, CHEN Jinxin, MU Peng, ZHANG Jingru△. *Department of Gynecology, Cancer Hospital of China Medical University, Liaoning Cancer Hospital and Institute, , Shenyang 110042, China*
△ Corresponding author, E-mail: zhangjingru202010@163.com

This study was supported by the Liaoning Provincial Science and Technology Program Joint Project (Natural Science Foundation-General Project) (No. 2024-MSLH-275) and Health Development Promotion Project (Cancer Research Special Program) (No. KC2023-JX-0186-RQ068).

[**Abstract**] **Objective** Using ovarian cancer datasets from public databases, identify copper death-related genes in ovarian cancer tissues and construct a clinical prognostic risk scoring model for ovarian cancer patients based on these genes. **Methods** We downloaded the OC data of TCGA, the GSE26193, GSE63885 dataset from GEO and retrieved 10 cuproptosis related genes (CRGs) and analyzed their chromosomal localization, expression correlation, and mutation patterns based on the datasets. Using these genes, we clustered the OC samples to identify different molecular subtypes of copper induced death. We analyzed the differential genes and functional enrichment between different subtypes and obtained feature genes with predictive ability for prognosis through survival regression analyses. Based on these feature genes, we constructed a risk scoring model and incorporated the clinical characteristics ofpatients to jointly predict their survival rate. **Results** In ovarian cancer samples, 10 copper death-related genes can stably divide the samples into two molecular subtypes, and there are significant differences in clinical and immune characteristics and drug sensitivity between them. After further screening, seven prognostic genes (*RARRES1*、*CXCL10*、*PI3*、*CXCL11*、*THEMIS2*、*GBP2*、*RPL39L*) were obtained, and the risk model based on them combined with age predicted that the AUC of patients' 1-, 3-, and 5-year survival rates were all greater than 0.7, showing good clinical application prospects. **Conclusion** The mechanism of cuproptosis and its key genes might become therapeutic targets for ovarian cancer. The subtypes of cuproptosis provide a theoretical basis for personalized clinical treatment. The predictive model constructed by key prognostic genes has promising clinical application effects.

[**Key words**] Ovarian cancer Cuproptosis-related genes Immune infiltration

卵巢癌（ovarian cancer, OV）是妇科中最常见的恶性肿瘤之一，其中90%是上皮性癌，侵袭性强。由于其发病隐匿且缺乏有效的检测方法，诊断时通常为晚期，预后差，5年存活率低于45%[1]。化疗是治疗卵巢癌的常用方法，但有相当比例的卵巢癌由于对化疗药物敏感性差或

* 辽宁省科技计划联合计划（自然科学基金-面上项目）（No. 2024-MSLH-275）和卫生健康发展促进项目（肿瘤科研专项）（No. KC2023-JX-0186-RQ068）资助

△ 通信作者，E-mail: zhangjingru202010@163.com

出版日期：2026-05-20

耐药而治疗效果不佳[2]。因此,寻求一种能促进卵巢癌细胞凋亡或增加其对化疗药物敏感性的特异性治疗方法,对提高卵巢癌的生存率具有重要意义。

铜是人体必需的重金属微量营养素,在正常活细胞中的生物过程(如线粒体呼吸、铁吸收和抗氧化)中发挥着重要作用[3]。然而,铜的过量积累会破坏铜的体内平衡,产生破坏性的活性氧,导致氧化应激反应,并引发细胞毒性。研究发现肿瘤组织中铜含量增加,表明铜稳态和肿瘤细胞增殖、血管生成和转移密切相关。TANG等[4]发现铜导致细胞死亡的新调节模式,其靶向线粒体呼吸中的酰化三羧酸循环蛋白并诱导细胞死亡,即铜死亡,表明可能存在基于肿瘤中铜代谢的潜在治疗靶点。GUO等[5]的研究中,在双硫仑中添加辅因子铜增加卵巢癌细胞中的活性氧水平并抑制乙醛脱氢酶活性,诱导肿瘤细胞大量凋亡;此外,当与顺铂化疗联合时,辅因子铜的加入导致双硫仑的剂量依赖性细胞毒性,克服了肿瘤细胞中的铂耐药性并增强了化疗效果。因此,研究铜死亡的机制可以帮助我们找到治疗卵巢癌的新方法。

在本研究中,我们对公共数据库中的卵巢癌数据集进行了深入探索,确定了与铜死亡相关的关键通路及预后标记分子,并构建了一个可以有效预测卵巢癌生存率的预后模型。

1 资料与方法

1.1 数据下载及数据预处理

本研究所使用的数据均来自可获取原始数据的公开数据库TCGA(https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga)及GEO(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)。从UCSC Xena获得TCGA Ovarian Cancer (OV) FPKM数据、somatic mutation数据、临床数据、相关的生存信息,检测平台Illumina HiSeq 2000 RNA Sequencing;样本获取标准为有生存信息的OV样本。TCGA数据集中包括378例OV样本,其中232例生存状态为死亡,146例生存状态为活着。使用R软件的GEOquery包从GEO数据库中下载样本来源可靠的OV表达谱数据集GSE26193、GSE63885,数据集中的样本均来源于Homo sapiens,平台基于GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array;其中GSE26193数据集中包括107例OV样本,其中76例生存状态为死亡,31例生存状态为活着;GSE63885数据集中包括70例OV样本,其中66例生存状态为死亡,4例生存状态为活着。通过hgu133plus2.db包对GSE26193和GSE63885中的数据进行注释和归一化处理,得到该数据集的基因表达矩阵。检索铜死亡相关文献,共筛选出10个铜死亡相关基因用于后续分析[6-8],详见表1。

表 1 筛选出的10个铜死亡相关基因

Table 1 The 10 selected cuproptosis related genes

Genes	Name
CDKN2A	Cyclin dependent kinase inhibitor 2A
FDX1	Ferredoxin 1
DLD	Dihydrolipoamide dehydrogenase
DLAT	Dihydrolipoamide S-acetyltransferase
LIAS	Lipoic acid synthetas
GLS	Glutaminase
LIPT1	Lipoyltransferase 1
MTF1	Metal regulatory transcription factor 1
PDHA1	Pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1
PDHB	Pyruvate dehydrogenase E1 subunit beta

1.2 卵巢癌中铜死亡相关基因的表达机制分析

从TCGA-OV数据集里提取这10个铜死亡相关基因表达矩阵,用R包R Circos绘制了铜死亡相关基因在染色体的位置,使用GO Sem Sim包进行铜死亡相关基因的Friends分析。利用STRING数据库得到铜死亡相关基因的PPI蛋白网络。用corrplot包绘制相关热图。把得到的铜死亡相关基因放入cBio Portal for Cancer Genomics中与OV进行突变分析。

1.3 基于铜死亡相关基因的分子亚型分析

使用R语言Consensus Cluster Plus包对TCGA OV铜死亡相关基因矩阵进行一致性聚类,选择聚类最好的聚类簇。通过limma包筛选不同亚型的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),使用ggplot2包绘制DEGs的火山图,FDR<0.05及$|\log_2 FC|>0.5$即为DEGs,并用pheatmap在TCGA OV中基于铜死亡相关基因绘制热图。采用R estimate包计算TCGA OV数据集的ESTIMATE评分、免疫评分和基质评分。ggplot2包绘制小提琴图用于可视化3项免疫得分在不同亚型之间的差异。pRRophetic包来预测TCGA OV的药物敏感性。用R包maftools来处理TCGA突变数据,并绘制亚型间的突变oncoplot。从公开获取的TISIDB数据库(http://cis.hku.hk/TISIDB)获取免疫抑制因子、免疫刺激因子、趋化因子及趋化因子受体相关基因列表,并基于TCGA OV表达矩阵比较上述基因在C1和C2亚型之间的表达差异,采用箱线图进行可视化。

1.4 GO/KEGG功能富集分析

用Metascape对亚型间DEGs做GO/KEGG功能富集分析,选择$P<0.01$,minimum count of 3和enrichment factor>1.5的功能。用R包ggplot2和R包pathview可视化GO和KEGG中比较重要的功能和通路。

1.5 GSEA功能富集分析

用cluster Profiler的包对TCGA OV的不同亚型的基因表达谱分别用GSEA方法对基因表达矩阵进行the gene set enrichment analysis分析，在The Molecular Signatures Database（MSigDB）选择“c2.cp.kegg.v7.4.symbols.gmt”作为参考基因集，$P<0.1$认为显著富集，并绘制gseaplot可视化显著富集的功能。

1.6 PPI网络蛋白分析

把从差异表达分析中得到的卵巢癌亚型差异表达基因，放到STRING数据库中，得到它们的蛋白互作网络，然后把网络放到Cytoscape软件里，识别和其他基因互作比较强的基因，并将其可视化。运用Cytoscape里的MCODE插件识别它的子网络，并根据评分，得到评分靠前的子网络，用cluster Profiler对子网络基因做GO/KEGG功能富集分析并可视化。用cytohubba插件来识别它的枢纽基因。

1.7 铜死亡预后基因识别及预后模型构建

TCGA OV队列作为训练集（training cohort）用于预后相关基因筛选及风险评分模型构建。两个GEO队列GSE26193和GSE63885分别作为验证集1（validation cohort 1）和验证集2（validation cohort 2），用于评估该风险评分模型在独立外部卵巢癌队列中的预测稳定性。对TCGA OV的亚型差异表达基因进行单因素Cox比例风险回归分析预后情况，以$P<0.05$选取与患者预后相关的基因。以预后相关的基因为基础，使用LASSO算法进行特征选择以筛选OV的铜死亡预后诊断标志物。对从LASSO得到的诊断标志物基于多因素Cox比例风险回归分析进行筛选（$P<0.05$），并用R包ggforest进行可视化。对得到的铜死亡相关预后基因，基于多因素回归模型的系数，构建预后风险评估模型。根据上述模型，对TCGA、GSE26193和GSE63885中每个样本预后风险进行打分，Cutoff为患者预后风险评分的中位值，根据cutoff值划将患者分为高低风险组，利用R survival包和survminer包依据高低风险组进行生存分析并进行可视化。用survival ROC包对得到的预后风险评分在TCGA OV、GSE26193和GSE63885中进行3年、5年时间依赖ROC分析。依据预后风险评分对患者进行排序，构建风险因子联动图。

1.8 Nomogram模型构建及验证

对TCGA中患者的预后风险评分与患者的临床特征进行单因素，多因素Cox比例风险回归分析，并用R包forestplot进行可视化。用R包RMS里的nomogram函数基于与TCGA OV预后显著相关的因素构建nomogram模型，并用ggplot进行可视化。对nomogram模型的预测得分与患者的全面生存状态和生存时间进行时间依赖ROC分析，分别进行1年、3年和5年时间依赖ROC分析，用R包survival ROC实现。基于nomogram模型计算每个SKCM患者的风险评分以构建风险分类系统，并将入选患者分为两个风险组：低风险和高风险。用R包survival包和survminer依据分类系统进行生存分析并进行可视化。用R包ggDCA来评估nomogram模型对患者1年、3年和5年生存效果的评估。

1.9 铜死亡预后基因功能性分析，多组学分析

基于患者预后风险评分的中位值将患者分为高风险组和低风险组，以TCGA OV数据集的高风险组和低风险组进行差异表达分析。通过limma包筛选TCGA数据集的mRNA的DEGs，DEGs满足FDR<0.05及$|\log_2 FC|>0.5$。用Metascape对差异表达基因做GO/KEGG功能富集分析，选择$P<0.01$，minimum count of 3和enrichment factor>1.5的功能。将从CIBERSORT官网上下载原码和相应的免疫细胞文件，在R里基于TCGA OV的基因表达谱和免疫细胞文件，将所得铜死亡预后基因与免疫细胞浸润进行相关性分析，使用pheatmap包将结果可视化，通过箱式图可视化免疫细胞浸润在高低风险组的组成。把得到的铜死亡预后基因放入Networkanalyst中基于JASPAR得到mRNA-TF（Transcription Factor）互作网络；基于TarBase V8.0得到mRNA-miRNA互作网络。

1.10 统计学方法

所有数据处理及统计学分析均通过R软件（4.2.1版本）完成。使用R软件的survival ROC包来绘制基因与患者生存时间，生存状态的ROC曲线，计算曲线下的面积（AUC）以评估基因表达对患者生存的诊断性效果。使用R的ggpubr包wilcox.test进行基因表达量等的比较，$P<0.05$代表差异有统计学意义。铜死亡相关基因的相关性分析采用R里的corrplot包，使用以下绝对值指确定相关性的强度：0.00 ~ 0.19“非常弱”，0.20 ~ 0.39“弱”，0.40 ~ 0.59“中等”，0.60 ~ 0.79“强”，0.80 ~ 1.0“非常强”；铜死亡相关预后基因与免疫细胞的相关性分析用R里的psych包里的corr.test来实现。

2 结果

2.1 卵巢癌中铜死亡相关基因的表达机制

检索铜死亡相关的文献共得到10个铜死亡相关基因。染色体定位图显示*MTF1*位于chr1上，*GLS*、*LIPT1*位于chr2上，*PDHB*位于chr3上，*LIAS*位于chr4上，*DLD*位于chr7上，*CDKN2A*位于chr9上，*FDX1*、*DLAT*位于chr9上，*PDHA1*位于chrX上（图1A）。Friends分析显示*PDHB*的箱线整体位置（上、下四分位数，最大值）在所有基因中

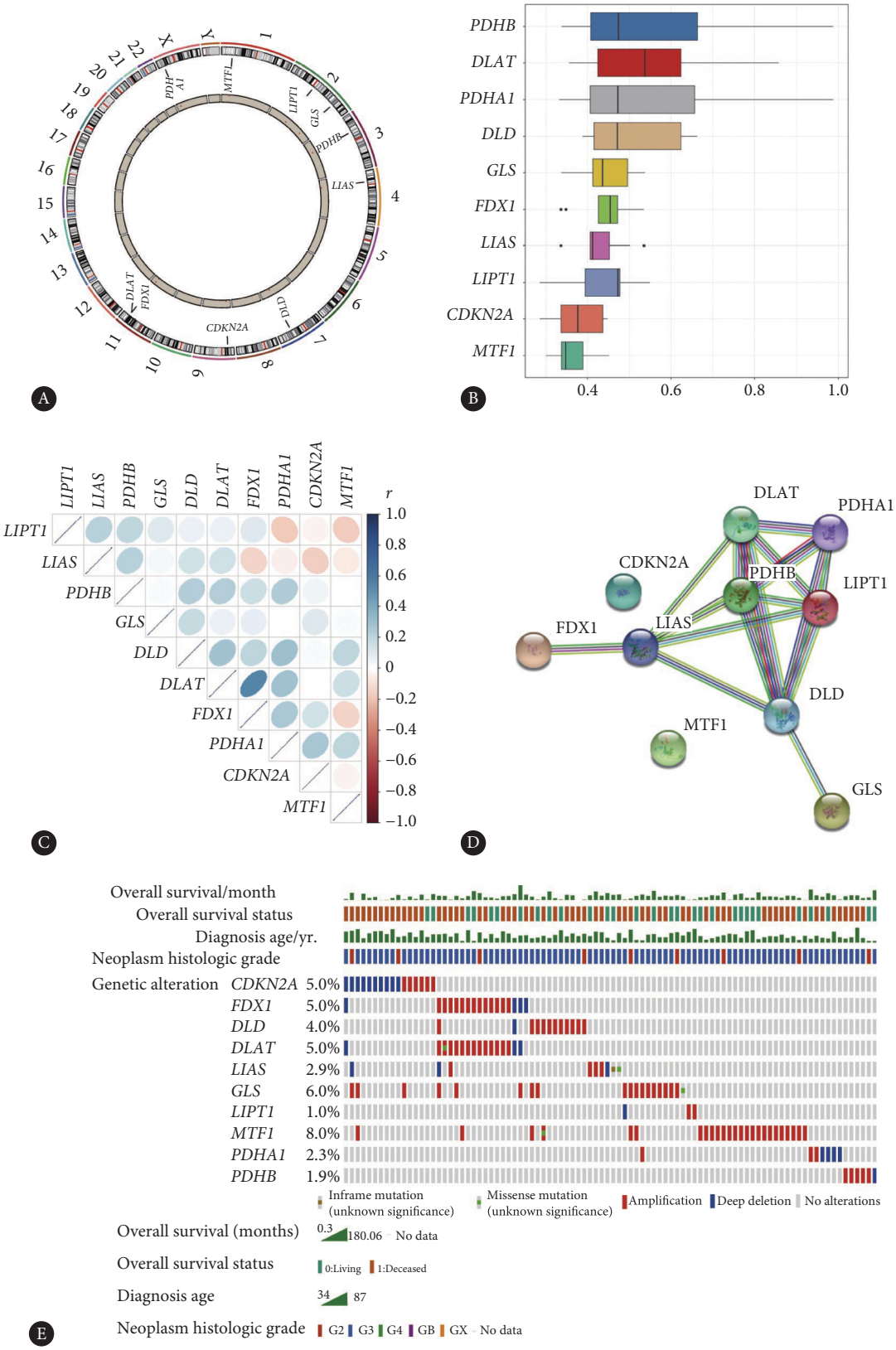

图 1 铜死亡相关基因的表达特征

Fig 1 Expression characteristics of cuproptosis related genes

A, Chromosomal mapping of the genes; B, friends analysis results; C, correlation heatmap of the genes, blue represents positive, red represents negative, the darker the color, the stronger the correlation; D, the PPI protein interaction network; E, mutation of the 10 genes in the TCGA dataset.

处于最右侧，代表它的重要性得分整体水平都显著高于其他铜死亡相关基因(图1B)，*FDX1*与*DLAT*呈明显正相关(图1C)，*PDHB*与其他铜死亡相关基因互作最强，重要性较高(图1D)；突变分析(图1E)发现绝大部分突变都是Amplification，其中*MTF1*的突变率最高，突变率为8%，*GLS*突变率为6%，*MTF1*及*GLS*基因突变主要类型为基因扩增；*CDKN2A*突变率为5%，突变主要类型为深度缺失。

2.2　基于铜死亡相关基因的分子亚型分析

基于10个铜死亡相关基因对TCGA OV组的基因表达谱进行一致性聚类，发现在k=2时聚类效果最好，得到亚型C1和C2(附图1)。在TCGA OV基因表达矩阵中共提取出263个DEGs，其中上调基因64个，下调基因199个(附图2A)；C1组样本和C1组样本铜死亡相关基因的表达模式差异明显(附图2B)，临床病理特征(年龄、分级、人种、样本来源机构、OS)分布差异显著。免疫评分结果显示与C2组比，各项评分在C1组中更高(附图2C)；Axitinib、Bortezomib、Cytarabine、Sunitinib四种药物在C1组和C2组的药物敏感性均显著不同，显示了四种药物对OV的治疗作用(附图2D)。亚型间的突变oncoplot表明C1组和C2组突变模式不同(附图2E、2F)。趋化因子箱线图显示(附图3A)，CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL8、CCL11、CCL13、CCL19、CXCL1、CXCL2、CXCL3、XCL1、XCL2等在C1组表达显著更高；受体箱线图显示(附图3B)，CCR1、CCR2、CCR4、CCR5、CCR7、CXCR3、CXCR6、XCR1在C1组表达显著更高；免疫抑制因子箱线图显示(附图3C)，CD96、CD160、CSF1R、IDO1、IL10、KIR2DL1、KIR2DL3、LAG3、LGALS9、TGFB1、TIGIT在C1组表达显著更高；免疫刺激因子箱线图显示(附图3D)，CD40LG、CD48、CD70、ICOS、IL6、IL6R、LTA、MICB、TMIGD2、ULBP1在C1组表达显著更高。所有附图和附表见网络资源附件。

2.3　GO/KEGG功能富集分析

对263个铜死亡亚型间的差异表达基因做功能富集分析，结果显示，差异表达基因主要与对病毒的应答/防御、虚拟基因组复制的负调节、有丝分裂细胞周期过程、MHC过程复合体等(表2)。详细富集结果见附图4和附表1。

2.4　GSEA功能富集分析

对TCGA OV表达谱依据C1分组和C2分组进行GSEA功能富集分析，富集结果见表3，TCGA OV的GSEA结果显示，主要富集于病毒感染、细胞因子-细胞因子受体相互作用、脂质和动脉粥样硬化、NOD样受体信号通路、趋化因子信号通路等通路中。详细富集结果见附表2。

2.5　PPI蛋白网络分析

可视化铜死亡亚型间差异表达基因的PPI蛋白互作网络并识别得分靠前的子网络，共得到1个模块，该模块共有62个基因，功能富集分析显示，模块基因主要与病毒感染、病毒应答、NOD样受体等相关，进一步得到得分最高的20个枢纽基因。详见附图5。

2.6　铜死亡预后基因识别，预后模型构建

筛选铜死亡亚型间的差异表达基因共得到40个有显著预后能力的基因，进一步识别出30个与OV生存相关的诊断标志物(图2)。通过多因素Cox比例风险回归分析模型，共得到7个基因(表4)，分别是*RARRES1*、*CXCL10*、

表 2　GO/KEGG得到的top富集功能

Table 2　GO and KEGG enrichment analysis of CRGs

Category	ID	Description	Count	log *P*
BP	GO: 0009615	Response to virus	28	−17.85447435
BP	GO: 0051607	Defense response to virus	23	−16.2761375
BP	GO: 0045071	Negative regulation of viral genome replication	14	−16.25005344
BP	GO: 0140546	Defense response to symbiont	23	−16.23773481
BP	GO: 1903047	Mitotic cell cycle process	30	−15.59681119
CC	GO: 0042611	MHC protein complex	8	−10.54801419
CC	GO: 0031012	Extracellular matrix	24	−9.575122953
CC	GO: 0030312	External encapsulating structure	24	−9.559853832
CC	GO: 0071556	Integral component of lumenal side of endoplasmic reticulum membrane	7	−8.332565349
CC	GO: 0098553	lumenal side of endoplasmic reticulum membrane	7	−8.332565349
MF	GO: 0016538	Cyclin-dependent protein serine/threonine kinase regulator activity	11	−12.30922625
MF	GO: 0019887	Protein kinase regulator activity	17	−11.19216695
MF	GO: 0001664	G protein-coupled receptor binding	19	−10.94949238
MF	GO: 0042605	Peptide antigen binding	9	−10.71506752
MF	GO: 0019207	Kinase regulator activity	17	−10.33617304
KEGG	hsa05169	Epstein-Barr virus infection	24	−19.57972549
KEGG	hsa05164	Influenza A	16	−11.58851631
KEGG	hsa05160	Hepatitis C	14	−9.928831243
KEGG	hsa05162	Measles	10	−6.375785126
KEGG	hsa05168	Herpes simplex virus 1 infection	17	−5.716956087

表 3 GSEA得到的top富集功能

Table 3 GSEA enrichment analysis of TCGA dataset

Category	Description	NES	Enrichment score	*P*
KEGG Pathway	Herpes simplex virus 1 infection	−1.467 732 989	−0.410 434 895	0.001 024 59
KEGG Pathway	Pathways of neurodegeneration - multiple diseases	−1.429 297 966	−0.400 379 047	0.001 033 058
KEGG Pathway	Amyotrophic lateral sclerosis	−1.892 563 213	−0.537 101 13	0.001 058 201
KEGG Pathway	Cytokine-cytokine receptor interaction	−1.617 812 902	−0.462 596 906	0.001 075 269
KEGG Pathway	Huntington disease	−1.838 341 514	−0.525 875 414	0.001 077 586
KEGG Pathway	Prion disease	−1.967 885 481	−0.566 097 242	0.001 077 586
KEGG Pathway	Parkinson disease	−1.900 418 735	−0.549 181 601	0.001 092 896
KEGG Pathway	Thermogenesis	−1.597 136 537	−0.465 846 788	0.001 101 322
KEGG Pathway	Lipid and atherosclerosis	−1.680 461 638	−0.491 002 221	0.001 101 322
KEGG Pathway	Human immunodeficiency virus 1 infection	−1.819 150 428	−0.532 492 261	0.001 102 536
KEGG Pathway	Human cytomegalovirus infection	−1.579 845 29	−0.460 730 634	0.001 103 753
KEGG Pathway	Human T-cell leukemia virus 1 infection	−1.927 549 621	−0.562 738 529	0.001 104 972
KEGG Pathway	Chemical carcinogenesis - reactive oxygen species	−1.823 086 643	−0.534 977 943	0.001 109 878
KEGG Pathway	Epstein-Barr virus infection	−2.178 200 218	−0.642 125 416	0.001 112 347
KEGG Pathway	Diabetic cardiomyopathy	−1.693 897 57	−0.501 867 53	0.001 123 596
KEGG Pathway	NOD-like receptor signaling pathway	−1.914 838 774	−0.569 724 326	0.001 124 859
KEGG Pathway	Chemokine signaling pathway	−1.787 327 197	−0.529 956 914	0.001 126 126
KEGG Pathway	Neutrophil extracellular trap formation	−1.675 930 149	−0.498 439 67	0.001 126 126
KEGG Pathway	Tuberculosis	−1.863 446 983	−0.556 214 389	0.001 132 503

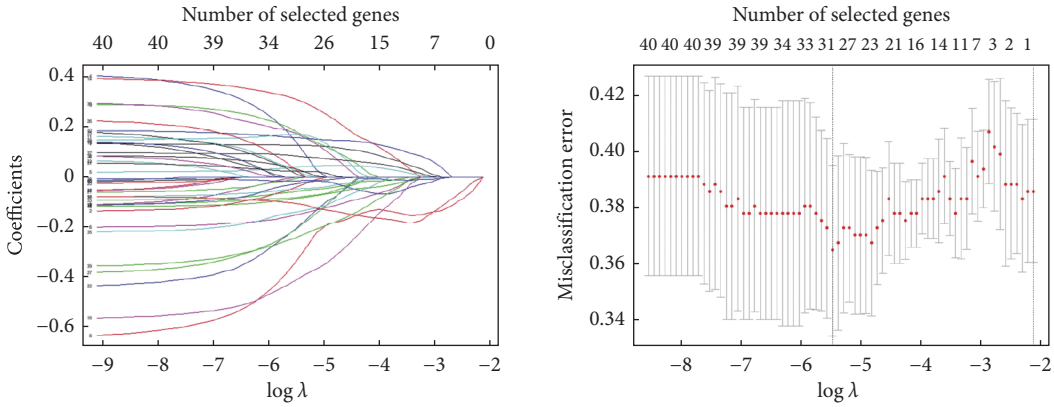

图 2 预后基因的筛选

Fig 2 Screening of prognostic genes

PI3、*CXCL11*、*THEMIS2*、*GBP2*、*RPL39L*。随后,将该模型分别应用于TCGA OV(训练集)、GSE26193(验证集1)和GSE63885(验证集2),对各队列样本计算风险评分,并按风险评分中位值划分为高风险组和低风险组(图3A ~ 3C),结果显示,在3个数据集中,生存分析的log rank *P*值均小于0.05,低风险组显示出了更好的预后。接着在TCGA OV和GSE26193、GSE63885数据集中分别基于预后风险评分进行3年和5年时间依赖ROC分析,可以发现在所有数据集中时间依赖ROC曲线的AUC值均大于0.5,显示出了良好的预测效果(图3D ~ 3F),其中在5年的

表 4 多因素Cox回归分析筛选出的7个预后基因

Table 4 Seven prognostic genes identified by multivariate Cox regression analysis

Gene	*n*	HR	95% CI	*P*
RARRES1	378	1.15	1.06–1.25	0.001
CXCL10	378	1.43	1.17–1.74	< 0.001
PI3	378	1.08	1.01–1.15	0.023
CXCL11	378	0.55	0.42–0.71	< 0.001
THEMIS2	378	1.16	1.02–1.32	0.029
GBP2	378	0.79	0.66–0.95	0.011
RPL39L	378	0.83	0.72–0.95	0.008

HR: hazard ratio; CI: confidence interval. Events = 232; AIC = 2 263.05; concordance index = 0.65.

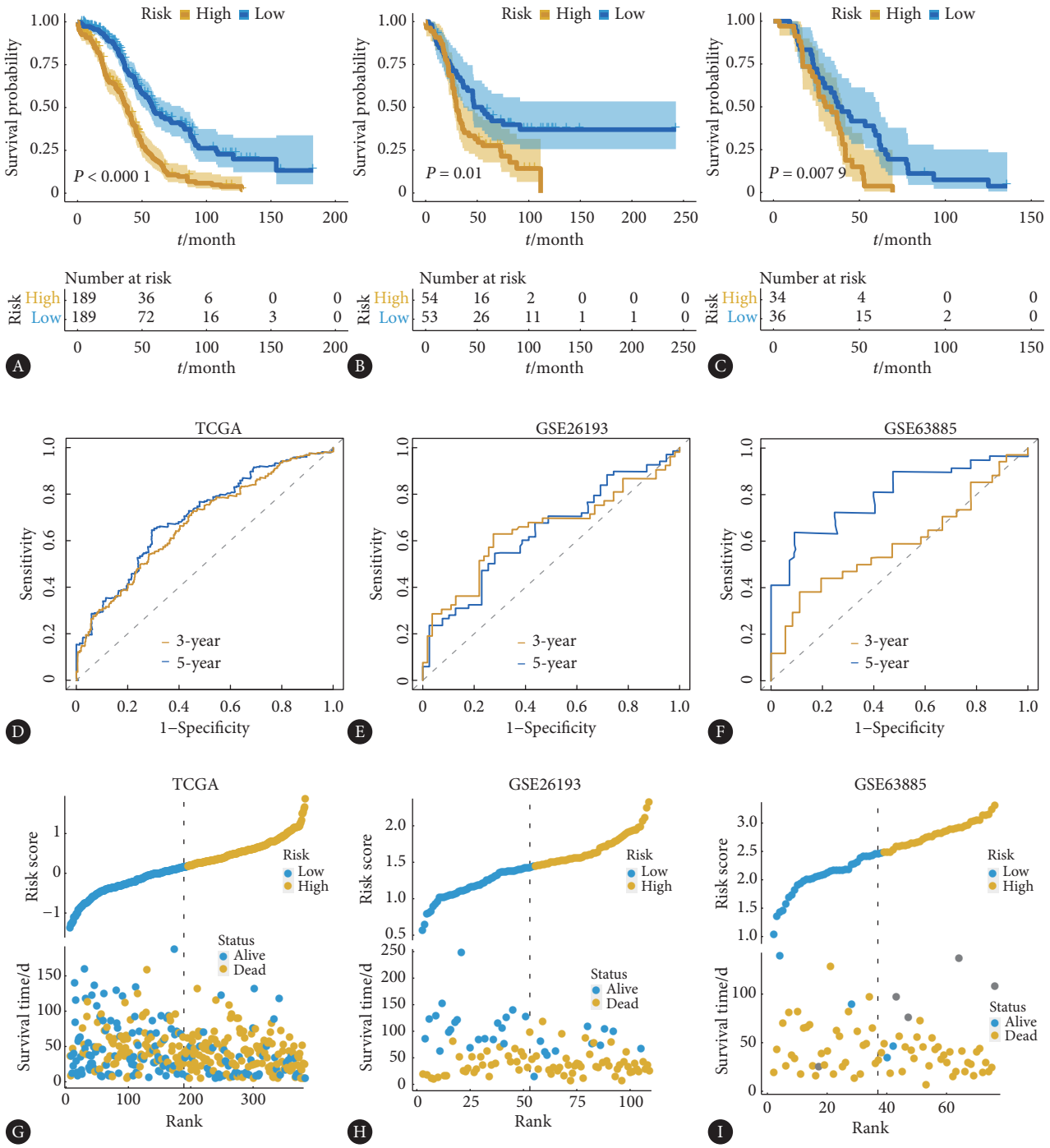

图 3　预测模型的构建和验证

Fig 3　Construction and validation of prognostic models

A-C, KM plots of TCGA (A), GSE26193 (B), and GSE63885 (C) datasets; D-F, time-depended ROC curves for TCGA (3-year: AUC = 0.675, 95% CI: 0.610-0.738; 5-year: AUC = 0.699, 95% CI: 0.632-0.762), GSE26193 (3-year: AUC = 0.645, 95% CI: 0.543-0.754; 5-year: AUC = 0.637, 95% CI: 0.526-0.742) and GSE63885 datasets (3-year: AUC = 0.589, 95% CI: 0.452-0.727; 5-year: AUC = 0.795, 95% CI: 0.670-0.904); G-I, risk factor linkage diagrams for TCGA, GSE26193, and GSE63885 datasets.

AUC值均大于0.6, GSE63885在5年的AUC值为0.795, 显示出预后风险评分对5年生存预测有更好的效果。接着利用预后风险评分对患者进行排序, 画风险因子联动图(图3G ~ 3I)。可以看出在三个数据集中, 随预后风险评分的升高, 患者的死亡事件变多, 生存时间变短。

2.7　Nomogram模型构建及验证

用R去除TCGA OV中数据为空和无意义的临床特征, 最终得到4个特征: 年龄, 分级, 人种, 样本来源机构。预后风险评分分析Age与预后显著相关(P<0.05)(表5)。然后构建了用于预测1年、3 年和 5年OS的nomogram模型,

表 5 风险评分及临床特征的单因素和多因素Cox回归分析结果

Table 5 The results of univariate and multivariate Cox regression analysis of risk scores and clinical characteristics

Characteristic	Case (%)	Univariate HR (95% CI)	Univariate *P* value	Multivariate HR (95% CI)	Multivariate *P* value
Riskscore	378 (100.0)	2.72 (2.10, 3.51)	< 0.001	2.72 (2.08, 3.55)	< 0.001
Age	378 (100.0)	1.02 (1.01, 1.03)	< 0.001	1.02 (1.01, 1.03)	0.004
Source site	374 (98.9)	1.00 (0.99, 1.01)	0.708	1.00 (0.99, 1.01)	0.773
Race					
Black or African American	25 (6.6)	Reference	—	Reference	—
Other	15 (4.0)	1.15 (0.48, 2.79)	0.753	1.33 (0.53, 3.30)	0.542
White	328 (86.8)	0.61 (0.37, 1.00)	0.051	0.52 (0.31, 0.89)	0.017
Grade					
G1 & G2	46 (12.2)	Reference	—	Reference	—
G3 & G4	322 (85.2)	1.24 (0.84, 1.84)	0.280	1.20 (0.80, 1.80)	0.369
GB & GX	8 (2.1)	1.68 (0.65, 4.35)	0.283	1.75 (0.61, 5.05)	0.297

HR: hazard ratio; CI: confidence interval.

该模型整合了Age和预后风险评分两个与预后显著相关的因素(图4A),其1年、3 年和 5 年 AUC 值均大于0.7且优于预后风险评分模型,其中在1年、3年的AUC值均大于0.65(图4C)。接着根据每个OV患者的nomogram模型计算风险评分以构建风险分类系统,并将入选患者分为低风险组和高风险组,可以发现低风险组预后效果最好,高风险组预后效果最差(图4B)。此外,DCA还证明了列线图在TCGA OV数据集的出色临床效用,DCA具有

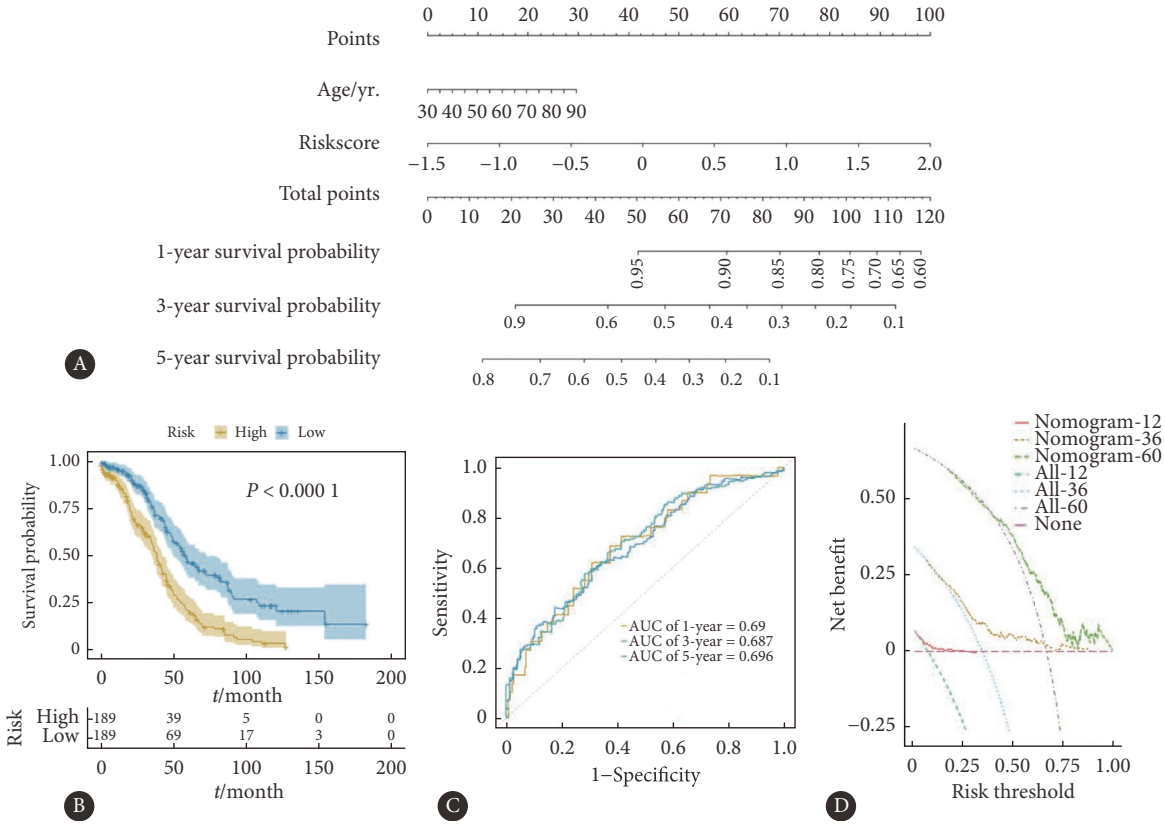

图 4 Nomogram模型构建

Fig 4 Nomogram model construction

A, Nomogram model predicts OS in OV patients; B, KM survival curve; C, 1-year (AUC = 0.690, 95% CI: 0.402-0.983), 3-year (AUC = 0.687, 95% CI: 0.502-0.872), and 5-year (AUC = 0.696, 95% CI: 0.521-0.872) depend on the ROC curve; D, DCA curve.

卓越的净收益(图4D)。

2.8 铜死亡预后基因功能性分析，多组学分析

把数据集根据Nomogram模型分为高风险组和低风险组，利用R包limma对表达矩阵进行差异表达分析，以$|\log_2 FC|>0.5$及$P<0.05$为阈值筛选，在TCGA OV中从基因表达矩阵中共提取出44个DEGs，上调基因22个，下调基因22个。功能富集分析显示，这些DEGs主要富集在免疫相关途径中。22种免疫细胞与铜死亡预后基因相关性热图显示，*RARRES1*与T细胞调节Tregs和巨噬细胞M0显著负相关；*CXCL10*、*CXCL11*、单核细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞M0与巨噬细胞M1呈显著负相关，树突状细胞重置呈显著正相关；*GBP2*与巨噬细胞M1、树突状细胞重置显著正相关。通过免疫细胞的箱式图，发现低风险组B细胞类免疫细胞的比例更高，高低风险组免疫细胞组成比例差异悬殊。通过铜死亡预后基因- miRNA互作网络，共得到7个mRNA，68个miRNA；利用铜死亡预后基因-TF互作网络，共得到7个mRNA，39个TF。详见网络资源附图6。

3 讨论

2022 年，TSVETKOV等[6]首次定义了铜死亡，并确定铜死亡的10个关键基因，即*CDKN2A*、*FDX1*、*DLD*、*DLAT*、*LIAS*、*GLS*、*LIPT1*、*MTF1*、*PDHA1*、*PDHB*。在这10个基因中，*FDX1*、*DLD*、*LIAS*和*LIPT1*共同参与脂质酸途径，而其他6个基因参与丙酮酸脱氢酶(PDH)复合物途径。在这些关键基因的调控下，线粒体有氧呼吸过程中与TCA循环相关的酶(尤其是丙酮酸脱氢酶PDH复合物)水平增加，并与铜离子结合，导致酰化蛋白聚集，Fe-S簇蛋白丢失，细胞毒性增加[9]。

本研究中，卵巢癌TCGA数据集位置分析发现这10个基因均匀分布在不同的染色体上，表明它们执行不同的功能。基因相似性分析结果表明，与其他基因联系较多的基因是*PDHB*，说明*PDHB*是10个基因中的重要基因。PPI分析结果进一步证实了它与其他基因的强相互作用。PDHB是PDH复合物的一部分，它编码一种含有β亚单位的丙酮酸脱氢酶(E1)，也是糖酵解和三羧酸(TCA)循环之间的主要联系，这使它成为铜死亡的关键基因[10]。DLAT编码多酶丙酮酸脱氢酶复合物的E2成分，也参与酰化蛋白的聚集[11]。我们发现FDX1与DLAT的表达有很强的相关性。FDX1是铜死亡的主要调节因子，其编码的还原酶可以将Cu^{2+}还原成毒性更大的形式Cu^{1+}。FDX1的高表达诱导DLAT与铜结合，导致蛋白硫代化，这是典型铜死亡的开始[12]。FDX1是蛋白质酰化的上游调节因子，因此，靶向FDX1极有可能成功触发铜介导的细胞死亡机制，并准确杀死肿瘤细胞。在WU等[13]的研究中，通过比较年轻和老年雌性小鼠卵巢中*FDX1*基因的表达，发现FDX1与卵巢衰老有关，这表明FDX1可能成为卵巢相关疾病中有希望的治疗靶点。

10 个CRGs的表达在两种亚型间存在显著差异，尤其是C1的CDKN2A明显高于C2，这可能成为区分两种亚型的特异性标志物。我们还发现，这两种亚型在免疫评分、突变率和主要免疫因子(趋化因子、抑制因子、刺激因子)的表达方面存在差异，表明这两种亚型在基因突变和免疫微环境方面存在显著差异。相同的免疫治疗方案根据免疫环境产生不同的效果。由此，我们预测了两种亚型之间的药物治疗敏感性，并发现它们对于4种类型的药物是不同的。PAIK等[14]指出，阿西替尼作为一种抑制卵巢癌VEGFR信号的抗癌药物，在药物敏感的卵巢癌细胞中显示出比耐药细胞更好的抗癌效果。在我们的研究中，C1型样本对阿西替尼的敏感性明显高于C2型样本，这为临床上卵巢癌的个体化治疗提供了理论依据。我们还对两种亚型的DEGs进行了GO/KEGG功能富集，发现DEGs在病毒感染和防御过程、细胞周期、细胞增殖、蛋白激酶调节、蛋白复合物和细胞外基质等方面都有富集。GSEA认为，两种亚型之间的功能差异表现在病毒感染、细胞因子相互作用、趋化因子信号通路、肿瘤活性氧等方面，这与GO/KEGG富集的功能项目相一致。这些结果表明，这两种亚型在肿瘤进展、免疫调节和免疫微环境分化方面存在差异。因此，在临床实践中，由于CDKN2A在C1显著过表达，我们建议使用CDKN2A的表达作为区分两种亚型的标志。

我们在两个亚型之间的DEGs中寻找与预后相关的基因，经过回归分析，得到7个预后标志基因，即：*RARRES1*, *CXCL10*, *PI3*, *CXCL11*, *THEMIS2*, *GBP2*, *RPL39L*。WANG等[15]通过分析卵巢癌与正常组织间的DEGs，发现*RARRES1*是5个预后基因之一。CXCL10/CXCL11编码CXC亚家族的趋化因子，可诱导活化T细胞的趋化反应，增强T细胞的细胞毒性，并抑制血管生成。由这两种基因编码的蛋白质充当配体，并在与CXCR3的结合过程中刺激免疫细胞如单核细胞和T细胞的迁移[16]。研究[17]发现CXCL10/CXCL11在卵巢癌组织中显著过表达，并诱导免疫浸润，影响卵巢癌的进展，是免疫相关预后标记。PI3被确定为卵巢癌患者总生存期的独立预测因子[18]。THEMIS2与卵巢癌中的上皮间质转化相关，并且是卵巢癌的潜在治疗靶点[19]。研究还发现GBP2、RPL39L有助于预测卵巢癌预后[20-21]。虽然在我们的研究

中,这7个预后标记物不是独立的预测因子,但在所有三个数据集中,用这7个标记物构建的风险模型显示出对患者3年和5年生存率的良好预测性能。使用该模型计算的患者风险评分,当与患者年龄结合用于估计患者存活时间时产生良好的预测效果。我们根据风险评分对样本进行了分组,并获得了高/低风险组之间的DEGs。我们发现差异主要表现在趋化因子受体和配体的结合,以及细胞迁移。这表明两个风险组之间的免疫浸润有显著差异。相关性分析表明,部分基因(*RARRES1*, *CXCL10*, *CXCL11*, *GBP2*)与免疫细胞的表达显著相关。由这些基因编码的趋化因子在受体配体结合期间促进免疫细胞的迁移和分化。

然而,本研究仍存在一些局限性。首先,我们知道铜死亡相关基因是卵巢癌的靶点,但在这项研究中没有发现有用的途径靶点。其次,我们获得了与铜死亡相关的两个有用的亚型,对个体化治疗有意义。然而,在临床实践中区分这两种亚型仍然存在应用障碍。第三,虽然我们的预后模型在分析上是有效的,但其实用价值仍需通过临床试验来验证。第四,尽管我们的研究展示了良好的预测性能,并且结果具有较高的可靠性和稳定性,但我们认识到,进一步扩大临床试验和动物模型研究对确认这些基因在蛋白质水平上的表达将会更加全面。我们计划在未来研究中考虑这些额外的实验,以增强研究的可信度和全面性。

总之,铜死亡机制及其关键基因可能成为卵巢癌的治疗靶点,这些关键基因构建的铜死亡亚型为临床个体化治疗提供了理论依据。已经确定7个基因*RARRES1*、*CXCL10*、*PI3*、*CXCL11*、*THEMIS2*、*GBP2*、*RPL39L*对卵巢癌的预后具有预测能力。用这些基因构建的风险评分系统,结合年龄因素,可以准确预测生存率,具有较好的临床价值。

* * *

作者贡献声明 王慧敏负责论文构思、数据审编、经费获取、验证、初稿写作和审读与编辑写作,姜英负责正式分析和调查研究,陈金鑫负责软件和可视化,穆鹏负责研究方法和研究项目管理,张菁茹负责提供资源、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution WANG Huimin is responsible for conceptualization, data curation, funding acquisition, validation, writing--original draft, and writing--review and editing. JIANG Ying is responsible for formal analysis and investigation. CHEN Jinxin is responsible for software and visualization. MU Peng is responsible for methodology and project administration. ZHANG Jingru is responsible for resources, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

[1] TORRE L A, TRABERT B, DESANTIS C E, *et al*. Ovarian cancer statistics, 2018. CA Cancer J Clin, 2018, 68(4): 284-296. doi: 10.3322/caac.21456.

[2] GELISSEN J H, ADJEI N N, MCNAMARA B, *et al*. Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Ovarian Cancer. Ann Surg Oncol, 2023, 30(9): 5597-5609. doi: 10.1245/s10434-023-13757-0.

[3] ZHAO S, ZHANG X, GAO F, *et al*. Identification of copper metabolism-related subtypes and establishment of the prognostic model in ovarian cancer. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1145797. doi: 10.3389/fendo.2023.1145797.

[4] TANG D, CHEN X, KROEMER G. Cuproptosis: a copper-triggered modality of mitochondrial cell death. Cell Res, 2022, 32(5): 417-418. doi: 10.1038/s41422-022-00653-7.

[5] GUO F, YANG Z, KULBE H, *et al*. Inhibitory effect on ovarian cancer ALDH+ stem-like cells by Disulfiram and Copper treatment through ALDH and ROS modulation. Biomed Pharmacother, 2019, 118: 109371. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109371.

[6] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, *et al*. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. Science, 2022, 375(6586): 1254-1261. doi: 10.1126/science.abf0529.

[7] BIAN Z, FAN R, XIE L. A Novel Cuproptosis-Related Prognostic Gene Signature and Validation of Differential Expression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Genes (Basel), 2022, 13(5): 851. doi: 10.3390/genes13050851.

[8] LV H, LIU X, ZENG X, *et al*. Comprehensive Analysis of Cuproptosis-Related Genes in Immune Infiltration and Prognosis in Melanoma. Front Pharmacol, 2022, 13: 930041. doi: 10.3389/fphar.2022.930041.

[9] XU J, HU Z, CAO H, *et al*. Multi-omics pan-cancer study of cuproptosis core gene FDX1 and its role in kidney renal clear cell carcinoma. Front Immunol, 2022, 13: 981764. doi: 10.3389/fimmu.2022.981764.

[10] WANG H, YANG Z, HE X, *et al*. Cuproptosis related gene PDHB is identified as a biomarker inversely associated with the progression of clear cell renal cell carcinoma. BMC Cancer, 2023, 23(1): 804. doi: 10.1186/s12885-023-11324-0.

[11] GAO F, YUAN Y, DING Y, *et al*. DLAT as a Cuproptosis Promoter and a Molecular Target of Elesclomol in Hepatocellular Carcinoma. Curr Med Sci, 2023, 43(3): 526-538. doi: 10.1007/s11596-023-2755-0.

[12] SCHULZ V, BASU S, FREIBERT S A, *et al*. Functional spectrum and specificity of mitochondrial ferredoxins FDX1 and FDX2. Nat Chem Biol, 2023, 19(2): 206-217. doi: 10.1038/s41589-022-01159-4.

[13] WU C C, LI C J, LIN L T, *et al*. Cuproptosis-Related Gene FDX1 Identified as a Potential Target for Human Ovarian Aging. Reprod Sci, 2024, 31(12): 3929. doi: 10.1007/s43032-024-01573-0.

[14] PAIK E S, KIM T H, CHO Y J, *et al*. Preclinical assessment of the VEGFR inhibitor axitinib as a therapeutic agent for epithelial ovarian cancer. Sci Rep, 2020, 10(1): 4904. doi: 10.1038/s41598-020-61871-w.

[15] WANG R, YE X H, ZHAO X L, *et al*. Development of a five-gene signature as a novel prognostic marker in ovarian cancer. Neoplasma, 2019, 66(3): 343-349. doi: 10.4149/neo_2018_180705N447.

[16] ZHANG Y, CHEN Y, ZHANG L, *et al*. lncRNA CLRN1-AS1 reduces adhesion ability of human trophoblasts via CXCL10/CXCL11. Placenta, 2023, 140: 47-59. doi: 10.1016/j.placenta.2023.07.003.

[17] LI W, MA J A, SHENG X, *et al*. Screening of CXC chemokines in the microenvironment of ovarian cancer and the biological function of

CXCL10. World J Surg Oncol, 2021, 19(1): 329. doi: 10.1186/s12957-021-02440-x.

[18] LI Y, LI H, YANG B, *et al*. Clinical significance of PI3 and HLA-DOB as potential prognostic predicators for ovarian cancer. Transl Cancer Res, 2020, 9(2): 466-476. doi: 10.21037/tcr.2019.11.30.

[19] GAO Y, QI Y, SHEN Y, *et al*. Signatures of tumor-associated macrophages correlate with treatment response in ovarian cancer patients. Aging (Albany NY), 2024, 16(1): 207-225. doi: 10.18632/aging.205362.

[20] WANG X, WANG S S, ZHOU L, *et al*. A network-pathway based module identification for predicting the prognosis of ovarian cancer patients. J Ovarian Res, 2016, 9(1): 73. doi: 10.1186/s13048-016-0285-0.

[21] ROHOZINSKI J, ANDERSON M L, BROADDUS R E, *et al*. Spermatogenesis associated retrogenes are expressed in the human ovary and ovarian cancers. PLoS One, 2009, 4(3): e5064. doi: 10.1371/journal.pone.0005064.

（2025－04－05收稿, 2026－04－21修回）

编辑　汤　洁

开放获取　本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议（CC BY-NC 4.0），详细信息请访问https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/。

OPEN ACCESS　This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

© 2026《四川大学学报（医学版）》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*