·论著·

# 基于癌症基因组图谱数据库分析巨噬细胞相关风险评分模型在肺鳞状细胞癌研究中的应用

刀承欢[1],王嘉贺[1],杨银莉[2],潘战宇[2]
(1. 天津中医药大学中医学院,天津 301600;2. 天津医科大学肿瘤医院中西医结合科,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤防治重点实验室,天津 300060)

**摘要 目的** 构建巨噬细胞相关风险评分模型,探讨巨噬细胞对肺鳞状细胞癌(LUSC)生存期的影响。**方法** 在分子特征基因集数据库(MSigDB)和癌症基因组图谱(TCGA)数据库分别下载巨噬细胞和LUSC数据,筛选出差异表达的巨噬细胞相关基因,用Cox回归分析进一步构建风险评分模型,根据风险评分中位值将TCGA数据库中的LUSC分为高风险组和低风险组。采用Kaplan-Meier生存分析、受试者操作特征曲线、临床病例特征及免疫分析对预后模型进行评估。通过抗癌药物敏感性基因组学数据库确定抗癌药物敏感性和风险评分之间的关系。**结果** LUSC中共获得124个巨噬细胞相关基因,高风险组患者的总生存期更短,免疫抑制细胞浸润更重,鲁索利替尼、长春瑞滨、紫杉醇和索拉非尼在低风险组患者中疗效更好。LUSC患者的死亡率随着风险评分的降低而降低,*CSF2*和*EDN2*对总生存期有显著影响。**结论** 构建了用于预测LUSC预后的巨噬细胞基因风险评分模型,模型基因*CSF2*和*EDN2*可作为LUSC后续研究的潜在靶点。

**关键词** 肺鳞状细胞癌; 巨噬细胞; 预后预测; Cox模型; 免疫微环境
**中图分类号** R73 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)06-0486-07
**网络出版地址** https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250606.1518.018
**DOI:** 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.06.002

## Application of macrophage-related risk model analysis based on The Cancer Genome Atlas database in the study of lung squamous cell carcinoma

DAO Chenghuan[1], WANG Jiahe[1], YANG Yinli[2], PAN Zhanyu[2]
(1. College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301600, China; 2. Department of Integrative Oncology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China)

**Abstract Objective** To construct a macrophage-related risk assessment model, explore the impact of macrophages on the survival of patients with lung squamous cell carcinoma (LUSC), and predict immune status. **Methods** We downloaded the data of macrophages and LUSC from the Molecular Signatures DataBase (MSigDB) and The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, respectively, screened for differentially expressed macrophage-related genes, and constructed a risk score model using Cox regression analysis. Based on the median value of the risk score, LUSC in the TCGA database was divided into high- and low-risk groups. Kaplan-Meier analyses, receiver operating characteristic curve analyses, clinical case characteristics, and immune analyses were used to evaluate the prognostic model. Finally, we determined the relationship between anticancer drug sensitivity and the risk score using the Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC). **Results** A total of 124 macrophage-related genes were identified in LUSC. High-risk patients had shorter overall survival and higher infiltration of immunosuppressive cells. Ruxolitinib, vinorelbine, paclitaxel, and sorafenib seemingly exhibited better efficacy in low-risk patients.The mortality rate of LUSC patients decreasd with the reduction of risk scores, and *CSF2* and *EDN2* had a significant impact on overall survival. **Conclusion** In this study, we constructed a macrophage gene risk score model for predicting the prognosis of LUSC. The model genes *CSF2* and *END2* can be used as potential targets for subsequent studies of LUSC.

**Keywords** lung squamous cell carcinoma; macrophage; prognosis prediction; Cox model; immune microenvironment

**基金项目:** 国家自然科学基金(82274607);天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK·009A)
**作者简介:** 刀承欢(1999-),女,硕士研究生.
**通信作者:** 潘战宇,E-mail:s0010027@163.com
**收稿日期:** 2024-08-02
**网络出版时间:** 2025-06-09 14:11:19

肺癌的发病率和死亡率目前居全球首位。非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）约占所有肺癌的85%，肺腺癌（lung adenocarcinoma，LUAD）和肺鳞状细胞癌（lung squamous cell carcinoma，LUSC）是NSCLC的2种主要亚型。免疫治疗和靶向治疗是LUAD的主要治疗方法[1-2]，而约占NSCLC30%的LUSC目前却仍缺乏有效的治疗方法，且缺少预测性生物标志物。大多LUSC患者确诊较晚，预后较差[3]。肿瘤相关巨噬细胞（tumor-associated macrophage，TAM）是肿瘤微环境中含量最高的免疫细胞群，在调节肿瘤进展和治疗耐药性方面起关键作用[4]。TAM能够促进肿瘤生长、血管生成、基质重塑及肿瘤细胞侵袭和迁移[5]。TAM与LUSC的关系尚未明确，因此，本研究构建了用于预测LUSC预后的巨噬细胞基因风险评分模型，探讨了巨噬细胞对LUSC生存期的影响，以期为LUSC患者开发有效的预测性生物标志物。

## 1　材料与方法

### 1.1　数据收集和整理

由癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）数据库（https://gdc.cancer.gov/）下载501例LUSC患者和49例正常对照者的RNA测序表达谱和相应的临床信息。从中提取TPM格式数据，进行归一化处理$\log_2$（TPM+1），最终保留具有RNAseq数据和临床信息的样本。使用R软件“edgeR”包进行差异表达基因（differential expressed gene，DEG）分析，以$P<0.05$和$|\log_2 FC|>1$作为阈值[6]。为了研究LUSC中巨噬细胞相关的生物学特征，以“巨噬细胞”为关键词，C5-Gene Ontology作为过滤条件，检索分子特征数据库（The Molecular Signatures Database，MSigDB，https://www.gseamsigdb.org/gsea/msigdb/index.jsp），收集了40个巨噬细胞相关基因（macrophage associated gene，MAG）集，共包含284个MAG[7]。

从TIMER2.0数据库（http://timer.cistrome.org/infiltration estimate for tcga.csv.gz）基因表达谱中下载22个浸润免疫细胞的绝对分数[8]。从TCGA得到LUSC患者体细胞突变信息库。使用R软件“maftools”包计算每个样本的体细胞非同义点突变数[9]。使用在线Venn工具（https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/）绘制可视化Venn图。为了更好地了解基因的致癌作用，利用R软件“ClusterProfiler”包对交集基因进行基因本体（Gene Ontology，GO）功能、京都基因和基因组数据库（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）通路富集分析[10]。

### 1.2　风险评分模型构建与评估

采用单因素Cox回归分析探讨交集基因对LUSC患者生存率的影响，进一步使用多因素Cox回归分析缩小候选基因的范围，以构建最优风险模型。最终计算每位患者的风险评分。风险评分=$\sum_{n=1}^{2}\beta i\times Ei$，其中βi为风险系数，Ei为各基因的表达量。根据风险评分中位数将LUSC患者分为低风险组和高风险组。采用Kaplan-Meier生存分析“survival”和“survminer”包，探讨生存时间与风险评分之间的相关性。采用“ggplot2”软件包进行主成分分析（principal component analysis，PCA）[11]，对不同风险组的分离模式进行可视化。

### 1.3　风险评分模型评估

通过单因素和多因素Cox回归分析预后信息，并基于Kaplan-Meier生存分析方法分析风险评分与生存时间的关系，绘制生存曲线。采用R软件“timeROC”包进行受试者操作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线评估模型的特异度和灵敏度[12]。

### 1.4　免疫分析

使用CIBERSORT算法计算LUSC患者免疫相关细胞的富集分数，比较高、低风险组22种免疫细胞浸润水平的差异；采用Wilcoxon秩和检验计算2组间肿瘤突变负荷（tumor mutation burden，TMB）的差异；使用“oncoppredict”包进行药敏预测[13]。为了验证模型的预后价值，用IMvigor210模型进行评估，IMvigor210数据通过R软件“Core Biologies”包下载。分析风险评分与免疫调节剂和免疫细胞之间的关系，通过文献检索，筛选出47个基因作为免疫检查点相关转录本，利用R软件“ggplot2”包提取其表达值并进行分析[14]。

## 2　结果

### 2.1　DEG鉴定和基因集富集分析

对原始数据集进行预处理后，在TCGA-LUSC数据集中，LUSC组与对照组间共发现11 313个DEG。其中，6 979个基因表达上调，4 338个基因表达下调。使

用Venn工具鉴定出DEG和MAG之间存在124个交集基因（图1）。KEGG和GO富集分析表明，这些DEG参与细胞周期、含胶原的细胞外基质、细胞衰老等多种生物学途径；KEGG和GO富集分析表明，这些交集基因参与炎症反应、蛋白结合、癌症途径、细胞因子与细胞因子受体结合等多种生物学途径（图2）。

2.2　预后模型的构建与评估（图3）

采用单因素Cox回归对交集基因进行筛选，共有17个基因为与总生存期相关的基因。通过多因素Cox回归分析构建基于交集基因的风险评分模型。该模型可输出每位患者的风险评分，计算公式如下：风险评分=−0.007 8×EDN2+0.167 9×CSF2。根据上述公式计算的中位风险评分，将LUSC患者分为高风险组和低风险组，比较不同风险评分值的LUSC患者的总生存率，结果显示，高风险组患者的生存率低于低风险组患者，LUSC患者的死亡率随着风险评分的降低而降低，*CSF2*和*EDN2*对总生存期有显著影响。该模型还可提供有价值的分类评估工具，有助于临床治疗决策。另外，该模型还能利用PCA对不同风险组的分离模式进行可视化分析。

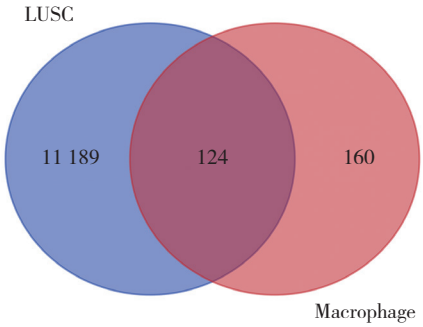
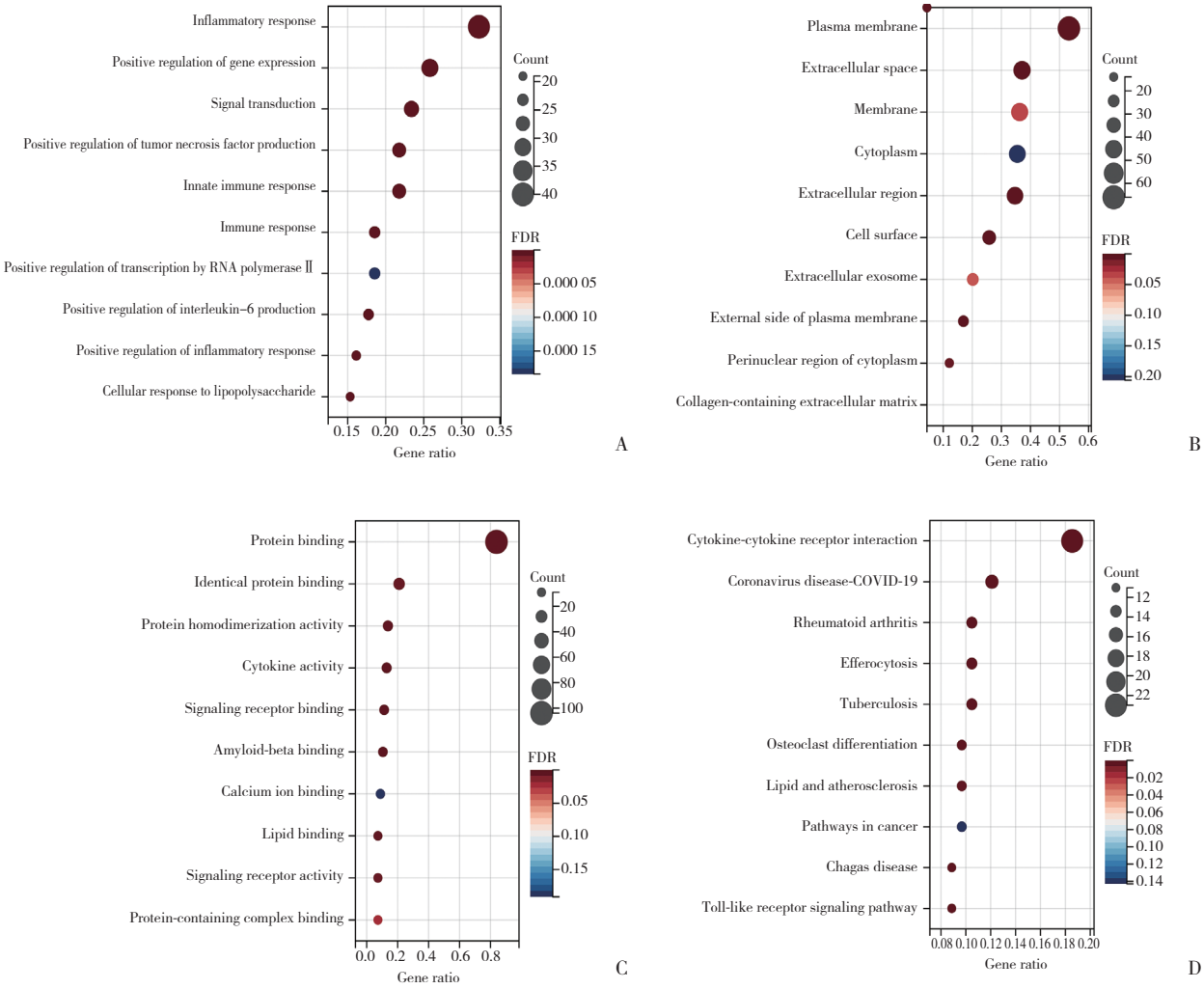



图1　LUSC和巨噬细胞相关基因的Venn图

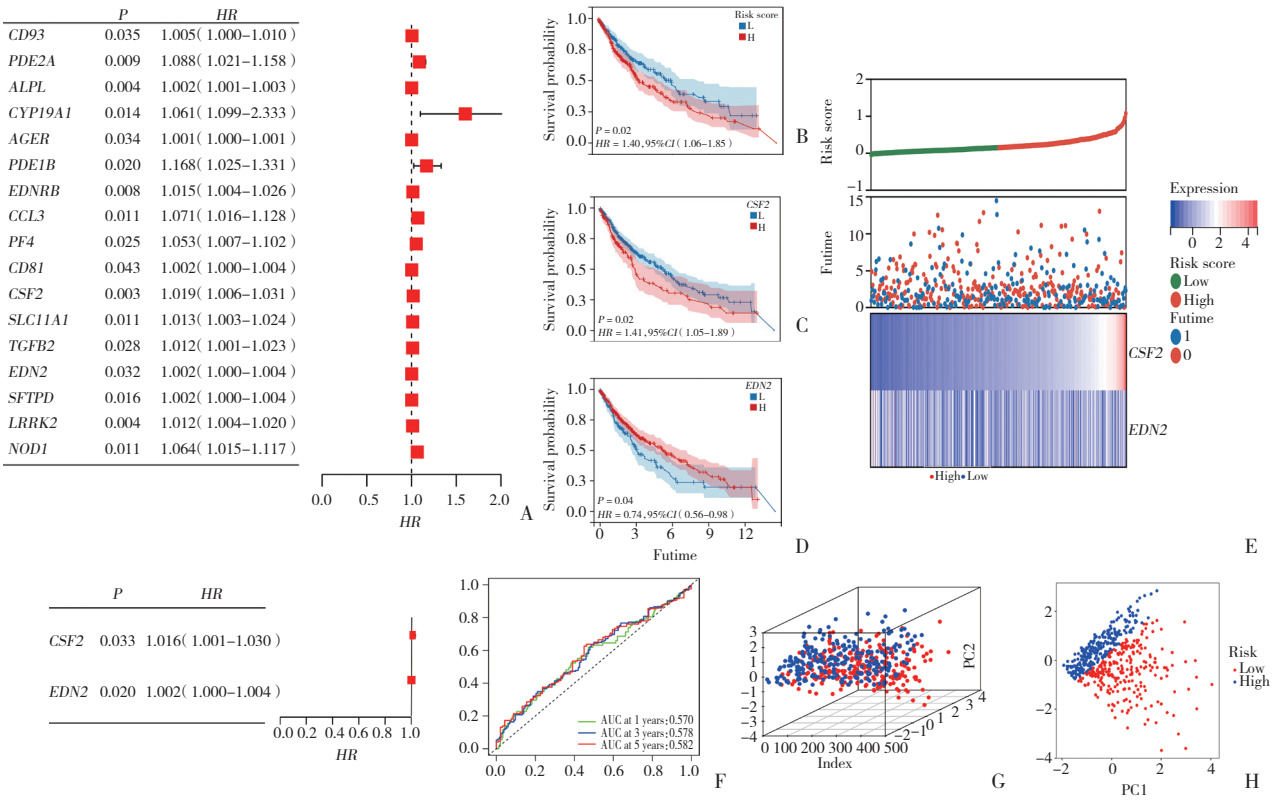
Fig.1　Venn diagram of LUSC and macrophage associated genes




A，biological process；B，cellular component；C，molecular function；D，KEGG.

图2　124个交集基因的GO分析和KEGG分析

Fig.2　GO analysis and KEGG analysis of 124 intersection genes




A, univariate Cox analysis of intersection genes; B to D, survival curves of risk score, *CSF2*, *EDN2*; E, model gene, risk score and survival time, survival status of the risk triple plot; F, multivariate Cox analysis of intersection genes; G, ROC curve of risk score at 1, 3, 5 years; H, principal component analysis diagram of high-risk group (left) and low-risk group (right).

**图3　模型基因的构建和验证**

Fig.3　Construction and validation of model genes

对临床信息进行单因素和多因素Cox回归分析，以确定风险评分是否为独立的预后影响因素。单因素Cox回归分析显示，与其他特征相比，风险评分是一个危险因素（*HR*=2.689，95%*CI*：1.298~8.832，*P* = 0.008）。在校正其他混杂因素后，多因素分析还表明风险评分仍然是LUSC患者的独立预后因素（*HR*=2.586，95%*CI*：1.250~5.348，*P* = 0.010）。

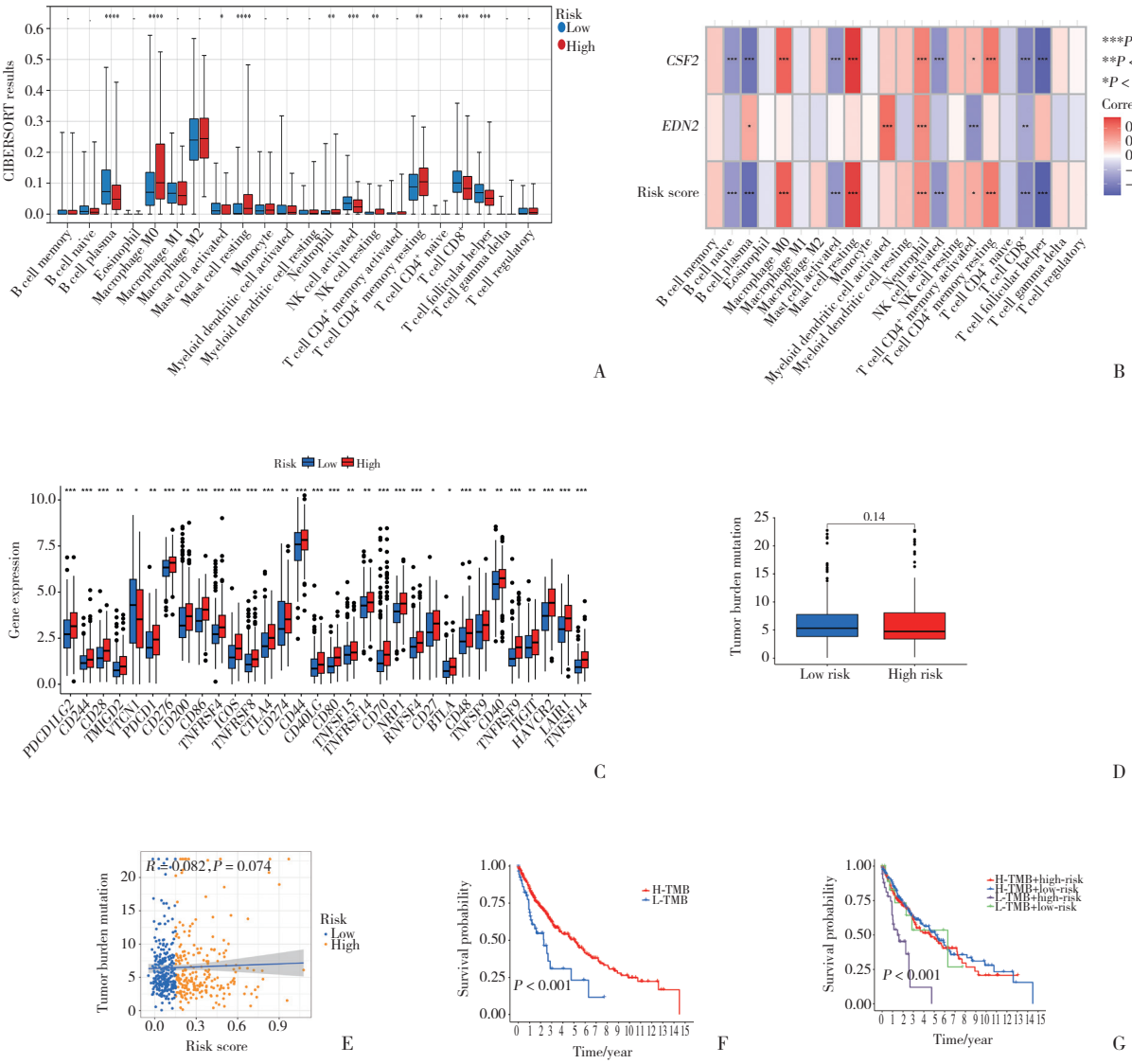
## 2.3　基于模型基因的肿瘤微环境剖析

使用CIBERSORT算法计算免疫相关细胞的富集分数，结果（图4A）显示，高风险组患者免疫评分高于低风险组患者，免疫细胞浸润明显增加。低风险组患者CD8效应B细胞和活化的肥大细胞富集。相反，静息记忆CD4$^+$T细胞在高风险组患者中富集。模型基因与免疫评分的相关性分析显示，*CSF2*与B细胞显著相关，*END2*与骨髓树突状细胞显著相关（图4B）。除*VTCN1*外，高风险组免疫检查点基因的表达均高于低风险组（图4C）。

基于风险评分定量分析高、低风险组的TMB值，结果显示，TMB在高、低风险组间无显著差异（*P* = 0.14），且与风险评分呈负相关（图4D、4E）。但高TMB患者表现出令人满意的生存获益（图4F）。

生存曲线分析结果表明，低风险评分和高TMB与较长的生存期相关（图4G）。高风险组和低风险组对CTLA4和PDL1免疫治疗的反应无显著差异（图5A~5D）。进一步分析抗癌药物敏感性和风险评分之间的联系，结果显示，鲁索利替尼、长春瑞滨、紫杉醇和索拉非尼在低风险组的半抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，$IC_{50}$）值较低，且与风险评分呈正相关（图5E~5G），提示这些药物在低风险评分的LUSC患者中可能疗效更好。

为了验证模型的预后价值，使用了IMvigor210模型进行评估，结果发现大多数低表达水平免疫检查点相关基因与低风险评分组的最佳生存预期相关，但除*CD274*、*HHLA*、*NRP1*、*TNFRSF8*外，其表达水平降低在高风险组和不良结局之间显著相关。




A, boxplots of enrichment scores of immune related cells; B, heatmap of correlation between model genes and immune score; C, boxplots of immune checkpoint gene expression in high-risk and low-risk groups; D, E, boxplots of differences in immune mutation burden scores between high-risk and low-risk groups and their correlations; F, Kaplan-Meier curve of immune mutation burden score and overall survival time; G, Kaplan-Meier curve of immune mutation burden score combined with risk score.

**图4　高、低风险组之间的免疫浸润**

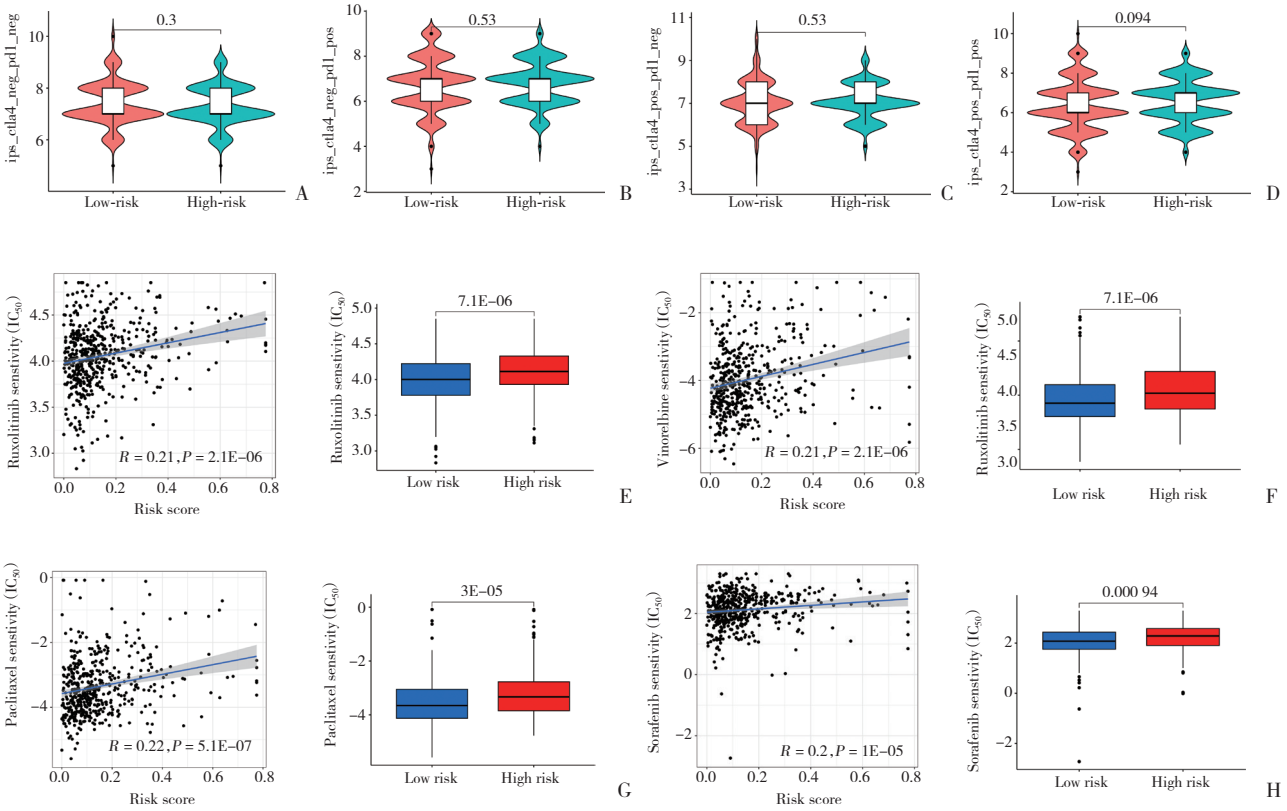
Fig.4　Immune infiltration between high-risk and low-risk groups

## 3　讨论

巨噬细胞与恶性肿瘤的发展和转移有关[5]。本研究创建了1个包含2个MAG（*CSF2*、*END2*）的风险预后模型，该模型具有较高的灵敏度和特异度（1、3、5年ROC曲线AUC分别为0.570、0.578、0.580），可预测LUSC患者的总生存率。CSF2参与NSCLC细胞自分泌调节[15]，其上调可诱导间充质干细胞向促癌表型转变，从而促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭[16]；在适当的刺激下，CSF2可由多种非免疫细胞分泌，并以自分泌或旁分泌方式调节肿瘤细胞（如人黑色素瘤、皮肤癌和结直肠癌）的生长、侵袭和迁移[17-19]。END2能与ETAR和ETBR受体结合[20]，激活核因子κB、表皮生长因子受体、血管上皮生长因子受体通路，而这些信号通路在肿瘤的发生、发展中起核心作用[21-23]。

肿瘤细胞能够通过肿瘤微环境逃避免疫监视和药物干扰[24]。肿瘤微环境通过抑制免疫系统靶向肿瘤细胞的能力，促进肿瘤细胞存活。研究[25]表明，高危人群免疫检查点和抗肿瘤浸润性免疫细胞

的表达水平降低，免疫功能普遍受损。本研究结果发现，LUSC可通过抑制免疫系统靶向肿瘤细胞的能力支持肿瘤微环境，促进肿瘤细胞存活。本研究结果表明，风险评分与活化的肥大细胞的富集呈负相关，LUSC肿瘤内肥大细胞密度升高与微血管密度正相关，且肿瘤内肥大细胞密度高的患者总生存期延长；而现有的部分研究[26]显示肥大细胞浸润与NSCLC不良预后相关，可能与促血管生成因子释放有关。静息记忆CD4$^+$T细胞是适应性免疫的重要组成部分，具有长寿命、低分化和高反应性特征[27]，本研究发现，风险评分与静息记忆CD4$^+$T细胞的富集呈正相关。然而，肿瘤异质性和免疫抑制微环境限制了现有治疗方法的普适性，仅少数小细胞肺癌患者因*ZFHX3*突变表现出高免疫浸润，可能从免疫治疗中获益。此外，本研究还发现，高风险组患者对鲁索利替尼、长春瑞滨、紫杉醇和索拉非尼的$IC_{50}$值较高，这可能是高风险组患者对LUSC化疗药物有耐药性且预后不良的原因。




A to D, violin plot of CTLA4 and PDL1 treatment response in high-risk and low-risk groups; E to H, drug sensitivity analysis of ruxolitinib, vinorelbine, paclitaxel, and sorafenib.

**图5　基于风险评分的免疫治疗反应及药敏预测**

Fig.5　Prediction of immunotherapy response and drug sensitivity based on risk score

本研究建立的风险评分模型表现良好，但仍有需改进之处：回顾性招募患者可能存在一定程度的偏差；缺乏对LUSC细胞中EDN2生物学功能的深入研究，有待进一步的实验研究；需要大样本、高质量、全面的后续多中心随机对照试验进一步确认。

综上所述，本研究成功筛选出2个与LUSC预后密切相关的基因*CSF2*和*END2*，并构建了巨噬细胞相关的风险评分模型，利用该模型可有效预测LUSC患者的总体生存期，也可有效预测患者的免疫状态，为LUSC的分子靶向治疗提供了新的潜在靶点。

**参考文献：**

[1] SIEGEL RL, GIAQUINTO AN, JEMAL A. Cancer statistics, 2024 [J]. CA A Cancer J Clinicians, 2024, 74 (1): 12-49. DOI: 10.3322/caac.21820.

[2] WANG WW, LI JY, QIE XW. Comprehensive utilization of in silico approach and in vitro experiment to unveil the molecular mechanisms

of mono (2-ethylhexyl) phthalate-induced lung adenocarcinoma [J]. Bioorg Chem, 2024, 153: 107947. DOI: 10.1016/j.bioorg.2024.107947.

[3] QIANG HP, LI JQ, CHANG Q, et al. Mining GEO and TCGA database for immune microenvironment of lung squamous cell carcinoma patients with or without chemotherapy [J]. Front Oncol, 2022, 12: 835225. DOI: 10.3389/fonc.2022.835225.

[4] CHEN SY, WANG MN, LU TQ, et al. JMJD6 in tumor-associated macrophage regulates macrophage polarization and cancer progression via STAT3/IL-10 axis [J]. Oncogene, 2023, 42 (37): 2737-2750. DOI: 10.1038/s41388-023-02781-9.

[5] PAN YY, YU YD, WANG XJ, et al. Tumor-associated macrophages in tumor immunity [J]. Front Immunol, 2020, 11: 583084. DOI: 10.3389/fimmu.2020.583084.

[6] SMYTH GK, MICHAUD J, SCOTT HS. Use of within-array replicate spots for assessing differential expression in microarray experiments [J]. Bioinformatics, 2005, 21 (9): 2067-2075. DOI: 10.1093/bioinformatics/bti270.

[7] LIU YY, LU TY, LIU ZQ, et al. Six macrophage-associated genes in synovium constitute a novel diagnostic signature for osteoarthritis [J]. Front Immunol, 2022, 13: 936606. DOI: 10.3389/fimmu.2022.936606.

[8] LI TW, FU JX, ZENG ZX, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells [J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48 (W1): W509-W514. DOI: 10.1093/nar/gkaa407.

[9] FARAH CS, SHEARSTON K, MELTON PE, et al. Genome-wide characterization of the mutational landscape of proliferative verrucous leukoplakia [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2024, 138 (1): 99-111. DOI: 10.1016/j.oooo.2024.04.005.

[10] CHEN FH, WANG YP, ZHANG XL, et al. Five hub genes contributing to the oncogenesis and trastuzumab-resistance in gastric cancer [J]. Gene, 2023, 851: 146942. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146942.

[11] ZOU YT, XIE JD, ZHENG SQ, et al. Leveraging diverse cell-death patterns to predict the prognosis and drug sensitivity of triple-negative breast cancer patients after surgery [J]. Int J Surg, 2022, 107: 106936. DOI: 10.1016/j.ijsu.2022.106936.

[12] BLANCHE P, DARTIGUES JF, JACQMIN-GADDA H. Estimating and comparing time-dependent areas under receiver operating characteristic curves for censored event times with competing risks [J]. Stat Med, 2013, 32 (30): 5381-5397. DOI: 10.1002/sim.5958.

[13] MAESER D, GRUENER RF, HUANG RS. OncoPredict: an R package for predicting in vivo or cancer patient drug response and biomarkers from cell line screening data [J]. Brief Bioinform, 2021, 22 (6): bbab260. DOI: 10.1093/bib/bbab260.

[14] ZOU YT, ZOU X, ZHENG SQ, et al. Efficacy and predictive factors of immune checkpoint inhibitors in metastatic breast cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Ther Adv Med Oncol, 2020, 12: 1758835920940928. DOI: 10.1177/1758835920940928.

[15] LAMMEL V, STOECKLE C, PADBERG B, et al. Hypereosinophilia driven by GM-CSF in large-cell carcinoma of the lung [J]. Lung Cancer, 2012, 76 (3): 493-495. DOI: 10.1016/j.lungcan.2012.02.014.

[16] JI RB, WU CX, YAO J, et al. IGF2BP2-meidated m6A modification of CSF2 reprograms MSC to promote gastric cancer progression [J]. Cell Death Dis, 2023, 14 (10): 693. DOI: 10.1038/s41419-023-06163-7.

[17] WU LX, GU LN, ZHENG Y, et al. CircPRKCA facilitates esophageal squamous cell carcinoma metastasis via m5C-dependent CSF2 mRNA stabilization [J]. J Transl Med, 2025, 23 (1): 385. DOI: 10.1186/s12967-025-06395-5.

[18] CHANG XX, ZHENG B, GUO Y, et al. Bound polyphenols in insoluble dietary fiber of navel orange peel modulate LPS-induced intestinal-like co-culture inflammation through CSF2-mediated NF-κB/JAK-STAT pathway [J]. Food Funct, 2024, 15 (11): 5942-5954. DOI: 10.1039/d3fo05579e.

[19] CHEN YC, ZHENG WZ, LIU CP, et al. Pan-cancer analysis reveals CCL5/CSF2 as potential predictive biomarkers for immune checkpoint inhibitors [J]. Cancer Cell Int, 2024, 24 (1): 311. DOI: 10.1186/s12935-024-03496-x.

[20] DAVENPORT AP, HYNDMAN KA, DHAUN N, et al. Endothelin [J]. Pharmacol Rev, 2016, 68 (2): 357-418. DOI: 10.1124/pr.115.011833.

[21] SPINELLA F, CAPRARA V, DI CASTRO V, et al. Retraction note: endothelin-1 induces the transactivation of vascular endothelial growth factor receptor-3 and modulates cell migration and vasculogenic mimicry in melanoma cells [J]. J Mol Med, 2024, 102 (11): 1411. DOI: 10.1007/s00109-024-02484-y.

[22] 刘邦卿, 李剑锋, 刘晓辉, 等. 血清糖蛋白非转移性黑色素瘤蛋白B对表皮生长因子受体扩增伴随突变的非小细胞肺癌预后的预测作用 [J]. 中国医科大学学报, 2024, 53 (2): 127-131. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.02.006.

[23] NELSON J, BAGNATO A, BATTISTINI B, et al. The endothelin axis: emerging role in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3 (2): 110-116. DOI: 10.1038/nrc990.

[24] ZOU YT, ZHENG SQ, DENG XP, et al. The role of circular RNA CDR1as/ciRS-7 in regulating tumor microenvironment: a pan-cancer analysis [J]. Biomolecules, 2019, 9 (9): 429. DOI: 10.3390/biom9090429.

[25] ZOU YT, HU XQ, ZHENG SQ, et al. Discordance of immunotherapy response predictive biomarkers between primary lesions and paired metastases in tumours: a systematic review and meta-analysis [J]. EBioMedicine, 2021, 63: 103137. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103137.

[26] QIU ZJ, PANG GC, XU X, et al. Characteristics of mast cell infiltration in lung adenocarcinoma and its impact on prognosis [J]. Discov Oncol, 2024, 15 (1): 208. DOI: 10.1007/s12672-024-01062-5.

[27] 周超, 施晓倩, 洪涵涵, 等. 基于癌症基因组图谱肺鳞状细胞癌免疫细胞浸润图景及预后分析 [J]. 第二军医大学学报, 2021, 42 (4): 391-398. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2021.04.0391.

（编辑　王又冬）