DOI:10.16016/j.2097-0927.202207110

头颈鳞状细胞癌自噬相关基因预后风险评分模型构建及验证

陈思霖,李 谦,王刘倩,张 已,周雪琴,张 焱,邓安春 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院耳鼻咽喉头颈外科

[摘要] **目的** 构建并验证一种头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma,HNSCC)自噬相关基因预后风险评分模型。**方法** 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)数据库下载全部 HNSCC 转录组表达数据(RNA sequencing,RNA-seq)及临床信息,筛选出差异表达基因,与 GeneCards 数据库检索的自噬相关基因(autophagy related genes,ARGs)取交集,得到差异表达的 ARGs,整合临床信息后经预后分析获得预后相关的 ARGs,再对其富集分析。应用套索(the least absolute shrinkage and selection operator,LASSO)回归和 Cox 回归模型构建一种用于预测 HNSCC 预后及生存情况的风险评分模型;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,计算曲线下面积(area under the curve, AUC)及最佳截断(cut-off)值,并以最佳 cut-off 值将患者分为高、低风险评分组;绘制 Kaplan-Meier 生存曲线评价该模型的预测性能;将临床信息与风险评分对应整合,再次利用 Cox 回归分析评价风险评分的独立预后价值。**结果** 通过对差异表达的 ARGs 进行预后分析初筛出 20 个与预后相关的 ARGs,再应用 LASSO 回归和 Cox 回归分析获得 9 个与预后显著相关的 ARGs,以此构建 HNSCC 的预后风险评分模型。ROC 曲线及 Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,低风险评分组生存时间优于高风险评分组,两组生存时间差异有统计学意义($P<0.001$),且该模型在训练集(AUC 最大值为 0.69)与外部验证集(AUC 最大值为 0.822)中均展现出良好的预测性能。纳入临床信息后,对风险评分进行 Cox 回归分析,提示其与 HNSCC 患者预后显著相关($P<0.001$),表明风险评分对 HNSCC 具有独立预后价值。**结论** 由 9 个 ARGs 组成的 HNSCC 风险评分模型,可有效预测 HNSCC 患者的预后情况。

[关键词] 自噬相关基因;头颈鳞状细胞癌;癌症基因组图谱数据库;风险评分

[中图法分类号] R319; R730.7; R739.91 [文献标志码] A

Construction and validation of prognostic risk score model based on autophagy-related genes for head and neck squamous cell carcinoma

CHEN Silin, LI Qian, WANG Liuqian, ZHANG Yi, ZHOU Xueqin, ZHANG Yan, DENG Anchun Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To construct and validate a prognostic risk-scoring model based on autophagy-related genes for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). **Methods** All HNSCC transcriptome expression data (RNA sequencing, RNA-seq) and clinical information downloaded from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database, and differentially expressed genes were screened. These differentially expressed genes of HNSCC were intersected with autophagy related genes (ARGs) retrieved from the GeneCards database to obtain differentially expressed ARGs. After integrating clinical information, prognostic ARGs were obtained by prognostic analysis, and then enrichment analysis was performed. The least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression and Cox regression model were used to construct a risk scoring model for predicting the prognosis and survival of HNSCC. The receiver operating characteristic (ROC) curve was

[基金项目] 电磁辐射医学防护教育部重点实验室开放课题(2020DCKF004)

[通信作者] 邓安春,E-mail:260019300@qq.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

drawn, the area under the curve (AUC) and the best cut-off value were calculated, and the patients were divided into the high- and low-risk score groups with the best cut-off value. Kaplan-Meier survival curve was drawn to assess the predictive performance of the model. The clinical information was integrated with the risk score, and the independent prognostic value of the risk score was evaluated by Cox regression analysis. **Results** The prognostic risk score model of HNSCC was constructed based on the 9 ARGs significantly related to prognosis were obtained by LASSO regression and Cox regression analysis through the prognostic analysis for differentially expressed ARGs which screened 20 ARGs related to prognosis. The survival time of the low-risk score group was better than that of the high risk score group, and the survival time of the two groups was significantly different ($P<0.001$), according to ROC curve and Kaplan-Meier survival curve. The model showed good prediction performance in both the training set (the maximum AUC, 0.69) and the external validation set (the maximum AUC, 0.822). Cox regression analysis showed that the risk score was significantly correlated with the prognosis of HNSCC patients ($P<0.001$), indicating that the risk score had independent prognostic value for HNSCC. **Conclusion** The HNSCC risk scoring model composed of 9 ARGs can effectively predict the prognosis of patients with HNSCC.

[**Key words**] autophagy-related genes; head and neck squamous cell carcinoma; cancer genome map database; risk score

Supported by the Open Project of Key Laboratory of Electromagnetic Radiation Medical Protection of Ministry of Education (2020DCKF004). Corresponding author: DENG Anchun, E-mail:260019300@qq.com

头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma,HNSCC)是起源于口腔、咽部和喉部的一组异质性肿瘤,作为最常见的恶性肿瘤之一,全球每年有约60万新病例被确诊[1]。虽然头颈鳞状细胞癌早期诊断技术及综合治疗方案(包括手术切除、放疗和化疗)在不断发展,仍有不少患者初诊晚期且预后不良[2]。寻找HNSCC中与疾病相关的预后标志物,有助于优化早期诊断技术,发展新的治疗方法,提高患者的生存率。

自噬是细胞在自噬相关基因的调控下,通过形成自噬体,并与溶酶体相融合,最终利用溶酶体降解其捕获的蛋白质或细胞器的过程,这一过程是实现细胞能量代谢、细胞器更新和细胞内稳态维持的关键[3]。自噬在多种恶性肿瘤的发生发展中发挥重要作用[4-6]。大量研究表明,在肿瘤发生的早期,自噬可以延缓或阻止肿瘤的形成;而在肿瘤晚期,自噬通过参与肿瘤细胞能量代谢,从而降低肿瘤细胞对放化疗的敏感性[7],如经自噬抑制剂处理的鼻咽癌细胞表现出对放疗增敏[8-9]。在顺铂抵抗的鼻咽癌细胞中,通过抑制自噬可以提升奈达铂的抗瘤效应[10-11]。近年来,基于多个自噬相关基因(autophagy related genes,ARGs)构建风险模型进行肿瘤预后预测得到了广泛关注,且研究表明其预测价值甚至优于恶性肿瘤TNM分期等国际认可的预测指标,但基于多个ARGs构建风险模型来预测HNSCC预后的研究还相对缺乏[12]。本研究通过TCGA、GeneCards数据库筛选对HNSCC有预后价值的ARGs,经过LASSO和Cox回归分析得到9个预后显著相关的ARGs用于构建HNSCC的预后风险评分模型,以期为HNSCC患者的早期诊断及治疗决策提供依据。

1 材料与方法

1.1 数据获取

GeneCards数据库(*https://www.genecards.org/*)是目前信息最全的人类基因综合数据库之一,从中检索"Autophagy"获得7 670个ARGs。TCGA数据库是由美国国家癌症研究所和美国人类基因组研究所合作建立的癌症基因数据库,包括转录组表达数据、基因组变异数据、临床数据等信息。通过TCGA数据库(*https://portal.gdc.cancer.gov/*)下载HNSCC转录组RNA-seq及临床数据,排除临床信息不完整的样本后,共获得501例样本的数据用于研究。从基因表达综合数据库(gene expression omnibus database, GEO)检索并下载GSE117973作为外部验证集。本研究所用数据都来自公共数据库,故无需伦理审批。

1.2 预后相关ARGs的筛选与富集分析

首先利用R语言中的"limma"软件包筛选出HNSCC的差异表达基因[筛选标准设定为矫正后P值(P-adjusted,P.adj)<0.05,$|\log2(\text{Fold Change})|>1$]并通过"ggplot2"及"pheatmap"软件包绘制火山图和热图用于差异基因可视化;通过"ggveen"软件包将筛选出的差异基因与GeneCards数据库中检索的ARGs取

交集,获得差异表达的 ARGs;再将差异表达的 ARGs 表达量与样本生存状态及生存时间对应整合,经预后分析初筛出对 HNSCC 有预后价值的 ARGs(P<0.05)。最后利用“clusterProfiler”、“enrichplot”等软件包对预后相关 ARGs 进行基因本体功能(Gene Ontology, GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书通路(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway, KEGG)分析与可视化。

1.3 构建预后风险评分模型

将预后相关 ARGs 的表达量与 HNSCC 患者的临床信息对应整合,去除临床信息不完整的样本后,得到 501 例 HNSCC 样本纳入 LASSO 及 Cox 回归分析,并通过 R 语言中的“forestplot”软件包绘制森林图。为了降低用于建模的基因过度拟合,利用“glmnet”软件包,对经单因素 Cox 回归筛选出的 ARGs 进行 LASSO 回归分析,排除回归系数(regression coefficient, Coef)为 0 的基因后进行多因素 Cox 回归分析,最终得到与预后显著相关的 ARGs,并计算出每位患者的风险评分(Risk Score)。

$$\text{Risk Score}=\sum_{i=1}^{n} Coef(i)\times m(i)$$

n:与预后显著相关的 ARGs 总数,Coef:基因在多因素 Cox 回归中的回归系数,m:每个基因的表达量。以此构建最终的预后风险评分模型。利用“pROC”软件包绘制 ROC 曲线,并计算 AUC 及最佳 cut-off 值,以此将样本分为高、低风险评分组。

1.4 评价预后风险模型及构建列线图

按最佳 cut-off 值将 501 例 HNSCC 患者分为高、低风险评分组,通过“pheatmap”软件包分别绘制高、低风险评分组风险曲线图、生存状况图及用于建模的预后显著相关 ARGs 表达量热图;再利用“survival”、“survminer”等软件包绘制 Kaplan-Meier 生存曲线比较两组的生存概率。最后通过对风险评分进行 Cox 回归分析,验证该模型对 HNSCC 患者的独立预后价值;加载“survival”、“rms”软件包,绘制列线图(nomogram),用来整合多个预测指标,以推测患者未来 1、3、5 年的生存率。

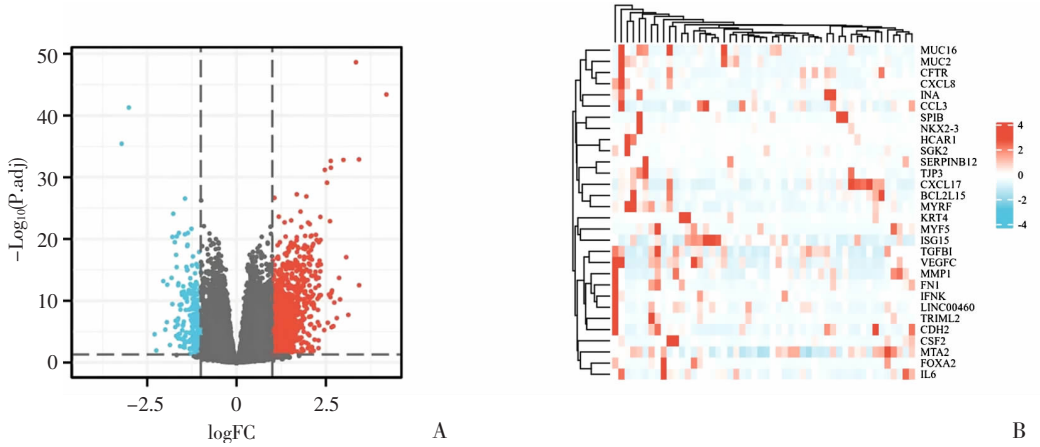
1.5 验证预后风险评分模型

在 GEO 数据库选取 GSE117973 作为独立外部验证数据集,利用上述相同的风险评分公式计算每个样本的风险评分,并通过 ROC 曲线确定 AUC 及最佳 cut-off 值进行高、低风险评分分组,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线以验证预后风险评分模型的预测性能。

2 结果

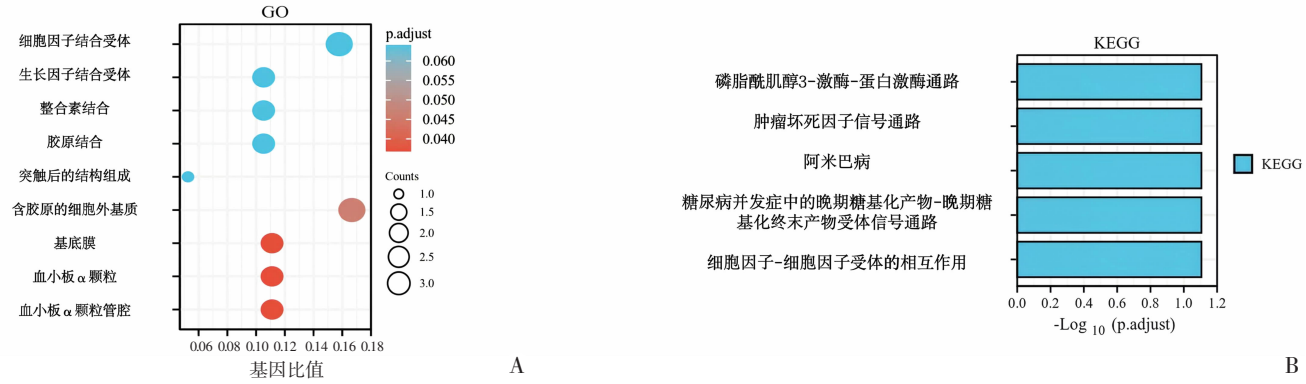
2.1 筛选预后相关 ARGs 及功能富集分析

通过 TCGA 数据库下载全部 RNA-seq 数据,以 P. adj<0.05、|log2FC|>1 为筛选标准,筛选出 1 266 个差异基因(包括 1 012 个上调基因和 254 个下调基因),并绘制火山图(图 1A)和热图(图 1B)用于差异基因可视化。将上述 1 266 个差异基因与从 GeneCards 数据库中收集到的 7 670 个自噬相关基因取交集后获得 140 个差异表达的 ARGs(包括 104 个上调基因和 36 个下调基因),再对这 140 个差异表达的 ARGs 进行预后分析,最终筛选出 20 个与预后相关的 ARGs(*FOXA2*、*IFNK*、*MYF5*、*FN1*、*MT2A*、*TGFBI*、*CSF2*、*VEGFC*、*LINC00460*、*TRIML2*、*SERPINB12*、*HCAR1*、*BCL2L15*、*SGK2*、*CXCL17*、*INA*、*SPIB*、*MUC16*、*TJP3*、*NKX2-3*,P<0.05)。对这 20 个 ARGs 进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析,GO 功能富集主要富集在调控细胞因子受体结合、调控生长因子受体结合、调控突触后结构组成、调控基底膜等(图 2A);KEGG 通路主要富集在磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、细胞因子受体相互作用等(图 2B)。



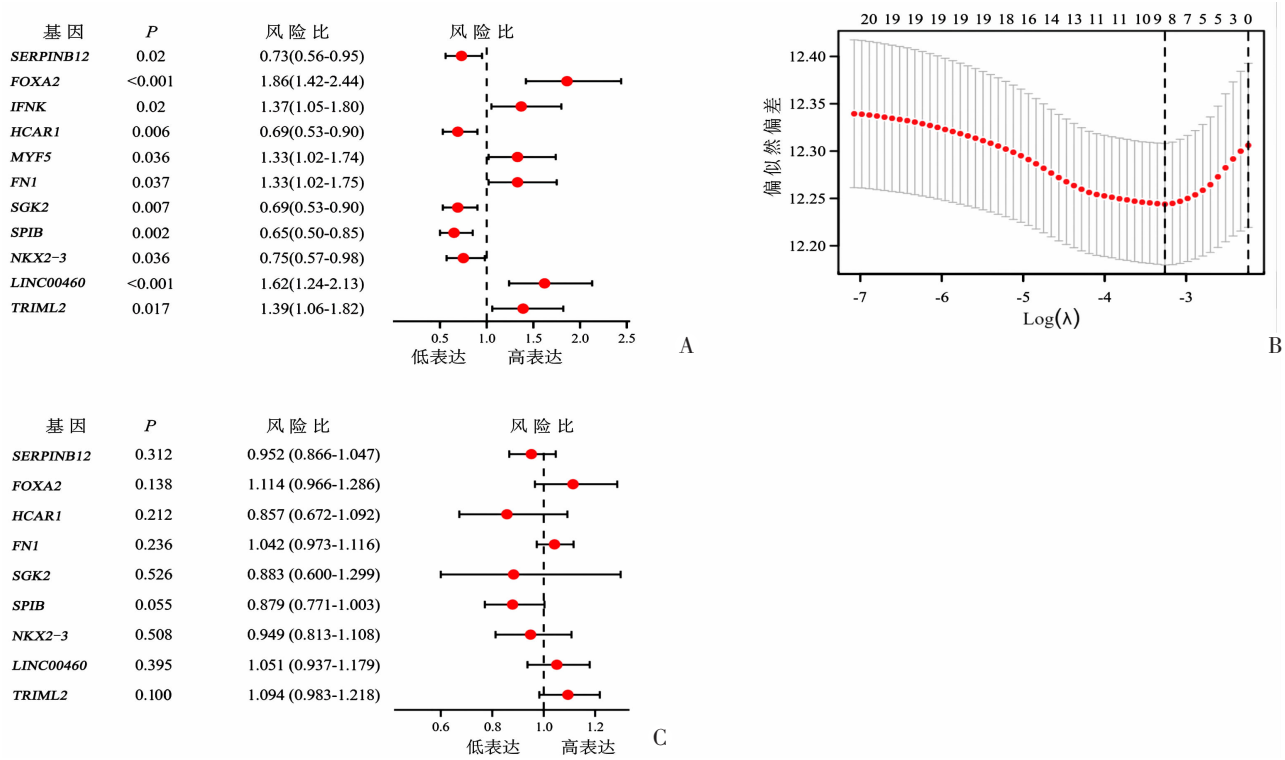
A:差异表达基因火山图;B:差异表达基因表达热图

图 1 HNSCC 的差异表达基因差异分析及可视化



A:GO 富集分析;B:KEGG 通路富集分析

图 2 预后相关 ARGs 功能富集分析



A:单因素 Cox 分析森林图;B:LASSO 回归;C:多因素 Cox 分析森林图(预后相关 ARGs 经 LASSO 及单多因素 Cox 回归分析筛选出最佳建模基因用于模型构建)

图 3 最佳建模基因的筛选及模型构建

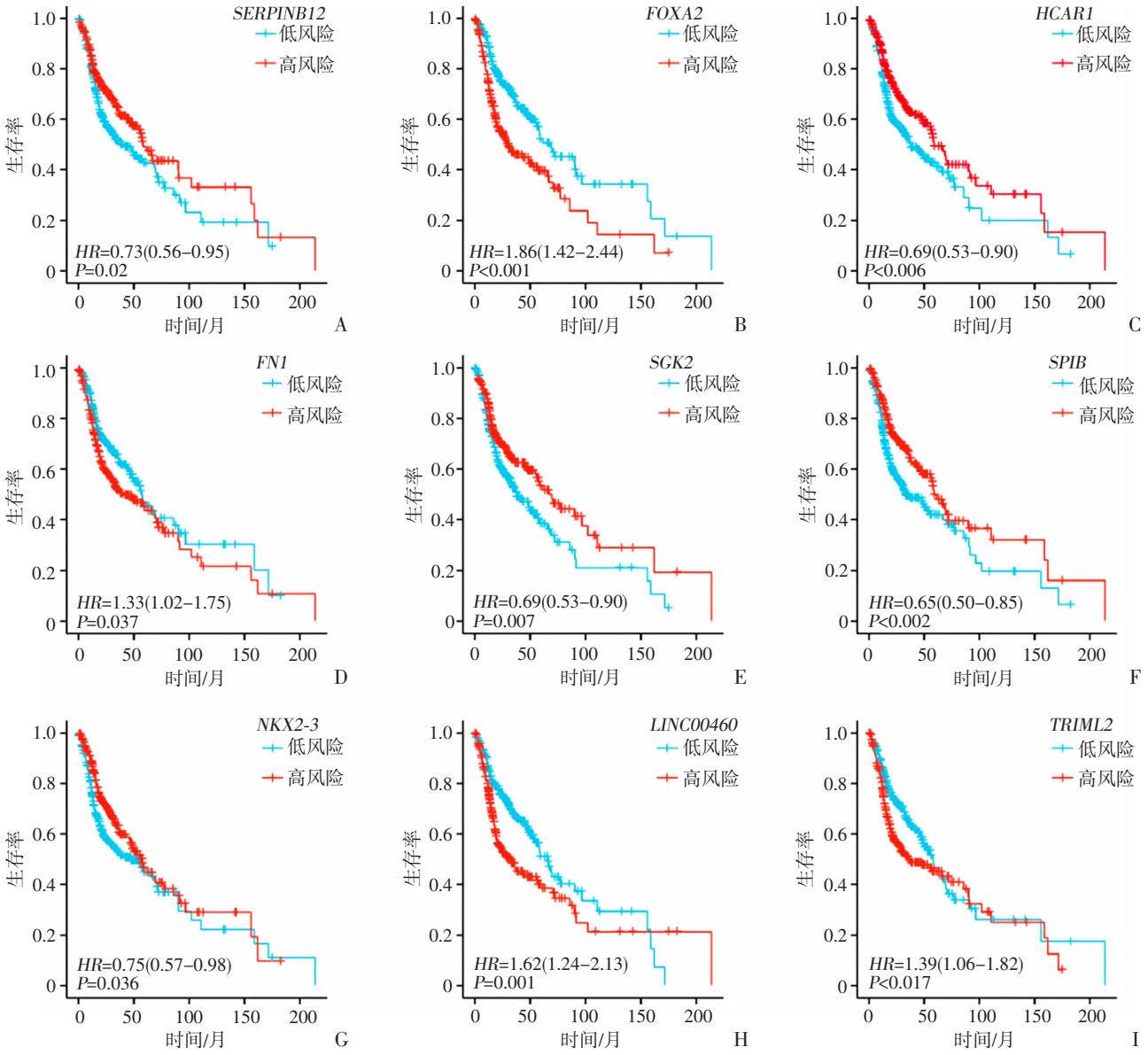
2.2 预后风险评分模型的构建

将这 20 个与预后相关的 ARGs 纳入单因素 Cox 回归分析,得到 11 个与预后显著相关的自噬基因(图 3A);再对上述 11 个 ARGs 进行 LASSO 回归分析,筛选出回归系数(Coef)不为 0 的 9 个 ARGs 作为最佳建模基因(图 3B)。经过进一步多因素 Cox 回归分析,最终得到了 9 个与 HNSCC 预后显著相关的 ARGs,用于构建 HNSCC 预后风险评分模型,分别是 *SERPINB12*(Coef = −0.030)、*FOXA2*(Coef = 0.092)、*HCAR1*(Coef = −0.106)、*FN1*(Coef = 0.032)、*SGK2*(Coef = −0.068)、*SPIB*(Coef = −0.093)、*NKX2-3*(Coef = −0.041)、*LINC00460*(Coef = 0.052)和 *TRIML2*(Coef = 0.077),见图 3C。其中 *SERPINB12*、*HCAR1*、*SGK2*、*SPIB*、*NKX2-3* 的风险比(hazard ratio, HR)<1,表示其低表达与高风险相关;*FOXA2*、*FN1*、*LINC00460*、*TRIML2* 的 HR>1,表示其高表达与高风险相关,并绘制 9 个基因的生存分析图(图 4)。根据 9 个 ARGs 的回归系数及基因表达量计算出每个患者的风险评分,风险评分 = (−0.030×*SERPINB12* 表

达量)+(0.092×*FOXA2* 表达量)+(−0.106×*HCAR1* 表达量)+(0.032×*FN1* 表达量)+(−0.068×*SGK2* 表达量)+(−0.093×*SPIB* 表达量)+(−0.041×*NKX2-3* 表达量)+(0.052×*LINC00460* 表达量)+(0.077×*TRIML2* 表达量)。

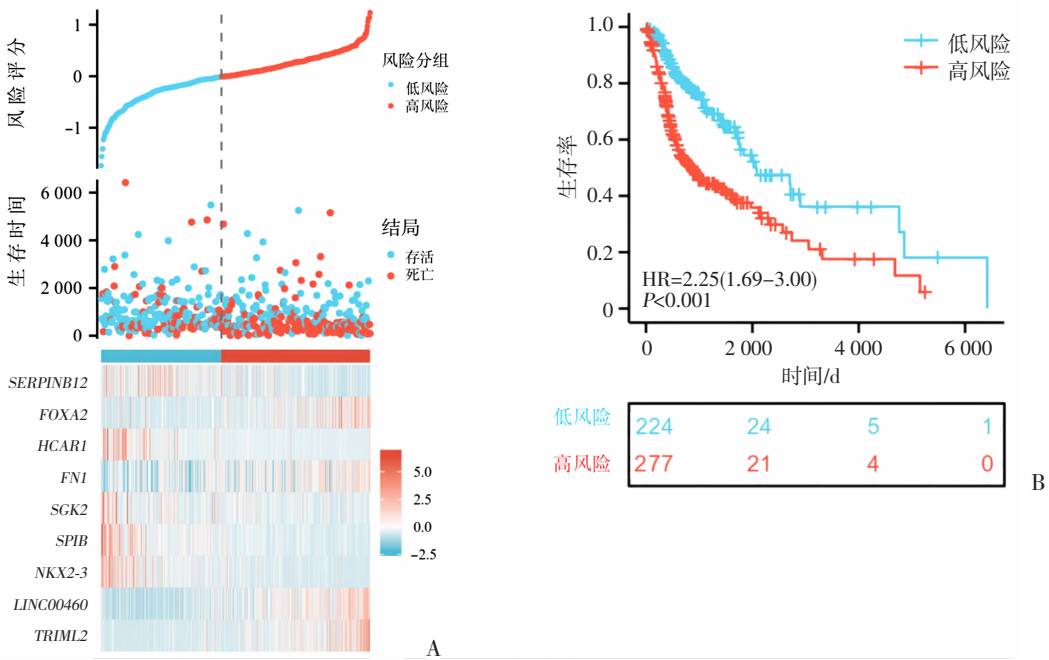
2.3 预后风险模型性能评价

根据上述风险评分公式计算出每个患者的风险评分,并绘制 ROC 曲线,得到 AUC 最大值为 0.69、最佳 cut-off 值为-0.012,据此将患者分为高、低风险评分组,其中高风险评分组含 277 个样本、低风险评分组含 224 个样本。通过绘制两组样本的风险曲线图、生存状况图及基因表达量热图(图 5A),高风险评分组患者死亡比例更高,说明高风险评分组更易出现预后不良。*SERPINB12*、*HCAR1*、*SGK2*、*SPIB* 和 *NKX2-3* 在高风险组低表达,提示其低表达与不良预后呈正相关;*FOXA2*、*FN1*、*LINC00460* 和 *TRIML2* 在高风险评分组高表达,提示其高表达与不良预后呈正相关,与生存分析结果一致。Kaplan-Meier 生存曲线也表明,两组患者的总生存期存在统计学差异($P<0.001$,图 5B)。



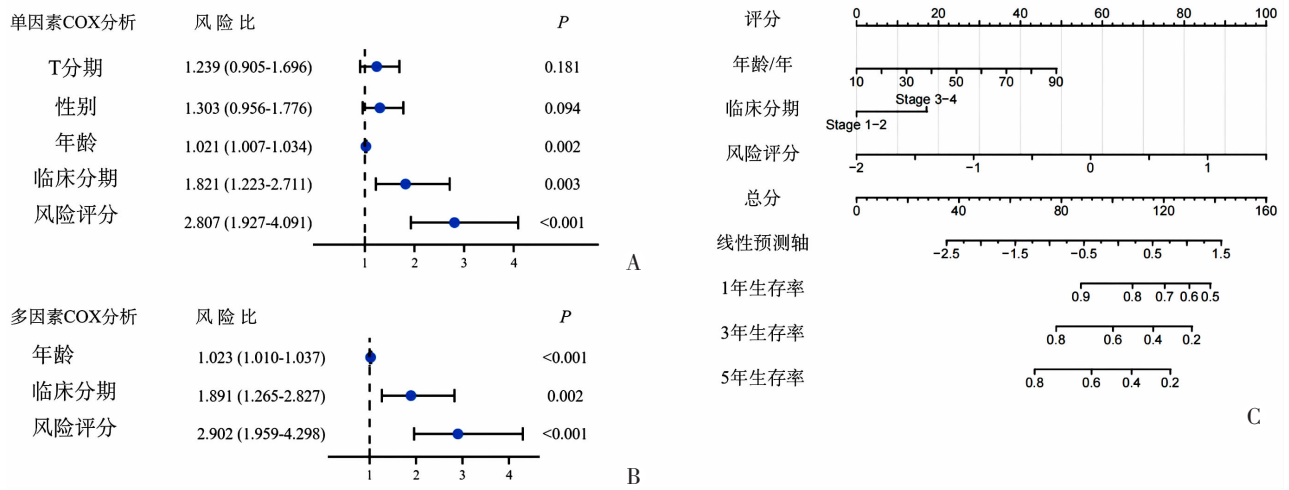
A:*SERPINB12* 的生存曲线;B:*FOXA2* 的生存曲线;C:*HCAR1* 的生存曲线;D:*FN1* 的生存曲线;E:*SGK2* 的生存曲线;F:*SPIB* 的生存曲线;G:*NKX2-3* 的生存曲线;H:*LINC00460* 的生存曲线;I:*TRIML2* 的生存曲线

图 4 9 个建模基因的生存分析



A:风险曲线、生存状态图、建模基因表达热图(高风险评分组更易出现预后不良且与建模基因生存分析结果一致);B:Kaplan-Meier 生存曲线(低风险评分组生存时间明显长于高风险评分组)

图 5 预后风险评分模型的性能评估

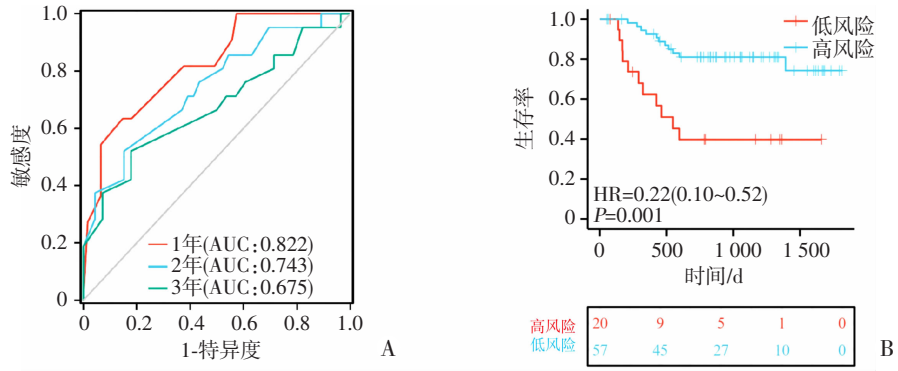


A:单因素 Cox 独立预后分析;B:多因素 Cox 独立预后分析(ARGs 风险评分模型是预测 HNSCC 患者的独立预后因素);C:列线图(基于多因素回归分析通过模型风险评分、年龄、临床分期构建列线图用于预测 HNSCC 患者 1、3、5 年的总体生存率)

图 6 预后风险评分模型的独立预后价值

2.4 风险评分具有独立预后价值

将风险评分与年龄、性别、TNM 分期、临床分期等临床信息整合后共同纳入单、多因素 Cox 回归分析,结果显示风险评分有统计学差异($P<0.01$),提示风险评分具有独立预后价值,可以独立作为 HNSCC 患者的预后指标。通过单因素 Cox 回归分析显示,年龄、临床分期及风险评分对 HNSCC 患者有预后预测价值(图 6A);再将这 3 个因素纳入多因素 Cox 回归分析,结果表明三者均为 HNSCC 患者的独立预后指标(图 6B)。据此绘制列线图,根据列线图得分可推测患者未来的生存率(图 6C)。



A:GSE117973 的时间 ROC 曲线;B:GSE117973 的 Kaplan-Meier 生存曲线

图 7 预后风险评分模型在外部验证集中的性能评估

2.5 外部数据集验证模型

在 GEO 数据库选取 GSE117973 作为独立外部验证数据集,绘制时间 ROC 曲线可知验证集的 1~3 年 AUC 值在 0.675~0.822(图 7A),说明上述模型在外部验证集中仍具有较好的预测性能。根据上述风险评分公式计算每个样本的风险评分,利用 ROC 曲线获得最佳 cut-off 值为 1.159,并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,表明高风险评分组生存期明显低于低风险评分组(P=0.001,图 7B)。

3 讨论

3.1 自噬与 HNSCC 发生进展的关系

HNSCC 预后较差,尤其是晚期患者,对治疗的反应低、容易发生耐药。因此,寻找新的生物标志物对 HNSCC 患者的早期诊断和治疗是必要的。越来越多的研究表明,自噬与 HNSCC 的发生和进展显著相关,尤其晚期癌细胞可以通过自噬降解细胞器和蛋白质为自身的生长提供底物,从而起到保护性作用[13],因此,通过调节自噬来治疗 HNSCC 具有重要价值。已有研究表明,在大多数头颈癌中高表达酪氨酸受体激酶-表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)与自噬标记物 LC3b(light chain 3b)有明确相关性[14],而高表达 EGFR 的肿瘤细胞株对氯喹(chloroquine)处理更敏感,表现为癌细胞自噬抑制,增殖率降低[15]。TBC1 结构域家族成员 14(*TBC1D14*)可通过诱导自噬抑制降低 HNSCC 的侵袭及淋巴结转移[16]。在缺氧、饥饿等不利条件下,自噬的激活可以使得癌细胞获得肿瘤干细胞特性及自我更新能力,从而促进 HNSCC 的进展[17]。此外,自噬与肿瘤的转移、耐药、放化疗抵抗等也有一定的关系,通过削弱自噬活动来治疗恶性肿瘤可能成为一种重要的辅助治疗方法[18]。

3.2 建模基因的肿瘤相关性

本研究基于 9 个预后显著相关 ARGs(*SERPINB12*、*FOXA2*、*HCAR1*、*FN1*、*SGK2*、*SPIB*、*NKX2-3*、*LINC00460* 和 *TRIML2*)构建了 HNSCC 预后风险评分模型,这些关键 ARGs 均已有大量研究证实他们与多种恶性肿瘤具有相关性。*FOX* 家族作为转录因子,参与器官胚胎发生及其肿瘤发展,与肝细胞癌、肺癌等多种恶性肿瘤的发生、增殖、浸润和转移密切相关[19-20]。*FN1* 参与细胞黏附和迁移过程,有研究表明 *FN1* 可作为 HNSCC 的独立预后标志物,在肿瘤组织中高表达提示恶性程度高及预后不良[21]。*LINC00460* 在人类多种癌症中上调,驱动包括 HNSCC 在内的多种肿瘤发生,其表达与淋巴结转移、上皮间质转化及预后相关[22]。*TRIML2* 在口腔鳞状细胞癌中显著上调,干扰 *TRIML2* 的作用可以使细胞周期停滞在 G_1 期,从而起到抑癌作用[23]。研究发现,*SERPIN* 位于 18q21 染色体区域上,该染色体区域参与了肿瘤抑制,而在口腔鳞癌的癌组织、癌旁组织及正常组织中表达量依次递增,且差异具有统计学意义,表明 *SERPIN* 低表达是口腔鳞癌的高风险因素[24]。*SGK2* 在上皮细胞卵巢癌中通过抑制自噬,可以改善肿瘤患者对铂类药物的反应,故其低表达可能是上皮细胞卵巢癌患者化疗耐受的原因之一[25]。研究发现 *SPIB* 在结直肠癌组织中表达量降低,而通过上调其表达可以抑制肿瘤组织血管的生成,降低癌细胞的增殖和迁移能力,促进癌细胞的凋亡[26]。已有研究表明 *NKX2-3* 可以作为预测 HNSCC 预后的潜在标志物[27],同时在口腔鳞癌的风险评分模

型中也提示在癌组织中 *NKX*2-3 表现为下调[28]。

3.3 预后风险评分模型对 HNSCC 的预测价值

上述 9 个 ARGs 的生存分析及表达量热图均提示,*FOXA*2、*FN*1、*LINC*00460、*TRIML*2 高表达和 *SERPINB*12、*HCAR*1、*SGK*2、*SPIB*、*NKX*2-3 低表达时,HNSCC 患者更易出现不良预后。通过风险评分分布图、生存状况图及 Kaplan-Meier 生存曲线也证明高风险评分患者较低风险评分患者的预后更差。此外,本研究组将风险评分与其他临床信息共同纳入单、多因素 Cox 回归分析,证实风险评分对 HNSCC 的独立预后价值。在临床中,肿瘤临床分期常作为肿瘤预后预测的指标之一,而绝大多数恶性肿瘤也具有年龄相关性。虽然从 Cox 回归分析结果来看,风险评分($P<0.001$)较肿瘤临床分期($P=0.002$)更具优势,但由于本模型初步建立,还缺乏相应的实验数据来验证其预测能力,所以暂不足以说明本模型对 HNSCC 的预测能力一定优于肿瘤临床分期,希望通过进一步的前瞻性试验来加以验证。在多因素 Cox 回归分析基础上本研究绘制了列线图,可整合多个预测指标,达到多指标联合诊断或预测疾病发生进展的作用。

本研究仍然存在一定的局限性。首先,本研究所有数据均依托于 TCGA、GeneCards 等公共数据库,缺少大规模的临床试验来验证该模型预测能力的可靠性;第二,本模型中用于建模的 ARGs 还缺乏体内外实验来验证其对 HNSCC 恶性生物学行为的影响;第三,TCGA 数据库收录的患者信息多为国外人群数据,可能存在因人种不同导致的预测差异,在未来还需收录更多中国人群数据对本研究进行进一步验证。

参考文献:

[1] DJUREINOVIC D, WANG M N, KLUGER H M. Agonistic CD40 antibodies in cancer treatment[J]. Cancers, 2021, 13(6): 1302. DOI: 10.3390/cancers13061302.

[2] ADELSTEIN D, GILLISON M L, PFISTER D G, *et al*. NCCN guidelines(R) insights: head and neck cancers, version 2.2017[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(6): 761-770. DOI: 10.6004/jnccn.2017.0101.

[3] AMARAVADI R K, KIMMELMAN A C, DEBNATH J. Targeting autophagy in cancer: recent advances and future directions[J]. Cancer Discov, 2019, 9(9): 1167-1181. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0292.

[4] SINHA D, VALAPALA M, SHANG P, *et al*. Lysosomes: regulators of autophagy in the retinal pigmented epithelium[J]. Exp Eye Res, 2016, 144: 46-53. DOI: 10.1016/j.exer.2015.08.018.

[5] TAI S, HU X Q, PENG D Q, *et al*. The roles of autophagy in vascular smooth muscle cells[J]. Int J Cardiol, 2016, 211: 1-6. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.02.128.

[6] KOBAYASHI S, LIANG Q R. Autophagy and mitophagy in diabetic cardiomyopathy[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 252-261. DOI: 10.1016/j.bbadis.2014.05.020.

[7] PARIKH N D, SINGAL A G, HUTTON D W. Cost effectiveness of regorafenib as second-line therapy for patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2017, 123(19): 3725-3731. DOI: 10.1002/cncr.30863.

[8] COSWAY B, LOVAT P. The role of autophagy in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. Oral Oncol, 2016, 54: 1-6. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2015.12.007.

[9] CHEN Z T, ZHAO W, QU S, *et al*. PARP-1 promotes autophagy *via* the AMPK/mTOR pathway in CNE-2 human nasopharyngeal carcinoma cells following ionizing radiation, while inhibition of autophagy contributes to the radiation sensitization of CNE-2 cells[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(2): 1868-1876. DOI: 10.3892/mmr.2015.3604.

[10] LIU Z Y, LIU J, LI L, *et al*. Inhibition of autophagy potentiated the antitumor effect of nedaplatin in cisplatin-resistant nasopharyngeal carcinoma cells[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135236. DOI: 10.1371/journal.pone.0135236.

[11] GU JJ, YIN L, WU J, *et al*. Cetuximab and cisplatin show different combination effect in nasopharyngeal carcinoma cells lines *via* inactivation of EGFR/AKT signaling pathway[J]. Biochem Res Int, 2016, 2016: 7016907. DOI: 10.1155/2016/7016907.

[12] CHEN W B, OU M L, TANG D E, *et al*. Identification and validation of immune-related gene prognostic signature for hepatocellular carcinoma[J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 5494858. DOI: 10.1155/2020/5494858.

[13] DE BRUIN E C, MEDEMA J P. Apoptosis and non-apoptotic deaths in cancer development and treatment response[J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(8): 737-749. DOI: 10.1016/j.ctrv.2008.07.001.

[14] 屈倩倩, 张世文, 李晓江. 溶酶体-自噬与头颈鳞状细胞癌凋亡的关系[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 30(24): 1975-1979. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1781.2016.24.022.
QU Q Q, ZHANG S W, LI X J. The relationship between lysosome-autophagy and the head and neck squamous cancer cell apoptosis[J]. J Chin Otorhinolaryngol Head Neck Surg (China), 2016, 30(24): 1975-1979. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1781.2016.24.022.

[15] JUTTEN B, KEULERS T G, SCHAAF M B, *et al*. EGFR overexpressing cells and tumors are dependent on autophagy for growth and survival[J]. Radiother Oncol, 2013, 108(3): 479-483. DOI: 10.1016/j.radonc.2013.06.033.

[16] LU T, LI Y S, PANM, *et al*. TBC1D14 inhibits autophagy to suppress lymph node metastasis in head and neck squamous cell carcinoma by downregulating macrophage erythroblast attacher[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(5): 1795-1812. DOI: 10.7150/ijbs.68992.

[17] CHEN Y, ZHAO H, LIANG W L, *et al*. Autophagy regulates the cancer stem cell phenotype of head and neck squamous cell carcinoma through the noncanonical FOXO3/SOX2 axis[J]. Oncogene, 2022, 41(5): 634-646. DOI: 10.1038/s41388-021-02115-7.

[18] ONDREJ M, CECHAKOVA L, DURISOVA K, *et al*. To live or let die: unclear task of autophagy in the radiosensitization battle[J]. Radiother Oncol, 2016, 119(2): 265-275. DOI: 10.1016/j.radonc.2016.02.028.

[19] HUANG C Q, LIU J Y, XIONG B, *et al*. Expression and prognosis analyses of forkhead box A (FOXA) family in human lung cancer[J]. Gene, 2019, 685: 202-210. DOI: 10.1016/j.gene.2018.11.022.

[20] GAO B, XIE W, WU X J, *et al*. Functionally analyzing the important roles of hepatocyte nuclear factor 3 (FoxA) in tumorigenesis[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020, 1873(2): 188365. DOI: 10.1016/j.bbcan.2020.188365.

[21] SHENG S R, GUO B, WANG Z T, *et al*. Aberrant methylation and immune microenvironment are associated with overexpressed fibronectin 1: a diagnostic and prognostic target in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 753563. DOI: 10.3389/fmolb.2021.753563.

[22] JIANG Y Y, CAO W, WU K, *et al*. LncRNA LINC00460 promotes EMT in head and neck squamous cell carcinoma by facilitating peroxiredoxin-1 into the nucleus[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 365. DOI: 10.1186/s13046-019-1364-z.

[23] HAYASHI F, KASAMATSU A, ENDO-SAKAMOTO Y, *et al*. Increased expression of tripartite motif (TRIM) like 2 promotes tumoral growth in human oral cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(4): 1133-1138. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.12.060.

[24] SHIIBA M, NOMURA H, SHINOZUKA K, *et al*. Down-regulated expression of SERPIN genes located on chromosome 18q21 in oral squamous cell carcinomas[J]. Oncol Rep, 2010, 24(1): 241-249. DOI: 10.3892/or_00000852.

[25] RANZUGLIA V, LORENZON I, PELLARIN I, *et al*. Serum- and glucocorticoid- inducible kinase 2, SGK2, is a novel autophagy regulator and modulates platinum drugs response in cancer cells[J]. Oncogene, 2020, 39(40): 6370-6386. DOI: 10.1038/s41388-020-01433-6.

[26] ZHAO X P, LI L, YUAN S Y, *et al*. SPIB acts as a tumor suppressor by activating the NFkB and JNK signaling pathways through MAP4K1 in colorectal cancer cells[J]. Cell Signal, 2021, 88: 110148. DOI: 10.1016/j.cellsig.2021.110148.

[27] LIU C, WU W L, XU M, *et al*. Development and validation of an autophagy-related signature for head and neck squamous cell carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 1028158. DOI: 10.1155/2021/1028158.

[28] ZHU L B, YAN D L, CHEN Y, *et al*. The identification of autophagy-related genes in the prognosis of oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Dis, 2020, 26(8): 1659-1667. DOI: 10.1111/odi.13492.

(收稿:2022-07-16;修回:2022-10-13)

(编辑 张 维)