

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.008

· 临床研究 ·

基于CD8⁺T细胞耗竭基因集的预后模型构建及肿瘤免疫微环境研究

李梦柔^{1,2}, 陈东升², 刘合宾¹(1. 苏州大学 生物医学研究院, 江苏 苏州 215123; 2. 中国医学科学院苏州系统医学研究所暨北京协和医学院 重大疾病共性机制研究全国重点实验室, 江苏 苏州 215123)

[摘要] **目的:**本研究旨在基于耗竭T细胞(Tex细胞)基因集构建一个针对多种肿瘤的预后模型,同时挖掘新型Tex细胞标志物。**方法:**利用CD8⁺T细胞的泛癌单细胞数据集鉴定出泛癌Tex细胞基因集。通过对TCGA数据库中数据进行差异表达分析与Cox回归分析,得到泛癌预后基因,并与Tex细胞基因集取交集,筛选出泛癌Tex细胞预后基因集。运用Cox回归分析来构建泛癌预后模型,并采用Kaplan-Meier生存曲线及受试者工作特征曲线(ROC)来评估模型效果。此外,采用相关性分析进一步探究肿瘤坏死因子受体超家族成员18(TNFRSF18)在免疫治疗中的作用。**结果:**通过Cox回归分析,选定CXCL13、CDKN2A、TNFRSF18和IL2RA为关键预后相关基因,并基于此结果来构建预后模型。生存曲线分析结果显示,低风险组患者在多种肿瘤中,表现出更高的生存率($P < 0.05$)。单细胞数据分析发现TNFRSF18在Tex细胞中呈现特异性表达,且在多种肿瘤样本中,该基因呈显著上调($P < 0.05$)。**结论:**泛癌Tex细胞预后模型在多种肿瘤中,均表现出良好的预测性能。TNFRSF18作为潜在的新型Tex细胞生物标志物,可能在肿瘤免疫治疗中发挥作用。

[关键词] 肿瘤;耗竭T细胞;预后模型;生物标志物

[中图分类号] R730.7; R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)09-0948-09

Construction of a prognostic model based on CD8⁺T cell exhaustion-related gene set and investigation of the tumor immune microenvironment

LI Mengrou^{1,2}, CHEN Dongsheng², LIU Hebin¹(1. Institute of Biology and Medical Sciences [IBMS], Soochow University, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 2. State Key Laboratory of Common Mechanism Research for Major Diseases, Suzhou Institute of Systems Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Suzhou 215123, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To construct a prognostic model across multiple cancer types based on exhausted T cell (Tex) gene sets and to identify novel Tex cell markers. **Methods:** A pan-cancer single-cell dataset of CD8⁺T cells was utilized to identify the pan-cancer Tex gene set. Differential expression analysis and Cox regression analysis of TCGA data were performed to screen pan-cancer prognostic genes. These genes were then intersected with the Tex gene set, yielding a pan-cancer Tex prognostic gene set. Cox regression analysis was used to construct a pan-cancer prognostic model, and the model's performance was evaluated using Kaplan-Meier survival curve and receiver operating characteristic (ROC) curve analyses. In addition, correlation analysis was further applied to explore the role of TNFRSF18 in immunotherapy. **Results:** Cox regression analysis identified CXCL13, CDKN2A, TNFRSF18, and IL2RA as key prognostic genes, on which the prognostic model was constructed. Survival analysis showed that patients in the low-risk group exhibited significantly higher survival rates across various cancer types ($P < 0.05$). Single-cell data analysis demonstrated that TNFRSF18 was specifically expressed in Tex cells and was significantly upregulated in tumor samples from various cancers ($P < 0.05$). **Conclusion:** The pan-cancer Tex cell-based prognostic model showed robust predictive performance across various cancers. TNFRSF18 may function as a novel potential biomarker of Tex cells and play a role in cancer immunotherapy.

[Key words] cancer; exhausted T cell (Tex); prognostic model; biomarker

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(9): 948-956. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.008]

T细胞耗竭是指T细胞出现功能障碍的一种进行性状态,其特征是效应功能丧失、表达多种抑制性受体,对感染细胞或肿瘤细胞的反应能力受损^[1]。T细胞在免疫系统中发挥着关键作用。然而,在慢性感染和肿瘤微环境中^[2],长期的炎症信号和高载量的抗原会持续刺激T细胞,最终导致T细胞功能障碍并发生耗竭^[3]。近年来,以耗竭T细胞(exhausted T cell, Tex细胞)生物标

志物为靶点的药物在抗肿瘤临床应用中取得显著成效,推动肿瘤免疫治疗取得突破性进展^[4-6]。经典的Tex的

[基金项目] 江苏省自然基金项目(No. BK20220279);姑苏创新创业领军人才计划(No. ZXL2022475)

[作者简介] 李梦柔(1999—),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫生物学大数据的研究

[通信作者] 刘合宾,陈东升(扫码获取作者联系方式)



生物标志物 CTLA-4, 是一种蛋白质受体, 其抑制剂伊匹单抗 (ipilimumab) 已被批准用于黑色素瘤的治疗^[7]。随后, 靶向 PD-1/PD-L1、LAG3 的药物在多项临床试验中表现出明显的抗肿瘤作用^[8], 并已获批用于多种恶性肿瘤的临床治疗。然而, 基于已发现的 Tex 细胞生物标志物研发的药物不能有效治疗广泛的肿瘤类型。本研究通过挖掘大量转录组数据, 旨在建立一个泛癌 Tex 细胞预后模型, 探索 Tex 细胞基因集在肿瘤中的作用, 为肿瘤免疫治疗提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 数据集收集与预处理

通过 R 包 TCGAbiolinks (v2.30.4)^[9] 获取 TCGA 数据库中 33 种肿瘤的转录组数据和相应的临床生存信息。使用 “GDCquery” 函数查询数据, 其中转录组数据参数设定为 data.category = “Transcriptome Profiling”、data.type = “Gene Expression Quantification”、workflow.type = “STAR - Counts”。临床数据参数设定为 data.category = “Clinical” 及 data.format = “bcr xml”, 并通过 “GDCprepare_clinic” 函数 (参数 clinical.info = “patient”) 来提取患者级别临床信息。最后, 使用 “GDCdownload” 函数来完成所有转录组、临床数据下载。在数据预处理过程中, 剔除了生存时间缺失的样本, 同时过滤了在 10% 以上样本中表达量为 0 的基因; 此外, 还收集了一个 CD8⁺ T 细胞单细胞泛癌数据集^[10], 此数据集包含 10 种癌症类型, 并采用 R 包 Seurat (v4.4.0)^[11] 进行处理。根据细胞需要至少表达 200 个基因及基因至少要在 3 个细胞中表达的条件, 对单细胞数据进行质控。使用 “NormalizeData” 函数的默认参数进行数据标准化, 用 “FindVariableFeatures” 函数来识别前 1 500 个高变基因。随后, 使用 “ScaleData” 函数对数据进一步缩放, 且基于主成分分析进行降维和聚类。

1.2 筛选泛癌 Tex 基因集

为了筛选泛癌 Tex 基因集, 通过 R 包 Seurat (v4.4.0) 中的 “FindAllMarkers” 函数 (参数 test.use = “wilcox”)^[11], 分别计算各类肿瘤中 Tex 细胞与其他 CD8⁺ T 细胞的差异基因。接下来, 通过 R 包 ggplot2 v3.4.4 对差异基因进行可视化^[12], 采用火山图显示所有肿瘤类型 Tex 细胞中上调和下调基因, 其中校正后的 $P < 0.01$ 的基因用红色标记, 校正后的 $P \geq 0.01$ 的基因用黑色标记。最后, 根据 $|\log_2 \text{fold change}(FC)| > 2$ 且校正后 $P < 0.01$ 的条件, 筛选出 225 个基因组成泛癌 Tex 基因集。

1.3 泛癌 Tex 基因集的富集分析

为了进一步探索泛癌 Tex 基因集相关的生物学功能和通路, 利用 R 包 clusterProfiler (v4.8.3)^[13] 对该基因集进行富集分析。通过函数 “enrichGO” 和

“enrichKEGG” 分别对基因集进行 GO 和 KEGG 富集分析, 参数设定为 P 值阈值 = 0.05 且 q 值阈值 = 0.05。通过 R 包 ggplot2 (v3.4.4) 对富集分析结果进行可视化, 并展示具有统计学意义的 GO 条目与 KEGG 通路。

1.4 筛选预后基因

根据 $|\log_2 FC| > 2$ 且校正后 $P < 0.01$ 的筛选条件, 通过 R 包 DESeq2 v1.42.1^[14]、limma (v3.58.1)^[15]、edgeR (v4.0.16)^[16] 对 TCGA 数据库中的肿瘤与正常样本分别进行差异表达分析, 将 3 种方法的结果取交集, 得到每种肿瘤的差异基因。接下来, 通过 R 包 tidyverse (v2.0.0)^[17] 中的 “surv_cox” 函数和 “surv_KM” 函数 (P 值阈值 = 0.05) 分别进行单因素 Cox 回归分析、Kaplan-Meier 生存曲线分析, 得到与肿瘤预后相关的基因。此外, 利用 R 包 glmnet (v4.1.8)^[18] 进行 Lasso 回归分析。

1.5 泛癌 Tex 细胞预后基因集的鉴定和 PPI 分析

将泛癌 Tex 细胞基因集与预后基因集取交集, 筛选出与患者生存密切相关的 11 个核心基因, 组成泛癌 Tex 细胞预后基因集, 并将结果可视化。接下来, 为了探究该基因集中蛋白质之间的相互作用关系, 将泛癌 Tex 细胞预后基因集中的基因提交到 STRING 数据库^[19], 构建 95% 置信区间下的蛋白质与蛋白质互作 (PPI) 网络。

1.6 构建预后模型

为了鉴定出对多种肿瘤均有预测价值的预后基因, 采用 R 包 survival (v3.5.8)^[20] 对泛癌 Tex 预后基因集进行多因素 Cox 回归分析和逐步回归分析, 确定各类肿瘤最佳的预后模型特征。最后, 结合基因集在泛癌单细胞图谱中各细胞类型的特异性表达, 确定趋化因子配体 13 (chemokine ligand 13, CXCL13)、周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A)、肿瘤坏死因子受体超家族成员 18 (tumor necrosis factor receptor superfamily member 18, TNFRSF18) 和白细胞介素 2 受体 α 亚基 (interleukin 2 receptor subunit alpha, IL2RA) 用于构建泛癌 Tex 预后模型。多因素 Cox 回归分析用于构建各类肿瘤的预后模型, 并通过 R 包 survival (v3.5.8)^[20]、timeROC (v0.4)^[21] 进行 Kaplan-Meier 生存曲线和 ROC 分析对模型性能进行评估。

1.7 基因 TNFRSF18 的泛癌分析

为了探究 TNFRSF18 在肿瘤免疫治疗中的潜在作用, 利用 R 包 TCGAplot (v7.0.1)^[22] 分析基因 TNFRSF18 在泛癌中的表达。通过函数 “gene_checkpoint_heatmap”, 采用 Spearman 相关分析法计算 TNFRSF18 与经典免疫检查点分子的相关性, 并将结果可视化为相关性热图。此外, 通过函数 “gene_TMB_radar” 和 “gene_MSI_radar”

分别计算 TNFRSF18 与肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden, TMB) 和微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 之间的相关性, 相关性计算同样采用 Spearman 相关分析法, 其余参数均为默认参数, 并将结果可视化雷达图。

1.8 统计学处理

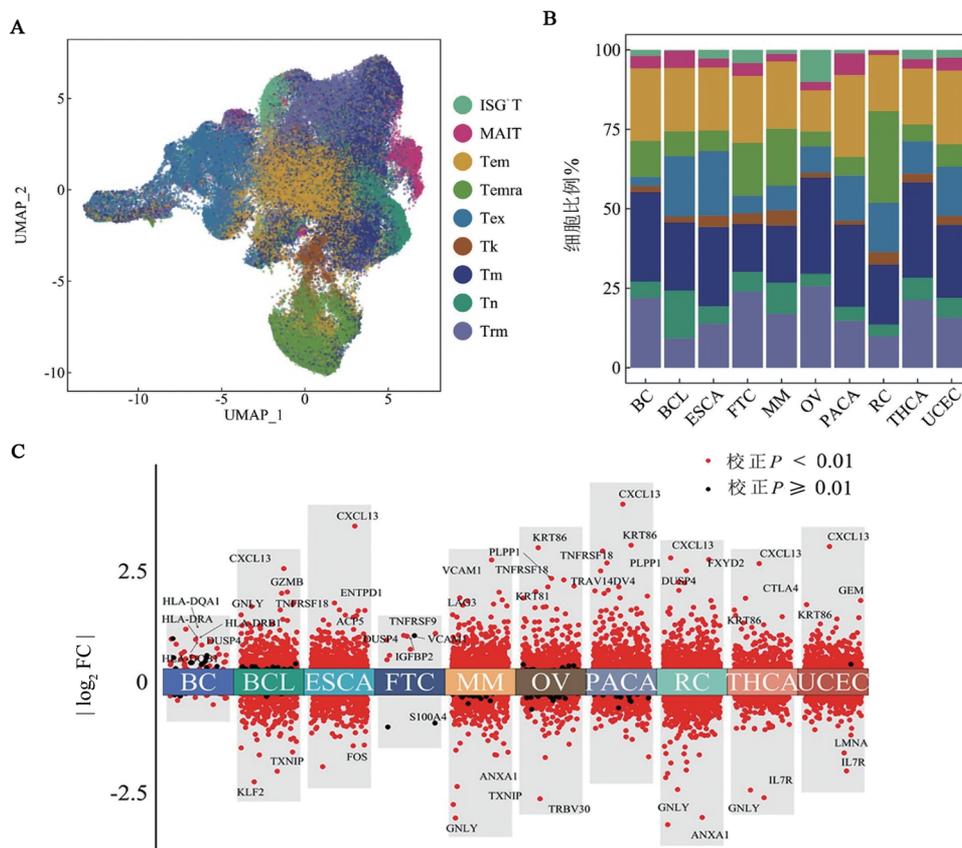
采用 R (v4.3.1) 软件进行数据分析。泛癌 Tex 差异基因的鉴定采用秩和检验, 多重假设检验得到的 P 值通过 Bonferroni 校正。泛癌分析中, TNFRSF18 与免疫检查点分子、肿瘤突变负荷和微卫星不稳定性之间的相关性, 通过 Spearman 相关分析法进行评估。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 泛癌 Tex 基因集的鉴定

本研究收集了涵盖 10 种肿瘤类型的泛癌单细胞数据集^[10], 基于该数据集原注释中已验证的 CD8⁺ T 细胞细化亚型 (如 CD8.c14.Tex.TCF7、CD8.c12.Tex.CXCL13), 将具有相似功能特征的细化亚群合并为

CD8⁺ T 细胞亚型大类, 如 Tex。最终, 鉴定出了以下 9 种 CD8⁺ T 细胞亚型 (图 1A): 干扰素刺激基因阳性 T 细胞 (interferon-stimulated gene positive T cell, ISG⁺ T)、黏膜相关恒定 T 细胞 (mucosal-associated invariant T cell, MAIT)、效应记忆 T 细胞 (effector memory T cell, Tem)、终末分化效应记忆 T 细胞 (terminally differentiated effector memory or effector, Temra)、Tex 细胞、杀伤细胞免疫球蛋白受体 T 细胞 (killer cell immunoglobulin-like receptor T cell, Tk)、记忆 T 细胞 (memory T cell, Tm)、初始 T 细胞 (naïve T cells, Tn) 和组织驻留记忆 T 细胞 (tissue-resident memory T cell, Trm)。此外, 进一步分析 10 种肿瘤类型中各细胞亚型的组成比例, 并将结果进行可视化 (图 1B)。为了鉴定出泛癌 Tex 细胞基因集, 采用秩和检验计算各类肿瘤中 Tex 细胞与其他 CD8⁺ T 细胞的差异基因 (图 1C)。为了得到具有代表性的泛癌 Tex 细胞基因集, 根据 $|\log_2(FC)| > 2$ 且校正后 $P < 0.01$ 的条件, 最终筛选出具有代表性的 225 个基因组成泛癌 Tex 基因集。



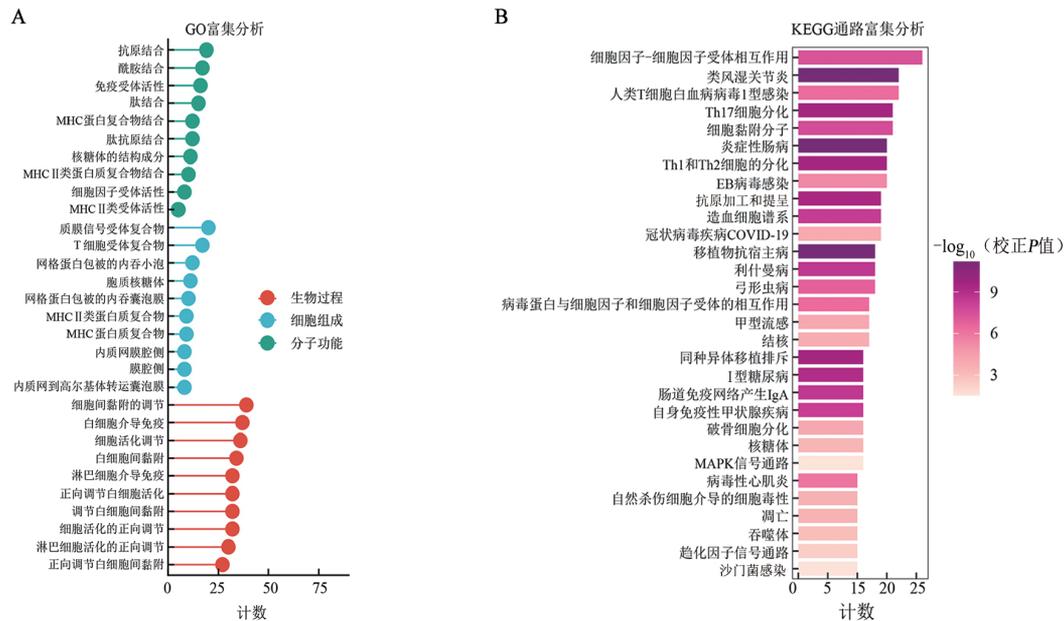
A: CD8⁺ T 细胞聚类降维图, 展示了 9 种 CD8⁺ T 细胞亚型在 UMAP 降维图上的分布, 图中不同颜色代表了不同的细胞亚型; B: 不同肿瘤类型中各细胞亚型的占比: 乳腺癌 (breast cancer, BC)、B 细胞淋巴瘤 (b cell lymphoma, BCL)、食管癌 (esophageal cancer, ESCA)、输卵管癌 (fallopian tube carcinoma, FTC)、多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM)、卵巢癌 (ovarian cancer, OV)、胰腺癌 (pancreatic cancer, PACA)、肾癌 (renal carcinoma, RC)、甲状腺癌 (thyroid carcinoma, THCA)、子宫内膜癌 (uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC), 每个肿瘤类型中条形图的高度表示各细胞亚型的组成比例; C: 差异基因表达分析显示所有肿瘤类型 Tex 细胞中上调和下调基因, 一个点代表一个基因。校正 $P < 0.01$ 用红色表示, 校正 $P \geq 0.01$ 用黑色表示。

图 1 泛癌 T 细胞图谱

2.2 泛癌 Tex 细胞基因集的富集分析

为了探究泛癌 Tex 细胞基因集的生物学功能与作用,通过 R 包 clusterProfiler^[13]对泛癌 Tex 基因集进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 可以通过分子功能、细胞组分、生物过程 3 个方面的功能特征描述基因功能^[23],KEGG 是一个可以从生物途径、疾病、药物等多方面系统分析基因功能的集成数据库。在生物过程

方面(图 2A),Tex 细胞基因集主要富集于调节细胞间黏附、T 细胞活化。在细胞组分中质膜信号受体、T 细胞受体等复合物显著富集,抗原结合、免疫受体活性和 MHC 蛋白复合物结合等富集于分子功能中。KEGG 富集分析结果(图 2B)显示, Tex 细胞基因集与细胞因子-细胞因子受体相互作用、Th 细胞分化、病毒感染等通路密切相关。



A: Tex 细胞基因集的 GO 富集分析,图中分别展示了基因集在生物过程、细胞组分和分子功能中显著富集且基因计数排行前 10 的 GO 条目,颜色标识 GO 分类;B: Tex 细胞基因集的 KEGG 富集分析,图中展示显著富集且基因计数排行前 30 的 KEGG 通路,颜色深浅表示富集显著性,条形长度表示该通路中富集的基因数目。

图 2 Tex 细胞基因集的富集分析

2.3 预后基因的筛选

接下来,通过 R 包 TCGAbiolinks^[9]收集 TCGA 数据库中肿瘤基因表达数据与临床数据,利用 R 包 DESeq2^[14]、limma^[15]、edgeR^[16]对各个肿瘤样本与正常样本进行差异表达分析(图 3A),得到泛癌差异基因集。为了进一步筛选与肿瘤生存密切相关的预后基因,通过 R 包 tidyverse^[17]的“surv_cox”函数对差异基因进行单因素 Cox 回归分析,并使用“surv_KM”函数进行 Kaplan-Meier 生存曲线分析,从而筛选出与预后密切相关的基因;此外,还利用 Lasso 回归来避免过拟合(图 3B、3C),得到泛癌预后基因集(图 3D)。

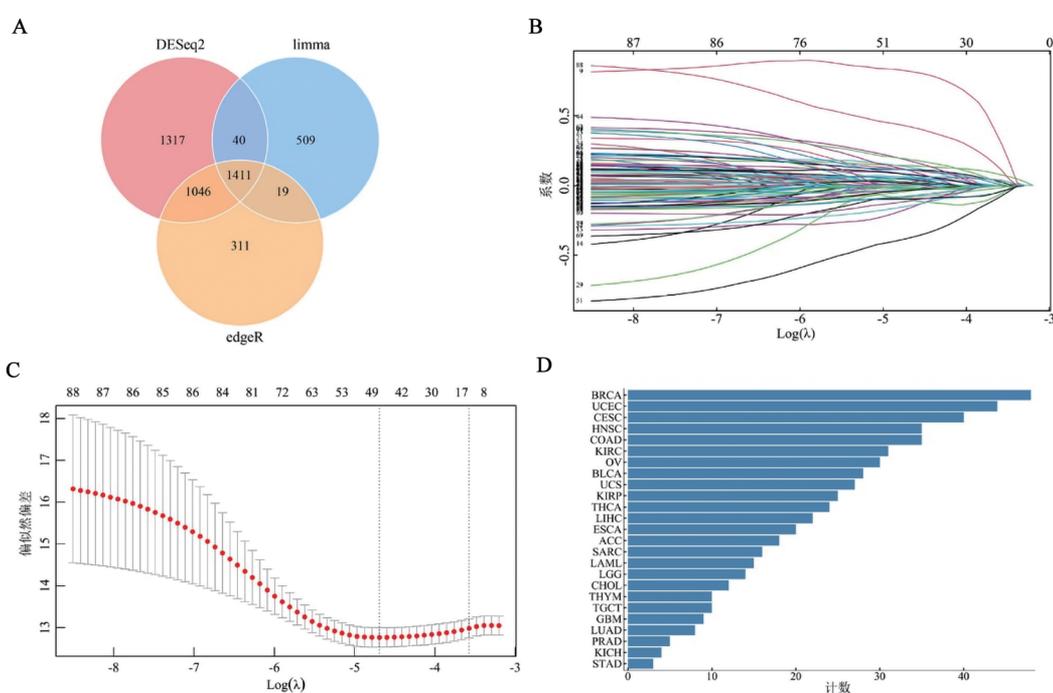
2.4 泛癌 Tex 细胞预后基因的鉴定

为了筛选出与 Tex 细胞相关的预后基因,将泛癌 Tex 细胞基因集与泛癌预后基因集取交集,得到包含 11 个关键基因(CXCL13、BATF、CDKN2A、IGFBP2、TNFRSF18、IL2RA、FOXP3、S100A4、SPOCK2、CCL20、XCL1)的泛癌 Tex 预后基因集(图 4A)。通过 STRING 数据库^[19],进一步探究泛癌 Tex 预后基因集中各基因编码蛋白质之间的相互关系,PPI 网络分

析结果(图 4B)显示,FOXP3 与 IL2RA、TNFRSF18 存在互作。

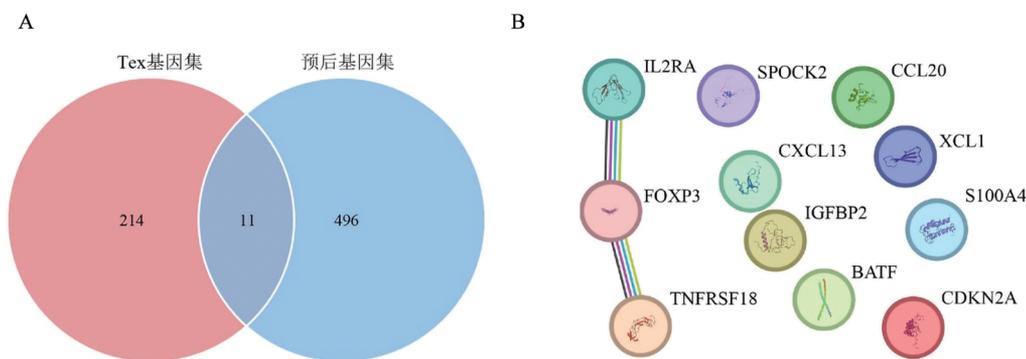
2.5 构建预后模型

为了筛选适用于多种肿瘤的关键 Tex 细胞预后基因以构建预后模型,进一步探究泛癌 Tex 细胞预后基因集在单细胞泛癌数据中各个细胞类型的表达,结果显示,基因 CXCL13、CDKN2A、TNFRSF18 特异性表达于 Tex 细胞亚群中(图 5A);此外,通过多因素 Cox 回归进一步分析泛癌 Tex 细胞预后基因集,并利用逐步回归法筛选出各个肿瘤的最佳预后模型。统计结果(图 5B)显示,IL2RA 和 CDKN2A 是多个肿瘤最佳预后模型中的关键基因。最后,选择基因 CXCL13、CDKN2A、TNFRSF18 和 IL2RA 来构建泛癌预后模型。Kaplan-Meier 生存曲线(图 5C)显示,根据风险评分中位数将患者分为高风险组与低风险组后,低风险组在多种肿瘤中总生存期优于高风险组;此外,该 ROC 结果(图 5D)显示,该模型在多种肿瘤中具有较好的预测性能。



A: 肿瘤BRCA差异基因韦恩图,展示了通过DESeq2(红)、limma(蓝)和edgeR(橙)3种方法分别筛选出的差异基因数目,并通过韦恩图显示3个方法共有交集基因数为1411;B:BRCA中Lasso系数概况,X轴表示Log(λ),Y轴表示变量系数,每条线代表一个变量,随着Log(λ)的变化,系数逐渐归零;C:BRCA中偏似然偏差随Log(λ)变化曲线,通过该图可以确定数据的最佳 λ 值;D:每种肿瘤中筛选的与预后相关基因计数,X轴表示基因计数,Y轴表示不同的肿瘤类型。肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma,ACC);膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma,BLCA);乳腺浸润癌(breast invasive carcinoma,BRCA);宫颈鳞癌和腺癌(cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma,CESC);胆管癌(cholangiocarcinoma,CHOL);结肠癌(colon adenocarcinoma,COAD);食管癌(esophageal carcinoma,ESCA);多形性胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme,GBM);肾嫌色细胞癌(kidney chromophobe,KICH);肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma,KIRC);头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma,HNSC);肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma,KIRP);急性髓细胞样白血病(acute myeloid leukemia,LAML);脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma,LGG);肝细胞肝癌(liver hepatocellular carcinoma,LIHC);肺腺癌(lung adenocarcinoma,LUAD);卵巢浆液性囊腺癌(ovarian serous cystadenocarcinoma,OV);前列腺癌(prostate adenocarcinoma,PRAD);肉瘤(sarcoma,SARC);胃癌(stomach adenocarcinoma,STAD);睾丸癌(testicular germ cell tumors,TGCT);甲状腺癌(thyroid carcinoma,THCA);胸腺癌(thymoma,THYM);子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma,UCEC);子宫肉瘤(uterine carcinosarcoma,UCS)。

图3 筛选预后基因



A: 韦恩图显示Tex细胞基因集(红)与预后基因集(蓝)中存在11个核心的共有基因,这些基因组成了泛癌Tex细胞预后基因集;B:利用STRING数据库构建泛癌Tex细胞预后基因集的PPI网络,网络中节点代表基因编码的蛋白质,连接的线条代表蛋白质之间的互作关系。

图4 Tex细胞预后基因的鉴定

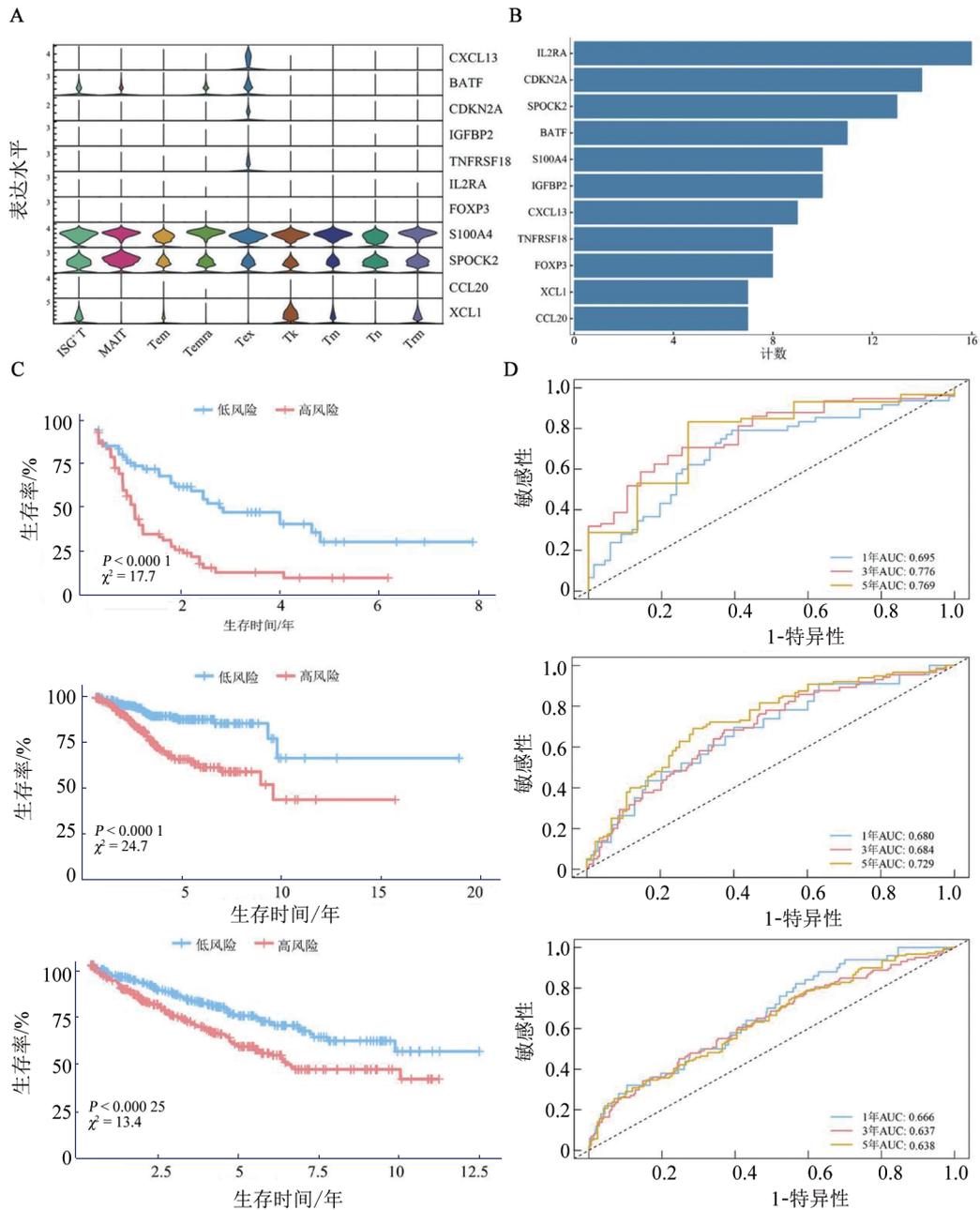
2.6 TNFRSF18可能是一种新型Tex细胞的生物标志物

近年来,研究发现CXCL13、CDKN2A和IL2RA

与Tex细胞密切相关^[24-26],是其生物标志物。研究结果(图6A)显示,TNFRSF18特异性地表达于Tex细胞中,并在多个肿瘤样本中显著上调;此外,发现

TNFRSF18 的表达与 UCEC、COAD、HNSC 的 TMB 和 MSI 呈正相关, 与 ESCA 的 TMB 和 MSI 呈负相关 (图 6B)。泛癌免疫检查点分子相关性热图 (图 6C) 显示, TNFRSF18 的表达与多种癌症中的 PDCD1、

LAG3 等基因的表达呈正相关。这些结果表明, TNFRSF18 与肿瘤免疫治疗密切相关, 可能不仅是一种新型 Tex 细胞的生物标志物, 还可能是一个潜在的泛癌免疫治疗靶点。



A: 不同细胞类型中泛癌 Tex 细胞预后基因的表达, 小提琴图显示基因 CXCL13、CDKN2A、TNFRSF18 特异性表达于 Tex 亚群中; B: Tex 预后基因在最佳预后模型中的特征数量计数, 条形长度表示计数数目; C: LAML、UCEC 和 KIRC 的生存曲线图显示, 低风险组 (蓝) 生存率优于高风险组 (红); D: LAML、UCEC 和 KIRC 的 ROC 曲线图显示, 该模型表现出良好的预测性能, 不同颜色曲线表示 1 年 (蓝)、3 年 (红)、5 年 (金) 的预测结果。

图 5 预后模型的构建与验证

3 讨论

肿瘤作为一种全身性疾病, 是全球第二大死因^[27]。随着技术不断发展, 免疫疗法逐渐成为肿瘤治

疗的重要手段。免疫疗法通过利用 T 细胞来对抗肿瘤, 不同免疫疗法通过靶向抗肿瘤 T 细胞的不同特性来发挥作用^[28]。然而, 一些肿瘤患者在治疗过程中出现 T 细胞耗竭现象, 限制免疫治疗效果。Tex 细

本研究探索了新型 Tex 细胞生物标志物, 还分析了 Tex 预后基因集在多种肿瘤中预后潜力。本研究通过单细胞泛癌图谱数据获得 Tex 基因集, 还基于 GO、KEGG 富集分析来探究该基因集生物功能及其作用。接下来, 在 TCGA 肿瘤表达谱与临床数据基础上, 采用差异基因、单因素 Cox 分析等得到预后相关基因集。多因素 Cox 回归分析确定关键预后基因 (CXCL13、CDKN2A、TNFRSF18 及 IL2RA) 来构建泛癌预后模型, 并通过 Kaplan-Meier 生存曲线、ROC 曲线对模型性能进行评估, 结果显示, 在多种肿瘤中低风险组总生存期优于高风险组, 且 AUC 值也显示该模型在多种肿瘤中均表现出良好预测性能。有研究^[24]报道, CXCL13 是 Tex 细胞标志物, 还是结直肠癌、前列腺癌和透明细胞肾细胞癌等的潜在预后生物标志物。近期, 基因 CDKN2A^[25] 和 IL2RA^[26] 分别被报道是 Tex 细胞潜在生物标志物, 与肝细胞癌预后密切相关。TNFRSF18 是 TNF 受体超家族成员, 其作用在于调节 T 细胞活化和程序性细胞死亡^[30]。

在分析泛癌单细胞数据集过程中, 本研究发现 TNFRSF18 在 Tex 细胞中表现出特异性表达, 是潜在 Tex 细胞生物标志物; 此外, 在肿瘤样本与正常样本表达分析研究中, 也发现 TNFRSF18 在多种肿瘤样本中显著上调, 结果具有统计学意义。既往研究^[31]表明, TMB、MSI 与免疫治疗效果密切相关, TMB 可以预测免疫检查点抑制剂疗效。因此, 探究 TNFRSF18 与 TMB、MSI 的相关性具有重要意义。TNFRSF18 与 TMB、MSI 的相关性分析发现, 在 UCEC、COAD、HNSC 中, TNFRSF18 表达与 TMB、MSI 表现出正相关关系, 在 ESCA 中则呈负相关; 另外, TNFRSF18 和多种免疫检查点分子表达也呈现正相关。

TNFRSF18 在肿瘤免疫调控中具有重要作用。本研究发现基因 TNFRSF18 既可能是新型 Tex 细胞生物标志物, 还有成为泛癌免疫治疗靶点的潜力。该研究还存在一些不足之处。数据采用的泛癌单细胞图谱仅包含一些常见肿瘤类型, 这在一定程度上会限制 Tex 基因集的普适范围。预后模型虽在多种肿瘤中表现出良好性能, 但还没有在外部数据集中得到验证。转录组学分析发现的潜在新型 Tex 细胞生物标志物也需要实验去验证其可靠性。针对这些不足, 本研究将扩充数据集的肿瘤类型, 然后设计实验深入探索 TNFRSF18 功能机制, 去进一步挖掘它在肿瘤免疫治疗中的作用。

利益冲突声明

所有作者声明不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] JENKINS E, WHITEHEAD T, FELLERMEYER M, *et al.* The current state and future of T-cell exhaustion research[J/OL]. *Oxf Open Immunol*, 2023, 4(1): iqad006[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37554723/>. DOI: 10.1093/oxfimm/iqad006.
- [2] MCLANE L M, ABDEL-HAKEEM M S, WHERRY E J. CD8 T cell exhaustion during chronic viral infection and cancer[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 457-495. DOI: 10.1146/annurev-immunol-041015-055318.
- [3] GAO Z Y, FENG Y, XU J H, *et al.* T-cell exhaustion in immune-mediated inflammatory diseases: New implications for immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 977394[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36211414/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.977394.
- [4] KANG K, LIN X, CHEN P, *et al.* T cell exhaustion in human cancers [J/OL]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2024, 1879(5): 189162 [2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39089484/>. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.189162.
- [5] ANDREWS L P, BUTLER S C, CUI J, *et al.* LAG-3 and PD-1 synergize on CD8⁺ T cells to drive T cell exhaustion and hinder autocrine IFN- γ -dependent anti-tumor immunity[J]. *Cell*, 2024, 187(16): 4355-4372. DOI: 10.1016/j.cell.2024.07.016.
- [6] TIETSCHER S, WAGNER J, ANZENEDER T, *et al.* A comprehensive single-cell map of T cell exhaustion-associated immune environments in human breast cancer[J/OL]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 98. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36609566/>. DOI: 10.1038/s41467-022-35238-w.
- [7] POSTOW M A, CHESNEY J, PAVLICK A C, *et al.* Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma[J/OL]. *The New England Journal of Medicine*, 2015, 372(21): 2006-2017. DOI: 10.1056/NEJMoa1414428.
- [8] CILLO A R, CARDELLO C, SHAN F, *et al.* Blockade of LAG-3 and PD-1 leads to co-expression of cytotoxic and exhaustion gene modules in CD8⁺ T cells to promote antitumor immunity[J]. *Cell*, 2024, 187(16): 4373-4388. DOI: 10.1016/j.cell.2024.06.036.
- [9] MOUNIR M, LUCCHETTA M, SILVA T C, *et al.* New functionalities in the TCGAblinks package for the study and integration of cancer data from GDC and GTEx[J/OL]. *PLoS Comput Biol*, 2019, 15(3): e1006701[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30835723/>. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006701.
- [10] ZHENG L T, QIN S S, SI W, *et al.* Pan-cancer single-cell landscape of tumor-infiltrating T cells[J/OL]. *Science*, 2021, 374(6574): abe6474[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34914499/>. DOI: 10.1126/science.abe6474.
- [11] HAO Y H, STUART T, KOWALSKI M H, *et al.* Dictionary learning for integrative, multimodal and scalable single-cell analysis [J]. *Nat Biotechnol*, 2024, 42(2): 293-304. DOI: 10.1038/s41587-023-01767-y.
- [12] WICKHAM H. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*[M]. Second edition. Cham: Springer international publishing, 2016.
- [13] XU S B, HU E Q, CAI Y T, *et al.* Using clusterProfiler to characterize multiomics data[J]. *Nat Protoc*, 2024, 19(11): 3292-3320. DOI: 10.1038/s41596-024-01020-z.

- [14] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J/OL]. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 550[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25516281/>. DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8.
- [15] RITCHIE M E, PHIPSON B, WU D, *et al.* Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): e47 [2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25605792/>. DOI: 10.1093/nar/gkv007.
- [16] CHEN Y, CHEN L, LUN A T L, *et al.* edgeR v4: powerful differential analysis of sequencing data with expanded functionality and improved support for small counts and larger datasets[A/OL]. *Cold Spring Harbor Laboratory*, 2024[2025-01-14]. <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.01.21.576131>. DOI:10.1101/2024.01.21.576131.
- [17] WICKHAM H, AVERICK M, BRYAN J, *et al.* Welcome to the tidyverse [J/OL]. *J Open Source Softw*, 2019, 4(43): 1686[2025-05-11]. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>. DOI: 10.21105/joss.01686.
- [18] TAY J K, NARASIMHAN B, HASTIE T. Elastic net regularization paths for all generalized linear models[J/OL]. *J Stat Softw*, 2023, 106: 1[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37138589/>. DOI: 10.18637/jss.v106.i01.
- [19] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, *et al.* The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D638-D646[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36370105/>. DOI: 10.1093/nar/gkac1000.
- [20] THERNEAU T M, GRAMBSCHE P M. *Modeling survival data: extending the Cox model*[M]. New York: Springer, 2001.
- [21] BLANCHE P, DARTIGUES J F, JACQMIN-GADDA H. Estimating and comparing time-dependent areas under receiver operating characteristic curves for censored event times with competing risks[J/OL]. *Statistics in Medicine*, 2013, 32(30): 5381-5397. DOI:10.1002/sim.5958.
- [22] LIAO C, WANG X. TCGAplot: an R package for integrative pan-cancer analysis and visualization of TCGA multi-omics data[J/OL]. *BMC bioinformatics*, 2023, 24(1): 483[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38105215/>. DOI: 10.1186/s12859-023-05615-3.
- [23] THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM, ALEKSANDER S A, BALHOFF J, *et al.* The Gene Ontology knowledgebase in 2023 [J/OL]. *GENETICS*, 2023, 224(1) [2025-01-14]. <https://academic.oup.com/genetics/article/doi/10.1093/genetics/iyad031/7068118>. DOI:10.1093/genetics/iyad031.
- [24] DAI S, ZENG H, LIU Z, *et al.* Intratumoral CXCL13⁺CD8⁺T cell infiltration determines poor clinical outcomes and immunoevasive contexture in patients with clear cell renal cell carcinoma[J/OL]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2021, 9(2): e001823[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33589528/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001823.
- [25] WEI S, ZHANG Y, KANG B E, *et al.* CDKN2 expression is a potential biomarker for T cell exhaustion in hepatocellular carcinoma[J]. *BMB reports*, 2024, 57(6): 287-292. DOI: 10.5483/BMBRep.2023-0214.
- [26] SHOUSE A N, LAPORTE K M, MALEK T R. Interleukin-2 signaling in the regulation of T cell biology in autoimmunity and cancer[J]. *Immunity*, 2024, 57(3): 414-428. DOI: 10.1016/j.immuni.2024.02.001.
- [27] LIU C, YANG M, ZHANG D, *et al.* Clinical cancer immunotherapy: Current progress and prospects[J/OL]. *Frontiers in immunology*, 2022, 13: 961805[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36304470/>. DOI:10.3389/fimmu.2022.961805.
- [28] OLIVEIRA G, WU C J. Dynamics and specificities of T cells in cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews. Cancer*, 2023, 23(5): 295-316. DOI:10.1038/s41568-023-00560-y.
- [29] TIAN W, QIN G, JIA M, *et al.* Hierarchical transcriptional network governing heterogeneous T cell exhaustion and its implications for immune checkpoint blockade[J/OL]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1198551[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37398674/>. DOI:10.3389/fimmu.2023.1198551.
- [30] SAYERS E W, BOLTON E E, BRISTER J R, *et al.* Database resources of the national center for biotechnology information[J/OL]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D20-D26[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34850941/>. DOI:10.1093/nar/gkab1112.
- [31] PALMERI M, MEHNERT J, SILK A W, *et al.* Real-world application of tumor mutational burden-high (TMB-high) and microsatellite instability (MSI) confirms their utility as immunotherapy biomarkers [J/OL]. *ESMO Open*, 2022, 7(1): 100336[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34953399/>. DOI:10.1016/j.esmoop.2021.100336.

[收稿日期] 2025-05-08

[修回日期] 2025-08-09

[本文编辑] 向正华