

构建和验证铜死亡相关lncRNA风险模型 预测胃腺癌的预后

唐雪飞^{1*}, 李家文²

¹青岛大学, 山东 青岛

²泰安市第一人民医院, 山东 泰安

收稿日期: 2022年9月21日; 录用日期: 2022年10月14日; 发布日期: 2022年10月24日

摘要

背景: 铜死亡是一种新的程序性细胞死亡方式, 且被报道在肿瘤中起作用。越来越多的研究表明, 长链非编码RNA (lncRNA)在胃腺癌(Stomach adenocarcinoma, STAD)的发生和发展中起重要作用。然而, 铜死亡相关lncRNA在胃腺癌中的作用和预后价值仍然未知。目的: 构建并验证铜死亡相关lncRNA风险模型来预测STAD患者的预后。方法: 从The Cancer Genome Atlas (TCGA)数据库下载了STAD的转录谱和临床信息。然后通过共表达网络、最小绝对收缩和选择算子(LASSO)算法以及COX回归模型构建了8个铜死亡相关lncRNA预后模型, 并将患者分为高风险组和低风险组。此外, 通过综合方法评估模型的预测能力。然后, 构建了一个列线图来预测STAD患者的预后。通过GO、KEGG分析研究了高低风险组患者之间差异表达基因的生物学功能。使用免疫相关功能分析及肿瘤突变负荷(TMB)来研究高低风险组之间的免疫功能的差异。结果: 构建了一个由8个铜死亡相关lncRNA组成的风险模型来预测STAD患者的预后。与低风险组STAD患者相比, 高风险组的患者总生存期较短($P < 0.001$)。ROC曲线分析验证了模型的有效性。与其他临床特征相比, 铜死亡相关的lncRNA模型对患者预后的预测更为准确。GO和KEGG富集分析表明, 高低风险组之间差异表达的基因与代谢高度相关。此外, 高风险与低TMB的叠加会导致STAD患者的生存期进一步缩短。结论: 8个与铜死亡相关的lncRNA构建的风险模型有助于评估STAD患者的预后。

关键词

胃腺癌, 铜死亡, TCGA数据库, lncRNA, 预后

Construction and Validation of a Cuproptosis-Related lncRNA Risk Model to Predict the Prognosis of Stomach Adenocarcinoma

Xuefei Tang^{1*}, Jiawen Li²

*通讯作者。

¹Qingdao University, Qingdao Shandong

²The First People's Hospital of Tai'an, Tai'an Shandong

Received: Sep. 21st, 2022; accepted: Oct. 14th, 2022; published: Oct. 24th, 2022

Abstract

Background: Cuproptosis is a new type of programmed cell death and has been reported to play a role in tumors. More and more studies have shown that long non-coding RNA (lncRNA) plays an important role in the occurrence and development of stomach adenocarcinoma (STAD). However, the role and prognostic value of cuproptosis related lncRNAs in stomach adenocarcinoma are still unknown. **Objective:** To construct and validate a cuproptosis related lncRNA risk model to predict the prognosis of patients with STAD. **Methods:** The transcriptional profile and clinical information of STAD were downloaded from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Then eight prognosis models of cuproptosis related lncRNA were constructed through co-expression network, LASSO regression analysis and COX regression analysis, and patients were divided into high-risk group and low-risk group. In addition, the predictive power of the model was assessed through a comprehensive approach. Then, a nomogram was constructed to predict the prognosis of patients with STAD. The biological functions of differentially expressed genes between patients in high and low risk groups were studied by GO and KEGG analysis. Immunological function analysis and tumor mutation burden (TMB) were used to study the difference of immune function between high-risk group and low-risk group. **Results:** A risk model consisting of 8 cuproptosis related lncRNAs was constructed to predict the prognosis of patients with STAD. Compared with STAD patients in low-risk group, the total survival time of patients in high-risk group was shorter ($P < 0.001$). ROC curve analysis verifies the effectiveness of the model. Compared with other clinical features, the cuproptosis related lncRNA model is more accurate in predicting the prognosis of patients. GO and KEGG enrichment analysis showed that genes differentially expressed between high and low risk groups were highly correlated with metabolism. In addition, the superposition of high risk and low TMB will further shorten the survival time of patients with STAD. **Conclusion:** The risk model constructed by 8 lncRNA related to cuproptosis is helpful to evaluate the prognosis of patients with STAD.

Keywords

Stomach Adenocarcinoma, Cuproptosis, The Cancer Genome Atlas Database, Long Non-Coding RNA, Prognosis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 在全球癌症发病率中排名第五, STAD 占有胃恶性肿瘤的 95% 以上[1]。尽管目前已经对胃癌患者采取了手术联合化疗、免疫治疗等多学科治疗, 但中位生存期不到 12 个月, 治疗效果因人而异[2]。因此, 建立一个准确的风险模型对 STAD 患者进行分层, 对设计个性化的治疗方案至关重要。

铜是生物体内的重要辅助因子, 参与广泛的代谢过程, 包括有氧呼吸、色素沉着、铁转运、超氧化物歧化和细胞外基质的生物合成等[3]。但当细胞内铜积累过量后, 可以通过与三羧酸(Tricarboxylic acid, TCA)循环的酯酰化成分直接结合导致细胞死亡, 即铜死亡[4]。据报道, 已在多种癌症中观察到了铜的积累。铜积累与肿瘤细胞生长、转移以及肿瘤血管生成密切相关[5] [6]。因此, 寻找与铜死亡相关的治疗靶点可能为癌症的治疗提供新的方向。

LncRNA 是一种长度超过 200 个核苷酸且不具备蛋白质编码功能的 RNA。其通过调节癌症相关基因的转录调控、转录后调控、翻译后修饰等在癌症的发生、进展和代谢重编程的过程中发挥重要作用[7] [8]。并且最近有研究开发了 lncRNA 作为癌症患者的新的预后指标[9]。一项研究建立了细胞焦亡相关 lncRNA 风险模型来预测 STAD 患者的预后[10]。然而, 在 STAD 中, 铜死亡相关的 lncRNA 的预测作用仍然未知。因此, 该研究旨在利用生物信息学构建并验证铜死亡相关的 lncRNA 风险模型, 用于预测 STAD 患者的预后。

2. 资料和方法

2.1. 数据采集

STAD 患者的转录组表达数据和临床数据来自于 TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>)数据库。其中包括 375 个肿瘤样品和 32 个正常组织样品。使用 Perl 编程语言(Strawberry-Perl-5.30.0 版; <https://www.perl.org/>), 以已标准化的每千碱基百万片段(FPKM)格式提取转录组表达数据。同时用 Pearl 对临床数据进行预处理, 获得临床数据完整的信息。

2.2. 筛选铜死亡相关 lncRNA

根据之前的研究[4] [11] [12], 确定了 19 个铜死亡相关基因(NFE2L2, NLRP3, ATP7B, ATP7A, SLC31A1, FDX1, LIAS, LIPT1, LIPT2, DLD, DLAT, PDHA1, PDHB, MTF1, GLS, CDKN2A, DBT, GCSH, DLST)。采用 Pearson 相关分析研究铜死亡相关基因与 lncRNA 的相关性, 并使用 Pearson 相关系数 > 0.4 和 $p < 0.001$ 作为标准进行筛选铜死亡相关 lncRNA。使用 “dplyr”、“ggalluvial”和 “ggplot2”包, 绘制了铜死亡基因和铜死亡相关 lncRNA 之间的桑基图。

2.3. 构建和验证预后风险模型

使用 R “caret”包将来自 TCGA 数据库的 STAD 患者按 1:1 的比例随机分为训练集和测试集。训练集用于构建铜死亡相关的 lncRNA 风险模型, 测试集和整个集用于验证风险模型。首先使用单因素 Cox 回归分析生成森林图以揭示 STAD 中与铜死亡相关的预后 lncRNA 基因。然后使用最小绝对收缩和选择算子(LASSO)回归来选择预测变量并避免过度拟合。然后进行多因素 Cox 回归分析以确定参与风险模型构建的 lncRNA。基于铜死亡相关的 lncRNA 构建了一个风险模型, 以预测 STAD 患者的预后。风险评分计算如下:

$$\text{risk score} = \sum i = \text{InCoef}(i) \times \text{Expr}(i).$$

公式中的 $\text{Expr}(i)$ 代表每个 lncRNA 的表达值, $\text{Coef}(i)$ 表示每个 lncRNA 的多重 Cox 回归分析的回归系数。根据中位风险评分, 将患者分为高风险组和低风险组。Kaplan-Meier 生存曲线分析用来探索高低风险组之间的总生存率和无进展生存率是否存在差异。对患者年龄、性别、组织学分级、临床分期、风险评分分别进行单因素和多因素 Cox 独立预后分析, 从而观察风险评分是否可以独立于其他临床特征作为新的预后因子。通过受试者工作特征(ROC)曲线评价预后模型的预测性能。

2.4. 构建列线图

使用 `rms` 包, 建立了列线图用来预测 STAD 患者 1、3 和 5 年生存率。采用校准曲线检验预测的存活率是否与实际存活率一致。

2.5. PCA、GO 富集分析、KEGG 富集分析

为了获得不同风险组中铜死亡相关 lncRNA 的表达分布模式, 使用散点图进行了 PCA 来显示高风险和低风险样本的空间分布。此外, 对于低风险和高风险人群的差异基因, 使用了 GO 分析, 它由三个组成部分组成: 生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)。此外, 分析了两组中差异表达基因的 KEGG 通路。

2.6. 免疫相关功能分析和肿瘤突变负荷

通过“limma”、“GSVA”和“GSEABase”软件包对 STAD 中的浸润免疫细胞和免疫相关功能进行单样本 GSEA (ssGSEA) 评分, 并以热图的形式呈现。从 TCGA 网站下载体细胞突变数据后, 应用 Perl 提取突变数据。然后, 使用“maftools”包检查和整合 TCGA 数据, 并分析了高风险组和低风险组之间 TMB 的差异。

2.7. 统计学分析

在本研究中使用 R4.2.0 进行了统计分析。Pearson 相关分析用于分析铜死亡相关基因与铜死亡相关 lncRNA 的相关性。Kaplan-Meier 分析用于比较亚组之间的总生存期。进行单因素和多因素 Cox 回归分析以确定总生存期的独立预测因子。P < 0.05 被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 鉴定对 STAD 患者具有预后价值的铜死亡相关 lncRNA

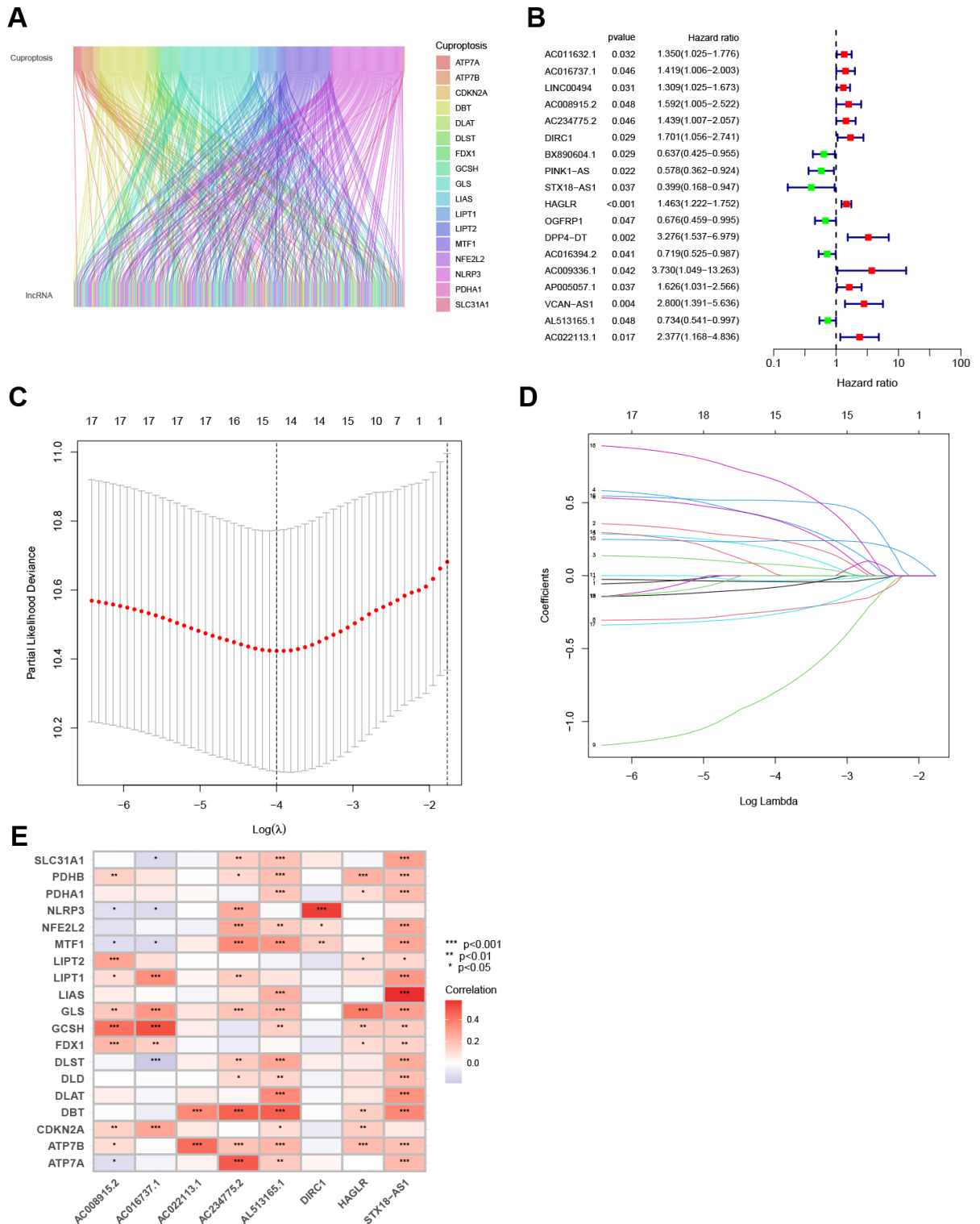
根据之前的研究, 确定了 19 个铜死亡相关基因。通过共表达分析, 筛选出 430 个与铜死亡相关基因有共表达关系的 lncRNA (图 1(A))。然后, 将 371 名 STAD 患者被随机分配到训练集(N = 186)或测试集(N = 185)。然后, 通过单因素 Cox 分析(P < 0.05)筛选出 18 个差异表达的预后相关 lncRNA: AC011632.1, AC016737.1, LINC00494, AC008915.2, AC234775.2, DIRC1, BX890604.1, PINK1-AS, STX18-AS1, HAGLR, OGFRP1, DPP4-DT, AC016394.2, AC009336.1, AP005057.1, VCAN-AS1, AL513165.1, AC022113.1 (图 1(B))。

3.2. 铜死亡相关 lncRNA 预后预测模型的构建

通过 LASSO 回归分析进一步筛选预后相关的 lncRNA, 获得了 15 个 lncRNA (图 1(C), 图 1(D))。根据多因素 Cox 分析结果, 其中 8 个 lncRNA 被引入到预后模型当中(图 1(E))。风险得分 = $AC016737.1 \times (0.4278) + AC008915.2 \times (0.5498) + AC234775.2 \times (0.3267) + DIRC1 \times (0.6624) + STX18-AS1 \times (-1.4439) + HAGLR \times (0.2656) + AL513165.1 \times (-0.4177) + AC022113.1 \times (0.8877)$ 。在训练集和测试集以及所有患者中, 高风险组的生存期显著缩短(图 2(A)~(L))。同样, 与低风险组相比, 高风险组的无进展生存期显著降低(图 2(M))。

3.3. 风险评分可作为独立的预后因素并指导 STAD 患者的临床结果预测

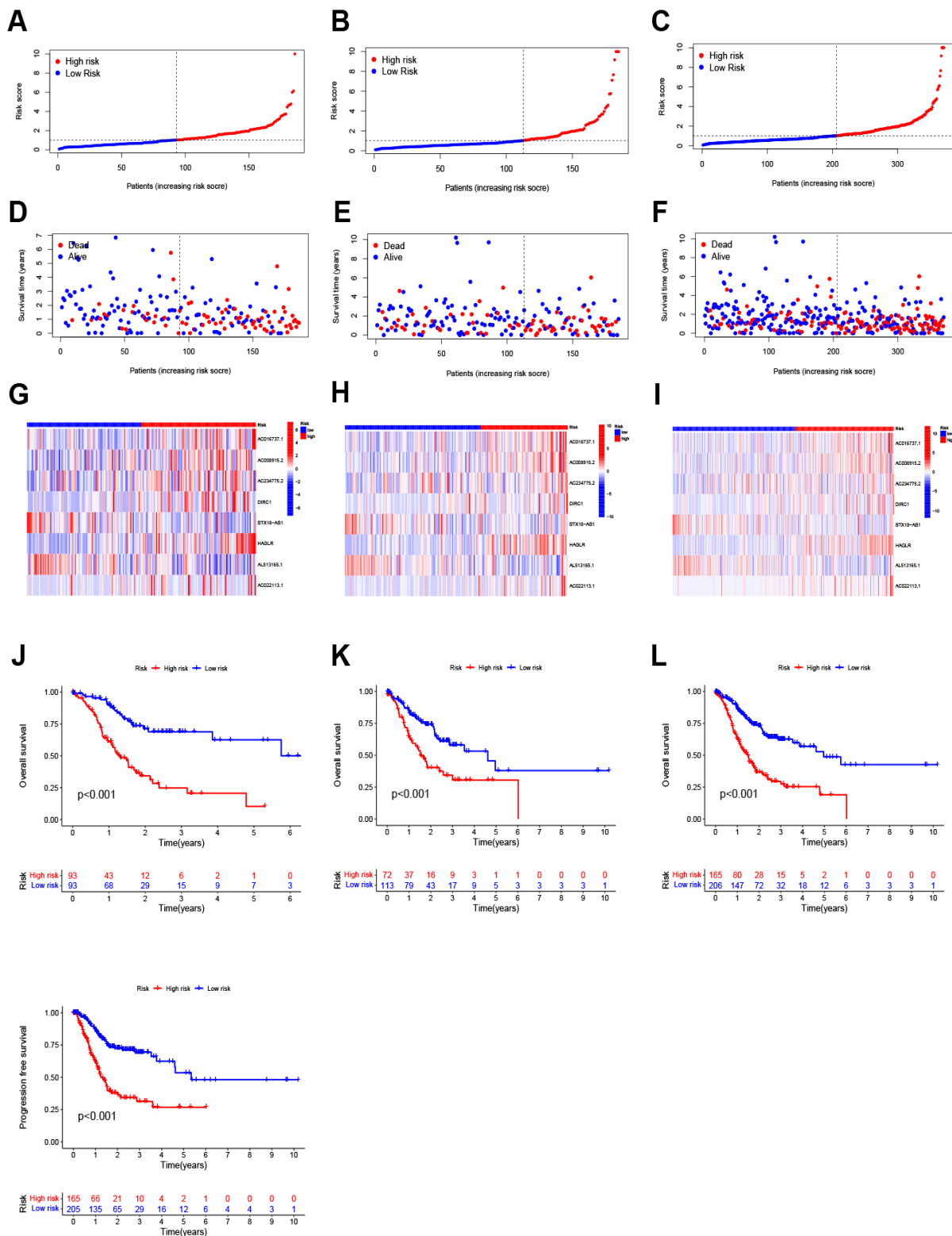
使用单因素和多因素 Cox 回归分析探究在 STAD 患者中铜死亡相关 lncRNA 对预后的预测价值。结果表明, 铜死亡相关 lncRNA 构建的风险评分与患者生存期显著相关, 是 STAD 患者的独立预后因素(图 3(A), 图 3(B))。并且, 1 年, 3 年和 5 年的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.681, 0.684 和 0.732 (图 3(C))。该模型的 1 年 ROC 风险评分的 AUC 为 0.681, 与其他临床特征相比具有更强的预测能力(图 3(D))。同样, 风险模型的 C 指数高于任何其他临床特征的 C 指数(图 3(E))。



(A) 铜死亡基因与铜死亡相关 lncRNA 的桑基图。(B) 森林图显示了铜死亡相关的预后 lncRNA。(C) 铜死亡相关 lncRNA 的 LASSO 系数分布。(D) 最小绝对收缩和选择算子(LASSO)算法中变量选择的 10 倍交叉验证。(E) 风险模型中铜死亡相关基因与 lncRNA 的相关性。

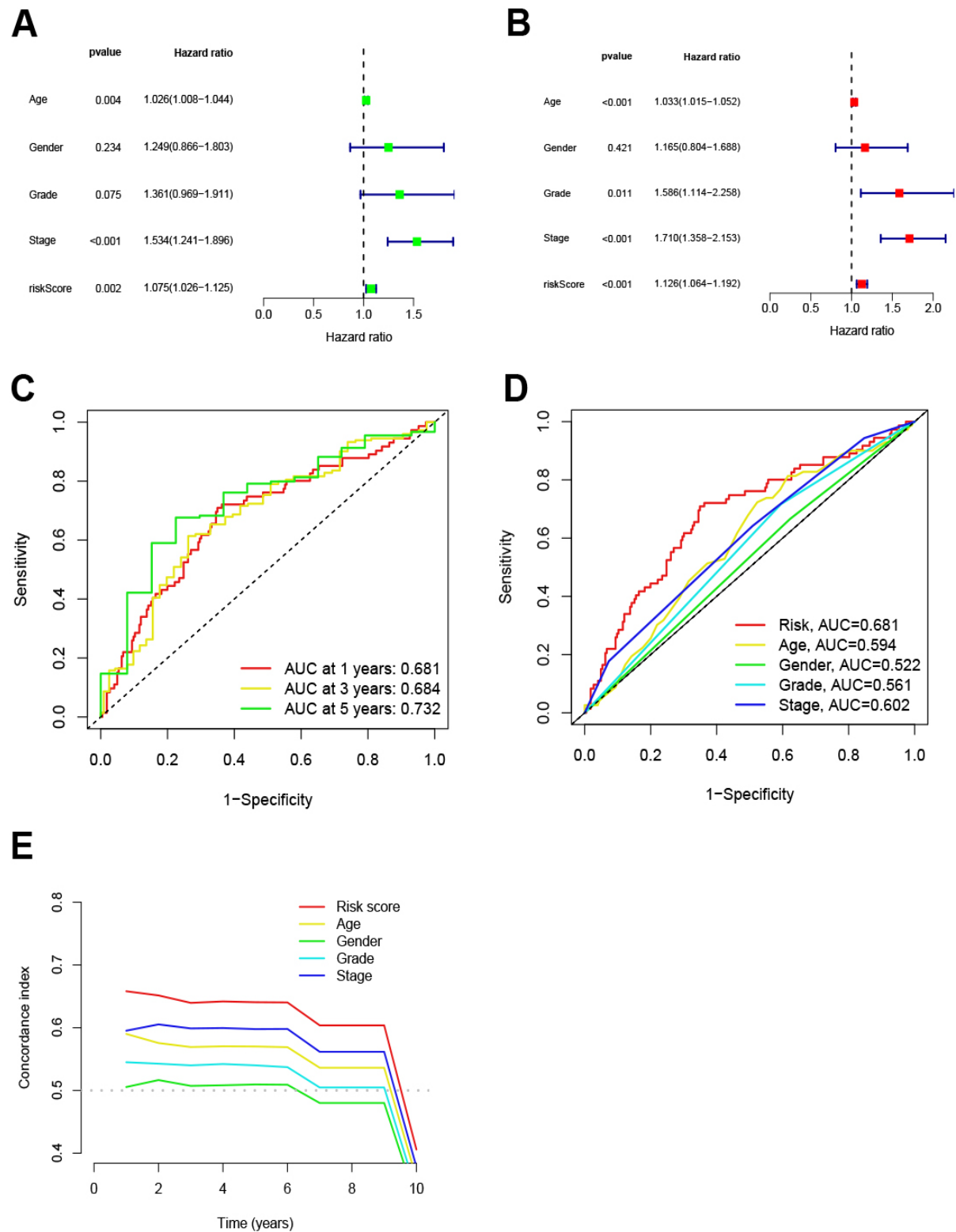
Figure 1. Identification of cuproptosis-related lncRNA with prognostic value in patients with STAD

图 1. 鉴定对 STAD 患者具有预后价值的铜死亡相关 lncRNA



训练集、测试集及整个集的风险评分分布(A)~(C)、生存时间和生存状态(D)~(F)、8 个 lncRNA 表达热图(G)~(I)及 Kaplan-Meier 生存曲线(J)~(L)。(M) STAD 患者整个集的无进展生存期的 Kaplan-Meier 生存曲线。

Figure 2. Prognosis of the risk model in different groups
图 2. 不同组的风险模型的预后



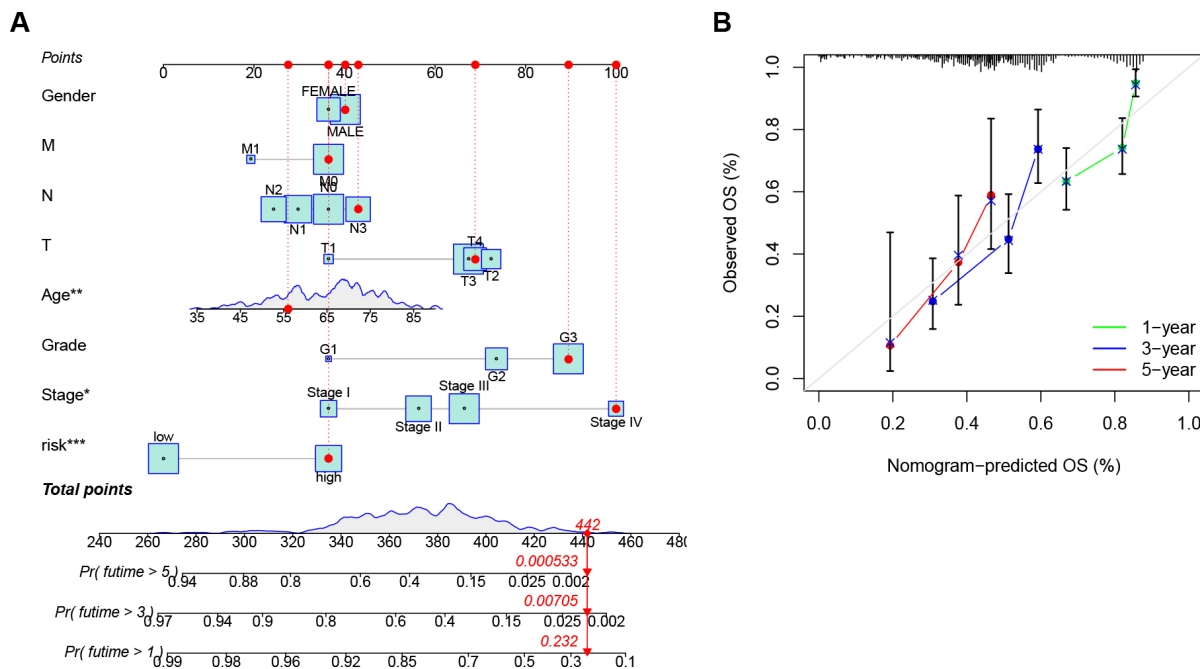
(A) (B) 铜死亡相关 lncRNA 的单因素和多因素的独立预后分析。(C) 模型对 1、3、5 年生存率预测性能的 AUC 值。(D) 与年龄、性别和分期等临床病理特征相比, 风险模型的预测准确性。(E) 风险模型的 C 指数曲线。

Figure 3. Evaluate the prognostic ability of cuproptosis-related lncRNA risk model in patients with STAD

图 3. 评估铜死亡相关 lncRNA 风险模型对 STAD 患者的预后预测能力

3.4. 列线图的构建和验证

创建了结合临床特征和风险评分的列线图, 来预测 STAD 患者在 1 年, 3 年, 5 年的预后(图 4(A)). 校准曲线显示列线图与预测结果之间具有良好的一致性(图 4(B)).



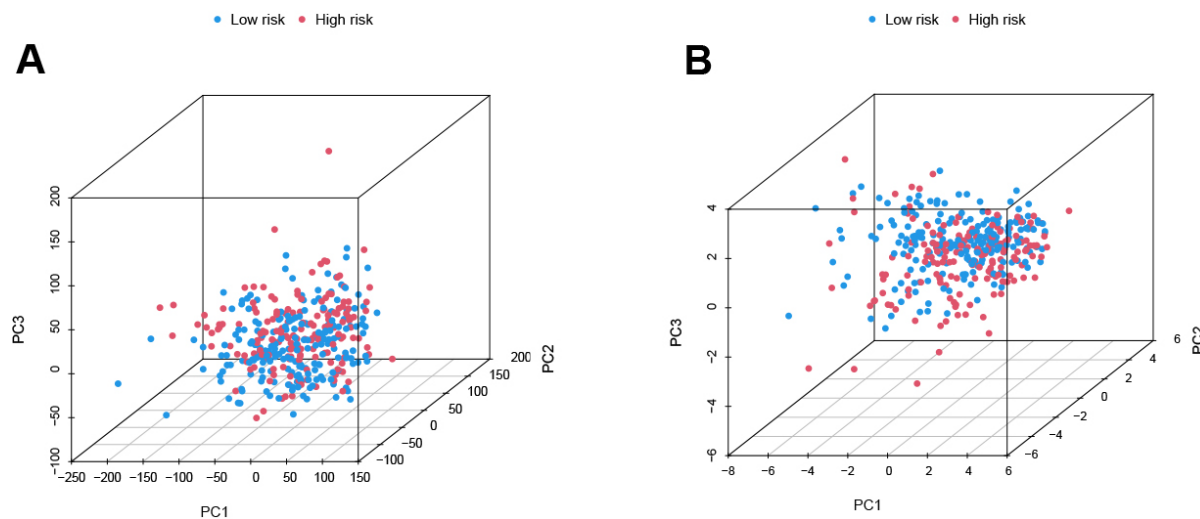
(A) 构建列线图预测 STAD 患者 1 年、3 年和 5 年的生存期。(B) 校准曲线检测预测存活率与实际存活率的一致性。

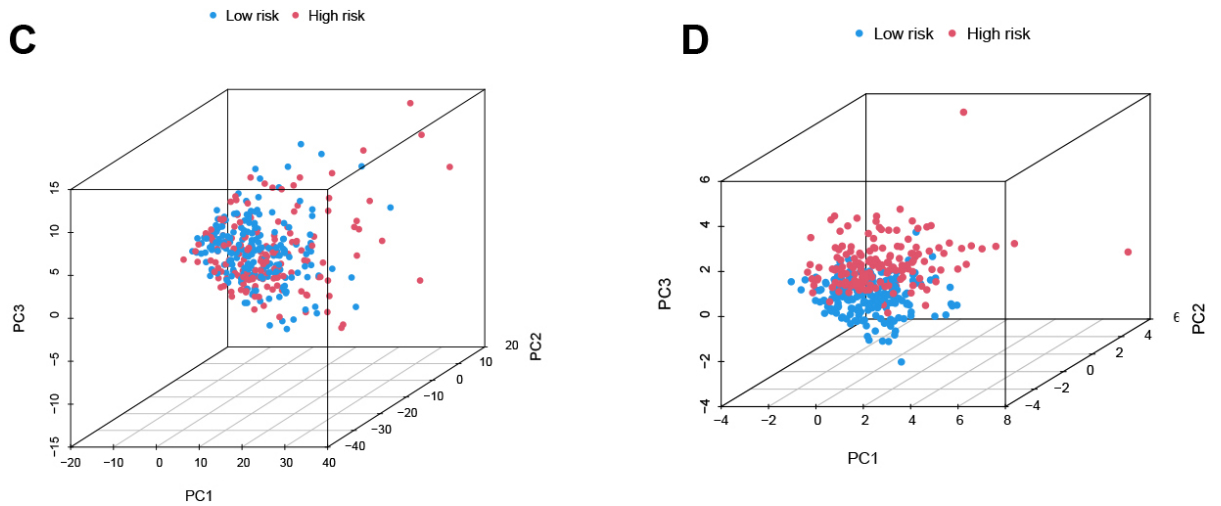
Figure 4. Construction and validation of the nomogram

图 4. 构建并验证列线图

3.5. PCA、GO 富集分析、KEGG 富集分析

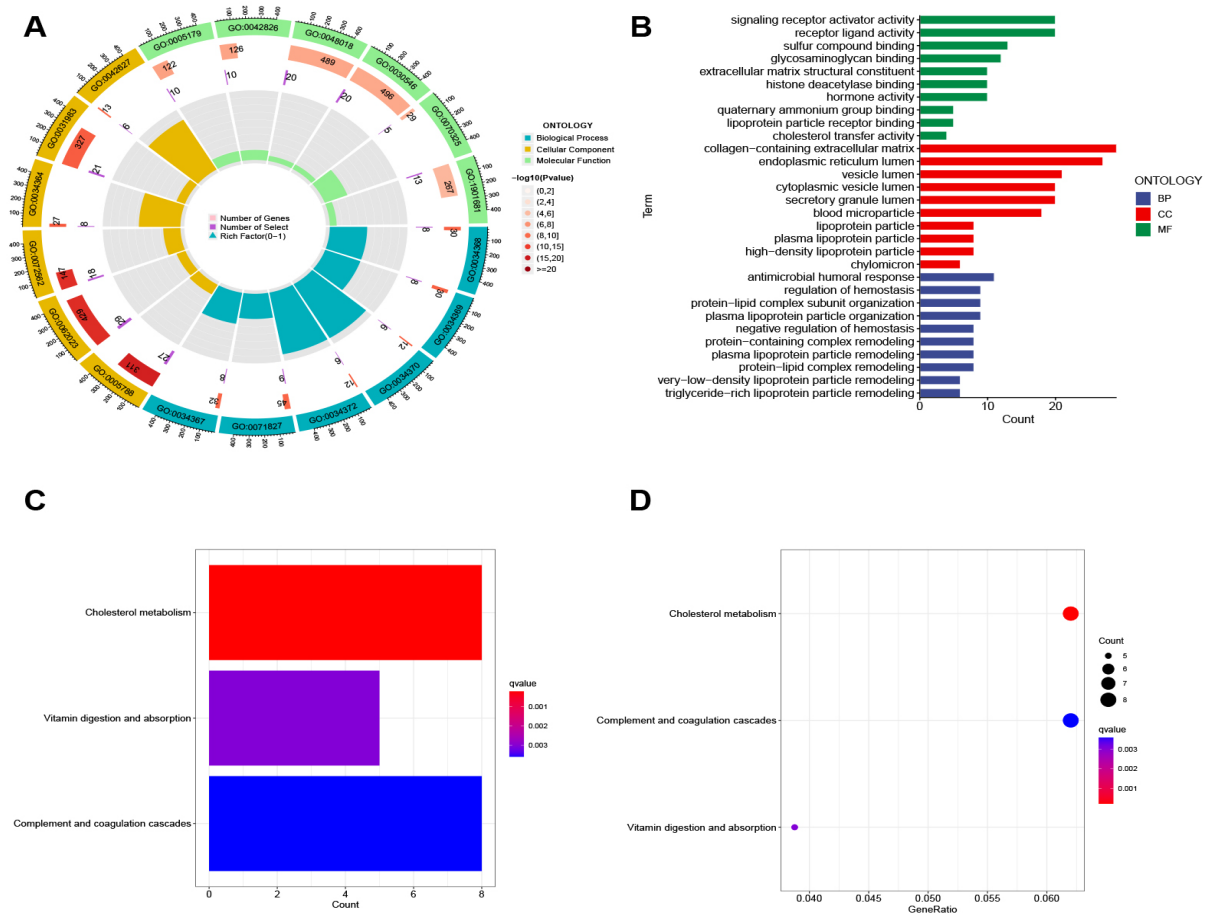
PCA 用于探索高风险组和低风险组之间的差异, 总基因、铜死亡基因、铜死亡相关 lncRNA 的表达谱分类的高低风险组之间无明显差异(图 5(A)~(C)), 而 8 种与铜死亡相关的 lncRNA 具有最好的区分低风险和高风险人群的能力(图 5(D)). 为了检测生物学功能的差异, 比较了高风险组和低风险组患者的基因





(A) 所有基因的 PCA。(B) 铜死亡相关基因的 PCA。(C) 铜死亡相关 lncRNA 基因的 PCA。(D) 风险模型中 lncRNA 的 PCA。

Figure 5. PCA of patients in high-risk group and low-risk group
图 5. 高低风险组患者的 PCA



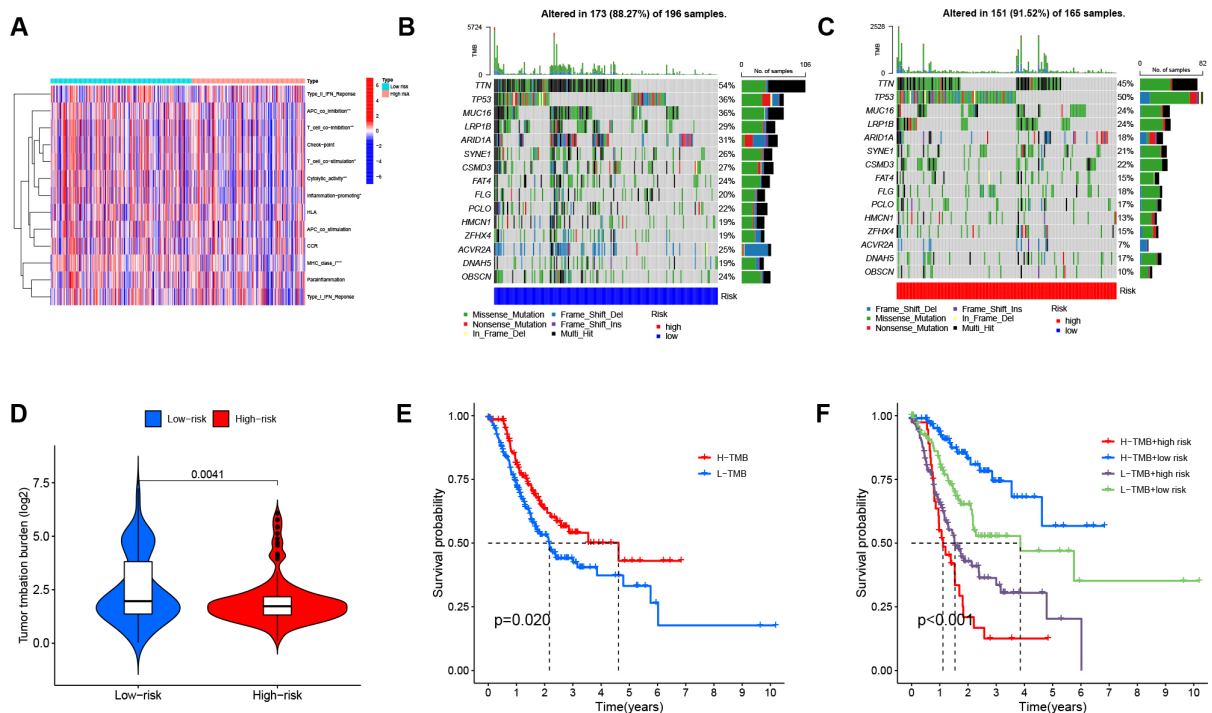
(A) (B) 高低风险组之间差异表达基因的 GO 富集分析结果。(C) (D) KEGG 富集分析显示差异表达基因的显著富集的通路。

Figure 6. GO and KEGG enrichment analysis
图 6. GO 和 KEGG 富集分析

表达, 获得了 357 个差异表达基因。GO 富集分析表明差异基因与胶原蛋白(包括细胞外基质)以及内质网腔密切相关(图 6(A), 图 6(B))。KEGG 富集分析表明差异基因主要涉及胆固醇代谢(图 6(C), 图 6(D))。

3.6. 免疫相关功能分析和肿瘤突变负荷

免疫相关功能分析热图显示, MHC I 类通路、抗原提呈细胞的共抑制、T 细胞的共抑制和细胞毒性的激活在高风险组与低风险组之间具有明显差异(图 7(A))。从 TCGA 网站下载体细胞突变数据, 分析高风险组和低风险组患者的体细胞突变变化。突变率最高的 10 个基因是 TTN、TP53、MUC16、LRP1B、ARID1A、SYNE1、CSMD3、FAT4、FLG、PCLO (图 7(B), 图 7(C))。并且, 两组之间的肿瘤突变负荷具有差异(图 7(D))。并且, 与其他组相比, 高肿瘤突变负荷和高风险组的患者预后最差(图 7(E), 图 7(F))。



(A) 高低风险组之间的免疫相关功能的差异。(B) (C) 高低风险组之间基因突变的瀑布图。(D) 两组之间 TMB 的差异。(E) 高 TMB 组和低 TMB 组之间的 Kaplan-Meier 生存曲线。(F) 四组之间的 Kaplan-Meier 生存曲线。

Figure 7. Evaluation of immune related function and tumor mutational burden

图 7. 评估免疫相关功能及肿瘤突变负荷

4. 讨论

STAD 是胃癌的主要组织学类型, 但目前的治疗方法使 STAD 的疗效仍不能令人满意, 患者的生存期因人而异。因此, 建立一个预测模型对 STAD 患者进行个性化的预后分析对于改善患者预后至关重要。

越来越多的证据表明, 各种程序性细胞死亡方式与癌症的发展密切相关[13] [14] [15]。铜死亡作为一种新的程序性细胞死亡方式, 在 2022 年 3 月份被提出。细胞内铜的积累导致了脂酰化蛋白质聚集, 和铁硫簇蛋白质丢失, 进而引发蛋白质毒性应激, 并最终致使细胞死亡[4]。据报道, 铜的摄取、转运及与铜依赖蛋白的结合对癌症的发展有重要作用[16] [17] [18]。因此, 铜死亡的深入研究有助于促进对肿瘤发病机制的新认识。

lncRNAs 的功能和调控作用在胃癌中越来越得到认可。据报道, LncRNA MIR503HG 通过 miR-224-5p/

TUSC3 级联信号调节未折叠蛋白反应的 ATF6 分支来抑制胃癌的进展[19]。lncRNA MAGI2-AS3 通过海绵化 miR-141/200a 和维持胃癌中 ZEB1 的过表达来促进肿瘤进展[20]。细胞焦亡以及坏死性凋亡相关的 lncRNA 在胃癌患者的预后预测中的作用也有报道[10] [21]。然而, 迄今为止还没有研究评估铜死亡相关的 lncRNA 在胃癌中的作用。在这里, 该研究构建了一个与铜死亡相关的 lncRNA 风险模型来预测 STAD 患者的预后。在该研究中, 通过分析获得了 18 个与预后相关的铜死亡相关 lncRNA。然后通过 LASSO 回归、多因素 Cox 回归分析筛选并鉴定了 8 个 lncRNA (AC016737.1, AC008915.2, AC234775.2, DIRC1, STX18-AS1, HAGLR, AL513165.1, AC022113.1)引入到模型当中。其中, AC016737.1, DIRC1, STX18-AS1 已被报道与胃癌密切相关[22] [23] [24]。HAGLR 则被报道在多种癌症的发展中发挥重要作用[25] [26] [27]。而 AC008915.2, AC234775.2, AL513165.1 以及 AC022113.1 则是被首次报道。Kaplan-Meier 生存曲线、ROC 曲线以及 c 指数评估了 STAD 患者铜死亡相关 lncRNA 的预测准确性。可以发现风险评分比其他临床特征具有更强的预测能力。接下来, 构建了一个列线图来预测 STAD 患者的预后。校准曲线显示列线图与预测结果之间具有良好的一致性。然后 PCA 结果表明, 8 个与铜死亡相关的 lncRNA 具有最好的区分低风险和高风险人群的能力。GO 富集分析表明, 高低风险组之间差异表达的基因与胶原蛋白(包括细胞外基质)以及内质网腔密切相关。KEGG 分析表明, 差异基因主要涉及胆固醇代谢。此外, 免疫相关功能分析结果显示, MHC I 类通路、抗原提呈细胞的共抑制、T 细胞的共抑制和细胞毒性的激活在高风险组与低风险组之间具有明显差异。这些结果表明, 铜死亡相关 lncRNA 可能与 STAD 肿瘤免疫微环境相关, 通过抑制免疫而促进癌症的进展。此外, 瀑布图显示, 大多数基因在低风险组中的突变频率要高于高风险组。肿瘤突变负荷显示高低风险组之间的肿瘤突变负荷具有差异, 低风险组的肿瘤突变负荷更高。并且, 高风险与低 TMB 的叠加效益会使 STAD 患者的生存期进一步缩短。

该研究确定了 8 个具有预后价值的铜死亡相关 lncRNA, 并利用它们建立了预测 STAD 患者预后的模型, 为 STAD 患者的个体化治疗提供了重要依据并为 STAD 的靶向治疗提供一定的科研依据和理论基础。

这项研究仍有一定的局限性。首先, 该研究仅在 TCGA 数据库中验证了该模型, 还需要更多的临床数据对其进行验证以确定它是否可以应用于临床患者。其次, 铜死亡相关的 lncRNA 在癌症中发挥作用的机制尚不明确。因此, 还需要进一步的研究以验证铜死亡相关 lncRNA 的价值。

参考文献

- [1] Tan, R., Zhang, G., Liu, R., *et al.* (2021) Identification of Early Diagnostic and Prognostic Biomarkers via WGCNA in Stomach Adenocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 636461. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.636461>
- [2] Wang, N. and Liu, D. (2021) Identification and Validation a Necroptosis-Related Prognostic Signature and Associated Regulatory Axis in Stomach Adenocarcinoma. *OncoTargets and Therapy*, **14**, 5373-5383. <https://doi.org/10.2147/OTT.S342613>
- [3] Shanbhag, V.C., Gudekar, N., Jasmer, K., *et al.* (2021) Copper Metabolism as a Unique Vulnerability in Cancer. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research*, **1868**, Article ID: 118893. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118893>
- [4] Tsvetkov, P., Coy, S., Petrova, B., *et al.* (2022) Copper Induces Cell Death by Targeting Lipoylated TCA Cycle Proteins. *Science*, **375**, 1254-1261. <https://doi.org/10.1126/science.abf0529>
- [5] Brady, D.C., Crowe, M.S., Turski, M.L., *et al.* (2014) Copper Is Required for Oncogenic BRAF Signalling and Tumorigenesis. *Nature*, **509**, 492-496. <https://doi.org/10.1038/nature13180>
- [6] Li, Y. (2020) Copper Homeostasis: Emerging Target for Cancer Treatment. *IUBMB Life*, **72**, 1900-1908. <https://doi.org/10.1002/iub.2341>
- [7] Huang, Q., Yan, J. and Agami, R. (2018) Long Non-Coding RNAs in Metastasis. *Cancer Metastasis Reviews*, **37**, 75-81. <https://doi.org/10.1007/s10555-017-9713-x>
- [8] Tan, Y.T., Lin, J.F., Li, T., *et al.* (2021) LncRNA-Mediated Posttranslational Modifications and Reprogramming of Energy Metabolism in Cancer. *Cancer Communications (London, England)*, **41**, 109-120.

- <https://doi.org/10.1002/cac2.12108>
- [9] Xu, M., Mu, J., Wang, J., *et al.* (2022) Construction and Validation of a Cuproptosis-Related lncRNA Signature as a Novel and Robust Prognostic Model for Colon Adenocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article ID: 961213. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.961213>
- [10] Wang, Z., Cao, L., Zhou, S., *et al.* (2022) Construction and Validation of a Novel Pyroptosis-Related Four-lncRNA Prognostic Signature Related to Gastric Cancer and Immune Infiltration. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 854785. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.854785>
- [11] Deigendesch, N., Zychlinsky, A. and Meissner, F. (2018) Copper Regulates the Canonical NLRP3 Inflammasome. *Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950)*, **200**, 1607-1617. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700712>
- [12] Song, M.O., Mattie, M.D., Lee, C.H., *et al.* (2014) The Role of Nrf1 and Nrf2 in the Regulation of Copper-Responsive Transcription. *Experimental Cell Research*, **322**, 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.01.013>
- [13] Jiang, M., Qi, L., Li, L., *et al.* (2020) The caspase-3/GSDME Signal Pathway as a Switch between Apoptosis and Pyroptosis in Cancer. *Cell Death Discovery*, **6**, Article No. 112. <https://doi.org/10.1038/s41420-020-00349-0>
- [14] Mou, Y., Wang, J., Wu, J., *et al.* (2019) Ferroptosis, a New Form of Cell Death: Opportunities and Challenges in Cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, **12**, Article No. 34. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0720-y>
- [15] Goldar, S., Khaniani, M.S., Derakhshan, S.M., *et al.* (2015) Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, **16**, 2129-2144. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.6.2129>
- [16] Blockhuys, S. and Wittung-Stafshede, P. (2017) Roles of Copper-Binding Proteins in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, Article No. 871. <https://doi.org/10.3390/ijms18040871>
- [17] Gao, W., Huang, Z., Duan, J., *et al.* (2021) Elesclomol Induces Copper-Dependent Ferroptosis in Colorectal Cancer Cells via Degradation of ATP7A. *Molecular Oncology*, **15**, 3527-3544. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13079>
- [18] Yu, Z., Zhou, R., Zhao, Y., *et al.* (2019) Blockage of SLC31A1-Dependent Copper Absorption Increases Pancreatic Cancer Cell Autophagy to Resist Cell Death. *Cell Proliferation*, **52**, e12568. <https://doi.org/10.1111/cpr.12568>
- [19] Lin, H., Wang, J., Wang, T., *et al.* (2021) The lncRNA MIR503HG/miR-224-5p/TUSC3 Signaling Cascade Suppresses Gastric Cancer Development via Modulating ATF6 Branch of Unfolded Protein Response. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 708501. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.708501>
- [20] Li, D., Wang, J., Zhang, M., *et al.* (2020) lncRNA MAGI2-AS3 Is Regulated by BRD4 and Promotes Gastric Cancer Progression via Maintaining ZEB1 Overexpression by Sponging miR-141/200a. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, **19**, 109-123. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.11.003>
- [21] Luo, L., Li, L., Liu, L., *et al.* (2022) A Necroptosis-Related lncRNA-Based Signature to Predict Prognosis and Probe Molecular Characteristics of Stomach Adenocarcinoma. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article ID: 833928. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.833928>
- [22] Zhang, S., Li, X., Tang, C., *et al.* (2021) Inflammation-Related Long Non-Coding RNA Signature Predicts the Prognosis of Gastric Carcinoma. *Frontiers in Genetics*, **12**, Article ID: 736766. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.736766>
- [23] Li, Z., Yang, A.J., Wei, F.M., *et al.* (2018) Significant Association of DIRC1 Overexpression with Tumor Progression and Poor Prognosis in Gastric Cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **22**, 8682-8689.
- [24] Yue, Q., Bai, J., Wang, F., *et al.* (2022) Novel Classification and Risk Model Based on Ferroptosis-Related lncRNAs to Predict Oncologic Outcomes for Gastric Cancer Patients. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **36**, e23052. <https://doi.org/10.1002/jbt.23052>
- [25] Li, Y.H., Huang, G.M., Wang, W., *et al.* (2020) lncRNA HAGLR Exacerbates Hepatocellular Carcinoma through Negatively Regulating miR-6785-5p. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 9353-9360.
- [26] Jin, L., Luo, C., Wu, X., *et al.* (2021) lncRNA-HAGLR Motivates Triple Negative Breast Cancer Progression by Regulation of WNT2 via Sponging miR-335-3p. *Aging (Albany NY)*, **13**, 19306-19316. <https://doi.org/10.18632/aging.203272>
- [27] Sun, W., Nie, W., Wang, Z., *et al.* (2020) lnc HAGLR Promotes Colon Cancer Progression through Sponging miR-185-5p and Activating CDK4 and CDK6 *in Vitro* and *in Vivo*. *Oncotargets and Therapy*, **13**, 5913-5925. <https://doi.org/10.2147/OTT.S246092>