

文章编号 1006-8147(2022)02-0129-06

论著

基于TCGA数据库分析HPRT1在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义

张诗晗,张健

(天津医科大学口腔医院口腔颌面外科,天津 300070)

摘要 目的:探讨次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶1(HPRT1)在口腔鳞状细胞癌(OSCC)中的表达及功能。方法:下载TCGA数据库中的OSCC转录样本($n=394$),包括癌症组织($n=362$)及正常组织($n=32$),以及381例临床数据。分析HPRT1的表达与OSCC预后的关系。利用基因集富集分析探讨HPRT1在OSCC中可能的作用机制。探讨HPRT1与OSCC中免疫细胞的相关性。结果:HPRT1在OSCC组织中高表达($t=1.856, P<0.001$),HPRT1高表达组的总生存率更差($P<0.05$)。HPRT1与肿瘤分级、病理分期及T分期呈正相关。Cox回归分析结果提示HPRT1是OSCC预后的独立因素($P=0.002$)。基因富集分析提示HPRT1可能与基础转录因子通路、细胞周期通路、DNA复制等通路($FDR<0.05, P<0.05$)以及氨酰-tRNA生物合成通路、碱基切除修复通路($P<0.05$)有关。HPRT1高表达与调节性T细胞、休眠肥大细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的含量具有相关性(均 $P<0.05$)。结论:HPRT1在OSCC组织中高表达并与OSCC的进展有关,可作为OSCC预后评估的潜在标记物。

关键词 口腔鳞状细胞癌;HPRT1;免疫浸润;预后

中图分类号 R739.8

文献标志码 A

Expression and significance of HPRT1 in oral squamous cell carcinoma based on TCGA database

ZHANG Shi-Han, ZHANG Jian

(Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To explore the expression and function of HPRT1 in oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods:** The OSCC transcription samples ($n=394$) in TCGA database were downloaded, including cancer tissues ($n=362$) and normal tissues ($n=32$), and 381 clinical data. The relationship between the expression of HPRT1 and the prognosis of OSCC was analyzed. The possible mechanism of HPRT1 in OSCC by GSEA was explored. The correlation between HPRT1 and immune cells in OSCC was explored. **Results:** HPRT1 was highly expressed in OSCC tissues ($t=1.856, P<0.001$), the overall survival rate was worse in the HPRT1 high expression group ($P<0.05$). HPRT1 was positively correlated with tumor grade, pathological stage and T stage. Cox regression analysis showed that HPRT1 was an independent factor in the prognosis of OSCC ($P=0.002$). GSEA suggested that HPRT1 might be related to basal transcription factors pathway, cell cycle pathway, DNA replication pathway ($FDR<0.05, P<0.05$), aminoacyl tRNA biosynthesis pathway and excision repair pathway ($P<0.05$). The high expression of HPRT1 was correlated with the contents of Tregs, mast cells resting, neutrophils and eosinophils (all $P<0.05$). **Conclusion:** HPRT1 is highly expressed in OSCC and is related to the progression of OSCC. It can be used as a potential marker for the prognosis of OSCC.

Key words oral squamous cell carcinoma; HPRT1; immune infiltration; prognosis

口腔鳞状细胞癌(OSCC)是口腔最常见的恶性肿瘤,约占口腔癌总数的90%,其发病率呈上升趋势^[1-2]。OSCC可发生在舌、颊、牙龈、硬腭、口底等黏膜部位。OSCC的病因尚不清楚,多数研究表明吸烟、饮酒、咀嚼槟榔、人乳头瘤病毒(HPV,主要是16型)、硬皮病、某些遗传病(如Zinsser-Engman-Cole综合征等)可能是口腔癌发生的危险因素。OSCC浸润性强,易出现淋巴结转移,通常在晚期后才被诊断出来,5年生存率不到50%^[3]。目前已有一些研究探讨了影响OSCC发展和预后的一些相关因子,以寻找新的治疗

靶点,为OSCC基因靶向治疗提供了新方向^[4]。

次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶1(hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1, HPRT1)又称为HPRT、HGPRT。它是一种补救途径酶,负责将核糖单磷酸从磷酸核糖焦磷酸(phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP)转移到次黄嘌呤和鸟嘌呤,分别形成肌苷单磷酸(inosine monophosphate, IMP)和鸟苷单磷酸(guanosine monophosphate, GMP)^[5]。HPRT1含有217个氨基酸,在所有组织中均以低水平表达^[6],唯一的例外是在中枢神经组织中表达水平异常升高^[7]。最近一些研究发现,HPRT1在恶性肿瘤组织中的表达普遍升高。有学者发现HPRT1的mRNA水平与受试小

作者简介 张诗晗(1996-),硕士在读,研究方向:骨组织缺损与修复;
通信作者:张健, E-mail: zj301doctor@126.com。

鼠的肿瘤负荷直接相关,说明小鼠体内 HPRT1 的水平与肿瘤的大小有关^[8]。研究表明,HPRT1 的表达在前列腺癌患者样本中增加,在乳腺癌患者的基础亚型中最高,并与乳腺癌的进展相关,可作为一个潜在的预后标志物^[9]。对结肠、直肠癌的研究表明,与正常组织相比,肿瘤样本中 HPRT1 的水平升高^[10]。最新研究发现,HPRT 通过与信号转导与转录激活因子 3(STAT3)的直接相互作用,促进头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)的增殖和转移^[11]。也有学者证实 HPRT1 在 HNSCC 组织中的高表达与患者的不良预后有关^[12]。目前国内对于 HPRT1 在 OSCC 中的作用鲜有报道,因此本研究拟利用 TCGA 数据库网站分析 HPRT1 在 OSCC 中的表达及意义。有文献报道嘌呤水平显著降低了癌症中的免疫细胞活化,恶性肿瘤组织中 HPRT1 的上调是免疫抑制微环境的一个促成因素^[13]。因此本研究对 HPRT1 在 OSCC 免疫环境中的作用也做了相应研究。

1 资料与方法

1.1 TCGA 数据收集 从 TCGA 数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)中下载 OSCC 转录样本 394 例(其中 362 例癌症样本,32 例癌旁样本)和临床数据(381 例)。

1.2 研究方法

1.2.1 GESA 富集分析 GESA4.1.0 软件富集分析 HPRT1 表达水平与京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路基因集的相关性。从 MsigDB 数据库中下载通路富集常用的 c2.cp.kegg.v7.2.symbols 基因集作为参照基因集。软件参数设置为随机组合次数为 1 000 次,计算富集系数和标准化后的富集系数。按照错误发现率(false discovery rates,FDR)进行排序,利用 HPRT1 基因表达的中位数值将 TCGA 数据集集中的 381 例 OSCC 患者分为高表达组和低表达组,分别筛选出前十条通路。

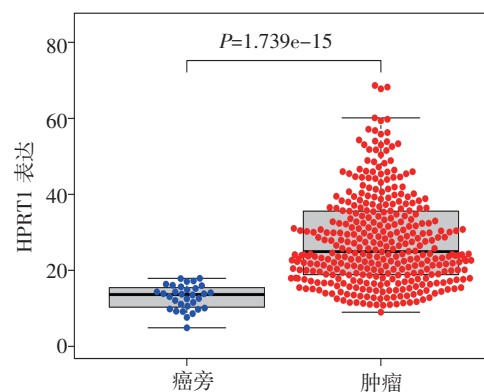
1.2.2 免疫差异性与相关性分析 使用 R4.1.1 软件的“limma”包和“vioplot”包对免疫细胞在 HPRT1 高低表达组中的差异性进行分析和绘图;使用“limma”包、“ggplot2”包、“ggpubr”包和“ggExtra”包对 HPRT1 的表达量与免疫细胞的相关性进行分析和绘图。

1.3 统计学处理 利用 R4.1.1 软件进行数据分析。利用 Wilcoxon 法和 Kruskal-Wallis 法进行临床相关性分析。利用 Log-Rank 法进行生存评估分析。生存资料中不同变量的风险比采用 Cox 回归分析。因 TCGA 数据库中 OSCC 患者临床数据中 M 分期未知的数据过多,导致删除临床信息不完整的数据后样

本量过小,因此在进行临床相关性分析和 Cox 分析时未将 M 分期纳入其中。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

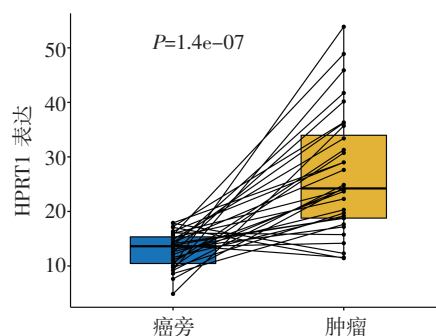
2.1 OSCC 和正常组织中 HPRT1 的表达差异 TCGA 数据库中 OSCC 组织与正常组织样本相比,OSCC 组织中 HPRT1 表达水平明显高于正常组织($t=1.856, P<0.001$,图 1、2)。



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 1 总样本中 HPRT1 的表达差异

Fig 1 Expression difference of HPRT1 in total samples

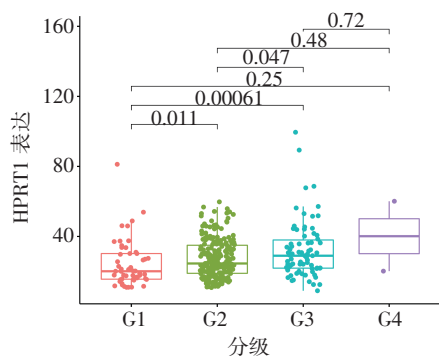


注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 2 配对样本中 HPRT1 的表达差异

Fig 2 Expression difference of HPRT1 in paired samples

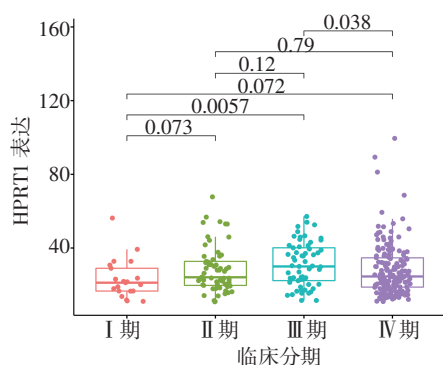
2.2 HPRT1 基因与 OSCC 患者临床特征的相关性 HPRT1 表达水平在肿瘤分级中的 G1 和 G2 级($\chi^2=0.010, P=0.011$)、G1 和 G3 级($\chi^2=0.806, P<0.001$)以及 G2 和 G3 级($\chi^2=0.001, P=0.047$)差异有统计学意义(图 3);在肿瘤临床分期中的 I 期和 III 期($\chi^2=0.078, P=0.006$)、III 期和 IV 期($\chi^2=0.091, P=0.038$)差异有统计学意义(图 4);在 T 分期中的 T1 期和 T3 期($\chi^2=0.342, P=0.037$)差异有统计学意义(图 5)。HPRT1 表达水平与年龄、性别、N 分期差异无统计学意义(图 6~8)。



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图3 HPRT1与肿瘤分级的关系

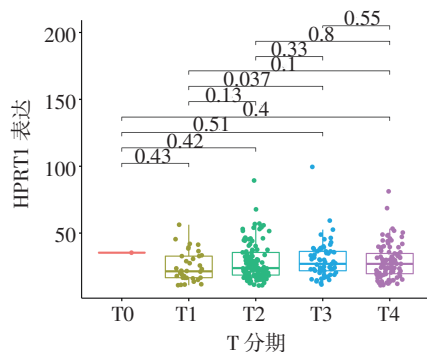
Fig 3 Relationship between HPRT1 and tumor grade



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图4 HPRT1与临床分期的关系

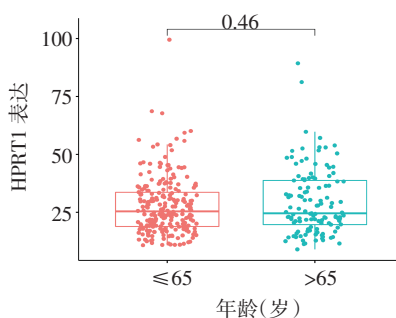
Fig 4 Relationship between HPRT1 and clinical stage



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图5 HPRT1与肿瘤T分期的关系

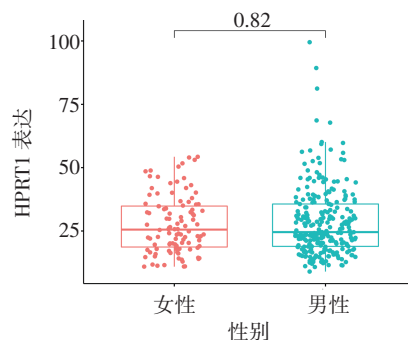
Fig 5 Relationship between HPRT1 and tumor T stage



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图6 HPRT1与年龄的关系

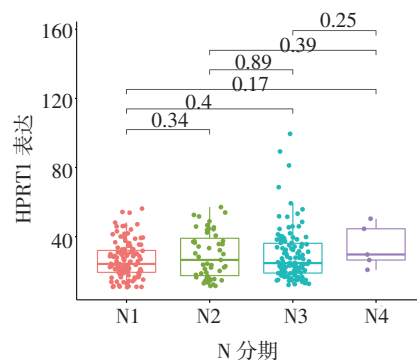
Fig 6 Relationship between HPRT1 and age



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图7 HPRT1与性别的关系

Fig 7 Relationship between HPRT1 and gender

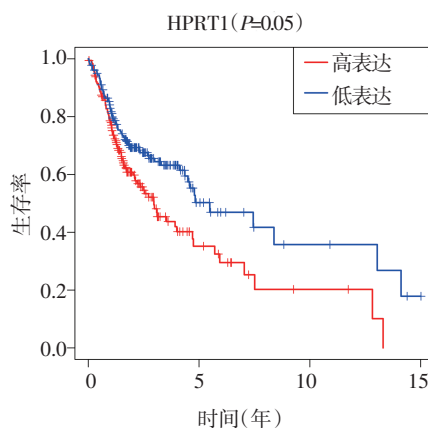


注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图8 HPRT1与肿瘤N分期的关系

Fig 8 Relationship between HPRT1 and tumor N stage

2.3 HPRT1 基因表达与患者生存率的关系 TCGA 数据库中 381 例患者的随访时间为 0.07 个月至 15 年,HPRT1 基因高表达组总生存率明显低于低表达组(图 9, $P<0.05$)。高表达组 5 年生存率为 35.2%, 低表达组 5 年生存率为 50.3%。



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图9 HPRT1与患者生存率的关系

Fig 9 Relationship between HPRT1 and patients' survival rate

2.4 HPRT1 基因与 OSCC 患者预后的关系 Cox 单因素分析显示 OSCC 中年龄($HR=1.03, P=0.001$)、肿瘤分级($HR=1.38, P=0.031$)、肿瘤分期($HR=1.74, P<0.001$)、T 分期 ($HR=1.54, P<0.001$)、N 分期 ($HR=$

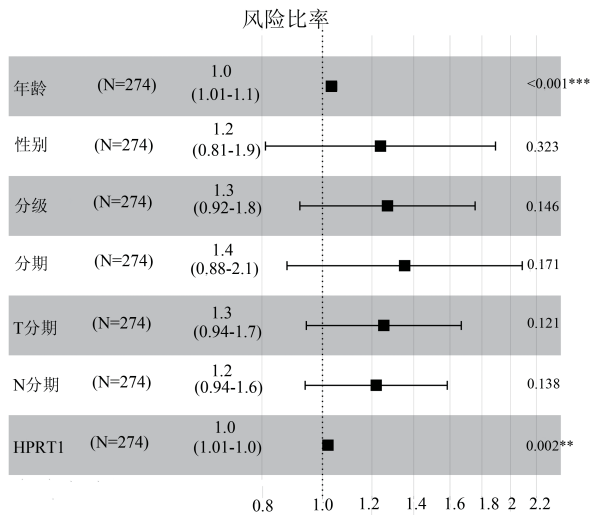
1.50, $P < 0.001$)、HPRT1 表达量 ($HR = 1.03$, $P < 0.001$) 与患者的生存预后相关(表 1)。Cox 多因素分析显示 OSCC 中年龄($HR = 1.03$, $P < 0.001$)和 HPRT1 表达量($HR = 1.02$, $P = 0.002$)与患者生存预后相关。因此年龄和 HPRT1 的高表达是影响 OSCC 患者预后的独立因素(表 1、图 10)。

表 1 Cox 单因素及多因素分析

Tab 1 Cox single factor and multi factor analysis

变量	单因素			多因素		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄	1.03	1.01~1.04	0.001	1.03	1.01~1.05	<0.001
性别	0.93	0.63~1.37	0.699	1.24	0.81~1.89	0.323
肿瘤分级	1.38	1.03~1.86	0.031	1.27	0.92~1.76	0.146
临床分期	1.74	1.35~2.24	<0.001	1.35	0.88~2.09	0.171
T 分期	1.54	1.27~1.87	<0.001	1.25	0.94~1.67	0.121
N 分期	1.50	1.23~1.83	<0.001	1.22	0.94~1.58	0.138
HPRT1 表达量	1.03	1.01~1.04	<0.001	1.02	1.01~1.03	0.002

注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 10 HPRT1 的 Cox 多因素分析结果

Fig 10 Cox multivariate analysis results of HPRT1

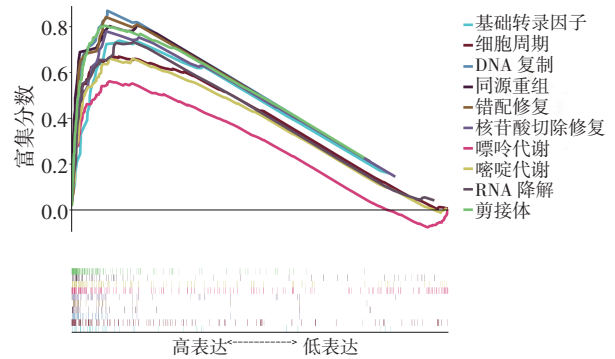
2.5 HPRT1 可能参与的信号通路 GSEA 结果显示,HPRT1 基因高表达样本主要富集在基础转录因子通路、细胞周期通路、DNA 复制等通路($FDR < 0.05$, $P < 0.05$);HPRT1 基因低表达样本主要富集在氨酰-tRNA 生物合成通路、碱基切除修复通路($P < 0.05$) (图 11、12)。

2.6 HPRT1 与免疫细胞的相关性

2.6.1 免疫细胞差异分析 幼稚 B 细胞($P = 0.048$)、调节性 T 细胞($P = 0.001$)、休眠 NK 细胞($P = 0.029$)、休眠肥大细胞($P < 0.001$)、活跃肥大细胞($P = 0.047$)、嗜酸性粒细胞($P = 0.035$)、中性粒细胞($P = 0.016$)的表达在 HPRT1 高表达组与低表达组中的差异有统

计学意义(图 13)。

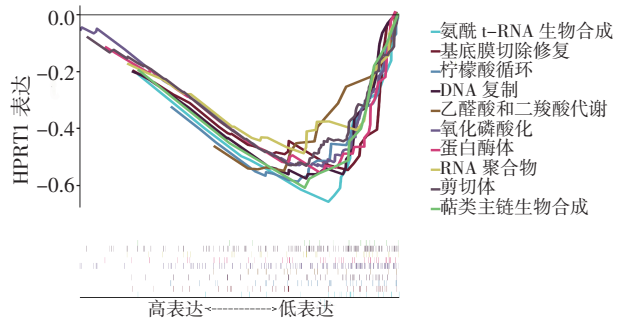
2.6.2 免疫细胞相关性检验 调节性 T 细胞($R < 0$, $P < 0.001$)、休眠肥大细胞($R < 0$, $P = 0.003$)和中性粒细胞含量($R < 0$, $P = 0.001$)与 HPRT1 表达量呈负相关;嗜酸性粒细胞含量($R > 0$, $P = 0.016$)与 HPRT1 表达量呈正相关(图 14)。



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 11 HPRT1 基因高表达组的 GSEA 富集结果

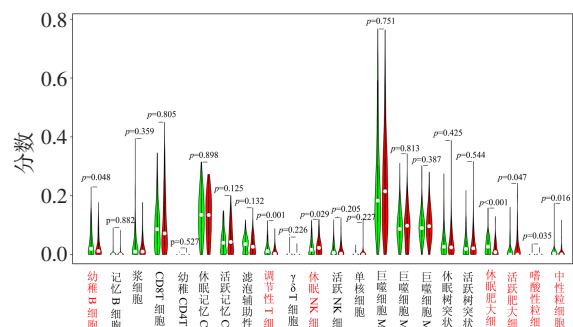
Fig 11 GSEA enrichment results of HPRT1 gene high expression group



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 12 HPRT1 基因低表达组的 GSEA 富集结果

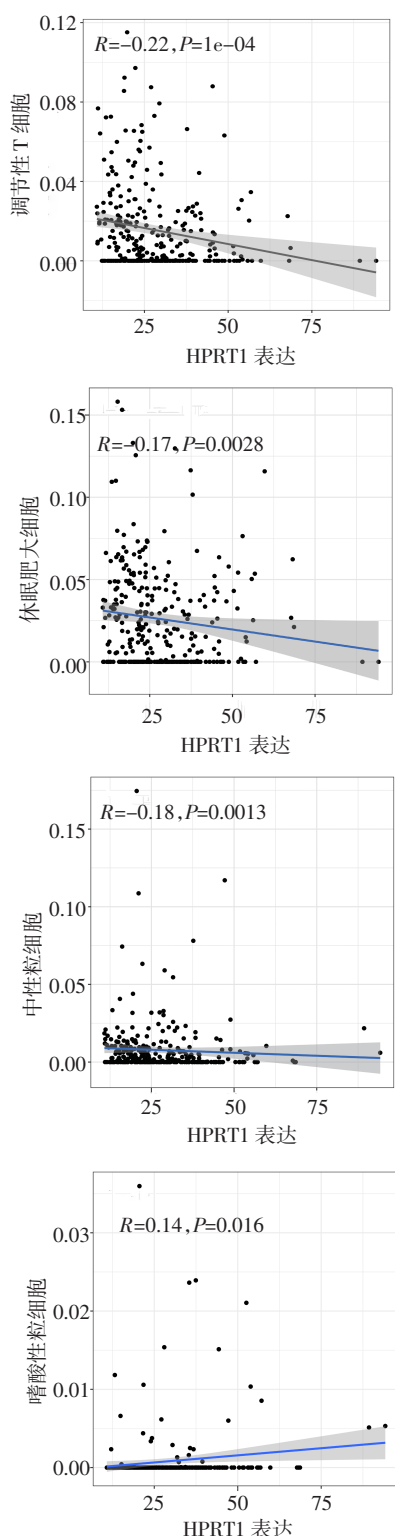
Fig 12 GSEA enrichment results of HPRT1 gene in low expression group



注:绿色为低表达组;红色为高表达组

图 13 免疫细胞在两组患者中的表达

Fig 13 Expression of immune cells in two groups of patients



注:HPRT1:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶

图 14 HPRT1 与免疫细胞的相关性

Fig 14 Correlation between HPRT1 and immune cells

3 讨论

OSCC 是严重威胁人类健康的一类恶性肿瘤,它的典型特征是高度的局部侵袭性和淋巴结转移,由于 OSCC 易转移、易复发,因此 OSCC 患者的总体 5 年生存率仍不到 50%^[14]。目前 OSCC 的发病机制

尚不清楚,可能是由多基因、多通路联合调控的复杂过程。寻找与 OSCC 发展及预后的密切相关因子,对肿瘤的早期诊断与预后极其重要。本研究通过挖掘 TCGA 数据库公开发表的基因表达数据,发现 HPRT1 在 OSCC 组织中高度表达,对肿瘤内的免疫环境产生了影响,并且高表达患者的生存预后更差,提示 HPRT1 可能是 OSCC 的一个潜在的预后因子。

HPRT1 是一种蛋白质,已显示在多种肿瘤类型中显著升高^[8-10],HPRT1 在神经发育和嘌呤合成中具有次要调节作用,嘌呤过剩分解与 HPRT1 功能的丧失直接相关^[15]。HPRT1 在肿瘤中的表达普遍升高,说明 HPRT1 在肿瘤中的调节作用可能是独特的,HPRT1 的异常调节可能会增强细胞增殖并促进肿瘤发展。肿瘤微环境不仅由恶性细胞组成,实质细胞、成纤维细胞、间充质细胞、血管、淋巴管和免疫细胞之间存在复杂的相互作用,它们结合起来形成复杂的肿瘤微环境^[16]。本研究显示 HPRT1 升高会影响调节性 T 细胞(Tregs)、休眠肥大细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的含量,因此 HPRT1 可能对肿瘤微环境中的细胞因子表达有影响。有学者研究 HPRT1 在几种肿瘤中的免疫浸润发现,HPRT1 表达与 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突细胞的免疫浸润之间存在显著的负相关;在前列腺腺癌(PRAD)、肺鳞状细胞癌(LUSC)和甲状腺癌(THCA)中,HPRT1 升高后所有类型的免疫细胞的肿瘤浸润减少,但 THCA 中的 CD8⁺ T 细胞除外;而 HPRT1 升高后免疫浸润几乎没有变化的是食道癌(ESCA)、肾嫌色细胞癌(KICH)和子宫癌肉瘤(UCS)^[13]。Tregs 在维持自身耐受和免疫稳态方面发挥重要作用,但它们参与促进了肿瘤周围的免疫抑制环境^[17],而肿瘤微环境也促进了 Tregs 的积累^[18]。Tregs 可以高度浸润各种肿瘤类型(如皮肤癌、胰腺癌、乳腺癌等),在晚期肿瘤(Ⅲ期和Ⅳ期)经常表现出更高的积累^[18]。有报道指出肿瘤内 Tregs 的浸润与生存率呈负相关^[19]。而本研究发现 HPRT1 的高表达与 Tregs 的含量呈负相关,并且在 3 种与 HPRT1 表达呈负相关的免疫细胞中差异最大,推测 HPRT1 的表达对 Tregs 在肿瘤微环境中的产生与积累密切相关,关于 HPRT1 与 Tregs 在肿瘤微环境中表达的机制还有待进一步探究。休眠肥大细胞是与软组织肉瘤的复发和生存率相关的免疫细胞^[20],并与透明细胞肾细胞癌(ccRCC)的良好预后有关,尽管其在 ccRCC 中的含量较低^[21]。本研究发现休眠肥大细胞在 HPRT1 高低表达组中含量差异最大,表明 HPRT1 高表达可能抑制休眠肥大细胞产生。肿瘤相关的中

性粒细胞增多是黑色素瘤、胃癌、肺癌、头颈癌等的不良预后特征^[22]。有学者发现 CD16(high)CD62L(dim)中性粒细胞的增加与头颈癌的良好预后相关^[23]。本研究发现中性粒细胞随 HPRT1 表达增高而减少,关于中性粒细胞在 OSCC 中的作用还有待证实。嗜酸性粒细胞可分泌多种可溶性介质和效应分子,它们对肿瘤微环境中其他免疫细胞亚群具有调节功能,或对肿瘤细胞具有直接的细胞毒性功能,而产生抗肿瘤或促肿瘤作用^[24]。在以肿瘤相关组织嗜酸性粒细胞增多(TATE)为特征的致癌物诱导的仓鼠 OSCC 模型,用抗白细胞介素-5 单克隆抗体治疗,可抑制肿瘤生长,嗜酸性粒细胞可能具有促肿瘤作用^[25]。而本研究发现 HPRT1 的高表达与嗜酸性粒细胞含量正相关,嗜酸性粒细胞在 OSCC 中可能具有促肿瘤作用。HPRT1 参与嘌呤调节和产生,HPRT1 升高会产生更多的嘌呤。实质性肿瘤微环境可表现为缺氧,而嘌呤对缺氧条件下免疫细胞活化有显著影响,因此这也可能是 HPRT1 对肿瘤微环境的作用之一。HPRT1 在调节细胞周期中起重要作用,其参与的基础转录因子通路、细胞周期通路、DNA 复制等通路可能对 OSCC 预后也有影响。尽管本研究确定了 OSCC 中 HPRT1 基因的表达水平增加,但这种现象的潜在机制仍不清楚,还需更深入的探讨。

综上所述,本研究结果表明 HPRT1 过表达与 OSCC 的进展显著相关。肿瘤组织中 HPRT1 表达的上调可能是 OSCC 诊断、预后和靶向治疗的生物标志物。然而,必须进行进一步的调查和临床试验来阐明 HPRT1 在 OSCC 中的作用机制。

参考文献:

- [1] YANG X, RUAN H, HU X, et al. miR-381-3p suppresses the proliferation of oral squamous cell carcinoma cells by directly targeting FGFR2[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(4): 913-922.
- [2] JOHNSON N, JAYASEKARA P, AMARASINGHE A. Squamous cell carcinoma and precursor lesions of the oral cavity: epidemiology and aetiology[J]. *Periodontology*, 2000, 2011, 57(1): 19-37.
- [3] 杨再波, 朱彬. LASP1 基因在口腔鳞状细胞癌中的表达水平及预后相关性[J]. *临床口腔医学杂志*, 2019, 35(8): 463-467.
- [4] 张超杰, 闫红娟, 赵举红, 等. 口腔鳞癌中 FOXP3 的表达及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(7): 939-943.
- [5] TOWNSEND M, ROBISON R, O'NEILL K. A review of HPRT and its emerging role in cancer[J]. *Med Oncol*, 2018, 35(6): 89.
- [6] OGASAWARA N. Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase[J]. *Nihon Rinsho*, 1996, 54(12): 3207-3212.
- [7] MELTON D, KONECKI D, LEDBETTER D, et al. *In vitro* translation of hypoxanthine/guanine phosphoribosyltransferase mRNA: characterization of a mouse neuroblastoma cell line that has elevated levels of hypoxanthine/guanine phosphoribosyltransferase protein[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1981, 78(11): 6977-6980.
- [8] MULLER A, HOMEY B, SOTO H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50-56.
- [9] SEDANO M J, RAMOS E I, CHOUDHARI R, et al. Hypoxanthine phosphoribosyl transferase 1 is upregulated, predicts clinical outcome and controls gene expression in breast cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1522.
- [10] TOWNSEND M, FELSTAD A, BURRUP W, et al. Examination of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase as a biomarker for colorectal cancer patients[J]. *Mol Cell Oncol*, 2018, 5(4): e1481810.
- [11] WANG L, WANG Y, HAN N, et al. HPRT promotes proliferation and metastasis in head and neck squamous cell carcinoma through direct interaction with STAT3[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 399(1): 112424.
- [12] AHMADI M, EFTEKHARI KENZERKI M, AKRAMI S, et al. Overexpression of HPRT1 is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *FEBS Open Biol*, 2021, 11(9): 2525-2540.
- [13] TOWNSEND M, TELLEZ FREITAS C, LARSEN D, et al. Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase expression is negatively correlated with immune activity through its regulation of purine synthesis[J]. *Immunobiology*, 2020, 225(3): 151931.
- [14] CHEN Y, SHAO Z, JIANG E, et al. CCL21/CCR7 interaction promotes EMT and enhances the stemness of OSCC via a JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(9): 5995-6009.
- [15] TOWNSEND M, ANDERSON M, WEAGEL E, et al. Non-small-cell lung cancer cell lines A549 and NCI-H460 express hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase on the plasma membrane[J]. *Oncotargets Ther*, 2017, 10: 1921-1932.
- [16] WEBER C E, KUO P C. The tumor microenvironment [J]. *Surg Oncol*, 2012, 21(3): 172-177.
- [17] YAN S, ZHANG Y, SUN B. The function and potential drug targets of tumour-associated Tregs for cancer immunotherapy[J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(2): 179-186.
- [18] WANG H, FRANCO F, HO P. Metabolic regulation of Tregs in cancer: opportunities for immunotherapy[J]. *Trends cancer*, 2017, 3(8): 583-592.
- [19] SHANG B, LIU Y, JIANG S, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3⁺ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15179.
- [20] HUANG R, MENG T, CHEN R, et al. The construction and analysis of tumor-infiltrating immune cell and ceRNA networks in recurrent soft tissue sarcoma[J]. *Aging*, 2019, 11(22): 10116-10143.
- [21] PAN Q, WANG L, CHAI S, et al. The immune infiltration in clear cell renal cell carcinoma and their clinical implications: a study based on TCGA and GEO databases[J]. *J Cancer*, 2020, 11(11): 3207-3215.
- [22] DONSKOV F. Immunomonitoring and prognostic relevance of neutrophils in clinical trials[J]. *Semin Cancer Biol*, 2013, 23(3): 200-207.
- [23] MILLRUD C, KAGEDAL Å, KUMLIEN GEOREN S, et al. NET-producing CD16 CD62L neutrophils migrate to tumor sites and predict improved survival in patients with HNSCC[J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(11): 2557-2567.
- [24] SIMON S, UTIKAL J, UMANSKY V. Opposing roles of eosinophils in cancer[J]. *Cancer Immunol*, 2019, 68(5): 823-833.
- [25] WONG D, BOWEN S, ELOVIC A, et al. Eosinophil ablation and tumor development[J]. *Oral Oncol*, 1999, 35(5): 496-501.

(2021-10-10 收稿)