基于机器学习算法和生信分析挖掘NSCLC的脂 质代谢相关诊断标志物及其免疫细胞浸润特征

陈凤提,王 珏,莫燕雁,刘文其*

广西医科大学第二附属医院放射肿瘤科, 广西 南宁

收稿日期: 2025年6月9日; 录用日期: 2025年7月2日; 发布日期: 2025年7月11日

摘要

目的:越来越多证据表明,非小细胞肺癌(NSCLC)的发病与脂质代谢异常有关,因此靶向代谢途径可能是一种有效的治疗策略。本研究旨在结合生物信息学和机器学习分析,以确定NSCLC的脂质代谢相关的诊断标志 基因。方法:我们利用基因表达总库(GEO)中的基因表达数据集筛选出差异表达基因(DEGs),并将其与加 权基因共表达网络(WGCNA)筛选出的主要模块基因相结合,然后再与732个脂质代谢基因相交。通过最小 绝对收缩和选择算法(LASSO)和随机森林算法(RF)确定诊断标志物。利用接收者操作特征曲线(ROC)确认 了其有效性。此外,通过CIBERSORT算法研究诊断标志物与浸润免疫细胞之间的关联。最后,进行实验来 验证我们的发现。结果:在关键模块基因、DEGs和脂质代谢基因取交集后,共发现了71个交叉基因。通过 机器学习算法确定了DPEP2、ACADL、BDH2和CAVI为潜在的生物标志物,其ROC曲线下面积(AUC)值分 别为0.999、0.999、0.996和0.997。验证集分析和qPCR结果与我们的发现一致。免疫细胞浸润分析表明, 所有诊断特征都可能在不同程度上与NSCLC的多种免疫细胞相关。结论:我们利用机器学习和生物信息学 方法确定了NSCLC中与脂质代谢相关的诊断特征基因,为靶向NSCLC异常脂质代谢的治疗提供了依据。

关键词

非小细胞肺癌,脂质代谢,机器学习,生物标志物,免疫细胞浸润

Identified Lipid Metabolism-Related Biomarkers and Immune Cell Infiltration Characteristics in NSCLC Based on Machine Learning Algorithms and Bioinformatics Analysis

Fengti Chen, Jue Wang, Yanyan Mo, Wenqi Liu*

*通讯作者。

Department of Radiation Oncology, The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning Guangxi

Received: Jun. 9th, 2025; accepted: Jul. 2nd, 2025; published: Jul. 11th, 2025

Abstract

Objectives: Targeting the metabolic pathways may be a potentially effective therapy strategy for nonsmall cell lung cancer (NSCLC), as increasing evidence associates the disease's development to dysregulated lipid metabolism. Our research combines bioinfommatics and machine learning analysis to identify diagnostic hallmark genes for NSCLC. Methods: Gene expression datasets were available from the Gene Expression Omnibus (GO). First, differentially expressed genes (DEGs) were found and combined with the major modular genes selected by the weighted gene co-expression network (WGCNA) and then intersected with a set of 732 lipid metabolism genes. The biomarkers were identified by applying least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) and random forest (RF) methods. The effectiveness and discrimination of the hub genes were confirmed using the receiver operating characteristic curve. Additionally, the association between diagnostic markers and infiltrating immune cells was investigated by calculating relative subsets of RNA transcripts (CIBERSORT). Finally, qRT-PCR experiments were conducted to validate our findings. Results: Overall, 71 lipid metabolism-related genes were detevted after overlapping key module genes and DEGs. We identified four key genes-DPEP2, ACADL, BDH2, and CAVI—as potential biomarkers, with area under the curve (AUC) values of 0.999, 0.999, 0.996, and 0.997, respectively, in the ROC curves. As indicated by the immune cell infiltration analysis, multiple immune cells may be involved in the development of NSCLC. Additionally, all diagnostic characteristics may correlate with immune cells to varying degrees. Conclusions: The hallmarks related to lipid metabolism (DPEP2, ACADL, BDH2 and CAV1) were identified using machine learning and bioinfommatics. Our study identifies potential diagnostic candidate genes for NSCLC and provides a basis for targeting aberrant lipid metabolism in NSCLC therapy.

Keywords

NSCLC, Lipid Metabolism, Machine Learning, Biomarkers, Immune Cell Infiltration

Copyright © 2025 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/

CC ① Open Access

1. 引言

非小细胞肺癌约占所有肺癌的 85%,治疗难度大,预后差。NSCLC 最常见的病理类型包括肺腺癌 (LUAD)和肺鳞癌(LUSC)[1]。近几十年来,免疫检查点抑制剂(ICIs)和分子靶向疗法的研发取得了重大进 展[2]。尽管如此,但在确定新的治疗靶点以扩大靶向疗法的受益人群方面仍面临严峻挑战[3]。新的证据 表明,靶向 NSCLC 的脂质代谢通路有可能成为一种新的治疗方法。

脂质代谢紊乱是肿瘤细胞的一个关键代谢特征,它通过各种信号通路促进癌症的发展、侵袭和转移, 这意味着靶向脂质代谢可能是一种新型的癌症预防和治疗策略[4]。越来越多的研究强调了脂质代谢异常 在各种癌症中的作用。He等人[5]发现了一种可预测晚期胃癌预后的脂质代谢相关基因特征。然而,NSCLC 中脂质代谢的改变及其作为诊断和治疗反应标志物的潜力还需要进一步研究。 脂质代谢对免疫细胞和恶性肿瘤的发展至关重要。它对控制肿瘤微环境(TME)中免疫细胞的活化、分化和功能至关重要[6],TME内脂质代谢对氧化应激和代谢物浓度的调节与肿瘤细胞的免疫逃逸和耐药性 有关[7]。例如,脂肪酸氧化(FAO)已被证明可提高 PD-1 免疫疗法的疗效[8]。因此,研究脂质代谢相关诊 断标记物与免疫细胞浸润之间的关系将加深我们对 NSCLC 中 TME 的了解。

与之前的研究相比,我们的研究独特地整合了机器学习算法和生信分析,以确定脂质代谢相关的特征基因。应用 ROC 曲线分析评估了这些基因的诊断效果。此外,我们还发现了 NSCLC 中免疫细胞与这些基因之间的关系。我们的研究为诊断 NSCLC 提供了潜在的候选基因,并为针对脂质代谢异常的靶向治疗提供了理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 数据集来源

数据来自基因表达总库(GEO)数据库(<u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/</u>)[9]。筛选标准如下:微阵列数 据集必须涉及全基因组基因表达谱,由来自 NSCLC 患者和健康对照组的样本组成,排除与其他疾病相关 的样本,且样本总数超过 30 个。最后,我们选择了 GSE18842 作为分析集,GSE74706 作为验证集。

2.2. 识别差异表达基因

使用 LIMMA 软件包[10]确定了 NSCLC 组和对照组之间的 DEGs,并绘制了火山图来显示 DEGs 的 表达差异。分子特征数据库(MSigDB) 7.1 版(<u>https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb</u>)提供了 743 个脂质 代谢相关基因(LRGs)。

2.3. 加权相关网络分析(WGCNA)

为了找到与 NSCLC 相关的基因模块,我们使用 WGCNA 软件包构建了一个无监督共表达网络,对临床特征与模块显著性(ME)之间的关系进行了评估。模块显著性(MS)被定义为模块中所有基因的平均GS,而基因显著性(GS)则用于量化单个基因的临床价值。绝对 MS 值最高的模块将进行额外的验证[11]。使用 Draw Venn Diagram 在线工具(<u>http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/</u>)绘制 DEGs、LRGs 和关联 度最高的模块基因之间重叠的维恩图,得出了 71 个交叉基因。

2.4. 交叉基因的功能富集分析

使用 "clusterProfiler" 软件包[12]对 71 个交叉基因进行 KEGG 和 GO 富集分析。q 值小于 0.05 为显 著性阈值。

2.5. 筛选诊断标记物

我们采用了两种机器学习算法来识别 NSCLC 的新型重要生物标志物。使用"randomForest"R 软件 包[13] [14],按重要性排序选出前10个因子进行交叉验证。使用"glmnet"R 软件包[15]进行 LASSO 逻 辑回归,最小λ值被认为是最佳值。使用接收者操作特征曲线(ROC)分析来验证诊断标志物的效能,并通 过计算曲线下面积(AUC)来衡量模型的预测准确性。

2.6. 免疫细胞浸润的评估和相关性研究

以 P 值小于 0.05 为临界值,我们采用 CIBERSORT 算法计算每个样本中 22 种免疫细胞类型的浸润 水平[16],并分析了诊断标记物与免疫浸润细胞之间的 Spearman 相关性。

2.7. 细胞培养

HBE 和 H460 细胞在含 10%胎牛血清(FBS)、1%青霉素和链霉素的 RPMI-1640 培养基中培养,培养 温度为 37℃,5% CO₂。所有细胞系都进行了短串联重复(STR)分析。

2.8. RNA 提取和 qPCR

使用 NcmSpin Cell/Tissue Total RNA Kit (NCM 生物技术公司,中国苏州)提取总 RNA,并使用 HiScript IIIRT SuperMix for qPCR (+gDNA eraser) (Vazyme 生物技术公司)反转录为 cDNA, 然后根据生产商的说明在 7500 系统(Thermo Fisher Scientific)上使用 2 × RealStar Fast SYBR qPCR Mix 进行 qPCR 反应。数据以 GAPDH 作为内源性对照进行归一化处理。

2.9. 统计分析

实验数据使用 GraphPad Prism 9.3 (GraphPad Prism Software, La Jolla, CA, USA)进行统计分析, P < 0.05 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 加权基因共表达网络构建

通过 WGCNA,我们确定了区分肿瘤组和对照组的重要模块基因。当 R² > 0.9 时,具有高平均连接的理想软阈值是 3 (图 1(A))。最终,我们确定了 9 个基因模块(图 1(B))。Turquoise 模块与 NSCLC 呈正相 关(r = 0.96, p = 1e-200) (图 1(C)),且最具有临床意义。



Figure 1. Construction of co-expression network modules. (A) Optimal soft threshold power; (B) Genes with comparable patterns of expression were grouped together; various colors correspond to distinct gene clusters. (C) Heat map of module-trait correlations

图 1. 共表达网络模块的构建。(A) 最佳软阈值; (B) 具有相似表达模式的基因被归为一组,不同颜色对应不同的基因簇; (C) 模块 - 性状相关性热图

3.2. 筛选 NSCLC 中的 DEGs

我们通过差异表达分析发现了 1074 个下调基因和 839 个上调基因。利用火山图对结果进行了可视化 (图 2(A))。为了进一步完善重要基因的筛选,我们将 DEGs 和 WGCNA 中相关性最高的 turquoise 模块基 因与 LRGs 相交。这一过程产生了 71 个交叉基因(图 2(B))。



Figure 2. Identification of differentially expressed lipid metabolism-related gene. (A) Volcano plot of DEGs; (B) Venn diagram of the intersection of DGEs, LRGs and WGCNA significant module genes
图 2. 脂质代谢相关差异表达基因的鉴定。(A) DEGs 的火山图; (B) DGEs、LRGs 和 WGCNA 重要模块基因交叉基因的维恩图



Figure 3. Functional enrichment function analysis. (A) GO analysis of 71 intersecting genes including MF, CC and BP; (B) KEGG analysis of genes that overlap
图 3. 功能富集功能分析。(A) 包括 MF、CC 和 BP 在内的 71 个交叉基因的 GO 分析; (B) 重叠基因的 KEGG 分

图 3. 功能晶果功能分析。(A) 包括 MF、CC 和 BP 在内的 /1 个交叉基因的 GO 分析; (B) 里登基因的 KEGG 分析

3.3. 功能和通路富集分析

为了深入研究了这 71 个交叉基因的潜在调控途径,我们对其进行了 GO 和 KEGG 富集分析。在三 个 GO 类别中,生物过程(BP)组富集于脂肪酸代谢、二十碳烷代谢和有机酸生物合成。细胞组分(CC)组 主要与脂滴、核膜、细胞器外膜等的合成有关。此外,分子功能(MF)组主要与氧化还原酶活性有关(图 3(A))。 KEGG 通路分析显示,交叉基因主要富集在花生四烯酸代谢、甘油磷脂代谢和鞘脂信号通路(图 3(B))。

3.4. 机器学习算法识别诊断标志物

我们利用 LASSO 回归分析挖掘出 12 个预测基因(图 4(A),图 4(B))。利用 RF 结合特征选择算法, 根据基因的重要性确定了前 10 个基因(图 4(C),图 4(D))。两种算法筛选出的诊断标志物都包括 DPEP2、 ACADL、BDH2 和 CAV1 (图 4(E))。接着,我们通过 ROC 分析评估了这些核心基因的诊断效能,结果显 示,DPEP2、ACADL、BDH2 和 CAV1 的 AUC 分别为 0.999、0.996 和 0.997 (图 5(A)~(D))。这些 结果表明,这些生物标志物具有很高的预测精确度。且其在 GSE74706 验证集中的表现与训练集中的表 达水平一致(图 6),这进一步证实了它们作为特征诊断生物标记物的潜力。



Figure 4. Identification of diagnostic markers through machine learning algorithms. (A) (B) LASSO logistic regression to identify diagnostic markers. (C) (D) RF algorithm to determine biomarkers. (E) A Venn diagram was created to illustrate the intersection of diagnostic biomarkers screeded by the two algorithms

图 4. 通过机器学习算法确定诊断标志物。(A) (B) LASSO 逻辑回归法确定诊断标志物。(C) (D) RF 算法确定生物标 志物。(E) 维恩图展示两种算法筛选出的诊断生物标志物的交叉点



Figure 5. The validation of diagnostic markers. (A)~(D) The ROC curve for determining diagnostic effectiveness; (E)~(H) The boxplot compared the expression of diagnostic markers between the tumor and normal groups 图 5. 诊断标志物的验证。(A)~(D) 确定诊断有效性的 ROC 曲线; (E)~(H) 比较肿瘤组和正常组诊断标志物表达的箱 线图



Figure 6. The performance of diagnostic markers in the validation set. (A)~(D) The ROC curve for diagnostic efficacy verification; (E)~(H) The boxplot compared the expression of diagnostic markers between the tumor and normal groups in GSE74706

图 6. 诊断标记物在验证集中的表现。(A)~(D) 诊断效果验证的 ROC 曲线; (E)~(H) 箱线图比较了 GSE74706 中肿瘤 组和正常组诊断标记物的表达情况

3.5. 免疫细胞浸润的结果

我们通过 CIBERSORT 算法发现,与正常样本相比,NSCLC 样本含有更多的记忆 CD4+T 细胞、M1 巨噬细胞和 M0 巨噬细胞等。相比之下,CD8+T 细胞、活化的 NK 细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和中 性粒细胞等在 NSCLC 样本中的比例相对较低(图 7(A))。其中,DPEP2 的表达与 M1 巨噬细胞、嗜酸性粒 细胞、yδT 细胞和静息树突状细胞呈正相关(图 7(E))。ACADL 的表达与静息树突状细胞呈正相关(图 7(B))。

BDH2 的表达与静息肥大细胞呈正相关,与幼稚 CD4+T 细胞和浆细胞呈负相关(图 7(C))。这些发现意味着,NSCLC 患者免疫细胞的组成和活性可能会受到这些诊断标志物表达水平的影响。



Figure 7. Infiltration of immune cells results. (A) Violin Diagram demonstrating the difference in immune cell infiltration between the tumor and normal groups; (B)~(E) Immunocell correlation plot of ACADL, BDH2, CAV1, DPEP2
图 7. 免疫细胞浸润结果。(A) 小提琴图显示肿瘤组和正常组免疫细胞浸润的差异; (B)~(E) 分别为 ACADL、BDH2、CAV1、DPEP2 的免疫细胞相关图

3.6. 验证诊断标记物在 NSCLC 中的作用

为了评估四种诊断标记物的预后价值,我们对 2166 名肺癌患者进行了 Kaplan-Meier (KM) Plotter 分析。OS 分析表明,四个关键基因的高表达组和低表达组之间的生存率差异很大(P < 0.05,图 8(A)~(D)),诊断标志物表达水平较低的肺癌患者的生存率要低得多。使用 qPCR 检测了 NSCLC 细胞系中 4 个关键基因的表达情况,结果显示 ACADL、BDH2、CAV1 和 DPEP2 在 H460 中的表达量远低于正常肺细胞系 HBE (图 8(E)~(H))。



Figure 8. Validation of the role of diagnostic markers in NSCLC. (A)~(D) OS analysis of 4 key genes in Lung cancer patients by KM Plotter; (E)~(H) Validation of the mRNA expression of 4 hallmarks in NSCLC cell line by qPCR. Data represent the mean \pm SD (n = 3). *P < 0.05 vs. the HBE

图 8. 验证诊断标记物在 NSCLC 中的作用。(A)~(D) 利用 KM Plotter 对肺癌患者的 4 个关键基因进行 OS 分析; (E)~(H) 通过 qPCR 验证 NSCLC 细胞系中 4 个标志基因的 mRNA 表达。数据为平均值 ± SD (n = 3)。*P < 0.05 vs. HBE

4. 讨论

近年来,针对肺癌的治疗取得了重大进展,但仍有 75%的患者被诊断为晚期,错过了根治治疗的最 佳时机[17]。因此,确定特异性诊断标志物对于改善 NSCLC 患者的预后至关重要。

脂质代谢重编程是膜合成、能量产生和信号转导的关键因素,而这些因素都会影响各种恶性肿瘤的 肿瘤微环境(TME)、免疫反应和耐药性[18]。此外,脂质代谢异常已被证实是导致肺癌发生和发展的重要 因素[19]。因此,针对脂质代谢的治疗策略在癌症治疗中展现了巨大的潜力[4]。脂质代谢与 NSCLC 之间 的关系值得深入研究,因为可以从中发现更多参与肺癌发病、预后、预防和治疗的潜在生物标志物。机 器学习在生物医学领域中应用逐渐广泛。这些算法能够识别高通量数据中的模式,生成全面的生物标志 物图谱,从而显著提高诊断准确性[20]。RF 模型是监督分类中常用的一种非参数方法。射频模型利用从 分割数据集构建的决策树进行操作[14]。LASSO 逻辑回归通过最大化降低分类错误概率的值来寻找变量 [15] [21]。本研究采用两种机器学习算法和生物信息学分析技术来确定 NSCLC 中潜在的脂质相关特征标记。

我们首先在 GEO 数据集中发现了 71 个在 NSCLC 组和正常组织样本中具有不同表达水平的 LRGs。 根据 GO 分析,这些基因主要参与脂滴和脂肪酸代谢活动,而 KEGG 通路分析则突出了花生四烯酸代谢 的富集。接着,通过 RF 模型和 LASSO 逻辑回归都将 DPEP2、ACADL、BDH2 和 CAV1 确定为关键基 因,进一步的验证也证实了它们的准确性。我们的预测也准确地反映了机器学习算法与常规生信分析方 法综合策略的可行性。

DPEP2 (二肽基肽酶 2)是一种膜结合酶,参与将白三烯 D4 (LTD4)转化为白三烯 E4 (LTE4)的过程 [22]。Zhang 等人发现 DPEP2 是肺腺癌免疫相关预后生物标志物[23],此外,Han 等人建立了由 BTK 和 DPEP2 组成的免疫指数,该指数能有效区分肺腺癌的冷热免疫分型,并能评估预后和对放疗的临床反应 [24]。虽然迄今为止对 DPEP2 在 NSCLC 中的研究还不够充分,但相信在进一步验证后,它很可能成为 一个新的治疗靶点。

ACADL 是一种催化长链脂肪酰辅酶 A 发生 β-氧化的酶,在能量和磷脂代谢中发挥着重要作用[25]。 有趣的是,ACADL 在各种癌症中似乎扮演着截然不同的角色,它在食管癌中是一种致癌基因,与预后不 良有关[26]。Chen 等人认为,ACADL 过表达可通过调节 YAP 磷酸化和阻止其核转位来抑制 NSCLC 的 进展[27]。因此,ACADL 能否成为治疗 NSCLC 的关键靶点仍需进一步研究。

BDH2 是一种短链脱氢酶,在人类癌症的发展过程中扮演着重要角色[28]。越来越多的证据表明, BDH2 通过抑制自噬和促进线粒体凋亡而成为致癌因子,从而导致肝细胞癌的进展[29]。也有报道称 BDH2 可促进活性氧诱导的自噬,从而抑制胃癌的生长[30]。此外,BDH2 被证实通过增强 Akt/mTOR 介导的细 胞凋亡和自噬,在肺腺癌中发挥抑癌作用[31]。我们的研究为其作为 NSCLC 未来治疗靶点的潜力提供了 更多证据。

CAV1 是非平面脂质筏的重要组成部分,可调节细胞信号传导[32]。先前的研究表明,CAV1 能促进前列腺癌肿瘤细胞的非粘附性生长,这表明 CAV1 具有重要的致癌作用[33]。然而,CAV1 在乳腺癌和结肠癌细胞中的高表达已被证明可减少肿瘤在体内和培养系统中的形成[34]。这些研究结果表明,CAV1 作为致癌基因或肿瘤抑制因子的功能可能取决于其表达的细胞环境。这些作用的完整机制仍不清楚,需要进一步研究。

越来越多的证据表明,免疫细胞浸润与患者预后之间存在密切联系。肿瘤细胞中异常的代谢活动所 带来的代谢压力会损害抗肿瘤免疫反应,进而影响浸润肿瘤的免疫细胞[35]。因此,为了进一步评估免疫 细胞浸润对 NSCLC 的影响,我们使用 CIBERSORT 算法分析了患者免疫浸润与诊断标志物之间的联系。 值得注意的是,四个关键基因的表达均在不同程度与免疫细胞相关,这些免疫细胞与肿瘤细胞相互作用, 创造出一种高度免疫抑制的环境,降低了免疫疗法清除肿瘤细胞的效果,并助长了肿瘤的进展[36]。因此, 这四种诊断生物标志物可能在 NSCLC 肿瘤免疫微环境中发挥不同的作用,并与疾病进程相关。

尽管本研究成功筛选出 NSCLC 中潜在的脂质代谢相关标志物,但仍存在一定的局限性。首先,由于 缺乏详细的临床信息,如患者的年龄、性别、肿瘤分期等,无法对这些标志物临床价值的全面评估。未 来研究可应用临床样本,并结合长期随访数据,以验证这些标志物在 NSCLC 诊断、预后预测及治疗反应 评估中的实际应用潜力。其次,本研究采用 CIBERSORT 算法推断肿瘤微环境中的免疫细胞组成,但该 方法的准确性高度依赖于参考基因集的完整性和表达数据的质量。此外,CIBERSORT 仅能提供相对丰度 信息,无法精确量化特定免疫细胞亚群的绝对数量。未来研究可结合单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)等实 验技术,进一步验证免疫细胞浸润模式,并探索关键基因与免疫微环境相互作用的分子机制。

5. 结论

本研究利用两种机器学习算法确定了与 NSCLC 脂质代谢异常相关的 4 个生物标志物: DPEP2、ACADL、BDH2 和 CAV1。通过 ROC 曲线、验证集分析、生存分析和 qPCR 证实了这四个关键基因作为 诊断特征的强大预测能力。此外,研究还发现这四个关键基因与各种免疫细胞类型相关,这表明其可能 在 NSCLC 的肿瘤微环境中起着重要的作用。我们的研究有助于加深对 NSCLC 脂质代谢异常这一复杂过 程的理解,但要证实我们的发现还需要进一步的研究。

基金项目

广西自然科学基金青年科学基金项目(2023GXNSFBA026040); 广西医科大学第二附属医院基金项目 (hbrc202104)。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Giaquinto, A.N. and Jemal, A. (2024) Cancer Statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74, 12-49. <u>https://doi.org/10.3322/caac.21820</u>
- [2] 马莹, 邓飞. 非小细胞肺癌免疫治疗疗效预测生物标志物的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2025, 33(7): 1244-1249.
- [3] Imyanitov, E.N., Iyevleva, A.G. and Levchenko, E.V. (2021) Molecular Testing and Targeted Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Current Status and Perspectives. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 157, Article 103194. <u>https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103194</u>
- [4] Broadfield, L.A., Pane, A.A., Talebi, A., Swinnen, J.V. and Fendt, S. (2021) Lipid Metabolism in Cancer: New Perspectives and Emerging Mechanisms. *Developmental Cell*, 56, 1363-1393. <u>https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.04.013</u>
- [5] He, L., Ye, Q., Zhu, Y., Zhong, W., Xu, G., Wang, L., *et al.* (2024) Lipid Metabolism-Related Gene Signature Predicts Prognosis and Indicates Immune Microenvironment Infiltration in Advanced Gastric Cancer. *Gastroenterology Research and Practice*, **2024**, 1-28. <u>https://doi.org/10.1155/2024/6639205</u>
- [6] Wang, D., Ye, Q., Gu, H. and Chen, Z. (2022) The Role of Lipid Metabolism in Tumor Immune Microenvironment and Potential Therapeutic Strategies. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article 984560. <u>https://doi.org/10.3389/fonc.2022.984560</u>
- [7] Zhang, Z., Hu, Y., Chen, Y., Chen, Z., Zhu, Y., Chen, M., et al. (2022) Immunometabolism in the Tumor Microenvironment and Its Related Research Progress. Frontiers in Oncology, 12, Article 1024789. <u>https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1024789</u>
- [8] Chowdhury, P.S., Chamoto, K., Kumar, A. and Honjo, T. (2018) PPAR-Induced Fatty Acid Oxidation in T Cells Increases the Number of Tumor-Reactive CD8⁺ T Cells and Facilitates Anti-PD-1 Therapy. *Cancer Immunology Research*, 6, 1375-1387. <u>https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-18-0095</u>
- [9] Barrett, T., Wilhite, S.E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I.F., Tomashevsky, M., et al. (2013) NCBI GEO: Archive for Functional Genomics Data Sets-Update. *Nucleic Acids Research*, 41, D991-D995. <u>https://doi.org/10.1093/nar/gks1193</u>
- [10] Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., et al. (2015) Limma Powers Differential Expression Analyses for RNA-Sequencing and Microarray Studies. Nucleic Acids Research, 43, e47-e47. <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkv007</u>
- [11] Langfelder, P. and Horvath, S. (2008) WGCNA: An R Package for Weighted Correlation Network Analysis. BMC Bioinformatics, 9, Article No. 559. <u>https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-559</u>
- [12] Yu, G., Wang, L., Han, Y. and He, Q. (2012) Clusterprofiler: An R Package for Comparing Biological Themes among Gene Clusters. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 16, 284-287. <u>https://doi.org/10.1089/omi.2011.0118</u>
- [13] Wang, H., Yang, F. and Luo, Z. (2016) An Experimental Study of the Intrinsic Stability of Random Forest Variable Importance Measures. *BMC Bioinformatics*, 17, Article No. 60. <u>https://doi.org/10.1186/s12859-016-0900-5</u>
- [14] Tai, A.M.Y., Albuquerque, A., Carmona, N.E., Subramanieapillai, M., Cha, D.S., Sheko, M., et al. (2019) Machine Learning and Big Data: Implications for Disease Modeling and Therapeutic Discovery in Psychiatry. Artificial Intelligence in Medicine, 99, Article 101704. <u>https://doi.org/10.1016/j.artmed.2019.101704</u>
- [15] Cheung-Lee, W.L. and Link, A.J. (2019) Genome Mining for Lasso Peptides: Past, Present, and Future. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 46, 1371-1379. <u>https://doi.org/10.1007/s10295-019-02197-z</u>
- [16] Chen, B., Khodadoust, M.S., Liu, C.L., Newman, A.M. and Alizadeh, A.A. (2018) Profiling Tumor Infiltrating Immune

Cells with Cibersort. In: von Stechow, L., Ed., *Methods in Molecular Biology*, Springer, 243-259. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7493-1_12

- [17] Alexander, M., Kim, S.Y. and Cheng, H. (2020) Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. Lung, 198, 897-907. <u>https://doi.org/10.1007/s00408-020-00407-5</u>
- [18] Bian, X., Liu, R., Meng, Y., Xing, D., Xu, D. and Lu, Z. (2020) Lipid Metabolism and Cancer. Journal of Experimental Medicine, 218, e20201606. <u>https://doi.org/10.1084/jem.20201606</u>
- [19] Wang, G., Qiu, M., Xing, X., Zhou, J., Yao, H., Li, M., et al. (2022) Lung Cancer ScRNA-Seq and Lipidomics Reveal Aberrant Lipid Metabolism for Early-Stage Diagnosis. Science Translational Medicine, 14, eabk2756. <u>https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abk2756</u>
- [20] Greener, J.G., Kandathil, S.M., Moffat, L. and Jones, D.T. (2022) A Guide to Machine Learning for Biologists. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23, 40-55. <u>https://doi.org/10.1038/s41580-021-00407-0</u>
- [21] Fernández-Delgado, M., Sirsat, M.S., Cernadas, E., Alawadi, S., Barro, S. and Febrero-Bande, M. (2019) An Extensive Experimental Survey of Regression Methods. *Neural Networks*, 111, 11-34. https://doi.org/10.1016/j.neunet.2018.12.010
- [22] Wu, H., Wang, D., Zheng, Q. and Xu, Z. (2021) Integrating SWATH-MS Proteomics and Transcriptome Analysis to Preliminarily Identify Three Degs as Biomarkers for Proliferative Diabetic Retinopathy. *PROTEOMICS—Clinical Applications*, 16, e2100016. https://doi.org/10.1002/prca.202100016
- [23] Zhang, X., Zhang, Y., Gao, X., Zhang, Y. and Chen, Y. (2023) Integrated Single-Cell and Transcriptome Sequencing Analyses Identify Dipeptidase 2 as an Immune-Associated Prognostic Biomarker for Lung Adenocarcinoma. *Pharmaceuticals*, 16, Article 871. <u>https://doi.org/10.3390/ph16060871</u>
- [24] Han, T., Liu, Y., Wu, J., Bai, Y., Zhou, J., Hu, C., et al. (2023) An Immune Indicator Based on BTK and DPEP2 Identifies Hot and Cold Tumors and Clinical Treatment Outcomes in Lung Adenocarcinoma. Scientific Reports, 13, Article No. 5153. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-023-32276-2</u>
- [25] Yamada, K. and Taketani, T. (2019) Management and Diagnosis of Mitochondrial Fatty Acid Oxidation Disorders: Focus on Very-Long-Chain Acyl-Coa Dehydrogenase Deficiency. *Journal of Human Genetics*, 64, 73-85. https://doi.org/10.1038/s10038-018-0527-7
- [26] Yu, D., Li, H., Wang, Y., Li, C., You, D., Jiang, L., et al. (2018) Acyl-CoA Dehydrogenase Long Chain Expression Is Associated with Esophageal Squamous Cell Carcinoma Progression and Poor Prognosis. OncoTargets and Therapy, 11, 7643-7653. <u>https://doi.org/10.2147/ott.s171963</u>
- [27] Chen, K., Hong, C., Kong, W., Li, G., Liu, Z., Zhu, K., et al. (2024) ACADL-YAP Axis Activity in Non-Small Cell Lung Cancer Carcinogenicity. Cancer Cell International, 24, Article No. 86. https://doi.org/10.1186/s12935-024-03276-7
- [28] 刘秉春, 李康, 袁建龙. BDH2 基因在代谢与肿瘤发生发展中的作用与机制[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(3): 230-234.
- [29] Liang, H., Xiong, Z., Li, R., Hu, K., Cao, M., Yang, J., et al. (2019) BDH2 Is Downregulated in Hepatocellular Carcinoma and Acts as a Tumor Suppressor Regulating Cell Apoptosis and Autophagy. *Journal of Cancer*, 10, 3735-3745. <u>https://doi.org/10.7150/jca.32022</u>
- [30] Liu, J., Hu, Y., Feng, Y., Jiang, Y., Guo, Y., Liu, Y., et al. (2020) BDH2 Triggers ROS-Induced Cell Death and Autophagy by Promoting Nrf2 Ubiquitination in Gastric Cancer. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 39, Article No. 123. <u>https://doi.org/10.1186/s13046-020-01620-z</u>
- [31] Nie, Y., Mei, X., Cao, F. and Zhu, X. (2023) BDH2 Promotes Apoptosis and Autophagy of Lung Adenocarcinoma Cells via Akt/mTOR Pathway. *General Physiology and Biophysics*, 41, 115-122. <u>https://doi.org/10.4149/gpb_2022002</u>
- [32] 张伟林, 吴亚东. CAV1 在肿瘤化疗敏感性和耐药性中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(14): 2674-2680.
- [33] Gao, Y., Li, L., Li, T., Ma, L., Yuan, M., Sun, W., et al. (2019) Simvastatin Delays Castration-Resistant Prostate Cancer Metastasis and Androgen Receptor Antagonist Resistance by Regulating the Expression of Caveolin-1. International Journal of Oncology, 54, 2054-2068. https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4774
- [34] 吴志航, 唐明政, 李晓凤, 等. CAV1 在消化道肿瘤中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(7): 110-120.
- [35] Wang, R., Liu, Z., Fan, Z. and Zhan, H. (2023) Lipid Metabolism Reprogramming of CD8⁺ T Cell and Therapeutic Implications in Cancer. *Cancer Letters*, 567, Article 216267. <u>https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216267</u>
- [36] Chen, X., Li, R., Yin, Y., Liu, X., Zhou, X. and Qu, Y. (2024) Pan-Cancer Prognosis, Immune Infiltration, and Drug Resistance Characterization of Lung Squamous Cell Carcinoma Tumor Microenvironment-Related Genes. *Biochemistry* and Biophysics Reports, 38, Article 101722. <u>https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2024.101722</u>