

基于脂质代谢相关转移风险基因的肝细胞癌患者预后预测模型的构建

何明阳¹ 张旭辉² 王蕴涵³ 赵梓吟¹ 关鸽¹ 韩冰² 张斌¹

(1 青岛大学附属医院器官移植中心, 山东 青岛 266100; 2 青岛大学附属医院肝胆胰外科; 3 青岛大学医学部)

[摘要] **目的** 基于相关数据库分析筛选肝细胞癌(HCC)脂质代谢相关转移风险基因,并联合其他临床危险因素构建患者的预后预测模型。**方法** 应用 R 软件从 GEO 数据库中获得原发性和转移性 HCC 患者的差异表达基因(DEGs),并筛选与患者预后相关的 DEGs。将 TCGA 数据库中的 HCC 患者通过层次聚类分为两组,评估两组患者 EMT 评分、脂质代谢水平和预后。应用 ICGC 数据库中的数据再次对上述分析进行验证。应用 LASSO 回归模型筛选脂质代谢相关转移风险基因并进行风险评分,通过风险评分中位数分别将 TCGA 和 ICGC 数据库中 HCC 患者分为高、低危组,并分析患者的预后。应用单因素和多因素 Cox 回归分析获得影响 HCC 患者预后的独立危险因素,并构建列线图预后模型。采用 Western blot 和油红 O 染色检测应用脂质代谢抑制剂 Fatostatin 后 Huh7 细胞脂质代谢的情况;采用 qPCR 技术检测 Huh7 细胞中脂质代谢相关转移风险基因表达水平。**结果** 从 GEO 数据库中获得原发性和转移性 HCC 患者的 DEGs 共 159 个,其中 65 个 DEGs 与 HCC 患者的 OS 显著相关。通过 EMT 评分将 TCGA 数据库中聚类所得的两组 HCC 患者分别定义为高、低转移风险组。高转移风险组患者脂质代谢评分更高,OS 更短。在 ICGC 数据库中验证的结果与 TCGA 数据库一致。应用 LASSO 回归模型筛选出脂质代谢相关转移风险基因,高危组 OS 更短。将脂质代谢相关转移风险基因与影响 HCC 患者预后的独立危险因素相结合,构建预后预测列线图模型。细胞实验证实,应用 Fatostatin 后,Huh7 细胞的脂肪酸合酶表达降低,细胞内脂滴含量减少,多种脂质代谢相关转移风险基因表达发生变化。**结论** 基于数据库分析获得了 13 个脂质代谢相关转移风险基因,将这些基因和临床危险因素联合构建了 HCC 患者的预后预测模型,并通过细胞实验初步验证了脂质代谢相关转移风险基因与脂质代谢密切相关。

[关键词] 癌,肝细胞;肿瘤转移;脂质代谢;基因表达;数据库,遗传学;预后

[中图分类号] R735.7;R394

[文献标志码] A

Construction of a predictive model for the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma based on lipid metabolism-related metastasis risk genes

HE Mingyang, ZHANG Xuhui, WANG Yunhan, ZHAO Ziyin, GUAN Ge, HAN Bing, ZHANG Bin (Organ Transplantation Center, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266100, China)

[ABSTRACT] **Objective** To identify the lipid metabolism-related metastasis risk genes for hepatocellular carcinoma (HCC) based on related databases, and to construct a predictive model for the prognosis of HCC patients in combination with other clinical risk factors. **Methods** R software was used to obtain the differentially expressed genes (DEGs) between the patients with primary HCC and those with metastatic HCC from the GEO database, and the DEGs associated with the prognosis of patients were identified. The HCC patients in TCGA database were divided into two groups based on hierarchical clustering, and the two groups were assessed in terms of epithelial-mesenchymal transition (EMT), lipid metabolism, and prognosis. The data in the ICGC database were used for validation of the above analysis. The LASSO regression model was used to obtain the lipid metabolism-related metastasis risk genes and determine their risk scores, and according to the median of risk scores, HCC patients in both TCGA and ICGC databases were divided into high and low risk groups to analyze the prognosis of patients. Univariate and multivariate Cox regression analyses were used to obtain independent risk factors for the prognosis of HCC patients, and a nomogram prognostic model was constructed. Western blot and oil red O staining were used to detect the lipid metabolism of Huh7 cells after treatment with the lipid metabolism inhibitor Fatostatin, and qPCR was used to measure the expression levels of lipid metabolism-related metastasis risk genes in Huh7 cells. **Results** A total of 159 DEGs were obtained from the patients with primary HCC and those with metastatic HCC in the GEO database, among which 65 DEGs were significantly associated with the overall survival (OS) of HCC patients. Based on the EMT score, the two groups of HCC patients obtained by clustering from the TCGA database were defined as high and low metastasis risk groups, respectively, and the patients in the high metastasis risk group tended to have a higher lipid

metabolism score and a shorter OS. The validation results in the ICGC database were consistent with the results based on the TCGA database. The LASSO regression model was used to identify the lipid metabolism-related metastasis risk genes, and the high-risk group

[收稿日期] 2024-01-29; **[修订日期]** 2024-04-08

[基金项目] 希思科-默沙东肿瘤研究基金项目(Y-MSD-PU2022-0315);青岛市市南区科技计划项目(2022-4-006-YY)

[通讯作者] 张斌,Email:18661808021@163.com

had a shorter OS. The lipid metabolism-related metastasis risk genes were combined with the independent risk factors for the prognosis of patients with HCC to construct a nomogram prognostic model. Cell experiments confirmed that after the treatment with Fatostatin, there were reductions in the expression of fatty acid synthase and the content of lipid droplets in Huh7 cells, as well as changes in the expression of a variety of lipid metabolism-related metastasis risk genes. **Conclusion** A total of 13 lipid metabolism-related metastasis risk genes are obtained based on related databases, which are combined with the clinical risk factors to construct a prognostic predictive model for HCC patients, and cell experiments are conducted to confirm that the lipid metabolism-related metastasis risk genes are closely associated with lipid metabolism.

[KEY WORDS] Carcinoma, hepatocellular; Neoplasm metastasis; Lipid metabolism; Gene expression; Databases, genetic; Prognosis

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的肝癌类型, 约占肝癌患者的 90%。手术切除后肿瘤的高复发率和高转移率是影响 HCC 预后的主要因素^[1]。肝癌肝外转移 (EHM) 在初诊时相对少见, 发生 EHM 的患者一般预后较差^[2-4]。目前研究认为, 脂质代谢紊乱是 HCC 的重要驱动因素之一^[5], 而且脂质代谢紊乱与上皮-间充质转化 (EMT) 密切相关^[6-7], 脂肪酸合成酶 (FASN) 升高预示着 HCC 患者的预后不良^[8]。近些年与 HCC 的转移相关的基因已得到广泛研究^[9-10], 关于 HCC 的脂质代谢相关基因的研究也已见报道^[11]。然而, HCC 中同时与转移和脂质代谢密切相关的基因却鲜有研究报道。

本研究基于基因表达数据库 (GEO)、癌症基因组图谱 (TCGA) 和国际癌症基因组联盟 (ICGC) 数据库分析获得 HCC 中同时与转移和脂质代谢密切相关的基因 (本研究称之为脂质代谢相关转移风险基因), 并将这些基因和临床危险因素联合构建了 HCC 患者的预后预测模型; 同时通过细胞实验, 以检测脂质代谢相关转移风险基因在 Huh7 细胞中的表达情况, 验证生物信息学的分析结果。旨在为寻找 HCC 新的预测指标提供研究思路和数据参考。

1 材料与方法

1.1 TCGA 数据库中 HCC 患者的 EMT 及脂质代谢评分及预后分析

采用 R 软件从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中筛选原发性与转移性 HCC 患者肿瘤组织的差异表达基因 (DEGs)。从 TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 当中下载 HCC 患者的 RNA 测序数据以及患者的临床相关信息, 采用单因素 Cox 回归分析 DEGs 与患者总生存期 (OS) 的相关性。

使用无监督层次聚类方法依据上面分析获得的 DEGs 表达水平, 将 TCGA 数据库中 HCC 患者分为两组, 采用如下 3 种方法针对两组 HCC 患者的

EMT 进行评分: ① 基于 17 个 EMT 标志基因计算 EMT 评分^[12]; ② 基于最小绝对收缩和选择算子 (LASSO) Cox 回归模型中基因表达水平及其系数进行 EMT 评分^[13]; ③ 采用单样本基因集富集分析 (ssGSEA) 方法, 使用基因本体 (GO) 数据库中 EMT 相关基因集对样本进行 EMT 评分^[14], 每组患者均获得 3 个 EMT 评分, 比较两组患者同一种方法获得的 EMT 评分是否有差异。EMT 评分较高的组定义为高转移风险组, 评分较低的组定义为低转移风险组, 采用 R 软件筛选两组患者 HCC 组织的 DEGs, 采用 Kaplan-Meier (K-M) 生存曲线分析比较两组患者的预后。

对筛选出来的高、低转移风险组 DEGs, 使用 R 软件进行 KEGG 和 GO 分析。依据当前的相关研究文献, 获得 3 组脂质代谢相关基因^[15-17], 通过 GSVA 软件包对每一个脂质代谢相关基因进行 ssGSEA 分析后, 将 3 组基因合并为一组, 再应用 R 软件进行 LASSO Cox 回归分析, 获得 TCGA 数据库中每例 HCC 患者的脂质代谢评分, 比较高、低转移风险组患者脂质代谢评分的差异。根据脂质代谢评分的中位数, 将患者分为高、低脂质代谢组, 采用 Kaplan-Meier (K-M) 生存曲线分析并比较两组患者的预后。

1.2 ICGC 数据库验证

对 ICGC 数据库 (<https://dcc.icgc.org>) 中的 HCC 患者数据, 采用无监督层次聚类方法, 依据原发性和转移性 HCC 患者的 DEGs 表达水平, 分为两组, 采用上述的脂质代谢评分方法对两组患者进行脂质代谢评分, 评分较高的组为高脂质代谢组, 评分较低的组为低脂质代谢组。然后, 采用上述 EMT 评分方法③, 分别计算高脂质代谢组和低脂质代谢组 EMT 评分, 比较两组患者的 EMT 评分是否有差异。采用 K-M 生存曲线分析比较两组患者预后。

1.3 脂质代谢相关转移风险基因标签和预后预测列线图模型的构建

在 TCGA 数据库中, 对高、低转移风险组患者

的 DEGs 进行 LASSO 回归分析,同时代入患者的 EMT 评分、脂质代谢评分以及 K-M 生存曲线分析结果,筛选与预后密切相关 DEGs,即为脂质代谢相关转移风险基因。根据 LASSO 回归分析中对脂质代谢相关转移风险基因的赋值,构建脂质代谢相关转移风险基因的风险评分模型,计算 TCGA、ICGC 数据库中每例 HCC 患者的风险评分。

根据风险评分中位数将 TCGA 数据库(训练集)中的 HCC 患者分为高危组和低危组,将 ICGC 数据库(验证集)中的 HCC 患者也分为高危组和低危组。采用 K-M 生存曲线分析比较上述两个数据库两组患者的预后。

采用单因素和多因素 Cox 回归分析 TCGA 数据库中影响 HCC 患者预后的独立危险因素,将脂质代谢相关转移风险基因与多因素 Cox 回归分析结果相结合,构建 HCC 患者的预后列线图模型。绘制 TCGA 数据库当中 1、3、5 年患者生存率的受试者工作特征(ROC)曲线,同时计算曲线下面积(AUC),绘制 ICGC 数据库中 1、3 年患者生存率的 ROC 曲线,并计算其 AUC,评估预后列线图模型的预测能力。

1.4 Huh7 细胞中脂质代谢相关转移风险基因的表达情况

人肝癌 Huh7 细胞系购自中科院上海细胞库。将 Huh7 细胞置于含有 10% FBS 和 1% 青/链霉素的 DMEM 培养基中,于 37 °C、含体积分数 0.05 CO₂ 的条件下进行培养,待细胞密度达 70%~80% 时将细胞分为 4 组,培养基中分别加入 0、10、20、30 μmol/L 浓度的 Fatostatin,继续培养 24 h。使用 Western blot 方法^[18] 检测各组细胞中 FASN 的相对表达量,确定后续最佳给药浓度。在细胞密度达 70%~80% 时将 Huh7 细胞分为对照组和给药组,分别加入 0、20 μmol/L 浓度的 Fatostatin,继续培养 24 h。使用油红 O 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)检测两组 Huh7 细胞中的脂滴含量。使用 qPCR 方法检测两组 Huh7 细胞中脂质代谢相关转移风险基因的相对表达量。上述步骤均严格按照各试剂盒的说明书进行操作。

1.5 统计学分析

使用 R 软件(R 版本 4.1.2)和 GraphPad Prism 8 软件进行统计学分析。使用 K-M 曲线进行患者生存分析。计量资料多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 *t* 检验;两组间比较采用 *t* 检验或秩合检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 转移相关亚型的聚类和脂质代谢水平评估

GEO 数据库分析结果显示,原发性与转移性 HCC 的 DEGs 共有 159 个;TCGA 数据库分析结果显示,其中有 65 个 DEGs 与 HCC 患者的 OS 显著相关(*P*<0.05)。在 TCGA 数据库中经无监督层次聚类方法获得的两组 HCC 患者进行 3 种方法的 EMT 评分,结果显示,两组患者经方法①~③获得的 EMT 评分比较差异均有显著性(*t*=5.75~8.24, *P*<0.05)。见表 1。K-M 生存曲线分析显示,高转移风险组比低转移风险组患者的 OS 更短(*P*<0.05);高、低转移风险组患者 HCC 组织的 DEGs 共有 107 个。

表 1 两组患者的 3 种 EMT 评分比较(分)

分组	方法① ($\bar{x} \pm s$)	方法② ($\bar{x} \pm s$)	方法③ [$M(P_{25}, P_{75})$]
低转移风险组	47.04±4.93	0.50±0.19	-8.51(-12.15, -6.06)
高转移风险组	61.52±6.76	0.90±0.14	1.07(-1.81, 4.70)

对高、低转移风险组的 DEGs 进行 GO 分析,结果显示,两组患者的 DEGs 在类固醇代谢过程、脂肪酸代谢过程以及蛋白质-脂质复合物当中显著富集;KEGG 分析结果显示,这些 DEGs 在药物代谢-细胞色素 P450、胆固醇代谢和脂肪酸降解中显著富集。高、低转移风险组患者的脂质代谢评分则分别为(12.90±1.17)、(12.56±1.04)分。高转移风险组患者的脂质代谢评分显著性高于低转移风险组(*t*=2.87, *P*<0.05);K-M 生存曲线分析显示,高转移风险组患者的 OS 显著短于低转移风险组(*P*<0.05)。

2.2 基于 ICGC 数据库中 HCC 数据集的验证

高、低脂质代谢组患者的 EMT 评分分别为 1.81(-0.95, 8.42)、0.78(-5.68, 5.52)分,两组比较差异有显著统计学意义(*Z*=2.73, *P*<0.05)。K-M 生存曲线分析显示,高脂质代谢组患者的 OS 显著短于低脂质代谢组(*P*<0.05)。

2.3 脂质代谢相关转移风险基因的筛选和预后列线图模型的构建

LASSO 回归分析结果显示,在 TCGA 数据库中筛选出 13 个脂质代谢相关转移风险基因,分别为 *ACOT12*、*BSG*、*ERP29*、*LAGE3*、*MRPL54*、*PIGU*、*POLE4*、*PPM1G*、*PRAF2*、*SNX7*、*TDRD6*、*UBE2S* 和 *UGP2*,以此为基础构建的脂质代谢相关转移风险基因风险评分模型为:风险评分 = *ACOT12* × (-0.015 419 894) + *BSG* × 0.030 955 454 + *ERP29* ×

0.017 152 934+*LAGE3*×0.021 491 424+*MRPL54*×(-0.245 091 708)+*PIGU*×0.232 450 448+*POLE4*×0.049 859 444+*PPMIG*×0.171 847 45+*PRAF2*×0.074 382 102+*SNX7*×0.070 771 486+*TDRD6*×0.082 766 628+*UBE2S*×0.050 119 927+*UGP2*×(-0.014 147 443)。在TCGA数据库中,高低危组患者EMT评分分别为(2.40±0.34)、(1.66±0.30)分,两组比较差异具有显著意义($t=20.47, P<0.05$);ICGC数据库中,高低危组患者的EMT评分分别为(2.25±0.24)、(1.58±0.24)分,两组比较差异有显著性($t=21.09, P<0.05$)。K-M生存曲线分析显示,在TCGA、ICGC数据库中,高危组患者的OS均显著短于低危组($P<0.05$)。

单因素和多因素Cox分析显示,脂质代谢相关转移风险基因以及患者的年龄、肿瘤分期和血管侵犯是影响HCC患者OS的独立危险因素。将上面分析获得的独立危险因素构建HCC患者预后列线图模型,见图1。在TCGA数据库中,根据患者1、3、5年生存率的ROC曲线计算得到的AUC分别为0.75、0.69和0.67;在ICGC数据库当中,根据患者1、3年生存率的ROC曲线计算得到的AUC分别为0.82以及0.78。

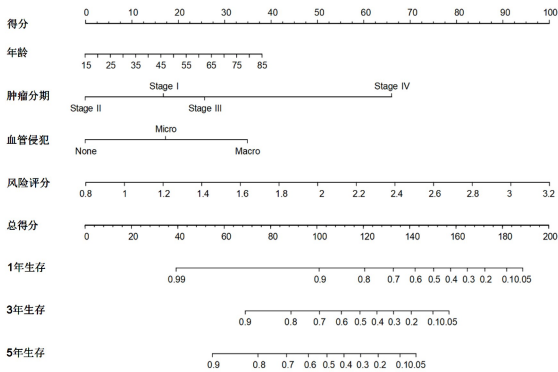


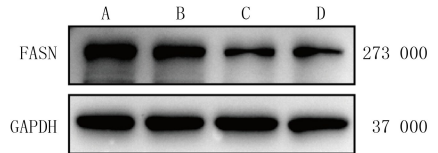
图1 HCC患者预后列线图模型

2.4 Huh7细胞中脂质代谢相关转移风险基因的表达情况

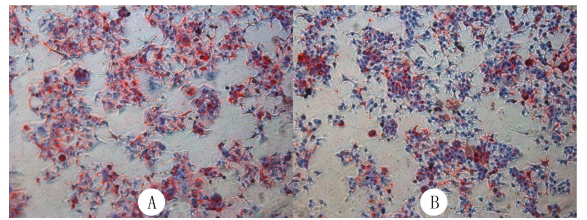
Western blot 实验的检测结果显示,0、10、20、30 μmol/L浓度的Fatostatin处理Huh7细胞24 h时,细胞中FASN相对表达量分别为1.09±0.00、0.94±0.01、0.61±0.01、0.66±0.01,各组间比较差异有显著性($F=1 104.00, P<0.05$),其他浓度组与

0 μmol/L浓度组比较,均有显著差异($t=16.52\sim 60.12, P<0.05$),其中20 μmol/L浓度时,Huh7细胞中FASN相对表达量最低,后续实验采用的Fatostatin浓度为20 μmol/L。见图2。油红O染色结果显示,对照组以及给药组细胞脂滴含量分别为4 641.42±226.40、1 797.45±145.85,两组比较差异有显著性($t=14.93, P<0.05$)。见图3。

qPCR检测的结果显示,给药组细胞中*PIGU*、*PPMIG*、*PRAF2*、*TDRD6*基因的相对表达量显著低于对照组($t=4.39\sim 8.46, P<0.05$),*ACOT12*、*UBE2S*基因的相对表达量均显著高于对照组($t=3.16、3.46, P<0.05$),两组细胞中*BSG*、*MRPL54*基因相对表达量比较,差异无显著统计学意义($P>0.05$)。见表2。



A、B、C、D分别对应Fatostatin的0、10、20、30 μmol/L浓度组
图2 各浓度Fatostatin组Huh7细胞中FASN蛋白表达情况



A:对照组,B:给药组,红色为染色的脂滴;油红O染色,100倍
图3 对照组和给药组细胞中脂滴含量比较

3 讨论

HCC是最常见的肝癌类型,转移率较高,其转移可分为肝内转移和EHM^[19]。肝内转移通常是指癌细胞直接侵袭、迁移或癌栓脱落形成转移病灶;EHM则包括血行转移、淋巴转移及种植转移,转移灶可出现在全身多处组织和脏器^[20]。HCC患者一旦发生EHM,通常预后较差。早期识别EHM高危患者并围绕EHM进行治疗可显著提高患者生存率^[21]。脂质是维持细胞骨架结构、储存和产生能量的必需物质,并参与许多重要信号通路的转导^[22-23]。脂质代谢重编程是癌症进展的标志之一^[24]。EMT

表2 两组细胞中脂质代谢相关转移风险基因的相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

分组	<i>PIGU</i>	<i>PPMIG</i>	<i>PRAF2</i>	<i>TDRD6</i>	<i>ACOT12</i>	<i>UBE2S</i>	<i>BSG</i>	<i>MRPL54</i>
对照组	1.08±0.10	0.97±0.04	0.98±0.05	0.97±0.12	1.00±0.02	1.00±0.02	0.98±0.01	1.00±0.15
给药组	0.45±0.03	0.55±0.13	0.50±0.15	0.23±0.04	1.07±0.02	1.22±0.09	0.82±0.09	1.26±0.03

可增强癌细胞迁移和侵袭能力,因此通常为肿瘤转移的主要驱动因素之一^[25]。越来越多的证据表明,脂质代谢是 EMT 的重要调控因素,与肿瘤的转移密切相关^[26]。

本研究首先从 GEO 数据库中分析获得原发性和转移性 HCC 的 DEGs,根据这些 DEGs,将 TCGA 数据库中的 HCC 患者进行聚类并分为两组,使用 3 种方法对两组患者进行 EMT 评分,结果两组患者的 EMT 评分均有显著差异;相较于高转移风险组,低转移风险组患者 OS 更长;且高转移风险组的脂质代谢评分显著高于低转移风险组。进一步 GO、KEGG 分析显示,这些 DEGs 均与脂质代谢途径密切相关。综合上面的分析结果,提示脂质代谢与 HCC 患者转移和不良预后密切相关。然后,本研究在 ICGC 数据库中,按照 TCGA 数据库的分析方法反向验证,结果与 TCGA 数据库的分析结果一致,说明该分析方法和获得的结果是可靠的。

进一步应用 LASSO 回归分析,在 TCGA 数据库中筛选出 13 个脂质代谢相关转移风险基因,并构建了脂质代谢相关转移风险基因的风险评分模型。通过该模型首先对 TCGA 数据库中 HCC 患者进行风险评分,并分为高、低危组,两组患者的脂质代谢评分差异有显著性,高危组患者的 OS 均显著短于低危组。同样在 ICGC 数据库中进行验证,结果仍然是高危组患者的 OS 均显著短于低危组。说明本研究的脂质代谢相关转移风险基因的风险评分模型构建成功。基于单因素和多因素 Cox 回归分析的结果,将脂质代谢相关转移风险基因与患者的年龄、肿瘤分期、血管侵犯等预后临床特征相结合,构建了 HCC 患者的列线图预后预测模型。ROC 曲线显示模型的预测性能良好。

本研究又通过细胞实验,对上面分析获得的结果进行了验证。本研究首先筛选了脂质代谢抑制剂 Fatostatin 处理人肝癌 Huh7 细胞的最适宜浓度,Western blot 实验结果显示,使用 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 Fatostatin 处理 Huh7 细胞时,FASN 的相对表达量最低,所以选择该浓度组进行后续实验。FASN 是脂质代谢途径中的关键酶,能够调节细胞内脂肪酸的合成,因此可以作为反映细胞内脂质代谢活跃程度的指标。油红 O 染色结果显示,与对照组相比,给药组细胞的脂滴含量显著降低,说明 Fatostatin 抑制了 Huh7 细胞的脂质代谢。qPCR 检测的结果显示,抑制脂质代谢以后,Huh7 细胞当中 *PIGU*、*PPMIG*、*PRAF2* 以及 *TDRD6* 的表达显著降低,

ACOT12 和 *UBE2S* 的表达显著升高,*BSG* 和 *MR-PL54* 的表达无显著变化。提示这些基因可能位于 FASN 的下游并参与调节细胞脂质代谢。表达下调的 4 个基因(*PIGU*、*PPMIG*、*PRAF2* 和 *TDRD6*)可能具有促进脂肪酸合成的功能,并可能参与了肝癌 EHM 的发生。*PIGU* 与代谢相关,其可通过激活 NF- κ B 通路,增强免疫逃逸,促进 HCC 进展,并可作为 HCC 预后分层的标志物^[27]。*PPMIG* 可通过调控选择性剪接蛋白 *SRSF3* 的磷酸化促进 HCC 的进展,并且 *PPMIG* 在 HCC 中高表达与患者不良预后相关^[28]。*PRAF2* 高表达提示肝癌患者预后不良^[29]。*TDRD6* 在 HCC 中的作用尚未见有相关报道。

综上所述,本研究通过对多个数据库进行一系列生物信息学分析,获得了 13 个脂质代谢相关转移风险基因,可能是早期识别 EHM 高危患者的有效生物标志物;并将这些基因和临床危险因素联合构建了 HCC 患者的预后模型。通过细胞实验初步验证了脂质代谢相关转移风险基因与脂质代谢密切相关。但本研究仅仅是基于公共数据库中的数据进行的分析,结果还需要更多的实验研究进行验证。

作者声明:何明阳、赵梓吟、张斌参与了研究设计;何明阳、张旭辉、王蕴涵、关鸽、韩冰、张斌参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] LLOVET J M, KELLEY R K, VILLANUEVA A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021,7(1):6.
- [2] REIG M, FORNER A, RIMOLA J, et al. BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: The 2022 update[J]. J Hepatol, 2022,76(3):681-693.
- [3] WOO H Y, RHEE H, YOO J E, et al. Lung and lymph node metastases from hepatocellular carcinoma: Comparison of pathological aspects[J]. Liver Int, 2022,42(1):199-209.
- [4] JUNG S M, JANG J W, YOU C R, et al. Role of intrahepatic tumor control in the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma and extrahepatic metastases [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012,27(4):684-689.
- [5] DU D Y, LIU C, QIN M Y, et al. Metabolic dysregulation and emerging therapeutical targets for hepatocellular carcinoma[J]. Acta Pharm Sin B, 2022,12(2):558-580.
- [6] WANG Y, WANG Y Y, REN Y F, et al. Metabolic modulation of immune checkpoints and novel therapeutic strategies in cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2022,86(Pt 3):542-565.
- [7] HU J M, ZHANG L Y, CHEN W Z, et al. Role of intra- and extracellular lipid signals in cancer stemness and potential

- therapeutic strategy[J]. *Front Pharmacol*, 2021,12:730751.
- [8] CHE L, PALIOGIANNIS P, CIGLIANO A, et al. Pathogenic, prognostic, and therapeutic role of fatty acid synthase in human hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1412.
- [9] CHEN J, FENG W B, SUN M Y, et al. TGF- β 1-induced SOX18 elevation promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis through transcriptionally upregulating PD-L1 and CXCL12[J]. *Gastroenterology*, 2024,167(2):264-280.
- [10] FENG W B, CHEN J, HUANG W J, et al. HMGB1-mediated elevation of KLF7 facilitates hepatocellular carcinoma progression and metastasis through upregulating TLR4 and PTK2[J]. *Theranostics*, 2023,13(12):4042-4058.
- [11] LIU H H, XU Y, LI C J, et al. An SCD1-dependent mechanoresponse pathway promotes HCC invasion and metastasis through lipid metabolic reprogramming[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(7):2554-2567.
- [12] ALSULIMAN A, COLAK D, AL-HARAZI O, et al. Bidirectional crosstalk between PD-L1 expression and epithelial to mesenchymal transition: Significance in claudin-low breast cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2015,14:149.
- [13] LIU J H, CUI G L, SHEN S N, et al. Establishing a prognostic signature based on epithelial-mesenchymal transition-related genes for endometrial cancer patients[J]. *Front Immunol*, 2022,12:805883.
- [14] QIU Z Q, WANG X, JI X W, et al. The clinical relevance of epithelial-mesenchymal transition and its correlations with tumorigenic immune infiltrates in hepatocellular carcinoma[J]. *Immunology*, 2022,166(2):185-196.
- [15] ZHANG K, QIAN Y, QUAN X W, et al. A novel signature of lipid metabolism-related gene predicts prognosis and response to immunotherapy in lung adenocarcinoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022,10:730132.
- [16] LIN D G, FAN W H, ZHANG R X, et al. Molecular subtype identification and prognosis stratification by a metabolism-related gene expression signature in colorectal cancer[J]. *J Transl Med*, 2021,19(1):279.
- [17] ZHU M C, ZENG Q P, FAN T, et al. Clinical significance and immunometabolism landscapes of a novel recurrence-associated lipid metabolism signature in early-stage lung adenocarcinoma: A comprehensive analysis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:783495.
- [18] KURIEN B T, SCOFIELD R H. Western blotting: An introduction[J]. *Methods Mol Biol*, 2015,1312:17-30.
- [19] ZHANG H F, GAO X, WANG X, ET AL. The mechanisms of renin-angiotensin system in hepatocellular carcinoma: from the perspective of liver fibrosis, hcc cell proliferation, metastasis and angiogenesis, and corresponding protection measures[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021,141:111868.
- [20] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2022,400(10360):1345-1362.
- [21] LEE J I, KIM J K, KIM D Y, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma patients with extrahepatic metastasis and the controllability of intrahepatic lesions[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2014,31(4):475-482.
- [22] AUCIELLO F R, BULUSU V, OON C, et al. A stromal lysolipid-autotaxin signaling axis promotes pancreatic tumor progression[J]. *Cancer Discov*, 2019,9(5):617-627.
- [23] BENESCH M G K, TANG X Y, DEWALD J, et al. Tumor-induced inflammation in mammary adipose tissue stimulates a vicious cycle of autotaxin expression and breast cancer progression[J]. *FASEB J*, 2015,29(9):3990-4000.
- [24] CORN K C, WINDHAM M A, RAFAT M. Lipids in the tumor microenvironment: From cancer progression to treatment[J]. *Prog Lipid Res*, 2020,80:101055.
- [25] BAKIR B, CHIARELLA A M, PITARRESI J R, et al. EMT, MET, plasticity, and tumor metastasis[J]. *Trends Cell Biol*, 2020,30(10):764-776.
- [26] LIU Y, LU L L, WEN D, et al. Correction to: miR-612 regulates invadopodia of hepatocellular carcinoma by HADHA-mediated lipid reprogramming[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):44.
- [27] YANG X, LIU Q, ZOU J, et al. Identification of a prognostic index based on a metabolic-genomic landscape analysis of hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. *Cancer Manag Res*, 2021,13: 5683-5698.
- [28] XIONG D L, LI Q, WANG H, et al. High expression of PPM1G is associated with the progression and poor prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2022,34(1): 13-22.
- [29] WANG C H, LIU L L, LIAO D Z, et al. PRAF2 expression indicates unfavorable clinical outcome in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2018,10:2241-2248.
- (本文编辑 耿波)
-
- (上接第 345 页)
- [22] DAVIDSON J, WILKINSON A, DANTAL J, et al. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International consensus guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003[J]. *Transplantation*, 2003,75(10 Suppl):SS3-SS24.
- [23] LAWENDY B, SRINATHAN S, KOTHA S, et al. Systematic review and meta-analysis of post-transplant diabetes mellitus in liver transplant recipients[J]. *Clin Transplant*, 2021,35(7):e14340.
- [24] MOON J I, BARBEITO R, FARADJI R N, et al. Negative impact of new-onset diabetes mellitus on patient and graft survival after liver transplantation: Long-term follow up[J]. *Transplantation*, 2006,82(12):1625-1628.
- (本文编辑 范睿心 厉建强)