

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202401010



肝细胞癌铁死亡特征基因的 ceRNA 调控网络构建及分析

朱亚玲, 方杉杉, 黎祎杰, 徐先祥, 刁勇

(华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 通过构建肝细胞癌(HCC)铁死亡特征基因的 ceRNA 调控网络,探讨特征基因在 HCC 中的预后价值。筛选差异表达铁死亡相关基因(DE-FRGs),构建 DE-FRGs 的预后风险模型。采用生存分析、独立预后分析、ROC 曲线及 C 指数分析评价模型的准确性。比较高、低风险组间免疫细胞浸润、肿瘤微环境及免疫治疗反应的差异。构建并分析铁死亡特征基因的 ceRNA 调控网络。结果表明:高风险组 HCC 患者总生存期和无进展生存期显著低于低风险组;风险评分和肿瘤分期为 HCC 患者的独立预后因素;与其他临床特征相比,预后风险模型具有更好的预测能力;高、低风险组 HCC 患者在免疫细胞浸润、肿瘤微环境及免疫治疗反应等方面的差异具有统计学意义;ceRNA 调控网络中,*SLC7A11* 的高表达与 HCC 患者预后不良密切相关。

关键词: 肝细胞癌;铁死亡;ceRNA;预后;免疫细胞浸润

中图分类号: R 735.7

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2024)06-0746-10

Construction and Analysis of ceRNA Regulatory Network of Ferroptosis Feature Genes in Hepatocellular Carcinoma

ZHU Yaling, FANG Shanshan, LI Yijie,
XU Xianxiang, DIAO Yong

(School of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: By constructing a ceRNA regulatory network of ferroptosis feature genes in hepatocellular carcinoma (HCC), the prognostic value of feature genes in HCC was explored. The differential expression of ferroptosis-related genes (DE-FRGs) was screened and a prognostic risk model of DE-FRGs was constructed. The accuracy of the model was evaluated using survival analysis, independent prognostic analysis, ROC curve and C index analysis. The differences of immune cell infiltration, tumor microenvironment and immunotherapy response were compared between high-risk and low-risk groups. The ceRNA regulatory network of ferroptosis feature genes was constructed and analyzed. The results showed that the overall survival and progression free survival of HCC patients in the high-risk group were significantly lower than those of the low-risk group. Risk score and tumor stage were independent prognostic factors for HCC patients. Compared with other clinical features, prognostic risk model had better predictive power. There were significant differences in immune cell infiltration, tumor microenvironment and immunotherapy response between high-risk and low-risk groups. High expression of *SLC7A11* in the ceRNA network was closely associated with poor prognosis in HCC patients.

收稿日期: 2024-01-10

通信作者: 刁勇(1967-),男,教授,博士,博士生导师,主要从事基因治疗药物的研究。E-mail: diaoyong@hqu.edu.cn.

基金项目: 福建省泉州市高层次人才项目(2022C006R)

Keywords: hepatocellular carcinoma; ferroptosis; ceRNA; prognosis; immune cell infiltration

肝细胞癌(HCC)是肝脏恶性肿瘤的主要形式,占原发性肝癌病例的 75%~85%^[1-2]。虽然手术切除、肝移植、介入治疗、靶向治疗和免疫治疗等技术不断提升,但多数 HCC 患者被确诊时已为晚期,且复发率和转移率高,导致患者预后较差^[3]。临床上常用 TNM 分期系统^[4]和巴塞罗那临床分期系统^[5]指导 HCC 患者治疗和预后预测,但其对患者预后预测的效果非常有限,因此,迫切需要寻找可靠的生物标志物用于 HCC 早期诊断、治疗和预后预测。

铁死亡是一种铁依赖性的调节性细胞死亡方式,由细胞内铁离子超载、活性氧积累、脂质过氧化和各种细胞死亡效应器的激活所驱动,最终导致质膜破裂和细胞死亡^[6-7]。大量研究表明,铁死亡与 HCC^[8]、乳腺癌^[9]、卵巢癌^[10]等多种癌症的发展相关。有报道称,*CISDI* 和 *TP53* 基因多态性能抑制 HCC 细胞铁死亡,这证明铁死亡相关基因在 HCC 进展中发挥作用^[11-12]。此外,还有研究发现 *NRF2*、*ABHD12* 和 *MT1G* 等铁死亡相关基因对索拉非尼诱导的 HCC 细胞铁死亡具有保护作用^[13-15]。近年来,诱导肿瘤细胞铁死亡已成为一种很有前景的肿瘤治疗策略。

竞争性内源 RNA(ceRNA)是一种复杂的转录后调控机制,涉及 lncRNA、miRNA 和 mRNA 等多种分子^[16]。lncRNA 和 mRNA 具有相同的 miRNA 应答元件(MRE),lncRNA 可通过竞争性结合 MRE 间接调节 mRNA 表达水平和细胞功能^[17]。有研究发现,lncRNA NEAT1 可通过与 miR-362-3p 的竞争性结合促进 *MIOX* 的表达,从而增强 erastin 诱导的 HCC 细胞铁死亡^[18]。CeRNA 网络在 HCC 细胞铁死亡过程中发挥重要的调控作用^[19],但其作用机制仍有待进一步完善。本文利用 TCGA 数据库筛选 HCC 患者差异表达铁死亡相关基因,并基于 HCC 患者的预后风险模型构建铁死亡特征基因的 ceRNA 调控网络,以期为深入研究 HCC 铁死亡调控机制、探索诱导铁死亡相关治疗靶点提供参考。

1 材料与方法

1.1 数据来源

图 1 为研究流程。从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载 374 例 HCC 组织样本和 50 例正常组织样本的 RNA-Seq 转录组测序数据及临床资料。利用 Perl 软件整理并提取各样本的 RNA 表达矩阵和生存时间、生存状态、年龄、性别、分级、分期等临床特征信息,剔除信息不全的样本。利用 GENECODE 网站(<https://www.gencodegenes.org/>)下载人类基因注释 GTF 文件,对 RNA 表达矩阵进行注释,从而区分 mRNA 和 lncRNA。以 ferroptosis 为关键词,分别在 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)检索,得到 364 个铁死亡相关基因(FRGs)。

1.2 差异表达铁死亡相关基因的获取及富集分析

采用 R 软件的 edgeR 包对 HCC 组织和正常组织进行差异分析,以 $|\log_2 FC| > 1.5$, $FDR < 0.05$ (FC 为差异倍数, FDR 为错误发现率)为条件,筛选差异表达基因(DEGs)和差异表达 lncRNAs(DElncRNAs)。将 DEGs 与 FRGs 取交集,得到差异表达铁死亡相关基因(DE-FRGs)。利用 R 软件 clusterProfiler 包对 DE-FRGs 进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并通过 ggplot2 包对富集结果进行可视化。当 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。

1.3 预后风险模型的构建及评价

采用 R 软件 survival 包进行单因素 Cox 回归分析(过滤标准为 $P < 0.05$),筛选与 HCC 患者预后相关的 DE-FRGs。为避免模型过度拟合,使用 glmnet 包进行最小绝对收缩并选择算子(LASSO)回归

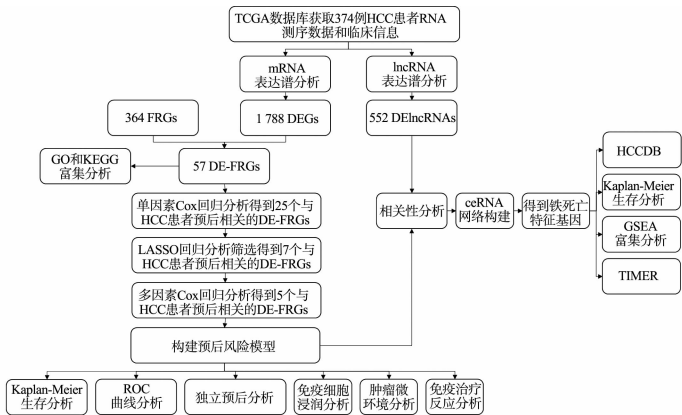


图 1 研究流程

Fig. 1 Research process

分析,选取平均交叉验证误差最小的 λ 值(λ 值决定了回归系数被压缩的程度, λ 值越大,模型系数越小)。通过多因素 Cox 回归分析,构建预后风险模型并计算风险评分,根据风险评分的中位值,将 HCC 患者分为高风险组和低风险组。采用 Kaplan-Meier 生存分析评估高、低风险组间的总生存期和无进展生存期的差异。通过对风险评分和患者年龄、性别、分级、分期等临床特征进行单因素和多因素 Cox 回归分析,验证该模型是否能作为 HCC 患者的独立预后因素。使用 timeROC 包绘制受试者操作特征(ROC)曲线,计算曲线下面积(AUC),AUC 值越大,表示模型的准确性越好。运用 rms 包计算模型的 C 指数,以评价模型的预测能力。

1.4 肿瘤免疫浸润分析及免疫治疗的评价

使用 GSVA、GSEABase 包进行 ssGSEA 富集分析,评估高、低风险组 HCC 患者间肿瘤免疫细胞浸润及免疫功能的差异。通过 estimate 包计算每个肿瘤组织的基质评分、免疫评分、ESTIMATE 评分和肿瘤纯度,并分析肿瘤微环境在高、低风险组间是否存在差异。采用 TIDE 算法计算每位患者的 TIDE 评分,以预测高、低风险组 HCC 患者对免疫治疗的反应。

1.5 铁死亡特征基因 ceRNA 调控网络的构建

将铁死亡特征基因与 DElncRNAs 进行 Spearman 相关性分析,以相关性系数 $|r| > 0.3, P < 0.001$ 为筛选标准,得到铁死亡相关差异表达 lncRNAs(FR-DElncRNAs)。通过 miRcode 数据库(<http://www.mircode.org/>)下载高度保守的 microRNA 家族文件,使用 Perl 软件比对获得 FR-DElncRNAs 与 miRNA 相互作用关系。利用 TargetScan 数据库(https://www.targetscan.org/vert_80/)、miR-TarBase 数据库(https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php)和 miRDB 数据库(<https://mirdb.org/>)预测 miRNA 调控的 mRNA,并与铁死亡特征基因取交集,得到 miRNA 与 mRNA 的关系对。采用 Cytoscape 软件构建铁死亡特征基因的 ceRNA 调控网络。

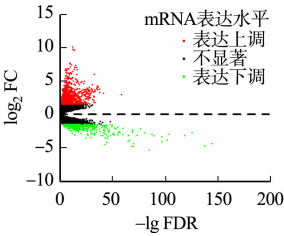
1.6 ceRNA 调控网络中特征基因的分析

首先,利用 HCCDB 数据库(<http://lifeome.net/database/hccdb/home.html>)中 15 个公开的 HCC 表达数据集验证特征基因在 HCC 中的表达情况。采用 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<http://kmplot.com/analysis/index.php?p=background>)进行生存分析,以评估特征基因的表达与 HCC 患者生存率之间的相关性。随后,通过 GSEA 富集分析,预测特征基因在 HCC 发生发展中的作用机制。最后,运用 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)可视化特征基因在泛癌中的表达情况,并分析其表达与 HCC 免疫细胞浸润的相关性。

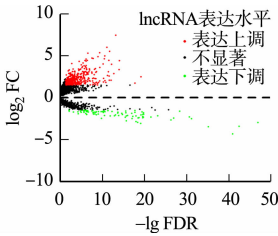
2 实验结果与分析

2.1 差异表达铁死亡相关基因的获取

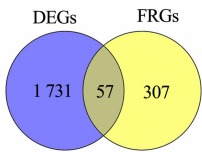
差异表达分析结果,如图 2 所示。分析 TCGA 数据库中 HCC 组织和正常组织的转录组数据,共得到 1 788 个 DEGs,其中,上调基因 1 400 个,下调基因 388 个(图 2(a));得到 DElncRNAs 552 个,其中,表达上调 463 个,表达下调 89 个(图 2(b));DEGs 与 FRGs 取交集,得到 57 个 DE-FRGs(图 2(c))。



(a) mRNA 差异分析火山图



(b) lncRNA 差异分析火山图



(c) DE-FRGs 韦恩图

图 2 差异表达分析结果

Fig. 2 Analysis results of differential expression

2.2 DE-FRGs 的富集分析

利用 R 软件对 57 个 DE-FRGs 进行富集分析,如图 3 所示。由图 3(a)可知:DE-FRGs 主要参与细胞对氧化应激的反应、铁离子转运、铁离子稳态、细胞对活性氧的反应、炎症反应的调节等生物过程。由

图 3(b)可知:DE-FRGs 参与调控铁死亡、IL17 信号通路、VEGF 信号通路、PPAR 信号通路、TNF 信号通路等,这些通路在肝癌的发生发展过程中发挥重要作用。

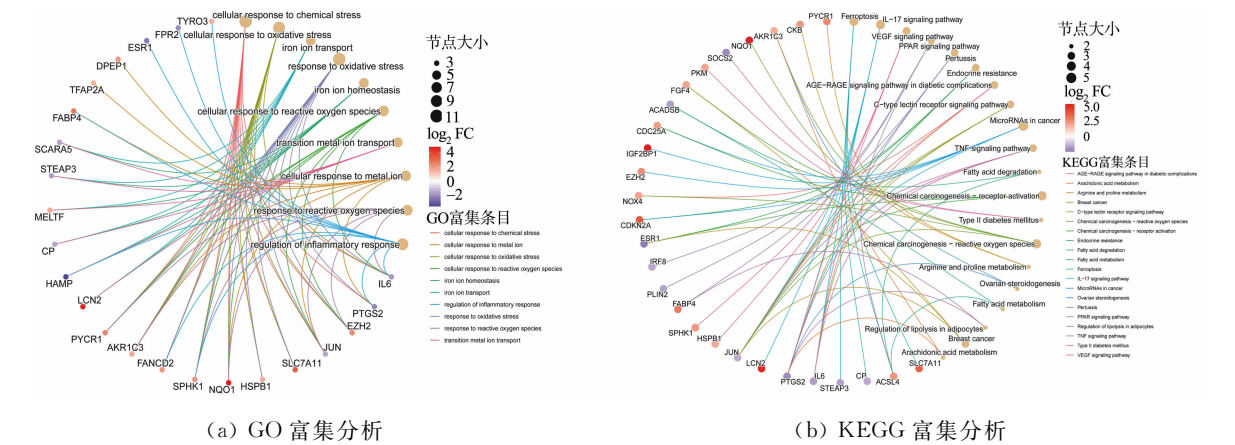


图 3 功能富集分析
Fig. 3 Functional enrichment analysis

2.3 预后风险模型的构建

构建预后风险模型,结果如图 4 所示。图 4 中:HR 为风险比;95%CI 为 95%置信区间。通过单因素 Cox 回归分析筛选出 25 个与 HCC 患者预后相关的 DE-FRGs(图 4(a));经 LASSO 回归进一步分析得到 7 个与 HCC 患者预后相关的 DE-FRGs(图 4(b),(c));通过多因素 Cox 回归分析,得到 5 个用于构建预后风险模型的 DE-FRGs,其中,SOCS2 为 HCC 患者预后的保护因素,EZH2,SLC7A11,NQO1,MYCN 为 HCC 患者预后的风险因素(图 4(d))。

基于这 5 个 DE-FRGs 构建预后风险模型的风险评分方程,即风险评分=0.422×EZH2+0.211×SLC7A11+0.052×NQO1+0.158×MYCN−0.273×SOCS2。以风险评分的中位值(0.971)为界,将 HCC 患者分为高风险组和低风险组。

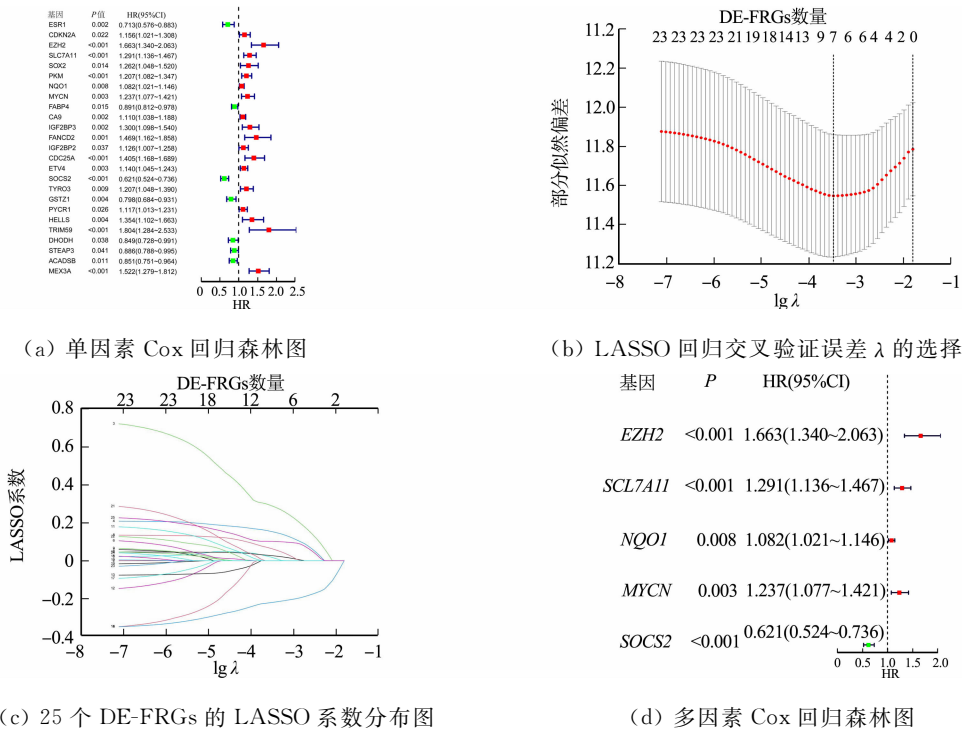


图 4 预后风险模型的构建结果
Fig. 4 Constructing results of prognostic risk model

2.4 预后风险模型的评价

预后风险模型的评价结果,如图 5 所示。图 5 中:t 为时间。Kaplan-Meier 生存分析结果显示,高

风险组 HCC 患者的总生存期和无进展生存期显著低于低风险组 ($P<0.001$) (图 5(a),(b))。单因素和多因素 Cox 回归分析结果显示,风险评分和分期可作为 HCC 患者的独立预后因素 ($P<0.001$) (图 5(c),(d))。ROC 曲线分析结果显示,风险模型预测 HCC 患者 1 a,3 a 和 5 a 生存期的 AUC 值分别为 0.802,0.742 和 0.693 (图 5(e))。参与风险模型构建的 5 个 DE-FRGs 的 AUC 值均大于 0.740,提示这 5 个 DE-FRGs 为 HCC 铁死亡特征基因 (图 5(g))。与其他临床特征的 AUC 值相比,风险评分的 AUC 值最大 (图 5(f)),且 C 指数分析发现风险评分的敏感性和 1-特异性明显优于其他临床特征 (图 5(h)),表明预后风险模型比其他临床特征更能准确地预测 HCC 患者的预后情况。

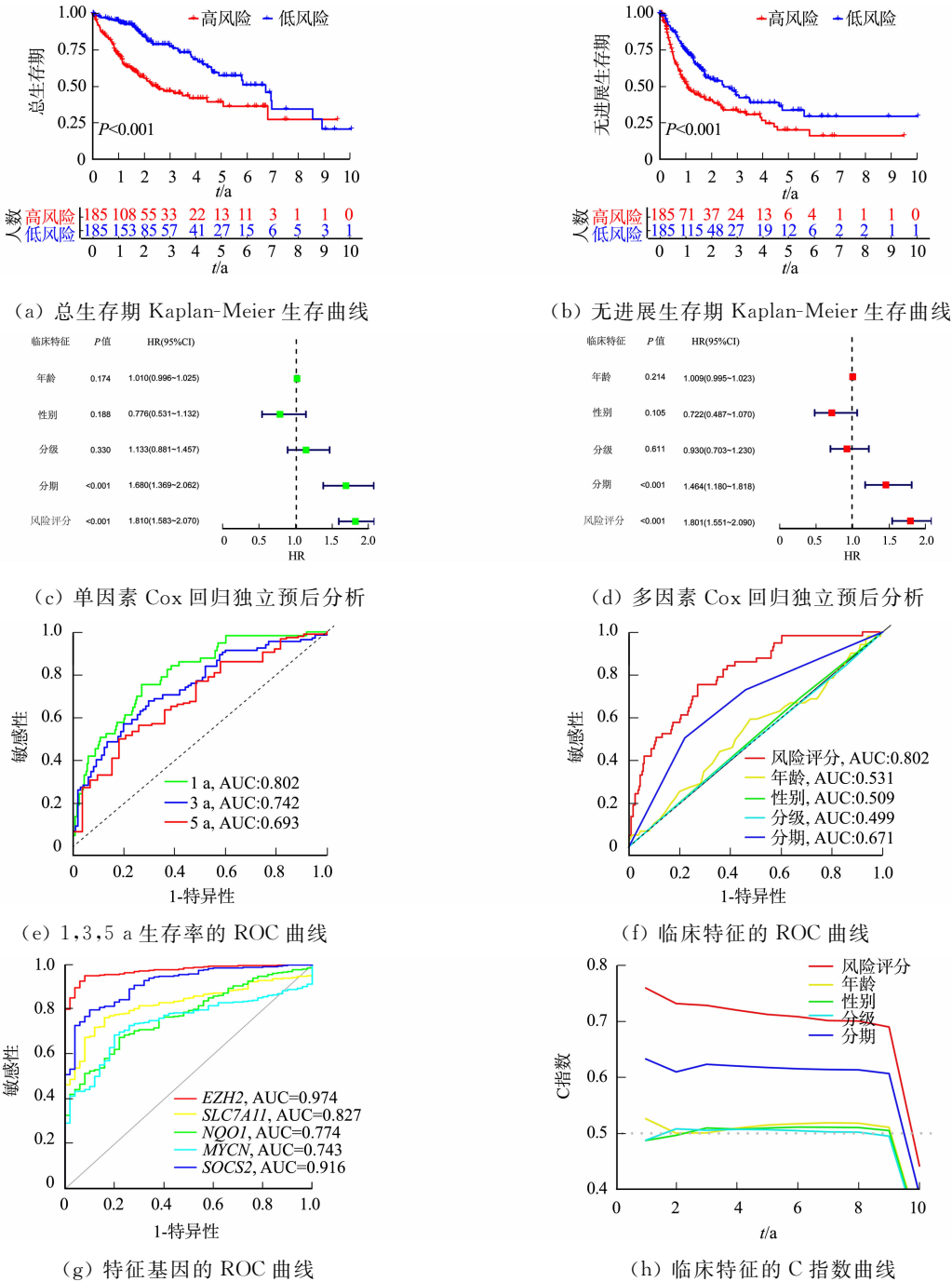


图 5 预后风险模型的评价

Fig. 5 Evaluation of prognostic risk model

2.5 肿瘤免疫细胞浸润及免疫治疗反应分析

高、低风险组患者肿瘤免疫细胞浸润及免疫治疗反应分析,如图 6 所示。图 6 中:“*”表示 $P<0.05$;“**”表示 $P<0.01$;“***”表示 $P<0.001$ 。通过 ssGSEA 免疫细胞浸润分析发现,与低风险

组患者相比,高风险组患者 B 细胞、肥大细胞、中性粒细胞等细胞的比例较低,而活化的树突状细胞的比例较高($P<0.05$)(图 6(a))。免疫功能方面,高风险组患者细胞溶解活性、I 型干扰素应答、II 型干扰素应答显著降低($P<0.05$)(图 6(b)),说明高风险组患者存在免疫抑制的状态。肿瘤微环境差异分析显示,高风险组具有较低的基质评分和 ESTIMATE 评分($P<0.05$)(图 6(c)),且肿瘤纯度较高($P<0.05$)(图 6(d))。此外,TIDE 算法结果显示,高风险组 TIDE 评分显著低于低风险组($P<0.05$)(图 6(e)),说明高风险组患者对免疫治疗的反应更好。以上结果提示,高风险组 HCC 患者肿瘤免疫抑制程度较高,对免疫治疗更敏感,有望从免疫治疗中获益。

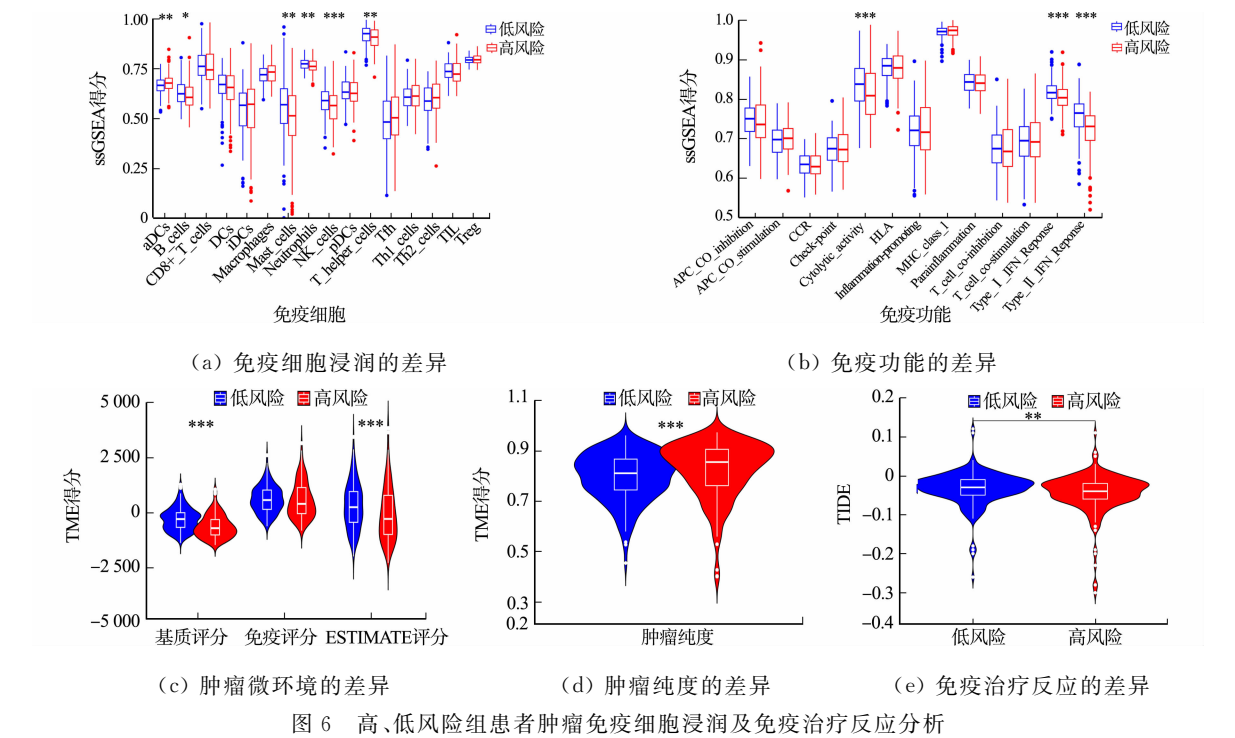


图 6 高、低风险组患者肿瘤免疫细胞浸润及免疫治疗反应分析

Fig. 6 Analysis of tumor immune cell infiltration and immunotherapy response in high-risk and low-risk groups

2.6 铁死亡特征基因 ceRNA 调控网络的构建

经 Spearman 相关性分析得到 50 个 FR-DElncRNA,其中 46 个表达上调,4 个表达下调(图 7(a))。借助 miRcode 数据库比对得到 183 个 miRNA,再经 TargetScan,miRTarBase,miRDB 数据库共同预测得到 1 786 个 mRNA,将 mRNA 与构建风险模型的 5 个铁死亡特征基因取交集得到 1 个交集基因 *SLC7A11*。根据分析得到的 lncRNA-miRNA 关系对和 miRNA-mRNA 关系对构建 ceRNA 调控网络(图 7(b)),网络中 *SLC7A11* 为特征基因,潜在竞争性结合的 miRNA 为 hsa-miR-363-3p,hsa-miR-142-3p,hsa-miR-27a-3p,竞争性的 FR-DElncRNA 有 RUSC1-AS1,CRNDE,HOTTIP。

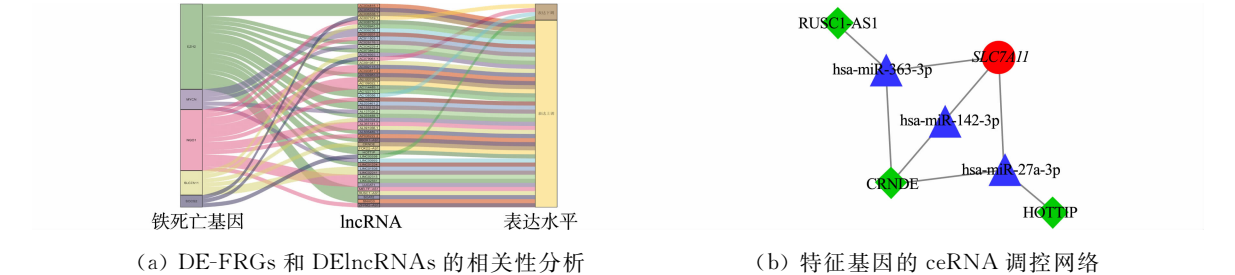


图 7 风险模型中特征基因 ceRNA 调控网络的构建

Fig. 7 Construction of ceRNA regulatory network of feature genes in risk model

2.7 ceRNA 调控网络中特征基因的分析

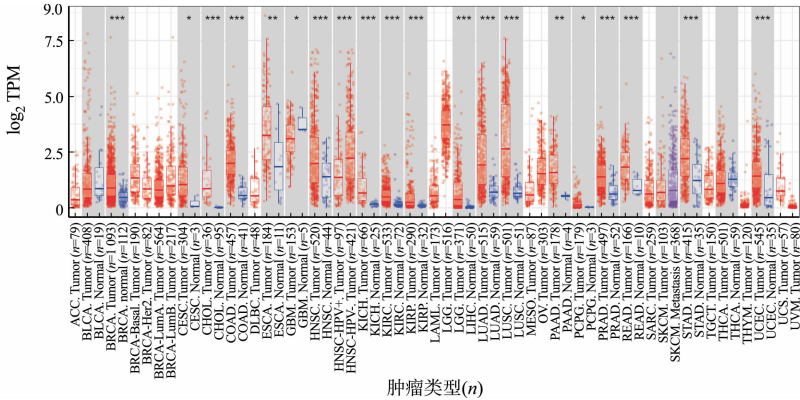
SLC7A11 在 HCCDB 数据库中的差异表达分析,如表 1 所示。CeRNA 调控网络的特征基因 *SLC7A11* 在 HCCDB 数据库的 11 个肝癌与癌旁组织数据集中表达量均显著升高($P<0.05$)。CeRNA 调控网络中特征基因的分析,如图 8 所示。表 1,图 8 中: n 为样本数量。

表 1 *SLC7A11* 在 HCCDB 数据集 中的差异表达分析

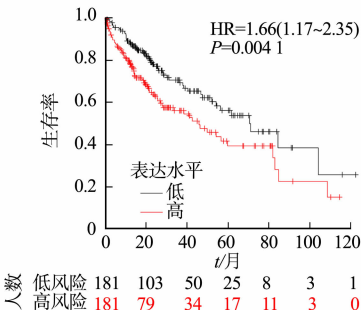
Tab. 1 Differential expression analysis of *SLC7A11* in HCCDB dataset

数据集	<i>P</i>	样本类型	<i>n</i>	表达均值	标准偏差	四分位差
HCCDB1	7.60×10^{-18}	HCC	100	6.685	1.834	2.984
		癌旁组织	97	4.735	0.511	0.573
HCCDB3	3.18×10^{-17}	HCC	268	0.367	0.555	0.340
		癌旁组织	243	0.060	0.045	0.023
HCCDB4	2.17×10^{-11}	HCC	240	5.828	0.250	0.212
		癌旁组织	193	5.700	0.125	0.163
HCCDB6	9.29×10^{-13}	HCC	225	3.710	0.690	0.510
		癌旁组织	220	3.354	0.163	0.193
HCCDB7	1.73×10^{-8}	HCC	80	10.250	0.813	1.200
		癌旁组织	82	9.624	0.443	0.549
HCCDB12	1.82×10^{-7}	HCC	81	2.890	1.655	2.445
		癌旁组织	80	1.779	0.679	0.597
HCCDB13	1.56×10^{-18}	HCC	228	4.971	1.197	1.109
		癌旁组织	168	4.194	0.257	0.220
HCCDB15	5.40×10^{-21}	HCC	351	5.992	2.459	3.770
		癌旁组织	49	2.730	1.575	1.920
HCCDB16	2.01×10^{-11}	HCC	60	6.178	1.813	3.135
		癌旁组织	60	4.242	0.298	0.343
HCCDB17	1.47×10^{-8}	HCC	115	6.633	0.259	0.265
		癌旁组织	52	6.463	0.110	0.113
HCCDB18	3.76×10^{-27}	HCC	212	0.749	0.749	1.135
		癌旁组织	177	0.101	0.137	0.080

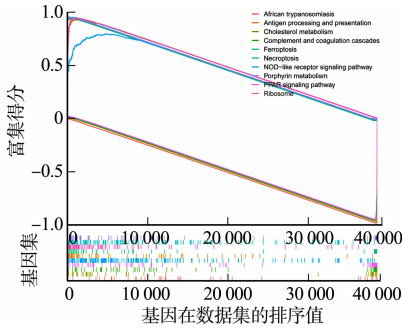
SLC7A11 在 BRCA,CHOL,COAD,UCEC 等 20 多种肿瘤组织中的表达量均显著升高($P<0.05$) (图 8(a)),说明高表达 *SLC7A11* 与多种肿瘤的发生发展密切相关。通过 Kaplan-Meier 生存分析发现,*SLC7A11* 高表达能显著降低患者生存率($P<0.05$),是预后相关的风险因素,该结果与前面的分析



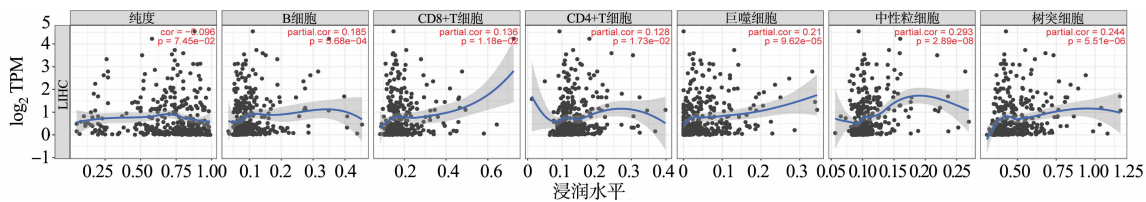
(a) *SLC7A11* 在泛癌中的表达水平



(b) *SLC7A11* 的 Kaplan-Meier 生存曲线



(c) *SLC7A11* 的 GSEA 富集分析



(d) *SLC7A11* 表达水平与免疫细胞浸润的相关性

图 8 ceRNA 调控网络中特征基因的分析

Fig. 8 Analysis of feature genes in ceRNA regulatory network

结果一致(图 8(b))。GSEA 富集分析结果发现,活化的 *SLC7A11* 在抗原加工与提呈、坏死性凋亡、铁死亡等通路中显著富集($P<0.05$)(图 8(c))。免疫细胞浸润结果显示,*SLC7A11* 在 HCC 中的表达水平与 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浸润水平显著正相关($P<0.05$),提示 *SLC7A11* 在调节 HCC 免疫细胞浸润过程中起重要作用(图 8(d))。

3 讨论

细胞内铁代谢失衡和活性氧积累导致的脂质过氧化是参与铁死亡过程的主要因素,并受到多个基因的调控^[20]。随着铁死亡研究的不断深入,越来越多的铁死亡相关基因作为铁死亡相关途径的介质参与 HCC 的进展^[21]。因此,探索 HCC 中铁死亡相关基因的调控机制,对于寻找更有效的 HCC 治疗靶点、改善 HCC 患者预后具有重要意义。

利用 TCGA 数据库分析得到 57 个 DE-FRGs,经 LASSO-Cox 回归分析筛选出 5 个 DE-FRGs 用于构建预后风险模型,包括 *SOCS2*, *EZH2*, *SLC7A11*, *NQO1* 和 *MYCN*。*SOCS2* 表达异常参与了 HCC 的发生、发展、转移和预后^[22]。有研究证实,高表达的 *SOCS2* 是预测 HCC 放射敏感性的生物标志物之一,其可通过促进 *SLC7A11* 的泛素化降解,进一步诱导铁死亡,提示靶向 *SOCS2* 可提高 HCC 放疗的效率,改善患者的预后^[23]。*EZH2* 的过表达促进了 HCC 的发生、进展和转移^[24]。研究发现,*EZH2* 通过表观遗传沉默 *P21*、染色质解旋酶 DNA 结合蛋白 5、*Cdkn2a* 等多种肿瘤抑制基因,促进肝癌细胞的增殖和转移^[25]。*SLC7A11* 作为 Xc 系统的关键氨基酸转运蛋白,参与胱氨酸的胞外摄取,促进主要抗氧化剂谷胱甘肽的合成,保护细胞免受氧化应激的损伤^[26]。大量实验证明,*SLC7A11* 的高表达与多种肿瘤的生长、侵袭、转移及不良预后密切相关^[27]。有研究发现,circ0097009 直接结合并阻断 miR-1261,从而诱导 *SLC7A11* 表达上调和铁死亡抑制,最终导致 HCC 细胞增殖和侵袭^[28]。*NQO1* 高表达与肿瘤转移、血管生成和预后不良相关。HCC 细胞中高表达的 *NQO1* 通过激活 PI3K/AKT 和 MAPK/ERK 信号通路促进 HCC 细胞增殖并介导肿瘤生长^[29]。*MYCN* 是 HCC 复发的生物标志物,也是肝癌治疗的重要靶点^[30]。*MYCN* 基因的敲除可抑制 HCC 细胞的增殖和侵袭^[31]。利用生存分析和 ROC 曲线分析对预后风险模型进行评价,结果显示,构建的风险模型可较准确地评估 HCC 患者的预后情况,具有良好的预测能力,可作为 HCC 患者预后风险评估的有力工具。此外,高、低风险组 HCC 患者在肿瘤免疫细胞浸润、免疫功能、肿瘤微环境及免疫治疗反应方面的差异均具有统计学意义,说明风险模型能较准确地反映 HCC 患者的免疫状态,在 HCC 患者免疫治疗方法的选择中具有一定的参考价值。

构建了 1 个由 3 个 FR-DELncRNAs、3 个 miRNA 和 1 个 DE-FRGs 组成的 ceRNA 调控网络,网络中差异表达上调的 *RUSC1-AS1*, *CRNDE* 和 *HOTTIP* 通过竞争性结合 hsa-miR-363-3p, hsa-miR-142-3p 和 hsa-miR-27a-3p 调节 *SLC7A11* 的表达。有报道称,过表达的 *RUSC1-AS1* 可通过调节 miR-340-5p/*CREB1* 诱导 HCC 细胞的增殖、侵袭和迁移,从而促进 HCC 的进展^[32]。*CRNDE* 通过吸附 miR-539-5p 促进 *POU2F1* 的表达,从而促进 HCC 细胞增殖和转移^[33]。*HOTTIP* 作为一种预后标志物,可促进肝癌和胰腺癌等肿瘤发生和发展^[34]。然而,上述 lncRNAs 竞争性结合 miRNA 调节 *SLC7A11* 表达进而影响 HCC 细胞铁死亡的研究鲜有报道。因此,文中构建的 ceRNA 调控网络有望为 HCC 细胞铁死亡机制的研究提供新思路。此外,研究还利用外部数据库进一步验证了 *SLC7A11* 在泛癌、生存及免疫细胞浸润方面的作用,说明 *SLC7A11* 可作为 HCC 治疗和预后评估的可靠靶点。

综上所述,研究成功构建了基于铁死亡特征基因的预后风险模型和 ceRNA 调控网络,为深入研究

铁死亡相关基因在肝细胞癌中的作用机制提供参考。由于研究是基于 TCGA 数据库进行的回顾性分析,仍存在一定的局限性,需进一步在临床病例中进行验证。

参考文献:

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10. 3322/caac. 21660.

[2] GANESAN P, KULIK L M. Hepatocellular carcinoma[J]. Clinics in Liver Disease, 2023, 27(1): 85-102. DOI: 10. 1016/j. cld. 2022. 08. 004.

[3] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, *et al.* Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2022, 400(10360): 1345-1362. DOI: 10. 1016/S0140-6736(22)01200-4.

[4] AMIN M B, GREENE F L, EDGE S B, *et al.* The eighth edition AJCC cancer staging manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2017, 67(2): 93-99. DOI: 10. 3322/caac. 21388.

[5] REIG M, FORNER A, RIMOLA J, *et al.* BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: The 2022 update[J]. Journal of Hepatology, 2022, 76(3): 681-693. DOI: 10. 1016/j. jhep. 2021. 11. 018.

[6] AJOOLABADY A, TANG D, KROEMER G, *et al.* Ferroptosis in hepatocellular carcinoma: Mechanisms and targeted therapy[J]. British Journal of Cancer, 2023, 128(2): 190-205. DOI: 10. 1038/s41416-022-01998-x.

[7] HUANG Ziyue, XIA Haoming, CUI Yunfu, *et al.* Ferroptosis: From basic research to clinical therapeutics in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Clinical and Translational Hepatology, 2023, 11(1): 207-218. DOI: 10. 14218/JCTH. 2022. 00255.

[8] TANG Daolin, KROEMER G, KANG Rui. Ferroptosis in hepatocellular carcinoma: From bench to bedside[J]. Hepatology, 2023, 11(1): 207-218. DOI: 10. 1097/HEP. 0000000000000390.

[9] YANG Fan, XIAO Yi, DING Jiahan, *et al.* Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy[J]. Cell Metabolism, 2023, 35(1): 84-100. DOI: 10. 1016/j. cmet. 2022. 09. 021.

[10] CHENG Zhe, CHEN Yongheng, HUANG Huichao. Identification and validation of a novel prognostic signature based on ferroptosis-related genes in ovarian cancer [J]. Vaccines, 2023, 11(2): 205-225. DOI: 10. 3390/vaccines11020205.

[11] YUAN Hua, LI Xuemei, ZHANG Xiuying, *et al.* C1SD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016, 478(2): 838-844. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2016. 08. 034.

[12] JENNIS M, KUNG C P, BASU S, *et al.* An African-specific polymorphism in the TP53 gene impairs p53 tumor suppressor function in a mouse model[J]. Genes & Development, 2016, 30(8): 918-930. DOI: 10. 1101/gad. 275891. 115.

[13] CHANG K, CHEN Y, ZHANG X, *et al.* DPP9 Stabilizes NRF2 to suppress ferroptosis and induce sorafenib resistance in clear cell renal cell carcinoma[J]. Cancer Research, 2023, 83(23): 3940-3955. DOI: 10. 1158/0008-5472.

[14] CAI Mengxing, LUO Jingwen, YANG Chunxiu, *et al.* ABHD12 contributes to tumorigenesis and sorafenib resistance by preventing ferroptosis in hepatocellular carcinoma[J]. iScience, 2023, 26(12): 108340-108358. DOI: 10. 1016/j. isci. 2023. 108340.

[15] SUN Xiaofang, NIU Xiaohua, CHEN Ruochan, *et al.* Metallothionein-1G facilitates sorafenib resistance through inhibition of ferroptosis[J]. Hepatology, 2016, 64(2): 488-500. DOI: 10. 1002/hep. 28574.

[16] THOMSON D W, DINGER M E. Endogenous microRNA sponges: Evidence and controversy[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17(5): 272-283. DOI: 10. 1038/nrg. 2016. 20.

[17] SHI Yi, LIU Jibin, DENG Jing, *et al.* The role of ceRNA-mediated diagnosis and therapy in hepatocellular carcinoma[J]. Hereditas, 2021, 158(1): 44-58. DOI: 10. 1186/s41065-021-00208-7.

[18] ZHANG Ying, LUO Meiyang, CUI Xiaohong, *et al.* Long noncoding RNA NEAT1 promotes ferroptosis by modulating the miR-362-3p/MIOX axis as a ceRNA[J]. Cell Death and Differentiation, 2022, 29(9): 1850-1863. DOI: 10. 1038/s41418-022-00970-9.

- [19] YANG Zelong, HE Kun, CHEN Weigang, *et al.* A ferroptosis-related ceRNA network in hepatocellular carcinoma for potential clinical applications[J]. American Journal of Translational Research, 2023, 15(6): 3912-3927.
- [20] CHEN Xin, LI Jingbo, KANG Rui, *et al.* Ferroptosis: Machinery and regulation[J]. Autophagy, 2021, 17(9): 2054-2081. DOI: 10.1080/15548627.2020.1810918.
- [21] TANG Daolin, CHEN Xin, KANG Rui, *et al.* Ferroptosis: Molecular mechanisms and health implications[J]. Cell Research, 2021, 31(2): 107-125. DOI: 10.1038/s41422-020-00441-1.
- [22] LIU Jiankun, LIU Zhiyong, LI Wei, *et al.* SOCS2 is a potential prognostic marker that suppresses the viability of hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncology Letters, 2021, 21(5): 399-409. DOI: 10.3892/ol.2021.12660.
- [23] CHEN Qianping, ZHENG Wang, GUAN Jian, *et al.* SOCS2-enhanced ubiquitination of SLC7A11 promotes ferroptosis and radiosensitization in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death & Differentiation, 2022, 30(1): 137-151. DOI: 10.1038/s41418-022-01051-7.
- [24] AU S L K, WONG C C L, LEE J M F, *et al.* Enhancer of zeste homolog 2 epigenetically silences multiple tumor suppressor microRNAs to promote liver cancer metastasis[J]. Hepatology, 2012, 56(2): 622-631. DOI: 10.1002/hep.25679.
- [25] WANG Bohan, LIU Yachong, LIAO Zhibin, *et al.* EZH2 in hepatocellular carcinoma: Progression, immunity, and potential targeting therapies[J]. Experimental Hematology & Oncology, 2023, 12(1): 52-65. DOI: 10.1186/s40164-023-00405-2.
- [26] SHIN C S, MISHRA P, WATROUS J D, *et al.* The glutamate/cystine xCT antiporter antagonizes glutamine metabolism and reduces nutrient flexibility[J]. Nature Communications, 2017, 21(8): 15074-15085. DOI: 10.1038/ncomms15074.
- [27] HE Feng, ZHANG Peng, LIU Junlai, *et al.* ATF4 suppresses hepatocarcinogenesis by inducing SLC7A11 (xCT) to block stress-related ferroptosis[J]. Journal of Hepatology, 2023, 79(2): 362-377. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.03.016.
- [28] LÜ Ning, ZENG Yan, KONG Yanan, *et al.* Ferroptosis is involved in the progression of hepatocellular carcinoma through the circ0097009/miR-1261/SLC7A11 axis[J]. Annals of Translational Medicine, 2021, 9(8): 675-686. DOI: 10.21037/atm-21-997.
- [29] DIMRI M, HUMPHRIES A, LAKNAUR A, *et al.* NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 ablation inhibits activation of the phosphoinositide 3-kinase/Akt serine/threonine kinase and mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase pathways and blocks metabolic adaptation in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2020, 71(2): 549-568. DOI: 10.1002/hep.30818.
- [30] QIN Xianyang, SU Ting, YU Wenkui, *et al.* Lipid desaturation-associated endoplasmic reticulum stress regulates MYCN gene expression in hepatocellular carcinoma cells[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11(1): 66-79. DOI: 10.1038/s41419-020-2257-y.
- [31] YASUKAWA K, LIEW L C, HAGIWARA K, *et al.* MicroRNA-493-5p-mediated repression of the MYCN oncogene inhibits hepatic cancer cell growth and invasion[J]. Cancer Science, 2020, 111(3): 869-880. DOI: 10.1111/cas.14292.
- [32] LIU Chunjiang, TANG Liming, XU Miaojun, *et al.* LncRNA RUSC1-AS1 contributes to the progression of hepatocellular carcinoma cells by modulating miR-340-5p/CREB1 axis[J]. American Journal of Translational Research, 2021, 13(3): 1022-1036.
- [33] LI Zhixi, WU Gang, LI Jie, *et al.* lncRNA CRNDE promotes the proliferation and metastasis by acting as sponge miR-539-5p to regulate POU2F1 expression in HCC[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 282-293. DOI: 10.1186/s12885-020-06771-y.
- [34] WEI Huamei, XU Zuoming, CHEN Liucui, *et al.* Long non-coding RNA PAARH promotes hepatocellular carcinoma progression and angiogenesis via upregulating HOTTIP and activating HIF-1 α /VEGF signaling[J]. Cell Death and Disease, 2022, 13(2): 102-115. DOI: 10.1038/s41419-022-04505-5.

(责任编辑: 黄晓楠 英文审校: 刘源岗)