

基于整合药理学和转录组学的肝细胞癌和胆管癌共同差异 miRNA 调控网络构建及相关中药预测分析[△]

施金虎^{1*}, 吴波¹, 蓝晓红¹, 王玥坤¹, 杨阳¹, 易剑峰², 魏玮¹, 高茗^{1#} (1. 中国人民解放军东部战区总医院药剂科, 南京 210002; 2. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 南昌 330004)



中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2024)02-0147-07

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2024.02.004

摘要 目的:利用整合药理学和转录组学方法,构建肝细胞癌与胆管癌共同差异微RNA(miRNA)调控网络,并对关键靶点进行中药预测分析。方法:从GEO数据库获取肝细胞癌、胆管癌芯片数据集,借助在线分析工具GEO2R分析出差异表达miRNA(DEMs)并对其取交集,得到共同DEMs,分别运用FunRich和miRNet软件预测上游转录因子及下游靶基因,并利用DAVID数据库对靶基因进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。借助STRING数据库和Cytoscape 3.9.1软件筛选关键基因(hubGenes)并构建miRNA-hubGenes网络。运用UALCAN、Kaplan Meier-plotter和Coremin Medical数据库对关键基因进行差异表达、总体生存率及相关中药预测分析。结果:肝细胞癌筛选出14个DEMs,胆管癌筛选出104个DEMs,miR-199a-5p为两者共同DEMs,涉及28个上调转录因子,166个下游靶基因;富集分析结果显示,这些靶基因参与肿瘤细胞凋亡、增殖、间质转变和迁移等生物过程,主要通过癌症通路、FoxO信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路以及磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B信号通路发挥作用;核心靶点关联中药性味偏微寒,主归肝经,关联最为密切的中药为丹参。结论:miR-199a-5p是肝细胞癌与胆管癌之间重要调控miRNA,丹参干预关键基因出现频次较多,与研究报道基本相符,可为后续肝胆癌机制研究和临床应用提供依据与参考。

关键词 肝细胞癌;胆管癌;miRNA;中药预测;转录组学

Construction of Common Differential miRNA Regulatory Network of Hepatocellular Carcinoma and Cholangiocarcinoma and Prediction Analysis of Related Traditional Chinese Medicine Based on Integrated Pharmacology and Transcriptomics[△]

SHI Jinhu¹, WU Bo¹, LAN Xiaohong¹, WANG Yuekun¹, YANG Yang¹, YI Jianfeng², WEI Wei¹, GAO Ming¹ (1. Dept. of Pharmacy, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, China; 2. Research Center for Differentiation and Development of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To construct the common differential miRNA regulatory network for hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma based on integrated pharmacology and transcriptomics, and to perform traditional Chinese medicine prediction analysis on the key targets. **METHODS:** The hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma chip datasets were obtained from the GEO database. The differentially expressed miRNA (DEMs) were analyzed and intersected to obtain the common DEMs with the online analysis tool GEO2R. The software of FunRich and miRNet were used to predict upstream transcription factors and downstream target genes. Gene ontology analysis (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of target genes were performed by using DAVID database. STRING database and Cytoscape 3.9.1 software were used to screen key genes (hubGenes) and construct miRNA-hubGenes network. UALCAN, Kaplan Meier-plotter and Coremin Medical databases were used to analyze the differential expression of key genes, overall survival rate and related traditional Chinese medicine prediction analysis. **RESULTS:** Totally 14 DEMs were screened from hepatocellular carcinoma, and 104 DEMs were screened from cholangiocarcinoma. miR-199a-5p was the common DEMs of the two, involving 28 up-regulated transcription factors and 166 downstream target genes. Enrichment analysis showed that these target genes were involved in the biological processes of tumor cell apoptosis, proliferation, mesenchymal transition and migration, mainly through the cancer pathway, FoxO signaling pathway, mitogen-activated protein kinase signaling pathway and

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 82060739)

* 副主任药师。研究方向:中医思维在合理用药中的运用。E-mail:13770569119@163.com

通信作者:副主任药师。研究方向:医院药事管理。E-mail:njzygaoming@163.com

PI3K-Akt signaling pathway. The core target associated with the medicinal taste was slightly cold, mainly attributed to the liver channel, and the most closely associated Chinese medicine was *Radix Salviae*. CONCLUSIONS: miR-199a-5p is an important regulatory miRNA between hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma, and the occurrence of key genes of *Radix Salviae* intervention is more frequent, which is basically consistent with the research reports, and provides basis and reference for the subsequent mechanism research and clinical application of hepatobiliary carcinoma.

KEYWORDS Hepatocellular carcinoma; Cholangiocarcinoma; miRNA; Traditional Chinese medicine prediction; Transcriptomics

原发性肝癌的发病率在我国常见恶性肿瘤疾病中居第4位,其病死率在恶性肿瘤中居第2位,严重威胁我国人民的生命和健康^[1]。原发性肝癌主要分为肝细胞癌(HCC)、肝内胆管癌(ICC)和混合型肝细胞癌-胆管癌(Chcc-CCA)3种不同病理学类型,三者发病机制、病理组织学、治疗方法、生物学行为以及预后等方面差异较大,既往研究主要在HCC或胆管癌(CC)方面,而2种疾病的共同基础分子机制鲜有报道。因此,研究两者间的联系,有助于肝胆癌早期筛查、诊断、系统治疗及随访监测等。随着高通量测序技术的不断发展与完善,基于多组学数据研究被用于挖掘调控疾病潜在细胞因子、基因表达异常及信号通路等复杂调控机制。微RNA(miRNA)是一类内源性的具有调控功能的非编码RNA分子,广泛分布于真核生物中,其大小长20~25个核苷酸。近年来,大量研究发现miRNA及其靶基因的表达失调,影响多种肿瘤细胞增殖、侵袭及凋亡,已成为当今研究的热点。随着转录组学的高速发展,使得研究人员对特定癌种中表达失衡miRNA及其调控靶点挖掘变为可能。本研究通过挖掘HCC和CC中共同差异表达miRNAs(DEMs),预测其上游调控基因和下游调控靶点,借助Cytoscape 3.9.1软件筛选关键靶点,构建miRNA-关键靶点调控网络,并对关键靶点进行验证和中药预测分析,以期为肝胆癌的诊断和治疗提供新的线索或依据。

1 资料与方法

1.1 转录组数据获取

本研究所需芯片数据集源于GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>),该数据库储存了大量转录组基因表达数据集和测序序列。在GEO DataSets搜索栏添加“hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma and miRNA or microRNA”进行检索,获得与研究内容相关的芯片数据集。

1.2 DEMs、上游转录挖掘因子及下游靶基因挖掘

HCC和CC基因表达原始数据均来自GSE209875数据集,该数据来自日本东丽工业株式会社,包含了10对HCC患者(6对CC患者)肿瘤组织和癌旁组织(基因芯片平台:GPL21185和GPL21263)。利用在线分析工具GEO2R对数据集进行分组,以阈值为 $|\log_2FC| > 1$ 和 $P < 0.05$ ^[2]筛选DEMs,通过FunRich数据库(<http://www.funrich.org/>)预测上游转录因子^[3],通过miRNet数据库(<https://www.mirnet.ca/>)预测下游靶基因。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络、miRNA调控网络构建及关键基因筛选

将“1.2”中预测的下游靶基因上传至STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>),阈值“minimum required interaction

score = 0.4”“hide protein names”,获得PPI网络。随后,用Cytoscape 3.9.1软件行可视化处理,并用“cytohubba”插件行MCC算法分析,得到该网络关键靶基因,按打分值排序,选取前30位靶基因与DEMs构建miRNA调控网络。

1.4 下游靶基因功能富集分析

将“1.2”中预测下游靶基因上传至DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>),获得靶基因参与生物过程(BP)、细胞组成(CC)和分子功能(MF)及KEGG通路。

1.5 关键基因在癌组织和非癌组织中的表达差异及对整体生存率的影响

UALCAN数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/>)是综合交互式的网络数据库,可用于识别生物标志物或潜在基因,便于研究人员收集有价值基因信息和数据。将关键基因上传至UALCAN数据库,选择“TCGA”功能模块,获取靶基因在正常人与HCC(或CC)患者中的表达差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义^[4]。Kaplan Meier-plotter软件(<https://kmplot.com/analysis/>)能够评估所有基因表达与21种肿瘤类型的样本存活率之间的相关性,该软件用于恶性肿瘤相关生物标志物研究。将关键基因上传至该软件,选择“liver cancer”进行分析,获得靶基因整体生存率。

1.6 关键靶点相关中药预测

与靶点相关的中药预测用到的数据库为Coremine Medical(<https://www.coremine.com/>),该数据由多国科研机构共同研制,吸纳中西医相关领域的医学信息检索平台,支持在线检索与靶点相关的信息,如中药、疾病、药物、食物、基因、蛋白、化合物及细胞成分等。将关键基因映射到Coremine Medical数据库中获取相关中药, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

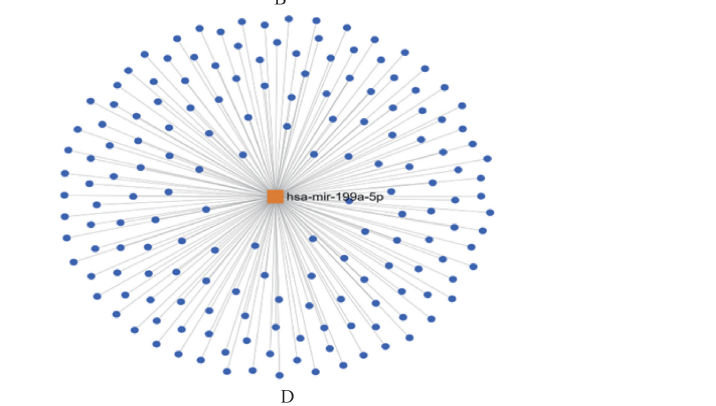
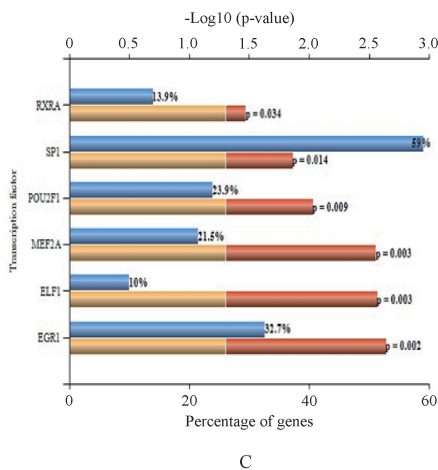
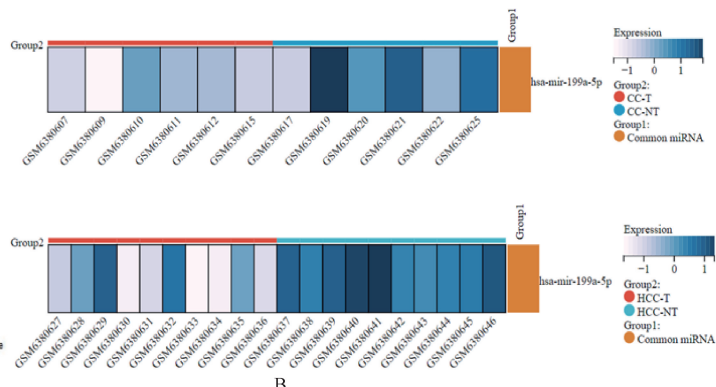
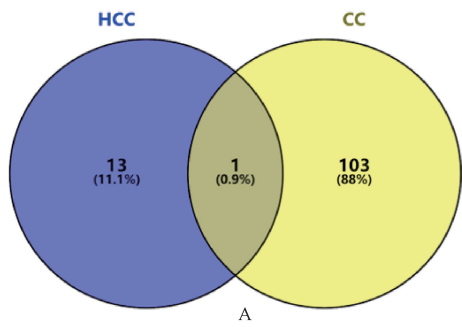
2 结果

2.1 实验样本信息

基于GSE209875基因片段原始数据,对其进行分组:HCC组包括10个恶性肿瘤组织和10个癌旁组织,年龄为62~75岁,平均68岁,样本的miRNA来源于total RNA;CC组包括6个恶性肿瘤组织和6个癌旁组织,年龄为63~76岁,平均71岁,样本的miRNA来源于total RNA。

2.2 DEMs、上游调控因子及下游调控靶点的预测

通过在线分析工具GEO2R对两组进行差异分析,分别得到14个DEMs(HCC组)和104个DEMs(CC组),其中miR-199a-5p为两组共同DEMs,见图1(A)—图1(B)。利用FunRich软件对miR-199a-5p进行转录因子预测,得到28个转录因子,差异最大的前6个分别为*EGR1*、*ELF1*、*MEF2A*、*POU2F1*、*SPI1*和*RXRRA*,见图1(C);通过miRNet数据库预测出166个下游靶基因,见图1(D)。



A. HCC 组与 CC 组 DEMs 交集; B. CC 组和 HCC 组 miR-199a-5p 热图; C. miR-199a-5p 上游转录因子; D. miR-199a-5p 下游调控靶点。
图 1 miR-199a-5p 的筛选及上游转录因子、下游调控靶点的预测

2.3 miRNA-hubGenes 调控网络构建

将 166 个下游靶基因映射到 STRING 数据库中, 构建 PPI 网络, 该网络中有 166 个节点, 449 条边, 平均度值为 5.41, PPI enrichment ($P < 1 \times 10^{-16}$), 见图 2(A)。利用 Cytoscape 3.9.1 软件中“cytohubba”插件分析该网络关键靶点, 选取分值排序前 30 位进行可视化处理, 见图 2(B)、表 1。将关键基因映射至下游靶基因网络, 见图 2(C)。

表 1 MCC 算法关键基因打分排序 (前 10 位)

排序	名称	得分/分
1	血管内皮生长因子 A (VEGFA)	2 213 778 622
2	E-钙黏蛋白 (CDH1)	2 213 769 676
3	蜗牛家族锌指 1 (SNAI1)	2 213 734 320
4	CD44 分子 (CD44)	2 211 431 994
5	SMAD 家族成员 4 (SMAD4)	2 208 130 039
6	SMAD 家族成员 3 (SMAD3)	2 202 854 604
7	钙黏蛋白 2 (CDH2)	2 166 393 630
8	性别决定区 Y-盒 9 (SOX9)	2 077 130 161
9	Jagged1 基因 (JAG1)	2 006 731 440
10	KRAS 基因 (KRAS)	1 694 836 601

2.4 差异 miRNA 的 KEGG 通路富集分析与 GO 功能富集分析

BP 富集到 270 个条目, 68 个有效条目, 主要涉及基因表达的正向调控、凋亡过程的负调控、细胞增殖的正向调节、蛋白质磷酸化、对缺氧的反应、上皮细胞向间质细胞转变和细胞迁移的正向调节等; CC 富集到 41 个条目, 11 个有效条目, 主要涉及基底外侧质膜、细胞质、转录因子复合物、细胞表面和核内膜等; MF 富集到 49 个条目, 28 个有效条目, 主要涉及蛋白酶结合、酶结合、生长因子结合、蛋白酶活性、受体结合、细胞

因子活性和胶原蛋白绑定等, 见图 3(A)。KEGG 通路主要富集到癌症通路、胃癌、胰腺癌、FoxO 信号通路、HCC、丝裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 信号通路以及磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路等, 见图 3(B)。

2.5 关键基因在恶性肿瘤组织及正常组织中的表达差异

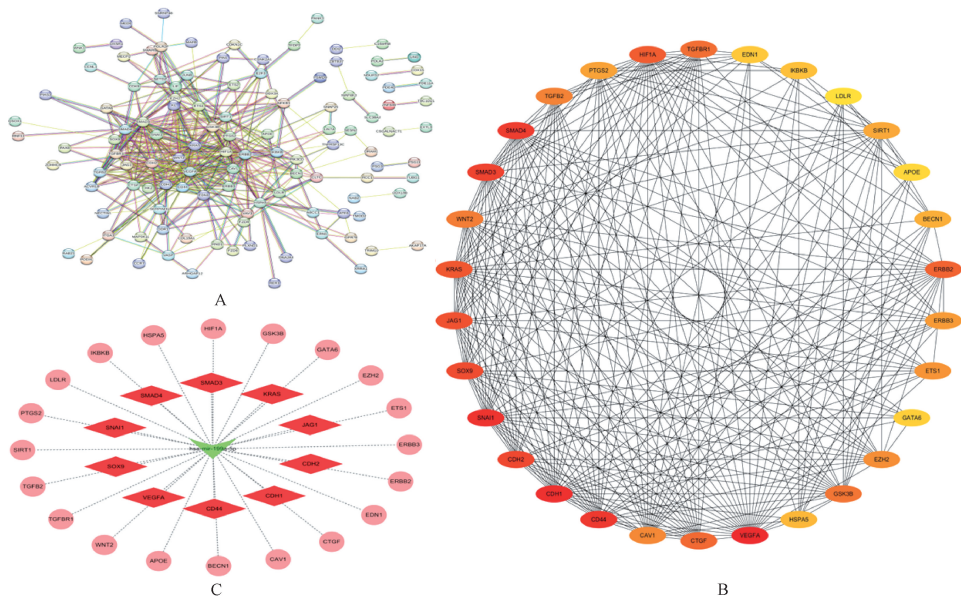
本课题组研究了 TCGA 数据集中关键基因在正常人与恶性肿瘤患者中的表达水平, 发现 HCC 及 CC 的 VEGFA、CDH1、CD44、SMAD4、SMAD3、CDH2、SOX9、JAG1 和 KRAS 等 9 个关键基因 mRNA 表达与正常人比较有显著性差异, 见图 4(A)——图 4(T)。进一步比较其差异的变化趋势, 发现 VEGFA、CD44、SMAD4、SMAD3、SOX9、JAG1 和 KRAS 等 7 个关键基因在 HCC 和 CC 中的表达较正常组织显著升高, 与上述预测结果一致。CDH1 基因在 HCC 中表达较正常组织显著升高, 在 CC 中表达较正常组织显著降低, 说明该基因在不同癌种间发挥着不同生物学作用。

2.6 Kaplan Meier-plotter 生存曲线分析

通过对关键基因 (排序居前 10 位) 进行 HCC 患者整体生存率的分析, 发现 VEGFA、CDH1、SOX9 和 JAG1 的异常表达与 HCC 患者整体生存率有关, 见图 5。

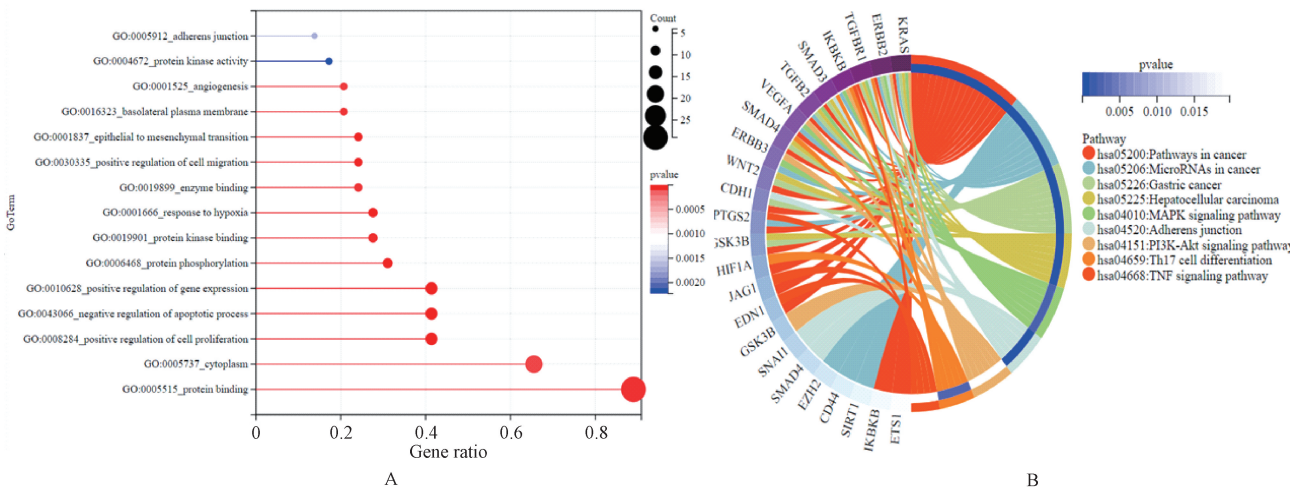
2.7 相关中药预测结果

将关键基因 (排序居前 10 位) 映射至 Coremine Medical 数据库, 筛选治疗 HCC 或 CC 的潜在中药, 共筛选出中药 25 味 ($P < 0.05$), 结果见表 2。对预测的中药进行性味、归经分析, 多数中药以微寒为主, 主要归于肝经、脾经, 见图 6。



A. PPI 网络; B. MCC 算法分析关键基因间相关性; C. miRNA 与关键基因调控网络, 绿色倒三角示下调 miR-199a-5p, 红色菱形示打分值排序居前 10 位的上调关键基因, 红色圆形为打分较低关键基因。

图 2 PPI、miRNA 调控网络构建及关键基因筛选



A. 下游靶基因主要参与生物过程、组成成分及分子功能; B. 下游靶基因富集到的主要信号通路。

图 3 下游靶基因的 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

表 2 与关键基因作用的潜在中药

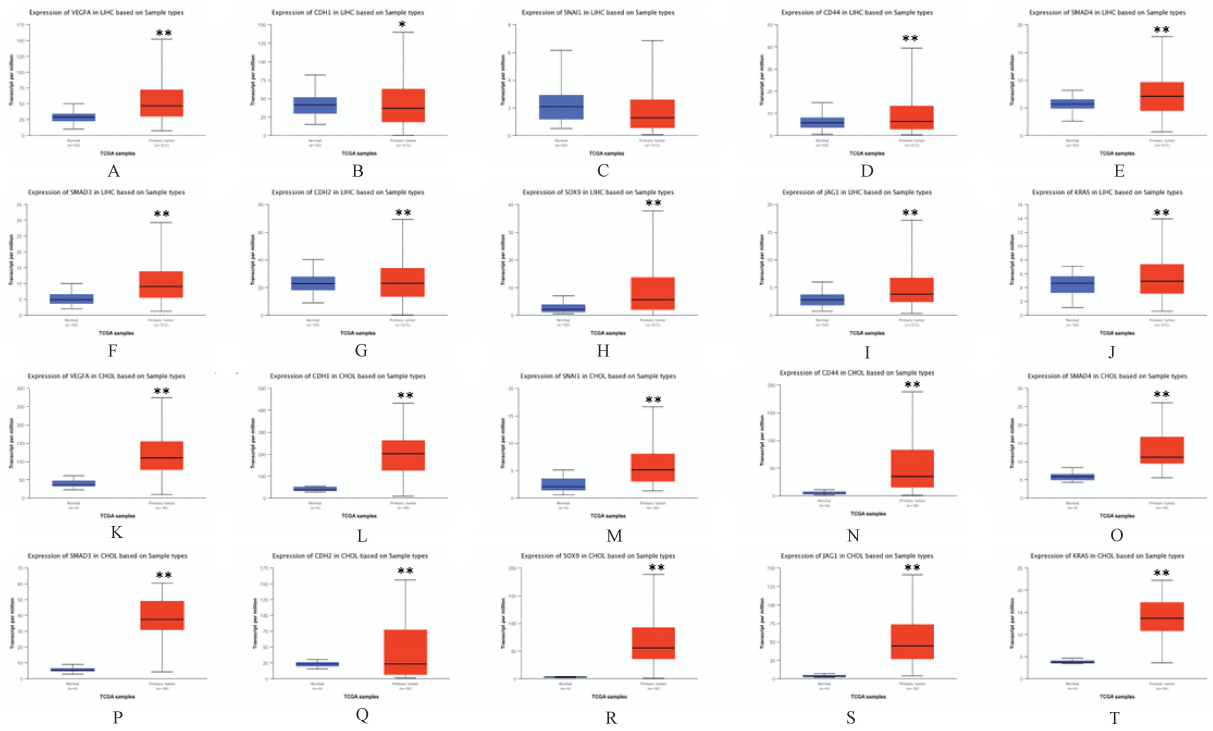
基因	中药 (P<0.05)
<i>VEGFA</i>	丹参(0.003), 膜荚黄芪(0.003), 地榆(0.003), 三七(0.004), 姜黄(0.007), 雷公藤(0.009), 当归(0.01), 人参(0.01)
<i>CDH1</i>	南蛇藤果(0.002), 南蛇藤(0.002), 冬凌草(0.008), 灵芝(0.01), 丹参(0.02), 人参(0.019)
<i>SNAI1</i>	余甘子(0.005), 丹参(0.02)
<i>CD44</i>	蔓荆子(0.001)
<i>SMAD4</i>	地笋(0.001), 女贞子(0.009), 当归(0.02)
<i>SMAD3</i>	山芝麻(0.001), 丹参(0.002), 积雪草(0.003)
<i>CDH2</i>	南蛇藤果(0.004), 南蛇藤(0.004), 三白草(0.004), 白花蛇舌草(0.007)
<i>SOX9</i>	鳖甲胶(0.001), 鳖甲(0.001)
<i>JAG1</i>	黄芪(0.005), 白术(0.03)
<i>KRAS</i>	桑寄生(0.004), 白睡莲(0.02)

3 讨论

目前, 甲胎蛋白被广泛作为 HCC 诊断的生物标志物, 但由于 HCC 发生、发展的生物学过程十分复杂, 且易受外界因素的

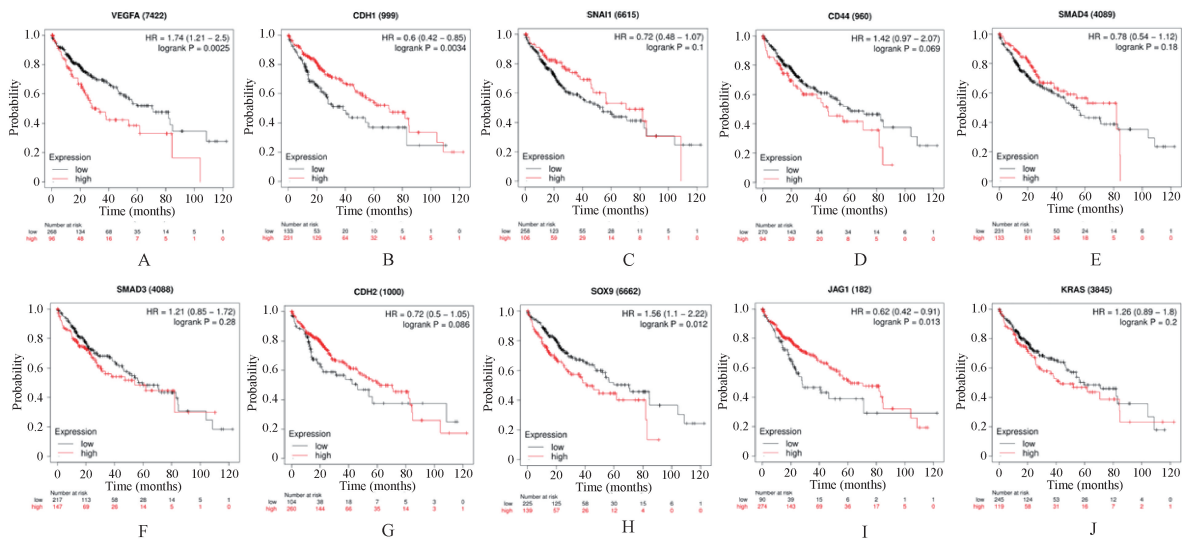
影响(如病毒性肝炎、乙醇), 因而, 寻找新的 HCC 预后相关分子标志物对 HCC 的诊断、治疗及预后意义重大^[5]。CC 是常见的肝脏恶性肿瘤, 具有恶性程度高、扩散转移时间短、治疗效果差和生存期短等特点。上述 2 种疾病虽病理机制不同, 但仍有交集, 若能阐明其内在联系, 有利于疾病诊疗。随着生物数据量剧增和生物学快速发展, 与肿瘤相关的二级数据库逐渐趋于完善, 研究人员可对特定癌种中表达异常基因进行系统研究^[6-8]。

本研究从 GEO 数据库中获取 HCC 和 CC 芯片数据集, 利用在线分析工具 GEO2R 对两组数据集进行差异表达分析, HCC 数据集共筛选出 14 个 miRNA, CC 数据集共筛选出 104 个 miRNA, 两者共同 DEMs 为 miR-199a-5p。为进一步深入研究其调控机制, 进而预测分析共同 DEMs 的上游转录基因, 得到 *EGR1*、*ELF1*、*MEF2A*、*POU2F1*、*SPI1* 和 *RXRA* 等 6 个上游转录基因; 下游靶标预测出 166 个靶基因。随后进行生物学过程和通路富集, 靶基因主要参与增加基因表达调节、抑制凋亡过



A—J. 关键基因在 HCC 组织与正常肝组织表达;K—T. 关键基因在 CC 组织与正常胆管组织表达(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)。

图 4 关键基因在癌组织及正常组织中的表达差异



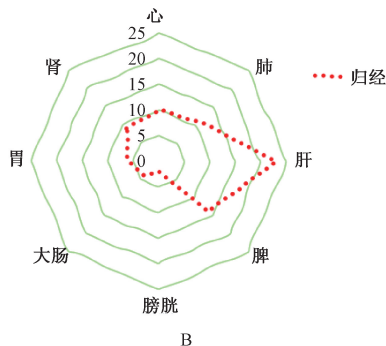
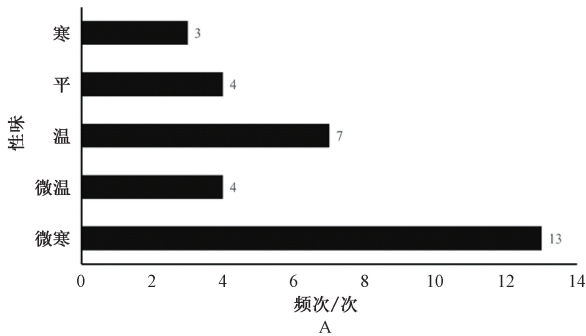
A—J. 不同表达的关键基因对肝癌患者整体生存率的影响(logrank $P < 0.05$ 为差异有统计学意义)。

图 5 关键基因表达改变对肝癌患者生存率的影响

程、促进细胞增殖、上皮细胞向间质细胞转变和促进细胞迁移等生物过程;主要涉及癌症通路、FoxO 信号通路、MAPK 信号通路以及 PI3K-Akt 信号通路;富集到主要疾病包括胃癌、胰腺癌和 HCC。PPI 网络筛选出 *VEGFA*、*CDH1*、*CD44* 和 *SMAD4* 等 10 个关键基因。*VEGFA* 是血小板衍生生长因子/血管内皮生长因子家族的成员,可介导并增加血管通透性,诱导血管生成,血管发生和内皮细胞生长,促进细胞迁移和抑制细胞凋亡^[9-11]。*CDH1* 为钙依赖性细胞黏附蛋白,属于钙黏蛋白家族成员,*CDH1* 基因参与细胞黏附、迁移和上皮细胞增殖,与肿瘤发生、发展密切相关^[12]。*CD44* 基因编码细胞表面糖蛋白,参

与细胞间相互作用、细胞黏附和迁移,现已证实该蛋白质在肿瘤细胞侵袭、转移中起促进作用。*SMAD4* 属于 Smad 家族成员,可充当肿瘤抑制因子并抑制上皮细胞增殖,还可通过减少血管生成和增加血管通透性而对肿瘤产生抑制^[13]。*SNAI1* 是蛋白质编码基因,主要参与上皮间质转化的诱导以及胚胎中胚层的形成和维持、生长停滞、存活和细胞迁移^[14]。研究结果显示,上述基因可能参与 HCC/CC 相关的肿瘤发生、发展不同阶段,有相应文献为支撑。因而,本预测具有一定的参考意义。

为验证研究结果的可行性,本课题组比较了核心基因在正常人与 HCC(或 CC)患者中的表达差异及影响肝癌预后分析。



A. 预测中药性味分类;B. 预测中药归经。

图6 中药的性味和归经

发现 *VEGFA*、*CD44*、*SMAD4*、*SMAD3*、*SOX9*、*JAG1* 和 *KRAS* 等 7 个关键基因在 HCC 和 CC 中的表达较正常组织显著升高,与上述预测结果一致。且 *VEGFA*、*CDHI*、*SOX9* 和 *JAG1* 的异常表达与肝癌患者整体生存率显著相关。本研究发现, miR-199a-5p 表达相比癌旁组织显著下调,而 miR-199a-5p 的低表达可以通过增加 *VEGFA*、*CDHI*、*SOX9* 和 *JAG1* 等基因表达来促进肝胆肿瘤细胞增殖、侵袭能力,后续可进行相关实验验证。此外,本课题组通过 COREMINE 数据库对干预关键靶点进行相关中药预测,结果提示丹参、当归和人参出现频次较多,药物归经以肝、脾两经为主,且多为微寒类。中医学无“HCC”病名,临床表现多以肋间痛、腹水、黄疸及腹内包块,中医学将其归属于“肝积”“脾积”和“癖黄”等范畴^[15-16]。中医学中,CC 可归于“肋痛”“黄疸”范畴,与气血凝结、七情内伤、腑脏亏损和饮食劳伤等密切相关^[17],可见 2 种疾病间交集存在。文献报道,丹参可抑制肝癌细胞生长、诱导恶性肿瘤细胞分化,减轻患者症状,缩小肿瘤,增强抗肿瘤药物疗效,并降低门静脉高压等^[18-21]。张谊等^[22]研究发现,丹参酮 II A 能够剂量依赖性地抑制肝癌细胞 HepG2 增殖,诱导细胞凋亡、ATP 生成减少、耗氧量降低以及线粒体膜电位的下降。罗艺^[23]发现,丹参中的隐丹参酮通过调控 PI3K-AKT-雷帕霉素靶蛋白信号通路诱导肝癌细胞凋亡和自噬,体内实验表明隐丹参酮能够抑制肝癌细胞 Huh7 裸鼠皮下移植瘤的生长。

本研究的局限之处在于数据来源依赖于 GEO 数据库中记载的芯片数据集,然而单一来源芯片数量过少,可能对研究结果造成偏倚。因而,本课题组采用多个数据库结合文献报道验证结果的准确性,为后续实验研究进行铺垫。总之,本研究构建了 miRNA 与关键基因调控网络,分析关键基因在 2 种恶性肿瘤中的差异表达及预后不利因素,上述结果有望为肝胆癌发病机制和临床治疗提供新的线索。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. 中国实用外科杂志,2022,42(3):241-273.
- [2] ZHANG G, CUI X, ZHANG L, et al. Uncovering the genetic links of SARS-CoV-2 infections on heart failure co-morbidity by a systems biology approach[J]. ESC Heart Fail,2022,9(5):2937-2954.
- [3] FONSEKA P, PATHAN M, CHITTI S V, et al. FunRich enables enrichment analysis of OMICS datasets[J]. J Mol Biol, 2021, 433(11):166747.
- [4] CHANDRASHEKAR D S, KARTHIKEYAN S K, KORLA P K, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform[J]. Neoplasia, 2022,25:18-27.
- [5] ZHANG R, JIANG Y Y, XIAO K, et al. Candidate lncRNA-miRNA-mRNA network in predicting hepatocarcinogenesis with cirrhosis: an integrated bioinformatics analysis[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(1): 87-96.
- [6] CHEN S S, ZHANG Y C, DING X Y, et al. Identification of lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA network as biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. Front Genet, 2022, 13: 838869.
- [7] XING M T, WANG X Z, KIKEN R A, et al. Immunodiagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma (HCC): the first step in detection and treatment[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 6139.
- [8] LIU Y C, WANG L, LIU W. Roles of circRNAs in the tumorigenesis and metastasis of HCC: a mini review[J]. Cancer Manag Res, 2022, 14: 1847-1856.
- [9] QIN L, HUANG D N, HUANG J, et al. Integrated analysis and finding reveal anti-liver cancer targets and mechanisms of pachyman (poria cocos polysaccharides)[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 742349.
- [10] PATEL SA, NILSSON MB, LE X N, et al. Molecular mechanisms and future implications of VEGF/VEGFR in cancer therapy[J]. Clin Cancer Res, 2023, 29(1): 30-39.
- [11] HAN L, LIN X, YAN Q, et al. PBLD inhibits angiogenesis via impeding VEGF/VEGFR2-mediated microenvironmental cross-talk between HCC cells and endothelial cells[J]. Oncogene, 2022, 41(13): 1851-1865.
- [12] BOGDANOVIC A, DESPOTOVIC J, GALUN D, et al. Prognostic significance of *CDHI*, *FN1* and *VIM* for early recurrence in patients with colorectal liver metastasis after liver resection[J]. Cancer Manag Res, 2021, 13: 163-171.
- [13] MONTAL R, SIA D, MONTIRONI C, et al. Molecular classification and therapeutic targets in extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2020, 73(2): 315-327.
- [14] LIU T T, XU P L, KE S R, et al. Histone methyltransferase SETDB1 inhibits TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in pulmonary fibrosis by regulating SNAIL expression and the ferroptosis signaling pathway[J]. Arch Biochem Biophys, 2022, 715: 109087.
- [15] 2019 年肝癌中西医结合临床协作专家委员会. 原发性肝癌中西医结合介入诊疗专家共识(试行第一版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(1): 70-77.
- [16] 范晓燕, 刘小美. 肝癌辨证论治研究及其常用中药作用靶点分析[J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(8): 718-721.
- [17] 国际肝胆胰学会中国分会, 中华医学会外科学分会肝脏外科学组. 胆管癌诊断与治疗——外科专家共识[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(1): 12-16.

(下转第 156 页)