

基于组学数据分析的胃癌酸代谢异常分子机制研究与标志物确定

李 宁

河北工业大学理学院, 天津

收稿日期: 2025年3月14日; 录用日期: 2025年4月7日; 发布日期: 2025年4月15日

摘 要

胃癌作为全球高发恶性肿瘤, 其代谢重编程引起的酸代谢异常在肿瘤进展中具有重要作用, 然而其具体分子机制及靶向干预策略仍有待深入探索。本研究结合TCGA和GTEx数据库的转录组数据, 系统探究了胃癌细胞酸性代谢的分子调控机制及预后相关标志物。通过差异表达分析、WGCNA共表达网络构建、随机森林模型和生存分析, 筛选出与酸性代谢特征及肿瘤微环境酸碱平衡的调控相关的103个差异表达基因(75个上调, 28个下调), 其中16个基因与胃癌细胞排酸功能显著相关。WGCNA分析揭示了green模块(模块核心基因包括LRRC8C)与胃癌TNM分期正相关。随机森林模型在胃癌诊断中表现出高灵敏度和特异性, 其中LRRC8C基因的特征重要性位于其他基因前列。生存分析进一步鉴定了LRRC8C核心基因能够作为独立预后标志物, 且该基因高表达与患者不良预后显著相关。本研究为胃癌的分子分型、预后评估及靶向治疗提供了新视角。

关键词

胃癌, 酸代谢异常, 生物信息学分析, 预后标志物, LRRC8C

Investigation of Molecular Mechanisms and Biomarker Identification for Dysregulated Acid Metabolism in Gastric Cancer Based on Omics Data Analysis

Ning Li

College of Science, Hebei University of Technology, Tianjin

Received: Mar. 14th, 2025; accepted: Apr. 7th, 2025; published: Apr. 15th, 2025

文章引用: 李宁. 基于组学数据分析的胃癌酸代谢异常分子机制研究与标志物确定[J]. 应用数学进展, 2025, 14(4): 331-341. DOI: 10.12677/aam.2025.144166

Abstract

Gastric cancer, a prevalent malignancy worldwide, is critically influenced by metabolic reprogramming-driven acid metabolism dysregulation during tumor progression. However, its specific molecular mechanisms and targeted intervention strategies remain underexplored. This study systematically investigated the molecular regulatory mechanisms of acidic metabolism and prognosis-related biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data from the TCGA and GTEx databases. Through differential expression analysis, WGCNA co-expression network construction, random forest modeling, and survival analysis, 103 differentially expressed genes (75 upregulated and 28 downregulated) associated with acidic metabolic features and acid-base balance regulation in the tumor microenvironment were identified, including 16 genes significantly linked to acid extrusion in gastric cancer cells. WGCNA revealed the green module (core gene: LRRC8C) to be positively correlated with TNM staging. The random forest model demonstrated high sensitivity and specificity in gastric cancer diagnosis, with LRRC8C ranking high in feature importance. Survival analysis further identified LRRC8C as an independent prognostic biomarker, where its high expression was significantly associated with poor patient outcomes. This study provides novel insights into molecular subtyping, prognostic evaluation, and targeted therapy for gastric cancer.

Keywords

Gastric Cancer, Acid Metabolism Dysregulation, Bioinformatics Analysis, Prognostic Biomarker, LRRC8C

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/>



Open Access

1. 引言

胃癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一，且其发病率和死亡率在全球范围内均具有较高水平[1]。深入研究胃癌的发病机制、早期诊断、治疗策略等方面显得尤为重要。

癌细胞的代谢特征与正常细胞不同。癌细胞展示了酸性糖酵解的增强[2]-[4]，这与癌细胞的代谢重新编程有关[5]。在酸性糖酵解中，葡萄糖被转化为乳酸，而不是被完全氧化为二氧化碳和水。这种代谢途径产生的 ATP 较少，但可以快速地产生生物前体物质，以满足癌细胞的快速增殖和生存所需[6]。由于酸性糖酵解产物乳酸的累积，癌细胞的酸性代谢导致细胞内和周围环境的酸碱平衡紊乱[7]。这样的环境变化可以为癌细胞提供一定的生存和生长优势，促进血管生成、肿瘤侵袭和转移等癌症相关过程[8]。

癌细胞的酸性代谢特征及其对肿瘤微环境酸碱平衡[9]的调控是一个复杂的生物学过程，涉及多种关键蛋白的协同作用[10]。而细胞内外的离子转运和平衡是由通道蛋白、泵蛋白、碳酸酐酶[11]-[13]和酸/碱转运体[14][15]等多种蛋白负责调控的。这些蛋白在细胞内执行着重要的功能，确保细胞能够有效地应对外部环境的变化。然而，目前对这些蛋白的精确调控机制、相互作用网络及其在胃癌中的特异性功能仍不完全清楚，除此之外胃癌细胞本身具有胃酸分泌的能力，这使得胃癌细胞酸代谢状况更加复杂。特别是这些代谢相关蛋白如何响应肿瘤微环境的动态变化，以及它们在胃癌中的表达特征和功能差异，仍需进一步深入研究。

近年来，随着高通量测序技术和生物信息学的快速发展，多种组学数据(包括基因组学、转录组学、

蛋白质组学和代谢组学等)的获取与分析已成为可能。这些技术的进步为肿瘤研究提供了新的视角和方法,使我们能够更深入地理解肿瘤的异常代谢特征。通过组学数据,研究人员可以系统性地识别肿瘤发生发展过程中的关键代谢通路异常,并发现潜在的致癌基因和特异性生物标志物。这不仅为肿瘤的早期诊断提供了新的分子标志物,也为开发靶向肿瘤代谢的精准治疗策略奠定了重要基础。

本研究以 412 例胃癌组织样本的转录组学数据为核心,结合临床预后信息,系统研究了胃癌发生发展过程中的关键分子特征和代谢调控网络。通过差异表达分析、基因集富集分析、生存分析以及机器学习算法,我们成功找到 1 个与胃癌显著相关的关键基因,并进一步验证了该基因成为潜在的治疗靶点的可能。这些发现不仅深化了我们对胃癌分子机制的理解,更为重要的是为胃癌的精准分型和个体化治疗提供了新的生物标志物和潜在干预靶点。我们期望通过本研究能够为胃癌的早期诊断、预后评估和靶向治疗提供科学依据,从而有效降低胃癌的发病率和死亡率,最终改善患者的治疗效果和生活质量,为胃癌的精准医学发展作出积极贡献。

2. 材料与方法

2.1. 数据来源

为了进一步研究肿瘤细胞排酸相关基因,且考虑到肿瘤排酸过程需要离子通道来维持膜电位平衡,本研究通过查阅相关资料,在 HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee)数据库中进行了相关筛选。最终选定了 80 个与排酸过程相关的基因,其中包括碳酸酐酶、酸/碱转运体和泵蛋白等关键基因,以及与维持膜电位平衡相关的 311 个离子通道基因作为本研究的对象。这一综合考虑将有助于我们更全面地理解肿瘤排酸过程。

本研究的转录组数据来源于两个权威数据库:TCGA (The Cancer Genome Atlas)和 GTEx (Genotype-Tissue Expression)。TCGA 数据库提供了与胃癌(STAD)组织相关样本的 RNA-seq 数据,包括 412 例胃癌组织样本和 36 例癌旁组织样本,并附有胃癌患者的详细临床特征信息(如生存状态、生存时间、TNM 分期和 Stage 分期等)。此外,GTEx 数据库提供了 172 例正常胃组织样本的 RNA-seq 数据作为补充对照。我们从这些数据中提取了基因表达水平的 TPM (Transcripts Per Million)值,并将其整合构建基因表达矩阵。通过匹配基因表达数据与临床信息的样本标签,并去除了生存天数大于 60 个月或者生存天数为 0 的样本之后,构建了包含基因表达-临床特征整合矩阵。这些数据为后续的差异表达分析、生存分析等研究提供了高质量的数据基础。

2.2. 数据分析方法

2.2.1. 基因差异表达分析

为了系统识别胃癌组织与正常组织之间的差异表达基因(DEGs),本研究采用 R 语言“Limma”包[16][17]对 TCGA 数据库和 GTEx 数据库中的胃癌样本和正常胃组织样本进行差异表达分析。通过对数化处理基因表达数据(TPM 值),借助“sva”包去除批次效应,基于线性模型拟合和贝叶斯统计方法,计算每个基因在肿瘤组织与正常组织之间的表达差异。筛选标准为 $|\text{Fold Change}| > 1.5$ 且调整后的 p 值(adj.p.value) < 0.05 ,以确保筛选出的差异表达基因具有显著的生物学意义,其中调整后的 p 值为通过 Benjamini-Hochberg 方法对 p 值进行校正后得出。

2.2.2. GSEA 分析与生物学功能富集

基于差异表达分析结果,利用 GSEA (Gene Set Enrichment Analysis)对基因集进行功能富集分析[18]。参考 MSigDB (Molecular Signatures Database)数据库中的经典基因集(KEGG 通路),重点分析与肿瘤进展

相关通路。采用 R 语言“ClusterProfiler”工具对差异表达基因进行 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)功能注释[19], 以全面解析其生物学过程。

2.2.3. 基因共表达网络分析

基于 WGCNA (加权基因共表达网络分析)构建基因共表达网络[20], 借助 R 语言“WGCNA”包, 以 412 例胃癌组织的转录组数据中基因表达的 TPM 值为基础, 在关注的基因范围内探索基因模块与胃癌临床特征之间的关联。以利用动态剪切树算法对基因进行聚类, 识别共表达模块。计算模块特征基因(Module Eigengene, ME)与临床特征(如 TNM 分期、stage 分期)的相关性, 筛选出与胃癌预后显著相关的模块。

2.2.4. 随机森林

为筛选对胃癌分类具有显著贡献的核心基因, 本研究采用随机森林(Random Forest)算法[21]对“WGCNA”分析中识别出的关键模块基因进行重要性评估。随机森林是一种基于决策树的集成学习方法, 通过构建多棵决策树并综合其预测结果, 能够有效处理高维数据并评估变量的重要性。本研究采用 R 语言“randomForest”包基于基因表达数据构建随机森林模型, 通过计算 Gini 指数以及 Mean Decrease Gini 指标, 量化每个基因在区分肿瘤组织与正常组织中的重要性。其中 Gini 指数反映了基因在节点分割中的纯度提升能力。划分验证集对随机森林模型进行评估, 计算模型的灵敏度与特异度、ROC 曲线下面积(AUC)等性能指标, 验证模型的稳定性和可靠性。

2.2.5. 生存分析

为了筛选与胃癌预后密切相关的核心基因, 本研究结合了 LASSO 回归和 Cox 比例风险回归分析[22], 运用了 R 语言中的“glmnet”包[23]与“survival”包。使用 LASSO 回归(最小绝对收缩与选择算子)对核心基因进行筛选, 确定与胃癌预后独立相关的基因集合。基于单因素 Cox 回归模型, 计算了这些核心基因的风险评分(Risk Score), 该评分可用于评估患者的预后风险。

进一步验证这些核心基因在胃癌患者中的预后价值, 根据基因表达水平的上下三分之一分位数将患者分为高表达组和低表达组。采用 Kaplan-Meier 法[24]评估两组患者的总体生存率(OS)。通过 log-rank 检验, 对两组生存曲线进行显著性差异分析, 以确定基因表达对患者生存期的潜在影响, $p < 0.05$ 时认为两组患者的生存率有显著差异。

3. 结果

3.1. 基因组差异表达分析揭示胃癌酸代谢紊乱特征

在本研究中, 我们进行了全基因组的差异表达分析。在 391 个关注基因中, 筛选出了 103 个差异表达基因, 其中 75 个基因表达上调, 28 个基因表达下调, 如图 1(a)所示。红色点表示上调基因, 蓝色点表示下调基因, 黑色点表示无显著变化的基因。图 1(b)展示了胃酸分泌通路的基因集富集分析(GSEA)结果, 发现胃酸分泌通路在胃癌组织中显著受到抑制($p\text{-value} = 3.37\text{e-}7$, 调整后的 $p\text{-value} = 1.63\text{e-}5$), 而细胞周期、DNA 复制以及 PI3K-Akt 信号通路在胃癌组织中则显著增强。在排除与胃酸分泌通路相关的基因后, 我们筛选出了 16 个具有排酸功能的基因, 这些基因可能在胃癌细胞的排酸过程中发挥重要作用。图 1(c)呈现了这些胃癌排酸相关基因的 logFC 与调整后的 p 值, 结果表明这些基因在统计学上表现出显著的表达变化。图 1(d)通过小提琴图展示了肿瘤组织与正常组织中排酸相关基因的表达分布, 结果显示肿瘤组织中这些基因的表达普遍高于正常组织, 进一步支持其在胃癌细胞中的潜在功能。

3.2. 基因共表达网络解析胃癌进展关键模块

本研究采用 WGCNA (加权基因共表达网络分析)方法构建胃癌基因共表达网络, 并对关键模块的生

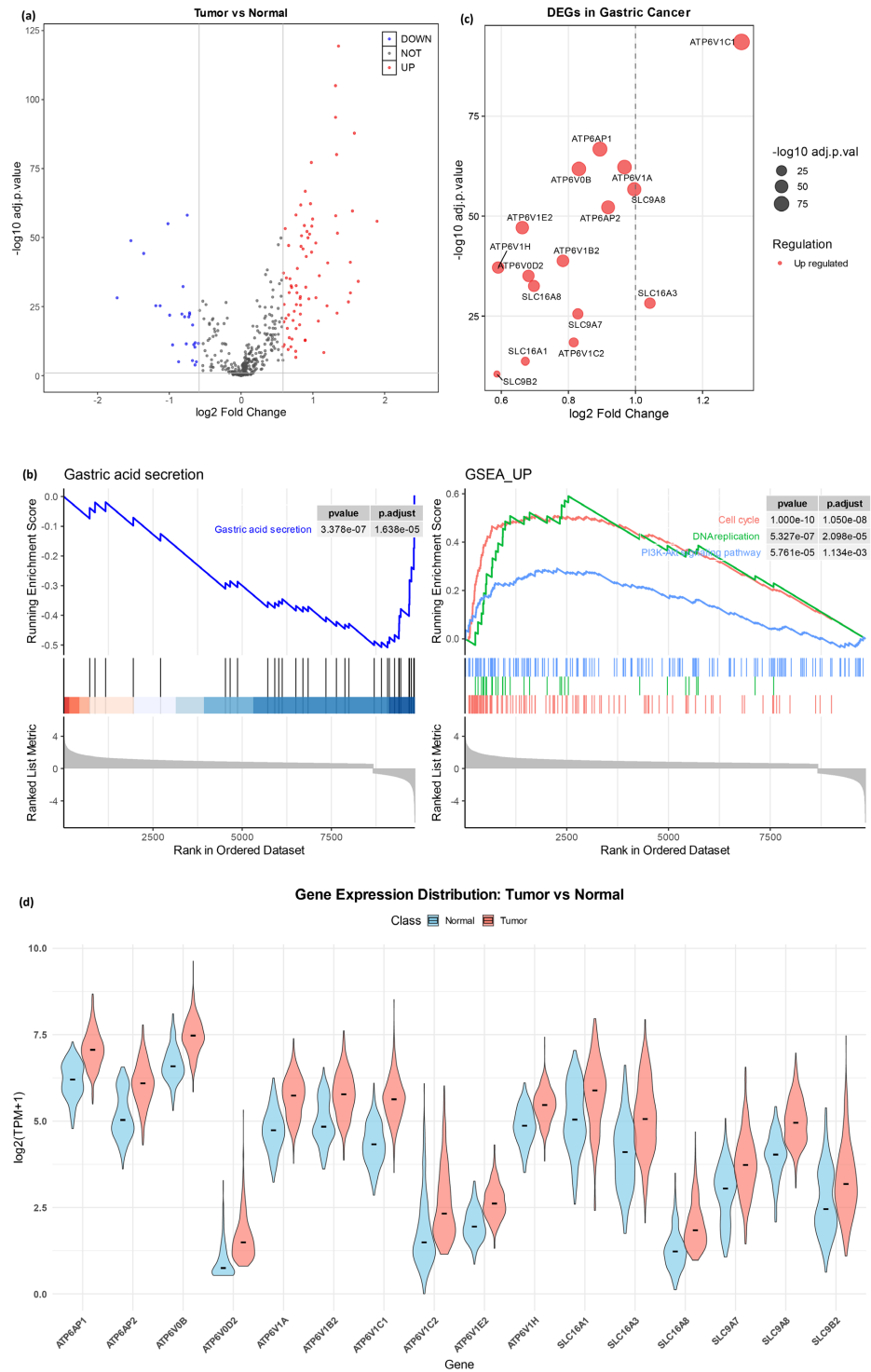


Figure 1. (a): Volcano map of differential expression of acid metabolism-related genes; (b): GSEA analysis results showed the enrichment map of gastric acid secretion pathway and cancer-promoting pathway; (c): logFC and adjusted p value of gastric cancer acid excretion related genes; (d): Violin diagram of the distribution of log2(TPM+1) expression levels of genes related to acid discharge in tumor and normal tissues

图 1. (a): 酸代谢相关基因差异表达火山图; (b): GSEA 分析结果, 展示胃酸分泌通路和促癌通路的富集图; (c): 胃癌排酸相关基因的 logFC 与调整后 p 值; (d): 肿瘤与正常组织中排酸相关基因的 log2(TPM+1) 表达水平分布的小提琴图

物学意义进行深入解析。首先通过软阈值筛选评估网络的拓扑特性,结果表明(图 2(a)),当无标度拟合指数(scale-free fit index)设定为 0.9 时,选择软阈值 $\beta = 3$ 可获得最优的无标度拓扑结构,此时网络在维持较高比例尺度独立性(scale independence)的同时,保持合理的平均连接度(mean connectivity)。

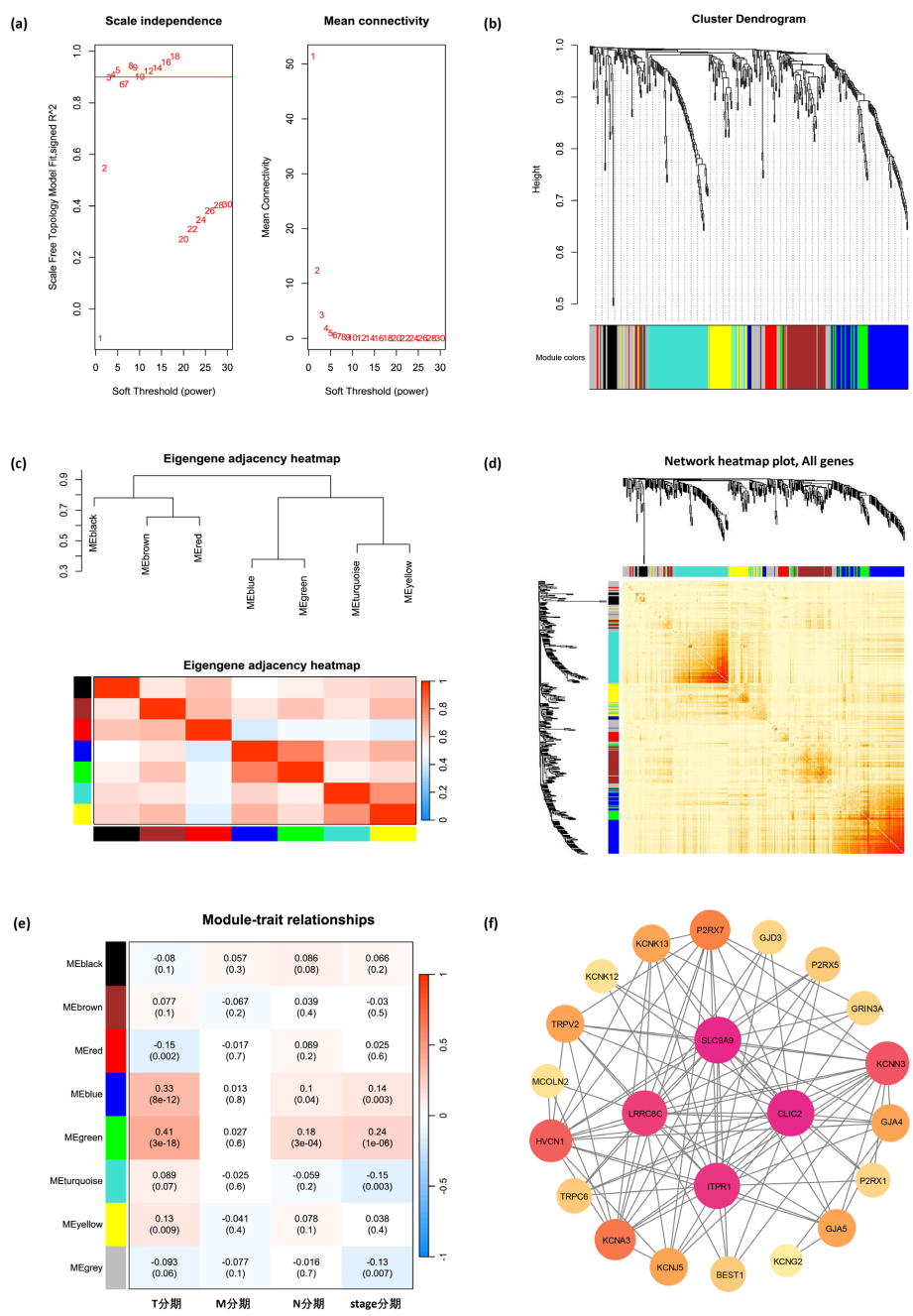


Figure 2. (a): Screening suitable soft thresholds and scale-free network verification; (b): Tree clustering diagram of each gene module; (c): Heat map of similarity between modules; (d): Heat map of similarity between genes; (e): The heat map shows the correlation between the module feature genes and the TNM stages of the clinical characteristics of the disease; (f): Green module gene co-expression network diagram

图 2. (a): 筛选合适的软阈值及无标度网络验证; (b): 各基因模块的树状聚类图; (c): 模块与模块之间相似度热图; (d): 基因与基因之间相似度热图; (e): 热图显示模块特征基因与疾病临床特征 TNM 分期以及 stage 分期的相关性; (f): green 模块基因共表达网络图

基于基因表达谱的层次聚类分析(图 2(b))成功将基因划分为若干功能模块,其中未聚类的基因标记为灰色模块。通过动态剪切树算法共识别出 7 个特征模块,基因模块之间的相似性热图,基因之间的相似性热图(图 2(c))表明各模块之间则相关程度低,证实各模块的生物学独立性。基因共表达网络热图(图 2(d))进一步揭示核心模块内基因互作网络密度显著高于随机网络。这些模块可能代表不同的生物学功能或进程。

关键模块与临床表型的关联分析揭示重要发现(图 2(e)),其中 green 模块($r = 0.41, p = 3e-18$)与胃癌 T 分期呈正相关,表明该模块可能参与肿瘤进展的调控过程。值得注意的是,green 模块的共表达网络可视化(图 2(f))清晰呈现了枢纽基因(如 CLIC2、ITPR1、SLC9A9、LRRRC8C)的核心调控地位,其网络拓扑特性提示该模块可能在胃癌发生发展中起关键作用。

3.3. 随机森林模型实现高精度胃癌诊断

通过整合差异表达基因(DEGs)与 WGCNA 鉴定的关键模块(green/blue/red 模块),共筛选出 35 个核心候选基因。基于 620 例样本(胃癌组织 412 例,正常组织 208 例),采用分层抽样法按 7:3 比例划分训练集($n = 434$)和独立验证集($n = 186$)。

通过随机森林算法构建胃癌诊断分类模型,参数设置为 $ntree = 500$ 、 $mtry = \sqrt{p}$ (p 为特征基因数)。模型误差收敛曲线表明,当决策树数量达到 300 时,袋外误差(OOB)趋于稳定,最终误差率为 2.98% (图 3(a)),显示模型具有优异的收敛性。

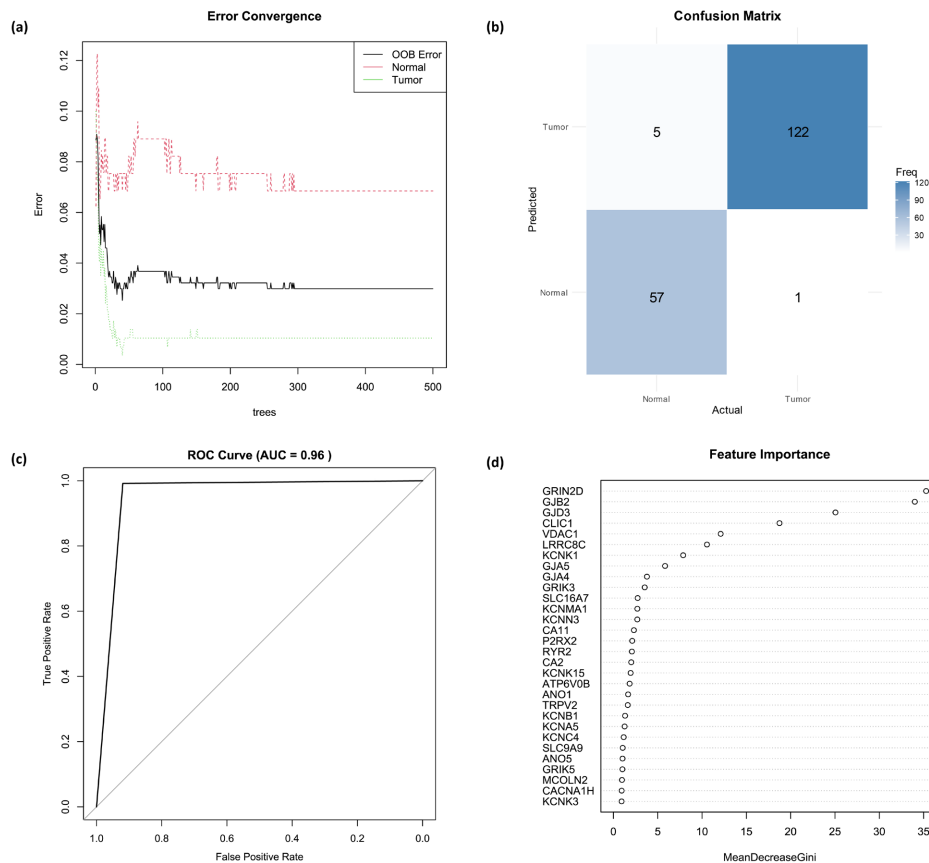


Figure 3. (a): Error diagram of random forest model; (b): verification set confusion matrix; (c): ROC curve of random forest model; (d): Genetic importance ranking

图 3. (a): 随机森林模型的误差图; (b): 验证集混淆矩阵; (c): 随机森林模型 ROC 曲线; (d): 基因重要性排序

在独立验证集评估中(图 3(b)),该模型展现出卓越的临床诊断效能:对胃癌样本的检测灵敏度达 99.2% (122/123), 正常组织判别的特异度高达 91.9% (57/62), ROC 曲线下面积(AUC)达 0.96, 显著优于随机分类器的理论 AUC 值 0.5 (图 3(c))。通过 Mean Decrease Gini 指标对特征重要性进行量化排序(图 3(d)), 前 30 位关键基因显示出显著的分类贡献度, 这些基因在胃癌发生发展中可能具有关键调控作用。

3.4. 生存分析锁定预后核心基因 LRRC8C

本研究通过 LASSO 回归和 Cox 比例风险回归分析筛选了与胃癌预后相关的核心基因, 并计算了基因的风险评分(Risk Score)。以患者的基因表达与临床特征(包括生存状态和生存时间)整合为数据矩阵, 作为分析基础进行 LASSO 回归和 Cox 比例风险回归模型构建, 其中基因表达数据为去除批次效应后的对数化 TPM 值。

图 4(a)展示了 LASSO 回归的系数路径图及与 λ 相关的结果, 图 4(b)展示了 LASSO 交叉验证过程。通过交叉验证, 我们选择了最佳的 λ 值($\lambda = 0.0265$)。该 λ 值对应的模型表现出较为稳定的系数, 并在不同的 λ 值下展现了较好的选择性能。图 4(c)的 ROC 曲线显示了 LASSO 模型的预测性能, AUC 值为 0.701, 表明该模型在区分高风险和低风险患者方面具有一定的能力。

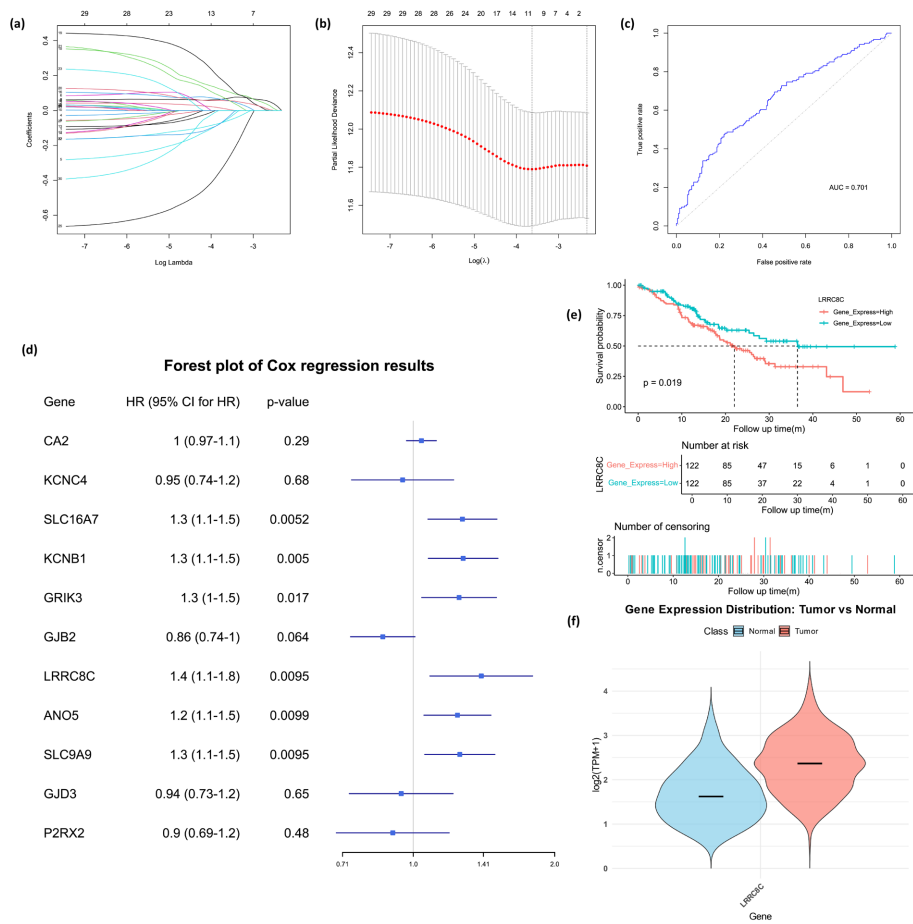


Figure 4. (a): Coefficient changes of each variable under different λ values in LASSO regression model; (b): LASSO regression cross validation curve; (c): ROC curve of LASSO model; (d): Forest map by Cox regression analysis; (e): Survival curves of different expression groups of LRRC8C gene; (f): LRRC8C gene expression profile

图 4. (a): LASSO 回归模型中不同 λ 值下各个变量的系数变化; (b): LASSO 回归交叉验证曲线; (c): LASSO 模型的 ROC 曲线; (d): Cox 回归分析的森林图; (e): LRRC8C 基因不同表达组生存曲线; (f): LRRC8C 基因表达分布图

在 LASSO 回归筛选过程中, 从 30 个候选基因中筛选出了 11 个基因, 随后对这些基因进行了 Cox 比例风险回归分析。Cox 回归分析结果(图 4(d))揭示了多个与胃癌预后密切相关的核心基因, 包括 SLC16A7、KCNB1、GRIK3、LRRC8C、ANO5、SLC9A9。这些基因的风险比(HR)分别为 1.3、1.3、1.3、1.4、1.2、1.3, 并且均具有统计学意义($p\text{-value} < 0.05$)。其中, LRRC8C 基因在 Kaplan-Meier 生存曲线分析中(图 4(e))显示, LRRC8C 高表达组患者的生存期显著低于低表达组($p = 0.019$), 证明了该基因在胃癌预后中的关键作用。最后, LRRC8C 基因表达分布图(图 4(f))显示, LRRC8C 在胃癌肿瘤组织中的表达水平显著高于正常组织, 进一步验证了 LRRC8C 作为潜在预后标志物在胃癌中的重要生物学功能。

4. 讨论

本研究通过整合转录组数据与临床病理信息, 系统揭示了胃癌细胞酸性代谢重编程的分子特征及其临床关联。综合分析结果显示, 相较于癌旁正常组织, 胃癌组织呈现显著的胃酸分泌通路抑制现象(如 H^+/K^+ -ATP 酶家族基因表达下调), 这可能与肿瘤细胞为适应缺氧微环境而进行的代谢模式转变密切相关。而细胞周期调控通路和 PI3K-Akt 信号通路[25]激活, 提示肿瘤细胞在实现代谢重编程的同时, 通过关键增殖信号的级联放大驱动恶性进展, 这一发现与既往关于肿瘤代谢-增殖偶联机制的研究结论相吻合[26][27]。

在差异表达基因分析中, 我们鉴定出 SLC9A8、ATP6V1C1 及 SLC16A3 等氢离子转运相关基因在胃癌细胞中显著高表达。其中, SLC9A8 作为钠氢交换体家族成员, 可能通过调节胞内 Na^+/H^+ 平衡维持碱性胞质环境[28]-[30]; SLC16A3 (MCT4) 作为乳酸/质子共转运体, 可能通过加速乳酸外排与胞外酸化, 在维持肿瘤细胞内 pH 稳态的同时, 塑造免疫抑制性微环境, 进而促进肿瘤侵袭和免疫逃逸[15]。

通过 WGCNA 构建的共表达网络显示, green 模块与 TNM 分期的强相关性。模块核心基因 CLIC2、LRRC8C 和 SLC9A9 的异常表达尤其值得关注: CLIC2 作为氯离子通道调节蛋白, 可能通过影响细胞膜电位参与 EMT 过程[31]; LRRC8C 作为容积调节性阴离子通道成分[32], 其过表达可能通过促进 Cl^- 外流引发细胞收缩, 进而增强肿瘤细胞迁移能力[33]; SLC9A9 作为一种钠氢交换蛋白, 参与细胞内外 pH 值的调节, 已被发现与肿瘤细胞的酸性环境适应和肿瘤细胞迁移密切相关[34]。这提示靶向肿瘤酸化相关基因能成为治疗新策略。

基于机器学习构建的随机森林模型显示出卓越的诊断效能($AUC = 0.96$), 其中 LRRC8C 在特征重要性排序中位列前 6 位。这一发现不仅验证了机器学习算法筛选的可靠性, 更凸显 LRRC8C 作为新型诊断标志物的转化潜力。生存分析进一步证实, LRRC8C 作为独立预后标志物, 其高表达与患者生存期缩短显著相关。机制层面, 我们推测 LRRC8C 可能通过调节细胞容积改变机械特性促进侵袭转移[35]。

然而, 本研究仍存在若干局限: 首先, 基于 TCGA 等公共数据库的回顾性分析可能存在选择偏倚, 需通过多中心前瞻性队列验证; 其次, 当前组学整合尚未纳入 DNA 甲基化、染色质可及性等表观遗传调控数据, 可能遗漏关键调控层级; 再者, LRRC8C 的具体作用机制尚未在类器官模型或 PDX 模型中验证。未来研究可结合单细胞测序和转录组技术, 深入解析肿瘤微环境中酸代谢的异质性, 并开发靶向 LRRC8C 的小分子抑制剂, 可能为逆转肿瘤酸性微环境提供新型治疗手段。

5. 结论

本研究通过转录组学数据的分析, 揭示了胃癌细胞酸性代谢的关键调控基因及信号通路, 筛选出 LRRC8C 为独立预后标志物, 并构建了高精度的胃癌诊断模型。结果表明, 酸代谢相关基因的异常表达与胃癌进展及患者不良预后密切相关, 其中 LRRC8C 可能通过调控离子通道活性成为潜在治疗靶点。这些发现为胃癌的分子分型、预后评估及靶向治疗策略提供了理论依据, 未来需进一步开展功能实验和临

床转化研究以验证其应用价值。

参考文献

- [1] López, M.J., Carbajal, J., Alfaro, A.L., Saravia, L.G., Zanabria, D., Araujo, J.M., *et al.* (2023) Characteristics of Gastric Cancer around the World. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **181**, Article ID: 103841. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103841>
- [2] Liu, G. and Song, G. (2019) Regulation of Tumor Cell Glycometabolism and Tumor Therapy. *Journal of Biomedical Engineering*, **36**, 691-695.
- [3] El Hassouni, B., Granchi, C., Vallés-Martí, A., Supadmanaba, I.G.P., Bononi, G., Tuccinardi, T., *et al.* (2020) The Dichotomous Role of the Glycolytic Metabolism Pathway in Cancer Metastasis: Interplay with the Complex Tumor Microenvironment and Novel Therapeutic Strategies. *Seminars in Cancer Biology*, **60**, 238-248. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.025>
- [4] Tufail, M., Jiang, C. and Li, N. (2024) Altered Metabolism in Cancer: Insights into Energy Pathways and Therapeutic Targets. *Molecular Cancer*, **23**, Article No. 203. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02119-3>
- [5] Pavlova, N.N. and Thompson, C.B. (2016) The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*, **23**, 27-47. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.006>
- [6] DeBerardinis, R.J. and Chandel, N.S. (2016) Fundamentals of Cancer Metabolism. *Science Advances*, **2**, e1600200. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600200>
- [7] Vander Heiden, M.G. and DeBerardinis, R.J. (2017) Understanding the Intersections between Metabolism and Cancer Biology. *Cell*, **168**, 657-669. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.039>
- [8] Zhang, Y., Fang, N., You, J. and Zhou, Q. (2014) Advances in the Relationship between Tumor Cell Metabolism and Tumor Metastasis. *Chinese Journal of Lung Cancer*, **17**, 812-818.
- [9] Damaghi, M., Wojtkowiak, J.W. and Gillies, R.J. (2013) Ph Sensing and Regulation in Cancer. *Frontiers in Physiology*, **4**, Article 370. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00370>
- [10] Swietach, P., Vaughan-Jones, R.D., Harris, A.L. and Hulikova, A. (2014) The Chemistry, Physiology and Pathology of pH in Cancer. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **369**, Article ID: 20130099. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0099>
- [11] Supuran, C.T. (2008) Carbonic Anhydrases: Novel Therapeutic Applications for Inhibitors and Activators. *Nature Reviews Drug Discovery*, **7**, 168-181. <https://doi.org/10.1038/nrd2467>
- [12] Occhipinti, R. and Boron, W.F. (2019) Role of Carbonic Anhydrases and Inhibitors in Acid-Base Physiology: Insights from Mathematical Modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 3841. <https://doi.org/10.3390/ijms20153841>
- [13] Lee, S., Boron, W.F. and Occhipinti, R. (2023) Potential Novel Role of Membrane-Associated Carbonic Anhydrases in the Kidney. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 4251. <https://doi.org/10.3390/ijms24044251>
- [14] Sheng, G., Gao, Y., Wu, H., Liu, Y. and Yang, Y. (2023) Functional Heterogeneity of MCT1 and MCT4 in Metabolic Reprogramming Affects Osteosarcoma Growth and Metastasis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, **18**, Article No. 131. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-03623-w>
- [15] Felmlee, M.A., Jones, R.S., Rodriguez-Cruz, V., Follman, K.E. and Morris, M.E. (2020) Monocarboxylate Transporters (SLC16): Function, Regulation, and Role in Health and Disease. *Pharmacological Reviews*, **72**, 466-485. <https://doi.org/10.1124/pr.119.018762>
- [16] 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. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- [17] Liu, S., Wang, Z., Zhu, R., Wang, F., Cheng, Y. and Liu, Y. (2021) Three Differential Expression Analysis Methods for RNA Sequencing: Limma, EdgeR, DESeq2. *Journal of Visualized Experiments*, **175**, e62528. <https://doi.org/10.3791/62528-v>
- [18] Subramanian, A., Tamayo, P., Mootha, V.K., Mukherjee, S., Ebert, B.L., Gillette, M.A., *et al.* (2005) Gene Set Enrichment Analysis: A Knowledge-Based Approach for Interpreting Genome-Wide Expression Profiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102**, 15545-15550. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506580102>
- [19] Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M. and Ishiguro-Watanabe, M. (2022) KEGG for Taxonomy-Based Analysis of Pathways and Genomes. *Nucleic Acids Research*, **51**, D587-D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
- [20] Langfelder, P. and Horvath, S. (2008) WGCNA: An R Package for Weighted Correlation Network Analysis. *BMC Bioinformatics*, **9**, Article No. 559. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-559>

- [21] Statnikov, A., Wang, L. and Aliferis, C.F. (2008) A Comprehensive Comparison of Random Forests and Support Vector Machines for Microarray-Based Cancer Classification. *BMC Bioinformatics*, **9**, Article No. 319. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-319>
- [22] Wang, Q., Qiao, W., Zhang, H., Liu, B., Li, J., Zang, C., *et al.* (2022) Nomogram Established on Account of Lasso-Cox Regression for Predicting Recurrence in Patients with Early-Stage Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 1019638. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1019638>
- [23] Engebretsen, S. and Bohlin, J. (2019) Statistical Predictions with Glmnet. *Clinical Epigenetics*, **11**, Article No. 123. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0730-1>
- [24] Rich, J.T., Neely, J.G., Paniello, R.C., Voelker, C.C.J., Nussenbaum, B. and Wang, E.W. (2010) A Practical Guide to Understanding Kaplan-Meier Curves. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, **143**, 331-336. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2010.05.007>
- [25] Peng, Y., Wang, Y., Zhou, C., Mei, W. and Zeng, C. (2022) PI3K/Akt/mTOR Pathway and Its Role in Cancer Therapeutics: Are We Making Headway? *Frontiers in Oncology*, **12**, Article 819128. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.819128>
- [26] Kroemer, G. and Pouyssegur, J. (2008) Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. *Cancer Cell*, **13**, 472-482. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.005>
- [27] Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2011) Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, **144**, 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- [28] Xu, H., Ghishan, F.K. and Kiela, P.R. (2018) SLC9 Gene Family: Function, Expression, and Regulation. *Comprehensive Physiology*, **8**, 555-583.
- [29] Bernardazzi, C., Sheikh, I.A., Xu, H. and Ghishan, F.K. (2022) The Physiological Function and Potential Role of the Ubiquitous Na⁺/H⁺ Exchanger Isoform 8 (NHE8): An Overview Data. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 10857. <https://doi.org/10.3390/ijms231810857>
- [30] Laubitz, D., Gurney, M.A., Midura-Kiela, M., Clutter, C., Besselsen, D.G., Chen, H., *et al.* (2022) Decreased NHE3 Expression in Colon Cancer Is Associated with DNA Damage, Increased Inflammation and Tumor Growth. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 14725. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19091-x>
- [31] Ueno, Y., Ozaki, S., Umakoshi, A., Yano, H., Choudhury, M.E., Abe, N., *et al.* (2019) Chloride Intracellular Channel Protein 2 in Cancer and Non-Cancer Human Tissues: Relationship with Tight Junctions. *Tissue Barriers*, **7**, Article ID: 1593775. <https://doi.org/10.1080/21688370.2019.1593775>
- [32] Kostitskaia, Y., Klüssendorf, M., Pan, Y.E., Hassani Nia, F., Kostova, S. and Stauber, T. (2023) Physiological Functions of the Volume-Regulated Anion Channel VRAC/LRRC8 and the Proton-Activated Chloride Channel ASOR/TMEM206. In: Fahlke, C., Ed., *Anion Channels and Transporters*, Springer, 181-218. https://doi.org/10.1007/164_2023_673
- [33] Lu, P., Ding, Q., Li, X., Ji, X., Li, L., Fan, Y., *et al.* (2019) SWELL1 Promotes Cell Growth and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma *in Vitro* and *in Vivo*. *EBioMedicine*, **48**, 100-116. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.09.007>
- [34] Guang, D., Xiaofei, Z., Yu, M., Hui, N., Min, S. and Xiaonan, S. (2024) Pomiferin Targeting SLC9A9 Based on Histone Acetylation Modification Pattern Is a Potential Therapeutical Option for Gastric Cancer with High Malignancy. *Biochemical Pharmacology*, **226**, Article ID: 116333. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116333>
- [35] Liu, T., Li, Y., Wang, D., Stauber, T. and Zhao, J. (2023) Trends in Volume-Regulated Anion Channel (VRAC) Research: Visualization and Bibliometric Analysis from 2014 to 2022. *Frontiers in Pharmacology*, **14**, Article 1234885. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1234885>