

铁代谢相关基因特征对肝细胞癌患者的影响及预后价值

张 凤, 王 力, 曲家麟, 姜 曼, 周 娜, 张晓春*

青岛大学附属医院肿瘤精准医学中心, 山东 青岛

Email: *zhangxiaochun9670@126.com

收稿日期: 2021年8月9日; 录用日期: 2021年9月1日; 发布日期: 2021年9月14日

摘 要

背景: 铁是所有哺乳动物血红蛋白合成, DNA合成和能量代谢所必需的营养素。铁代谢涉及包括肝细胞癌(hepatocellular cancer, HCC)在内的多种类型的癌症。本研究的目的是确定基于铁代谢相关基因的预后模型, 从而有效预测HCC患者的预后。方法: 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库获得HCC患者的RNA微阵列和临床数据。我们通过一致性聚类分析确定了具有不同临床结果的HCC患者群, 通过进行Cox回归分析筛选四种铁代谢相关基因(FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1)的预后模型, 利用国际癌症基因组联盟(International Cancer Genome Consortium, ICGC)数据库验证了预后模型的有效性。同时, 利用Oncomine数据库、Human Protein Atlas和Kaplan Meier-plotter检测FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1的表达量。结果: TCGA队列和ICGC队列中低风险评分患者的预后均优于高风险评分患者。通过OS相关的ROC曲线, 预后模型显示出比其他临床病理参数更好的预测HCC患者预后的性能。结论: 基于铁代谢的生存模型可能是肝细胞癌患者的独立危险因素。

关键词

铁代谢, 预后模型, 肝细胞癌, TCGA数据库, ICGC数据库

The Influence and Prognostic Value of Iron Metabolic-Related Gene Signatures in Hepatocellular Carcinoma Patients

Feng Zhang, Li Wang, Jialin Qu, Man Jiang, Na Zhou, Xiaochun Zhang*

Precision Medicine Center of Oncology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Email: *zhangxiaochun9670@126.com

*通讯作者。

文章引用: 张凤, 王力, 曲家麟, 姜曼, 周娜, 张晓春. 铁代谢相关基因特征对肝细胞癌患者的影响及预后价值[J]. 临床医学进展, 2021, 11(9): 3969-3982. DOI: 10.12677/acm.2021.119580

Abstract

Background: Iron is a nutrient essential for hemoglobin synthesis, DNA synthesis, and energy metabolism in all mammals. Iron metabolic involved in numerous types of cancers including hepatocellular cancer. In this study, we aim to identify prognostic model that based on iron metabolic-related genes that could effectively predict the prognosis for HCC patients. **Methods:** The RNA microarray and clinical data of HCC patients that obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. We identify the clusters of HCC patients with different clinical outcome performed by consensus clustering analysis. Four iron metabolic-related genes (FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1) were screen for prognostic model by performed the Cox regression analysis. The efficacy of prognostic model was validated by the International Cancer Genome Consortium (ICGC) database. Meantime, the expressions value of FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1 was performed using Oncomine database, the Human Protein Atlas and Kaplan Meier-plotter. **Result:** The patients with low-risk score have better prognosis than high risk score both in TCGA cohort and ICGC cohort. The prognostic model showed well performance for predicting the prognosis of HCC patients than other clinicopathological parameters by OS-related ROC curves. **Conclusion:** Our survival models that based on Iron metabolic can be independent risk factors for hepatocellular carcinoma patients.

Keywords

Iron Metabolic, Prognostic Model, HCC, TCGA Database, ICGC Database

Copyright © 2021 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

肝细胞癌(hepatocellular cancer, HCC)是人类癌症中癌症相关死亡的常见原因[1]。与其他恶性肿瘤相比, HCC 的发病率在男性中排名第五, 在女性中排名第九, 在全球癌症死亡人数中占第二位[2]。HCC 预后不良, 1 年和 3 年生存率分别为 36%和 17% [3]。虽然肝细胞癌在手术切除、化疗、射频消融、全身治疗、肝移植等方面取得了很大的进展, 但由于大部分患者处于晚期, 其预后仍然较差[4]。显然, 我们还需要探索新的方法来预测 HCC 的预后。

铁是所有哺乳动物血红蛋白合成, DNA 合成和能量代谢所必需的营养素。铁代谢也是一个重要的生物过程, 包括线粒体呼吸, 代谢和解毒, DNA 合成, 抗氧化防御, 氧传感和免疫防御[5]。在肿瘤中发现了一种依赖于铁代谢新型的细胞死亡, 称为铁死亡[6] [7]。一些研究表明, 铁代谢涉及多种类型的癌症, 包括肝细胞癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 结肠直肠癌, 胃癌, 肺癌, 黑色素瘤和胰腺癌[8] [9]。细胞中的铁代谢主要包括由许多基因和蛋白质调节的摄入, 利用和外排过程[10] [11] [12]。铁代谢相关基因主要由铁摄入基因(TFRC 和 DMT1), 利用基因(FTH1, FTL, HIF1A, HMOX1, SLC25A37 和 SLC25A38)和外排基因(FLVCR1 和 SLC40A1)组成[13] [14]。

为了探讨铁代谢与 HCC 预后的关系, 以及铁代谢相关基因是否可作为 HCC 预后的潜在生物标志物, 指导临床用药。我们使用 HCC 患者的 RNA 微阵列和临床数据来开发预后模型作为预测 HCC 患者存活

的独立生物标志物。

2. 材料和方法

1) 数据下载和处理

根据现有文献, 获得了潜在的铁代谢相关基因, 主要包括 TFRC, DMT1, FTH1, FTL, HIF1A, HMOX1, SLC25A37, SLC25A38, FLVCR1 和 SLC40A1。从 TCGA 数据库下载由 374 个 HCC 和 50 个相邻正常组织组成的 RNA 微阵列和临床数据。374 例 HCC 和 50 例癌旁正常组织铁代谢相关基因的差异表达用均值功能处理, 均值表达水平用 $\log_2$ 转化归一化。我们通过 limma 软件包分析肿瘤组织与正常组织中铁代谢相关基因的差异表达, 阈值为错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 和 $|\log_2$ 倍数变化(fold change, FC)| > 1 。

2) 铁代谢相关基因的一致性聚类分析

在 R 语言中使用 ConsensusClusterPlus 进行一致性聚类分析将所有肝癌患者分为不同的组[14]。然后采用 Kaplan-Meier 法计算各组间总生存期(OS)的差异。用卡方检验比较年龄、性别、年级、分期在不同群体间的分布。

3) 基于铁代谢相关基因的预后模型

通过单因素 Cox 回归分析铁代谢相关基因的表达情况, 得到与生存显著相关的基因。然后, 我们采用多变量 Cox 回归分析去除与生存高度相关的铁代谢相关基因。我们根据预后模型计算每个 HCC 患者的风险评分。风险评分的计算如下: 风险评分 = $\sum_{i=1}^n v_i \times c_i$ (v_i 为基因的平均表达水平, c_i 为基因的回归系数)。根据预后模型, 绘制 Kaplan-Meier 生存曲线, 通过对数秩检验对高危组和低危组进行评估。我们通过生成 OS 相关 ROC 曲线来确定预测模型的准确性。独立预后分析是我们预测预后模型是否可以作为肝癌患者的独立预后因素。

4) 肿瘤浸润免疫细胞的预后模型

CIBERSORT 是一种分析工具, 可使用基因表达数据估算肿瘤活检的浸润性免疫组成。在这项研究中, 我们通过 CIBERSORT 方法量化肝细胞癌样本中免疫细胞的分。由 CIBERSORT 产生的免疫细胞群的推断部分的结果被认为是准确的, 阈值 $P < 0.05$ [15]。

5) 通过 Oncomine 数据库、The Human Protein Atlas 和 Kaplan-Meier plotter 验证铁代谢相关基因

Oncomine 数据库, 癌症微阵列数据库和基于 web 的数据挖掘平台, 用于挖掘癌症基因信息[16]。Oncomine 数据库用于常见癌症类型及其各自正常组织的差异表达分类, 以及临床和病理分析。人类病理学地图集允许为癌症患者生成个性化的基因组规模的代谢模型, 以鉴定参与肿瘤生长的关键基因。在这项研究中, 我们利用 Oncomine 数据库和人类蛋白质图谱来探索 HCC 组织和肝组织中铁代谢相关基因的蛋白质表达。通过 Kaplan-Meier 绘图仪在线工具验证 RBP 在 HCC 中的预后价值。

6) 验证预后模型

我们的预后模型由国际癌症基因组联盟(ICGC)数据库进行外部验证。每个 HCC 患者的风险评分通过相同的公式计算。ICGC 数据库主要包含 116 名日本 HCC 患者和邻近的正常组织。

7) 统计分析

所有统计分析均使用 Perl 语言和 R 语言进行。绘制 Kaplan-Meier 曲线以显示高风险组和低风险组之间的存活差异, 并进行对数秩检验以确定差异的显著性。所有比较统计学显著性定义为 $P < 0.05$ 。

3. 结果

1) 铁代谢相关基因表达差异

生成热图以显示肿瘤组织和正常组织之间 m6A 甲基化相关基因的表达水平(图 1)。肿瘤组织中 SLC11A2、FLVCR1、FTH1、TFRC、SLC25A38 和 FTL 的表达水平显著高于正常组织。肿瘤组织中 HMOX1 的表达水平显著降低。

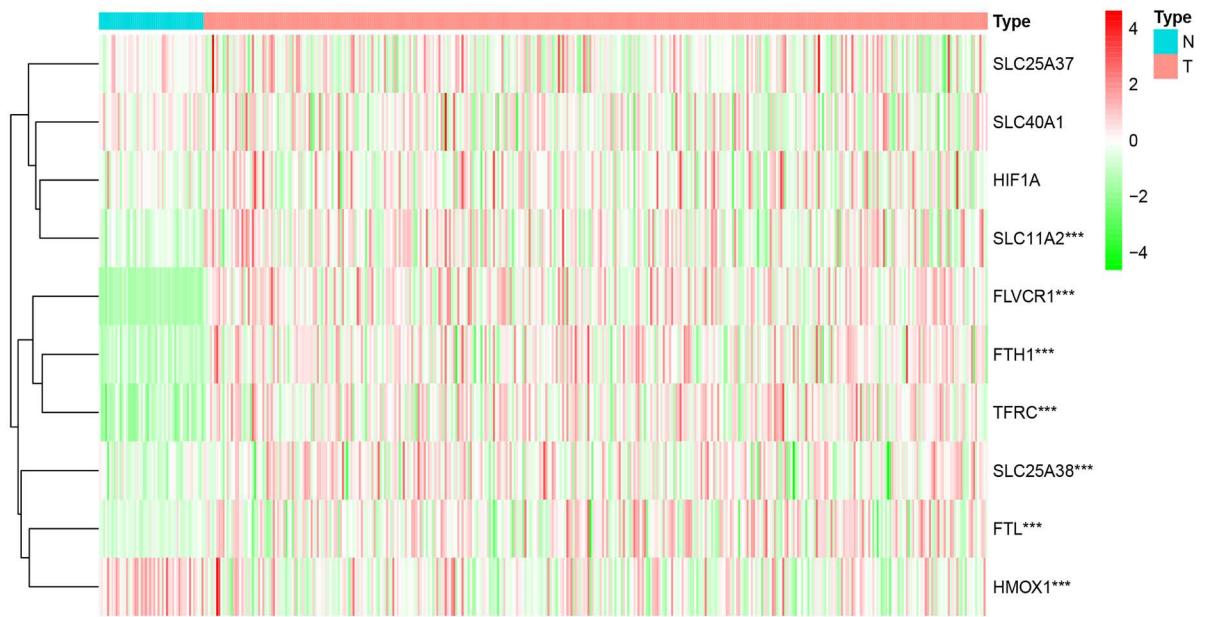


Figure 1. Heatmap of differentially expressed iron metabolism-related genes between HCC and normal tissues
图 1. HCC 和正常组织之间差异表达的铁代谢相关基因的热图

2) 铁代谢相关基因的一致性聚类分析

一致性聚类分析显示, 最合适的选择是将 HCC 患者分为两类(图 2(A)~(D))。评价聚类与临床病理特征的关系。组 1 和组 2 之间的肿瘤 T 状态和分期存在显著差异(图 2(E))。此外, Kaplan-Meier 曲线显示, 组 1 的 5 年 OS 显著长于组 2 ($P = 0.006$) (图 2(F))。

3) 基于铁代谢相关基因的预后模型的建立和验证

共鉴定出 4 个铁代谢相关基因(FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1)构建预后模型。我们基于 4 个铁代谢相关基因的预后模型使用以下公式形成: 风险评分 = (FLVCR1*0.16713 的平均表达) + (FTL*2.52E-05 的平均表达) + (平均表达) HIF1A*0.014361 + (HMOX1*0.002315 的平均表达)。

根据风险评分的中位数水平, HCC 患者分为低风险组和高风险组。Kaplan-Meier 生存曲线显示, 低风险组的生存率高于高风险组($HR = 1.329$, $95\%CI = 1.210 \sim 1.461$, $P < 0.001$) (图 3(A))。此外, 我们通过构建 ROC 曲线评估了 OS 相关预后模型的准确性, 风险评分的 AUC 显著高于其他临床病理参数(图 3(B))。最后, 我们通过预后模型对 HCC 患者进行排序以分析生存分布。我们可以根据风险评分确定 HCC 患者的死亡率。此外, 随着风险评分的增加, 患者的死亡率上升(图 3(C), 图 3(D))。

我们通过相同的公式计算了 ICGC 数据门户项目肝癌 RIKEN, JP (LIRI-JP) 中每位 HCC 患者的风险评分作为独立的外部验证。HCC 患者根据风险评分的中位数分为高危组和低危组。Kaplan-Meier 生存曲线显示了我们的预后模型的预后价值($P < 0.001$) (图 3(E))。此外, ROC 曲线还显示 OS 相关预后模型预测 HCC 患者预后的良好能力(图 3(F))。随着风险评分的增加, 患者的死亡率上升(图 3(G), 图 3(H))。因此, 这些验证结果证实了我们的预后模型的预测预后能力。

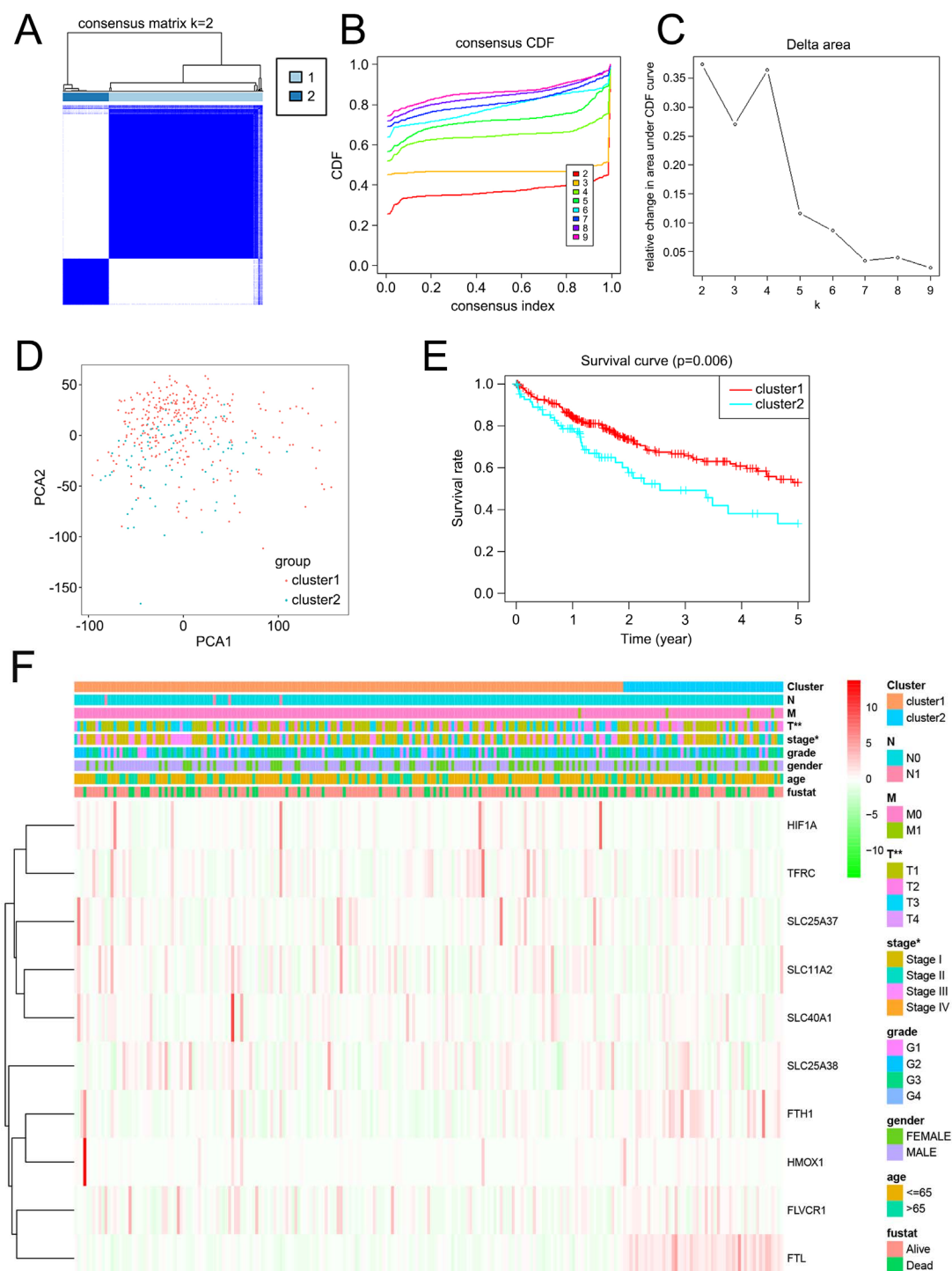


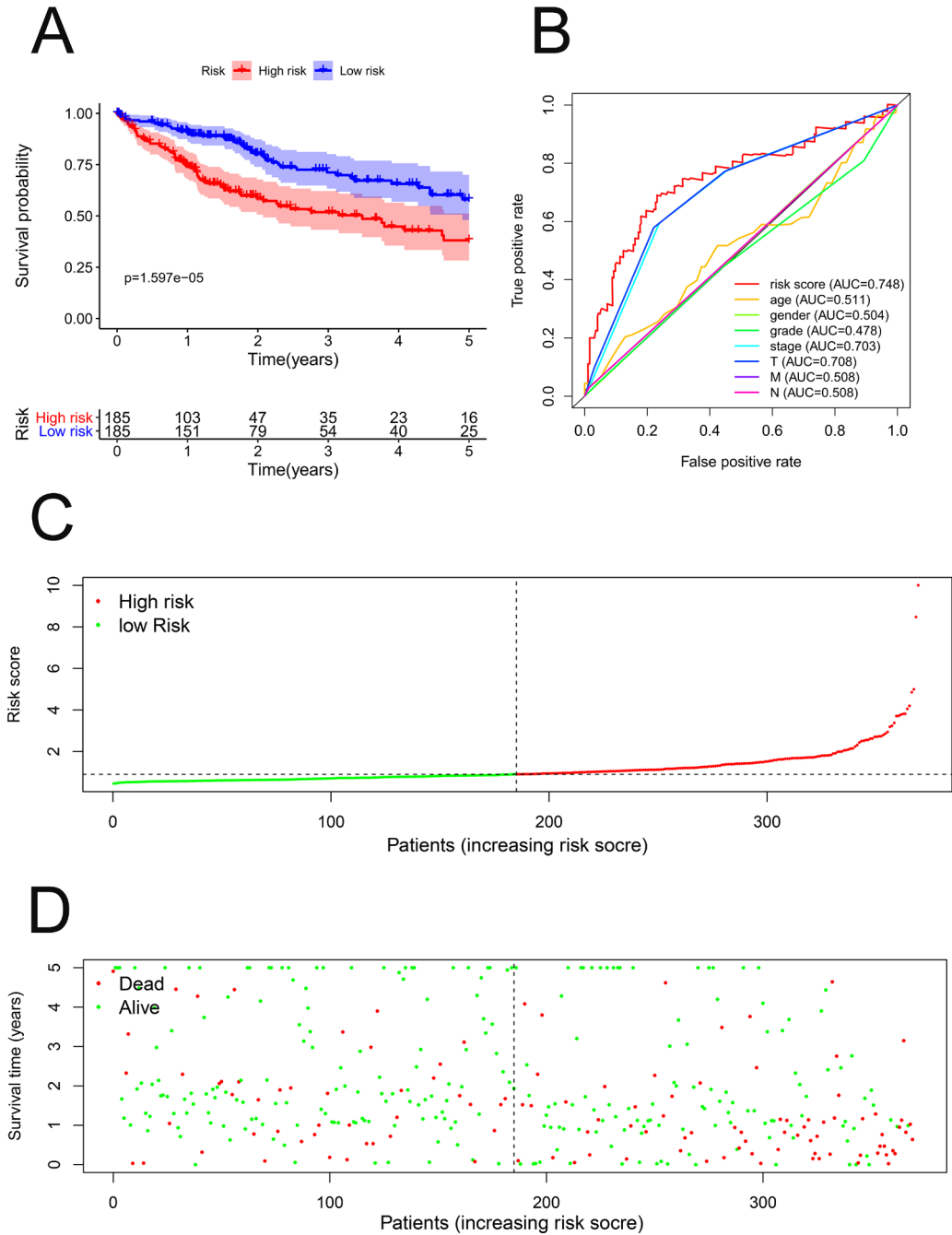
Figure 2. Differential overall survival and grade of HCC patients in the two different clusters. (A) The HCC patients divided into two distinct clusters, $k = 2$; (B) Consensus clustering cumulative distribution function for $k = 2 \sim 9$; (C) Relative change in area under cumulative distribution function for $k = 2 \sim 9$; (D) The principal components analysis of the iron metabolism-related genes; (E) Kaplan-Meier curve of cluster 1 and cluster 2; (F) Heatmap of expression of iron metabolism-related genes and clinicopathological features between cluster 1 and cluster 2

图 2. 两组不同肝癌患者的总体生存率和分级差异。(A) HCC 患者分为两个不同的聚类, $k = 2$; (B) 一致聚类累积分布函数 $k = 2 \sim 9$; (C) 累积分布函数曲线下面积的相对变化 $k = 2 \sim 9$; (D) 铁代谢相关基因的主成分分析; (E) 簇 1 和簇 2 的 Kaplan-Meier 曲线; (F) 簇 1 和簇 2 之间铁代谢相关基因表达和临床病理特征的热图

4) 预后模型，临床病理参数与肿瘤浸润免疫细胞的关系

单变量和多变量 Cox 回归分析显示预后模型可以作为 HCC 患者的独立预后因素(图 4(A)，图 4(B))。此外，预后模型与临床病理特征显著相关，如生存状态($p = 0.001$)，分期($p = 0.002$)，分级($p = 0.001$)和肿瘤 T 状态($p = 0.002$) (图 4(C)~(F))。

接下来我们用 CIBERSORT 算法评估了肝癌微环境中肿瘤浸润免疫细胞与预后模型的关系。CIBERSORT 分析显示，肝癌高危组和低危组 22 种免疫细胞类型的组成差异显著(图 5(A)，图 5(B))。巨噬细胞 M0 在低危组更为富集，而 T 细胞 CD8、NK 细胞活化在低危组更为富集(图 5(C))。



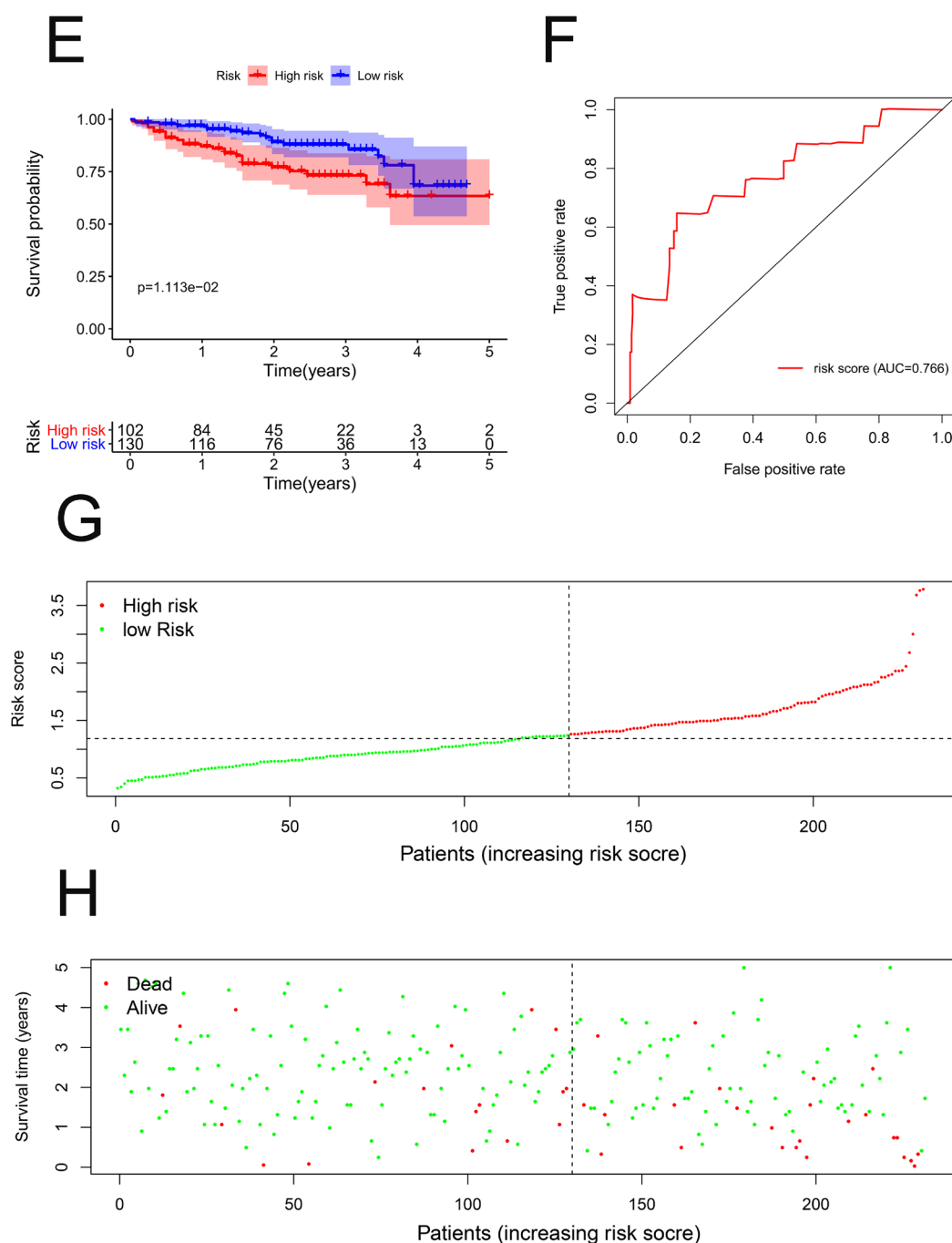


Figure 3. Prognostic model of hepatocellular carcinoma patients in TCGA and ICGC cohort. (A) Kaplan-Meier curve of high-risk and low-risk HCC patients in TCGA cohort; (B) ROC curve of OS-related prognostic model in TCGA cohort; (C) Risk score distribution of HCC patients with different risks in TCGA cohort; (D) Scatterplots of HCC patients with different survival status in TCGA cohort; (E) Kaplan-Meier curve of high-risk and low-risk HCC patients in ICGC cohort; (F) ROC curve of OS-related prognostic model in ICGC cohort; (G) Risk score distribution of HCC patients with different risks in ICGC cohort; (H) Scatterplots of HCC patients with different survival status in ICGC cohort

图 3. TCGA 和 ICGC 队列中肝细胞癌患者的预后模型。(A) TCGA 队列中高危和低危 HCC 患者的 Kaplan-Meier 曲线; (B) TCGA 队列中 OS 相关预后模型的 ROC 曲线; (C) TCGA 队列中不同风险 HCC 患者的风险评分分布; (D) TCGA 队列中不同生存状态 HCC 患者的散点图; (E) ICGC 队列中高危和低危 HCC 患者的 Kaplan-Meier 曲线; (F) ICGC 队列中 OS 相关预后模型的 ROC 曲线; (G) ICGC 队列中不同风险 HCC 患者的风险评分分布; (H) ICGC 队列中不同生存状态 HCC 患者的散点图

5) 铁代谢相关基因在肿瘤数据库、人类蛋白质图谱和 Kaplan-Meier 绘图仪中的表达

利用 Oncomine 数据库分析肝癌组织中 FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 的表达水平。在 Wurmbach 肝(222906_at)、Chen 肝(IMAGE: 1575419)、Roessler 肝(200989_at)中, 不同肝细胞癌中 FLVCR1、FTL、HIF1A 的表达水平均高于正常组(图 6(A)~(C))。然而, HMOX1 在肿瘤中的表达水平没有意义。此外, 我们通过人类蛋白质图谱数据库验证了 FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 的组织学水平, 结果显示, FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 在肝癌组织中上调, 在正常组织中下调(图 6(D)~(G))。用 Kaplan Meier-plotter 检测 FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 的预后意义。结果显示, FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 与 HCC 患者的 OS 密切相关(图 7(A)~(D))。

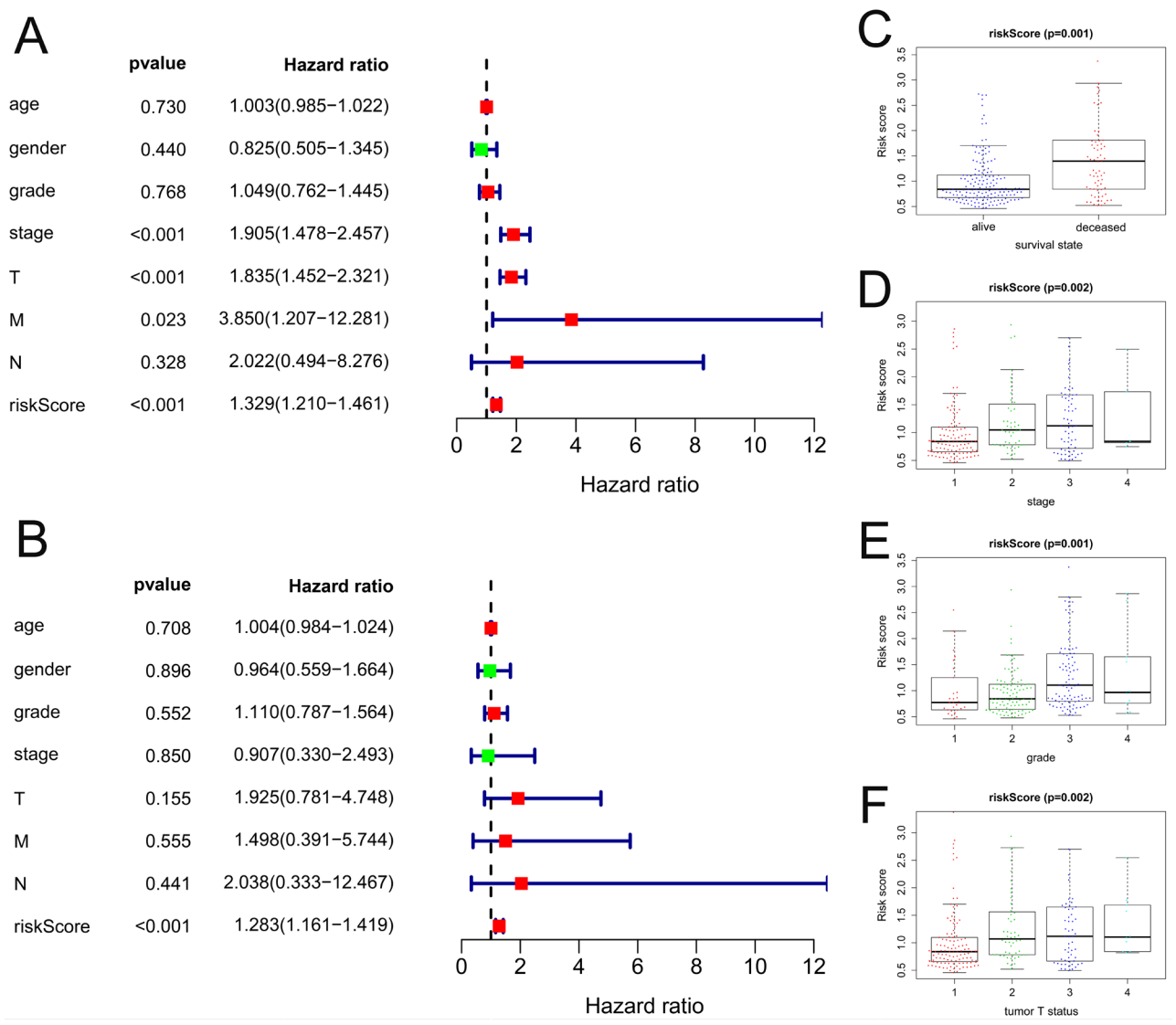


Figure 4. The relationships between prognostic model, clinicopathological parameters. (A) Univariate factor independent prognostic analysis; (B) Multivariate factor independent prognostic analysis; (C) The relationships between prognostic model and survival state; (D) The relationships between prognostic model and stage; (E) The relationships between prognostic model and grade; (F) The relationships between prognostic model and tumor T status

图 4. 预后模型与临床病理参数之间的关系。(A) 单因素独立预后分析; (B) 多因素独立预后分析; (C) 预后模型与生存状态的关系; (D) 预后模型与分期的关系; (E) 预后模型与分级的关系; (F) 预后模型与肿瘤 T 状态的关系

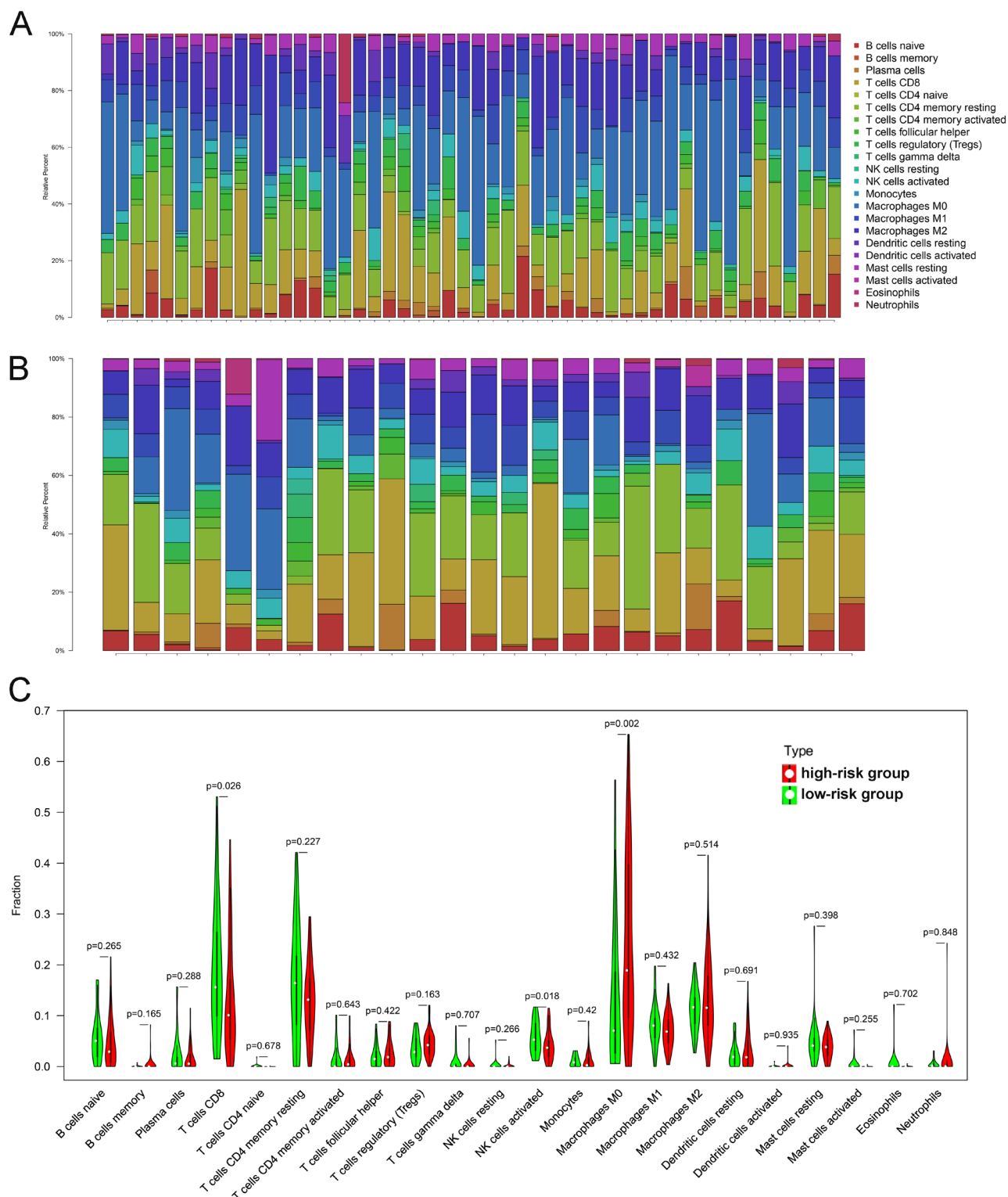


Figure 5. The relationships between prognostic model and tumor-infiltrating immune cells. (A) 22 immune cells in High-risk group; (B) 22 immune cells in low-risk group; (C) Violin plot displays the differentially infiltrated immune cells between High-risk group and low-risk group

图 5. 预后模型与肿瘤浸润性免疫细胞之间的关系。(A) 高危组 22 个免疫细胞；(B) 低危组 22 个免疫细胞；(C) 小提琴图显示高风险组和低风险组之间差异浸润的免疫细胞

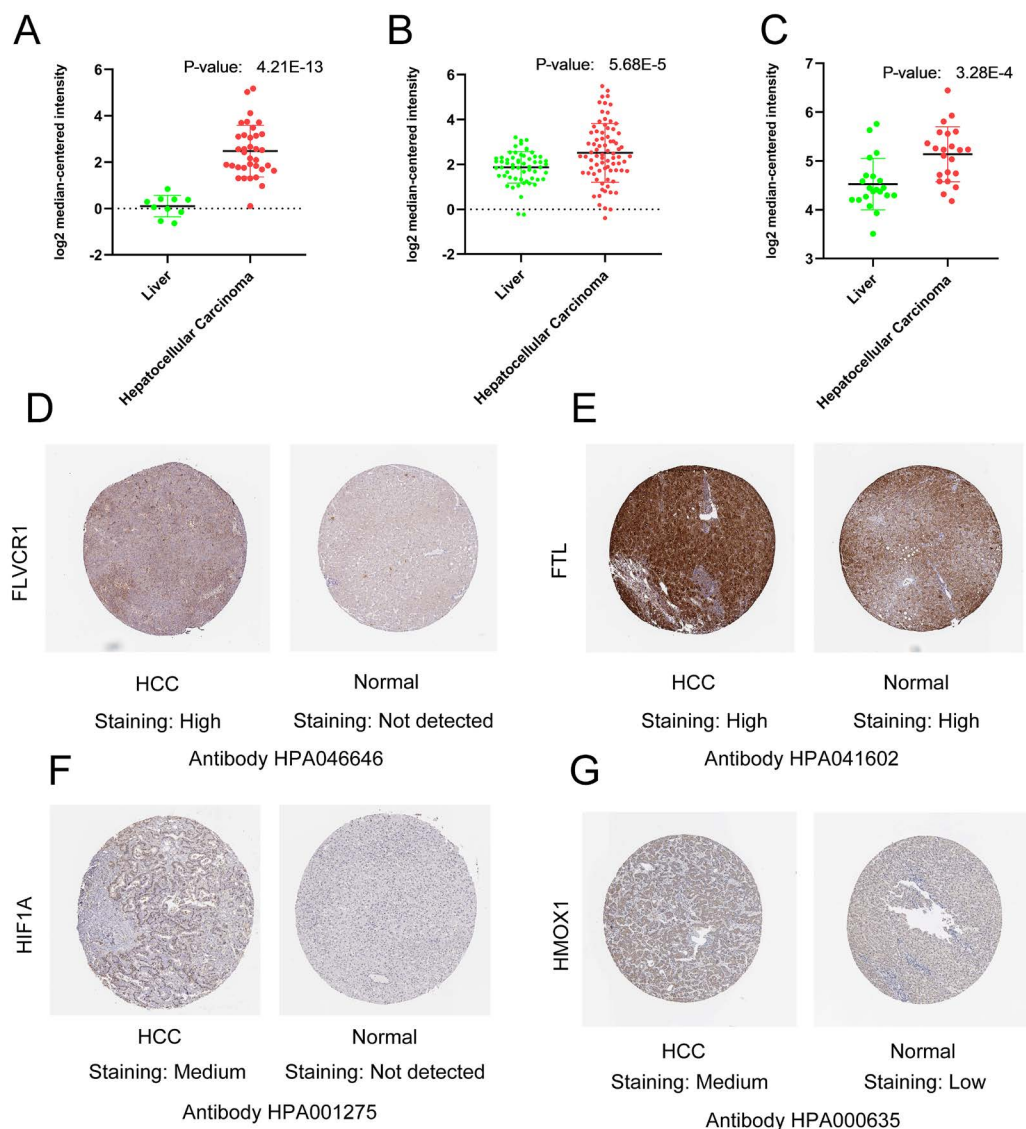


Figure 6. The expression level of FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1 in the Oncomine database, and The Human Protein Atlas. (A) Expression level of FLVCR1 in HCC and Liver in Oncomine database; (B) Expression level of FTL in HCC and Liver in Oncomine database; (C) Expression level of HIF1A in HCC and Liver in Oncomine database; (D) Immunohistochemistry results of FLVCR1 in HCC (Staining: High; Intensity: Strong; Quantity: 75%~25%; Location: Cytoplasmic/membra) and in normal tissue (Staining: Not detected; Intensity: Negative; Quantity: None; Location: None); (E) Immunohistochemistry results of FTL in HCC (Staining: High; Intensity: Strong; Quantity: >75%; Location: Cytoplasmic/membranous) and in normal tissue (Staining: High; Intensity: Strong; Quantity: >75%; Location: Cytoplasmic/membra); (F) Immunohistochemistry results of HIF1A in HCC (Staining: Medium; Intensity: Moderate; Quantity: >75%; Location: Cytoplasmic/membranous/nuclear) and in normal tissue (Staining: Not detected; Intensity: Negative; Quantity: None; Location: None); (G) Immunohistochemistry results of HMOX1 in HCC (Staining: Medium; Intensity: Moderate; Quantity: 75%~25%; Location: Cytoplasmic/membranous) and in normal tissue (Staining: Low; Intensity: Weak; Quantity: 75%~25%; Location: Cytoplasmic/membranous)

图 6. 肿瘤数据库和人类蛋白质图谱中 FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 的表达水平。(A) 肿瘤数据库中肝癌和肝脏中 FLVCR1 的表达水平; (B) 肿瘤数据库中肝细胞癌和肝脏中 FTL 的表达水平; (C) 肿瘤数据库中肝癌和肝脏中 HIF1A 的表达水平; (D) 肝癌中 FLVCR1 的免疫组化结果(染色: 高; 强度: 强; 数量: 75%~25%; 位置: 细胞质/膜)和正常组织(染色: 未检测到; 强度: 阴性; 数量: 无; 地点: 无); (E) 肝癌中 FTL 的免疫组化结果(染色: 高; 强度: 强; 数量: >75%; 位置: 细胞质/膜)和正常组织(染色: 高; 强度: 强; 数量: >75%; 位置: 细胞质/膜); (F) HCC 中 HIF1A 的免疫组织化学结果(染色: 培养基; 强度: 中等; 数量: >75%; 位置: 细胞质/膜质/核)和正常组织(染色: 未检测到; 强度: 阴性; 数量: 无; 地点: 无); (G) HCC 中 HMOX1 的免疫组织化学结果(染色: 培养基; 强度: 中等; 数量: 75%~25%; 位置: 细胞质/膜)和正常组织(染色: 低; 强度: 弱; 数量: 75%~25%; 位置: 细胞质/膜质)

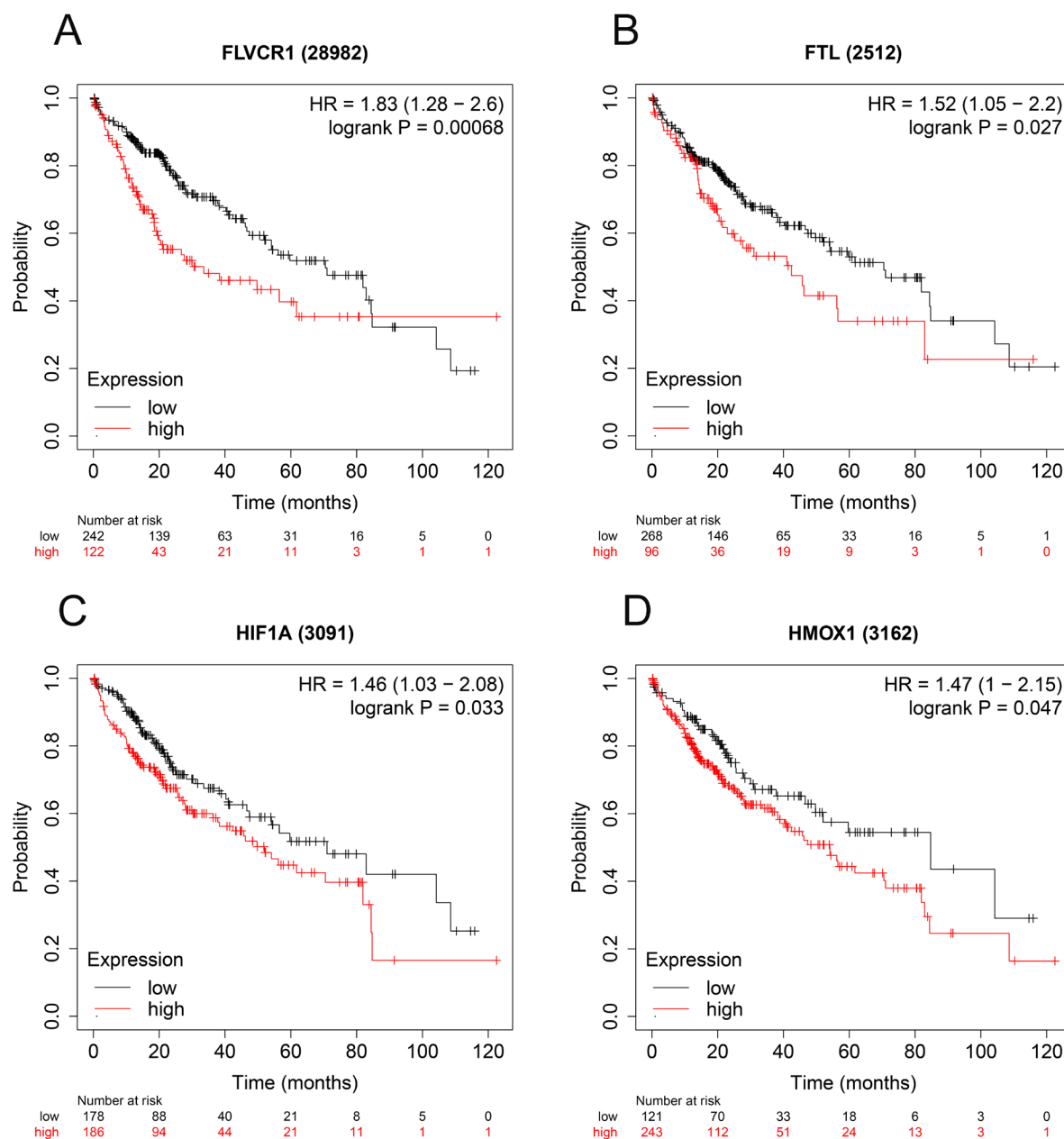


Figure 7. Validation the prognostic value of FLVCR1, FTL, HIF1A, HMOX1 in HCC by Kaplan-Meier-plotter. (A) FLVCR1; (B) FTL; (C) HIF1A; (D) HMOX1

图 7. 通过 Kaplan-Meier 绘图仪验证 FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1 在肝癌中的预后价值。(A) FLVCR1; (B) FTL; (C) HIF1A; (D) HMOX1

4. 讨论

肝癌的发生、发展和治疗是一个复杂的调控网络。与单一的临床病理参数相比,收集多种生物标志物并建立预后模型是预测肿瘤预后更有效的方法。目前,铁代谢在包括肝细胞癌在内的多种癌症中起着重要作用。铁代谢在癌症的发生、发展中普遍存在。基于铁代谢相关基因的预后模型可能比单一的临床病理参数更精确。

本研究旨在探讨铁代谢相关基因与肝癌患者预后的关系。我们从 TCGA 数据库中获得了铁代谢相关

基因的 RNA 表达谱。然后,我们确定了 4 个铁代谢相关基因(FLVCR1、FTL、HIF1A、HMOX1),并通过 Cox 回归分析构建了预后模型。最后,以 ICGC 队列为例,用同一公式对预测模型进行了验证。预后模型可作为肝癌患者独立的预后生物标志物。

CIBERSORT 分析显示,T 细胞 CD8、NK 细胞活化在低危组更为集中,巨噬细胞 M0 在高危组更为富集,而巨噬细胞 M0 在高危组更为富集。CD8⁺T 细胞是抗肿瘤免疫的主要效应细胞,它们在肿瘤部位的存在与良好的预后相关[17] [18]。一些研究表明,浸润人类转移性黑色素瘤的 CD8⁺T 细胞的相对丰度与免疫治疗的临床反应密切相关[19] [20]。肿瘤微环境中 CD8⁺T 细胞的数量和质量在决定启动免疫治疗后是否会产生针对肿瘤的强大免疫应答方面起着重要作用[18]。同时,NK 细胞是天然免疫系统的关键组成部分,具有强大的抗肿瘤和抗转移活性[21]。但巨噬细胞 M0 与肝癌的关系尚不清楚。这些结果表明,预后模型中的低危患者可能对免疫治疗敏感。

FLVCR 血红素转运体 1 (FLVCR heme transporter 1, FLVCR1)是一种跨膜蛋白,参与细胞内血红素的运输[22]。一项研究表明,长非编码 RNA FLVCR1-AS1 通过分泌 miR-573 上调 E2F 转录因子 3 的表达,促进肺癌的增殖和侵袭[23]。此外,一些研究表明,在乳腺癌中,LncRNA FLVCR1-AS1 通过 miR-381-3p/CTNNB1 轴促进增殖、迁移和激活 Wnt/ β -catenin 途径[24]。此外,LncRNA FLVCR1-AS1 介导 miR-513/YAP1 信号,以促进卵巢癌细胞的进展、迁移、侵袭和 EMT 过程[25]。铁蛋白轻链(ferritin light chain, FTL)是铁代谢的关键蛋白,与癌症患者的生存密切相关。一些研究表明,FTL 可能在前列腺癌、肺癌、肾癌和卵巢癌等多种癌症中发挥重要的生物标志物作用[26] [27] [28]。HIF1A (缺氧诱导因子 1 亚单位 α)是血管生成的重要组成部分,作为对肿瘤缺氧的反应而被激活,并促进肿瘤存活[29]。先前的研究表明 hsa-circ-0000211 通过调节 miR-622/HIF1-A 网络促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭[30]。HMOX1 (血红素加氧酶 1)是一种催化反应的酶,可降解若干重要蛋白质(如血红蛋白、肌红蛋白和细胞色素 p450)中所含的血红素基团[31]。先前的研究表明 HMOX1 在乳腺癌中具有抗肿瘤作用[32]。另一项研究报道 HMOX1 抑制小鼠乳腺癌中 Notch1 途径介导的肿瘤转移[33]。此外,一项研究表明,HMOX1 通过黑色素瘤中的 B-Raf-ERK 信号通路促进细胞增殖[34]。

在我们的研究中,我们的基于铁代谢相关基因的肝癌患者预后模型得到了 ICGC 队列的验证。此外,我们还探讨了预后模式、临床病理参数与肿瘤浸润免疫细胞的关系。此外,利用人类蛋白质图谱 Oncomine 数据库对 4 个铁代谢相关基因的表达水平进行了检测。此外,CIBERSORT 结果表明,预后模型中的低危患者可能对免疫治疗敏感。铁代谢是一个动态的、连续的过程。目前尚不清楚是否分析铁代谢相关基因的变化足以反映铁代谢活性。因此,我们的工作存在一些局限性。首先,铁代谢相关基因与肝癌的关系还没有进一步的实验研究。第二,缺乏大量的临床研究来证实我们的结果。

总之,我们的研究构建了一个基于铁代谢相关基因的肝癌患者预后模型。我们的预后模型在临床上显示出巨大的潜力。然而,这些铁代谢相关基因是否有助于免疫治疗靶点的选择和个体化治疗尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Nakano, S., et al. (2020) Recent Advances in Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma. *Cancers*, **12**, 775. <https://doi.org/10.3390/cancers12040775>
- [2] Park, J.-W., et al. (2015) Global Patterns of Hepatocellular Carcinoma Management from Diagnosis to Death: The Bridge Study. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, **35**, 2155-2166. <https://doi.org/10.1111/liv.12818>
- [3] El-Serag, H.B. (2004) Hepatocellular Carcinoma: Recent Trends in the United States. *Gastroenterology*, **127**, S27-S34. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.09.013>
- [4] Zheng, Z., et al. (2015) Adjuvant Chemotherapy for Patients with Primary Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis.

- International Journal of Cancer*, **136**, E751-E759. <https://doi.org/10.1002/ijc.29203>
- [5] El Hout, M., Santos, L., Hamai, A. and Mehrpour, M. (2018) A Promising New Approach to Cancer Therapy: Targeting Iron Metabolism in Cancer Stem Cells. *Seminars in Cancer Biology*, **53**, 125-138. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.07.009>
 - [6] Dixon, S.J., et al. (2012) Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, **149**, 1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
 - [7] Jiang, L., et al. (2015) Ferroptosis as a p53-Mediated Activity during Tumour Suppression. *Nature*, **520**, 57-62. <https://doi.org/10.1038/nature14344>
 - [8] Torti, S.V. and Torti, F.M. (2013) Iron and Cancer: More Ore to Be Mined. *Nature Reviews. Cancer*, **13**, 342-355. <https://doi.org/10.1038/nrc3495>
 - [9] Zhang, C. and Zhang, F. (2015) Iron Homeostasis and Tumorigenesis: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Protein & Cell*, **6**, 88-100. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0119-z>
 - [10] Crielaard, B.J., Lammers, T. and Rivella, S. (2017) Targeting Iron Metabolism in Drug Discovery and Delivery. *Nature Reviews. Drug Discovery*, **16**, 400-423. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.248>
 - [11] Johnson, N.B., et al. (2017) A Synergistic Role of IRP1 and FBXL5 Proteins in Coordinating Iron Metabolism during Cell Proliferation. *The Journal of Biological Chemistry*, **292**, 15976-15989. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.785741>
 - [12] Wang, Y.-F., et al. (2017) G9a Regulates Breast Cancer Growth by Modulating Iron Homeostasis through the Repression of Ferroxidase Hephaestin. *Nature Communications*, **8**, 274. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00350-9>
 - [13] Shen, Y., et al. (2018) Iron Metabolism Gene Expression and Prognostic Features of Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 9178-9204. <https://doi.org/10.1002/jcb.27184>
 - [14] Wilkerson, M.D. and Hayes, D.N. (2010) ConsensusClusterPlus: A Class Discovery Tool with Confidence Assessments and Item Tracking. *Bioinformatics (Oxford, England)*, **26**, 1572-1573. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq170>
 - [15] Chen, B., Khodadoust, M.S., Liu, C.L., Newman, A.M. and Alizadeh, A.A. (2018) Profiling Tumor Infiltrating Immune Cells with CIBERSORT. In: *Cancer Systems Biology, Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), Vol. 1711, Springer, Berlin, 243-259. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7493-1_12
 - [16] Rhodes, D.R., et al. (2004) ONCOMINE: A Cancer Microarray Database and Integrated Data-Mining Platform. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, **6**, 1-6. [https://doi.org/10.1016/S1476-5586\(04\)80047-2](https://doi.org/10.1016/S1476-5586(04)80047-2)
 - [17] Manzo, T., et al. (2020) Accumulation of Long-Chain Fatty Acids in the Tumor Microenvironment Drives Dysfunction in Intrapancreatic CD8⁺ T Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, **217**, e20191920. <https://doi.org/10.1084/jem.20191920>
 - [18] Mahuron, K.M., et al. (2020) Layilin Augments Integrin Activation to Promote Antitumor Immunity. *The Journal of Experimental Medicine*, **217**, e20192080. <https://doi.org/10.1084/jem.20192080>
 - [19] Daud, A.I., et al. (2016) Tumor Immune Profiling Predicts Response to anti-PD-1 Therapy in Human Melanoma. *The Journal of Clinical Investigation*, **126**, 3447-3452. <https://doi.org/10.1172/JCI87324>
 - [20] Loo, K., et al. (2017) Partially Exhausted Tumor-Infiltrating Lymphocytes Predict Response to Combination Immunotherapy. *JCI Insight*, **2**, e93433. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93433>
 - [21] Chan, I.S., et al. (2020) Cancer Cells Educate Natural Killer Cells to a Metastasis-Promoting Cell State. *Journal of Cell Biology*, **219**, 1-12. <https://doi.org/10.1083/jcb.202001134>
 - [22] Yusuf, I.H., Shanks, M.E., Clouston, P. and MacLaren, R.E. (2018) A Splice-Site Variant in FLVCR1 Produces Retinitis Pigmentosa without Posterior Column ataxia. *Ophthalmic Genetics*, **39**, 263-267. <https://doi.org/10.1080/13816810.2017.1408848>
 - [23] Gao, X., Zhao, S.S., Yang, X.H., Zang, S.Z. and Yuan, X.M. (2018) Long Non-Coding RNA FLVCR1-AS1 Contributes to the Proliferation and Invasion of Lung Cancer by Sponging miR-573 to Upregulate the Expression of E2F Transcription Factor 3. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **505**, 931-938. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.09.057>
 - [24] Pan, Z., et al. (2020) LncRNA FLVCR1-AS1 Promotes Proliferation, Migration and Activates Wnt/ β -Catenin Pathway through miR-381-3p/CTNNB1 Axis in Breast Cancer. *Cancer Cell International*, **20**, 214. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01247-2>
 - [25] Yan, H., et al. (2019) LncRNA FLVCR1-AS1 Mediates miR-513/YAP1 Signaling to Promote Cell Progression, Migration, Invasion and EMT Process in Ovarian Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, 356. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1356-z>
 - [26] Zhao, H., Zhao, X.H., Lei, T. and Zhang, M. (2019) Screening, Identification of Prostate Cancer Urinary Biomarkers and Verification of Important Spots. *Investigational New Drugs*, **37**, 935-947.

- <https://doi.org/10.1007/s10637-018-0709-3>
- [27] Kudriavtseva, A.V., *et al.* (2009) Expression of FTL and FTH Genes Encoding Ferretin Subunits in Lung and Renal Carcinomas. *Molecular Biology*, **43**, 1044-1054. <https://doi.org/10.1134/S0026893309060090>
- [28] Zhao, J., Guo, N., Zhang, L. and Wang, L. (2018) Serum CA125 in Combination with Ferritin Improves Diagnostic Accuracy for Epithelial Ovarian Cancer. *British Journal of Biomedical Science*, **75**, 66-70. <https://doi.org/10.1080/09674845.2017.1394051>
- [29] Xu, S. and Ying, K. (2020) Association between HIF-1 α Gene Polymorphisms and Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*, **99**, e20610. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020610>
- [30] Feng, D., *et al.* (2020) A Novel Circular RNA, hsa-circ-0000211, Promotes Lung Adenocarcinoma Migration and Invasion through Sponging of hsa-miR-622 and Modulating HIF1- α Expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **521**, 395-401. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.134>
- [31] Sebastián, V.P., *et al.* (2018) Heme Oxygenase-1 as a Modulator of Intestinal Inflammation Development and Progression. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1956. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01956>
- [32] Gandini, N.A., *et al.* (2019) Heme Oxygenase-1 Has an Antitumor Role in Breast Cancer. *Antioxidants & Redox Signaling*, **30**, 2030-2049. <https://doi.org/10.1089/ars.2018.7554>
- [33] Li, Q., *et al.* (2019) Heme Oxygenase-1 Inhibits Tumor Metastasis Mediated by Notch1 Pathway in Murine Mammary Carcinoma. *Oncology Research*, **27**, 643-651. <https://doi.org/10.3727/096504018X15415906335771>
- [34] Liu, L., *et al.* (2019) Heme Oxygenase 1 Facilitates Cell Proliferation via the B-Raf-ERK Signaling Pathway in Melanoma. *Cell Communication and Signaling*, **17**, 3. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0313-3>