

肝细胞癌中 lncRNA CPS1-IT1 的表达和临床意义

叶明亮, 李娟娟, 彭千晴, 常莹, 赵秋, 王红玲*

武汉大学中南医院 消化内科, 湖北 武汉 430071

【摘要】目的 探讨长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)氨基甲酸酯磷酸合成酶 1 内含子转录本 1(carbamoyl-phosphate synthase 1 intronic transcript 1, CPS1-IT1)在肝细胞癌中的表达和临床意义。**方法** 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库下载肝细胞癌的 mRNA 和 lncRNA 的表达及临床数据。使用 Wilcoxon 秩和检验和 Wilcoxon 符号秩检验分析非配对及配对癌和癌旁中 CPS1-IT1 的表达差异, Wilcoxon 秩和检验评估 CPS1-IT1 表达与临床病理特征之间的关系。单因素及多因素 Cox 回归分析和 Kaplan-Meier 法分析其与预后的关系。String-DB 数据库网站及 Cytoscape 软件构建与 CPS1-IT1 表达相关的蛋白质相互作用网络图, 最后通过基因集富集分析 CPS1-IT1 高、低表达分组富集的信号通路。**结果** CPS1-IT1 在肝细胞癌组织中表达显著下调 ($P < 0.001$), CPS1-IT1 的低表达与肝癌患者更高的临床分期 ($P < 0.01$)、T 分期 ($P < 0.05$)、更低的身高体重指数 ($P < 0.05$) 显著相关, 生存分析显示低表达组患者的总体生存率显著低于高表达组患者 ($P < 0.01$)。多因素 Cox 回归分析表明 CPS1-IT1 表达量 ($HR=0.898, 95\%CI: 0.811-0.994, P < 0.05$) 和临床分期 ($HR=1.592, 95\%CI: 1.286-1.969, P < 0.001$) 可以作为肝细胞癌患者的独立预后因素。GSEA 富集分析结果提示 CPS1-IT1 主要参与多种氨基酸代谢、脂肪酸代谢、药物代谢细胞色素 P450、PPAR 信号通路、维生素 A 代谢等通路。**结论** 肝细胞癌中 CPS1-IT1 表达显著下调, CPS1-IT1 表达量和临床分期可作为肝细胞癌独立预后因素, 并可能通过参与代谢通路抑制癌症的发生。

【关键词】 肝细胞癌; 代谢重编程; 预后

Expression and clinical significance of long non-coding RNA CPS1-IT1 in hepatocellular carcinoma

Ye Mingliang, Li Juanjuan, Peng Qianqing, Chang Ying, Zhao Qiu, Wang Hongling*

Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

【Abstract】Objective To investigate the expression, clinical significance and possible mechanism of lncRNA CPS1-IT1 in hepatocellular carcinoma. **Methods** The expression and clinical data of hepatocellular carcinoma mRNA and lncRNA were downloaded from the Cancer Genome Atlas database. Wilcoxon rank sum test and Wilcoxon signed rank test were used to analyze the difference of CPS1-IT1 expression in unpaired and paired cancers and adjacent cancers. Wilcoxon rank sum test evaluated the relationship between CPS1-IT1 expression and clinicopathological characteristics. Univariate and multivariate Cox regression analysis and Kaplan-Meier method were used to analyze the relationship with prognosis. STRING website and Cytoscape software construct the protein interaction network diagram related to CPS1-IT1 expression, and finally analyze the signal pathway of CPS1-IT1 high and low expression group enrichment by gene set enrichment analysis. **Results** The expression of CPS1-IT1 was significantly down-regulated in hepatocellular carcinoma ($P < 0.001$). The low expression of CPS1-IT1 was associated with a higher clinical stage ($P < 0.01$), T stage ($P < 0.05$), and more low body mass index ($P < 0.05$) was significantly correlated, and survival analysis showed that the overall survival rate of patients in the low expression group was significantly lower than that in the high expression group ($P < 0.01$). Multivariate Cox regression analysis showed that the expression of CPS1-IT1 ($HR=0.898, 95\%CI: 0.811-0.994, P < 0.05$) and clinical stage ($HR=1.592, 95\%CI: 1.286-1.969, P < 0.001$) It can be used as an independent prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma. The

基金项目: 武汉大学中南医院医学科技创新平台建设支撑项目(面上项目)(ptxm2020021)

*通信作者: 王红玲, 主任医师, 副教授, E-mail: zhwhl@whu.edu.cn

results of GSEA enrichment analysis suggest that CPS1-IT1 is mainly involved in various amino acid metabolism, fatty acid metabolism, drug metabolism cytochrome P450, PPAR signaling pathway, vitamin A metabolism and other pathways. **Conclusion** The expression of CPS1-IT1 in hepatocellular carcinoma is significantly down-regulated, CPS1-IT1 expression and clinical stage can be used as independent prognostic factors for hepatocellular carcinoma, and may inhibit the occurrence of cancer by participating in metabolic pathways.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Metabolic reprogramming; Prognosis

肝癌是最为常见的恶性肿瘤之一,是仅次于肺癌的全球癌症相关死亡的第二大原因^[1]。肝细胞癌作为肝脏的原发性肿瘤,在所有肝癌类型中约占75%。肝细胞癌的主要危险因素包括慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的感染,酒精性肝病和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)。在过去的几十年中肝细胞癌的诊断治疗技术不断得到改善,早期肝癌可通过局部消融、手术切除或肝移植达到治愈效果。中期患者可进行基于导管的局部治疗,晚期患者也可选择激酶和免疫检查点抑制剂治疗。目前,肝癌的高危人群筛查和肝癌的早期发现可以增加治疗的成功率。然而由于大多数患者被诊断时为晚期,已失去最佳手术治疗机会,虽然有Ⅲ期临床试验研究表明在晚期肝癌中阿索利珠单抗联合贝伐单抗比索拉非尼具有更高的总生存率,但晚期肝癌预后总体上依旧很差,因此寻找可用于肝细胞癌的治疗及预后靶点尤为重要。

近年来肝癌相关基础研究取得较大进展,但其发生发展的关键分子机制仍有很多尚未阐明。越来越多的研究表明长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)可能在恶性肿瘤的发生发展中扮演着极其重要的角色。lncRNA是一类大于200个核苷酸的mRNA样转录物,虽然不具备蛋白质编码能力,但可通过各种机制调节基因表达,在细胞生长、分化、凋亡和癌症转移等广泛的生物学过程中发挥作用。例如,lncRNA PCA3在前列腺癌组织及尿液中均特异性表达升高,已被临床应用为前列腺癌诊断标志物之一。此外,在血浆中稳定高表达的lncRNA H19也可作为胃癌患者的分子标志物。CPS1-IT1最近被发现为一种新型的抑制肿瘤的lncRNA,在肺癌、结直肠癌、肝癌、卵巢癌、神经胶质瘤、黑色素细胞瘤等多种肿瘤中表达下调并起着抑制癌症的作用,并且低CPS1-IT1

表达是神经胶质瘤患者总体生存的独立预后因素^[9-15]。然而,有研究表明CPS1-IT1在肝内胆管细胞癌中表达升高,且与总生存率无显著相关性,其结果与其他研究趋势不一致^[16]。因此,仍需要更多关于CPS1-IT1在实体瘤中的表达及其临床意义的大样本研究,并分析其可能的抑癌作用机制。本研究将通过数据库分析CPS1-IT1在肝细胞癌患者中的表达及临床意义。

1 资料和方法

1.1 数据资料收集 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中检索下载了376例肝细胞癌患者的基因表达测序数据(level 3, HTSeq-FPKM)及对应临床数据。表1总结了376例HCC患者的临床病理信息,统计过程中删除信息缺失的样本进行分析。

1.2 差异表达分析 Wilcoxon 秩和检验分析非配对正常组织和肿瘤组织样品中CPS1-IT1的表达差异, Wilcoxon 符号秩和检验分析配对样品中CPS1-IT1的表达差异。

1.3 与临床病理因素及预后的相关性研究 Wilcoxon 秩和检验分析了CPS1-IT1的表达与临床病理特征的相关性。使用单因素Cox回归和Kaplan-Meier法分析CPS1-IT1与预后的关系,然后根据单因素结果进行多因素Cox回归分析确定肝细胞癌独立预后因素。

1.4 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA) 使用GSEA_4.0.2软件(<http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>),基于CPS1-IT1表达中位数高低表达分组进行基因集(c2.cp.kegg.v6.2.symbols)富集分析,进行1000次随机样本排序。富集通路筛选标准:校正后的富集分数(normalized enrichment score, NES) > 1.50, $P < 0.05$, 错误发现率(false discovery rate, FDR) $q < 0.25$ 。

1.5 与基因表达相关性及蛋白质相互作用网络

图构建 将 CPS1-IT1 与肝癌所有蛋白基因进行 Pearson 相关性分析,将相关性大于 0.3, $P < 0.05$ 的基因列表在 String-DB 数据库网站上进行蛋白质基因相互作用调控网络分析 (<https://string-db.org>), 导出相互作用数据由 Cytoscape 软件生成排名前 100 的蛋白基因调控网络进行展示。

1.6 统计分析 使用 R (v.3.5.2, <https://www.R-project.org/>) 分析和处理数据并生成图片。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCGA 下载的患者临床特征 收集了 2020 年 3 月 TCGA 下载的 376 例肝细胞癌患者临床数据,表 1 总结了所有患者的临床病理信息。按年龄将患者分为两组,60 岁以下患者的百分比为 45.7%,60 岁以上患者的百分比为 54.30%,患肝细胞癌的患者中男性占比是女性的 2 倍,值得注意的是 TNM 分期中 N1 及 M1 都为 4 例,还有约 30%无法评估。

2.2 CPS1-IT1 基因在正常组织和肿瘤组织中的表达 正常组织和肿瘤组织中 CPS1-IT1 的表达水平分析结果如图 1 所示,正常组织(图 1A)以及配对组的正常组织(图 1B)与对应的肿瘤组织比较,CPS1-IT1 表达水平更高($P < 0.01$)。

2.3 CPS1-IT1 表达与肝细胞癌临床病理特征的相关性 根据 CPS1-IT1 基因表达量中位数将肝细胞癌患者分为高表达组和低表达组,并用 Wilcoxon 秩和检验分析 CPS1-IT1 表达量与临床病理特征(包括年龄、性别、临床分期、侵袭程度(T 分期)、组织分化程度、淋巴结浸润、远处转移、体质量指数、肝癌危险因素)的相关性。结果如图 2 所示,女性($P < 0.01$)、较高的临床分期及 T 分期($P < 0.01$)、低体质量指数($P < 0.05$)、饮酒和乙型肝炎与丙型肝炎病毒感染($P < 0.05$)患者中 CPS1-IT1 基因表达明显降低(图 1C~F、H),并且在较差的分化状态以及出现淋巴结浸润和远处转移患者中(图 1B、G、J)也具有相似的趋势,但由于淋巴结浸润和远处转移的状态存在大量未知样本,因此统计意义不显著($P > 0.05$)。而 CPS1-IT1 表达量与年龄无明显相关性(图 2A)。上述结果表明 CPS1-IT1 低表达与更差的临床病理特征密切相关。

2.4 CPS1-IT1 表达与肝细胞癌患者预后的关系 CPS1-IT1 基因高低表达分组的生存分析结果表

明,低表达组的生存时间明显短于高表达组($P < 0.001$)(图 2I)。

表 1 TCGA 数据库中肝癌患者的临床特征

参数	例数	比例(%)
年龄		
<60 岁	172	45.70
≥60 岁	204	54.30
性别		
男性	254	67.60
女性	122	32.40
体质量指数		
<18.5 kg/m ²	21	5.59
18.5~27 kg/m ²	205	54.52
>27 kg/m ²	114	30.32
未知	36	9.57
危险因素		
酒精消费	61	16.22
乙型肝炎	66	17.55
丙型肝炎	25	6.65
非酒精性脂肪性肝病	11	2.93
多种因素	139	36.97
无	74	19.68
随访生存状态		
存活	248	66.00
死亡	128	34.00
组织学分级		
G1	55	14.60
G2	180	47.90
G3	123	32.70
G4	13	3.50
未知	5	1.30
临床分期		
I	175	46.50
II	86	22.90
III	86	22.90
IV	5	1.30
未知	24	6.40
T 分期		
T1	185	49.20
T2	94	25.00
T3	81	21.50
T4	13	3.50
未知	3	0.80
N 分期		
N0	257	68.40
N1	4	1.10
NX	115	30.60
M 分期		
M0	272	72.30
M1	4	1.10
MX	100	26.60

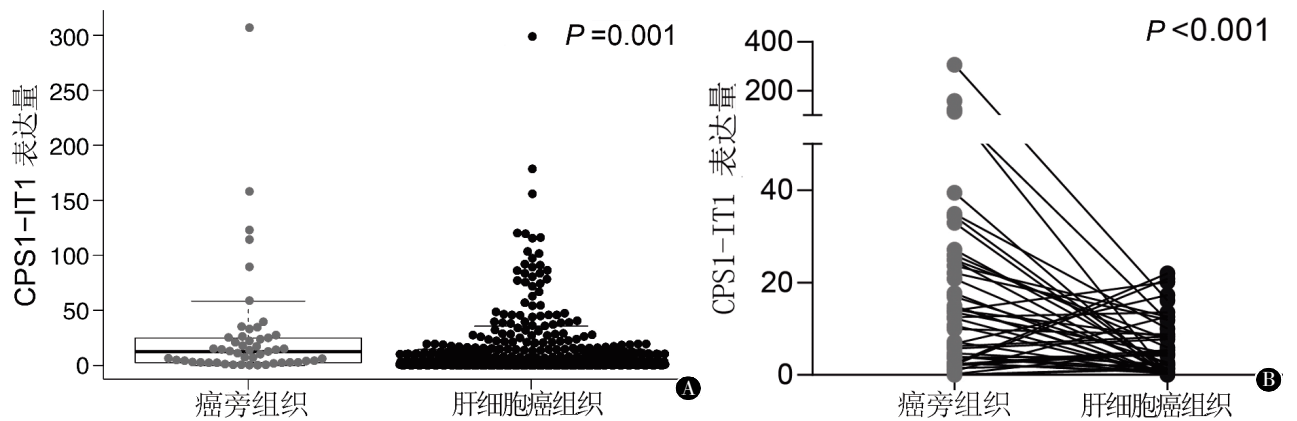


图1 非配对样品和配对样品中 CPS1-IT1 的表达水平

注:A 为非配对癌旁组织和肝细胞癌组织中 CPS1-IT1 的表达水平;B 为配对的癌旁组织和肝细胞癌组织中 CPS1-IT1 的表达水平

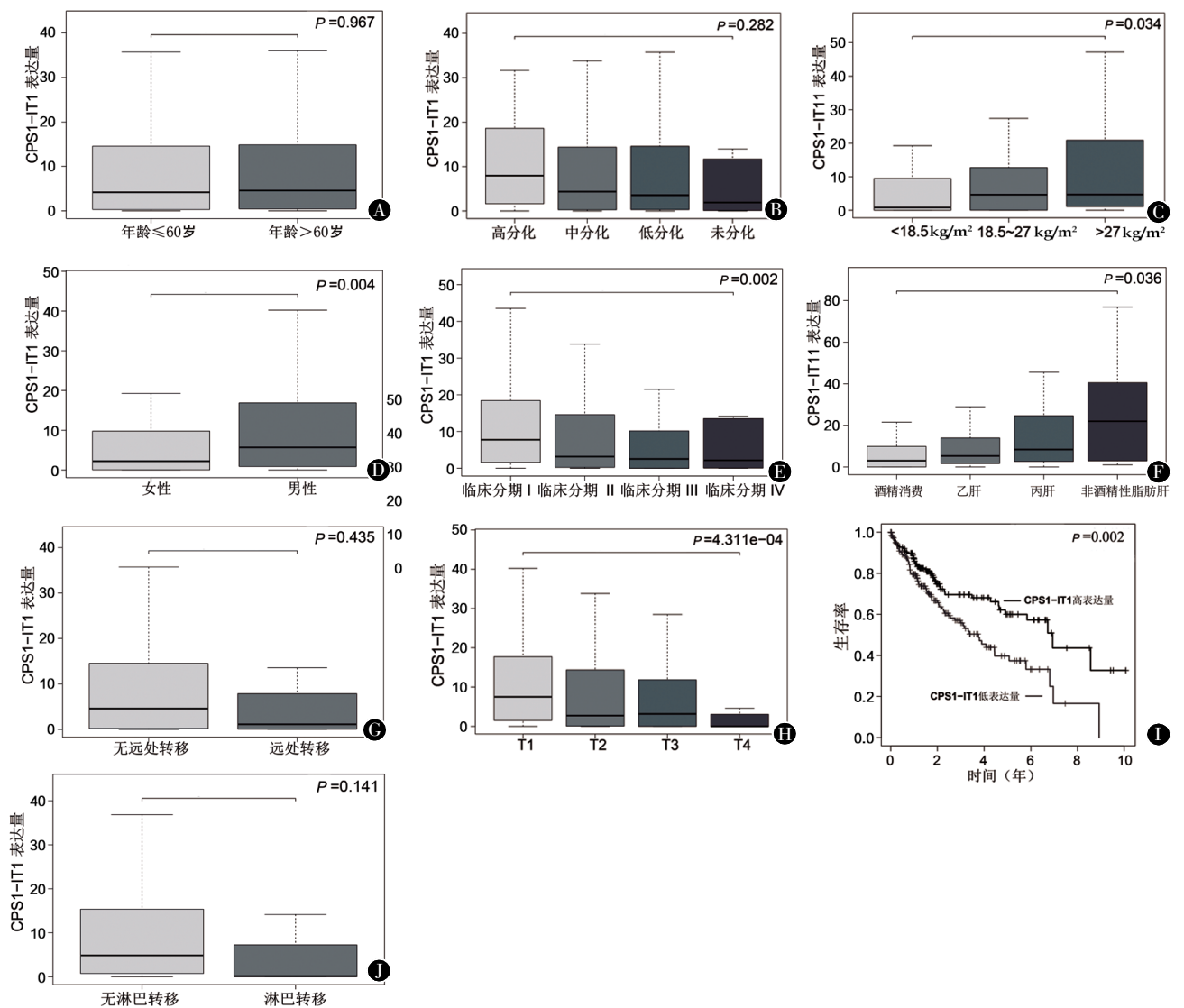


图2 CPS1-IT1 表达与肝细胞癌患者临床特征及预后的相关性分析

注:A 为年龄;B 为组织分化程度;C 为身体体重指数;D 为性别;E 为临床分期;F 为肝癌危险因素;G 为远处转移;H 为 T 分期;I 为 CPS1-IT1 基因与总生存率的生存曲线;J 为淋巴结转移

我们使用单因素和多因素 Cox 回归分析 CPS1-IT1 及临床病理特征是否为 HCC 的独立预后因素。单因素分析结果表明肝细胞癌患者的临床分期、T 分期和 CPS1-IT1 表达量与总体生存率相关($P < 0.01$) (表 2), 多因素 Cox 回归分析结果表明 CPS1-IT1 表达量($HR = 0.898, 95\% CI: 0.811 \sim 0.994, P < 0.05$) 以及临床分期($HR = 1.592, 95\% CI: 1.288 \sim 1.967, P < 0.001$) 与总体生存率显著相关(表 2)。

2.5 CPS1-IT1 高低表达分组的通路富集分析
 为了了解 CPS1-IT1 可能参与的重要通路, 对 CPS1-IT1 高低表达分组进行了 GSEA 富集分析, 结果如图 3 所示: 低表达组主要富集在代谢及癌症相关通路上, 包括精氨酸和脯氨酸代谢、半胱氨酸和蛋氨酸的代谢、酪氨酸代谢、脂肪酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、药物代谢细胞色素 P450、PPAR 信号通路、维生素 A 代谢等 ($NES > 1.50, P < 0.05, FDR q < 0.25$)。

2.6 CPS1-IT1 与蛋白基因表达相关性及表达相关蛋白的相互作用调控网络
 将 CPS1-IT1 与数据库中肝细胞癌所有蛋白基因进行 Pearson 相关性分析, 将相关性大于 0.3 且 $P < 0.05$ 的基因列表在 String-DB 数据库网站中首先进行 KEGG 通路富集分析 GO 功能富集分析, 并得到蛋白相互作用数据导入 Cytoscape 软件构建排名前 100 的蛋白基因相互作用网络图(图 4A)。String-DB 数据库网站中与表达相关的蛋白基因 KEGG 通路富集分析结果与 CPS1-IT1 高低表达的 GSEA 富集分析结果较为一致, GO 功能富集分析显示主要在小分子代谢、羧酸代谢、有机酸代谢等过程中富集(表 3), 相互作用排名前 100 的基因中, CPS1-IT1 与代谢相关的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) 基因、丙酮酸激酶 (pyruvate kinase isoenzyme type M2, PKM) 基因呈

负相关、与过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅激活蛋白 1 α (peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator 1 α , PPARC1A) 基因及代谢相关的磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 1 (phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PCK1) 基因表达呈负相关。

3 讨论

肝细胞癌是目前全球常见的癌症之一, 复杂的生物学过程和分子机制导致了肝细胞癌患者的预后不良。目前研究认为, 肝癌细胞的发生发展与肝癌细胞内糖代谢重编程, 即糖酵解增加、有氧糖代谢减少密切相关。临床上已采用 ^{18}F 脱氧葡萄糖正电子发射断层显像/X 线计算机体层成像仪 (positron emission tomography computed tomography, PET-CT) 的方法检测肿瘤中葡萄糖的摄取和转化, 以判断肿瘤的恶性程度^[17]。同时越来越多的研究表明, 非编码 RNA 的异常表达与人类癌症密切相关。目前关于 CPS1-IT1 抑制癌症的研究较少, 主要作用机制是通过抑制癌症细胞的上皮-间质转

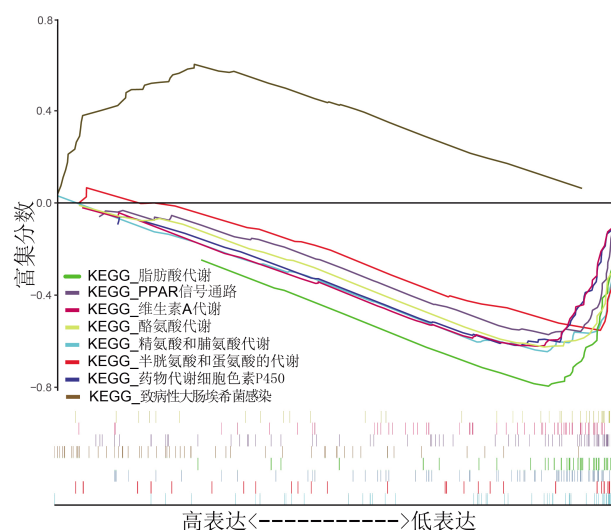


图 3 CPS1-IT1 高低表达分组中 GSEA 基因富集分析结果

表 2 CPS1-IT1 表达量与临床病理因素对预后的单因素及多因素 Cox 回归分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P 值	HR	95%CI	P 值
年龄	1.010	0.995~1.025	0.177			
性别	0.820	0.557~1.209	0.317			
组织分化程度	1.121	0.868~1.446	0.382			
临床分期	1.672	1.359~2.056	<0.001	1.592	1.288~1.967	<0.001
T 分期	1.652	1.357~2.011	<0.001			
淋巴结浸润	1.088	0.875~1.352	0.448			
远处转移	1.176	0.948~1.460	0.141			
CPS1-IT1 表达	0.858	0.776~0.949	0.003	0.898	0.811~0.994	0.038

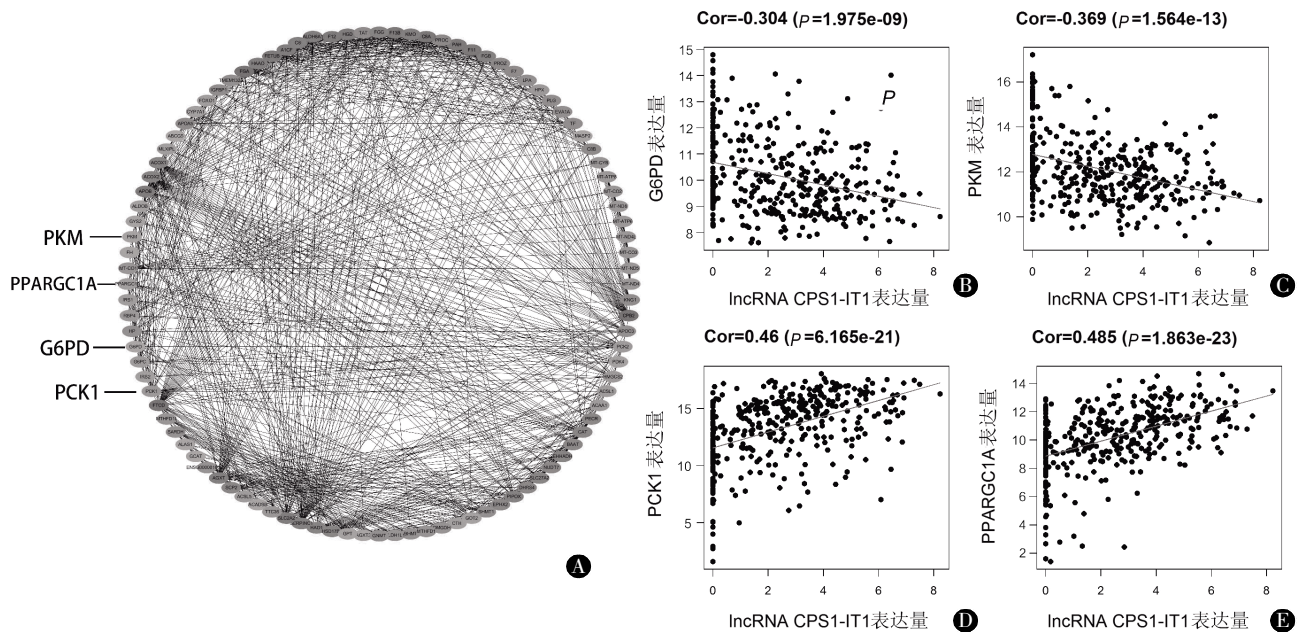


图4 CPS1-IT1 表达相关基因的蛋白互作网络图及其与代谢基因的相关性

注:A为CPS1-IT1表达相关基因的蛋白互作网络;图B为与代谢基因G6PD的表达相关性;C为与代谢基因PKM的表达相关性;D为与代谢基因PCK1的表达相关性;E为与PPARGC1A表达相关性

表3 STRING网站中CPS1-IT1表达相关的蛋白KEGG、GO富集分析

KEGG富集通路	基因数	通路基因总数	错误发现率
代谢途径	137	1250	3.69E-39
PPAR信号通路	19	72	4.58E-10
过氧化物酶体	20	81	4.58E-10
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢	15	39	6.62E-10
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解	16	48	6.62E-10
碳代谢	22	116	1.18E-09
氨基酸的生物合成	17	72	1.01E-08
GO富集细胞组分			
细胞质部分	380	9377	2.00E-20
线粒体	118	1531	2.64E-20
线粒体部分	91	1015	3.52E-19
GO富集分子功能			
催化活性	270	5592	1.22E-20
氧化还原酶活性	79	716	1.22E-20
辅酶结合	44	274	2.48E-16
GO富集生物学过程			
小分子代谢过程	179	1779	3.04E-47
羧酸代谢过程	121	854	3.00E-43
有机酸代谢过程	127	959	5.32E-43

化抑制癌症的转移^[11, 12, 15]。在结直肠癌中,CPS1-IT1可通过使低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)失活抑制缺氧诱导的自噬,从而抑制结直肠癌的上皮-间质转化和转移。在黑色

素瘤中,CPS1-IT1可通过竞争性抑制RNA机制阻止BRG1与Cyr61启动子的结合,降低Cyr61的表达进而抑制黑色素瘤上皮-间质转化和转移,并且实验数据表明CPS1-IT1与黑色素瘤患者的预后不良相关。CPS1-IT1在其他实体瘤中与预后的关系及其作用机制仍需要进一步研究。

本研究结果表明CPS1-IT1在肝细胞癌中显著下调,这结果与其他研究相一致。本研究发现CPS1-IT1高表达还与肝细胞癌患者较差的临床特征显著相关,在临床分期、T分期、体质量指数及不同危险因素分组中,CPS1-IT1的表达具有明显梯度变化趋势,并且在组织分化程度、淋巴结浸润和远处转移的分组中也有类似趋势,但由于发生淋巴结浸润和远处转移的样本量太少,因此差异无统计学意义。临床特征中体质量指数小于18.5 kg/m²的患者CPS1-IT1表达量明显下降,结合通路富集结果分析,可能是由于CPS1-IT1低表达导致的机体高代谢状态以及癌症本身的消耗状态有关,另外,在不同的肝细胞癌危险因素中,酒精依赖的CPS1-IT1表达量最低,提示饮酒可能会造成CPS1-IT1的表达下降。乙肝病毒感染和丙肝病毒感染分组中CPS1-IT1表达量明显低于非酒精性脂肪肝,结合目前临床发现其他危险因素如乙肝病毒感染导致的肝细胞癌中存在肝硬化的比

例是非酒精性脂肪肝的5倍,这在一定程度上提示CPS1-IT1的表达可能和肝硬化相关。生存分析结果表明CPS1-IT1低表达组总体生存率显著下降,随后单因素和多因素Cox回归分析结果表明CPS1-IT1表达量和临床分期可作为肝细胞癌患者的独立预后因素。在这项研究中还进行了与CPS1-IT1高低表达量分组的GSEA通路富集分析,结果表明CPS1-IT1参与了许多生物学过程和信号转导途径,主要包括丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,酪氨酸代谢,脂肪酸代谢,药物代谢细胞色素P450,PPAR信号通路,维生素A代谢等。相关性分析结果显示CPS1-IT1与代谢相关的基因G6PD、PKM表达呈负相关(图4B、C),G6PD表达升高可通过磷酸戊糖途径促进生物大分子的合成及肿瘤的生长。PKM作为糖酵解过程中的关键限速酶,可以使磷酸烯醇式丙酮酸和ADP变为ATP和丙酮酸,有研究报道PKM的表达可以驱动营养物质的产生促进肿瘤的生长。CPS1-IT1还与PPARGC1A及代谢基因PCK1的表达呈正相关(图4D、E),PCK1作为催化肝脏糖异生途径中的关键限速酶对癌症具有抑制作用,有研究发现PCK1导致的代谢重编程可抑制肝癌细胞中的三羧酸循环,减少肝癌细胞的能量供应,促进癌细胞的细胞凋亡进而抑制肝细胞癌的进展。上述结果表明CPS1-IT1的高表达对肝细胞癌患者的预后保护作用可能通过减少与其表达负相关的糖酵解和磷酸戊糖途径关键酶(PKM、G6PD)的产生以及增加与其表达正相关的糖异生关键酶(PCK1)的表达来实现。CPS1-IT1与代谢过程及代谢关键酶的表达密切相关,由此我们推测低表达CPS1-IT1可能通过影响肝细胞癌的代谢重编程进而为癌症的增殖和转移提供能量,例如研究发现lnc-IGFBP4-1可通过上调包括己糖激酶2(hexokinase 2, HK2)、磷酸肌醇依赖的蛋白激酶1(pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1)及乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)等代谢酶的表达增强有氧糖酵解,促进肿瘤细胞的增殖及转移。能量代谢重编程不仅可以导致肿瘤细胞快速增殖和转移,更多的新数据还表明该过程可以驱动肿瘤发生并且和肿瘤干细胞的干性相关。因此充分认识lncRNA和肝癌糖代谢重编程的关系,有益于从肿瘤细胞能量代谢的角度开发新的癌症诊断,预后分子和治疗策略。

在这项研究中,我们发现CPS1-IT1在肝细胞癌中具有重要预后价值,并且CPS1-IT1高表达可能通过影响代谢重编程抑制肝细胞癌的发生。但是,本研究的数据基于公共数据库,作用机制通过富集分析算法得出,存在一定局限性,需要更多的实验和临床数据来验证我们的结果。

总之,CPS1-IT1基因表达与肝细胞癌的临床病理特征高度相关,可作为肝细胞癌患者的独立预后因素,并可能通过调节代谢酶关键基因表达参与癌症的代谢重编程,这些发现可为肝细胞癌分子标志物及治疗靶点研究提供新的方向。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [2] MITTAL S, EL-SERAG HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population [J]. J Clin Gastroenterol, 2013, 47 Suppl:S2-S6.
- [3] SAGNELLI E, MACERA M, RUSSO A, et al. Epidemiological and etiological variations in hepatocellular carcinoma [J]. Infection, 2020, 48(1):7-17.
- [4] YANG JD, HAINAUT P, GORES GJ, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10):589-604.
- [5] FINN RS, QIN S, IKEDA M, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma [J]. N Engl J Med, 2020, 382(20):1894-905.
- [6] BEERMANN J, PICCOLI MT, VIERECK J, et al. Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches [J]. Physiol Rev, 2016, 96(4):1297-1325.
- [7] SOYMAROVA R, BODAY A, KRHUTOVA V, et al. Prognostic and predictive molecular biological markers in prostate cancer - significance of expression of genes PCA3 and TMPRSS2 [J]. Neoplasma, 2015, 62(1):114-118.
- [8] LIU J, WANG J, SONG Y, et al. A panel consisting of three novel circulating lncRNAs, is it a predictive tool for gastric cancer? [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(7):3605-3613.
- [9] XIAO GUANG Z, MEIRONG L, JINGJING Z, et al. Long Noncoding RNA CPS1-IT1 Suppresses Cell Proliferation and Metastasis in Human Lung Cancer [J]. Oncol Res, 2017, 25(3):373-380.
- [10] ZHANG W, YUAN W, SONG J, et al. LncRna CPS1-IT1 Suppresses Cell Proliferation, Invasion and Metastasis in Colorectal Cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(2):567-580.

- [11] ZHANG W, YUAN W, SONG J, et al. LncRNA CPS1-IT1 suppresses EMT and metastasis of colorectal cancer by inhibiting hypoxia-induced autophagy through inactivation of HIF-1 α [J]. *Biochimie*, 2018, 144:21-27.
- [12] WANG TH, YU CC, LIN YS, et al. Long noncoding RNA CPS1-IT1 suppresses the metastasis of hepatocellular carcinoma by regulating HIF-1 α activity and inhibiting epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (28):43588-43603.
- [13] WANG YS, MA LN, SUN JX, et al. Long non-coding RNA CPS1-IT1 is a positive prognostic factor and inhibits epithelial ovarian cancer tumorigenesis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(14):3169-3175.
- [14] CHEN H, LI Q, LIANG J, et al. LncRNA CPS1-IT1 serves as anti-oncogenic role in glioma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118:109277.
- [15] ZHOU X, RAO Y, SUN Q, et al. Long noncoding RNA CPS1-IT1 suppresses melanoma cell metastasis through inhibiting Cyr61 via competitively binding to BRG1 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12):22017-22027.
- [16] MA SL, LI AJ, HU ZY, et al. Co-expression of the carbamoyl-phosphate synthase 1 gene and its long non-coding RNA correlates with poor prognosis of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Mol Med Report*, 2015, 12 (6):7915-7926.
- [17] WEBER WA, GATSONIS CA, MOZLEY PD, et al. Repeatability of 18F-FDG PET/CT in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Prospective Assessment in 2 Multicenter Trials [J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(8):1137-1143.
- [18] GOLABI P, RHEA L, HENRY L, et al. Hepatocellular carcinoma and non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(6):688-694.
- [19] RAO X, DUAN X, MAO W, et al. O-GlcNAcylation of G6PD promotes the pentose phosphate pathway and tumor growth [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1):8468.
- [20] CHIAVARINA B, WHITAKER-MENEZES D, MARTINEZ-OUTSCHOORN UE, et al. Pyruvate kinase expression (PKM1 and PKM2) in cancer-associated fibroblasts drives stromal nutrient production and tumor growth [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12(12):1101-1113.
- [21] LIU MX, JIN L, SUN SJ, et al. Metabolic reprogramming by PCK1 promotes TCA cataplerosis, oxidative stress and apoptosis in liver cancer cells and suppresses hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2018, 37(12):1637-1653.
- [22] B Y, L Z, Y C, et al. Overexpression of lncRNA IGFBP4-1 reprograms energy metabolism to promote lung cancer progression [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):154.
- [23] C S. Tracking down the origin of cancer: metabolic reprogramming as a driver of stemness and tumorigenesis [J]. *Crit Rev Oncog*, 2014, 19(5):363-382.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对参考文献撰写的最新要求

针对多数作者来稿中参考文献书写不规范的情况,本刊在此将文稿书写要求刊登出来,烦请各位作者注意。本刊文稿引用参考文献时,必须与其原文核对无误,请按采用顺序编码著录,依照其在正文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。未发表的观察资料一般不作为参考文献,确定需要引用时,可将其在正文相应处注明。2次文献不适宜作为参考文献。尽量避免引用摘要作为参考文献。文献作者在3位以内者,姓名均予以列出;3位以上者,只列出前3位,后加“等”“et al”(西文)、“他”(日文)、“и.т.д.”(俄文);作者姓名一律姓氏在前,名字在后。外国人名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;日文汉字请按规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”“and”等连词。文献类型和电子文献载体标志代码参照GB 3469《文献类型与文献载体代码》,题名后标注文献类型标志,电子文献必须标注著录项目。外文期刊名称用缩写,以美国国立医学图书馆编辑的*Index Medicus*格式为准。每条参考文献必须著录完整的起止页码。