



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.008
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.008
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(7):839-848.

· 基础研究 ·

肝细胞癌自噬相关长链非编码 RNA 预后模型的建立与分析

陈圣^{1,2}, 赵继森², 李靖华², 杨季红², 程树杰²

(1. 河北大学临床医学院, 河北保定 071000; 河北大学附属医院 2. 肝胆外科 / 河北省普通外科数字医学基础研究重点实验室, 河北保定 071000)

摘要

背景与目的: 肝细胞癌 (HCC) 是常见的原发性肝癌, 其预后较差。自噬的失调可以促进 HCC 的发生与进展, 本研究旨在分析自噬相关长链非编码 RNA (lncRNA) 在 HCC 患者中的潜在预后作用, 并构建自噬相关 lncRNA 风险预测模型。

方法: 利用生物信息学方法分析 TCGA 数据库中 374 例 HCC 及 50 例正常对照样本的转录组数据及临床资料, 从 HADb 网站获取自噬基因列表。采用 Person 相关性分析筛选与自噬基因相关的 lncRNA, 采用 R 软件 caret 程序包将筛选后的 342 例 HCC 样本按 70% 与 30% 的比例随机分为训练集及验证集, 在训练集中采用 Kaplan-Meier 法及单因素 Cox 回归分析筛选出具有预后意义的 lncRNA, 随后采用多因素 Cox 回归分析筛选具有独立预后意义的自噬相关 lncRNA, 建立构建预后模型。使用多因素 Cox 回归系数计算风险评分, 将患者分为低风险组和高风险组, 分析算风险评分与 HCC 患者临床特征及总体生存的关系, 并使用验证集加以验证。

结果: 347 个 lncRNA 鉴定为自噬相关 lncRNA ($|R^2| > 0.3, P < 0.001$), 其中 26 个 lncRNA 对 HCC 患者具有预后价值 (均 $P < 0.05$)。多因素 Cox 回归分析得到基于 12 个自噬相关 lncRNA (CYTOR、DANCR、LINC01138、LUCAT1、MAPKAPK5-AS1、NRAV、NRSN2-AS1、LINC01871、LINC00864、LINC02362、TMEM220-AS1 和 PSMB8-AS1) 的预测患者预后的风险模型。高风险组 HCC 患者总生存期明显低于低风险组 HCC 患者 ($P < 0.05$)。12- 自噬相关 lncRNA 预后模型评分与肿瘤分级、肿瘤分期和 T 分期有关 (均 $P < 0.05$), 与患者的年龄、性别无明显关系 (均 $P > 0.05$)。在训练集中该预后模型的 1、3、5 年生存的时间依赖性 ROC 曲线的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.801、0.819 和 0.787, 在验证集中其 1、3、5 年生存的时间依赖性 ROC 曲线的 AUC 分别为 0.694、0.733 和 0.746。

结论: 所筛选的自噬相关 lncRNA 在 HCC 的肿瘤生物学中可能起关键作用, 12- 自噬相关 lncRNA 的模型对 HCC 具有预后判断价值。

关键词

癌, 肝细胞; RNA, 长链非编码; 自噬; 预后

中图分类号: R735.7

Construction and analysis of prognostic model for hepatocellular carcinoma based on autophagy-related long non-coding RNAs

CHEN Sheng^{1,2}, ZHAO Jisen², LI Jinghua², YANG Jihong², CHENG Shujie²

(1. Clinical Medical College of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery/Key Laboratory of Basic Research for Digital Medicine of General Surgery of Hebei Province, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China)

基金项目: 河北省重点研发计划基金资助项目 (18277790D)。

收稿日期: 2020-04-26; **修订日期:** 2020-06-17。

作者简介: 陈圣, 河北大学临床医学院硕士研究生, 主要从事肝胆肿瘤基础方面的研究。

通信作者: 程树杰, Email: cheng66142@163.com

Abstract

Background and Aims: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary liver cancers, and has a poor prognosis. Dysregulation of autophagy can promote the occurrence and development of HCC. This study was designated to investigate the potential prognostic roles of autophagy-related long non-coding RNAs (lncRNAs) in HCC patients and construct a risk prediction model based on autophagy-related lncRNAs.

Methods: The transcriptomic and clinical data of 374 HCC samples and 50 normal control samples in TCGA database were analyzed using bioinformatics approaches, and the list of autophagy-related genes were obtained from HADb. The lncRNAs associated with autophagy genes were screened by Person's correlation analysis. Three hundred and forty-two HCC samples obtained by selection were randomly assigned to train dataset and validation dataset with a ratio of 70%:30% using caret package in R. The autophagy-related lncRNAs with prognostic significance were identified by Kaplan-Meier method and univariate Cox regression analysis. Then, the autophagy-related lncRNAs with independent prognostic significance were determined by multivariate stepwise regression Cox analysis to construct a prognostic prediction model. After the risk scores were calculated using Cox regression coefficient, the patients were divided into low risk group and high risk group, the relationship between the risk score and clinicopathologic features as well as the overall survival (OS) was analyzed, and then was verified in the validation dataset.

Results: A total of 347 lncRNAs were identified as autophagy-related lncRNAs ($|R^2| > 0.3, P < 0.001$), including 26 lncRNAs with prognostic value for HCC patients. The risk model for predicting the prognosis of the patients was derived from the multivariate stepwise regression Cox analysis based on 12 autophagy-related lncRNAs (CYTOR, DANCR, LINC01138, LUCAT1, Mapkapk5-AS1, NRAV, NRSN2-AS1, LINC01871, LINC00864, LINC02362, TMEM220-AS1 and PSMB8-AS1). The risk scores of the 12- autophagy-related lncRNAs prognostic model was sufficiently associated with tumor grade, tumor stage and T stage (all $P < 0.05$), but irrelevant to the age and sex of the patients (both $P > 0.05$). In this model, the area under curve (AUC) of the time-dependent ROC for the 1, 3 and 5-year overall survival were 0.801, 0.819 and 0.787 in the train dataset, and the AUC of the time-dependent ROC for the 1, 3 and 5-year overall survival were 0.694, 0.733 and 0.746 in the validation dataset.

Conclusion: The identified autophagy-related lncRNAs may play critical roles in the oncobiology of HCC, and the 12- autophagy-related lncRNAs has certain predictive value for the prognosis of HCC.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; RNA, Long Noncoding; Autophagy; Prognosis

CLC number: R735.7

在全球范围内，肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）是常见的癌症之一，在因癌症死亡原因中占第4位，并且其发病率预计将来还会增加^[1]。HCC的主要治疗手段为肝癌切除术^[2]，而手术后较高的转移率和复发率严重影响着HCC患者的治疗效果和生存期^[3-4]。且由于HCC早期无明显症状难以发现、较早出现肝内转移等原因导致许多HCC患者在诊断时已经失去了手术的机会^[5]。因此有效的预后标志模型可能有助于指导个体治疗策略的制定从而改善患者生存期。

自噬是溶酶体依赖细胞内降解途径，通过降解不需要的细胞成分在生理、病理生理环境中对细胞生存、分化、发育和调节细胞稳态至关重要的生理过程^[6]。在生理情况下，自噬通过细胞内降

解机制分解受损的细胞器从而维持细胞内环境稳定^[7]。自噬过程同样参与许多病理过程，如神经退行性疾病，衰老和癌症^[8-9]。越来越多的证据表明自噬失调与肝脏疾病如脂肪肝、肝硬化和HCC的发病机理有关^[10]。近些年，许多研究小组试图将自噬基因确立为癌症的潜在治疗靶标^[11-12]。有研究^[13-14]表明自噬药物可以用作药理剂，以克服HCC治疗中化疗的局限性，例如药物毒性和耐药性。但这是否是一个替代性的和正在出现的概念仍然是一个巨大的挑战^[15]。以自噬调节为视角和潜在治疗目标的研究数目越来越多，自噬可能将成为一种潜在的方法来治疗HCC^[16]。有研究^[17]表明IFN- γ 通过诱导自噬体的形成和微管相关蛋白1轻链3蛋白的转化抑制人HCC细胞生长和非凋亡性

细胞死亡。越来越多的研究突显了自噬在HCC中的重要性,其中确定主要的自噬靶标研究尤为重要。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类无蛋白编码功能的RNA序列,lncRNA涉及RNA衰变,基因表达的遗传调控,RNA剪接,microRNA调控和蛋白质折叠等多种生理过程^[18]。其异常表达与多种癌症的发生、发展密切相关,并具有诊断及预后价值^[19]。通过lncRNA-mRNA共表达分析可以较好评估lncRNA的功能^[20-21]。在HCC发生、发展及预后中,发现许多lncRNA在扮演着重要作用。有研究^[22-23]表明,在HCC中存在lncRNA介导转录和自噬相关基因转录后水平调控自噬调控网络。因此,自噬相关的lncRNA可能在HCC患者的预后中具有潜在价值,并且可以作为潜在的治疗靶标。本研究旨在建立HCC中自噬相关的lncRNA预后模型。

1 材料与方法

1.1 材料

HCC患者转录组测序及临床数据从TCGA数据库获取(<https://cancergenome.nih.gov>)。下载的转录组测序数据包含HCC患者374例癌组织以及50例癌旁组织的mRNA和lncRNA表达数据。HCC患者的临床数据包括374例HCC的临床相关资料,如生存时间、生存状态、年龄、性别、肿瘤分级和病理分期等。

1.2 方法

1.2.1 自噬相关lncRNA的筛选 从HADb网站(<http://autophagy.lu/clustering/index.html>)获取自噬基因列表。从374例HCC TCGA RNA数据集中获得lncRNA和自噬相关基因的表达数据。利用Pearson相关性分析计算lncRNA与自噬相关基因的相关性。满足 $|R^2|>0.3$ 且 $P<0.001$ 的lncRNA被认为是自噬相关的lncRNA。

1.2.2 数据的预处理 删除在HCC患者中生存时间少于30 d的患者,用于生存分析的数据集包括342例HCC患者的自噬相关lncRNA表达数据和临床资料。利用R软件中caret程序包将用于预后分析的342例TCGA的HCC数据集样本按70%与30%的比例分为训练集($n=242$)和内部验证集($n=100$)。

1.2.3 风险预后模型的构建及分析 首先,进行单因素Cox回归分析及KM法以评估自噬相关

lncRNA的预后价值。筛选出满足上述2种方法 P 值均 <0.05 与HCC患者预后相关的lncRNA。使用多因素Cox回归分析对具有预后意义的自噬相关lncRNA进行筛选并建立风险评估模型。使用风险评估计算公式为每个患者计算风险评估: $\text{风险评估} = \text{coef}_{\text{基因1}} \times \text{expr}_{\text{基因1}} + \text{coef}_{\text{基因2}} \times \text{expr}_{\text{基因2}} + \dots + \text{coef}_{\text{基因N}} \times \text{expr}_{\text{基因N}}$ 。通过加权lncRNA的表达水平与回归系数(coef)得到风险评估。coef值是通过多因素Cox回归分析得到的回归系数;lncRNA表达定义为 $\text{expr}_{\text{基因n}}$ 。根据中位风险评分划分高风险组和低风险组。利用R 3.6.3软件中survival程序包绘制模型预后的生存曲线,并比较两组患者之间生存的差异。绘制预后模型的ROC曲线以评价模型的灵敏度和特异性。使用R软件中survivalROC程序包绘制ROC曲线并计算其AUC数值。

1.3 统计学处理

使用Kaplan-Meier法比较高风险组和低风险组的总生存期(OS),采用对数秩检验计算 P 值。使用单变量和多变量Cox分析来评估风险评估与临床病理特征或OS之间的关系。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。自噬相关lncRNA共表达网络的构建使用Cytoscape软件(版本3.6.0)完成。

2 结果

2.1 自噬基因-lncRNA共表达网络的构建

从TCGA数据库中提取了TCGA数据集中总共3 888个lncRNA。从HADb中总共提取了256个自噬相关基因。通过构建自噬相关基因-lncRNA共表达网络,鉴定与自噬相关的lncRNA。最后,347个lncRNA鉴定为自噬相关lncRNA。

2.2 鉴定HCC患者的12种自噬相关lncRNA的特征

在242例TCGA训练集中基于347种自噬相关的lncRNA使用单因素Cox回归分析和KM法来筛选具有预后意义的自噬相关lncRNA。同时满足Kaplan-Meier法及单因素Cox方法 P 值均 <0.05 的lncRNA被考虑为具有预后意义的自噬相关lncRNA。共有26个lncRNA对HCC患者具有预后价值($P<0.05$)。随后,进一步使用多因素Cox回归分析对这些lncRNA进行筛选后构建预后模型,同时依据赤池信息量准则(Akaike information criterion, AIC)对模型进行优化,最优 $AIC=797.82$ 。最后12个

lncRNA被用于构建预后模型（表1）（图1）。随后构建预后相关自噬lncRNA共表达网络（图2）。同时绘制12个自噬相关lncRNA和自噬相关基因及对患者总生存期的关系的组合桑基图（图3）。

2.3 自噬相关的 lncRNA 模型对 HCC 的预后影响

使用风险评分公式计算自噬相关lncRNA模型的风险评分（表2），风险评分公式： $风险分数 = coef_{基因1} \times expr_{基因1} + coef_{基因2} \times expr_{基因2} + \dots + coef_{基因N} \times expr_{基因N}$ 。按中位风险评分值将训练集HCC患者分为两组（低风险组和高风险组）。利用R 3.6.3软件中的survival程序包根据患者风险评分分析生存差异，绘制风险评分曲线、生存状态图及12个lncRNA表达热图（图4）。随着风险

评分的升高，高风险评分组患者的死亡人数显著多于低风险评分组，说明高风险评分组的患者整体生存率较差。风险模型还可以预测HCC患者的生存时间，其中低风险组的总生存时间比高风险组的总生存时间更长（图5）。此外，还通过多元Cox回归分析探讨了风险评分签名是否是HCC患者预后的独立预测因子。在消除了其他因素（如性别，年龄，肿瘤分级和分期）的影响后，该风险评分模型仍可显著预测HCC患者的生存（ $HR=1.201, 95\% CI=1.141\sim 1.264, P<0.001$ ）（表3）。随后，利用survivalROC程序包绘制模型的ROC曲线以评价模型的灵敏度和特异性（1、3和5年AUC分别为0.801，0.819和0.787）（图6）。

表 1 12 个与 HCC 预后有关自噬相关 lncRNA

Table 1 The 12 autophagy-related lncRNAs significantly associated with the prognosis of HCC

lncRNA	KM	B	SE	HR	95% CI	P
CYTOR	0.002	0.064	0.018	1.067	1.029~1.105	<0.001
DANCR	0.014	0.028	0.009	1.029	1.011~1.047	0.001
LINC00864	0.046	-0.372	0.182	0.689	0.482~0.986	0.041
LINC01138	0.002	0.472	0.127	1.604	1.250~2.057	<0.001
LINC01871	0.004	-0.146	0.069	0.864	0.754~0.989	0.035
LINC02362	0.014	-0.106	0.043	0.899	0.825~0.980	0.016
LUCAT1	0.023	0.282	0.067	1.325	1.163~1.510	<0.001
MAPKAPK5-AS1	0.002	0.104	0.041	1.11	1.025~1.201	0.01
NRAV	<0.001	0.197	0.053	1.218	1.099~1.350	<0.001
NRSN2-AS1	0.029	0.24	0.096	1.272	1.054~1.535	0.012
PSMB8-AS1	0.009	-0.089	0.042	0.915	0.843~0.993	0.033
TMEM220-AS1	0.002	-0.278	0.095	0.757	0.629~0.911	0.003

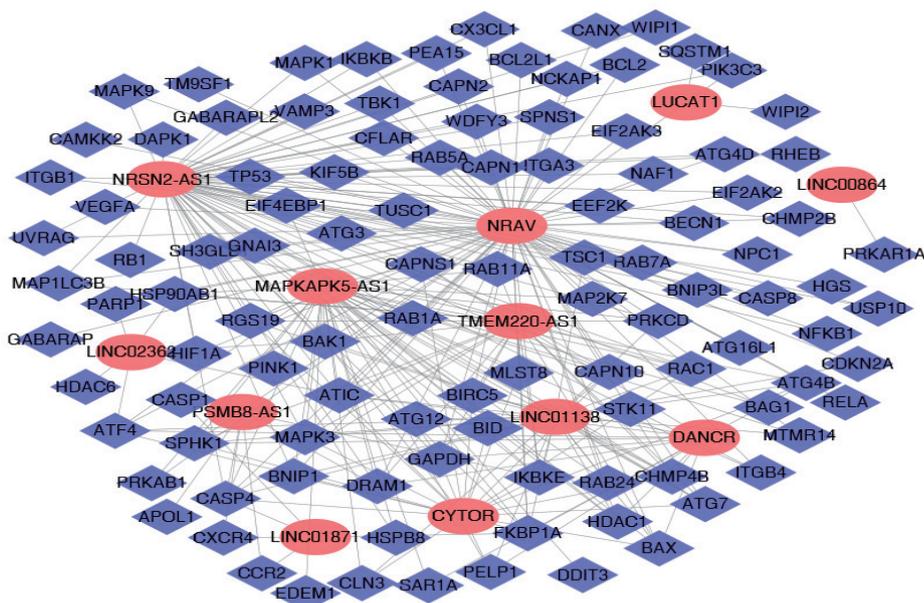


图 1 HCC 中 12 个 lncRNA 与自噬基因共表达的网络图（lncRNA 为红色节点，自噬基因为蓝色节点）

Figure 1 Network of the 12 lncRNAs with the co-expressed autophagy genes in HCC (the red nodes indicating the lncRNAs, the blue nodes indicating the autophagy genes)

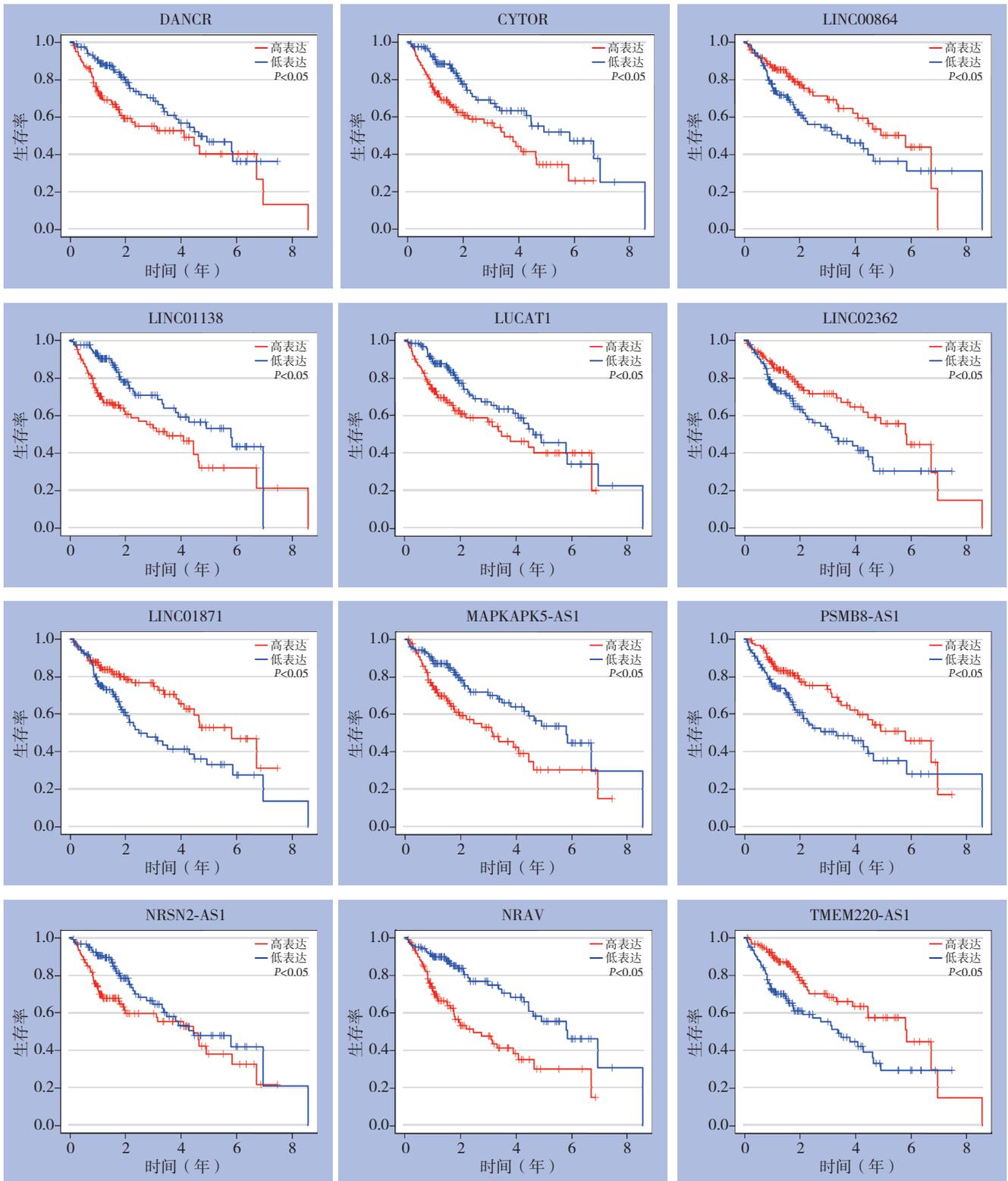


图 2 训练集中 12 个 lncRNA 的生存曲线图

Figure 2 Survival curves for the 12 prognostic lncRNAs in the train dataset

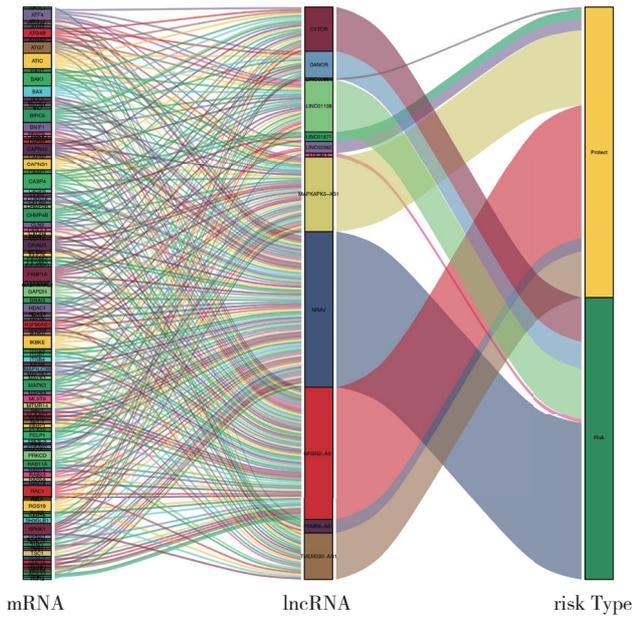


图 3 12 个 lncRNAs 与自噬基因关系及对 HCC 患者预后的影响

Figure 3 The relationship between 12 lncRNAs and autophagy genes and its effect on the prognosis of the HCC patients

表 2 训练集中 12 个 lncRNA 多因素 Cox 回归分析
Table 2 Multivariate Cox regression analysis of the 12 lncRNAs in the train dataset

lncRNA	coef	HR	95% CI	P
CYTOR	0.044	1.044	0.990~1.102	0.109
DANCR	0.033	1.034	1.010~1.057	0.005
LINC00864	-0.536	0.585	0.397~0.862	0.007
LINC01138	0.421	1.524	1.138~2.040	0.004
LINC01871	-0.162	0.851	0.710~1.018	0.079
LINC02362	-0.075	0.927	0.863~0.996	0.039
LUCAT1	0.242	1.273	1.094~1.482	0.001
MAPKAPK5-AS1	-0.107	0.891	0.785~1.028	0.119
NRAV	0.164	1.178	0.972~1.429	0.094
NRSN2-AS1	-0.262	0.769	0.534~1.101	0.158
PSMB8-AS1	-0.119	0.887	0.800~0.984	0.023
TMEM220-AS1	-0.181	0.834	0.679~1.024	0.083

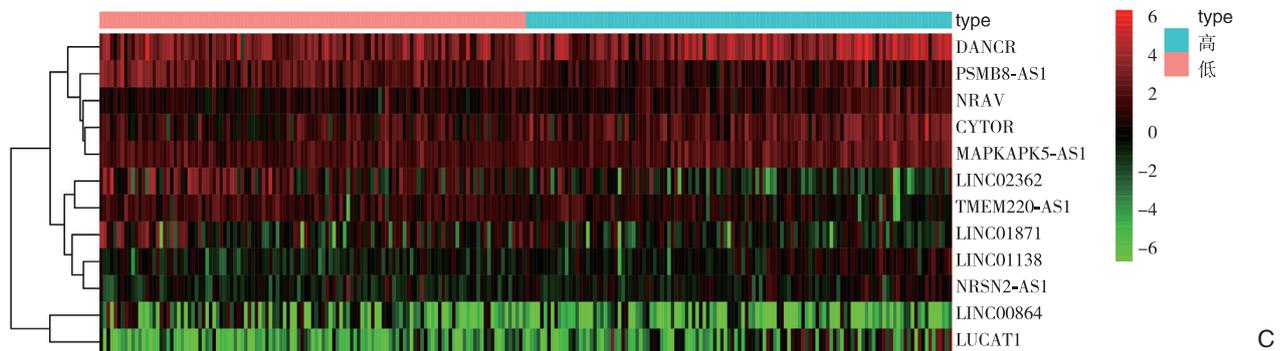
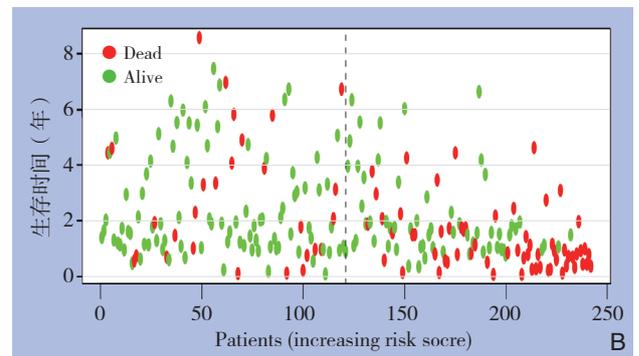
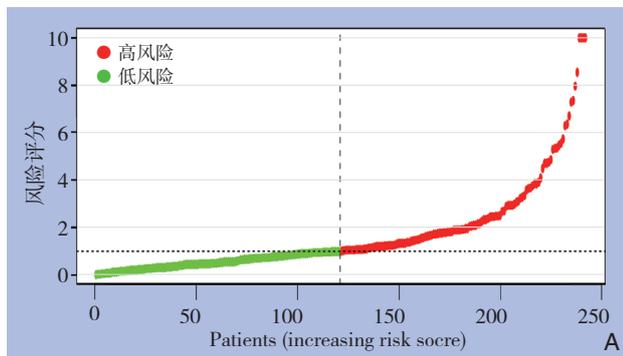


图 4 训练集中 HCC 患者的自噬相关 lncRNA 风险评分分析 A: 自噬相关 lncRNA 信号的低分组与高分组; B: HCC 患者存活状态及生存时间; C: HCC 患者中 12 个 lncRNA 表达的热图

Figure 4 Risk score analysis of the autophagy-related lncRNAs in train dataset A: The low score group and high score group of the autophagy-related lncRNA signals; B: The survival status and duration of the HCC patients; C: Heatmap of the expressions of the 12 key lncRNAs in HCC patients

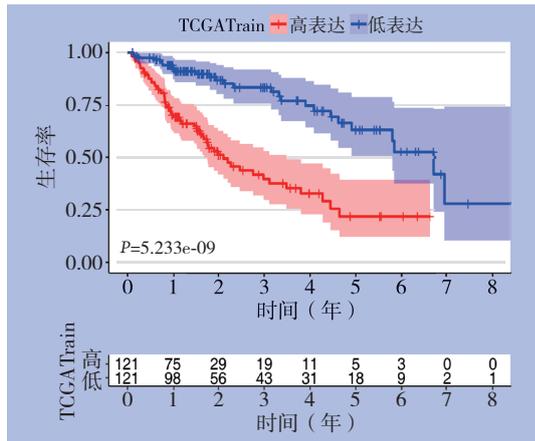


图 5 训练集中不同风险评分 HCC 患者的生存曲线

Figure 5 Survival curves of the HCC patients with different risk scores in the train dataset

表 3 训练集 HCC 患者临床特征及风险评分的多因素 Cox 回归分析

Table 3 Multivariate Cox regression analysis of characteristics and risk score of the HCC patients in the train dataset

因素	HR	95% CI	P
年龄	1.004	0.986~1.021	0.679
性别	0.88	0.539~1.436	0.608
肿瘤分级	0.956	0.685~1.333	0.79
肿瘤分期	1.363	0.61~3.048	0.449
T 分期	1.237	0.584~2.623	0.578
风险评分	1.201	1.141~1.264	<0.001

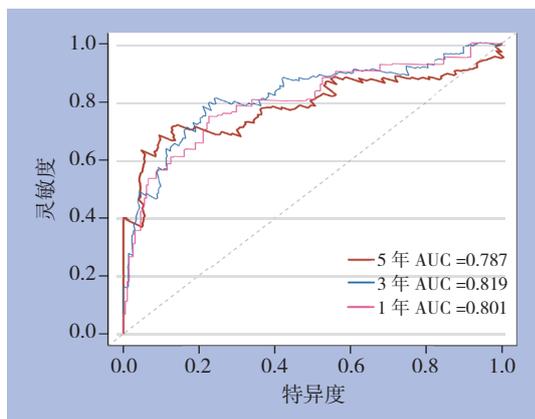


图 6 训练集中风险模型的 1、3、5 年生存的时间依赖性 ROC 曲线

Figure 6 Time-dependent ROC curves of the risk model for the 1-, 3- and 5-year survival in train dataset

2.4 预后模型与 HCC 患者的临床病理特征的关系

随后分析了 12-自噬相关 lncRNA 风险评分在年龄、性别、分级、分期等方面的临床价值。结果显示, 肿瘤分级、肿瘤分期和 T 分期越高, 患者风险评分越高, 提示该 12-自噬相关 lncRNA 模型

可能与 HCC 的进展有关; 而在不同年龄和性别间无统计学差异 (均 $P > 0.05$) (表 4)。

表 4 预后模型风险评分与患者临床因素的关系

Table 4 The relationship between risk score and clinical factors in patients train dataset

因素	n	数值 ($\bar{x} \pm s$)	t	P
年龄 (岁)				
≤ 60	122	1.702 ± 1.959	-0.092	0.927
> 60	103	1.733 ± 2.802		
性别				
女	66	1.606 ± 1.685	-0.534	0.594
男	159	1.762 ± 2.614		
肿瘤分级				
1~2	142	1.470 ± 2.437	-2.099	0.037
3~4	83	2.138 ± 2.221		
肿瘤分期				
I~II	160	1.410 ± 1.750	-2.410	0.018
III~IV	65	2.471 ± 3.369		
T 分期				
T ₁₋₂	161	1.426 ± 1.757	-2.286	0.025
T ₃₋₄	64	2.446 ± 3.389		

2.5 内部验证集中的验证

使用相同 coef 值在内部验证集 ($n=100$) 中进一步验证这些结果。根据风险评分的中位值将这些患者分为高风险和低风险组。与从训练集得出的结果一致, 高风险患者的中位 OS 比低风险患者的中位 OS 短 ($P=0.0236$) (图 7)。所构建的 lncRNA 模型在内部验证集中预测患者 1、3、5 年生存的时间依赖性 ROC 曲线的 AUC 分别为 0.694、0.733 和 0.746 (图 8)。

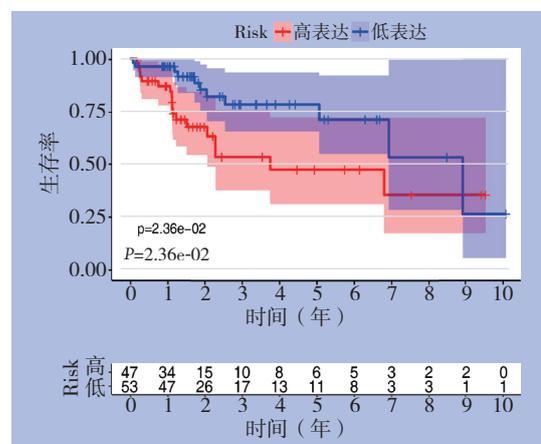


图 7 验证集中不同风险评分 HCC 患者的生存曲线

Figure 7 Survival curves of the HCC patients with different risk scores in the validation dataset

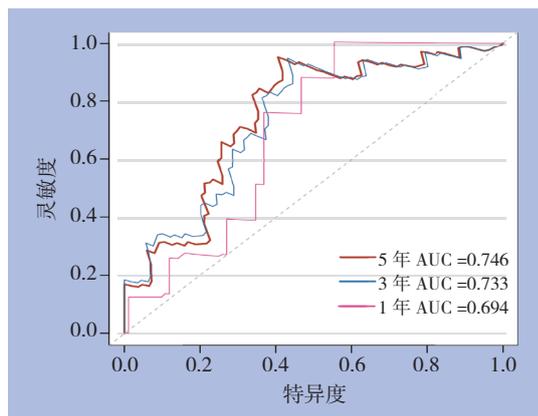


图8 验证集中预后模型的1、3、5年生存的时间依赖性ROC曲线

Figure 8 Time-dependent ROC curves of the risk model for the 1-, 3- and 5-year survival in the validation dataset

3 讨论

随着高通量测序技术的成熟，通过检测lncRNA表达的改变来预测HCC的预后的研究也越来越来，例如UCA1^[24]和HOTAIR^[25]。已有研究^[26]表明可以使用多个自噬相关lncRNA构建模型有效的预测神经胶质瘤患者的预后。目前为止，还没有可以预测HCC患者生存的自噬相关lncRNA模型。因此，有必要建立相关预后模型来预测HCC患者的预后。

在本研究中，通过TCGA数据库中HCC数据集探讨HCC患者自噬相关lncRNA的预后作用。本研究通过lncRNA-自噬基因共表达网络鉴定了347个自噬相关lncRNA。随后筛选出12个最具预后意义的自噬相关lncRNA。在12种自噬相关的lncRNA中，CYTOR、DANCR、LINC01138、LUCAT1、MAPKAPK5-AS1、NRAV和NRSN2-AS1的高表达与患者总生存期成负相关，而LINC01871、LINC00864、LINC02362、TMEM220-AS1和PSMB8-AS1的高表达与患者的总生存期成正相关。在先前的研究中已经报道了这些基因中的大多数在HCC或其他恶性肿瘤的预后密切相关。LINC01138^[27-28]在HCC组织中表达显著增加，并且与HCC的临床病理特征呈正相关，可能是HCC患者预后预测的潜在有价值的候选标志物。DANCR^[29]被证明在HCC组织中明显过表达，并与HCC患者的预后呈负相关，且在体外和体内促进HCC细胞中索拉非尼的耐药性。MAPKAPK5-AS1^[30]在HCC中与总体存活率显著相关，有可能成

为HCC的预后因子。LUCAT1^[31]在HCC组织中高表达，且其与患者年龄、肿瘤组织学分级、肿瘤T分期和生存状态显著相关，是HCC患者生存不良的独立危险因素。本研究和这些有类似的结果。

使用12-自噬相关lncRNA构建预后模型，计算风险评分，分析风险评分与临床病理特征及预后的关系。结果显示，在训练集中风险评分与HCC患者肿瘤分级、肿瘤分期和T分期有关($P<0.05$)，在较高的肿瘤分级、分期中，患者的风险评分趋于增加，表明该lncRNA模型可能与HCC的进展有关。通过多变量Cox回归分析，该风险预后模型是与影响HCC患者预后的独立危险因素($P<0.001$)。该风险模型对训练集HCC患者的1、3、5年生存的时间依赖性ROC曲线的AUC分别为0.801，0.819和0.787，同时在验证集中同样具有较好的预测能力，其1、3、5年生存的时间依赖性ROC曲线的AUC分别为0.694、0.733和0.746。本研究构建的自噬lncRNA预后模型在内部验证集中同样具有较好的灵敏度和特异性。根据这些结果，该12-自噬相关lncRNA模型为HCC患者的预后提供可靠的预测。而且12-自噬相关lncRNA是潜在的自噬相关治疗靶点，对于个性化治疗方案的制定也可能具有参考价值。

本研究仍存在局限性，首先，这是一项回顾性研究，研究数据源自于TCGA数据库，因此可能产生一些误差。其次，该预后模型仍有必要在其他独立的队列中进一步进行验证，以明确该模型的稳定性，对于该模型基因中未被证实功能性实验证实与HCC预后相关的基因需要进一步实验揭示其潜在作用机制。

通过构建自噬基因-lncRNA共表达网络，鉴定了12个自噬相关的lncRNA的预测模型，该模型对预测HCC患者1、3、5年生存率均有较好的灵敏度及特异性。虽然本研究中12-自噬相关lncRNA风险预后模型可以较准确的预测HCC患者的预后，但仍需要通过前瞻性实验来进一步验证。

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. doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] 陈世发, 赵礼金. 肝癌发生发展机制的研究进展及其治疗现

- 状[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(7):910–923. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.07.016.
- Chen SF, Zhao LJ. Research progress on mechanisms for occurrence of liver cancer and its treatment status[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2018, 27(7):910–923. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.07.016.
- [3] Song X, Du R, Gui H, et al. Identification of potential hub genes related to the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma through integrated bioinformatics analysis[J]. Oncol Rep, 2020, 43(1):133–146. doi: 10.3892/or.2019.7400.
- [4] 乐琪, 朱同恩, 莫志远, 等. 原发性肝癌患者手术切除术后早期复发影响因素分析[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(1):18–23. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.01.003.
- Le Q, Zhu TE, Mo ZY, et al. Analysis of factors for early recurrence of patients with hepatocellular carcinoma after resection[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(1):18–23. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.01.003.
- [5] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(6):394–399. doi: 10.3322/caac.21161.
- [6] Levy J, Towers CG, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(9):528–542. doi: 10.1038/nrc.2017.53.
- [7] Luo L, Qin ZH. Autophagy, Aging, and Longevity[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1206:509–525. doi: 10.1007/978-981-15-0602-4_24.
- [8] Kocaturk NM, Akkoc Y, Kig C, et al. Autophagy as a molecular target for cancer treatment[J]. Eur J Pharm Sci, 2019, 134:116–137. doi: 10.1016/j.ejps.2019.04.011.
- [9] Rajendran P, Alzahrani A M, Hanieh HN, et al. Autophagy and senescence: A new insight in selected human diseases[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12):21485–21492. doi: 10.1002/jcp.28895.
- [10] Gual P, Gilgenkrantz H, Lotersztajn S. Autophagy in chronic liver diseases: the two faces of Janus[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2017, 312(3):C263–273. doi: 10.1152/ajpcell.00295.2016.
- [11] Deng S, Shanmugam MK, Kumar AP, et al. Targeting autophagy using natural compounds for cancer prevention and therapy[J]. Cancer, 2019, 125(8):1228–1246. doi: 10.1002/ncr.31978.
- [12] Cirone M, Gilardini Montani MS, et al. Autophagy manipulation as a strategy for efficient anticancer therapies: possible consequences[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):262. doi: 10.1186/s13046-019-1275-z.
- [13] White E, DiPaola R S. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(17):5308–5316. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5023.
- [14] 胡若冰, 杨玉秀, 李修岭, 等. 氯喹对肝癌细胞体内外生长的影响及其与自噬的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(1):61–68. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.01.008.
- Hu RB, Yang YX, Li XL, et al. Effect of chloroquine on growth of liver cancer cells and its relationship with autophagy[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(1):61–68. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.01.008.
- [15] Lee YG, Jeon TI. Modulation of the Autophagy-lysosomal Pathway in Hepatocellular Carcinoma Using Small Molecules[J]. Molecules, 2020, 25(7):1580. doi: 10.3390/molecules25071580.
- [16] Kiruthiga C, Devi KP, Nabavi SM, et al. Autophagy: A Potential Therapeutic Target of Polyphenols in Hepatocellular Carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(3):562. doi: 10.3390/cancers12030562.
- [17] Li P, Du Q, Cao Z, et al. Interferon- γ induces autophagy with growth inhibition and cell death in human hepatocellular carcinoma (HCC) cells through interferon-regulatory factor-1 (IRF-1)[J]. Cancer Lett, 2012, 314(2):213–222. doi: 10.1016/j.canlet.2011.09.031.
- [18] Lin A, Li C, Xing Z, et al. The LINK-A lncRNA activates normoxic HIF1 α signalling in triple-negative breast cancer[J]. Nat Cell Biol, 2016, 18(2):213–224. doi: 10.1038/ncb3295.
- [19] Rachagani S, Macha MA, Heimann N, et al. Clinical implications of miRNAs in the pathogenesis, diagnosis and therapy of pancreatic cancer[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 81:16–33. doi: 10.1016/j.addr.2014.10.020.
- [20] Guo Q, Cheng Y, Liang T, et al. Comprehensive analysis of lncRNA-mRNA co-expression patterns identifies immune-associated lncRNA biomarkers in ovarian cancer malignant progression[J]. Sci Rep, 2015, 5:17683. doi: 10.1038/srep17683.
- [21] Pang W, Lian F Z, Leng X, et al. Microarray expression profiling and co-expression network analysis of circulating lncRNAs and mRNAs associated with neurotoxicity induced by BPA[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2018, 25(15):15006–15018. doi: 10.1007/s11356-018-1678-y.
- [22] Yang L, Zhang X, Li H, et al. The long noncoding RNA HOTAIR activates autophagy by upregulating ATG3 and ATG7 in hepatocellular carcinoma[J]. Mol Biosyst, 2016, 12(8):2605–2612. doi: 10.1039/c6mb00114a.
- [23] Jing Z, Ye X, Ma X, et al. SNGH16 regulates cell autophagy to promote Sorafenib Resistance through suppressing miR-23b-3p via sponging EGR1 in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Med, 2020, 9(12):4324–4338. doi: 10.1002/cam4.3020.
- [24] Zhang Z, Li JZ, Wei ZW, et al. Correlation between expression levels of lncRNA UCA1 and miR-18a with prognosis of hepatocellular cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(7):3586–3591. doi: 10.26355/eurrev_202004_20820.
- [25] Gong X, Zhu Z. Long Noncoding RNA HOTAIR Contributes to Progression in Hepatocellular Carcinoma by Sponging miR-

- 217–5p[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2020, 35(5):387–396. doi: 10.1089/cbr.2019.3070.
- [26] Luan F, Chen W, Chen M, et al. An autophagy-related long non-coding RNA signature for glioma[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(4):653–667. doi: 10.1002/2211–5463.12601.
- [27] Li Z, Zhang J, Liu X, et al. The LINC01138 drives malignancies via activating arginine methyltransferase 5 in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1572. doi: 10.1038/s41467–018–04006–0.
- [28] Jiang H, Shi X, Ye G, et al. Up-regulated Long Non-Coding RNA DUXAP8 Promotes Cell Growth Through Repressing Krüppel-like Factor 2 Expression in Human Hepatocellular Carcinoma[J]. *Oncotargets Ther*, 2019, 12:7429–7436. doi: 10.2147/OTT.S214336.
- [29] Liu Y, Chen L, Yuan H, et al. LncRNA DANCER Promotes Sorafenib Resistance via Activation of IL-6/STAT3 Signaling in Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13:1145–1157. doi: 10.2147/OTT.S229957.
- [30] Zhang J, Fan D, Jian Z, et al. Cancer Specific Long Noncoding RNAs Show Differential Expression Patterns and Competing Endogenous RNA Potential in Hepatocellular Carcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10):e0141042. doi: 10.1371/journal.pone.0141042.
- [31] Jiao Y, Li Y, Ji B, et al. Clinical Value of lncRNA LUCAT1 Expression in Liver Cancer and its Potential Pathways[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2019, 28(4):439–447. doi: 10.15403/jgld-356.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 陈圣, 赵继森, 李靖华, 等. 肝细胞癌自噬相关长链非编码RNA预后模型的建立与分析[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(7):839–848. doi:10.7659/j.issn.1005–6947.2020.07.008

Cite this article as: Chen S, Zhao JS, Li JH, et al. Construction and analysis of prognostic model for hepatocellular carcinoma based on autophagy-related long non-coding RNAs[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(7):839–848. doi:10.7659/j.issn.1005–6947.2020.07.008

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计: 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究); 实验设计(应交代具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、正交设计等); 临床试验设计(应交代属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备条件以分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达: 当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 应写明所用统计分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等), 统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等)应可能给出具体的 P 值(如 $P=0.0238$); 当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 置信区间。

中国普通外科杂志编辑部