



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.07.008
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.07.008
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(7):814-821.

· 基础研究 ·

高迁移率族蛋白B1与肝癌细胞再增殖及肝癌患者预后的关系

贺思佳, 黄倩, 程进

(上海交通大学附属第一人民医院 肿瘤中心, 上海 200080)

摘要

背景与目的: 肝癌是消化系统常见恶性肿瘤, 肿瘤复发是导致其治疗失败的主要原因。高迁移率族蛋白B1 (HMGB1) 被证实在多种肿瘤组织中高表达, 在肿瘤发生发展中扮演着重要角色。本研究通过肝癌细胞再增殖体外模型与数据库分析, 探讨HMGB1与肝癌细胞再增殖以及与肝癌预后的关系。

方法: 选择肝癌细胞 Huh7 和 Li7 作为研究对象, 并通过转染萤火虫荧光素蛋白-水母绿色荧光蛋白融合蛋白 (Fluc-GFP) 基因质粒构建相对应的报告细胞 Huh7-Fluc 和 Li7-Fluc。以 10 Gy 剂量 X 射线照射过的 Huh7 和 Li7 作为饲养细胞, 分别与相应的报告细胞 Huh7-Fluc 和 Li7-Fluc 共培养构建肿瘤再增殖模型, 以单纯的报告细胞以及报告细胞与无 X 射线处理的饲养细胞共培养的体系为对照, 通过生物成像观察荧光素酶活性变化来判断报告细胞生长情况, 以及 HMGB1 抑制剂甘草酸 (Gly) 干预后的影响。通过 TIMER2.0 和 GEPIA2 数据库分析平台, 分析 HMGB1 在肝癌组织及癌旁组织的表达水平以及与肝癌预后的相关性。

结果: 与各自单纯报告细胞培养组以及报告细胞加无 X 射线处理饲养细胞共培养组比较, 再增殖模型组报告细胞增殖能力明显增强 (均 $P < 0.01$)。Gly 干预后, 再增殖模型组报告细胞的生长被明显抑制 (均 $P < 0.01$), 但单纯培养的报告细胞的生长无明显影响 (均 $P > 0.05$)。公共数据库检索结果显示, HMGB1 在肝癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织 ($P < 0.01$), HMGB1 高表达的肝癌患者总生存期短 ($P < 0.01$), HMGB1 的表达水平与肝癌患者的无病生存期无相关性 ($P > 0.05$)。

结论: HMGB1 参与了 X 射线诱导的肝癌细胞再增殖。HMGB1 在肝癌组织中的表达水平, 可作为肝癌患者的总生存期预后评估参考指标, 并为肝癌的临床治疗提供新思路。

关键词

癌, 肝细胞; HMGB1 蛋白质; 肿瘤再增殖; 预后

中图分类号: R735.7

Association of high mobility group box 1 with liver cancer cell repopulation and prognosis of liver cancer patients

HE Sijia, HUANG Qian, CHENG Jin

(Cancer Center, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200080, China)

Abstract

Background and Aims: Liver cancer is a common malignant tumor of the digestive system. Tumor recurrence is a major cause of treatment failure. High mobility group box 1 (HMGB1) has been found to be highly expressed in a variety of cancers, and play an important role in cancer development and

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903117; 81572951; 81972887)。

收稿日期: 2021-05-10; **修订日期:** 2021-06-17。

作者简介: 贺思佳, 上海交通大学附属第一人民医院主治医师, 主要从事肿瘤复发机制方面的研究。

通信作者: 程进, Email: ajinch@163.com

progression. Therefore, this study was designed to investigate the relations of HMGB1 with the repopulation of liver cancer cells and the prognosis of liver cancer through *in vitro* repopulation model of liver cancer cells and database analysis.

Methods: Liver cancer Huh7 and Li7 cells were chosen for this study. The two types of cells were transfected with plasmids carrying firefly luciferin and green fluorescent protein (Fluc-GFP) gene to construct respective reporter cells Huh7-Fluc and Li7-Fluc cells. The Huh7 and Li7 cells treated with X-ray irradiation at a dose of 10 Gy were used as feeder cells and then co-cultured with their corresponding reporter cells to construct the *in vitro* repopulation models, using the systems of pure reporter cells and co-culture of the reporter cells and feeder cells without X-ray treatment as controls. The growth conditions of the reporter cells were evaluated by analyzing the changes in their luciferase activities via bioimaging, on which the effects of HMGB1 inhibitor glycyrrhizin (Gly) intervention were also observed. The HMGB1 expression levels of liver cancer tissue and tumor adjacent tissue as well as its association with the prognosis of liver cancer were analyzed using the TIMER2.0 and GEPIA2 tumor data analysis platforms.

Results: Compared with respective pure reporter cells group and reporter cells plus non-irradiated feeder cells co-culture group, the growth abilities of the reporter cells in both repopulation groups were significantly enhanced (all $P < 0.01$). After Gly intervention, the growth abilities of the reporter cells in both repopulation models were significantly suppressed (both $P < 0.01$), but the growth conditions of the pure reporter cells showed no significant changes (both $P > 0.05$). The results of public database retrieval showed that the expression level of HMGB1 was higher in liver cancer than that in adjacent tissue ($P < 0.01$), and the overall survival time of liver cancer patients with high HMGB1 expression level was significantly shorter than those with low HMGB1 expression level ($P < 0.01$), and HMGB1 expression level was not correlated with disease free survival of liver cancer patients ($P > 0.05$).

Conclusion: HMGB1 is involved in liver cancer cell repopulation induced by X-ray irradiation. The HMGB1 expression level in liver cancer tissue can be used as reference index for predicting the prognosis of overall survival of liver cancer patients, which may also provide a new strategy for the clinical treatment of liver cancer.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; HMGB1 Protein; Tumor Repopulation; Prognosis

CLC number: R735.7

肝癌 (liver cancer) 是消化系统常见肿瘤,也是全球第六大常见癌症,被认为是导致癌症死亡的第二大原因^[1]。在我国,肝癌的发病率位于癌症的第5位,而其病死率在癌症病死率中高居第2位^[1-2]。目前,针对肝癌的分子靶向、化疗、放疗、免疫治疗等综合治疗逐渐成为主要的治疗手段,在一定程度上能够改善肝癌患者预后^[3-4],然而,肿瘤复发仍是肝癌治疗失败的主要原因^[5],因此,从分子水平研究肝癌复发的发病机制尤为重要。

肿瘤再增殖 (tumor repopulation) 是指在放、化疗等细胞毒性治疗过程中,大量肿瘤细胞发生死亡,而少量残存肿瘤细胞加速生长,形成新的肿瘤的过程^[6-7]。肿瘤再增殖被认为是导致治疗失

败和肿瘤复发的重要原因。有研究^[25]认为肿瘤干细胞参与肿瘤再增殖。也有文献^[10-11]报道认为血管新生、巨噬细胞参与肿瘤再增殖过程。本课题组前期研究^[6]发现放疗后诱导产生的凋亡细胞能够通过激活 caspase-3,进一步活化下游不依赖钙离子的磷脂酶 A₂ (Ca²⁺-independent phospholipase A₂, iPLA₂),在 iPLA₂的作用下,花生四烯酸转化为前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂),以一种旁分泌的方式促进周围残存肿瘤细胞生长。这项研究首次提出放疗诱导的凋亡细胞能够刺激残存肿瘤细胞再增殖,阐明了 caspase-3-iPLA₂-PGE₂ 信号通路在其中的重要作用。此外,本课题^[12]还发现蛋白激酶 C- δ (protein kinase C- δ , PKC δ) 作为 caspase-3 的

底物，通过旁分泌 VEGF-A 促进周围残存肿瘤细胞生长。由此可见，肿瘤再增殖是多重机制调控的结果，不断更新研究结果将帮助更好地认识肿瘤再增殖这一过程。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是一种 DNA 结合蛋白，其表达水平仅次于组蛋白，研究发现 HMGB1 在多种肿瘤细胞及组织中过度表达，并参与 DNA 复制、转录、修复、肿瘤增殖、转移等过程^[13-16]。因此，本研究通过构建肝癌细胞再增殖体外模型以及数据库分析，探讨 HMGB1 与肝癌再增殖之间的相关性与临床意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

胎牛血清购自 Gibco 公司，0.25% 胰蛋白酶、Lipofectamine 2000 购自 Thermo Fisher 公司，RPMI-1640 和 DMEM 高糖培养基购自 GE Healthcare 公司，嘌呤霉素购自上海生工，荧光素酶底物 (D-luciferin potassium) 购自 Promega 公司，质粒 DNA 抽提试剂盒购自 Omega 公司，甘草酸 (Glycyrrhizin, Gly) 购自于 Santa Cruz Biotechnology 公司，本实验中所采用的质粒：plex-GFP-luc2、psPAX2、pMD2.G 均由本课题组实验室构建保存。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 本研究采用的 Huh7 和 Li7 人源肝癌细胞株均购自上海中科院，Huh7 选用 DMEM 高糖培养基培养，Li7 选用 RPMI-1640 培养基培养，培养基均添加 10% 胎牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 U/mL 链霉素和青霉素。所有细胞均置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 的恒温培养箱培养。

1.2.2 构建荧光素酶标记的报告细胞 利用 293T 工具细胞和 Lipo2000 转染试剂盒按照说明书进行慢病毒包装^[17]。将 5×10^5 个 Huh7 和 Li7 细胞分别铺于 3.5 cm 培养皿中，待细胞贴壁后，以 1:1 将 1 mL 包装好的慢病毒液和 1 mL 10% 完全培养基充分混合后加入培养皿继续培养细胞，24 h 后更换新鲜的 10% 完全培养基。若荧光显微镜下 GFP 阳性的细胞超过 30% 则将细胞全部消化接种至 10 cm 培养皿中，待生长汇合度达到 70% 左右，更换含有嘌呤霉素 (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 10% 完全培养基进行筛选，筛选 2~4 周，获得稳定表达 Fluc-GFP 的 Huh7 和 Li7 作为报告细胞，分别命名为 Huh7-Fluc 和 Li7-Fluc 细胞。

1.2.3 利用小动物活体成像仪进行肿瘤细胞生物成像 往铺有细胞的 24 孔板或者 96 孔板中加入荧光素酶底物 (终浓度 0.15 mg/mL)，然后置入小动物成像仪中进行生物成像，检测荧光素酶活性。

1.2.4 验证细胞数量与荧光素酶活性之间的线性关系 为了证明报告细胞的数量与其所表达的荧光素酶活性呈线性关系，将对数生长期的 Huh7-Fluc 和 Li7-Fluc 细胞消化后计数，以 250、500、750、1 000、1 200、1 500、1 750 和 2 000 个铺于 96 孔板中，每组设置 3 个复孔，每孔加入 100 μL 10% 完全培养基。24 h 后待细胞贴壁后将 24 孔板置于小动物活体成像仪中成像，并将所测得各组的光信号强度与报告细胞的数量进行统计学分析，为构建体外肝癌细胞再增殖模型提供基础。

1.2.5 构建肝癌细胞再增殖模型 取对数生长期的肝癌细胞 Huh7 消化后计数，按照 1×10^5 个/孔铺于 24 孔板中，每组设置 3 个复孔。24 h 后待细胞贴壁后，将 24 孔板置于 Onor 线性加速器 (上海市第一人民医院放射治疗科，剂量率为 3.6 Gy/min) 中进行或不进行单次 10 Gy 剂量 X 射线照射处理，以此作为饲养细胞。次日，将 Huh7-Fluc 细胞按照 1 000 个/孔分别铺入饲养细胞所在的 24 孔板中，另在空白孔中按照 1 000 个/孔单纯接种报告细胞作为阴性对照。24 孔板以 2% 完全培养基每孔 1 mL 继续培养，隔天换液。培养 6 d 后，进行细胞化学发光成像。Li7 肝癌细胞再增殖模型构建方法同 Huh7。

1.2.6 使用 HMGB1 抑制剂处理肝癌细胞再增殖模型 肝癌细胞再增殖模型构建同前，对饲养细胞和报告细胞共培养组、报告细胞单独培养组均设立 HMGB1 抑制剂 Gly 处理组和对照组，均在每隔 2 d 更换 2% 完全培养基时加入。加药处理 4 次后进行细胞生物成像。

1.2.7 TIMER2.0、GEPIA2 数据库分析 TIMER2.0 是一个免费的交互式 Web 服务数据库，其中 Exploration 模块中的 Gene_DE 可用于分析 TCGA 数据库 HMGB1 在肝癌与癌旁组织之间的表达差异^[18]。登录此数据库网址 (<http://timer.cistrome.org>)，选择 Exploration 中的 Gene_DE，在 Gene Expression 中输入 HMGB1 即可获得 HMGB1 在肝癌及癌旁组织中的表达差异。GEPIA2 (gene expression profiling interactive analysis) 即基因表达谱数据动态分析，是一个基于 TCGA 与 GTEx 转录组数据库建立的可视化癌症

大数据分析平台。利用此平台对HMGB1表达水平与肝癌患者生存预后的关系进行分析^[19]。筛选条件设置为:(1) gene: HMGB1;(2) methods: overall survival;(3) group cutoff: quartile;(4) hazards ratio (HR): yes;(5) 95% confidence interval: yes;(6) axis units: months;(7) datasets selection (cancer name): LIHC。

1.3 统计学处理

实验数据均采用SPSS 22.0分析。数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。相关性分析采用Spearman等级相关分析,两组间均数比较采用Student's *t*检验,多组间差异的比较采用单因素方差分析,采用Kaplan-Meier分析方法绘制生存曲线,

Log-rank检验来分析HMGB1的表达与肝癌预后的相关性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稳定表达荧光素酶的肝癌细胞的数量与光信号强度呈线性相关

通过将所测得的各项化学发光信号强度与报告细胞数量进行统计学分析,结果显示稳定表达荧光素酶的Huh7-Fluc和Li7-Fluc细胞数量与光信号强度之间呈现出良好的线性关系, R^2 分别为0.989 9和0.990 1(图1)。因此,本实验通过成像检测化学发光信号强度来反映报告细胞的增殖情况,为构建体外肝癌肿瘤再增殖模型提供基础。

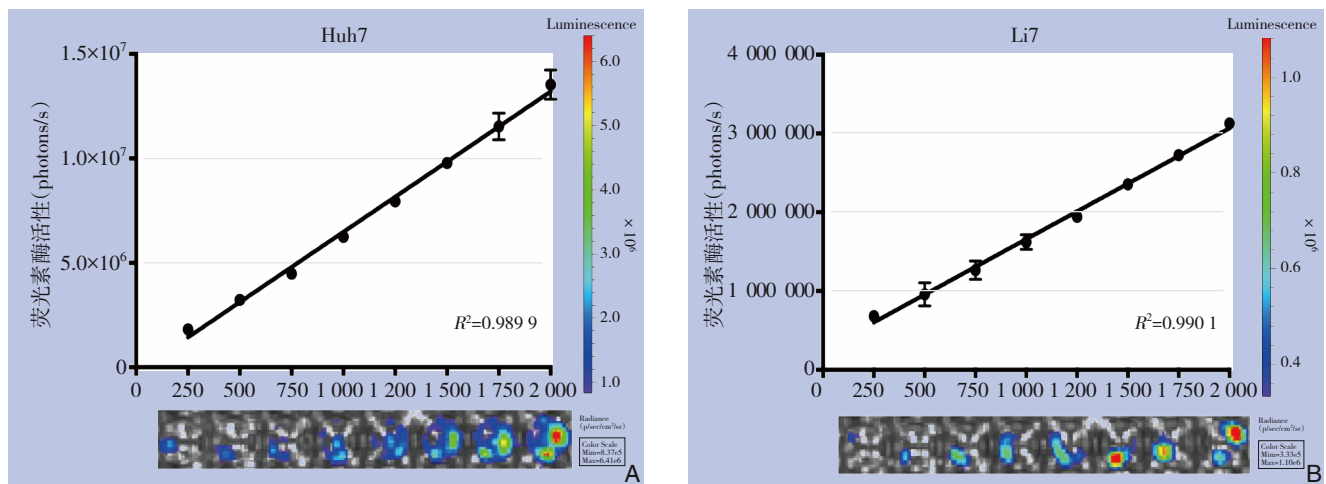


图1 报告细胞的数量与荧光素酶活性的线性关系 A: Huh7-Fluc报告细胞的数量与荧光素酶活性呈线性关系; B: Li7-Fluc报告细胞的数量与荧光素酶活性呈线性关系

Figure1 Linear relation between luciferase activity and reporter cell numbers A: Linear relation between luciferase activity of Huh7-Fluc and reporter cell numbers; B: Linear relation between luciferase activity of Li7-Fluc and reporter cell numbers

2.2 X射线照射处理后的肝癌细胞能够促进未照射的肝癌细胞发生肿瘤再增殖

将单次10 Gy剂量X射线处理或不处理的肿瘤细胞Huh7和Li7作为饲养细胞分别与相应的报告细胞Huh7-Fluc和Li7-Fluc进行共培养,6 d后通过小动物成像仪进行成像,结果显示相对于单纯报告细胞组和未经X射线处理饲养细胞组,X射线处理后的饲养细胞对报告细胞的促生长作用更明显(均 $P<0.01$)。表明X射线照射后的肝癌细胞能够促进活肝癌细胞增殖,在一定程度上以体外模型的方式再现了临床上放疗过程中发生的肿瘤再增殖现象(图2)。

2.3 抑制HMGB1可减弱X射线诱导的肿瘤再增殖

为了研究HMGB1在X射线诱导的肝癌细胞再增殖中的作用,在模型中加入HMGB1抑制剂Gly,6 d后通过小动物成像仪进行成像,结果显示加入HMGB1抑制剂后X射线处理后的饲养细胞对报告细胞的生长刺激作用明显减弱,但相同HMGB1抑制剂浓度处理过的报告细胞并没有表现出明显的生长抑制,表明此浓度的HMGB1抑制剂对于细胞本身无明显毒性作用,而对肝癌细胞再增殖模型却有明显的抑制作用,抑制剂浓度越高其对模型的抑制作用更明显($P<0.01$),HMGB1参与了X射线诱导的肝癌再增殖的过程(图3)。

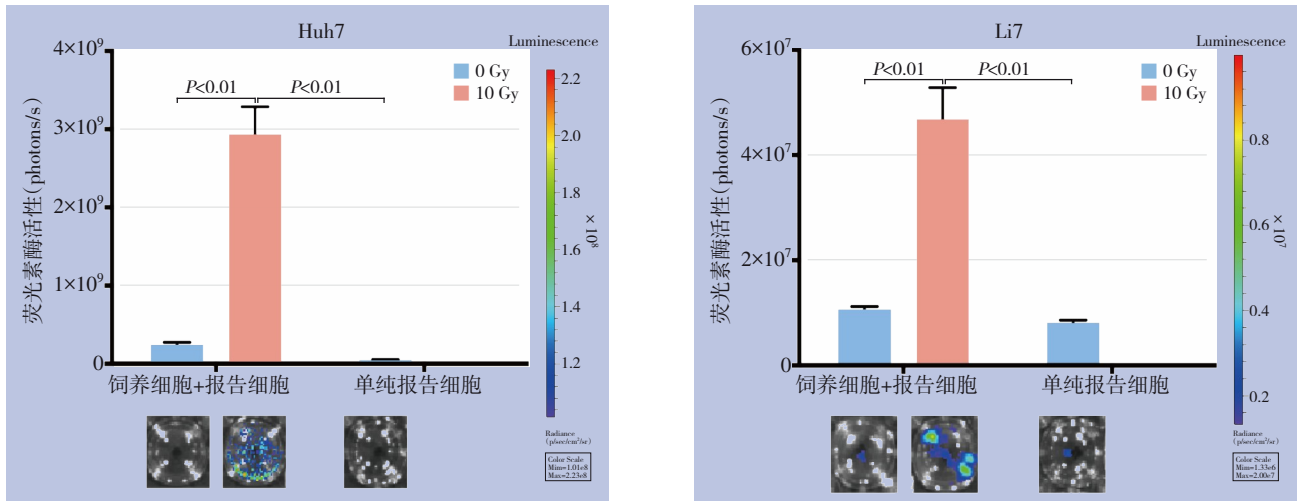


图2 各组报告细胞增殖检测

Figure 2 Determination of growth of reporter cells in each group

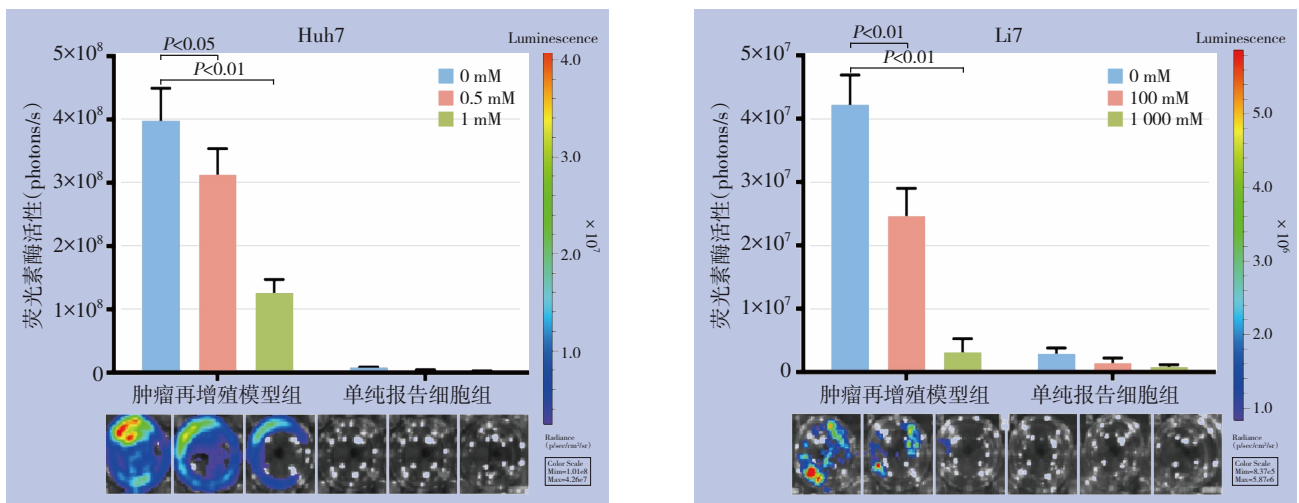


图3 HMGB1抑制剂Gly对报告细胞增殖的影响

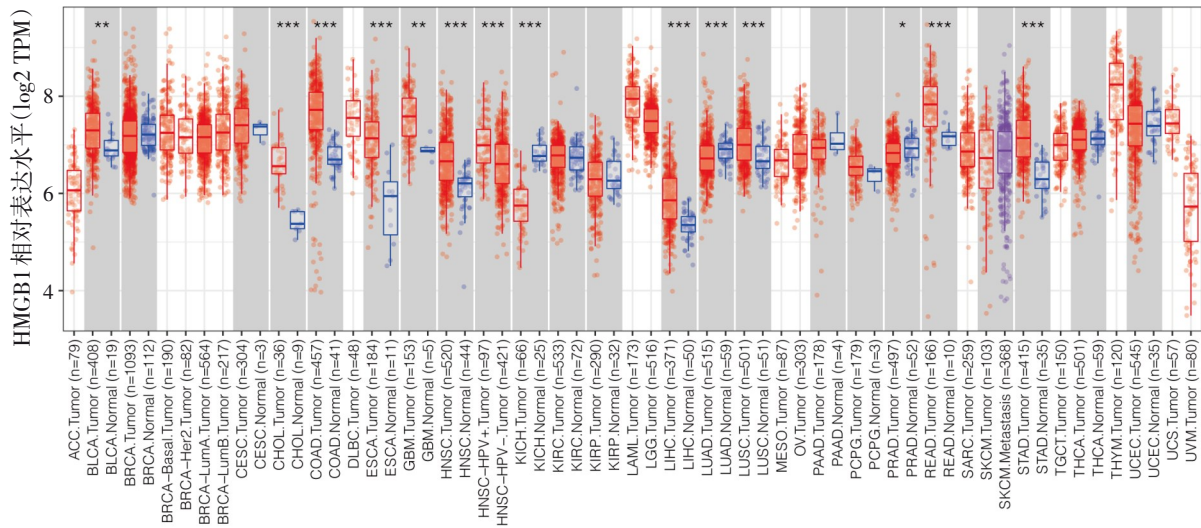
Figure 3 Effects of HMGB1 inhibitor Gly on reporter cells

2.4 TIMER2.0与GEPIA2数据库分析

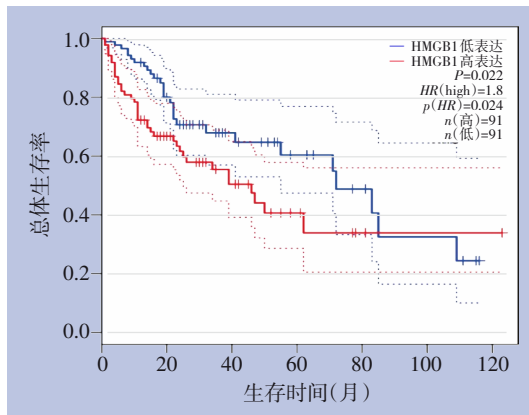
利用TIMER2.0数据库的数据集对HMGB1基因在泛癌中的表达水平进行分析。结果显示HMGB1在不同癌种中的表达水平不同，其中，在肝癌组织(LIHC)中其表达水平明显高于癌旁组织($P<0.01$) (图4A)。

利用GEPIA2数据库的数据集进行在线生存分析。

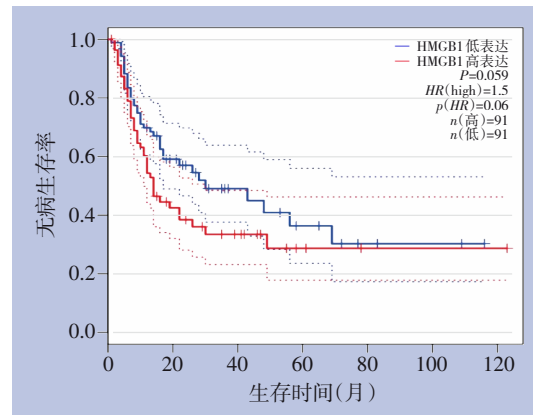
结果显示在肝癌中，HMGB1基因高表达组($n=91$)总生存期(overall survival, OS)较HMGB1低表达组($n=91$)更短($HR=1.8, P=0.022$)，差异具有统计学意义。表明HMGB1的表达与肝癌的总生存期呈负相关(图4B)。而HMGB1的表达与肝癌的无病生存期(disease free survival, RFS)无明显相关性($HR=1.5, P=0.059$) (图4C)。



A



B



C

图4 HMGB1在肝癌组织中的表达水平以及与肝癌预后的相关性 A: HMGB1在多种肿瘤中的表达情况; B-C: HMGB1的表达水平与肝癌预后关系

Figure 4 The expression level of HMGB1 in liver cancer and the relationship between HMGB1 and prognosis of liver cancer patients A: The expression level of HMGB1 in variety of cancers and adjacent normal tissue; B-C: The relationship between HMGB1 and prognosis of liver cancer patients

3 讨论

肝癌作为常见的消化道恶性肿瘤,早期缺乏特异性症状,确诊时往往处于晚期。尽管,随着目前综合治疗方式的更新和相应的临床试验的进展,晚期肝癌患者的生存预后已获得了一定的改善,但是肝癌复发仍是导致患者疾病进展的重要原因^[20-22]。

肿瘤再增殖作为肿瘤复发的重要机制之一,目前人们对导致其发生的相关分子机制尚不完全了解^[6]。本课题组长期从事肿瘤再增殖现象的机制研究,为了研究其中的调控机制,本研究构建了肿瘤再增殖模型,并成功在体外模拟了肿瘤再增殖这一过程,为后续研究提供了良好的模型基

础^[17]。在本研究中,首先构建了表达Fluc-GFP的报告细胞,并成功利用肝癌细胞构建了肿瘤再增殖模型,明确了X射线能够诱导肝癌细胞再增殖的发生,也进一步证实肿瘤再增殖这一现象的普遍性。

HMGB1作为一种核蛋白,在细胞中表达丰度极高,仅次于组蛋白,在进化过程中高度保守且功能强大^[23]。HMGB1在分子结构上主要由2个DNA结合区域(HMG A box和HMG B box)和1个C端酸性尾端组成,已被证实在肿瘤的发生发展中具有双重作用^[14, 24]。已有研究^[14]表明, HMGB1的功能与其在细胞中的定位及翻译后修饰有关。在细胞核中, HMGB1参与DNA复制、修复、转录及维持基因组稳定等^[25-26],在胞浆中, HMGB1被认为

是一种自噬的正向调控蛋白，能够与自噬蛋白 Beclin-1 集合，诱导自噬发生^[27]。而 HMGB1 在细胞中的定位并不是一成不变，研究^[23, 28-30]表明，在生理或者病理状态下，HMGB1 能够通过主动或者被动的方式释放至细胞外，参与炎症、免疫、细胞生长、细胞死亡等生理病理过程。此外，在肿瘤中，HMGB1 对于肿瘤的作用主要由自身的氧化还原状态决定。研究^[14]表明，还原型的 HMGB1 主要对肿瘤生长起促进作用，而氧化型 HMGB1 可以诱导肿瘤发生凋亡。另外，外源性 HMGB1 能够通过细胞内吞的方式进入线粒体，诱导线粒体发生肿胀而引起细胞死亡。本课题前期研究^[31-32]发现，放、化疗等细胞毒性治疗能够诱导肿瘤细胞释放 HMGB1。在本研究中，通过在肝癌细胞再增殖模型中加入 HMGB1 抑制剂 Gly，观察抑制 HMGB1 的表达和释放对肝癌细胞再增殖的影响。从结果可以发现，加入 Gly 的肝癌细胞再增殖模型被显著抑制，表明 HMGB1 参与了 X 射线诱导的肝癌细胞肿瘤再增殖，HMGB1 有可能作为提高肝癌患者治疗效果和减少肝癌复发的潜在治疗靶点。

随着分子生物学技术的发展，肿瘤相关生物数据库使得高效分析基因测序数据成为可能，利用数据库的模块进行在线分析，是一种研究基因与肿瘤相关性的有效且便捷的方式。在本研究中，利用 TIMER2.0 数据库检索，发现 HMGB1 在绝大多数恶性肿瘤中呈高表达，其中在肝癌组织中表达水平明显高于癌旁组织。此外，本研究还利用 GEPIA2 数据库对 HMGB1 表达水平与肝癌患者预后的相关性进行分析，结果显示 HMGB1 表达水平与肝癌患者的无病生存期无显著相关性，但是 HMGB1 高表达的肝癌患者总生存期短，表明 HMGB1 可能作为判断肝癌患者总生存期预后的潜在标记物。

综上所述，HMGB1 在肝癌组织中呈高表达，与肝癌患者总生存期预后负相关，同时，HMGB1 参与了 X 射线诱导的肝癌细胞再增殖过程，通过 HMGB1 抑制剂 Gly 能够显著抑制这一过程。虽然，HMGB1 调控肝癌细胞再增殖的具体分子机制尚未明确，HMGB1 抑制剂能否用于临床上预防放疗后肝癌复发，还需要进一步的深入研究，但本研究为理解和预防肝癌复发提供了新的思路。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer Statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021,71(1):7-33. doi: 10.3322/caac.21654.
- [2] 李文波, 孙成杰, 周国俊, 等. 肝细胞癌发生发展关键基因及其功能的生物信息学分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(1):32-43. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.01.005.
Li WB, Sun CJ, Zhou GJ, et al. Bioinformatics analysis of key genes and their functions in occurrence and development hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2021, 30(1):32-43. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.01.005.
- [3] 邹添添, 覃伟, 朱迎, 等. 肝癌免疫微环境与免疫治疗: 研究进展与发展趋势[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(7):785-797. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.002.
Zou TT, Qin W, Zhu Y, et al. Immune microenvironment and immunotherapy in hepatocellular carcinoma: research progress and development directions[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2020, 29(7):785-797. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.002.
- [4] Sadeghi S, Bejjani A, Finn RS. Systemic Therapy for Primary Liver Tumors: Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma[J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2019, 28(4):695-715. doi: 10.1016/j.soc.2019.06.015.
- [5] Anwanwan D, Singh S K, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1):188314. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.188314.
- [6] Huang Q, Li F, Liu X, et al. Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy[J]. *Nat Med*, 2011, 17(7):860-866. doi: 10.1038/nm.2385.
- [7] Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy[J]. *Acta Oncol*, 1988, 27(2):131-146. doi: 10.3109/02841868809090333.
- [8] Olivares-Urbano MA, Griñán-Lisón C, Marchal JA, et al. CSC Radioresistance: A Therapeutic Challenge to Improve Radiotherapy Effectiveness in Cancer[J]. *Cells*, 2020, 9(7):1651. doi: 10.3390/cells9071651.
- [9] Yu Y, Tian L, Feng X, et al. eIF4E-phosphorylation-mediated Sox2 upregulation promotes pancreatic tumor cell repopulation after irradiation[J]. *Cancer Lett*, 2016, 375(1): 31-38. doi: 10.1016/j.canlet.2016.02.052.
- [10] Feng X, Yu Y, He S, et al. Dying glioma cells establish a proangiogenic microenvironment through a caspase 3 dependent mechanism[J]. *Cancer Lett*, 2017, 385: 12-20. doi: 10.1016/j.canlet.2016.10.042.
- [11] Sun Y, Zheng Z, Zhang H, et al. Chemotherapeutic tumor microparticles combining low-dose irradiation reprogram tumor-promoting macrophages through a tumor-repopulating cell-curtailing pathway[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(6):e1309487. doi: 10.1080/2162402X.2017.1309487.

- [12] Cheng J, He S, Wang M, et al. The Caspase-3/PKCdelta/Akt/VEGF-A Signaling Pathway Mediates Tumor Repopulation during Radiotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(12): 3732–3743. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3001.
- [13] Lee JJ, Park IH, Rhee WJ, et al. HMGB1 modulates the balance between senescence and apoptosis in response to genotoxic stress[J]. *FASEB J*, 2019, 33(10): 10942–10953. doi: 10.1096/fj.201900288R.
- [14] Ahmad S, Khan H, Siddiqui Z, et al. AGEs, RAGEs and s-RAGE; friend or foe for cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 49: 44–55. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.07.001.
- [15] 柏杨, 刘洪, 方征, 等. 高迁移率族蛋白1在肝内胆管癌中的作用及其与肿瘤微血管形成的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(2): 171–178. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.02.008.
- Bai Y, Liu H, Fang Z, et al. Function of high mobility group protein 1 in intrahepatic cholangiocarcinoma and its relationship with tumor microangiogenesis[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(2): 171–178. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.02.008.
- [16] Tan G, Huang C, Chen J, et al. HMGB1 released from GSDME-mediated pyroptotic epithelial cells participates in the tumorigenesis of colitis-associated colorectal cancer through the ERK1/2 pathway[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 149. doi: 10.1186/s13045-020-00985-0.
- [17] 龚燕萍, 程进, 于洋, 等. 人胰腺癌细胞再增殖体外模型的建立[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(34): 6637–6642. doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.34.010.
- Gong YP, Cheng J, Yu Y, et al. Establishment of the in Vitro Repopulation Model of Human Pancreatic Cancer Cells[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2014, 14(34): 6637–6642. doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.34.010.
- [18] Li T, Fu J, Zeng Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W509–514. doi: 10.1093/nar/gkaa407.
- [19] Tang Z, Kang B, Li C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556–560. doi: 10.1093/nar/gkz430.
- [20] Lee S, Kang T W, Song K D, et al. Effect of Microvascular Invasion Risk on Early Recurrence of Hepatocellular Carcinoma After Surgery and Radiofrequency Ablation[J]. *Ann Surg*, 2021, 273(3): 564–571. doi: 10.1097/SLA.0000000000003268.
- [21] Xu XF, Xing H, Han J, et al. Risk Factors, Patterns, and Outcomes of Late Recurrence After Liver Resection for Hepatocellular Carcinoma: A Multicenter Study From China[J]. *JAMA Surg*, 2019, 154(3): 209–217. doi: 10.1001/jamasurg.2018.4334.
- [22] 袁声贤, 周伟平. 原发性肝癌综合治疗的进展和热点[J]. *中华消化外科杂志*, 2021, 20(2): 163–170. doi: 10.3760/cma.j.cn115610-20201211-00776.
- Yuan SX, Zhou WP. Progress and hot spots of comprehensive treatment for primary liver cancer[J]. *Chinese Journal of Digestive Surgery*, 2021, 20(2): 163–170. doi: 10.3760/cma.j.cn115610-20201211-00776.
- [23] Xue J, Suarez J S, Minaai M, et al. HMGB1 as a therapeutic target in disease[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(5): 3406–3419. doi: 10.1002/jcp.30125.
- [24] Kang R, Xie Y, Zhang Q, et al. Intracellular HMGB1 as a novel tumor suppressor of pancreatic cancer[J]. *Cell Res*, 2017, 27(7): 916–932. doi: 10.1038/cr.2017.51.
- [25] Amato J, Cerofolini L, Brancaccio D, et al. Insights into telomeric G-quadruplex DNA recognition by HMGB1 protein[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(18): 9950–9966. doi: 10.1093/nar/gkz727.
- [26] Guo X, He D, Zhang E, et al. HMGB1 knockdown increases MM cell vulnerability by regulating autophagy and DNA damage repair[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 205. doi: 10.1186/s13046-018-0883-3.
- [27] Liu RZ, Li T, Zhao GQ. Cytosolic HMGB1 Mediates Autophagy Activation in an Emulsified Isoflurane Anesthesia Cell Model[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(5): 1090–1100. doi: 10.1007/s11064-019-02740-5.
- [28] Volchuk A, Ye A, Chi L, et al. Indirect regulation of HMGB1 release by gasdermin D[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4561. doi: 10.1038/s41467-020-18443-3.
- [29] Liao Y, Liu S, Fu S, et al. HMGB1 in Radiotherapy: A Two Headed Signal Regulating Tumor Radiosensitivity and Immunity[J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13: 6859–6871. doi: 10.2147/OTT.S253772.
- [30] Zhang L, Shi H, Chen H, et al. Dedifferentiation process driven by radiotherapy-induced HMGB1/TLR2/YAP/HIF-1 α signaling enhances pancreatic cancer stemness[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10): 724. doi: 10.1038/s41419-019-1956-8.
- [31] He S, Cheng J, Sun L, et al. HMGB1 released by irradiated tumor cells promotes living tumor cell proliferation via paracrine effect[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 648. doi: 10.1038/s41419-018-0626-6.
- [32] Zhang Z, Feng X, Deng Z, et al. Irradiation-induced polyploid giant cancer cells are involved in tumor cell repopulation via neosis[J]. *Mol Oncol*, 2021. doi: 10.1002/1878-0261.12913. [Online ahead of print]

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:贺思佳,黄倩,程进.高迁移率族蛋白B1与肝癌细胞再增殖及肝癌患者预后的关系[J].*中国普通外科杂志*, 2021, 30(7): 814–821. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.07.008

Cite this article as: He SJ, Huang Q, Cheng J. Association of high mobility group box 1 with liver cancer cell repopulation and prognosis of liver cancer patients[J]. *Chin J Gen Surg*, 2021, 30(7): 814–821. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2021.07.008