



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.011
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.011
Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(1):97-106.

· 基础研究 ·

线粒体相关凋亡因子2在肝细胞癌中的表达及其基因调控网络

罗可, 刘添皇

(广东省梅州市人民医院肝病科, 广东 梅州 514031)

摘要

背景与目的: 铁死亡可作为抗肿瘤作用的新靶点, 线粒体相关凋亡因子2 (AIFM2) 是铁死亡的一个关键调控因子。本研究分析 AIFM2 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达水平及其与患者临床病理因素、预后的关系, 并探讨 AIFM2 在 HCC 中的调控网络。

方法: 利用 Oncomine 数据库分析 AIFM2 在 HCC 和正常肝组织中的表达差异, 利用 UALCAN 数据库分析 AIFM2 表达与患者临床病理特征的相关性; 用 LinkedOmics 数据平台的 LinkFinder 模块进行 GO 分析和 KEGG 分析; 用 LinkedOmics 数据库分析与 AIFM2 表达相关的蛋白激酶、miRNA 和转录因子; 用 Gene - MANIA 数据库分析与 AIFM2 相关的蛋白质相互作用网络; 用 cBioPortal 分析 HCC 中 AIFM2 突变的频率和类型。

结果: HCC 组织中 AIFM2 mRNA 表达和 DNA 拷贝数均高于正常组织 (均 $P < 0.05$)。AIFM2 与晚期肿瘤、淋巴结转移、较高的病理分级和 TP53 突变明显有关 (均 $P < 0.05$)。高表达 AIFM2 的患者明显比低表达 AIFM2 患者的预后差 ($P = 0.034$)。GO 和 KEGG 分析显示, AIFM2 相关基因主要富集与线粒体和核糖体功能有关的途径, 与细胞氧化磷酸化和转录后翻译密切相关。GSEA 分析表明, 多种蛋白激酶 (MAPK1/3/7)、miRNA (miR-30 家族) 和转录因子 (NFAT) 与 AIFM2 的表达密切相关。cBioPortal 分析显示, AIFM2 在 HCC 中的主要变异形式是高 mRNA 表达, 但突变频率低。

结论: AIFM2 在 HCC 中高表达, 与患者不良预后相关, 是 HCC 诊断和预后的潜在标志物。所揭示的 AIFM2 在 HCC 中的调控网络为 AIFM2 在 HCC 中的后续研究奠定基础。

关键词

癌, 肝细胞; 线粒体相关凋亡因子2; 预后; 大数据; 计算生物学
中图分类号: R735.7

Expression and gene regulatory network of apoptosis inducing factor, mitochondrion-associated 2 in hepatocellular carcinoma

LUO Ke, LIU Tianhuang

(Department of Hepatology, Meizhou People's Hospital, Meizhou, Guangdong 514031, China)

Abstract

Background and Aims: Ferroptosis may serve as a new target for antitumor therapy, and apoptosis inducing factor, mitochondrion-associated 2 (AIFM2) is a key regulator of ferroptosis. This study was

基金项目: 广东省梅州市医药卫生科研基金资助项目 (2020-B-59)。

收稿日期: 2021-06-11; **修订日期:** 2021-07-26。

作者简介: 罗可, 广东省梅州市人民医院主治医师, 主要从事肝癌临床与基础方面的研究。

通信作者: 罗可, Email: luoke20201111@163.com

conducted to analyze the expression level of AIFM2 in hepatocellular carcinoma (HCC), and its relationship with clinicopathologic factors and prognosis of patients, and to investigate the regulatory network of AIFM2 in HCC.

Methods: The differential expression of AIFM2 in HCC and normal liver tissue was analyzed using OncoPrint database and the correlation between the expression of AIFM2 and the clinicopathologic characteristics of patients was determined using UALCAN database. The LinkFinder module of the LinkedOmics data platform was used for GO analysis and KEGG analysis, and the LinkedOmics database was used to analyze the protein kinases, miRNAs, and transcription factors associated with AIFM2 expression. Analysis of the protein interaction networks associated with AIFM2 was performed by the GeneMANIA database, and the frequency and type of AIFM2 mutations in HCC was defined by cBioPortal.

Results: The AIFM2 mRNA expression and DNA copy number in HCC tissues were higher than that in normal tissues (both $P < 0.05$). AIFM2 was significantly associated with advanced tumors, lymph node metastasis, higher pathological grades, and TP53 mutations (all $P < 0.05$). Patients with high expression of AIFM2 had significantly worse prognosis than those with low expression of AIFM2 ($P = 0.034$). GO and KEGG analysis showed that AIFM2-related genes were mainly enriched in pathways related to mitochondrial and ribosomal functions, and were closely related to cellular oxidative phosphorylation and post-transcriptional translation. GSEA analysis showed that various protein kinases (MAPK1/3/7), miRNAs (miR-30 family) and transcription factors (NFAT) were significantly associated with the expression of AIFM2. C-bioportal analysis showed that the main variant form of AIFM2 in HCC was high mRNA expression but low mutation frequency.

Conclusions: AIFM2 is highly expressed in HCC and is associated with poor prognosis of patients. AIFM2 is a potential marker for diagnosis and prognosis of HCC. The revealed regulatory network of AIFM2 in HCC lays a foundation for the follow-up study of AIFM2 in HCC.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; Apoptosis Inducing Factor, Mitochondrion-Associated 2; Prognosis; Big Data; Computational Biology

CLC number: R735.7

原发性肝癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤之一，其发病率居所有恶性肿瘤的第6位^[1-3]。在原发性肝癌中，肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）占85%~90%，是肝癌最主要的病理学类型。HCC的恶性程度高，早期症状隐匿，大部分患者就诊时已经是中晚期，其治疗效果不佳^[3-4]。根治性切除是HCC的主要治疗方法，但是大部分患者在手术之后不可避免存在复发和转移，最终导致患者死亡。HCC对传统的放化疗抵抗，早期诊断和及早识别复发转移的高危HCC患者是进一步提高肝癌预后的关键^[5-6]。

肿瘤细胞在死亡机制方面往往存在某种缺陷，这也是导致恶性肿瘤治疗失败的一个重要原因。为了满足生长的需要，肿瘤细胞比普通非肿瘤细胞对铁的需求量通常更高。这种对铁的依赖使肿

瘤细胞更容易发生铁催化相关的死亡，即铁死亡^[7-9]。铁死亡是铁离子依赖型的细胞坏死，是一种新发现的细胞死亡类型，不同于传统的细胞凋亡和坏死，它是铁依赖性脂质过氧化物积累的结果^[10-11]。越来越多的证据表明，铁死亡可作为抗肿瘤作用的新靶点^[12-14]。最新的研究发现，线粒体相关凋亡因子2（apoptosis-inducing factor, mitochondrion-associated 2, AIFM2）是一个铁死亡的关键调控因子^[15-16]。AIFM2通过编码黄素蛋白氧化还原酶与DNA单链结合，从而促进细胞凋亡^[17-19]。同时有研究发现，AIFM2是P53靶向调控基因，参与多种恶性肿瘤的发生发展。AIFM2在乳腺癌和小细胞肺癌中具有非常重要的调控作用，AIFM2在核内累积可引发细胞死亡^[20]。

目前，关于AIFM2在HCC中的表达及功能尚

不清楚, AIFM2 的表达与 HCC 患者的临床病理因素的关系也是未知。因此, 本研究选取 AIFM2 基因作为本研究的研究目标, 通过生物信息学全面分析 AIFM2 基因在 HCC 中的表达和相关基因调控网络, 为 HCC 诊断和预后判定提供潜在的新的分子标志物。

1 材料与方法

1.1 Oncomine 分析

Oncomine 数据库 (<https://www.oncomine.org/resource/login.html>) 是一个恶性肿瘤相关基因芯片数据平台, 该数据库收集了大量癌基因表达数据资料, 包括癌组织和正常组织的 DNA 和 RNA 的检测数据, 以及相关患者的临床资料^[21]。本研究纳入 Oncomine 数据库多个 HCC 研究数据队列, 包括 Chen liver, Wurmbach liver 研究等。在 Oncomine 数据库中, 比较 AIFM2 在 HCC 组织和正常组织的中表达差异, 当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.2 UALCAN 分析

UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu>) 是一个基于 TCGA 数据库的在线分析平台。UALCAN 数据平台可以方便快速的获取 TCGA 数据库内的癌症测序数据, 可以用来探讨基因表达与患者的临床病理特征以及总生存之间的关系, 也可用来分析基因表达之间的关联性^[22]。本研究通过 UALCAN 数据库分析 AIFM2 在 HCC 中的表达及意义。利用 UALCAN 数据库分析 HCC 中 AIFM2 的表达水平, 并分析其与肿瘤分期、种族、性别、病理亚型等之间的关系, 并进行生存分析。

1.3 LinkedOmics 分析

LinkedOmics 数据库 (<http://www.linkedomics.org/login.php>) 是一个基于网页的平台, 可用于分析 32 个与 TCGA 癌症相关的多维数据集^[23]。本研究通过 LinkedOmics 研究 TCGA 数据库 HCC 组织中的 AIFM2 表达对患者肿瘤大小 (T 分期)、淋巴结转移 (N 分期)、远处转移 (M 分期)、年龄、种族和预后等的影响。随后, 利用 LinkFinder 模块分析 TCGA 数据库 HCC 队列中与 AIFM2 相关的差异表达基因, 根据 Pearson 相关系数分析在 HCC 中与 AIFM2 显著表达相关的基因, 结果以火山图和热图显示。利用 LinkFinder 模块基因富集分析 (Gene Set Enrichment Analysis, GSEA) 对差异相关基因进行

GO[细胞成分 (CC)、生物过程 (BP) 和分子功能 (MF)] 分析, KEGG 信号通路分析、激酶靶标富集、miRNA 靶标富集和转录因子靶标富集。

1.4 cBioPortal 分析

cBioPortal 是一种开放获取的网络分析数据资源, 可用于多种癌症的基因组学数据的综合性探索, 可用于探索基因的突变, 拷贝数变异 (CNV) 和 mRNA 表达情况^[24]。本研究中, 使用 cBioPortal 分析 TCGA 数据中 372 例 HCC 标本中的 AIFM2 基因变异频率和类型。

1.5 GeneMANIA 分析

GeneMANIA 在线数据库 (<http://www.genemania.org>) 是一个可用于构建蛋白质-蛋白质相互作用 (Protein-Protein Interaction Networks, PPI) 的网络平台, 该平台可以根据基因组学和蛋白质组学数据进行识别和扩展指定基因功能相似的基因列表^[25]。GeneMANIA 还可以根据每个所选查询数据集的预测值进行权重评估。本研究采用 GeneMANIA 平台探讨 AIFM2 可能存在相互作用的基因网络。

2 结果

2.1 HCC 中 AIFM2 的表达及其与临床病理因素的相关性

Oncomine 4.5 数据库的多个数据队列分析显示, 在 HCC 组织中 AIFM2 的 mRNA 表达和 DNA 拷贝数均明显高于正常组织 ($P < 0.01$) (图 1)。从整合 TCGA 数据集的 UALCAN 网站进一步分析 AIFM2 在 TCGA 数据库的 HCC 中的表达情况, 同时基于肿瘤临床分期、病理亚型、淋巴结转移状态等进行了分组分析。结果发现, 在 HCC 中 AIFM2 水平明显高于正常组织 ($P < 0.001$) (图 2A); 肿瘤分期越晚、病理分级越高, AIFM2 的表达量也越高 (均 $P < 0.001$) (图 2B-C); 伴有淋巴结转移 (N1) 患者的 AIFM2 表达量显著高于无淋巴结转移 (N0) 的患者 ($P < 0.001$) (图 2D); AIFM2 在 HCC 中的表达量随着患者年龄的增高而逐渐增高 ($P < 0.001$) (图 2E); 伴有 TP53 基因突变患者的 AIFM2 表达量也显著高于非 TP53 基因突变的患者 ($P < 0.001$) (图 2F); 肿瘤高分化患者的 AIFM2 表达量显著高于低分化的患者 ($P < 0.001$) (图 2G)。AIFM2 的表达水平与患者的总生存 (overall survival, OS) 明显相关, AIFM2 高表达患者的预后显著差于低表达患者 ($P = 0.034$) (图 2H)。

2.2 HCC中AIFM2的相关性表达分析

为了明确AIFM2的潜在调控网络,通过Person相关性分析探讨与AIFM2表达显著相关的基因(图3A),结果提示TYSND1、DNAJB12、MRPS16、EXOSC1和CUTC是与AIFM2呈正相关最明显的前5个基因(图3B),而PDLIM5、FNIP2、AKAP9、PPAP2B和BRWD1是与AIFM2负相关差异最显著的前5个基因(图3C)。

2.3 GO功能注释和KEGG信号通路分析

在LinkedOmics数据分析平台,对AIFM2及其在HCC中显著表达相关基因进行GSEA富集分析,其富集的生物学功能主要体现在核糖体和线粒体结构组成、转录起始、NADH还原酶、呼吸链传递、rRNA结合和氧化磷酸化(图4A-C)。通过KEGG信号通路富集分析发现,AIFM2及显著相关基因在HCC中主要参与了核糖体相关功能、氧化

磷酸化、RNA聚合酶和铁死亡相关信号通路等(图4D)。

2.4 HCC中与AIFM2表达相关的激酶、miRNA或转录因子网络

为了进一步探索HCC中AIFM2的相关调控网络,通过GSEA分析发现了多个与AIFM2表达统计学相关的激酶、miRNA和转录因子。与AIFM2相关最显著的前5个激酶分别是激酶MAPK1、MAPK7、MAPK3、RPS6KA1和FGR。与AIFM2相关最显著的前5个miRNA分别是miR-30家族(miR30A-5P、miR-30C、miR-30D、miR-30B、miR-30E-5P)、miR-1/206cluster、miR-18(miR-18a/b)、miR-183、miR-221/222 cluster。与AIFM2相关最显著的前5个转录因子分别是NFAT、EN1、CEBP、PAX4和PAX8(表1)。

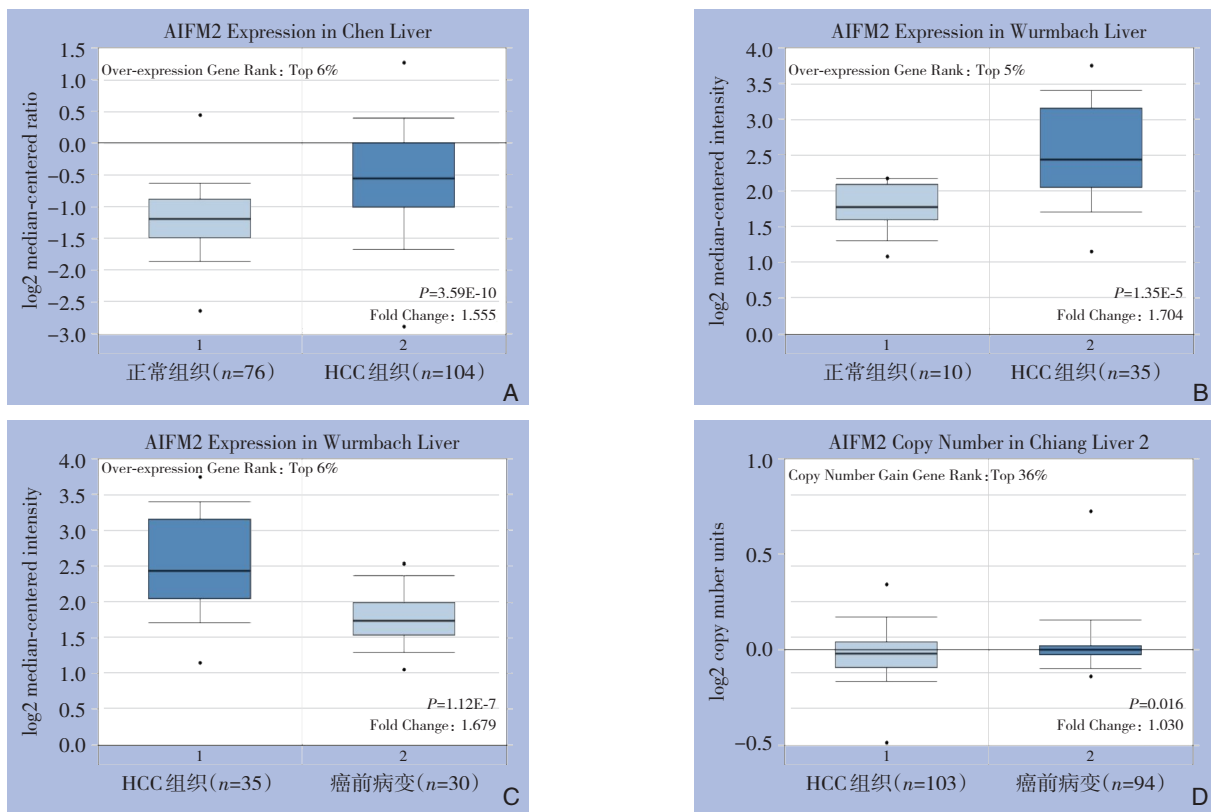


图1 HCC中的AIFM2转录表达情况 A-B: Oncomine 4.5分析HCC组织与正常组织AIFM2的mRNA和DNA拷贝数; C: Wurmbach liver数据队列中,HCC组织与正常组织中AIFM2的mRNA水平比较; D: Chiang liver 2数据队列中HCC组织与癌前病变组织中AIFM2的mRNA水平比较

Figure 1 Transcriptional expression of AIFM2 in HCC A-B: Oncomine 4.5 analysis of the mRNA and DNA copy numbers of AIFM2 in HCC and normal tissues; C: Comparison of the mRNA levels of AIFM2 between HCC and normal tissues in Wurmbach liver data cohorts; D: Comparison of the mRNA levels of AIFM2 between HCC and precancerous tissues in Chiang liver 2 data cohorts

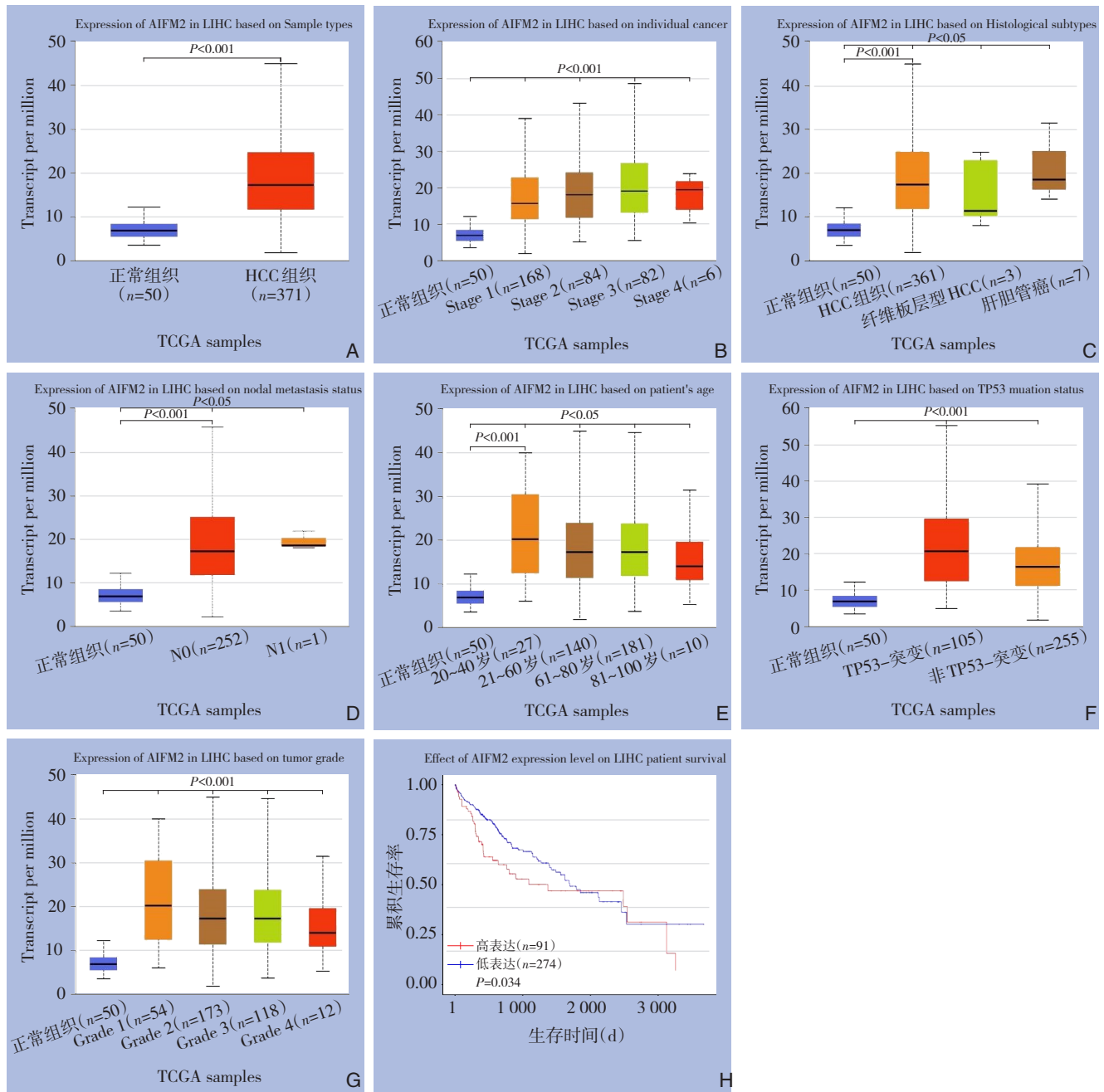


图2 不同临床病理特征的HCC中AIFM2表达情况及其对预后的影响 A-G: UALCAN数据库分析AIFM2表达水平与肿瘤临床分期、病理亚型、淋巴结转移状态、年龄、TP53突变状态、肿瘤分级等之间的关系; H: HCC患者的生存曲线

Figure 2 Expression of AIFM2 in hepatocellular carcinoma patients with different clinicopathologic features and its effect on prognosis A-G: The relationship between AIFM2 expression level and tumor clinical stage, pathological subtypes, lymph node metastatic status, age, TP53 mutation status, tumor grade analyzed in UALCAN database; H: Survival curve of HCC patients

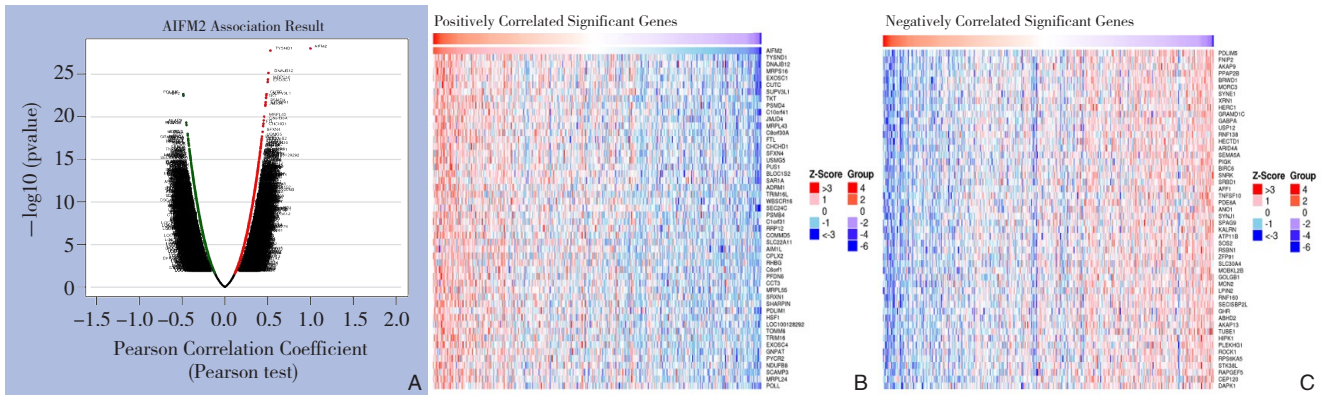


图3 在HCC中与AIFM2相关的差异表达基因 (LinkedOmics) A: 使用Pearson检验分析在HCC中AIFM2表达相关的基因 (红色表示正相关的基因, 绿色表示负相关的基因); B-C: 热图显示HCC中与AIFM2正相关和负相关的基因 (前50名)

Figure 3 Differentially expressed genes associated with AIFM2 in HCC (Linkedomics) A: Pearson test analysis of the genes related to AIFM2 expression in HCC (red color standing for the positively correlated genes, and the green color standing for the negatively correlated genes); B-C: Heat maps showing positive and negative genes associated with AIFM2 in HCC (top 50)

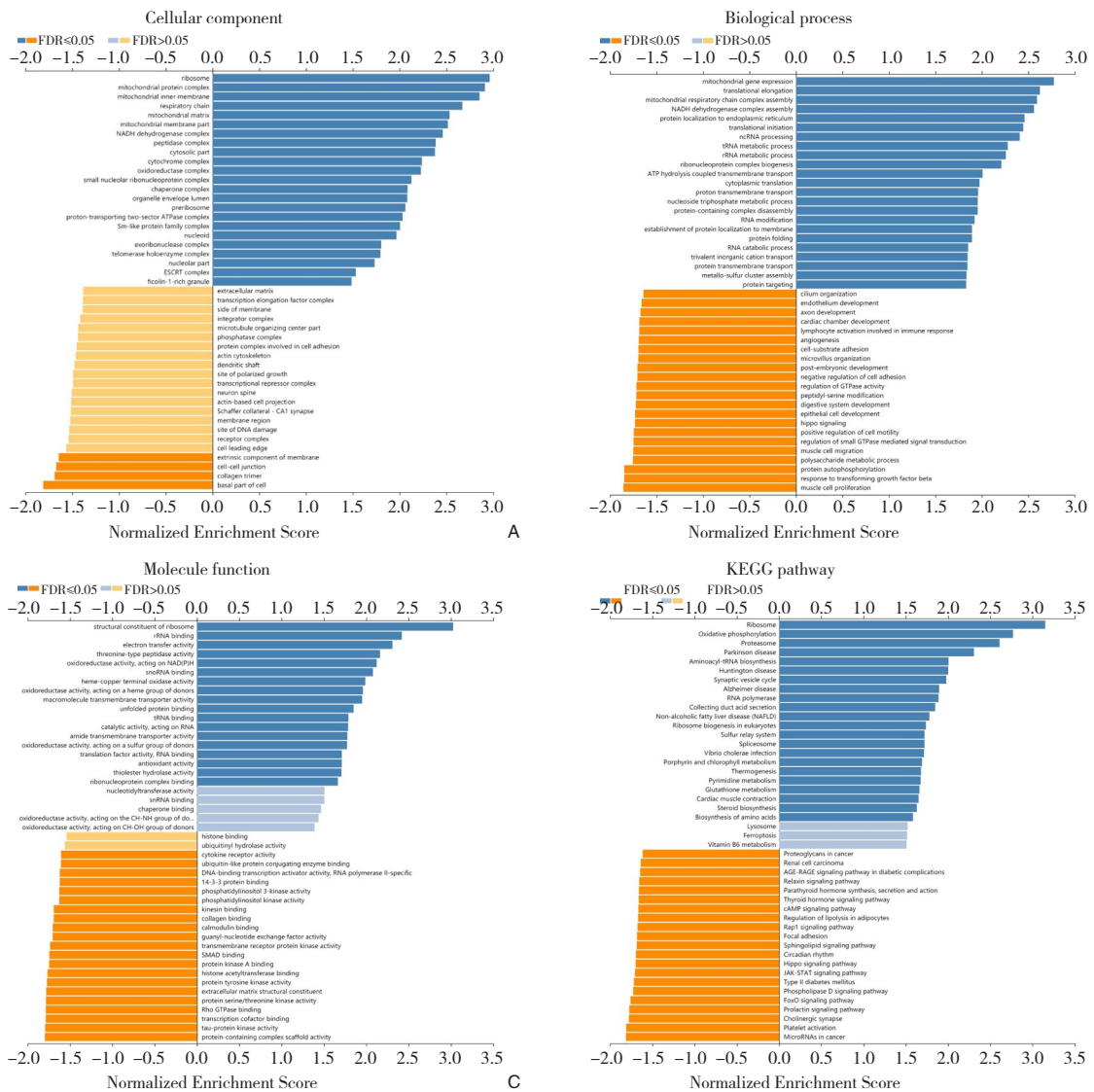


图4 AIFM2在HCC中表达相关基因的GO功能注释和KEGG信号通路分析 A-C: AIFM2在HCC中表达相关基因GO功能注释; D: AIFM2在HCC中表达相关基因KEGG信号通路分析

Figure 4 GO functional annotation and KEGG signaling pathway analysis of AIFM2-related genes expressed in HCC A-C: GO function annotation of AIFM2 expression in HCC; D: KEGG signaling pathway analysis of AIFM2 expression in HCC

表1 HCC中的激酶、miRNA和转录因子靶向网络 (LinkedOmics)

Table 1 Targeting networks of kinases, miRNAs, and transcription factors in HCC (Linkedomics)

Enriched Category	Gene Set	Leading Edge Number	FDR
Kinase Target	Kinase_MAPK1	71	0.014668
	Kinase_MAPK7	11	0.035448
	Kinase_MAPK3	56	0.062747
	Kinase_RPS6KA1	15	0.085564
	Kinase_FGR	8	0.14098
miRNA Target	TGTTTAC, MIR-30A-5P, MIR-30C, MIR-30D, MIR-30B, MIR-30E-5P	247	0
	ACATTCC, MIR-1, MIR-206	132	0
	GCACCTT, MIR-18A, MIR-18B	48	0
	GTGCCAT, MIR-183	73	0
	ATGTAGC, MIR-221, MIR-222	69	0
Transcription Factor Target	V\$NFAT_Q6	65	0
	V\$EN1_01	38	0.00054704
	V\$CEBP_Q2_01	76	0.00072938
	V\$PAX4_04	82	0.00087526
	V\$PAX8_01	14	0.0016411

2.5 HCC中AIFM2的基因组改变情况

鉴于AIFM2在HCC中存在mRNA水平的转录异常,拟进一步分析AIFM2在DNA层面是否存在异常改变。通过cBioPortal分析TCGA数据库中372例HCC的突变频率和类型,结果显示372例HCC患者

中只有5%患者的AIFM2发生了改变(图5)。这些改变包括:基因扩增上调2例(0.54%)和mRNA上调15例(4.03%)。因此,在HCC中,AIFM2的基因突变发生率非常低。

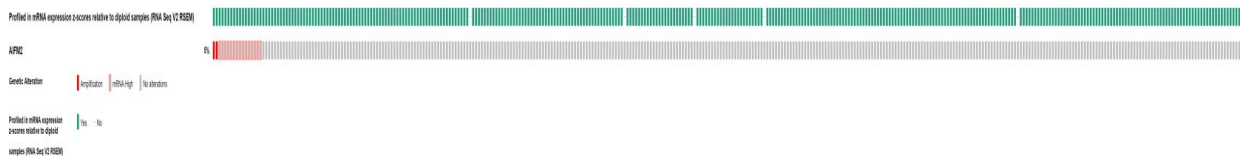


图5 AIFM2在HCC中的基因变异类型和频率

Figure 5 Types and frequency of AIFM2 gene variants in HCC

2.6 AIFM2的PPI蛋白互作网络

通过GeneMANIA分析AIFM2的PPI蛋白互作网络,结果提示:AIFM2与氨甲基转移酶(AMT)、

抑癌基因TP53、硫代硫酸巯基转移酶样域含蛋白1(TSTD1)、D-2-羟基戊二酸脱氢酶(D2HGDH)、乳酸脱氢酶D(LDHD)等存在相互作用(图6)。

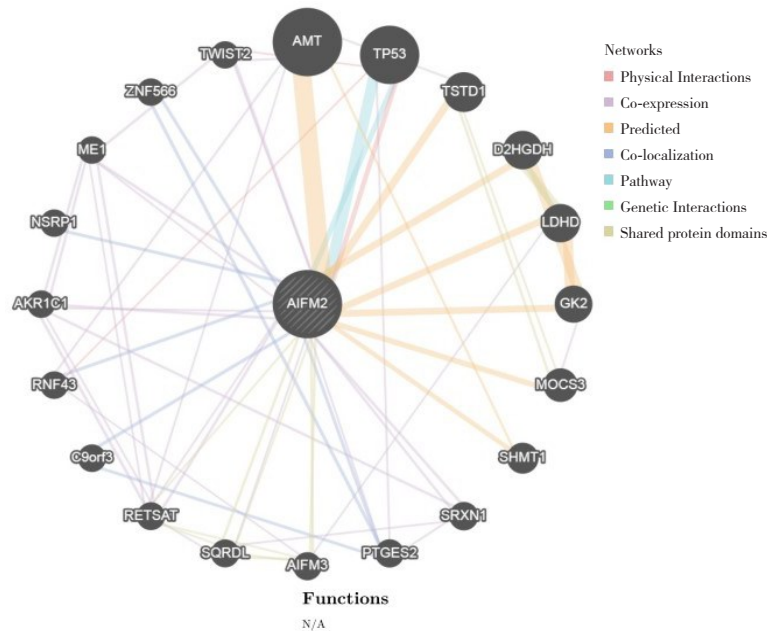


图6 AIFM2的PPI网络和功能分析(网络边缘的不同颜色表示所应用的生物信息学方法:共表达、网站预测、途径、物理相互作用和共定位)

Figure 6 The PPI network and functional analysis of AIFM2 (the different colors at the edges of the network representing the bioinformatics used: co-expression, site prediction, pathways, physical interactions, and co-localization)

3 讨论

HCC是原发性肝癌中最常见的病理类型^[26]。目前,HCC的治疗以手术、介入治疗和靶向治疗为主。虽然近年来各种治疗手段的进步,HCC的预后较前明显改善。但是,治疗后的复发和转移仍然非常常见。肝癌的早诊早治是提高患者生存率的关键。因此,发现和鉴定更多分子标志物用于肝细胞的早期诊断和预后预测是非常迫切的。铁死亡是近年来一个研究的热点,参与铁死亡相关通路的基因被认为与肿瘤的发生发展有着非常密切的关系。AIFM2是一个铁死亡信号传导通路的关键调控基因。但是,AIFM2在HCC中的诊断和预后价值目前尚不清楚。为了探讨AIFM2在HCC的诊断和生存预测中的价值,本研究通过生物信息学平台分析AIFM2是否与HCC的临床病理特征及生存预后相关,并挖掘AIFM2在肝细胞中参与的各种调控网络,从而为阐明AIFM2在HCC中发挥的作用及分子机制奠定基础。

我们对AIFM2在HCC组织中表达水平进行探讨,并分析AIFM2表达与HCC的临床病理因素是否相关联。结果发现,AIFM2在HCC中的表达水平显著高于正常组织,这就提示AIFM2可能是个

促癌因子。进一步分析发现,AIFM2的表达量与肝细胞的侵袭性显著相关。AIFM2在分期更晚或伴有淋巴结转移的肝细胞中表达水平更高。此外,AIFM2还与HCC的分化有关,在低分化的HCC中的AIFM2的表达量显著高于高分化的HCC。AIFM2在HCC中表达水平还与抑癌基因TP53的突变状态显著相关,伴有TP53基因突变的AIFM2表达量显著高于非TP53基因突变的患者。由此,推测AIFM2可能与TP53突变体存在调控关系。最后生存分析发现,AIFM2的表达水平与HCC的患者的生存预后密切相关,AIFM2高表达预示着HCC患者的预后不良。这些结果说明,AIFM2是HCC潜在的诊断和预后标志物。

鉴于AIFM2与HCC患者的预后显著相关,笔者推测AIFM2可能在HCC中具备调控作用。因此,本研究探讨了AIFM2在HCC中表达显著相关的基因。相关性研究发现,AIFM2和一些促癌基因具有显著的关联性,比如MRPS16基因。MRPS16可通过PI3K/Akt/Snail信号转导轴促进肿瘤进展^[27]。AIFM2与卵白蛋白相互作用蛋白FNIP2呈现负相关,而FNIP2在肾脏肿瘤中发挥抑癌作用^[28],这也从另外一个方面提示AIFM2可能发挥促癌作用。此外,本研究还通过GSEA发现了多个与AIFM2相

关联的激酶、微小RNA (miRNA) 和转录因子。GO 和 KEGG 分析表明, AIFM2 相关联的基因主要富集在线粒体和核糖体功能相关通路, 与细胞的氧化磷酸化和转录后翻译等密切相关。我们发现 HCC 癌中的 AIFM2 的表达和 MAP2K1/37、RPS6KA1 和 FGR 等蛋白激酶显著相关。MAPK 激酶参与细胞的生长、分化和凋亡, 该类激酶的过度激活与肿瘤发生发展密切相关。RPS6KA1 和 FGR 激酶也是被广泛报道参与肿瘤恶性进展的蛋白激酶, 亦是恶性肿瘤治疗领域非常有潜力的靶点。

miRNA 主要通过与其靶基因的 3'UTR 完全或不完全结合来降解靶基因的 mRNA 或抑制其翻译过程, 通过转录后调控, 进而影响细胞增殖、分化、凋亡和其他生命活动。我们的研究发现了多个与 AIFM2 表达相关联的 miRNA, 例如 miR30 家族、miR18 和 miR183。Croset 等^[29]曾报道 miRNA-30 家庭成员在乳腺癌主要发挥一个抑癌的作用, 它们通过直接靶向多个转移相关基因来抑制乳腺癌的侵袭、转移。Sanchez-Mejias 等^[30]发现在 HCC 中 miR-18a 的上调与患者预后不良以及促进肝癌细胞增殖有关。

本研究为 AIFM2 作为 HCC 诊断和预后的分子标志物提供了初步的证据。AIFM2 作为一个铁死亡的关键调控因子, 在 HCC 中能够可能发挥重要的调控作用。AIFM2 在 HCC 中与一些蛋白激酶 (如 MAPK3/7 和 RPS6KA1)、miRNA (例如 miR30 家族) 和转录因子 (如 NFAT) 等在表达上具有显著的关联性。这些研究结果为 AIFM2 在 HCC 中的后续研究奠定基础, 有望为 HCC 的诊疗挖掘新的靶点。但是, 本研究的结果主要根据生物信息学挖掘, 尚未在临床标本进行广泛验证。因此, AIFM2 的表达对 HCC 的影响及其具体分子机制需要后续仍进一步研究。此外, AIFM2 对 HCC 铁死亡层面的影响值得进一步研究。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15):1450-1462. doi: 10.1056/NEJMra1713263.
- [2] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(8): 1941-1953. doi: 10.1002/ijc.31937.
- [3] Xu J, Shen J, Gu S, et al. Camrelizumab in Combination with Apatinib in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma (RESCUE): A Nonrandomized, Open-label, Phase II Trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(4): 1003-1011. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2571.
- [4] 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.
- [5] 李文波, 孙成杰, 周国俊, 等. HCC 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.
- [6] 代柏树, 雷世雄, 杨振宇, 等. 肝癌合并门静脉癌栓患者术后肝动脉化疗栓塞术联合门静脉化疗的有效性及其安全性[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(2): 188-194. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.009.
Dai BS, Lei SX, Yang ZY, et al. Efficacy and safety of postoperative adjuvant transcatheter arterial chemoembolization plus portal vein chemotherapy for hepatocellular carcinoma patients associated with portal vein tumor thrombus[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(2): 188-194. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.009.
- [7] Mou Y, Wang J, Wu J, et al. Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):34. doi: 10.1186/s13045-019-0720-y.
- [8] Su Y, Zhao B, Zhou L, et al. Ferroptosis, a novel pharmacological mechanism of anti-cancer drugs[J]. *Cancer Lett*, 2020, 483: 127-136. doi: 10.1016/j.canlet.2020.02.015.
- [9] Chen X, Kang R, Kroemer G, et al. Targeting ferroptosis in pancreatic cancer: a double-edged sword[J]. *Trends Cancer*, 2021, S2405-8033(21)00097-2. doi: 10.1016/j.trecan.2021.04.005. [Online ahead of print]
- [10] Friedmann Angeli JP, Krysko DV, Conrad M. Ferroptosis at the crossroads of cancer-acquired drug resistance and immune evasion[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(7): 405-414. doi: 10.1038/s41568-019-0149-1.
- [11] Viswanathan VS, Ryan MJ, Dhruv HD, et al. Dependency of a therapy-resistant state of cancer cells on a lipid peroxidase

- pathway[J]. *Nature*, 2017, 547(7664): 453–457. doi: 10.1038/nature23007.
- [12] Hassanna B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting Ferroptosis to Iron Out Cancer[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(6): 830–849. doi: 10.1016/j.ccell.2019.04.002.
- [13] Liang C, Zhang X, Yang M, et al. Recent Progress in Ferroptosis Inducers for Cancer Therapy[J]. *Adv Mater*, 2019, 31(51): e1904197. doi: 10.1002/adma.201904197.
- [14] Xu T, Ding W, Ji X, et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cancer therapy[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8): 4900–4912. doi: 10.1111/jcmm.14511.
- [15] Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688–692. doi: 10.1038/s41586-019-1705-2.
- [16] Doll S, Freitas FP, Shah R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693–698. doi: 10.1038/s41586-019-1707-0.
- [17] Wu M, Xu LG, Su T, et al. AMID is a p53-inducible gene downregulated in tumors[J]. *Oncogene*, 2004, 23(40): 6815–6819. doi: 10.1038/sj.onc.1207909.
- [18] Hangen E, De Zio D, Bordini M, et al. A brain-specific isoform of mitochondrial apoptosis-inducing factor: AIF2[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(7): 1155–1166. doi: 10.1038/cdd.2009.211.
- [19] Miriyala S, Thippakorn C, Chaiswing L, et al. Novel role of 4-hydroxy-2-nonenal in AIFm2-mediated mitochondrial stress signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 91: 68–80. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.002.
- [20] Tan JH, Cao RC, Zhou L, et al. ATF6 aggravates acinar cell apoptosis and injury by regulating p53/AIFM2 transcription in Severe Acute Pancreatitis[J]. *Theranostics*, 2020, 10(18): 8298–8314. doi: 10.7150/thno.46934.
- [21] Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, et al. OncoPrint 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression profiles[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(2): 166–180. doi: 10.1593/neo.07112.
- [22] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, et al. UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8): 649–658. doi: 10.1016/j.neo.2017.05.002.
- [23] Vasaikar SV, Straub P, Wang J, Zhang B. LinkedOmics: analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D956–963. doi: 10.1093/nar/gkx1090.
- [24] Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal[J]. *Sci Signal*, 2013, 6(269): p11. doi: 10.1126/scisignal.2004088.
- [25] Zuberi K, Franz M, Rodriguez H, et al. GeneMANIA prediction server 2013 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Web Server issue): W115–122. doi: 10.1093/nar/gkt533.
- [26] Lin Q, Huang X, Zhong C, et al. Improved survival with radiotherapy in hepatocellular carcinoma with major vascular invasion: A propensity-matched analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results database[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(2): 515–526. doi: 10.1002/cam4.1937.
- [27] Wang Z, Li J, Long X, et al. MRPS16 facilitates tumor progression via the PI3K/AKT/Snail signaling axis[J]. *J Cancer*, 2020, 11(8): 2032–2043. doi: 10.7150/jca.39671.
- [28] Hasumi H, Baba M, Hasumi Y, et al. Folliculin-interacting proteins Fnip1 and Fnip2 play critical roles in kidney tumor suppression in cooperation with Flcn[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(13): E1624–1631. doi: 10.1073/pnas.1419502112.
- [29] Croset M, Pantano F, Kan C, et al. miRNA-30 Family Members Inhibit Breast Cancer Invasion, Osteomimicry, and Bone Destruction by Directly Targeting Multiple Bone Metastasis-Associated Genes[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(18): 5259–5273. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-3058.
- [30] Sanchez-Mejias A, Kwon J, Chew XH, et al. A novel SOCS5/miR-18/miR-25 axis promotes tumorigenesis in liver cancer[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(2): 311–321. doi: 10.1002/ijc.31857.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 罗可, 刘添皇. 线粒体相关凋亡因子2在肝细胞癌中的表达及其基因调控网络[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(1): 97–106. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.011

Cite this article as: Luo K, Liu TH. Expression and gene regulatory network of apoptosis inducing factor, mitochondrion-associated 2 in hepatocellular carcinoma[J]. *Chin J Gen Surg*, 2022, 31(1): 97–106. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.011