

# 肝细胞癌自噬相关标志物 生物信息学分析

苗德伟, 靳道春, 周远博, 付常庚 (牡丹江市第一人民医院 介入血管外科, 黑龙江 牡丹江 157000)

**摘要:** **目的** 基于生物信息学方法分析肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 自噬相关长链非编码RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 生物标志物, 用于评估HCC的临床预后及指导治疗。**方法** 从TCGA数据库中下载HCC全转录组数据以及对应的临床数据, 在人类自噬数据库 (<http://www.autophagy.lu/>) 下载自噬相关基因, 通过共表达分析找到自噬相关lncRNA。然后, 根据K-M分析及Cox分析构建临床预后模型预测HCC患者生存风险及临床相关性分析。最后, 针对这些自噬相关lncRNA进行GSEA功能富集分析和临床样本验证。**结果** 共筛选出919条自噬相关lncRNA, 其中AC009403.1、AC099850.3、AL365203.2、AL117336.3和AC015908.3具有临床预后价值且能预测HCC患者生存风险。根据构建的风险模型将高表达AC015908.3患者归为低风险患者, AC099850.3, AL117336.3和AL365203.2归为高风险患者, 独立预后分析也验证了构建的预后模型能够预后肝癌患者的生存风险。GSEA功能富集分析发现这5条自噬相关lncRNA主要富集在补体凝血级联、脂肪酸代谢、药物代谢与细胞色素P450、视黄醇代谢、氨基酸代谢、嘧啶代谢、剪接体、嘌呤代谢、碱基切除修复和细胞周期等通路。PCR结果显示, 相对于正常肝脏组织, AC009403.1 ( $6.36 \pm 2.44$  vs  $12.67 \pm 3.58$ ;  $t = 11.21$ ,  $P < 0.001$ )、AC099850.3 ( $9.48 \pm 3.08$  vs  $16.11 \pm 4.52$ ;  $t = 9.45$ ,  $P < 0.001$ )、AL365203.2 ( $5.89 \pm 2.33$  vs  $13.05 \pm 4.19$ ;  $t = 10.45$ ,  $P < 0.001$ )、AL117336.3 ( $5.44 \pm 2.60$  vs  $16.41 \pm 6.90$ ;  $t = 9.28$ ,  $P < 0.001$ ) 在HCC组织中高表达, AC015908.3在HCC组织低表达 ( $12.43 \pm 4.56$  vs  $6.03 \pm 1.94$ ;  $t = 9.13$ ,  $P < 0.001$ )。**结论** 5条自噬相关lncRNA构建的风险预测模型能够预测HCC患者的临床预后, 且通过生物代谢和细胞增殖等生物学过程参与HCC发生发展。

**关键词:** 肝细胞癌; TCGA数据库; 自噬; 长链非编码RNA

## Bioinformatics analysis of autophagy-related biomarkers of liver cancer

Miao Dewei, Jin Daochun, Zhou Yuanbo, Fu Changgeng (*Department of Interventional Vascular Surgery, Mudanjiang First People's Hospital, Mudanjiang 157000, Heilongjiang Province, China*)

**Abstract:** **Objective** To analyze long-chain non-coding RNA (lncRNA) biomarkers related to hepatocellular carcinoma (HCC) autophagy by bioinformatics methods for evaluating the clinical prognosis of HCC and guiding treatment. **Methods** HCC transcriptome data and corresponding clinical data were downloaded from TCGA database and autophagy-related genes were downloaded from the human autophagy database (<http://www.autophagy.lu/>), co-expression analysis was used to find autophagy-related lncRNA. Then, based on K-M analysis and Cox analysis, a clinical prognosis model was constructed to predict the survival risk and clinical correlation analysis of patients with HCC. Finally, GSEA functional enrichment analysis and clinical sample verification were performed on these autophagy-related lncRNA. **Results** A total of 919 autophagy-related lncRNAs were selected, among

which AC009403.1, AC099850.3, AL365203.2, AL117336.3 and AC015908.3 have clinical prognostic value and can predict the survival risk of patients with HCC. According to the constructed model, patients with high expression of AC015908.3 were classified as low-risk group, and patients with high expression of AC099850.3, AL117336.3 and AL365203.2 were classified as high-risk group. Independent prognostic analysis also verified that the prognostic model we constructed can prognose the survival risk of patients with HCC. GSEA functional enrichment analysis showed that these 5 autophagy-related lncRNAs were mainly enriched in the complement coagulation cascade, fatty acid metabolism, drug metabolism and cytochrome P450, retinol metabolism, amino acid metabolism, pyrimidine metabolism, spliceosome, purine metabolism, alkali Basal excision repair and cell cycle and other pathways. PCR results showed that compared with normal liver tissue, AC009403.1 ( $6.36 \pm 2.44$  vs  $12.67 \pm 3.58$ ;  $t = 11.21$ ,  $P < 0.001$ ), AC099850.3 ( $9.48 \pm 3.08$  vs  $16.11 \pm 4.52$ ;  $t = 9.45$ ,  $P < 0.001$ ), AL365203.2 ( $5.89 \pm 2.33$  vs  $13.05 \pm 4.19$ ;  $t = 10.45$ ,  $P < 0.001$ ), AL117336.3 ( $5.44 \pm 2.60$  vs  $16.41 \pm 6.90$ ;  $t = 9.28$ ,  $P < 0.001$ ) were higher expressed in liver cancer tissues, and AC015908.3 was lower expressed in liver cancer tissues ( $12.43 \pm 4.56$  vs  $6.03 \pm 1.94$ ;  $t = 9.13$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusions** The prediction models constructed from the five autophagy-related lncRNA can predict the clinical prognosis of patients with HCC and participate in the development of HCC through biological processes such as biological metabolism and cell proliferation.

**Key words:** Hepatocellular carcinoma; TCGA data base; Autophagy; Long noncoding RNA

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是中国最常见的癌症之一,大多数患者发现时已为晚期,病死率较高<sup>[1-3]</sup>。目前,HCC的化学治疗药物主要包括奥沙利铂、阿霉素和氟尿嘧啶等。但化学治疗这种晚期HCC患者的常规治疗方法有其局限性,且常伴有严重不良反应<sup>[4-7]</sup>。越来越多的研究表明,HCC自噬是一种代谢途径,这种途径可促进肿瘤细胞在化学治疗药物作用下的存活,进一步降低疗效。因此寻找HCC自噬相关标志物成为亟待解决的问题<sup>[8-15]</sup>。

长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)在多种疾病中发挥重要作用<sup>[16-21]</sup>。近年来研究表明,在HCC中lncRNA可调控自噬的发生,进而参与HCC的发生发展,如lncRNA-ATB可通过激活YAP基因和增加ATG5基因的表达来调节自噬<sup>[22]</sup>,lncRNA665可通过miR-186-5p/MAP4K3轴调节HCC的生存力、凋亡和自噬<sup>[23]</sup>。因此,寻找能够准确预测HCC预后的自噬相关lncRNA对指导临床诊断和治疗具有重要意义。

## 1 资料与方法

**1.1 自噬基因与lncRNA共表达网络的构建** 从TCGA数据库中下载HCC表达数据集及370例HCC患者的临床信息。在人类自噬数据库(<http://www.autophagy.lu/>)中下载自噬相关基因,使用perl包提取自噬相关基因在HCC数据集中的表达量,使用

R包对自噬相关基因与lncRNA进行共表达网络分析,最终得到自噬相关lncRNA(筛选标准为相关系数 $R > 0.3$ ,  $P \leq 0.01$ )。

**1.2 与HCC患者预后相关的自噬相关lncRNA的筛选** 首先通过单因素分析自噬相关lncRNA表达对生存率的影响,筛选出 $P < 0.01$ 的lncRNA,进一步用Cox回归模型进行分析,以确定其是否与患者的生存风险相关。筛选出的有统计学意义的lncRNA进一步行K-M生存分析,以确定其是否能够作为预后指标。K-M法是估计生存曲线:首先计算出活过一定时期的患者再活过下一时期的概率(即生存概率),然后将逐个生存概率相乘,即为相应时段的生存率。KM值是在特定时间点上观察到的生存患者比例。采用以下公式评估每个患者风险评分:风险评分 =  $\beta_{\text{基因1}} \times \text{ex}\beta_{\text{基因1}} + \beta_{\text{基因2}} \times \text{ex}\beta_{\text{基因2}} + \dots + \beta_{\text{基因n}} \times \text{ex}\beta_{\text{基因n}}$ ,其中 $\beta$ 值是通过多元Cox回归分析得到的每个基因的危险比(HR), $\text{ex}\beta_{\text{基因}}$ 代表每个参与构建风险模型的lncRNA表达量。按照中位数风险评分(1.09分)将HCC患者分为高风险组和低风险组,

**1.3 GSEA基因集富集分析** 采用GSEA功能富集法分析基因表达数据。GSEA使用所有基因而非仅差异基因进行分析,找到那些差异不显著但基因差异表达趋势趋于一致的功能基因集,同时还能够判断对应通路是处于被激活或抑制状态。在本研究中用于分析具有预后价值的lncRNA所富集的信号通路。

1.4 临床样本收集和实时荧光定量PCR验证 2018年1月至2020年1月,我们在牡丹江市第一人民医院收集50例HCC组织和癌旁组织存储于液氮之中,所有患者均知情同意并通过伦理审批(批件号:2017KL-022)。取1 mg组织,在1 ml Trizol溶液研磨裂解充分后提取总RNA。参照SYBR染料法荧光定量试剂盒的反应体系及反应条件,进行real-time PCR试验。引物序列如下:①AC009403.1:正向引物5'-CTTCCGCGAGAAAGGTGACT-3',反向引物5'-TGGCTTGGAAGTCCTTGACC-3';②AC099850.3:正向引物5'-CAGTGATGACGCAGGCCTTA-3',反向引物5'-TTAAGAACCCACGGAGCAC-3';③AL365203.2:正向引物5'-CGTGGGATCCACGGTTACTGG-3',反向引物5'-GCATGGCAGGTGTGGAAG-3';④AL117336.3:正向引物5'-GAGCCATATGGAATGCACACTG-3',反向引物5'-ACACAGAAATGTCCTGCGTC-3';⑤AC015908.3:正向引物5'-TTAGAGTGCCACGTCTCCA-3',反向引物

5'-GCAGTGAAATCAAGCCTGCG-3'。实时定量PCR反应体系:SYBR Green 1染料10  $\mu$ l,上游引物0.5  $\mu$ l,内参照下游引物0.5  $\mu$ l,dNTP 0.5  $\mu$ l,Taq酶1  $\mu$ l,待测样品cDNA 5  $\mu$ l,ddH<sub>2</sub>O 32.5  $\mu$ l,总体积50  $\mu$ l。反应条件为:93  $^{\circ}$ C 2 min,然后93  $^{\circ}$ C 1 min,55  $^{\circ}$ C 2 min,共40个循环。

1.5 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行统计分析,lncRNA相对表达量为计量资料,符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HCC患者中发现5条具有预后价值的自噬相关lncRNA 根据筛选标准( $R > 0.3$ 且 $P \leq 0.01$ )在TCGA数据库中共筛选出919条自噬相关lncRNA。通过构建自噬基因-lncRNA共表达网络( $P \leq 0.01$ )找到与自噬相关的lncRNA,然后将患者临床数据与表达数据合并,通过单因素Cox回归分析得到35条免疫相关的lncRNA。最后根据多因素Cox回归分析和K-M分析获得5条对HCC患者具有预后价值的自噬相关lncRNA( $P < 0.05$ )并构建共表达网络(图1)。其中AC009403.1、AC099850.3、

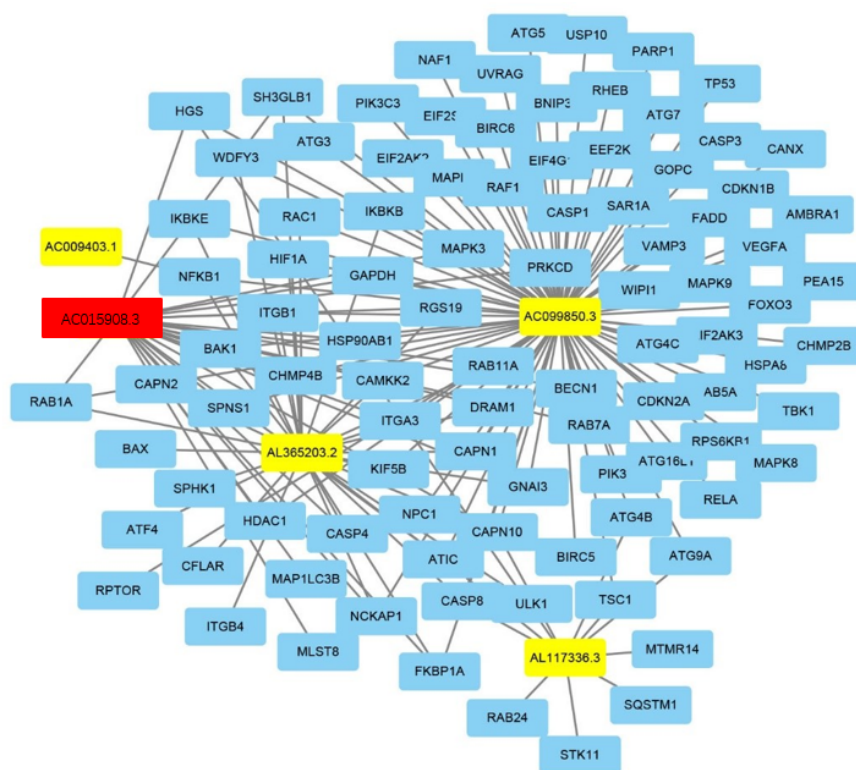


图1 HCC中自噬基因与lncRNA共表达网络

注:在中心位置,黄色节点表示作为危险因素的lncRNA,红色节点表示作为保护因素的lncRNA,蓝色表示自噬基;共表达网络通过CYTOSCAPE 3.4软件可视化。

AL365203.2和AL117336.3为危险因素，AC015908.3为保护因素（表1、图2）。

**2.2 lncRNA预测HCC患者临床预后的风险评分模型** 根据自噬相关lncRNA表达量构建风险评分模型，将370例HCC者按照风险评分中位数（1.09分）分为，将低于评分低于1.09分为低风险组（评分< 1.09分，185例），高风险组（评分≥ 1.09分，185例）。生存分析证实高风险患者5年生存率（17.9%）显著低于低风险组（56.9%），提示根据lncRNA表达量构建的风险评分模型能准确预测HCC患者临床预后，见图3。

**2.3 自噬相关lncRNA对HCC患者的临床价值** 单因素分析表明HCC分期、原发肿瘤、远处转移以及风险评分模型均能预测HCC患者死亡风险。多因素表明独立预后分析仅风险评分能够显著预测HCC患者的死亡风险。ROC曲线进一步证实风险评分预测HCC预后更加准确（ROC曲线下面积为0.775），见图4。

**2.5 GSEA基因集富集分析** 根据AC009403.1、

AC099850.3、AL365203.2、AL117336.3和AC015908.3表达构建的风险模型，将患者分为高风险组和低风险组并进行GSEA富集分析，结果显示这5条自噬相关lncRNA主要富集在补体凝血级联、脂肪酸代谢、药物代谢与细胞色素P450、视黄醇代谢、氨基酸代谢、嘧啶代谢、剪接体、嘌呤代谢、碱基切除修复和细胞周期等通路（图5）。

**2.6 临床样本PCR验证** 从牡丹江市第一人民医院收集到50例HCC组织和正常肝脏组织进行PCR试验，结果发现相对于正常肝脏组织，AC009403.1 ( $6.36 \pm 2.44$  vs  $12.67 \pm 3.58$ ;  $t = 11.21$ ,  $P < 0.001$ )、AC099850.3 ( $9.48 \pm 3.08$  vs  $16.11 \pm 4.52$ ;  $t = 9.45$ ,  $P < 0.001$ )、AL365203.2 ( $5.89 \pm 2.33$  vs  $13.05 \pm 4.19$ ;  $t = 10.45$ ,  $P < 0.001$ )、AL117336.3 ( $5.44 \pm 2.60$  vs  $16.41 \pm 6.90$ ;  $t = 9.28$ ,  $P < 0.001$ ) 在HCC组织中高表达，AC015908.3在HCC组织低表达 ( $12.43 \pm 4.56$  vs  $6.03 \pm 1.94$ ;  $t = 9.13$ ,  $P < 0.001$ )，见图6。

表1 与HCC生存预后显著相关的5条自噬相关lncRNA详细信息

基因	KM值	回归系数	标准误	风险比	95%CI	P值
AC009403.1	0.007298	0.151737	0.042015	1.163854	1.071854~1.263751	$3.04 \times 10^{-04}$
AC099850.3	0.005647	0.130677	0.024126	1.1396	1.086968~1.194781	$6.08 \times 10^{-08}$
AL365203.2	0.001845	0.128158	0.028641	1.136733	1.07468~1.202369	$7.65 \times 10^{-06}$
AL117336.3	0.002105	0.448877	0.094443	1.566551	1.301832~1.8851	$2.01 \times 10^{-06}$
AC015908.3	2.89E-05	-0.37816	0.092759	0.68512	0.571229~0.82172	$4.57 \times 10^{-05}$

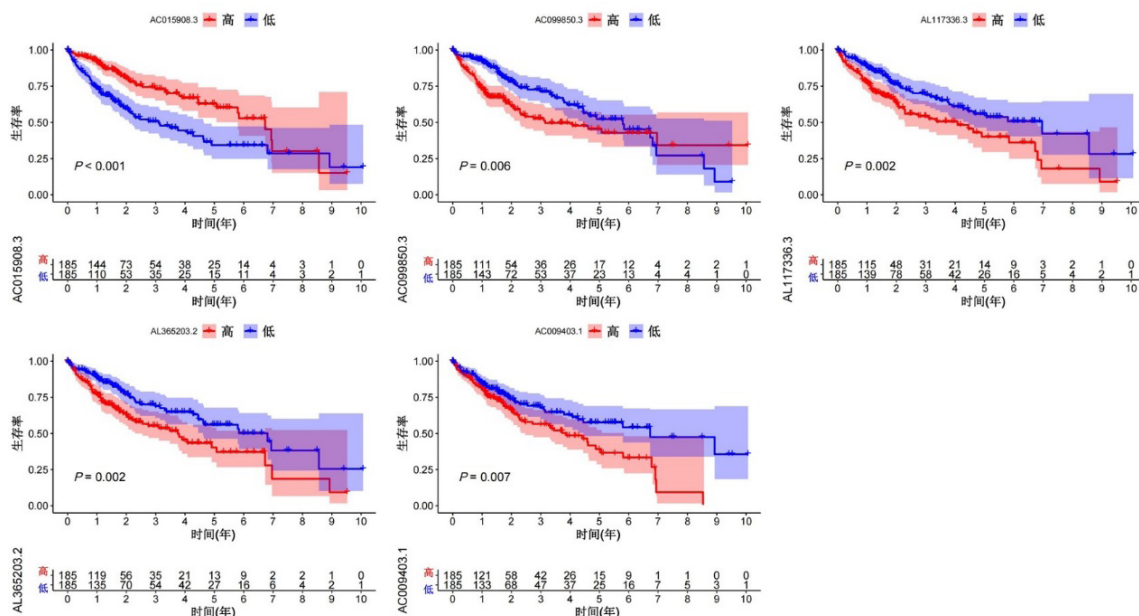


图2 TCGA 数据集中的5个HCC预后相关lncRNA的Kaplan-Meier生存曲线

注：5个免疫相关的lncRNA均HCC患者的独立预后因素，其中AC009403.1高表达组和低表达组患者5年生存率分别为38.7%、59.4%；AC099850.3高表达组和低表达组患者5年生存率分别为45.3%、54.3%；AL365203.2高表达组和低表达组患者5年生存率分别为40.4%、57.5%；AL117336.3高表达组和低表达组患者5年生存率分别为40.1%、52.5%；AC015908.3高表达组和低表达组患者5年生存率分别为63.4%、38.8%。

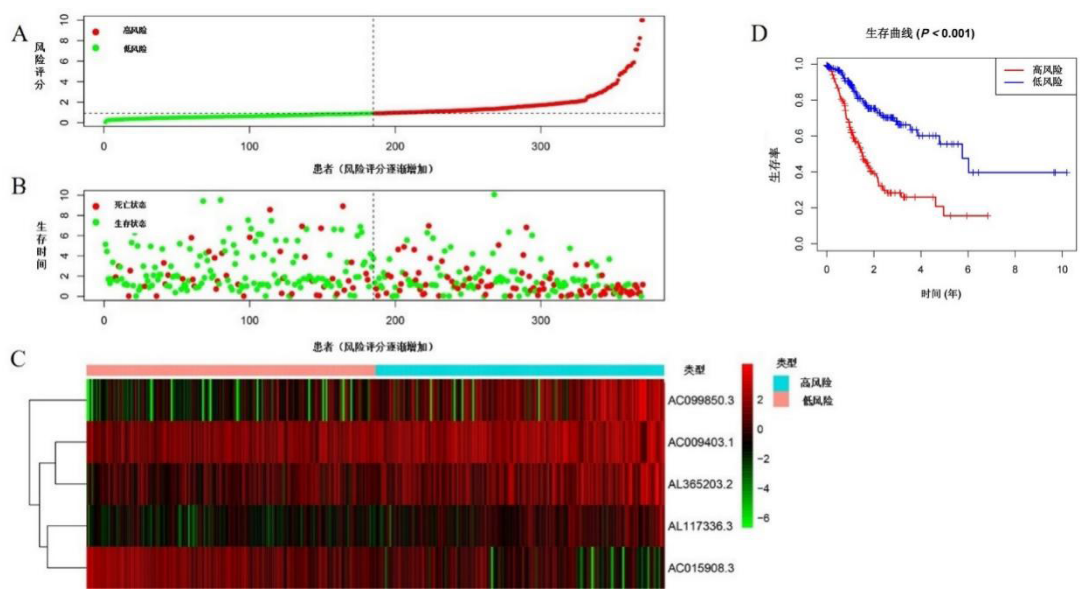


图3 TCGA中HCC患者免疫相关lncRNA风险评分

注：A为根据免疫相关lncRNA表达量构建模型的中位风险评分将HCC患者分为高死亡风险组和低死亡风险组；B为HCC患者的生存状况和生存时间；C为5个关键lncRNA在HCC中表达的热图，颜色从蓝色到红色显示从低到高的趋势水平；D为5个关键lncRNA能评估HCC患者的死亡风险，蓝色是低风险患者，红色是高风险患者。

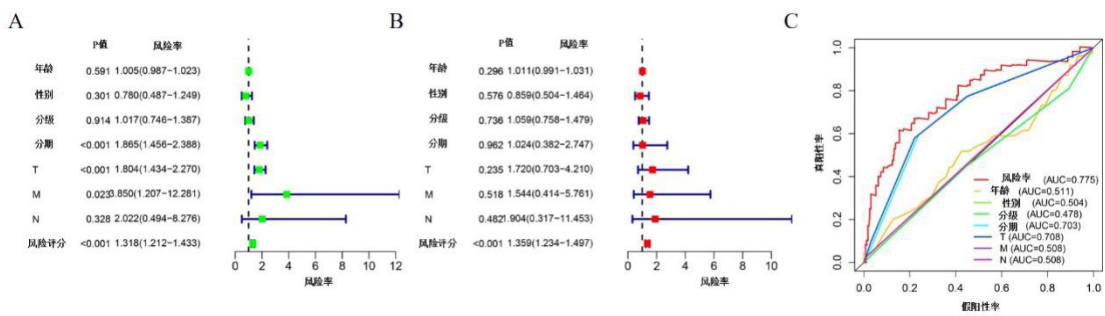


图4 构建的免疫相关lncRNA预后模型可作为独立预后因子预测HCC患者的预后

注：A单因素独立预后分析；B多因素独立预后分析；C各指标预测HCC患者预后的ROC曲线，曲线下面积分别为风险评分模型0.775，年龄0.511，性别0.504，分期0.703，T 0.708，M 0.508，N 0.508；T指原发肿瘤(tumor)，M为远处转移(metastasis)，N为淋巴结(node)。

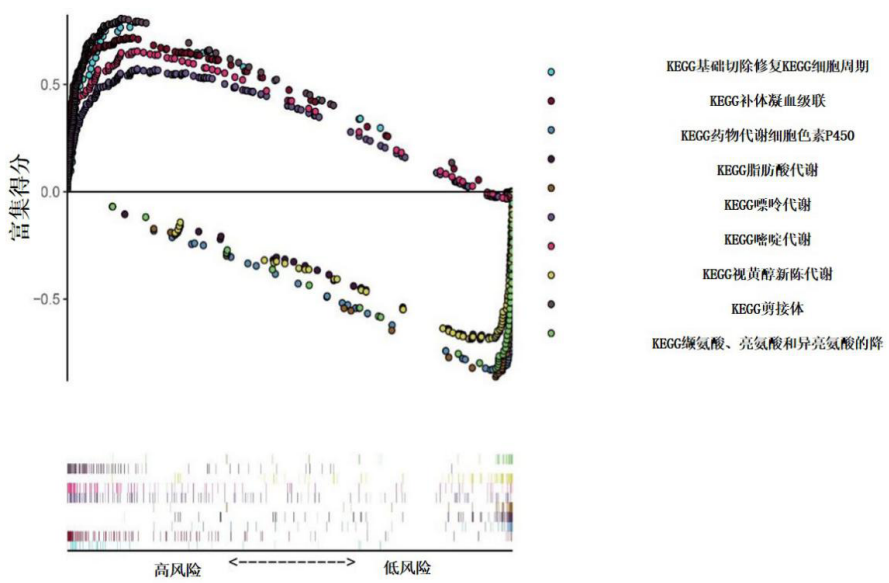


图5 高低风险组GSEA通路富集分析



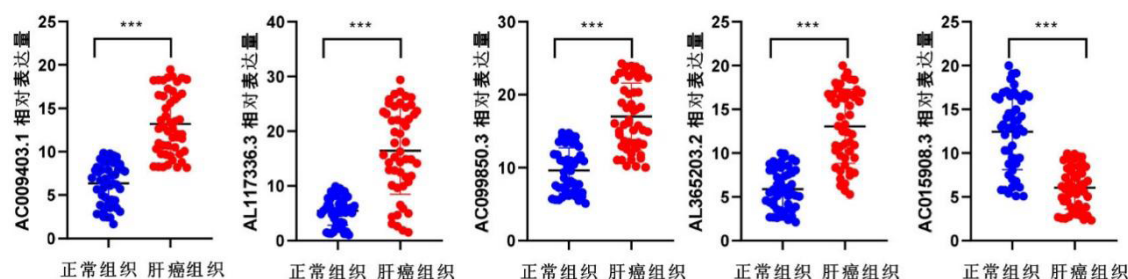


图6 自噬相关lncRNA在正常肝脏组织和HCC组织中的表达

注: \*\*\* $P < 0.001$ 。

### 3 讨论

奥沙利铂、阿霉素、氟尿嘧啶等是治疗HCC的几种有效药物,然而,化学治疗的耐药性使其治疗效果有限<sup>[1,2,4]</sup>。研究表明,HCC细胞自噬的发生是一种代谢途径,可促进癌细胞在压力下存活,从而显著影响HCC的治疗效果,找到HCC自噬相关标志物成为亟待解决的问题<sup>[3,9,10,15]</sup>。lncRNA在肿瘤进展中发挥至关重要的作用<sup>[24-27]</sup>,并且越来越多的lncRNA被证明会影响HCC的自噬生物学功能。因此,寻找能够准确预测HCC预后的自噬相关lncRNA对指导临床诊断和治疗非常重要<sup>[7,28-33]</sup>。

本研究利用TCGA数据库中的HCC全转录组数据和自噬相关基因,通过共表达分析筛选出了919条自噬相关lncRNA,然后利用KM分析和Cox分析,筛选出了5条具有临床预后价值的lncRNA,并构建了预测HCC患者生存风险的模型。本研究的重要性在于其揭示了自噬相关lncRNA在HCC生存风险预测中的潜在价值。本研究还发现这些lncRNA参与了许多生物学过程,包括HCC的代谢和细胞增殖等,这为深入探究HCC的发生和发展提供了重要线索。本研究也存在一些局限性。首先,研究样本数量相对较小,需更大的样本规模进行验证。其次,本研究只进行了生物学分析,并未进行功能实验验证。因此,需要进一步开展实验室研究来验证这些lncRNA在HCC发生和发展中的作用。

综上,这项研究揭示了自噬相关lncRNA在HCC生存风险预测和生物学过程中的重要作用,为HCC的预后和治疗提供了新的思路 and 方向。

### 参考文献

- [1] 孙宁宁,孙凤霞,李晓玲,等.原发性肝癌基础肝病治疗的意义[J/CD].中国肝脏病杂志(电子版),2018,10(1):6-9.
- [2] 刘固,罗一民.850例原发性肝癌早期患者临床特征分析[J].中国肝脏病杂志(电子版),2015,7:43-45.
- [3] 张宁宁,陆伟.肝细胞癌的靶向治疗[J].临床肝胆病杂志,2021,37(8):1753-1757.
- [4] VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med,2019,380(15):1450-1462.
- [5] FORNER A, REIG M, BRUIX J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2018,391(10127):1301-1314.
- [6] VYAS M, JAIN D. A practical diagnostic approach to hepatic masses[J]. Indian J Pathol Microbiol,2018,61(1):2-17.
- [7] GRANDHI M S, KIM A K, RONNEKLEIV-KELLY S M, et al. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment[J]. Surg Oncol,2016,25(2):74-85.
- [8] CICCARONE F, CASTELLI S, CIRIOLO M R. Oxidative stress-driven autophagy acROSs onset and therapeutic outcome in hepatocellular carcinoma[J]. Oxid Med Cell Longev,2019,2019:6050123.
- [9] SUN T, LIU H, MING L. Multiple roles of autophagy in the sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem,2017,44(2):716-727.
- [10] LI J, WU P W, ZHOU Y, et al. Rage induces hepatocellular carcinoma proliferation and sorafenib resistance by modulating autophagy[J]. Cell Death Dis,2018,9(2):225.
- [11] FU X T, SHI Y H, ZHOU J, et al. MicroRNA-30a suppresses autophagy-mediated anoikis resistance and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett,2018,412:108-117.
- [12] HUANG Q, ZHAN L, CAO H, et al. Increased mitochondrial fission promotes autophagy and hepatocellular carcinoma cell survival through the ROS-modulated coordinated regulation of the NFκB and TP53 pathways[J]. Autophagy,2016,12(6):999-1014.
- [13] ZHANG X, JIN L, TIAN Z, et al. Nitric oxide inhibits autophagy and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Sci,2019,110(3):1054-1063.
- [14] AKKOÇ Y, GÖZÜAÇIK D. Autophagy and liver cancer[J]. Turk J Gastroenterol,2018,29(3):270-282.
- [15] HUANG F, WANG B R, WANG Y G. Role of autophagy in tumorigenesis, metastasis, targeted therapy and drug resistance of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol,2018,24(41):4643-4651.
- [16] HABIEB A, MATBOLI M, EL-TAYEB H, et al. Potential role of lncRNA-TSIX, miR-548-a-3p, and SOGA1 mRNA in the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Mol Biol Rep,2019,46(4):4581-4590.
- [17] WEI H, HU J, PU J, et al. Long noncoding RNA HAGLROS promotes cell proliferation, inhibits apoptosis and enhances autophagy via regulating miR-5095/ATG12 axis in hepatocellular carcinoma cells[J]. Int Immunopharmacol,2019,73:72-80.
- [18] Li J, Zhai DS, Huang Q, et al. LncRNA DCST1-AS1 accelerates the proliferation, metastasis and autophagy of hepatocellular carcinoma cell by AKT/mTOR signaling pathways[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(14):6091-6104.

- [19] XIONG H, NI Z, HE J, et al. LncRNA HULC triggers autophagy via stabilizing Sirt1 and attenuates the chemosensitivity of HCC cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(25):3528-3540.
- [20] LI W, DONG X, HE C, et al. LncRNA SNHG1 contributes to sorafenib resistance by activating the Akt pathway and is positively regulated by miR-21 in hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):183.
- [21] GUO J, MA Y, PENG X, et al. LncRNA CCAT1 promotes autophagy via regulating ATG7 by sponging miR-181 in hepatocellular carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10):17975-17983.
- [22] WANG C Z, YAN G X, DONG D S, et al. LncRNA-ATB promotes autophagy by activating Yes-associated protein and inducing autophagy-related protein 5 expression in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(35):5310-5322.
- [23] SHAN Y, LI P. Long intergenic non-protein coding RNA 665 regulates viability, apoptosis, and autophagy via the miR-186-5p/MAP4K3 axis in hepatocellular carcinoma[J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(9):842-853.
- [24] YANG Y, CHEN L, GU J, et al. Recurrently deregulated lncRNAs in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14421.
- [25] Wang Y, Yang L, Chen T, et al. A novel lncRNA MCM3AP-AS1 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by targeting miR-194-5p/FOXA1 axis[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):28.
- [26] SASAKI R, KANDA T, YOKOSUKA O, et al. Exosomes and hepatocellular carcinoma: from bench to bedside[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6):1406.
- [27] LIM L J, WONG S Y S, HUANG F, et al. Roles and regulation of long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(20):5131-5139.
- [28] OUYANG W, REN L, LIU G, et al. LncRNA MIR4435-2HG predicts poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *PeerJ*, 2019, 7:e6683.
- [29] ZHANG L, HUANG Y, LING J, et al. Screening and function analysis of hub genes and pathways in hepatocellular carcinoma via bioinformatics approaches[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(3):511-521.
- [30] ZHANG Q, SUN S, ZHU C, et al. Prediction and analysis of weighted genes in hepatocellular carcinoma using bioinformatics analysis[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4):2479-2488.
- [31] WU M, LIU Z, ZHANG A, et al. Identification of key genes and pathways in hepatocellular carcinoma: a preliminary bioinformatics analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(5):e14287.
- [32] SHEN S, KONG J, QIU Y, et al. Identification of core genes and outcomes in hepatocellular carcinoma by bioinformatics analysis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6):10069-10081.
- [33] SANG L, WANG X M, XU D Y, et al. Bioinformatics analysis of aberrantly methylated-differentially expressed genes and pathways in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(24):2605-2616.

收稿日期: 2020-08-10

苗德伟, 靳道春, 周远博, 等. 肝细胞癌自噬相关标志物生物信息学分析[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2023, 15(1): 40-46.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊对来稿参考文献格式的要求

本刊执行 GB/T 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用, 确需引用时, 可将其在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写, 勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过3人全部著录; 超过3人可以只著录前3人, 后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后, 外国人的名字采用首字母缩写形式, 缩写名后不加缩写点; 不同作者姓名之间用“,”隔开, 不用“和”、“and”等连词。请于文献题名项后增加标注文献类型标志项目, 示例如下:

[1] 陈登原. 国史旧闻 [M]. 北京: 中华书局, 2000:29.

[2] 袁训来, 陈哲, 肖书海, 等. 蓝田生物群: 一个认识多细胞生物起源和早期演化的新窗口 [J]. 科学通报, 2012, 55(34):3219.

[3] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济 [N/OL]. 人民日报, 2013-01-12(2). [2013-03-20]. [http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb\\_20130112\\_5-02.htm](http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm).

本刊编辑部