专家论坛

肝细胞肝癌的组学研究进展及在早期诊断中的价值

胡梦圆[1,2]，付丽云[1,2,3]
1.宁波大学医学院（宁波 315211）；2.中国科学院大学宁波华美医院 肝病科（宁波 315020）；
3.浙江省消化系统肿瘤诊治及研究重点实验室（宁波 315020）

【摘 要】肝细胞肝癌具有高发病率和高死亡率的特点，提高早期诊断率能够有效减轻癌症负担，降低死亡率。近20年，随着二代测序技术的发展，组学已成为医学领域中常用的技术手段。组学包括基因组学、转录组学和蛋白质组学等，是研究基因的表达和功能、转录产物、翻译产物及代谢产物等的学科，并且新的组学领域还在不断被挖掘，在寻找早期诊断标志物、治疗靶点、疗效评估和预测预后方面具有广阔的前景。本综述结合最新研究，总结各组学基本概念、技术手段和相关肝细胞肝癌生物标记物等，旨在阐述基因组、转录组、蛋白质组、代谢组和微生物组在肝细胞肝癌中的研究进展和在肝细胞肝癌早期诊断中的运用价值。

【关键词】肝细胞肝癌 生物标志物 组学
【中图分类号】R575.1 文献标志码 A DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2021.06.005

Progress in omics research on hepatocellular carcinoma and its value in early diagnosis

HU Meng-yuan[1,2], FU Li-yun[1,2,3]
1.*Ningbo University School of Medicine, Ningbo 345211, China*; 2.*Department of Hepatology, Huamei Hospital, University of Chinese Academy of Science, Ningbo 315020, China*; 3.*Key Laboratory of Diagnosisand Treatment of Digestive System Tumors of Zhejiang Province, Ningbo 315020, China*

【Abstract】 Hepatocellular carcinoma (HCC) features high morbidity and mortality. Improving its early diagnostic rate can effectively reduce the burden of cancer and reduce the mortality rate. Over the past 20 years, with the development of the next-generation sequencing technology, omics has become a commonly used technical means in the field of medicine. Omics, including genomics, transcriptomics, and proteomics, is a discipline concerned with the study of gene expression and function, transcription products, translation products, metabolites, etc., and new areas of omics are being explored, holding substantial promise for the search for early diagnostic markers and therapeutic targets, efficacy evaluation, and prognosis prediction. Based on the latest studies, this article reviews the basic concepts and technical means of each branch of omics, and HCC-related biomarkers, and describes the research progress of genome, transcriptome, proteome, metabolome, and microbiome in HCC and their clinical significance in early diagnosis of HCC.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma Biomarkers Omics

基金项目：浙江省自然科学基金（No.LQ19H160007）；浙江省公益技术应用研究计划项目（No.LGF19H160012）；宁波市自然科学基金（No.202003N4020）；宁波大学医学院校-医联合基金（No.201805）
第一作者简介：胡梦圆，硕士研究生
通信作者：付丽云，主任医师，硕士，硕导。E-mail：fuliyun@ucas.ac.cn

1990年至2015年统计数据显示,原发性肝癌是全球癌症相关死亡的第四大病因,位居恶性肿瘤发生率第六位[1]。2019年公布的我国最新恶性肿瘤发病和死亡分析结果显示:原发性肝癌是我国第四位高发恶性肿瘤,2015年原发性肝癌发病率和死亡率分别为26.92/10万和23.72/10万,位居肿瘤致死病因第二位[2]。肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要病理类型,占比约85%~90%[3]。在本篇文章中,肝癌主要指的是HCC这一病理类型。据统计,男性HCC发病率高于女性,约为3:1[3]。对于HCC高危人群的定期筛查,有助于HCC的早期发现、早期诊断和早期治疗,是提高HCC治疗疗效、提升生存率的关键。一项纳入47项研究、包含15 158例患者的Meta分析显示:在肝硬化人群中,定期筛查可使早期HCC的诊断率、HCC的治愈率和生存率分别提升2倍以上[4]。因此,HCC的早筛显得尤为重要。

目前,组学研究已成为医学研究领域中常用的技术手段,组学包括基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和微生物组学等,是研究基因的表达和功能、遗传产物及代谢产物等的学科。通过组学技术可以将生物体内所有的某分子类型(基因/蛋白质/转录产物/代谢产物等)作为对象进行研究,并建立相应数据库。也可以筛查疾病表达差异分子,进一步研究其与临床病理特征的联系,如筛选出HCC癌组织与癌旁组织的差异表达分子[5]。本综述结合最新研究,主要阐述基因组(genomics)、转录组(transcriptomics)、蛋白质组(proteomics)、代谢组(metabolomics)和微生物组(microbiomes)在HCC中的研究进展和在早期诊断中的运用价值。

1 基因组学

基因组学是一门研究生物体所有遗传物质的科学,针对单个个体或一类生物体所有基因进行分析和量化,同时研究相互关系及其对生物体的影响[6]。在癌症研究中,基因组学旨在通过发现和靶向与癌症相关的基因改变从而推进肿瘤个体化治疗[7]。

基因组学应用的技术有:二代测序技术(next-generation sequencing, NGS),又称高通量测序技术(high-throughput sequencing),包括全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)[8]、全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)[9]、RNA测序(RNA-SEQ)[10-11]、靶向深度测序(targeted deep sequencing)[8]等,并且仍在不断扩展新的技术,这些技术通过提供更高的效率和更低的成本推动了科学研究的进展。

WGS提供了最全面的基因组信息和相关生物学意义,正在成为NGS中使用最广泛的应用之一[12]。WES和靶向测序,通过限制所用基因组材料的大小,可以在一次测序运行中对更多个体样本进行测序,从而增加基因组研究的广度和深度[12]。NGS还提供了洞察基因组调控机制的技术基础,比如蛋白质-DNA相互作用可以通过免疫共沉淀富集与蛋白质相互作用的DNA片段来探测[12]。

在HCC的研究中,基于二代测序技术,以及不断扩充的各项数据库,包括癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)计划和GEO(gene expression omnibus)数据库等[13],发现了多个突变基因,其中,*TP53*和*CTNNB1*是高频突变的基因[8, 14-15]。另外,也发现10多个基因发生突变,包括*AXIN1*、*RB1*、*KEAP1*、*ARID2*、*ARID1A*、*RPS6KA3*、*APOB*、*CDKN2A*、*LRP1B*、*PTEN*、*ALB*、*BRD7*、*RPL22*等[8, 16-18]。

基于测序技术的广泛应用,针对不同变量的更有针对性的基因测序也在不断开展。近来,针对病因以及流行病学特征开展了一系列基因组学研究。流行病学调查显示,肝癌最常见的危险因素是慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染和饮食中暴露于黄曲霉毒素B1[14],同时还发现,男性比女性更易患HCC[14],蒙古族人是世界上HCC发病率最高的人群之一[15]。针对这些因素,研究的结果如下:HBV相关的HCC:多项组学研究的开展发现了包括端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)在内的癌症相关基因*CCNE1*和*MML4*是HCC中HBV整合的重要靶基因[5, 19-21]。TERT启动子突变在肿瘤的发生中起到重要作用(见于60%的肝癌)[21]。此外,由于很大比例的HBV相关HCC不包含任何已知癌症相关基因的整合,因此提出了另外两种机制:诱导基因组、染色体不稳定性和突变HBV蛋白的产生、持续表达[22]。另外Péneau等研究发现,与非肿瘤肝组织相比,在肿瘤肝组织中发现了更多的克隆性HBV整合,这与2012年的发现一致[10, 23]。最新研究显示,HBV病毒增强子可诱导癌基因的过表达,值得关注的是,HBV整合位点基因重排也可能导致癌症驱动基因的拷贝数改变,HBV整合的数量是HBV相关HCC的独立预后因素[10]。黄曲霉毒素相关的HCC:

黄曲霉毒素相关的HCC中除了先前报道的常见突变(TP53)外[8],还发现黏附G蛋白偶联受体B1基因(adhesion G protein-coupled receptor B1, ADGRB1)高频突变,与肿瘤组织毛细血管密度增加和程序性死亡因子配体1(programmed cell death 1 ligand 1,PD-L1)的表达相关。值得注意的是,在来自中国的肝癌病例中,9.8%含有黄曲霉毒素相关的遗传特征,与其他含有这些遗传特征的地区相比肝癌比例要偏大。这些发现可能被用来识别因接触黄曲霉毒素而患肝癌的患者[24]。地区相关的HCC:蒙古族人的基因图谱展示了除常见突变(*TP53*、*CTNNB1*)外独特的驱动突变,包括*GTF2IRD2B*、*PNRC2*和*SPTA1*,其中*GTF2IRD2B*最为显著[15]。

依据越来越多的基于流行病学背景的基因图谱描绘以及随着新技术的更新以及检测成本的下降,未来也许可以做到对有高危因素的人群进行基因组的筛查,从而有助于HCC的早期诊断。

虽然全基因组和全外显子组测序逐渐描绘出HCC的基因组,但基因改变是如何驱动癌症表型,目前在很大程度上还不清楚。而接下来介绍的其他组学,也将和基因组学共同研究,为揭示HCC的分子分型和协助诊断提供帮助。

2 转录组学

转录组学是研究细胞中基因转录情况及转录调控规律的学科,即研究各种RNA,是基因组学和蛋白组学的桥梁[11-12]。RNA-seq,是随着高通量测序技术而发展起来的一种转录组测序技术,可对差异基因表达和mRNA差异剪接进行全转录组分析,可用于研究RNA(包括mRNA,非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)等)生物学的各个层面,包括单细胞基因表达、翻译和RNA结构[11]。在RNA-Seq基础上,微阵列技术(microarray)、批量RNA测序(bulk RNA-sequencing)、单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)、小RNA测序(small RNA sequencing , sRNA-seq)、基因表达芯片(gene expression arrays)等[24-26]为RNA研究提供了技术支持,孕育出了多个类别的候选标志物。一般研究思路是,首先通过表达图谱和生物信息学分析,筛选出候选生物标志物,再通过进一步分子、细胞、动物等多层面的实验,研究这些候选分子的表达水平与临床参数的关系,以及摸索它们在某一通路中的角色,增加作为潜在的HCC诊断标记物的可行性及寻找治疗靶标等。

2.1 微小RNA(microRNA, miRNA)

miRNA是非编码RNA中的一种,许多研究评估了miRNA能否作为诊断HCC的潜在生物标志物。比如miR-21和miR-199[26-27]已被多次验证是肝癌早期诊断的潜在生物标志物。一项Meta分析表明,4个miRNAs(miR-20a-5p、miR-320a、miR-324-3p和miR-375)可以作为HCC早期诊断生物标志物[28]。另外,一项研究发现miR-375,miR-10a,miR-122和miR-423在HCC组中显著高于对照组($P < 0.0\ 001$),并且4-miRNA组合下的受试者工作特征曲线下面积(AUC)可达到0.995[29]。

2.2 长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)

lncRNA参与HCC细胞的增殖、侵袭、迁移与转移、细胞凋亡等,在肝癌诊断中具有较好的作用。如,来源于组织、血浆和唾液中的lnc-PCDH9-13:1和来源于血清的lncRNA-UCA1和lncRNA-WRAP53可以作为诊断HCC潜在的生物标志物。后两者与AFP结合可以达到100%的灵敏度[30-31]。由于许多候选早筛标志物lncRNA在非HCC情况下也会有异常表达,有研究表明lncRNA与AFP等其他分子联合诊断效果更佳[32]。

2.3 环状RNA(circular RNA, cirRNA)

cirRNA是ncRNA的新成员,同样参与HCC的产生和发展,由于它的不易被核酸外切酶降解的稳定性提示了它有潜力成为早期筛查的标志物[33]。如circRNA-100338、circRNA SMARCA5、hsa_circ_00156、hsa_circ_000224、hsa_circ_000520、hsa_circ_0028502和hsa_circ_ 0076251等有潜在的预后和诊断价值[34-37]。

3 蛋白质组学

蛋白质组学主要运用双向凝胶电泳、色谱与质谱技术,研究组织、体液等来源的蛋白质水平、翻译后修饰等,能够将基因型与癌症表型联系起来。其中,磷酸蛋白质组学和糖蛋白质组学是两种有效的功能蛋白质组学方法,可用于挖掘生物标志物以及治疗靶点、癌症发展机制、耐药机制等[7,38-39]。

蛋白质位于转录下游,可以直接反应细胞的活动,并且研究发现,在所有组织中,肝脏分泌的蛋白质数量最多[40],这使得蛋白组学在HCC中具有较大的价值。

国内樊嘉院士团队首次利用159例HBV相关HCC患者的成对肿瘤和邻近肝组织进行蛋白质基因组学表征。发现两个预后生物标志物PYCR2和ADH1A;同时发现了CTNNB1和TP53突变相关的信号传导和代谢特征,其中突变的CTNNB1相关的醛酸磷酸化被证实可促进糖酵解和细胞增殖。该研究提供了一个有价值的资源,极大地扩展了HBV相关HCC的知识,同时也扩展了挖掘早期诊断标志物的思路[18]。

一项前瞻性多中心横断面研究,采用毛细管电泳质谱(capillary electrophoresis-mass spectrum,CE-MS)技术检测HCC患者的尿蛋白组学特征。鉴定了31个肝癌特异性多肽标志物,并进一步整合到多变量分类模型中。该多肽模型对HCC诊断的敏感度和特异度分别为79.5%和85.1%[38]。这项研究说明了该尿多肽有望成为HCC早期诊断标志物。

4 代谢组学

代谢组学是研究生物个体在置身于某特定环境下所产生的代谢产物集合的科学。代谢物质的起源来自于上游的基因组,能够与蛋白质组一起直观且动态地反应细胞的生理病理状态,是继基因组学、转录组学和蛋白组学之后的又一新方向,是以上组学的补充[41-42]。

对来自KEGG新陈代谢数据库中注册的1 434个基因的蛋白质在32个组织中进行了量化,发现肝脏富含的代谢蛋白最多,并且大多数代谢途径都在肝脏中富集[40]。另外,肝功能下降被认为是肝癌发展的早期事件,因此很可能在血液中观察到各种代谢紊乱[43]。当HCC中的癌细胞发生不可控制的增殖时,肝脏代谢可发生复杂的适应性改变,这为找到潜在诊断生物标志物提供了新思路。

Luo等[44]通过多中心大样本研究发现血清代谢生物标志物组合,包括苯丙氨酰-色氨酸和甘胆酸,对HCC高危人群的早期诊断具有良好的诊断性能。运用液相色谱与质谱联用技术,Lu等[45]发现了Pep(36:4)和Pep(40:6)可以作为HCC诊断的潜在血清生物标志物。国内一研究团队运用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用技术发现了甘胆酸、2-脱氧栗甾酮、脱氧胆酸甘氨酸偶联物和牛磺胆酸是潜在早期临床诊断标志物[46]。基于高分辨率质谱技术,一个前瞻性队列研究观察了HCC诊断前的代谢紊乱[43],确定了与HCC风险相关的92种代谢物的循环水平变化,其中14种具有高可信度,其中一些观察了长达10年。14种代谢物包括:N1-乙酰亚精胺、靛红、对羟基苯乳酸、酪氨酸、鞘氨醇、L-环(亮氨酰脯氨酰)、甘氨鹅脱氧胆酸、甘氨胆酸和7-甲基鸟嘌呤,与HCC风险呈正相关;视黄醇、硫酸脱氢表雄酮、甘油磷酸胆碱、γ-羧乙基羟色胺和肌酸,与HCC风险呈负相关。Liu等[47]对来自门静脉血的代谢物的变化进行了代谢组谱分析,发现肝癌患者中的DL-3-苯乳酸、L-色氨酸、甘胆酸和1-甲基烟酰胺的代谢物水平的表达升高,提示了肝功能损害和生存不良。

5 微生物组学

人肠道中有多达100万亿个微生物,尤其结肠具有最高密度的微生物[48]。肝脏有一个独特的门静脉血管系统,该系统接收来自肠道的代谢物并直接输送到肝脏,另外,还存在胆汁酸的肠-肝循环[49]。因此,来源于肠道的微生物结构的变化可能通过改变代谢物结构成分和代谢物共同来影响HCC的发生发展[47]。肝脏疾病中的微生物组学研究主要以肠道为背景。肠道微生物组学为寻找HCC非侵入性生物标志物提供了新的思路。

微生物组学使用了元基因组学中的研究方法和技术,来测定样品中所包含的全部微生物的遗传物质及群落功能,并研究其与代谢物之间的关系。一般思路是,用二代测序技术和生物信息学工具检测样品中提取的DNA并与微生物基因组的参考数据库比对,确定细菌分类组成,再通过蛋白质组学和代谢组学的补充,深入研究微生物组的功能[50-51]。

多项研究发现肠道微生物在免疫、炎症反应以及肝癌发展中具有关键作用[52-53]。Behary等[53]发现非酒精性脂肪性肝病相关HCC的肠道微生物具有独特的微生物群和代谢组特征,可以调节外周免疫反应。Ponziani等[54]观察到与炎症指标相关的钙保护素可能受到阿克曼杆菌和双歧杆菌丰度的影响,这两种细菌可能通过降低肠道和肝脏的炎症反应,影响HCC的发生和进展。也发现了与非HCC的肝硬化患者相比,HCC组的类杆菌属和疣微菌科增加。

成人的微生物群结构具有特异性,但最近的研究表明不同地区的HCC患者虽然微生物结构不同,但HCC中的微生物失调可能存在普遍性,提示了微生物标志物作为早期筛查标志物的可能性[52, 55]。任

志刚等应用16S rRNA测序等技术，发现了一种HCC微生物操作分类单元(operational taxonomy units，OTUs)标志物诊断模型，来自微生物筛选基因的30个OTUS标志物被选为最优标志物集，在识别早期HCC中的AUC为80.64%，并成功地实现了国内西北和华中地区HCC的跨区域验证，这项研究说明了肠道微生物标志物可以作为HCC早期诊断的非侵入性潜在工具[52]。然而肠道微生物受到的影响因素很多，不仅来自宿主，还会受环境、饮食等的影响[56-57]，因此仍需大量研究来完善微生物与人体肠道构成的微生态组网络。

6 展望

基因型与表型的关系一直是生命科学中至关重要的，是破译生命科学奥秘的钥匙。对于单基因性状，可以很容易地理解基因型与表型的关系。然而大多数表型特征涉及多基因产物[41]，若是放到整个人体中，基因与表型则会形成复杂的网络。组学提供了一种研究技术和方法，筛选出差异基因，再去验证它与表型是否存在强关联，再通过后续的功能学研究进行“基因到表型”的探索，为靶向治疗和预后提供强大支撑。再通过多组学的整合，有希望绘制出HCC发生发展中，从基因到转录产物，从翻译产物到直接反应机体状态的代谢产物，再到与微生物交互作用反应的分子生物学机制全景，最终应用到包括早期诊断在内的多个肝癌研究领域。

多组学研究发现的候选早筛生物标志物距离高特异性、高敏感性、可重复性、低成本性的理想肿瘤标志物相差很远[58]。未来的挑战包括大规模临床样本的验证研究，技术方法的标准化和新技术的开发，分析算法的标准化和进一步发展，以及大规模的合作等。

参考文献

[1] Global Burden of Disease Liver Cancer Collaboration, Akinyemiju T, Abera S, *et al*. The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level: results from the global burden of disease study 2015[J]. JAMA Oncol, 2017, 3(12): 1683-1691.

[2] 孙可欣，郑荣寿，张思维，等. 2015年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤，2019，28(1)：1-11.

[3] Sartorius K, Sartorius B, Aldous C, *et al*. Global and country underestimation of hepatocellular carcinoma (HCC) in 2012 and its implications[J]. Cancer Epidemiol, 2015, 39(3): 284-290.

[4] Singal A, Volk ML, Waljee A, *et al*. Meta-analysis: surveillance with ultrasound for early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2009, 30(1): 37-47.

[5] Jang JW, Kim HS, Kim JS, *et al*. Distinct patterns of HBV integration and TERT alterations between in tumor and non-tumor tissue in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(13): 7056.

[6] Sherman RM, Salzberg SL. Pan-genomics in the human genome era[J]. Nat Rev Genet, 2020, 21(4): 243-254.

[7] Zhang B, Whiteaker JR, Hoofnagle AN, *et al*. Clinical potential of mass spectrometry-based proteogenomics[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(4): 256-268.

[8] Hirotsu Y, Zheng TH, Amemiya K, *et al*. Targeted and exome sequencing identified somatic mutations in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Res, 2016, 46 (11): 1145-1151.

[9] Lappalainen T, Scott AJ, Brandt M, *et al*. Genomic analysis in the age of human genome sequencing[J]. Cell, 2019, 177(1): 70-84.

[10] Péneau C, Imbeaud S, La Bella T, *et al*. Hepatitis B virus integrations promote local and distant oncogenic driver alterations in hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2021: gutjnl-2020-323153.DOI:10.1136/gutjnl-2020-323153. Epub ahead of print.

[11] Stark R, Grzelak M, Hadfield J. RNA sequencing: the teenage years[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20 (11): 631-656.

[12] Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies[J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(6): 333-351.

[13] Li MX, Luo FZ, Tian XY, *et al*. Chemokine-like factor-like MARVEL transmembrane domain-containing family in hepatocellular carcinoma: latest advances[J]. Front Oncol, 2020, 10: 595973.

[14] Kew MC. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and risk factors[J]. J Hepatocell Carcinoma, 2014, 1: 115-125.

[15] Candia J, Bayarsaikhan E, Tandon M, *et al*. The genomic landscape of Mongolian hepatocellular carcinoma[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 4383.

[16] Li M, Zhao H, Zhang XS, *et al*. Inactivating mutations of the chromatin remodeling gene ARID2 in hepatocellular carcinoma[J]. Nat Genet, 2011, 43(9): 828-829.

[17] Huang WT, Skanderup AJ, Lee CG. Advances in genomic hepatocellular carcinoma research[J]. Gigascience,

2018, 7(11): giy135.

[18] Gao Q, Zhu HW, Dong LQ, *et al*. Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. Cell, 2019, 179(2): 561-577.e22.

[19] Li CL, Li CY, Lin YY, *et al*. Androgen receptor enhances hepatic telomerase reverse transcriptase gene transcription after hepatitis B virus integration or point mutation in promoter region[J]. Hepatology, 2019, 69(2): 498-512.

[20] Aziz K, Limzerwala JF, Sturmlechner I, *et al*. Ccne1 overexpression causes chromosome instability in liver cells and liver tumor development in mice[J]. Gastroenterology, 2019, 157(1): 210-226.e12.

[21] Pillai A, Ahn J, Kulik L. Integrating genomics into clinical practice in hepatocellular carcinoma: the challenges ahead[J]. Am J Gastroenterol, 2020, 115 (12): 1960-1969.

[22] Tu T, Budzinska MA, Shackel NA, *et al*. HBV DNA integration: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Viruses, 2017, 9(4): 75.

[23] Sung WK, Zheng HC, Li SY, *et al*. Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma[J]. Nat Genet, 2012, 44(7): 765-769.

[24] Zhang W, He H, Zang M, *et al*. Genetic Features of Aflatoxin-Associated Hepatocel lular Carcinoma. Gastroenterology, 2017, 153(1): 249-262.e2

[25] Füllgrabe A, George N, Green M, *et al*. Guidelines for reporting single-cell RNA-seq experiments[J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(12): 1384-1386.

[26] Mjelle R, Dima SO, Bacalbasa N, *et al*. Comprehensive transcriptomic analyses of tissue, serum, and serum exosomes from hepatocellular carcinoma patients[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 1007.

[27] Parikh ND, Mehta AS, Singal AG, *et al*. Biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2020, 29(12): 2495-2503.

[28] Wen Y, Han J, Chen JG, *et al*. Plasma miRNAs as early biomarkers for detecting hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2015, 137(7): 1679-1690.

[29] An Y, Gao S, Zhao WC, *et al*. Novel serum microRNAs panel on the diagnostic and prognostic implications of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(24): 2596-2604.

[30] Kamel MM, Matboli M, Sallam M, *et al*. Investigation of long noncoding RNAs expression profile as potential serum biomarkers in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Transl Res, 2016, 168: 134-145.

[31] Xie ZJ, Zhou FY, Yang YD, *et al*. Lnc-PCDH9-13:1 is a hypersensitive and specific biomarker for early hepatocellular carcinoma[J]. EBioMedicine, 2018, 33: 57-67.

[32] Huang Z, Zhou JK, Peng Y, *et al*. The role of long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 77.

[33] Preußer C, Hung LH, Schneider T, *et al*. Selective release of circRNAs in platelet-derived extracellular vesicles [J]. J Extracell Vesicles, 2018, 7(1): 1424473.

[34] Matboli M, Shafei AE, Ali MA, *et al*. circRNAs (hsa_circ_00156, hsa_circ _000224, and hsa_circ _000520) are novel potential biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(5): 7711-7724.

[35] Huang XY, Huang ZL, Huang J, *et al*. Exosomal circRNA-100338 promotes hepatocellular carcinoma metastasis via enhancing invasiveness and angiogenesis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 20.

[36] Li ZH, Zhou Y, Yang GH, *et al*. Using circular RNA SMARCA5 as a potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chim Acta, 2019, 492: 37-44.

[37] Jiang ZL, Shen LL, Wang SW, *et al*. Hsa_circ_0028502 and hsa_circ_0076251 are potential novel biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Med, 2019, 8(17): 7278-7287.

[38] Bannaga A, Metzger J, Voigtländer T, *et al*. Pathophysiological implications of urinary peptides in hepatocellular carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(15): 3786.

[39] Abyadeh M, Meyfour A, Gupta V, *et al*. Recent advances of functional proteomics in gastrointestinal cancers- a path towards the identification of candidate diagnostic, prognostic, and therapeutic molecular biomarkers[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8532.

[40] Jiang LH, Wang M, Lin S, *et al*. A quantitative proteome map of the human body[J]. Cell, 2020, 183(1): 269-283.e19.

[41] Palsson B. Metabolic systems biology[J]. FEBS Lett, 2009, 583(24): 3900-3904.

[42] Rinschen MM, Ivanisevic J, Giera M, *et al*. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(6): 353-367.

[43] Stepien M, Keski-Rahkonen P, Kiss A, *et al*. Metabolic perturbations prior to hepatocellular carcinoma diagnosis: findings from a prospective observational cohort study[J]. Int J Cancer, 2021, 148(3): 609-625.

[44] Luo P, Yin PY, Hua R, *et al*. A large-scale, multicenter serum metabolite biomarker identification study for the early detection of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2018, 67(2): 662-675.

[45] Lu YH, Chen JJ, Huang C, *et al*. Comparison of hepat-

ic and serum lipid signatures in hepatocellular carcinoma patients leads to the discovery of diagnostic and prognostic biomarkers[J]. Oncotarget, 2018, 9(4): 5032-5043.

[46] 王淑凤, 柏兆方, 杨馨, 等. 应用UPLC-QTOF-MS/MS技术测定肝细胞癌患者血清代谢组[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2020, 34(12): 918-929.

[47] Liu JK, Geng W, Sun HY, *et al*. Integrative metabolomic characterisation identifies altered portal vein serum metabolome contributing to human hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2021: gutjnl-2021-325189. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325189. Epub ahead of print.

[48] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. Cell, 2006, 124(4): 837-848.

[49] Wu LW, Feng J, Li JJ, *et al*. The gut microbiome-bile acid axis in hepatocarcinogenesis[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 111036.

[50] Mullish BH, Quraishi MN, Segal JP, *et al*. The gut microbiome: what every gastroenterologist needs to know[J]. Frontline Gastroenterol, 2021, 12(2): 118-127.

[51] Rattan P, Minacapelli CD, Rustgi V. The microbiome and hepatocellular carcinoma[J]. Liver Transpl, 2020, 26(10): 1316-1327.

[52] Ren ZG, Li A, Jiang JW, *et al*. Gut microbiome analysis as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for early hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2019, 68(6): 1014-1023.

[53] Behary J, Amorim N, Jiang XT, *et al*. Gut microbiota impact on the peripheral immune response in non-alcoholic fatty liver disease related hepatocellular carcinoma[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 187.

[54] Ponziani FR, Bhoori S, Castelli C, *et al*. Hepatocellular carcinoma is associated with gut microbiota profile and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2019, 69(1): 107-120.

[55] Reuter B, Bajaj JS. Microbiome: emerging concepts in patients with chronic liver disease[J]. Clin Liver Dis, 2020, 24(3): 493-520.

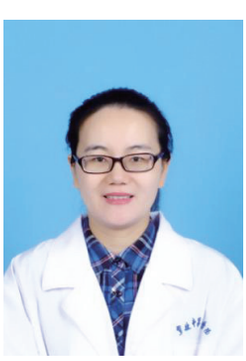
[56] Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(1): 35-56.

[57] Benson AK, Kelly SA, Legge R, *et al*. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(44): 18933-18938.

[58] 王红阳. 肝癌诊断与预后判断的分子标志物[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(4): 241-243.

(2021-08-27 收稿)

专 家 简 介



付丽云，中国科学院大学宁波华美医院(宁波市第二医院)主任医师，医学硕士，宁波大学医学院硕士研究生导师，全国肝胆病咨询专家，浙江省医师协会感染科医师分会青年委员，浙江省生物信息学会精准医学专业委员会常委，浙江省临床免疫专委会青年委员，浙江省浙东区域专病中心(感染病学)骨干成员，浙江省消化系统肿瘤诊治重点实验室核心成员，宁波市领军和拔尖人才培养对象，宁波市医学会感染病学分会委员兼秘书，宁波市肝胆胰专科联盟执委会委员，宁波市医学会肝病学分会青年委员。擅长病毒性肝炎、肝硬化、肝癌、药物性肝炎、脂肪肝、自身免疫性肝病等的诊治，尤其在肝癌的局部治疗(射频消融、无水酒精消融、肝动脉栓塞化疗等)及肝癌靶向及免疫治疗方面积累了丰富的临床经验。曾赴德国鲁尔大学附属医院胃肠肝病科担任访问学者。主持并参与浙江省自然科学基金、浙江省公益技术研究计划/社会发展、浙江省医药卫生科技计划等多项科研项目。担任《实用肝脏病学》、《肝博士》编委，担任多个SCI期刊审稿专家，在SCI及中文核心期刊上发表相关领域论文20余篇。