

N-myc 下游调控基因 1 在肝细胞癌中的表达及其与预后的相关性

郭晶晶, 徐瀚峰, 朱传东, 缪 祎, 郑 勤

【摘要】 目的 肝细胞癌(HCC)是肝最常见的原发性恶性肿瘤之一。N-myc 下游调控基因 1(NDRG1)在肝癌中的作用尚存争议。文章旨在证实 NDRG1 在 HCC 患者中的表达及其预后价值、潜在的生物学功能以及对免疫系统的影响。**方法** 选择TCGA 数据库中的肝癌数据,包括 58 例正常肝组织标本和 407 例肝癌标本及与之相应的临床资料,对 NDRG1 基因在正常肝组织和肝癌组织中的表达进行分析。使用 GTEx 数据库显示 NDRG1 在人类肝组织中的表达。利用 HPA 分析 NDRG1 蛋白在 HCC 的表达情况。根据 NDRG1 表达的中位数,将所有患者分为 NDRG1 低表达组和 NDRG1 高表达组,并分析 2 组的生存情况。分析 NDRG1 表达与组织学分级(G)、临床 S 分期、临床 T 分期相关性。通过 GSEA 富集分析 KEGG 通路,探讨 NDRG1 的生物学功能。使用 TIMER 和 CIBERSORT 来分析 HCC 中 NDRG1 与免疫浸润细胞的相关性。**结果** 与正常肝组织相比,肝癌组织中 NDRG1 表达增加($P<0.001$)。NDRG1 表达与组织学分级(G) ($P<0.001$)、临床 S 分期($P=0.03$)、临床 T 分期($P=0.018$)呈正相关。NDRG1 的高表达与较差的总生存率显著相关($P=0.005$)。单因素 Cox 分析分析显示 NDRG1 高表达与较差的总生存率显著相关($P<0.001$)。多因素 Cox 分析分析表明,高 NDRG1 表达是独立危险因素,与肝细胞癌患者的总生存期密切相关($P<0.001$)。通过 GSEA 分析,发现 NDRG1 可能通过 DNA 修复、E₂F、MYC-V₁、G₂M 检查点、P53 通路、TGF- β 通路等途径调控肿瘤的发生发展。TIMER 和 CIBERSORT 分析显示 NDRG1 的高表达与 M₀巨噬细胞呈正相关。**结论** NDRG1 在肝癌组织中高表达,提示预后不佳。可能通过肿瘤免疫浸润细胞改变肿瘤微环境促进肝癌的发生发展。NDRG1 可作为 HCC 预后的生物学标志物。

【关键词】 N-myc 下游调控基因 1;肝细胞癌;基因表达;预后

【中图分类号】 R735.7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2021)01-0021-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.01.005

The expression and prognosis of NDRG1 in hepatocellular carcinoma

GUO Jing-jing¹, XU Han-feng¹, ZHU Chuan-dong¹, MIAO Yi², ZHENG Qin¹

(1. Department of Oncology, Nanjing Second Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210003, Jiangsu, China; 2. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University/Jiangsu Province People Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common primary malignant tumors of the liver. The role of N-myc downstream regulatory gene 1 (NDRG1) in HCC is still controversial. The purpose of this study was to confirm the expression of NDRG1 in HCC patients and its prognostic value, potential biological functions, and effects on the immune system.

Methods The expression of NDRG1 gene in normal liver tissues and liver cancer tissues was analyzed using the data of liver cancer from TCGA database (58 normal liver samples and 407 liver cancer samples). The expression of NDRG1 in human liver tissues was shown using the GTEx database. HPA was used to analyze the expression of NDRG1 protein in HCC. According to the median NDRG1 expression, all patients were

基金项目:“十三五”南京市医学科技发展资金重大项目(ZDX16008);南京市医学科技发展重点项目(ZKX19043)

作者单位:210003 南京,南京中医药大学附属南京医院(南京市第二医院)肿瘤科(郭晶晶、徐瀚峰、朱传东、郑 勤);210029 南京,南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)血液科(缪 祎)

通信作者:郑 勤, E-mail: njzq83626472@sina.com

divided into *NDRG1* low-expression group and *NDRG1* high-expression group. The survival of *NDRG1* low expression group and *NDRG1* high expression group were analyzed. The correlation between *NDRG1* expression and histological grade, S stage and T stage was analyzed. The biological function of *NDRG1* was studied by GSEA enrichment analysis of KEGG pathway. TIMER and CIBERSORT were used to analyze the correlation between *NDRG1* and immune-infiltrating cells in HCC. **Results** *NDRG1* expression was increased in liver cancer compared with normal liver tissue ($P < 0.001$). *NDRG1* expression was positively correlated with histological grade (G) ($P < 0.001$), clinical S stage ($P = 0.03$), and clinical T stage ($P = 0.018$). High *NDRG1* expression was significantly associated with poor overall survival ($P = 0.005$). Univariate Cox analysis showed that high *NDRG1* expression was significantly associated with poor overall survival ($P < 0.001$). Multivariate Cox analysis showed that high *NDRG1* expression was an independent risk factor and was closely associated with overall survival in HCC patients ($P < 0.001$). Through GSEA analysis, we found that *NDRG1* regulated the occurrence and development of tumors through DNA repair, E₂F, MYC-V1, G₂M checkpoint, P53 pathway, TGF-pathway and other pathways. TIMER and CIBERSORT analysis showed that *NDRG1* expression was positively correlated with M0 macrophages. **Conclusion** *NDRG1* is highly expressed in liver cancer tissues, suggesting a poor prognosis. *NDRG1* may promote the development of hepatocellular carcinoma by changing tumor microenvironment through tumor immune infiltrating cells. *NDRG1* can be used as a biomarker for prognosis of HCC.

[Key words] *NDRG1*; hepatocellular carcinoma; gene expression; prognosis

0 引言

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是原发性肝癌中最常见的一种恶性肿瘤。在全球范围内,肝细胞癌是第六大最常见的癌症和第四大癌症死亡原因^[1]。2018 年,肝癌发病人数约为 84.1 万人,死亡人数为 782 000 人^[1]。遗憾的是,由于早期发现困难,复发率高,目前对于大多数确诊为中晚期的 HCC 患者尚无有效的治疗方法。因此,探索可靠的 HCC 生物标志物对早期诊断和预后尤为重要。N-myc 下游调控基因 1 (N-myc downstream regulatory gene1, *NDRG1*) 是 *NDRG* 家族的基因之一,在不同的肿瘤类型中表现出不同的抗肿瘤或致癌作用^[2]。有研究表明,*NDRG1* 作为抑癌基因在前列腺癌、胰腺癌和结直肠癌中低表达^[3-5]。相反,有报道称 *NDRG1* 在胃癌、宫颈癌、肾癌、鳞状细胞癌等多种癌症中过表达,提示其具有致癌作用^[6-10]。*NDRG1* 在肝癌中的表达目前存在争议。有研究认为 *NDRG1* 在肝癌中高表达,*NDRG1* 表达增加可促进体外肝细胞癌和肝癌细胞的增殖和侵袭,促进肿瘤生长和血管生成,促进了肝癌的发展^[11-13]。但是其他一些研究人员认为 *NDRG1* 作为抑癌基因在肝癌组织中低表达,抑制肝癌的发展^[14-15]。本研究旨在探讨 *NDRG1* 在肝癌组织和正常肝组织中的表达,探讨 *NDRG1* 在肝癌发生发展中的作用机制。

1 资料与方法

1.1 数据收集 从 TCGA (The Cancer Genome Atlas)

(<https://portal.gdc.cancer.gov/repository>) 公共数据库下载 mRNA 表达数据(465 例,包括 58 例正常肝组织标本和 407 例肝癌标本)及与之相应的临床信息。

1.2 *NDRG1* 在正常肝组织和肝癌组织中的表达及其与临床因素相关性 分析 407 例肝癌患者的临床资料,包括年龄、性别、临床分期、组织学分级、淋巴结转移 (TNM) 分级、生存状况和生存时间。使用 R 语言软件 (R 3.6.3),采用 Limma 包检测 *NDRG1* 在 407 例肝癌患者和 58 例正常肝组织中的表达。使用 beeswarm 包对 407 例肝癌患者和 58 例正常肝组织的 *NDRG1* 表达进行了可视化。根据 *NDRG1* 表达的中位数,将所有患者分为 *NDRG1* 低表达组和 *NDRG1* 高表达组。使用 survival 包分析 *NDRG1* 低表达组和 *NDRG1* 高表达组的生存情况。使用 logistic 回归分析 *NDRG1* 表达与临床因素 (年龄、性别、分期、分级、远处转移状态、淋巴结状态、组织学分级) 的相关性。

1.3 基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 使用 GSEA 软件,上传 407 例肝癌组织中的 *NDRG1* 表达文件,比较 *NDRG1* 高表达和 *NDRG1* 低表达的数据集,依据功能基因集数据库,选择京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路,筛选 HCC 中潜在信号通路,发现可能的信号通路,探讨 *NDRG1* 的生物学功能。富集结果必须满足两个条件:错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05 和 $P < 0.05$ 。

1.4 浸润免疫分析 利用 TIMER 网站 (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>) 在线研究 NDRG1 表达与肝癌免疫浸润细胞的关系, 得到 NDRG1 在 HCC 中的表达与 CD4⁺T 细胞、树突状细胞、B 细胞、CD8⁺T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞的相关性。应用 CIBERSORT (<http://cibersort.stanford.edu/>) 评估 HCC 中不同免疫浸润细胞与 NDRG1 表达的关系, 并揭示免疫细胞之间的相关性。将 407 例肿瘤标本分为 NDRG1 高表达组和 NDRG1 低表达组, 观察 2 组免疫浸润细胞表达的差异。

1.5 使用 Human Protein Atlas (HPA) 数据库验证 NDRG1 蛋白表达 为进一步检测 NDRG1 蛋白的表达, 使用来自 HPA 公共数据库 (<http://www.proteinatlas.org/>) 的免疫组织化学 (IHC) 数据, 对 HPA 中 NDRG1 蛋白在肝正常组织切片和肝癌组织切片中的免疫组化染色结果进行检索。比较 NDRG1 在正常肝组织和 HCC 组织中的蛋白表达。

1.6 使用基因型组织表达 (GTEx) 数据库显示 NDRG1 在人类肝组织中的表达 GTEx 数据库是一种包含人体各种器官遗传信息的工具。GTEx 数据库包含了来自 44 个组织的 7000 多份尸检样本的基因表达。使用 GTEx 数据库 (<https://www.gtexportal.org/home/>), 以发现 NDRG1 在正常人体组织中的表达水平。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 22.0 和 R 3.6.3 进行统计分析。使用 R 软件对 NDRG1 在 TCGA 数据集中的表达采用单因素 Cox 分析和多因素 Cox 分析。使用 Wilcoxon 符号秩检验和 logistic 回归比较 TCGA 数据集中肝癌样本的临床特征和 NDRG1 的表达的相关性。总体生存分析采用 Kaplan-Meier 法进行双侧对数秩检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NDRG1 在肝癌中的表达及临床病理因素

与正常组织相比, 肝癌组织中 NDRG1 表达增加 ($P < 0.001$)。NDRG1 表达与组织学分级 (G) ($P < 0.001$)、临床 S 分期 ($P = 0.03$)、临床 T 分期 ($P = 0.018$) 呈正相关。采用 logistic 回归分析显示 NDRG1 表达与临床病理不良预后相关。NDRG1 在肝细胞癌的高表达与组织学分级 (G) 显著相关 (G3 vs G1; OR = 2.072, 95% CI = 1.091 ~ 3.992, $P =$

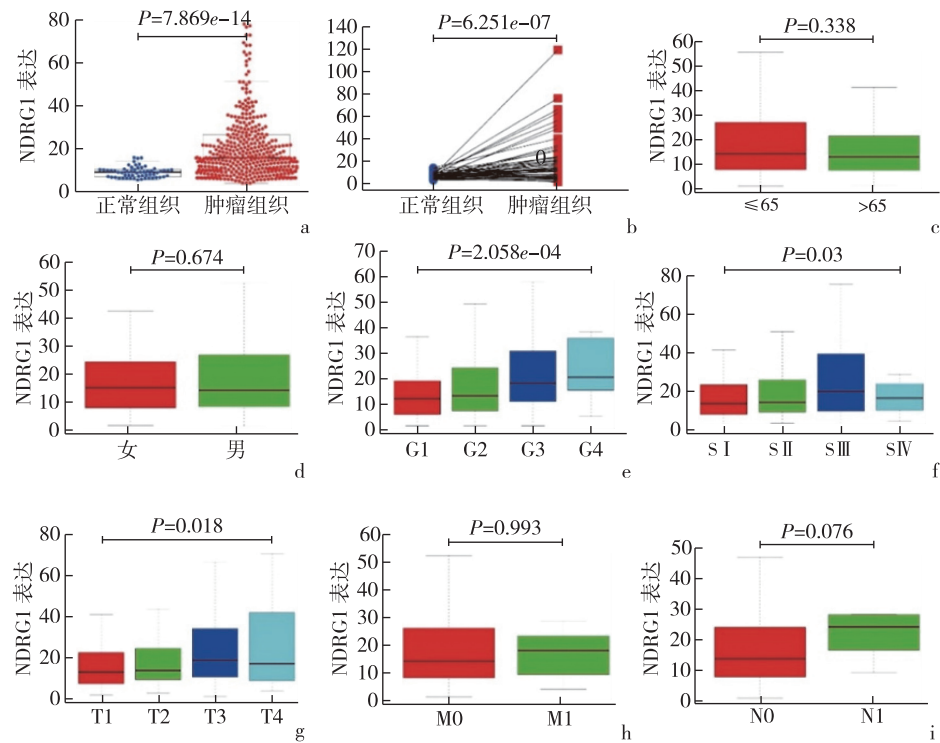
0.027; G4 vs G1; OR = 6.957, 95% CI = 1.640 ~ 48.134, $P = 0.018$)、临床分期 (S) 显著相关 (III vs I; OR = 1.832, 95% CI = 1.095 ~ 3.095, $P = 0.0221$) 和临床 T 分期显著相关 (T3 vs T1; OR = 1.908, 95% CI = 1.142 ~ 3.224, $P = 0.0145$)。见表 1, 图 1。提示 NDRG1 高表达对应临床分期较差, 预后较差。HPA 数据库中检索发现在正常肝组织中, NDRG1 蛋白低表达, 而在 HCC 组织中 NDRG1 蛋白高表达。

表 1 肝细胞癌中 NDRG1 表达与临床病理特征相关性

临床因素	n	OR	95%CI	P 值
年龄(>65 岁 vs ≤65 岁)	370	0.793	0.519~1.210	0.282
性别(男 vs 女)	404	0.916	0.608~1.381	0.676
G 分级				
G 2 vs G 1	232	1.071	0.582~1.992	0.826
G 3 vs G 1	177	2.072	1.091~3.992	0.027
G 4 vs G 1	67	6.957	1.640~48.134	0.018
S 分期				
II vs I	283	1.100	0.669~1.807	0.707
III vs I	273	1.832	1.095~3.095	0.0221
V vs I	199	1.800	0.497~7.219	0.376
T 分期				
T 2 vs T 1	303	1.121	0.700~1.805	0.637
T 3 vs T 1	284	1.908	1.142~3.224	0.0145
T 4 vs T 1	212	1.928	0.624~6.605	0.260
M 分期				
M 1 vs M 0	300	2.551	0.541~18.015	0.267
N 分期				
N 1 vs N 0	285	3.110	0.702~21.480	0.170

2.2 NDRG1 在正常肝组织中的表达 使用 GTEx 数据资料, 发现 NDRG1 在不同组织中的表达不同, 相比较其他正常组织, 正常肝组织中 NDRG1 表达较低。

2.3 NDRG1 表达与生存结果相关性及其单因素、多因素分析 NDRG1 的高表达与较差的总生存率显著相关 ($P = 0.005$), 见图 2。单因素 Cox 分析显示, NDRG1 高表达与较差的总生存率显著相关 (HR = 1.012, 95% CI = 1.008 ~ 1.015, $P < 0.001$)。不良生存相关的临床病理的特点包括 S 分期 (HR = 1.865, 95% CI = 1.456 ~ 2.388, $P < 0.001$), T 分期 (HR = 3.850, 95% CI = 1.207 ~ 12.281, $P = 0.0228$) 和 M 分期 (HR = 3.850, 95% CI = 1.207 ~ 12.281, $P = 0.0228$)。多因素 Cox 分析表明, 高 NDRG1 表达是独立危险因素, 与肝细胞癌患者的总生存期密切相关 (HR = 1.010, 95% CI = 1.006 ~ 1.014, $P < 0.001$)。见表 2。



a: 在正常肝组织和肝癌组织的表达; b: 在正常肝组织及其相对应肝癌组织的表达; c: 年龄; d: 性别; e: G 分级; f: S 分期; g: T 分期; h: M 分期; i: N 分期

图 1 NDRG1 在肝细胞癌中的表达与临床因素相关性

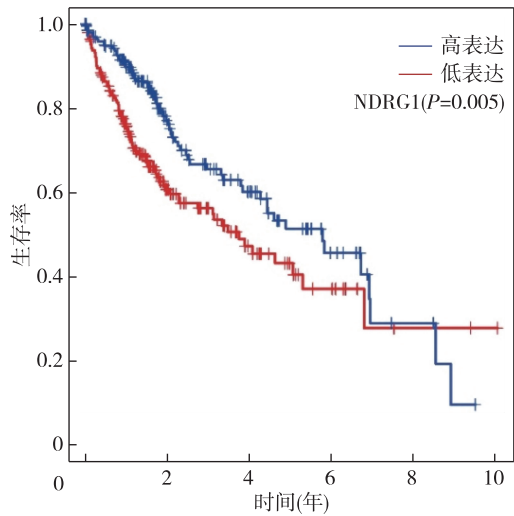


图 2 NDRG1 在肝细胞癌患者中的表达与总生存率

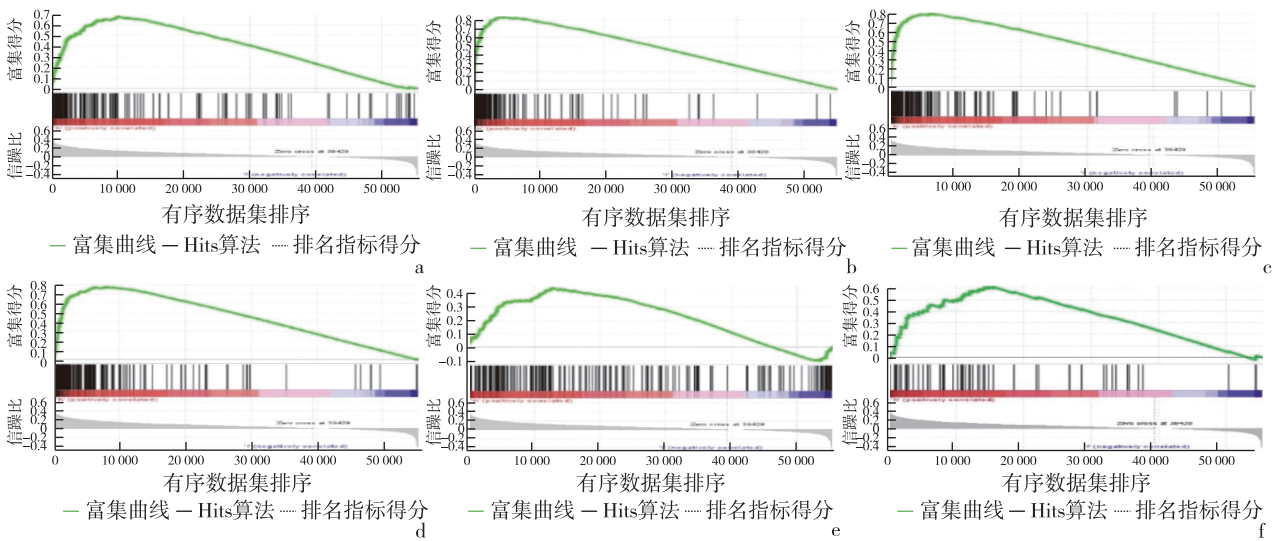
2.4 GSEA 识别 NDRG1 相关的信号通路 GSEA 显示了在丰富 MSigDB 集合方面的显著差异 (h. all. v6. 2. symbols. gmt), FDR-q<0.25 和 $P<0.05$ 的基因组显著富集。根据标准化的富集分数, 确定最显著的富集信号通路。NDRG1 高表达与 DNA 修复、

E₂F、G₂M 检查点、MYC-V₁、P53 通路、TGF-β 通路等相关。见图 3。

表 2 NDRG1 表达与肝细胞癌患者生存结果的单因素 Cox 分析和多因素 Cox 分析

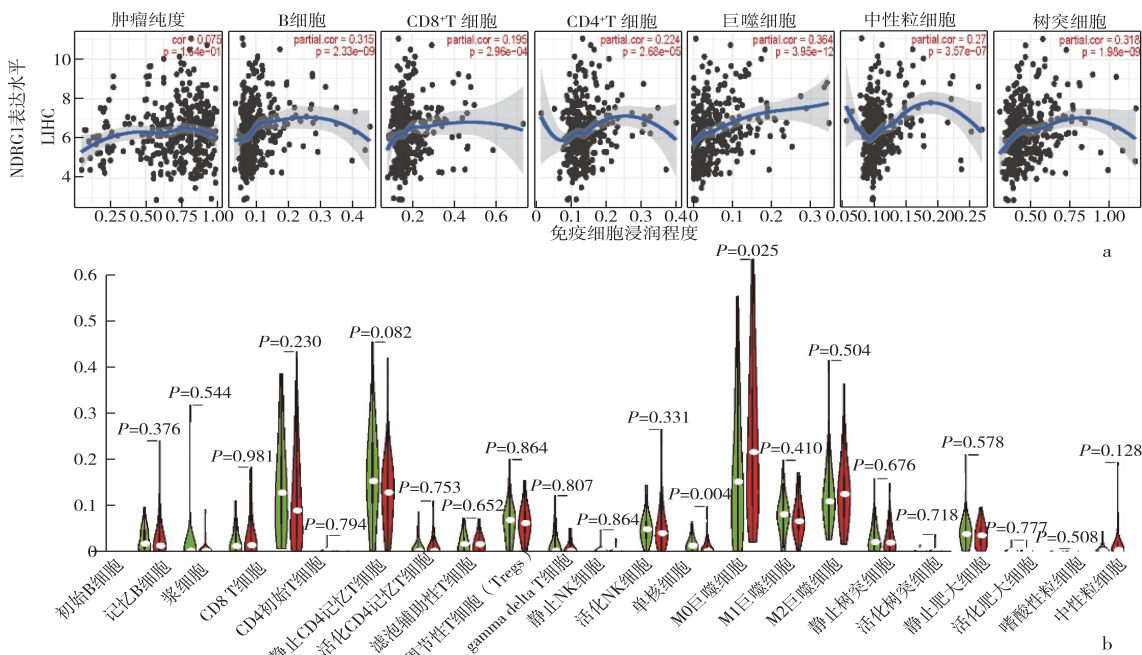
项目	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P 值	HR	95%CI	P 值
年龄	1.005	0.987~1.023	0.591	1.009	0.100~1.028	0.377
性别	0.780	0.487~1.249	0.301	1.043	0.620~1.757	0.873
G 分级	1.017	0.746~1.387	0.914	1.088	0.780~1.519	0.618
S 分期	1.865	1.456~2.388	<0.001	0.875	0.327~2.341	0.790
T 分期	1.804	1.434~2.270	<0.001	1.936	0.803~4.664	0.141
M 分期	3.850	1.207~12.281	0.0228	1.738	0.453~6.668	0.420
N 分期	2.022	0.494~8.276	0.328	2.405	0.372~15.557	0.357
NDRG1	1.012	1.008~1.015	<0.001	1.010	1.006~1.014	<0.001

2.5 NDRG1 表达与肿瘤浸润免疫细胞的关系 NDRG1 表达与 B 细胞 ($P=2.33\times10^{-9}$)、CD4⁺T 细胞 ($P=2.68\times10^{-5}$)、巨噬细胞 ($P=3.95\times10^{-12}$) 和树突状细胞 ($P=1.98\times10^{-9}$) 相关。与 NDRG1 低表达组相比, 高表达组单核细胞和 M0 巨噬细胞升高 ($P<0.05$)。见图 4。



a:DNA 修复;b:E₂F 通路;c:G₂M 检查点;d:MYC-V₁ 通路;e:P53 通路;f:TGF-β 通路

图 3 基因集富集分析



a:与免疫细胞的相关性;b:NDRG1 高、低表达组的免疫细胞水平

图 4 肝细胞癌中 NDRG1 表达与肿瘤浸润免疫细胞的关系

3 讨 论

NDRG1 是一个与细胞分化相关的基因,属于 NDRG 家族。该基因编码的蛋白质是一种细胞质蛋白,参与应激反应、激素反应、细胞生长和分化^[16]。在前列腺癌、结直肠癌、卵巢癌等恶性肿瘤中下调表达是一种转移抑制剂,可以抑制血管生成、细胞增殖和侵袭^[17-19]。在肺癌、胃癌等恶性肿瘤中,表达上调并有致癌作用^[20-21]。NDRG1 对

癌症患者的预后影响也不一致^[22-23]。大多数关于 NDRG1 与肝癌关系的研究倾向于该基因在肝癌组织中的表达增加,在正常肝组织中的表达降低。该基因参与肿瘤的发展,但它抑制或促进肿瘤的发展仍存在争议。

本研究结果显示,NDRG1 在肝癌组织中的表达明显高于正常肝组织,且 NDRG1 的表达水平在临床病理分级、TNM 临床分期、肝癌患者生存时间等方面均有统计学意义。GTEx 数据库的正常人类

数据显示, NDRG1 在肝中低表达。HPA 数据显示 NDRG1 蛋白在肝癌组织中表达量高, 在正常肝组织中表达量低。两者都表明 NDRG1 可能在肝细胞癌的发展中发挥潜在的癌基因作用。目前 NDRG1 可能的致癌信号机制主要包括 AKT、EGF、ErbB、Wnt/ β -catenin、MAPK、jak-stat 等途径^[24-27]。本研究通过 GSEA 富集分析发现其主要信号通路为 E₂F、MYC、G₂M、pik-Akt、P53、TGF- β 。本研究验证了 NDRG1 在肝癌中的高表达, 发挥促进肝癌发生发展的作用, 与多数文献报道相一致。提示 NDRG1 可作为肝癌诊断和预后的潜在预后标志物。但本研究局限于利用公共数据库进行分析, 还需要进一步的实验进行验证。对于其致癌信号通路研究只限于生物信息学研究, 还需要进一步的实验室研究。

肝细胞癌是原发性肝癌的主要组织学类型, 对于不能手术的中晚期患者, 放化疗及介入治疗为可选的治疗方法, 但预后较差。肿瘤免疫治疗是新的治疗手段, 张南征等^[28]采用细胞因子诱导的杀伤性细胞(cytokine induced killer cells, CIK)联合介入治疗中晚期肝细胞肝癌, 有效率优于单纯介入治疗, 延长了患者的生存期。

肿瘤微环境中免疫细胞的组成与预后有关。肿瘤新抗原在抗肿瘤免疫反应和预测免疫治疗的临床反应中发挥重要作用^[29]。M2 巨噬细胞和 M1 巨噬细胞与肿瘤的生长和扩散以及免疫抑制微环境的形成有关^[30-31]。有研究表明, 在结肠癌组织中, M0 巨噬细胞, M1 巨噬细胞和 CD 4 记忆激活的 T 细胞浸润明显更多。M0 巨噬细胞在 N1 期肿瘤中最高, 提示 M0 巨噬细胞可能促进肿瘤生长发展^[32]。另一项对于 865 例 HCC 患者的研究表明, 生存率较差的高危组中巨噬细胞 M0 的比例高于低风险组, 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)、程序性死亡受体-1 (programmed cell death-1, PD-1) 和 T 细胞免疫球蛋白黏连蛋白-3 (T cell immunoglobulin mucin molecule 3, TIM-3) 的表达也高于低风险组^[33]。本研究发现 NDRG1 与 M0 巨噬细胞呈正相关, 在肿瘤组织中高表达, 与 M0 巨噬细胞促进肿瘤发生发展的作用相一致, 提示其可能通过 M0 巨噬细胞参与肿瘤微环境, 促进肝癌的发生发展。目前对于 M0 巨噬细胞在肝癌微环境中的作用相关研究很少, 需要进一步实验验证。本研究推测 M0 巨噬

细胞可能成为未来肝癌免疫治疗的新靶点。是否可以通过调控 NDRG1 表达进而影响 M0 巨噬细胞在肿瘤微环境中的比例, 从而达到抑制肝癌发展的作用, 需要进一步研究。

【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.
- [2] Lee GY, Chun YS, Shin HW, *et al.* Potential role of the N-MYC down-stream regulated gene family in reprogramming cancer metabolism under hypoxia [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (35): 57442-57451.
- [3] Fang BA, Kovacevic Z, Park KC, *et al.* Molecular functions of the iron-regulated metastasis suppressor, NDRG1, and its potential as a molecular target for cancer therapy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1845(1):1-19.
- [4] Wangpu X, Yang X, Zhao J, *et al.* The metastasis suppressor, NDRG1, inhibits "stemness" of colorectal cancer via down-regulation of nuclear beta-catenin and CD44[J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (32):33893-33911.
- [5] Ma J, Gao Q, Zeng S, *et al.* Knockdown of NDRG1 promote epithelial mesenchymal transition of colorectal cancer via NF-kappaB signaling[J]. *J Surg Oncol*, 2016, 114(4):520-527.
- [6] Wang Y, Zhou Y, Tao F, *et al.* N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) promotes the stem-like properties of lung cancer cells through stabilized c-Myc[J]. *Cancer Lett*, 2017, 8(401): 53-62.
- [7] Zhao G, Chen JW, Deng YQ, *et al.* Identification of NDRG1-regulated Genes Associated With Invasive Potential in Cervical and Ovarian Cancer Cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(1):154-159.
- [8] Lee JC, Chung LC, Chen YJ, *et al.* N-myc Downstream-Regulated Gene 1 Downregulates Cell Proliferation, Invasiveness, and Tumorigenesis in Human Oral Squamous Cell Carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2014, 355(2):242-252.
- [9] Inagaki Y, Tang W, Xu HL, *et al.* Localization of N-myc downstream regulated gene 1 in gastric cancer tissue[J]. *Dig Liver Dis*, 2009, 41(2):96-103.
- [10] Kawahara A, Akiba J, Hattori S, *et al.* Nuclear expression of N-myc downstream regulated gene 1/Ca²⁺-associated protein 43 is closely correlated with tumor angiogenesis and poor survival in patients with gastric cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(3): 471-479.
- [11] Xu X, Liu Z, Wang J, *et al.* Global proteomic profiling in multistep hepatocarcinogenesis and identification of PARP1 as a novel molecular marker in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12):13730-13741.

- [12] Akiba J, Ogasawara S, Kawahara A, *et al.* N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43 enhances portal vein invasion and intrahepatic metastasis in human hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(6):1329-1335.
- [13] Cheng J, Xie HY, Xu X, *et al.* NDRG1 as a biomarker for metastasis, recurrence and of poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2011, 310(1):35-45.
- [14] Akiba J, Murakami Y, Noda M, *et al.* N-myc downstream regulated gene1/Cap43 overexpression suppresses tumor growth by hepatic cancer cells through cell cycle arrest at the G0/G1 phase [J]. *Cancer Lett*, 2011, 310(1):25-34.
- [15] 陈金培, 杨耀湘. NDRG1 在原发性肝细胞癌及胎肝中的表达及意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(18):1883-1887.
- [16] Dos Santos M, DA Cunha Mercante AM, Nunes FD, *et al.* Prognostic Significance of NDRG1 Expression in Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(12):10157-10165.
- [17] Dixon KM, Lui GYL, Kovacevic Z, *et al.* Dp44mT Targets the AKT, TGF- β and ERK Pathways via the Metastasis Suppressor NDRG1 in Normal Prostate Epithelial Cells and Prostate Cancer Cell [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(2):409-419.
- [18] Liu J, Shao YG, He YX, *et al.* MORC2 Promotes Development of an Aggressive Colorectal Cancer Phenotype Through Inhibition of NDRG1 [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(1):135-146.
- [19] Wang B, Li JL, Ye ZY, *et al.* N-myc Downstream Regulated Gene 1 Acts as a Tumor Suppressor in Ovarian Cancer [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(5):2279-2285.
- [20] Wang D, Tian X, Jiang Y. NDRG1/Cap43 Overexpression in Tumor Tissues and Serum From Lung Cancer Patients [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(11):1813-1820.
- [21] Murakami Y, Watari K, Shibata T, *et al.* N-myc Downstream-Regulated Gene 1 Promotes Tumor Inflammatory Angiogenesis Through JNK Activation and Autocrine Loop of interleukin-1 α by Human Gastric Cancer Cells [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(35):25025-25037.
- [22] Lu WJ, Chua MS, So SK. Suppressing N-Myc downstream regulated gene 1 reactivates senescence signaling and inhibits tumor growth in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(4):915-922.
- [23] Lu WJ, Chua MS, Wei W, *et al.* NDRG1 promotes growth of hepatocellular carcinoma cells by directly interacting with GSK-3 β and Nur77 to prevent beta-catenin degradation [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30):29847-29859.
- [24] Yi X, Luk JM, Lee NP, *et al.* Association of mortalin (HSPA9) with liver cancer metastasis and prediction for early tumor recurrence [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(2):315-325.
- [25] Nakanishi K, Sakamoto M, Yamasaki S, *et al.* Akt phosphorylation is a risk factor for early disease recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2005, 103(2):307-312.
- [26] 吴 龙, 钱叶本. WNT 信号转导在肝细胞癌发病中的作用 [J]. *医学研究生学报*, 2007, 20(6):651-655.
- [27] Apte U, Zeng G, Muller P, *et al.* Activation of Wnt/ β -catenin pathway during hepatocyte growth factor-induced hepatomegaly in mice [J]. *Hepatology*, 2006, 44(4):992-1002.
- [28] 张南征, 徐永茂, 陈 复, 等. CIK 细胞治疗中晚期肝细胞肝癌的临床研究 [J]. *东南国防医药*, 2006, 8(2):84-87.
- [29] Schumacher, TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2015, 348(6230):69-74.
- [30] Mantovani A, Allavena P, Sica A, *et al.* Cancer-related inflammation [J]. *Nature*, 2008, 454(7203):436-444.
- [31] Bronte V, Brandau S, Chen S H, *et al.* Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards [J]. *Nat Commun*, 2016, 6(7):12150.
- [32] Ge P, Wang W, Li L, Zhang G, *et al.* Profiles of immune cell infiltration and immune-related genes in the tumor microenvironment of colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 10(118):109228.
- [33] Long J, Wang A, Bai Y, *et al.* Development and validation of a TP53-associated immune prognostic model for hepatocellular carcinoma [J]. *EbioMedicine*, 2019, 4(42):363-374.

(收稿日期:2020-07-07; 修回日期:2020-08-06)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一起)