

# 肝细胞癌伴门静脉癌栓发生机制的研究进展

蒋亚波 郭卫星 程树群\*

(第二军医大学东方肝胆外科医院肝外六科, 上海 200438)

**摘要** 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上最常见的恶性肿瘤之一。近年来,肝癌患者的总体生存率提高不明显,主要是肝癌患者起病隐匿、进展迅速,70%~80%的患者就诊时已处于中晚期,肿瘤侵犯门静脉并形成门静脉癌栓(portal vein tumor thrombus, PVTT)的发生率高。为了研究PVTT的发生机制及寻找有效的干预治疗措施,众多学者对PVTT的发生机制进行了一系列探索性研究,该文就PVTT发生机制的相关分子生物学研究进展进行综述。

**关键词** 门静脉癌栓; 发生机制; 分子生物学

## Progress in Molecular Mechanism of Forming Portal Vein Tumor Thrombus for Hepatocellular Carcinoma

Jiang Yabo, Guo Weixing, Cheng Shuqun\*

(Department of Hepatic Surgery VI, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital,  
Second Military Medical School, Shanghai 200438, China)

**Abstract** Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors and has a poor prognosis. The high incidence of portal vein tumor thrombus (PVTT) seems to be the key bottle neck for prognosis in the treatment of HCC. In order to identify the mechanism of PVTT and also to find effective therapeutic measures for such patients, several scholars made a series of exploratory researches. In this review, we summarized the molecular biology for the mechanism HCC with PVTT.

**Keywords** portal vein tumor thrombus; mechanism; molecular biology

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 以下简称肝癌, 是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率及死亡率分别居全球恶性肿瘤疾病的第5位和第2位<sup>[1]</sup>。经过多年的研究和探索, 肝癌患者的预后有了一定的改善, 但近年来, 肝癌患者的总体生存率提高不明显, 因为肝癌患者起病隐匿、进展迅速, 70%~80%的患者初诊时已处于中晚期, 肿瘤侵犯门静脉并形成门静脉癌栓(portal vein tumor thrombus, PVTT)发生率高。PVTT可以导致肝癌病人肝内癌细胞的扩散、肝功能恶化甚至肝衰竭、门静脉压力

升高引起顽固腹水及消化道出血等。若不进行干预, 预后较差, 中位生存时间仅为2.7~4.0个月<sup>[2]</sup>, 远低于不伴有PVTT的肝癌患者。PVTT并非中晚期肝癌所独有, 很多小肝癌患者也伴有PVTT<sup>[3]</sup>, 导致手术切除后出现早期复发转移的现象。所以说, PVTT被认为是影响肝癌患者预后的重要因素。因此, 深入研究PVTT的发生机制, 寻找有效的干预治疗措施, 将有助于改善此类患者的预后。近年来, 众多学者对PVTT的发生机制进行了一系列探索性研究, 现将近年来关于PVTT发生的相关分子生物学研究进行综述。

收稿日期: 2016-09-05 接受日期: 2016-12-01

国家杰出青年基金(批准号: 81125018)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 021-81875251, E-mail: chengshuqun@aliyun.com

Received: September 5, 2016 Accepted: December 1, 2016

This work was supported by China National Funds for the Distinguished Young Scientists (Grant No.81125018)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-81875251, E-mail: chengshuqun@aliyun.com

网络出版时间: 2017-02-07 15:49:28

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170207.1549.018.html>

## 1 来源于门静脉癌栓的人肝癌细胞系的建立

可供体外研究的细胞系对于肿瘤理论和应用研究上具有十分重要的价值。不同组织来源的细胞,其生物特性和适用性不尽相同。虽然一系列肝癌细胞系的建立为研究肝癌的发病机理、寻找合适的治疗方法等提供了理想的模型,但是鲜有报道来源于PVTT的细胞系,所以建立来源于门静脉癌栓的细胞系显得尤为重要。Wang等<sup>[4]</sup>利用人肝癌门静脉癌栓新鲜组织块进行原代培养得到了门静脉癌栓来源的肝癌细胞系CSQT-1,并进一步利用门静脉癌栓原位移植模型,将成瘤后的裸鼠肝脏肿瘤进行细胞原代培养,建立肝癌细胞系,命名为门静脉癌栓来源的肝癌细胞系CSQT-2。CSQT-1和CSQT-2具有人肝癌组织的特性,均能稳定生长,具有无限生长的能力,同时因取材于门静脉癌栓而和其他肝癌细胞系又有诸多不同。CSQT-1及CSQT-2两株肝癌细胞系是体外研究肝癌门静脉癌栓形成及防治的良好模型,为进一步研究PVTT的形成机制提供了实验工具。

## 2 PVTT形成的分子生物学基础

### 2.1 microRNAs与PVTT的形成

微小RNAs(microRNAs, miRNAs)是一类短小的(长为17~25 nt)单链非编码内源性RNA,能通过对靶mRNA降解或者抑制蛋白质翻译从而在基因的转录后调控中扮演重要角色。随着对miRNA研究的深入,人们发现,miRNA也在肿瘤的增殖、分化、侵袭转移、治疗反应中扮演了重要角色。Zhou等<sup>[5]</sup>通过miRNA测序发现了22种可能与肝癌转移相关的miRNAs,其中,miR-28-5p的低表达被证实与肿瘤的转移、复发、预后密切相关。进一步探究发现,白介素-34(interleukin-34, IL-34)是miR-28-5p重要作用靶点,通过调控肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)来发挥作用,并提出了miR-28-5p-IL-34-macrophage的反馈通路。Liu等<sup>[6]</sup>通过比较肝癌原发灶及门静脉癌栓的miRNA表达谱发现,miR-135a等10个miRNAs在PVTT中的表达水平高于原发灶至少1.5倍;miR-433等5个miRNAs在PVTT中的表达水平低于原发灶至少1.5倍。这表明,这些miRNAs可能在PVTT的形成中发挥作用。进一步研究发现,抑制CSQT-2中miR-135a的表达可以显著抑制其侵袭能力,这也在裸鼠原位种植实验中得到

证实。此外还发现,miR-135a可能是通过上游的转录基因*FOXM1*和下游的靶向肿瘤抑制基因*MTSS1*发挥作用的,最终建立了FOXM1-miR-135a-MTSS1通路。Yang<sup>[7]</sup>等的研究更揭示了一个乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染导致PVTT形成的调控通路。他们发现,HBV在肝组织内的持续感染以及上调的TGF- $\beta$ 活性可以抑制miR-34a的表达水平,减弱miR-34a对其靶基因CCL22的抑制,上调的CCL22可以招募调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)形成一个免疫抑制微环境,促进肿瘤细胞的免疫逃逸,定植于肝内门静脉系统形成PVTT。迄今为止,最完整的解释PVTT如何形成的通路是HBV-TGF- $\beta$ -miRNA-34a-CCL22-Treg-PVTT通路。

### 2.2 lncRNAs与PVTT的形成

长链非编码RNAs(long noncoding RNAs, lncRNAs)是长度大于200个核苷酸的非编码RNA。在细胞内,lncRNAs可以调节基因转录和mRNA的合成;同时,也能影响RNA的稳定性和miRNAs在细胞质内的活性<sup>[8]</sup>。最新研究表明,lncRNAs在剂量补偿效应、表观遗传调控、细胞周期调控和细胞分化调控等众多生命活动中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。例如,lncRNAs、ANRIL(antisense non-coding RNA in the INK4 locus)和HOTAIR(HOX transcript antisense RNA)通过促进染色体复合物的生成来促进肿瘤的生长和转移等<sup>[10]</sup>。Yuan等<sup>[11]</sup>发现了能被转化因子诱导的lncRNA,即lncRNA-ATB(TGF- $\beta$ -induced lncRNA),lncRNA-ATB通过调节TGF- $\beta$ 、miR-200家族和E盒结合锌指蛋白(zinc finger E-box binding homeobox, ZEB)来影响肿瘤早期至晚期的各个过程。lncRNA-ATB的发现也为临床提供了治疗的新靶点,可以通过抑制lncRNA-ATB的转录来抑制其发挥作用,也可以通过阻断与其密切相关的TGF- $\beta$ 通路达到治疗的效果<sup>[12]</sup>。另一项研究发现了肿瘤相关的lncRNA-DANCR,其在HCC的表达明显升高。进一步的体内外实验表明,DANCR的高表达,明显地增强了HCC的干性,促进了肿瘤的生成以及转移。DANCR与CTNNB1(colorectal cancer risk associated with  $\beta$ 1-catenin)相互结合阻断了miR214、miR-320a和miR-199a,揭示了一个涉及lncRNAs、mRNAs、miRNAs的肿瘤发生的独特机制<sup>[13]</sup>。此外,Chang等<sup>[14]</sup>发现的lncRNA GAS5(growth arrest-specific 5)通过调控波形蛋白(vimentin)来影响肝癌细胞的增殖和侵犯。低

表达的GAS5与PVTT的发生密切相关,也为临床提供了新的、潜在的治疗靶点。

### 2.3 蛋白质与PVTT的形成

通过对正常个体及病理个体间的蛋白质组比较分析,找到某些疾病特异性的蛋白质分子,它们可成为新药物设计的分子靶点,或者也会为疾病的早期诊断提供分子标志。近年来,随着高通量技术的进步,使得我们可以更全面、更系统地去寻找与肝癌相关的蛋白。例如,Ding等<sup>[15]</sup>比较MHCC97H细胞系和MNCC97L细胞系的蛋白质表达差异时,发现转移能力更强的MHCC97H细胞中角蛋白19(cytokeratin 19, CK19)的表达明显上调,进一步研究发现,在肿瘤组织中CK19表达高的病人转移和复发的可能性更高。Liotta等<sup>[16]</sup>提出的肿瘤细胞浸润转移的三步骤假说已经得到广泛认可,PVTT的发生更是涉及肿瘤细胞之间、肿瘤-基质细胞之间的黏附力、趋化、细胞外基质的降解等一系列的过程。

**2.3.1 黏附分子与PVTT的形成** 在癌细胞脱离原发灶、移动并附着远处器官等癌浸润转移过程中,细胞黏附分子和细胞黏附力发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。肿瘤细胞间黏附力减弱,有利于肿瘤细胞脱离原发灶;而肿瘤细胞与基质细胞、内皮细胞黏附能力增强,有助于肿瘤细胞在局部停留、着床并形成转移灶。如上皮型钙黏蛋白(E-cadherin, E-CD)是同种细胞间的主要黏附分子。研究发现,LI-钙黏蛋白(liver-intestine-cadherin, LI-cadherin)的表达水平却与肝癌的侵袭性呈正相关,即高表达LI-cadherin的肝癌组织中肿瘤细胞更易脱落,微血管侵犯比例明显增加<sup>[18]</sup>。血清中细胞间黏附分子I型(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)也被认为与肝癌的转移密切相关。Liu等<sup>[19]</sup>研究发现,与ICAM-1低表达的细胞相比,高表达ICAM-1的细胞具有更强的致癌能力。进一步研究还发现,抑制ICAM-1的表达可以降低肿瘤的发生率和转移率,可见ICAM-1的表达与PVTT的发生也具有密切的联系,但具体作用机制尚不清楚。

**2.3.2 趋化因子与PVTT的形成** 趋化因子可以趋化肿瘤细胞,并可调节金属蛋白酶及黏附分子表达的增加从而肿瘤细胞侵袭性,已经证实趋化因子及其受体在决定乳腺癌器官选择性转移中起着非常重要的作用<sup>[20]</sup>。Li等<sup>[21]</sup>发现,CXCR4的表达在PVTT组织中明显高于在肝癌组织中的表达,临床病理结

果发现其表达水平与肝癌的侵犯、有无癌栓及有无肝内或淋巴结转移有关。而在动物体内特异性地阻断、降低CXCR4可以减少癌栓的形成,因此,由趋化因子及其受体介导的肝癌细胞的定向迁移可能可以解释肝癌细胞易于侵犯门静脉的原因。

**2.3.3 基质降解与PVTT的形成** 肿瘤的侵袭与转移另一个必须条件是破坏细胞外基质(extracellular matrix, ECM),而降解的基质蛋白对肿瘤细胞的生长增殖有帮助<sup>[22]</sup>。其中,基质金属蛋白(matrix metalloproteinase, MMP)能降解基底膜和基质,最终肿瘤细胞沿基底膜缺损和基质空隙向周围生长。MMP-9和MMP-2在肝癌伴有PVTT者中含量显著高于无PVTT者<sup>[23]</sup>。而当MMP-2和MMP-9在肝癌组织的表达高于癌旁肝组织时,癌栓发生率明显升高。相反地,当在肝癌组织的表达低于癌旁肝组织时,癌栓发生率均为0。这说明,MMPs可能在PVTT形成中起重要作用。尿激酶型纤溶酶原激活系统(urokinase-type plasminogen activator system, u-PA)能够水解无活性的纤溶酶原而转变成有活性的纤溶酶,后者能降解ECM蛋白。在许多肿瘤中,都有u-PA及相应调节分子的高表达,并且与肿瘤的预后、复发、转移密切相关<sup>[24]</sup>。

### 2.4 代谢改变与PVTT的形成

代谢组学由于具有能将基因和蛋白质水平的微小变化在代谢物水平放大和代谢物的种类远少于基因和蛋白质的数目等众多优点<sup>[25]</sup>,已经成为系统生物学研究的重要组成部分。研究发现,癌症细胞更倾向于利用糖酵解途径产生能量,同时产生更多的乳酸,从而更利于肿瘤的发生、发展<sup>[26-27]</sup>。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)参与的磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)是控制产生戊糖和NADPH的关键因素,成为了近年来研究的热点。Hong等<sup>[28]</sup>研究发现了抑癌基因PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten),通过Tcl1/hnRNPK来调控肝癌组织中G6PD的表达,进而影响肿瘤的代谢重构和生物合成,并且还发现了高表达的G6PD会影响患者使用索拉非尼的疗效,这对于PVTT患者的治疗具有重要的指导意义。G6PD的活性也被证明可促进血管生成,提高肿瘤细胞的增殖和侵袭。在体外敲除G6PD可降低血管内皮细胞增殖,迁移和磷酸化的VEGF受体,而G6PD过表达却显示出促血管生成的表型<sup>[29]</sup>。

由此可见, 对于代谢相关基因的研究可能成为解释PVTT发生机制的新突破点。

## 2.5 肿瘤微环境与PVTT的形成

肿瘤细胞与癌周基质之间的动态变化涉及肿瘤发生、侵袭、转移的各个过程, 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)和T细胞, 能通过促进上皮细胞转化、增加蛋白酶水解活性、调节免疫力的方式来促进肿瘤的侵袭、转移以及新生血管的生成<sup>[30-31]</sup>。其中, 巨噬细胞几乎存在于所有的组织中, 并在维持肿瘤细胞和基质细胞之间的稳态方面发挥着重要的作用。大量的研究表明, TAMs能通过损害细胞毒素PD-1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞免疫应答来推动肝癌的进展<sup>[32]</sup>。此外, 可扑弗氏细胞(Kupffer cells)作为肝独特的巨噬细胞, 能产生大量的骨桥蛋白<sup>[33]</sup>; 雄激素受体相关的巨噬细胞, 能够通过调控肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)来影响肝脏的损伤修复, 还会引起p38的激活进而促进HCC的转移<sup>[34-35]</sup>。研究发现, HCC的转移与癌旁巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony stimulating factor, M-CSF)的表达密切相关, 即高表达M-CSF的患者, 预后较差, 肝内肝外转移发生率高<sup>[36]</sup>。因此, 针对巨噬细胞的药物(例如唑来膦酸)可以消耗肿瘤附近的巨噬细胞, 与索拉非尼联用, 能明显改善患者的预后<sup>[37]</sup>。免疫细胞的不平衡是肿瘤进程中的一个重要的调节器。在肝癌伴转移的患者中发现, Th1辅助T细胞相关的促炎性细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、干扰素(interferon, IFN)和IL-1的表达明显低于不伴转移的患者, 说明增强Th1免疫应答, 可能抑制肿瘤的复发<sup>[38-39]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>T细胞已被证实肝癌肿瘤细胞中高表达, 该类T细胞能损害细胞毒性CD8<sup>+</sup>T的增殖、活化、脱粒以及产生颗粒酶A、颗粒酶B和穿孔蛋白的能力<sup>[40-41]</sup>。与此结论类似的, Gao等<sup>[42]</sup>研究发现, 调节T细胞与肝癌细胞的侵袭性、瘤内淋巴管形成有关; 细胞毒T细胞可以作为预测肝癌预后的重要指标; 针对Treg和效应T细胞的免疫疗法治疗可能成为减少复发、延长PVTT患者生存期的有效手段。

## 2.6 肿瘤干细胞与PVTT的形成

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)因有很强的转移潜能, 也有人将其称为转移型的肿瘤干细胞。其与转移的关系的研究热点集中在以下两点。原发瘤中的CSC通过与微环境的相互作用, 影响干性因子或

通路的变化, 从而促进侵袭和转移特性的获得; 而在转移灶形成的过程中, CSC自身的代谢变化与微环境的共同作用, 又调节了干细胞的自我更新和定居<sup>[43]</sup>。有研究称, 肝癌中, CD44<sup>+</sup>的肝癌干细胞与CD14<sup>+</sup>的TAM共培养后, TAM产生的IL-6会促进这群肝癌干细胞的扩张和成瘤能力<sup>[44]</sup>。而当CSC发生播散进入血液循环时, 就有可能成为CTC的组成部分。这意味着, 循环肿瘤细胞中能成功地产生转移灶的组分, 可能是CSC或是已具有CSC特性的细胞。例如, 肝癌中也发现, EpCAM<sup>+</sup>CTC(circulating tumor cell)具有干细胞特性, 部分EpCAM<sup>+</sup>CTC有CD133<sup>+</sup>或者ABCG2<sup>+</sup>的表达<sup>[45]</sup>。而这也暗示着, CSC可能是CTC的主要功能细胞, 或是只有具有或获得CSC特性的细胞才能在转移的过程中存活下来。Guo等<sup>[46]</sup>更是发现了能影响CSC性能和促进PVTT发生的ICAM-1相关lncRNA(ICAM-1-related, ICR)。因此, 肿瘤干细胞的研究可能为我们解释PVTT的形成提供新的方向。

## 3 总结与展望

PVTT是导致HCC肝内复发转移和影响患者生存的最重要因素, 该类患者的治疗是临床的一大难点。有关PVTT的临床研究较多, 而基础研究较少, 其发生、发展的具体机制尚不清楚, 临床治疗的效果并不理想。因此, 深入了解PVTT的发生机制, 寻找可靠的早期诊断标志物以及有效的治疗靶点, 才能更大程度上使患者受益。PVTT的发生是多因素、多环节参与的复杂过程, 是机体、微环境与癌细胞三者互动的结果, 此外, Guo等<sup>[47]</sup>发现的一种新型的门静脉癌栓(distinct portal vein tumor thrombus, dPVTT)为研究提供了新的思路, 也更加表明了癌栓的发展是多样、复杂的。研究者们需要更加宽广的研究视野, 才能更加接近PVTT形成的真正情况, 从而改善患者的总体疗效。

## 参考文献 (References)

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65(2): 87-108.
- 2 Zhang ZM, Lai EC, Zhang C, Yu HW, Liu Z, Wan BJ, *et al.* The strategies for treating primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *Int J Surg* 2015; 20: 8-16.
- 3 Chau GY, Lui WY, Wu CW. Spectrum and significance of microscopic vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *Surg*

- Oncol Clin N Am 2003; 12(1): 25-34.
- 4 Wang T, Hu HS, Feng YX, Shi J, Li N, Guo WX, *et al.* Characterisation of a novel cell line (CSQT-2) with high metastatic activity derived from portal vein tumour thrombus of hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2010; 102(11): 1618-26.
- 5 Zhou SL, Hu ZQ, Zhou ZJ, Dai Z, Wang Z, Cao Y, *et al.* miR-28-5p-IL-34-macrophage feedback loop modulates hepatocellular carcinoma metastasis. *Hepatology* 2016; 63(5): 1560-75.
- 6 Liu S, Guo W, Shi J, Li N, Yu X, Xue J, *et al.* MicroRNA-135a contributes to the development of portal vein tumor thrombus by promoting metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56(2): 389-96.
- 7 Yang P, Li QJ, Feng Y, Zhang Y, Markowitz GJ, Ning S, *et al.* TGF-beta-miR-34a-CCL22 signaling-induced Treg cell recruitment promotes venous metastases of HBV-positive hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2012; 22(3): 291-303.
- 8 Qi P, Du X. The long non-coding RNAs, a new cancer diagnostic and therapeutic gold mine. *Mod Pathol* 2013; 26(2): 155-65.
- 9 Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol* 2011; 21(6): 354-61.
- 10 Li T, Mo X, Fu L, Xiao B, Guo J. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs on gastric cancer. *Oncotarget* 2016; 7(8): 8601-12.
- 11 Yuan JH, Yang F, Wang F, Ma JZ, Guo YJ, Tao QF, *et al.* A long noncoding RNA activated by TGF-beta promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2014; 25 (5): 666-81.
- 12 Wahlestedt C. Targeting long non-coding RNA to therapeutically upregulate gene expression. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12(6): 433-46.
- 13 Yuan SX, Wang J, Yang F, Tao QF, Zhang J, Wang LL, *et al.* Long noncoding RNA DANCR increases stemness features of hepatocellular carcinoma by derepression of CTNBN1. *Hepatology* 2016; 63(2): 499-511.
- 14 Chang L, Li C, Lan T, Wu L, Yuan Y, Liu Q, *et al.* Decreased expression of long non-coding RNA GAS5 indicates a poor prognosis and promotes cell proliferation and invasion in hepatocellular carcinoma by regulating vimentin. *Mol Med Rep* 2016; 13(2): 1541-50.
- 15 Ding SJ, Li Y, Tan YX, Jiang MR, Tian B, Liu YK, *et al.* From proteomic analysis to clinical significance: Overexpression of cytokeratin 19 correlates with hepatocellular carcinoma metastasis. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3(1): 73-81.
- 16 Liotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab Invest* 1983; 49(6): 636-49.
- 17 许洪卫. 细胞黏附力和黏附分子对癌侵袭性影响的研究展望. *世界华人消化杂志(Xu Hongwei. World Chin J Digestol)* 2005; 13(17): 2057-60.
- 18 Ding ZB, Shi YH, Zhou J, Shi GM, Ke AW, Qiu SJ, *et al.* Liver-intestine cadherin predicts microvascular invasion and poor prognosis of hepatitis B virus-positive hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2009; 115(20): 4753-65.
- 19 Liu S, Li N, Yu X, Xiao X, Cheng K, Hu J, *et al.* Expression of intercellular adhesion molecule 1 by hepatocellular carcinoma stem cells and circulating tumor cells. *Gastroenterology* 2013; 14(5): 1031-41.e10.
- 20 Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410(6824): 50-6.
- 21 Li N, Guo W, Shi J, Xue J, Hu H, Xie D, *et al.* Expression of the chemokine receptor CXCR4 in human hepatocellular carcinoma and its role in portal vein tumor thrombus. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 156.
- 22 Chang C, Werb Z. The many faces of metalloproteases: Cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol* 2001; 11(11): S37-43.
- 23 Tang Y, Lü P, Sun Z, Han L, Zhou W. 14-3-3beta promotes migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells by modulating expression of MMP2 and MMP9 through PI3K/Akt/NF-kappaB pathway. *PLoS One* 2016; 11(1): e0146070.
- 24 Halamkova J, Kiss I, Tomasek J, Pavlovsky Z, Tucek S, Penka M. Significance of urokinase and its inhibitors in the invasiveness and metastasing of malignant tumors. *Vnitr Lek* 2012; 58(2): 129-34.
- 25 Taylor J, King RD, Altmann T, Fiehn O. Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning. *Bioinform atics* 2002; 18 Suppl 2: S241-8.
- 26 Beyoglu D, Imbeaud S, Maurhofer O, Bioulac-Sage P, Zucman-Rossi J, Dufour JF, *et al.* Tissue metabolomics of hepatocellular carcinoma: Tumor energy metabolism and the role of transcriptomic classification. *Hepatology* 2013; 58 (1): 229-38.
- 27 Upadhyay M, Samal J, Kandpal M, Singh OV, Vivekanandan P. The Warburg effect: Insights from the past decade. *Pharmacol Ther* 2013; 137(3): 318-30.
- 28 Hong X, Song R, Song H, Zheng T, Wang J, Liang Y, *et al.* PTEN antagonises Tel1/hnRNPK-mediated G6PD pre-mRNA splicing which contributes to hepatocarcinogenesis. *Gut* 2014; 63(10): 1635-47.
- 29 Pan S, World CJ, Kovacs CJ, Berk BC. Glucose 6-phosphate dehydrogenase is regulated through c-Src-mediated tyrosine phosphorylation in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29(6): 895-901.
- 30 Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: Obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006; 124 (2): 263-6.
- 31 Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell* 2005; 7(3): 211-7.
- 32 Ye QH, Qin LX, Forgues M, He P, Kim JW, Peng AC, *et al.* Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2003; 9(4): 416-23.
- 33 Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci* 2008; 103(1): 4-13.
- 34 Lai JJ, Lai KP, Chuang KH, Chang P, Yu IC, Lin WJ, *et al.* Monocyte/macrophage androgen receptor suppresses cutaneous wound healing in mice by enhancing local TNF-alpha expression. *J Clin Invest* 2009; 119(12): 3739-51.
- 35 Luedde T, Trautwein C. Intracellular survival pathways in the liver. *Liver Int* 2006; 26(10): 1163-74.
- 36 Zhu XD, Zhang JB, Zhuang PY, Zhu HG, Zhang W, Xiong YQ, *et al.* High expression of macrophage colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after

- curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(16): 2707-16.
- 37 Zhang W, Zhu XD, Sun HC, Xiong YQ, Zhuang PY, Xu HX, *et al.* Depletion of tumor-associated macrophages enhances the effect of sorafenib in metastatic liver cancer models by antimetastatic and antiangiogenic effects. *Clin Cancer Res* 2010; 16(13): 3420-30.
- 38 Budhu A, Forgues M, Ye QH, Jia HL, He P, Zanetti KA, *et al.* Prediction of venous metastases, recurrence, and prognosis in hepatocellular carcinoma based on a unique immune response signature of the liver microenvironment. *Cancer Cell* 2006; 10(2): 99-111.
- 39 Woo HG, Park ES, Cheon JH, Kim JH, Lee JS, Park BJ, *et al.* Gene expression-based recurrence prediction of hepatitis B virus-related human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14(7): 2056-64.
- 40 Gallimore AM, Simon AK. Positive and negative influences of regulatory T cells on tumour immunity. *Oncogene* 2008; 27(45): 5886-93.
- 41 Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, *et al.* Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology* 2007; 132(7): 2328-39.
- 42 Gao Q, Qiu SJ, Fan J, Zhou J, Wang XY, Xiao YS, *et al.* Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol* 2007; 25(18): 2586-93.
- 43 Brooks MD, Wicha MS. Tumor twitter: Cellular communication in the breast cancer stem cell niche. *Cancer Discov* 2015; 5(5): 469-71.
- 44 Wan S, Zhao E, Kryczek I, Vatan L, Sadovskaya A, Ludema G, *et al.* Tumor-associated macrophages produce interleukin 6 and signal via STAT3 to promote expansion of human hepatocellular carcinoma stem cells. *Gastroenterology* 2014; 147(6): 1393-404.
- 45 Sun YF, Xu Y, Yang XR, Guo W, Zhang X, Qiu SJ, *et al.* Circulating stem cell-like epithelial cell adhesion molecule-positive tumor cells indicate poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Hepatology* 2013; 57(4): 1458-68.
- 46 Guo W, Liu S, Cheng Y, Lu L, Shi J, Xu G, *et al.* ICAM-1-related noncoding RNA in cancer stem cells maintains ICAM-1 expression in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2016; 2(8): 2041-50.
- 47 Guo W, Xue J, Shi J, Li N, Shao Y, Yu X, *et al.* Proteomics analysis of distinct portal vein tumor thrombi in hepatocellular carcinoma patients. *J Proteome Res* 2010; 9(8): 4170-5.