

## ERI3 在肝癌中高表达并与患者不良预后相关

赵新丽<sup>1,2</sup>, 王豪杰<sup>1,2</sup>, 宋银春<sup>1,2</sup>, 袁帅<sup>1,2</sup>, 张振<sup>1,2</sup>, 周星琦<sup>1,2</sup>, 李姗姗<sup>1,2</sup>, 李娴<sup>1,2</sup>, 李锋<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>蚌埠医科大学药学院, 安徽 蚌埠 233030; <sup>2</sup>安徽省生化药物工程技术研究中心, 安徽 蚌埠 233030

**摘要:**目的 明确核糖核酸外切酶3(ERI3)在肝癌组织中的表达情况,并分析其对患者远期预后的评估价值以及对肿瘤细胞转移的影响和可能的机制。方法 通过TCGA-LIHC数据集(377例肝癌与50例癌旁组织),采用DESeq2进行ERI3差异表达分析,结合HPA数据库免疫组化验证。通过STRING与GeneMANIA构建蛋白互作网络;利用Cox回归、KM生存分析评估预后价值;ROC曲线分析诊断效能;ssGSEA算法进行免疫浸润相关性研究;多因素Cox回归构建列线图预后模型。实验验证采用人肝癌细胞系SMMC-7721,通过敲低基因ERI3后,使用克隆形成、划痕及Transwell实验检测增殖、迁移与侵袭能力。结果 ERI3在肝癌组织中显著高表达( $P<0.001$ ),且表达水平随TNM分期升高而递增(T1-T4: $P<0.001$ )。高表达ERI3患者总生存期(OS,HR=2.86,95%CI:1.68-4.88, $P<0.001$ )、疾病特异性生存期(DSS,HR=2.27, $P=0.013$ )及无进展生存期(PFI,HR=1.83, $P=0.012$ )均显著缩短。诊断效能分析显示ERI3的AUC达0.955(95%CI:0.931-0.978)。免疫浸润研究发现ERI3与Th2细胞呈正相关( $r=0.340$ , $P<0.001$ ),与Th17细胞呈负相关( $r=-0.284$ , $P<0.001$ )。多因素Cox回归证实ERI3是独立预后因子(HR=1.987, $P=0.003$ ),据此构建的列线图预测效能良好(C-index=0.668)。体外实验表明,敲低ERI3可显著抑制SMMC-7721细胞的增殖、迁移及侵袭能力( $P<0.05$ )。结论 ERI3高表达可显著促进肝癌细胞增殖、迁移和侵袭,且与患者预后不良有关。

**关键词:**肝癌;ERI3;转移;预后

## ERI3 expression is elevated in hepatocellular carcinoma and correlates with poor patient prognosis

ZHAO Xinli<sup>1,2</sup>, WANG Haojie<sup>1,2</sup>, SONG Yinchun<sup>1,2</sup>, YUAN Shuai<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhen<sup>1,2</sup>, ZHOU Xingqi<sup>1,2</sup>, LI Shanshan<sup>1,2</sup>, LI Xian<sup>1,2</sup>, LI Feng<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, Bengbu Medical University, Bengbu 233030, China; <sup>2</sup>Anhui Provincial Engineering Research Center for Biochemical Pharmaceuticals, Bengbu 233030, China

**Abstract: Objective** To analyze the expression pattern of Exoribonuclease Family Member 3 (ERI3) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues and its influences on long-term prognosis and cancer cell metastasis. **Methods** Based on the TCGA-LIHC dataset (including 377 HCC and 50 adjacent normal tissues), the differential expression of ERI3 was analyzed using DESeq2, and the results were validated using immunohistochemical data from the HPA database. A protein-protein interaction network was constructed using STRING and GeneMANIA. The prognostic value of ERI3 was assessed by Cox regression and Kaplan-Meier (KM) survival analyses, its diagnostic efficacy evaluated by ROC curve analysis, and its correlation with immune infiltration analyzed with ssGSEA algorithm. A nomogram prognostic model was established using multivariate Cox regression. For functional validation of ERI3 *in vitro*, a human HCC cell line SMMC-7721 with ERI3 knockdown was constructed, and the changes in cell proliferation, migration, and invasion were assessed using CCK-8, colony formation, wound healing, and Transwell assays. **Results** ERI3 was significantly overexpressed in HCC tissues ( $P<0.001$ ) and its expression levels increased progressively with advanced TNM stages (T1-T4:  $P<0.001$ ). In HCC patients, high ERI3 expressions were correlated with a reduced overall survival (HR=2.86, 95% CI: 1.68-4.88;  $P<0.001$ ), disease-specific survival (HR=2.27,  $P=0.013$ ), and progression-free interval (HR=1.83,  $P=0.012$ ). Diagnostic efficacy analysis revealed an AUC of 0.955 (95% CI: 0.931-0.978) for ERI3. Immune infiltration studies demonstrated a positive correlation of ERI3 expression level with Th2 cells ( $r=0.340$ ,  $P<0.001$ ) and a negative correlation with Th17 cells ( $r=-0.284$ ,  $P<0.001$ ). Multivariate Cox regression analysis identified ERI3 as an independent prognostic factor for HCC (HR=1.987,  $P=0.003$ ), and the constructed nomogram showed a good predictive accuracy (C-index=0.668). In SMMC-7721 cells, ERI3 knockdown significantly suppressed cell proliferation, migration, and invasion. **Conclusion** ERI3 overexpression promotes HCC cell proliferation, migration, and invasion and is strongly linked to a poor prognosis of the patients.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; ERI3; metastasis; prognosis

肝细胞癌(HCC)是一种严重危害人类健康的恶性肿瘤,全球第6大常见恶性肿瘤,也是全球癌症死亡原因中的第3位<sup>[1,2]</sup>。原发性肝癌主要分为肝细胞癌

(HCC)和胆管癌(CCA),其中HCC占有原发性肝癌的85%~90%。原发性肝癌的主要病因包括乙型肝炎病毒或丙型肝炎病毒慢性感染、黄曲霉毒素暴露、高酒精摄入和代谢性疾病<sup>[3]</sup>。大多数肝癌患者在诊断时已处于中晚期,预后不良,5年生存率低于5%,严重威胁人类健康<sup>[4]</sup>。尽管手术切除、靶向治疗及免疫疗法等策略不断发展,肝癌患者的中晚期诊断率高、易转移复发及预后差等问题仍未根本解决。因此,深入探索肝癌进展的新机制,寻找可靠的预后标志物和治疗靶点至关重要<sup>[5-7]</sup>。

收稿日期:2025-06-22

基金项目:安徽省重点研究与开发计划资助项目(202104g01020017);安徽省高校科研项目(2024AH051219);安徽省高校科研项目(2024AH051249);安徽省质量工程项目(2024xcxycsj171)

作者简介:赵新丽,在读硕士研究生,E-mail:1850466372@qq.com

通信作者:李娴,教授,博士,硕士生导师,E-mail:Lixian0813@126.com;李锋,讲师,博士,E-mail:1583635955@qq.com

核糖核酸外切酶 3(ERI3)是近年来发现的潜在癌相关基因,其编码蛋白在转录调控和DNA损伤修复中发挥重要作用。研究表明,ERI3通过参与染色质重塑和表观遗传修饰,调控细胞周期进展、凋亡抵抗及基因组稳定性。前期研究提示,ERI3在多种实体瘤,如结直肠癌、乳腺癌中异常高表达,且与肿瘤侵袭转移和化疗耐药相关<sup>[8,9]</sup>。然而,关于ERI3在肝癌中的作用仍存在显著空白,且尚无研究直接证实ERI3对肝癌细胞转移能力的调控作用,此外,ERI3在肝癌中的表达模式、与TNM分期/预后的关联缺乏大样本临床证据;ERI3是否通过重塑肿瘤免疫微环境影响肝癌进展尚未探索。基因组测序技术和生物信息学可以联合分析不同的实验测序数据,打破了实验研究因样本量小、技术限制等因素导致实验结果差异的局限性。通过对基因表达数据、临床信息数据等数据的综合生物信息学分析,可以挖掘出与癌症发生、发展相关的基因,这对于寻找癌症的发病机制、新的治疗靶点、预后生物标志物具有重要的临床价值<sup>[10]</sup>。本研究通过生物信息学分析发现,ERI3在肝癌组织中显著高表达,且其表达水平与患者TNM分期、血管侵犯及总生存期缩短显著相关。ERI3在肝癌中的临床相关性、预后意义以及其在肝癌侵袭和转移中的潜在调节作用尚未得到充分研究。基于此,本研究的目的是通过测定ERI3在肝癌细胞中的表达,以及ERI3敲低对肝癌细胞增殖和迁移的影响,来确定ERI3在肝癌发展中的潜在功能。

本研究首次联合TCGA大样本与HPA组织芯片,系统证实ERI3在肝癌中表达升高与TNM分期正相关并揭示其诊断价值;通过ssGSEA算法发现ERI3通过失衡Th2/Th17免疫浸润促癌为肝癌免疫逃逸提供新靶点;同时通过体外实验证明敲低ERI3可抑制SMMC-7721细胞的增殖、迁移及侵袭能力,填补该基因在肝癌中功能研究的空白。因此,本研究不仅为ERI3作为肝癌预后标志物和免疫治疗靶点提供理论依据,也为克服肝癌转移耐药难题提供新方向。

## 1 材料和方法

### 1.1 数据来源

从TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov>)下载并整理TCGA-LIHC(肝细胞肝癌)项目STAR流程的RNAseq数据并提取Counts格式的数据以及临床数据,去除无临床信息的样本,利用DESeq2包对原始Counts矩阵进行差异分析,按照标准流程进行分析,并且用DESeq2包提供的VST(Variance Stabilizing Transformations)方法对原始Counts矩阵进行标准化处理(Normalize)<sup>[11,12]</sup>,共获得肝癌患者信息377例,癌旁50例。

### 1.2 ERI3在正常组织和肝癌中的表达差异

使用stats包以及car包对数据进行分析,采用Mann-Whitney U检验统计方法,用ggplot2包对数据进行可视化,比较ERI3在正常组织和肝癌中的表达差异。从HPA数据库(The Human Protein Atlas,<https://www.proteinatlas.org>)获取ERI3的免疫组化数据,进一步验证其表达水平。

### 1.3 构建蛋白/基因互作网络

从STRING(<https://cn.string-db.org>)和GeneMANIA(<https://genemania.org/>)数据库获得ERI3的蛋白/基因相互作用信息,构建蛋白/基因互作网络。

### 1.4 生存分析

使用survival包进行比例风险假设检验并进行拟合生存回归,比较ERI3高低组患者的预后情况,结果用survminer包以及ggplot2包进行可视化<sup>[13]</sup>。

### 1.5 临床相关性分析

诊断ROC曲线即受试者工作特征曲线(ROC曲线)和ROC曲线下面积(AUC)常用于诊断实验的评估,评估预测准确率情况,判断某种因素对于疾病是否有诊断价值。使用“pROC”包进行对数据进行ROC分析,并对数据进行可视化。

使用“stats”包以及“car”包对患者数据进行统计分析(方法:Kruskal-Wallis test),研究ERI3的表达水平和肝癌TNM分期的相关性,用“ggplot2”包对数据进行可视化。

### 1.6 免疫浸润分析

基于R包“GSVA”[1.46.0],(Hänzelmannetal., 2013)中提供的ssGSEA算法<sup>[14]</sup>,利用Immunity文章中(Bindea, Gabriela, et al., 2013)提供的24种免疫细胞的markers来分析ERI3的免疫浸润情况<sup>[15]</sup>。

### 1.7 列线图的构建与校准

通过单因素和多因素Cox回归分析,筛选出影响肝癌患者总生存期的预后因素,使用R包“rms”构建列线图<sup>[13]</sup>,绘制校正曲线评估列线图的预测准确性。

### 1.8 细胞培养

人肝癌细胞株SMMC-7721购自北京中生奥邦生物科技有限公司,于蚌埠医科大学生物工程中心冻存。从液氮中取出冻存管,37℃水浴快速解冻,离心后弃上清,加入培养液重悬并转移至培养瓶中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

### 1.9 细胞转染

将对数生长期的SMMC-7721接种于6孔板,之后将质粒与脂质体3000试剂和300μL无血清培养液混匀,室温孵育5min后均匀滴加到6孔板中,轻柔混匀后放置于培养箱内,6h后更换培养液,转染48h,通过PCR实验检测转染效果(引物由通用生物股份有限公司合成)。取敲低效果的细胞进行后续实验。阴性对照:

shNC 阴性对照 F: CCGGCCTAAGGTTAAGTCG  
CCCTCGCTCGAGCGAGGGCACTTAACCTTAGGT  
TTTTG

R: AATTCAAAAACCTAAGGTTAAGTCGCCC  
TCGCTCGAG CGAGGGCACTTAACCTTAGG

shERI3-1, F: CCGGGCAGATGAAGCTGACATT  
AACTCGAGTTAATGTCAGCTTCATCTGCTTTTTG

R: AATTCAAAAAGCAGATGAAGCTGACATT  
AACTCGAGTTAATGTCAGCTTCATCTGC

shERI3-2, F: CCGGCCTGGAACACCTGAAGA  
ACACTCGAGTGTTCTTCAGGTGTTCCAGGTTTT  
TG

R: AATTCAAAAACCTGGAACACCTGAAGA  
ACACTCGAGTGTTCTTCAGGTGTTCCAGG

shERI3-3, F: CCGGGGACAAGCTTGTGAGAA  
ATCTCGAGATTCTCAACAAGCTTGTCCTTTTTG

R: AATTCAAAAAGGACAAGCTTGTGAGAA  
AATCTCGAGATTCTCAACAAGCTTGTC

### 1.10 细胞实验

通过克隆形成、划痕、Transwell实验检测细胞的增

殖、侵袭和迁移能力。

### 1.11 统计学方法

样本量基于TCGA数据库可用数据确定。通过预设中等效应量(Cohen's  $d=0.5$ )、 $\alpha=0.05$ 、Power=0.8, GPower软件模拟Mann-Whitney  $U$ 检验显示:所需最小样本量为每组26例。实际样本量(癌旁组50例/肝癌组377例)均远超此值,保障了统计效度。生存分析组间比较采用Log-rank检验进行统计学评估, $P<0.05$ 视为显著;"本研究中相关性分析所用 $r$ 值的解释参照Cohen与Mukaka等学者的分级标准<sup>[16,17]</sup>;使用GraphPad Prism 7软件和R语言(4.2.1版本)进行统计学分析,数据表示为均数±标准差, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ERI3在肝癌的正常组织中的表达情况

非配对样本与配对样本检验的结果均显示,ERI3在肝癌组织中的表达显著高于正常组织(图1A、B)。HPA数据库显示肝癌组织中ERI3染色为高水平,而在正常肝脏组织中ERI3染色为低水平,进一步验证了ERI3在肝癌中高表达(图1C)。

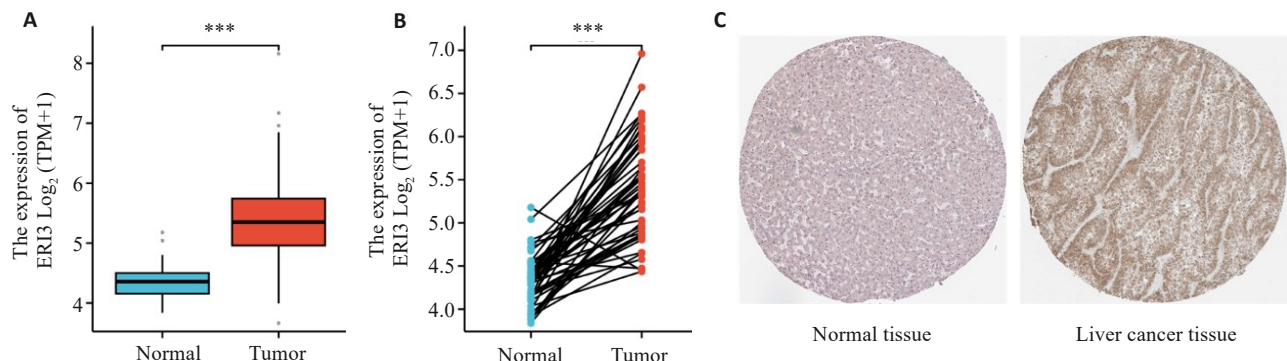


图1 ERI3在正常组织和肝癌组织中的表达差异

Fig.1 Differential expression of ERI3 between normal ( $n=50$ ) and hepatocellular carcinoma (HCC) tissues ( $n=377$ ). \*\*\* $P<0.001$ .

### 2.2 蛋白互作网络的构建

String数据库检索结果显示(图2A),ERI3的互作蛋白有SYN1、TRAPPC1、TMEM53、RNF220、ERI1、DU53L等。Gene MANIA数据库检索结果显示(图2B),和ERI3相关性较强的基因分别是PMP、CENPO、REXO1、LSG20I2、TREX2、AEN等。

### 2.3 K-M生存曲线的绘制

生存曲线显示(图3),ERI3高表达组肝癌患者的总生存期(OS,HR=2.86(1.68-4.88), $P<0.001$ )、疾病特异性生存期(DSS,HR=2.27(1.19-4.33), $P=0.013$ )、无进展生存期(PFI,HR=1.83(1.14-2.92), $P=0.012$ )均低于低表达组,提示ERI3是肝癌患者的不利预后因素。

### 2.4 ERI3的临床相关性分析

ERI3的AUC值为0.955(CI:0.931-0.978),ERI3在预测结果上具有较好的诊断效果。ERI3在正常组织中的表达水平均低于T1-T4期( $P<0.001$ )、N0-N1期( $P<0.001$ )、M0-M1期( $P<0.01$ )。

### 2.5 免疫浸润分析

分析ERI3表达水平和24种免疫细胞丰度的相关性,结果显示(图5A),其中和Th2、Th17的相关性最显著(图5B、C),相关系数分别是0.340( $P<0.001$ )、-0.284( $P<0.001$ )。TIMER数据库分析结果显示(图5D),ERI3的表达水平和B细胞( $r=0.173$ )、CD8<sup>+</sup>( $r=0.21$ )、CD4<sup>+</sup>( $r=0.095$ )、巨噬细胞( $r=0.246$ )、中性粒细胞( $r=0.187$ )、

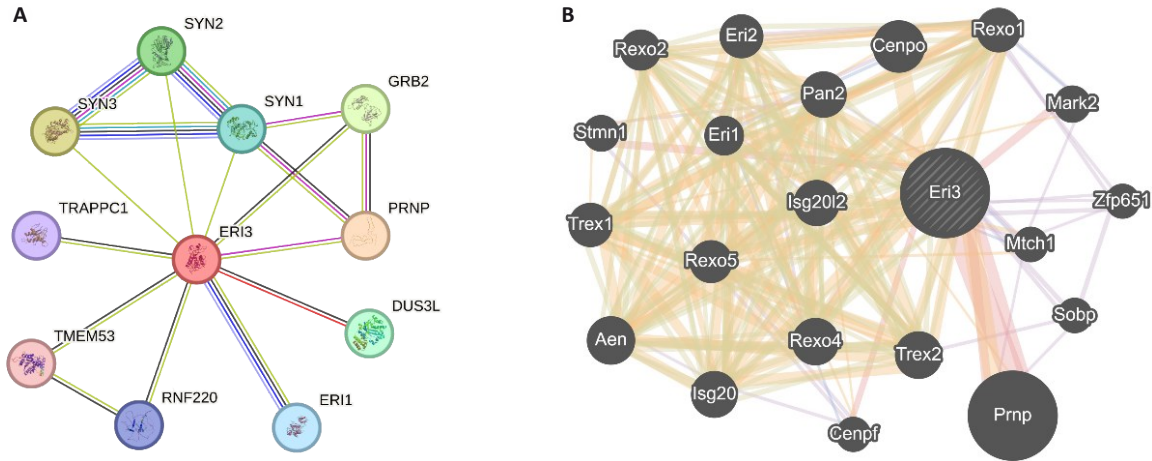


图2 蛋白互作网络  
Fig.2 Protein-protein interaction network (A) and the functional association network (B).

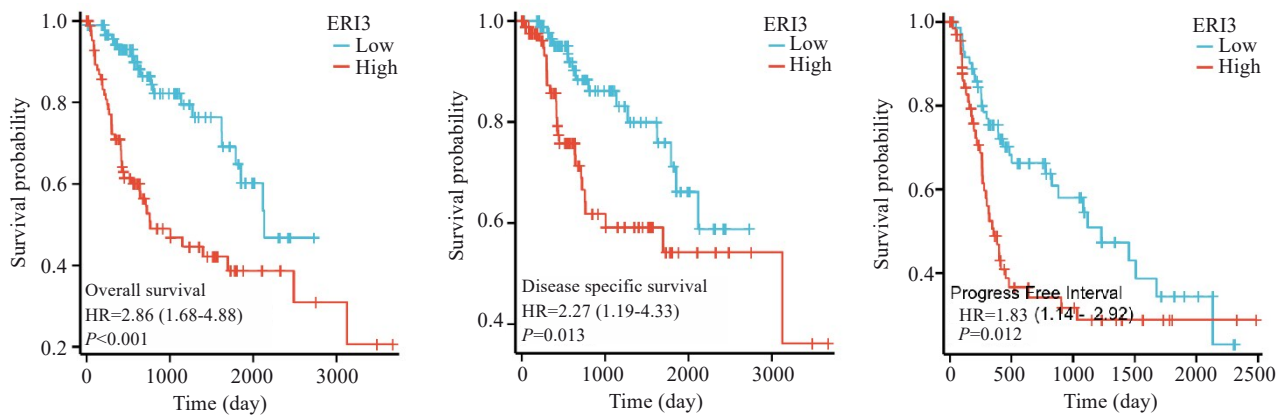


图3 生存曲线  
Fig.3 Kaplan-Meier curves for overall survival, disease-specific survival, and progression-free survival in HCC patients (n=377).

树突状细胞( $r=0.245$ )具有一定的弱相关性( $P<0.001$ )。

### 2.6 临床列线图的构建与校准

将性别、年龄、TNM分期、体质量、甲胎蛋白含量、肝纤维化、血管侵犯纳入到预测模型, Cox单因素和多因素分析显示, T分期和ERI3是独立预后因素, 构建列线图(图6A)。C指数为0.668(0.643~0.693), 同时校准图显示, 预测的总生存期和实际观察的总生存期具有一致性, 预测性能较好(图6B)。

### 2.7 敲低ERI3抑制肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移

实验验证结果显示: 敲低ERI3会抑制肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

HCC是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 也是全球癌症相关死亡的第2大原因<sup>[18-20]</sup>。风险因素包括B型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、脂肪肝、酒精相关性肝硬化、吸烟、肥胖、糖尿病、铁过载和各种饮食暴露<sup>[21]</sup>。虽然肝癌的治疗已经取得了很大的进展, 但肝癌患者的预后仍

然很差, 因为复发和转移率很高<sup>[22-24]</sup>。肝癌是全球最致命的癌症之一, 现有治疗手段效果有限<sup>[25]</sup>。因此, 需要开发新的靶点和策略来改善HCC治疗。

ERI3是一种重要的蛋白质, 其分子结构包含多个功能域, 能够参与多种生物学过程。ERI3在肝癌组织中的表达水平显著高于正常肝组织。研究表明, 通过转录组测序技术分析发现, ERI3在肝细胞癌患者的肿瘤组织中表现出高表达的特征, 这与肝癌的发生和发展密切相关<sup>[8]</sup>。研究表明, ERI3的结构特点使其能够与多种底物结合, 从而调控蛋白质的泛素化过程, 进而影响细胞的增殖、凋亡及分化等功能<sup>[25-28]</sup>。此外, 有研究显示, ERI3能够通过调控多条信号通路如PI3K/Akt和MAPK通路来影响细胞的生长和存活<sup>[29-31]</sup>。具体而言, ERI3的高表达可能导致PI3K/Akt信号通路的激活, 从而促进肝癌细胞的增殖和抵抗凋亡<sup>[8]</sup>。研究显示, 随着肝癌分期的进展, ERI3的表达水平逐渐升高, 这表明其可能与肝癌的恶性程度相关<sup>[32, 33]</sup>。具体的临床数据分析表明, 早期肝癌患者的ERI3表达水平显著低于晚期

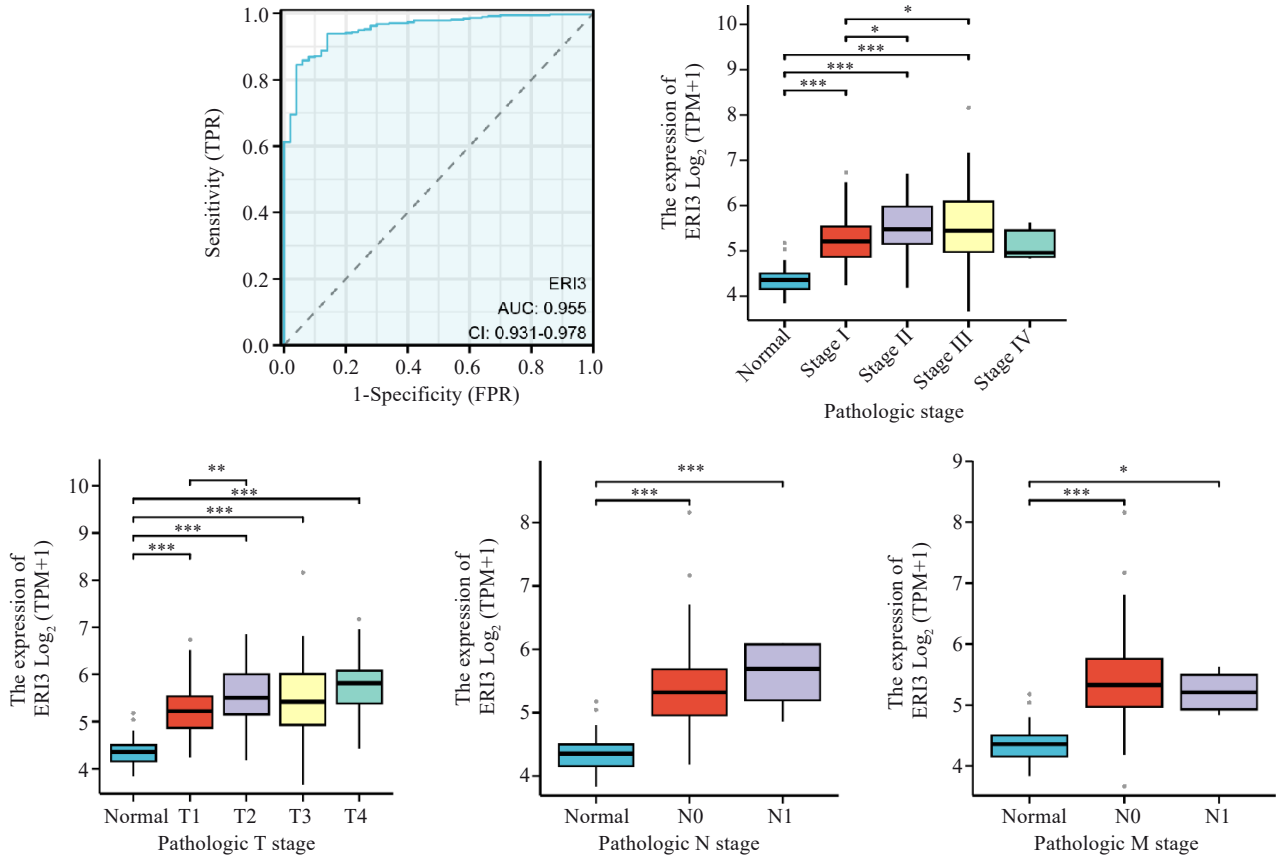


图4 ERI3表达水平和TNM分期的相关性

Fig.4 Correlation between ERI3 expression levels and TNM stage of HCC. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (normal  $n = 50$ , Hcc  $n = 377$ ).

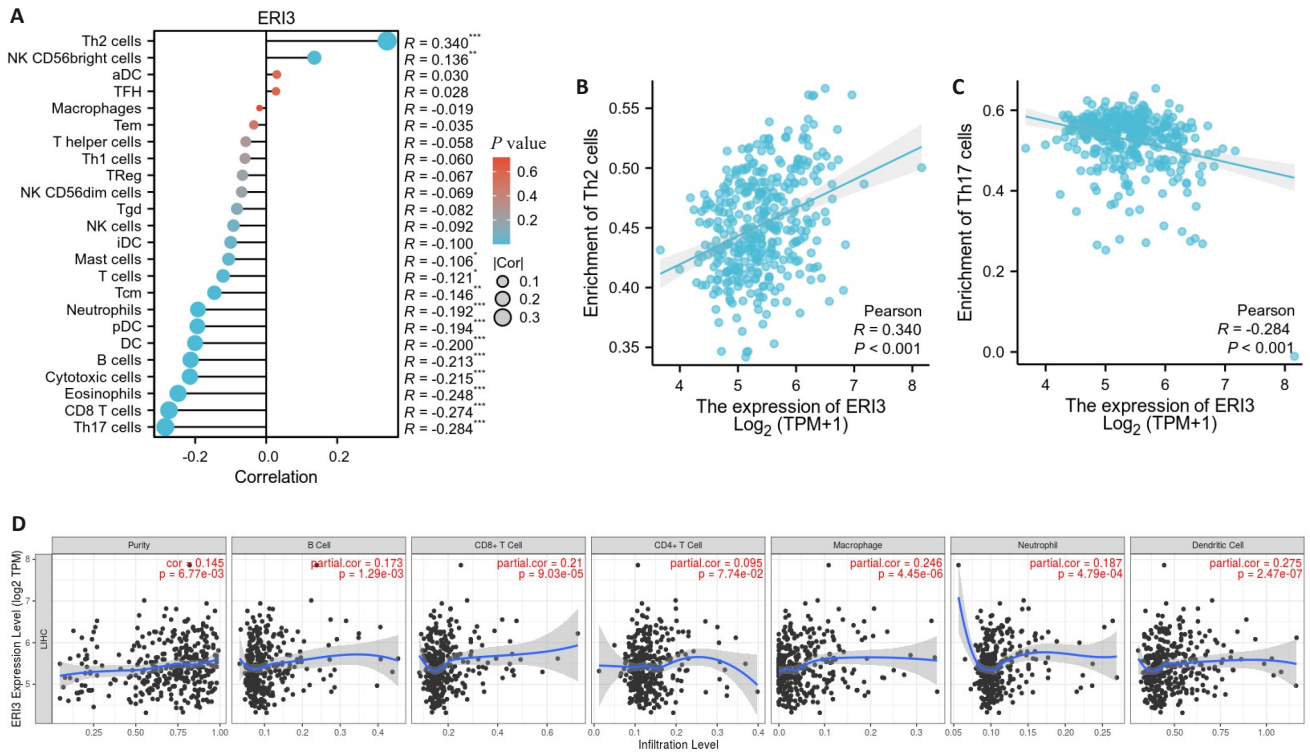


图5 免疫浸润分析

Fig.5 Tumor immune infiltration analysis. A: Lollipop chart showing the correlation between ERI3 expression and infiltration levels of 24 immune cell types. B, C: Scatter plots showing the correlation between ERI3 expression and abundance of Th2 and Th17 cells. D: Scatter plot of the correlation between ERI3 expression and B cells in HCC.  $n = 377$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

表1 影响肝细胞癌患者总生存期的单因素及多因素 Cox 比例风险回归分析

Tab.1 Univariate and multivariate Cox proportional hazards regression analysis of overall survival in HCC patients

Variable	n	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
Pathologic T stage	370				
T1&T2/T3&T4	277/93	2.598 (1.826-3.697)	<0.001	2.467 (1.587-3.836)	<0.001
Pathologic N stage	258				
N0/N1	254/4	2.029 (0.497-8.281)	0.324		
Pathologic M stage	272				
M0/M1	268/4	4.077 (1.281-12.973)	0.017	1.739 (0.531-5.697)	0.361
Gender	373				
Female/Male	121/252	0.793 (0.557-1.130)	0.200		
Age	373				
≤60/>60	177/196	1.205 (0.850-1.708)	0.295		
Weight	345				
≤70/>70	184/161	0.941 (0.657-1.346)	0.738		
AFP (ng/mL)	279				
≤400/>400	215/64	1.075 (0.658-1.759)	0.772		
Fibrosis ishak score	214				
0	75				
1, 2&3, 4	59	0.823 (0.436-1.554)	0.548		
5&6	80	0.737 (0.410-1.324)	0.307		
Vascular invasion	317				
No/Yes	208/109	1.344 (0.887-2.035)	0.163		
ERI3	373				
Low/High	186/187	2.307 (1.608-3.310)	<0.001	1.987 (1.256-3.142)	0.003

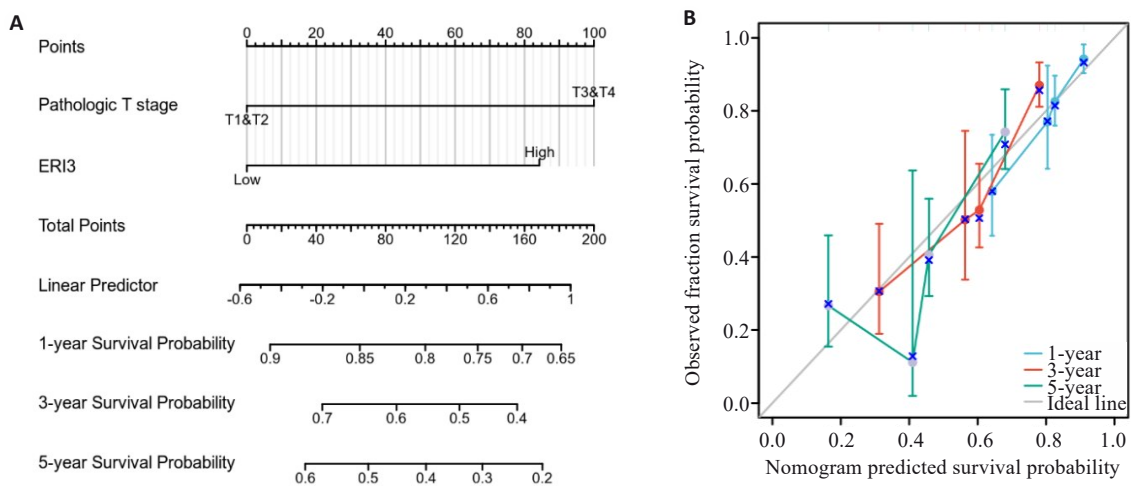


图6 临床列线图 and 校准曲线

Fig.6 Nomogram and calibration curve. A: Prognostic nomogram integrating ERI3 expression and clinicopathological parameters. B: Calibration curves for 1-, 3-, and 5-year survival probability of HCC patients (n=373).

患者,提示其可能作为肝癌进展的生物标志物<sup>[26]</sup>。此外,Kaplan-Meier生存分析显示,ERI3高表达的患者在生存率上明显低于低表达患者,进一步支持了其在肝癌分期中的重要性。针对ERI3的靶向治疗策略主要集中在抑制其表达或功能,以降低肿瘤细胞的增殖和转移能

力。通过小分子抑制剂或RNA干扰技术,研究者们已成功降低了ERI3的表达水平,从而抑制了肝癌细胞的生长和迁移<sup>[27]</sup>。

本研究首次系统证实ERI3在肝癌中的促癌作用,通过TCGA大样本分析揭示ERI3表达随TNM分期

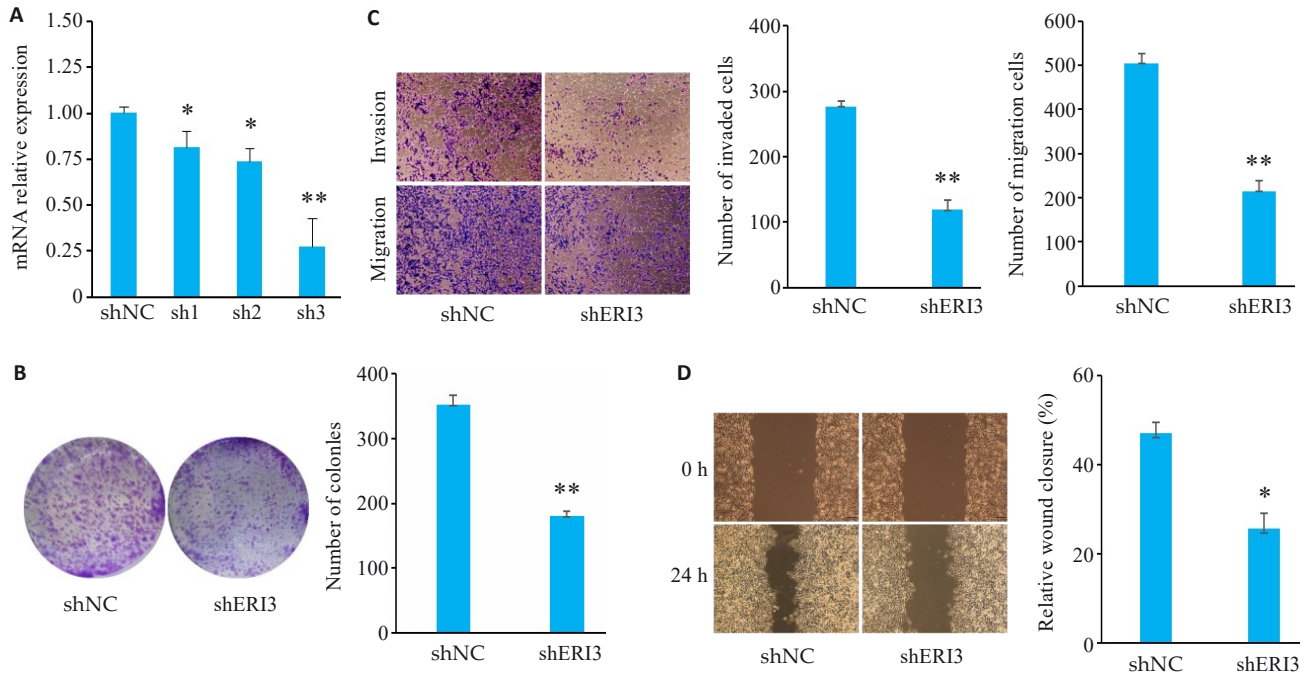


图7 敲低ERI3抑制肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移

Fig7 ERI3 knockdown inhibits proliferation, invasion, and migration of HCC cells *in vitro*. **A**: PCR for assessing the efficiency of ERI3 knockdown. **B**: Colony formation assay for assessing cell proliferation. **C**: Transwell assay for assessing cell migration and invasion (Original magnification:  $\times 10$ ). **D**: ERI3 knockdown of ERI3 impairs wound healing in HCC Cells ( $\times 200$ ).  $n=3$ , \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs shNC group.

递增( $P<0.001$ )且诊断价值显著( $AUC=0.955$ );同时高表达ERI3患者OS、DSS、PFI显著缩短( $HR=2.86\sim 1.83$ ,  $P<0.05$ ),本研究观察到高表达ERI3组患者的无进展生存期(PFI)显著缩短( $HR=1.83$ , 95%  $CI$ : 1.14~2.92,  $P=0.012$ ),但其生存曲线在早期存在交叉现象,且置信区间下限接近1。这一现象可能由时间依赖性效应导致:ERI3的促癌作用可能随疾病进展而动态变化。早期交叉提示在肝癌初始阶段,ERI3对肿瘤进展的驱动作用尚未完全显现,而在中晚期其促转移效应显著增强,导致曲线分离且高风险比持续上升。PFI的95%  $CI$  下限接近1,提示我们尽管多因素Cox回归已证实ERI3是独立预后因子( $HR=1.987$ ,  $P=0.003$ ),未来仍需扩大样本量或结合多中心数据进一步验证PFI关联的稳健性。值得注意的是,ERI3对总生存期(OS)和疾病特异性生存期(DSS)的影响更为稳定(OS的95%  $CI$ : 1.68~4.88;DSS的95%  $CI$ : 1.19~4.33),且无曲线交叉现象。这表明ERI3对肝癌长期生存的负面影响具有高度一致性,其作为预后标志物的价值在终末结局中更为明确。最重要的是:其关键创新点在于发现ERI3通过失衡Th2/Th17免疫微环境促进肝癌进展(Th2正相关  $r=0.340$ , Th17负相关  $r=-0.284$ , 均  $P<0.001$ );此外,本研究首次通过功能实验证实敲低ERI3可抑制肝癌细胞增殖、迁移及侵袭( $P<0.05$ );在临床转化方面,本研究构建的列线图( $C-index=0.668$ )首次将ERI3纳入肝癌预后模型,其诊断效能( $AUC=0.955$ )显著优于传统标志物

AFP( $AUC\approx 0.7$ )。这为ERI3作为肝癌免疫治疗新靶点提供依据,即靶向ERI3可能逆转Th2/Th17失衡,增强抗肿瘤免疫应答。

本研究确立了ERI3在肝癌中的促癌作用及免疫调控新机制,为其作为预后标志物和免疫治疗靶点提供理论基础。因此,深入探讨ERI3在肝癌中的作用机制及其与患者预后的关系,可能为肝癌的早期诊断和个体化治疗提供新的思路 and 依据。这一研究不仅能够丰富我们对肝癌生物学特性的认识,还可能为临床提供新的治疗靶点,从而改善患者的预后<sup>[33]</sup>。

**Declaration of interests:** The authors declare no competing interests.

#### 参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA A Cancer J Clinicians, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-49.
- [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): 284-90.
- [4] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA A Cancer J Clinicians, 2016, 66(2): 115-32.
- [5] de Lope CR, Tremosini S, Forner A, et al. Management of HCC[J]. J Hepatol, 2012, 56: S75-87.
- [6] Llovet JM, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, et al. Hepatocellular

- carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16018.
- [7] Aravalli RN, Steer CJ. Immune-mediated therapies for liver cancer [J]. *Genes*: Basel, 2017, 8(2): E76.
- [8] Yang H, Li G, Qiu G. Bioinformatics analysis using *ATAC*-seq and RNA-seq for the identification of 15 gene signatures associated with the prediction of prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 726551.
- [9] Liu FY, Feng XM, Ji XL, et al. Cluster classification and clinical prognostic modeling based on m6A RNA methylation regulators in liver cancer[J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2022, 30(9): 962-9.
- [10] Liu J, Qu J, Xu L, et al. Prediction of liver cancer prognosis based on immune cell marker genes[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1147797.
- [11] Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 550.
- [12] Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 139-40.
- [13] Liu JF, Lichtenberg T, Hoadley KA, et al. An integrated TCGA pan-cancer clinical data resource to drive high-quality survival outcome analytics[J]. *Cell*, 2018, 173(2): 400-16.
- [14] Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7.
- [15] Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer[J]. *Immunity*, 2013, 39(4): 782-95.
- [16] COHEN J. Statistical power analysis for the behavioral sciences [M]. 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, 1988.
- [17] Mukaka MM. Statistics corner: a guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research[J]. *Malawi Med J*, 2012, 24(3): 69-71.
- [18] Meyer T. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma: beyond sorafenib[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3(4): 218-20.
- [19] Currie E, Schulze A, Zechner R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. *Cell Metab*, 2013, 18(2): 153-61.
- [20] Bechmann LP, Hannivoort RA, Gerken G, et al. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(4): 952-64.
- [21] Li X, Sun R, Liu RP. Natural products in licorice for the therapy of liver diseases: Progress and future opportunities[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144: 210-26.
- [22] Thor Snaebjornsson M, Janaki-Raman S, Schulze A. Greasing the wheels of the cancer machine: the role of lipid metabolism in cancer [J]. *Cell Metab*, 2020, 31(1): 62-76.
- [23] Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J. SREBP in signal transduction: cholesterol metabolism and beyond[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19(2): 215-22.
- [24] Li C, Sheng LN, Sun G, et al. The application of ultraviolet-induced photo-crosslinking in edible film preparation and its implication in food safety[J]. *LWT*, 2020, 131: 109791.
- [25] Wang H, Xu M, Zhang T, et al. PYCR1 promotes liver cancer cell growth and metastasis by regulating IRS1 expression through lactylation modification[J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(10): e70045.
- [26] Ho V, Pelland-St-Pierre L, Gravel S, et al. Endocrine disruptors: Challenges and future directions in epidemiologic research[J]. *Environ Res*, 2022, 204(pt a): 111969.
- [27] Wang X, Zhang XY, Liao NQ, et al. Identification of ribosome biogenesis genes and subgroups in ischaemic stroke[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1449158.
- [28] Hiam-Galvez KJ, Allen BM, Spitzer MH. Systemic immunity in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(6): 345-59.
- [29] Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines[J]. *Immunity*, 2014, 41(1): 14-20.
- [30] Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, et al. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(7): 399-416.
- [31] Sunakawa Y, Stintzing S, Cao S, et al. Variations in genes regulating tumor-associated macrophages (TAMs) to predict outcomes of bevacizumab-based treatment in patients with metastatic colorectal cancer: results from TRIBE and FIRE3 trials[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(12): 2450-6.
- [32] Xiang X, Wang J, Lu D, et al. Targeting tumor-associated macrophages to synergize tumor immunotherapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 75.
- [33] Guo MJ, Sheng WY, Yuan X, et al. Neutrophils as promising therapeutic targets in pancreatic cancer liver metastasis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 140: 112888.

(编辑:余诗诗)