

网络出版时间:2024-03-21 20:35:54 网络出版地址:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.020

## 乙醇脱氢酶 1A 和血管内皮生长因子-A 在肝细胞癌中的表达

薛乐乐,井玉莹,杨凯歌,祁力文,吴桐,任祎琳,臧翌辰,王良海,张海俊,梁伟华,胡建明

**摘要** **目的** 探讨乙醇脱氢酶 1A (ADH1A) 和血管内皮生长因子-A (VEGFA) 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达和临床意义。**方法** 通过基因表达谱交互 (GEPiA) 分析 ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 以及癌旁正常组织中的表达情况及相关性; 肿瘤基因组图谱 (TCGA) 和基因富集分析 (GSEA) 探讨 ADH1A 在 HCC 中的相关通路; 收集 84 例 HCC 患者的样本及临床病理资料, 并选取 54 例癌旁正常组织样本做对照, 分析 ADH1A 和 VEGFA 与 HCC 中临床病理参数的相关性; 采用免疫组化法检测并分析病例组和对照组 ADH1A 和 VEGFA 的蛋白表达情况, 结合临床病理参数并通过 Kaplan-Meier 法分析 ADH1A 和 VEGFA 的表达与 HCC 患者的临床进展和预后的关系。**结果** 生物信息学分析发现 ADH1A 在 HCC 中低表达而 VEGFA 在 HCC 中高表达, 并且两者呈负相关

关系 ( $P < 0.001$ ); 免疫组化检测结果显示 ADH1A 在 HCC 组织中的表达率低于癌旁正常组织 ( $P < 0.01$ ), 而 VEGFA 在 HCC 组织中表达率高于癌旁正常组织 ( $P < 0.01$ ); HCC 组织中 ADH1A 高表达组的脉管癌栓及 HCC 患者的复发比例更低 ( $P < 0.05$ ); HCC 组织中 VEGFA 高表达组的肿瘤直径  $> 5$  cm, 高 TNM 分期、有微卫星以及 G2-G3 分化程度比例更高 ( $P < 0.05$ ); Kaplan-Meier 生存分析显示, ADH1A 高表达同时 VEGFA 低表达患者的五年生存率较高。**结论** HCC 患者肿瘤组织中 ADH1A 的低表达以及 VEGFA 的高表达与肿瘤的进展有关, 可作为 HCC 患者预后评估指标之一。

**关键词** 肝细胞癌; 乙醇脱氢酶; 血管内皮生长因子-A; 肿瘤复发; 生物信息学; 预后

**中图分类号** R 735.7

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)03-0499-07  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.020

2024-02-23 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81960435); 兵团指导性科技计划项目 (编号: 2023ZD027); 石河子大学医学院第一附属医院临床-基础联合基金项目 (编号: LJ202202); 石河子大学医学院第一附属医院青年基金项目 (编号: QN202003); 国家大学生创新创业训练项目 (编号: 202310759018)

作者单位: 石河子大学医学院病理学系/石河子大学第一附属医院病理科, 石河子 832000

作者简介: 薛乐乐, 女, 硕士研究生;

胡建明, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: jianming.120@163.com

肝癌是常见的恶性消化系统肿瘤之一, 其病死率位居全球高发肿瘤的第三位, 预后较差<sup>[1]</sup>。尽管最近在肝癌诊断和治疗方面有所突破, 但多数肝癌患者在确诊时均为中晚期癌, 接受手术切除的患者只占 20% ~ 30%, 术后 5 年转移/复发率达 60% ~ 70%。虽然目前越来越多学者对肝癌发病和演进机制进行深入研究, 但肿瘤复发、转移机制仍未完全明确。目前, 病毒性肝炎和饮酒是肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 发生的主要原因。乙醇脱

and protein blot. **Results** LPS treatment increased the levels of PTGS2 and MDA, and decreased the levels of GPX4 and GSH in MLE12 cells in a dose-dependent manner. Compared with LPS group, the cell viability, GPX4 and GSH levels in LPS + Fer-1 group increased significantly ( $P < 0.05$ ), while the PTGS2 protein level and MDA level decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with LPS + Vector group, LPS + FAM134B group significantly increased cell viability ( $P < 0.05$ ), decreased PTGS2 protein level ( $P < 0.05$ ) and increased GPX4 level ( $P < 0.05$ ). At the same time, the level of MDA in LPS + FAM134B group was lower than that in LPS + Vector group ( $P < 0.05$ ), and the level of GSH was higher than that in LPS + Vector group ( $P < 0.05$ ). In animal experiment, compared with LPS + Vector group, the expression levels of 4-HNE, ATF4 and CHOP in lung tissue of LPS + FAM134B group decreased significantly ( $P < 0.05$ ), and the expression levels of GPX4, FAM134B group increased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** LPS induces ferroptosis and ERs in MLE12 cells in a dose-dependent manner. Activating the endoplasmic reticulum autophagy associated FAM134B receptor helps to inhibit ERs and alleviate cell ferroptosis.

**Key words** endoplasmic reticulum stress; acute respiratory distress syndrome; lipopolysaccharide; alveolar epithelial cells; ferroptosis; endoplasmic reticulum autophagy

氢酶 1A (alcohol dehydrogenase 1A, ADH1A) 作为一种酒精代谢相关的关键酶,与食管癌的易感性有关,能够抑制食管癌的进展<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子-A (ascular endothelial growth factor-A, VEGFA) 在新生血管的形成和肿瘤淋巴结转移中发挥重要作用。但是,在 HCC 中 ADH1A 和 VEGFA 的相关研究较少。为进一步明确 ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 进展和预后中的作用,该研究通过分析 ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 中的表达情况和相关性,结合病例样本中 ADH1A 和 VEGFA 的表达及与临床病理参数和预后的相关性分析,探讨 ADH1A 和 VEGFA 在预测 HCC 患者临床进展和不良预后的作用和意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 病例资料** 本研究回顾性收集 2012 年 1 月—2018 年 1 月在石河子大学第一附属医院行手术并确诊的 HCC 病例的临床病理资料,选取了病例资料较为齐全的 HCC 组织样本 84 例,所有的 HCC 样本均经病理医师确诊,并按 2019 年 WHO 标准分级,入选标准如下:① 单发肝癌;② 根治性手术切除;③ 术后病理证实为 HCC;另选取符合条件的 HCC 癌旁正常组织 43 例,并对所有患者通过电话及信件方式进行随访,随访时间约为 1~95 个月,25 例失访,总共获得 59 例患者的随访资料,其中 43 例存活,16 例死亡。该研究得到石河子大学第一附属医院伦理委员会的批准(批号:KJ2022-069-01)。

**1.1.2 抗体、试剂和仪器** 兔抗人 ADH1A(货号:ab108203)购自英国 Abcam 公司;小鼠抗人 VEGFA 购自美国 Santa Cruz 公司(货号:sc-7269);辣根酶标山羊抗兔 IgG 聚合物(货号:ZB-2301)、辣根酶标山羊抗鼠 IgG 聚合物(货号:ZB-2305)以及 DAB 显色液(货号:ZLI-9018)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;EDTA 抗原修复液(货号:C1003)购自北京索莱宝科技有限公司。显微镜(型号:BX51TF)购自日本奥林巴斯 Olympus 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化染色** 将 HCC 石蜡切片置于 60℃ 的温箱中烤 30 min,然后进行二甲苯和乙醇脱蜡水化,用枸橼酸或 EDTA 进行高温修复,冷却后置于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中 10 min, PBS 洗 3 次后 4℃ 孵育一抗 ADH1A(1:1000)和 VEGFA(1:1000)14 h,次日分别滴加二抗辣根酶标山羊抗兔 IgG 聚合物(1:100)和辣根酶标山羊抗鼠 IgG 聚合物

(1:100),37℃ 孵育 2 h, DAB 显色,显色后水洗,苏木精染色,酸酒精分化 4~5 s,然后自来水返蓝 5 min,最后乙醇脱水,封片后于显微镜下观察。

**1.2.2 免疫组化结果评定** ADH1A 和 VEGFA 均为胞质染色,具体免疫组化评定参照之前的研究<sup>[3]</sup>。染色阳性细胞比例评分:Score1(0分:≤5%;1分:6%~25%;2分:26%~50%;3分:51%~75%;4分:76%~100%);阳性细胞染色强度:Score2(0:缺失;1:弱阳性;2:中等阳性;3:强阳性)。最终评分依据为两者乘积,即 Score1 × Score2, <3 分为低表达,≥3 分为高表达。

### 1.2.3 ADH1A 基因富集分析以及临床相关性分析

从肿瘤基因组图谱(the cancer genome atlas program, TCGA)<sup>[4]</sup> 数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)中下载了 374 例 HCC 患者和 50 例 HCC 患者癌旁的 mRNA 和相应的临床数据,并且使用“limma”R pack 对基因表达谱进行标准化,随后,以 KEGG 和 GO 的基因集为参照,利用基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)<sup>[5]</sup> 识别 HCC 和癌旁正常组织之间差异显著的通路并对比 HCC 患者组织和癌旁组织 ADH1A 差异表达的时候 HCC 信号通路的表达差异情况,循环次数设置为 1000 次,满足  $P < 0.05$  以及  $FDR-q < 0.25$  时被认为有统计学意义。基于基因表达谱交互分析(gene expression profiling interactive analysis, GEPIA)(<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>)分析了 ADH1A 和 VEGFA 的相关性。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS 27.0 软件进行统计分析,采用 Fisher 精确概率法分析 ADH1 和 VEGFA 在 HCC 和癌旁组织中的表达差异情况,四格表  $\chi^2$  检验分析 ADH1A、VEGFA 与临床病理参数的关系;采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 Log-rank 检验分析 ADH1A 和 VEGFA 蛋白表达水平与 HCC 的总生存率的关系。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ADH1A 差异表达对基因相关通路的影响

GSEA 分析发现,在 HCC 和癌旁正常组织中的 ADH1A 差异表达时,基因相关通路如 PPAR、NOTCH、WNT 和 VEGF 的表达差异均有统计学意义(均  $FDR-q < 0.250$ ,  $P < 0.05$ )。其中,VEGF(图 1A)、WNT(图 1B)、NOTCH(图 1C)通路和 ADH1A 呈负相关,PPAR(图 1D)和 ADH1A 呈正相关。

### 2.2 ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 和癌旁组织中的

**表达及相关性** GEPIA 分析发现,ADHA 在 HCC 组织中(369 例)低表达,在癌旁正常组织(50 例)高表达( $P < 0.05$ ) (图 2A),而 VEGFA 则相反( $P < 0.05$ ) (图 2B)。并且在 HCC 中,ADH1A 和 VEGFA 的表达呈负相关( $r = -0.14, P < 0.01$ ) (图 2C)。

**2.3 HCC 组织中 ADH1A 和 VEGFA 的蛋白表达与患者临床病理参数的相关性** 免疫组化染色可见 ADH1A 和 VEGFA 均在胞质中表达。癌旁正常组织中 ADH1A 蛋白阳性表达率为 100% (43/43),84 例 HCC 组织标本中有 40 例 ADH1A 蛋白呈阳性表达,阳性表达率为 47.61% (40/84),明显低于癌旁正常组织( $\chi^2 = 33.169, P < 0.001$ )。HCC 中 VEGFA 阳性表达率为 59.52% (50/84),高于癌旁正常组织 [4.70% (2/42)] ( $\chi^2 = 21.346, P < 0.001$ )。见图

3。此外,HCC 组织中 ADH1A 蛋白表达和 VEGFA 蛋白表达呈负相关( $r = -0.22, P < 0.05$ )。见图 4。进一步结合病例样本的临床病理参数分析发现,HCC 组织中 ADH1A 高表达组的肿瘤脉管癌栓和复发的比例更低(均  $P < 0.05$ ),而 VEGFA 高表达组中肿瘤直径  $> 5$  cm、高 TNM 分期、有微卫星以及 G2-G3 分化程度比例更高( $P < 0.05$ ),见表 1、2。提示 HCC 患者 ADH1A 低表达和 VEGFA 的高表达可能预示肿瘤的快速进展。

**2.4 ADH1A 的高表达与 VEGFA 的低表达与 HCC 患者预后较好有关** 为了进一步研究 ADH1A 和 VEGFA 的表达差异是否对 HCC 患者的临床预后产生影响。本研究通过 Kaplan-Meier 生存分析发现,ADH1A 高表达 HCC 患者的五年生存率高于

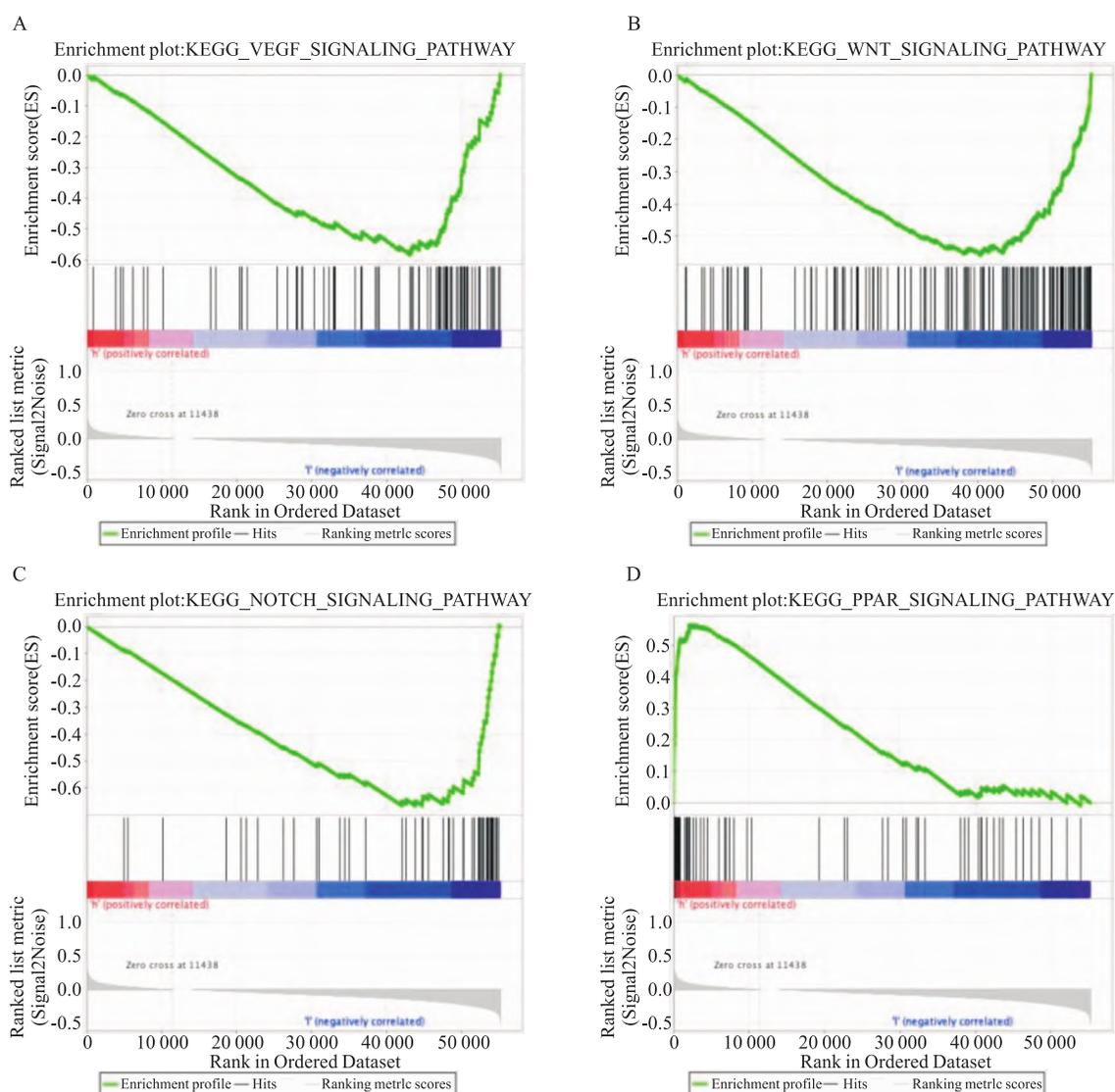


图1 GSEA 分析 ADH1A 在 HCC 中的相关通路

A: VEGFA 通路; B: WNT 通路; C: NOTCH 通路; D: PPAR 通路

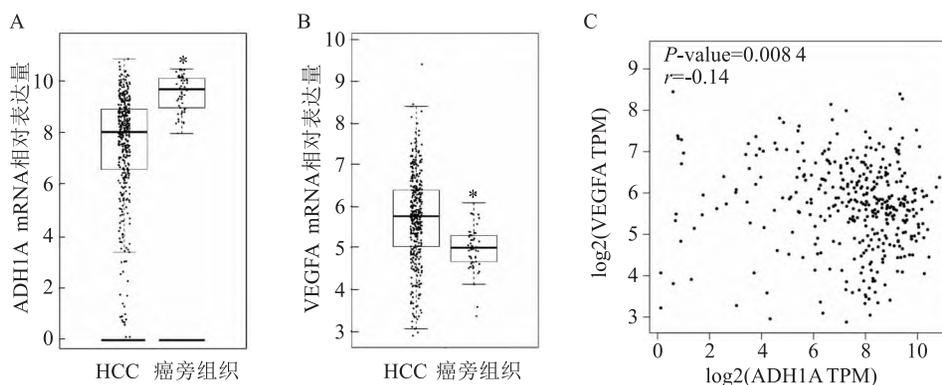


图2 在线网址分析 ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 和癌旁的表达和两者的相关性  
A、B: ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 和癌旁组织中的表达情况; C : ADH1A 和 VEGFA 在 HCC 中的相关性

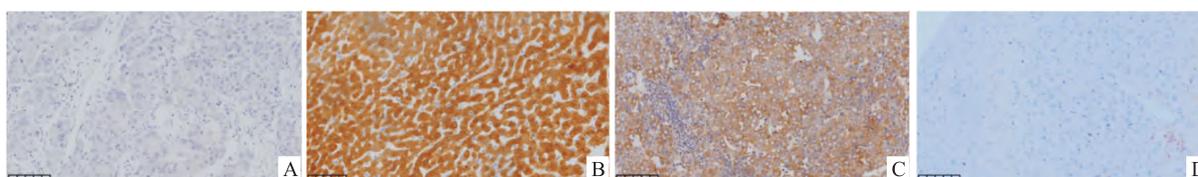


图3 HCC 和癌旁组织中 ADH1A 和 VEGFA 的表达 ×400  
A、B: ADH1A 在 HCC 组织和癌旁正常组织中的表达情况; C、D: VEGFA 在癌和癌旁正常组织中的表达情况

表1 ADH1A 与 HCC 临床病理参数的关系 [n(%)]

临床参数	n	ADH1A 低表达	ADH1A 高表达	$\chi^2$ 值	P 值
年龄(岁)				0.545	0.460
<50	35	20(45.45)	15(37.50)		
≥50	49	24(54.55)	25(62.50)		
性别				0.052	0.082
男	66	35(79.54)	31(77.50)		
女	18	9(20.46)	9(22.5)		
肝炎病毒				0.006	0.941
无	8	4(9.75)	4(10.25)		
有	72	37(90.25)	35(89.75)		
肿瘤直径(cm)				3.070	0.080
≤5	50	22(51.16)	28(70.00)		
>5	33	21(48.84)	12(30.00)		
TNM 分期				4.792	0.188
I	35	16(36.36)	19(47.50)		
II	28	14(31.82)	14(35.00)		
III	7	3(6.82)	4(10.00)		
IV	14	11(25.00)	3(7.50)		
微卫星				0.218	0.641
无	61	31(70.45)	30(75.00)		
有	23	13(29.55)	10(25.00)		
分化程度				3.468	0.177
G1	15	5(11.36)	10(25.00)		
G2-G3	69	39(88.64)	30(75.00)		
癌栓				6.466	0.011
无	58	25(56.81)	33(82.50)		
有	26	19(43.19)	7(17.50)		
复发				3.907	0.048
有	15	11(42.30)	4(16.66)		
无	35	15(57.70)	20(83.34)		

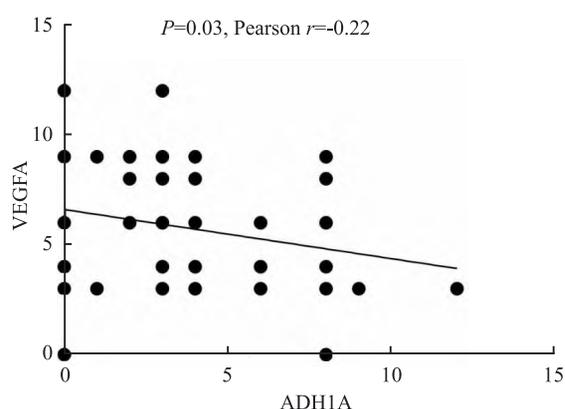


图4 HCC 组织中 ADH1A 与 VEGFA 表达的相关性分析

ADH1A 低表达的患者 (Log rank  $P = 0.003$ ) (图 5A), 而 VEGFA 的表达状态与 HCC 患者的五年生存率差异无统计学意义 (Log rank  $P = 0.634$ ) (图 5B), 进一步分析了 ADH1A 高表达同时 VEGFA 低表达、ADH1A 低表达同时 VEGFA 高表达、ADH1A 高表达同时 VEGFA 高表达以及 ADH1A 低表达同

时 VEGFA 低表达的 HCC 患者预后情况, 结果显示 ADH1A 高表达同时 VEGFA 低表达的五年生存率优于其他形式表达的肿瘤患者 (Log rank  $P = 0.004$ ) (图 5C), 以上图片均为检剔后线段。

### 3 讨论

原发性 HCC 有三种主要组织学类型, 即 HCC、肝内胆管细胞癌和混合型癌<sup>[1]</sup>。HCC 占全世界原发性 HCC 病例的 80% 以上<sup>[6]</sup>, 在中国发病率和病死率更加严峻<sup>[7]</sup>。因此, 深入了解 HCC 的危险因素并且积极探索其可能的分子机制, 寻找用于 HCC 复发转移的标志及有效的分子靶点对于改善 HCC 患者的预后与生存具有十分重要的意义。

ADH1A 属于第一类乙醇脱氢酶 (alcohol dehydrogenase, ADH), ADH 由 ADH1A、ADH1B、ADH1C 组成<sup>[8]</sup>, ADH1A 对 HCC 发生发展的作用鲜有研究。本研究免疫组化实验检测结果显示, 癌组织中 ADH1A 的蛋白表达水平较癌旁组织低, 并且与患者

表 2 VEGFA 表达与 HCC 临床病理参数的关系 [n(%)]

临床参数	例数	VEGFA 低表达	VEGFA 高表达	$\chi^2$ 值	P 值
年龄 (岁)				2.888	0.089
<50	35	10 (30.30)	25 (49.01)		
≥50	49	23 (69.70)	26 (50.99)		
性别				1.103	0.294
男	66	24 (72.72)	42 (82.35)		
女	18	9 (27.28)	9 (17.65)		
肝炎病毒				0.833	0.361
无	8	2 (6.25)	6 (12.50)		
有	72	30 (93.75)	42 (87.50)		
肿瘤直径 (cm)				5.507	0.019
≤5	50	25 (75.75)	25 (50.00)		
>5	33	8 (24.25)	25 (50.00)		
TNM 分期				10.332	0.016
I	35	20 (60.60)	15 (29.41)		
II	28	10 (30.30)	18 (35.29)		
III	7	1 (3.03)	6 (11.77)		
IV	14	2 (6.07)	12 (23.53)		
微卫星				9.144	0.002
无	61	30 (90.90)	31 (60.78)		
有	23	3 (9.10)	20 (39.22)		
分化程度				9.708	0.008
G1	15	10 (30.30)	5 (9.80)		
G2-G3	69	23 (69.70)	46 (90.20)		
癌栓				2.413	0.120
无	58	26 (78.78)	32 (62.75)		
有	26	7 (21.22)	19 (37.25)		
复发				5.009	0.025
有	15	3 (86.36)	12 (42.85)		
无	35	19 (13.64)	16 (57.15)		

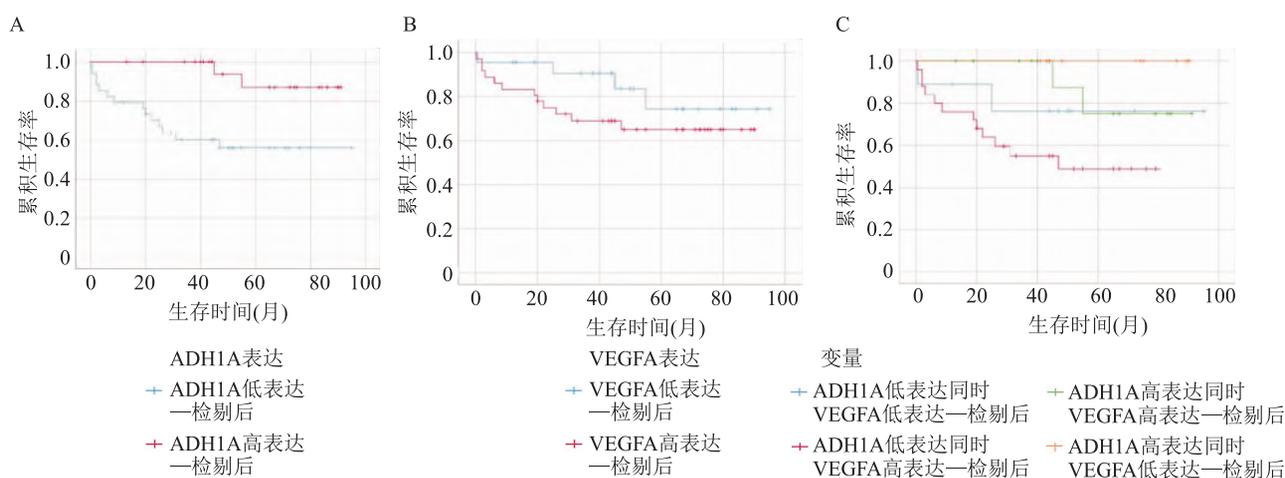


图5 不同 ADH1A 和 VEGFA 蛋白表达 HCC 患者的生存曲线

A: ADH1A 蛋白表达 HCC 患者的生存曲线分析图; B: VEGFA 蛋白表达 HCC 患者的生存曲线分析图; C: 四组之间蛋白表达 HCC 患者的生存曲线分析图

的复发和有无癌栓等预后相关。本研究结果与目前关于 ADH1A 蛋白在如 HCC、结肠癌、胃癌、食管鳞癌、肺癌等恶性肿瘤中的研究结果类似<sup>[9-12]</sup>。

本研究分析了 84 例 HCC 患者的临床病理特征,发现伴随 HCC 组织中 ADH1A 表达的降低,患者发生脉管癌栓以及复发的比例增高。本研究 Kaplan-Meier 生存分析结果显示,HCC 患者 ADH1A 蛋白高表达较低表达患者的五年生存率高,说明 ADH1A 蛋白的高表达与患者良好的预后有关。Liu et al<sup>[12]</sup>发现 ADH1A 在 HCC 组织中的表达明显低于正常肝组织,此外,ADH1A 的高表达与 HCC 患者的良好预后相关。Mao et al<sup>[13]</sup>也发现,ADH1A 抑制非小细胞肺癌细胞存活和迁移,表明 ADH1A 可能具有肿瘤抑制作用。上述研究与我们的研究结果相似,提示 ADH1A 高表达可能是 HCC 患者良好预后的重要评价指标之一。

VEGFA 是推动肿瘤血管床扩张的主要因素之一<sup>[14]</sup>。VEGFA 诱导血管通透性增加、跨细胞气孔的形成和细胞旁连接的瞬时开放。在本研究中,VEGFA 高表达,HCC 肿瘤的直径大、分化程度差,微卫星灶出现的比例也大,同时肿瘤患者的临床分期也提升,提示 VEGFA 的高表达可能与 HCC 的快速进展有关。本研究 Kaplan-Meier 生存分析发现,VEGFA 蛋白高表达患者五年生存率低于 VEGFA 蛋白低的表达患者,但没有统计学意义,这可能和我们的样本量相对较小有关。本研究还分析了 ADH1A 和 VEGFA 单独表达以及两者同时表达的作用。结果表明,ADH1A 高表达同时 VEGFA 低表达较其他组合形式蛋白表达患者的生存率均高,提示 ADH1A

高表达同时 VEGFA 低表达可以作为 HCC 患者较好预后评估的重要参考指标之一。

#### 参考文献

- [1] Chidambaranathan-Reghupaty S, Fisher P B, Sarkar D. Hepatocellular carcinoma (HCC): epidemiology, etiology and molecular classification[J]. *Adv Cancer Res*,2021,149: 1-61.
- [2] Cui Q, Peng L, Wei L, et al. Genetic variant repressing ADH1A expression confers susceptibility to esophageal squamous-cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*,2018,421:43-50.
- [3] Hu J M, Liu K, Liu J H, et al. CD163 as a marker of M2 macrophage, contribute to predict aggressiveness and prognosis of Kazakh esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 21526-38.
- [4] Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The cancer genome atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*,2015,19(1A):A68-77.
- [5] Subramanian A, Tamayo P, Mootha V K, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005,102(43):15545-50.
- [6] El-Serag H B, Rudolph K L. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. *Gastroenterology*,2007, 132(7):2557-76.
- [7] Chen M, Therneau T, Orsini L S, et al. Design and rationale of the HCC BRIDGE study in China: a longitudinal, multicenter cohort trial in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC gastroenterology*, 2011,11:53.
- [8] Di L, Balesano A, Jordan S, et al. The role of alcohol dehydrogenase in drug metabolism: beyond ethanol oxidation[J]. *AAPS J*,2021,23(1): 20.
- [9] Ghosh S, Bankura B, Ghosh S, et al. Polymorphisms in *ADH1B* and *ALDH2* genes associated with the increased risk of gastric

- cancer in West Bengal, India[J]. *BMC cancer*,2017,17(1): 782.
- [10] Duell E J, Sala N, Travier N, et al. Genetic variation in alcohol dehydrogenase (ADH1A, ADH1B, ADH1C, ADH7) and aldehyde dehydrogenase (ALDH2), alcohol consumption and gastric cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) cohort[J]. *Carcinogenesis*,2012,33(2): 361–7.
- [11] Gao Q, Zhu H, Dong L, et al. Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. *Cell*, 2019,179(5):1240.
- [12] Liu X, Li T, Kong D, et al. Prognostic implications of alcohol dehydrogenases in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC cancer*,2020, 20(1):1240.
- [13] Mao G, Mu Z, Wu D. Exosome-derived miR-2682-5p suppresses cell viability and migration by HDAC1-silence-mediated upregulation of ADH1A in non-small cell lung cancer[J]. *Hum Exp Toxicol*,2021,40(12\_suppl):S318–30.
- [14] Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis [J]. *J Intern Med*,2013,273(2): 114–27.

## Expression of alcohol dehydrogenase 1A and vascular endothelial growth factor-A in hepatocellular carcinoma

Xue Lele, Jing Yuying, Yang Kaige, Qi Liwen, Wu Tong, Ren Yilin, Zang Yichen,

Wang Lianghai, Zhang Haijun, Liang Weihua, Hu Jianming

(Dept of Pathology, Shihezi University School of Medicine & The First Affiliated

Hospital to Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832000)

**Abstract Objective** To investigate the expression, synergistic relationship and clinical significance of alcohol dehydrogenase (ADH1A) and vascular endothelial growth factor-A (VEGFA) in hepatocellular carcinoma (HCC).

**Methods** The expression and correlation of ADH1A and VEGFA in HCC and adjacent normal tissues were analyzed by GEPIA. TCGA and GSEA were used to analyze the pathway of ADH1A in HCC. The clinical and pathological data of 84 patients with HCC were collected, and 54 patients with paracancer normal tissue samples were selected as controls to analyze the correlation between ADH1A and VEGFA and clinicopathological parameters of HCC. Immunohistochemistry was used to detect the protein expression of ADH1A and VEGFA in cases and controls, and the correlation between the expression of ADH1A and VEGFA and the clinical progression and prognosis of patients with HCC was analyzed based on clinical pathological parameters and Kaplan-Meier. **Results** Bioinformatics analysis found that ADH1A was low-expressed in HCC and VEGFA was highly expressed in HCC, and there was a negative correlation between the two ( $P < 0.001$ ); immunohistochemical detection results showed that the expression of ADH1A in HCC tissue was lower than that in normal tissue adjacent to cancer ( $P < 0.01$ ) while the expression rate of VEGFA in HCC tissue was significantly higher than that of normal tissue adjacent to cancer ( $P < 0.01$ ); The recurrence rate of vascular thrombus and HCC patients in HCC group with high expression of ADH1A was lower ( $P < 0.05$ ). The proportion of tumor diameter  $> 5$  cm, high TNM stage, microsatellite and G2-G3 differentiation in HCC tissues in VEGFA high expression group was higher ( $P < 0.05$ ). Kaplan-Meier survival analysis showed that patients with high ADH1A expression and low VEGFA expression had a higher five-year survival rate. **Conclusion** Low expression of ADH1A and high expression of VEGFA in tumor tissues of patients with HCC indicate tumor progression and can be used as one of the prognostic evaluation indicators for patients with HCC.

**Key words** hepatocellular carcinoma; alcohol dehydrogenase 1A; vascular endothelial growth factor-A; tumor recurrence; bioinformatics; prognosis