

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.17.034

新标志物 BDH1 用于肝细胞癌术后生存的预测价值分析*

唐津天 薛峰 佟庆 黎旺红 舒垠 丁伟 王伯庆[△]

(新疆医科大学附属肿瘤医院肝胆胰外科 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:检测肝细胞癌组织中 3-羟基丁酸脱氢酶 1 (3-Hydroxybutyrate Dehydrogenase 1, BDH1) BDH1 的表达情况,探讨其与肝细胞癌患者临床病理特征和术后生存的关系。**方法:**选取 135 例肝细胞癌根治性手术患者,整理临床病理及随访资料,调取相应的存档石蜡组织标本切片,采用免疫组化 SP 方法检测 BDH1 的表达,对染色结果评分,结合临床病理及随访数据进行统计分析。**结果:**肝癌细胞中 BDH1 的阳性表达主要定位于胞浆,阳性表达率为 87.4% (118/135),其中低表达占 48.1% (65/135),高表达占 51.9% (70/135)。BDH1 的表达与肝癌细胞癌组织分化级别、肿瘤直径、肿瘤数目、微血管侵犯及 TNM 分期均显著相关 ($P<0.05$)。多因素分析显示 BDH1 表达、TNM 分期、组织分化级别是影响肝癌术后患者预后的独立危险因素 ($P<0.01$), BDH1 高表达者术后总生存率较低表达者显著升高。**结论:**BDH1 可能作为预测肝癌预后的重要参考指标。

关键词:3-羟基丁酸脱氢酶 1 BDH1; 肝细胞癌; 肝切除术; 预后

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)17-3361-05

Analysis of the Prognostic Value of BDH1 for the Hepatocellular Carcinoma Patients Underwent Radical Resection*

TANG Jin-tian, XUE Feng, TONG Qing, LI Wang-hong, SHU Yin, DING Wei, WANG Bo-qing[△]

(Department of Hepatobiliarypancreatic Surgery, Affiliated Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To detect the expression of 3-Hydroxybutyrate Dehydrogenase 1 (BDH1) in hepatocellular carcinoma (HCC) and to reveal its relationship with clinicopathological factors and postoperative survival. **Methods:** 135 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) underwent radical operation were selected. Clinical pathological material and follow-up data were collected. Corresponding Paraffin tissue sections were prepared. The expression of BDH1 was detected by immunohistochemistry (SP method). The staining results were scored and analyzed statistically by clinicopathological and follow-up data. **Results:** The positive signal was localized in the cytoplasm of tumor cells. BDH1 was expressed in 87.4% (118/135) of HCC patients. Low expression was accounted for 48.1% (65/135) and high expression was accounted for 51.9% (70/135). The expression of BDH1 was correlated significantly to tissue differentiation grade, tumor diameter, number of tumors, microvesicular invasion and TNM stage ($P<0.05$). Multivariate analysis demonstrated that the expression of BDH1, TNM stage and tissue differentiation grade were independent risk factors which affecting postoperative survival rate in HCC ($P<0.01$). Patients in group with high BDH1 expression displayed distinctly higher overall survival rate than that of low BDH1 expression group. **Conclusions:** BDH1 could be a pivotal prognostic indicator for postoperative survival in HCC patients undergoing surgical resection.

Key words: 3-Hydroxybutyrate Dehydrogenase 1 (BDH1); Hepatocellular carcinoma; Liver resection; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)17-3361-05

前言

肝癌在全球范围内恶性肿瘤发病率中居第六,肿瘤相关死因中位居第四。病毒性肝炎和非酒精性脂肪性肝病是主要的发病诱因^[1]。肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)简称肝癌,异质性强,恶性程度高,进展期患者总体预后差。在过去的十年里,分子靶向药物索拉非尼虽然使进展期肝癌生存期得以延

长,但远期疗效仍不理想^[2]。研究表明肿瘤细胞代谢异常可能在肝癌的发生发展中起着重要作用。因此,检测肝癌组织中调节细胞代谢的关键蛋白可能有助于肝癌的预后判断及精准靶向治疗的选择^[3]。

3-羟基丁酸脱氢酶 1 (3-hydroxybutyrate dehydrogenase, BDH1)是重要的细胞酮体代谢调节分子,是短链脱氢/还原酶家族成员之一,主要参与酮类物质的合成与降解以及丁酸的代

* 基金项目:国家自然科学基金项目(NSFC81460360);新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2015211C126)

作者简介:唐津天,男,博士,主要研究方向:肝脏恶性肿瘤基础与临床

[△] 通讯作者:王伯庆(1974-),男,博士,副主任医师,主要研究方向:肝脏恶性肿瘤分子标记物的筛选与鉴定, E-mail: bqwanghps@163.com

(收稿日期:2019-06-06 接受日期:2019-06-30)

谢过程^[4]。最近有文献报道 BDH2 在肝细胞癌中的表达下调,发挥抑癌基因作用,与肝癌的不良预后相关^[5]。截至目前,BDH1 与肝癌的关系尚未见报道。因此,本研究旨在检测肝癌组织中 BDH1 的表达,并分析其与肝癌患者临床病理因素的关系及其预后预测价值。

1 材料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 临床病理资料 收集新疆医科大学附属肿瘤医院肝胆胰外科 2013 年 1 月至 2018 年 12 月行根治性手术切除的 135 例肝癌患者存档的完整病历资料,并核实、调查随访数据,总生存时间定义:自手术日开始计算,至患者因肿瘤导致死亡或随访结束的日期。本研究的实施取得新疆医科大学附属肿瘤医院伦理委员会审批同意。调取相应的存档石蜡组织标本,切片备用。135 例肝癌患者中,男性 118 例,女性 17 例,年龄 25-78 岁,中位年龄 56 岁。采用第 8 版国际抗癌联盟(UICC)和美国癌症联合会(AJCC)肝癌分期系统进行 TNM(tumor-node-metastasis)分期^[6]。

1.1.2 纳入与排除标准 纳入标准:行根治性手术切除,术后病理确诊为肝细胞性肝癌;术前均未接受任何抗肿瘤治疗,患者签署标本使用知情同意书。排除标准:合并其他恶性肿瘤,非肿瘤因素导致死亡,失访患者。

1.2 免疫组化染色

手术切除的肝癌组织标本,在 10%福尔马林溶液中充分固定后,常规脱水并石蜡包埋,切成 4 μ m 厚组织,并置于防脱载玻片上,经 HE 染色病理确诊后,进一步做免疫组化染色(SP 法),详见课题组既往相关工作报道^[7]。防脱组织切片于 60℃烘箱烤片 60 min,组织玻片浸入预热的二甲苯溶液脱蜡完全后,置于梯度乙醇(100%,95%,85%,75%)中分别浸泡水化;3%过氧化氢(H_2O_2)孵育 15 min,以阻断组织内源性过氧化物酶;切片浸入柠檬酸盐缓冲液中(pH 6.0),高压加热 5 min,行抗原修复;滴加非免疫性山羊血清(中衫金桥),室温封闭 30 min,封闭

非特异性抗原;滴加兔抗人特异性 BDH1 多克隆抗体(Catalog No.E-AB-14789, 1:100),4℃过夜;PBS 浸洗,滴加 HR 二抗(Gene tech,500710,按说明书步骤使用),室温孵育 30 min;PBS 浸洗,DAB 显色;苏木素复染细胞核,氨水返蓝后,梯度乙醇脱水(75%,85%,95%,100%),二甲苯透明后,中性树脂封片,干燥。用已知染色强阳性的人甲状腺癌组织切片作为阳性对照,阴性对照用山羊血清,空白对照选用 PBS。

染色切片由两位病理专科医师独立阅片并评分,评分过程中均不知到患者的临床及随访资料。采用半定量染色评分法,根据阳性细胞染色强度和所占细胞百分比分别评分^[8]。细胞未出现阳性显色为 0 分,细胞中出现高于背景的淡黄、棕黄色、黄褐色者为阳性染色细胞。淡黄着色为 1 分;棕黄着色为 2 分;黄褐色着色为 3 分。每张切片随机选择 5 个视野,每个视野计数 100 个细胞,得出阳性细胞百分比并计分:无阳性细胞为 0 分,10-25%为 1 分,25-50%为 2 分,>50%为 3 分。每例最终染色评分值为上述两个分值的乘积。按乘积分值分为两组, ≤ 6 分为低表达组,>6 分为高表达组。

1.3 统计学分析

运用 SPSS15.0 软件进行实验数据统计分析。BDH1 蛋白表达与临床病理因素的关系采用卡方检验,以 $P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。单因素及多因素生存分析采用 Cox 比例风险回归模型,采用 Kaplan-Meier 法中的 Log-Rank 比较,并绘制生存曲线,以 $P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织中 BDH1 蛋白的表达

肝癌组织中 BDH1 蛋白表达主要定位于肝癌细胞的胞浆,表现为细胞浆中存在不同染色强度的黄色颗粒,将染色强度分 4 个级别,分别赋值 0,1,2,3,各强度级别的代表性染色图片见图 1。肝癌组织中 BDH1 的阳性表达率为 87.4%(118/135),其低表达为 48.1%(65/135),高表达为 51.9%(70/135)。

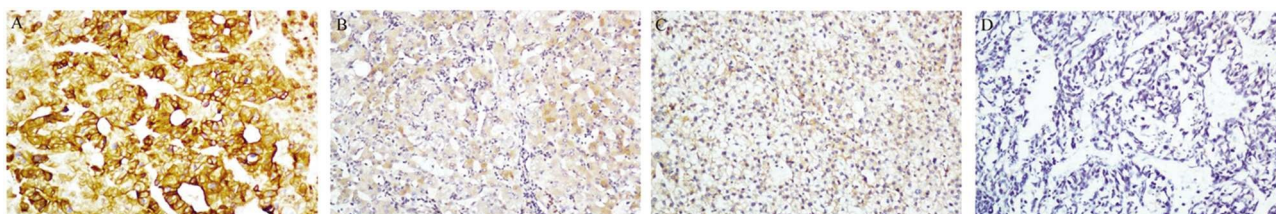


图 1 肝细胞癌组织中 BDH1 蛋白在的染色强度分级($\times 200$)

Fig.1 The staining intensity grading of BDH1 protein in hepatocellular carcinoma tissues

注:A,黄褐色(3分);B,黄色(2分);C,淡黄色(1分);D,未着色(0分)($\times 200$)

Note: A, yellowish brown (3 points); B, yellow (2 points); C, light yellow (1 point); D, unstained (0 points).

2.2 BDH1 蛋白表达与肝癌患者各临床病理因素的关系

在 135 例肝癌组织中,BDH1 的表达与患者的性别、年龄、血清 HBV-DNA 载量、血清 AFP 水平、肝硬化程度无明显相关性($P>0.05$),而与组织分化程度、瘤体的直径、数目、是否合并微血管癌栓侵犯、肿瘤 TNM 分期有关($P<0.05$)。随着肝癌组织分化级别的降低,BDH1 蛋白高表达率呈现明显下调趋势(I 级 61.4%,II 级 56.9%,III 级 30.3%);肿瘤直径 >5 cm,多发性病灶

者的 BDH1 表达显著低于直径 <5 cm 和单发的肿瘤;有微血管癌栓侵犯的 BDH1 表达显著低于无微血管侵犯者;随着肿瘤分期的进展,BDH1 高表达率呈显著下降(I 期 60.9%,II 期 55.7%,III 期 28.6%),见表 1。

2.3 肝癌术后总生存的单因素分析

将各临床病理因素分别进行术后生存的单因素分析,得出影响生存率有意义因素,统计结果按如下格式表示[HR 值(95

%可信区间)*P* 值], 包括组织分化级别 [3.367(2.344-4.835) *P*=0.001], TNM 分期 [3.036(2.125-4.339)*P*<0.001], BDH1 表达 *P*<0.001], 瘤体直径 [2.797 (1.699-4.607)*P*<0.001], 瘤体数目 [3.213(1.940-5.320)*P*<0.001]。 [3.188 (1.740-5.842)*P*<0.001], 微血管侵犯 [2.359(1.428-4.018)

表 1 BDH1 在 135 例行根治术的肝细胞癌中的表达水平与临床病理参数的关系

Table 1 Correlation of BDH1 expression with clinical and pathological variables in 135 HCC patients underwent radical resection

Variables	n	BDH1 expression(%)		<i>P</i>
		Low	High	
Total cases	135	65(48.1)	70(51.9)	
Gender				0.257
Female	17	6(35.5)	11(64.5)	
Male	118	59(50)	59(50)	
Age(median)				0.188
≤ 56years	64	27(42.2)	37(57.8)	
>56 years	71	38(53.5)	33(46.5)	
HBV-DNA1				0.250
Negative	24	9(37.5)	15(62.5)	
Positive	111	56(50.5)	55(49.5)	
AFP(ng/ml)2				0.219
≤ 25	40	16(40.0)	24(60.0)	
>25	95	49(51.6)	46(48.4)	
Hepatic Cirrhosis				0.717
Non/mild	56	28(50.0)	28(50.0)	
Moderate/severe	79	37(46.8)	42(53.2)	
Tumor diameter(cm)				0.043
≤ 5	47	28(59.6)	19(40.4)	
>5	88	37(42.0)	51(58.0)	
Tumor number				0.022
Single	119	53(44.5)	66(55.5)	
Multiple	16	12(75.0)	4(25.0)	
Ednondson grade				0.016
Well(I)	44	17(38.6)	27(61.4)	
Moderate(II)	58	25(43.1)	33(56.9)	
Poor(III)	33	23(69.7)	10(30.3)	
MVI3				0.031
Absent	108	61(56.5)	47(43.5)	
Present	27	18(66.7)	9(33.3)	
TNM stage4				0.019
Stage I	46	18(39.1)	28(60.9)	
Stage II	61	27(44.3)	34(55.7)	
StageIII	28	20(71.4)	8(28.6)	

Notes: 1, HBV-DNA serum HBV load (low limit 5×10^2 copies/ml); 2, AFP serum α -fetal protein; 3, MVI: microvascular invasion; 4,TNM tumor-node-metastasis, According to 8th edition AJCC/ UICC TNM stage system; Bold value: *P*<0.05

2.4 肝癌术后总生存的多因素分析

将影响预后的 6 个单因素进行多因素 Cox 回归分析,得出影响肝癌生存预后的独立影响因素,统计结果按如下格式表示

[HR 值 (95%可信区间)*P* 值], 包括: 组织分化级别[2.558 (1.737-3.766)*P*<0.001], TNM 分期[2.312(1.371-3.899)*P*=0.002], BDH1 表达[2.726(1.824-3.912)*P*=0.001]。

2.5 BDH1 表达与肝癌患者根治术后总生存的关系

135 例随访病历资料完整的肝癌患者,首先分析 BDH1 的不同表达水平对术后总生存率的影响,高表达患者的术后总生存率明显高于低表达者(图 2A, $P<0.001$)。将不同的 TNM 分期

患者进一步分层分析,BDH1 高表达者总生存率明显高于低表达者(图 2B,I 期: $P=0.027$,图 2C, II 期 $P=0.003$,图 2D, III 期: $P=0.024$)。

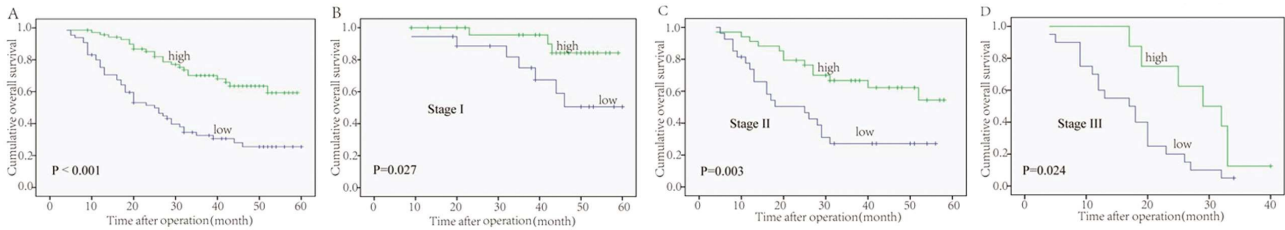


图 2 不同 BDH1 表达水平与肝细胞癌患者根治术后总生存分析

Fig.2 Different levels of BDH1 expression and overall survival after radical resection of hepatocellular carcinoma

注:(A);分层分析在肝细胞癌 I 期(B),II 期(C),III 期(D)中,不同 BDH1 表达水平与术后总生存率的关系。

Note: (A); stratified analysis in hepatocellular carcinoma stage I (B), stage II (C), stage III (D), different levels of BDH1 expression and overall survival rate after operation.

3 讨论

肝癌的病因复杂,是多因素多步骤发展导致的结果,进展期肝癌多选择多学科综合治疗模式,如仑伐替尼等靶向药物显示出不俗的疗效。但由于肝癌的高度异质性,寻找新的特异性分子靶点及预后标志物优化肝癌的临床诊疗十分必要^[9-11]。葡萄糖和脂代谢异常在肝癌中已有较多研究^[12-14],Warburg 效应使肿瘤细胞能适应乏氧、养分不足的瘤内微环境,维持恶性增殖和侵袭转移的恶性表型。多数肝癌中,脂肪酸摄取减少, β 氧化率减低^[15]。酮体代谢酶主要包括:琥珀酰辅酶 A:3- 氧代辅酶 A 转移酶 (OXCT1)、3- 羟基丁酸脱氢酶 1 和 2 (BDH1 和 BDH2)、乙酰辅酶 A 乙酰转移酶 1 (ACAT1)。研究已发现它们的生化作用,在两种新型丁醇脱氢酶合成气体丁醇的降解过程中,BDH1 和 BDH2 对氧敏感,以 NADP(+)为辅助因子,丁醇是最佳底物^[16]。BDH2 在香草醛解毒中有重要作用,与 BDH1 相比,BDH2 的过表达能更有效地提高酵母对香兰素的耐受性^[17]。在葡萄糖酵母菌中过表达 BDH1 和 BDH2 可以降低葡萄酒中双乙酰的产量^[18]。编码短链脱氢酶/还原酶基因家族成员包括 BDH1、BDH2、SDR9C7 等。BDH 的生理功能是利用胞浆酮体,进入线粒体并进行三羧酸循环。它们的主要生理功能是利用胞浆酮体,进入线粒体并进行三羧酸循环^[19]。铁介导的人类 BDH2 转录后调节,调控了人类细胞中线粒体铁的稳态,抑制 BDH2 的表达会耗尽哺乳动物的铁载体,导致细胞铁和线粒体铁的缺乏^[20]。各成员在不同类型肿瘤中功能不尽相同,在急性骨髓性白血病中,BDH2 影响细胞凋亡,是预后不良的独立因素^[21]。在胰腺癌中,BDH2 受长非编码 RNA TP73-AS1 调控影响细胞增殖和凋亡^[22]。而 SDR9C7 通过调节激活 MMP11 促进食管鳞癌发生淋巴结转移^[23]。

BDH1 基因组的染色体定位在 3q29,由 343 个氨基酸组成,编码蛋白形成一种需要线粒体膜酶的同种四聚体脂质。BDH1 具有氧化还原酶活性和 3- 羟基丁酸脱氢酶活性,可以作为心衰早期的检测标记物。心功能衰竭时,心肌特异性 BDH1 过表达可以增加酮体代谢,改善心肌细胞的氧化应激反应^[24,25]。恶性胶质瘤表达的解酮酶和糖酵解酶不同,解酮酶表达低或极

低的患者比酶表达阳性的患者对生酮饮食治疗的效果更好^[26]。BDH1 在肿瘤发生发展中的作用还不清楚,有报道称胰腺癌组织中酮体代谢的关键酶 BDH1 和 OXCT1 缺乏,对生酮代谢饮食疗法敏感^[27]。肝癌细胞在营养剥夺的条件下,刺激 OXCT1 表达活化,发挥解酮供能作用,促进细胞生长^[28]。BDH1 在肝癌中的作用尚未报道,本研究结果显示 BDH1 在多数肝癌组织的细胞浆中均有表达,BDH1 表达水平与肿瘤分化级别、肿瘤大小、肿瘤数目、微血管侵犯、TNM 分期相关,而与其他因素无显著相关。重要的是 BDH1 在大直径肿瘤,多发肿瘤,组织细胞分化差及分期较晚的肝癌呈相对低的表达率,推测 BDH1 的下调促进了肝癌的恶性增殖、侵袭的生物学行为,同 BDH2 类似,在肝癌中具有潜在的抑制肿瘤的功能。另外,BDH1 高表达的患者术后总生存率较低表达者高。

甲胎蛋白(α -fetal protein, AFP)是诊断肝癌的常用指标,但是仍有大约 30% 的 HCC 患者 AFP 阴性,研究表明循环细胞游离 DNA 与年龄和 AFP 的结合,可以提高肝癌的诊断效能^[29]。本课题组今后拟进一步联合检测血清 BDH1、AFP,以验证 BDH1 对 HCC 的诊断价值。很多研究验证、比较了 AFP 的预后作用^[30,31],发现它对术后生存有重要的预测价值,其与总生存率显著相关,[危险比(HR)0.41,95%可信区间(CI):0.35-0.47, $P<0.001$]。本研究 BDH1 表达对 HCC 术后总生存也起到了较好的预测作用,[HR 2.726,95% CI:(1.824-3.912), $P=0.001$]。不同的肝癌分期预后有差异,临床上常发现相同分期的肝癌预后也不尽相同,如何区分出这些患者,早期给予干预措施,对预防术后复发意义重大。有趣的是 BDH1 在不同的临床分期中亦有相似的预后作用,高表达较低表达者预后好,提示对早期的 BDH1 低表达患者,应密切随访或尽早抗复发治疗,以提高总生存率。以上研究初步提示 BDH1 高表达是肝癌进展的抑制因素,具体的分子调控通路尚不清楚,有研究发现在肝细胞癌中 BDH2 通过下调 Bcl2 通路诱导细胞凋亡,上调组蛋白乙酰化水平,抑制肝癌细胞的增殖和侵袭,且 BDH2 高表达患者预后较好^[9]。我们的结果似乎与解酮酶(OXCT1, BDH1)升高促进癌细胞重塑代谢通路,促进肿瘤进展的理论相反,也提示我们 BDH 分子在肝癌的发生发展中不仅仅是参与酮体代谢调控途径,还可能参与调节组蛋白乙酰化、自噬、凋亡等复杂生物学过程,最终影响到肿瘤

的生物学行为。

综上所述,肝癌术后患者 BDH1 的表达是预测总生存的独立预后因素,高表达者较表达低者的预后好。而血清 BDH1 能否作为肝癌早期诊断和预后的标志物还需要进一步的研究以明确,且 BDH1 在肝癌中的分子机制也需进一步研究。

参考文献(References)

- [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] H. Takeyama, T. Beppu, T. Higashi, et al. Impact of surgical treatment after sorafenib therapy for advanced hepatocellular carcinoma [J]. Surg Today, 2018, 48(4)
- [3] Han J, Han ML, Xing H, et al. Tissue and serum metabolomic phenotyping for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2019[Epub ahead of print]
- [4] Bae SJ, Kim S, Hahn JS. Efficient production of acetoin in *Saccharomyces cerevisiae* by disruption of 2,3-butanediol dehydrogenase and expression of NADH oxidase[J]. Scientific reports, 2016, 6: 27667
- [5] Liang H, Xiong Z, Li R, et al. BDH2 is downregulated in hepatocellular carcinoma and acts as a tumor suppressor regulating cell apoptosis and autophagy[J]. Journal of Cancer, 2019, 10(16): 3735-3745
- [6] Wang H, Wu MC, Cong WM. Microvascular invasion predicts a poor prognosis of solitary hepatocellular carcinoma up to 2 cm based on propensity score matching analysis [J]. Hepatology research: the official journal of the Japan Society of Hepatology, 2019, 49(3): 344-354
- [7] Tang J, Ou J, Xu C, et al. EVI5 is a novel independent prognostic predictor in hepatocellular carcinoma after radical hepatectomy[J]. Oncol Rep, 2017, 38(4): 2251-2258
- [8] Chen J, Huang C, Chen K, et al. Overexpression of LBH is associated with poor prognosis in human hepatocellular carcinoma[J]. OncoTargets and therapy, 2018, 11: 441-448
- [9] Hiraoka A, Kumada T, Kariyama K, et al. Clinical features of lenvatinib for unresectable hepatocellular carcinoma in real-world conditions: Multicenter analysis[J]. Cancer Med, 2019, 8(1): 137-146
- [10] Cai Z, Chen G, Zeng Y, et al. Comprehensive Liquid Profiling of Circulating Tumor DNA and Protein Biomarkers in Long-Term Follow-Up Patients with Hepatocellular Carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2019[Epub ahead of print]
- [11] Nault JC, Martin Y, Caruso S, et al. Clinical impact of genomic diversity from early to advanced hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2019[Epub ahead of print]
- [12] Malakar P, Stein I, Saragovi A, et al. Long Noncoding RNA MALAT1 Regulates Cancer Glucose Metabolism by Enhancing mTOR-Mediated Translation of TCF7L2 [J]. Cancer Res, 2019, 79(10): 2480-2493
- [13] Zhang Q, Qin Y, Zhao J, et al. Thymidine phosphorylase promotes malignant progression in hepatocellular carcinoma through pentose Warburg effect[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2): 43
- [14] Chen Z, Zuo X, Zhang Y, et al. MiR-3662 suppresses hepatocellular carcinoma growth through inhibition of HIF-1 α -mediated Warburg effect[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 549
- [15] Berndt N, Eckstein J, Heucke N, et al. Characterization of Lipid and Lipid Droplet Metabolism in Human HCC[J]. Cells, 2019, 8(5)[Epub ahead of print]
- [16] Tan Y, Liu J, Liu Z, et al. Characterization of two novel butanol dehydrogenases involved in butanol degradation in syngas-utilizing bacterium *Clostridium ljungdahlii* DSM 13528 [J]. Journal of basic microbiology, 2014, 54(9): 996-1004
- [17] Ishida Y, Nguyen TT, Kitajima S, et al. Prioritized Expression of BDH2 under Bulk Translational Repression and Its Contribution to Tolerance to Severe Vanillin Stress in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Frontiers in microbiology, 2016, 7: 1059
- [18] Li P, Guo X, Shi T, et al. Reducing diacetyl production of wine by overexpressing BDH1 and BDH2 in *Saccharomyces uvarum* [J]. Journal of industrial microbiology & biotechnology, 2017, 44 (11): 1541-1550
- [19] Chang HT, Olson LK, Schwartz KA. Ketolytic and glycolytic enzymatic expression profiles in malignant gliomas: implication for ketogenic diet therapy[J]. Nutrition & metabolism, 2013, 10(1): 47
- [20] Liu Z, Lanford R, Mueller S, et al. Siderophore-mediated iron trafficking in humans is regulated by iron [J]. Journal of molecular medicine (Berlin, Germany), 2012, 90(10): 1209-1221
- [21] Yang WC, Tsai WC, Lin PM, et al. Human BDH2, an anti-apoptosis factor, is a novel poor prognostic factor for de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia [J]. Journal of biomedical science, 2013, 20(1): 58
- [22] Cui XP, Wang CX, Wang ZY, et al. LncRNA TP73-AS1 sponges miR-141-3p to promote the migration and invasion of pancreatic cancer cells through the up-regulation of BDH2 [J]. Bioscience reports, 2019, 39(3)[Epub ahead of print]
- [23] Tang S, Gao L, Bi Q, et al. SDR9C7 promotes lymph node metastases in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. PloS one, 2013, 8(1): e52184
- [24] Major JL, Dewan A, Salih M, et al. E2F6 Impairs Glycolysis and Activates BDH1 Expression Prior to Dilated Cardiomyopathy [J]. PloS one, 2017, 12(1): e0170066
- [25] Uchihashi M, Hoshino A, Okawa Y, et al. Cardiac-Specific Bdh1 Overexpression Ameliorates Oxidative Stress and Cardiac Remodeling in Pressure Overload-Induced Heart Failure[J]. Circulation. Heart failure, 2017, 10: e004417
- [26] Chang HT, Olson LK, Schwartz KA. Ketolytic and glycolytic enzymatic expression profiles in malignant gliomas: implication for ketogenic diet therapy[J]. Nutrition & metabolism, 2013, 10(1): 47
- [27] Zhang J, Jia PP, Liu QL, et al. Low ketolytic enzyme levels in tumors predict ketogenic diet responses in cancer cell lines in vitro and in vivo[J]. Journal of lipid research, 2018, 59(4): 625-634
- [28] Huang, Li T, Wang L, et al. Hepatocellular carcinoma redirects to ketolysis for progression under nutrition deprivation stress [J]. Cell research, 2016, 26(10): 1112-1130
- [29] Yan L, Chen Y, Zhou J, et al. Diagnostic value of circulating cell-free DNA levels for hepatocellular carcinoma [J]. International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases, 2018, 67: 92-97
- [30] Xiang XH, Yang L, Zhang X, et al. Seven-senescence-associated gene signature predicts overall survival for Asian patients with hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(14): 1715-1728
- [31] He C, Peng W, Liu X, et al. Post-treatment alpha-fetoprotein response predicts prognosis of patients with hepatocellular carcinoma: A meta-analysis[J]. Medicine, 2019, 98(31): e16557