

增强 CT 检查预测肝细胞癌微血管侵犯的影像基因组学研究

赵建新¹ 潘妮妮¹ 何迪梁¹ 施柳言¹ 何炫明¹ 熊恋秋¹ 马丽丽¹ 崔雅琼²
赵莲萍² 黄刚²

¹甘肃中医药大学第一临床医学院,兰州 730099;²甘肃省人民医院放射科,兰州 730099

通信作者:黄刚,Email:keen0999@163.com

【摘要】 目的 构建基于术前增强 CT 检查的联合影像组学模型,预测肝细胞癌微血管侵犯(MVI)状态,对影像组学模型进行生物学解释。**方法** 采用回顾性队列研究方法。收集癌症基因组图谱数据库建库至 2023 年 1 月纳入的 424 例肝细胞癌患者的 mRNA 数据,癌症图像档案馆数据库建库至 2023 年 1 月纳入的 39 例肝细胞癌患者和甘肃省人民医院 2020 年 1 月至 2023 年 1 月收治 53 例肝细胞癌患者的临床病理资料。92 例肝细胞癌患者通过随机数字表法按 7:3 分为训练集 64 例和测试集 28 例。分析动脉期及门静脉期 CT 检查图像及临床资料。使用 3Dslicer 软件(5.0.3 版本)进行动脉期和门静脉期图像配准和三维感兴趣区勾画。使用开源软件 FAE(0.5.5 版本)对原始图像进行预处理并提取特征。通过最小绝对收缩和选择算子等方法筛选特征,构建影像组学模型并计算影像组学评分(R-score),通过 Logistic 回归整合临床参数、影像学特征及 R-score 构建列线图。通过加权基因共表达网络分析和相关性分析获取影像组学模型相关的基因模块并进行富集分析。观察指标:(1)不同 MVI 性质患者的临床特征比较。(2)MVI 风险模型的建立。(3)MVI 风险模型的评估。(4)基因模块聚类。(5)特征相关基因模块功能富集。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,偏态分布的计量资料以 *M* (范围)表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。采用组内和组间相关系数(ICC)评估影像组学特征提取的观察者间的一致性。ICC>0.75 表示特征提取的一致性良好。单因素和多因素分析采用 Logistic 回归模型。绘制受试者工作特征曲线,以曲线下面积(AUC)、决策曲线、校准曲线评估模型的诊断效能及临床实用性。**结果** (1)不同 MVI 性质患者的临床特征比较。92 例肝细胞癌患者中,MVI 阳性 47 例,MVI 阴性 45 例,两者肝炎、肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜及瘤周不光滑比较,差异均有统计学意义($\chi^2=5.308, 9.977, 47.370, 32.368, 21.105, 31.711, P<0.05$)。(2)MVI 风险模型的建立。在动脉期及门静脉期的瘤内和瘤周分别提取了 1 781 个特征,经过特征降维后,从动脉期及门静脉期中确定 8 个影像组学特征构建联合模型。多因素分析结果显示:瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑及 R-score 是肝细胞癌患者 MVI 的独立危险因素[风险比=0.049, 0.017, 0.017, 0.021, 2.539, 95% 可信区间(CI)为 0.005~0.446, 0.001~0.435, 0.001~0.518, 0.001~0.473, 1.220~3.283]。纳入瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑及 R-score 构建列线图模型。(3)MVI 风险模型的评估。R-score 在训练集和测试集中 AUC 分别为 0.923(95%CI 为 0.887~0.944)和 0.918(95%CI 为 0.894~0.945);联合 R-score 及影像学特征构建的列线图在训练集和测试集中 AUC 分别为 0.973(95%CI 为 0.954~0.988)和 0.962(95%CI 为 0.942~0.987)。决策曲线显示:列线图的临床效益优于 R-score。校准曲线显示:列线图及 R-score 预测状态与实际观察结果间一致性良好。(4)基因模块聚类。经加权基因共表达网络分析后获取 8 个基因模块。(5)特征相关基因模块功能富集。4 个基因模块与影像组学特征显著相关。预测 MVI 的影像组学特征可能与细胞周期、中性粒细胞外陷形成及 PPAR 信号通路有关。**结论** 基于术前增强 CT 检查的联合影像组学模型可以预

DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20231013-00148

收稿日期 2023-10-13

引用本文:赵建新,潘妮妮,何迪梁,等.增强 CT 检查预测肝细胞癌微血管侵犯的影像基因组学研究[J].中华消化外科杂志,2023,22(11):1367-1377. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20231013-00148.



测肝细胞癌 MVI 状态。通过获取影像组学特征相关的 mRNA 基因表达谱,为影像组学模型提供了生物学解释。

【关键词】 肝肿瘤; 微血管侵犯; 影像组学; 预测模型; 生物学解释

基金项目:甘肃省人民医院内科研基金(22GSSYD-34)

Radiogenomics of enhanced CT imaging to predict microvascular invasion in hepatocellular carcinoma

Zhao Jianxin¹, Pan Nini¹, He Diliang¹, Shi Liuyan¹, He Xuanming¹, Xiong Lianqiu¹, Ma Lili¹, Cui Yaqiong², Zhao Lianping², Huang Gang²

¹First Clinical Medical College, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730099, China; ²Department of Radiology, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730099, China

Corresponding author: Huang Gang, Email: keen0999@163.com

【Abstract】 Objective To construct a combined radiomics model based on preoperative enhanced computed tomography (CT) examination for predicting microvascular invasion (MVI) in hepatocellular carcinoma (HCC), and provide biological explanations for the radiomics model. **Methods** The retrospective cohort study was conducted. The messenger RNA (mRNA) of 424 HCC patients, the clinicopathological data of 39 HCC patients entered into the Cancer Genome Atlas database from its establishment until January 2023, and the clinicopathological data of 53 HCC patients who were admitted to the Gansu Provincial People's Hospital from January 2020 to January 2023 were collected. The 92 HCC patients were randomly divided into a training dataset of 64 cases and a test dataset of 28 cases with a ratio of 7:3 based on a random number table method. The CT images of patients in the arterial phase and portal venous phase as well as the corresponding clinical data were analyzed. The 3Dslicer software (version 5.0.3) was used to register the CT images in the arterial phase and portal venous phase and delineate the three-dimensional regions of interest. The original images were preprocessed and the corresponding features were extracted by the open-source software FAE (version 0.5.5). After selecting features using the Least Absolute Shrinkage and Selection Operator, the radiomics model was constructed and the radiomics score (R-score) was calculated. The nomogram was constructed by integrating clinical parameters, imaging features and R-score based on Logistic regression. The gene modules related to radiomics model were obtained and subjected to enrichment analysis by conducting weighted gene co-expression network analysis and correlation analysis. Observation indicators: (1) comparison of clinical characteristics of patients with different MVI properties; (2) establishment of MVI risk model; (3) evaluation of MVI risk model; (4) clustering of gene modules; (5) functional enrichment of feature-correlated gene modules. Measurement data with normal distribution were represented as $Mean \pm SD$, and comparison between groups was conducted using the independent sample *t* test. Measurement data with skewed distribution were represented as $M(\text{range})$, and comparison between groups was conducted using the Mann-Whitney *U* test. Comparison of count data was conducted using the chi-square test. The intra-/inter-class correlation coefficient (ICC) was used to assess the inter-observer consistency of radiomics feature extracted by different observers. ICC >0.75 indicated a good consistency in feature extraction. The Logistic regression model was used for univariate and multivariate analyses. The receiver operating characteristic curve was drawn, and the area under curve (AUC), the decision curve and the calibration curve were used to evaluate the diagnostic efficacy and clinical practicality of the model. **Results** (1) Comparison of clinical characteristics of patients with different MVI properties. Of 92 HCC patients, there were 47 cases with MVI-positive and 45 cases with MVI-negative, and there were significant differences in hepatitis, tumor diameter, peritumoral enhancement, intratumoral arteries, pseudocapsule and smoothness of tumor margin between them ($\chi^2=5.308, 9.977, 47.370, 32.368, 21.105, 31.711, P<0.05$). (2) Establishment of MVI risk model. A total of 1 781 features were extracted from arterial and portal venous phases of the intratumoral and peritumoral regions. After feature dimension reduction, 8 radiomics features were selected from arterial and portal venous phases to construct the combined model. Results of multivariate analysis showed that peritumoral enhancement, intratumoral arteries, pseudocapsule, smoothness of tumor margins, and R-score were independent risk factors for MVI in patients with HCC [hazard ratio=0.049, 0.017, 0.017, 0.021, 2.539, 95% confidence interval (CI) as 0.005–0.446, 0.001–0.435, 0.001–0.518, 0.001–0.473, 1.220–5.283, $P<0.05$]. A nomogram model was constructed incorporating peritumoral enhancement, intratumoral arteries, pseudocapsule, smoothness of tumor margins, and R-score. (3) Evaluation of the MVI risk

model. The AUC of radiomics model was 0.923 (95%CI as 0.887–0.944) and 0.918 (95%CI as 0.894–0.945) in the training dataset and test dataset, respectively. The AUC of nomogram model, incorporating both the R-score and radiomics features, was 0.973 (95%CI as 0.954–0.988) and 0.962 (95%CI as 0.942–0.987) in the training dataset and test dataset, respectively. Results of decision curve showed that the nomogram had better clinical utility compared to the R-score. Results of calibration curve showed good consistency between the actual observed outcomes and the nomogram or the R-score. (4) Clustering of gene module. Results of weighted gene co-expression network analysis showed that 8 gene modules were obtained. (5) Functional enrichment of feature-related gene modules. Results of correlation analysis showed 4 gene modules were significantly associated with radiomics features. The radiomics features predicting of MVI may be related to pathways such as the cell cycle, neutrophil extracellular trap formation, and PPAR signaling pathway. **Conclusions** The combined radiomics model based on preoperative enhanced CT imaging can predict the MVI status of HCC. By obtaining mRNA gene expression profiles associated with radiomics features, a biological interpretation of the radiomics model is provided.

【Key words】 Liver neoplasms; Microvascular invasion; Radiomics; Predictive model; Biological interpretation

Fund program: Intramural Research Fund of Gansu Provincial Hospital (22GSSYD-34)

肝细胞癌具有高度侵袭性,肝切除术后 70% 的患者复发,肝移植后 25% 患者复发,5 年总生存率约为 10%~20%^[1-5]。微血管侵犯(microvascular invasion, MVI)是肝细胞癌术后复发的危险因素^[6-11]。术后病理学检查是 MVI 诊断的金标准,若在术前诊断 MVI 可以指导治疗方案的选择,进而改善患者预后^[12-15]。术前 CT 检查中部分影像学特征具有预测 MVI 的价值,但严重依赖观察者的经验判断^[3, 16-18]。影像组学通过计算机高通量提取定量成像特征,已经在术前 MVI 和预后预测中展现出广泛的应用前景^[8, 16, 19-21]。本研究回顾性分析癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库建库至 2023 年 1 月纳入的 424 例肝细胞癌患者的生物学信息,癌症图像档案馆(The Cancer Imaging Archive, TCIA)数据库建库至 2023 年 1 月纳入的 39 例肝细胞癌患者和甘肃省人民医院 2020 年 1 月至 2023 年 1 月收治 53 例肝细胞癌患者的临床病理资料,构建基于术前增强 CT 检查的联合影像组学模型,预测肝细胞癌 MVI 状态,对影像组学模型进行生物学解释。

资料与方法

一、一般资料

采用回顾性队列研究方法。收集 TCGA 数据库 424 例肝细胞癌患者的 mRNA 数据,收集 TCIA 数据库纳入的 73 例及甘肃省人民医院收治的 103 例肝细胞癌患者的临床病理资料。TCIA 数据库和甘肃省人民医院经遴选最终分别纳入 39 例和 53 例

患者。92 例肝细胞癌患者通过随机数字表法按 7:3 分为训练集 64 例和测试集 28 例,训练集用于构建预测模型,测试集用于测试预测模型效能。两组患者年龄、AFP、肝炎、肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜及瘤周不光滑比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究通过甘肃省人民医院医学伦理委员会审批,批号为 2022-432,患者及家属均签署知情同意书。

二、纳入标准和排除标准

纳入标准:(1)组织病理学检查确诊为肝细胞癌。(2)既往无干预治疗或肝部分切除史。(3)术前行增强 CT 检查。(4)影像学检查无肉眼可见门静脉、肝静脉、肝动脉及胆管癌栓。(5)术前临床资料完整。

排除标准:(1)增强 CT 检查图像质量不佳、存在伪影等无法进行分析。(2)术后组织病理学检查结果无 MVI 诊断。(3)合并其他系统恶性肿瘤。(4)术前临床资料缺失。

三、临床及影像学特征收集

收集临床参数为性别、年龄、肝炎病毒感染史(0,阴性;1,HBV 史、HCV 史或 HBV+HCV 史)、AFP(0,≤400 ng/L;1,>400 ng/L)。影像学特征包括由放射科医师识别的 5 个特征:肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑。

四、图像分割、预处理及影像组学特征提取

将 CT 检查图像导入 3Dslicer 软件(5.0.3 版本;<https://www.slicer.org>)进行动脉期和门静脉期图像配准和三维感兴趣区勾画。由 1 位具有 7 年诊断经

表 1 92 例训练集和测试集肝细胞癌患者的临床及影像学特征比较

Table 1 Comparison of clinical and radiological characteristics of 92 patients with hepatocellular carcinoma in the training dataset and the test dataset

临床及影像学特征	赋值	例数	训练集(64 例)	测试集(28 例)	统计量值	P 值
性别(例)						
男	0	66	42	24	$\chi^2=3.877$	0.049
女	1	26	22	4		
年龄($x\pm s$, 岁)	-	-	57 \pm 12	60 \pm 13	$t=-1.029$	0.306
甲胎蛋白(例)						
≤ 400 ng/L	0	59	40	19	$\chi^2=0.243$	0.622
> 400 ng/L	1	33	24	9		
肝炎(例)						
无	0	36	27	9	$\chi^2=0.825$	0.364
有(HBV/HCV)	1	56	37	19		
肿瘤长径(例)						
≤ 5 cm	0	46	29	7	$\chi^2=3.374$	0.066
> 5 cm	1	46	35	21		
瘤周增强(例)						
无	0	46	31	15	$\chi^2=0.205$	0.650
有	1	46	33	13		
瘤内动脉(例)						
无	0	26	20	6	$\chi^2=0.927$	0.336
有	1	66	44	22		
假包膜(例)						
无	0	47	36	11	$\chi^2=2.243$	0.134
有	1	45	28	17		
瘤周不光滑(例)						
无	0	46	31	15	$\chi^2=0.205$	0.650
有	1	46	33	13		

注:HBV 为乙型肝炎;HCV 为丙型肝炎;“-”表示此项无

验的放射科医师在门静脉期图像沿肿瘤边界进行全肿瘤分割,然后对三维感兴趣区进行 10 mm 全自动外扩并手动擦除肝外区域。勾画过程如图 1。间隔 3 个月后,由同一医师随机选择 30 例图像进行三维感兴趣区分割。所有医师均不知晓病理学检查结果。使用基于 pyradiomics 的开源软件 FAE (0.5.5 版本; <https://github.com/salan668/FAE>) 对原始图像进行预处理,体素重采样为 1 mm \times 1 mm \times 1 mm,灰度级别离散体素强度设置为 16,然后提取一阶、形态、纹理及高阶特征。

五、影像组学特征筛选

使用 Z-score 算法对所有特征进行标准化,通过 Mann-Whitney U 检验或 χ^2 检验进行特征筛选,选择皮尔森相关系数 <0.8 的特征,使用最大相关最小冗余算法筛选前 20 个特征,通过最小绝对收缩和

选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)进行特征降维。

六、MVI 风险模型构建与评估

应用 Logistic 回归构建影像组学模型:(1)基于动脉期和门静脉期的瘤内和瘤周特征分别构建模型,并比较各期的模型效能。(2)基于动脉期及门静脉期特征构建联合模型。根据影像组学特征及系数计算影像组学评分(radiomics score, R-score)。对临床变量、影像学特征及 R-score 进行单因素和多因素分析,确定 MVI 危险因素并构建列线图。使用受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线的曲线下面积(area under the curve, AUC)量化模型的预测性能,进行决策曲线分析评估模型的临床实用性,通过校准曲线观察预测概率和实际结果的一致性。

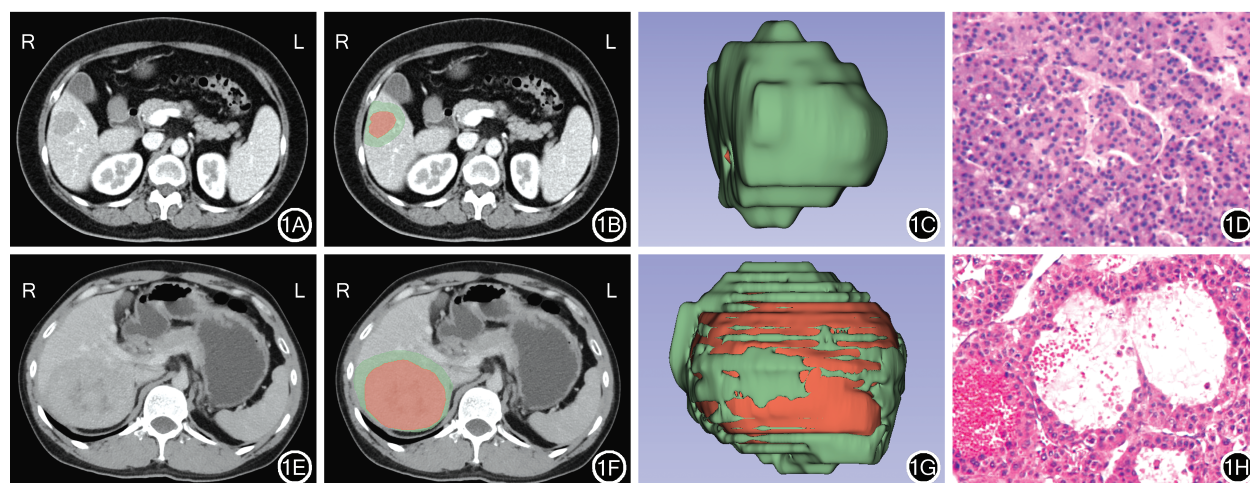


图1 肝细胞癌患者三维感兴趣区勾画与病理学检查结果 1A:微血管侵犯阴性患者增强CT检查图像;1B:微血管侵犯阴性患者沿横轴位逐层勾画示意图;1C:微血管侵犯阴性患者三维感兴趣区示意图;1D:微血管侵犯阴性患者病理学检查结果 HE染色 低倍放大;1E:微血管侵犯阳性患者增强CT检查图像;1F:微血管侵犯阳性患者沿横轴位逐层勾画示意图;1G:微血管侵犯阳性患者三维感兴趣区示意图;1H:微血管侵犯阳性患者病理学检查结果 HE染色 低倍放大

Figure 1 Delineation of three-dimensional regions of interest and pathological examination in patient with hepatocellular carcinoma 1A: Enhanced computed tomography (CT) image of patient with negative microvascular invasion (MVI); 1B: Schematic diagram of sequential delineation of regions of interest along the transverse axis of patient with negative MVI; 1C: Three-dimensional representation of regions of interest of patient with negative MVI; 1D: Pathological examination of patient with negative MVI HE staining Low magnification; 1E: Enhanced CT image of patient with positive MVI; 1F: Schematic diagram of sequential delineation of regions of interest along the transverse axis of patient with positive MVI; 1G: Three-dimensional representation of regions of interest of patient with positive MVI; 1H: Pathological examination of patient with positive MVI HE staining Low magnification

七、基因模块聚类

使用R软件(4.3.0版本)的limma软件包处理TCGA数据库中肝细胞癌患者的mRNA数据以鉴定差异表达基因,选取错误发现率 <0.05 且倍数变化 >1 的差异表达基因,随后将差异表达基因用于加权基因共表达网络分析进行下一步分析。

使用R软件(4.3.0版本)的加权基因共表达网络分析软件包进行加权基因共表达网络分析。选择较合适的阈值,使得基因表达关系符合无尺度网络,基于软阈值构建邻近矩阵及拓扑重叠矩阵。根据相异度对基因进行聚类,使用动态剪切法将聚类基因分为不同模块。将模块内的基因数设置为 ≥ 30 个,基因模块合并的高度阈值设置为0.25。

八、特征相关基因模块功能富集

将TCGA-TCIA数据库中同时拥有mRNA及影像学数据的患者进行Pearson相关性分析,构建影像组学特征和基因模块的影像基因组图谱。使用R软件(4.3.0版本)中的clusterProfiler软件包进行基因本体论(Gene Ontology, GO)富集分析、京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路分析,注释影像组学特征相关模块的生物学功能,为影像组学模型提供可能的生物学解释(错误发现率 <0.05)。

九、观察指标

(1)不同MVI性质患者的临床特征比较:性别、年龄、AFP、肝炎、肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜及瘤周不光滑。(2)MVI风险模型的建立:影像组学特征提取数量、最终筛选数量及MVI相关危险因素。(3)MVI风险模型的评估:动脉期、门静脉期及列线图模型在训练集和测试集中的效能。(4)基因模块聚类:聚类模块数量。(5)特征相关基因模块功能富集:影像组学特征相关模块数量及基因富集通路。

十、统计学分析

应用R软件(4.3.0版本)和SPSS 26.0统计软件进行分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,偏态分布的计量资料以 M (范围)表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。采用组内和组间相关系数(intra-/inter-class correlation coefficients, ICC)评估影像组学特征提取的观察者间的一致性。ICC >0.75 表示特征提取的一致性良好。单因素和多因素分析采用Logistic回归模型。绘制ROC曲线,以AUC、决策曲线、校准曲线评估模型的诊断效能及临床实用性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、不同 MVI 性质患者的临床特征比较

92 例肝细胞癌患者中, MVI 阳性 47 例, MVI 阴性 45 例, 两者肝炎、肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜及瘤周不光滑比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 而两者性别、年龄、AFP 比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

二、MVI 风险模型的建立

在动脉期及门静脉期的瘤内和瘤周分别提取了 1 781 个特征, 经过特征降维后, 从动脉期及门静脉期中确定 8 个影像组学特征构建联合模型。

单因素分析结果显示: 肝炎、肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑、R-score 是肝细胞癌患者 MVI 的影响因素 ($P<0.05$), 见表 3。多因素分析结果显示: 瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周

不光滑及 R-score 是肝细胞癌患者 MVI 的独立危险因素 ($P<0.05$), 见表 4。纳入瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑及 R-score 构建列线图模型 (图 2)。

三、MVI 风险模型的评估

在瘤内和瘤周中, 与动脉期影像组学模型比较, 门静脉期影像组学模型具有更好的 MVI 预测效能。将门静脉期瘤内与瘤周影像组学特征相结合后, 预测效能显著提高, 训练集的 AUC 为 0.914 (95%CI 为 0.865~0.934), 测试集的 AUC 为 0.895 (95%CI 为 0.845~0.933); 通过联合模型 (动脉期和门静脉期瘤内+瘤周) 的影像组学特征计算 R-score, AUC 在训练集及测试集分别为 0.923 (95%CI 为 0.887~0.944) 和 0.918 (95%CI 为 0.894~0.945); 列线图模型的 AUC 在训练集及测试集分别为 0.973 (95%CI 为 0.954~0.988) 和 0.962 (95%CI 为 0.942~0.987)。见表 5, 图 3。

表 2 92 例微血管侵犯阴性和阳性肝细胞癌患者的临床及影像学特征比较

Table 2 Comparison of clinical and radiological characteristics of 92 hepatocellular carcinoma patients with negative and positive microvascular invasion

临床及影像学特征	赋值	例数	微血管侵犯阴性(45 例)	微血管侵犯阳性(47 例)	统计量值	P 值
性别(例)						
男	0	66	30	36	$\chi^2=1.118$	0.290
女	1	26	15	11		
年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	-	-	59 \pm 14	57 \pm 11	$t=0.917$	0.362
甲胎蛋白(例)						
≤ 400 ng/L	0	59	33	26	$\chi^2=3.243$	0.072
> 400 ng/L	1	33	12	21		
肝炎(例)						
无	0	36	23	13	$\chi^2=5.308$	0.021
有(HBV/HCV)	1	56	22	34		
肿瘤长径(例)						
≤ 5 cm	0	36	25	11	$\chi^2=9.977$	0.002
> 5 cm	1	56	20	36		
瘤周增强(例)						
无	0	46	39	7	$\chi^2=47.370$	<0.001
有	1	46	6	40		
瘤内动脉(例)						
无	0	26	25	1	$\chi^2=32.368$	<0.001
有	1	66	20	46		
假包膜(例)						
无	0	47	34	13	$\chi^2=21.105$	<0.001
有	1	45	11	34		
瘤周不光滑(例)						
无	0	46	36	10	$\chi^2=31.711$	<0.001
有	1	46	9	37		

注: HBV 为乙型肝炎病毒; HCV 为丙型肝炎病毒; “-”表示此项无

表3 影响64例训练集肝细胞癌患者微血管侵犯的单因素分析

临床及影像学因素	<i>b</i> 值	标准误	Wald 值	优势比	95% 可信区间	<i>P</i> 值
甲胎蛋白(≤400 ng/L 比>400 ng/L)	-0.798	0.447	3.189	0.450	0.188~1.081	0.074
肝炎(无比有)	-1.006	0.442	5.181	0.366	0.154~0.870	0.023
肿瘤长径(≤5 cm 比>5 cm)	-1.409	0.457	9.510	0.244	0.100~0.598	0.002
瘤周增强(无比有)	-3.615	0.600	36.279	0.027	0.008~0.087	<0.001
瘤内动脉(无比有)	-4.052	1.054	14.767	0.017	0.002~0.137	<0.001
假包膜(无比有)	-2.090	0.476	19.270	0.124	0.049~0.315	<0.001
瘤周不光滑(无比有)	-2.695	0.516	27.306	0.068	0.025~0.186	<0.001
影像组学评分	0.613	0.136	20.183	1.845	1.413~2.411	<0.001

表4 影响64例训练集肝细胞癌患者微血管侵犯的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of microvascular invasion in 64 patients with hepatocellular carcinoma of the training dataset

临床及影像学因素	<i>b</i> 值	标准误	Wald 值	风险比	95% 可信区间	<i>P</i> 值
瘤周增强(无比有)	-3.007	1.122	7.178	0.049	0.005~0.446	0.007
瘤内动脉(无比有)	-4.086	1.660	6.059	0.017	0.001~0.435	0.014
假包膜(无比有)	-4.094	1.754	5.452	0.017	0.001~0.518	0.020
瘤周不光滑(无比有)	-3.870	1.593	5.903	0.021	0.001~0.473	0.015
影像组学评分	0.932	0.374	6.209	2.539	1.220~5.283	0.013

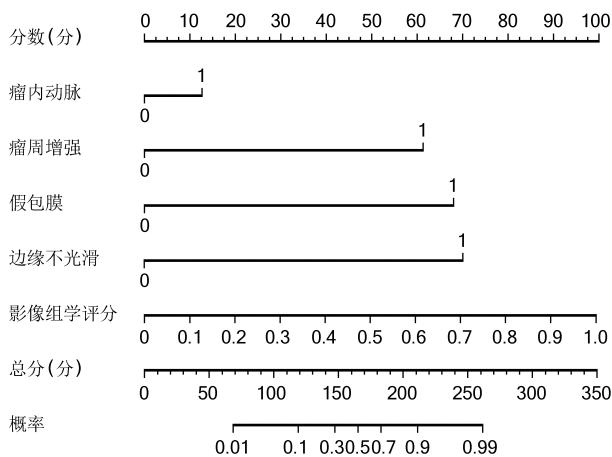


图2 肝细胞癌患者微血管侵犯的列线图预测模型

Figure 2 The nomogram predictive model for microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma

决策曲线显示:列线图的临床效益优于R-score;校准曲线显示:列线图 and R-score 预测状态与实际观察结果间一致性良好。见图4,5。

四、基因模块聚类

使用LogFC为1的阈值进行mRNA差异分析,424例有基因表达数据的肝细胞癌患者获取5 350个差异基因。加权基因共表达网络分析结果显示:选择 $\beta=3$ 作为构建无标度网络的合适软阈值,将差异

基因聚类为8个基因模块。见图6A。

五、特征相关基因模块功能富集

含有3 162个基因的4个基因模块(棕色、黄色、绿松石色、品红色)与影像组学特征显著相关($r>0.3, P<0.05$)。见图6B。上述4个基因模块的GO和KEGG富集分析结果显示:GO主要富集在细胞器裂变、DNA复制、小分子代谢过程等通路;KEGG通路中,包括细胞周期、中性粒细胞外陷阱形成及PPAR信号通路等。见图6C~6D。

讨论

一、MVI相关危险因素

AFP是肝细胞癌的肿瘤标志物,也是影响MVI的独立危险因素^[22-23]。已有研究结果显示:肝细胞癌患者血清AFP与MVI无相关性^[19]。本研究多因素分析结果显示:肝细胞癌患者血清AFP不是影响MVI的独立因素,因此未被纳入列线图预测模型。笔者认为:AFP与MVI的相关性可能受医疗机构的血清学检测标准影响。

影像学特征中,肿瘤长径、瘤周增强、瘤内动脉、假包膜、瘤周不光滑预测MVI的状态均有临床价值^[3,24-25]。本研究结果显示:肿瘤长径不是影响MVI的独立因素。其原因可能是本研究样本量较小造成影像数据选择偏差,也可能是较大的肿瘤易导致病理学检查取材偏差。

二、MVI风险模型评估

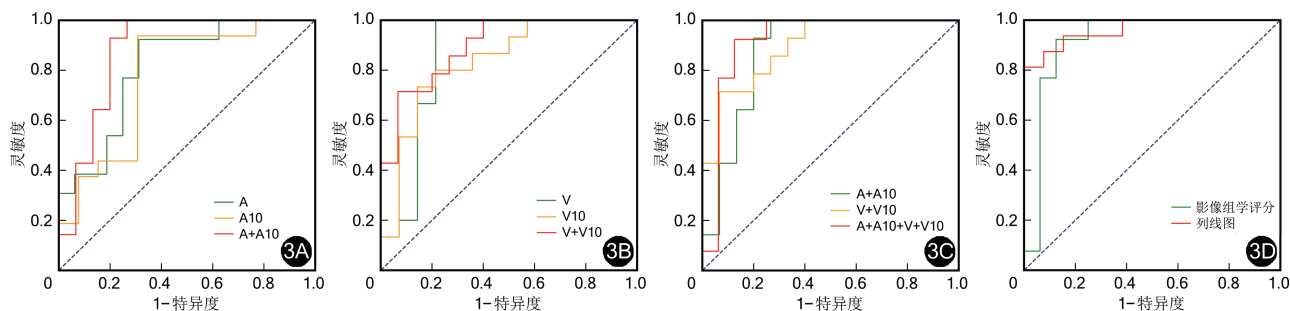
MVI更易发生在肿瘤边缘,瘤周取材对病理学检查结果非常重要。本研究结果显示:与MVI病理改变区域不同,以肝细胞癌患者瘤周影像组学特征构建预测模型,其预测MVI的效能却低于基于瘤内影像组学模型,与已有文献报道结果类似^[8,16,26]。目前对造成这种矛盾现象的原因缺乏合理解释。

表 5 肝细胞癌微血管侵犯预测的多期增强 CT 影像组学模型

Table 5 The radiomics model in predicting of microvascular invasion of hepatocellular carcinoma based on multi-phase enhanced computed tomography

参数	训练集					测试集				
	曲线下面积	95% 可信区间	准确度 (%)	特异度 (%)	灵敏度 (%)	曲线下面积	95% 可信区间	准确度 (%)	特异度 (%)	灵敏度 (%)
A	0.818	0.776~0.845	70.77	70.97	70.59	0.812	0.768~0.856	75.86	75.00	76.92
A10	0.774	0.723~0.805	72.31	73.53	70.97	0.774	0.743~0.822	68.97	69.23	68.75
V	0.854	0.821~0.887	76.92	78.79	75.00	0.876	0.805~0.889	82.76	80.00	85.71
V10	0.841	0.795~0.873	75.38	66.67	84.38	0.833	0.798~0.871	75.86	78.57	73.33
A+A10	0.904	0.864~0.921	76.92	78.12	75.76	0.876	0.835~0.922	82.76	80.00	85.71
V+V10	0.914	0.865~0.934	84.62	81.25	87.88	0.895	0.845~0.933	75.86	80.00	71.43
R-score	0.923	0.887~0.944	83.08	74.19	91.18	0.918	0.894~0.945	86.21	87.50	84.62
Nomogram	0.973	0.954~0.988	92.31	96.15	93.55	0.962	0.942~0.987	86.12	86.92	93.75

注: A 为动脉期瘤内影像组学模型; A10 为动脉期瘤周 10 mm 影像组学模型; V 为门静脉期瘤内影像组学模型; V10 为门静脉期瘤周 10 mm 影像组学模型; A+A10 为动脉期瘤内+瘤周影像组学模型; V+V10 为门静脉期瘤内+瘤周影像组学模型; R-score 为影像组学评分; Nomogram 为列线图



注: A 为动脉期瘤内影像组学模型; A10 为动脉期瘤周 10 mm 影像组学模型; V 为门静脉期瘤内影像组学模型; V10 为门静脉期瘤周 10 mm 影像组学模型; A+A10 为动脉期瘤内+瘤周影像组学模型; V+V10 为门静脉期瘤内+瘤周影像组学模型; A+A10+V+V10 为动脉期及门静脉期瘤内+瘤周影像组学模型

图 3 测试集的受试者工作特征(ROC)曲线 3A: 动脉期模型 ROC 曲线; 3B: 门静脉期模型 ROC 曲线; 3C: 联合模型 ROC 曲线; 3D: 影像组学评分及列线图模型 ROC 曲线

Figure 3 The receiver operating characteristic (ROC) curve of test dataset 3A: ROC curve of arterial phase model; 3B: ROC curve of venous phase; 3C: ROC curve of combined model; 3D: ROC curve of R-score and nomogram model

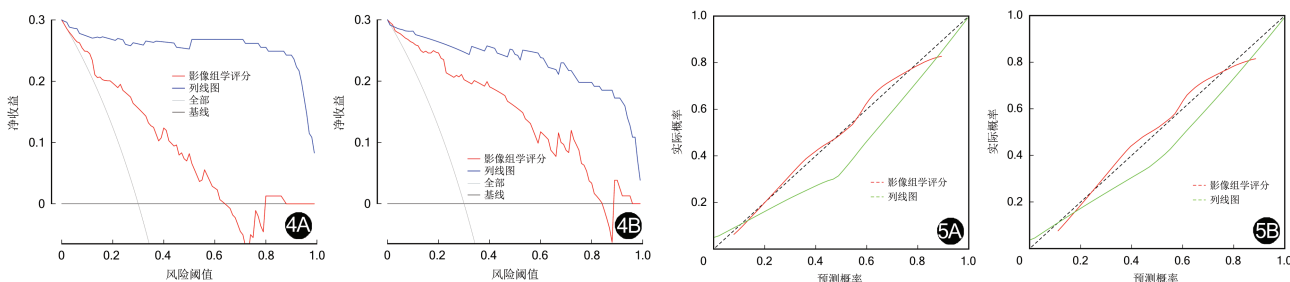


图 4 影像组学评分与列线图预测肝细胞癌微血管侵犯的决策曲线 4A: 训练集决策曲线; 4B: 测试集决策曲线

Figure 4 Decision curve of R-score and nomogram in predicting microvascular invasion of hepatocellular carcinoma 4A: Decision curve in the training dataset; 4B: Decision curve in the test dataset

图 5 影像组学评分与列线图预测肝细胞癌微血管侵犯的校准曲线 5A: 训练集校准曲线; 5B: 测试集校准曲线

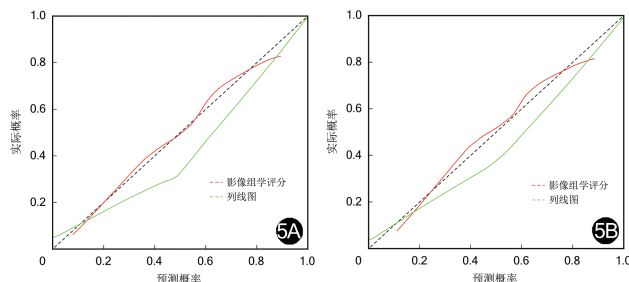
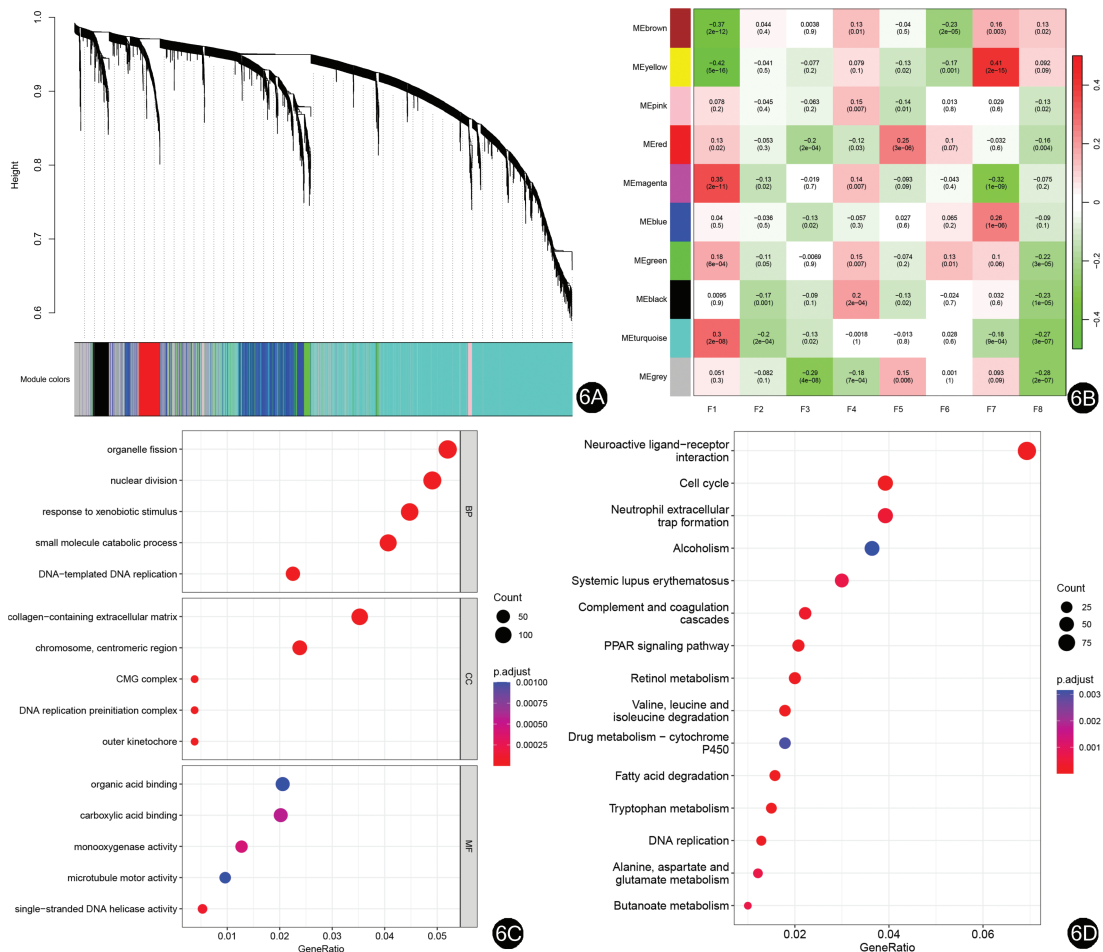


图 5 影像组学评分与列线图预测肝细胞癌微血管侵犯的校准曲线 5A: 训练集校准曲线; 5B: 测试集校准曲线

Figure 5 Calibration curve of R-score and nomogram in predicting microvascular invasion hepatocellular carcinoma 5A: Calibration curve in the training dataset; 5B: Calibration curve in the test dataset

笔者团队认为: 原因可能为病理学检查是直接观察 MVI 改变情况, 而影像组学特征除反映 MVI 病理学改变之外, 还反映肿瘤 MVI 本身的部分特征, 这类

影像组学特征比瘤周 MVI 病理改变区域的影像组学特征更能反映整个肿瘤的 MVI 状态。本研究结果显示: 联合瘤内和瘤周影像组学特征构建的模型



注: F1 为 A_exponential_gldm_DependenceVariance; F2 为 A_wavelet-LHL_gldm_ClusterShade; F3 为 A_exponential_firstorder_Maximum; F4 为 A10_lbp-2D_gldm_LongRunEmphasis; F5 为 A10_wavelet-LHH_glszm_ZoneEntropy; F6 为 V_lbp-3D-m2_glszm_GrayLevelVariance; F7 为 V_wavelet-LHH_firstorder_Median; F8 为 V_wavelet-LHH_gldm_Correlation

图6 生物信息学分析 6A: 加权基因共表达网络分析获取8个基因模块; 6B: 基因模块与影像组学特征相关性分析; 6C: 显著相关基因的基因本体论富集分析; 6D: 显著相关基因的京都基因和基因组百科全书通路分析

Figure 6 Bioinformatics analysis 6A: Eight gene modules obtaining by weighted gene co-expression network analysis; 6B: Correlation analysis between gene modules and radiomics features; 6C: Gene ontology analysis of significantly correlated genes; 6D: Kyoto encyclopedia of genes and genomes enrichment analysis of significantly correlated genes

能够更好地预测 MVI 状态。在不同时相的增强 CT 检查图像中, 门静脉期影像组学模型预测 MVI 效能优于动脉期^[27-29]。这可能与 CT 检查门静脉期扫描时间长于动脉期, 提取的影像组学特征相对稳定有关。

影像组学模型虽然对肝细胞癌患者术前 MVI 状态有较高预测效能, 但是联合临床资料、影像学特征构建的列线图具有更高预测效能^[16,30]。在肺癌、乳腺癌、宫颈癌等肿瘤的预测模型中也有类似结果^[31-33]。因此, 对于 MVI 的预测模型而言, 纳入更多的相关影响因素可建立更高效能的预测模型。

三、基因模块的富集分析

影像组学特征相关基因在细胞周期、中性粒细

胞外陷阱形成及 PPAR 信号通路中显著富集。细胞周期与肝细胞癌的生长及增殖相关, 细胞周期调控相关的信号通路, 如 PI3K/Akt 信号通路和 Wnt/ β -catenin 信号通路等也可以调节肝细胞癌的血管生成^[34-36]。在肝细胞癌的肿瘤微环境中, 中性粒细胞可以被激活并释放中性粒细胞外陷阱形成^[37]。而中性粒细胞外陷阱形成可使促血管生成因子增加促进血管生成, 为肝细胞癌细胞提供侵入周围血管和转移的通道^[38]。此外, 中性粒细胞外陷阱形成还可以通过激活 PLT 和血管内皮细胞, 促进微血管生成和血管壁通透性的增加, 从而进一步促进 MVI 发生^[39-40]。PPAR 信号通路在调节脂质代谢、炎症反应以及细胞增殖和分化等生理过程中起着重要

作用^[41-43]。激活 PPAR 信号通路可以下调细胞增殖和侵袭相关基因的表达,从而降低肿瘤细胞对血管的侵袭^[44]。因此,MVI 发生可能与炎细胞浸润、细胞增殖及血管生成有关。已有研究结果显示:Ras 信号通路可以调控 MVI 的发生发展,这条通路 with 细胞增殖和血管生成有关^[45]。由此可见,肝细胞癌 MVI 的发生可能与多种途径相关。在影像基因组学分析中,基因可以映射到影像组学特征中为影像组学特征提供生物学解释。

四、本研究局限性

(1)本研究纳入 2 家医疗中心数据,但样本数量仍较小。(2)虽然对所有图像进行预处理,但是从 TCIA 下载的影像数据集在扫描仪模式和采集协议方面存在差异,这可能对结果存在影响。(3)由于实验条件有限,影像组学特征与基因之间的相关性无法得到验证。

综上,基于术前增强 CT 检查的联合影像组学模型可以准确预测肝细胞癌患者 MVI 状态。同时通过获取影像组学特征相关的 mRNA 基因表达谱,为影像组学模型提供了可能的生物学解释。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 赵建新:酝酿设计实验,实施研究,采集数据,分析和解释数据,起草文章,统计分析;潘妮妮、何迪梁、施柳言:分析和解释数据,对文章的知识性内容作批评性审阅,支持性贡献;何炫明、熊恋秋、马丽丽、崔雅琼、赵莲萍:指导,支持性贡献;黄刚:酝酿和设计实验,分析并解释数据,对文章的知识性内容作批评性审阅,获取研究经费,指导,支持性贡献

参 考 文 献

- [1] Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2018, 391(10127):1301-1314. DOI:10.1016/S0140-6736(18)30010-2.
- [2] Fujiwara N, Friedman SL, Goossens N, et al. Risk factors and prevention of hepatocellular carcinoma in the era of precision medicine[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(3):526-549. DOI:10.1016/j.jhep.2017.09.016.
- [3] Renzulli M, Brocchi S, Cucchetti A, et al. Can current pre-operative imaging be used to detect microvascular invasion of hepatocellular carcinoma? [J]. *Radiology*, 2016, 279(2):432-442. DOI:10.1148/radiol.2015150998.
- [4] 秦小琰,刘彦尧,康权. 肝癌肝移植术后复发转移的防治策略和靶向免疫治疗[J]. *器官移植*, 2022, 13(2):271-276. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2022.02.018.
- [5] 刘少儒,许磊波. 肝癌肝移植术后复发转移的免疫治疗[J]. *器官移植*, 2021, 12(3):272-279. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2021.03.004.
- [6] Gouw AS, Balabaud C, Kusano H, et al. Markers for microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: where do we stand? [J]. *Liver Transpl*, 2011, 17 Suppl 2:S72-S80. DOI:10.1002/lt.22368.
- [7] Lei Z, Li J, Wu D, et al. Nomogram for preoperative estimation of microvascular invasion risk in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma within the Milan criteria [J]. *JAMA Surg*, 2016, 151(4):356-363. DOI:10.1001/jamasurg.2015.4257.
- [8] Chong HH, Yang L, Sheng RF, et al. Multi-scale and multi-parametric radiomics of gadoxetate disodium-enhanced MRI predicts microvascular invasion and outcome in patients with solitary hepatocellular carcinoma ≤ 5 cm [J]. *Eur Radiol*, 2021, 31(7):4824-4838. DOI:10.1007/s00330-020-07601-2.
- [9] 石鑫林,王继洲,姜洪池,等. 影响肝癌患者肝移植术后复发的血管因素研究进展[J]. *器官移植*, 2019, 10(6):727-730. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2019.06.017.
- [10] 何涛,邹婕妤,雷婷婷,等. 肝细胞癌微血管侵犯的研究进展[J]. *中华肝脏病杂志*, 2022, 30(8):899-904. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20210428-00211.
- [11] 金涛,李涛,孙青,等. 肝细胞癌微血管侵犯与临床病理指标的相关性[J]. *中国现代普通外科进展*, 2018, 21(7):520-523. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2018.07.006.
- [12] Chen Q, Xiao H, Gu Y, et al. Deep learning for evaluation of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma from tumor areas of histology images[J]. *Hepatol Int*, 2022, 16(3):590-602. DOI:10.1007/s12072-022-10323-w.
- [13] Lin WD, Ye LN, Song ZS, et al. Wide surgical margins improve prognosis for HCC with microvascular invasion[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2023, 27(5):2052-2059. DOI:10.26355/eurev.202303_31576.
- [14] Hwang S, Lee YJ, Kim KH, et al. The impact of tumor size on long-term survival outcomes after resection of solitary hepatocellular carcinoma: single-institution experience with 2558 patients [J]. *J Gastrointest Surg*, 2015, 19(7):1281-1290. DOI:10.1007/s11605-015-2849-5.
- [15] 向德森,徐雪松,龚建平,等. 肝细胞癌诊断技术的新进展[J]. *中国现代普通外科进展*, 2017, 20(5):417-420. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2017.05.027.
- [16] Xu X, Zhang HL, Liu QP, et al. Radiomic analysis of contrast-enhanced CT predicts microvascular invasion and outcome in hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(6):1133-1144. DOI:10.1016/j.jhep.2019.02.023.
- [17] 任新平,李若坤. 肝细胞癌规范化筛查及早期影像诊断策略[J]. *中华肝脏病杂志*, 2021, 29(4):304-307. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20210406-00164.
- [18] Sartoris R, Gregory J, Dioguardi Burgio M, et al. HCC advances in diagnosis and prognosis: digital and Imaging [J]. *Liver Int*, 2021, 41 Suppl 1:73-77. DOI:10.1111/liv.14865.
- [19] Xia TY, Zhou ZH, Meng XP, et al. Predicting microvascular invasion in hepatocellular carcinoma using CT-based radiomics model [J]. *Radiology*, 2023, 307(4):e222729. DOI:10.1148/radiol.222729.
- [20] Lv K, Cao X, Du P, et al. Radiomics for the detection of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(20):2176-2183. DOI:10.3748/wjg.v28.i20.2176.
- [21] 王莉莉,李俊峰,雷军强,等. 影像组学方法评价肝细胞癌微血管侵犯的研究进展[J]. *中华肝脏病杂志*, 2023, 31(3):327-331. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20230312-00107.
- [22] Chen Y, Xia Y, Tolat PP, et al. Comparison of conventional

- gadoxetate disodium-enhanced MRI features and radiomics signatures with machine learning for diagnosing microvascular invasion[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2021, 216(6):1510-1520. DOI:10.2214/AJR.20.23255.
- [23] 俞超,胡晓欣,张汐,等.基于CT影像学及临床资料预测肝细胞癌微血管侵犯的研究[J].*复旦学报:医学版*, 2023, 50(1): 15-25. DOI:10.3969/j.issn.1672-8467.2023.01.003
- [24] Liu HF, Zhang YZ, Wang Q, et al. A nomogram model integrating LI-RADS features and radiomics based on contrast-enhanced magnetic resonance imaging for predicting microvascular invasion in hepatocellular carcinoma falling the Milan criteria[J]. *Transl Oncol*, 2023, 27:101597. DOI:10.1016/j.tranon.2022.101597.
- [25] Lee S, Kim SH, Lee JE, et al. Preoperative gadoxetic acid-enhanced MRI for predicting microvascular invasion in patients with single hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(3):526-534. DOI:10.1016/j.jhep.2017.04.024.
- [26] Feng ST, Jia Y, Liao B, et al. Preoperative prediction of microvascular invasion in hepatocellular cancer: a radiomics model using Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(9):4648-4659. DOI:10.1007/s00330-018-5935-8.
- [27] Ma X, Wei J, Gu D, et al. Preoperative radiomics nomogram for microvascular invasion prediction in hepatocellular carcinoma using contrast-enhanced CT[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(7):3595-3605. DOI:10.1007/s00330-018-5985-y.
- [28] Zhang W, Yang R, Liang F, et al. Prediction of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma with a multi-disciplinary team-like radiomics fusion model on dynamic contrast-enhanced computed tomography[J]. *Front Oncol*, 2021, 11:660629. DOI:10.3389/fonc.2021.660629.
- [29] Yao W, Yang S, Ge Y, et al. Computed tomography radiomics-based prediction of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 819670. DOI:10.3389/fmed.2022.819670.
- [30] 刘燕娜,许乙凯,邓淑云,等.基于CT和MRI影像学预测肝细胞癌微血管侵犯研究进展[J].*中华肝脏病杂志*, 2022, 30(8): 809-813. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20220628-00359.
- [31] 李阳,杨昭,李淑华,等.基于非小细胞肺癌双能CT表现及影像学列线图模型预测其血管生成拟态[J].*中国医学影像技术*, 2023, 39(5):684-689. DOI:10.13929/j.issn.1003-3289. 2023.05.009
- [32] Conti A, Duggento A, Indovina I, et al. Radiomics in breast cancer classification and prediction[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 72:238-250. DOI:10.1016/j.semcancer.2020.04.002.
- [33] 崔雅琼,黄刚,王莉莉,等.基于临床-多参数磁共振影像学特征预测宫颈癌脉管浸润和预后的研究[J].*磁共振成像*, 2023, 14(2):73-82. DOI:10.12015/issn.1674-8034.2023. 02.013.
- [34] Zhou T, Qin R, Shi S, et al. DTYMK promote hepatocellular carcinoma proliferation by regulating cell cycle[J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(17): 1681-1691. DOI: 10.1080/15384101.2021. 1958502.
- [35] Sun EJ, Wankell M, Palamuthusingam P, et al. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(11):1639. DOI:10.3390/biomedicines 9111639.
- [36] Leung R, Lee T. Wnt/ β -catenin signaling as a driver of stemness and metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(21):5468. DOI:10. 3390/cancers14215468.
- [37] van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, et al. Neutrophil extracellular traps promote inflammation and development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2018, 68(4):1347-1360. DOI:10.1002/hep. 29914.
- [38] Zhan X, Wu R, Kong XH, et al. Elevated neutrophil extracellular traps by HBV-mediated S100A9-TLR4/RAGE-ROS cascade facilitate the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2023, 43(2): 225-245. DOI:10.1002/cac2.12388.
- [39] Jiang ZZ, Peng ZP, Liu XC, et al. Neutrophil extracellular traps induce tumor metastasis through dual effects on cancer and endothelial cells[J]. *Oncoimmunology*, 2022, 11 (1):2052418. DOI:10.1080/2162402X.2022.2052418.
- [40] Zenlander R, Havervall S, Magnusson M, et al. Neutrophil extracellular traps in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):18025. DOI:10.1038/s41598-021-97233-3.
- [41] Ishtiaq SM, Arshad MI, Khan JA. PPAR γ signaling in hepatocarcinogenesis: mechanistic insights for cellular reprogramming and therapeutic implications[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 240:108298. DOI:10.1016/j.pharmthera.2022.108298.
- [42] 马炳奇,孟慧娟,董小锋,等.炎症和肿瘤指标预后评分在肝内胆管癌中的预测价值[J].*中华肝脏病杂志*, 2022, 30(7):777-783. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20211108-00539.
- [43] 张向颖,徐玲,田原,等.CHOP信号分子在PPAR α 激活抑制小鼠急性肝衰竭炎症反应中的作用研究[J].*中华肝脏病杂志*, 2020, 28(7):613-618. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-2020 0608-00298.
- [44] Han W, Wang N, Kong R, et al. Ligand-activated PPAR δ expression promotes hepatocellular carcinoma progression by regulating the PI3K-AKT signaling pathway[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1):86. DOI: 10.1186/s12967-022-03 288-9.
- [45] Xin Z, Li J, Zhang H, et al. Cancer genomic alterations can be potential biomarkers predicting microvascular invasion and early recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:783109. DOI:10.3389/fonc.2022.78 3109.