

· 论 著 ·

血浆外泌体 miR-622 在肝细胞癌恶病质中的作用研究*

秦 超¹, 侯瑾岩², 朱 梅¹, 关 明³, 邓 莹^{3△}

1. 安徽医科大学附属巢湖医院检验科, 安徽合肥 238000; 2. 山西医科大学医学影像学院, 山西太原 030000;
3. 复旦大学附属华山医院检验科, 上海 200040

摘 要: **目的** 探讨血浆外泌体微小核糖核酸-622 (miR-622) 在肝细胞癌 (HCC) 恶病质中的作用。**方法** 选取 2021—2024 年在复旦大学附属华山医院收集的 40 例Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者术前血液样本和 33 例非 HCC 肝良性疾病患者血液样本作为研究对象。使用差速离心法从患者血浆、HCC 细胞 (HepG2、Hep3B、PLC、Huh7) 和人原代肝细胞 (PHH) 培养上清液中分离外泌体。通过实时荧光定量聚合酶链式反应检测 miR-622 相对表达水平。脂肪分解水平通过测定其培养基中脂肪酸释放浓度、甘油释放浓度来评估。**结果** HCC 患者血浆外泌体 miR-622 水平与皮下脂肪指数、内脏脂肪指数呈正相关 ($r=0.516, 0.539, P<0.05$)。用 HCC 细胞条件培养基处理脂肪细胞后, 脂肪细胞脂肪分解水平显著提高。HCC 细胞 (HepG2、Hep3B、PLC、Huh7) 外泌体中 miR-622 相对表达水平 (依次为 $0.13\pm0.04, 0.28\pm0.08, 0.23\pm0.07, 0.24\pm0.04$) 显著低于 PHH 外泌体 (1.00 ± 0.18)。进一步研究发现, HCC 患者血浆外泌体处理能够导致脂肪细胞 miR-622 相对表达水平降低及脂肪分解增强。**结论** 血浆外泌体 miR-622 在 HCC 患者中低表达。HCC 细胞可通过外泌体传递 miR-622 至脂肪细胞调控脂肪分解代谢。血浆外泌体 miR-622 可能成为预测 HCC 恶病质的生物标志物及治疗靶点。

关键词: 外泌体; 微小核糖核酸-622; 肝细胞癌; 恶病质

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.13.019

中图法分类号: R735.7

文章编号: 1673-4130(2025)13-1641-06

文献标志码: A

Study on the role of plasma exosome miR-622 in cachexia of hepatocellular carcinoma*

QIN Chao¹, HOU Jinyan², ZHU Mei¹, GUAN Ming³, DENG Xuan^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 238000, China; 2. School of Medical Imaging, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Abstract: **Objective** To explore the role of plasma exosome microRNA-622 (miR-622) in cachexia of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Select preoperative blood samples from 40 patients with stage Ⅲ—Ⅳ HCC and 33 patients with non HCC liver benign diseases collected at Huashan Hospital, Fudan University from 2021 to 2024 as the research subjects. Exosomes were isolated from the plasma of patients, human HCC cell lines (HepG2, Hep3B, PLC, Huh7), and the culture supernatants of primary human hepatocytes (PHH) by differential centrifugation. The relative expression level of miR-622 was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The level of lipolysis was assessed by determining the concentration of glycerol and fatty acids in adipocyte culture medium. **Results** Plasma exosome miR-622 levels in HCC patients were positively correlated with subcutaneous adipose index and visceral adipose index ($r=0.516, 0.539, P<0.05$). HCC cell conditional medium was able to significantly increase the lipolysis level of adipocytes. The relative expression levels of miR-622 in exosomes from HCC cells (HepG2, Hep3B, PLC, Huh7) were significantly lower than those in exosomes from PHH, with values of $0.13\pm0.04, 0.28\pm0.08, 0.23\pm0.07$, and 0.24 ± 0.04 , respectively, compared to 1.00 ± 0.18 in PHH exosomes. Further studies revealed that plasma exosome of HCC patients treatment was able to lead to a decrease in the relative expression level of miR-622 in adipocytes, as well as an enhancement of lipolysis. **Conclusion** The expression of plasma exosomal miR-622 is downregulated in HCC patients. HCC cells can deliver miR-622 to adipocytes via exosomes to regulate lipolysis. Plasma exosomal miR-622 may serve as a potential biomarker for predicting HCC cachexia and a therapeutic target.

Key words: exosome; microRNA-622; hepatocellular carcinoma; cachexia

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (82372336)。

作者简介: 秦超, 男, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤进展的分子机制研究。△ 通信作者, E-mail: dengxuan@huashan.org.cn。

肝癌是全球主要的消化系统恶性肿瘤之一,被列为第六大常见肿瘤和第三大癌症死因,全球每年约有 70 万人死于肝癌^[1-2]。肝癌的负担在中国尤为突出,最新数据表明,2022 年中国新发肝癌病例超过 36.7 万例,肝癌导致的死亡超过 31.6 万例^[3]。肝细胞癌(HCC)占有原发性肝癌病例的 75%~85%,因此是肝癌研究的重点^[1]。由于确诊时常常已是晚期,HCC 患者 5 年生存率仍然很低,约 20%^[4-5]。晚期 HCC 患者预后不佳仍是一个亟待解决的问题。作为导致预后不良的最关键因素之一,癌质相关恶病质(如 HCC 恶病质)总是发生在许多晚期癌症患者身上。恶病质是一种复杂的代谢状态,其突出特点是宿主脂肪和骨骼肌储备持续消耗导致的体重进行性减轻,并且常规的营养支持难以完全逆转这种消耗^[6-8]。由于耐受性降低,肌肉萎缩和脂肪分解增加的患者更加难以从全身治疗中获益,这增加了其病死率、降低了患者生活质量^[9-11]。微小核糖核酸(microRNA,简称 miR)对各种生物过程、癌症进展和新陈代谢都有着复杂的影响^[12-14]。最近一些研究发现,miR 在恶病质发病机制中发挥重要作用,miR 参与了恶病质的发展过程,如降低 E3 泛素连接酶的表达、激活 toll 样受体 7 或 toll 样受体 8 以促进肌肉的分解代谢及调节脂肪细胞的功能^[15-18]。但其具体作用机制仍有待进一步阐明。本研究探讨血浆外泌体 miR-622 相对表达水平与患者身体成分的关系,分析血浆外泌体 miR-622 在 HCC 恶病质中的作用,以期为 HCC 恶病质的预测和治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021—2024 年在复旦大学附属华山医院收集的 40 例Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者术前血液样本和 33 例非 HCC 肝良性疾病患者血液样本作为研究对象。纳入标准:(1)Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者以病理诊断报告为依据;(2)Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者在采血前均未接受过手术治疗、化疗或放疗。本研究获得了复旦大学附属华山医院伦理委员会的批准。研究人员向每位患者详细解释了调查内容,并获得了患者的书面知情同意。

1.2 方法

1.2.1 血液采样和无细胞 miR 纯化 采用乙二胺四乙酸二钾采血管采集受试患者的外周全血样本(5~10 mL)。将试管颠倒混匀 8~10 次并离心(3 000 r/min, 10 min, 4 ℃),取其上清液。高速离心(14 000×g, 1 min, 4 ℃)去除血细胞,收集上清液至无 RNA 酶的 1.5 mL EP 管中,并在收集后 2 h 内保存于-80 ℃。使用 miRNeasy 血清/血浆试剂盒(德国 Qiagen 公司)按照生产商的操作说明从血浆中分离出不含细胞的 miR。

1.2.2 体重指数(BMI)计算和身体成分测量 根据病历记录最接近治疗开始时的体重和身高数据计算 BMI。身体成分测量基于 CT 图像(Brilliance 64, 荷兰 Philips 公司)进行。骨骼肌、皮下脂肪和内脏脂肪

在 L3 水平,当两侧横突均清晰可见时,在预设的亨氏单位(HU)阈值(分别为-30~+150 HU、-150~-50 HU 和-150~-30 HU)下分别手动勾画并测量。在第三腰椎(L3)水平的测量值已被证明与全身测量值呈线性相关^[19]。所有测得骨骼肌、皮下脂肪和内脏脂肪的横截面积(cm^2)均按患者身高的平方进行标准化处理,从而得出骨骼肌指数($\text{SMI}, \text{cm}^2/\text{m}^2$)、内脏脂肪指数($\text{VAI}, \text{cm}^2/\text{m}^2$)和皮下脂肪指数($\text{SAI}, \text{cm}^2/\text{m}^2$)。

1.2.3 细胞培养 HCC 细胞(HepG2、Hep3B、PLC 和 Huh7)均来自中国科学院典型培养物细胞库,在 37 ℃、含 5% CO_2 的培养箱中以添加 10%胎牛血清(美国 Gibco 公司)的改良杜氏培养基(美国 HyClone 公司)培养。根据先前的研究诱导成熟脂肪细胞^[20]。间充质干细胞是根据文献^[21]的方法,从健康志愿者体内分离并经培养扩增而来。小鼠胚胎成纤维细胞(3T3-L1 前体脂肪细胞)购自上海中乔新舟生物科技有限公司。为了获得成熟的脂肪细胞,使用间充质干细胞和 3T3-L1 前体脂肪细胞在成脂分化培养基中进行诱导,该培养基为高糖的改良杜氏培养基,添加 10%胎牛血清、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松、0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤和 0.1 mmol/L L-抗坏血酸。分化情况通过油红 O 染色进行确认。人原代肝细胞(PHH)的分离和培养方法如文献^[22]所述。PHH 条件培养基(CM)即曾用于培养 PHH 的培养上清液,其中包含了 PHH 分泌的外泌体及其他物质,其他细胞 CM 意义与此相似。

1.2.4 外泌体实验 外泌体的分离方法如文献^[23]所述。外泌体是通过差速离心从 CM 中分离出来的。上清液中的碎屑和凋亡小体通过 2 000×g 离心 10 min 和 10 000×g 离心 30 min 去除,使用 0.22 μm 过滤器(美国 Millipore 公司)过滤上清液。外泌体通过 100 000×g 超速离心 90 min 分离。用磷酸盐缓冲液(PBS)重悬沉淀的外泌体,并再次以 100 000×g 超速离心 90 min,弃去上清液。用于 RNA/蛋白质提取或细胞处理的外泌体重悬在 50 μL PBS 中。使用透射电子显微镜观察外泌体时,将外泌体样本滴加在铜网上,静置 2 min,使其吸附在铜网上,吸去多余液体,轻柔加入 2%醋酸铀溶液覆盖铜网,静置 2 min,吸去多余液体。铜网过夜干燥,第 2 天进行透射电子显微镜观察。使用配备 NTA 3.0 分析软件的 NanoSight NS300 仪器(英国马尔文仪器公司)量化外泌体的大小和浓度。使用簇分化抗原 63(CD63)、热休克蛋白 70(HSP70)、高尔基体基质蛋白 130(GM130)鉴定外泌体。用 Dil 标记外泌体时,在外泌体悬浮液中加入 1 $\mu\text{mol/L}$ Dil(上海碧云天生物技术有限公司)并避光孵育 20 min,然后在 100 000×g 下超速离心 90 min,收集沉淀即为 Dil 标记的外泌体。将 Dil 标记的外泌体与脂肪细胞共培养并用荧光显微镜观察。从细胞 CM 样本中提取出的外泌体即细胞外泌体,从血浆样本中提取出的外泌体即血浆外泌体。

1.2.5 细胞转染 miR-622 mimic 和 miR mimic-

NC 由广州锐博生物科技有限公司生产。使用 riboFECT™ CP(广州锐博生物科技有限公司)进行转染。将适量 miR-622 mimic 或 miR mimic-NC 溶解于 1×riboFECT™ CP 缓冲液中,再加入 riboFECT™ CP 试剂,轻轻混匀后在室温下孵育 10 min。将转染复合物均匀加入细胞中。实验过程严格按照生产商的说明书进行。

1.2.6 RNA 分离和实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)分析 使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)提取不同细胞的总 RNA。使用 miDETECT A Track miR qPCR Kit(广州锐博生物科技有限公司)逆转录 RNA 并进行 qPCR 检测 miR-622。为了平衡 RNA 提取步骤中样本与样本之间的差异,根据文献[24]的方法,在每个样本中加入了合成的 cel-miR-39 作为外源性内参。

1.2.7 蛋白质印迹法(Western Blot) Western Blot 分析如文献[25]所述。使用含有蛋白酶抑制剂(美国 Sigma 公司)的 RIPA 裂解液(上海碧云天生物科技有限公司)对待测样本进行裂解。将裂解液置于冰上,每隔 5 min 充分混匀 1 次,持续 30 min,然后在 4℃下以 12 000×g 离心 15 min,收集上清液。使用二喹啉甲酸蛋白质定量试剂盒(美国 Thermo scientific 公司)测定蛋白质浓度。用特异性一抗和耦联辣根过氧化物酶的二抗对细胞裂解液或提取的蛋白质进行检测,并通过化学发光成像系统(上海天能生命科学有

限公司)成像分析。

1.2.8 免疫荧光 将 Dil 标记的外泌体与培养在盖玻片上的细胞(每孔 3×10⁴ 个细胞)共同孵育,收集样本时,使用 4%多聚甲醛溶液在室温下固定 15 min。PBS 洗 3 次,再将 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)溶液(上海碧云天生物科技有限公司,稀释比例 1:100)均匀滴加在细胞上,室温下避光孵育 10 min 以染色细胞核。孵育完成后用 PBS 洗 3 次,使用荧光显微镜观察细胞和成像。

1.2.9 培养基中代谢物的测定 甘油释放浓度、脂肪酸释放浓度即脂肪细胞释放到培养基中甘油、脂肪酸的浓度。培养基中的甘油(美国 Cayman Chemical 公司)和脂肪酸(美国 BioVision 公司)浓度是根据生产商提供的比色分析试剂盒测定。测定结果根据相应的蛋白质浓度进行了归一化处理。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 或 GraphPad Prism 7.0 进行统计分析,正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,行 *t* 检验或非参数检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血浆外泌体 miR-622 表达与 SAI、VAI 相关性 Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血浆外泌体 miR-622 相对表达水平与 SAI、VAI 呈正相关($r = 0.516, 0.539, P < 0.05$)。见图 1。

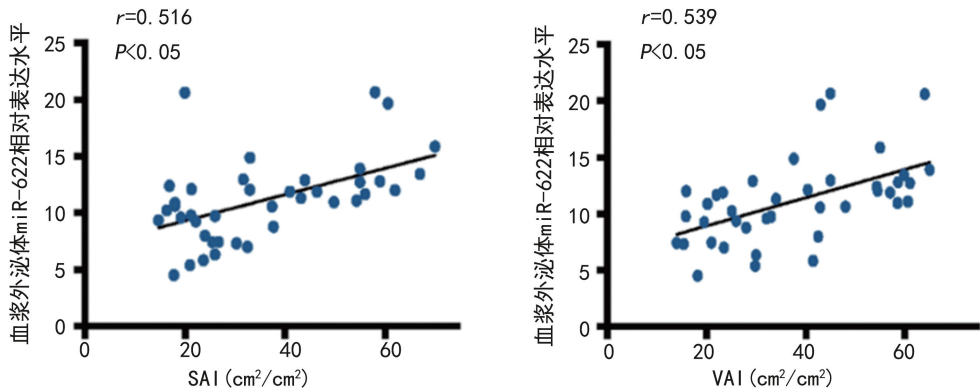


图1 Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血浆外泌体 miR-622 表达与 SAI、VAI 相关性

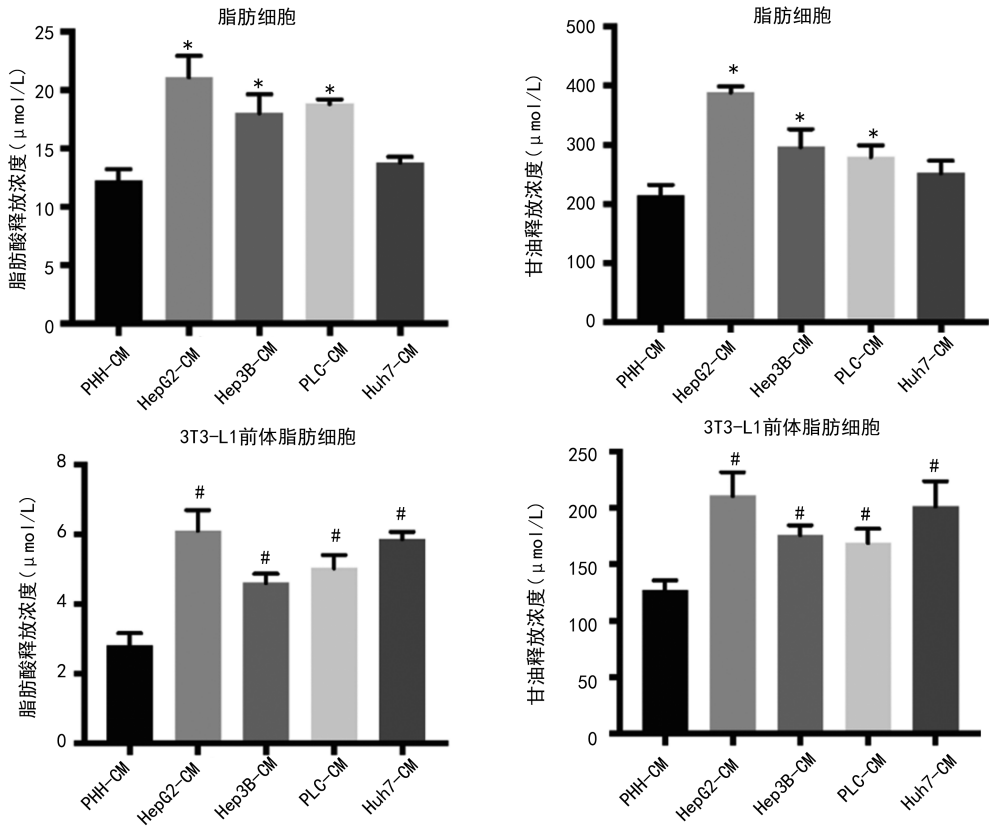
2.2 HCC 细胞 CM 对脂肪细胞、3T3-L1 前体脂肪细胞的脂肪酸释放浓度、甘油释放浓度的影响 使用 HepG2-CM、Hep3B-CM、PLC-CM 处理脂肪细胞,并测定脂肪酸释放浓度、甘油释放浓度[脂肪酸释放浓度依次为(20.94±2.01)、(18.16±18.9)、(19.43±0.48)μmol/L,甘油释放浓度依次为(394.56±8.21)、(299.14±27.71)、(286.33±18.27)μmol/L],与 PHH-CM[脂肪酸释放浓度为(12.32±1.03)μmol/L,甘油释放浓度为(212.37±15.72)μmol/L]比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);使用 HepG2-CM、Hep3B-CM、PLC-CM、Huh7-CM 处理 3T3-L1 前体脂肪细胞,并测定脂肪酸释放浓度、甘油释放浓度[脂肪酸释放浓度依次为(6.07±0.61)、(4.57±

0.27)、(5.11±0.42)、(5.83±0.19)μmol/L,甘油释放浓度依次为(210.25±21.35)、(176.59±8.22)、(168.46±14.49)、(200.62±22.97)μmol/L],与 PHH-CM[脂肪酸释放浓度为(2.75±0.39)μmol/L,甘油释放浓度为(127.03±9.37)μmol/L]比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 HCC 和 PHH 的细胞及外泌体中 miR-622 表达比较 外泌体样本通过其典型的杯状形态(30~200 nm)和外泌体标志物(CD63、HSP70、GM130)进行鉴定。结果显示,外泌体样本呈现 CD63 阳性、HSP70 阳性及 GM130 阴性的表达模式,与外泌体标志物表达特征相符,见图 3。HCC 细胞(HepG2、Hep3B、PLC、Huh7)miR-622 相对表达水平(依次为 0.21±

0.05、0.33±0.05、0.10±0.03、0.19±0.04) 远低于 PHH(1.00±0.17)。同样的, HCC 细胞(HepG2、Hep3B、PLC、Huh7)外泌体中的 miR-622 相对表达水平(依次为 0.13±0.04、0.28±0.08、0.23±0.07、0.24±0.04)也远低于 PHH 外泌体(1.00±0.18)。miR-622 在 HepG2 细胞及其外泌体中的低表达可以

通过 miR-622 的过表达得到逆转(细胞为 68.75±8.23,外泌体为 34.87±5.61)。Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血浆外泌体 miR-622 相对表达水平[0.24(0.09, 0.71)]与非 HCC 肝良性疾病患者[2.96(0.15, 9.01)]比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

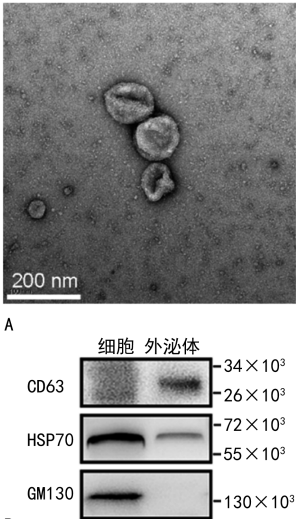


注:与 PHH-CM 比较, * $P<0.05$;与 PHH-CM 比较, # $P<0.05$ 。

图 2 HCC 细胞 CM 对脂肪细胞、3T3-L1 前体脂肪细胞脂肪分解水平的影响

2.4 HCC 细胞分泌的外泌体促进脂肪细胞的脂肪分解 脂肪细胞在接触外泌体 2 h 时即已表现出活跃的内化行为,且随着时间的推移,外泌体内化量持续增加。见图 4。与 PHH 来源的外泌体处理相比[miR-622 相对表达水平为 1.00±0.05,脂肪酸释放浓度(10.67±0.88)μmol/L,甘油释放浓度(211.23±20.65)μmol/L], HepG2 外泌体处理的脂肪细胞 miR-622 相对表达水平(0.42±0.06)降低,并释放出更多的脂肪酸和甘油[脂肪酸释放浓度为(18.44±0.61)μmol/L,甘油释放浓度(351.57±12.38)μmol/L],差异有统计学意义($P<0.05$)。过表达 miR-622 的 HepG2-外泌体则可提高脂肪细胞中 miR-622 的表达水平(4.33±0.86),并导致脂肪分解减弱[脂肪酸释放浓度为(5.54±0.99)μmol/L,甘油释放浓度为(138.26±20.24)μmol/L],差异有统计学意义($P<0.05$)。与非 HCC 肝良性疾病患者血浆外泌体相比[脂肪细胞 miR-622 相对表达水平为 1.00±0.10,脂肪酸释放浓度(8.98±1.28)μmol/L,甘油释放浓度(188.26±10.75)μmol/L],Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血浆外泌体能够下调脂肪细胞 miR-622 相对表达水平

(0.44±0.18),并激活脂肪分解过程[脂肪酸释放浓度(14.86±0.34)μmol/L,甘油释放浓度(308.55±12.85)μmol/L,差异有统计学意义($P<0.05$)]。



注:A 为电子显微镜展示外泌体形态(×500 000);B 为 Western Blot 分析 HepG2 细胞及其外泌体中 CD63、HSP70、GM130 表达情况。

图 3 外泌体样本的鉴定

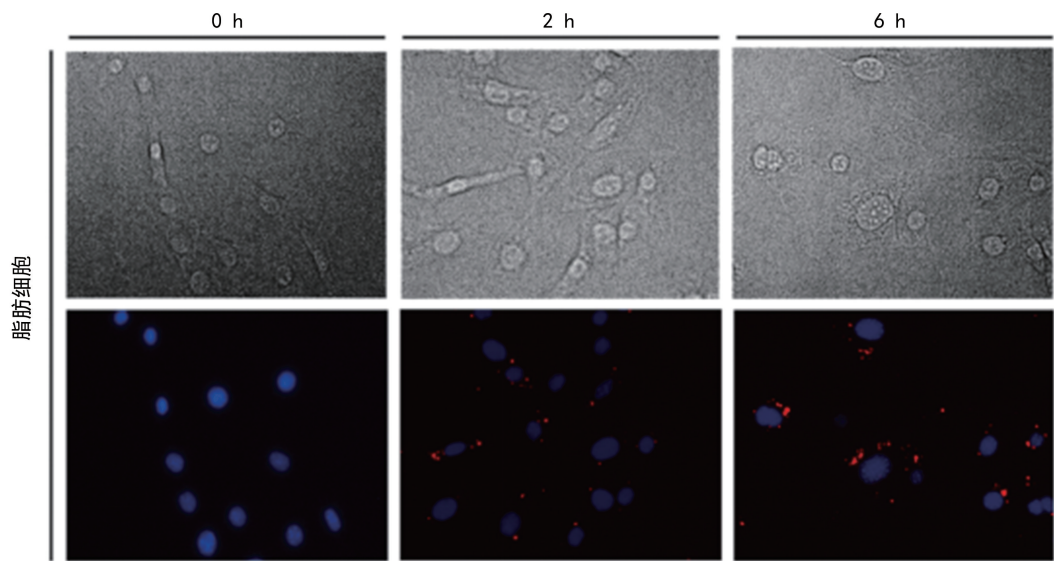


图 4 外泌体进入脂肪细胞的情况(×400)

3 讨论

通过对Ⅲ~Ⅳ期 HCC 患者血液样本的测序分析,本研究结果发现,miR-622 在高 SAI、VAI 的 HCC 患者中表达较高;HCC 细胞中 miR-622 表达失调,并通过外泌体将 miR-622 传递至脂肪细胞中,导致脂肪分解增加和恶病质。

恶病质是晚期癌症患者常见的临床症状,其主要特征表现为进行性体重减轻,包括骨骼肌和脂肪组织的显著减少。有研究表明,恶病质不仅显著降低患者的生活质量,还与较短的生存期和较差的治疗反应密切相关^[26]。因此,有必要研究恶病质的生物学基础,并确定预防和治疗恶病质的新靶点。本研究聚焦于 miR 在 HCC 恶病质中的作用,特别是 miR-622 表达与脂肪代谢的关系。本研究结果表明,提高细胞系和血浆外泌体中 miR-622 表达能显著减弱脂肪分解的激活,这表明 miR 靶向治疗是一种很有前景的恶病质治疗策略。

外泌体是一类由细胞分泌的纳米级膜囊泡,可以携带蛋白质、mRNA 和 miR 等生物活性分子传递给靶细胞,在细胞间通讯中发挥着重要作用^[27-28]。最新研究表明,外泌体非编码 RNA 能够干扰肿瘤微环境,进而参与恶性肿瘤表型特征的调控,如增殖、耐药性和代谢变化^[29-32]。有研究发现,癌相关成纤维细胞来源的外泌体中的结直肠癌相关长链非编码 RNA 可能促使癌细胞向更恶性的表型发展,并发挥致癌长链非编码 RNA 的作用^[23]。此外,FONG 等^[33]报道了乳腺癌细胞来源的携带 miR-122 的外泌体通过抑制靶基因丙酮酸激酶表达,从而显著降低非肿瘤细胞的葡萄糖摄取和乳酸产生。这种代谢重编程使得更多的葡萄糖可以被肿瘤细胞利用,从而促进肿瘤的转移和生长。这表明外泌体在肿瘤微环境的代谢变化中起着至关重要的作用。

miR-622 已被确定为 HCC 的肿瘤抑制因子^[34-35]。然而,miR-622 在恶病质中的作用仍然未知。本研究发现,外泌体 miR-622 在 HCC 细胞和脂

肪细胞之间发挥着沟通作用,调节 HCC 患者的脂肪代谢。有报道称 miR-622 通过核因子 κ B 通路在氧-葡萄糖剥夺和再氧合诱导的细胞损伤中起关键调节作用^[36]。已有研究提供了强有力的证据,证明 miR-622 通过靶向 c-Myc 影响胆管癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[37]。本研究发现,HCC 细胞将低表达 miR-622 的外泌体输送到脂肪细胞,并在外泌体进入脂肪细胞后促进脂肪分解。

miR-622 在 HCC 相关恶病质中具有潜在作用,未来的工作应当致力于确定 miR-622 的下游靶点及信号通路,揭示其调控脂肪代谢的分子机制,以及在更大规模的临床样本和前瞻性队列中检测 miR-622 表达以验证其作为 HCC 相关恶病质生物标志物的潜力。

综上所述,与 PHH 相比,HCC 分泌的外泌体中 miR-622 相对表达水平显著降低,血浆外泌体 miR-622 可能成为预测 HCC 恶病质的生物标志物及治疗靶点。

参考文献

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] FORNER A, REIG M, BRUIX J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2018, 391(10127): 1301-1314.
- [3] HAN B, ZHENG R, ZENG H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47-53.
- [4] GRANDHI M S, KIM A K, RONNEKLEIV-KELLY S M, et al. Hepatocellular carcinoma: from diagnosis to treatment[J]. Surg Oncol, 2016, 25(2): 74-85.
- [5] LADD A D, DUARTE S, SAHIN I, et al. Mechanisms of drug resistance in HCC[J]. Hepatology, 2024, 79(4): 926-940.
- [6] FEARON K, STRASSER F, ANKER S D, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus[J]. Lancet Oncol, 2011, 12(5): 489-495.

- [7] INUI A. Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management[J]. *CA Cancer J Clin*, 2002, 52(2):72-91.
- [8] SETIAWAN T, SARI I N, WIJAYA Y T, et al. Cancer cachexia: molecular mechanisms and treatment strategies [J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1):54.
- [9] BARACOS V E, MARTIN L, KORC M, et al. Cancer-associated cachexia[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4(1): 17105.
- [10] SCHMIDT S F, ROHM M, HERZIG S, et al. Cancer cachexia: more than skeletal muscle wasting [J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(12):849-860.
- [11] SADEGHI M, KESHAVARZ-FATHI M, BARACOS V, et al. Cancer cachexia: diagnosis, assessment, and treatment[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 127(1):91-104.
- [12] MACDONAGH L, GRAY S G, FINN S P, et al. The emerging role of microRNAs in resistance to lung cancer treatments[J]. *Cancer Treat Rev*, 2015, 41(2):160-169.
- [13] DONG H, LEI J, DING L, et al. MicroRNA: function, detection, and bioanalysis [J]. *Chem Rev*, 2013, 113(8): 6207-6233.
- [14] SLACK F J, CHINNAIYAN A M. The role of non-coding RNAs in oncology[J]. *Cell*, 2019, 179(5):1033-1055.
- [15] HE W A, CALORE F, LONDHE P, et al. Microvesicles containing miRNAs promote muscle cell death in cancer cachexia via TLR7[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(12):4525-4529.
- [16] KULYTE A, LORENTE-CEBRIAN S, GAO H, et al. MicroRNA profiling links miR-378 to enhanced adipocyte lipolysis in human cancer cachexia[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 306(3):267-274.
- [17] CAMARGO R G, QUINTAS T R H, GERALDO M V, et al. Cancer cachexia and microRNAs[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:367561.
- [18] MARINHO R, ALCANTARA P S M, OTTOCH J P, et al. Role of exosomal microRNAs and myomiRs in the development of cancer cachexia-associated muscle wasting [J]. *Front Nutr*, 2018, 4(1):69.
- [19] IMAI K, TAKAI K, MIWA T, et al. Rapid depletions of subcutaneous fat mass and skeletal muscle mass predict worse survival in patients with hepatocellular carcinoma treated with sorafenib[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(8):1206.
- [20] RAYALAM S, DELLA-FERA M A, YANG J Y, et al. Resveratrol potentiates genistein's antiadipogenic and proapoptotic effects in 3T3-L1 adipocytes [J]. *J Nutr*, 2007, 137(12):2668-2673.
- [21] CAO Y, SUN Z, LIAO L, et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332(2):370-379.
- [22] PFEIFFER E, KEGEL V, ZEILINGER K, et al. Featured article: isolation, characterization, and cultivation of human hepatocytes and non-parenchymal liver cells[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(5):645-656.
- [23] DENG X, RUAN H, ZHANG X, et al. Long noncoding RNA CCAL transferred from fibroblasts by exosomes promotes chemoresistance of colorectal cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(6):1700-1716.
- [24] MITCHELL P S, PARKIN R K, KROH E M, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30):10513-10518.
- [25] KONG F, KONG X, DU Y, et al. STK33 promotes growth and progression of pancreatic cancer as a critical downstream mediator of HIF1[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(24): 6851-6862.
- [26] ROCH B, COFFY A, JEAN-BAPTISTE S, et al. Cachexia-sarcopenia as a determinant of disease control rate and survival in non-small lung cancer patients receiving immune-checkpoint inhibitors[J]. *Lung Cancer*, 2020, 143(1):19-26.
- [27] ZHANG J, LI S, LI L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, 13(1):17-24.
- [28] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478):eaau6977.
- [29] MAO L, LI X, GONG S, et al. Serum exosomes contain ECRG4 mRNA that suppresses tumor growth via inhibition of genes involved in inflammation, cell proliferation, and angiogenesis[J]. *Cancer Gene Ther*, 2018, 25(9/10): 248-259.
- [30] SUN Z, SHI K, YANG S, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):147.
- [31] CUNHA E, YING W, OLEFSKY J M. Exosome-mediated impact on systemic metabolism[J]. *Annu Rev Physiol*, 2024, 86(1):225-253.
- [32] ISAAC R, REIS F C G, YING W, et al. Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(9):1744-1762.
- [33] FONG M Y, ZHOU W, LIU L, et al. Breast-cancer-secreted miR-122 reprograms glucose metabolism in premetastatic niche to promote metastasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(2):183-194.
- [34] LIU H, LIU Y, LIU W, et al. EZH2-mediated loss of miR-622 determines CXCR4 activation in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1):8494.
- [35] SONG W H, FENG X J, GONG S J, et al. microRNA-622 acts as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(12):1754-1763.
- [36] JIANG S, ZHAO G, LU J, et al. Silencing of circular RNA ANRIL attenuates oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced injury in human brain microvascular endothelial cells by sponging miR-622[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1):27.
- [37] WU Y F, LI Z R, CHENG Z Q, et al. Decrease of miR-622 expression promoted the proliferation, migration and invasion of cholangiocarcinoma cells by targeting regulation of c-Myc [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96(1):7-13.