

• 论 著 •

miR-29b-2-5p 及 STX16 在肝细胞癌中的表达及预后^{*}

张小霞¹, 缪小兵², 吴雅珣², 顾钱辉³, 刘继斌^{4△}

1. 南通大学附属肿瘤医院/南通市肿瘤医院检验科, 江苏南通 226361; 2. 南通大学附属肿瘤医院/南通市肿瘤医院病理科, 江苏南通 226361; 3. 昆山市第一人民医院肿瘤科, 江苏苏州 215300; 4. 南通大学附属肿瘤医院/南通市肿瘤医院科教科, 江苏南通 226361

摘要:目的 探讨微小 RNA-29b-2-5p(miR-29b-2-5p)及突触融合蛋白质 16(STX16)在肝细胞癌(HCC)中的表达情况及预后价值。方法 收集 2013 年 1 月至 2020 年 9 月在南通市肿瘤医院确诊的 88 例 HCC 患者的癌组织和癌旁组织,实时荧光定量 PCR 分析癌组织与癌旁组织中 miR-29b-2-5p 与 STX16 的表达情况,免疫组化分析癌组织与癌旁组织中 STX16 蛋白的表达情况,Pearson 相关分析 miR-29b-2-5p 与 STX16 的相关性,非参数 χ^2 检验分析二者与临床病理参数的关系,Kaplan-Meier 生存曲线分析二者表达情况与预后的关系。结果 88 例 HCC 患者癌组织 miR-29b-2-5p 相对表达水平为 0.780(0.351,1.708),癌旁组织为 1.014(0.458,3.124),癌组织相对表达水平低于癌旁组织($P=0.012$)。88 例 HCC 患者癌组织 STX16 mRNA 相对表达水平为 0.775(0.406,0.946),癌旁组织为 0.368(0.080,1.301),癌组织相对表达水平高于癌旁组织($P<0.01$)。免疫组化结果提示,STX16 在细胞质中表达,且癌组织表达高于癌旁组织($P<0.05$)。癌组织 miR-29b-2-5p 的表达与肿瘤分期有关($P<0.05$),STX16 的表达与肿瘤分期、甲胎蛋白有关($P<0.05$)。miR-29b-2-5p 低表达者的总生存期(OS)较高表达者缩短,STX16 高表达者的 OS 较低表达者缩短($P<0.05$)。结论 HCC 患者癌组织中 miR-29b-2-5p 呈低表达,STX16 呈高表达,二者联合检测可有效评估 HCC 患者的预后。

关键词:肝细胞癌; 微小 RNA-29b-2-5p; 突触融合蛋白质 16; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.06.003

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2025)06-0651-07

文献标志码:A

Expression and prognosis of miR-29b-2-5p and STX16 in hepatocellular carcinoma^{*}

ZHANG Xiaoxia¹, MIAO Xiaobing², WU Yaxun², GU Qianhui³, LIU Jibin^{4△}

1. Department of Clinical Laboratory, Tumor Hospital Affiliated to Nantong University/ Nantong Tumor Hospital, Nantong, Jiangsu 226361, China; 2. Department of Pathology, Tumor Hospital Affiliated to Nantong University/ Nantong Tumor Hospital, Nantong, Jiangsu 226361, China; 3. Department of Oncology, the First People's Hospital of Kunshan, Suzhou, Jiangsu 215300, China; 4. Department of Science and Education, Tumor Hospital Affiliated to Nantong University/ Nantong Tumor Hospital, Nantong, Jiangsu 226361, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and prognostic value of microRNA-29b-2-5p (miR-29b-2-5p) and syntaxin 16 (STX16) in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The cancer tissues and adjacent tissues of 88 HCC patients diagnosed in Nantong Tumor Hospital from January 2013 to September 2020 were collected. The expressions of miR-29b-2-5p and STX16 in cancer tissues and adjacent tissues were analyzed by real-time fluorescent quantitative PCR. The expression of STX16 protein in cancer tissues and adjacent tissues were analyzed by immunohistochemistry. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between miR-29b-2-5p and STX16. Non-parametric χ^2 test was used to analyze the relationship between the expression of the two proteins and clinicopathological parameters, and Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the relationship between the expression of the two proteins and prognosis. **Results** The relative expression level of miR-29b-2-5p was 0.780(0.351,1.708) in cancer tissues and 1.014(0.458,3.124) in adjacent tissues in 88 HCC patients. The relative expression level of miR-29b-2-5p in cancer tissues was significantly lower than that in adjacent tissues ($P=0.012$). The relative expression level of STX16 mRNA was

^{*} 基金项目:江苏省卫生健康委科技项目(Z2020023);南通大学临床医学专项项目(2022JZ014)。

作者简介:张小霞,女,主管技师,主要从事分子诊断相关研究。 △ 通信作者, E-mail: tians2008@ntu.edu.cn。

0.775(0.406,0.946) in cancer tissues and 0.368(0.080,1.301) in adjacent tissues in 88 HCC patients. The relative expression level of STX16 mRNA in cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ($P<0.01$). Immunohistochemical results showed that STX16 was expressed in the cytoplasm, and the expression of STX16 in cancer tissues was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of miR-29b-2-5p in cancer tissues was related to cancer stage ($P<0.05$), and the expression of STX16 was related to cancer stage and alpha-fetoprotein ($P<0.05$). Patients with low miR-29b-2-5p expression had a shorter overall survival (OS) than those with high miR-29b-2-5p expression, and patients with high STX16 expression had a shorter OS than those with low STX16 expression ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of miR-29b-2-5p is low and STX16 is high in HCC tissues. The combined detection of miR-29b-2-5p and STX16 can effectively evaluate the prognosis of HCC patients.

Key words:hepatocellular carcinoma; microRNA-29b-2-5p; syntaxin 16; prognosis

肝细胞癌(HCC)是常见的实体恶性肿瘤,约占肝癌的90%,全球死亡率为8.3%^[1]。因其发生和形成极其复杂,预后和5年生存率均不乐观^[2-5],因此,有必要探索新的更敏感的肝癌相关分子,为肝癌的诊断、预后治疗和判断提供依据。非编码RNA(ncRNA)是一类不编码蛋白质的RNA,可通过调节基因表达水平参与肿瘤的发生与发展^[6-9],其中,微小RNA(miRNA)是一类长度为21~23个核苷酸的小分子ncRNA。miRNA是一把“双刃剑”,与肿瘤发生、进展、转移及肿瘤抑制有关^[10-13],它是一种无创性的特异性标志物,可用于评估疾病的预后和肿瘤的分类^[14-18]。微小RNA-29b-2-5p(miR-29b-2-5p)在胰腺导管癌、乳腺癌中发挥重要作用,但在HCC中的研究较少,基于此,本研究从miRNA、mRNA、蛋白质3个层面描述了miR-29b-2-5p及其负相关基因突触融合蛋白质16(STX16)在HCC中的表达情况,及其与临床病理参数、预后的关系,探讨二者在HCC中的预后价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2013年1月至2020年9月南通市肿瘤医院经手术治疗的88例HCC患者为研究对象,其中男77例,女11例;年龄30~76岁,平均(57.51±10.39)岁。纳入标准:(1)首次行肝癌根治术;(2)诊断均经过CT影像及病理检查证实;(3)术前未行放化疗、免疫治疗、靶向治疗等。排除标准:(1)合并其他系统恶性肿瘤;(2)有重大脏器相关疾病;(3)临床资料不完整。本研究所有研究对象均知情且同意,并且已经通过南通市肿瘤医院伦理委员会批准(2022-059)。

1.2 仪器与试剂 AB-2720扩增仪、ABI-7500扩增仪购自美国生物应用公司, QP-120石蜡切片机、PH60烘片机购自常州派斯杰公司, Trizol、逆转录试剂购自美国 Thermo 公司, AceQ™ Universal SYBR 实时荧光定量 PCR(qPCR) Master Mix 购自南京 Vazyme 公司, miR-29b-2-5p 引物、U6 内参引物、STX16 mRNA 引物、GAPDH 内参引物、DEPC 处理水购自美国 Sangon 公司, 三氯甲烷、异丙醇购自南京

化学试剂公司, SM801 抗体封闭剂、SM802 二抗购自丹麦 Dako 公司, STX16 抗体购自英国 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 组织总 RNA 的提取 首先称取 HCC 患者 30~40 mg 癌组织,剪碎后加入 1 mL Trizol,吹打混匀后于 4 ℃研磨机器研磨 10 min,吸取上清液,加入 200 μL 氯仿,涡旋混合器混匀约 15 s,直至出现粉红色奶昔状,冰盒中静置 2~3 min,至略有分层后置 4 ℃微量高速冷冻离心机离心 15 min(12 000 r/min)。吸取上层水相液体,加入约 500 μL 的异丙醇,颠倒混匀后冰上静置 15 min,4 ℃离心 10 min(12 000 r/min),吸弃上清液,保留沉淀,加入 1 mL 75%乙醇颠倒混匀,4 ℃离心 10 min(7 500 r/min),吸弃上清液,保留沉淀。最后 50 ℃烘箱孵育 5 min,直至胶状沉淀变透明,加入 30 μL 的 DEPC 水,吹打混匀,至无胶质状,60 ℃孵育 10 min,即得到 RNA 原液,随即于核酸蛋白检测仪检测所提取的 RNA 的浓度与纯度,最后选择吸光度(A₂₆₀/A₂₈₀)在 1.8~2.0 的 RNA 原液做好标识备用。

1.3.2 逆转录 选择测量合格后的 RNA 进行逆转录,miR-29b-2-5p 逆转录体系(20 μL)为 4 μL 5×Reaction Buffer、2 μL dNTPs(10 nmol/L)、1 μL RI、1 μL RT、1 μL miR RT 茎环引物(10 μmol/L)、1 μL U6R(10 μmol/L)、10 μL 总 RNA。PCR 仪设置程序:5 ℃ 5 min,42 ℃ 60 min,70 ℃ 10 min,4 ℃至反应结束。miR-29b-2-5p 逆转录 RT 茎环引物序列为 5'-CTCAACTGGTGTCTGTCGGAGTCGCAAT-TCAGTTGAGCTAAGCCA-3',内参 U6 序列为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'。STX16 mRNA 逆转录体系(20 μL)为 4 μL 4×gDNA wiper Mix、10 μL Total RNA、2 μL Rnase-free ddH₂O、4 μL 5×HiScript III qRT SuperMix,PCR 仪设置程序:37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,4 ℃至反应结束。

1.3.3 qPCR 扩增 miR-29b-2-5p 以 U6 为内参,扩增体系(20 μL)为 10 μL SYBR Green I Master mix(Rox)、1 μL Forward primer、1 μL Reverse primer、2

μL cDNA、 $6\ \mu\text{L}$ RNase-free H_2O 、PCR 仪器设置程序: $95\ ^\circ\text{C}$ 20 s, $95\ ^\circ\text{C}$ 15 s, $60\ ^\circ\text{C}$ 20 s, $72\ ^\circ\text{C}$ 10 s, $95\ ^\circ\text{C}$ 15 s, $60\ ^\circ\text{C}$ 1 min, $95\ ^\circ\text{C}$ 15 s, 共 40 个循环。STX16 mRNA 以 GAPDH 为内参, 扩增体系 ($20\ \mu\text{L}$) 为 $10\ \mu\text{L}$ $2\times\text{AceQ Universal SYBR Master Mix}$ 、 $0.4\ \mu\text{L}$ Primer1 ($10\ \mu\text{mol/L}$)、 $0.4\ \mu\text{L}$ Primer2 ($10\ \mu\text{mol/L}$)、 $1.5\ \mu\text{L}$ Template cDNA、 $7.7\ \mu\text{L}$ dd H_2O 、PCR 仪器设置程序: $95\ ^\circ\text{C}$ 5 min, $95\ ^\circ\text{C}$ 10 s, $60\ ^\circ\text{C}$ 34 s, $95\ ^\circ\text{C}$ 15 s, $60\ ^\circ\text{C}$ 1 min, $95\ ^\circ\text{C}$ 15 s, 共 40 个循环, miR-29b-2-5p 正向引物序列为 5'-ACACTCCAGCTGGGCTGGTTTCACATGGTG-3', miR-29b-2-5p 反向引物序列为 5'-CTCAACTGGTGTCGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGCTAAGCCA-3'; U6 正向引物序列为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', U6 反向引物序列为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'; STX16 mRNA 正向引物序列为 5'-GATCACTCAGCTCTTCCACA-3', STX16 mRNA 反向引物序列为 5'-CTTCATGCGTTTGAGGTAGC-3'; GAPDH 正向引物序列为 GAAGGTGAAGGTCGAGAGTC-3', GAPDH 反向引物序列为 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'。

1.3.4 免疫组化检测 STX16 蛋白的表达 取 88 例患者的石蜡切片, 切片厚度为 $3\ \mu\text{m}$, 每例 2 张。烘片、脱蜡、脱水和修复后, 孵一抗 STX16 抗体、孵二抗 SM802, 然后进行显影、磷酸盐缓冲液冲洗、苏木素染色等, 最后封片。STX16 判定标准: 镜下每张切片随机观察 6 个视野, 记录每个视野 STX16 阳性的细胞染色强度及所占百分比并记录评分, 再求其平均数。染色强度评分: 0 分, 未检出或微量; 1 分, 弱阳性; 2 分, 强阳性。阳性细胞百分比: 0 分, 无阳性细胞; 1 分, $0\sim<26\%$ 阳性细胞; 2 分, $26\%\sim<51\%$ 阳性细胞; 3 分, $51\%\sim<76\%$ 的阳性细胞; 4 分, $76\%\sim100\%$ 的阳性细胞。

1.3.5 数据库预测 miR-29b-2-5p 差异表达的相关基因 采用 miRDB、miRTarBase、TargetScan 数据库分

别预测 miR-29b-2-5p 的相关基因, 取三者交集基因, 再通过癌症基因组图谱 (TCGA)、美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 等数据库剔除在 HCC 癌组织和癌旁组织中表达不存在差异的基因, 对剩下的基因进行 qPCR 预试验验证, 再通过 Targetscan 数据库进行序列比对, 分析二者之间是否存在碱基互补区域。

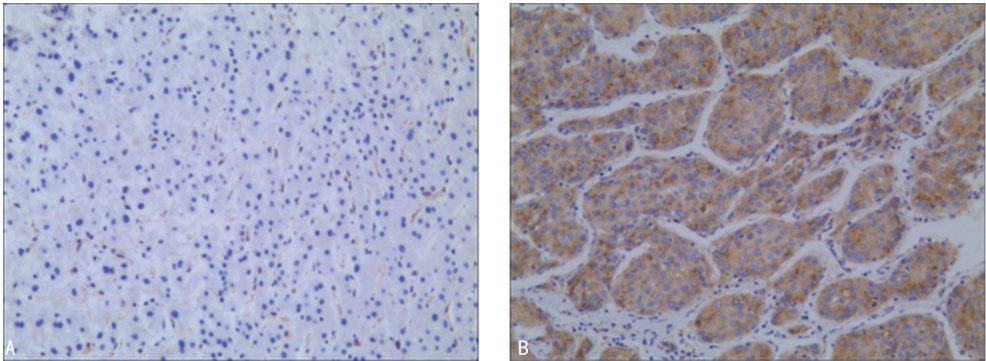
1.3.6 预后随访 本研究记录患者术后生存时间。随访起始日期为患者手术后当天, 随访截止日期为 2023 年 6 月 9 日, 本研究中不存在失访情况。总生存期 (OS) 定义为自术后至全因死亡或随访截止时间。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 和 Graphpad Prism5.0 进行统计分析。不呈正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用非参数秩和检验; 计数资料以例数和百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 采用 Pearson 相关分析 miR-29b-2-5p、STX16 mRNA 的相关性; 采用 Kaplan-Meier 生存曲线进行生存分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 癌组织和癌旁组织 miR-29b-2-5p、STX16 mRNA 的表达情况比较 qPCR 结果显示, 88 例 HCC 患者癌组织 miR-29b-2-5p 相对表达水平为 $0.780(0.351, 1.708)$, 癌旁组织为 $1.014(0.458, 3.124)$, 癌组织相对表达水平低于癌旁组织 ($P=0.012$)。88 例 HCC 患者癌组织 STX16 mRNA 相对表达水平为 $0.775(0.406, 0.946)$, 癌旁组织为 $0.368(0.080, 1.301)$, 癌组织相对表达水平高于癌旁组织 ($P<0.01$)。TCGA 数据库中 STX16 mRNA 在 51 例 HCC 患者癌组织中的表达高于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P<0.001$)。

2.2 HCC 癌组织中 STX16 蛋白的表达情况 免疫组化结果显示, STX16 棕褐色的阳性染色位于细胞质, 且癌组织表达高于癌旁组织, 癌组织中 STX16 表达阳性率为 $45.45\%(40/88)$, 高于癌旁组织的 $10.23\%(9/88)$, 差异有统计学意义 ($\chi^2=7.63, P=0.008$)。见图 1。



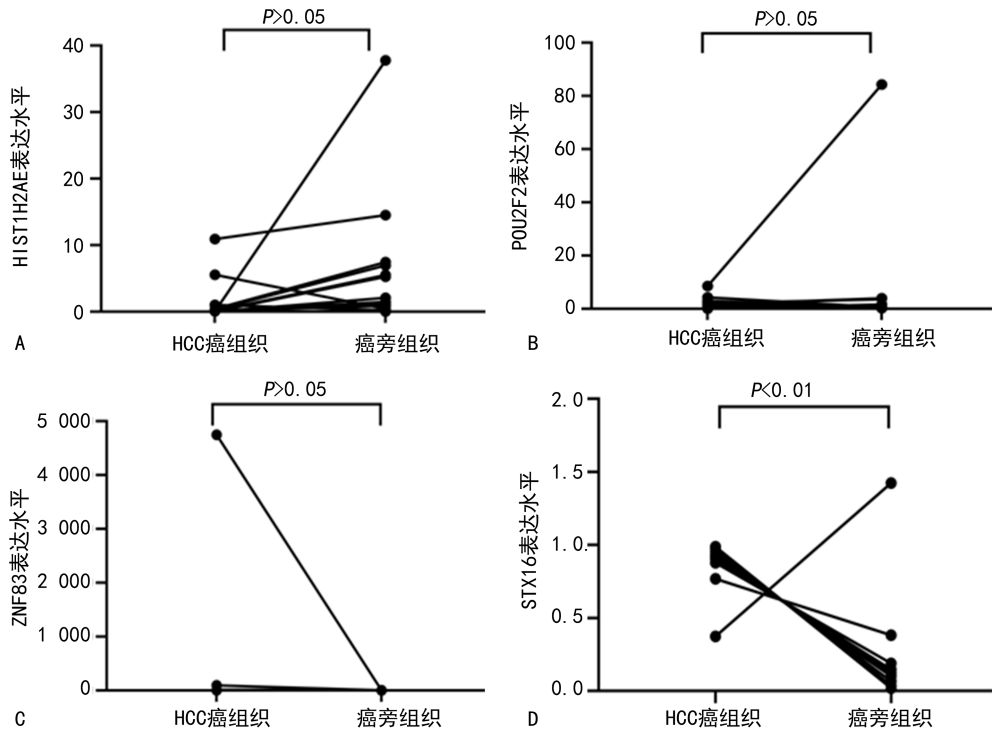
注: A 为 STX16 在癌旁组织中的表达; B 为 STX16 在癌组织中的表达。

图 1 STX16 蛋白的表达情况 ($\times 400$)

2.3 miR-29b-2-5p 和 STX16 mRNA 的相关性

qPCR 结果显示, 数据库筛选出的 4 个基因 (HIST1H2AE、POU2F2、ZNF83、STX16) 中, 仅 STX16 mRNA 在 HCC 患者癌组织的表达高于癌旁组织 ($P < 0.01$), 见图 2。TargetsCan 数据库提示, miR-29b-2-5p 和 STX16mRNA 存在碱基互补区域,

见图 3。此外, 相关分析结果显示, miR-29b-2-5p 与 STX16 mRNA 在 88 例 HCC 患者癌组织和 TCGA 数据库 364 例 HCC 患者癌组织中均呈负相关, 差异有统计学意义 ($r = -0.21$ 、 -0.16 , $P = 0.04$ 、 < 0.01), 双向验证了数据库的预测。



注: A~D 分别为 HCC 患者癌组织和癌旁组织中 HIST1H2AE、POU2F2、ZNF83、STX16 表达情况。

图 2 qPCR 检测 miR-29b-2-5p 预测相关基因的表达情况

STX16 3'UTR 的 608-614 位点	5' ...AAGUGUGAAAAUAAGAAACCAU...
miR-29b-2-5p	3' GAUUCGGUGGUACACUUUGGUC
STX16 3' UTR 的 731-737 位点	5' ...UGCAUUUUUCUACUGUAAACCAAA...
miR-29b-2-5p	3' GAUUCGGUGGUACACUUUGGUC
STX16 3'UTR 的 3147-3153 位点	5' ...UUUUGUCCUUUUUUAAAACCAU...
miR-29b-2-5p	3' GAUUCGGUGGUACACUUUGGUC

图 3 TargetsCan 数据库进行 miR-29b-2-5p 与 STX16 mRNA 的序列比对

2.4 HCC 患者癌组织 STX16、miR-29b-2-5p 表达与临床病理参数的关系

根据 X-tile 软件计算 miR-29b-2-5p 的最佳临界值为 0.26, 按此标准将 HCC 患者分为 miR-29b-2-5p 低表达组 (23 例) 和高表达组

(65 例); 取 STX16 免疫组化评分均值 5.7 为最佳临界值, 将 HCC 患者分为 STX16 低表达组 (48 例) 和高表达组 (40 例)。结果显示, miR-29b-2-5p 表达与肿瘤分期 ($P = 0.022$) 有关, STX16 表达与肿瘤分期

($P=0.037$)、甲胎蛋白(AFP, $P=0.015$)有关。见表 1。

表 1 HCC 癌组织 STX16、miR-29b-2-5p 表达与临床病理参数的关系(n)

临床病理参数	n	miR-29b-2-5p				STX16			
		低表达组 ($n=23$)	高表达组 ($n=65$)	χ^2	P	低表达组 ($n=48$)	高表达组 ($n=40$)	χ^2	P
性别				0.681	0.409			0.419	0.517
男	77	19	58			43	34		
女	11	4	7			5	6		
年龄(岁)				0.779	0.378			0.960	0.327
≤53	39	12	27			19	20		
>53	49	11	38			29	20		
肿瘤最大径(cm)				0.922	0.337			0.669	0.413
≤5	46	14	32			27	19		
>5	42	9	33			21	21		
肿瘤分期				5.296	0.022			4.367	0.037
I~Ⅱ期	37	5	32			25	12		
Ⅲ~Ⅳ期	51	18	33			23	28		
肿瘤数目(个)				0.412	0.521			0.900	1.000
1	77	21	56			42	35		
>1	11	2	9			6	5		
肝门淋巴结转移				1.123	0.289			2.948	0.086
无	78	19	59			40	38		
有	10	4	6			8	2		
乙型肝炎史				1.430	0.232			2.695	0.101
无	40	8	32			18	22		
有	48	15	33			30	18		
远处转移				1.439	0.230			0.503	0.478
无	69	16	53			39	30		
有	19	7	12			9	10		
AFP(ng/mL)				0.681	0.409			5.893	0.015
≤400	56	13	43			36	20		
>400	32	10	22			12	20		

2.5 miR-29b-2-5p、STX16 的生存分析 Kaplan-Meier 生存曲线结果显示,88 例 HCC 患者癌组织中 miR-29b-2-5p 高表达组的 OS 长于 miR-29b-2-5p 低表达组($P=0.016$),见图 4。88 例 HCC 患者癌组织和 TCGA 数据库 371 例 HCC 患者癌组织中 STX16 高表达组的 OS 均短于 STX16 低表达组($P<0.01$),见图 5、6。此外,本研究亦分析了 miR-29b-2-5p 及 STX16 联合检测对预后判断的价值,将 88 例 HCC 患者癌组织分为 4 组,STX16 低表达且 miR-29b-2-5p 低表达组(A 组,14 例)、STX16 低表达且 miR-29b-2-5p 高表达组(B 组,34 例)、STX16 高表达且 miR-29b-2-5p 高表达组(C 组 31 例)、STX16 高表达且

miR-29b-2-5p 低表达组(D 组,9 例)。生存分析结果提示,B 组的 OS 较其他 3 组延长,D 组的 OS 在 4 组中最短($P=0.024$),见图 7。

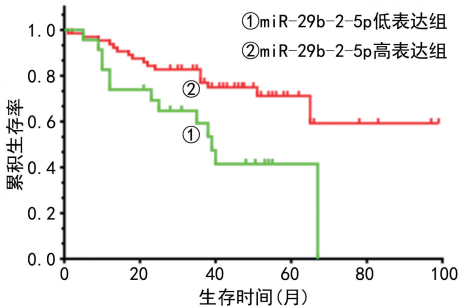


图 4 88 例 HCC 患者癌组织中 miR-29b-2-5p 的生存分析

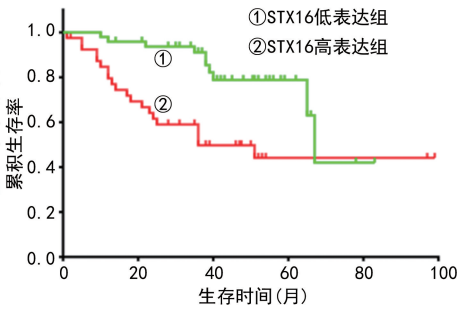


图 5 88 例 HCC 患者癌组织中 STX16 的生存分析

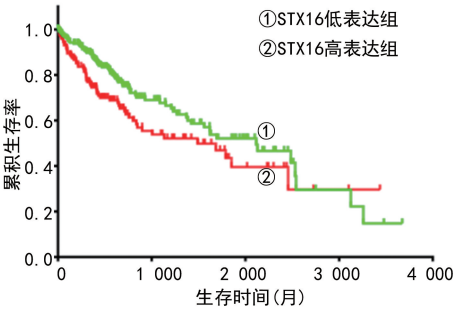


图 6 TCGA 数据库 371 例 HCC 患者组织中 STX16 的生存分析

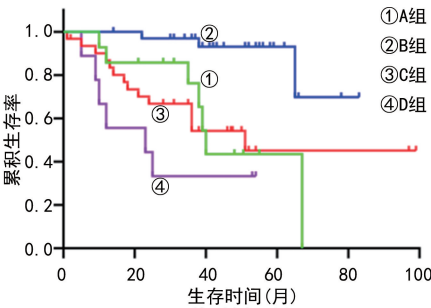


图 7 STX16 与 miRNA29b-2-5p 联合检测生存分析

3 讨 论

HCC 是日益严重的全球公共卫生负担,它是全球第六大常见的癌症^[19]。尽管 HCC 在早期诊断和手术技术方面取得了一定的进步,但根治性切除术后肿瘤复发率仍然很高(50%~60%)^[20]。miR-29b-2-5p 是 miRNA-29 家族的成员,已被证实与多种疾病相关^[21-24],胰腺癌中,miR-29b-2-5p 被证实可促进胰腺癌的增殖和转移^[25];乳腺癌中,患者血浆中 miR-29b-2-5p 水平降低,表明其在乳腺癌中具有诊断潜力^[26];胃癌中,血清外泌体 miR-29b 表达与组织基质金属蛋白酶-2 呈负相关,可作为预测胃癌根治性胃切除术后复发的生物标志物^[27]。

本研究通过数据库筛选出了与 miR-29b-2-5p 相关的 4 个潜在基因,但结果证实仅有 STX16 在 HCC 癌组织的表达高于癌旁组织。并且通过 Targetscan 数据库推测二者可能存在调控作用。由于 miRNA 是一种短的单链非编码 RNA,基于碱基互补配对原则,与靶基因非翻译区碱基配对,然后成熟的 miRNA 整合到 RNA 诱导的沉默复合物中,通过与靶 mRNA 结

合来调节基因表达,从而阻断核糖体的加工并抑制 mRNA 的翻译^[28-30]。作为转录后的守门人,miRNA 通过与信使 RNA 结合并在翻译过程中发挥降解或抑制作用来控制基因的表达^[28-29]。本研究中结果表明,miR-29b-2-5p 与 STX16 mRNA 呈负相关,使数据库的结果得到了验证。

本研究发现,88 例 HCC 患者癌组织中的 miR-29b-2-5p 表达低于癌旁组织,STX16 表达高于癌旁组织,与数据库结论一致,提示 miR-29b-2-5p 与 STX16 之间可能存在相互作用,共同参与 HCC 的进展。本研究结果显示,HCC 患者癌组织 miR-29b-2-5p 的表达与肿瘤分期有关,STX16 的表达与肿瘤分期、AFP 表达有关。miR-29b-2-5p 高表达组的 OS、STX16 低表达组的 OS 分别长于 miR-29b-2-5p 低表达组、STX16 高表达组,且与 TCGA 数据库结论一致。并且二者联合检测时,miR-29b-2-5p 高表达且 STX16 低表达时的 OS 长于二者其他表达情况下的 OS,种种结论提示二者的异常表达可能导致 HCC 患者预后不良,临床上可通过检测二者表达水平评估 HCC 患者的预后情况,且解除 miR-29b-2-5p 的抑制因素可作为肝癌治疗的有效途径。但本研究只证明 STX16 可作为 miR-29b-2-5p 的负相关基因,虽然已证实二者存在碱基互补序列,但笔者并未通过荧光素酶试验验证 STX16 即是 miR-29b-2-5p 的靶基因,二者之间的作用机制将在后续的试验中进一步验证。

综上所述,本研究从 miRNA、mRNA、蛋白质 3 个层面描述了 miR-29b-2-5p、STX16 在 HCC 中的差异表达情况、与临床病理参数的关系及与预后的关系。本研究证实了 miR-29b-2-5p 与 STX16 都与 HCC 患者预后有关,二者联合检测可为 HCC 患者的动态监测提供理论依据,可有效评估 HCC 患者的预后,并对于临床制订治疗计划和提供姑息治疗具有重要意义。但本研究纳入病例数较少,且只通过数据库预测 STX16 可作为 miR-29b-2-5p 的潜在靶基因,并未进行试验验证二者之间的作用机制,笔者将在后续的试验中继续完善本研究,进一步探讨二者的作用机制。

参考文献

[1] YOSHIHIKO Y,ATSUSHI Y,AKIHIRO M,et al. Significance of post-progression therapy after tyrosine kinase inhibitors for advanced hepatocellular carcinoma[J]. JGH Open,2022,6(6):427-433.

[2] ZHENG J F,HE S Z,ZENG Z Y,et al. Pmpcb silencing sensitizes hcc tumor cells to sorafenib therapy[J]. Mol Ther,2019,27(10):1784-1795.

[3] LIU F H,LIANG J D,LONG P Z,et al. ZCCHC17 served as a predictive biomarker for prognosis and immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol,2022,11:

- 799566.
- [4] NIU Q H, YE S S, ZHAO L, et al. The role of liver cancer stem cells in hepatocellular carcinoma metastasis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2024, 25(1): 2321768.
- [5] MALLELA V R, KASI P B, SHETTI D, et al. Small nucleolar RNA expression profiles: a potential prognostic biomarker for non-viral Hepatocellular carcinoma[J]. *Non-coding RNA Res*, 2024, 9(4): 1133-1139.
- [6] MAHMUD B H, THARWAT S A, RASOOL S A, et al. Exosomal non-coding RNAs: blueprint in colorectal cancer metastasis and therapeutic targets[J]. *Noncoding RNA Res*, 2023, 8(4): 615-632.
- [7] CAIRNS A C, XIAO L, WANG Y J. Posttranscriptional regulation of intestinal mucosal growth and adaptation by noncoding rnas in critical surgical disorders[J]. *J Invest Surg*, 2024, 37(1): 2308809.
- [8] HUANG J, YANG P, PAN W, et al. The role of polypeptides encoded by ncRNAs in cancer[J]. *Gene*, 2024, 928: 148817.
- [9] LI P, MA X, HUANG D, et al. Exploring the roles of non-coding RNAs in liver regeneration [J]. *Noncoding RNA Res*, 2024, 9(3): 945-953.
- [10] NATARELLI N, BOBY A, AFLATOONI S, et al. Regulatory mirnas and lncnas in skin cancer: a narrative review[J]. *Life*, 2023, 13(8): 1696.
- [11] HAO P, LI Q, ZHAO H. Mucin 1 expression is regulated by hsa_circ_0055054/microRNA-122-5p and promotes hepatocellular carcinoma development [J]. *Oncol Lett*, 2024, 28(3): 404.
- [12] NAKKA P, JASSI C, CHEN M C, et al. Sensitization of hepatocellular carcinoma cells to HDACi is regulated through hsa-miR-342-5p/CFL1 [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 291.
- [13] LADD A D, DUARTE S, SAHIN I, et al. Mechanisms of drug resistance in HCC [J]. *Hepatology*, 2024, 79(4): 926-940.
- [14] EVANGELOS K, ELENIMYRTO T, PANAGIOTIS S, et al. An insight into the arising role of micrnas in hepatocellular carcinoma: future diagnostic and therapeutic approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7168.
- [15] ARSHIYA M, GALEN M, AMIKA M, et al. Salivary miRNAs as non-invasive biomarkers of hepatocellular carcinoma: a pilot study[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e12715.
- [16] FARZAD S, FATEMEH S H, ZOHREH R, et al. Hippo-YAP/TAZ signaling in breast cancer: reciprocal regulation of microRNAs and implications in precision medicine [J]. *Genes Dis*, 2024, 11(2): 760-771.
- [17] 李伟滔, 陈颖, 郑晓玲, 等. 结直肠癌患者血清 miRNA-21、miRNA-27b 表达水平及其与预后的相关性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2024, 45(14): 1735-1739.
- [18] 谈洪蕾, 刘珊, 李晓梅, 等. 口腔鳞癌患者血清 miRNA-503-5p、PIK3R1 表达水平与临床特征及预后的相关性研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2024, 23(14): 1546-1550.
- [19] HARRIET R, MELINA A, JACQUES F, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040[J]. *J Hepatol*, 2022, 77(6): 1598-1606.
- [20] ZHANG Y, KUANG S C, SHAN Q G, et al. Can IVIM help predict HCC recurrence after hepatectomy[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(11): 5791-5803.
- [21] SENOUSY A M, SHAKER G O, ELMAASRAWY H A, et al. Serum lncRNAs TUG1, H19, and NEAT1 and their target miR-29b/SLC3A1 axis as possible biomarkers of preeclampsia: potential clinical insights[J]. *Non-coding RNA Res*, 2024, 9(4): 995-1008.
- [22] CHAO C T, CHIANG C K, HUNG K Y. Extracellular microRNAs as potential biomarkers for frail kidney phenotype: progresses and precautions[J]. *Aging Dis*, 2024, 15(4): 1474-1481.
- [23] XIAO Y Z, YANG P, XIAO W S, et al. POU2F1 inhibits miR-29b1/a cluster-mediated suppression of PIK3R1 and PIK3R3 expression to regulate gastric cancer cell invasion and migration[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 38: 39183556.
- [24] SOUZA S L, TURECK V L, BATISTELA S M, et al. The potential of five c-miRNAs as serum biomarkers for late-onset Alzheimer's disease diagnosis: miR-10a-5p, miR-29b-2-5p, miR-125a-5p, miR-342-3p, and miR-708-5p[J]. *Brain Res*, 2024, 18411: 149090.
- [25] 李策. miR-29b-2-5p/Cbl-b 或 YAP 轴在胰腺导管腺癌增殖和转移中的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- [26] LI X, ZOU W J, WANG Y Z, et al. Plasma-based microRNA signatures in early diagnosis of breast cancer[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8(5): e1092.
- [27] 周明, 尹成亮, 何飞. 术前血清外泌体 miR-29b 与根治性胃切除术后复发及组织 MMP-2 表达的关系[J]. *广西医科大学学报*, 2022, 39(11): 1793-1799.
- [28] SCHWARTZ M, DVORCHIK I, ROAYAIE S, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: extension of indications based on molecular markers[J]. *J Hepatol*, 2008, 49(4): 581-588.
- [29] EL-SERAG B H, RUDOLPH L K. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and molecular carcinogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2557-2576.
- [30] PAWLICK J S, ZUZIC M, PASQUINI G, et al. MiRNA regulatory functions in photoreceptors[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 620249.

(收稿日期: 2024-09-25 修回日期: 2024-12-29)