

• 论 著 •

血清 miR-29b、miR-371 表达与中晚期肝细胞癌患者 Th1/Th2 平衡、临床病理特征及预后的关系*

张燕燕¹, 江龙龙^{2△}, 赵春燕¹, 尹伦财¹, 卿 松²
重庆市大足区人民医院:1. 肿瘤科;2. 普外科, 重庆 402360

摘要:**目的** 探讨血清 miR-29b、miR-371 与中晚期肝细胞癌(HCC)患者辅助性 T 细胞 1 型/辅助性 T 细胞 2 型(Th1/Th2)平衡、临床病理特征及预后的关系。**方法** 采用实时荧光定量 PCR 法分别对 2018 年 1 月至 2019 年 2 月于该院就诊或体检的 98 例中晚期 HCC 患者(HCC 组)、52 例肝脏良性疾病患者(疾病对照组)、60 例健康体检的健康志愿者(对照组)血清 miR-29b、miR-371 水平进行检测,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清 Th1/Th2 型细胞因子水平。比较 3 组血清 miR-29b、miR-371、Th1/Th2 型细胞因子水平,分析血清 miR-29b、miR-371 水平与中晚期 HCC 患者临床病理特征的关系。采用 Kaplan-Meier 法分析 miR-29b、miR-371 表达对中晚期 HCC 患者生存预后的影响,单因素及多因素 COX 回归分析影响中晚期 HCC 患者预后的因素。**结果** 与疾病对照组及对照组相比,HCC 组患者血清 miR-29b、 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2 水平较低,miR-371、IL-4、IL-10 水平较高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。中晚期 HCC 患者血清 miR-29b 与 IFN- γ 、IL-2 表达呈正相关($P<0.05$),与 IL-4、IL-10 呈负相关($P<0.05$);血清 miR-371 与 IFN- γ 、IL-2 表达呈负相关($P<0.05$),与 IL-4、IL-10 呈正相关($P<0.05$)。不同肝功能 Child-Pugh 分级、肿瘤最大径及病灶个数的 HCC 患者血清 miR-29b、miR-371 表达水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。miR-29b 低表达组患者的累积总体生存率低于 miR-29b 高表达组($P<0.05$),miR-371 低表达组患者的累积总体生存率高于 miR-371 高表达组($P<0.05$)。病灶个数 ≥ 2 个、肿瘤最大径 >5 cm、miR-29b 低表达、miR-371 高表达是影响 HCC 患者预后的独立危险因素。**结论** 中晚期肝癌患者血清 miR-29b 降低,miR-371 升高,二者表达水平与不良临床病理特征及 Th1/Th2 平衡有关,可作为中晚期 HCC 患者预后判断的生物标志物。

关键词:肝细胞癌; 微小 RNA-29b; 微小 RNA-371; Th1/Th2 平衡; 预后
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.09.009 **中图法分类号:**R735.7
文章编号:1673-4130(2023)09-1064-06 **文献标志码:**A

Relationship between serum miR-29b, miR-371 expression and Th1/Th2 balance,
clinicopathological features and prognosis in patients with intermediate
and advanced hepatocellular carcinoma*

ZHANG Yanyan¹, JIANG Longlong^{2△}, ZHAO Chunyan¹, YIN Luncai¹, QING Song²
1. Department of Oncology; 2. Department of General Surgery, the People's
Hospital of Dazu District, Chongqing 402360, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum miR-29b, miR-371 and Th1/Th2 balance, clinicopathological features and prognosis in patients with intermediate and advanced hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Serum miR-29b and miR-371 levels of 98 patients with advanced HCC (HCC group), 52 patients with benign liver disease (disease control group), and 60 healthy volunteers (control group) in this hospital from January 2018 to February 2019 were detected by real-time quantitative PCR. Serum Th1/Th2 cytokines in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The serum levels of miR-29b, miR-371 and Th1/Th2 cytokines were compared among the three groups. The relationship between the serum levels of miR-29b and miR-371 and clinicopathologic characteristics of patients with intermediate and advanced HCC was analyzed. Kaplan-Meier method was used to analyze the effects of miR-29b and miR-371 expression on the survival and prognosis of patients with intermediate and advanced HCC. Moreover, univariate and multivariate COX regression analysis was conducted to analyze the factors af-

* 基金项目:重庆市大足区科技发展项目(DZKJ,2021ACC1008)。
作者简介:张燕燕,女,副主任医师,主要从事恶性肿瘤诊治方面研究。 △ 通信作者,E-mail:jiang15023146946@163.com。
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20230320.0958.008.html\(2023-03-21\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20230320.0958.008.html(2023-03-21))

fecting the prognosis of patients with intermediate and advanced HCC. **Results** Compared with the disease control group and control group, serum miR-29b γ , interferon (IFN- γ), interleukin (IL)-2 in the HCC group were significantly lower, miR-371, IL-4, IL-10 were significantly higher, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Serum miR-29b positively correlated with IFN- γ and IL-2 expression in patients with intermediate and advanced HCC ($P < 0.05$), but negatively correlated with IL-4 and IL-10 expression ($P < 0.05$). Serum miR-371 negatively correlated with IFN- γ and IL-2 ($P < 0.05$). , and positively correlated with IL-4 and IL-10 ($P < 0.05$). There were significant differences in the serum miR-29b and miR-371 expression in HCC patients with different Child-Pugh grade of liver function, maximum tumor diameter and number of lesions ($P < 0.05$). The cumulative overall survival rate of patients with low miR-29b expression was lower than that of patients with high miR-29b expression ($P < 0.05$), and the cumulative overall survival rate of patients with low miR-371 expression was higher than that of patients with high miR-371 expression ($P < 0.05$). The number of lesions ≥ 2 , maximum tumor diameter > 5 cm, low expression of miR-29b and high expression of miR-371 were independent risk factors affecting the prognosis of HCC patients. **Conclusion** Serum miR-29b decreases and miR-371 increases in patients with intermediate and advanced HCC. Their expression levels are associated with adverse clinicopathological features and Th1/Th2 balance, which may be used as biomarkers for prognosis of patients with intermediate and advanced HCC.

Key words: hepatocellular carcinoma; microRNA-29b; microRNA-371; Th1/Th2 balance; prognosis

肝细胞癌(HCC)是全球第五大常见恶性肿瘤,是癌症相关死亡率的第三大原因^[1]。HCC 早期缺少特异性表现,确诊时多处于中晚期,丧失最佳根治手术治疗时机,5 年生存率小于 18%^[2]。目前中晚期 HCC 患者的治疗以肝动脉化疗栓塞(TACE)为主,在阻断肿瘤肝动脉血供同时,配合局部化疗药物杀伤肿瘤,能延长患者生存时间^[3]。但肿瘤组织缺氧状态仍会诱导缺氧诱导因子表达,促进肿瘤血管新生,导致肿瘤复发转移及患者不良预后^[4]。因此,深入研究中晚期 HCC 疾病机制,寻找新的中晚期 HCC 预后相关标志物,具有重要意义。微小核糖核酸是长度 20~25 个核苷酸的非编码 RNA 分子,参与机体发育、分化及肿瘤等多种生理病理过程调节。近年来发现,miR-29b、miR-371 是在 HCC 癌组织中差异性表达较为显著的 miRNA^[5-6],二者可影响 HCC 肿瘤微环境中免疫细胞的功能、辅助性 T 细胞 1 型(Th1)及 2 型(Th2)细胞因子平衡^[7-8],促进 HCC 进展。本研究通过检测 HCC 血清 miR-29b、miR-371 表达水平,分析其与临床病理特征、Th1/Th2 平衡及预后的关系,以期为中晚期肝癌患者临床治疗和预后改善提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2019 年 2 月本院收治的 98 例 HCC 患者作为 HCC 组。纳入标准:(1)经病理穿刺活检组织学、计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)等影像学检查明确诊断为 HCC,诊断符合《原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)》^[9],符合巴塞罗那分期(BCLC)^[10]标准中的 B、C 期;(2)患者不适宜或不愿意接受手术治疗,同时接受 TACE 治疗;(3)初次诊治,既往无放化疗等治疗史;(4)临床资料完整。排除标准:(1)伴严重心、肺、肾等脏器功能不全;(2)肝功能 Child-Pugh 评分 C 级;(3)肝内病灶

数目 >3 个,肿瘤广泛远处转移,卡氏体力状态(KPS)评分 <70 分,预计生存期 <3 个月;(4)合并血液系统疾病等。HCC 组男 63 例,女 35 例;年龄 33~78 岁,平均(55.1 $\pm$ 7.8)岁;Child-Pugh 分级:A 级 58 例,B 级 40 例;KPS 评分: >90 分 70 例,70~90 分 28 例;术前甲胎蛋白(AFP): <400 μ g/L 67 例, ≥ 400 μ g/L 31 例;CT 或 MRI 检查测量肿瘤最大径(多病灶时选取最大者测量肿瘤最大径) ≤ 5 cm 38 例, >5 cm 60 例;病灶个数:1 个 54 例, ≥ 2 个 44 例。另选取同期在本院就诊或体检的 52 例肝脏良性疾病患者为疾病对照组,60 例健康体检者为对照组。疾病对照组男 32 例,女 20 例;年龄 33~78 岁,平均(54.8 $\pm$ 7.6)岁;慢性乙型肝炎 25 例,酒精性肝病 13 例,脂肪肝 14 例。对照组男 39 例,女 21 例;年龄 32~77 岁,平均(54.5 $\pm$ 7.5)岁。3 组年龄、性别等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经本院医学伦理委员会批准通过。所有受试者及家属对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清 miR-29b、miR-371 检测 采集研究对象空腹静脉血约 5 mL,3 000 r/min 离心 5 min 分离上层血清,−80 °C 冰箱保存。用 Trizol 法提取血清总 RNA,Narodrop1000(美国赛默飞世尔科技公司)检测 RNA 纯度, A_{260}/A_{280} 在 1.9~2.1 为符合要求。采用 RNA 逆转录试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]将 RNA 逆转录为 cDNA,反应条件为 42 °C 30 min,然后进行实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)。miR-29b 的正向引物序列为 5'-GCGTAGCACCATTGAAATC-3',反向引物序列为 5'-AGTGCAGGGTCGAGGTATT-3'; miR-371 正向引物序列为 5'-GCAGTGGCTGAACCAAGGAGAC-3',反向引物序

列为 5'-GCCGTGAGCTGTGCAGGTG-3';内参 U6 的正向引物序列为 5'-AATGGTGAAGGTCGGTGTGAACG-3',反向引物序列为 5'-TCGCTCCTGGAAGATGGTGATGG-3'。PCR 总反应体系为 10 μ L:cDNA 1 μ L,正、反向引物各 1 μ L,SYBR Green Premix 5 μ L,双蒸水 2 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 60 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s,共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 miR-29b、miR-371 的相对表达水平。根据 miR-29b、miR-371 相对表达水平的平均值,将 HCC 组分为 miR-29b 低表达组、高表达组,以及 miR-371 低表达组、高表达组。

1.2.2 Th1/Th2 型细胞因子检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2、IL-4 及 IL-10 水平。试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。实验步骤严格按试剂盒说明书进行。

1.2.3 随访 所有患者出院后开始进行随访,以电话、门诊复查方式进行随访,随访内容为患者生存情况,出院后第 1 年每 3 个月随访 1 次,第 2~3 年每半年随访 1 次。随访时间截至 2022 年 3 月 1 日或患者

死亡。

1.3 统计学处理 应用 SPSS22.0 软件进行数据分析。计量资料先进行正态性检验,符合正态分布的以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析及 SNK- q 检验,两组比较采用 t 检验或校正 t 检验。计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析,采用 Kaplan-Meier 生存曲线及 Log-rank 检验分析不同 miR-29b、miR-371 表达对 HCC 患者预后的影响,采用单因素及多因素 COX 比例风险模型分析影响 HCC 患者预后的因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血清 miR-29b、miR-371 水平与 Th1/Th2 型细胞因子比较 与疾病对照组及对照组相比,HCC 组血清 miR-29b、IFN- γ 、IL-2 水平明显较低,miR-371、IL-4、IL-10 水平明显较高,差异均有统计学意义($P<0.05$),而疾病对照组与对照组间血清 miR-29b、miR-371、IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10 水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 组血清 miR-29b、miR-371 水平与 Th1/Th2 型细胞因子比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-29b	miR-371	IFN- γ (pg/mL)	IL-2 (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
对照组	60	2.03 $\pm$ 0.19 ^a	1.13 $\pm$ 0.18 ^a	27.47 $\pm$ 6.25 ^a	32.05 $\pm$ 7.11 ^a	9.16 $\pm$ 3.09 ^a	8.32 $\pm$ 2.14 ^a
疾病对照组	52	1.97 $\pm$ 0.18 ^a	1.20 $\pm$ 0.17 ^a	25.64 $\pm$ 5.87 ^a	30.17 $\pm$ 6.87 ^a	9.78 $\pm$ 2.78 ^a	8.56 $\pm$ 2.05 ^a
HCC 组	98	1.17 $\pm$ 0.21	2.14 $\pm$ 0.20	13.26 $\pm$ 5.22	20.63 $\pm$ 6.69	14.12 $\pm$ 3.70	12.81 $\pm$ 2.75
<i>F</i>		466.044	713.376	145.452	62.889	52.154	85.280
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 HCC 组相比,^a $P<0.05$ 。

2.2 中晚期 HCC 患者血清 miR-29b、miR-371 与 Th1/Th2 型细胞因子的相关性 Pearson 相关分析显示,中晚期 HCC 患者血清 miR-29b 与 IFN- γ 、IL-2 表达呈正相关($P<0.001$),与 IL-4、IL-10 呈负相关($P<0.001$);血清 miR-371 与 IFN- γ 、IL-2 表达呈负相关($P<0.001$),与 IL-4、IL-10 呈正相关。见表 2。

表 2 中晚期 HCC 患者血清 miR-29b、miR-371 与 Th1/Th2 型细胞因子的相关性

项目	miR-29b		miR-371	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
IFN- γ	0.504	<0.001	-0.377	<0.001
IL-2	0.470	<0.001	-0.408	<0.001
IL-4	-0.389	<0.001	0.510	<0.001
IL-10	-0.410	<0.001	0.579	<0.001

2.3 血清 miR-29b、miR-371 水平与中晚期 HCC 患者临床病理特征的关系 不同肝功能 Child-Pugh 分

级、肿瘤最大径及病灶个数的 HCC 患者血清 miR-29b、miR-371 表达差异有统计学意义($P<0.05$),不同性别、年龄、KPS 评分、术前甲胎蛋白(AFP)的 HCC 患者血清 miR-29b、miR-371 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

2.4 血清 miR-29b、miR-371 水平对中晚期 HCC 患者生存预后的影响 98 例 HCC 组患者随访时间 7~36 个月,平均(23.2 $\pm$ 3.7)个月,随访过程中失访 2 例,患者随访期内死亡 44 例。根据 miR-29b、miR-371 相对表达水平的平均值,最终 miR-29b 低表达组 50 例,高表达组 48 例,miR-371 低表达组 47 例,高表达组 51 例。miR-29b 低表达组、高表达组平均生存期分别为(18.1 $\pm$ 3.2)、(28.2 $\pm$ 3.7)个月,Log-rank 检验结果显示,miR-29b 低表达组患者的累积总体生存率显著低于 miR-29b 高表达组(Log-rank $P<0.05$)。miR-371 低表达组、高表达组平均生存期分别为(19.0 $\pm$ 3.9)、(27.5 $\pm$ 4.1)个月,miR-371 低表达组患者的累积总体生存率显著高于 miR-371 高表

达组(Log-rank $P<0.05$)。

2.5 单因素及多因素 COX 回归分析影响中晚期 HCC 患者预后的因素 以中晚期 HCC 患者预后为因变量,赋值(0=生存,1=死亡,t=生存期)并建立 COX 比例风险回归模型。回归过程采用逐步后退法,以进行自变量的选择和剔除,设定 $\alpha_{\text{剔除}}=0.10$, $\alpha_{\text{入选}}=0.05$ 。将性别(赋值:0=男,1=女)、年龄(赋值:0= ≤ 60 岁,1= >60 岁)、Child-Pugh 分级(赋值:0=A 级,1=B 级)、KPS 评分(赋值:0= ≤ 90 分,1= >90 分)、术前 AFP(赋值:0= $<400\text{ }\mu\text{g/L}$,1= ≥ 400

$\mu\text{g/L}$)、肿瘤最大径(赋值:0= $\leq 5\text{ cm}$,1= $\geq 5\text{ cm}$)、病灶个数(赋值:0=1 个,1= ≥ 2 个)、miR-29b(赋值:0=高表达,1=低表达)、miR-371(赋值:0=低表达,1=高表达)引入回归方程,结果显示,病灶个数、肿瘤最大径、miR-29b、miR-371 是影响 HCC 患者生存预后的因素($P<0.05$),见表 4。将上述单因素分析结果中 $P<0.10$ 的 4 个因素作为自变量,多因素 COX 回归分析结果显示,病灶个数 ≥ 2 个、肿瘤最大径 $>5\text{ cm}$ 、miR-29b 低表达、miR-371 高表达均是影响 HCC 患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 5。

表 3 血清 miR-29b、miR-371 水平与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	miR-29b	<i>t</i>	<i>P</i>	miR-371	<i>t</i>	<i>P</i>
性别			1.851	0.067		1.599	0.116
男	63	1.14±0.19			2.07±0.19		
女	35	1.22±0.23			2.15±0.26		
年龄(岁)			0.898	0.372		0.906	0.368
≤ 55	50	1.19±0.20			2.12±0.18		
>55	48	1.15±0.24			2.16±0.25		
Child-Pugh 分级			15.877	<0.001		13.401	<0.001
A 级	58	1.44±0.26			1.90±0.17		
B 级	40	0.78±0.15			2.49±0.24		
KPS 评分(分)			1.189	0.242		0.711	0.482
>90	70	1.19±0.18			2.13±0.16		
≤ 90	28	1.12±0.29			2.17±0.28		
术前 AFP($\mu\text{g/L}$)			1.654	0.106		1.254	0.216
<400	67	1.20±0.17			2.12±0.17		
≥ 400	31	1.11±0.28			2.18±0.24		
肿瘤最大径(cm)			12.462	<0.001		14.092	<0.001
≤ 5	38	1.52±0.25			1.73±0.26		
>5	60	0.95±0.20			2.40±0.17		
病灶个数(个)			12.839	<0.001		27.477	<0.001
1	54	1.41±0.22			1.64±0.18		
≥ 2	44	0.87±0.19			2.75±0.22		

表 4 HCC 患者预后的单因素

因素	β	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>
性别	0.189	0.199	0.903	0.403	1.168	0.818~1.784
年龄	0.269	0.168	2.564	0.342	1.208	0.941~1.819
Child-Pugh 分级	0.252	0.162	2.428	0.109	1.309	0.937~1.766
KPS 评分	0.270	0.167	2.610	0.119	1.287	0.944~1.818
术前 AFP	0.567	0.154	13.471	0.106	1.310	1.302~2.386
肿瘤最大径	0.642	0.162	15.743	<0.001	1.763	1.384~2.609
病灶个数	0.455	0.130	12.164	<0.001	1.900	1.221~2.035
miR-29b	0.718	0.175	16.871	<0.001	1.576	1.456~2.888
miR-371	0.237	0.085	7.733	<0.001	2.050	1.072~1.498

表 5 多因素 COX 回归分析影响 HCC 患者预后的因素

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
肿瘤最大径	0.466	0.163	8.144	<0.001	2.640	1.157~2.195
病灶个数	0.620	0.160	15.080	0.004	1.593	1.359~2.542
miR-29b	0.593	0.166	12.736	<0.001	1.859	1.306~2.506
miR-371	0.270	0.167	2.608	<0.001	1.809	0.944~1.818

3 讨 论

HCC 是原发性肝癌中最常见的类型,我国乙型肝炎患病率较高,HCC 风险较高,每年发病例数约 16 万例,死亡例数约 14 万例,严重威胁人们的身体健康^[11]。早期 HCC 通常可通过手术进行治愈性治疗,而对于中晚期 HCC 患者,即使经积极 TACE 等综合治疗后,肿瘤仍可发生复发转移,导致患者不良生存预后。因此,深入研究 HCC 肿瘤发生、发展的机制,寻找能够判断中晚期 HCC 患者预后的生物标志物,具有重要的临床价值。

miR-29b 位于人类染色体 7q32.3,其作为一种 miRNA,能够结合到下游靶基因的 3'-非编码区(3'UTR),降低靶基因信使 RNA 的稳定性,抑制下游基因表达。近年研究发现,miR-29b 在乳腺癌及肺癌等恶性肿瘤中异常表达升高或降低,通过影响 Wnt、AKT 等信号通路,参与肿瘤的发生、发展^[12]。本研究中,中晚期 HCC 患者血清 miR-29b 表达明显降低,并且与肝功能 Child-Pugh 分级、肿瘤最大径及肿瘤个数等临床病理特征有关,提示 HCC 中 miR-29b 的表达下调可能参与促进 HCC 的肿瘤进展。miR-29b 的表达下调可能与上游长链非编码 RNA(lncRNA)的表达调控有关。研究表明,lncRNA HCP5 能够结合并抑制 miR-29b 的表达,继而促进 DNA 甲基转移酶 3 的表达,激活下游 AKT 信号通路,促进 HCC 患者肿瘤细胞的增殖及转移^[13]。有研究发现,miR-29b 的表达能够抑制基质金属蛋白酶 9(MMP-9)的表达,miR-29b 的表达下调导致肿瘤细胞 MMP-9 的表达显著增加,促进肿瘤细胞的侵袭和转移^[14]。因此,HCC 中 miR-29b 可能作为一种抑癌因子,发挥肿瘤抑制的功能。本研究结果证实,miR-29b 低表达的 HCC 患者生存预后较差,是患者不良预后的独立因素。有学者发现,肝癌细胞中 miR-29b 的表达下调促进自噬相关基因 LC3B 的表达,诱导肿瘤细胞对化疗药物及靶向药物索拉非尼的耐药性形成^[15]。亦有报道显示,miR-29b 的表达升高能够增加骨肉瘤细胞对化疗药物的敏感性,增强化疗疗效^[14]。因此,HCC 中 miR-29b 的表达降低可能通过降低肿瘤细胞对化疗药物的治疗的敏感性,导致患者不良预后。临床上可根据血清 miR-29b 水平对 HCC 患者的临床预后进行评估,并采取相应的治疗和随访方案,以改善患者的生存质量及预后。

miR-371 位于人类染色体 19q13.42,其作为一种 miRNA,参与调节细胞增殖、分化、凋亡和衰老等生物学过程。研究表明,miR-371 在胃癌及胰腺癌等肿瘤患者中表达显著升高,其通过促进细胞周期 G₁/S 期的转换促进肿瘤细胞的恶性增殖^[16]。本研究结果发现,HCC 患者血清 miR-371 表达显著升高,并且与 Child-Pugh 分级、肿瘤最大径及肿瘤个数有关,表明 miR-371 的表达升高参与促进中晚期 HCC 患者的肿瘤进展。分析其原因,肿瘤 miR-371 表达上调与染色体重排有关。研究发现,19q13.4 染色体重排的肿瘤细胞中 RNA 聚合酶 II 片段表达增加,导致 miR-371 基因簇过度表达^[17]。此外,miR-371 能够通过抑制抑癌基因磷酸酶和张力蛋白同系物的表达,促进肝肿瘤细胞的增殖及迁移转移能力^[6]。因此,HCC 中 miR-371 可能作为一种肿瘤促进因子,发挥促进 HCC 肿瘤进展的作用。本研究发现,miR-371 高表达的 HCC 患者生存预后较差,是患者不良预后的独立危险因素,提示临床医生可根据患者血清 miR-371 水平对患者的临床预后进行评估,指导临床治疗。

目前研究认为,HCC 的发生发展与肿瘤微环境的改变密切相关,肿瘤微环境中 Th1/Th2 型细胞因子平衡失调不仅直接促进 HCC 的肿瘤进展,还能通过抑制微环境中免疫细胞的正常功能,发挥肿瘤促进作用^[18]。IL-2 和 IFN- γ 是肿瘤微环境中 Th1 型细胞因子,能够通过增强肿瘤杀伤 T 淋巴细胞的肿瘤杀伤功能,发挥抗肿瘤效应,IL-4 和 IL-10 属于 Th2 型细胞因子,能够通过促进巨噬细胞向 M2 型转化,介导肿瘤细胞免疫逃逸,发挥肿瘤促进效应^[19]。本研究中,HCC 组患者血清 IFN- γ 、IL-2 水平降低,而 IL-4、IL-10 水平明显升高,提示中晚期 HCC 患者存在 Th1/Th2 型细胞因子漂移的现象,患者机体处于免疫抑制的状态。相关性分析发现,血清 miR-29b、miR-371 表达与 Th1/Th2 型细胞因子均具有相关性,表明 miR-29b、miR-371 可能通过影响 Th1/Th2 型细胞因子漂移,参与促进 HCC 进展。研究表明,IFN- γ 表达受 miR-29b 的表达调控,肿瘤中 miR-29b 表达降低导致 CD4⁺T 淋巴细胞 DNA 的高甲基化,抑制 IFN- γ 等 Th1 型细胞因子的表达及分泌^[20]。有研究发现,miR-371 的表达升高能够促进 CD4⁺T 淋巴细胞中 Runt 相关转录因子 3 的表达,抑制 Th1 型细胞因子的分泌,同时促进 Th2 型细胞因子的产生^[8],Th2 型

细胞因子通过抑制机体抗肿瘤免疫功能,如抑制肿瘤杀伤性 T 淋巴细胞的肿瘤杀伤功能,促进肿瘤的转移^[21]。

综上所述,中晚期 HCC 患者血清 miR-29b 水平降低,miR-371 水平升高,二者表达与肝功能 Child-Pugh 分级、肿瘤最大径及肿瘤个数及 Th1/Th2 型细胞因子水平有关,二者可能通过影响 HCC 肿瘤免疫微环境中 Th1/Th2 型细胞因子的平衡状态,促进 HCC 进展。但本研究尚存在不足之处,样本量有限,并且未对中晚期 HCC 患者治疗前后血清 miR-29b、miR-371 水平动态变化进行监测,因此,有待今后扩大样本量进行深入研究。

参考文献

- [1] ZHANG W, LUO E, GAN J, et al. Long-term survival of hepatocellular carcinoma after percutaneous radiofrequency ablation guided by ultrasound[J]. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1):122.
- [2] XU J H, GUAN Y J, ZHANG Y C, et al. ADAM15 correlates with prognosis, immune infiltration and apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(16):20395-20417.
- [3] 马国建, 陈森清, 李金田, 等. 恩度联合肝动脉化疗栓塞治疗中晚期肝癌的生物学检测研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(24):2974-2975.
- [4] WATANABE Y, OGAWA M, KANEKO M, et al. Comparison of local recurrence in transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma with or without accumulation of iodized oil beyond corona enhancement area: short-term results[J]. *Radiol Oncol*, 2021, 56(1):69-75.
- [5] LIU X, WANG H, YANG M, et al. Exosomal miR-29b from cancer-associated fibroblasts inhibits the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Transl Cancer Res*, 2020, 9(4):2576-2587.
- [6] WANG H, ZHAO Y, CHEN T, et al. MiR-371 promotes proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma by targeting PTEN[J]. *BMB Rep*, 2019, 52(5):312-317.
- [7] 马媛媛, 钟斌, 黄冬平, 等. 哮喘患儿血清 miR-29b 与外周血 Th1、Th2 细胞失衡的相关性研究[J]. *河北医药*, 2021, 43(11):1640-1643.
- [8] QIU Y Y, ZHANG Y W, QIAN X F, et al. miR-371, miR-138, miR-544, miR-145, and miR-214 could modulate Th1/Th2 balance in asthma through the combinatorial regulation of Runx3[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(7):3184-3199.
- [9] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2017, 16(7):635-647.
- [10] HAN K, KIM J H. Transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma treatment: barcelona clinic liver cancer staging system[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(36):10327-10335.
- [11] 杨帆, 曹毛毛, 李贺, 等. 1990—2019 年中国人群肝癌流行病学趋势分析及预测[J]. *中华消化外科杂志*, 2022, 21(1):106-113.
- [12] DING D, LI C, ZHAO T, et al. LncRNA H19/miR-29b-3p/PGRN axis promoted epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by acting on Wnt signaling[J]. *Mol Cells*, 2018, 41(5):423-435.
- [13] ZHOU Y, LI K, DAI T, et al. Long non-coding RNA HCP5 functions as a sponge of miR-29b-3p and promotes cell growth and metastasis in hepatocellular carcinoma through upregulating DNMT3A [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(12):16267-16286.
- [14] LUO D J, LI L J, HUO H F, et al. MicroRNA-29b sensitizes osteosarcoma cells to doxorubicin by targeting matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in osteosarcoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(4):1434-1442.
- [15] SHI Y, YANG X, XUE X, et al. HANR Enhances autophagy-associated sorafenib resistance through miR-29b/ATG9A axis in hepatocellular carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(6):2127-2137.
- [16] HE D, MIAO H, XU Y, et al. miR-371-5p facilitates pancreatic cancer cell proliferation and decreases patient survival[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11):e112930.
- [17] RIPPE V, DITTBERNER L, LORENZ V N, et al. The two stem cell microRNA gene clusters C19MC and miR-371-3 are activated by specific chromosomal rearrangements in a subgroup of thyroid adenomas[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3):9485.
- [18] 柏涛, 王静丽, 胡旭东, 等. 肝细胞癌患者肝动脉化疗栓塞术后外周血长链非编码 RNA TINCR 水平与 Th1/Th2 平衡及预后的相关性分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(1):79-83.
- [19] 朱冬梅, 唐翀, 朱斌. 转录因子 7-like 2 基因沉默对原发性肝癌 Th1/Th2 免疫漂移与微血管密度的调控作用研究[J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(11):930-938.
- [20] YANG Y, JIN Z, DONG R, et al. MicroRNA-29b/142-5p contribute to the pathogenesis of biliary atresia by regulating the IFN- γ gene[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5):545.
- [21] 朱文文, 赵娜, 刘北星. 乳腺癌肺转移过程中 Th1/Th2 型细胞因子的动态变化[J]. *微生物学杂志*, 2020, 40(1):52-57.

(收稿日期:2022-07-25 修回日期:2022-12-25)