



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.08.007
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.08.007
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(8):926-933.

· 基础研究 ·

肝细胞癌中 miR-574-5p 的表达与作用及其与预后的关系

李乾, 郭清皓

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院 急诊创伤外科, 湖北 武汉 430000)

摘要

背景与目的: 研究表明, miR-574-5p 与多种肿瘤预后密切相关, 但尚未见 miR-574-5p 与肝细胞癌(HCC)的关系报道。因此, 本研究初步探讨 miR-574-5p 在 HCC 中表达及其与患者预后的关系。

方法: 用 qRT-PCR 检测 130 例 HCC 与癌旁组织及 HCC 细胞系 (HepG2、MHCC-97H) 与正常肝细胞系 (L-02) 中 miR-574-5p 的表达, 用 X-tile 软件在患者生存数据中确定 miR-574-5p 表达量的最佳截断值后, 分析 miR-574-5p 表达水平与患者临床病理因素于术后生存率的关系。分析 HCC 患者预后的影响因素。用 TargetScan 预测 miR-574-5p 的靶基因, 并用双荧光素酶报告基因实验验证与 Western blot 实验确证。

结果: miR-574-5p 表达水平在 HCC 癌组织中明显高于癌旁组织, 在 HCC 细胞系中明显高于正常肝细胞系 (均 $P < 0.05$)。miR-574-5p 表达与 TNM 分期 ($P = 0.002$) 和分化程度 ($P = 0.000$) 明显有关。miR-574-5p 高表达组的总生存率与无瘤生存率均明显低于 miR-574-5p 低表达组 (均 $P < 0.01$)。单因素与多因素分析结果显示, miR-574-5p 高表达 ($HR = 4.101$, 95% $CI = 1.348 \sim 8.968$, $P = 0.03$)、III~IV 期 ($HR = 5.403$, 95% $CI = 1.266 \sim 13.860$, $P = 0.02$) 及中低分化 ($HR = 3.655$, 95% $CI = 2.165 \sim 6.984$, $P = 0.00$) 是 HCC 患者总生存率的独立危险因素, miR-574-5p 高表达 ($HR = 7.168$, 95% $CI = 1.144 \sim 18.260$, $P = 0.01$) 与 III~IV 期 ($HR = 7.436$, 95% $CI = 1.123 \sim 20.916$, $P = 0.00$) 是 HCC 患者无瘤生存率的独立危险因素。TargetScan 软件发现 FOG2 存在和 miR-574-5p 直接结合位点, 双荧光素酶报告基因实验表明 FOG2 是 miR-574-5p 的直接靶基因。Western blot 结果显示, FOG2 蛋白在 HCC 组织中的表达量低于癌旁组织; Pearson 相关分析表明, HCC 组织中 miR-574-5p 表达水平与 FOG2 蛋白表达水平呈负相关 ($r = -0.499$, $P < 0.05$)。

结论: miR-574-5p 在 HCC 中普遍升高, miR-574-5p 高表达可作为 HCC 患者预后不良的分子标志物, miR-574-5p 可能通过下调其靶基因 FOG2 发挥促癌作用。

关键词

癌, 肝细胞; 微 RNAs; miR-574-5p; 预后

中图分类号: R735.7

Expression and action of miR-574-5p in hepatocellular carcinoma and its association with prognosis

LI Qian, GUO Qinghao

(Department of Emergency and Trauma Surgery, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

Abstract

Background and Aims: Previous studies demonstrated that miR-574-5p is closely associated with the

收稿日期: 2020-12-27; 修订日期: 2021-07-20。

作者简介: 李乾, 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院主治医师, 主要从事消化系统疾病方面的研究。

通信作者: 李乾, Email: liqiansurg@yeah.net

prognosis of a variety of tumors. However, the relationship between miR-574-5p and hepatocellular carcinoma (HCC) has not been reported yet. Therefore, this study was designed to investigate the expression of miR-574-5p in HCC and its relationship with prognosis of the patients.

Methods: The expressions of miR-574-5p in 130 paired specimens of HCC and adjacent tissue as well as in HCC cell lines (HepG2 and MHCC-97H) and normal hepatic cell line (L-02) were detected by qRT-PCR method. After the optimal cut-off value of miR-574-5p expression level was determined from the survival data of the patients using X-tile software, the relations of miR-574-5p expression with the clinicopathologic factors and postoperative survival rates of the patients were analyzed. The influencing factors for the prognosis of HCC patients were determined. The target genes of miR-574-5p were predicted by TargetScan, and then were verified by dual-luciferase reporter assay and confirmed by Western blot analysis.

Results: The expression levels of miR-574-5p were significantly increased in HCC tissue than that in adjacent tissue, and increased in HCC cell lines than that in normal hepatic cell line (all $P < 0.05$). The expression of miR-574-5p was significantly associated with TNM stage ($P = 0.002$) and degree of differentiation ($P = 0.000$). Both overall survival rate and tumor-free survival rate were significantly lower in patients with high miR-574-5p expression than those in patients with low miR-574-5p expression (both $P < 0.01$). The results of univariate and multivariate analysis showed that high miR-574-5p expression ($HR = 4.101$, 95% $CI = 1.348-8.968$, $P = 0.03$), stage III-IV ($HR = 5.403$, 95% $CI = 1.266-13.860$, $P = 0.02$) and moderate/poor differentiation ($HR = 3.655$, 95% $CI = 2.165-6.984$, $P = 0.00$) were independent risk factors for overall survival of HCC patients, and high miR-574-5p expression ($HR = 7.168$, 95% $CI = 1.144-18.260$, $P = 0.01$) and stage III-IV ($HR = 7.436$, 95% $CI = 1.123-20.916$, $P = 0.00$) were independent risk factors for disease-free survival of HCC patients. Targetscan software analysis showed that there was a direct binding site between FOG2 and miR-574-5p, and dual luciferase reporter gene assay showed that FOG2 was the target gene of miR-574-5p. Western blot analysis showed that the protein expression level of FOG2 in HCC tissue was lower than that in adjacent tissue, and Pearson correlation analysis showed that the miR-574-5p expression was negatively correlated with the protein expression of FOG2 in HCC tissue ($r = -0.499$, $P < 0.05$).

Conclusion: The expression of miR-574-5p is generally increased in HCC. High miR-574-5p expression can be considered as a molecular marker for poor prognosis of HCC patients. MiR-574-5p may probably exert a tumor-promoting action through down-regulating its target gene FOG2.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; MicroRNAs; MiR-574-5p; Prognosis

CLC number: R735.7

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球第六大恶性肿瘤, 是癌症相关死亡的第二大原因, 每年在全球范围内造成近 70 万例患者死亡。HCC 发病有明显的地域分布特点, 以东南亚居多^[1]。虽然得益于手术及靶向疗法的发展, 但是高复发率及转移率仍是影响 HCC 术后预后不佳的主要原因。据报道^[2]肝癌切除术后复发率在前 2 年约为 50%, 在 5 年内增加至 75%。深入阐述 HCC 发生和发展的分子机制, 对筛选新型分子诊断标志物、治疗靶点及提升诊治水平至关重要^[3-4]。miRNA 是

一类短链非编码 RNA, 长度为 18~22 个核苷酸, 在转录后水平与靶基因 mRNA 的 3'-非翻译区碱基配对, 是一种调节基因表达的关键分子^[5-6]。miRNA 参与各种细胞生物学过程, 如细胞增殖、分化、凋亡和代谢^[7-8]。miRNA 的异常表达可通过调节特定基因在肿瘤发展中发挥关键作用^[9]。miR-574-5p 是最新鉴定的 miRNA 分子, 其在结直肠癌^[10]中表达上调并通过 Wnt/ β -catenin 信号通路参与肿瘤进展。miR-574-5p 在甲状腺癌中上调表达, 并与预后密切相关^[11]。尽管如此, miR-574-5p 在 HCC 中的表

达及与预后的关系尚不清楚。本研究旨在评估 miR-574-5p 在 HCC 中的表达与预后的关系及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 临床标本

收集 2014 年 1 月—2018 年 1 月接受肝癌切除术的 130 例 HCC 患者的癌及癌旁组织标本。纳入标准：(1) 所有患者均接受肝癌切除术且经病理确诊为 HCC^[12]；(2) 根据国际抗癌联盟第 6 版肿瘤淋巴结转移 (TNM) 分类确定肿瘤 TNM 分期；(3) 患者按 NCCN 指南标准进行治疗；(4) 除肝癌外，患者不存在其他部位肿瘤。排除标准：临床及随访资料不全者。所有患者的组织标本在手术切除后立即保存于 -80 °C 冰箱直至统一检测，HCC 组织选择为癌组织，癌旁组织选择为距离肝癌边缘 3 cm 的非癌肝组织。本研究经过医院伦理委员会批准同意实施。

1.2 实验细胞

正常肝细胞系 L-02、HCC 细胞系 HepG2 和 MHCC-97H 购自中国科学院细胞培养物保藏中心 (中国上海)，所有细胞系均在 37 °C、5%CO₂ 的 DMEM 培养基中培养。

1.3 研究方法

1.3.1 随访资料 随访内容包括肝癌切除术后每 3 个月检测血清甲胎蛋白 (AFP) 水平、腹部超声检查和胸部 X 线检查。当怀疑肿瘤复发时，进行计算机断层扫描或/和磁共振成像扫描以确认诊断。总生存期定义为手术日期与患者死亡日期或最后 1 次随访日期之间的时间间隔。无瘤生存期定义为从手术日期到肿瘤复发日期的时间，如果没有证据表明肿瘤复发，则在最后 1 次随访或死亡时进行检查。随访时间截止至 2020 年 1 月，共 5 例患者失访，在生存曲线上表示为截断值。

1.3.2 miR-574-5p 表达与临床病理因素及预后的关系 采用 X-tile3.6.1 (Yale University School of Medicine, USA) 软件，并基于 Kaplan-Meier 法及 Log-rank 检验确立最佳截断值 3.25，将 130 例患者癌组织分成 miR-574-5p 高表达组 ($n=66$) 和 miR-574-5p 低表达组 ($n=64$)，分析 miR-574-5p 高低表达组与临床病理因素及预后的关系。

1.3.3 qRT-PCR 测定 使用 Total RNA mini 试剂盒 (Qiagen, 美国) 从 HCC 组织和细胞系中提取总 RNA。用 Nanodrop 分光光度法测定总 RNA 浓度和纯度。使用大容量 cDNA 逆转录试剂盒 (美国 Applied Biosystems 公司) 将 RNA 反转录为 cDNA。根据制造商的说明，使用定量 RT-PCR 检测试剂盒 (美国 GeneCopoeia) 进行定量 PCR。U6 用作 miR-574-5p 检测的内参。PCR 引物序列如下：miR-574-5p 序列：正链：5'-TGC GGC AAC ACC AGT CGA TGG-3'，反链：5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG T-3'。U6 序列：正链：5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA AAA AAA T-3'，反链：5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'。所有实验均重复 3 次。

1.3.4 双荧光素酶报告基因检测 将野生型 FOG2 3'-UTR 和突变型 FOG2 3'-UTR 插入 PmirGLO 质粒中。将 pmirGLO-FOG2-wt/pmirGLO-FOG2-mut 和 miR-574-5p 模拟物/siRNA 阴性对照共转染到 HepG2 细胞系中。转染后 24 h，应用双荧光素酶报告基因检测系统 (Promega, 美国) 检测荧光素酶活性。所有实验均重复 3 次。

1.3.5 FOG2 蛋白表达及与 miR-574-5p 的相关性 通过 Western blot 测定 HCC 癌及癌旁组织中 FOG2 蛋白表达水平。从上述癌组织中提取总蛋白并定量，通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质，并转移到 PVDF 膜上。与 FOG2 一抗 (1:300, 美国 Santa 公司) 在 4 °C 孵育过夜后，用辣根过氧化物酶偶联的驴抗山羊二抗 (1:500, 美国 Santa 公司) 与 PVDF 膜在 37 °C 下孵育 2 h。GAPDH 作内参，最后，使用凝胶成像系统定量分析蛋白质相对表达量。分析 130 例癌组织中 FOG2 蛋白表达与 miR-574-5p 的相关性。

1.4 统计学处理

所有统计分析均使用 SPSS 19.0 统计软件包 (SPSS, Chicago, IL) 进行，符合正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，两组间均数比较采用 *t* 检验， χ^2 检验用于研究 miR-574-5p 的表达与临床病理因素的关系，Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，Log-rank 检验进行比较。Cox 比例风险回归模型用于单因素和多因素分析，Pearson 相关用于分析 miR-574-5p 与 FOG2 表达的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-574-5p 在 HCC 癌组织及细胞系中的表达

qRT-PCR 检测结果显示, miR-574-5p 在癌组织中的表达水平高于癌旁组织 [(3.89 ± 1.80) vs. (1.13 ±

0.62), $P < 0.05$] (图 1A)。HCC 细胞系 HepG2 及 MHCC-97H 中 miR-574-5p 表达量高于正常肝细胞系 L-02 [HepG2 vs. L-02: (4.04 ± 0.47) vs. (1.06 ± 0.31), $P < 0.05$; MHCC-97H vs. L-02: (4.33 ± 0.44) vs. (1.06 ± 0.31), $P < 0.05$] (图 1B)。

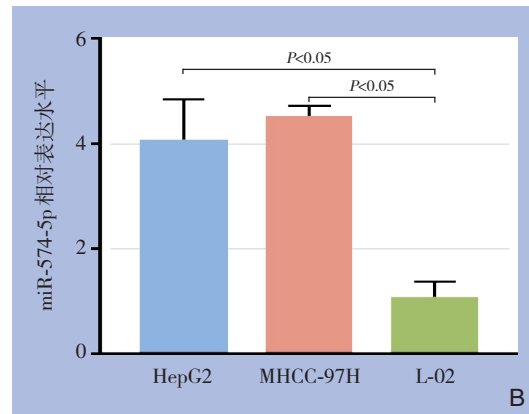
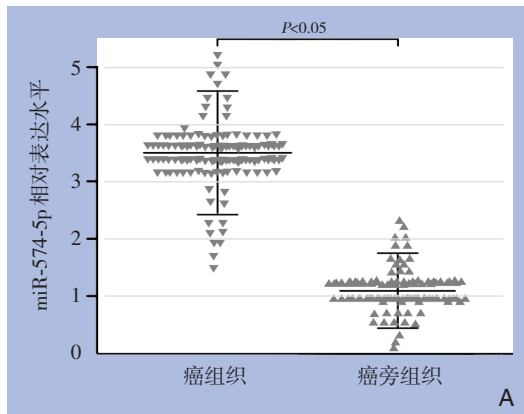


图 1 组织及细胞系中 miR-574-5p 表达水平的比较 A: miR-574-5p 在 HCC 癌及癌旁组织中的表达比较; B: miR-574-5p 在 HCC 细胞系及正常肝细胞系中的表达比较

Figure 1 Comparison of the expression level of miR-574-5p in HCC tissues and cell lines A: Comparison of the expression of miR-574-5p in HCC and adjacent tissues; B: The expression of miR-574-5p in HCC cell lines and normal liver cell line

2.2 miR-574-5p 表达水平与患者临床病理因数的关系

X-tile 软件确立 miR-574-5p 表达量的最佳截断值 3.25, 据此将 130 例患者癌组织分成 miR-574-5p 高表达组 (66 例) 和 miR-574-5p 低表达组 (64 例)。分析结果显示, miR-574-5p 表达与年龄、性别、AFP 浓度、肿瘤数目无明显关系 (均 $P > 0.05$), miR-574-5p 表达与 TNM 分期 ($P = 0.002$) 和分化程度 ($P = 0.000$) 有关 (表 1)。

2.3 miR-574-5p 表达水平与 HCC 患者总生存率及无瘤生存率的关系

Kaplan-Meier 生存曲线表明, miR-574-5p 高表达组 1 年总生存率为 64.1%, 3 年总生存率为 45.9%, 5 年总生存率为 21.8%, miR-574-5p 低表达组 1 年总生存率为 100%, 3 年总生存率为 80.2%, 5 年总生存率为 60.7%, miR-574-5p 高表达组总生存率低于 miR-574-5p 低表达组 ($\chi^2 = 11.85$, $P < 0.01$); miR-574-5p 高表达组 1 年无瘤生存率为 60.2%, 3 年无瘤生存率为 41.5%, 5 年无瘤生存率为 12.7%, miR-574-5p 低表达组 1 年无瘤生存率为 90.3%, 3 年无瘤生存率为 75.4%, 5 年无瘤生存率为 56.1%, miR-574-5p 高表达组无瘤生存率低于 miR-574-5p 低表达组 ($\chi^2 = 10.36$, $P < 0.01$) (图 2A-B)。

表 1 miR-574-5p 的表达和临床病理因数的关系 [n (%)]
Table 1 The relationship between the expression of miR-574-5p and clinicopathologic parameters [n (%)]

因素	例数 (n)	高表达 (n=66)	低表达 (n=64)	χ^2	P
年龄(岁)					
≤50	68	34(51.5)	34(53.1)	2.084	0.672
>50	62	32(48.5)	30(46.9)		
性别					
男	95	45(68.2)	50(78.1)	2.362	0.376
女	35	21(31.8)	14(21.9)		
AFP 浓度(μg/L)					
≥400	72	43(65.2)	29(45.3)	1.418	0.185
<400	58	23(34.8)	35(54.7)		
TNM 分期					
I-II	63	13(19.7)	50(78.1)	13.846	0.002
III-IV	67	53(80.3)	14(21.9)		
分化程度					
高	41	16(24.2)	25(39.1)	11.275	0.000
中低	89	50(75.8)	39(60.9)		
肿瘤数目					
单个	101	52(78.8)	49(76.6)	2.193	0.583
多个	29	14(21.2)	15(23.4)		
肝硬化					
有	86	42(63.6)	44(68.8)	1.648	0.429
无	44	24(36.4)	20(31.2)		

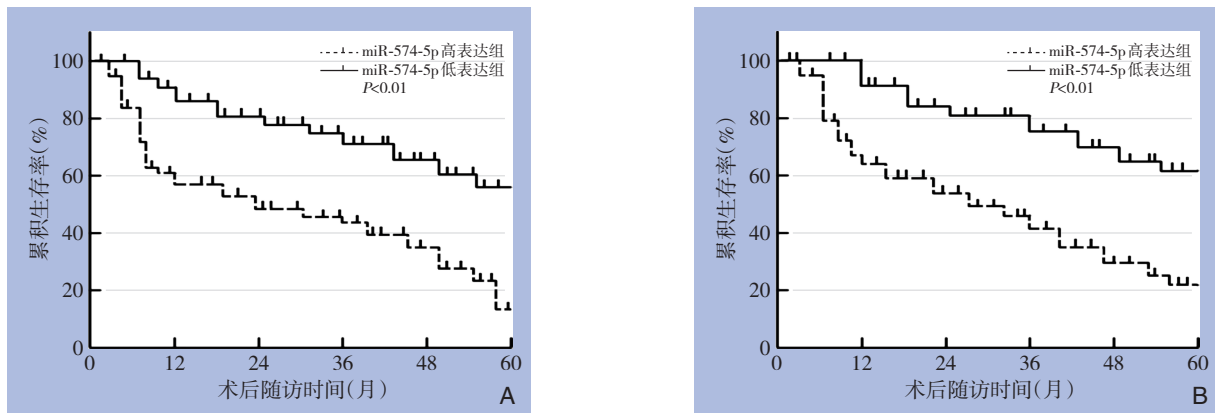


图2 miR-574-5p的表达与HCC患者预后的关系 A: 总生存曲线; B: 无瘤生存曲线

Figure 2 The relationship between the expression of miR-574-5p and the prognosis of HCC patients A: Overall survival curve; B: Tumor-free survival curve

2.4 HCC预后的影响因素分析

Cox回归单因素分析显示, III~IV期、中低分化及miR-574-5p高表达为影响HCC总生存率的因素(均 $P < 0.05$), III~IV期及miR-574-5p高表达为影响无瘤生存率的因素(均 $P < 0.05$) (表2)。Cox回归

多因素分析显示, miR-574-5p高表达、III~IV期及中低分化程是影响HCC患者总生存率的独立危险因素(均 $P < 0.05$), III~IV期及miR-574-5p高表达是影响HCC患者无瘤生存率的独立危险因素(均 $P < 0.05$) (表3)。

表2 影响HCC预后的单因素分析

Table 2 Univariate analysis of factors for the prognosis of HCC

因素	总生存率			无瘤生存率		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
年龄(>50岁 vs. ≤50岁)	1.132	0.316~3.516	0.192	1.536	0.322~3.736	0.125
性别(男 vs. 女)	1.191	0.345~3.857	0.136	1.559	0.357~3.831	0.131
AFP浓度(≥400 ng/mL vs. <400ng/mL)	1.931	0.685~4.056	0.063	1.953	0.615~4.273	0.062
TNM分期(III~IV vs. I~II)	2.879	1.366~5.196	0.009	2.686	1.386~6.009	0.01
分化程度(中低 vs. 高)	2.563	1.609~4.088	0.041	1.551	0.607~4.466	0.086
肝硬化(有 vs. 无)	1.919	0.738~4.102	0.063	1.921	0.793~4.219	0.062
miR-574-5p表达(高 vs. 低)	3.938	1.472~8.038	0.003	3.608	1.431~7.686	0.006

表3 影响HCC预后的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of factors for the prognosis of HCC

参数	总生存率			无瘤生存率		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
TNM分期(III~IV vs. I~II)	5.403	1.266~13.860	0.02	7.436	1.123~20.916	0.00
miR-574-5p(高 vs. 低)	4.101	1.348~8.968	0.03	7.168	1.144~18.260	0.01
分化程度(中低 vs. 高)	3.655	2.165~6.984	0.00	—	—	—

2.5 miR-574-5p靶基因分析

TargetScan软件发现FOG2存在和miR-574-5p直接结合靶点(图3A)。双萤光素酶报告基因实验表明,与FOG2-WT-3'-UTR野生型质粒和miR-574-5p模拟物共转染的萤光素酶活性明显降低($P < 0.05$)。

但FOG2-MUT-3'-UTR和miR-574-5p模拟物共转染后,萤光素酶活性没有变化无统计学意义($P > 0.05$) (图3B)。上述结果表明FOG2是miR-574-5p的直接靶基因。

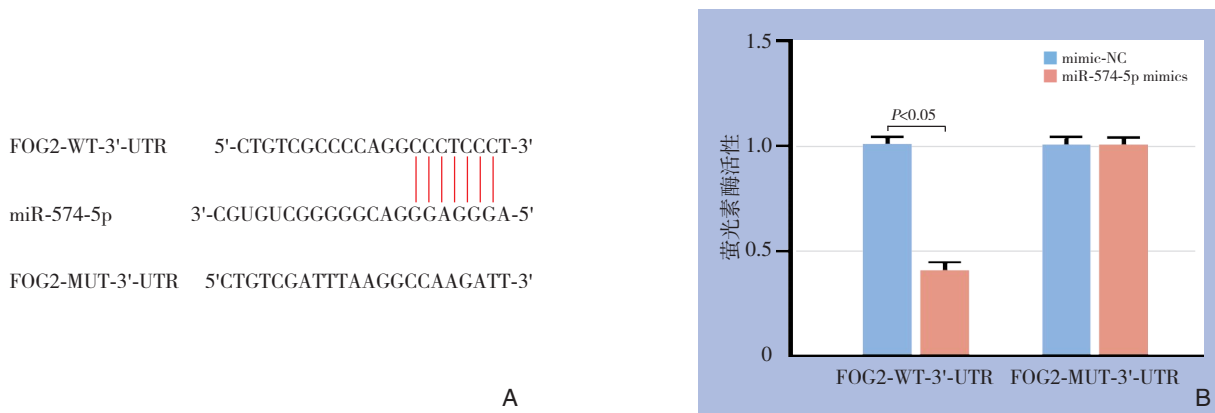


图3 miR-574-5p的靶基因分析 A: FOG2与miR-574-5p存在结合靶点; B: 双萤光素酶实验验证FOG2是miR-574-5p的靶标
Figure 3 Analysis of the target genes of miR-574-5p A: Binding site between FOG2 and miR-574-5p; B: Dual luciferase assay verifying that FOG2 is the target of miR-574-5p

2.6 FOG2在HCC中的表达及其与miR-574-5p的关系

Western blot结果显示, FOG2在癌中的表达量

低于癌旁组织(图4A); Pearson相关分析示, HCC癌组织中miR-574-5p与FOG2蛋白表达呈明显负相关($r = -0.499$, $P < 0.05$)(图4B)。

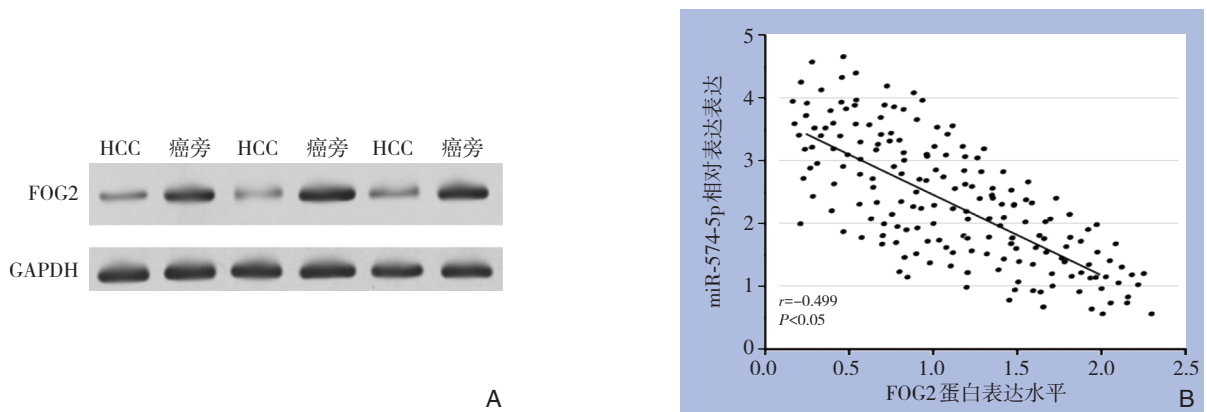


图4 FOG2的表达及其与miR-574-5p表达的关系 A: Western blot检测FOG2在HCC及癌旁组织中的表达; B: FOG2表达与miR-574-5p的相关性分析

Figure 4 FOG2 expression and its relation with miR-574-5p expression A: Western blot experiment shows the expression of FOG2 in cancer and adjacent tissues; B: Correlation analysis of FOG2 expression and miR-574-5p

3 讨论

HCC是常见的恶性肿瘤之一, HCC发生的主要危险因素是HBV慢性持续感染, HCC在亚太地区, 尤其是中国, 发病率较高^[13-14]。2018年11月国家癌症中心发布最新数据表明, 我国癌谱构成中, 虽然肝癌病死率趋势略有下降, 但其发病率仍高居恶性肿瘤的第4位, 肿瘤相关死亡位居第2位^[14-16]。肝癌的主要治疗方法为手术切除、放化疗及分子靶向治疗。近年来, 尽管放化疗、栓塞治疗和免疫治疗取得了长足进步, 但鉴于转移和复发, HCC患者预后仍较差^[17-19]。阐述HCC发生和发展的

分子机制对于深入探寻HCC的发生机制和开发新的治疗靶点具有重要的意义。

miRNA是短链(18~22个核苷酸)非蛋白质编码RNA分子, 可通过结合靶基因mRNA来调控基因表达, 依据靶基因的功能, 参与细胞生物学功能, 调节细胞周期、凋亡、增殖、侵袭及转移等过程, 发挥癌基因或抑癌基因的功能而参与肿瘤的发生或进展^[20-21]。miR-574-5p最先在非小细胞肺癌中被鉴定, 研究^[22]发现miR-574-5p在非小细胞肺癌患者血浆中表达水平增加, 可作为非小细胞肺癌诊断标志物。后续文献报道在乳腺癌^[23]中其可通过miR-574-5p-ZEB1轴调控乳腺癌的发生和进展。

在甲状腺癌中发现 miR-574-5p 高表达可通过 Wnt/ β -catenin 信号途径而调节癌细胞的细胞周期和凋亡^[24]。本研究首先检测 130 例 HCC 癌组织和癌旁组织中 miR-574-5p 表达水平,结果显示 HCC 癌组织中 miR-574-5p 表达水平显著高于癌旁组织。同时与正常肝细胞系 (L-02) 相比,肝癌细胞系 (HepG2 和 MHCC-97H) 中 miR-574-5p 表达水平显著增加,上述研究结果显示在 HCC 癌组织和细胞系中,miR-574-5p 表达水平上调。

本研究将 HCC 患者分为 miR-574-5p 高、低表达两组,发现 miR-574-5p 高表达组患者存在较高的 TNM 分期 (III~IV) 和中低分化程度,表明 miR-574-5p 高表达与 HCC 患者恶性程度密切相关,提示 miR-574-5p 高表达可能促进 HCC 的恶性进展。文献^[25]报道在结直肠癌中,长链非编码 RNA MFI2-AS1 可调节 miR-574-5p/MYCBP 轴而促进结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭,其中 miR-574-5p 呈高表达且与结直肠癌 TNM 分期密切相关,这与本研究结果类似。本研究通过比较 miR-574-5p 高低表达两组患者随访期间无瘤生存率和总生存率,显示 miR-574-5p 低表达组患者的无瘤生存率和总生存率均优于 miR-574-5p 高表达组患者,Cox 比例风险模型发现 miR-574-5p 高表达是预测肝癌患者无瘤生存率和总生存率的独立危险因素,上述研究结果显示 miR-574-5p 高表达是 HCC 患者预后的分子标志物。

FOG2 是转录因子 GATA 家族的共调节因子,其在人体组织中的脑、心脏、肝脏、肺、睾丸和骨骼肌等各种组织中广泛表达,FOG2 生理功能多样化。研究显示其在冠状血管发育、心脏形态、胰岛素信号通路调节和脂质代谢中发挥不同的调节作用^[26-27]。最近研究^[28]表明,FOG2 可能是 PI3K/Akt 信号通路的新型抑制剂。文献^[29]研究显示在人肝星状细胞中,miR-200c 通过靶向 FOG2/PI3K 信号通路加速促进肝星状细胞诱导的肝纤维化。文献^[30]报道在 HCC 细胞系中,沉默 FOG2 表达可促进 HCC 细胞增殖和侵袭。本研究进一步研究 miR-574-5p 潜在的作用机制,双荧光素报告基因实验显示 FOG2 是 miR-574-5p 的直接靶基因。同时在 HCC 癌组织中 FOG2 表达水平与 miR-574-5p 表达水平呈负相关,上述研究结果进一步证实了 miR-574-5p 和 FOG2 存在重要的调节关系,miR-574-5p 高表达的 HCC 患者预后差的机制可能与下调 FOG2 表达,而促进肝癌细胞增殖和侵袭有关。

由于本研究仅探讨了 miR-574-5p 在 HCC 癌组织中的表达及与预后的关系,miR-574-5p 与 FOG2

的靶向相关关系,尚存在一定的不足。首先,miR-574-5p 在 HCC 细胞系中的功能如何,对细胞增殖、凋亡、侵袭及转移的影响尚不得而知;其次,miR-574-5p 在裸鼠动物模型中的功能也值得进一步探讨,也是本研究后期的研究方向。

综上,HCC 组织和细胞系中 miR-574-5p 表达水平上调,miR-574-5p 是 HCC 不良预后的分子标志物,miR-574-5p 可通过靶向 FOG2 而参与 HCC 的发生和进展,是 HCC 潜在治疗和预后的靶向标志物。

参考文献

- [1] McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma[J]. *Hepatology*, 2021, 73(Suppl 1):4-13. doi: 10.1002/hep.31288.
- [2] Kulik L, El-Serag HB. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(2): 477-491. doi: 10.1053/j.gastro.2018.08.065.
- [3] Yarchoan M, Agarwal P, Villanueva A, et al. Recent developments and therapeutic strategies against hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(17): 4326-4330. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0803.
- [4] Zhu XD, Sun HC. Emerging agents and regimens for hepatocellular carcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 110. doi: 10.1186/s13045-019-0794-6.
- [5] Tang X, Feng D, Li M, et al. Transcriptomic analysis of mRNA-lncRNA-miRNA interactions in hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):16096. doi: 10.1038/s41598-019-52559-x.
- [6] Wang X, Gao J, Zhou B, et al. Identification of prognostic markers for hepatocellular carcinoma based on miRNA expression profiles[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116596. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116596.
- [7] Li D, Zhang J, Li J. Role of miRNA sponges in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 500: 10-19. doi: 10.1016/j.cca.2019.09.013.
- [8] Zhou P, Zheng G, Li Y, et al. Construction of a circRNA-miRNA-mRNA network related to macrophage infiltration in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 1026. doi: 10.3389/fgene.2020.01026.
- [9] Ziogas IA, Sioutas G, Mylonas KS, et al. Role of microRNA in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Microna*, 2020, 9(1):25-40. doi: 10.2174/2211536608666190619155406.
- [10] Ji S, Ye G, Zhang J, et al. miR-574-5p negatively regulates Qki6/7 to impact β -catenin/Wnt signalling and the development of colorectal cancer[J]. *Gut*, 2013, 62(5):716-726. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301083.
- [11] Wang X, Lu X, Geng Z, et al. LncRNA PTCSC3/miR-574-5p governs cell proliferation and migration of papillary thyroid

- carcinoma via Wnt/ β -catenin signaling[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12):4745–4752. doi: 10.1002/jcb.26142.
- [12] Ueno M, Morizane C, Ikeda M, et al. A review of changes to and clinical implications of the eighth TNM classification of hepatobiliary and pancreatic cancers[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2019, 49(12):1073–1082. doi: 10.1093/jco/hyz150.
- [13] Xie DY, Ren ZG, Zhou J, et al. 2019 Chinese clinical guidelines for the management of hepatocellular carcinoma: updates and insights [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2020, 9(4):452–463. doi: 10.21037/hbsn-20-480.
- [14] 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]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(12):886–895. doi:10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2017.12.002. Bureau of Medical Administration, National Health and Family Planning Committee. Diagnosis, management, and treatment of hepatocellular carcinoma (V2017) [J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2017, 25(12):886–895. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2017.12.002.
- [15] 陈嘉飞, 周武汉, 王金桂. 输出蛋白 5 的表达与肝细胞癌患者临床病理特征及预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(1):64–69. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.01.009. Chen JF, Zhou WH, Wang JG. Connection of exportin 5 expression to clinicopathologic characteristics and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(1):64–69. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.01.009.
- [16] 邢宏松, 吴国俊, 黎建军, 等. LncRNA NEAT1 对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其机制[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(5):922–928. doi:10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.003. Xiong HS, Wu GJ, Li JJ, et al. Effect of lncRNA NEAT 1 on proliferation, migration and invasion in hepatocarcinoma cell line and its mechanism[J]. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2018, 38(5):922–928. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.003.
- [17] European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu; European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(1):182–236. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.019.
- [18] Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1):358–380. doi: 10.1002/hep.29086.
- [19] Fang Q, Xie QS, Chen JM, et al. Long-term outcomes after hepatectomy of huge hepatocellular carcinoma: A single-center experience in China[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2019, 18(6):532–537. doi: 10.1016/j.hbpd.2019.09.001.
- [20] Zhang S, Chen L, Wang Y, et al. Investigation of the Association of miRNA-499, miRNA-146a, miRNA-196a2 Loci with Hepatocellular Carcinoma Risk: A Case-Control Study Involving 1507 Subjects[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(3):379–388. doi: 10.1089/dna.2019.5145.
- [21] Yu J, Yang M, Zhou B, et al. CircRNA-104718 acts as competing endogenous RNA and promotes hepatocellular carcinoma progression through microRNA-218-5p/TXNDC5 signaling pathway[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(13):1487–1503. doi: 10.1042/CS20190394.
- [22] Foss KM, Sima C, Ugolini D, et al. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(3):482–488. doi: 10.1097/JTO.0b013e318208c785.
- [23] Wang PS, Chou CH, Lin CH, et al. A novel long non-coding RNA linc-ZNF469-3 promotes lung metastasis through miR-574-5p-ZEB1 axis in triple negative breast cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(34):4662–4678. doi: 10.1038/s41388-018-0293-1.
- [24] Zhang Z, Li X, Xiao Q, et al. MiR-574-5p mediates the cell cycle and apoptosis in thyroid cancer cells via Wnt/ β -catenin signaling by repressing the expression of Quaking proteins[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4):5841–5848. doi: 10.3892/ol.2018.8067.
- [25] Li C, Tan F, Pei Q, et al. Non-coding RNA MFI2-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion through miR - 574 - 5p/MYCBP axis[J]. *Cell Proliferation*, 2019, 52(4):e12632. doi: 10.1111/cpr.12632.
- [26] Mei S, Xin J, Liu Y, et al. MicroRNA-200c promotes suppressive potential of myeloid-derived suppressor cells by modulating PTEN and FOG2 expression[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0135867. doi: 10.1371/journal.pone.0135867.
- [27] Liu H, Hu Y, Yin J, et al. Effects of long non-coding RNA uc. 245 on cardiomyocyte-like differentiation in P19 cells via FOG2[J]. *Gene*, 2019, 694:83–92. doi: 10.1016/j.gene.2018.12.080.
- [28] Guo L, Wang J, Yang P, et al. Micro RNA - 200 promotes lung cancer cell growth through FOG2-independent AKT activation[J]. *IUBMB Life*, 2015, 67(9):720–725. doi: 10.1002/iub.1412.
- [29] Ma T, Cai X, Wang Z, et al. miR-200c accelerates hepatic stellate cell-induced liver fibrosis via targeting the FOG2/PI3K pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017:2670658. doi: 10.1155/2017/2670658.
- [30] Yu LX, Zhang BL, Yang MY, et al. MicroRNA-106b-5p promotes hepatocellular carcinoma development via modulating FOG2[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:5639–5647. doi: 10.2147/OTT.S203382.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 李乾, 郭清皓. 肝细胞癌中 miR-574-5p 的表达与作用及其与预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(8):926–933. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.08.007

Cite this article as: Li Q, Guo QH. Expression and action of miR-574-5p in hepatocellular carcinoma and its association with prognosis[J]. *Chin J Gen Surg*, 2021, 30(8):926–933. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2021.08.007