

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.005

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.005>

## miR-99a 在原发性肝癌组织中的表达及临床意义

石小康, 丁佑铭, 汪斌, 余斌, 徐雨, 熊豪

(武汉大学人民医院肝胆外科, 武汉 430060)

**[摘要]** **目的:** 分析miR-99a在肝癌组织中的表达及临床意义, 并通过miR-99a靶基因预测及功能分析探究其在原发性肝癌研究中的潜在价值。**方法:** 从癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库和基因表达综合(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库下载人正常肝组织和肝癌组织中的miR-99a基因表达谱及相应的临床病理资料, 分析miR-99a在肝癌及正常肝组织的表达及其与肝癌患者临床病理特征和预后的相关性; 同时利用生物信息学方法预测miR-99a的靶基因并对其进行功能富集分析。**结果:** miR-99a在肝癌组织中表达显著下调(均 $P < 0.001$ ), 其表达水平与肝癌患者性别、年龄、病理分级, Child-Pugh分级、甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)水平、血管侵袭等有关(均 $P < 0.05$ )。生存分析结果提示miR-99a低表达是影响肝癌患者总生存率(overall survival, OS)和无病生存率(disease-free survival, DFS)的独立危险因素(均 $P < 0.05$ )。共筛选出miR-99a靶基因169个, 富集分析提示其主要涉及细胞周期阻滞、有丝分裂细胞周期的G<sub>1</sub>/S转换、泛素蛋白转移酶活性调节等功能, 参与cGMP-PKG, HIF-1, Wnt等信号通路。**结论:** miR-99a在肝癌组织中表达下调, 与患者生存预后密切相关, 可作为一种潜在的抑癌基因抑制肝癌的发生、发展, 极有潜力作为肝癌早期诊断、预后评估及靶向治疗的新靶标。

**[关键词]** 癌症基因组图谱; 肝癌; miR-99a

## Expression of miR-99a in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

SHI Xiaokang, DING Youming, WANG Bin, YU Bin, XU Yu, XIONG Hao

(Department of Hepatobiliary Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

**Abstract** **Objective:** To observe the expression and clinical significance of miR-99a in primary liver cancer tissues, and explore the potential value of miR-99a in liver cancer research. **Methods:** The expression data of miR-99a and its clinical information were downloaded from the Cancer Genome Atlas (TCGA) and Gene Expression Omnibus (GEO) database. Then the relationship between the expression of miR-99a and its clinic-pathological parameters and the prognostic value of miR-99a was analyzed. The bioinformatics analysis was applied to predict miR-99a target genes and perform the functional enrichment analysis of these genes. **Results:** The expression level of miR-99a in liver cancer was significantly downregulated than that in normal liver tissue (all  $P < 0.001$ ). Moreover, its

收稿日期 (Date of reception): 2019-03-18

通信作者 (Corresponding author): 丁佑铭, Email: dingym@whu.edu.cn

expression level was significantly correlated with gender, age, histological grade, Child-Pugh grade, AFP, vascular invasion of HCC patients (all  $P < 0.05$ ), and survival analysis showed that low-expression of miR-99a was an independent risk factor for OS and DFS of HCC (all  $P < 0.05$ ). Bioinformatics analysis showed that the 169 target genes were associated with cell cycle arrest, G<sub>1</sub>/S transition of mitotic cell cycle, ubiquitin-protein transferase regulator activity, and mainly enriched in cGMP-PKG signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, Wnt signaling pathway and so on. **Conclusion:** miR-99a is aberrantly expressed in HCC tissues and its expression might be a diagnostic biomarker, prognostic indicator and therapeutic target for HCC patients.

**Keywords** the Cancer Genome Atlas; liver cancer; miR-99a

原发性肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最为常见, 约70%~90%<sup>[1]</sup>。全球每年新增肝癌患者约841 000例患者, 死亡病例高达782 000左右<sup>[2]</sup>。我国作为肝病大国, 每年新增病例和死亡人数的占总数的50%以上, 造成了严重的社会经济负担。肝癌起病隐匿, 早期缺乏典型的临床症状, 大多数患者确诊时已处于中晚期, 错失最佳治疗时机, 故整体预后欠佳。早期诊断、及时治疗是改善肝癌预后的关键。目前, 甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)联合肝脏超声检查是临床肝癌筛查中最常用手段, 但仍有部分患者出现假阴性。因此, 深入研究肝癌的发病机制, 寻找敏感性高、特异性强的肿瘤标志物, 以提高早期肝癌诊断效率并采取有效治疗必将大有裨益。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度为17~25个核苷酸的内源性非编码RNA分子, 其可在转录或转录后水平通过靶向调控特定靶基因表达参与生命活动调节。近年来研究<sup>[3]</sup>发现: 诸多miRNA在肿瘤组织中异常表达, 与肿瘤增殖、侵袭转移及预后等密切相关。作为一种新近发现的miRNA, miR-99a已被报道在多种肿瘤细胞或组织中异常表达, 且呈一定的组织特异性。如在鼻咽癌细胞和组织中miR-99a表达均较正常细胞和组织明显下调, 通过体外异位过表达miR-99a可显著抑制鼻咽癌细胞迁移和侵袭能力<sup>[4]</sup>。类似的, 在膀胱癌<sup>[5]</sup>和头颈部鳞状细胞癌<sup>[6]</sup>中亦发现miR-99a作为一类抑癌基因参与肿瘤的发生、发展。然而, 亦有研究报道miR-99a在胰腺癌<sup>[7]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[8]</sup>等表达上调而发挥促癌基因的作用。由此可知, miR-99a在不同肿瘤发展中扮演不同的角色。鉴于目前miR-99a在肝癌中的研究尚少, 本研究联合TCGA和GEO公共数据库肝癌组织标本数据, 分析miR-99a在肝癌中的表达及其临床意义, 旨在探讨其在肝癌早期诊断、治疗、预后评估等方面的潜在价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据来源与筛选

从TCGA数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)下载50例正常肝组织和371肝癌组织样本经标准化后的miRNAseq, mRNA seqV2表达谱数据集及匹配的患者临床病理资料。纳入标准: 1)病理确诊为肝细胞肝癌的肝癌患者; 2)具备完整的miR-99a基因表达数据; 3)有完整的临床资料及预后随访资料。经过严格的纳入标准, 最终余下正常肝组织样本50例, 肝癌组织样本366例, 其中有318例包含完整的无病生存时间。进一步利用GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载标准化处理后的GSE10694 miRNA表达数据集, 其包含78例肝癌组织和88例癌旁组织。获取的miR-99a基因表达谱数据经log<sub>2</sub>处理后用于后续。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 患者分组

提取366例肝癌患者miR-99a表达谱数据集及匹配的患者临床病理资料, 根据miR-99a表达量, 使用X-tile3.6.1软件基于Kaplan-Meier法及Log-rank检验确立最佳截断值为3.1, 据此将患者分为miR-99a低表达组( $n=257$ )与miR-99a高表达组( $n=109$ )。

#### 1.2.2 miR-99a靶基因预测

利用在线靶基因预测数据库TargetScan 7.2([http://www.targetscan.org/vert\\_72/](http://www.targetscan.org/vert_72/))和DIANA-microT(<http://diana.imis.athena-innovation.gr>)联合预测miR-99a的靶基因, 二者结果取交集; 同时利用具有实验验证支持的miRTraBase(<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw>)和miRwalk(<http://129.206.7.150/>)靶基因数据库联合分析miR-99a靶基因, 二者结果取交集后与上述结果一并作为最终miR-99a靶基因预测结果。

#### 1.2.3 靶基因功能富集分析

利用在线工具DAVID(<https://david.ncifcrf>。

gov/)对miR-99a靶基因进行基因本体论(Gene Ontology, GO)及KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)通路富集分析。GO富集分析包括生物过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)三部分。

#### 1.2.4 关键靶基因筛选

利用在线数据库String(<https://string-db.org/>)构建靶基因蛋白网络互作图(protein protein interaction network, PPI), 并利用Cytoscape软件优化PPI网络图。依据蛋白连接度(degree)筛选出前10%关键基因, 进一步利用在线数据库GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析所得靶基因在肝癌及癌旁组织中的表达差异及生存预后。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析, 使用GraphPad Prism 6软件作图。计量资料采用独立样本 $t$ 检验; 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线用于评价指标诊断效能, 计算曲线下面积(area under the curve, AUC); miR-99a表达水平与肝癌患者临床病理学特征采用 $\chi^2$ 检验; Kaplan-Meier法分别分析两组患者的总生存期(overall survival, OS)和无病生存期(disease-

free survival, DFS), log-rank法检验; 单因素及多因素Cox回归模型评价各临床病理学参数及miR-99a表达水平对肝癌患者预后的影响。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-99a 在肝癌组织及癌旁组织中的差异表达及诊断价值

TCGAS数据和GEO数据(GSE10694)结果均显示肝癌组织中miR-99a表达显著低于癌旁组织(均 $P<0.001$ )。且miR-99a表达低表达对HCC有较好的诊断意义(TCGA: AUC 0.8696,  $P<0.001$ ; GSE10694: AUC 0.7986,  $P<0.001$ )。结果提示miR-99a在HCC中低表达, 且有较好的HCC诊断价值(图1)。

### 2.2 miR-99a 表达与肝癌患者临床病理学特征关系

miR-99a表达水平与肝癌患者临床病理学的相关性分析结果显示: miR-99a表达水平与肝癌患者年龄( $P=0.044$ )、性别( $P=0.004$ )、病理分级( $P=0.001$ )、Child-Pugh分级( $P=0.002$ )、AFP水平( $P<0.001$ )、血管侵袭( $P=0.022$ )等均有关, 而与TNM分期无显著相关( $P=0.132$ , 表1)。

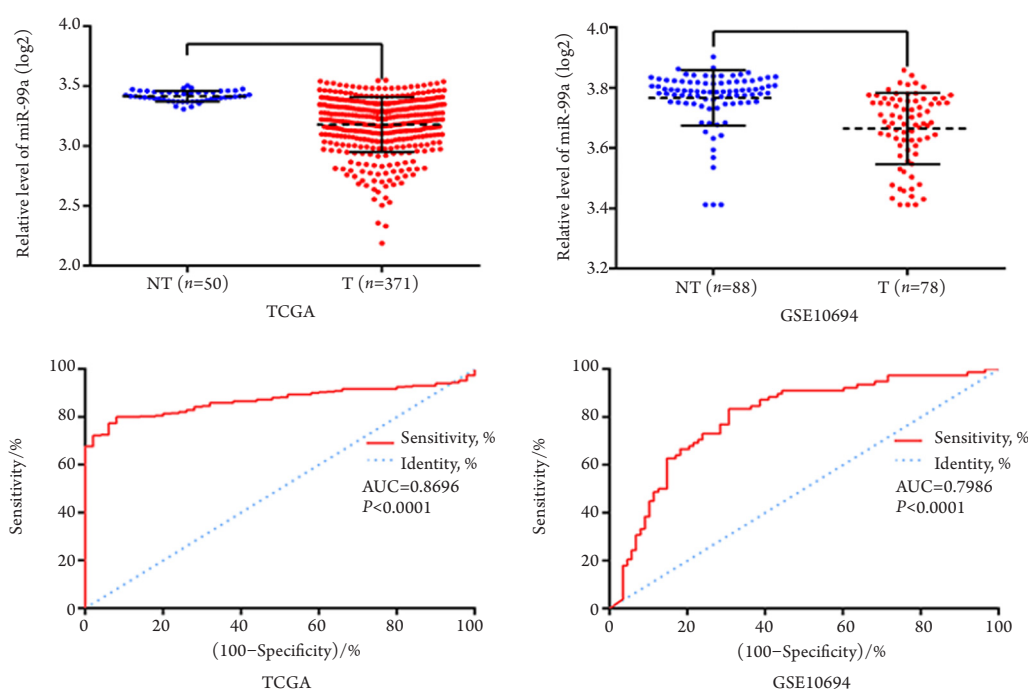


图1 miR-99a表达在肝癌及癌旁组织中的比较及其诊断肝癌的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of expression levels of miR-99a in HCC tissues, adjacent liver tissues, and miR-99a for diagnosis of HCC

表1 肝癌患者miR-99a表达水平与临床病理参数之间的关系

Table 1 Relationship between the expression of miR-99a and clinicopathological parameters of patients with liver cancer

参数	n	miR-99a 表达水平 / 例		$\chi^2$	P
		低表达组	高表达组		
年龄 / 岁				4.045	0.044
≤ 60	230	77	153		
>60	136	32	104		
性别				8.409	0.004
男	248	62	186		
女	118	47	71		
TNM 分期				4.042	0.132
I+II	253	68	185		
III+IV	89	34	55		
病理分级				13.385	0.001
G <sub>1</sub> /G <sub>2</sub>	229	53	176		
G <sub>3</sub> /G <sub>4</sub>	133	55	78		
Child-Pugh 分级				7.803	0.002
A	214	50	162		
B+C	22	7	15		
AFP/(ng·mL <sup>-1</sup> )				16.620	<0.001
≤ 20	145	29	116		
>20	130	55	75		
血管侵袭				7.604	0.022
无	203	49	154		
有	108	42	66		

### 2.3 miR-99a 表达与肝癌患者 OS 的关系

利用 X-tile 软件分析得出 miR-99a 表达高/低分组最佳临界值为 3.1, 确定 miR-99a 表达量前 70.12% 为低表达组 ( $n=257$ ), 后 29.88% 为高表达组 ( $n=109$ , 图 2A)。然后利用 Kaplan-Meier 法分析 miR-99a 表达水平与肝癌患者 OS 关系, 结果显示 miR-99a 高表达组中位生存时间为 60.84 个月, 低表达组为 30.58 个月, 明显高于低表达组, 差异具有统计学意义 ( $P=0.0093$ , 图 2B)。为进一步探究 miR-99a 表达对评估肝癌患者 OS 预后价值, 利用 Cox 比例风险模型进行了单因素和多因素分析。单因素分析结果显示: miR-99a 表达水平 ( $P=0.01$ )、AFP 表达水平 ( $P=0.02$ )、TNM 分期 ( $P<0.001$ ) 与肝癌患者 OS 显著相关; 多因素 Cox 回归分析进一步提示 TNM 分期 ( $HR=1.890$ , 95%CI: 1.259~2.837,

$P=0.002$ )、miR-99a 表达水平 ( $HR=0.649$ , 95%CI: 0.444~0.947,  $P=0.025$ ) 是影响肝癌患者 OS 的独立危险因素 (表 2)。

### 2.4 miR-99a 表达与肝癌患者 DFS 的关系

与此同时, 利用 Kaplan-Meier 法分析 miR-99a 表达水平与肝癌患者 DFS 关系, 结果显示: miR-99a 高表达组中位无病生存时间为 24.77 个月, 低表达组为 10.01 个月, 明显高于低表达组, 差异具有统计学意义 ( $P=0.0089$ , 图 2C)。利用 Cox 比例风险模型进行了单因素和多因素分析, 单因素分析结果显示: miR-99a 表达水平 ( $P=0.01$ )、AFP 表达水平 ( $P=0.022$ )、TNM 分期 ( $P<0.001$ ) 与肝癌患者 DFS 显著相关; 多因素 Cox 回归分析进一步提示 TNM 分期 ( $HR=1.902$ , 95%CI: 1.331~2.718,

$P < 0.001$ )、miR-99a表达水平(HR=0.754, 95%CI: 0.521~1.089,  $P=0.032$ )是影响肝癌患者DFS的独立危险因素(表3)。

## 2.5 miR-99a 靶基因预测及富集分析

联合TargetScan, DIANA-microT, miRTrabase及miRwalk四个靶基因预测数据库共获得miR-99a靶基因169个。如图3A所示, GO分析结果显示miR-99a靶基因参与的BP包括细胞周期阻滞、有丝分裂细胞周期的G<sub>1</sub>/S转换, 蛋白质磷酸化、凋亡、自噬、Wnt信号通路等; 涉及的MF主要为转录因子结合、核酸结合、泛素蛋白转移酶活性调节等; 参与的CC主要有质膜、核膜、染色体、高尔基体等。KEGG通路分析结果显示miR-99a靶基因主要参与cGMP-PKG信号通路、HIF-1信号通路等。

## 2.6 miR-99a 关键靶基因筛选

联合String数据库及Cytoscape软件分析靶基因蛋白网络互作关系, 依据PPI中心节点

(node)大小及连接度(degree)筛选出人泛素启动子(ubiquitin B, UBB)、RNA聚合酶2亚基E(RNA polymerase II subunit E, POLR2E)、核糖体蛋白S6(ribosomal protein S6, RPS6)、AKT1、雷帕霉素靶蛋白(the mammalian target of rapamycin, mTOR)、接头蛋白复合体(adaptor related protein complex 2 subunit beta 1, AP2B1)、腺苷酸环化酶9(adenylate cyclase 9, ADCY9)、网格蛋白重链(clathrin heavy chain, CLTC)、核糖体蛋白S15(ribosomal protein S15, RPS15)、转录因子II H肽1(general transcription factor II H subunit 1, GTF2H1)等关键靶基因(图3B)。进一步利用GEPIA网站在线分析上述关键靶基因在肝癌组织及癌旁组织中的差异表达及生存预后, 结果显示: AP2B1, CLTC, RPS15, GTF2H1在肝癌组织中表达上调, 且其表达上调与不良预后密切相关(均 $P < 0.05$ ), 提示miR-99a可能通过靶向调节AP2B1, CLTC, RPS15, GTF2H1等基因的异常表达而参与肝癌的发生、发展(图4)。

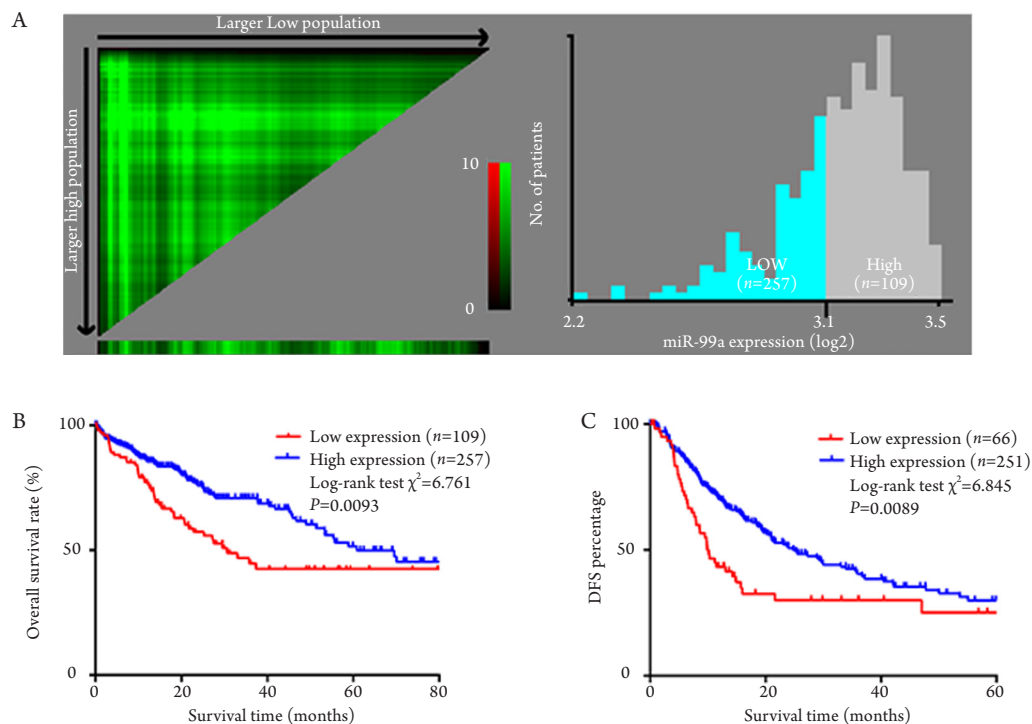


图2 肝癌患者(A)X-tile分析结果及(B, C)miR-99a表达与肝癌患者预后关系

Figure 2 Results of (A) X-tile analysis and (B, C) the Kaplan-Meier curves of OS and DFS in HCC patients

表2 肝癌患者总体生存率影响因素的Cox回归分析

Table 2 Cox regression analysis of factors affecting OS in HCC patient

参数	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄/岁						
>65 vs ≤65	1.242	0.873~1.766	0.228			
性别						
男 vs 女	0.819	0.572~1.174	0.277			
AFP/(ng·mL <sup>-1</sup> )						
>20 vs ≤20	1.688	1.087~2.620	0.020	1.314	0.830~2.079	0.244
TNM分期						
III/IV期 vs I/II期	2.530	1.738~3.685	<0.001	1.890	1.259~2.837	0.002
病理分级						
G <sub>3</sub> /G级 vs G <sub>1</sub> /G <sub>2</sub> 级	1.138	0.792~1.635	0.484	1.239	0.842~1.822	0.277
血管侵袭						
有 vs 无	1.369	0.902~2.079	0.140	1.079	0.704~1.654	0.726
miR-99a表达水平						
高表达 vs 低表达	0.624	0.435~0.893	0.010	0.649	0.444~0.947	0.025

表3 肝癌患者无病生存率影响因素的Cox回归分析

Table 3 Cox regression analysis of factors affecting DFS in HCC patients

参数	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄/岁						
>65 vs ≤65	0.941	0.888~1.288	0.706			
性别						
男 vs 女	0.886	0.644~1.219	0.456			
AFP/(ng·mL <sup>-1</sup> )						
>20 vs ≤20	1.505	1.062~2.133	0.022	1.377	0.960~1.976	0.082
TNM分期						
III/IV期 vs I/II期	2.351	1.686~3.278	<0.001	1.902	1.331~2.718	<0.001
病理分级						
G <sub>3</sub> /G级 vs G <sub>1</sub> /G <sub>2</sub> 级	1.121	0.821~1.530	0.472	1.047	0.747~1.468	0.789
血管侵袭						
有 vs 无	2.016	1.425~2.851	<0.001	1.659	1.161~2.371	0.005
miR-99a表达水平						
高表达 vs 低表达	0.628	0.441~0.893	0.010	0.754	0.521~1.089	0.032

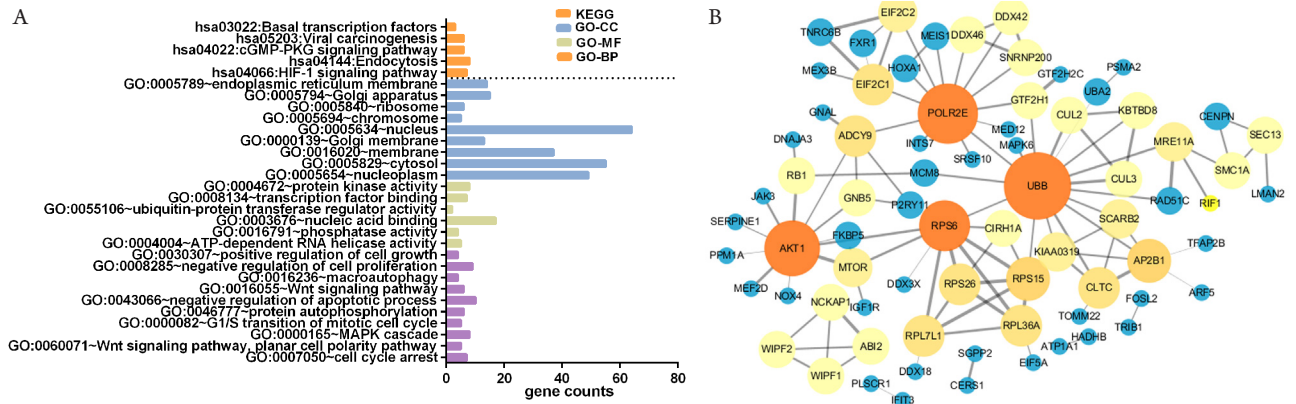


图3 miR-99a靶基因的生物信息学分析

Figure 3 Bioinformatics analysis of target genes of miR-99a

(A)miR-99a靶基因的功能及富集分析; (B)miR-99a靶基因的蛋白网络互作图。

(A) Functional and pathway enrichment analyses of the target genes of miR-99a; (B) The protein-protein interaction networks of the target genes of miR-99a.

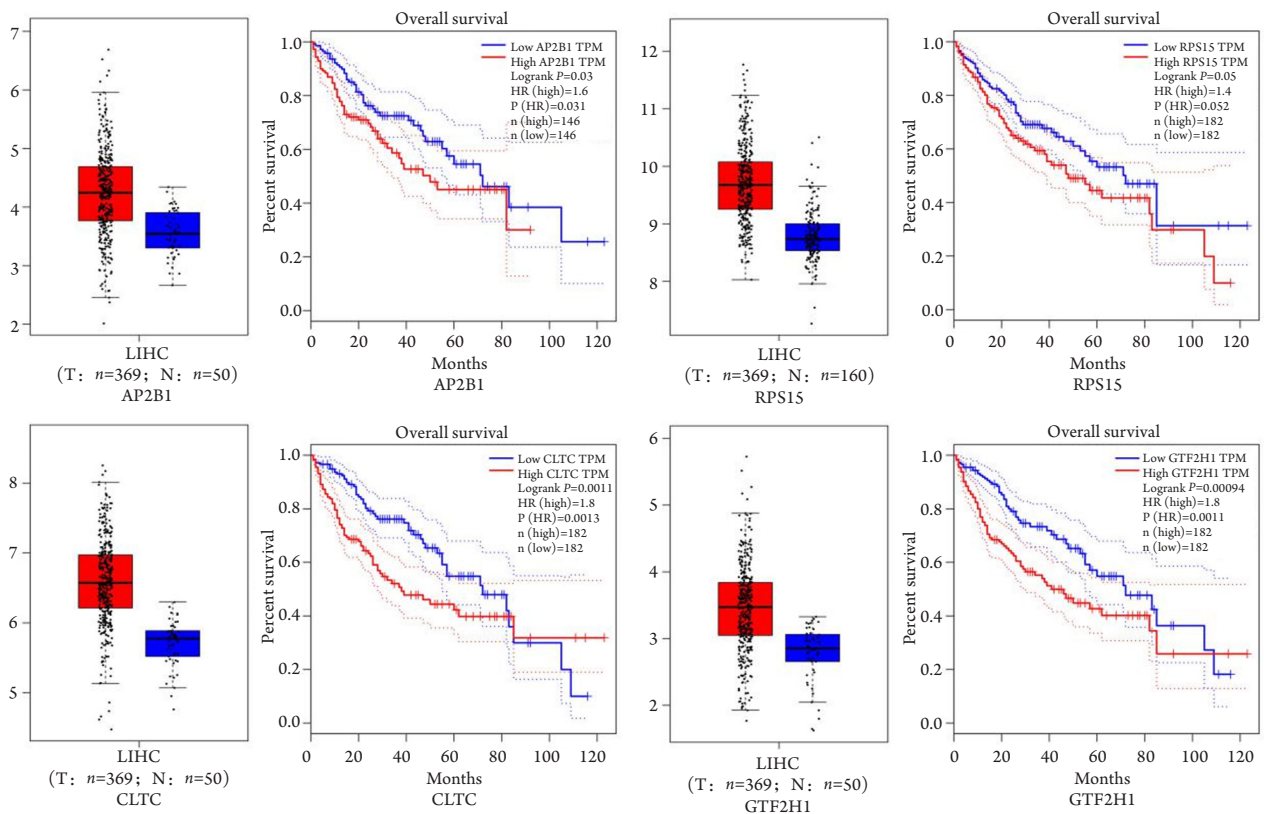


图4 GEPIA数据库验证miR-99a关键靶基因在肝癌组织中的表达及相关的生存曲线

Figure 4 Expressions and survival curves of the key target genes of miR-99a in HCC tissues verified by GEPIA

### 3 讨论

miRNA是一类高度保守的单链非编码RNA, 主要通过与其靶基因mRNA的3'-UTR序列结合, 形成RNA诱导的沉默复合体, 降解或阻断其翻译过程, 进而参与调控人类基因的表达, 在人类基因调控中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。有资料<sup>[10]</sup>显示仅占人类基因总数1%~2%的miRNA参与着人类30%左右的基因调控。异常表达的miRNA可作为原癌基因(如miR-760<sup>[11]</sup>, miR-32<sup>[12]</sup>等)或抑癌基因(如miR-505<sup>[13]</sup>, miR-146a<sup>[14]</sup>等)参与人类多种肿瘤的发生、发展。近年来, 诸多研究报道miR-99a在鼻咽癌<sup>[4]</sup>、膀胱癌<sup>[5]</sup>、头颈部鳞状细胞癌<sup>[6]</sup>、胰腺癌<sup>[7]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[8]</sup>等多种实体肿瘤中发挥重要作用。例如, 在非小细胞肺癌细胞A549中, 放射敏感的A549细胞miR-99a表达水平明显高于放射非敏感的A549肿瘤细胞, 高表达的miR-99a可通过靶向mTOR信号通路增加肿瘤细胞的放疗敏感性<sup>[8]</sup>; 在膀胱癌中miR-99a的表达显著下调, 其表达上调可抑制AKT存活途径并增强依维莫司(RAD001)诱导的膀胱癌细胞凋亡<sup>[5]</sup>。鉴于miR-99a的异常表达与诸多肿瘤关系密切, 可能成为肿瘤检测、治疗及预后评估的重要靶标。

目前, miR-99a在诸多肿瘤中研究已较为深入, 然而其在肝癌中研究尚少。Li等<sup>[15]</sup>通过应用第二代高通量大规模平行测序法(massively parallel signature sequencing, MPSS)检测正常肝组织中miRNA表达丰度及所占比例, 发现miR-99a在正常肝组织中丰度排名第6, 显著高于肝癌组织中的表达水平。且miR-99a表达上调可以抑制IGF-1R和mTOR信号转导, 使下游包括Cyclin D1在内的细胞周期蛋白的转录水平下降从而蛋白表达减少, 进而抑制肝癌细胞生长。鉴于上述研究样本量少, 可能存在结果偏倚, 且无miR-99a表达水平与肝癌患者总体生存的结果支持。本研究联合TCGA和GEO数据库, 立足大样本数据进一步分析异常miR-99a表达在肝癌患者早期诊治及预后评估中的重要意义, 证实miR-99a在HCC组织中低表达, ROC曲线结果显示miR-99a表达水平对肝癌具有良好的诊断效能, 揭示miR-99a具有潜在的HCC诊断应用价值, 且进一步利用Kaplan-Meier法分析发现miR-99a表达水平不仅与肝癌患者DFS显著相关; 且与miR-99a高低表达组肝癌患者OS亦存在显著差异, 进一步证实miR-99a在肝癌发生、发展中的重要作用。

此外, 笔者通过联合TargetScan, DIANA-

microT, miRTraBase及miRwalk四个数据库系统的预测miR-99a靶基因, 共得到169个潜在靶基因, 并利用GO和KEGG功能富集分析, 结果显示: miR-99a靶基因主要参与细胞周期阻滞、有丝分裂细胞周期的G<sub>1</sub>/S转换, 蛋白质磷酸化、凋亡、自噬等生物学过程, 以及通过Wnt, cGMP-PKG及HIF-1等信号通路调控肿瘤细胞的生命活动。进一步通过构建靶基因蛋白网络互作关系及联合靶基因差异表达和生存预后分析, 除既往研究证实的IGF-1R和mTOR两个关键靶基因外, 还获得AP2B1, CLTC, RPS15, GTF2H1等关键靶基因, 为进一步研究其在肝癌中的具体作用机制提供新思路。现有研究报道AP2B1是接头蛋白复合体2(AP-2)的beta-型亚基, 参与控制正常细胞黏附形成与侵袭性黏附结构之间的平衡。Lian等<sup>[16]</sup>发现: RPS15在肝癌组织和细胞中表达上调, 且其表达上调明显促进肝癌细胞的生长。亦有研究<sup>[17]</sup>发现: 沉默RPS15a则可抑制人肝癌细胞的增殖, 并将细胞周期阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, 提示RPS15具有促进肝癌的发生潜在作用。Wu等<sup>[18]</sup>研究报道: GTF2H1是多蛋白复合物转录因子II H(TFIID)的p62亚基, 通过与多种致癌重要因子的特异性相互作用, 参与核苷酸切除修复过程和转录调控, GTF2H1基因变异与肺癌易感的关系密切。然而, 目前关于CLTC, GTF2H1在肝癌中的作用报道尚少, 有待进一步研究。由此可知, miR-99a不仅可以通过调控IGF-1R和mTOR参与肝癌的发生和发展, 且可能通过AP2B1, CLTC, RPS15, GTF2H1等关键靶基因影响肝癌的发生、发展, 但仍需后续实验予以佐证。

综上, 本研究利用生物信息学方法分析了miR-99a在肝癌患者中的表达及其与肝癌患者预后的相关性, 揭示了miR-99a在肝癌早期诊断及预后评估的潜在意义。为进一步研究miR-99a在肝癌发生发展中作用提供可靠的线索, 同时对进一步揭示肝癌发生的分子机制有重要价值。然而, miR-99a及其靶基因在HCC中具体作用及其机制还需后续实验进一步佐证, 以期为肝癌的临床诊断、治疗及预后评估提供新方向。

### 参考文献

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36



- cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
3. Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469.
  4. Wang JG, Tang WP, Liao MC, et al. MiR-99a suppresses cell invasion and metastasis in nasopharyngeal carcinoma through targeting HOXA1[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 753-761.
  5. Tsai TF, Lin JF, Chou KY, et al. miR-99a-5p acts as tumor suppressor via targeting to mTOR and enhances RAD001-induced apoptosis in human urinary bladder urothelial carcinoma cells[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 239-252.
  6. Chen YT, Yao JN, Qin YT, et al. Biological role and clinical value of miR-99a-5p in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC): a bioinformatics-based study[J]. *FEBS Open Bio*, 2018, 8(8): 1280-1298.
  7. Stroese AJ, Ullerich H, Koehler G, et al. Circulating microRNA-99 family as liquid biopsy marker in pancreatic adenocarcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(12): 2377-2390.
  8. Yin H, Ma J, Chen L, et al. MiR-99a enhances the radiation sensitivity of non-small cell lung cancer by targeting mTOR[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(2): 471-481.
  9. Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing[J]. *Nat Rev Genet*, 2015, 16(7): 421-433.
  10. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
  11. Sun D, Lu J, Hu C, et al. Prognostic role of miR-760 in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(6): 7239-7244.
  12. Liu YT, Zong D, Jiang XS, et al. miR-32 promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis by targeting CXXC5[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 120(4): 6250-6263.
  13. Tian L, Wang ZY, Hao J, et al. miR-505 acts as a tumor suppressor in gastric cancer progression through targeting HMGB1[J]. *J Cell Biochem*, 2018, [Epub ahead of print].
  14. Shomali N, Shirafkan N1, Duijf PHG, et al. Downregulation of miR-146a promotes cell migration in Helicobacter pylori-negative gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 120(6): 9495-9505.
  15. Li D, Liu X, Lin L, et al. MicroRNA-99a inhibits hepatocellular carcinoma growth and correlates with prognosis of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(42): 36677-36685.
  16. Lian Z, Liu J, Li L, et al. Human S15a expression is upregulated by hepatitis B virus X protein[J]. *Mol Carcinog*, 2004, 40(1): 34-46.
  17. Xu M, Wang Y, Chen L, et al. Down-regulation of ribosomal protein S15A mRNA with a short hairpin RNA inhibits human hepatic cancer cell growth in vitro[J]. *Gene*, 2014, 536(1): 84-89.
  18. Wu W, Liu H, Lei R, et al. Genetic variants in GTF2H1 and risk of lung cancer: a case-control analysis in a Chinese population[J]. *Lung Cancer*, 2009, 63(2): 180-186.

本文引用: 石小康, 丁佑铭, 汪斌, 余斌, 徐雨, 熊豪. miR-99a在原发性肝癌组织中的表达及临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(11): 2371-2379. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.005

**Cite this article as:** SHI Xiaokang, DING Youming, WANG Bin, YU Bin, XU Yu, XIONG Hao. Expression of miR-99a in hepatocellular carcinoma and its clinical significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(11): 2371-2379. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.005