

# 微小核糖核酸-16与肝细胞癌 临床病理特征、预后的关系 及对肝癌细胞侵袭转移的影响

史东利, 冯延平, 刘海洋 (北京市顺义区医院 肝胆外科, 北京 101300)

**摘要:** 目的 分析微小核糖核酸 (microRNA, miR) -16与肝细胞癌临床病理特征、预后的关系, 并探讨其对肝癌细胞侵袭转移的影响。方法 选取2014年1月至2016年1月于北京市顺义区医院诊治的88例肝细胞癌患者为研究对象, 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测患者肝癌组织和癌旁正常组织中miR-16的相对表达水平, 以肝癌组织miR-16相对表达量的平均数为分界点, 大于或等于该值者为miR-16高表达组, 低于该值者为miR-16低表达组, 并分析两组患者肿瘤直径、Edmondson分级、包膜受侵、门脉受侵及肝内转移情况及TNM分期的差异。对所有研究对象随访3年, 记录患者无进展生存期 (progression-free-survival, PFS) 和总生存期 (overall survival, OS), 采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线并分析miR-16低表达组和miR-16高表达组生存率的差异, 用Cox回归模型探讨影响肝细胞癌预后的独立危险因素。采用miR-16过表达质粒和空载质粒转染肝癌细胞系Huh-7, 建立miR-16过表达组和阴性对照组, 同时设立空白对照组 (未给予干预措施); 用Transwell实验检测miR-16在体外肝癌细胞侵袭转移中的作用。结果 miR-16在肝癌组织和癌旁正常组织中相对表达量分别为 $0.86 \pm 0.19$ 和 $1.85 \pm 0.47$ , 差异有统计学意义 ( $t = 4.009$ ,  $P = 0.016$ )。miR-16低表达组包膜受侵、门脉受侵、肝内转移及TNM III期发生率分别为76.7% (23/30)、53.3% (16/30)、56.7% (17/30)、66.7% (20/30); miR-16高表达组上述指标分别为43.1% (25/58)、43.1% (17/58)、31.0% (18/58)、37.9% (22/58), 差异均有统计学意义 ( $\chi^2$ 值分别为8.954、4.869、5.423、6.544,  $P$ 值分别为0.003、0.027、0.020、0.011)。miR-16低表达组肿瘤直径 $\leq 5$  cm比例为40.0% (12/30), Edmondson I ~ II级比例为46.7% (14/30); miR-16高表达组上述指标分别为55.2% (32/58)、63.8% (37/58), 差异无统计学意义 ( $\chi^2$ 值分别为1.821、2.380,  $P$ 值分别为0.177、0.123)。随访3年, miR-16低表达组和高表达组患者PFS分别为 ( $22.90 \pm 2.17$ ) 个月和 ( $29.47 \pm 1.24$ ) 个月, 差异有统计学意义 ( $t = 18.094$ ,  $P < 0.001$ ); miR-16低表达组和高表达组患者OS分别为 ( $24.87 \pm 2.01$ ) 个月和 ( $31.00 \pm 1.03$ ) 个月, 差异有统计学意义 ( $t = 18.966$ ,  $P < 0.001$ )。miR-16低表达组和miR-16高表达组无进展生存率 [33.33% (10/30) vs 58.62% (34/58)] 和总生存率 [40.00% (12/30) vs 65.52% (38/58)] 的差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.888$ ,  $P = 0.009$ ;  $\chi^2 = 7.046$ ,  $P = 0.008$ )。Cox回归分析表明, 门脉受侵、肝内转移及TNM III期是影响肝癌预后的独立危险因素 ( $HR = 1.837$ , 95%CI: 1.627~2.345;  $HR = 1.378$ , 95%CI: 1.132~1.534;  $HR = 1.869$ , 95%CI: 1.705~2.432)。空白对照组、阴性对照组和miR-16过表达组穿透生物膜细胞数分别为 ( $85.67 \pm 6.03$ ) 个、( $86.67 \pm 3.51$ ) 个和 ( $21.00 \pm 3.61$ ) 个, 组间差异有统计学意义 ( $F = 63.874$ ,  $P < 0.001$ ), 其中miR-16过表达组显著少于空白对照组和阴性对照组, 差异有统计学意义 ( $t = 15.938$ ,  $P < 0.001$ ;  $t = 22.590$ ,  $P < 0.001$ ), 空白对照组和阴性对照组间差异无统计学意义 ( $t = 0.248$ ,  $P = 0.816$ )。结论 miR-16在肝癌细胞中低表达, 高miR-16相对表达水平可抑制肝癌细胞的侵袭和转移, 有利于患者预后, 其中门脉受侵、肝内转移及TNM III期是影响肝细胞癌预后的独立危险因素。

**关键词:** 肝细胞癌; 微小核糖核酸-16; 侵袭; 转移; 临床病理特征; 预后

## Relationship among microRNA-16, clinicopathological features and prognosis of hepatocellular carcinoma and its influence on invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells

Shi Dongli, Feng Yanping, Liu Haiyang (Department of Hepatobiliary Surgery, the Hospital of Shunyi District, Beijing 101300, China)

**Abstract: Objective** To analyze the relationship among microRNA (miR) -16, clinicopathological features and prognosis of hepatocellular carcinoma, and to explore its influence on invasion and metastasis of

hepatocellular carcinoma cells. **Methods** Total of 88 patients with primary hepatocellular carcinoma treated in the Hospital of Shunyi District, Beijing from January 2014 to January 2016 were selected as the study subjects. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the level of microRNA-16 in hepatocellular carcinoma tissues and adjacent normal tissues, the average relative expression of miR-16 in liver cancer tissue was taken as the dividing point, the miR-16 high expression group of miR-16 was defined as  $\text{miR-16} \geq \text{average value}$ , and miR-16 low expression group was defined as  $\text{miR-16} < \text{average value}$ . The differences of tumor diameter, Edmondson classification, capsule invasion, portal vein invasion, intrahepatic metastasis and TNM stage between the two groups were analyzed. All subjects were followed up for 3 years, the progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) were recorded. Kaplan-Meier method was used to draw survival curves and analyze the survival differences between miR-16 high expression group and miR-16 low expression group. Cox regression model was used to explore independent risk factors affecting the prognosis of hepatocellular carcinoma. MiR-16 overexpression plasmid and empty plasmid were transfected into Huh-7 cells to establish the overexpression group and negative control group, and blank control group was set up at the same time (no intervention was given). Transwell assay was used to detect the role of microRNA-16 in invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells in vitro. **Results** The relative expression of miR-16 in hepatocellular carcinoma tissues and adjacent normal tissues were  $0.86 \pm 0.19$  and  $1.85 \pm 0.47$ , respectively, the difference was statistically significant ( $t = 4.009$ ,  $P = 0.016$ ). The capsular invasion, portal vein invasion, intrahepatic metastasis and TNM phase III presence rates of patients in miR-16 low expression group were 76.7% (23/30), 53.3% (16/30), 56.7% (17/30) and 66.7% (20/30), respectively, and in miR-16 high expression group were 43.1% (25/58), 43.1% (17/58), 31.0% (18/58) and 37.9% (22/58), respectively, the differences were statistically significant ( $\chi^2 = 8.954, 4.869, 5.423, 6.544$ ;  $P = 0.003, 0.027, 0.020, 0.011$ ). The ratio of patients with tumor diameter  $\leq 5$  cm and Edmondson grade I ~ II in miR-16 low expression group were 40.0% (12/30) and 46.7% (14/30), respectively, and in miR-16 high expression group were 55.2% (32/58) and 63.8% (37/58), respectively, the differences were statistically significant ( $\chi^2 = 1.821, 2.380$ ;  $P = 0.177, 0.123$ ). After 3 years of follow-up, the PFS time of patients in miR-16 low expression group and miR-16 high expression group were  $(22.90 \pm 2.17)$  months and  $(29.47 \pm 1.24)$  months, respectively, the difference was statistically significant ( $t = 18.094$ ,  $P < 0.001$ ); the OS time of patients in miR-16 low expression group and miR-16 high expression group were  $(24.87 \pm 2.01)$  months and  $(31.00 \pm 1.03)$  months, respectively, the difference was statistically significant ( $t = 18.966$ ,  $P < 0.001$ ). The survival rates of PFS [33.33% (10/30) vs 58.62% (34/58)] and OS [40.00% (12/30) vs 65.52% (38/58)] of patients in miR-16 low expression group and miR-16 high expression group were statistically significant ( $\chi^2 = 6.888$ ,  $P = 0.009$ ;  $\chi^2 = 7.046$ ,  $P = 0.008$ ). Cox regression analysis showed that portal vein invasion, intrahepatic metastasis and TNM phase III were independent risk factors affecting the prognosis of hepatocellular carcinoma ( $HR = 1.837$ , 95%CI: 1.627~2.345;  $HR = 1.378$ , 95%CI: 1.132~1.534;  $HR = 1.869$ , 95%CI: 1.705~2.432). The number of penetrating biofilm cells in blank control group, negative control group and miR-16 over expression group was  $85.67 \pm 6.03$ ,  $86.67 \pm 3.51$  and  $21.00 \pm 3.61$ , respectively, the difference was statistically significant ( $F = 63.874$ ,  $P < 0.001$ ), the number of penetrating biofilm cells in miR-16 over expression group was statistically lower than that in blank control group and negative control group, respectively ( $t = 15.938$ ,  $P < 0.001$ ;  $t = 22.590$ ,  $P < 0.001$ ), there was no significant difference between blank control group and negative control group ( $t = 0.248$ ,  $P = 0.816$ ). **Conclusions** MiR-16 was lowly expressed in hepatoma cells, the high expression of miR-16 inhibits the invasion and metastasis of hepatocarcinoma cells, which is beneficial to the prognosis. The invasion of portal vein, intrahepatic metastasis and TNM stage III are independent risk factors for the prognosis of hepatocellular carcinoma. **Key words:** Hepatocellular carcinoma; Micro RNA-16; Invasion; Metastasis; Clinicopathological features; Prognosis

肝细胞癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 恶性程度高, 易侵袭转移, 术后复发率高, 生存率低, 严重威胁人类健康<sup>[1,2]</sup>。近年数据显示, 其发病率逐年升高, 且日渐年轻化, 是肿瘤领域研究的重点<sup>[3,4]</sup>。微小核糖核酸 (micro RNA, miR) 是目前肿瘤研究热点之一, 有研究表明miR可参与肿瘤的发生发展, 并有望

成为肿瘤诊疗及预后监测的有效指标<sup>[5-7]</sup>。miR-16位于人染色体13q14.3上, 在白血病研究中首次被发现, 后相继发现其在结肠癌及乳腺癌等大多数实体瘤中低表达, 可抑制肿瘤细胞的增殖及凋亡等<sup>[8-10]</sup>。miR-16在肝细胞癌中的表达及作用机制尚未明确。本研究拟探讨miR-16在肝细胞癌中的表达, 并分析其与肝癌细胞

侵袭转移、临床病理特征及预后的关系。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2014年1月至2016年1月于北京市顺义区医院就诊的88例原发性肝细胞癌患者为研究对象进行回顾性研究。纳入标准:①符合《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》<sup>[1]</sup>中肝细胞癌的诊断标准;②TNM分期为I~III期;③患者预测生存期 $\geq 3$ 个月;④所有患者均行肝癌根治切除术;⑤临床资料(包括随访资料)完整。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②入组前进行了针对肿瘤的相关治疗;③合并肝脏良性肿瘤者。所有研究对象均签署知情同意书,并通过北京市顺义区医院伦理委员会批准[批准号:2013-(伦审)028]。

1.2 实验材料 肝癌细胞系Huh-7购自中科院上海生化细胞研究所,miR-16过表达载体由上海吉凯公司设计并完成;10%胎牛血清、含100 U/ml青霉素和0.1 mg/ml链霉素的RPM-1640完全培养基和Transwell小室均购自美国Gibco公司;总RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒和实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒均购自美国Thermo Fisher公司。

## 1.3 实验方法

1.3.1 qRT-PCR检测组织中miR-16 参照相关文献<sup>[12]</sup>进行检测,检测标本为手术切除的肝癌组织和癌旁正常组织(距癌组织边缘 $> 5$  cm),根据总RNA提取试剂盒和逆转录试剂盒操作说明书完成总RNA提取和miR-16-cDNA的制备,再参考qRT-PCR试剂盒说明书配置反应体系,并将其置于实时荧光PCR检测仪上检测,最后对检测结果进行分析,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示miR-16的相对表达水平,其中U6为内参基因,miR-16上游引物为5'-TAGCAGCACATAAATATTGGCG-3',下游引物为5'-AACATGTACAGTCCATGGATG-3'。

1.3.2 分组方法 本研究细胞共分为3组:miR-16过表达组、阴性对照组和空白对照组,miR-16过表达组指将miR-16过表达质粒载体转染Huh-7,阴性对照组指将空载质粒转染Huh-7,空白对照组即为Huh-7,未进行任何处理。经酶切及测序验证确认建组成功后继续进行培养。

1.3.3 肝癌细胞侵袭和转移的检测 参照相关文献<sup>[13]</sup>,Transwell实验检测3组肝癌细胞的侵袭和转移,其中小室上层为100  $\mu$ l无血清培养基,小室基底为人工基底膜。选取对数生长期细胞进行单细胞重悬,调整浓度为 $1 \times 10^6$ /ml,将100  $\mu$ l细胞液均匀放置在上层,继续培养5 d,弃废液,收集小室下层,并采用结晶紫

染色,在光学显微镜下记录穿透生物膜细胞数。

1.4 临床资料的收集 收集患者的临床资料,具体包括性别、年龄、肿瘤直径、Edmondson分级、包膜受侵、门脉受侵及肝内转移情况及TNM分期等。以肝癌组织miR-16相对表达量的平均数为分界点,大于或等于该值者为miR-16高表达组,低于该值者为miR-16低表达组,比较两组患者上述指标的差异。

1.5 随访 对患者随访3年,记录患者无进展生存期(progression-free-survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS),主要以电话随访和门诊复诊为主。

1.6 统计学处理 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析。miR-16的相对表达水平、生存时间和穿透生物膜细胞数为计量资料,符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组内两两比较用LSD-*t*检验,miR-16低表达组和miR-16高表达组间的比较采用独立样本*t*检验;肿瘤直径分布、Edmondson分级、包膜受侵、门脉受侵、肝内转移及TNM分期等计数资料以例数和百分数表示,采用 $\chi^2$ 检验;用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,采用Log-rank比较生存率(Graphpad prism 7.0),并用Cox回归模型探讨影响肝细胞癌预后的独立危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 患者的一般资料 纳入的88例患者中男性52例,女性36例;年龄: $\leq 45$ 岁28例, $> 45$ 岁60例;肿瘤直径 $\leq 5$  cm 44例, $> 5$  cm 44例;Edmondson分级:I~II级51例,III~IV级37例;包膜受侵48例;门脉受侵33例;肝内转移35例;TNM分期:I~II期46例,III~IV期42例。

2.2 miR-16在肝癌组织和癌旁正常组织表达水平的差异 miR-16在肝癌组织和癌旁正常组织中相对表达量分别为 $0.86 \pm 0.19$ 和 $1.85 \pm 0.47$ ,差异有统计学意义( $t = 4.009$ ,  $P = 0.016$ )。

2.3 不同miR-16表达水平肝细胞癌患者临床特征 miR-16低表达和miR-16高表达组患者在是否存在包膜受侵、门脉受侵、肝内转移及TNM分期的差异有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ ),肿瘤直径分布及Edmondson分级的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

2.4 不同miR-16表达水平肝细胞癌患者PFS、OS和总生存率 随访3年,miR-16低表达组和高表达组患者PFS分别为( $22.90 \pm 2.17$ )个月和( $29.47 \pm 1.24$ )个月,差异有统计学意义( $t = 18.094$ ,  $P < 0.001$ );miR-16低表达组和高表达组患者OS分别为( $24.87 \pm 2.01$ )个月和( $31.00 \pm 1.03$ )个月,

差异有统计学意义 ( $t = 18.966$ ,  $P < 0.001$ )。miR-16 低表达组患者无进展生存率为 33.33% (10/30); 总生存率为 40.00% (12/30), miR-16 高表达组患者无进展生存率为 58.62% (34/58), 总生存率为 65.52% (38/58), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.888$ ,  $P = 0.009$ ;  $\chi^2 = 7.046$ ,  $P = 0.008$ ), 见图 1。

2.5 影响肝细胞癌患者预后的独立危险因素 Cox 回归分析表明, 门脉受侵、肝内转移及 TNM 分期是影响肝细胞癌患者预后的独立危险因素 ( $P$  均  $< 0.05$ ), 见表 2。

2.6 miR-16 对体外肝癌细胞侵袭转移的影响 空白对照组、阴性对照组和 miR-16 过表达组穿透生物膜细胞数分别为  $(85.67 \pm 6.03)$  个、 $(86.67 \pm 3.51)$  个和  $(21.00 \pm 3.61)$  个, 组间差异有统计学意义 ( $F = 63.874$ ,  $P < 0.001$ ), 其中 miR-16

过表达组穿透生物膜细胞数显著少于空白对照组和阴性对照组, 差异有统计学意义 ( $t = 15.938$ ,  $P < 0.001$ ;  $t = 22.590$ ,  $P < 0.001$ ), 空白对照组和阴性对照组差异无统计学意义 ( $t = 0.248$ ,  $P = 0.816$ ), 见图 2。

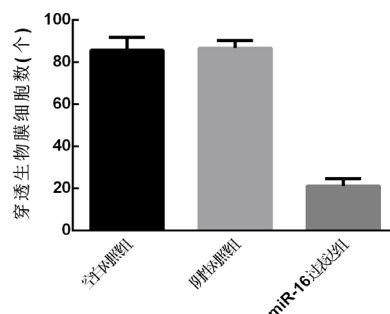


图 2 miR-16 对体外肝癌细胞侵袭转移的影响

表 1 不同 miR-16 表达水平肝细胞癌患者临床特征 [例 (%)]

组别	肿瘤直径分布		Edmondson 分级		包膜受侵	门脉受侵	肝内转移	TNM 分期	
	$\leq 5$ cm	$> 5$ cm	I ~ II	III ~ IV				I ~ II	III
miR-16 低表达组 ( $n = 30$ )	12 (40.0)	18 (60.0)	14 (46.7)	16 (53.3)	23 (76.7)	16 (53.3)	17 (56.7)	10 (33.3)	20 (66.7)
miR-16 高表达组 ( $n = 58$ )	32 (55.2)	26 (44.8)	37 (63.8)	21 (36.2)	25 (43.1)	17 (43.1)	18 (31.0)	36 (62.1)	22 (37.9)
$\chi^2$ 值	1.821		2.380		8.954	4.869	5.423	6.544	
$P$ 值	0.177		0.123		0.003	0.027	0.020	0.011	

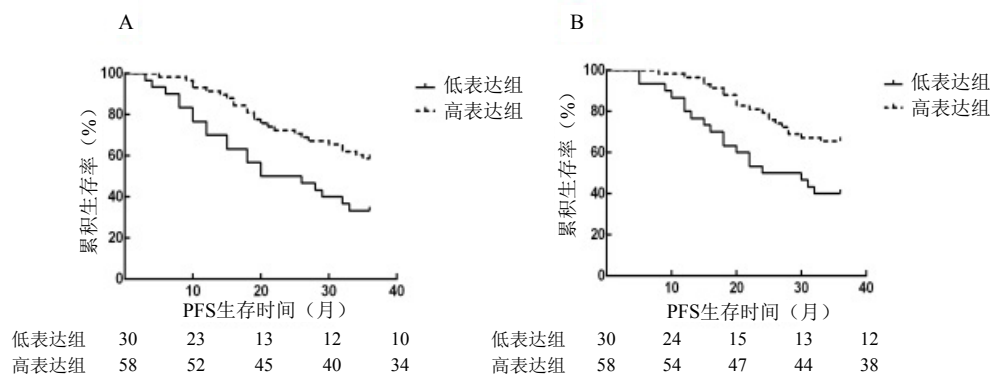


图 1 不同 miR-16 表达水平肝细胞癌患者生存期

表 2 影响肝细胞癌患者预后的 Cox 回归分析

可能的影响因素	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	P 值	HR 值	95% CI
门脉受侵	0.934	0.268	8.014	0.001	1.837	1.627~2.345
肝内转移	0.831	0.184	5.007	0.025	1.378	1.132~1.534
TNM III 期	1.247	0.339	9.167	$< 0.001$	1.869	1.705~2.432
肿瘤直径	0.592	0.113	3.921	0.263	0.556	0.382~0.721
Edmondson 分级	0.639	0.139	4.056	0.159	0.532	0.229~0.605
包膜受侵	0.797	0.228	4.354	0.108	0.613	0.448~0.796
性别	0.595	0.114	3.416	0.211	0.484	0.311~0.635
年龄	0.682	0.137	3.955	0.247	0.592	0.331~0.741

注: Cox 回归分析的赋值: 死亡 = 1, 生存 = 0; 门脉受侵, 是 = 1, 否 = 0; 肝内转移, 是 = 1, 否 = 0; d. TNM 分期, III 期 = 1, I ~ II 期 = 0; 肿瘤直径,  $\leq 5$  cm = 1,  $> 5$  cm = 0; Edmondson 分级: III ~ IV = 1, I ~ II = 0; 包膜受侵, 是 = 1, 否 = 0; 性别, 男性 = 1, 女性 = 0; 年龄,  $> 45$  岁 = 1,  $< 45$  岁 = 0

### 3 讨论

原发性肝细胞癌的发生发展是多基因、多步骤、多因素共同作用的结果,其特点是易复发转移,严重影响患者的生存质量和生存时间<sup>[14,15]</sup>。miRNA主要通过其降解,影响相关蛋白翻译而发挥作用<sup>[16,17]</sup>。有研究表明,miRNA可作为胃癌、结肠癌及肺癌等多种恶性肿瘤的诊断标志物,某些miRNA还可评估疗效,预测远期预后<sup>[18-20]</sup>。总之,miRNA及其目标基因与肿瘤的发生发展密切相关。已有研究表明,miR-16在人脑胶质瘤中低表达,通过调控核转录因子- $\kappa$ B1(nuclear transcription factor- $\kappa$ B1, NF- $\kappa$ B1)/基质金属蛋白酶-9(matrix metallo protein-9, MMP-9)信号转导通路抑制胶质瘤侵袭,提示其在肿瘤侵袭转移中具有一定作用;NF- $\kappa$ B1/MMP-9信号转导通路与肝癌的发生发展也密切相关<sup>[21,22]</sup>。

本研究中,miR-16在肝癌组织中相对表达水平显著低于癌旁正常组织,提示miR-16在肝癌中具有抑癌作用,与缪欣等<sup>[23]</sup>和伍刚等<sup>[24]</sup>部分研究结果基本一致。分析miR-16与临床病理特征的关系发现,miR-16低表达组患者包膜受侵、门脉受侵、肝内转移及TNM III期占比显著高于miR-16高表达组,提示抑制miR-16的表达可能会促进肝癌细胞的侵袭及转移,与黄颖滨等<sup>[25]</sup>部分研究结果基本一致。此外,本研究对88例肝细胞癌患者的随访表明,miR-16低表达组患者的生存时间和生存率均显著低于高表达组,提示miR-16与肝细胞癌的预后密切相关。进一步采用Cox风险回归模型探讨肝细胞癌预后的影响因素,结果表明门脉受侵、肝内转移及TNM分期是影响肝细胞癌预后的独立危险因素,说明miR-16可能主要通过影响肝癌细胞的侵袭转移来影响患者预后,提示了miR-16在肝癌侵袭转移中的价值。为此,本研究成功构建了miR-16过表达细胞模型,并用Transwell实验检测其对肝癌细胞侵袭转移的影响,结果表明miR-16过表达组穿透生物膜细胞数显著少于空白对照组和阴性对照组,提示扩增miR-16可抑制肝癌细胞的侵袭转移,验证了前文猜想,但具体机制尚未明确,有待继续研究。

综上,miR-16在肝癌细胞中低表达,高miR-16相对表达水平可抑制肝癌细胞的侵袭和转移,有利于患者预后,其中门脉受侵、肝内转移及TNM III期是影响肝细胞癌预后的独立危险因素。

### 参考文献

- [1] Hartke J, Johnson M, Ghabril M. The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Diagn Pathol*, 2017, 34(2):153-159.
- [2] 安宝燕, 王云, 项晓刚, 等. 乙型肝炎相关性肝细胞癌患者预后的多因素分析[J]. *实用肝脏病杂志*, 2018, 21(6):924-927.
- [3] 董菁, 江家骥. HBV相关肝细胞癌防治进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(7):1374-1377.
- [4] 张爽, 王峰, 孟庆玲, 等. 原发性肝癌患者流行病学与乙型肝炎病毒感染调查[J]. *中国疫苗和免疫*, 2018, 24(2):133-136.
- [5] Ganju A, Khan S, Hafeez BB, et al. miRNA nanotherapeutics for cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(2):424-432.
- [6] 吴艳, 陈杰. 血中游离microRNA检测在肿瘤液体活检中的应用和进展[J]. *中华病理学杂志*, 2018, 47(2):146-148.
- [7] 王伟, 陈传好. MicroRNA在肿瘤治疗中的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 28(7):229-234.
- [8] 王晓明, 梁国栋, 王岩, 等. microRNA-16在人结肠癌组织中的表达及对结肠癌细胞增殖、侵袭、周期和凋亡的影响[J]. *癌症进展*, 2018, 16(10):1295-1298.
- [9] 卜德永, 贾红燕. miRNA-16抑制乳腺癌细胞增殖和迁移的体外研究[J]. *肿瘤研究与临床*, 2017, 29(6):366-369.
- [10] 王小花, 宋爽, 韩瑞杰, 等. TGF- $\beta$ 1诱导乳腺癌细胞上皮-间质转化中相关miRNAs筛选[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(5):676-680.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2012, 20(6):929-946.
- [12] 许旭东, 王银龙, 朱友明, 等. PJA1及miR-130a基因在口腔肿瘤组织中的表达及相关性分析[J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(11):1622-1626.
- [13] 徐军, 王健, 陈君平, 等. 婆罗双树样基因4对肝癌细胞侵袭转移和上皮间质转化的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(24):3928-3933.
- [14] 张鹏, 顾爱丽, 石东梅. 原发性肝癌患者术后早期复发转移的影响因素分析[J]. *癌症进展*, 2017, 15(4):460-462.
- [15] 辛梦, 李岩. HBV相关性肝细胞癌治疗致HBV再激活的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 1098(24):106-110.
- [16] 安艳新, 赵青川. miRNA调控肿瘤多药耐药的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(17):2848-2851.
- [17] 王明阳, 王光磊, 陈新亮, 等. MicroRNA的生物学功能及其与肿瘤诊断和治疗的研究进展[J]. *动物医学进展*, 2018, 39(1):95-98.
- [18] 刘洪璐, 王熙才. 外周血miRNA应用于肿瘤早期诊断的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(2):109-117.
- [19] 王勇, 代荣阳. microRNA-200a在恶性肝脏肿瘤患者血液及肿瘤组织中的表达及其与预后的关系[J]. *癌症进展*, 2018, 16(9):1135-1139.
- [20] 邹绮明, 张玲. miRNA在乙肝相关性肝癌发生发展中的作用研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(9):89-91.
- [21] 杨天权, 吴庭枫, 李炎炎, 等. miR-16通过调控NF- $\kappa$ B1/MMP-9信号通路抑制胶质瘤侵袭的实验研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2014, 13(11):1081-1087.
- [22] 李艳萌, 贾思雨, 徐安健, 等. 雌激素通过NF- $\kappa$ B信号通路影响肝癌细胞的肿瘤学行为研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(2):117-122.
- [23] 缪欣, 丁岚, 刘浩, 等. miR-16对人肝癌细胞BEL-7402增殖与凋亡的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2018, 28(1):38-42.
- [24] 伍刚, 郑波, 黄锐, 等. HBx下调miR-16家族表达促进肝癌细胞恶性转化[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2017, 24(4):412-419.
- [25] 黄颖滨, 陈光宇, 汪洋, 等. 沉默微小RNA-16通过激活核因子- $\kappa$ B通路介导肝癌细胞化疗耐药[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(9):1654-1656.

收稿日期: 2019-07-11