

MicroRNAs 的失调在高转移肝细胞癌中的作用

宋晓 蔡振旭

【摘要】 目的 筛选在高转移肝细胞癌中差异表达的 miRNAs 图谱。方法 利用 Agilent miRNA array 芯片技术平台分析比较了 4 对高转移肝细胞癌患者的癌组织样本与其相对应的正常组织之间的差异 miRNAs。通过生物信息学方法分析了这些候选差异 miRNAs。**结果** 与正常组织相比,我们在高转移肝细胞癌中发现了 22 个失调的 miRNAs,其中包括 13 个上调的 miRNAs(miR-200a、miR-425、miR-221 和 miR-20b 等)和 9 个下调的 miRNAs(miR-762、miR-638 和 miR-1305 等)。其中,一些 miRNAs 已经被报道与肿瘤的发生和转移相关。靶基因预测分析也表明,这些基因在肿瘤的发生和转移过程中扮演着重要的作用。**结论** 我们在高转移肝细胞癌中发现了一些表达失调的 miRNAs,生物信息学分析也发现这些 miRNAs 在肿瘤的发生和转移中发挥着重要的作用,可以作为肝细胞癌在临床治疗上的一个新的肿瘤标志物。

【关键词】 癌,肝细胞; 肿瘤转移; 微 RNAs; 计算生物学

The role of deregulated microRNAs in high metastatic hepatocellular carcinoma SONG Xiao, CAI Zhen-xu.
Department of Radiotherapy, First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China
Corresponding author: SONG Xiao, Email: congcongdad@163.com

【Abstract】 Objective To identify the differentially expressed in the high metastatic hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** By the Agilent human miRNA array, we compare the miRNA expression profile between four pairs high metastatic HCC tissues and their normal counterpart. Bioinformatics analysis was also performed. **Results** A total of 22 dysregulated miRNAs were identified in high metastatic HCC compared to their normal counterpart, including 13 upregulated miRNAs(miR-200a, miR-425, miR-221 and miR-20b, etc) and 9 downregulated miRNAs(miR-762, miR-638 and miR-1305, etc). Some of these miRNAs have been reported to be dysregulated in other malignancies and have a potential role in cancer metastasis. Target genes prediction also showed these targets can play important roles in HCC pathogenesis and metastasis. **Conclusions** We identified miRNAs that are dysregulated in high metastatic HCC and bioinformatics analysis suggests that these miRNAs may be involved in cancer pathogenesis and metastasis and have the potential to be biomarkers.

【Key words】 Carcinoma, hepatocellular; Neoplasm metastasis; MicroRNAs; Computational biology

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界范围内最普遍,最常见的恶性肿瘤疾病之一,每年伴随着接近 600 000 人的死亡率;肝细胞癌也是我国最常见的恶性肿瘤,其死亡率位居第二^[1]。随着科学的进步和发展,手术治疗和化疗已经成为治疗肝细胞癌的最常见的方法,也取得了一定的效果。尽管如此,由于转移而引起的肝细胞癌患者的复发也是最常见的,它的 5 年生存率仅为 30%~40%^[2]。转移是恶性肿瘤最重要、最基本的生物学特征之一,也是临床上大多数

患者的致死原因。转移是一个复杂的,包括了很多相关分子改变的过程^[3-4]。

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一些 5'端带磷酸基团、3'端带羟基的,长度为二十几个核苷酸的非编码调控 RNA 家族。迄今在人类、动植物等物种中已有六千余种 miRNAs 被发现,miRNAs 通过与靶基因 mRNA 的 3'端通过碱基互补,影响基因的表达,从而在细胞周期,细胞凋亡,细胞分化与肿瘤形成中扮演着重要的调控作用^[5-6]。近些年来,越来越多的研究发现表明 miRNAs 在癌症的转移密切相关,发挥着抑制或者促进癌转移的重要作用^[7]。例如,miR-21 在胰腺癌中的过表达与胰腺癌的肝转移密切相关^[8]。通过对 miRNAs 进行功能筛选,结果表明 miR-373 和 miR-520c 在乳腺癌中是两个促进肿瘤转移的 miRNAs^[9]。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.22.063

基金项目:国家自然科学基金(30970730)

作者单位:075000 河北张家口,河北北方学院附属第一医院放疗科(宋晓);山东省乳山市人民医院放射介入科(蔡振旭)

通讯作者:宋晓, Email: congcongdad@163.com

相反地, 很多研究和证据也表明 miRNAs 发挥着抑制肿瘤形成和转移的作用, 如 let-7 家族。在乳腺癌中, miR-126 的低表达与乳腺癌的转移复发密切相关; miR-335 和 miR-206 在乳腺癌中也是低表达的, 功能研究表明 miR-335 和 miR-206 的过表达可以抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭^[10]。

在肝细胞癌中, 也有报道表明一些 miRNAs 与肝细胞癌转移的关系和作用^[11]。研究表明 miR-125b 是肝细胞癌患者预后判断的指标。miR-125b 可以阻止细胞从 G1 期向 S 期转化, 在体内和体外均可抑制肝细胞癌细胞的生长, 同时也能抑制肝细胞癌细胞的浸润与转移^[12]。Cheng 等^[13]的研究表明, 在肝细胞癌中, 把 miR-34a 转染入人肝细胞癌细胞后, miR-34 可以抑制细胞增殖, 从而抑制癌细胞的转移和入侵。在肝细胞癌中, miR-122 也可以作为一个肿瘤抑制子, 它可以通过抑制血管生成从而调节肝细胞癌的肝内转移^[14]。

尽管一些 miRNAs 已经被报道在癌症的转移过程中发挥着重要的作用, 但是与肝细胞癌转移相关的 miRNAs 报道却甚少, 没有一个系统的筛选和研究, 对 miRNAs 在肝细胞转移过程的作用和机制也研究和探索的很少。在我们的文章中, 我们利用现代高通量 miRNA 芯片技术 (Agilent miRNA array)^[15], 找出高转移性肝细胞癌患者的癌组织和相对应的正常组织的差异 miRNA 图谱。在高转移性肝细胞癌中, 我们的研究筛选出了 22 个失调的 miRNAs, 并通过生物信息学分析这些失调的 miRNAs 在肝细胞癌的转移过程的作用和机制。这些发现和研究表明, miRNA 在肝细胞癌的转移过程中发挥重要作用, 这一发现为肿瘤转移的临床诊断和治疗提供了一个新的思路和强有力的工具。

材料和方法

一、临床样本

4 对高转移性肝细胞癌患者的石蜡包埋癌组织样本和相对应石蜡包埋的正常组织样本来自河北北方学院附属第一医院。所有患者的组织样本都经过病理科两位资深病理学家的诊断, 保证组织样本病理资料的可靠性与取材样本的准确性。在样本取材之前, 患者以及家属都签署知情同意书, 并经过河北北方学院附属第一医院伦理委员会的同意。

二、RNA 抽提和纯化

采用 RecoverAllTM Total Nucleic Acid Isolation (专用于抽提石蜡组织的 miRNA) (Cat#AM1975, Ambion, Austin, TX, US) 并且根据生产厂商提供的标准操作流程进行样品的总 RNA 抽提, 抽提所得总 RNA 经 Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent technologies, Santa

Clara, CA, US) 电泳质检合格后备用。

三、样品 RNA 的标记

实验样品 RNA 采用 Agilent miRNA 芯片配套的试剂盒, miRNA Complete Labeling and Hyb Kit (Cat# 5190-0456, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US), 按照标准操作流程的标记部分对样品中的 miRNA 分子进行荧光标记

四、芯片杂交

按照 Agilent miRNA 芯片配套提供的标准操作流程和配套试剂盒, miRNA Complete Labeling and Hyb Kit (Cat#5190-0456, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 的杂交部分, 进行样品的杂交实验。在滚动杂交炉中, Hybridization Oven (Cat#G2545A, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US), 55 °C, 20 r/min, 滚动杂交 20 h。杂交完成后在洗缸 (Cat#121, Thermo Shandon, Waltham, MA, US) 中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit (Cat#5188-5327, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)。

五、芯片结果扫描

芯片结果采用 Agilent Microarray Scanner (Cat# G2565BA, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行扫描, 用 Feature Extraction software 10.7 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 读取数据, 软件设置 Scan resolution=5 μm, PMT 100%, 5%最后采用 Gene Spring Software 11.0 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行归一化处理, 所用的算法为 Quantile。

六、生物信息学分析

miRNAs 的靶基因通过 Targetscan6.2 (<http://www.targetscan.org/>) 进行预测^[16]。Gene Ontology (GO) 用来分析靶基因的分子功能。同时, 靶基因的显著性信号通路利用 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 进行分析。

七、统计学分析

所有的结果都利用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理。两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表明差异具有显著性。

结 果

1. 高转移肝细胞癌与相对应的正常组织之间的差异 miRNA 图谱: 为了研究 miRNAs 在高转移肝转移癌中的作用, 筛选出与肝细胞癌相关的 miRNAs, 我们利用人类 miRNA 芯片 [Agilent Human miRNA Microarray (8*60 k) v16.0] 区分了 4 对高转移肝细胞癌与其相对应的正常组织之间的差异 miRNAs 图谱。以基因表达

量改变倍数 >2 和 $P < 0.05$ 的筛选标准选出的差异 miRNAs 作为我们的候选 miRNAs, 见图 1。

2. 22 个候选的失调 miRNAs 在高转移肝癌中的表达: 采用上述严格的筛选标准, 我们发现了 22 个失调的 miRNAs。与正常组织相比, 在高转移性肝癌组织中, 13 个 miRNAs 的表达是上调的, 9 个 miRNAs 的表达是下调的。13 个上调的 miRNAs 包括了 miR-200a、miR-425、miR-221、miR-20b、miR-30e、miR-193b、miR-222、miR-423-5p、miR-151-3p、miR-361-3p、miR-29a、miR-22 和 miR-27b, 其中 miR-27b 是最明显上调表达的 miRNA ($P = 0.0066$)。与正常组织相比, 9 个 miRNAs (miR-762、miR-638、miR-1305、miR-3137、miR-3679-5p、miR-1224-5p、miR-4257、miR-671-5p 和 miR-572) 在高转移性肝癌组织中是低表达的, 其中 miR-572 是表达下调最明显的 miRNA ($P = 0.0277$)。见表 1。

3. 生物信息学分析: 通过 miRNA 靶基因预测软件 Targetscan 6.2, 我们对上面 22 个失调的 miRNAs 进行了靶基因预测, 依靠软件的打分机制, 我们选取了靶基因得分在 90 以上的基因作为我们的候选研究对象, 共预测出了 442 个靶基因。我们发现其中一些基因在以往的研究中已经被报道与肿瘤的发生和转移相关, 如 MACC1、TCF12、MIA3、ADAMTS5、DEK、TNFRSF21、CHL1 等。通过 GO 分析, 我们发现这些靶基因在细胞结合与转录活性两个功能方面占据的百

分比基因最多。通过 KEGG 对这些靶基因进行通路分析, 我们发现这些靶基因在 MAPK 信号通路, 细胞周期, G2M 检查点等通路中也发挥着重要的作用。

讨 论

肝癌的转移复发是导致肝癌患者术后很难预防和死亡的最主要原因。在以往的研究报道中已经发现 miRNAs 的表达失调与癌症的转移相关, 但是 miRNAs 在肝癌转移中的作用研究很少, 机制也不甚明确。

在我们的文章中, 我们利用 Agilent human miRNA Array 筛选了 4 对高转移性肝癌患者的癌组织样本和相应的正常组织样本之间的 miRNA 表达图谱。以差异倍数 >2 和 $P < 0.05$ 作为严格筛选标准, 我们共发现了 22 个失调的 miRNAs。与正常组织相比, 在高转移性肝癌组织中, 13 个 miRNAs 的表达是上调的, 包括 miR-200a、miR-425、miR-221、miR-20b、miR-30e、miR-193b、miR-222、miR-423-5p、miR-151-3p、miR-361-3p、miR-29a、miR-22 和 miR-27b, 其中 miR-27b 是最明显上调表达的 miRNA。与正常组织相比, 9 个 miRNAs (miR-762、miR-638、miR-1305、miR-3137、miR-3679-5p、miR-1224-5p、miR-4257、miR-671-5p 和 miR-572) 在高转移性肝癌组织中是低表达的, 其中 miR-572 是最明显下调表达的 miRNA。

通过文献挖掘, 我们发现这些失调的部分 miRNAs

表 1 与正常肝组织相比, 22 个候选差异 miRNAs 在高转移肝癌组织中的表达情况

miRNA	Expressed in high metastatic HCC	Foldchange	P-value	Genomic Location	Validated targets
hsa-miR-200a	上调	29.2	0.0066	1p36.33	ZEB1, CTNNB1
hsa-miR-425	上调	24.88	0.0022	3p21.31	
hsa-miR-221	上调	23.89	0.0132	Xp11.3	CDKN1B, CDKN1C
hsa-miR-20b	上调	23.54	0.0409	Xq26.2	CDKN1A, MYLIP
hsa-miR-30e	上调	20.08	0.0224	1p34.2	
hsa-miR-193b	上调	18.7	0.0492	16p13.12	CCND1, SHMT2
hsa-miR-222	上调	16.7	0.0344	Xp11.3	CDKN1B, CDKN1C
hsa-miR-423-5p	上调	16.33	0.044	17q11.2	
hsa-miR-151-3p	上调	15.34	0.0437	8q24.3	
hsa-miR-361-3p	上调	9.11	0.0388	Xq21.2	
hsa-miR-29a	上调	2.24	0.0117	7q32.3	PTEN, CDK6
hsa-miR-22	上调	2.09	0.0325	17p13.3	ALK7, ERalpha
hsa-miR-27b	上调	2.06	0.0133	9q22.32	PAX3, CYP1B1, NOTCH1
hsa-miR-762	下调	2.09	0.0408	16p11.2	
hsa-miR-638	下调	2.12	0.0127	19p13.2	
hsa-miR-1305	下调	2.21	0.0106	4q34.3	
hsa-miR-3137	下调	2.23	0.0338	16p13.3	
hsa-miR-3679-5p	下调	2.39	0.0265	2q21.2	
hsa-miR-1224-5p	下调	2.417	0.0298	3q27.1	
hsa-miR-4257	下调	2.51	0.025	1q21.3	
hsa-miR-671-5p	下调	2.62	0.0266	7q36.1	
hsa-miR-572	下调	2.75	0.0277	4p15.33	CDKN1A

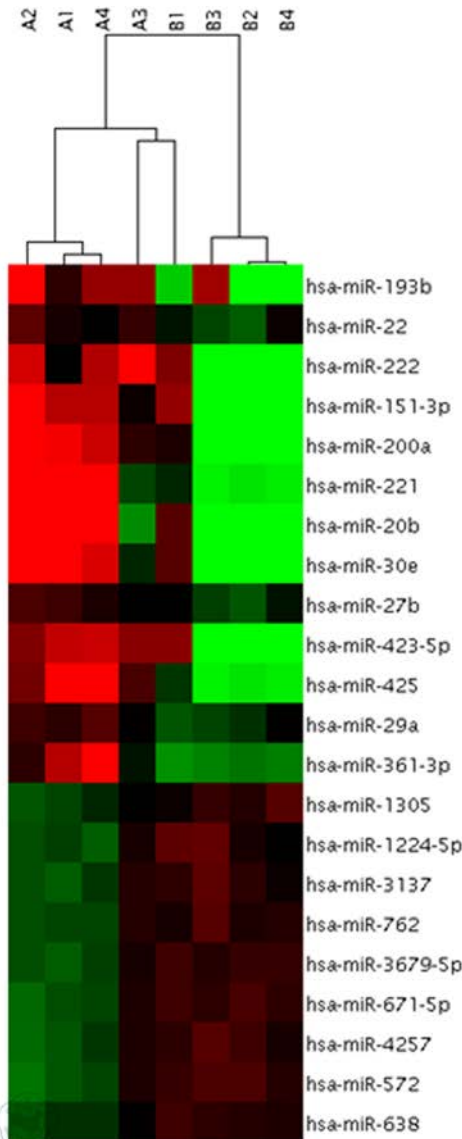


图1 22个候选差异miRNAs的二维聚类图谱。A组：4个高转移肝细胞癌组织；B组：4个相对应的正常组织。A1和B1，A2和B2，A3和B3，A4和B4为来自同一个患者的癌组织和相对应的正常组织

中在以往的研究中已经被报道与肿瘤的发生和转移相关。例如，miR-200a是miR-200家族中的一员，研究已经证明miR-200家族在在肿瘤的侵袭转移中发挥着重要的作用。miR-200家族可通过抑制靶基因同源异性盒1(zincfinger ebox binding homeobox 1, ZEB1)和同源异性盒2(zincfinger ebox binding homeobox 2, ZEB2)，调节E-钙黏素的表达，参与上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal-transition, EMT)过程^[17]。EMT指上皮细胞向间充质细胞或成纤维细胞表型转变并获得迁移的能力，被认为能明显推进恶性肿瘤的演进。具有锌指结构E-box的ZEB1是EMT的重要诱导剂。Wiklund等^[18]发现miR-200家族经常在晚期癌症中表达沉默，因其可直接作用于E-钙黏蛋白、ZEB1和ZEB2

的转录抑制因子，与EMT转换及肿瘤的转移和浸润有关。

最近的研究表明miR-221可以被MYCN诱导和被P53抑制，在胶质瘤、胰腺癌，肝细胞癌、肾癌，膀胱癌中都是显著上调的^[19-24]，这表明miR-221在癌症的发生中扮演着原癌基因的作用。miR-221可以促进细胞周期和帮助细胞逃避凋亡，从而在癌症的发生中起着重要的作用。和miR-221的功能相似，miR-222和miR-221都可以通过沉默kit癌基因的表达，抑制细胞增殖^[25-27]。同时，miR-221和miR-222的过表达都可以增加胶质瘤细胞的入侵能力；在头颈癌中，miR-222的过表达也有抑制癌细胞转移的作用^[19,25]。Sengupta等^[28]发现miR-29在鼻咽癌细胞中的表达量不

及正常细胞中的 1/5, 而它编码细胞外基质蛋白(包括多聚胶原蛋白和层蛋白 γ) 的靶点 mRNA 却是高表达的, 表明 miR-29 的表达与鼻咽癌的转移呈负相关。除了上述描述的 miRNAs, 其他的在以往的文献中报道甚少, 这些 miRNAs 可能是我们新发现的, 在肝细胞癌的转移过程中也发挥着重要的作用。

进一步的靶基因预测和生物信息学分析表明, 很多预测出的靶基因, 例如 MACC1, TCF12, MIA3, ADAMTS5, DEK, TNFRSF21, CHL1 等在以往的研究中已经被报道与肿瘤的转移相关。通过 GO 分析和 KEGG 通路分析表明, 这些失调的 miRNAs 在细胞周期, 细胞凋亡, 细胞迁移和 MAPK 信号途径等细胞功能和信号通路等发挥着重要的作用。

对疾病进行精确的预测是十分重要的, 尤其对于恶性肿瘤疾病, 这样不仅可以提前给患者提供一定的预防建议, 也可以为临床治疗提供一定的指导意义。对于高转移性肝细胞癌, 临床的评价和治疗策略是十分复杂的, 因为它依赖于肿瘤的分期和残余的肝功能等很多方面。很多被诊断为晚期肝细胞癌的患者, 其中仅仅很小一部分适合手术切割和移植治疗。尽管肿瘤的定义越来越清晰, 被国际普遍接受的肿瘤分期系统已经可以适用于几乎所有的肿瘤, 但是肝细胞癌依然是个例外^[29-34]。因此, 对于肝细胞癌患者, 尤其对于早期肝细胞癌患者, 进行准确的预测和手术策略的选择依然是一项十分具有挑战性意义的事情。miRNA 的特点和功能作用可能会成为肝细胞癌治疗的一个有力工具。

在本研究中, 我们报道了高转移肝细胞癌的癌组织样本和它相对应的正常组织之间的差异 miRNAs 图谱。通过文献挖掘和生物信息学分析, 我们发现这些 miRNAs 在肿瘤的发生、发展和转移过程中发挥着重要的作用。我们未来工作的重点是进行 miRNAs 的靶基因验证和研究 miRNAs 在肿瘤发生、转移过程的机制。这些数据表明 miRNAs 可以在肝细胞癌的发生、转移和预后等过程中作为一个新的临床检测标志物。

参 考 文 献

- [1] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2007, 132: 2557-2576.
- [2] Blum H. Hepatocellular carcinoma: therapy and prevention. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 7391-7400.
- [3] Liotta LA. Mechanisms of cancer invasion and metastasis. *Important Adv Oncol*, 1985: 28-41.
- [4] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, 100: 57-70.
- [5] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-297.
- [6] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6: 857-866.
- [7] Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, et al. MicroRNAs-the micro steering wheel of tumour metastases. *Nature Reviews Cancer*, 2009, 9: 293-302.
- [8] Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, et al. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *Journal of Clinical Oncology*, 2006, 24: 4677-4684.
- [9] Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nature Cell Biology*, 2008, 10: 202-210.
- [10] Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*, 2008, 451: 147-152.
- [11] Budhu A, Jia HL, Forgues M, et al. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2008, 47: 897-907.
- [12] Liang L, Wong CM, Ying Q, et al. MicroRNA-125b suppressed human liver cancer cell proliferation and metastasis by directly targeting oncogene LIN28B2. *Hepatology*, 2010, 52: 1731-1740.
- [13] Cheng J, Zhou L, Xie QF, et al. The impact of miR-34a on protein output in hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Proteomics*, 2010, 10: 1557-1572.
- [14] Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, et al. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2009, 49: 1571-1582.
- [15] Wang H, Ach RA, Curry B. Direct and sensitive microRNA profiling from low-input total RNA. *RNA*, 2007, 13: 151-159.
- [16] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120: 15-20.
- [17] Korpala M, Lee ES, Hu G, et al. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem*, 2008, 283: 14910-14914.
- [18] Wiklund ED, Bramsen JB, Hulf T, et al. Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer. *Int J Cancer*, 2011, 128: 1327-1334.
- [19] Zhang C, Zhang J, Hao J, et al. High level of miR-221/222 confers increased cell invasion and poor prognosis in glioma. *J Transl Med*, 2012, 10: 119.
- [20] Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, et al. MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2008, 27: 5651-5661.
- [21] Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, et al. Cyclin G1 is a target of miR-122a, a microRNA frequently down-regulated in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2007, 67: 6092-6099.
- [22] Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334: 1351-1358.
- [23] Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, et al. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27kip1. *J Biol Chem*, 2007, 282: 23716-23724.
- [24] Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, et al. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol*, 2007, 25: 387-392.
- [25] Lopez-Camarillo C, Marchat L A, Arechaga-Ocampo E, et al. MetastamiRs: non-coding micromRNAs driving cancer invasion and metastasis. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 1347-1379.
- [26] Medina R, Zaidi SK, Liu CG, et al. MicroRNAs 221 and 222 bypass quiescence and compromise cell survival. *Cancer Res*, 2008, 68: 2773-2780.
- [27] Sage C, Nagel R, Egan DA, et al. Regulation of the p27 (Kip1) tumor

- suppressor by miR-221 and miR-222 promotes cancer cell proliferation. EMBO J, 2007, 26: 3699-3708.
- [28] Sengupta S, den Boon JA, Chen IH, et al. MicroRNA-29c is down-regulated in nasopharyngeal carcinomas, up-regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105: 5874-5878.
- [29] Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment Study of 850 patients. Cancer, 1985, 56: 918-928.
- [30] Wildi S, Pestalozzi BC, McCormack L, et al. Critical evaluation of the different staging systems for hepatocellular carcinoma. Br J Surg, 2004, 91: 400-408.
- [31] Levy I, Sherman M. Staging of hepatocellular carcinoma: assessment of the CLIP, Okuda, and Child-Pugh staging systems in a cohort of 257 patients in Toronto. Gut, 2002, 50: 881-885.
- [32] Farinati F, Rinaldi M, Gianni S, et al. How should patients with hepatocellular carcinoma be staged? Validation of a new prognostic system. Cancer, 2000, 89: 2266-2273.
- [33] Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). J Gastroenterol, 2003, 38: 207-215.
- [34] Cillo U, Bassanello M, Vitale A, et al. The critical issue of hepatocellular carcinoma prognostic classification: which is the best tool available? J Hepatol, 2004, 40: 124-131.
- (收稿日期: 2013-10-28)
(本文编辑: 马超)

宋晓, 蔡振旭. MicroRNAs 的失调在高转移肝癌中的作用 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(22): 10092-10097.

