

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.08.006

RPN2 与肝癌患者预后及对肝癌细胞生长的作用*

答秀维¹ 张蓓¹ 尚芸¹ 王琳¹ 张洪新¹ 赵超^{2Δ}

(1 空军军医大学第二附属医院 疼痛科 陕西 西安 710038; 2 空军军医大学第二附属医院 神经内科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨核糖蛋白 2 (ribophorin II, RPN2) 在肝细胞肝癌(HCC)组织中的表达和对 HCC 患者生存的影响,同时分析 RPN2 对肝癌 HepG2 细胞生长和克隆形成的作用。**方法:**应用免疫组化方法和 HCC 公共芯片数据,从蛋白和 mRNA 水平检测 HCC 组织中 RPN2 的表达,同时分析 RPN2 与 HCC 患者临床参数的关系及预后相关性;进一步利用 MTS 法和克隆形成实验在肝癌 HepG2 细胞中检测 RPN2 对细胞生长的作用。**结果:**98 例肝癌组织中,RPN2 阳性表达率 88.78%,对应癌旁肝组织中,RPN2 阳性表达率 74.49%;癌组织中 RPN2 染色评分为 5.80 ± 3.15 ,癌旁肝组织 RPN2 染色评分为 2.13 ± 1.59 ,肝癌组织中 RPN2 表达显著上调($P < 0.001$)。3 个肝癌公共芯片数据(共 522 例肝癌)中 RPN2 的 mRNA 表达水平同样显著升高(均 $P < 0.001$)。98 例肝癌患者 RPN2 表达水平与肿瘤直径($P = 0.004$)、门脉侵袭($P = 0.012$)和 TNM 分期($P = 0.009$)相关;RPN2 高表达的患者总体生存期(OS)和无复发生存期(RFS)较 RPN2 低表达的患者短(OS: $P = 0.027$; RFS: $P = 0.036$)。肝癌 HepG2 细胞转染 RPN2 小干扰 RNA 后,细胞生长能力显著受抑制。**结论:**RPN2 在肝癌中表达显著升高,RPN2 的表达与肝癌的恶性进展有关,RPN2 显著促进肝癌细胞生长。

关键词:RPN2;预后;生长;肝细胞肝癌

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)08-1425-06

Prognostic Value of RPN2 in Hepatocellular Carcinoma and Its Effect on the Growth of Hepatocellular Carcinoma Cells*

DA Xiu-wei¹, ZHANG Bei¹, SHANG Yun¹, WANG Lin¹, ZHANG Hong-xin¹, ZHAO Chao^{2Δ}

(1 Department of Pain Treatment, Second Affiliated Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Department of Neurology, Second Affiliated Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression of Ribophorin II (RPN2) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its effect on the survival of HCC patients, and to analyze the effects of RPN2 on the growth of HepG2 cells. **Methods:** The protein and mRNA expression of RPN2 in HCC patients was analyzed by immunohistochemical (IHC) staining and public data of HCC, and to analyze its relationship between the expression of RPN2 and clinicopathological features and prognosis of HCC patients. The effects of RPN2 on the growth of HCC cells were detected by using MTS and cloning formation experiment in HepG2 cells. **Results:** In 98 HCC tissues, the RPN2 positive expression rate was 88.78%, and the RPN2 positive expression rate was 74.49% in the para-carcinoma tissue. The RPN2 staining score was 5.80 ± 3.15 in HCC tissue, and the RPN2 staining score was 2.13 ± 1.59 in the para-carcinoma tissue, the expression of RPN2 in HCC was significantly increased ($P < 0.001$). The expression of RPN2 mRNA in three public data of HCC (522 cases) was also significantly increased (All $P < 0.001$). RPN2 expression was related to tumor diameter ($P = 0.004$), portal vein invasion ($P = 0.012$) and TNM staging ($P = 0.009$) in 98 HCC patients. The overall survival (OS) and recurrence-free survival (RFS) of HCC patients with high expression of RPN2 were shorter than those with RPN2 low expression (OS: $P = 0.027$; RFS: $P = 0.036$). The cell growth was significantly inhibited with the transfection of RPN2 siRNA in HepG2 cells. **Conclusion:** The expression of RPN2 in HCC was significantly increased, and the expression of RPN2 was related to the progression of HCC. RPN2 promoted HCC cell growth.

Key words: RPN2; Prognosis; Growth; HCC

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)08-1425-06

前言

原发性肝细胞肝癌(HCC)是全球患病率和死亡率位于前十的恶性肿瘤^[1,2]。手术切除后 HCC 的复发及远处转移,是导致患者预后不良的关键因素^[3,4]。虽然近年来在 HCC 的诊断及治

疗方面取得了很大的进步,但是 HCC 的死亡率仍然很高^[5,6]。因此,目前国内外迫切需要对 HCC 的治疗及诊断有突破性进展,而这这就要求我们寻找到对 HCC 的发生和进展起关键调控作用的基因^[7,8]。高度保守的糖蛋白 RPN2 主要位于细胞粗糙的内质网膜,目前发现其功能是参与分泌蛋白的转运,维持内质网的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81772934,81802345)

作者简介:答秀维(1986-),本科,主要从事肝癌的临床及基础研究, E-mail: 182181335@qq.com

Δ 通讯作者:赵超, E-mail: fendoukaoyan@126.com

(收稿日期:2019-11-29 接受日期:2019-12-25)

生理功能^[9-11]。研究已表明内质网功能的异常与肿瘤的恶性生物行为密切相关^[12,13]。RPN2 作为主要参与调控内质网功能的分子,其表达异常影响内质网功能进而参与到肿瘤的发生及进展中。近年来研究证实 RPN2 在骨肉瘤、非小细胞肺癌、结直肠癌中表达升高,并与患者预后相关,同时促进上述肿瘤细胞的恶性生物学行为^[14-17]。另外,还发现 RPN2 不仅促进乳腺癌细胞的恶性生物学行为同时还与乳腺癌患者对多西他赛化疗耐药相关^[18,19]。目前国外有报道发现 RPN2 通过自噬促进 HCC 的转移^[20],但 RPN2 在 HCC 中的表达水平、与 HCC 患者的临床病理特征、预后及在 HCC 细胞中的生物学功能均尚不明确。本研究探索了 RPN2 在大样本量的 HCC 癌组织中的表达变化,分析其与 HCC 患者预后的关系和对细胞生长的影响,以期 HCC 的临床预后判断和分子靶向治疗提供实验依据和新思路。

1 材料与方法

表 1 HCC 芯片公共数据信息

Table 1 The data information of HCC chip public

Accession No.	Platform	Probes/Genes	HCC Sample No.	Patient Ethnicity	Etiology	Source URL
GSE14520	Affymetrix Human Genome		247	Chinese	HBV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE14520
	U133A 2.0 Array	22277/13518				
	Affymetrix HT Human Genome	22268/14181				
GSE22058	U133A Array		96	Chinese	HBV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE22058
	Rosetta/Merck Human RSTA	43483/18503				
	Affymetrix 1.0					
GSE25097	Rosetta/Merck Human RSTA	37583/18076	268	Chinese	HBV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE25097
	Affymetrix 1.0					

1.1.4 细胞及主要试剂 肝癌细胞系 HepG2 购自中国科学院上海细胞库。胎牛血清、DMEM 培养基均为 Gibco 公司产品; Lipofectamine™2000 购自 Invitrogen; siRNA 购自上海吉玛制药有限公司 (siCtrl: TTCTCCGAACGTGTCACGT; siRPN2-1: 5'-GGAGGAGATTGAGGACCTTGT-3'; siRPN2-2: 5'-GCCACT TTGAAGAACCCAATC-3')。RT-PCR 引物购自上海生工生物 (β-actin Forward: CCCAGCCATGTACGTTGCTA; Reverse: TC ACCGGAGTCCATCACGAT; RPN2 Forward: TGGCCCTGAC AATCATAGCC; Reverse: GAGTCCCACGATGGAGTAGAA。MTS 试剂购自美国 Promega 公司。兔多克隆抗体 RPN2 (10576-1-AP, 用于 IHC-P、WB 实验) 购自武汉三鹰公司, β-actin 抗体 (20536-1-AP) 购自武汉 Proteintech 公司, 羊抗兔二抗 (A0208) 购自上海碧云天公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 在 37℃, 5%CO₂ 的条件下, 将 HepG2 细胞置于含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中于细胞培养箱中培养。对数生长期 HepG2 细胞按 4×10⁵ 个/孔种于六孔板中, 将 siRNA 和 Lipofectamine™2000 混合后加入到种有细胞的六孔板内, 转染后细胞继续培养 48 小时。

1.2.2 免疫组化检测 将肝癌组织石蜡切片按顺序脱蜡后柠檬酸盐缓冲液进行高压抗原修复, 3% H₂O₂ 溶液浸泡切片 15

1.1 材料

1.1.1 临床样本 收集 2008 年-2018 年在我院接受原发性肝癌细胞肝癌手术切除术样本 98 例, 上述收集的所有病例均有完整的临床资料, 并且所有样本均经病理医生诊断确诊为肝细胞肝癌, 98 例样本详细信息见表 1。该研究通过我院伦理委员会审核批准, 患者均知情同意。

1.1.2 样本纳入标准和排除标准 纳入标准: (1) 术后病理学检查证实为肝细胞癌; (2) 术前肝功能 Child 分级为 A 级或 B 级; (3) 临床病理资料完整。排除标准: (1) 转移性肝癌、胆管细胞癌、肝门部胆管癌、混合型肝癌等非肝细胞癌。 (2) 肝癌已发生远处转移或无法切除。 (3) 严重心、脑、肺、肾等器质性病变, 不能耐受手术。 (4) 临床病理资料缺失。

1.1.3 HCC 芯片公共数据 HCC 芯片公共数据来源于 Gene Expression Omnibus (GEO) 表达谱芯片数据库, 具体见表 1。

分钟, 山羊血清 28℃封闭切片 20 分钟。用稀释好的抗 RPN2 的多克隆抗体覆盖切片, 4℃孵育过夜。切片经 PBS 洗涤 3 次后加二抗于 37℃孵育 20 分钟。切片经 PBS 洗涤 3 次后加辣根过氧化物酶, 于 28℃孵育 20 分钟。切片经 PBS 漂洗 3 次, 加入 DAB 显色 5-8 分钟。苏木精复染后室温放置 3 分钟, 1%盐酸酒精分化 2-3 秒。按顺序脱水、透明、封片。判读标准^[21]: 在 400× 视野下随机选取 5 个不同视野; 阳性细胞百分比: <5%为 0 分、5%-25%为 1 分、26%-50%为 2 分、51%-75%为 3 分、76%-100%为 4 分; 细胞着色程度: 未染色记为 0 分、浅黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕褐色为 3 分; 最终该分子的染色评分: 阳性细胞得分× 细胞着色程度。

1.2.3 Western blot 法检测细胞蛋白水平 转染 siRNA 的肝癌 HepG2 细胞经胰酶消化, 裂解液常规裂解细胞后提取细胞蛋白。10%的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白样品, 常规转膜后于 5%脱脂牛奶封闭 1 小时, 加 RPN2 抗体, 4℃孵育过夜。TBST 漂洗 3 次, 室温下二抗孵育 2 小时, TBST 漂洗 3 次, ELC 显色。

1.2.4 MTS 法检测细胞生长 将 HepG2 细胞种于 96 孔板中, 每孔加入 100 μL 培养基, 每组设 5 个复孔, 同时设置空白对照组。在相应时间点向 96 孔板内每孔加 MTS 试剂 20 μL, 继续在细胞培养箱孵育 2 小时, 在 490 nm 波长下检测细胞的吸光度值。

1.2.5 细胞克隆实验检测 将肝癌 HepG2 细胞按每孔 1000 个细胞种于六孔板,每个样品设 3 个复孔,细胞培养箱中培养 14 天,PBS 冲洗 3 次后多聚甲醛固定半小时,使用结晶紫染色半小时,PBS 冲洗 3 次后拍照计数细胞形成的克隆数。

1.3 统计学方法

SPSS21.0 统计软件分析处理,实验数据采用均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用 t 检验统计方法,计量资料的比较采用单因素方差分析,生存分析采用 Kaplan-Meier 法,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 RPN2 在 HCC 组织的表达情况

98 例 HCC 患者的一般情况见表 1。RPN2 在 98 例 HCC 癌组织中的免疫组织化学染色结果显示,RPN2 表达阳性 87 例(88.78%),阴性表达 11 例(11.22%);对应癌旁肝组织中,RPN2 表达阳性 73 例(74.49%),阴性表达 25 例(25.51%)。RPN2 免疫组化评分结果显示,癌组织中 RPN2 染色评分为 5.80 ± 3.15 ,癌旁肝组织 RPN2 染色评分为 2.13 ± 1.59 ,与癌旁组织相比,HCC 组织中 RPN2 的表达显著上调($t=10.27, P<0.001$,图 1A),相应 HCC 组织的 HE 染色见图 1B。

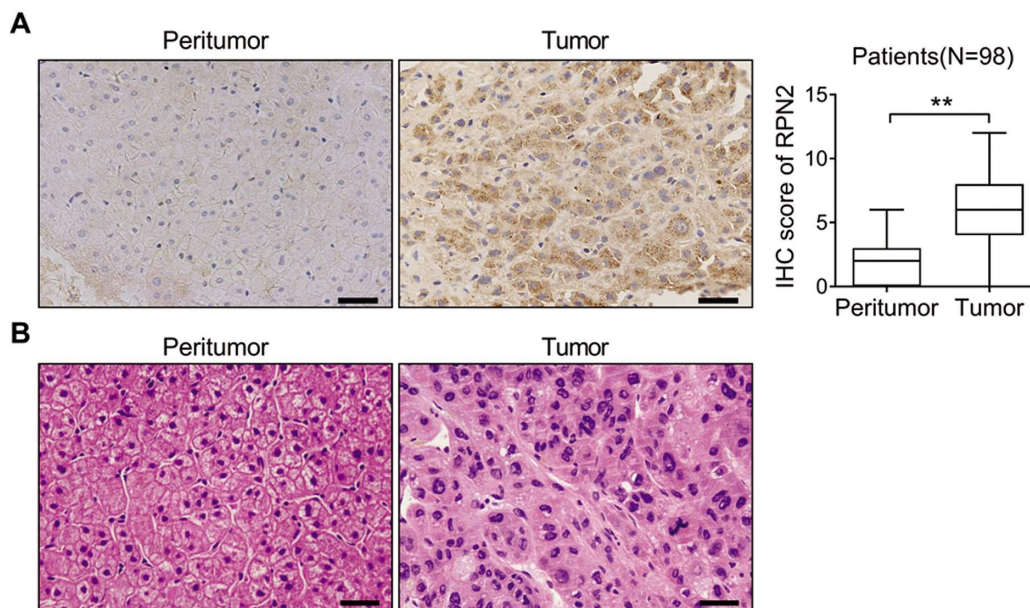


图 1 RPN2 在肝癌组织和对应癌旁组织中的表达 A:肝癌组织和对应癌旁组织中 RPN2 的免疫组化染色及免疫组化评分;

B:肝癌组织和对应癌旁组织 HE 染色

(注:*, $P<0.05$; **, $P<0.01$)

Fig.1 Expression level of RPN2 in HCC patients A: Immunohistochemical staining of RPN2 in HCC tissues and corresponding peritumor tissues;

B: HE staining of HCC tissues and corresponding peritumor tissues

(Note: *, $P<0.05$; **, $P<0.01$)

2.2 522 例肝癌公共数据中 RPN2 的 mRNA 表达水平

利用 3 个肝癌公共芯片数据(共计 522 例肝癌患者),分析 RPN2 的 mRNA 水平表达情况(图 2)。GSE14520 肝癌组织中 RPN2 的 mRNA 表达水平为 10.56 ± 0.41 ,而在相应癌旁组织其表达为 9.78 ± 0.22 ,两组间差异具有统计学意义($t=24.21, P<0.001$)。GSE22058 肝癌组织中 RPN2 的 mRNA 表达水平为 10768.28 ± 1929.86 ,而在相应癌旁组织其表达为 9054.42 ± 1224.61 ,两组间差异具有统计学意义($t=7.39, P<0.001$)。GSE25097 肝癌组织中 RPN2 的 mRNA 表达水平为 18.56 ± 3.47 ,而在相应癌旁组织其表达为 15.08 ± 2.46 ,两组间差异具有统计学意义($t=11.89, P<0.001$)。上述结果证实,肝癌组织中 RPN2 的 mRNA 表达水平同样显著高于相应癌旁组织。

2.3 RPN2 的表达高低与 HCC 患者临床病理特征的相关性分析

根据 98 例 HCC 患者 RPN2 免疫组化评分结果,采用中位数法将 98 例 HCC 分为 RPN2 高表达组和 RPN2 低表达组,采用 χ^2 检验对 RPN2 高表达组和 RPN2 低表达组进行单因素统

计分析,结果显示 RPN2 表达水平与 HCC 患者的肿瘤直径($P=0.004$)、门脉侵袭($P=0.012$)和 TNM 分期($P=0.009$)相关,而与患者的年龄、性别、乙型肝炎病毒感染、AFP、肿瘤细胞分化程度均无关($P>0.05$),具体见表 2。

2.4 RPN2 表达高低与 HCC 患者预后的关系

如图 3,根据 98 例 HCC 患者 RPN2 免疫组化评分结果,分为 RPN2 高表达组和 RPN2 低表达组,Kaplan-Meier 生存分析显示,RPN2 低表达的患者总体生存期(overall survival, OS)和无复发生存期(recurrence-free survival, RFS)较 RPN2 高表达的患者长(OS: $P=0.027$; RFS: $P=0.036$)。

2.5 RPN2 影响肝癌 HepG2 细胞生长

进一步在肝癌 HepG2 细胞系中利用小干扰片段分析 RPN2 对于肝癌细胞的生物学作用。如图 4,RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示,转染 RPN2 小干扰片段组 RPN2 的 mRNA 和蛋白表达水平较对照组显著降低,两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。

HepG2 转染 RPN2 小干扰片段、对照小干扰片段 24 小时后, 利用 MTS 法检测各组细胞的细胞生长能力, 绘制生长曲线, 见图 5。与对照组相比, 转染靶向 RPN2 的 siRNA 后, 细胞生长显著受到抑制, 转染后第 3 天, 对照组吸光值为 0.75 ± 0.06 , siRPN2-1 组为 0.42 ± 0.04 , siRPN2-2 组为 0.44 ± 0.06 , 对照与干扰 RPN2 组之间差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

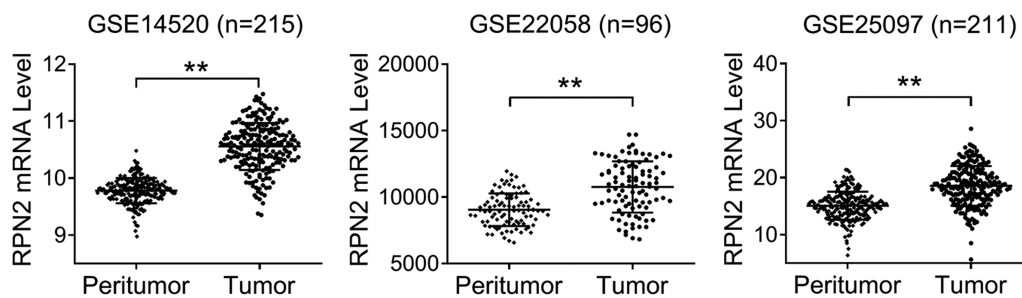


图 2 肝癌公共数据中分析 RPN2 的 mRNA 表达水平
(注: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)

Fig.2 Expression level of RPN2 in public HCC patients data set
(Note: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)

表 2 RPN2 表达高低与 HCC 患者临床特征的相关性

Table 2 Correlation analysis of RPN2 expression level and clinical features in HCC patients

Variables	No. of cases	RPN2 expression		χ^2	P value
		Low	High		
All	98	49	49		
Age				0.373	0.542
<55	48	26	22		
≥ 55	50	24	26		
Gender				0.641	0.424
Female	17	7	10		
Male	81	42	39		
HBsAg				0.710	0.399
Negative	6	2	4		
Positive	92	47	45		
AFP ($\mu\text{g/mL}$)				1.475	0.225
<200	46	26	20		
≥ 200	52	23	29		
Maximum diameter of lesion				8.167	0.004
<5	42	28	14		
≥ 5	56	21	35		
PVTT				6.376	0.012
No	83	46	37		
Yes	15	3	12		
TNM stage				6.874	0.009
I+ II	75	43	32		
III+ IV	23	6	17		
Differentiation grade				3.600	0.058
I+ II	63	36	27		
III	35	13	22		

Abbreviations: HBsAg, hepatitis B surface antigen; AFP, α -fetoprotein; PVTT, portal vein tumor thrombosis; TNM, tumor-nodes-metastases.

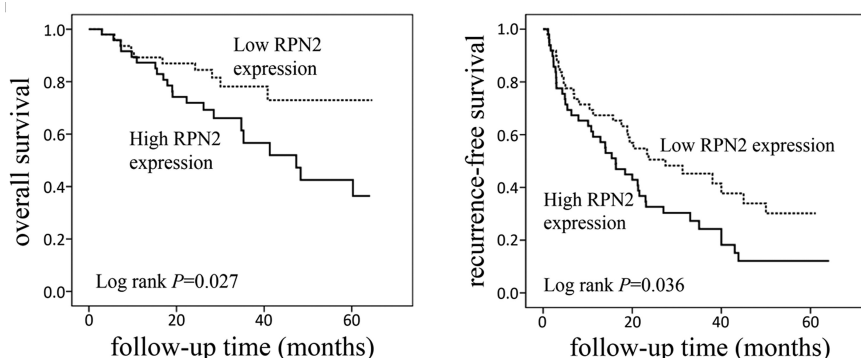


图3 RPN2 表达高低与 HCC 患者术后总生存和无复发生存曲线图的关系

Fig.3 The relationship between expression level of RPN2 and postoperative overall survival and recurrence-free survival of HCC patients

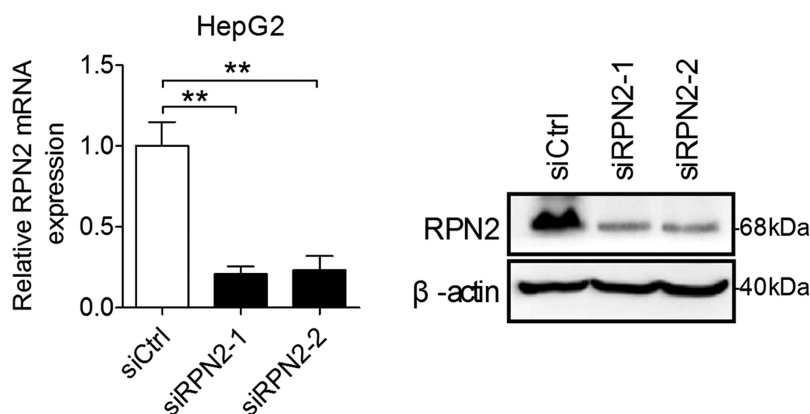


图4 RT-PCR 和 Western blot 检测各组细胞 RPN2 的表达

Fig.4 The expression of RPN2 in groups were measured by RT-PCR and Western blot

注: siCtrl 为对照小干扰片段; siRPN2-1/2 为 RPN2 小干扰片段; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ 。Note: siCtrl: Control siRNA; siRPN2-1/2: siRNAs against RPN2; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ 。

2.6 克隆形成实验分析 RPN2 对肝癌 HepG2 细胞生长的作用

在肝癌 HepG2 细胞转染 siRNA 后, 对每组细胞进行克隆形成实验分析, 见图 6。对照组的细胞集落数为 208.33 ± 36.17 , siRPN2-1/2 组的细胞集落数分别为 101.00 ± 15.87 、 109.67 ± 18.90 。RPN2 表达降低显著抑制 HepG2 细胞克隆形成, 两组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 讨论

包括 HCC 在内的大多数肿瘤的发生和进展是细胞内多种基因转录和信号转导的协同作用产生的^[22-24]。陆续有研究发现 RPN2 与恶性肿瘤的发生和进展密切相关^[14-16, 18-20]。在本研究 98 例 HCC 病例中, RPN2 表达阳性占到 87 例, 而在对应癌旁肝组织中, RPN2 表达阳性占 73 例; 免疫组化评分癌旁组织中 RPN2 染色评分仅为癌组织 RPN2 染色评分的二分之一。另外, 使用 3 个肝癌公共芯片数据, 共计 522 例 HCC 病例, RPN2 的 mRNA 表达在癌组织中同样显著升高。由此证实, 肝细胞肝癌组织普遍存在 RPN2 分子表达上调的现象。

由于目前临床上缺乏 HCC 早期诊断有效标志物, 造成了 HCC 患者在发现肿瘤时已处于中晚期, 同时由于 HCC 完全切除术后缺乏判断预后的有效标志物, 因而 HCC 在术后易出现复发和转移^[25-27]。因此, 研究与 HCC 患者预后相关分子, 找到能够早期准确预测 HCC 发生、转移和预后的标志物, 采取相应的有效措施, 对 HCC 的患者的生存期的延长有着重要意义^[28-30]。

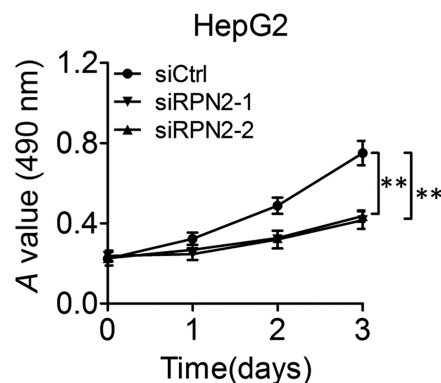


图5 肝癌 HepG2 转染 siRNA 后 MTS 法检测细胞生长情况

Fig.5 Cell growth by MTS assay after transfection of siRNA with HepG2

注: siCtrl 为对照小干扰片段; siRPN2-1/2 为 RPN2 小干扰片段; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ 。Note: siCtrl: Control siRNA; siRPN2-1/2: siRNAs against RPN2; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ 。

本研究通过分析 RPN2 蛋白表达与 HCC 患者临床参数特征间的相关性, 发现 RPN2 蛋白表达与肿瘤直径、门脉侵袭和 TNM 分期相关; 同时通过生存分析发现 RPN2 高表达的患者总体生存期和无复发生存期均较 RPN2 低表达的患者短。本研究显示 RPN2 有望作为肝细胞肝癌的独立判断预后的指标。

研究发现, 高表达 RPN2 会促进乳腺癌细胞糖酵解进程,

同时还会引起细胞内部分蛋白定位发生改变,上述变化会促进乳腺癌细胞恶性生长^[18]。在结直肠癌细胞中研究发现,RPN2能够通过 Akt-p53- 细胞周期通路促进结直肠癌细胞的增殖和侵袭^[31]。另外有研究发现 RPN2 通过调节 EGFR 的糖基化状态促进结直肠癌细胞的增殖^[32]。而近期,在肝癌中研究发现 RPN2 能够通过 STAT3 和 NF- κ B 通路抑制自噬从而促进肝癌细胞的转移^[20]。在本研究中,我们证实降低 RPN2 表达会显著抑制肝癌 HepG2 细胞的生长能力及细胞克隆形成能力。而在之前 RPN2 与 HCC 患者临床病理参数相关分析中,RPN2 表达和肿瘤直径成正相关性,这与上述在肝癌 HepG2 细胞中观察到的 RPN2 促进肝癌细胞生长的功能显示二者结果较一致。

综上,RPN2 高表达与肝癌的发生和进展密切相关,RPN2 高表达与肝癌患者的不良预后正相关,RPN2 高表达促进肝癌细胞的恶性生长。进一步研究需深入探讨 RPN2 促进 HCC 细胞生长的具体分子机制,从而为以 RPN2 为靶标的肝癌的早期有效诊断、术后关键监测以及分子靶向治疗提供新的研究支持。

参考文献(References)

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108
- [2] Sayiner M, Golabi P, Younossi Z M. Disease Burden of Hepatocellular Carcinoma: A Global Perspective[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(4): 910-917
- [3] Dang Y, Luo D, Rong M, et al. Underexpression of miR-34a in hepatocellular carcinoma and its contribution towards enhancement of proliferating inhibitory effects of agents targeting c-MET[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61054
- [4] Daher S, Massarwa M, Benson A A, et al. Current and Future Treatment of Hepatocellular Carcinoma: An Updated Comprehensive Review[J]. J Clin Transl Hepatol, 2018, 6(1): 69-78
- [5] Couri T, Pillai A. Goals and targets for personalized therapy for HCC [J]. Hepatol Int, 2019, 13(2): 125-137
- [6] Zhou K, Fountzilas C. Outcomes and Quality of Life of Systemic Therapy in Advanced Hepatocellular Carcinoma [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(6): [Epub ahead of print]
- [7] Fujiwara N, Friedman S L, Goossens N, et al. Risk factors and prevention of hepatocellular carcinoma in the era of precision medicine[J]. J Hepatol, 2018, 68(3): 526-549
- [8] Medavaram S, Zhang Y. Emerging therapies in advanced hepatocellular carcinoma[J]. Exp Hematol Oncol, 2018, 7: 17
- [9] Crimando C, Hortsch M, Gausepohl H, et al. Human ribophorins I and II: the primary structure and membrane topology of two highly conserved rough endoplasmic reticulum-specific glycoproteins [J]. EMBO J, 1987, 6(1): 75-82
- [10] Hortsch M, Avossa D, Meyer D I. Characterization of secretory protein translocation: ribosome-membrane interaction in endoplasmic reticulum[J]. J Cell Biol, 1986, 103(1): 241-253
- [11] Banerjee S, Zhang W. Endoplasmic Reticulum: Target for Next-Generation Cancer Therapy [J]. Chembiochem, 2018, 19 (22): 2341-2343
- [12] Oakes S A. Endoplasmic reticulum proteostasis: a key checkpoint in cancer[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2017, 312(2): C93-C102
- [13] Moon H W, Han H G, Jeon Y J. Protein Quality Control in the Endoplasmic Reticulum and Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): [Epub ahead of print]
- [14] Fujiwara T, Takahashi R U, Kosaka N, et al. RPN2 Gene Confers Osteosarcoma Cell Malignant Phenotypes and Determines Clinical Prognosis[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2014, 3: e189
- [15] Fujita Y, Yagishita S, Takeshita F, et al. Prognostic and therapeutic impact of RPN2-mediated tumor malignancy in non-small-cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(5): 3335-3345
- [16] Zhang J, Yan B, Spath S S, et al. Integrated transcriptional profiling and genomic analyses reveal RPN2 and HMGB1 as promising biomarkers in colorectal cancer[J]. Cell Biosci, 2015, 5: 53
- [17] Bi C, Jiang B. Downregulation of RPN2 induces apoptosis and inhibits migration and invasion in colon carcinoma [J]. Oncol Rep, 2018, 40(1): 283-293
- [18] Tominaga N, Hagiwara K, Kosaka N, et al. RPN2-mediated glycosylation of tetraspanin CD63 regulates breast cancer cell malignancy[J]. Mol Cancer, 2014, 13: 134
- [19] Honma K, Iwao-Koizumi K, Takeshita F, et al. RPN2 gene confers docetaxel resistance in breast cancer[J]. Nat Med, 2008, 14(9): 939-948
- [20] Huang L, Jian Z, Gao Y, et al. RPN2 promotes metastasis of hepatocellular carcinoma cell and inhibits autophagy via STAT3 and NF- κ B pathways[J]. Aging(Albany NY), 2019, 11(17): 6674-6690
- [21] Huang Q, Li J, Xing J, et al. CD147 promotes reprogramming of glucose metabolism and cell proliferation in HCC cells by inhibiting the p53-dependent signaling pathway [J]. J Hepatol, 2014, 61 (4): 859-866
- [22] Thorgeirsson S S, Grisham J W. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma[J]. Nat Genet, 2002, 31(4): 339-346
- [23] Nangalia J, Campbell P J. Genome Sequencing during a Patient's Journey through Cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 381(22): 2145-2156
- [24] Bouattour M, Mehta N, He A R, et al. Systemic Treatment for Advanced Hepatocellular Carcinoma [J]. Liver Cancer, 2019, 8(5): 341-358
- [25] Han T S, Ban H S, Hur K, et al. The Epigenetic Regulation of HCC Metastasis[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12)
- [26] Colagrande S, Inghilesi A L, Aburas S, et al. Challenges of advanced hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22 (34): 7645-7659
- [27] Silva J P, Berger N G, Tsai S, et al. Transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis: a systematic review and meta-analysis[J]. HPB (Oxford), 2017, 19(8): 659-666
- [28] Dutta R, Mahato R I. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy[J]. Pharmacol Ther, 2017, 173: 106-117
- [29] Wahid B, Ali A, Rafique S, et al. New Insights into the Epigenetics of Hepatocellular Carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 1609575
- [30] Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(4): 203-217
- [31] Zhou T, Wu L, Wang Q, et al. MicroRNA-128 targeting RPN2 inhibits cell proliferation and migration through the Akt-p53-cyclin pathway in colorectal cancer cells [J]. Oncol Lett, 2018, 16 (6): 6940-6949
- [32] Li H, Al-Japairai K, Tao Y, et al. RPN2 promotes colorectal cancer cell proliferation through modulating the glycosylation status of EGFR[J]. Oncotarget, 2017, 8(42): 72633-72651