

网络出版时间: 2025-03-17 18:46:16 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250314.1613.004>

PPFIA4 基因在肝细胞癌中的表达及作用机制

崔浩东^{1,2,3,4}, 殷济民^{1,2,3,4}, 郭凯⁴, 汪碧君⁵, 王天兵⁴, 吴文涌^{1,2,3,4}

(¹ 安徽医科大学安徽省第二人民医院临床学院普外科, 合肥 230041; ² 安徽医科大学

第五临床医学院, 合肥 230032; ³ 安徽省第二人民医院职业健康安徽省重点实验室, 合肥 230041;

⁴ 安徽省第二人民医院普外科, 合肥 230041; ⁵ 安徽医科大学临床医学院外科学教研室, 合肥 230012)

摘要 目的 探讨 PPFIA4 在肝细胞癌组织和 HCCLM3 细胞中的表达水平及其对肝细胞癌生物学行为的调控。方法 选择生物信息学分析、Western blot 法和免疫组化法检测肝细胞癌患者肿瘤组织中 PPFIA4 表达情况并进行患者预后的相关分析; 设计 siRNA 质粒瞬转敲低 HCCLM3 细胞中 PPFIA4 表达, 选取划痕愈合实验和 Transwell 实验检测敲低 PPFIA4 对 HCCLM3 细胞迁移、侵袭能力的影响; 借助 Western blot 法检测 HCCLM3 细胞株转染 siRNA 质粒后上皮-间充质转化(EMT)相关蛋白标志物的表达变化。结果 PPFIA4 在肝细胞癌组织和肝细胞癌细胞(HCCLM3、Li-7、MHCC97H)中高表达; PPFIA4 高表达提示患者临床分期较晚, 总体生存期(OS)较短; 敲低 HCCLM3 细胞株中 PPFIA4 表达后, HCCLM3 细胞迁移和侵袭能力均下降($P < 0.001$) 并且 EMT 标志物表达发生变化, 上皮细胞标志物 E-cadherin 的表达增加($P < 0.01$), 而间充质标志物 Vimentin、N-cadherin 的表达下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 PPFIA4 在肝细胞癌组织和肝癌细胞株中呈高表达并与患者不良预后相关, 沉默 PPFIA4 后能够调控肝癌细胞生物学行为, 抑制 HCCLM3 细胞迁移和侵袭能力, 其具体机制可能与 EMT 相关。

关键词 肝细胞癌; PPFIA4; 预后; 迁移; 侵袭; EMT

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)03-0414-08

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.03.005

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)已成为全球第六大最常见的恶性肿瘤,是全球癌症相关死亡的第三大原因,造成了严重的全球健康负担^[1]。尽管 HCC 的诊疗手段有许多突破性进展,但 HCC 的早期诊断率仍不乐观,再叠加 HCC 易转移、复发的特性,导致 HCC 患者的病死率还处于较高水平^[2]。现阶段寻找 HCC 诊断的新型生物学标志物,探索 HCC 恶性进展和转移的机制,对 HCC 早期诊断和靶向治疗具有重大意义。PPFIA4 是一种胞质支架蛋白,定位于染色体 1q32.1 扩增区,其在多种癌症中高表达,且与肿瘤代谢重编程、恶性转移和患者不良预后相关^[3-5]。其家族成员也在肿瘤的发生发展中发挥强大的功能,目前已被报道在前列腺癌、小细胞肺癌等肿瘤的恶性进展和病变转移中发挥重要作用^[6-7]。该研究拟探索 PPFIA4 在 HCC 中的表达情况及其功能调控的机制,为 HCC 诊治提供新的

理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本收集 收集在安徽省第二人民医院接受根治性 HCC 切除手术患者的 HCC 组织及癌旁正常组织样本共 6 对。收集安徽省第二人民医院 2022 年 1 月—2024 年 4 月通过手术切除,由病理证实并临床资料保存完整的 HCC 组织存档蜡块 42 例。所有患者均在线上签署知情同意书。纳入标准:①根治性手术切除的 HCC 组织标本;②患者术前未接受任何放、化疗。本研究经安徽省第二人民医院伦理委员会审查并获得批准[伦理号: (R) 2022-001]。

1.1.2 细胞系和主要试剂 人正常肝细胞 L-02 购自湖南丰晖生物科技有限公司(货号: CL0192),人 HCC 细胞 HCCLM3、Li-7、MHCC97H 均由安徽省第二人民医院职业健康安徽省重点实验室保存。DMEM 培养基和 Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen Gibco 公司(货号: 12634028、L30000001),胎牛血清购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司(货号: 10099158),青链霉素混合液、BCA 蛋白检测试

2024-10-28 接收

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划人口健康专项项目(编号: 202104j07020005); 安徽省高校自然科学基金项目(编号: 2023AH010084、2022AH052030)

作者简介: 崔浩东,男,硕士研究生;

吴文涌,男,博士,教授,主任医师,博士生导师,通信作者,
E-mail: wuwenyong@ahmu.edu.cn

试剂盒、ECL 发光剂购、S-vision 免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒购自武汉塞维尔生物科技有限公司(货号: G4003-100ML、G2026-200T、G2161-200ML、G1313-100T、G1212-200T), PPFIA 抗体购自英国 bi-orbyt 公司(货号: orb586506), E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、GAPDH 抗体购自武汉三鹰生物科技有限公司(货号: 20874-1-AP、22018-1-AP、10366-1-AP、60004-1-Ig), 山羊抗兔 IgG 二抗购自武汉塞维尔生物科技有限公司(货号: GB23303)。

1.1.3 主要仪器 医用洁净工作台(型号: BBS-DDC, 济南鑫贝西生物技术有限公司)、CO₂ 培养箱(型号: MCO-15AC, 日本三洋电机公司)、医用低温保存箱(型号: DW-86L490J, 青岛海尔生物医疗股份有限公司)、电泳电转仪(型号: DYY-7C, 北京六一生物科技有限公司)、荧光显微镜(型号: EVOSM7000, 日本尼康公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 选取 L-02、HCCLM3、Li-7 及 MHCC97H 细胞复苏后用完全 DMEM 培养基(10% 胎牛血清、1% 青链霉素双抗)置于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中进行细胞培养。

选取生长状态良好的 HCCLM3 细胞, 使用胰酶消化并计数, 将约 4×10^5 个的 HCCLM3 细胞接种于 6 孔板, 待生长密度达到 70% ~ 80% 时, 将转染试剂和质粒混合均匀加入细胞中培养 48 h。借助 Western blot 法验证 HCCLM3 细胞中 PPFIA4 敲低效率。本研究中选用的 si-RNA 序列如下:

si-RNA	si-RNA sequences
si-PPFIA4-1	5'-CAGGTGGAACATGCTGGAGAA-3'
si-PPFIA4-2	5'-GAGAUUGAGACGCCGUGUAA-3'
si-PPFIA4-3	5'-AGGAGATGCTGTCATTGACCAG-3'

1.2.2 生物信息学分析 本研究选取 TCGA 数据库(<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>)中 HCC 表达数据, 其中共有癌旁正常组织 50 例, HCC 组织 374 例, 同时下载相关的临床病理资料, 这些资料应包括患者年龄、肿瘤分期、转移情况、淋巴结转移情况、生存时长以及当前的生存状况, 同时删除临床信息不完整的部分。

1.2.3 蛋白提取及 Western blot 法 HCC 组织或细胞先用 PBS 清洗两次后, 加入含有 1% 蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液于冰上裂解提取蛋白, 然后使用 100 °C 金属浴加热 15 min 使蛋白变性。使用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度。调整蛋白上样量后蛋白样品加样至 10% SDS-PAGE

凝胶电泳, 并转移到 PVDF 膜上。PVDF 膜使用 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h 后加入对应一抗在 4 °C 摇床上孵育过夜。次日, 使用 TBST 充分洗涤 PVDF 膜, 然后加入相应的二抗孵育 1 h, 再用 TBST 充分洗涤 PVDF 膜。最后滴加 ECL 化学发光剂进行显影。

1.2.4 免疫组化 选取 HCC 组织及癌旁正常组织蜡块进行预处理。随后使用 EnVision 法对 PPFIA4 蛋白在 HCC 组织及癌旁正常组织进行定量测定并进行结果判读。EnVision 法主要步骤如下: 首先将待染色的 4 μm 切片放置于 65 °C 烤箱烘烤 2 h; 二甲苯脱蜡水化后经柠檬酸钠缓冲液抗原修复, 3% H₂O₂ 作用 10 min 后去除内源性过氧化物酶活性。然后滴加一抗(PPFIA4) 4 °C 孵育过夜, PBS 清洗切片后滴加生物素标记的二抗于室温孵育 30 min。最后, DAB 显色, 苏木精复染, 常规脱水后封片后显微镜下观察染色结果。PBS 代替一抗作为阴性对照。所有患者均接受电话回访后在网上签署知情同意书。免疫组化结果均由两位病理科医师(遵循双盲原则)共同评定。

结果判读: 采用半定量积分法进行结果判读, 每张切片随机选取 3 个高倍镜视野, 以细胞质内棕黄色颗粒为 PPFIA4 染色阳性。染色结果按细胞着色强度分为: 无阳性着色—0 分, 弱着色—1 分, 中等着色—2 分, 强着色—3 分, 并且按照染色阳性细胞百分比分为阳性细胞 < 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, 76% ~ 100% 为 4 分。最后, 将两项得分结果相乘得到染色分数, 其中: 0 ~ 3 为(—), 4 ~ 7 分为(+), 8 ~ 10 分为(++), 11 ~ 12 分为(+++), 其中 ≥ 7 分为高表达。

1.2.5 划痕愈合实验 将 HCCLM3 细胞(4×10^5 个/孔)接种到含有 2 ml 完全培养基的 6 孔板中。显微镜观察细胞进入对数生长期后, 用 10 μl 移液器吸头在对应的孔中划痕, 然后用 PBS 轻微洗涤两遍, 去除漂浮和破损细胞, 最后加入相应的培养基于培养箱中继续培养。在指定时间(0、48 h)采集图像。

1.2.6 Transwell 实验 选择 HCCLM3 细胞用胰酶消化后计数并接种于 24 孔板中, 每孔接种细胞约 4×10^4 个(设置 2 个平行副孔)。迁移实验中每孔下方加入 800 μl 含有血清的培养基, 上方 Transwell 小室中加入总体积为 200 μl 无血清的培养基, 放置于原培养箱中培养 24 h, 随后取出小室经 5% 甲醛固定、结晶紫溶液染色, 于显微镜下观察结果并拍照。侵袭实验中需在上方 Transwell 小室中铺基质胶, 余

下步骤与迁移实验相同。两组实验均在显微镜下随机选取3个视野进行细胞计数并统计。

1.3 统计学处理 所有数据采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,多组间比较使用卡方检验,细胞迁移、侵袭能力比较采用双因素方差分析;生存分析采用 Kaplan-Meier 法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PPFIA4 在 HCC 组织和 HCC 细胞中的表达

2.1.1 生物信息学分析 PPFIA4 在 HCC 中的表达

检索 TCGA 数据库,分析显示在 HCC 中 PPFIA4 mRNA 表达水平上调($P < 0.0001$,图 1A),且结果显示 HCC 患者的 PPFIA4 mRNA 表达水平随着临床分期进展而升高($P < 0.0001$,图 1B)。同时研究发现 PPFIA4 表达较高的患者,其总生存期(overall survival, OS)较短($P = 0.002$,图 1C)。上述数据库分析结果表明,PPFIA4 mRNA 在 HCC 患者中表达上调且与 HCC 患者不良预后密切相关。

2.1.2 PPFIA4 蛋白在 HCC 组织和肝癌细胞系中的表达 采用 Western blot 法检测 6 例 HCC 组织及其癌旁组织中 PPFIA4 蛋白表达,证实 HCC 组织中 PPFIA4 蛋白表达水平高于癌旁正常组织($P <$

0.05,图 2A)。随后,选择免疫组化法检测 HCC 组织 PPFIA4 蛋白表达水平,结果显示 PPFIA4 蛋白定位于细胞质,蛋白高表达时染色呈棕黄色颗粒状,并且 PPFIA4 蛋白在 HCC 组织组织中染色强度高于癌旁组织(图 2B)。在 42 例 HCC 组织中,36 例(85.71%) PPFIA4 蛋白表达阳性,但 34 例癌旁组织中仅有 12 例(35.29%) PPFIA4 蛋白表达阳性。PPFIA4 蛋白在 HCC 组织中表达高于癌旁组织且差异均有统计学意义($P < 0.001$,表 1)。除此以外,选择 Western blot 法检测 PPFIA4 蛋白在 HCC 细胞系中的表达,结果提示 PPFIA4 蛋白在 HCC 细胞系表达对比正常肝细胞显著升高并且在高侵袭性的 HC-CLM3 细胞系中表达水平较高(均 $P < 0.01$,图 2C),故选择 HCCLM3 细胞系进行后续实验。

2.2 PPFIA4 对 HCC 细胞迁移和侵袭能力的影响

2.2.1 PPFIA4 敲低细胞系构建成功 选择 HC-CLM3 细胞转染 si-NC、si-PPFIA4#1、si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 质粒 48 h 后,采用 Western blot 法检测转染效率,结果显示转染 si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 组 PPFIA4 敲低效率显著($P < 0.01$,图 3),故选取 si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 组进行下游实验。

2.2.2 PPFIA4 对 HCC 细胞系划痕愈合能力的影响 采用划痕愈合试验探究 PPFIA4 蛋白对于

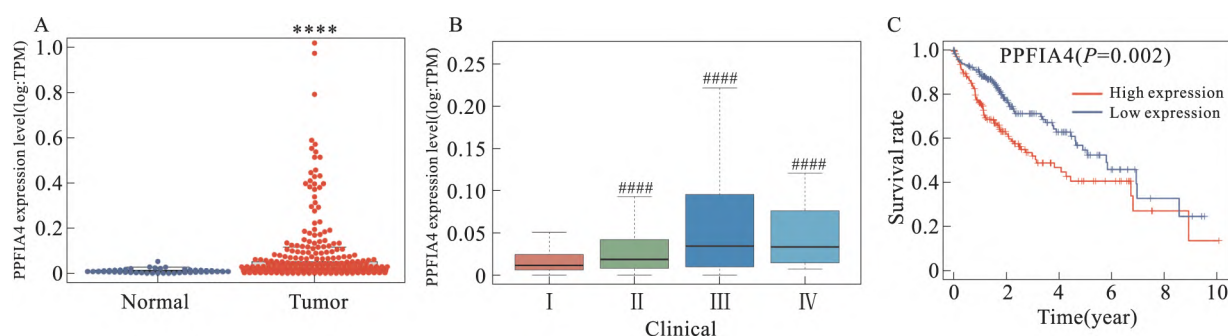


图1 生物信息学分析 PPFIA4 在 HCC 中的表达

Fig. 1 Bioinformatics analysis of PPFIA4 expression in hepatocellular carcinoma

A: Analysis of PPFIA4 mRNA expression in normal tissues and hepatocellular carcinoma tissues using the TCGA database; B: Analysis of PPFIA4 mRNA expression in hepatocellular carcinoma tissues at different clinical stages using the TCGA database; C: Analysis of the relationship between high and low PPFIA4 expression and the prognosis of hepatocellular carcinoma patients using the TCGA database; **** $P < 0.0001$ vs Normal group; #### $P < 0.0001$ vs I.

表1 PPFIA4 蛋白在肝癌组织和癌旁组织中的表达 [$n(\%)$]

Tab.1 The expression of PPFIA4 protein in liver cancer tissues and adjacent tissues [$n(\%)$]

Group	PPFIA4 protein expression			χ^2 value	P value
	Positive	Negative			
Liver cancer tissue($n = 42$)	36(85.71)	6(14.29)		20.528	< 0.001
Adjacent tissue($n = 34$)	12(35.29)	22(64.71)			

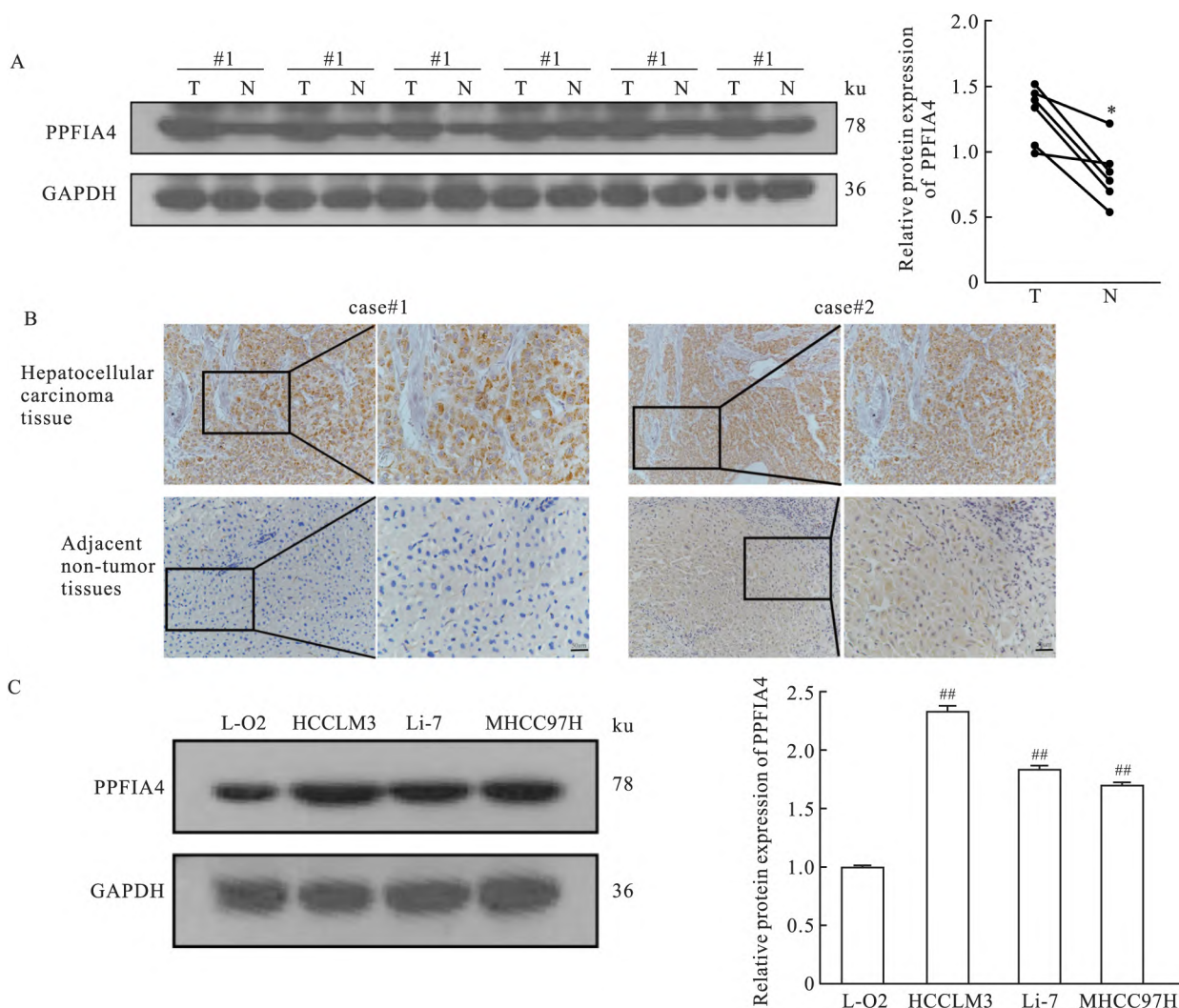


图2 PPFIA4 蛋白在 HCC 组织和肝癌细胞系中的表达

Fig. 2 The expression of PPFIA4 protein in hepatocellular carcinoma tissues and liver cancer cell lines

A: The expression of PPFIA4 protein in liver cancer tissues and adjacent normal tissues detected by Western blot; B: The expression of PPFIA4 protein in liver cancer tissues and adjacent normal tissues detected by immunohistochemical staining, with a scale bar of 50 μm , $\times 100$; C: The expression of PPFIA4 protein in liver cancer cell lines and normal liver cell lines detected by Western blot; T: tumor; N: normal; * $P < 0.05$ vs T group; ## $P < 0.01$ vs L-O2 group.

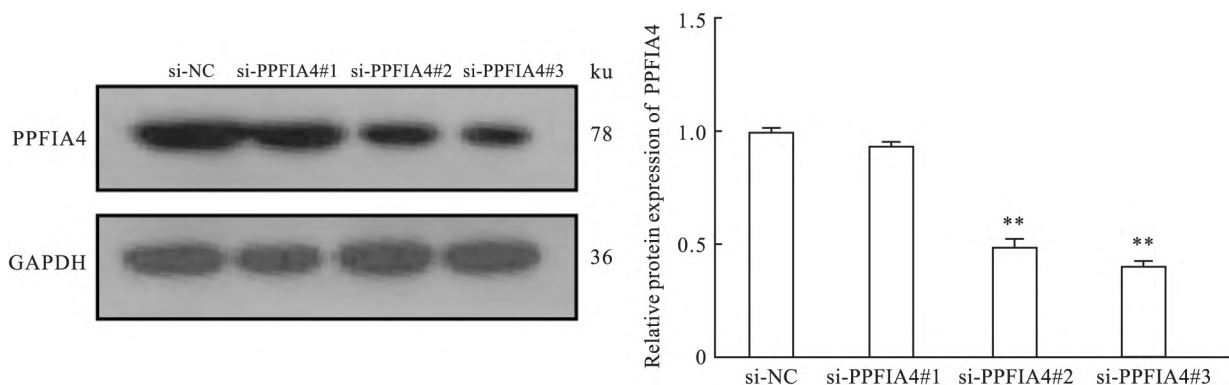


图3 Western blot 法检测瞬转 siRNA 质粒后 HCCLM3 细胞 PPFIA4 蛋白表达情况

Fig. 3 Western blot analysis of PPFIA4 protein expression in HCCLM3 cells after transient transfection with siRNA plasmids

** $P < 0.01$ vs si-NC group.

HCCLM3 细胞划痕愈合能力的作用,结果显示在无血清培养基培养 48 h 后,对比 si-NC 组,使用 si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 质粒敲低 HCCLM3 细胞 PPFIA4 表达,si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 组肝癌细胞株愈合率明显降低($P < 0.01$,图 4),提示 PPFIA4 蛋白下调可显著抑制肝癌细胞迁移能力。

2.2.3 PPFIA4 对 HCCLM3 细胞系迁移和侵袭能力的影响 利用 Transwell 实验检测 PPFIA4 蛋白对于

HCCLM3 细胞迁移和侵袭能力的影响,结果显示,与 si-NC 组对比,si-PPFIA4#2 和 si-PPFIA4#3 组肝癌细胞迁移和侵袭数量明显降低($P < 0.001$,图 5)。结果证明,抑制 PPFIA4 蛋白的表达可减弱 HCCLM3 细胞的迁移和侵袭能力。

2.3 PPFIA4 对 HCC 细胞上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 相关分子的影响 提取转染 si-NC 和 si-PPFIA4 质粒的 HCCLM3

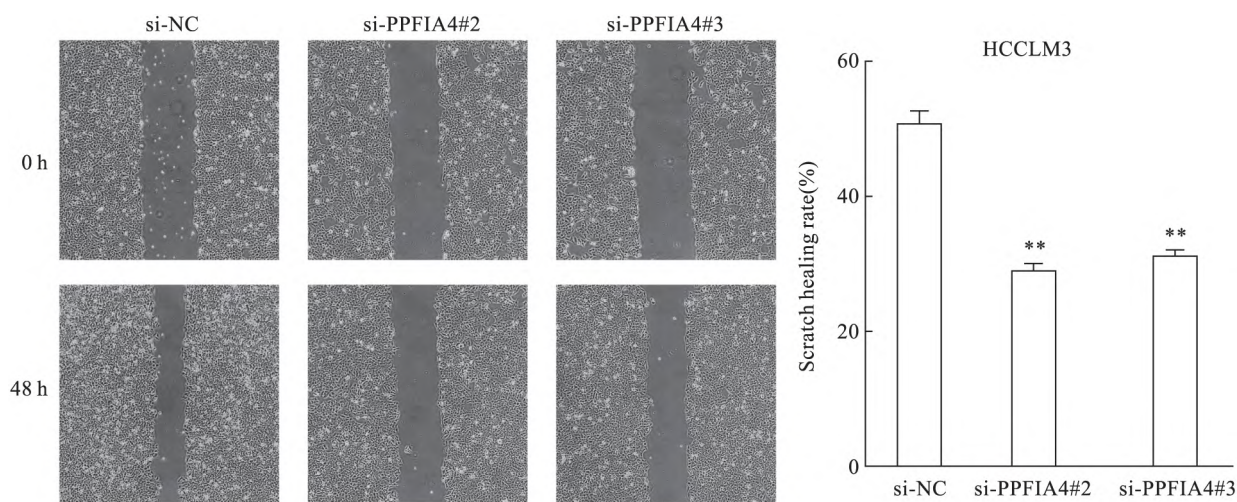


图 4 划痕实验检测 PPFIA4 对 HCCLM3 细胞划痕愈合能力的影响 ×50

Fig. 4 Wound healing assay results showed the impact of PPFIA4 on the scratch closure ability of HCCLM3 cells ×50

** $P < 0.01$ vs si-NC.

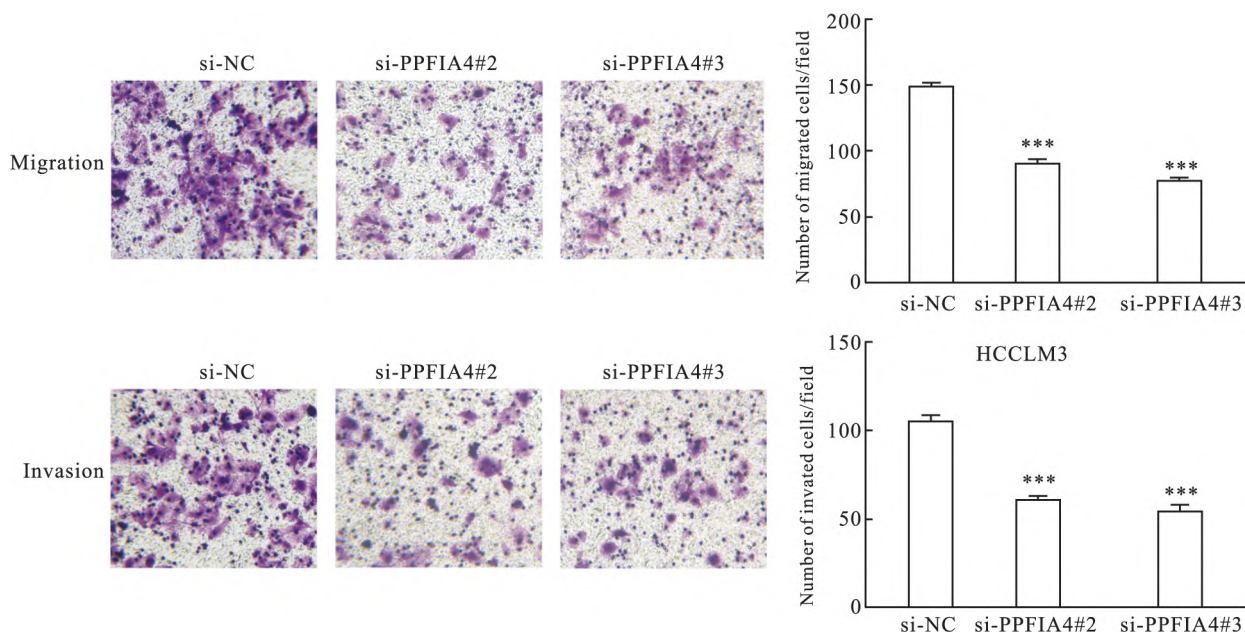


图 5 Transwell 实验检测 PPFIA4 对 HCCLM3 细胞迁移和侵袭能力的影响 ×100

Fig. 5 Transwell assay results showed the effect of PPFIA4 on the migration and invasion abilities of HCCLM3 cells ×100

*** $P < 0.001$ vs si-NC.

细胞株的蛋白,采用 Western blot 法检测 EMT 相关蛋白标志物的表达情况。实验结果显示,si-PPFIA4 #2 和 si-PPFIA4 #3 组中上皮细胞标志物 E-cadherin 的表达增加($P < 0.01$),而间充质标志物 Vimentin、N-cadherin 的表达下降($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$,图 6)。该结果证明在 HCCLM3 细胞株中敲低 PPFIA4 蛋白的表达后,EMT 进程受到抑制。

3 讨论

HCC 是中国的常见肿瘤之一,具有高侵袭性、易早期转移的生物学特征,这导致 HCC 患者预后较差^[8]。因此,阻遏 HCC 细胞的早期转移或能提高临床治疗收益,改善 HCC 患者预后。人 PPFIA4 属于 PPFIA 家族,其通过编码 liprin- α -4 蛋白发挥生理作

用,该蛋白的过度表达增强胰腺癌细胞的增殖和侵袭能力,而抑制该蛋白的表达可提高小细胞肺癌癌症的治疗效果^[9-10]。目前已有研究^[11]报道 PPFIA4 蛋白可能与肿瘤异常代谢过程相关。相关研究^[12]表明 PPFIA4 加速结肠癌的糖酵解代谢,从而促进结肠癌细胞的恶性增殖和转移。而沉默 PPFIA4 可抑制缺氧卵巢癌细胞糖酵解,阻遏卵巢癌细胞远处转移^[13]。上述研究提示 PPFIA4 可能是抑制肿瘤转移的新靶点。然而 PPFIA4 在 HCC 恶性进展中作用尚不明确,其具体作用机制仍待进一步探究。

本研究首先借助生物信息学分析 PPFIA4 在 HCC 中的表达水平情况及其与患者临床预后的相关性。分析结果提示相较于癌旁组织,PPFIA4 在肝癌组织中 mRNA 水平显著上调并在临床分期较晚

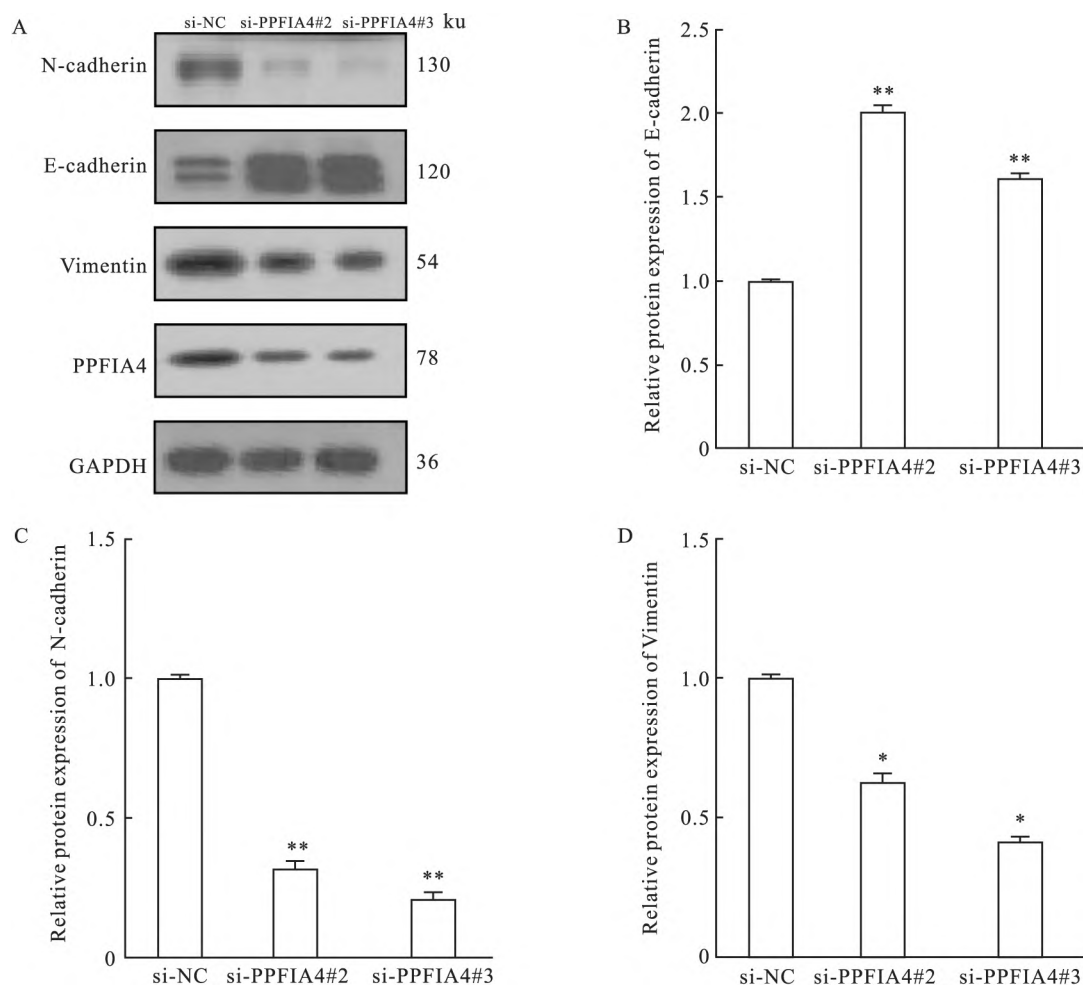


图 6 Western blot 法检测敲低 HCCLM3 细胞株中 PPFIA4 后 EMT 相关蛋白表达情况

Fig. 6 Western blot analysis showed the expression of EMT-related proteins after knocking down PPFIA4 in HCCLM3 cell lines

A: The expression of EMT-related proteins after knocking down PPFIA4 in HCCLM3 cell lines; B: Statistical graph of E-cadherin expression among EMT-related proteins; C: Statistical graph of N-cadherin expression among EMT-related proteins; D: Statistical graph of Vimentin expression among EMT-related proteins; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs si-NC.

的肝癌组织中表达较高。同时,高表达 PPFIA4 的肝癌患者有着更差的 OS。后续通过 Western blot 法和免疫组化法检测 HCC 组织中 PPFIA4 的蛋白表达情况,检测结果显示对比癌旁正常组织,HCC 组织中 PPFIA4 的表达水平呈高表达,这与公共数据库生物信息学分析结果相符合。在细胞层面上,PPFIA4 在 HCC 细胞株 HCCLM3、SMMC-7721、Hep3B2.1-7 中表达均高于肝细胞株 L-02。本研究结果证实 PPFIA4 在 HCC 组织和 HCC 细胞中呈高表达,提示其对 HCC 发生、发展具有调控作用。

为研究 PPFIA4 异常表达对于 HCC 恶性生物学行为的影响,本研究借助 siRNA 敲低 HCCLM3 细胞株中 PPFIA4 表达后,通过划痕愈合实验和 Transwell 实验,发现沉默 PPFIA4 表达后,肝癌细胞 HCCLM3 的划痕愈合能力和迁移侵袭能力受到了显著抑制。上述结果提示,HCC 中 PPFIA4 的高表达可影响肝癌细胞的功能变化,促进肝癌细胞的恶性生物学行为,但具体机制尚未阐明。

在 EMT 过程中,肿瘤细胞逐渐摆脱其上皮性质并获得间充质特征,细胞间连接的完整性被破坏,使其获得更强的运动能力^[14]。有文献^[12]报道,在结直肠癌中 PPFIA4 通过调节糖酵解相关基因 PFKFB3 和 ENO2 的表达,促进结直肠癌代谢重编程,从而激活 EMT 进程,推动结直肠癌细胞迁移和侵袭。因此,本文拟推测 PPFIA4 蛋白在 HCC 中可能参与 EMT 调控。随后借助 Western blot 实验证实,敲低 PPFIA4 后 HCCLM3 细胞株中上皮细胞标志物 E-cadherin 的表达增加,而间充质标志物 Vimentin、N-cadherin 的表达下降,提示 EMT 进程受到抑制。上述结果显示在肝癌细胞中 PPFIA4 蛋白可通过激活 EMT 进程促进 HCC 恶性进展,但其具体的作用机制需要进一步探索。

综上所述,本研究中 PPFIA4 蛋白在 HCC 组织中表达增加,且与 HCC 患者的不良预后相关,在肝癌细胞系 HCCLM3 中敲低 PPFIA4 蛋白表达能够抑制其迁移和侵袭能力,作用机制可能与 EMT 相关。抑制 PPFIA4 蛋白表达可能成为 HCC 的新型治疗靶点,为 HCC 的靶向治疗提供新思路。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
- [2] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United

- States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584–90. doi: 10.1097/CM9.0000000000002108.
- [3] Sun Q, Wang H, Xiao B, et al. Development and validation of a 6-gene hypoxia-related prognostic signature for cholangiocarcinoma[J]. Front Oncol, 2022, 12: 954366. doi: 10.3389/fonc.2022.954366.
- [4] Zheng F X, Yang C R, Sun F Y, et al. Enterotoxin-related genes PPFIA4 and SCN3B promote colorectal cancer development and progression[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2024, 38(6): e23746. doi: 10.1002/jbt.23746.
- [5] Fu F, Niu R, Zheng M, et al. Clinicopathological significances and prognostic value of PPFIA4 in colorectal cancer[J]. J Cancer, 2023, 14(1): 24–34. doi: 10.7150/jca.78634.
- [6] Gao Y, Guan L, Jia R, et al. High expression of PPFIA1 in human esophageal squamous cell carcinoma correlates with tumor metastasis and poor prognosis[J]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 417. doi: 10.1186/s12885-023-10872-9.
- [7] Chu J, Min K W, Kim D H, et al. High PPFIA1 expression promotes cancer survival by suppressing CD8+ T cells in breast cancer: drug discovery and machine learning approach[J]. Breast Cancer, 2023, 30(2): 259–70. doi: 10.1007/s12282-022-01419-0.
- [8] 严洪遥, 劳远翔, 孙倍成. UROC1 在肝细胞癌中的表达及对肿瘤发生的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(8): 1339–46. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.008.
- [8] Yan H Y, Lao Y X, Sun B C. Expression of UROC1 in hepatocellular carcinoma and its effect on tumor development[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(8): 1339–46. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.008.
- [9] Yamasaki A, Nakayama K, Imaizumi A, et al. Liprin-α4 as a possible new therapeutic target for pancreatic cancer[J]. Anticancer Res, 2017, 37(12): 6649–54. doi: 10.21873/anticancer.12122.
- [10] Onishi H, Yamasaki A, Nakamura K, et al. Liprin-α4 as a new therapeutic target for SCLC as an upstream mediator of HIF1α[J]. Anticancer Res, 2019, 39(3): 1179–84. doi: 10.21873/anticancer.13227.
- [11] Zhao R, Feng T, Gao L, et al. PPFIA4 promotes castration-resistant prostate cancer by enhancing mitochondrial metabolism through MTHFD2[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 125. doi: 10.1186/s13046-022-02331-3.
- [12] Huang J, Yang M, Liu Z, et al. PPFIA4 promotes colon cancer cell proliferation and migration by enhancing tumor glycolysis[J]. Front Oncol, 2021, 11: 653200. doi: 10.3389/fonc.2021.653200.
- [13] Tan S, Yu H, Xu Y, et al. Hypoxia-induced PPFIA4 accelerates the progression of ovarian cancer through glucose metabolic reprogramming[J]. Med Oncol, 2023, 40(9): 272. doi: 10.1007/s12032-023-02144-0.
- [14] Huang Y, Hong W, Wei X. The molecular mechanisms and thera-

peutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis[J]. J
Hematol Oncol, 2022, 15(1): 129. doi: 10.1186/s13045-022

-01347-8.

Expression and functional mechanism of PPFIA4 gene in hepatocellular

Cui Haodong^{1 2 3 4}, Yin Jimin^{1 2 3 4}, Guo Kai⁴, Wang Bijun⁵, Wang Tianbing⁴, Wu Wenyong^{1 2 3 4}

(¹Dept of General Surgery, Anhui No. 2 Provincial People's Hospital Clinical College of Anhui Medical

University, Hefei 230041; ²The Fifth Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032;

³Anhui Provincial Key Laboratory of Occupational Health, Anhui No. 2 Provincial People's Hospital, Hefei 230041;

⁴Dept of General Surgery, Anhui No. 2 Provincial People's Hospital, Hefei 230041;

⁵Dept of Surgery, Clinical College of Anhui Medical University, Hefei 230012)

Abstract Objective To explore the expression level of PPFIA4 in hepatocellular carcinoma tissues and HCCLM3 cells and its regulation of the biological behavior of hepatocellular carcinoma. **Methods** Bioinformatics analysis, Western blot, and immunohistochemistry were employed to detect the expression of PPFIA4 in tumor tissues of patients with hepatocellular carcinoma and analyze the prognosis of these patients. An siRNA plasmid was designed to knock down the expression of PPFIA4 in HCCLM3 cells. The effects of PPFIA4 knockdown on the migration and invasion abilities of HCCLM3 cells were then evaluated using scratch healing and Transwell assays. Furthermore, Western blot was utilized to detect the expression levels of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related protein markers in the HCCLM3 cell line after transfection with the siRNA plasmid. **Results** PPFIA4 was highly expressed in hepatocellular carcinoma tissues and hepatocellular carcinoma cells (HCCLM3, Li-7, MHCC97H); the high expression of PPFIA4 indicated that the clinical stage of patients was late and the overall survival (OS) was short. After knocking down the expression of PPFIA4 in HCCLM3 cell line, the migration and invasion ability of HCCLM3 cells decreased ($P < 0.001$) and the expression of EMT markers changed. The expression of epithelial cell marker E-cadherin increased ($P < 0.01$), while the expression of mesenchymal markers Vimentin and N-cadherin decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** PPFIA4 is highly expressed in hepatocellular carcinoma tissues and hepatocellular carcinoma cell lines and is associated with poor prognosis of patients. Silencing PPFIA4 can regulate the biological behavior of hepatocellular carcinoma cells and inhibit the migration and invasion of HCCLM3 cells. The specific mechanism may be related to EMT.

Key words hepatocellular carcinoma; PPFIA4; prognosis; migration; invasion; EMT

Fund programs Population Health Special Project in Key Research and Development Program of Anhui Province (No. 202104j07020005); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (Nos. 2023AH010084, 2022AH052030)

Corresponding author Wu Wenyong, E-mail: wuwenyong@ahmu.edu.cn