



· 论 著 ·

tiRNA-Met/HNRNPF/NECAB1 信号轴在三阴性乳腺癌生长与转移中的作用及其机制研究

陆晶晶^{1, 2}, 王 雪³, 李晓红¹, 周 平²

1. 南通大学附属医院临床医学研究中心, 江苏 南通 226000;
2. 复旦大学基础医学院生理与病理生理学系, 上海 200032;
3. 上海交通大学医学院附属瑞金医院病理科, 上海 200025

[摘要] **背景与目的:** 三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是乳腺癌治疗中最棘手的一种特殊亚型, 易转移, 患者预后差。tiRNA 衍生片段 (tiRNA-derived fragment, tRF) 作为一类新型非编码小 RNA 分子, 参与多种病理生理学的过程。前期通过 tRF 及 tiRNA 高通量测序技术从 TNBC 组织中筛选出抑癌 tiRNA-Met。本研究旨在深入探讨 tiRNA-Met 在 TNBC 生长和转移中的作用及其机制。**方法:** 利用 RNA Pull-Down、液相色谱-质谱联用技术 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 和 RNA 免疫沉淀 (RNA immunoprecipitation, RIP) 筛选鉴定 tiRNA-Met 特异性结合蛋白。利用细胞免疫荧光实验检测 tiRNA-Met 与特异性结合蛋白 HNRNPF 的共定位情况, 并通过实时定量逆转录聚合酶链反应 (real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 和蛋白质印迹法 (Western blot) 检测 tiRNA-Met 对 HNRNPF mRNA 表达及其蛋白水平的影响。利用转录组测序 (RNA sequencing, RNA-seq) 检测过表达 tiRNA-Met 对 MDA-MB-231 细胞的转录谱的影响, 探究 tiRNA-Met 调控的信号转导通路和靶基因; 采用 qRT-PCR 验证靶基因 *NECAB1* 的转录水平; 敲低 HNRNPF 表达检测其对 *NECAB1* 表达的影响。利用癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 和 GEPIA 数据库分析 TNBC 组织中 HNRNPF 和 *NECAB1* 的 mRNA 表达水平, 利用 UALCAN 数据库分析 HNRNPF 蛋白水平; 基于 Kaplan-Meier Plotter 数据库对 *NECAB1* 基因和 HNRNPF 进行生存分析。通过质粒转染法在 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞中过表达 *NECAB1*, 分别采用细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 实验和 Transwell 实验评估细胞的增殖和侵袭能力。分别在转染 tiRNA-Met 抑制剂敲低 tiRNA-Met 表达的基础上过表达 *NECAB1* 或抑制 HNRNPF, 通过 CCK-8 实验和 Transwell 实验检测细胞的增殖和侵袭能力。**结果:** tiRNA-Met 与 HNRNPF 特异性结合, 并主要定位于细胞质中; 过表达或敲低 tiRNA-Met 均不影响 HNRNPF mRNA 表达及其蛋白水平。tiRNA-Met 的过表达和 HNRNPF 的敲低均显著促进 *NECAB1* 的表达。TCGA、GEPIA 和 UALCAN 数据库分析结果显示, 与癌旁组织相比, TNBC 组织中 HNRNPF mRNA 及其蛋白的表达显著升高, 而 *NECAB1* 的表达显著降低 ($P<0.05$)。Kaplan-Meier Plotter 数据库分析结果显示, *NECAB1* mRNA 表达水平与患者的生存期呈正相关 ($P<0.05$), 而 HNRNPF 蛋白表达水平与患者的生存期呈负相关 ($P<0.05$)。与对照细胞相比, 过表达 *NECAB1* 的 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞的增殖能力显著降低 ($P<0.05$), 细胞侵袭能力显著降低 ($P<0.05$); 在敲低 tiRNA-Met 的基础上再过表达 *NECAB1* 或敲低 HNRNPF, 可逆转因敲低 tiRNA-Met 而引起的细胞增殖和侵袭增强。**结论:** tiRNA-Met 通过靶向结合 HNRNPF 增强 *NECAB1* 表达, 从而抑制 TNBC 恶性进程。

[关键词] 三阴性乳腺癌; tiRNA 衍生片段; tiRNA-Met; HNRNPF; *NECAB1*
中图分类号: R737.9 **文献标志码:** A

基金项目: 国家自然科学基金 (82173309); 中国博士后科学基金 (2024M751534)。

利益冲突: 作者均声明无利益冲突。

伦理批件: 不需要。

知情同意: 不需要。

引用本文: 陆晶晶, 王雪, 李晓红, 等. tiRNA-Met/HNRNPF/NECAB1 信号轴在三阴性乳腺癌生长与转移中的作用及机制研究 [J]. 中国癌症杂志, 2026, 36(2): 141-153.

CC 协议: CC BY-NC-ND 4.0。

Funding: National Natural Science Foundation of China (82173309); China Postdoctoral Science Foundation (2024M751534).

Conflicts of interest: authors all declare no conflicts of interest.

Ethical approval: not required.

Informed consent: not required.

Cite this article: LU J J, WANG X, LI X H, et al. Effect of tiRNA-Met/HNRNPF/NECAB1 signaling axis in the proliferation and metastasis of triple-negative breast cancer [J]. Chin Oncol, 2026, 36(2): 141-153.

CC license: CC BY-NC-ND 4.0.

Effect and mechanism of tiRNA-Met/HNRNPF/NECAB1 signaling axis in the proliferation and metastasis of triple-negative breast cancer

LU Jingjing^{1,2}, WANG Xue³, LI Xiaohao¹, ZHOU Ping² (1. Clinical Medical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China; 2. Department of Physiology and Pathophysiology of School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Department of Pathology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Correspondence to: ZHOU Ping E-mail: zping@shmu.edu.cn

[Abstract] Background and purpose: Triple-negative breast cancer (TNBC) is a particularly challenging subtype of breast cancer with a high propensity for metastasis and poor prognosis. tRNA-derived fragments (tRFs), as a new class of non-coding small RNA molecules, are involved in various physiological and pathological processes. In previous research, tiRNA-Met was identified through high-throughput sequencing of tRFs and tiRNAs from TNBC tissues. This study aimed to explore the mechanism of tiRNA-Met in the growth and metastasis of TNBC in depth. **Methods:** RNA Pull-Down Kit, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), and RNA immunoprecipitation (RIP) were utilized to screen and identify specific binding proteins of tiRNA-Met. The colocalization of tiRNA-Met and the specific binding protein HNRNPF was detected using cell immunofluorescence experiments. The effects of tiRNA-Met on HNRNPF mRNA and HNRNPF protein levels were assessed through real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot. RNA sequencing (RNA-seq) was performed to investigate the transcriptional profile influenced by the overexpression of tiRNA-Met in MDA-MB-231 cells, as well as the signaling pathways and target genes regulated by tiRNA-Met. The transcriptional level of the target gene *NECAB1* was verified by qRT-PCR; the effect of *HNRNPF* knockdown on *NECAB1* expression was also evaluated. The mRNA expression levels of *HNRNPF* and *NECAB1* in TNBC tissues were analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA) and GEPIA databases, while the protein expression level of HNRNPF was analyzed with the UALCAN database. Survival analysis of *NECAB1* and HNRNPF was conducted using the Kaplan-Meier Plotter database. Overexpression of *NECAB1* was performed in MDA-MB-231 and BT-549 cells using plasmid transfection, and the proliferation and invasion capabilities of the cells were assessed using cell counting kit-8 (CCK-8) and Transwell assays, respectively. Following the knockdown of tiRNA-Met expression using a tiRNA-Met inhibitor, *NECAB1* was overexpressed or HNRNPF was inhibited, and the cell proliferation and invasion capabilities were assessed using the CCK-8 assay and Transwell assay. **Results:** tiRNA-Met specifically binds with HNRNPF and is mainly located in the cytoplasm; neither overexpression nor knockdown of tiRNA-Met affects the levels of *HNRNPF* mRNA or HNRNPF protein. Both overexpression of tiRNA-Met and knockdown of HNRNPF significantly promoted the expression of *NECAB1*. Analysis of TCGA, GEPIA and UALCAN databases revealed that both HNRNPF mRNA and protein levels were significantly elevated, whereas *NECAB1* expression was reduced in TNBC compared to adjacent normal tissues ($P < 0.05$). Kaplan-Meier Plotter database analysis indicated a positive correlation between *NECAB1* expression levels and patient survival ($P < 0.05$), while HNRNPF protein expression level was negatively correlated with patient survival duration ($P < 0.05$). Compared to control cells, MDA-MB-231 and BT-549 cells with *NECAB1* overexpression exhibited significantly decreased proliferation ($P < 0.05$) and invasion capabilities ($P < 0.05$); overexpressing *NECAB1* or knocking down HNRNPF on the basis of tiRNA-Met knockdown reversed the increased proliferation and invasion induced by tiRNA-Met knockdown. **Conclusion:** tiRNA-Met enhances *NECAB1* expression by targeting HNRNPF, thereby inhibiting the malignant progression of TNBC.

[Key words] Triple-negative breast cancer; tRNA-derived fragment; tiRNA-Met; HNRNPF; *NECAB1*

三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 占乳腺癌总数的 15%~20%。其表现为雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 的表达缺失, 具有侵袭能力强、患者总生存期短、复发率高和预后较差等特点。由于 TNBC 的上述特异性分子表达缺失, 患者无法从内分泌治疗或分子靶向治疗中获益, 当前化疗仍是主要的治疗手段。随着对 TNBC 分子分型的不断探索, 乳腺癌新辅助治疗已成为 TNBC 的重要

治疗策略, 主要包括铂类药物、免疫治疗药物和多腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase, PARP] 抑制剂等, 但目前多数靶向药物的疗效尚未达到预期^[1-2]。因此, 了解调控 TNBC 恶性进展的潜在分子机制、寻找有效的治疗靶点显得尤为重要。

近年来多项研究^[3-5]表明, 非编码 RNA 在多种恶性肿瘤中差异表达, 通过表观遗传学水平、转录水平以及转录后水平影响肿瘤的恶性转化, 具有成为新的治疗靶点的潜力。tRNA 衍生片段 (tRNA-derived fragment, tRF) 是一类新型

的非编码小RNA分子，由前体或成熟tRNA经特定酶精确剪切产生，长14~50 nt。tRF具有丰富的RNA修饰，广泛参与氧化应激、核糖体生物合成、蛋白质翻译调控和肿瘤发生等多种病理生理学过程，尤其在肿瘤发生发展过程中发挥极为重要的调控作用。

研究^[6]发现，来源于tRNA-Ser-AGA的衍生片段tRF-19-W4PU732S在乳腺癌组织和细胞中均显著高表达，其通过抑制核糖体蛋白RPL27A促进细胞的恶性进程。tRF-Gly-CCC-046、tRF-Tyr-GTA-010和tRF-Pro-TGG-001在乳腺癌患者的组织和血清中表达均显著下调，可作为乳腺癌早期诊断的循环生物标志物。来自特定tRNA基因座（核tRNAGly、tRNA^{Leu}；线粒体tRNA^{Val}和tRNA^{Pro}）的tRF与TNBC种族差异密切相关^[3]。tRF有望成为乳腺癌诊断和治疗的分子标志物及新型治疗靶点。

在前期研究^[7]中，我们利用tRF及tiRNA高通量测序技术分析收集的3对TNBC患者组织样本及其配对的癌旁组织样本。结果发现，在306个tRF中，216个在癌旁组织和癌组织中共同表达，56个特异表达于癌旁组织，34个特异表达于癌组织。进行tRF差异表达筛选，发现61个差异表达的tRF，其中42个上调，19个下调。进一步扩大临床标本量验证筛选出1个新型的tRF（tiRNA-Met），tiRNA-Met属于tiRNA-5，长度29 nt，来源于线粒体tRNA-Met-CAT。tiRNA-Met在TNBC癌组织中的表达显著低于癌旁组织，过表达tiRNA-Met可显著抑制TNBC的生长和转移。本文旨在深入探讨tiRNA-Met在TNBC生长和转移中的作用及其机制。

1 资料和方法

1.1 细胞与试剂

TNBC细胞系MDA-MB-231和BT-549购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。DMEM高糖培养基和RPMI-1640培养基购自江苏凯基生物技术股份有限公司。胎牛血清（fetal bovine serum, FBS）和胰酶购自美国Gibco公司，青霉素/链霉素稀释液和细胞冻存液购自苏州新赛美生物科技有限公司。Pierce™磁性RNA Pull-Down试剂盒（Pierce™ Magnatic RNA-Protein Pull-Down Kit）购自美国Thermo公司。TRIzol购自美国Invitrogen公司。jetPRIME®转染试剂购自上海优宁维生物科技股份有限公司。第3代全长cDNA一链合成试剂盒（HiScript® III

1st Strand cDNA synthesis kit）、microRNA茎环法逆转录试剂盒 [miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit (by stem-loop)] 和通用型高灵敏度染料法定量PCR检测试剂盒（ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix）均购自南京诺维赞生物科技股份有限公司。细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8, CCK-8）购自翌圣生物科技（上海）股份有限公司。Transwell小室购自美国BD公司。RNA FISH试剂盒购自上海吉玛制药技术有限公司。快速银染色试剂盒和免疫荧光染色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

人TNBC细胞系MDA-MB-231和BT-549分别使用含10%FBS和1%青霉素-链霉素的完全DMEM高糖培养基和RPMI-1640完全培养基，置于37℃，CO₂体积分数为5%的细胞培养箱中培养，2~3 d后用0.25%胰酶消化传代。

1.2.2 总RNA提取

待细胞培养至合适时间后将其从培养箱中取出，吸弃培养基，每孔加入1 mL磷酸缓冲盐溶液（phosphate-buffered saline, PBS）冲洗2次，加入1 mL TRIzol。随后加入三氯甲烷（TRIzol与三氯甲烷体积比为5:1），充分振荡混匀，静置5 min，12 000×g，4℃离心15 min。吸取上清液转移至新的RNase-free 1.5 mL Eppendorf试管中，加入等体积的异丙醇，上下颠倒使其充分混匀，静置10~30 min，12 000×g，4℃离心15 min，弃上清液；加入1 mL 75%乙醇清洗沉淀，7 500×g，4℃离心5 min，重复清洗2次，弃上清液；室温干燥沉淀，加入适量的RNase free ddH₂O溶解RNA，使用NanoDrop 2000型分光光度计测定RNA浓度。

1.2.3 细胞转染

6孔板每孔接种 $1 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^5$ 个细胞，分别将3~5 μL tiRNA-Met模拟物、抑制剂以及各自的阴性对照模拟物阴性对照（mimics negative control, mimics-NC）与抑制剂组阴性对照（inhibitor negative control, inhibitor-NC）（终浓度为100 nmol/L），与200 μL jetPRIME®缓冲液混合，轻轻吹打混匀10 s，随后加入4 μL jetPRIME®转染试剂，轻轻吹打混匀，室温静置10 min。将细胞从培养箱中取出，弃去旧培养基，随后加入1.8 mL新鲜的完全培养基，再将上述混合液加入细胞培养液中，轻轻摇晃混匀，置于细胞恒温培养箱中继续培养48 h后取出。Si-

NC 和 si-HNRNPF 转染浓度为 150 nmol/L, NECAB1 过表达载体和空载体转染浓度为 2 μ g, 转染方法同上。其中 mimics-NC、inhibitor-NC、tiRNA-Met 的模拟物和抑制剂均购自广州锐博生物科技有限公司。Si-NC 和 si-HNRNPF 购自上海吉玛制药技术有限公司。NECAB1 过表达载体和对照载体均购自武汉淼灵生物科技有限公司。具体序列见表 1。

表 1 tiRNA-Met 模拟物、抑制剂和 siRNA 序列

Tab. 1 Sequences of tiRNA-Met mimics, inhibitors, and siRNAs

Primer	Sequence (5'-3')
Mimics NC	UUUGUACUACACAAAAGUACUG
tiRNA-Met mimics	AGUAAGGUCAGCUAAAUAAGCUAUCGGGC
Inhibitor NC	CAGUACUUUUGUGUAGUACAAA
tiRNA-Met Inhibitor	GCCCGAUAGCUUAUUUAGCUGACCUUACU
Si-HNRNPF#1	GGAUGCACAAAGGAAGAAATT
Si-HNRNPF#2	CCCUGUGAGAGUCCAUAUUTT

1.2.4 qRT-PCR

分别使用第 3 代全长 cDNA 一链合成试剂盒和 microRNA 茎环法逆转录试剂盒进行反转录。反转录完成后根据通用型高灵敏度染料法定量 PCR 检测试剂盒配制反应体系, 反应程序设置条件为: 95 $^{\circ}$ C 30 s、95 $^{\circ}$ C 15 s、60 $^{\circ}$ C 30 s, 后两步循环 40 次, 使用 ABI QuantStudio5 Q5 实时荧光定量 PCR 仪进行检测根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算对应基因的相对表达量。tiRNA-Met 和 U6 引物购自广州锐博生物科技有限公司, NECAB1、HNRNPF 和 GAPDH 引物购自生工生物工程 (上海) 有限公司。引物序列见表 2。

1.2.5 RNA Pull-Down 和液相色谱-质谱联用技术 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 检测

tiRNA-Met 生物素标记探针和反义链对照探针由南京金斯瑞生物公司设计并合成, 根据说明将探针粉末用 RNase free ddH₂O 溶解为储存浓度 10 μ mol/L, 分装后 -20 $^{\circ}$ C 备用。使用 PierceTM 磁性 RNA Pull-Down 试剂盒进行检测。所得的 RNA-蛋白复合物在 20 μ L 的 1 \times 上样缓冲液中煮沸, 随后通过 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 进行分离, 最后使用快速银染试剂盒进行染色。对于展现显著差异的蛋白条带, 将其切除并送至上海中科新生命生物科技有限公司进行质谱分析。

1.2.6 RNA 免疫沉淀 (RNA immunoprecipitation, RIP)

细胞在 10 cm 培养皿中培养至 80%~90% 汇合度后, 弃旧培液并加入 PBS。加入 37% 多聚甲醛固定 10 min, 然后加入 1.25 mol/L 甘氨酸交联 5 min。弃上清液, 用 PBS 清洗细胞 2 次, 再加入含 PMSF、PIC 和 RNase 抑制剂的 RIP 缓冲裂解液, 冰上静置 15 min, 离心 (12 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C, 10 min) 后收集上清液测定蛋白浓度。从剩余部分分别取 200 μ L 作为 RNA Input 和蛋白质 Input, 剩余样本按照浓度分为 IgG 对照组和实验组, 加入抗体并在 4 $^{\circ}$ C 温育 4~6 h。接着, 用琼脂糖 protein A/G 磁珠清洗后重悬并与样本和抗体温育 2 h, 之后洗涤去除非特异性结合。使用 RIP 缓冲液重悬磁珠, 取样进行 Western blot 检测。最后, 向磁珠中加入蛋白酶 K 和 DNase I 进行处理, 然

表 2 引物序列

Tab. 2 Primer sequences

Primer	Sequence (5'-3')
tiRNA-Met-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACGCCCGA
RNU6-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACAAAATATGGAAGCTGC
tiRNA-Met-F	GCGAGTAAGGTCAGCTAAATAAGCTA
RUN6-F	GGGTGCTCGCTTCGGCAGC
Reverse	AGTGCAGGGTCCGAGGTATT
HNRNPF-F	CCTGCCCTGGTCTCTGCTCTG
HNRNPF-R	CTCTGCCTGCCCTCTCTAGTGTAG
NECAB1-F	AAGTCCTGTCGATTCAATGGC
NECAB1-R	TGGACCGCTGACATTAAACTG
GAPDH-F	GGACCTGACTGACTACCTCAT
GAPDH-R	CGTAGCACAGCTTCTCCTTAAT

F: Forward; R: Reverse.

后用 TRIzol 提取 RNA。通过 qRT-PCR 检测 tiRNA-Met 的 CT 值，并计算 IgG 对照组与实验组之间的差异倍数。

1.2.7 荧光原位杂交

tiRNA-Met 探针由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成，使用 RNA FISH 试剂盒进行 tiRNA-Met 核质定位分析。

1.2.8 细胞免疫荧光

将 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞（每孔 2×10^3 ）接种于 24 孔板中，置于 37 °C 培养箱中温育 24 h。随后，用 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min，接着用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 处理 10 min。然后，在 37 °C 下用 5% 牛血清白蛋白（bovine serum albumin, BSA）封闭 30 min，并在 4 °C 与 HNRNPF 一抗温育过夜。之后，使用 FITC 标记的二抗对细胞进行染色。在用 PBS 彻底洗涤 3 次后，对细胞进行 DAPI 染色 5 min。最后，使用荧光显微镜拍摄图像。

1.2.9 Western blot 检测

使用 RIPA 裂解缓冲液提取细胞总蛋白，并通过 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。将等量的蛋白质加至 SDS-PAGE 凝胶中，随后转移至聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride, PVDF）膜，在室温下用 5% 的脱脂奶粉封闭 2 h。接着，将膜在 4 °C 下与一抗温育过夜（HNRNPF、 β -actin 抗体均购自武汉三鹰生物科技有限公司，1 : 1 000 稀释）。随后，膜用 TBS-T 洗涤 3 次，然后在室温下与稀释在 5% BSA 中的 HRP 标记二抗温育 2 h。最后，使用化学发光检测试剂可视化蛋白条带，并利用 ChemiDoc MP 系统进行成像，随后使用 Image J 软件进行图像分析。

1.2.10 CCK-8 细胞增殖

待细胞转染 48 h 后，使用胰酶消化收集转染细胞，并通过细胞自动计数仪进行计数。根据细胞数加入适量完全培养基，将细胞密度稀释至 2×10^4 /mL，接种至 96 孔板，每孔 100 μ L，每个实验组设置 6 个复孔和 5 个时间点（0、24、48、72 和 96 h）后置于 37 °C 培养箱中培养。按照设定的时间点进行 CCK-8 检测：根据实验孔的数量（包含空白对照），将完全培养基与 CCK-8 按照 1 : 10 的比例混合，弃去旧的培养基后，每孔加入 100 μ L CCK-8 混合液（注意避免气泡）。加样后在 37 °C 培养箱中培养 2 h，使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度值（*D*）值。最后记录每个孔的 $D_{450 \text{ nm}}$ ，分析计算结果并绘制细胞增殖曲线。

1.2.11 Transwell 细胞侵袭

将 Transwell 小室置于 24 孔板中，用无血清培养基按照 1 : 7 的比例对 3 mg/mL 的基质胶进行稀释并混匀，随后将 100 μ L 稀释后的基质胶加入 Transwell 小室上层膜上。将 24 孔板置于 37 °C 细胞培养箱中温育 4 h，使基质胶凝固。上室加入 200 μ L 无血清细胞混悬液（每孔约 3×10^4 个细胞），下室加入 500 μ L 含 20% 血清的完全培养基。将 24 孔板置于 37 °C 细胞培养箱中培养 24 h。取出小室，PBS 冲洗 2 次。4% 多聚甲醛固定 15 min，PBS 冲洗 2 次，加入结晶紫染色液染色 10 min。用超纯水冲洗小室，去除残留的染液，待其干燥。用棉签轻轻擦拭上室内未穿越的细胞，显微镜下观察拍照并计数分析。

1.2.12 转录组测序（RNA sequencing, RNA-seq）

收集阴性对照组和过表达 tiRNA-Met 的 MDA-MB-231 细胞，用 PBS 洗涤细胞 3 次，加入 1 mL TRIzol 裂解液提取总 RNA，样本 RNA 质控和测序分析由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

1.2.13 数据来源及基因表达分析

通过加州大学圣克鲁兹分校 UCSC Xena 网站 (<https://xena.ucsc.edu/>) 访问 TCGA 和 GTEx 数据。数据分析使用 R 软件（版本 4.3.0）及“ggplot2”和“ggpubr”包进行。BRCA 数据集通过 R 中的 TCGA biolinks 包从 TCGA 数据库获得。下载的数据集根据亚型信息进行了过滤，使用上述方法分析不同 BRCA 亚型中 HNRNPF 和 NECAB1 的表达水平。

1.2.14 统计学处理

使用 GraphPad Prism 8.0 和 R 语言（4.3.0 版）进行统计分析及可视化。定量数据基于至少 3 次生物学重复的均值进行分析，定性数据采用 χ^2 检验。对于两组定量资料的比较，依据 Shapiro-Wilk 与 Levene 检验结果，分别选用独立样本 *t* 检验（正态且方差齐）、Welch's *t* 检验（正态但方差不齐）或 Mann-Whitney *U* 检验（非正态），结果相应表示为 $x \pm s$ 或中位数（四分位数间距）。对于多组比较（HNRNPF 和 NECAB1 在 PAM50 亚型间的表达差异），基于相同的前提检验，则选用单因素方差分析、Welch's ANOVA 或 Kruskal-Wallis *H* 检验；若整体检验显著，则进一步进行 Games-Howell（对应 Welch's ANOVA）或 Dunn（对应 Kruskal-Wallis）两两比较，并使用 Benjamini-Hochberg 法控制错误发现率，将校正

后 $FDR < 0.05$ 定义为显著。该部分分析通过 R 包 `ggstatsplot` 实现。生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 组间比较使用 log-rank 检验。所有统计检验均为双侧, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 tiRNA-Met 与 HNRNPF 特异性结合

tiRNA-Met 属于 tiRNA-5, 长度为 29 nt, 来源于线粒体 tRNA-Met-CAT (图 1A)。近年来研究发现, tRF 通过结合 RNA 结合蛋白调控基因表达^[3]。本研究进行了 RNA Pull Down 和 LC-MS 实验筛选 tiRNA-Met 特异性结合蛋白。在 MDA-MB-231 细胞中, 对照组检测到 135 个蛋白, tiRNA-Met 探针组检测到 134 个蛋白, 其中 67 个为特异结合蛋白。在 BT-549 细胞中, 对照组检测到 62 个蛋白, tiRNA-Met 组检测到 51 个, 其中 35 个为特异结合蛋白 (图 1B)。进一步通过 RNA Pull-Down 联合 Western blot 和 RIP 实验验证发现, 在 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞中, tiRNA-Met 组检测到 HNRNPF, 而反义链组未检测到 (图 1C); RIP 实验显示 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞中 HNRNPF 抗体特异性结合目标蛋白, qRT-PCR 进一步证实 HNRNPF 抗体显著富集 tiRNA-Met (图 1D、E, $P < 0.001$; $P < 0.01$)。此外, 荧光原位杂交和细胞免疫荧光实验显示 tiRNA-Met 与 HNRNPF 共定位, 主要位于细胞质中 (图 1F)。

2.2 tiRNA-Met 对 HNRNPF 表达无影响

为探究 tiRNA-Met 对 HNRNPF 的调控作用, 本研究在 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞中分别过表达或抑制 tiRNA-Met, 使用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 *HNRNPF* 基因的 mRNA 及其蛋白表达水平。结果表明, 与阴性对照组相比, 过表达和敲低 tiRNA-Met 对 *HNRNPF* 基因的 mRNA 表达无显著影响 (图 2A、B)。进一步通过 Western blot 分析发现, 过表达或敲低 tiRNA-Met 同样未显著影响 HNRNPF 蛋白水平 (图 2C、D)。

2.3 tiRNA-Met 促进 *NECAB1* 基因的表达

tRF 可以通过结合 RNA 结合蛋白调控基因表达。HNRNPF 作为 RNA 结合蛋白, 参与可变剪接和调控 mRNA 稳定性等多个核酸代谢过程^[8]。为寻找 tiRNA-Met 调控的下游基因, 本研究对分别转染 tiRNA-Met mimics 和 mimics-NC 的 MDA-MB-231 细胞进行 RNA-seq。样本主成分分析显示 tiRNA-Met mimics 和 mimics-NC 之间存在较好

的相关性 (图 3A)。根据 RNA-seq 结果进行差异表达筛选 (筛选标准: 差异变化倍数绝对值大于等于 2, $P < 0.05$), 利用聚类分析将差异表达的基因进行分类 (图 3B)。KEGG 富集结果显示, tiRNA-Met 调控的差异基因与 TNF 信号转导通路、NF-kappa B 信号转导通路、JAK-STAT 信号转导通路、癌症中的转录失调和 Toll 样受体信号转导通路等多种肿瘤发生、发展通路有关 (图 3C)。

通过 RNA-seq 和外显子差异表达测序 (differential exon expression sequencing, Dex-seq) 联合分析, 筛选出 3 个差异表达基因, 后续选取上调表达的基因 *NECAB1* 进行验证。qRT-PCR 检测结果显示, 与阴性对照组相比, tiRNA-Met 过表达组中 *NECAB1* mRNA 表达水平显著升高 (图 3D、E; $P < 0.05$); 而 tiRNA-Met 抑制组中 *NECAB1* mRNA 表达水平显著降低 (图 3F、G; $P < 0.01$)。

2.4 HNRNPF 抑制 *NECAB1* 表达

本研究发现过表达 tiRNA-Met 可促进 *NECAB1* 表达; tiRNA-Met 靶向结合 HNRNPF。为了探究 HNRNPF 是否在调控 *NECAB1* 表达中发挥关键作用, 我们在 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞中干扰了 HNRNPF。结果表明, 与阴性对照组相比, 这 2 种细胞中 HNRNPF 的 mRNA (图 4A、B) 和蛋白 (图 4C、D) 水平显著下降, HNRNPF 的敲低导致 *NECAB1* 的 mRNA 表达水平显著上升 (图 4E、F)。

本研究进一步从 UCSC XENA 数据库获取了数据, 针对 HNRNPF 在肿瘤尤其是 TNBC 中的作用进行了生物信息学分析。乳腺癌根据病理学类型通常可分为 4 种亚型: Luminal A、Luminal B、HER2⁺ 及 Basal-like。基于 R 语言, 我们进一步分析了 TCGA 数据库中乳腺癌不同亚型中 HNRNPF mRNA 表达水平。对 208 例正常乳腺组织、319 例 Luminal A 型、297 例 Luminal B 型、156 例 HER2⁺ 型和 235 例 Basal-like 型乳腺癌的分析结果显示, 与正常组织相比, HNRNPF 在这 4 种不同亚型的乳腺癌中均显著升高 (图 4G)。随后通过 UALCAN 数据库分析 HNRNPF 蛋白在乳腺癌不同亚型中的表达。结果显示, 与正常组织相比, HNRNPF 在乳腺癌不同亚型中的表达均显著升高 (图 4H)。

为了进一步确定 HNRNPF 的临床病理学意义, 本研究利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库进行生存分析, 结果显示, 与低表达组相比,

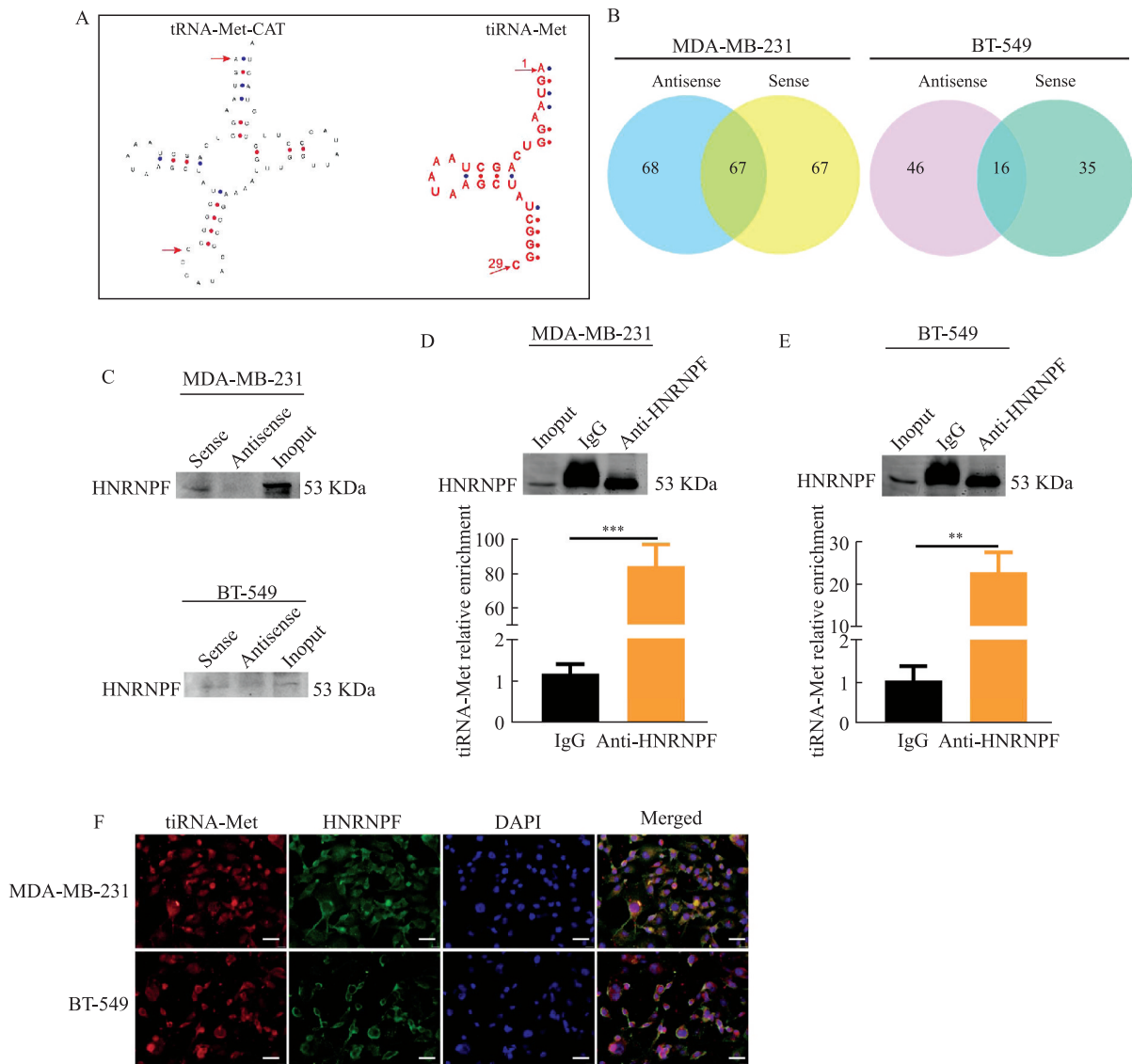


图1 tiRNA-Met与HNRNPF特异性结合

Fig. 1 tiRNA-Met directly interacted with HNRNPF

A: Schematic representation and sequence of tiRNA-Met-CAT and tiRNA-Met. B: Venn analysis of proteins immunoprecipitated by tiRNA-Met and its antisense RNA in MDA-MB-231 and BT-549 cell lines. C: Western blot analysis of HNRNPF from RNA Pull Down assays using tiRNA-Met sense and tiRNA-Met antisense. D, E: RIP assay followed by qRT-PCR analysis confirmed that tiRNA-Met specifically bound to HNRNPF protein in both MDA-MB-231(D) and BT-549 (E) cell lines. **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$. F: FISH images for tiRNA-Met and HNRNPF in MDA-MB-231 and BT-549 cell lines (tiRNA-Met, red; HNRNPF, green). Cell nuclei were counterstained with DAPI. Scale bars, 200 μm .

HNRNPF 蛋白高表达与乳腺癌患者的总生存期 (overall survival, OS) 呈负相关, 但差异无统计学意义 (图 4I, $P > 0.05$); 与乳腺癌患者的无远处转移生存期 (distant metastasis-free survival, DMFS) (图 4J, $P < 0.05$) 和无复发生存期 (relapse-free survival, RFS) 均呈负相关, 且差异具有显著性 (图 4K, $P < 0.05$)。

2.5 NECAB1 在 TNBC 组织中的表达及其高表达与患者预后的关系

NECAB1 (N 末端 EF 手钙结合蛋白) 是 NECAB1 家族 (包括 NECAB1、NECAB2 和 NECAB3) 成员之一, 含有两个 N 端 EF 结构域, 主要在神经系统中表达 [9]。NECAB1 在肿瘤中的

作用鲜有报道。为了深入探究 NECAB1 在肿瘤尤其在 TNBC 中的作用, 本研究从 UCSC XENA 中获取数据, 基于 R 语言, 分析了 TCGA 数据库中乳腺癌不同亚型中 NECAB1 的表达情况。对 208 例正常乳腺组织、319 例 Luminal A 型、297 例 Luminal B 型、156 例 HER2⁺型和 235 例 Basal-like 型乳腺癌的分析结果显示, 与正常组织相比, NECAB1 在这 4 种不同亚型的乳腺癌中均显著下降 (图 5A)。进一步利用公共数据库 GEPIA 分析 112 例正常乳腺组织和 135 例 TNBC 组织中 NECAB1 的表达水平, 结果显示, 与正常组织相比, TNBC 组织中的 NECAB1 表达显著下调 (图 5B)。

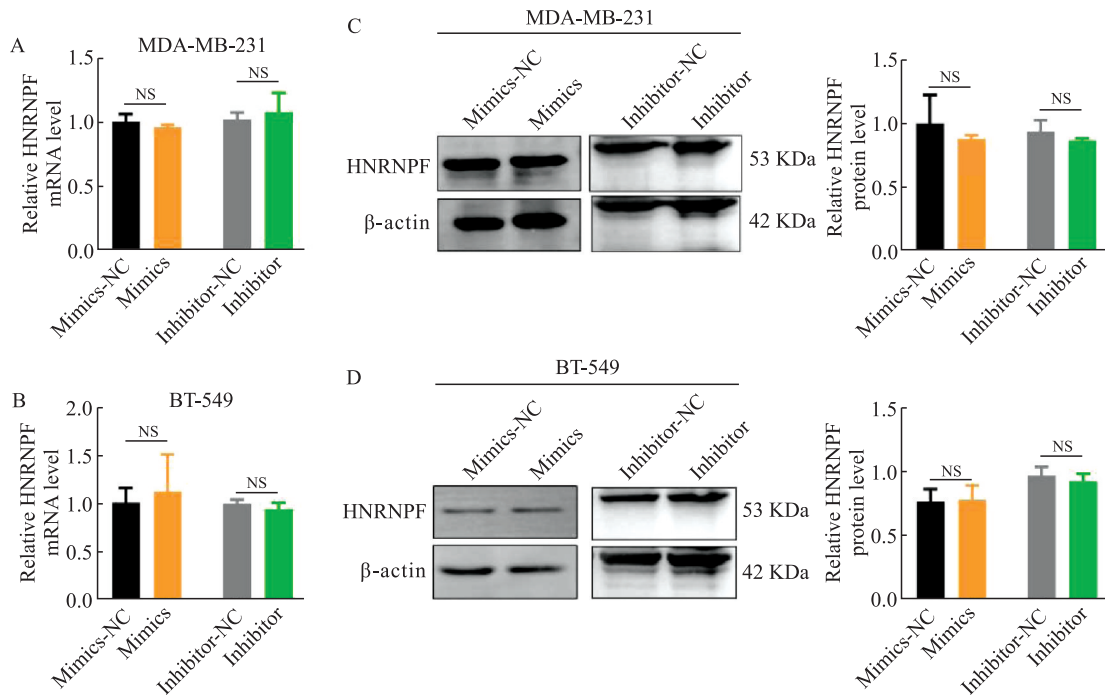


图2 tiRNA-Met对HNRNPF表达无影响

Fig. 2 tiRNA-Met did not affect the expression of HNRNPF

A, B: The mRNA expression of HNRNPF had no significant change in MDA-MB-231 (A) or BT-549 (B) cell lines transfected with tiRNA-Met mimics or Inhibitor respectively. C, D: Overexpression or inhibition of tiRNA-Met had no significant effect on the protein level of HNRNPF in MDA-MB-231 (C) or BT-549 (D) cell lines. NC: Negative control.

为了确定NECAB1的临床病理学意义,本研究利用Kaplan-Meier Plotter数据库进行生存分析,结果显示:与低表达组相比,NECAB1的高表达与TNBC患者的OS呈正相关,但差异无统计学意义(图5C, $P>0.05$);与TNBC患者的DMFS(图5D, $P<0.05$)和RFS均呈正相关,差异有统计学意义(图5E, $P<0.05$)。

2.6 tiRNA-Met靶向结合HNRNPF调控NECAB1表达,抑制TNBC的增殖和转移

为探究NECAB1在TNBC生物学表型方面的调节作用,本研究利用NECAB1过表达模型进行体外细胞生物学功能实验。CCK-8实验结果显示:在MDA-MB-231和BT-549细胞中过表达NECAB1显著抑制细胞增殖能力(图6A、B, $P<0.05$)。Transwell细胞侵袭实验结果显示,在MDA-MB-231和BT-549细胞中过表达NECAB1显著抑制细胞侵袭能力(图6C, $P<0.01$; $P<0.001$)。为了进一步探究tiRNA-Met是否通过NECAB1抑制TNBC的恶性生物学行为,本研究在MDA-MB-231和BT-549细胞中抑制tiRNA-Met后再进行NECAB1的过表达回复实验。CCK-8细胞增殖和Transwell小室实验结果显示,与阴性对照组相比,抑制tiRNA-Met显著促进了细胞的增殖(图6D、E, $P<0.05$; $P<0.01$; $P<$

0.001)和侵袭能力(图6F, $P<0.001$)。由此可见,过表达NECAB1能够有效地逆转tiRNA-Met抑制剂对细胞增殖和侵袭的促进作用。

为更深入地明确tiRNA-Met是否通过靶向结合HNRNPF来调控NECAB1表达,从而抑制TNBC的恶性进程,我们进行了抑制tiRNA-Met后再敲低HNRNPF的CCK-8细胞增殖和Transwell小室细胞侵袭回复实验。结果显示,与阴性对照组相比,抑制tiRNA-Met可显著增强TNBC细胞的增殖和侵袭能力;tiRNA-Met通过调控NECAB1表达抑制TNBC细胞增殖(图6G、H, $P<0.01$; $P<0.01$)和侵袭(图6I, $P<0.001$)的能力可以被HNRNPF的敲低逆转。

3 讨论

TNBC作为一种侵袭性强、死亡率高且易发生化疗耐药的乳腺癌亚型,其治疗选择有限。尽管靶向治疗已在其他癌症亚型中取得显著成效,TNBC的主要治疗手段仍依赖于细胞毒性化疗。然而,化疗不仅带来严重的不良反应,长期使用更会诱发耐药性。因此,深入探索TNBC的新型诊断标志物与治疗靶点至关重要^[10]。

转运RNA(transfer RNA, tRNA)在细胞中表达丰度较高,主要负责转运氨基酸至核糖体,

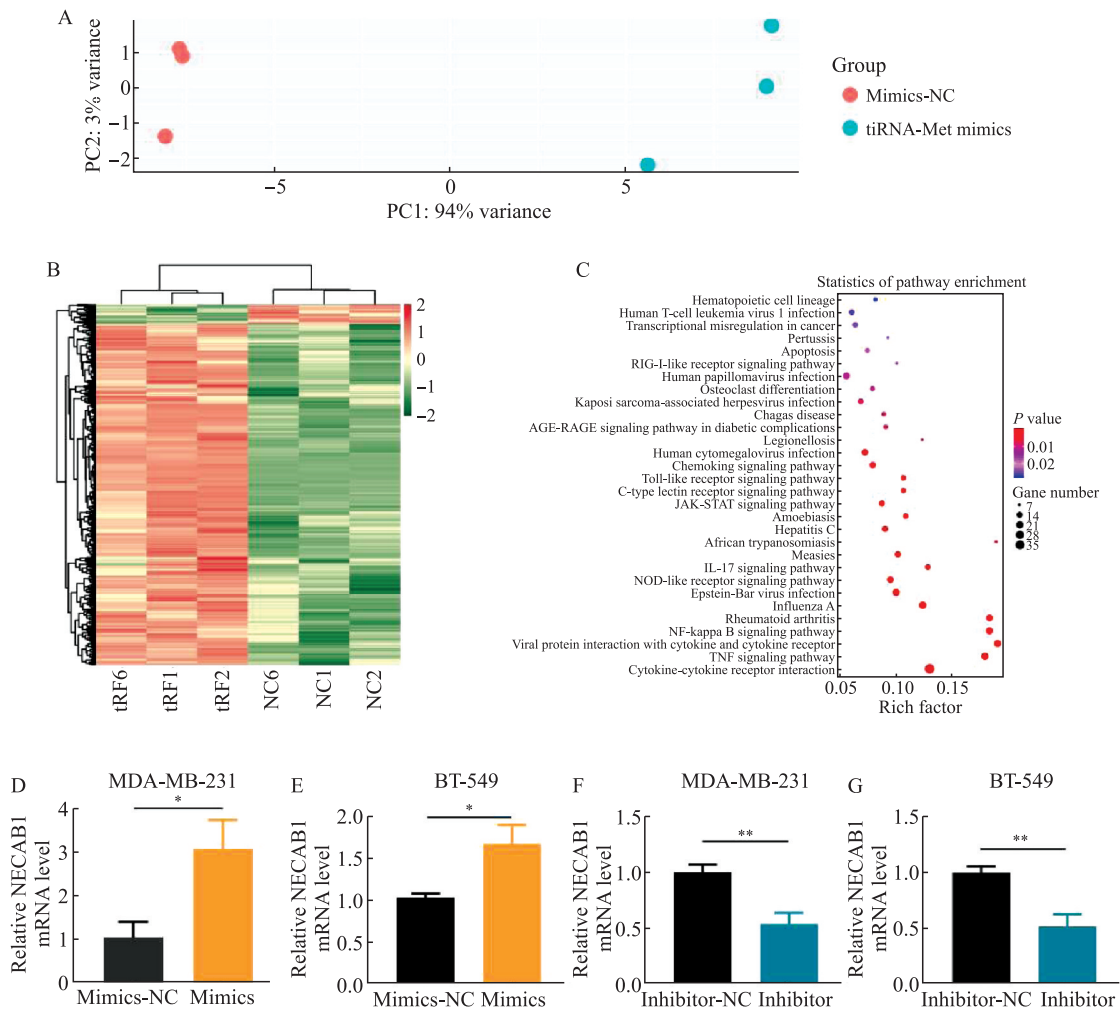


图3 tiRNA-Met促进 NECAB1表达

Fig. 3 tiRNA-Met promoted the expression of NECAB1

A: Principal Component Analysis of RNA-seq following the overexpression of tiRNA-Met in MDA-MB-231 cells. B: Volcano plot representation of mRNAs that were significantly different between the two groups (fold change ≥ 2 and $P < 0.05$). C: Bubble diagram for KEGG enrichment. D, E: Overexpression of tiRNA-Met promoted the expression levels of NECAB1 in MDA-MB-231(D) and BT-549 (E) cell lines. F, G: Inhibition of tiRNA-Met decreased the expression levels of NECAB1 in MDA-MB-231(F) and BT-549 (G) cell lines. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

将核酸的遗传信息翻译成相应的多肽链。新近研究发现在压力和刺激下，tRNA会裂解产生大量14~50 nt的tRF，在肿瘤、免疫和代谢等多种病理生理学过程中发挥重要作用。tRF具有表达丰度高、组织特异性强、分布广泛且稳定性好的特点，在肿瘤诊断与预后预测方面展现出良好的应用前景，被视为潜力显著的新型生物标志物^[11]。特异性tRF分子HCETSR在肝细胞癌中表达显著下调，其低表达不仅与肿瘤负荷加重及患者死亡率升高相关，而且能直接抑制肝细胞癌的恶性进展，可作为独立的预后不良预测指标^[12]。3'-tRF CAT1在包括肺癌在内的多种癌症中普遍上调，且肺癌患者血浆CAT1水平显著升高，提示其不仅是驱动癌症进展的关键调控因子，也具备成为新型诊断标志物的临床潜力^[13]。然而，目前关于tRF在TNBC中的研究仍较为有限。为了探寻可能作为TNBC中潜在治疗靶点的tRF，课题组

将收集的3对TNBC癌组织和配对癌旁组织进行tRF及tiRNA高通量测序。分析结果显示，tRF在TNBC癌组织和配对癌旁组织中的表达差异有统计学意义。其中，tiRNA-Met为本研究首次在TNBC中报道的tRNA衍生片段。tiRNA-Met在TNBC组织及细胞系中表达均明显降低，并可在体内外有效抑制TNBC细胞的增殖、迁移、侵袭及肿瘤生长^[7]。

tRF可通过调控蛋白质翻译、RNA转录及转录后修饰等多个层面影响肿瘤的恶性进展。研究显示，tRF-22通过结合并稳定hnRNPAB，激活TGF β 2信号，进而诱导PMN-MDSC介导的免疫抑制，最终削弱抗肿瘤免疫应答、促进食管鳞癌进展^[14]。在甲状腺癌中，tiRNA-Gly靶向结合剪接体蛋白RBM17的UHM结构域并促进其核易位，抑制其泛素化降解，诱导细胞中靶基因MAP4K4的可变剪接，最终促进肿瘤进展^[15]。

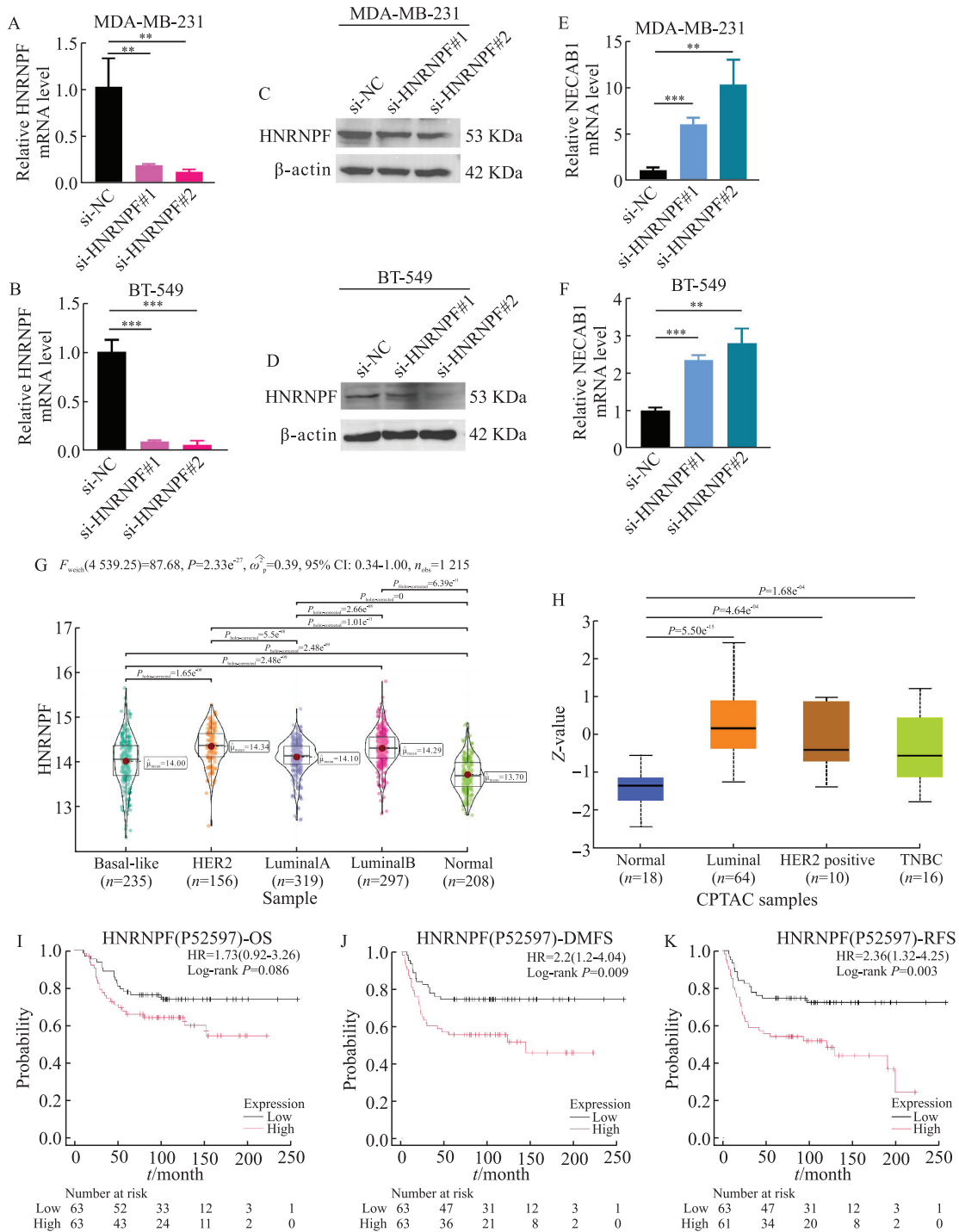


图4 HNRNPF抑制NECAB1表达

Fig. 4 Inhibition of HNRNPF increased the expression level of NECAB1 gene

A-D: Transfection efficiency of HNRNPF in MDA-MB-231 and BT-549 cell lines, assessed by qRT-PCR (A, B) and Western blot (C, D) respectively. E, F: HNRNPF inhibition promoted the mRNA expression level of NECAB1 in MDA-MB-231(E) and BT-549 (F) cell lines G: The mRNA expression status of HNRNPF in breast cancer subtypes from the TCGA database was analyzed by R software (version 4.3.0). H: The protein expression level of HNRNPF in UALCAN database. I-K: Kaplan-Meier analysis of the OS (I), DMFS (J) and PFS (K) of patients with breast cancer in Kaplan-Meier Plotter database. A log-rank test was used to determine the statistical significance between the low and the high expression group. **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

提示, tRF/tiRNA 可通过直接结合 RNA 结合蛋白影响其功能, 参与肿瘤相关调控网络。本研究通过 RNA pull down、LC-MS 和 RIP 技术筛选出 RNA 结合蛋白 HNRNPF。该蛋白属于 hnRNP 家族, 在转录调控可变剪接、翻译后修饰及前体

RNA 加工等多种核酸代谢过程中发挥重要作用, 并参与肿瘤的发生发展。已有研究报道, 白血病抑制因子和 IL-6 通过可变剪接因子 SRSF5 抑制 tRF-21 表达, 促进 HNRNPL 磷酸化, 增强其与 DDX17 的相互作用, 形成剪接复合物, 选择性

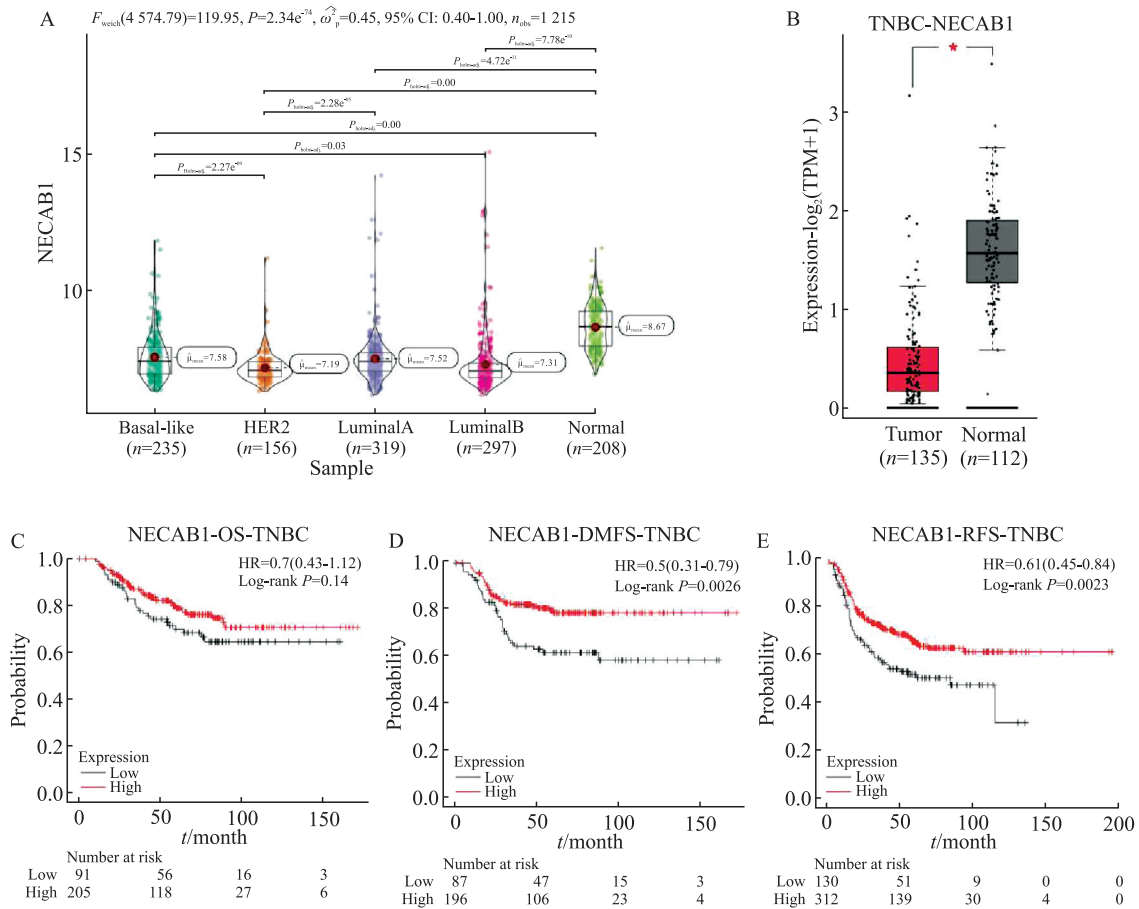


图5 NECAB1在TNBC中的表达及与患者预后的相关性

Fig. 5 Expression of NECAB1 in TNBC and its correlation with patient's prognosis

A: The expression status of NECAB1 in breast cancer subtypes from the TCGA database was analyzed by R software (version 4.3.0). B: The NECAB1 expression level of mRNA from the TCGA datasets in GEPIA database. C-E: Kaplan-Meier analysis of the OS (C), DMFS (D) and PFS (E) of patients with TNBC in Kaplan-Meier Plotter database. A log-rank test was used to determine the statistical significance between the low and the high expression group. *: $P < 0.05$.

剪接 Caspase 9 和 mH2A1 前体 mRNA，生成 Caspase 9b 和 mH2A1.2，促进胰腺癌细胞的恶性进展^[16]。m6A 修饰的 circCacna1c 通过抑制 HNRNPF 进入细胞核来调节坏死性凋亡和缺血性心肌损伤^[17]。circRNF19A-490aa 通过与 HNRNPF 相互作用，将其募集至 AR-V7 的剪接位点，从而增强 AR-V7 的选择性剪接^[18]。HNRNPF 与 HNRNPA2B1 直接结合 Mir100hg，驱动其经外泌体递送至非肺癌干细胞中，进而激活 ALDOA 表达、乳酸生成及 H3K14 乙酰化，最终通过转移相关基因转录促进肿瘤转移。本研究发现，tiRNA-Met 与 HNRNPF 特异性结合，且 HNRNPF 在 4 种不同类型的乳腺癌中均呈现高表达；进一步研究发现过表达或敲低 tiRNA-Met 并未显著改变 HNRNPF 的 mRNA 和蛋白表达水平，但 tiRNA-Met 过表达可促进下游基因 NECAB1 的表达，而敲低 HNRNPF 同样促进 NECAB1 表达。本研究结果提示，tiRNA-Met 可能并非通过调控 HNRNPF 的表达量，而是通过结合影响其功能状

态一如调节其转录后修饰、蛋白活性或亚细胞定位等方式，与 HNRNPF 协同调控 NECAB1 的表达，进而参与 TNBC 的发展进程。

关于 NECAB1 的功能，目前的报道较为有限。有研究^[9]发现，孤独症谱系障碍患者中 NECAB1 基因的错义突变与发育性语言障碍存在关联。此外，NECAB1 在暴露于皮质醇或皮质酮的胰腺 β 细胞系中被诱导表达，并在肥胖的 db/db 小鼠胰腺小岛中显著上调，提示其可能与肥胖相关糖尿病的病理生理学机制有关。研究^[9]还发现，NECAB1 可能作为特发性肺纤维化中与免疫浸润相关的潜在诊断基因生物标志物。然而，至今尚未有关于 NECAB1 在肿瘤中的研究报道。本研究通过生物信息学分析发现，与正常组织相比，NECAB1 在 4 种不同类型的乳腺癌中均显示表达下降。此外，NECAB1 高表达与 TNBC 患者的生存期呈正相关。进一步的研究发现，NECAB1 能够抑制 TNBC 的恶性进程，并且抑制 tiRNA-Met 对 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭的促

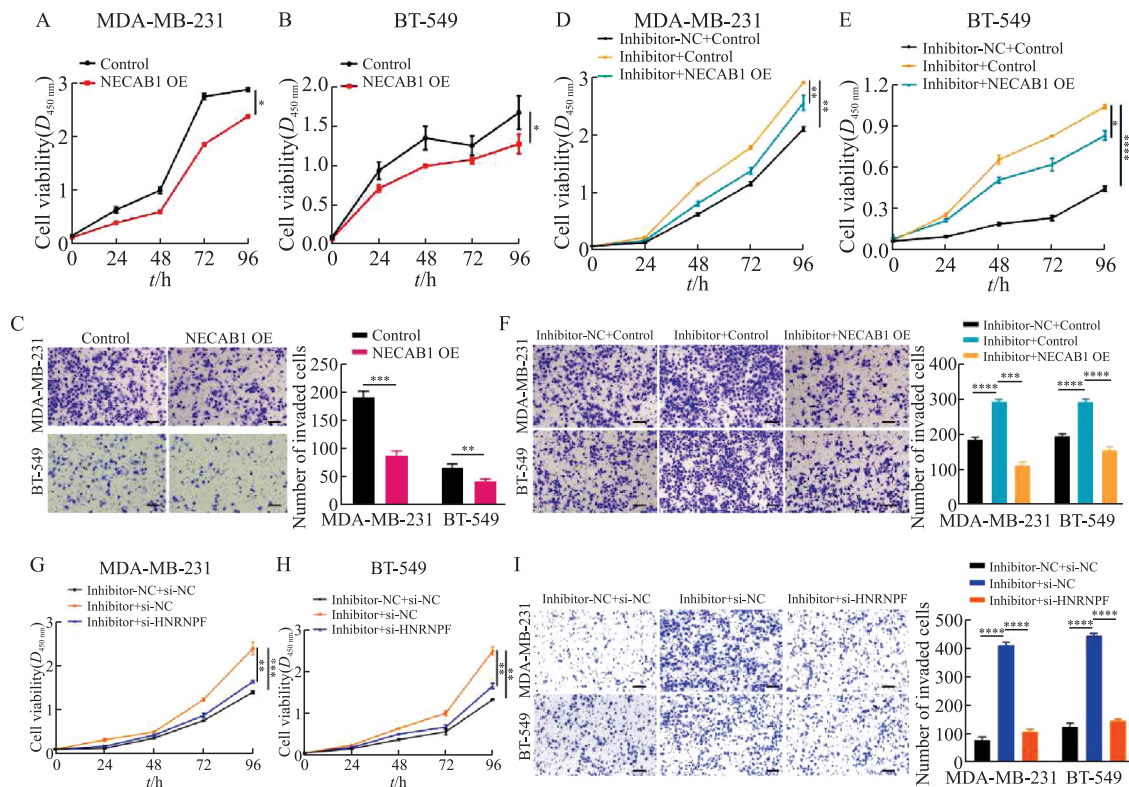


图6 tiRNA-Met靶向结合HNRNPF上调NECAB1表达抑制TNBC的增殖和转移

Fig. 6 tiRNA-Met bound to HNRNPF and inhibited the proliferation and migration through up-regulating NECAB1

A, B: The proliferation of MDA-MB-231 (A) and BT-549 (B) cells with or without NECAB1 overexpression was assessed by CCK-8 assay. C: The invasion of MDA-MB-231 and BT-549 cells with or without NECAB1 overexpression was assessed by Transwell chamber assays. D, E: The proliferation of MDA-MB-231 (D) and BT-549 (E) cells co-transfected with tiRNA-Met inhibitor and NECAB1 overexpression was assessed using CCK-8 assays. F: The invasion of MDA-MB-231 and BT-549 cells co-transfected with tiRNA-Met inhibitor and NECAB1 overexpression was assessed using Transwell chamber assays. G, H: The proliferation of MDA-MB-231 (G) and BT-549 (H) cells co-transfected with tiRNA-Met inhibitor and si-HNRNPF was assessed using CCK-8 assays. I: The invasion of MDA-MB-231 and BT-549 cells co-transfected with tiRNA-Met inhibitor and si-HNRNPF was assessed using Transwell chamber assays. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ****: $P < 0.0001$.

进作用, 可以被NECAB1的过表达或HNRNPF的敲低所逆转, 表明tiRNA-Met/HNRNPF/NECAB1信号轴在TNBC的发生发展中起着重要的调控作用, 并可能作为新的治疗靶点用于TNBC的干预。

综上所述, 本研究结果表明, tiRNA-Met能够靶向结合HNRNPF, 增强NECAB1表达, 进而抑制TNBC的恶性进程。本研究结果也为探索TNBC的治疗靶点提供了新的思路。

尽管本研究揭示了tiRNA-Met与HNRNPF在TNBC中的功能性互作, 但tiRNA-Met在TNBC患者体液(如血浆、外泌体)中的表达模式、稳定性及其与临床病理学参数的相关性尚未明确。另外, 本研究的结论主要基于体外细胞实验, 缺乏体内实验的验证。tiRNA-Met不改变HNRNPF表达量, 而是可能调控其功能状态, 但具体机制, 如是否通过影响磷酸化修饰、核质穿梭或蛋白互作效率, 仍有待直接证据证明。这些局限意味着tiRNA-Met-HNRNPF轴的临床转化潜能仍需

在未来通过更复杂的模型和大队列临床样本进行系统评估。

在未来的研究中, 我们将围绕tiRNA-Met在TNBC中临床转化潜力展开深入研究, 并继续探索tiRNA-Met是如何通过蛋白质翻译后修饰或核内转运等途径影响HNRNPF的功能以及HNRNPF调控NECAB1表达的具体机制。以期揭示更深层的分子网络, 为基于RNA调控机制的TNBC精准医疗策略奠定理论和实验基础。

第一作者:

陆晶晶 (ORCID: 0000-0003-3831-5537), 医学博士, 助理研究员。

通信作者:

周平 (ORCID: 0000-0002-4183-0639), 医学博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: zping@shmu.edu.cn。

作者贡献声明:

陆晶晶: 操作实验, 处理数据, 撰写文章; 王雪: 生物信息学分析; 李晓红: 文献调研与整理; 周平: 实验指导, 修改文章。

[参考文献]

- [1] XU H F, GAO J, FU S Y, et al. Genkwanin impairs triple-negative breast cancer aggressiveness and metastasis by targeting lysine demethylase 4C[J]. *Phytomedicine*, 2025, 143: 156869.
- [2] ZHU Q Y, DAI Q Z, ZHAO L, et al. Novel dual inhibitors of PARP and HDAC induce intratumoral STING-mediated antitumor immunity in triple-negative breast cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 10.
- [3] FU M, GU J M, WANG M Y, et al. Emerging roles of tRNA-derived fragments in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 30.
- [4] KIM H K, FUCHS G, WANG S C, et al. A transfer-RNA-derived small RNA regulates ribosome biogenesis [J]. *Nature*, 2017, 552(7683): 57-62.
- [5] SLACK F J, CHINNAIYAN A M. The role of non-coding RNAs in oncology[J]. *Cell*, 2019, 179(5): 1033-1055.
- [6] ZHANG Y, BI Z, DONG X H, et al. tRNA-derived fragments: TRF-Gly-CCC-046, tRF-Tyr-GTA-010 and tRF-Pro-TGG-001 as novel diagnostic biomarkers for breast cancer[J]. *Thorax Cancer*, 2021, 12(17): 2314-2323.
- [7] LU J J, SUN Y B, ZHANG X F, et al. The novel tRNA-derived fragment, tiRNA-Met, inhibits the malignant progression of triple-negative breast cancer by regulating RANBP3L via a targeted interaction with SNRPA[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2025, 30(1): 62.
- [8] MA X F, LI Y L, SUN W F, et al. Super-enhancer-associated long noncoding RNA lnc-SPI1U mediates SPI1 feedback regulation by interacting with HNRNPH1 and HNRNPF [J]. *Oncogene*, 2025, 44(47): 4626-4638.
- [9] BUENO D, SCHÄFER M K E, WANG S, et al. NECAB family of neuronal calcium-binding proteins in health and disease [J]. *Neural Regen Res*, 2025, 20(5): 1236-1243.
- [10] BAGHERI M, MOHAMED G A, MOHAMED SALEEM M A, et al. Pharmacological induction of chromatin remodeling drives chemosensitization in triple-negative breast cancer[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(4): 101504.
- [11] CHEN Q, LI D R, JIANG L Y, et al. Biological functions and clinical significance of tRNA-derived small fragment (tsRNA) in tumors: current state and future perspectives [J]. *Cancer Lett*, 2024, 587: 216701.
- [12] RUI T, ZHU K B, MAO Z L, et al. A novel tRF, HCETSR, derived from tRNA-glu/TTC, inhibits HCC malignancy by regulating the SPB1-catenin complex axis[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(13): 2415229.
- [13] YU M Q, YI J N, QIU Q Z, et al. Pan-cancer tRNA-derived fragment CAT1 coordinates RBPMS to stabilize NOTCH2 mRNA to promote tumorigenesis[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(11): 113408.
- [14] PAN L, QIN X, GONG L, et al. tRNA-derived fragment tRF-22 promotes immunosuppression by inhibiting HnRNPA2B1 ubiquitination in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Adv Sci*, 2026, 13(1): e05806.
- [15] HAN L T, LAI H J, YANG Y C, et al. A 5'-tRNA half, tiRNA-Gly promotes cell proliferation and migration *via* binding to RBM17 and inducing alternative splicing in papillary thyroid cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 222.
- [16] PAN L, HUANG X D, LIU Z X, et al. Inflammatory cytokine-regulated tRNA-derived fragment tRF-21 suppresses pancreatic ductal adenocarcinoma progression [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(22): e148130.
- [17] JIA Y, YUAN X S, FENG L X, et al. M(6)A-modified circCa2+ regulates necroptosis and ischemic myocardial injury by inhibiting HnRNPA2B1 entry into the nucleus [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 140.
- [18] LI J F, QIU H, DONG Q Z, et al. Androgen-targeted hsa_circ_0085121 encodes a novel protein and improves the development of prostate cancer through facilitating the activity of PI3K/Akt/mTOR pathway and enhancing AR-V7 alternative splicing [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(11): 848.

(收稿日期: 2025-12-06 修回日期: 2026-02-05)

(责任编辑: 王琳辉)