



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: SYT1 在肝癌中的表达及临床价值: 基于生物信息学与实验
作者: 陈骑东, 韩红彪, 凌潜龙, 周帅, 秦锡亮, 刘会春, 金浩
收稿日期: 2026-07-12
网络首发日期: 2026-07-22
引用格式: 陈骑东, 韩红彪, 凌潜龙, 周帅, 秦锡亮, 刘会春, 金浩. SYT1 在肝癌中的表达及临床价值: 基于生物信息学与实验[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260722.1701.006>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

SYT1 在肝癌中的表达及临床价值：基于生物信息学与实验

陈骑东^{1,2}, 韩红彪^{2,3}, 凌潜龙², 周 帅², 秦锡亮², 刘会春², 金 浩²

(¹蚌埠医科大学研究生院, 蚌埠 233000; ²安徽省第二人民医院肝胆胰外科, 合肥 230041;

³安徽医科大学研究生院, 合肥 230032)

摘要 目的 探讨突触结合蛋白 1 (SYT1) 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达及其临床价值。**方法** 生物信息学检索 SYT1 亚细胞定位和在肿瘤微环境 (TME) 中的表达及预测其对 HCC 进展的生物学功能。UALCAN、TIMER3.0、HPA 数据库与 IHC 验证 SYT1 在 HCC 组织中的表达并分析其与 MKI67 相关性。联合 GEPIA2、TIMER3.0 数据库及 R 语言分析, 探究 SYT1 表达水平与 HCC 患者预后关联并开展生存分析。利用慢病毒进行 SYT1 基因沉默并采用集落形成、EdU、细胞划痕及 Transwell 实验探究 SYT1 对 HCC 细胞生物学行为的影响。裸鼠成瘤实验验证 SYT1 的促癌作用。**结果** 生物信息学预测显示 SYT1 定位于细胞膜与胞质且其家族基因表达以正相关为主。在 HCC 组织中 SYT1 表达显著上调 ($P=2.93\times10^{-10}$) 且与 MKI67 呈正相关 ($\rho_s=0.419, P=3.3\times10^{-17}$)。生存分析表明, 在 HCC 中 SYT1 高表达预示着较差的总生存期 ($P=0.015$) 与疾病特异性生存期 ($P=0.0462$)。免疫特征分析显示, SYT1 在 TME 的单核/巨噬细胞、B 细胞及恶性细胞等中呈高表达。富集分析显示 SYT1 可能参与多条 HCC 进展相关通路 ($P<0.05$)。IHC 表明 SYT1 在 HCC 组织中染色程度上调 ($P<0.0001$)。细胞实验表明, 沉默 SYT1 抑制 HCC 细胞增殖、迁移、侵袭 ($P<0.01$); 动物实验表明, 敲低 SYT1 可抑制肿瘤生长 ($P<0.001$)。**结论** SYT1 在 HCC 中表达上调且与不良预后密切相关, 可促进 HCC 细胞增殖、迁移、侵袭及体内肿瘤生长, 有望成为 HCC 临床治疗潜在新靶点。

关键词 肝细胞癌; SYT1; 生物信息学; 细胞实验; 临床价值; 生物标志物

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A

Expression and clinical value of SYT1 in hepatocellular carcinoma: based on bioinformatics and experimental validation

2026-07-12 接收

基金项目: 安徽省高校自然科学研究项目 (编号: 2025AHGXZK20235、2023AH040392、2022AH052337);

蚌埠医科大学研究生科研创新项目 (编号: Byycx25033)

作者简介: 陈骑东, 男, 硕士研究生;

金 浩, 男, 博士, 副教授, 主任医师, 通信作者, Email: jinhaogandan@163.com

Chen Qidong^{1,2}, Han Hongbiao^{2,3}, Ling Qianlong², Zhou Shuai², Qin Xiliang²,

Liu Huichun², Jin Hao²

(¹Graduate School of Bengbu Medical University, Bengbu 233000; ²Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Anhui No.2 Provincial People's Hospital, Hefei 230041;

³Graduate School of Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the expression of synaptotagmin 1 (SYT1) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its clinical value. **Methods** Bioinformatics analysis was performed to predict the subcellular localization and expression of SYT1 in the tumor microenvironment (TME), as well as its biological functions in the progression of HCC. The expression of SYT1 in HCC tissues was verified by UALCAN, TIMER3.0 and HPA databases combined with IHC, and its correlation with MKI67 was analyzed. Combined with GEPIA2, TIMER3.0 databases and R language, the association of SYT1 expression level with the prognosis of HCC patients was explored, and survival analysis was carried out. Lentivirus-mediated SYT1 gene silencing was conducted, and the effects of SYT1 on the biological behaviors of HCC cells were explored by colony formation assay, EdU staining assay, cell scratch assay, and Transwell assay. The tumor-promoting effect of SYT1 was further validated in a nude mouse xenograft model. **Results** Bioinformatics prediction indicated that SYT1 is localized to the cell membrane and cytoplasm, and the expression of its family genes is mainly positively correlated. In HCC tissues, SYT1 expression was significantly upregulated ($P=2.93\times 10^{-10}$) and positively correlated with MKI67 ($\rho_s=0.419$, $P=3.3\times 10^{-17}$). Survival analysis showed that high SYT1 expression predicted poorer overall survival ($P=0.015$) and disease-specific survival ($P=0.046$) in HCC. Immune profiling analysis demonstrated that SYT1 was highly expressed in monocytes/macrophages, B cells and malignant cells in the TME. Enrichment analysis indicated that SYT1 may participate in multiple signaling pathways associated with HCC progression ($P<0.05$). IHC confirmed that the staining intensity of SYT1 was elevated in HCC tissues ($P<0.0001$). Cellular assays showed that silencing SYT1 suppressed the proliferation, migration, and invasion of HCC cells ($P<0.01$). Animal experiments demonstrated that knockdown of SYT1 inhibited tumor growth *in vivo* ($P<0.001$). **Conclusion** SYT1 is upregulated in HCC and closely correlated with poor prognosis. It can promote the proliferation, migration and invasion of HCC cells as well as *in vivo* tumor growth, and is expected to become a potential novel target for the clinical treatment of HCC.

Key words hepatocellular carcinoma; SYT1; bioinformatics; cell experiment; clinical value; biomarkers

Fund programs Major Project of Natural Science Research in Universities of Anhui Province (Nos. 2025AHGXZK20235, 2023AH040392, 2022AH052337); Bengbu Medical College Graduate Research Innovation Program (No. Byycx25033)

Corresponding author Jin Hao, E-mail: jinhaogandan@163.com

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 病死率位居全球恶性肿瘤第三位^[1]。HCC 确诊后 5 年总体生存率仅 10%~20%, 因其起病隐匿、发展迅速, 多数患者首诊时已属中晚期而不适合手术切除, 致其临床疗效不佳、预后较差^[1-2]。即使早期患者接受手术切除, 术后 5 年复发率仍高达 70%, 且肝癌对放化疗不敏感^[3]。因此, 发掘基因靶向治疗潜力, 探寻 HCC 新治疗靶点并优化预后评估, 已成为当前研究热点。

突触结合蛋白 1 (synaptotagmin 1, SYT1) 是调控细胞 Ca^{2+} 依赖性膜融合的关键蛋白, 已被证实在神经递质释放、突触囊泡运输及肿瘤进展中起到核心作用^[4]。研究^[5]显示, SYT1 高表达与三阴性乳腺癌患者不良预后密切相关, 但其肿瘤作用具有组织特异性, 在结直肠癌中表达下调, 可抑制肿瘤细胞迁移与侵袭^[6]。目前, SYT1 在 HCC 恶性进展中的作用及具体机制尚不明确。因此, 该研究整合生物信息学分析与体内外实验, 探讨 SYT1 对 HCC 细胞生物学行为的影响及临床预后价值, 以期为肝癌诊治及分子靶向药物开发提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床样本

收集安徽省第二人民医院普外四科 2021 年 4 月至 2024 年 10 月期间接受根治性切除的 50 例 HCC 患者的肿瘤组织及配对癌旁组织标本 (所有患者均已签署知情同意)。纳入标准: ① 完整切除原发肿瘤且切缘距肿瘤边界 ≥ 1 cm; ② 术中及术后病理检查证实切缘阴性; ③ 区域淋巴结清扫彻底且术后病理证实淋巴结无转移。排除标准: ① 术前接受过放化疗、靶向或免疫治疗等抗肿瘤治疗; ② 合并远处转移或其他系统恶性肿瘤; ③ 临床病理资料不完整。从病历系统中检索入组患者临床资料 (如性别、年龄、肿瘤大小、病理分期等) 并进行统计分析。本研究通过安徽省第二人民医院伦理委员会审批 [批号: 2025-149]。

1.1.2 细胞培养及试剂

人肝癌 Huh7 细胞系购自中国科学院上海生命科学研究院。细胞培养于含 10% 胎牛血清 (Gibco)、1% 青霉素-链霉素混合液的 DMEM 培养基 (Gibco) 中, 置于 37 °C、5% CO_2 培

养箱内培养。SYT1、GAPDH 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司；4%多聚甲醛、结晶紫溶液、EdU 试剂盒、免疫染色通透液购自上海碧云天生物技术有限公司；基质胶购自美国 BD 公司；慢病毒购自上海吉玛制药技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析

HPA 数据库 (<https://www.proteinatlas.org>) 检索 SYT1 的化学结构、亚细胞定位及在免疫细胞、核心细胞中的表达与 IHC 结果。UALCAN (<https://ualcan.path.uab.edu>)、TIMER3.0 数据库 (<https://compbio.cn/timer3>) 分析 SYT1 与 MKI67 在肝癌组织中的表达及相关性。GEPIA2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn>)、TIMER3.0 数据库预测 HCC 患者预后。scCancerExplorer 数据库 (<https://bianlab.cn/scCancerExplorer/home>) 探究 SYT1 在 TME 中的表达。

1.2.2 预测并建立模型

采用单因素 Cox 回归分析，初步筛选与患者总生存期 (overall survival, OS) 相关的临床病理因素，筛选标准为 $P < 0.05$ ；将具有统计学意义的变量纳入多因素 Cox 回归模型，采用向前逐步回归法进行变量筛选，最终确定独立预后因素。通过 Schoenfeld 残差法检验比例风险假设 ($P > 0.05$)。基于最终的多因素 Cox 回归模型，应用 rms 包构建 OS 预后列线图模型，并用校准曲线评价该模型预测效能。

1.2.3 SYT1 靶基因功能富集分析

TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov>) 获取 HCC 转录组数据，DESeq2 R 包分析 SYT1 高、低表达组间的差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs)，筛选阈值设定为 $|\log_2FC| > 1$ 且校正后 $P < 0.05$ ；cBioportal 数据库 (<https://www.cbioportal.org>) 下载 HCC 中与 SYT1 共表达的前 500 个潜在靶基因，DAVID 数据库 (<https://davidbioinformatics.nih.gov>) 获取其富集通路数据。富集分析采用超几何检验计算显著性 P 值，并通过 Benjamini-Hochberg (BH) 法进行多重检验校正，以校正后 $P < 0.05$ 作为显著富集的阈值。微生信在线工具 (<https://www.bioinformatics.com.cn>) 完成富集结果可视化。

1.2.4 免疫组织化学 (IHC)

收集我院 50 例 HCC 组织及配对癌旁组织样本，经固定、梯度脱水、石蜡包埋后制备组织切片，常规脱蜡至水化；加入一抗 (SYT1 多克隆抗体, 1:1 000)，4 °C 孵育过夜；次日加入即用型多聚 HRP 标记山羊抗兔重组二抗，室温孵育 1 h；DAB 显色后进行镜下观察、图像采集及结果评分。所有切片由 2 名高年资病理科医师采用双盲法独立阅片评分。

1.2.5 RNA 干扰

将人 HCC 细胞系 Huh7 铺板培养，待细胞汇合度达 70%~80%时，分别用靶向 SYT1 的慢病毒干扰载体（GV112）及阴性对照（NC）慢病毒感染细胞；6 h 后更换新鲜完全培养基，继续培养 3 d；随后加入含 2 μg/mL 嘌呤霉素的培养基进行筛选获得稳定细胞株。SYT1 慢病毒干扰序列见表 1。

表 1 RNA 干扰序列

Tab.1 Sequences for RNA interference

Item	Sequences (5'-3')
shNC	GCTACGACTCTGAGCCTGT
shSYT1#1	TCAGCCTGCAACTATATGC
shSYT1#2	TCAAGCCGATTCAACGGCT
shSYT1#3	CCTAGCGCTTAACTCTACA

1.2.6 Western blot

采用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞，冰上孵育 30 min 后，4 °C、12 000 r/min 离心 30 min，取上清液即为总蛋白。采用 BCA 法测定蛋白浓度，调整上样量使各组总蛋白上样量一致。使用凝胶电泳分离蛋白条带后，将蛋白转印至 PVDF 膜，快速封闭液室温封闭 30 min。加入一抗（SYT1 多克隆抗体，1:10 000），4 °C 孵育过夜；次日洗膜 3 次后加入 HRP 标记山羊抗兔重组二抗（1:6 500），室温孵育 90 min。最后对膜进行显影、曝光。

1.2.7 集落形成实验

将细胞以 1×10^3 个/孔的密度接种于 6 孔板中，置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养 14 d，每 3 d 更换一次培养基。待集落形成后，用 PBS 洗涤细胞 3 次；加入 4%多聚甲醛室温固定 15 min 后，再次用 PBS 洗涤 3 次。加入 0.1%结晶紫染液室温染色 10 min，流水缓慢冲洗去除多余染液，室温自然晾干后拍照计数每孔集落数（以 ≥ 50 个细胞聚集为 1 个集落）。

1.2.8 EdU 实验

取各组处理后的细胞接种于 12 孔板，用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基配制 2×EdU 工作液，与细胞等体积混合后置于 37 °C、5%CO₂培养箱中孵育 2 h。用 PBS 洗涤细胞 3 次；加入 4%多聚甲醛室温固定 30 min，再次洗涤后用免疫染色通透液透化 15 min。按试剂盒说明书配制 Click 反应液，避光孵育 30 min，DAPI 染核后于荧光显微镜下采集图像，计数 EdU 阳性细胞比例以评估细胞增殖能力。

1.2.9 细胞划痕实验

将细胞以 5×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板中，待细胞融合度达 90%~100% 时，使用无菌 200 μ L 枪头在单层细胞上垂直均匀划痕；PBS 洗涤 3 次后更换为无血清培养基继续培养。分别于 0 h、48 h 在倒置显微镜 100 $\times$ 放大倍数下，选取相同视野对划痕区域进行拍照记录，采用 ImageJ 软件测量划痕宽度并计算细胞迁移率： $[(0 \text{ h 划痕宽度} - 48 \text{ h 培养后划痕宽度}) / 0 \text{ h 划痕宽度}] \times 100\%$ 。

1.2.10 Transwell 实验

基质胶与无血清 DMEM 按 1:8 稀释，每孔取 60 μ L 均匀铺于 Transwell 小室底部，37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min 至半凝固。细胞消化离心后，用无血清 DMEM 重悬至 2×10^5 个/mL，上室加入 0.2 mL 细胞悬液，下室加入 0.6 mL 含 10% 胎牛血清 DMEM，37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。PBS 漂洗 2 次，棉签轻轻拭去上室细胞；下室加入 4% 多聚甲醛固定 30 min；0.1% 结晶紫染色 15 min，漂洗后于倒置显微镜 200 $\times$ 放大倍数下随机选取 5 个视野，计数穿膜细胞数，取平均值。对于迁移实验，除小室底部不铺基质胶外，其余操作均同侵袭实验。

1.2.11 裸鼠成瘤实验

将 10 只 4~6 周龄雄性 BALB/c 裸鼠（购自上海斯莱克实验动物有限责任公司），饲养于 SPF 级实验环境中，采用随机数字表法分为两组（ $n = 5$ ）：shNC 组与 shSYT1 组。200 μ L 构建好的稳定转染 HCC 细胞悬液（细胞量为 5×10^6 个/只），皮下注射至裸鼠背部以建立移植瘤模型。造模后每 3 d 测量一次肿瘤体积。15 d 后，经 0.7% 戊巴比妥钠麻醉后，采用颈椎脱臼法处死裸鼠，完整剥离移植瘤组织，拍照记录并称重。本研究通过安徽省第二人民医院动物伦理委员会审批[批号：2025-150]。

1.3 统计学处理

生物信息学数据使用数据库内置的统计学方法，应用 SPSS 29.0.2.0、GraphPad Prism10.4.1 和 ImageJ 软件进行统计分析及绘图。相关性分析采用 Spearman 相关分析；采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，组间生存差异比较采用 Log-rank 检验；单因素和多因素 Cox 回归分析确定独立预后因素；癌组织与配对癌旁组织比较采用配对 t 检验；shNC 与 shSYT1 组间比较采用独立样本 t 检验；shSYT1 沉默效率多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 Tukey 事后多重比较；裸鼠肿瘤体积随时间变化的比较采用双因素重复测量方差分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，计数资料组间差异比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有实验均独立重复 3 次。

2 结果

2.1 SYT1 的亚细胞定位及家族相关性分析

基于 HPA 数据库, 使用 Alphafold 系统对 SYT1 进行结构预测, 得到其蛋白质结构图(图 1A)。进一步对 SYT1 进行检索, 发现其可能定位于细胞膜与胞质(图 1B)。此外, 分析 SYT 家族基因 SYT1-17 表达相关性, 结果显示其家族基因以正相关为主(图 1C), 据此推测, SYT 家族可能在某些生物学行为(如突触传递、细胞信号通路)具有相互作用。

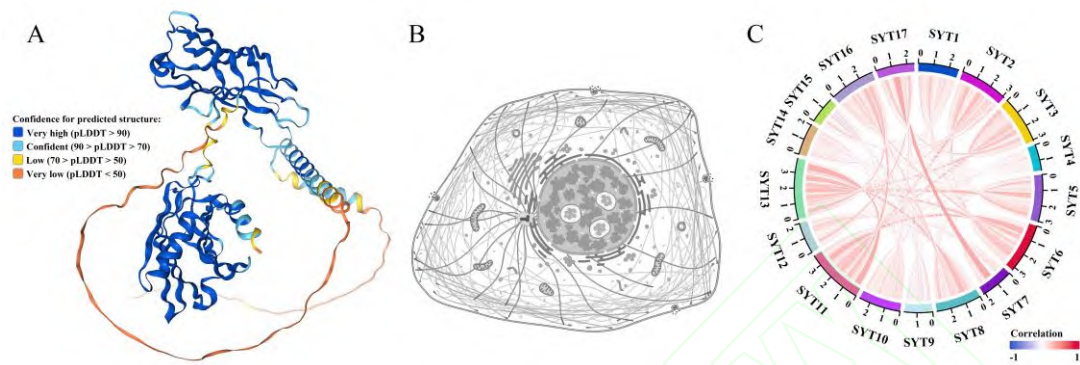


图 1 SYT1 在细胞中的定位及家族基因相关性分析

Fig.1 Subcellular localization of SYT1 and correlation analysis of SYT family genes

A: Protein structure prediction of SYT1; B: Subcellular localization of SYT1; C: Correlation of SYT family genes expression (red: positive correlation; blue: negative correlation).

2.2 SYT1 是肝癌进展因子

采用 UALCAN 数据库分析显示, SYT1 与 MKI67 在肝癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织 ($P < 0.001$, 图 2A-2B)。此外, 通过 TIMER3.0 数据库开展表达相关性分析, 可见二者呈正相关 ($\rho_s = 0.419$, $P = 3.3 \times 10^{-17}$, 图 2C), 提示 SYT1 可能是肝癌进展因子。

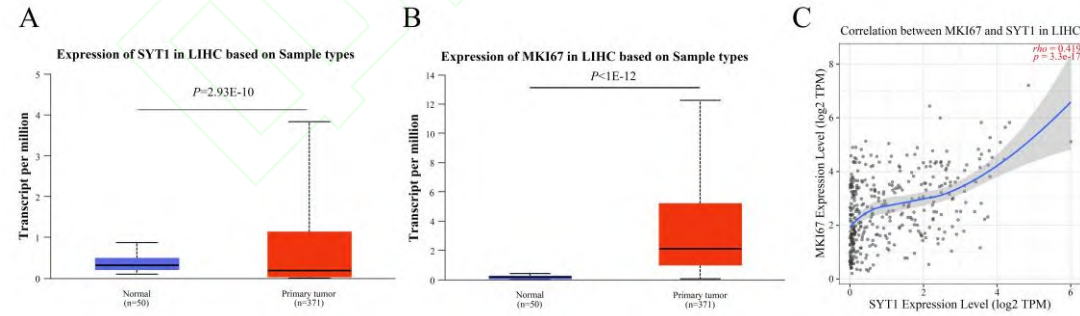


图 2 SYT1 与 MKI67 在 HCC 中的表达及相关性

Fig.2 Expression and correlation of SYT1 and MKI67 in HCC

A, B: Expression of SYT1 and MKI67 in HCC; C: Correlation analysis between SYT1 and MKI67.

2.3 SYT1 表达与临床患者预后的关联

借助 GEPIA2 与 TIMER3.0 数据库,在线评价 SYT1 的表达水平与肝癌患者预后的关联,结果表明 SYT1 高表达预示着更短的 OS ($P=0.015$, 图 3A) 与疾病特异性生存期 (disease specific survival, DSS, $P=0.0462$, 图 3B)。此外,按照 Cox 多因素回归分析出的 SYT1 表达水平、肝癌患者 T、N 分期独立预后因素构建列线图(图 3C)。该模型的 C 指数为 0.71(95% CI: 0.65~0.77),提示其具有较好的预测价值。1 年、3 年及 5 年生存概率校准曲线(图 3D-F)显示,模型预测生存曲线接近理想参考线,表明其在肝癌患者生存预测中表现出良好的预测效能。

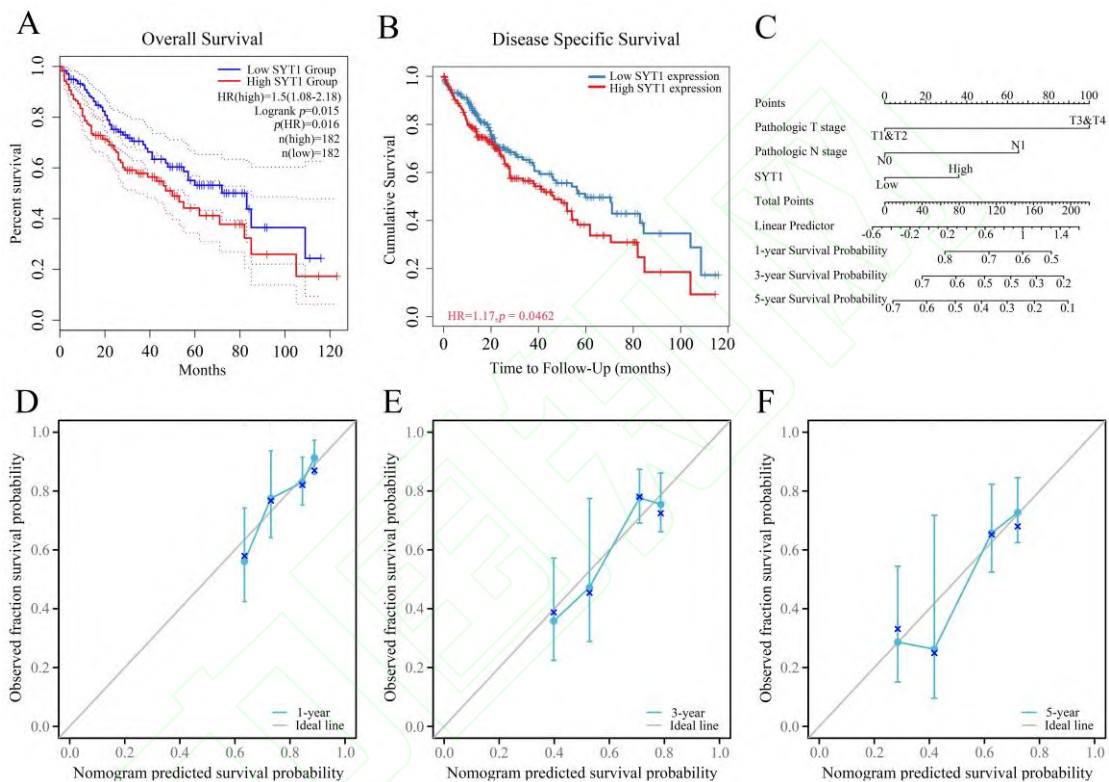


图 3 SYT1 表达水平与肝癌患者预后的关联

Fig.3 Association between SYT1 expression and HCC prognosis

A: 10-year OS; B: 10-year DSS; C: Nomogram based on SYT1 expression, T and N staging; D-F: Calibration curves for 1-, 3-, and 5-year survival.

2.4 SYT1 免疫特征分析

使用 HPA 数据库 Monaco 数据集分析可知, SYT1 在中性粒细胞、浆母细胞及记忆 B 细胞中表达较高(图 4A)。此外,在正常肝组织中, SYT1 在内皮细胞、成纤维细胞及巨噬细胞等多种核心细胞中也广泛表达(图 4B)。基于 scCancerExplorer 数据库提供的 HCC 数据集 GSE166635 进行 SYT1 单细胞分析,探究其在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)

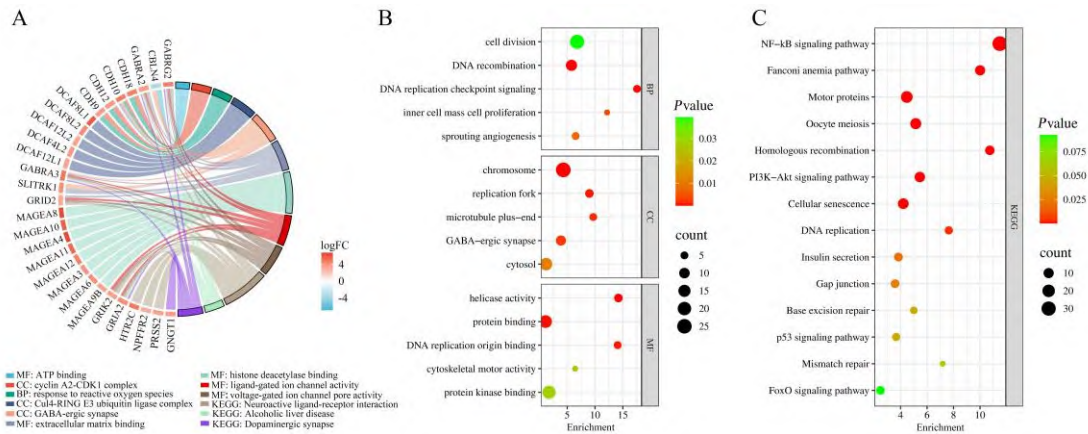


图 5 SYT1 通路富集分析

Fig.5 Pathway enrichment analysis of SYT1

A: Enrichment analysis of DEGs; B, C: GO and KEGG enrichment analyses.

2.6 SYT1 在肝癌组织中的表达

将 SYT1 蛋白表达水平与 HCC 患者的临床病理资料进行分析。结果显示，SYT1 表达与患者性别、年龄无显著相关性 ($P>0.05$)，但与肿瘤大小、病理分期和 T 分期显著相关 ($P<0.05$)，见表 2。HPA 数据库显示，肝癌组织中 SYT1 染色程度上调 (图 6A-6B)。基于我院 50 例 HCC 及配对癌旁组织样本，利用 IHC 染色分析 SYT1 在组织中的表达情况，结果显示，相较于癌旁组织，SYT1 在癌组织中过表达 (图 6C)。此外，HCC 组织切片中 SYT1 蛋白综合染色评分显著高于癌旁组织切片 ($P<0.0001$ ，图 6D)。

表 2 SYT1 表达与 HCC 患者临床病理特征的关系

Tab.2 Relationship between SYT1 expression and clinicopathological characteristics of HCC

	patients			
Characteristics	SYT1 expression		χ^2 value	<i>P</i> value
	high	low		
All cases	32	18		
Gender				
Male	17	9	0.045	0.832
Female	15	9		
Age (year)				
≥60	22	12	0.023	0.880
<60	10	6		

Tumor size (cm)				
≤5	20	5	5.556	0.018
> 5	12	13		
Pathologic stage				
I+II	25	7	7.697	0.006
III+IV	7	11		
T stage				
T1+T2	24	5	10.550	0.001
T3+T4	8	13		

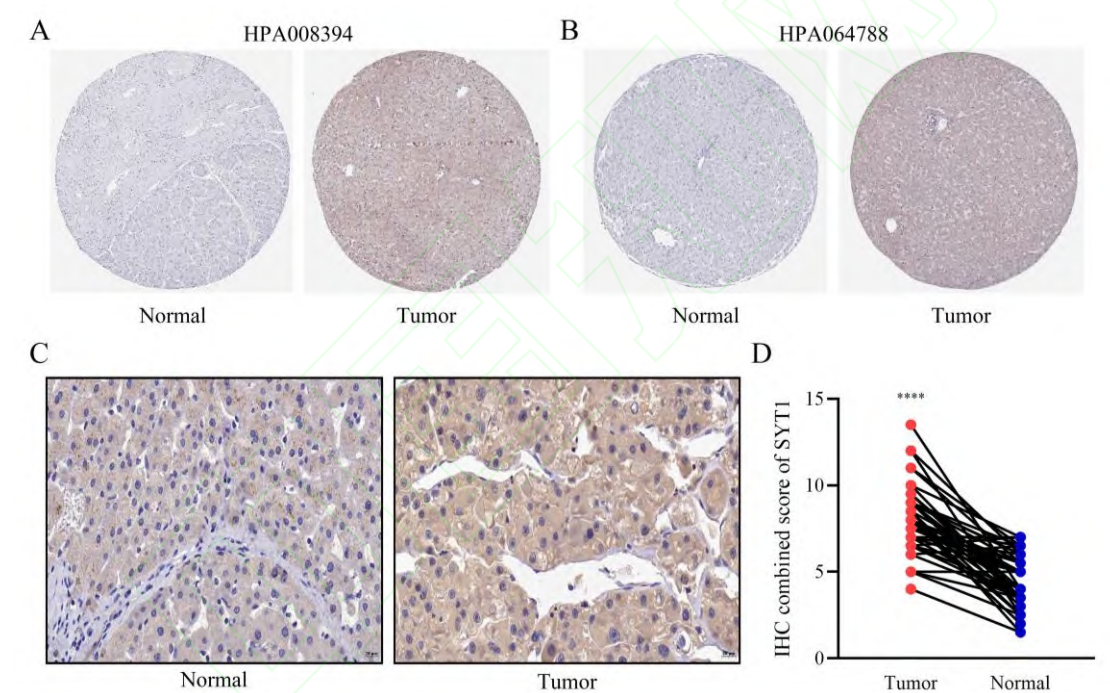


图 6 肝癌与癌旁组织 IHC 比较

Fig.6 Comparison of IHC between HCC and paracancerous tissues

A, B: IHC analysis of SYT1 in HCC and adjacent tissues Scale bar: 200 μ m); C: IHC detection of SYT1 protein expression in HCC and adjacent tissues (Scale bar: 20 μ m); D: IHC staining score; **** $P<0.0001$ vs Normal tissue.

2.7 SYT1 促进 HCC 细胞增殖、迁移与侵袭

利用慢病毒沉默 Huh7 细胞中 SYT1 表达并构建 SYT1 干扰载体，转染后经 WB 检测验证，shSYT1-3 组 SYT1 表达下调最明显，沉默效果最显著 ($P<0.0001$, 图 7A)。选取沉默

效率最高的 shSYT1-3 干扰序列用于后续所有功能实验。集落形成实验显示, shSYT1 组 Huh7 细胞增殖能力显著低于 shNC 组 ($P<0.01$, 图 7B)。EdU 实验同样证实, 敲低 SYT1 可明显抑制 Huh7 细胞增殖 ($P<0.001$, 图 7C、F)。细胞划痕实验表明, SYT1 敲低后 Huh7 细胞迁移能力显著下降 ($P<0.01$, 图 7D、G)。Transwell 实验显示, 相较于 NC 组, shSYT1 组细胞迁移能力显著减弱 ($P<0.01$, 图 7E、H), 细胞侵袭能力亦明显降低 ($P<0.001$, 图 7E、I)。

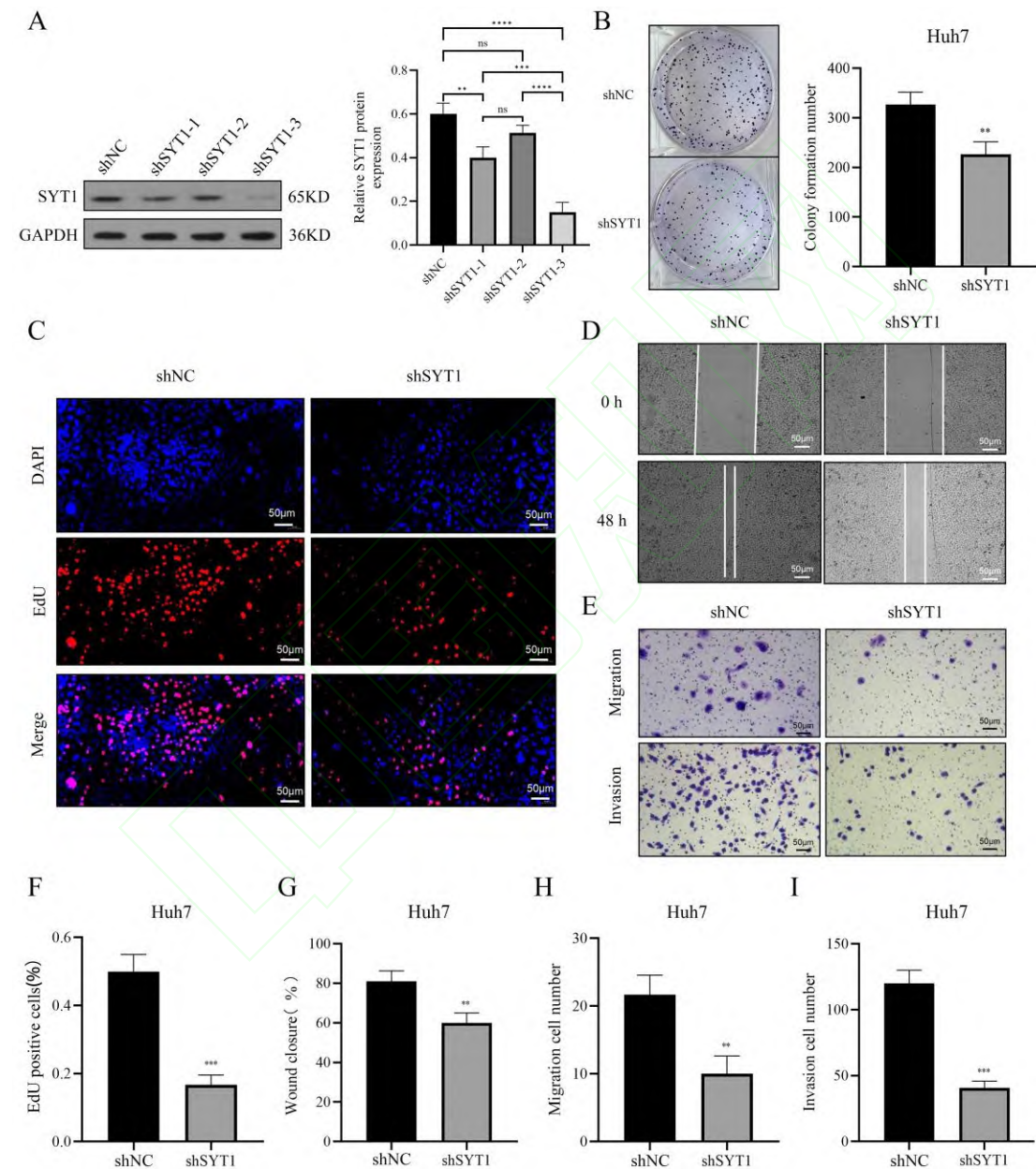


图 7 SYT1 对 HCC 细胞生物学行为的影响

Fig.7 Effect of SYT1 on biological behaviors of HCC cells

A: WB verification of SYT1 silencing efficiency; B: Colony formation assay for cell proliferation; C, F: EdU assay for cell proliferation (Scale bar: 50 μ m); D, G: Wound healing assay for cell

migration (Scale bar: 50 μm); E, H, I: Transwell migration and invasion assay (Scale bar: 50 μm). Throughout Figures 7 and 8, shSYT1 represents shSYT1-3 knockdown cells; ns (not significant, $P>0.05$), ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$.

2.8 沉默 SYT1 抑制 HCC 体内生长

为进一步探究 SYT1 对体内肿瘤生长的影响,本研究构建裸鼠皮下成瘤模型。结果显示, NC 组小鼠肿瘤负荷较高, shSYT1 组肿瘤生长明显受抑 (图 8A)。肿瘤生长曲线表明, NC 组肿瘤体积随时间呈显著增长趋势, 而 shSYT1 组肿瘤生长速率显著放缓 ($P<0.0001$, 图 8B)。此外, 相较于 NC 组, shSYT1 组肿瘤体积及重量均显著降低 ($P<0.001$, 图 8C-D)。

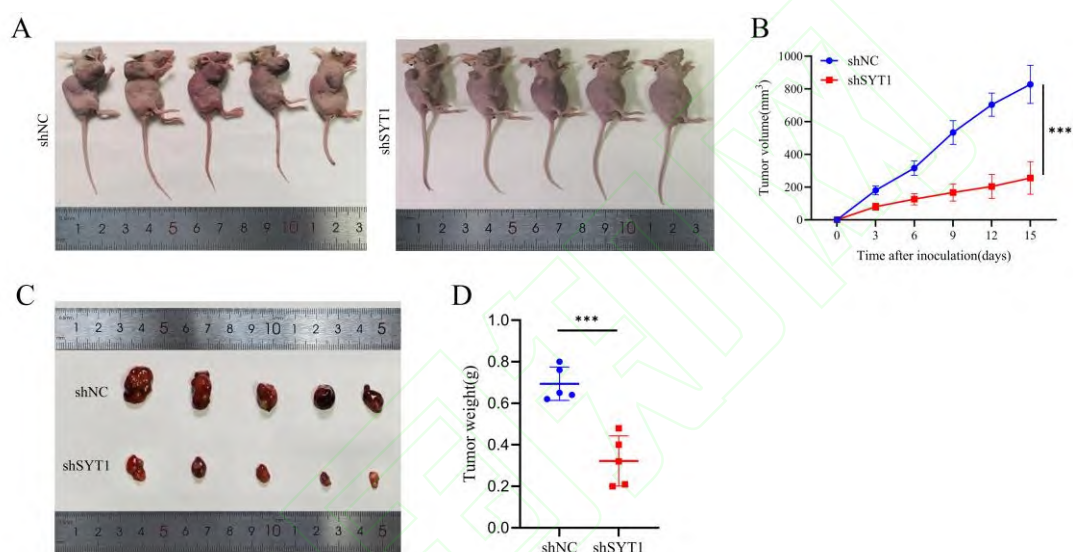


图 8 沉默 SYT1 对体内肿瘤生长的影响

Fig.8 SYT1 silencing suppresses tumor growth *in vivo*

A: Subcutaneous tumor model in nude mice; B: Tumor growth curve; C, D: Volume and weight of subcutaneous tumors in nude mice; *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs shNC group.

3 讨论

中国是全球肝癌负担最重的国家之一, 每年肝癌新发病例与死亡病例约占全球的 50%^[7]。HCC 是临床上最主要的原发性肝脏恶性肿瘤, 手术切除仍是其主要治疗方式, 但由于对化疗不敏感以及耐药性的增加, 其术后复发率高、总体预后不佳^[8]。随着靶向治疗的发展, 寻找新的分子靶点与治疗方向已成为当前研究热点。SYT 是一类丰富的、进化上保守的整合膜蛋白, 其家族包含 17 种人类亚型, 参与多种癌症进展过程^[9]。生物信息学分析显示, SYT 家族蛋白表达水平呈现相关性, 其中, SYT7 可通过调节 Chk1-p53 信号通路对细胞周期的阻滞作用继而对 HCC 发挥致癌作用^[10]。

本研究首先基于 HPA 数据库检索 SYT1 亚细胞定位,结果显示其定位于细胞膜与胞质,这一分布特征与其作为膜运输蛋白及潜在药物靶点的生物学功能高度契合^[11]。随后,借助 UALCAN、GEPIA2 与 TIMER3.0 数据库,探究 SYT1 与 MKI67 在 HCC 中的表达水平及其与临床患者预后的关联,发现二者在肝癌组织中的表达均显著上调且呈正相关;高表达的 SYT1 预示患者更差的 OS 与 DSS。MKI67 是影响 HCC 患者 OS 与 DSS 的独立危险因素,可指示细胞增殖活性并评估肿瘤侵袭能力,已成为 HCC 预后评估的可靠标志物^[12]。此外,HPA 数据库 IHC 结果显示 SYT1 在肝癌组织中过表达,我们利用 IHC 实验也验证了这一点。功能实验证实,沉默 SYT1 后 Huh7 细胞增殖效率、迁移及侵袭能力均受显著抑制;裸鼠成瘤实验亦显示敲低 SYT1 可抑制体内肿瘤生长。简言之,以上结果均提示 SYT1 可能是 HCC 恶性进展因子。

TME 是一个复杂的动态系统,包括肿瘤细胞、一系列非癌细胞、信号分子及细胞外基质,在肿瘤进展、转移与对治疗的反应中至关重要^[13]。通过 HPA 与 scCancerExplorer 数据库分析,表明 SYT1 在多种类型免疫细胞中表达,且在恶性细胞中呈高表达,提示其可能是连接肿瘤免疫调控与细胞生物学行为的关键分子。此外,SYT1 作为一种参与凋亡调节的重要蛋白^[14],在富集分析时发现其参与多种通路影响 HCC 发生、发展,如 NF- κ B、PI3K/Akt 等信号通路。有研究发现,HBx(乙肝病毒 X 蛋白)通过激活 NF- κ B /HK2 信号通路诱导有氧糖酵解进而刺激 HCC 细胞增殖^[15]。转录因子 ChREBP 通过协调 PI3K/Akt 信号通路和癌症代谢介导肝癌发生^[16]。此外,在甲状腺癌中 SYT1 表达上调,过表达 SYT1 可促进癌细胞的恶性生物学行为,其机制可能是 SYT1 与 NF- κ B 信号通路相互作用,逆转其上游靶点 miRNA-363-3p 的抑癌效应,从而促进癌症进展^[17]。据此,我们推测 SYT1 可能靶向 NF- κ B 信号通路干预 HCC 进展。然而本研究仍存在一定的局限性,如未对可能参与介导的信号通路进行深入挖掘,后续将采用通路特异性抑制剂(如 NF- κ B 抑制剂 BAY11-7082)进行回复实验,以验证 SYT1 是否通过该通路调控 HCC 恶性表型。此外,未将过表达组作为参照纳入实验体系,SYT1 与 MKI67 的表达也未在临床样本与小鼠瘤体进行 IHC、WB 等相关性分析。

综上所述,本研究表明 SYT1 在 HCC 中表达上调且与不良预后密切相关,可促进 HCC 细胞恶性生物学行为及体内肿瘤生长,因此可作为 HCC 患者治疗过程潜在新靶点。

参考文献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of

- incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA A Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-63. doi:10.3322/caac.21834.
- [2] Lim R Y, Koh B, Ng C H, et al. Hepatocellular carcinoma surveillance and survival in a contemporary Asia-Pacific cohort[J]. *JAMA Netw Open*, 2025, 8(7): e2520294. doi:10.1001/jamanetworkopen.2025.20294.
- [3] Gu J, Liang B Y, Zhang E L, et al. Scientific hepatectomy for hepatocellular carcinoma[J]. *Curr Med Sci*, 2023, 43(5): 897-907. doi:10.1007/s11596-023-2761-2.
- [4] Han Y, Yu L. Calcium ions promote migrasome formation *via* Synaptotagmin-1[J]. *J Cell Biol*, 2024, 223(8): e202402060. doi:10.1083/jcb.202402060.
- [5] Redondo P C, Lopez J J, Alvarado S, et al. Extended synaptotagmins 1 and 2 are required for store-operated calcium entry, cell migration and viability in breast cancer cells[J]. *Cancers*, 2024, 16(14): 2518. doi:10.3390/cancers16142518.
- [6] Shi J, Li W, Jia Z, et al. Synaptotagmin 1 suppresses colorectal cancer metastasis by inhibiting ERK/MAPK signaling-mediated tumor cell pseudopodial formation and migration[J]. *Cancers*, 2023, 15(21): 5282. doi:10.3390/cancers15215282.
- [7] 陈永胜, 王 军, 丁璐璐, 等. 中国及全球肝癌流行特征分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2025, 47(9): 858-66.
- [7] Chen Y S, Wang J, Ding L L, et al. Epidemiological characteristics of liver cancer in China and worldwide[J]. *Chin J Oncol*, 2025, 47(9): 858-66.
- [8] 宋博娇, 孙倍成. NDRG1 通过 ERK 通路增强肝细胞癌对索拉菲尼的耐药[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(8): 1346-53.
- [8] Song B J, Sun B C. NDRG1 enhances Sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma through ERK pathway[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(8): 1346-53.
- [9] Suo H, Xiao N, Wang K. Potential roles of synaptotagmin family members in cancers: recent advances and prospects[J]. *Front Med*, 2022, 9: 968081. doi:10.3389/fmed.2022.968081.
- [10] Jin H, Xu G, Zhang Q, et al. Synaptotagmin-7 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and regulates hepatocellular carcinoma cell proliferation *via* Chk1 – p53 signaling[J]. *OncoTargets Ther*, 2017, 10: 4283-93. doi:10.2147/OTT.S143619.
- [11] Zhu M, Xu H, Jin Y, et al. Synaptotagmin-1 undergoes phase separation to regulate its calcium-sensitive oligomerization[J]. *J Cell Biol*, 2024, 223(10): e202311191.

doi:10.1083/jcb.202311191.

- [12] Wei Y C, Yun L, Liang Y L, et al. Nomogram based on the neutrophil-to-lymphocyte ratio and MR diffusion quantitative parameters for predicting Ki67 expression in hepatocellular carcinoma from a prospective study[J]. Sci Rep, 2024, 14: 31738. doi:10.1038/s41598-024-82333-7.
- [13] Liu Y, Xun Z, Ma K, et al. Identification of a tumour immune barrier in the HCC microenvironment that determines the efficacy of immunotherapy[J]. J Hepatol, 2023, 78(4): 770-82. doi:10.1016/j.jhep.2023.01.011.
- [14] Sun T, Li J, Wang S, et al. Synaptotagmin-1 attenuates myocardial programmed necrosis and ischemia/reperfusion injury through the mitochondrial pathway[J]. Cell Death Dis, 2025, 16: 45. doi:10.1038/s41419-025-07360-2.
- [15] Chen L, Lin X, Lei Y, et al. Aerobic glycolysis enhances HBx-initiated hepatocellular carcinogenesis via NF- κ B p65/HK2 signalling[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 329. doi:10.1186/s13046-022-02531-x.
- [16] Benichou E, Seffou B, Topçu S, et al. The transcription factor ChREBP Orchestrates liver carcinogenesis by coordinating the PI3K/AKT signaling and cancer metabolism[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1879. doi:10.1038/s41467-024-45548-w.
- [17] Zhang J, Ren G, Huang T, et al. MiRNA-363-3p hinders proliferation, migration, invasion and autophagy of Thyroid cancer cells by controlling syt1 transcription to affect NF- κ B[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2024, 24(1): 153-62. doi:10.2174/1871530323666230504112553.