

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2023-02-013

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

肝癌患者血清 lncRNA HULC 表达水平与肿瘤分期、淋巴结转移的关系^①

王慧娜^{a②}, 张 静^b, 李 月^b

(河南大学第一附属医院 a.药学部, b.肿瘤科, 河南 开封 475000)

摘要 目的:探究肝癌患者血清长链非编码 RNA(lncRNA)肝癌高表达转录本(HULC)与肿瘤分期、淋巴结转移的关系。方法:选取肝癌患者 92 例作为研究组,另选取体检健康人员 50 例作为对照组,比较分析两组血清 lncRNA HULC 表达水平。结果:研究组的 lncRNA HULC 相对表达水平显著高于对照组,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$);研究组的肝癌不同分期、不同淋巴结转移程度患者 lncRNA HULC 相对表达水平差异均有统计学意义($P<0.05$),且伴随着肝癌恶性分期程度的增加、转移范围的扩大, lncRNA HULC 相对表达增加。结论:肝癌患者高水平 lncRNA HULC 表达提示较为严重的恶性变程度以及广泛的淋巴结转移。

关键词:长链非编码 RNA;肝癌高表达转录本;肿瘤分期;淋巴结转移

中图分类号:R735.7

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2023)02-0076-04

Expression level of serum lncRNA HULC and its relationship with tumor staging and lymph node metastasis in patients with liver cancer^①

WANG Huina^{a②}, ZHANG Jing^b, LI Yue^b

(a. Dept. of Pharmacy, b. Oncology department, the First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475000, China)

Abstract Objective: To explore the expression level of serum long non-coding RNA (lncRNA) highly up-regulated in liver cancer (HULC) and its relationship with tumor staging and lymph node metastasis in patients with liver cancer. Methods: 92 patients with liver cancer were selected as the study group, and 50 healthy persons were selected as the control group. The expression level of serum lncRNA HULC were compared. Results: The relative expression level of lncRNA HULC in the study group was significantly higher than that in the control group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). The relative expression level of lncRNA HULC in patients with different stages of liver cancer and different degrees of lymph node metastasis in the study group were showing statistically significant difference ($P<0.05$), and the relative expression of lncRNA HULC increased with the increase of malignant stage of liver cancer and the expansion of metastasis range. Conclusion: The high expression level of lncRNA HULC indicates severe

① 基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200539)。

② 第一作者简介:王慧娜,本科,医师,研究方向为肿瘤用药。E-mail:Wanghn223@163.com。

malignant lesions and extensive lymph node metastasis in patients with liver cancer.

Keywords: long non-coding RNA; highly up-regulated in liver cancer; tumor stage; lymph node metastasis

在人类的全部碱基序列中,三分之二的序列被反转录,但最终仅有不到2%的核酸序列被应用于蛋白编码,且大部分基因并不表达蛋白质,这一类基因即非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)^[1]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)由序列保守性不高且表达丰富度较低,在组织和细胞中表现为较强的特异性。最初,lncRNA被认为是基因转录中的副产物,不具有生物学功能,然而伴随着研究的不断加深,人们发现lncRNA在染色体沉默中扮演着重要角色,参与基因组印记以及染色质的修饰,同核内运输等多种调控过程密切相关^[2]。有学者研究发现,lncRNA同某些疾病的发生发展具有密切关联^[3],lncRNA肝癌高表达转录本(highly up-regulated in liver cancer, HULC)在肝癌呈现明显的过度表达,通常预示较短的总生存期以及较差的临床病理分期。在我国,肝癌是最为常见的恶性肿瘤之一,患者死亡率位居恶性肿瘤第二位^[4]。早发现、早确诊肝癌患者,并对其分期以及转移情况进行有效评估在疾病的治疗中具有重要意义。据此,本研究旨在进一步探究lncRNA表达同肝癌患者病情发展的关系,为肝癌患者肿瘤分期以及淋巴结转移的间接评估提供参考资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年11月至2021年11月河南大学第一附属医院收治的肝癌患者92例作为研究组。纳入标准:①符合肝癌的诊断标准^[5];②临床资料齐全,经相关诊断以及血清学检查结果予以明确。排除标准:①合并除肝癌之外的其他恶性肿瘤患者;②合并肝脏区域性质不明的占位性病变者;③合并多器官功能衰竭、严重内环境功能紊乱者;④妊娠期、哺乳期女性。

与此同时,纳入体检健康人员50例作为对照组。纳入标准:①血常规、肝肾功能等生化检验项目均正常;②影像学检查结果正常,无任何形式的可疑占位性病变;③精神状况良好;④各个系统及器官功

能良好。

研究组男47例,女45例;年龄42~75周岁,平均(55.3±14.2)岁,平均体质量指数(21.48±1.91)kg/m²;对照组男26例,女24例;年龄44~73周岁,平均(56.4±13.9)岁,平均体质量指数(21.36±1.77)kg/m²。两组一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经河南大学第一附属医院医学伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 肿瘤分期以及淋巴结转移 通过查阅本医院信息系统收集患者肿瘤分期的最终评估结果。采用多普勒超声、PET-CT或磁共振成像技术结合其他检测综合判断。肿瘤分期需根据患者肿瘤大小、数目、癌变有无转移、有无血管侵犯等进行综合判断,同时考虑患者肝功能状态以及体能状态。由2名经验丰富的临床医师对患者的影像学检查、血清学检查以及病理组织学检查进行综合评估后进行肝癌分期的确认,最终将全体研究对象分为肝癌I期、II期、III期以及IV期。

1.2.2 lncRNA HULC的相对表达检测 GAPDH是糖酵解反应中的一个酶,其在组织中一般呈高水平表达且表达量相对恒定,因此作为标准化内参。空腹采集3ml外周静脉血,采用一步法总RNA提取试剂Trizol(购自美国Invitrogen公司)提取总RNA,且逆转录为cDNA,进行实时荧光定量PCR,使用primer 6.0软件设计引物。记录肝癌患者lncRNA-HULC表达水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件分析数据,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,用 t 检验;计数资料以 n 、%表示,用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA HULC不同程度表达情况

研究组的lncRNA HULC相对表达水平显著高于与对照组,两组差异有统计学意义($P<0.05$);两组

GAPDH的相对表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 两组 lncRNA HULC 表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	lncRNA HULC	GAPDH
研究组	92	8.79±2.13	7.55±1.34
对照组	50	1.56±0.45	7.68±1.46
t		23.680	0.535
P		<0.05	>0.05

2.2 lncRNA HULC 表达水平与肝癌分期之间的关系

本研究结果显示,肝癌Ⅱ期、Ⅲ期以及Ⅳ期患者的 lncRNA HULC 相对表达水平的组间差异均有统计学意义($P<0.05$),且伴随着肝癌恶性分期程度的增加,lncRNA HULC 相对表达也增加;GAPDH 的相对表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表2 lncRNA 表达水平与肝癌分期之间的关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	lncRNA HULC	GAPDH
肝癌Ⅱ期	18	6.12±1.33	7.69±1.03
肝癌Ⅲ期	43	8.06±1.59*	7.28±1.18*
肝癌Ⅳ期	31	11.35±1.78**	7.85±1.30**

与肝癌Ⅱ期比较,* $P<0.05$;与肝癌Ⅲ期比较,** $P<0.05$

2.3 lncRNA HULC 表达水平与肝癌淋巴结转移之间的关系

研究结果显示,无淋巴结转移、近距离淋巴结转移、远距离淋巴结转移患者的 lncRNA HULC 相对表达水平的组间差异均有统计学意义($P<0.05$),且伴随着肝癌淋巴结转移范围的扩大,lncRNA HULC 相对表达也增加;GAPDH 的相对表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

表3 不同 lncRNA 表达水平同淋巴结转移情况关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	lncRNA HULC	GAPDH
无转移	20	5.26±1.05	7.51±1.12
近距离转移	45	7.99±1.54*	7.45±1.01*
远距离转移	27	12.74±2.06**	7.74±1.09**

与无转移组比较,* $P<0.05$;与近距离转移组比较,** $P<0.05$

3 讨论

目前,肝癌的具体发病原因尚不完全明确,但大部分研究资料显示,肝癌的发病同遗传因素、病毒性肝炎以及肝硬化的疾病进展存在密切的关联^[6]。对于已确诊的肝癌患者以及肝癌高风险发病人群而言,及时进行评估、监控癌变发展情况是十分重要的。虽然肝癌的临床诊断方案已经获得了显著的进展,但是仍有相当比例的患者由于未能及时就诊,耽误了治疗的最佳时间^[7-8],因此,通过各种指标及时对肝癌患者的病变情况展开评估是十分重要的。lncRNA HULC 的表达同肝癌患者病情严重程度具有一定相关性,为了进一步验证其中的关联,本研究回顾性分析了肝癌患者癌症恶变程度以及转移情况。

肝癌患者的疾病分期以及淋巴结的转移情况对肝癌的发展具有重要的评估价值。伴随着肝癌恶性程度的加剧,中晚期患者常可出现肝淋巴结转移的现象。肝脏肿瘤细胞经淋巴结进行转移,常先转移至距离病灶相对比较近的肝门淋巴结、胰周、腹膜后、主动脉旁以及锁骨上淋巴结等部位。肝癌中晚期的患者,肿瘤可直接侵犯临近的脏器以及横膈,甚至发生腹腔种植性转移^[9-10]。本研究结果显示,恶性病情严重、转移范围广泛的肝癌患者 lncRNA HULC 的表达水平更高。分析其原因,lncRNA 能在表观遗传、转录以及转录后水平上调控基因表达领域发挥重要作用^[11]。lncRNA 的表达能够在促转移步骤,包括上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、侵袭和迁徙器官营养定殖等领域发挥作用,通过影响转移性肿瘤微环境促进其转移^[12]。侵袭转移和级联反应是癌细胞从原发肿瘤向远处器官扩散涉及的一个协调的、多步骤过程。首先,肿瘤细胞入侵局部周围正常组织,并内渗进入体循环,随后在远处部位发生外渗。lncRNA 的表型以及表达机制的多样性很可能为癌变转移细胞在增殖和定殖过程提供外部组织环境基础。以上 EMT 为例,在生理状况下,EMT 在胚胎的发育以及组织修复过程中激活,以确保组织和器官适当的形态发生,这一过程异常表达于癌变细胞,则造成癌细胞的显著扩散,从而引发癌变恶性程度加剧以及淋巴结转移远处扩散。李俊等^[13]研究报告指出,肝癌的生长、浸润和转移同肿瘤间质血管生成密切相关,血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth

factor, VEGF)能够通过旁分泌心室,诱导肿瘤血管生成,从而在肝癌的发生发展中发挥重要作用。而血清 lncRNA HULC 高水平表达的患者干细胞癌组织中 VEGF 阳性表达明显增加,可能是因为 lncRNA HULC 高水平表达促进癌细胞增殖扩散的缘故^[14-15]。

另外,lncRNA 高水平表达同染色体沉默、基因组印记等基因转录机制存在一定关联。染色体沉默指的是未被读取的 X 染色体中的大部分 DNA 被锁定的现象;基因组印记指的是基因根据亲代的不同而出现不同表达情况的现象,在胎儿的生长发育中发挥着重要作用,基因组印记疾病可导致过度生长或生长迟缓,同时可伴随智力障碍以及行为异常等。lncRNA 的高水平表达或影响基因组印记异常表达,然而确切的作用机制还有待更深入的研究证实。

目前,lncRNA 的表达水平在部分疾病中的应用已获得了广泛的认知,然而关于肝癌高表达转录本的表达同疾病发生发展的机制还有待进一步研究。通过研究 lncRNA HULC 表达水平同肝癌患者疾病恶性程度以及淋巴结转移程度的关系,能够为肝癌患者病情发展的评估提供极有价值的参考信息。同时,通过深入研究 lncRNA HULC 的表达机制,可对肝癌的预防和治疗提供新的思路,这在提高肝癌患者治疗有效率以及改善预后方面具有极高的研究价值。本研究的不足之处在于,选取的病例数量偏少,且受限于回顾性分析的局限性,未能对采集样本的部分环境变量实行有效的控制。总而言之,更确切的结论还有待大样本数据以及更多前瞻性研究结果的证实。

综上所述,肝癌患者 lncRNA HULC 表达水平同肿瘤分期以及淋巴结转移存在一定关联,高水平的 lncRNA HULC 表达提示以及较为严重的恶变程度和广泛的淋巴结转移范围,值得临床工作人员借鉴。

参考文献:

[1] 赵志国,张力平.miRNA 和 lncRNA 相互作用与恶性肿瘤相关性的研究进展[J].现代肿瘤医学,2018,26(18):2991-2994.

[2] 朱春宇,邹文博,刘荣.肝内胆管细胞癌自噬相关长链非编码 RNA 预后模型的识别与建立:一项基于癌症基因组图谱的研究[J].中国医学前沿杂志(电子版),2021,

13(7):65-72.

[3] 何雨晨,徐英英,葛繁梅.长链非编码 RNA 在急性髓系白血病发病中作用机制的研究进展[J].山东医药,2020,60(3):94-97.

[4] 陈东风,孙文静,刘凯军,等.非酒精性脂肪性肝病相关性肝癌的流行病学现状与发病机制[J].中华肝脏病杂志,2017,25(2):111-114.

[5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局.原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J].中华肝脏病杂志,2017,25(12):886-895.

[6] 丁晓毅,王征,石洁,等.中国肝癌多学科综合治疗专家共识[J].临床肝胆病杂志,2021,37(2):278-285.

[7] 明心亮,刘雪芳,李硕,等.肝癌高危人群的早期筛查及健康管理模式探讨[J].中华健康管理学杂志,2019,13(3):254-258.

[8] 毛楠,卢冠男.超声造影联合彩超检查在原发性肝癌、转移性肝癌中的鉴别诊断意义[J].中国当代医药,2021,28(15):155-158.

[9] 胡雪乔,杨嘉睿,彭文广,等.肝癌淋巴结转移及肝门淋巴结清扫对肝癌患者预后影响的 Meta 分析[J].中华肝脏病外科杂志,2022,11(2):159-163.

[10] 孔杰,李辉,曾雪燕,等.原发性肝癌区域淋巴结转移的临床病理特点及预后分析[J].中华肿瘤防治杂志,2022,29(4):290-295,301.

[11] 陈继德.肝癌组织中长链非编码 RNA SNHG3 的表达及临床意义[J].检验医学与临床,2022,19(3):361-363,366.

[12] 陆碧云,李亚军,龚玲,等.Meta 分析探讨长链非编码 RNA SBF2-AS 在多种癌症中的预后价值[J].中国免疫学杂志,2021,37(7):780-785.

[13] 李俊,李理,李勇敢,等.血清 lncRNA HULC 水平与乙型肝炎病毒相关性肝细胞癌患者临床特征及预后的关系[J].中国普通外科杂志,2021,30(1):64-70.

[14] HE J F, ZHAO H C, DENG D F, et al. Screening of significant biomarkers related with prognosis of liver cancer by lncRNA-associated ceRNAs analysis [J]. J Cell Physiol, 2020,235(3):2464-2477.

[15] GHAFOURI-FARD S, ESMAEILI M, TAHERI M, et al. Highly upregulated in liver cancer (HULC): an update on its role in carcinogenesis [J]. J Cell physiol, 2020, 235(12):9071-9079.

[收稿日期:2022-11-16]

[责任编辑:桂根浩 英文编辑:李佳睿]