

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.11.017

LncRNA-HEIH、GP73、AFP 在原发性肝癌中的表达及与临床病理特征的关系

刘羡伟¹, 高楠^{1△}, 黄蕾², 弓淑媛¹, 张婷¹, 安良¹

1. 西安高新医院检验科, 陕西西安 710000; 2. 西安金域医学检验有限公司, 陕西西安 710000

摘要:目的 探讨血浆长链非编码 RNA HEIH(LncRNA-HEIH)、高尔基体蛋白 73(GP73)、甲胎蛋白(AFP)在原发性肝癌中的表达, 分析其与患者临床病理特征的关系。方法 采用回顾性方法, 收集 2017 年 1 月至 2018 年 8 月西安高新医院收治的原发性肝癌患者 112 例作为肝癌组以及 100 例肝硬化患者作为肝硬化组, 同期体检中心体检健康者 100 例作为对照组。比较 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平在 3 组间的表达差异, 分析其与患者临床病理特征的关系。结果 与对照组、肝硬化组比较, 肝癌组患者 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平明显升高, 肝癌组 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 的阳性率明显高于肝硬化组($P < 0.05$)。LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平在 TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、分化程度为低分化和有门静脉癌栓、淋巴结转移、肝外转移的患者中明显升高($P < 0.05$)。Spearman 相关分析可知, LncRNA-HEIH、GP73、AFP 与 TNM 分期、分化程度、门静脉癌栓、淋巴结转移、肝外转移有关($P < 0.05$)。结论 原发性肝癌患者 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平明显升高, 且与临床病理特征密切相关, 其水平对原发性肝癌患者的早期诊断及病情评估具有重要意义, 值得临床推广应用。

关键词:原发性肝癌; 长链非编码 RNA HEIH; 高尔基体蛋白 73; 甲胎蛋白

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)11-1510-04

Expression of LncRNA-HEIH, GP73 and AFP in primary hepatocellular carcinoma and their relationship with clinic opathological features

LIU Xianwei¹, GAO Nan^{1△}, HUANG Lei², GONG Shuyuan¹, ZHANG Ting¹, AN Liang¹

1. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Hi-Tech Hospital, Xi'an, Shaanxi 710000, China; 2. Xi'an Jinyu Medical Laboratory Co., LTD., Xi'an, Shaanxi 710000, China

Abstract: Objective To investigate the expression of plasma long non-coding RNA HEIH (LncRNA-HEIH), golgi body protein 73 (GP73) and alpha-fetoprotein (AFP) in primary hepatocellular carcinoma, and to analyze their relationship with clinicopathological features. **Methods** The retrospective method was used to collect 112 cases of primary liver cancer admitted to Xi'an Hi-Tech Hospital from January 2017 to August 2018 as the liver cancer group and 100 cases of cirrhosis as the cirrhosis group, and 100 healthy subjects undergoing the physical examination in the physical examination center were collected as the control group during the same period. The expression differences of LncRNA-HEIH, GP73 and AFP were compared among the three groups, and the relationship between their expressions with the clinicopathological characteristics of the patients was analyzed. **Results** The levels of LncRNA-HEIH, GP73 and AFP in the liver cancer group were significantly increased compared with the control group and the cirrhosis group, the positive rates of LncRNA-HEIH, GP73 and AFP in liver cancer group were significantly higher than those in the cirrhosis group ($P < 0.05$). The LncRNA-HEIH, GP73 and AFP levels in the patients with TNM stage Ⅲ—Ⅳ, low differentiation, portal vein tumor embolism, lymph node metastasis and extrahepatic metastasis were significantly increased ($P < 0.05$). The Spearman correlation analysis showed that LncRNA-HEIH, GP73 and AFP were related with the TNM stage, differentiation degree, portal vein tumor embolism, lymph node metastasis and extrahepatic metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of LncRNA-HEIH, GP73 and AFP in the patients with primary liver cancer are significantly increased, moreover which are closely correlated to the clinicopathological features, their levels are of great significance for the early diagnosis and disease evaluation of the pa-

tients with primary liver cancer, which is worthy of clinical promotion and application.

Key words: primary hepatic carcinoma; long non-coding RNA HEIH; golgi body protein 73; alpha fetoprotein

肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一,发病率位居全球肿瘤的第 6 位,病死率居第 4 位,严重威胁人类生命健康^[1]。我国原发性肝癌的主要病因是乙型肝炎病毒感染。由于我国乙型肝炎患者较多,再加上患者对自身健康的重视不足,导致我国肝癌的发病率居高不下^[2]。原发性肝癌起病隐匿,进展迅速,恶性程度高,就诊时多已发展为中晚期,治疗效果不佳。尽管手术治疗、药物治疗方法发展迅速,但对于中晚期患者而言,5 年生存率仍然很低。因此,早诊断、早治疗对提高治愈率,延长患者生存期尤为重要。长链非编码 RNA HEIH(LncRNA-HEIH)通过多种机制参与人体生物学过程,在多种恶性肿瘤中高表达,可作为肝癌发生、发展的生物学标志物^[3];高尔基体蛋白 73(GP73)是新近发现的高尔基体上的跨膜蛋白,已作为肝癌早期诊断和预后评估的指标应用于临床^[4];甲胎蛋白(AFP)是一种特异度较高的肝癌标志物,与肝癌的发生、发展密切相关^[5]。本研究主要探讨 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 在原发性肝癌中的表达,分析其与患者临床病理特征的关系,旨在为原发性肝癌的诊疗工作提供新的思路,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月至 2018 年 8 月西安高新医院收治的原发性肝癌患者 112 例作为肝癌组,其中男 68 例、女 44 例,年龄 35~70 岁、平均(55.4±9.3)岁。纳入标准:(1)首次确诊,且符合《原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)》^[6]中的诊断标准;(2)均经组织病理学确诊;(3)临床资料完整,依从性高。排除标准:(1)严重肝、肾功能障碍;(2)合并其他恶性肿瘤;(3)合并严重心脑血管疾病;(4)合并免疫系统疾病;(5)预计生存期少于 3 个月。另收集 100 例肝硬化患者作为肝硬化组,其中男 60 例、女 40 例,年龄 35~70 岁、平均(55.8±9.5)岁。收集同期体检中心体检健康者 100 例作为对照组,其中男 60 例、女 40 例,年龄 35~70 岁、平均(55.5±9.7)岁。3 组研究对象的一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准通过,符合伦理学标准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法 所有研究对象均空腹 8 h 以上于次日 8:00 左右抽取静脉血 2 管,1 管注入专用试管检测 LncRNA-HEIH,1 管注入红色干燥试管检测 GP73、AFP,均静置 15~30 min 后以 3 000 r/min 的转速离心 10 min,取上清液置于-80 ℃超低温冰箱统一进

行检测。LncRNA-HEIH 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)进行检测,仪器为美国 ABI7500 型荧光定量 PCR 仪,根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法计算 LncRNA-HEIH 相对表达量,相对表达量 >1 即判断为阳性。GP73、AFP 采用罗氏 Cobas e601 全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂进行检测,GP73、AFP 参考区间分别为 0~150、0~8 ng/mL。所有操作严格按照试剂盒说明书进行,由同一检验师在同一台仪器完成,室内、室间质控均在控。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间均数比较行 t 检验,多组间比较则行 F 检验,组间两两比较采用 SNK- q 法;计数资料以例数或率表示,组间比较行 χ^2 检验;采用 Spearman 相关进行相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组研究对象的 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平比较 肝癌组患者 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平明显高于肝硬化组、对照组,肝硬化组以上指标水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 3 组研究对象的 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	LncRNA-HEIH	GP73(ng/mL)	AFP(ng/mL)
肝癌组	112	2.78±0.54 ^{ab}	232.52±51.04 ^{ab}	303.41±65.08 ^{ab}
肝硬化组	100	1.09±0.23 ^a	137.54±38.26 ^a	16.15±3.64 ^a
对照组	100	0.57±0.14	60.17±15.35	2.16±0.28
<i>F</i>		23.033	22.506	19.569
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与肝硬化组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 肝癌组与肝硬化组 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 的阳性率比较 肝癌组 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 的阳性率明显高于肝硬化组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 肝癌组与肝硬化组 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 的阳性率比较[(%) <i>n</i> / <i>n</i>]				
组别	<i>n</i>	LncRNA-HEIH	GP73	AFP
肝癌组	112	87.50(98/112)	78.57(88/112)	70.54(79/112)
肝硬化组	100	11.00(11/100)	14.00(14/100)	11.00(11/100)
χ^2		16.333	11.457	18.553
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 在不同临床病理特征原发性肝癌患者中的表达 根据不同临床病理特征对原发性肝癌患者进行分组,结果显示,Ln-

cRNA-HEIH、GP73、AFP 水平在 TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、分化程度为低分化和有门静脉癌栓、淋巴结转移、肝外转移的患者中明显升高($P<0.05$),见表 3。

表 3 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 在不同临床病理特征原发性肝癌患者中的表达($\bar{x}\pm s$)

病理特征	<i>n</i>	LncRNA-HEIH			GP73			AFP		
		水平	<i>t</i>	<i>P</i>	水平(ng/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>	水平(ng/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄			7.943	0.608		6.905	0.722		8.576	0.765
<60 岁	70	2.75±0.51			232.10±52.15			302.01±65.08		
≥60 岁	42	2.82±0.55			233.11±49.53			305.74±65.08		
性别			8.447	0.701		6.754	0.752		7.675	0.787
男	78	2.79±0.52			233.45±52.18			304.50±65.08		
女	34	2.75±0.49			230.52±51.04			301.00±65.08		
肿瘤最大径			16.301	0.077		17.069	0.082		18.702	0.089
<5 cm	60	2.72±0.60			230.33±52.18			307.01±66.12		
≥5 cm	52	2.85±0.44			235.05±46.73			299.20±57.45		
TNM 分期			19.267	0.002		24.761	0.004		39.341	0.005
I~Ⅱ期	76	2.67±0.46			225.52±42.09			290.51±55.96		
Ⅲ~Ⅳ期	36	3.01±0.59			246.18±56.33			330.65±69.11		
分化程度			21.550	0.002		24.451	0.003		28.083	0.006
高分化	72	2.69±0.43			220.40±47.05			283.85±54.57		
低分化	40	3.21±0.61			254.33±60.01			338.61±66.53		
门静脉癌栓			19.508	0.022		22.432	0.025		27.002	0.030
有	17	2.92±0.54			245.33±58.86			328.33±68.11		
无	95	2.75±0.54			230.22±45.67			298.95±57.45		
淋巴结转移			21.089	<0.001		25.135	<0.001		29.024	<0.001
有	48	3.08±0.54			251.77±51.04			330.47±69.01		
无	64	2.56±0.54			218.08±51.04			283.11±49.78		
肝外转移			22.023	<0.001		24.226	<0.001		24.779	<0.001
有	20	3.05±0.59			250.43±58.68			343.22±66.65		
无	92	2.72±0.50			228.63±51.04			294.76±50.54		

2.4 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 与临床病理特征的相关性 将 2.3 中有统计学意义的变量纳入 Spearman 相关进行分析可知,LncRNA-HEIH、GP73、AFP 与 TNM 分期、门静脉癌栓、淋巴结转移、肝外转移均呈正相关($P<0.05$),与分化程度均呈负相关($P<0.05$),见表 4。

表 4 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 与临床病理特征的相关性分析						
临床病理特征	LncRNA-HEIH		GP73		AFP	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
TNM 分期	0.621	0.001	0.611	0.001	0.585	0.001
分化程度	-0.669	0.002	-0.598	0.003	-0.771	0.004
门静脉癌栓	0.584	0.023	0.571	0.029	0.541	0.030
淋巴结转移	0.753	<0.001	0.701	<0.001	0.684	0.001
肝外转移	0.761	0.001	0.787	0.001	0.751	0.001

3 讨 论

原发性肝癌是世界范围为内病死率较高的一种恶性疾病,我国每年死于肝癌的患者约有 30 万,占全世界因肝癌死亡人数的一半^[7]。早期筛查可以降低肝癌的发病率及病死率,有效改善预后。筛选诊断肝癌有效的肿瘤标志物已经成为当前研究的热点。

AFP 是一种多肽类糖蛋白,主要由胎儿肝细胞及卵黄囊合成,胎儿时期水平最高,出生后则下降^[8]。以往临床上诊断原发性肝癌的血清学指标主要是 AFP,但 AFP 也存在缺陷,一部分原发性肝癌患者 AFP 呈阴性表达,容易造成漏诊^[9]。单独将 AFP 作为筛查和诊断肝癌的标志物具有一定的局限性。长链非编码 RNA(LncRNA)是长度超过 200 个核苷酸的 RNA,参与多种生物学进程。LncRNA-HEIH 是近年来研究较多的一种 LncRNA,在肿瘤组织常呈异

常表达。HEIH 是由 RNA 聚合酶 II 转录而来,被多聚腺苷酸化后,位于肝细胞细胞核和细胞质中,在原发性肝癌患者中被发现异常表达^[10]。马庆等^[11]的研究表明,LncRNA-HEIH 水平在乙型肝炎相关肝硬化患者及肝癌患者中明显升高,可用于预测肝硬化及肝癌的发生。GP73 是高尔基体上的一种跨膜蛋白,其末端的螺旋结构能够作为蛋白作用的位点,与运输蛋白的转运、结合、黏附功能有关,在肝病患者中高表达^[12]。孙艳华等^[13]的研究指出,GP73 联合其他肿瘤标志物检测可提高诊断的准确率,对疾病早期诊断、治疗、病情监测意义重大。本研究结果显示,原发性肝癌患者 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平明显升高,说明这些指标与疾病的发生、发展密切相关。

根据不同临床病理特征分组后发现,LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平在 TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、分化程度为低分化和有门静脉癌栓、淋巴结转移、肝外转移的患者中明显升高($P<0.05$)。TNM 分期是临床上比较常用的实体肿瘤分期标准,分期越高,恶性程度越高,血清肿瘤标志物水平也越高^[14]。分化程度是反映肿瘤细胞接近正常细胞的程度,分化程度越低,恶性程度越高^[15]。出现门静脉癌栓的原发性肝癌患者病灶内的癌细胞团与原发性肝癌的侵犯程度、生长速度有关,还可能导致癌细胞的转移^[16]。淋巴结转移、肝外转移也与原发性肝癌的发生、发展密切相关^[17]。本研究所得结果说明这些指标与部分临床病理特征密切相关,这与上述研究相契合。本研究中 Spearman 相关分析结果也印证了这一观点。

综上所述,原发性肝癌患者 LncRNA-HEIH、GP73、AFP 水平明显升高,且与临床病理特征密切相关,以上指标检测对原发性肝癌患者的早期诊断及病情评估具有重要意义,值得临床推广应用。但此次研究样本量较小,且为回顾性分析,有待日后扩大样本量进行更深层次的研究来佐证结果。

参考文献

[1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018[J]. Int J Cancer, 2019, 144(8):1941-1953.

[2] 李富. 乙型肝炎性原发性肝癌患者乙肝病毒 DNA 载量与免疫功能的相关性[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(14): 2474-2477.

[3] 茹利新, 钟婧, 徐佳敏, 等. LncRNA-HEIH/EZH_2 通路

在肝癌中的作用及血清学表达意义[J]. 肿瘤学杂志, 2019, 25(12):1075-1079.

[4] 孙振宇, 袁旦平, 徐力善. GP73 与肝癌临床诊断和治疗的研究进展[J]. 肝脏, 2020, 25(2):214-216.

[5] 黄庆国, 汤鸿, 李鹏泽, 等. 肝癌患者手术前后血清 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平变化及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):1518-1526.

[6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(2):277-292.

[7] 黄维. 原发性肝癌早期诊断中 AFP、AFP-L3、Fer、TSGF 检验的准确性[J]. 中国现代医生, 2021, 59(2):93-99.

[8] 郁森, 秦兵, 胡道军, 等. 血清甲胎蛋白、高尔基体蛋白 73、 α -L-岩藻糖苷酶、血清铁蛋白联合检测在原发性肝癌早期诊断中的价值[J]. 实用临床医药杂志, 2020, 24(20): 37-39.

[9] 朱波, 吴君荣, 舒宏, 等. 血清对氧磷酶 1 水平在甲胎蛋白阴性原发性肝癌中的诊断价值[J]. 中国医药导报, 2019, 16(19):156-159.

[10] 冯羽昕, 朱春荣. lncRNA-HEIH 在肿瘤中的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2021, 35(1):87-90.

[11] 马庆, 吕宗军. LncRNA-HEIH 和 LncRNA-HULC 与乙型肝炎相关性肝病的相关性[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(23):2863-2866.

[12] 万佳红, 唐晓旭. AFP、GGT、GP73 联合诊断早期原发性肝癌的价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(12): 1467-1469.

[13] 孙艳华, 夏瑞雪, 王宁, 等. AFP-L3、AFP、GP73、ALP 联合检测对原发性肝癌的诊断价值研究[J]. 肝脏, 2020, 25(1):63-66.

[14] 党存曙, 刘大鹏, 赵孟杰, 等. 不同 TNM 分期肝癌患者微血管密度与肿瘤标志物水平相关性研究[J]. 河北医药, 2017, 39(18):2725-2729.

[15] 谢石穿, 王伟. MRI-DWI 信号强度值联合血清 AFP、CA125 在判断小肝癌分化程度中的应用价值[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(10):1707-1710.

[16] 陈涵波, 王恒武, 陈夫军. 原发性肝癌伴门静脉癌栓患者预后的术前预测模型建立[J]. 肝脏, 2020, 25(10):1052-1054.

[17] 韦花媚, 陆海善, 韦仕喜, 等. 原发性肝细胞癌中 Ezrin 和 Survivin 的表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(15):29-32.

(收稿日期:2021-11-12 修回日期:2022-03-16)