

• 肿瘤介入 Tumor intervention •

肝细胞癌患者射频消融术后血清长链非编码 RNA LINC00205 表达量及临床意义

彭孝春, 陆 霜, 柳 扬, 顾福嘉

【摘要】 目的 探讨肝癌患者射频消融(RFA)术后血清长链非编码 RNA(LncRNA)LINC00205 表达量及临床意义。**方法** 选取 2016 年 1 月至 2018 年 9 月在贵州省人民医院接受治疗的 135 例肝癌患者作为研究对象。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测肝癌患者血清 LncRNA LINC00205 相对表达量,并分析其与患者预后的关系。**结果** 135 例肝癌患者随访期间 49 例复发(36.3%)。复发组和未复发组在肿瘤直径、分化程度,和血清白蛋白、总胆红素方面比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。复发组患者血清 LncRNA LINC00205 相对表达量高于未复发组,差异也有统计学意义($P<0.05$)。血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度分别为 0.825、83.67%、55.28%。高 LncRNA LINC00205 患者复发率高于低 LncRNA LINC00205 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。高 LncRNA LINC00205 患者中位生存时间低于低 LncRNA LINC00205 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Cox 回归分析显示分化程度及 LncRNA LINC00205 与肝癌患者复发密切相关。**结论** 血清 LncRNA LINC00205 与肝癌患者预后相关,检测血清 LncRNA LINC00205 表达情况有助于评估患者预后。

【关键词】 肝细胞癌;长链非编码 RNA LINC00205;预后

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2021)-04-0351-05

Serum long-chain non-coding RNA LINC00205 expression and its clinical significance in patients with hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation PENG Xiaochun, LU Shuang, LIU Yang, GU Fujia. Department of Interventional Radiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou Province 550001, China

Corresponding author: GU Fujia, E-mail: gfiyy@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of serum long-chain non-coding RNA(LncRNA) LINC00205 and its clinical significance in patients with hepatocellular carcinoma(HCC) after radiofrequency ablation(RFA). **Methods** A total of 135 HCC patients, who were admitted to the Guizhou Provincial People's Hospital of China between January 2016 and September 2018 to receive RFA, were enrolled in this study. Real-time fluorescence quantitative PCR(RT-PCR) was used to detect the relative expression of serum LncRNA LINC00205, and its relationship to the prognosis was analyzed. **Results** Of the 135 patients, the tumor recurrence during the follow-up period was observed in 49 (36.3%). Statistically significant differences in tumor diameter, differentiation degree of cancer cells, albumin level and total bilirubin level existed between the recurrent group and the non-recurrent group($P<0.05$). The relative expression of serum LncRNA LINC00205 in the recurrent group was higher than that in the non-recurrent group, the difference was statistically significant($P<0.05$). The area under the receiver operating characteristic curve(AUC), sensitivity, and specificity of serum LncRNA LINC00205 for evaluating the recurrence of HCC patients were 0.825, 83.67%, and 55.28%, respectively. The recurrence rate in high LncRNA LINC00205 group was higher than that in low LncRNA LINC00205 group, the difference was statistically significant($P<0.05$). The median survival time in patients of high LncRNA LINC00205 group was lower than that in patients of low LncRNA LINC00205 group, the

difference was statistically significant ($P < 0.05$). Cox regression analysis showed that the differentiation degree of cancer cells and LncRNA LINC00205 were closely related to the tumor recurrence in HCC patients.

Conclusion Serum LncRNA LINC00205 is closely related to the prognosis of HCC patients. The detection of serum LncRNA LINC00205 expression is helpful to evaluate the prognosis of patients. (J Intervent Radiol, 2021, 30: 351-355)

【Key words】 hepatocellular carcinoma; long-chain non-coding RNA LINC00205; prognosis

肝癌是临床常见的恶性肿瘤,据报道全世界每年约有 75 万新发病例^[1]。根治性切除术为治疗肝癌的首选方法,但肝癌起病隐匿,早期较难觉察,多数患者确诊时已为中晚期,因此丧失根治性切除治疗的机会^[2-3]。而部分肝癌患者对化疗药物不耐受,导致治疗中断^[4-5],因此急需寻找安全便捷、疗效确切的方法用于肝癌患者的治疗。射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)因具有安全、创伤小、操作简单、术后并发症少的优点,在肝癌的治疗中得到广泛认可^[6-7]。RFA 能改善肝癌患者生活质量,提高患者生存率,然而术后肿瘤复发对患者的长期生存造成严重影响,预后情况仍不乐观^[8]。及早预测肝癌患者预后对制定有效措施改善患者预后具有重要意义。但目前临床尚无用于预测肝癌患者预后的准确、灵敏的标记物。因此临床亟需探寻准确、敏感的生物标记物评估肝癌患者预后。长非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过 200 个核苷酸的新型非编码 RNA^[9],已有研究证实多种 lncRNA 参与肿瘤的发生、发展过程^[10-11]。Cui 等^[12]通过测序及微阵列技术发现长链非编码 RNA LINC00205(long non-coding RNA LINC00205, LncRNA LINC00205)在肝癌组织中异常表达。本研究冀为临床预测肝癌患者预后情况提供参考。

1 材料与方法

1.1 临床资料

前瞻性选取 2016 年 1 月至 2018 年 9 月在贵州省人民医院接受治疗的 135 例肝癌患者作为研究对象。参照《原发性肝癌规范化诊治专家共识》^[13]中关于肝癌诊断的内容对疑似肝癌患者进行诊断。纳入标准:①经病理活检确诊为肝癌且为初次确诊;②美国东部肿瘤协作组(eastern cooperative oncology group, ECOG)活动状态评分 < 1 分;③近期未接受化疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗等抗肿瘤治疗;④巴塞罗那分期(Barcelona Clinic Liver Cancer)A 期;⑤病灶数目 ≤ 3 个;⑥肿瘤直径 ≤ 5 cm;⑦签署知情同意书。排除标准:①合并其他部位肿瘤;②穿刺部

位皮肤溃破;③妊娠期及哺乳期妇女;④严重心、肾、肺等功能不全者;⑤肝功能 Child-Pugh C 级;⑥有严重出血倾向者;⑦大量腹腔积液;⑧肿瘤病灶邻近脉管或主要大血管;⑨随访失联者。135 例肝癌患者男 88 例,女 47 例,年龄 42~79 岁,平均 (65.0 ± 6.5) 岁。根据患者是否复发将患者分为复发组($n=49$)和未复发组($n=86$)。本研究获得本院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 RFA 治疗 患者于术前行血常规、肝肾功能及影像学检查。术中密切监测心电图、血压、呼吸等生命体征。患者在接受 RFA 治疗前保持空腹 4~6 h,全身静脉麻醉,采用超声确定病灶的位置、穿刺方向、角度及进针深度。2%利多卡因局麻,以实时超声透视下将 Chiba 针为导引针刺入病灶,将射频电极针沿导引针方向进入病灶。根据病灶大小、位置设定消融参数:瘤体直径 < 3 cm,温度 $90 \sim 110^\circ\text{C}$,时间 $20 \sim 30$ min。消融结束后退针并消融针道,术中超声造影复查消融结果,确定有无肿瘤残余及肝包膜下出血、气胸等症状。消融过程中,实时动态观察,确认导引针和消融针位置及方向正确。

1.2.2 血清学指标检测 抽取肝癌患者 RFA 术后 12 h 空腹外周静脉血 10 mL,室温下 $4\ 000$ r/min 离心 10 min,分离上层血清,置于 -80°C 冰箱,待测。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测肝癌患者血清 LncRNA LINC00205 相对表达量。Trizol 试剂提取的血清中的总 RNA,将 $2\ \mu\text{g}$ 的总 RNA 添加至 $20\ \mu\text{L}$ 反应液中,采用 Tianscript RT 反转录试剂盒(北京天根生化科技有限公司)反向转录合成 cDNA,最后 PCR 扩增。反应条件为: 94°C 10 min, 94°C 45 s, 60°C 45 s, 72°C 45 s, 40 个循环。LncRNA LINC00205 正向:5'-CCCTGGAGTCGGTGCTAAATAC-3', 反向:5'-TAGACTAGTGAGGGGGGCA-3'。 β -actin 正向:5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3', 反向:5'-GTCAGTCGCTTGGGCTGT-3'。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示 LncRNA LINC00205 相对表达量。

1.2.3 随访 采用复诊的方式对患者进行为期 12 个月的随访,了解患者复发情况,所有患者出院后均规律随访,每月检测甲胎蛋白、癌胚抗原、CA19-9 等肿瘤标志物,术后 6 个月每个月复查 1 次,其后每 3 个月复查 1 次。采用超声造影或增强 CT 复查,如影像学检查在肝内发现新病灶则经病理活检确诊。随访起始时间为 2017 年 1 月 17 日,截止时间为 2019 年 9 月 23 日,中位随访时间为 9 个月。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行数据处理。服从正态分布的计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料用例或率[$n(\%)$]表示,采用卡方检验。用受试者工作特征(ROC)曲线分析 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者预后的价值。采用 Kaplan-Meier 及 Cox 单因素及多因素回归分析影响肝癌患者预后的相关因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

135 例肝癌患者随访期间复发 49 例(36.3%)。两组在年龄、性别、体质量指数、HbsAg、ASA 分级、病灶位置方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);在肿瘤直径、分化程度,血清 AFP、白蛋白、总胆红素方面比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者预后的效能

复发组患者血清 LncRNA LINC00205 相对表达量为(3.52 ± 0.81),高于未复发组(3.19 ± 0.78),差异有统计学意义($t=2.331, P=0.021$)。血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的受试者工作特征(ROC)曲线的曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度、最佳截断点分别为 0.825(95%CI:0.750~0.885)、83.67%、55.28%、3.04。见图 1。

2.3 血清 LncRNA LINC00205 与肝癌患者预后的关系

根据血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的最佳截断点(3.04)将患者分为高 LncRNA LINC00205 组(LncRNA LINC00205 $\geq 3.04, n=71$)和低 LncRNA LINC00205 组(LncRNA LINC00205 $< 3.04, n=64$)。高 LncRNA LINC00205 组复发率为 52.11%(37/71),高于低 LncRNA LINC00205 组的 18.75%(12/64),差异有统计学意义($\chi^2=4.986, P=0.026$)。高 LncRNA LINC00205 组患者中位生存时间为 11 个月,低于低

表 1 两组基线资料比较

因素	复发组 ($n=49$)	未复发组 ($n=86$)	t/χ^2 值	P 值
年龄/岁	65.9 \pm 6.8	64.5 \pm 6.4	1.242	0.216
性别/ $n(\%)$			0.532	0.466
男	30(61.2)	58(67.4)		
女	19(38.8)	28(32.6)		
体质量指数(kg/m^2)	22.83 \pm 3.18	23.35 \pm 3.26	0.899	0.370
HbsAg/ $n(\%)$			0.503	0.478
阴性	11(22.5)	15(17.4)		
阳性	38(77.6)	71(82.6)		
肿瘤直径/ $n(\%)$			8.991	0.003
≥ 3 cm	23(46.9)	19(22.1)		
< 3 cm	26(53.1)	67(77.9)		
AFP/ $n(\%)$			3.897	0.048
≥ 400 $\mu\text{g}/\text{L}$	28(57.1)	34(39.5)		
< 400 $\mu\text{g}/\text{L}$	21(42.9)	52(60.5)		
ASA 分级/ $n(\%)$			0.859	0.354
I ~ II	33(67.4)	51(59.3)		
III	14(32.7)	35(40.7)		
病灶位置/ $n(\%)$			0.348	0.555
单侧	30(61.2)	57(66.3)		
双侧	19(38.8)	29(33.7)		
分化程度/ $n(\%)$			5.358	0.021
高、中分化	15(30.6)	44(51.2)		
低分化	34(69.4)	42(48.8)		
白蛋白/ (g/L)	43.62 \pm 4.74	36.08 \pm 4.21	9.555	< 0.001
总胆红素/ $(\mu\text{mol}/\text{L})$	41.73 \pm 4.52	34.83 \pm 4.15	8.992	< 0.001

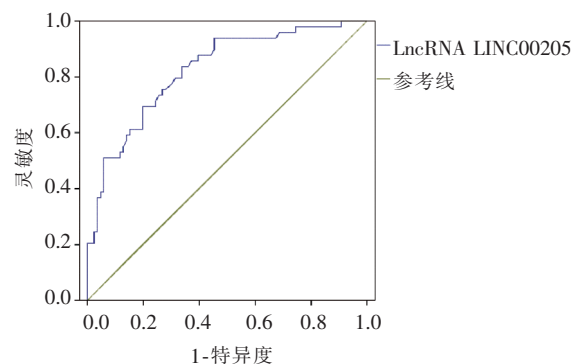


图 1 血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的 ROC 曲线

LncRNA LINC00205 组的 12 个月,差异有统计学意义(Log Rank Chi-square=14.361, $P<0.001$)。见图 2。

2.4 影响肝癌患者预后的因素

将年龄、性别、体质量指数、HbsAg、肿瘤直径、AFP、ASA 分级、病灶位置、分化程度、白蛋白、总胆红素及 LncRNA LINC00205 作为自变量,将肝癌患者预后情况作为因变量纳入 Cox 单因素回归分析,结果显示肿瘤直径、分化程及 LncRNA LINC00205 可能与肝癌患者复发存在联系。按纳入标准 $\alpha\leq 0.10$,将上述因素纳入 Cox 多因素分析,结果显示分化程度

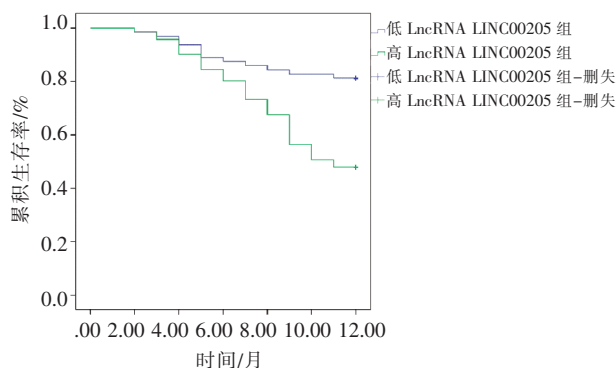


图 2 血清 LncRNA LINC00205 与肝癌患者预后的关系

及 LncRNA LINC00205 与肝癌患者复发密切相关。(表 2, 表 3)

表 2 赋值情况

因素	赋值
性别	女=0, 男=1
HbsAg	阴性=0, 阳性=1
肿瘤直径	<3 cm=0, ≥3 cm=1
AFP	<400 μg/L=0, ≥400 μg/L=1
ASA 分级	I ~ II 级=0, III 级=1
病灶位置	单侧=0, 双侧=1
分化程度	高、中分化=0, 低分化=1
预后	未复发=0, 复发=1

表 3 影响肝癌患者预后的因素

因素	Cox 单因素			Cox 多因素		
	HR	95%CI	P 值	HR	95%CI	P 值
年龄	1.243	0.638~2.426	0.301	—	—	—
性别	1.015	0.663~1.980	0.434	—	—	—
体质量指数	0.852	0.512~1.572	0.585	—	—	—
HbsAg	1.323	0.982~2.756	0.202	—	—	—
肿瘤直径	1.816	1.047~3.582	0.027	1.029	0.908~2.028	0.112
AFP	1.422	0.742~2.534	0.165	—	—	—
ASA 分级	1.117	0.782~2.343	0.362	—	—	—
病灶位置	1.273	0.703~2.485	0.283	—	—	—
分化程度	3.072	1.583~6.104	<0.001	2.351	1.205~4.583	0.024
白蛋白	0.956	0.554~1.834	0.516	—	—	—
总胆红素	1.582	0.794~3.052	0.108	—	—	—
LncRNA LINC00205	2.783	1.407~5.388	<0.001	1.952	1.085~3.892	0.047

3 讨论

近年来, RFA 治疗在治疗肝癌方面取得一定的疗效, 然而, 由于肝癌具有血供丰富、浸润性生长的特点导致 RFA 在治疗肝癌时可能发生癌细胞残留, 影响患者预后情况^[14-16]。因此需探寻可用于肝癌患者预后评估的指标。目前, 关于 LncRNA LINC00205 在肿瘤中的作用已有初步研究, 有证据表明, LncRNA LINC00205 在肝癌组织中异常表达^[12]。但关于 LncRNA LINC00205 与肝癌患者预后的关系尚未可知, 因此本研究就 LncRNA LINC00205 与肝

癌患者预后的关系进行探讨。

本研究通过对肝癌患者进行为期 12 个月的随访, 了解患者预后情况, 结果发现 135 例患者 12 个月内复发率约为 36.30%, 与施显茂等^[17]研究结果相近。本课题同时比较不同预后患者血清 LncRNA LINC00205 相对表达量, 结果提示检测血清 LncRNA LINC00205 有助于评估肝癌患者复发情况。由此构建了血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的 ROC 曲线, 表明血清 LncRNA LINC00205 评估肝癌患者复发的效能较高; 高 LncRNA LINC00205 组患者复发率高于低 LncRNA LINC00205 组、中位生存时间低于低 LncRNA LINC00205 组, 表明血清 LncRNA LINC00205 可能与肝癌患者复发相关。肝癌复发情况受多种因素影响, 采用 Cox 单因素及多因素回归分析影响肝癌患者复发的因素, 结果显示分化程度与肝癌患者复发密切相关, 结果与 Murakami 等^[18]研究相符。此外, 本研究结果显示 LncRNA LINC00205 与肝癌患者复发密切相关。

基础研究表明, 敲除 LncRNA LINC00205 基因后, miR-122-5p 表达量明显升高, 两者呈竞争性抑制的关系^[19]。微 RNA-122-5p (microRNA-122-5p, miR-122-5p) 与肝癌的发生、发展关系密切^[20]。miR-122-5p 主要在肝脏中表达, 参与肝脏多个生理学过程, 如应激反应和脂质代谢过程^[21-22]。miR-122-5p 可通过调节 SRF 蛋白介导的上皮-间充质转化过程抑制癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[23]。此外, miR-122-5p 的过表达可降低 B 细胞淋巴因子- ω 和细胞周期蛋白 cyclin G1 的表达, 进而触发癌细胞的细胞周期停滞并导致癌细胞凋亡^[24]。因此笔者推测 LncRNA LINC00205 可能通过调节 miR-122-5p 的表达参与肝癌的疾病进程。

本研究存在一定不足, 仅测定了一个时间点的 LncRNA LINC00205 表达情况, 且未进行基础研究。下一步将动态监测 LncRNA LINC00205 表达情况并进行基础研究, 分析 LncRNA LINC00205 影响肝癌患者预后的病理生理机制。

综上所述, 检测血清 LncRNA LINC00205 表达情况有助于评估肝癌患者预后情况。

[参考文献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68: 394-424.

- [2] 任衍乔, 郑传胜. 肝癌射频消融术后各种影像学评价应用与进展[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27:89-92.
- [3] De Gaetano AM, Catalano M, Pompili M, et al. Critical analysis of major and ancillary features of LI - RADS v2018 in the differentiation of small (≤ 2 cm) hepatocellular carcinoma from dysplastic nodules with gadobenate dimeglumine-enhanced magnetic resonance imaging[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23:7786-7801.
- [4] Lucatelli P, Ginnani Corradini L, De Rubeis G, et al. Balloon-occluded transcatheter arterial chemoembolization(b-TACE) for hepatocellular carcinoma performed with polyethylene-glycol epirubicin-loaded drug-eluting embolics: safety and preliminary results[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2019, 42:853-862.
- [5] Sheng J, Qin H, Zhang K, et al. Targeting autophagy in chemotherapy-resistant of hepatocellular carcinoma[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8:354-365.
- [6] Lee S, Kang TW, Cha DI, et al. Radiofrequency ablation versus surgery for perivascular hepatocellular carcinoma: propensity score analyses of long-term outcomes[J]. J Hepatol, 2018, 69:70-78.
- [7] Yee LW, Lai ECH. Loco-regional intervention for hepatocellular carcinoma[J]. J Intervent Med, 2019, 2:43-46.
- [8] Tsukamoto M, Yamashita YI, Imai K, et al. Long-term favorable outcomes of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma as an initial treatment: a single-center experience over a 10-year period[J]. Anticancer Res, 2018, 38:1047-1052.
- [9] Birgani MT, Hajjari M, Shahrisa A, et al. Long non-coding RNA SNHG6 as a potential biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Pathol Oncol Res, 2018, 24:329-337.
- [10] Liu Y, Yang Y, Wang T, et al. Long non-coding RNA CCAL promotes hepatocellular carcinoma progression by regulating AP-2 α and Wnt/ β -catenin pathway[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 109:424-434.
- [11] Zhao L, Zhang Y, Zhang Y. Long noncoding RNA CASC2 regulates hepatocellular carcinoma cell oncogenesis through miR-362-5p/Nf- κ B axis[J]. J Cell Physiol, 2018, 233:6661-6670.
- [12] Cui H, Zhang Y, Zhang Q, et al. A comprehensive genome-wide analysis of long noncoding RNA expression profile in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Med, 2017, 6:2932-2941.
- [13] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 原发性肝癌规范化诊治专家共识[J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14:259-269.
- [14] Gao W, Lu YX, Wang F, et al. miRNA-217 inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells by regulating KLF5[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23:7874-7883.
- [15] 王 鹏, 任卫东. 射频消融治疗肝细胞癌的机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33:359-363.
- [16] Soresi M, Licata A, Giannitrapani L, et al. Waiting-time and quality of care deserved to patients with early stage hepatocellular carcinoma undergoing RFA treatment[J]. Ann Hepatol, 2017, 16:699-701.
- [17] 施显茂, 陈 洁, 麦荣云, 等. 乙肝相关性巴塞罗那 A 期肝细胞癌术后早期复发转移的危险因素分析[J]. 中华普通外科杂志, 2019, 34:97-99.
- [18] Murakami Y, Tamori A, Itami S, et al. The expression level of miR-18b in hepatocellular carcinoma is associated with the grade of malignancy and prognosis[J]. BMC Cancer, 2013, 13:99-99.
- [19] Zhang L, Wang Y, Sun J, et al. LINC00205 promotes proliferation, migration and invasion of HCC cells by targeting miR-122-5p[J]. Pathol Res Pract, 2019, 215:152515.
- [20] 何 佳, 肖 斌, 杭建峰, 等. 血清 miR-122-5p 和 miR-486-5p 在肝癌诊断中的临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41:41-46.
- [21] Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, et al. Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress[J]. Cell, 2006, 125:1111-1124.
- [22] Esau C, Davis S, Murray SF, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting[J]. Cell Metab, 2006, 3:87-98.
- [23] Bai S, Nasser MW, Wang B, et al. MicroRNA-122 inhibits tumorigenic properties of hepatocellular carcinoma cells and sensitizes these cells to sorafenib[J]. J Biol Chem, 2009, 284:32015-32027.
- [24] Ergun S, Ulasli M, Igci YZ, et al. The association of the expression of miR-122-5p and its target ADAM10 with human breast cancer[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42:497-505.

(收稿日期:2019-12-13)

(本文编辑:俞瑞纲)