

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.20.009  
文章编号: 1005-8982(2020)20-0043-05

## 长链非编码 RNA CCHE1 在乙型肝炎病毒感染 相关肝癌组织中的表达及其临床意义

毛彦杰, 李文

(绍兴第二医院 感染性疾病科, 浙江 绍兴 312000)

**摘要: 目的** 探讨长链非编码 RNA CCHE1 (lncRNA CCHE1) 在乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中的表达及临床意义。**方法** 选取 2012 年 1 月—2014 年 12 月绍兴第二医院收治的 94 例乙型肝炎病毒感染相关肝癌患者的肝癌组织及其癌旁组织。采用 RT-PCR 测定肝癌组织和癌旁组织中 lncRNA CCHE1 的表达。**结果** 肝癌组织 lncRNA CCHE1 表达较癌旁组织高 ( $P < 0.05$ )。肿瘤直径  $\geq 5$  cm, TNM 分期 III、IV 期, 有门静脉癌栓及有淋巴结转移患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达较肿瘤直径  $< 5$  cm, TNM 分期 I、II 期, 无门静脉癌栓, 及无淋巴结转移患者高 ( $P < 0.05$ )。lncRNA CCHE1 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.814 (95% CI: 0.811, 0.817), 敏感性为 72.31% (95% CI: 0.693, 0.734), 特异性为 79.24% (95% CI: 0.743, 0.831)。低表达组 5 年生存率较高表达组高 ( $P < 0.05$ )。两组 5 年生存曲线比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** 乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达升高, 其与临床病理特征关系密切, 在疾病诊断、预后评估中具有一定价值。

**关键词:** 肝炎, 乙型; 肝肿瘤; 预后

**中图分类号:** R512.62

**文献标识码:** A

## Expression and clinical significance of long-chain non-coding RNA CCHE1 in hepatitis B virus infection-related liver cancer tissues

Yan-jie Mao, Wen Li

(Department of Infectious Diseases, Shaoxing Second Hospital, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression and clinical significance of long-chain non-coding RNA CCHE1 (lncRNA CCHE1) in hepatitis B virus infection-related liver cancer tissues. **Methods** The liver cancer tissues and adjacent tissues of 94 patients with hepatitis B virus infection-related liver cancer in Shaoxing Second Hospital from January 2012 to December 2014 were selected for research. Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to determine the expression level of lncRNA CCHE1 in liver cancer tissues and adjacent tissues. **Results** The expression level of lncRNA CCHE1 in liver cancer tissue was higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). There were no statistically significant difference in the expression levels of lncRNA CCHE1 in liver cancer tissues of patients of different ages, genders and degrees of alcoholism ( $P > 0.05$ ). The lncRNA CCHE1 expression levels in patients with tumor diameter  $\geq 5$  cm, TNM stage III and IV cancer, portal vein tumor thrombus, and lymph node metastasis were higher than those in patients with tumor diameter  $< 5$  cm, TNM stage I and II cancer, no portal vein tumor thrombus, and no lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The area under the ROC curve for the diagnosis of liver cancer by lncRNA CCHE1 was 0.814 (95% CI: 0.811, 0.817), the sensitivity was 72.31% (95% CI: 0.693, 0.734), and the specificity was 79.24% (95% CI: 0.743, 0.831). The 5-year survival rate (46.81%) of patients with low expression in lncRNA CCHE1 was higher than that of patients with high expression in lncRNA CCHE1

收稿日期: 2020-04-20

(19.15%) ( $\chi^2 = 8.134, P = 0.004$ ). **Conclusions** The expression level of lncRNA CCHE1 in hepatitis B virus infection-related liver cancer tissues is increased and is closely related to the clinicopathological characteristics, which is of certain value in disease diagnosis and prognosis evaluation.

**Keywords:** long non-coding RNA CCHE1; hepatitis B; liver cancer; diagnosis; prognosis

原发性肝癌为常见恶性肿瘤之一,其预后差,发病率和病死率较高。乙型肝炎病毒感染是我国主要的肝炎感染类型,乙型肝炎病毒感染是原发性肝癌的独立危险因素和主要病因;在肝癌患者中,乙型肝炎病毒感染占全肝癌病因的 70%<sup>[1]</sup>。随着医疗水平的进步,肝癌的诊疗方法不断趋于成熟,但其术后 5 年复发率仍较高,预后较差,缺乏有效的监测靶点和有效的诊疗是肝癌预后差的主要原因。长链非编码 RNA (lncRNA) 具有多种生物学功能,近年来研究发现多种 lncRNA 参与癌基因或抑癌基因恶性肿瘤的发生、发展<sup>[2-3]</sup>。lncRNA CCHE1 在宫颈癌、甲状腺癌等恶性肿瘤中表达升高,与甲状腺癌等恶性肿瘤的临床分期、淋巴结转移关系密切,可作为甲状腺癌诊断和预后评估的潜在标志物<sup>[4-5]</sup>。有研究发现 lncRNA CCHE1 在肝细胞癌组织和细胞中呈高表达,具有促进肝细胞癌细胞增殖,抑制肝细胞癌凋亡的作用<sup>[6]</sup>。笔者对 lncRNA CCHE1 在乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中的表达及在乙型肝炎病毒感染相关肝癌诊断、病情判断及预后评估中的价值进行研究,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2012 年 1 月—2014 年 12 月绍兴第二医院收治的 94 例乙型肝炎病毒感染相关肝癌患者的肝癌组织及其癌旁组织。其中,男性 67 例、女性 27 例;平均年龄 ( $53.64 \pm 7.14$ ) 岁;酗酒 50 例;平均肿瘤直径 ( $5.13 \pm 1.06$ ) cm;门静脉癌栓 25 例,淋巴结转移 18 例。癌旁组织取自肝癌组织外缘 3 cm 外的肝组织。纳入标准:①患者进行手术治疗,均经乙型肝炎病毒感染相关指标及术后病理检查证实为乙型肝炎病毒感染相关肝癌(其对应选取的癌旁组织经病理证实为健康肝组织);②术前未进行放、化疗等其他治疗;③酗酒患者饮酒规律,男性平均酒精摄入量  $>60$  g/d,女性平均酒精摄入量  $>40$  g/d<sup>[7]</sup>。排除标准:①甲、丙、丁及戊型肝炎病毒相关肝癌患者;②继发性肝癌患者;③其他恶性肿瘤患者;④糖尿病、高血压等其他疾病

者;⑤失访者;⑥随访资料不完整者。本研究经医院伦理委员会审批后进行。

### 1.2 方法

采用 RT-PCR 测定肝癌组织和癌旁组织中 lncRNA CCHE1 的表达。将肝癌组织及癌旁组织碾碎,加入 Trizol 提取总 RNA (Trizol 试剂盒购自美国 Sigma 公司),将总 RNA 逆转录为 cDNA (逆转录试剂盒购自美国 ABI 公司),进行 PCR 扩增,反应条件:94℃ 预变性 10 min,94℃ 变性 15 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,共 42 个循环。以 GAPDH 为内参。lncRNA CCHE1 相对表达量以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算。CCHE1 引物正向引物:5'-AAGGTCCCAGGATACTCGC-3',反向引物:5'-GTGTCTGGACTGGCAAAAT-3',长度 24 bp。所有患者采取门诊和电话随访,随访开始时间为手术结束当日,随访结束日期为 2019 年 12 月 31 日或死亡日。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,比较用  $t$  检验;计数资料以率 (%) 表示,比较用  $\chi^2$  检验;绘制 ROC 曲线, Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肝癌组织和癌旁组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量比较

肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量为 ( $1.57 \pm 0.10$ ),癌旁组织为 ( $1.00 \pm 0.09$ ),经  $t$  检验,差异有统计学意义 ( $t = 41.077, P = 0.000$ ),肝癌组织较癌旁组织高。

### 2.2 不同临床病理特征患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量比较

不同年龄、性别、酗酒患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。不同肿瘤直径、TNM 分期、门静脉癌栓及淋巴结转移患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表

达量比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 肿瘤直径  $\geq 5$  cm, TNM 分期 III、IV 期, 有门静脉癌栓, 及有淋巴结转移患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达较肿瘤直径  $< 5$  cm, TNM 分期 I、II 期, 无门静脉癌栓, 及无淋巴结转移患者高。见表 1。

表 1 不同临床病理特征患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量比较

临床病理特征	n	lncRNA CCHE1	t 值	P 值
<b>年龄</b>				
$\geq 50$ 岁	62	1.59 $\pm$ 0.17	1.686	0.095
$< 50$ 岁	32	1.53 $\pm$ 0.15		
<b>性别</b>				
男	67	1.58 $\pm$ 0.16	1.058	0.293
女	27	1.54 $\pm$ 0.18		
<b>酗酒</b>				
有	50	1.60 $\pm$ 0.17	1.384	0.170
无	44	1.55 $\pm$ 0.18		
<b>肿瘤直径</b>				
$\geq 5$ cm	49	1.64 $\pm$ 0.15	3.753	0.000
$< 5$ cm	45	1.52 $\pm$ 0.16		
<b>TNM 分期</b>				
I、II 期	51	1.48 $\pm$ 0.14	7.433	0.000
III、IV 期	43	1.71 $\pm$ 0.16		
<b>门静脉癌栓</b>				
有	25	1.68 $\pm$ 0.13	5.611	0.000
无	69	1.49 $\pm$ 0.15		
<b>淋巴结转移</b>				
有	18	1.74 $\pm$ 0.18	7.327	0.000
无	76	1.47 $\pm$ 0.13		

### 2.3 肝癌组织中 lncRNA CCHE1 对肝癌的诊断价值

以 1.46 为诊断阈值, lncRNA CCHE1 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.814 (95% CI: 0.811, 0.817), 敏感性为 72.31% (95% CI: 0.693, 0.734), 特异性为 79.24% (95% CI: 0.743, 0.831)。见图 1。

### 2.4 lncRNA CCHE1 表达与肝癌患者总生存率的关系

以 lncRNA CCHE1 中位数为界将患者分为高表达组和低表达组, 各 47 例。随访 5 年, 高表达组平均生

存时间为 33.02 个月, 生存率为 19.15%, 低表达组平均生存时间为 46.57 个月, 生存率为 46.81%。两组生存率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 8.134, P = 0.004$ ), 低表达组较高表达组高。两组 5 年生存曲线比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.483, P = 0.007$ )。见图 2。

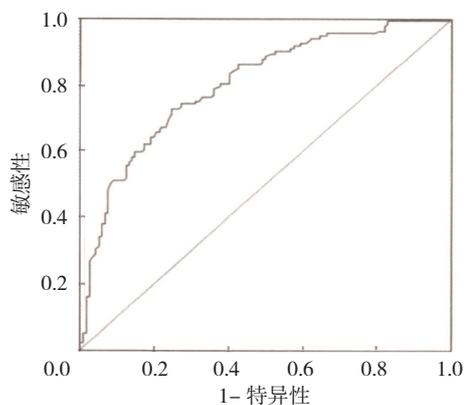


图 1 肝癌组织中 lncRNA CCHE1 诊断肝癌的 ROC 曲线

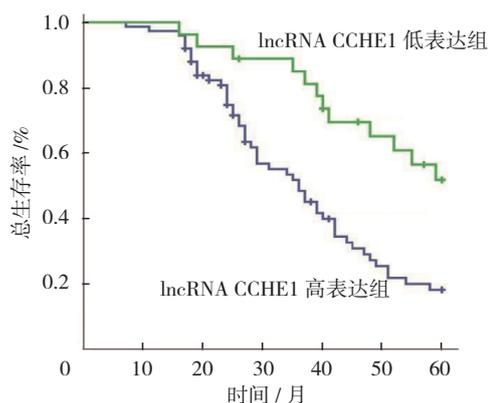


图 2 lncRNA CCHE1 高表达组和低表达组的生存曲线

## 3 讨论

lncRNA 长度  $> 200$  个核苷酸, 为一种非编码 RNA<sup>[8]</sup>。在细胞所有的 RNA 中, lncRNA 的数量远远超过 mRNA, mRNA 占细胞所有 RNA 的 2% 左右, lncRNA 所占比例  $> 90\%$ <sup>[9-10]</sup>。有研究发现 lncRNA 在转录后调控、表观遗传调控、剂量补偿效应等多种生命活动中发挥重要作用<sup>[11-12]</sup>。lncRNA 在恶性肿瘤的发生、发展中也发挥重要作用, 研究 lncRNA 为解释恶性肿瘤的发生、发展机制带来了新希望<sup>[13-15]</sup>。近年来 lncRNA 在肝癌的发病中的作用也受到大家关注, 有研究发现多种 lncRNA 参与肝癌的发生、发展过程, 如 lncRNA HAR1A 和 HAR1B 在中国乙肝病病毒型肝癌中表达异常<sup>[16-19]</sup>。

笔者对乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达进行研究,发现乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达升高。lncRNA CCHE1 位于人类第 10 号染色体基因上,最早发现 lncRNA CCHE1 在宫颈癌组织中高表达, lncRNA CCHE1 过度表达导致宫颈癌预后不良<sup>[20]</sup>。后来发现 lncRNA CCHE1 在多种恶性肿瘤组织中表达异常,参与多种恶性肿瘤的发病过程,如熊晶等<sup>[21]</sup>研究发现乳腺癌组织中 lncRNA CCHE1 表达升高,乳腺癌组织中 lncRNA CCHE1 与乳腺癌临床分期、淋巴结转移、肿瘤复发、预后指数相关,是乳腺癌的独立预后分子标志物; GABALLAH 等<sup>[22]</sup>发现 lncRNA-CCHE1 在大肠癌中表达异常,与大肠癌的临床病理特征关系密切。XU 等<sup>[23]</sup>发现 lncRNA CCHE1 参与胃癌细胞的增殖和凋亡过程; LIAO 等<sup>[24]</sup>研究发现 lncRNA CCHE1 可促进非小细胞肺癌的增殖、侵袭、迁移,可以预后非小细胞肺癌的预后; JIN 等<sup>[25]</sup>发现 lncRNA-CCHE1 可参与胰腺癌细胞的侵袭、迁移过程。故结合本研究结果和既往研究结果,分析 lncRNA CCHE1 可能参与乙型肝炎病毒感染相关肝癌的发生、发展过程,其原因可能与 lncRNA CCHE1 具有影响恶性肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移有关。

本研究结果显示,肿瘤直径  $\geq 5$  cm, TNM 分期 III、IV 期,有门静脉癌栓,有淋巴结转移患者肝癌组织中 lncRNA CCHE1 表达水平较肿瘤直径  $< 5$  cm, TNM 分期 I、II 期,无门静脉癌栓,无淋巴结转移患者高。表明肝癌组织中 lncRNA CCHE1 相对表达量可反映患者病情的严重程度,分析 lncRNA CCHE1 可能通过促进恶性肿瘤细胞增殖,抑制恶性肿瘤细胞凋亡,从而促进乙型肝炎病毒感染相关肝癌细胞增殖,故肿瘤直径大者 lncRNA CCHE1 相对表达量高。lncRNA CCHE1 具有促进恶性肿瘤细胞侵袭、迁移的作用,故 lncRNA CCHE1 可能通过促进肝癌细胞的侵袭、迁移,导致乙型肝炎病毒感染相关肝癌的 TNM 分期升高、淋巴结转移、门静脉癌栓等。本研究同时发现 lncRNA CCHE1 诊断肝癌的 AUC 为 0.814 (95% CI: 0.811, 0.817), 敏感性为 72.31% (95% CI: 0.693, 0.734), 特异性为 79.24% (95% CI: 0.743, 0.831); lncRNA CCHE1 低表达组的 5 年生存率 (46.81%) 较高表达组 (19.15%) 高。表明 lncRNA CCHE1 在乙型肝炎病毒感染相关肝癌的诊断和预后评价中具有一定的指导价值。本研究中, ROC 曲线评估 lncRNA CCHE1 诊

断肝癌的 AUC 为 0.814, 具有较高的价值, 但敏感性, 特异性不高, 表明其在乙型肝炎病毒感染相关肝癌的诊断中具有一定局限性, 单独靠 lncRNA CCHE1 指标进行诊断有不足之处, 在临床上尚需结合病史及其他指标对乙型肝炎病毒感染相关肝癌进行诊断, lncRNA CCHE1 在乙型肝炎病毒感染相关肝癌的诊断中具有一定的辅助指导价值。

综上所述, lncRNA CCHE1 可能参与乙型肝炎病毒感染相关肝癌的发生、发展, 检测其表达对乙型肝炎病毒感染相关肝癌的病情评价、诊断和预后评估中具有一定的辅助指导价值。

#### 参 考 文 献:

- [1] 焦娇, 郭意男, 章国君, 等. 乙型肝炎肝硬化进展原发性肝癌的危险因素研究 [J]. 预防医学, 2019, 31(4): 363-366.
- [2] MALAKAR P, STEIN I, SARAGOVI A, et al. Long noncoding rna malat1 regulates cancer glucose metabolism by enhancing mtor-mediated translation of TCF7L2[J]. Cancer Res, 2019, 79(10): 2480-2493.
- [3] ANGENARD G, MERDRIGNAC A, LOUIS C, et al. Expression of long non-coding RNA ANRIL predicts a poor prognosis in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Dig Liver Dis, 2019, 51(9): 1337-1343.
- [4] NAGHASHI N, GHORBAN S. Clinical important dysregulation of long non-coding RNA CCHE1 and HULC in carcinogenesis of cervical cancer[J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(5): 5419-5424.
- [5] 许春晖. 甲状腺癌组织中 lncRNA CCHE1 水平及其临床意义 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(1): 59-62.
- [6] PENG W, FAN H. Long noncoding RNA CCHE1 indicates a poor prognosis of hepatocellular carcinoma and promotes carcinogenesis via activation of the ERK/MAPK pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83(56): 450-455.
- [7] 张杨阳, 孙瑛玮, 韩树海. 酗酒老年患者全麻术后早期认知功能的改变 [J]. 临床麻醉学杂志, 2016, 32(5): 445-448.
- [8] JIANG B, YANG B, WANG Q, et al. lncRNA PVT1 promotes hepatitis B virus-positive liver cancer progression by disturbing histone methylation on the c-Myc promoter[J]. Oncol Rep, 2020, 43(2): 718-726.
- [9] HUANG L, LIN H C, KANG L, et al. Aberrant expression of long noncoding RNA SNHG15 correlates with liver metastasis and poor survival in colorectal cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 7032-7039.
- [10] YANG Y, CHEN Q, PIAO H Y, et al. HNRNPAB-regulated lncRNA-ELF209 inhibits the malignancy of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2020, 146(1): 169-180.
- [11] WANG C R, KE S Y, LI M Z, et al. Downregulation of lncRNA GAS5 promotes liver cancer proliferation and drug resistance by decreasing PTEN expression[J]. Mol Genet Genomics, 2020, 295(1): 251-260.

- [12] FU X Y, WANG Y W, WU G, et al. Long noncoding RNA PURPL promotes cell proliferation in liver cancer by regulating p53[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(6): 4998-5006.
- [13] SHI Z T, WEI D, WU H M, et al. Long non-coding RNA snaR is involved in the metastasis of liver cancer possibly through TGF- $\beta$ 1[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(6): 5565-5571.
- [14] DONG H, ZHANG Y, XU Y, et al. Downregulation of long non-coding RNA MEG3 promotes proliferation, migration, and invasion of human hepatocellular carcinoma cells by upregulating TGF- $\beta$ 1[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2019, 51(6): 645-652.
- [15] XIONG L, HE X Q, CHEN J Y, et al. Long non-coding RNA miR143HG predicts good prognosis and inhibits tumor multiplication and metastasis by suppressing mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling pathways in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepato Res*, 2019, 49(8): 902-918.
- [16] ZHANG Z, WANG S Q, YANG F, et al. LncRNA ROR1-AS1 high expression and its prognostic significance in liver cancer[J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(1): 55-74.
- [17] ZHANG Y, ZHOU H Y. LncRNA BCAR4 promotes liver cancer progression by upregulating ANAPC11 expression through sponging miR-1261[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(1): 159-166.
- [18] MOTAWI T M K, EL-MARAGHY S A, SABRY D, et al. The expression of long non coding RNA genes is associated with expression with polymorphisms of HULC rs7763881 and MALAT1 rs619586 in hepatocellular carcinoma and HBV Egyptian patients[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 14645-14656.
- [19] SHI Z J, LUO Y, ZHU M H, et al. Expression analysis of long non-coding RNA har1a and har1b in hbv-induced hepatocellular carcinoma in chinese patients[J]. *Lab Med*, 2019, 50(2): 150-157.
- [20] CHEN Y, WANG C X, SUN X X, et al. Long non-coding RNA CCHE1 overexpression predicts a poor prognosis for cervical cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(3): 479-483.
- [21] 熊晶, 王渝, 王君, 等. 乳腺癌组织中 lncRNA CCHE1 水平及其临床意义 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2018, 23(6): 519-523.
- [22] GABALLAH H H, GABER R A, ELRASHIDY M A, et al. Expression of long non-coding RNA CCHE1 in colorectal carcinoma: correlations with clinicopathological features and ERK/COX-2 pathway[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(1): 657-667.
- [23] XU G, ZHANG Y, LI N, et al. LncRNA CCHE1 in the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(9): 2631-2637.
- [24] LIAO Y, CHENG S, XIANG J, et al. LncRNA CCHE1 increased proliferation, metastasis and invasion of non-small lung cancer cells and predicted poor survival in non-small lung cancer patients[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(6): 1686-1692.
- [25] JIN X, YE L, LIN M, et al. LncRNA-CCHE1 is involved in migration and invasion but not in proliferation of pancreatic adenocarcinoma cells possibly by interacting with ROCK1[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(2): 1218-1224.

(李科 编辑)

本文引用格式: 毛彦杰, 李文. 长链非编码 RNA CCHE1 在乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(20): 43-47.