

• 论 著 •

基于生物信息学分析 LPA 与肝癌发生、预后的相关性^{*}

左静芝^{1,2,3}, 刘江锡², 王 敏⁴, 张 磊^{1,2}, 韩 东³, 燕宪亮^{1,2,3△}

1. 徐州医科大学附属医院急诊医学科, 江苏徐州 221002; 2. 徐州医科大学研究生院
急救与救援医学系, 江苏徐州 221004; 3. 徐州医科大学附属医院徐州市
急诊医学重点实验室, 江苏徐州 221002; 4. 徐州医科大学麻醉学院, 江苏徐州 221002

摘要:目的 评估载脂蛋白(a)基因(LPA)在肝细胞癌(HCC)组织中差异表达特征, 确定 LPA 对 HCC 发生和预后的影响。方法 根据现有肿瘤基因组图谱计划(TCGA)和基因型组织表达(GTEX)正常组织数据库, 获取 369 例肝癌组织标本和 159 例癌旁正常组织标本。借助基因表达谱交互分析(GEPIA)平台探讨 33 种癌症组织中 LPA mRNA 的差异, 分析 LPA 对 HCC 患者肿瘤分级和总生存期(OS)中的影响; 采用 Pearson 相关系数法, 分别分析 LPA mRNA(LPA-001)与 DNA 错配修复基因(MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 和 EP-CAM)、DNA 甲基转移酶(DNMT1、DNMT2、DNMT3A、DNMT3B)的相关性。使用 TCGA R 软件, 对交集差异基因进行基因本体论(GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果 HCC 组织中 LPA-001 的表达水平低于癌旁正常组织($P < 0.05$), GEPIA 验证了上述结果的可靠性。相对于 LPA 低表达组, LPA 高表达组的 HCC 患者的总生存期更长, 预后更佳($P < 0.05$)。通过 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析发现, LPA 可能通过翻译起始、mRNA 分解代谢、病毒基因表达、病毒转录、焦点粘连、细胞底物黏着连接、细胞底物连接、核糖体亚基等基因, 通过核糖体、氧化磷酸化、脂肪酸降解、PPAR 信号通路、化学致癌作用、铁死亡等途径进一步影响 HCC 的发生、发展及预后。结论 LPA 在 HCC 组织中表达水平更低, 与 DNA 错配修复基因及 DNA 甲基转移酶呈负相关, 这与 HCC 的发展及预后密切相关。

关键词:生物信息学; 载脂蛋白(a)基因; 肝细胞癌; 差异表达基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.21.021

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2021)21-2650-08

文献标志码:A

Analysis on correlation between LPA with occurrence and prognosis of hepatocellular carcinoma based on bioinformatics^{*}

ZUO Jingzhi^{1,2,3}, LIU Jiangxi², WANG Min⁴, ZHANG Lei^{1,2},
HAN Dong³, YAN Xianliang^{1,2,3△}

1. Department of Emergency Medicine, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 2. Faculty of Emergency and Rescue Medicine, Graduate School of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004, China; 3. Xuzhou Key Laboratory of Emergency Medicine, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 4. College of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China

Abstract: Objective To evaluate the differential expression characteristics of lipoprotein A (LPA) in hepatocellular carcinoma (HCC), and to determine the effect of LPA on the occurrence and prognosis of HCC.

Methods A total of 369 liver cancer tissue samples and 159 adjacent normal control samples obtained from the Cancer Genome Atlas (TCGA) and normal tissue database of genotype-tissue expression (GTEX). By virtue of Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) Web server, the differences of LPA mRNA (LPA-001) were investigated among 33 cancer tissues, and the effect of LPA on the tumor grading and overall survival (OS) in the patients with HCC was analyzed. The Pearson correlation coefficient method was adopted

* 基金项目:徐州市国家临床重点专科培育项目(2018ZK004);江苏省卫生健康委“六个一”工程科研项目(LGY2019085);江苏省高校“青蓝工程”资助项目(2019128009)。

作者简介:左静芝,女,住院医师,主要从事重要脏器保护的基础与临床方面的研究。△ 通信作者,E-mail:docyx@163.com。

本文引用格式:左静芝,刘江锡,王敏,等.基于生物信息学分析 LPA 与肝癌发生、预后的相关性[J].国际检验医学杂志,2021,42(21):2650-2656.

to analyze the correlation between LPA mRNA (LPA-001) with DNA mismatch repair genes (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 and EPCAM) and DNA methyltransferase (DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B). The TCGA R software was used to conduct the gene ontology (GO) functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of the cross-differentiated genes. **Results** The LPA-001 expression level in HCC tissue was lower than that in adjacent normal liver tissue ($P < 0.05$). GEPIA verified the reliability of the above results. The total survival period in HCC patients of the high LPA expression group was longer compared with the low LPA expression group, and the prognosis was better ($P < 0.05$). The GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis found that LPA may further influence the occurrence, development and prognosis by the genes such as translation initiation, mRNA catabolism, viral gene expression, viral transcription, focal adhesion, cell substrate adhesion, cell substrate connection and ribosomal subunit, and the pathways such as ribosome, oxidative phosphorylation, fatty acid degradation, PPAR signal pathway, chemical carcinogenesis and iron death. **Conclusion** The LPA expression level is lower in HCC tissue, which is negatively correlated to DNA mismatch repair genes and DNA methyltransferase, and may be closely related to the development and prognosis of HCC.

Key words: bioinformatics; lipoprotein A; hepatocellular carcinoma; differentially expressed genes

肝细胞癌(HCC)是一种恶性程度极高、易转移、易复发的恶性肿瘤,是全世界因癌症死亡的第二大常见原因^[1-2]。全球每年新增原发性肝癌患者超过 62 万例,我国患者所占比例超过一半,极大地威胁着我国国民健康^[3]。目前 HCC 的发病机制不清楚,已知的危险因素包括病毒感染、有毒物质、代谢改变、肝硬化和吸烟等^[3]。在受到这些危险因素中的一种或多种影响后,会出现遗传和表观遗传的改变,可能会打破原癌基因与抑癌基因的平衡,从而导致 HCC 的发生^[4]。手术切除、移植、靶向治疗药物是目前治疗 HCC 的主要手段,但仅适用于 30%~40% 的 HCC 患者,而剩余 60%~70% 的患者仅适用于姑息和对症治疗^[2]。总体来说,HCC 患者的 5 年生存率仍然很低,尤其是晚期肝癌。因此,若能阐明 HCC 发生和发展的分子机制,就能在 HCC 病变早期发现疾病,可以增加有效治疗的机会,从而提高存活率。

脂蛋白(a)[Lp(a)]是一种主要由肝脏合成的蛋白-脂质复合物,有研究表明肝脏疾病患者组的血清 Lp(a)水平显著低于健康组^[5-6],提示 Lp(a)水平可能在一定程度上可以用于监测肝脏疾病。其中血清中 Lp(a)的水平 70%~90% 受 Lp(a)基因(LPA)遗传变异决定^[7]。Lp(a)水平在 HCC 患者血清中明显增高,且随临床分期/级越大,增幅越高,可作为临床 HCC 诊断及分期依据^[8]。此外,HCC 患者血清载脂蛋白 A I 和载脂蛋白 A II 水平显著降低,但在 HCC 患者中发现前载脂蛋白 A I 比率增高^[9]。在慢性肝炎和 HCC 中,血清载脂蛋白 A I 和 Lp(a)水平可以作为诊断肝脏损伤的指标^[10]。目前,关于 LPA 在肝癌中的表达和预后价值研究很少,因此本研究通过生物信息学^[7]的方法,评估 LPA 在 HCC 中的表达情况,分析 LPA 对 HCC 发生和预后的影响,为 HCC 发生、发

展机制研究提供新的理论依据,为临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 基因芯片数据来源 本次分析的数据来源于肿瘤基因组图谱计划(TCGA)^[11]和基因型组织表达(GTEx)正常组织数据库。TCGA 计划是由美国国家癌症研究所联合国家人类基因组研究所开展的,目的是对 20 000 多个原发癌症标本和 33 种癌症类型的匹配正常标本进行分子特征分析,其中包含肝癌组织标本和癌旁正常组织对照标本,包括每一个标本的 RNA-seq 数据、分期、生存时间和状态^[11]。依据平台中的注释信息,剔除部分缺失生存相关信息或者无法准确进行癌症分期的标本,共纳入 HCC 标本 369 例、癌旁正常组织标本 159 例。

1.2 方法

1.2.1 LPA 在肿瘤组织及癌旁正常组织的表达情况

笔者使用基因表达谱交互分析(GEPIA)平台^[12]分析 LPA 在 33 种肿瘤类型及匹配的癌旁正常组织中的表达。这些肿瘤包括肾上腺皮质癌(ACC)、膀胱尿路上皮癌(BUCA)、乳腺浸润癌(BRCA)、宫颈鳞癌和腺癌(CESC)、胆管癌(CHOL)、结肠癌(COAD)、肝细胞肝癌(LIHC)、肺腺癌(LUAD)、肺鳞癌(LUSC)、间皮瘤(MESO)等^[11]。对于参数选项,笔者使用 ANOVA 统计方法进行差异基因表达分析,选择 \log_2 (TPM+1)转换后的表达数据用于绘图, $|\log_2\text{FC}|$ 截止值为 1,Q 值截止值为 0.01。

1.2.2 LPA 对 HCC 患者肿瘤分级和 HCC 患者总生存期(OS)的影响

GEPIA 平台利用 TCGA 和 GTEx 数据库,探讨 LPA 对 HCC 患者肿瘤分级和 HCC 患者 OS 的影响,绘制其与分期相关的小提琴图和 Kaplan-Merier 生存曲线,关于生存曲线的假设检

验,GEPIA 考虑的是对数秩检验。为此,本研究选择了一个基于 Cox PH 模型的风险比(HR)和 95% 可信区间信息(CI)来表示,95%CI 为虚线。根据 mRNA 表达的中位数将癌症患者分为高表达组和低表达组,并用 K-M 生存曲线进行验证。因此,LPA 表达水平高于和低于 50% 的标本分别被用作高表达组和低表达组。当 $P < 0.05$ 时为差异有统计学意义。

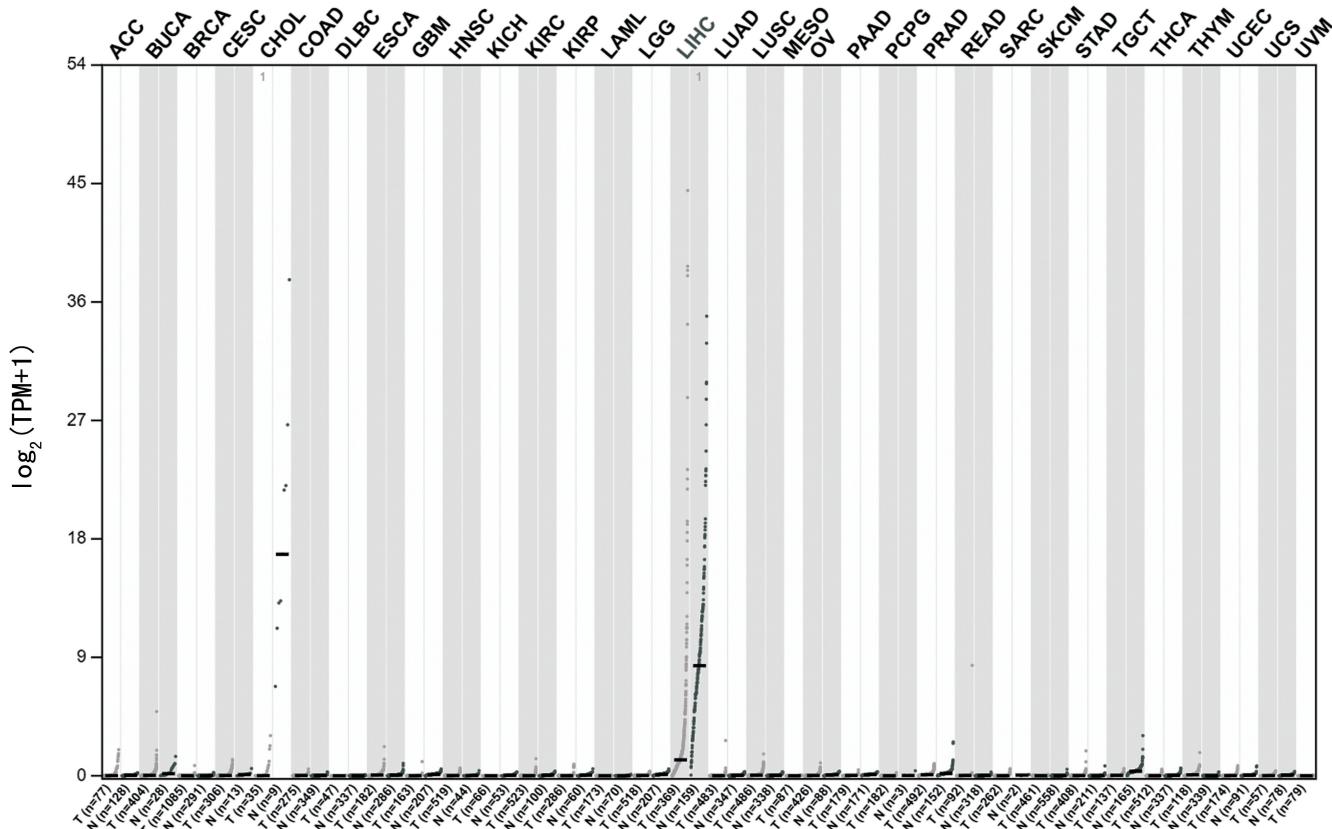
1.2.3 LPA 和 DNA 甲基转移酶(DNMT)、错配修复基因的相关分析 本研究使用 TCGA 数据库,下载了 HCC 中 LPA mRNA(LPA-001)的数据,利用 Perl 软件,采用 Pearson 相关系数法,对 HCC 中 LPA-001 与 DNMT、错配修复基因进行成对基因表达相关分析,其结果通过 circos 图和热图^[13](使用 pheatmap 包生成)显示。通过 TCGA 数据,我们确定了 LPA mRNA 水平,并将其分别与 33 种癌症 DNA 甲基转移酶^[14]进行相关性分析。利用 TCGA 的表达谱数据评估 5 个 MMR 基因,即 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 和 EPCAM 突变,分别与 33 种癌症组织中 LPA 表达水平之间的关系,其中相关性水平是使用 Pearson 相关系数计算的,相关级别用 r 表示。

1.2.4 GO 功能注释及 KEGG 通路富集分析 使用 TCGA R 软件,基于 Wallenius non-central hyper-

ometric distribution 数学模型,对交集的差异基因进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析。GO 分为生物过程(BP)、细胞组成(CC)和分子功能(MF)3 个部分。在 GO 和 KEGG 中搜索生物学过程,寻找显著性水平集($P < 0.05$,浓缩分数 >1.5)的途径。选择了基于 P 值的前 10 个 BP、CC 和 MF 进行绘图。为了进一步明确 LPA 影响 HCC 发生、发展及预后可能通过哪些通路,将 TCGA 数据库里面 HCC 组织与正常组织中的差异基因 1, HCC 组织中 LPA 高表达与低表达所得的差异基因 2 进行比较,得出交集差异基因,对交集差异基因进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析。

2 结 果

2.1 LPA 在肿瘤及癌旁正常组织的表达情况 33 种肿瘤组织与癌旁正常组织的 LPA mRNA 水平表达如图 1 所示。结果显示,在 LIHC、ACC、BUCA 及 BRCA 等癌症中,癌组织 LPA mRNA 表达水平均明显低于癌旁正常组织,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HCC 组织中 LPA 存在 3 个转录本(图 2),其中 ENST00000316300.9(LPA-001)表达丰度较高,因此选择 LPA-001 作为比较。在 HCC 组织中 LPA-001 表达水平明显低于癌旁正常组织($P < 0.05$)。



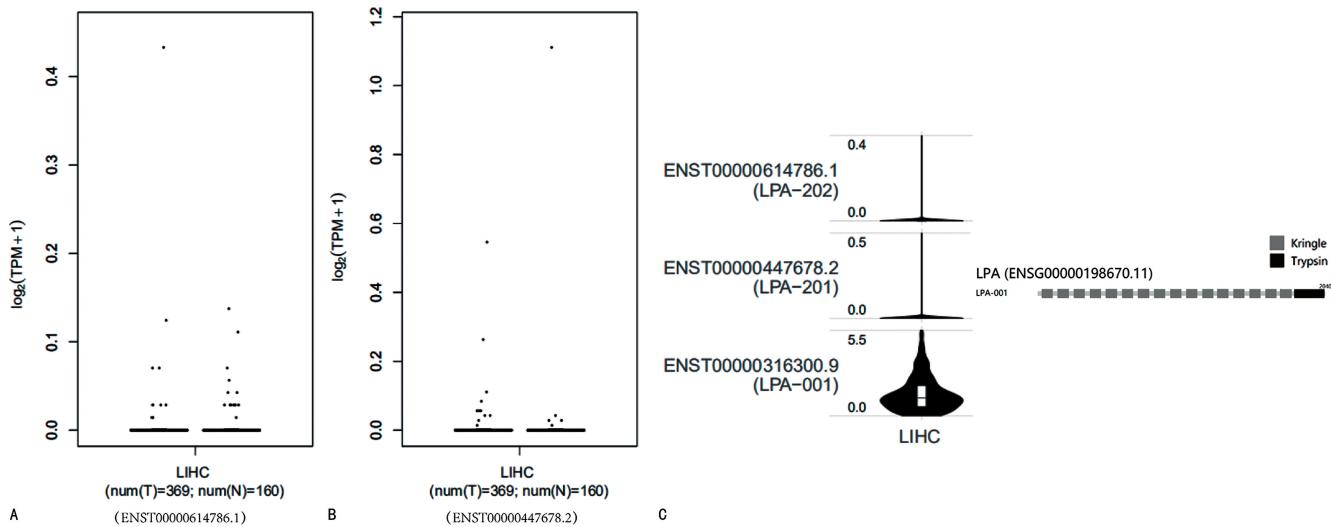
注:使用 GEPIA 网络服务器,将 TCGA 33 种肿瘤类型中癌组织 LPA mRNA 水平与癌旁正常组织进行比较。每种肿瘤的癌组织或癌旁正常组织的 LPA mRNA 以圆点表示,对于每个 TCGA 肿瘤(浅灰色),给出其匹配的正常和 GTEx 数据(深灰色);T 为肿瘤;N 为正常。Y 轴为 \log_2 (TPM+1)。X 轴为癌组织和癌旁正常组织标本的数量。

图 1 LPA 基因在癌组织及癌旁正常组织的表达情况

2.2 LPA 在不同 HCC 肿瘤分级中的表达 如图 3A 所示,LPA 的表达与 HCC 患者肿瘤分级呈负相关($r=-0.18, P=0.01$),LPA 在 HCC 患者 I 级、II 级、III 级的表达均高于 IV 级,表明在 HCC 早期阶段,LPA 表达水平比较高,但是到了 HCC 晚期,其表达水平较低。推测 LPA 可作为调节 HCC 进展并影响患者预后的潜在标志物。

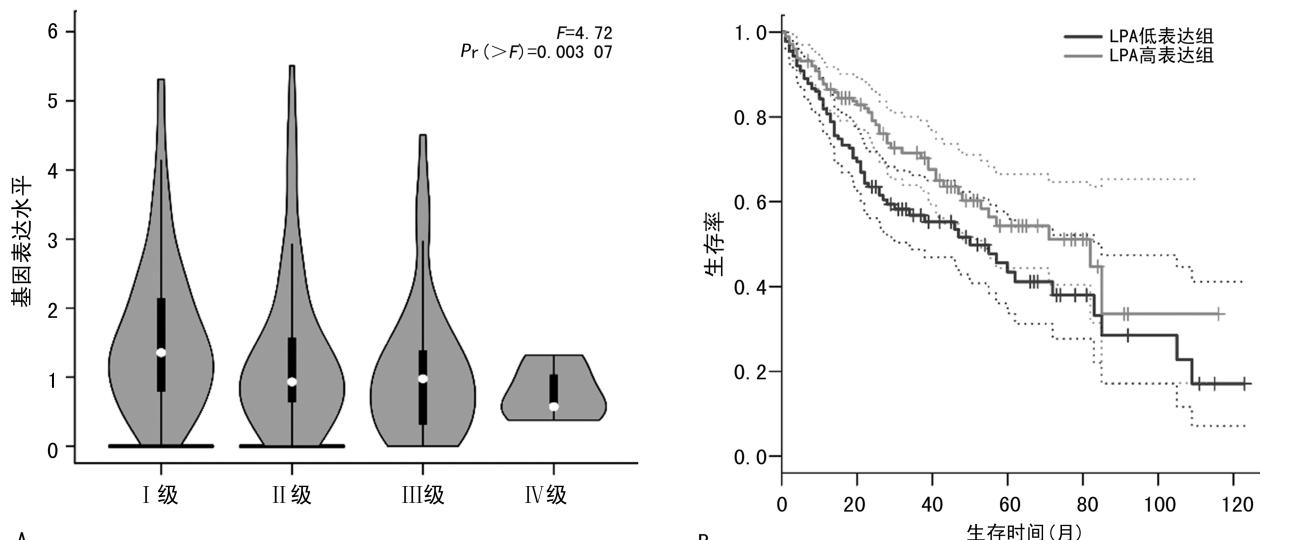
2.3 总体生存分析 为进一步阐明 LPA 表达水平

是否可以影响 HCC 患者 OS,通过 GEPIA 平台依据 LPA mRNA 高低分组进行生存分析。如图 3B 所示,在 HCC 数据中 LPA 高表达组($n=182$)比 LPA 低表达组($n=182$)预后更好,log-rank 检验 $P=0.014$, $HR=0.64$,LPA 高表达组与 HCC 患者的总体生存时间较长呈正相关($r=0.20, P=0.005$,log-rank 检验, $P<0.05$),结果表明 LPA 是反映 HCC 良好预后的标志物。



注:LPA 基因表达时存在 3 个转录本,包括 ENST00000614786.1(LPA-202)、ENST00000447678.2(LPA-201)及 ENST00000316300.9(LPA-001)。A 表示 ENST00000614786.1(LPA-202)的表达与癌旁正常组织标本的比较;B 表示 ENST00000447678.2(LPA-201)的表达与癌旁正常组织标本的比较;C 表示 3 种转录本表达水平的比较。与癌旁正常组织标本相比,肝癌患者癌组织标本中 LPA 基因转录本 ENST00000614786.1(LPA-202)与 ENST00000447678.2(LPA-201)表达无明显差异,而 ENST00000316300.9(LPA-001)有明显变化,说明 ENST00000316300.9(LPA-001)是肝癌患者 LPA 基因的主要转录本,其主要构造可通过 GEPIA2.0 进一步可视化出 ENST00000316300.9(LPA-001)的结构。

图 2 3 种 LPA 基因的转录本



注:A 表示 TCGA 数据库中 HCC 中 LPA mRNA 的小提琴图谱,Y 轴代表每个标本相应基因的表达值;B 表示 LPA 基因在 HCC 中高表达组与低表达组的 Kaplan-Meier 生存曲线,浅黑线表示 LPA 高表达组,深黑线表示 LPA 低表达组,在 Kaplan-Meier 生存曲线中,LPA 高表达组与良好预后相关。

图 3 基于 LPA 基因的 HCC 患者肿瘤分级和总生存期分析

2.4 LPA 和 DNA 甲基转移酶相关分析 通过 TC-

GA 数据确定了 LPA mRNA 水平,并将其分别与 33

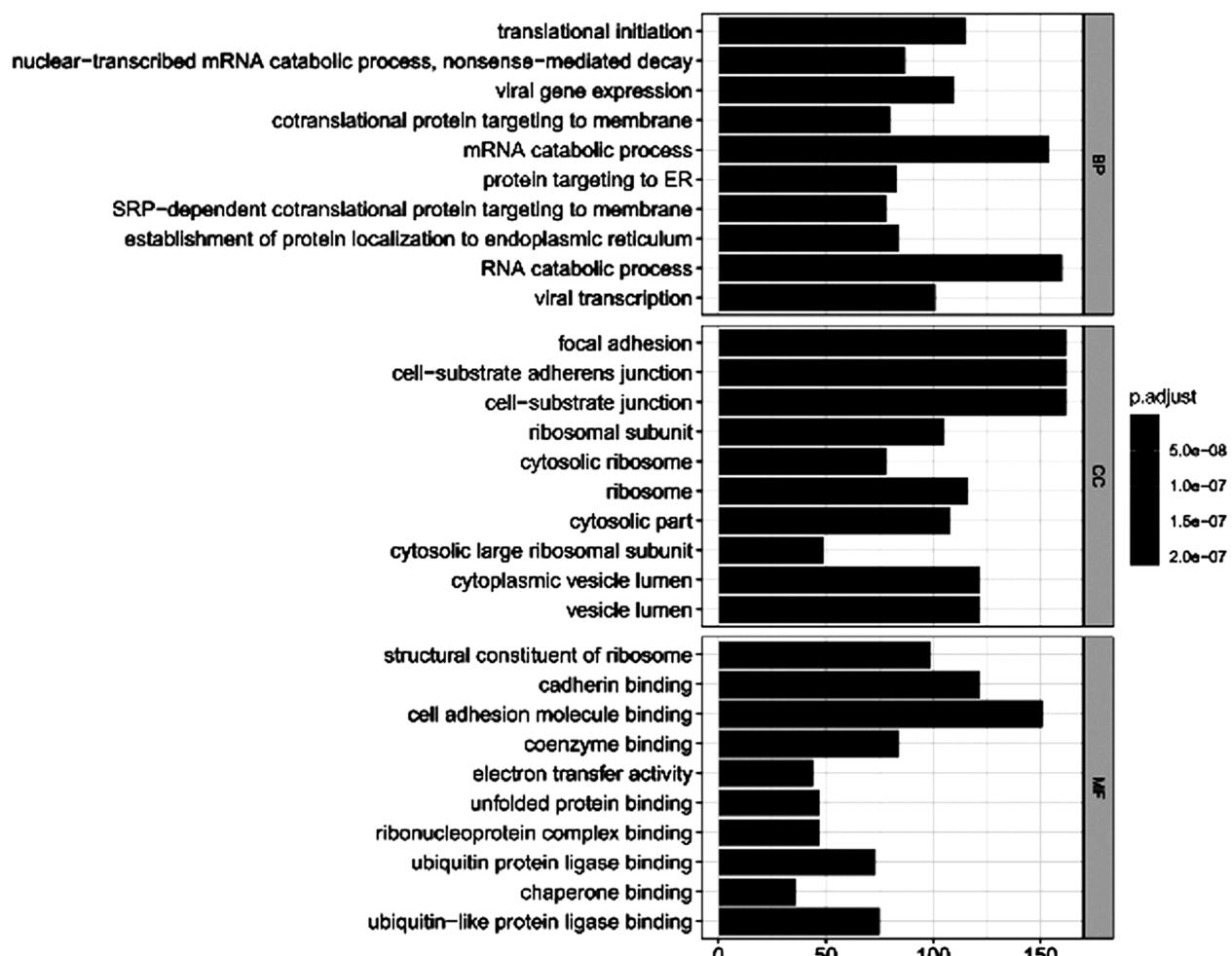
种 DNNT 进行相关性分析,结果表明 HCC 组织中 LPA mRNA 水平与 3 种 DNMT 水平呈负相关,即 DNMT2 ($r = -0.15, P = 0.012$)、DNMT3A ($r = -0.22, P = 5.5E-5$)、DNMT3B ($r = -0.13, P = 0.027$),提示 LPA 表达可能与 HCC 中 DNA 甲基化水平呈负相关。

2.5 LPA 基因和错配修复基因相关分析 结果表明,在 HCC 组织中,LPA mRNA 水平与 MLH1、MSH2、PMS2、EPCAM 等 MMR 基因表达水平呈负相关($r < 0, P < 0.05$)。

2.6 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析 GO 功能注释分析中,如图 4 所示,BP 基因富集功能数包括翻译起始(translational initiation)、mRNA 分解代谢(mRNA catabolic process)、病毒基因表达(viral gene expression)、病毒转录(viral transcription)等。CC 富集功能数包括焦点粘连(focal adhesion)、细胞底物黏着连接(cell-substrate adherens junction)、细胞底物连接(cell-substrate junction)、核糖体亚基(ribosomal

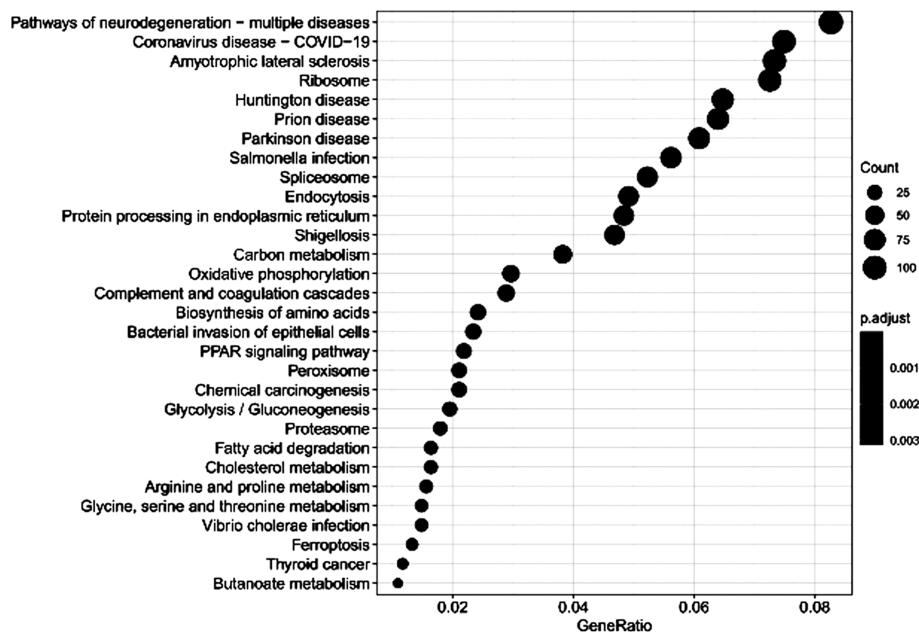
subunit)、胞浆核糖体(cytosolic ribosome)、核糖体(ribosome)等。MF 富集功能包括核糖体结构成分(structural constituent of ribosome)、钙黏着蛋白结合(cadherin binding)、细胞附着分子结合(cell adhesion molecule binding)、辅酶结合(coenzyme binding)、电子转移活性(electron transfer activity)、核糖核蛋白复合物(ribonucleoprotein complex binding)、未折叠蛋白结合(unfolded protein binding)、泛素蛋白连接酶结合(ubiquitin protein ligase binding)、泛素样蛋白连接酶结合物(ubiquitin-like protein ligase binding)等。

通过 KEGG 分析,笔者发现在 HCC 与 LPA 表达相关的基因,主要富集于以下通路:核糖体(ribosome)、氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)、脂肪酸降解(fatty acid degradation)、PPAR 信号通路(PPAR signaling pathway)、化学致癌作用(chemical carcinogenesis)、铁死亡(ferroptosis)等 30 条途径,见图 5。



注:分析 HCC 中与 LPA 表达相关的基因 3 个主要功能,包括生物学过程、细胞成分和分子功能(BD)。

图 4 差异基因的 GO 富集分析



注:显示了 HCC 中 LPA 表达相关基因的 KEGG 通路分析。

图 5 差异基因的 KEGG 分析

3 讨 论

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,患者 5 年生存率不高^[15]。尽管近些年靶向药物的出现为原发性肝癌的治疗带来了曙光,但是它的应用仍然有限。原发性肝癌发生的分子机制尚需进一步确认,生物信息学可以帮助分析原发性肝癌基因层面的变化,探索原发性肝癌发生的分子机制,为治疗提供理论参考。

在本研究中,笔者分析了 LPA 在 HCC 中差异表达特征,评估其表达水平对 HCC 患者预后的影响。与癌旁正常组织相比,HCC 组织中 LPA mRNA 水平较低。而将 HCC 患者按肿瘤分级后,发现随肿瘤分级增加,LPA mRNA 水平逐渐下降,且生存分析中显示 LPA mRNA 水平较高与良好预后之间一致关联。

临床研究发现 LPA 基因的产物 Lp(a)水平与肝脏疾病密切相关,与健康对照组相比,肝炎、肝硬化^[5]、慢性迁徙性肝炎、HCC 患者 Lp(a)水平均较低。同样在肝脏移植患者中的研究也有类似结果,肝移植患者术前 Lp(a)水平较低,手术后逐渐恢复至稳定水平^[6]。本研究借助 TCGA 和 GTEx 数据库信息,通过 GEPIA 平台研究 LPA mRNA 水平与 HCC 发生、发展、预后的关系,研究证实了 HCC 组织中 LPA 的表达谱,并显示 3 种 LPA mRNA 中,LPA 基因转录本 ENST0000031 6300.9(LPA-001)在 HCC 组织中的表达近似丰度最大,较癌旁正常组织下调。HCC 组织中 LPA 基因转录本 ENST00000614786.1(LPA-202)、ENST00000447678.2(LPA-201)表达与癌旁正常组织相比没有明显差异。在 HCC 患者中,癌组织 LPA mRNA 水平明显低于正常组织,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。此项结果正好与上述临床研究中观察到原发性肝癌患者中血清 Lp(a)水平较低相符。

在 LPA mRNA 水平对 HCC 患者预后影响的研究中,笔者将 HCC 患者按肿瘤分级分类,结果显示在肝癌早期 LPA 高表达,随着肿瘤分级进展,LPA 的表达水平逐渐下降,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。尽管Ⅳ级肝癌中 LPA 水平有所回升,但差异并不显著,这可能是由于Ⅳ级肝癌样品数不足所导致。这表明 LPA 上调可能与 HCC 的进展呈负相关,表明该基因的功能可能是抑制 HCC 的进展。生存分析结果表明,数据库中的 LPA mRNA 水平与 HCC 的预后有相关性,LPA mRNA 水平较高的患者总体生存时间较长,这间接表明 LPA 与 HCC 进展相关,可作为 HCC 患者治疗、诊断的预测因子。

表观遗传改变在决定基因及其产物何时何地表达的分化程序的建立和调控中起着至关重要的作用。MLH1、MSH4 和 RTF2 参与了 DNA 修复,MLH1、MSH4、RPL22L1 和 RTF2 主要影响细胞周期,NHLRC1、HENMT1、LYG1 和 SMAP1 参与代谢过程,NHLRC1 和 HENMT1 与基因表达调控有关^[16]。虽然这些改变不会引起 DNA 序列的变化,但它们通过改变基因的 DNA 甲基化模式、microRNA 的表达谱、组蛋白的翻译后修饰和核小体位置,从而调节基因的表达^[17-18]。在所有生物过程中,表观遗传调控都起着核心作用,还与许多疾病有关,包括 HCC^[19]、乳腺癌等^[17]。到目前为止,已鉴定出 4 种 DNMT(DNMT1、DNMT2、DNMT3A 和 DNMT3B)和 1 种 DNMT 相关蛋白(DNMT3L)^[17-18],它们催化 S-腺苷基甲硫氨酸(SAM)上的甲基转移到胞嘧啶碱基上。除了在体内可能作为 RNA 甲基转移酶的 DNMT2 外,所有的 DNMT2 对于胚胎的存活都是必不可少的,基因组甲基化模式的维持主要由 DNMT1 介导,它通过细

胞世代传递表观遗传信息, DNMT1 的蛋白质表达增加与人类 HCC 的恶性潜能和预后不良密切相关^[14]。DNMT3A 和 DNMT3L 一起母体印记基因甲基化, DNMT3B 定位于微小的卫星重复序列, 而且还协同作用使基因组甲基化。乙型肝炎病毒 X 蛋白上调 DNMT1、DNMT3A1 和 DNMT3A2 来增加总 DNMT 活性, 可选择性地促进特定肿瘤抑制基因的区域甲基化, 下调 DNMT3B 则诱导了卫星 2 重复序列的整体甲基化不足, 最终在表观遗传方面导致肝癌发生^[4]。因此, 笔者将 LPA 基因表达与 4 种 DNMT 进行相关性分析, 结果表明 HCC 组织中 LPA mRNA 水平与 DNMT2、DNMT3A、DNMT3B 呈负相关, 提示在 HCC 组织中 LPA 可能通过影响上述 3 种 DNMT, 从而进一步影响 HCC 的发生。

错配修复基因在启动 DNA 复制过程中涉及错配核苷酸的切除修复, 因此在维持人类基因组 DNA 的保真度方面起着至关重要的作用^[20-22]。这一系统的缺陷导致微卫星的帧移位突变, 这可能是原癌基因和抑癌基因突变积累的原因, 最终导致恶性转化 DNA 修复缺陷, 进而导致许多遗传癌综合征和散发性癌症。机体内参与 DNA 修复的途径有 5 种, 包括碱基切除修复、修复非同源末端连接、同源重组修复、错配修复和核苷酸切除修复。MMR 基因是一组遗传易感基因, MMR 的关键位点缺失会导致 DNA 复制错误且无法被修复, 从而导致基因组中突变的积累, 从而增加肿瘤恶变的概率^[15]。相关研究表明, MMR 基因表达减少与 HCC 的较高等级之间存在显著关联^[23], 所有类型 HCC 中都存在 MLH1、MSH2、PMS2 的启动子甲基化^[24]。因此, 本研究选择 5 个 MMR 基因 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 和 EPCAM) 进行分析, 结果显示 LPA mRNA 水平与 MLH1、MSH2、PMS2、EPCAM 等 MMR 基因表达水平呈负相关 ($r < 0, P < 0.05$)。这表明 LPA 与 MLH1、MSH2、PMS2、EPCAM 等 MMR 基因相关, 在 LPA 高表达的 HCC 组织中, 应用铂类化疗药物可能抑制 HCC 组织中肿瘤细胞的 DNA 修复过程, 进而抑制肿瘤的进展。

一些研究表明酒精所致的 HCC 中, 乙醛对肝脏有毒, 会改变脂质体内平衡, 减少 PPAR 并增加固醇调节元件结合蛋白的活性, 在乙醛和 ROS 的作用下, 形成易于诱变的 DNA 复合物, 扰乱甲基化, 从而导致与酒精相关的 HCC 的发生^[21]。同样, 铁死亡与肝癌发生, 促进靶向药物索菲替尼耐药方面密切相关^[22]。本研究通过 GO 富集分析发现, 这些差异表达基因主要集中在翻译起始、mRNA 分解代谢、病毒基因表达、病毒转录、焦点粘连、细胞底物黏着连接、细胞底物连接、核糖体结构成分、钙黏着蛋白结合、细胞附着分子结合、辅酶结合、电子转移活性等。KEGG 分析也提示差异表达基因主要参与核糖体、氧化磷酸化、脂肪

酸降解、PPAR 信号通路、化学致癌作用、铁死亡等途径。由此推测, LPA 有可能通过上述基因、通路, 从而影响 HCC 的发生、发展及预后。

综上所述, LPA 在 HCC 组织中表达水平低, 并且其与 HCC 的发生、发展、预后密切相关, 可能通过 PPAR 信号通路、化学致癌作用、铁死亡等途径发挥作用, 但是这些还需要后续的真实实验验证。

参考文献

- [1] CHENG J, WEI D, JI Y, et al. Integrative analysis of DNA methylation and gene expression reveals hepatocellular carcinoma-specific diagnostic biomarkers [J]. Genome Med, 2018, 10(1):42-45.
- [2] CHEN J G, ZHANG S W. Liver cancer epidemic in China: past, present and future [J]. Semin Cancer Biol, 2011, 21(1):59-69.
- [3] HUBERT E B. Hepatocellular carcinoma [J]. N Engl J Med, 2011, 365(12):1118-1127.
- [4] PARK I Y, BO H S, YU E, et al. Aberrant epigenetic modifications in hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein-science direct [J]. Gastroenterology, 2007, 132(4):1476-1494.
- [5] 周顺,蒋敬庭,徐斌,等.肝癌及其他肝病患者血清脂蛋白(a)水平分析[J].检验医学,2009,24(6):431-433.
- [6] 莫晨,陈新国,邹德勇,等.肝移植术后患者脂蛋白(a)水平变化及与肝功能指标的关系[J].临床消化病杂志,2018,30(1):47-50.
- [7] DAILEY A L. Metabolomic bioinformatic analysis [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1606:341-352.
- [8] 唐永华,许海涛,刘小君,等.肝细胞肝癌患者血清 PF4、VEGF、HIF-1 α 及 Lp(a)的表达及临床意义 [J]. 临床输血与检验, 2017, 19(5):478-481.
- [9] 侯力美,李浩然,曹建彪.载脂蛋白 A、载脂蛋白 B 和脂蛋白(a)评估肝癌患者肝功能的临床价值 [J].北京医学, 2015, 37(3):276-278.
- [10] 陈俊杰,戎奇吉.慢性肝病患者血清载脂蛋白 A 检测的临床意义 [J].浙江预防医学, 2008, 20(5):6-7.
- [11] WANG Z, JENSEN M A, ZENKLUSEN J C. A practical guide to the cancer genome atlas (TCGA) [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1418:111-141.
- [12] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(W1):98-102.
- [13] DEU-PONS J, SCHROEDER M P, LOPEZ-BIGAS N. Heatmap: an interactive heatmap viewer for the web [J]. Bioinformatics, 2014, 30(12):1757-1758.
- [14] SAITO Y, KANAI Y, NAKAGAWA T, et al. Increased protein expression of DNA methyltransferase (DNMT) 1 is significantly correlated with the malignant potential and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas [J]. Int J Cancer, 2003, 105(4):527-532. (下转第 2685 页)

件,开展专业知识培训和理论考核工作;借助信息化手段实现操作人员资质的动态管理等。信息化手段的加入,不仅能提高整个区域 POCT 管理体系的管理效率,还能促进各机构医疗管理水平的进一步提升。另外,随着 POCT 技术的不断发展,除了常见的便携式血糖仪,未来还将会有更多不同种类的 POCT 设备应用于慢病管理等医疗工作中。因此,区域性 POCT 管理体系的构建能够为未来 POCT 设备的广泛普及提供规范的管理思路和管理经验,成为保证 POCT 质量的重要支持。

参考文献

- [1] 侯彦强,孙杰,龚倩.区域医学检验中心建设与管理[M].北京:人民卫生出版社,2021:2-4.
- [2] 陈洪卫,彭亮,侯彦强.上海市松江区区域临床检验中心建设的探索与实践[J].国际检验医学杂志,2014,35(18):2569-2570.
- [3] 陈洪卫,侯彦强,关明.区域医学检验中心发展现状及展望[J].国际检验医学杂志,2021,42(12):1409-1412.
- [4] 李福刚,顾敏晔,薛汉阳,等.POCT 质量管理的现状和建议[J].中华检验医学杂志,2013,36(10):958-960.
- [5] 曲歌,张兆璐,张宗久,等.医院即时检测规范化管理体系构建与实施[J].中华医院管理杂志,2019,35(11):932-

(上接第 2656 页)

- [15] 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(6):394-424.
- [16] COHEN R, BUHARD O, CERVERA P, et al. Clinical and molecular characterisation of hereditary and sporadic metastatic colorectal cancers harbouring microsatellite instability/DNA mismatch repair deficiency[J]. Eur J Cancer, 2017, 86:266-274.
- [17] PECHALRIEU D, ETIEVANT C, ARIMONDO P B. DNA methyltransferase inhibitors in cancer: From pharmacology to translational studies[J]. Biochem Pharmacol, 2017, 129:1-13.
- [18] CECCARELLI V, RONCHETTI S, MARCHETTI M C, et al. Molecular mechanisms underlying eicosapentaenoic acid inhibition of HDAC1 and DNMT expression and activity in carcinoma cells[J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2020, 1863(2):194481-194485.
- [19] ANESTOPOULOS I, VOULGARIDOU G P, GEORG AKILAS A G, et al. Epigenetic therapy as a novel approach in hepatocellular carcinoma[J]. Pharmacol Ther,

935.

- [6] 周睿,王清涛.POCT 在临床应用中面临的机遇和挑战[J].中华检验医学杂志,2019,42(5):323-327.
- [7] 中华医学会检验医学分会,国家卫生和计划生育委员会临床检验中心.便携式血糖仪临床操作和质量管理规范中国专家共识[J].中华医学杂志,2016,96(36):2864-2867.
- [8] POCT 基层医疗卫生机构应用专家共识协作组.现场快速检测(POCT)基层医疗卫生机构应用专家共识[J].中国医学装备,2019,16(8):143-145.
- [9] 张国军.从检验科主任角度看 POCT 管理过程中的若干问题[J].中华检验医学杂志,2019,42(5):338-340.
- [10] 即时检测(POCT)临床结果报告与发布中国专家共识[J].中华检验医学杂志,2020,43(5):567-569.
- [11] 中华人民共和国卫生部.便携式血糖仪血液葡萄糖测定指南:WS/T 226-2002[S].北京:中华人民共和国卫生部,2002.
- [12] 中华医学会检验医学分会临床实验室管理学组.医学检验危急值报告程序规范化专家共识[J].中华检验医学杂志,2016,39(7):484-486.
- [13] 即时检测(POCT)信息化质量管理体系中国专家共识[J].中华检验医学杂志,2020,43(5):562-566.

(收稿日期:2021-01-11 修回日期:2021-09-12)

2015,145:103-119.

- [20] XIAO Y, WORD B, STARLARD-DAVENPORT A, et al. Age and gender affect DNMT3a and DNMT3b expression in human liver[J]. Cell Biol Toxicol, 2008, 24(3):265-272.
- [21] CENI E, MELLO T, GALLI A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(47):17756-17759.
- [22] SUN X, OU Z, CHEN R, et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells[J]. Hepatology, 2016, 63(1):173-184.
- [23] HELAL T, KHAMIS N S, EL-SHARKAWY T M, et al. Immunohistochemical expression of mismatch repair genes (hMSH2 and hMLH1) in hepatocellular carcinoma in Egypt[J]. Apmis, 2010, 118(12):934-940.
- [24] HINRICHSEN I, KEMP M, PEVELING-OBERHAG J, et al. Promoter methylation of MLH1, PMS2, MSH2 and p16 is a phenomenon of advanced-stage HCCs[J]. PLoS One, 2014, 9(1):e84453.

(收稿日期:2021-01-18 修回日期:2021-09-14)