

• 论 著 •

血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 在 AFP 阴性肝细胞癌患者中的表达及临床预后价值*

武彩虹, 钱成荣, 银广悦, 侯学伶, 韩玉成, 田雪梅

河北中石油中心医院检验科, 河北廊坊 065000

摘要:目的 探讨血清外泌体长链非编码 RNA (LncRNA) 00853、LncRNA FAM72D-3 在甲胎蛋白 (AFP) 阴性肝细胞癌 (AFP-NHCC) 患者中的表达及临床预后意义。方法 选取 2018 年 12 月至 2019 年 6 月该院诊治的 AFP-NHCC 患者 102 例为 AFP-NHCC 组, 以同期于该院行健康体检的体检健康者 80 例为对照组。实时荧光定量 PCR 检测血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平; 比较两组血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平, 分析血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平与临床病理特征的关系; 采用 Kaplan-Meier 生存分析血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响; 采用单因素及多因素 Cox 回归分析影响 AFP-NHCC 患者生存预后的因素。结果 AFP-NHCC 组血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 相对表达水平分别为 3.12 ± 0.86 、 2.95 ± 0.78 , 明显高于对照组的 1.22 ± 0.36 、 1.16 ± 0.28 ($t = 17.546, 19.552, P < 0.05$)。血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 与 AFP-NHCC 患者 BCLC 分期、病理分化程度及肝内淋巴结转移有关 ($P < 0.05$)。LncRNA 00853 高表达组患者中位生存时间为 29.31 个月 (95%CI 26.36~32.26) 明显低于低表达组患者的 32.41 个月 (95%CI 32.55~34.51), 差异有统计学意义 (Log-rank $\chi^2 = 4.844, P = 0.028$)。LncRNA FAM72D-3 高表达组患者中位生存时间为 30.43 个月 (95%CI 27.81~33.04), 明显低于低表达组患者的 32.61 个月 (95%CI 30.64~34.76), 差异有统计学意义 (Log-rank $\chi^2 = 4.576, P = 0.032$)。BCLC 分期 B~C 期、病理低分化程度、伴有肝内淋巴结转移、LncRNA 00853 高表达及 LncRNA FAM72D-3 高表达是影响 AFP-NHCC 患者生存预后的独立危险因素。结论 AFP-NHCC 患者血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平升高, 是影响 AFP-NHCC 生存预后的独立危险因素。

关键词: 血清外泌体; 长链非编码 RNA 00853; 长链非编码 RNA FAM72D-3; 甲胎蛋白阴性肝细胞癌; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.11.015

中图法分类号: R735.7

文章编号: 1673-4130(2023)11-1353-06

文献标志码: A

Expression and clinical prognostic value of serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 in AFP-negative hepatocellular carcinoma patients*

WU Caihong, QIAN Chengrong, YIN Guangyue, HOU Xueling, HAN Yucheng, TIAN Xuemei

Department of Clinical Laboratory, Hebei PetroChina Central Hospital, Langfang, Hebei 065000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical prognostic significance of serum exosomal long non-coding RNA (LncRNA) 00853 and LncRNA FAM72D-3 in alpha-fetoprotein (AFP) negative hepatocellular carcinoma (AFP-NHCC) patients. **Methods** A total of 102 patients with AFP-NHCC diagnosed and treated in the hospital from December 2018 to June 2019 were selected as the AFP-NHCC group, and 80 healthy people who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the levels of serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3. The levels of serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 were compared between the two groups, and the relationship between serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 levels and clinicopathological features was analyzed. Kaplan-Meier survival analysis was used to analyze the effect of serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 on the survival prognosis of AFP-NHCC patients. Univariate and multivariate Cox regression analysis were used to analyze the factors affecting the survival prognosis of AFP-NHCC patients. **Results** The relative expression lev-

* 基金项目: 廊坊市科技支撑计划项目 (2019013008)。

作者简介: 武彩虹, 女, 主任技师, 主要从事肿瘤免疫的实验室检测相关研究。

els of serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 in AFP-NHCC group were 3.12 ± 0.86 and 2.95 ± 0.78 , respectively, which were significantly higher than 1.22 ± 0.36 and 1.16 ± 0.28 in control group ($t=17.546, 19.552, P<0.05$). The serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 were associated with BCLC stage, pathological differentiation and intrahepatic lymph node metastasis in AFP-NHCC patients ($P<0.05$). The median survival time of LncRNA 00853 high expression group was 29.31 months (95%CI 26.36–32.26), which was significantly lower than 32.41 months (95%CI 32.55–34.51) of LncRNA 00853 low expression group, and the difference was statistically significant (Log-rank $\chi^2=4.844, P=0.028$). The median survival time of LncRNA FAM72D-3 high expression group was 30.43 months (95%CI 27.81–33.04), which was significantly lower than 32.61 months (95%CI 30.64–34.76) of LncRNA FAM72D-3 low expression group, and the difference was statistically significant (Log-rank $\chi^2=4.576, P=0.032$). BCLC stage B-C, poor pathological differentiation, intrahepatic lymph node metastasis, high expression of LncRNA 00853 and high expression of LncRNA FAM72D-3 were independent risk factors for survival prognosis of AFP-NHCC patients. **Conclusion** The elevated serum exosomal LncRNA 00853 and LncRNA FAM72D-3 levels in AFP-NHCC patients are independent risk factors for survival prognosis of AFP-NHCC.

Key words: serum exosomal; long non-coding RNA 00853; long non-coding RNA FAM72D-3; alpha-fetoprotein negative hepatocellular carcinoma; prognosis

肝癌是全世界第五大常见恶性肿瘤,死亡率位于所有肿瘤的第 4 位^[1]。肝细胞肝癌(HCC)是肝癌最常见的病理类型,由于 HCC 患者早期症状不明显,当出现腹痛、黄疸等症状时,多已处于中晚期,患者 5 年生存率仅为 15.7%^[2]。目前 HCC 的预后主要依据肿瘤分期、血清甲胎蛋白(AFP)等进行综合评估,但临床中仅有 60%~70%的 HCC 患者血清 AFP 水平升高,并且由于肿瘤的异质性,相同肿瘤分期的 HCC 患者预后差异较大^[3]。因此,有必要寻找新的有效评估 AFP 阴性 HCC (AFP-NHCC) 患者的血清标志物。外泌体是直径<100 nm 的细胞外囊泡,能够在细胞之间转移蛋白质、DNA 和各种形式的 RNA,例如微小 RNA、长链非编码 RNA(LncRNA RNA),它们参与机体生长发育、炎症及肿瘤等多种病理生理学过程^[4]。LncRNA RNA 是长度在 200~300 个核苷酸的 RNA 分子,其可作为分子支架,调控下游癌基因的表达,参与促进 HCC 的肿瘤进展^[5]。LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 是近年来发现的外泌体来源的 LNC RNA,是新的 HCC 早期诊断生物标志物^[6-7]。但目前 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 在 HCC 中的预后价值尚不清楚。本研究通过检测 AFP-NHCC 患者血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平,分析二者与临床病理特征的关系,探讨二者的临床预后价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 12 月至 2019 年 6 月于本院就诊并接受肝癌根治术的 AFP-NHCC 患者 102 例为 AFP-NHCC 组。纳入标准:(1)经过超声、计算机断层扫描或磁共振成像等影像学检查及术后病理组织检查确诊为原发性 HCC;(2)AFP<20 $\mu\text{g/L}$;(3)首次诊治;(4)临床资料完整。排除标准:(1)既往接受手术、放疗、化疗等治疗;(2)其他病理类型的肝

癌;(3)合并急性感染性疾病;(4)合并其他恶性肿瘤。其中男 70 例,女 32 例;年龄 42~73 岁,平均(62.34 ± 5.90)岁;病理分化程度:高中分化 54 例,低分化 48 例;肿瘤最大径: ≤ 5 cm 72 例, > 5 cm 30 例;肿瘤结节数目: < 2 个 80 例, ≥ 2 个 22 例;包膜完整 63 例,不完整 39 例;肝癌巴塞罗那临床分期(BCLC 分期):0~A 期 41 例,B~C 期 61 例;伴有肝内淋巴结转移 38 例,无肝内淋巴结转移 64 例。以同期于本院进行体检的体检健康者 80 例作为对照组,其中男 50 例,女 30 例;年龄 40~72 岁,平均(61.18 ± 6.10)岁。本研究经本院伦理委员会审核批准通过。

1.2 仪器与试剂 透射电镜购自日本高新技术公司,型号 HT7700;外泌体 RNA 分离提取试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,型号 R4319-02;外泌体反转录试剂盒购自北京索莱宝公司,货号 RP1105,反转录引物由上海华大公司设计合成。

1.3 方法

1.3.1 外泌体分离,鉴定及外泌体 RNA 提取 取各组研究对象清晨空腹肘静脉血 5 mL,加入凝胶促凝管中,采血管 37 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min,血块凝集后放置离心机离心,3 000 r/min 离心 15 min,吸取上清液置于离心管中。取 0.5 mL 血清,加入 0.25 mL 外泌体沉淀试剂,混匀后 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,沉淀外泌体,12 000 r/min 离心 15 min,去上清液,加入 0.2 mL 缓冲液,重悬收集外泌体。外泌体鉴定:取 10 μL 外泌体用 100 μL PBS 重悬,5%戊二醛固定,取 10 μL 稀释标本滴到碳涂层铜板上,浸入 2%磷钨酸 30 s 后,采用透射电镜观察外泌体形态为双圆盘结构的囊泡,大小在 30~200 nm。加入 0.4 mL 裂解液后,涡旋重悬外泌体,加入 0.2 mL 无 RNA 酶水和 20 μL 蛋白酶 K,55 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min,加入 0.6 mL PCL2 缓冲液涡旋后于 4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min 离心 15 min,取外泌体悬液加

入两倍体积的无水乙醇,将混合液转移到柱子上,12 000 r/min 离心 30 s,重复 3 次,将 20 μ L 无 RNA 酶水加到柱子膜中央,静置 2 min 后 12 000 r/min 离心 1 min,获得外泌体总 RNA。

1.3.2 实时荧光定量 PCR(qPCR)检测血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 将外泌体总 RNA 反转录为 cDNA,反转录条件为 37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s。然后进行 qPCR 检测,LncRNA 00853 引物正向序列:5'-AAAGGCTAGGCGATCCCACA-3',反向序列:5'-ACTCCCTAGCTTGCTCTCCT-3';LncRNA FAM72D-3 引物正向序列:5'-GGAGGG CA-GAAGGAAGAAAACAG- 3',反向序列:5'-CACT-GTCCGTCTGTATGCGAG -3';GAPDH 正向序列:5'-CGGACGACTCGGGATGAGA-3',反向序列:5'-GAGAGCTGCACGATCCAGTTG-3'。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,62 $^{\circ}$ C 退火 40 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 40 个循环。反应体系:SYBR Premix 10 μ L,上下游引物各 1 μ L,cDNA 2 μ L 和双蒸水 7 mL。以 GAPDH 为内参,血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 的表达采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示。以 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 相对表达水平的平均值 3.12,2.95 作为临界值,分为 LncRNA 00853 高表达组($n=52$)和 LncRNA 00853 低表达组($n=50$),LncRNA FAM72D-3 高表达组($n=49$)和 LncRNA FAM72D-3 低表达组($n=53$)。

1.4 随访 所有患者确诊后开始进行随访,每 3 个

月随访一次,以电话或门诊复查方式进行,连续随访 3 年,随访截止时间 2022 年 7 月 1 日,随访终点为患者死亡或随访时间结束。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 生存分析(Log-rank 检验)曲线分析血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响;采用单因素及多因素 Cox 回归分析影响 AFP-NHCC 患者生存预后的因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 相对表达水平比较 AFP-NHCC 组血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 相对表达水平分别为 3.12 ± 0.86 、 2.95 ± 0.78 ,明显高于对照组的 1.22 ± 0.36 、 1.16 ± 0.28 ,差异有统计学意义($t=17.546$ 、 19.552 , $P<0.05$)。

2.2 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 与 AFP-NHCC 患者临床病理特征的关系 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 与 AFP-NHCC 患者 BCLC 分期、病理分化程度及肝内淋巴结转移有关($P<0.05$),与性别、年龄、肿瘤最大径、肿瘤结节数目、包膜完整性无关($P>0.05$),见表 1。

表 1 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 与 AFP-NHCC 患者临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)

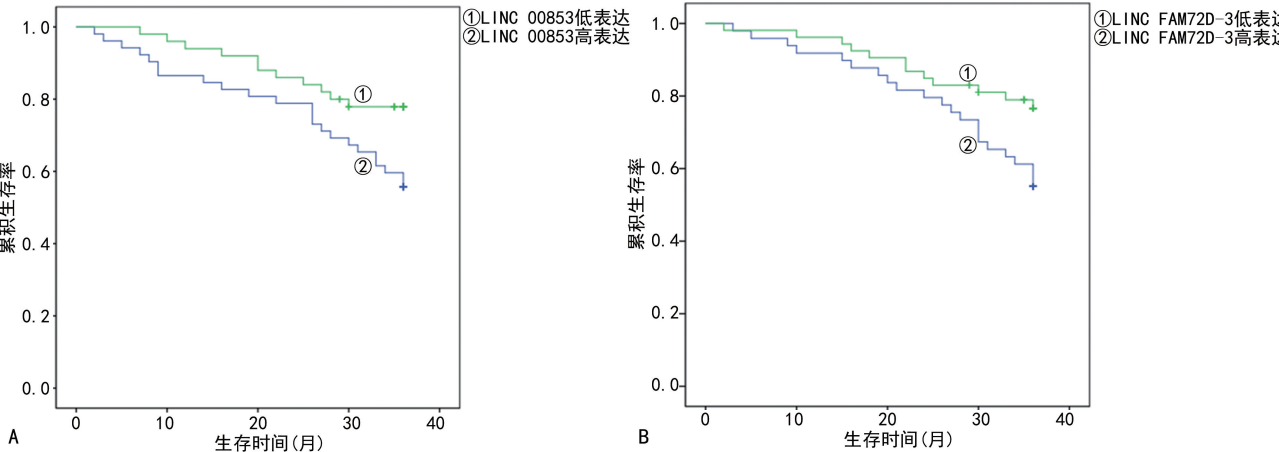
临床参数	<i>n</i>	LncRNA 00853			LncRNA FAM72D-3		
		水平	<i>t</i>	<i>P</i>	水平	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)			0.576	0.566		0.514	0.608
<60 岁	40	3.06 ± 0.91			2.90 ± 0.73		
≥ 60 岁	62	3.16 ± 0.82			2.98 ± 0.79		
性别			1.613	0.110		0.806	0.422
男	70	3.03 ± 0.80			2.91 ± 0.71		
女	32	3.32 ± 0.93			3.04 ± 0.85		
病理分化程度			6.987	<0.001		6.271	<0.001
高中分化	54	2.57 ± 0.76			2.50 ± 0.73		
低分化	48	3.74 ± 0.93			3.45 ± 0.80		
肿瘤最大径(cm)			0.893	0.374		0.990	0.325
≤ 5	72	3.08 ± 0.64			2.90 ± 0.72		
> 5	30	3.22 ± 0.89			3.07 ± 0.94		
肿瘤结节数目(个)			0.491	0.625		1.053	0.295
< 2	80	3.10 ± 0.82			2.91 ± 0.74		
≥ 2	22	3.20 ± 0.94			3.11 ± 0.95		
包膜完整性			1.218	0.226		1.326	0.188
完整	63	3.04 ± 0.76			2.87 ± 0.75		
不完整	39	3.25 ± 0.97			3.08 ± 0.82		

续表 1 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 与 AFP-NHCC 患者临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)							
临床参数	<i>n</i>	LncRNA 00853			LncRNA FAM72D-3		
		水平	<i>t</i>	<i>P</i>	水平	<i>t</i>	<i>P</i>
BCLC 分期			5.516	<0.001		5.318	<0.001
0~A 期	41	2.53±0.97			2.44±0.90		
B~C 期	61	3.52±0.83			3.29±0.71		
肝内淋巴结转移			7.407	<0.001		10.122	<0.001
有	38	3.93±0.93			3.93±0.82		
无	64	2.64±0.80			2.37±0.71		

2.3 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响 AFP-NHCC 组患者随访 3~36 个月,随访期间死亡 32 例,失访 2 例,中位生存时间为 30.82 个月(95%CI 28.79~32.67)。LncRNA 00853 高表达组患者中位生存时间为 29.31 个月(95%CI 26.36~32.26)明显低于低表达组患者的 32.41 个月(95%CI 32.55~34.51),差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=4.844$, $P=0.028$)。LncRNA FAM72D-3 高表达组患者中位生存时间为 30.43 个月(95%CI 27.81~33.04)明显低于低表达组患者的 32.61 个月(95%CI 30.64~34.76),差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=4.576$, $P=0.032$)。见图 1。

2.4 单因素及多因素 Cox 回归分析影响 AFP-NHCC 患者生存预后的因素 以 AFP-NHCC 患者的生存

预后为因变量(死亡赋值为 1、存活赋值为 0),纳入年龄(≥ 60 岁赋值为 1、 <60 岁赋值为 0),性别(男赋值为 1、女赋值为 0),肿瘤最大径(>5 cm 赋值为 1、 ≤ 5 cm 赋值为 0),肿瘤结节数目(≥ 2 个赋值为 1、 <2 个赋值为 0),包膜完整性(不完整赋值为 1、完整赋值为 0),BCLC 分期(B~C 期赋值为 1、0~A 赋值为 0),病理分化程度(低分化赋值为 1、高中分化赋值为 0),肝内淋巴结转移(有赋值为 1、无赋值为 0),LncRNA 00853(高表达赋值为 1、低表达赋值为 0),LncRNA FAM72D-3(高表达赋值为 1、低表达赋值为 0)为自变量,单因素及多因素 Cox 回归分析结果显示,BCLC 分期 B~C 期、病理低分化程度、伴有肝内淋巴结转移、LncRNA 00853 高表达及 LncRNA FAM72D-3 高表达是影响 AFP-NHCC 患者生存预后的独立危险因素。见表 2、3。



注:A 为血清外泌体 LncRNA 00853 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响;B 为 LncRNA FAM72D-3 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响。

图 1 血清外泌体 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 对 AFP-NHCC 患者生存预后的影响

表 2 单因素 Cox 比例风险回归模型分析						
变量	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	HR	95%CI
年龄	0.162	0.144	1.266	0.360	1.176	0.887~1.559
性别	0.129	0.109	1.401	0.224	1.378	0.919~1.409
肿瘤最大径	0.136	0.127	1.147	0.479	1.146	0.893~1.469
肿瘤结节数目	0.122	0.083	2.161	0.223	1.130	0.960~1.329
包膜完整性	0.313	0.197	2.524	0.180	1.368	0.929~2.012
BCLC 分期	0.579	0.191	9.189	<0.001	1.784	1.227~2.594

续表 2 单因素 Cox 比例风险回归模型分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
病理分化程度	0.660	0.211	9.784	<0.001	1.935	1.279~2.926
肝内淋巴结转移	0.417	0.151	7.626	<0.001	1.517	1.129~2.040
LncRNA 00853	0.562	0.173	10.553	<0.001	1.754	1.250~2.462
LncRNA FAM72D-3	0.623	0.209	8.886	<0.001	1.865	1.238~2.808

表 3 多因素 Cox 比例风险回归模型分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
BCLC 分期	0.340	0.107	10.097	<0.001	1.405	1.139~1.733
病理分化程度	0.657	0.230	8.159	<0.001	1.929	1.229~3.028
肝内淋巴结转移	0.411	0.122	11.349	<0.001	1.508	1.176~1.966
LncRNA 00853	0.647	0.203	10.158	<0.001	1.974	1.283~2.843
LncRNA FAM72D-3	0.552	0.187	8.714	<0.001	1.737	1.204~2.506

3 讨 论

HCC 起病隐匿,发现时多为晚期,患者的临床预后较差。AFP 是临床上 HCC 最常用的肿瘤标志物,不仅广泛用于 HCC 的早期筛查诊断,也普遍用于患者术后预后判断及肿瘤复发的监测^[8]。但临床中发现,约 30% 的 HCC 患者 AFP 表达阴性(<20 μg/L),即 AFP-NHCC 患者,特别是在肿瘤最大径<5 cm 的小肝癌患者中,AFP 阳性率仅为 25%^[9]。目前用于 AFP-NHCC 患者预后评估系统包括 BCLC 系统及 Child-Pugh 系统等,BCLC 系统评估内容涉及肿瘤负荷及血管淋巴管侵犯的情况等,虽然全面但过于复杂。Child-Pugh 系统评估内容包括腹水及肝性脑病,不同医师的主观观测结果不同,对患者预后评估有较大差异^[10]。因此,深入研究 AFP-NHCC 的疾病机制,寻找能够术前判断患者预后的肿瘤标志物,有利于对不同风险的 AFP-NHCC 患者进行个体化治疗,以改善临床预后。

外泌体是具有双层磷脂结构的微小囊泡,细胞可分泌产生外泌体,外泌体中含有蛋白、脂质及核酸等活性物质,具有细胞间通讯、免疫抗原呈递等多种生物学功能^[11]。肿瘤细胞可分泌外泌体,并能分布到血液、尿液等体液中检测到,检测外泌体中核酸分子如 LncRNA 等,可能是理想的肿瘤标志物^[12-13]。LncRNA 00853 是一种内源性长链 RNA 分子,位于染色体 1p33 上,具有较高的细胞和组织特异性,参与个体生长发育调控过程^[14]。本研究,AFP-NHCC 组患者血清外泌体 LncRNA 00853 明显高于对照组,提示 LncRNA 00853 可能参与 AFP-NHCC 患者的肿瘤发生。既往有学者对 HCC 患者血清外泌体中 LncRNA 进行分析^[6],也证实相比于健康人群血清,LncRNA 00853 是差异性表达升高最明显的基因之一。目前 AFP-NHCC 中 LncRNA 00853 表达上调的机制尚不清楚,可能与 RNA 调控网络异常有关,研究发

现,环状 RNA 能够作为内源竞争性 RNA,结合并抑制 LncRNA 的表达及功能,环状 RNA 的表达失调可导致 LncRNA 00853 的表达升高,进而促进癌细胞生长、上皮间质转化和化疗耐药等过程^[15]。本研究中,LncRNA 00853 的表达与 AFP-NHCC 患者 BCLC 分期、病理分化程度及肝内淋巴结转移有关,提示 LncRNA 00853 的表达升高促进肿瘤的恶性进展。研究表明,LncRNA 00853 通过促进 CC 趋化因子受体 9 的表达,通过结合 CC 趋化因子配体 25,增强肿瘤细胞的侵袭和迁移能力,导致肿瘤的进展^[16]。本研究发现,血清外泌体 LncRNA 00853 高表达的 AFP-NHCC 患者生存预后较差,是影响患者生存预后的独立危险因素,表明检测血清外泌体中 LncRNA 00853 的表达有助于评估临床预后,是新的 AFP-NHCC 预后相关的生物标志物。研究表明,CC 趋化因子受体 9 通过结合其特异性配体 CC 趋化因子配体 25,激活 Wnt/β-连环蛋白通路,增强肿瘤细胞对化疗药物的抵抗性^[17],LncRNA 00853 可通过促进该通路的激活,导致患者不良生存预后^[16]。

LncRNA FAM72D-3 是近年来发现的新的 RNA 调控分子。体外细胞实验中发现,肝癌细胞系如 HepG2, SNU-423 中 LncRNA FAM72D-3 表达均明显升高,可能是新的 HCC 肿瘤标志物^[7]。本研究中,AFP-NHCC 患者血清外泌体中 LncRNA FAM72D-3 表达明显升高,并且与 BCLC 分期、病理分化程度及肝内淋巴结转移有关,提示 LncRNA FAM72D-3 表达升高参与促进 AFP-NHCC 的发生发展。研究发现,LncRNA FAM72D-3 能够作为分子海绵结合并抑制 miR-5787 的表达^[7],引起 miR-5787 的下游靶基因真核翻译起始因子 5 mRNA 的稳定性增加,促进肿瘤细胞增殖,迁移和转移能力^[18-19]。本研究发现,LncRNA FAM72D-3 高表达患者的生存预后较差,是影响 AFP-NHCC 患者生存预后的独立危险因素,表明

血清外泌体 LncRNA FAM72D-3 是一种新的评估 AFP-NHCC 生存预后的肿瘤标志物。LncRNA FAM72D-3 可通过影响下游微小 RNA 及靶基因的表达,影响肿瘤对化疗药物的耐药性,进而影响患者生存预后。有学者报道,LncRNA FAM72D-3 的表达升高能够抑制 miR-5787 的表达,而 miR-5787 表达下调诱导线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 3 的表达,进而抑制肿瘤细胞氧化磷酸化,促进无氧糖酵解,增强肿瘤细胞对顺铂等化疗药物的耐药性,导致患者不良生存预后^[20]。

综上所述,AFP-NHCC 患者血清外泌体中 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 水平升高,其水平与 AFP-NHCC 患者 BCLC 分期、病理分化程度及肝内淋巴结转移有关,共同参与促进 AFP-NHCC 的肿瘤进展。血清外泌体中 LncRNA 00853、LncRNA FAM72D-3 高表达的 AFP-NHCC 患者生存预后较差,是影响患者生存预后的独立危险因素。但本研究仍然存在一定不足之处,由于样本量及随访时间有限,有待今后设计多中心临床试验进一步研究。

参考文献

[1] KULIK L, EL-SERAG H B. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(2):477-491.

[2] ZHANG X T, EL-SERAG H B, THRIFT A P. Predictors of five-year survival among patients with hepatocellular carcinoma in the United States: an analysis of SEER-medicare[J]. *Cancer Causes Control*, 2021, 32(4):317-325.

[3] LUO P, WU S Y, YU Y L, et al. Current status and perspective biomarkers in AFP negative HCC: towards screening for and diagnosing hepatocellular carcinoma at an earlier stage[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(2):599-603.

[4] ZHANG L, YU D H. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(2):455-468.

[5] PAN W D, LI W, ZHAO J, et al. lncRNA-PDPK2P promotes hepatocellular carcinoma progression through the PDK1/AKT/Caspase 3 pathway[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(10):2246-2258.

[6] KIM S S, BAEK G O, AHN H R, et al. Serum small extracellular vesicle-derived LINC00853 as a novel diagnostic marker for early hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(10):2646-2659.

[7] YAO Z C, JIA C C, TAI Y, et al. Serum exosomal long noncoding RNAs lnc-FAM72D-3 and lnc-EPC1-4 as diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12):11843-11863.

[8] 张笑时, 吕少诚, 潘飞, 等. 甲胎蛋白水平与肿瘤总体积比值对肝癌肝移植患者预后的影响[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2021, 27(3):215-217.

[9] SHIM J H, YOON D L, HAN S D, et al. Is serum alpha-fetoprotein useful for predicting recurrence and mortality specific to hepatocellular carcinoma after hepatectomy? A test based on propensity scores and competing risks analysis[J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(12):3687-3696.

[10] 吴玉芳, 王勇. 不同肝癌分期方法对肝癌肝切除患者的预后价值评估的对比研究[J]. *肝脏*, 2019, 24(1):51-53.

[11] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478):eaau6977.

[12] 杨柳, 张勇, 童学东, 等. 基于质谱技术的外泌体蛋白质组学在肿瘤诊断中的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(16):2009-2015.

[13] 曾雅莉, 唐静. 血浆外泌体 A1BG-AS1 对原发性肝癌诊断及预后评估价值[J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(10):1318-1322.

[14] DAHARIYA S, RAGHUWANSHI S, SANGEETH A, et al. Megakaryoblastic leukemia: a study on novel role of clinically significant long non-coding RNA signatures in megakaryocyte development during treatment with phorbol ester[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(12):3477-3488.

[15] HAN T S, HUR K, CHO H S, et al. Epigenetic associations between lncRNA/circRNA and miRNA in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9):741-750.

[16] LI J Y, MUHAMMAD J, XIE T, et al. LINC00853 restrains T cell acute lymphoblastic leukemia invasion and infiltration by regulating CCR9/CCL25[J]. *Mol Immunol*, 2021, 140(6):267-275.

[17] TU Z B, XIAO R J, XIONG J, et al. CCR9 in cancer: oncogenic role and therapeutic targeting[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9:10.

[18] YOO H, YOO J K, LEE J, et al. The hsa-miR-5787 represses cellular growth by targeting eukaryotic translation initiation factor 5 (eIF5) in fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415(4):567-572.

[19] CAI S X, CHEN W S, ZENG W, et al. Roles of HDAC2, eIF5, and eIF6 in lung cancer tumorigenesis[J]. *Curr Med Sci*, 2021, 41(4):764-769.

[20] CHEN W X, WANG P, LU Y J, et al. Decreased expression of mitochondrial miR-5787 contributes to chemoresistance by reprogramming glucose metabolism and inhibiting MT-CO3 translation[J]. *Theranostics*, 2019, 9(20):5739-5754.