

- [6] 侯婷婷,侯惺,李远,等. GeneXpert M TB /RIF 在检测脊柱结核患者中的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2018,15(21):3268-3270.
- [7] GU Y,WANG G,DONG W,et al. Xpert MTB/RIF and Genotype MTBDRplus assays for the rapid diagnosis of bone and joint tuberculosis[J]. Infect Dis, 2015, 36: 27-30.
- [8] 唐恺,董伟杰,兰汀隆,等. 应用 Xpert MTB/RIF 技术快速诊断膝关节结核[J]. 中国防痨杂志,2016,38(4):300-304.
- [9] 董伟杰,秦世炳,兰汀,等. Xpert MTB/RIF 技术在骨关节结核临床诊断中的应用研究[J]. 中国防痨杂志,2017,39(4):337-341.
- [10] HELD M,LAUBSCHER M,WORKMAN L,et al. Diagnostic accuracy of GeneXpert MTB/RIF in musculoskeletal tuberculosis: High sensitivity in tissue samples of HIV-infected and HIV-uninfected patients [J]. S Afr Med,2017,107(10):854-858.
- [11] CHIHOTA V,GRANT A,FIELDING K,et al. Liquid vs. solid culture for tuberculosis:performance and cost in a resource-constrained setting [J]. Tuberc Lung Dis, 2010,14:1024-1031.
- [12] 张敦华.实用胸膜疾病学[M]. 上海:上海医科大学出版社,1997:152.
- [13] 王德翠,陈子芳,陈琦,等. GeneXpert MTB/RIF 技术在结核性胸膜炎诊断及利福平耐药检测中的价值[J]. 国际呼吸杂志,2015,35(14):1071-1074.
- [14] 李成俊,孙炳奇,孙娇,等. GeneXpert MTB/RIF 检测内科胸腔镜活检组织研磨悬液诊断结核性胸膜炎的价值[J]. 中国防痨杂志,2018,40(8):840-845.
- [15] SAEED M,AHMAD M,IRAM S,et al. A breakthrough for the diagnosis of tuberculous pericarditis and pleuritis in less than 2 hours[J]. Saudi Med J,2017,38 (7):699-705.
- [16] 张海晴,刘成永,周冬青,等. GeneXpert MTB/RIF 系统在结核性胸膜炎快速诊断中应用价值[J]. 北京医学,2016,38(7):739-741.
- [17] 王晓琴,马燕粉,李锐成,等. 尿液结核分支杆菌检测方法在泌尿系结核诊断中的应用研究[J]. 山西医科大学学报,2013,44(8):624-627.
- [18] 陈禹,刘旭晖,付亮,等. GeneXpert MTB/RIF 在 HIV 阴性泌尿系结核中的诊断价值[J]. 中国防痨杂志,2017,39(10):1100-1106.
- [19] 陈子芳,胡立珍,霍丽丽,等. GeneXpert MTB/RIF 技术在肾结核诊断中的应用价值[J]. 国际医药卫生导报,2018,24(3):328-331.
- [20] 杨元利,张永峰,刘元,等. GeneXpert MTB/RIF 技术对成年人结核性脑膜炎诊断价值的研究[J]. 中国防痨杂志,2017,39(9):980-984.
- [21] 吴小慧,刘为勇,汪峰,等. 评估 GeneXpert MTB/ RIF 技术在结核性脑膜炎诊断中的价值[J]. 神经损伤与功能重建,2018,13(7):344-347.
- [22] BAHN C, MARAIS S, CAWS M, et al. GeneXpert MTB/Rif to diagnose tuberculous meningitis: perhaps the first test but not the last[J]. Clin Infect Dis,2016,62(9):1133-1135.
- [23] 陈子芳,劳海黎,李秀华,等. 全自动医用 PCR 分析系统在肺外结核诊断及利福平耐药检测中的应用价值[J]. 中华结核和呼吸杂志,2016,39(7):533-539.
- [24] 李辉,谭耀驹,李洪敏,等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术的诊断效果对比研究[J]. 中国防痨杂志,2014,36(6):472-476.

(收稿日期:2019-01-16 修回日期:2019-04-15)

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.17.047

肝细胞癌新的治疗靶点与诊断标志物 LncRNA 的研究进展

龚 健¹,胡杰俊²综述,龚建平^{1△},张俊勇²审校

1. 重庆市忠县中医医院外科,重庆 404300;2. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科,重庆 400010

关键词:肝癌; LncRNA; 外泌体; 肿瘤微环境

中图法分类号:R657.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)17-2562-04

肝细胞癌(HCC)也称为恶性肿瘤,由于其复杂性,手术切除后复发、转移和异质性,是最致命的癌症之一^[1]。HCC 患者临床表现差异很大,患者可以无症状的,也可以表现为右上腹痛、体质量减轻、阻塞性黄疸和嗜睡。由于疼痛部位的模糊而且缺乏特异性的临床症状,所以早期诊断一般都比较困难^[2]。

在实验室检查中,血清甲胎蛋白(AFP)作为 HCC 的常用标志物,但是 HCC 患者的 AFP 假阴性率约为 50%^[3]。现在最常用的 HCC 诊断标准就是 MRI 或计算机断层扫描血管造影(CTA)扫描的病灶大于 2 cm,AFP 升高超过 400 ng/mL 或在连续测量中持续升高,根据欧洲肝脏研究协会的指导原则,不需要

△ 通信作者,E-mail:gongjianping11@126.com.

进行组织学确认。手术完整切除肿瘤依然是 HCC 患者的首选治疗方案,然而手术切除的患者 5 年生存率仍然低于 50%,而且术后 5 年的复发率高达 70%^[4]。在人体基因组中只有 2% 的基因编码蛋白质,而 90% 的基因都直接转录为非编码 RNA,这些基因不编码蛋白质,根据它们的长度这些非编码 RNA 可以分为两类:大于 200 个核苷酸的称为长链非编码(LncRNA)^[5]。越来越多的研究表明,LncRNA 与许多生物学过程有关,如生长发育、细胞分化、增殖、凋亡和炎症等^[6]。近期的研究表明,LncRNA 可以通过各种方式影响 HCC 的进展,包括表观沉默、剪接调节,与 miRNA 或蛋白质的相互作用及遗传变异^[7]。此外,一些在 HCC 中异常表达的 LncRNA 在血清中也能快速、方便的检测到^[8]。因此,LncRNA 不仅可以作为 HCC 治疗的靶点,也可以作为 HCC 诊断、估计预后、术后监测复发的标志物。

1 LncRNA 作用于 HCC 细胞

越来越多的证据表明,LncRNA 在很多生物过程中发挥作用,包括细胞存活、增殖、迁移和入侵等^[9]。通过与 DNA、mRNA、miRNA 或靶蛋白结合,LncRNA 可以调节其他蛋白质编码基因的转录、加工、翻译、转换和蛋白质活性,从而达到调节细胞功能的目的^[10]。

近几年许多在 HCC 中异常表达的 LncRNA 也陆续被发现,而且它们在 HCC 的发生、发展、侵袭与转移中发挥着重要的调节作用。GONG 等^[11]证实,LncRNA FEZF1-AS1 在 HCC 中表达上调,下敲 FEZF1-AS1 基因的表达能够抑制 Hep3B 和 Huh7 细胞增殖、侵袭和转移。而过表达该基因,结果与上述结果相反。此外,该文献还证明了 LncRNA FEZF1-AS1 作为内源性竞争 RNAs 通过与 miR-4443 结合而抑制 miR-4443 的表达来发挥上述的调节作用。LncRNA 不仅可促进 HCC 细胞的增殖、侵袭、转移,也可以发挥抑癌基因的作用。YAN 等^[12]发现,LncRNA MIR31HG 在 HCC 细胞中表达下调,过表达 MIR31HG 基因可以抑制 SMMC7721 和 HepG2 细胞的增殖、侵袭和转移。采用 RNAi 下敲 MIR31HG 基因,则结果恰恰相反。而且在作用的机制研究中发现,LncRNA MIR31HG 作为海绵分子与 ST7L 的 mRNA 竞争性结合 miR-575,从而抵消 miR-575 对 ST7L 表达的抑制作用,来达到调节细胞增殖、转移、侵袭能力的目的。陈晓雷等^[13]研究发现,雷公藤可以通过上调 LncRNA MEG3 的表达来抑制 HCC 细胞株 HepG2 的增殖及促进其凋亡。

LncRNA 不仅可以作为原癌基因来促进 HCC 的发生、发展,也可以发挥抑癌基因的作用。这些相关发现都可以为肿瘤的靶向治疗提供实验依据和参考,

为肿瘤的系统治疗开辟新的途径。

2 LncRNA 作用于肿瘤微环境

肿瘤微环境是一个非常重要的概念,它强调肿瘤的发生、发展不仅与肿瘤本身有关,而且与肿瘤周围的细胞或非细胞成分也有着密切的关系。肿瘤微环境主要包括:基质细胞、血管、浸润性炎症细胞、癌症干细胞、细胞因子和生长因子,它们共同作用促进肿瘤细胞的生存和转移^[14-17]。周围环境是肿瘤细胞的重要组成部分,在肿瘤血管生成、肿瘤形成和转移等方面具有重要作用^[18]。外泌体是小的细胞外囊泡,由直径 50~100 nm 的脂质双层组成。它们由多种不同细胞从多囊泡内体分泌,几乎存在于所有生物体液中及大多数细胞的培养基中^[19]。外泌体中包含了各种生物大分子,包括 micRNAs、蛋白质、LncRNA 和 mRNAs 等^[20]。越来越多的体内和体外试验均证明外泌体可被靶细胞摄取,而在细胞-细胞交流中发挥重要作用^[21]。基于这种机制,作为外泌体中主要成分之一的 LncRNA 则可作用于肿瘤细胞周围的细胞和非细胞成分而起到间接调控肿瘤发生、发展的作用。

LI 等^[22]的研究证实,肝癌细胞来源的外泌体中含有大量的 LncRNA TUC339,这种 LncRNA 能被肝癌细胞周围的巨噬细胞摄取。LncRNA TUC339 在巨噬细胞中不仅能降低促炎因子,共刺激因子的表达,而且能促进 M2 型巨噬细胞的极化从而达到促进肿瘤的作用。ZHAO 等^[23]通过实验证明,LncRNA n339260 可以作用于肿瘤干细胞,从而诱导肿瘤干细胞促进肝癌血管生成拟态的形成,间接地促进了肝癌细胞的生长和转移。而且这种血管生成拟态的形成是不能被抗肿瘤血管生成药物抑制的。PENG 等^[24]的实验证明,LncRNA PANDA 的过表达在体外和体内都能增强 HCC 增殖和肿瘤生长。从机制上讲,LncRNA PANDA 抑制了衰老相关炎症因子 IL-8 的转录活性,从而抑制细胞衰老。

相当多的证据已经证明肿瘤微环境在肿瘤的发生、发展中起着重要的调控作用,它们既可以促进肿瘤的发生、发展,也可以抑制肿瘤的发生、发展。LncRNA 作为这些复杂细胞信号网络的重要媒介之一,这为肿瘤的联合治疗开辟了一条新的途径。

3 LncRNA 用于 HCC 的诊断

肿瘤诊断的金标准是通过活体组织检查,然而活组织检查存在许多的并发症,包括致命性的出血、肿瘤播散等。所以血清中 AFP 的水平和影像学检查就成为诊断 HCC 的主要手段,但是早期 HCC 特别是小于 2 cm 的 HCC 患者血清中 AFP 的水平却很低,这使 HCC 患者中出现 AFP 假阴性率的情况大于 30%^[25]。越来越多的研究证明,多条 LncRNA 在 HCC 细胞中表达上调。作为内泌体内泌物之一的

LncRNA 可以随着内分泌体分泌到血清、尿液等体液中,所以 LncRNA 具有作为 HCC 诊断标志物的潜能^[26]。

ZHANG 等^[27]研究发现,LncRNA-HEIH 在丙型肝炎相关性 HCC 患者的血清中明显高于单纯的丙型肝炎患者。WANG 等^[28]研究发现,LncRNA LRB1 在 HCC 患者的血清中明显高于健康人,而且 LncRNA LRB1 在 TNM 分期为 1、2 期的患者血清水平明显低于 3、4 期患者;在巴塞罗那分期为 A、B 期的患者血清中明显高于 C、D 期的患者。此外,ZHANG 等^[28]还通过作 AOC 曲线分析发现,在早期 HCC(TNM 1-2,BCLC A-B)患者中 LncRNA LRB1 曲线下面积大于 AFP,联合应用 LncRNA LRB1、AFP 曲线下面积大于单独应用上面 2 项指标,而患者在切除肿瘤后 LncRNA LRB1 明显降低。LncRNA ENSG00000258332.1 和 LINC00635 被 XU 等^[29]发现在 HCC 患者血清中明显高于丙型肝炎患者,在不同年龄、性别的 HCC 患者中这两种 LncRNA 差异无统计学意义($P>0.05$),但是这种 LncRNA 的血清水平与血管侵犯、淋巴转移和远处转移有着明显的关系。从丙型肝炎患者中鉴别出 HCC,对上述两种 LncRNA 和 AFP 做 ROC 曲线分析:ENSG00000258332.1 的曲线下面积为 0.719;LINC00635 的曲线下面积为 0.750;AFP 的曲线下面积为 0.666,而联合使用上述 3 种标志物曲线下面积为 0.894。在做生存曲线时发现高含量的 ENSG00000258332.1 和 LINC00635 意味着总体生存率不好。张帅等^[30]研究发现,HCC 组织中 LncRNA TINCR 和 ANRIL 的表达与肿瘤的大小、分化程度及 TNM 分期有显著的关系,除此之外 LncRNA TINCR 和 ANRIL 的高表达预示着预后不好、复发率高。

在 HCC 细胞中异常表达的 LncRNA 可以分泌到血清中,并可被相关技术检测到做定量分析,这为肿瘤标志物的筛选提供了更多的备选。大量试验证明,某些 LncRNA 不仅与 HCC 的发生有关,还与 HCC 的分期、预后有着密切的关系,说明 LncRNA 不仅可以用来诊断 HCC,在估计预后,指导治疗方面也有重要意义。

4 小 结

HCC 在全球的发病率逐年升高,而且发病逐渐年轻化,不断威胁着人类的健康与生命,HCC 的早期诊断及治疗仍然是世界性医学难题。目前,HCC 最有效的治疗手段仍然是通过外科手术切除。然而 HCC 的完整切除有赖于 HCC 的早期诊断,由于各种原因 HCC 的诊断基本只局限于血清 AFP 水平和影像学检查,这些检查手段在早期诊断方面效果仍然不是特别理想。往往很多患者诊断出 HCC 已是晚期,失去了手术治疗的机会,不得不选用其他治疗方案延

长寿命。LncRNA 作为一种非编码 RNA 可随着内分泌体分泌到细胞外,由于受到内分泌体的保护得以不被血清中的 RNA 酶降解。因此,这些在 HCC 细胞中异常表达的 LncRNA 可以被相关技术手段做定量分析,人的血清标本是非常容易获得的,这种检测手段几乎对患者没有损伤。越来越多的研究证明,某些 LncRNA 的表达水平不仅与 HCC 的发生、发展有关,而且与肿瘤的侵犯、转移,以及与患者的生存、预后也关系密切。所以 LncRNA 在 HCC 的早期诊断、估计预后、术后复发的检测有着非常广泛的应用价值。肿瘤的发生、发展不仅与肿瘤细胞自身特点相关,还受到肿瘤微环境中各种信号网络的广泛调控。在患者失去手术机会,运用药物做靶向活着免疫治疗时,通过多条致癌途径的干预也许会让患者更大受益。近几年的相关研究表明,LncRNA 通过各种机制,不仅能直接作用于肿瘤细胞调控肿瘤细胞的增殖、侵犯与转移,还能通过作用于肿瘤微环境间接的调控肿瘤的生长、侵犯和转移。

综上所述,以上研究结果表明,LncRNA 虽然不能编码蛋白质,但是在调控细胞信号方面作用广泛,在 HCC 的联合治疗方面也有着光明的前景。

参考文献

- [1] DUTTA R,MAHATO R I. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 173: 106-117.
- [2] DIMITROULIS D,DAMASKOS C,VALSAMI S,et al. From diagnosis to treatment of hepatocellular carcinoma: An epidemic problem for both developed and developing world[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23 (29): 5282-5294.
- [3] MORIMOTO M,NUMATA K,NOZAKI A,et al. Novel Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of α -fetoprotein: a biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence in patients with low α -fetoprotein concentrations[J]. *Int J Clin Oncol*, 2012, 17(4): 373-379.
- [4] LEE W C,LEE C F,CHENG C H,et al. Outcomes of liver resection for hepatocellular carcinoma in liver transplantation era[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2015, 41 (9): 1144-1152.
- [5] BEERMANN J,PICCOLI M T,VIERECK J,et al. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches[J]. *Physiol Rev*, 2016, 96(4): 1297-1325.
- [6] LEE Y R,KIM G,TAK W Y,et al. Circulating exosomal noncoding RNAs as prognostic biomarkers in human hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144 (6): 1444-1452.
- [7] HUANG J L,ZHENG L,HU Y W,et al. Characteristics

- of long non-coding RNA and its relation to hepatocellular carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(3):507-514.
- [8] MOHANKUMAR S, PATEL T. Extracellular vesicle long noncoding RNA as potential biomarkers of liver cancer[J]. *Brief Funct Genomics*, 2016, 15(3):249-256.
- [9] CHEN Y, WEI G, XIA H, et al. Long noncoding RNA ATB promotes cell proliferation, migration and invasion in gastric cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1):1940-1946.
- [10] GEISLER S, COLLIER J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(11):699-712.
- [11] GONG J, WANG J, LIU T, et al. lncRNA FEZF1 AS1 contributes to cell proliferation, migration and invasion by sponging miR 4443 in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6):5614-5620.
- [12] YAN S, TANG Z, CHEN K, et al. Long noncoding RNA MIR31HG inhibits hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis by sponging microRNA-575 to modulate ST7L expression[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):214.
- [13] 陈晓雷, 杨秀丽, 周天竹, 等. 雷公藤红素上调 lncRNA MEG3 表达抑制肝癌细胞增殖及促进细胞凋亡[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(5):739-742.
- [14] CAI H, YE B G, AO J Y, et al. High expression of S100A12 on intratumoral stroma cells indicates poor prognosis following surgical resection of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(4):5398-5404.
- [15] HAIDER C, HNAT J, WAGNER R, et al. Transforming growth factor- β and Axl induce CXCL5 and neutrophil recruitment in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2019, 69(1):222-236.
- [16] KANG F B, WANG L, LI D, et al. Hepatocellular carcinomas promote tumor-associated macrophage M2-polarization via increased B7-H3 expression [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(1):274-282.
- [17] LI X, YAO W, YUAN Y, et al. Targeting of tumour-infiltrating macrophages via CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma [J]. *Gut*, 2017, 66(1):157-167.
- [18] YUAN Y, JIANG Y C, SUN C K, et al. Role of the tumor microenvironment in tumor progression and the clinical applications (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5):2499-2515.
- [19] TKACH M, THÉRY C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. *Cell*, 2016, 164(6):1226-1232.
- [20] PEFANIS E, WANG J, ROTHSCCHILD G, et al. RNA exosome-regulated long non-coding RNA transcription controls super-enhancer activity[J]. *Cell*, 2015, 161(4):774-789.
- [21] RECORD M, CARAYON K, POIROT M, et al. Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiological [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(1):108-120.
- [22] LI X, LEI Y, WU M, et al. Regulation of macrophage activation and polarization by HCC-derived exosomal lncRNA TUC339[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10):e2958.
- [23] ZHAO X, SUN B, LIU T, et al. Long noncoding RNA n339260 promotes vasculogenic mimicry and cancer stem cell development in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(10):3197-3208.
- [24] PENG C, HU W, WENG X, et al. Over expression of long non-coding RNA PANDA promotes hepatocellular carcinoma by inhibiting senescence associated inflammatory factor IL8[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4186.
- [25] SAUZAY C, PETIT A, BOURGEOIS A M, et al. Alpha-fetoprotein (AFP): a multi-purpose marker in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 463:39-44.
- [26] SUN L, SU Y, LIU X, et al. Serum and exosome long non coding RNAs as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer*, 2018, 9(15):2631-2639.
- [27] ZHANG C, YANG X, QI Q, et al. lncRNA-HEIH in serum and exosomes as a potential biomarker in the HCV-related hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 21(3):651-659.
- [28] WANG Z F, HU R, PANG J M, et al. Serum long non-coding RNA LRB1 as a potential biomarker for predicting the diagnosis and prognosis of human hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2):1593-1601.
- [29] XU H, CHEN Y, DONG X, et al. Serum exosomal long noncoding RNAs ENSG00000258332. 1 and LINC00635 for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(6):710-716.
- [30] 张帅, 朱佳, 吴相柏, 等. 肝癌组织 LncRNA TINCR 和 ANRIL 表达水平及其与患者预后的关系[J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(1):55-59.

(收稿日期:2019-02-14 修回日期:2019-05-02)