

# 肝细胞癌中 ZHX2 mRNA 的表达及其临床意义的研究

陈伟露, 吕自力

基金项目: 广西青年科学基金资助项目(编号:桂科青 0728057)

作者单位: 530021 南宁,广西医科大学第一附属医院病理科

作者简介: 陈伟露(1984-),女,在读硕士研究生,研究方向:肝癌病理学。E-mail:cwlul015@163.com

通讯作者: 吕自力(1974-),女,博士,副教授,研究方向:肝脏肿瘤病理学。E-mail:lvzili@yahoo.com.cn

**[摘要]** **目的** 探讨转录抑制因子 ZHX2(zinc-fingers and homeoboxes 2,ZHX2)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)中的表达及其与转移的关系。**方法** 通过 RT-PCR 方法,检测 35 例 HCC 癌组织及相应癌旁组织和 8 例正常肝组织中 ZHX2 mRNA 的表达,并分析其与临床病理参数的关系。**结果** HCC 癌组织中 ZHX2 mRNA 的表达率明显低于癌旁组织与正常肝组织( $P < 0.05$ )。术中发现伴随转移的 HCC 癌组织中 ZHX2 mRNA 的阳性表达率明显低于无转移的 HCC( $P < 0.05$ )。ZHX2 mRNA 的表达与血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP)水平呈负相关( $P < 0.05$ ),而与年龄、性别、HBsAg 感染、肿瘤直径、分化程度、是否伴随肝硬化无明显关系。**结论** ZHX2 低表达与 HCC 转移密切相关,并与 AFP 的高表达有关。

**[关键词]** ZHX2; 肝细胞癌(HCC); 转移; 甲胎蛋白(AFP)

**[中图分类号]** R 735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)05-0404-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.05.05

**Experiment study of ZHX2 in HCC and it's clinical significance** CHEN Wei-lu, LÜ Zi-li. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the expression of zinc-fingers and homeoboxes 2(ZHX2) in hepatocellular carcinoma(HCC) and their relationship with metastasis. **Methods** RT-PCR was used for detecting the ZHX2 mRNA of 35 HCC tumor tissues and adjacent-tumor liver tissues and 8 cases of normal liver tissues. The results were analyzed by combination with the clinical and pathological data of the patients. **Results** The positive rate of ZHX2 mRNA in tumor tissues was lower than those in adjacent-tumor liver tissues and normal liver tissues( $P < 0.05$ ). The positive rate of ZHX2 mRNA in cases with preoperative metastasis was lower than that in cases of without metastasis( $P < 0.05$ ). The expression of ZHX2 mRNA was correlated with the serum level of AFP( $P < 0.05$ ), it was not correlated with age, sex, serum of HBsAg, tumor size, differentiation grade, liver cirrhosis. **Conclusion** Metastasis of HCC and high expression of AFP were related with low expression of ZHX2.

**[Key words]** Zinc-fingers and homeoboxes 2; Hepatocellular carcinoma(HCC); Metastasis; Alphafetoprotein(AFP)

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)是我国最常见和死亡率极高的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,容易发生转移是其特点,尤其是发生肝内转移。ZHX2 属于 ZHX 蛋白家族,是近年来新克隆的转录抑制因子<sup>[2]</sup>,ZHX2 的表达水平发生变化与许多疾病的发生发展有关。本实验采用 RT-PCR 方法检测 ZHX2 mRNA 在 HCC 中的表达并分析其与 HCC 转移的

关系。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** HCC 癌组织及距离肿瘤 5 cm 外癌旁肝组织取自 2007-08 ~ 2007-10 在我院住院手术的肝癌患者,共 35 例。其中男性 29 例,女性 6 例,年龄 33 ~ 75 岁,平均年龄 50.6 岁,中位年龄 50 岁。术中发现有转移 11 例(门静脉癌栓形成 9 例,肝内

转移2例),未见转移24例。血清甲胎蛋白(alphafetoprotein,AFP)≥25 ng/ml 26例,AFP < 25 ng/ml 9例。8例正常肝组织取自肝内胆管结石旁或肝血管瘤旁肝组织。组织置液氮-80℃保存。所有HCC病例均经病理证实,分化程度按WHO标准,35例HCC组织中,高分化3例,中分化25例,低分化7例。

**1.2 主要试剂** 提取总RNA试剂TRIzol Reagent购自美国Invitrogen公司,合成cDNA第1链逆转录试剂盒购自Fermentas公司。

**1.3 方法** TRIzol Reagent提取组织总RNA,按逆转录试剂盒说明书操作合成cDNA第1链,PCR扩增目的基因ZHX2和内参照GAPDH。目的基因ZHX2上下游引物序列分别为5'-GGTAGCGACGA-GAACGAG-3', 5'-AGGACTTTGCGACTATGAAC-3',扩增片段长389 bp。GAPDH上下游引物序列分别为5'-TGAGTACGTCGTGGAGTCCA-3', 5'-CAAAGT-TGTCATGGATGACC-3',扩增片段长230 kb。ZHX2循环条件为94℃预变性5 min,94℃变性45 s,58℃退火45 s,72℃延伸1 min,共35个循环,最后72℃延伸10 min。GAPDH循环条件为94℃预变性5 min,94℃变性30 s,58℃退火30 s,72℃延伸45 s,共30个循环,最后72℃延伸8 min。PCR产物2%琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像系统进行分析,有明确条带者定为阳性,无明确条带者定为阴性。

**1.4 统计学方法** 应用统计学软件SPSS16.0进行统计学处理,计数资料率的比较采用 $\chi^2$ 检验或确切概率计算法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

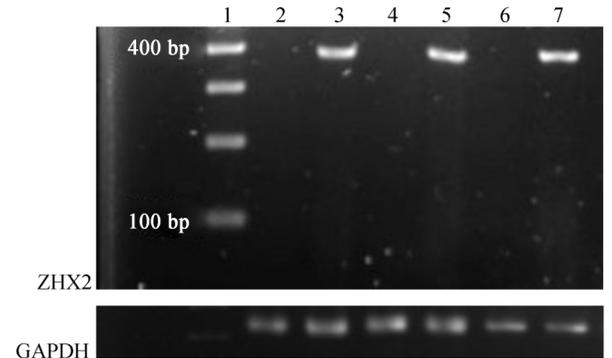
**2 结果**

**2.1 ZHX2 mRNA 的表达情况** 35例HCC癌组织及相应癌旁肝组织及8例正常肝组织中ZHX2 mRNA的阳性表达率分别为37.1% (13/35)、62.9% (22/35)及87.5% (7/8),癌组织与癌旁肝组织、正常肝组织间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1;癌组织中ZHX2 mRNA阳性表达低于癌旁肝组织及正常肝组织(见图1),癌旁肝组织与正常肝组织间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。伴随转移的HCC与无转移的HCC中ZHX2 mRNA的阳性表达率分别为9.1% (1/11)和50.0% (12/24),两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2;伴随转移的HCC中ZHX2 mRNA阳性表达率低于无转移的HCC(见图2)。

表1 ZHX2 mRNA 在 HCC 癌组织、癌旁肝组织和正常肝组织中的表达情况

组织类型	例数	ZHX2 mRNA		
		+	-	阳性率(%)
癌组织	35	13	22	37.1
癌旁组织	35	22	13	62.9
正常组织	8	7	1	87.5

注:癌组织与癌旁组织比较, $\chi^2 = 4.629, P = 0.031$ ;与正常组织比较, $\chi^2 = 4.767, P = 0.029$ ;癌旁组织与正常组织比较, $\chi^2 = 0.853, P = 0.356$



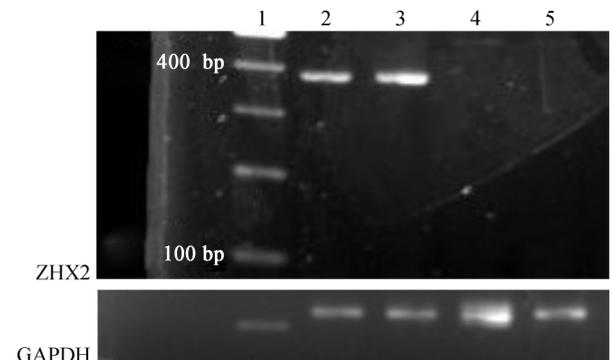
HCC 癌组织 ZHX2 mRNA 阳性扩增低于癌旁肝组织,产物389 bp。Lane 1 为100 bp DNA ladder, Lane 2,4,6 为HCC 癌组织,Lane 3,5,7 为癌旁肝组织

图1 HCC 癌组织与癌旁肝组织中 ZHX2 mRNA 扩增情况

表2 ZHX2 mRNA 在伴随转移与无转移 HCC 癌组织中的表达情况

转移情况	例数	ZHX2 mRNA		
		+	-	阳性率(%)
伴随转移	11	1	10	9.1
无转移	24	12	12	50.0

注:两者阳性率比较, $P = 0.027$



伴随转移的 HCC 癌组织 ZHX2 mRNA 阳性扩增低于无转移的 HCC 癌组织,产物389 bp。Lane 1 为100bp DNA ladder, Lane 2,3 为无转移 HCC 癌组织,Lane 4,5 为伴随转移的 HCC 癌组织

图2 伴随转移与无转移的 HCC 癌组织 ZHX2 mRNA 扩增情况

**2.2 ZHX2 mRNA 与临床病理参数的关系** ZHX2 mRNA 表达情况与患者年龄、性别、HBsAg 感染、肿瘤直径、肿瘤分化程度、是否伴随肝硬化无明显关系 ( $P > 0.05$ ), 而与血清 AFP 水平有关 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 ZHX2 mRNA 表达情况与临床病理参数的关系

参 数	例数	ZHX2 mRNA		P
		+	-	
年龄(岁)	≥50	16	8	0.179
	<50	19	5	
性别	男	29	12	0.377
	女	6	1	
血清 AFP(ng/ml)	≥25	26	7	0.015
	<25	9	7	
血清 HBsAg	阳性	32	12	1.000
	阴性	3	1	
肿瘤直径(cm)	>3	20	5	0.157
	≤3	15	8	
分化程度	低分化	7	1	0.220
	高中分化	28	12	
肝硬化	有	17	8	0.305
	无	18	5	

### 3 讨论

**3.1 恶性肿瘤的转移**是一个多因素多步骤的复杂过程, HCC 是容易发生转移的恶性肿瘤, 目前对 HCC 转移机理的研究已经成为热点。ZHX2 是一种非特异性转录因子, 可与核因子-YA (nuclear factor-YA, NF-YA) 结合调节其下游基因的表达<sup>[2]</sup>。研究表明 ZHX2 的低表达与 HCC 相关, 可能是 HCC 发生的关键因素<sup>[3,4]</sup>。亦有研究表明, ZHX2 的低表达与多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 的侵袭性密切相关<sup>[5]</sup>。本实验采用 RT-PCR 方法, 分别检测 HCC 癌组织、癌旁组织、正常肝组织中 ZHX2 mRNA 的表达, 结果显示癌组织的 ZHX2 mRNA 表达率均

远低于癌旁组织和正常肝组织, 而在 HCC 癌组织中, 伴随转移的 HCC 癌组织 ZHX2 mRNA 的表达率远低于无转移的 HCC。表明 ZHX2 基因除与 HCC 的发生有关, 还可能与 HCC 的转移有关。ZHX2 通过 NF-YA 结合从而调节其下游基因的表达, 可推测, ZHX2 低表达影响了其与 NF-YA 的结合, NF-YA 继而丧失了对其下游基因如肿瘤抑制基因的调控, 从而促进了 HCC 的转移。

**3.2 AFP 在转录水平上受多因素调控**, 最近研究表明, ZHX2 对 AFP 启动子有抑制作用<sup>[6]</sup>, 本实验结果还显示了血清 AFP 水平不同的 HCC 中 ZHX2 mRNA 的表达有明显差异, AFP ≥ 25 ng/ml 组的 ZHX2 mRNA 表达率远低于 AFP < 25 ng/ml 组, 血清 AFP 水平与 ZHX2 mRNA 表达水平呈负相关, 可推测, AFP 在 HCC 时再出现的其中一个原因为 ZHX2 的低表达, 失去了对 AFP 的转录抑制作用, 从而促进了 AFP 表达, 这为 HCC 发生发展和转移机理的研究提供了新的方向。

### 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74 - 108.
- 2 Kawata H, Yamada K, Shou Z, et al. The mouse zinc-fingers and homeoboxes (ZHX) family; ZHX2 forms a heterodimer with ZHX3 [J]. Gene, 2003, 323: 133 - 140.
- 3 Lv Z, Zhang M, Bi J, et al. Promoter hypermethylation of a novel gene, ZHX2, in hepatocellular carcinoma [J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125(5): 740 - 746.
- 4 Yamada K, Ogata-Kawata H, Matsuura K, et al. ZHX2 and ZHX3 repress cancer markers in normal hepatocytes [J]. Front Biosci, 2009, 14: 3724 - 3732.
- 5 Armellini A, Sarasquete ME, Garcia-Sanz R, et al. Low expression of ZHX2, but not RCBTB2 or RAN, is associated with poor outcome in multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2008, 141(2): 212 - 215.
- 6 申红玉, 栾芳, 刘华, 等. 转录抑制因子 ZHX2 对 AFP 启动子的抑制作用 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2007, 27(4): 311 - 315.

[收稿日期 2011-02-23][本文编辑 刘京虹 吕文娟]

## 《中国临床新医学》杂志编辑部启事

为了加强与市、县医疗单位的交流与合作, 提高广大业务技术人员医学论文的写作水平, 《中国临床新医学》杂志编辑部的有关专家将分期分批赴各市、县医疗卫生单位进行《医学论文写作》、《医学文献检索》和《医学统计学基本应用》等有关方面的学术讲课。各医疗卫生单位如有这方面的需求, 敬请与编辑部联系。联系电话: 0771 - 2186013。

· 本刊编辑部 ·