

- sary for aldosterone-stimulated T-type calcium channel expression in cardiomyocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 19102941. DOI: 10.3390/ijms19102941.
- [11] YU SY, DONG B, FANG ZF, et al. Knockdown of lncRNA AK139328 alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury in diabetic mice via modulating miR-204-3p and inhibiting autophagy [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(10):4886-4898.
- [12] THIEBAUT P A, BESNIER M, GOMEZ E, et al. Role of protein tyrosine phosphatase 1B in cardiovascular diseases [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 101: 50-57.
- [13] WANG S, CHEN X, NAIR S, et al. Deletion of protein tyrosine phosphatase 1B obliterates endoplasmic reticulum stress-induced myocardial dysfunction through regulation of autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(12):3060-3074.
- [14] PARK SA, HONG BZ, HA KC, et al. Protein tyrosine phosphatase 1B is a mediator of cyclic ADP ribose-induced  $Ca^{2+}$  signaling in ventricular myocytes [J/OL]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(6): e341. DOI:10.1038/emm.2017.68.
- [15] WANG S, CHENG Z, CHEN X, et al. microRNA-135a protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by targeting protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6):10421-10433.
- [16] JIANG WB, ZHAO W, CHEN H, et al. Baicalin protects H9c2 cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis and oxidative stress through activation of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(3): 303-311.
- [17] SEHIRLI O, TOZAN A, OMURTAG GZ, et al. Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2008, 71(1):301-308.
- [18] CHEN M, WANG X, HU BO, et al. Ursolic acid stimulates UCP2 expression and protects H9c2 cells from hypoxia-reoxygenation injury via p38 signaling [J]. *J Biosci*, 2018, 43(5): 857-865.
- [19] HE Y, LI C, MA Q, et al. Esculetin inhibits oxidative stress and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes following hypoxia/reoxygenation injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(1): 139-144.

(收稿日期:2019-08-22,修回日期:2019-10-07)

引用本文:袁小笋,张蕾,马慧利,等.长链非编码RNA HULC在乳腺癌组织中表达及临床意义[J].安徽医药,2022,26(5):982-985. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.031.

◇ 临床医学 ◇



## 长链非编码RNA HULC在乳腺癌组织中表达及临床意义

袁小笋<sup>1</sup>,张蕾<sup>1</sup>,马慧利<sup>1</sup>,薛永飞<sup>1</sup>,李长生<sup>1</sup>,张敬伟<sup>1</sup>,任中海<sup>1</sup>,张腾飞<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>南阳市中心医院肿瘤内科二病区,河南 南阳 473000;

<sup>2</sup>郑州市中心医院肿瘤科,河南 郑州 450000

通信作者:任中海,男,主任医师,研究方向为肿瘤,Email:mengbei2010@126.com

基金项目:河南省科技发展计划(142102310459)

**摘要:** 目的 探讨长链非编码RNA 肝癌高表达转录本(HULC)在乳腺癌组织中表达及临床意义。方法 选取2013年5月至2015年5月在南阳市中心医院乳腺科行手术治疗且资料完整的乳腺癌病人112例,实时荧光定量PCR术检测乳腺癌和正常乳腺组织中HULC表达,病人均于术后1d开始随访,随访截止日期2020年5月31日,以死亡作为终点事件,记录病人生存时间,采用Kaplan-Meier法进行生存分析,采用Cox比例风险回归模型分析影响乳腺癌病人预后的风险因素。结果 乳腺癌组织中HULC表达量为(2.27±0.18),高于正常乳腺组织的(1.02±0.08),差异有统计意义( $t=67.38, P<0.001$ );不同组织学分级、TNM分期、淋巴结转移、ER和Ki-67的乳腺癌组织中HULC表达量差异有统计学意义( $P<0.05$ );以乳腺癌组织中HULC表达量的 $P_{25}$ 值为界值,将病人分为低表达组( $n=29$ )和高表达组( $n=83$ ),低表达组病人生存时间(52.72±3.06)个月,5年生存率为82.76%,高表达组病人则分别为(35.51±2.25)个月和36.14%,差异有统计学意义( $\chi^2=15.16, P<0.001$ );HULC表达是影响乳腺癌病人预后的独立风险因素[ $HR=5.249(95\%CI: 1.965 \sim 14.024), P<0.05$ ]。结论 乳腺癌组织中HULC表达量升高,可能发挥类似癌基因的作用而参与了乳腺癌进展,且是影响病人预后的风险因素。

**关键词:** 乳腺肿瘤; 长链非编码RNA 肝癌高表达转录本; 临床病理指标; 预后; Cox比例风险回归模型

### Expression and clinical significance of long non-coding RNA HULC in breast cancer

YUAN Xiaosun<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, MA Huili<sup>1</sup>, XUE Yongfei<sup>1</sup>, LI Changsheng<sup>1</sup>, ZHANG Jingwei<sup>1</sup>, REN Zhonghai<sup>1</sup>, ZHANG Tengfei<sup>2</sup>

Author Affiliations:<sup>1</sup>Department of Oncology Second Ward, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China;

<sup>2</sup>Department of Oncology, Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression and clinical significance of long non-coding RNA HULC in breast cancer. **Methods** A total of 112 cases of patients with breast cancer who underwent surgical treatment with complete data in the Department of Mammary Gynecology, Nanyang Central Hospital from May 2013 to May 2015 were selected. Real-time quantitative PCR was used to detect the expression of HULC in breast cancer and normal breast tissues. All patients were followed up one day after the operation, and the deadline for follow-up was May 31, 2020, with death as the end event, and the survival time of patients was recorded. Kaplan-Meier method was used to survival analysis, and Cox proportional hazard regression model was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of breast cancer patients. **Results** The expression level of HULC in breast cancer tissue was  $(2.27 \pm 0.18)$ , which was higher than  $(1.02 \pm 0.08)$  in the normal breast tissue, the difference was statistically significant ( $t=67.38, P<0.001$ ). The differences of the expression levels of HULC in breast cancer tissues with different histological grades, TNM stages, lymph node metastasis, ER and Ki-67 were statistically significant ( $P<0.05$ ). Taking the P25 value of the expression level of HULC in breast cancer as the cut-off value, the patients were assigned into low expression group ( $n=29$ ) and high expression group ( $n=83$ ). The average survival time of patients and the 5-year survival rate in the low expression group were  $(52.72 \pm 3.06)$  months and 82.76%, respectively, while in the high expression group were  $(35.51 \pm 2.25)$  months and 36.14%, respectively, the difference was statistically significant ( $\chi^2=15.16, P<0.001$ ). The expression of HULC was risk factors that affect the prognosis of breast cancer patients [ $HR=5.249$  (95%CI: 1.965-14.024),  $P<0.05$ ]. **Conclusion** The expression of HULC in breast cancer tissues is increased, it may play an oncogene-like role and participate in breast cancer progression, and it is a risk factor that affects the prognosis of patients.

**Key words:** Breast neoplasms; Long non-coding RNA HULC; Clinicopathological indicators; Prognosis; Cox proportional hazards regression model

乳腺癌作为女性高发恶性肿瘤, 尽管病人早期发现率不断提高, 且诊疗手段的不断进步, 但病人远期预后仍然改善有限<sup>[1]</sup>, 转移和复发仍是导致病人死亡的主要因素<sup>[2]</sup>。因此, 深入探讨与乳腺癌转移相关的机制或敏感基因对指导病人临床诊疗及改善预后意义重大。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一种长度在 200 nt 以上且缺乏编译蛋白功能的 RNA, 以往被认为是一种“垃圾基因”, 随着研究深入, 其在表观遗传修饰及基因转录和翻译中的调控作用越来越受到重视<sup>[3]</sup>, 已被发现参与了多种疾病发生过程<sup>[4]</sup>, 同时与肿瘤生长、侵袭转移等密切相关<sup>[5]</sup>, 肝癌高表达转录本 (highly up-regulated in liver cancer, HULC) 是最早在肝癌中发现的一种 lncRNA<sup>[6]</sup>, 近年来发现其在胰腺癌<sup>[7]</sup>、淋巴瘤<sup>[8]</sup>等多种恶性肿瘤组织中表达异常, 但其在乳腺癌组织表达如何鲜有报道。本研究分析乳腺癌组织中 HULC 表达, 探讨其不同临床病理指标间表达差异性, 以及与预后的相关性, 以期为乳腺癌机制研究及临床诊疗提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 5 月至 2015 年 5 月在南阳市中心医院乳腺科行手术治疗且资料完整的乳腺癌病人 112 例, 入选病人均为女性, 术前未接受放疗, 术后病理学检查证实。年龄  $(56.58 \pm 11.52)$  岁, 范围为 26 ~ 75 岁。病理学类型: 浸润性导管癌 88 例, 其他类型 24 例; 肿瘤直径:  $>2$  cm 62 例,  $\leq 2$  cm 50 例; 组织学分级: I 级 31 例, II 级 46 例, III 级 35 例; 按照第七版 TNM 分期标准: I 期 24 例, II 期 52 例, III ~ IV 期 36 例; 发生腋窝淋巴结转移 41 例, 根

据雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR)、人类表皮生长因子受体 2 (HER-2) 和 Ki-67 检查结果进行分子分型: Luminal A 型 33 例, Luminal B 型 29 例, HER-2 过表达型 21 例, 三阴性 (TNBC) 型 29 例。所有病人于手术中留取乳腺癌及距离肿瘤边缘  $>5$  cm 正常乳腺组织, 快速置于液氮中,  $-80$  °C 保存。病人或其近亲属均行知情同意。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

## 1.2 方法

**1.2.1 实时荧光定量 PCR 术检测乳腺癌和正常乳腺组织中 HULC 表达** 取组织, 剪碎、研磨, 加入细胞裂解液, 按总 RNA 提取试剂盒 (Trizol 法, 购自上海百研生物科技有限公司) 说明提取总 RNA, 并利用逆转录试剂盒 (购自美国 Thermo 公司) 获得 cDNA, 使用美国 ABI 公司生产的 7500 荧光定量 PCR 仪按 SYBR green RT-PCR 反应试剂盒 (购自美国 Thermo 公司) 扩增引物。引物序列: HULC: 正向引物为 5'-ACTCTGAAGTAAAGGCCGGA-3', 反向引物为 5'-TGCCAGGAACTTCTTGCTTG-3', GAPDH: 正向引物为 5'-CCCTTCATTGACCTCAACTA-3', 反向引物为 5'-TGGAAGATGCTGATGGGATT-3'。反应条件:  $95$  °C 2 min,  $95$  °C 30 s,  $60$  °C 30 s,  $72$  °C 30 s, 连续 38 次循环。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 HULC 表达量。

**1.2.2 病例随访** 112 例病人均于术后 1 天开始随访, 中途无失访, 随访形式包括住院期间查房、出院后门诊复查、病历追踪等, 随访截止日期 2020 年 5 月 31 日, 所有病人随访满 5 年, 以死亡作为终点事件, 记录病人生存时间。

**1.3 统计学方法** 使用SPSS 21.0软件分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验或单因素方差分析,采用Kaplan-Meier法进行生存分析,采用Cox比例风险回归模型分析影响乳腺癌病人预后的风险因素。

## 2 结果

**2.1 乳腺癌和正常乳腺组织中HULC表达** 乳腺癌组织中HULC表达量为(2.27±0.18),高于正常乳腺组织的(1.02±0.08),差异有统计意义( $t=67.38, P<0.001$ )。

**2.2 不同临床病理指标的乳腺癌组织中HULC表达** 不同年龄、病理学类型、肿瘤直径、是否绝经、分子分型、PR和HER-2的乳腺癌组织中HULC表达量差异无统计学意义( $P>0.05$ ),不同组织学分级、TNM分期、淋巴结转移、ER和Ki-67的乳腺癌组织中HULC表达量差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表1。

**2.3 乳腺癌组织中HULC表达对生存时间的影响** 112例病人随访时间2~60个月,中位随访时间44个月。以乳腺癌组织中HULC表达量的 $P_{25}$ 值为界值<sup>[9]</sup>,将病人分为低表达组( $n=29$ )和高表达组( $n=83$ ),生存分析结果显示,低表达组病人平均生存时间(52.72±3.06)个月,5年生存率为82.76%,高表达组病人则分别为(35.51±2.25)个月和36.14%,Log-Rank检验差异有统计学意义( $\chi^2=15.16, P<0.001$ )。

**2.4 乳腺癌病人预后影响因素分析** Cox比例风险回归模型分析结果显示,HULC表达是影响乳腺癌病人预后的独立风险因素[ $HR=5.249(95\%CI: 1.965 \sim 14.024), P<0.05$ ],见表2。

## 3 讨论

乳腺癌作为威胁女性健康的主要恶性肿瘤之一,发病率呈逐年升高趋势且发病年龄年轻化<sup>[10]</sup>,虽然现有的综合性及个体化治疗手段不断进步,但乳腺癌细胞易转移,特别是发生脑、肺、骨等远处转移仍是导致病人治疗失败及死亡的主要影响因素<sup>[11]</sup>。但目前,有关乳腺癌转移的相关机制及作用基因尚未完全研究清楚。有研究指出,lncRNA表达失调参与了恶性肿瘤侵袭转移过程<sup>[12]</sup>。且乳腺癌病人存在lncRNA表达异常<sup>[13-14]</sup>。HULC作为一种位于人染色体6p24.3上的lncRNA,主要位于细胞质,可通过结合核糖体而在多种生理病理过程中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。有研究指出<sup>[16]</sup>,HULC在HBV相关肝癌表达量升高,可作为早期诊断潜在标志。叶华等<sup>[17]</sup>指出,HULC参与了胆管细胞癌的发生和发展。王鹏等<sup>[18]</sup>则指出,HULC调控肺腺癌细胞的增殖和侵袭。本研究结果显示,乳腺癌组织中HULC表达

**表1** 不同临床病理指标的乳腺癌组织中HULC表达/ $\bar{x} \pm s$

指标	例数	HULC表达量	$t$ 值	$P$ 值
年龄			0.73	0.466
≥57岁	66	2.26±0.18		
<57岁	46	2.29±0.19		
病理学类型			1.50	0.135
浸润性导管癌	88	2.29±0.18		
其他类型	24	2.23±0.16		
肿瘤长径			0.51	0.609
>2 cm	62	2.28±0.17		
≤2 cm	50	2.26±0.19		
绝经			1.45	0.149
是	67	2.25±0.17		
否	45	2.30±0.19		
组织学分级			2.70	0.008
I~II级	77	2.24±0.17		
III级	35	2.34±0.18		
TNM分期			3.51	0.001
I~II期	76	2.23±0.16		
III~IV期	36	2.36±0.19		
淋巴结转移			4.16	<0.001
是	41	2.36±0.18		
否	71	2.22±0.16		
分子分型			1.13	0.342
Luminal A型	33	2.27±0.17		
Luminal B型	29	2.26±0.18		
HER-2过表达型	21	2.22±0.15		
TNBC型	29	2.32±0.21		
ER			2.56	0.012
阳性	67	2.31±0.16		
阴性	45	2.22±0.20		
PR			1.55	0.124
阳性	43	2.31±0.17		
阴性	69	2.25±0.18		
HER-2			1.38	0.169
阳性	65	2.29±0.17		
阴性	47	2.25±0.19		
Ki-67			2.44	0.016
≥20%	67	2.24±0.17		
<20%	45	2.32±0.18		

注:ER为雌激素受体,PR为孕激素受体,HER-2为人类表皮生长因子受体2。

量高于正常乳腺组织,说明HULC在乳腺癌组织中呈高表达。且进一步分析发现,组织学分级III级、TNM分期III~IV期、发生淋巴结转移的乳腺癌组织中HULC表达量升高,说明HULC表达与乳腺癌恶性进程指标有关,可能参与了乳腺癌恶性进行,同时,本研究显示,ER阳性和Ki-67<20%的腺癌组织中HULC表达量升高,进一步说明HULC可能通过调控ER活化剂参与细胞增殖而在乳腺癌进程中发挥作用,但具体作用机制有待开展相关研究予以

表2 乳腺癌病人预后影响因素的Cox比例风险回归模型分析

	B值	SE	Wald $\chi^2$ 值	P值	HR 值	95%CI	
年龄	-0.316	0.318	0.989	0.320	0.729	0.391	1.359
病理学类型	0.455	0.393	1.341	0.247	1.577	0.729	3.408
肿瘤直径	-0.305	0.287	1.127	0.289	0.737	0.420	1.295
绝经	0.123	0.307	0.160	0.689	1.131	0.620	2.062
组织学分级	-0.896	0.391	5.254	0.022	0.408	0.190	0.878
TNM分期	1.402	0.441	10.120	0.001	4.064	1.713	9.642
淋巴结转移	1.035	0.418	6.143	0.013	2.815	1.242	6.382
分子分型	0.048	0.131	0.132	0.716	1.049	0.812	1.355
ER	-0.476	0.354	1.808	0.179	0.622	0.311	1.243
PR	-0.154	0.325	0.224	0.636	0.857	0.453	1.622
HER-2	0.483	0.339	2.031	0.154	1.621	0.834	3.152
Ki-67	0.036	0.301	0.014	0.904	1.037	0.575	1.871
HULC表达	1.658	0.501	10.937	0.001	5.249	1.965	14.024

明确。

Ding等<sup>[19]</sup>通过对各种癌症病人HULC的预后价值进行荟萃分析和系统评价发现, lncRNA HULC可作为癌症预后和转移的新分子标记。本研究Kaplan-Meier分析结果显示, HULC低表达组病人平均生存时间和5年生存率均高于高表达组, 说明乳腺癌病人组织中HULC高表达可能与其不良预后有关。行Cox比例风险回归模型分析发现, HULC表达是影响乳腺癌病人预后的风险因素, 进一步说明HULC表达可能是影响病人预后的因素, 可能是评估病人预后的潜在标志物。

综上所述, 乳腺癌组织中HULC表达量升高, 可能发挥类似癌基因的作用而参与了乳腺癌进展, 且是影响病人预后的风险因素, 有望成为评估病人预后的潜在标志物。

### 参考文献

[1] 翟媛媛, 柴丽君, 郑英斌, 等. CUG连接蛋白1在乳腺癌组织中的表达及其对细胞活力和侵袭能力的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(5):825-829.

[2] ZHANG LX, SUN XM, XU ZP, et al. Development of multifunctional clay-based nanomedicine for elimination of primary invasive breast cancer and prevention of its lung metastasis and distant inoculation[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2019, 11(39):35566-35576.

[3] 胡宇辰, 尹恬恬, 李倩, 等. 长链非编码RNA HULC对胶质母细胞瘤原位移植瘤模型肿瘤生长的促进作用[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2020, 41(1):60-68.

[4] XIE G, HUANG S, LUO Y, et al. LLLCLPLDA: a novel model

for predicting lncRNA-disease associations[J]. Mol Genet Genomics, 2019, 294(6):1477-1486.

[5] 王微娜, 毕永红, 张瑞芹, 等. 消化系统恶性肿瘤中BANCER的表达及调控作用研究[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(2):145-149.

[6] ZHANG H, LIAO Z, LIU F, et al. Long noncoding RNA HULC promotes hepatocellular carcinoma progression[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(20):9111-9127.

[7] OU ZL, LUO Z, LU YB. Long non-coding RNA HULC as a diagnostic and prognostic marker of pancreatic cancer[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(46):6728-6742.

[8] 杨美丰, 任宏波. lncRNA HULC在弥漫性大B细胞淋巴瘤患者中表达及其临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(2):128-131.

[9] OEHME F, KRAHL S, GYORFFY B, et al. Low level of exosomal long non-coding RNA HOTTIP is a prognostic biomarker in colorectal cancer[J]. RNA Biol, 2019, 16(10):1339-1345.

[10] 林锦娜, 刘强. 2019年NCCN乳腺癌临床实践指南更新解读: 乳腺癌局部治疗新进展[J]. 临床外科杂志, 2020, 28(1):27-30.

[11] KRASSTEV T, TURNHOUT AVAN, VRIENS E, et al. Long-term follow-up of autologous fat transfer vs conventional breast reconstruction and association with cancer relapse in patients with breast cancer[J]. JAMA Surg, 2019, 154(1):56-63.

[12] WU W, GAO H, LI X, et al. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression[J]. Cancer Sci, 2019, 110(5):1587-1598.

[13] ZHANG Y, LI J, JIA S, et al. Down-regulation of lncRNA-ATB inhibits epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells by increasing miR-141-3p expression[J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(2):193-200.

[14] 王劲松, 李春晓, 王婷, 等. 基于长链非编码RNA的表达谱特征构建乳腺癌患者预后的风险模型[J]. 中国综合临床, 2020, 36(3):217-222.

[15] KLEC C, GUTSCHNER T, PANZITT K, et al. Involvement of long non-coding RNA HULC (highly up-regulated in liver cancer) in pathogenesis and implications for therapeutic intervention[J]. Expert Opin Ther Targets, 2019, 23(3):177-186.

[16] 李双良, 陶艳. 长链非编码RNA HOTAIR, H19, HULC联合检测对HBV相关肝癌的诊断价值[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(2):219-222.

[17] 叶华, 何波, 陈捷, 等. 长链非编码RNA HULC在胆管癌中促进细胞迁移和侵袭的机制[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(8):1401-1405.

[18] 王鹏, 李青. 长链非编码RNA-HULC调控肺腺癌细胞的增殖和侵袭[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(6):1179-1183.

[19] DING YY, SUN C, LI JR, et al. The significance of long non-coding RNA HULC in predicting prognosis and metastasis of cancers: a meta-analysis[J]. Pathol Oncol Res, 2019, 25(1):311-318.

(收稿日期:2020-07-13,修回日期:2020-08-25)