

LRP11 在肝细胞癌中的表达与临床病理参数及预后关系的研究

李自莲 王燕 王天云 欧志燕 苏敏 郭敏敏 何青晏 赵春梅 奎翔*

昆明医科大学第二附属医院病理科

DOI:10.32629/bmtr.v8i1.18579

[摘要] 目的: 研究低密度脂蛋白受体相关蛋白11(low density lipoprotein receptor-related protein 11, LRP11)在肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC)中的表达情况,并分析其与临床病理参数及预后的关联性,为HCC预后评估提供理论依据。方法: ①运用免疫组化技术检测85例HCC组织及其癌旁组织中LRP11蛋白的表达量,并探究其与临床病理参数的潜在联系,通过Log-Rank检验分析LRP11表达水平与总生存期(Overall Survival,OS)和无病生存期(Disease-free survival,DFS)的相关性。②Western Blot实验和RT-qPCR实验分别测定新鲜HCC组织及配对远癌旁肝组织中LRP11蛋白和mRNA的表达水平。结果: ①免疫组化结果显示LRP11在HCC中的平均光密度值显著低于癌旁组织(0.153(0.13,0.198)VS 0.2(0.171, 0.232), $P < 0.0001$),LRP11低表达与高组织学分级($\chi^2=3.979$, $P=0.046$)、乙肝阳性($\chi^2=4.753$, $P=0.029$)、高级别MVI($\chi^2=3.241$, $P=0.001$)以及有卫星结节($\chi^2=3.925$, $P=0.048$)相关,Log-Rank检验显示LRP11低表达组患者的OS及DFS较高表达组患者显著缩短($P < 0.0001$),COX比例风险回归模型分析显示LRP11低表达是影响HCC患者OS($HR=4.069$, $P < 0.0001$)和DFS($HR=2.885$, $P=0.002$)的独立危险因素。②Western Blot实验显示LRP11蛋白在HCC组织的平均表达水平显著低于癌旁组织(1.54 ± 0.86 VS 2.01 ± 1.27 , $P=0.032$); LRP11 mRNA在HCC组织中则表现为高表达($1.83(0.66,5.5)$ VS $1.02(1.005,1.03)$, $P=0.0172$)。结论: LRP11蛋白在HCC中的表达呈下调趋势,且其低表达与HCC不良的预后密切相关,提示LRP11可能成为HCC评估预后的重要参考因子。

[关键词] 低密度脂蛋白受体相关蛋白11; 肝细胞癌; 临床病理参数; 预后

中图分类号: R730.7 文献标识码: A

Study on the relationship between LRP11 expression and clinicopathological parameters and prognosis in hepatocellular carcinoma

Zilian Li Yan Wang Tianyun Wang Zhiyan Ou Min Su Minmin Guo Qingyan He
Chunmei Zhao Xiang Kui*

Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University

[Abstract] Objective Exploring the expression of low-density lipoprotein receptor-related protein 11 (LRP11) in hepatocellular carcinoma (HCC), and to analyze its association with clinicopathological parameters and prognosis, so as to provide theoretical support for the prognosis evaluation of HCC. Methods ① Immunohistochemistry was used to detect the expression of LRP11 protein in 85 HCC tissues and adjacent tissues, and to explore its potential associated with clinicopathological parameters; The correlation between LRP11 expression level and overall survival and disease-free survival was analyzed by log-rank test. ② Western Blot assay and RT-qPCR assay were respectively used to determine the expression levels of LRP11 protein and mRNA in fresh HCC tissues and paired distant liver tissues. Results ① Immunohistochemical results showed that the average optical density of LRP11 in HCC was significantly lower than that in paracancer tissue (0.153(0.13, 0.198) VS 0.2(0.171, 0.232), $P < 0.0001$). Low LRP11 expression was associated with high histological grade($X^2=3.979$, $P=0.046$),hepatitis B positive($X^2=4.753$, $P=0.029$),high grade MVI($X^2=3.241$, $P=0.001$), and satellite nodules($X^2=3.925$, $P=0.048$). Log-Rank test showed that patients with low LRP11 expression had significantly shorter OS and DFS than patients with high LRP11 expression($P < 0.0001$). COX proportional hazard regression model analysis showed that low expression of LRP11 was an independent risk

factor for OS(HR=4.069,P<0.0001) and DFS(HR=2.885,P=0.002) in HCC patients. ② Western Blot assay showed that the average expression level of LRP11 protein in HCC tissues was significantly lower than that in paracancer tissues(1.54 ± 0.86 VS 2.01 ± 1.27 ,P=0.032). LRP11 mRNA was highly expressed in HCC tissues($1.83(0.66,5.5)$ VS $1.02(1.005,1.03)$,P=0.0172). Conclusions The expression of LRP11 protein in HCC was down-regulated, and its low expression is closely related to poor prognosis. It is suggested that LRP11 may be an important factor for evaluating the prognosis of HCC.

[Key words] Low-density lipoprotein receptor-related protein 11; Hepatocellular carcinoma; Clinicopathological parameters; Prognosis

肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC)是原发性肝癌最常见的组织学形式,占全球原发性肝癌的80%左右^[1],是全球第六大最常见恶性肿瘤及第三大癌症相关死亡原因^[2]。据2022年癌症统计,我国HCC新发病例数36.77万人,死亡31.65万人,新发病例数和死亡人数仍然居于全球第一,在我国HCC是第四位最常见恶性肿瘤以及第二位肿瘤致死病因,尤其在男性当中,发病人数达到26.79万例,死亡人数达到22.98万例,成为男性第三大最常见恶性肿瘤和第二大肿瘤致死病因^[3]。在我国HCC最常见病因是乙型病毒性肝炎和丙型病毒性肝炎导致的肝硬化;而发生在非肝硬化背景下的HCC也在逐年增加,如酒精相关性肝病和非酒精性脂肪性肝炎^[4-5]。目前HCC的治疗以手术切除为主,虽然使用化学治疗有一定的效果,但肿瘤对化疗药物的耐药性较高,成了治疗上的一个巨大挑战。因此,需要更深入地探索HCC的发病机制、筛选出与HCC患者预后及治疗相关的新的分子标志物。

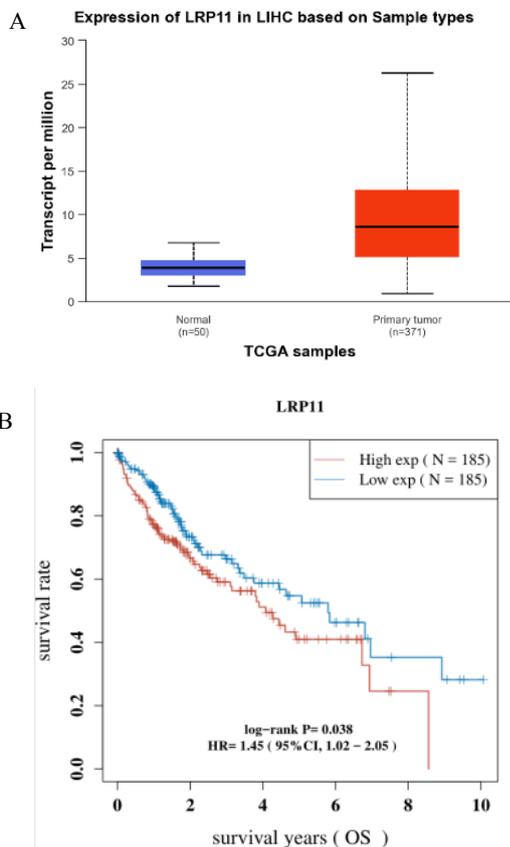


图1注: A为TCGA数据库中LRP11 mRNA在HCC及正常肝组织中的表达情况; B为TCGA数据库中LRP11 mRNA的表达与HCC患者OS的关系; C为TCGA数据库中LRP11 mRNA的表达与HCC患者DFS的关系。

低密度脂蛋白受体相关蛋白(Low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP)表达于广泛的细胞中,参与人体多种生理过程,如脂质代谢的调节、抗动脉粥样硬化、营养神经、运输营养物质和维生素等,更多研究发现LRP似乎还具有信号传导的作用^[6]。目前已有研究发现LRP可结合30多种不同的配体,包括脂蛋白、蛋白酶、蛋白酶抑制剂复合物以及细菌毒素、病毒和各种细胞内蛋白等,具有调节蛋白酶及蛋白酶抑制剂在体内的平衡、清除基质金属蛋白酶(MMPs)以及激活溶酶体酶的作用^[7]。低密度脂蛋白受体相关受体蛋白11(Low-density lipoprotein receptor-related protein 11, LRP11)是LRP家族的新成员,目前对LRP11已有一定的研究,在一些肿瘤中,LRP11蛋白高表达与不良的预后相关,提示LRP11可能参与了肿瘤的进展。目前尚不清楚LRP11在HCC组织中的表达情况及与预后的关系,前期通过检索TCGA数据库发现LRP11 mRNA在HCC中高表达,并且mRNA高表达的患者术后OS及DFS显著缩短,见图1,是HCC不良的预后因子。因此,本研究拟通过临床样本探讨LRP11在HCC组织中的表达情况及与临床病理参数和预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集昆明医科大学第二附属医院2016年1月至2018年12月经手术切除,并经病理确诊的HCC病例,病例纳入标准包括:具有

完整的临床资料、石蜡样本中同时含有癌组织及癌旁组织($\leq 1\text{cm}$)、为HCC的初治病例、术前未经过局部治疗及全身放疗化疗,以及患者的临床病理参数完整(包括年龄、性别、结节个数、肿瘤大小、乙肝病史、肝硬化、AFP、血清总胆固醇、甘油三酯、组织学分级、T分期、MVI、Ki-67指数以及卫星结节)。收集2021年9月至2023年5月期间新鲜HCC组织和远癌旁肝组织(距离肿块 $\geq 2\text{cm}$),保存于 -80°C 冰箱中备用。

1.2 免疫组化实验

免疫组化采用EnVision两步法来检测LRP11在HCC组织及癌旁组织中蛋白的表达水平。LRP11(AF8355)抗体购自美国R&D公司,二抗HRP Rabbit Anti-Sheep IgG购自爱博泰克生物科技有限公司。显微镜下在相同的光线强度和放大倍数下采集图片,每个样本癌和癌旁组织分别随机选取4个不同的视野,利用Image-Pro Plus6.0软件进行光密度值定量分析。

1.3 Western Blot实验

用上海碧云天的RIPA裂解液裂解新鲜组织并提取出总蛋白,加入蛋白上样缓冲液后 100°C 水浴锅中变性10min,充分混匀后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,随后将蛋白转至PVDF膜上;5%脱脂奶粉室温封闭2h;加入一抗LRP11(2mg/mL)、内参 β -actin(1:10000)于 4°C 冰箱过夜孵育;随后加入二抗HRP Rabbit Anti-Sheep IgG(AS023 1:5000)及Goat Anti-Mouse IgG/HRP(1:1000)于摇床上室温孵育2h,采用ECL化学发光法进行条带显影。

1.4 RT-qPCR实验

先用Trizol裂解液裂解新鲜组织,冰上静置30min-1h后, 4°C 下离心后取上清,加入氯仿,再次离心取上清,加入预冷的异丙醇,离心后弃去上清,用75%的乙醇清洗白色沉淀,自然晾干后加入dd-H₂O溶解沉淀;进行RNA反转录及SYBR Green荧光定量PCR。反转录试剂盒(HY-K0511A-1ml)及扩增试剂盒(400-820-3792)购自Med Chem Express公司。LRP11引物序列检索自NCBI数据库: forward-GGTGACTCTGGTGAAAA; reverse-CCCTGAGGA ACTACTATCTGGC。 β -actin内参序列: forward-TGGCATCCACGAA CTACCT; reverse-ACGGAGTACTTGCCTCAG。结果采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 值进行定量分析。

1.5 统计学分析

使用graphpad prim 8.0和SPSS.26统计软件进行统计分析。本研究中符合正态分布的计量资料均采用 $(\bar{x} \pm s)$ 来表现,不符合正态分布的采用中位数(四分位数间距)来表现;两组间计量资料中符合正态分布的采用配对样本t检验,不符合正态分布的采用配对Wilcoxon分析,计数资料采用 χ^2 检验,总生存分析和无病生存分析采用Log-Rank检验,应用COX比例风险回归模型分析影响HCC预后的潜在因素,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理参数资料

通过查阅电子病历收集到符合标准的85例HCC病例,并复阅85例HCC患者的HE切片,统计患者的临床病理资料,见表1。

表1 85例HCC患者的临床病理资料

参数	例数(n%)	参数	例数(n%)
性别		结节个数	
女	12(14.1%)	1个	63(74%)
男	73(85.9%)	≥ 2 个	22(26%)
年龄	50.79 \pm 11.57	MVI	
乙肝		M0	34(40%)
阴性	18(21.2%)	M1	35(41%)
阳性	67(78.8%)	M2	16(19%)
肝硬化		组织学分级	
无	40(47%)	I-II	16(18.8%)
有	45(53%)	III-IV	69(81.2%)
T分期		Ki-67	
T1-T2	60(70.6%)	$< 20\%$	23(27%)
T3-T4	25(29.4%)	$\geq 20\%$	63(73%)
AFP		总胆固醇	4.04 \pm 1.02
阴性	51(60%)	甘油三酯	1.16 \pm 0.57
阳性	34(40%)	卫星结节	
肿瘤大小		无	56(65.9%)
$\leq 5\text{cm}$	32(37.6%)	有	29(34.1%)
$> 5\text{cm}$	53(62.4%)		

2.2 随访结果

通过电话和查阅电子病历的形式对85例患者进行随访,随访截止时间为2023年7月1日,以死亡作为终点事件,获得其生存状态及总生存时间;以复发/死亡作为终点事件,获得其无病生存时间,随访最长时间为90个月,最短时间为59个月,对收集到的数据进行统计分析。

2.3 免疫组化实验结果

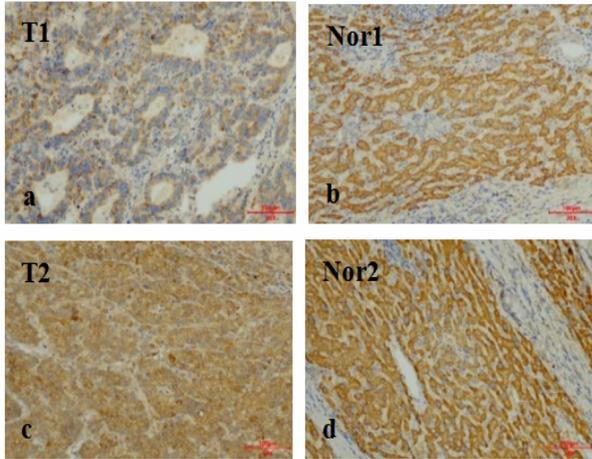
免疫组化实验显示LRP11阳性定位在胞浆,在癌组织中表现为阴性或弱-中等阳性,在癌旁组织中表现为中-强阳性,见图2A,癌组织的平均光密度值为0.153(0.13, 0.198),癌旁组织的平均光密度值为0.2(0.171, 0.232),差异具有统计学意义($P < 0.0001$),即LRP11在HCC中的表达显著低于癌旁肝组织,见图2B。

2.4 LRP11在HCC中表达情况与临床病理参数的关系

以LRP11平均光密度值的中位数0.153作为截断值,将85例患者分为LRP11高表达组和LRP11低表达组,统计分析发现LRP11低表达组与高组织学分级、乙肝阳性、高级别MVI以及有卫星结

节相关 ($P < 0.05$), 而两组间在性别、年龄、Ki-67指数、肝硬化、AFP、总胆固醇、甘油三酯、肿瘤大小、结节个数、T分期和MVI之间比较均无明显差异 ($P > 0.05$), 见表2。

A



B

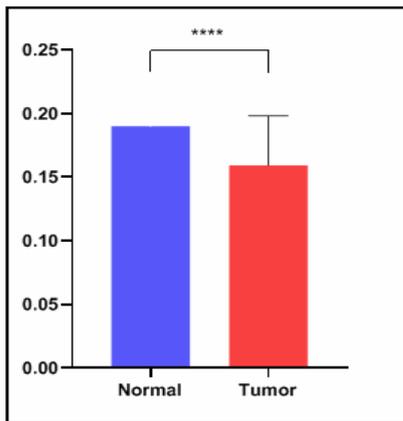


图2注: A为LRP11在HCC组织中呈弱-中等阳性表达(图a、c), LRP11在癌旁组织中呈中-强阳性表达(图b、d) (IHC, $\times 200$); B为LRP11在HCC中免疫组化结果分析。

2.5 LRP11在HCC中的表达情况与患者OS及DFS的关系

2.5.1 LRP11的表达情况与OS的关系

85例患者中失访8例, 以患者死亡记为终点事件, 77例患者中死亡44例, 存活33例, 分析得出 LRP11低表达组的HCC患者OS显著短于LRP11高表达组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.0001$), 即LRP11表达越低, HCC患者的生存时间越短, 预后越差, 见图3A。

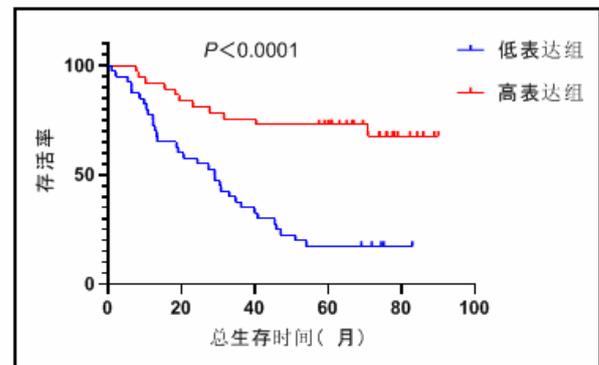
2.5.2 LRP11在HCC中的表达与DFS的关系

85例患者中失访5例, 余下80例中15例T4分期的患者不纳入DFS的分析, 以患者复发/死亡记为终点事件, 65例患者中复发/死亡的有54例, 未复发/未死亡的有11例, 分析得出LRP11高表达组的DFS比低表达组明显延长, 差异具有统计学意义 ($P < 0.0001$), 见图3B。

表2 LRP11不同组别与临床病理参数的关系

临床病理参数	低表达(n=43)	高表达(n=42)	χ^2 值	P值
性别				
男	36(83.7%)	37(88.1%)		
女	7(16.3%)	5(11.9%)	0.579	0.56
年龄	50 \pm 10	51 \pm 12	0.255	0.8
T分期				
T1-T2	27(62.8%)	33(78.6%)		
T3-T4	16(37.2%)	9(21.4%)	2.549	0.11
组织学分级				
I-II	4(9%)	12(28.6%)		
III-IV	39(91%)	30(71.4%)	3.979	0.046
AFP	183.767.57,1000)	34.45(3.92,1000)		0.18
总胆固醇	4.11 \pm 0.98	3.95 \pm 1.05	0.726	0.47
甘油三酯	1.15 \pm 0.52	1.17 \pm 0.61	0.136	0.89
结节个数				
1	29(67.4%)	34(81%)		
≥ 2	14(32.6%)	8(19%)	1.422	0.155
乙肝病史				
阴性	5(11.6%)	13(31%)		
阳性	38(88.4%)	29(69%)	4.753	0.0292
肿瘤大小				
≤ 5 cm	13(30.2%)	19(45.2%)		
> 5 cm	30(69.8%)	23(54.8%)	1.428	0.15
卫星结节				
无	24(55.8%)	32(76.2%)		
有	19(44.2%)	10(23.8%)	3.925	0.0476
MVI				
M0	14(32.6%)	20(47.6%)		
M1	18(41.8%)	17(40.5%)	1.673	0.09
M2	11(25.6%)	5(11.9%)	3.241	0.001
肝硬化				
无	17(39.5%)	23(54.8%)		
有	26(60.5%)	19(45.2%)	1.977	0.16
Ki-67				
$< 20\%$	10(23.3%)	13(31%)		
$\geq 20\%$	33(76.7%)	29(69%)	0.799	0.42

A



B

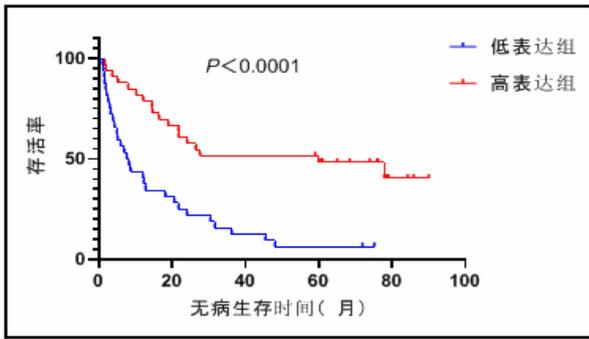


图3 注: A为LRP11表达水平与OS的K-M曲线; B为LRP11表达水平与DFS的K-M曲线。

表3 COX比例风险回归模型分析OS的预后影响因素

特征	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值
年龄	0.996(0.972, 1.022)	0.78		
性别				
女	1 (Reference)			
男	0.993 (0.42, 2.349)	0.987		
分级				
I-II	1 (Reference)		1 (Reference)	
III-IV	2.847 (1.017, 7.97)	0.046	2.475 (0.859, 7.129)	0.093
T分期				
T1-T2	1 (Reference)			
T3-T4	1.683 (0.915, 3.095)	0.094		
乙肝病史				
无	1 (Reference)			
有	1.258 (0.561, 2.822)	0.578		
肝硬化				
无	1 (Reference)			
有	1.318 (0.718, 2.42)	0.372		
AFP				
阴性	1 (Reference)			
阳性	1.773 (0.979, 3.213)	0.059		
总胆固醇	1.079 (0.789, 1.474)	0.634		
甘油三酯	0.851 (0.486, 1.489)	0.572		
结节个数				
1	1 (Reference)			
≥2	1.537 (0.821, 2.877)	0.179		
肿瘤大小				
≤5cm	1 (Reference)		1 (Reference)	
>5cm	2.318 (1.169, 4.599)	0.016	2.395 (1.193, 4.81)	0.014
Ki-67				
<20%	1 (Reference)			
≥20%	1.462 (0.702, 3.043)	0.31		
MVI				
M0	1 (Reference)		1 (Reference)	
M1	1.365 (0.645, 2.892)	0.416	0.606 (0.254, 1.446)	0.259
M2	2.967 (1.351, 6.515)	0.007	0.695 (0.209, 2.313)	0.553
卫星结节				
无	1 (Reference)		1 (Reference)	
有	2.032 (1.121, 3.686)	0.02	1.256 (0.523, 3.013)	0.61
LRP11				
高表达	1 (Reference)		1 (Reference)	
低表达	4.406 (2.209, 8.79)	0.0001	4.069 (1.973, 8.842)	0.0001

2.6 COX回归分析HCC患者OS与DFS的影响因素

首先通过单因素COX回归分析LRP11表达量、临床病理参数与HCC患者OS与DFS的关系,再将单因素分析中有统计学意义的协变量纳入多因素COX回归分析,分析影响HCC患者预后的因素。结果显示:LRP11低表达和肿瘤直径>5cm是影响HCC患者术后OS的独立危险因素(P<0.05),见表3,其中LRP11低表达组患者发生死亡的风险约为LRP11高表达组的4倍;LRP11低表达、肿瘤直径>5cm和AFP阳性是影响HCC患者术后DFS的独立危险因素(P<0.05),见表4,其中LRP11低表达组发生复发/死亡的风险约为LRP11高表达组的3倍。

表4 COX比例风险回归模型分析DFS的预后影响因素

特征	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值
年龄	1.003 (0.979, 1.028)	0.796		
性别				
女	1 (Reference)			
男	0.83 (0.388, 1.777)	0.631		
分级				
I-II	1 (Reference)			
III-IV	1.392 (0.691, 2.801)	0.355		
T分期				
T1-T2	1 (Reference)		1 (Reference)	
T3	3.037 (1.483, 6.22)	0.002	0.464 (0.109, 1.975)	0.299
乙肝病史				
无	1 (Reference)			
有	1.396 (0.653, 2.984)	0.39		
肝硬化				
无	1 (Reference)			
有	1.083 (0.613, 1.912)	0.783		
AFP				
阴性	1 (Reference)		1 (Reference)	
阳性	1.886 (1.047, 3.394)	0.034	2.117 (1.101, 4.073)	0.025
总胆固醇	1.05 (0.734, 1.502)	0.791		
甘油三酯	1.06 (0.665, 1.686)	0.806		
结节个数				
1	1 (Reference)		1 (Reference)	
≥2	2.53 (1.347, 4.754)	0.004	2.481 (0.631, 9.759)	0.193
肿瘤大小				
≤5cm	1 (Reference)		1 (Reference)	
>5cm	2.164 (1.155, 4.055)	0.016	3.036 (1.312, 7.025)	0.009
Ki-67				
<20%	1 (Reference)			
≥20%	1.814 (0.898, 3.665)	0.097		
MVI				
M0	1 (Reference)		1 (Reference)	
M1	1.698 (0.872, 3.307)	0.12	1.226 (0.579, 2.596)	0.594
M2	3.805 (1.794, 8.072)	0.0001	0.987 (0.234, 4.164)	0.986
卫星结节				
无	1 (Reference)		1 (Reference)	
有	3.291 (1.766, 6.134)	0.0001	1.614 (0.405, 6.428)	0.497
LRP11				
高表达	1 (Reference)		1 (Reference)	
低表达	3.411 (1.857, 6.265)	0.0001	2.885 (1.475, 5.644)	0.002

2.7 LRP11在新鲜HCC组织中的表达情况

2.7.1 LRP11蛋白在新鲜HCC组织中的表达情况

通过对26例新鲜HCC组织及远癌旁肝组织进行Western Blot实验检测LRP11蛋白的表达情况,结果显示:LRP11呈现出两条特异性条带,分别是35KD和60KD蛋白分子量,见图4A;将同一病例的35KD蛋白分子量与60KD蛋白分子量的表达量相加,得到LRP11总蛋白表达量,分析发现癌组织中LRP11总蛋白的平均表达量显著低于癌旁组织总蛋白的平均表达量($P < 0.05$),见表5、图4B。

表5 LRP11蛋白在HCC中的表达情况

	组别	表达量	t 值	P 值
35KD	Tumor(26)	0.459(0.114, 0.687)		
	Normal(26)	1.056(0.416, 1.368)		
60KD	Tumor(26)	0.664(0.483, 1.39)		
	Normal(26)	0.547(0.232, 1.225)		
总蛋白	Tumor(26)	1.54±0.86	2.279	0.032
	Normal(26)	2.01±1.27		

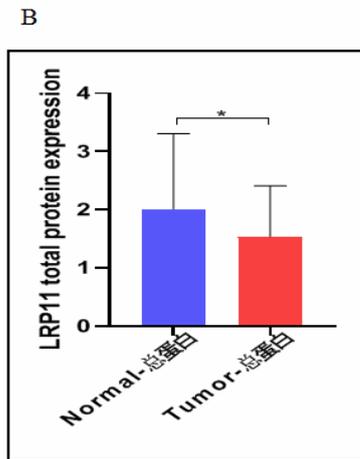
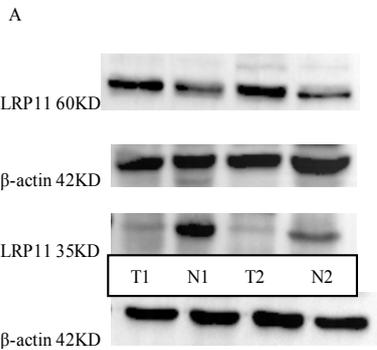


图4 注: A为Western Blot实验LRP11在HCC中的表达情况; B为LRP11蛋白在新鲜HCC组织中的表达量分析。

2.7.2 LRP11 mRNA在新鲜HCC组织中的表达情况

通过对20例新鲜HCC组织及癌旁组织进行RT-qPCR实验检测LRP11mRNA的表达情况,结果显示:LRP11 mRNA在HCC中的相对表达量高于癌旁组织的相对表达量,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表6、图5。

表6 LRP11 mRNA在HCC中的表达情况

组别	表达量	P 值
Tumor (n=20)	1.83(0.66, 5.5)	
Normal (n=20)	1.02(1.005, 1.03)	0.017

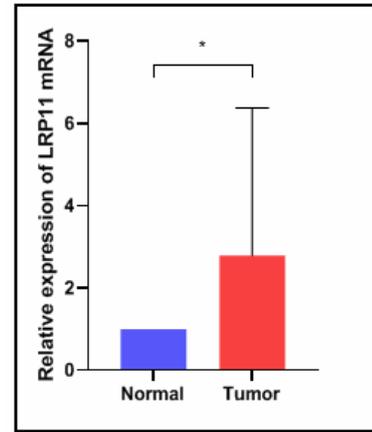


图5注: LRP11 mRNA在新鲜HCC组织中的表达量分析。

3 讨论

目前我国的癌症负担主要来源于老年人,随着人口老龄化速度的加快,老年人口的癌症负担还将持续升高,据2022年统计我国老年人发生癌症的病例为279万例,死亡194万例,HCC成为老年人的第三位癌症相关死亡原因^[8]。然而HCC发病年龄逐渐趋向年轻化,本研究纳入的病例中最小发病年龄为27岁,并且85例患者的平均年龄仅51岁,故对HCC的防治人群应进一步扩大。HCC最常发生在男性,2022年我国HCC新发病例数中男性发病人数占72.9%,本研究纳入的病例中男性占85.9%,而女性仅占14.1%,这与HCC的总体性别分布相符。近年来,随着分子生物学技术的发展,新一代测序技术的应用,使得人们对HCC的基因组学和表观基因组学有了更深入的认识,尽管对HCC已有大量的研究,但仍然需要挖掘出新的诊断及预后生物标志物,才能更早期的识别及治疗HCC,延长患者的生存时间和提高患者的生活质量。

LRP11属于低密度脂蛋白受体家族中的一员,位于第6号染色体上,是一种含有500个氨基酸单通道跨膜蛋白,通常以2种间接异构体存在。通过检索TCGA和NCBI数据库发现LRP11 mRNA不仅在正常组织器官中的表达存在差异,如在前列腺、脑、甲状旁腺以及食管中表达相对较高,而在睾丸、淋巴造血组织、小肠和肝脏中表达相对较低;在多种肿瘤组织及对应的癌旁组织中的表达也存在差异,在宫颈癌、食管癌、肝细胞癌以及前列腺癌等肿瘤中表现为癌组织的表达量高于癌旁组织,而在肾透明细胞癌、乳头状肾细胞癌等肿瘤中的表达情况则相反。目前已有研究显示LRP11蛋白在宫颈癌、前列腺癌以及乳腺癌组织中高表达,并且高表达组患者预后生存时间缩短^[6,9-11]。本研究通过对临床样本进行免疫组化实验和Western Blot实验发现LRP11蛋白在HCC组织中表达降低,同时发现LRP11低表达组患者的OS和DFS均

明显缩短。此前,研究者通过体外实验发现在HCC细胞中敲低LRP11后,细胞的增殖和迁移能力下降,而凋亡率升高^[12-14],提示LRP11可能是影响HCC的不良预后指标。该结果与本研究结论相反,但在Sun等^[15]的研究中,研究者通过动物实验发现激活LRP11可增强肿瘤中TCF1⁺和CD8⁺T细胞浸润的数量,从而增强了抗肿瘤免疫力并可限制肿瘤生长。体外实验和体内实验的研究结果不同,可能提示LRP11在体内发挥功能的分子机制更为复杂,受到的影响因素更多,同时肝脏作为脂质代谢的重要器官,细胞内外脂质水平在不断的发生变化,这也会是影响脂蛋白受体LRP11表达的一个因素。此外,在不同肿瘤类型的研究中使用的LRP11抗体型号也有差异,这也可能造成结果的不一致。

Gan等^[9]通过体外实验发现LRP11在前列腺癌中可能通过激活 β -catenin的表达进一步诱导PD-L1的表达,进而造成肿瘤免疫抑制。米卫国等^[10]也发现过表达LRP11可激活 β -catenin信号通路进而促进乳腺癌细胞的增殖。李建凯等^[16]人通过细胞实验发现敲低LRP11后结直肠癌细胞(SW480)的增殖能力降低、凋亡率升高,且 β -catenin蛋白的表达也明显降低。因此,笔者推测LRP11在HCC中亦可能通过 β -catenin信号通路发挥作用,不同的是LRP11与 β -catenin可能是负相关关系,LRP11表达降低可能抑制了 β -catenin的降解,从而激活了该通路,增强了HCC细胞的增殖能力。此外,在Huang等^[17]的研究中发现在HCC细胞(SMMC-7721)中敲低LRP11后,发现MMP9的表达水平升高,动物实验也得到了同样的结果,推测LRP11表达降低会削弱对MMP9的内吞清除作用,从而增强了HCC细胞的侵袭能力。LRP11与LRP1为同一家族的内吞受体,笔者推测其表达降低可能也会减弱对MMPs的内吞清除作用,造成MMPs在HCC中表达量增加,进而促进了HCC细胞的侵袭和转移,这一途径可能是促成HCC微血管侵犯和卫星结节发生的机制之一。Gu等^[18]通过检索TIMER2.0数据库和ImmCellAI数据库发现LRP11的表达水平与免疫细胞(CD8⁺T细胞、NK细胞、B细胞)浸润水平呈负相关,即LRP11高表达的肿瘤中免疫细胞呈现荒芜的状态。但不同的是Sun等^[15]通过动物实验发现LRP11激活后可诱导MAPK13激活,随后MAPK13可磷酸化TCF1,导致干细胞样T细胞增加,进而增强了抗肿瘤免疫力。至于LRP11是否也会影响HCC肿瘤内免疫浸润的状态尚有待后续进一步实验来论证。

基于前期检索TCGA数据库发现LRP11 mRNA在HCC中高表达,本研究通过RT-qPCR实验证实了LRP11 mRNA在HCC组织中高表达,与TCGA数据库检索到的结果相符。但本研究发现LRP11蛋白在HCC中表达降低,LRP11 mRNA和蛋白表达不一致的现象,推测在HCC中LRP11可能存在与蛋白质翻译后修饰相关的调控机制。Yoo等^[14]使用SMART数据库分析发现在HCC中LRP11甲基化水平低于正常肝组织,因此,甲基化可能不是影响LRP11表达降低的原因。在众多的翻译后修饰中,蛋白质的泛素化是常见且重要的过程,对于抑癌基因来说,泛素化导致其蛋白表达减少,从而促进肿瘤的进展;而去泛素化作为泛素化的逆过程,在维持蛋白的稳定性和调节其生物功能方面发挥着重要作用。大量研究发现在HCC

中存在多种泛素化及去泛素化的调节机制,进而影响HCC的发生和发展^[19-22]。本研究发现LRP11蛋白低表达是影响HCC患者OS和DFS的独立预后危险因素,推测LRP11在HCC中可能发挥着抑癌的作用,若将来能够验证LRP11在HCC中存在泛素化,并研究出影响泛素化过程的因子和作用途径,则有望通过抑制LRP11的泛素化,进而对抑制HCC的进展和延长患者的生存时间有一定的帮助。

综上所述,本研究发现LRP11蛋白在HCC中低表达,并与患者不良的预后有关,即LRP11蛋白表达越低,患者的生存时间越短,越容易发生复发和转移。而在HCC中,LRP11通过何种作用机制发挥功能,还有待更多的研究来论证。

[项目基金]

(1)昆明医科大学第二附属医院“人才梯队建设”培养项目(RCTDXK-202301)。(2)云南省教育厅科研项目基金(2023Y0814)。(3)昆明医科大学第二附属医院对外合作研究项目(2022dwhz13)。

[参考文献]

- [1]Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L Siegel, Lindsey A Torre, Ahmedin Jemal. 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.
- [2]Global cancer burden growing, amidst mounting need for services[J]. Saudi Med J, 2024, 45(3): 326-327.
- [3]Han BF, Zheng RS, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. Journal of the National Cancer Center, 2024, 46(3): 221-231.
- [4]Previn Ganesan, Laura M Kulik. Hepatocellular Carcinoma: New Developments[J]. Clin Liver Dis, 2023, 27(1): 85-102.
- [5]Tony Dazhong Huang, Jason Behary, Amany Zekry. Non-alcoholic fatty liver disease: a review of epidemiology, risk factors, diagnosis and management[J]. Intern Med J, 2020, 50(9): 1038-1047.
- [6]王颖. LRP11在宫颈癌发生发展中的作用及机制研究[D]. 山东: 山东大学, 2019.
- [7]Herz J, Strickland DK. LRP: a multifunctional scavenger and signaling receptor[J]. Clin. Invest, 2002, 108(6): 779-784.
- [8]Ju W, Zheng R, Zhang S, et al. Cancer statistics in Chinese older people, 2022: current burden, time trends, and comparisons with the US, Japan, and the Republic of Korea[J]. Sci China Life Sci, 2023, 66(5): 1079-1091.
- [9]Gan S, Ye J, Li J, et al. LRP11 activates β -catenin to induce PD-L1 expression in prostate cancer[J]. J Drug Target, 2020, 28(5): 508-515.
- [10]米卫国, 张伟, 刘建军, 等. 低密度脂蛋白受体相关蛋白LRP11在乳腺癌组织中的表达水平及生物学意义[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(21): 5053-5056.
- [11]吴颖, 魏敏, 刘洪, 等. 宫颈癌组织LRP11、SOX12表达与临

床病理特征以及预后的关系研究[J].现代生物医学进展,2023,17(24):3326-3330.

[12]沈行远.LRP11在肝细胞癌中作用的生物信息学分析及其对肝癌细胞生物学行为的影响[D].大连:大连医科大学,2023.

[13]Pei J, Wang H, Zhang Y, et al. The Role of Low-Density Lipoprotein Receptor-Associated Protein LRP11 in the Development of Hepatocellular Carcinoma[J].SCI ADV MATER,2023,15(7):972-978.

[14]Yoo W, Kim AK, Kook HU. Comprehensive analysis on clinical significance and therapeutic targets of LDL receptor related protein 11(LRP11)in liver hepatocellular carcinoma [J].Front Pharmacol,2024,15:1338929.

[15]Sun L, Ma Z, Zhao X, et al. LRP11 promotes stem-like T cell via MAPK13-mediated TCF1 phosphorylation, enhancing anti-PD1 immunotherapy[J].J Immunother Cancer,2024,12(1):1-16.

[16]李建凯,朱小辉,何佳欣,等.低密度脂蛋白受体相关蛋白11在结直肠癌组织中的表达及其对SW480细胞增殖和凋亡的影响[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2023,30(9):771-776.

[17]Huang XY, Shi GM, Devbhandari RP, et al. Low Level of Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1 Predicts an Unfavorable Prognosis of Hepatocellular Carcinoma after Curative Resection[J]. PLoS One,2012,7(3):e32775.

[18]Gu F,Xu F,Pan Z,et al.An integrative pan-cancer analysis illustrating the key role of LRP11 in cervical cancer[J]. Medicine,2023,102(11):e33201.

[19]Zhou Y,Zhao Y,Gao Y,et al.Hepatitis C virus NS3 protein enhances hepatocellular carcinoma cell invasion by promoting PPM1A ubiquitination and degradation[J]. J Exp Clin Cancer Res,2017,36(1):42.

[20]Zhang L,Chen J,Ning D,et al.FBX022 promotes the development of hepatocellular carcinoma by regulating the ubiquitination and degradation of p21[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019,38(1):101.

[21]Hang X, Zhu S, Di H, et al. NEDD4 Depletion Inhibits Hepatocellular Carcinoma Growth via Targeting PTEN[J]. Cell Physiol Biochem,2016,39(2):768-779.

[22]Huang ZJ, Zhu JJ, Yang XY, et al. NEDD4 promotes cell growth and migration via PTEN/PI3K/AKT signaling in hepatocellular carcinoma[J].Oncol Lett,2017,14(3):2649-2656.

作者简介:

李自莲(1997--),女性,傣族,云南保山人,硕士研究生,住院医师,从事临床病理诊断工作。

*通讯作者:

奎翔(1980--),男,云南通海人,副教授,主要从事临床病理诊断工作,尤其是分子病理和肝脏病理诊断。