

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.03.021

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.03.021>

## 核不均一核糖核蛋白K (hnRNP K)在慢性肝病不同病理阶段的表达水平

侯佳影<sup>1</sup>, 周晓明<sup>2</sup>, 陈晨<sup>3</sup>, 王丽萍<sup>1</sup>, 刘清华<sup>1</sup>

(1. 石河子大学医学院第一附属医院肿瘤内科, 新疆 石河子 832008; 2. 海南省医学院病理教研室, 海口 571199; 3. 石河子大学医学院第一附属医院血液风湿科, 新疆 石河子, 832000)

**[摘要]** 目的: 观察核不均一核糖核蛋白K(heterogeneous ribonucleoprotein K, hnRNP K)在健康体检者、慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血液和尿液中的表达差异, 探讨hnRNP K在慢性肝病不同病理阶段表达水平及与乙肝相关性原发性肝癌的相关性。方法: 选取2018年8月至2018年10月我院收治的健康体检者50例、慢性乙型病毒性肝炎患者43例、肝炎后肝硬化患者35例及乙肝相关性原发性肝癌患者53例, 采集其空腹外周静脉血5 mL及清洁中段晨尿标本, 利用ELISA分别检测hnRNP K在慢性肝病不同病理阶段血液和尿液中表达的含量, 绘制ROC曲线评价hnRNP K在原发性肝癌诊断中的意义。结果: hnRNP K在慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血液、尿液中表达水平均高于健康体检者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。乙型肝炎相关性原发性肝癌患者血清hnRNP K的ROC曲线AUC为0.775, 敏感度和特异度分别为76.9%和64.3%; 尿液hnRNP K的ROC曲线AUC为0.652, 诊断乙肝相关性原发性肝癌的敏感度和特异度分别为100%和28.6%。结论: 相较于健康体检者, 慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者的血清、尿液中hnRNP K表达水平上调, 与乙肝相关性原发性肝癌具有相关性, 提示hnRNP K可能是乙肝相关性原发性肝癌的潜在标志物, 对原发性肝癌的诊断具有一定参考价值。

**[关键词]** 核不均一核糖核蛋白K; 原发性肝癌; 相关性; 不同病理阶段

## Expression of nuclear heterogeneous ribonucleoprotein K (hnRNP K) in different pathological stages of chronic liver disease

HOU Jiaying<sup>1</sup>, ZHOU Xiaoming<sup>2</sup>, CHEN Chen<sup>3</sup>, WANG Liping<sup>1</sup>, LIU Qinghua<sup>1</sup>

(1. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832008;

2. Department of Pathology, Hainan Medical College, Haikou 571199; 3. Department of Blood and Rheumatology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832000, China)

**Abstract Objective:** To observe the differential expression of nuclear heterogeneous ribonucleoprotein K (hnRNP K) in

收稿日期 (Date of reception): 2019-06-25

通信作者 (Corresponding author): 刘清华, Email: lqhwl@hotmail.com

基金项目 (Foundation item): 石河子大学医学院第一附属医院创新团队项目 (TD201801); 海南省教育厅项目 (Hnky2017-41)。This work was supported by the Innovation Team Project of the First Affiliated Hospital of Shihezi University (TD201801) and Hainan Provincial Department of Education Project (Hnky2017-41), China.

blood and urine of medical examiners, chronic hepatitis B, post-hepatitis cirrhosis and HBV-related hepatocellular carcinoma patients, to investigate the expression of hnRNP K in different pathological stages of chronic liver disease and its correlation with hepatitis B-related primary liver cancer. **Methods:** From August 2018 to October 2018, 50 medical examiners, 43 chronic HBV patients, 35 HBV cirrhosis patients and 53 HBV-related hepatocellular carcinoma patients were included in this study. 5 mL fasting peripheral venous blood and clean mid-section morning urine specimen were collected. The expression level of hnRNP K in blood or urine specimen at different pathological stages of chronic liver disease were detected by ELISA and the data were analyzed by SPSS 20. The ROC curve was drawn to evaluate the significance of hnRNP K in the diagnosis of primary liver cancer. **Results:** The expression level of hnRNP K in blood and urine of patients with chronic hepatitis B, post-hepatitis cirrhosis and hepatitis B-related primary liver cancer was higher than that of healthy subjects ( $P < 0.05$ ). The ROC curve AUC of serum hnRNP K protein in patients with hepatitis B-related primary liver cancer was 0.775, the sensitivity and specificity were 76.9% and 64.3%, respectively; the ROC curve AUC of urine hnRNP K protein was 0.652, the sensitivity and specificity of related primary liver cancer were 100% and 28.6%, respectively. **Conclusion:** Compared with healthy subjects, serum and urine hnRNP K protein is up-regulated in patients with chronic hepatitis B, post-hepatitis cirrhosis and hepatitis B-related primary liver cancer, and the expression level is correlated with hepatitis B-related primary liver cancer, suggesting that hnRNP K may be a potential marker of primary liver cancer and has certain reference value for the diagnosis of primary liver cancer.

**Keywords** nuclear heterogeneous ribonucleoprotein K; hepatocellular carcinoma; correlation; different pathological stages

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是指发生于肝细胞或肝内胆管细胞的恶性上皮细胞肿瘤, 是最常见的恶性肿瘤之一, 居全球恶性肿瘤发病率的第5位<sup>[1]</sup>, 是目前我国第4位的常见恶性肿瘤及第3位的肿瘤致死病因, 严重威胁人们的生命和健康<sup>[2]</sup>。PHC常见病因是乙型或丙型病毒性肝炎、酒精、黄曲霉毒素及非酒精性脂肪肝病等, 原发性肝癌的流行病学研究<sup>[2]</sup>建议对有风险因素的患者进行PHC相关指标监测, 旨在早期发现PHC。目前临床监测和诊断PHC广泛使用的肿瘤标志物是血清甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)。然而, AFP在生殖细胞肿瘤和除PHC以外的慢性肝病患者中可见升高且临床中约有1/3的肝癌患者AFP水平正常<sup>[3]</sup>, 故其器官和肿瘤特异性受到良性肝病和妊娠期升高的限制, 易漏诊或误诊。由于PHC患者5年生存率较低, 不能令人满意, 早期发现PHC患者面临的一个主要问题是缺乏可靠的血清生物学标志物, 故迫切需要用于肝癌早期诊断的新型生物学标志物。hnRNP K是可在细胞质和细胞核中穿梭的高度保守的RNA结合蛋白<sup>[4]</sup>, 普遍存在于胞核、胞质、线粒体及质膜中参与调节细胞增殖、分化和凋亡<sup>[5-6]</sup>, 其异常表达与癌细胞增殖、血管生成、侵袭等相关<sup>[4]</sup>, 是核不均一核糖核蛋白(hnRNPs)家族成员之一<sup>[5,7-8]</sup>。hnRNP K是hnRNPs家族中研究最为广泛的成员, 参与神

经系统和卵巢发育、红细胞分化和癌变等病理生理过程<sup>[7,9-10]</sup>。目前有文献<sup>[10]</sup>报道hnRNP K在慢性髓性白血病低表达, 膀胱癌、肺癌、宫颈癌和结肠直肠癌等实体瘤中高表达。2012年Guo等<sup>[11]</sup>发现hnRNP K在伴有肝硬化的早期原发性肝癌患者组织中高表达且诊断价值优于AFP, 指出其可能是预测肝癌发生的潜在生物标志物; hnRNP K可参与HBV复制, 是早期检测PHC的潜在生物学标志物<sup>[12]</sup>; 2019年Phoomak等<sup>[13]</sup>提出hnRNP K高表达于肝内胆管癌细胞中, 但hnRNP K与原发性肝癌患者的三个病理阶段是否存在相关性至今尚未见报道。本研究预通过ELISA法检测hnRNP K在健康体检者、慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血液和尿液中的表达水平, 旨在探究hnRNP K在慢性肝病不同病理阶段的表达水平, 为原发性肝癌的诊断寻找新的生物学标志物。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集2018年8月至2018年10月间就诊于石河子大学医学院第一附属医院的健康体检者、慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者, 共181例。其中男116例(64.1%),

女65例(35.9%), 年龄(49.21±18.3)岁, 各组年龄差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), 性别差异无统计学差异( $P>0.05$ , 表1)。各组eGFR在乙肝相关性原发性肝癌不同病理阶段比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), Cr表达无统计学意义( $P>0.05$ ), 生化指标具有可比性( $P<0.05$ , 表2)。此研究已获得石河子大学医学院第一附属医院伦理委员会批准且试验对象对本次研究知情同意并签署知情同意书。

纳入标准: 1)有明确的慢性乙型病毒性肝炎感染史; 2)肝功能良好(Child-Pugh分级A或B级); 3)依据原发性肝癌诊疗规范(2017年版)通过影像学

检查或病理学检查诊断为原发性肝癌; 4)符合我国2015年《慢性乙型肝炎防治指南》或美国移植学会(AST)实践委员会2019年2月发布《病毒性肝炎指南》中肝硬化/慢性乙型肝炎诊断标准; 5)不伴有其他恶性肿瘤; 6)患者依从性好且自愿参加临床试验, 有完整的病历资料。

排除标准: 1)肝功能较差(Child-Pugh分级为C级)或伴有大量腹水; 2)合并有其他类型肝炎或有急慢性炎症/泌尿系感染; 3)伴有其他恶性肿瘤; 4)继发性肝癌; 5)研究者认为不适宜的其他情况或病历资料书写不完整, 依从性差, 不愿意参与临床研究。

表1 研究对象基本信息

Table 1 Basic information of the research objects

组别	性别/[例(%)]		年龄/岁
	男	女	
健康体检者	33 (66.0)	17 (34.0)	39.57 ± 12.16
慢性乙型病毒性肝炎	26 (60.5)	17 (39.5)	45.83 ± 12.45
肝炎后肝硬化	23 (65.7)	12 (27.9)	57.61 ± 8.96
乙肝相关性原发性肝癌	34 (64.2)	19 (35.8)	58.76 ± 10.61
Z	0.75		16.97
P	0.53		<0.01

表2 在慢性肝病不同病理阶段的患者的白细胞计数、肝功能、肾功能

Table 2 White blood cell count, liver function and renal function in different pathological stages of chronic liver disease

组别	ALB/(g·L <sup>-1</sup> )	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	ALP/(U·L <sup>-1</sup> )
健康体检者	48.00 (46.00~49.00)	25.00 (13.00~39.00)	20.00 (16.50~23.50)	57.00 (44.00~73.50)
慢性乙型病毒性肝炎	44.20 (40.85~46.43)	31.50 (23.75~56.00)	25.50 (20.75~51.50)	73.00 (57.50~82.50)
肝炎后肝硬化	35.95 (28.38~39.80)	22.00 (16.75~36.50)	34.50 (18.75~50.75)	80.00 (64.00~118.50)
乙肝相关性原发性肝癌	39.40 (33.80~42.20)	23.00 (14.00~34.00)	30.80 (25.00~38.00)	71.00 (64.00~91.00)
Z	43.990	4.847	13.970	7.130
P	<0.01	0.18	<0.01	0.06

组别	Tbil/(μmol·L <sup>-1</sup> )	WBC/(×10 <sup>9</sup> ·L <sup>-1</sup> )	Cr/(μmol·L <sup>-1</sup> )	eGFR/(mL·min <sup>-1</sup> ·1.73 m <sup>-2</sup> )
健康体检者	14.00 (10.25~20.00)	6.50 (6.00~7.75)	68.80 (58.05~75.15)	110.00 (106.50~121.00)
慢性乙型病毒性肝炎	12.30 (9.70~16.00)	5.53 (4.10~6.64)	68.05 (59.53~76.78)	107.00 (97.00~116.25)
肝炎后肝硬化	24.04 (14.00~51.37)	4.44 (2.55~5.43)	62.70 (58.00~74.50)	107.00 (97.00~117.00)
乙肝相关性原发性肝癌	14.30 (11.35~19.10)	4.41 (7.75~6.01)	67.30 (53.90~74.50)	107.00 (101.00~116.00)
Z	10.370	14.720	5.250	12.340
P	0.01	<0.01	0.15	0.006

## 1.2 人口学基本情况

共收集受检者181例, 其中慢性乙型病毒性肝炎43例, 男:女为26:17, 年龄23~57(45.83±12.45)岁; 肝炎后肝硬化35例, 男:女为23:12, 年龄47~72(57.61±8.95)岁; 乙肝相关性原发性肝癌53例, 男:女为34:19, 年龄49~72(58.76±10.61)岁; 对照组为50例健康体检者, 男:女为33:17, 年龄24~47(39.57±12.16)岁。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样本采集及处理

采集研究对象空腹外周静脉血5 mL置于肝素锂抗凝管中, 4 °C冰箱静止15 min, 同时无菌管收集清洁中段晨尿5 mL, 均离心20 min(2 000~3 000 r/min), 收集上清液分装于EP管中, 置于-80 °C超低温冰箱保存。

### 1.3.2 试剂及检测

hnRNP K酶联免疫分析(ELISA)试剂盒购于武汉酶免生物科技有限公司, 实验均由1~2名实验员在同一条件, 同一个实验室内严格按照试剂盒说明书进行操作。使用试剂盒中标准hnRNP K标准品, 5倍比稀释测得的OD值建立标准曲线以计算患者血液或尿液标本中hnRNP K浓度。

## 1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 用 $t$ 检验或方差分析, 计数资料用 $\chi^2$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。尿液中hnRNP K蛋白含量服从正态分布, 采用方差分析; 血液、血尿比hnRNP K蛋白含量均不服从正态分布, 采用Kruskal-Wallis  $H$ 检

验评价整体差异(以 $P<0.05$ 为有统计学差异), 采用Mann-Whitney  $U$ 检验进行两两比较(修正 $a'=\alpha/K$ , 其中 $\alpha=0.05$ ,  $k=6$ , 以 $P<a'$ 为有统计学差异)。描绘ROC曲线评价hnRNP K蛋白诊断价值, 通过选取最大约登指数确定Cut-off值及灵敏度、特异度。

## 2 结果

### 2.1 4组研究对象白细胞计数、肝功能及肾功能检测

健康体检者与慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者ALB, TBil, AST及WBC相比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。各组eGFR比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), Cr比较差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表2)。

### 2.2 4组研究对象血、尿液hnRNP K蛋白水平及血/尿比值在慢性肝病不同病理阶段表达水平

慢性乙型肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血清、尿液hnRNP K蛋白水平及血/尿比值均高于健康体检者, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ), 但血清、尿液中hnRNP K在慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化、乙肝相关性原发性肝癌各组组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表3)。

### 2.3 血清hnRNP K蛋白用于诊断原发性肝癌的ROC曲线

血清hnRNP K对慢性肝病不同病理阶段均具有较好的诊断价值, 约登指数最大为0.412时, 测得敏感度和特异度分别为0.769和0.643, 绘制ROC曲线, AUC为0.775(表4, 图1)。

表3 血液及尿液中hnRNP K在慢性肝病不同阶段表达水平(pg/mL)

Table 3 Expression levels of hnRNP K in different stages of chronic liver disease in blood and blood/urine (pg/mL)

组别	血hnRNP K/(pg·mL <sup>-1</sup> )	hnRNP K血尿比	尿hnRNP K/(pg·mL <sup>-1</sup> )
健康体检者	4.91 (2.79~5.78)	1.02 (0.69~1.41)	4.22 ± 0.68
慢性乙型病毒性肝炎	56.7* (23.62~77.71)	11.11* (4.28~16.05)	4.95 ± 0.77*
肝炎后肝硬化	20.67* (9.11~87.84)	4.64* (2.01~15.21)	4.85 ± 1.01*
乙肝相关性原发性肝癌	34.13* (22.28~90.25)	6.51* (4.17~18.48)	4.94 ± 0.51*

\* $P<0.05$  vs 对照组。

\* $P<0.05$  vs control group.

表4 血清hnRNP K蛋白用于诊断肝癌的价值

Table 4 Diagnostic value of serum hnRNP K for liver cancer

组别	AUC	P	敏感度	特异度	约登指数	Cut-off
慢性乙型病毒性肝炎	0.710	0.002	0.875	0.583	0.458	18.41
肝炎后肝硬化	0.580	0.072	1.00	0.167	0.167	4.64
乙肝相关性原发性肝癌	0.775	0.004	0.769	0.643	0.412	23.67

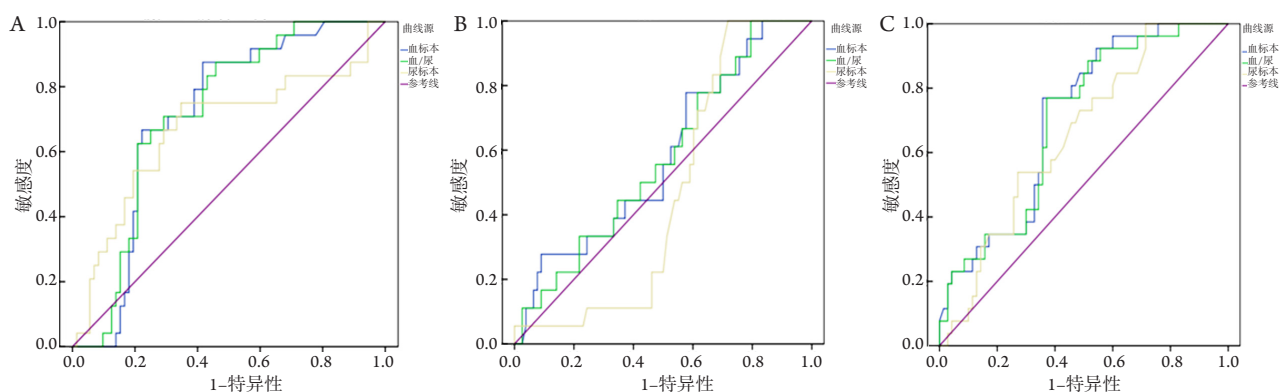


图1 慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血清、尿液hnRNP K及血尿比值的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of hnRNP K in blood, urine and blood/urine in patients with chronic hepatitis B, post-hepatitis cirrhosis and hepatitis B-related primary liver cancer

(A)慢性乙型病毒性肝炎; (B)肝炎后肝硬化; (C)乙肝相关性原发性肝癌。

(A) Chronic hepatitis B; (B) Post-hepatitis cirrhosis; (C) Hepatitis B-related primary liver cancer.

#### 2.4 尿液hnRNP K蛋白用于诊断原发性肝癌的ROC曲线

当最大约登指数为0.286时, 尿液hnRNP K蛋白诊断肝癌的敏感度和特异度分别为1.00和0.286, AUC为0.652(表5, 图1)。

#### 2.5 联合hnRNP K血/尿比值中用于诊断原发性肝癌的ROC曲线

联合hnRNP K血/尿比值对慢性肝病不同病理阶段具有辅助诊断价值, 当最大约登指数为0.398时, hnRNP K血/尿比值诊断乙肝相关性原发性肝癌的敏感度和特异度分别为0.769和0.629, AUC为0.695(表6, 图1)。

#### 2.6 与hnRNP K相比, 血清AFP诊断乙肝相关性原发性肝癌的ROC曲线

血清AFP在乙肝相关性肝癌患者的不同病理阶段研究中, 慢性乙型病毒性肝炎患者的ROC曲线下面积为0.498(ROC<0.50), 肝硬化患者ROC曲线下面积为0.499(ROC<0.50), 不具有诊断价值; 当最大约登指数为0.430时, 血清AFP诊断乙肝相关性原发性肝癌的敏感度和特异度分别为0.594和0.835, AUC=0.701。与血清、尿液标本中的hnRNP K相比, 血清AFP的诊断价值高于尿液hnRNP K及血尿比; 血清hnRNP K诊断价值优于血清AFP(表7, 图2)。

表5 尿液hnRNP K用于诊断肝癌的效能

Table 5 Diagnostic value of urine hnRNP K for liver cancer

组别	AUC	P	敏感度	特异度	约登指数	Cut-off
慢性乙型病毒性肝炎	0.669	0.07	0.750	0.653	0.403	4.80
肝炎后肝硬化	0.466	0.06	1.00	0.282	0.282	4.16
乙肝相关性原发性肝癌	0.652	0.02	1.00	0.286	0.286	4.08

表6 hnRNP K血尿比值用于诊断肝癌的效能

Table 6 Diagnostic value of hnRNP K blood/urine for liver cancer

组别	AUC	P	敏感度	特异度	约登指数	Cut-off
慢性乙型病毒性肝炎	0.716	0.020	0.625	0.792	0.417	9.46
肝炎后肝硬化	0.575	0.070	1.000	0.205	0.205	1.04
乙肝相关性原发性肝癌	0.695	0.004	0.769	0.629	0.398	4.39

表7 血清、尿液中hnRNP K及血尿比与血清AFP用于诊断肝癌的效能比较

Table 7 Comparison of hnRNP K in serum and urine, hnRNP K blood/urine and serum AFP in the diagnosis of liver cancer

诊断指标	AUC	P	敏感度	特异度	约登指数	Cut-off
血清hnRNP K	0.775	0.004	0.769	0.643	0.412	23.67
尿液hnRNP K	0.652	0.020	1.000	0.286	0.286	4.08
血尿比	0.695	0.004	0.769	0.629	0.398	4.39
血清AFP	0.701	0.001	0.594	0.835	0.430	3.30

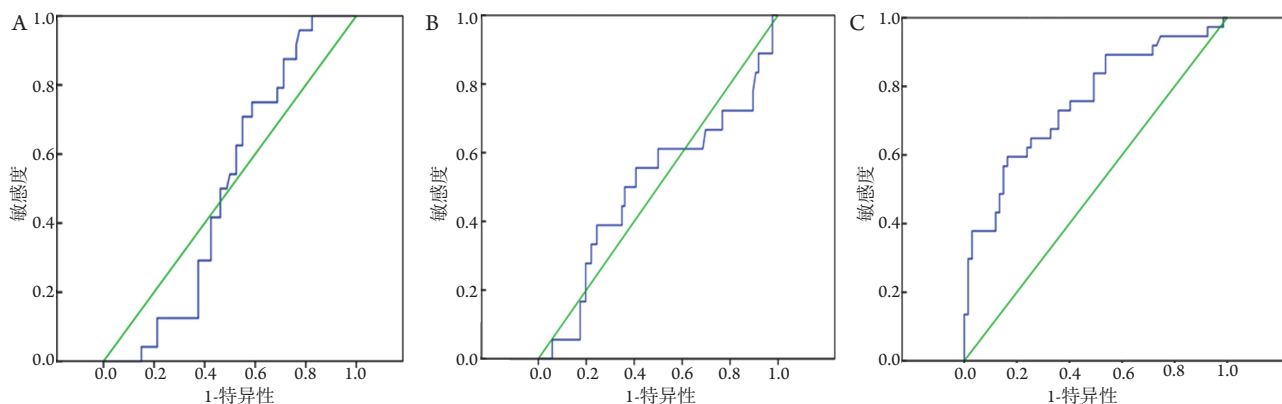


图2 慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者血清AFP的ROC曲线

Figure 2 ROC curve of serum AFP in patients with chronic hepatitis B, post-hepatitis cirrhosis and hepatitis B-related primary liver cancer

(A)慢性乙型病毒性肝炎；(B)肝炎后肝硬化；(C)乙肝相关性原发性肝癌。

(A) Chronic hepatitis B; (B) Post-hepatitis cirrhosis; (C) Hepatitis B-related primary liver cancer.

### 3 讨论

因hnRNP K特殊的结构决定了其生物学功能多样性,参与多种途径的RNA结合结构域调节凋亡基因的表达水平,包括转录起始和延伸、可变剪接、mRNA稳定性、翻译和蛋白质降解等,通过刺激细胞外基质中的基因表达来参与多种肿瘤的发生与发展<sup>[7,9]</sup>。目前国内外已有多篇文献报道hnRNPs与肿瘤的发生发展关系密切,可用于肿瘤的早期诊断,但hnRNP K在肝癌方面的研究却鲜有报道。在肝癌研究领域,早在2008年范薇薇等<sup>[14]</sup>

通过免疫组织化学观察hnRNP K在肝癌组织中高表达,且hnRNP K在80%的HBV患者中高表达,但具体机制仍需进一步研究。研究<sup>[15]</sup>表明:hnRNP K普遍存在于血液、尿液、唾液或泪液等中,外泌体所介导的lncRNA 91H可通过调节hnRNP K的水平参与消化系统恶性肿瘤进展<sup>[15]</sup>。目前国内外文献检测血液中hnRNP K报道居多,尚无尿液标本hnRNP K相关报道,因此本研究通过ELISA法测得患者血液或尿液hnRNP K表达水平,探究其在慢性肝病不同病理阶段的表达规律。结果表明:hnRNP K在慢性肝病不同病理阶段即慢性乙型病毒

性肝炎、肝炎后肝硬化、乙型肝炎相关性原发性肝癌患者血液和尿液中表达水平均高于健康体检者;联合血/尿比值, hnRNP K在上述3组临床样本相较于健康体检者均升高,提示hnRNP K高表达与慢性肝病不同病理进展阶段相关,且其诊断价值优于慢性乙型病毒性肝炎和肝炎后肝硬化,有可能是监测肝癌微环境演变的潜在分子标志物。

本研究应用ELISA法定量检测慢性肝病不同病理阶段血液、尿液中hnRNP K水平,探讨其在慢性肝病不同病理阶段表达差异及相关性。结果表明:在血标本中即慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌hnRNP K水平高于健康体检者,差异具有统计学意义,以慢性乙型病毒性肝炎为甚。测得乙肝相关性原发性肝癌患者血清hnRNP K水平并绘制ROC曲线,在约登指数最大为0.412时,AUC为0.775,诊断肝癌的敏感度和特异度分别为76.9%和64.3%,提示该实验具有诊断价值。在慢性乙型病毒性肝炎患者中高表达的原因可能是hnRNP K在HBV复制过程中起关键作用,hnRNP K水平的变化直接改变HBV的复制效率<sup>[16]</sup>。2012年Guo等<sup>[11]</sup>曾提出血清hnRNP K水平可用于诊断早期PHC,敏感性为66.67%,特异性为84%,在检测早期PHC方面优于血清AFP;当hnRNP K和血清AFP联合时,灵敏度和特异性可分别提高至93.33%和96%。Xing等<sup>[17]</sup>对近年来公开发表的国内外文献血AFP表达水平进行了Meta分析,指出AFP诊断乙肝相关性原发性肝癌的灵敏度和特异度分别为66%和84%,AUC为0.714。本试验收集新疆地区2018年8月至2018年10月就诊于我院的乙肝相关性原发性肝癌患者的血清AFP值并绘制ROC曲线,慢性乙型病毒性肝炎患者的血清AFP的ROC曲线下面积为0.498(ROC<0.50),肝硬化患者ROC曲线下面积为0.499(ROC<0.50),不具有诊断价值;当最大约登指数为0.430时,血清AFP诊断乙肝相关性原发性肝癌的敏感度和特异度分别为0.594和0.835,AUC=0.701;在约登指数最大为0.412时,血清hnRNP K诊断肝癌的敏感度和特异度分别为0.769和0.643,AUC=0.775;血清AFP与血液、尿液标本中的hnRNP K相比,血清中hnRNP K诊断价值仍高于尿液hnRNP K及其血尿比,故本试验中血清hnRNP K表达水平及诊断价值与文献<sup>[17]</sup>报道一致。曾有文献<sup>[11]</sup>报道hnRNP K在PHC中过表达与肿瘤大小及转移侵袭能力有关,PHC细胞核中的

hnRNP K的表达水平约比肝硬化或正常肝组织高3倍以上,而细胞质中hnRNP K在肿瘤组织和周围组织中均保持不变,这是由于hnRNP K从细胞质向肿瘤细胞核的核移位作用,调控DNA或RNA功能参与肝细胞增殖分化和肿瘤发生<sup>[12]</sup>。本研究中慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌患者hnRNP K在血液中一致过表达,原因可能是:1)hnRNP K是否表达和表达强度与机体组织功能及细胞分化程度有关。在细胞、组织分裂活跃时表达增高,静止期时表达降低<sup>[12]</sup>。2)hnRNP K可能作为一种癌症转移相关的蛋白,其在胞质内的聚集效应在细胞转移过程中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。在乙肝相关性原发性肝癌细胞周期的进程中,hnRNP K蛋白将由胞质转运到胞核,与静息期细胞相比,增殖期细胞胞核的hnRNP K含量更高<sup>[12]</sup>。3)经靶向治疗或手术治疗后肿瘤细胞受到损伤或瘤体缩小,hnRNP K表达水平下调。黄昊等<sup>[18]</sup>研究表明,hnRNP K在放射线处理后有胞质聚集作用并呈剂量依赖性升高,而经靶向抑制或手术治疗后低表达,表明其可作为术后评估和预后评估的潜在标志物。由于样本量较少,本研究中血清及尿液中hnRNP K含量在原发性肝癌、慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化3组中差异不大,有待进一步扩大实验的样本量以期获得更有说服力的结果。下一步研究将继续丰富标本数量,增加检测阶段,为原发性肝癌的诊治提供一个检测方法简单且灵敏度及特异度高的生物学标志物。

目前发表的国内外文献尚无尿液中hnRNP K水平测定的相关报道,本研究通过ELISA法测得健康体检者、慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化及乙肝相关性原发性肝癌4组尿液中hnRNP K含量。结果发现:3组患者尿液hnRNP K水平略高于健康体检者,差异具有统计学意义,慢性乙型病毒性肝炎组、肝炎后肝硬化组和乙肝相关性原发性肝癌组比较差异不具有统计学意义。当最大约登指数为0.286时,尿液中hnRNP K用来诊断肝癌的敏感度和特异度分别为1.00和0.286,AUC=0.652。慢性乙型病毒性肝炎、肝炎后肝硬化和乙肝相关性原发性肝癌患者尿标本中hnRNP K均有表达,高于健康体检者原因可能是:肾受累是慢性乙型肝炎病毒感染最常见的肝外表现,肾功能不全是肝硬化的常见并发症<sup>[19]</sup>,约占所有住院肝硬化患者的20%,并且与病死率增加有关<sup>[20]</sup>。Cohen等<sup>[21]</sup>提出尿液中AFP的异常升高可能是由肝癌扩展到肾静脉引起的。本研究收集的3组患者eGFR与健康体检

者比较差异具有统计学意义。在慢性肝病不同病理阶段hnRNP K均有表达但差异不大的原因: 1) 样本量较少, 需要扩大样本量进行亚组分析; 2) 部分患者可能经过了化学药物治疗、放射治疗、手术或靶向治疗, 影响hnRNP K的肝癌微环境及其在尿液中的代谢水平。未来需要大样本试验验证hnRNP K在尿中是否存在差异及差异表达的原因。

联合尿液标本采用hnRNP K蛋白血/尿比值进行诊断时, ROC曲线可见当指数为0.398时, 测得诊断乙肝相关性原发性肝癌的敏感度和特异度分别是76.9%和62.9%, AUC=0.695, 与单独尿液标本测得hnRNP K相比, 联合血/尿比值可具有辅助诊断意义。

综上所述, 在乙肝相关性原发性肝癌患者血液、尿液中hnRNP K均有表达, 且对乙肝相关性原发性肝癌的诊断价值优于慢性乙型病毒性肝炎和肝炎后肝硬化, 提示血液、尿液hnRNP K与早期原发性肝癌的发展相关, 可作为潜在的肝癌肿瘤标志物, 在联合尿液标本, 血/尿比值具有辅助诊断意义。目前尚有一些问题需要解决: 1) hnRNP K蛋白与慢性肝病不同病理阶段的直接或间接相关性? 2) hnRNP K是否可作为诊断乙肝相关性原发性肝癌的早期生物标志物替代AFP应用于临床? 由于样本量、部分患者为治疗后患者均可对试验有影响, 且hnRNP K的临床病理生理机制不清, 故需扩大样本量进行亚组分析得到更多数据支持, 且血液及尿液标本检测方便更易让大众接受。

## 参考文献

- Jiang X, Tan HY, Teng S, et al. The role of AMP-activated protein kinase as a potential target of treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(5): E647.
- Huang W, Skanderup AJ, Lee CG. Advances in genomic hepatocellular carcinoma research[J]. *Gigascience*, 2018, 7(11): giy135.
- Liu XH, Ma J, Feng JX, et al. Regulation and related mechanism of GSN mRNA level by hnRNP K in lung adenocarcinoma cells[J]. *Biol Chem*, 2019, 400(7): 951-963.
- Svobodova S, Karlikova M, Topolcan O, et al. PIVKA-II as a potential new biomarker for hepatocellular carcinoma—a pilot study[J]. *In Vivo*, 2018, 32(6): 1551-1554.
- Qiu J, Chen S, Su L, et al. Cellular nucleic acid binding protein suppresses tumor cell metastasis and induces tumor cell death by downregulating heterogeneous ribonucleoprotein K in fibrosarcoma cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(7): 2244-2252.
- Xu Y, Wu W, Han Q, et al. Post-translational modification control of RNA-binding protein hnRNP K function[J]. *Open Biol*, 2019, 9(3): 180239.
- Xu Y, Wu W, Han Q, et al. New insights into the interplay between non-coding RNAs and RNA-binding protein HnRNP K in regulating cellular functions[J]. *Cells*, 2019, 8(1): E62.
- Tang S, Xie Z, Wang P, et al. LncRNA-OG promotes the osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells under the regulation of hnRNP K[J]. *Stem Cells*, 2019, 37(2): 270-283.
- Kedzierska H, Piekuelko-Witkowska A. Splicing factors of SR and hnRNP families as regulators of apoptosis in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 396: 53-65.
- Geuens T, Bouhy D, Timmerman V. The hnRNP family: insights into their role in health and disease[J]. *Hum Genet*, 2016, 135(8): 851-867.
- Guo Y, Zhao J, Bi J, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP K) is a tissue biomarker for detection of early hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis[J]. *Hematol Oncol*, 2012, 5: 37.
- Hammam O, Magdy M, Anas A, et al. Expression of hnRNP K & claudin-4 in HCV-induced early HCC and adjacent liver tissue[J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2017, 5(5): 595-602.
- Phoomak C, Park D, Silsirivanit A, et al. O-GlcNAc-induced nuclear translocation of hnRNP-K is associated with progression and metastasis of cholangiocarcinoma[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(2): 338-357.
- 范薇薇, 余艳婷, 洪毅, 等. 异质性胞核核糖核蛋白K在肝癌组织及不同密度肝癌细胞中的表达[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29(1): 20-23.  
FAN Weiwei, YU Yanting, HONG Yi, et al. Expression of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K in hepatocarcinoma tissues and cells line of different cell densities[J]. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 2008, 29(1): 20-23.
- Gao T, Liu X, He B, et al. Exosomal lncRNA 91H is associated with poor development in colorectal cancer by modifying HNRNP K expression[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 11.
- Ng LF, Chan M, Chan SH, et al. Host heterogeneous ribonucleoprotein K (hnRNP K) as a potential target to suppress hepatitis B virus replication[J]. *PLoS Med*, 2005, 2(7): e163.
- Xing H, Zheng YJ, Han J, et al. Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II versus alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review with meta-analysis[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2018, 17(6): 487-495.
- 黄昊, 杨星九, 李梦媛, 等. 异质性胞核核糖核蛋白K与肿瘤研究的最新进展[J]. *中国比较医学杂志*. 2017. 27(11): 103-108.  
HUANG Hao, YANG Xingjiu, LI Mengyuan, et al. Recent progress in research of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K related with tumor pathogenesis and progression[J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2017, 27(11): 103-108.



19. Javaid MM, Khatri P, Subramanian S. Should antiviral monotherapy with nucleotide analogs be the primary treatment option for focal segmental glomerulosclerosis-related nephrotic syndrome in chronic hepatitis B infection?[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2018, 29(3): 714-718.
20. Lenz K, Binder M, Buder R, et al. Niereninsuffizienz bei Patienten mit Leberinsuffizienz[J]. Med Klin Intensivmed Notfmed, 2014, 109(4): 240-245.
21. Cohen H, Starkovsky N, Olweny C. Letter: Alpha-fetoprotein in urine of hepatoma patients[J]. Lancet, 1975, 2(7937): 717-718.

**本文引用:** 侯佳影, 周晓明, 陈晨, 王丽萍, 刘清华. 核不均一核糖核蛋白 K (hnRNP K) 在慢性肝病不同病理阶段的表达水平[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(3): 665-673. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.03.021

**Cite this article as:** HOU Jiaying, ZHOU Xiaoming, CHEN Chen, WANG Liping, LIU Qinghua. Expression of nuclear heterogeneous ribonucleoprotein K (hnRNP K) in different pathological stages of chronic liver disease[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(3): 665-673. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.03.021