

血清 KLF5 和 actinin-4 水平 与肝细胞肝癌肝动脉化疗栓塞术治疗预后的关系

李顺乐¹, 李蓉², 田亚亚¹, 冉小丽¹, 赵延培¹, 徐蒙^{1*}

西安交通大学第二附属医院 1. 普通外科; 2. 麻醉科, 陕西 西安 710004

摘要:目的 探讨血清 Krüppel 样因子 5 (KLF5)、辅肌动蛋白 4 (actinin-4) 对肝细胞肝癌 (HCC) 肝动脉化疗栓塞术 (TACE) 治疗预后的关系。方法 选取西安交通大学第二附属医院 2015 年 3 月至 2020 年 3 月期间收治的 130 例 HCC 患者作为 HCC 组, 同期收治的 86 例肝硬化患者作为对照。术后随访 3 年, 根据生存结局分为生存组 ($n=38$) 和死亡组 ($n=92$)。采用 ELISA 检测各组血清 KLF5 和 actinin-4 水平, 并分析血清 KLF5 与 actinin-4 水平之间的相关性; Cox 回归分析 HCC 患者预后死亡的影响因素; 受试者工作特征曲线 (ROC) 评估血清 KLF5 和 actinin-4 水平对 HCC 患者预后死亡的预测价值。结果 死亡组患者血清 KLF5 和 actinin-4 水平明显高于生存组 ($P<0.05$), 且血清 KLF5 与 actinin-4 水平呈正相关 ($P<0.001$); 低分化、中国肝癌分期方案 (CNLC) 分期为 III a 期、血管侵犯、KLF5 和 actinin-4 水平升高是 HCC 患者预后死亡的危险因素 ($P<0.05$); 血清 KLF5 和 actinin-4 单独及联合预测 HCC 患者预后死亡的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.835、0.866、0.936, 联合预测效果较高 ($Z_{二者联合-KLF5}=2.792, P=0.005$, $Z_{二者联合-actinin-4}=2.014, P=0.044$)。结论 HCC 患者血清 KLF5 和 actinin-4 水平升高, 二者血清水平对预后具有较高预测价值。

关键词: Krüppel 样因子 5; 辅肌动蛋白 4; 肝细胞肝癌; 预后

中图分类号: R735.7 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.09.1284

Association of serum KLF5 and actinin-4 levels with prognosis of TACE treatment for hepatocellular carcinoma

LI Shunle¹, LI Rong², TIAN Yaya¹, RAN Xiaoli¹, ZHAO Yanpei¹, XU Meng^{1*}

1. Department of General Surgery;

2. Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

Abstract: Objective To explore the relationship between serum Krüppel-like factor 5 (KLF5) and actinin-4 with prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) treated with transcatheter arterial chemoembolization (TACE). **Methods** From March 2015 to March 2020, 130 HCC patients admitted into the Second Affiliated Hospital were collected as study subjects and divided into HCC group and 86 patients with liver cirrhosis were collected as control group. After 3 years of postoperative follow-up, HCC patients were sub-divided into survival group ($n=38$) and

收稿日期: 2024-01-04 修回日期: 2024-03-29

基金项目: 陕西省 2021 年重点研发计划 (2021SF-229); 西安市科技局创新能力支撑计划-医学研究项目 (23YXYJ0172); 陕西省重点研发计划 (2023-YBSF-386)

* 通信作者 (corresponding author): xm19912015@163.com

mortality group ($n=92$) based on their survival outcomes. ELISA was applied to detect the level of serum KLF5 and actinin-4 in each group and analyzed the correlation between serum KLF5 and actinin-4 levels. Cox regression was applied to analyze the risk factors affecting the prognostic mortality of HCC patients; Receiver operating characteristic curve (ROC) was plotted to evaluate the predictive value of serum KLF5 and actinin-4 levels for the prognostic mortality of HCC patients. **Results** The serum level of KLF5 and actinin-4 in the mortality group was significantly higher than those in the survival group ($P<0.05$); There was a positive correlation between serum level of KLF5 and actinin-4 in HCC patients ($P<0.001$); Low differentiation, staging (CNLC) stage IIIa of China liver cancer staging (CNLC), vascular invasion and elevated level of KLF5 and actinin-4 were risk factors for prognostic mortality in HCC patients ($P<0.05$); The area under the curve (AUC) of serum KLF5 and actinin-4 alone and in combination for predicting mortality in HCC patients was 0.835, 0.866, and 0.936, respectively, showing a high level of combined predicting function ($Z_{\text{combination-KLF5}}=2.792$, $P=0.005$, $Z_{\text{combination-actinin-4}}=2.014$, $P=0.044$). **Conclusions** Serum level of KLF5 and actinin-4 found in HCC patients has a high predictive value for prognosis.

Key words: Krüppel-like factor 5; actinin-4; hepatocellular carcinoma; prognosis

肝癌 (liver cancer) 已成为全球癌死亡的第三大原因, 其中肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的肝癌类型, 约占肝癌的 85% 以上^[1]。研究表明, HCC 的发病原因主要是由于乙型肝炎和丙型肝炎病毒感染所致, 因其发病隐匿, 多数患者确诊时病情已发展至中晚期, 导致手术切除困难或无法切除, 而肝动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 对中晚期患者有较好的治疗效果, 目前已被广泛应用于临床实践, 但由于 HCC 患者预后具有高度异质性, 如肿瘤负荷、基线肝功能、体能状态等多种因素均会影响 TACE 疗效, 且重复 TACE 对患者肝功能也会造成损伤, 这导致部分患者不仅未从 TACE 中受益, 还可能因肝功能严重受损丧失全身治疗机会, 生存期明显下降^[2]。最近一项研究表明, HCC 中第二大常见缺陷通路 p53 通路与 TACE 失败及难治性密切相关^[3], 而有研究发现, 在 p53 缺失情况下, Krüppel 样因子 5 (Krüppel-like factor 5, KLF5) 可介导相关信号通路调节 HCC 上皮间质转化过程, 进而促进 HCC 细胞发生迁移^[4]。辅肌动蛋白 4 (actinin-4) 是一种肌动蛋白结合蛋白, 其与肌动蛋白微丝交联, 在维持细胞骨架完整性及控制细胞运动中发挥关键作用, 目前已被证实与人类多种癌侵袭和转移过程相关, 其中有研究表明, actinin-4 表达与 HCC 术后生存率显著相关^[5-6]。基于此, 本研究通过分析血清 KLF5 和 actinin-4 水平与经 TACE 治

疗后 HCC 患者预后的关系, 旨在为临床提高 TACE 疗效方面提供一定思路。

1 材料与方法

1.1 对象

选取本院 2015 年 3 月至 2020 年 3 月期间收治的 130 例 HCC 初诊患者作为 HCC 组, 其中男 67 例, 女 63 例, 年龄 30~72 (56.31±4.24) 岁。另收集患者 Child-Pugh 分级、中国肝癌分期方案 (china liver cancer staging, CNLC) 分期、甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 等临床病理特征资料。纳入标准: 1) 所有患者经临床病理学检查确诊, 符合 HCC 相关诊断标准^[7]; 2) 临床资料完整; 3) 均为初诊患者, 入院前未进行过免疫治疗等; 排除标准: 1) 其他恶性肿瘤者; 2) 不符合 TACE 治疗者; 3) Child-Pugh 分级 C 级患者; 4) 免疫、脏器功能障碍者。另选取同期于本院就诊的 86 例肝硬化患者作为对照组, 其中男 44 例, 女 42 例, 年龄 32~70 (55.83±3.89) 岁。两组患者性别、年龄比较, 差异无统计学意义, 具有可比性。本研究已通过本院医学伦理委员会批准, 受试者均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清 KLF5 和 actinin-4 的检测: 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定各组血清 KLF5 和 actinin-4 水平。采集受试者晨起空腹肘静脉血 5 mL, 室温静置 4 h, 待析出血清后于 4 °C, 3 000 r/min 离心

15 min,收集上清,转至-20 °C保存待测。采用双抗体夹心法,利用人 KLF5 和 actinin-4 酶联免疫吸附测定试剂盒(货号: ABIN6957343、ABIN6964559,苏州四正柏生物科技有限公司)检测血清 KLF5 和 actinin-4水平。

1.2.2 随访:对 HCC 患者随访 3 年(门诊复查/电子问卷),统计分析其生存情况,将死亡患者纳入死亡组(92 例),存活患者纳入生存组(38 例),随访截止时间为 2023 年 3 月 31 日。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量资料符合正态分布,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间行 t 检验;采用 Pearson 法分析血清 KLF5 与 actinin-4 水平之间的相关性;采用 Cox 回归分析 HCC 患者预后死亡的影响

因素;绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)评估血清 KLF5 和 actinin-4 水平对 HCC 患者预后预测价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生存组和死亡组 HCC 患者临床资料比较

结果显示,两组患者肿瘤分化程度、有无血管侵犯占比、CNLC 分期比较,差异明显($P<0.05$);两组患者年龄、性别、肿瘤最大径、肿瘤数量、Child-Pugh 分级、AFP 水平比较,差异无统计学意义(表 1)。

2.3 生存组和死亡组血清 KLF5 和 actinin-4 水平比较

结果显示,与生存组相比,死亡组患者血清 KLF5 和 actinin-4 水平均明显升高($P<0.05$)(表 2)。

表 1 生存组和死亡组 HCC 患者临床资料比较

Table 1 Comparison of clinical data of HCC patients in survival and mortality groups [$n(\%) / (\bar{x}\pm s)$]

clinical information	survival group ($n=38$)	death group ($n=92$)	t/χ^2	P
age/year				
≥60	22(57.89)	43(46.74)	1.339	0.247
<60	16(42.11)	49(53.26)		
gender				
male	20(52.63)	47(51.09)	0.026	0.873
female	18(47.37)	45(48.91)		
maximum diameter of tumour				
≤5 cm	24(63.16)	42(45.65)	3.297	0.069
>5 cm	14(36.84)	50(54.35)		
tumour number				
1	13(34.21)	44(47.83)	2.025	0.155
>1	25(65.79)	48(52.17)		
degree of differentiation				
medium or high divergence	24(63.16)	39(42.39)	4.643	0.031
low divergence	14(36.84)	53(57.61)		
child-Pugh grading				
A	18(47.37)	48(52.17)	0.248	0.618
B	20(52.63)	44(47.83)		
CNLC staging				
Ⅱ a~Ⅱ b	11(28.95)	52(56.52)	8.187	0.004
Ⅲ a	27(71.05)	40(43.38)		
vascular invasion				
yes	25(65.79)	33(35.87)	9.743	0.002
no	13(34.21)	59(64.13)		
AFP/($\mu\text{g/L}$)	394.42 \pm 45.19	405.67 \pm 51.21	1.178	0.241

表 2 生存组和死亡组血清 KLF5 和 actinin-4 水平比较
Table 2 Comparison of serum KLF5 and actinin-4 levels in the survival and death groups ($\bar{x}\pm s$)

group	n	KLF5/($\mu\text{g/L}$)	actinin-4/(pg/mL)
survival	38	533.49 \pm 88.64	43.40 \pm 7.84
death	92	659.66 \pm 108.78*	65.92 \pm 19.27*
t	-	6.330	6.957
P	-	<0.001	<0.001

* $P<0.001$ compared with survival group.

2.4 HCC 患者血清 KLF5 与 actinin-4 水平的相关性分析

结果显示,HCC 患者血清 KLF5 与 actinin-4 水平呈正相关($r=0.406, P<0.001$)(图 1)。

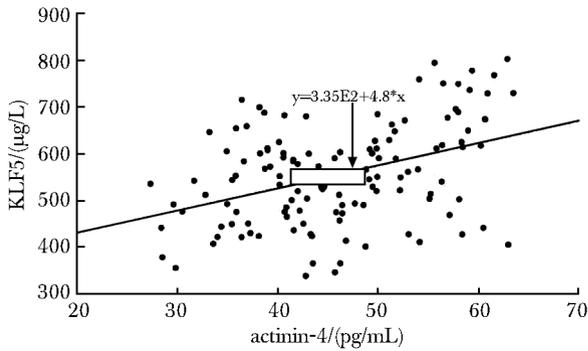


图 1 血清 KLF5 与 actinin-4 水平的相关性分析
Fig 1 Correlation analysis between serum KLF5 and actinin-4 levels

2.5 单因素及多因素 Cox 回归分析 HCC 患者预后死亡的影响因素

以 HCC 患者术后 3 年内是否死亡为因变量(是=1,否=0),以性别(男=1,女=0)、Child-Pugh 分级(B 级=1,A 级=0)、分化程度(低分化=1,中高分化=0)、CNLC 分期(Ⅲ a 期=1,Ⅱ a~Ⅱ b 期=0)、年龄、肿瘤最大径、肿瘤数量、AFP、KLF5 和 actinin-4 水平(实测值)为自变量进行 Cox 回归分析。结果显示,低分化、CNLC 分期为Ⅲ a 期、血管侵犯、KLF5 和 actinin-4 水平升高是 HCC 患者预后死亡的危险因素($P<0.05$)(表 3)。

2.6 血清 KLF5 和 actinin-4 水平对 HCC 患者预后死亡预测价值分析

结果显示,血清 KLF5 和 actinin-4 单独及联合预测 HCC 患者预后死亡的 AUC 分别为 0.835, 0.866, 0.936,联合预测效果优于单独预测(Z 二者联合-KLF5=2.792, $P=0.005$, Z 二者联合-actinin-4=2.014, $P=0.044$)(表 4,图 2)。

3 讨论

KLF5 是一种锌指转录因子,其能介导相关信号途径参与调节增殖、凋亡、分化和迁移等过程^[8]。研究表明,在乳腺癌中 KLF5 表达上调,而敲低 KLF5 表达可阻止肿瘤转移^[9]。在前列腺癌患者中,KLF5 表达水平升高,且与前列腺癌骨转移有关^[10]。

表 3 影响 HCC 患者预后死亡的单因素、多因素 Cox 回归分析

Table 3 Unifactorial and multifactorial Cox regression analyses affecting prognostic mortality in patients with HCC

independent variable	One-way Cox regression analysis				Multi-factor Cox regression analysis			
	SE	HR	95% CI	P	SE	HR	95% CI	P
age	0.176	0.924	0.654-1.305	0.653				
gender	0.244	1.149	0.712-1.854	0.569				
maximum diameter of tumour	0.293	0.658	0.371-1.169	0.153				
tumour number	0.417	0.535	0.236-1.211	0.134				
child-Pugh grading	0.359	1.726	0.854-3.488	0.128				
AFP	0.762	1.841	0.413-8.197	0.423				
degree of differentiation	0.205	1.564	1.046-2.337	0.029	0.285	2.037	1.165-3.561	0.013
CNLC staging	0.218	1.587	1.035-2.433	0.034	0.179	1.593	1.122-2.262	0.009
vascular invasion	0.221	1.712	1.110-2.640	0.015	0.196	1.752	1.193-2.573	0.004
KLF5	0.215	1.647	1.081-2.510	0.020	0.207	1.654	1.102-2.482	0.015
actinin-4	0.195	1.669	1.139-2.446	0.009	0.182	1.722	1.205-2.460	0.003

表4 血清 KLF5 和 actinin-4 水平对 HCC 患者预后死亡预测价值

Table 4 Predictive value of serum KLF5 and actinin-4 levels for prognostic mortality in patients with HCC

variant	AUC	cut-off value	95% CI	sensitivity/%	specificity/%	Youden index
KLF5	0.835	616.98 $\mu\text{g/L}$	0.759-0.894	73.91	84.21	0.581
actinin-4	0.866	50.97 pg/mL	0.795-0.920	77.17	89.47	0.667
combination	0.936	-	0.880-0.972	88.04	86.84	0.749

predicting effects; AUC = [0.5, 0.7], low; AUC = [0.7, 0.85], generally; AUC = [0.85, 0.95], higher.

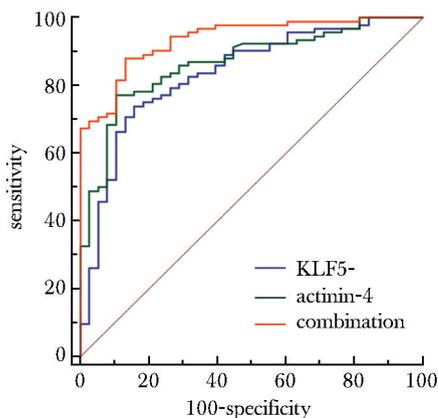


图2 血清 KLF5 和 actinin-4 水平预测 HCC 患者预后死亡的 ROC 曲线

Fig 2 ROC curves of serum KLF5 and actinin-4 levels predicting prognostic mortality in HCC patients

近期研究报道, KLF5 在 HCC 中表达显著增加, 抑制其表达可有效阻止 HCC 细胞增殖^[11]。此外, KLF5 过表达可抑制 HCC 细胞迁移和侵袭, 在 HCC 中起着肿瘤抑制剂的作用^[12]。在本研究中, HCC 患者血清 KLF5 水平明显升高, 且死亡组患者血清 KLF5 水平明显高于生存组, 提示 KLF5 参与了 HCC 的发生发展, 但其参与机制后续仍需深入研究进行验证。

目前已有大量证据表明 actinin-4 在人类各种癌中发挥着癌基因的作用^[5]。其中有研究表明, actinin-4 在 HCC 组织中高表达, 且 actinin-4 高表达患者预后复发率高, 说明 actinin-4 与 HCC 患者预后

情况密切相关^[6]。在本研究中, HCC 患者血清 actinin-4 水平明显升高, 且死亡组血清 actinin-4 水平明显高于生存组, 说明 actinin-4 参与了 HCC 的进展。此外, HCC 患者血清 KLF5 与 actinin-4 水平之间为正相关关系, 而前人研究表明, KLF5 和 actinin-4 均可参与上皮间质转化过程, 并与肿瘤的迁移密切相关, 故推测 KLF5 和 actinin-4 可能同时参与了 HCC 上皮间质转化或迁移过程, 但具体参与机制有待后续深入研究。

本研究结果还发现, 生存组与死亡组患者肿瘤分化程度、CNLC 分期、有无血管侵犯占比存在明显差异, 且 HCC 低分化、CNLC 分期为 III a 期、血管侵犯、KLF5 和 actinin-4 水平升高均为 HCC 患者经 TACE 治疗预后死亡的危险因素; 血清 KLF5 和 actinin-4 水平联合预测 HCC 患者预后死亡的 AUC 为 0.936, 敏感度为 88.04%, 以上结果说明联合检测 HCC 患者血清 KLF5 和 actinin-4 水平对预测患者预后具有较高价值, 此外, 在实施 TACE 前, 应考虑 HCC 患者肿瘤分期及有无血管侵犯等因素, 以提高临床 TACE 实际治疗效果。

综上, 血清 KLF5 和 actinin-4 水平升高是 HCC TACE 治疗预后的危险因素, 二者联合预测 HCC 预后价值较高。但本研究仍存在不足之处, 本研究为单中心研究试验, 病例样本较少, 可能存在一定偏倚, 后续有待扩大样本量、展开多中心研究进一步验证。

参考文献:

[1] 杨丽萍, 梁勤, 杨建忠, 等. 三种血清标志物联合检测对肝细胞肝癌的诊断价值研究[J]. 甘肃医药, 2023, 42:289-292.

[2] Chang Y, Jeong SW, Young Jang J, et al. Recent updates of transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21:8165-8184.

- [3] Xue M, Wu Y, Fan W, *et al.* Prognostic value of TP53 mutation for transcatheter arterial chemoembolization failure/refractoriness in HBV-related advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res Treat*, 2020, 52:925-937.
- [4] Sun L, Zhou X, Li Y, *et al.* KLF5 regulates epithelial-mesenchymal transition of liver cancer cells in the context of p53 loss through miR-192 targeting of ZEB2[J]. *Cell Adh Migr*, 2020, 14:182-194.
- [5] 刘贵珍, 杨瑞红, 李宝连. 血清 lncRNA DLX6-AS1 Actinin-4 表达与宫颈癌术后复发及预后的关系[J]. *河北医学*, 2022, 28:1689-1696.
- [6] Wang G, Li Y, Tang B, *et al.* Alpha-actinin 4 and tumorigenesis of hepatocellular carcinoma [J]. *Transl Cancer Res*, 2019, 8:1374-1380.
- [7] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 原发性肝癌规范化诊治专家共识[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2009, 14:259-269.
- [8] 孟聪聪, 张艳凯, 于利利, 等. 甲状腺乳头癌组织中 KLF5、TAZ、UHRF1 的表达水平及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2023, 38:771-774.
- [9] Liu P, Wang Z, Ou X, *et al.* The FUS/circEZH2/KLF5/feedback loop contributes to CXCR4-induced liver metastasis of breast cancer by enhancing epithelial-mesenchymal transition[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21:198-216.
- [10] Zhang B, Li Y, Wu Q, *et al.* Acetylation of KLF5 maintains EMT and tumorigenicity to cause chemoresistant bone metastasis in prostate cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12:1714-1734.
- [11] Gao W, Lu YX, Wang F, *et al.* miRNA-217 inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells by regulating KLF5 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23:7874-7883.
- [12] Wang J, Chu Y, Xu M, *et al.* miR-21 promotes cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting KLF5[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17:2221-2227.