

# SLC7A11的低表达与肝癌患者预后的相关性分析

唐振宇<sup>1\*#</sup>, 刘艳伟<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山东大学齐鲁医院急诊科, 山东 济南

<sup>2</sup>青岛大学附属医院急诊内科, 山东 青岛

Email: <sup>#</sup>sdu08lqsbtzy@163.com, chinazclyw@163.com

收稿日期: 2021年9月18日; 录用日期: 2021年10月11日; 发布日期: 2021年10月21日

## 摘要

目的: 基于癌症基因组图谱(TCGA)分析SLC7A11基因的表达与肝癌患者预后的相关性。方法: 从TCGA数据库下载369例肝癌患者和160未患肝癌患者的SLC7A11基因表达谱和病人临床相关信息, 用R软件评估SLC7A11基因的表达与肝癌的发生以及各种临床病理学特征之间的关系; 纳入山东大学齐鲁医院肝癌患者和正常的肝组织各6例, 分析SLC7A11基因的相对表达量。结果: SLC7A11的表达与肝癌的发生有密切联系, 高表达组的无病生存期和总生存期比低表达组更差。肝癌中SLC711的生物信息学分析表明, SLC711的表达与肝癌患者的肿瘤分期、T期和M期等临床病理特征相关。与正常肝组织相比, 肝癌患者的肝组织中的SLC7A11的mRNA表达水平明显增高。结论: SLC711基因在肝癌中的临床相关性, 可用于评估肝癌病人的预后。

## 关键词

肝癌, SLC7A11, 计算生物学, 无病生存期和总生存期, RT-PCR

# Correlation Analysis of SLC7A11 Low Expression and Prognosis of Patients with Liver Cancer

Zhenyu Tang<sup>1\*#</sup>, Yanwei Liu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Emergency Medicine, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan Shandong

<sup>2</sup>Department of Emergency Internal Medicine, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

\*第一作者。

#通讯作者。

## Abstract

**Objective:** To analyze the correlation between the expression of SLC7A11 gene and the prognosis of liver cancer patients based on The Cancer Genome Atlas (TCGA). **Methods:** The SLC7A11 gene expression profiles of 369 patients with liver cancer and 160 patients without liver cancer and patient's clinically relevant information were downloaded from the TCGA database, and the relationship between the expression of the SLC7A11 gene and the occurrence of liver cancer and various clinicopathological features was assessed using R software; 6 cases each of liver cancer patients and normal liver tissues from the XX Centre were included to analyse the relative SLC7A11 gene expression. **Results:** Expression of SLC7A11 was strongly associated with hepatocarcinogenesis, and disease-free survival and overall survival were worse in the high expression group than in the low expression group. Bioinformatics analysis of SLC711 in hepatocellular carcinoma showed that the expression of SLC711 correlated with clinicopathological features such as tumour stage, T stage and M stage in patients with hepatocellular carcinoma. The mRNA expression level of SLC7A11 was significantly higher in liver tissues of hepatocellular carcinoma patients compared with normal liver tissues. **Conclusion:** The clinical relevance of SLC711 gene in hepatocellular carcinoma can be used to assess the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma.

## Keywords

Hepatocellular Carcinoma, SLC7A11, Computational Biology, Disease-Free and Overall Survival, RT-PCR

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肝癌, 通常称为肝细胞癌(HCC), 是目前世界上第六大常见癌症, 死亡率高, 发病率也在不断上升, 其病因与环境、饮食或生活方式等因素有关[1]。例如, 有证据显示肝硬化、HBV/HCV 感染和非酒精性脂肪肝可能与肝癌易感有关[2]。然而, 肝癌的发生发展是一个复杂的过程, 其发生发展的机制尚不清楚。近年来, 微量元素在肝癌发生中的作用日益受到人们的关注。证据表明砷暴露可能增加肝癌风险[3]。相比之下, 锌和锰的摄入可降低肝癌的风险[4] [5]。近年来, 镉(Cd)备受关注, 因为它被国际癌症研究机构列为人类致癌物[6]。人们通常通过食物、饮用水和被污染的空气接触到 Cd [7]。镉暴露会增加多种癌症的风险, 尤其是肝癌, 其机制复杂[8]。

为了明确 Cd 相关肝癌的分子机制, 我们通过对高通量数据的分析, 筛选了几个可能在 Cd 诱导肝细胞恶性转化中发挥关键作用的关键基因。SLC7A11 是一个编码半胱氨酸 - 谷氨酸反转运体的基因, 被选为关键基因之一。生物信息学方法表明, 与正常肝组织相比, 它在肝癌中过度表达。此外, 基于癌症基因组图谱(TCGA)队列的临床数据分析也提示 SLC7A11 是肝癌的预后因素。这可能具有很大的治疗价值, 特

别是考虑到 SLC7A11 在肝癌中过表达。然而,从数据库中检索到的 SLC7A11 在肝癌中的表达证据很少。因此,本研究旨在通过生物信息学方法深入了解 SLC7A11 在肝癌中的作用和功能,进一步评估了 SLC7A11 在肝癌中的临床意义和预后价值。

## 2. 材料与方 法

### 2.1. 相关试剂

总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒和 RT-PCR 试剂盒均购自中国索莱宝公司。

### 2.2. 试验方法

#### 2.2.1. 生物信息学采集

从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载肝癌的 miRNA 和 mRNA 表达谱,其中包括所有病人的基因表达谱和临床数据,总共获得 396 例肝癌组织和 160 例正常肝组织。临床信息包括病人的年龄,性别、危险因素、肿瘤大小、TNM 分期、T 分期、N 分期、M 分期、生存时间和生存状态。

#### 2.2.2. 肝癌组织和正常肝组织的 RNA 分离及 RT-PCR 分析

纳入标准:满足三个 EASL 标准其中之一即可证实为肝细胞癌:1) 组织病理学;2) 超声, MRI, CT, 动脉造影其中两项确定病变 > 2 cm 且伴有动脉期强化;3) 一项影响技术确定病变 > 2 cm 伴有动脉强化且 AFP > 400 ng/mL。排除标准:1) 患者经过化疗或者局部、全身放疗治疗;2) 患者身体状况差,无法耐受相关检查或手术,因本身基础身体条件差而影响预后;3) 患者肝癌并非原发病灶,而是由于身体其他组织器官癌症转移所致;4) 患者入院检查发现存在多种疾病,特别是机体中存在除却肝癌的第二种癌症。样本收集前已征得患者知情同意,且患者及家属均已在病人样本收集知情同意书上签字。根据纳入标准和排除标准收集山东大学齐鲁医院肝癌患者和正常的肝组织各 6 例,用总 RNA 提取试剂盒试剂提取总 RNA,用反转录试剂盒合成 cDNA。采用 RT-PCR 试剂盒,按照制造商程序进行 RT-PCR。用 GAPDH 对 SLC7A11 mRNA 进行规格化。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 SLC7A11 的相对表达量。

#### 2.2.3. 统计学方法

常规临床病理参数(诊断时的年龄、性别、美国癌症联合委员会(AJCC)第 8 版 TNM 分期和生存结局采用卡方检验进行评估。使用 R 软件的 MaxStat 软件包(maximum selected Rank Statistics)确定用于将患者分为低危和高危组的 SLC7A11 表达的最佳截断点。Maxstat 计算最大选择的 log-rank 统计量,以确定提供最佳分离(标准化统计量取其最大值)的切点。采用 Kaplan-Meier 分析估计不同组的生存曲线,采用 log-rank 检验(Mantel-Cox)比较曲线。使用 R 统计软件(3.4.1 版)进行统计学分析。 $P < 0.05$  差异具有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. SLC7A11 在 TCGA 数据库中表达

图 1 可以看出,纳入 369 例肝癌组织和 160 例正常肝组织,发现二者的 SLC7A11 表达量的差异具有统计学意义, $P = 0.036$  ( $P < 0.05$ )。

### 3.2. 无病生存期(DFS)和总生存期(OS)分析

根据 Maxstat 法确定的截断值将患者分为 SLC7A11 高表达组( $n = 182$ )和低表达组( $n = 182$ )。与低表达组相比,高表达组的 DFS ( $P = 0.0045$ )和 OS ( $P = 0.0012$ )更差(图 2)。

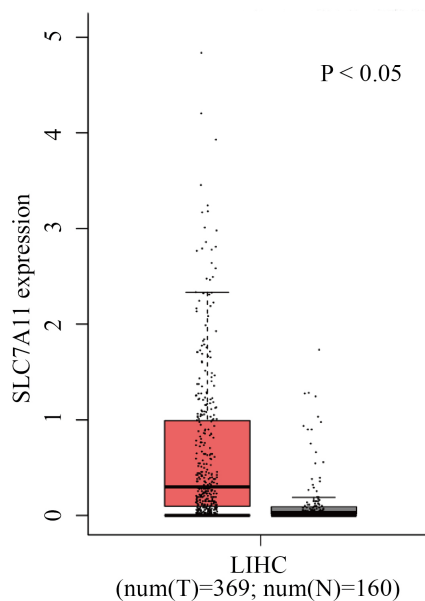


Figure 1. SLC7A11 is expressed in the TCGA database

图 1. SLC7A11 在 TCGA 数据库中表达

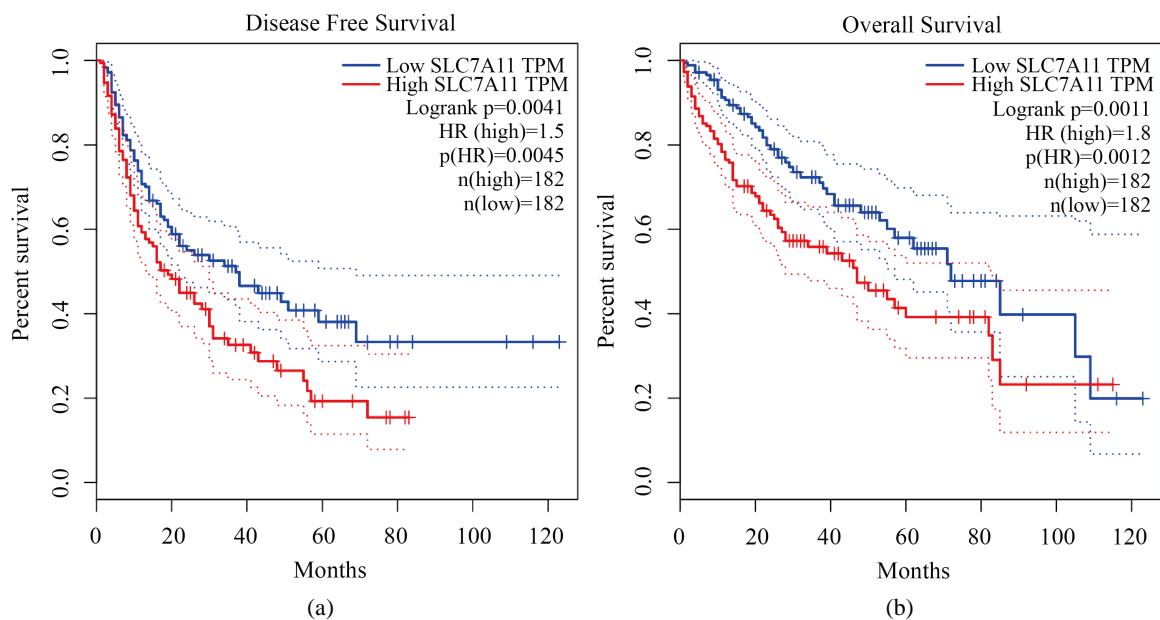


Figure 2. Survival and disease free survival curves (a); overall survival (b) for patients with high SLC7A11 expression (n = 182) vs. low SLC7A11 expression (n = 182). P-values for significance of difference between high and low expression were calculated using the log-rank test

图 2. 高表达 SLC7A11 肝癌组织(n = 182)与低表达 SLC7A11 肝癌组织(n = 182)的生存率和无病生存期(a); 总生存期(b)曲线。使用 log-rank 检验计算高表达与低表达差异显著性的 P 值

### 3.3. SLC7A11 的表达与肝癌患者临床病理学特征之间的关系

本研究分析了 60 例肝癌组织的 SLC7A11 的表达情况与该患者临床病理特征的关系。在表 1 中, SLC7A11 的低表达与高表达在 AJCC TNM 分期、T 分期、N 分期的差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ 。

**Table 1.** Relationship between SLC7A11 expression and clinicopathological features in patients with hepatocellular carcinoma**表 1.** SLC7A11 的表达与肝癌患者临床病理学特征之间的关系

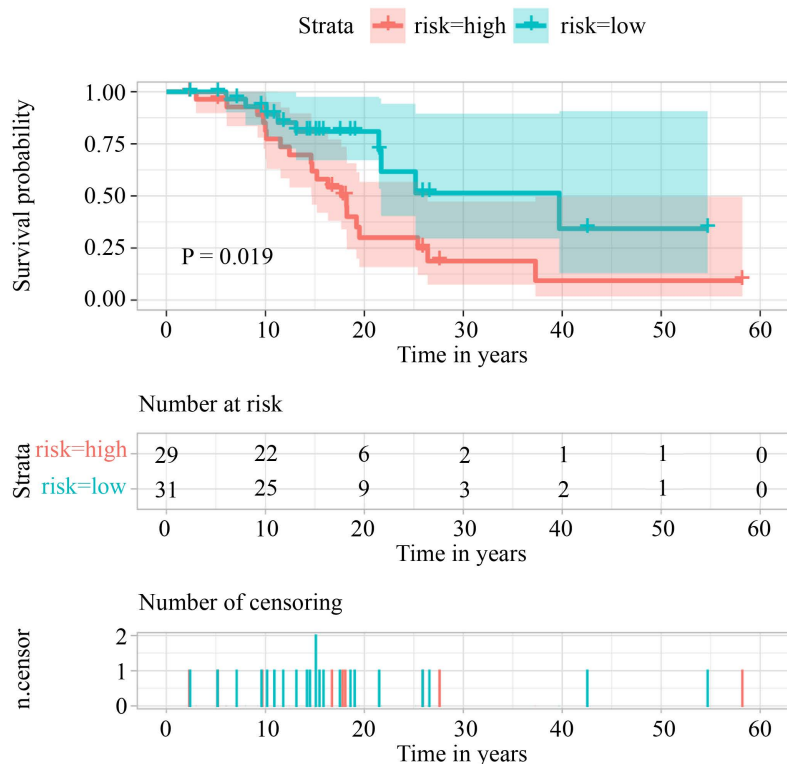
临床病理参数	例数	SLC7A11 表达		P 值
		低表达	高表达	
患者总数	60	31	29	
年龄(年)				
≤60	35	20	15	0.315
>60	25	11	14	
性别				
男	32	16	16	0.782
女	28	15	13	
危险因素				
饮酒史(是/否)	60	12/19	15/14	0.437
吸烟史(是/否)	60	11/20	16/13	0.126
肿瘤大小(cm)		3.46 ± 1.77	4.11 ± 2.14	0.204
AJCC TNM 分期 <sup>#</sup>				
I	15	14	1	<0.001*
II	9	6	3	
III	12	7	5	
IV	24	4	20	
T 分期				
T1	1	1	0	0.041*
T2	22	15	7	
T3	16	9	7	
T3	19	6	13	
T4	2	0	2	
N 分期				
N0	36	27	9	<0.001*
N1	24	4	20	
肿瘤分化程度				
I	29	15	14	0.461
II	18	11	7	
III	13	5	8	

TNM 分期<sup>#</sup>: 第八版 AJCC 分期。

### 3.4. 肝癌患者的生存曲线分析

根据每个病人的风险评分, 将整个 TCGA 集的病人分别按照风险评分中位数分为高风险组和低风险组, 进一步绘制 Kaplan-Meier 曲线和时间相关的 ROC 曲线, 比较高风险组和低风险组的 3 年生存率和 5

年生存率。结果表明(图 3), 在整个 TCGA 集中, 低风险组的生存率高于高风险组。

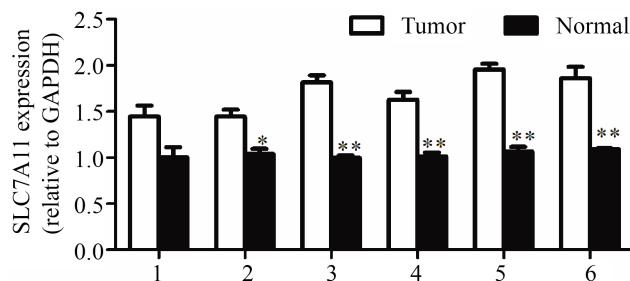


**Figure 3.** ROC survival curves for high-risk and low-risk patients across the TCGA set

**图 3.** 整个 TCGA 集中高风险和低风险病人的 ROC 生存曲线

### 3.5. RT-PCR 分析

RT-PCR 检测结果(图 4)显示, 正常肝组织中 SLC7A11 的表达量在 1.0 左右, 而肝癌组织中的表达量均在 1.5 以上。与正常肝组织相比, 肝癌患者的肝组织中的 SLC7A11 的 mRNA 表达水平明显增高。



**Figure 4.** Relative expression of SLC7A11 in human liver cancer tissues and normal liver tissues; Compared with normal group and tumor group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

**图 4.** SLC7A11 在人肝癌组织和正常肝组织中的相对表达量; Normal 组和 Tumor 组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

## 4. 讨论

癌症基因组分析发现, SLC7A11 是人类癌症中最高的 BAP1 靶基因, SLC7A11 也在氧化应激反应中,

氧化应激反应是 GO 分析中排名最高的生物学过程[9] [10]。在本研究中, 我们利用 TCGA 数据库探讨 SLC7A11 基因在肝癌中的临床意义。TCGA 数据中使 RNA 基因表达分析优于免疫组化方法, 在 TCGA 数据中可能是预测肿瘤预后的最佳方法[11]。本研究首次利用 TCGA 数据库报道了肝癌中 SLC7A11 基因的表达情况。为了扩大这些发现的临床有效性, 我们分析了 TCGA 中所有肿瘤谱系中 SLC7A11 的表达水平, 发现大多数肿瘤谱系中 SLC7A11 的表达与肝癌的发生有密切联系, 高表达组的 DFS 和 OS 比低表达组更差。此外, 对肝癌中 SLC711 的生物信息学分析表明, SLC711 的表达与肝癌患者的肿瘤分期、T 期和 M 期等临床病理特征相关。与正常肝组织相比, 肝癌患者的肝组织中的 SLC7A11 的 mRNA 表达水平明显增高。总之, 我们系统地展示了 SLC711 在肝癌中的临床相关性, 可用于评估肝癌病人的预后。

## 参考文献

- [1] Schlageter, M., Terracciano, L.M., D'Angelo, S. and Sorrentino, P. (2014) Histopathology of Hepatocellular Carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 15955-15964. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i43.15955>
- [2] Cabibbo, G., Maida, M., Genco, C., Antonucci, M. and Cammà, C. (2012) Causes of and Prevention Strategies for Hepatocellular Carcinoma. *Seminars in Oncology*, **39**, 374-383. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2012.05.006>
- [3] Choiniere, J. and Wang, L. (2016) Exposure to Inorganic Arsenic Can Lead to Gut Microbe Perturbations and Hepatocellular Carcinoma. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **6**, 426-429. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.07.011>
- [4] Ma, X., et al. (2017) Dietary Trace Element Intake and Liver Cancer Risk: Results from Two Population-Based Cohorts in China. *International Journal of Cancer*, **140**, 1050-1059. <https://doi.org/10.1002/ijc.30522>
- [5] Stepien, M., et al. (2017) Circulating Copper and Zinc Levels and Risk of Hepatobiliary Cancers in Europeans. *British Journal of Cancer*, **116**, 688-696. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.1>
- [6] García-Esquinas, E., et al. (2014) Cadmium Exposure and Cancer Mortality in a Prospective Cohort: The Strong Heart Study. *Environmental Health Perspectives*, **122**, 363-370. <https://doi.org/10.1289/ehp.1306587>
- [7] Rinaldi, M., et al. (2017) Cadmium, Organ Toxicity and Therapeutic Approaches: A Review on Brain, Kidney and Testis Damage. *Current Medicinal Chemistry*, **24**, 3879-3893. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170801101448>
- [8] Ledda, C., et al. (2017) Non-Infective Occupational Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma: A Review. *Molecular Medicine Reports*, **15**, 511-533. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6046>
- [9] Zhang, Y., Zhuang, L. and Gan, B. (2019) BAP1 Suppresses Tumor Development by Inducing Ferroptosis upon SLC7A11 Repression. *Molecular & Cellular Oncology*, **6**, 1536845. <https://doi.org/10.1080/23723556.2018.1536845>
- [10] Galván, I., Inácio, Â., Romero-Haro, A.A. and Alonso-Alvarez, C. (2017) Adaptive Downregulation of Pheomelanin-Related Slc7a11 Gene Expression by Environmentally Induced Oxidative Stress. *Molecular Ecology*, **26**, 849-858. <https://doi.org/10.1111/mec.13952>
- [11] Zhao, Q., Shi, X., Xie, Y., Huang, J., Shia, B. and Ma, S. (2015) Combining Multidimensional Genomic Measurements for Predicting Cancer Prognosis: Observations from TCGA. *Briefings in Bioinformatics*, **16**, 291-303. <https://doi.org/10.1093/bib/bbu003>