

VCAN在肝细胞癌中的表达及其与预后的关系

马志浩¹, 黄春华², 王海宇¹, 王晓娟¹, 解祥军¹

¹青岛大学附属青岛市市立医院消化内科, 山东 青岛

²青岛大学附属青岛市市立医院急诊科, 山东 青岛

收稿日期: 2022年3月18日; 录用日期: 2022年4月12日; 发布日期: 2022年4月21日

摘要

目的: 评估硫酸软骨素蛋白聚糖(Versican, VCAN)在肝细胞癌患者中的表达, 及其与肝细胞癌患者临床病理特征和预后的关系。方法: 2022年2月通过TCGA数据库下载374例肝细胞癌患者肿瘤组织和50例癌旁组织的VCANmRNA表达数据以及患者临床病理信息。分析肝细胞癌组织中VCANmRNA表达与癌旁组织有无差异, 进一步分析VCANmRNA与患者预后及临床病理特征的关系。结果: 374例胃癌组织中VCANmRNA的表达量为0.74 (2.20, 2.34), 50例癌旁组织中VCANmRNA的表达量为0.39 (0.23, 0.58), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。VCANmRNA高表达组中位生存时间为3.76年, 低表达组中位生存时间为5.07年, 高表达组5年生存率为41.1%, 低表达组5年生存率为56.1%。差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素Cox回归结果显示, VCANmRNA表达与患者性别($P < 0.01$)、TNM分期($P = 0.048$)及T分期($P = 0.037$)有显著相关性($P < 0.05$)。多因素Cox回归分析显示, 患者的TNM分期($P < 0.001$)、远处转移($P = 0.003$)、VCANmRNA表达量($P = 0.031$)是肝细胞癌患者预后的独立危险因素, VCANmRNA高表达较低表达死亡风险增加1.12倍。结论: VCAN可能是促进肝细胞癌细胞增殖的一个关键基因, 可能是肝细胞癌潜在的预后生物标志物。

关键词

肝细胞癌, 硫酸软骨素蛋白聚糖, 预后, TCGA

Expression of VCAN in Hepatocellular Carcinoma and Its Relationship with Prognosis

Zhihao Ma¹, Chunhua Huang², Haiyu Wang¹, Xiaojuan Wang¹, Xiangjun Xie¹

¹Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Emergency, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Mar. 18th, 2022; accepted: Apr. 12th, 2022; published: Apr. 21st, 2022

文章引用: 马志浩, 黄春华, 王海宇, 王晓娟, 解祥军. VCAN 在肝细胞癌中的表达及其与预后的关系[J]. 临床医学进展, 2022, 12(4): 2989-2995. DOI: 10.12677/acm.2022.124431

Abstract

Objective: To evaluate the expression of Versican (VCAN) in patients with hepatocellular carcinoma and its relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods:** VCANmRNA expression data and clinicopathological information of 374 hepatocellular carcinoma patients from tumor tissues and 50 paracancer tissues were downloaded from TCGA database in February 2022. The expression of VCANmRNA in hepatocellular carcinoma tissues and adjacent tissues was analyzed, and the relationship between VCANmRNA and prognosis and clinicopathological features of patients was further analyzed. **Results:** The expression level of VCANmRNA in 374 gastric cancer tissues was 0.74 (2.20, 2.34), and that in 50 adjacent tissues was 0.39 (0.23, 0.58), the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The median survival time was 3.76 years in the high expression group and 5.07 years in the low expression group. The 5-year survival rate was 41.1% in the high expression group and 56.1% in the low expression group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). Univariate Cox regression showed that VCANmRNA expression was significantly correlated with gender ($P < 0.01$), TNM stage ($P = 0.048$) and T stage ($P = 0.037$) ($P < 0.05$). Multivariate Cox regression analysis showed that TNM stage ($P < 0.001$), distant metastasis ($P = 0.003$) and VCANmRNA expression ($P = 0.031$) were independent risk factors for prognosis of patients with HCC, and the risk of death increased by 1.12 times compared with low expression of VCANmRNA. **Conclusion:** VCAN may be a key gene promoting the proliferation of hepatocellular carcinoma and a potential prognostic biomarker of hepatocellular carcinoma.

Keywords

Hepatocellular Carcinoma, VCAN, Prognosis, TCGA

Copyright © 2022 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

原发性肝癌目前我国恶性肿瘤发病人数中位居 4 位, 在我国恶性肿瘤相关死因中位居第 2 位, 对我国人民的生命健康造成了严重危害[1]。原发性肝癌中约 90%左右为肝细胞癌, 慢性乙型肝炎和慢性丙型肝炎感染是导致肝细胞癌发生的主要原因, 其余还有宿主、其他疾病和环境之间的相互作用引起[2]。肝癌是一种发病率高并且死亡率高的恶性肿瘤, 由于对其进行早期诊断较困难, 大部分患者被诊断时已为晚期, 导致预后肝癌患者生存低, 预后极差[3]。硫酸软骨素蛋白聚糖(Versican, VCAN)是一种大分子聚集硫酸软骨素蛋白多糖, 属于 lexicon 家族, 是一种重要的细胞外基质成分, 与肿瘤的发生密切相关[4], 在细胞粘附、增殖、迁移和血管生成中发挥着多种作用[5]。本研究从 TCGA 数据库收集肝细胞癌患者 VCANmRNA 表达资料及临床病理数据, 比较其肿瘤组织与癌旁组织中的表达情况, 并进一步研究 VCANmRNA 表达及临床病理资料与肝细胞癌患者预后的关系。

2. 资料与方法

2.1. 数据收集

2022 年 2 月通过 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载 374 例肝细胞癌患者肿瘤组织和 50 例癌旁组织的 mRNA 表达数据以及患者临床病理数据(包括生存时间、死亡状态、年龄、性别、肿瘤分

级及 TNM 分期等)。

2.2. 分析 VCAN 基因在肝细胞癌及癌旁组织中的表达

应用 R (v3.6.3)软件“limma”包,非参秩检验(Wilcox Test)分析肝细胞癌患者肿瘤组织和癌旁组织中 VCANmRNA 的差异表达。进一步对肝细胞癌患者肿瘤组织和癌旁组织进行配对差异表达分析。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2.3. 分析 VCAN 基因与肝细胞癌患者预后关系

计算肝细胞癌患者肿瘤组织 VCANmRNA 表达水平均值,将高于均值的肝细胞癌患者定义为高表达组,将低于均值的肝细胞癌患者定义为低表达组。应用 R(v3.6.3)软件“survival”包和“survminer”包通过 Kaplan-Meier 法进行生存分析,并绘制生存曲线。

2.4. 与生存相关的独立预后分析

应用 R (v3.6.3)软件“survival”包进行单因素和多因素 Cox 分析,评估患者年龄、性别、肿瘤分级、TNM 分期及 VCAN 基因表达量与患者预后的关系。使用“survminer”包绘制森林图。

3. 统计学方法

R (v3.6.3)软件进行统计学分析,服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较应用两独立样本 t 检验,多组间样本均数比较应用单因素方差分析。不服从正态分布的计数资料以 $M (P25, P75)$ 表示,两组间数据比较应用 wilcoxon 检验,多组间数据比较应用 H 检,计数资料间比较应用 χ^2 检验。应用 Kaplan-Meier 法进行生存分析。单因素和多因素预后分析采用 Cox 回归模型。GSEA (v.4.1.0)软件进行 KEGG 信号通路富集分析。

4. 结果

4.1. VCANmRNA 在肝细胞癌组织和癌旁组织中的表达差异

374 例肝细胞癌组织中 VCANmRNA 的表达量为 0.74 (2.20, 2.34), 50 例癌旁组织中 VCANmRNA 的表达量为 0.39 (0.23, 0.58), VCAN 在肝细胞癌组织中高表达,在癌旁组织中低表达(见图 1),差异有统计学意义($P < 0.05$)。共筛选出 50 例肿瘤组织和癌旁组织均齐全的肝细胞癌患者进行配对差异表达分析(见图 2),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

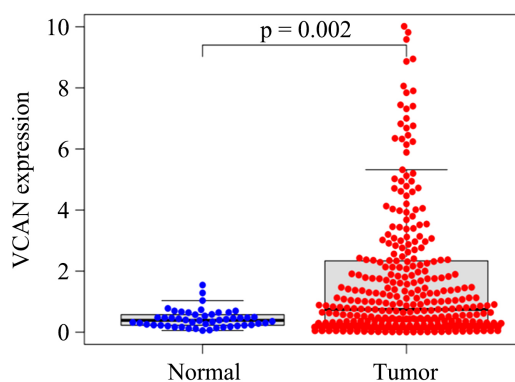


Figure 1. VCAN was differentially expressed in HCC tumor tissues and adjacent tissues

图 1. VCAN 在肝细胞癌肿瘤组织及癌旁组织差异表达

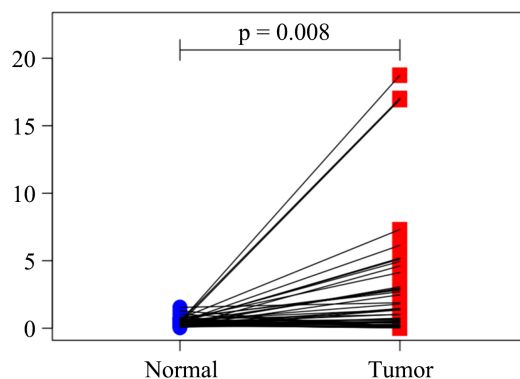


Figure 2. VCAN was paired and differentially expressed in tumor and paracancer tissues of hepatocellular carcinoma
图 2. VCAN 在肝细胞癌肿瘤组织及癌旁组织配对差异表达

4.2. VCAN 基因与肝细胞癌患者预后关系

从 374 例肝细胞癌患者中筛选出 373 例生存信息完整的肝细胞癌患者生存数据，以肝细胞癌患者肿瘤组织中 VCANmRNA 表达量的中位数 8.08 为临界值，将肝细胞癌患者分为高表达组($n = 187$)和低表达组($n = 186$)。Kaplan-Meier 法生存分析显示(见图 3)，高表达组中位生存时间为 3.76 年，低表达组中位生存时间为 5.07 年。高表达组 5 年生存率为 41.1%，低表达组 5 年生存率为 56.1%。差异有统计学意义($P = 0.049$)。

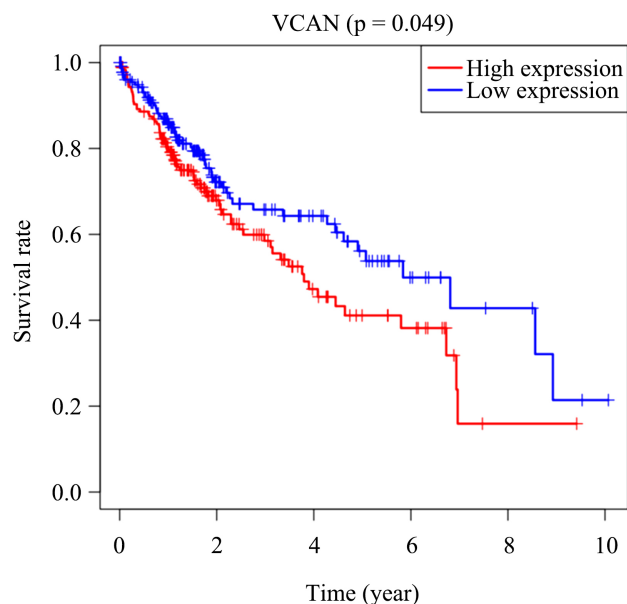


Figure 3. Survival curves of patients with hepatocellular carcinoma with high VCAN expression and low VCAN expression
图 3. 肝细胞癌患者 VCAN 高表达组与低表达组生存曲线

4.3. VCANmRNA 表达量与临床病理特征的关系

从 374 例肝细胞癌患者中筛选出临床病理资料完整的患者共 235 例进行统计学分析(见表 1)，VCANmRNA 表达与患者年龄、组织学分级、淋巴结转移及远处转移无明显相关性($P > 0.05$)，与患者性别、TNM 分期及 T 分期有显著相关性($P < 0.05$)。

Table 1. Relationship between VCAN and clinicopathological features of hepatocellular carcinoma
表 1. VCAN 与肝细胞癌患者临床病理特征的关系

临床病理特征	VCANmRNA 表达量	<i>z</i> 值/ <i>H</i> 值	<i>P</i> 值
性别		-2.774	0.006
男	0.54 (0.16, 1.98)		
女	1.26 (0.19, 3.43)		
年龄		-1.881	0.06
<60	0.89 (0.19, 3.05)		
≥60	0.53 (0.16, 1.94)		
组织学分级		4.72	0.095
高分化(G1)	0.53 (0.11, 1.50)		
中分化(G2)	0.70 (0.16, 2.34)		
低分化(G3)	1.11 (0.24, 2.98)		
TNM 分期		7.968	0.048
I 期	0.18 (0.66, 1.79)		
II 期	0.73 (0.10, 2.30)		
III 期	1.04 (0.24, 3.48)		
IV 期	2.47 (0.95, 30.80)		
T 分期		8.455	0.037
T1	0.66 (0.19, 1.80)		
T2	0.94 (0.12, 2.31)		
T3	1.03 (0.23, 3.24)		
T4	1.24 (0.24, 5.73)		
淋巴结转移		-1.076	0.282
N0	0.76 (0.17, 2.34)		
N1	3.45 (0.30, 31.52)		
远处转移		-0.187	0.235
M0	0.74 (0.17, 2.36)		
M1	1.59 (0.95, 3.10)		

4.4. 与生存相关的独立预后分析

在 374 例肝细胞癌患者中, 删除临床资料有缺失的肝细胞癌患者 139 例, 各项临床病理资料均完整的肝细胞癌患者共 235 例。单因素 Cox 分析显示 TNM 分期($P < 0.001$)、远处转移($P < 0.001$)、T 分期($P = 0.023$)、VCANmRNA 表达量($P = 0.004$)与肝细胞癌患者的生存显著相关, 年龄、性别、组织学分级、淋

巴结转移与肝细胞癌患者的生存无显著相关性($P > 0.05$)。多因素 Cox 回归分析显示, 患者的 TNM 分期($P < 0.001$)、远处转移($P = 0.003$)、VCANmRNA 表达量($P = 0.031$)是肝细胞癌患者预后的独立危险因素, 肝细胞癌患者 TNM 分期每增加一个分期, 死亡风险增加 1.37 (95% $CI = 1.44\sim 2.37$)倍, 发生远处转移较不发生远处转移死亡风险增加 1.07 (95% $CI = 0.77\sim 1.46$)倍, VCANmRNA 高表达较低表达死亡风险增加 1.12 (95% $CI = 0.91\sim 1.36$)倍(见表 2)。

Table 2. Cox regression analysis of prognostic risk factors in hepatocellular carcinoma patients

表 2. 肝细胞癌患者预后危险因素 Cox 回归分析

	单因素 Cox 分析			多因素 Cox 分析		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
年龄	1.18	0.75~1.86	0.481			
性别	1.28	0.80~2.05	0.301			
组织学分级	1.02	0.75~1.39	0.914			
TNM 分期	1.85	1.44~2.37	<0.001	1.37	0.87~2.09	<0.001
远处转移	1.80	1.43~2.27	<0.001	1.07	0.77~1.46	0.003
T 分期	3.84	1.21~12.28	0.023	1.08	0.83~1.27	0.61
淋巴结转移	2.02	0.49~8.28	0.328			
VCANmRNA 表达量	1.35	0.86~2.14	0.004	1.12	0.91~1.36	0.031

5. 讨论

VCAN 是一种质量超过 1000 kDa 的大型细胞外基质蛋白聚糖。在子宫内膜癌、卵巢癌、口腔鳞状细胞癌和胃癌等几种恶性肿瘤中的表达较正常组织显著升高, 且与患者的不良预后相关[6] [7] [8] [9]。VCAN 的异常表达与肿瘤细胞增殖分化、粘附以及细胞外基质的稳态和完整性的变化有关[10]。VCAN 通过调节细胞外基质促进肿瘤生长, 肿瘤组织中 VCAN 的表达增加可能是肿瘤血管生成和转移的必要条件[11]。VCAN 与 CD44 和透明质酸可以在细胞外基质中形成一种大分子复合物, 介导肿瘤细胞的运动从而导致肿瘤细胞侵袭和转移[12]。VCAN 在肝细胞癌中表达及其与预后的关系目前研究较少。

在本研究中, 通过对 TCGA 数据库数据进行分析, VCAN 在肝细胞癌组织中高表达, 在癌旁组织中低表达。进一步对肿瘤组织和癌旁组织表达进行配对差异分析, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。VCAN 在肝细胞癌肿瘤组织中显著高于正常组织, 可进一步通过检测血清中的 VCAN, 判断血清中 VCAN 是否升高, 判断对肝细胞癌的早期诊断有无意义。

高表达组中位生存时间为 3.76 年, 低表达组中位生存时间为 5.07 年。高表达组 5 年生存率为 41.1%, 低表达组 5 年生存率为 56.1%。表明 VCAN 对肝细胞癌患者的不良预后相关, VCAN 高表达患者中位生存期更短, 5 年生存率降低, 可为早期分析患者的预后提供依据。

通过对 VCANmRNA 表达量与患者临床病理特征分析发现, VCAN 高表达与肝细胞癌的 TNM 分期($P = 0.048$)及 T 分期($P = 0.037$)呈显著相关。表明 VCAN 高表达与可能与患者原发肿瘤的增殖有关, 可以判断原发灶的大小, 可与影像学等其他辅助检查对肿瘤是否可行手术治疗提供诊断依据。

通过 Cox 回归分析发现, TNM 分期($P < 0.001$)、T 分期($P = 0.003$)、VCANmRNA 表达量($P = 0.031$)是肝细胞癌患者预后的独立危险因素。死亡风险增加 1.37 倍, 发生远处转移较不发生远处转移死亡风险

增加 1.07 倍 VCANmRNA 高表达较低表达死亡风险增加 1.12 倍。可以通过 VCANmRNA 表达量对患者的预后及早作出判断。

VCAN 可能是促进肝细胞癌细胞增殖的一个关键基因，可能是肝细胞癌潜在的预后生物标志物，为进一步研究 VCAN 在肝细胞癌中的作用奠定了基础。本研究不足之处在于未对 VCAN 在肝细胞癌中的表达进行验证，可通过进一步验证研究 VCAN 在肝细胞癌中的表达及其与预后的关系。

参考文献

- [1] Zhou, M., Wang, H., Zeng, X., *et al.* (2019) Mortality, Morbidity, and Risk Factors in China and Its Provinces, 1990-2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*, **394**, 1145-1158. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30427-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30427-1)
- [2] Grandhi, M.S., Kim, A.K., Ronnekleiv-Kelly, S.M., *et al.* (2016) Hepatocellular Carcinoma: From Diagnosis to Treatment. *Surgical Oncology*, **25**, 74-85. <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2016.03.002>
- [3] Ko, K.L., Mak, L.Y., Cheung, K.S., *et al.* (2020) Hepatocellular Carcinoma: Recent Advances and Emerging Medical Therapies. *F1000Research*, **9**, 620. <https://doi.org/10.12688/f1000research.24543.1>
- [4] Edwards, I.J. (2012) Proteoglycans in Prostate Cancer. *Nature Reviews Urology*, **9**, 196-206. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.19>
- [5] Ricciardelli, C., Sakko, A.J., Ween, M.P., *et al.* (2009) The Biological Role and Regulation of Versican Levels in Cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, **28**, Article No. 233. <https://doi.org/10.1007/s10555-009-9182-y>
- [6] Li, W., Han, F., Fu, M., *et al.* (2020) High Expression of VCAN Is an Independent Predictor of Poor Prognosis in Gastric Cancer. *Journal of International Medical Research*, **48**, 1-11. <https://doi.org/10.1177/0300060519891271>
- [7] Cheon, D.J., Tong, Y., Sim, M.S., *et al.* (2014) A Collagen-Remodeling Gene Signature Regulated by TGF- β Signaling Is Associated with Metastasis and Poor Survival in Serous Ovarian Cancer. *Clinical Cancer Research*, **20**, 711-723. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1256>
- [8] Pukkila, M., Kosunen, A., Ropponen, K., *et al.* (2007) High Stromal Versican Expression Predicts Unfavourable Outcome in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Clinical Pathology*, **60**, 267-272. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.034181>
- [9] Kodama, J., Hasengaowa, Kusumoto, T., *et al.* (2007) Prognostic Significance of Stromal Versican Expression in Human Endometrial Cancer. *Annals of Oncology*, **18**, 269-274. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl370>
- [10] Wight, T.N. (2002) Versican: A Versatile Extracellular Matrix Proteoglycan in Cell Biology. *Current Opinion in Cell Biology*, **14**, 617-623. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(02\)00375-7](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(02)00375-7)
- [11] Norian, J.M., Malik, M., Parker, C.Y., *et al.* (2009) Transforming Growth Factor β 3 Regulates the Versican Variants in the Extracellular Matrix-Rich Uterine Leiomyomas. *Reproductive Sciences*, **16**, 1153-1164. <https://doi.org/10.1177/1933719109343310>
- [12] Ween, M.P., Oehler, M.K. and Ricciardelli, C. (2011) Role of Versican, Hyaluronan and CD44 in Ovarian Cancer Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**, 1009-1029. <https://doi.org/10.3390/ijms12021009>