宫颈癌患者中HNF1A-AS1、HNF1A的表达及其临床意义

常旺燕，李爱明，窦 丽
延安市人民医院 妇产科，陕西 延安 716000

摘 要：目的 探讨宫颈癌患者中HNF1A-AS1、HNF1A的表达及其临床意义。**方法** 选取2013年—2018年延安市人民医院收集的187例宫颈癌患者的癌组织及对应的癌旁正常组织标本，通过实时荧光定量PCR检测宫颈癌患者肿瘤组织中HNF1A-AS1、HNF1A的表达情况，探讨HNF1A-AS1、HNF1A表达水平与宫颈癌患者临床特征和生存期之间的关系。**结果** HNF1A-AS1在宫颈癌组织中高表达（P＝0.022）；HNF1A-AS1高表达与宫颈癌患者肿瘤分期（P＜0.001）、是否原位癌（P＝0.013）、是否淋巴结转移（P＝0.002）、是否远端转移（P＜0.001）以及HPV型别相关（P＝0.006）；HNF1A-AS1高表达组总体生存率明显低于HNF1A-AS1低表达组（χ^2＝10.33，P＝0.002）。HNF1A在宫颈癌组织中高表达（P＝0.044），且HNF1A的相对表达量与HNF1A-AS1表达呈正相关（P＜0.001）；HNF1A高表达与宫颈癌患者肿瘤分期（P＝0.002）、是否原位癌（P＝0.007）、是否淋巴结转移（P＝0.005）、是否远端转移（P＜0.001）以及HPV型别相关（P＝0.003）；HNF1A高表达组总体生存率明显低于HNF1A低表达组（χ^2＝6.10，P＝0.013）。**结论** HNF1A-AS1、HNF1A促进宫颈癌发生和发展，并与宫颈癌患者生存期相关。

关键词： 宫颈癌；人乳头瘤病毒；HNF1A-AS1；HNF1A
中图分类号：R965 **文献标志码：**A **文章编号：**1674-6376（2020）10-2039-05
DOI：10.7501/j.issn.1674-6376.2020.10.019

The expression of HNF1A-AS1 and HNF1A in cervical cancer patients and its clinical significance

CHANG Wangyan, LI Aiming, DOU Li
Department of Obstetrics and Gynecology, Yan'an People's Hospital, Yan'an 716000, China

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of HNF1A-AS1 and HNF1A in patients with cervical cancer. **Methods** The cancer tissues and corresponding normal adjacent tissues of 187 cervical cancer patients collected in Yan 'an People's Hospital from 2013 to 2018 were selected, and the expression levels of HNF1A-AS1 and HNF1A in the tumor tissues of cervical cancer patients were detected by real-time fluorescence quantitative PCR, so as to explore the relationship between the expression of HNF1A-AS1 and HNF1A, and the clinical characteristics, survival time of cervical cancer patients. **Results** HNF1A-AS1 was highly expressed in cervical cancer tissues (P = 0.022). High HNF1A-AS1 expression was associated with tumor stage (P < 0.001), carcinoma in situ (P = 0.013), lymph node metastasis (P = 0.002), distal metastasis (P < 0.001), and HPV type (P = 0.006) in patients with cervical cancer. The overall survival rate of the HNF1A-AS1 high expression group was significantly lower than that of the HNF1A-AS1 low expression group (χ^2 = 10.33, P = 0.002). HNF1A was highly expressed in cervical cancer tissues (P = 0.044), and the relative expression of HNF1A was positively correlated with the expression of HNF1A-AS1 (P < 0.001). High expression of HNF1A was associated with tumor stage (P < 0.002), carcinoma in situ (P = 0.007), lymph node metastasis (P = 0.005), distal metastasis (P < 0.001), and HPV type (P = 0.003) in patients with cervical cancer. The overall survival rate of the HNF1A-AS1 high expression group was significantly lower than that of the low expression group (χ^2 = 6.10, P = 0.013). **Conclusion** HNF1A-AS1 and HNF1A promote the occurrence and development of cervical cancer, and are related to the survival of cervical cancer patients.

Key words: cervical cancer; HPV; HNF1A-AS1; HNF1A

收稿日期：2020-01-06
第一作者：常旺燕（1981—），女，陕西延安人，本科，副主任医师，研究方向为宫颈病变。E-mail：yancwyan@163.com

宫颈癌是最常见的妇科肿瘤之一[1-4]，女性肿瘤发病率中仅次于乳腺癌，2018年全球新发乳腺癌病例约57万例，31万例因宫颈癌致死[3]。我国每年新发病例约13万人，5.3万人因宫颈癌死亡[5]。宫颈癌严重威胁了女性健康，而及早筛查和预防则是救治宫颈癌患者的关键。人乳头瘤病毒（HPV）感染作为宫颈癌的主要诱因，高危人群HPV感染情况筛查无疑是对宫颈癌的筛查和预防十分有利的举措[6]。本研究通过研究宫颈癌患者中HNF1A-AS1及其宿主基因HNF1A的表达进一步验证其在宫颈癌筛查、诊断、治疗和预后的临床价值，为宫颈癌的诊断和治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2013年—2018年收集于延安市人民医院的187例宫颈癌组织及对应的癌旁正常组织标本，患者平均年龄（56.8±11.7）岁，追踪随访时间最短1个月，最长57个月，其中鳞癌152例，腺癌28例，腺鳞癌7例，且均有追踪随访资料。患者相互之间不存在血缘关系，所有宫颈癌患者均通过病理确诊，同时确诊显示为HPV阳性，且通过试剂盒鉴定其具体基因型别。

1.2 实时荧光定量PCR

TAKARA反转录试剂盒（PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser，TAKATA，日本，货号：RR047A，批次：AK2601）反转成cDNA备用；使用ABI 7900HT型PCR仪（Applied Biosystems，美国）进行实验，qPCR Master Mix选用ABI power SYBR Green PCR Master Mix（Applied Biosystems，美国，货号：4367459，批次：1502480）。

分别取50～100 mg冻存的宫颈癌癌组织及其相应的癌旁组织，放入有液氮的研钵中研磨，加入TRIzol试剂提取宫颈癌癌组织及其相应的癌旁组织中的总RNA，然后采用RNA反转录试剂盒和RT-PCR试剂盒将RNA反转录为cDNA，以cDNA为模板进行PCR扩增。结果采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法进行分析。GAPDH作为内参基因，如果癌组织中的表达量高于相应的癌旁组织则为高表达，反之是低表达。HNF1A-AS1上游引物为：5’-TAAAATTGCAGATCCTCCG-3’；下游引物为：5’-AACGTTCGCATTGGTTTAG C-3’；GAPDH上游引物为：5’-GGCTCGTACCGTGAGTAAT-3’；下游引物为：5’-GTGCAGGGTCCGAGGT-3’，反应体系根据其说明书配制。

1.3 统计学分析

采用配对t检验分析HNF1A-AS1及HNF1A表达水平的差异，采用χ^2检验分析HNF1A-AS1及HNF1A表达水平和宫颈癌患者临床特征之间的关系，采用χ^2检验分析不同型别HPV感染宫颈癌患者HNF1A-AS1及HNF1A表达水平和宫颈癌患者临床特征之间的关系，采用K-M法绘制生存曲线，用log-rank检验不同HNF1A-AS1及HNF1A表达水平患者生存时间的差异。使用独立t检验分析不同HNF1A-AS1表达水平细胞迁移能力差异。使用SPSS 19.0软件进行统计分析，所有检验均为双侧检验。

2 结果

2.1 HNF1A-AS1表达水平与宫颈癌患者临床特征之间的关系

本研究中，采用qPCR检测了所有187对宫颈癌及癌旁正常组织，HNF1A-AS1在125（66.8%）份癌组织中高表达，62（33.2%）份癌组织中低表达，见表1。癌组织中的表达量显著高于对应癌旁正常组织达2.08倍（0.006 0±0.019 9 *vs* 0.002 9±0.013 7，P=0.022）。

分析HNF1A-AS1表达水平与宫颈癌患者临床特征之间的关系可见，HNF1A-AS1高表达与宫颈癌患者肿瘤分期（P<0.001）、是否原位癌（P=0.013）、是否淋巴结转移（P=0.002）、是否远端转移（P<0.001）以及HPV型别相关（P=0.006），见表1。

2.2 HNF1A-AS1表达与宫颈癌患者生存期之间的关系

使用Kaplan-Meier法进行生存分析，使用Log-rank检验两组间生存率的差异，结果显示，HNF1A-AS1低表达组中位生存时间为35.0个月，高表达组中位生存时间为19.3个月，HNF1A-AS1高表达组总体生存率明显低于HNF1A-AS1低表达组，组间总生存率差异有统计学意义（χ^2=10.33，P=0.002），见图1。

2.3 HNF1A表达水平与宫颈癌患者临床特征之间的关系

本次研究中，采用qPCR检测了187对宫颈癌-癌旁正常组织，发现HNF1A在118（63.1%）份癌组织中高表达，69（36.9%）份癌组织中低表达，见表2。癌组织中的表达量显著高于对应癌旁正常组织达2.44倍（0.002 7±0.010 1 *vs* 0.001 1±0.007 0，P=0.044）。通过分析HNF1A与HNF1A-AS1在宫颈癌癌组织中的相对表达量之间的关联，发现二者呈正相关（R^2=0.924，P<0.001）。

表1 HNF1A-AS1表达水平与宫颈癌临床特征之间的关系

Table 1 The correlation between HNF1A-AS1 expression and clinical features of cervical cancer

临床特征			HNF1A-AS1低表达/n(%)	HNF1A-AS1高表达/n(%)	χ^2值	P
年龄	＜60(岁)		45(72.6)	81(64.8)	1.141	0.323
	≥60(岁)		17(27.4)	44(35.2)		
	合计		62(33.2)	125(66.8)		
肿瘤分期	I		24(38.7)	18(14.4)	15.990	＜0.001
	II		16(25.8)	31(24.8)		
	III		22(35.5)	76(60.8)		
TNM分期	T	T1	5(8.1)	6(4.8)	10.789	0.013
		T2	14(22.6)	11(8.8)		
		T3	22(35.5)	39(31.2)		
		T4	21(33.9)	69(55.2)		
	N	0	15(24.2)	13(10.4)	12.111	0.002
		1	26(41.9)	38(30.4)		
		2	21(33.9)	74(59.2)		
	M	0	26(41.9)	16(12.8)	20.201	＜0.001
		1	36(58.1)	109(87.2)		
HPV型别	高危型		29(46.8)	92(73.6)	13.346	0.001
	中危型		21(33.9)	19(15.2)		
	低危型		12(19.4)	14(11.2)		

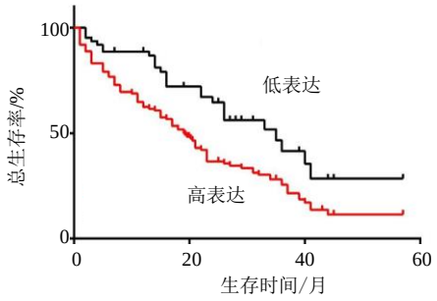

图1 HNF1A-AS1表达与宫颈癌患者生存期之间的关系

Fig. 1 Relationship of HNF1A-AS1 expression and survival in patients with cervical cancer

分析HNF1A表达水平与宫颈癌患者临床特征之间的关系可见，HNF1A高表达与宫颈癌患者肿瘤分期(P=0.002)、是否原位癌(P=0.007)、是否淋巴结转移(P=0.005)、是否远端转移(P＜0.001)以及HPV型别相关(P=0.003)，见表2。

2.4 HNF1A表达与宫颈癌患者生存期之间的关系

使用Kaplan-Meier法进行生存分析，使用Log-rank检验两组间生存率的差异。结果显示，HNF1A低表达组中位生存时间为33.0个月，高表达组中位生存时间为19.3个月，HNF1A高表达组总生存率明显低于HNF1A低表达组，组间总生存率差异有统计学意义，(χ^2=6.10，P=0.013)，见图2。

3 讨论

HPV是一种小分子无包膜的双链换装DNA病毒，目前已发现的HPV亚型已经多达120余种，而可见报道与宫颈癌相关的HPV亚型超过20种[7]。按照各HPV亚型致癌能力的强弱又将其分为高危型、中危型和低危型HPV，高危型HPV感染更容易导致宫颈癌的发生[8-10]。我国女性人群中宫颈癌发病率居高不下，其中HPV感染，特别是高危型HPV感染是一个非常大的危险因素[11-13]。所以，通过鉴定不同HPV型别对宫颈癌患者的生存和预后有较为重要的意义。

近年来研究发现，HNF1A-AS1是一个癌基因，在膀胱癌[14-16]、骨肉瘤[17, 18]、肺癌[19-21]、口腔鳞状细胞癌[22]、胃癌[23, 24]、肝癌[25, 26]、结直肠癌[27-29]、食管腺癌[30]等多种肿瘤中异常表达，发挥促癌效应。但是尚未见到其在宫颈癌中的报道，本研究通过检测187例宫颈癌患者癌组织和对应癌旁正常组织中HNF1A-AS1的表达，发现其在宫颈癌组织中的表达量较对应癌旁正常组织显著上调，且与宫颈癌患者临床分期、淋巴结转移、远端转移相关，且HNF1A-AS1高表达能够缩短宫颈癌患者生存期。结果表明，HNF1A-AS1在宫颈癌中亦发挥促癌作用。目前对于反义长链非编码RNA的研究主要通

表2 HNF1A表达水平与宫颈癌临床特征之间的关系

Table 2 The correlation between HNF1A expression and clinical features of cervical cancer

临床特征			HNF1A低表达/(*n*%)	HNF1A高表达/(*n*%)	χ^2值	*P*
年龄	＜60岁		45(65.2)	81(68.6)	0.233	0.632
	≥60岁		24(34.8)	37(31.4)		
	合计		69(36.9)	118(63.1)		
分期	I		25(36.2)	17(14.4)	12.922	0.002
	II		17(24.6)	30(25.4)		
	III		27(39.1)	71(60.2)		
TNM分期	T	T1	6(8.1)	5(4.8)	11.998	0.007
		T2	16(22.6)	9(8.8)		
		T3	21(35.5)	40(31.2)		
		T4	26(33.9)	64(55.2)		
	N	0	16(23.2)	12(10.2)	10.788	0.005
		1	28(40.6)	36(30.5)		
		2	25(36.2)	70(59.3)		
	M	0	26(37.7)	16(13.6)	14.547	＜0.001
		1	43(62.3)	102(86.4)		
HPV型别	高危型		34(49.3)	87(73.7)	11.801	0.003
	中危型		20(29.0)	20(16.9)		
	低危型		15(21.7)	11(9.3)		

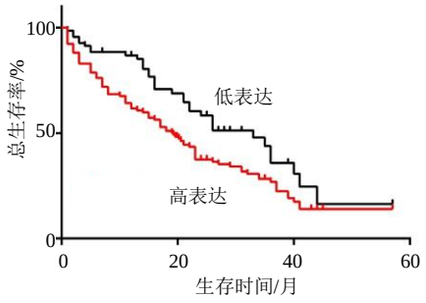

图2 HNF1A表达与宫颈癌患者生存期间的关系

Fig. 2 Relationship of HNF1A expression and survival in patients with cervical cancer

过研究其与宿主基因的相互作用，进而对疾病进程产生调节[31-33]。本研究通过检测其宿主基因HNF1A的相对表达量，发现二者呈正相关，可推测HNF1A-AS1与HNF1A之间存在相互作用的可能。且HNF1A同样与宫颈癌患者临床分期、淋巴结转移、远端转移相关，且HNF1A高表达同样能够缩短宫颈癌患者生存期。因此，可结合HPV感染情况和HNF1A-AS1、HNF1A表达情况对宫颈癌患者的治疗和预后进行判断，但是尚未能进一步研究其具体的分子机制。

本研究探讨了HPV感染宫颈癌患者HNF1A-AS1、HNF1A的表达情况和临床特征，及其与宫颈癌患者生存期关联，为其治疗提供了科学依据。

参考文献

[1] Chen W, Sun K, Zheng R, et al. Cancer incidence and mortality in china, 2014 [J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30 (1): 1-12.

[2] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA: A Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.

[3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. 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.

[4] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.

[5] 余 慧, 张涛红, 曾宪玲, 等. 1011例子宫颈癌临床病理特征及盆腔淋巴结转移危险因素分析 [J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(10): 759-762.

[6] 李大莉. HPV检测在宫颈癌筛查防治及判断预后中的价值 [J]. 中国社区医师, 2018, 34(30): 130-132.

[7] 罗锦彬, 张桂花, 陈旭华. 17236例女性受检者HPV基因分型分析 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15(23): 3611-3613.

[8] 郑海娜. 高危型HPV mRNA表达阳性率对不同程度宫颈病变的诊断价值 [J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26 (10): 976-979.

[9] Vänskä S, Bogaards J A, Auranen K, et al. Fast approximate computation of cervical cancer screening outcomes by a

deterministic multiple-type HPV progression model [J]. Math Biosci, 2019, 309: 92-106.

[10] 陈海涛, 兰建云, 翁国武, 等. 宫颈上皮内瘤变组织中HPV型别分布情况分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2778-2781.

[11] 曾红梅, 郑荣寿, 张思维, 等. 1989-2008年中国恶性肿瘤死亡趋势分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2012, 34(7): 525-531.

[12] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in china, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[13] Liu S, Yang L, Yuan Y, et al. Cancer incidence in Beijing, 2014 [J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(1): 13-20.

[14] Wang Y H, Liu Y H, Ji Y J, et al. Upregulation of long non-coding RNA HNF1A-AS1 is associated with poor prognosis in urothelial carcinoma of the bladder [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(8): 2261-2265.

[15] Feng Z H, Wang B L. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes cell viability and migration in human bladder cancer [J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4535-4540.

[16] Zhan Y H, Li Y F, Guan B, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes proliferation and suppresses apoptosis of bladder cancer cells through upregulating Bcl-2 [J]. Oncotarget, 2017, 8(44): 76656-76665.

[17] Zhao H X, Hou W G, Tao J G, et al. Upregulation of lncRNA HNF1A-AS1 promotes cell proliferation and metastasis in osteosarcoma through activation of the Wnt/β-catenin signaling pathway [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(8): 3503-3512.

[18] Cai L J, Lv J, Zhang Y Q, et al. The lncRNA HNF1A-AS1 is a negative prognostic factor and promotes tumorigenesis in osteosarcoma [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(11): 2654-2662.

[19] Zhang G Y, An X K, Zhao H Y, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes cell proliferation and invasion via regulating miR-17-5p in non-small cell lung cancer [J]. Biomedecine Pharmacother, 2018, 98: 594-599.

[20] Ma Y F, Liang T, Li C R, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 up-regulation in non-small cell lung cancer correlates to poor survival [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(23): 4858-4863.

[21] Wu Y, Liu H B, Shi X F, et al. The long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2015, 6(11): 9160-9172.

[22] Liu Z, Li H, Fan S M, et al. STAT3-induced upregulation of long noncoding RNA HNF1A-AS1 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma via activating Notch signaling pathway [J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20 (4): 444-453.

[23] Liu H T, Liu S, Liu L, et al. EGR1-mediated transcription of lncRNA-HNF1A-AS1 promotes cell-cycle progression in gastric cancer [J]. Cancer Res, 2018, 78(20): 5877-5890.

[24] Dang Y, Lan F H, Ouyang X J, et al. Expression and clinical significance of long non-coding RNA HNF1A-AS1 in human gastric cancer [J]. World J Surg Oncol, 2015, 13: 302.

[25] Ding C H, Yin C, Chen S J, et al. The HNF1α-regulated lncRNA HNF1A-AS1 reverses the malignancy of hepatocellular carcinoma by enhancing the phosphatase activity of SHP-1 [J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 63.

[26] Wang C, Mou L, Chai H X, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation by repressing NKD1 and P21 expression [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 926-932.

[27] Zhu W Y, Zhuang P P, Song W, et al. Knockdown of lncRNA HNF1A-AS1 inhibits oncogenic phenotypes in colorectal carcinoma [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 4694-4700.

[28] Zhang X, Xiong Y M, Tang F Y, et al. Long noncoding RNA HNF1A-AS1 indicates a poor prognosis of colorectal cancer and promotes carcinogenesis via activation of the Wnt/β -catenin signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 96: 877-883.

[29] Fang C Y, Qiu S L, Sun F, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 mediated repression of miR-34a/SIRT1/p53 feedback loop promotes the metastatic progression of colon cancer by functioning as a competing endogenous RNA [J]. Cancer Lett, 2017, 410: 50-62.

[30] Yang X, Song J H, Cheng Y L, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and migration in oesophageal adenocarcinoma cells [J]. Gut, 2014, 63(6): 881-890.

[31] Heilmann K, Toth R, Bossmann C, et al. Genome-wide screen for differentially methylated long noncoding RNAs identifies Esrp2 and lncRNA Esrp2-as regulated by enhancer DNA methylation with prognostic relevance for human breast cancer [J]. Oncogene, 2017, 36(46): 6446-6461.

[32] Huang B, Song J H, Cheng Y, et al. Long non-coding antisense RNA KRT7-AS is activated in gastric cancers and supports cancer cell progression by increasing KRT7 expression [J]. Oncogene, 2016, 35(37): 4927-4936.

[33] Li T, Xie J, Shen C, et al. Upregulation of long noncoding RNA ZEB1-AS1 promotes tumor metastasis and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Oncogene, 2016, 35(12): 1575-1584.