

# 抗 EZH2 自身抗体 IgG 在肝癌患者血清中的表达及意义\*

阮瑞杨<sup>1</sup>, 陈修荣<sup>2</sup>, 赵世元<sup>3</sup> (1. 广西隆安县妇幼保健院, 广西隆安 532799;

2. 广西食品药品监督管理局, 南宁 530029; 3. 广西医科大学附属民族医院, 南宁 530001)

**摘要:**目的 探讨肝癌患者血清中抗 EZH2 自身抗体 IgG 的表达与临床病理参数的关系和意义。方法 采用 ELISA 法检测 120 例肝癌患者血清中的抗 EZH2 自身抗体 IgG 抗体并与 115 例健康对照组比较。结果 肝癌组患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 含量为  $2.015 \pm 0.568 \mu\text{g/ml}$ , 健康对照组抗 EZH2 自身抗体 IgG 含量为  $1.185 \pm 0.289 \mu\text{g/ml}$ , 两组比较差异有统计学意义 ( $t=12.48, P<0.001$ ); 肝癌患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 的上调表达程度与肿瘤大小、肿瘤分化程度、TNM 分级和肝内转移相关 ( $t=8.485 \sim 57.93, P<0.001$ ); 与年龄、性别、饮酒和 HBV 是否感染等无明显差异 ( $t=1.22 \sim 5.20, P>0.05$ )。结论 血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 表达上调与肝癌的发生发展相关, 检测肝癌血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 可能有利于判断肝癌的恶性行为以及预后评估有参考价值。

**关键词:** 肝细胞癌; 抗 EZH2 自身抗体 IgG; 转移

**中图分类号:** R735.7; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2017)02-072-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.02.019

## Expression and Significance of Anti EZH2 Autoantibodies IgG in Hepatocellular Carcinoma Patient's Serum Samples

RUAN Rui-yang<sup>1</sup>, CHEN Xiu-rong<sup>2</sup>, ZHAO Shi-yuan<sup>3</sup>

(1. Longan County Maternal and Child Health Hospital, Guangxi Longan 532799, China;

2. Guangxi Food and Drug Administration, Nanning 530029, China; 3. the Affiliated National Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Nanning 530001, China)

**Abstract: Objective** To detect the anti EZH2 autoantibodies IgG expression in hepatocellular carcinoma patient's serum samples and investigate the relationship of anti EZH2 autoantibodies IgG expression with clinicopathological parameters.

**Methods** ELISA method was used to detect the anti EZH2 autoantibodies in serum of 120 cases of HCC patients and compared with 115 healthy controls. **Results** Serum anti EZH2 antibodies in patients with hepatocellular carcinoma group the content of IgG was  $2.015 \pm 0.568 \mu\text{g/ml}$  group, anti EZH2 antibodies IgG content control health was  $1.185 \pm 0.289 \mu\text{g/ml}$ . There was significant difference between two groups ( $t=12.48, P<0.001$ ). Anti EZH2 antibodies of IgG in serum of patients with hepatocellular carcinoma was up-regulated and the degree of tumor size, tumor the degree of differentiation, TNM grading and intrahepatic metastasis ( $t=8.485 \sim 57.93, P<0.001$ ). And age, sex, drinking, whether HBV infection had no significant difference ( $t=1.22 \sim 5.20, P>0.05$ ). **Conclusion** The expression of anti EZH2 autoantibodies in serum was related to the occurrence and development of hepatocellular carcinoma, and the detection of serum anti EZH2 autoantibodies in serum of liver cancer may be helpful to judge the malignant behavior and prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC), which may be used as a reference for the evaluation of the prognosis of HCC patients with IgG antibody against IgG.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; anti EZH2 autoantibodies IgG; metastasis

肝癌在我国发病率和致死率很高, 每年约有 30 万例新发肝癌, 占全球 50% 以上。肝癌发展迅速、易转移, 是目前治疗最困难、预后最差的恶性肿瘤之一。肝癌的发生发展是多因素作用、多阶段发展而来的, 寻找与肿瘤发生、发展相关的肿瘤标志物是提高肝癌治疗效果的关键。EZH2 (enhancer of zeste homolog2, EZH2) 基因是果蝇 zeste 基因增强子的人类同源基因, 与细胞增殖相关<sup>[1]</sup>。文献

报道, EZH2 基因在多种肿瘤中高表达, 被认为是一个新的候选癌基因<sup>[2,3]</sup>。EZH2 基因在肝癌中的研究尚少, 其功能尚不明确。本研究通过检测肝癌患者血清中的抗 EZH2 自身抗体 IgG 在肝癌中的表达, 并结合临床资料分析其与肝癌临床病理特征的关系及在肝癌中发展及预后的意义。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集广西医科大学附属民族医院

\* 基金项目: 广西医疗卫生科研课题项目 (Z2015066)。

作者简介: 阮瑞杨 (1968—), 男, 本科, 主管检验师, 主要从事医学检验工作及研究, Tel: 13517672796, E-mail: gxlarry@163.com。

通讯作者: 赵世元 (1965—), 男, 主任技师, 主要从事药物开发研究, Tel: 13397812726, E-mail: zhaoshiyuan\_1105@163.com。

2013年2月~2015年10月选取经病理组织学检查确诊肝癌样本120例,所有血清学样本采集前未经任何抗癌治疗,并且有全面的临床资料和信息。同时招募健康对照样本115例,各种检查均排除肝癌可能,健康组和肝癌组在性别、年龄匹配,具有可比性。肝癌组和健康对照组空腹抽血3 ml, 25℃ 30 min后3 000 r/min离心5 min,分离血清,置-20℃冰箱保存。

1.2 试剂和仪器 抗EZH2自身抗体ELISA试剂盒:Upstate,货号:SC:151026;酶标仪,上海科华生产,型号:MK3。

1.3 测定方法 先将标本于室温溶解30 min,标准浓度、空白对照均设2个平行孔并同批检测,按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学分析 应用SPSS13.0统计软件对各组测定值进行统计分析,各组抗EZH2自身抗体IgG用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间抗EZH2自身抗体IgG表达差异比较采用配对独立样本 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肝癌组和健康对照组血清抗EZH2自身抗体IgG的表达水平 采用ELISA法检测各组血清抗EZH2自身抗体IgG的表达,结果显示,肝癌组血清抗EZH2自身抗体IgG含量为 $2.015 \pm 0.568 \mu\text{g/ml}$ ,健康对照组抗EZH2自身抗体IgG含量为 $1.185 \pm 0.289 \mu\text{g/ml}$ ,肝癌组血清抗EZH2自身抗体IgG的表达明显上调,与健康对照组抗EZH2自身抗体IgG比较差异有统计学意义( $t = 12.48$ ,  $P < 0.001$ )。

2.2 抗EZH2自身抗体IgG与肝癌临床病理的相关性 结合患者临床资料分析发现:肝癌患者血清抗EZH2自身抗体IgG的表达上调与肝细胞癌恶性程度、肿瘤大小、肿瘤分化程度、TNM分级、肝内转移相关( $P < 0.001$ );与年龄、性别、饮酒、HBV是否感染等相关不明显( $P > 0.05$ ),见表1。

3 讨论 EZH2属于PcG家族成员,是组蛋白修饰H3K27me3在催化中起关键作用的一个关键酶,导致转录沉默靶基因,它通过这种甲基化抑制E-cadherin的表达,从而增加肿瘤的侵袭和转移<sup>[4]</sup>。EZH2在肝癌、乳腺癌、前列腺癌和胃癌等恶性肿瘤中呈高表达,与肿瘤的转移和不良预后有关,是肿瘤治疗的新靶点<sup>[5]</sup>。EZH2作为PcG蛋白的核心成分,在肿瘤的发生、发展中起到重要作用:①调控组蛋白甲基转移酶;②诱导HDAC的活性,使EZH2与EED形成复合物,抑制靶基因的表达,导致肿瘤发生;③促进细胞增殖:EZH2在增殖的外套淋巴细胞瘤细胞中高表达,而在静止的细胞

中则不表达或弱表达。基于EZH2在肿瘤组织和正常组织间表达的巨大差异性和其在肿瘤发展中的重要作用,EZH2作为一个预测、预后指标和抗癌治疗靶点吸引了越来越多的关注<sup>[6~8]</sup>。

表1 抗EZH2自身抗体IgG与肝癌临床病理的相关性

临床病理参数	n	抗EZH2自身抗体( $\mu\text{g/ml}$ )	t	P值
性别			1.343	0.365
男	102	$2.126 \pm 0.536$		
女	18	$2.025 \pm 0.778$		
年龄(岁)			1.221	0.259
<50	36	$1.925 \pm 0.231$		
≥50	84	$1.856 \pm 0.263$		
饮酒史			1.132	0.356
无	96	$1.854 \pm 0.725$		
有	24	$1.862 \pm 0.321$		
病毒感染				
无	12	$1.758 \pm 0.654$		
乙肝	84	$2.015 \pm 0.568$	5.208	0.006
丙肝	24	$2.526 \pm 0.325$	14.50	0.000
肝硬化			0.890	0.396
无	48	$1.758 \pm 0.425$		
有	72	$1.987 \pm 0.325$		
肿瘤大小(cm)			8.485	0.000
≤5	54	$1.875 \pm 0.235$		
≥5	66	$2.356 \pm 0.389$		
血清AFP(ng/L)			2.359	0.0427
≤20	30	$1.756 \pm 0.256$		
>20	90	$1.887 \pm 0.358$		
肿瘤分化程度				
分化良	18	$1.485 \pm 0.089$		
中度分化	72	$1.859 \pm 0.458$	26.46	0.000
未分化	30	$2.487 \pm 0.998$	19.429	0.000
TNM分级				
I	30	$1.358 \pm 0.415$		
II	66	$1.857 \pm 0.354$	22.793	0.000
III	24	$2.423 \pm 0.425$	57.932	0.000
血管侵犯			24.301	0.000
无	42	$1.625 \pm 0.427$		
有	78	$2.423 \pm 0.712$		
肝内转移			23.499	0.000
无	84	$1.784 \pm 0.352$		
有	36	$2.785 \pm 0.285$		

肝细胞癌患者血清中的肿瘤相关抗原刺激机体产生自身抗体。在肿瘤患者血清中,不仅含有肿瘤抗原,而且还具有特异的抗肿瘤抗原的自身抗体<sup>[6,9]</sup>。利用肿瘤抗原检测肿瘤抗体,也可以使用肿瘤抗体检测抗原,检测肿瘤自身抗体的特异度和敏感度比检测肿瘤抗原高。肿瘤相关抗原不仅存

在于肿瘤患者,在正常的人体内也有表达,因此,肿瘤相关抗原的检测作为肿瘤诊断依据是不可靠的。正常人体肿瘤自身抗体含量很低或检测不到。如果体内的肿瘤自身抗体水平明显升高,则表明体内存在异常免疫情况,表明体内相关抗原水平发生波动,预示疾病的存在或原有疾病加重。

本研究应用 EZH2 抗原表位多肽检测肝细胞癌患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG,实验结果表明,肝细胞癌患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 水平明显升高,说明肝癌患者体内出现异常免疫反应。结合临床病理结果分析发现肝癌患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 的表达与病毒感染、肿瘤大小、肿瘤分化程度、TNM 分级、肝内转移有关;而与年龄、性别、饮酒、HBV 是否感染等无明显关系。

总之,肝癌患者血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 表达上调,与肝癌的发生发展有密切的关系,检测肝癌血清抗 EZH2 自身抗体 IgG 可能有利于判断肝癌的恶性行为以及对预后评估有参考价值。

#### 参考文献:

- [1] Bae WK, Hennighausen L. Canonical and non-canonical roles of the histone methyltransferase EZH2 in mammary development and cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(1): 593-597.
- [2] Knutson SK, Warholc NM, Wigle TJ, et al. Durable tumor regression in genetically altered malignant rhabdoid tumors by inhibition of methyltransferase EZH2[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(19): 7922-7927.
- [3] Roh SG, Park SY, Ko HS, et al. EZH2 expression in invasive lobular carcinoma of the breast[J]. *World J Surg Oncol*, 2013(11): 299.
- [4] Bracken AP, Pasini D, Capra M, et al. EZH2 is downstream of the pRB-E2F pathway, essential for proliferation and amplified in cancer[J]. *EMBO J*, 2003, 22(20): 5323-5335.
- [5] Granit RZ, Gabai Y, Hadar T, et al. EZH2 promotes a bilineage identity in basal-like breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2013, 32(33): 3886-3895.
- [6] 张利方,付丽萍,徐娟,等.自身抗体在肝病诊断中的意义[J]. *现代检验医学杂志*, 2006, 21(2): 70-72.  
Zhang LF, Fu LP, Xu J, et al. Significance of auto-antibodies in diagnosis of liver disease[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2006, 21(2): 70-72.
- [7] Sun NX, Ye C, Zhao Q, et al. Long noncoding RNA-EBIC promotes tumor cell invasion by binding to EZH2 and repressing E-cadherin in cervical cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e100340.
- [8] Shen L, Cui J, Liang S, et al. Update of research on the role of EZH2 in cancer progression[J]. *Onco Targets Ther*, 2013(6): 321-324.
- [9] 刘冲,唐浩,邓霖,等.血清 miRNA-186, miRNA-30c 在肝细胞性癌中诊断价值的研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(6): 44-47.  
Liu C, Tang H, Deng L, et al. Research of diagnostic application of serum miRNA-186 and miRNA-30c in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(6): 44-47.

收稿日期:2017-01-03

修回日期:2017-02-09

(上接 71 页)

2010, 15(9): 961-966.

- [12] 胡学俊,柯永胜.血管紧张素转化酶基因 I/D 多态性与奥美沙坦酯降压疗效的临床研究[J]. *国际老年医学杂志*, 2011, 32(1): 5-10.

Hu XJ, Ke YS. Study on relationship between the gene polymorphism of ACE I/D and efficacy of olmesartan medoxomil in the treatment of patients with hypertension[J]. *Int J Geriatr*, 2011, 32(1): 5-10.

- [13] 李健,潘小进,占伊杨,等.依那普利对高血压患者的降压疗效与血管紧张素转换酶基因多态性的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 32(12): 2304-2305.

Li J, Pan XJ, Zhan YY, et al. Relationship between the gene polymorphism of ACE and efficacy of enalapril in the treatment of patients with hypertension[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2011, 32(12): 2304-2305.

- [14] 梁冰,胡丙清,刘绪和.老年高血压患者 ACE I/D

基因多态性与 ACE 抑制剂疗效的相关性[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2014, 35(20): 2969-2971.

Liang B, Hu BQ, Liu XH. Relationship between ACEI/D gene polymorphism and curative effects of angiotensin converting enzyme inhibitor in elderly hypertension patients[J]. *Journal of Qiqihar University of Medicine*, 2014, 35(20): 2969-2971.

- [15] Attwood S, Bird R, Burch K, et al. Within-patient correlation between the antihypertensive effects of atenolol, lisinopril and nifedipine[J]. *J Hypertens*, 1994, 12(9): 1053-1060.

- [16] Correa-Noronha SA, Noronha SM, Alecrim C, et al. Association of angiotensin-converting enzyme I gene I/D polymorphism with endometrial but not with ovarian cancer[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2012, 28(11): 889-891.

收稿日期:2016-07-19

修回日期:2016-12-27