

## UHRF1 检测在良恶性胸腔积液鉴别诊断中的研究\*

王小燕 (南京医科大学附属江宁医院检验科, 南京 211100)

**摘要:**目的 探讨泛素样含 PHD 和环指域 1(ubiquitin-like with PHD and ringfinger domains 1, UHRF1)在良恶性胸腔积液中的表达及临床意义。方法 收集南京市江宁医院 2015 年 11 月~2017 年 2 月入院的 130 例胸腔积液患者,其中肺癌引起的恶性胸腔积液 54 例,肺部良性病变胸腔积液 76 例。肺部良性病变胸腔积液中,结核性胸腔积液 36 例,炎症性胸腔积液 40 例。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)分别检测各组 UHRF1 水平,并分析其与临床病理的关系。结果 肺癌患者胸腔积液 UHRF1 水平( $437.28 \pm 140.05$  ng/L)高于肺部良性病变者( $338.47 \pm 163.72$  ng/L),两组比较差异有统计学意义( $t=3.596, P=0.0005$ )。非腺癌患者 UHRF1 水平( $470.59 \pm 127.74$  ng/L)高于腺癌患者( $377.78 \pm 145.81$  ng/L),差异有统计学意义( $t=2.329, P=0.023$ )。良性病变组中结核性胸腔积液 UHRF1 水平为  $365.51 \pm 167.54$  ng/L,与炎症性胸腔积液( $314.13 \pm 158.34$  ng/L)相比较,差异无统计学差异( $t=1.374, P=0.174$ )。良恶性胸腔积液 UHRF1 水平均与年龄、性别及吸烟史无关。结论 UHRF1 是诊断良恶性胸腔积液一个潜在指标。

**关键词:** UHRF1; 胸腔积液; ELISA 法

**中图分类号:** R446.19 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2017)04-091-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.025

## Study on the Detection of UHRF1 in the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Pleural Effusion

WANG Xiao-yan (Department of Clinical Laboratory,

Jiangning Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 211100, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression and clinical significance of ubiquitin-like with PHD and ringfinger domains 1 (UHRF1) in benign and malignant pleural effusion. **Methods** From November, 2015 to February, 2017, 130 cases of pleural effusion were collected in Jiangning hospital of Nanjing, including 54 cases of malignant pleural effusion caused by lung cancer and 76 cases of lung benign pleural effusion. And the latter contained 36 cases of tuberculous pleural effusion and 40 cases of inflammatory pleural effusion. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect the level of UHRF1 in each group, and the relationship between UHRF1 and clinical pathology was analyzed. **Results** The level of UHRF1  $437.28 \pm 140.05$  ng/L in patients with lung cancer was higher than that  $338.47 \pm 163.72$  ng/L in patients with benign lung diseases, and the differences were statistically significant ( $t=3.596, P=0.0005$ ). The level of UHRF1  $470.59 \pm 127.74$  ng/L in patients with non-adenocarcinoma was higher than that  $377.78 \pm 145.81$  ng/L in patients with adenocarcinoma, and the differences were statistically significant ( $t=2.329, P=0.023$ ). In group with benign lesion, there were no significant differences ( $t=1.374, P=0.174$ ) between the level of UHRF1  $365.51 \pm 167.54$  ng/L in tuberculous pleural effusion and the level of UHRF1  $314.13 \pm 158.34$  ng/L in inflammatory pleural effusion. And the level of UHRF1 in benign and malignant pleural effusion was not related to age, sexuality and smoking history. **Conclusion** UHRF1 is a potential marker in the differential diagnosis of benign and malignant pleural effusion.

**Keywords:** UHRF1; pleural effusion; ELISA

肿瘤、结核及炎症均可引起胸腔积液,因此鉴别诊断尤其重要,关系到治疗方案的选择,治疗效果和预后的判断。恶性肿瘤中以肺癌引起的胸腔积液最为常见,系肺癌侵犯胸膜所致。目前胸腔积液的细胞学及病原学依据是临床病因诊断的主要方法<sup>[1]</sup>。因此寻找鉴别良恶性胸腔积液的高敏感度和高特异度的分子标志物尤为迫切。泛素样含 PHD 和环指域 1 蛋白(ubiquitin-like with PHD and ringfinger domains 1, UHRF1)也称 ICBP90,

由 UHRF1 基因编码, UHRF1 基因是新近发现的与细胞生长相关的核蛋白基因,位于人类染色体 19p13.3,约 2327bp。UHRF1 蛋白相对分子量约为 95KD,由 793 个氨基酸组成,含有多个功能域,包括 N 端的 UBL (ubiquitin-like domain)结构域,TTD(tandem tudor domain)结构域,PHD (plant homeodomain)结构域,SRA (SET and RING-associated domain)结构域和 C 端的 RING(really interesting new gene)结构域,这些功能域能够和蛋

\* 基金项目:南京市卫生局基金(YKK15202)。

作者简介:王小燕(1976—),女,本科,副主任技师,研究方向:临床免疫学检验,E-mail:jnyydhxfgs@163.com。

白质及非蛋白质分子相互作用,在肿瘤细胞增殖、周期调控、凋亡及 DNA 修复中发挥重要的作用<sup>[2]</sup>。UHRF1 是连结 DNA 甲基化和组蛋白翻译后修饰的桥梁,在表观遗传中起主导作用<sup>[3]</sup>。表观遗传的失调会导致肿瘤的发生发展,表现为肿瘤抑制基因的超甲基化从而抑制其转录。UHRF1 通过 SRA 结构域结合到抑癌基因的启动子上,与甲基转移酶形成复合物抑制抑癌基因的表达。UHRF1 的 RING 结构域具有 E3 连接酶活性,使肿瘤抑制因子泛素化,促进其降解,对其翻译后水平进行负性调节<sup>[4]</sup>。UHRF1 的 TTD 和 PHD 结构域分别与甲基化和非甲基化的组蛋白 H3 结合,在维持异染色体的组蛋白修饰从而维持基因组的稳定性中发挥重要的作用<sup>[5]</sup>。研究表明 UHRF1 在多种癌症中高表达,并与肿瘤的生长、浸润和转移密切相关,UHRF1 水平上调提示预后不良。以往 UHRF1 的研究对象多为组织、细胞及血液,而在胸腔积液中的表达鲜有报道,本研究通过测定恶性、结核性和炎症性胸腔积液中 UHRF1 水平,初步探讨其在良恶性胸腔积液诊断中的价值。

## 1 材料和方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 11 月~2017 年 2 月在我院住院的 130 例胸腔积液患者,其中恶性胸腔积液 54 例,男性 42 例,女性 12 例,年龄 27~91 岁,平均年龄  $67.7 \pm 12.97$  岁,均经胸腔积液脱落细胞学、纤维支气管镜病理活检或经皮肺穿刺细胞学等方法得到病理学证实,并排除其他恶性肿瘤。组织学分型:腺癌 35 例,鳞癌 6 例,小细胞癌 13 例。良性胸腔积液 76 例,男性 62 例,女性 14 例,年龄 18~91 岁,平均年龄  $60.17 \pm 22.61$  岁。其中结核性胸腔积液 36 例,炎性胸腔积液 40 例,均经病理学、细胞学或病原微生物学检查确诊。所有标本均采集自初诊患者,采集前未经任何治疗。本研究经过南京医科大学附属江宁医院伦理委员会批准,所有调查者签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 ELISA 试剂盒购自厦门慧嘉生物科技公司,伯乐 iMark 酶标仪购自美国伯乐公司。

1.3 方法 ELISA 法检测 UHRF1 水平。常规无菌下穿刺抽取胸腔积液 15 ml,2 000 r/min 离心 10 min,取上清,置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存待测。UHRF1 严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。加终止液后 15 min 内酶标仪波长为 450 nm 的吸光度(A)值,根据标准曲线计算 UHRF1 水平。

1.4 统计学分析 数据处理和统计采用 SPSS20.0 软件,UHRF1 的水平以均值 $\pm$ 标准差

( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间资料采用成组  $t$  检验,当  $P < 0.05$  时差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 恶性和良性胸腔积液组 UHRF1 水平 恶性和良性胸腔积液 UHRF1 水平分别为  $437.28 \pm 140.05$  ng/L,  $338.47 \pm 163.72$  ng/L,两组比较差异有统计学意义( $P=0.0005$ )。

2.2 UHRF1 水平与恶性胸腔积液各临床病理参数的关系 见表 1。恶性胸腔积液组的 UHRF1 水平与患者性别、年龄及吸烟史无关(均  $P > 0.05$ ),但 UHRF1 水平在非腺癌胸腔积液中高于腺癌,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.3 UHRF1 水平与良性胸腔积液各临床病理参数的关系 见表 2。结核性胸腔积液与炎症性胸腔积液 UHRF1 的水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与其他病理参数如年龄、性别和吸烟史均无关( $P$  均  $> 0.05$ )。

表 1 胸腔积液 UHRF1 水平与肺癌患者各病理参数的关系

类 别	<i>n</i>	UHRF1(ng/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i>
年龄(岁)				
≤65	19	412.80±131.25	0.952	0.345
>65	35	450.99±145.54		
性别				
男	42	429.05±135.85	0.698	0.488
女	12	461.15±156.70		
组织学分型				
腺癌	35	377.78±145.81	2.329	0.023
非腺癌	19	470.59±127.74		
吸烟史				
有	32	427.03±139.85	0.680	0.499
无	22	453.68±143.67		

表 2 胸腔积液 UHRF1 水平与肺部良性病变患者各病理参数的关系

类 别	<i>n</i>	UHRF1(ng/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i>
病种				
结核性胸腔积液	36	365.51±167.54	1.374	0.174
炎症性胸腔积液	40	314.13±158.34		
年龄(岁)				
<65	35	373.49±163.07	1.747	0.085
≥65	41	308.57±160.20		
性别				
男	62	329.58±170.14	0.996	0.323
女	14	377.82±129.49		
吸烟史				
有	29	337.20±195.24	0.049	0.961
无	47	339.25±143.17		

3 讨论 UHRF1 在膀胱癌、胃癌、胰腺癌、结肠癌、乳腺癌及肝细胞肝癌组织中的表达高于正常组织,且表达水平与预后密切相关<sup>[6~11]</sup>。胃癌、乳腺癌患者血清中循环 UHRF1 也呈高表达<sup>[11,12]</sup>,提示 UHRF1 作为诊断和预后的一个独立标志物。通过 ELISA 法可检测膀胱癌患者的尿沉渣标本 UHRF1 水平,也证明了 UHRF1 对肿瘤的诊断价值<sup>[13]</sup>。Unoki 等<sup>[14]</sup>研究发现 (下转 96 页)

(上接 92 页)UHRF1 只在肺癌细胞的细胞核中表达,在正常肺癌、基质细胞、浸润型的炎症细胞均不表达。UHRF1 在各种组织类型的肺癌中均能检测到,尤其在非腺癌(non-ADCs)中高表达,84%的非腺癌和 32%的腺癌 UHRF1 高表达。更为重要的是在 50%的早期肺癌患者中高表达,提示 UHRF1 可作为早期肺癌的一个诊断指标。组织化学法结果发现 UHRF1 在 60%的标本中高表达。UHRF1 高表达还与性别和吸烟史相关,男性患者和有吸烟史者 UHRF1 表达更高。在三者因素中,与组织类型即非腺癌相关性最强。UHRF1 mRNA 在所有类型的肺癌尤其在鳞癌表达上调,和蛋白检测结果一致,Daskalos 等<sup>[15]</sup>的研究也发现 UHRF1 mRNA 肺癌组织中高表达,肺鳞癌表达水平比腺癌更高。本研究以胸腔积液为研究对象,发现肺癌患者胸腔积液中的 UHRF1 水平显著高于结核性胸腔积液和炎症性胸腔积液患者,尤其在非腺癌中水平更高,其中由于鳞癌标本较少,未能发现鳞癌 UHRF1 水平是否高于腺癌,而结核性和炎症性等良性病变患者胸腔积液中的 UHRF1 水平无明显差异。UHRF1 的水平与性别、年龄及吸烟史均无关,与前人研究不太一样,需加大样本量进一步研究。本实验结果为恶性胸腔积液的诊断提供了新的生化标记物。

#### 参考文献:

- [1] 冯珏琪,黄钰君,廖春森,等.用 ROC 曲线分析胸腔积液和血清肿瘤标志物联合检测对肺癌的诊断价值[J].现代检验医学杂志,2013,28(1):127-129,132.  
Feng SQ, Huang YJ, Liao CM, et al. Diagnosis value of the lung cancer through analysis the tumor markers of pleural effusion and serum detection with ROC curve[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(1): 127-129, 132.
- [2] Mousli M, Hopfner R, Abbady AQ, et al. ICBP90 belongs to a new family of proteins with an expression that is deregulated in cancer cells[J]. British Journal of Cancer, 2003, 89(1): 120-127.
- [3] Kim KB, Son HJ, Choi S, et al. H3K9 methyltransferase G9a negatively regulates UHRF1 transcription during leukemia cell differentiation[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(7): 3509-3523.
- [4] Guan D, Factor D, Liu Y, et al. The epigenetic regulator UHRF1 promotes ubiquitination-mediated degra-

dation of the tumor-suppressor protein promyelocytic leukemia protein[J]. Oncogene, 2013, 32(33): 3819-3828.

- [5] Alhosin M, Sharif T, Mousli M, et al. Down-regulation of UHRF1, associated with re-expression of tumor suppressor genes, is a common feature of natural compounds exhibiting anti-cancer properties[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30(1): 41.
- [6] Zhang Y, Huang Z, Zhu Z, et al. Upregulated UHRF1 promotes bladder cancer cell invasion by epigenetic silencing of KiSS1 [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e104252.
- [7] Babacan NA, Egilmez HR, Yücel B, et al. The prognostic value of UHRF-1 and p53 in gastric cancer[J]. Saudi Journal of Gastroenterology, 2016, 22(1): 25-29.
- [8] Abu-Alainin W, Gana T, Liloglou T, et al. UHRF1 regulation of the Keap1-Nrf2 pathway in pancreatic cancer contributes to oncogenesis[J]. J Pathol, 2016, 238(3): 423-433.
- [9] Zhu M, Xu Y, Ge M, et al. Regulation of UHRF1 by microRNA-9 modulates colorectal cancer cell proliferation and apoptosis[J]. Cancer Science, 2015, 106(7): 833-839.
- [10] Liang D, Xue H, Yu Y, et al. Elevated expression of UHRF1 predicts unfavorable prognosis for patients with hepatocellular carcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(8): 9416-9421.
- [11] Geng Y, Gao Y, Ju H, et al. Diagnostic and prognostic value of plasma and tissue ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1 in breast cancer patients[J]. Cancer Science, 2013, 104(2): 194-199.
- [12] Ge M, Gui Z, Wang X, et al. Analysis of the UHRF1 expression in serum and tissue for gastric cancer detection[J]. Biomarkers, 2015, 20(3): 183-188.
- [13] Sidhu H, Capalash N. UHRF1: the key regulator of epigenetics and molecular target for cancer therapeutics [J]. Tumour Biol, 2017, 39(2): 1010428317692205.
- [14] Unoki M, Daigo Y, Koinuma J, et al. UHRF1 is a novel diagnostic marker of lung cancer[J]. British Journal of Cancer, 2010, 103(2): 217-222.
- [15] Daskalos A, Oleksiewicz U, Filia A, et al. UHRF1-mediated tumor suppressor gene inactivation in non-small cell lung cancer [J]. Cancer, 2011, 117(5): 1027-1037.