

HLA 基因单核苷酸多态性与原发性肝细胞癌临床病理特征及术后预后的相关性分析

潘正龙¹, 殷浩铭¹, 唐豪言², 刘小方^{1*}

¹青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院肝胆胰脾外科, 山东烟台 264000; ²烟台市卫生健康综合服务中心, 山东烟台 264000

[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0604.2025.0211

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 潘正龙, 殷浩铭, 唐豪言, 等. HLA 基因单核苷酸多态性与原发性肝细胞癌临床病理特征及术后预后的相关性分析[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(11): 1390-1397.

[收稿日期] 2024-05-06 [录用日期] 2024-08-05 [上线日期] 2025-02-11

[摘要] 目的 分析人类白细胞抗原(HLA)基因单核苷酸多态性(SNPs)与原发性肝细胞癌(HCC)临床病理特征及术后预后之间的关联性。方法 选取2014年1月—2022年9月在青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院接受手术治疗且住院资料完整的328例原发性HCC患者进行回顾性分析。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术(PCR-RFLP)检测所有患者HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872及HLA-DQB1 rs1049055位点的基因型。采用二元logistic回归分析HLA基因SNPs与原发性HCC临床病理特征之间的关系,并以年龄、性别、饮酒史和HBV/HCV感染史作为分层因素进行分层分析。采用单因素Cox回归分析HLA基因SNPs与术后预后的相关性,并绘制原发性HCC患者术后的Kaplan-Meier生存曲线,采用多因素Cox回归分析影响原发性HCC患者术后预后的独立危险因素。结果 二元logistic回归分析结果显示,rs2647073位点CC基因型患者肿瘤直径 ≥ 5 cm的风险较AA基因型患者高($P=0.005$);rs3997872位点TT基因型患者发生脉管侵犯的风险较AA基因型患者高($P=0.003$)。分层分析显示,在年龄 ≥ 60 岁、有HBV/HCV感染史、女性、男性、无饮酒史和有饮酒史的患者中,HLA-DRB1 rs2647073位点CC基因型者肿瘤直径 ≥ 5 cm的风险均高于AA+AC基因型者($P<0.05$)。在年龄 ≥ 60 岁的患者中,HLA-DRB1 rs3997872位点TT基因型者发生脉管侵犯的风险高于AA+AT基因型者($P<0.001$)。而无论在男性、女性,有饮酒史、无饮酒史,有HBV/HCV感染史、无HBV/HCV感染史的患者中,HLA-DRB1 rs3997872位点TT基因型者发生脉管侵犯的风险均高于AA+AT基因型者($P<0.05$)。HLA-DRB1 rs3997872位点TT基因型患者较AT+AA基因型患者术后预后差($P<0.001$)。HLA-DRB1 rs3997872位点SNP($P=0.019$)、年龄增大($P<0.001$)、HBV/HCV感染史($P=0.001$)、包膜侵犯($P=0.005$)、脉管侵犯($P=0.018$)、肿瘤巴塞罗那分期(BCLC)较晚($P<0.001$)、非根治性手术方式($P=0.024$)、体力活动状态(PS)评分增高($P=0.023$)是HCC患者术后预后的独立危险因素。结论 HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872位点SNPs与原发性HCC的临床病理特征相关,rs3997872位点SNP与HCC患者的术后预后相关。

[关键词] 原发性肝细胞癌;单核苷酸多态性;人类白细胞抗原;临床病理特征;预后

Correlation analysis of single nucleotide polymorphisms of HLA gene with clinicopathological features and postoperative prognosis of primary hepatocellular carcinoma

Pan Zheng-Long¹, Yin Hao-Ming¹, Tang Hao-Yan², Liu Xiao-Fang^{1*}

¹Department of Hepatobiliary-Pancreatic Surgery, Yantai Yuhuangding Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Yantai, Shandong 264000, China

²Yantai Health Comprehensive Service Center, Yantai, Shandong 264000, China

*Corresponding author, E-mail: liu634@263.net

This work was supported by the Hubei Chen Xiao-Ping Science and Technology Development Foundation Youth Science Special Fund

[基金项目] 湖北陈孝平科技发展基金会青年科学专项基金(CXPJH123001-2319)

[作者简介] 潘正龙, 硕士研究生, 主要从事原发性肝癌方面的研究

[通信作者] 刘小方, E-mail: liu634@263.net

(CXPJJH123001-2319)

[Abstract] Objective To investigate the correlation between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of human leukocyte antigen (*HLA*) genes and the clinicopathological features and postoperative prognosis of primary hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A retrospective analysis was conducted on 328 patients with primary HCC who underwent surgery and had complete clinical data at Yantai Yuhuangding Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College from January 2014 to September 2022. The genotypes of *HLA-DRB1* rs2647073, rs3997872 and *HLA-DQB1* rs1049055 loci were detected in all patients using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technology. Binary logistic regression was employed to examine the association between SNPs in the *HLA* gene and the clinicopathological features of primary HCC. Age, gender, drinking history, and HBV/HCV infection history were used as stratification factors for stratified analysis. Univariate Cox regression was used to analyze the correlation between *HLA* gene SNPs and postoperative prognosis, and the Kaplan-Meier survival curve of patients with primary HCC after surgery was drawn. Multivariate Cox regression was utilized to evaluate the independent risk factors affecting the postoperative prognosis of patients with primary HCC. **Results** Binary logistic regression analysis showed that rs2647073 CC genotype patients had a higher risk of tumor diameter ≥ 5 cm than AA genotype patients ($P=0.005$). Patients with TT genotype of rs3997872 had a higher risk of vascular invasion than those with AA genotype ($P=0.003$). Stratified analysis showed that age ≥ 60 years, history of HBV/HCV infection, female, male, no drinking history, and drinking history, *HLA-DRB1* rs2647073 CC genotype had a higher risk of tumor diameter ≥ 5 cm than AA+AC genotype ($P<0.05$). In patients ≥ 60 years old, the TT genotype of *HLA-DRB1* rs3997872 had a higher risk of vascular invasion than the AA+AT genotype ($P<0.001$). Moreover, regardless of whether the patients were male or female, with or without a drinking history, and with or without a history of HBV/HCV infection, patients with the TT genotype of *HLA-DRB1* rs3997872 had a higher risk of vascular invasion than those with the AA+AT genotype ($P<0.05$). Patients with TT genotype of *HLA-DRB1* rs3997872 had a poorer postoperative prognosis than those with the AT+AA genotype ($P<0.001$). *HLA-DRB1* rs3997872 SNP ($P=0.019$), older age ($P<0.001$), history of HBV/HCV infection ($P<0.001$), capsular invasion ($P=0.005$), vascular invasion ($P=0.018$), advanced BCLC stage ($P<0.001$), non-radical surgery ($P=0.024$), and higher PS score ($P=0.023$) were independent risk factors for the postoperative prognosis of HCC patients. **Conclusion** The SNPs of rs2647073 and rs3997872 in *HLA-DRB1* gene are associated with the clinicopathological features of primary HCC, and the SNP of rs3997872 is associated with the postoperative prognosis of patients with HCC.

[Key words] primary hepatocellular carcinoma; single nucleotide polymorphism; human leukocyte antigen; clinicopathological features; prognosis

原发性肝癌是亚洲第五位常见的癌症和恶性肿瘤死亡的第二位原因，2020年亚洲报告的原发性肝癌病例占全球的72.5%^[1]。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)仍然是原发性肝癌的主要危险因素^[2-3]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最普遍的组织学类型^[1]。肝癌的临床病理特征如肿瘤大小、肿瘤数目、有无包膜侵犯、有无脉管侵犯、有无癌栓等对于治疗方式的选择和远期预后有着重要影响^[4]。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)又称主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)，是一系列连锁紧密的基因座组成的具有高度多态性的复合物，参与机体免疫反应，与多种恶性肿瘤关系密切，且在不同种族及地域间存在较大的表达差异^[5]。

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)是由DNA序列中单个核苷酸改变引起的常见遗传变异，普遍存在于人类基因组中^[6]，构成了人类基因组DNA所有变异的90%以上，平均每千个碱基中有一个基因型多态性^[7]。研究表明，SNPs与多种恶性肿瘤的发生和发展密切相关^[8]。近期研究发

现了数个与HBV、HCV持续感染和HCC发生、发展及预后相关的HLA区域新的基因多态性位点，如Ou等^[9]的病例对照研究发现四川人群中*HLA-DPB1*等位基因的表达在HBV的易感性和自发清除中发挥着重要的调节作用；Hsieh等^[10]发现，rs477515、rs9272105和rs7756516与乙型病毒性肝炎患者体内HBV病毒载量相关。在HCC的发生及发展方面，Miki等^[11]的回顾性研究发现，含Patatin样磷脂酶结构域3(*PNPLA3*)和主要组织相容性复合体II类DQB1(*HLA-DQB1*)基因多态性与持续病毒学应答后的HCC相关；Mai等^[12]在中国汉族人群中发现rs114401688、rs115126566与HBV相关的HCC风险独立相关。在致病机制方面，Zhao等^[13]发现，在汉族人群中*HLA-DR*基因多态性可能通过与HBV突变相互作用影响HCC的发生风险；Okumura等^[14]发现，HBV患者*HLA-G*基因多态性与疾病易感性、HCC的发展及乙肝表面抗原清除明显相关；Kozuka等^[15]发现，*HLA-DQA1/DRB1*基因AA型患者在恩替卡韦治疗期间可能有更高的HCC发生风险。在HCC预后方面，Wu等^[16]发现，*HLA*区域rs3997872、rs7453920和rs7768538基因型与HCC患者总生存期(overall survival, OS)明显相关，

且rs7453920基因型与中性粒细胞/淋巴细胞比值明显相关。本研究探讨HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872及HLA-DQB1 rs1049055位点的SNPs与原发HCC的临床病理特征和术后预后之间的相关性,旨在为肝癌治疗和预后评估提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2014年1月—2022年9月在青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院接受手术治疗且住院资料完整的328例原发性HCC患者进行回顾性分析。纳入标准:(1)接受过肝恶性肿瘤切除手术;(2)术后通过病理学确诊为HCC;(3)抽取血液样本前未接受过放疗或化疗;(4)在本地连续居住超过10年,无血缘关系。排除标准:(1)有其他类型肿瘤的病史;(2)治疗期间患有其他恶性肿瘤。本研究通过青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院医学伦理委员会批准(2021-367)。

1.2 资料收集 通过查阅病历和标准化问卷收集研究对象的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、HBV或HCV感染史、肝癌家族史等一般资料;通过术后病理报告收集临床病理特征数据,包括肿瘤直径、肿瘤数目、有无包膜侵犯、有无脉管侵犯、有无癌栓等。同时收集肿瘤巴塞罗那分期(Barcelona Clinic Liver Cancer, BCLC)、手术方式、体力活动状态(performance status, PS)评分[采用美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分系统评估]等预后相关指标。

1.3 随访 通过电话或门诊方式进行随访。术后2年内每3个月随访1次,术后第3年起每6个月随访1次。随访终点事件为患者死亡或随访截止(截止时间为2023年9月1日)。

1.4 SNPs的筛选 整合既往原发性肝癌及消化系统肿瘤的研究数据,重点关注肿瘤病理特征及预后关联性研究,结合TRANSFACR生物信息学工具与NCBI dbSNP数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>),系统筛选HLA基因潜在功能性SNPs。筛选策略构建中,优先保留具有群体代表性的多态性位点,限定最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF)阈值>5%作为核心筛选标准。最后筛选出HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872及HLA-DQB1 rs1049055共3个

位点作为研究对象。

1.5 样本采集和DNA提取 所有研究对象均于入院后采集静脉血5 ml,利用北京博奥医学检验有限公司提供的全血基因组DNA提取试剂盒进行DNA提取,并对其纯度进行评估。确保所提取的DNA完整无损、未降解或被小片段RNA污染。提取完毕后,将DNA保存于-80℃冰箱保存备用。

1.6 基因分型 基因分型通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)实现。利用Primer Premier 5.0软件设计引物[生工生物工程(上海)股份有限公司],序列见表1。每个SNPs位点需要1条延伸引物和2条PCR扩增引物。PCR扩增条件:95℃预变性2 min;95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸1 min,45个循环;72℃延伸5 min。PCR反应体系组成见附表1(<https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.0604.2025.0211FJ>)。对PCR产物进行限制性酶切,处理温度为37℃,持续40 min,之后加热至85℃,保持5 min。按照延伸程序对PCR产物进行延伸处理,并利用树脂板纯化所得延伸产物。采用Agena Bioscience公司的MassARRAY™质谱仪进行产物检测,并采用Typer 4.0软件进行数据分析和基因型鉴定。各SNPs位点质谱峰图见附图1(<https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.0604.2025.0211FJ>)。

1.7 统计学处理 采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计数资料以例(%)表示。采用二元logistic回归分析不同SNPs位点基因型与原发HCC临床病理特征的关系,并以年龄、性别、饮酒史和HBV/HCV感染史作为分层因素进行分层分析,计算P值、比值比(OR)和95%置信区间CI。采用Kaplan-Meier法绘制总体生存曲线,单因素或多因素Cox比例风险回归模型计算危险比(HR)、95%CI,并校正混杂因素,分析影响原发HCC患者术后预后的危险因素。以上分析均为双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况 共纳入原发性HCC患者328例,其中男232例(70.7%),女96例(29.3%);年龄<60岁155例(47.3%),≥60岁173例(52.7%);有吸烟史120例

表1 SNPs位点引物序列

Tab.1 Primer sequences for SNPs sites

SNPs位点	上游引物	下游引物
rs2647073	5'-GAGCAGGTTAAACATGAGTGTCA-3'	5'-CTCTCCACAACCCCGTAGT-3'
rs3997872	5'-CGGGGTTGGTGAGAGCTTC-3'	5'-AACACCTGACTTCAATGCTG-3'
rs1049055	5'-ACCTTCGGGTAGCAACTGTC-3'	5'-AAATCCTCGGGAGAGTCTCTG-3'

SNP.单核苷酸多态性

(36.6%), 无吸烟史 208 例(63.4%); 有饮酒史 151 例(46.0%), 无饮酒史 177 例(54.0%); 有 HBV/HCV 感染史 228 例(69.5%), 无 HBV/HCV 感染史 100 例(30.5%); 有肝癌家族史 70 例(21.3%), 无肝癌家族史 258 例(78.7%)。肿瘤直径<5 cm 203 例(61.9%), ≥5 cm 125 例(38.1%); 肿瘤单发 217 例(66.2%), 多发 111 例(33.8%); 无包膜侵犯 268 例(81.7%), 有包膜侵犯 60 例(18.3%); 无脉管侵犯 251 例(76.5%), 有脉管侵犯 77 例(23.5%); 无癌栓 255 例(77.7%), 有癌栓 73 例(22.3%)。

2.2 rs2647073、rs3997872、rs1049055 位点基因型分布情况 HLA-DRB1 rs2647073 位点 AA 基因型 108 例(32.9%), AC 基因型 151 例(46.0%), CC 基因型 69 例

(21.0%); rs3997872 位点 AA 基因型 55 例(16.8%), AT 基因型 139 例(42.4%), TT 基因型 134 例(40.9%)。HLA-DQB1 rs1049055 位点 AA 基因型 166 例(50.6%), AG 基因型 123 例(37.5%), GG 基因型 39 例(11.9%)。

2.3 rs2647073、rs3997872、rs1049055 位点基因型与原发 HCC 临床病理特征的关系 二元 logistic 回归分析结果显示, rs2647073 位点 CC 基因型患者肿瘤直径≥5 cm 的风险较 AA 基因型患者高(校正 OR=2.501, 95%CI 1.324~4.725, P=0.005); rs3997872 位点 TT 基因型患者发生脉管侵犯的风险较 AA 基因型患者高(校正 OR=3.851, 95%CI 1.580~9.385, P=0.003, 表 2)。rs1049055 位点各基因型与原发 HCC 肿瘤直径及有无脉管侵犯均无关(P>0.05, 表 2)。

表 2 rs2647073、rs3997872、rs1049055 位点与原发肝癌肿瘤直径、脉管侵犯的关系[例(%)]

Tab.2 Relationship of rs2647073, rs3997872, rs1049055 sites with tumor diameter and vascular invasion of primary hepatocellular carcinoma [n(%)]

基因型	肿瘤直径				脉管侵犯			
	<5 cm	≥5 cm	OR(95%CI)	P	无	有	OR(95%CI)	P
rs2647073								
AA(n=108)	71(35.0)	37(29.6)	1	-	82(32.7)	26(33.8)	1	-
AC(n=151)	102(50.2)	49(39.2)	0.855(0.498~1.468)	0.570	122(48.6)	29(37.7)	0.780(0.417~1.459)	0.437
CC(n=69)	30(14.8)	39(31.2)	2.501(1.324~4.725)	0.005	47(18.7)	22(28.6)	1.619(0.800~3.277)	0.180
rs3997872								
AA(n=55)	29(14.3)	26(20.8)	1	-	48(19.1)	7(9.1)	1	-
AT(n=139)	92(45.3)	47(37.6)	0.524(0.273~1.004)	0.052	118(47.0)	21(27.2)	1.279(0.500~3.272)	0.608
TT(n=134)	82(40.4)	52(41.6)	0.625(0.325~1.202)	0.159	85(33.9)	49(63.6)	3.851(1.580~9.385)	0.003
rs1049055								
AA(n=166)	97(47.8)	69(55.2)	1	-	131(52.2)	35(45.5)	1	-
AG(n=123)	79(38.9)	44(35.2)	0.799(0.490~1.302)	0.368	95(37.8)	28(36.4)	1.149(0.644~2.051)	0.638
GG(n=39)	27(13.3)	12(9.6)	0.549(0.255~1.184)	0.126	25(10.0)	14(18.2)	1.874(0.857~4.097)	0.116

校正性别、年龄、饮酒史、吸烟史、HBV/HCV 感染史、肝癌家族史

2.4 分层分析 将年龄、性别、饮酒史、HBV/HCV 感染史作为分层因素进行分层分析, 结果显示, 在年龄≥60 岁(校正 OR=4.620, 95%CI 2.020~10.566, P<0.001)、有 HBV/HCV 感染史(校正 OR=4.121, 95%CI 2.161~7.858, P<0.001)、女性(校正 OR=4.407, 95%CI 1.507~12.883, P=0.007)、男性(校正 OR=2.313, 95%CI 1.177~4.543, P=0.015)、无饮酒史(校正 OR=3.889, 95%CI 1.757~8.606, P=0.001)和有饮酒史(校正 OR=2.387, 95%CI 1.017~5.606, P=0.046)的患者中, HLA-DRB1 rs2647073 位点 CC 基因型者肿瘤直径≥5 cm 的风险均高于 AA+AC 基因型者(表 3)。

在年龄≥60 岁(校正 OR=4.330, 95%CI 1.937~9.680, P<0.001)的患者中, HLA-DRB1 rs3997872 位点 TT 基因型者发生脉管侵犯的风险高于 AA+AT 基因型者。而无论在男性(校正 OR=3.047, 95%CI 1.610~

5.766, P=0.001)、女性(校正 OR=5.381, 95%CI 1.560~18.562, P=0.008), 有饮酒史(校正 OR=3.400, 95%CI 1.627~7.106, P=0.001)、无饮酒史(校正 OR=3.410, 95%CI 1.435~8.103, P=0.005), 或有 HBV/HCV 感染史(校正 OR=3.285, 95%CI 1.676~6.439, P=0.001)、无 HBV/HCV 感染史(校正 OR=3.530, 95%CI 1.222~10.197, P=0.020)的患者中, HLA-DRB1 rs3997872 位点 TT 基因型者发生脉管侵犯的风险均高于 AA+AT 基因型者(表 3)。

2.5 HLA 基因 SNPs 与原发 HCC 患者术后预后的相关性分析 采用 Kaplan-Meier 法、单因素 Cox 回归对 HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872 及 HLA-DQB1 rs1049055 位点进行分析显示, 在共显性模型中 HLA-DRB1 rs3997872 位点 TT 基因型患者较 AA 基因型患者术后预后差(HR=1.814, 95%CI 1.261~2.608, P=0.001),

表3 rs2647073 位点与原发性肝细胞癌肿瘤直径以及rs3997872 位点与脉管侵犯的分层分析

Tab.3 Stratified analysis of rs2647073 locus and tumor diameter, and rs3997872 and vascular invasion in primary hepatocellular carcinoma

因素	rs2647073 位点 CC 基因型*		rs3997872 位点 TT 基因型*	
	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
年龄				
<60 岁	1.678(0.757~3.720)	0.203	2.188(0.988~4.843)	0.054
≥60 岁	4.620(2.020~10.566)	<0.001	4.330(1.937~9.680)	<0.001
性别				
女	4.407(1.507~12.883)	0.007	5.381(1.560~18.562)	0.008
男	2.313(1.177~4.543)	0.015	3.047(1.610~5.766)	0.001
饮酒史				
无	3.889(1.757~8.606)	0.001	3.410(1.435~8.103)	0.005
有	2.387(1.017~5.606)	0.046	3.400(1.627~7.106)	0.001
HBV/HCV 感染史				
无	0.598(0.173~2.067)	0.416	3.530(1.222~10.197)	0.020
有	4.121(2.161~7.858)	<0.001	3.285(1.676~6.439)	0.001

*以 AA+AC 基因型为参照; *以 AA+AT 基因型为参照; HBV/HCV. 乙型肝炎病毒/丙型肝炎病毒

在显性模型中 *HLA-DRB1* rs3997872 位点 TT 基因型患者较 AA+AT 基因型患者术后预后差 ($HR=1.806$, 95%CI 1.406~2.318, $P<0.001$)。在隐性模型中 *HLA-DRB1* rs3997872 位点 AA 基因型患者与 AT+TT 基因型患者术后预后无明显差异 ($P=0.108$)。 *HLA-DRB1* rs2647073 位点和 *HLA-DQB1* rs1049055 位点基因型与原发性 HCC 患者术后预后均无关 ($P>0.05$) (表 4、图 1)。

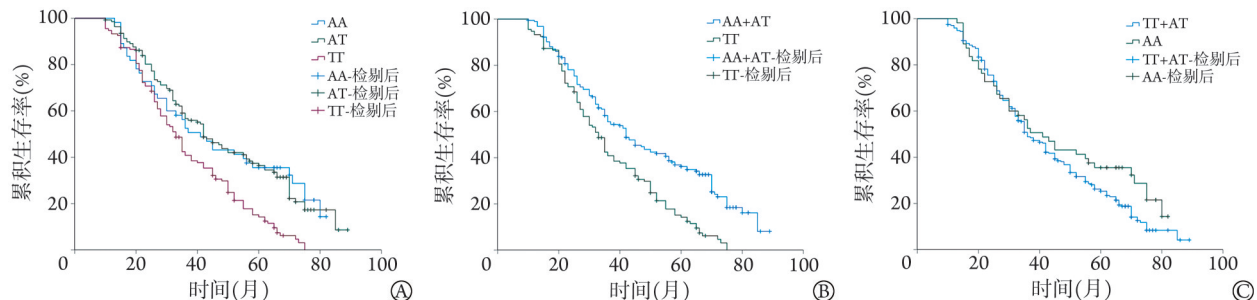
2.6 原发性 HCC 患者术后预后的独立危险因素分析 多因素 Cox 回归模型分析结果显示, *HLA-DRB1* rs3997872 位点 SNP (校正 $HR=1.384$, 95%CI 1.056~1.814, $P=0.019$)、年龄增大 (校正 $HR=1.032$, 95%CI 1.018~1.047, $P<0.001$)、HBV/HCV 感染史 (校正 $HR=2.056$, 95%CI 1.490~2.836, $P<0.001$)、包膜侵犯 (校正 $HR=1.651$, 95%CI 1.166~2.337, $P=0.005$)、脉管侵犯 (校正 $HR=1.498$, 95%CI 1.072~2.603, $P=0.018$)、BCLC 较晚 (校正 $HR=5.774$, 95%CI 2.777~12.003, $P<0.001$)、非根治性手术方式 (校正 $HR=0.552$, 95%CI 0.330~0.924, $P=0.024$)、PS 评分增高 (校正

$HR=1.784$, 95%CI 1.081~2.944, $P=0.023$) 是原发性 HCC 患者术后预后的独立危险因素(表 5)。

3 讨论

原发性肝癌是癌症相关死亡的第四大疾病,也是第六大常见恶性肿瘤^[17],原发性 HCC 占有原发性肝癌的 75%~85%,据统计,全球约 72% 的原发性肝癌发生在亚洲,其中中国占比超过 50%^[18]。

HLA 基因是一种编码人类 MHC 蛋白的基因复合体,位于第 6 号染色体短臂 2 区 1 带 3 亚带 1 次亚带,*HLA* 家族根据其基因多态性、编码区分布和功能可分为 I、II、III 类,其中 II 类基因结构最复杂,主要由 DR、DP、DQ、DO 和 DM 等多亚区组成,由 *HLA* 编码的抗原决定了生物体的排斥反应,与免疫反应和免疫调节有关。*HLA-DRB1* 是 *HLA-II* 类基因中多态性最丰富的基因座,其等位基因编码 *HLA-DR* 分子,这些分子可为免疫系统中的 T 细胞呈递抗原,从而启动免疫应答,有助于机体识别和攻击癌细胞^[19]。*HLA-DRB1* 等位基因多态性与各种恶性肿瘤的发生有



HLA. 人类白细胞抗原; HCC. 肝细胞癌; A. 共显性模型; B. 显性模型; C. 隐性模型

图1 原发性 HCC 患者 *HLA-DRB1* rs3997872 不同遗传模型的生存曲线

Fig.1 Survival curves of different genetic models for *HLA-DRB1* rs3997872 in primary HCC patients

表4 HLA基因SNPs与原发HCC患者术后预后的相关性分析[例(%)]

Tab.4 Correlation analysis of HLA gene SNPs with postoperative outcomes for primary HCC patients with liver cancer [n(%)]

基因型	总计	删失或存活	死亡	HR(95%CI)	P
rs2647073					
共显性模型					
AA	108(32.9)	24(35.8)	84(32.2)	1	-
AC	151(46.0)	26(38.8)	125(47.9)	1.035(0.785~1.365)	0.808
CC	69(21.1)	17(25.4)	52(19.9)	1.044(0.738~1.477)	0.808
显性模型					
CC+AC	220(67.1)	43(64.2)	177(67.8)	1	
AA	108(32.9)	24(35.8)	84(32.2)	0.964(0.743~1.251)	0.782
隐性模型					
AA+AC	259(80.0)	50(74.6)	209(80.1)	1	
CC	69(21.0)	17(25.4)	52(19.9)	1.023(0.754~1.387)	0.885
rs3997872					
共显性模型					
AA	55(16.8)	15(22.4)	40(15.3)	1	
AT	139(42.4)	40(59.7)	99(38.0)	1.006(0.696~1.455)	0.973
TT	134(40.9)	12(17.9)	122(46.7)	1.814(1.261~2.608)	0.001
显性模型					
AA+AT	194(59.1)	55(82.1)	139(53.3)	1	
TT	134(40.9)	12(17.9)	122(46.7)	1.806(1.406~2.318)	<0.001
隐性模型					
TT+AT	273(83.2)	52(77.6)	221(84.7)	1	
AA	55(16.8)	15(22.4)	40(15.3)	0.757(0.540~1.063)	0.108
rs1049055					
共显性模型					
AA	166(50.6)	38(56.7)	128(49.0)	1	
AG	123(37.5)	22(32.8)	101(38.7)	1.117(0.860~1.451)	0.408
GG	39(11.9)	7(10.5)	32(12.3)	0.977(0.662~1.442)	0.908
显性模型					
GG+AG	162(49.4)	29(43.3)	133(51.0)	1	
AA	166(50.6)	38(56.7)	128(49.0)	0.926(0.726~1.181)	0.536
隐性模型					
AA+AG	289(88.1)	60(89.6)	229(87.7)	1	
GG	39(11.9)	7(10.4)	32(12.3)	0.933(0.643~1.353)	0.713

共显性模型：杂合型 vs. 野生型，纯和型 vs. 野生型；隐性模型：纯和型 vs. 杂合型+野生型；显性模型：野生型 vs. 杂合型+纯和型；HLA. 人类白细胞抗原；SNPs. 单核苷酸多态性；HCC. 肝细胞癌

关。既往研究发现，HLA-DQB1 等位基因多态性与 HBV 持续感染相关，从而可增加肝癌的发生风险^[10]。因此深入探究 HLA 基因多态性与 HCC 发生发展及术后预后的关系具有重要意义。

本研究发现，HLA-DRB1 rs2647073 位点 CC 基因型患者肿瘤直径 ≥5 cm 的风险高于 AA 基因型患者(校正 OR=2.501, 95%CI 1.324~4.725, P=0.005)；rs3997872 位点 TT 基因型患者发生脉管侵犯的风险高于 AA 基因型患者(校正 OR=3.851, 95%CI 1.580~9.385, P=0.003)。既往多项研究亦表明，HCC 相关基因的 SNPs 与肿瘤

临床病理特征相关，如 Lin 等^[20]发现，结肠癌转移相关基因 -1(metastasis-associated in colon cancer 1, MACC1) rs1990172 位点 CA+AA 基因型的吸烟患者肿瘤直径较大、临床分期晚及发生血管浸润的风险较低；Mohamed 等^[21]发现，正向调节结构域锌指蛋白(positive regulatory domain zinc finger protein, PRDM)1 基因多态性与肿瘤直径相关，且可能与 HCC 患者的预后相关。Su 等^[22]探究胶原样结构巨噬细胞受体(macrophage receptor with collagenous structure, MARCO)基因 rs6761637 位点多态性与肝癌易感性及

表5 原发性HCC患者术后预后影响因素的多因素Cox比例风险回归分析

Tab.5 Multivariate Cox proportional hazards regression for postoperative prognosis in patients with primary HCC

因素	β	SE	Wald χ^2	HR	95%CI	P
年龄	0.032	0.007	19.577	1.032	1.018~1.047	<0.001
HBV/HCV感染史	0.721	0.164	19.263	2.056	1.490~2.836	<0.001
包膜侵犯	0.501	0.177	7.981	1.651	1.166~2.337	0.005
脉管侵犯	0.404	0.171	5.612	1.498	1.072~2.603	0.018
rs3997872(AT/AA、TT)	0.325	0.138	5.531	1.384	1.056~1.814	0.019
BCLC	1.753	0.373	22.048	5.774	2.777~12.003	<0.001
手术方式	-0.594	0.263	5.106	0.552	0.330~0.924	0.024
PS评分	0.579	0.256	5.133	1.784	1.081~2.944	0.023

HCC. 肝细胞癌; HBV/HCV. 乙型肝炎病毒/丙型肝炎病毒; BCLC. 肿瘤巴塞罗那分期; PS. 体力活动状态

临床特征之间的相关性,发现rs6761637位点C等位基因携带者肿瘤直径较大的风险更高。

多项研究表明,年龄增大、肿瘤直径较大、包膜侵犯、血管侵犯、非根治性手术方式等是影响肝癌患者预后的独立危险因素^[17,23-24]。本研究发现,HLA-DRB1 rs3997872位点SNP是肝癌患者预后的独立危险因素,即TT基因型患者术后生存期明显缩短(校正HR=1.384,95%CI 1.056~1.814,P=0.019)。此前Wu等^[16]对330例HBV相关HCC患者的临床检验指标及预后数据进行回顾性分析,发现HLA基因多态性与HBV相关HCC的全身性炎症相关,rs3997872位点基因型与肝癌患者的OS明显相关,其中TT基因型患者的OS较AA+AT基因型患者明显缩短。Li等^[25]对330例HBV相关HCC患者22个单核苷酸位点进行基因分型后再行多因素Cox回归分析发现,rs3997872位点TT基因型患者生存期明显短于AA+AT基因型患者,但此研究仅分析了基因多态性与患者预后的相关性,并未对基因多态性与患者临床数据间的相关性进行分析。与上述两项研究不同的是,本研究探究了肿瘤临床病理特征与SNPs的相关性,这些特征不仅影响患者的治疗选择,还与患者的预后密切相关,本研究进一步明确了SNPs与患者预后的相关性。HLA-DRB1 rs3997872位点位于MHC II类位点HLA-DRB1下游23 kb,Clifford等^[26]发现其可能与MHC II类蛋白的改变有关,可导致T细胞反应无效,并参与抗原加工和呈递通路。rs3997872可能通过影响机体的免疫应答而影响肝癌患者的临床病理特征和结局。

综上所述,本研究发现,HLA-DRB1 rs2647073、rs3997872位点与原发性HCC患者的肿瘤临床病理特征相关,rs3997872位点是原发性HCC患者术后预后的独立危险因素。这为评估原发性HCC患者的预后提供了新的思路。但本研究仍存在一些不足之处:SNPs存在地区和人种的差异,本研究只选取了烟威

地区的原发性HCC患者作为研究对象,后续应纳入不同地区的人群进行验证。HLA基因多态性影响患者预后的确切机制目前仍不清楚,未来应进一步探究其具体作用机制。

【参考文献】

- [1] Zhang CH, Cheng Y, Zhang S, et al. Changing epidemiology of hepatocellular carcinoma in Asia[J]. Liver Int, 2022, 42(9): 2029-2041.
- [2] Brown ZJ, Tsilimigras DI, Ruff SM, et al. Management of hepatocellular carcinoma: a review[J]. JAMA Surg, 2023, 158(4): 410-420.
- [3] 庄颖洁,刘文徽,刘正一,等.代谢相关脂肪性肝病的流行病学现状及诊治研究进展[J].解放军医学杂志,2023,48(12): 1457-1466.
- [4] 黎金连,黄岚珍,黄希仕,等.肝细胞癌预后、诊断和免疫细胞浸润相关关键基因及其潜在治疗药物的生物信息学分析[J].吉林大学学报(医学版),2024,50(4): 1062-1075.
- [5] Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. HLA, gut microbiome and hepatic autoimmunity[J]. Front Immunol, 2022, 13: 980768.
- [6] 吴柳娇,靳婵婵,朱姝,等.全外显子组测序对性发育异常患者的分子遗传学病因分析[J].解放军医学杂志,2024,49(5): 495-503.
- [7] 魏雪,文雪,谢潇,等.lncRNA H19和IGF2基因在乳腺癌组织中的表达水平及印记状态[J].吉林大学学报(医学版),2024,50(4): 1109-1115.
- [8] Adolf IC, Almars A, Dharsee N, et al. HLA-G and single nucleotide polymorphism (SNP) associations with cancer in African populations: implications in personal medicine[J]. Genes Dis, 2022, 9(5): 1220-1233.
- [9] Ou G, Liu X, Xu H, et al. Variation and expression of HLA-DPB1 gene in HBV infection[J]. Immunogenetics, 2021, 73(3): 253-261.
- [10] Hsieh AR, Fann CSJ, Lin HC, et al. Hepatitis B virus persistent infection-related single nucleotide polymorphisms in HLA regions are associated with viral load in hepatoma families[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(37): 6262-6276.
- [11] Miki D, Akita T, Kurisu A, et al. PNPLA3 and HLA-DQB1 polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(12): 1162-1170.

- [12] Mai H, Chen J, Chen H, *et al.* Fine mapping of the MHC region identifies novel variants associated with HBV-related hepatocellular carcinoma in Han Chinese[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2021, 8: 951-961.
- [13] Zhao Y, Chen K, Yang H, *et al.* HLA-DR genetic polymorphisms and hepatitis B virus mutations affect the risk of hepatocellular carcinoma in Han Chinese population[J]. *Virology*, 2023, 20(1): 283.
- [14] Okumura T, Joshita S, Yamazaki T, *et al.* HLA-G susceptibility to hepatitis B infection and related hepatocellular carcinoma in the Japanese population[J]. *Hum Immunol*, 2023, 84(8): 401-407.
- [15] Kozuka R, Enomoto M, Sato-Matsubara M, *et al.* Association between HLA-DQA1/DRB1 polymorphism and development of hepatocellular carcinoma during entecavir treatment[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 34(5): 937-946.
- [16] Wu XL, Li ZY, Bi XY, *et al.* Human leukocyte antigen gene polymorphisms are associated with systemic inflammation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 2315-2324.
- [17] Torimura T, Iwamoto H. Treatment and the prognosis of hepatocellular carcinoma in Asia[J]. *Liver Int*, 2022, 42(9): 2042-2054.
- [18] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, *et al.* Hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 6.
- [19] 杜逸玮, 贾军梅, 刘宸安, 等. 外周血 HLA-DRB1 基因多态性对慢性乙型肝炎进展至肝细胞癌的影响[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2023, 37(9): 865-869.
- [20] Lin CH, Hsieh MJ, Lee HL, *et al.* Effects of MACC1 polymorphisms on hepatocellular carcinoma development and clinical characteristics[J]. *J Cancer*, 2020, 11(6): 1641-1647.
- [21] Mohamed AA, Esmail OE, Ibrahim AMA, *et al.* The role of PRDM1 gene polymorphism in the progression of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients[J]. *J Med Virol*, 2023, 95(1): e28343.
- [22] Su Z, Luo L, Wu X, *et al.* Association of the MARCO polymorphism rs6761637 with hepatocellular carcinoma susceptibility and clinical characteristics[J]. *Immunol Res*, 2022, 70(3): 400-407.
- [23] Nevola R, Ruocco R, Criscuolo L, *et al.* Predictors of early and late hepatocellular carcinoma recurrence[J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(8): 1243-1260.
- [24] Sugawara Y, Hibi T. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Biosci Trends*, 2021, 15(3): 138-141.
- [25] Li C, Bi X, Huang Y, *et al.* Variants identified by hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis B virus infection susceptibility GWAS associated with survival in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101586.
- [26] Clifford RJ, Zhang J, Meerzaman DM, *et al.* Genetic variations at loci involved in the immune response are risk factors for hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2010, 52(6): 2034-2043.

(责任编辑: 纪方方)

解放军医学杂志®