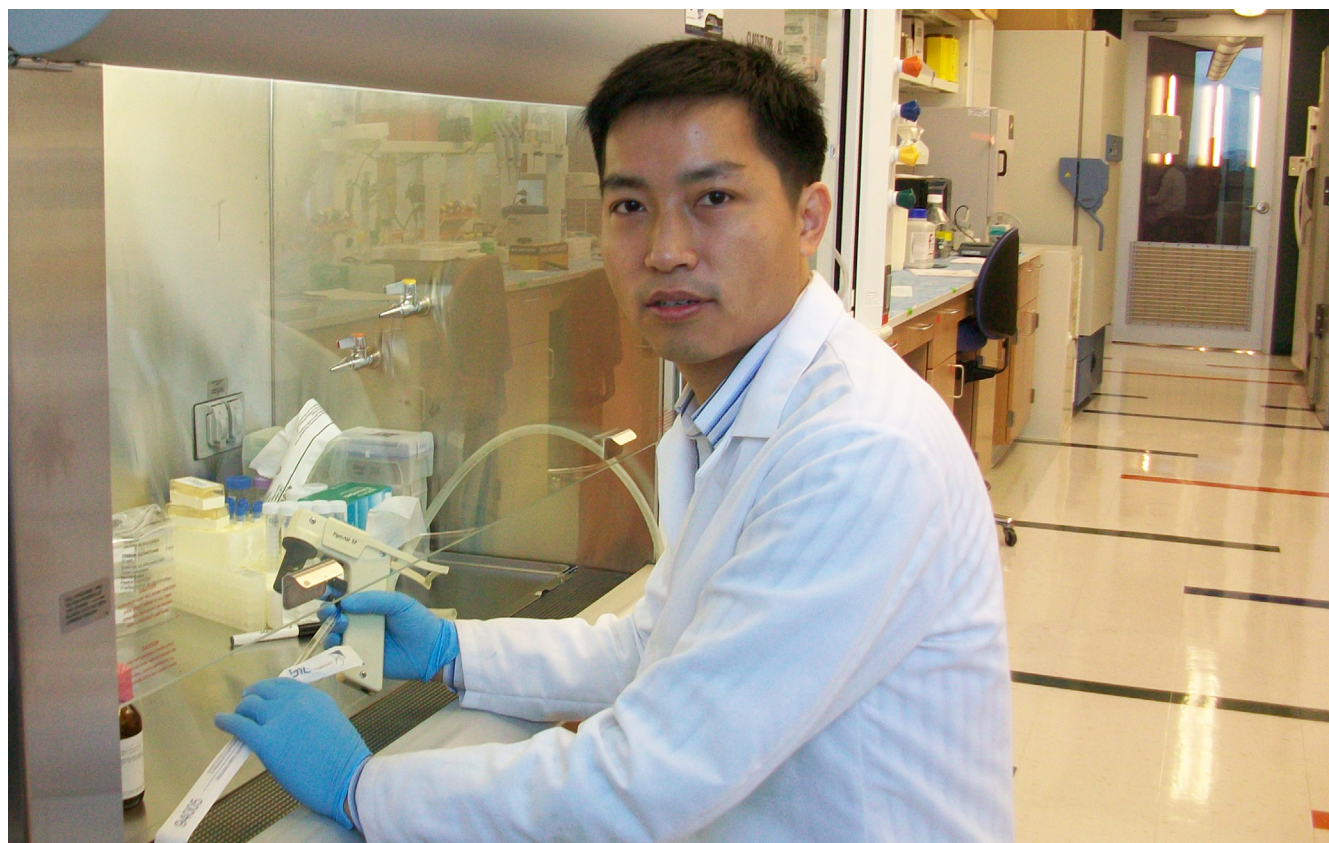


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 12 月 28 日      第 27 卷      第 24 期      (Volume 27 Number 24)**



**24/2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



目次

2019年12月28日 第27卷 第24期 (总第644期)

述评

1465 肠道病毒71型感染手足口病发病机制的研究

王春荣

基础研究

1473 麦冬皂苷D通过调控miR-519d-3p/EIF4E表达对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的实验研究

申鹏, 汪正飞

临床研究

1483 GPX3在胃癌中的表达及临床意义

张海平, 李蜀豫

1490 CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证

杨结, 刘树业, 刘运德

文献综述

1502 肝硬化患者自发性脾肾分流的研究进展

易芳芳, 白朝辉, 许向波, 祁兴顺

临床实践

1509 声触诊组织量化技术评估经颈静脉肝内门-腔分流术后疗效的应用价值

张丹, 王一鸣, 李浩

会议纪要

1513 第二届胶囊内镜全球高峰论坛纪要

江学良, 王金山, 何健华

## 消 息

- 1472 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1489 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1501 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
1508 《世界华人消化杂志》正文要求

## 封面故事

王来友, 2006年于中山大学临床药理所毕业, 获医学博士学位. 2016年获药理学专业教授资格. 现为广东药科大学硕士研究生导师. 曾分别先后在法国弗朗什-孔泰大学、美国堪萨斯大学医学中心和澳大利亚格里菲斯大学从事研究工作, 目前主要研究方向为基于临床真实世界的循证药学与临床毒理学研究及新药研发. 兼任中国药学会循证药学专业委员会委员、农工党广东省十三届医药卫生工作委员会委员等职. 并在*Drug metabolism and Disposition*、*Pharmacogenomics*、*Marine Drugs*、*RSC advances*、*Nature Medicine*等国内外主流药学类专业期刊发表学术论文60余篇; 获新药发现与创制相关授权专利三项; 作为参与者获广东省科学技术奖一等奖两项; 承担药学人才培养教学改革类项目2项; 发表药学教育类研究论文3篇; 作为特聘编委, 参与高等教育出版社《循证药学》以及《药物毒理学》、《药理学》等教材的编写.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 王禹乔; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 吴云晓健; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 24 Dec 28, 2019

### EDITORIAL

1465 Pathogenesis of hand-foot-mouth disease caused by enterovirus 71

*Wang CR*

### BASIC RESEARCH

1473 Ophiopogonin D inhibits proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells by regulating miR-519d-3p/EIF4E expression

*Shen P, Wang ZF*

### CLINICAL RESEARCH

1483 Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in gastric cancer

*Zhang HP, Li SY*

1490 Integrated bioinformatics analysis of expression, related signaling pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma

*Yang J, Liu SY, Liu YD*

### REVIEW

1502 Advances in research of spontaneous splenorenal shunt in patients with liver cirrhosis

*Yi FF, Bai ZH, Xu XB, Qi XS*

### CLINICAL PRACTICE

1509 Value of virtual touch tissue quantification in evaluating therapeutic effects of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt

*Zhang D, Wang YM, Li H*

### CONFERENCE SUMMARY

1513 Summary of the Second Capsule Endoscopy Global Summit

*Jiang XL, Wang JS, He JH*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 24 Dec 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wang Lai-You, Professor, Department of Clinical Pharmacy and Pharmacy Administration, School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang* Review Editor: *Yu-Qiao Wang* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu*  
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** December 28, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

# CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证

杨结, 刘树业, 刘运德

杨结, 刘树业, 天津医科大学三中心临床学院检验科, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞重点实验室, 卫生部人工细胞工程技术研究中心 天津市 300170

刘运德, 天津医科大学医学检验学院 天津市 300170

杨结, 中级检验技师, 主要从事肝癌临床检验研究.

**作者贡献分布:** 此论文由刘运德与杨结设计; 研究由杨结与刘树业合作完成; 生物信息学数据分析由杨结和刘运德完成; 论文撰写由杨结和刘运德完成.

**通讯作者:** 刘运德, 教授, 主任医师, 300170, 天津市气象台路22号, 天津医科大学医学检验学院. [yundeliu@126.com](mailto:yundeliu@126.com)  
电话: 022-84112153

收稿日期: 2019-10-31  
修回日期: 2019-12-10  
接受日期: 2019-12-20  
在线出版日期: 2019-12-28

## Integrated bioinformatics analysis of expression, related signal pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma

Jie Yang, Shu-Ye Liu, Yun-De Liu

Jie Yang, Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital Affiliated To Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Tianjin Key Laboratory of Artificial Cell, Artificial Cell Engineering Technology Research Center of Public Health Ministry, Tianjin 300170, China

Yun-De Liu, School of Medical Laboratory, Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China

**Corresponding author:** Yun-De Liu, Professor, School of Medical Laboratory, Tianjin Medical University, No. 22, Qixiangtai Road, Tianjin 300170, China. [yundeliu@126.com](mailto:yundeliu@126.com)

Received: 2019-10-31

Revised: 2019-12-10

Accepted: 2019-12-20

Published online: 2019-12-28

## Abstract BACKGROUND

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most diagnosed malignant carcinomas of the digestive system with a poor prognosis. In this study, the expression of CCNA2 gene expression in HCC was investigated by bioinformatics analysis and the feasibility of CCNA2 gene as a molecular marker for prognosis in HCC was assessed. The results of bioinformatics analysis were verified by immunohistochemistry assay.

## AIM

To investigate the expression of CCNA2 in HCC, related signal pathways, and its relationship with prognosis.

## METHODS

The expression levels of CCNA2 mRNA in HCC and paracancerous tissues were compared based on the TCCA database. CCNA2 protein interaction network was constructed based on the String database, and the related protein function and KEGG signal pathways were enriched. According to the expression level of CCNA2, the patients were divided into high and low expression groups, and the difference in overall survival (OS) and disease free survival (DFS) was compared between the two groups. The relationship between the expression of CCNA2 protein analyzed by immunohistochemistry and the clinicopathological features of 72 patients with HCC who underwent surgical treatment was analyzed.

## RESULTS

The expression level of CCNA2 mRNA was significantly

higher in HCC than in normal liver tissues. There are ten proteins that have a close interaction with CCNA2 protein, with edge = 50, and the regional clustering index is 0.931. The interaction network of the ten proteins that have a close interaction with CCNA2 protein was significantly enriched ( $P < 0.05$ ). The expression of TOP2 mRNA was positively correlated with CCNA2 expression ( $r = 0.85$ ,  $P < 0.05$ ), while CCL14 expression was negatively correlated with CCNA2 expression ( $r = -0.54$ ,  $P < 0.05$ ). CCNA2 gene related signaling pathways are mainly enriched in cell cycle, viral carcinogenesis, hepatitis B, p53 signaling pathway, and PI3K-Akt signaling pathway. The prognosis analysis indicated that the OS (HR = 1.7,  $P = 0.0037$ ) and DFS rates were significantly lower in the high expression group than in the low expression group (HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). Immunohistochemistry showed that the high expression rate of CCNA2 in HCC was 34.7% (25/72). High expression of CCNA2 protein was significantly associated with tumor diameter ( $P < 0.05$ ), DC infiltration ( $P < 0.05$ ), and recurrence/metastasis 2 years after operation ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

CCNA2 gene is up-regulated in HCC, which can be used as a molecular marker for poor prognosis in HCC.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; TCGA database; CCNA2 gene; Signal pathway; Prognosis

Yang J, Liu SY, Liu YD. Integrated bioinformatics analysis of expression, related signaling pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1490-1501  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1490.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1490>

## 摘要

### 背景

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见恶性肿瘤, 预后较差. 本文拟采用生物信息学方法探讨CCNA2基因在HCC中的表达情况, 及其作为HCC患者预后分子标志物的可行性. 同时, 采用免疫组织化学法对CCNA2生物信息分析结果进行验证.

### 目的

探讨CCNA2在HCC中的表达, 相关信号通路及与患者预后关系.

### 方法

应用生物信息分析工具比对TCGA数据库中CCNA2基因mRNA在HCC组织和癌旁组织中表达水平; 在STRING数据库中构建CCNA2蛋白-蛋白相互作用网

络, 并对相关蛋白功能和KEGG信号通路进行富集. 根据CCNA2表达水平分为高低表达组, 比较CCNA2高低组患者总生存(overall survival, OS)和无疾病进展生存(disease free survival, DFS)是否不同. 回顾性分析72例手术治疗的HCC患者, 采用免疫组织化学法检测患者癌组织中CCNA2蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系, 对生物信息分析结果进行验证.

## 结果

在HCC中, CCNA2中mRNA表达水平明显高于癌旁正常肝组织; 与CCNA2蛋白相互作用较为紧密的蛋白10个, 蛋白间相互作用关系edge = 50, 区域聚类指数为0.931, 与CCNA2蛋白相互作用较为紧密的10蛋白相互作用网络富集显著( $P < 0.05$ ); TOP2基因mRNA与CCNA2正向相关表达( $r = 0.85$ ,  $P < 0.05$ ), 而CCL14基因与CCNA2负相关表达( $r = -0.54$ ,  $P < 0.05$ ). CCNA2基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等. 预后分析提示CCNA2基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ )和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). 免疫组化显示CCNA2蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%(25/72). CCNA2蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )、术后2年复发/转移( $P < 0.05$ )有关.

## 结论

CCNA2基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; TCGA数据库; CCNA2基因; 信号通路; 预后

**核心提要:** CCNA2基因在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者癌组织中表达水平显著高于癌旁正常组织, CCNA2蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )、术后2年复发/转移( $P < 0.05$ )和预后不良有关. CCNA2高表达可作为HCC预后不良的分子标志物.

杨结, 刘树业, 刘运德. CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证. *世界华人消化杂志* 2019; 27(24): 1490-1501  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1490.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1490>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌<sup>[1]</sup>. HCC在欧美等发达国家高加索人种中发病



率较低,但在东南亚,尤其是我国发病率较高<sup>[2]</sup>。虽然年轻人甚至儿童肝癌临床中偶尔可见,但HCC主要影响50岁以上的男性。肝也是胆管癌(肝内胆管癌)的主要部位,胆管癌相对少见,占有原发性肝癌的10%-20%。目前HCC的危险因素较为明确,包括:乙肝、丙肝病毒感染,肝硬化、黄曲霉毒素暴露和先天性代谢异常如 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症等<sup>[3-6]</sup>。HCC的一个共同的特点是肝纤维化和炎症的存在,低分化的肿瘤表现出明显的多形性,巨细胞与正常肝细胞几乎没有相似之处。

已有研究显示*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达<sup>[7,8]</sup>,而*CCNA2*在HCC的研究未见报道。本研究首先采用生物信息学分析*CCNA2*在HCC中的表达及相关信号通路。同时,采用免疫组织化学法检测72例HCC患者癌组织中*CCNA2*的表达及其与HCC患者预后的关系对生物信息分析结果进行验证。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 *CCNA2*表达水平分析:检索TCGA数据库,对比各组织及实体肿瘤组织中*CCNA2*基因的表达水平。检索分析条件为“肝细胞癌”,“肝癌”,“*CCNA2*”,物种为人类。同时比较*CCNA2*基因在HCC患者癌组织和癌旁组织中是否存在差异。存在差异表达的条件为*CCNA2*基因mRNA上调或下调表达超过2倍( $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$ ),且 $P < 0.05$ <sup>[9]</sup>。

1.1.2 *CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络:应用STRING数据库构建*CCNA2*蛋白相互作用的蛋白-蛋白网络,*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络构建条件为置信度大于0.7,相互作用来源为共表达、基因功能和比邻关系<sup>[10]</sup>。

1.1.3 *CCNA2*基因共表达及生存分析:在TCGA数据库中,依据与*CCNA2*基因共表达关系,对与*CCNA2*基因存在相关性的基因进行聚类。同时选取正相关和负相关表达最为明显的2个基因进行分析,计算spearman相关系数;根据*CCNA2*基因mRNA在HCC患者癌组织中表达的中位数,分为高低表达组,绘制生存分析曲线,并进行Log-rank检验比较高低表达组患者总生存(overall survival, OS)和无疾病进展生存(disease free survival, DFS)是否存在差异。

1.2 方法 免疫组化检测*CCNA2*蛋白表达验证生物信息结果:同时回顾性分析我院收治手术之类的HCC患者72例,采用免疫组织化学法检测肿瘤组织中*CCNA2*蛋白表达水平,分析比较*CCNA2*蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系。免疫组织化学检测*CCNA2*蛋白表达按试剂盒操作说明进行。*CCNA2*蛋白表达高低表达标注:在显微镜下随机选取3个高倍视野(SP $\times$ 400)下进行

观察。染色强度评分:不着色(0分)、浅黄(1分)、棕黄(2分)、棕褐色(3分);阳性细胞比例评分:阳性<10%(0分);阳性10到25%(1分);阳性26-50%(2分);阳性51-75%(3分)及阳性>75%(4分)。总体评分值=阳性细胞比例评分 $\times$ 染色强度评分;最终评判:<6分为低表达, $\geq 6$ 分为高表达。

**统计学处理** Stata 12.0软件进行分析,计量资料应用Mean $\pm$ SD表示, $t$ 检验;计数资料采用 $n$ 表示, $\chi^2$ 检验,*CCNA2*基因高低表达组生存期采用Log-rank检验, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

## 2 结果

2.1 *CCNA2*基因表达 在正常组织中*CCNA2*中mRNA在食管组织、睾丸组织和脾脏中表达最高,而在肝脏、胰腺和骨骼肌中表达最低(图1A)。在肿瘤组织中,睾丸癌、HCC和宫颈癌中表达水平相对较高,而甲状腺癌、前列腺癌和肾癌表达水平较低(图1B)。在HCC中,*CCNA2*中mRNA表达水平明显高于癌旁正常肝组织(图1C)。

2.2 *CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络 通过STRING数据库,构建*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网,与*CCNA2*蛋白相互作用较为紧密的蛋白10个,蛋白间相互作用关系edge = 50,区域聚类指数为0.931,与*CCNA2*蛋白相互作用较为紧密的10蛋白相互作用网络富集显著( $P < 0.05$ )(图2)。

2.3 *CCNA2*基因共表达分析 对与*CCNA2*基因正负相关表达的基因进行了聚类分析(图3),*TOP2*基因mRNA与*CCNA2*正向相关表达( $r = 0.85, P < 0.05$ )(图4A)。而*CCL14*基因与*CCNA2*负相关表达( $r = -0.54, P < 0.05$ )最为显著<sup>[11]</sup>(图4B)。

2.4 功能富集 *CCNA2*生物学过程主要富集于核分裂、染色体分离、有丝分裂细胞周期过程等(图5);细胞成分主要富集于凝聚染色体、染色体、着丝粒区和微管细胞骨架等(图6)。而分子功能分别主要富集于APT酶活性、DNA拓扑异构酶II型(DNA水解酶)活性和DNA拓扑异构酶活性等(图7)。

2.5 KEGG信号通路 *CCNA2*基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等(图8,表1)。

2.6 生存分析 依据*CCNA2*基因mRNA在HCC患者癌组织中表达的中位数分为高低表达组,预后分析提示*CCNA2*基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ )(图9A)和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ )(图9B)。

2.7 免疫组化*CCNA2*蛋白表达情况与HCC患者临床病理特征关系 免疫组化显示*CCNA2*蛋白主要表达于HCC细胞核,呈现棕褐色颗粒(图10)。*CCNA2*蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%(25/72)。*CCNA2*蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )和术



表 1 *CCNA2*及相关基因KEGG信号通路

信号通路	基因数	<i>P</i> 值	基因比例
细胞周期	11	4.98E-23	0.089431
病毒致癌	8	2.79E-13	0.043716
乙型肝炎	6	1.23E-09	0.042254
细胞衰老	6	1.60E-09	0.038462
p53信号通路	5	2.79E-09	0.073529
小细胞肺癌	5	9.92E-09	0.054348
人乳头瘤病毒感染	6	5.81E-08	0.018927
库欣综合征	5	8.74E-08	0.03268
EB病毒感染	5	2.47E-07	0.025773
慢性粒细胞白血病	4	4.09E-07	0.052632
HTLV-I感染	5	6.96E-07	0.02
孕酮介导的卵母细胞成熟	4	7.74E-07	0.042553
卵母细胞减数分裂	4	1.62E-06	0.034483
PI3K-Akt信号通路	5	2.56E-06	0.014368

表 2 *CCNA2*蛋白表达与肝细胞癌患者临床病理特征关系

特征	<i>n</i> = 72	<i>CCNA2</i> 蛋白		$\chi^2$	<i>P</i> 值
		高表达( <i>n</i> = 25)	低表达( <i>n</i> = 47)		
性别				0.94	0.33
男性	66	24	42		
女性	6	1	5		
年龄(岁)				0.12	0.73
≤60	50	18	32		
>60	22	7	15		
肿瘤大小(cm)				5.18	0.02
≤5	24	4	20		
>5	48	21	27		
分化程度				1.00	0.32
高中分化	54	17	37		
低分化	18	8	10		
DC浸润				4.23	0.03
少量	35	8	27		
大量	37	17	20		
AFP(μg/L)				0.88	0.35
≤400	40	12	28		
>400	32	13	19		
癌栓				1.43	0.23
有	7	1	6		
无	65	24	41		
包膜完整				2.32	0.12
是	29	8	21		
否	43	17	26		
术后2年复发/转移				5.04	0.02
是	25	13	12		
否	47	12	35		

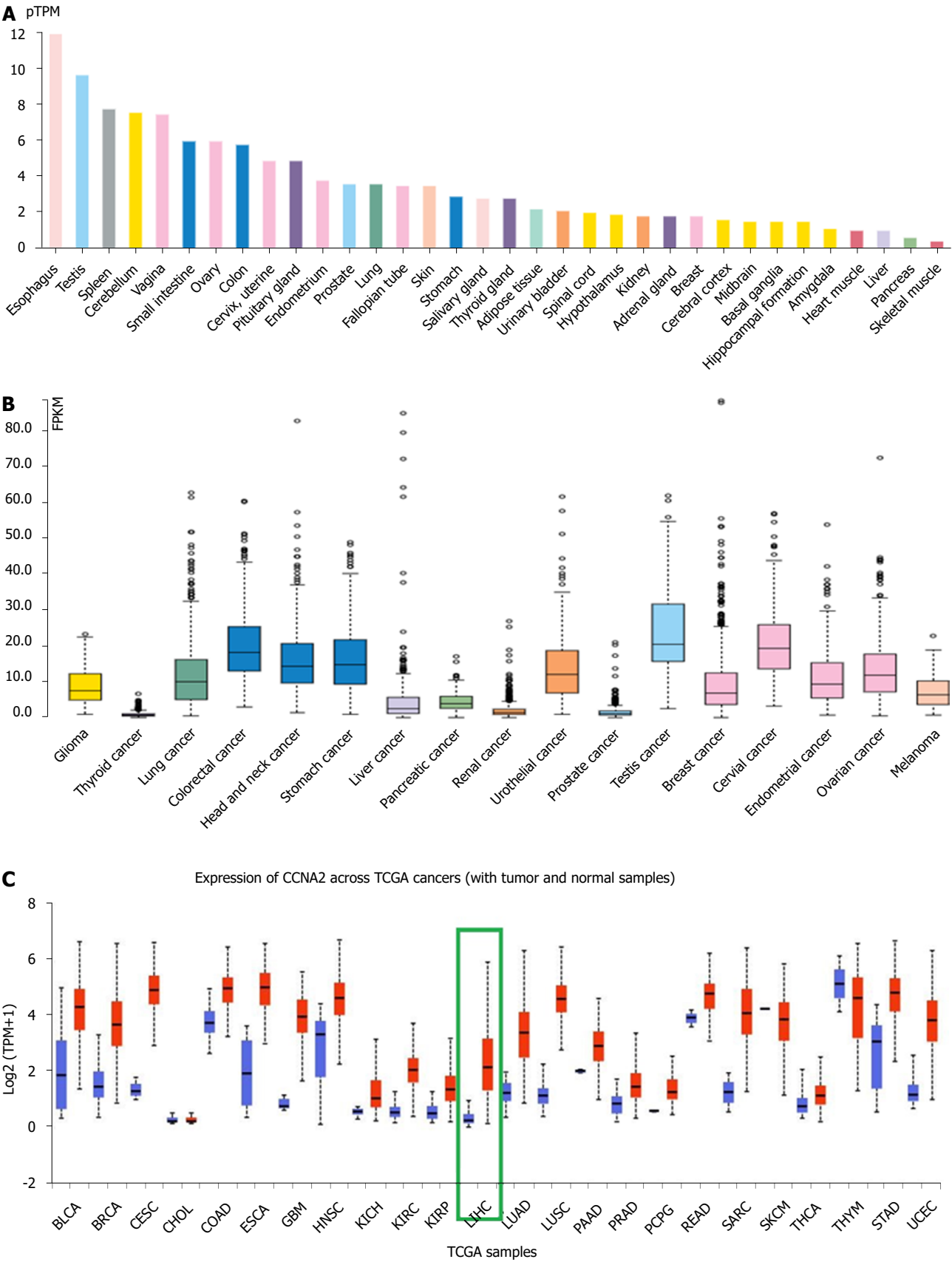


图 1 *CCNA2*基因在正常组织和不同肿瘤组织中的表达. A: *CCNA2*蛋白正常组织中的表达情况; B: *CCNA2*基因mRNA在各种肿瘤组织中的表达情况; C: *CCNA2*基因mRNA在肝细胞癌和正常肝组织中的表达对比.

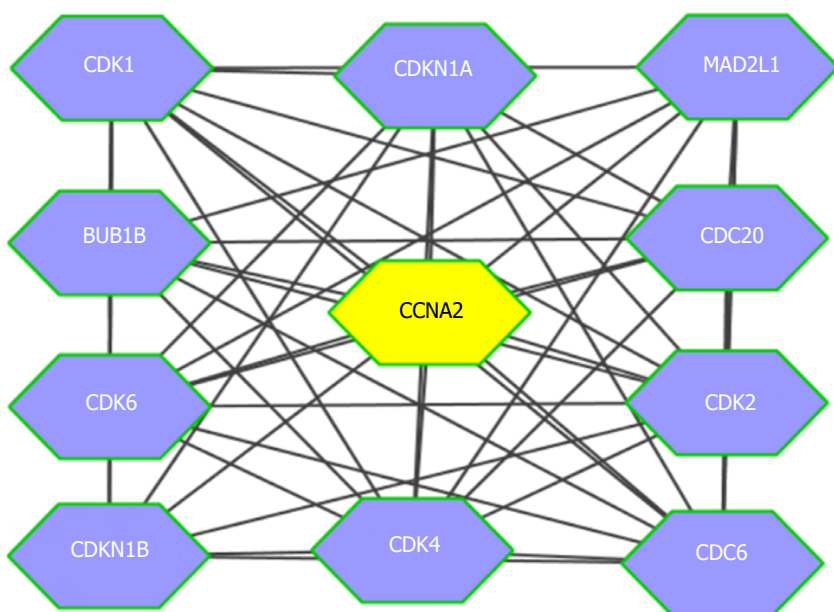
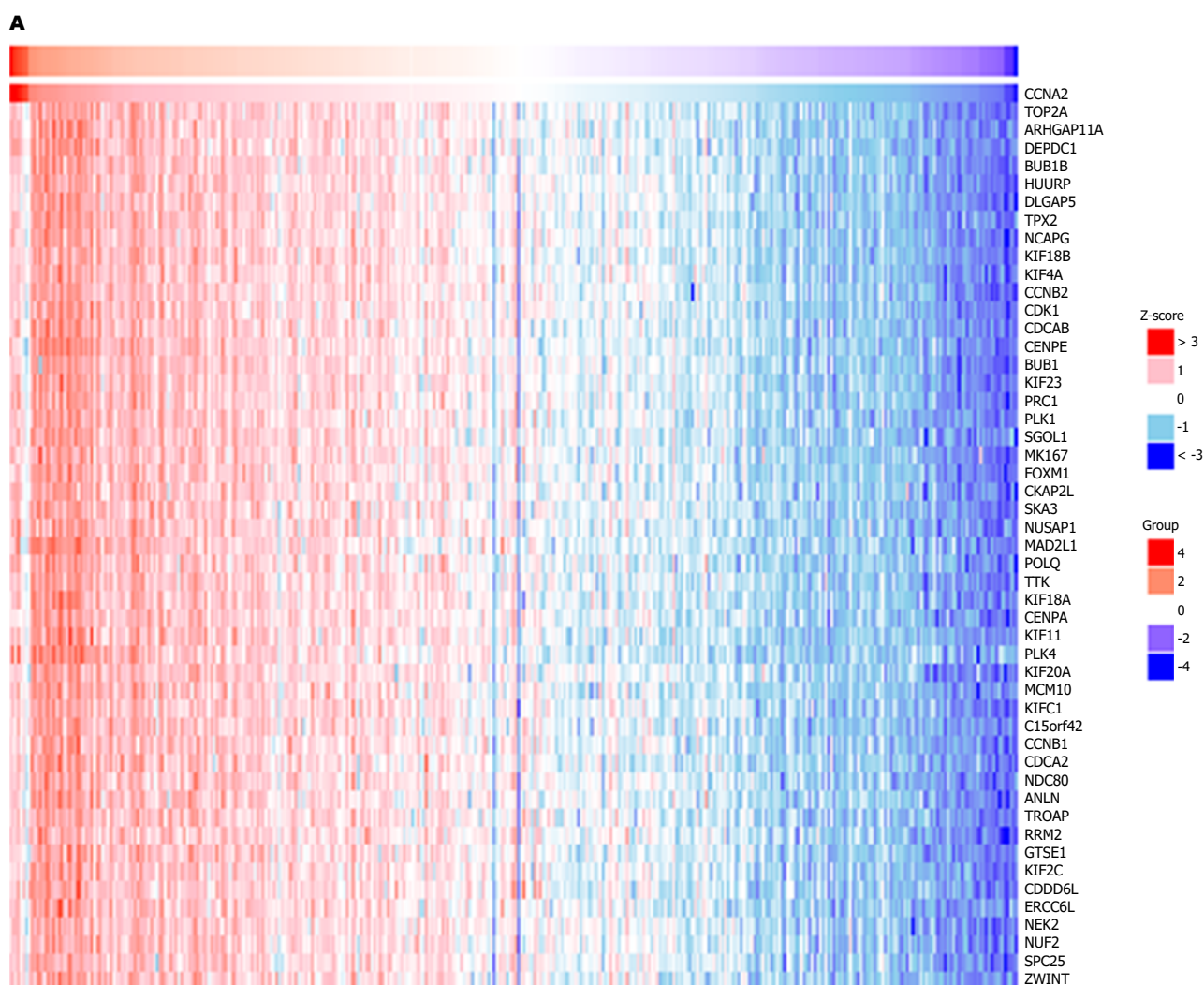


图 2 与CCNA2蛋白相互作用网络信号通路网络.



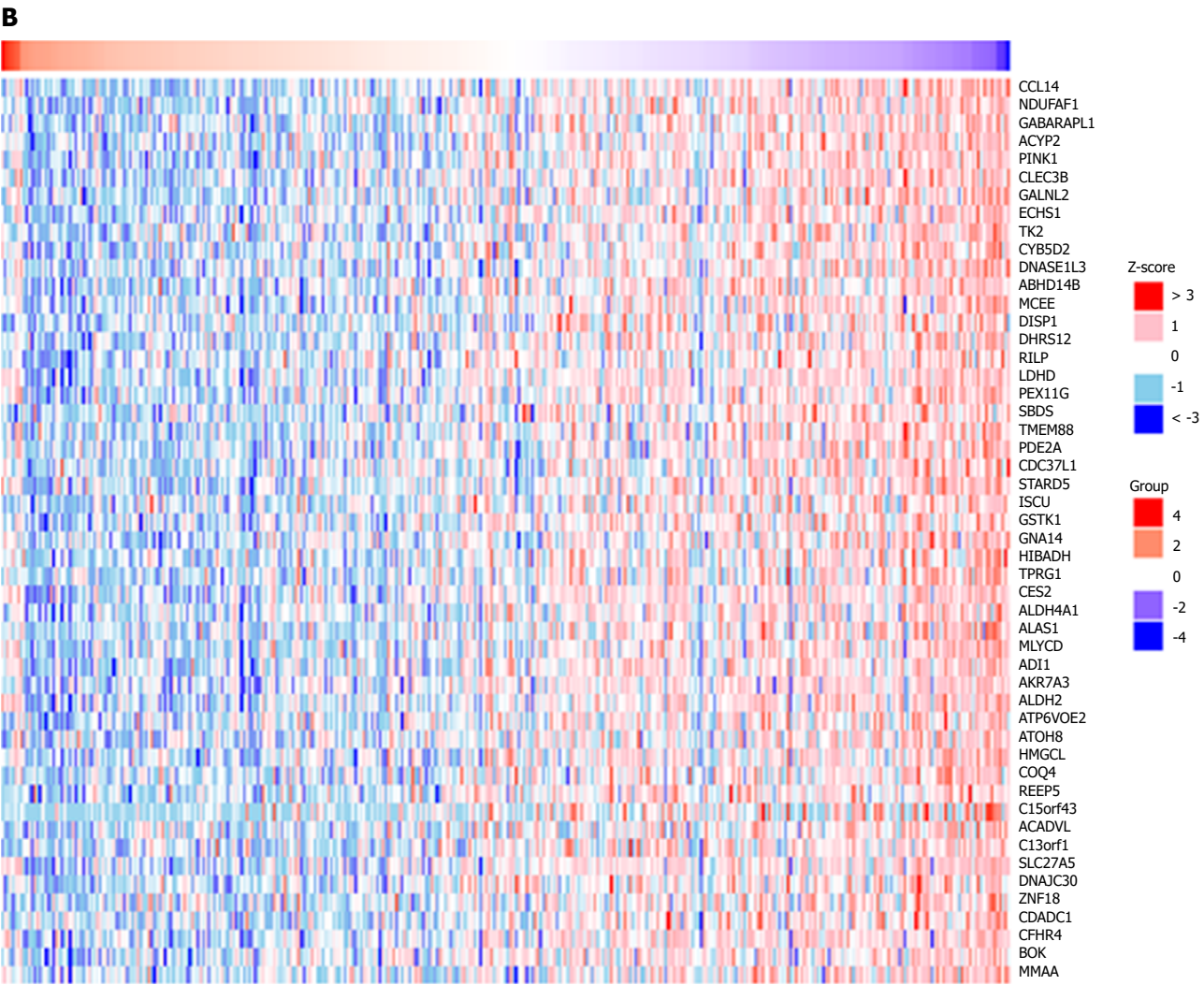


图 3 *CCNA2*基因共表达分析. A: 正相关基因共表达热图; B: *CCNA2*共表达负相关基因热图.

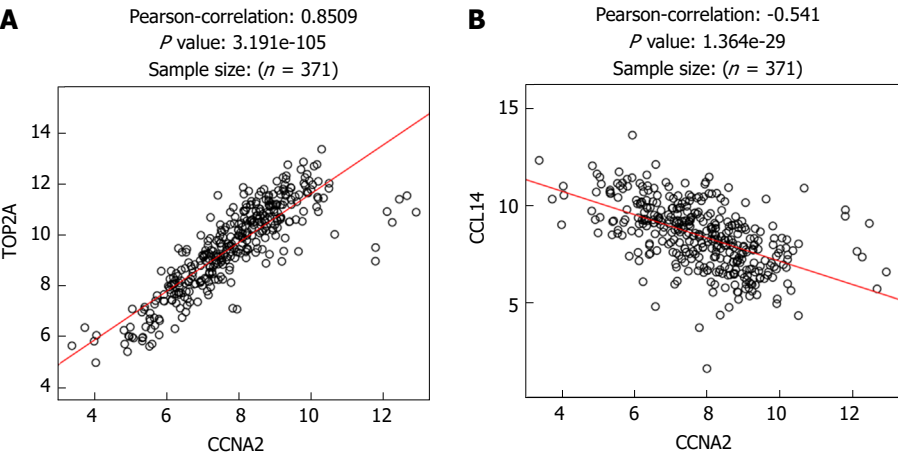


图 4 *CCNA2*共表达正负相关基因散点图. A: *TOP2A*基因与*CCNA2*正相关; B: *CCL14*与*CCNA2*基因负相关.

后2年复发/转移( $P<0.05$ )有关(表2).

### 3 讨论

HCC患者的总中位生存期为4 mo左右, 总5年生存率为

3%. HCC的预后较差, 相关预后因素包括肿瘤大小、是否存在癌栓等<sup>[12]</sup>. 近年来随着分子生物学技术和生物信息学的发展, 越来越多的证据显示, HCC的发生发展是一个多基因多步骤的过程, 由肝纤维化逐渐发展为肝硬



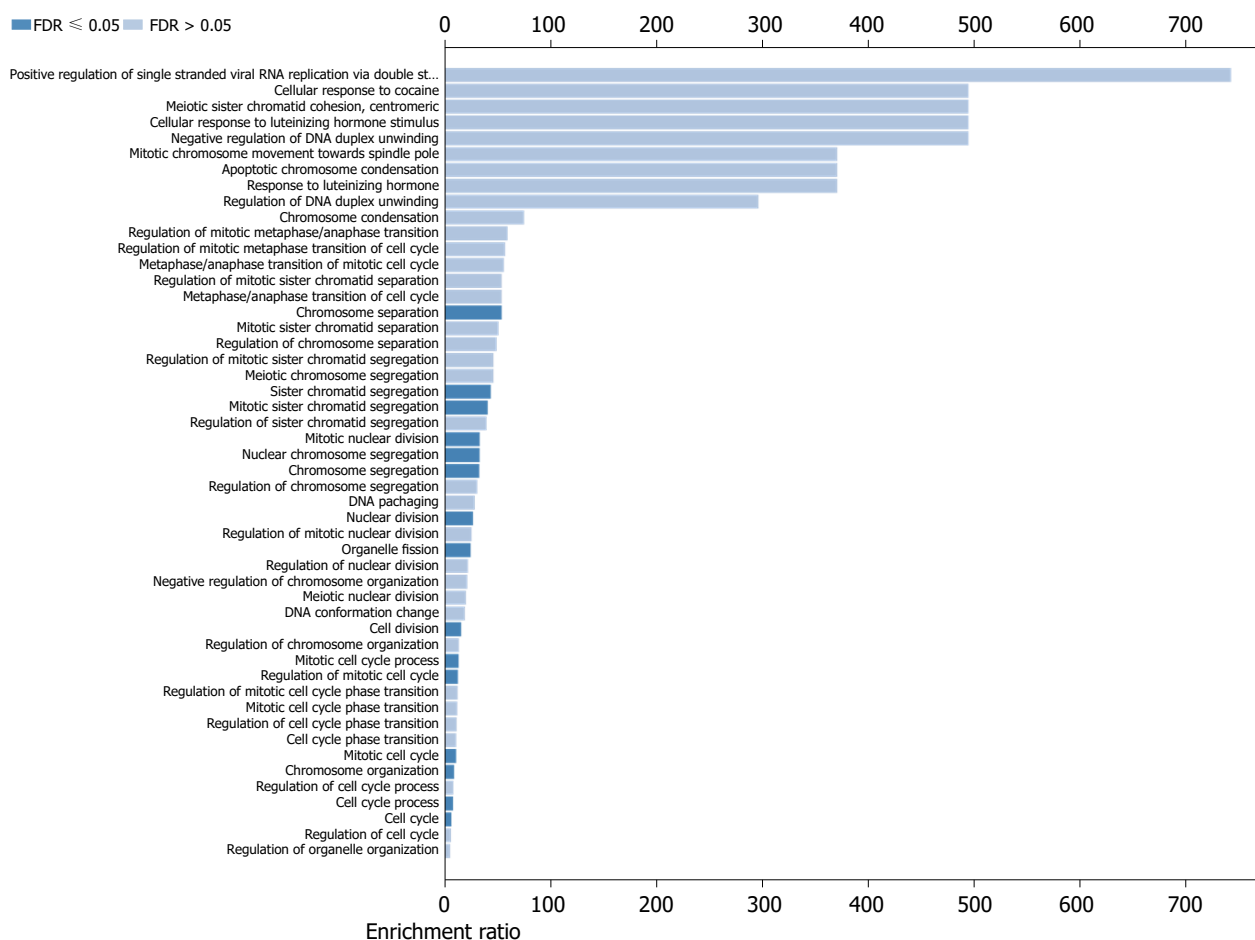


图 5 *CCNA2*和共表达基因生物学过程富集柱状图。

化进而发展为HCC. 同时也有研究显示<sup>[13]</sup>, 从肝纤维化到HCC转化的过程中, 肝组织中的基因表达谱呈现明显的改变, 检测这些基因表达谱的改变, 有助于判断HCC的病理进程, 同时也对HCC的诊断和预后具有一定的预测价值。

已有研究显示<sup>[8]</sup>*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达, 而*CCNA2*在HCC的研究未见报道. *CCNA2*定位于人4号染色体, q27区, 基因全长7489 bp, 该基因编码蛋白属于高度保守的细胞周期蛋白家族, 在人体几乎所有组织中均有表达<sup>[14]</sup>. 它在G1/S期和G2/M期的细胞周期控制中起着关键作用. 同时又研究报道, miR-22在HCC中对其具有调控作用<sup>[15,16]</sup>. 来自人类蛋白质图谱的数据显示<sup>[17]</sup>, *CCNA2*在人体多种恶性肿瘤中呈现过度表达, 表明其在癌症转化和进展中的潜在作用. 也有报道称, *CCNA2*可能参与上皮-间质转化和转移的过程<sup>[18]</sup>. 然而, *CCNA2*在HCC中的研究未见报道, 其在HCC组织和癌旁正常组织中的表达水平、生物学功能及与患者预后的关系并不清楚. 在本研究中, 首先采用生物信息学分析*CCNA2*在HCC中的表达及相关信号通路. 我们发现在HCC中, *CCNA2*中mRNA表达水平明显高于癌旁正常

肝组织, 提示*CCNA2*在HCC的发生发展中可能发挥重要作用, 这与既往*CCNA2*在其他肿瘤中的研究结果基本一致; *CCNA2*基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等, 上述信号通路符合HCC已知在HCC中的作用机制. 共表达分析显示, *TOP2*基因mRNA与*CCNA2*正向相关表达( $r = 0.85, P < 0.05$ ), 而*CCL14*基因与*CCNA2*负相关表达( $r = -0.54, P < 0.05$ )最为显著. 提示*TOP2*基因可能在生物学功能方面与*CCNA2*具有协同效应, 而*CCL14*与*CCNA2*具有拮抗作用. 但上述协同和拮抗作用有待相关实验进一步证实.

预后分析提示*CCNA2*基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ ); 和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). 免疫组化显示*CCNA2*蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%. *CCNA2*蛋白高表达者肿瘤直径较大、DC浸润较为严重及术后复发率较高. 上述因素佐证了*CCNA2*高表达是HCC患者预后不良的危险因素.

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物. 同时, *CCNA2*也可作为HCC靶向药物开发的潜在靶点, 进一步对其调控

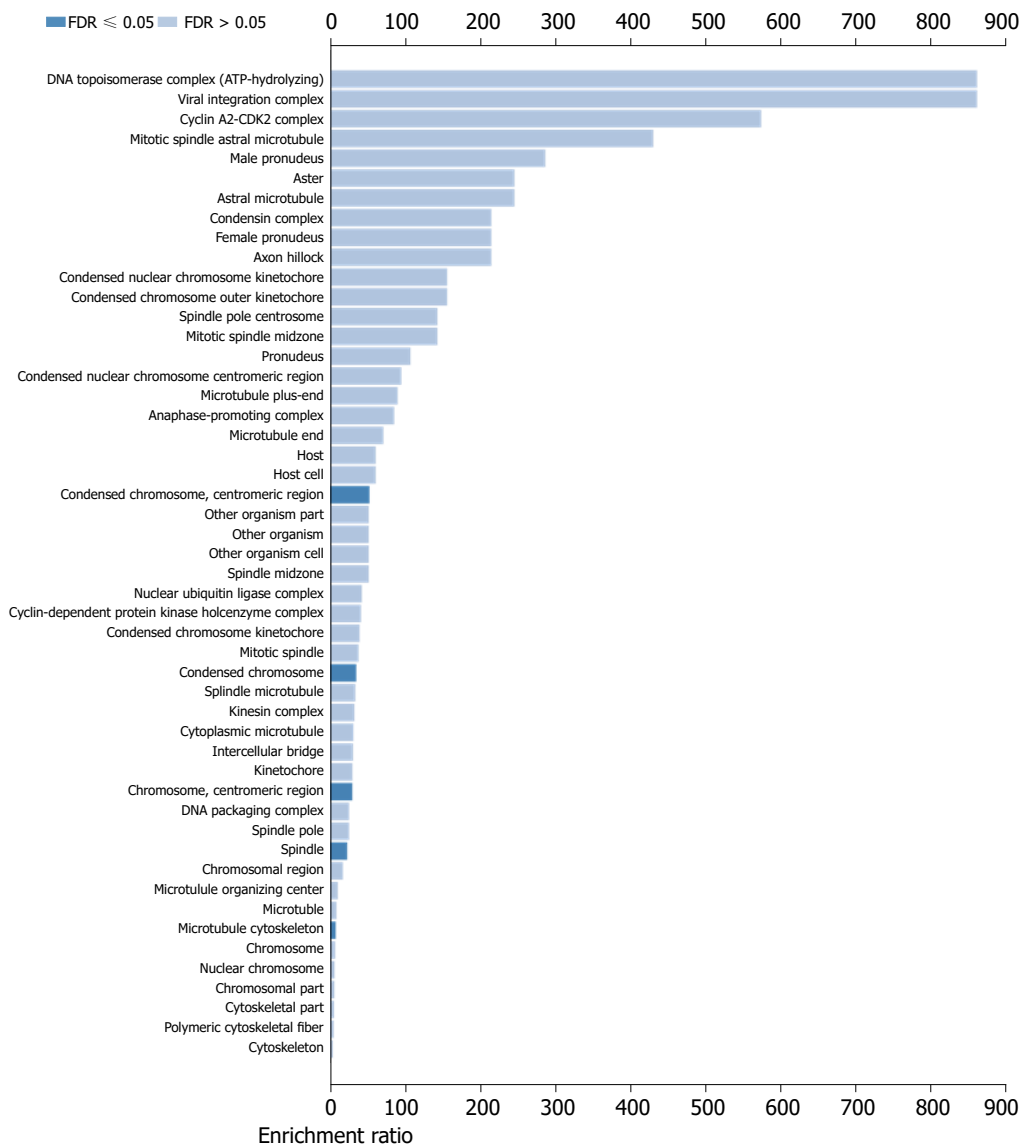


图 6 *CCNA2*和共表达基因细胞成分富集柱状图.

HCC相关分子生物学功能开展相关研究, 有望开发出抑制HCC的靶向药物.

### 文章亮点

#### 实验背景

已有研究显示*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达, 而*CCNA2*在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的研究未见报道, 其生物学功能及其作为HCC预后分子标志物可行性不清.

#### 实验动机

通过生物信息学分析和免疫组织化学实验, 分析*CCNA2*在HCC中的表达情况, 判断其表达与HCC患者

临床病理特征的关系及其作为HCC预后分子标志物的可行性.

#### 实验目标

探讨*CCNA2*在HCC中的表达及其作为HCC预后分子标志物的临床价值.

#### 实验方法

比对TCGA数据库中*CCNA2*基因mRNA在HCC组织和癌旁组织中表达水平; 构建*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络, 并对相关蛋白功能和KEGG信号通路进行富集. 比较*CCNA2*高低组患者总生存和无疾病进展生存是否不同. 采用免疫组织化学法检测患者癌组织中*CCNA2*蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系, 对生物信息

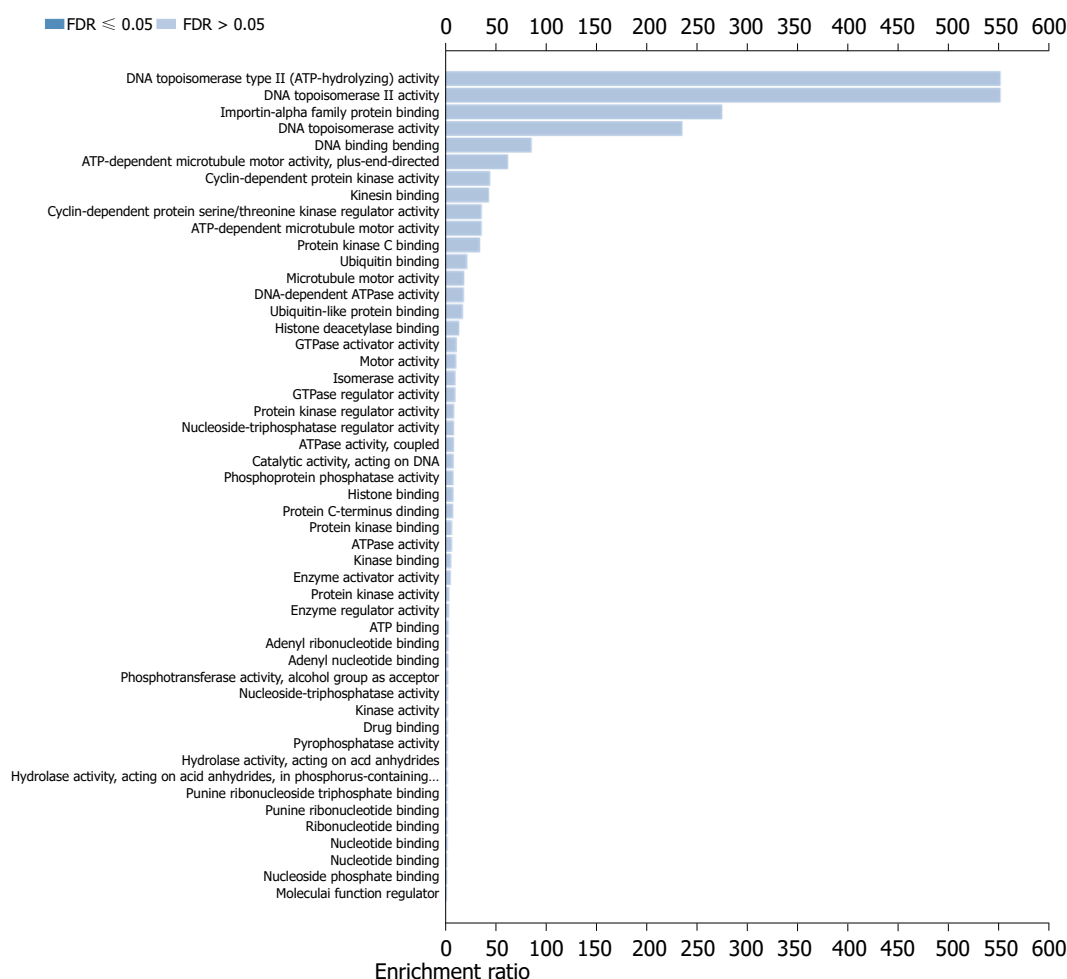


图 7 CCNA2和共表达基因分子功能富集柱状图.

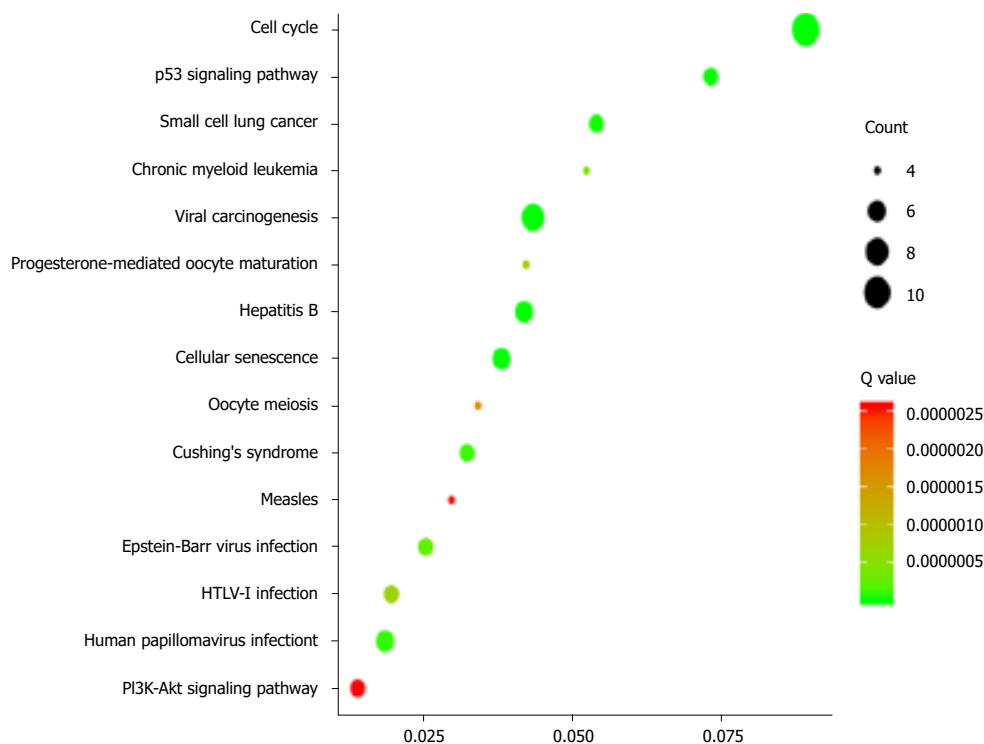


图 8 CCNA2及相关基因KEGG信号通路气泡图.

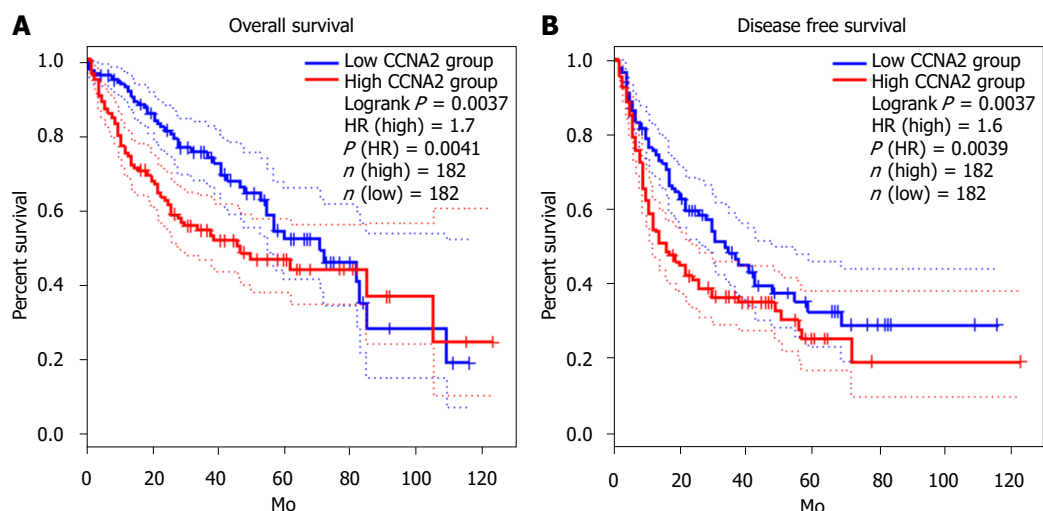


图 9 *CCNA2*基因mRNA表达与肝细胞癌患者总生存和无疾病进展生存的关系. A: *CCNA2*基因mRNA表达与患者总生存; B: *CCNA2*基因mRNA表达与患者无疾病进展生存.

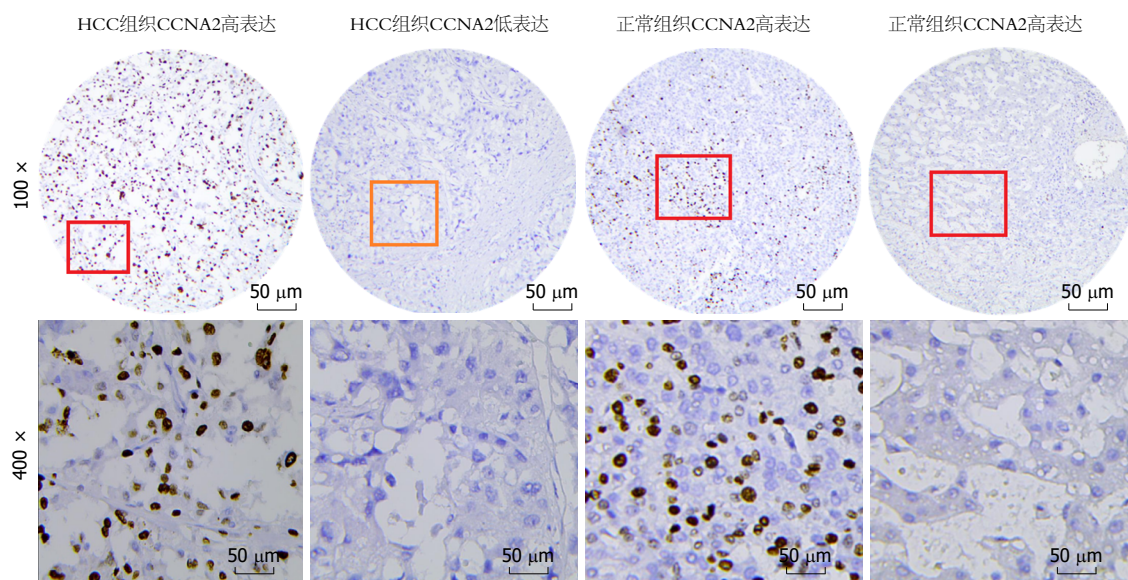


图 10 免疫组化CCNA2蛋白表在肝细胞癌和癌旁正常肝组织中的达情况.

分析结果进行验证.

### 实验结果

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平显著高于癌旁正常组织, *CCNA2*蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径 ( $P<0.05$ )、DC浸润 ( $P<0.05$ )、术后2年复发/转移 ( $P<0.05$ ) 和预后不良有关.

### 实验结论

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物.

### 展望前景

*CCNA2*在干细胞癌患者癌组织中高表达, 且高表达与

预后不良有关. 研究结果为开发抑制HCC中*CCNA2*表达靶向治疗药物提供了新的潜在靶点.

### 4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 7-34 [PMID: 30620402 DOI: 10.3322/caac.21551]
- 2 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 3 Serrano PE, Gu CS, Husien M, Jalink D, Ritter A, Martel G, Tsang ME, Law CH, Hallet J, McAlister V, Sela N, Solomon H, Moulton CA, Gallinger S, Levine M. Risk factors for survival following recurrence after first liver resection for colorectal cancer liver metastases. *J Surg Oncol* 2019; 120: 1420-1426 [PMID: 31612509 DOI: 10.1002/jso.25735]
- 4 Smith JW, Kroker-Lobos MF, Lazo M, Rivera-Andrade A, Egner PA, Wedemeyer H, Torres O, Freedman ND, McGlynn



- KA, Guallar E, Groopman JD, Ramirez-Zea M. Aflatoxin and viral hepatitis exposures in Guatemala: Molecular biomarkers reveal a unique profile of risk factors in a region of high liver cancer incidence. *PLoS One* 2017; 12: e0189255 [PMID: 29236788 DOI: 10.1371/journal.pone.0189255]
- 5 Suh JK, Lee J, Lee JH, Shin S, Tchae HJ, Kwon JW. Risk factors for developing liver cancer in people with and without liver disease. *PLoS One* 2018; 13: e0206374 [PMID: 30372481 DOI: 10.1371/journal.pone.0206374]
- 6 VoPham T. Environmental risk factors for liver cancer and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Epidemiol Rep* 2019; 6: 50-66 [PMID: 31080703 DOI: 10.1007/s40471-019-0183-2]
- 7 Gan Y, Li Y, Li T, Shu G, Yin G. CCNA2 acts as a novel biomarker in regulating the growth and apoptosis of colorectal cancer. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 5113-5124 [PMID: 30464611 DOI: 10.2147/CMAR.S176833]
- 8 Gao T, Han Y, Yu L, Ao S, Li Z, Ji J. CCNA2 is a prognostic biomarker for ER+ breast cancer and tamoxifen resistance. *PLoS One* 2014; 9: e91771 [PMID: 24622579 DOI: 10.1371/journal.pone.0091771]
- 9 Wu K, Yin X, Jin Y, Liu F, Gao J. Identification of aberrantly methylated differentially expressed genes in prostate carcinoma using integrated bioinformatics. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 51 [PMID: 30872976 DOI: 10.1186/s12935-019-0763-8]
- 10 Hoffmann R, Valencia A. A gene network for navigating the literature. *Nat Genet* 2004; 36: 664 [PMID: 15226743 DOI: 10.1038/ng0704-664]
- 11 Vasaikar SV, Straub P, Wang J, Zhang B. LinkedOmics: analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types. *Nucleic Acids Res* 2018; 46: D956-D963 [PMID: 29136207 DOI: 10.1093/nar/gkx1090]
- 12 Hiraoka A, Kumada T, Atsukawa M, Hirooka M, Tsuji K, Ishikawa T, Takaguchi K, Kariyama K, Itobayashi E, Tajiri K, Shimada N, Shibata H, Ochi H, Tada T, Toyoda H, Nouse K, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Hayama K, Imai M, Joko K, Koizumi Y, Hiasa Y, Michitaka K, Kudo M; Real-life Practice Experts for HCC (RELPEC) Study Group, HCC 48 Group (hepatocellular carcinoma experts from 48 clinics in Japan). Prognostic factor of lenvatinib for unresectable hepatocellular carcinoma in real-world conditions-Multicenter analysis. *Cancer Med* 2019; 8: 3719-3728 [PMID: 31127698 DOI: 10.1002/cam4.2241]
- 13 Ogawa S, Kumada T, Toyoda H, Ichikawa H, Kawachi T, Otake K, Hibi T, Takeshima K, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Yamaguchi A, Isogai M, Kaneoka Y, Washizu J. Evaluation of pathological features of hepatocellular carcinoma by contrast-enhanced ultrasonography: comparison with pathology on resected specimen. *Eur J Radiol* 2006; 59: 74-81 [PMID: 16545532 DOI: 10.1016/j.ejrad.2006.02.003]
- 14 Ko E, Kim Y, Cho EY, Han J, Shim YM, Park J, Kim DH. Synergistic effect of Bcl-2 and cyclin A2 on adverse recurrence-free survival in stage I non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 1005-1012 [PMID: 23115005 DOI: 10.1245/s10434-012-2727-2]
- 15 Yang F, Hu Y, Liu HX, Wan YJ. MiR-22-silenced cyclin A expression in colon and liver cancer cells is regulated by bile acid receptor. *J Biol Chem* 2015; 290: 6507-6515 [PMID: 25596928 DOI: 10.1074/jbc.M114.620369]
- 16 Yang F, Gong J, Wang G, Chen P, Yang L, Wang Z. Waltonitine inhibits proliferation of hepatoma cells and tumorigenesis via FXR-miR-22-CCNA2 signaling pathway. *Oncotarget* 2016; 7: 75165-75175 [PMID: 27738335 DOI: 10.18632/oncotarget.12614]
- 17 Saviranta P, Kallioniemi O. Human Protein Atlas charts a diverse terrain. *Trends Biotechnol* 2006; 24: 195-197 [PMID: 16545876 DOI: 10.1016/j.tibtech.2006.03.002]
- 18 Bendris N, Arsic N, Lemmers B, Blanchard JM. Cyclin A2, Rho GTPases and EMT. *Small GTPases* 2012; 3: 225-228 [PMID: 22735340 DOI: 10.4161/sgtp.20791]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Telephone: +1-925-223-8242  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

