

血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平对早期肝细胞癌的诊断价值

李睿尧, 李丹, 李膺函, 吴雪峰, 于秀艳 (吉林省肿瘤医院 检验科, 吉林 长春 130012)

摘要: 目的 探讨微小RNA (micro RNA, miRNA) -574-5p、miRNA-106b、高敏甲胎蛋白异质体 (highly sensitive-alpha fetoprotein heterogeneity L3, hs-AFP-L3) 水平检测对早期肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的诊断价值。方法 选择吉林省肿瘤医院2020年3月至2022年3月收治的HCC患者186例 (HCC组)、肝硬化患者120例 (肝硬化组)、接受体检的健康人员120例 (对照组) 为研究对象。比较各组血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3 水平, 并比较HCC组不同病理特征患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平, 绘制受试者工作特征 (receiver operator characteristic, ROC) 曲线分析miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3对早期HCC的诊断价值。结果 HCC组、肝硬化组和对照组患者血清miRNA-574-5p (1.09 ± 0.33 比 0.84 ± 0.27 比 0.61 ± 0.18)、miRNA-106b (1.22 ± 0.39 比 0.71 ± 0.22 比 0.56 ± 0.19)、hs-AFP-L3 [(23.08 ± 4.36) $\mu\text{g/L}$ 比 (2.61 ± 0.79) $\mu\text{g/L}$ 比 (0.47 ± 0.14) $\mu\text{g/L}$] 水平差异有统计学意义, HCC组患者各项指标均显著高于肝硬化组和对照组, 肝硬化组患者各项指标均显著高于对照组 (P 均 < 0.05)。HCC肿瘤个数为多发、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、中晚期、有远处转移、有静脉瘤栓患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平分别高于单发 [miRNA-574-5p: 1.24 ± 0.43 比 0.83 ± 0.27 ; miRNA-106b: 1.46 ± 0.45 比 0.97 ± 0.31 ; hs-AFP-L3: (25.73 ± 5.21) $\mu\text{g/L}$ 比 (19.15 ± 4.25) $\mu\text{g/L}$]、肿瘤最大径 < 5 cm [miRNA-574-5p: 1.29 ± 0.46 比 0.82 ± 0.24 ; miRNA-106b: 1.51 ± 0.44 比 0.95 ± 0.29 ; hs-AFP-L3: (26.82 ± 5.03) $\mu\text{g/L}$ 比 (19.12 ± 3.99) $\mu\text{g/L}$]、早期 [miRNA-574-5p: 1.31 ± 0.44 比 0.90 ± 0.28 ; miRNA-106b: 1.49 ± 0.51 比 0.99 ± 0.32 ; (26.60 ± 4.98) $\mu\text{g/L}$ 比 (18.94 ± 4.02) $\mu\text{g/L}$]、无远处转移 [miRNA-574-5p: 1.36 ± 0.46 比 0.88 ± 0.25 ; 1.45 ± 0.41 比 0.96 ± 0.32 ; hs-AFP-L3: (26.79 ± 5.44) $\mu\text{g/L}$ 比 (19.04 ± 3.83) $\mu\text{g/L}$]、无静脉瘤栓患者 [miRNA-574-5p: 1.39 ± 0.43 比 0.92 ± 0.31 ; miRNA-106b: 1.43 ± 0.39 比 1.0 ± 0.34 ; hs-AFP-L3: (26.41 ± 4.54) $\mu\text{g/L}$ 比 (20.11 ± 4.01) $\mu\text{g/L}$] ($P < 0.05$); 肝功能Child-Pugh分级A级、B级、C级患者血清miRNA-574-5p (0.85 ± 0.26 比 1.08 ± 0.37 比 1.27 ± 0.40)、miRNA-106b (0.92 ± 0.29 比 1.15 ± 0.35 比 1.41 ± 0.38)、hs-AFP-L3 [(18.69 ± 3.72) $\mu\text{g/L}$ 比 (23.17 ± 4.88) $\mu\text{g/L}$ 比 (26.45 ± 5.32) $\mu\text{g/L}$] 含量逐渐增加 (P 均 < 0.05)。miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3联合检测诊断早期HCC的曲线下面积为0.919 (95%CI为0.873~0.980), 敏感度和特异度分别为0.882、0.901。结论 miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3联合检测对早期HCC的诊断具有较高的临床价值。

关键词: 肝细胞癌; miRNA-574-5p; miRNA-106b; 高敏甲胎蛋白异质体

Diagnostic value of serum miRNA-574-5p, miRNA-106b and hs-AFP-L3 level on early hepatocellular carcinoma

Li Ruiyao, Li Dan, Li Yinghan, Wu Xuefeng, Yu Xiuyan (Department of Laboratory, Jilin Cancer Hospital, Changchun 130012, Jilin Province, China)

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2024.01.002

基金项目: 吉林省卫生健康科技能力提升项目 (2022LC020)

通信作者: 于秀艳 Email: 954639986@qq.com

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of micro RNA (miRNA)-574-5p, miRNA-106b and high-sensitivity alpha fetoprotein heterogeneity (hs-AFP-L3) on early hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Total of 186 patients with HCC (HCC group), 120 patients with liver cirrhosis (liver cirrhosis group) and 120 healthy controls (control group) admitted to Jilin Cancer Hospital from March, 2020 to March, 2022 were selected. The serum miRNA-574-5p, miRNA-106b and hs-AFP-L3 levels of patients in each group were compared, and the above indexes in patients with different pathological characteristics of HCC group were also compared. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of miRNA-574-5p, miRNA-106b and hs-AFP-L3 on early HCC. **Results** The differences of serum miRNA-574-5p (1.09 ± 0.33 vs. 0.84 ± 0.27 vs. 0.61 ± 0.18), miRNA-106b (1.22 ± 0.39 vs. 0.71 ± 0.22 vs. 0.56 ± 0.19) and hs-AFP-L3 [(23.08 ± 4.36) $\mu\text{g/L}$ vs. (2.61 ± 0.79) $\mu\text{g/L}$ vs. (0.47 ± 0.14) $\mu\text{g/L}$] levels of patients in three groups were statistically significant, the above indexes of patients in HCC group were significantly higher than those of liver cirrhosis group and control group, and the above indexes of patients in liver cirrhosis group were significantly higher than those of control group (all $P < 0.05$). Serum miRNA-574-5p, miRNA-106b, hs-AFP-L3 levels in patients with multiple lesion, maximum tumor diameter ≥ 5 cm, distant metastasis and venous tumor thrombus were significantly higher than those of patients with single lesion [miRNA-574-5p: 1.24 ± 0.43 vs. 0.83 ± 0.27 ; miRNA-106b: 1.46 ± 0.45 vs. 0.97 ± 0.31 ; hs-AFP-L3: (25.73 ± 5.21) $\mu\text{g/L}$ vs. (19.15 ± 4.25) $\mu\text{g/L}$], maximum tumor diameter < 5 cm [miRNA-574-5p: 1.29 ± 0.46 vs. 0.82 ± 0.24 ; miRNA-106b: 1.51 ± 0.44 vs. 0.95 ± 0.29 ; hs-AFP-L3: (26.82 ± 5.03) $\mu\text{g/L}$ vs. (19.12 ± 3.99) $\mu\text{g/L}$], middle and late stage [miRNA-574-5p: 1.31 ± 0.44 vs. 0.90 ± 0.28 ; miRNA-106b: 1.49 ± 0.51 vs. 0.99 ± 0.32 ; hs-AFP-L3: (26.60 ± 4.98) $\mu\text{g/L}$ vs. (18.94 ± 4.02) $\mu\text{g/L}$], no distant metastasis [miRNA-574-5p: 1.36 ± 0.46 vs. 0.88 ± 0.25 ; miRNA-106b: 1.45 ± 0.41 vs. 0.96 ± 0.32 ; hs-AFP-L3: (26.79 ± 5.44) $\mu\text{g/L}$ vs. (19.04 ± 3.83) $\mu\text{g/L}$] and no venous tumor thrombus [miRNA-574-5p: 1.39 ± 0.43 vs. 0.92 ± 0.31 ; miRNA-106b: 1.43 ± 0.39 vs. 1.0 ± 0.34 ; hs-AFP-L3: (26.41 ± 4.54) $\mu\text{g/L}$ vs. (20.11 ± 4.01) $\mu\text{g/L}$] (all $P < 0.05$). The serum levels of miRNA-574-5p (0.85 ± 0.26 vs. 1.08 ± 0.37 vs. 1.27 ± 0.40), miRNA-106b (0.92 ± 0.29 vs. 1.15 ± 0.35 vs. 1.41 ± 0.38), hs-AFP-L3 [(18.69 ± 3.72) $\mu\text{g/L}$ vs. (23.17 ± 4.88) $\mu\text{g/L}$ vs. (26.45 ± 5.32) $\mu\text{g/L}$] gradually increased in patients with Child-Pugh grade A, B and C (all $P < 0.05$). The area under the ROC curve of miRNA-574-5p, miRNA-106b and hs-AFP-L3 combined detection for the diagnosis of early HCC was 0.919 (95% CI 0.873~0.980), and the sensitivity and specificity were 0.882 and 0.901, respectively. **Conclusions** The combined detection of miRNA-574-5p, miRNA-106b and hs-AFP-L3 had a high clinical value for the diagnosis of early HCC.

Keywords Hepatocellular carcinoma; miRNA-574-5p; miRNA-106b; Highly sensitive alpha fetoprotein heteroplasm

肝癌是临床常见的消化系统恶性肿瘤,也是中国居民由于恶性肿瘤死亡的常见原因,其发病率和死亡率分别位于恶性肿瘤的第5位和第3位^[1]。我国是肝癌高发地区,有统计显示我国2016年肝癌发病例数高达38.9万,因肝癌死亡病例也高达33.6万,其中男性发病率和死亡率明显高于女性^[2]。近10年来随着我国对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染和传播等因素的有效控制,肝癌的发病率和死亡率呈现下降趋势,但总体5年生存率也仅为12.1%^[3]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要类型,起病隐匿,早

期缺乏典型临床症状,多数患者就诊时已处于中晚期,从而错过了治疗的最佳时机。因此,早诊断、早治疗是改善预后的关键^[4,5]。目前HCC早期诊断主要依靠甲胎蛋白、糖类抗原等肿瘤标志物检测,但多数特异性较低,寻求敏感、特异的生物学指标有利于HCC的早期诊断和治疗,从而有效改善患者预后^[6]。微小RNA(micro RNA, miRNA)是内源性小分子非编码RNA,可通过碱基配对方式调控基因转录和翻译,与人体内细胞分化、肿瘤的发生和进展等多种生物学行为密切相关^[7,8]。研究表明miRNA-574-5p在HCC组织中高表达,并可

作为患者预后不良的生物标志物^[9]；miRNA-106b是肝组织特异性miRNA，可调控肝细胞内基因表达，在HCC的发生、发展中发挥重要作用^[10]。但miRNA-574-5p、miRNA-106b能否用于HCC诊断尚不得而知。甲胎蛋白异质体(alpha fetoprotein heterogeneity L3, AFP-L3)是肝癌细胞产生的一种特异性甲胎蛋白，对HCC的预警和诊断具有较高的特异性，尤其在甲胎蛋白低浓度或小肝癌的诊断中具有较高的临床价值^[11]。本研究探讨血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、AFP-L3检测在早期HCC诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院2020年3月至2022年3月收治的306例高度怀疑为HCC的患者，最后确诊为HCC患者186例(HCC组)和肝硬化患者120例(肝硬化组)。另选择同期在本院接受体检的健康人群120例为对照组。纳入标准：①HCC组符合《原发性肝癌诊疗指南(2022年版)》^[12]相关诊断标准：有乙型肝炎、丙型肝炎病史，或任何原因引起的肝硬化，如发现 ≤ 2 cm小结节，至少2项影像检查发现肝癌典型影像表现，或肝穿刺活检发现癌细胞，即可确诊，如结节直径 > 2 cm，只要有1项影像检查符合肝癌典型影像表现，或肝穿刺活检发现癌细胞也可确诊；②肝硬化组符合以下4条之一即可诊断为肝硬化，a. 符合肝硬化组织病理学诊断标准；b. 存在食管、胃底静脉曲张，并可排除非肝硬化性门脉高压；c. 影像学检查提示门脉高压或肝硬化；d. 具备以下4项中的2项：血小板计数 $< 100 \times 10^9/L$ ，血清白蛋白 < 35 g/L，国际标准化比值 > 1.3 或凝血酶原时间延长，成人天门冬氨酸氨基转移酶与丙氨酸氨基转移酶的比值 > 2 ；③肝硬化组血清甲胎蛋白无升高，影像学检查无肝内结节或肿块，排除早期肝癌；④所有患者均未接受HCC或肝硬化相关治疗；⑤意识清楚，沟通顺畅；⑥自愿参加本研究。排除标准：①临床资料不全；②严重心、肺、肾功能不全；③合并血液病或其他脏器(除肝脏外)恶性肿瘤；④合并严重感染性疾病；⑤精神类疾病未有效控制；⑥合并糖尿病、慢性阻塞性肺疾病、高血压病等慢性内科疾病；⑦预计生存时间 < 1 个月。本研究通过医院伦理委员会批准(LLYJ2023-0526-037)。

1.2 方法

各组研究对象均抽取清晨或上午空腹静脉血6 ml，置于无菌试管内(不抗凝)，以3000 r/min高速离心10 min，离心半径为10 cm，4℃静置60 min，收集血清-80℃低温保存待测。血清miRNA-574-

5p和miRNA-106b相对表达量检测：将血液标本解冻，Trizol法提取总RNA，应用miRcute miRNA提取分离试剂盒(北京天根公司生产)提取总RNA，并用异丙醇沉淀RNA，紫外线分光仪测定RNA纯度为1.6~2.0。应用miRNA特异性试剂盒(美国Ambion公司生产)反转录为cDNA，以U6为内参，采用荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术测定血清miRNA-574-5p和miRNA-106b相对表达量，仪器应用Applied Biosystems VeritiPro PCR分析仪。引物序列见表1。反应条件：95℃、5 min，95℃、30 s，60℃、30 s，72℃、30 s，共40个循环。血清miRNA-574-5p，miRNA-106b相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示， ΔCT 为 CT_{miRNA} 与 CT_{U6} 之差， $\Delta\Delta CT$ 为HCC组或肝硬化组 ΔCT 与对照组 ΔCT 之差。血清高敏甲胎蛋白异质体(highly sensitive-alpha fetoprotein heterogeneity L3, hs-AFP-L3)水平检测：取上述分离的血清，应用微量离心柱法分离hs-AFP-L3，电化学发光法测定血清hs-AFP-L3含量，仪器应用成都斯玛特科技有限公司生产的Seamaty全自动生化分析仪。比较HCC组、肝硬化组和对照组血清miRNA-574-5p、miRNA-106b相对表达量和hs-AFP-L3水平，并比较HCC组不同肿瘤个数、不同病灶大小、不同肿瘤分期、不同肝功能分级、是否存在远处转移、是否存在静脉癌栓患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b相对表达量和hs-AFP-L3水平。

1.3 统计学处理

应用SPSS 23.0软件进行统计学分析，miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3为计量资料，符合正态分布，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较应用独立样本 t 检验，多组间比较采用方差分析，组间两两比较采用LSD- t 检验。性别为计数资料，以例数表示，两组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)评价miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3及联合应用对早期HCC的诊断效能，ROC曲线下面积的比较采用 Z 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

HCC组男性122例，女性64例，年龄34~78岁，平均(57.49 ± 10.55)岁；肿瘤单发97例，多发89例；肿瘤最大径 ≥ 5 cm 61例， < 5 cm 125例；肝功能Child-Pugh分级：A级69例，B级76例，C级41例；肝癌分期I a期31例，I b期35例，II a期37例，II b期31例，III a期25例，III b期17例，IV期10例。肝硬化组男

表1 PCR引物序列

基因	上游引物(5'~3')	下游引物(5'~3')
miRNA-574-5p	TACGATGAGTGTGTGTGTGAGTGT	GTCCTTGGTGCCCGAGTG
miRNA-106b	TGCGGCAACACCGATCGATGG	CCAGTGCAGGGTCCGAGGT
U6	TACGAGTGTCTCACTTCGGCAGC	AACGCTTCACGAATTCGCT

性为78例, 女性42例, 年龄35~76岁, 平均(56.28 ± 9.76)岁; 病因: 乙型肝炎81例, 丙型肝炎18例, 酒精性肝病15例, 自身免疫性肝病6例。对照组男性73例, 女性47例, 年龄34~77岁, 平均(55.39 ± 10.76)岁。三组研究对象性别、年龄差异无统计学意义($\chi^2 = 0.778, P = 0.678; F = 1.548, P = 0.214$)。

2.2 3组miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3比较 3组血清miRNA-574-5p相对表达量、miRNA-106b相对表达量及hs-AFP-L3水平差异有统计学意义(P 均 < 0.05), HCC组各指标均高于肝硬化组和对照组(P 均 < 0.05), 肝硬化组各指标均高于对照组(P 均 < 0.05)。见表2。

2.3 HCC组不同临床病理特征患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3比较 HCC组不同年龄、性别患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、

hs-AFP-L3水平差异无统计学意义(P 均 > 0.05); 但肿瘤多发、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、中晚期、有远处转移、有静脉瘤栓患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平分别高于单发、肿瘤最大径 < 5 cm、早期、无远处转移、无静脉瘤栓患者(P 均 < 0.05); 肝功能Child-Pugh分级A级、B级、C级患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平逐渐增加(P 均 < 0.05)。见表3。

2.4 血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平对早期HCC的诊断效能 ROC曲线表明血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3含量对早期HCC均有较高的诊断效能, ROC曲线下面积分别为0.779、0.751、0.830, 三项指标联合的曲线下面积为0.919, 显著高于miRNA-574-5p($Z = 3.469, P = 0.012$)、miRNA-106b($Z = 4.025, P = 0.008$)和hs-AFP-L3($Z = 3.154, P = 0.017$), 见图1、表4。

表2 HCC组、肝硬化组和对照组血清miRNA-574-5p、miRNA-106b相对表达量及hs-AFP-L3水平($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miRNA-574-5p	miRNA-106b	hs-AFP-L3 ($\mu\text{g/L}$)
HCC组	186	1.09 ± 0.33	1.22 ± 0.39	23.08 ± 4.36
肝硬化组	120	0.84 ± 0.27	0.71 ± 0.22	2.61 ± 0.79
对照组	120	0.61 ± 0.18	0.56 ± 0.19	0.47 ± 0.14
F 值		110.901	206.058	2877.804
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_1 值		10.864	14.495	84.828
P_1 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_2 值		20.859	18.759	93.696
P_2 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_3 值		9.065	3.867	8.043
P_3 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: t_1 、 P_1 为HCC组与肝硬化组比较, t_2 、 P_2 为HCC组与对照组比较, t_3 、 P_3 为肝硬化组与对照组比较。

表3 HCC组不同病理特征患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	例数	miRNA-574-5p	miRNA-106b	hs-AFP-L3 ($\mu\text{g/L}$)
年龄				
≥ 60岁	78	1.12 ± 0.36	1.28 ± 0.39	23.65 ± 4.78
< 60岁	108	1.06 ± 0.34	1.19 ± 0.40	22.79 ± 4.84
t 值		1.159	1.503	1.202
P 值		0.248	0.128	0.231
性别				
男性	64	1.13 ± 0.35	1.25 ± 0.41	23.49 ± 4.66
女性	122	1.07 ± 0.31	1.17 ± 0.36	22.82 ± 4.59
t 值		1.169	1.338	0.920
P 值		0.244	0.183	0.359
肿瘤个数				
多发	97	1.24 ± 0.43	1.46 ± 0.45	25.73 ± 5.21
单发	89	0.83 ± 0.27	0.97 ± 0.31	19.15 ± 4.25
t 值		7.708	8.573	9.388
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
肿瘤最大径				
≥ 5 cm	61	1.29 ± 0.46	1.51 ± 0.44	26.82 ± 5.03
< 5 cm	125	0.82 ± 0.24	0.95 ± 0.29	19.12 ± 3.99
t 值		9.165	10.359	11.317
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

续表 3

临床病理特征	例数	miRNA-574-5p	miRNA-106b	hs-AFP-L3 (μg/L)
临床分期				
早期	66	0.90 ± 0.28	0.99 ± 0.32	18.94 ± 4.02
中晚期	120	1.31 ± 0.44	1.49 ± 0.51	26.60 ± 4.98
<i>t</i> 值		6.867	7.243	10.775
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
肝功能分级				
A级	69	0.85 ± 0.26	0.92 ± 0.29	18.69 ± 3.72
B级	76	1.08 ± 0.37	1.15 ± 0.35	23.17 ± 4.88
C级	41	1.27 ± 0.40	1.41 ± 0.38	26.45 ± 5.32
<i>F</i> 值		20.565	27.764	39.405
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
是否远处转移				
是	45	1.36 ± 0.46	1.45 ± 0.41	26.79 ± 5.44
否	141	0.88 ± 0.25	0.96 ± 0.32	19.04 ± 3.83
<i>t</i> 值		8.948	8.327	10.599
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
门静脉癌栓				
有	36	1.39 ± 0.43	1.43 ± 0.39	26.41 ± 4.54
无	150	0.92 ± 0.31	1.0 ± 0.34	20.11 ± 4.01
<i>t</i> 值		7.534	6.311	8.247
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 肝功能分级 A 级与 B 级相比, miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3 的 *t* 值分别为 4.058、4.114、5.867, *P* 均 < 0.001; A 级与 C 级相比, *t* 值分别为 6.248、7.392、8.570, *P* 均 < 0.001; B 级与 C 级相比, *t* 值分别为 2.877、3.991、3.686, *P* 值分别为 0.005、< 0.001、< 0.001。

表 4 各指标对早期 HCC 的诊断效能

指标	截断值	曲线下面积	95%CI	敏感度	特异度
miRNA-574-5p	0.97	0.779	0.672~0.904	0.802	0.711
miRNA-106b	1.08	0.751	0.645~0.899	0.863	0.685
hs-AFP-L3	21.4	0.830	0.721~0.959	0.708	0.852
3项联合	-	0.919	0.873~0.980	0.882	0.901

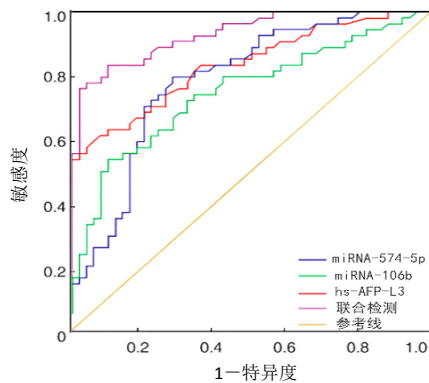


图 1 血清 miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3 含量诊断早期 HCC 的 ROC 曲线

3 讨论

HCC 具有高发病率和高死亡率的特点, 成为威胁人类生存和健康的常见疾病^[13,14]。本病多由病毒性肝炎和肝硬化发展而来, 反复发生的肝细胞损伤-修复可诱发基因突变, 人体的生物学特征也会随之发生改变, 细胞凋亡及增殖紊乱, 使抑癌基因活性受到抑制, 癌基因呈现高表达^[15,16]。同时, 受到病毒性肝炎的慢性刺激, 肝组织内血管增生活跃, 为 HCC 的发生创造了条件^[17]。

HCC 的高死亡率与缺乏有效的早期诊断指标密切相关, 甲胎蛋白可诱导淋巴细胞凋亡, 使机体产生免疫抑制反应, 并可对癌细胞受体发挥刺激作用, 从而促进癌细胞增殖, 在 HCC 的早期筛查中具有较高的临床价值^[18]。但在肝炎、肝硬化、畸胎瘤、胃癌及孕妇血液中也检测到甲胎蛋白水平增加, 而部分 HCC 患者始终未检测到甲胎蛋白水平的增加, 因此, 甲胎蛋白对于 HCC 的早期诊断特异性较低^[19]。hs-AFP-L3 是小扁豆凝集素结合型甲胎蛋白, 来源于肝癌细胞, 对于 HCC 的诊断特异性优于甲胎蛋白, 尤其对于低甲胎蛋白浓度的肝癌患者具有较高的临床价值^[20]。研究表明, hs-AFP-L3 不仅与 HCC 的恶性程度有关, 还对早期肝癌及恶性程度极高的小细胞肝癌具有较高的临床价值^[21]。

miRNA 是由 18~22 个氨基酸残基组成的短链非编码 RNA, 可与其靶基因 RNA 结合以调控基因表达, 调节细胞增殖、凋亡、侵袭、转移等生物学行为, 并通过癌基因或抑癌基因在恶性肿瘤的发生、进展方面发挥重要作用^[22]。miRNA-574-5p 首先发现于非小细胞癌组织中, 且在患者血浆中高表达, 可作为该病的诊断标志物^[23]。后续研究表明 miRNA-574-5p 在宫颈癌、乳腺癌组织中呈高表达, 并在宫颈癌、乳腺癌等恶性肿

瘤的侵袭和转移中发挥重要^[24]。miRNA-106b也是一种促癌基因,在多种恶性肿瘤组织中差异性表达,并与其恶性生物学行为密切相关^[25]。有研究发现,非小细胞肺癌组织中miRNA-106b呈高表达,且与肿瘤的远处转移和淋巴转移密切相关^[26]。李乾等^[9]研究发现HCC组织中miRNA-106b呈高表达,并通过下调其靶基因FOG2发挥促癌作用,与HCC的预后密切相关。本研究发现HCC组患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平均高于肝硬化组和对照组,而肝硬化组上述指标也高于对照组,表明miRNA-574-5p、miRNA-106b参与了HCC的发生,而HCC患者血液hs-AFP-L3水平也显著升高。

本研究进一步分析了miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3与HCC病理特征的关系,发现肿瘤多发、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、中晚期、有远处转移、有静脉瘤栓患者血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平较高,肝功能Child-Pugh分级越高,患者血清中上述指标水平也越高。在HCC发生的早期阶段,多种miRNA可能会异常表达,且miRNA在血液中具有稳定的理化性质,对于温度和pH值的变化具有较高的抵抗力,可作为HCC早期诊断的生物标志物^[27]。miRNA与细胞的遗传信息表达密切相关,并在转录后遗传信息的调控中发挥重要作用,因此,发现新的miRNA及其靶标是对miRNA进行基因调控的关键环节^[28]。本研究提示miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3与HCC的临床病理特征存在密切关系。ROC曲线分析表明三项指标对于早期HCC的诊断均有一定的临床价值,三项指标联合应用的ROC曲线下面积为0.919,敏感性和特异性分别为0.882和0.901,表明miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3联合检测可进一步提高早期HCC的诊断效能。但本研究受现有条件限制,样本量有限,且病例来源相对单一,观察指标尚不够全面,miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3联合检测对早期HCC的诊断价值尚需扩大样本量、增加观察指标进一步验证。

综上,miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3对早期HCC的诊断具有一定临床价值,三项指标联合应用的临床价值更高。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*,2021,71(3):209-249.
[2] ZHENG R S, ZHANG S W, ZENG H M, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. *J Natl Cancer Cent*,2022,2(1):1-9.
[3] 赫捷,陈万青,沈洪兵,等.中国人群肝癌筛查指南(2022,北京)[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(8):1739-1758.

[4] 郝新,樊蓉,侯金林.原发性肝癌高危人群的早期预警和精准筛查[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(3):499-504.
[5] 崔怀中,沈越利,徐爱芳,等.血清甲胎蛋白异质体联合糖组学检测在乙型肝炎相关原发性肝癌早期诊断中的价值研究[J]. *中国卫生检验杂志*,2022,32(21):2606-2609.
[6] 舒杨,何玲玲,高美欣,等.转化生长因子 β 在肝细胞癌中的免疫调节作用及研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2022,14(3):9-13.
[7] 王奕,韩涛,张志强,等.血清微小核糖核酸-599与肝细胞肝癌TACE治疗预后的相关性[J]. *介入放射学杂志*,2021,30(12):1265-1270.
[8] 万科,张易,林强,等.血清外泌体微小核糖核酸-218表达水平与肝癌预后研究[J]. *创伤与急危重病医学*,2020,8(4):286-289,293.
[9] 李乾,郭清皓.肝细胞癌中miR-574-5p的表达与作用及其与预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*,2021,30(8):926-933.
[10] ZHANG R U, GUO Y N, MA Z C, et al. Long non-coding RNA PTENP1 functions as a ceRNA to modulate PTEN level by decoying miR-106b and miR-93 in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017,8(16):26079-26089.
[11] 刘国振,陈秀余,张修欢.血清miR-122-5p, miR-486-5p, AFP及AFP-L3水平联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. *现代检验医学杂志*,2022,37(1):82-87.
[12] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局.原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(2):288-303.
[13] GIGANTE E, PARADIS V, RONOT M, et al. New insights into the pathophysiology and clinical care of rare primary liver cancers[J]. *JHEP Rep*,2021,3(1):100174.
[14] 赵晓辉,姚全军,黎海亮,等.经肝动脉化疗栓塞术联合靶向/免疫治疗在中晚期肝细胞癌中的应用进展[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(12):2855-2858.
[15] SIYIN S T, LIU T, LI W, et al. A prospective follow-up study of the relationship between high-sensitivity C-reactive protein and primary liver cancer[J]. *BMC Cancer*,2020,20(1):1168.
[16] 李超,陈双江,姜业臻.过表达miR-607通过下调TRPC5表达抑制肝细胞癌的生长和转移[J]. *南方医科大学学报*,2022,42(11):1587-1593.
[17] OZAWA H, HIRAYAMA A, SHOJI F, et al. Comprehensive dipeptide analysis revealed Cancer-Specific profile in the liver of patients with hepatocellular carcinoma and hepatitis[J]. *Metabolites*,2020,10(11):442.
[18] 赵磊,王文鑫,毕京峰,等.甲胎蛋白联合谷氨酰转氨酶对晚期乙肝相关性肝癌男性患者应用仑伐替尼治疗进展的预测价值[J]. *解放军医学院学报*,2022,43(5):507-511.
[19] 练祥,柯婷婷.甲胎蛋白和高敏甲胎蛋白异质体比率在肝细胞癌早期诊断中的应用价值[J]. *中国微生态学杂志*,2022,34(8):916-920.
[20] 龙静,刘洁玲,韩朝辉,等.甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体与TNF- α 联合检测在原发性肝癌诊断中的应用及其临床价值[J]. *武汉大学学报(医学版)*,2021,42(3):418-422.
[21] CHOI J, KIM GA, HAN S, et al. Longitudinal assessment of three serum biomarkers to detect very early-stage hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2019,69(5):1983-1994.
[22] ZHANG S, CHEN L, WANG Y, et al. Investigation of the association of miRNA-499, miRNA-146a, miRNA-196a2 loci with hepatocellular carcinoma risk: a case-control study involving 1507 subjects[J]. *DNA Cell Biol*,2020,39(3):379-388.
[23] FOSS K M, SIMA C, UGOLINI D, et al. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*,2011,6(3):482-488.
[24] 朱琼琼,陈雅宁,卢文杰,等. miRNA-574-5p通过靶基因高温需求因子A1调控肝癌细胞增殖、侵袭、迁移的分子机制[J]. *癌症进展*,2020,18(6):570-575.
[25] XU K, XIONG W H, ZHAO S J, et al. MicroRNA-106b serves as a prognostic biomarker and is associated with cell proliferation, migration, and invasion in osteosarcoma[J]. *Oncol Lett*,2019,18(3):3342-3348.
[26] SHI B M, LU W, JI K, et al. Study on the value of serum miR-106b for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*,2017,23(20):3713-3720.
[27] 鲁大鹏,王保龙.血清miRNAs作为潜在肝癌诊断标志物的临床价值研究[J]. *临床输血与检验*,2022,24(3):343-348.
[28] WANG H Z, ELLIPIILLI S, LEE W J, et al. Multivalent rubber-like RNA nanoparticles for targeted co-delivery of paclitaxel and miRNA to silence the drug efflux transporter and liver cancer drug resistance[J]. *J Control Release*,2021,330(7):173-184.

收稿日期: 2022-12-01

李睿尧,李丹,李膺函,等.血清miRNA-574-5p、miRNA-106b、hs-AFP-L3水平对早期肝细胞癌的诊断价值[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2024,16(1): 7-12.