

· 论著 ·

原发性肝癌血清miR-375、miR-25水平变化及其与患者预后关系的研究*

刘俊华* 李广明 李 璋

郑州市第六人民医院肝硬化科(河南 郑州 450000)

【摘要】目的 探究原发性肝癌(HCC)患者血清miR-375、miR-25水平变化情况及其与预后的关系。**方法** 选取2020年3月至2021年3月本院收治的50例HCC患者为观察组,另选取同期30例健康体检者为对照组,采用RT-qPCR检测血清miR-375、miR-25水平,探究HCC患者治疗前后miR-375、miR-25水平变化及其在HCC患者预后诊断中的价值,并分析HCC患者1年生存期的独立影响因素。**结果** 治疗前,观察组HCC患者miR-375水平低于对照组,其miR-25水平高于对照组($P<0.05$);治疗1个月后,观察组HCC患者miR-375水平高于治疗前,其miR-25水平低于治疗前($P<0.05$),且其miR-375低于对照组,miR-25高于对照组($P<0.05$)。50例HCC患者均接受TACE治疗,其1年生存率为82.00%(41/50)。miR-375诊断HCC患者1年生存期的AUC、灵敏度和特异度分别为0.736(0.626-0.828)、84.00%和63.33%($P<0.05$);miR-25诊断HCC的AUC、灵敏度和特异度分别为0.782(0.676-0.867)、80.00%和66.67%($P<0.05$)。病灶大小、miR-375、miR-25表达量是HCC患者预后的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** miR-375、miR-25在HCC患者中表达异常,在治疗后miR-375升高,miR-25降低,病灶大小、miR-375、miR-25表达量是HCC患者预后的影响因素。

【关键词】原发性肝癌; miRNA-375; miRNA-25; 预后

【中图分类号】R735.7

【文献标识码】A

【基金项目】河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20191098)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.9.030

Changes of Serum miR-375 and miR-25 Levels and Their Relationship with Prognosis of Patients with Primary Liver Cancer*

LIU Jun-hua*, LI Guang-ming, LI Cheng.

Department of Cirrhosis, The Sixth People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Abstract: Objective To investigate the changes of serum miR-375 and miR-25 levels in patients with primary liver cancer (HCC) and their relationship with prognosis. **Methods** 50 HCC patients admitted to our hospital from March 2020 to March 2021 were selected as the observation group, and 30 healthy subjects during the same period were selected as the control group. Serum miR-375 and miR-25 levels were detected by RT-qPCR. To explore the changes of miR-375 and miR-25 levels in HCC patients before and after treatment and their value in the prognosis of HCC patients, and analyze the independent influencing factors on the 1-year survival of HCC patients. **Results** Before treatment, the miR-375 level of HCC patients in observation group was lower than that in control group, and the miR-25 level was higher than that in control group ($P<0.05$). After 1 month of treatment, the miR-375 level of HCC patients in the observation group was higher than before treatment, and the miR-25 level was lower than before treatment ($P<0.05$), and the miR-375 level was lower than that of the control group, and the miR-25 level was higher than that of the control group ($P<0.05$). All 50 HCC patients received TACE treatment, and the 1-year survival rate was 82.00% (41/50). The 1-year survival AUC, sensitivity and specificity of miR-375 in HCC patients were 0.736 (0.626-0.828), 84.00% and 63.33% ($P<0.05$). The AUC, sensitivity and specificity of miR-25 in the diagnosis of HCC were 0.782 (0.676 - 0.867), 80.00% and 66.67% ($P<0.05$). Lesion size, miR-375 and miR-25 expression levels were independent prognostic factors of HCC patients ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of miR-375 and miR-25 is abnormal in HCC patients, and miR-375 is increased and miR-25 is decreased after treatment. Lesion size, miR-375 and miR-25 expression level are prognostic factors of HCC patients.

Keywords: Primary Liver Cancer; miRNA-375; miRNA-25; Prognosis

作为我国现阶段位居第4的常见恶性肿瘤,原发性肝癌(HCC)极大地威胁着人民的生命健康^[1]。该类疾患早期无突出的症状,多数患者在确诊时已进展为中、晚期,错失最佳治疗时机,进而该类疾患的病死率较高^[2]。目前肝癌的整体治疗皆以介入为主,其中包括肝动脉化疗栓塞术(TACE)、肝动脉放射栓塞术(TARE)等在临床中的应用较为广泛^[3],尽管外科手术治疗的效果较佳,但患者术后生存率仍存在差异,故通过各项指标评估病情发展,判断预后至关重要。研究点明,微小RNA(miRNA)能够参与肿瘤的发生与发展,在肿瘤类疾患中有着较为重要的地位^[4-5]。其中miR-375被实践证实不同的肿瘤中均出现差异表达^[6-7]。秦维超等^[8]学者则认为,有学者指出,miR-25在癌症早期的诊治以及药物治疗ongoing具有较大的潜力,可成为肿瘤的标志物以及药物治疗的靶点。因此本研究特对行介入治疗的HCC患者行miR-375、miR-25检测,旨在分析其与患者预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年3月至2021年3月本院收治的HCC患者50例。

纳入标准: HCC确诊; 年龄 ≥ 18 岁; 知情同意。排除标准: 患有其他恶性肿瘤; 无法耐受介入治疗; 预计生存期 < 6 个月。其中男31例(62.00%),女19例(38.00%),年龄35~75(58.23 \pm 10.20)岁。HCC的组织学分级: I级4例(8.00%),II级14例(28.00%),III级22例(44.00%),IV级10例(20.00%)。TNM分期: I期2例(4.00%),II期17例(34.00%),III期14例(28.00%),IV期17例(34.00%)。另选取同期在本院健康体检的受试者30例为对照组,其中男19例(63.33%),女11例(36.67%),年龄35~74(58.49 \pm 10.05)岁。两组的性别、年龄比较具有均衡性($P>0.05$)。本研究已经医院伦理委员会审批。

1.2 方法

【第一作者】刘俊华,女,主治医师,主要研究方向:肝病。E-mail: ljh1984@163.com

【通讯作者】刘俊华

1.2.1 介入治疗 所有HCC患者均行经肝动脉栓塞化疗(TACE)术。
 1.2.2 miR-375、miR-25的检测 入组即抽取患者静脉血5mL,离心处理后-80℃保存至分析。100μL血清与300μL无RNA酶的水混匀,采用酚-氯仿法裂解,12000g离心20min后经异丙醇及醋酸钠(pH5.3)沉淀处理,于-20℃沉淀1h,16000g离心后用75%酒精洗涤1次,晾干后取20μL无RNA酶水溶解RNA,储存于-80℃。RNA逆转录后,使用7300荧光定量PCR仪(Applied Biosystems)检测miR-375与miR-25表达水平。HCC患者需要TACE介入治疗1个月后再次进行miR-375与miR-25表达水平的检测。
 1.2.3 随访 于患者TACE术后第1d开始,为期1年。
1.3 统计学方法 使用SPSS20.0软件分析数据。年龄、miR-375、miR-25等计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行t检验;性别等计数资料以(%)表示,行 χ^2 检验;采用ROC曲线分析miR-375、miR-25诊断HCC的效能;Cox多因素分析HCC患者预后的影响因素。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组miR-375、miR-25水平比较 治疗前,观察组HCC患者miR-375水平低于对照组,其miR-25水平高于对照组($P<0.05$);治疗1个月后,观察组HCC患者miR-375水平高于治疗前,其miR-25水平低于治疗前($P<0.05$),且其miR-375低于对照组,miR-25高于对照组($P<0.05$)。见表1。

2.2 HCC患者1年期生存情况 50例HCC患者均接受TACE治疗,其1年生存率为82.00%(41/50)。

2.3 HCC患者1年内生存组患者与死亡组患者miR-375、miR-25水平比较 生存组HCC患者miR-375水平高于死亡组HCC患者,其miR-25水平低于死亡组HCC患者($P<0.05$)。见表2。

2.4 miR-375、miR-25诊断HCC患者1年生存期的效能 miR-375诊断HCC患者1年生存期的AUC、灵敏度和特异度分别为0.736(0.626-0.828)、84.00%和63.33%($P<0.05$);miR-25诊断HCC的AUC、灵敏度和特异度分别为0.782(0.676-0.867)、80.00%和66.67%($P<0.05$)。见表3及图1。

2.5 影响HCC患者预后的因素分析 对可能影响HCC患者介入治疗预后的因素行单因素分析,结果显示,病灶大小、白蛋白水平、Child-Pugh分级、miR-375、miR-25表达量与HCC患者预后有关($P<0.05$)。对 $P<0.05$ 的指标行Cox回归分析,病灶大小、miR-375、miR-25表达量是HCC患者预后的独立影响因素($P<0.05$)。见表4。

表1 两组miR-375、miR-25比较

组别	例数	miR-375	miR-25
观察组	50		
治疗前		0.30±0.10①	2.65±0.14①
治疗后1个月		0.51±0.23①②	1.27±0.27①②
对照组	30	0.90±0.20	0.087±0.019

注:与对照组比,① $P<0.05$;与同组治疗前比,② $P<0.05$

表2 HCC患者1年内生存组患者与死亡组患者miR-375、miR-25水平比较

组别	例数	miR-375	miR-25
生存组	40	0.60±0.18	0.85±0.10
死亡组	10	0.15±0.06	2.96±0.43
t		7.746	28.849
P		0.000	0.000

表3 miR-375、miR-25诊断HCC患者1年生存期效能分析

指标	cut off	AUC	约登指数	灵敏度	特异度	95%CI	P
miR-375	≤0.85	0.736	0.473	84.00	63.33	0.626-0.828	0.000
miR-25	>0.12	0.782	0.467	80.00	66.67	0.676-0.867	0.000

表4 HCC患者预后的影响因素分析

指标	单因素			多因素		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
性别(男/女)	1.623	0.651-0.734	0.218			
年龄(≤60/>60岁)	0.730	0.440-1.298	0.308			
病灶大小(<5/>5cm)	1.800	1.226-2.450	0.000	1.500	1.079-2.359	0.030
病灶数目(单发/多发)	1.301	0.879-2.239	0.168			
白蛋白(<40/≥40g/L)	0.356	0.195-0.647	0.000	0.537	0.285-1.033	0.080
AFP(<20/≥20μg/L)	1.519	0.747-2.291	0.150			
转移(有/无)	1.480	0.927-2.229	0.205			
Child-Pugh分级(A/B)	0.414	0.203-0.891	0.028	0.890	0.401-2.215	0.819
miR-375(≤0.85/>0.85)	0.749	0.467-0.869	0.000	1.675	1.200-3.000	0.000
miR-25(>0.12/≤0.12)	1.594	1.120-2.360	0.000	1.989	1.670-3.986	0.000

ROC 曲线

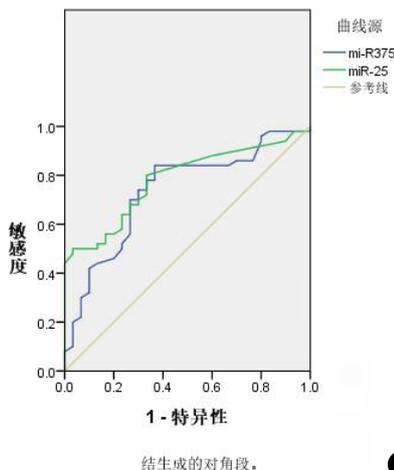


图1 miR-375、miR-25诊断HCC的ROC图

3 讨论

HCC恶性程度、肿瘤浸润性以及转移性均较高^[9]。介入治疗为现阶段临床治疗HCC的重要举措,可有效切除病灶,随着介入治疗手段的丰富以及技术水平的提升,患者的生存情况得以改善^[10-11],但仍无法避免术后复发以及病灶转移等现象,对于患者的生存情况以及预后等均较为不利。因此,现阶段寻求可靠的指标判定HCC患者的预后是较为迫切的任务。

在细胞的生长以及发育中,miRNA均有着较为重要的调控作用^[12]。近年来临床实践陆续证实,在多种肿瘤患者中miRNA均出现异常表达,其对于不同的肿瘤作用不同,作用大致分为促进与抑制^[13]。加之其在外周血、组织、痰液、胸腔积液等均表达

稳定且不会被降解,因此miRNA不但具有作为肿瘤标志物的潜力,其还能够成为肿瘤治疗的有效靶点^[14-15]。miR-375属于基因间型的miRNA,研究指出其在肝癌患者中的表达水平较癌旁组织低^[16]。有些研究表明,与癌旁正常组织比,miR-25在食管癌组织中的表达上调且其与淋巴结转移和TNM分期相关,其能够抑制肿瘤代谢因子CDH1的表达从而显著提高食管癌细胞转移和侵袭能力^[17]。本研究中,治疗前,观察组HCC患者miR-375水平低于对照组,其miR-25水平高于对照组($P<0.05$),说明HCC患者存在miR-375、miR-25表达异常的情况。但通过TACE的治疗,观察组患者的miR-375水平较治疗前升高,其miR-25水平较治疗前降低($P<0.05$),但与对照组相比,均还存在显著的差异($P<0.05$),提示在TACE介入治疗的作用下,HCC患者miR-375、miR-25表达异常情况得以改善,但其水平与正常群体存在差异。究其原因,随着介入治疗使得肿瘤组织得以清除,miR-25生成急剧减少,使其含量也随之迅速下降^[18]。同时上述研究数据也能进一步说明在HCC的疾患进展中miR-375、miR-25均发挥作用。miR-375、miR-25作为潜在的肿瘤标志物,miR-375水平越低,miR-25水平越高,则HCC肿瘤恶性程度越高,相对而言患者的预后也会越差^[19-20]。本研究50例HCC患者均接受TACE治疗,其1年生存率为82.00%(41/50),提示HCC患者接受TACE治疗后其1年生存率较为可观,TACE治疗效果显著。另外,本研究结果还显示,生存组HCC患者miR-375水平高于死亡组HCC患者,其miR-25水平低于死亡组HCC患者($P<0.05$),说明miR-375、miR-25可能与HCC患者预后存在一定的联系,高miR-375、低miR-25的HCC患者其预后相对较好。为进一步分析miR-375、miR-25诊断HCC患者1年生存期的效能,本研究特绘制ROC曲线,发现miR-375、miR-25诊断HCC患者1年生存期的AUC分别为0.736(0.626-0.828)和0.782(0.676-0.867),其cut off值分别为 ≤ 0.85 、 >0.12 ,说明上述指标均在HCC患者1年生存期的诊断中具有有良好的效能。本研究分析了影响HCC患者1年生存期的预后因素,结果表明,病灶大小、miR-375、miR-25表达量是HCC患者预后的独立影响因素($P<0.05$),说明临床在对患者预后进行评估中,对于病灶较大、miR-375低表达、miR-25高表达的HCC患者需要加以警惕,应尽早采取适宜的举措来改善HCC患者的预后。

综上所述,在HCC患者中均存在miR-375、miR-25的表达异常,行相应治疗后能够改善miR-375、miR-25水平,病灶大小、miR-375、miR-25表达量是HCC患者预后的影响因素,且miR-375、miR-25均在HCC患者1年生存期的诊断中具有有良好的效能,临床可将miR-375、miR-25作为判断HCC患者预后的辅助指标。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局.原发性肝癌诊疗规范(2019年版)[J].中华消化外科杂志,2020,19(1):1-20.
- [2] 孙选,杨翠丽.奥沙利铂、氟尿嘧啶联合表柔比星经肝动脉化疗栓塞术(TACE)治疗原发性肝癌合并HIV/AIDS的临床效果[J].罕少疾病杂志,2021,28(4):47-48.
- [3] 徐克,邵海波.肝癌介入治疗新进展[J].肝癌电子杂志,2020,7(3):2-6.
- [4] 刘洪璐,王熙才.外周血miRNA应用于肿瘤早期诊断的研究进展[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(2):109-117.

- [5] 杨秋玲,刘朝奇,汪玉玲,等.微小RNA对肿瘤微环境T细胞免疫调节作用研究的新进展[J].中国免疫学杂志,2020,36(24):3055-3059.
- [6] 孙哈,费素娟.进展期胃癌患者miRNA-375表达对患者临床病理特征、铂类化疗药物选择及临床预后的影响[J].胃肠病学和肝病学杂志,2020,29(10):1123-1128.
- [7] 李建华,徐鹏飞,邓真,等.微小RNA-375在甲状腺乳头状癌组织的表达及其临床意义[J].中华实验外科杂志,2020,37(2):309-312.
- [8] 秦维超,张琳.非小细胞肺癌组织miR-25表达变化及其临床意义[J].山东医药,2020,60(22):63-65,87.
- [9] 吴建刚,雷雷梅,马清明.Gd-EOB-DTPA增强MRI与增强CT诊断原发性肝癌价值比较[J].中国CT和MRI杂志,2021,19(9):100-101,134.
- [10] Orcutt ST, Anaya DA. Liver resection and surgical strategies for management of primary liver cancer[J]. Cancer Control, 2018, 25(1): 1073274817744621.
- [11] Lee DH, Kim D, Park YH, et al. Long-term surgical outcomes in patients with hepatocellular carcinoma undergoing laparoscopic vs open liver resection: A retrospective and propensity score-matched study[J]. Asian J Surg, 2021, 44(1): 206-212.
- [12] Tian L, Fang YX, Xue JL, et al. Four microRNAs promote prostate cell proliferation with regulation of PTEN and its downstream signals in vitro[J]. PLoS One, 2013, (9): e75885.
- [13] Ramalingam P, Palanichamy JK, Singh A, et al. Biogenesis of intronic miRNAs located in clusters by independent transcription and alternative splicing[J]. RNA, 2014, 20(1): 76-87.
- [14] 吕俊,王艳华,苏利佳,等.miRNA-122在肿瘤发生发展中的研究进展[J].癌症进展,2021,19(18):1847-1851.
- [15] Zhang C, Wang P, Li Y, et al. Role of MicroRNAs in the development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Anat Rec (Hoboken), 2019, 302(2): 193-200.
- [16] 李俊,郭旭利,黄维甄.miR-375、miR-146a在原发性肝癌患者预后评估中的价值[J].肝脏,2019,24(3):268-271.
- [17] 王静,王成,张春妮.血清miR-25和miR-100作为食管鳞状细胞癌诊断和预后标志物研究[J].现代检验医学杂志,2015,30(5):17-21.
- [18] 赵明英,李春林.血清YKL-40联合AFP在肝细胞癌手术患者中的水平及其对预后状况的影响[J].肝胆外科杂志,2019,27(5):341-343,395.
- [19] 叶星明,王琳,贾静,等.miR-375靶向YAP1调控上皮-间质转化参与乳腺癌细胞曲妥珠单抗的耐药[J].中国癌症杂志,2021,31(1):27-34.
- [20] 谢建立,林春城,苏子剑.miR-25在肝癌细胞中激活Wnt/ β -catenin信号通路的机制研究[J].肿瘤药学,2020,10(5):545-551.

(收稿日期: 2023-06-25)

(校对编辑: 江丽华)