

# 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用

周振华, 陈国栋, 杨林

## ■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差特点。目前临床上缺乏对HCC早期诊断和治疗的有效标志物。MiRNA是真核生物中一类非编码小分子单链RNA, 广泛参与肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等, 是近年肿瘤研究的热点领域。而血清miRNA作为一种新兴的肿瘤标志物, 在HCC临床应用中的价值逐渐受到重视。

周振华, 陈国栋, 杨林, 南华大学附属第一医院普通外科 湖南省衡阳市 421001

周振华, 主要从事肝癌的临床与基础研究。

作者贡献分布: 本文综述由周振华完成; 由陈国栋与杨林审校。

通讯作者: 杨林, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市船山路69号, 南华大学附属第一医院普通外科。

yanglinsurgeon@163.com

电话: 0734-8578566

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-01-06

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-28

## Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Lin Yang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, 69 Chuansan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yanglinsurgeon@163.com

Received: 2013-12-05 Revised: 2014-01-06

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-28

## Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors, with features of high malignancy, high mortality and poor prognosis. Most patients with HCC are diagnosed at late stages. One main reason is the lack of highly sensitive and specific molecular markers. MicroRNAs (miRNA) are a kind of small non-coding RNAs involved in posttranscriptional regulation in eukaryotes. They participate in many developmental and physiological processes, including growth, cell differentiation, proliferation and apoptosis. Since abnormal expression of miRNAs is closely related to HCC, serum miRNAs have appreciable value in early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in HCC.

## ■同行评议者

郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Serum miRNA; Hepatocellular carcinoma; Early diagnosis; Efficacy; Prognostic evaluation

Zhou ZH, Chen GD, Yang L. Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.782>

## 摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差等特点。HCC确诊时多数已处于晚期, 究其原因关键是缺乏高敏感性及特异性的早期诊断分子标志物。miRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 其对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等生命活动用重要的调节作用。而血清miRNA的异常表达与HCC密切相关, 其作为新兴的肿瘤分子标志物对于HCC的临床诊断、疗效监测及预后评估具有重要的应用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 血清miRNA; 肝细胞癌; 早期诊断; 疗效监测; 预后评估

**核心提示:** 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述。MiRNA是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡具有重要的调节作用。研究证实miRNA在HCC患者血清中的异常表达, 提示其可作为一种新兴的肿瘤标志物应用于HCC早期诊断、疗效监测及预后评估。

周振华, 陈国栋, 杨林. 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6):

782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.782>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)位居世界恶性肿瘤第3位, 中国为全球肝癌发病率最高的国家, 占全球总发病率的一半<sup>[1]</sup>. HCC患者的5年生存率很低(约7%), 并且术后转移和复发比例较高<sup>[2-4]</sup>. 对于早期发现并接受肝肿瘤切除术的患者, 患者的5年生存率可提高到69%<sup>[5,6]</sup>. 因此HCC在可切除的阶段被早期发现, 是提高HCC患者生存率的最好选择. 所以有必要积极寻找更早、更有效的与HCC相关的肿瘤标志物. Lee等<sup>[7]</sup>于1993年利用遗传分析的方法在线虫中发现一个具有22个核苷酸的小分子非编码RNA, 命名为lin-4, 这种单链RNA通过碱基配对的方式结合到靶mRNA lin-14的3'末端非翻译区, 从而抑制lin-14的翻译, 但并不影响其转录. 2000年Reinhart等<sup>[8]</sup>又发现了另一个类似的具有转录后调节功能的小分子RNA, 命名为let-7, 存在于不同的生物中, 统一将这一类非编码的小分子RNA命名为microRNA(miRNA). 近年来, miRNA逐渐成为肿瘤研究的热点, 相比于传统肿瘤标志物, miRNA表达异常出现的更早, 是一种更加快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物<sup>[9-11]</sup>. Murakami等<sup>[3]</sup>首次发现HCC血清中存在miRNA异常表达, 随后大量研究表明miRNA的表达异常与HCC的发生发展相关<sup>[12-14]</sup>. 目前较多研究表明血清中的miRNA在HCC早期异常表达, 使得早期诊断HCC成为可能. 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述.

## 1 miRNA的合成及生物学功能

MiRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 在RNase III Drosase酶的作用下miRNA初级转录物(pri-miRNA)被剪切成长约65-70 nt、具有茎环结构的前体miRNA(pre-miRNA)<sup>[15]</sup>. 然后pre-miRNA由另一种RNase III Dicer酶剪切成为20-25 nt的成熟miRNA(mature miRNA)<sup>[16,17]</sup>. 成熟的miRNA与靶miRNA部分互补, 尤其是与3'UTR的碱基配对, 引起靶miRNA的降解或翻译抑制, 阻止蛋白质翻译, 从而在转录后水平调控靶基因的表达<sup>[18]</sup>. 随后的研究表明, 每个miRNA可能调节数百个靶基因, 参与生命活动中众多的信

号转导途径, 在细胞个体发育、肿瘤的发生发展及血管生成等一系列过程中发挥作用<sup>[19-24]</sup>.

## 2 血清miRNA的研究现状

2.1 血清miRNA的来源 血清miRNA的来源目前仍未完全阐明, Zen等<sup>[25]</sup>认为血清miRNA有3种主要来源途径: (1)如同激素和细胞因子一样, 细胞以游离的形式将miRNA分泌到细胞外; (2)miRNA以出胞的形式选择性的排出细胞外, 形成微粒; (3)miRNA以微泡的形式从细胞浆中脱落排出细胞. Valadi等<sup>[26]</sup>研究发现, 成熟的miRNA通过形成外切酶体, 介导的细胞间miRNA的交换, 进入血液的外切酶体可经内吞作用, 释放出miRNA发挥生物学功能. Shen等<sup>[27]</sup>和Ji等<sup>[28]</sup>发现一些血清miRNA来源于组织. 当组织受到损伤的时候, 释放出miRNA进入血液中. Ranghino等<sup>[29]</sup>研究发现血清miRNA可能来源于肿瘤, 实验证实将人类的前列腺肿瘤移植到小鼠的体内后, 在小鼠的血液中可检测到人类的miRNA.

2.2 血清miRNA的稳定性及检测方法 由于血清中存在大量的外切酶, miRNA加入血清中后会很快降解<sup>[30]</sup>. 但是大量研究表明, 血清miRNA在不同的温度、不同pH、多次冻融后含量无明显变化<sup>[31-34]</sup>. 因此, 血清中存在稳定miRNA. 这就为血清miRNA作为生物标志物进行检测提供了可能. 目前国内外检测血清miRNA的手段主要包括: (1)克隆测序检测法: 对于发现新的miRNA分子一般采用此方法<sup>[35,36]</sup>; (2)RNA印迹杂交检测法: 主要包括Northern杂交和原位杂交<sup>[37]</sup>; (3)芯片技术检测法<sup>[38]</sup>: 目前基因芯片检测方法的重现性和准确性较差, 一般多用于初筛, 现在已经发展到第二代基因芯片技术, 即Solexa测序, 获得的结果需要采用RT-PCR进行验证<sup>[31,39]</sup>. RT-PCR检测方法主要包括基于茎-环的RT-PCR方法(stem-loop RT-PCR)、基于polyA加尾的RT-PCR方法<sup>[36,37]</sup>和实时定量或非半定量RT-PCR, 此法操作简便、快速、高效、敏感性高和特异性强, 是现在测定血清miRNA的常用方法.

## 3 HCC的早期诊断

血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)一直被作为HCC最常用的肿瘤标志物广泛应用于临床. 对于早期HCC, 血清AFP的敏感性: 39%-65%, 特异性: 76%-94%. 但有三分之一的早期HCC患者(肿瘤<3 cm)在血清AFP筛查中被漏诊<sup>[40]</sup>. 而

### ■研究前沿

血清miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点. 其作为一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗是一个非常有效的工具.

### ■相关报道

相关研究表明循环中存在一部分miRNA与Ago2结合形成非囊泡型复合体,以Ago2-miRNA核糖体形式存在而具有较高的稳定性,提示miRNA/Ago2络合物可能是血浆miRNA稳定的一个机制。

B超在小肝癌诊断方面也存在明显的缺陷。其他肿瘤标志物及CT等影像检查进行筛查,由于其诊断特异性及敏感性不高,费用过于昂贵等原因,未能在HCC的早期诊断中广泛应用<sup>[41]</sup>。因此迫切需要寻找新的标志物应用于HCC的早期诊断,而近年来较多研究表明,血清miRNA有可能在HCC的诊断中扮演这一重要角色。

## 4 血清miRNA与HCC的诊断

4.1 血清miRNA的单独诊断 Tomimaru等<sup>[42]</sup>通过定量RT-PCR测定126例HCC患者,30例慢性肝炎患者和50例健康志愿者的血清miRNA-21水平,发现HCC患者血清中miRNA-21水平明显高于慢性肝炎患者和健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分HCC患者与慢性肝炎患者(对慢性肝炎AUC-ROC 0.773;敏感性61.1%,特异性83.3%);HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.953;敏感性87.3%,特异性92.0%),且两组值均优于AFP。Zhou等<sup>[43]</sup>通过定量RT-PCR测定934例患者血清miRNA,发现miRNA(miR-122、miR-21、miR-223、miR-26a、miR-27a、miR-801)均可用于区分HCC患者、健康人群、慢性乙型肝炎患者以及肝硬化患者。Li等<sup>[44]</sup>通过定量RT-PCR检测携带乙型肝炎病毒的HCC患者( $n = 86$ ),慢性肝病患者(肝炎或肝硬化患者)( $n = 30$ ),健康志愿者( $n = 45$ )的血清miRNA-18a的表达水平,发现血清miRNA-18a在携带乙型肝炎病毒的HCC患者中的表达水平明显高于慢性肝病患者与健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分携带乙型肝炎病毒的HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.881;敏感性86.1%,特异性75.0%)。携带乙型肝炎病毒的HCC患者与慢性肝病患者(对慢性肝病患者AUC-ROC 0.775,敏感性77.2%,特异性70.0%)。Qu等<sup>[45]</sup>发现在HCC患者血清中miR-16表达显著降低,提示miR-16可作为HCC的早期诊断指标。Li等<sup>[46]</sup>发现单独应用miR-375诊断HCC,特异性达到96%,敏感度达100%。越来越多的研究表明血清miRNA可用于HCC的诊断,且单独诊断的效能优于AFP。

4.2 血清miRNA的联合诊断 血清miR-15b和miR-130b在早期HCC患者检出率为97.8%,而相同条件下血清AFP检出率仅为48.9%<sup>[47]</sup>。Li等<sup>[46]</sup>发现在早期HCC患者中应用miR-25、miR-375、let-7f进行联合诊断时的特异性96%,

敏感性100%;而血清AFP的特异性76%-94%,敏感性39%-65%。因此,较多研究提示多个血清miRNA的联合诊断优于血清AFP。Qu等<sup>[45]</sup>在血清miRNA与血清AFP、AFP-L3和血清DCP比较研究中发现:在HCC患者血清中miRNA-16和miRNA-196a表达明显低于正常人和慢性肝病患者表达。Borel等<sup>[48]</sup>研究发现,血清miRNA-16与传统肿瘤标志物血清AFP、AFP-L3和血清DCP相比,血清miRNA-16对HCC的诊断更敏感,并指出miR-16、AFP、AFP-L3和DCP的联合诊断时为最佳选择,其特异性78.5%,敏感性92.4%。另外,Luo等<sup>[49]</sup>发现联合运用血清miR-122a与AFP诊断HCC优于AFP的单独诊断。因此,血清miRNA与其他血清肿瘤标志物联合诊断时可大大提高诊断价值,其在临床应用的前景更广阔。

## 5 血清miRNA与HCC的疗效监测

最近的研究发现,血清中的某些miRNA的表达与HCC患者的疗效有潜在的相关性。Tomimaru等<sup>[42]</sup>通过定量RT-PCR测定10例HCC患者行根治性切除术后和手术前血清中的miRNA-21的表达水平,发现术后血清miRNA-21的表达水平明显降低,说明miRNA-21可能成为HCC患者疗效监测的新的生物学标志物。Liu等<sup>[47]</sup>对15个选定的HCC患者术前和术后血清样本中miRNA的测定发现,血清中miR-15b表达的平均水平从177.6下降至64.1,血清中miR-130b表达的平均水平从124.8下降至96.2,miRNA-15b和miR-130b明显降低。因此,提示血清中miRNA-15b和miR-130b可以监测HCC患者手术的疗效。

## 6 血清miRNA与HCC的预后评估

Zheng等<sup>[50]</sup>通过定量RT-PCR技术发现:在HCC患者术后血清miR-17-5p的表达较术前显著下调,在复发患者中血清miR-17-5p的表达量较未复发患者明显升高。而且,血清中miR-17-5p的表达与肿瘤的转移状况和TNM分期有着明显相关性。更重要的是,HCC患者血清中miR-17-5p的高表达与患者生存率的缩短成正相关。单变量和多变量Cox回归分析表明,血清中的miR-17-5p的表达对患者的生存率是一个独立危险因素。因此,血清中miR-17-5p可以作为一种新型HCC预后指标。Li等<sup>[51]</sup>通过定量RT-PCR技术对46例HCC患者和20例健康人血清中miR-221的表达与HCC患者的临床病理特征和预后相关性进行了评估,结果提示:血清中miR-221的高表达与



肿瘤大小、肝硬化程度和肿瘤分期成正相关。另外, Kaplan-Meier生存曲线分析显示: 血清中miR-221高表达组的生存率(27.6%), 明显低于血清中miR-221低表达组的生存率(62.3%,  $P < 0.05$ )。因此, HCC血清中miR-221的上调, 能够为HCC患者的预后提供评估。Shigoka等<sup>[52]</sup>发现HCC患者血浆中miR-92a表达低于正常对照组, 但是HCC患者手术后血浆miR-92a升高, 提示其可能作为HCC新的预后分子标志物。

## 7 结论

血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点。相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物。因此, 血清miRNA对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗效果是一个非常有用的工具。但是血清miRNA在HCC的临床应用中仍然存在局限性。首先, miRNA调控HCC的精确机制仍然不明确, 以及他们的作用靶点是什么仍需进一步研究。另外, 由于不同种族血清miRNA表达谱变异较大, 对于已经验证的不同种族的血清miRNA需要进行分类。最后, 个体间血清miRNA在HCC的不同时期的表达谱也不用一样, 探寻不同时期HCC患者血清miRNA表达谱的变化规律并阐明作用机制, 是将miRNA检测应用于HCC个体化诊断的关键问题。随着对血清miRNA作用机制研究的深入, 也将会使人们加深对血清miRNA与HCC之间生理生化关系的认识, 进而明确血清miRNA在HCC发生发展中的具体作用。所以可以相信血清miRNA将会在未来的HCC临床诊断、疗效检测、预后评估中拥有更美好的应用前景。

## 8 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855]
- 2 Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 4989-5005 [PMID: 20639898 DOI: 10.1038/onc.2010.236]
- 3 Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25: 2537-2545 [PMID: 16331254 DOI: 10.1038/sj.onc.1209283]
- 4 Budhu A, Jia HL, Forgues M, Liu CG, Goldstein D, Lam A, Zanetti KA, Ye QH, Qin LX, Croce CM, Tang ZY, Wang XW. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 897-907 [PMID: 18176954 DOI: 10.1002/hep.22160]
- 5 Yuen MF, Cheng CC, Laufer JJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330-335 [PMID: 10655254]
- 6 Fukuda S, Itamoto T, Amano H, Kohashi T, Ohdan H, Tashiro H, Asahara T. Clinicopathologic features of hepatocellular carcinoma patients with compensated cirrhosis surviving more than 10 years after curative hepatectomy. *World J Surg* 2007; 31: 345-352 [PMID: 17219274 DOI: 10.1007/s00268-006-0513-7]
- 7 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- 8 Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]
- 9 Hampton T. MicroRNAs linked to pancreatic cancer. *JAMA* 2007; 297: 937 [PMID: 17341695]
- 10 Zhang L, Coukos G. MicroRNAs: a new insight into cancer genome. *Cell Cycle* 2006; 5: 2216-2219 [PMID: 17012848 DOI: 10.4161/cc.5.19.3319]
- 11 O'Driscoll L. The emerging world of microRNAs. *Anticancer Res* 2006; 26: 4271-4278 [PMID: 17201144]
- 12 Yao J, Liang L, Huang S, Ding J, Tan N, Zhao Y, Yan M, Ge C, Zhang Z, Chen T, Wan D, Yao M, Li J, Gu J, He X. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 846-856 [PMID: 20054866 DOI: 10.1002/hep.23443]
- 13 Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH, Zhuang SM. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 836-845 [PMID: 20041405 DOI: 10.1002/hep.23380]
- 14 Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, Lin CD, Liao YL, Wang JL, Chau YP, Hsu MT, Hsiao M, Huang HD, Tsou AP. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1571-1582 [PMID: 19296470 DOI: 10.1002/hep.22806]
- 15 Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419 [PMID: 14508493 DOI: 10.1038/nature01957]
- 16 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- 17 Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17: 3011-3016 [PMID: 14681208 DOI: 10.1101/gad.1158803]
- 18 Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603023]
- 19 Bethke A, Fielenbach N, Wang Z, Mangelsdorf DJ,

## ■创新盘点

本文总结了近年来血清miRNA在HCC临床应用中的新进展。对血清miRNA在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估等做了客观全面的分析, 相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 并展望其在HCC中良好应用前景。

## ■应用要点

发现一种在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估中高敏感性及特异性的血清miRNA指标,对提高HCC早期诊断价值和判断预后后有重要的应用价值。

- Antebi A. Nuclear hormone receptor regulation of microRNAs controls developmental progression. *Science* 2009; 324: 95-98 [PMID: 19342589 DOI: 10.1126/science.1164899]
- 20 Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009; 460: 529-533 [PMID: 19626115 DOI: 10.1038/nature08199]
- 21 Pfeffer S, Zavolan M, Grässer FA, Chien M, Russo JJ, Ju J, John B, Enright AJ, Marks D, Sander C, Tuschl T. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 2004; 304: 734-736 [PMID: 15118162 DOI: 10.1126/science.1096781]
- 22 Liu X, Liu L, Xu Q, Wu P, Zuo X, Ji A. MicroRNA as a novel drug target for cancer therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12: 573-580 [PMID: 22428844 DOI: 10.1517/14712598]
- 23 Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5848-5856 [PMID: 19884536 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.0317]
- 24 Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 219-230 [PMID: 18270516 DOI: 10.1038/nrm2347]
- 25 Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med Res Rev* 2012; 32: 326-348 [PMID: 22383180 DOI: 10.1002/med.20215]
- 26 Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 654-659 [PMID: 17486113 DOI: 10.1038/ncb1596]
- 27 Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, Guarnera M, Liao J, Chou A, Lu CL, Jiang Z, Fang H, Katz RL, Jiang F. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest* 2011; 91: 579-587 [PMID: 21116241 DOI: 10.1038/labinvest.2010.194]
- 28 Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem* 2009; 55: 1944-1949 [PMID: 19696117 DOI: 10.1373/clinchem.2009.125310]
- 29 Ranghino A, Cantaluppi V, Grange C, Vitillo L, Fop F, Biancone L, Deregibus MC, Tetta C, Segoloni GP, Camussi G. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles improve neovascularization in a murine model of hindlimb ischemia. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25: 75-85 [PMID: 22507320]
- 30 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- 31 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- 32 Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholak H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148 [PMID: 18773077 DOI: 10.1371/journal.pone.0003148]
- 33 Shih KK, Levine DA. Exosomal microRNAs step into the biomarker arena. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 1-2 [PMID: 18589207 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.05.020]
- 34 Resnick KE, Alder H, Hagan JP, Richardson DL, Croce CM, Cohn DE. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. *Gynecol Oncol* 2009; 112: 55-59 [PMID: 18954897 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.036]
- 35 Hafner M, Landgraf P, Ludwig J, Rice A, Ojo T, Lin C, Holoch D, Lim C, Tuschl T. Identification of microRNAs and other small regulatory RNAs using cDNA library sequencing. *Methods* 2008; 44: 3-12 [PMID: 18158127 DOI: 10.1016/j.ymeth.2007.09.009]
- 36 Fu H, Tie Y, Xu C, Zhang Z, Zhu J, Shi Y, Jiang H, Sun Z, Zheng X. Identification of human fetal liver miRNAs by a novel method. *FEBS Lett* 2005; 579: 3849-3854 [PMID: 15978578 DOI: 10.1016/j.febslet.2005.05.064]
- 37 Pall GS, Hamilton AJ. Improved northern blot method for enhanced detection of small RNA. *Nat Protoc* 2008; 3: 1077-1084 [PMID: 18536652 DOI: 10.1038/nprot.2008.67]
- 38 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942]
- 39 Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]
- 40 Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 273-278 [PMID: 9425947]
- 41 吴孟超. 原发性肝癌的诊断及治疗进展. *中国医学科学院学报* 2008; 30: 363-365.
- 42 Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Tomokuni A, Takemasa I, Umeshita K, Kanto T, Doki Y, Mori M. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 167-175 [PMID: 21749846 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.026]
- 43 Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- 44 Li L, Guo Z, Wang J, Mao Y, Gao Q. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2910-2916 [PMID: 22865399 DOI: 10.1007/s10620-012-2317-y]

- 45 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 46 Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 9798-9807 [PMID: 21098710 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1001]
- 47 Liu AM, Yao TJ, Wang W, Wong KF, Lee NP, Fan ST, Poon RT, Gao C, Luk JM. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *BMJ Open* 2012; 2: e000825 [PMID: 22403344 DOI: 10.1136/bmjopen-2012-000825]
- 48 Borel F, Konstantinova P, Jansen PL. Diagnostic and therapeutic potential of miRNA signatures in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 1371-1383 [PMID: 22314424 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.026]
- 49 Luo J, Chen M, Huang H, Yuan T, Zhang M, Zhang K, Deng S. Circulating microRNA-122a as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Oncotargets Ther* 2013; 6: 577-583 [PMID: 23723713 DOI: 10.2147/OTT.S44215]
- 50 Zheng J, Dong P, Gao S, Wang N, Yu F. High expression of serum miR-17-5p associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 549-552 [PMID: 23108086]
- 51 Li J, Wang Y, Yu W, Chen J, Luo J. Expression of serum miR-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406: 70-73 [PMID: 21295551 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.111]
- 52 Shigoka M, Tsuchida A, Matsudo T, Nagakawa Y, Saito H, Suzuki Y, Aoki T, Murakami Y, Toyoda H, Kumada T, Bartenschlager R, Kato N, Ikeda M, Takashina T, Tanaka M, Suzuki R, Oikawa K, Takanashi M, Kuroda M. Deregulation of miR-92a expression is implicated in hepatocellular carcinoma development. *Pathol Int* 2010; 60: 351-357 [PMID: 20518884 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2010.02526.x]

#### 同行评价

本文就目前血清miRNA作为标志物在HCC临床应用方面作了一综述,展示了miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的潜能,具有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静

