

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250735

CSTR: 32417.14.j.issn.1008-6358.2025.20250735

· 论 著 ·

血浆 miRNA 检测在极早期肝细胞癌鉴别诊断中的应用：一项多中心真实世界研究



胡捷, 许颖, 黄傲, 於雷, 王征, 王晓颖, 杨欣荣, 丁振斌, 叶青海,
史颖弘, 邱双健, 孙惠川, 高强, 樊嘉, 周俭*
复旦大学附属中山医院肝胆肿瘤与肝移植外科, 上海 200032

[摘要] **目的** 探讨血浆 7 个微小 RNA (miR7) 检测在极早期肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 鉴别诊断中的应用。**方法** 本研究为多中心真实世界研究。回顾性选择 2019 年 1 月至 2024 年 12 月于复旦大学附属中山医院、浙江大学医学院附属邵逸夫医院、安徽省立医院、北京大学人民医院就诊并检测血浆 miR7 的肝脏单发小结节 (最大径 ≤ 2 cm) 患者, 分为极早期 HCC 组和非 HCC 组, 比较 2 组患者的临床特征。采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线及曲线下面积 (area under the curve, AUC) 评价血浆 miR7 水平、甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP) 和异常凝血酶原 (des-gamma-carboxy prothrombin, DCP) 在极早期 HCC 鉴别诊断中的价值。在 AFP 和 DCP 均阴性 (AFP < 20 ng/mL, DCP < 40 mAU/mL) 的患者中, 分析血浆 miR7 检测对极早期 HCC 的诊断价值。**结果** 4 家医院共 64 528 例患者接受 miR7 检测, 最终纳入 1 682 例, 其中 1 073 例被诊断为极早期 HCC, 609 例被诊断为非 HCC。HCC 组患者 miR7 阳性率显著高于非 HCC 组患者 (67.9% vs 24.3%, $P < 0.001$)。ROC 曲线结果显示: 在肝脏单发小结节患者中, miR7、AFP、DCP 诊断极早期 HCC 的 AUC 分别为 0.718、0.682 和 0.642, 灵敏度分别为 67.85%、43.71%、44.45%, 特异度分别为 75.70%、92.78%、83.91%。对 AUC 进行两两比较显示: 血浆 miR7 检测的诊断效能显著优于 AFP 和 DCP ($P < 0.05$), 虽然其特异度稍低于 AFP 和 DCP, 但灵敏度显著高于 AFP 和 DCP。在 AFP 和 DCP 均阴性的患者中, miR7 对极早期 HCC 的诊断 AUC 仍为 0.728, 灵敏度为 67.82%、特异度为 77.73%。**结论** 血浆 miR7 检测是一种灵敏度和特异度较高的肝脏小结节鉴别诊断分子指标。在缺乏有效分子标志物 (AFP 及 DCP 阴性) 的极早期 HCC 患者中, miR7 可作为新的有效分子标志物以辅助诊断。

[关键词] 肝细胞癌; 血浆 miRNA; 鉴别诊断; 真实世界研究; 分子标志物

[中图分类号] R 735.7

[文献标志码] A

Plasma miRNA testing in the differential diagnosis of very early-stage hepatocellular carcinoma: a multicenter real-world study

HU Jie, XU Ying, HUANG Ao, YU Lei, WANG Zheng, WANG Xiaoying, YANG Xinrong, DING Zhenbin, YE Qinghai, SHI Yinghong, QIU Shuangjian, SUN Huichuan, GAO Qiang, FAN Jia, ZHOU Jian*

Department of Hepatobiliary Surgery and Liver Transplantation, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective** To explore the application of plasma 7 microRNA (miR7) testing in the differential diagnosis of very early-stage hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** This study is a multicenter real-world study. Patients with single hepatic lesion (maximum diameter ≤ 2 cm) who underwent plasma miR7 testing at Zhongshan Hospital, Fudan University, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Anhui Provincial Hospital, and Peking University People's Hospital between January 2019 and December 2024 were retrospectively enrolled. Patients were divided into very early-stage HCC group and non-HCC group, and the clinical pathological characteristics of the two groups were compared. The value of plasma miR7 levels, alpha-fetoprotein (AFP), and des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) in the differential diagnosis of very early-stage HCC was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) curves and area under the curve (AUC). In patients with both negative AFP and DCP (AFP < 20 ng/mL, DCP < 40 mAU/mL), the diagnostic value of plasma miR7 for very early-stage HCC was analyzed. **Results** A total of 64 528 patients from 4 hospitals underwent miR7 testing, and 1 682 were finally included, of which 1 073 were diagnosed with very early-stage HCC and 609 were diagnosed with non-HCC. The positive rate of miR7 in HCC patients was

[收稿日期] 2025-06-11 **[接受日期]** 2025-06-20

[基金项目] 上海市生物医药科技支撑专项 (22S11901100), “四大慢病”防治研究国家科技重大专项 (2024ZD0525402)。Supported by Shanghai Biomedical Technology Support Special Project (22S11901100) and Four Major Chronic Diseases National Science and Technology Major Project (2024ZD0525402).

[作者简介] 胡捷, 博士, 副主任医师. E-mail: hu.jie3@zs-hospital.sh.cn

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: zhou.jian@zs-hospital.sh.cn

significantly higher than that in non-HCC patients (67.9% vs 24.3%, $P < 0.001$). ROC curves showed that the AUCs for miR7, AFP, and DCP in distinguishing HCC patients from the non-HCC individuals were 0.718, 0.682, and 0.642, respectively. The sensitivities were 67.85%, 43.71%, and 44.45%, and the specificities were 75.70%, 92.78%, and 83.91%, respectively. The pairwise comparison of AUCs showed that the diagnostic efficacy of plasma miR7 detection was significantly better than that of AFP or DCP ($P < 0.05$). Although its specificity was slightly lower than AFP and DCP, the sensitivity was significantly higher. Among patients negative for both AFP and DCP, miR7 maintained an AUC of 0.728 for diagnosing very early-stage HCC, with 67.82% sensitivity and 77.73% specificity. **Conclusions** Plasma miR7 testing is a potential molecular marker with high sensitivity and specificity for the differential diagnosis of small hepatic nodules. In patients with very early-stage HCC lacking effective molecular markers (negative for both AFP and DCP), miR7 can serve as a novel and effective molecular marker to assist diagnosis.

[Key Words] hepatocellular carcinoma; plasma miRNA; differential diagnosis; real-world study; molecular marker

中国是肝癌高发国家，每年新发肝癌病例约占全球总数的 50%（约 36.77 万例/年），发病率居国内恶性肿瘤第 4 位；死亡病例约 31.65 万例/年，死亡率居恶性肿瘤第 2 位，仅次于肺癌^[1,2]。肝癌患者的 5 年生存率较低（2012—2015 年约为 12.1%），远低于总体癌症及其他消化道肿瘤^[3]。70%~80% 的患者在首诊时已处于局部晚期或发生远处转移（中晚期），不适合行根治性手术，仅 10%~15% 的患者能在疾病早期被发现^[4]。因此，提高早期诊断率是延长肝癌患者总生存期的关键。

微小 RNA（microRNA, miRNA）是一类长度约 22 个核苷酸的内源性非编码单链 RNA 分子^[5]。这类分子不编码蛋白质，而是通过转录后调控机制参与基因表达调控^[6]。约 60% 的人类蛋白编码基因受到 miRNA 的调控，其在细胞增殖、分化、凋亡、病理生理活动中发挥核心作用^[7]。miRNA 在外周血中高度稳定，可作为有效的分子标志物^[8]。血浆 miR7 检测试剂盒是由 7 个 miRNA 组成的肝癌诊断模型^[9]，是我国自主研发并获批用于临床肝癌检测的试剂盒。目前，该试剂盒在全国 200 余家医院应用，总检测量超过 500 万例次，有效提高了早期肝癌的检出率。然而，目前尚无研究报道 miR7 检测对小肝癌的鉴别诊断价值。基于此，本研究回顾性分析在肝脏单发小结节（最大径 ≤ 2 cm）患者中，血浆 miR7 检测对极早期肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）的鉴别诊断价值，并进一步探讨 miR7 联合其他实验室指标提升极早期 HCC 诊断准确率的可行性。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究为多中心真实世界研究。回顾性纳入 2019 年 1 月至 2024 年 12 月在复旦大

学附属中山医院、浙江大学医学院附属邵逸夫医院、安徽省立医院、北京大学人民医院就诊并完成 miR7 检测的患者。纳入标准：（1）年龄 ≥ 18 岁，在 4 家医院完成至少 1 次 miR7 检测；（2）同时完成甲胎蛋白（alpha-fetoprotein, AFP）和异常凝血酶原（des-gamma-carboxy prothrombin, DCP）检测；（3）影像学检查发现肝脏单发小结节（最大径 ≤ 2 cm）。排除标准：（1）既往有肝癌病史；（2）基本资料不全或影像学资料不完整；（3）合并其他肿瘤。

1.2 资料收集 收集患者的年龄、性别、肿瘤病史以及 AFP 和 DCP 的检测结果。接受根治性手术或穿刺活检的患者，诊断依据病理学结果；未行穿刺活检或手术的患者，肝癌诊断参照指南^[2]。极早期 HCC 定义为单发直径 ≤ 2 cm 的 HCC（巴塞罗那临床肝癌分期 0 期）。非 HCC 患者的诊断需以穿刺活检病理学结果为依据，或有超声、增强 CT 或核磁共振（MRI）结果且密切随访半年以上以明确诊断。根据最终诊断将患者分为 HCC 组（诊断为极早期 HCC）和非 HCC 组。

1.3 miR7 的检测 血浆样本在静脉血液采集后 4 h 内离心获得，以避免溶血导致的细胞内 miRNA 释放。所有样本采用两步离心法收集血浆：（1）1 300 $\times g$ 离心 20 min 去除全血中的细胞成分；（2）14 000 $\times g$ 离心 10 min 去除可能残存的细胞碎片。收集的血浆样本与保存液[骏实生物科技（上海）有限公司，货号：FD05059]混合后置于 -80°C 保存。采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应（real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR）定量检测 miRNA，严格按照试剂盒[骏实生物科

技(上海)有限公司,货号:HCC9655]操作说明书进行。检测的7个miRNA分别是miR-21、miR-26a、miR-27a、miR-122、miR-192、miR-223、miR-801,以血浆miR-1228作为标准化内参。

1.4 统计学处理 采用MedCalc 10.4.7.0和R 3.4.1处理数据。计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 t 检验。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。以病理学结果及临床诊断结果为标准,采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线及曲线下面积(area under the curve, AUC)评估miR7、AFP、DCP在HCC鉴别诊断中的价值,采用Hanley-McNeil法进行AUC的两两比较。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 研究对象筛选流程 在4家医院完成miR7检测的患者共64 528例,其中男性42 708例、女性21 820例,年龄18~98岁,中位年龄58岁。

HCC患者14 784例,其中男性12 049例、女性2 735例,年龄18~96岁,中位年龄59岁,中国肝癌分期(China liver cancer staging, CNLC) I期5 818例、II期5 248例、III~IV期3 718例。非HCC患者49 744例,其中男性30 659例、女性19 085例,年龄18~98岁,中位年龄57岁,诊断为其他恶性肿瘤(非HCC)2 511例、肝脏良性肿瘤587例。根据本研究纳入、排除标准,最终纳入1 682例肝脏单发小结节(最大径 ≤ 2 cm)患者,其中1 073例诊断为极早期HCC,609例诊断为非HCC。

2.2 两组患者临床病理特征 结果(表1)显示:HCC组患者年龄25~84岁,男性846例(78.8%);非HCC组患者年龄21~91岁,男性349例(57.3%)。两组患者年龄、性别、肿块最大径、AFP、DCP差异均有统计学意义。HCC组患者miR7阳性率显著高于非HCC组患者(67.9% vs 24.3%, $P < 0.001$)。

表1 HCC组患者和非HCC组患者的临床特征
Table 1 Clinical characteristics of HCC group and non-HCC group

Characteristic	HCC group ($n=1\ 073$)	Non-HCC group ($n=609$)	t/χ^2	P
Age/year	58(51, 65)	60(52, 68)	2.11	0.035
Range	25-84	21-91		
Sex $n(\%)$			86.56	<0.001
Male	846(78.8)	349(57.3)		
Female	227(21.2)	260(42.7)		
Nodule size/cm	1.6(1.3, 1.8)	1.5(1.2, 1.8)	2.36	0.019
Range	0.8-2.0	0.3-2.0		
AFP $n(\%)$			242.24	<0.001
≥ 20 ng/mL	469(43.7)	44(7.2)		
< 20 ng/mL	604(58.3)	565(92.8)		
DCP $n(\%)$			137.65	<0.001
≥ 40 mAU/mL	477(44.6)	98(16.1)		
< 40 mAU/mL	596(55.5)	511(83.9)		
miR7 $n(\%)$			293.43	<0.001
Positive	728(67.9)	148(24.3)		
Negative	345(32.1)	461(75.7)		

HCC: hepatocellular carcinoma; AFP: alpha-fetoprotein; DCP: des-gamma-carboxy prothrombin.

2.3 miR7、AFP、DCP在极早期HCC鉴别诊断中的价值 结果(图1)显示:在1 682例肝脏单发小结节患者中,miR7、AFP、DCP诊断极早期HCC的AUC分别为0.718(95%CI 0.680~0.722)、0.682(95%CI 0.680~0.717)和0.642(95%CI

0.624~0.664),灵敏度分别为67.85%(95%CI 64.95%~70.62%)、43.71%(95%CI 40.72%~46.74%)和44.45%(95%CI 41.46%~47.48%),特异度分别为75.70%(95%CI 72.05%~79.02%)、92.78%(95%CI 90.35%~94.65%)和

83.91% (95%CI 80.69%~86.69%)。AUC 的两两比较显示：血浆 miR7 的诊断效能显著优于 AFP 和 DCP ($P<0.05$)。3 个指标联合 (其中至少有 1 个检测结果为阳性) 诊断极早期 HCC 的灵敏度为 89.6%、特异度为 63.1%，AUC 为 0.763。在 AFP 和 DCP 均为阴性 (AFP<20 ng/mL 且 DCP<40 mAU/mL) 的 494 例肝脏单发小结节患者中，miR7 诊断极早期 HCC 的 AUC 为 0.728，灵敏度为 67.82%、特异度为 77.73%。

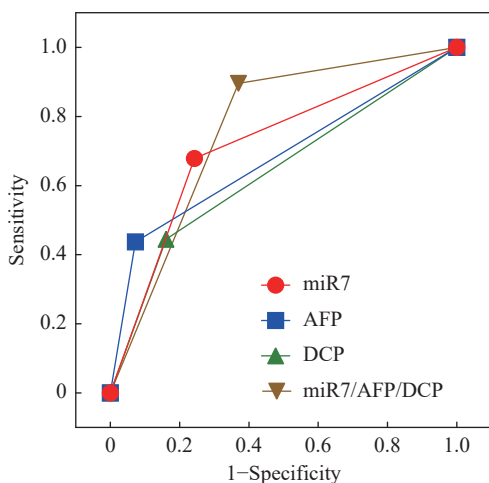


图1 miR7、AFP、DCP 诊断极早期 HCC 的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curves of miR7, AFP, and DCP for the diagnosis of very early-stage HCC

ROC: receiver operating characteristic; AFP: alpha-fetoprotein; DCP: des-gamma-carboxy prothrombin; HCC: hepatocellular carcinoma.

3 讨论

传统的肿瘤分子标志物多数为蛋白质，而作为生命物质基础之一的核酸在临床中的应用较少。随着液体活检技术的升级，近年来，多种核酸类肿瘤分子标志物 (如 miRNA、cfDNA 等) 相继被发现^[10]。血浆 miRNA 作为肿瘤分子标志物具有显著优势：(1) miRNA 种类多，可通过疾病相关 miRNA 组合 (miRNA 指纹) 进一步提高检测的灵敏度和特异度；(2) miRNA 在外周血中稳定性强，能抵抗 RNA 酶降解，检测准确度高且样本处理更便捷；(3) 约 60% 的人类蛋白编码基因受 miRNA 调控，其不仅可作为分子标志物，还可作为疾病潜在治疗靶点；(4) miRNA 检测具有微创、可重复取样的优势，降低侵入性

操作风险。此外，单次血液检测可反映肿瘤的整体分子特征，克服了肿瘤异质性对组织取样的限制。

极早期 HCC 因其体积小、影像学特征不典型，在临床上鉴别诊断难度较大。在钆塞酸增强 MRI 中，亚厘米级病灶门静脉期洗脱、典型动脉期强化及扩散受限等典型肝癌影像特征的出现概率较低 (例如，亚厘米级病灶门静脉期洗脱率为 58.5%，1~2 cm 的病灶为 73.8%^[11])，与良性结节或其他类型恶性结节的鉴别诊断尤为困难，易导致误诊或治疗延迟。对于最大径 1~2 cm 的早期 HCC 患者，手术切除后 5 年无复发生存 (recurrence-free survival, RFS) 率可达 67.3%，总生存 (overall survival, OS) 率达 89.5%。而亚厘米级 HCC 患者在成功接受手术后，5 年 RFS 为 83.3%、OS 率高达 97.3%，且其微血管侵犯率显著降低，患者预后更好^[11]。因此，临床上急需新的鉴别诊断方法以区分这类小结节，从而可以尽早手术，使患者获得最长的生存期。

本研究通过多中心大样本真实世界研究，探讨已应用于临床的血浆 miR7 检测试剂盒在极早期 HCC 鉴别诊断中的价值。在肝脏单发小结节的患者中，HCC 更好发于男性人群。传统肝癌血清标志物 AFP 和 DCP 显示出较高的鉴别诊断特异度 (分别为 92.78% 和 83.91%)，但其灵敏度欠佳 (AFP 为 43.71%，DCP 为 44.45%)，难以满足 HCC 早期筛查的需求。本研究结果显示，新型分子标志物 miR7 在极早期 HCC 诊断中表现出一定的优势：诊断灵敏度提升至 67.85% (较传统标志物 AFP 提升 24.14%)，同时保持较高的特异度 (75.7%)。此外，在 AFP、DCP 双阴性肝脏小结节患者中，miR7 仍保持较高的灵敏度 (67.82%)。miR7、AFP 和 DCP 三者联合诊断极早期 HCC 的 AUC 为 0.763，诊断效能最高。因此，血浆 miR7 检测可作为蛋白类分子标志物的有效补充指标。

血浆 miRNA 作为新一代肿瘤标志物，以其高稳定性、微创可及性和动态反映肿瘤生物学特性等优势^[12-13]，未来将重塑癌症的早期诊断、预后评估与治疗监测范式。随着检测技术 (如 CRISPR 平台、外泌体富集) 的革新和生物信息学模型的完善，多 miRNA 组合检测有望成为液体活检的核心组成部分。然而，构建标准化样本处理流程、

建立大样本参考区间以及推动基于 miRNA 的靶向治疗发展, 仍是未来临床转化的关键方向。随着这些技术的不断进步, 血浆 miRNA 检测将为肿瘤精准医疗提供更强大的工具, 进而有助于改善患者生存与生活质量。

伦理声明 本研究通过复旦大学附属中山医院伦理委员会批准 (B2024-266R)。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献 胡捷、许颖: 数据分析、论文撰写; 黄傲、於雷、王征、王晓颖、杨欣荣、丁振斌、叶青海、史颖弘、邱双健、孙惠川、高强: 研究设计, 论文审阅、修改; 樊嘉、周俭: 研究设计、指导, 论文审阅。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(1): 12-49.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政司. 原发性肝癌诊疗指南 (2024 年版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2024, 23(4): 429-478.
Department of Medical Administration, National Health Commission of the People's Republic of China. Guideline for diagnosis and treatment of primary liver cancer (2024 edition)[J]. *Chin J Dig Surg*, 2024, 23(4): 429-478.
- [3] ZHENG R S, CHEN R, HAN B F, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2024, 46(3): 221-231.
- [4] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 中国肿瘤整合诊治指南 (CACA)-肝癌部分[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2022, 8(3): 31-63.
The Society of Liver Cancer, China Anti-Cancer Association. CACA guidelines for holistic integrative management of cancer-liver cancerpart[J]. *J Multidiscip Cancer Manag Electron Version*, 2022, 8(3): 31-63.
- [5] LEE R C, FEINBAUM R L, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *Lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *Lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [6] HA M J, KIM V N. Regulation of microRNA biogenesis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(8): 509-524.
- [7] BARTEL D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [8] TEIXEIRA A R, FERREIRA V V, PEREIRA-DA-SILVA T, et al. The role of miRNAs in the diagnosis of stable atherosclerosis of different arterial territories: a critical review[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 1040971.
- [9] ZHOU J, YU L, GAO X, et al. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36): 4781-4788.
- [10] 戴靖宜, 蒋敬庭. 肝细胞肝癌肿瘤标志物诊断的新进展[J]. *诊断学理论与实践*, 2023, 22(5): 486-493.
DAI J Y, JIANG J T. Advances in tumour markers for diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Diagn Concepts Pract*, 2023, 22(5): 486-493.
- [11] HUANG P, SHI Q, NI X Y, et al. Subcentimeter hepatocellular carcinoma (HCC) on gadoteric-acid-enhanced MRI: less frequent typical imaging features compared to 1–2 cm HCC but better prognosis after surgical resection[J]. *Abdom Radiol*, 2023, 48(11): 3391-3400.
- [12] CHEN C J, LEE M H. Early diagnosis of hepatocellular carcinoma by multiple microRNAs: validity, efficacy, and cost-effectiveness[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(36): 4745-4747.
- [13] 胡捷, 张翔宇, 王征, 等. 肝局灶性结节增生患者血浆 miR-21 的表达及鉴别诊断价值[J]. *中国临床医学*, 2021, 28(3): 358-363.
HU J, ZHANG X Y, WANG Z, et al. Expression of plasma miR-21 in patients with focal nodular hyperplasia and its value in differential diagnosis[J]. *Chin J Clin Med*, 2021, 28(3): 358-363.

[本文编辑] 殷悦

引用本文

胡捷, 许颖, 黄傲, 等. 血浆 miRNA 检测在极早期肝细胞癌鉴别诊断中的应用: 一项多中心真实世界研究[J]. *中国临床医学*, 2025, 32(3): 350-354.
HU J, XU Y, HUANG A, et al. Plasma miRNA testing in the differential diagnosis of very early-stage hepatocellular carcinoma: a multicenter real-world study[J]. *Chin J Clin Med*, 2025, 32(3): 350-354. DOI: [10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250735](https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250735)