

· 肝炎相关疾病 · 论著 ·

丙型肝炎病毒感染者血清微小核糖核酸 665 和 224 的表达及其对肝癌的诊断价值

赵婧¹ 魏巍¹ 李会平² 杜晓溪¹ 曹明³ 王楷翔³

¹河北省唐山市中心血站检验科,唐山 063000;²河北省唐山市人民医院检验科,唐山 063000;

³河北省保定市人民医院检验科,保定 071000

通信作者:王楷翔,Email:13463521799@163.com

【摘要】 目的 探讨 HCV 感染者血清微小核糖核酸(miR)665 及 miR-224 的表达,分析其对肝癌的诊断价值。方法 选取 2017 年 1 月至 2020 年 5 月保定市人民医院收治的 130 例 HCV 感染者和 60 例健康体检正常者。HCV 感染者根据其诊断结果,分为慢性丙型肝炎(CHC)组 54 例,肝硬化组 46 例和肝癌组 30 例。根据 HCV RNA 的检测结果,将 HCV 感染者分为低病毒载量组(34 例,HCV RNA<10³ IU/mL)、中病毒载量组(57 例,HCV RNA 为 10³~10⁶ IU/mL)和高病毒载量组(39 例,HCV RNA>10⁶ IU/mL)。采用 Metavir 评分判断 HCV 感染者肝纤维化程度,F0 期 29 例,F1~F2 期 56 例,F3~F4 期 45 例。应用 ROC 曲线分析血清 miR-665、miR-224 及甲胎蛋白(AFP)水平诊断肝癌的价值。结果 各组 miR-665 和 miR-224 水平差异均有统计学意义($F=16.18$ 和 11.52 , P 均<0.001)。肝癌组、肝硬化组和 CHC 组血清 miR-665($q=17.39$ 、 13.84 和 10.25)及 miR-224($q=10.29$ 、 12.65 和 12.85)表达水平平均明显高于对照组(P 均<0.001)。肝癌组血清 miR-665 及 miR-224 表达水平平均高于 CHC 组($q=17.11$ 和 15.12)和肝硬化组($q=17.00$ 和 14.97)(P 均<0.001)。随着病毒载量的增加和肝纤维化的加重,血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显增高,差异有统计学意义($F=14.83$ 、 8.71 、 17.62 和 11.18 , P 均<0.001)。ROC 曲线显示,miR-665、miR-224 及 AFP 三项联合诊断肝癌的曲线下面积最大(0.963),其灵敏度和特异性为 99.2% 和 90.3%。结论 HCV 感染患者血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显升高,miR-665、miR-224 及 AFP 三项联合对 HCV 感染导致的肝癌具有较好的诊断价值。

【关键词】 丙型肝炎;肝癌;miR-665;miR-224;联合检测;诊断

基金项目:河北省卫生健康委科研基金项目(20221839)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20210422-00085

Expression levels of serum miR-665 and miR-224 in patients with hepatitis C virus infection and their diagnostic value for hepatocellular carcinoma

Zhao Jing¹, Wei Wei¹, Li Huiping², Du Xiaoxi¹, Cao Ming³, Wang Kaixiang³

¹Department of Clinical Laboratory, Tangshan Central Blood Station, Tangshan 063000, China; ²Department of Clinical Laboratory, Tangshan People's Hospital, Tangshan 063000, China; ³Department of Clinical Laboratory, Baoding People's Hospital, Baoding 071000, China

Corresponding author: Wang Kaixiang, Email: 13463521799@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression levels of serum miR-665 and miR-224 in patients with HCV infection and analyze their diagnostic value for liver cancer. **Methods** From January 2017 to May 2020, 130 cases with HCV infection and 60 healthy people with normal physical examination in Baoding People's Hospital were enrolled. According to the diagnosis results, the patients with HCV infection were divided into chronic hepatitis C(CHC) group(54 cases), liver cirrhosis group(46 cases) and liver cancer group(30 cases). According to the level of HCV RNA, patients with HCV infection were divided into low viral load group (34 cases, HCV RNA<10³ IU/mL), medium viral load group(57 cases, HCV RNA 10³-10⁶ IU/mL) and high viral load group (39 cases, HCV RNA >10⁶ IU/mL). Metavir score was used to evaluate the degree of liver fibrosis in patients with HCV infection, including 29 cases in F0 stage,

56 cases in F1-F2 stage and 45 cases in F3-F4 stage. The diagnostic value of serum miR-665, miR-224 and alpha fetoprotein (AFP) for liver cancer was analyzed by ROC curve. **Results** The expression levels of miR-665 and miR-224 in four groups were significantly different ($F=16.18$ and 11.52 , P both <0.001). The levels of miR-665 ($q=17.39$, 13.84 and 10.25) and miR-224 ($q=10.29$, 12.65 and 12.85) in liver cancer group, cirrhosis group and CHC group were significantly higher than those in the control group (P all <0.001). The levels of miR-665 and miR-224 in liver cancer group were significantly higher than those in CHC group ($q=17.11$ and 15.12) and cirrhosis group ($q=17.00$ and 14.97). With the increase of viral load and the exacerbation of liver fibrosis, the levels of serum miR-665 and miR-224 increased significantly ($F=14.83$, 8.71 , 17.62 and 11.18 , P all <0.001). ROC curve showed that the area under curve of the combined diagnosis of liver cancer with miR-665, miR-224 and AFP was the largest (0.963), and its sensitivity and specificity were 99.2% and 90.3% , respectively. **Conclusions** The expression levels of serum miR-665 and miR-224 in patients with HCV infection increase significantly. The combination of miR-665, miR-224 and AFP has a better value in the diagnosis of liver cancer caused by HCV infection.

[Key words] Hepatitis C; Liver cancer; miR-665; miR-224; Combined test; Diagnosis

Fund Program: Science Research Project of Hebei Provincial Health Commission(20221839)

DOI: 10.3760/ema.j.cn331340-20210422-00085

HCV 持续感染可导致慢性丙型肝炎(CHC)、肝硬化甚至是肝癌,严重影响人类生命健康^[1]。微小核糖核酸(miR)作为一类新型的基因调控分子,在HCV感染发生发展的不同阶段存在不同的异常表达,研究发现,miR-665及miR-224表达水平与HCV的感染和致病密切相关^[2-3]。本研究通过检测丙型肝炎患者血清miR-665及miR-224表达水平,分析其对肝癌的诊断价值,现报告如下。

对象与方法

一、研究对象

选取2017年1月至2020年5月保定市人民医院收治的130例HCV感染患者,其中男性72例,女性58例,年龄(49.25 ± 9.70)岁,范围28~68岁。130例HCV感染者根据疾病类型分为CHC组54例,肝硬化组46例和肝癌组30例。纳入标准:①符合《丙型肝炎防治指南》^[4]中CHC、肝硬化和肝癌的诊断标准;②患者均来源于HCV感染。排除标准:①其他类型感染性疾病、恶性肿瘤及自身免疫性疾病;②妊娠、哺乳期女性。另选择同期健康体检者共60名作为对照组,包括男性32名,女性28名,年龄(48.62 ± 9.35)岁,范围30~65岁。本研究经保定市人民医院伦理委员会审批通过(伦理审批号:2017012),并与研究对象签署知情同意书。

二、实验室指标检测

所有研究对象均于入院未治疗时或体检时采集空腹静脉血5 mL置于未加抗凝剂的离心管中,3 000 r/min(离心半径12.5 cm)离心10 min分离血清,使用SLAN96P型荧光定量PCR仪和试剂(上海宏石公司)检测HCV RNA、miR-665及miR-224。根据HCV RNA的检测结果, $<10^3$ IU/mL为低病毒载量, $10^3 \sim 10^6$ IU/mL为中病毒载量, $>10^6$ IU/mL为高病毒载量。miR-665引物设计:上游:5'-GCTAGTCTGATCACTAGTAG-3',下游:5'-AGCACTCATGCGTG TACG-3';miR-224引物设计:上游:5'-GCTACTCTGATGACGAGTCG-3',下游:5'-ACGATTCATGACTATGTG-3'。逆转录反应体系为15 μ L:5 μ L RNA模板,3 μ L U6及miR特异性茎环引物,0.15 μ L 100 mmol/L脱氧核糖核苷酸(dNTPs),1.00 μ L逆转录酶,1.50 μ L反转录缓冲液,0.19 μ L RNase抑制剂,4.16 μ L双蒸水。PCR总反应体系为20 μ L:1 μ L引物及探针Mix,10 μ L TaqMan通用混合物溶液,1.33 μ L反转录产物互补DNA,7.67 μ L双蒸水;扩增条件为:95 $^{\circ}$ C变性15 s、60 $^{\circ}$ C退火60 s、72 $^{\circ}$ C延伸60 s,进行45个循环。以U6为内参,每组样本重复3次,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算miR-665及miR-224水平。使用贝克曼化学发光仪检测肝纤维化四项[Ⅲ型前胶原(PⅢ NP)、Ⅳ型胶原(CⅣ)、层黏连蛋白(LN)、透明质酸

酶(HA)]及甲胎蛋白(AFP)水平;贝克曼生化分析仪检测 ALT 及 AST 水平。

三、肝脏组织病理检查

患者平卧位或左侧卧位,通过彩色多普勒超声诊断系统引导,经皮穿刺获取长度>1 cm 的肝组织送检。肝纤维化程度采用 Metavir 评分进行判断,分为 F0(无纤维化),F1(局限性汇管区纤维增生,窦周和小叶内纤维化),F2(纤维化扩大至汇管区周围,肝小叶结构保留),F3(纤维化伴小叶结构紊乱,无肝硬化),F4(早期肝硬化)。

四、统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。计数资料采用例数和率表示,组间比较采用 χ^2 检验。应用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-224、miR-665 及 AFP 水平诊断肝癌的价值,miR-224、miR-665 及 AFP 三项联合诊断为并联试验(三项联合检测中有 1 项为阳性即判定为阳性)。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、基本情况

CHC 组、肝硬化组、肝癌组和对照组间 ALT 和 AST 水平比较差异有统计学意义 (*F*=8.28 和 7.79, *P*<0.001),两两比较发现,与对照组比较,肝癌组、肝硬化组和 CHC 组 ALT (*q*=12.37、14.15、10.32)及 AST(*q*=11.81、13.62、8.73)水平均较高,差异均有统计学意义(*P*均<0.001)。四组间性别、年龄、体质指数及 HCV RNA 差异均无统计学意义 (*P*均>0.05)。

具体结果见表 1。

二、血清 miR-665、miR-224、AFP 及肝纤维化四项水平比较

CHC 组、肝硬化组、肝癌组和对照组的血清 miR-665、miR-224、AFP 及肝纤维化四项 (PⅢNP、CⅣ、LN、HA) 水平比较差异均有统计值意义 (*F*=16.18、11.52、21.63、9.71、15.84、8.25 和 14.39, *P*均<0.001)。与对照组比较,肝癌组、肝硬化组和 CHC 组血清 miR-665 (*q*=17.39、13.84、10.25)、miR-224 (*q*=10.29、12.65、12.85)、AFP (*q*=9.94、14.27、9.62) 及肝纤维化四项 (PⅢNP、CⅣ、LN、HA) (肝癌组:*q*=15.98、9.81、9.41 和 33.63, 肝硬化组:*q*=9.51、8.80、18.42 和 11.14, CHC 组:*q*=8.71、16.41、10.24 和 9.61) 水平均较高 (*P*均<0.001),且肝癌组血清 miR-665、miR-224 及 AFP 水平均明显高于 CHC 组(*q*=17.11、15.12 和 30.92) 和肝硬化组 (*q*=17.00、14.97 和 28.74),差异均有统计学意义(*P*均<0.001)。肝硬化组血清 CⅣ和 HA 水平明显高于肝癌组(*q*=13.27 和 16.94) 和 CHC 组 (*q*=11.53 和 18.15, *P*均<0.001)。CHC 组和肝硬化组血清 miR-665、miR-224、AFP、PⅢNP 及 LN 水平均无统计学差异(*P*均>0.05)。具体结果见表 2。

三、不同特征 HCV 感染患者血清 miR-665 及 miR-224 表达水平比较

表 3 显示,不同病毒载量组别的血清 miR-665 及 miR-224 表达水平差异有统计学意义 (*F*=14.83、8.71, *P*均<0.001),其中高病毒载量组血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显高于中病毒载量组(*q*=16.37 和 21.52)和低病毒载量组(*q*=10.37 和 13.52),差异

表 1 CHC 组、肝硬化组、肝癌组和对照组基本情况比较

组别	例数(例)	男性(例)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	体质指数(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	ALT(U/L, $\bar{x} \pm s$)	AST(U/L, $\bar{x} \pm s$)	HCV RNA(lg IU/mL, $\bar{x} \pm s$)
对照组	60	32	48.60±9.35	23.36±2.27	16.85±5.74	24.70±7.16	-
CHC 组	54	31	48.73±9.46	23.28±2.16	98.50±27.62	89.82±21.73	6.55±1.73
肝硬化组	46	24	49.62±9.57	23.34±2.35	103.48±31.27	94.25±24.16	6.20±1.52
肝癌组	30	17	50.16±9.82	23.15±2.10	101.26±30.15	92.17±22.40	6.47±1.65
统计值		0.03 ^a	0.95 ^b	0.78 ^b	8.28 ^b	7.79 ^b	1.43 ^b
<i>P</i> 值		0.875	0.394	0.552	<0.001	<0.001	0.185

注:CHC:慢性丙型肝炎;^a: χ^2 值;^b:*F*值

均有统计学意义(P 均 <0.001),且中病毒载量组血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显高于低病毒载量组($q=11.24$ 和 8.53 , P 均 <0.001)。另外,不同肝纤维化分期组的血清 miR-665 及 miR-224 表达水平差异有统计学意义($F=17.62, 11.18, P$ 均 <0.001),其中 F3~F4 期血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显高于 F0 期 ($q=24.638$ 和 14.413) 和 F1~F2 期 ($q=18.52$ 和 11.40), 差异均有统计学意义 (P 均 <0.001), F1~F2 期血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显高于 F0 期($q=13.71$ 和 $10.61, P$ 均 <0.001)。具体结果见表 3。

四、miR-665、miR-224 及 AFP 诊断肝癌的价值

miR-665、miR-224 及 AFP 三项联合诊断肝癌的曲线下面积为 0.963, 明显高于单项 miR-665、miR-224 及 AFP (0.851、0.815 及 0.920); 同时其灵

敏度和特异性为 99.2%和 90.3%, 也优于三项单项检测结果(灵敏度和特异性:miR-665 分别为 81.3%和 86.2%, miR-224 分别为 83.7%和 75.8%, AFP 分别为 93.6%和 87.5%)。见表 4。

讨 论

miR 是一类小分子非编码 RNA, 在 CHC 发展、肝细胞再生和功能调节方面发挥着重要的作用, 与肝细胞癌的发生和发展有关^[5]。近期研究发现, miR-665 及 miR-224 表达水平在肝细胞癌中的表达与肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭能力及预后相关, 可促进肝癌细胞增殖、细胞周期和凋亡, 有望作为肝癌诊断、预后预测的标志物和治疗靶点^[6-7]。同时 miR-665 及 miR-224 具有稳定性好、特异性高、易于检测等优点。因此, 本研究选择 miR-665 及 miR-224 作为研

表 2 不同组别患者血清 miR-665、miR-224、AFP 及肝纤维化四项水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数(例)	miR-665	miR-224	AFP(ng/mL)	PⅢNP(ng/mL)	CⅣ(ng/mL)	LN(ng/mL)	HA(ng/mL)
对照组	60	1.05±0.27	0.16±0.05	9.75±2.84	5.37±1.92	20.73±6.15	11.36±4.28	50.41±15.39
CHC 组	54	2.28±0.93 ^a	0.85±0.26 ^a	45.80±10.36 ^a	10.74±5.26 ^a	81.62±24.71 ^a	38.62±10.24 ^a	342.20±75.26 ^a
肝硬化组	46	2.33±0.96 ^a	0.91±0.32 ^a	51.72±11.45 ^a	11.35±6.50 ^a	166.74±68.20 ^{ab}	42.73±15.20 ^a	740.52±106.37 ^{ab}
肝癌组	30	6.74±1.52 ^{abc}	1.95±0.84 ^{abc}	364.28±35.70 ^{abc}	12.38±8.52 ^a	115.28±41.27 ^{abc}	38.10±11.35 ^a	529.16±87.40 ^{abc}
F 值		16.18	11.52	21.63	9.71	15.84	8.25	14.39
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:miR:微小核糖核酸;AFP:甲胎蛋白;CHC:慢性丙型肝炎;PⅢNP:Ⅲ型前胶原;CⅣ:Ⅳ型胶原;LN:层黏连蛋白;HA:透明质酸酶;与对照组比较,^a: $P<0.001$;与 CHC 组比较,^b: $P<0.001$;与肝硬化组比较,^c: $P<0.001$

表 3 血清 miR-665 及 miR-224 在不同特征 HCV 感染者中的表达水平($\bar{x}\pm s$)

项目	病毒载量			F 值	P 值	肝纤维化分期			F 值	P 值
	低($n=34$)	中($n=57$)	高($n=39$)			F0($n=29$)	F1~F2($n=56$)	F3~F4($n=45$)		
miR-665	1.82±0.61	2.75±0.94 ^a	6.58±1.40 ^{ab}	14.83	<0.001	1.51±0.48	2.90±0.96 ^c	6.83±1.62 ^{cd}	17.62	<0.001
miR-224	0.51±0.13	1.32±0.48 ^a	2.05±0.86 ^{ab}	8.71	<0.001	0.35±0.08	1.40±0.52 ^c	2.36±0.90 ^{cd}	11.18	<0.001

注:miR:微小核糖核酸;HCV RNA $<10^3$ IU/mL 为低病毒载量; $10^3\sim 10^6$ IU/mL 为中病毒载量; $>10^6$ IU/mL 为高病毒载量;与低病毒载量组比较,^a: $P<0.001$;与中病毒载量组比较,^b: $P<0.001$;与 F0 期比较,^c: $P<0.001$;与 F1~F2 期比较,^d: $P<0.001$

表 4 miR-665、miR-224 及 AFP 诊断肝癌的价值

项目	最佳截断值	AUC(95%CI)	灵敏度(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
miR-665	4.12	0.851(0.788~0.912)	81.3	86.2	84.5	83.5
miR-224	1.36	0.815(0.757~0.874)	83.7	75.8	79.3	80.6
AFP	208.42 ng/mL	0.920(0.857~0.975)	93.6	87.5	91.0	90.4
三项联合	-	0.963(0.894~0.997)	99.2	90.3	94.2	95.3

注:miR:微小核糖核酸;AFP:甲胎蛋白

究指标,以期为肝癌的诊断及治疗提供帮助。

一、血清 miR-665 及 miR-224 表达水平随着丙型肝炎患者疾病进展而升高

本研究显示,肝癌组、肝硬化组和 CHC 组血清 miR-665 及 miR-224 表达水平均明显高于对照组,且肝癌组血清 miR-665 及 miR-224 表达水平均明显高于 CHC 组和肝硬化组,提示 miR-665 及 miR-224 可能参与丙型肝炎的发生发展过程。An 等^[8]研究发现,miR-224 通过调节多种信号通路在肝癌细胞的生长、增殖、侵袭和迁移中起到促进作用。另有研究指出,miR-665 与肝癌患者的临床病理特征和不良预后呈正相关,可能成为肝癌患者治疗的新诊断标志物和靶点^[9]。本研究显示,血清 miR-665 及 miR-224 表达水平随着肝纤维化分期的增高而逐渐升高,说明它们与 HCV 感染患者的病毒传染性和肝纤维化程度密切相关。

二、血清 miR-665 和 miR-224 联合 AFP 对肝癌有良好的诊断价值

AFP 是目前诊断原发性肝癌的经典肿瘤标志物。而据 Mohamed 等^[10]研究发现 miR-665 对肝癌的诊断也具有较好的灵敏度和特异性,可作为肝癌诊断的一个有前途的生物标志物。同时,Lin 等^[11]也发现早期肝癌患者血清 miR-224 水平明显高于肝硬化、慢性肝炎和健康对照者,认为 miR-224 是检测早期肝癌的一个潜在的生物标志物。本研究 ROC 曲线显示,miR-665 及 miR-224 对肝癌诊断均具有较好的价值,联合 AFP 诊断肝癌的曲线下面积最大,说明 miR-665 及 miR-224 表达水平可诊断肝癌的生物学标志物,其联合 AFP 诊断肝癌的效能较高。

综上所述,随着病情的进展,HCV 感染所致相关肝炎患者血清 miR-665 及 miR-224 表达水平明显升高,其联合 AFP 对诊断 HCV 感染导致的肝癌具有较好的价值。但本研究为单中心的临床分析,影响 HCV 感染及肝癌发生发展的混杂因素较多,其结果可能存在偏倚,未来仍需扩大样本进行更深入的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 赵婧:论文撰写和修改;魏巍、李会平、曹明:实验结

果的检测及数据收集;杜晓溪:实验结果的统计分析;王楷翔:论文设计及实验指导

参 考 文 献

- [1] Lohmann V, Bartenschlager R. Indelibly stamped by hepatitis C virus infection: persistent epigenetic signatures increasing liver cancer risk[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2130-2133. DOI:10.1053/j.gastro.2019.04.033.
- [2] Hu Y, Yang C, Yang S, et al. miR-665 promotes hepatocellular carcinoma cell migration, invasion, and proliferation by decreasing Hippo signaling through targeting PTPRB[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 954. DOI:10.1038/s41419-018-0978-y.
- [3] Wu C, Wang X, Zhang J, et al. MicroRNA-224 expression and polymorphism predict the prognosis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma patients after liver resection[J]. *Clin Lab*, 2019, 65(6): 10. DOI:10.7754/Clin.Lab.2018.181025.
- [4] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.丙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. *中华肝病杂志*, 2015, 23(12): 906-923. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.12.003.
- [5] Pan JH, Zhou H, Zhao XX, et al. Role of exosomes and exosomal microRNAs in hepatocellular carcinoma: potential in diagnosis and antitumour treatments (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 1809-1816. DOI:10.3892/ijmm.2018.3383.
- [6] Bai N, Peng E, Xia F, et al. CircABCC2 regulates hepatocellular cancer progression by decoying miR-665[J]. *J Cancer*, 2019, 10(17): 3893-3898. DOI:10.7150/jca.31362. eCollection 2019.
- [7] Cui Y, Xu HF, Liu MY, et al. Mechanism of exosomal microRNA-224 in development of hepatocellular carcinoma and its diagnostic and prognostic value[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(15): 1890-1898. DOI:10.3748/wjg.v25.i15.1890.
- [8] An F, Wu X, Zhang Y, et al. miR-224 regulates the aggressiveness of hepatoma cells through the IL-6/STAT3/SMAD4 pathway [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2021, 32(6): 532-542. DOI:10.5152/tjg.2021.191056.
- [9] Zhang T, Jing B, Bai Y, et al. Circular RNA circTMEM45A acts as the sponge of microRNA-665 to promote hepatocellular carcinoma progression[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22:285-297. DOI: 10.1016/j.omtn.2020.08.011.
- [10] Mohamed AA, Omar AAA, El-Awady RR, et al. MiR-155 and miR-665 role as potential non-invasive biomarkers for hepatocellular carcinoma in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection[J]. *J Transl Int Med*, 2020, 8(1): 32-40. DOI:10.2478/jtim-2020-0006.
- [11] Lin L, Lu B, Yu J, et al. Serum miR-224 as a biomarker for detection of hepatocellular carcinoma at early stage[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2016, 40(4): 397-404. DOI:10.1016/j.clinre.2015.11.005.

(收稿日期:2021-04-22)