

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.21.008

血清 HOXC9 和 AFP 在早期肝癌患者中的水平及临床意义*

关 辉,薄维波[△]

南京医科大学康达学院附属连云港市东方医院检验科,江苏连云港 222042

摘 要:目的 分析血清同源盒基因 9(HOXC9)与甲胎蛋白(AFP)联合检测在早期肝细胞癌(HCC)诊断中的价值。方法 选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在连云港市东方医院就诊的 120 例肝病作为研究对象,其中包括 58 例早期 HCC 患者(早期 HCC 组)和 62 例良性肝病(良性肝病组),另选取同期在该院体检的 60 例健康体检者作为对照组。分别采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和化学发光法检测血清 HOXC9、AFP 水平;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 HOXC9、AFP 单独及联合检测对早期 HCC 的诊断效能;采用 Spearman 相关分析血清 HOXC9 和 AFP 的相关性。结果 早期 HCC 组、良性肝病组和对照组血清 HOXC9、AFP 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);早期 HCC 组和良性肝病组血清 HOXC9、AFP 水平显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清 HOXC9 单独检测诊断早期 HCC 的曲线下面积(AUC)为 0.821(95%CI:0.722~0.878)、灵敏度为 91.8%、特异度为 72.6%;血清 AFP 单独检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.611(95%CI:0.538~0.794)、灵敏度为 77.8%、特异度为 94.1%。血清 HOXC9 和 AFP 联合检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.956(95%CI:0.840~0.984),明显高于血清 HOXC9 和 AFP 单独检测($Z=0.871,0.511,P<0.05$)。Spearman 相关性分析结果显示,血清 HOXC9 水平与 AFP 水平无相关性($r=0.015,P=0.129$)。结论 血清 HOXC9 检测对早期 HCC 患者有一定的诊断价值,与 AFP 联合检测可显著提高对早期 HCC 的诊断效能。

关键词:肝细胞癌; 同源盒基因 9; 甲胎蛋白; 诊断
中图法分类号:R735.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2023)21-3140-04

Levels and clinical significance of serum HOXC9 and AFP in patients with early hepatocellular carcinoma*

GUAN Hui,BO Weibo[△]

Department of Clinical Laboratory,the Affiliated Lianyungang Oriental Hospital of Kangda
College of Nanjing Medical University,Lianyungang,Jiangsu 222042,China

Abstract: Objective To analyze the value of combined detection of serum homologous box gene 9 (HOXC9) and alpha fetoprotein (AFP) in the diagnosis of early hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 120 liver disease patients who enrolled in Lianyungang Oriental Hospital from January 2020 to December 2021 were selected,including 58 patients with early HCC (early HCC group) and 62 patients with benign liver disease (benign liver disease group). Additionally,60 healthy individuals who underwent physical examination during the same period in the hospital were selected as the control group. Serum HOXC9 and AFP levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemiluminescence assay,respectively. The receiver operating characteristic (ROC) curve was adopted to assess the diagnostic efficacy of serum HOXC9 and AFP alone and in combination for early HCC. The Spearman correlation analysis was used to investigate the correlation between serum HOXC9 and AFP. **Results** There were statistically significant differences in serum HOXC9 and AFP levels among the early HCC group,benign liver disease group and control group ($P<0.05$);the serum levels of serum HOXC9 and AFP in the early HCC group and benign liver disease group were significantly higher than those in the control group,with statistically significant difference ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) of serum HOXC9 alone for the diagnosis of early HCC was 0.821 (95%CI:0.722—0.878),with sensitivity of 91.8% and specificity of 72.6%;the AUC of serum AFP alone for the diagnosis of early HCC was 0.611 (95%CI:0.538—0.794),with sensitivity of

* 基金项目:江苏省连云港市卫生健康委员会指导性课题(ZD202206);南京医科大学康达学院科研发展基金项目(KD2022KYJJZD137)。
作者简介:关辉,女,主管技师,主要从事生化免疫方向的工作。 [△] 通信作者,E-mail:bo61455659@126.com。
网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20230927.1304.002\(2023-09-27\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20230927.1304.002(2023-09-27))

77.8% and specificity of 94.1%. The AUC of combined detection of serum HOXC9 and AFP was 0.956 (95%CI:0.840—0.984), which was significantly higher than that of individual detecion of serum HOXC9 and AFP ($Z=0.871, 0.511, P<0.05$). The results of Spearman correlation analysis showed that there was no correlation between serum HOXC9 and AFP ($r=0.105, P=0.129$). **Conclusion** Serum HOXC9 detection has high diagnostic value for early HCC patients, and combined detection with AFP can significantly improve the diagnostic efficacy for early HCC.

Key words: hepatocellular carcinoma; homologous box gene 9; alpaha fetoprotein; diagnosis

肝细胞癌(HCC)由于其较高的发病率和病死率,给全世界公共卫生系统造成沉重负担^[1]。HCC 治疗方案主要包括手术切除、射频治疗、经动脉治疗、化学疗法和放射疗法,由于其具有易转移、易复发和耐药等特点,长期生存率较低。KOUROUMALIS 等^[2]建议对高危人群进行 HCC 监测;来自一家肝癌研究机构的 16 年队列报告显示,早期 HCC 的诊断率呈增加趋势^[3]。因此,寻找高灵敏度、高特异度的肿瘤标志物对 HCC 的诊断,尤其是早期 HCC 的诊断具有重要的临床意义。甲胎蛋白(AFP)是目前 HCC 辅助诊断的重要血清标志物,在肝脏良性疾病如慢性肝炎、肝硬化中也有部分患者会出现不同程度的升高,在肝硬化发展为 HCC 的早期阶段,其灵敏度仍不理想。HOX 基因属于同源盒基因,在编码进化保守的转录因子中发挥重要作用,能确保细胞分化的平衡^[4]。HOXC9 作为 HOX 家族中的一员,在多种肿瘤中存在异常表达^[5-6],提示失调的 HOXC9 基因与癌症的发展和转移密切相关。HOX 的失调表达体现在 HCC 发育的不同方面,包括乙型肝炎病毒(HBV)感染、丙型肝炎病毒(HCV)感染、上皮间质转化(EMT)和免疫耐受性^[7],但目前为止,HOXC9 在早期 HCC 中的诊断价值尚不清楚。本研究通过分析血清 HOXC9 在早期 HCC 患者、良性肝病患者和健康受试者之间的水平差异,旨在进一步分析其在早期 HCC 诊断中的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月就珍于连云港市东方医院(以下简称本院)的 120 例肝病患者作为研究对象,包括 58 例早期 HCC 患者(早期 HCC 组)和 62 例良性肝病患者(良性肝病组)。纳入标准:(1)符合《原发性肝癌诊断规范(2019)诊断标准》^[8],临床分期 I~II 期;(2)临床资料完整;(3)未进行放、化疗等治疗。排除标准:(1)合并其他系统肿瘤;(2)妊娠期女性及未成年人。早期 HCC 组中男 43 例、女 15 例,年龄 40~68 岁;良性肝病组中男 32 例、女 30 例,年龄 39~71 岁,肝囊肿 21 例、肝血管瘤 24 例、肝内钙化灶 10 例、肝腺瘤 7 例。另选取同期在本院体检的健康者 60 例作为对照组,其中男 35 例、女 25 例,年龄 28~69 岁。3 组研究对象的性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P<0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会审核通过(伦理批准号:2022-

013-01),所有研究对象均知情并签署知情同意书。

1.2 方法 分别抽取 3 组研究对象清晨空腹静脉血 3 mL,室温静置 30 min,4 000 r/min 离心 15 min,收集血清标本并置-80℃低温冰箱中保存待测,避免反复冻融。采用贝克曼 Dxl800 Access 全自动化学发光分析仪及配套试剂盒检测血清 AFP 水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 HOXC9 水平,试剂盒购自上海科澄维生物科技有限公司,生产批号:KCW21039,检测设备为瑞士帝肯 TECAN 150 型酶标仪。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析。采用 K-S 检验数据是否符合正态分布,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 HOXC9、AFP 对早期 HCC 的诊断效能。采用 Spearman 相关分析血清 HOXC9 与 AFP 的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象血清 HOXC9、AFP 水平比较 3 组研究对象血清 HOXC9、AFP 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);早期 HCC 组血清 HOXC9、AFP 水平显著高于良性肝病组 and 对照组,且良性肝病组高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组研究对象血清 HOXC9、AFP 水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]			
组别	<i>n</i>	HOXC9(pg/mL)	AFP(ng/mL)
早期 HCC 组	58	68.62(2.37~889.65) ^{ab}	189.36(5.43~2015.38) ^{ab}
良性肝病组	62	12.13(5.55~34.32) ^a	6.26(2.53~14.80) ^a
对照组	60	1.88(0.49~3.65)	2.17(1.88~7.90)
<i>H</i>		176.32	61.20
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与良性肝病组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 血清 HOXC9 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 的诊断效能 血清 HOXC9 单独检测诊断早期 HCC 的曲线下面积(AUC)为 0.821 (95%CI:0.722~0.878)、灵敏度为 91.8%、特异度为 72.6%,

血清 AFP 单独检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.611 (95%CI:0.538~0.794)、灵敏度为 77.8%、特异度为 94.1%,血清 HOXC9 和 AFP 单独诊断早期 HCC 的 AUC 比较,差异有统计学意义($P<0.05$);血清

HOXC9 和 AFP 联合检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.956 (95%CI:0.840~0.984),明显高于血清 HOXC9 和 AFP 单独检测 ($Z=0.871,0.511,P<0.05$)。表 2、图 1。

表 2 HOXC9 和 AFP 单独及联合检测对早期 HCC 的诊断效能

项目	AUC	AUC 的 95%CI	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预期值 (%)	阴性预期值 (%)	准确度 (%)
HOXC9	0.821	0.722~0.878	5.06 pg/mL	91.8	72.6	66.4	94.2	91.2
AFP	0.611	0.538~0.794	12.12 ng/mL	77.8	94.1	83.3	88.2	82.1
HOXC9+AFP	0.956	0.840~0.984	—	82.6	96.7	89.6	94.7	93.7

注:—表示无数据。

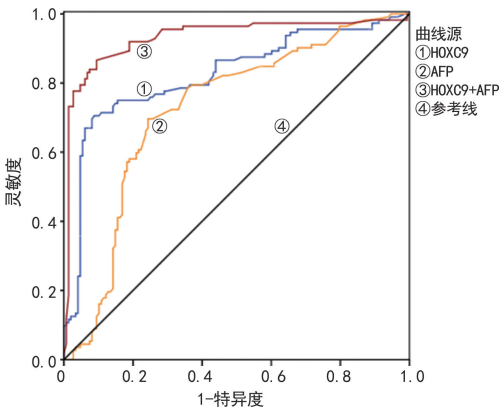


图 1 血清 HOXC9 和 AFP 单独及联合检测诊断早期 HCC 的 ROC 曲线

2.3 血清 HOXC9 和 AFP 水平的相关性分析
Spearman 相关性分析结果显示,血清 HOXC9 水平与血清 AFP 水平无相关性($r=0.015,P=0.129$)。

3 讨论

HCC 作为恶性程度较高的一类肿瘤,出现临床症状时已处于晚期,此时,治疗往往无效,且中位生存率较低(<3 个月)^[9]。目前,一大部分 HCC 患者的肝脏储备较差和(或)门静脉流量受损。随着早期 HCC 检测技术和检测项目的进步,5 年生存率已提高至 75.0%^[10]。尽管传统的治疗方法已经大大改善了 HCC 的预后,但疾病复发和肝内转移继续对这些患者的治疗构成挑战。血清 AFP 作为 HCC 最常用的肿瘤标志物,在 HCC 的筛查中发挥重要作用。术后 AFP 水平 $>200\text{ }\mu\text{g/L}$ 提示 HCC 组织切除不完全,或发生转移^[11]。然而,相关研究发现并非所有的 HCC 患者都可以单独通过 AFP 进行诊断,AFP 的假阴性率约为 30.0%,其假阳性也发生于一些患有非恶性疾病(如病毒性肝炎和肝硬化)的患者^[12]。因此,临床迫切需要寻找新的肿瘤标志物来提高早期 HCC 的检出率。

HOX 家族由 HOXA、HOXB、HOXC 和 HOXD 组成,其中 HOXC9 位于人类染色体 12q13.13,在癌

症进展中发挥着关键作用。LI 等^[13]研究发现 HOXC9 与胶质母细胞瘤的恶性程度有关,可以作为胶质母细胞瘤诊断和预后的生物标志物。ZHAO 等^[14]研究发现 HOXC9 在胃癌组织中过表达并促进胃癌细胞的转移和干细胞样表型,证明了 miR-26a 表达缺失导致血清 HOXC9 水平的上调,该研究首次证明了 miR-26a/HOXC9 轴在胃癌细胞恶性行为中的作用。石峰等^[15]研究发现 HOXC9 在 HCC 癌组织及 HCC 细胞系中高表达,干扰 HOXC9 后,HepG2 细胞增殖、迁移和侵袭能力降低。本研究结果显示早期 HCC 组患者血清 HOXC9 水平显著高于良性肝病组和对照组($P<0.05$),说明血清 HOXC9 水平在良、恶性肝病中表达存在差异。

单项血清肿瘤标志物检测的灵敏度和(或)特异度往往欠佳,因此为减少漏诊、误诊的发生,可采用多项血清肿瘤标志物联合检测诊断 HCC。本研究利用二元 Logistic 回归模型,通过拟合最佳回归曲线,结合 ROC 曲线,分析血清 HOXC9 和 AFP 联合诊断早期 HCC 的价值。结果显示,HOXC9 单独检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.821 (95%CI:0.722~0.878),血清 HOXC9 和 AFP 联合检测诊断早期 HCC 的 AUC 为 0.956 (95%CI:0.840~0.984),显著高于血清 HOXC9 和 AFP 单独检测 ($Z=0.871,0.511,P<0.05$),这说明二者联合检测对 HCC 高危人群的筛查及早期诊断有重要的临床参考价值。Spearman 相关性分析结果显示,血清 HOXC9 水平与血清 AFP 水平无相关性($r=0.015,P=0.129$),说明二者在诊断早期 HCC 时可以互相补充。但本研究是一项回顾性病例对照研究,病例数量较少且为单中心研究,后期有待多中心大样本量研究进一步验证。

综上所述,血清 HOXC9 与 AFP 联合检测可显著提高对早期 HCC 的诊断效能。

参考文献

[1] WU Y,HAO X,WEI H,et al. Blockade of T-cell receptor

with Ig and ITIM domains elicits potent antitumor immunity in naturally occurring HBV-related HCC in mice[J]. *Hepatology*, 2023, 77(3):965-981.

[2] KOUROUMALIS E, TSOMIDIS I, VOUMVOURAKI A. Pathogenesis of hepatocellular carcinoma: the interplay of apoptosis and autophagy[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(4):1166.

[3] CHON Y E, JEONG S W, JUN D W. Hepatocellular carcinoma statistics in South Korea[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2021, 27:512-514.

[4] LIU Y, JING L, ZHANG J. circRNA-mediated up regulation of HOXC9 is correlated with poor outcome and immune microenvironment infiltrates in LUAD[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 635:128-135.

[5] CAO Y M, WEN D, QU N, et al. Prognostic and clinical significance of HOXC9 and HOXD10 in papillary thyroid cancer[J]. *Transl Cancer Res*, 2021, 10(7):3317-3325.

[6] TANG Y, WANG T, YU Y, et al. Upregulation of HOXC9 generates interferon-gamma resistance in gastric cancer by inhibiting the DAPK1/RIG1/STAT 1 axis[J]. *Cancer*, 2021, 112(9):3455-3468.

[7] JIN Z, SUN D, SONG M, et al. Comprehensive analysis of HOX family members as novel diagnostic and prognostic markers for hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol*, 2022, 2022:5758601.

[8] 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]. *中国实用外科杂志*, 2020, 40(2):121-138.

[9] CHAKRABORTY E, SARKAR D. Emerging therapies for hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(11):2798.

[10] 靳克俭, 潘新波. HBV 阳性肝癌患者 DCP、AFP、AFP-L3 与肝功能状态相关性研究[J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(17):2379-2381.

[11] ITO T, NGUYEN M H. Perspectives on the underlying etiology of HCC and its effects on treatment outcomes [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2023, 10:413-428.

[12] 薄维波, 秦继宝, 陈隽, 等. 血清异常凝血酶原在中晚期肝癌患者中的表达及预后[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(23):3036-3040.

[13] LI C, FENG C, CHEN Y, et al. Arsenic trioxide induces the differentiation of retinoic acid-resistant neuroblastoma cells via upregulation of HOXC9[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2022, 31(8):903-911.

[14] ZHAO X F, YANG Y S, PARK Y K. HOXC9 overexpression is associated with gastric cancer progression and a prognostic marker for poor survival in gastric cancer patients[J]. *Int J Clin Oncol*, 2020, 25(12):2044-2054.

[15] 石峰, 杨琳琳, 喻成飞, 等. HOXC9 在肝细胞癌组织中的表达以及对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. *临床消化病杂志*, 2022, 34(1):7-11.

(收稿日期:2023-03-03 修回日期:2023-09-12)

(上接第 3139 页)

[4] HORIBA K, KAWADA J I, OKUNO Y, et al. Comprehensive detection of pathogens in immunocompromised children with bloodstream infections by next-generation sequencing[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):3784.

[5] SONG Y J, GYARMATI P. Optimized detection of bacteria in bloodstream infections [J]. *PLoS One*, 2019, 14(6):e0219086.

[6] MA H S, LIU H S, WU C Y, et al. Diagnostic value of serum heparin binding protein, blood lactic acid combined with hs-CRP in Sepsis and its relationship with prognosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021:5023733.

[7] LÓPEZ-PINTOR J M, NAVARRO-SAN FRANCISCO C, SÁNCHEZ-LÓPEZ J, et al. Direct antimicrobial susceptibility testing from the blood culture pellet obtained for MALDI-TOF identification of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38(6):1095-1104.

[8] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 1. 0, 2018[EB/OL]. [2023-04-15]. <http://www.eucast.org>.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31st ed. CLSI supplement M100[S]. Wayne, PA:CLSI, 2021.

[10] 张颢昱, 吴晶, 杨俊, 等. 两种前处理方法对血培养直接药敏的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(20):2500-2505.

[11] KIM J H, KIM T S, SONG S H, et al. Direct rapid antibiotic susceptibility test(dRAST) for blood culture and its potential usefulness in clinical practice[J]. *J Med Microbiol*, 2018, 67(3):325-331.

[12] 谷钰峰, 李昱, 张晓录, 等. 基于 MALDI-TOF MS 与 FCM 联合应用对临床血流感染病原体鉴定和药敏试验新方法的建立和应用[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(4):20-24.

[13] 金君, 孙仁华, 呼邦传. 血流感染的分子诊断研究进展[J]. *中国现代医生*, 2020, 58(36):182-187.

[14] 陆燕飞, 刘根焰, 张晓慧, 等. 质谱快速鉴定联合直接药敏试验在肠杆菌目细菌血流感染诊断中的应用评估[J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(11):822-827.

[15] 黄剑芳. 直接药敏试验与常规药敏试验在临床血液细菌鉴定检验中的效果研究[J]. *中国医药科学*, 2019, 9(13):121-122.

(收稿日期:2023-04-28 修回日期:2023-07-22)