

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.017

原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 水平及其与肝纤维化指标的相关性

幸红军

辽宁省沈阳市第四人民医院检验科, 辽宁沈阳 110031

摘 要:目的 分析原发性肝癌患者血清可溶性肿瘤细胞坏死因子相关凋亡诱导配体(sTRAIL)、基质金属蛋白酶-3(MMP-3)水平,以及其与肝纤维化指标的相关性。方法 52 例原发性肝癌患者纳入原发性肝癌组,63 例良性肿瘤患者纳入良性肿瘤组,39 例健康体检者纳入对照组,比较各组血清 sTRAIL、MMP-3 及肝纤维化指标水平,并分析血清 sTRAIL、MMP-3 及肝纤维化指标[透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原肽(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)]的相关性,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 sTRAIL、MMP-3 水平对原发性肝癌的诊断价值。结果 原发性肝癌组血清 sTRAIL、MMP-3 水平高于良性肿瘤组及对照组,良性肿瘤组血清 sTRAIL、MMP-3 水平高于对照组,原发性肝癌组 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平高于良性肿瘤组及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);良性肿瘤组与对照组的 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。TNM 分期Ⅰ期、Ⅱ期、Ⅲ期患者血清 sTRAIL、MMP-3、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平依次升高,两两比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,sTRAIL、MMP-3、sTRAIL+MMP-3 的 ROC 曲线下面积分别为 0.686、0.730、0.806。相关分析显示,原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 与 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 之间均呈正相关($r=0.501\sim0.651, P<0.05$)。结论 血清 sTRAIL、MMP-3 可能参与原发性肝癌的发生、发展,且与肝纤维化指标呈正相关,对原发性肝癌的早期诊断有重要价值。

关键词:原发性肝癌; 可溶性肿瘤细胞坏死因子相关凋亡诱导配体; 基质金属蛋白酶-3; 肝纤维化

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)08-1093-04

Expression levels of serum sTRAIL and MMP-3 in patients with primary liver cancer and their correlation with liver fibrosis indexes

XING Hongjun

Department of Clinical Laboratory, Shenyang Municipal Fourth People's Hospital, Shenyang, Liaoning 110031, China

Abstract: Objective To analyze the levels of serum soluble tumor cell necrosis factor-associated apoptosis-inducing ligand (sTRAIL) and matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) in the patients with primary liver cancer and their correlation with liver fibrosis indexes. **Methods** Fifty-two patients with primary liver cancer were included into the primary liver cancer group, 63 patients with benign tumors were included into the benign tumor group, and 39 subjects undergoing healthy physical examination were included into the control group. The levels of serum sTRAIL, MMP-3 and liver fibrosis indexes were compared among the groups, and the correlations among serum sTRAIL, MMP-3 and indicators of liver fibrosis [hyaluronic acid (HA), laminin (LN), type Ⅲ procollagen peptide (PC Ⅲ), type Ⅳ collagen (Ⅳ-C)] were analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the diagnostic value of sTRAIL and MMP-3 level in primary liver cancer. **Results** The levels of serum sTRAIL and MMP-3 in the primary liver cancer group were higher than those in the benign tumor group and control group, the levels of serum sTRAIL and MMP-3 in the benign tumor group were higher than those in the control group, the levels of HA, LN, PC Ⅲ and Ⅳ-C in the primary liver cancer group were higher than those in the benign tumor group and control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the levels of HA, LN, PC Ⅲ and Ⅳ-C between the benign tumor group and control group ($P>0.05$). The levels of serum sTRAIL, MMP-3, HA, LN, PC Ⅲ, Ⅳ-C in the patients with TNM stage Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ of primary liver cancer were increased in turn, and the pairwise comparison showed statistically significant differences ($P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) analysis results showed that the AUC of TRAIL, MMP-3, TRAIL+MMP-3 were

作者简介:幸红军,男,主管技师,主要从事临床检验方面的研究。

本文引用格式:幸红军.原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 水平及其与肝纤维化指标的相关性[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(8):1093-1096.

0.686, 0.730 and 0.806 respectively. The correlation analysis showed that serum sTRAIL and MMP-3 showed the positive correlation with HA, LN, PCⅢ and Ⅳ-C in the patients with primary liver cancer($r=0.501-0.651, P<0.05$). **Conclusion** Serum sTRAIL and MMP-3 might be involved in the occurrence and development of primary liver cancer, moreover are positively correlated with the liver fibrosis indexes, which has a great value for early diagnosis of primary liver cancer.

Key words: primary liver cancer; soluble tumor cell necrosis factor-associated apoptosis inducing ligand; matrix metalloproteinase-3; liver fibrosis

原发性肝癌为我国常见恶性肿瘤之一,目前其病因及发病机制尚未完全明确,尽早诊治可明显提高患者总体疗效。部分原发性肝细胞癌能够通过检验指标诊断,不能采用检验指标诊断的需进行穿刺或者手术取病理组织活检确诊,但后者具有创伤性,有一定的潜在风险,难以重复进行,另外,抽样误差也可能影响病理诊断的准确性。血清生化指标检测是临床上最常用的无创检查方式,相关研究表明,原发性肝癌的恶变由多种因素所致,机体受刺激时可诱导 T 淋巴细胞浸润,并促进可溶性肿瘤细胞坏死因子相关凋亡诱导配体(sTRAIL)表达, sTRAIL 能够参与机体自身免疫性疾病、炎性反应和肝细胞凋亡,引起肝脏免疫受损^[1]。基质金属蛋白酶(MMP)在肝癌细胞外基质、组织再塑形中有重要作用, MMP-3 高表达是多种恶性肿瘤发生、发展的标志,其表达水平与肿瘤淋巴结转移、肿瘤分化程度有明显相关性,可能成为判断肿瘤预后、复发、侵袭、转移的危险标志物^[2]。另有研究发现,肝纤维化为多种慢性肝病的必然发生的病理改变,肝纤维化能够反映肝脏病变程度^[3]。近年来,有研究发现,细胞外基质合成及降解相关的标志物与肝纤维化程度关系密切^[4]。本研究旨在分析原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 的表达及与肝纤维化指标的相关性,为原发性肝癌的临床诊治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2018 年 1 月至 2019 年 5 月收治的 52 例原发性肝癌患者纳入原发性肝癌组。纳入标准:均根据临床病史、症状、实验室指标及影像学检查确诊为原发性肝癌;心、脑、肾等器官无明显障碍;KPS 评分大于 60 分;未接受放化疗^[5]。排除标准:近期接受过正规免疫调节剂治疗;合并肝脏血管畸形、血管瘤等疾病;合并凝血功能障碍及血液系统病变;妊娠期或者哺乳期女性。原发性肝癌组中男 32

例,女 20 例;年龄 38~73 岁,平均(51.42±8.51)岁;TNM 临床分期^[5],包括Ⅰ期 13 例,Ⅱ期 20 例,Ⅲ期 19 例。收集同期本院收治的 63 例肝良性肿瘤患者作为良性肿瘤组,均经穿刺取病理组织活检确诊为良性肿瘤,其中肝细胞腺瘤 21 例,肝血管瘤 26 例,肝囊肿 16 例;男 37 例,女 26 例;年龄 36~71 岁,平均(52.65±7.49)岁。选择同期在本院门诊体检的健康体检者 39 例作为对照组,其中 22 例,女 17 例;年龄 37~74 岁,平均(53.75±7.03)岁。3 组研究对象年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 采集所有受试者空腹外周静脉血,3 000 r/min 离心 15 min,将上清液保存在-80℃低温箱中待检。采用酶联免疫吸附试验检测血清 sTRAIL、MMP-3 水平,试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司。采用放射免疫法测定透明质酸(HA)、层黏连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原肽(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)水平,试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验;相关分析采用 Pearson 相关;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 sTRAIL、MMP-3 水平对原发性肝癌的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标比较 原发性肝癌组血清 sTRAIL、MMP-3 水平高于良性肿瘤组及对照组($P<0.05$);良性肿瘤组血清 sTRAIL、MMP-3 水平高于对照组($P<0.05$);原发性肝癌组肝纤维化指标 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平高于良性肿瘤组及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);良性肿瘤组及对照组 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	sTRAIL(pg/mL)	MMP-3(ng/mL)	HA(μg/L)	LN(μg/L)	PCⅢ(μg/L)	Ⅳ-C(μg/L)
对照组	39	215.03±28.19	56.34±6.54	57.60±8.06	88.46±11.05	93.10±11.75	53.07±8.11
良性肿瘤组	63	1 127.94±148.76*	67.13±8.12*	60.11±7.14	91.23±9.86	96.06±9.75	55.32±7.34
原发性肝癌组	52	1 298.75±155.85*#	89.10±11.96*#	521.98±68.53*#	125.06±15.39*#	146.32±18.21*#	134.29±16.77*#
<i>F</i>		840.008	152.402	2 272.271	139.764	245.390	821.545
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与良性肿瘤组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 不同 TNM 分期原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标比较 I 期、II 期、III 期患者血清 sTRAIL、MMP-3 和 HA、LN、PCⅢ、IV-C 水平依次升高,两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 血清 sTRAIL、MMP-3 对原发性肝癌的诊断价值分析 sTRAIL、MMP-3、sTRAIL + MMP-3 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.686、0.730、0.806,灵敏度分别为 0.857、0.731、0.846,特异度分别为 0.562、0.698、0.650。见表 3 和图 1。

2.4 原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标之间的相关分析 原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标之间均呈正相关

($r = 0.501 \sim 0.651, P < 0.05$)。见表 4。

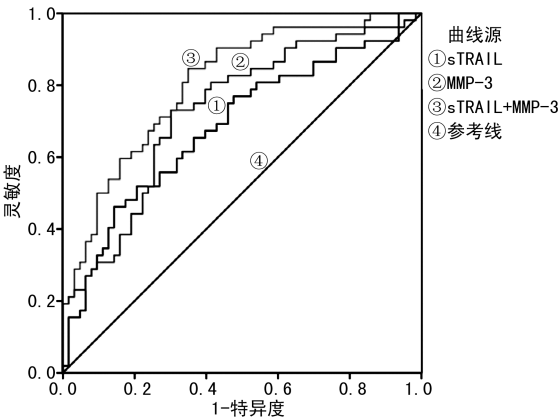


图 1 血清 sTRAIL、MMP-3 对原发性肝癌诊断的 ROC 曲线

表 2 不同 TNM 分期原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标比较($\bar{x} \pm s$)

TNM 分期	n	sTRAIL(pg/mL)	MMP-3(ng/mL)	HA(μ g/L)	LN(μ g/L)	PC Ⅲ(μ g/L)	Ⅳ-C(μ g/L)
I期	13	1 169.09 $\pm$ 102.38	78.56 $\pm$ 9.04	179.77 $\pm$ 23.11	99.05 $\pm$ 10.28	108.77 $\pm$ 14.95	98.53 $\pm$ 13.02
II期	20	1 237.13 $\pm$ 149.75 [#]	87.07 $\pm$ 12.15 [#]	593.37 $\pm$ 78.05 [#]	121.25 $\pm$ 15.84 [#]	138.75 $\pm$ 17.61 [#]	133.42 $\pm$ 16.93 [#]
III期	19	1 452.33 $\pm$ 194.41 ^{#*}	98.45 $\pm$ 13.68 ^{#*}	680.98 $\pm$ 89.01 ^{#*}	146.87 $\pm$ 18.28 ^{#*}	179.98 $\pm$ 20.90 ^{#*}	159.67 $\pm$ 19.06 ^{#*}
F		14.766	10.916	205.182	36.846	61.118	50.467
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 I 期比较,[#] $P < 0.05$;与 II 期比较,^{*} $P < 0.05$ 。

表 3 血清 sTRAIL、MMP-3 对原发性肝癌的诊断价值分析

指标	AUC	SE	Sig	95%CI	灵敏度	特异度	最佳截断值
sTRAIL	0.686	0.050	0.001	0.587~0.784	0.857	0.562	0.542 pg/mL
MMP-3	0.730	0.047	<0.001	0.638~0.823	0.731	0.698	0.460 ng/mL
sTRAIL+MMP-3	0.806	0.040	<0.001	0.727~0.884	0.846	0.650	

表 4 原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 和肝纤维化指标之间的相关分析

指标	HA		LN		PCⅢ		Ⅳ-C	
	r	P	r	P	r	P	r	P
sTRAIL	0.651	<0.001	0.539	<0.001	0.561	<0.001	0.514	<0.001
MMP-3	0.557	<0.001	0.501	<0.001	0.570	<0.001	0.565	<0.001

3 讨 论

原发性肝癌是危及患者生命安全的常见恶性肿瘤,尽管目前临床在其治疗上取得了明显进展,但由于此类疾病具有高度的恶性生物学行为,加上传统外科手术及放化疗等方法的局限性,原发性肝癌患者的预后较差。明确原发性肝癌发生、发展和肝内转移机制,探讨有效的防治手段有助于提高该疾病的疗效。

相关研究报道,NK 细胞诱导的细胞毒性作用可能由肿瘤坏死因子(TNF)超家族经受体-配体结合受体所致,在原发性肝癌发生、发展中有重要作用^[6]。另有研究报道,sTRAIL 为 TNF 超家族成员,广泛表达于活化的 NK 细胞、T 淋巴细胞等,可特异性诱导

肿瘤细胞、转化细胞出现凋亡,不影响正常组织细胞的凋亡功能,机体在病理状态下 sTRAIL 可参与免疫反应,调控细胞凋亡^[7]。因此,sTRAIL 被证实参与机体肿瘤细胞凋亡、炎症反应等多种病理反应。本研究表明,原发性肝癌患者血清 sTRAIL 水平明显高于良性肿瘤组及对照组,说明原发性肝癌的病理损伤中存在 sTRAIL 诱导的细胞凋亡,可能是肝脏清除病毒及病理受损的机制之一。进一步分析显示,III 期原发性肝癌患者血清 sTRAIL 水平较 II 期和 I 期患者明显上升,提示随着肿瘤分期的进展,血清 sTRAIL 水平相应上升。ROC 曲线分析发现,血清 sTRAIL 对原发性肝癌诊断的 AUC 高于 0.500,证实其在此

类疾病中的诊断价值。

已有研究证实,肿瘤细胞侵袭细胞外基质为原发性肝癌发生的另一重要环节,肿瘤细胞侵袭突破基底膜后可诱导基底膜降解,在基质内快速侵袭性生长,从而促进肿瘤的转移^[8]。MMPs 为内源性蛋白水解酶,正常状态下其主要水解细胞外基质,并参与细胞的生成及代谢,维持细胞稳定性,病理状态下其过度表达,达到浸润组织及转移癌细胞的目的。MMP-3 能够诱导降解构成细胞外基质及基底膜的 LN、纤维连接蛋白等,促进肿瘤浸润、转移。本研究结果显示,原发性肝癌组血清 MMP-3 水平较良性肿瘤组及对照组高,说明其在原发性肝癌中的表达明显上调,可能是因为肿瘤细胞中 MMP-3 调节系统紊乱,从而增加降解细胞外基质的能力,促进新生血管形成及肿瘤侵袭能力,导致肿瘤恶性浸润生长。以上结果说明,监测血清 MMP-3 水平能反映病灶的侵袭能力,预测原发性肝癌患者生存情况。另外,本研究发现,原发性肝癌Ⅲ期患者血清 MMP-3 水平明显高于Ⅱ期和Ⅰ期患者($P < 0.05$),提示通过测定血清 MMP-3 水平能够反映肿瘤分期情况。ROC 曲线也提示 MMP-3 对原发性肝癌有一定的诊断作用。

一方面,原发性肝癌患者需经历长期的炎性反应及纤维化阶段,单核细胞、巨噬细胞活化后可释放大量的细胞因子及炎症介质,通过旁分泌途径诱导细胞增殖,导致成纤维细胞的增生,促进 HA、LN 的增加^[9]。另一方面,肝实质细胞受损后可减少肝内细胞数量,对血清 HA、LN 的摄取及降解可引起纤维化指标水平异常上升,导致肝细胞发生持续的损伤、修复及增生,影响正常肝细胞的增殖,增加细胞变异可能性,从而诱导肝细胞癌。PCⅢ及Ⅳ-C 由肝脏间质细胞合成,经内皮细胞分解,能够客观反映肝纤维化状态,是反映肝纤维化生成的血清学指标^[10]。本研究结果显示,原发性肝癌组 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平较良性肿瘤组及对照组高,而良性肿瘤组及对照组 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 水平相似,说明原发性肝癌患者有明显的肝纤维化倾向,考虑与大部分原发性肝癌患者具有慢性肝脏疾病史,肝纤维化水平上升,此类患者肿瘤包膜破坏、肝细胞受损程度及细胞外基质分解代谢活跃有关。本研究相关分析显示,原发性肝癌患者血清 sTRAIL、MMP-3 水平与肝纤维化指标呈正相关,说明血清 sTRAIL、MMP-3 水平能够在一定程度上反映肝纤维化程度。

综上所述,血清 sTRAIL、MMP-3 可能参与原发

性肝癌的发生、发展,且与肝纤维化指标水平呈正相关,对原发性肝癌的早期诊断有重要价值。但本研究样本量较少,需进一步加大样本量,减少随机误差再进行下一步研究,以增加结论可靠性。

参考文献

- [1] SUNHYO R, YUN J A, CHAKEONG Y, et al. The regulation of combined treatment-induced cell death with recombinant TRAIL and bortezomib through TRAIL signaling in TRAIL-resistant cells[J]. *Bmc Cancer*, 2018, 18(1):432-436.
- [2] WANG B, HSU C J, LEE H L, et al. Impact of matrix metalloproteinase-11 gene polymorphisms upon the development and progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(6):653-658.
- [3] 高世乐. 肝纤维化 4 项在原发性肝癌放疗前后变化的意义[J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(11):153-156.
- [4] FUNG B M, LINDOR K D, TABIBIAN J H. Cancer risk in primary sclerosing cholangitis: epidemiology, prevention, and surveillance strategies[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(6):659-671.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2017, 16(7):635-647.
- [6] LIU B, LIU Z Z, ZHOU M L, et al. Development of cMET specific chimeric antigen receptorengineered natural killer cells with cytotoxic effects on human liver cancer HepG2 cells[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(3):2823-2831.
- [7] MIELCZAREK-PALACZ A, SIKORA J, KONDERA-ANASZ Z. Assessment of concentrations of sTRAIL ligand and its receptors sTRAIL-R1 and sTRAIL-R2 - markers monitoring the course of the extrinsic pathway of apoptosis induction; potential application in ovarian cancer diagnostics[J]. *Arch Med Sci*, 2017, 13(3):624-628.
- [8] LIANG J, CHEN M, HUGHES D, et al. CDK8 selectively promotes the growth of colon cancer metastases in the liver by regulating gene expression of TIMP3 and matrix metalloproteinases[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(23):6594-6606.
- [9] 钱宏波, 钱媛, 赵汉东. HA、PC-Ⅲ、LN、Ⅳ-C 在原发性肝癌诊断及判断手术预后中的价值[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2016, 25(11):1286-1288.
- [10] 孙蕾. 不同程度肝纤维化患者的血清学检验分析[J]. *临床输血与检验*, 2016, 18(2):144-145.

(收稿日期:2019-12-12 修回日期:2021-03-10)