

肝癌患者血浆 ctDNA SCN1 甲基化水平检测及与临床预后评估价值研究

王娟, 杨柳, 刘家云 (空军军医大学第一附属医院检验科, 西安 710032)

摘要: 目的 探讨肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者血浆游离肿瘤 DNA (circulating tumour DNA, ctDNA) 中钠离子通道调节蛋白 1 (sodium channel modifier 1, SCN1) 甲基化水平与患者预后的关系。方法 选择 2018 年 6 月 ~ 2020 年 12 月空军军医大学第一附属医院收治的 67 例肝细胞癌患者作为 HCC 组, 同期健康人群 50 例作为对照组, 收集对比患者临床资料。微滴式数字 PCR (droplet digital PCR, ddPCR) 检测血浆 ctDNA SCN1 甲基化水平。比较不同组别间血清甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP)、丙氨酸氨基转移酶 (cereal third transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、ctDNA 水平和 SCN1 甲基化比率的差异; 比较不同 SCN1 甲基化水平和不同预后患者临床病理特征差异, 多因素 COX 回归分析肝细胞癌患者的预后影响因素; 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 SCN1 甲基化水平对预后判断的灵敏度和特异度。结果 HCC 组血浆 AFP 水平 [351.00 (14.90, 1 210.00) ng/ml]、ctDNA 水平 [57.65 (15.79, 171.90) ng/ml]、SCN1 甲基化水平 [13.23% (4.36%, 26.61%)] 均高于对照组 [2.90 (2.20, 5.10) ng/ml, 15.75 (12.85, 21.07) ng/ml, 4.69% (3.30%, 6.68%)] , 差异具有统计学意义 ($Z=-7.18$, -5.00 , -4.77 , 均 $P < 0.05$) ; 肿瘤病灶直径 $> 2\text{cm}$, HCC 远处转移患者的 SCN1 甲基化呈现高水平 ($\chi^2=5.01$, 38.85 , 均 $P < 0.05$) ; SCN1 甲基化检测高水平组患者中位生存期短于低水平组 (13.31 月 vs. 24.44 月), 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=4.141$, $P=0.04$) , SCN1 甲基化高水平是患者生存的独立影响因素 (95% CI: 2.449 ~ 62.716, $P=0.002$) ; SCN1 甲基化预测肝细胞癌患者病情进展的 AUC (95% CI) 为 0.716 (0.583 ~ 0.848) , 其敏感度和特异度分别为 63.0% 和 81.1%。SCN1 甲基化、ctDNA 联合 AFP 对肝细胞癌进展预测的 AUC (95% CI) 为 0.747 (0.618 ~ 0.875) , 敏感度和特异度分别为 55.6%, 91.9%。结论 SCN1 甲基化高水平提示 HCC 患者预后不良, 是患者生存的独立影响因素, SCN1 甲基化、ctDNA, 联合 AFP 检测可作为预后判断标志物。

关键词: 循环肿瘤 DNA; 钠离子通道调节蛋白 1; 肝细胞癌; 甲基化

中图分类号: R735.7; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2024)06-018-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.06.003

Plasma ctDNA SCN1 Methylation Level and Its Clinical Prognostic Value in Hepatocellular Carcinoma Patients

WANG Juan, YANG Liu, LIU Jiayun (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital, Air Force Medical University (AFMU), Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between prognostic value and methylated expression level of circulating tumour DNA (ctDNA) sodium channel modifier 1 (SCN1) in plasma of patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 67 patients with confirmed HCC admitted to the First Affiliated Hospital of AFMU from June 2018 to December 2020 were selected as the research objects. At the same time, 50 healthy volunteers were selected as the control group. Their clinical and pathological data were collected and compared. The methylation level of SCN1 was detected by droplet digital PCR (ddPCR). The differences of alpha fetoprotein (AFP), cereal third transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), ctDNA, SCN1 between HCC group and control group were analyzed. Multivariate COX regression risk model was performed to analyze the risk factors of HCC patients. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the sensitivity and specificity of SCN1 methylation levels. **Results** AFP [351.00 (14.90, 1 210.00) ng/ml], ctDNA [57.65 (15.79, 171.90) ng/ml] and the methylated SCN1 levels [13.23% (4.36%, 26.61%)] in plasma in HCC group were higher than those in control group [2.90 (2.20, 5.10) ng/ml, 15.75 (12.85, 21.07) ng/ml, 4.69% (3.30%, 6.68%)] , and the differences were statistically significant ($Z=-7.18$, -5.00 , -4.77 , all $P < 0.05$). High level of SCN1 methylation

基金项目: 陕西省自然科学基金面上项目 (项目编号: 2024JC-YBMS-699); 陕西省创新能力支撑计划临床医学研究中心项目 (项目编号: 2021LXZX3-01)。

作者简介: 王娟 (1983-), 女, 博士, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤标志物研究, E-mail: juwa1218@126.com。

通讯作者: 刘家云 (1971-), 男, 主任医师, 教授, 主要从事病原微生物研究, E-mail: jiayun@fmmu.edu.cn。

was found in HCC patients with tumor lesion diameter > 2cm and distant metastasis ($\chi^2=5.01, 38.85$, all $P < 0.05$). The median survival was shorter in the high-methylated SCNMI group than that in the low-methylated SCNMI group (13.31 month vs 24.44 month) with significant difference (Log rank $\chi^2 = 4.141, P = 0.04$). High SCNMI methylation level was independent risk factor for HCC patients survival (95% CI: 2.449 ~ 62.716, $P=0.002$). The ROC curve showed prognostic value of increased methylated SCNMI was 0.716 (95% CI: 0.583 ~ 0.848), and the sensitivity and specificity were 63.0% and 81.1%, respectively. When combined with plasma SCNMI methylation level, ctDNA and AFP, the AUC (95% CI) of HCC progression was 0.747 (0.618 ~ 0.875), and the sensitivity and specificity were 55.6% and 91.9%, respectively, which has potential application value for dynamic monitoring of liver cancer patients. **Conclusion** The high level of methylated SCNMI in plasma indicates the HCC poor prognosis, and serves as an independent determinant of patient survival. Methylated SCNMI, ctDNA combined with AFP detection can serve as prognostic markers.

Keywords: circulating tumour DNA; sodium channel modifier 1; hepatocellular carcinoma; methylation

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是常见的恶性肿瘤, 在世界范围的肿瘤流行病学统计中发病率排名第六, 死亡率排名第三^[1]。目前有多项研究支持新型标志物组合能有效提高肝癌的检出率^[2-3]。根据肝癌细胞生长变化情况及时进一步规范、有序的诊治是延长患者生存的关键。甲基化改变出现在肿瘤发生或进展早期^[4], 通过检测外周血循环中的游离肿瘤 DNA (circulating tumour DNA, ctDNA) 的特定基因的甲基化改变, 能反映肝肿瘤细胞在体内的动态变化^[5-6], 达到实时监测肝癌患者病情变化的目的^[7]。前期我们证实肝癌患者外周血 ctDNA 水平明显高于正常人, 钠离子通道调节蛋白 1 (sodium channel modifier1, SCNMI) 基因的甲基化水平在肝癌患者中升高, SCNMI 甲基化水平、ctDNA 联合甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 可筛查早期无症状的肝癌高风险人群^[8]。而 SCNMI 甲基化水平与肝癌患者临床预后相关性报道很少, 故本研究拟继续探索 SCNMI 甲基化水平变化在肝癌患者病情监测及预后方面的临床应用前景, 为临床治疗提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2018 年 6 月 ~ 2020 年 12 月在空军军医大学第一附属医院就诊的原发性肝癌患者 67 例作为观察对象。其中男性 39 例, 女性 28 例, 年龄 21 ~ 79 (54.96 ± 12.63) 岁。纳入标准: ①年龄 ≥ 18 岁; ②临床初次诊断 HCC, 拟入院行抗肿瘤治疗。排除标准: ①患有其他肿瘤; ②继发性肝癌。同时选取在本院进行健康体检的志愿者 50 例为对照组, 其中男性 22 例, 女性 28 例, 年龄 24 ~ 76 (53.02 ± 13.79) 岁。所有入组患者均签署知情同意书, 由空军军医大学第一附属医院伦理委员会批准实施, 伦理委员会批件号: KY20182078-C-1 号。

1.2 仪器与试剂 ctDNA 提取试剂 Eliamp DNA Mini Kit (广州优泽生物科技有限公司), 甲基化试剂 EZ-96 DNA Methylation-Lightning™ Kit (Zymo

Research, 货号: D5033), qPCR 定量反应试剂 (New England Biolabs, 货号: N0447L), SYBR Green PCR Kit (日本 Takara 公司), ddPCR 反应体系试剂 (美国 Bio-rad 公司, 货号: 186-3025), SCNMI 引物及探针合成 (广州优泽生物科技有限公司); T-100 Thermal Cycler PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司), QX200™ Droplet 微滴式数字 PCR 系统 (美国 Bio-Rad 公司), 全自动生化分析仪 (贝克曼, AU5801)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集: 所有研究对象于清晨空腹状态下采集 5ml 静脉血, EDTA-K₂ 抗凝, 上下颠倒混匀, 室温孵育 10min 后, 3 000 × g 离心 10min, 分离血浆转移至离心管内 (>1.5ml), 于 4℃, 16 000 × g 离心 10min, 再次吸取上清 (>1.2ml) 置于 -80℃ 冰箱保存待用。

1.3.2 ctDNA 提取、扩增: ctDNA 提取按照产品说明书进行。ctDNA 扩增反应条件: 预变性 95℃ 3 min, 95℃ 变性 10s, 60℃ 退火 30s, 65℃ 延伸 5s, 共 35 个循环, 95℃ 最终延伸 10min。反应体系: 2.9 μl HemoKlenTaq 反应液, 0.2 μl dNTP, 0.4 μl 引物, 上下游引物 10 μmol/L 各 0.4 μl, 加反应缓冲液至 8 μl, 样本 2 μl。以 L1PA2 基因扩增绘制标准曲线, 对血清中 ctDNA 含量进行相对定量分析。

1.3.3 ctDNA 中 SCNMI 甲基化水平检测: ctDNA 甲基化转化检测按照产品说明书进行。反应体系: 2 × 反应液 10 μl, SCNMI 上下游引物各 0.4 μl, SCNMI 探针各 0.2 μl, bisDNA 5 μl, 加反应缓冲液至 20 μl。反应条件: 预变性 95℃ 10 min, 94℃ 变性 30 s, 54℃ 退火 60 s, 98℃ 延伸 10 min, 共计 45 个循环, 12℃ 保存至分析, 引物序列见表 1。使用 QuantaSoft™ Analysis Pro 1.0.596 软件进行甲基化数据分析。通过对 SCNMI 基因甲基化片段的拷贝的绝对计数。以百分比表示其甲基化水平。

1.3.4 临床资料收集及随访：收集研究对象一般资料（性别、年龄）及肝脏相关指标（ALT，AST，AFP）以及患者病理特征（肿瘤直径、TNM分期）资料。从出院时起每6个月以门诊或电话的形式进行定期随访，随访截止时间为2023年12月。生存

时间为就诊日期至终点日期。终点事件定义为肿瘤复发或死亡。对预后的判定：影像学检查肝内未发现新发肿瘤或未出现其他器官转移，为预后良好（ $n=37$ ）；影像学检查发现肝内新发肿瘤或出现肝外转移，判断为预后不良（ $n=30$ ）。

表 1		引物序列	
基因	正向引物	反向引物	
LIPA2	5'-TGCCGCAATAAACA TACGTG-3'	5'-AACACAGGTGCTG GAGAGG-3'	
SCNM1	5'-GTAATGCTGCTAGAGGAAT-3'	5'-AAACTAACTAACTCTACAAAAA-3'	
SCNM1 探针	M-5'/6-FAM/TGTGAAATTTTCGTTTGTATAATTTTGG/BHQ1/-3'	NM-5' /HEX/TGTGAAATTTTGTATTGT ATAATTTTGGG/BHQ1/-3'	

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据。计量资料正态分布以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用独立样本 t 检验；偏态分布以中位数（四分位数间距）[$M(P_{25}, P_{75})$] 表示，组间比较采用 Mann-Whitney U 非参数检验；计数资料采用频数（%）表示，血浆 SCNM1 甲基化水平与临床病理特征的关系采用卡方检验；采用 COX 比例风险模型对患者预后进行多因素分析，绘制受试者工作特

征 (ROC) 曲线分析预测价值，Logistic 二元回归拟合实施联合预测。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 组与对照组实验室检测指标、SCNM1 甲基化水平比较 见表 2。HCC 组血浆 AFP，ctDNA 水平，SCNM1 甲基化比率均高于对照组，差异具有统计学意义（均 $P < 0.05$ ），其他指标差异无统计学意义（均 $P > 0.05$ ）。

表 2 HCC 组与对照组各项实验室检测指标比较 [$\bar{x} \pm s$, $M(P_{25}, P_{75})$]				
项目	HCC 组 ($n=67$)	健康对照组 ($n=50$)	t/Z 值	P 值
ALT (IU/L)	35.06 \pm 34.50	15.79 \pm 4.21	2.31	0.537
AST (IU/L)	45.34 \pm 28.86	21.18 \pm 6.19	1.19	0.107
AFP (ng/ml)	351.00 (14.90, 1 210.00)	2.90 (2.20, 5.10)	-7.18	0.001
ctDNA (ng/ml)	57.65 (15.79, 171.90)	15.75 (12.85, 21.07)	-5.00	0.001
SCNM1 甲基化水平 (%)	13.23 (4.36, 26.61)	4.69 (3.30, 6.68)	-4.77	0.001

2.2 SCNM1 甲基化水平与临床病理特征的相关性 见表 3。以甲基化比率 15.7% 为 cutoff 值^[8]，根据治疗前 SCNM1 甲基化检测结果，将患者分为高水平组（ $n=41$ ，61.2%）和低水平组（ $n=26$ ，

38.8%）。肿瘤病灶直径 $> 2\text{cm}$ ，HCC 远处转移患者的 SCNM1 甲基化呈现高水平（均 $P < 0.05$ ），而 SCNM1 甲基化水平高低与患者年龄、性别、T 分期、淋巴结分期无相关性（均 $P > 0.05$ ）。

表 3 不同 SCNM1 甲基化表达水平的肝癌患者临床病理特征比较 [n (%)]					
类 别	n	SCNM1 甲基化水平		χ^2	P
		低水平 ($n=26$)	高水平 ($n=41$)		
年龄 (岁)	< 60	18 (45.0)	22 (55.0)	1.604	0.205
	≥ 60	8 (29.6)	19 (70.4)		
性别	男	16 (41.0)	23 (59.0)	0.194	0.660
	女	10 (35.7)	18 (64.3)		
肿瘤病灶直径 (cm)	≤ 2	6 (75.0)	2 (25.0)	5.010	0.025
	> 2	20 (33.9)	39 (66.1)		
T 分期	T1	9 (50.0)	9 (50.0)	3.480	0.323
	T2	10 (45.5)	12 (54.5)		
	T3	5 (29.4)	12 (70.6)		
	T4	2 (20.0)	8 (80.0)		
远处转移	M0	26 (74.3)	9 (25.7)	38.850	0.001
	M1	0 (0.0)	32 (100.0)		
淋巴结转移	否	9 (34.6)	17 (65.4)	0.434	0.805
	是	8 (44.4)	10 (55.6)		
	未知	9 (39.1)	14 (60.9)		

2.3 COX 回归分析影响 HCC 患者预后相关因素 见表 4。以 HCC 患者预后为因变量（预后不

良=1，预后良好=0），以 ctDNA 水平、肿瘤直径、年龄、AFP，SCNM1 甲基化比率等指标为协变量进行 COX 回归分析，结果显示 SCNM1 甲基化高比率（95% CI: 2.449 ~ 62.716， $P=0.002$ ）是 HCC 患者预后的独立影响因素。见图 1。以患

表 4 影响 HCC 患者预后的 COX 回归分析

因素	β	SE	Wald	df	P 值	Exp(B)	95%CI	
							下限	上限
ctDNA 水平	0.603	0.587	1.055	1	0.304	1.828	0.578	5.783
肿瘤直径 (> 2cm)	-0.087	1.247	0.005	1	0.944	0.916	0.080	10.553
年龄	0.031	0.039	0.634	1	0.426	1.032	0.956	1.114
AFP	0.001	0.001	0.047	1	0.828	1.000	0.998	1.002
SCNM1 甲基化高水平	2.517	0.827	9.258	1	0.002	12.394	2.449	62.716

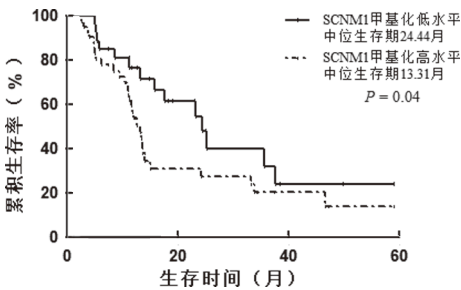


图 1 患者不同 SCNM1 甲基化水平与累积生存率的关系

表 5 ctDNA，SCNM1 甲基化、AFP 单独及联合检测对 HCC 的预测价值

因素	AUC	P	95% CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)
ctDNA	0.572	0.328	0.427 ~ 0.717	55.6	62.2
SCNM1 甲基化水平	0.716	0.003	0.583 ~ 0.848	63.0	81.1
AFP	0.521	0.780	0.376 ~ 0.665	96.3	18.9
联合预测	0.747	0.001	0.618 ~ 0.875	55.6	91.9

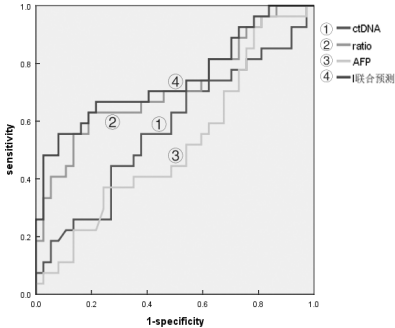


图 2 各指标单独和联合检测对 HCC 预测价值的 ROC 曲线

3 讨论

我国肝癌的五年总生存率低至 12.1%^[9-10]，肝切除术及术后规范治疗、定期复查是肝癌患者获得长期生存的重要手段。血清 AFP 水平是传统监测指标，但特异度不强，近年来也有多种模型开发以提高诊断^[9,11]。与 AFP 相比，甲基化标志物特异度更强。

者肝癌复发或死亡时间为观察终点绘制生存曲线，Kaplan-Meier 分析结果显示，SCNM1 甲基化检测高水平组患者中位生存期短于甲基化低水平组，分别为 13.31 月和 24.44 月，差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2 = 4.141$ ， $P = 0.04$)。

2.4 SCNM1 甲基化作为预后指标的评价 SCNM1 甲基化预测 HCC 患者病情进展的 AUC (95%CI) 为 0.716 (0.583 ~ 0.848)，其敏感度和特异度分别为 63.0% 和 81.1%。而 SCNM1 甲基化水平、ctDNA 联合 AFP 对肝癌预后不良预测的 AUC (95%CI) 为 0.747 (0.618 ~ 0.875)，敏感度和特异度分别为 55.6%，91.9%，三个指标联合检测对动态观察 HCC 患者病情变化及预后判断具有潜在应用价值。见图 2，表 5。

甲基化异常是肿瘤发生的早期事件，CpG 岛异常甲基化导致抑癌基因失活，是肝癌发生的重要机制之一。此外，肿瘤组织中异常甲基化广泛存在，且发生在更大范围的基因组区域，一定程度上放大了异常信号，更易被捕捉。YE 等^[12]发现肝肿瘤病灶组织中 p15/16 甲基化阳性率分别在 16% 和 59%，HCC 患者群体 ctDNA 中谷胱甘肽 s- 转移酶 P1 (glutathione S-transferase pi-1, GSTP1) 高甲基化比率达 50%，Ras 关联域家族 1A (Ras association domain family 1A gene, RASSF1A) 高甲基化比率达 70% ~ 93%，提示 p15/16, GSTP1 和 RASSF1A 基因高甲基化是 HCC 潜在的诊断标志物。

ctDNA 是肿瘤细胞坏死或凋亡后释放入血的 DNA 片段，可提供关于肿瘤病灶内异质性的信息，并反映肿瘤负荷的动态变化，已成为一种准确、可靠的癌症监测工具。ctDNA 用于肝癌早期诊断的灵敏度和特异度均优于血清 AFP^[13-15]，还可以反映肝

癌术后的动态变化^[16-17]。由此可见,对 ctDNA 携带的肝癌相关基因的甲基化进行分析更敏感、更特异,不仅可用作辅助诊断,还可用于疾病监测。XU 等^[16]根据 HCC 基因组甲基化谱和正常血液白细胞的独立数据,构建甲基化诊断预测模型并在 ctDNA 中验证,诊断模型区分 HCC 患者群体的灵敏度 >83%, 特异度 >90%, 同时可将 AFP 阴性的 HCC, HBV/HCV 感染、脂肪肝等肝脏疾病患者区分。

SCNM1 基因是编码细胞钠离子通道调节蛋白。钠离子通道在多种肿瘤中高表达,张婷婷等^[18]发现 SCNM1 是第一个通过对疾病基因转录本剪接的反式效应影响疾病严重程度的修饰基因。吴珏堃等^[19]发现 SCNM1 在乙肝相关性肝癌中也存在高表达,唐巧萍等^[20]发现 SCNM1 表达量与肿瘤直径、肿瘤分期、肝功能分级、肝硬化情况相关,且死亡患者的 SCNM1 表达量高于生存患者。我们推测 SCNM1 影响 HCC 发生发展可能是通过甲基化改变离子通道蛋白表型,进而导致钠离子通道蛋白调控细胞内外阳离子浓度功能异常,使得细胞内 Na^+ / Ca^{2+} 浓度增加、pH 发生变化(Na^+/H^+ 交换增多、二氧化碳运输加强、 H^+ -ATP 酶活性增加)以及 Na^+ 依赖的酶,如蛋白激酶 A, 组织蛋白酶激活,影响肿瘤细胞的转移行为。

本研究通过对 ctDNA SCNM1 甲基化的动态变化研究,发现 SCNM1 甲基化在 HCC 人群中存在高表达,这与之前研究结果一致^[8,19-20]。通过对 HCC 患者持续随访观察,我们发现 SCNM1 甲基化高水平是预后的独立影响因素,SCNM1 甲基化高水平患者预后不良;动态监测 SCNM1 甲基化水平在判断患者预后方面具有潜在价值。同时 SCNM1 甲基化检测也大大提高了 AFP 在检测时特异度的不足(81.1% vs 18.9%),再结合 ctDNA, AFP 综合评估,可提高对 HCC 患者的预后判断。

本研究的不足之处在于纳入的病例数较少,同时对纳入研究的患者每一步诊疗过程并不能做到完全监测,缺失一些治疗细节及相关数据。其次就是肝癌的治疗方法包括肝切除术、肝移植术、消融治疗、肝动脉化疗栓塞(TACE)、放射治疗、系统抗肿瘤治疗等多种手段,需要根据肿瘤的生长位置、大小、肝功能等多种因素制定个体化治疗方案,也导致本研究后续无法保证在治疗方案完全统一的条件下对患者进行亚组分析。同时对肝癌的预后判断也是一个结合所有临床信息综合判断的过程,肿瘤位置、数量、大小、采取的治疗策略、术后治疗及患者对药物反应、耐受性、依从性等因素都需要综合考虑,这需要在后续研究中增加样本量,加强与临床医生的沟通交流和相关人群的追踪。

综上所述,本研究初步证明了 SCNM1 甲基化高水平与 HCC 发生转移密切相关,是患者生存的独立影响因素,可作为 HCC 患者预后不良的生物标志物。这为 HCC 预后分析提供了新思路,对临床评估 HCC 和生存预后具有重要价值。

参考文献:

- [1] SINGH D, VIGNAT J, LORENZONI V, et al. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative[J]. *Lancet Global Health*, 2023, 11(2): e197-e206.
- [2] 卢美红, 杨曙梅, 王峰, 等. 血清 miRNA-574-3p, AFP, IGF-2 水平联合检测在肝癌早期诊断中的价值研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(2): 33-36. LU Meihong, YANG Shumei, WANG Feng, et al. Study on the value of combined detection of serum miRNA-574-3p, AFP and IGF-2 levels in the early diagnosis of liver cancer[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(2): 33-36.
- [3] 刘国振, 陈秀余, 张修欢. 血清 miR-122-5p, miR-486-5p, AFP 及 AFP-L3 水平联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(1): 82-87. LIU Guozhen, CHEN Xiuyu, ZHANG Xiuhuan. Value of combined detection of serum miR-122-5p, miR-486-5p, AFP and AFP-L3 levels in the diagnosis of primary liver cancer[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(1): 82-87.
- [4] NISHIYAMA A, NAKANISHI M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer[J]. *Trends in Genetics*, 2021, 37(11): 1012-1027.
- [5] NEWHOOK T E, OVERMAN M J, CHUN Y S, et al. Prospective study of perioperative circulating tumor DNA dynamics in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastases[J]. *Annals of Surgery*, 2023, 277(5): 813-820.
- [6] ROY D, TIIRIKAINEN M. Diagnostic power of DNA methylation classifiers for early detection of cancer[J]. *Trends in Cancer*, 2020, 6(2): 78-81.
- [7] WANG Xiangyu, ZHANG Rui, HAN Jiahao, et al. Early circulating tumor DNA dynamics predict neoadjuvant therapy response and recurrence in colorectal liver metastases: a prospective study[J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2023, 30(8): 5252-5263.
- [8] WANG Juan, YANG Liu, DIAO Yanjun, et al. Circulating tumour DNA methylation in hepatocellular carcinoma diagnosis using digital droplet PCR[J]. *the Journal of International Medical Research*, 2021, 49(3): 300060521992962.
- [9] HUANG Chenjun, XIAO Xiao, TONG Lin, et al. Risks and clinical predictors of hepatocellular carcinoma in Chinese populations: a real-world study of 10 359 patients in six medical centers [J]. *Journal of hepatocellular Carcinoma*, 2024, 11: 411-425.
- [10] ZHOU Maigeng, WANG Haidong, ZENG Xinying, et

(下转第36页)

- al. The mechanisms and roles of selective autophagy in mammals[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2023, 24(3): 167-185.
- [21] BABAEI G, AZIZ S G, JAGHI N Z Z. EMT, cancer stem cells and autophagy; the three main axes of metastasis[J]. *Biomedecine & Pharmacotherapie*, 2021, 133: 110909.
- [22] 韩昭, 高艳玲, 李志锋, 等. 丹参酮 II A 对雷帕霉素诱导自噬 M2 巨噬细胞共培养的皮肤黑素瘤 A375 细胞 EMT 的影响[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2022, 29(4): 291-298.
- HAN Zhao, GAO Yanling, LI Zhifeng, et al. The mechanism of tanshinone II A on regulating EMT in cutaneous melanoma A375 cells through TAMs autophagy[J]. *Journal of Diagnosis and Therapy on Dermato-Venereology*, 2022, 29(4): 291-298.
- [23] WEI Ran, XIAO Yuhong, SONG Yi, et al. FAT4 regulates the EMT and autophagy in colorectal cancer cells in part via the PI3K-AKT signaling axis[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2019, 38(1): 112.
- [24] BENSALAM J, HATTERSLEY K J, HEIN L K, et al. Measurement of autophagic flux in humans: an optimized method for blood samples[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3238-3255.
- [25] 石拴霞, 阎一鑫, 王纪田, 等. AMPK/mTOR 信号通路在线粒体自噬中的研究进展[J]. *海南医学*, 2023, 34(5): 736-740.
- SHI Shuanxia, YAN Yixin, WANG Jitian, et al. Research progress of AMPK/mTOR signaling pathway in mitochondrial autophagy[J]. *Hainan Medical Journal*, 2023, 34(5): 736-740.
- [26] HAN Yohan, KEE J Y, HONG S H. Rosmarinic acid activates AMPK to inhibit metastasis of colorectal cancer[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 68.
- 收稿日期: 2023-09-21
修回日期: 2024-03-18
-
- (上接第 22 页)
- al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet* (London, England), 2019, 394(10204): 1145-1158.
- [11] LUO Huiyan, WEI Wei, YE Ziyi, et al. Liquid biopsy of methylation biomarkers in cell-free DNA[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2021, 27(5): 482-500.
- [12] YE Qianwei, LING Sunbin, ZHENG Shusen, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 114.
- [13] JOHNSON P, ZHOU Qing, DAO D Y, et al. Circulating biomarkers in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2022, 19(10): 670-681.
- [14] MENG Zuowei, REN Qingqi, ZHONG Guolin, et al. Noninvasive detection of hepatocellular carcinoma with circulating tumor DNA features and α -fetoprotein[J]. *Journal of Molecular Diagnostics*, 2021, 23(9): 1174-1184.
- [15] HAN H S, LEE K W. Liquid biopsy: an emerging diagnostic, prognostic, and predictive Tool in gastric cancer[J]. *Journal of Gastric Cancer*, 2024, 24(1): 4-28.
- [16] XU Ruihua, WEI Wei, KRAWCZYK M, et al. Circulating tumour DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Nature Materials*, 2017, 16(11): 1155-1161.
- [17] OLMEDILLAS-LÓPEZ S, OLIVERA-SALAZAR R, GARCÍA-ARRANZ M, et al. Current and emerging applications of droplet digital PCR in oncology: an updated review[J]. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2022, 26(1): 61-87.
- [18] 张婷婷, 韩佳迪, 刘岩峰. 电压门控钠离子通道在肿瘤转移中的作用[J]. *国际药理学研究杂志*, 2018, 45(8): 569-574.
- ZHANG Tingting, HAN Jiadi, LIU Yanfeng. Role of voltage-gated sodium channel in tumor metastasis[J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 2018, 45(8): 569-574.
- [19] 吴珏堃, 熊志勇, 林良奕, 等. SCN1M 在乙肝相关性肝癌中的表达及临床意义[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(1): 188-192.
- WU Juekun, XIONG Zhiyong, LIN Liangyi, et al. Expression and clinical significance of SCN1M in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2019, 35(1): 188-192.
- [20] 唐巧萍, 段志强, 乔控. 钠离子通道调节蛋白 1 与肝癌患者 3 年预后的相关性研究[J]. *肝脏*, 2020, 25(6): 610-612.
- TANG Qiaoping, DUAN Zhiqiang, QIAO Kong. Study on the correlation between SCN1M and 3-year prognosis in HCC patients[J]. *Chinese Hepatology*, 2020, 25(6): 610-612.
- 收稿日期: 2024-02-28
修回日期: 2024-06-30

欢迎来稿

欢迎订阅