文章编号:1000-5404(2012)07-0627-05

论著

miR-149-5p在肝细胞癌中的表达及其临床意义

曹亚玲[1],陈 陵[1],吕沐瀚[1],魏晓林[2],吴玉云[1],罗 刚[1],刘祥德[2],杨仕明[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院:全军消化病研究所[1],全军肝胆外科研究所[2])

[摘要] **目的** 分析miR-149-5p在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达及其临床意义。**方法** 应用qRT-PCR方法检测40对HCC癌组织和癌旁肝组织中miR-149-5p的表达,并分析miR-149-5p的表达与肝癌患者临床病理之间的关系,进一步将以红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP)为报告基因的miR-149-5p慢病毒(LV-miR-149-5p)感染MHCC97-H肝癌细胞,以过表达miR-149-5p,采用MTT检测感染后细胞增殖的变化,采用流式细胞仪测定感染后细胞周期的变化,并采用Transwell侵袭实验检测感染后细胞的体外侵袭能力的变化。**结果** qRT-PCR结果提示miR-149-5p在HCC癌组织中的相对含量(5.522±1.104)低于癌旁肝组织(9.279±1.594)($P<0.05$),统计分析表明miR-149-5p在癌和癌旁肝组织中相对含量的比值与AFP含量负相关($P<0.05$)。体外实验证实,miR-149-5p过表达不能影响细胞周期但能抑制细胞增殖($P<0.05$),而在Transwell侵袭实验中,LV-miR-149-5p感染MHCC97-H细胞后,对照细胞组透膜细胞数为(86.3±11.8)/视野,对照慢病毒组透膜细胞数为(83.7±4.0)/视野,LV-miR-149-5p组透膜细胞数为(50.6±3.4)/视野,实验组细胞侵袭能力较对照组细胞显著降低($P<0.05$)。**结论** miR-149-5p的过表达可抑制MHCC97-H细胞的增殖和侵袭,因此,miR-149-5p可作为一种抑癌基因在HCC的诊断及治疗中发挥作用。

[关键词] miR-149-5p; miR-149; 肝癌; 肝细胞癌
[中图法分类号] R394.2; R730.23; R735.7 [文献标志码] A

Expression of miR-149-5p in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

Cao Yaling[1], Chen Ling[1], Lu Muhan[1], Wei Xiaolin[2], Wu Yuyun[1], Luo Gang[1], Liu Xiangde[2], Yang Shiming[1] ([1]Institute of Gastroenterology, [2]Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of miR-149-5p in hepatocellular carcinoma (HCC) and its clinical significance. **Methods** The expression of miR-149-5p in 40 pairs of HCC tissue samples and adjacent noncancerous liver tissues were tested by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The relationship between the expression and clinical pathological data was analyzed. MHCC97-H cells were infected by lentiviral vectors with red fluorescent proteins (RFP) for the reporter gene to over-express miR-149-5p (LV-miR-149-5p). Then MTT assay was carried out to analyze cell proliferation. Flow cytometry was performed to analyze cell cycle. Transwell invasion assay was accomplished to analyze cell invasion ability. **Results** The results of qRT-PCR suggested that the relative expression of miR-149-5p in HCC (5.522±1.104) was lower than in the adjacent noncancerous liver tissues (9.279±1.594, $P<0.05$). Statistical analysis showed that the relative expression ratio of cancer and adjacent noncancerous liver tissues was correlated negatively with α-fetoprotein (AFP) levels ($P<0.05$). *In vitro* experiments confirmed that over-expression of miR-149-5p didn't affect the cell cycle but inhibited cell proliferation ($P<0.05$). And in transwell invasion assay, the cells through the matrigel were 86.3±11.8, 83.7±4.0, 50.6±3.4 in control group, control lentiviral treatment group, and LV-miR-149-5p treatment group, respectively. The invasive ability of experimental group was significantly reduced than that of control group ($P<0.05$). **Conclusion** Over-expression of miR-149-5p could inhibit the proliferation and invasion of MHCC97-H cells. Therefore, miR-149-5p might act as a tumor suppressor gene in HCC diagnosis and treatment.

[**Key words**] miR-149-5p; miR-149; liver cancer; hepatocellular carcinoma

Corresponding author: Yang Shiming, Tel: 86-23-68765184, E-mail: shimingyang@yahoo.com; Liu Xiangde, Tel: 86-23-68765310, E-mail: liuxd@medmail.com.cn

[通信作者] 杨仕明,电话:(023)68765184,E-mail:shimingyang@yahoo.com
刘祥德,电话:(023)68765310,E-mail:liuxd@medmail.com.cn

最新研究表明,microRNA(miRNA)参与了肿瘤转移的调控。miRNA是一类保守的、非编码的、内源性单链小RNA分子,通过与靶基因特定序列的结合调控基因的表达,在肿瘤发生和转移的过程中起着重要的作用。目前,越来越多的研究发现miRNA在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达失调,某些miRNA与HCC的转移、复发和预后等临床病理特性相关[1-4]。原发性肝癌是世界上最常见的肿瘤之一,在40~59岁男性致死性恶性肿瘤中排名第3,仅次于肺癌、结肠癌[5]。HCC预后差,通过研究miRNA在HCC中的作用,可进一步阐明HCC转移的内在机制,从而为HCC的诊治提供新的思路。

我们前期应用miRNA芯片筛查了人肝细胞癌细胞株HCCLM6(高转移潜能)、MHCC97-H(高转移潜能)、MHCC97-L(低转移潜能)细胞中差异表达的miRNA,期望能找到一种与肝癌转移密切相关的miRNA。研究结果显示,在这3种不同转移潜能的细胞中有22条miRNA高表达于高转移潜能的肝癌细胞,2条miRNA低表达于高转移潜能的肝癌细胞,这些miRNA可能参与了肝癌转移;进一步qRT-PCR验证,发现miRNA-149-5p(miR-149-5p, 原名miR-149)、miR-345、miR-193b*、miR-1301等4条miRNA在高、低转移肝癌细胞株中表达差异较大,差异最为明显的是miR-149-5p。基于此,我们进一步用实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测了miR-149-5p在伴或不伴转移的HCC患者、肝硬化患者、转移性肝癌患者以及正常人外周血中的相对含量以了解其是否可以作为HCC生物标记物之一,却发现miR-149-5p在外周血中的相对含量对于HCC的诊断和鉴别诊断无明显统计学差异。至此,我们反思,前期在应用miRNA芯片技术和qRT-PCR方法检测细胞株和外周血中miRNA的差异性表达,却忽略了其在HCC组织中的表达情况。本实验在此基础上,重新研究了miR-149-5p在HCC组织和癌旁组织中的表达差异及其与临床病理特征的关系,miR-149-5p对MHCC97-H细胞生物学特性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料

MHCC97-H、MHCC97-L购自复旦大学附属中山医院肝癌研究所,人肝癌细胞株Huh-7、SMMC-7721、HepG2、人正常肝细胞株LO2由本实验室保存,人肝癌细胞株PLC由第三军医大学西南医院全军临床病理中心惠赠。40对手术标本来源于2010年11月至2011年1月间在第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所行手术治疗的肝癌患者,病理诊断均为HCC,所有患者均为首诊首治,未行术前放疗、化疗。所取标本离体时间均小于10 min,分别取癌组织(C组)和癌旁肝组织(P组,距癌组织大于5 cm),生理盐水冲洗后迅速置于液氮中速冻,然后转移至-80 ℃保存。HCC分期采用TNM分期(2010年AJCC肝癌肿瘤分期标准第7版)。

1.2 试剂与仪器

高糖DMEM培养液为美国Hyclone公司产品,特级胎牛血清为法国Biowest产品,慢病毒购自上海吉凯基因化学有限公司,RNAiso™ Plus、逆转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒由日本TAKARA公司提供,U6及miRNA特异RT及PCR引物由广州市锐博生物科技有限公司合成,ABI PRISM 7500实时荧光定量PCR仪购自美国AB公司。

1.3 细胞培养及慢病毒感染MHCC97-H细胞

MHCC97-H、MHCC97-L、Huh-7、SMMC-7721、HepG2、PLC、LO2用含10%特级胎牛血清的高糖DMEM培养液在37 ℃、5% CO_2条件下培养。以RFP为报告基因的miR-149-5p慢病毒(miR-149-5p-LV)以及对照慢病毒载体(NC-RFP-LV)按照吉凯基因《慢病毒载体使用操作手册》感染MHCC97-H细胞。后续实验在此实验基础上分为3组:正常细胞对照组(control),对照慢病毒组(LV-control),miR-149-5p过表达组(LV-miR-149-5p)。

1.4 qRT-PCR实验

用RNAiso™ Plus(D9108A)提取总RNA,按照逆转录试剂盒(DRR037A)步骤,反转录成cDNA,再按照qRT-PCR试剂盒(DRR081A)SYBR Green法步骤上机操作进行qRT-PCR反应。采用两步法PCR扩增标准程序:95 ℃预变性30 s;95 ℃变性5 s,60 ℃退火34 s,均扩增40个循环周期。以U6管家基因作为内参,每个标本设3个复孔。

1.5 MTT实验

将细胞以2×10^3/孔的浓度接种至96孔板内,设置3个复孔,孵育后每孔加入20 μl MTT(5 mg/ml),继续培养4 h后,于平板离心机离心终止培养,吸弃上清后每孔加入150 μl DMSO,置摇床上低速振荡10 min,在酶联免疫检测仪490 nm处测量各孔吸光值。

1.6 细胞周期检测

将细胞消化后,PBS洗2次,加入预冷75%乙醇,于-20 ℃固定24 h后,离心收集细胞,再用PBS洗2次,加入500 μl PBS染色液(含50 μg/ml的PI和100 μg/ml的RNase A),37 ℃温浴30 min后上机检测。实验重复3次。结果用细胞周期拟合软件Mod-Fit分析。

1.7 Transwell侵袭实验

参照文献[6]及美国BD公司基质胶侵袭小室(BD 354480)使用指南,预先用细胞培养上清与新鲜培养液等量混合作为条件培养液,用无血清培养液制备单细胞悬液,上室中加入细胞悬液500 μl(含1×10^5个细胞),下室加入条件培养液750 μl,常规培养48 h后取出小室,吸弃上室中培养液,擦净基质胶,固定染色后,200倍镜下随机选取5个视野计数,取其平均值比较,重复3次。

1.8 统计学处理

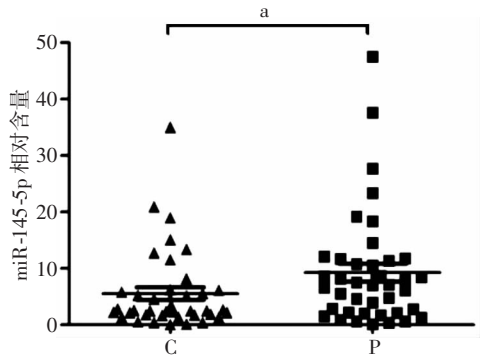
采用SPSS 13.0统计软件分析数据,计量数据以$\bar{x}\pm s$表示,多组间差异采用单因素方差分析,两组间比较采用t检验或非参数秩和检验,两配对样本之间采用配对t检验。

2 结果

2.1 miR-149-5p在HCC组织中的表达及其与临床病理特征的关系

应用qRT-PCR方法检测手术标本(癌组织和癌旁肝组织)

中 miR-149-5p 的表达,共计 40 对。结果如图 1,miR-149-5p 在癌组织中的相对含量(5.522 ± 1.104)低于癌旁肝组织(9.279 ± 1.594),$P<0.05$。提示 miR-149-5p 在 HCC 中可能是一种抑癌基因。进一步分析 miR-149-5p 在癌和癌旁肝组织中相对含量的比值(C/P)与性别、年龄、肝炎、AFP、肝硬化、肿瘤大小、多少、分化、分期及淋巴结转移的关系(表 1),我们发现,C/P 比值与 AFP 含量负相关($P<0.05$),在有淋巴结转移的肝癌中表达减少,而在无淋巴结转移的肝癌中高表达,但无统计学意义,可能与样本量偏少有关。



C 组:HCC 癌组织;P 组:HCC 癌旁肝组织
a: $P<0.05$,C 组与 P 组比较

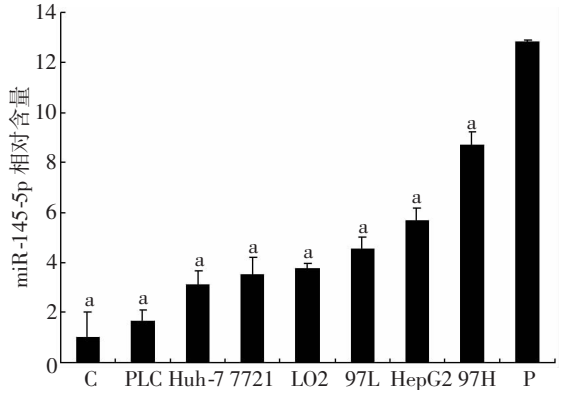
图 1　miR-149-5p 在 HCC 癌和癌旁肝组织中的表达

表 1　miR-149-5p 在癌和癌旁肝组织中相对含量比值(C/P)与临床病理特征的关系

临床病理参数	例数(n=40)	C/P($\bar{x}\pm s$)	P 值
性别			
男	38	1.58 ± 0.46	0.187
女	2	4.45 ± 4.24	
年龄(岁)			
≥60	4	7.43 ± 2.88	0.091
<60	36	1.09 ± 0.29	
肝炎病史			
有	35	1.57 ± 0.46	0.411
无	5	2.76 ± 2.05	
AFP (ng/ml)			
≤20	14	3.16 ± 1.16	0.032[a]
>20	26	0.95 ± 0.30	
肝硬化			
有	18	1.29 ± 0.54	0.415
无	22	2.07 ± 0.74	
肿瘤大小(cm)			
≤5	15	1.66 ± 0.76	0.915
>5	25	1.76 ± 0.61	
肿瘤数目			
单个	31	1.88 ± 0.59	0.544
多个	9	1.18 ± 0.58	
肿瘤分化程度			
高、中分化	29	1.67 ± 0.57	0.860
低分化	11	1.86 ± 0.84	
TNM 分期			
Ⅰ/Ⅱ	12	1.93 ± 0.94	0.779
Ⅲ/Ⅳ	28	1.63 ± 0.55	
淋巴结转移			
有	3	0.16 ± 0.05	0.100
无	37	1.85 ± 0.50	

2.2　miR-149-5p 在不同细胞株及组织中的差异表达

应用 qRT-PCR 方法检测 MHCC97-H、MHCC97-L、Huh-7、SMMC-7721、HepG2、PLC、LO2 细胞株与 HCC 癌和癌旁肝组织细胞中 miR-149-5p 的表达,发现 miR-149-5p 在各细胞株及癌组织细胞中的表达低于癌旁肝组织细胞(图 2),$P<0.01$。



C 组:HCC 癌组织细胞;P 组:HCC 癌旁肝组织细胞
a: $P<0.01$, 与 P 组比较

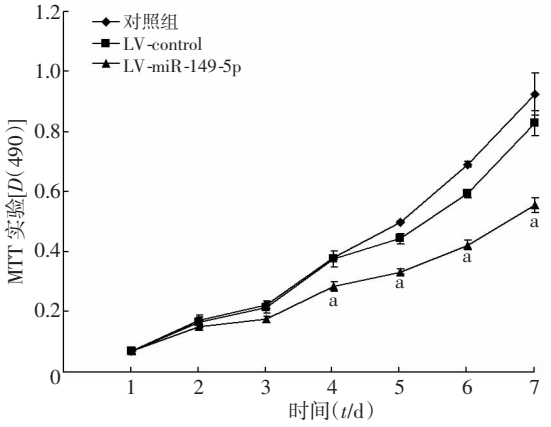
图 2　miR-149-5p 在不同细胞株及 HCC 癌和癌旁肝组织细胞中的差异表达

2.3　慢病毒感染 MHCC97-H 细胞的效率

荧光显微镜下观察 RFP 标记的 miR-149-5p-LV、NC-RFP-LV 感染 MHCC97-H 细胞的效率(图 3),结果显示 95% 以上的 MHCC97-H 细胞可见荧光,说明感染效率大于 95%。进一步 qRT-PCR 方法验证上述 3 组细胞中 miR-149-5p 的相对含量,发现 LV-miR-149-5p 组细胞内 miR-149-5p 的相对含量(32.095 ± 0.239)较对照组(control 组:1 ± 0.168;LV-control 组:0.423 ± 0.187)显著升高($P<0.01$)。

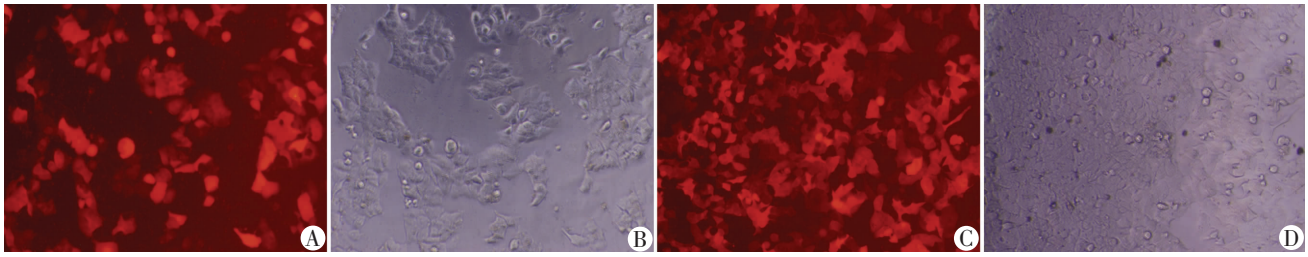
2.4　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞增殖的影响

为了解 miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞增殖的影响,我们进行了 MTT 实验,结果(图 4)显示:LV-miR-149-5p 组细胞与对照组细胞比较增殖减缓($P<0.05$)。说明 miR-149-5p 过表达可明显抑制 MHCC97-H 细胞的增殖能力。



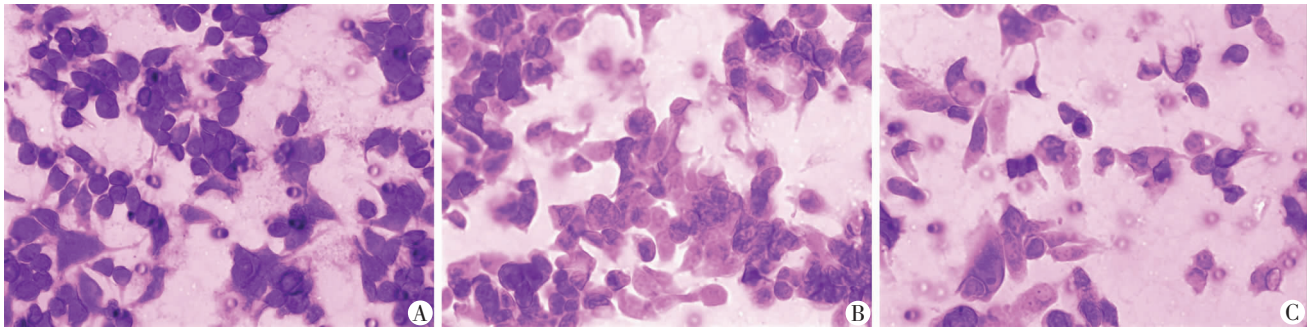
a: $P<0.01$,与对照组比较

图 4　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞增殖的影响



A：LV-miR-149-5p 组，荧光场；B：LV-miR-149-5p 组，明场；C：LV-control 组，荧光场；D：LV-control 组，明场

图3　荧光显微镜下观察慢病毒感染 MHCC97-H 细胞的效率　（×100）



A：对照组；B：LV-control 组；C：LV-miR-149-5p 组

图5　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞穿膜能力的影响　（结晶紫染色　×200）

2.5　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞周期的影响

MTT 实验证实 miR-149-5p 可以调节 MHCC97-H 细胞的增殖能力，对于其能否影响细胞周期，我们进一步用流式细胞术来检测并分别计算增殖指数（proliferation index，PI），PI = （S + G_2/M）/（G_1 + S + G_2/M）× 100%。结果（表2）显示，与对照组、LV-control 组比较，LV-miR-149-5p 组细胞周期无明显改变。说明 miR-149-5p 可能不会影响 MHCC97-H 的细胞周期。

表2　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞周期的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	G_1（%）	S（%）	G_2/M（%）	PI（%）
对照组	60.44 ± 0.76	32.00 ± 0.57	7.57 ± 0.35	39.56 ± 0.76
LV-control	57.49 ± 0.73	33.69 ± 0.87	8.81 ± 0.16	42.50 ± 0.73
LV-miR-149-5p	59.96 ± 0.95	32.59 ± 0.78	7.46 ± 0.21	40.04 ± 0.95

2.6　miR-149-5p 对 MHCC97-H 细胞体外侵袭能力的影响

在 Transwell 侵袭实验中（图5），LV-miR-149-5p 感染 MHCC97-H 细胞后，对照细胞组透膜细胞数为（86.3 ± 11.8）/视野，对照慢病毒组透膜细胞数为（83.7 ± 4.0）/视野，LV-miR-149-5p 组透膜细胞数为（50.6 ± 3.4）/视野，实验组细胞侵袭能力较对照组细胞显著降低（$P < 0.05$）。表明 miR-149-5p 过表达可抑制 MHCC97-H 细胞体外侵袭能力。

3　讨论

miRNA 表达异常与人类肿瘤关系密切，在肿瘤发生过程中起着癌基因或抑癌基因的作用[7]。现有的研究证明许多 miRNA 在 HCC 中差异表达，通过直接作用于 HCC 细胞中的大量关键基因在肝癌进展中起到重要作用。在这些研究中，有些 miRNA 在多个研究中得到证实，表明一系列 miRNA 与肝癌形成有关。

肿瘤细胞的转移过程极为复杂，细胞骨架要发生改变，细胞表面要黏附到细胞外基质（extracellular matrix，ECM），致使细胞外缘的突出；而与此同时细胞之间则要解黏附。有多少独立的基因表达进程参与这一过程尚不明确，但 miRNA 无疑是调控这一进程的最佳因子[8]。进一步的研究发现，某些肿瘤细胞的转移的确受到 miRNA 的调控。例如：miR-10b、miR-21、miR-126、miR-335、miR-206 和 miR-200 家族参与乳腺癌的转移[9]，miRNA-29c 抑制鼻咽癌的转移[10]；miR-224 促进前列腺癌的转移[11]；miR-92b 和 miR-9/9* 调控脑肿瘤的转移[12]。它们与新生血管形成及肿瘤转移密切相关。而 HCC 转移相关 miRNA 也得到越来越多的研究。

目前关于 miR-149-5p 的报道为数不多，在 HCC 方面尚无研究报道。文献[13－15]证实 miR-149-5p 在癌组织中的表达是下调的，具有抑癌作用，有1项研究[16]报道 miR-149-5p 在鼻咽癌进展过程中具有促癌作用。本研究前期希望通过 miRNA 芯片技术，筛选到可以作为一种肝癌标志物的 miRNA，结果发现 miR-149-5p 在具有高转移能力的 MHCC97-H 中高表达，为此我们研究了肝癌及肝硬化患者外周血 miR-149-5p 表达的变化，结果发现无明显差异（结果未显示）。于是我们进一步检测了 miR-149-5p 在肝癌及癌旁肝组织中的表达变化，发现 miR-149-5p 在 HCC 癌组织中的表达明显低于癌旁肝组织（$P < 0.05$），提示 miR-149-5p 在 HCC 中可能是一种抑癌基因。临床病理特征分析表明，在有淋巴结转移的肝癌组织中，miR-149-5p 在癌和癌旁肝组织中相对含量的比值更低，统计学

分析没有明显差异,可能与组织样本量少有关。我们进一步将 miR-149-5p 过表达慢病毒感染 MHCC97-H 肝癌细胞,结果发现过表达 miR-149-5p 的肝癌细胞增殖减慢,更值得关注的是,过表达 miR-149-5p 的 MHCC97-H 细胞其体外侵袭能力明显减弱,提示 miR-149-5p 作为一种抑癌基因可能与肝癌的转移密切相关。本研究报道了 miR-149-5p 与 HCC 的关系,发现 miR-149-5p 的高表达有可能抑制肝癌转移,从而改善肝癌患者的预后,有望用于肝癌的治疗靶标。但 miR-149-5p 作为抑癌基因抑制肝癌转移的具体作用机制、靶基因的筛选仍有待进一步的实验证实。

参考文献:

[1] Hao K, Luk J M, Lee N P, *et al*. Predicting prognosis in hepatocellular carcinoma after curative surgery with common clinicopathologic parameters[J]. BMC Cancer, 2009, 9: 389.

[2] Braconi C, Patel T. MicroRNA expression profiling: a molecular tool for defining the phenotype of hepatocellular tumors[J]. Hepatology, 2008, 47(6): 1807 - 1809.

[3] Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, *et al*. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations[J]. Hepatology, 2008, 47(6): 1955 - 1963.

[4] Mott J L. MicroRNAs involved in tumor suppressor and oncogene pathways: implications for hepatobiliary neoplasia[J]. Hepatology, 2009, 50(2): 630 - 637.

[5] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2012, 62(1): 10 - 29.

[6] 李雁, 汤钊猷, 叶胜龙, 等. 不同转移潜能人肝癌单克隆细胞株的分离和建立[J]. 中华肝胆外科杂志, 2001, 7(11): 681 - 685.

[7] Garzon R, Marcucci G, Croce C M. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(10): 775 - 789.

[8] Steeg P S. Cancer: micromanagement of metastasis[J]. Nature, 2007, 449(7163): 671 - 673.

[9] Gregory P A, Bert A G, Paterson E L, *et al*. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(5): 593 - 601.

[10] Sengupta S, den-Boon J A, Chen I H, *et al*. MicroRNA 29c is down-regulated in nasopharyngeal carcinomas, up-regulating mRNAs encoding extracellular matrix proteins[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(15): 5874 - 5878.

[11] Prueitt R L, Yi M, Hudson R S, *et al*. Expression of microRNAs and protein-coding genes associated with perineural invasion in prostate cancer[J]. Prostate, 2008, 68(11): 1152 - 1164.

[12] Nass D, Rosenwald S, Meiri E, *et al*. MiR-92b and miR-9/9* are specifically expressed in brain primary tumors and can be used to differentiate primary from metastatic brain tumors[J]. Brain Pathol, 2009, 19(3): 375 - 383.

[13] Liu H, Brannon A R, Reddy A R, *et al*. Identifying mRNA targets of microRNA dysregulated in cancer: with application to clear cell Renal Cell Carcinoma[J]. BMC Syst Biol, 2010, 4: 51.

[14] Schaefer A, Jung M, Mollenkopf H J, *et al*. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma[J]. Int J Cancer, 2010, 126(5): 1166 - 1176.

[15] Li D, Chen P, Li X Y, *et al*. Grade-specific expression profiles of miRNAs/mRNAs and docking study in human grade I-III astrocytomas[J]. OMICS, 2011, 15(10): 673 - 682.

[16] 罗朝辉,张李洋,李征,等. miR-149 促进鼻咽癌细胞侵袭和上皮-间质转变[J]. 中南大学学报:医学版, 2011, 36(7): 604 - 609.

(**收稿**:2011-12-28;**修回**:2012-02-02)

(编辑 王 红)

(上接 626 页)

肝结核的超声表现随其病理学演变过程的不同而呈现复杂性和多变性,各型肝结核的超声表现均无特异性[4]。除了单独的占位性病变,大量的脓肿也常被报道。如此多样的表现与肿瘤相似,在做病理检查以前,难于诊断。因此,在 B 超或 CT 的定位引导下经皮肝组织穿刺在对疑难病例的鉴别诊断及判断预后方面,有不可替代的作用,是一种安全、有效、正确率高的微创诊断方法,能对病变提供病理诊断,为患者提供了治疗方案和依据[5],且费用低廉,是获得肝组织的最佳方法,也是国际公认的"金标准"。故遇有占位性病变者,除考虑肝癌、血管瘤等实质性占位性病变外,还需排除肝结核的可能,最后靠病理检查确诊[6]。值得注意的是,1 次肝活检病理阴性或短期试验性抗结核治疗无效不能否定肝结核的诊断。在诊断困难,尤其在不能排除肝肿瘤的情况下,腹腔镜或剖腹探查是最好的诊断方法,也是避免误诊的重要手段。

分析本例患者误诊的原因:①缺乏特异性的临床表现;②影像学表现缺乏特异性,很难与原发性肝癌鉴别;③该患者同时合并有慢性乙型肝炎,结合其酗酒史,容易误诊为肝癌;④术前未行肝穿刺活检;⑤过分依赖 PPD 试验结果而否定肝结核的诊断。因此,及时和正确地诊断肝结核,对治疗和预后有着积极的意义。

参考文献:

[1] Kok K Y, Yapp S K. Isolated hepatic tuberculosis: report of five cases and review of the literature[J], J Hepatobiliary Pancreat Surg, 1999 (6): 195 - 198.

[2] 李炳杰. 28 例肝结核诊治分析[J]. 中国实用医药, 2011, 6(1): 78 - 79.

[3] Hassan I, Brilakis E S, Thompson R L, *et al*. Surgical management of abdominal tuberculosis[J], J Gastrointest Surg, 2002, 6(6): 862 - 867.

[4] 彭军, 鄢薇. 肝结核的超声诊断与分型[J]. 中西医结合肝病杂志, 2011, 21(3): 171 - 172.

[5] 宓兵. CT 引导下经皮肝穿活检术的临床应用[J]. 中国医学工程, 2010, 18(2): 141,144.

[6] 贾树蓉,阎晓初. 肝结核瘤 1 例[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(12): 1468, 1471.

(**收稿**:2012-02-29;**修回**:2012-03-20)

(编辑 王 红)