

# 新型肝癌标志物的临床应用研究进展

张丽芳<sup>1,2</sup> 袁野<sup>1</sup> 史林<sup>1,2</sup> 张德太<sup>2</sup>

[关键词] 肝癌;生物标志物;研究进展

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.04.016

[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A

## Advances in clinical application of novel liver cancer markers

**Summary** Primary liver cancer is the most common type of malignant tumors in China. Due to the insufficient early diagnosis, most of the patients with liver cancer are diagnosed in the advanced stages, resulting in poor prognosis. Currently, the diagnostic methods for liver cancer are dependent on the traditional biomarkers alpha-fetoprotein (AFP), together with ultrasound and other imaging techniques. However, the sensitivity and specificity of these biomarkers are not optimal. Noninvasive, serum-based biomarkers are urgently required for the early detection of HCC. This review briefly describes the progresses in the potential biomarkers for HCC diagnosis.

**Key words** hepatocellular carcinoma; biomarkers; research progress

### 1 概述

根据 GLOBOCAN 2020 的报道,2020 年全球有 905 677 例肝癌新发和 830 180 例死亡患者<sup>[1]</sup>。原发性肝癌在我国年新发 46.6 万例,死亡 42.2 万例,在恶性肿瘤发病率中排名第 4,肿瘤致死病因排名第 2<sup>[2]</sup>。常见的肝癌有肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC),分别占 75%~85%和 10%~15%<sup>[1]</sup>。肝癌的筛查和临床诊断首先依靠影像学检查及 AFP 等肿瘤标志物,必要时可以采取肝穿刺活检明确诊断,见图 1<sup>[2]</sup>。

嗜酒、非酒精性肝硬化及病毒性肝炎等因素易使肝硬化患者发展成 HCC。肝癌的发展常被认为是炎症和愈合的循环交替所致。肝炎与肝硬化并存会使 HCC 早期诊断变得复杂,需要 1 种将早期 HCC 与肝炎、肝硬化鉴别诊断的肝癌标志物。2020 年癌症统计数据早期患者肝癌 5 年生存率为 33%,而晚期患者 5 年总生存率仅为 2%<sup>[3]</sup>。HCC 预后差的一个重要原因是早期缺乏特定的临床表现,导致诊断率低,若能及早诊断,将大大改善 HCC 的治疗及预后。

目前肝胆疾病专家共识中推荐甲胎蛋白(AFP)及其异质体 AFP-L3、脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原(DCP)作为 HCC 早期筛查与诊断的指标<sup>[4]</sup>。这些标志物对肝癌的诊断特异性都比较好,但敏感性却不够理想。如 AFP $\geq$ 400 ng/mL 超过 1 个月,其

诊断 HCC 的特异性高达 99%,但敏感性却只有 17%;对于 AFP 阴性(AFP $<$ 20 ng/mL)的 HCC 患者,AFP-L3 的敏感性也仅为 12%~21%;当 DCP $\geq$ 40 mAU/mL 时,诊断 HCC 的敏感性为 74%,特异性为 86%<sup>[4]</sup>。通常,具有诊断价值的生物标志物的敏感性和特异性水平应该高于 90%,而目前在临床实践中,很少有一种肿瘤标志物对 HCC 的早期筛查展现出足够的诊断灵敏度,因此需要不断开发敏感性更高的肝癌标志物。理想的 HCC 诊断标志物应能够对无症状患者作出诊断,可广泛应用于临床筛查,具备肿瘤特异性和非侵入性,成本低,并且在体液中易于检测等。血液样本由于易操作、无创、采样量少等优势,更适用于临床常规评估和人群筛查研究。因此,发掘新型血液生物标志物是推进肿瘤诊疗发展的重要目标,特别是对早期癌症的检测和筛查。在此,本文对近年发现的一些具有发展潜能的肝癌标志物进行梳理。

### 2 新型肝癌标志物的研究进展

#### 2.1 蛋白质类

**2.1.1 DKK-1(Dickkopf-1)** DKK-1 属于 Dickkopf 家族,是通过卷曲蛋白 LRP5/6 共受体抑制 Wnt 信号通路的分泌型拮抗剂<sup>[5]</sup>。除胎盘和胚胎组织外,DKK-1 在正常成人组织中几乎没有表达,但在肝癌及其他多种肿瘤中表达升高。Niu 等<sup>[6]</sup>研究发现 EGF/EGFR 可通过激活肝癌 PI3K/AKT 途径磷酸化 p300,然后增强组蛋白 H3K9 乙酰化,促使 HCC 中 DKK-1 表达升高。DKK-1 可通过  $\beta$ -catenin 在细胞核中累积从而促进肝癌细胞迁移及侵袭。研究显示 DKK-1 在肝癌组织中高表达但在邻近的非癌组织不表达;并且在肝癌细胞的

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院组织工程与再生医学研究中心(武汉,430022)

<sup>2</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科

通信作者:张德太, E-mail: detaizhangwh@163.com

培养上清中及 HCC 患者血清中可特异性地检测到高水平的 DKK-1。安琳等<sup>[7]</sup>通过酶联免疫吸附法(ELISA)检测受试者血清中的 DKK-1,进行大规模的多中心验证研究,结果发现 HCC 患者 DKK-1 水平明显高于对照组(敏感度为 69.1%,特异性为 90.6%)。除了可以用 ELISA,还可以采用磁微粒双抗体夹心化学发光免疫分析法来检测血清中的 DKK-1。研究证明 DKK-1 可提高 AFP 阴性 HCC 患者的诊断率,相较于慢性乙肝、肝硬化等肝脏基础性疾病,HCC 患者的 DKK-1 浓度明显升高,可以用于鉴别诊断。此外,血清中 DKK-1 水平与患者的预后相关,可用于肝动脉化疗栓塞术(TACE)

术后的疗效评估。而且 DKK-1 的浓度与肿瘤大小、AFP 浓度、BCLC 分期及 TNM 分期等存在相关性,与家族史、年龄、性别、是否患有肝硬化等无关<sup>[8]</sup>。另外,研究还显示 DKK-1 和 AFP 的联合检测可提高肝癌诊断的灵敏度至 88%<sup>[9]</sup>,但也会一定程度上降低诊断的特异性与准确性。以上研究说明 DKK-1 若补充到临床肝癌常规检测中可降低 HCC 患者的漏诊率,并预测患者的预后情况。但由于目前的研究主要是回顾性或横断面研究,后续还需要进行前瞻性研究来进一步验证 DKK-1 的诊断效果。

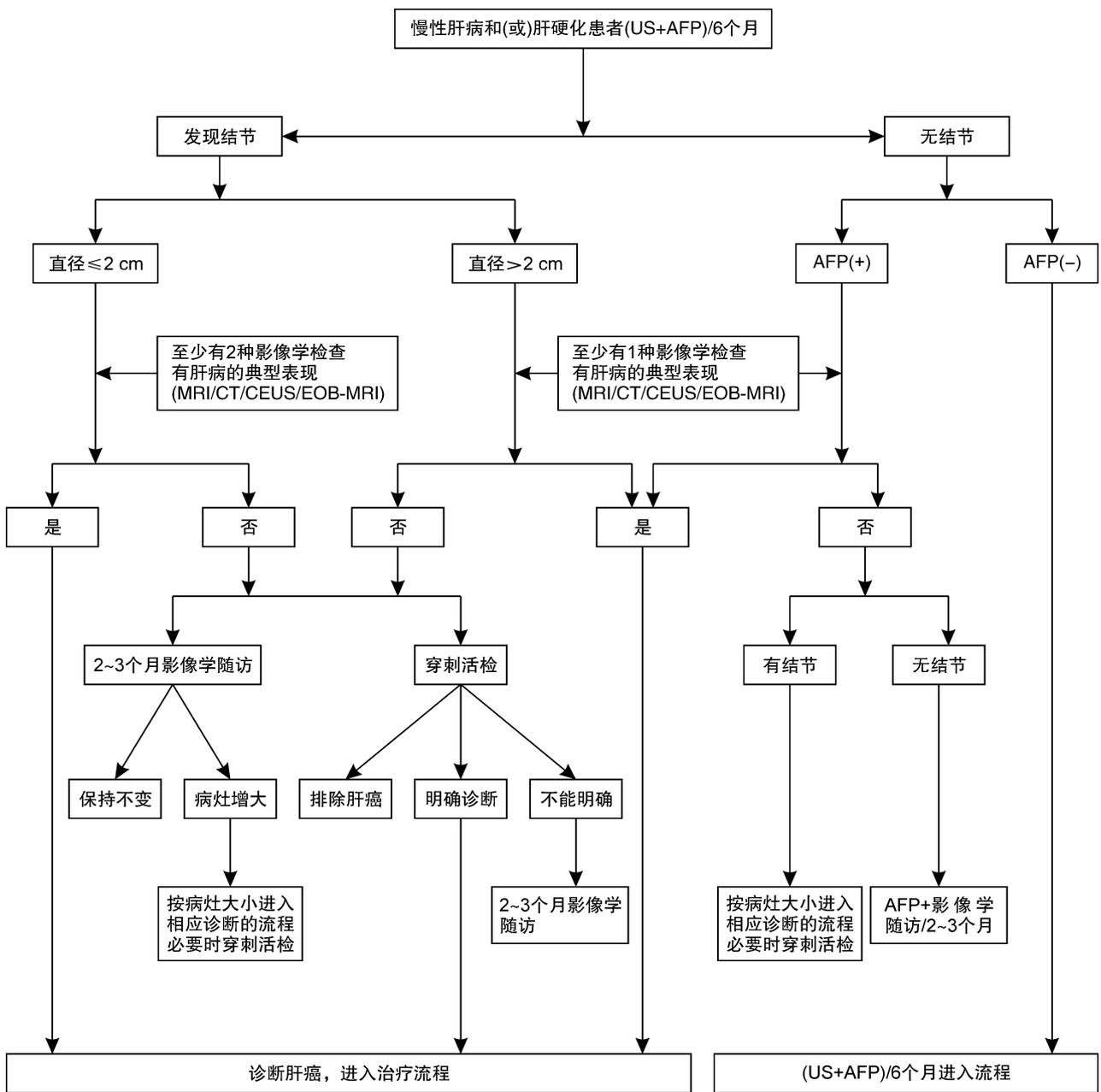


图 1 HCC 的筛查与临床诊断

**2.1.2 Ln- $\gamma$ 2** 层粘连蛋白(Laminins)是一类与细胞黏附、分化、增殖和迁移有关的基底膜蛋白<sup>[10]</sup>。Ln-332是该家族的一员,介导上皮细胞对基底膜的黏附;Laminin- $\gamma$ 2(Ln- $\gamma$ 2)作为Ln-332的一种组分,常以单体的形式表达于一些癌细胞与组织中<sup>[11]</sup>。研究显示Ln-332的 $\gamma$ 2链在HCC组织中有表达<sup>[12]</sup>。Kiyokawa等<sup>[13]</sup>使用ELISA和化学发光免疫分析法(CLIA)检测血清中的Ln- $\gamma$ 2,发现Ln- $\gamma$ 2在HCC患者中显著升高(平均值173.2 pg/mL;范围:39.5~986 pg/mL),高于慢性肝病患者(平均值76.7 pg/mL;范围:38.7~215.9 pg/mL)和健康志愿者(平均值41.1 pg/mL;范围:10.9~79.0 pg/mL)。Ln- $\gamma$ 2和DCP联合应用于HCC患者的阳性检出率为89.5%,优于单独应用这2种标记物(检出率分别为63%和68%)。在早期HCC(T1或T2期)患者中,Ln- $\gamma$ 2、AFP和DCP单体阳性检出率分别为61%、39%和57%,即Ln- $\gamma$ 2的特异性更高。因此,血清Ln- $\gamma$ 2可作为HCC的一个潜在的生物标志物,与DCP联合应用能够进一步提高检出率。

**2.1.3 应激诱导磷蛋白1** STIP1(stress-induced phosphoprotein 1)不仅能够辅助调节热休克蛋白70和90的二聚体结构,还参与转录调控、细胞内信号转导及细胞增殖及分裂<sup>[14]</sup>。STIP1是由HCC在内的多种类型癌细胞分泌的细胞因子<sup>[15]</sup>,可调控肿瘤恶性进展<sup>[16]</sup>,如通过PI3K-AKT依赖的抗凋亡途径促进HCC肿瘤生长<sup>[17]</sup>;通过激活Snail转录促进转移瘤生成,以HSP依赖的方式促进上皮-间质转化<sup>[18]</sup>。通过ELISA检测显示HCC患者血清STIP1水平显著高于慢性乙肝患者和健康者,其水平与HCC患者预后相关,水平越高预后越差。HCC患者血清中的STIP1水平甚至高于肝癌细胞培养液上清中的浓度,STIP1可能会进一步促进肝癌细胞的生长,以自分泌形式形成一种正反馈。这进一步解释了高STIP1水平HCC患者临床预后差的问题。

**2.1.4 成纤维细胞生长因子19** FGF19(fibroblast growth factor 19)由回肠分泌,通过成纤维细胞生长因子受体4(FGFR4)和辅助受体 $\beta$ -Klotho复合物负调控肝脏胆管酸的合成<sup>[19]</sup>。由成纤维细胞生长因子(FGF)受体酪氨酸激酶产生信号,FGF可以调节多种生物学过程,包括细胞生长、分化、血管生成和代谢等过程。在多种癌症中失调的FGF/FGFR信号也有助于癌症的发展。Maeda等<sup>[20]</sup>通过ELISA检测HCC患者血清FGF19水平,发现其显著高于健康对照组( $P=0.002$ )和慢性肝病患者( $P<0.001$ ),且其敏感性也高于现有的HCC标志物如AFP和DCP。与现有的标记物不同,FGF19是一种功能蛋白,负责HCC必需的

细胞内信号,在肿瘤细胞和内皮细胞的增殖中都发挥重要作用。因此,它不仅是极佳的肿瘤检测标记物,还是很有前途的治疗靶点分子。

**2.1.5 犬尿氨酸** Kyn(Kynurenine)是一种由吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)催化产生的色氨酸代谢物<sup>[21]</sup>。Kyn代谢途径的激活可能增强肿瘤微环境的免疫抑制,进而促进肿瘤生长<sup>[22]</sup>。肿瘤微环境中IDO和TDO的活化使色氨酸氧化成犬尿氨酸,释放到血清中使癌症患者血清的浓度增加。由于肿瘤患者外周血的游离氨基酸谱相较正常人发生了一定的改变,检测患者外周血的氨基酸可发展为一种癌症筛查的新方法。已有研究发现一些氨基酸如苯丙氨酸、谷氨酸、犬尿氨酸等浓度与HCC发生风险呈正相关<sup>[23]</sup>。Bekki等<sup>[24]</sup>通过ELISA检测血清中的Kyn水平,发现其在肝细胞癌患者的浓度明显高于非肝细胞癌患者。处于BCLC 0期或A期的HCC患者Kyn浓度较高,且与较短的生存期密切相关。因此,Kyn有望成为HCC生物标志物,并在一定程度上预示HCC患者的预后。

**2.1.6 乳脂球蛋白-表皮生长因子8** MFG-E8(Milk fat globule-epidermal growth factor 8)也被称为乳黏附素,在各种器官和细胞广泛表达,并作为凋亡细胞上的磷脂酰丝氨酸(PS)和吞噬细胞上的 $\alpha$ v $\beta$ 3或 $\alpha$ v $\beta$ 5整合素之间的桥梁分子<sup>[25]</sup>。Shimagaki等<sup>[26]</sup>通过ELISA方法检测,发现HCC患者血清中MFG-E8浓度远低于健康对照者,也低于有基础性肝疾病患者或HCC痊愈者。但MFG-E8在HCC患者中降低的机制仍不清楚。该指标能将HCC与慢性肝炎和肝硬化鉴别,即使患者的AFP或DCP呈阴性,其ROC曲线下面积为0.842,敏感度为69.7%,特异度为84.3%。不仅如此,HCC术后患者MFG-E8浓度低可能预示着易发生早期复发。术前血清MFG-E8可作为肝切除手术的无病生存期和总生存期的独立预测因素。

**2.1.7 GPC3** GPC3(Glypican-3)是一种硫酸肝素蛋白多糖,通过糖基磷脂酰肌醇与细胞膜结合,与肿瘤细胞增殖和转移密切相关<sup>[27]</sup>。已有报道GPC3在肝癌细胞中高度表达,并通过经典Wnt通路促进HCC增殖<sup>[28]</sup>。Sun等<sup>[29]</sup>通过免疫组化检测肝细胞癌组织中GPC3阳性表达率明显高于癌旁组织( $P<0.01$ ),并与临床分期呈正相关。GPC3与AFP联合检测在用于HCC诊断中比单一AFP或GPC3具有更好的灵敏度和特异性。无论是用RT-PCR检测HCC患者外周血中GPC3 mRNA的表达还是ELISA方法检测血清中GPC3的水平,在灵敏度、特异性或准确性方面都没有显著差异。但通过提取血液中的单个核细胞进行RT-PCR检测,相较于ELISA能够缩短窗口期,提

高检测灵敏度,这对 HCC 的早期诊断具有重要意义。虽然许多研究报道了 GPC3 作为 HCC 特异性生物标志物的高敏感性,但部分研究得出了不一致的结果。比如 GPC3 在肝母细胞瘤、肾母细胞瘤等多种肿瘤及肝硬化进展期也有表达,若检测方法不同,血清 GPC3 阳性率甚至低于 GPC3 免疫组化(IHC)染色阳性率及血清 AFP 阳性率<sup>[30]</sup>。Jeon 等<sup>[31]</sup>研究发现血浆 GPC3 可能分为分泌型或膜结合型,除了常见的糖化 GPC3 外,还有一个羧基末端的 50 KDa 片段,现有的检测可能忽略了这一点。血浆中多种生长因子竞争性结合抗体,影响 ELISA 检测结果。这可能是血浆 GPC3 诊断价值尚存争议的原因。

## 2.2 RNA 类

**2.2.1 miRNAs** miRNAs(MicroRNAs)是一种长度约为 18~25 个核苷酸的单链非编码 RNA,能够结合 3'非翻译区(3-UTR)来调控 mRNA 表达<sup>[32]</sup>。目前研究<sup>[33]</sup>发现,miRNAs 可以抵抗 RNase 的消化,并稳定存在于血清中,可作为疾病标志物;此外,每种癌症类型的血清 miRNA 都有其独特表达谱。例如,An 等<sup>[34]</sup>发现 miR-10a, miR-122, miR-375 和 miR-423 这 4 种 microRNA 可以有效地区分 HCC 患者和健康对照,其 ROC 曲线 AUC 为 0.995,且术后表达会显著下调。其中 miR-10a 通过调节上皮-间充质转化和失巢凋亡抑制肿瘤转移<sup>[35]</sup>。miR-122 是一种调节肝细胞生长与分化的特异性 miRNA,在 HCC 发展过程中能抑制 Wnt、Bcl-2、ADAM17、Ccgn1 等致癌基因<sup>[36]</sup>。在肝炎中炎症诱导的肝脏组织 miR-122 的下调促进癌变,也就是说肝脏组织 miR-122 的降低可能预示着慢性乙肝患者向 HCC 发展<sup>[37]</sup>。最近复旦大学附属金山医院的研究显示,乙肝患者血清中 miR-122 的表达越高,预后越差;miR-122 对乙肝患者发展为肝硬化或肝癌的 AUC 曲线面积为 0.783<sup>[38]</sup>。一种解释的原因是 miR-122 从凋亡坏死的肝脏组织及细胞释放到血液,使血清中的 miR-122 表达升高。无论如何,miRNA 作为 HCC 潜在的肿瘤标志物,具有很大的发展前景。

**2.2.2 LncRNA** LncRNA(long noncoding RNA)即长链非编码 RNA,最近被证实在 HCC 发生及发展过程起着重要作用<sup>[39]</sup>。HCC 患者中存在异常表达的 LncRNA,与正常人群存在显著差异;但在肝硬化或肝损伤患者中也可能异常表达。因此,将 LncRNA 与现有的肿瘤标志物结合或许是一种更为理想的方式,比如 LncRNA UCA1、WRAP53 与 AFP 组合,其诊断灵敏度可高达 100%<sup>[40]</sup>。此外,参与肿瘤转移的 LncRNA 具有一定的预后价值,比如在发生转移的 HCC 患者中 LncRNA-ATB 上调预示患者预后不良;抑制转移

的 LncRNA miR503HG 上调预示患者预后良好<sup>[39]</sup>。体液中的 LncRNA 具有高灵敏度,与其他分子组合可提高 HCC 诊断的特异性,具有巨大的发展潜能,但大多数 LncRNA 的功能仍不清楚,需要进一步深入探究。

**2.2.3 circRNA** circRNA 是一种共价闭环结构的非编码 RNA<sup>[41]</sup>,研究证实 circRNA 表达稳定、丰富、保守,在不同物种、组织、疾病以及发育阶段均有特异性<sup>[42]</sup>。而且 circRNA 可分泌到人体循环血液中,作为疾病诊断的生物标记物。近年来,多项研究表明 circRNA 在 HCC 发生发展中发挥重要作用,Zhang 等<sup>[43]</sup>的研究表明,hsa\_circ\_0001445 可促进 HCC 细胞凋亡并抑制其增殖、迁移与侵袭。此外,HCC 患者的血浆 hsa\_circ\_0001445 转录水平低于肝硬化( $P < 0.001$ )和乙型肝炎( $P < 0.001$ )以及健康对照者( $P < 0.001$ )。在 HCC 患者血液中表达异常的一些 circRNA 中检测到 hsa\_circ\_0004001, hsa\_circ\_0004123, hsa\_circ\_0075792 上调,其水平与 TNM 分期和肿瘤大小呈正相关<sup>[44]</sup>。根据 ROC 分析结果,这 3 种 circRNA 及其它们的组合对 HCC 的诊断都具有良好的特异性和敏感性。

## 2.3 循环肿瘤细胞

循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)最早于 1869 年被提及,是一种源自原发肿瘤或转移到体循环的恶性细胞<sup>[45]</sup>。它不同于任何目前常用的肿瘤生物标志物,通过液体活检对其进行测量,一定程度上代表了患者肿瘤病灶细胞的样本。现如今可以通过简单的采取外周血,然后利用其免疫亲和特性或其他生物物理特性高效地识别和捕获 CTC。通过检测 CTC 的定量丰度、生物学特性和 CTC 之间的基因组异质性可以预测 HCC 患者的疾病预后和治疗反应<sup>[46]</sup>。

## 3 结语

我国是肝癌高发的国家之一,且肝癌发病率与死亡率呈逐年上升趋势。HCC 的早期检测对于疾病治疗至关重要。AFP 是目前最常用的诊断 HCC 的血清生物标志物,但对于早期 HCC 患者筛查灵敏度低,只有 60%~80% 的 HCC 患者对该指标呈阳性<sup>[6]</sup>。因此,为了提高 HCC 诊断的准确度和灵敏度,还需要开发新的、可靠的诊断性生物标志物。本文列举了近些年新出现的血清肝癌标志物,多为分泌型,大多采用 ELISA 方法检测,这些标志物因为在癌组织与非癌组织中的差异表达,可能导致其血清含量的变化。蛋白类的肿瘤标志物具有无需预处理样品,检测简便,易于临床推广等优点。RNA 类肿瘤标志物可以从体液中分离出来,通过实时 PCR 的方法进行量化,也适用于临床检测。这些指标若与 AFP 联合检测,可明显改善早期

HCC 患者的诊断率,并与其他肝胆疾病鉴别诊断。不断探究与发现新的肝癌生物标志物,不断补充与完善临床现有的诊断标准,对肝癌的早期诊断、肿瘤进展、疗效评估、患者复发诊断、生存期预测具有重要意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] 国家卫生健康委办公厅. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(2): 288-303.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [4] 陆荫英, 赵海涛, 程家敏, 等. 肝胆肿瘤分子诊断临床应用专家共识[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(7): 1482-1488.
- [5] Zhang R, Lin HM, Broering R, et al. Dickkopf-1 contributes to hepatocellular carcinoma tumorigenesis by activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 54.
- [6] Niu J, Li W, Liang C, et al. EGF promotes DKK1 transcription in hepatocellular carcinoma by enhancing the phosphorylation and acetylation of histone H3 [J]. *Science Signaling*, 2020, 13(657): eabb5727.
- [7] 安琳, 袁方, 覃文新, 等. 磁微粒化学发光法测定 DKK-1 在肝细胞癌诊断中的价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(13): 1729-1731.
- [8] 吴晓霞. DKK1、CTCs 在原发性肝癌 TACE 术前术后表达变化及预后价值研究 [D]. 苏州大学, 2018.
- [9] Shen Q, Fan J, Yang XR, et al. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(8): 817-826.
- [10] Yap L, Tay HG, Nguyen MTX, et al. Laminins in Cellular Differentiation [J]. *Trends Cell Biology*, 2019, 29(12): 987-1000.
- [11] Yasuda H, Nakagawa M, Kiyokawa H, et al. Unique Biological Activity and Potential Role of Monomeric Laminin- $\gamma$ 2 as a Novel Biomarker for Hepatocellular Carcinoma: A Review [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1): 226.
- [12] Govaere O, Wouters J, Petz M, et al. Laminin-332 sustains chemoresistance and quiescence as part of the human hepatic cancer stem cell niche [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(3): 609-617.
- [13] Kiyokawa H, Yasuda H, Oikawa R, et al. Serum monomeric laminin- $\gamma$ 2 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(7): 1432-1439.
- [14] Zhang S, Shao J, Su F. Prognostic significance of STIP1 expression in human cancer: A meta-analysis [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 486: 168-176.
- [15] Krafft U, Tschirdewahn S, Hess J, et al. STIP1 Tissue Expression Is Associated with Survival in Chemotherapy-Treated Bladder Cancer Patients [J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(2): 1243-1249.
- [16] Wang HS, Tsai CL, Chang PY, et al. Positive associations between upregulated levels of stress-induced phosphoprotein 1 and matrix metalloproteinase-9 in endometriosis/adenomyosis [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0190573.
- [17] Chen Z, Xu L, Su T, et al. Autocrine STIP1 signaling promotes tumor growth and is associated with disease outcome in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 365-372.
- [18] Ma XL, Tang WG, Yang MJ, et al. Serum STIP1, a Novel Indicator for Microvascular Invasion, Predicts Outcomes and Treatment Response in Hepatocellular Carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 511.
- [19] Somm E, Jornayvaz FR. Fibroblast Growth Factor 15/19: From Basic Functions to Therapeutic Perspectives [J]. *Endocr Rev*, 2018, 39(6): 960-989.
- [20] Maeda T, Kanzaki H, Chiba T, et al. Serum fibroblast growth factor 19 serves as a potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 1088.
- [21] Prendergast GC, Mondal A, Dey S, et al. Inflammatory Reprogramming with IDO1 Inhibitors: Turning Immunologically Unresponsive 'Cold' Tumors 'Hot' [J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(1): 38-58.
- [22] Yuhei S, Takeshi H, Junji N, et al. The Role of Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Diethylnitrosamine-Induced Liver Carcinogenesis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146279.
- [23] Stepien M, Duarte-Salles T, Fedirko V, et al. Alteration of amino acid and biogenic amine metabolism in hepatobiliary cancers: Findings from a prospective cohort study [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(2): 348-360.
- [24] Bekki S, Hashimoto S, Yamasaki K, et al. Serum kynurenine levels are a novel biomarker to predict the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS one*, 2020, 15(10): e0241002.
- [25] Zhang L, Tian R, Yao X, et al. Milk Fat Globule-EGF Factor 8 improves Hepatic Steatosis and Inflammation [J]. *Hepatology*, 2020, 73(2): 586-605.
- [26] Shimagaki T, Yoshio S, Kawai H, et al. Serum milk fat globule-EGF factor 8 (MFG-E8) as a diagnostic and prognostic biomarker in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15788.
- [27] Shimizu Y, Suzuki T, Yoshikawa T, et al. Next-Generation Cancer Immunotherapy Targeting Glypican-3 [J]. *Front oncol*, 2019, 9: 248.
- [28] Li D, Li N, Zhang YF, et al. Persistent Polyfunctional Chimeric Antigen Receptor T Cells That Target Glypican 3 Eliminate Orthotopic Hepatocellular Carcinomas in Mice [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8):

- 2250-2265.
- [29] Sun B, Huang Z, Wang B, et al. Significance of Glypican-3 (GPC3) Expression in Hepatocellular Cancer Diagnosis[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23:850-855.
- [30] 谢春梅, 徐伟文. GPC3 在肝癌诊治中的价值及存在问题[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2016, 8(1):1-6.
- [31] Jeon Y, Jang ES, Choi YS, et al. Glypican-3 level assessed by the enzyme-linked immunosorbent assay is inferior to alpha-fetoprotein level for hepatocellular carcinoma diagnosis[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2016, 22(3):359-365.
- [32] Nomair AM, Issa NM, Madkour MA, et al. The clinical significance of serum miRNA-224 expression in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Exp Hepatol*, 2020, 6(1):20-27.
- [33] Shigeyasu K, Toden S, Zumwalt TJ, et al. Emerging Role of MicroRNAs as Liquid Biopsy Biomarkers in Gastrointestinal Cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10):2391-2399.
- [34] An Y, Gao S, Zhao WC, et al. Novel serum microRNAs panel on the diagnostic and prognostic implications of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(24):2596-2604.
- [35] Liu Y, Zhang Y, Wu H, et al. miR-10a suppresses colorectal cancer metastasis by modulating the epithelial-to-mesenchymal transition and anoikis [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(4):e2739.
- [36] Amr KS, Elmawgoud Atia HA, Elazeem Elbnhawy RA, et al. Early diagnostic evaluation of miR-122 and miR-224 as biomarkers for hepatocellular carcinoma [J]. *Genes Dis*, 2017, 4(4):215-221.
- [37] Li C, Deng M, Hu J, et al. Chronic inflammation contributes to the development of hepatocellular carcinoma by decreasing miR-122 levels [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13):17021-17034.
- [38] 刘斌, 汤晓莉. 乙型病毒性肝炎患者血小板 miRNA 的表达水平及临床意义[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(4):233-236.
- [39] Huang Z, Zhou JK, Peng Y, et al. The role of long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):77.
- [40] Kamel MM, Matboli M, Sallam M, et al. Investigation of long noncoding RNAs expression profile as potential serum biomarkers in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Transl Res*, 2016, 168:134-145.
- [41] Szabo L, Salzman J. Detecting circular RNAs: bioinformatic and experimental challenges [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(11):679-692.
- [42] Wang S, Zhang K, Tan S, et al. Circular RNAs in body fluids as cancer biomarkers; the new frontier of liquid biopsies[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1):13.
- [43] Zhang X, Zhou H, Jing W, et al. The Circular RNA hsa\_circ\_0001445 Regulates the Proliferation and Migration of Hepatocellular Carcinoma and May Serve as a Diagnostic Biomarker[J]. *Dis Markers*, 2018, 2018:3073467.
- [44] Sun XH, Wang YT, Li GF, et al. Serum-derived three-circRNA signature as a diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:226.
- [45] Ye Q, Ling S, Zheng S, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):114.
- [46] Ahn JC, Teng PC, Chen PJ, et al. Detection of Circulating Tumor Cells and Their Implications as a Biomarker for Diagnosis, Prognostication, and Therapeutic Monitoring in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Hepatology*, 2021, 73(1):422-436.

(收稿日期:2021-07-03 修回日期:2021-07-26)

## 本刊文后参考文献著录规范

为了反映论文的科学依据和作者尊重他人研究成果的严肃性以及向读者提供有关信息的出处,论文中应列出参考文献。所列的参考文献应限于作者直接阅读过的、最主要的、且为发表在正式出版物上的文章。参考文献应注重权威性和时效性,要求引用近 3~5 年发表的文献(以近 3 年为佳)。

参考文献附于正文之后,著录方法采用顺序编码制,即按论文中引用文献编码依次列出。格式如下(主要列出期刊和专著):

[期刊] 作者(3 位以内姓名全列,每位之间加“,”;3 位以上只写前 3 位,“,”后加“等”或“et al”)。文题[J]。刊名,年份,卷(期):起-止页。

[专著]

作者(3 位以内姓名全列,每位之间加“,”;3 位以上只写前 3 位,“,”后加“等”或“et al”)。文题[M]//主编.书名.版次.出版地:出版者,出版年:起-止页。

主编(3 位以内姓名全列,每位之间加“,”;3 位以上只写前 3 位,“,”后加“等”或“et al”)。书名[M]。版次.出版地:出版者,出版年:起-止页。