

· 论 著 ·

α -烯醇化酶在 HBV 相关肝细胞肝癌诊断中的应用价值

殷淑君^{1,2}, 张坤³, 蒋知新²1. 北京回龙观医院检验科, 北京 100096; 2. 解放军第三〇五医院中心试验室, 北京 100000;
3. 解放军第三〇五医院泌尿外科, 北京 100000

摘要: **目的** 通过检测乙型肝炎病毒(HBV)相关肝细胞肝癌(HCC)患者血清中 α -烯醇化酶(ENO1)的浓度,探讨 ENO1 作为肝癌诊断相关指标的可能性。**方法** 共纳入 2018 年 3 月至 2019 年 9 月肝病科、肝胆外科就诊的 90 例 HCC 患者、45 例肝硬化(LC)患者、45 例肝纤维化(LF)患者和 45 例健康体检(NC)者。收集四组研究对象临床资料,采用 ELISA 检测血清 ENO1 浓度。对 ENO1 进行 ROC 曲线分析与甲胎蛋白(AFP)建立联合检测模型。**结果** HCC 组患者血清 ENO1 浓度显著高于其他各组(P 均 < 0.01);TNM 分期:ENO1 浓度值以中位数(下四分位数,上四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,Ⅲ~Ⅳ期患者[72.6(30.7,155.8)ng/ml]高于Ⅰ~Ⅱ期患者[59.8(24.5,94.9)ng/ml, $U = 695.5, P < 0.05$];Edmondson 分级:Ⅰ~Ⅱ级患者 ENO1 浓度[51.0(23.6,106.0)ng/ml]低于Ⅲ~Ⅳ级患者[85.1(53.3,157.7)ng/ml, $U = 606.0, P < 0.05$];ENO1、AFP 联合诊断 HCC 的 AUC 为 0.853,优于 ENO1、AFP 分别单独诊断的 AUC(0.790,0.823)。**结论** ENO1 可能成为潜在的 HBV 相关 HCC 诊断指标,其升高程度与肿瘤的分期、分级存在一定相关性;ENO1 联合 AFP 检测可提高 HCC 诊断的准确率。

关键词: α -烯醇化酶; 甲胎蛋白; 肝细胞肝癌; 联合检测

中图分类号: R446.6 R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2021)01-0013-05

Value of α -enolase in diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma

YIN Shu-jun*, ZHANG Kun, JIANG Zhi-xin

* Department of Laboratory Medicine, Beijing Huilongguan Hospital, Beijing 100096, China

Corresponding author: JIANG Zhi-xin, E-mail: 658jzx@163.com

Abstract: Objective To explore the possibility of serum α -enolase (ENO1) as a diagnostic indicator in patients with hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Ninety HCC patients (HCC group), 45 patients with liver cirrhosis (LC group), 45 patients with liver fibrosis (LF group) and 45 healthy persons of physical examination (control group) from March 2018 to September 2019 were enrolled. The serum ENO1 concentration was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and compared among the groups. ROC analysis of ENO1 was performed, and a joint detection model was established combined with alpha fetoprotein (AFP). **Results** Serum ENO1 concentration in HCC group was significantly higher than that in other three groups (all $P < 0.01$). TNM staging: the concentration of ENO1 was expressed in $M(Q_L, Q_U)$, and which was higher in stage Ⅲ - Ⅳ patients [72.6(30.7,155.8) ng/ml] than in stage Ⅰ - Ⅱ patients [59.8(24.5,94.9) ng/ml, $U = 695.5, P < 0.05$]; Edmondson classification: the concentration of ENO1 was lower in grade Ⅰ - Ⅱ patients [51.0(23.6,106.0) ng/ml] than in grade Ⅲ - Ⅳ patients [85.1(53.3,157.7) ng/ml, $U = 606.0, P < 0.05$]. AUC of combined detection of ENO1 and AFP for diagnosis of HCC was 0.853, which was superior to that of detection of ENO1 (0.790) and AFP (0.823) alone. **Conclusions** ENO1 may be a potential diagnostic indicator of HBV-related HCC, and its level has a certain correlation with tumor staging and grading. The combined detection of ENO1 and AFP can increase the accuracy of HCC diagnosis.

Keywords: Alpha-enolase; Alpha fetoprotein; Hepatocellular carcinoma; Combined detection

肝癌在我国是发病率和病死率均较高的恶性肿瘤之一。肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)

是原发性肝癌中最常见的病理类型,我国原发性肝癌患者中 90% ~ 95% 具有乙型肝炎病毒 (HBV) 感染

史,因早期症状不明显,多数肝癌患者发现时已经为中晚期^[1-2]。目前,肝癌的早期筛查仍主要依靠血清甲胎蛋白(AFP)检测和肝脏超声检查,其中,AFP是用于筛查肝癌的重要血液学指标,已广泛应用于临床,但其在敏感性及特异性方面均具有一定局限性。如能找到其他可以辅助肝癌诊断的新指标,以提高诊断准确率,尽量减少不必要的随访和侵入性检查,非常具有临床意义。

α -烯醇化酶(α -enolase, ENO1)作为糖代谢过程中的关键酶,在细胞能量代谢过程中发挥重要作用,此外还具有多种生物学功能且与细胞内定位有关^[3]。近年来大量研究显示其表达量的变化与多种疾病有关,尤其是与肿瘤的发生发展过程密切相关。目前,很多研究证实 ENO1 与肝癌之间也存在紧密联系^[4]。相对于正常癌旁肝脏组织,肝癌组织中存在 ENO1 的高表达,且 ENO1 的高表达促进了肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭^[5],提示 ENO1 可能为潜在的肝癌相关指标,且与肝癌的进展之间存在一定关系。此外,有研究指出早期肝纤维化患者血清中抗 ENO1 抗体的阳性率明显升高,提示 ENO1 是一种能引起肝纤维化自身免疫反应的自身抗原,肝纤维化患者血清中可能也存在 ENO1 浓度的升高。因此,本研究检测 HBV 相关 HCC 患者血清中 ENO1 蛋白水平以探究 ENO1 作为血液指标在肝癌诊断中的应用价值,同时探究慢性肝病患者血清中 ENO1 浓度的变化规律,以期能够发现新的血液指标用于患者肝纤维化进展程度的预测。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 3 月至 2019 年 9 月期间,于解放军总医院及解放军 305 医院肝病科、肝胆外科就诊的符合条件的患者为研究对象。采用病例对照研究方法,入组对象共 225 例,根据纳入标准将患者分为四组:HCC 组 90 例,肝硬化(LC)组 45 例,肝纤维化(LF)组 45 例和健康体检(NC)组 45 例。在进行诊断价值分析时将病例分为 HCC 组 90 例及非 HCC 组 135 例,非 HCC 组包括肝硬化患者、肝纤维化患者及健康对照者。在进行分期、分级讨论时,按照 TNM 分期将 HCC 组分为 I ~ II 期组 33 例,III ~ IV 期组 57 例;按照 Edmondson 分级将 HCC 组分为 I ~ II 级组 61 例,III ~ IV 级组 29 例。患者的标本采集及使用均获患者知情同意,并符合医学伦理学相关规定。

1.2 纳入标准 按肝穿刺活组织检查结果对慢性肝

病患者进行纳入与分组,肝纤维化严重程度以 Scheuer 评分方法^[6]为基础,评分 S1 ~ S3 归为肝纤维化组,评分 S4 归为肝硬化组。HCC 的诊断标准参照《内科学(第九版)》。肝癌患者的分期采用国际抗癌联盟所发布的 TNM 分期,分级采用 Edmondson 分级法。

1.3 排除标准 合并其他癌症患者;接受过手术、放化疗及其他抗肿瘤治疗者;严重肝损害、肝功能低下者;存在认知障碍和语言障碍、无法进行良好沟通;严重慢性肾病患者;存在过敏反应、自身免疫病患者。

1.4 样本的采集与保存 研究对象空腹 12 h 以上,次日清晨采静脉血,离心后,分离上层血清于无菌 EP 管内,对 EP 管进行编号,记录患者信息。完成登记后立即将标本储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

1.5 患者一般资料及检查结果收集 (1)收集患者基本信息包括年龄、性别、体重、身高;(2)询问有无吸烟史、饮酒史,有无肝炎病毒感染史、家族肿瘤史;(3)收集患者实验室检查指标,包括 AFP、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、HBV 表面抗原(HBsAg)、HBV 核酸定量(HBV-DNA);(4)收集患者病理检查报告、影像学检查结果,咨询专业科室医生对其进行判读。

1.6 ENO1 的检测 ENO1 的检测使用人 ENO1 ELISA 检测试剂盒,购自英国 Abcom 公司。按照实验步骤对标准品及样本进行检测,绘制标准曲线,通过标准曲线计算出标本中的 ENO1 浓度。见图 1。

1.7 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件进行数据分析。计数资料以例数(%)表示,采用 $R \times C$ 表 χ^2 检验;用 K-S 检验计量资料的正态性,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用完全随机设计的方差分析;非正态分布计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数) [$M(Q_L, Q_U)$] 表示,多组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验,两两比较采用 Mann-Whitney U 检验。双变量之间的相关性分析采用 Spearman 相关性分析。使用受试者工作特征曲线(ROC)对血清 ENO1、AFP 浓度指标的诊断价值进行分析并建立联合诊断模型,用并联法、串联法分析其联合检测的诊断效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组对象基本情况比较 所有病例组患者都具有 HBV 感染史,四组研究对象的年龄、体重比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。四组 ALT、AST、AFP 水平比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.2 四组对象血清 ENO1 浓度比较 HCC 组 ENO1 浓度为 70.7 (26.3, 122.3) ng/ml, LC 组 29.3 (19.3, 45.2) ng/ml, LF 组 20.4 (16.8, 24.5) ng/ml, NC 组 16.0 (13.1, 22.0) ng/ml。经非参数检验分析,四组研究对象血清标本中 ENO1 浓度差异有统计学意义 ($H=90.2, P<0.01$); 两两比较显示, HCC 组 ENO1 浓度高于 LC 组 ($U=1081.0, P<0.01$), LC 组高于 LF 组 ($U=579.5, P<0.01$), LF 组高于 NC 组 ($U=385.5, P<0.01$), 即随着肝组织由正常→肝纤维化→肝硬化→HCC 的演变, ENO1 浓度呈递升趋势。

2.3 HCC 组与非 HCC 组血清 ENO1、AFP 浓度比较 HCC 组患者血清 ENO1、AFP 浓度均高于非 HCC 组 (P 均 <0.01)。见表 2。

2.4 ENO1、AFP 单项及联合检测对 HCC 的诊断价值分析 根据血清 ENO1 浓度进行 ROC 分析, 结果显示曲线下面积 (AUC) 为 0.790 (95% CI: 0.729 ~ 0.851), 根据约登指数最大法选取 54.9 ng/ml 作为 ENO1 最佳截断值时, 诊断 HCC 的灵敏度为 57.9%, 特异度为 88.9%, 准确度为 76.4%, 阳性预测值为 77.6%, 阴性预测值为 75.9%。同样方法对 AFP 进行分析, AUC 为 0.823 (95% CI: 0.760 ~ 0.886), 选取 10.0 ng/ml 作为 AFP 最佳截断值时, 诊断灵敏度为 76.7%, 特异度为 82.2%, 准确度为 80.0%, 阳性预测值为 73.4%, 阴性预测值为 84.7%。提示 ENO1 在诊断 HCC 灵敏度方面较 AFP 稍弱, 但在特异性方面有所提升, ENO1 或可作为 AFP 的补充。使用二项 Logistic 回归方程对 ENO1 与 AFP 的检测结果进行拟合, 以获得联合诊断模型, ENO1 联合 AFP 诊断的 AUC 为 0.853 (95% CI: 0.804 ~ 0.902), 高于任一指标单独检测。此外, 使用并联法和串联法对联合检测结果进行分析, 用并联法时, 联合检测显著提高结果的敏感度 (93.3%) 与阴性预测值 (94.3%), 准确度 (81.8%) 也有所提高, 该方法更适合用于 HCC 的筛查; 采用串联法时, 显著提高了特异度 (97.0%) 与阳性预测值 (90.5%), 其更适用于 HCC 的辅助诊断。

因此, 与 ENO1 及 AFP 单一检测比较, 二者联合检测可以进一步提高诊断效能。双变量 Spearman 相关性分析结果显示, 血清 ENO1 与 AFP 呈正相关关系 ($r=0.361, P<0.01$)。见图 2、表 3、表 4。

2.5 ENO1 在不同 TNM 分期 HCC 患者血清中的浓度比较 不同 TNM 分期结果显示, III ~ IV 期组患者 ENO1 浓度明显高于 I ~ II 期组 ($U=695.5, P<0.05$)。见表 5。

2.6 ENO1 在不同病理类型 HCC 患者血清中的浓度 不同 Edmondson 分级结果显示, I ~ II 级组 ENO1 浓度明显低于 III ~ IV 级组 ($U=606.0, P<0.05$)。见表 5。

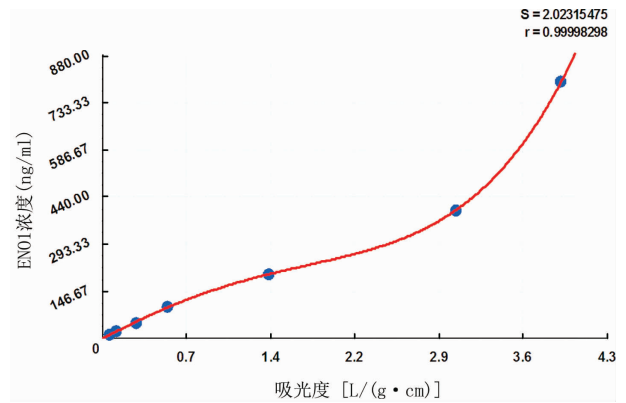


图 1 ENO1 浓度计算的标准曲线

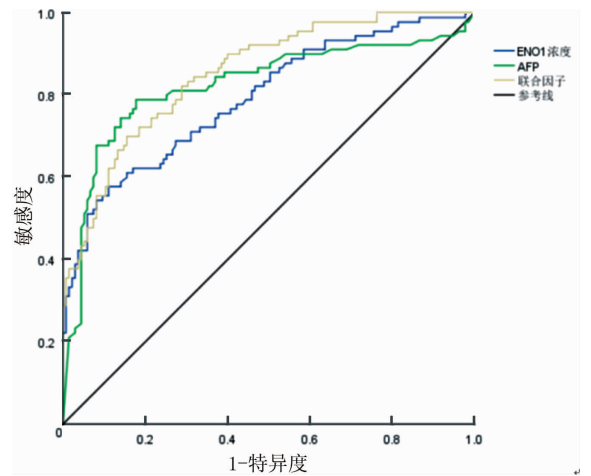


图 2 ENO1 联合 AFP 诊断 HCC 的 ROC 曲线

表 1 四组对象基本情况比较

指标	HCC 组 (n=90)	LC 组 (n=45)	LF 组 (n=45)	NC 组 (n=45)	$\chi^2/F/H$ 值	P 值
男 [例 (%)]	73 (81.1)	35 (77.8)	36 (80.0)	33 (73.33)	0.208	0.765
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	62.0 \pm 7.9	60.6 \pm 11.2	61.4 \pm 7.2	58.7 \pm 9.6	1.847	0.176
体重 (kg, $\bar{x} \pm s$)	69.4 \pm 13.5	63.3 \pm 21.4	68.9 \pm 16.7	65.3 \pm 12.2	1.364	0.134
HBsAg 阳性 [例 (%)]	90 (100.0)	45 (100.0)	45 (100.0)	45 (100.0)	-	-
ALT [IU/L, $M(Q_L, Q_U)$]	132.7 (24.1, 226.5)	122.7 (20.1, 209.5)	147.2 (21.2, 218.7)	15.5 (6.7, 33.9)	6.263	<0.01
AST [IU/L, $M(Q_L, Q_U)$]	122.6 (257.4, 74.3)	74.6 (202.7, 36.7)	66.5 (198.3, 42.3)	14.9 (8.3, 16.5)	4.122	<0.01
AFP [ng/ml, $M(Q_L, Q_U)$]	127.3 (11.7, 886.2)	5.5 (2.7, 53.6)	3.1 (2.4, 3.9)	3.2 (1.1, 3.9)	9.045	<0.01

表2 HCC与非HCC患者ENO1、AFP浓度比较
[ng/ml, $M(Q_L, Q_U)$]

分组	例数	ENO1	AFP
HCC组	90	70.7(26.3, 122.3)	121.6(11.7, 121.6)
非HCC组	135	21.6(15.7, 37.3)	4.1(2.7, 7.4)
U值		2 525.9	2 144.5
P值		<0.01	<0.01

表3 血清ENO1、AFP单独和联合检测诊断HCC的ROC曲线分析

指标	曲线下面积	
	估计值	95% CI
ENO1	0.790	0.729 ~ 0.851
AFP	0.823	0.760 ~ 0.886
联合诊断	0.853	0.804 ~ 0.902

表4 ENO1、AFP单独和联合检测对HCC的诊断效能

指标	最佳截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
ENO1	54.9 ng/ml	57.9	88.9	76.4	77.6	75.9
AFP	10.0 ng/ml	76.7	82.2	80.0	73.4	84.7
ENO1 + AFP (并联法)		93.3	74.1	81.8	70.6	94.3
ENO1 + AFP (串联法)		42.2	97.0	75.1	90.5	71.6

注:并联法为只要有任何一项试验结果为阳性,两项结果均为阴性才定为阴性;串联法为全部试验结果均为阳性者判定为阳性,凡有一项结果阴性者就定为阴性。

表5 不同分期分级HCC患者血清ENO1浓度比较
[$M(Q_L, Q_U)$]

不同分期分级	例数	ENO1 (ng/ml)	U值	P值
TNM分期				
I ~ II期	33	59.8(24.5, 94.9)	695.5	<0.05
III ~ IV期	57	72.6(30.7, 155.8)		
Edmondson分级				
I ~ II级	61	51.0(23.6, 106.0)	606.0	<0.05
III ~ IV级	29	85.1(53.3, 157.7)		

3 讨论

本课题研究的ENO1是一种多功能蛋白,其细胞定位不同则功能不同^[3]。目前,多项研究结果显示ENO1高表达促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移,抑制肿瘤细胞的凋亡^[7-8]。存在于胞质中的ENO1除了调节细胞的代谢过程,还可以通过调节代谢促进肿瘤的发生发展,被认为是肿瘤发病机制中的致癌因子。位于细胞表面的ENO1,可以作为纤溶酶原受体调节细胞外的纤溶活性,进而可激活纤维蛋白溶酶并加速细胞外基质降解,促进肿瘤细胞的侵袭转移。肿瘤是由于基因改变使得肿瘤细胞逃避免疫监视进入无限制生长状态的一种疾病。研究表明肿瘤细胞即便在氧气充足的条件下也更倾向利用糖酵解供能,即

“Warburg效应”^[9]。因此,ENO1作为糖酵解过程的限速酶,随着肿瘤细胞糖酵解的大量增加,在肿瘤形成的过程中存在表达上调。利用表达量的不同,ENO1或许可以作为代谢相关指标用于肿瘤的诊断,是一个潜在的肿瘤标记物。

目前,已有实验证明相对于正常肝组织,HCC组织中存在ENO1的高表达且其高表达促进了HCC细胞的增殖、迁移与侵袭^[10-11]。随着癌肿包膜完整性的破坏,肿瘤的转移与侵袭,肿瘤组织中表达的相关蛋白等物质可能会释放入血。因此,笔者推测HCC患者血液中也存在ENO1水平的异常升高,且升高的程度与肿瘤的进展存在一定关联。本研究结果验证了这一猜想,HBV相关HCC组患者血清中ENO1浓度显著升高。此前,Takashima和Yoon等^[10-11]的实验发现14种基因在HCC细胞及HCC组织中表达上调,ENO1是上调基因之一。闫婷婷等^[5]证明了ENO1在HepG2细胞系中的表达也高于正常肝细胞。这些前期实验从HCC组织及细胞水平说明了ENO1的高表达,而本实验结果发现在HBV相关HCC患者血液中同样存在ENO1水平的显著升高。因此,ENO1可能成为潜在的肝癌诊断指标。

为探究血清ENO1水平与HCC进展之间的关系,本研究对HCC患者进一步分组。TNM分期中的I ~ II期患者仅存在原发肿瘤或仅有周围血管侵袭,而III ~ IV期患者已发生淋巴转移甚至肝外转移,结果显示,ENO1在III ~ IV期患者血液中的浓度高于I ~ II期患者,提示血清ENO1浓度水平与肿瘤的侵袭、转移之间存在一定的关系。这一变化趋势与前期一些学者的基础研究结果相对应,ENO1基因沉默的HepG2细胞,细胞的迁移、侵袭能力显著下降^[5]。Edmondson分级是按照肿瘤细胞分化程度进行划分,结果显示III ~ IV级患者血清ENO1水平高于I ~ II级患者,提示ENO1浓度高低与肝癌去分化程度存在正相关。Takashima等^[10]的实验结果发现在低分化肝癌中ENO1的表达明显高于高分化肝癌。由此可见,ENO1在血液中的变化趋势与其在组织中的表达情况基本一致,提示或可通过监测血液中ENO1浓度的变化对肝癌患者的病情进展及恶性程度做出预测。

AFP与超声检查联合应用以筛查HCC,已经纳入指南^[12],但是部分妊娠期妇女、生殖腺胚胎癌患者和普通活动性肝病等患者也会出现AFP的持续升高。另外,部分病理组织学结果呈高分化或低分化的HCC患者AFP并不升高。因此,AFP在诊断敏感性

及特异性方面均存在一定局限。除了致力于寻找可以提高 HCC 诊断准确率的新指标,通过建立多个标志物联合检测模型来达到更强的诊断效能也是目前研究的方向之一^[13]。本实验对血清 ENO1 及 AFP 分别作了 ROC 曲线分析并建立联合诊断模型,结果显示联合检测优于任何单一检测指标,可显著提高 HCC 诊断的准确率,一定程度上减少漏诊与误诊。

约 80% 的 HCC 发生在病毒性肝炎引起的慢性炎症和肝硬化背景下,慢性肝脏炎症、肝纤维化、肝硬化与 HCC 之间存在密切关系^[14-15]。值得关注的是,目前临床普遍认为纤维化是一个可逆的病理生理过程^[16],而进入肝硬化晚期阶段后,很难再发生组织学逆转。由此可见,肝纤维化对患者的预后有着决定性意义,应尽早发现并给予足够的重视。Peng 等^[17]在研究中发现肝硬化前期肝纤维化患者血清中抗 ENO1 抗体阳性的频率是升高的,认为 ENO1 是一种是潜在的肝纤维化诊断预测因子。本实验分析结果显示血中 ENO1 浓度水平依 NC 组→LF 组→LC 组之序呈递升趋势,提示 ENO1 有望成为肝脏病变进展过程中的动态监测指标。

综上所述,ENO1 有潜质成为 HCC 诊断相关的血液指标,其水平高低与肿瘤的临床分期、病理分级间存在一定关联,具有较高的临床应用价值。推荐 ENO1 和 AFP 两者联合检测以提高诊断的准确率,以弥补单项检测的不足。此外,监测 ENO1 水平有望能预测肝组织病变的程度,进而可及时给予患者相关治疗,逆转肝纤维化,改善预后。但本实验收集标本数有限,需要进一步扩大样本量,细化分组,全面分析,以进一步明确血液中 ENO1 的变化规律。

参考文献

[1] 曹毛毛,陈万青. 中国恶性肿瘤流行情况及防控现状[J]. 中国肿瘤临床,2019,46(3):145-149.

[2] 郭然,蒋梅. 肝动脉化疗栓塞术联合抗病毒治疗乙肝相关肝癌疗效的 Meta 分析[J]. 中国热带医学,2019,19(02):81-85.

[3] Díaz-Ramos À, Roig-Borrellas A, García-Melero A, et al. A-enolase, a multifunctional protein; its role on pathophysiological situations [J]. J Biomed Biotechnol,2012,2012:1-12.

[4] Zhu W, Li H, Yu Y, et al. Enolase-1 serves as a biomarker of diagnosis and prognosis in hepatocellular carcinoma patients [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10:5735-5745.

[5] 闫婷婷,马丽娜,雒夏,等. α -烯醇化酶在肝细胞肝癌中的作用及其机制[J]. 中华肝病杂志,2017,25(6):429-434.

[6] 中华医学会肝病学分会,中华医学会消化病学分会,中华医学会感染病学分会. 肝纤维化诊断及治疗共识(2019年)[J]. 临床肝胆病杂志,2019,35(10):2163-2172.

[7] Sun Y, Xiaoyan H, Yun L, et al. Identification of key candidate genes and pathways for relationship between ovarian cancer and diabetes mellitus using bioinformatical analysis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20(1):145-155.

[8] Sun L, Lu T, Tian KJ, et al. Alpha-enolase promotes gastric cancer cell proliferation and metastasis via regulating AKT signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2019, 845:8-15.

[9] Jin S, DiPaola RS, Mathew R, et al. Metabolic catastrophe as a means to cancer cell death [J]. J Cell Sec, 2007, 120(pt 3):379-383.

[10] Takashima M, Kuramitsu Y, Yokoyama Y, et al. Overexpression of alpha enolase in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma: association with tumor progression as determined by proteomic analysis [J]. Proteomics, 2005, 5(6):1686-1692.

[11] Yoon S, Kim JM, Oh JH, et al. Gene expression profiling of human HBV-and/or HCV-associated hepatocellular carcinoma cells using expressed sequence tags [J]. Int J Oncol, 2006, 29(2):315-327.

[12] 李民,熊俊.《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》解读[J]. 中国普通外科杂志,2019,28(7):785-789.

[13] Srivastava S, Koay EJ, Borowsky AD, et al. Cancer overdiagnosis: a biological challenge and clinical dilemma [J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(6):349-358.

[14] Li TY, Yang Y, Zhou G, et al. Immune suppression in chronic hepatitis B infection associated liver disease: a review [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(27):3527-3537.

[15] Sahin T, Serin A, Emek E, et al. Effectiveness of noninvasive fibrosis markers for the prediction of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and chronic hepatitis B + D induced cirrhosis [J]. Transplant Proc, 2019, 51(7):2397-2402.

[16] Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the Genesis of incomplete septal cirrhosis [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(11):1599-1607.

[17] Peng B, Huang X, Nakayasu ES, et al. Using immunoproteomics to identify alpha-enolase as an autoantigen in liver fibrosis [J]. J Proteome Res, 2013, 12(4):1789-1796.

收稿日期:2020-03-28 修回日期:2020-05-08 编辑:石嘉莹