

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.03.003

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20191106.1636.004.html>(2019-11-07)

早期肝癌患者细胞免疫功能、血清 VEGF 表达及 CTC 微转移与术后复发的相关性^{*}

陈 明,王旭林[△],邢人伟,兰 勇,凌乙升

(台州学院医学院附属市立医院肝胆外科,浙江台州 318000)

[摘要] **目的** 探讨早期肝细胞癌(HCC)患者细胞免疫功能和血清血管内皮细胞生长因子(VEGF)表达与术后转移复发的相关性。**方法** 选择2014年3月至2016年3月在该院诊断出Ⅰ~Ⅱ期HCC患者80例,患者均经病理检查并确诊,采用开腹或腹腔镜根治术进行肝癌根治性切除,随访期至2018年3月,中位随访35个月;根据随访有无复发情况分为无复发组($n=60$)和复发组($n=20$)。采用流式细胞术分别检测患者术前、术后7 d的细胞免疫功能($CD4^+$ 、 $CD8^+$ T淋巴细胞和 $CD4^+/CD8^+$ 的比值);采用ELISA法检测两组患者术前、术后7 d的血清VEGF水平;采用免疫磁性分离技术检测患者术前1 d和随访术后6个月的血清中循环肿瘤细胞(CTC)的上皮细胞黏附分子(EpCAM)。分析并比较3项指标与术后有无复发的相关性。**结果** 两组患者术后7 d的 $CD4^+$ 和 $CD4^+/CD8^+$ 值均较术前升高,且无复发组 [$CD4^+$ (33.63 ± 5.95)%, $CD4^+/CD8^+$ 比值 116.49 ± 29.84] 明显高于复发组 [$CD4^+$ (29.54 ± 5.23)%, $CD4^+/CD8^+$ 比值 103.35 ± 25.56], 差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者术后7 d的血清VEGF水平均低于术前,且无复发组 [$(165.72 \pm 24.34) \mu\text{mol/L}$] 明显低于复发组 [$(203.45 \pm 26.96) \mu\text{mol/L}$], 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。随访无复发组的CTC-EpCAM阳性率 [$(1.52 \pm 0.36)\%$] 明显低于复发组 [$(8.69 \pm 2.54)\%$], 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 早期HCC患者术后细胞免疫功能、血清VEGF水平及CTC微转移与术后有无复发密切相关。

[关键词] 癌,肝细胞;细胞免疫功能;血管内皮细胞生长因子;肿瘤细胞,循环;肿瘤复发

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)03-0356-04

Correlation between cellular immune function, serum VEGF expression and circulation tumor cells micrometastasis with postoperative recurrence in patients with early hepatocellular carcinoma^{*}

CHEN Ming, WANG Xulin[△], XING Renwei, LAN Yong, LING Yisheng

(Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Municipal Hospital of Medical College, Taizhou College, Taizhou, Zhejiang 318000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the correlation between the cellular immune function, serum vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and circulating tumor cells (CTC) micrometastasis with postoperative metastasis and recurrence in the patients with early hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 80 patients with stage I—II of HCC in this hospital from March 2014 to March 2016 were selected. All cases were definitely diagnosed by the pathologic examination. The laparotomy or laparoscopic radical operation was adopted in all cases. The followed up period lasted until March 2018 with a median follow-up duration of 35.0 months. The cellular immune function ($CD4^+$, $CD8^+$ T lymphocytes and $CD4^+/CD8^+$ ratio) before operation and on postoperative 7 d was detected by adopting the flow cytometry; serum VEGF levels before operation and on postoperative 7 d were detected by adopting ELISA; the the epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) level of CTC on preoperative 1 d and in 6 months of postoperative follow up was detected by adopting the immunomagnetic separation technique. Then the correlation between these 3 indicators with postoperative recurrence was analyzed and compared. **Results** The values of $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ on postoperative 7 d in the two groups were increased compared with that before operation, moreover the non-recurrence group was significantly higher than the recurrence group, and the differences were statistically significant [$(33.63 \pm$

^{*} 基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2004AA227070);国家自然科学基金项目(81072209);浙江省台州市科技局项目(100ky-

26)。作者简介:陈明(1974—),副主任医师,本科,主要从事肝胆外科的研究。 [△] 通信作者, E-mail: 45868404@qq.com。

5.95)%,116.49±29.84,vs.(29.54±5.23)%,103.35±25.56, $P<0.05$]. The serum VEGF level on postoperative 7 d in the two groups was lower than that on preoperative 7 d, moreover the non-recurrence group was significantly lower than the non-recurrence group, and the difference was statistically significant [(165.72±24.34) μmol/L vs. (203.45±26.96) μmol/L, $P<0.05$]. The CTC-EpCAM positive rate during follow up in the non-recurrence group was significantly lower than that in the recurrence group, and the difference was statistically significant [(1.52±0.36)% vs. (8.69±2.54)%, $P<0.05$]. **Conclusion** The postoperative cellular immune function, serum VEGF level and CTC micrometastasis have the close correlation with postoperative recurrence in the patients with early HCC.

[Key words] carcinoma,hepatocellular;cellular immune function;vascular endothelial growth factor;neoplastic cells,circulating;neoplasm recurrence

肝细胞癌(HCC)是较常见的消化道恶性肿瘤,发病率居全球恶性肿瘤第 5 位,病死率居第 3 位^[1]。由于早期无典型临床症状,且缺乏灵敏度和特异度较高的分子标志物及准确性较高的筛查手段,往往患者确诊时已处于中晚期,丧失了手术切除机会或术后效果较差,长期生存预后不理想^[2]。近期研究发现,机体细胞免疫功能的减弱与 HCC 的发生、术后康复、复发和生存率密切相关^[3],其中 CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞的比值是评估细胞免疫功能的重要指标^[4]。肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移离不开营养供应,血清血管内皮细胞生长因子(VEGF)表达是其中一类十分重要的活性因子^[5]。循环肿瘤细胞(CTC)在 HCC 早期侵袭和转移中发挥重要作用。CTC 阳性与肿瘤临床分期一致性较好,且可预测复发和生存预后。本研究旨在分析早期 HCC 术后机体细胞免疫功能、血清 VEGF 表达及 CTC 微转移与临床预后早期复发的关系,以为准确评估预后提供重要参考指标和依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

连续选择本院 2014 年 3 月至 2016 年 3 月收治的 I~II 期 HCC 患者共 80 例,本研究定义 HCC 分期采用肿瘤分期依据国际抗癌联盟(UICC)2017 年修订的第八版肝癌 TNM 分期标准,所选患者均纳入标准。入选标准:(1)术前影像学或术后病理证实为 I~II 期 HCC;(2)患者均采取癌根治性切除治疗;(3)临床病例资料完善,患者取得知情同意权,并得到本院医学理论委员会批准。排除标准:(1)患者术前存在感染或伴随自身免疫性疾病;(2)5 年内合并严重基础疾病;(3)患者术后发生消化道出血,术后进行再切除手术治疗及给予放化疗,术后服用其他免疫调节药物;(4)不能排除影响该研究结果的因素等。术后随访:随访时间截至 2018 年 3 月,中位时间 35 个月,回访形式采用门诊或住院复查病理学检测确认。复

发的标准以医学影像学检查,如超声、CT、或 MRI 等,以及血清甲胎蛋白(AFP)升高(AFP≥20 ng/mL 为阳性)为主要依据。若诊断有疑问,则可通过肝动脉造影或穿刺活检以确诊,单纯 AFP 升高不作为复发事件出现的标准^[6]。收集、整理并统计术后 24 个月患者的随访临床及病理学资料,包括性别、年龄、手术方法及时间,肿瘤大小、数目、分期、包膜是否完整及术后血清 AFP 水平等。随访期间无复发的 60 例为无复发组,复发的 20 例 HCC 患者为复发组。两组患者的基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组患者基线资料比较

项目	无复发组 (n=60)	复发组 (n=20)	t/χ ²	P
性别(男/女,n)	38/22	13/7	0.251	0.617
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	56.52±7.75	55.84±7.39	0.169	0.785
开腹/腹腔镜(n)	27/33	8/12	0.152	0.696
分级(I/II,n)	24/36	6/14	0.056	0.813
瘤数(1/>1,n)	45/15	4/16	0.042	0.664
包膜(有/无,n)	40/20	12/8	0.233	0.415
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	22.34±2.96	21.83±2.65	0.085	0.864
手术时间($\bar{x}\pm s$,min)	135.19±26.02	142.93±30.17	0.356	0.621
肿瘤直径($\bar{x}\pm s$,cm)	3.53±0.86	3.35±0.67	0.202	0.764
术后 AFP($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	6.52±0.91	24.58±2.16	0.039	0.485

1.2 方法

1.2.1 流式细胞学检测外周血 T 淋巴细胞亚群

80 例患者均于术前、术后 7 d 抽取清晨空腹外周静脉血 3~5 mL 进行各项检测分析。样本采用肝素钠抗凝血处理后,加入 3 mL 淋巴细胞分离液,室温离心后移液枪小心吸取含有外周血单核细胞层,PBS 洗两次。调整细胞密度为 10⁷ 个/mL,分别取 100 μL 与 CD4⁺ 和 CD8⁺ 抗体混匀,同型抗体作为对照,置于冰上避光孵育 30 min,流式细胞仪上机检测患者术前和术后 7 d 的 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的水平,并计算

表 2 两组患者术前术后的细胞免疫功能比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ T 淋巴细胞(%)		CD8 ⁺ T 淋巴细胞(%)		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
		术前 7 d	术后 7 d	术前 7 d	术后 7 d	术前 7 d	术后 7 d
无复发组	60	23.48±3.29	33.63±5.95 ^a	28.65±4.26	29.21±4.58	81.82±13.65	116.49±29.84 ^a
复发组	20	25.62±3.36	29.54±5.23 ^{ab}	29.87±4.58	28.73±4.45	86.32±16.79	103.35±25.56 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与同组术前 7 d 比较;^b: $P<0.05$,与无复发组术后 7 d 比较。

出 CD4⁺/CD8⁺ 比值。流式细胞仪购自美国 BD 公司,淋巴细胞标记抗体购自美国 BioLegend 公司。

1.2.2 ELISA 检测血清中 VEGF 水平

所有分离出的血清样本采用 ELISA 法检测 VEGF 的表达水平。ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司,按照使用说明书进行操作,每组样品做 3 个复孔,计算并分析两组术前和术后血清 VEGF 的变化。

1.2.3 肝癌 CTC 的检测

肿瘤患者血清的 CTC 阳性率在早期肿瘤复发转移的预后检测判断中具有重要意义,可用于临床预后判断的随访监测。上皮细胞黏附分子(EpCAM)CD326 是目前公认的灵敏度和特异度都很高的 CTC 诊断标记物。本研究采用 Cell Search 系统(购自美国 Veridex 公司)检测并分析两组患者术前 1 d 和术后随访 6 个月的 CTC 比例。收集两组患者术前、术后的血液样本,使用 EpCAM 抗体磁珠(购自美国 Santa Cruz 公司)对上皮细胞进行富集、固定处理,使用 PE 标记的 CK8、CK18、CK19 抗体和肿瘤抑制基因 APC 标记的 CD45 抗体对样本细胞进行染色(抗体购自美国 Sigma 公司),4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)核染色,通过半自动四色荧光显微镜(购自日本 Olympus 公司)进行分析,检测出 CK 阳性、CD45 阴性的上皮细胞,即为 CTC;随后采用免疫磁性分离技术标记外周血中 CTC 的 EpCAM(CTC-EpCAM)。

1.2.4 观察指标

随访截止后,分析比较 HCC 患者术前、术后的外周血淋巴细胞 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞水平变化及 CD4⁺/CD8⁺ 的比值,血清中 VEGF 的水平及 CTC 检出阳性率。进一步判断这些指标与术后有无复发的相关性和灵敏度,评估细胞免疫功能、血清 VEGF 及 CTC 微转移对于预测患者术后复发转移的能力。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较采用配对 t 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者术前术后的细胞免疫功能比较

两组患者术后 7 d 的 CD4⁺T 淋巴细胞占淋巴细胞总数的比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均较术前 7 d 升高,且无复发组的免疫功能明显优于复发组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.2 两组患者术前术后 VEGF 水平比较

两组患者术后 7 d 的 VEGF 水平均较术前降低,且无复发组明显低于复发组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组患者术前术后 VEGF 水平比较($\bar{x}\pm s,\mu\text{mol/L}$)

组别	n	术前 7 d	术后 7 d
无复发组	60	256.34±32.75	165.72±24.34 ^{ab}
复发组	20	284.56±35.62	203.45±26.96 ^a

^a: $P<0.05$,与同组术前 7 d 比较;^b: $P<0.05$,与复发组术后 7 d 比较。

2.3 两组患者术后 CTC-EpCAM 阳性率比较

与术后 1 d 比较,随访 6 个月时两组患者 CTC-EpCAM 的阳性率明显升高($P<0.05$);且随访 6 个月时无复发组 CTC-EpCAM 的阳性率明显低于复发组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 两组患者术后随访 CTC 阳性率比较($\bar{x}\pm s,\%$)

组别	n	术后 1 d	随访 6 个月
无复发组	60	0.04±0.01	1.52±0.36 ^{ab}
复发组	20	0.05±0.01	8.69±2.54 ^a

^a: $P<0.05$,与同组术后 1 d 比较;^b: $P<0.05$,与复发组随访 6 个月比较。

3 讨 论

3.1 肝癌患者术后复发的现状分析

对于 HCC 患者而言,目前手术切除仍是首选的基础治疗方法^[7]。HCC 术后具有较高的复发转移率,肿瘤的复发和转移是影响患者长期生存与生活质量的重要不利因素^[8]。因此,HCC 术后复发的影响因素是近年来研究重点。既往研究表明主要影响因素包括手术因素、临床病理因素及相关分子标记物等,本研究以分子标记物检测指标为主。选择较高灵敏度和特异度的检测指标,不仅是评估肿瘤复发风险的关键,同时有利于医师及时采取有效的治疗措施,对提高患者临床预后具有十分重要的价值。但既往

研究多关注单一指标,未能充分研究多项分子标记物检测指标联用对于 HCC 复发的预测效果。因此,本研究充分筛选可能指标,分析细胞免疫功能、血清 VEGF 表达及 CTC 微转移等主要因素与术后复发的相关性,以期取得全面、准确的预测效果。

3.2 细胞免疫功能与术后复发的相关性

莫世发等^[9]研究表明,细胞免疫功能低下是肝癌患者难以治愈、复发转移的重要因素。T 淋巴细胞在抗肿瘤免疫中发挥重要作用,其中 CD4⁺、CD25⁺ Treg 细胞是最重要的免疫抑制细胞,几乎抑制所有先天和继发性的免疫反应,有免疫缺失和免疫抑制两大特征^[10]。CD4⁺/CD8⁺ 比值能够反映细胞免疫平衡,提示机体的调节能力。临床研究表明,手术和麻醉应激往往可降低机体的免疫功能,术后疼痛是细胞免疫功能持续低下的重要不利因素^[11]。

在本研究中,两组患者术后 7 d 的 CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 比值均较前升高,而无复发组明显高于复发组($P<0.05$),复发组患者的免疫抑制低于无复发组,提示不良的临床预后。因此监测患者术后细胞免疫功能,尤其以 CD4⁺ T 淋巴细胞为主,对发挥肿瘤细胞的免疫监视和清理功能提供了重要参考价值。

3.3 血清 VEGF 表达与术后复发的相关性

肿瘤的生长发育过程需要足够的血液供应,因此血管的生长可能是术后肿瘤复发的重要影响因素。血清 VEGF 是当前作用最强、特异度最好的促血管生长因子,其表达可能引发肿瘤侵袭,是众多恶性肿瘤的共有诱发因子。目前,HCC 复发与 VEGF 的相关性研究并不明确,多项研究证实,VEGF 是促进肿瘤细胞恶性增殖、分化、侵袭和转移的强效活性因子^[12-13]。但国内外也有研究表明,HCC 的预后可能与 VEGF 的水平无关。

本研究表明,两组患者术后 7 d 的 VEGF 水平均较术前降低($P<0.05$),无复发组的降低程度明显低于复发组($P<0.05$),提示术前与术后 VEGF 水平与临床预后有无复发密切相关。血清 VEGF 水平与 HCC 复发具有相关性。因此,定期检测术后血清 VEGF 水平在抑制肿瘤早期增殖及复发转移中可发挥一定作用。

3.4 CTC 微转移与术后复发的相关性

CTC 也称“播撒肿瘤细胞”,陈洪等^[14]研究指出,CTC 与肿瘤干细胞的表达水平具有密切联系。门静脉肝癌 CTC 是门静脉癌栓形成的重要前提。肝癌术后原位复发是由于血液中存活的 CTC 重新返回原位组织所导致,此外 CTC 还可促进新生血管和基质形成^[15]。由于 CTC 在血液中的水平极其微量,需要极其敏感的检测手段。目前免疫磁珠分离技术可将 CTC 从外周血中分离出来,设备要求不高,方法简便,

且分离效率较高^[16-17]。

本研究结果表明,随访 6 个月的复发组 CTC-Ep-CAM 阳性检出率明显高于无复发组,提示存在不良的预后。早期监测术后的 CTC 水平及转移,可为提高手术效果、降低复发、改善患者生存期提供理论支持,具有积极的临床价值。

综上所述,早期 HCC 患者术后的细胞免疫功能、血清 VEGF 水平和 CTC 微转移与随访有无复发密切相关。本研究联合肝癌术后肿瘤早期转移、机体免疫功能和血清 VEGF 表达等指标,不仅可提高评估术后有无复发的灵敏度,同时也可及时进行阻断和临床干预,可为改善肿瘤术后复发转移情况的发生提供新思路。然而,由于研究存在样本量较小,随访时间较短等不足,还需要进一步研究确证。

参考文献

- [1] 魏矿荣,彭侠彪,梁智恒,等. 全球肝癌流行概况[J]. 中国肿瘤,2015,24(8):621-630.
- [2] 王双佳,李秀东,苏旭,等. 原发性肝癌患者术后肝外转移复发分析[J]. 中华肝胆外科杂志,2018,24(5):341-343.
- [3] MIZUKOSHI E,KANEKO S. Immune cell therapy for hepatocellular carcinoma[J]. J Hematol Oncol,2019,12(1):52.
- [4] 王虎明,徐杰,周宁,等. 原发性肝癌合并糖尿病患者机体免疫功能的临床价值研究[J]. 中国全科医学,2019,22(8):50-54.
- [5] 范秀平,张春燕,李晓辉,等. 肝癌组织中血管内皮生长因子的表达水平及影响因素分析[J]. 实用医药临床杂志,2018,15(4):1-4.
- [6] 四川大学华西医院肝癌 MDT 团队,文天夫. 肝细胞癌切除术后复发转移的防治:华西医院多学科专家共识[J]. 中国普外基础与临床杂志,2017,24(8):927-939.
- [7] 杨晓丹,韩涛,郑振东,等. 原发性肝癌治疗的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2018,9(3):1-2.
- [8] 王波,钱叶本,罗雪莲,等. 肝癌复发的诊断与治疗进展[J]. 肝胆外科杂志,2016,24(4):307-312.
- [9] 莫世发,贾乾斌,等. 细胞免疫功能变化与肝癌的关系研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志,2012,19(4):456-458.
- [10] MA W,WU L,ZHOU F,et al. T cell-associated immunotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem,2017,41(2):609-622.

- [2] KRASHIAS G,KOPTIDES D,CHRISTODOULOU C. HPV prevalence and type distribution in Cypriot women with cervical cytological abnormalities[J]. BMC Infect Dis,2017,17(1):346.
- [3] HUH W K,JOURA E A,GIULIANO A R,et al. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years:final analyses of a randomised,double-blind trial[J]. Lancet,2017,390(10108):2143-2159.
- [4] TAO G,YALING G,ZHAN G,et al. Human papillomavirus genotype distribution among HPV-positive women in Sichuan province, Southwest China[J]. Arch Virol,2018,163(1):65-72.
- [5] MELONI A,PILIA R,CAMPAGNA M,et al. Prevalence and molecular epidemiology of human papillomavirus infection in italian women with cervical cytological abnormalities [J]. J Public Health Res,2014,3(1):157.
- [6] SIMANAVICIENE V,GUDLEVICIENE Z,POPE NDIKYT-E V,et al. Studies on the prevalence of oncogenic HPV types among Lithuanian women with cervical pathology[J]. J Med Virol. 2015,87(3):461-471.
- [7] GUAN P,HOWELL-JONES R,LI N,et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women:a meta-analysis from cervical infection to cancer[J]. Int J Cancer,2012,131(10):2349-2359.
- [8] 韩钦,郭红燕,耿力. 宫颈癌机会性筛查人群中高危型 HPV 感染状况及其与宫颈病变关系的研究[J]. 实用妇产科杂志,2018,34(3):194-197.
- [9] XU Q X,ZHANG Z Y. High-risk human papillomavirus genotypes in cervical lesions and vaccination challenges in China[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2015,16(6):2193-2197.
- [10] 李乔. 老年女性宫颈癌筛查现状与展望[J]. 实用妇产科杂志,2018,34(7):504-506.
- [11] 霍兆群,吴晓辉,李嘉燕,等. 2015—2017 年重庆地区感染 HPV 各基因型及分布特点[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(1):74-79.
- [12] MIJIT F,ABLIMIT T,ABDUXKUR G,et al. Distribution of human papillomavirus (hpv) genotypes detected by routine pap smear in uyghur-muslim women from karasay Township Hotan (Xinjiang, China) [J]. J Med Virol, 2015,87(11):1960-1965.
- [13] WANG B L,WANG P,REN Y,et al. Prevalence of High-risk human papillomavirus (hr-hpv) genotypes and multiple infections in cervical abnormalities from northern Xinjiang, China[J]. PLoS One,2016,11(8):e0160698.
- [14] YOU W Z,LI S C,DU R,et al. Epidemiological study of high-risk human papillomavirus infection in subjects with abnormal cytological findings in cervical cancer screening[J]. Exp Ther Med,2018,15(2):412-418.
- [15] WANG Y,WANG S,SHEN J,et al. Genotype distribution of human papillomavirus among women with cervical cytological abnormalities or invasive squamous cell carcinoma in a high-incidence area of esophageal carcinoma in China [J]. Bio Med Res Int,2016,2016:125638.

(收稿日期:2019-04-18 修回日期:2019-10-11)

(上接第 359 页)

- [11] 杨晓霞,刘翔宁,刘明成,等. 肝癌患者体液免疫和细胞免疫的变化情况[J]. 现代生物医学进展, 2016,16(22):4367-4369.
- [12] 赵文静,钱红燕,李靖,等. 血管内皮生长因子在肝癌血管内皮细胞体外管腔形成中量效和时效局限性的实验研究[J]. 肿瘤基础与临床,2016, 29(4):284-290.
- [13] 曹毅,吕立志,江艺,等. CNTN-1 和 VEGF-C 表达水平与肝癌肝移植术后复发转移及预后的关系[J]. 器官移植,2017,8(2):154-160.
- [14] 陈洪,王智,吴健. 肝癌循环肿瘤细胞的研究现状[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(8):796-800.
- [15] 张劲国,许国雄. 液体活检循环肿瘤细胞和循环肿瘤 DNA 在肝癌中的临床应用进展[J]. 肝脏, 2017,22(5):467-469.
- [16] 龙建云,訾晓渊,李静,等. 肝癌循环肿瘤细胞临床应用研究进展[J]. 肝胆胰外科杂志,2016,28(1):79-83.
- [17] 张波,荆结线. 循环肿瘤细胞检测方法及其临床应用的研究进展[J]. 中华实验外科杂志,2015,32(12):3223-3225.

(收稿日期:2019-05-28 修回日期:2019-10-12)