

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00603

· 论 著 ·

原发性肝癌患者甲胎蛋白基因多态性与其在外周血中表达水平的相关性

吉 强, 顾 星, 周 军, 殷月鹏, 陈冬梅, 陈思佳, 董郭平, 高春芳*

第二军医大学东方肝胆外科医院实验诊断科, 上海 200438

[摘要] **目的** 探讨原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)基因多态性与外周血 AFP 水平的相关性。**方法** 采用聚合酶链反应和连接酶检测反应法(PCR-LDR)检测我院收治的 335 例 HCC 患者 AFP 基因多个位点多态性并检测 AFP 血清水平,运用 SPSS 13.0 软件对结果进行统计学分析。**结果** AFP 基因 -205 C>G 位点 GG 基因型分布在 AFP 水平 ≥ 20 和 < 20 ng/mL 两组间差异有统计学意义(GG vs CC: $\chi^2 = 4.389, P = 0.036$), G 等位基因分布在 AFP 水平 ≥ 400 和 < 400 ng/mL 两组间差异有统计学意义(G vs C: $\chi^2 = 4.410, P = 0.036$)。AFP 基因 intron1 A>T, intron7 A>G, 3'UTR A>G 和 intron2 A>G 基因多态性与 AFP 基因表达水平无密切相关性。**结论** 在中国汉族人群 HCC 患者中, AFP 基因 -205 C>G 位点 C 等位基因及 CC 基因型携带者外周血 AFP 水平明显升高。

[关键词] 甲胎蛋白类; 单核苷酸多态性; 肝细胞癌; 乙型肝炎

[中图分类号] R 735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2014)06-0603-07

Relationship between α -fetoprotein polymorphisms and peripheral α -fetoprotein level in hepatocellular carcinoma patients

Ji Qiang, Gu Xing, Zhou Jun, Yin Yue-peng, Chen Dong-mei, Chen Si-jia, Dong Guo-ping, Gao Chun-fang*

Department of Laboratory Medicine, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

[Abstract] **Objective** To study the relationship between α -fetoprotein (AFP) polymorphisms and peripheral AFP level in hepatocellular carcinoma (HCC) patients. **Methods** Using polymerase chain reaction-ligation detection reaction (PCR-LDR) technique, we determined the polymorphisms of AFP of 335 HCC patients; the serum levels of AFP were also determined. SPSS 13.0 software was used for statistical analysis. **Results** The GG genotype frequency of -205 C>G of AFP gene was significantly different between patients with AFP values ≥ 20 and < 20 ng/mL (GG vs CC: $\chi^2 = 4.389, P = 0.036$). The frequency of G allele was also found significantly different between patients with AFP values ≥ 400 and < 400 ng/mL (G vs C: $\chi^2 = 4.410, P = 0.036$). No relationship was found between AFP expression and other polymorphisms, including intron1 A>T, intron7 A>G, 3'UTR A>G and intron2 A>G, in AFP gene. **Conclusion** In HCC patients among Chinese Han population, the C allele and CC genotype of -205 C>G polymorphism site in AFP gene is associated with higher AFP values.

[Key words] alpha-different fetoproteins; single nucleotide polymorphism; hepatocellular carcinoma; hepatitis B

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(6):603-609]

甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)是一种胚胎性肿瘤相关蛋白,自发现至今已有 50 余年的历史^[1],到目前仍作为肿瘤尤其是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)临床诊断、治疗及预后判断的重要分子标记物^[2-4]。近年来,与乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝病的单核苷酸多态性(single nucleotide

polymorphism, SNP)研究受到广泛关注,某些特定的 SNP 可以通过改变基因的功能和表达影响个体对一些疾病的易感性,具体可能在多种途径发挥作用^[5],但有关 AFP 基因的 SNP 与 HBV 相关肝病易感性的研究相对较少。由于 AFP 在外周血的表达水平与 HCC 有重要关联,本研究着重分析 AFP 基因多态性

[收稿日期] 2014-04-29

[接受日期] 2014-05-23

[基金项目] 国家科技重大专项项目(2012ZX10002-016). Supported by Major National Science and Technology Program of China (2012ZX10002-016).

[作者简介] 吉 强, 硕士, 主管技师. E-mail: jiqiang999@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81875131, E-mail: gaocf1115@163.com

与 HCC 患者外周血 AFP 水平的相关性。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选取 2008 年 12 月至 2012 年 12 月在第二军医大学东方肝胆外科医院接受治疗的因 HBV 感染引发的原发性 HCC 患者,入选标准:患者的 HBV 相关 HCC 诊断基于血清 HBV 标记物检测和肝组织病理学诊断确诊,均排除其他肝炎病毒感染和酒精、药物等其他原因引起的原发性 HCC 的可能。共 335 例,其中男性 301 例,女性 34 例;年龄 21~78 岁,平均(49.7±9.8)岁;Child-Pugh A 级 326 例,B 级 9 例;TNM 分期 I 期 165 例,II 期 59 例,III 期 109 例,IV 期 2 例;其中 298 例(89.0%)合并有不同程度肝硬化。入选患者符合肝癌人群的一般分布特征。选取 176 例健康体检者作为对照,其中男性 140 例,女性 36 例,年龄 25~74 岁,平均年龄(52.81±8.07)岁。两组研究对象样本量足够(Power>0.8),其实验室特征见表 1。

表 1 肝癌患者和健康对照实验室指标比较

Tab 1 Comparison of clinical data between hepatocellular carcinoma (HCC) and control groups

| Variable | Control (n=171) | HCC (n=335) |
|--|-----------------|-------------------|
| Log ₁₀ HBV DNA | | 4.29±1.53 |
| AST z _B /(U·L ⁻¹) | 23.60±11.47 | 51.32±36.66* |
| ALT z _B /(U·L ⁻¹) | 23.04±14.25 | 52.71±50.39* |
| γ-GT z _B /(U·L ⁻¹) | 33.13±20.27 | 113.51±109.69* |
| ALB ρ _B /(g·L ⁻¹) | 47.63±2.53 | 41.20±4.12* |
| TBIL c _B /(μmol·L ⁻¹) | 12.96±12.63 | 14.98±8.73* |
| TP ρ _B /(g·L ⁻¹) | 76.03±4.07 | 72.74±6.59* |
| AFP ρ _B /(ng·mL ⁻¹) | 3.29±1.47 | 1 921.31±2341.53* |
| PT t/s | | 12.19±0.98 |

HBV: Hepatitis B virus; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; γ-GT: γ-Glutamyltransferase; ALB: Albumin; TBIL: Total bilirubin; TP: Total serum protein; AFP: α-fetoprotein; PT: Prothrombin time. * P<0.05 vs control

1.2 AFP 基因多态性分析 抽取研究对象全血 5 mL,以 EDTA 抗凝,采用 DNA 全血抽提试剂盒(Qiagen 公司)提取基因组 DNA。应用连接酶检测反应(ligation detection eaction,LDR)分型方法^[6]检测 AFP 基因-205 C>G(rs6834059)、intron1 A>T(rs3796678)、intron7 A>G(rs2298839)、3'UTR A>G(rs10020432)和 intron2 A>G(rs4640638)^[7]基因型。以全血提取物为模板进行 PCR 反应,引物序列见表 2,特异性检测探针序列见表 3,由上海复星医学科技发展有限公司设计合成。反应体系(20 μL):模板(全血提取基因组 DNA)50 ng,Taq DNA 聚合酶 1 U,1×缓冲液 2 μL,2 mmol/L dNTP 2 μL,50 pmol/μL 引物 0.4 μL,3 mmol/L MgCl₂ 0.6 μL。反应条件:95℃ 变性 15 min;94℃ 30 s、59℃ 90 s,72℃ 1 min,35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。LDR 反应体系(10 μL):模板(PCR 产物)2 μL,Taq DNA 连接酶 2 U,1×缓冲液 1 μL,12.5 pmol/μL 各识别探针 1 μL。反应条件:95℃ 2 min;94℃ 15 s,50℃ 25 s,30 个循环。PCR-LDR 产物使用 ABI PRISM 377 DNA Sequencer 进行检测,用 Genemapper 软件进行数据分析,由上海复星医学科技发展有限公司提供技术支持。

1.3 血清 AFP 水平检测方法及分组方法 血清 AFP 检测采用德国罗氏诊断有限公司 MODULAR ANALYTICS E170 电化学发光法及配套 AFP 定量测定试剂盒检测。根据文献资料^[8-10]将血清 AFP 水平按<20、≥20,<200、≥200,<400、≥400 ng/mL 进行分层分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,多组间样本均数的比较采用方差分析,两组均数的比较采用独立样本 t 检验,基因频率采用基因计数法计算,组间基因型及等位基因频率的比较及 OR 值计算采用 χ² 检验及风险评估。检验水准(α)为 0.05。

表 2 引物序列

Tab 2 Primer sequences

| Site | Upstream (5'-3') | Downstream (5'-3') |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| rs6834059 | TTG TGT GCC TGG CAT ATG AT | AGC TCT TTG GGG CAG AAA A |
| rs3796678 | TTT TTC TCC ATG TGG AAT AAT AAA T | TCC ACC ACT GCC AAT AAC AA |
| rs2298839 | CAG AAA CTA GTC CTG GAT GTG G | CCA ATT CAA GTC AAA CAA CCT TC |
| rs10020432 | TCC AAA TGT TTC CTT TTC CAA | AAA TGC CCT GGT AGC ATC AA |
| rs4640638 | CGA CAT TGA CCT TTT GAT TCC | CAC CTA TGG TTT GCT GCT AAG A |

表4 AFP基因5个位点基因型及等位基因分布情况

Tab 4 Genotype and allele frequencies of 5 AFP gene sites in hepatocellular carcinoma (HCC) and control groups

| Site | Group | N | Genotype | | | Allele | | n(%) |
|-------------|---------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | |
| | | | CC | CG | GG | C | G | |
| -205 C>G | Control | 170 | 93(54.7) | 67(39.4) | 10(5.9) | 253(74.4) | 87(25.6) | |
| | HCC | 301 | 148(49.2) | 131(43.5) | 22(7.3) | 427(70.9) | 175(29.1) | |
| Intron7 A>G | Control | 176 | 17(9.7) | 79(44.9) | 80(45.5) | 113(32.1) | 239(67.9) | |
| | HCC | 301 | 30(10.0) | 144(47.8) | 127(42.2) | 204(33.9) | 398(66.1) | |
| Intron1 A>T | Control | 175 | 31(17.7) | 82(46.9) | 62(35.4) | 144(41.1) | 206(58.9) | |
| | HCC | 300 | 62(20.7) | 145(48.3) | 93(31.0) | 269(44.9) | 331(55.1) | |
| 3'UTR A>G | Control | 175 | 16(9.1) | 81(46.3) | 81(44.6) | 113(32.3) | 237(67.7) | |
| | HCC | 301 | 34(11.3) | 141(46.8) | 126(41.9) | 209(34.7) | 393(65.3) | |
| Intron2 A>G | Control | 169 | 9(5.3) | 72(42.6) | 88(52.1) | 90(26.6) | 248(73.4) | |
| | HCC | 300 | 23(7.7) | 124(41.3) | 153(51.0) | 170(28.3) | 430(71.7) | |

AFP: α -fetoprotein

表5 不同AFP水平的患者AFP基因-205 C>G位点基因型及等位基因分布

Tab 5 Genotype and allele frequencies of AFP gene -205 C>G site in hepatocellular carcinoma (HCC) patients with different serum AFP levels

| AFP | N | Genotype | | | Allele | | n(%) |
|------------------|-----|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|------|
| | | GG | CG | CC | G | C | |
| ≥ 20 ng/mL | 208 | 10(4.8) | 97(46.6) | 101(48.6) | 117(28.1) | 299(71.9) | |
| < 20 ng/mL | 93 | 12(12.9) | 34(36.6) | 47(50.5) | 58(31.2) | 128(68.8) | |
| P | | 0.036* | 0.287 | REF | 0.445 | REF | |
| OR (95% CI) | | 0.39(0.16-0.96) | 1.33(0.79-2.24) | | 0.86(0.59-1.26) | | |
| ≥ 200 ng/mL | 160 | 8(5.0) | 68(42.5) | 84(52.5) | 84(26.3) | 236(73.8) | |
| < 200 ng/mL | 141 | 14(9.9) | 63(44.7) | 64(45.4) | 91(32.3) | 191(67.7) | |
| P | | 0.073 | 0.417 | REF | 0.105 | REF | |
| OR (95% CI) | | 0.44(0.17-1.10) | 0.82(0.51-1.32) | | 0.75(0.53-1.06) | | |
| ≥ 400 ng/mL | 137 | 7(5.1) | 54(39.4) | 76(55.5) | 68(24.8) | 206(75.2) | |
| < 400 ng/mL | 164 | 15(9.1) | 77(47.0) | 72(43.9) | 107(32.6) | 221(67.4) | |
| P | | 0.087 | 0.090 | REF | 0.036 | REF | |
| OR (95% CI) | | 0.44(0.17-1.15) | 0.66(0.41-1.07) | | 0.68(0.48-0.98) | | |

AFP: α -fetoprotein; REF: Reference

3 讨论

AFP是HCC发生发展过程中特异表达的蛋白,有研究表明其具有复杂的生物学功能^[11]。AFP是目前临床唯一广泛使用的HCC诊断血清肿瘤标记物,AFP用于HCC高危人群的普查和筛查,使部分患者的术后生存期和预后有了提高^[12]。由于AFP基因表达水平与HCC有着重要关联,AFP的

SNP与HCC易感性相关研究也成为热点。目前研究多集中在AFP基因表达启动调控区域。Toyota等^[13]使用RFLP标记DNA技术发现AFP在25个日本患者c-DNA克隆中存在多态性。Igarashi等^[14]从4例患者配对HCC组织、癌旁组织、肝纤维化组织及外周血白细胞研究中发现,近AFP基因启动子区域的两个位点多态性与HCC中AFP基因再次表达无关,但是同时也提示AFP基因存在基因

多态性现象。随着新的检测方法出现和 SNP 概念的明确, Chen 等^[15]在对 AFP 基因 SNP 进行分析时, 发现其启动子区域 -330、-401 和 -692 三个位点多态性造成 AFP 基因血清表达水平的显著改变, 并且 -692 位点的基因多态性与 HCC 易感性具有相关性。而 Suriapranata 等^[7]研究了印度尼西亚人群中 AFP 基因上 47 个 SNPs 后, 发现有 6 个 SNPs 与 HCC 及肝纤维化相关, 其中 1 个 (rs6834059) 位于基因启动子区域, 4 个 (rs3796678、rs3796677、rs3796676 和 rs28532518) 位于第一内含子区域, 1 个 (rs4640638) 位于第二内含子区域。rs6834059 的 GG 基因型与 HCC 和肝纤维化的低发生率有相关性 ($P = 0.0025, P = 0.0026$), 而

rs3796678 的 AA 基因型, rs3796677、rs3796676 和 rs28532518 的 TT 基因型, rs4640638 的 GA 基因型与 HCC 有相关性 ($P = 0.0005, P = 0.0001, P = 0.0005, P = 0.0002, P = 0.0122$)。此外, Suriapranata 等^[7]还发现 rs6834059 基因多态性在 HCC 和肝纤维化病例组都存在 GG 基因型携带者 AFP 血清水平低于 CC 和 CG 基因型携带者 (GG vs CC: $P = 0.028, P = 0.082$ 和 GG vs CG: $P = 0.011, P = 0.017$), 这也同该基因型与疾病相关性结果相吻合, 且进一步研究发现两个位于第七内含子和 3' UTR 区域的 SNPs (rs2298839 和 rs10020432) 与肝纤维化易感性相关, 从而提示 AFP 基因遗传变异与印度尼西亚人群 HCC 和肝纤维化具有相关性。

表 6 不同 AFP 水平的患者 AFP 基因 intron7 A>G, intron1 A>T, 3'UTR A>G (rs10020432) 和 intron2 A>G (rs4640638) 基因型及等位基因的分布

Tab 6 Genotypes and allele frequencies of AFP intron7 A>G, intron1 A>T, 3'UTR A>G and intron2 A>G site in hepatocellular carcinoma (HCC) patients with different serum AFP levels

| Site | | n(%) | | | | | |
|-------------|-----------|---|-----------|---|-----------|---|----------|
| | | AFP ρ_B / (ng · mL ⁻¹) | | AFP ρ_B / (ng · mL ⁻¹) | | AFP ρ_B / (ng · mL ⁻¹) | |
| | | <20 | ≥20 | <200 | ≥200 | <400 | ≥400 |
| Intron7 A>G | Genotype | N=93 | N=208 | N=141 | N=160 | N=164 | N=137 |
| | AA | 13(14.0) | 17(8.2) | 16(11.3) | 14(8.8) | 18(11.0) | 12(8.8) |
| | AG | 38(40.9) | 106(51.0) | 68(48.2) | 76(47.5) | 81(49.4) | 63(46.0) |
| | GG | 42(45.1) | 85(40.9) | 57(40.4) | 70(43.8) | 65(39.6) | 62(45.3) |
| | Allele | | | | | | |
| | A | 64(33.7) | 140(33.7) | 100(35.5) | 104(32.5) | 117(35.7) | 87(31.8) |
| G | 122(66.3) | 276(66.3) | 182(64.5) | 216(67.5) | 211(64.3) | 187(68.2) | |
| Intron1 A>T | Genotype | N=79 | N=181 | N=119 | N=141 | N=139 | N=121 |
| | AA | 12(15.2) | 10(5.5) | 14(11.8) | 8(5.7) | 15(10.8) | 7(5.8) |
| | AT | 35(44.3) | 110(60.8) | 61(51.3) | 84(59.6) | 73(52.5) | 72(59.5) |
| | TT | 32(40.5) | 61(33.7) | 44(37.0) | 49(34.8) | 51(36.7) | 42(34.7) |
| | Allele | | | | | | |
| | A | 59(37.3) | 130(35.9) | 89(37.4) | 100(35.5) | 103(37.1) | 86(35.5) |
| T | 99(62.7) | 232(64.1) | 149(62.6) | 182(64.5) | 175(62.9) | 156(64.5) | |
| 3'UTR A>G | Genotype | N=93 | N=208 | N=141 | N=160 | N=164 | N=137 |
| | AA | 13(14.0) | 21(10.1) | 16(11.3) | 18(11.3) | 18(11.0) | 16(11.7) |
| | GG | 39(41.9) | 102(49.0) | 68(48.2) | 73(45.6) | 81(49.4) | 60(43.8) |
| | GG | 41(44.1) | 85(40.9) | 57(40.4) | 69(43.1) | 65(39.6) | 61(44.5) |
| | Allele | | | | | | |
| | A | 65(34.9) | 144(34.6) | 100(35.5) | 109(34.1) | 117(35.7) | 92(33.6) |
| G | 121(65.1) | 272(65.4) | 182(64.5) | 211(65.9) | 211(64.3) | 182(66.4) | |
| Intron2 A>G | Genotype | N=93 | N=207 | N=141 | N=159 | N=164 | N=136 |
| | AA | 12(12.9) | 11(5.3) | 14(9.9) | 9(5.7) | 15(9.2) | 8(5.9) |
| | AG | 33(35.5) | 91(44.0) | 60(42.6) | 64(40.2) | 74(45.1) | 50(36.8) |
| | GG | 48(51.6) | 105(50.7) | 67(47.5) | 86(54.1) | 75(45.7) | 78(57.3) |
| | Allele | | | | | | |
| | A | 57(30.1) | 113(27.6) | 88(30.9) | 82(26.6) | 104(31.5) | 66(25.2) |
| G | 129(69.9) | 301(72.4) | 194(69.1) | 236(73.4) | 224(68.5) | 206(74.8) | |

AFP: α -fetoprotein

根据文献报道的 *AFP* 基因多态性^[7],我们针对中国汉族人群患者选取了-205 C>G、intron1 A>T、intron7 A>G、3'UTR A>G 和 intron2 A>G 5个位点检测其基因型。我们将所选 *AFP* 基因 5个位点基因多态性按 *AFP* 水平分层分析,发现-205 C>G 位点基因型分布在 *AFP* 水平阴性(<20 ng/mL)和阳性(≥ 20 ng/mL)两个分组间差异有统计学意义(GG vs CC; $P=0.036$);另外该位点风险基因型分布在 *AFP* 水平低水平(<400 ng/mL)和高水平(≥ 400 ng/mL)两个分组中差异有统计学意义(GG+GC vs CC; $P=0.046$),并且该位点携带 G 等位基因在 *AFP* 水平低水平(<400 ng/mL)和高水平(≥ 400 ng/mL)两个分组分布差异有统计学意义(G vs C; $\chi^2=4.410, P=0.036$)。 *AFP* 基因-205 C>G 位点多态性与 *AFP* 血清水平相关性研究结果同 Suriapranata 等^[7] 研究结果一致。虽然该位点 GG 基因型及 G 等位基因在 *AFP* ≥ 200 ng/mL 与 *AFP* <200 ng/mL 两个水平间差异均无统计学意义(GG vs CC; $\chi^2=3.208, P=0.073$; G vs C; $\chi^2=3.848, P=0.05$),但是从数据中可看出有此趋势并接近有统计学意义。同时我们根据样本的临床及病理资料参照 TNM 标准进行分层分析,未发现以上位点基因多态性与 HCC 的进展具有相关性(资料未显示)。我们的研究表明, *AFP* 基因-205 C>G 位点多态性与 HCC 患者 *AFP* 血清水平存在相关性, HCC 患者中携带 *AFP* 基因-205 C>G 位点 GG 型的较 CC 型的 *AFP* 血清水平显著降低。我们通过 JASPAR 软件在线预测-205 C>G 位点所在序列与转录因子的结合能力,结果发现该位点涉及 MafF 和 MafK 因子的结合位点(资料未显示)。这两者都是 Maf 蛋白家族成员的小 Maf 蛋白,可以和其他转录因子(如 jun/los)形成二聚体来发挥调控作用,激活特定基因的表达^[16-17]。当该位点为 G 等位基因时,未得到能与任何转录因子结合序列匹配的预测结果,因此我们推测由于-205 位点的 C>G 变异,使得涉及序列失去或降低与 Maf 因子的结合能力,从而消减了其转录激活作用,使得 *AFP* 基因表达量降低。*AFP* 一直作为肿瘤尤其是 HCC 的重要分子标记物用于临床诊断、治疗及预后判断,但是

AFP 仅在 80%左右成人 HCC 患者血清中升高,也就是说还有 20%左右的 HCC 患者 *AFP* 水平低于 cut-off 值或升高不明显。有文献报道部分 HCC 患者直到晚期 *AFP* 水平仍呈现阴性^[18]。这部分 *AFP* 水平低于 cut-off 值或升高不明显的 HCC 患者是否由携带 *AFP* 基因-205 C>G 位点为 GG 型所引起?这也启发我们在今后的研究中将进行 *AFP* 水平阴性或升高不明显的 HCC 患者与 *AFP* 基因-205 C>G 位点多态性相关性研究和该位点功能学研究,进一步探讨其内在作用机制。本研究中我们未发现 *AFP* 基因其他位点多态性与 *AFP* 水平的关系中有统计学意义,未来研究中我们将采取扩大样本等方式继续进行研究分析,并结合随访、疗效等各种信息,充分阐述 *AFP* 基因多态性在 HCC 发生、发展中的作用及对疾病预后的价值。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Abelev G I, Perova S D, Khramkova N I, Postnikova Z A, Irlin I S. Embryonal serum alpha-globulin and its synthesis by transplantable mouse hepatomas[J]. *Bio-khimiia*, 1963, 28: 625-634.
- [2] 李松朋, 吴力群. 术前甲胎蛋白水平对原发性肝细胞癌 R0 切除术后早期复发的影响[J]. *中华外科杂志*, 2013, 51: 600-603.
- [3] Kashkoush S, El Moghazy W, Kawahara T, Gala-Lopez B, Toso C, Kneteman N M. Three-dimensional tumor volume and serum alphafetoprotein are predictors of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation: refined selection criteria[J]. *Clin Transplant*, 2014, 28: 728-836.
- [4] Oze T, Hiramatsu N, Yakushiji T, Miyazaki M, Yamada A, Oshita M, et al. Post-treatment levels of α -fetoprotein predict incidence of hepatocellular carcinoma after interferon therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2013, doi: 10.1016/j.cgh.2013.11.033. [Epub ahead of print].
- [5] 顾星, 高春芳. 单核苷酸多态性与原发性肝细胞癌易

- 感性的研究进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18: 235-237.
- [6] Lauri A, Chessa S, Raschetti M, Castiglioni B, Mariani P, Caetano A R. New labelling technology for molecular probes applied to the ligation detection reaction-universal array system[J]. *Mol Biotechnol*, 2011, 47: 1-8.
- [7] Suriapranata I M, Sudania W M, Tjong W Y, Suciptan A A, Gani R A, Hasan I, et al. Alpha-fetoprotein gene polymorphisms and risk of HCC and cirrhosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411: 351-358.
- [8] Marrero J A, Feng Z, Wang Y, Nguyen M H, Befeler A S, Roberts LR, et al. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137: 110-118.
- [9] Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16: 418-424.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 市、县级医院常见肿瘤规范化诊疗指南(试行)[EB/OL]. (2010-12-14) [2014-04-21]. <http://www.moh.gov.cn/yzygj/s3590/201012/325fdbaf4f46402680518da-b22665760.shtml>.
- [11] 李朝英, 李刚. 甲胎蛋白的生物学功能[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19: 1436-1440.
- [12] 贾户亮, 刑戌健, 叶青海, 钦伦秀. 甲胎蛋白在原发性肝癌临床诊断中的应用[J]. *中国医学科学院学报*, 2008, 30: 440-443.
- [13] Toyota M, Hinoda Y, Nakano T, Imai K, Yachi A. A new restriction fragment length polymorphism of the human alpha-fetoprotein gene in Japanese individuals: detection of loss of heterozygosity in human hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 1992, 13: 133-137.
- [14] Igarashi K, Aoyagi Y, Ohkoshi S, Yokota T, Mori S, Suda T, et al. Sequence analysis of the proximal promoter region of the human α -fetoprotein gene in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 1994, 76: 93-99.
- [15] Chen G G, Ho R L, Wong J, Lee K F, Lai P B. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of human alpha-fetoprotein (AFP) gene and its significance in hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2007, 33: 882-886.
- [16] Kohsuke K. Multiple Mechanisms and functions of maf transcription factors in the regulation of tissue-specific genes[J]. *J Biochem*, 2007, 141: 775-781.
- [17] Shimohata H, Yoh K, Morito N, Shimano H, Kudo T, Takahashi S. MafK overexpression in pancreatic β -cells caused impairment of glucose-stimulated insulin secretion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346: 671-680.
- [18] Yoshida S, Kurokohchi K, Arima K, Masaki T, Hosomi N, Funaki T, et al. Clinical significance of lens culinaris agglutinin-reactive fraction of serum alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2002, 20: 305-309.

[本文编辑] 张建芬, 孙岩