

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.09.011

CTLA-4 基因多态性与肝细胞癌易感性的相关分析*

王甲甲,张娟[△],王智斌,黄文芳

(四川省医学科学院/四川省人民医院检验科,成都 610072)

[摘要] **目的** 分析细胞毒 T 淋巴细胞抗原 4(CTLA-4)基因多态性-318 T/C、CT60 G/A 与肝细胞癌(HCC)易感性之间的相关性。**方法** 选取于 2012 年 9 月至 2014 年 8 月就诊于四川省人民医院的 277 例 HCC 患者及 306 例健康体检者作为研究对象,所有研究对象均为汉族人。抽取各研究对象外周血 5 mL,离心分离血清,采用化学发光法检测血清中甲胎蛋白(AFP)的水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中白细胞介素(IL)-2、IL-4、转化生长因子-β(TGF-β)的水平。抽提全血基因组 DNA,PCR 扩增后直接测序法检测 CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 基因多态性的分布。**结果** CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 的 3 种基因型均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P>0.05$)。CTLA-4 -318 CC 和 CT60 AA 与降低 HCC 的风险有关,CTLA-4 CT60 G/A 不同基因型与血清 AFP 水平有明显相关性($\chi^2=12.779, P=0.012$)。携带 CTLA-4 -318 T、CT60 G 等位基因的 HCC 患者血清中 IL-2、IL-4 水平明显降低,TGF-β 水平显著升高,且 CTLA-4 -318 T 与 HCC 的分级有明显的相关性。**结论** CTLA-4 -318 TT 能够促进 HCC 的发生、发展,这可能与下调 Th1/Th2 型细胞因子,上调 Th3 型细胞因子有关。

[关键词] 细胞毒 T 淋巴细胞抗原 4;基因多态性;肝细胞癌;细胞因子**[中图分类号]** R735.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)09-1186-04**Analysis on correlation between cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma***Wang Jiajia, Zhang Juan[△], Wang Zhibin, Huang Wenfang

(Department of Clinical Laboratory, Sichuan Provincial Academy of Medical Sciences/Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu Sichuan 610072, China)

[Abstract] **Objective** To analyse the correlation between cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphism -318 T/C, CT60 G/A and the susceptibility of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Totally 277 cases of HCC and 306 healthy controls in our hospital from September 2012 to September 2014 were selected as the research subjects, all subjects were Han nationality. The peripheral blood (5 mL) in each case was collected for separating serum, the AFP level was detected by chemiluminescent method, the serum IL-2, IL-4 and TGF-β levels were detected by ELISA. Genomic DNA was extracted, after PCR amplification, the CTLA-4 -318 T/C, CT60 G/A gene polymorphism distributions were detected by the direct sequencing method. **Results** The CTLA-4 -318 CC and CT60 AA genotypes all conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). CTLA-4 -318 CC and CT60 AA were related with the HCC risk decrease, different genotypes of CTLA-4 CT60 G/A had obvious relation with serum AFP level ($\chi^2=12.779, P=0.012$). The serum IL-2 and IL-4 levels in the HCC patients carrying CTLA-4 -318 T and CT60 G allele were significantly decreased, while the TGF-β level was significantly increased, moreover CTLA-4 -318 had obvious relation with the HCC grading. **Conclusion** CTLA-4 -318 TT could promote the occurrence and progression of HCC, which might be related with the down-regulation of Th1/Th2 type cytokines, and up-regulation of Th3 type cytokine.

[Key words] cytotoxic T lymphocyte antigen 4; genetic polymorphisms; hepatocellular carcinoma; cytokines

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,我国肝癌的年死亡率达 20/10 万,在恶性肿瘤的死亡率中高居第 2 位,对社会带来了巨大的负担^[1]。乙型肝炎病毒(B type hepatitis virus, HBV)是公认的肝癌发病的高危因素,大多数肝癌为肝细胞型,然而并非所有感染 HBV 的患者均会发展成肝癌,环境因素和免疫学因素可能在肝癌的发生、发展中起关键作用^[2]。细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4)基因位于染色体 2q33 上,能够通过 CD28 竞争结合 B7-1/B7-2,发挥其负向调节 T 细胞增殖、激活的作用,下调 T 细胞反应和外周耐受^[3]。CTLA-4 基因有多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点及重复序列,SNP 的存在可从不同的方面影响 CTLA-4 基因的表达,目前,

已有实验证据表明 CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 与宫颈癌、肺癌、淋巴瘤等的遗传易感性有关^[4-6],而 CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 是否与肝癌的发病有关仍未见报道。本研究对 CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的易感性进行研究,以期对肝癌的治疗及风险预测提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 9 月 1 日至 2014 年 8 月 31 日本院确诊的 HCC 患者共 277 例(HCC 组),年龄 24~73 岁,平均(53±12)岁,男 235 例,女 42 例,且经病理学、影像学及肝脏穿刺活检证实,所有患者血清均在未做任何治疗前采集。对照组选择本院体检中心无血缘关系的健康体检者 306 例,年龄

* 基金项目:四川省卫生和计划生育委员会基金资助项目(140071)。 作者简介:王甲甲(1984—),博士,主管技师,主要从事肿瘤免疫学方面的研究。 △ 通讯作者, E-mail: xywj08@163.com。

22~70 岁,平均(51±13)岁,男 266 例,女 40 例。HCC 组和对
照组均为四川汉族人群,组间年龄及性别构成比相匹配,并排
除糖尿病、甲状腺功能亢进、类风湿关节炎等自身免疫疾病史,
无传染病史、免疫疾病治疗史或其他恶性肿瘤病史。HCC 的
诊断参照《中华肝脏病杂志》新的 HCC 诊断标准并经病理学
确诊^[7]。本研究获得医院医学伦理委员会批准,临床资料及标
本采集均获患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本的收集 采集空腹外周静脉血 5 mL 分别置于红
色无抗凝剂干燥管和乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)紫色抗凝
管(美国 BD 公司)。干燥管室温静置 15 min,待其自然凝固
后,以 1 500 g 离心 5 min,收集血清用于甲胎蛋白(AFP)、白细
胞介素(IL)-2、IL-4、转化生长因子-β(TGF-β)水平的检测。抗
凝血采用全血基因组小量抽提试剂盒(北京三博远志生物公
司)提取全血 DNA 作为聚合酸链反应(PCR)模板,操作步骤
按试剂盒说明书进行。分离的血清及抽提的基因组 DNA 均
置于-80 °C 冰箱冻存备用。

1.2.2 血清 AFP 水平的检测 血清 AFP 水平的检测均采用
化学发光法。所有标本依次用全自动化学发光仪 i2000SR(美
国雅培公司)进行测定。

1.2.3 细胞因子的测定 血清中细胞因子 IL-2、IL-4、TGF-β
水平的检测采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immu-
nosorbent assay,ELISA)。应用人 IL-2、IL-4、TGF-β ELISA 试
剂盒(美国 R&D 公司)进行检测,具体操作按照试剂盒说明书
进行。

1.2.4 PCR 扩增及测序分析 用紫外分光光度计检测 DNA
的浓度,并用去离子水调整其浓度至 5 ng/μL。PCR 引物用
Primer premier 5.0 软件设计,由上海生物工程公司合成。
CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 的引物分别如下,-318 T/C (F:
AGGATGGTGCTTCACAGAT; R: AGCCAATCCATGGAT
GGA),产物长度为 341 bp;CT60 G/A (F: TGCAAGTCAT-
TCTTGAAG; R: CTGTGATAGTT GAGCTGA),产物长度
为 395 bp。PCR 反应体系 20 μL: 基因组 DNA 2 μL(约
0.2 μg),10×PCR Buffer 2 μL,25 mM MgCl₂ 溶液 2 μL,10
mmol/L dNTPs 2 μL,1 U/μL Taq DNA 聚合酶(Fermentas 中
国公司)2 μL 和 5 μmol/L 上、下游引物各 1 μL,灭菌 ddH₂O 8
μL。反应参数:94 °C 预变性 2 min;94 °C 变性 30 s、58 °C 退火
30 s、72 °C 延伸 30 s,30 个循环;72 °C 再延伸 5 min。反应结
束后取 PCR 产物 3 μL 进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳,确定 PCR
产物为目的片段,且无非特异性扩增后,直接送上海生物工程
公司测序。

1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行数据处理,计量
资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计算 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 的基
因型频率并验证是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。组间基因型
和等位基因频率的比较采用 χ^2 检验,组间细胞因子水平的比
较采用独立样本 *t* 检验或单因素方差分析。Logistic 回归模型
计算优势比(odds ratios,OR)和 95% 可信区间(95% confi-
dence intervals,95%CI),以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组临床及生化指标的比较 对 HCC 组和对照组的基
本情况进行统计,结果表明,两组间年龄、性别之间基本无差异
(*P*>0.05)。86.6% 的 HCC 患者均能检测到 HBV 感染呈阳

性。根据癌细胞的分化程度,将肝细胞癌分为 I、II、III、IV 4
级,以中分化型 HCC(II、III)最为多见,见表 1。

表 1 两组对象临床及生化指标比较[n(%)]

基本信息	HCC 组 (n=277)	对照组 (n=306)	χ^2	<i>P</i>
年龄			1.316	0.518
≤35	38(13.7)	46(15.1)		
36~50	152(54.9)	177(57.8)		
>50	87(31.4)	83(27.1)		
性别			0.526	0.468
男	235(84.8)	266(86.9)		
女	42(15.2)	40(13.1)		
HBV 感染				
阳性	240(86.6)	0(0)		
阴性	37(13.4)	306(100)		
AFP(ng/mL)				
<20	42(15.2)	—		
20~200	51(18.4)	—		
>200	184(66.4)	—		
肿瘤分级				
I	36(13.0)	—		
II	91(32.9)	—		
III	118(42.6)	—		
IV	32(11.6)	—		

—:此项无数据。

2.2 不同组别基因型和等位基因频率分析 CTLA-4 -318
T/C,CT60 G/A 的 3 种基因型均符合 Hardy-Weinberg 平衡
(*P*>0.05)。CTLA-4 -318 CC 和 CT60 AA 与降低 HCC 的风
险有关(*P*=0.000,OR:0.579,95%CI:0.449~0.747;*P*=
0.000,OR=0.453,95%CI:0.351~0.586)。与对照组相比,
携带 CTLA-4 -318 T,CT60 G 等位基因的 HCC 患者明显增加
(*P*<0.05),见表 2。

表 2 不同组别 CTLA-4 SNPs 的分布情况[n(%)]

基因型/ 等位基因	患者组 (n=554)	对照组 (n=612)	OR(95%CI)	<i>P</i>
-318,T/C				
CC	360(65.0)	466(76.1)	0.579(0.449,0.747)	0.000
TC	170(30.7)	134(21.9)	1.606(1.235,2.089)	0.000
TT	24(4.3)	12(2.0)	1.996(1.001,3.979)	0.046
C	445(80.3)	532(86.9)	0.614(0.448,0.841)	0.002
T	109(19.7)	80(13.1)	—	—
CT60,G/A				
AA	126(22.7)	240(39.2)	0.453(0.351,0.586)	0.000
AG	284(51.3)	274(44.8)	1.298(1.030,1.634)	0.027
GG	144(26.0)	98(16.0)	1.865(1.398,2.488)	0.000
A	268(48.4)	378(61.8)	0.580(0.459,0.732)	0.000
G	286(51.6)	234(38.2)	—	—

—:此项无数据。

2.3 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同基因型与 AFP 浓度的相关性 对携带 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同基因型的 HCC 患者血清 AFP 浓度进行检测,结果见表 3。按 AFP 水平的高低共分为 <20 ng/mL(低)、20~200 ng/mL(中)、>200 ng/mL(高)3 个等级,对携带不同基因型的 HCC 患者的 AFP 水平进行分类,结果表明,CTLA-4 -318 T/C 不同基因型与血清 AFP 水平无明显相关性($P>0.05$),而 CT60 G/A 不同基因型与血清 AFP 水平有明显相关性($\chi^2 = 12.779, P = 0.012$)。

2.4 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同基因型与细胞因子的关系 见表 4,对照组携带 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同等位基因与血清 IL-2、IL-4、TGF- β 水平均无明显相关关系($P>0.05$)。在 HCC 组,与携带-318 C、CT60A 等位基因的患者相比,携带-318 T、CT60 G 等位基因的患者血清中 IL-2、IL-

4、TGF- β 水平均有明显变化,且差异具有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 CTLA-4 不同基因型与 AFP 浓度的相关性[n(%)]

基因型	低 AFP 水平	中 AFP 水平	高 AFP 水平	χ^2	P
-318, T/C					
CC	34(81.0)	27(52.9)	119(64.7)	8.581	0.072
TC	7(16.7)	22(43.1)	56(30.4)		
TT	1(2.3)	2(3.9)	9(4.9)		
CT60, G/A					
AA	16(38.1)	8(15.7)	39(21.2)	12.779	0.012
AG	22(52.4)	24(47.1)	96(52.2)		
GG	4(9.5)	19(37.2)	49(26.6)		

表 4 CTLA-4 基因多态性与血清细胞因子水平的关系($\bar{x}\pm s$)

CTLA-4 基因型	IL-2		IL-4		TGF- β	
	患者组	对照组	患者组	对照组	患者组	对照组
-318						
CC	9.38 \pm 0.61	5.05 \pm 0.42	7.36 \pm 0.50	4.80 \pm 0.58	5.56 \pm 0.50	4.60 \pm 0.51
TC	7.95 \pm 0.53	5.32 \pm 0.47	7.09 \pm 0.49	4.62 \pm 0.48	5.83 \pm 0.47	4.96 \pm 0.49
TT	6.12 \pm 0.55	4.58 \pm 0.44	5.93 \pm 0.46	4.95 \pm 0.42	6.11 \pm 0.49	5.02 \pm 0.52
t	16.766	0.752	6.276	0.370	2.823	1.905
P	0	0.458	0	0.107	0.008	0.067
CT60						
AA	5.45 \pm 0.48	5.55 \pm 0.47	5.68 \pm 0.42	4.20 \pm 0.45	6.91 \pm 0.46	5.27 \pm 0.55
AG	5.03 \pm 0.41	4.81 \pm 0.60	5.31 \pm 0.41	4.43 \pm 0.40	7.25 \pm 0.43	5.06 \pm 0.50
GG	4.84 \pm 0.54	5.08 \pm 0.59	5.09 \pm 0.46	4.57 \pm 0.43	7.44 \pm 0.40	4.93 \pm 0.49
t	2.779	0.329	2.873	1.868	2.866	1.377
P	0.010	0.745	0.007	0.074	0.006	0.179

CTLA-4 -318 TT 与 TC+CC,CT60 GG 与 AG+AA 相比较。

2.5 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 与临床病理学分级之间的相关性 随着 HCC 恶性程度的增加,CTLA-4 -318 的基因型发生了从 CC 到 TT 的转变,CT60 的基因型发生了从 AA 到 GG 的转变。通过比较发现,CTLA-4 -318 基因型在不同分级 HCC 患者中的分布差异有统计学意义($\chi^2 = 34.448, P < 0.05$),而 CTLA-4 CT60 基因型在各分级 HCC 患者中分布差异无统计学意义($\chi^2 = 11.137, P > 0.05$),见表 5。

表 5 CTLA-4 -318、CT60 不同基因型在 HCC 患者中的分布

分级	n	-318			χ^2	P	CT60			χ^2	P
		CC	TC	TT			AA	AG	GG		
I	36	28	8	0	34.448	0	14	18	4	11.137	0.084
II	91	67	23	1			20	50	21		
III	118	71	43	4			23	60	35		
IV	32	14	11	7			6	14	12		

3 讨论

CTLA-4 是一种很重要的免疫抑制分子,CTLA-4 与 T 细

胞表达的 CD28 共同竞争结合于抗原提呈细胞 B7 分子,发挥免疫抑制作用^[8]。CTLA-4 基因有多个 SNP 存在,单碱基的变化可影响氨基酸的改变,进而造成蛋白表达的异常,影响其和配体的结合,其中,位于 CTLA-4 基因启动子区的-318 及非翻译区的 CT60 SNP 位点的变异被证实与哮喘、系统性红斑狼疮、Graves 病等自身免疫性疾病的发生有关^[9-11],也有研究对 CTLA-4 -318、CT60 SNPs 与宫颈癌、肺癌等多种肿瘤的关系作了探讨^[4-5],但仍未有关于 CTLA-4 -318、CT60 SNPs 与肝癌相关性的报道。

本研究旨在探讨 CTLA-4 -318、CT60 SNPs 与 HCC 的相关性,由于 HBV 感染是导致肝细胞癌的高危因素,所有参与对象均需进行常规的 HBV 检测,结果发现,86.6% 的 HCC 患者 HBV 检测呈阳性,这与其他研究报道结果基本一致^[12]。对各参与者 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 基因多态性进行检测,结果显示,CTLA-4 -318 CC 和 CT60 AA 与降低 HCC 的风险有关,-318 T 和 CT60 G 等位基因均与 HCC 的发生有明显关系。

长期以来,AFP 被认为是诊断肝癌最好的肿瘤标志物,特

异性较高,但其敏感度仅为 40%~65%,仍有近 1/3 的肝癌患者血清 AFP 呈阴性或低浓度,有相当高的漏诊率^[13]。在本研究中,对所有 HCC 患者的 AFP 水平进行检测,结果发现,AFP<20 ng/mL 的患者占 15.2%,20~200 ng/mL 的患者占 18.4%,而 AFP>200 ng/mL 的患者占 66.4%,其中,AFP 阴性或低浓度的 HCC 患者占 33.6%,与国内其他研究报道相一致^[13]。对携带 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同基因型的 HCC 患者血清 AFP 浓度进行检测,结果发现,CTLA-4 -318 T/C 不同基因型与血清 AFP 水平无明显相关性,而 CT60 G/A 不同基因型与血清 AFP 水平有明显相关性($\chi^2=12.779$, $P=0.012$)。目前,仍没有 HCC 患者 CTLA-4 -318 T/C,CT60 G/A 不同基因型与血清 AFP 水平相关性方面的研究,因此,该结论仍需进一步通过扩大标本量进行验证。

CTLA-4 目前被认为是调节性 T 细胞的标志物,能够分泌 TGF- β , IL-10 两种细胞因子(Th3 型细胞因子),抑制 CD4⁺ Th 细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞的作用,下调抗肿瘤免疫反应^[14]。因此,笔者推测,CTLA-4 SNPs 可能通过激活细胞因子通路调节 HCC 发生的敏感性。在本研究中,分别对不同 CTLA-4 基因型与血清 Th1 型细胞因子 IL-2、Th2 型细胞因子 IL-4、Th3 型细胞因子 TGF- β 水平之间的相关性进行检测,结果显示,携带 CTLA-4-318 TT 和 CT60 GG 的 HCC 患者血清中 IL-2、IL-4 水平均较低,而 TGF- β 水平较高。这些研究结果初步证实,CTLA-4-318 T 和 CT60 G 等位基因在 HCC 的发生中发挥重要作用,其可能是通过下调 Th1/Th2 型细胞因子的表达,上调 Th3 型细胞因子的表达来实现的。

对 CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 与临床病理学分级的相关性进行分析,结果发现,随 HCC 恶性程度的增加,CTLA-4 -318、CT60 的主要基因型分别发生了从 CC 到 TT,AA 到 GG 的转变。不同 CTLA-4 -318 基因型的 HCC 分级有明显统计学差异,而 CTLA-4 CT60 基因型在各分级 HCC 患者中分布无统计学差异。该实验进一步证实了 CTLA-4 -318T 在 HCC 发生、发展中的作用。

综上所述,CTLA-4 -318 T/C、CT60 G/A 均与 HCC 的发生有密切关系,其可能与下调 Th1/Th2 型细胞因子,上调 Th3 型细胞因子有关,且-318 T/C 与 HCC 的进展有明显相关性,而 CT60 G/A 与 HCC 的进展无关。从遗传学的角度认为携带-318T、CT60G 等位基因存在肝癌遗传易感性,但肿瘤的发病是多基因遗传与多环境因素共同作用的结果,故该结果可能仍存在一定的局限性。因此,今后应在扩大样本量的基础上对 CTLA-4 基因多态性与肝癌之间的关系进行深入研究,以进一步明确其在肝癌发生、发展过程中的作用。

参考文献

[1] Su CH, Lin Y, Cai L. Genetic factors, viral infection, other factors and liver cancer; an update on current progress [J]. *Asian Pac J Cancer Preve*, 2013, 14(9): 4953-4960.

[2] Morales-Romero J, Vargas G, García-Román R. Occult HBV

infection; a faceless enemy in liver cancer development [J]. *Viruses*, 2014, 6(4): 1590-1611.

- [3] Romo-Tena J, Gomez-Martin D, Alcocer-Varela J. CTLA-4 and autoimmunity; new insights into the dual regulator of tolerance [J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(12): 1171-1176.
- [4] Lee YH, Song GG. A meta-analysis of the association between CTLA-4 +49 A/G, -318 C/T, and IL-1 polymorphisms and susceptibility to cervical cancer [J]. *Neoplasma*, 2014, 61(4): 481-490.
- [5] Khaghanzadeh N, Erfani N, Ghayumi MA. CTLA4 gene variations and haplotypes in patients with lung cancer [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 196(2): 171-174.
- [6] Liang H, Zhang L, Zeng P, et al. Polymorphism analysis of CTLA-4 in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(4): 1005-1013.
- [7] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌诊断标准 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(3): 135.
- [8] Verhagen J, Genolet R, Graham J, et al. CTLA-4 controls the thymic development of both conventional and regulatory T cells through modulation of the TCR repertoire [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(3): E221-230.
- [9] Chan IH, Tang NL, Leung TF, et al. Association of plasma soluble CTLA-4 with lung function and gene polymorphism in Chinese asthmatic children [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2010, 152(2): 113-121.
- [10] Du L, Yang JQ, Huang JC, et al. The associations between the polymorphisms in the CTLA-4 gene and the risk of Graves' disease in the Chinese population [J]. *BMC Med Genet*, 2013(14): 46.
- [11] 陈水连, 邓斐, 江峰, 等. CTLA-4 启动子区基因多态性与系统性红斑狼疮关系的 meta 分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(12): 1320-1323, 1327.
- [12] 刘刚, 卢光琇. 湖南汉族人群 CTLA4 基因 +49G/A 多态性与乙肝感染和乙肝源性肝癌相关性的初步研究 [J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(8): 1838-1840.
- [13] Wang NY, Wang C, Li W, et al. Prognostic value of serum AFP, AFP-L3, and GP73 in monitoring short-term treatment response and recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(4): 1539-1544.
- [14] Steinman L. Conflicting Consequences of immunity to cancer versus autoimmunity to neurons: Insights from paraneoplastic disease [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(11): 3201-3205.

(收稿日期: 2015-09-15 修回日期: 2015-12-13)