

清肝化瘀颗粒对二乙基亚硝胺所致原发性肝癌大鼠的治疗作用*

朱晓燃¹ 杨振寰¹ 索菲娅¹ 姚树坤²

[摘要] **目的:**研究清肝化瘀颗粒对二乙基亚硝胺(DEN)所致原发性肝癌大鼠的治疗作用。**方法:**将 162 只雄性 SD 大鼠随机平均分为模型组、肝复乐组、化疗药组及清肝化瘀颗粒低、中、高剂量组。应用 DEN 腹腔注射法制备原发性肝癌大鼠模型,分别给予生理盐水 10 mL/(kg·d)灌胃,肝复乐组 0.94 g/(kg·d)灌胃,氟尿嘧啶注射液 50 mg/(kg·w)腹腔注射,清肝化瘀颗粒 0.47、0.93、1.86 g/(kg·d)灌胃,连续给药 8 周。末次给药后各组随机选取 6 只大鼠解剖,观察肝脏成癌情况,检测血清肝功能。**结果:**清肝化瘀颗粒组大鼠的肝脏大体与病理组织学癌变程度均较模型组减轻明显;清肝化瘀颗粒组肝指数较模型组显著降低,中、高剂量组肝脏表面癌结节数显著低于模型组($P < 0.05$);清肝化瘀颗粒可显著降低血清 TBIL、GGT、AFU 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且中、高剂量组以及化疗药组分别具有显著降低血清 ALP、AST 水平的作用($P < 0.05$)。**结论:**清肝化瘀颗粒能够有效缓解 DEN 诱导原发性肝癌大鼠的肝损伤,改善其肝功能。

[关键词] 原发性肝癌;二乙基亚硝胺;清肝化瘀颗粒;肝功能

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2021.03.01

[中图分类号] R735.7 **[文献标志码]** A

Therapeutic effect of Qinggan Huayu granule on diethylnitrosamine-induced primary liver cancer rats

ZHU Xiaoran¹ YANG Zhenhuan¹ SUO Feiya¹ YAO Shukun²

(¹Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100029, China; ² Department of Gastroenterology, China-Japanese Friendship Hospital)

Corresponding author: YAO Shukun, E-mail: shukun_yao@163.com

Abstract Objective: To observe the therapeutic effect of Qinggan Huayu granule on primary liver cancer (PLC) rats induced by diethylnitrosamine(DEN). **Methods:** One hundred and sixty-two SD male rats were randomly divided into model group, Ganfule group, and chemotherapeutic group, low-group, medium-group, and high-dose of Qinggan Huayu granule groups. Rat models of primary liver cancer were prepared by DEN intraperitoneal injection method, and saline at does of 10 mL/(kg·d), Qinggan Huayu granule at does of 0.47 g/(kg·d), 0.93 g/(kg·d), 1.86 g/(kg·d), Ganfule at does of 0.94 g/(kg·d) for gavage and fluorouracil 50 mg/(kg·w) intraperitoneal injection were given for 8 weeks. After the last administration, six rats was randomly selected from each group for dissection to observe the incidence of liver cancer and detect serum liver function. **Results:** The degree of gross and histopathological of liver cancer rats of Qinggan Huayu granule group were significantly reduced compared with that of model group. The liver index of Qinggan Huayu granule group was significantly lower than the model group, and the number of carcinoma nodules on the liver surface of the medium and high dose groups was significantly lower than that of the model group($P < 0.05$). The serum TBIL, GGT and AFU levels were significantly reduced by Qinggan Huayu granule($P < 0.05$ or $P < 0.01$), in addition, the serum ALP and AST levels could be significantly reduced by medium-dose, high-dose of Qinggan Huayu granule groups and chemotherapeutic group respectively($P < 0.05$). **Conclusion:** Qinggan Huayu granule can effectively relieve the liver injury of DEN-induced primary liver cancer in rats and improve liver function.

Key words primary liver cancer; diethylnitrosamine; Qinggan Huayu granule; liver function

*基金项目:北京市科委 G20 工程创新研究十病十药研发项目(No:Z171100001717008)

¹北京中医药大学(北京,100029)

²中日友好医院消化科

通信作者:姚树坤, E-mail: shukun_yao@163.com

原发性肝癌(肝癌)是世界范围内常见的一种恶性肿瘤,致死率高,根据一项全球的癌症病例研究数据表明,预计 2018 年末,肝癌每年新增患者约 84.1 万,死亡人数达 78.2 万^[1]。目前我国肝癌的年发病率和死亡率已上升至恶性肿瘤的第 4 位和第 2 位^[2]。由于肝癌发病隐匿、进展快,大多数患者确诊时已进展至中晚期或已发生转移,失去手术机会,又因肝功能或免疫功能差无法耐受放疗或化疗,故临床治疗难度较大,治疗效果与预后均不理想,严重威胁患者的健康和生命安全^[3]。传统中医药在肝癌的诊治上已广泛应用,优势明显,可有效缓解肝癌患者各个时期的临床症状,提高其他局部治疗的疗效,减少放化疗的不良反应^[4],改善患者生存质量,延长生命周期^[5]。因此,探寻一种疗效可靠、稳定可耐受的中药复方制剂让更多患者受益至关重要。清肝化瘀方是本课题组姚树坤教授结合传统医学理论与多年临证经验研究而成,方由黄芩、苦参、莪术、半枝莲、白花蛇舌草等组成。本研究通过改良法构建肝癌大鼠模型,观察清肝化瘀颗粒对二乙基亚硝胺(DEN)诱导的原发性肝癌大鼠肝脏功能的治疗作用,旨在为临床应用及新药研发提供理论支持,现将结果报告如下。

1 材料与方

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,6 周龄,体重 220 g 左右,均由北京华阜康生物科技有限公司提供[许可证号 SCXK(京)2014-0004],饲养于中日友好医院标准化动物室。

1.2 药材与试剂

DEN(中国标准化研究院提供,于使用前配制成浓度为 100 mg/L 的 DEN 溶液,避光存放)。清肝化瘀颗粒干膏粉(批号:20170731)由中日友好医院药学部提供。“干膏粉”指的是本供试品提取物,每克提取物相当于 4.472 g 生药。

1.3 方法

1.3.1 原发性肝癌大鼠模型的建立 适应性饲养 1 周后,将大鼠随机分为 6 组,分别为模型组、肝复乐组、化疗药组、清肝化瘀颗粒低剂量组、清肝化瘀颗粒中剂量组和清肝化瘀颗粒高剂量组(以下分别简称低、中、高剂量组),每组 27 只,同时设置空白对照组 6 只,记录初始体重。造模使用 DEN 腹腔注射,50 mg/(kg·w),空白对照组腹腔注射等量生理盐水,至第 14 周结束。每周称重 1 次,根据最新体重情况调整各组给药剂量。第 13、14 周末,造模组随机选取 5 只大鼠取材观察成癌情况,计算肝癌发生率。实验期间观察大鼠的一般状况与死亡情况并记录。

1.3.2 给药方法 当大鼠肝癌发生率>80%时,认为造模成功,开始进行药物干预。根据文献报道

的方法折算出动物给药剂量^[6],已知人口服清肝化瘀方生药的最佳剂量为 40 g/d,清肝化瘀颗粒每克提取物相当于 4.472 g 生药,可得成人最适剂量为 0.149 g/(kg·d),因此大鼠最适剂量为 0.93 g/(kg·d)。同理根据药物说明书计算出肝复乐给药剂量。每日上午 9:00 各组分别给药,模型组给予生理盐水 10 mL/(kg·d)灌胃,清肝化瘀颗粒低、中、高剂量组以 0.47、0.93、1.86 g/(kg·d)的剂量灌胃,肝复乐组给予 0.94 g/(kg·d)灌胃,化疗药组采用腹腔注射的方式,给予氟尿嘧啶注射液 50 mg/(kg·w),所有动物每周称重 1 次并根据体重变化调整给药剂量,连续干预 8 周。

1.3.3 标本采集与处理 末次给药后每组随机选取 6 只大鼠禁食 12 h,自由饮水。次日上午 9:00 称重后按 50 mg/kg 给予 2%戊巴比妥进行腹腔注射,麻醉后迅速固定在解剖台上,沿腹正中线依次剪开皮肤、皮下组织、腹膜,暴露腹腔,采用腹主动脉取血法留取 3 mL 新鲜全血,静置 2 h 后予低温下 3000 r/min 离心 5 min,分离血清保存于-80℃冰箱待检测。依次留取肝脏、脾脏,称重拍照,记录各组大鼠肝脏表面癌结节数及最大癌结节长径、短径。在肝右叶边缘切取 1.0 cm × 1.0 cm × 0.5 cm 大小肝组织,固定于 4%甲醛中,依次进行脱水、透明及浸蜡处理,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红染色后在显微镜下进行组织病理学观察。其余肝脏肿瘤标本快速液氮冷冻后置于-80℃冰箱保存以备用。

1.3.4 血清生化指标检测 血清放置室温下解冻,使用全自动血清生化仪检测各组大鼠血清标本肝功能,包括谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、α-L-岩藻糖苷酶(AFU)等指标。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示并进行正态性检验,2 组变量间比较采用 *t* 检验,多组变量间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠解剖及肝脏大体情况的比较

各组大鼠肝脏均不同程度肿大,表面粗糙,分布大小不等的灰白色癌结节,可见血性腹水或腹腔出血。其中,模型组(4 只)、低剂量组(2 只)、肝复乐组(2 只)和化疗药组(1 只)可见明显癌组织破裂出血或血肿,各组大鼠肝脏癌变率为 100%,提示肝癌模型较为成功。与模型组比较,化疗药组大鼠肝组织癌变程度明显较轻,肝脏表面较为光滑,散在少量癌结节,仅有 1 只可见出血灶;中剂量、高剂

量组癌变程度次之, 各组均未见腹腔出血及癌组织破裂出血(图 1)。

2.2 各组大鼠肝脏癌结节情况与肝、脾指数的比较

与模型组比较, 各药物组对减小最大癌结节的长径、短径无显著作用, 中、高剂量组和化疗药组可显著减少肝脏表面癌结节数量($P < 0.05$); 各组药物干预后的大鼠肝指数均较模型组显著降低($P < 0.05$), 但各药物组之间降低肝指数的疗效无显著差异; 低剂量组、化疗药组对降低大鼠的脾指数有显著作用($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 各组大鼠肝脏病理组织学改变的比较

苏木精-伊红染色后光镜下观察, 各组大鼠肝脏组织损伤程度不同, 主要表现为肝小叶结构破坏与假小叶形成, 肝细胞纤维化明显, 弥漫性的肝细胞水肿、空泡样变性、坏死, 大量炎症细胞聚集, 严重者可见肝板消失, 肝小叶结构完全被破坏, 肝癌细胞呈不同程度的分化, 可见双核、多核、核仁突出

或深染的肝癌细胞呈巢状、灶状及梁状排列, 肝细胞增生结节数量增多、增大, 结节内可见肝癌细胞或明显异型性增生的肝细胞, 间质血窦丰富, 瘤灶内可见大片出血、坏死及炎症细胞浸润; 各药物干预组肝组织癌变程度均有不同程度的减轻, 以化疗药组肝组织改善最为明显。见图 2。

2.4 各组大鼠肝功能指标的比较

与模型组比较, 各药物干预组大鼠血清 TBIL、GGT 水平均显著降低($P < 0.01$), 但各药物组间差异无统计学意义; 与模型组比较, 各药物干预组大鼠血清 AST 水平均有降低趋势, 其中高剂量组和化疗药组差异有统计学意义($P < 0.05$); 除肝复乐组外, 清肝化瘀颗粒组和化疗药组的大鼠血清 AFU 水平均显著降低(均 $P < 0.01$); 各药物干预组的大鼠血清 ALP 水平均有不同程度的降低, 以中、高剂量组和化疗药组的作用较为显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。



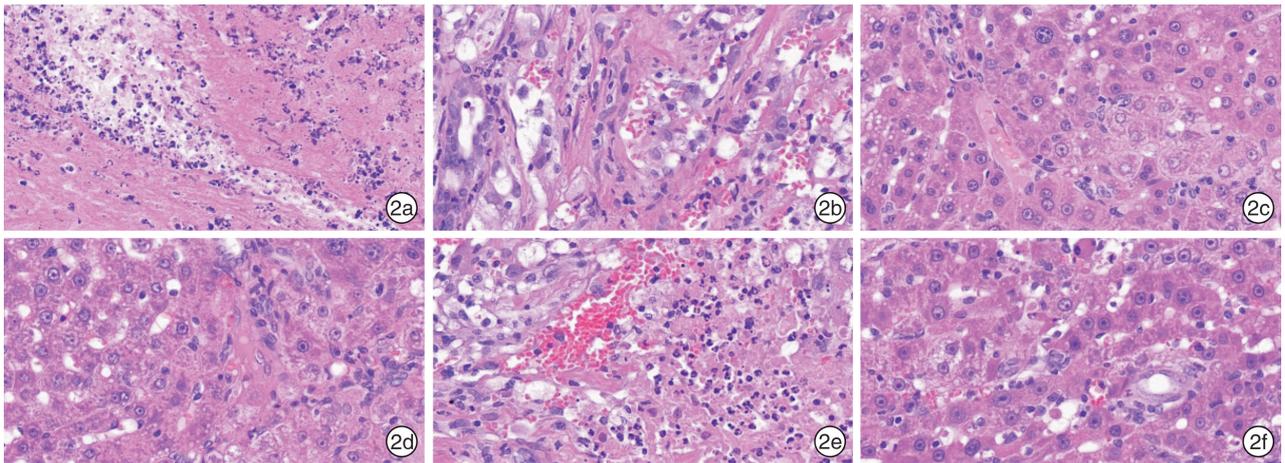
1a: 模型组; 1b: 低剂量组; 1c: 中剂量组; 1d: 高剂量组; 1e: 肝复乐组; 1f: 化疗药组。

图 1 各组干预 8 周的大鼠肝脏大体观察

表 1 各组大鼠癌结节情况与肝、脾指数的比较

组别	长径/cm	短径/cm	肝指数/%	脾指数/%	表面癌结节/个
模型组	1.12±0.55	0.73±0.48	6.30±0.79	0.34±0.06	17.33±11.59
低剂量组	1.22±0.63	0.52±0.23	4.21±0.64 ²⁾	0.23±0.03 ²⁾	14.56±12.95
中剂量组	1.01±0.70	0.71±0.44	4.17±1.02 ²⁾	0.29±0.08	8.00±4.06 ¹⁾
高剂量组	1.16±0.63	0.71±0.41	4.64±0.75 ²⁾	0.27±0.06	4.56±3.21 ²⁾
肝复乐组	1.21±0.88	0.98±0.74	3.89±0.58 ²⁾	0.32±0.16	8.56±8.92
化疗药组	0.83±0.22	0.72±0.18	4.68±1.19 ¹⁾	0.28±0.04 ¹⁾	3.11±2.03 ¹⁾

与模型组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。



2a:模型组;2b:低剂量组;2c:中剂量组;2d:高剂量组;2e:肝复乐组;2f:化疗药组。

图 2 各组干预 8 周的大鼠肝脏病理组织学改变 苏木精-伊红染色 ×400。

表 2 各组大鼠肝功能指标的比较

$\bar{x} \pm s$

组别	例数	ALT/ (U · L ⁻¹)	AST/ (U · L ⁻¹)	TBIL/ (μmol · L ⁻¹)	ALP/ (U · L ⁻¹)	AFU/ (U · L ⁻¹)	GGT/ (U · L ⁻¹)
模型组	6	200.6 ± 96.0	362.7 ± 172.9	12.3 ± 4.1	204.9 ± 62.3	18.8 ± 1.3	46.6 ± 20.5
低剂量组	6	132.0 ± 33.4	230.1 ± 59.2	2.8 ± 2.0 ²⁾	177.4 ± 44.9	15.0 ± 2.0 ²⁾	18.7 ± 8.6 ²⁾
中剂量组	6	116.6 ± 42.6	235.1 ± 107.3	3.7 ± 5.6 ²⁾	136.0 ± 45.9 ¹⁾	15.1 ± 2.5 ²⁾	14.9 ± 8.7 ²⁾
高剂量组	6	123.8 ± 26.2	195.3 ± 31.8 ¹⁾	5.4 ± 2.2 ²⁾	126.1 ± 44.4 ¹⁾	16.3 ± 1.2 ²⁾	13.2 ± 2.6 ²⁾
肝复乐组	6	142.6 ± 54.3	291.6 ± 121.1	4.6 ± 4.1 ²⁾	163.4 ± 84.2	17.4 ± 2.9	16.3 ± 4.7 ²⁾
化疗药组	6	127.4 ± 45.5	176.4 ± 59.9 ¹⁾	3.9 ± 1.4 ²⁾	90.3 ± 32.7 ²⁾	13.9 ± 1.9 ²⁾	14.3 ± 5.7 ²⁾

与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

原发性肝癌作为严重威胁到我国人民生命健康的恶性疾病,起病隐匿、早期难以发现,且疾病进展快,恶性程度较高,极易发生浸润和转移,造成治疗困难、预后差、死亡率高的困境。我国肝癌发病率和死亡率均占全球总数的 50% 以上,占亚洲总数的 70% 左右,所以探索研究临床有效的肝癌中药制剂具有长远的积极意义。清肝化瘕方是姚树坤教授根据多年临床经验,从肝癌的发病特点及病因、病机特点出发创制的有效经验方,具有清热解毒、健脾祛湿、活血化瘀、软坚消癥等功效。通过前期文献研究发现,中药的“清热解毒、破瘕散结”之效在抗癌过程中发挥着重要作用,具有抑制炎症微环境的形成、调节细胞代谢与细胞保护、改善肝脏微循环及维持肿瘤微环境等作用,还可通过多种通路抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡。李杨等^[7]研究发现,消瘕解毒方可能通过 PERK 通路上调内质网应激相关凋亡蛋白 ATF4、CHOP、TRB3 的表达从而诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡。本课题组前期动物实验和细胞实验明确了清肝化瘕方的主要有效组分是氧化苦参碱类、黄芩苷类、莪术醇类,对各类肿瘤均具有明确的抗肿瘤、抑制细胞增殖作用。在临床应用中,我们还发现清肝化瘕方可显著

提高患者免疫力,改善生存质量,延长生存期^[8-9]。因而在此基础上开发出了“清肝化瘕颗粒”以便用于新药研发与临床推广,并通过实验证实,清肝化瘕颗粒可显著抑制大鼠肝癌癌前病变和癌变进程^[10],增强大鼠免疫功能,其可能是通过抑制 Raf/MEK/ERK 和 PI3K/Akt 信号通路发挥抗肿瘤作用。

为更好地模拟人肝癌从慢性炎症、纤维化、肝硬化最终进展为肝癌的过程,进一步研究抗肝癌药物的作用机制,国内外学者多采用化学诱导肝癌模型。氧化应激是目前认为主要的诱发肝癌产生和进展的因素^[11]。DEN 是一种具有基因毒性的亚硝胺类物质,能够改变肝脏细胞的 DNA 结构,产生烷基化 DNA 加合物并诱导染色体畸变,并且能够增加 ROS 的产生,从而导致肝癌的发生。DEN 诱癌成功率高,对肝脏专一,诱导的肝癌模型在相应的临床表现及血液学检查方面也表现出与人类肝癌相似的改变,但毒性大、周期长^[12-13]。本研究采用的是经课题组前期试验改良后的造模方法,腹腔注射,50 mg/(kg · w),具有较低的自然死亡率、较长的生存期和带瘤生存期,可以更好地模拟人体肝癌缓慢逐级发展的过程^[14],更适合运用于清肝化瘕颗粒的药效学研究。本方法诱导的大鼠肝癌成癌率为 100%,肝癌病理分型以弥漫型和结节型为

主,少数表现为巨块型伴有破裂出血。本实验显示,各组均可降低大鼠的肝指数,清肝化瘀颗粒低剂量组和化疗药组可降低脾指数,中、高剂量组和化疗药组可显著降低肝癌结节数,说明清肝化瘀颗粒中、高剂量对肝癌的生长具有显著抑制作用。

尽管AFU在肝脏、肾脏、脑等器官组织中含量丰富,但血液中的AFU在健康状态下可被肝脏中的星型细胞清除,当肝脏发生疾病导致代谢紊乱时,血液中AFU含量上调,且随着疾病进展表现为升高趋势^[15]。尤其是当肝脏发生癌变时,其血清AFU的水平会明显增高(与肝癌细胞破裂有关)。李宏斌等^[16]的研究显示,原发性肝癌患者血清中AFU处于高表达状态,与肿瘤大小、TNM分期具有相关性。GGT是一种富含在肝脏、肾脏、胰腺等器官组织中质膜结合糖蛋白,当患者肝内胆管阻塞导致胆汁排出障碍,或肝内合成亢进时,肝细胞就会产生并分泌大量的GGT进入血液,与此同时,肝癌细胞也在合成GGT,故血清GGT水平是诊断肝胆疾病、判断病情与预后的重要标记物之一。Yin等2013年的一项研究回顾性分析了411例肝内胆管细胞癌患者,发现GGT水平与肿瘤侵袭性有明显关系,是肿瘤预后不良和复发的一个独立预测因素。ALP是一种膜结合酶,广泛分布在机体多个组织内,以肝脏及骨骼肌肉组织中含量最高,当肝脏发生癌变等恶性病变时,病灶周边的胆管会出现压迫性梗死导致胆汁淤积,从而引起血清ALP水平的大幅增高(陈贻斌等,2016)。周宁^[17]的研究结果显示,与单用血清GGT、AFP、ALP或AFU检测相比,联合应用血清GGT、AFP、ALP、AFU检测对原发性肝癌诊断的敏感度、特异度和准确率均更高。因此,除了AFP、转氨酶等指标,结合GGT、ALP、AFU等指标更能及时、全面地对肝癌治疗的疗效及预后作出评价。本研究结果显示,清肝化瘀颗粒干预的3组肝癌大鼠的肝指数和血清TBIL、AFU、GGT水平均显著低于模型组,中、高剂量组在降低肝脏表面癌结节数及血清ALP水平方面也有显著作用,提示清肝化瘀颗粒能够有效缓解DEN诱导肝癌大鼠的肝损伤,改善肝功能,为研究清肝化瘀颗粒的抗癌作用提供了理论支持。

综上所述,清肝化瘀颗粒可有效改善原发性肝癌大鼠的肝功能,缓解DEN造成的肝损伤,抑制肿瘤生长,从而延缓肝硬化及癌变的进程。本课题组已在前期动物实验和细胞实验从整体、细胞和分子水平观察了清肝化瘀方药具有多环节、多靶点分子网络的作用特点,此次实验主要是观察清肝化瘀颗粒对原发性肝癌大鼠的治疗作用,故未与空白对照组数据进行统计比较。然而本研究中清肝化瘀颗粒各剂量组间无明显的量效学关系,且该药在抗肝癌治疗中发挥的具体作用机制研究还不深入,仍需

更进一步的研究与探讨。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 1-31.
- [2] 周俭, 肖永胜. 肝癌的转化医学研究——从基础到临床[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(1): 1-5.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(8): 1419-1431.
- [4] 卢舜, 王熙, 周小康. 温肾健脾法治疗肝癌靶向药物索拉非尼所致腹泻的临床研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2020, 28(3): 177-179.
- [5] 吴玉潇, 盛庆寿. 中医药治疗原发性肝癌的研究进展[J]. 广西医学, 2020, 42(4): 483-485.
- [6] Woojin K, Won L. Traditional herbal medicine as adjunctive therapy for breast cancer: A systematic review[J]. Complement Therap Med, 2015, 23(4): 626-632.
- [7] 李杨, 陈晶. 消癌解毒方通过内质网应激诱导肝癌HepG2细胞凋亡的研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2020, 28(6): 408-412.
- [8] 姚树坤, 殷飞, 王娜. 清肝化瘀方药对原发性肝癌患者的疗效及对细胞免疫功能的影响[J]. 临床荟萃, 2006, 21(18): 1300-1302.
- [9] 王永中, 姚树坤, 高立明, 等. 清肝化瘀口服液对原发性肝癌介入治疗后免疫功能影响的临床研究[J]. 中国老年学, 2008, 28(8): 770-772.
- [10] 宋威江. 清肝化瘀颗粒对二乙基亚硝胺致大鼠原发性肝癌抑制作用及机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [11] Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, et al. Lack of nrf2 results in progression of proliferative lesions to neoplasms induced by long-term exposure to non-genotoxic hepatocarcinogens involving oxidative stress[J]. Exp Toxicol Pathol, 2014, 66(1): 19-26.
- [12] 宋亚刚, 李艳, 苗明三. 基于原发性肝癌临床病症特点的动物模型分析[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(12): 5563-5567.
- [13] Yang FC, Zheng SS, Jiang TA. Modified hepatocarcinoma model in rats[J]. Natl Med J China, 2004, 84(23): 2018-2019.
- [14] 邓茹芸. 原发性肝癌模型的改良与清肝化瘀颗粒急性毒理学研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [15] 柯昌征, 王传敏, 康健, 等. AFP、CA19-9、SF、AFU联合肝脏MRI诊断原发性肝癌的效能分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(5): 684-688.
- [16] 李宏斌, 石珏, 李娜. 原发性肝癌患者PIVKA-II、AFP、HIF-1 α 的表达及其临床意义[J]. 医学临床研究, 2019, 36(2): 360-362.
- [17] 周宁. 血清GGT、AFP、ALP、AFU联合检测在诊断原发性肝癌中的应用价值[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(6): 150-151.

(收稿日期: 2020-07-09)