

肿瘤超声医学专题

• 综述 •

早期肝癌热消融术后复发的机制研究进展

杨健筌[#], 郭文[#]综述, 卢漫[△]审校

611731 成都, 电子科技大学 医学院(杨健筌); 637199 四川 南充, 川北医学院 药学院(郭文); 610041 成都, 四川省肿瘤医院·研究所, 四川省癌症防治中心, 电子科技大学医学院 超声医学中心(卢漫)

[摘要] 肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 发病率、死亡率均居恶性肿瘤前列。手术切除、肝移植和消融治疗是早期肝癌的三大根治性治疗手段, 但多数肝癌患者有脂肪肝或肝硬化病史, 肝脏储备功能差, 无法耐受手术, 同时供体肝源有限。因此, 消融治疗在早期肝癌治疗中具有重要地位。但有研究显示, 外科手术和肝移植相比, 消融治疗具有更高的局部复发率, 具体机制不明。近年来, 针对肝癌热消融术后局部复发机制的研究逐渐增多, 本文就目前的研究进展做一综述。

[关键词] 肝癌; 早期; 消融; 复发; 机制

[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.11.013

引文格式: Yang JQ, Guo W, Lu M. Research progress on the mechanism of recurrence of hepatocellular carcinoma after thermal ablation [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(11): 901-906. [杨健筌, 郭文, 卢漫. 早期肝癌热消融术后复发的机制研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(11): 901-906.]

Research Progress on the Mechanism of recurrence of Hepatocellular carcinoma after Thermal Ablation

Yang Jianquan[#], Guo Wen[#], Lu Man[#]Contributed equally

School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 611731, Sichuan, China (Yang Jianquan); School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637199, Sichuan, China (Guo Wen); Ultrasound Center, Sichuan Cancer Hospital & Institute, Sichuan Cancer Center, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610041, Sichuan, China (Lu Man)

Corresponding author: Lu Man, E-mail: graceof@163.com

This study was supported by grants from Sichuan Medical Association (NO. S16012).

[Abstract] Hepatocellular carcinoma is one of the most common malignant tumors, and its morbidity and mortality are leading in malignant tumors. Surgical resection, liver transplantation and ablation are the three radical treatments for early hepatocellular carcinoma. However, most patients are intolerant to surgery due to a history of fatty liver or hepatocirrhosis and limited donated livers. Therefore, ablation plays an important role in the treatment of early hepatocellular carcinoma. Some studies have shown that ablation leads to higher local recurrence compared to surgery and liver transplantation owing to unknown mechanism. This article reviews current research progress on the mechanism of local recurrence of hepatocellular carcinoma after ablation based on the increasing number of studies on this field recent years.

[Key words] Hepatocellular carcinoma; Early stage; Ablation; Recurrence; Mechanism

[收稿日期] 2020-06-27 [修回日期] 2020-10-23

[#]共同第一作者

[基金项目] * 四川省医学会课题(编号:S19012)

[通讯作者] [△]卢漫, E-mail: graceof@163.com

肝癌是我国常见的恶性肿瘤, 发病率位居恶性肿瘤的第4位, 死亡率第2位^[1-2]。因此, 要提高肝癌患者的生存率, 早诊、早治是重要的方式。早期肝

癌根治性治疗方式有活体肝移植、肝切除术及局部消融治疗。活体肝移植存在供体肝源有限、术后易发生免疫排斥等问题^[2]；肝癌切除术患者的肝功能需要 Child-Pugh A 级，而我国多数肝癌患者有乙肝、肝硬化的病史，常伴有肝脏储备功能差，行肝癌切除术的风险高^[3]；局部消融治疗具有微创、对肝功能影响小，使不能手术的患者获得了根治性治疗的机会^[4]。同时，在外科手术与局部消融治疗的对比研究中，二者的总生存期(overall survival, OS)无差异^[5]。但有研究显示，相比外科手术，局部消融治疗具有更高的局部复发率(local recurrence, LR)^[6]，机制仍不清楚，但针对它的机制研究逐渐增多。笔者将分别阐述肝癌常用的消融治疗手段和热消融术后 LR 的机制研究进展。

1 常用的局部消融治疗方式

1.1 射频消融(radiofrequency ablation, RFA)

RFA 是利用射频交流电在经皮放置的探头和周围组织之间产生热量，温度在 60℃ ~ 100℃ 之间维持 5 ~ 10 min，使肿瘤和周围组织发生凝固性坏死^[7]。对于不能耐受手术的早期肝癌患者，研究表明 RFA 可获得根治性的疗效，推荐用于不适合手术的早期肝癌的一线治疗^[8]。然而，RFA 存在热沉降效应(heat-sink effect, HSE)，即流动的血液或空气会吸收消融区温度，从而降低 RFA 的疗效。因此，当肿瘤邻近血管时，RFA 疗效会受到影响，并且 RFA 还可能导致皮肤烧灼^[9]。

1.2 微波消融(microwave ablation, MWA)

MWA 通过放置在肿瘤内的天线产生 900 ~ 2 500 MHz 的电磁场，磁场主要作用于水分子使其动能增加，从而提高了组织的温度^[10]。与 RFA 相比，MWA 具有更低 HSE，皮肤烧灼伤的发生率更低，而消融范围更大^[11]。有研究显示^[12]，对于 5 ~ 7 cm 的肝癌，MWA 的完全消融率可达 80%，而 RFA 只有 24%。

1.3 冷冻消融(cryoablation, CA)

CA 是借助液氮或低温探头末端快速减压的氩气使温度维持在 -20℃ ~ -40℃ 之间，细胞内形成冰，导致细胞死亡^[13]。由于 CA 与热消融的原理不同，消融时形成冰球消融区，可通过 CT、MRI 及超声等影像设备实时监测消融区的范围和大小^[14]。但 CA 约有 1% 的低温休克发生率，甚至是致死性的，而且 CA 在肝癌中的长期疗效有待进一步研究^[15]。

1.4 不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)

IRE 是通过消融探针上产生非热电场，破坏附近的组织细胞膜，改变离子驱动稳态，导致细胞死亡^[16]。IRE 的优点是可保护消融区周围的胆管、血管等免受损害^[17]，但 IRE 作为一种新的消融治疗手段，其适用病种及长期疗效的资料有限，需进一步研究^[18]。

虽然局部消融的方式较多，针对早期肝癌根治性消融术多采用 RFA 和 MWA 两种热消融方式，笔者也将针对热消融导致的肝癌复发的机制进行探讨。

2 肝癌热消融术后复发的机制

2.1 上皮间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)

EMT 是指上皮细胞向间质细胞转换，分子发生重塑，表型发生改变，使上皮来源的肿瘤细胞侵袭、转移的能力增强，是肿瘤进展的表现。EMT 的分子标志物改变包括上皮细胞标志物 E-cadherin 表达的缺失，间质细胞标志物 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达的上调，以及转录调控因子 Snail、Slug、Twist 等表达量的增加。为研究消融后残留肿瘤细胞是否发生 EMT，Yoshida 等^[19]采用体外模拟热消融，即亚致死热应激(sublethal heat stress, SHS)，将肿瘤细胞置于水浴中，温度分别为 45℃ 和 55℃，时间 10 min，存活下来的肿瘤细胞在第 5 d 时细胞形态发生纺锤样改变，CD133、CK7、CK19 和 Snail 蛋白表达增加，在第 12 d 又恢复到基线水平，表明经 SHS 后存活的肿瘤细胞发生了 EMT，并且激活 ERK1/2 信号通路，抑制 ERK1/2 信号通路后，可抑制肿瘤细胞的增殖。Dong 等^[20]发现 SHS 处理后的肿瘤通过 AKT 和 ERK 信号通路促进肝癌细胞 PCNA、N-cadherin 和 MMP-2、MMP-9 的表达而发生 EMT，进一步的动物实验发现肺转移的风险增加。有研究通过分析消融术后复发患者标本与未行消融术的肝癌患者标本，发现 EMT 相关标志物 TGF-β、Twist、Snail-1 在消融后复发患者中增加，作者认为，EMT 的发生可能与复发患者的 miR-200c、miR-34a 表达量降低相关^[21]。为进一步确定复发肿瘤发生的 EMT 改变，有学者在小鼠原位肿瘤模型上采用肿瘤消融不全方式(即非等中心消融)，发现 E-cadherin 下调、N-cadherin 和 Vimentin 上调，表明 β-catenin 是这一过程中的关键因子，阻断 β-catenin 可以减少肿瘤细胞

EMT 表型的改变和转移^[22]。Fetillins 作为 EMT 调控蛋白,研究显示,SHS 处理后残留肝癌细胞使 Fetillins 表达增加,进一步激活 AKT/Wnt/ β -catenin 信号通路使残留细胞发生 EMT,侵袭能力增强^[23]。EMT 作为肿瘤细胞获得更强侵袭和转移能力的关键步骤,已在肝癌热消融术后的细胞、动物模型及人体组织标本中得到了证实。因此,发现导致 EMT 的关键蛋白及重要的信号通路将为今后更深入地研究和防治提供方向和基础。

2.2 通过 HIF-1 α /VEGF 信号通路促进血管生成

HIF-1 α 作为重要的低氧适应性反应的调节因子,在低氧条件下高表达,在常氧条件下维持低浓度。HIF-1 α 通常在侵袭性肿瘤中表达增加,可作为肝癌预后不良的独立预测因子^[24]。HIF-1 α 在肿瘤生长、血管生成、侵袭和转移中具有重要作用,可直接促进大量的血管生成相关基因表达上调,如血管表皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)。VEGF 家族是一类结构相关的分子,包括 VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD,在多种人类肿瘤中高表达。Kong 等^[25]通过比较经 SHS 处理后的肿瘤细胞与亲本细胞,发现 HIF-1 α 与 VEGF 表达量增加,血管生成效应增强,而使用 VEGF 抗体贝伐单抗可消除该效应。Liu 等^[26]在细胞实验中发现经 SHS 处理的肿瘤细胞通过激活依赖于 CaMKII/ERK 的 VEGF 过表达促进肝癌细胞增殖。同样的,在移植瘤动物模型同样发现消融后残留肿瘤细胞的 HIF-1 α 、VEGF 增加,微血管密度增加,在动物模型层面证实了消融后复发是通过 HIF-1 α /VEGF 信号通路促进血管生成导致肿瘤侵袭、转移^[27]。Tan 等^[28]在小鼠模型中发现,不完全消融导致肿瘤细胞高表达 VEGF 受体 1,使肿瘤细胞血管生成效应增强,靶向作用于 VEGF 受体 1 可降低肿瘤细胞的增殖、迁移能力。通过肝癌消融复发患者的标本分析发现,与未行 RFA 的肝癌标本相比,消融复发患者 HIF-1 α 表达量增加;生存分析显示,消融后复发患者 OS 低于未行 RFA 患者^[29]。因此,一系列的研究结果证实了肝癌消融后复发的机制之一是通过激活 HIF-1 α /VEGF 信号通路促进血管生成进而导致复发、转移,靶向 VEGF 可以抑制血管生成效应。

2.3 激活自噬

自噬是一种细胞的自我保护机制,可降解溶酶体中的细胞质、受损的细胞器和易于聚集的蛋白质等^[30-31]。有研究表明,自噬在包括癌症在内的多种疾病中起着关键作用^[32]。在肝癌中,LC3-II (一个

关键的自噬标记物)的表达水平与肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 预后正相关^[33]。研究发现,自噬可以使肝癌细胞在不利条件下存活、恶性进展、远处转移以及对化疗耐药,抑制自噬会降低肿瘤细胞的存活率^[32-36]。Thompson 等^[37]发现 SHS 处理后的肝癌细胞激活了自噬重要信号通路 PI3K/mTOR/AKT,导致肿瘤细胞增殖、侵袭能力增强。Jondal 等^[38]在细胞及动物实验中证实 SHS 处理后的肝癌细胞激活自噬关键通路 PI3K/mTOR/AKT 使肿瘤细胞侵袭性增强。而有研究者使用自噬抑制剂氯喹可以抑制 SHS 处理后残留的肿瘤细胞的生长^[39]。Zhao 等^[40]首次采用在异位动物模型上使用不全性消融观察到残留肿瘤细胞发生自噬,增殖、侵袭能力增强,使用羟氯喹能显著抑制肿瘤的生长。自噬作为恶性肿瘤发生、发展的重要机制,在肝癌消融后复发中也会发生。在细胞及动物实验中发现,通过抑制自噬可以抑制肿瘤的进展。

2.4 非编码 RNA

长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 通常被定义为大于 200 个核苷酸,缺乏蛋白质编码功能的转录本。近年来 lncRNA 在癌症生物学中发挥了重要的调控作用,包括免疫应答、肿瘤发生、细胞发育和代谢^[41]。基因芯片检测肝癌 lncRNA 表达,证实有数百个 lncRNA 在肝癌组织中异常表达^[42]。研究发现^[43],经 SHS 处理的肝癌细胞全基因组中,有 558 个 lncRNA 和 250 个 mRNA 表达上调,224 个 lncRNA 和 1 031 个 mRNA 表达下调。进一步研究发现,lncRNA FUNDC2P4 在 SHS 处理后的肝癌中低表达,通过降低 E-cadherin 的表达促进 EMT,从而促进肿瘤的增殖、侵袭。国内的廖云忠等^[44]同样采用体外模拟不完全消融肝癌细胞,利用 LncPathTM发现多个 lncRNA 表达量改变,进一步结合临床病例标本,认为残留的肝癌细胞通过降低 EMT 相关的 lncRNA FOUNDC2P4 促进 EMT,增强肿瘤细胞的侵袭能力,最终导致肿瘤复发。非编码 RNA 作为当前生命科学的研究热点,在肝癌消融复发机制中的研究较少,需进一步揭示其作用。

2.5 肿瘤微环境改变

肿瘤微环境的改变在肿瘤的发生、发展中具有重要的作用。在肝细胞癌的微环境中富含活化的肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC)。有证据表明,HCC 与活化的 HSC 相互作用促进了 HCC 的成瘤性、生长、迁移、侵袭、血管生成和转移^[45]。Periostin (POSTN) 是活化 HSC 的关键蛋白之一,是较好

的抗纤维化治疗靶点^[46],参与了癌细胞增殖和 EMT 等过程^[47]。此外,间质表达 POSTN 与 HCC 高侵袭性相关^[48]。Zhang 等^[49]将肝癌细胞暴露于 SHS 后,在活化的 HSC 条件培养液中(HSC-conditioned medium, HSC-CM)进行培养,HSC-CM 通过分泌 POSTN 明显增强残留肝癌细胞的侵袭能力,使 EMT 增强,证明了 POSTN 在肝癌消融复发中的重要作用。研究者进一步发现 POSTN 通过激活整合素 β -1/AKT/GSK3- β / β -catenin/TCF4/Nanog 信号通路调节热消融后残留肝癌细胞的肿瘤干细胞特性^[50]。Zhang 等^[51]还发现基质硬度增加参与了 SHS 处理后残留肝癌细胞恶性进展,同时,细胞外基质 I 型胶原也参与了 SHS 处理后残留肝癌细胞的增殖。肿瘤微环境在肿瘤发生、发展中具有重要作用,现有的文献对肿瘤微环境在肝癌消融复发中的作用及机制进行了初步研究,但需更深入地寻找重要信号通路及关键蛋白。

3 总 结

局部消融治疗作为一种微创、安全、有效的治疗手段,在早期肝癌治疗中具有重要的地位。对于肝癌热消融后复发机制的研究主要是集中在 EMT、血管生成、自噬激活及肿瘤微环境改变等方面。多数研究是在细胞层面,部分是动物实验。对于体外建立肿瘤不全消融模型,多数是采用水浴加热肿瘤细胞,这种方式是否能完全模拟肿瘤所处的环境,有学者提出质疑^[52],并且不同实验的水浴时间与温度也不全相同,缺乏统一标准。而且肿瘤的不同复发时间是否其参与的机制也不同,这需进一步的研究。但现有的研究结果从多个层面探索了肝癌消融后复发的可能机制,未来希望能进一步完善细胞及动物模型,深入揭示其潜在的机制,为临床转化提供理论基础。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Zhou M, Wang H, Zeng X, *et al.* Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(10204):1145-1158.
- [2] Li XY, Huang L, Leng XS. Analysis of prognostic factors of more/equal to 10 years of survival for liver cancer patients after liver transplantation[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(12):2465-2474.
- [3] Mohkam K, Dumont PN, Manichon AF, *et al.* No-touch multibipolar radiofrequency ablation vs. surgical resection for solitary hepatocellular carcinoma ranging from 2 to 5 cm [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(6):1172-1180.
- [4] Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, *et al.* AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1):358-380.
- [5] Cha D, Song K, Kang T, *et al.* Small masses (≤ 3 cm) diagnosed as hepatocellular carcinoma on pre-treatment imaging: Comparison of therapeutic outcomes between hepatic resection and radiofrequency ablation [J]. *Bri J Radiol*, 2020, 93(1105):20190719.
- [6] Lee H, Lee J, Yoon J, *et al.* A prospective randomized study comparing radiofrequency ablation and hepatic resection for hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2018, 94(2):74-82.
- [7] Zhang L, Ge NL, Chen Y, *et al.* Long-term outcomes and prognostic analysis of radiofrequency ablation for small hepatocellular carcinoma: 10-year follow-up in Chinese patients [J]. *Med Oncol*, 2015, 32(3):77.
- [8] Kim YS, Lim HK, Rhim H, *et al.* Ten-year outcomes of percutaneous radiofrequency ablation as first-line therapy of early hepatocellular carcinoma: Analysis of prognostic factors [J]. *J Hepatol*, 2013, 58(1):89-97.
- [9] Ertugrul i, Karagöz T, Aykan HH. A rare complication of radiofrequency ablation: Skin burn [J]. *Cardiol Young*, 2015, 25(7):1385-1386.
- [10] Bhardwaj N, Strickland AD, Ahmad F, *et al.* A comparative histological evaluation of the ablations produced by microwave, cryotherapy and radiofrequency in the liver [J]. *Pathology*, 2009, 41(2):168-172.
- [11] Lubner MG, Brace CL, Hinshaw JL, *et al.* Microwave tumor ablation: Mechanism of action, clinical results, and devices [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2010, 21(8 Suppl):S192-203.
- [12] Izzo F, Granata V, Grassi R, *et al.* Radiofrequency ablation and microwave ablation in liver tumors: An update [J]. *Oncologist*, 2019, 24(10):e990-e1005.
- [13] Cranwell WC, Sinclair R. Optimising cryosurgery technique [J]. *Aust Fam Physician*, 2017, 46(5):270-274.
- [14] Subiela JD, Mercadé A, Balañá J, *et al.* Ultrasound-guided cryo-

- therapy of small renal masses: Systematic review[J]. Arch Esp Urol, 2019, 72(8):750-758.
- [15] Shiina S, Sato K, Tateishi R, *et al.* Percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma: Comparison of various ablation techniques and surgery[J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2018, 2018:4756147.
- [16] Chen Y, Moser MAJ, Luo Y, *et al.* Chemical enhancement of irreversible electroporation: A review and future suggestions[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019, 19(26):834-848.
- [17] Seror O. Ablative therapies: Advantages and disadvantages of radiofrequency, cryotherapy, microwave and electroporation methods, or how to choose the right method for an individual patient? [J]. Diagn Interv Imaging, 2015, 96(6):617-624.
- [18] Niessen C, Thumann S, Beyer L, *et al.* Percutaneous irreversible electroporation: Long-term survival analysis of 71 patients with inoperable malignant hepatic tumors[J]. Sci Rep, 2017, 46(12):717-727.
- [19] Yoshida S, Kornek M, Ikenaga N, *et al.* Sublethal heat treatment promotes epithelial-mesenchymal transition and enhances the malignant potential of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2013, 58(5):1667-1680.
- [20] Dong S, Kong J, Kong F, *et al.* Insufficient radiofrequency ablation promotes epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells through Akt and ERK signaling pathways[J]. J Transl Med, 2013, 11:273-285.
- [21] Iwahashi S, Shimada M, Utsunomiya T, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition-related genes are linked to aggressive local recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation [J]. Cancer letters, 2016, 375(1):47-50.
- [22] Zhang N, Wang L, Chai Z, *et al.* Incomplete radiofrequency ablation enhances invasiveness and metastasis of residual cancer of hepatocellular carcinoma cell HCCLM3 via activating β -catenin signaling[J]. PloS One, 2014, 9(12):e115949.
- [23] Zhang N, Li H, Qin C, *et al.* Insufficient radiofrequency ablation promotes the metastasis of residual hepatocellular carcinoma cells via upregulating flotillin proteins[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(4):895-907.
- [24] Song WW, Gui AP, Li W, *et al.* Expressions of HIF-1 α and KISS-1 in patients with liver cancer and correlation analysis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(18):4058-4063.
- [25] Kong J, Kong J, Pan B, *et al.* Insufficient radiofrequency ablation promotes angiogenesis of residual hepatocellular carcinoma via HIF-1 α /VEGFA[J]. PloS One, 2012, 7(5):e37266.
- [26] Liu ZN, Dai HL, Jia GZ, *et al.* Insufficient radiofrequency ablation promotes human hepatoma SMMC7721 cell proliferation by stimulating vascular endothelial growth factor overexpression[J]. Oncol Lett, 2015, 9(4):1893-1896.
- [27] Wu L, Fu Z, Zhou S, *et al.* HIF-1 α and HIF-2 α : Siblings in promoting angiogenesis of residual hepatocellular carcinoma after high-intensity focused ultrasound ablation[J]. PloS One, 2014, 9(2):e88913.
- [28] Tan L, Chen SL, Wei GY, *et al.* Sublethal heat treatment of hepatocellular carcinoma promotes intrahepatic metastasis and stemness in a VEGFR1-dependent manner[J]. Cancer Lett, 2019, 460:29-40.
- [29] Yamada S, Utsunomiya T, Morine Y, *et al.* Expressions of hypoxia-inducible factor-1 and epithelial cell adhesion molecule are linked with aggressive local recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation therapy[J]. Ann Surg Oncol, 2014: S436-442.
- [30] Huang F, Wang BR, Wang YG. Role of autophagy in tumorigenesis, metastasis, targeted therapy and drug resistance of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(41):4643-4651.
- [31] Song Z, Liu T, Chen J, *et al.* HIF-1 α -induced RIT1 promotes liver cancer growth and metastasis and its deficiency increases sensitivity to sorafenib[J]. Cancer Lett, 2019, 460:96-107.
- [32] Akkoç Y, Gözüağık D. Autophagy and liver cancer[J]. Turk J Gastroenterol, 2018, 29(3):270-282.
- [33] Cui J, Gong Z, Shen HM. The role of autophagy in liver cancer: Molecular mechanisms and potential therapeutic targets[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1836(1):15-26.
- [34] Chang Y, Yan W, He X, *et al.* miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions[J]. Gastroenterology, 2012, 143(1):177-187, e8.
- [35] Peng WX, Xiong EM, Ge L, *et al.* Egr-1 promotes hypoxia-induced autophagy to enhance chemo-resistance of hepatocellular carcinoma cells[J]. Exp Cell Res, 2016, 340(1):62-70.
- [36] Sun T, Liu H, Ming L. Multiple roles of autophagy in the sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(2):716-727.
- [37] Thompson S, Callstrom M, Jondal D, *et al.* Heat stress-induced PI3K/mTORC2-dependent AKT signaling is a central mediator of hepatocellular carcinoma survival to thermal ablation induced heat stress[J]. PloS One, 2016, 11(9):e0162634.
- [38] Jondal D, Thompson S, Butters K, *et al.* Heat stress and hepatic laser thermal ablation induce hepatocellular carcinoma growth: Role of PI3K/mTOR/AKT signaling[J]. Radiology, 2018, 288(3):730-738.
- [39] Jiang J, Chen S, Li K, *et al.* Targeting autophagy enhances heat stress-induced apoptosis via the ATP-AMPK-mTOR axis for hepatocellular carcinoma[J]. Int J Hyperthermia, 2019, 36(1):499-510.
- [40] Zhao Z, Wu J, Liu X, *et al.* Insufficient radiofrequency ablation promotes proliferation of residual hepatocellular carcinoma via autophagy[J]. Cancer Lett, 2018, 421:73-81.
- [41] Kopp F, Mendell JT. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs[J]. Cell, 2018, 172(3):393-407.
- [42] Lim LJ, Wong SYS, Huang F, *et al.* Roles and regulation of long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2019, 79(20):5131-5139.
- [43] Deng Q, Chen S, Fu C, *et al.* Long noncoding RNA expression profiles in sub-lethal heat-treated hepatoma carcinoma cells[J]. World J Surg Oncol, 2017, 15(1):136.
- [44] 廖云忠, 彭小萍, 方恒等. 长链非编码 RNA 通过上皮-间质转

- 化对射频消融术后肝癌复发的影响[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2020, 12(5): 456-459.
- [45] Baglieri J, Brenner DA, Kisseleva T. The Role of fibrosis and liver-associated fibroblasts in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 334-345.
- [46] Kumar P, Smith T, Raeman R, *et al.* Periostin promotes liver fibrogenesis by activating lysyl oxidase in hepatic stellate cells[J]. J Biol Chem, 2018, 293(33): 12781-12792.
- [47] González-González L, Alonso J. Periostin: A matricellular protein with multiple functions in cancer development and progression[J]. Front Oncol, 2018, 8: 225.
- [48] 温钦, 尚进, 米色日黎, 等. 骨膜蛋白对肝癌细胞侵袭转移和肝癌预后的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(10): 766-771.
- [49] Zhang R, Lin XH, Ma M, *et al.* Periostin involved in the activated hepatic stellate cells-induced progression of residual hepatocellular carcinoma after sublethal heat treatment: Its role and potential for therapeutic inhibition[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 302-314.
- [50] Zhang R, Yao RR, Li JH, *et al.* Activated hepatic stellate cells secrete periostin to induce stem cell-like phenotype of residual hepatocellular carcinoma cells after heat treatment[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 2164-2178.
- [51] Zhang R, Ma M, Dong G, *et al.* Increased matrix stiffness promotes tumor progression of residual hepatocellular carcinoma after insufficient heat treatment[J]. Cancer Sci, 2017, 108(9): 1778-1786.
- [52] Yoshida S, Kornek M, Ikenaga N, *et al.* Sublethal heat treatment promotes epithelial-mesenchymal transition and enhances the malignant potential of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2013, 58(5): 1667-1680.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对统计学处理的有关要求

1. 科研设计: 应交代科研方法的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究); 实验设计(应交代具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等); 临床试验设计(应交代属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横表目(三线表), 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散点图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单线性回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达: 当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非显著性)的差别; 应写明所用统计分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等), 应尽可能给出统计量的具体值(如 $t = 3.454$, $\chi^2 = 4.682$, $F = 6.791$ 等)和具体的 P 值(如 $P = 0.023$); 当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 置信区间。