

肝星状细胞差异表达基因的筛选及生物信息学分析

王丽萍 董进中 王志宇

【摘要】目的 对肝星状细胞(HSC)差异表达基因进行筛选及功能分析,为肝纤维化发病机制相关的分子标志物及药物靶点提供理论基础。**方法** 从高通量基因表达(GEO)数据库中选取 GSE11954,利用 GEO2R 进行生物信息学分析,筛选差异表达基因,并利用 DAVID 对差异表达基因进行基因本体(GO)分析、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析;通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建差异表达基因对应的蛋白质相互作用网络,利用 MCC 算法获取具有高度连接性的关键基因。**结果** 对 HSC 活化组与抑制组数据的差异表达基因进行筛选,共获得 1 176 个差异表达基因,包括上调基因 616 个、下调基因 560 个。差异表达基因主要涉及细胞外基质-受体相互作用、细胞周期、p53 信号通路及黏着斑等信号通路,通过蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络和 Cytoscape 软件筛选出 10 个具有高度连接性的关键基因,包括有丝分裂检查点丝氨酸/苏氨酸激酶 B(BUB1B)、细胞周期蛋白依赖性激酶 1(CDK1)、细胞周期蛋白 A2(CCNA2)、有丝分裂阻滞缺陷 2 样蛋白 1(MAD2L1)、细胞周期蛋白 B2(CCNB2)、有丝分裂检查点丝氨酸/苏氨酸激酶(BUB1)、细胞分裂周期蛋白 8(CDCA8)、Aurora 激酶 B(AURKB)、Ndc80 复合体(NUF2)、驱动蛋白家族成员 2C(KIF2C)。**结论** HSC 差异表达基因可能主要通过 ECM 受体相互作用通路、黏着斑信号通路、细胞周期通路、p53 信号通路来调控肝纤维化的发生、发展。

【关键词】 肝星状细胞 肝纤维化 基因芯片 生物信息学

Bioinformatic analysis of differentially expressed genes in hepatic stellate cells WANG Liping, DONG Jinzhong, WANG Zhiyu.
Department of Infection Diseases, Ningbo First Hospital, Ningbo 315000, China

【Abstract】Objective To screen the differentially expressed genes in hepatic stellate cells, and to analyze their biological functions. **Methods** Gene expression profile GSE11954 was obtained from gene expression omnibus (GEO) database. GEO2R was used to screen differentially expressed genes (DEGs). GO function and KEGG pathway analyses of DEGs were performed using DAVID database, and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed using STRING and Cytoscape software, the MCC algorithm was used to obtain key genes with high connectivity. **Results** A total of 1 176 DEGs were obtained from the screening, including 616 up-regulated and 560 down-regulated genes. Biological processes and pathway enrichment analyses showed that the DEGs were mainly enriched in ECM-receptor-interaction, cell cycle, p53 signaling pathway and focal adhesion signaling pathway. Ten key genes with high connectivity were obtained from analysis with PPI network and Cytoscape software including BUB1B, CDK1, CCNA2, MAD2L1, CCNB2, BUB1, CDCA8, AURKB, NUF2, KIF2C. **Conclusion** The differentially expressed genes of hepatic stellate cells (HSC) may regulate the occurrence and development of liver fibrosis mainly through the ECM receptor interaction pathway, focal adhesion signaling pathway, cell cycle pathway, and p53 signaling pathway.

【Key words】 Hepatic stellate cells Liver fibrosis Gene microarray Bioinformatics

肝纤维化的发病率及死亡率均较高^[1]。肝纤维化的本质是细胞外基质(ECM)合成与降解不平衡而导致 ECM 过度沉积,是肝硬化的前兆,多发生于病毒感染、

酗酒或非酒精性脂肪性肝炎等引起的慢性肝损伤后^[2-3]。肝星状细胞(HSC)是导致肝纤维化的关键细胞,肝脏受损后 HSC 被激活,基质金属蛋白酶(MMP)/MMP 组织抑制剂(TIMP)表达失衡,从而抑制 ECM 降解,而过多的 ECM 会破坏肝细胞结构,肝纤维化持续进展最终导致肝硬化或肝癌。及时、有效的治疗可以逆转肝纤维化的进展,但是目前缺少有效的治疗方法。因此,了解肝纤维化的发生、发展机制并开发有效的抗纤维化制剂至关重要^[4-5]。随着分子生物学的快速发展,高通量基因芯片技

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2020.42.12.2020-641

基金项目:宁波市自然科学基金(2017A610156)

作者单位:315000 宁波市第一医院感染内科(王丽萍),重症医学科(董进中、王志宇)

通信作者:王志宇, E-mail:294534884@qq.com

术已用于一些疾病基因表达谱的分析和疾病特异分子标志物的发现,如何从中挖掘与疾病发病机制有关的信息是当今研究的一个热点^[6]。本研究通过高通量基因表达(gene expression omnibus, GEO)数据库对 HSC 相关表达基因进行筛选,对差异表达基因进行生物学功能和信号通路分析,并探讨差异表达基因的相互作用规律,了解肝纤维化发生的机制、标志物的筛选及药物靶点选择,为预防肝硬化和肝癌的发生、发展提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 在 GEO Datasets 搜索框中输入检索词“liver fibrosis”,获得 Krizhanovsky 等提交的 GSE11954 芯片数据。该研究采用商业化的离子通道芯片平台 GPL570: [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array。该芯片数据包括 2 例 HSC 活化组、2 例 HSC 抑制组的基因表达阵列数据。

1.2 差异表达基因筛选 采用 GEO2R 分析 GEO 数据库中的数据,统计方法采用两独立样本 *t* 检验。差异表达基因需同时满足以下筛选条件: 差异倍数(fold change, FC)的对数值(logFC) > 1 或 < -1 和 *P* < 0.05。

1.3 差异表达基因的生物信息学分析 将上述两组样本筛选出的差异表达基因上传至 DAVID 进行基因本体(gene ontology, GO)分析[包括分子功能(MF)、生物学过程(BP)和细胞组分(CC)3 个部分]、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路的富集分析^[7-8]。

1.4 蛋白质互作网络构建 将上述两组样本筛选出的差异表达基因上传至 String10.0 在线分析工具([http://](http://string-db.org)

string-db.org),通过对 HSC 差异表达基因进行蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析,并利用 Cytoscape 软件(version 3.4.0)构建 PPI 网络,通过 MCC 算法获取连接度最高的前 10 个基因作为关键基因。

2 结果

2.1 差异表达基因筛选结果 通过对 HSC 活化组与 HSC 抑制组数据的差异表达基因筛选,共获得 1 176 个差异表达基因,其中上调基因 616 个,下调基因 560 个,见图 1(插页)。

2.2 差异表达基因 GO 分析 将上述两组样本筛选出的差异表达基因上传至 DAVID 并进行 GO 分析。上调基因主要涉及细胞周期、细胞增殖、结合蛋白及细胞骨架等细胞增殖调控及 ECM 等生物学过程;下调基因主要涉及体外刺激调控反应、炎症反应、细胞增殖调控及 ECM 等生物学过程,前 5 位的功能富集类别见表 1~2。

2.3 差异表达基因通路富集分析 差异表达基因主要涉及 ECM 受体相互作用通路、黏着斑信号通路、致心律失常性右室心肌病通路、细胞周期通路及 p53 信号通路等,差异表达基因显著富集通路见表 3。

2.4 差异表达基因 PPI 分析结果 采用 STRING10.0、Cytoscape 软件分析上述差异表达基因,通过 MCC 算法列出前 10 个蛋白互作网络的中心节点(即核心基因):有丝分裂检查点丝氨酸/苏氨酸激酶 B(mitotic checkpoint serine/threonine kinase B, BUB1B)、细胞周期蛋白依赖性激酶 1(cell dependent kinase 1, CDK1)、细胞周期蛋白 A2(cyclin A2, CCNA2)、有丝分裂阻滞缺陷 2 样蛋白 1

表 1 HSC 上调差异表达基因的分子生物学功能

类型	生物学功能	<i>n</i>	百分比(%)	<i>P</i> 值
GOTERM_BP_FAT	GO:0022403~ 细胞周期阶段	62	1.114707	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0022402~ 细胞周期过程	71	1.276519	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0007049~ 细胞周期	84	1.510248	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0000279~ 细胞周期 M 期	53	0.952895	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0000280~ 核分裂	43	0.773103	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0005819~ 纺锤体	30	0.539374	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0005856~ 细胞骨架	92	1.654081	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0000793~ 染色体浓缩	23	0.413520	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0070161~ 锚定连接	26	0.467458	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0043232~ 细胞内非膜细胞器	134	2.409205	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0008092~ 细胞骨架结合蛋白	50	0.898957	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0003779~ 肌动蛋白结合蛋白	38	0.683207	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0032559~ 腺嘌呤核苷酸结合蛋白	77	1.384394	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0005524~ ATP 结合蛋白	76	1.366415	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0019899~ 结合酶	36	0.647249	<0.05

表 2 HSC 下调差异表达基因的分子生物学功能

类型	生物学功能	n	百分比(%)	P 值
GOTERM_BP_FAT	GO:0009611~ 创伤反应	50	0.937636	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0032101~ 体外刺激调节反应	38	0.370693	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0032103~ 体外刺激正调控	77	0.239860	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0006954~ 炎症反应	76	0.545137	<0.05
GOTERM_BP_FAT	GO:0042127~ 细胞增殖调控	36	0.959442	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0005615~ 细胞间隙	49	1.068469	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0044421~ 细胞外区域部分	56	1.221108	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0000786~ 核小体	9	0.196249	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0031988~ 膜囊泡	30	0.654165	<0.05
GOTERM_CC_FAT	GO:0031982~ 囊泡	33	0.719581	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0042379~ 趋化因子受体结合	7	0.152638	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0005125~ 细胞活性因子	14	0.305277	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0048037~ 辅因子	16	0.348888	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0050840~ ECM	5	0.109027	<0.05
GOTERM_MF_FAT	GO:0016298~ 脂肪酶	9	0.196249	<0.05

表 3 HSC 相关差异表达基因的 KEGG 通路分析

信号通路	数目	P 值	基因
hsa04512:ECM- 受体相互作用	20	<0.05	IBSP, COL4A2, COL4A1, ITGA11, HSPG2, ITGA2, ITGB5, ITGA4, COL5A1, COL4A6, SDC2, HMMR, ITGA6, CD44, ITGB8, COL1A1, THBS1, THBS2, FN1, SPP1
hsa04510:黏着斑	28	<0.05	IBSP, ITGA11, ITGB5, IGFIR, RAC2, ITGB8, PPP1R12A, THBS1, PIK3R3, THBS2, AKT3, FN1, SPP1, SHC4, COL4A2, COL4A1, ACTN1, ITGA2, ITGA4, FLNB, COL5A1, COL4A6, FLNA, CCND1, ITGA6, COL1A1, MYLK, PARVA
hsa05412:致心律失常性右室心肌病	14	<0.05	SLC8A1, ITGA11, ITGA2, ACTN1, ITGB5, ITGA4, CDH2, TCF7L1, ATP2A2, ITGA6, PKP2, ITGB8, DMD, SGCD
hsa04110:细胞周期	19	<0.05	CDK1, SKP2, TTK, CDC20, SMAD2, ATR, PTTG1, TGFβ2, CCNB1, CCND1, CDKN2A, CCNB2, MAD2L1, CDKN2C, BUB1, BUB1B, MDM2, GADD45B, CCNA2
hsa04115:p53 信号通路	13	<0.05	STEAP3, CDK1, ATR, GTSE1, CCNB1, CCND1, CCNB2, CDKN2A, RRM2, SERPINE1, MDM2, THBS1, GADD45B

(mitotic arrest deficient 2 like 1, MAD2L1)、细胞周期蛋白 B2(cyclin B2, CCNB2)、有丝分裂检查点丝氨酸/苏氨酸激酶(mitotic checkpoint serine/threonine kinase, BUB1)、细胞分裂周期蛋白 8(cell division cycle associated 8, CDCA8)、Aurora 激酶 B(aurora kinase B, AURKB)、Ndc80 复合体(component of NDC80 kinetochore complex, NUF2)、驱动蛋白家族成员 2C(kinesin family member 2C, KIF2C), 见图 2。

3 讨论

随着生物信息学快速发展,高通量基因芯片及转录组测序技术已广泛用于人类疾病基因表达谱分析、基因克隆和寻找疾病特异分子标志物,从分子水平探索人类疾病治疗新靶点,对疾病诊断标志物的研究和新药研发具有重要意义。目前,虽然肝纤维化相关研究不断开展中,但对分子机制的探讨仍然有限。故本文旨在进一步

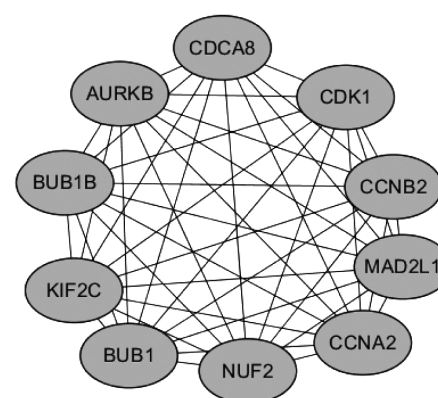


图 2 前 10 个蛋白互作网络的中心节点

深入探讨肝纤维化发生、发展的分子机制,为筛选肝纤维化的关键基因和药物治疗靶点提供一定的理论基础。笔者主要通过利用生物信息学技术对 GSE11954 芯片数据进行分析,共筛选出 1 176 个差异表达基因,其中

上调基因 616 个、下调基因 560 个,并通过 DAVID、STRING 进行富集分析、通路分析和蛋白质相互作用网络分析,结果显示上调基因主要涉及细胞周期、细胞增殖、结合蛋白及细胞骨架等细胞增殖调控及 ECM 等生物学过程;下调基因主要涉及体外刺激调控反应、炎症反应、细胞增殖调控及 ECM 等生物学过程。在 KEGG 信号通路富集分析中,笔者发现差异表达基因主要涉及 ECM 受体相互作用通路、黏着斑信号通路、致心律失常性右室心肌病、细胞周期、p53 信号通路等信号通路。

目前 ECM-受体相互作用信号通路及黏着斑信号通路已被证实参与肝纤维化的发生、发展过程^[9-10]。Kumar 等^[11]研究也发现,通过抑制活化 HSC 的黏附复合体可以逆转肝纤维化的进展。因此,探索对 HSC 增殖和 ECM 过量产生的分子机制,有望进一步找到治疗肝纤维化的新靶点。此外,细胞周期信号通路及 p53 信号通路也与 HSC 增殖有关。Kim 等^[12]发现在二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化模型中,分离 HSC 后发现实验组细胞周期蛋白(cyclin A、cyclin B、cyclin D1)和 HSC 的活性较对照组明显增加,表明这些蛋白可能在二甲基亚硝胺处理后促进了 HSC 的活性增殖。Nishizawa 等^[13]发现重组人胰岛素样生长因子-I 可诱导 HSC 衰老、失活,从而改善肝纤维化;但在缺乏衰老调节因子 p53 的小鼠肝纤维化模型中,重组人胰岛素样生长因子-I 则无法诱导 HSC 衰老。因此,调节因子 p53 与 HSC 的增殖密切相关。

除参与上述信号通路外,本研究从 String 数据库和 Cytoscape 软件分析结果显示 10 个蛋白互作网络的中心节点,通过文献挖掘发现上述基因与疾病纤维化的发生、发展密切相关。Konishi 等^[14]研究发现,CCNA2 在特发性肺纤维化组织中高表达,而内皮细胞大量凋亡,推测 CCNA2 可能通过介导肺内皮细胞凋亡参与特发性肺纤维化的发生、发展。Sai 等^[15]发现抑制 CDK1 后,可抑制心脏成纤维细胞的分化和粘连(FA)复合物的形成,从而改善心肌纤维化。Madejon 等^[16]发现敲除 AURKB 基因后,可增加丙型肝炎病毒的感染;当 AURKB 基因过表达时,丙型肝炎病毒感染性降低,这证实 AURKB 基因可能通过调节炎症通路影响丙型肝炎病毒的活性。由此推测,上述基因可能与肝纤维化的发生、发展亦密切相关,可为肝纤维化的治疗提供新方向。

综上所述,本研究通过采用生物信息学方法筛选 HSC 活化组与抑制组差异表达基因,同时探索其分子生物学功能,结果发现 HSC 差异表达基因可能主要通过 ECM 受体相互作用通路、黏着斑信号通路、细胞

周期通路、p53 信号通路来调控肝纤维化的发生、发展,但仍需通过体内外实验和临床研究作进一步分子验证。

4 参考文献

- [1] Sanchez-Valle V, Chavez-Tapia NC, Uribe M, et al. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19:4850-4860.DOI:10.2174/092986712803341520.
- [2] Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2015, 39(Suppl 1):S60-63.DOI:10.1016/j.clinre.2015.06.015.
- [3] Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 209-218.DOI:10.1172/JCI24282.
- [4] Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis[J]. *Compr Physiol*, 2013, 3:1473-1492.DOI:10.1002/cphy.c120035.
- [5] Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury[J]. *Semin Liver Dis*, 2001, 21:427-436.DOI:10.1055/s-2001-17557.
- [6] Turner FS, Clutterbuck DR, Semple CA. POCUS: mining genomic sequence annotation to predict disease genes[J]. *Genome Biol*, 2003, 4:R75.DOI:10.1186/gb-2003-4-11-r75.
- [7] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. *Nat Genet*, 2000, 25:25-29.DOI:10.1038/75556.
- [8] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009, 4:44-57.DOI:10.1038/nprot.2008.211.
- [9] Britton RS, Bacon BR. Intracellular signaling pathways in stellate cell activation[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1999, 23:922-925.DOI:10.1111/j.1530-0277.1999.tb04204.x.
- [10] Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22 (Suppl 1):S79-84.DOI:10.1111/j.1440-1746.2006.04659.x.
- [11] Kumar P, Smith T, Rahman K, et al. Adiponectin modulates focal adhesion disassembly in activated hepatic stellate cells: implication for reversing hepatic fibrosis[J]. *FASEB J*, 2014, 28: 5172-5183.DOI:10.1096/fj.14-253229.
- [12] Kim MR, Kim HS, Lee MS, et al. Cell cycle protein profile of the hepatic stellate cells(HSCs)in dimethylnitrosamine-induced rat hepatic fibrosis[J]. *Exp Mol Med*, 2005, 37:335-342.DOI:10.1038/emmm.2005.43.
- [13] Nishizawa H, Iguchi G, Fukuoka H, et al. IGF-I induces senescence of hepatic stellate cells and limits fibrosis in a p53-dependent manner[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:34605.DOI:10.1038/srep34605.
- [14] Konishi K, Gibson KF, Lindell KO, et al. Gene expression profiles of acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180:167-175.DOI:10.1164/rccm.200810-1596OC.

- [15] Sai C, Yunhan J, Zhao J, et al. Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1) Activates Cardiac Fibroblasts via Directly Phosphorylating Paxillin at Ser244[J]. *Int Heart J*, 2019, 60:374–383. DOI: 10.1536/ihj.18–073.
- [16] Madejon A, Sheldon J, Francisco-Recuero I, et al. Hepatitis C

virus-mediated Aurora B kinase inhibition modulates inflammatory pathway and viral infectivity[J]. *J Hepatol*, 2015, 63:312–319. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.036.

(收稿日期: 2020-06-09)

(本文编辑: 陈丹)

(上接第 1258 页)

且可能与化疗药物本身引起的胃肠道反应有关。(4)出现骨髓抑制的患者比例较低, 可能是因为 CSM 极大减少了化疗药物进入循环系统, 从而减少了骨髓抑制等严重不良反应的发生。

综上所述, CSM DEB-TACE 治疗 HCC 患者具有高的治疗应答、良好的生存获益及较低的不良反应率, 此外年龄、双叶肿瘤、静脉侵犯、BCLC C 期和传统 TACE 史是患者预后较差的独立预测因素。

4 参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2015, 65(2):87–108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] Recio-boiles A, Babiker HM. Cancer, Liver[M]. Stat Pearls. Treasure Island (FL), 2018.
- [3] Lee YK, Jung KS, Kim DY, et al. Conventional versus drug-eluting beads chemoembolization for hepatocellular carcinoma: Emphasis on the impact of tumor size[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2017, 32(2):487–496. DOI: 10.1111/jgh.13501.
- [4] 官泳松, 贺庆, 靳勇, 等. 伽俐生聚乙烯醇栓塞微球的研制[J]. *中华肝脏病杂志*, 2016, 24(7):549–551. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2016.07.016.
- [5] Song MJ, Chun HJ, Song DS, et al. Comparative study between doxorubicin-eluting beads and conventional transarterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Hepatology*, 2012, 57(6):1244–1250. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.017.
- [6] Richter G, Radeleff B, Stroszczyński C, et al. Safety and Feasibility of Chemoembolization with Doxorubicin-Loaded Small Calibrated Microspheres in Patients with Hepatocellular Carcinoma: Results of the MIRACLE I Prospective Multicenter Study[J]. *Car-*

diovascular and Interventional Radiology, 2018, 41(4):587–593. DOI: 10.1007/s00270-017-1839-2.

- [7] Lewis AL. DC Bead: a major development in the toolbox for the interventional oncologist[J]. *Expert Review of Medical Devices*, 2009, 6(4):389–400. DOI: 10.1586/erd.09.20.
- [8] Liu Y, Huang W, He M, et al. Efficacy and safety of CalliSpheres (R) drug-eluting beads transarterial chemoembolization in Barcelona Clinic Liver Cancer stage C patients[J]. *Oncology Research*, 2018, 27(5):565–573. DOI: 10.3727/096504018X15313896322888.
- [9] 陈刚, 张鼎, 应亚章, 等. 国产载药微球经动脉化疗栓塞治疗不可切除原发性肝癌的临床研究[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 46(1):44–51. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9292.2017.02.07.
- [10] Zeng JY, Piao XH, Zou ZY, et al. Cryoablation with drug-loaded bead embolization in the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: safety and efficacy analysis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(7):7557–7566. DOI: 10.18632/oncotarget.24029.
- [11] Vesselle G, Quirier-leleu C, Velasco S, et al. Predictive factors for complete response of chemoembolization with drug-eluting beads (DEB-TACE) for hepatocellular carcinoma[J]. *European Radiology*, 2016, 26(6):1640–1648. DOI: 10.1007/s00330-015-3982-y.
- [12] Sellers MT, Huggins S, Kegley K, et al. Multivariate analysis of prognostic factors for survival following doxorubicin-eluting bead transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 2013, 24(5):647–654. DOI: 10.1016/j.jvir.2012.12.003.
- [13] Kloeckner R, Weinmann A, Prinz F, et al. Conventional transarterial chemoembolization versus drug-eluting bead transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:465. DOI: 1186/s12885-015-1480-x.

(收稿日期: 2019-04-24)

(本文编辑: 严玮雯)