

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.17.007

活化的 AMPK 对肝硬化-肝癌恶性转化的预测作用*

陈 曦¹, 龚建平², 杨小李^{3,4△}

1. 重庆市武隆区人民医院外一科, 重庆 408500; 2. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, 重庆 400010; 3. 西南医科大学附属医院肝胆外科, 四川泸州 646000; 4. 西南医科大学附属医院四川省院士工作站, 四川泸州 646000

摘要:目的 探讨活化的 AMP 依赖的蛋白激酶(p-AMPK)能否成为预测肝硬化-肝癌恶性转化的分子标志物。方法 收集重庆医科大学附属第二医院在 Hassab 手术中所取的肝硬化标本, 制作组织芯片后采用免疫组化法检测 p-AMPK 表达, 采用 Fine and Gray 模型分析 p-AMPK 与肝硬化-肝癌恶性转化的关系, 并利用四川大学华西医院单独制作的包含 131 份肝硬化患者标本的组织芯片做进一步验证。结果 肝硬化患者 Hassab 术后 1、3、5、10 年, p-AMPK 低表达组(94 例)与 p-AMPK 高表达组(332 例)肝癌发生率分别为 3.1%、9.6%、13.8%、30.6%和 0.0%、0.3%、0.3%、8.0%。Fine and Gray 模型分析显示, p-AMPK 低表达组具有更高的肝癌发生率($HR=6.25, 95\%CI: 3.36\sim 11.60, P<0.001$)。多因素回归分析显示, p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的危险因素($HR=6.00, 95\%CI: 3.24\sim 11.10, P<0.001$)。研究结果在四川大学华西医院的独立队列中得到了进一步验证。结论 p-AMPK 可作为预测肝硬化-肝癌恶性转化的潜在分子标志物。

关键词: AMP 依赖的蛋白激酶; 肝癌发生; 肝硬化

中图法分类号: R735.7

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)17-2449-06

The predictive effect of activated AMPK on malignant transformation of liver cirrhosis*

CHEN Xi¹, GONG Jianping², YANG Xiaoli^{3,4△}

1. Department of Surgery, Wulong District People's Hospital, Chongqing 408500, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 4. Academician (Expert) Workstation of Sichuan Province, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China

Abstract: **Objective** To explore whether phosphorylated AMP-activated protein kinase (p-AMPK) can predict malignant transformation of liver cirrhosis. **Methods** A total of 426 liver biopsy specimens from the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University during Hassab operation were collected. Tissue microarray was fabricated and the expression of p-AMPK was detected by immunohistochemistry. Fine and Gray model was used to analyze the predictive value of p-AMPK for malignant transformation of liver cirrhosis. Tissue microarray including 131 specimens from patients with liver cirrhosis in West China Hospital of Sichuan University was used to further verify the predictive value of p-AMPK. **Results** Hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence probability for patients with low expression of p-AMPK (94 cases) and high expression of p-AMPK (332 cases) at 1, 3, 5, 10 years after Hassab procedure were 3.1%, 9.6%, 13.8%, 30.6% and 0.0%, 0.3%, 0.3%, 8% respectively. The results of Fine and Gray model analysis showed that the low expression p-AMPK group had a higher incidence of HCC ($HR=6.25, 95\%CI: 3.36-11.60, P<0.001$). Multivariate regression analysis showed that low expression of p-AMPK was an independent risk factor for malignant transformation of liver cirrhosis ($HR=6.00, 95\%CI: 3.24-11.10, P<0.001$). The independent cohort of West China Hospital (Sichuan University) validated the results. **Conclusion** p-AMPK could be a potential molecular biomarker to predict the malignant transformation of liver cirrhosis.

Key words: phosphorylated AMP-activated protein kinase; hepatocarcinogenesis; liver cirrhosis

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81802778)。

作者简介: 陈曦, 男, 副主任医师, 主要从事肝脏疾病临床与基础研究。△ 通信作者, E-mail: 344920646@qq.com。

肝硬化是肝细胞癌(简称肝癌)发生的高危因素。在我国,80%以上的肝癌患者合并肝硬化^[1]。因此,寻找分子标志物预测肝硬化向肝癌的恶性转化,采用不同的随访策略,是改善肝硬化预后的重要方法。研究表明代谢异常是癌症发生的关键驱动因子^[2],许多糖酵解的节点分子,如 M2 型丙酮酸激酶(PKM2)、低氧诱导因子-1(HIF1 α)及 LncRNA IDH1-AS1 等,均被证实发生在癌症的发生中发挥重要作用^[3-4]。AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)是细胞能量状态的“传感器”。已有研究显示 AMPK 低活化与肝癌预后不良有关^[5],AMPK 的经典激活剂二甲双胍可抑制肝癌发生^[6],因此,AMPK 的活化异常可能具有预测肝硬化-肝癌恶性转化的作用。在本研究中,笔者检测肝硬化组织标本中活化的 AMPK(p-AMPK)的表达,分析其与肝癌发生的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 1999 年 1 月至 2011 年 6 月因肝硬化门静脉高压症在重庆医科大学第二附属医院行 Hassab 联合肝活检术的患者。排除无法获取详尽的临床资料 215 例,组织标本不足以制作组织芯片 147 例,未规律随访 158 例。最终制作完成的组织芯片来自 426 例肝硬化患者(以下简称重医队列)。本研究方案经由重庆医科大学附属第二医院伦理委员会审批(批号:2016-102),所纳入患者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 试剂:SP 免疫组化试剂盒(北京中杉金桥:SP9001),p-AMPK(Thr172)抗体(CST:8208)。

1.3 方法 随访时间间隔为 3~6 个月,随访常规项目包括血常规、肝肾功能、甲胎蛋白(AFP)和腹部彩超,如果有可疑肝癌病灶,则进一步行增强 CT、MRI 或肝穿刺活检。笔者将 Hassab 术后仍有每周大于 1 次的饮酒定义为有饮酒史,将手术后发生过上消化道出血定义为有上消化道出血史。2 型糖尿病的诊断参照国际通用 WHO(1999 年)标准。随访终点为发现肝癌或至 2016 年 12 月,中位随访时间 87.0 个月。

采用四川大学华西医院石毓君教授赠予的组织芯片进一步验证本研究结果,该组织芯片包含 1995—2009 年在华西医院取得的 152 份乙型肝炎后肝硬化标本,最终纳入 131 份采用 Hassab 手术患者的标本作为验证队列(以下简称华西队列)。华西医院与重庆医科大学附属第二医院的随访时间间隔及随访项目相同,随访终点为发现肝癌或至 2014 年 5 月,中位随访时间 84.5 个月。标本收集时已通过华西医院伦理委员会审查。

1.4 免疫组化结果判读 (1)染色深度:0 分为无染色,1 分为淡黄色,2 分为黄或深黄色,3 分为褐或棕褐

色;(2)阳性细胞数:0 分为阳性细胞数 $\leq 5\%$,1 分为阳性细胞数 $> 5\% \sim 25\%$,2 分为阳性细胞数 $> 25\% \sim 50\%$,3 分为阳性细胞数 $> 50\% \sim 75\%$,4 分为阳性细胞数 $> 75\%$;染色深度与阳性细胞数得分相加为总得分,总得分 0~1 为阴性,2~3 为弱阳性,4~8 为中等阳性,9~12 为强阳性,将阴性与弱阳性归为 p-AMPK 低表达组;中等阳性与强阳性归为 p-AMPK 高表达组。两位经验丰富的病理科医生采用双盲法观察,若有争议,最终协商一致的结果为最终结果。阳性对照为已知 p-AMPK 高表达的肝组织切片,阴性对照为不加一抗的磷酸缓冲盐溶液。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 和 R3.4.0 进行统计分析。主要结局指标为 Hassab 手术后肝癌发生。计量资料若符合正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,若不符合正态分布,采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,计数资料采用例数或百分率表示。计量资料比较采用 Student's t 检验或 Mann-Whitney U 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验。采用 Fine and Gray 模型分析模型比较肝硬化-肝癌恶性转化的差异,采用“后退法”行多变量回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝硬化组织中 p-AMPK 的表达与基本临床资料的关系 p-AMPK 阳性染色定位于细胞质,见图 1。332 例(77.9%)为 p-AMPK 高表达,94 例(22.1%)为 p-AMPK 低表达。p-AMPK 低表达组有上消化道出血史、Child-Pugh B 或 C 级及糖尿病的患者所占比例均高于 p-AMPK 高表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同 p-AMPK 表达水平的患者年龄、性别、病因、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 γ 谷氨酰转移酶(GGT)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、AFP、腹腔积液、饮酒史和肝性脑病差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

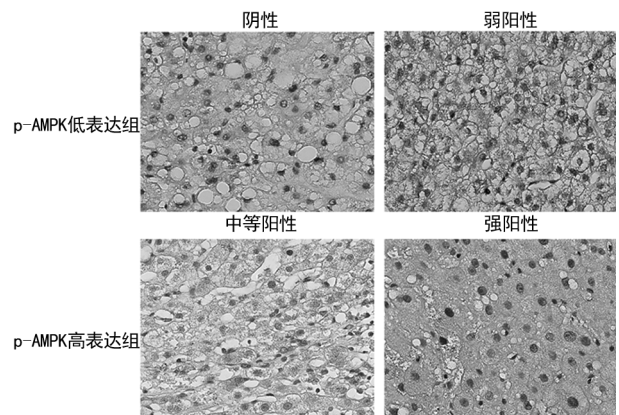


图 1 p-AMPK 在肝硬化组织中表达的典型免疫组化图

2.2 p-AMPK 的表达与肝硬化-肝癌恶性转化的相关性分析 随访结束后,非肝癌致死 61 例(14.3%),发生肝硬化-肝癌恶性转化 41 例(9.6%)。Hassab 术

后 1、3、5、10 年, p-AMPK 低表达与 p-AMPK 高表达患者肝癌发生率分别为 3.1%、9.6%、13.8%、30.6% 和 0.0%、0.3%、0.3%、8.0%。Fine and Gray 模型分析显示, p-AMPK 低表达组具有更高的肝癌发生率, 见图 2。单因素回归分析显示, p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的危险因素 ($HR = 6.25$, $95\%CI: 3.36 \sim 11.60$, $P < 0.001$)。多因素回归分析显示, p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的独立危险因素 ($HR = 6.00$, $95\%CI: 3.24 \sim 11.10$, $P < 0.001$)。以 Child-Pugh 分级、糖尿病和饮酒史进行分层研究, 同样显示 p-AMPK 的表达水平与肝硬化-肝癌恶性转化率呈负相关, 见图 3。

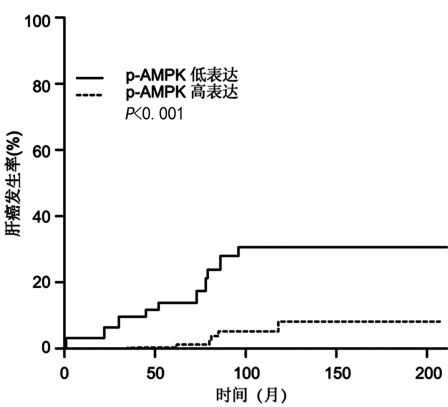
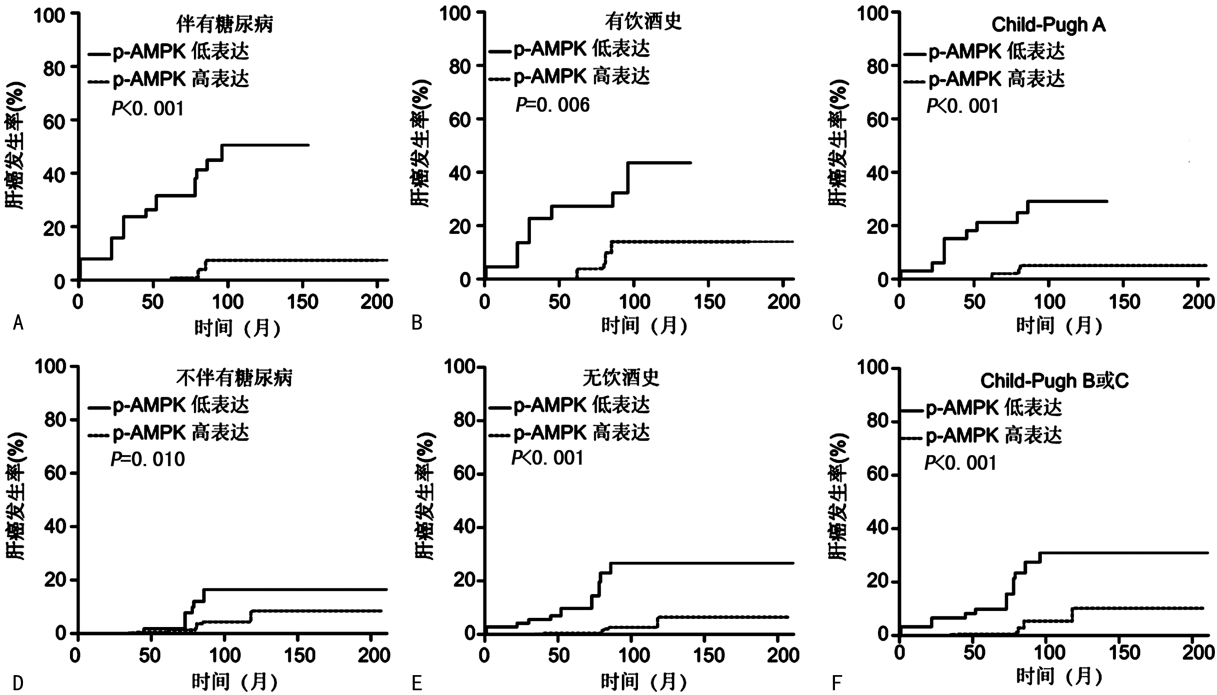


图 2 重医队列 p-AMPK 的表达对肝癌发生的影响



注: A、D 为以糖尿病分层时肝癌发生情况; B、E 为以饮酒史分层时肝癌发生情况; C、F 为以 Child-Pugh 分级分层时肝癌发生情况。

图 3 重医队列 p-AMPK 对肝癌发生的影响亚组分析

表 1 不同 p-AMPK 表达水平患者临床资料的比较(重医队列)

	p-AMPK 低表达($n=94$)	p-AMPK 高表达($n=332$)	$t/Z/\chi^2$	P
性别[男, $n(\%)$]	69(73.4)	245(73.8)	0.006	0.939
年龄[岁, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	46.5(35.0~57.3)	45.0(36.0~56.0)	-0.300	0.764
病因[$n(\%)$]			8.368	0.066
乙型肝炎病毒(HBV)	73(77.7)	292(88.0)		
丙型肝炎病毒(HCV)	3(3.2)	9(2.7)		
非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)	7(7.4)	14(4.2)		
饮酒史	4(4.3)	9(2.7)		
不明确	7(7.4)	8(2.4)		
Child-Pugh 分级[$n(\%)$]			7.460	0.024
A	33(35.1)	142(42.8)		
B	48(51.1)	171(51.5)		
C	13(13.8)	19(5.7)		

续表 1 不同 p-AMPK 表达水平患者临床资料的比较(重医队列)

	p-AMPK 低表达	p-AMPK 高表达	$t/Z/\chi^2$	P
ALT[IU/L, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	44.0(28.8~66.3)	40.0(26.0~66.0)	-0.737	0.461
AST[IU/L, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	53.5(39.8~77.5)	50.0(36.0~76.0)	-0.758	0.448
GGT[IU/L, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	47.5(29.8~101.5)	48.0(27.0~89.0)	-0.576	0.565
AFP[$\mu\text{g/L}$, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	7.8(3.4~38.5)	5.3(2.8~29.6)	-1.166	0.243
TBIL[$\mu\text{mol/L}$, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	26.9(18.2~42.7)	25.7(18.0~35.8)	-0.998	0.318
ALB($\bar{x}\pm s$,g/dL)	3.7 $\pm$ 0.7	3.7 $\pm$ 0.6	0.231	0.817
腹腔积液[$n(\%)$]	22(23.4)	72(21.7)	0.126	0.723
肝性脑病[$n(\%)$]	1(1.1)	3(0.9)	—	1.000*
糖尿病[$n(\%)$]	38(40.4)	98(29.5)	4.010	0.045
饮酒史[$n(\%)$]	22(23.4)	76(22.9)	0.011	0.917
上消化道出血史[$n(\%)$]	59(62.8)	113(34.0)	25.118	<0.001

注：* 为 Fisher 确切概率法检验；—表示无数据。

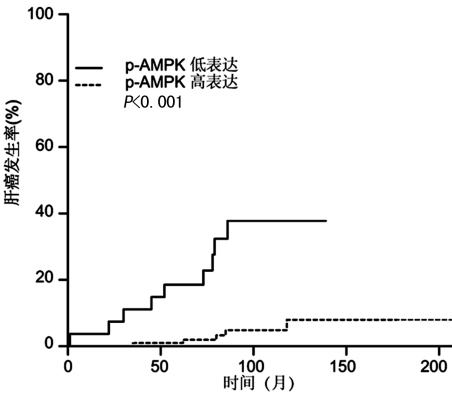


图 4 华西队列 p-AMPK 的表达对肝癌发生的影响

2.3 华西队列检验 p-AMPK 与肝硬化-肝癌恶性转化发生的相关性 华西队列中 ALT 水平低于重医队列,差异有统计学意义($P<0.05$);华西队列中肝硬化的病因均为 HBV 感染,男性和 Child-Pugh B 或 C 级

患者的比例低于重医队列,差异均有统计学意义($P<0.05$)。其余已知变量在两个队列之间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。华西队列中,p-AMPK 低表达患者与重医队列相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。p-AMPK 低表达组 ALT 和 AST 水平高于 p-AMPK 高表达组,差异均有统计学意义($P<0.05$),其余已知变量在两组之间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。Fine and Gray 模型分析结果与重医队列相似,p-AMPK 低表达组具有更高的肝癌发生率,见图 4。单因素回归分析显示,p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的危险因素($HR=8.49$, $95\%CI:2.93\sim24.6$, $P<0.001$)。多因素回归分析显示,p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的独立危险因素($HR=13.40$, $95\%CI:5.14\sim34.90$, $P<0.001$)。

表 2 华西队列与重医队列患者基本信息比较

变量	重医队列($n=426$)	华西队列($n=131$)	$t/Z/\chi^2$	P
性别[男, $n(\%)$]	314(73.7)	82(62.6)	6.022	0.014
年龄[岁, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	45.0(36.0~53.0)	47.0(36.0~56.3)	1.218	0.223
病因[$n(\%)$]			21.065	<0.001
HBV	365(85.7)	131(100.0)		
HCV	12(2.8)			
NAFLD	21(4.9)			
饮酒史	13(3.1)			
不明确	15(3.5)			
Child-Pugh 分级[$n(\%)$]			6.046	0.049
A	175(41.1)	67(51.1)		
B	219(51.4)	60(45.8)		
C	32(7.5)	4(3.1)		
ALT[IU/L, $M(P_{25}\sim P_{75})$]	41.0(26.5~66.0)	32.5(22.8~64.3)	-2.054	0.040

续表 2 华西队列与重医队列患者基本信息比较

变量	重医队列(<i>n</i> =426)	华西队列(<i>n</i> =131)	<i>t</i> / <i>z</i> / <i>χ</i> ²	<i>P</i>
AST[IU/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	51.0(36.0~76.0)	48.0(30.0~68.0)	−1.943	0.052
GCT[IU/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	48.0(28.0~94.0)	46.0(27.8~111.5)	0.223	0.823
AFP[μg/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	6.0(3.0~31.5)	6.1(3.1~36.4)	−0.010	0.992
TBIL[μmol/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	26.1(18.1~36.5)	23.8(16.9~32.6)	−1.823	0.068
ALB($\bar{x}\pm s$,g/dL)	3.7±0.7	3.7±0.6	−0.589	0.556
腹腔积液[<i>n</i> (%)]	94(22.1)	27(20.6)	0.125	0.724
肝性脑病[<i>n</i> (%)]	4(0.9)	1(0.8)	—	1.000 [*]
糖尿病[<i>n</i> (%)]	136(31.9)	39(29.8)	0.216	0.642
饮酒史[<i>n</i> (%)]	98(23.0)	25(19.1)	0.895	0.344
上消化道出血史[<i>n</i> (%)]	172(40.4)	48(36.6)	0.585	0.444
p-AMPK 表达(低)[<i>n</i> (%)]	94(22.1)	27(20.6)	0.125	0.724

注：* 为 Fisher 确切概率法检验；—表示无数据。

表 3 不同 p-AMPK 表达水平患者临床资料的比较(华西队列)

	p-AMPK 低表达(<i>n</i> =27)	p-AMPK 高表达(<i>n</i> =104)	<i>t</i> / <i>Z</i> / <i>χ</i> ²	<i>P</i>
性别[男, <i>n</i> (%)]	18(66.7)	64(61.5)	0.241	0.624
年龄[岁, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	48.0(39.0~60.0)	47.0(36.0~55.0)	−0.885	0.376
Child-Pugh 分级[<i>n</i> (%)]			0.148	0.929
A	13(48.1)	54(51.9)		
B	13(48.1)	47(45.2)		
C	1(3.7)	3(2.9)		
ALT[IU/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	61.0(30.0~85.0)	30.0(22.0~57.0)	−2.920	0.003
AST[IU/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	65.0(46.0~85.0)	43.0(30.0~62.0)	−2.447	0.014
GCT[IU/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	79.0(30.0~118.0)	41.0(25.0~98.0)	−1.320	0.187
AFP[μg/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	11.0(3.6~39.5)	5.3(3.0~31.0)	−1.021	0.307
TBIL[μmol/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)]	23.3(15.0~36.0)	23.9(17.1~32.3)	−0.109	0.913
ALB($\bar{x}\pm s$,g/dL)	3.8±0.5	3.7±0.6	0.345	0.731
腹腔积液[<i>n</i> (%)]	6(22.2)	21(20.2)	0.054	0.816
肝性脑病[<i>n</i> (%)]	1(3.7)	0(0.0)	—	0.206 [*]
糖尿病[<i>n</i> (%)]	8(29.6)	31(29.8)	0.000	0.986
饮酒史[<i>n</i> (%)]	5(18.5)	20(19.2)	0.007	0.933
上消化道出血史[<i>n</i> (%)]	7(25.9)	41(39.4)	1.682	0.195

注：* 为 Fisher 确切概率法检验；—表示无数据。

3 讨 论

AMPK 是细胞“能量调节器”，低能量会激活 AMPK，增强产能代谢并抑制耗能代谢，从而维持细胞能量稳态。研究发现 AMPK 与肿瘤的发生关系密切^[5-6]。敲除 AMPK α 亚基抑制 AMPK 活化可促进有氧糖酵解（Warburg 效应，癌细胞的主要代谢特征），加速 Myc 诱导的淋巴瘤发生^[7]。转化生长因子-β 激活激酶 1(TAK 1)是 AMPK 的上游活化因子，敲除 TAK 1 可抑制 AMPK 活化，导致小鼠自发肝纤维化和肝癌^[8]。二甲双胍是 AMPK 的激活剂，长期服用二甲双胍的肝硬化患者肝癌发生率明显降低^[9]。同时，AMPK 还是治疗纤维化疾病的重要靶点，AMPK 激活后可抑制肝星状细胞和巨噬细胞增殖，减

轻硫代乙酰胺（TAA）诱导的小鼠肝纤维化^[10]。ZHENG 等^[5]发现 p-AMPK 低表达是肝癌预后不良的独立危险因素。有研究结果表明，p-AMPK 发挥了抑制肝纤维化和抑制肿瘤发生的双重作用。虽然目前已发现大量与肝癌预后相关的分子标志物，包括蛋白、lncRNA、miRNA 等，但预测肝硬化向肝癌恶性转化的分子标志物却鲜见报道，其主要原因主要包括以下几点：（1）因肝癌发生率低，因此统计学上需要大量的肝硬化组织标本；（2）肝癌的发生是一个渐进的过程，临床上很难判断出肝癌发生的时间节点；（3）肝硬化患者仅有一小部分接受手术治疗，故肝硬化组织标本的获取非常困难。本研究共收集了来自重庆医科大学附属第二医院和四川大学华

西医院的共 557 份肝硬化组织标本,经过长时间的随访获得了肝癌发生相关的临床数据,首次发现 p-AMPK 具有预测肝硬化患者肝癌发生的作用,可作为预测肝癌发生的潜在分子标志物。

本研究尚有以下不足之处:(1)HBV 导致的肝硬化分别占重医队列的 85.7%、华西队列的 100.0%,且均为需要通过手术预防或治疗上消化道出血的患者,即所有患者均为失代偿期肝硬化,研究的结果是否可应用于其他病因所导致的肝硬化或者代偿期肝硬化患者仍需进一步探讨;(2)因临床上很难判断出肝癌发生的准确时间节点,笔者也无法获得肝癌发生的准确时间节点,但本研究严格纳入每 3~6 个月规律随访的患者进行分析,将肝癌发生的时间锁定在 3~6 个月内,获得了一个相对准确的肝癌发生数据。

本研究结果显示,p-AMPK 的表达与糖尿病、上消化道出血和 Child-Pugh B 或 C 级有关,Fine and Gray 模型分析提示,p-AMPK 的表达水平与肝硬化-肝癌恶性转化呈负相关,多因素回归分析显示,p-AMPK 低表达是肝硬化-肝癌恶性转化的独立危险因素。提示 AMPK 可能在肝硬化-肝癌恶性转化中扮演关键角色,可作为预测肝硬化-肝癌恶性转化的潜在分子标志物。

参考文献

- [1] GBD 2013 MORTALITY AND CAUSES OF DEATH COLLABORATORS. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death,1990–2013:a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. Lancet, 2015, 385(9963):117-171.
- [2] POFF A, KOUTNIK A P, EGAN K M, et al. Targeting the Warburg effect for cancer treatment: ketogenic diets for management of glioma[J]. Semin Cancer biol, 2019, 56(2):135-148.
- [3] ZHOU Z, LI M, ZHANG L, et al. Oncogenic kinase-induced PKM2 tyrosine 105 phosphorylation converts non-oncogenic PKM2 to a tumor promoter and induces cancer stem-like cells[J]. Cancer Res, 2018, 78(9):2248-2261.
- [4] XIANG S, GU H, JIN L, et al. LncRNA IDH1-AS1 links the functions of c-Myc and HIF1alpha via IDH1 to regulate the Warburg effect[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(7):E1465-E1474.
- [5] ZHENG L, YANG W, WU F, et al. Prognostic significance of AMPK activation and therapeutic effects of metformin in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(19):5372-5380.
- [6] DEPERALTA D K, WEI L, GHOSH S, et al. Metformin prevents hepatocellular carcinoma development by suppressing hepatic progenitor cell activation in a rat model of cirrhosis[J]. Cancer, 2016, 122(8):1216-1227.
- [7] FAUBERT B, BOILY G, IZREIG S, et al. AMPK is a negative regulator of the Warburg effect and suppresses tumor growth in vivo[J]. Cell Metab, 2013, 17(1):113-124.
- [8] INOKUCHI-SHIMIZU S, PARK E J, ROH Y S, et al. TAK1-mediated autophagy and fatty acid oxidation prevent hepatosteatosis and tumorigenesis[J]. J Clin Invest, 2014, 124(8):3566-3578.
- [9] DONADON V, BALBI M, MAS M D, et al. Metformin and reduced risk of hepatocellular carcinoma in diabetic patients with chronic liver disease[J]. Liver Int, 2010, 30(5):750-758.
- [10] LEE H S, SHIN H S, CHOI J, et al. AMP-activated protein kinase activator, HL156A reduces thioacetamide-induced liver fibrosis in mice and inhibits the activation of cultured hepatic stellate cells and macrophages[J]. Int J Oncol, 2016, 49(4):1407-1414.
- [9] 张静,严媚.重型血友病 A 患儿重组人凝血因子Ⅷ短期预防治疗的研究[J].浙江临床医学,2017,19(7):1220-1221.
- [10] LIU W, FU R F, ZHOU Y W, et al. A phase III multicenter clinical trial on safety and efficacy of a domestic plasma derived factor Ⅷ for the treatment of patients with hemophilia B[J]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi, 2018, 39(5):404-407.
- [11] GARABET L, GHANIMA W, JONASSEN C M, et al. Effect of thrombopoietin receptor agonists on markers of coagulation and P-selectin in patients with immune thrombocytopenia[J]. Platelets, 2017, 12(2):1-7.
- [12] 焦雪丽,关红梅,丁现超,等.连续应用重组人血小板生成素联合泼尼松治疗初治免疫性血小板减少症的临床研究[J].血栓与止血学,2017,23(4):545-549.
- [13] 苏雁,郑杰,马洁,等.免疫抑制疗法联合重组人血小板生成素治疗儿童重型再生障碍性贫血的疗效[J].中华实用儿科临床杂志,2018,33(15):1165-1169.
- [14] TANAKA H, HORIOKA K, YAMAMOTO M, et al. Abstract 4803: Over-production of thrombopoietin in the liver of transgenic mice with liver-specific human BrafV600E expression[J]. Cancer Res, 2017, 77(Supplement_13):4803-4803.
- [15] 闫永正,曲扬,董荣鹏,等.创伤性因素对脊柱外科病人围手术期相关凝血指标及 DVT 发生率的影响[J].中国实验诊断学,2019,23(1):103-105.

(收稿日期:2019-12-16 修回日期:2020-04-16)

(上接第 2441 页)

(收稿日期:2020-01-16 修回日期:2020-04-19)