

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.17.021

miR-146a-3p 在胃癌患者血清中的表达及临床意义

王宗艳,刘 倩[△]

陕西省人民医院消化内二科,陕西西安 710068

摘 要:**目的** 探讨 miR-146a-3p 在胃癌患者血清中的表达及临床意义。**方法** 选取该院 2015 年 3 月至 2017 年 9 月收治的 64 例胃癌患者作为胃癌组,另选取同期该院体检健康者 28 例作为健康组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血清中 miR-146a-3p 水平,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中糖类抗原 72-4(CA72-4)水平。对患者进行电话随访,根据 3 年内患者预后情况,将患者分为存活组($n=14$)和死亡组($n=50$)。比较胃癌组和健康组血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平;比较不同特征胃癌患者血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平;绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 miR-146a-3p、CA72-4 对胃癌患者预后的预测价值。**结果** 胃癌组血清 miR-146a-3p 水平低于健康组,CA72-4 水平高于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同 TNM 分期、淋巴结转移情况、局部浸润深度、肿瘤最大径、分化程度胃癌患者的 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,胃癌组血清 miR-146a-3p 水平与 CA72-4 水平呈负相关($r=-0.474, P<0.001$);死亡组血清 miR-146a-3p 水平低于存活组,血清 CA72-4 水平高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$);miR-146a-3p、CA72-4 预测胃癌患者预后的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.864(0.764~0.963)、0.769(0.652~0.885);miR-146a-3p 的 AUC 大于 CA72-4,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-146a-3p 水平在胃癌患者血清中下调,可作为评估胃癌患者预后的标志物,特异度和灵敏度较高。

关键词:miR-146a-3p; 胃癌; 预后
中图法分类号:R446.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)17-2536-05

The expression and clinical significance of miRNA-146a-3p in the serum of patients with gastric cancer

WANG Zongyan, LIU Qian[△]

The Second Department of Gastroenterology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068, China

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of miR-146a-3p in the serum of patients with gastric cancer. **Methods** A total of 64 patients with gastric cancer admitted to Shaanxi Provincial People's Hospital from March 2015 to September 2017 were selected as gastric cancer group, and 28 healthy patients who underwent physical examination during the same period were selected as healthy group. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the level of miR-146a-3p in serum, and the level of carbohydrate antigen 72-4 (CA72-4) in serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The patients were followed up by telephone. According to the prognosis of the patients within 3 years, the patients were divided into survival group ($n=14$) and death group ($n=50$). The levels of serum miR-146a-3p and CA72-4 in gastric cancer group and healthy group were compared. The levels of serum miR-146a-3p and CA72-4 in gastric cancer patients with different characteristics were compared. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the predictive value of serum miR-146a-3p and CA72-4 on the prognosis of patients with gastric cancer. **Results** The level of serum miR-146a-3p in gastric cancer group was lower than that of healthy group, and the level of CA72-4 was higher than that of healthy group ($P<0.05$). There were statistically significant differences on miR-146a-3p and CA72-4 levels among gastric cancer patients with different TNM stages, lymph node metastasis status, local invasion depth, tumor maximum diameter and differentiation degree ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the serum miR-146a-3p level negatively correlated with CA72-4 level ($r=-0.474, P<0.001$) in patients with gastric cancer. The level of serum miR-146a-3p in death group was lower than that in survival

作者简介:王宗艳,女,主治医师,主要从事胃肠道肿瘤研究。 [△] 通信作者, E-mail: s568116531@163.com。
本文引用格式:王宗艳,刘倩. miR-146a-3p 在胃癌患者血清中的表达及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(17): 2536-2540.

group, and the level of serum CA72-4 was higher than that of survival group ($P < 0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of miR-146a-3p and CA72-4 predicting the prognosis of gastric cancer were 0.864 (0.764—0.963) and 0.769 (0.652—0.885). The AUC of miR-146a-3p was greater than that of CA72-4 ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of miR-146a-3p down-regulated in serum of patients with gastric cancer. It could be used as a marker for evaluating the prognosis of gastric cancer with high specificity and sensitivity.

Key words: miR-146a-3p; gastric cancer; prognosis

胃癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,是全球癌症相关死亡的第二大原因^[1]。胃癌在中国的发病率和病死率均较高,每年新增病例约 40 万例,死亡约 30 万例^[2]。近年来,虽然外科手术设备和辅助治疗方法取得了显著的发展,但由于胃癌患者发现时多为中晚期,手术后复发率较高,且总体 5 年生存率仍不高,低于 30%,预后较差^[3]。进一步识别胃癌预后的危险因素,探索新的药物治疗靶点,对于控制胃癌发生和复发至关重要。microRNAs (miRNAs) 是一类进化保守的非编码 RNA,通过与靶向 mRNA 的互补位点结合,抑制翻译进程,在转录水平负调控基因表达^[4]。miRNAs 在癌症中异常表达,可作为癌症诊断和判断预后的指标^[5]。陆玉等^[6]发现 miR-146a-3p 在多种胃癌细胞中表达下调,具有较高的预测患者预后价值。本研究探讨 miR-146a-3p 在胃癌患者血清中的水平及其对预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2015 年 3 月至 2017 年 9 月收治的 64 例胃癌患者作为胃癌组,男 37 例,女 27 例;年龄 22~79 岁,平均(53.38±8.47)岁;肿瘤淋巴结转移(TNM)分期Ⅰ期 9 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 19 例,Ⅳ期 18 例;低分化 38 例,中分化 15 例,高分化 11 例。纳入标准:(1)所有患者均符合胃癌临床诊断标准^[7];(2)经胃镜和病理学检查证实为胃癌;(3)首次确诊;(4)病灶无坏死;(5)患者自愿签署该项研究的知情同意书。排除标准:(1)合并其他消化系统恶性肿瘤;(2)合并血液病、免疫系统疾病、结缔组织疾病;(3)合并原发性肝肾损伤;(4)有 3 个月内手术史,或急慢性感染;(5)合并心肌梗死、心脏病。另选取同期本院体检健康者 28 例作为健康组,男 15 例,女 13 例;年龄 24~80 岁,平均(52.96±8.54)岁。本研究获得本院医学伦理委员会批准后进行。

1.2 方法

1.2.1 临床资料的收集 收集所有研究对象的性别、年龄信息,患者的 TNM 分期、肿瘤最大径、局部浸润深度、淋巴结转移情况、分化程度等资料。

1.2.2 血液标本的采集 患者入院后,于次日清晨采集空腹静脉血约 8 mL,健康组于体检时采集静脉血,置于无抗凝剂的采血管中。3 000 r/min 离心 15 min。收集上层血清,分装至两支离心管中,—20 °C 条件下保存备用。

1.2.3 血清 miR-146a-3p 的检测 取 1 份血清标

本,加入 1 mL TRIzol 提取剂,提取总 RNA,并进行检测。按照反转录试剂盒(美国 Thermo 公司产品)说明书将 RNA 反转录为 cDNA。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血清中 miR-146a-3p 水平。miR-146a-3p 上游引物:5'-GCGCGACCTGTGAAGTTCAG-3';下游引物:5'-AGTGCAGGGTC-CGAGGTATT-3'。以 U6 为内参,U6 上游引物:5'-CTCGCATCGCGTAAGGCACA-3';下游引物:5'-AACGCTACTCGAATTAGCGT-3'(引物由上海金唯智生物科技有限公司合成)。严格依据 qRT-PCR 试剂盒说明书进行操作,配制反应物体系。设置 qRT-PCR 仪器(美国 MJ Research 公司产品)程序:96 °C 预变性 5 min,96 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸,进行 35 个循环,上机进行 PCR 扩增。 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对 miR-146a-3p 进行定量。

1.2.4 生化指标检测 取另外 1 份血清标本,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中糖类抗原 72-4(CA72-4)水平。严格按照人 CA72-4 ELISA 试剂盒(上海江莱生物科技有限公司产品)说明书进行操作,采用酶标仪(美国 Thermo 公司产品)检测标本在 450 nm 处吸光度值(A),制作标准曲线,计算 CA72-4 水平。

1.2.5 随访 通过电话方式对患者进行随访,每半年进行 1 次随访,随访终点为患者发生胃癌相关死亡。随访截止时间为 2020 年 10 月 1 日。根据 3 年内,患者预后情况,将患者分为存活组($n=14$)和死亡组($n=50$)。

1.3 观察指标 (1)比较胃癌组和健康组血清中 miR-146a-3p、CA72-4 水平;(2)分析胃癌组患者 miR-146a-3p、CA72-4 水平与性别、年龄、临床资料的关系;(3)分析胃癌组血清 miR-146a-3p 水平与 CA72-4 水平之间的相关性;(4)比较存活组和死亡组 miR-146a-3p、CA72-4 水平;(5)分析胃癌组血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平对胃癌患者预后的预测价值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 t 检验;miR-146a-3p、CA72-4 水平之间的相关性采用 Pearson 相关分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价胃癌组血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平对胃癌患者预后的预测价值,ROC 曲线下面积(AUC)比较采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。
miR-146a-3p、CA72-4 水平比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

2 结 果

2.1 健康组与胃癌组血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较 胃癌组血清 miR-146a-3p 水平低于健康组,血清 CA72-4 水平高于健康组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同特征胃癌患者血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较 不同 TNM 分期、淋巴结转移情况、局部浸润深度、肿瘤最大径、分化程度胃癌患者的血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$);不同性别、年龄、病理类型胃癌患者血清

表 1 健康组与胃癌组血清中 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-146a-3p	CA72-4(IU/mL)
健康组	28	1.17±0.21	2.24±0.47
胃癌组	64	0.92±0.19	11.39±2.72
<i>t</i>		5.623	17.633
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 2 不同特征胃癌患者血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较

项目	<i>n</i>	miR-146a-3p			CA72-4		
		均值($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	均值($\bar{x}\pm s$, IU/mL)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
性别			1.434	0.157		1.376	0.174
男	37	0.89±0.15			11.79±2.88		
女	27	0.96±0.24			10.84±2.50		
年龄(岁)							
>50	25	0.93±0.22	0.409	0.684	11.29±2.72	0.230	0.819
≤50	39	0.91±0.17			11.45±2.72		
TNM 分期			4.156	0.010		31.638	<0.001
I 期	9	1.09±0.21			5.27±0.84		
II 期	18	0.96±0.20			8.09±1.17		
III 期	19	0.89±0.19			13.54±3.35		
IV 期	18	0.83±0.17			15.48±4.55		
淋巴结转移			5.470	<0.001		14.483	<0.001
是	34	0.79±0.12			16.94±4.41		
否	30	1.07±0.27			5.10±0.80		
局部浸润深度			7.067	<0.001		57.327	<0.001
T1	13	1.10±0.25			4.69±0.96		
T2	18	0.95±0.22			7.33±1.25		
T3	20	0.88±0.15			13.69±2.68		
T4	13	0.76±0.15			20.17±6.58		
病理类型			0.255	0.776		1.496	0.232
腺癌	48	0.93±0.20			11.08±2.39		
黏液癌	1	0.90±0.19			10.23±2.25		
印戒细胞癌	15	0.89±0.16			12.46±3.81		
肿瘤最大径(cm)			3.096	0.003		9.518	<0.001
<5	35	0.99±0.21			8.14±1.56		
≥5	29	0.84±0.17			15.31±4.12		
分化程度			5.610	0.006		9.440	<0.001
低分化	38	0.86±0.19			12.56±2.89		
中分化	15	0.96±0.20			10.29±2.56		
高分化	11	1.07±0.18			8.85±2.35		

2.3 胃癌患者血清 miR-146a-3p 水平与 CA72-4 水平的相关分析 Pearson 相关分析结果显示,胃癌患者血清 miR-146a-3p 水平与 CA72-4 水平呈负相关($r=-0.474, P<0.001$)。

2.4 存活组和死亡组 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较 死亡组血清 miR-146a-3p 水平低于存活组,血清 CA72-4 水平高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.5 血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平对胃癌患者预后的预测价值 血清 miR-146a-3p、CA72-4 预测胃癌患者预后的 AUC 分别为 0.864(0.764~0.963)、

0.769(0.652~0.885);血清 miR-146a-3p 的 AUC 大于血清 CA72-4,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1、表 4。

表 3 存活组和死亡组血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-146a-3p	CA72-4(IU/mL)
存活组	14	1.07±0.19	6.57±0.96
死亡组	50	0.79±0.14	15.52±3.35
<i>t</i>		6.098	9.832
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 4 血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平对胃癌患者预后的预测价值

指标	AUC(95%CI)	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	<i>P</i>
CA72-4	0.769(0.652~0.885)	8.79 kU/L	82.0	64.3	<0.05
miR-146a-3p	0.864(0.764~0.963)	0.88	94.0	71.4	<0.05

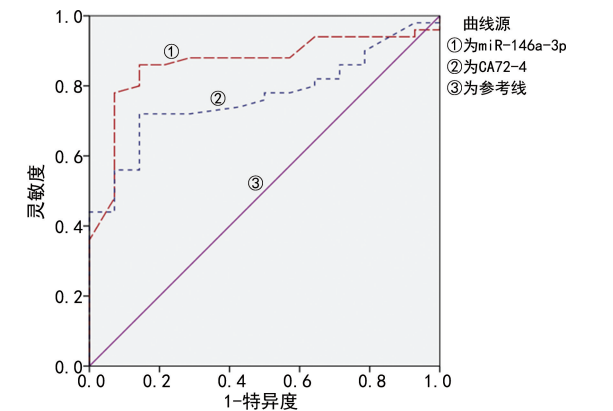


图 1 血清 miR-146a-3p、CA72-4 水平对胃癌患者预后的预测价值的 ROC 曲线

3 讨论

miRNAs 与靶基因的 3'非翻译区不完全结合,通过诱导翻译沉默或 mRNA 降解负调控多个基因的表达^[8]。超过 50%的 miRNAs 基因位于癌症相关基因组区域或染色体的脆性位点,是人类癌症发病的重要因素^[9]。miR-146a 在前列腺癌、胃癌、乳腺癌等多种癌症中发挥肿瘤抑制因子作用,参与肿瘤细胞增殖、分化和凋亡。在高转移性乳腺癌细胞株中,miR-146a 表达下调,外源性过表达 miR-146a 削弱细胞的侵袭、迁移能力^[10]。miR-146a-3p 是 miR-146a 家族成员之一,研究表明,miR-146a-3p 在胃癌中低表达,且与患者预后存在较强的相关性,可能成为预测胃癌预后的生物标志物^[11]。在乳腺癌组织和细胞中过表达 miR-146a-3p 通过靶向垂体肿瘤转化基因(PTTG1)抑制乳腺癌细胞迁移、侵袭、增殖,从而抑制乳腺癌的进展^[12]。

本研究结果显示,胃癌组血清 miR-146a-3p 水平低于健康组,表明胃癌的发生和发展可能与 miR-146a-3p 的表达量降低,相关靶基因水平升高相关。

大量研究表明,TNM 分期、淋巴结转移、局部浸润深度、肿瘤最大径、分化程度是影响胃癌患者临床结局的重要因素^[13-14]。由于胃癌在分子水平上存在异质性,仅依靠 TNM 分期等指标预测胃癌患者的预后准确性欠佳,因此,在 TNM 分期、肿瘤最大径等基础上,寻找预测胃癌患者预后的分子标志物,有助于制订合理的治疗方案,可能提高患者生存率。本研究发现,不同 TNM 分期、淋巴结转移情况、局部浸润深度、肿瘤最大径、分化程度胃癌患者的 miR-146a-3p 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且死亡组血清 miR-146a-3p 水平低于存活组,表明血清 miR-146a-3p 低表达可能与胃癌患者预后不良有关。CA72-4 是一种相对分子量较高的黏蛋白类抗原,其水平与肿瘤最大径、TNM 分期、淋巴结转移情况有关,是妇科相关癌症和消化系统常见肿瘤的标志物^[15]。雷振宇^[16]报道,胃癌患者血清 CA72-4 水平与肿瘤恶性程度呈正相关,并且其高表达预示患者预后不良,临床上常采用 CA72-4 联合其他指标预测患者临床结局。本研究通过 ROC 曲线分析血清 miR-146a-3p 对胃癌患者预后的预测价值,结果发现当血清 miR-146a-3p<0.88 时,灵敏度和特异度分别为 94.0%和 71.4%,AUC 为 0.864,明显高于 CA72-4 的 AUC(0.769),表明血清 miR-146a-3p 水平对胃癌患者预后的预测价值较高,具有较高的灵敏度和特异度,血清 miR-146a-3p 可作为预测胃癌患者预后的潜在标志物。

综上所述,血清 miR-146a-3p 水平在胃癌患者中下调,可作为评估胃癌患者预后的标志物,特异度和灵敏度较高。

参考文献

[1] CHEN Y M,ZHOU B,XU L B,et al. microRNA-146a

- promotes gastric cancer cell apoptosis by targeting transforming growth factor β -activated kinase 1[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(1):755-763.
- [2] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] NGUYEN P H, GIRAUD J, CHARNBONNIER L, et al. Characterization of biomarkers of tumorigenic and chemoresistant cancer stem cells in human gastric carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(6):1586-1597.
- [4] QIU Z K, LIU N, ZHAO S F, et al. miR-1298 expression correlates with prognosis and inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(6):1672-1679.
- [5] ZHANG X, WANG S, WANG H X, et al. Circular RNA circNRP1 acts as a microRNA-149-5p sponge to promote gastric cancer progression via the AKT1/mTOR pathway [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):20.
- [6] 陆玉, 宋莎莎, 章礼久. DLEU2L 靶向结合微小 RNA-146a-3p 及对胃癌细胞侵袭迁移的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(9):776-782.
- [7] 中国抗癌协会胃癌专业委员会, 中华医学会肿瘤学分会胃肠学组, 中国医师协会外科医师分会肿瘤外科医师委员会. 胃癌根治术标本规范淋巴结送检及操作中国专家共识(2019 版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2019, 39(9):881-889.
- [8] WANG H D, ZHANG X T, LIU Y X, et al. Downregulated miR-31 level associates with poor prognosis of gastric cancer and its restoration suppresses tumor cell malignant phenotypes by inhibiting E2F2 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24):36577-36589.
- [9] YIN Z H, CUI Z G, REN Y W, et al. MiR-146a polymorphism correlates with lung cancer risk in Chinese non-smoking females[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):2275-2283.
- [10] LIU R, LIU C, CHEN D, et al. FOXP3 controls an miR-146/NF- κ B negative feedback loop that inhibits apoptosis in breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(8):1703-1713.
- [11] ADAMI B, TABATABAEIAN H, GHAED K, et al. miR-146a is deregulated in gastric cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2019, 15(1):108-114.
- [12] XIANG W X, WU X C, HUANG C, et al. PTTG1 regulated by miR-146a-3p promotes bladder cancer migration, invasion, metastasis and growth[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1):664-678.
- [13] GU Q Y, ZHANG J, HU H F, et al. Clinical significance of miR-137 expression in patients with gastric cancer after radical gastrectomy [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142377.
- [14] CHOI J H, KIM Y B, AHN J M, et al. Identification of genomic aberrations associated with lymph node metastasis in diffuse-type gastric cancer[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4):1-11.
- [15] 董晓微, 崔俊强, 张俊华, 等. 血清肿瘤标志物 CA19-9、CA72-4、CEA、PG I 联合检测对胃癌的诊断及预后价值分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(17):2185-2188.
- [16] 雷振宇. 胃癌患者血清中 CEA、CA125、CA72-4 和 wnt/ β -catenin 信号通路表达与患者预后的关系[J]. *中国综合临床*, 2017, 33(11):969-972.

(收稿日期:2021-01-04 修回日期:2021-05-09)

(上接第 2535 页)

- Immunization Program in China [J]. *Vaccine*, 2020, 38(4):878-881.
- [7] 徐云芳, 刘兴祥, 赵云, 等. 血小板与淋巴细胞比率对恩替卡韦治疗基因 C 型慢性乙型肝炎患者早期病毒学应答的预测[J]. *中华传染病杂志*, 2017, 35(5):268-271.
- [8] 陈治东, 管世鹤, 杨凯, 等. CD68 在慢性乙型肝炎发病机制的临床初步研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 55(8):1271-1275.
- [9] BHOOLA N H, KRAMVIS A. Expression of wild-type or G1862T mutant HBe antigen of subgenotype A1 of hepatitis B virus and the unfolded protein response in Huh7 cells[J]. *J General Virol*, 2017, 98(6):1422-1433.
- [10] 史艳敏, 储芳, 史策, 等. HBV cccDNA 及 HBsAg 定量对慢性乙型肝炎患者抗病毒疗效判断的应用价值[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(1):63-65.
- [11] 姚相杰, 陈龙, 王伟琪, 等. 2012—2015 年深圳市重症手足口病患儿童柯萨奇病毒 A6 型 VP1~VP4 基因特征分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2019, 39(1):24-29.
- [12] MLINSEK G, DOLZAN V, GORICAR K, et al. The role of single nucleotide polymorphisms of CYP3A and ABCB1 on tacrolimus predose concentration in kidney transplant recipients[J]. *Clin Nephrol*, 2017, 88(13):115-118.
- [13] 张欣, 闫玲, 卢颖, 等. HBeAg 阳性慢性 HBV 感染孕妇血清 HBVDNA 水平与 HBsAg 滴度的相关性及其 HBVPreS/S 区基因变异对二者相关性的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(8):579-584.
- [14] 段淑红, 苑晓冬, 刘晓燕, 等. 持续及间断应用拉米夫定或恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎出现病毒耐药变异概率的临床观察[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(9):646-649.
- [15] LI M H, YI W, ZHANG L, et al. Predictors of sustained functional cure in hepatitis B envelope antigen-negative patients achieving hepatitis B surface antigen seroclearance with interferon alpha-based therapy[J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(S1):S32-S41.

(收稿日期:2020-12-26 修回日期:2021-04-06)