

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.032

血清 B7-H4 水平对肝细胞癌的诊断及预后价值*

陈丰穗 张世安 吴志贤 张霞 曾芝雨 周晓玲 李东良[△]

(福州总医院肝胆内科 福建 福州 350025)

摘要 目的:探讨肝细胞癌(HCC)患者血清 B7-H4 水平及其临床意义。**方法:**采用 ELISA 方法检测和比较 116 例 HCC 患者和 60 例健康对照人群的血清 B7-H4 水平,并分析血清 B7-H4 水平和 HCC 患者临床参数和生存情况的关系。**结果:**① HCC 患者的血清 B7-H4 水平显著高于健康对照组($P<0.001$);② 血清 B7-H4 水平与 HCC 患者血清 AFP 水平($r=0.653$, $P=0.012$)和 TNM 分期($r=0.713$, $P=0.003$)相关;③ 高血清 B7-H4 组 HCC 患者 5 年总体生存率较低血清 B7-H4 组显著降低($P=0.028$);④ 血清 B7-H4 水平是 HCC 预后的独立预测因子($P=0.034$)。**结论:**HCC 患者的血清 B7-H4 水平显著上调,对于 HCC 的诊断及预后判断具有重要的参考意义。

关键词:肝细胞癌;预后;诊断;B7-H4 分子

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)10-1960-05

Diagnostic and Prognostic Prediction Value of Serum B7-H4 Level for Hepatocellular Carcinoma*

CHEN Feng-sui, ZHANG Shi-an, WU Zhi-xian, ZHANG Xia, ZENG Zhi-yu, ZHOU Xiao-ling, LI Dong-liang[△]

(Department of Hepatobiliary Disease, Fuzhou General Hospital, Fuzhou, Fujian, 350025, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the serum B7-H4 level of hepatocellular carcinoma (HCC) patients and its clinical significance. **Methods:** The serum B7-H4 level was detected and compared in 116 cases of patients with HCC and 60 healthy controls by ELISA, and the relationships between serum B7-H4 levels and clinical parameters and the survival of HCC patients were analyzed. **Results:** HCC patients had significantly higher serum B7-H4 level as compared with the healthy controls ($P<0.001$); the serum B7-H4 level was correlated with the clinical parameters of HCC patients including the serum AFP level ($r=0.653$, $P=0.012$) and TNM stage ($r=0.713$, $P=0.003$); HCC patients with higher B7-H4 level group had a poorer 5-year overall survival rate ($P=0.028$). Moreover, the serum B7-H4 level was shown to be an independent prognostic factor for HCC ($P=0.034$). **Conclusion:** The serum B7-H4 level of HCC patients was significantly increased, which had important value for the diagnosis and prognosis of HCC.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Prognosis; Diagnosis; Serum B7-H4

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)10-1960-05

前言

肝细胞癌(HCC)目前已经成为全球癌症相关死亡的第三大原因^[1],肿瘤转移和治疗后的高复发率是其高死亡率的主要原因。此外,许多 HCC 患者已到疾病晚期才被发现,失去了手术机会。HCC 的预后较差,5 年生存率较低(约 10%)^[2]。因此,寻找具有诊断价值的肿瘤标志物至关重要。虽然 AFP 在临床上诊断 HCC 最常用的一项肿瘤标志物,但其诊断价值仍存在一定的局限性^[3]。因此,寻找 HCC 诊断的高敏感性和特异性的组织或体液生物仍是肿瘤生物学家的重要研究目标。

B7-H4 是 B7 家族中的一个成员,于 2003 年被发现,主要通过抑制固有免疫及 T 细胞介导免疫应答在调节肿瘤微环境

中扮演重要角色^[4]。B7-H4 表达于肺癌、乳腺癌、子宫及结肠直肠癌等多种癌症^[5-8]。研究表明 HCC 组织和正常组织 B7-H4 表达没有显著差异^[9]。本研究则主要探讨了 HCC 患者和健康对照人群血清 B7-H4 水平,探讨了血清 B7-H4 水平与 HCC 患者临床病理特征及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集福州解放军总医院肝胆外科收治的 116 例 HCC 患者和 60 例健康对照的血样。入组前所有 HCC 患者均没有接受手术,化疗或放疗。所有健康受试者通过体检确认健康状况,其包括常规体格检查和标准实验室检测(血常规、肝功能、肾功能、

* 基金项目:福建省科技联合创新基金项目(2016Y9063);福建省自然科学基金面上项目(2016J01583);

中国博士后基金第 59 批(2016M590597);福建省科技厅引导性项目(2015Y5007)

作者简介:陈丰穗(1986-),本科,主治医师,研究方向:肝癌,乙型肝炎肝硬化,电话:13705042866, E-mail: 307610688@qq.com

△ 通讯作者:李东良(1963-),教授,硕士研究生导师,研究方向:肝癌,乙型肝炎肝硬化,电话:13665052006, E-mail: 1120149179@qq.com

(收稿日期:2017-11-10 接受日期:2017-12-07)

血脂、电解质、血糖))。综合病理活检,血清甲胎蛋白(AFP)水平和影像检查来明确 HCC 诊断。TNM 临床分期根据美国癌症委员会的第 6 版 TNM 进行分类^[10]。HCC 患者的临床信息,包括年龄、性别、肿瘤大小、TNM 分期、肝硬化、血管侵犯、肿瘤淋巴结转移、血清 AFP 表达、乙型肝炎病毒感染和丙型肝炎病毒感染情况。

1.2 双抗体夹心 ELISA 法

使用双抗体夹心 ELISA 法检测 B7-H4 的血清水平。高结合聚苯乙烯板内有单克隆抗体 H74 包被(eBioscience, San Diego, United States)。将采集来 HCC 患者和健康志愿者的血样(30 μ L)加入板中。用稀释的生物素二抗(eBioscience)检测固定的抗原。再使用链霉抗生物素蛋白链接的辣根过氧化物酶(DingGuo, 北京, 中国)检测抗原抗体反应结合信号。

1.3 统计血分析

使用 SPSS 21.0(Chicago, USA)和 GraphPad Prism 5(GraphPad Software Inc, CA, USA) 软件进行统计分析。使用 Mann-Whitney U 检验来比较 HCC 患者和健康对照之间的血清 B7-H4 的表达水平。通过卡方检验评价血清 B7-H4 表达水平与临床病理学参数之间的关系。使用 Kaplan-Meier 方法和分析产生总存活曲线。使用单变量和多变量 Cox 比例风险模型来确定存活时间的预后因素。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 患者和健康对照人群血清 B7-H4 水平的比较

与健康对照组(40.75 ± 14.91 ng/mL)相比, HCC 患者的血

清 B7-H4 水平(71.53 ± 21.67 ng/mL)显著升高($P < 0.001$, 图 1)。

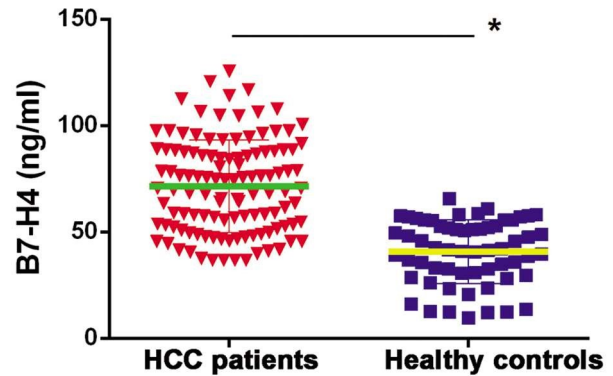


图 1 HCC 患者和健康对照人群血清 B7-H4 的水平比较

Fig.1 Comparison of the serum level of B7-H4 between HCC patients and healthy controls

2.2 血清 B7-H4 水平与 HCC 患者临床病理参数的关系

以 HCC 患者血清 B7-H4 的平均水平(70.55 ng/mL)作为亚组分类的截断值(高表达组或低表达组),结果显示血清 B7-H4 水平与 AFP 表达 ($r=0.653$, $P=0.012$) 及 TNM 期($r=0.713$, $P=0.003$)显著相关,而与性别($r=0.326$, $P=0.655$)、年龄($r=0.248$, $P=0.736$)、肿瘤大小($r=0.411$, $P=0.104$)、肝硬化状态($r=0.456$, $P=0.067$)、静脉侵犯($r=0.337$, $P=0.263$)、淋巴结转移($r=0.384$, $P=0.166$)、HBV 感染($r=0.292$, $P=0.537$)、HCV 感染($r=0.287$, $P=0.581$) 无关(表1)。

表 1 血清 B7-H4 水平与 HCC 患者临床病理参数的关系

Table 1 Correlation of the serum B7-H4 level with the clinicopathological parameters of HCC patients

变量 (Variables)	N(%)	血清 B7-H4 表达 (Serum B7-H4 expression)		P 值 (P value)
		低(%)	高(%)	
		Low (%)	High (%)	
性别(Gender)				
男性(Male)	98(84.48)	43(37.06)	55(47.41)	0.631
女性(Female)	18(15.52)	9(7.76)	9(7.76)	
年龄(Age)				
<60	47(40.52)	22(18.97)	25(21.55)	0.723
≥ 60	69(59.48)	30(25.86)	39(33.62)	
肿瘤大小(cm) (Tumor size)cm				
<5	55(47.41)	29(25.00)	26(22.41)	0.104
≥ 5	61(52.59)	23(19.83)	38(32.76)	
TNM 分期(TNM)				
I-II	56(48.28)	33(28.45)	23(19.83)	0.003
III-IV	60(51.72)	19(16.38)	41(35.34)	
肝硬化(Cirrhosis)				
否(No)	65(56.03)	34(29.31)	31(26.72)	0.067
是(Yes)	51(43.97)	18(15.52)	33(28.45)	
静脉侵犯 (Venous infiltration)				

否(No)	58(50.00)	29(25.00)	29(25.00)	0.263
是(Yes)	58(50.00)	23(19.83)	35(30.17)	
肿瘤结节 (Tumor nodes)				
单个(Single)	52(44.83)	27(23.28)	25(21.55)	0.166
多个(Multiple)	64(55.17)	25(21.55)	39(33.62)	
血清 AFP($\mu\text{g/L}$) Serum AFP($\mu\text{g/L}$)				
<400	51(43.97)	31(26.72)	20(17.24)	0.012
≥ 400	65(56.03)	21(18.10)	44(37.93)	
HBV 感染 (HBV infection)				
否(No)	30(25.86)	12(10.34)	18(15.52)	0.537
是(Yes)	86(74.14)	40(34.48)	46(39.66)	
HCV 感染 (HCV infection)				
否(No)	98(84.48)	45(38.79)	53(45.69)	0.581
是(Yes)	18(15.52)	7(6.03)	11(9.48)	

2.3 血清 B7-H4 水平与 HCC 患者的生存情况分析

如图 2 所示,高血清 B7-H4 水平组的 HCC 患者 5 年生存率较低水平 B7-H4 水平组的 HCC 患者显著降低($P=0.028$)。

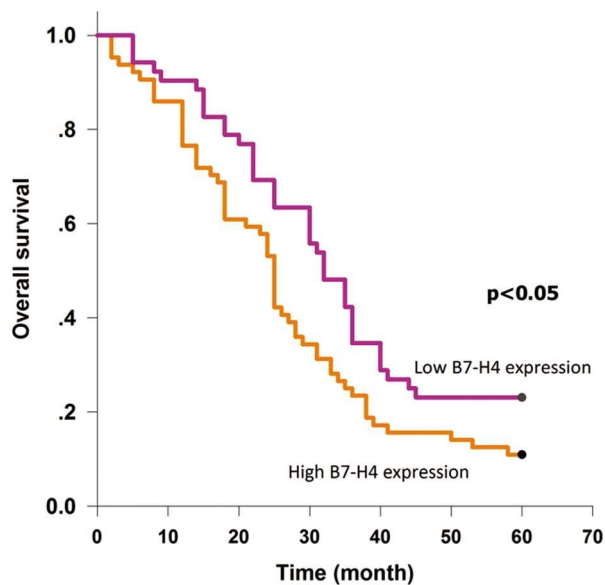


图 2 血清 B7-H4 水平与 HCC 患者的生存情况分析

Fig.2 Analysis of the serum level of B7-H4 and overall survival of HCC patients

2.4 HCC 预后预测因素的单变量分析和多变量分析

单变量分析显示血清 AFP 水平 ($P=0.021$)、TNM 期 ($P=0.005$)和血清 B7-H4 水平($P=0.008$)与 HCC 的预后显著相关($P<0.05$)。多变量分析模型提示:TNM 分期 ($P=0.013$) 和血清 B7-H4 水平 ($P=0.034$) 是 HCC 患者的独立预后预测因素($P=0.148$)(表 2)。

3 讨论

近年来,HCC 的早期诊断手段和手术方法已有较大的进展,还出现了一些新的治疗策略如分子靶向治疗、基因治疗(el Tazi 等,2011;Duan 等,2013)^[11,12]以及免疫疗法。然而,这些治疗方法对于许多晚期的 HCC 患者而言效果仍然欠佳。探讨 HCC 的早期诊断及其预后预测的生物标志物不仅可以有助于在较早期的临床阶段诊断 HCC,还可以在临床上监测其治疗反应。目前,在临床诊断和筛查 HCC 中,唯一一项运用最广泛的血清肿瘤标志物就是 AFP,约 60%至 70%的 HCC 患者存在血清 AFP 水平异常,但是 30%至 40%的患者血清 AFP 水平表现正常,其原因主要与 AFP 在转录过程中被多种因素所调控有关。近年来,几个新的具有 HCC 辅助诊断价值的生物标志物被发现。Dickkopf1(DKK1)是抑制 WNT 信号通路中的分子之一,WNT 信号通路在多种肿瘤的产生起重要作用。Dickkopf1 为一种分泌型糖蛋白,相对分子质量为 35000,不仅表达于胎儿期的胎盘,还表达于胚胎组织中,但其很少表达于在成人组织中。有报道 Dickkopf1 与多种肿瘤(如肝癌、肺癌及乳腺癌)的发生发展有关。Shen^[13]报道了 HCC 患者的血清 Dickkopf1 蛋白水平明显升高,特异度为 90.6%,敏感度为 69.1%。AFP 联合 Dickkopf1 诊断精确度具有显著提高。Yang^[14]等通过对 184 例早期 HCC 患者,174 例肝硬化患者,进行血清 Dickkopf1 和 AFP 检测证实 Dickkopf1 敏感性优于 AFP,且 Dickkopf1 在 AFP 阴性 HCC 阳性率高达 73.1%。近年,香港大学等研究报道 Dickkopf1 诊断 HCC 的特异度高达 100%。Forner 和 Bruix^[15]阐述 Dickkopf1 未来能否取代 AFP 成为新的肝癌标志物时,表示还需要更多时间的研究进行验证。磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(glypican-3)是一种膜蛋白,由蛋白质、糖、脂质组成三维结构,与 WNT 结合形成复合体,可激活经典的下游信号通路。glypican-3 基因位于人染色体 X26.2,长 500kb,参与了细胞对生长因子的反应、生长发育以及癌变过程,可在 HCC、透明卵巢细胞癌及黑色素瘤中高度表达。1996 年,Hsu 等^[16]首次发现 glypican-3 高达 74.8%表达

表 2 HCC 预后预测因素的单变量分析与多变量分析

Table 2 Univariate and multivariate analyses of prognostic factors of HCC

变量 (Variable)	单变量 P 值 (Univariate P value)	多变量 P 值(Multivariate P value)	HR(95%CI) HR (95%CI)
血清 AFP($\mu\text{g/L}$) (Serum AFP ($\mu\text{g/L}$)) ≥ 400 vs. <400	0.021	0.148	1.35(0.92-1.84)
TNM 阶段 (TNM stage) III-IV vs. I-II	0.005	0.013	3.21(1.36-4.43)
血清 B7-H4 表达 (Serum B7-H4 expression) 高 vs. 低 (High vs low)	0.008	0.034	2.05(1.17-3.18)

于 HCC 组织中,仅有 3.2%表达于非肝癌组织中。随后,日本的 Capurro 等^[17]研究发现 glypican-3 约 72%表达于 HCC 组织中,而没有表达于正常组织中;在 200 例 HCC 患者血清中,约 53%患者 glypican-3 表达水平明显升高,而在肝炎、肝硬化组中只有 5%患者 glypican-3 水平升高,在 HCC 患者中 glypican-3 的表达水平远远高于非肝癌患者(肝炎、肝硬化患者及正常人),glypican-3 对诊断 HCC 具有非常重要价值。越来越多的研究支持 glypican-3 在 HCC 高度表达,可作为诊断 HCC 的新的一种肿瘤标志物。周伟等^[18]报道在 77 例 AFP 阴性的 HCC 中, glypican-3 表达阳性率为 44%,表明 glypican-3 联合 AFP 在对 HCC 的诊断上有很大的互补作用,明显提高了 AFP 阴性 HCC 患者的诊断,对 AFP 阴性 HCC 患者具有重要意义。

在本研究中,以血清 B7-H4 的平均值(70.55 ng/mL)作为肝癌亚组分类的截断值,诊断准确率较高,且血清 B7-H4 水平高低与 HCC 患者的性别、年龄、肿瘤大小、肝硬化状态、静脉侵犯、淋巴结转移、HBV 感染、HBV 感染无关。而 HCC 患者血清 B7-H4 水平明显高于健康对照人群,且 HCC 患者血清 B7-H4 水平与血清 AFP 水平、TNM 临床分期明显相关。此外,血清 B7-H4 水平较高的 HCC 患者 5 年总生存率较低。此外,血清 B7-H4 水平可能是 HCC 预后的独立预测因素。

B7-H4 是进化高度保守的跨膜蛋白,其细胞外部分与其他 B7 家族成员具有约 25%的氨基酸同源性。此外,既往的研究表明人类和小鼠 B7-H4 共享 87%的氨基酸成分^[19]。B7-H4 mRNA 广泛分布在人体外周组织中,但其蛋白质在正常外周组织中少有表达,提示 B7-H4 的表达在翻译水平上被严格管控^[20]。B7-H4 为 T 细胞介导免疫应答的负性调整因子,也是固有免疫应答的抑制剂,参与肿瘤的发生、发展,在调节肿瘤微环境中起重要作用^[4]。Leung 等人^[21]报道 B7-H4 不仅能抑制抗肿瘤 T 细胞的免疫应答,还能阻碍骨髓中抑制细胞的抗肿瘤功能。Wang 等人^[22]提出 B7-H4 过表达可出现肿瘤内 CD8(+)T 淋巴细胞减少,IFN- γ 产量下降。这表明在肿瘤微环境中 B7-H4 通过负性调控抑制 CD8(+)T 细胞的增殖发挥抗肿瘤作用。在各种癌症如乳腺癌、卵巢癌和胃癌中,研究者已经报道了血清 B7-H4 的过度表达^[5-8]。Meng Z 等人的 Meta 分析^[23]显示血清 B7-H4 水平对于预测卵巢癌预后具有巨大潜在价值。Huang C 等^[24]报道了血清 B7-H4 水平可能是预测宫颈癌预后的肿瘤生物标志物。同

时,Liang L 等^[25]报道血清 B7-H4 可能是预测卵巢癌预后和化疗效果的生物标志物。这些研究结构与本研究结果一致。

Shi 等人发现胃癌患者血清 B7-H4 水平明显高于健康对照组,并与肿瘤大小、肿瘤侵犯范围、淋巴结转移、TNM 分期及存活率等临床病理参数密切相关,进一步支持了 B7-H4 在肿瘤早期诊断和预后预测中的潜在价值^[26]。然而,B7-H4 在肝癌发展中的具体作用仍有争议。Qian 等^[9]报道了 HCC 组织与正常人肝组织中 B7-H4 表达的差异并无统计学意义。这与我们发现的 HCC 患者血清 B7-H4 水平升高有所不同。HCC 癌细胞可能将可溶性 B7-H4 分泌到体液中,血清蛋白和组织蛋白的表达模式之间没有明确的相关性。此外,免疫组化可能不足以检测肝癌组织和正常组织之间 B7-H4 表达水平的微小差异。最后,研究中的样本量相对较小,需要更进一步扩大实验的规模来确定 HCC 患者组织中 B7-H4 的表达是否增高。目前,血清 AFP 水平对 HCC 患者生存和预后意义还存在一定争议。一部分 HCC 患者 AFP 水平很低,而有一些肝硬化没有 HCC 的患者,AFP 水平相对较高。Giannini^[27]报道了一个 205 例患者的队列研究,这些患者为代偿性肝硬化和小肝癌。结果显示 AFP 不能预测患者生存情况。本研究中,B7-H4 在预测 HCC 患者生存方面具有一定的预测价值,但仍有待于在临床中进一步验证其应用价值。

综上所述,本研究结果表明 HCC 患者的血清 B7-H4 水平显著上调,对于 HCC 的诊断及预后判断具有重要的参考意义。

参考文献(References)

- [1] Venook AP, Papandreou C, Furuse J, et al. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective [J]. *Oncologist*, 2014, 15 (Suppl) 4: 5-13
- [2] Ozakyol A. Global Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma (HCC Epidemiology) [J]. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 2017, 48 (3): 238-240
- [3] 庞家宝. 甲胎蛋白诊断原发性肝癌的局限性 [J]. *中国误诊学杂志*, 2006, (05): 875-876
Pang Jia-bao. Limitations of alpha fetoprotein in the diagnosis of primary liver cancer [J]. *Chinese Journal of Misdiagnosis*, 2006, (05): 875-876
- [4] Yi K H, Chen L. Fine tuning the immune response through B7-H3 and B7-H4[J]. *Immunological Reviews*, 2009, 229(1): 145

- [5] Huang H, Li C, Ren G. Clinical significance of the B7-H4 as a novel prognostic marker in breast cancer[J]. *Gene*, 2017, 623[Epub ahead of print]
- [6] Tan Z, Shen W. Prognostic role of B7-H4 in patients with non-small cell lung cancer: A meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (16): 27137-27144
- [7] Liu W, Chen Y, Zhu S, et al. B7-H4 expression in bladder urothelial carcinoma and immune escape mechanisms [J]. *Oncology Letters*, 2014, 8(6): 2527-2534
- [8] Zhao L W, Li C, Zhang R L, et al. B7-H1 and B7-H4 expression in colorectal carcinoma: Correlation with tumor FOXP3 +, regulatory T-cell infiltration[J]. *Acta Histochemica*, 2014, 116(7): 1163-1168
- [9] Qian Y, Shen L, Cheng L, et al. B7-H4 expression in various tumors determined using a novel developed monoclonal antibody[J]. *Clinical & Experimental Medicine*, 2011, 11(3): 163-170
- [10] Liver including intrahepatic bile ducts. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *America Joint Committee on Cancer Staging Manual* [M]. 6th ed. New York, N Y: Springer, 2002, 131-144
- [11] Hollebecque A, Malka D, Ferte C, et al. Systemic treatment of advanced hepatocellular carcinoma: from disillusion to new horizons[J]. *European Journal of Cancer*, 2015, 51(3): 327
- [12] Lai Y H, Lin C C, Chen S H, et al. Tumor-specific suicide gene therapy for hepatocellular carcinoma by transcriptionally targeted retroviral replicating vectors[J]. *Gene Therapy*, 2015, 22(2): 155
- [13] Shen Q, Fan J, Rang XR, et al. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multi-centre study[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(8): 817, 826
- [14] Yang H, Chen GD, Fang F, et al. Dickkopf-1 as a diagnostic and prognostic serum marker for early hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Biol Markers*, 2013, 28(3): 286-297
- [15] Forner A, Bruix J. Biomarkers for early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(8): 750-751
- [16] Hsu H C, Cheng W, Lai P L. Cloning and Expression of a Developmentally Regulated Transcript MXR7 in Hepatocellular Carcinoma: Biological Significance and Temporospatial Distribution [J]. *Cancer Research*, 1997, 57(22): 5179-5184
- [17] Capurro M, Wanless IR, Sherman M, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(1): 89-97
- [18] 周伟,郭霞,曹志刚,等.血清 Glypican-3 检测在肝癌诊断中的临床意义[J]. *肿瘤*, 2007, 27(9): 679-682
Zhou Wei, Guo Xia, Cao Zhi-gang, et al. Detection of glypican 3 in serum and its clinical significance on the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Tumor*, 2007, 27(9): 679-682
- [19] Smith J B, Stashwick C, Jr P D. B7-H4 as a potential target for immunotherapy for gynecologic cancers: a closer look [J]. *Gynecologic Oncology*, 2014, 134(1): 181-189
- [20] Luo R H, Zhao Z X, Zhou X Y, et al. Risk factors for primary liver carcinoma in Chinese population[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11 (28): 4431-4434
- [21] Leung J, Suh W K. Host B7-H4 regulates antitumor T cell responses through inhibition of myeloid-derived suppressor cells in a 4T1 tumor transplantation model [J]. *Journal of Immunology*, 2013, 190(12): 6651-6661
- [22] Wang X, Wang T, Xu M, et al. B7-H4 overexpression impairs the immune response of T cells in human cervical carcinomas [J]. *Human Immunology*, 2014, 75(12): 1203-1209
- [23] Meng Z, Wang F, Zhang Y, et al. B7-H4 as an independent prognostic indicator of cancer patients: a meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40): 68825
- [24] Huang C, Zhou L, Chang X, et al. B7-H3, B7-H4, Foxp3 and IL-2 expression in cervical cancer: Associations with patient outcome and clinical significance[J]. *Oncology Reports*, 2016, 35(4): 2183
- [25] Liang L, Jiang Y, Chen J S, et al. B7-H4 Expression in Ovarian Serous Carcinoma: A Study of 306 Cases[J]. *Human Pathology*, 2016, 57: 1-6
- [26] Shi H, Ji M, Wu J, et al. Serum B7-H4 expression is a significant prognostic indicator for patients with gastric cancer[J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2014, 12(1): 188
- [27] Giannini EG, Marengo S, Borgonovo G, et al. Alpha-fetoprotein has no prognostic role in small hepatocellular carcinoma identified during surveillance in compensated cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2012, 56: 1371-1379
- (上接第 1989 页)
- [24] Borggraefe I, Bonfert M, Bast T, et al. Levetiracetam vs. sulthiame in benign epilepsy with centrotemporal spikes in childhood: A double-blinded, randomized, controlled trial (German HEAD Study)[J]. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2013, 17(5): 507-514
- [25] Kholin A A, Zavadenko N N, Il'ina E I, et al. Peptidergic nootropic therapy in cerebral palsy associated with epilepsy [J]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova / Ministerstvo zdravookhraneniia i meditsinskoi promyshlennosti Rossiiskoi Federatsii, Vserossiiskoe obshchestvo nevrologov* [J]. *Vserossiiskoe obshchestvo psikiatrov*, 2017, 117(9): 37
- [26] Mahmoud A A, Rizk T M, Mansy A A, et al. Ineffectiveness of topiramate and levetiracetam in infantile spasms non-responsive to steroids. Open labeled randomized prospective study [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2013, 333(2): 143-146
- [27] Fujikawa M, Kishimoto Y, Kakisaka Y, et al. Obsessive-Compulsive Behavior Induced by Levetiracetam [J]. *Journal of Child Neurology*, 2015, 30(7): 942-944
- [28] Packer R M, Nye G, Porter S E, et al. Assessment into the usage of levetiracetam in a canine epilepsy clinic [J]. *BMC Veterinary Research*, 11, 1(2015-02-07), 2015, 11(1): 25
- [29] Cho Y S, Ah Y M, Jung A H, et al. Trends in Antiepileptic Drug Prescriptions for Childhood Epilepsy at a Tertiary Children's Hospital in Korea, 2001-2012[J]. *Pediatric Drugs*, 2015, 17(6): 487-496
- [30] Serajee F J, Huq A M. Homozygous mutation in Synaptic Vesicle Glycoprotein 2A gene results in intractable epilepsy, involuntary movements, microcephaly, and developmental and growth retardation [J]. *Pediatric Neurology*, 2015, 52(6): 642-646.e1
- [31] A. Kholin, Il'ina E, Zavadenko N. Analysis of efficiency and safety of oxcarbazepine in pediatric and adult patients with different forms of epilepsy[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2013, 333(Suppl 1): e31-e31