

• 临床研究 •

热休克蛋白-27 与磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 在原发性肝癌中的表达及意义^{*}

申 东,李 莉,高 建[△]

(重庆医科大学附属第二医院消化内科 400010)

摘 要:**目的** 通过检测热休克蛋白-27(HSP-27)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC-3)在原发性肝癌(PHC)中的表达,探讨二者在诊断 PHC 的作用及其临床病理特征的关系。**方法** 采用免疫组织化学染色法检测 32 例 PHC 组织、30 例肝硬化组织、25 例肝脏良性占位组织及 31 例肝炎组织中 GPC-3、HSP-27 的水平,并分析其与 PHC 的临床因素之间的关系。**结果** HSP-27 和 GPC-3 均在肝癌组织中高表达,与肝硬化、肝脏良性占位、肝炎组织中的表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。HSP-27 在肝癌组织的表达与肿瘤的病理分级及 TNM 分期有关,但 GPC-3 的表达与肿瘤的病理分级及 TNM 分期无关。**结论** HSP-27、GPC-3 在肝癌组织中高表达,与肝癌的发生、发展、转移有关,可能成为新的肿瘤标志物。

关键词:热休克蛋白-27;磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3;原发性肝癌;免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.25.007

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)25-2969-03

Expression of HSP27 and GPC-3 in primary hepatic cancer and its clinical implication^{*}

Shen Dong, Li Li, Gao Jian[△]

(Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract:**Objective** To investigate the clinical significance of heat shock protein 27(HSP-27) and glypican-3(GPC-3) in diagnosing primary hepatic cancer (PHC) and the clinicopathologic characteristics by detecting their expression in PHC. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of HSP-27 and GPC-3 in 32 cases of PHC tissue, 30 cases of liver cirrhosis tissue, 25 cases of benign liver occupying tissue and 31 cases of hepatitis tissue. The relationship between their expression and the clinicopathologic features of PHC was analyzed. **Results** HSP-27 and GPC-3 were highly expressed in the PHC tissues, the difference had statistical significance compared with their expression levels in the liver cirrhosis tissues, liver benign neoplasm tissues and hepatitis tissues($P<0.05$). The expression of HSP-27 in the PHC tissues was correlated with the tumor pathological grade and the TNM stage, while the expression of GPC-3 was not correlated with the tumor pathological grade and the TNM stage. **Conclusion** The high expression of HSP-27 and GPC-3 in the PHC tissue is closely related with the tumorigenesis, progress, metastasis of PHC, which may become new pathological diagnosis markers of PHC.

Key words:heat shock protein-27; glypican-3; primary liver cancer; immunohistochemistry

原发性肝癌(primary hepatic cancer, PHC)是最常见的恶性肿瘤之一,其恶性程度高,往往发现的时候已属晚期,治疗效果差,故早期诊断对于肝癌患者的预后至关重要。甲胎蛋白(AFP)目前是应用最广的肝癌标志物,在肝癌的诊断、治疗及疗效监测中具有重要的作用。但是在活动性肝病、妊娠、生殖腺胚胎源性肿瘤和少数肾、胰、结肠、直肠癌也可有 AFP 的增高,显示 AFP 诊断肝癌的局限性。由于肝细胞癌具有较高的异质性,同时检测两种或以上的肿瘤生物标志物被认为是肿瘤早期诊断的较好选择^[1-2]。

热休克蛋白-27(heat shock protein, HSP-27)是小分子热休克蛋白亚家族中重要的一员,参与了细胞的增殖、分化以及细胞凋亡的信号转导调节,与肿瘤关系密切,是一个涉及细胞生长、细胞凋亡、肿瘤的发生和转移等功能的重要蛋白,在乳腺、肝、结肠、肺等多种肿瘤细胞中异常过表达,并与肿瘤的恶性程度有关^[3]。磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC-3)在肝癌组织中高表达,而在非肝癌组织及正常组织中没有表达或表达量极低,其表达的阳性率高于 AFP,有可能成为用于诊断 PHC 新的肿瘤标志物^[4]。本实验通过免疫组织化学方法检测

肝癌、肝硬化、肝炎、良性肝脏占位组织中的 HSP-27 与 GPC-3 的表达情况,探讨这二者在肝癌诊断中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料 32 例肝癌组织、30 例肝硬化组织、25 例良性肝脏占位组织(14 例肝囊肿、11 例肝血管瘤组织)取自本院肝胆外科,31 例慢性肝炎组织标本取自本院消化内科及感染科。其中肝癌组织为术前未经放疗、化疗的原发性肝癌患者的手术切除标本,均取无坏死癌组织和无癌细胞浸润的癌旁组织。肝癌患者中男 22 例,女 10 例;年龄 39~83 岁(≤ 50 岁 12 例, > 50 岁 20 例)。血清乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)阳性 18 例,阴性 14 例;AFP ≤ 400 $\mu\text{g/L}$ 18 例, > 400 $\mu\text{g/L}$ 14 例,瘤体直径小于或等于 5 cm 14 例,大于 5 cm 18 例。肿瘤组织 Edmondson-Steiner 分级:Ⅰ级 6 例,Ⅱ级 14 例,Ⅲ级 2 例,Ⅳ级 10 例。肝癌 TNM 分期Ⅰ期 16 例,Ⅱ期 2 例,Ⅲ期 12 例,Ⅳ期 2 例。标本经 4%甲醛固定,脱水,常规石蜡包埋。

1.2 试剂 鼠抗人 HSP-27 单克隆抗体、鼠抗人 GPC-3 单克隆抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司,ChemMate™ EnVision/HRP 兔/鼠通用型二抗购自基因科技(上海有

^{*} 基金项目:重庆市卫生局重点项目(2011-1-055)。 作者简介:申东(1985~),硕士在读,主要从事肝癌方面的研究。 [△] 通讯作者, Tel:13983625196; E-mail: g6j6@sohu.com。

限公司),10 mmol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)、苏木素。

1.3 方法 用病理组织切片机将组织标本石蜡块切成 3 μm 厚切片,再以免疫组织化学染色二步法(SP 法)检测 HSP-27 及 GPC-3 的表达。免疫组化主要步骤:石蜡切片脱蜡和水化后,高压煮沸修复。切片加 50 μL 过氧化酶溶液,室温下孵育 10 min。PBS(pH 7.4)冲洗(3×5 min 下同)。切片加 50 μL 的非免疫性动物血清,室温下孵育 10 min,吸去多余的液体。切片加 50 μL 的一抗,室温下孵育 60 min 或 4 ℃过夜。PBS 冲洗 3×5 min 切片加 50 μL 通用型二抗,室温下孵育 10 min。PBS 冲洗 3×5 min 切片加 100 μL 新鲜配制的 DAB 溶液,显微镜下观察 3~10 min。自来水冲洗,苏木素复染,中性树胶封固。

1.4 结果判定 每张切片在 400 倍显微镜下随机取 5 个视野,每视野计数 100 个癌细胞为基数,将着色细胞所占比例的平均数作为评定依据。分为阴性(-),细胞无着色或着色细胞小于 5%;弱阳性(+),着色细胞占 5%~25%;阳性(++),着色细胞占 26%~50%;强阳性(+++),着色细胞超过 50%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

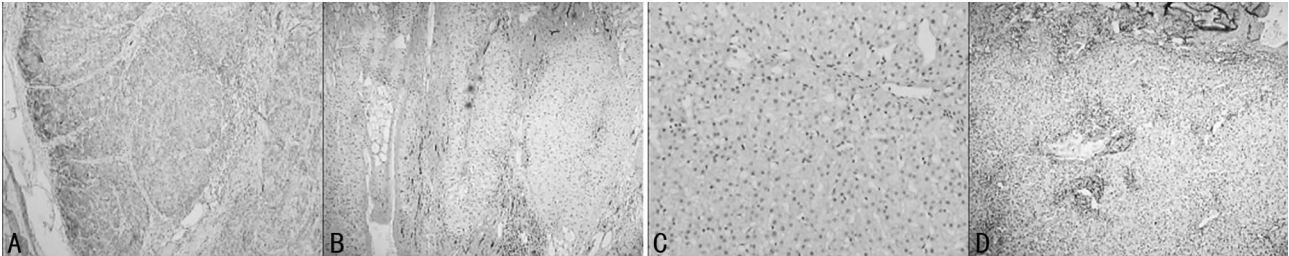
2 结 果

2.1 HSP-27 在肝癌、肝硬化、肝炎、良性肝脏占位组织中的表

达 HSP-27 主要表达在细胞质,少数可见胞膜表达,呈棕黄色。其在肝癌组织中高表达,阳性率 56.25%(18/32),而在癌旁组织中未见表达;HSP-27 在 30 例肝硬化组织中的阳性率为 20%(6/30),与其在肝癌组织中的表达差异有统计学意义($P<0.05$);而在肝炎组织、良性肝脏占位组织中均未见表达,见图 1。

2.2 GPC-3 在肝癌、肝硬化、肝炎、良性肝脏占位组织中的表达 GPC-3 主要表达在胞质中,呈棕褐色。其在肝癌组织中高表达,阳性率 87.5%(28/32),在癌旁组织中偶见表达(3/32);GPC-3 在肝硬化组织中的阳性率为 40%(12/30),与其在肝癌组织中的表达差异有统计学意义($P<0.05$);在肝炎组织、良性肝脏占位组织中均未见表达,见图 2。

2.3 HSP-27、GPC-3 的表达与原发性肝癌临床特征的关系 HSP-27 在肝癌组织的表达,与肝癌细胞的分化程度及临床分期有关,差异有统计学意义($P<0.05$),在Ⅲ~Ⅳ级及Ⅲ~Ⅳ期的肝癌组织中的 HSP-27 的阳性率分别为 100.0%、85.7%,明显高于Ⅰ~Ⅱ级及Ⅰ~Ⅱ期肝癌组织的 HSP-27 的阳性率;但 HSP-27 的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、HBsAg 定性和 AFP 定量无关;GPC-3 在肝癌组织的表达则与肿瘤病理分级、临床分期、肿瘤大小、HBsAg 定性和 AFP 定量无关,但在性别、年龄上的差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

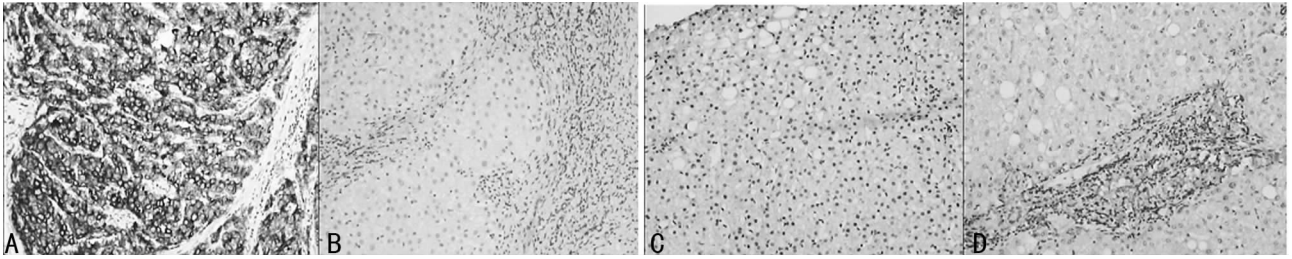


A:肝癌组织;B:肝硬化组织;C:肝炎组织;D:良性肝脏占位组织。

图 1 HSP-27 在肝癌、肝硬化、肝炎、良性肝脏占位组织中的表达(SP 染色 ×40)

表 1 HSP-27、GPC-3 的表达与原发性肝癌临床特征的关系

临床特征		n	HSP-27				GPC-3			
			阳性(n)	阳性率(%)	χ^2	P	阳性(n)	阳性率(%)	χ^2	P
性别	男	22	10	45.45	3.334	0.068	22	100.00	10.057	0.002
	女	10	8	80.00			6	60.00		
年龄(岁)	≤50	12	6	50.00	0.305	0.581	8	66.67	7.619	0.006
	>50	20	12	60.00			20	100.00		
肿瘤直径(cm)	≤5	14	6	42.86	1.814	0.178	12	85.71	0.073	0.788
	>5	18	12	66.67			16	88.89		
Edmondson-steiner 分级	Ⅰ级	6	2	33.34	14.972	0.002	6	100.00	1.698	0.637
	Ⅱ级	14	4	28.57			12	85.71		
	Ⅲ级	2	2	100.00			2	100.00		
	Ⅳ级	10	10	100.00			8	80.00		
TNM 分期	Ⅰ~Ⅱ期	18	6	33.33	8.780	0.003	16	88.90	0.730	0.788
	Ⅲ~Ⅳ期	14	12	85.70			12	85.70		
HBsAg	阳性	18	10	55.56	0.008	0.928	16	88.89	0.730	0.788
	阴性	14	8	57.14			12	85.71		
AFP(μg/L)	≤400	28	8	28.57	2.330	0.121	14	50.00	3.556	0.085
	>400	14	10	71.42			14	100.00		



A:肝癌组织;B:肝硬化组织;C:肝炎组织;D:良性肝脏占位组织。

图2 GPC-3 在肝癌、癌旁、肝硬化、肝炎、良性肝脏占位组织中的表达(SP 染色 $\times 100$)

3 讨论

HSP-27 是功能很强并普遍存在的一种分子伴侣,其重要的生物学功能包括保护细胞免受各种应激因素的损伤、参与细胞增殖分化,在细胞凋亡的多个关键点起作用,在癌细胞中表达水平很高,并参与癌症的发生、发展、转移和化疗抵抗等。HSP-27 在一些肿瘤中呈现高表达,包括乳腺癌、神经母细胞瘤、消化道肿瘤等多种恶性肿瘤,并与肿瘤的恶性程度及 TNM 分期有关^[5]。对肝肿瘤组织、健康人及乙型肝炎病毒感染者的血清蛋白质组学研究发现,在恶性程度高、侵袭性强的肝癌组织及肝癌患者血清中 HSP-27 呈高表达^[6]。有研究表明,在对 76 例 PHC 患者的单一诊断及平行诊断中,HSP-27 单项的敏感性为 59.21%,特异性 73.13%,阳性预测值是 71.43%,当 HSP-27 与经典标志物 AFP 相结合检测 PHC 时诊断的敏感性为 78.95%,特异性 77.61%,阳性预测值是 80.00%^[7]。本研究结果提示,HSP-27 在 32 例肝癌中的阳性率明显高于肝硬化,而在肝炎、良性肝脏占位组织中均未见表达,且与癌组织的病理分级及 TMN 分期有明显相关性,低分化及晚期转移性肝癌 HSP-27 的阳性率明显偏高,而与肝癌患者的年龄、性别、肿瘤大小、HBsAg 定性和 AFP 定量等因素均无关,这与文献^[8]报道的研究结果相一致,作者推测 HSP-27 蛋白在肝癌的发生、发展及转移中发挥重要作用。

GPC-3 是一种参与细胞增殖和胚胎发育的细胞膜糖蛋白,在细胞增殖与分化的发展过程中发挥重要作用,通过结合胞外基质、生长因子和蛋白酶等对细胞生长分化以及肿瘤形成和转移起重要作用^[9]。Hsu 等^[10]报道了在 191 例 PHC 组织中,143 例(74.8%)能检测到了 GPC-3 mRNA,而在 156 例癌旁“非瘤”肝组织中仅有 5 例(3.2%)为阳性,该 5 例均为有门脉或远处转移的病例。GPC-3 mRNA 及其蛋白在 PHC 组织中的阳性率通常为 70%左右,而在正常肝脏、肝脏良性肿瘤、慢性肝炎和肝硬化等中均呈阴性^[11-12]。Capurro 等^[13]研究表明,在 29 例 HCC 组织中,21 例 GPC-3 蛋白表达阳性,而在正常肝组织及良性肝病组织中未检测到 GPC-3 蛋白,而后用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中 GPC-3 蛋白,结果发现在 34 例 HCC 患者中有 18 例(53%)GPC-3 蛋白浓度明显升高,而在 20 例肝硬化合并慢性肝炎的患者中仅有 1 例 GPC-3 蛋白浓度升高。丁光辉等^[14]研究发现,GPC-3 mRNA 的表达与包膜是否完整、有无癌栓形成、有无肝内转移、性别、年龄及 HBsAg 均无关。本研究结果显示,GPC-3 在肝癌中的阳性率为 87.5%明显高于肝硬化组织(阳性率为 40%),差异有统计学意义($P < 0.05$),在肝炎、良性肝脏占位组织中均未见表达,同时 GPC-3 与肿瘤的病理分级、临床分期、大小、HBsAg 定性和 AFP 定量等无关,与上述研究报道^[10-15]相一致,这再次证实了 GPC-3 与肝癌有着密切的联系,表明 GPC-3 可作为新的肝癌肿瘤标记物。而 GPC-3 在患者性别、年龄方面的统计学差

异有可能与样本数量较少有关,故进一步的大样本研究是必要的。

综上所述,HSP-27 和 GPC-3 在肝癌组织中高表达,而在肝硬化组织中低表达,在肝炎、良性肝脏占位组织中不表达,表明 HSP-27 和 GPC-3 与肝癌的发生、发展和转移有着密切联系,可成为潜在的肝癌诊断标志物,对提高肝癌的检出率以及肝癌预后判断都有重要意义,进一步的研究以明确 HSP-27 及 GPC-3 表达调控异常在肝癌发生中的机制,可能为肝癌的靶向治疗开辟新的前景。

参考文献:

- [1] Santamaria E, Munoz J, Fernandez-Irigoyen J, et al. Toward the discovery of new biomarkers of hepatocellular carcinoma by proteomics[J]. *Liver Int*, 2007, 27(2):163-173.
- [2] Block TM, Marrero J, Gish RG, et al. The degree of readiness of selected biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma: notes from a recent workshop[J]. *Cancer Biomark*, 2008, 4(1):19-33.
- [3] Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, et al. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis[J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 3(3):164-172.
- [4] 杨广顺, 杨宁. 原发性肝癌近 20 年的诊治进展和发展趋势[J]. *中国实用外科杂志*, 2002, 22(1):9-11.
- [5] Filomeni G, Aquilano K, Rotilio G, et al. Antiapoptotic response to induced GSH depletion: involvement of heat shock proteins and NF-kappaB activation[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(3/4):446-455.
- [6] Feng JT, Liu YK, Song HY, et al. Heat-shock protein 27: a potential biomarker for hepatocellular carcinoma identified by serum proteome analysis[J]. *Proteomics*, 2005, 5(17):4581-4588.
- [7] 王金龙, 胡树珍, 潘东晓, 等. 血清 HSP-27 在原发性肝细胞癌早期诊断中的应用[J]. *解剖学研究*, 2011, 33(3):194-197.
- [8] 戴凤姣, 冯茂辉, 谢伟, 等. HSP-27 在肝癌中的表达及临床意义[J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(10):578-581.
- [9] 周伟, 郭霞, 曹志刚. 血清 glypican3 检测在原发性肝癌诊断中的临床意义[J]. *肿瘤*, 2007, 27(9):679-682.
- [10] Hsu HC, Cheng W, Lai PL. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(22):5179-5184.
- [11] Gonzalez AD, Kaya M, Shi W, et al. OCI-5 /GPC-3, a glypican encoded by a gene that is mutated in the Golabi-Beckwith overgrowth syndrome, induces(下转第 2974 页)

级之间的差异有统计学意义,这可能提示 V_{30} 在预测 3 级 ARP 方面更有优势。随着分子生物学研究的深入,目前认为放射性肺损伤是一个由多细胞参与、多种细胞因子调控的生物学过程。肺 II 型细胞和肺毛细血管、微血管的内皮细胞作为最主要的靶细胞,受到射线照射后会释放促炎性细胞因子,多种细胞和细胞因子相互作用,始动和维持了放射性肺损伤。

TM 由巨核细胞和内皮细胞合成,广泛分布于血管内皮细胞表面。TM 是重要的血管内凝血抑制因子,凝血酶与它结合后凝血活性下降,反之,TM 的降低会导致微血管处于高凝状态。邱峻等^[13]通过检测鼠受照射肺组织中的 TM 变化,推测内皮细胞的放射损伤导致的持续高凝状态,在肺放射损伤中起着基础性作用。Martin 等^[14]发现,直肠癌放疗治疗早期即能明显引起肠道微血管内皮细胞 TM 含量下降并持续到慢性损伤阶段。因为发生放射损伤的机制相似,所以作者推测这种情况存在于其他器官的放射性损伤。Wang 等^[15]报道放疗后微血管内皮细胞 TM 含量下降。一项包含 17 例肺癌患者的前瞻性研究,测量 3DCRT 前、中、后血清 TM 含量发现,在 ARP 发生患者中,放疗后 1 周 TM 明显下降,作者认为 TM 是一个早期预测 ARP 的指标^[16]。本研究发现,放射 30 Gy 时 TM 较基础水平降低组,ARP 发生率明显高于放疗后 TM 水平增加组,这与上述研究结果一致。

总之,本研究证实 MLD、 V_5 、 V_{10} 、 V_{20} 和 V_{30} 与 ARP 之间有相关性,放疗后血清 TM 水平的下降会加重放射性肺损伤。在放疗期间检测血清 TM 水平,对及时调整放疗计划有重要的临床意义。不同剂量体积参数的阈值、其他反映内皮细胞等靶细胞损伤的指标需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Chen YY, Williams J. Radiation pneumonitis and early circulatory cytokine markers[J]. *Seminars in Radiation Oncology*, 2002, 12(Suppl 1):26-33.
- [2] 王明臣,刘洪明,刘杰,等.放射性肺炎影响因素的多元回归分析[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2003, 12(增刊):49-51.
- [3] Graham MV, Purdy JA, Emami B, et al. Clinical dose-volume histogram analysis for pneumonitis after 3D treatment for non-small cell lung cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1999, 45(2):323-329.
- [4] Claude L, Perol D, Ginestet C, et al. A prospective study on radiation pneumonitis following conformal radiation therapy in non-small-cell lung cancer: clinical and dosimetric factors analysis [J]. *Radiation Oncol*, 2004, 71(2):175-181.
- [5] Hernando ML, Marks LB, Benel GC, et al. Radiation-induced toxicity: a dose-volume histogram analysis in 201 patients with lung cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol*

Phys, 2001, 47(3):650-659.

- [6] Michael F, Alex T, Richard F, et al. Dose-volume histogram analysis as predictor of radiation pneumonitis in primary lung cancer patients treated with radiotherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 51(5):1355-1363.
- [7] Kim TH, Ho KH, Pyo HR, et al. Dose-volumetric parameters for predicting severe radiation pneumonitis after three-dimensional conformal radiation therapy for lung cancer [J]. *Radiation Oncology*, 2005, 235(1):208-215.
- [8] 王澜,吕冬婕,韩春,等.胸部肿瘤同期放疗患者肺功能及剂量学参数对急性放射性肺炎的预测价值[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2011, 20(1):40-43.
- [9] Ramella S, Trodella L, Mineo TC, et al. Adding ipsilateral V20 and V30 to conventional dosimetric constraints predicts radiation pneumonitis in stage IIIA-B NSCLC treated with combined-modality therapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 56(1):110-115.
- [10] Wang S, Liao Z, Wei X, et al. Analysis of clinical and dosimetric factors associated with treatment-related pneumonitis (TRP) in patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC) treated with concurrent chemotherapy and three-dimensional conformal radiotherapy (3D-CRT) [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 52(5):1399-1407.
- [11] Kim MY, Lee J, Ha B, et al. Factors predicting radiation pneumonitis in locally advanced non-small cell lung cancer [J]. *Radiat Oncol J*, 2011, 29(3):181-190.
- [12] Miles EF, Larrier NA, Kelsey CR, et al. Intensity-Modulated radiotherapy for resected mesothelioma: the Duke experience [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 54(4):1143-1150.
- [13] 邱俊,李坚何,天楚,等. TM、PAI-1 在放射性肺损伤中的表达及意义 [J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(6):973-975.
- [14] Martin C, Hauer J, Louis M, et al. Radiation injury and the protein C pathway [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(5):325-330.
- [15] Wang J, Zheng H, Ou X, et al. Deficiency of microvascular thrombomodulin and upregulation of protease-activated receptor 1 in irradiated rat intestine: Possible link between endothelial dysfunction and chronic radiation fibrosis [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(6):2063-2072.
- [16] Hauer-Jensen M, Kong FM, Fink LM, et al. Circulating thrombomodulin during radiation therapy of lung cancer [J]. *Radiat Oncol Investig*, 1999, 7(4):238-242.

(收稿日期:2013-02-08 修回日期:2013-04-17)

(上接第 2971 页)

- apoptosis in a cell line-specific manner [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(10):1407-1414.
- [12] Sung YK, Hwang SY, Park MK, et al. Glypican-3 is over-expressed in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(3):259-262.
- [13] 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.

- [14] 丁光辉,王红阳,陈汉,等. GPC-3 mRNA 在甲胎蛋白阴性肝癌中的表达及其意义 [J]. *中华实验外科杂志*, 2001, 18(2):112-113.
- [15] 蔡荣耀,黄志勇,梁宾勇,等.原发性肝细胞癌根治术后肿瘤复发的影响因素及预后 [J]. *中华消化外科杂志*, 2011, 10(4):263-265.

(收稿日期:2013-01-08 修回日期:2013-04-18)