

表达“干细胞性”标志物肝细胞癌亚型的研究进展



王海清, 冯燮林

电子科技大学医学院附属四川省肿瘤医院肝胆胰外科(成都 610041)

【摘要】 目的 总结表达“干细胞性”标志物肝细胞癌亚型的临床病理特点和研究进展。方法 通过检索近年来国内外有关肝细胞癌“干细胞性”标志物研究的相关文献,对表达“干细胞性”标志物肝细胞癌亚型的临床病理特点及预后做一综述。结果 表达“干细胞性”标志物的肝细胞癌是肝细胞癌的一种特殊亚型,其常见的标志物为 EpCAM、CD133、K19 和 CD44,这些标志物多以几种共表达的形式出现并各具特点。表达“干细胞性”标志物的肝细胞癌具有肿瘤侵袭性强的特点,如高甲胎蛋白、易血管侵犯、分化程度低、肿瘤直径大等,这也是肝细胞癌术后复发及转移的关键危险因素。“干细胞性”标志物的提出为肝细胞癌的靶向和个体化治疗及预测预后提供了新的思路,但“干细胞性”标志物的异质性也增加了其临床应用的难度。结论 表达“干细胞性”标志物的肝细胞癌是一类侵袭性强的特殊亚型肝细胞癌,其为肝细胞癌的靶向治疗提供了新的方向。

【关键词】 肝细胞癌; 干细胞性; 标志物; 预后

Research progress of hepatocellular carcinoma expressing “stemness”-related markers

WANG Haiqing, FENG Xielin

Department of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, Sichuan Cancer Hospital & Institute, Sichuan Cancer Center, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610041, P. R. China

Corresponding author: WANG Haiqing, Email: 541026814@qq.com

【Abstract】 **Objective** To summarize clinicopathological characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma expressing “stemness”-related markers. **Method** The clinical researches on hepatocellular carcinoma expressing “stemness”-related markers in recent years were reviewed. **Results** The hepatocellular carcinoma expressing “stemness”-related markers was the special subtype with the aggressive biological behavior as compared with the conventional hepatocellular carcinoma, which were associated with the increased serum α -fetoprotein level, vascular invasion, larger tumor, poor differentiation, and poor clinical outcome. The approved “stemness”-related markers included EpCAM, CD133, K19, and CD44, which often co-expressed and had their own characteristics. The presentation of “stemness”-related marker was heterogeneous and it increased the difficulty to carry on the research of therapeutic agents targeted against this aggressive HCCs. **Conclusion** Hepatocellular carcinoma expressing “stem cell” markers is a special subtype with a strong invasiveness, which provides a new direction of targeting therapy for hepatocellular carcinoma.

【Keywords】 hepatocellular carcinoma; stemness; marker; prognosis

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国常见的肝脏原发肿瘤,起病隐匿,恶性程度高,临床上只有 20% 的 HCC 患者能够获得根治性切除^[1-2],且其对放化疗敏感性差,长期生存率低。

因此,如何探索新的治疗靶点和提高 HCC 患者生存率一直都是该领域的焦点。现有越来越多的研究发现有一部分 HCC 细胞表面表达了“干细胞性”标志物,这些标志物的表达很可能是 HCC 复发和转移的根源,并认为是 HCC 的一种特殊亚型。笔者在此对表达“干细胞性”标志物 HCC 的特征及临床病理表现进行综述,为探索其新的靶向治疗提供方向。

DOI: 10.7507/1007-9424.201803051

基金项目: 四川省科技计划项目(项目编号: 18YYJC0671)

通信作者: 王海清, Email: 541026814@qq.com

1 表达“干细胞性”标志物 HCC 亚型的定义

近年来,随着 HCC 干细胞理论的提出,研究者^[3-4]开始对 HCC 发生、发展、复发及转移机制有了新的认识,并为其治疗及预后提供了新的思路。但是目前的技术手段尚不能从形态学上鉴定肿瘤干细胞,而只能用功能学方法对其自我更新能力和分化潜能两个主要生物学特征进行评价,也就是通过筛选 HCC 干细胞特性标志物这一技术手段来筛选干细胞^[5]。但是由于 HCC 在组织病理学、肿瘤形成和生物学行为方面均具有异质性^[6],如部分正常肝组织或 HCC 细胞也可表达“干细胞性”标志物,而部分 HCC 干细胞并不表达“干细胞性”相关标志物,这也限制了 HCC 干细胞的鉴别及其在临床上的应用。

目前研究^[2]发现,最能体现 HCC 细胞恶性特征的是一部分表达“干细胞性”标志物的 HCC 细胞,其具有干细胞侵袭性强的特征,也是其复发和转移的主要来源,研究者将这一类型的 HCC 称为“干性相关标志物表达的肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma expressing stemness-related markers, HCC-ESM)”,其具有常规 HCC 一致的组织形态学特征,但至少要有 5% 的肿瘤细胞经免疫组织化学检测出表达肝干细胞相关的标志物,因此,将它定义为一类特殊的 HCC 亚型^[1,6-9]。

关于 HCC-ESM 的形成,推测其可能是来源于肝干细胞的恶性转化或者是 HCC 在形成过程中干细胞的特征未能完全去分化^[6]。但是 HCC-ESM 定义中关于“干细胞性”这一说法仍有争议,因为这似乎在暗示这些肿瘤细胞具有干细胞功能,即与正常组织的干细胞具有相同的自我更新、无限增殖能力、多能性等功能特性^[7],而实际上其“干细胞性”指的是 HCC 细胞表面表达的一类“干细胞性”分子标志物,这些“干细胞性”特征代表了肿瘤细胞具有更强的侵袭性,这部分细胞大多数仍是成熟的 HCC 细胞,但也含有一部分 HCC 干细胞,而不是专指肝干细胞的肿瘤转换以及具有干细胞的功能^[1]。因此,目前对“干细胞性”特征的定义是根据其功能特征,并不是根据其细胞起源。

HCC-ESM 与常规 HCC 虽然在形态学上并没有明显的差异,但其侵袭性更强和预后更差,是 HCC 根治性治疗后复发和转移的关键^[7]。

2 常见“干细胞性”标志物

肝细胞在分化成熟过程中的不同阶段可表达

不同的细胞表面标志物,这些标志物需要通过免疫组织化学进行筛选和鉴别。肝干细胞表面常表达 K7、K19、上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)、CD56、甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 等标志物;同时肝干细胞具有双向分化成胆管细胞和肝细胞的潜能,在分化成肝细胞后细胞表面不再表达 K7、K19、EpCAM 和 CD56,而表达肝细胞特异性标志物如 HepPar1 等,但在分化成胆管细胞后细胞表面却仍表达 K19 和 EpCAM^[6]。因此,在鉴别 HCC-ESM 时,首先需要排除胆管细胞癌和肝细胞-胆管细胞混合癌。目前研究^[1,6-7,10-13]已经鉴别的“干细胞性”标志物多达 10 余种,但常见的仍为 EpCAM、CD133、K19、CD13、CD44 等。

2.1 EpCAM

EpCAM 属于黏附分子家族,是肿瘤相关钙信号转导物 1 基因编码的一个单次跨膜糖蛋白,由胞外结构域、单次跨膜结构域和胞内结构域三部分组成。胚胎时期肝细胞 EpCAM 表达阳性,而成熟肝细胞 EpCAM 表达阴性,但是胆管上皮细胞 EpCAM 表达为阳性,其作为上皮细胞间黏附分子在上皮细胞癌变过程中发挥着重要作用,主要通过调节细胞增殖、免疫逃逸等机制促进肿瘤的发生,并与肿瘤的迁移和侵袭性密切相关^[14];EpCAM 通过参与 β -连环蛋白依赖的 Wnt 级联反应而激活 c-myc 基因、cyclinA/cyclinE 等原癌基因的表达,从而具有致瘤作用;同时 EpCAM 阳性 HCC 细胞内的聚 ADP 核糖聚合酶及由聚 ADP 核糖聚合酶募集的染色质域解螺旋酶 DNA 结合蛋白 4 可迅速修复 DNA 的损伤、维持染色体稳定,从而增强肿瘤的侵袭性。EpCAM 是 HCC 主要的表达标志物之一,其在 HCC 中表达阳性率为 19.9% ~ 35%,EpCAM 表达阳性的 HCC 患者年龄更小、肿瘤直径更小,但肿瘤分化程度低^[10,13,15]。

2.2 CD133

CD133 是人类造血干细胞或祖细胞的 5 次跨膜糖蛋白分子,相对分子质量为 120×10^3 ,属于 prominin 大家族,是最常见的“干细胞性”标志物之一,常在肝、肺、结直肠、前列腺等实体肿瘤细胞表面表达^[16],其在正常肝组织中可能参与肝脏的再生。早期研究^[17]发现,CD133 阳性 HCC 细胞因具备自我更新及分化特征而具有强大的增殖及成瘤能力,其成瘤能力与丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) /磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 信号通路的异常激活相关,而敲除 CD133 基因后则导致肿瘤细胞增殖及

成瘤能力下降。文献^[18-19]报道, 13.5% ~ 24.8% 的 HCC-ESM 可表达 CD133。还有研究^[15, 17]发现, CD133 更易出现在伴有肝硬化的 HCC 中, 其阳性表达对早期 HCC 复发预测有一定价值。目前的一项研究^[20]发现, 血管内皮生长因子通过激活血管内皮生长因子受体-2、增加 CD133 阳性肿瘤细胞的数量和增强其自我更新能力, 从而促进了 HCC 术后的复发。

2.3 CD44

CD44 是一个完整的跨膜糖蛋白, 是透明质酸的受体, 对细胞与基质之间的黏附、淋巴细胞的激活及归巢、肿瘤的侵袭及转移起着重要作用, 主要参与了细胞间的黏附和迁移, 并已发现其在 HCC 中可能与肿瘤细胞的侵袭和转移相关。文献^[21]报道, 在 HCC-ESM 中 CD44 表达阳性率可达到 78.35%。Gao 等^[22]的一项研究发现, CD44 阳性细胞主要是通过转化生长因子 (TGF) β 1 激活 Akt/GSK-3 β / β -catenin 信号通路介导的上皮-间质转化而促进肿瘤细胞的转移, 敲除 CD44 基因后 HCC 细胞转移能力则明显下降。

2.4 CD13

CD13 即氨肽酶 N, 属于 Zn^{2+} 结合的金属蛋白酶超家族, 由 967 个氨基酸组成的糖蛋白, 在细胞膜上形成同源二聚体; 在胞外部有近羧基端的结构域和近膜的结构域, 前者结合底物, 后者为酶催化区; 是一种跨膜的金属结合蛋白酶, 能将氨基酸的氮端切除。有研究^[23]发现, CD13 富集与 HCC 早期复发和较差的预后有关, CD13 可通过降解细胞外基质促进肿瘤的转移, 辅助血管生成增加肿瘤的侵袭性, 还通过其蛋白水解功能、干扰抗原呈递及逃避免疫识别, 在肿瘤细胞的形成和发展中扮演重要的角色, CD13 是 HCC 的潜在治疗靶点。

2.5 K19

K19 是一种胆管型细胞角蛋白, 常表达于胆管细胞和肝干细胞, 是最常见的 HCC “干细胞性” 标志物。K19 在 HCC 中表达阳性率为 9.6% ~ 25%, 常与其他标志物共同表达, K19 表达阳性的 HCC-ESM 常有明显增加的上皮-间质转化, 显示了 K19 表达阳性的 HCC 细胞具有更强的侵袭性; 同时还发现, K19 阳性表达的 HCC-ESM 具有肿瘤直径更大、血管侵犯更常见、分化程度更差、肿瘤包膜不完整等特征^[11]。K19 能激活 TGF β /Smad 通路, 从而促进肿瘤的转移。体外实验^[10]也表明, K19 阳性表达的 HCC 细胞更具有侵袭性, 尤其是更容易侵犯基底膜; 而当敲除 K19 基因后, 其侵袭

能力可下降 34.7%。

临床病理研究^[11, 15]发现, HCC-ESM 中具有上述任何一种标志物的表达阳性率为 18% ~ 59.8%, 但大多数 HCC-ESM 具有 2 种或 2 种以上标志物的表达。在一项 282 例肝癌标本的研究^[15]发现, 2 种标志物表达阳性率占 26.4%, 3 种占 11.5%, 4 种占 2.3%。K19 是最常见的多表达标志物, 一项研究^[11]发现, 92% 的 K19 阳性表达的 HCC 伴有其他标志物的表达。对于哪种标志物或者哪一类标志物能够完全代表 HCC 的 “干细胞性” 目前仍没有统一的认识。因为 HCC 干细胞的起源尚不清楚, 有可能存在 3 种或 3 种以上的来源 (如起源于干细胞、成熟的肝实质、骨髓细胞等), 因此, 有可能不存在绝对的特异性标志物。但临床研究^[24-26]发现, 多种高灵敏度标志物的联合更能体现 HCC 细胞的侵袭性, 更有利于预测 HCC 术后的复发和转移, 也为靶向治疗提供更多的思路。

3 “干细胞性” 标志物的特征

3.1 异质性

肿瘤在演进过程中因获得性遗传不稳定性出现多个不同生物学特征的细胞亚群。上述的阐述也发现, 不同 HCC 之间存在不同的 “干细胞性” 标志物表达, 即使在同一多发结节的 HCC 患者中, “干细胞性” 标志物的表达也不一致。从目前的研究结果来看, “干细胞性” 标志物体现的是 HCC 细胞的一种状态而并非是一个固定的细胞群体, 因为 “干细胞性” 标志物表达和非表达的 HCC 细胞之间是一种动态变化的关系, 可以互相转化, 这一变化可受干细胞所处微环境的调控^[8, 27]。因此, 这导致了 “干细胞性” 标志物的异质性。Lo 等^[28]在一项研究中发现, 21 例多发性 HCC 患者中有 16 例 (76.2%) “干细胞性” 标志物表达为阳性 (表达一种或多种标志物); 而在这 16 例 HCC 中 14 例患者的 Sox9 表达水平均不一致; 仅有 6 例患者同时表达相同程度的 EpCAM、Sox9、K19 水平 (其中 5 例表达水平均为 0, 即表达阴性)。Kumagai 等^[29]的研究按 HCC 的直径大小分成 2 cm、2 ~ 5 cm 和 5 ~ 8 cm 3 组, 免疫组织化学研究发现, K19、CD56 及 EpCAM 表达阳性率随着肿瘤直径的增加而升高, 结果提示, “干细胞性” 标志物的表达是动态变化的。因此, “干细胞性” 标志物的表达具有异质性, 这也为 HCC 的靶向治疗带来了难度, 同时也为精准治疗提出了要求。

3.2 非特有

上述常见的标志物并非 HCC 细胞所特有, 其他正常的组织细胞如胆管细胞、正常干细胞以及其他恶性肿瘤如胆管细胞癌、乳腺癌等均可表达这些标志物。一项对慢性肝病各个阶段的免疫组织化学研究^[21]发现, CD44 表达阳性率在丙型肝炎 (hepatitis C, HCV) 患者中为 33.7%、肝硬化患者中为 58.65% 及 HCC 患者中为 78.53%, CD133 表达阳性率也呈现同样逐渐上升的趋势, 在 HCV 患者中为 20.5%、肝硬化患者中为 37.75% 及 HCC 患者中为 76.7%, 由此可见, “干细胞性”标志物并非癌细胞所特有。因此, 对 HCC-ESM 的鉴别需要同时结合临床和进行多标志物的联合鉴别。

3.3 可诱导性

HCC 在介入、射频治疗后, 由于肿瘤周围微环境的改变, 可能导致“干细胞性”标志物表达谱的改变^[28, 30]。HCC 射频治疗后可快速出现复发, 且复发肿瘤的表型可发生改变, 如分化程度更低、血管侵犯更多等, 其恶性潜能的加强很可能是通过不充分热损失导致的^[31]。有研究^[32-33]对 HCC 射频治疗后复发再切除和未行射频治疗直接切除标本分析发现, EpCAM 和 CD133 在射频治疗后表达明显增加, 也因此导致了更多的肝外转移和更低的生存率 (5 年生存率分别 39% 和 68%)。

4 “干细胞性”标志物与 HCC 患者临床病理特征的关系

与常规 HCC 相比, HCC-ESM 在临床病理方面也具有一定的独特特征。有研究^[13]发现, “干细胞性”标志物的表达更易发生在年轻 HCC 患者中, 其 AFP 水平也更高。Durnez 等^[34]研究发现, K19 表达阳性的 HCC 患者的 AFP>400 $\mu\text{g/L}$ 占 56%, 而 K19 表达阴性的 HCC 患者的 AFP>400 $\mu\text{g/L}$ 只占 28%。

影像学方面, 增强磁共振扫描发现, K19 和 EpCAM 表达阳性的 HCC 在动脉期呈现出强化, 在门静脉期和肝静脉期仍有持续性强化的特点^[34]。

从病理方面看, HCC-ESM 常无包膜, 更易呈现出浸润性生长、血管侵犯、肿瘤更大、分化程度更差、纤维基质成分更常见等特征^[8, 11, 18-19, 35]。Yamashita 等^[13]通过对 60 例 EpCAM⁺AFP⁺ HCC 患者和 96 例 EpCAM⁻AFP⁻ HCC 患者比较发现, EpCAM⁺AFP⁺ HCC 的年龄更小 [(46±10.7) 岁比 (52.9±10.5) 岁]、具有更加晚期的 TNM 分期 (III 期患者 23.3% 比 8.3%) 以及更高的门静脉癌栓比例 (18.3% 比 9.3%)。Govaere 等^[10]对 242 例 HCC 标本

的研究发现, K19 阳性表达的 HCC 微血管侵犯达到 100%、转移率达到 83.33%、低分化程度比例占 57.89%, 而阴性患者相应的比例只有 52.03%、48.25% 及 18.24%; K19 阳性表达 HCC 的肿瘤平均大小为 6.77 cm, 而阴性患者只有 4.5 cm, 结果提示, K19 阳性表达的 HCC 具有肿瘤大、分化程度低、有血管侵犯、易转移等恶性程度高的特点; 研究同时还发现, HCC-ESM 还与致癌相关基因相关, 如“干细胞性”标志物表达增加了上皮-间质转化蛋白以及 mRNA 表达, 减少了癌细胞的凋亡和增加了其增殖活性; K19 阳性表达的 HCC 细胞还高表达与肿瘤侵犯或转移相关的基因 (VASP、TACSTD2、LAMB1、LAMC2 及 PDGFRA) 以及与干细胞相关的基因 (如 CD133、GSTP1、NOTCH2 及 JAG1)。

总之, 从临床、影像学以及病理学均显示 HCC-ESM 具有更为恶性的肿瘤生物学行为。

5 “干细胞性”标志物与 HCC 预后的关系

HCC-ESM 的特征不仅体现在临床病理, 最主要的还是其侵袭性特征能够促进 HCC 复发和转移。Durnez 等^[34]对 HCC 肝移植术后的研究发现, K19 阳性表达 HCC 患者肝移植后的 5 年复发率高达 50%, 而阴性患者只有 25%。对 HCC 肝切除患者的研究也证实了“干细胞性”标志物对复发的影响, 如 Chan 等^[15]研究了 282 例 HCC 患者, 结果发现, 表达 CD133、EpCAM 和 K19 均影响 HCC 切除术后的复发和总体生存; 对于 AJCC 分期 I 期患者, CD133 阳性患者 5 年无瘤生存率为 38%, 而阴性患者为 67%; 进一步的研究结果提示, CD133 阳性主要影响早期 HCC 术后的复发, 而 CD90 和 EpCAM 则主要影响中晚期 HCC 患者的肿瘤复发。

标志物的双表达对 HCC 预后的预测更加准确, 如 Dai 等^[37]研究联合 AFP 和 CD133 将根治性切除 HCC 患者分成 4 组, 研究发现, CD133⁺AFP⁺ HCC 患者的生存率最低, 其次是 CD133⁺AFP⁻ HCC 患者和 CD133⁻AFP⁺ HCC 患者, 而 CD133⁻AFP⁻ HCC 患者的预后最好; 同样, K19 与 Hep Par 1^[38]、CD44 与 CD133^[39]、EpCAM 与 AFP 的双表达模式^[13]对预后的预测也有重要的临床意义。

近年来的一项研究^[40]发现, HCC 癌旁组织中 EpCAM 和 CD13 的表达不仅与肿瘤大小、肝硬化及血管侵犯相关, 也与根治性切除后复发相关, EpCAM 表达阳性的癌旁组织其无瘤生存率和总生

存率更低,而 CD13 的阳性表达主要影响总生存率,这很可能是由于 EpCAM 和 CD13 的阳性表达激活了肝干细胞,进一步促进了汇管区反应和炎症形成,从而导致了新的肿瘤形成。还有研究^[41]发现,HCC 细胞质中的 CD133 表达水平越高,其术后无瘤生存率和总生存率越低,但细胞核中的 CD133 表达水平反而对肿瘤复发转移具有保护作用,即细胞核中的 CD133 表达水平越高,其术后无瘤生存率和总生存率越高。

目前大量的临床研究已经证实,“干细胞性”标志物与 HCC 术后复发和转移密切相关,其机制除了上述阐述的各分子标志物自身的机制外,还可能与 HCC-ESM 的循环肿瘤细胞相关。临床研究^[42]已经证实,HCC 患者血液循环中 CK19、CD90 和 CD133 表达阳性率明显高于慢性肝炎患者和健康对照组,而且其表达阳性率与 HCC 分化程度和分期相关。Zhou 等^[43]的研究发现,EpCAM^{mRNA+}循环肿瘤细胞是 HCC 患者根治性术后复发的独立危险因素。一项对比前入路和常规入路肝切除的对照研究^[44]发现,前入路 HCC 患者循环中 EpCAM^{mRNA+}循环肿瘤细胞数量明显少于常规入路组,且其根治性切除术后 2 年复发率为 27.1%,明显低于常规入路组的 44.9%,结果提示,常规入路肝切除对肝脏的翻动导致了更多的 EpCAM^{mRNA+}循环肿瘤细胞进入外周血液,也成为 HCC 术后复发的根源。因此,“干细胞性”标志物很可能是通过循环肿瘤细胞促进 HCC 的复发和转移。

上述的研究均表明“干细胞性”标记物的表达影响 HCC 的复发和预后,而且其作用在双表达时更明显。因此,HCC-ESM 很可能是 HCC 复发转移的根源,根治性切除术后外周血中残留的 HCC-ESM 循环肿瘤细胞能够播散在全身组织器官,并通过 K19、EpCAM、CD133 分子的侵袭能力,从而形成新的肿瘤。

6 HCC-ESM 的临床应用前景

HCC-ESM 这一亚型的提出对 HCC 病理生理机制有了更深入的认识,同时也为其治疗提供了新的思路。

6.1 HCC 分子病理分型

在过去 10 来,HCC 的病理检查已经逐渐从纯粹的形态学描述进而进展为一个整体的检测,同时提供重要的功能和临床相关信息,并寻求理想的形态学和具有预后和靶向治疗的病理分子生物学亚型^[6]。HCC-ESM 亚型的识别有助于对高危复发

HCC 患者的识别并及时提供新的辅助治疗和严密检测,从而提高患者长期生存。

6.2 个体化治疗

对 HCC-ESM 或者其亚型可针对性地开展新的治疗方式,如表达 K19 的 HCC 具有化疗抵抗和耐药,但 K19 敲除的 HCC 对索拉非尼、阿霉素及氟尿嘧啶的化疗抵抗性减弱^[10]。目前研究^[45-46]发现,TACC3、NEK2 等基因能够促进 HCC 的干性特征,因此,其基因抑制剂可能能够减少干性的表达和肿瘤的侵袭性,成为新的治疗靶点,但是靶向性不强仍然是亟需解决的关键问题,是否可以通过双靶向或者多靶向联合解决靶向性的问题还需要进一步的研究证实。

7 小结

表达“干细胞性”标志物的 HCC-ESM 是 HCC 的一种特殊亚型,其常见的标志物为 EpCAM、CD133、K19 和 CD44,这几种标志物通常多以几种共表达的形式出现且各具特点。HCC-ESM 侵袭性更强,患者预后更差,也是 HCC 术后复发及转移的关键危险因素,“干细胞性”标志物的提出为 HCC 的靶向和个体化治疗及预测预后提供了新的思路,但“干细胞性”标志物的异质性也增加了其临床应用的难度,但目前仍需大量的动物实验和临床试验进一步验证。

参考文献

- Kim H, Yoo JE, Cho JY, *et al.* Telomere length, TERT and shelterin complex proteins in hepatocellular carcinomas expressing “stemness”-related markers. *J Hepatol*, 2013, 59(4): 746-752.
- Calderaro J, Couchy G, Imbeaud S, *et al.* Histological subtypes of hepatocellular carcinoma are related to gene mutations and molecular tumour classification. *J Hepatol*, 2017, 67(4): 727-738.
- Ma S, Chan KW, Hu L, *et al.* Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2542-2556.
- Govaere O, Roskams T. Pathogenesis and prognosis of hepatocellular carcinoma at the cellular and molecular levels. *Clin Liver Dis*, 2015, 19(2): 261-276.
- 江春平. 未来肝癌治疗的新靶点—肝癌干细胞. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(8): 743-746.
- Kim H, Park YN. Hepatocellular carcinomas expressing ‘stemness’-related markers: clinicopathological characteristics. *Dig Dis*, 2014, 32(6): 778-785.
- Marquardt JU, Thorgeirsson SS. Stem cells in hepatocarcinogenesis: evidence from genomic data. *Semin Liver Dis*, 2010, 30(1): 26-34.
- Thorgeirsson SS. Stemness and reprogramming in liver cancer. *Hepatology*, 2016, 63(4): 1068-1070.

- 9 Thorgeirsson SS. Stemness in liver cancer. *Dig Dis*, 2017, 35(4): 387-389.
- 10 Govaere O, Komuta M, Berkers J, *et al*. Keratin 19: a key role player in the invasion of human hepatocellular carcinomas. *Gut*, 2014, 63(4): 674-685.
- 11 Kim H, Choi GH, Na DC, *et al*. Human hepatocellular carcinomas with "Stemness"-related marker expression: keratin 19 expression and a poor prognosis. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1707-1717.
- 12 Fartoux L, Decaens T. Contribution of biomarkers and imaging in the management of hepatocellular carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011, 35(Suppl 1): S21-S30.
- 13 Yamashita T, Forgues M, Wang W, *et al*. EpCAM and alpha-fetoprotein expression defines novel prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2008, 68(5): 1451-1461.
- 14 邢龙彬, 高英堂. 肝癌干细胞表面标志物研究进展. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(31): 4231-4237.
- 15 Chan AW, Tong JH, Chan SL, *et al*. Expression of stemness markers (CD133 and EpCAM) in prognostication of hepatocellular carcinoma. *Histopathology*, 2014, 64(7): 935-950.
- 16 Qiu L, Li H, Fu S, *et al*. Surface markers of liver cancer stem cells and innovative targeted-therapy strategies for HCC. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 2039-2048.
- 17 Lan X, Wu YZ, Wang Y, *et al*. CD133 silencing inhibits stemness properties and enhances chemoradiosensitivity in CD133-positive liver cancer stem cells. *Int J Mol Med*, 2013, 31(2): 315-324.
- 18 Fatourou E, Koskinas J, Karandrea D, *et al*. Keratin 19 protein expression is an independent predictor of survival in human hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 27(9): 1094-1102.
- 19 Guo Z, Li LQ, Jiang JH, *et al*. Cancer stem cell markers correlate with early recurrence and survival in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(8): 2098-2106.
- 20 Liu K, Hao M, Ouyang Y, *et al*. CD133⁺ cancer stem cells promoted by VEGF accelerate the recurrence of hepatocellular carcinoma. *CD133 Sci Rep*, 2017, 7: 41499.
- 21 Rozeik MS, Hammam OA, Ali AI, *et al*. Evaluation of CD44 and CD133 as markers of liver cancer stem cells in Egyptian patients with HCV-induced chronic liver diseases *versus* hepatocellular carcinoma. *Electron Physician*, 2017, 9(7): 4708-4717.
- 22 Gao Y, Ruan B, Liu W, *et al*. Knockdown of CD44 inhibits the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma both *in vitro* and *in vivo* by reversing epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 7828-7837.
- 23 Yamanaka C, Wada H, Eguchi H, *et al*. Clinical significance of CD13 and epithelial mesenchymal transition (EMT) markers in hepatocellular carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*, 2018, 48(1): 52-60.
- 24 Hoshida Y, Toffanin S, Lachenmayer A, *et al*. Molecular classification and novel targets in hepatocellular carcinoma: recent advancements. *Semin Liver Dis*, 2010, 30(1): 35-51.
- 25 Lirdprapamongkol K, Chiablaem K, Sila-Asna M, *et al*. Exploring stemness gene expression and vasculogenic mimicry capacity in well- and poorly-differentiated hepatocellular carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 422(3): 429-435.
- 26 Tan PS, Nakagawa S, Goossens N, *et al*. Clinicopathological indices to predict hepatocellular carcinoma molecular classification. *Liver Int*, 2016, 36(1): 108-118.
- 27 Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(5-6): 396-403.
- 28 Lo RC, Leung CO, Chok KS, *et al*. Variation of stemness markers expression in tumor nodules from synchronous multi-focal hepatocellular carcinoma—an immunohistochemical study. *Diagn Pathol*, 2017, 12(1): 56.
- 29 Kumagai A, Kondo F, Sano K, *et al*. Immunohistochemical study of hepatocyte, cholangiocyte and stem cell markers of hepatocellular carcinoma: the second report: relationship with tumor size and cell differentiation. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2016, 23(7): 414-421.
- 30 Nahm JH, Rhee H, Kim H, *et al*. Increased expression of stemness markers and altered tumor stroma in hepatocellular carcinoma under TACE-induced hypoxia: A biopsy and resection matched study. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99359-99371.
- 31 Ikemoto T, Shimada M, Yamada S. Pathophysiology of recurrent hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. *Hepatol Res*, 2017, 47(1): 23-30.
- 32 Ouyang Y, Liu K, Hao M, *et al*. Radiofrequency ablation-increased CXCL10 is associated with earlier recurrence of hepatocellular carcinoma by promoting stemness. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3697-3704.
- 33 Yamada S, Utsunomiya T, Morine Y, *et al*. Expressions of hypoxia-inducible factor-1 and epithelial cell adhesion molecule are linked with aggressive local recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation therapy. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(Suppl 3): S436-S442.
- 34 Durnez A, Verslype C, Nevens F, *et al*. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. *Histopathology*, 2006, 49(2): 138-151.
- 35 Jeong HT, Kim MJ, Kim YE, *et al*. MRI features of hepatocellular carcinoma expressing progenitor cell markers. *Liver Int*, 2012, 32(3): 430-440.
- 36 Ma YC, Yang JY, Yan LN. Relevant markers of cancer stem cells indicate a poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients: a meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 25(9): 1007-1016.
- 37 Dai XM, Yang SL, Zheng XM, *et al*. CD133 expression and α -fetoprotein levels define novel prognostic subtypes of HBV-associated hepatocellular carcinoma: A long-term follow-up analysis. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2985-2991.
- 38 Jin Y, Liang ZY, Zhou WX, *et al*. Combination with CK19 might increase the prognostic power of Hep Par 1 in hepatocellular carcinoma after curative resection. *J Invest Surg*, 2017, 31: 1-8.
- 39 Zhao Q, Zhou H, Liu Q, *et al*. Prognostic value of the expression of cancer stem cell-related markers CD133 and CD44 in hepatocellular carcinoma: From patients to patient-derived tumor xenograft models. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 47431-47443.
- 40 Dai XM, Huang T, Yang SL, *et al*. Peritumoral EpCAM is an independent prognostic marker after curative resection of HBV-related hepatocellular carcinoma. *Dis Markers*, 2017, 2017: 8495326.
- 41 Chen YL, Lin PY, Ming YZ, *et al*. The effects of the location of cancer stem cell marker CD133 on the prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 474.
- 42 Bahnassy AA, Zekri AR, El-Bastawisy A, *et al*. Circulating tumor and cancer stem cells in hepatitis C virus-associated liver disease.

- World J Gastroenterol, 2014, 20(48): 18240-18248.
- 43 Zhou Y, Wang B, Wu J, *et al.* Association of preoperative EpCAM circulating tumor cells and peripheral Treg cell levels with early recurrence of hepatocellular carcinoma following radical hepatic resection. BMC Cancer, 2016, 16: 506.
- 44 Hao S, Chen S, Tu C, *et al.* Anterior approach to improve the prognosis in hcc patients via decreasing dissemination of EpCAM⁺ circulating tumor cells. J Gastrointest Surg, 2017, 21(7): 1112-1120.
- 45 Zhou DS, Wang HB, Zhou ZG, *et al.* TACC3 promotes stemness and is a potential therapeutic target in hepatocellular carcinoma. Oncotarget, 2015, 6(27): 24163-24177.
- 46 Lin S, Zhou S, Jiang S, *et al.* NEK2 regulates stem-like properties and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Oncol Rep, 2016, 36(2): 853-862.

收稿日期: 2018-03-18 修回日期: 2018-07-02
本文编辑: 蒲素清