

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170723.010

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170723.2123.020.html>

# 超声造影定量参数与肝癌细胞增殖活力、病灶内血管新生的相关性研究

路红涛<sup>1</sup>, 陈艳玲<sup>2</sup>

(1. 陕西省韩城市人民医院超声科, 陕西 韩城 715400; 2. 陕西省城固县医院超声科, 陕西 汉中 723200)

**[摘要]** **目的:** 研究超声造影定量参数与肝癌细胞增殖活力、病灶内血管新生的相关性。**方法:** 选择接受手术切除的 46 例肝癌患者、同期在因腹部外伤接受肝脏部分切除术的 28 例患者, 肝癌患者接受超声造影并计算定量参数; 收集肝癌患者的肝癌组织、癌旁组织以及腹部外伤患者的正常肝脏组织, 检测增殖基因、抑癌基因、血管新生基因的表达量。**结果:** 肝癌组织的 IMAX 显著高于癌旁组织, TTP、WT、mTT 显著短于癌旁组织; 肝癌组织、癌旁组织中 RNF180、Merlin、PICK1、PTEN 的蛋白表达量均显著低于正常肝脏组织且与肝癌组织 IMAX 呈负相关, 与肝癌组织 TTP、WT、mTT 呈正相关; 肝癌组织、癌旁组织中 EphB4、SALL4、Cripto-1、VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量均显著高于正常肝脏组织且与肝癌组织 IMAX 呈正相关, 与肝癌组织 TTP、WT、mTT 呈负相关。**结论:** 肝癌病灶超声造影定量参数的改变对细胞增殖、血管新生具有评估价值。

**[关键词]** 肝癌; 超声造影; 增殖; 凋亡; 血管新生

**[中图分类号]** R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)14-1991-04

## The correlation of the quantitative ultrasonography parameters with the liver cancer cell proliferation activity and intralesional angiogenesis

LU Hong-tao<sup>1</sup>, CHEN Yan-ling<sup>2</sup> ✉

(1. Department of Ultrasound, Hancheng People's Hospital in Shaanxi Province, Hancheng City, Shaanxi Province, 715400; 2. Department of Ultrasound, Chenggu County Hospital in Shaanxi Province, Hanzhong City, Shaanxi Province, 723200)

[Foundation Project]: It is supported by Health and Family Planning Commission of Shaanxi Province (2014D30).

[Author]: LU Hong-tao (1979-), Male, M.B., Attending Physician, Tel : 15353106986, E-mail : lht15353106986@163.com.

[Correspondence to]: CHEN Yan-ling, Tel : 15877365760, E-mail : 378292264@qq.com.

Received : 2017-07-14 Revised : 2017-07-20

JHMC, 2017; 23(14): 1991-1994

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the correlation of the quantitative ultrasonography parameters with liver cancer cell proliferation activity and intralesional angiogenesis. **Methods:** A total of 46 patients with liver cancer who received surgical resection in Hancheng People's Hospital as well as 28 patients who received partial hepatectomy for abdominal trauma during the same period were selected, the patients with liver cancer received ultrasonography, and the quantitative parameters were calculated; the liver cancer tissue and adjacent tissue of patients with liver cancer as well as the normal liver tissue of patients with abdominal trauma were collected to determine the expression of proliferation genes, tumor suppressor genes and angiogenesis genes. **Results:** The IMAX of liver cancer tissue was significantly higher than that of adjacent tissue while the TTP, WT and mTT were significantly shorter than those of adjacent tissue; RNF180, Merlin, PICK1 and PTEN protein expression in liver cancer tissue and adjacent tissue were significantly lower than those in normal liver tissue, negatively correlated with the IMAX

[基金项目] 陕西省卫计委(2014D30)

[作者简介] 路红涛(1979-), 男, 陕西汉中人, 本科, 主治医师, 电话: 15353106986, E-mail: lht15353106986@163.com。

[通讯作者] 陈艳玲, 电话: 15877365760, E-mail: 378292264@qq.com。

[收稿日期] 2017-07-14 [修回日期] 2017-07-20 网络出版时间: 2017-07-23 21:23:07

of liver cancer tissue, and positively correlated with the TTP, WT and mTT of liver cancer tissue; EphB4, SALL4, Cripto-1, VEGF, PDGF, EGFR and Ang-2 protein expression in liver cancer tissue and adjacent tissue were significantly higher than those in normal liver tissue, positively correlated with the IMAX of liver cancer tissue, and negatively correlated with the TTP, WT and mTT of liver cancer tissue. **Conclusions:** The changes in the quantitative parameters of liver cancer ultrasonography are valuable for evaluating the cell proliferation and angiogenesis.

[KEY WORDS] Liver cancer; Ultrasonography; Proliferation; Apoptosis; Angiogenesis

原发性肝癌是我国常见的消化道恶性肿瘤,恶性程度高、手术切除率低且预后较差。肝癌的发生和发展是涉及多环节、多基因的复杂过程,原癌基因的激活、抑癌基因的失活以及新生血管的增多均与肝癌的发生存在密切关系<sup>[1,2]</sup>。肝癌组织的血供极为丰富,局部病灶内新生血管显著增多能够为癌细胞的增殖、侵袭提供所需的养分。在临床实践中,准确评估肝癌组织的血供情况能够为病情的判断以及治疗方案的制定提供依据。超声造影是近年来兴起的超声检查手段,通过造影剂的使用能够对局部组织的血供情况进行定量评估<sup>[3,4]</sup>。在下列研究中,我们分析了肝癌病灶超声造影定量参数与癌细胞增殖活力、病灶内血管新生的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2014年6月-2017年3月期间在韩城市人民医院接受手术切除的46例肝癌患者,所有患者均经术后病理学检查证实为原发性肝癌,包括男性29例,女性17例,年龄41~64岁。选择同期在韩城市人民医院因腹部外伤接受肝脏部分切除术的28例患者,既往无肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝癌等病史,包括男性19例,女性9例,年龄35~62岁。肝癌患者和腹部外伤患者一般资料的比较无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 1.2 超声造影检查方法

采用HI VISION Ascendus超声诊断仪进行检查,选择凸阵探头,设置频率为1~5 MHz,先进行常规二维超声扫描,确认病灶部位后,经肘静脉快速推注超声造影剂SonoVue 1.5 mL,然后在超声仪上记录120秒的病灶造影过程。动态图像录入后启动造影自动分析功能产生时间-强度曲线,计算峰值强度IMAX、达峰时间TTP、流出时间WT、平均渡越时间mTT。

### 1.3 基因表达的检测方法

取肝癌患者手术切除的肝癌组织和癌旁组织,取腹部外伤患者手术切除的正常肝脏组织,生理盐水洗净后加入RIPA裂解液,充分研磨组织后得到研磨液,在4℃条件下以12000转/分离心20分钟,分离上清并采用酶联免疫吸附试剂盒测定RNF180、Merlin、PICK1、PTEN、EphB4、SALL4、Cripto-1、VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2的含量。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS19.0软件录入数据并进行分析,三组间超声造影参数及基因表达数据的比较采用方差分析, $P<0.05$ 为

差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肝癌组织和癌旁组织的超声造影参数

肝癌组织的IMAX显著高于癌旁组织,TTP、WT、mTT显著短于癌旁组织。肝癌患者肝癌组织和癌旁组织IMAX、TTP、WT、mTT水平的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 不同组织中超声造影参数的差异( $n=46, \bar{x} \pm s$ )

组织来源	IMAX	TTP	WT	mTT
肝癌组织	142.31±16.64	12.03±1.58	20.35±3.32	79.35±10.25
癌旁组织	81.25±10.55	16.57±2.04	27.61±3.95	95.61±11.28
<i>t</i>	8.968	7.182	7.968	6.698
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 2.2 肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中抑癌基因的表达量

肝癌组织、癌旁组织中RNF180、Merlin、PICK1、PTEN的蛋白表达量均显著低于正常肝脏组织,肝癌组织中RNF180、Merlin、PICK1、PTEN的蛋白表达量均显著低于癌旁组织。肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中RNF180、Merlin、PICK1、PTEN蛋白表达量两两比较的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Pearson相关性分析显示:肝癌组织IMAX与肝癌组织中RNF180、Merlin、PICK1、PTEN的蛋白表达量呈负相关,TTP、WT、mTT与肝癌组织中RNF180、Merlin、PICK1、PTEN的蛋白表达量呈正相关。见表2。

表2 不同组织中抑癌基因表达量的差异( $\bar{x} \pm s$ )

组织来源	<i>n</i>	RNF180 (ng/mL)	Merlin (ng/mL)	PICK1 (pg/mL)	PTEN (pg/mL)
肝癌组织	46	96.62±10.24 <sup>a,b</sup>	74.52±9.35 <sup>a,b</sup>	1.28±0.19 <sup>a,b</sup>	0.75±0.09 <sup>a,b</sup>
癌旁组织	46	144.26±17.85 <sup>a</sup>	103.48±13.25 <sup>a</sup>	1.74±0.24 <sup>a</sup>	1.27±0.15 <sup>a</sup>
正常肝脏	28	285.51±34.52	193.57±23.67	3.27±0.41	2.32±0.34

注:与正常肝脏组织比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与癌旁组织比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中增殖基因的表达量

肝癌组织、癌旁组织中EphB4、SALL4、Cripto-1的蛋白表达量均显著高于正常肝脏组织,肝癌组织中EphB4、SALL4、Cripto-1的蛋白表达量均显著高于癌旁组织。肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中EphB4、SALL4、Cripto-1蛋白表达量两两比较的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Pearson相关性分析显示:肝癌组织IMAX与肝癌组织中EphB4、SALL4、Cripto-1的蛋白表达量呈正相关,TTP、WT、mTT与肝癌组织中EphB4、SALL4、Cripto-1的蛋白表达量呈负相关。见表3。

表3 不同组织中增殖基因表达量的差异 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组织来源	n	EphB4	SALL4	Cripto-1
肝癌组织	46	4.28 ± 0.62 <sup>a,b</sup>	2.38 ± 0.34 <sup>a,b</sup>	1.84 ± 0.24 <sup>a,b</sup>
癌旁组织	46	2.21 ± 0.29 <sup>a</sup>	1.25 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.15 <sup>a</sup>
正常肝脏	28	1.31 ± 0.17	0.78 ± 0.09	0.67 ± 0.08

注:与正常肝脏组织比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与癌旁组织比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

#### 2.4 肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中血管新生基因的表达量

肝癌组织、癌旁组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量均显著高于正常肝脏组织,肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量均显著高于癌旁组织。肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 蛋白表达量两两比较的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Pearson 相关性分析显示:肝癌组织 IMAX 与肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量呈正相关, TTP、WT、mTT 与肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量呈负相关。见表 4。

表4 不同组织中血管新生表达量的差异 ( $\bar{x} \pm s$ )

组织来源	n	VEGF	PDGF	EGFR	Ang-2
肝癌组织	46	2.19 ± 0.35 <sup>a,b</sup>	175.42 ± 22.36 <sup>a,b</sup>	1.77 ± 0.23 <sup>a,b</sup>	242.36 ± 32.86 <sup>a,b</sup>
癌旁组织	46	1.33 ± 0.18 <sup>a</sup>	89.35 ± 10.25 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.14 <sup>a</sup>	113.41 ± 15.96 <sup>a</sup>
正常肝脏	28	0.81 ± 0.10	62.31 ± 8.94	0.70 ± 0.09	70.35 ± 9.35

注:与正常肝脏组织比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与癌旁组织比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

肝癌病灶内丰富的血供与血管新生过程旺盛明确,大量的新生血管能够为肿瘤细胞的生长提供养分。肝癌的恶性程度较高且预后较差,治疗后的复发率和死亡率均较高。在临床实践中,准确评估肝癌病灶的血供情况既能够为病情严重程度的判断提供依据,也能为治疗方案的选择提供参考。超声造影是近年来发展起来的超声检查手段,所使用的超声造影剂是一类微米级的纯血池造影剂,能够良好的反应组织局部的血流情况,进而通过定量参数的测定来评估血流的特征<sup>[5,6]</sup>。我们通过分析肝癌组织和癌旁组织超声造影定量参数的差异可知:肝癌组织的 IMAX 显著高于癌旁组织, TTP、WT、mTT 显著短于癌旁组织。这就说明肝癌组织的整体血供较癌旁组织更为丰富且血供呈现快进快出的模式,流入速率较快、迅速达到峰值并快速流出。

肝癌病灶内丰富的血供有利于癌细胞的增殖,而抑癌基因的缺失被认为是造成肝癌发生及癌细胞无限增殖的重要环节。RNF180 所编码的是一类具有泛素连接酶活性的蛋白,能够调节蛋白底物的泛素化过程并引起细胞凋亡<sup>[7]</sup>;Merlin 所编码的产物能够通过 KSR1 和 FAK 等分子来抑制细胞的生长<sup>[8]</sup>;PICK1 是细胞内一类具有蛋白激酶功能的分子,通过 PDZ 结构域能够抑制 CyclinD1、c-myc 等

的表达,进而阻碍细胞周期的进程;PTEN 具有双重磷酸酶活性,能够引起 PIP3 发生去磷酸化并影响下游促增殖通路 PI3K/Akt 通路的活化、抑制细胞的增殖<sup>[9,10]</sup>。我们通过分析肝癌组织在上述抑癌基因的表达量可知:肝癌组织中 RNF180、Merlin、PICK1、PTEN 的蛋白表达量均显著低于癌旁组织及正常肝脏组织。这就说明多种抑癌基因表达的缺失与肝癌的发生密切相关。进一步分析肝癌病灶血供与抑癌基因表达的相关性可知:肝癌组织 IMAX 与肝癌组织中 RNF180、Merlin、PICK1、PTEN 的蛋白表达量呈负相关, TTP、WT、mTT 与肝癌组织中 RNF180、Merlin、PICK1、PTEN 的蛋白表达量呈正相关。这就说明肝癌组织血供增加能够造成抑癌基因表达减少、进而促进癌细胞的增殖。

肝癌细胞的增殖同时受到抑癌基因表达缺失、原癌基因表达增多的影响,细胞内多种具有促增殖作用的基因被认为是肝癌病情发展中发挥重要作用的原癌基因。EphB4 是 Ephrin 家族中的一类酪氨酸蛋白激酶,既能作用于 Rac1/Akt 通路并促进细胞增殖,也能作用于上皮间质转化过程并促进细胞的侵袭性生长<sup>[11]</sup>;SALL4 是一类锌指蛋白转录因子,能够启动细胞内 SOX2、Nanog、Oct3 等干细胞基因的表达,进而维持细胞无限增殖、自我更新的特性<sup>[12,13]</sup>;Cripto-1 是表达于细胞膜表面的膜蛋白,能够介导下游信号通路转导并增加 MMP2、MMP9 的表达,进而促进细胞外基质的降解及细胞的侵袭性生长<sup>[14]</sup>。我们通过分析肝癌组织在上述增殖基因的表达量可知:肝癌组织中 EphB4、SALL4、Cripto-1 的蛋白表达量均显著高于癌旁组织及正常肝脏组织。这就说明多种增殖基因表达的上调与肝癌的发生密切相关。进一步分析肝癌病灶血供与增殖基因表达的相关性可知:肝癌组织 IMAX 与肝癌组织中 EphB4、SALL4、Cripto-1 的蛋白表达量呈正相关, TTP、WT、mTT 与肝癌组织中 EphB4、SALL4、Cripto-1 的蛋白表达量呈负相关。这就说明肝癌组织血供的增加与增殖基因表达的上调存在密切关系,血供增加能够造成增殖基因表达增多、进而促进癌细胞的增殖。

在肝癌病灶内的血管新生过程中,VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 等基因的编码产物发挥了重要作用。VEGF 和 PDGF 是能够作用于内皮细胞及内皮祖细胞的促血管新生因子,既能促进内皮细胞的增殖及血管结构的形成<sup>[15,16]</sup>,又能激活内皮祖细胞并促进其从骨髓释放进入血液循环<sup>[17]</sup>;EGFR 是一类受体型酪氨酸激酶,不仅能够介导细胞增殖信号的转导,同时也能促进 VEGF 的分泌和释放<sup>[18]</sup>;Ang-2 是在肿瘤血管新生过程中特异性高表达分子,对血管形成过程具有激发作用<sup>[19]</sup>。我们

通过分析肝癌组织在上述血管新生基因的表达量可知:肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量均显著高于癌旁组织及正常肝脏组织。这就说明多种血管新生基因表达的上调与肝癌的发生密切相关。进一步分析肝癌病灶血供与血管新生基因表达的相关性可知:肝癌组织 IMAX 与肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量呈正相关, TTP、WT、mTT 与肝癌组织中 VEGF、PDGF、EGFR、Ang-2 的蛋白表达量呈负相关。这就说明肝癌组织血供的增加与血管新生基因表达的上调存在密切关系, 血供增加能够造成抑癌基因表达减少、进而促进癌细胞的增殖。

超声造影定量参数提示肝癌病灶内的血供丰富呈现快进快出的模式;血流特征的改变与细胞增殖、血管新生具有密切关系,通过超声造影定量参数的测定能够评估细胞增殖、血管新生。

### 参考文献

- 1 Wahab MA, El Hanafy E, El Nakeeb A, et al. Clinicopathological features and surgical outcome of patients with fibrolamellar hepatocellular carcinoma (experience with 22 patients over a 15-year period). *World J Gastrointest Surg*, 2017, 9(2): 61-67.
- 2 Wakayama K, Kamiyama T, Yokoo H, et al. Huge hepatocellular carcinoma greater than 10 cm in diameter worsens prognosis by causing distant recurrence after curative resection[J]. *J Surg Oncol*, 2017, 115(3): 324-329.
- 3 Sparchez Z, Mocan T, Radu P, et al. Contrast enhanced ultrasonography in assessing the treatment response to transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Med Ultrason*, 2016, 18(1):96-102.
- 4 Wu JP, Shu R, Zhao YZ, et al. Comparison of contrast-enhanced ultrasonography with virtual touch tissue quantification in the evaluation of focal liver lesions[J]. *J Clin Ultrasound*, 2016, 44(6):347-353.
- 5 Zhang H, Liu ZH, Zhu H, et al. Analysis of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and pathological images of hepatic alveolar echinococcosis (HAE) lesions [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(10): 1954-1960.
- 6 Shiozawa K, Watanabe M, Ikehara T, et al. Evaluation of contrast-enhanced ultrasonography for hepatocellular carcinoma prior to and following stereotactic body radiation therapy using the CyberKnife system: A preliminary report [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(1):208-212.
- 7 Han F, Sun LP, Liu S, et al. Promoter methylation of RNF180 is associated with H.pylori infection and serves as a marker for gastric cancer and atrophic gastritis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17):24800-9.
- 8 欧阳锡武,冯铁诚,张赛,等. 抑癌基因 Merlin 与干细胞标记物 Nanog 在肝细胞癌中表达的关系及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(7):1011-1016.
- 9 Khalid A, Hussain T, Manzoor S, et al. PTEN: A potential prognostic marker in virus-induced hepatocellular carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): 1010428317705754.
- 10 Bankoglu EE, Tschopp O, Schmitt J, et al. Role of PTEN in Oxidative Stress and DNA Damage in the Liver of Whole-Body Pten Haplodeficient Mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166956.
- 11 Kamstra RL, Freywald A, Floriano WB. N-(2,4)-dinitrophenyl-L-arginine Interacts with EphB4 and Functions as an EphB4 Kinase Modulator[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2015, 86(4):476-86.
- 12 Zhou S, Venkatramani R, Gomulia E, et al. The diagnostic and prognostic value of SALL4 in hepatoblastoma[J]. *Histopathology*, 2016, 69(5): 822-830.
- 13 Yin F, Han X, Yao SK, et al. Importance of SALL4 in the development and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(9): 2837-2843.
- 14 Wang JH, Wei W, Xu J, et al. Elevated expression of Cripto-1 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33):35116-35128.
- 15 Liu L, Qin S, Zheng Y, et al. Molecular targeting of VEGF/VEGFR signaling by the anti-VEGF monoclonal antibody BD0801 inhibits the growth and induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(3):166-176.
- 16 Ma Y, Han CC, Li Y, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 inhibits IGF-1-induced proliferation of human hepatocellular carcinoma cells by controlling bFGF and PDGF autocrine/paracrine loops [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(2):964-969.
- 17 Zhang G, Feng GY, Guo YR, et al. Correlation between liver cancer pain and the HIF-1 and VEGF expression levels [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(1):77-80.
- 18 Yu X, Li W, Deng Q, et al. Neoalbacanol inhibits angiogenesis and tumor growth by suppressing EGFR-mediated VEGF production [J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(5): 1414-1426.
- 19 Bárcena C, Stefanovic M, Tutusaus A, et al. Angiogenin secretion from hepatoma cells activates hepatic stellate cells to amplify a self-sustained cycle promoting liver cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 21(5): 7916.
- 14 Zhang G, Liu Z, Chen Y, et al. High serum HDGF levels are predictive of bone metastasis and unfavorable prognosis in non-small cell lung cancer[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2017, 242(2): 101-108.
- 15 Hu M, Hu Y, He J, et al. Prognostic value of basic fibroblast growth factor (bFGF) in lung cancer: a systematic review with meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1):e0147374.
- 16 Xiao R, Chen R. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as a potential novel biomarker for ventilator associated lung injury [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 3535-3540.
- 17 Davidson B, Stavnes HT, Helleslyt E, et al. MMP-7 is a highly specific negative marker for benign and malignant mesothelial cells in serous effusions[J]. *Hum Pathol*, 2016, 47(1):104-108.
- 18 Kerenidi T, Kazakou AP, Lada M, et al. Clinical significance of circulating osteopontin levels in patients with lung cancer and correlation with VEGF and MMP-9[J]. *Cancer Invest*, 2016, 34(8):385-392.

(上接第 1990 页)