

· 临床论著 ·

肝细胞性肝癌膜联蛋白 A2 异常表达的临床病理学特征及意义

张海健 王理 严美娟 姚敏 严晓娣 陈洁 姚登福

【摘要】 目的 分析膜联蛋白 A2 (ANXA2) 在肝细胞性肝癌 (HCC) 患者中表达的临床病理学特征及对 HCC 的诊断价值。**方法** 以自身配对法收集术后肝癌的癌灶、癌旁组织和远癌组织,以 Western blot 法检测组织中 ANXA2 的表达,以定量 PCR 分析 ANXA2 mRNA 转录水平,以免疫组化法分析 ANXA2 在细胞中定位;分组收集肝癌、良性肝病患者和健康人群外周血,以 ELISA 法定量外周血中 ANXA2 表达水平。**结果** 无论是 ANXA2 还是 ANXA2 mRNA, HCC 癌灶组织中 ANXA2 表达显著高于癌旁和远癌组织 ($P < 0.001$); ANXA2 在 HCC 癌灶组织中定位于胞质和胞膜,癌旁组织中定位于胞质,而远癌组织中未见明显表达;HCC 患者血 ANXA2 表达水平,显著高于良性肝病或健康人群 ($P < 0.01$),但与转移性肝癌组间未见明显差异。临床病理学特征:血 ANXA2 表达与 HBV 感染 ($t = 6.820, P < 0.001$)、伴肝外转移 ($t = 3.191, P = 0.002$)、门静脉癌栓 ($t = 2.859, P = 0.005$)、中低程度分化 ($P < 0.001$) 和 TNM 分期相关 ($t = 5.594, P < 0.001$),但与患者性别、年龄、肿瘤大小和 AFP 水平间未见明显相关;血 ANXA2 与 AFP 联合检测,可提高肝癌诊断阳性率 (96.52%)。**结论** ANXA2 过表达有助于肝癌的诊断与鉴别。

【关键词】 肝肿瘤; 膜联蛋白 A2; 诊断; 病理学, 临床

Clinicopathologic characteristics of Annexin A2 abnormal expression and its diagnostic value for hepatocellular carcinoma ZHANG Hai-jian, WANG Li, YAN Mei-juan, YAO Min, YAN Xiao-di, CHEN Jie, YAO Deng-fu. Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China
Corresponding author: YAO Deng-fu, Email: yaodf@ahnmc.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinicopathologic characteristics of Annexin A2 (ANXA2) expression in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma (HCC) and evaluate its diagnostic value for HCC. **Methods** The ANXA2 expression level in the HCC tissues and self-controlled precancerous tissues was analyzed by real time polymerase chain reaction (PCR) and Western blot, respectively. The cellular localization of ANXA2 in these specimens was detected by immunohistochemistry. The expression level of serum ANXA2 in the patients with HCC or benign liver disease was quantitatively detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** ANXA2 was over-expressed in HCC tissues comparing with the self-controlled adjacent- and distant-cancerous tissues at protein or mRNA level. Circulating ANXA2 level in HCC patients was significantly higher than that of any group of other liver disease ($P < 0.01$) except metastatic liver cancer group. The abnormal expression of serum ANXA2 in HCC patients was correlated with HBV infection ($t = 6.820, P < 0.001$), extrahepatic metastasis ($t = 3.191, P = 0.002$), and portal vein thrombus ($t = 2.859, P = 0.005$), but not with the patient sex, age, size or AFP level. The joint diagnosis of serum ANXA2 and AFP substantially improved the diagnostic efficiency (96.52%). **Conclusions** The expression characteristics of ANXA2 really have good diagnostic potential for HCC.

【Key words】 Liver neoplasms; Annexin A2; Diagnosis; Pathology, clinical

肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 为我国常见恶性肿瘤^[1-2], 手术切除和肝移植仍是最好治

疗方法,但术后患者生存率并不理想^[3-4],早诊和早治是提高生存率的有效措施^[5-6]。膜联蛋白 A2 (Annexin A2, ANXA2) 是膜联蛋白家族成员之一,为钙离子依赖的磷脂酰结合蛋白,在细胞生长、信号转导调控、恶性转变和 HCC 发展过程中发挥着重要作用^[7-10]。ANXA2 在 HCC 中表达和 Tyr23 残基磷酸化上调^[11-12]。高分化肝癌组织中诊断价值的评估表明将正弦式的 ANXA2 表达添加到标志物组合 (GPC3、HS-GGT 和 HSP70) 中

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.02.026

基金项目:南通市社会发展项目(2012034);江苏省高校优势学科建设基金资助

作者单位:226001 江苏省,南通大学附属医院临床医学研究中心
通讯作者:姚登福,Email:yaodf@ahnmc.com

增加了 HCC 诊断的可靠性和客观性^[13]。另外,用定量夹心 ELISA 方法检测了 HCC 患者血 ANXA2 水平^[14],它可能是一个能用于早期诊断以及监测肿瘤浸润、治疗反应、复发和幸存的血清标志物。然而,ANXA2 在 HBV 相关的 HCC 中的表达特征和诊断价值评估,尚未见报道。本文比较了 HCC 和良性肝病患者的肝组织和血 ANXA2 表达水平,分析了 ANXA2 表达的病理特征和对 HCC 的诊断价值。

材料与方法

1. 血清样本:在南通大学附属医院住院治疗 HCC 患者 115 例,其中男 88 例,女 27 例,年龄在 25~81 岁(平均 48.3 岁);其他包括慢性肝炎 35 例、急性肝炎 28 例、肝硬化 38 例和转移性肝癌 25 例(包括来自肺癌、胃癌各 6 例;急性髓性白血病、乳腺癌各 36 例;结肠癌 3 例;宫颈癌和前列腺癌各 2 例);所有患者经生化检测、病毒性标志物和超声检查确诊,于清晨采集血液 5 ml,分离血清后备用;以放射免疫法检测 AFP 水平;并以来自南通市献血库的 30 份健康献血员(肝炎病毒标志物阴性且 ALT 正常)血清标本作对照。

2. 肝组织标本:以自身配对法收集手术切除后 HCC 癌组织、癌旁组织(离癌灶 > 3 cm)和远癌组织(离癌灶 > 5 cm)各 30 份,分别于液氮中保存。部分用于总 RNA 提取,分析 ANXA2 mRNA 表达;部分经组织匀浆后制备蛋白,以 Western blot 法分析 ANXA2 蛋白水平。HCC 诊断依据全国肝癌研究协作组制定的标准核实^[15]。根据世界医学会赫尔辛基宣言,患者均知情同意,并经院伦理委员会批准。

3. 总 RNA 提取和 cDNA 合成:用 Trizol 试剂(Invitrogen)分离 50 mg 肝组织总 RNA,琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 完整性,核酸蛋白测定仪(Bio-RAD smart-specTM plus)检测其浓度和纯度。用 cDNA 合成试剂盒(Fermentas)以 1 μg 总 RNA 为模板同等条件下合成 ANXA2 和 β-actin 的 cDNA。

4. 实时定量 PCR:用 steponeTM 实时定量 PCR 仪(Applied Biosystems)运行 PCR 反应。50 μl 反应体系包含 25 μl 2 × SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa, Japan), 2 μl 引物混合物,1 μl 50 × ROX Reference Dye I, 4 μl cDNA 和 18 μl 去离子水。ANXA2 引物序列:上游 5'-TGAGCGGGATGCTTTGAAC-3', 下游 5'-ATCCTGTCTC TGTGCATTGCTG-3';β-actin 引物序列:上游 5'-ATTGC-CGACAGGATGCAGA-3', 下游 5'-GAGTACTTGCCT-CAGGAGGA-3'^[16],每个对照反应中不添加模版。优化的 PCR 条件如下:95 °C 2 min;95 °C 10 s,62 °C 1 min,40 个循环;60 °C 15 s,以 2^{-ΔΔCt} 值进行相对定量分析。

5. Western blot:肝组织在预冷的匀浆液中匀浆(4 °C),800 × g 离心 10 min,收集上清液,以 BCA 法(碧云天生物技术有限公司)测定蛋白浓度。每个样品取 20 mg 蛋白上样到 15% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上,蛋白质然后转移到聚偏氟乙烯膜上,用 5% 牛血清白蛋白 tris 缓冲液 4 °C 封闭过夜,孵育在抗 ANXA2 和抗 β-actin (Santa Cruz)一抗中 4 h,随后在连接有辣根过氧化物酶二抗中孵育 1 h,然后条带在化学发光系统(Millipore, USA)中可视化。用 image J 软件分析蛋白密度。用相对比值(relative rate, RR)比较 ANXA2 表达水平,RR = SI_{ANXA2}/SI_{β-actin},SI 表示蛋白信号强度。

6. 免疫组织化学染色:采用 Elivision 一步法进行免疫组化。10% 甲醛固定 24 h,在递增稀释的乙醇中脱水(5 min/次),石蜡包埋,制成厚度 3 μm 的组织切片。用二甲苯脱蜡 2 次(10 min/次),在递减稀释的乙醇中脱水(5 min/次)。脱蜡的切片用 pH 7.4 的 PBS 洗涤 3 次(5 min/次),孵育在内源性过氧化物酶封闭液中,0.01 mol/L pH 6.0 的柠檬酸盐缓冲液处理 10 min,高压加热法修复抗原,正常动物血清封闭非特异性结合,滴加 ANXA2 抗体,4 °C 过夜,PBS 缓冲液漂洗,滴加二抗,室温孵育 10 min,PBS 漂洗,滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶,室温孵育 10 min,PBS 冲洗,滴加新鲜配制的 DAB 溶液,室温显色,双蒸水洗涤,苏木素复染,无水乙醇脱水透明,封片。Olympus BX50 光学显微镜观察、摄像,以 0.01 mol/L PBS(pH 7.5)分别替代一抗、二抗作阴性对照。

7. 酶联免疫吸附测定:用人 ANXA2 ELISA 试剂盒(武汉优尔生科技股份有限公司)检测血清 ANXA2 表达水平,100 μl 血清样本或者标准品被分别添加到 96 孔板中,接着添加 100 μl 检测试剂 A 并 37 °C 孵育 1 h,随后添加 100 μl 检测试剂 B 并 37 °C 孵育 30 min,然后添加 90 μl 底物溶液并 37 °C 孵育 25 min,最后每孔添加 50 μl 终止液并读取 450 nm 处的吸光度。

8. 统计学分析:采用 SPSS 13.0 软件,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数比较用 *t* 检验,多样本均数的两两比较用 *q* 检验,*P* < 0.05 表示有统计学差异。以 ROC 曲线评估灵敏性和特异性^[17-18]。

结 果

1. 肝癌组织 ANXA2 表达水平:30 例肝癌组织及自身配对癌旁、远癌组织中,ANXA2 蛋白表达与细胞定位见图 1,癌灶组 ANXA2 明显高于癌旁、远癌组(*F* = 498.221, *P* < 0.001);ANXA2 在 HCC 癌灶组织中定位于胞质和胞膜,癌旁中定位于胞质,而远癌组织中

未见明显表达。在 ANXA2 转录水平上的表达见表 1, 癌灶组 ANXA2 mRNA 相对表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值)明显高于自身配对的癌旁或远癌组,显示癌灶组 ANXA2 呈过表达状态。

表 1 肝癌、癌旁和远癌组织中 ANXA2 mRNA 相对定量分析($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Ct _{ANXA2}	Ct _{β-actin}	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
癌灶组	30	21.63 ± 0.09	21.19 ± 0.07	0.44 ± 0.06	1.00 ± 0.04
癌旁组	30	24.29 ± 0.09	22.60 ± 0.08	1.70 ± 0.12	0.43 ± 0.10 ^a
远癌组	30	24.71 ± 0.06	22.13 ± 0.06	2.57 ± 0.07	0.23 ± 0.07 ^a

注:与癌灶组比较,^a $P < 0.001$

2. 肝病患者外周血 ANXA2 水平:241 例肝病患者血 ANXA2 表达水平见表 2。HCC 患者血 ANXA2 表达水平明显高于肝硬化、慢性肝炎、急性肝炎或者正常对照($P < 0.001$),但与转移性肝癌组间未见统计学差异。血 ANXA2 浓度如以 ≥ 18 ng/ml 为诊断界值,在 HCC 组阳性率为 86.96%,在转移性肝癌组为 80.00%,肝硬化组 31.58%,慢性肝炎、急性肝炎或健康对照都未见阳性。

表 2 肝病患者外周血 ANXA2 表达水平分析($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	浓度 (ng/ml)	q 值	P 值
HCC	115	24.60 ± 7.60		
转移性肝癌	25	24.22 ± 9.15	0.482	0.803
肝硬化	38	16.35 ± 8.86	11.621	<0.001
慢性肝炎	35	6.85 ± 1.56	22.566	<0.001
急性肝炎	28	6.92 ± 1.41	20.948	<0.001
正常对照	30	6.16 ± 1.27	22.757	<0.001

注:血 ANXA2 浓度 ≥ 18 ng/ml 为异常;统计值为与 HCC 组比较所得值

3. 肝癌患者外周血 ANXA2 表达的临床特征:115 例 HCC 患者血 ANXA2 表达的临床特征见表 3。在 HBsAg 阳性组 [27.38 ± 5.67 ng/ml] 明显高于阴性组 [18.58 ± 7.83 ng/ml, 图 2A], 差异有统计学意义 ($t = 6.820, P < 0.001$); 伴肝外转移肝癌组为 (26.03 ± 5.99) ng/ml, 不伴肝外转移肝癌组为 (22.79 ± 5.64) ng/ml, 组间差异有统计学意义 ($t = 3.191, P = 0.002$); 伴有门静脉癌栓肝癌组为 (26.03 ± 5.99) ng/ml, 不伴有门静脉癌栓肝癌组为 (23.06 ± 5.03) ng/ml, 组间差异有统计学意义 ($t = 2.859, P = 0.005$); 肝癌低分化组 (27.05 ± 5.13) ng/ml、中等分化组 (26.19 ± 5.34) ng/ml 均显著高于高分化肝癌组 (20.43 ± 4.97) ng/ml, $P < 0.001$; 肝癌 TNM 分期显示 TNM III ~ IV 期 (27.44 ± 6.01) ng/ml 显著高于 I ~ II 期 (21.16 ± 5.97) ng/ml ($t = 5.594, P < 0.001$); 肝癌不同性别组 [$24.56 \pm$

5.84] ng/ml vs. (24.79 ± 5.33) ng/ml, $t = 0.15, P = 0.881$], 肝癌患者年龄 ≥ 50 岁和 < 50 岁组 [24.84 ± 6.07] ng/ml vs. (23.83 ± 4.56) ng/ml, $t = 0.798, P = 0.427$], 肝癌肿块 ≥ 5 cm 和 < 5 cm 组 [24.38 ± 5.68] ng/ml vs. (25.35 ± 5.95) ng/ml, $t = 0.850, P = 0.397$] 组间未见统计学差异; 肝癌患者血 AFP 在 ≥ 400 ng/ml 组为 (24.91 ± 5.52) ng/ml, < 400 ng/ml 组为 (24.34 ± 5.96) ng/ml, 组间未见明显差异 ($t = 0.531, P = 0.596$, 图 2B)。

表 3 HCC 患者外周血 ANXA2 表达的 临床病理学特征分析 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

项目	例数	ANXA2 浓度	t 值	P 值	
性别	男	88	24.56 ± 5.84	0.150	0.881
	女	27	24.79 ± 5.33		
年龄	≥ 50 岁	87	24.84 ± 6.07	0.798	0.427
	< 50 岁	28	23.83 ± 4.56		
肿瘤尺寸	≥ 5.0 cm	75	24.38 ± 5.68	0.850	0.397
	< 5.0 cm	40	25.35 ± 5.95		
AFP	≥ 400 ng/ml	53	24.91 ± 5.52	0.531	0.596
	< 400 ng/ml	62	24.34 ± 5.96		
HBsAg	阳性	79	27.38 ± 5.67	6.820	<0.001
	阴性	36	18.58 ± 7.83		
分化程度	高	37	20.43 ± 4.97		
	中	43	26.19 ± 5.34	4.966 ^a	<0.001
	低	35	27.05 ± 5.13	5.561 ^a	<0.001
TNM 分期	I ~ II 期	52	21.16 ± 5.97		
	III ~ IV 期	63	27.44 ± 6.01	5.594	<0.001
肝外转移	伴有	62	26.11 ± 5.43	3.191	0.002
	不伴有	53	22.79 ± 5.64		
门静脉癌栓	伴有	60	26.03 ± 5.99	2.859	0.005
	不伴有	55	23.06 ± 5.03		

注:与高分化组比较,^a $P < 0.001$

4. 血清 ANXA2 表达水平对 HCC 诊断效率评估: 血清 ANXA2 和 AFP 水平对 HCC 诊断价值的评估见图 3。对两个标志物全范围的敏感度和特异度的比较分析表明, ANXA2 的 ROC 曲线下面积为 0.796, AFP 为 0.782。血 ANXA2 和(或) AFP 对 HCC 诊断效率评估见表 4。单独血清 ANXA2 的敏感度是 86.96%, 与 AFP 联合诊断增加了 HCC 诊断的灵敏性 (96.52%), 而阴性预测值提高到 96.61%。

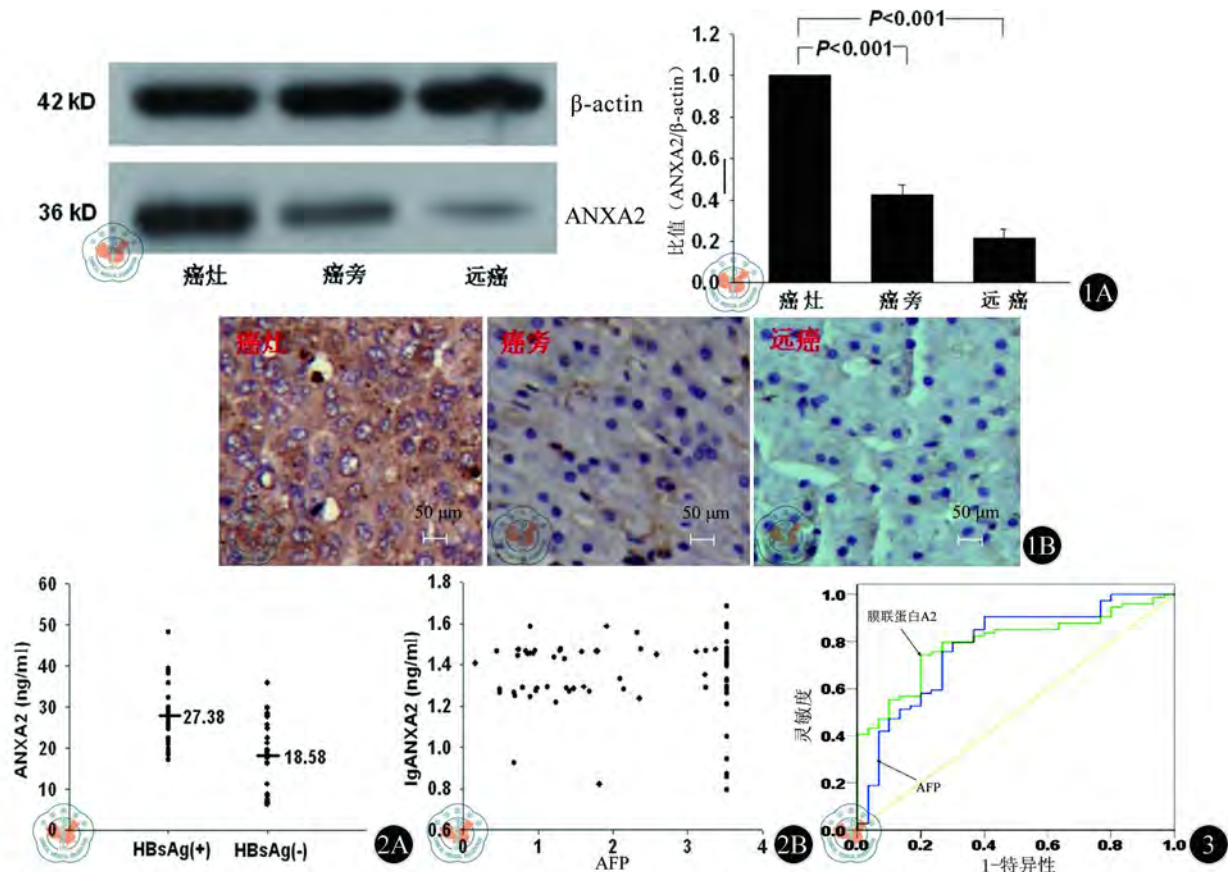


图1 ANXA2在肝癌及其癌旁组织中表达差异与细胞定位分析。1A: Western blot分析 ($\bar{x} \pm s, n=3$) ; 1B: ANXA2细胞定位 图2 血ANXA2与HBV感染 (2A) 和AFP (2B) 浓度间的相关分析 图3 血清ANXA2和AFP的ROC曲线

表4 外周血中 ANXA2 和(或)AFP 对 HCC 的诊断效率(%)

项目	ANXA2	AFP	联合诊断
灵敏性	86.96	70.43	96.52
特异性	66.67	73.08	68.67
准确度	75.28	71.96	80.07
阳性预测值	65.79	65.85	68.10
阴性预测值	87.39	77.03	96.61

讨论

HCC 预后很差,因而早期诊断显得极其重要。尽管 AFP 是 HCC 诊断和监测的有用标志物,但对小肝癌的假阴性率高达 40%。最近 ANXA2 表达上调可能是 HCC 诊断具有应用前景的标志物^[10-12]。为此,本文比较了 HCC 和良性肝病患者的肝组织和外周血中 ANXA2 的表达,分析了 ANXA2 表达的病理特征和对 HCC 的诊断价值。肝 ANXA2 表达与肝细胞恶性转变相关,不管是蛋白水平(图 1A)或者 mRNA 水平(表 1),ANXA2 在 HCC 组织表达明显高于自身配对的癌旁或远癌组织。ANXA2 在 HCC 癌灶组织中定位于胞质和胞膜,癌旁中定位于胞质,而远癌组织中未见明

显表达(图 1B)。将 ANXA2 与其他标志物组合,可增加肝癌诊断的可靠性,增加小 HCC 诊断准确性^[14]。HCC 组织 ANXA2 过表达,也可与细胞表面的纤溶酶原和组织纤溶酶原激活物结合,诱导纤溶酶原转变成纤溶酶从而促进肿瘤转移,并导致基质金属蛋白酶的激活和胞外基质成分的降解^[7-9]。

肝癌发生机制虽未阐明,但 HBV 感染的炎症对于肿瘤退化和遗传改变的累积是一项明确的任务。小尺寸肿瘤的诊断和监控因为缺乏能够描绘 HCC 形成和发展特征的有效标志物而失败^[19-20]。几个标志物,小扁豆凝素结合型 AFP (AFP-L3)^[21],γ-谷氨酰转氨酶 (HS-GGT) 和 GPC-3^[22],检测早期 HCC 的能力已经得到验证,但敏感性和特异度仍不令人满意。本文研究了 HCC 和良性肝病患者外周血 ANXA2 的水平,如临界值为 ≥ 18 ng/ml, HCC 患者阳性率为 86.96%,转移性肝癌组为 80.00%,二者均明显高于肝硬化组 (31.58%)、慢性肝炎、急性肝炎和健康人群 (0)。ANXA2 在肝硬化患者外周血表达水平明显处于临界状态,可作为肝细胞恶性转变过程中的早期标志物。AFP 作为一个有效的 HCC 诊断标记物,在良性肝病者中有着很高的假阴性值,表明 ANXA2 优于 AFP,是

一个相对特异的 HCC 诊断标志。

ANXA2 在 HBV 或者 HCV 相关 HCC 中表达上调^[23]。ANXA2 通过 tPA 依赖纤溶酶产生诱导了细胞迁移和血管新生^[24], 代表肿瘤转移潜能^[16], 与 HAb18G/CD147 结合促进了 HCC 细胞的体外侵袭和迁移^[7]。且酪氨酸 23 磷酸化依赖的 ANXA2 细胞表面定位是侵袭和转移所必需的^[12]。HCC 患者外周血 ANXA2 表达的临床病理学特征(图 2A)表明 ANXA2 表达不仅与 HCC 侵袭和转移密切相关, 还与 HBV 感染、肝外转移、门静脉癌栓、分化程度和 TNM 分期有关, 但与肿瘤大小和 AFP 水平(图 2B)间未见相关。血清 ANXA2 和(或)AFP 对 HCC 诊断效率的评估(表 4, 图 3)表明血 ANXA2 检测具较高敏感性、准确性和阴性预测值, 与 AFP 可互补诊断 HCC。

总之, ANXA2 过表达与 HCC 核酸代谢、肝细胞恶性转变相关。癌组织及血 ANXA2 过表达与 HBV 感染、肝外转移、门静脉癌栓、中低分化程度和 TNM 分期有关。血 ANXA2 与 AFP 联合可显著提高诊断效率和阴性预测值, 除此也有助于揭示肝癌发病机制, 有望成为肝癌靶向治疗的有效靶目标^[25]。

参 考 文 献

- [1] El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2011, 365: 1118-1127.
- [2] DuBray BJ Jr, Chapman WC, Anderson CD. Hepatocellular carcinoma: a review of the surgical approaches to management. *Mo Med*, 2011, 108: 195-198.
- [3] Portolani N, Baiocchi GL, Coniglio A, et al. Limited liver resection: a good indication for the treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients. *Jpn J Clin Oncol*, 2011, 41: 1358-1365.
- [4] Petruzelka L. Targeted biological treatment of solid tumours. *Vnitr Lek*, 2011, 57: 740-744.
- [5] Gonzalez SA, Keeffe EB. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: role of tumor markers and liver biopsy. *Clin Liver Dis*, 2011, 15: 297-306.
- [6] van Malenstein H, van Pelt J, Verslype C. Molecular classification of hepatocellular carcinoma anno 2011. *Eur J Cancer*, 2011, 47: 1789-1797.
- [7] Zhao P, Zhang W, Tang J, et al. Annexin II promotes invasion and migration of human hepatocellular carcinoma cells in vitro via its interaction with HAb18G/CD147. *Cancer Sci*, 2010, 101: 387-395.
- [8] Lokman NA, Ween MP, Oehler MK, et al. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression. *Cancer Microenviron*, 2011, 4: 199-208.
- [9] Madureira PA, Surette AP, Phipps KD, et al. The role of the annexin A2 heterotetramer in vascular fibrinolysis. *Blood*, 2011, 118: 4789-4797.
- [10] Gerke V, Moss SE. Annexins: from structure to function. *Physiol Rev*, 2002, 82: 331-371.
- [11] Mohammad HS, Kurokohchi K, Yoneyama H, et al. Annexin A2 expression and phosphorylation are up-regulated in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol*, 2008, 33: 1157-1163.
- [12] Zheng L, Foley K, Huang L, et al. Tyrosine 23 phosphorylation-dependent cell-surface localization of annexin A2 is required for invasion and metastases of pancreatic cancer. *PLoS One*, 2011, 6: e19390.
- [13] Longicher T, Haller MT, Mogler C, et al. Annexin A2 as a differential diagnostic marker of hepatocellular tumors. *Pathol Res Pract*, 2011, 207: 8-14.
- [14] Ji NY, Park MY, Kang YH, et al. Evaluation of annexin II as a potential serum marker for hepatocellular carcinoma using a developed sandwich ELISA method. *Int J Mol Med*, 2009, 24: 765-771.
- [15] Diagnostic criteria of primary hepatocellular carcinoma [in Chinese]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2000, 8: 5.
- [16] Ohno Y, Izumi M, Kawamura T, et al. Annexin II represents metastatic potential in clear-cell renal cell carcinoma. *Br J Cancer*, 2009, 101: 287-294.
- [17] Qian J, Yao D, Dong Z, et al. Characteristics of hepatic igf-ii expression and monitored levels of circulating igf-ii mRNA in metastasis of hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 2010, 134: 799-806.
- [18] Nan KJ, Guo H, Ruan ZP, et al. Expression of p57(kip2) and its relationship with clinicopathology, PCNA and p53 in primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 1237-1240.
- [19] Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2010, 16: 418-424.
- [20] Malaguamra G, Giordano M, Paladina I, et al. Serum markers of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci*, 2010, 55: 2744-2755.
- [21] Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, et al. Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre-and postoperatively. *Hepatol Res*, 2011, 41: 1036-1045.
- [22] Lee YL, Ahn BC, Lee Y, et al. Targeting of hepatocellular carcinoma with glypican-3-targeting peptide ligand. *J Pept Sci*, 2011, 17: 763-769.
- [23] Yoon SY, Kim JM, Oh JH, et al. Gene expression profiling of human HBV-and/or HCV-associated hepatocellular carcinoma cells using expressed sequence tags. *Int J Oncol*, 2006, 29: 315-327.
- [24] Sharma M, Ownbey RT, Sharma MC. Breast cancer cell surface annexin II induces cell migration and neoangiogenesis via tPA dependent plasmin generation. *Exp Mol Pathol*, 2010, 88: 278-286.
- [25] 秦呈林, 查文章, 姚登福, 等. 膜联蛋白 A2 异常表达与消化道肿瘤发生、发展的关系[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6: 947-950.

(收稿日期: 2012-09-12)

(本文编辑: 戚红丹)