

MicroRNAs对肿瘤相关巨噬细胞的趋化及表型的影响*

彭妍 李国利 综述 张艳青 审校

摘要 单核-巨噬细胞是机体固有免疫反应的重要组成部分,在肿瘤间质中浸润有大量巨噬细胞,被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)。MicroRNAs(miRNAs, miRs)是一类由内源基因编码,长度约为22个核苷酸的非编码单链RNA分子。miRNA与目标基因3'不翻译区(3'-UTR)结合,抑制靶蛋白的表达,在转录后水平对目标基因的表达水平进行调控。miRNAs可通过调控趋化因子及炎症因子影响巨噬细胞的趋化和分化。本文将近几年关于miRNAs对TAM的趋化及表型影响的研究结果进行综述。

关键词 MicroRNAs 肿瘤相关巨噬细胞 趋化因子

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.02.015

Effects of microRNAs on the chemotaxis and polarization of tumor-associated macrophage

Yan PENG, Guoli LI, Yanqing ZHANG

Correspondence to: Guoli LI; E-mail: Lgl01012000@yahoo.com.cn

Department of Pathology, Yangzhou University Medical School, Yangzhou 225000 China

This work was supported by Natural Science Research Project of Jiangsu Provincial Colleges and Universities (Grant No.12KJD320007)

Abstract The mononuclear macrophage is an important part of the innate immune response of the human body. Macrophages accumulate in tumor tissues, where they become tumor-associated macrophages. MiRNAs are small (22 nt) noncoding RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression by targeting the 3' untranslated region (3'-UTR) of specific messenger RNAs (mRNAs), resulting in mRNA degradation or translation repression. Many studies have found that miRNAs affect macrophage chemotaxis and differentiation through the regulation of chemokines and inflammatory cytokines. This review summarizes the advances in the research on the effects of microRNAs on the chemotaxis and polarization of tumor-associated macrophages.

Keywords: microRNAs, tumor-associated macrophage, chemotactic factor

单核-巨噬细胞是机体固有免疫反应的重要组成部分,骨髓CD34⁺祖细胞不断增殖,释放入血液称为单核细胞,单核细胞渗入组织中并分化为一类特殊的巨噬细胞,这些巨噬细胞在不同的组织中有不同的表型,如脑组织中的小胶质细胞,肝组织中的库弗氏细胞,皮肤中的朗格汉斯细胞。在肿瘤间质中浸润有大量巨噬细胞,被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)。大量实验证实TAM多具有免疫抑制功能,与肿瘤的生长和进展等有关。miRNAs可通过调控趋化因子及炎症因子影响巨噬细胞的趋化和分化,为肿瘤的治疗提供了新的依据。

1 miRNAs对TAM趋化的影响

关于TAM的来源,目前的研究认为主要是由多种肿瘤来源的趋化因子将巨噬细胞募集到肿瘤间质中产生的。这些趋化因子包括CCL2(MCP-1)、CCL5(RANTES)、CXCL、血管内皮生长因子(VEGF)、血小

板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子 β (TGF- β)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)等^[1]。据此推测TAM是由血液中的单核细胞迁移到肿瘤组织后分化而形成,而不是肿瘤组织本身具有的单核细胞分化而来的。

在众多的趋化因子中,CCL2(MCP-1)和CCL5(RANTES)是诱导TAM浸润的关键因子。很多研究表明miRNA可以通过多种途径调控CCL2的表达。在类风湿性关节炎患者的滑膜细胞过表达miRNA-124 α , MCP-1的表达量明显下降^[2],说明过表达miRNA-124 α 能抑制MCP-1的产生。在人前体脂肪细胞中过表达miRNA-132,可诱导IL-8和MCP-1的表达^[3]。MCP-1是诱导TAM浸润的关键因子,所以推测miRNA-124 α 、miRNA-132有可能通过调控CCL2的变化来影响TAM的趋化。

在T细胞淋巴瘤,CCL5(RANTES)能诱导单核细胞募集到肿瘤微环境中,进而促进肿瘤细胞的生

作者单位:扬州大学医学院病理学教研室(江苏省扬州市225000)

*本文课题受江苏省高校自然科学基金项目(编号:12KJD320007)资助

通信作者:李国利 Lgl01012000@yahoo.com.cn

存。Zhao等^[4]构建 miRNA-125 α 表达质粒,转染到T细胞中,发现过表达 miRNA-125 α 能抑制 RANTES (CCL5)的表达。据此推测 miRNA-125 α 能通过调控 CCL5 的表达来调控巨噬细胞的趋化。通过研究^[5],还发现 miRNA-127、miRNA-197、miRNA-222、miRNA-223 能降低乳腺癌细胞中 CXCL12 的表达水平并减少癌细胞增殖。同时又因为趋化因子 CXCL12 能诱导单核细胞趋化为表达 CD163 的巨噬细胞,可以推测 miRNA-127、miRNA-197、miRNA-222、miRNA-223 能通过调节 CXCL12 的表达来调控巨噬细胞的趋化。

VEGF 主要是通过两个酪氨酸激酶受体 VEGFR-1 和 VEGFR-2 发挥生物学作用,且 VEGF/VEGFR-1 信号通路是肿瘤血管生成的关键。在人类结直肠癌,VEGF 已被证明与 TAM 的趋化有关。在肾透明细胞癌^[6],降低 VEGFR-1 的表达水平可以有效地抑制巨噬细胞的浸润,而 VEGFR-1 的降低可以抑制 MCP-1 的表达,说明 VEGF/VEGFR-1 信号通路能通过调节 MCP-1 的表达来调控巨噬细胞的浸润。Linde 等^[7]研究发现 VEGF-A 对皮肤癌组织中巨噬细胞的浸润有诱导作用。很多研究也表明 miRNA 能调控 VEGF 的表达。miRNA-145^[8]通过作用于 VEGF 的 3'-UTR 下调 VEGF 的表达,从而抑制骨肉瘤的转移和浸润。miRNA-205^[9]也可以通过抑制 VEGF-A 的表达来抑制神经胶质瘤的生长和转移。据此推测 miRNAs 能通过调节 VEGF 的表达调控巨噬细胞的趋化。

CSF 的表达能诱导 TAM 的浸润。在小鼠的急性炎症模型中,miRNA-155 能介导 CSF 的表达^[10]。最新的研究^[11]还表明 miRNA-21 能调节乳腺癌组织中 CSF 的表达。上述 CSF 能有效地调控单核巨噬细胞的趋化,据此推测 miRNA-155、miRNA-21 能通过调控 CSF 的表达来调控 TAM 的趋化。

在胃癌细胞中过表达 miRNA-451 能下调巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)蛋白的表达^[12],说明 miRNA-451 能调控 MIF 的表达,且两者呈负相关。而 MIF 是巨噬细胞趋化的抑制因子,可以推测 miRNA-451 能调控巨噬细胞的趋化。

2 miRNAs 对 TAM 表型的影响

目前认为,迁徙至组织的单核巨噬细胞受所处环境的影响发生不同性质的活化,而据其分子表型与功能特征,活化的巨噬细胞包括两种类型。1)经典活化的巨噬细胞 M1 型,通常由微生物产物(如 LPS 或 TNF、IFN- γ)等诱导,其特点是高表达 IL-12 和 IL-23,能分泌 NO 和活性氧及多种炎症因子和趋化因子,可递呈抗原参与 Th1 型免疫应答,抵御病原体入侵和监视肿瘤病变。2)替代性活化的巨噬细胞 M2

型,主要受 IL-4、IL-10 和 TGF- β 等的诱导,其特点是高表达 IL-10,低表达 IL-12。M2 的抗原递呈能力差,同时还分泌细胞因子抑制 T 细胞增殖活化。研究发现 TAM 多具有 M2 型巨噬细胞的表型和功能,提示肿瘤微环境中存在使巨噬细胞朝 M2 型分化的某些因素^[1]。Sica 等^[13]又将 M2 型巨噬细胞分为 1)M2a 型:其刺激信号为 IL-4 和 IL-13,诱导 Th2 型免疫反应,在过敏反应和寄生虫感染免疫中起主要作用;2)M2b 型:其刺激信号为免疫复合物和 Toll 样受体或 IL-1 配体,介导 Th2 型 T 细胞活化和免疫调控;3)M2c 型:其刺激信号为 IL-10,介导免疫调控,参与基质沉积和组织修复。

越来越多的研究表明 miRNA 在肿瘤相关巨噬细胞的活化分型上发挥重要调节作用。在人类结直肠癌^[6] TNF- α 被证明与 TAM 的趋化分型有关。Shim 等^[14]发现凝聚素诱导分泌的 TNF- α 对巨噬细胞的诱导有重要作用。Tili 等^[15]用 LPS 刺激小鼠的 RAW264.7 巨噬细胞,发现 LPS 能上调 miRNA-155 的表达并抑制 miRNA-125 的表达,miRNA-155 能促进 TNF- α 的表达,而 miRNA-125 对 TNF- α 的表达有抑制作用。还有研究^[16]表明 miRNA-146a 能调节 TNF- α 的表达水平。所以我们推测 miRNA-155、miRNA-125、miRNA-146a 能通过调节 TNF- α 的表达水平来诱导巨噬细胞向 M1 型分化。

IFN- γ 能诱导单核细胞向 M1 型 TAM 转化,并能转变已有的 M2 型 TAM 向 M1 型分化。培养 IFN- γ ^{-/-} 和 IL-4R α ^{-/-} 老鼠并诱导其肺癌模型^[17],发现 IFN- γ ^{-/-} 诱导的肺癌组织中 TAM 表现为 M2 型的功能,而 IL-4R α ^{-/-} 诱导的肺癌组织中 TAM 为 M1 型。说明 IFN- γ 能诱导单核细胞向 M1 型 TAM 分化。miRNA-21 在 IFN- γ 的信号通路和 T 细胞极化中发挥关键作用,miRNA-21 的缺乏使 T 淋巴细胞表达更多的 IFN- γ ^[18],说明 miRNA-21 能调节 IFN- γ 的表达。在人类 NK 细胞,IL-12 和 IL-18 的共同刺激可以诱导 miRNA-155 的表达,miRNA-155 的过表达能增强诱导 IFN- γ 的表达,而降低 miRNA-155 的表达能抑制 IFN- γ 的表达^[19]。据此推测 miRNA-21、miRNA-155 两者能调节 IFN- γ 的表达,进而调控巨噬细胞的分型。

IL-10 是影响 TAM 形成的因子之一,能缓解 IFN- γ 的激活作用,抑制各种促炎细胞因子的表达。IL-10 协同 CCL-17 抑制巨噬细胞向 M1 型 TAM 分化,促进其向 M2 型 TAM 分化。Linde 等^[7]发现 VEGF-A 对巨噬细胞的产生有诱导作用,但不能引起巨噬细胞的分型,而 IL-4 和 IL-10 却能诱导巨噬细胞向 M2 型分化。研究表明^[20] miRNA-98 以 IL-10 的 3'-UTR

为目标来调控IL-10的表达,高表达的miRNA-98能抑制IL-10的表达。还有研究^[21]表明,在巨噬细胞,大量miRNA-21能抑制程序性细胞死亡4(PDCD4)的表达,PDCD4能抑制抗炎细胞因子IL-10的释放。所以预测miRNA-98和miRNA-21能通过调控IL-10的表达来诱导巨噬细胞向M2型分化。

TGF- β 是介导肿瘤逃逸的关键分子,一方面能直接诱导巨噬细胞向M2型分化,另一方面TGF- β 能促进巨噬细胞产生IL-10,并抑制细胞产生IL-12^[22],从而进一步诱导巨噬细胞向M2型分化。Smad2/3磷酸化是TGF- β 活化的直接结果,是TGF- β 信号传导通路的关键点所在,最近的研究结果显示,miRNA-155可通过靶向抑制Smad2蛋白表达,影响细胞对TGF- β 的反应^[23]。研究^[24]发现miRNA-590-5p能靶向调节TGF- β II型受体(T β R- II)的表达,T β R- II是典型的TGF- β 信号通路的受体之一,能与TGF- β 的配体结合并诱导细胞内信号转导。说明miRNA-590-5p能调节TGF- β 的信号通路。还有研究表明^[25]miRNA-125a-5p能调节一些炎性细胞因子(IL-2、IL-6、TNF- α 、TGF- β)的分泌。因此推测miRNA-155、miRNA-590-5p、miRNA-125a-5p三者能通过介导TGF- β 的表达来诱导TAM向M2型分化。

Toll样受体(TLR)能诱导巨噬细胞向M2型分化^[13],而且TLR能引起IFN和CC趋化因子的表达,实验证实TLR信号通路上的MyD88是miRNA-155的靶蛋白,因此miRNA-155能调节TLR的表达,从而调控巨噬细胞的分型。IL-13是促进巨噬细胞向M2型分化的重要细胞因子,而且在协调M1型和M2型巨噬细胞的功能平衡上发挥重要作用,miRNA-155能通过调节IL-13的表达来调节巨噬细胞的分型^[26]。

3 问题与展望

有研究^[27]利用志贺氏菌能诱导巨噬细胞凋亡的特点,使荷瘤小鼠感染减毒志贺氏菌,肿瘤相关巨噬细胞数量明显减少,肿瘤明显消退。该研究结果提示TAM可以作为抗肿瘤治疗的有效靶点。另一同类研究结果表明用脂质体包埋氯甲双磷酸盐部分清除小鼠巨噬细胞后,可抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长^[28]。并且该研究还发现人主要组织相容性复合物 II (MHC II)分子低表达TAM的浸润与肿瘤进展密切相关。这些研究提供了一种新的开发免疫抗肿瘤治疗药物的策略,即靶向清除巨噬细胞或改变TAM表型。

前已述及,miRNA在TAM表型的调控方面具有重要作用。有研究显示^[29]miRNA-155能使TAM从M2型向M1型转变,发挥促炎、抗肿瘤作用。以转变TAM表型及功能为治疗目的,miRNA无疑具有重要的治疗价值。

参考文献

- Allavena P, Sica A, Solinas G, et al. The inflammatory micro-environment in tumor progression: The role of tumor-associated macrophages[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2008, 66(1):1-9.
- Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(5):1294-1304.
- Strum JC, Johnson JH, Ward J, et al. MicroRNA 132 regulates nutritional stress-induced chemokine production through repression of SirT1[J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(11):1876-1884.
- Zhao X, Tang Y, Qu B, et al. MicroRNA-125a contributes to elevated inflammatory chemokine RANTES levels via targeting KLF13 in systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(11):3425-3435.
- Lim PK, Bliss SA, Patel SA, et al. Gap junction-mediated import of microRNA from bone marrow stromal cells can elicit cell cycle quiescence in breast cancer cells[J]. Cancer Res, 2011, 71(5):1550-1560.
- Li C, Liu B, Dai Z, et al. Knockdown of VEGF receptor-1 (VEGFR-1) impairs macrophage infiltration, angiogenesis and growth of clear cell renal cell carcinoma (CRCC)[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 12(10):872-880.
- Linde N, Lederle W, Depner S, et al. Vascular endothelial growth factor-induced skin carcinogenesis depends on recruitment and alternative activation of macrophages[J]. J Pathol, 2012, 227(1):17-28.
- Fan L, Wu Q, Xing X, et al. MicroRNA-145 targets vascular endothelial growth factor and inhibits invasion and metastasis of osteosarcoma cells[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2012, 44(5):407-414.
- Yue X, Wang P, Xu J, et al. MicroRNA-205 functions as a tumor suppressor in human glioblastoma cells by targeting VEGF-A[J]. Oncol Rep, 2012, 27(4):1200-1206.
- Worm J, Stenvang J, Petri A, et al. Silencing of microRNA-155 in mice during acute inflammatory response leads to derepression of *c/ebp* Beta and down-regulation of G-CSF[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(17):5784-5792.
- Mandal CC, Ghosh-Choudhury T, Dey N, et al. miR-21 is Targeted By Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid to Regulate Breast Tumor CSF-1 Expression[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(10):1897-1908.
- Bandres E, Bitarte N, Arias F, et al. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(7):2281-2290.
- Sica A, Schioppa T, Mantovani A, et al. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy[J]. Eur J Cancer, 2006, 42(6):717-727.
- Shim YJ, Kang BH, Choi BK, et al. Clusterin induces the secretion of TNF- α and the chemotactic migration of macrophages[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 422(1):200-205.
- Tili E, Michaille JJ, Cimino A, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock[J]. J Immunol, 2007, 179(8):5082-5089.

- 16 El Gazzar M, Church A, Liu T, et al. MicroRNA-146a regulates both transcription silencing and translation disruption of TNF- α during TLR4-induced gene reprogramming[J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 90(3):509-519.
- 17 Redente EF, Dwyer-Nield LD, Barrett BS, et al. Lung tumor growth is stimulated in IFN- γ -/- mice and inhibited in IL-4R α -/- mice[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(12):5095-5101.
- 18 Lu TX, Hartner J, Lim EJ, et al. MicroRNA-21 limits in vivo immune response-mediated activation of the IL-12/IFN- γ pathway, Th1 polarization, and the severity of delayed-type hypersensitivity[J]. *J Immunol*, 2011, 187(6):3362-3373.
- 19 Trotta R, Chen L, Ciarlariello D, et al. miR-155 regulates IFN- γ production in natural killer cells[J]. *Blood*, 2012, 119(15):3478-3485.
- 20 Liu Y, Chen Q, Song Y, et al. MicroRNA-98 negatively regulates IL-10 production and endotoxin tolerance in macrophages after LPS stimulation[J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(12):1963-1968.
- 21 Merline R, Moreth K, Beckmann J, et al. Signaling by the matrix proteoglycan decorin controls inflammation and cancer through PDCD4 and MicroRNA-21[J]. *Sci. Signal*, 2011, 4(199)
- 22 Fox SW, Haque SJ, Lovibond AC, et al. The possible role of TGF- β -induced suppressors of cytokine signaling expression in osteoclast/macrophage lineage commitment in vitro[J]. *J Immunol*, 2003, 170(7):3679-3687.
- 23 Louafi F, Martinez-Nunez RT, Sanchez-Elsner T. MicroRNA-155 targets SMAD2 and modulates the response of macrophages to transforming growth factor- β [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(53):41328-41336.
- 24 Jiang X, Xiang G, Wang Y, et al. MicroRNA-590-5p regulates proliferation and invasion in human hepatocellular carcinoma cells by targeting TGF- β RII[J]. *Mol Cells*, 2012, 33(6):545-551.
- 25 Chen T, Huang Z, Wang L, et al. MicroRNA-125a-5p partly regulates the inflammatory response, lipid uptake, and ORP9 expression in oxLDL-stimulated monocyte/macrophages[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(1):131-139.
- 26 Martinez-Nunez RT, Louafi F, Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL13R α 1)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(3):1786-1794.
- 27 Galmbacher K, Heisig M, Hotz C, et al. Shigella mediated depletion of macrophages in a murine breast cancer model is associated with tumor regression[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3):e9572.
- 28 Wang B, Li Q, Qin L, et al. Transition of tumor-associated macrophages from MHC class II(hi) to MHC class II(low) mediates tumor progression in mice[J]. *BMC Immunol*, 2011, 12:43.
- 29 Cai X, Yin Y, Li N, et al. Re-polarization of tumor-associated macrophages to pro-inflammatory 1 macrophages by microRNA-155 [J]. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4(5):341-343.

(2012-08-27 收稿)

(2012-12-11 修回)

(本文编辑:王展宏)

(上接第118页)

- 7 张利国,周杰,林建华.外周血 AFPmRNA、h-TERTmRNA 检测对肝细胞肝癌患者预后的意义[J].*山东医药*,2010,50(16):5-7.
- 8 Kitade Y, Akao Y. MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases: microRNAs, miR-143 and -145, function as anti-oncomirs and the application of chemically modified miR-143 as an anti-cancer drug[J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 114(3):276-280.
- 9 Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumor tissues[J]. *Oncogene*, 2006, 25(17):2537-2545.
- 10 Pineau P, Volinia S, McJunkin K, et al. iR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(1):264-269.
- 11 黄冠群,孙建,简志祥,等.利用芯片技术筛选肝癌早期复发密切相关的microRNA[J].*实用医学杂志*,2011,27(10):1754-1756.
- 12 Evang JA, Berg JP, Casar-Borota O, et al. Reduced levels of E-cadherin correlate with progression of corticotroph pituitary tumours [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2011, 75(6):811-818.
- 13 Saad AA, Awed NM, Abd Elkerim NN, et al. Prognostic significance of E-cadherin expression and peripheral blood micrometastasis in gastric carcinoma patients[J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(11):3059-3067.
- 14 吴飞翔,黄山,杨春,等.E-cadherin和 β -catenin在肝细胞癌中的表达及意义[J].*中国肿瘤*,2010,19(6):414-417.
- 15 石磊,邵渊,王作仁.肝癌中ADAM10、EGFR和E-cadherin的表达分析及其与临床病理关系的研究[J].*昆明医学院学报*,2011,32(8):23-29.
- 16 Rajarajan A, Stokes A, Bloor BK, et al. CD44 expression in oro-pharyngeal carcinoma tissues and cell lines[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e28776.
- 17 Jang BI, Li Y, Graham DY, et al. The Role of CD44 in the Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy of Gastric Cancer[J]. *Gut Liver*, 2011, 5(4):397-405.
- 18 刘黎黎,符达,朱玉珍,等.CD90和CD44在人肝癌组织中的表达及临床意义[J].*中国临床医学*,2012,19(1):11-13.
- 19 秦兴雷,薛焕洲,王作仁,等.肝外胆管癌淋巴结微转移的检测及其对预后的影响[J].*中华医学杂志*,2010,90(10):678-682.
- 20 Kelly KJ, Wong J, Gladdy R, et al. Prognostic impact of RT-PCR-based detection of peritoneal micrometastases in patients with pancreatic cancer undergoing curative resection[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(12):3333-3339.
- 21 Lee SE, Jang JY, Kim MA, et al. Clinical implications of immunohistochemically demonstrated lymph node micrometastasis in resectable pancreatic cancer[J]. *J Korean Med Sci*, 2011, 26(7):881-885.
- 22 Guo J, Yao F, Lou Y, et al. Detecting carcinoma cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma by immunomagnetic beads and rt-PCR[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2007, 41(8):783-788.
- 23 赵挺,胡福军,凌志强.原发性肝癌患者PBMC AFP mRNA表达与其微转移的相关性研究[J].*中国误诊学杂志*,2002,2(7):976-979.
- 24 周学平,杨广顺,丛文铭,等.原发性肝癌瘤周肝组织内微转移的回顾性与前瞻性研究[J].*中华肝胆外科杂志*,2005,11(8):510-514.
- 25 Minata M, Nishida N, Komeda T, et al. Postoperative detection of alpha-fetoprotein mRNA in blood as a predictor for metastatic recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16(4):445-451.

(2012-09-28 收稿)

(2013-01-04 修回)

(本文编辑:邢颖)