



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.011

http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.011

Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(7):998-1004.

· 基础研究 ·

## Tspan8 过表达与肝癌转移潜能及预后的关系

王春玲, 陈良, 周开伦, 张震生, 唐荣, 陈平平, 许达峰, 陈骋, 李灼日, 武金才

(海南省人民医院 肝胆胰、器官移植外科, 海南 海口 570311)

### 摘要

**目的:** 探讨 Tspan8 表达与肝癌侵袭转移及预后之间关系。

**方法:** 用 qRT-PCR 和 Western blot 检测不同肝癌细胞系及 80 例肝癌患者手术标本中 Tspan8 的 mRNA 与蛋白表达; 应用组织芯片检测 352 例肝癌组织样本中 Tspan8 的表达, 分析 Tspan8 表达与肝癌临床病理因素及复发与预后的关系。

**结果:** Tspan8 的 mRNA 与蛋白表达在高转移潜能肝癌细胞系 (MHCC97-H、MHCC97-L) 中的表达明显高于低转移潜能的肝癌细胞系 (PLC/PRF/5、SMMC7721、HepG2), 在肝癌组织中的表达明显高于癌旁与正常肝组织, 且在有肝内转移或血管侵犯患者癌组织中的表达明显高于无肝内转移及血管侵犯患者的癌组织 (均  $P < 0.05$ )。Tspan8 高表达是肝癌术后复发转移 ( $HR=1.64$ ,  $95\% CI=1.21\sim 2.23$ ,  $P=0.002$ ) 和术后生存 ( $HR=1.66$ ,  $95\% CI=1.23\sim 2.25$ ,  $P=0.001$ ) 的独立危险因素, Tspan8 高表达患者术后 5 年总生存率明显低于 Tspan8 低表达组, 术后复发时间明显短于低表达患者 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** Tspan8 促进肝癌侵袭转移, Tspan8 高表达患者预后不良。

### 关键词

癌, 肝细胞; Tspan8; 肿瘤与转移; 预后

中图分类号: R735.7

## Association of Tspan8 over-expression with metastatic potential and prognosis of hepatocellular carcinoma

WANG Chunling, CHEN Liang, ZHOU Kailun, ZHANG Zhensheng, TANG Rong, CHEN Pingping, XU Dafeng, CHEN Cheng, LI Zhuori, WU Jincai

(Department of Hepatopancreatobiliary and Organ Transplantation Surgery, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China)

### Abstract

**Objective:** To investigate the association of Tspan8 expression with metastatic potential and prognosis in hepatocellular carcinoma (HCC).

**Methods:** The mRNA and protein expressions in different HCC cell lines and surgical specimens of 80 HCC patients were determined by qRT-PCR and Western blot analysis, and Tspan8 expressions in tissue samples from another 352 HCC patients were detected by tissue microarray. The relations of Tspan8 expression with clinicopathologic factors as well as recurrence and prognosis in HCC patients were analyzed.

**Results:** Both mRNA and protein expressions of Tspan8 were significantly higher in HCC cell lines with high metastatic potential (MHCC97-H, MHCC97-L) than those in HCC cell lines with low metastatic potential (PLC/

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (81160310; 81260367); 海南省自然科学基金资助项目 (812155; 814318)。

**收稿日期:** 2016-04-10; **修订日期:** 2016-06-17。

**作者简介:** 王春玲, 海南省人民医院副主任护师, 主要从事肝肿瘤术后转移复发方面的研究。

**通信作者:** 武金才, Email: wujincai021@126.com

PRF/5, SMMC7721, HepG2), significantly higher in HCC tissue than those in tumor-adjacent tissue or normal liver tissue, and significantly higher in HCC tissue from patients with intrahepatic metastases or vascular invasion than those in HCC tissue from patients without intrahepatic metastases and vascular invasion (all  $P < 0.05$ ). High Tspan8 expression was independent risk factor for postoperative recurrence ( $HR=1.64$ , 95%  $CI=1.21-2.23$ ,  $P=0.002$ ) and survival ( $HR=1.66$ , 95%  $CI=1.23-2.25$ ,  $P=0.001$ ), and in patients with high Tspan8 expression compared with those with low Tspan8 expression, the postoperative 5-year overall survival was significantly decreased and time to tumor recurrence was significantly shortened (both  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Tspan8 can promote HCC metastasis and invasion, and patients with high Tspan8 may face a poor prognosis.

**Key words** Carcinoma, Hepatocellular; Tspan8; Neoplasm Metastasis; Prognosis

**CLC number:** R735.7

四跨膜蛋白超家族是一类低分子量细胞膜糖蛋白家族,它与肿瘤侵袭转移关系密切并参与多种病理生理过程,如肿瘤细胞黏附、迁移及增殖<sup>[1-3]</sup>。其能通过与其他四跨膜蛋白或生长因子受体等跨膜蛋白形成一个分子间信号传递的信号网络—四跨膜蛋白网络,从而实现其功能<sup>[4]</sup>。现有研究显示Tspan8是唯一一种只在肿瘤组织中有表达而在正常组织中没有表达的四跨膜蛋白,特别是在消化道如肝、胰腺及结肠等肿瘤组织中<sup>[5-6]</sup>。已显示Tspan8在肝癌中可呈过表达<sup>[7-8]</sup>;在转移性胰腺癌及直肠癌细胞系中Tspan8可增强细胞迁徙能力<sup>[9]</sup>;高表达Tspan8结肠癌患者常常提示预后不良。目前有关Tspan8与肝癌侵袭转移和预后判断等方面的潜在价值研究报道,有待进一步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 人肝癌组织,细胞系与主要试剂

标本来自本院组织库,共432例,为2007年1月—2010年1月间的肝癌手术患者新鲜标本。432例标本分为2组(均为随机选择样本并含5年随访数据,I组=80例,II组=352例),其中I组用于RT-PCR和Western blot检测Tspan8的表达;II组用于大样本组织芯片检测分析。所有肿瘤组织病理学诊断均为肝细胞癌(两组样本的详细临床病理特征分析见表1),患者均未行任何术前治疗,如放化疗或射频消融等,且患者术后随访截止到2015年1月。本研究经海南省人民医院伦理委员会批准,并获得每个患者的知情同意。

表1 两组肝癌患者临床病理特征分析 [ $n$  (%) ]  
Table 1 Analysis of clinicopathologic features of the two groups of patients [ $n$  (%) ]

临床病理特征	I组 ( $n=80$ )	II组 ( $n=352$ )	$P$
年龄(岁)			
≥ 55	34 (42.5)	158 (44.9)	0.698
< 55	46 (57.5)	194 (55.1)	
性别			
男	68 (85.0)	290 (82.4)	0.575
女	12 (15.0)	62 (17.6)	
HBsAg			
阳性	70 (87.5)	310 (88.1)	0.888
阴性	10 (12.5)	42 (11.9)	
肝硬化			
有	55 (68.8)	257 (73.0)	0.442
无	25 (31.2)	95 (27.0)	
AFP水平(μg/L)			
≥ 20	57 (71.3)	243 (69.0)	0.698
< 20	23 (28.7)	109 (31.0)	
肿瘤直径(cm)			
≥ 5	42 (52.5)	194 (55.1)	0.672
< 5	38 (47.5)	158 (44.9)	
肿瘤数目			
≥ 2	11 (13.8)	45 (12.8)	0.816
1	69 (86.2)	307 (87.2)	
TNM分期			
II/III	19 (23.8)	92 (26.1)	0.659
I	61 (76.2)	260 (73.9)	
肿瘤包膜完整性			
否	56 (70.0)	253 (71.9)	0.737
是	24 (30.0)	99 (28.1)	
Edmondson分级			
III/IV	39 (48.8)	176 (50.0)	0.840
I/II	41 (51.2)	176 (50.0)	
血管侵犯			
有	34 (42.5)	146 (41.5)	0.867
无	46 (57.5)	206 (58.5)	

MHCC97-H、MHCC97-L、PLC/PRF/5、SMMC7721、HepG2等细胞株购自中国科学院上海生物所。Tspan8及GAPDH引物由上海申能博彩生物有限公司合成；RNA提取试剂TRIzol购自Gibco公司；逆转录、聚合酶链反应试剂盒购自MBI公司；Tspan8兔抗人多克隆抗体购自Santa Cruz公司；GAPDH抗体购自美国Chemicon公司；Western blot杂交显影化学发光显色系统购自美国Pierce公司。

## 1.2 RT-PCR、Western blot 检测分析

RT-PCR：从正常肝组织标本、肝癌标本及配对照旁组织标本、细胞系提取总RNA、提取方法参照TRIzol试剂盒说明书进行操作；Tspan8的引物由Primer 5.0引物设计软件进行设计，选择最佳引物，Tspan8序列为5'-ATA GAT ATC GAC AAG CCT GTA ACG AA-3'（上游引物），5'-GAT CTC GAG GTT CCC GAT CTG G-3'（下游引物）；选取GAPDH基因作为内参照基因，引物序列5'-CCA CTA GGC GCT CAC TGT TCT-3'（上游引物），5'-GCG AAC TCA CCC GT TGA CT-3'（下游引物）。反应体系参照二步法反应试剂盒说明书，PCR产物电泳后经凝胶图像分析仪进行积分吸光度分析并摄像。反应条件为：94℃ 45 s，57℃ 40 s，72℃ 45 s，25个循环，最后一次循环结束后，72℃延伸10 min。1.5%琼脂糖凝胶电泳，紫外灯下分析PCR结果。拍照后用图像分析仪分析目的带和GAPDH的灰度，并计算两者的比值。

Western blot：提取细胞总蛋白，经12%丙烯酰胺凝胶电泳后转移至聚偏二氟乙烯（PVDF）膜上，10%脱脂奶粉封闭1 h，一抗分别为1:200稀释的Tspan8（1:200，Santa Cruz，United Kingdom），和1:5 000稀释的GAPDH（1:5 000，Chemicon，USA）。二抗为辣根过氧化物酶标记的IgG，1:1 000稀释。PVDF膜依次与抗体作用后与免疫印迹化学发光试剂（ECL）反应，X线片曝光，显影，定影后进行分析。

## 1.3 Tspan8 组织芯片和免疫组化染色

组织芯片制备参见文献10。Tspan8免疫组化染色采用SP法，兔抗人Tspan8多克隆一抗（Santa Cruz，United Kingdom）1:200稀释。一抗4℃冰箱孵育16 h，二抗室温孵育30 min，DAB显色。结果判断：每组实验均设有阳性和阴性对照，每张切片随机观察，根据阳性细胞占同类细胞总数的百分率及细胞染色强度综合判定。高表达组为肿瘤

切片平均阳性染色癌细胞数 $\geq 50\%$ ，低表达组为平均阳性染色癌细胞数 $< 50\%$ <sup>[10]</sup>。

## 1.4 统计学处理

统计分析采用SAS version 9.0，计量资料用平均值 $\pm$ 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，*t*检验、 $\chi^2$ 检验、*F*检验用于组间差异分析。总生存期（OS）和复发时间（TTR）计算如文献<sup>[11]</sup>所述。Kaplan-Meier法和Log-rank检验分析计算组间TTR和OS。Cox回归模型分析评价各临床变量及Tspan8表达对TTR和OS影响。采用双尾检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Tspan8 在肝癌中过表达且与肿瘤转移潜能的关系

应用RT-PCR和Western blot分析检测不同转移潜能肝癌细胞系（HepG2、SMMC7721、PLC/PRF/5、MHCC97-L、MHCC97-H）中Tspan8的表达。结果显示，在低转移潜能细胞系（PLC/PRF/5、SMMC7721、HepG2）中，Tspan8的mRNA及蛋白表达水平无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。同样，在高转移潜能的MHCC97-H和MHCC97-L细胞系中，Tspan8的表达水平也无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。但是，在高转移潜能组MHCC97-H和MHCC97-L细胞系中Tspan8表达水平明显高于低转移潜能组（PLC/PRF/5、SMMC7721、HepG2），且差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$ ）（图1A-C）。

进一步分析80例肝癌患者肿瘤组织中Tspan8表达与肿瘤转移潜能的关系。基于临床病理学特点，将这些肝癌患者分为高转移潜能组和低转移潜能组<sup>[11]</sup>：其中高转移潜能组44例[指包括具有肝内转移和/或血管侵犯（包括门静脉、肝静脉、胆管的侵犯）]，和低转移潜能组36例，即无肝内转移和血管侵犯组。通过RT-PCR和Western blot分别检测肝癌标本中肿瘤组织、相对应的癌旁组织及正常肝组织中Tspan8表达情况，发现在正常肝组织及对应癌旁组织中，Tspan8均呈低水平表达，但在肿瘤组织中的表达明显高于癌旁和正常组织，差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$ ）（图1D-F）。同时，高转移潜能组中Tspan8的mRNA及蛋白表达水平明显高于低转移潜能组，差异均有统计学意义（ $P = 0.014、0.020$ ）（图1G-I）。

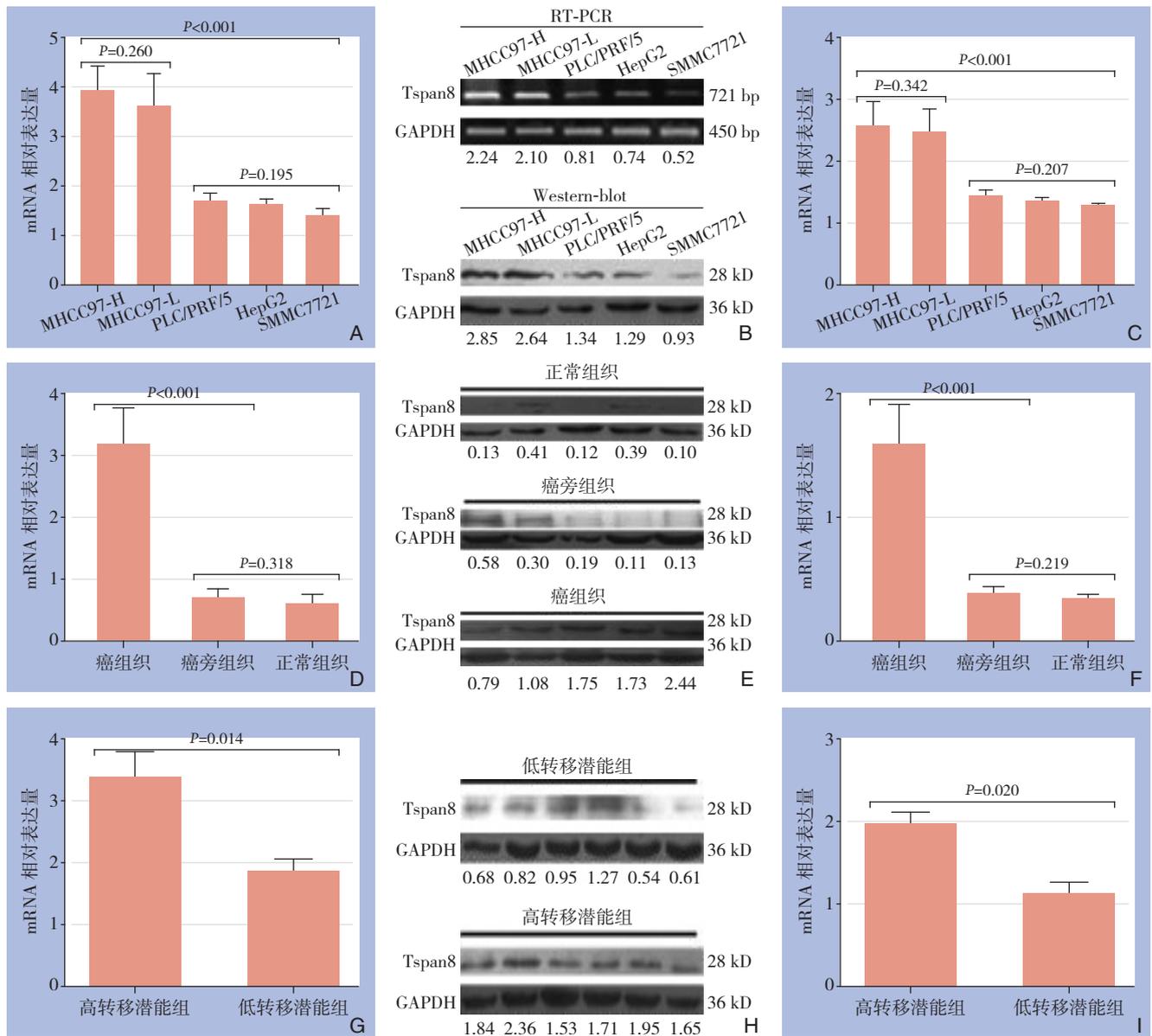


图1 Tspan 表达和肝癌转移潜能的关系 A-C: Tspan8 mRNA 与蛋白在不同肝癌细胞株中的表达; D-F: Tspan8 mRNA 与蛋白在肝癌、癌旁、正常组织的表达; G-I: Tspan8 mRNA 与蛋白在不同病理状态肝癌患者癌组织中的表达

Figure 1 Association of Tspan8 expression with metastasis potential in HCC A-C: The mRNA and protein expressions of Tspan8 in different HCC cell lines; D-F: The mRNA and protein expressions of Tspan8 in HCC, tumor-adjacent tissue and normal liver tissue; G-I: The mRNA and protein expressions of Tspan8 in HCC tissues from patients with different disease statuses

## 2.2 Tspan8 表达与肝癌复发及预后的关系

用组织芯片检测随机选取的352例肝癌手术样本中的Tspan8表达。免疫检测发现Tspan8阳性表达于细胞膜，黄染。在正常肝组织标本及癌旁组织中Tspan8染色呈淡染，而在肝癌标本中表达呈现出明显不均一性（图2）。单因素分析显示，Tspan8表达与患者肿瘤数目、TNM分期、Edmondson分级、有无血管侵犯有关（均 $P<0.05$ ）（表2）；352例肝癌标本中Tspan8免疫

组化染色阳性的有185例（52.6%），其中有肝内转移和（或）血管侵犯（高转移潜能组）为112例（112/191，58.6%），无肝内转移或血管侵犯组（低转移潜能组）73例（73/161，45.3%），差异具有统计学意义（58.6% vs. 45.3%， $P=0.013$ ）（表3）。Cox多因素分析提示，Tspan8高表达是肝癌术后复发转移（TTR:  $HR=1.64$ , 95%  $CI=1.21\sim2.23$ ,  $P=0.002$ ）和术后生存（OS:  $HR=1.66$ , 95%  $CI=1.23\sim2.25$ ,  $P=0.001$ ）的独立影响因子

(表4)。Kaplan-Meier分析显示,与Tspan8低表达肝癌患者比较,高表达者术后更易复发(复发时间较短)( $HR=1.68$ ,  $95\% CI=1.26\sim 2.24$ ,

$P<0.001$ ),且术后生存期短( $HR=1.85$ ,  $95\% CI=1.38\sim 2.47$ ,  $P<0.001$ ),差异具有统计学意义(图3)。

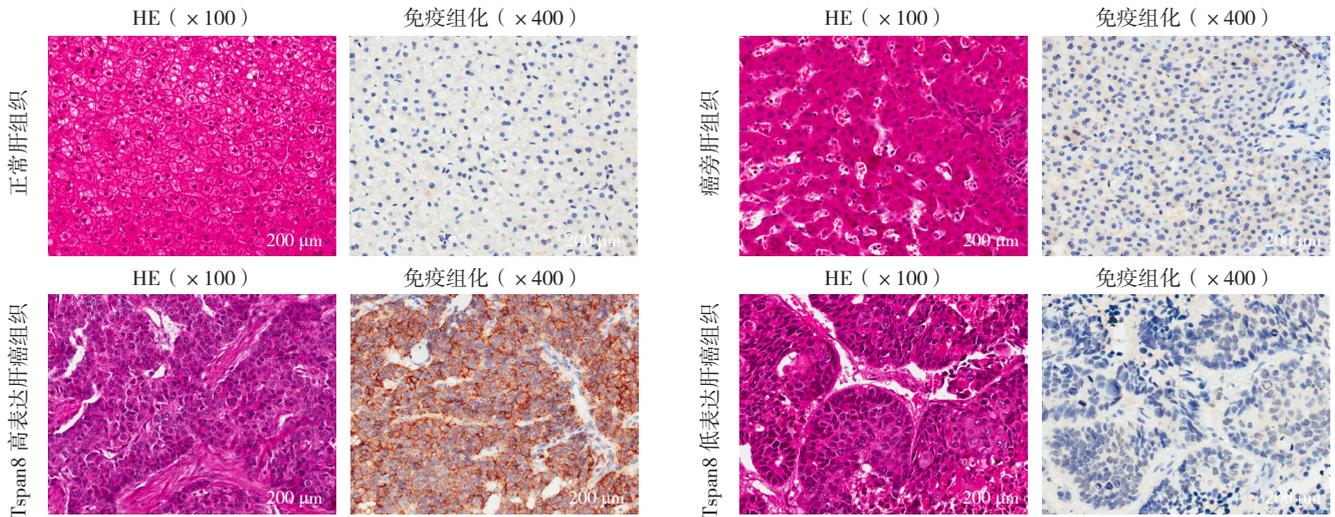


图 2 组织芯片分析 Tspan8 表达

Figure 2 Tspan8 expression detected by tissue microarray

表 2 Tspan8 表达与临床病理特征的关系 [n (%) ]

Table 2 Association of Tspan8 expression with clinicopathologic features [n (%) ]

临床病理特征	Tspan8 阳性 (n=185)	Tspan8 阳性 (n=167)	P	临床病理特征	Tspan8 阳性 (n=185)	Tspan8 阳性 (n=167)	P
年龄 (岁)				肿瘤数目			
≥ 55	81 (43.8)	77 (46.1)	0.662	≥ 2	35 (18.9)	10 (6.0)	<0.001
< 55	104 (56.2)	90 (53.9)		1	150 (81.1)	157 (94.0)	
性别				TNM 分期			
男	151 (81.6)	139 (83.2)	0.692	II/III	54 (29.2)	38 (22.8)	0.170
女	34 (18.4)	28 (16.8)		I	131 (70.8)	129 (77.2)	
HBsAg				肿瘤包膜完整性			
阳性	168 (90.8)	142 (85.0)	0.095	否	132 (71.4)	121 (72.5)	0.818
阴性	17 (9.2)	25 (15.0)		是	53 (28.6)	46 (27.5)	
肝硬化情况				Edmondson 分级			
有	142 (76.8)	115 (68.9)	0.096	III/IV	106 (57.3)	70 (41.9)	0.004
无	43 (23.2)	52 (31.1)		I/II	79 (42.7)	97 (58.1)	
AFP 水平 (μg/L)				血管侵犯			
≥ 20	130 (70.3)	113 (67.7)	0.598	有	93 (50.3)	53 (31.7)	<0.001
< 20	55 (29.7)	54 (32.3)		无	92 (49.7)	114 (68.3)	
肿瘤直径 (cm)							
≥ 5	115 (62.2)	79 (47.3)	0.005				
< 5	70 (37.8)	88 (52.7)					

表 3 Tspan8 表达肝癌转移潜能关系 [n (%) ]

Table 3 Association of Tspan8 expression with metastatic potential of HCC [n (%) ]

转移潜能	Tspan8 免疫组化染色		P
	阳性 (n=185)	阴性 (n=167)	
低	73 (39.5)	88 (53.7)	0.013
高	112 (60.5)	79 (46.3)	

表 4 Tspan8 表达与肝癌 TTR 及 OS 的多因素回归分析

Table 4 Cox multivariate regression analysis of relations of Tspan8 expression with TTR and OS of HCC

变量	TTR		OS	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
年龄 ≥ 55 岁	1.00 (0.74~1.36)	0.991	1.14 (0.84~1.55)	0.410
男性	0.88 (0.86~1.33)	0.542	0.92 (0.61~1.39)	0.691
乙肝表面抗原阳性	0.65 (0.4~1.00)	0.047	0.71 (0.47~1.08)	0.110
有慢性肝炎	1.35 (0.97~1.88)	0.076	1.18 (0.85~1.64)	0.323
AFP 水平 ≥ 20 μg/L	1.15 (0.83~1.60)	0.389	1.11 (0.80~1.53)	0.531
肿瘤 ≥ 5 cm	1.58 (1.15~2.18)	0.005	1.38 (1.12~1.73)	0.004
肿瘤个数 ≥ 2	2.12 (1.54~2.92)	<0.001	1.98 (1.44~2.71)	<0.001
TNM II~III 期	1.21 (0.91~1.62)	0.197	1.25 (0.93~1.66)	0.136
无包膜	0.97 (0.72~1.32)	0.865	1.12 (0.82~1.52)	0.488
Edmondson III~IV 级	1.46 (1.08~1.95)	0.012	1.55 (1.16~2.08)	0.003
有血管侵犯	1.51 (1.11~2.04)	0.009	1.41 (1.04~1.91)	0.026
Tspan8 表达	1.64 (1.21~2.23)	0.002	1.66 (1.23~2.25)	0.001

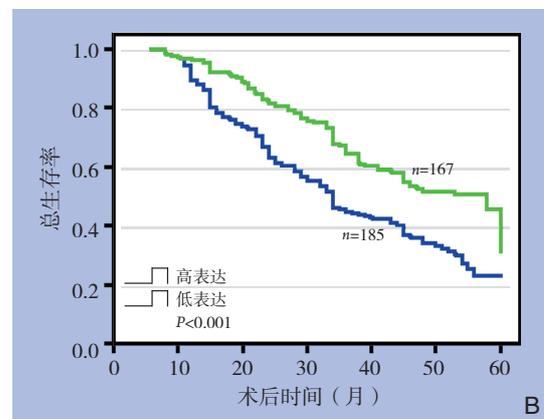
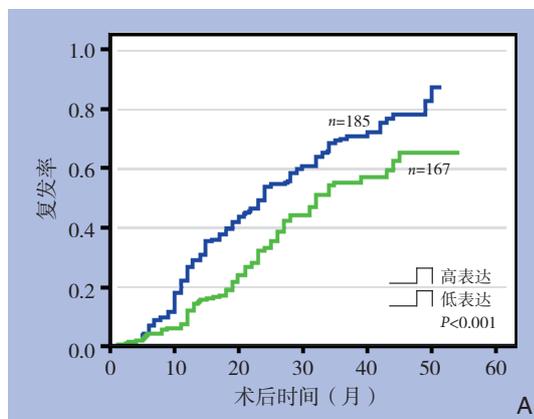


图 3 Tspan8 表达水平与术后复发率的关系 A: 复发曲线; B: 总生存曲线

Figure 3 Relations of Tspan8 expression with tumor recurrence and prognosis A: Recurrence curves; B: Overall survival curves

### 3 讨 论

前期研究<sup>[6-8]</sup>发现Tspan8过表达与肝癌肝内转移、结肠癌转移密切相关。本研究通过检测多株肝癌细胞系和80例肝癌患者组织中Tspan8的表达情况,分析Tspan8过表达与肝癌转移潜能的关系。本研究发现Tspan8表达与肝癌转移潜能增强和术后生存时间密切相关。Tspan8过表达可作为一个潜在的肝癌术后复发及生存的临床预后预测指标。

四跨膜蛋白超家族作为组织者可通过多条细胞信号通路参与肿瘤血管生成、细胞迁徙、侵袭与转移等过程。作为四跨膜蛋白家族中一员,目前有关Tspan8的报道相对较少,它在消化系统中的表达比其他四跨膜蛋白如CD9、CD63、CD81和CD151更具特异性<sup>[12-15]</sup>。进一步研究表明,Tspan8是唯一对肿瘤转移具有促进作用的四跨膜蛋白<sup>[16-19]</sup>。Tspan8与肝癌相关的研究报道更少,已发现伴肝内转移的肝癌中Tspan8表达明显比无肝内转移的肝癌上调,提示Tspan8可能与肝内血

行转移相关<sup>[8]</sup>。Tspan8的过表达可提高肿瘤细胞迁徙能力已经在结肠癌及胰腺癌细胞系实验中得到验证。Tspan8在结肠癌肝转移标本中呈过表达,并与结肠癌发生发展密切相关<sup>[20-21]</sup>。在小鼠胰腺癌细胞系中D6.1A(Tspan8同源)过表达可以增加肿瘤转移潜能并诱导肿瘤血管再生,促进细胞增殖及肿瘤生长,其可能是通过D6.1A与整合素α6β4形成复合物,进一步形成四跨膜蛋白网络激活PKC通路,而增强细胞迁徙和肝转移能力<sup>[9]</sup>。

在本研究中,我们首先发现Tspan8在一系列不同转移潜能的肝癌细胞系中有不同表达,对432例的大样本检测发现其在肝癌组织存在显著差异表达,提示其在肝癌中具有潜在研究价值。进一步我们发现在高转移潜能细胞系中Tspan8的mRNA和蛋白表达水平显著升高;有趣的是,当根据临床特征将肝癌区分为不同转移潜能组进一步检测其表达后,发现高转移潜能组(伴肝内转移和或血管侵犯)中Tspan8的表达显著高于低转移潜能组(无肝内转移或血管侵犯)。上述研究结果初步

表明Tspan8过表达可促进肝癌侵袭转移。下一步研究还需结合体内外实验，并通过信号网络通路等阐述分析其促进肝癌侵袭转移的分子机制，值得深入探讨。

总之，本研究初步结果表明肝癌中Tspan8高表达可促进肝癌侵袭转移并与肝癌术后复发及预后密切相关，为潜在的肝癌术后复发和预后预测的分子指标。

## 参考文献

- [1] Richardson MM, Jennings LK, Zhang XA. Tetraspanins and tumor progression[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, 28(3):261-270.
- [2] Mazzocca A, Birgani MT, Sabbà C, et al. Tetraspanin-enriched microdomains and hepatocellular carcinoma progression[J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(1):23-29.
- [3] 余幼林, 秦成坤, 崔现平, 等. 上皮细胞黏附分子与肝癌诊断的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2012, 21(7):873-976.  
Yu YL, Qin CK, Cui XP, et al. Research advances of epithelial cell adhesion molecule in liver cancer and its diagnostic role[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2012, 21(7):873-976.
- [4] Hong IK, Jeoung DI, Ha KS, et al. Tetraspanin CD151 stimulates adhesion-dependent activation of Ras, Rac, and Cdc42 by facilitating molecular association between  $\beta 1$  integrins and small GTPases[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(38):32027-32039.
- [5] Mazzocca A, Liotta F, Carloni V. Tetraspanin CD81-regulated cell motility plays a critical role in intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1):244-256.
- [6] Le Naour F, André M, Greco C, et al. Profiling of the tetraspanin web of human colon cancer cells[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2006, 5(5):845-857.
- [7] Fang TT, Sun XJ, Chen J, et al. Long non-coding RNAs are differentially expressed in hepatocellular carcinoma cell lines with differing metastatic potential[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(23):10513-10524.
- [8] Kanetaka K, Sakamoto M, Yamamoto Y, et al. Possible involvement of tetraspanin Tspan8 in hematogenous intrahepatic metastasis of liver cancer cells[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(11):1309-1314.
- [9] Herlevsen M, Schmidt DS, Miyazaki K, et al. The association of the tetraspanin D6.1A with the  $\alpha 6\beta 4$  integrin supports cell motility and liver metastasis formation[J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 21):4373-4390.
- [10] Ke AW, Shi GM, Zhou J, et al. Role of overexpression of CD151 and/or c-Met in predicting prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2009, 49(2):491-503.
- [11] Ren N, Wu JC, Dong QZ, et al. Association of specific genotypes in metastatic suppressor HTPAP with tumor metastasis and clinical prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(9):3278-3286.
- [12] 吴泽宇, 罗中仁, 万进, 等. 中下段直肠癌E-cadherin, MMP-2和VEGF表达与肿瘤侵袭转移的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(4):387-388.  
Wu ZY, Luo ZR, Wan J, et al. Expression of E-cadherin, MMP-2 and VEGF in middle and low rectal cancer and its relationship to tumor invasiveness and metastasis[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2007, 16(4):387-388.
- [13] Yue S, Mu W, Erb U, et al. The tetraspanins CD151 and Tspan8 are essential exosome components for the crosstalk between cancer initiating cells and their surrounding[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(4):2366-2384.
- [14] Yue S, Mu W, Erb U, et al. Tspan8 and CD151 promote metastasis by distinct mechanisms[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(13):2934-2948.
- [15] 张卫国, 王一, 吴伟清, 等. MRP1/CD9蛋白在人肝细胞癌中的表达及其意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(2):104-107.  
Zhang WG, Wang Y, Wu WQ, et al. Significance of MRP1/CD9 protein expression in human hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2005, 14(2):104-107.
- [16] Gesierich S, Berezovskiy I, Ryschich E, et al. Systemic induction of the angiogenesis switch by the tetraspanin D6.1A/Tspan8[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(14):7083-7094.
- [17] Claas C, Seiter S, Claas A, et al. Association between the rat homologue of CO-029, a metastasis-associated tetraspanin molecule and consumption coagulopathy[J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(1): 267-280.
- [18] Pan SJ, Zhan SK, Pan YX, et al. Tetraspanin 8-riector-integrin  $\alpha 3$  complex is required for glioma cell migration[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(3):5363-5374.
- [19] Mitra A, Satelli A, Xia X, et al. Cell-surface Vimentin: A mislocalized protein for isolating csVimentin(+) CD133(-) novel stem-like hepatocellular carcinoma cells expressing EMT markers[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(2):491-496.
- [20] Guo Q, Xia B, Zhang F, et al. Tetraspanin CO-029 inhibits colorectal cancer cell movement by deregulating cell-matrix and cell-cell adhesions[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38464. doi: 10.1371/journal.pone.0038464.
- [21] Greco C, Bralet MP, Ailane N, et al. E-cadherin/p120-catenin and tetraspanin CO-029 cooperate for cell motility control in human colon carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(19):7674-7683.

( 本文编辑 宋涛 )

本文引用格式: 王春玲, 陈良, 周开伦, 等. Tspan8过表达与肝癌转移潜能及预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(7):998-1004. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.011

Cite this article as: Wang CL, Chen L, ZHOU KL, et al. Association of Tspan8 over-expression with metastatic potential and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(7):998-1004. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.011