

DOI:10.16781/j.0258-879x.2019.05.0547

· 论 著 ·

C型凝集素结构域家族1成员B在肝细胞癌中的表达及临床意义

汪慧¹, 胡亮², 邹珊珊¹, 刘文迪¹, 周华邦¹, 胡和平^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院肝胆内一科, 上海 200438

2. 上海药物转化工程技术研究中心, 上海 201203

[摘要] **目的** 探讨C型凝集素结构域家族1成员B(CLEC1B)在肝细胞癌(HCC)组织中的表达及其与HCC患者临床病理特征和预后的关系。**方法** 利用基因表达汇编(GEO)数据库检索HCC组织芯片数据(GSE49515、GSE115018)对癌组织及正常对照样本中的基因进行差异表达分析。在肿瘤基因组图谱(TCGA)数据库筛选HCC转录组数据集,分析CLEC1B在HCC中的差异表达。采用基因集富集分析(GSEA)探寻HCC中与CLEC1B相关的信号通路。收集37例HCC患者的癌组织和相应的癌旁组织,采用实时荧光定量PCR法检测CLEC1B mRNA表达,蛋白质印迹分析法检测CLEC1B蛋白表达,并采用 χ^2 检验分析CLEC1B表达与患者临床病理特征的关系,通过Kaplan-Meier法和log-rank检验分析CLEC1B mRNA表达与HCC患者预后的关系;留取37例HCC患者和37名健康志愿者血液标本,用酶联免疫吸附试验检测血浆中CLEC1B水平,通过受试者工作特征(ROC)曲线评估CLEC1B对HCC的诊断价值。**结果** CLEC1B在HCC癌组织中低表达,CLEC1B的低表达与HCC患者的肿瘤出血有关($P<0.01$)。血浆中CLEC1B水平可作为诊断HCC的生物标志物,以62.44 ng/mL作为截断值时,CLEC1B的诊断效能最佳(ROC曲线下面积为0.966,灵敏度为92.7%,特异度为91.3%)。高表达CLEC1B的HCC患者总生存期长于低表达CLEC1B的患者,差异有统计学意义($P<0.01$)。在HCC中,CLEC1B基因与ATR通路(ATM and Rad3-related pathway)、细胞周期通路、DNA修复通路、myc信号通路呈现出一致的表达差异趋势。**结论** CLEC1B在HCC中低表达并与肿瘤出血有关,CLEC1B低表达的患者预后较差。

[关键词] C型凝集素结构域家族1成员B;肝细胞癌;诊断;预后;基因富集

[中图分类号] R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)05-0547-07

Expression of C-type lectin domain family 1 member B in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

WANG Hui¹, HU Liang², ZOU Shan-shan¹, LIU Wen-di¹, ZHOU Hua-bang¹, HU He-ping^{1*}

1. Department of Hepatobiliary Disease (I), Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China

2. Shanghai Engineering Research Center of Pharmaceutical Translation & Shanghai Industrial Technology Institute, Shanghai 201203, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of C-type lectin domain 1 member B (CLEC1B) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues and its relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of HCC patients. **Methods** HCC tissue microarray data (GSE49515, GSE115018) were retrieved from Gene Expression Omnibus (GEO) database to analyze the differential expression of genes between cancer tissues and normal control tissues. HCC transcriptome datasets were screened from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database to analyze the differential expression of CLEC1B in HCC tissues. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) was used to search for the signaling pathways related to CLEC1B in HCC. The cancer tissues and corresponding paracancerous tissues were collected from 37 HCC patients. The expression of CLEC1B mRNA was detected by quantitative real-time PCR, the expression of CLEC1B protein was detected by Western blotting. χ^2 test was performed to analyze the relationship between CLEC1B expression and clinicopathological characteristics of HCC patients. Kaplan-Meier method and log-rank test were performed to analyze the relationship between CLEC1B mRNA expression and prognosis of HCC patients. The blood samples were collected from 37 HCC patients and 37 healthy volunteers. The concentration of CLEC1B in plasma was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The diagnostic value of

[收稿日期] 2019-04-10 **[接受日期]** 2019-05-15

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81502093). Supported by Young Scientist Fund of National Natural Science Foundation of China (81502093).

[作者简介] 汪慧, 博士生. E-mail: 13816444416@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021- 81875461, E-mail: huehbh@126.com

CLEC1B for HCC was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The expression of CLEC1B was low in HCC cancer tissues, and the low expression of CLEC1B in HCC tissues was associated with tumor hemorrhage ($P < 0.01$). The concentration of CLEC1B in plasma could be used as a biomarker for the diagnosis of HCC. The best diagnostic efficiency of CLEC1B was obtained by using 62.44 ng/mL as cut-off value (the area under the ROC curve was 0.966, the sensitivity was 92.7%, and the specificity was 91.3%). The HCC patients with high CLEC1B expression had a longer overall survival than those with low CLEC1B expression, and the difference was significant ($P < 0.01$). In HCC, *CLEC1B* gene showed a consistent trend of differential expression with ATM and Rad3-related pathway (ATR pathway), cell cycle pathway, DNA repair pathway and myc signaling pathway. **Conclusion** The low expression of CLEC1B in HCC is related to tumor hemorrhage, and the prognosis of HCC patients with low expression of CLEC1B is poor.

[Key words] C-type lectin domain family 1 member B; hepatocellular carcinoma; diagnosis; prognosis; gene enrichment

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(5): 547-553]

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 预后不良, 是全球癌症死亡的第二大原因^[1], 据统计, 2018年因 HCC 死亡的人数约占癌症总死亡人数的 9.1%^[1-2]。尽管医疗技术发展迅速, 但 HCC 仍然没有可治愈的策略。因此, 探寻评估 HCC 进展和预后的特异性标志物具有重要的临床意义。C 型凝集素结构域家族 1 成员 B (C-type lectin domain family 1 member B, CLEC1B) 又称 C 型凝集素样受体 2 (C-type lectin-like receptor 2, CLEC-2), 是一种血小板相关分子, 该分子由肿瘤周围的活化血小板分泌, 并对血小板聚集和肿瘤转移具有抑制作用^[3-4]。近年研究发现 CLEC1B 在 HCC 中表达下调并能预测患者的临床结局, 其可能是程序性细胞死亡蛋白 1 及其配体 (programmed cell death 1/programmed cell death ligand 1, PD-1/PD-L1) 免疫疗法的潜在治疗靶标^[5-6]。本研究通过生物信息学方法和临床病例资料评估 CLEC1B 在 HCC 中的表达变化, 分析 CLEC1B 表达与 HCC 患者临床病理特征之间的关系, 并探讨 CLEC1B 对 HCC 的潜在预后意义。

1 材料和方法

1.1 生物信息学分析

1.1.1 基因表达差异分析 利用基因表达汇编 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE49515>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE115018>) 检索 HCC 组织芯片数据 (GSE49515、GSE115018), 对癌组织及正常对照样本中的基因进行差异表达分析。在

肿瘤基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库 (<http://ualcan.path.uab.edu/cgi-bin/TCGAExResultNew2.pl?genenam=CLEC1B&ctype=LIHC>) 筛选 HCC 转录组数据集, 以获得来自 50 个非肿瘤肝组织和 371 个 HCC 癌组织的 RNA 测序数据, 获取 CLEC1B 的表达水平和 HCC 患者的随访信息。

1.1.2 信号通路富集分析 使用基因集富集分析 (Gene Set Enrichment Analysis, GSEA) 软件 (<http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>) 探寻 HCC 中与 *CLEC1B* 相关的信号通路。通过排列分析 1 000 次获得归一化富集分数 (normalized enrichment score, NES)。GSEA 中显著富集基因组的标准为 $P < 0.05$, 错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.25 。

1.2 临床研究

1.2.1 临床资料 收集海军军医大学 (第二军医大学) 东方肝胆外科医院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月经手术切除治疗的 37 例 HCC 患者的癌组织和相应的癌旁组织 (距癌组织边缘至少 2 cm), 保存于液氮中; 获取患者外周静脉血样本, 分离血浆后置于 EP 管, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。37 例 HCC 患者中, 男 28 例、女 9 例, 年龄为 32~78 岁 (中位年龄为 55 岁)。所有入选患者术前均未接受放射治疗或化学治疗。收集患者年龄、性别、甲胎蛋白、乙型肝炎表面抗原、肿瘤大小、肿瘤数量、肿瘤分化程度、TNM 分期、血管侵犯和肿瘤出血等资料。以海军军医大学 (第二军医大学) 东方肝胆外科医院同期 37 例健康体检者为健康对照组, 其中男 22 例、女 15 例, 年龄为 28~77 岁 (中位年龄为 51 岁), 获取外周

静脉血样本并分离血浆。本研究通过海军军医大学（第二军医大学）东方肝胆外科医院临床试验伦理委员会批准，所有研究对象均对研究知情同意，并签署知情同意书。

1.2.2 CLEC1B mRNA 检测 采用 TRIzol 试剂盒（美国 Invitrogen 公司）提取样本组织的总 RNA，使用反转录试剂盒（日本 TaKaRa 公司）将 RNA 反转录成 cDNA。使用 SYBR Premix *EX Taq* 试剂盒（日本 TaKaRa 公司）进行加样，样品在实时荧光定量 PCR 仪（美国 ABI 公司）中进行扩增反应。反应体系为 25 μ L：SYBR Mix 12.5 μ L，上游和下游引物各 0.5 μ L，cDNA 2.5 μ L，RNase Free ddH₂O 9 μ L。反应条件：95 $^{\circ}$ C 10 min，95 $^{\circ}$ C 15 s，60 $^{\circ}$ C 1 min，连续进行 40 个循环。引物序列：*CLEC1B* 上游 5'-AGC GCA ATT ACC TAC AAG GTG-3'，下游 5'-CTT CCC ATG TTA AGT TGT GCC T-3'；甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*）上游 5'-GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT-3'，下游 5'-GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG-3'。以 *GAPDH* 为内参照，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算产物相对表达量。

1.2.3 CLEC1B 蛋白检测 使用总蛋白提取试剂盒（美国 Bio-Rad 公司）提取组织切片总蛋白，用 BCA 法测蛋白水平。取 50 μ g 总蛋白，变性后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，用半干法将电泳产物转移到聚偏氟乙烯膜上，以 5% 脱脂奶粉封闭（4 $^{\circ}$ C 封闭 2 h），滴加 *CLEC1B* 抗体（英国 Abcam 公司）4 $^{\circ}$ C 过夜；用 TBST 洗膜 4 次，每次 10 min，滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG（英国 Abcam 公司），37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h；用 TBST 洗膜 4 次，每次 10 min。使用化学发光试剂盒（北京科美东雅生物技术有限公司）进行显色，用凝胶电泳成像分析系统（南京驰顺科技发展有限公司，型号：GIS300）自动成像。以 *GAPDH* 为内参照分析 *CLEC1B* 蛋白的相对含量。

1.2.4 CLEC1B 蛋白水平检测 采用酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）检测血浆中 *CLEC1B* 蛋白水平，试剂盒购自南京赛泓瑞生物科技有限公司。在各孔中加入受试者血浆样本、标准品及反应液，应用多功能酶标分析仪（深圳汇松科技发展有限公司，型号：MB-580）检测 450 nm 波长处光密度值。利用空白孔及标准孔拟合 logistic 曲线，计算 HCC 患者血浆

中 *CLEC1B* 蛋白水平。

1.2.5 随访 采用电话随访的方式对所有患者及家属进行随访，采用门诊随访方式对仍存活患者进行随访。随访截止日期为 2019 年 1 月。所有患者均完成随访。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间的比较采用独立样本 *t* 检验或配对 *t* 检验；不服从正态分布的计量资料以中位数（下四分位数，上四分位数）表示，两组间的比较采用非参数检验。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征（receiver operating characteristic, ROC）曲线评估 *CLEC1B* 诊断 HCC 的价值，以约登指数（约登指数 = 灵敏度 + 特异度 - 1）最大值为截断值。采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析，组间差异的比较采用 log-rank 检验。检验水准（ α ）为 0.05。

2 结果

2.1 CLEC1B 在 HCC 癌组织中低表达 利用 GEO 数据库 HCC 组织芯片数据（GSE49515、GSE115018）获得癌组织和正常对照样本中的差异表达基因，图 1A 和 1B 所示分别为来自 2 个芯片的前 20 个差异表达基因，可见 *CLEC1B* 在 HCC 癌组织中表达下调。将 2 个芯片的差异表达基因取交集，结果如图 1C 所示。在 TCGA 数据库中对 *CLEC1B* 的表达水平进行检索，结果（图 1D）亦显示 *CLEC1B* 在 HCC 癌组织中的表达下调。为了进一步证明 *CLEC1B* 在 HCC 癌组织中的差异表达，利用实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法检测 37 例 HCC 患者临床配对样本中 *CLEC1B* 的表达，结果（图 1E、1F）显示癌组织中 *CLEC1B* mRNA 和蛋白表达水平均低于癌旁组织，差异均有统计学意义（*P* 均 < 0.05）。

2.2 CLEC1B 表达与 HCC 患者临床病理特征的关系 37 例 HCC 患者中，利用 mRNA 检测结果取均值，以高于均值为高表达，低于均值为低表达。其中，*CLEC1B* 高表达者 16 例，低表达者 21 例。经 χ^2 检验发现，*CLEC1B* 低表达组中存在肿瘤出血的患者比例高于 *CLEC1B* 高表达组，差异有统计学意义（*P* < 0.01）。*CLEC1B* 与 HCC 患者临床病理特征的关系见表 1。

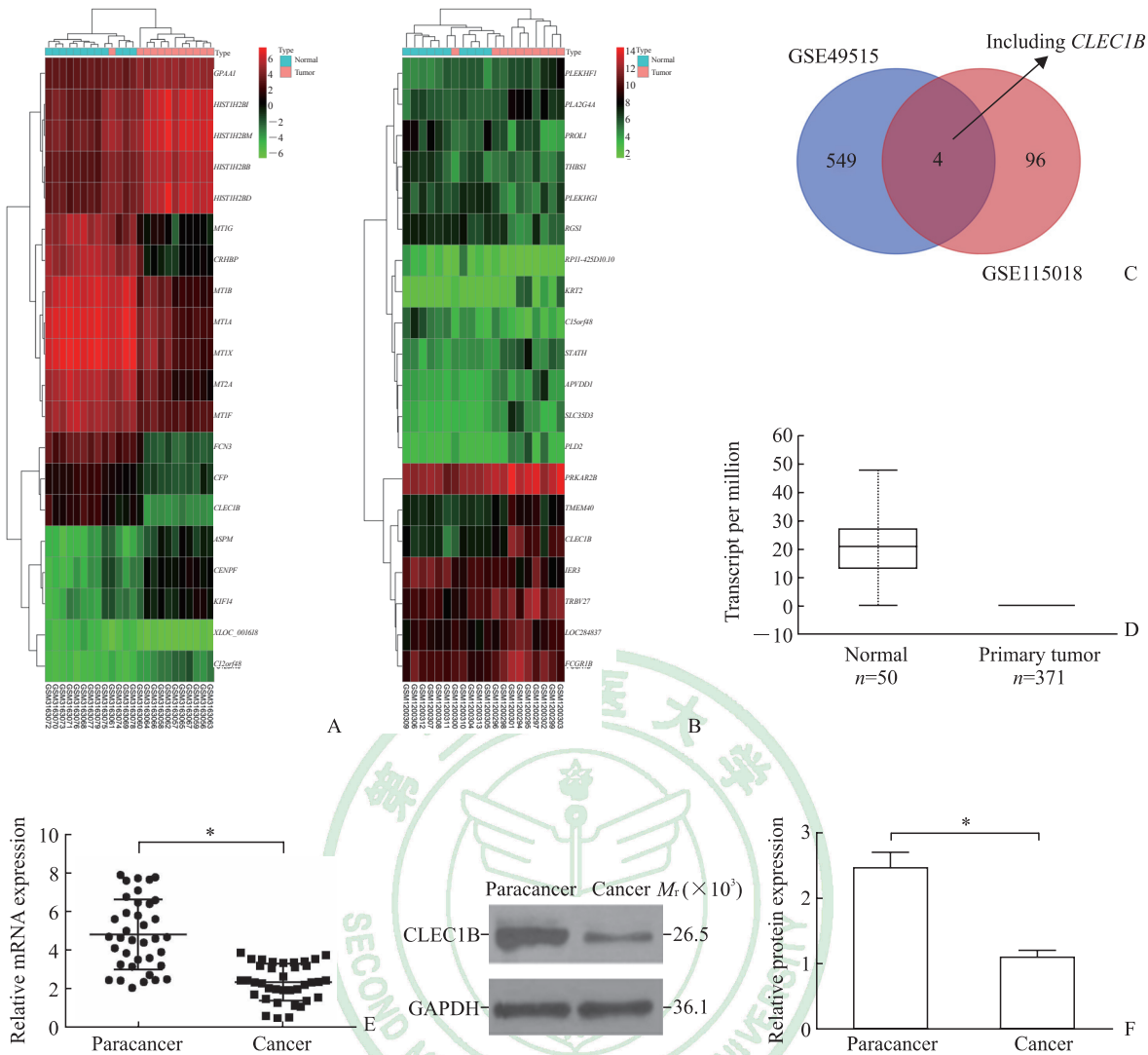


图1 CLEC1B在HCC癌组织中的差异表达

Fig 1 Differential expression of CLEC1B in cancer tissues of HCC patients

A: GSE49515 chip analysis of differential expression clustering heat map of HCC in GEO database; B: GSE115018 chip analysis of differential expression clustering heat map of HCC in GEO database; C: Wayne map of chip differential gene results; D: Expression of *CLEC1B* gene in HCC in TCGA database; E: Quantitative real-time PCR detection of *CLEC1B* mRNA expression level of 37 HCC patients; F: *CLEC1B* protein expression of 37 HCC patients by Western blotting. *CLEC1B*: C-type lectin domain family 1 member B; HCC: Hepatocellular carcinoma; GEO: Gene Expression Omnibus; TCGA: The Cancer Genome Atlas. * $P < 0.05$

2.3 CLEC1B 诊断 HCC 的价值 对 37 例 HCC 患者血浆中 CLEC1B 蛋白水平进行 ROC 曲线分析, 见图 2, 得出 CLEC1B 诊断 HCC 的最佳截断值为 62.44 ng/mL (曲线下面积为 0.966, 95% 置信区间: 0.957~0.975, $P < 0.01$)。以 62.44 ng/mL 作为 CLEC1B 诊断 HCC 的标准, 可达到最佳诊断效能 (灵敏度为 92.7%, 特异度为 91.3%)。

2.4 CLEC1B 与 HCC 患者预后的关系 采用 Kaplan-Meier 法分析 HCC 患者的生存情况, 通过 log-rank 检验分析 *CLEC1B* mRNA 表达与 HCC 患

者预后的关系, 结果显示 CLEC1B 高表达组患者的总生存期延长, 与 CLEC1B 低表达组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 3)。

2.5 HCC 中与 CLEC1B 相关的信号通路 通过对 CLEC1B 低表达和高表达数据集进行 GSEA 分析, 探寻在 HCC 中与 *CLEC1B* 基因相关的信号通路, 结果 (图 4) 显示, 在 HCC 中 *CLEC1B* 基因与 ATR 信号通路 (ATM and Rad3-related pathway)、细胞周期通路、DNA 修复通路、myc 信号通路呈现出一致的表达差异趋势。

表 1 CLEC1B 表达与 HCC 患者临床病理特征的关系

Tab 1 Relationship between CLEC1B expression and clinicopathological characteristics of HCC patients

Characteristic	Total N=37	CLEC1B		χ^2 value	P value
		High expression N=16	Low expression N=21		
Age (year)				0.108	0.896
<55	15	6	9		
≥ 55	22	10	12		
Gender				0.735	0.458
Male	28	11	17		
Female	9	5	4		
α -Fetoprotein ρ_B (ng · mL ⁻¹)				0.187	0.746
≤ 20.0	20	8	12		
> 20.0	17	8	9		
Hepatitis B surface antigen				3.416	0.099
Negative	19	11	8		
Positive	18	5	13		
Tumor size d/cm				1.648	0.291
≤ 5	12	7	5		
> 5	25	9	16		
Tumor number n				4.259	0.052
1	16	10	6		
≥ 2	21	6	15		
Tumor differentiation				3.997	0.067
I - II	10	7	3		
III - IV	27	9	18		
TNM stage				3.111	0.104
I	20	6	14		
II - III	17	10	7		
Vascular invasion				0.001	0.998
Yes	23	10	13		
No	14	6	8		
Tumor hemorrhage				13.977	<0.001
Yes	24	5	19		
No	13	11	2		

CLEC1B: C-type lectin domain family 1 member B; HCC: Hepatocellular carcinoma

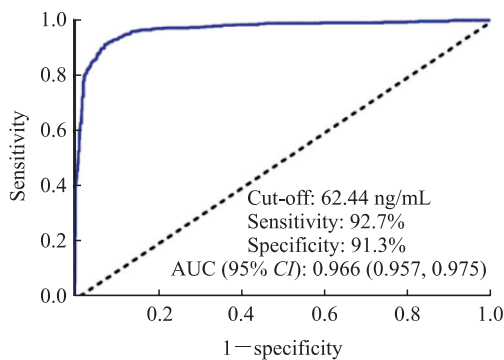


图 2 CLEC1B 诊断 HCC 的 ROC 曲线分析
Fig 2 ROC curve analysis of CLEC1B in diagnosis of HCC

CLEC1B: C-type lectin domain family 1 member B; HCC: Hepatocellular carcinoma; ROC: Receiver operating characteristic; AUC: Area under curve; CI: Confidence interval

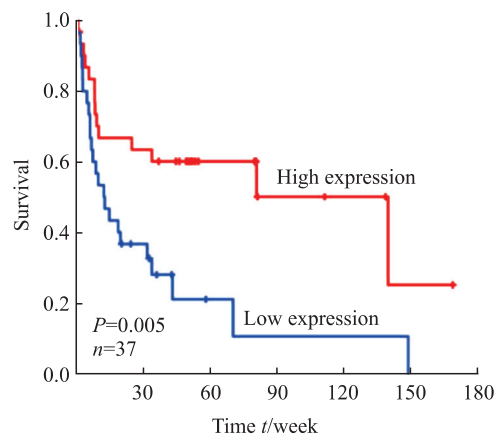


图 3 CLEC1B 表达与 HCC 患者预后的关系
Fig 3 Relationship between CLEC1B and prognosis of HCC patients

CLEC1B: C-type lectin domain family 1 member B; HCC: Hepatocellular carcinoma

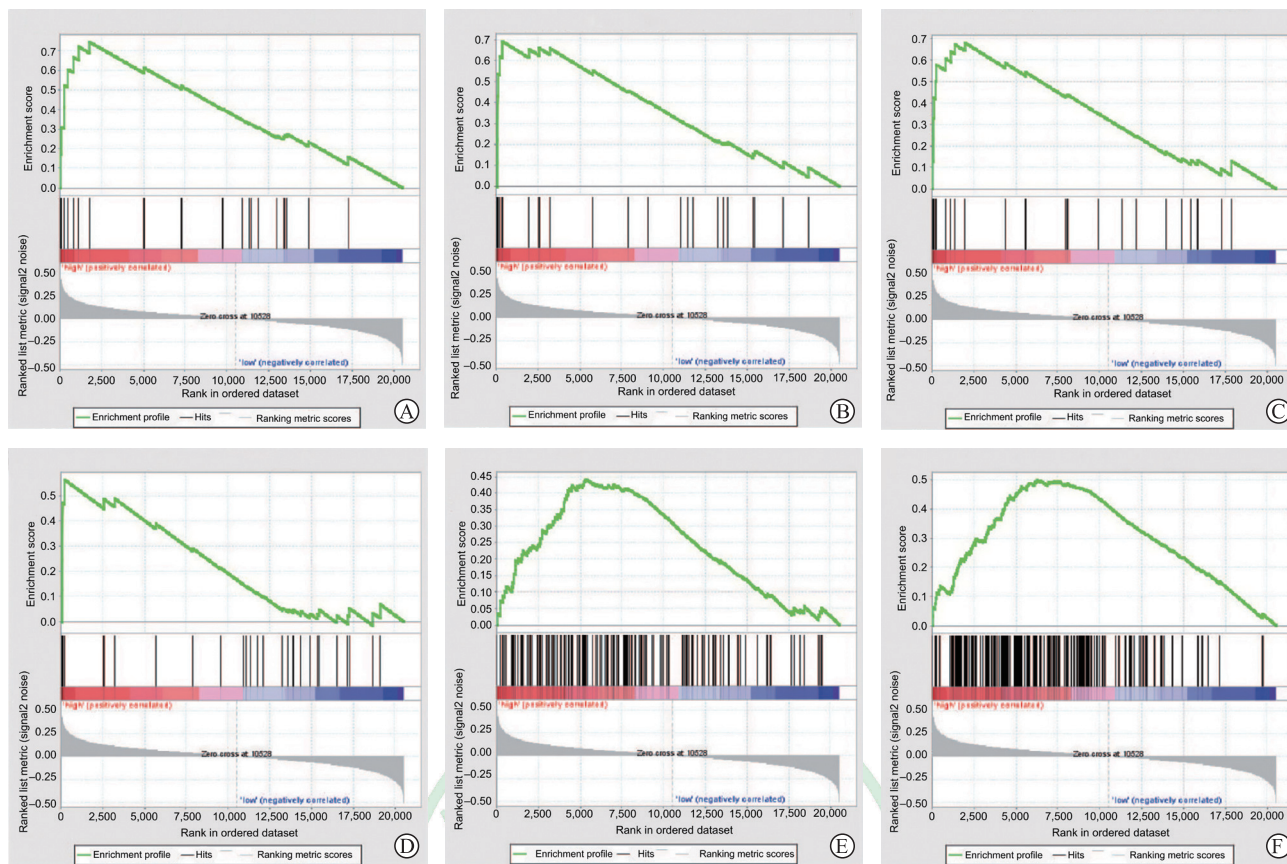


图4 GSEA 鉴定 HCC 中与 *CLEC1B* 基因相关的信号通路

Fig 4 GSEA identifying signaling pathways associated with *CLEC1B* gene

A: ATR pathway; B: Cell cycle pathway; C: G2 pathway; D: G1 pathway; E: DNA repair pathway; F: Myc signaling pathway. GSEA: Gene Set Enrichment Analysis; HCC: Hepatocellular carcinoma; *CLEC1B*: C-type lectin domain family 1 member B; ATR: ATM and Rad3-related

3 讨论

HCC 往往进展快速、预后不良,对大多数常规抗肿瘤药耐药,其已成为世界性的难题^[7]。在临床实践中,分子生物标志物是预测患者疾病进展和预后的重要工具。*CLEC1B* 是诱导血小板聚集的蛇毒毒素的活化受体,能够抑制血小板聚集^[8],对于维持整体血管完整性必不可少^[9],可调节 Toll 样受体激动剂并促进白细胞介素 10 的产生^[10]。*CLEC1B* 具有内源性配体,即在淋巴内皮、次级淋巴器官基质和一些肿瘤细胞上发现的黏蛋白样糖蛋白 podoplanin^[3]。*CLEC1B* 与 podoplanin 结合后可引发强烈的小血小板活化,从而促进肿瘤转移^[11]。在动物模型中使用药物抑制 *CLEC1B* 与 podoplanin 结合后,可抑制肿瘤转移,并增强顺铂的治疗效果^[12]。上述证据表明 *CLEC1B* 在肿瘤免疫调节和转移中具有潜在作用,可能通过抑制性免疫调节和血小板活

化 2 种方式介导肿瘤进展,并有望成为肿瘤治疗的靶标。目前有关 HCC 中 *CLEC1B* 表达及作用的研究不多, Hu 等^[6]研究发现 *CLEC1B* 可能是 PD-1/PD-L1 免疫疗法的潜在靶标,并且其低表达可能是存在肿瘤出血的 HCC 的一个有价值的预后因素。

本研究利用生物信息学分析和临床样本资料证实 *CLEC1B* 在 HCC 中低表达,并且 *CLEC1B* 低表达与肿瘤出血有关,与既往研究结果^[6]一致。本研究还分析了血浆中 *CLEC1B* 水平对 HCC 的诊断价值,结果显示,以 62.44 ng/mL 作为截断值时, *CLEC1B* 的诊断效能最佳 (ROC 曲线下面积为 0.966,灵敏度为 92.7%,特异度为 91.3%),提示血浆中 *CLEC1B* 水平可作为诊断 HCC 的生物标志物。此外,本研究还通过 GSEA 鉴定了 HCC 中与 *CLEC1B* 基因相关的信号通路,结果发现在 HCC 中, *CLEC1B* 基因与 ATR 通路、细胞周期通路、DNA 修复通路、myc 信号通路呈现出一致的表达

差异趋势,提示这些通路可能与HCC中CLEC1B的作用机制有关,但今后仍需开展相关分子细胞生物学实验加以验证。

综上所述,本研究发现HCC中CLEC1B呈低表达状态并与肿瘤出血有关,血浆中CLEC1B水平可作为诊断HCC的生物标志物;ATR通路、细胞周期通路、DNA修复通路、myc信号通路可能与HCC中CLEC1B的作用机制有关,但仍需进一步验证。CLEC1B有望成为HCC诊断和预后评估的生物标志物,也为HCC治疗提供了潜在分子靶点。

[参考文献]

- [1] YANG J D, NAKAMURA I, ROBERTS L R. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets[J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21: 35-43.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, SIEGEL R L, TORRE L A, JEMAL A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394-424.
- [3] SUZUKI-INOUE K, KATO Y, INOUE O, KANEKO M K, MISHIMA K, YATOMI Y, et al. Involvement of the snake toxin receptor CLEC-2, in podoplanin-mediated platelet activation, by cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 25993-26001.
- [4] COLONNA M, SAMARIDIS J, ANGMAN L. Molecular characterization of two novel C-type lectin-like receptors, one of which is selectively expressed in human dendritic cells[J]. *Eur J Immunol*, 2000, 30: 697-704.
- [5] CRITELLI R, MILOSA F, FAILLACI F, CONDELLO R, TUROLA E, MARZI L, et al. Microenvironment inflammatory infiltrate drives growth speed and outcome of hepatocellular carcinoma: a prospective clinical study[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3017. doi: 10.1038/cddis.2017.395.
- [6] HU K, WANG Z M, LI J N, ZHANG S, XIAO Z F, TAO Y M. CLEC1B expression and PD-L1 expression predict clinical outcome in hepatocellular carcinoma with tumor hemorrhage[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11: 552-558.
- [7] SUN Y L, CAI J Q, LIU F, BI X Y, ZHOU L P, ZHAO X H. Aberrant expression of peroxiredoxin 1 and its clinical implications in liver cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21: 10840-10852.
- [8] MAY F, HAGEDORN I, PLEINES I, BENDER M, VÖGTLE T, EBLE J, et al. CLEC-2 is an essential platelet-activating receptor in hemostasis and thrombosis[J]. *Blood*, 2009, 114: 3464-3472.
- [9] HERZOG B H, FU J, WILSON S J, HESS P R, SEN A, MCDANIEL J M, et al. Podoplanin maintains high endothelial venule integrity by interacting with platelet CLEC-2[J]. *Nature*, 2013, 502: 105-109.
- [10] MOURÃO-SÁ D, ROBINSON M J, ZELENAY S, SANCHO D, CHAKRAVARTY P, LARSEN R, et al. CLEC-2 signaling via Syk in myeloid cells can regulate inflammatory responses[J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41: 3040-3053.
- [11] LOWE K L, NAVARRO-NUNEZ L, WATSON S P. Platelet CLEC-2 and podoplanin in cancer metastasis[J]. *Thromb Res*, 2012, 129(Suppl 1): S30-S37.
- [12] CHANG Y W, HSIEH P W, CHANG Y T, LU M H, HUANG T F, CHONG K Y, et al. Identification of a novel platelet antagonist that binds to CLEC-2 and suppresses podoplanin-induced platelet aggregation and cancer metastasis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6: 42733-42748.

[本文编辑] 孙 岩