

文章编号 1006-8147(2019)04-0329-05

论著

## C1QL1 蛋白在原发性肝细胞癌中的表达及其临床意义

胡源<sup>1</sup>, 许戈良<sup>2</sup>, 英卫东<sup>2</sup>, 潘婷婷<sup>2</sup>, 余继海<sup>2</sup>, 黄玫<sup>3</sup>, 周杭城<sup>4</sup>

(1.天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2.中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)肝脏外科, 合肥 230001; 3.肝胆胰安徽省重点实验室, 合肥 230001; 4.中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)病理科, 合肥 230001)

**摘要** 目的:探讨 C1QL1(C1q-like-1)蛋白在原发性肝细胞癌(HCC)中的表达及其临床意义。方法:采用免疫组织化学技术检测 80 例 HCC 组织中 C1QL1 蛋白的表达情况及其临床意义, 用 qRT-PCR 及 Western blot 方法检测 20 对冷冻 HCC 组织及癌旁组织中 C1QL1 蛋白的表达。结果:80 例石蜡组织标本的免疫组化结果显示, 55 例(68.8%)HCC 组织中 C1QL1 蛋白呈高表达;而癌旁组织中 8 例(10%)C1QL1 蛋白呈高表达, 两组间表达差异具有统计学意义( $P<0.001$ ); C1QL1 在 HCC 中的表达与有无乙肝病史( $P=0.021$ )、肿瘤的大小( $P=0.003$ )、血管侵犯( $P=0.003$ )、TNM 分期( $P=0.002$ )及 Edmondson 分级( $P=0.002$ )相关, 而与年龄( $P=0.758$ )、性别( $P=0.672$ )、甲胎蛋白(AFP)( $P=0.191$ )、肿瘤数目( $P=0.877$ )、Child-Pugh 分级( $P=0.866$ )、肿瘤包膜完整程度( $P=0.238$ )和肝硬化程度( $P=0.316$ )均无关。qRT-PCR 及 Western blot 均显示 HCC 组织中 C1QL1 的表达量显著高于对应的癌旁组织, 组间差异具有统计学意义( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。结论:在 HCC 组织中, C1QL1 蛋白呈高表达, 而 C1QL1 的高表达可能与 HCC 的发生发展及恶性程度密切相关。

**关键词** 肝细胞癌; C1QL1; 免疫组织化学; Western blot; qRT-PCR

中图分类号 R735.7

文献标志码 A

### Expressions of C1QL1 protein in primary hepatocellular carcinoma and its clinical significance

HU Yuan<sup>1</sup>, XU Ge-liang<sup>2</sup>, JIA Wei-dong<sup>2</sup>, PAN Ting-ting<sup>2</sup>, YU Ji-hai<sup>2</sup>, HUANG Mei<sup>3</sup>, ZHOU Hang-cheng<sup>4</sup>

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Hepatic Surgery, The First Affiliated Hospital, University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei 230001, China; 3. Anhui Province Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, Hefei 230001, China; 4. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital, University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei 230001, China)

**Abstract Objective:** To investigate the expression and clinical significance of C1QL1 in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The expression level of C1QL1 in paraffin-embedded HCC tissues and adjacent tissues of HCC patients was measured by 80 cases of hepatectomy and postoperative pathology, and its relationship with clinicopathological was studied. The qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of C1QL1 in 20 pairs of freshly frozen HCC and adjacent tissues. **Results:** Immunohistochemical results of paraffin tissue showed: the high expression rate of C1QL1 in HCC tissues was 68.8%(55/80), the high expression rate in adjacent tissues was 10%(8/80), and the expression difference between the two groups was statistically significant( $P<0.001$ ). The expression of C1QL1 in HCC was correlated with the history of hepatitis B( $P=0.021$ ), tumor size( $P=0.003$ ), vascular invasion( $P=0.003$ ), TNM staging( $P=0.002$ ) and Edmondson classification( $P=0.002$ ), but was not correlated with age( $P=0.758$ ), sex( $P=0.672$ ), alpha fetoprotein(AFP)( $P=0.191$ ), the number of tumor( $P=0.877$ ), child-pugh classification( $P=0.866$ ), tumor envelope integrity( $P=0.238$ ) and degree of liver cirrhosis( $P=0.316$ ). Both qRT-PCR and Western blot showed that the expression of C1QL1 in HCC tissues was significantly higher than that in the corresponding paracancerous tissues, and the difference between the groups was statistically significant( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusion:** The expression of C1QL1 protein in HCC tissues is high. The high expression rate of C1QL1 may be closely related to the occurrence, progression and grade malignancy of hepatocellular carcinoma.

**Key words** hepatocellular carcinoma; C1QL1; immunohistochemistry; western blot; real-time fluorescent quantitative PCR

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 发病率在全球恶性肿瘤发病率中位居第 5 位, 死因高居第 3 位<sup>[1]</sup>; 在我国, 本病年死亡率占肿瘤死亡率的第 2 位; 肝癌

患者的发病年龄大多为 40~50 岁, 男性比女性多见。肝癌由于其恶性程度高, 对放化疗不敏感, 早诊早治(以手术切除为主的综合治疗)是提高肝癌长期治疗效果的关键所在。

影响肝癌发生、发展及预后的因素是多方面的, C1QL1 基因是 C1q 蛋白质家族的一员, C1QL1 是

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81501354)

作者简介 胡源(1993-), 男, 硕士在读; 研究方向: 肝肿瘤专题研究; 通信作者: 许戈良, E-mail: ahsyxgl@163.com。

C1q-like 的一种小的分泌蛋白,几乎完全在脑中表达,C1q-like(C1QL)-1、-2、和-3 蛋白质是由在大脑中高度表达的同源基因编码的,有研究表明目前 C1QL1 已被发现在结直肠癌中呈过度表达可能作为结直肠癌预后的一种生物标记<sup>[2]</sup>,且也有研究表明,C1QL1 在分化型甲状腺癌和正常甲状腺组织中存在差异性表达,C1QL1 可以作为分化型甲状腺癌的生物标志物之一,并与 CRABP1 及 LCN2 共同预测分化型甲状腺癌的甲状腺外扩散<sup>[3]</sup>,对甲状腺癌的诊断及预后具有重要的临床意义,但 C1QL1 在 HCC 中的表达及其临床意义仍有待研究,本研究采用免疫组织化学技术检测、Western blot 检测及 qRT-PCR 实验检测 C1QL1 在 HCC 组织中的表达情况,并探讨其高表达与 HCC 的发生发展、恶性程度及临床病理关系。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2006 年 4 月—2011 年 10 月于中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)肝脏外科经病理确诊的 HCC 患者肿瘤组织石蜡切片共 80 例作为实验组,相对应的癌旁组织作为对照组。术后均经病理结果证实均为 HCC,临床病历资料完整且术前患者均未行化疗、放疗及介入等其他相关辅助治疗。男性患者 55 例,女性患者 25 例,年龄 20~74 岁;HBsAg 阳性患者 44 例,阴性患者 36 例;有血管侵犯(镜下癌栓或肉眼癌栓)45 例,无血管侵犯 35 例;肿瘤的 TNM 分期标准采用美国癌症联合会(AJCC)第八版标准<sup>[4]</sup>,I~II 期者 46 例,III~IV 期者 34 例;肿瘤分级标准采用 Edmondson 分级法,其中 I~II 级 53 例,III~IV 级 27 例。另外收集 2017 年 10 月—2018 年 4 月于中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)肝脏外科行 HCC 切除术的新鲜冷冻 HCC 组织及其相对应的癌旁组织共 20 对,将标本放置-80℃冰箱冷冻保存,行 Western blot 及 qRT-PCR 实验检测。所选患者术后均未行放疗、化疗、介入等其他辅助治疗。

1.2 主要试剂 C1QL1 抗体(美国 SIGMA 公司);通用山羊抗鼠/兔二抗 PV-6000(北京中杉金桥公司);DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥公司);苏木素染色剂(珠海贝索生物技术有限公司);SP 试剂盒(北京中杉金桥公司);BCA 试剂盒(上海碧云天生物公司)。

## 1.3 实验方法

1.3.1 免疫组织化学染色 所有常规石蜡包埋的组织,4 μm 连续切片后,进一步做免疫组织化学染色。(1)将石蜡切片于 60℃烤箱烘烤 20 min 于 2 次二甲苯溶液分别浸泡 10 min,以充分脱蜡;再分别

于 100%、95%、75%的梯度乙醇浸泡 5 min;(2)自来水冲洗浸泡 5 min 后放入柠檬酸盐缓冲液中,用高压锅煮沸修复抗原,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶;(3)PBS 缓冲液冲洗后滴加兔抗人 C1QL1(1:50)特异性抗体,放置 4℃冰箱孵育过夜;(4)次日 PBS 缓冲液冲洗后滴加二抗于 37℃孵育 30 min;(5)PBS 缓冲液冲洗后 DAB 显色剂进行显色;滴加苏木素复染,再分别于 75%、95%、100%梯度的乙醇溶液浸泡 2 min,二甲苯透明,中性树脂封片。

1.3.2 免疫组化染色结果评分标准 (1)根据阳性细胞所占比例进行评分<sup>[5]</sup>:C1QL1 蛋白主要定位于细胞质,少数表达于细胞核,在组织切片中胞质染为高于背景的淡黄、黄色、棕黄色者为阳性反应细胞。每张切片随机选择 5 个 400 倍视野,每个视野计数 100 个细胞,得出阳性细胞百分比并赋分:<10% 阳性细胞为 0 分,11%~30% 为 1 分,31%~60% 为 2 分,>60% 为 3 分;(2)另外根据染色细胞强度评分:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,黄色为 2 分,棕黄色为 3 分。每张切片最终分数为上述两种评分的乘积(即着色细胞所占百分比分数×着色细胞强度),分数≥5 分定为高表达,得分<5 分定为低表达。以上结果均由同一位病理专科医师独立阅片并评分。

1.3.3 Western blot 检测 分别将收集的 HCC 与癌旁组织样本进行充分裂解,并采用 BCA 法进行总蛋白浓度的测定,将每对蛋白样本进行等量上样,上样量为 50 μL,经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后,将蛋白转至 PVDF 膜上,脱脂奶粉摇床上室温封闭 1 h,加入 C1QL1 一抗(1:500),4℃孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,洗涤后加入二抗(1:10 000),室温下摇床孵育 2 h,TBST 洗涤后显色、定影,使用 Alpha-Ease FC 成像系统(Alpha Innotech,美国)观察。并对 C1QL1 蛋白与内参蛋白灰度值进行分析,然后计算目标蛋白和内参蛋白灰度值的比值用于分析 C1QL1 蛋白表达水平。

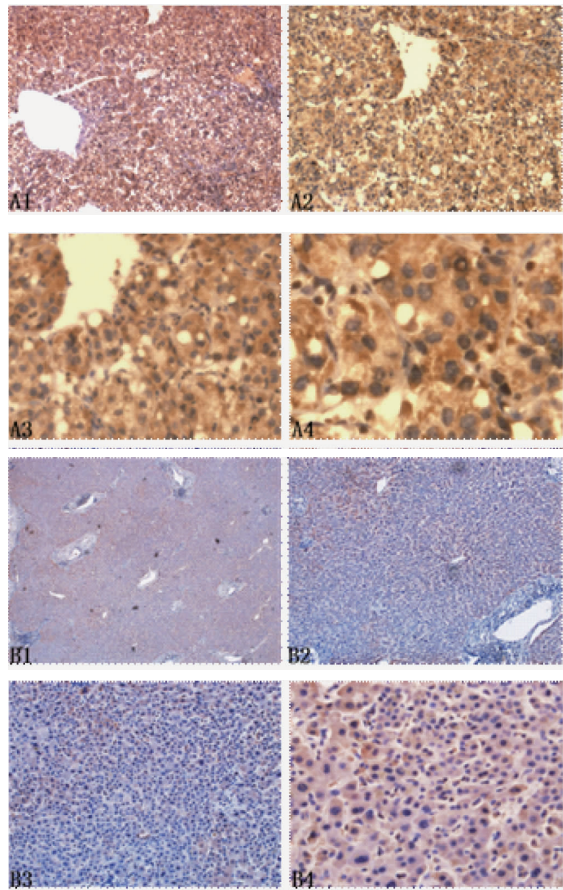
1.3.4 qRT-PCR 实验检测 使用 TRIzol 试剂盒对 HCC 及相对应癌旁组织的总 RNA 进行提取,经逆转录合成 cDNA,进行 qRT-PCR 反应:首先 95℃预变性 10 min;95℃变性 10 s 后 60℃退火 1 min;共 40 个循环,所有样本基因均进行 3 次重复。C1QL1 引物正向序列:5'-GGG TTA CGA GGT ACT CAA GTT TG -3',反向序列:5'-AAA GTA GGT GCC GGG AAT GTT -3';内参设置为 ACTIN,正向序列:5'-AGC GAG CAT CCC CCA AAG TT-3',反向序列 5'-GGG CAC GAA GGC TCA TCA TT-3',表达水平使用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 进行计算。

1.4 临床病理指标 肿瘤的早期复发认为是手术切除肿瘤后 2 年内复查发现肝内出现复发灶或者肝外转移灶。肿瘤大小选取肿瘤最大直径;血管侵犯是指镜下癌栓或肉眼癌栓;肿瘤包膜的完整性是指肿瘤组织的切面与周围正常组织是否分界清楚<sup>[6]</sup>;肝癌 TNM 分期标准依据美国癌症联合会(AJCC)第 8 版标准<sup>[4]</sup>;肿瘤分级标准采用 Edmondson 分级法<sup>[7]</sup>。

1.5 统计学处理使用 SPSS24.0 软件及 Graph-Prism5.0 软件对数据进行统计学分析,本研究中所涉及的分类型变量通过 $\chi^2$ 检验或 Fisher 精确概率算法检验;通过 Kaplan-Meier 法绘制患者生存曲线;定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用  $t$  检验方法进行比较分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C1QL1 在 HCC 及癌旁组织中的表达 C1QL1 主要表达于 HCC 细胞质中(图 1),高表达定义为胞质内有黄色或棕黄色颗粒,而间质细胞无染色情况。经过统计分析表明,C1QL1 在 HCC 中的阳性高表达率明显高于癌旁组织,组间差异有统计学意义( $P<0.05$ ,表 1)。



A1~ A4. HCC 组织中 C1QL1 表达 40 倍、100 倍、200 倍、400 倍;B1~ B4. 癌旁组织中 C1QL1 表达 40 倍、100 倍、200 倍、400 倍

图 1 HCC 组织和癌旁组织中 C1QL1 表达情况

Fig 1 Expression of C1QL1 in HCC tissues and paracancer tissues

表 1 C1QL1 蛋白在癌组织和癌旁组织中的表达( $n$ )

Tab 1 Expressions of C1QL1 protein in cancer and paracancer tissues( $n$ )

组别	<i>n</i>	C1QL1 高表达	C1QL1 低表达	$\chi^2$	<i>P</i>
癌组织	80	55	25	57.837	<0.05
癌旁组织	80	8	72		

2.2 C1QL1 的表达与 HCC 临床病理特征的关系 C1QL1 高表达与患者有无乙肝病史( $P=0.021$ )、肿瘤的大小( $P=0.003$ )、血管侵犯( $P=0.003$ )、TNM 分期( $P=0.002$ )及 Edmondson 分级( $P=0.002$ )相关,而与年龄( $P=0.758$ )、性别( $P=0.672$ )、甲胎蛋白(AFP)( $P=0.191$ )、肿瘤数目( $P=0.877$ )、Child-Pugh 分级( $P=0.866$ )、肿瘤包膜完整程度( $P=0.238$ )和肝硬化程度( $P=0.316$ )均无关(表 2)。

表 2 HCC 组织中 C1QL1 的表达与临床病理特征的关系

Tab 2 Relationship between the expressions of C1QL1 in HCC tissues and clinicopathological features

临床病理特征	<i>n</i>	低表达	高表达	$\chi^2$	<i>P</i>
年龄/岁					
≤50	21	6	15	0.095	0.758
>50	59	19	40		
性别					
男	55	18	37	0.179	0.672
女	25	7	18		
HBsAg					
阴性	36	16	20	5.304	0.021
阳性	44	9	35		
AFP/(ng/mL)					
≤20	30	12	18	1.711	0.191
>20	50	13	37		
肝硬化					
无	10	5	5	1.006	0.316
有	70	20	50		
Edmondson 分级					
I~II 级	53	23	30	9.173	0.002
III~IV 级	27	2	25		
TNM 分期					
I~II 期	46	8	38	9.676	0.002
III~IV 期	34	17	17		
肿瘤大小/cm					
≤5	32	16	16	8.727	0.003
>5	48	9	39		
肿瘤数目/个					
=1	49	15	34	0.024	0.877
>1	31	10	21		
血管侵犯					
无	35	17	18	8.689	0.003
有	45	8	37		
Child-Pugh 分级					
A	68	22	46	0.029	0.866
B	12	3	9		
肿瘤包膜					
完整	37	14	23	1.391	0.238
不完整	43	11	32		



2.3 C1QL1 的表达与肝细胞癌患者生存时间的关系 80 例 HCC 患者中 C1QL1 高表达者 55 例,低表达者 25 例,失访 8 例患者(其中 5 例失访者为 C1QL1 高表达者,3 例为 C1QL1 低表达者)。Kaplan-Meier 生存分析显示高表达者的中位生存期为 17 个月,低表达者的中位生存期 33 个月,经 Log-Rank 检验显示,C1QL1 蛋白高表达患者组与低表达患者组生存率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 2。

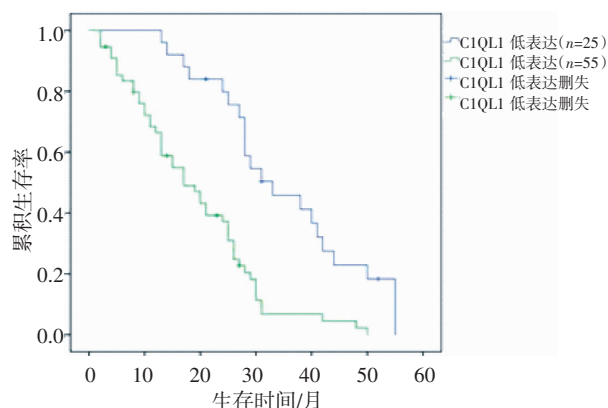
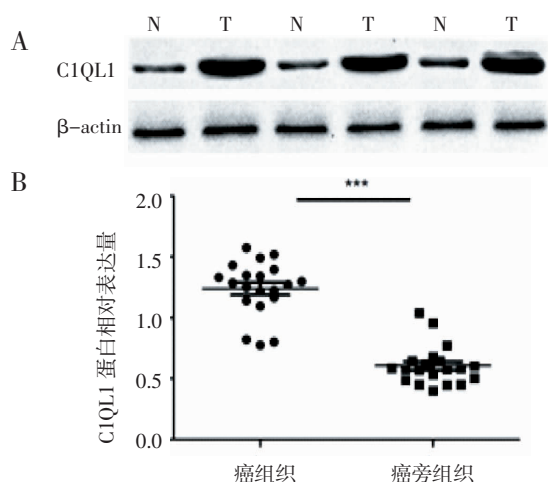


图 2 肝细胞癌中 C1QL1 高表达、低表达患者的生存曲线

Fig 2 Survival curve of patients with high and low expression of C1QL1 in hepatocellular carcinoma

2.4 Western blot 检测结果 结果显示(图 3),20 对标本中 16(80%)对 C1QL1 在 HCC 组织中的蛋白表达水平明显高于相对应的癌旁组织。C1QL1 蛋白在 HCC 组织中的相对表达量为  $1.24\pm0.05$ ,癌旁组织中的相对表达量为  $0.61\pm0.04$ ,差异具有统计学意义( $t=10.17, P<0.001$ )。

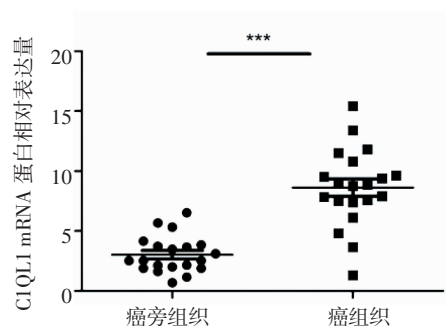


A: T:HCC 组织;N: 癌旁组织;B: 20 对 HCC 组织和配对癌旁组织 C1QL1 蛋白的相对表达量 \*\*\* $P<0.001$

图 3 Western blot 检测癌组织和癌旁组织中 C1QL1 表达情况

Fig 3 Western blot was used to detect the expression of C1QL1 in HCC tissues and paracancer tissues

2.5 qRT-PCR 检测 C1QL1 的结果 结果显示(图 4),20 对标本中 17 对(85%)C1QL1 在 HCC 组织中的 mRNA 表达显著高于相对应的癌旁组织(图 3)。C1QL1 在 HCC 组织中的 mRNA 相对表达量为  $8.62\pm0.72$ ,癌旁组织中的 mRNA 相对表达量为  $3.03\pm0.34$ ,差异具有统计学意义( $t=6.990, P<0.001$ )。



\*\*\* $P<0.001$

图 4 qRT-PCR 分析癌组织及癌旁组织中 C1QL1 mRNA 的相对表达量

Fig 4 The relative expressions of C1QL1 mRNA in HCC tissues and paracancer tissues analyzed by qRT-PCR

### 3 讨论

HCC 是最常见的消化系统恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,严重危害人类健康。在我国,HCC 每年发病患者数多达 30 多万,占世界肝癌患者总数的 60%<sup>[8]</sup>,其发病率及死亡率均位于所有肿瘤的前列<sup>[9]</sup>,且肝癌的发生、发展是众多因素共同参与调节的过程,目前仍然缺乏高敏感性的早期诊断方法,多数患者就诊时已为中晚期,所以其治愈率及远期生存率很低,预后极差<sup>[10]</sup>,因此探讨发现肝癌的生物标志物对肝癌的早期诊断是非常有意义的。

已有研究表明,C1q-like (C1QL) -1、-2 和 -3 蛋白质是由在大脑中高度表达的同源基因编码的,明确了 C1QL1、C1QL2 和 C1QL3 的球状 C1q 域的高分辨率晶体结构,其每一种结构都是一个三聚体,每一个原聚体都形成一个由 10 股  $\beta$  链组成的卷饼折叠样结构。此外,C1QL 的三聚体可以组装成与脂联素相似的高阶寡聚物,其三聚对称轴上包含 4 个  $\text{Ca}^{2+}$  结合点,以及额外的表面结合位点。 $\text{Ca}^{2+}$  在三聚对称轴上的配位残基降低了  $\text{Ca}^{2+}$  的结合力和蛋白质稳定性。其研究结果揭示了 C1q/TNF 超家族蛋白中 C1QLs 的独特结构特征,这些蛋白质可能与其大脑的特定功能有关<sup>[11]</sup>。C1QL1 基因最初被克隆为一种与衰老相关的基因,这种基因在大脑中被高度表达,也可能在神经元分化中发挥作用<sup>[12]</sup>,C1QL1 基因是 C1q 蛋白质家族的一员,它是由攀缘纤维(CFs)提供的,在小鼠小脑的整个发育期和成年期,它是

一个至关重要的传导信号。C1QL1能与大脑特定的血管生成抑制剂3 (brain-specific angiogenesis inhibitor3, Bai3)(Bai3是细胞粘附的G蛋白偶联受体家族的成员)特异性结合,并在突触后的浦肯野细胞上表达<sup>[13-14]</sup>。此前已经证明<sup>[15]</sup>,C1QL1与它的受体结合,即粘附G蛋白偶联受体3,控制了攀附体和浦肯野细胞之间的突触连接和调节成熟的模式<sup>[2,14]</sup>。目前C1QL1已被发现在结直肠癌中呈过度表达可能被作为结直肠癌预后的一种生物标记,且也有研究表明,C1QL1在分化型甲状腺癌和正常甲状腺组织中存在差异性表达,C1QL1可以作为分化型甲状腺癌的生物标志物之一,并与CRABP1及LCN2共同预测分化型甲状腺癌的甲状腺外扩散<sup>[3]</sup>,对甲状腺癌的诊断及预后具有重要的临床意义,C1QL1的高表达与HCC的发生发展、恶性程度、生物学行为的确切机制尚未明确,它在HCC中的表达及其临床意义仍有待研究。

本实验在C1QL1现有的研究基础之上,初步探讨了C1QL1在HCC组织及癌旁组织中的表达情况,以及是否存在差异性表达,并分析其是否与临床病理相关特征具有密切相关性。研究结果显示C1QL1在HCC中与癌旁组织中表达具有差异,同样与HCC患者有无乙肝病史( $P=0.021$ )、肿瘤的大小( $P=0.003$ )、血管侵犯( $P=0.003$ )、TNM分期( $P=0.002$ )及Edmondson分级( $P=0.002$ )相关,而与年龄( $P=0.758$ )、性别( $P=0.672$ )、甲胎蛋白(AFP)( $P=0.191$ )、肿瘤数目( $P=0.877$ )、Child-Pugh分级( $P=0.866$ )、肿瘤包膜完整程度( $P=0.238$ )和肝硬化程度( $P=0.316$ )均不相关,表明C1QL1蛋白可能在HCC的发生发展及恶性程度中起到正性上调作用,提示C1QL1蛋白的高表达可能与HCC的发生发展及恶性程度有关。

必须承认的是,本研究样本量相对较小,且缺乏C1QL1在HCC细胞系中的表达水平以及体外动物实验的验证,目前C1QL1在HCC发生发展中作用的具体机制尚未完全明确,更大样本更深入地研究C1QL1在HCC中的作用机制是非常有必要的。总之,HCC作为一种恶性程度极高、侵袭转移能力极强及预后较差的消化道恶性肿瘤,发现时常已是晚期,失去手术机会,导致患者生活质量较差,且生存时间较短,本研究提示了C1QL1在HCC组织

中表达的上调可能与HCC发生发展、肿瘤的恶性程度密切相关,并有可能成为HCC早期诊断的生物标志物以及临床分子靶向治疗的新靶点。

#### 参考文献:

- [1] El-Serag H B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(6): 1264
- [2] Qiu X, Feng J R, Wang F, et al. Profiles of differentially expressed genes and overexpression of NEBL indicates a positive prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3028
- [3] Celestino R, Nome T, Pestana A, et al. CRABP1, C1QL1 and LCN2 are biomarkers of differentiated thyroid carcinoma, and predict extrathyroidal extension[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 68
- [4] Chun Y S, Pawlik T M, Vauthey J N. 8th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Pancreas and Hepatobiliary Cancers[J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(4): 845
- [5] Maréchal R, Demetter P, Nagy N, et al. High expression of CXCR4 may predict poor survival in resected pancreatic adenocarcinoma[J]. *Brit J Cancer*, 2009, 100(9): 1444
- [6] 马杰,盛治勇,许戈良,等.CD90和CXCR4在肝癌中的表达及其与术后早期复发的关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(1): 129
- [7] Edmondson H A, Steiner P E. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies[J]. *Cancer*, 1954, 7(3): 462
- [8] Bruix J, Gores G J, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives[J]. *Gut*, 2014, 63(5): 844
- [9] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115
- [10] Pascual S, Herrera I, Iruzun J. New advances in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Hepatol*, 2016, 8(9): 421
- [11] Ressler S, Vu B K, Vivona S, et al. Structures of C1q-like proteins reveal unique features among the C1q/TNF superfamily[J]. *Structure*, 2015, 23(4): 688
- [12] Berube N G, Swanson X H, Bertram M J, et al. Cloning and characterization of CRF, a novel C1q-related factor, expressed in areas of the brain involved in motor function[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 63(2): 233
- [13] Kakegawa W, Mitakidis N, Miura E, et al. Anterograde C1ql1 signaling is required in order to determine and maintain a single-winner climbing fiber in the mouse cerebellum[J]. *Neuron*, 2015, 85(2): 316
- [14] Sigoillot S M, Iyer K, Binda F, et al. The Secreted Protein C1QL1 and Its Receptor BAI3 Control the Synaptic Connectivity of Excitatory Inputs Converging on Cerebellar Purkinje Cells[J]. *Cell Rep*, 2015, 10(5): 820
- [15] Yuzaki M. The C1q complement family of synaptic organizers: not just complementary[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, 45: 9

(2018-10-16收稿)