

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.008
View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.008>

肝癌微血管密度、微血管面积和Piezo1的表达 与微血管侵犯的相关性

赵伟¹, 刘文广¹, 刘华平¹, 侯佳乐¹, 冯德云², 易小平¹, 裴贻刚¹, 刘慧¹, 刘丽渝³, 李文政¹

(中南大学湘雅医院 1. 放射科; 2. 病理科; 3. 分子影像研究中心, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 探讨肝癌组织中微血管密度(microvascular density, MVD)、微血管面积(microvascular area, MVA)以及Piezo1的表达水平预测肝癌微血管侵犯(microvascular invasion, MVI)的临床价值。方法: 应用免疫组织化学方法检测38例病理证实为肝癌患者的肝癌组织的CD34以及Piezo1的表达情况, 计算基于CD34染色的MVD和MVA, 分析MVI与MVD, MVA以及Piezo1因子的表达水平的相关性。结果: 38例肝癌中, 13例有微血管侵犯, 定义MVI(+)组, 25例无微血管侵犯, 定义MVI(-)组。MVI(+)组的MVA及MVD均高于MVI(-)组, 两组间差异有统计学意义($P=0.007$, $P=0.011$)。MVD和MVA联合预测MVI的敏感性和特异性为100%和64%, 较单一指标效能高。Piezo1在肝癌MVI(+)组阳性率高于MVI(-)组, 两组间差异有统计学意义($P=0.032$)。结论: MVD, MVA以及Piezo1的表达水平与肝癌MVI具有一定的相关性, 可以作为辅助诊断微血管侵犯的指标, Piezo1可以作为潜在的限制MVI的治疗靶点。

[关键词] 肝癌; 微血管侵犯; 微血管密度; 微血管面积; Piezo1

Correlation between microvascular density, microvascular area, Piezo1 expression and microvascular invasion in hepatocellular carcinoma

ZHAO Wei¹, LIU Wenguang¹, LIU Huaping¹, HOU Jiale¹, FENG Deyun²,
YI Xiaoping¹, PEI Yigang¹, LIU Hui¹, LIU Liyu³, LI Wenzheng¹

(1. Department of Radiology; 2. Department of Pathology; 3. Center for Molecular Medicine,
Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract **Objective:** To investigate the clinical value of microvascular density (MVD), microvascular area (MVA) and the expression of Piezo1 in predicting microvascular invasion (MVI) of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** Immunohistochemical method was applied to detect the expression of CD34 and Piezo1 of 38 pathologically confirmed HCC for 38 patients, MVD and MVA were measured based on CD34 staining. The

收稿日期 (Date of reception): 2017-02-22

通信作者 (Corresponding author): 李文政, Email: wenzheng727@163.com

基金项目 (Foundation item): 中南大学湘雅医院临床科研基金 (2014L05)。This work was supported by the Funds for Clinical Research Fund of Xiangya Hospital of Central South University, China (2014L05).

correlations between the expression level of Piezo1, MVD, MVA and MVI were analyzed. **Results:** Thirteen in 38 cases were presented with MVI, defined as MVI (+) group, 25 in 38 cases were absence of MVI, defined as MVI (-) group. The MVA and MVD were significantly higher in MVI (+) group ($P=0.007$, $P=0.011$; respectively) than in MVI (-) group. MVD combined with MVA achieved a sensitivity of 100% and a specificity of 64% in predicting MVI of HCC, which was higher than single index. The expression level of Piezo1 was significantly higher in the MVI (+) group than in the MVI (-) group ($P=0.032$). **Conclusion:** MVD, MVA and the expression level of Piezo1 are significantly correlated with MVI which can be used as surrogate markers of MVI, Piezo1 may be a novel therapy target for restraining MVI.

Keywords hepatocellular carcinoma; microvascular invasion; microvascular density; microvascular area; Piezo1

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 是肝最常见的恶性肿瘤, 在恶性肿瘤病死率中排第三^[1]。尽管HCC的治疗方式最近几年有了新的突破且样式多样化, 包括手术切除、肝移植、射频消融、介入、放射学粒子植入等, 但手术切除及肝移植仍然是唯一有可能治愈HCC的手段, 但5年复发率高(分别为70%和15%~30%)^[2]。已有大量研究^[3-4]表明血管侵犯是HCC手术切除或肝移植术后复发及转移的重要独立预测因子之一。HCC血管侵犯包括大血管侵犯和微血管侵犯(microvascular invasion, MVI), 其出现增加了癌细胞在肝内扩散转移以及进入循环系统从而全身转移的风险性, 这就意味着更加激进的手术方式以及术后辅助放化疗的必要性^[5-6]。尽管HCC的MVI与一些临床病理因素相关^[7-8], 但其分子机制仍然不清楚^[9]。本研究试图通过对HCC组织进行CD34和Piezo1免疫组织化学染色, 分析有无MVI的HCC组织中微血管密度(microvascular density, MVD)、微血管面积(microvascular area, MVA)以及Piezo1因子表达的差异, 及Piezo1因子的表达水平与MVA, MVD计数的相关性, 对HCCMVI的可能分子机制进行初步探讨。

1 对象与方法

1.1 对象

整个实验经中南大学湘雅医院医学伦理委员会同意, 所有入选患者均签署知情同意书。2015年1月至2016年3月期间在我院进行HCC切除术的38例患者, 男28例, 女10例, 年龄24~69岁。

1.2 方法

1.2.1 主要仪器、试剂以及实验方法

光学显微镜BX51购自日本Olympus公司, 切片机购自德国Leica Microsystems公司, 摊片机购自常

州中威电子仪器有限公司, 兔抗人Piezo1多克隆抗体购自美国Novus Biologicals公司, 鼠抗人CD34单克隆抗体、PV9000二步法通用试剂盒、两步法检测系统及通用型二抗购自北京中杉金桥公司, DAB显色试剂盒购自广州深达生物制品技术有限公司。

手术切除标本经中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 4 μm厚切片, 常规HE染色。CD34和Piezo1表达情况采用免疫组织化学二步法(EnVision法)进行检测, 具体步骤按照试剂盒说明书操作。

1.2.2 微血管诊断标准以及病理结果

光学显微镜下观察切片, 肿瘤的部位、形态、大小、有无血管侵犯、胆管癌栓、分化程度、细胞形态、大体标本形态以及包膜均详细记录。显微镜下发现肝或包膜微小静脉内出现癌栓即可诊断为微血管侵犯。HCC的分化程度根据WHO标准分为高分化、中分化和低分化^[10]。一个肿瘤同时具有两种分化程度则以分化程度较低者为最终结果。多个病灶时只分析最大病灶。

1.2.3 免疫组织化学染色结果判定

所有免疫组织化学染色结果均由1位年资较高病理医生(教授)进行评阅。

1)MVD, MVA的计算方法: CD34表达于血管内皮细胞, 以血管内皮细胞的胞质内出现棕黄色颗粒为阳性。参照Weidner等校对计数方法^[11], 先在100倍光镜下扫查整个切片, 寻找4个血管高密度区, 即“热点”; 然后在200倍光镜下计数染色呈阳性的血管数, 对于微血管的识别不需具备完整的管腔和红细胞, 只要有明显的血管内皮细胞染色、并且能与相邻的血管、肿瘤细胞以及间质成分相分隔的, 就可视为一个独立的血管, 分辨不清以及具有较厚肌层的血管不纳入计数内; 计数4个视野下血管数目平均值作为MVD值(个/HP)。MVA选取方法同MVD热点选取方法, 200倍视野下对微血管染色热点拍摄照片(分辨率2 070×1 548), 应用Image Pro Plus6图像分析软件, 自动

与半自动分析计算MVA。

2) Piezo1表达水平的判定: Piezo1阳性染色部位定位于胞浆, 染色后呈棕黄色。染色结果采用半定量分析法: 以染色强度结合阳性细胞数百分比综合计分, 组织切片中胞质染为淡黄色至棕褐色者为阳性细胞。染色强度以多数细胞呈现的染色特性(染色深浅需与背景着色相对比)计分: 无着色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。阳性细胞百分比即某类细胞5个视野(每400×高倍视野计数100个此类细胞)的阳性细胞平均数: 0~5%为0分, 6%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分, >75%为4分。每张切片随机取5个400倍视野, 每个视野均进行染色强度计分与阳性细胞百分比计分, 染色强度与阳性细胞百分比的乘积: 0分为阴性(-), 1~4分为弱阳性(+), 5~8分为中度阳性(++)+, 9~12分为强阳性(++++)。

1.3 统计学处理

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 计数资料以例数(%)表示, 计量资料在两组间的差异采用独立样本t检验, 计数资料在两组间的差异采

用卡方检验。等级资料在两组间的差异采用秩和检验; MVA, MVD在Piezo1不同表达阳性程度之间的差异采用单因素方差分析, 组间对比采用LSD-t检验方法; 等级资料相关性分析用Spearman分析法; 诊断效能利用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线进行分析。ROC曲线分析采用MedCalc11.0软件进行分析, 其余统计学分析采用SPSS 24.0软件进行。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病人基本临床特征

38例患者中, 13例有微血管侵犯, 定义为MVI(+)组, 25例无微血管侵犯, 定义为MVI(-)组(图1)。MVI(+)组AFP浓度(142.97 ± 128.77) ng/mL高于MVI(-)组(62.96 ± 93.14) ng/mL, 两组间差异有统计学意义($t=2.20$, $P<0.05$)。患者的年龄、病因、有无肝硬化背景、Child-Pugh分级、病理分级、巴塞罗那分期在MVI(+)组与MVI(-)组间的差异无明显统计学意义(表1)。

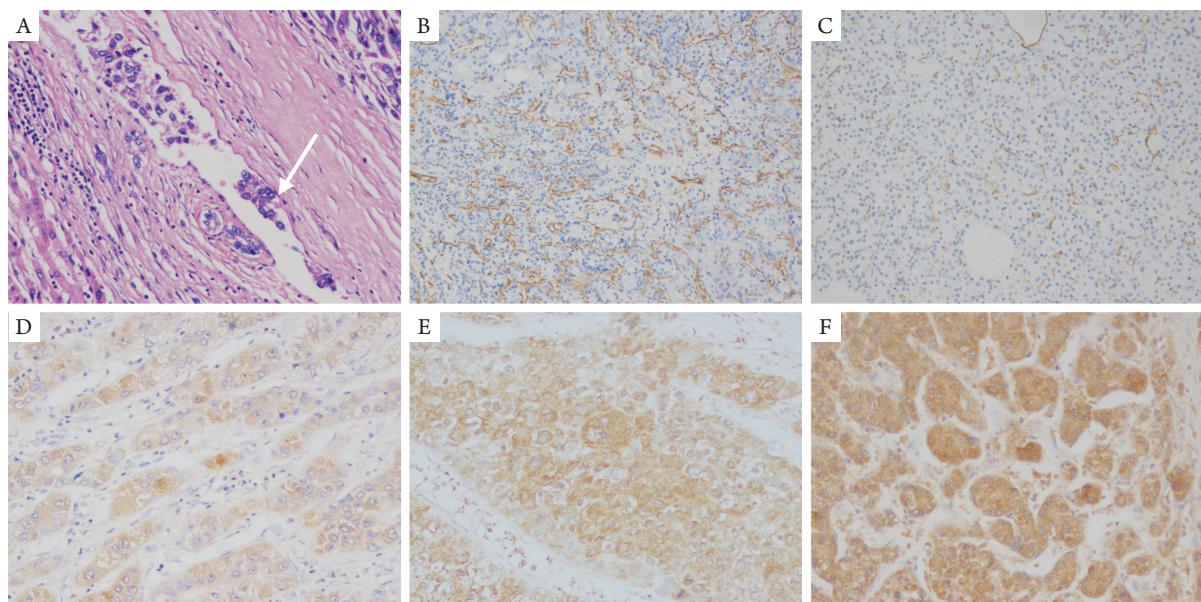


图1 肝癌组织HE和IHC染色图片

Figure 1 HE and IHC staining of HCC tissues

(A)肝癌组织HE染色($\times 200$), 可见癌细胞位于血管管腔内(白箭头所示); (B, C)肝癌组织CD34染色, 其中B组织具有MVI, MVD=87个/HP($\times 200$), MVA=4 539.93 pixel², C组织无MVI, MVD=44个/HP($\times 200$), MVA=1 520.51 pixel²。(D-F)分别为肝癌组织Piezo1染色的弱阳性、中等阳性和强阳性($\times 200$), D组织无MVI, E, F组织有MVI。

(A) HE of HCC tissue ($\times 200$), cancer cells was found in vascular lumen (white arrow); (B, C) IHC of CD34 staining in HCC tissues ($\times 200$), HCC tissue with MVI (B) and MVD = 87 per/HP, MVA=4 539.93 pixel², HCC tissue without MVI (C) and MVD = 44 per/HP, MVA = 1 520.51 pixel²; (D-F) IHC of Piezo1 staining in HCC tissues ($\times 200$), HCC tissue (D) without MVI and Piezo1 staining was weakly positive (+), HCC tissues with MVI (E,F) and Piezo1 staining was medium positive (++)+, strong positive (++++) respectively.

表1 基本临床资料与MVI的关系**Table 1 Relationship between baseline characters and MVI**

条目	MVI (+) (n=13)	MVI (-) (n=25)	P
年龄/岁	53.69 ± 10.66	47.68 ± 10.97	0.115
AFP/(ng·mL ⁻¹)	142.97 ± 128.77	62.96 ± 93.14	0.034
组织学特点			
最大径/cm	5.68 ± 3.20	5.25 ± 3.69	0.725
明显肝硬化背景/[例(%)]	8 (62)	9 (36)	0.178
病因/[例(%)]			0.118
乙肝	8 (62)	18 (72)	
丙肝	2 (15)	1 (4)	
甲肝+乙肝	1 (8)	0 (0)	
酒精肝	2 (15)	2 (8)	
未知	0 (0)	4 (16)	
Child-Pugh分级/[例(%)]			0.698
A	9 (69)	20 (80)	
B	4 (31)	5 (20)	
C	0 (0)	0 (0)	
病理分级/[例(%)]			0.13
高分化	1 (0)	8 (32)	
中分化	10 (91)	16 (64)	
低分化	2 (9)	1 (4)	
巴塞罗那分期(2010)/[例(%)]			0.573
0	0 (0)	1 (4)	
A	6 (26)	9 (36)	
B	9 (36)	15 (60)	
C~D	0 (0)	0 (0)	

2.2 HCC 组织中 CD34 表达及 MVD, MVA 计数在有无 MVI 组之间的差异

MVI(+)组与MVI(-)组均可见CD34阳性表达于血管内皮细胞, 为棕黄色或棕褐色, 呈窦状或裂隙状分布, MVI(+)组CD34表达阳性率高于MVI(-)

组(图1)。MVI(+)组的MVD(69.02 ± 9.13)与MVA(284.61 ± 721.64)均大于MVI(-)组(56.19 ± 15.94 , 1570.11 ± 733.71), 两组间差异有统计学意义($t=3.15$, $P=0.011$; $t=2.88$, $P=0.007$; 表2)。

表2 MVI(+)组和MVI(-)组中MVA, MVD的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 2 Comparison of MVA, MVD between MVI (+) group and MVI (-) group ($\bar{x} \pm s$)**

参数	MVI (+) (n=13)	MVI (-) (n=25)	P
MVA/pixel ²	2284.61 ± 721.64	1570.11 ± 733.71	0.007
MVD/个·HP ⁻¹	69.02 ± 9.13	56.19 ± 15.94	0.011

2.3 MVD, MVA 计数以及两者联合预测 MVI 的 ROC 曲线分析

为了检测MVA和MVD预测MVI的效能，我们进行了ROC曲线分析，结果发现：MVA预测MVI曲线下面积(AUC)为0.769，MVD预测MVI的AUC为0.783。当MVA取截断值 >2654.23 时，MVA预测MVI的敏感性和特异性分别为53.8%和92.0%；当MVD取截断值 >55.33 时，其预测MVI的敏感性和特异性分别为100%和56.0%。随后我们做了两者联合预测MVI的分析，结果发现联合预测时AUC为0.797，敏感性和特异性分别为100%和64.0%。MVA, MVD以及两者联合预测MVI的ROC曲线分析详见图2和表3。

2.4 Piezo1 在有无 MVI 组的表达情况

Piezo1在HCC组织中均可见阳性表达，大部

分表达于胞浆，少数表达于包膜；利用非参数秩和检验得出HCC组织中MVI(+)组的阳性表达程度高于MVI(-)组(图1)，两组间差异有统计学意义($Z=-2.14$, $P=0.032$; 表4)。

2.5 Piezo1 的表达情况及其与 MVD, MVA 计数的相关性分析

先采用方差齐性Levene检验发现MVA, MVD相应统计量P值分别为0.957, 0.749，满足方差齐性；然后单因素方差分析比较不同Piezo1表达水平组间的MVA, MVD差异，发现Piezo1表达水平不同MVA, MVD组间差异无统计学意义($P=0.147$, $P=0.462$)。MVA, MVD各组间对比，均无明显统计学意义($P>0.05$)。经Spearman相关性分析得出，Piezo1的表达与MVA($r=0.054$, $P=0.748$)，MVD($r=0.029$, $P=0.861$)无明显相关性(表5)。

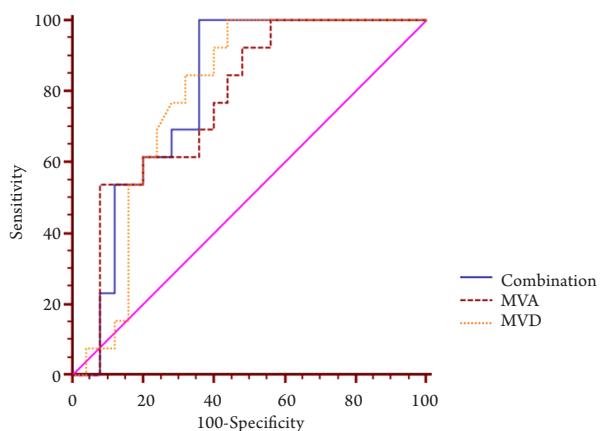


图2 MVA, MVD以及两者联合预测MVI的ROC曲线

Figure 2 ROC analyses of MVA, MVD and the combination of the two factors for predicting MVI

表3 MVA, MVD以及两者联合预测肝癌MVI的诊断效能

Table 3 The diagnostic efficiency of MVA, MVD and the combination of the two factors for predicting MVI

参数	临界值	敏感性/%	特异性/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%	AUC	95%CI
MVA/pixel ²	2654.23	53.8	92.0	77.8	79.3	0.769	0.604~0.890
MVD/个·HP ⁻¹	55.33	100.0	56.0	52.0	100.0	0.783	0.620~0.900
MVA + MVD	0.21	100.0	64.0	59.1	100.0	0.797	0.635~0.910

表4 MVI(+)组和MVI(-)组Piezo1的表达情况**Table 4 The expression of Piezo1 in MVI (+) group and MVI (-) group**

Piezo1	MVI(+)	MVI(-)	共计
+	2	7	9
++	3	13	16
+++	8	5	13
总计	13	25	38

P=0.032, Z=-2.41。

表5 Piezo1的表达情况与MVD, MVA的相关性分析($\bar{x} \pm s$)**Table 5 Correlation between the expression of Piezo1 and MVD, MVA ($\bar{x} \pm s$)**

Piezo1	n	MVA(pixel ²)	P	MVD(个/HP)	P
+	9	2 153.54 ± 834.86	0.070*	63.57 ± 14.49	0.299*
++	16	1 517.85 ± 788.36	0.154 [§]	56.55 ± 13.47	0.252 [§]
+++	13	1 930.44 ± 732.62	0.516 [#]	63.02 ± 17.08	0.934 [#]

*: MVA(MVD)均值在中等阳性组与弱阳性组两组间的比较结果; [§]: MVA(MVD)均值在中等阳性组与强阳性组两组间的比较结果; [#]: MVA(MVD)均值在弱阳性组与强阳性组两组间的比较结果。

*: “++” group vs “+” group in MVA (MVD); [§]: “++” group vs “+++” group in MVA (MVD); [#]: “+” group vs “+++” group in MVA (MVD).

3 讨论

HCC MVI主要是指肉眼下未见癌栓，却可在显微镜下发现癌细胞巢团位于内皮细胞衬覆的血管腔内；它常发现于癌旁肝组织内的静脉小分支（中央静脉、门静脉分支以及包膜小静脉），这与门脉血流动力学紊乱而成为HCC主要的出瘤血管有一定的相关性^[12-13]，文献报道HCCMVI的发生率为15%~57.1%不等^[14]。它是目前公认能够预测HCC预后以及术后复发的独立预测因子，因其只能经病理学确诊，限制了它在临床当中的作用。尽管有大量研究尝试各种手段在术前预测MVI，其中包括影像学检查以及临床病理因素等，希望为临床提供有价值的信息，从而指导HCC临床治疗决策的制定，但一直以来没有突破性进展；同时MVI分子机制研究刚刚起步，通过靶向治疗来限制或者治疗MVI还是设想阶段。

肿瘤新生血管与肿瘤复发、转移的密切关系众所周知，但其与HCC MVI的确切关系及具体机制尚不明确。周东等^[15]通过分析小HCC患者中血清蛋白含量、MVD计数以及血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）的表达情况与MVI的关系，得出结论是MVI组相对分子质量的蛋白质峰明显升高，与无MVI组比较差别有统计

学意义，且MVI患者MVD计数及VEGF表达高于无MVI组。本研究结果与以往结论相同，发现MVD以及MVA在有MVI组中均高于无MVI组。分析其原因可能是肿瘤血管越多，肿瘤生长越活跃，恶性程度也就越高，加上新生血管通透性增加，细胞外间质环境的改变，为肿瘤的转移提供合适的微环境基础，因此发生MVI的概率以及远处转移的可能性就会加大；另外肿瘤血管的增多从概率学角度来讲，发生MVI的可能性本身就会越大。MVD计算时可能包括部分未见管腔结构或者与血管管腔结构分界不清的细胞簇，因此用来评价HCC血管新生的程度有失偏颇^[16]，MVA计数涵盖了有血流灌注的血管管腔面积，更能全面地反映肿瘤血管生成状态。本研究发现MVA预测MVI的AUC为0.769，MVD预测MVI的AUC为0.783，两者相差不大，两者联合预测MVI时AUC为0.797，敏感性和特异性分别为100%和64.0%，较单一指标预测效能较好。

Piezo是一种真核生物机械敏感钙通道，具有电压依赖性及细胞膜压力门控性，最早在2010年被Coste等^[17]发现：该家族具有Piezo1和Piezo2两大成员，前者主要表达于肺、膀胱、皮肤，在胎儿肝也有一定的表达^[18]。有研究^[19-20]表明该因子的表达在肿瘤的侵袭与转移中有一定的作用，可能

成为一种新的基因治疗的靶点。本研究通过免疫组织化学方法检测 Piezo1 在 HCC 中的表达, 发现 HCC 组织均可见 Piezo1 表达, 且有 MVI 的 HCC 表达阳性程度高于无 MVI 的 HCC, 提示 Piezo1 的表达调控可能与 MVI 有关, 但其具体机制需要进一步研究。另外本研究分析 Piezo1 与血管生成的关系发现: Piezo1 的表达情况与 MVA, MVD 无明显的相关性, 但其是否真正参与血管生成的调控需要基础实验去证实。

此外, 本研究分析患者临床资料与 MVI 的关系, 结果显示 AFP 浓度在有 MVI 组中高于无 MVI 组, 与以往研究^[21-22]相同。但也有研究^[23]表明 AFP 并不适合用来预测 MVI, 因为其个体差异较大且容易受病毒性肝炎以及肝硬化等基础病变的影响。其他临床信息在有无 MVI 两组间差异无统计学意义, 特别是直径。大量研究^[24-25]表明直径可以作为独立预测因子来预测 MVI, 但也有研究^[26]表明病灶多灶性才是唯一能够独立预测 MVI 的一个指标, 这可能是病例选择差异造成的。

本研究发现 MVA, MVD 在有微血管侵犯组中明显高于无微血管侵犯组, 提示 HCC 微血管侵犯与新生血管明显相关, 通过抑制血管生成药物的靶向治疗可能减少或限制微血管侵犯; 此外, Piezo1 高表达与微血管侵犯具有一定相关性, 或许能够成为抑制新的潜在的靶向治疗微血管侵犯的靶点, 这需要大样本以及前瞻性的基础研究去证实。

参考文献

1. Kudo M. Surveillance, diagnosis, treatment, and outcome of liver cancer in Japan[J]. Liver Cancer, 2015, 4(1): 39-50.
2. Poon RT, Fan ST, Lo CM, et al. Long-term survival and pattern of recurrence after resection of small hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation[J]. Ann Surg, 2002, 235(3): 373-382.
3. Schlichtemeier SM, Pang TC, Williams NE, et al. A pre-operative clinical model to predict microvascular invasion and long-term outcome after resection of hepatocellular cancer: The Australian experience[J]. Eur J Surg Oncol, 2016, 42(10): 1576-1583.
4. Imamura H, Matsuyama Y, Tanaka E, et al. Risk factors contributing to early and late phase intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy[J]. J Hepatol, 2003, 38(2): 200-207.
5. Clark HP, Carson WF, Kavanagh PV, et al. Staging and current treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Radiographics, 2005, 25(Suppl 1): S3-S23.
6. Hemming AW, Cattral MS, Reed AI, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg, 2001, 233(5): 652-659.
7. Yamashita Y, Shirabe K, Aishima S, et al. Predictors of Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma[J]. Dig Dis, 2015, 33(5): 655-660.
8. Xu L, Zhang M, Zheng X, et al. The circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) acts as a risk factor of hepatic microvascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(1): 17-27.
9. Thuluvath PJ. Vascular invasion is the most important predictor of survival in HCC, but how do we find it? [J]. J Clin Gastroenterol, 2009, 43(2): 101-102.
10. Okamura S, Sumie S, Tonan T, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging predicts malignant potential in small hepatocellular carcinoma[J]. Dig Liver Dis, 2016, 48(8): 945-952.
11. 马捷, 周晓军, 张泰和, 等. 人肝癌组织中 CD34 和血管内皮生长因子的表达及微血管密度的病理意义[J]. 中华病理学杂志, 2000, 29(4): 6-9.
- MA Jie, ZHOU Xiaojun, ZHANG Taihe, et al. Clinicopathologic study of angiogenesis in human hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of Pathology, 2000, 29(4): 6-9.
12. Toyosaka A, Okamoto E, Mitsunobu M, et al. Pathologic and radiographic studies of intrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma; the role of efferent vessels[J]. HPB Surg, 1996, 10(2): 97-104.
13. Toyosaka A, Okamoto E, Mitsunobu M, et al. Intrahepatic metastases in hepatocellular carcinoma: evidence for spread via the portal vein as an efferent vessel[J]. Am J Gastroenterol, 1996, 91(8): 1610-1615.
14. Rodriguez-Peralvarez M, Luong TV, Andreana L, et al. A systematic review of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic variability[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(1): 325-339.
15. 周东, 刘胜, 严俊, 等. 小肝癌微血管侵犯早期诊断指标的探讨[J]. 福建医科大学学报, 2012, 46(2): 128-130.
- ZHOU Dong, LIU Sheng, YAN Jun, et al. Significance of early diagnostic index of microvascular invasion in small hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Fujian Medical University, 2012, 46(2): 128-130.
16. Phongkitkarun S, Kobayashi S, Kan Z, et al. Quantification of angiogenesis by functional computed tomography in a Matrigel model in rats[J]. Acad Radiol, 2004, 11(5): 573-582.
17. Coste B, Mathur J, Schmidt M, et al. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels[J]. Science, 2010, 330(6000): 55-60.
18. Andolfo I, Alper SL, De Franceschi L, et al. Multiple clinical forms of dehydrated hereditary stomatocytosis arise from mutations in PIEZO1[J]. Blood, 2013, 121(19): 3925-3935.

19. Yang XN, Lu YP, Liu JJ, et al. Piezo1 is as a novel trefoil factor family 1 binding protein that promotes gastric cancer cell mobility in vitro[J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(7): 1428-1435.
20. McHugh BJ, Murdoch A, Haslett C, et al. Loss of the integrin-activating transmembrane protein Fam38A (Piezo1) promotes a switch to a reduced integrin-dependent mode of cell migration[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40346.
21. Hirokawa F, Hayashi M, Miyamoto Y, et al. Outcomes and predictors of microvascular invasion of solitary hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology Research*, 2014, 44(8): 846-853.
22. Shirabe K, Toshima T, Kimura K, et al. New scoring system for prediction of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2014, 34(6): 937-941.
23. Wu TH, Hatano E, Yamanaka K, et al. A non-smooth tumor margin on preoperative imaging predicts microvascular invasion of hepatocellular carcinoma[J]. *Surg Today*, 2016, 46(11): 1275-1281.
24. Kim KA, Kim MJ, Jeon HM, et al. Prediction of microvascular invasion of hepatocellular carcinoma: usefulness of peritumoral hypointensity seen on gadoxetate disodium-enhanced hepatobiliary phase images[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2012, 35(3): 629-634.
25. Zhao WC, Fan LF, Yang N, et al. Preoperative predictors of microvascular invasion in multinodular hepatocellular carcinoma[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2013, 39(8): 858-864.
26. Chandarana H, Robinson E, Hajdu CH, et al. Microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: is it predictable with pretransplant MRI?[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2011, 196(5): 1083-1089.

本文引用: 赵伟, 刘文广, 刘华平, 侯佳乐, 冯德云, 易小平, 裴贻刚, 刘慧, 刘丽渝, 李文政. 肝癌微血管密度、微血管面积和Piezo1的表达与微血管侵犯的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(8): 1593-1600. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.008

Cite this article as: ZHAO Wei, LIU Wenguang, LIU Huaping, HOU Jiale, FENG Deyun, YI Xiaoping, PEI Yigang, LIU Hui, LIU Liyu, LI Wenzheng. Correlation between microvascular density, microvascular area, Piezo1 expression and microvascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(8): 1593-1600. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.008