

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.11.003

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.11.003>

CRIP1 对肝癌诊断的临床意义及其对肝癌细胞增殖和转移的影响

黄雯¹, 仰丽丽², 吴付兵³

(1. 南京医科大学第四附属医院肿瘤科, 南京 210000; 2. 南京市第二医院肿瘤科, 南京 210000;
3. 南京医科大学附属逸夫医院肿瘤科, 南京 210000)

[摘要] 目的: 探讨富含半胱氨酸的肠道蛋白1(cysteine-rich intestinal protein 1, CRIP1)对肝癌诊断的临床意义及其对肝癌细胞增殖和转移的影响。方法: 生物信息学在线工具“Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA)”分析CRIP1在肝癌组织和癌旁正常组织中的表达。qRT-PCR检测血清样本中CRIP1 mRNA相对表达水平。qRT-PCR和蛋白质印迹法分别检测转染CRIP1的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)序列后肝癌细胞中CRIP1 mRNA和蛋白表达。MTT实验和Transwell实验分别检测干扰CRIP1对肝癌细胞增殖和转移的影响。结果: “GEPIA”分析结果表明CRIP1在肝癌组织中的相对表达水平显著高于在癌旁正常组织。与健康体检者相比, 肝癌患者血清中CRIP1 mRNA相对表达水平明显升高。以血清中CRIP1 mRNA表达水平诊断肝癌的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积为0.901。肝癌患者血清中CRIP1 mRNA相对表达水平与患者性别、年龄无关, 但与肿瘤大小、TNM分期显著相关。转染si-CRIP1能有效干扰Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1 mRNA和蛋白的表达。和转染si-Negative Control (si-NC)组相比, 转染si-CRIP1能显著抑制Hep3B和SMMC7721细胞的增殖、迁移和侵袭。结论: 血清中CRIP1 mRNA表达水平诊断肝癌具有一定的临床意义。干扰CRIP1表达显著抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 肝癌; 富含半胱氨酸的肠道蛋白1; 临床意义; 增殖; 转移

Clinical significance of CRIP1 in diagnosis of hepatocellular carcinoma and its effect on proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells

HUANG Wen¹, YANG Lili², WU Fubing³

(1. Department of Oncology, Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000; 2. Department of Oncology, Nanjing Second Hospital, Nanjing 210000; 3. Department of Oncology, Yifu Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the clinical significance of cysteine-rich intestinal protein 1 (CRIP1) in diagnosis

收稿日期 (Date of reception): 2019-08-30

通信作者 (Corresponding author): 吴付兵, Email: wfbwkx@163.com

基金项目 (Foundation item): 北京医卫健康公益基金会医学科学研究基金 (YWJKJHKYJJ-F2252E); 北京市希思科临床肿瘤学研究基金 (Y-HS2019-35); 2019年度天晴科研基金 (YFH2019-003)。This work was supported by Medical Scientific Research, Beijing Medical and Health Foundation (YWJKJHKYJJ-F2252E), Beijing Xisike Clinical Oncology Research Foundation (Y-HS2019-35), and 2019 CHIATAI TIANQING Research Foundation (YFH2019-003), China.

of hepatocellular carcinoma and its effects on proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells. **Methods:** The expression of CRIP1 in hepatocellular carcinoma and adjacent normal tissues was analyzed by “Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA)”, an online bioinformatics tool. The relative mRNA expression level of CRIP1 in serum samples was detected by qRT-PCR. The expression mRNA and protein of CRIP1 in hepatocellular carcinoma cells transfected with small interfering RNA (siRNA) interfering CRIP1 sequence were measured by qRT-PCR and Western blot, respectively. The effect of interfering CRIP1 on the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells were assessed by MTT and Transwell assay, respectively. **Results:** “GEPIA” analysis showed that the relative expression level of CRIP1 in hepatocellular carcinoma tissues was significantly higher than that in normal adjacent tissues. The relative mRNA expression level of CRIP1 in serum of patients with hepatocellular carcinoma was significantly increased compared with that in healthy controls. The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve of hepatocellular carcinoma diagnosed by serum CRIP1 mRNA expression was 0.901. The relative mRNA expression levels of CRIP1 in serum of patients with hepatocellular carcinoma was not related to gender and age, but was significantly related to tumor size and TNM stage. The transfection of si-CRIP1 could effectively interfere with the mRNA and protein expression of CRIP1 in Hep3B and SMMC7721 cells. Transfected with si-CRIP1 significantly inhibited cell proliferation, migration, and invasion of Hep3B and SMMC7721 cells compared with that transfected with si-negative control (si-NC). **Conclusion:** The mRNA expression level of CRIP1 in serum has certain clinical significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. Interfering CRIP1 expression significantly inhibits the proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells.

Keywords hepatocellular carcinoma; cysteine-rich intestinal protein 1; clinical significance; proliferation; metastasis

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)是最常见的癌症之一,也是全球导致死亡的第3大癌症^[1]。我国肝癌发病率和病死率均高于世界平均水平。虽然肝癌治疗的策略已经有了显著的改善,但由于肝癌容易复发、转移以及对化学药物治疗(以下简称化疗)和放射治疗(以下简称放疗)反应差等,其总体生存率仍不容乐观^[2]。因此,为改善肝癌患者的预后,迫切需要对肝癌转移、复发的分子生物学机制进行研究,为肝癌诊断和治疗提供生物标志物和治疗策略。富含半胱氨酸的肠道蛋白1(cysteine-rich intestinal protein 1, CRIP1)是LIM/双锌指蛋白家族中的一员,主要通过LIM结构域中锌指结构发挥作用。CRIP1在乳腺癌^[3]、甲状腺癌^[4]、结直肠癌^[5]等中异常表达,并在肿瘤的发生和进展中起重要的作用。但是CRIP1在肝癌诊断、发生和发展中的作用仍然不清楚。因此,为了研究CRIP1对肝癌细胞功能的影响,本研究首先探讨肝癌患者血清中CRIP1 mRNA的表达水平及临床意义,随后采用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)干扰CRIP1在肝癌细胞中表达,探究其对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2018年4月至2019年8月在南京医科大学附属逸夫医院诊断为原发性肝癌患者43例。其中男32例,女11例;年龄为32~68(54.37±5.48)岁;HBV感染37例,HCV感染5例;肿瘤直径≥5 cm的16例,<5 cm的27例;低分化为23例,中分化12例,高分化8例;伴有癌栓12例,无癌栓31例;I和II期患者25例,III和IV期患者18例。所有患者行手术治疗。选取同期在医院体检的41例健康人员作为对照,其中男30例,女11例。对照组和原发性肝癌患者组年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$)。所有入组人员签署知情同意书。手术前1天采集原发性肝癌患者的静脉血5 mL,分离血清检测CRIP1和AFP。

1.2 主要试剂和仪器

人肝癌细胞系Hep3B和SMMC7721购于中国科学院上海生物化学与细胞生物研究所;DMEM细胞培养液、胎牛血清、胰蛋白酶均购于美国Gibco公司;Lipofectamine 2000转染试剂和RNA提取试剂TRIzol购于美国Invitrogen公司;血清RNA

提取试剂盒(BIOG cfRNA Easy Kit)购于常州百代生物科技有限公司; 反转录试剂盒和定量PCR试剂盒购于日本Takara公司; MTT检测试剂盒、蛋白质提取试剂盒、BCA蛋白质定量试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司; Transwell小室和Matrigel购于美国BD公司; CRIP1和GAPDH鼠抗人单克隆抗体购于美国Abcam公司; PRISM 7500定量PCR仪购自美国ABI公司; 蛋白质电泳系统、转膜仪、全自动化学发光成像系统购自美国Bio-Rad公司; 酶标仪购自美国Thermo公司。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析 CRIP1 在肝癌组织中的表达

利用生物信息学在线工具“GEPIA”(<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>)分析CRIP1在肝癌组织和正常组织中的表达。

1.3.2 细胞培养与转染

将肝癌细胞Hep3B和SMMC7721用含有10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素的DMEM培养液, 然后置于37 °C含5% CO₂的恒湿培养箱中培养。待细胞生长进入对数生长期时对细胞进行转染, 具体操作按照lipofectamine 2000转染试剂说明书进行。在转染中设置siRNA-NC(si-NC)对照组, si-CRIP1-1组, si-CRIP1-2组, si-CRIP1-3组, 然后进行筛选, 选出合适的siRNA干扰CRIP1基因进行下一步实验。siRNA序列如下: si-CRIP1-1正向引物5'-GCAACAAGGAGGUGUACUUTT-3', 反向引物5'-GCGAGAAAUGUGGGAAGACTT-3'; si-CRIP1-3正向引物5'-CCGAGAGCCACACUUUCAATT-3', si-NC正向引物5'-UUCUCCGAACGUGUCACGU-3'。

1.3.3 qRT-PCR 检测 CRIP1 mRNA 的表达

转染24 h后, 采用TRIzol试剂提取各组细胞样本中的总RNA, 其中血清总RNA提取按照试剂合说明书进行, 随后用反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA, 并以此为模板, qRT-PCR方法检测CRIP1在细胞中的表达, 定量PCR反应程序: 50 °C 2 min, 95 °C 3 min, 95 °C 10 s, 65 °C 30 s, 扩增40个循环。每一样品重复3次, 并以GAPDH作为内参, 记录Ct值。采用2^{-ΔΔCt}法进行相对定量, 分析相对表达。

1.3.4 蛋白质印迹法检测 CRIP1 蛋白的表达

转染48 h后, 收集各组细胞, 按照蛋白质提取试剂盒说明书进行各组细胞蛋白质提取。然后采用BCA定量试剂盒对蛋白质浓度进行定量, 分别取等量(30 μg/孔)的各组蛋白质进行SDS-PAGE凝胶电泳, 然后将凝胶上的蛋白质经电转至PVDF膜上。

取出PVDF膜, 用含5%脱脂牛奶将膜在室温条件下封闭2 h, 加入一抗(鼠抗人CRIP1按1:500稀释, 或鼠抗人GAPDH按1:2 000稀释)4 °C条件孵育过夜。将膜经Tris-Buffered Saline Tween-20 (TBST)漂洗3次后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠IgG抗体, 室温条件下孵育2 h。然后将膜经TBST漂洗3次后加增强发光法(electrochemiluminescence, ECL)显色试剂, 化学发光成像系统成像检测蛋白质印迹条带。

1.3.5 MTT 检测 CRIP1 对肝癌细胞增殖能力的影响

将转染si-CRIP1或si-NC的肝癌细胞Hep3B和SMMC7721细胞按每孔100 μL/4 000个接种至96孔板, 培养24, 48, 72 h后, 每孔加入10 μL MTT溶液, 放在培养箱内继续培养4 h。再往每孔中加入100 μL Formazan溶解液, 放在培养箱内继续培养3 h。然后将培养板置于570 nm波长下测定吸光度。每组实验设置3个复孔, 以时间为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制细胞增殖曲线。

1.3.6 Transwell 小室试验检测 CRIP1 对肝癌细胞迁移和侵袭的影响

迁移实验: 将Transwell小室放置于24孔板内, 将转染si-CRIP1或si-NC的肝癌细胞Hep3B或SMMC7721细胞按每孔100 μL无血清培养基/4 000个接种于上室, 下室加入800 μL含10%胎牛血清的血清培养基。随后将细胞置于37 °C细胞培养箱中培养48 h, 小心将各个上室取出, 将小室膜下面的细胞用40 g/L多聚甲醛溶液进行固定, 然后用0.1%结晶紫染液进行将上室内膜表面的细胞擦掉用湿棉签小心擦掉, 每组实验设置3个复孔。各组随机选取6个视野显微镜下观察拍照并计数。侵袭实验: 首先用无血清培养液将Matrigel胶按照说明书比例配制, 然后取100 μL Matrigel胶包被Transwell小室底部膜的上室。其余操作同迁移实验。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析, 数据以均数±标准差($\bar{x}±s$)表示, 组间比较采用t检验或方差分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物信息学分析 CRIP1 在肝癌组织中的表达

生物信息学“GEPIA”分析结果表明CRIP1在肝癌组织中的相对表达水平显著高于在癌旁正常组织中的表达水平, 差异具有统计学意义(P<0.05, 图1)。

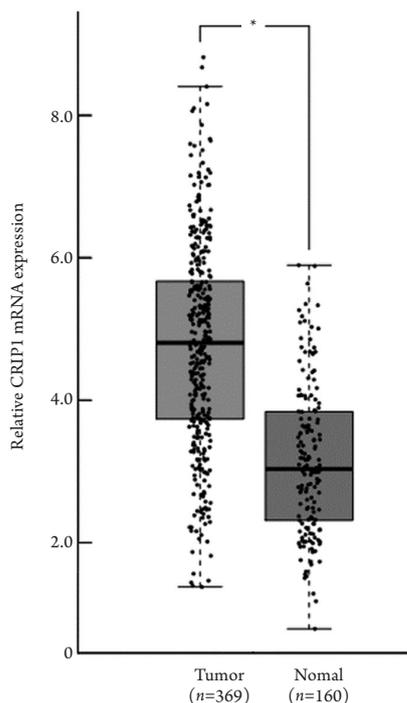


图1 “GEPIA”分析CRIP1在肝癌组织($n=369$)和正常肝组织($n=160$)中的相对表达水平(* $P<0.05$)

Figure 1 Relative expression level of CRIP1 in hepatocellular carcinoma tissues ($n=369$) and normal liver tissues ($n=160$) was analyzed by “GEPIA” (* $P<0.05$)

2.2 肝癌患者血清中 CRIP1 mRNA 的表达

与健康体检者血清中CRIP1 mRNA表达水平相比,肝癌患者血清中CRIP1 mRNA相对表达水平明显升高,差异具有统计学意义($P<0.01$,图2)。

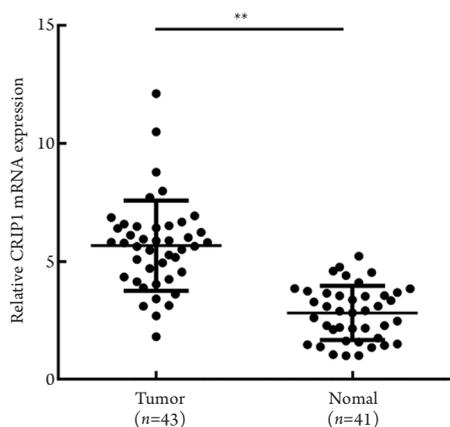


图2 qRT-PCR检测肝癌患者($n=43$)和健康体检者($n=41$)血清中CRIP1 mRNA表达水平(** $P<0.01$)

Figure 2 CRIP1 mRNA expression level in serum of patients with hepatocellular carcinoma ($n=43$) and healthy controls ($n=41$) measured by qRT-PCR (** $P<0.01$)

2.3 血清中 CRIP1 mRNA 表达水平在肝癌患者中的诊断作用

以血清中CRIP1 mRNA表达水平参数模型作为检验指标,绘制诊断肝癌的ROC曲线(图3)。CRIP1 mRNA表达水平的ROC曲线下的面积分别为0.901(95%CI: 0.858~0.944)。其中CRIP1 mRNA表达水平诊断肝癌的截断值为4.91时,灵敏度为75.0%,特异性为93.0%。CRIP1 mRNA表达水平与甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)的表达呈正相关($P<0.05$)。

2.4 肝癌患者血清中 CRIP1 mRNA 表达水平与临床病理特征之间的关系

qRT-PCR检测结果显示:肝癌患者血清中CRIP1 mRNA表达水平与性别、年龄之间并没有相关性,差异无统计学意义($P>0.05$);但与肿瘤大小、TNM分期呈显著相关,差异具有统计学意义($P<0.05$,图4)。

2.5 转染si-CRIP1对肝癌细胞CRIP1 mRNA和蛋白质表达的影响

在Hep3B和SMMC7721细胞中转染si-CRIP1或si-NC 24 h后, qRT-PCR结果表明:和转染si-NC的对照组相比,转染si-CRIP1-1, si-CRIP1-2或si-CRIP1-3后Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1 mRNA相对表达水平均显著降低(图5A, 5B),差异具有统计学意义($P<0.05$)。且si-CRIP1-1在Hep3B和SMMC7721细胞中干扰CRIP1 mRNA表达效率高高于si-CRIP1-2和si-CRIP1-3。

蛋白质印迹法结果表明:和转染si-NC的对照组相比,转染si-CRIP1-1, si-CRIP1-2或si-CRIP1-3后Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1蛋白相对表达水平均显著降低(图5C)。且si-CRIP1-1在Hep3B和SMMC7721细胞中干扰CRIP1蛋白表达效率高高于si-CRIP1-2和si-CRIP1-3。因此,选用转染si-CRIP1-1 (si-CRIP1)进行后续细胞功能研究实验。

2.6 干扰 CRIP1 表达对肝癌细胞增殖的影响

MTT实验结果表明:细胞培养24, 48和72 h这三个时间点时,与转染si-NC的对照组相比,随着转染时间的增长,转染si-CRIP1组细胞的吸光度值逐渐下降,且下降幅度逐渐增大,其中培养72 h后降低最显著,表明干扰CRIP1表达抑制Hep3B和SMMC7721细胞的增殖。在培养72 h后, Hep3B细胞中si-CRIP1组细胞的吸光度值(0.771 ± 0.03)较si-NC组(0.983 ± 0.03)明显降低,差

具有统计学意义($P < 0.01$, 图6A)。在培养72 h后, SMMC7721细胞中si-CRIP1组细胞的吸光度值(0.797 ± 0.02)较si-NC组(1.028 ± 0.03)明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.01$, 图6B)。

2.7 干扰 CRIP1 表达对肝癌细胞迁移能力的影响

Transwell迁移实验结果表明: 在Hep3B

细胞中, 转染si-CRIP1组视野迁移细胞数(124.60 ± 10.30)显著低于转染si-NC的对照组(258.20 ± 19.16), 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图7A)。在SMMC7721细胞中, 转染si-CRIP1组视野迁移细胞数(185.50 ± 13.86)显著低于转染si-NC的对照组(295.00 ± 19.41), 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图7B)。

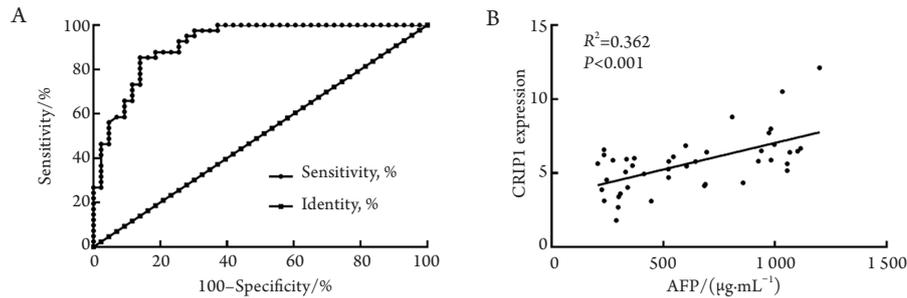


图3 CRIP1的诊断效果以及和AFP表达的相关性

Figure 3 Diagnosis effect of CRIP1 and the relationship between CRIP1 and AFP

(A)血清中CRIP1 mRNA表达水平诊断肝癌的ROC曲线; (B)Spearman分析CRIP1和AFP的相关性($P < 0.001$)。

(A) ROC curve for diagnosis of hepatocellular carcinoma by CRIP1 mRNA expression level in serum; (B) Relationship between CRIP1 and AFP was analyzed by Spearman ($P < 0.001$).

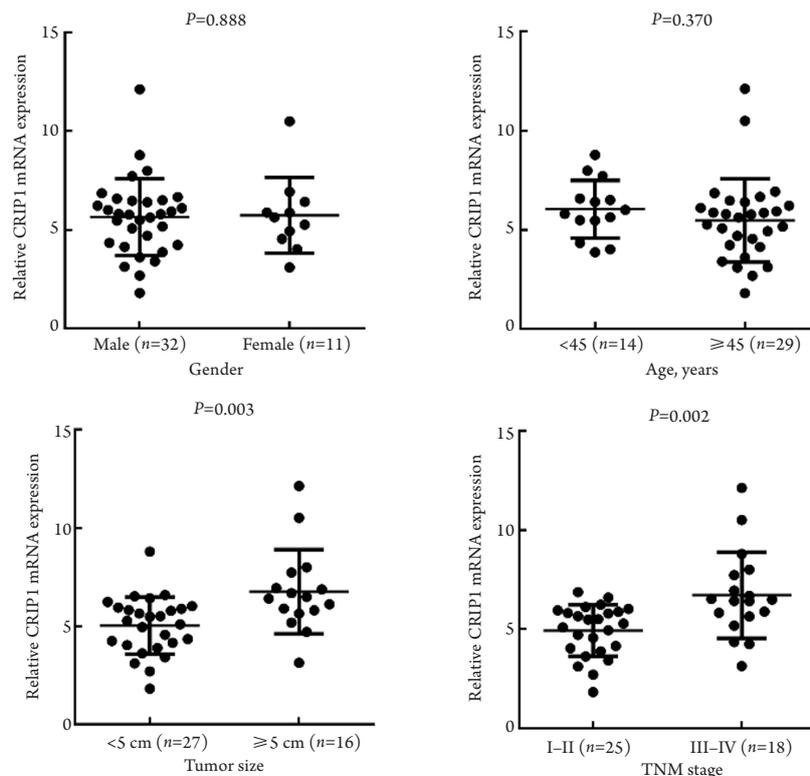


图4 患者血清中CRIP1 mRNA表达水平与临床病理特征之间的关系

Figure 4 Relationship between CRIP1 expression level in serum and clinicopathological features of patients

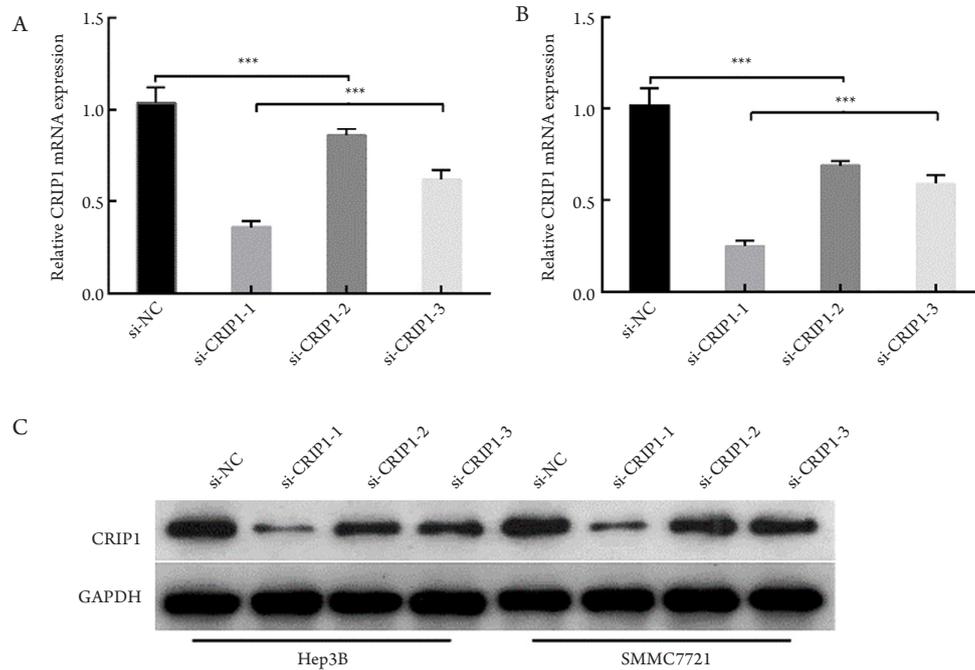


图5 转染si-CRIP1下调Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1 mRNA和蛋白质表达水平

Figure 5 mRNA and protein expression of CRIP1 in Hep3B and SMMC7721 cells was down-regulated after transfected with si-CRIP1

(A, B) qRT-PCR检测转染si-CRIP1或si-NC后Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1 mRNA表达水平; (C) 蛋白质印迹法检测转染si-CRIP1或si-NC后Hep3B和SMMC7721细胞中CRIP1蛋白表达水平。*** $P < 0.001$ 。

(A, B) CRIP1 mRNA expression in Hep3B and SMMC7721 cells after transfected with si-CRIP1 or si-NC detected by qRT-PCR; (C) CRIP1 protein expression in Hep3B and SMMC7721 cells after transfected with si-CRIP1 or si-NC detected by Western blot. *** $P < 0.001$.

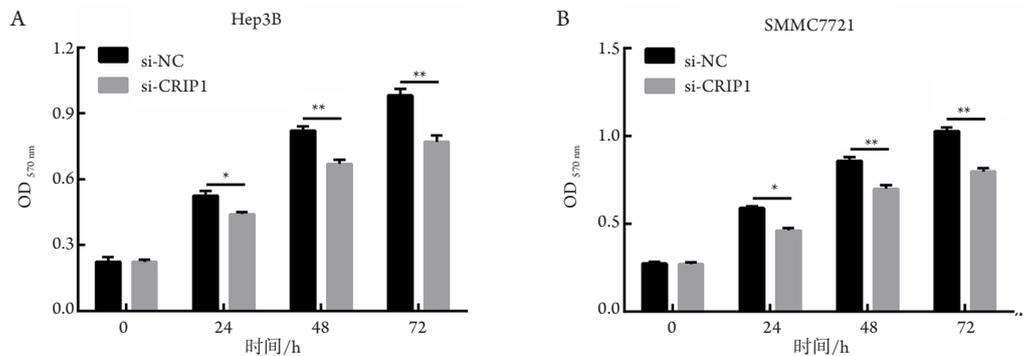


图6 MTT实验检测干扰CRIP1表达对Hep3B(A)和SMMC7721(B)细胞增殖的影响

Figure 6 Interfering CRIP1 inhibiting cell proliferation of Hep3B (A) and SMMC7721 (B) cells detected by MTT assay

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

2.8 干扰CRIP1表达对肝癌细胞侵袭能力的影响

Transwell侵袭实验结果表明: 在Hep3B细胞中, 转染si-CRIP1组中视野侵袭细胞数(62.83 ± 4.75)显著低于转染si-NC的对照组

(110.5 ± 8.52), 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图8A)。在SMMC7721细胞中, 转染中si-CRIP1组中视野侵袭细胞数(88.59 ± 8.33)显著低于转染si-NC的对照组(155.17 ± 10.05), 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图8B)。

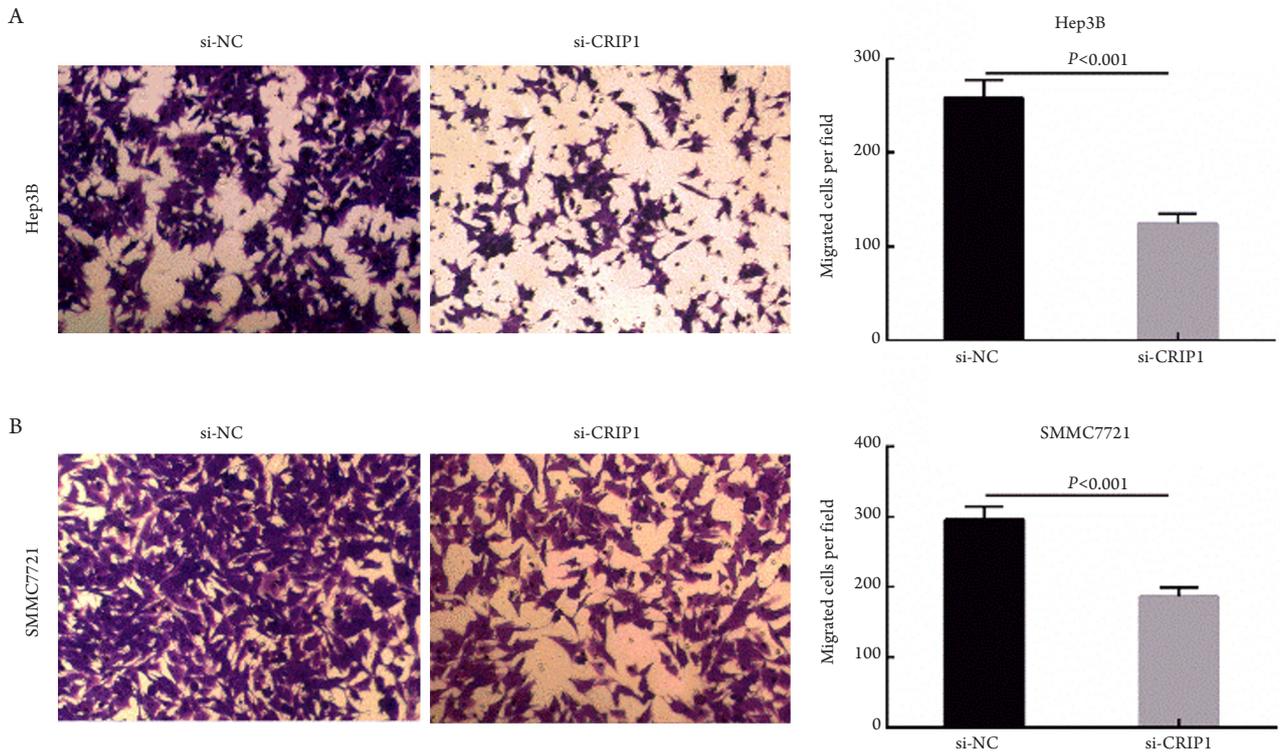


图7 Transwell迁移实验检测干扰CRIP1表达抑制Hep3B(A)和SMMC7721(B)细胞的迁移(结晶紫染色, $\times 200$)

Figure 7 Interfering CRIP1 inhibiting cell migration of Hep3B (A) and SMMC7721 (B) cells assessed by Transwell migration assay (crystal violet staining, $\times 200$)

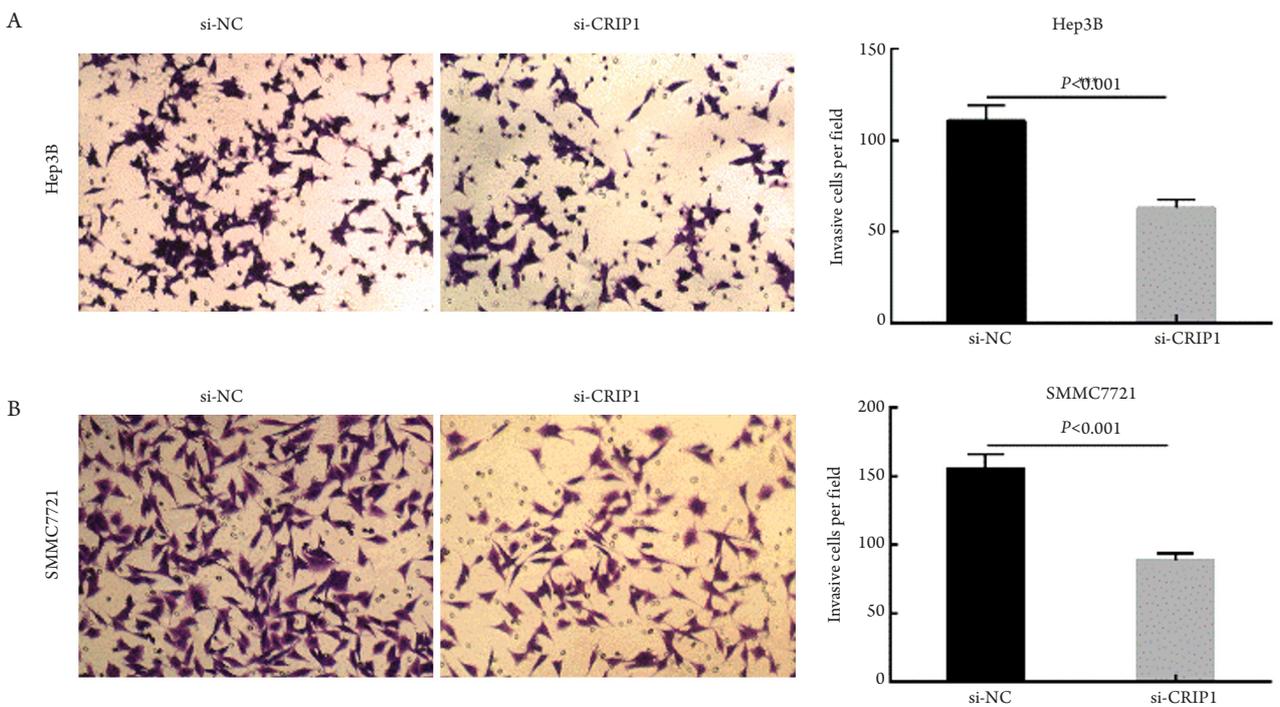


图8 Transwell侵袭实验检测干扰CRIP1表达对Hep3B(A)和SMMC7721(B)细胞侵袭的影响(结晶紫染色, $\times 200$)

Figure 8 Interfering CRIP1 suppresses cell migration of Hep3B (A) and SMMC7721 (B) cells assessed by Transwell invasion assay (crystal violet staining, $\times 200$)

3 讨论

我国是肝癌高发区, 据2015年统计, 我国肝癌新发病例约46.61万, 死亡病例约42.21万, 肝癌是我国最常见的癌症以及癌症死亡的主要原因^[6]。目前, 肝癌治疗的首选方式仍然是手术切除, 但是发生复发和转移又会使手术束手无策, 严重威胁患者的生命。因此, 急需对肝癌增殖和转移的分子机制进行研究, 为改善肝癌患者的诊断和生存提供帮助。

LIM家族蛋白质因其存在半胱氨酸丰富的LIM结构域而受到广泛关注, 该结构域已被证明能指导蛋白质与蛋白质的相互作用, 涉及基因调控、细胞命运测定、肿瘤形成和细胞骨架组织等方面^[7-8]。CRIP1首先发现主要表达于肠道, 证实促进肠道锌离子的转运和吸收, 在胚胎发育过程中发挥重要的作用^[9]。除肠外, CRIP1在其他器官中也被识别, 包括肺、脾、胸腺和头部, 在免疫细胞中也检测到CRIP1, 提示该蛋白质参与了宿主防御^[10]。CRIP1由于其简单的分子结构和作为肿瘤生物标志物的临床潜力而受到人们的关注^[11]。本研究分析发现CRIP1在肝癌中表达水平远高于癌旁组织, 血清中CRIP1 mRNA相对表达水平与患者性别、年龄无关, 但与患者肿瘤大小、TNM分期呈显著相关。以血清中CRIP1 mRNA表达水平诊断肝癌的ROC曲线下面积为0.901, 在肝癌诊断中具有一定的临床意义。同时该研究表明CRIP1 mRNA表达水平和AFP的表达呈正相关。该结果表明CRIP1的异常表达与肝癌发生、发展存在一定相关性, 可以作为肝癌的诊断标志物。

以往研究发现CRIP1的表达与甲状腺肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移有关, 沉默CRIP1能够抑制甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭^[4]。He等^[12]研究发现CRIP1在结直肠癌组织中高表达且和结直肠癌转移相关; 沉默CRIP1能明显抑制结直肠癌细胞的迁移和侵袭。Zhang等^[13]研究表明CRIP1在子宫颈癌组织中高表达, 促进宫颈癌细胞的迁移、侵袭和EMT。以上研究提示CRIP1在肿瘤中发生癌基因的作用, CRIP1可能是恶性肿瘤的治疗靶点。本研究结果还表明干扰CRIP1表达能显著抑制Hep3B和SMMC7721细胞的增殖、迁移和侵袭能力。这些结果表明CRIP1在肝癌中是癌基因, 其对肝癌细胞增殖、

迁移与侵袭作用与其在甲状腺癌, 结直肠癌和子宫颈癌中的作用相似, 但其具体的调控机制仍有待进一步研究。

综上所述, 本研究表明血清CRIP1 mRNA表达水平对肝癌诊断具有一定的临床意义, 同时证实干扰CRIP1表达能够抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。CRIP1可以作为肝癌潜在的诊断标志物和治疗靶点。

参考文献

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
2. Dimitroulis D, Damaskos C, Valsami S, et al. From diagnosis to treatment of hepatocellular carcinoma: An epidemic problem for both developed and developing world[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(29): S282-S294.
3. Ludyga N, Englert S, Pflieger K, et al. The impact of cysteine-rich intestinal protein 1 (crip1) in human breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12: 28.
4. Li HG, Zhao LH, Zhang ZH, et al. The impact of cysteine-rich intestinal protein 1 (crip1) on thyroid carcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(5): 2037-2046.
5. Zhang L, Zhou R, Zhang W, et al. Cysteine-rich intestinal protein 1 suppresses apoptosis and chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer through ubiquitin-mediated fas degradation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 120.
6. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in china, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
7. Matthews JM, Lester K, Joseph S, et al. Lim-domain-only proteins in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 111-122.
8. Smith MA, Hoffman LM, Beckerle MC. Lim proteins in actin cytoskeleton mechanoresponse[J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(10): 575-583.
9. Hempe JM, Cousins RJ. Cysteine-rich intestinal protein binds zinc during transmucosal zinc transport[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88(21): 9671-9674.
10. Hallquist NA, Khoo C, Cousins RJ. Lipopolysaccharide regulates cysteine-rich intestinal protein, a zinc-finger protein, in immune cells and plasma[J]. *J Leukoc Biol*, 1996, 59(2): 172-177.
11. He G, Zhu H, Yao Y, et al. Cysteine-rich intestinal protein 1 silencing alleviates the migration and invasive capability enhancement induced by excessive zinc supplementation in colorectal cancer cells[J]. *Am J*

- Transl Res, 2019, 11(6): 3578-3588.
12. He G, Zou L, Zhou L, et al. Cysteine-rich intestinal protein 1 silencing inhibits migration and invasion in human colorectal cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(3): 897-906.
 13. Zhang LZ, Huang LY, Huang AL, et al. Crip1 promotes cell migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of cervical cancer by activating the wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Life Sci, 2018, 207: 420-427.

本文引用: 黄雯, 仰丽丽, 吴付兵. CRIP1对肝癌诊断的临床意义及其对肝癌细胞增殖和转移的影响[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(11): 2813-2821. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.11.003

Cite this article as: HUANG Wen, YANG Lili, WU Fubing. Clinical significance of CRIP1 in diagnosis of hepatocellular carcinoma and its effect on proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(11): 2813-2821. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.11.003