

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.047

肝癌血清标志物研究进展*

张爱英¹ 刘秀红² 张永宏² 赵元顺² 金伯旬² 刘金花² 孙莉波² 孙焕芹² 李 宁^{1,2,Δ}

(1 首都医科大学附属北京佑安医院 北京市肝病研究所 北京 100069; 2 首都医科大学附属北京佑安医院 北京 100069)

摘要:肝癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,多数患者确诊时已属中晚期。5年以上长期生存率仅为10%左右。肝癌的早期诊断成为提高患者长期生存率的最佳有效途径。近年来,血清肿瘤分子标志物已经成为肝癌早期诊断研究领域研究热点之一血清甲胎蛋白(AFP)检测是当前诊断肝癌常用而又重要的方法。对肝癌的确诊、预后推测、疗效判断及复发转移的监测具有良好的临床价值。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)和脱 α -羧基凝血酶原(DCP)在预测肝癌预后方面可能优于AFP。磷脂酰基醇蛋白聚糖3(GPC-3)和 α -L岩藻糖苷酶(AFU)作为AFP的补充,能够大幅提高肝癌诊断的正确率。血管内皮生长因子(VEGF)、胰岛素样生长因子II(IGF-II)和高尔基II型跨膜蛋白(GP-73)过表达发生在肝癌早期,有可能成为肝癌早期诊断指标。凋亡早期蛋白(M30)可以作为监测癌细胞凋亡的重要生物标记。细胞质胸苷激酶(TK1)、肝细胞生长因子(HGF)和CD147抗原分子在多种癌组织包括肝癌中显著高表达。本文对国外近几十年来肝癌血清标志物研究的一些成果进行了总结和评价,以期国内学者进行此类研究提供一定的借鉴。

关键词:肝癌;血清标志物;AFP;早期诊断;预后推测

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)25-4981-03

Advances in Serum Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma Research*

ZHANG Ai-ying¹, LIU Xiu-hong², ZHANG Yong-hong², ZHAO Yuan-shun², JIN Bo-xun²LIU Jin-hua², SUN Li-bo², SUN Huan-qin², LI Ning^{1,2,Δ}

(1 Beijing Institute of Hepatology, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100069, China;

2 Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100069, China)

ABSTRACT: Hepatocellular carcinoma is one of the most common forms of cancer around the world, but most of the patients are diagnosed at advanced saps. The five year survival rate is 10 percent. So the diagnosis of hepatocellular carcinoma becomes effective measurements that can raise the survival rate in the early. The serum biomarkers of hepatocellular carcinoma are currently receiving considerable attention for the earlier diagnosis of hepatocellular carcinoma. Serum alpha-fetoprotein (AFP) test is one common and important diagnostic method of hepatocellular carcinoma and also has an applied value for the hepatocellular carcinoma's diagnosis, patient's prognosis, judging recurring and shifting and curative effect. AFP-L3 and DCP was superior in diagnosis of patient's prognosis to AFP. Combined detection of AFP, GPC3 and AFU can improve the diagnosis of hepatocellular carcinoma. VEGF, IGF-II and GP-73 is over-expressed in the early stage of hepatocellular carcinoma, and they might be a potential biomarker in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. M30 is an ideal biomarker for monitoring apoptosis of carcinoma cells in blood. It has been shown that in a variety of tumors include hepatocellular carcinoma, the expression of TK1, HGF and CD147 is significantly higher. The present paper is a review of the research of serum biomarkers of hepatocellular carcinoma during the last several decades, and it is hoped that this can offer insights for researchers in China in this area.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Serum biomarkers; AFP; Early diagnosis; Patient's prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)25-4981-03

前言

肝细胞癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,我国是乙肝大国,肝癌发病率占全球总数的55%,近80%患者确诊时已属中晚期。术后复发转移率高,5年以上长期生存率仅为10%左右。肝癌的早期诊断成为提高患者长期生存率的最佳有效途径。如

何早期诊断及诊断方法的建立一直是肝癌研究领域的热点和难点问题^[1,2]。

1 目前肝癌诊断普遍采用诊断方法

影像学检查和外周血肿瘤标志物检测是目前肝癌诊断普遍采用诊断方法,影像学检测包括B超、CT、MRI等。大于2

* 基金项目:北京市肝病研究所基金(BJIH-01206);首都医科大学重点实验室基金(2013GYGA03);

国家国际科技合作专项(S2012ZR0153)

作者简介:张爱英,首都医科大学附属北京佑安医院,北京市肝病研究所,副研究员,E-mail: zhangaiying1996@163.com

Δ通讯作者:李宁,首都医科大学附属北京佑安医院,教授,主任医师,院长,北京市肝病研究所,所长,E-mail: liningbjyah@vip.sina.com

(收稿日期:2014-02-19 接受日期:2014-03-17)

cm 癌肿,影像学上容易进行良恶判断。而于小于 2 cm 的癌肿,由于肿瘤内血管尚未形成或生成不全,影像学检查方法很难进行判断。近年来,外周血肿瘤标志物的发现与临床应用点燃了肿瘤早期诊断的希望之欲和寻求探索之路。同一肿瘤可含一种或多种标志物,不同肿瘤或同种肿瘤的不同组织类型也可有共同的肿瘤标志物。外周血肿瘤标志物的出现往往较临床和影像学诊断早 3~9 个月^[9]。目前外周血肿瘤标志物检测多用于肿瘤确诊、疗效观察、预后推断及术后复发转移的监测,而对早期肿瘤的诊断,因缺乏临床纵向队列的全程动态研究数据资料支持,血清肿瘤标志物对肿瘤早期诊断的价值尚无明确的结论。

在肝癌早期诊断研究领域,血清肿瘤分子标志物一直受到普遍关注。研究发现 100 多种标志物与肝癌相关,普遍认为有诊断价值的标志物约 10 余种,包括:甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)、脱 α -羧基凝血酶原(DCP)、磷脂酰基醇蛋白聚糖 3 (GPC-3)、 α -L 岩藻糖苷酶 (AFU)、肝细胞生长因子(HGF)、CD147 抗原(CD147)、胰岛素样生长因子 II (IGF-II)、高尔基 II 型跨膜蛋白(GP-73)、凋亡早期蛋白(M30)、细胞质胸苷激酶(TK1)、血管内皮生长因子(VEGF)等。

2 肝癌标志物 AFP 以及肝癌预后的标志物 AFP-L3 和 DCP

AFP 仍是目前肝癌定性诊断的最佳标志物,对肝癌的确诊、预后推测、疗效判断及复发转移的监测具有良好的临床价值^[4,5]。临床上大概有 30~40% 的肝癌患者 AFP 为阴性。AFP 由于糖链结构上的差别,其分子存在异质性,根据与小扁豆凝集素(LCA)亲合强弱程度不同,将 AFP 分为 AFP-L1、AFP-L2、AFP-L3。良性肝病 AFP-L1 水平升高。转移性肝癌、胚胎性肿瘤中 AFP-L2 升高。AFP-L3 在肝细胞癌中明显增高,并且与肝功能不佳、肿瘤低分化程度及生物学恶性行为相关,AFP-L3 在肝癌的预后预测方面具有更好的优越性。AFP-L3 可用于对肝脏良恶结节的判别,且敏感性和特异性优于总 AFP 水平检测。用于肝癌预后的标志物还有 DCP,即肝脏合成的正常凝血酶原的 Gla 结构域中的一个或多个 Glu 残基没有被完全羧化成为 Gla。肝内转移尤其是门脉转移与 DCP 密切相关。在肝癌的早期诊断方面没有优势^[6,7]。

3 与 AFP 联合检测肝癌的标志物 AFU, GPC-3 和 GP-73

AFU 是广泛分布于人体正常组织、血液、体液中的溶酶性酸性水解酶,在肝癌重点水平升高,但是标本的存放时间会影响其测定的结果。糖尿病、甲状腺功能减低和胰腺炎患者,其血浆 AFU 水平也会升高,所以 AFU 非肝癌特异性诊断标志物,联合监测 AFU 水平可以作为 AFP 的有效补充^[9]。GPC-3 是一类细胞表面的糖蛋白,属于糖基磷脂酰肌醇锚定的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖家族。因为该分子的突变或者异常表达常与疾病相关,所以受到广泛关注,在正常人群和肝炎患者的肝细胞均不表达,而在肝癌细胞中高表达。GPC-3 既可以联合 AFP 检测,提高肝癌诊断的正确率^[9],也可以作为早期肝癌诊断标志物。肝癌的早期诊断标志物还有 GP-73,一种高尔基 II 型跨膜蛋白。

肝硬化和肝癌患者血清中以及在病毒感染的肝细胞中,GP-73 水平明显升高^[9-11]。

4 非特异性肝癌标志物 HGF, VEGF, IGF-II, TK1

肝癌中的水平升高,同时也在其他疾病中升高的标志物有 HGF, VEGF, IGF-II, TK1。在其他疾病中如食管鳞癌、淋巴瘤、冠脉综合征、主动脉夹层、肺血栓栓塞、脑梗死及败血症等患者中水平升高的标志物有 HGF。大多数正常细胞和肿瘤细胞都能产生 HGF。肝癌患者血浆 HGF 浓度显著高于慢性肝炎及肝硬化患者。HGF 对细胞增生及其能动性有强烈的影响,可促进肿瘤扩散和远处转移^[12]。VEGF 由血管内皮细胞分泌,可在体内诱导血管生成,在正常血管的发育中起着重要作用。由 VEGF 调节的肿瘤相关血管生长对于肝癌的生长及转移至关重要^[13-15]。故其表达与肿瘤进展和预后密切相关。在肝癌结节形成之前 VEGF 即可升高,随着肝癌的进一步发展,其分布状态发生显著变化。IGF-II 是一个类似胰岛素的促有丝分裂多肽,当肝细胞发生癌变时呈胚胎性过量表达,与肿瘤大小没有显著相关性。肝癌患者中 IGF-II 水平显著高于与肝炎或肝硬化,且 IGF-II mRNA 表达水平与肝癌分级相关,在有肝外转移的患者中发生率为 100%^[16,17]。TK1 是一种新的细胞周期类细胞增殖标记物,是嘧啶补救合成途径的关键酶之一。在全身脏器肿瘤的发生、发展及其预后中的作用逐渐受到关注^[18,19]。TK1 的浓度伴随着肿瘤细胞的急剧增殖而升高,目前细胞质 TK1 作为肿瘤细胞的血清学标志物,在乳腺癌、肺癌、膀胱癌等恶性肿瘤中已有相关研究。CD147 是一种单次跨膜的糖蛋白,属于免疫球蛋白超家族成员(IGSF)。在肝细胞癌组织中主要表达于胞质和胞膜^[20,21]。CD147 同时在多种癌组织,包括肝癌、肺癌、乳腺癌、胃癌、食管癌、喉癌、结直肠癌等中显著高表达,而在正常组织中不表达或极低表达。

5 肝癌细胞凋亡监测标志物 M30

监测癌细胞凋亡的重要肿瘤标志物是 M30,与肝癌细胞凋亡密切相关。血清中的 M30 检测对结直肠癌的诊断和预后具有重要意义^[23-27]。M30 是半胱氨酸天门冬氨酸蛋白酶(caspase)裂解 CK18 暴露出的一个新抗原表位。慢性肝病及肝纤维化、肺癌、乳腺癌、前列腺癌以及大肠癌等由上皮细胞分化的癌组织,在化疗过程中,癌细胞的 CK18 会被 caspase 3 裂解并释放入血液。

6 结论

上述肿瘤分子标志物均是在已知肝癌诊断明确的患者外周血及组织标本检测中发现的,已得到业界的普遍认可,但由于各实验室的条件、方法不同,其结果也各有差异。对肝癌的诊断价值均局限于确诊和治疗前后的疗效观察及预后判断。对肝癌早期、甚至早早期诊断的价值,即何种标志物、何时增高,各种标志物自身的变化规律以及各种标志物之间的相互关系均没有明确的答案。同时,各项指标均为单项或少数几项分别检查,给临床操作造成较大困难。此外,对于肝癌的早期诊断,由于缺乏肝癌确诊之前一年内的动态血液标本,即缺乏从慢乙肝-肝硬化-肝癌的纵向随访队列研究。使利用外周血筛查肝癌

早期诊断标志物成为无本之源。目前北京佑安医院已经建立了自慢乙肝-肝硬化-肝癌的纵向全程动态随访队列,利用新型生物技术研发将多种肿瘤分子标志物汇集为一次性检测项目,开发高通量、高敏感、高特异性、省时、经济,且微型化的蛋白芯片技术,对肝癌高危人群进行定期规范化筛查,其成功开发将为肝癌高危人群大规模筛查提供经济、可靠的检测方法。对提高肝癌早期、甚至早早期诊断率,揭示各种标志物在肝癌不同时期和分期的相互关联,进一步对肝癌的分期、分型、疗效观察、预后判断及治疗后复发转移监测提供更多可利用的信息。将为提高肝癌治愈率和长期生存率做出重大贡献。

参考文献(References)

- [1] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(6): 394-399
- [2] Bruix J, Sherman M. American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update [J]. Hepatology, 2011, 53(3): 1020-1022
- [3] 程家坤. 肿瘤标志物联检临床应用的分析 [J]. 安徽医学, 2009, 30(7): 712-716
Cheng Jia-kun. The clinical application of combined detection of tumor markers[J]. Anhui Medical Journal, 2009, 30(7): 712-716
- [4] Topic A, Ljubic M, Radojkovic D. Alpha-1-antitrypsin in pathogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. Hepat Mon, 2012, 12(10 HCC): e7042
- [5] Zhu J, Jiang F, Ni HB, et al. Combined analysis of serum γ -glutamyl transferase isoenzyme II, α -L-fucosidase and α -fetoprotein detected using a commercial kit in the diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Exp Ther Med, 2013, 5(1): 89-94
- [6] Mittal A, Gupta SP, Sathian B, et al. Des-gamma-carboxyprothrombin for early identification and prognosis of hepatocellular carcinoma-a case control study from Western Nepal [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(11): 5773-5
- [7] Chon YE, Choi GH, Lee MH, et al. Combined measurement of preoperative α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin predicts recurrence after curative resection in patients with hepatitis-B-related hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2012, 131(10): 2332-2341
- [8] Kandil D, Leiman G, Allegretta M, et al. Glypican-3 immunocytochemistry in liver fine-needle aspirates: a novel stain to assist in the differentiation of benign and malignant liver lesions[J]. Cancer, 2007, 111(5): 316-22
- [9] Wright LM, Huster D, Lutsenko S, et al. Hepatocyte GP73 expression in Wilson disease[J]. J Hepatol, 2009, 51(3): 557-564
- [10] Wright LM, Yong S, Picken MM, et al. Decreased survival and hepatorenal pathology in mice with C-terminally truncated GP73 (GOLPH2) [J]. Int J ClinExpPathol, 2009, 2(1): 34-47
- [11] Gu Y, Chen W, Zhao Y, et al. Quantitative analysis of elevated serum Golgi protein-73 expression in patients with liver diseases [J]. Ann ClinBiochem, 2009, 46(1): 38-43
- [12] Piscaglia AC, Shupe TD, Pani G, et al. Establishment of cancer cell lines from rat hepatocholangiocarcinoma and assessment of the role of granulocyte-colony stimulating factor and hepatocyte growth factor in their growth, motility and survival[J]. J Hepatol, 2009, 51(1): 77-92
- [13] Guo JH, Zhu X, Li XT, et al. Impact of serum vascular endothelial growth factor on prognosis in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization[J]. Chin J Cancer Res, 2012, 24(1): 36-43
- [14] Kwon SH, Jeong SW, Jang JY, et al. Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. Clin Mol Hepatol, 2012, 18(3): 287-294
- [15] Yen CJ, Lin YJ, Yen CS, et al. Hepatitis B virus X protein upregulates mTOR signaling through IKK β to increase cell proliferation and VEGF production in hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41931
- [16] Morace C, Cucunato M, Bellerone R, et al. Insulin-like growth factor-II is a useful marker to detect hepatocellular carcinoma?[J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(6): e157-161
- [17] Dransfield DT, Cohen EH, Chang Q, et al. Human monoclonal antibody against insulin-like growth factor-II blocks the growth of human hepatocellular carcinoma cell lines in vitro and in vivo[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(6): 1809-1819
- [18] Chen ZH, Huang SQ, Wang Y, et al. Serological thymidine kinase 1 is a biomarker for early detection of tumours--a health screening study on 35,365 people, using a sensitive chemiluminescent dot blot assay [J]. Sensors (Basel), 2011, 11(12): 11064-11080
- [19] Huang S, Lin J, Guo N, et al. Elevated serum thymidine kinase 1 predicts risk of pre/early cancerous progression[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(2): 497-505
- [20] Li Y. HAB18G (CD147), a cancer-associated biomarker and its role in cancer detection[J]. Histopathology, 2009, 54(6): 677-687
- [21] Xu J. HAB18G/CD147 functions in invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(6): 605-614
- [22] Xue S. Expression of CD147, matrix metalloproteinases and transforming growth factor beta1 in breast cancer[J]. Chinese Journal of Pathology, 2009, 38(8): 524-528
- [23] Van Grieken NCT, Meijer GA, Hausen A, et al. Increased apoptosis in gastric mucosa adjacent to intestinal metaplasia [J]. J. Clin. Pathol, 2003, 56(5): 358-361
- [24] Carr NJ. M30 expression demonstrates apoptotic cells, correlates with in situ end-labeling, and is associated with Ki-67 expression in large intestinal neoplasms Arch [J]. Pathol. Lab. Med, 2000, 124 (12): 1768-1772
- [25] Janicke RU, Sprengart ML, Wati MR, et al. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis[J]. J. Biol. Chem, 1998, 273(16): 9357-9360
- [26] Ueno T, Toi M, Linder S. Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement[J]. Biomed Pharmacother, 2005, 59(2): 359-362
- [27] Majumdar D, Tiernan JP, Lobo AJ, et al. Keratins in colorectal epithelial function and disease [J]. Int J Exp Pathol, 2012, 93(5): 305-318