·综 述·

原发性肝细胞性肝癌血清学标志物的研究进展

欧阳珂，周东辉*，李 爽
（南京医科大学第一附属医院感染科，南京 210029）

摘要：肝细胞性肝癌（HCC）是全球最常见的恶性肿瘤之一，发病率居世界恶性肿瘤的第 6 位，病死率居第 2 位，早期诊断能提高 HCC 的 5 年生存率。HCC 血清学标志物可以有效地筛查、诊断疾病状态，并监测治疗效果，具有经济、便捷、灵敏等特点。本文综述近年来 HCC 血清学标志物的最新进展，为 HCC 的诊断和治疗提供参考。

关键词：肝细胞性肝癌（HCC）；血清学标志物；诊断
中图分类号：R735.7　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2018）08-0569-05
DOI：10.13683/j.wph.2018.08.013

Progress in serological markers of primary hepatocellular carcinoma

OUYANG Ke, ZHOU Dong-hui*, LI Shuang
（*Department of Infections Disease, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China*）

Abstract: Hepatocellular carcinoma（HCC）is one of the most common malignacies in the world. The incidence rate ranks sixth in the world for malignant tumors, and the mortality rate ranks second. Early diagnosis can increase the 5-year survival rate of HCC. However, the serological markers of HCC can effectively screen, diagnose the disease state, and monitor its treatment effect conveniently. It is economical, convenient and sensitive. This article reviews recent advances in HCC serological markers and provides a reference for HCC diagnosis and treatment.

Key words: hepatocellular carcinoma（HCC）; serological marker; diagnosis

原发性肝癌包括肝内胆管癌（ICC）、肝细胞性肝癌（HCC）和 HCC-ICC 混合型三种不同病理类型，其中 HCC 占比约 85% ～ 90% 以上。HCC 的发生有多种原因，主要包括：①肝炎病毒：流行病学研究指出，大部分 HCC 患者为乙型肝炎病毒（HBV）或丙型肝炎病毒（HCV）携带者[1-2]，肝炎病毒的内在感染与外在环境的影响共同促进了 HCC 的发生，且 HBV DNA、HCV RNA 载量与 HCC 发生率呈正相关[3-4]。②非病毒性因素：除肝炎病毒感染外，黄曲霉毒素侵袭可导致 DNA 信息发生紊乱而诱发 HCC 发生；大量酗酒致肝硬化极易进展为 HCC 等。

HCC 是我国第四大常见癌症，也是 2015 年中国致死癌症的第三大原因[5]。据估计，全世界每年有超过 50% 的新发肝癌病例发生在中国[6]。HCC 预后不良，2/3 的患者在发现时已处于中晚期且失去了手术治疗机会[7]。早发现、早干预可以改善 HCC 患者预后，提高生存期。目前，HCC 早期监测手段主要是血清学和影像学检查，而血清学标志物方法简单，可重复，费用低廉，是近年研究的热点。甲胎蛋白（AFP）作为使用时间最久、最广泛的血清学标志物，缺点也日益彰显，约 1/3 的患者 AFP 为阴性[8]，其在早期诊断 HCC 的应用受到限制，同时也推动了其他标志物的发展。本文概述对 HCC 早期诊断、疗效

收稿日期：2018-05-18；**修回日期：**2018-06-15
作者简介：欧阳珂，硕士研究生，主要从事肝病、肝癌治疗及细菌感染治疗方面的研究。
通信作者：周东辉，主任医师，硕士生导师，主要从事肝病、肝癌治疗及细菌感染方面的研究。
基金项目：卫生部行业基金项目（编号：YWLKJJHKYJJ-Q2504）。

监测和预后判断有重要作用的标志物。

1 传统肝癌诊断标志物

1.1 AFP 及其异质体

AFP 是胎儿时期肝脏细胞分泌的寡链 α- 球蛋白，健康成年人体内含量低，但在恶化的肝组织中其表达量会明显增加。因此，自二十世纪六、七十年代以来，AFP 被广泛应用于 HCC 的诊断。临床实践中，AFP 为＞ 20 ng/ml 具有诊断意义，AFP ＞ 400 ng/ml 被认为是诊断 HCC 的可靠因素。有研究表明，AFP 并不具有肝癌特异性，在非癌性肝病患者如肝炎或肝硬化患者及非精原细胞性睾丸癌等疾病发展过程中均可见 AFP 水平升高 [9]。因此，对于诊断 HCC，AFP 存在敏感性及特异性的双重问题。此外，经由 AFP 诊断的 HCC 患者一般预后差，几乎无治疗机会，故 AFP 在 HCC 诊断中的应用价值受到质疑，也促进了除 AFP 外其他多种标志物的研究和发展。目前虽然美国肝病研究协会和欧洲肝脏研究协会已不再推荐通过检测 AFP 来诊断 HCC，但也有大量研究表明，AFP 对于我国肝癌的诊断仍然具有使用价值 [10]。

AFP 存在 AFP-L1、AFP-L2 和 AFP-L3 等 3 种异质体，其中 AFP-L3 是海藻糖化的 AFP 变异体，仅来源于癌细胞，是 HCC 的特异性生物标志物 [11]，AFP-L3/AFP ＞ 10 具有阳性意义 [12]。研究显示，AFP-L3 越高，HCC 的恶性生物学特征越明显，肿瘤体积越大，患者的肝功能越差 [13]。最近日本的一项大型研究对 AFP-L3 对 HCC 的早期诊断意义进行了评估，结果表明，在 AFP 阴性、腹部超声影像未发现肿瘤征象的前提下，AFP-L3 升高仍是 HCC 的早期预测指标，有 34.3% 的患者在 HCC 确诊 1 年前出现 AFP-L3 升高的现象 [14]。临床上，单独使用 AFP-L3 诊断 HCC 的特异性可达 92%，但其敏感性仅为 37% ～ 49%[15]，因此，AFP-L3 用于早期诊断 HCC 仍有待进一步完善 [16]。然而，联合使用 AFP、AFP-L3 可能会提高 HCC 诊断的灵敏性及特异性。

1.2 脱 -γ- 羧基凝血酶原（DCP）

DCP 是一种异常的蛋白，是由于异常肝细胞不能将凝血酶原前体完全羧化而形成 [17]，在肝癌恶性病变中具有重要意义，自 2000 年来，日本乃至全球多个国家开始广泛将 DCP 应用于 HCC 的诊断 [18]。Waidely 等 [19] 指出，HCC 细胞可大量合成 DCP。一项来自法国的病例研究对比了 DCP 及 AFP 诊断早期 HCC 的作用，结果表明，DCP 诊断早期 HCC 的准确性及特异性均高于 AFP[20]，提示 DCP 具有诊断早期 HCC 的潜力。Ma 等 [21] 通过对 117 例接受根治性手术治疗的 HCC 患者进行回顾性分析后指出，DCP 是 HCC 患者发生微血管转移的独立预测因素，高水平的 DCP 患者肿瘤表型更具有侵袭性。一般来说，DCP 阳性患者更易发生微血管侵犯及早期转移，预后差。目前 DCP 研究尚未成熟，关于其临床使用价值说法不一，但 DCP 可与 AFP 等其他标志物互为补充，两种或两种以上标志物联合诊断的敏感性及特异性高于单一诊断价值 [22]。日本肝病协会已推荐使用超声联合 AFP、AFP-L3 和 DCP 对 HCC 高危患者进行监测，早期检出率及 5 年生存率分别为 68% 和 45.2%[23-24]，明显高于中国和美国，表明这 3 种生物标志物组合在早期 HCC 诊断中具有很大价值。

1.3 磷脂酰基醇蛋白聚糖 -3（GPC3）

GPC3 是镶嵌在细胞膜上的与细胞增殖及胚胎发育相关的蛋白多糖 [25]，属于 GPC 家族，在 HCC 患者中高度选择性表达 [26]。研究表明，GPC3 刺激 HCC 细胞生长、调节肿瘤细胞迁移、黏附是通过激活自分泌 / 旁分泌经典 Wnt 信号通路来实现的 [27-28]。荟萃分析指出，GPC3 可能在癌症侵袭和进展中发挥作用，并与 HCC 预后不良有关 [29]，但以上发现仍需进一步研究证实。此外，Li 等 [30] 发现，GPC3 对 AFP 阴性的 HCC 患者的诊断具有重要作用。

1.4 α-L 岩藻糖苷酶（AFU）

AFU 在 HCC 患者的血清中其活力明显增高，有诊断价值，但 AFU 对于 HCC 具有非特异性且诊断标准不明确，其表达量在转移性肝癌、肺癌及乳腺癌间都有升高，且在肝炎及肝硬化患者中也有轻度升高。

2　新型肝癌诊断标志物

2.1　高尔基体蛋白 73(GP73)

GP73 是由高尔基体Ⅱ型跨膜蛋白基因编码的一种跨膜蛋白，在受感染的肝细胞中表达升高。Xu 等[31]指出，GP73 与 AFP-L3 联合检测可提高 AFP 水平低下的一部分 HCC 患者诊断的准确性和可靠性，表明 GP73 可以很好地用于早期和 /（或）低水平 AFP 的 HCC 患者的诊断。付超等[32]研究指出，GP73 的血清表达水平与 AFP 不相关，在早期诊断、判断 HCC 预后具有一定价值，有机会成为一个新型的肝癌标记物。

2.2　非编码单链 RNA 标志物（miRNA）

miRNA 是一类非编码的能使 RNA 沉默的 RNA 分子，可与信使 RNA 的非编码 3' 端 UTR 结合。人类的基因能编码超过 1 000 多种的 miRNA，但绝大部分在哺乳动物细胞中不可见。已有研究报道，miRNA 作为乳腺癌、肺癌、宫颈癌等癌症的生物学标志物及其对治疗策略的影响[33-35]，且 miRNA 在 HCC 中的作用不断得到深入研究[36]。Musilova 等[37]指出 miRNA 失调可诱发 HCC 的发生。此外其他研究指出，miRNA-21、miRNA-222、miRNA-223 在 HCC 患者血清中表达显著升高，表明 miRNA 具有早期筛查和诊断 HCC 的价值，且 miRNA-21 在区分 HCC 与健康志愿者时，其敏感性为 87.3%，特异性为 92.0%[38]。目前 miRNA 的相关试剂盒已获国家食品药品监督管理总局批准，因其成本低，检测方法简单，有利于临床的应用及推广。

2.3　Wnt 通路抑制因子 1(DKK1)

DKK1 是 Wnt 通路的抑制因子，有促进肿瘤血管形成的作用，在肝癌、肺癌、宫颈癌等癌症中呈高表达，提示其作为潜在的肿瘤标志物的可能性。Shen 等[39]通过对 831 例（其中包含 424 例 HCC 患者）样本进行分析后指出，当 DKK1 界值为 2.153 ng/ml 时对 HCC 有诊断价值，其敏感性为 69.1%，特异性为 90.6%。此外，在 AFP 阴性的 HCC 患者中，DKK1 仍能准确诊断。提示 DKK1 可作为 AFP 诊断 HCC 的补充诊断标志物，提高 AFP 阴性的诊断率，并能区分出 HCC 与良性肝脏慢性疾病。

2.4　转化生长因子 β(TGF-β)

TGF-β 在肝癌细胞的增生和分化过程中起着重要作用，据报道，TGF-β 具有抑制肿瘤和促进肿瘤的作用[40]，随着疾病向恶性肿瘤方向发展，HCC 会选择性地降低肿瘤抑制活性并增强 TGF-β 的致癌活性。Liu 等[41]指出，TGF-β 可作为 HCC 诊断的的潜在标志物，也可用于晚期 HCC 的治疗。

3　小结

血清学标志物具有侵入性小、价格相对低廉、可反复操作、便于筛查和随访等特点，是早期诊断和监测 HCC 的重要工具，也是目前研究的热点、重点。目前已有多种标志物被研发应用，但各有优、缺点，仍不能单独依赖任意一种指标诊断 HCC，例如经典标志物 AFP 的假阴性率高达 30% 左右，两种及两种以上标志物如 AFP、DCP、AFP-L3、GP-73 等互相联合可提高早期诊断的准确率。

HCC 生长迅速、早期容易发生转移，具有很高的死亡率，早诊断、早干预可提高患者生存周期，HCC 的诊断与防治在我国更加迫切。目前所研究的标志物中没有一个同时具备高灵敏性、高特异性的优势，无法精确早期诊断 HCC，未来我们希望寻找出更精确、灵敏、特异的标志物。随着现代科技的进步、对 HCC 的深入研究，有理由坚信 HCC 诊断和防治前景一片光明。

参考文献：

[1]　El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2012, 142(6): 1264-1273.

[2]　Webster DP, Klenerman P, Dusheiko GM. Hepatitis C[J]. Lancet, 2015, 385(9973): 1124-1135.

[3]　Chen G, Lin W, Shen F, *et al*. Past HBV viral load as predictor of mortality and morbidity from HCC and chronic liver disease in a prospective study[J]. Am J Gastroenterol, 2006, 101(8): 1797-1803.

[4]　Lee MH, Yang HI, Lu SN, *et al*. Hepatitis C virus seromarkers and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: long-term

predictors from a community-based cohort study[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(30): 4587-4593.

[5] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al*. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[6] Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al*. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.

[7] Ding XX, Zhu QG, Zhang SM, *et al*. Precision medicine for hepatocellular carcinoma: driver mutations and targeted therapy[J]. Oncotarget, 2017, 8(33): 55715-55730.

[8] Matsuda M, Asakawa M, Amemiya H, *et al*. Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of AFP is a useful prognostic biomarker for survival after repeat hepatic resection for HCC[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(4): 731-738.

[9] Nakao K, Ichikawa T. Recent topics on α-fetoprotein[J]. Hepatol Res, 2013, 43(8): 820-825.

[10] Yao M, Zhao J, Lu F. Alpha-fetoprotein still is a valuable diagnostic and prognosis predicting biomarker in hepatitis B virus infection-related hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(4): 3702-3708.

[11] Spangenberg HC, Thimme R, Blum HE. Serum markers of hepatocellular carcinoma[J]. Semin Liver Dis, 2006, 26(4): 385-390.

[12] Food and Drug Administration, HHS. Medical devices; immunology and microbiology devices: classification of AFP-L3% immunological test systems. Final rule[J]. Fed Regist, 2005, 70(191): 57748-57750.

[13] Gomaa AI, Khan SA, Leen ELS, *et al*. Diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(11): 1301-1314.

[14] Kumada T, Toyoda H, Tada T, *et al*. High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol, 2014, 49(3): 555-563.

[15] Oda K, Ido A, Tamai T, *et al*. Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease[J]. Oncol Rep, 2011, 26(5): 1227- 1233.

[16] Miura N, Osaki Y, Nagashima M, *et al*. A novel biomarker TERTmRNA is applicable for early detection of hepatoma[J]. Bio Med Central Gastroenterology, 2010, 10: 46-46.

[17] Xia J, Song P, Sun Z, *et al*. Advances of diagnostic and mechanistic studies of gamma-glutamyl transpeptidase in hepatocellular carcinoma[J]. Drug Discov Ther, 2016, 10(4): 181-187.

[18] Nanashima A, Taura N, Abo T, *et al*. Tumor marker levels before and after curative treatment of hepatocellular carcinoma as predictors of patient survival[J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(10): 3086-3100.

[19] Waidely E, Al-Yuobi AR, Bashammakh AS, *et al*. Serum protein biomarkers relevant to hepatocellular carcinoma and their detection[J]. Analyst, 2016, 141(1): 36-44.

[20] Poté N, Cauchy F, Albuquerque M, *et al*. Performance of PIVKA-II for early hepatocellular carcinoma diagnosis and prediction of micro-vascular invasion[J]. J Hepatol, 2015, 62(4): 848-854.

[21] Ma XL, Zhu J, Wu J, *et al*. Significance of PIVKA-Ⅱ levels for predicting microvascular invasion and tumor cell proliferation in Chinese patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 8396-8404.

[22] Seo SI, Kim HS, Kim WJ, *et al*. Diagnostic value of PIVKA-Ⅱ and alpha-fetoprotein in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(13): 3928-3935.

[23] Oeda S, Iwane S, Takasaki M, *et al*. Optimal follow-up of patients with viral hepatitis improves the detection of early-stage hepatocellular carcinoma and the prognosis of survival[J]. Intern Med, 2016, 55(19): 2749-2758.

[24] Berhane S, Toyoda H, Tada T, *et al*. Role of the GALAD and BALAD-2 serologic models in diagnosis of hepatocellular carcinoma and prediction of survival in patients[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2016, 14(6): 875-886.

[25] Gao W, Kim H, Feng M, *et al*. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy[J]. Hepatology, 2014, 60(2): 576-587.

[26] Filmus J, Capurro M. Glypican-3: a marker and a therapeutic target in hepatocellular carcinoma[J]. FEBS J, 2013, 280(10): 2471-2476.

[27] Pan Z, Chen C, Long H, *et al*. Overexpression of GPC3 inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion through induction of apoptosis[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(3): 969-974.

[28] Gao W, Kim H, Feng MQ, *et al*. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy[J]. Hepatology, 2014, 60(2): 576-587.

[29] Liu H, Yang C, Lu W, *et al*. Prognostic significance of

glypican-3 expression in hepatocellular carcinoma:A meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(4): e9702-e9702.

[30] Li B, Liu H, Shang HW, *et al*. Diagnostic value of glypican-3 in alpha fetoprotein negative hepatocellular carcinoma patients[J]. Afr Health Sci, 2013, 13(3): 703-709.

[31] Xu WJ, Guo BL, Han YG, *et al*. Diagnostic value of alpha-fetoprotein-L3 and Golgi protein 73 in hepatocellular carcinomas with low AFP levels[J]. Tumour Biol, 2014, 35(12): 12069-12074.

[32] 付超, 齐军, 李学祥, 等. 高尔基体蛋白73(GP73)检测在肝细胞癌中的应用价值[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(8): 553-556.

[33] Graveel CR, Calderone HM, Westerhuis JJ, *et al*. Critical analysis of the potential for microRNA biomarkers in breast cancer management[J]. Breast Cancer (Dove Med Press), 2015, 7: 59-79.

[34] Wang RJ, Zheng YH, Wang P, *et al*. Serum miR-125a-5p, miR-145 and miR-146a as diagnostic biomarkers in non-small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1): 765-771.

[35] Ribeiro J, Sousa H. MicroRNAs as biomarkers of cervical cancer development: A literature review on miR-125b and miR-34a[J]. Mol Bio Rep, 2014, 41(3): 1525-1531.

[36] Yang N, Ekanem NR, Sakyi CA, *et al*. Hepatocellular carcinoma and microRNA: New perspectives on therapeutics and diagnostics[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 81: 62-74.

[37] Musilova K, Mraz M. MicroRNAs in B-cell lymphomas: how a complex biology gets more complex[J]. Leukemia, 2015, 29(5): 1004-1017.

[38] Xu J, Wu C, Che X, *et al*. Circulating microRNAs, miR-2l, miR-122, and miR-223, in patients with atocellular carcinoma or chronic hepatitis[J]. Mol Carcinog, 2011, 50(2): 136-142.

[39] Shen Q, Fan J, Yang XR, *et al*. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(8): 817-826.

[40] Bellam N, Pasche B. Tgf-beta signaling alterations and colon cancer[J]. Cancer Treat Res, 2010, 155: 85-103.

[41] Liu ZM, Tseng HY, Tsai HW, *et al*. Transforming growth factor beta-interacting factor-induced malignant progression of hepatocellular carcinoma cells depends on superoxide production from Nox4[J]. Free Radic Biol Med, 2015, 84: 54-64.

（责任编辑：王　佳）

（上接第 562 页）

[19] Ferreira de Freitas R, Eram MS, Smil D, *et al*. Discovery of a potent and selective coactivator associated arginine methyltransferase 1 (CARM1) inhibitor by virtual screening[J]. J Med Chem, 2016, 59(14): 6838-6847.

[20] Tee WW, Pardo M, Theunissen TW, *et al*. Prmt 5 is essential for early mouse development and acts in the cytoplasm to maintain ES cell pluripotency[J]. Genes Dev, 2010, 24(24): 2772-2777.

[21] Alinari L, Mahasenan KV, Yan F, *et al*. Selective inhibition of protein arginine methyltransferase 5 blocks initiation and maintenance of B-cell transformation[J]. Blood, 2015, 125(16): 2530-2543.

[22] Elakoum R, Gauchotte G, Oussalah A, *et al*. CARM 1 and PRMT 1 are dysregulated in lung cancer without hierarchical features[J]. Biochimie, 2014, 97: 210-218.

[23] Avasarala S, Van Scoyk M, Karuppusamy Rathinam MK, *et al*. PRMT1 Is a novel regulator of epithelial-mesenchymal-transition in non-small cell lung cancer[J]. J Biol Chem, 2015, 290(21): 13479-13489.

[24] 钟警, 陈亚军. 蛋白质精氨酸甲基转移酶2在乳腺癌细胞中的表达及其对SKBR-3细胞生长特性的影响[J]. 肿瘤, 2010, 30(12): 991-993.

[25] Yost JM, Korboukh I, Liu F, *et al*. Targets in epigenetics: inhibiting the methyl writers of the histone code[J]. Curr Chem Genomics, 2011, 5(Suppl 1): 72-84.

[26] Luo M. Current chemical biology approaches to interrogate protein methyltransferases[J]. ACS Chem Biol, 2012, 7(3): 443-463.

[27] Chan-Penebre E, Kuplast KG, Majer CR, *et al*. A selective inhibitor of PRMT5 with *in vivo* and *in vitro* potency in MCL models[J]. Nat Chem Biol, 2015, 11(6): 432-437.

（责任编辑：赵绪韬）