

肿瘤标志物对原发性肝细胞癌诊断的临床意义

王璐,高春芳* (第二军医大学东方肝胆外科医院实验诊断科,上海 200438)

[摘要] 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是发病率最高的恶性肿瘤之一,在我国也是癌症导致死亡的主要原因。HCC的早期诊断可显著提高患者生存率。长期以来,血清肿瘤标志物检测用于HCC诊断一直是最有效的方法之一,其中甲胎蛋白(AFP)含量的检测在世界范围内应用最广,但其诊断敏感性和特异性均存在缺陷。寻找HCC特异性标志物一直是相关研究的热点。本文概述了临床常用的多种HCC诊断相关分子。多种新分子的发现有望作为AFP的有效补充,从而提高HCC的诊断率。

[关键词] 癌,肝细胞;诊断;肿瘤标记,生物学

[中图分类号] R 735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)12-1314-06

Clinical significance of tumor markers for diagnosis of hepatocellular carcinoma

WANG Lu, GAO Chun-fang* (Department of Laboratory Medicine, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

[ABSTRACT] Hepatocellular carcinoma (HCC), one of the most common malignant tumors, is the main cause of cancer death in China. Early diagnosis of the disease is of great importance. Serum tumor markers have been effective for detecting HCC for a long time. Among those markers, alpha fetoprotein (AFP) is the most widely used one in detecting patients with HCC, but it has limited utility for detecting HCC due to its limited sensitivity and specificity. Searching better markers for HCC has been a research focus in recent years. This review introduces many useful markers to supplement AFP for detecting HCC.

[KEY WORDS] carcinoma, hepatocellular; diagnosis; tumor markers, biological

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(12):1314-1319]

原发性肝细胞癌(primary hepatocellular carcinoma, HCC)是我国最常见的恶性肿瘤之一。在世界范围内,每年HCC的发病人数约为50万,占人类癌症的6%^[1],其中绝大多数病例出现在发展中国家,尤其以中国、东亚和非洲国家的发病率最高^[2]。HCC患者的存活率很低,通常由于诊断较晚而预后很差,当病变进展时,已失去了任何有效的治疗,因此早期诊断就显得尤为重要。肿瘤标志物是癌细胞生长过程中产生的一种或几种正常情况下没有的或含量很低的特异性物质,或是宿主细胞因癌细胞入侵而过量产生的正常细胞组分。肿瘤标志物及其相关基因的检测,将有助于HCC的早期发现和诊断,并能有效用于肿瘤病变程度及预后判断,为治疗方案选择和病情动态观察提供依据。目前临床上多采用血清生物标记分子对HCC患者进行早期诊断,结合影像学技术如超声、CT、MRI等可以达到较好的诊断效果;近期研究又发现一些新的生物标记分子,使用这些新的生物分子或结合常规血清生物标志分子进行HCC的早期诊断可以大大提高检测效率。以下对临床应用的一些肿瘤标志物的研究进展及在HCC早期检测中的应用进行综述。

1 胚胎抗原和糖蛋白抗原类

1.1 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)及其 mR-

NA AFP是一种胚胎特异性糖蛋白,是目前唯一应用最广且公认的肝脏肿瘤标志物。本实验室对近1 000例HCC患者的回顾性研究发现,AFP水平与HCC肿瘤大小相关,取不同的诊断阈值,AFP阳性率分别为66%(>20 ng/ml)、46%(>200 ng/ml)和39.2%(>400 ng/ml),提示临床上仍有1/3的HCC患者AFP在正常范围内,AFP异质体的检测也为HCC的临床诊断提供了有力的补充。

HCC患者外周血中检测到AFP mRNA则提示HCC细胞已扩散入血,该类患者治疗后一般具有较高的复发率^[3]。在慢性肝炎、肝硬化及HCC患者中血清AFP mRNA表达量明显不同,而且血清AFP mRNA的表达量与门静脉癌栓、肿瘤直径大小等密切相关($P < 0.05$)^[4]。因此,血清AFP mRNA的表达量对HCC的预后诊断有较高的应用价值。

AFP在HCC病患的临床诊断中灵敏度为60%~80%,而相对于小肝癌,其灵敏度仅为40%左

[基金项目] 国家自然科学基金(30770994, 30571774)。Supported by National Natural Science Foundation of China (30770994, 30571774).

[作者简介] 王璐,硕士,助理研究员。

E-mail: WAR_wl002@163.com

* Corresponding author. E-mail: gaocf1115@yahoo.com

右;此外,它在慢性肝炎及肝硬化病例中也有一定的阳性率^[5],表明 AFP 在 HCC 诊断中存在一定的漏诊率和误诊率,因此寻求灵敏度和特异性更高的新的肿瘤标志物对提高 HCC 诊断率具有重要意义。

1.2 磷脂酰肌醇(蛋白)聚糖 3(glypican-3, GPC3)

1996 年 12 月, Pilia 等在研究 Simpon-Golabi-Behmel 综合征(SGBS)时从人胚胎 cDNA 文库中克隆了 GPC3 基因;1999 年,我国王红阳等在研究肝癌特异性敏感标志基因时从肝癌 cDNA 文库中也克隆到了 GPC3 基因。GPC3 是一种由 580 个氨基酸组成的硫酸乙酰肝素类蛋白聚糖,通过糖基磷脂酰肌醇锚连接于细胞膜,属于蛋白聚糖家族。GPC3 是细胞增殖的抑制因子,可与其他生长因子作用并调节其活性,从而引起多种肿瘤细胞的凋亡。

对 HCC 组织及人 HCC 细胞系中 GPC3 的研究表明 GPC3 是可分泌的。有文献报道在 HCC 患者血清中检测到 GPC3 的表达量(mRNA 和蛋白质)明显高于正常人($P < 0.001$)和良性肝病者($P < 0.01$),在 40%~50%的 HCC 病患血清中可检测到 GPC3 高表达,在 33%的 AFP 和脱 γ 羧基凝酶原(DCP)阴性的 HCC 病患血清中也可检测到 GPC3 的表达量增高^[6-8]。Li 等^[9]的研究结果显示,在 41 例 HCC 标本中, GPC3 的阳性率为 80.5%, AFP 的阳性率为 63.4%,上述两种肿瘤标记分子的阳性率为 92.7%,所以联合两者的检测可大大提高检测的灵敏度。一些临床研究还发现 GPC3 在 HCC 中是过表达的,尤其在早期 HCC 的表达水平远高于 AFP 的表达水平。目前一般认为 GPC3 是癌胚抗原蛋白,与其他的癌胚抗原一样,尽管在肿瘤的形成过程中, GPC3 没有决定性的作用,但是可以作为重要的肿瘤诊断标志物和免疫治疗的靶标分子。GPC3 的表达水平不仅与 HCC 病理等级相关,还与 HCC 的浸润和肿瘤的转移关系密切,所以 GPC3 作为一个重要的血清生物标记分子在 HCC 诊断中可成为 AFP 指标的很有意义的补充,联合检测 GPC3 和 AFP 将大大提高 HCC 的诊断率^[6]。遗憾的是目前尚没有成熟和经济的 GPC3 商业化试剂盒用于体液成分中 GPC3 的检测。

1.3 CA19-9

CA19-9 为唾液酸化的乳-N-岩藻戊糖 II,是一种糖链抗原,主要发现于胎儿的胃、肠和胰的上皮细胞。正常人 CA19-9 血清含量甚微,而在肝癌、胆管癌等多种肿瘤中有不同程度异常升高。血清 CA19-9 测定被认为是一种对消化道肿瘤有高特异性的肿瘤相关抗原^[10],将 AFP 与 CA19-9 联检对 HCC 的诊断有较高的临床应用价值。本实验室

对近 1 000 例 HCC 病例的回顾性研究提示,以 39 U/ml 为诊断界值,阳性率为 10.03%,低于文献报道的阳性率,提示单独 CA19-9 应用于 HCC 诊断敏感性较低。

1.4 高尔基体糖蛋白 73(Golgi protein-73, GP73)

GP73 是一种常驻高尔基体 II 型跨膜糖蛋白,在人多种组织的上皮细胞中都有表达^[11]。在正常人肝脏中,仅在胆囊上皮细胞中表达,在肝细胞中几乎不表达;而在 HCC 患者中发现肝细胞 GP73 表达量明显上调^[12],患者血清的 GP73 含量也显著增高^[13]。血清 GP73 的敏感度为 69%,特异性为 86%,与 AFP 指标(AFP 的敏感度为 30%,特异性为 96%)相比较,检测 GP73 效率更高^[14]。因此血清 GP73 检测在 HCC 早期阶段有较高的阳性检出率,可用于慢性肝炎、肝硬化以及小肝癌患者的诊断,提高早期 HCC 的诊断率。

2 酶和同工酶类

2.1 谷氨酰转氨酶(γ -glutamyl transferase, GGT)及其 mRNA

血清 GGT 有癌胚特性,主要来自于肝脏,并存在于肝细胞的细胞质和肝内胆管上皮细胞中,在健康成年人体内呈失活状态。而在 HCC 中,肝脏实体瘤组织生长时压迫毛细胆管,导致胆汁排泄不畅,使毛细胆管内压升高,肝细胞受到挤压的刺激,合成和分泌 GGT 增加,释放到外周血中,使血清 GGT 含量急剧上升^[15]。GGT 按梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳结果可分为 13 种同工酶(I, I, II, II, β , δ , ϵ , φ A, VII B, φ C, γ A, Γ B),其中 I、II、II 型 GGT 仅在 HCC 患者血清中检测到。有报道^[16] GGT II 在 HCC 诊断中灵敏度达 74.0%,在小肝癌诊断中灵敏度为 43.8%,提示 GGT 的常规检测对 HCC 的早期诊断有一定价值;同时检测 GGT II、DCP 和 AFP 3 项指标在 HCC 诊断中敏感性远高于单独检测 AFP^[16]。因此 GGT II 也是一种很有价值的肿瘤标志物,在小肝癌诊断和 HCC 早期诊断中可作为 AFP 的有效补充,从而提高小肝癌和 HCC 的诊断率。

本实验室的回顾性研究还发现, GGT 水平与 HCC 患者的肿瘤病理分级相关。在健康人群,慢性肝炎、肝硬化以及 HCC 患者血清和肝脏组织中都可检测到 GGT mRNA。在 HCC 进程各阶段血清 GGT mRNA 的表达量不同^[17],在 HCC 患者血清中 GGT mRNA 含量显著高于正常人群($P < 0.05$)^[18],而且血清 GGT mRNA 的表达量与病情发展关系密切,血清 GGT mRNA 含量过高往往预

示患者有较高的 HCC 复发率,而且该类患者存活率较低。因此,血清 GGT mRNA 指标可作为 AFP 指标的有效补充用于 HCC 的临床诊断,同时对 HCC 的预后诊断应用性较高。

2.2 脱 γ 羧基凝血酶原(des-gamma-carboxyprothrombin,DCP) DCP是由于II型拮抗药作用或缺乏维生素K而诱导体内产生的一种蛋白质分子,可促进HCC细胞有丝分裂。DCP在人血清中的表达量与血清AFP表达量不相关,有报道在HCC病患血清中检测到DCP含量明显高于正常人群和良性肝病患者的^[19-20],在良性肝病患者向HCC转变过程中以及小肝癌患者的诊断中,相比AFP而言检测DCP含量具有更高的灵敏度^[19]。Cui等^[19]研究发现,血清DCP的检测表达量[公认的临界值为40mAU/ml(AU为过敏单位),被认为对HCC特异性高]在肝硬化并发HCC中的诊断灵敏度为51.7%,特异性达86.7%;相比单独检测AFP而言,检测DCP效率更高,联合检测DCP和其他肿瘤标志物(比如AFP和AFP-L3),可很大程度提高诊断的准确率^[19,21-23]。血清DCP含量除用于HCC高危人群的监测外也可用于HCC的预后诊断。有报道血清DCP阳性而血清AFP阴性的肝病患者有较高的频率向HCC转变^[24-25],同时检测血清DCP和组织DCP的表达量对HCC的早期诊断有较高的价值^[26]。

2.3 α -岩藻糖苷酶(alpha-1-fucosidase,AFU) 有研究表明AFU的活性在HCC患者血清中含量为(1418.62 \pm 575.76)nmol/(ml·h),在正常人血清中AFU含量为(504.18 \pm 121.88)nmol/(ml·h)($P < 0.05$),肝硬化患者血清中AFU含量为(831.25 \pm 261.13)nmol/(ml·h),慢性肝炎患者血清中AFU含量为(717.71 \pm 205.86)nmol/(ml·h)^[27-28]。有报道AFU在人血清中表达量的临界值为870nmol/(ml·h),对HCC的敏感度为81.7%,特异性为70.7%,与AFP联合检测可使其对HCC的敏感度提高到82.6%^[27],AFU与AFP联合检测可大幅度提高HCC的阳性检出率,本实验室大样本的回顾性研究也提示AFU与HCC肿瘤大小相关。

3 细胞因子类

3.1 转化生长因子 β_1 (transforming growth factor-beta 1,TGF- β_1)及其mRNA TGF- β 家族在细胞生长的多个进程都发挥着调控作用,包括细胞的生长、分化、细胞外间质的形成及免疫抑制等进程。其中TGF- β_1 是一种负调控因子,在HCC进程中参与肿瘤

细胞的免疫逃逸。与正常人以及慢性肝炎、肝硬化患者相比较,HCC患者血清以及组织中TGF- β_1 含量显著增高^[28-29],并且在95%的乙肝病毒DNA阳性的群体中和64%的乙肝病毒DNA阴性的群体中其表达量也明显增多,同时在HCC患者组织和血清中TGF- β_1 mRNA水平要远高于正常人群、慢性肝炎、肝硬化患者。TGF- β_1 的表达量与HCC的分化程度和乙肝病毒的复制相关,而与肿瘤的大小及数量无明显相关性^[30]。有报道在患者血清TGF- β_1 含量为800pg/ml(对HCC特异性较高的临界值)时,HCC诊断的特异性与AFP含量达200ng/ml(对HCC特异性较高的临界值)相近(95%左右),但TGF- β_1 对HCC诊断的灵敏度(68%)高于AFP(24%)^[28],并且23%的HCC患者血清AFP阴性但血清TGF- β_1 表达量升高^[29],若将TGF- β_1 、TGF- β_1 mRNA结合AFP联合用于HCC的诊断,可将HCC的阳性检出率提高至97%^[31]。以上研究结果揭示TGF- β_1 和TGF- β_1 mRNA可作为一种敏感的肿瘤检测指标,联合AFP检测用于HCC诊断有良好的临床应用前景。但值得一提的是,细胞因子的检测受干扰因素较多,此外,由于血小板脱颗粒过程中可以释放大量TGF- β_1 ,因此笔者建议采用新鲜血浆进行检测可以更为客观地反映体内TGF- β_1 水平。

3.2 肿瘤特异性生长因子(tumor-specific growth factor,TSGF) 恶性肿瘤细胞在生长时会分泌TSGF。TSGF可造成肿瘤周围的毛细血管扩张而进入外周血循环,血清中TSGF含量可一定程度上反映肿瘤的存在,因此TSGF也可被看作肿瘤特异性标志物用于HCC诊断。血清TSGF含量达到临界值62U/ml时,对HCC检测的敏感度达到82%;将TSGF和其他肿瘤标志物(如AFP-L3、CA19-9等)联合检测可提高HCC诊断的准确性、灵敏度和特异性^[32-33]。

3.3 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor,IGF) IGF(主要为IGF-I和IGF-II)在肝肿瘤形成过程中发挥着重要作用,在HCC进程各阶段血清IGF表达量都有差异,因此IGF也是很有用的血清学指标,可用于HCC诊断。有研究发现慢性肝炎患者向HCC转变过程中IGF-I可促进肝细胞增生^[34],HCC患者血清IGF-I高表达会引起IGF-I受体的表达量增高^[35],血清IGF-I的表达量还与HCC患者的存活率密切相关,患者血清IGF-I含量过高往往有较低的存活率,因此血清IGF-I表达量可作为一个预后诊断指标^[36]用于HCC的临床诊断;IGF-II在小肝癌和HCC早期诊断中,血清

IGF-Ⅱ 在达到临界值 4.1 mg/ml, 对 HCC 诊断的敏感度为 63%, 特异性为 90%, 诊断的准确率为 70%, 联合 AFP 指标检测可将 HCC 诊断的敏感度提高为 80%, 准确度提高到 88%^[37], 在 HCC 早期的临床诊断中 IGF-Ⅱ 是一种很有用的肿瘤检测指标。

3.4 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) VEGF 是一种同源二聚体细胞因子, 在肿瘤血管形成过程中起正调控作用^[38]。目前发现血管形成在肿瘤发生过程中起着关键作用, 在各类肿瘤进程中, 血清 VEGF 的表达量要高于正常值。对 HCC 患者的血清 VEGF 含量进行检测, 发现其值远远高于正常人和慢性肝炎、肝硬化患者 ($P < 0.01$); 而且在 HCC 的晚期阶段患者血清 VEGF 含量过高, 该类患者一般伴有门静脉癌栓等症状, 没有有效的治疗手段, 存活率很低 ($P < 0.01$)^[39]。因此, VEGF 也是一种有效的肿瘤标志物, 血清 VEGF 检测可用于 HCC 的预后诊断。

4 其他相关分子

4.1 外周血非细胞性 DNA 外周血循环性非细胞 DNA 水平在多种肿瘤 (包括肝细胞癌) 患者均可上升。日本学者应用实时荧光 PCR 技术对 HCV 感染后 HCC 患者的研究表明, 其外周血循环性非细胞 DNA 水平远高于 HCV 病毒携带者和正常人群^[40]。临床诊断中以 73.0 ng/ml 为诊断界值, 循环 DNA 对 HCC 的诊断敏感性为 69.2%, 特异性为 93.3%, 且 DNA 水平与肿瘤分化程度、大小有关, 但与患者年龄、性别、TNM 分期、AFP 水平等无关。最新的研究结果显示, 在 HCV 感染引起的 HCC 中外周血循环性非细胞 DNA 水平过高, 则患者往往存活率较低, 而且该指标与肿瘤的转移存在一定相关性^[41]。由于鉴别诊断效率强于 AFP, 因此他们认为外周血循环性非细胞 DNA 水平是 HCV 感染后 HCC 的较为特异的诊断指标, 并且对肿瘤转移 (包括术后) 的敏感性较高, 可作为一种肿瘤转移的预示指标应用于临床。

4.2 p28^{GANK} 蛋白 最新的研究从 HCC cDNA 文库中克隆到一种新的癌基因, 命名为“gankyrin”, 其序列与 p28 基因完全一致 (GenBank 序列号为 DB3197)^[42]。现已证实 p28^{GANK} 蛋白是一种癌蛋白, 参与 HCC 进程中肿瘤细胞的增殖与肿瘤的形成, 但在 HCC 患者中 p28^{GANK} 蛋白的表达量并未广泛报道。有研究发现在 HCC 早期阶段, p28^{GANK} mRNA 与 p28^{GANK} 蛋白的表达量都呈上调趋势, 而在肝再生过程中, p28^{GANK} 蛋白的表达量是逐渐减少的, 根据这些结果我们看出 p28^{GANK} 蛋白在肝细胞增殖过程

中扮演着重要的角色。在 HCC 进程中, 尤其是在小肝癌阶段, 很多 AFP 阴性的 HCC 患者 p28^{GANK} 蛋白有较高的阳性率^[43]; 总体看来 p28^{GANK} 蛋白对 HCC 的特异性与 AFP 接近, 但灵敏度要高于 AFP, 因此 p28^{GANK} 蛋白可作为一种新的肿瘤检测指标用于 HCC 高危人群监测, 同时还可用于辅助诊断 HCC 的病理分化程度, 有较高的临床应用价值。

4.3 组织多肽特异性抗原 (tissue polypeptide specific antigen, TPSA) TPSA 是一种细胞增殖特异性产物, 可用来监测和诊断多种恶性肿瘤。人血清 TPSA 的含量受细胞增殖活性的影响, 在 HCC 患者血清中 TPSA 含量远高于正常人群 ($P < 0.05$)^[44]。有报道 HCC 患者术后血清 TPSA 含量高于 150 U/L, 则患者有较高的 HCC 复发率 ($P < 0.016$)^[45], 而且 HCC 患者血清 TPSA 的表达量与肿瘤大小, 肿瘤的数量和门静脉癌栓等病理症状密切相关^[46], 因此检测病患血清 TPSA 指标可辅助对 HCC 的病理分级。血清 TPSA 指标在达临界值 164 U/L 用于诊断 HCC 的灵敏度为 73.1%, 特异性为 71.2%, 较 AFP 指标均低, 但若将 AFP 指标与 TPSA 指标联检用于 HCC 诊断, 则可大大提高阳性检出率^[44]。血清 TPSA 在慢性肝炎、肝硬化患者中的表达量与 HCC 患者相比较差别不明显, 因此单独使用 TPSA 指标用于 HCC 的临床诊断中要慎用, 最好与其他肿瘤标志物联合检测 (比如 AFP 指标), 血清 TPSA 指标在 HCC 术后复发率的诊断中有较好的应用价值。

4.4 热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 热休克蛋白在细胞的生命活动中发挥着重要的作用, 早期的研究显示在肿瘤细胞中 gp96 的表达呈上调的趋势, 包括肝癌细胞^[45]。作为一种凋亡抑制因子, 热休克蛋白在 HCC 患者中是过表达的, 在肝脏中 HSP gp96 (或 GRP94) 是一种高密度脂蛋白结合蛋白, 可以诱发特异性多肽免疫应答^[46], 主要分布于某些特定肿瘤细胞表面及内质网中。细胞内 HSP 的表达量增高与 HCC 的形成与发展密切相关, 其中 gp96 在由乙肝病毒感染引起的慢性肝炎、肝硬化乃至肝癌的进程中其表达量呈增长的趋势, 尤其在 HCC 患者中 gp96 的表达量异常增高 (73.3%), 而在非癌组织中其表达量要减弱。gp96 的水平与肿瘤的分化程度和肿瘤的大小有关, 而与肿瘤的数量无关 ($P < 0.05$), 免疫组织化学实验显示, 90% 的乙肝病毒 DNA 阳性的 HCC 患者其 gp96 是显著高表达的, 而 46% 的乙肝病毒 DNA 阴性的 HCC 患者群体 gp96 表达也呈阳性^[47]。以上研究结果表明, HSP 也是一种非常重要的 HCC 临床诊断指标, 在揭示 HCC 进程以及恶化程度方面有重要的

临床意义^[48-49]。

4.5 其他 联合检测血清 p53 抗原和 p53 抗体诊断 HCC 的敏感度为 41.1%,若 HCC 患者血清 p53 表达量过高则该患者存活率往往很低 ($P = 0.0014$)^[50],虽然联合检测血清 p53 抗原和 p53 抗体诊断 HCC 的敏感度较低,但有较高的特异性 (92.1%)^[51-53],因此可作为一种参考指标用于 HCC 的临床诊断,以提高 HCC 的阳性检出率。HCC 病患血清中子宫颈癌基因(HCCR)达临界值 $15 \mu\text{g/ml}$ 时,对 HCC 诊断的敏感度达 78.2%,特异性达 95.7%,并且有 76.9%的血清 AFP 阴性的 HCC 患者 HCCR 检测阳性;HCCR 指标除用于 HCC 的诊断外还可辅助 HCC 的病理分级^[54]。

目前应用蛋白质组学技术以及生物芯片技术分析血清蛋白质组来寻找 HCC 特异性分子已有很多报道,特殊的蛋白指纹及对 HCC 诊断具有价值的分子如:HSP27、C3a 等在不断被认识中^[55-56],2004 年 Marrero 等将 GPC-3、GP73、肝细胞生长因子(HGF)、p16 甲基化、细胞角质素 19(CK-19)、TGF- β_1 、TPSA、脂蛋白 Lp(a)、CRP、p53 抗体等均作为 HCC 的潜在肿瘤标志物^[57]。相信随着研究的不断深入,更多的分子将被认识并有望发现 HCC 特异的分子用于临床实验室诊断。

总之,近年来研究发现的一些新型肿瘤特异性标志物及多种肿瘤标志分子的联合应用在一定程度上弥补了单一指标的缺陷。相信随着对 HCC 发生机制的不断认识和技术手段的进步,HCC 的早期实验室诊断水平有望得到进一步提高。

[参考文献]

- [1] Lopez L J, Marrero J A. Hepatocellular carcinoma[J]. J Curr Opin Gastroenterol, 2004, 20: 248-253.
- [2] Bosch F X, Ribes J, Boras J. Epidemiology of primary liver cancer[J]. J Semin Liver Dis, 1999, 19: 271-285.
- [3] Chen X P, Zhao H, Zhao X P, et al. Alternation of AFP-mRNA level detected in blood circulation during liver resection for HCC and its significance[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8: 818-821.
- [4] Jiang Y F, Yang Z H, Hu J Q, et al. Recurrence or metastasis of HCC: predictors, early detection and experimental antiangiogenic therapy[J]. World J Gastroenterol, 2000, 6: 61-65.
- [5] Johnson P J. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Liver Dis, 2001, 5: 145-159.
- [6] Capurro M, Wanless I R, Sherman M, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2003, 125: 89-97.
- [7] Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, et al. Identification of soluble NH2-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64: 2418-2423.
- [8] Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, et al. Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 306: 16-25.
- [9] 李宝定, 赵青川, 祝仰廷, 等. 肝癌组织、外周血细胞磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 mRNA 表达的意义[J]. 中华外科杂志, 2006, 44: 458-462.
- [10] Kuusela P, Jalanko H, Robert P, et al. Comparison of CA19-9 and carcinoembryonic antigen(CEA) levels in the serum of patients with colorectal diseases[J]. Br J Cancer, 1984, 49: 135-137.
- [11] Kladney R D, Bulla G A, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection[J]. Gene, 2000, 249: 53-65.
- [12] Kladney R D, Cui X, Bulla G A, et al. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease[J]. Hepatology, 2002, 35: 1431-1440.
- [13] Block T M, Comunale M A, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteins to identify serum glycoproteins that correlated with liver cancer in woodchucks and humans[J]. Proc Natl Cancer Inst, 2001, 91: 1054-1061.
- [14] Jorge A, Marrero, Patrick P, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2005, 43: 1007-1012.
- [15] 王鸿利. 实验诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 172-176.
- [16] Cui R, He J, Zhang F, et al. Diagnostic value of protein induced by vitamin K absence (PIVK II) and hepatoma-specific band of serum gamma-glutamyl transferase (GGT II) as hepatocellular carcinoma markers complementary to alpha-fetoprotein[J]. Br J Cancer, 2003, 83: 1878-1882.
- [17] 韩国庆, 秦成勇. 肝组织谷氨酰转移酶 mRNA 亚型的测定及其意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10: 126-128.
- [18] Han G Q, Qin C Y, Ren W H, et al. The analysis of gamma-glutamyl transpeptidase gene in different type liver tissues[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9: 276-280.
- [19] Cui R, Wang B, Ding H, et al. Usefulness of determining a protein induced by vitamin K absence in detection of hepatocellular carcinoma[J]. Chin Med J (Engl) 2002, 115: 42-45.
- [20] Marrero J A, Su G L, Wei W, et al. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from non-malignant chronic liver disease in American patients[J]. Hepatology, 2003, 37: 1114-1121.
- [21] Okuda H, Nakanishi T, Takasu T, et al. Serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin measured using the revised enzyme immunoassay kit with increased sensitivity in relation to clinicopathologic features of solitary hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2000, 88: 544-549.
- [22] Ando E, Tanaka M, Yamashita F, et al. Diagnostic clues for recurrent hepatocellular carcinoma: comparison of tumor markers and imaging studies[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2003, 15: 641-648.
- [23] Shimizu A, Shiraki K, Sugimoto K, et al. Sequential fluctuation pattern of serum des-gamma-carboxy prothrombin levels detected by high-sensitive electrochemiluminescence system as an early predictive marker for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis[J]. Int J Mol Med, 2002, 9: 245-250.
- [24] Okuda H, Nakanishi T, Takatsu K, et al. Comparison of clinicopathological features of patients with hepatocellular carcinoma

- seropositive for alpha-fetoprotein and those seropositive for des-gamma-carboxy prothrombin alone [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16: 1290-1296.
- [25] Hamamura K, Shiratori Y, Shiina S, et al. Unique clinical characteristic of patients with hepatocellular carcinoma who present with high plasma des-gamma-carboxy prothrombin and low serum alpha-fetoprotein[J]. *Cancer*, 2000, 88: 1557-1564.
- [26] Tangkijvanich P, Tosukhowong P, Bunyongyod P, et al. Alpha-L-fucosidase as a serum marker of hepatocellular carcinoma in Thailand[J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1999, 30: 111-114.
- [27] Ishizuka H, Nakayama T, Matsuoka S, et al. Prediction of the development of hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis by the serial determination of serum alpha-L-fucosidase activity[J]. *Inter Med*, 1999, 38: 927-931.
- [28] Song B C, Chung Y H, Kim J A, et al. Transforming growth factor beta 1 as a useful serologic marker of small hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer*, 2002, 94: 175-180.
- [29] Sacco R, Leuci D, Tortorella C, et al. Transforming growth factor beta 1 and soluble Fas serum levels in hepatocellular carcinoma[J]. *Cytokine*, 2000, 12: 811-814.
- [30] Kim Y J, Lee H S, Im J P, et al. Association of transforming growth factor- β_1 gene polymorphisms with a hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *Exp Mol Med*, 2003, 35: 196-202.
- [31] Dong Z Z, Zou L, Qiu L W, et al. Expressions of hepatoma and circulating TGF- β_1 mRNA and its clinical values in diagnosis of patients with liver cancer[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21 (S2): A172.
- [32] 杨长培, 林明晞, 杨映红, 等. 原发性肝细胞癌细胞凋亡相关蛋白 bcl-2 和 bak 的表达及意义[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2004, 11: 401-402.
- [33] 祝继华, 邱大为, 夏吉荣, 等. TSGF 与组合癌谱联合检测在恶性肿瘤中的诊断价值[J]. *重庆医科大学学报*, 2004, 29: 219-220, 244.
- [34] Smedea A, Bugianesi E. Steatosis and hepatocellular carcinoma risk[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2005, 9: 291-293.
- [35] Lee J Y, Han C Y, Yang J W, et al. Induction of glutathione S-transferase in IGF type I receptor overexpressed hepatoma cells[J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72: 1082-1093.
- [36] Treiber G, Wex T, Rocken C, et al. Impact of biomarkers on disease survival and progression in patients treated with octreotide for advanced hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2006, 132: 699-708.
- [37] Tsai J F, Jeng J E, Chuang L Y, et al. Serum insulin-like growth factor- II as a serologic marker of small hepatocellular carcinoma[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2005, 40: 68-75.
- [38] Sugimachi K, Tanaka S, Terashi T, et al. The mechanisms of angiogenesis in hepatocellular carcinoma: angiogenic switch during tumor progression[J]. *Surgery*, 2002, 131: S135-S141.
- [39] Kim S J, Choi I K, Lu W Q, et al. Serum vascular endothelial growth factor per platelet count in hepatocellular carcinoma: correlations with clinical parameters and survival[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2004, 34: 189-190.
- [40] Lizuka N, Sakaida I, Moribe T, et al. Elevated levels of circulating cell-free DNA in the blood of patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6C): 4713-4719.
- [41] Tokuhisa Y, Iizuka N, Sakaida I, et al. Circulating cell-free DNA as a predictive marker for distant metastasis of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2007, 97: 1399-1403.
- [42] Higashitsuji H, Itoh K, Nagao T, et al. Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic gankyrin repeat protein overexpressed in hepatomas [J]. *Nature Med*, 2000, 6: 96-99.
- [43] Xiaoyong F U, Tan L U, Shuqin L I, et al. A novel diagnostic marker, p28^{GANK} distinguishes hepatocellular carcinoma from potential mimics [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130: 514-520.
- [44] Tu D G, Wang S T, Chang T T, et al. The value of serum tissue polypeptide specific antigen in the diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 1999, 85: 1039-1043.
- [45] Wang S H, Qin Y, Hu M H, et al. Dendritic cells pulsed with gp96-peptide complexes derived from human hepatocellular carcinoma (HCC) induce specific cytotoxic T lymphocytes [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54: 971-980.
- [46] Li H, Zhou M, Han J, et al. Generation of murine CTL by a hepatitis B virus-specific peptide and evaluation of the adjuvant effect of heat shock protein glycoprotein 96 and its terminal fragments [J]. *J Immunol*, 2005, 174: 195-204.
- [47] Yao D F, Wu X H, Su X Q, et al. Abnormal expression of HSP gp96 associated with HBV replication in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5: 381-386.
- [48] Srivastava P K. Immunotherapy for human cancer using heat shock protein-peptide complexes [J]. *Curr Oncol Rep*, 2005, 7: 104-108.
- [49] Yao D F, Dong Z Z, Yao M, et al. Specific molecular markers in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2007, 6: 241-247.
- [50] Charuruks N, Tangkijvanich P, Voravud N, et al. Clinical significance of p53 antigen and anti-p53 antibodies in the sera of hepatocellular carcinoma patients [J]. *J Gastroenterol*, 2001, 36: 830-836.
- [51] Yoon S K, Lim N K, Ha S A, et al. The human cervical cancer oncogene protein is a biomarker for human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 5434-5441.
- [52] Lee I N, Chen C H, Sheu J C, et al. Identification of complement C3a as a candidate biomarker in human chronic hepatitis C and HCV-related hepatocellular carcinoma using a proteomics approach [J]. *Proteomics*, 2006, 6: 2865-2873.
- [53] Feng J T, Liu Y K, Song H Y, et al. Heat-shock protein 27: a potential biomarker for hepatocellular carcinoma identified by serum proteome analysis [J]. *Proteomics*, 2005, 5: 4581-4588.
- [54] Marrero J A, Lok A S. Newer markers for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127: S113-S119.
- [55] Lee I N, Chen C H, Sheu J C, et al. Identification of complement C3a as a candidate biomarker in human chronic hepatitis C and HCV-related hepatocellular carcinoma using a proteomics approach [J]. *Proteomics*, 2006, 6: 2865-2873.
- [56] Feng J T, Liu Y K, Song H Y, et al. Heat-shock protein 27: a potential biomarker for hepatocellular carcinoma identified by serum proteome analysis [J]. *Proteomics*, 2005, 5: 4581-4588.
- [57] Marrero J A, Lok A S. Newer markers for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127 (5 Suppl 1): S113-S119.

[收稿日期] 2007-09-17

[修回日期] 2007-11-05

[本文编辑] 邓晓群