

- domized trial of surgery plus tamoxifen versus tamoxifen alone in women aged over 70 years with operable breast cancer. *Br J Surg*, 2004, 91(6):699-704
- 10 Semiglazov VF, Semiglazov VV, Dashyan GA, *et al.* Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor - positive breast cancer. *Cancer*, 2007, 110(2):244-254
 - 11 Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, Dixon JM, *et al.* Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination; the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double - blind randomized trial. *J Clin Oncol*, 2005, 23(22):5108-5116
 - 12 Ellis MJ, Tao Y, Luo J, *et al.* Outcome prediction for estrogen receptor - positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(19):1380-1388
 - 13 Ellis MJ, Coop A, Singh B, *et al.* Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB - 1 - and/or ErbB - 2 - positive, estrogen receptor - positive primary breast cancer; evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol*, 2001, 19(18):3808-3816
 - 14 Wong ZW, Ellis MJ. First - line endocrine treatment of breast cancer; aromatase inhibitor or antioestrogen? *Br J Cancer*, 2004, 90(1):20-25
 - 15 Cataliotti L, Buzdar AU, Noguchi S, *et al.* Comparison of anastrozole versus tamoxifen as preoperative therapy in postmenopausal women with hormone receptor - positive breast cancer; the Pre - Operative "Arimidex" Compared to Tamoxifen (PROACT) trial. *Cancer*, 2006, 106(10):2095-2103
 - 16 Kurosumi M, Takatsuka Y, Watanabe T, *et al.* Histopathological assessment of anastrozole and tamoxifen as preoperative (neoadjuvant) treatment in postmenopausal Japanese women with hormone receptor - positive breast cancer in the PROACT trial. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(6):715-722
 - 17 Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, *et al.* Letrozole Neo - Adjuvant Breast Cancer Study Group. Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole; A randomized double - blind multicenter study. *Ann Oncol*, 2001, 12(11):1527-1532
 - 18 Bonnetterre J, Thürlimann B, Robertson JF, *et al.* Anastrozole versus tamoxifen as first - line therapy for advanced breast cancer in 668 postmenopausal women; results of the Tamoxifen or Arimidex Randomized Group Efficacy and Tolerability study. *J Clin Oncol*, 2000, 18(22):3748-3757
 - 19 Coates AS, Keshaviah A, Thürlimann B, *et al.* Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine - responsive early breast cancer; update of study BIG 1 - 98. *J Clin Oncol*, 2007, 25(5):486-492
 - 20 Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trialists' Group, Forbes JF, Cuzick J, Buzdar A, *et al.* Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early - stage breast cancer; 100 - month analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol*, 2008, 9(1):45-53

(收稿:2009-09-17)

(修回:2009-10-26)

肿瘤标志物在甲胎蛋白阴性肝癌早期诊断中的研究与应用进展

张红 张向业

肿瘤标志物(tumor markers, TM)是指存在于肿瘤细胞内或肿瘤细胞表达及脱落的物质,或是宿主对于体内肿瘤反应而产生的物质^[1]。其存在于细胞胞质、胞核中或细胞膜表面,也可见于循环血液、其他体液或组织中。这些物质,有的不存在于正常人体内,只见于胚胎中;有的只在肿瘤患者体内出现;还有的在肿瘤患者体内含量超过正常人体内含量。通过化学、免疫学及基因组学等方法测定其存在或含量,可证实肿瘤的存在及分析病程、监测疗效和复发、判断

预后等。在原发性肝癌(以下简称肝癌)早期诊断发展史中,甲胎蛋白(AFP)开创了癌症免疫诊断的先河,使亚临床肝癌诊断成为可能,并掀起了肿瘤标志物研究的热潮。然而近年来据统计,肝癌的早期诊断自应用AFP进行筛查诊断发展至今,未能再取得突破性的进展,即不再能使治愈率或5年生存率得以提高^[2],这种现状在一定程度上责之于AFP阴性肝癌群体。现简要介绍一下肝癌相关的主要TM在AFP阴性肝癌早期诊断中的研究与应用进展。

一、肝癌特异性 γ -谷氨酰转移酶(HS-GGT)、GGTmRNA-H亚型

肝癌患者血清 γ -谷氨酰转移酶(GGT)活性常

作者单位:410007 长沙,湖南中医药大学第一附属医院肿瘤科(张红);长沙,湖南中医药大学2003级七年制中医专业(张向业)

显著升高,但特异性较差,大多数良性肝、胆、胰疾病患者 GGT 活性也可增高。应用聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳可将 GGT 分成 1~12 条区带,其中 II、I'、II' 被称为肝癌特异性 GGT(HS-GGT)。对 AFP 假阴性肝癌 (<50 $\mu\text{g/L}$) 和小肝癌的诊断率分别为 84.0% 和 78.6% (AFP 仅为 50%),与 AFP 浓度或肿瘤大小无明显相关^[3]。随访 HS-GGT 阳性但无肝癌证据的病例,24.2% 发生肝癌,其中 73.3% 为小肝癌^[4]。Morsi 等^[5]通过筛选认为 HS-GGT 等可作为 AFP 以外的最佳肝癌标志物。随着对 GGT 基因的深入研究,GGTmRNA 可望成为检测肝细胞早期癌变的灵敏方法。肝 GGT 基因可分为 3 种亚型:即胎肝(F)、胎盘(P)和肝癌细胞(H)亚型,其中 H 亚型阳性可能为肝细胞的癌前期病变,有必要监测观察^[6]。秦成坤等^[7]通过临床试验亦证实其有助于肝癌的早期诊断。

二、异常凝血酶原

异常凝血酶原(abnormal prothrombin, APT)系肝脏合成的凝血酶原前体入血,肝癌组织表面羧化酶基因的表达可使 APT 积聚增加,但不能使 APT 转化为具有凝血活性的凝血酶原。对 APT 水平在 30~40mAu/ml 患者,若影像学未见明显异常,应密切动态监测 APT 水平,了解是否有发展为肝癌的可能^[8]。一般认为,APT 为阳性率高、特异性强的肝细胞癌标志,可作为 AFP 阴性肝细胞癌的诊断指标^[9]。

三、 α -L-岩藻糖苷酶

α -L-岩藻糖苷酶(α -L-fucosidase, AFU)是存在于多种组织中的一种溶酶体酸性水解酶,国内外均有学者报道 AFU 水平的检测对肝癌尤其是 AFP 阴性或低水平的肝癌具有较高诊断价值,它已被作为一种新型的肿瘤标志物加以应用^[10]。有实验表明^[11]原发性肝癌患者血清 AFU 明显增高,阳性率为 73.1%。另一研究结果^[12]显示 AFU 的特异性达 82.6% (AFP68.6%),且与肿瘤大小无关,这就对于 AFP 阴性和小肝癌患者的诊断更具有意义。

四、血清铁蛋白

血清铁蛋白(serum ferritin, SF)主要由肝细胞合成,当肝癌挤压肝细胞使之坏死或肝癌伴有肝硬变时,肝脏处理循环血中 SF 能力下降,引起血清 SF 升高^[13]。近来研究发现,作为肝癌诊断标志,血清铁蛋白的敏感性和特异性都优于 AFP^[9]。

五、转化生长因子 β_1 、TGF- β_1 mRNA

转化生长因子 β_1 (trasfer growth factor - β_1 , TGF

- β_1)、TGF- β_1 mRNA 是一种多功能的细胞因子,与细胞的生长分化相关,其表达增加与肝癌的发生、发展密切相关^[14]。动物实验表明^[15],大鼠肝癌发生发展过程中 TGF- β_1 和 TGF- β_2 表达逐渐升高,肝癌发生前肝脏损伤和肝硬化阶段 TGF- β_1 相对正常组织明显升高,出现肝癌之后的大鼠肝脏的 TGF- β_1 表达则相对于正常肝脏和肝癌前期的肝脏损伤和肝硬化阶段都有非常明显的表达升高。TGF- β_1 的上述变化可以作为观察指标,通过检测 TGF- β_1 及其受体的含量诊断和监测肝硬化和肝癌的不同阶段。亦有研究表明^[16~18],从人肝癌癌灶、癌周组织和外周血单核细胞中以巢式聚合酶链反应扩增和 DNA 测序证实其扩增片段为 TGF- β_1 mRNA。所扩增基因片段检出率,癌灶和癌周组织中分别为 100% 和 46.2%;肝癌组外周血中为 53.3%,明显高于肝硬化组 20.0% 和慢性肝炎组 5.0%,其他组未见扩增片段检出;在 III 期肝癌组为 83.3%,高于 I 期和 II 期;TGF- β_1 mRNA 过度表达与肝癌形成有关,它的分析有助于肝癌诊断和远处转移的监测。且与 AFP 浓度及肿瘤大小间无明显相关性,可提高 AFP 阴性肝癌早期诊断阳性率。

六、磷脂酰基醇蛋白聚糖-3、GPC-3mRNA

磷脂酰基醇蛋白聚糖-3 (glypican-3, GPC-3)、GPC-3mRNA 是一种硫酸类肝素蛋白多糖,它在绝大多数肝癌患者中表达,而在正常肝组织及良性肝脏病变中不表达^[19]。Capurro 等^[20]测得 53% 肝癌患者血清中存在 GPC-3 的 C 端片段。而在健康对照组中无一阳性,肝硬化患者对照组中仅 1 例阳性,提示 GPC-3 有较高的特异性。Nakatsura 等用不同的 C 端抗体亦取得相似的结果。Hippo 等则认为 GPC-3 的 N-端片段更重要,并与 AFP 进行了比较,试验结果 GPC-3 的敏感性和特异性分别为 51% 和 90% (AFP 为 55% 和 90%)。另外,有 57.8% 的癌旁组织中检测出 GPC-3 mRNA 表达,提示 GPC-3 异常是早期事件。GPC-3 的表达与肿瘤组织的分级及大小无关,与 AFP 无关联性。因此,在临床上检测 GPC-3 可以对肝癌患者进行早期诊断,对 AFP 阴性肝癌患者有较高的敏感性。

七、肝细胞生长因子

肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)可以由人体多种器官产生,且具有多种生物活性。一项包含 99 例丙型肝炎病毒感染患者的研究表明,已

发展为肝癌患者的血浆 HGF 浓度显著高于慢性肝炎及肝硬化而无肝癌的患者;而且,所有 HGF 浓度 > 0.6ng/ml 的患者均患有肝癌,而其血浆 AFP 水平并不一定升高。故血浆 HGF 浓度的升高很可能提示肝癌的高风险。Hsia CY 等认为慢性肝炎、肝硬化和肝癌患者中 HGF 水平反映肝癌发生状态,认为 HGF 表达可作为肝癌诊断的一个指标。

八、高尔基体蛋白 73、GP73 异质体

高尔基体蛋白(Golgi protein73, GP73)是存在于高尔基体的一种跨膜蛋白,Kladney 等于 2000 年首次描述了在正常的人体肝组织中,GP73 主要由胆管上皮细胞表达,而肝细胞表达很少甚至不表达。但肝细胞受到病毒感染则可引起 GP73 的高表达,Block 等于 2005 年首先提出,在肝癌患者血清中,GP73 水平显著升高。在一项包括 352 名患者的研究中,相对肝硬化患者,肝癌患者的血清 GP73 水平显著升高。取临界值为 10 个相对单位,GP73 对于早期肝癌诊断的敏感性(62%)显著优于 AFP(25%)。而且,AFP 水平低于 20 μ g/L 的肝癌患者中,有 57% (32/56) 的人群 GP73 水平显著升高。从而提示,肝癌患者血清中 GP73 水平显著升高,且对于早期肝癌的诊断 GP73 优于 AFP。随着蛋白组学技术的进一步发展,GP73 的异质体岩藻糖基化的 GP73 被提出。在一项包括 80 名患者的研究中,GP73 诊断肝癌的敏感性和特异性为 65% 和 90%,而 GP73 的异质体敏感性和特异性则高达 90% 和 100%。Cassandra 等提出,GP73 及其异质体是肝癌可靠的肿瘤标志物。

九、热休克蛋白 70

热休克蛋白(heat shock protein 70, HSP70)是一组生物体内普遍存在、进化上高度保守的蛋白质家族,又被称为分子伴侣(molecular chaperone),在应激状态下 HSP 的含量会显著增加,并为细胞提供保护。肿瘤细胞内诱导表达的 HSP,一方面可能与多种原癌基因相互作用,调节细胞增生;另一方面还参与了肿瘤细胞抗凋亡过程。肿瘤细胞由于突变或异常蛋白质的存在,以及由于过度生长而出现的缺血、缺氧等理化环境的变化能够刺激 HSP70 的合成,使其呈现持续的高诱导表达。另有研究发现,早期肝癌细胞的胞质和胞核中 HSP70 表达异常丰富,随着病情进展,癌灶增大,HSP70 表达相应增强,与癌前病变及增生结节中的不表达或极弱表达形成鲜明对照,故认为 HSP70 检测可作为肝癌早期诊断及鉴别诊断的敏感

指标。Takashima 等通过对丙型肝炎相关性肝癌组织中四种 HSP70 系蛋白的研究,认为这些特殊蛋白的表达可以作为丙型肝炎相关性肝癌的分子诊断标志。

十、端粒酶

端粒酶(telomerase)作为细胞染色体完整性细胞自我复制能力的重要功能调节单位,其重要性尤其体现在生殖细胞、造血细胞及肿瘤细胞的发生、发展和死亡方面。肝癌中,端粒长度癌灶明显短于癌旁,又明显短于非癌变肝组织。肝细胞癌变与核酸代谢旺盛密切相关,癌变肝组织过度表达端粒酶时,与肝总 RNA 浓度成正比。对诊断肝癌端粒酶并非特异,但端粒酶异常,仍然是肝癌诊断及预测复发的有用指标。张火俊等研究大鼠 Walker-256 种植性肝癌瘤组织的端粒酶表达情况,发现其明显较瘤旁组织及正常组织高,而正常大鼠肝组织中端粒酶极低。实验结果同时显示,肿瘤组织内端粒酶高低与肿瘤大小无关,但随着肿瘤的生长,癌旁组织中端粒酶明显增高,这表明癌旁组织中端粒酶的激活是肿瘤发展的一个重要因素。对癌前病变组织进行穿刺检测活性,有助于肝癌的早期诊断,尤其对高分化小肝癌与癌前病变的鉴别有参考价值。

目前,AFP 阴性肝癌的早期诊断主要依靠其他 TM 的补充诊断。TM 作为肝癌早期诊断的重要方法一直是研究的热点,越来越多的新 TM 被发现可作为肝癌的诊断指标。遗憾的是,当前实验室所开展的绝大多数 TM 检测项目,一般均不适用于肿瘤的初筛与人群普查。为了提高 TM 的临床应用效率,国内外很多实验室进行 TM 联合检查,或称为“鸡尾酒式检查”等。基于此,多肿瘤标志物 C12 检测系统已经广泛用于临床。毋庸置疑,肿瘤标志物的联检可明显提高肝癌的检出率,这其中也包括对 AFP 阴性者的检出率。但是特异度却会下降,再有造成人力、物力的浪费及加重患者经济负担等。因此,在原发性肝癌的早期诊断方面仍需要对肿瘤标志物进行深入研究,以提高其诊断的特异性与敏感性。

参考文献

- 1 万文徽,肿瘤标志临床应用与研究进展[M].北京:北京大学医学出版社,2005:2-3
- 2 汤钊猷.从肝癌看癌症临床研究[J].肿瘤,2009,29(1):1-4
- 3 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma surgery - review of the past and prospects for the 21st century[J]. J Surg Oncol,2005,91:95-96

(下转到第 2 页)