

sICAM-1和GPC-3 mRNA对肝癌诊断与转移监测的临床价值

姚敏, 杨君伶, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福

姚敏, 南通大学医学院免疫学教研室 江苏省南通市 226001
杨君伶, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福, 南通大学附属医院
临床医学研究中心 江苏省南通市 226001

姚敏, 医学博士, 副教授, 主要从事感染、免疫与肿瘤的研究。

南通市社会发展基金资助项目, No. S2010039, No. SH2011012

江苏省卫生科技基金资助项目, No. H2009025

江苏省高校优势学科建设(PADA)基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由杨君伶与姚敏设计, 且二人对本文所作
贡献均等; 研究过程由蔚丹丹、严晓娣及陈洁操作完成; 数据分
析由姚敏与杨君伶完成; 论文写作由姚登福完成。

通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南
通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052297

收稿日期: 2012-04-28 修回日期: 2012-06-07

接受日期: 2012-06-30 在线出版日期: 2012-07-28

Clinical significance of circulating sICAM-1 and GPC-3 mRNA expression in the diagnosis and prognostic evaluation of hepatocellular carcinoma

Min Yao, Jun-Ling Yang, Dan-Dan Wei, Xiao-Di Yan,
Jie Chen, Deng-Fu Yao

Min Yao, Department of Immunology, Medical School of
Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Jun-Ling Yang, Dan-Dan Wei, Xiao-Di Yan, Jie Chen,
Deng-Fu Yao, Research Center of Clinical Medicine, the
Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001,
Jiangsu Province, China

Supported by: the Social Development Foundation of
Nantong, Nos. S2010039 and SH2011012; the Founda-
tion of Department of Jiangsu Health and Technology, No.
H2009025; and the Priority Academic Program Develop-
ment (PAPD) of Jiangsu Higher Education Institutions

Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research
Center of Clinical Medicine, the Affiliated Hospital of Nan-
tong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu
Province, China. yaodf@ahnmc.com

Received: 2012-04-28 Revised: 2012-06-07

Accepted: 2012-06-30 Published online: 2012-07-28

Abstract

AIM: To quantitatively detect the levels of circu-
lating soluble intercellular adhesion molecule-1
(sICAM-1) and glypican-3 (GPC-3) mRNA ex-
pression in peripheral blood mononuclear cells
(PBMCs) in patients with liver diseases for ex-
ploring their significance in the diagnosis and
prognostic evaluation for hepatocellular carci-

noma (HCC).

METHODS: Total RNA was extracted from cir-
culating PBMCs collected from patients with
liver diseases. GPC-3 cDNA was synthesized
by reverse transcription and amplified by fluo-
rescent quantitative PCR. The levels of circulat-
ing ICAM-1 were quantitatively detected by
enzyme-linked immunosorbent assay.

RESULTS: The levels of sICAM-1 were increas-
ing during the development of liver diseases,
significantly higher in HCC patients than in
those with liver cirrhosis ($t = 3.184$, $P = 0.002$) or
chronic hepatitis ($t = 3.962$, $P < 0.001$). sICAM-1
levels were significantly associated with peri-
portal cancerous embolus ($t = 2.941$, $P = 0.005$)
and extrahepatic metastasis ($t = 3.282$, $P = 0.002$),
but not with patients' age, sex, AFP level, HB-
sAg positivity, or tumor size. The positive ex-
pression of GPC-3 mRNA in PBMCs was found
only in HCC patients (70.9%, 39 of 55), and not
in patients with liver cirrhosis, chronic hepati-
tis, metastatic liver cancer, non-liver tumors, or
normal controls ($\chi^2 = 26.773$, $P < 0.001$). The ex-
pression of GPC-3 mRNA in PBMCs was associ-
ated with HBV infection ($\chi^2 = 14.601$, $P < 0.001$),
TNM stage ($\chi^2 = 17.732$, $P < 0.001$), periportal
cancerous embolus, and extrahepatic metastasis
($\chi^2 = 22.271$, $P < 0.001$), and not with tumor size,
tumor number, AFP level or differentiation de-
gree. Combined detection of GPC-3 mRNA and
serum AFP level could improve the detection
rate of HCC.

CONCLUSION: Detection of circulating sICAM-1
and GPC-3 mRNA in PBMCs could be used for
the diagnosis and metastasis monitoring of HCC,
especially in AFP-negative patients with HCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Glypican-3
mRNA; Soluble intercellular adhesion molecule-1;
Diagnosis; Metastasis

Yao M, Yang JL, Wei DD, Yan XD, Chen J, Yao DF.
Clinical significance of circulating sICAM-1 and GPC-3
mRNA expression in the diagnosis and prognostic
evaluation of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren*

■背景资料

肝细胞癌(HCC)
为血供丰富、传
统疗法易耐受、
术后易复发、预
后极差的高度恶
性实体瘤。肝癌
虽然诊治进展研
究较快,但其转
移复发仍是临床
上HCC防治的
难题,术后转移
复发监测仍是肝
癌防治研究的
热点。

■同行评议者

唐南洪, 教授, 福
建医科大学附属
协和医院肝胆
外科研究所

■研究前沿

随着基因组学、蛋白组学、转录组学等多种“组学”技术的发展,与肝细胞恶性转化相关的分子如肝癌特异性蛋白被发现,肝癌相关基因转录水平的检测可用于肝癌微小转移的临床诊断。

Xiaohua Zazhi 2012; 20(21): 1927-1932

摘要

目的: 定量分析肝病患者血可溶性细胞间粘附分子-1(sICAM-1)浓度和外周血单核细胞磷脂酰肌醇蛋白多糖-3(GPC-3)mRNA, 探讨对肝癌(HCC)诊断与预后的价值。

方法: 收集住院肝病患者外周血, 分离单核细胞, 制备总RNA, 经逆转录合成GPC-3 cDNA, 以荧光定量PCR扩增; 并以酶联免疫吸附法(ELISA)定量分析血ICAM-1水平。

结果: 肝病发展过程中血ICAM-1表达呈梯度增加, HCC患者血ICAM-1表达显著高于肝硬化($t = 3.184$, $P = 0.002$)和慢性肝炎患者($t = 3.962$, $P < 0.001$), 与伴门脉癌栓($t = 2.941$, $P = 0.005$)及肝外转移($t = 3.282$, $P = 0.002$)明显相关, 与患者年龄、性别、HBsAg阳性与否、AFP浓度及肿瘤大小间未见明显相关。GPC-3 mRNA阳性仅见肝癌患者(70.9%); 肝硬化、慢性肝炎患者及正常对照组中未检出($\chi^2 = 26.773$, $P < 0.001$)。GPC-3 mRNA阳性表达与HBsAg阳性($\chi^2 = 14.601$, $P < 0.001$)、肝癌TNM分期($\chi^2 = 17.732$, $P < 0.001$)、伴门脉癌栓及肝外转移($\chi^2 = 22.271$, $P < 0.001$)显著相关, 与瘤体直径、数目、AFP浓度及分化程度未见明显相关; 两者可互补诊断, 提高诊断肝癌阳性率。

结论: sICAM-1和GPC-3 mRNA检测是肝癌诊断和转移监测的良好标志物, 且对AFP阴性肝癌具有互补诊断价值。

关键词: 肝细胞癌; 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3信使核糖核酸; 可溶性细胞间粘附分子-1; 诊断; 转移

姚敏, 杨君伶, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福. sICAM-1和GPC-3 mRNA对肝癌诊断与转移监测的临床价值. 世界华人消化杂志 2012; 20(21): 1927-1932

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1927.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种血供丰富、传统疗法易耐受、预后极差的高度恶性实体瘤^[1-3]。虽然HCC诊治进展较快, 但他的转移复发仍是临床上HCC防治的难题。HCC侵袭和转移是肝癌治疗失败和患者致死的主要原因^[4,5], 肝癌细胞脱落、侵入基质、进入脉管系统、瘤栓形成、在继发组织器官定位生长及侵袭的多步骤复杂生物学过程中, 多种机制参与转移调控^[6,7], 如癌基因表达上调、抑癌基因

失活、免疫基因失调、癌细胞间黏附作用丧失、新生血管形成、蛋白水解酶合成、细胞迁移能力增强、癌细胞和基底膜黏附等, 都是促进HCC转移复发的重要因素^[8]。肝癌的预后取决于早期诊断和是否转移。本文收集肝病患者外周血标本, 定量检测了磷脂酰基醇蛋白多糖-3(glypican-3, GPC-3)mRNA和可溶性细胞间粘附分子(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)浓度, 分析其临床病理学特征, 探讨对肝癌诊断和转移监测中的临床价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收取南通大学附属医院2010-2011年HCC、肝硬化、肝炎正常人新鲜抗凝血5 mL, 包括肝癌患者55例(男46例, 女9例), 平均年龄57.5岁, 经临床、AFP、影像学(B超、CT或MRI检查)和/或病理学确诊; 肝硬化患者20例(男10例, 女10例), 平均年龄55.4岁; 慢性肝炎患者20例(男14例, 女6例), 平均年龄47.5岁; 健康对照20例(男10例, 女10例), 平均年龄53.1岁。所有病例均有完整病理诊断、住院记录和随访资料, 并按全国肝癌防治协作组制定的标准核实诊断^[9]。

1.2 方法

1.2.1 单核细胞分离与总RNA制备: 采用淋巴细胞分离液(Cedarlane, 加拿大)分离外周血单核细胞。抗凝血于2 h内, 以淋巴细胞分离液及密度梯度离心法分离有核细胞, 经生理盐水洗涤2次后进行有核细胞计数。细胞或肝组织50 mg置于无RNAase匀浆器中, 加入TRIzol(MRC, 美国)1.0 mL匀浆2 min; 制备总RNA, 最后加入TE缓冲液100 μ L。经紫外分光扫描鉴定已纯化的RNA未受到污染或降解, 并以紫外分光光度计定量总RNA浓度, 置于-85 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2.2 cDNA合成及引物设计: 取总RNA 1.0 μ g及cDNA合成试剂盒(Fermentas, 立陶宛), 经随机引物和逆转录酶合成GPC-3 cDNA。参照文献GPC-3序列, 设计引物并由上海英骏公司(Invitrogen, 美国)合成。GPC-3上游引物为5'-TGCCTGATTACGCCTTG GAC-3'(nt 757-776, GPC-3P1), 下游引物5'-CCTAGTGACTTG-CAGTGACTTG-3'(nt 857-878, GPC-3P2), 大小122 bp; GAPDH内参引物: 上游5'-CACTGGC GTCTTCACCACCAT-3'(nt 396-416), 下游5'-GTGCAGGAGGCATTGCTGAT-3'(nt 541-560), 扩增产物大小165 bp。

1.2.3 GPC-3 mRNA扩增: cDNA合成后, 进行巢

表 1 肝癌及对照组患者的临床资料

分组	n	男/女	年龄(岁)	HBsAg(+/-)	AFP(μg/L)		
					≤20	21-399	≥400
肝癌	55	46/9	41-81	39/16	12	18	25
肝硬化	20	10/10	20-82	14/6	16	4	0
慢性肝炎	20	14/6	18-80	16/4	17	3	0
正常对照	20	10/10	40-69	0/30	20	0	0

■ 相关报道

Yao等以肝细胞发生恶性转化的大鼠为模型, 动态观察了磷脂酰基醇蛋白多糖-3(GPC-3) mRNA和GPC-3的表达与改变, 发现GPC-3具有癌胚性, 与肝细胞的恶性转化显著相关, 是肝癌早期诊断的特异性生物标志物。

式PCR. 第一阶段PCR反应体系(25 μL): 1 μL cDNA(0.1 μg/μL); 外部引物P1和P2各0.5 μL(20 μmol/L); Premix Taq 12.5 μL, 加双蒸水至2 μL. 扩增条件: 94 °C预变性5 min; 94 °C变性25 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸90 s, 30个循环; 72 °C延伸10 min, 4 °C保存. 第二阶段PCR反应体系(25 μL): 第一阶段PCR产物(稀释100倍)1 μL; 内部引物P3和P4各0.5 μL(20 mmol/L); PreMix Taq 12.5 μL, 加双蒸水至25 μL. 扩增条件: 94 °C预变性5 min; 94 °C变性25 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸90 s, 30个循环; 72 °C延伸10 min, 4 °C保存.

1.2.4 GPC-3 mRNA定量分析: 以染料法定量PCR反应体系: SYBR Premix Ex Taq™ 12.5 μL, PCR正向引物(10 μmol/L)和反向引物(10 μmol/L)各0.5 μL, GPC-3 cDNA 2 μL, 双蒸水9.5 μL. 反应条件: 95 °C 2 min; 95 °C 12 s, 60 °C 40 s, 扩增40个循环.

1.2.5 GPC-3 mRNA相对表达率计算: 以GPC-3和GAPDH cDNA的Ct值进行相对定量: $\Delta Ct = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{内参基因})$, 相对表达量 = $2^{-\Delta Ct}$; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{实验组}) - \Delta Ct(\text{对照组平均值})$, 相对表达率 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

1.2.6 DNA测序分析: 取含目的DNA凝胶, 以Montage™ DNA装置提取DNA(4 °C离心, 9 000 r/min离心10 min), 以DYEnamic ET Dye末端循环测序试剂盒制备测序标本. 反应体系: 待测DNA 0.2-2.0 μg, 2 μmol/L引物(上游引物或下游引物)2.5 μL, 测序混合试剂8.0 μL, 加双蒸水至20 μL. 扩增条件: 95 °C预变性30 s; 95 °C变性20 s, 50 °C退火15 s, 60 °C延伸1 min, 30个循环, 15 °C保存备用. 产物经醋酸铵、乙醇沉淀, 即可在MegaBACE DNA测序仪上检测DNA序列, 以MegaBACE系统软件(Version 3.0)分析DNA序列, 并与Gene Bank中基因源序列进行比对.

1.2.7 sICAM-1测定及结果计算: 肝病患者按临床诊断资料分为肝癌、肝硬化及正常对照组. 在酶标包被板上待测样品孔中先加已用样品稀释液

稀释的样品100 μL, 酶标板加上盖, 37 °C反应90 min. 甩去酶标板内液体, 用吸水纸拍干, 将准备好的生物素抗人sICAM-1抗体工作液100 μL加入酶标板(空白显色孔除外), 37 °C反应60 min. 洗涤液洗涤3次, 每次浸泡1 min左右, 每孔加入ABC工作液100 μL(空白显色孔除外), 37 °C温育30 min. 洗涤液洗涤3次, 每次浸泡1-2 min, 每孔加入显色液90 μL, 37 °C避光反应17-22 min. 取出酶标板, 每孔加终止液100 μL终止反应, 此时蓝色立转黄色. 在酶标仪上, 以450 nm波长检测其吸光度(A)值. 检测前2 h内配制标准品, 浓度分别为: 10.000、5.000、2.500、1.250、0.625、0.313、0.156及0.000 ng/L, 标准品孔中加入稀释好的标准品100 μL. 参照以上方法同时检测, 将检测的A值和对应的标准浓度绘制标准曲线, 计算样品中sICAM-1的浓度.

统计学处理 计量资料以mean±SD表示, 以t检验分析; 计数资料以 χ^2 检验分析, 以 $P<0.05$ 表示有显著性差异.

2 结果

2.1 肝病患者HBV感染及AFP浓度 所采集的外周血标本, 各组患者的年龄、HBV感染及AFP浓度等临床资料见表1. 肝癌和肝硬化患者按Child-pugh A、B和C分类, 分别为30、19、6例和11、6、3例. 慢性肝病患者中69例HBsAg阳性(72.6%), 肝癌患者中25例血AFP浓度≥400 μg/L(45.5%).

2.2 GPC-3 mRNA扩增与测序 肝病患者血GPC-3 mRNA和GAPDH基因片段的扩增图谱见图1A. 取PCR产物测序结果显示, 肝癌及癌周组织、外周血PBMC中GPC-3 mRNA扩增片段的序列(图1B)均与Gene Bank中GPC-3基因相应的源序列完全一致, 证实所扩增基因即为GPC-3基因片段.

2.3 肝病患者外周血GPC-3 mRNA及sICAM-1表达水平 55例肝细胞癌者血中39例阳性(70.9%, 表2), 在肝硬化、慢性肝炎及健康对照组中未检出阳性例($P<0.001$). GPC-3 mRNA在26例不伴肝

■应用要点

血行转移是肝癌的主要转移途径, GPC-3 mRNA检出率和sICAM-1异常与肝癌的TNM分期、伴门脉癌栓和肝外转移有关, 两者检测是监测肝癌转移或术后复发的可靠分子标志。

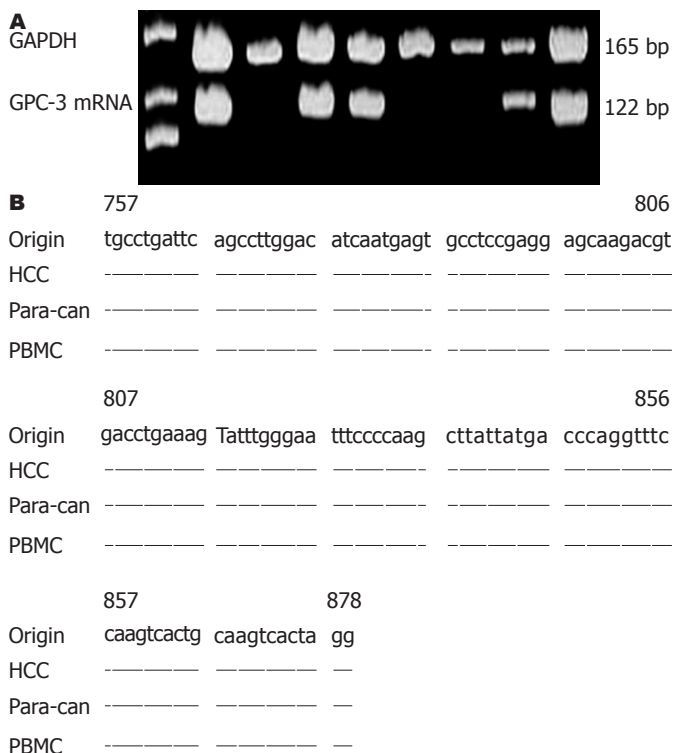


图1 GPC-3 mRNA扩增图谱与测序分析。A: DNA分子量与基因扩增片段电泳; B: 基因片段序列分析。

表2 肝病患者外周血GPC-3 mRNA及sICAM-1表达水平 (mean ± SD)

分组	n	GPC-3 mRNA(%)	χ^2 值	P值	sICAM-1(μ g/L)	t值	P值
肝细胞癌	55	70.9	—	—	140.0 ± 31.3	—	—
肝硬化	20	0	26.773	<0.001	114.8 ± 27.3	3.184	0.002
慢性肝炎	20	0	26.773	<0.001	107.0 ± 28.0	3.962	<0.001
正常对照	20	0	26.773	<0.001	57.5 ± 11.3	11.476	<0.001

外转移组阳性率38.46%, GPC-3 mRNA相对表达量为 0.0036 ± 0.0013 ; 29例肝癌伴肝外转移组阳性率为100%, GPC-3 mRNA相对表达量为 0.0277 ± 0.0003 , 两组相对表达量平均相差7倍以上($t = 3.190$, $P = 0.003$)。健康对照组sICAM-1表达水平低于慢性肝炎($t = 7.331$, $P < 0.001$)、肝硬化($t = 8.673$, $P < 0.001$)和肝癌($t = 11.476$, $P < 0.001$)。

2.4 sICAM-1和GPC-3 mRNA表达的临床病理学特征 肝癌患者GPC-3 mRNA检出率与TNM分期($\chi^2 = 17.732$, $P < 0.001$), III-IV肝癌(91.2%)显著高于I-II肝癌(38.1%); 与HBV相关($\chi^2 = 14.601$, $P < 0.001$), HBsAg阳性肝癌(87.2%)显著高于HBsAg阴性肝癌(31.3%); 肝癌患者伴有门脉癌栓者全数异常(100%)显著高于不伴有门脉癌栓者(20%)及有无肝外转移($\chi^2 = 22.271$, $P < 0.001$)密切相关, 而与性别、年龄、分化程度、AFP浓度和肿瘤大小间未见明显相关(表3), 肝癌患者sICAM-1浓度与肝癌TNM分期($t = 2.750$, $P = 0.008$)、门脉癌栓($t = 2.941$, $P = 0.005$)及肝外转

移($t = 3.282$, $P = 0.002$)显著相关。

2.5 sICAM-1、GPC-3 mRNA和AFP对肝癌的诊断价值 肝癌患者sICAM-1、GPC-3 mRNA和AFP异常表达, 对肝癌的诊断价值见表4。如以sICAM-1 $>115 \mu$ g/L和AFP $>50 \mu$ g/L为界, 对肝癌的阳性率为74.5%和63.6%, 但在良性肝病有30%左右的假阳性; 外周血GPC-3 mRNA仅见于肝癌患者(70.9%)。从表4可见3种标志物对肝癌诊断率均在70%左右, 如将sICAM-1 $>115 \mu$ g/L、GPC-3 mRNA阳性和AFP $>50 \mu$ g/L联合诊断肝癌, 其综合评价见表5。若以GPC-3 mRNA和AFP联合, 阳性率为87.2%(48/55); 若以sICAM-1、GPC-3 mRNA和AFP联检, 阳性率为92.7%(51/55)。GPC-3 mRNA、sICAM-1和与AFP分析, 对肝癌具有互补诊断价值。

3 讨论

AFP诊断肝癌虽被广泛应用, 但单AFP难以满足临床需要, 且敏感性和特异性均难令人满

表 3 肝癌sICAM-1和GPC-3 mRNA表达的病理学特征 (mean ± SD)

分组	n	GPC-3 mRNA(n)		sICAM-1(μg/L)
		阳性	阴性	
TNM分期				
I-II	21	8	13	125.6 ± 32.4
III-IV	34	31 ^b	3	148.3 ± 28.0 ^b
分化程度				
高	16	6	10	120.3 ± 20.3
中	25	15	10	155.0 ± 38.5
低	14	8	6	134.1 ± 30.1
肿瘤大小				
≥5 cm	30	21	9	132.2 ± 31.5
<5 cm	25	18	7	140.9 ± 29.8
AFP(μg/L)				
≥400	25	18	7	137.6 ± 29.1
<400	30	21	9	142.5 ± 34.0
HBsAg				
阳性	39	34 ^b	5	140.7 ± 30.6
阴性	16	5	11	136.0 ± 37.1
门脉癌栓				
有	35	35 ^b	0	153.4 ± 28.7 ^b
无	20	4	16	128.5 ± 32.7
肝内外转移				
有	29	29 ^b	0	157.1 ± 27.2 ^b
无	26	10	16	131.7 ± 30.2

^bP<0.01 vs 对应组。

表 4 外周血sICAM-1、GPC-3 mRNA和AFP对肝癌的诊断价值n (%)

分组	n	sICAM-1 (>115 μg/L)	GPC-3 mRNA	AFP (>50 μg/L)	总阳性率
肝癌	55	41(74.5)	39(70.9)	35(63.6)	51(92.7)
肝硬化	20	5(25.0) ^b	0(0.0) ^b	3(15.0) ^b	7(35.0) ^b
慢性肝炎	20	6(30.0) ^b	0(0.0) ^b	2(10.0) ^b	6(30.0) ^b
正常对照	20	0(0.0) ^b	0(0.0) ^b	0(0.0) ^b	0(0.0) ^b

^bP<0.01 vs 肝癌组。

意^[10,11]。随着基因组学、蛋白组学、转录组学等多种“组学”技术的发展,越来越多与肝细胞恶性转化相关的分子如肝癌特异性蛋白被发现,可改进肝癌诊断特异性;肝癌相关基因转录异常,可监测肝癌微小转移^[12,13]。早期诊断与术后转移复发监测,仍是肝癌防治研究的热点^[14]。研究发现GPC-3和ICAM-1过表达与肝癌发生发展关系密切^[15,16]。所以,定量检测肝病患者血GPC-3 mRNA和sICAM-1浓度,可探讨其临床病理学特征和在肝癌诊断和转移监测中的临床价值。

表 5 sICAM-1、GPC-3 mRNA和AFP联合诊断肝癌的综合评价 (%)

	sICAM-1 (>115 μg/L)	GPC-3 mRNA(阳性)	AFP>50 μg/L	三者联合
灵敏度	74.5	70.9	63.6	92.7
特异性	72.5	100	87.5	67.5
真阳性	76.7	100	87.5	79.6
真阴性	67.4	71.4	63.6	87.0
准确度	73.6	83.1	73.6	82.1

GPC-3基因位于人染色体X26.10,由8个外显子组成,启动子区含多个转录因子结合位点,核苷酸为2 130 bp,编码580个氨基酸。在HCC发生、发展过程中,GPC-3基因被再次激活。GPC-3表达位于胞质和胞膜,癌旁定位于胞质^[17]。肝癌组织GPC-3表达强度高于癌旁和远癌组织^[18]。肝癌模型发现肝细胞GPC-3过表达与肝细胞恶性转化相关,是肝细胞恶性改变的早期事件^[5,19]。GPC-3过表达与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)显著相关,抑制GPC-3可下调MMP的表达;GPC-3可致胞核/胞质β-catenin显著增高,进而与MMP及增殖信号结合,促进HCC进展^[20]。HCC患者中GPC-3 mRNA阳性率为70.9%,而在肝硬化、肝炎及正常对照组均未检出,提示GPC-3 mRNA是肝癌特异诊断的有用分子标志物。

分子结构为单链糖蛋白的粘附分子由723-748个氨基酸构成,胞浆区高度保守,肝病患者sICAM-1水平与肝细胞坏死严重程度和肝功能受损程度相关。正常肝细胞缺乏sICAM-1表达,仅在窦状隙内皮细胞和散在的炎症单核细胞上有ICAM-1微弱表达,肝病时表达增加。sICAM-1除介导粘附外,可从癌细胞表面脱落进入循环系统,可助癌细胞逃逸CTL和NK细胞监视,促进转移^[21]。肝癌患者sICAM-1水平能反映其病情进展及预后^[22]。sICAM-1、GPC-3 mRNA及AFP联合阳性率达92.7%,对AFP阴性肝癌具有互补诊断价值。

血行转移是肝癌的主要转移途径^[6,11],GPC-3 mRNA检出率与TNM分期、门脉癌栓、肝外转移有关。III-IV肝癌显著高于I-II肝癌;HBsAg阳性肝癌显著高于HBsAg阴性肝癌;肝癌患者伴有门脉癌栓者全数异常显著高于不伴有门脉癌栓者及肝外转移密切相关;sICAM-1浓度与肝癌TNM分期、门脉癌栓及肝外转移显著相关,sICAM-1和GPC-3 mRNA是监测肝癌转移或术

■名词解释

GPC-3基因:位于人染色体X26.10,由8个外显子组成,启动子区含多个转录因子结合位点,核苷酸为2 130 bp,编码580个氨基酸,在HCC发生发展过程中,GPC-3基因被再次激活,导致癌胚型的GPC-3过表达。

■同行评价

本研究旨在探讨 sICAM-1 和 GPC-3 mRNA 在肝癌诊断中的临床价值, 具有一定的科研意义。

后复发的可靠分子标志^[23]。肝癌早诊早治和术后复发监测, 可能是提高患者存活率的唯一途径。随着对肝细胞恶性转化关键信号通路的机制阐明, 多种具诊断特异性标志物的应用^[24,25], 将更有利于早期发现 AFP 阴性或低浓度肝癌, 为以分子标志为基础发病机制转化医学和分子靶向治疗研究奠定基础^[25-27]。

4 参考文献

- 1 Aravalli RN, Steer CJ, Cressman EN. Molecular mechanisms of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 2047-2063
- 2 Qian J, Yao D, Dong Z, Wu W, Qiu L, Yao N, Li S, Bian Y, Wang Z, Shi G. Characteristics of hepatic igf-ii expression and monitored levels of circulating igf-ii mRNA in metastasis of hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2010; 134: 799-806
- 3 Zhou JY, Zhang L, Li L, Gu GY, Zhou YH, Chen JH. High hepatitis B virus load is associated with hepatocellular carcinomas development in Chinese chronic hepatitis B patients: a case control study. *Virol J* 2012; 9: 16
- 4 Qiao SS, Cui ZQ, Gong L, Han H, Chen PC, Guo LM, Yu X, Wei YH, Ha SA, Kim JW, Jin ZT, Li S, Peng JR, Leng XS. Simultaneous measurements of serum AFP, GPC-3 and HCCR for diagnosing hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1718-1724
- 5 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 289-294
- 6 蔡荣耀, 黄志勇, 梁宾勇, 李开艳, 陈孝平. 原发性肝细胞癌根治术后肿瘤复发的影响因素及预后. *中华消化外科杂志* 2011; 10: 263-266
- 7 Helaly GF, Abou Shamaa LA. Influence of hepatitis C virus infection on circulating levels of sICAM-1 and VEGF in patients with hepatitis C and hepatocellular carcinoma (HCC) and their role in enhancing detection of HCC. *Egypt J Immunol* 2006; 13: 27-38
- 8 Moriyama M, Matsumura H, Shioda J, Aoki H, Nakamura H, Arakawa Y, Nirei K, Yamagami H, Kaneko M, Tanaka N, Arakawa Y. Measurement of human intercellular adhesion molecule 1 in the blood is useful for predicting the occurrence of hepatocellular carcinomas from chronic hepatitis C and liver cirrhosis. *Intervirology* 2006; 49: 327-338
- 9 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 324
- 10 Qin LX, Tang ZY. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 497-513
- 11 樊嘉, 史颖弘. 肝癌复发和转移的新理念. *中华消化外科杂志* 2010; 9: 10-11
- 12 Jung CW, Song TJ, Lee KO, Choi SB, Kim WB, Suh SO, Kim YC, Choi SY. Characterization of hepatocellular carcinoma cell lines based on cell adhesion molecules. *Int J Mol Med* 2012; 29: 1158-1164
- 13 姚敏, 姚登福. 肝细胞恶性转化与肝癌诊断的特异性标志物. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 244-246
- 14 Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 4989-5005
- 15 Wang Y, Shen Z, Zhu Z, Han R, Huai M. Clinical values of AFP, GPC3 mRNA in peripheral blood for prediction of hepatocellular carcinoma recurrence following OLT: AFP, GPC3 mRNA for prediction of HCC. *Hepat Mon* 2011; 11: 195-199
- 16 Ho M. Advances in liver cancer antibody therapies: a focus on glypican-3 and mesothelin. *BioDrugs* 2011; 25: 275-284
- 17 Yang D, Yang J, Lu F, Li C, Yang J, Liang J. A new membrane re-anchored protein originating from GPC3 against hepatoma cells HepG2. *Mol Med Report* 2011; 4: 1067-1073
- 18 Ozkan H, Erdal H, Koçak E, Tutkak H, Karaeren Z, Yakut M, Köklü S. Diagnostic and prognostic role of serum glypican 3 in patients with hepatocellular carcinoma. *J Clin Lab Anal* 2011; 25: 350-353
- 19 Sun CK, Chua MS, He J, So SK. Suppression of glypican 3 inhibits growth of hepatocellular carcinoma cells through up-regulation of TGF- β 2. *Neoplasia* 2011; 13: 735-747
- 20 Nobuoka D, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Kuronuma T, Takahashi M, Nakachi K, Ishii H, Furuse J, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kinoshita T, Komori H, Baba H, Fujiwara T, Nakatsura T. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma induces glypican-3 peptide-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int J Oncol* 2012; 40: 63-70
- 21 Raskopf E, Gerceker S, Vogt A, Standop J, Sauerbruch T, Schmitz V. Plasminogen fragment K1-3 inhibits expression of adhesion molecules and experimental HCC recurrence in the liver. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 837-844
- 22 O'Beirne J, Farzaneh F, Harrison PM. Generation of functional CD8+ T cells by human dendritic cells expressing glypican-3 epitopes. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 48
- 23 Yao DF, Dong ZZ, Yao M. Specific molecular markers in hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 241-247
- 24 Chan SL, Yeo W. Targeted therapy of hepatocellular carcinoma: present and future. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 862-872
- 25 Kudo M. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Dig Dis* 2011; 29: 273-277
- 26 Tazi el M, Essadi I, M'rabti H, Touyar A, Errihani PH. Systemic treatment and targeted therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *N Am J Med Sci* 2011; 3: 167-175
- 27 姚宁华, 姚登福, 钱静, 董志珍, 邱历伟, 蔚丹丹. miRNA 干扰质粒的构建及其对肝癌 HepG2 细胞 IGF-II 表达的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1015-1021

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静