

# 新血清标志物 HTATIP2/TIP30 和 B7-H4 在原发性肝癌中的临床价值

覃慧敏, 周晓琳, 陈鹏, 谭宏祜

三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院感染性疾病科, 湖北 宜昌 443003

**摘要:** **目的** 探讨血清中人类免疫缺陷病毒 1 型反式激活蛋白 (HTATIP2/TIP30) 和协同刺激分子 B7-H4 在原发性肝癌中的临床价值, 同时了解其与肝癌生物学特性的关系。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2015 年 1 月 60 例行肝动脉化疗栓塞术 (TACE) 的原发性肝癌患者为肝癌组, 另选 60 例健康人为对照组, 并进一步将肝癌组 TACE 治疗 4 周后按疗效分为疗效好组 ( $n=44$ ) 与疗效差组 ( $n=16$ )。留取各组对象血清标本, 酶联免疫吸附法检测 HTATIP2/TIP30 和 B7-H4 水平, 分析肝癌组与对照组、肝癌组治疗前后两指标水平, 及其在不同临床特征、不同预后患者中的差异。**结果** 原发性肝癌患者治疗前血清 B7-H4 水平高于对照组 ( $P<0.01$ ), 血清 HTATIP2/TIP30 水平低于对照组 ( $P<0.01$ ); 治疗后肝癌组血清 B7-H4 水平较治疗前明显降低, 但仍高于对照组 ( $P$  均  $<0.01$ ), 而 HTATIP2/TIP30 水平较治疗前明显升高 ( $P<0.01$ ), 但仍低于对照组 ( $P<0.01$ )。回溯分析可见, 疗效好组治疗前的血清 B7-H4 水平已低于疗效差组 ( $P<0.01$ ), 治疗后两组均降低 ( $P$  均  $<0.01$ ), 且疗效好组仍低于疗效差组 ( $P<0.01$ ); 疗效好组治疗前的血清 HTATIP2/TIP30 水平已高于疗效差组 ( $P<0.01$ ), 两组治疗后与治疗前相比, 无统计学差异 ( $P$  均  $>0.05$ ), 且疗效好组仍高于疗效差组 ( $P<0.01$ )。血清 HTATIP2/TIP30 水平降低和 B7-H4 水平升高与有门脉癌栓及远处转移有关 ( $P$  均  $<0.05$ ); 与患者性别、年龄、AFP 水平无明显相关性 ( $P$  均  $>0.05$ )。血清 B7-H4 水平升高、HTATIP2/TIP30 水平降低均提示患者治疗效果不佳 ( $P$  均  $<0.05$ )。**结论** 血清 B7-H4 水平增高和 HTATIP2/TIP30 水平降低或可作为原发性肝癌诊断和患者预后预测的血清标志物。

**关键词:** 人类免疫缺陷病毒 1 型反式激活蛋白; 协同刺激分子 B7-H4; 肝肿瘤; 预后评估

**中图分类号:** R 735.7 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0075-03

肝细胞癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 致死率世界第三、中国第二<sup>[1-2]</sup>。外科手术是原发性肝癌最主要的治疗方式之一, 然而由于该病起病隐匿, 多数患者发现较晚, 往往错过手术治疗时机。随着治疗手段的进步, 以经导管肝动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 为主的微创介入治疗效果得到肯定。TACE 是目前不能接受手术切除的原发性肝癌患者的首选治疗方式之一, 介入治疗成为肝癌目前非外科手术治疗的主要手段。甲胎蛋白 (AFP) 与影像学检查是目前介入疗效的评价指标, 但对于 AFP 阴性或肝内微小病灶的病例, 缺少有效的监测指标。因此, 很有必要探索新的生化分子标记物预测肝癌的预后, 指导针对性治疗。

人类免疫缺陷病毒 1 型反式激活蛋白 (human HIV-1 TAT interactive protein 2, HTATIP2/TIP30), 又名 CC3, 是人类免疫缺陷病毒在体外转录时发现的一种分子量 30 000 的结合蛋白 (tat interactive protein, TIP30)。以往的研究认为 HTATIP2/TIP30 是一种广

泛表达于人体组织和一些肿瘤组织中的抑癌基因<sup>[3]</sup>。协同刺激分子 B7-H4, 又被称为 B7x 或者 B7S1, 是 B7 家族的一员, 在激活的抗原呈递细胞表达<sup>[4]</sup>。之前研究提示 B7-H4 可以通过抑制 T 细胞增殖、细胞因子分泌和细胞毒作用, 调节 T 细胞介导的免疫反应。最近多项研究报道 B7-H4、HTATIP2/TIP30 在肝癌组织中表达, 且与肿瘤进展有关<sup>[5]</sup>。根据巴塞罗那临床肝癌分期 (BCLC) 分期, 针对中晚期患者只能采用如 TACE 等介入治疗及靶向药物治疗。这类患者采用外周血监测更具临床可操作性, 能否通过检测血清中 B7-H4、HTATIP2/TIP30 水平预测患者的预后, 目前少见报道。因此, 本研究通过检测肝癌患者介入治疗前后血清 B7-H4、HTATIP2/TIP30 水平的变化, 探讨其在原发性肝癌中的临床价值。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 2014 年 1 月至 2015 年 1 月在宜昌市中心人民医院进行介入治疗的原发性肝癌患者 60 例 (肝癌组), 所有病例符合第八届全国肝癌学术会议诊断标准, 均为失去手术机会和不愿接受手术治疗的, 排除严重肝细胞性黄疸、大量腹水、全身广泛

转移、门静脉主干完全栓塞及终末期患者。其中男性 46 例,女性 14 例;年龄 45~70 ( $54 \pm 11.5$ ) 岁。病灶直径 8~15 ( $8.05 \pm 2.89$ ) cm;其中合并门脉癌栓 28 例。肝功能分级均为 Child A 或 B 级。另选 60 例健康人为对照(对照组),其中男性 44 例,女性 16 例;年龄 46~69 ( $53 \pm 10.0$ ) 岁。

**1.2 手术治疗方法** 肝癌组患者均行 TACE 术治疗。右侧股动脉 Seldinger 技术穿刺,腹腔干造影了解肿瘤的部位、大小及范围,超选择插管至肿瘤供血动脉,灌注同样化疗药物。以超液态碘油混合化疗药物或明胶海绵栓塞供血动脉,术后 4 周行肝脏增强 CT 扫描,观察病灶大小变化、碘油沉积情况及有无强化等表现。

**1.3 血清标本留取及检测** 患者术前 1 d、术后 4 周均留取静脉血 5 ml,离心取血清,  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱留存,检测 AFP、肝功能、血常规等指标。血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 采用酶联免疫吸附法检测。自低温冰箱中取出标本,常温下解冻,依据试剂盒说明书操作。以标准品的浓度和 A450 值做出标准曲线,依据样品的 A450 值求出样品中待检测物质的浓度。ELISA 试剂盒由上海盈公司提供。

**1.4 指标观察及评价** 依据术后 4 周 AFP 动态变化及肝脏增强 CT 影像学表现,进行疗效好与差的区分:AFP 下降、增强 CT 示病灶区未见活性病灶存在作为疗效好;AFP 未见下降、增强 CT 示病灶区仍存在活性病灶作为疗效差。据此,将 60 例 TACE 治疗患者分为:疗效好组 44 例,疗效差组 16 例。比较两组治疗前后血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平尤其是不同疗效组间的水平,分析两种血清指标水平与肝癌患者主要临床特征的关系。

**1.5 统计学分析** 采用 SPSS 16.0 统计软件。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用成组  $t$  检验,治疗前后比较采用配对  $t$  检验。 $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

**2.1 对照组和肝癌组 TACE 治疗前后及不同疗效组间血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平比较** (1) 肝癌患者治疗前血清 B7-H4 水平高于对照组 ( $P < 0.01$ ),血清 HTATIP2/TIP30 水平低于对照组 ( $P < 0.01$ );治疗后血清 B7-H4 水平较治疗前明显降低,但仍高于对照组 ( $P$  均  $< 0.01$ ),而 HTATIP2/TIP30 水平较治疗前明显升高 ( $P < 0.01$ ),但仍低于对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 1。(2) 回溯分析可见,疗效好组治疗前的血清 B7-H4 水平已低于疗效差组 ( $P < 0.01$ ),治疗后两组均降低 ( $P$  均  $< 0.01$ ),且疗效好

组仍低于疗效差组 ( $P < 0.01$ );疗效好组治疗前的血清 HTATIP2/TIP30 水平已高于疗效差组 ( $P < 0.01$ ),两组治疗后与治疗前相比,无统计学差异 ( $P$  均  $> 0.05$ ),且疗效好组仍高于疗效差组 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

**2.2 治疗前血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平与原发肝癌患者主要临床特征的关系** 血清 B7-H4 水平在原发肝癌年龄是否  $> 51$  岁、是否男性、合并门脉癌栓与否、有无远处转移患者中差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ );血清 HTATIP2/TIP30 水平在合并门脉癌栓与否、有无远处转移患者中差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ),在不同年龄、性别及 AFP 水平患者中则无统计学差异 ( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 3。

表 1 对照组和肝癌组治疗前后血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 的比较 ( $n=60, \text{ng/ml}, \bar{x} \pm s$ )

组别		B7-H4	HTATIP2/TIP30
肝癌组	治疗前	$57.53 \pm 3.60^{* \#}$	$4.53 \pm 2.65^{* \#}$
	治疗后	$43.33 \pm 5.21^{\#}$	$6.89 \pm 3.14^{\#}$
对照组		$31.60 \pm 2.49$	$9.50 \pm 2.04$

注:与本组治疗后比较,  $^{\#}P < 0.01$ ;与对照组比较,  $^{*}P < 0.01$ 。

表 2 肝癌不同疗效组间及治疗前后血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平的比较 ( $\text{ng/ml}, \bar{x} \pm s$ )

组别	例数	血清 B7-H4	血清 HTATIP2/TIP30
疗效好组	术前	$44$	$43.33 \pm 4.22^{\Delta}$
	术后 4 周	$44$	$38.03 \pm 2.99^{\# \Delta}$
疗效差组	术前	$16$	$58.14 \pm 4.04$
	术后 4 周	$16$	$45.54 \pm 3.54^{\#}$

注:与本组治疗前比较,  $^{\#}P < 0.01$ ;与疗效差组比较,  $^{\Delta}P < 0.01$ 。

表 3 血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平与原发肝癌患者主要临床特征的关系 ( $\text{ng/ml}, \bar{x} \pm s$ )

临床特征	例数	B7-H4	$P$ 值	HTATIP2/TIP30	$P$ 值	
年龄	$\leq 51$ 岁	$40$	$47.53 \pm 3.41$	$< 0.01$	$3.98 \pm 2.11$	$> 0.05$
	$> 51$ 岁	$20$	$50.77 \pm 2.74$		$4.66 \pm 1.89$	
性别(例)	男	$46$	$52.72 \pm 2.47$	$< 0.01$	$3.88 \pm 2.05$	$> 0.05$
	女	$14$	$48.04 \pm 3.19$		$5.01 \pm 2.86$	
AFP	$\leq 400$ U/L	$16$	$48.14 \pm 3.04$	$> 0.05$	$4.88 \pm 2.45$	$> 0.05$
	$> 400$ U/L	$44$	$49.67 \pm 2.76$		$3.77 \pm 2.80$	
门脉癌栓	有	$28$	$58.55 \pm 4.75$	$< 0.01$	$2.88 \pm 1.67$	$< 0.01$
	无	$32$	$39.97 \pm 4.29$		$6.37 \pm 2.68$	
远处转移	有	$30$	$61.17 \pm 5.71$	$< 0.01$	$3.00 \pm 2.07$	$< 0.01$
	无	$30$	$42.34 \pm 2.99$		$6.05 \pm 1.97$	

## 3 讨论

肝细胞肝癌因发病率较高、发现困难、治疗方法少等原因已经在导致人类死亡的各种疾病中位居前列<sup>[1-2]</sup>。据我国卫生部统计,从 20 世纪 90 年代起原发性肝癌已经成为癌症的第二位杀手,在城市其死亡率仅次于肺癌,在农村其死亡率仅次于胃癌<sup>[6]</sup>。原

发性肝癌起病隐匿,早期症状不明显,一般发现时多为晚期,往往丧失手术时机。介入治疗成为目前肝癌非外科手术治疗的主要手段,临床主要以影像学检查及 AFP 检测来判定治疗疗效。但影像学检查费用高、无法量化等因素,影响其多次反复检测,且其敏感性较低;AFP 是目前临床广泛应用的肝癌疗效监测指标,但对于部分 AFP 阴性的肝癌患者无法评估。故上述两方面的检测无法及时获得对患者预后分析有价值的指标,因此迫切需要开发可重复性好、检测方便、可量化的新评价指标。

B7-H4 是新近发现的 B7 家族中的一员,对于 T 细胞介导的免疫反应有负性调节作用。其在多种人类肿瘤呈现异常高表达,与肿瘤的发生、进展密切相关<sup>[7]</sup>。另发现 B7-H4 还可以可溶性形式存在于血清中,已经发现卵巢癌患者血清中可溶性 B7-H4 水平增高<sup>[8]</sup>。HTATIP2/TIP30 是一种广泛表达于正常组织和肿瘤中的蛋白。HTATIP2/TIP30 在细胞凋亡的调节和肿瘤抑制方面,特别是在控制参与细胞凋亡和转移的肿瘤抑制基因的表达过程中发挥着非常重要的作用<sup>[9]</sup>。在有关 HTATIP2/TIP30 基因敲除的研究中,显示该蛋白的缺失或减少可导致约 30% 的小鼠发生原发性肝细胞癌。在人原发性肝细胞癌免疫组织化学的检查中发现,33% 的原发性肝细胞癌患者 HTATIP2/TIP30 蛋白表达减低<sup>[10]</sup>。本研究进一步证实了这一点,且发现肝癌患者血清中 B7-H4、HTATIP2/TIP30 水平与肿瘤的生物特性有相关性,提示 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 有望成为肝细胞肝癌潜在的诊断学指标。

本研究发现肝癌患者血清中 B7-H4 水平明显升高,回溯分析可见,疗效好组治疗前的血清 B7-H4 水平已低于疗效差组,治疗后两组均降低,且疗效好组仍低于疗效差组;疗效好组治疗前的血清 HTATIP2/TIP30 水平已高于疗效差组,且治疗后疗效好组仍高于疗效差组。有文献报道,血清中 B7-H4 来自肿瘤细胞或肿瘤微环境中的间充质细胞<sup>[11]</sup>,原发性肝癌细胞刺激机体免疫系统,引起患者 B7-H4 水平升高,TACE 介入治疗导致患者肿瘤细胞坏死、凋亡,肿瘤微环境改善,因而 B7-H4 分泌减少,故血清中 B7-H4 水平也呈现下降趋势。B7-H4 通过与非特异性的 CD28 家族受体结合,抑制 T 细胞的活性,提示肿瘤患者体内高水平 B7-H4 可能参与肿瘤的免疫逃逸。免疫逃逸阶段肿瘤的浸润转移能力进一步增强,新生血管进一步增多,肿瘤细胞凋亡进一步减少,从而抑

癌基因 HTATIP2/TIP30 的表达下降。

AFP 是目前肝癌疗效判断的主要血清指标,但部分 AFP 阴性患者无法利用。我们发现,血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平不受 AFP 水平影响,提示该两指标的生成机制与 AFP 不同,其适用范围更广泛。提示血清 B7-H4 水平增高和 HTATIP2/TIP30 水平降低或可作为原发性肝癌诊断和患者预后预测的血清标志物。本文仅进行初步观察,尚缺少对患者预后的中长期随访分析,缺少预后好差的准确定量界定,且未行血清 B7-H4 和 HTATIP2/TIP30 水平与患者预后的相关分析,有待下一步深入探讨。

#### 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Bai T, Chen J, Xie ZB, et al. The efficacy and safety of postoperative adjuvant transarterial embolization and radiotherapy in hepatocellular carcinoma patients with portal vein tumor thrombus [J]. *Oncol Targets Ther*, 2016, 9: 3841-3848.
- [3] Zhang W, Sun HC, Wang WQ, et al. Sorafenib down-regulates expression of HTATIP2 to promote invasiveness and metastasis of orthotopic hepatocellular carcinoma tumors in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(6): 1641-1649.
- [4] Prasad DV, Richards S, Mai XM, et al. B7S1, a novel B7 family member that negatively regulates T cell activation [J]. *Immunity*, 2003, 18(6): 863-873.
- [5] Zhang C, Li A, Zhang X, et al. A novel TIP30 protein complex regulates EGF receptor signaling and endocytic degradation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(11): 9373-9381.
- [6] Zou JH, Zhang L, Ren Z, et al. Efficacy and safety of cTACE versus DEB-TACE in patients with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *J Dig Dis*, 2016, 17(8): 510-517.
- [7] Arigami T, Uenosono Y, Hirata M, et al. Expression of B7-H4 in blood of patients with gastric cancer predicts tumor progression and prognosis [J]. *J Surg Oncol*, 2010, 102(7): 748-752.
- [8] Zhang LL, Shao SL, Wu Y. Expressions of osteopontin and B7-H4 in epithelial ovarian neoplasm and their significance [J]. *Chin J Cancer*, 2010, 29(1): 25-29.
- [9] 李浩, 吴金术, 蒋波, 等. Tip30 基因表达对肝癌细胞侵袭转移能力的影响 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2014, 39(8): 775-783.
- [10] Zhang L, Wu H, Lu D, et al. The costimulatory molecule B7-H4 promote tumor progression and cell proliferation through translocating into nucleus [J]. *Oncogene*, 2013, 32(46): 5347-5358.
- [11] Jung K, Kang M, Park C, et al [J]. Protective role of V-set and immunoglobulin domain-containing 4 expressed on kupffer cells during immune-mediated liver injury by inducing tolerance of liver T-and natural killer T-cells [J]. *Hepatology*, 2012, 56(5): 1838-1848.

收稿日期: 2016-08-20 修回日期: 2016-09-22 编辑: 王国品