

肝癌肿瘤标志物的研究进展

蒋智, 张建淮, 屠道远

南京医科大学附属淮安第一医院肝胆外科, 江苏 淮安 223300

摘要: 肝细胞癌(HCC)是最常见的一种恶性肿瘤,在全世界的发病率位居男性各类肿瘤的第五位,其病死率高居第二位;肝癌早期无明显临床症状,当出现症状已发展为晚期,因而对于 HCC 的早期诊断尤为重要。肝癌高危人群的定期监测是国际指南所建议,以提高早期诊断率。近期在蛋白质组、mRNA 组中确立发现了一系列的肝癌中的代谢表达物,通过非侵入性的试验可进行血清检测来诊断 HCC,将来这些标志物有望在评估肝癌阶段、肝癌的早期诊断有较高的临床前景。

关键词: 肝细胞肝癌; 肿瘤标志物; 高尔基体 73; CD166; 早期诊断; 预后

中图分类号: R 375.7 R 730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)02-0270-04

肝细胞癌(hepatocellular Carcinoma, HCC)的诊断方法趋于多样化,以病理细胞学检查为金标准,但介于实际条件,许多早期 HCC 患者无法进行细胞病理学检查;影像学在 HCC 诊断上具有重要价值,但长期监测费用较高;肿瘤标志物可对 HCC 做出有效预测,且较前两者更为廉价、安全。目前实验室热点研究标志物包括高尔基体蛋白 73(GP73)、微小 RNA(MicroRNA, miRNA)、甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、CD166;应用于临床一线主要肿瘤标志物有甲胎蛋白(AFP)和 GP73;其中与 AFP 相关性的肿瘤因子有 CD166、人类婆罗双树样基因-4(SALL4);在 AFP 阴性下仍然有阳性表达有 GP73、脱- γ -羧基凝血酶原(des-gamma-carboxy prothrombin, DCP)、EFG、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)、miRNA、AFP-L3、L-岩藻糖苷酶(alpha-L fucosidase, AFU)。目前肿瘤标志物分为因子组、酶组、蛋白组、基因组。具体综述如下。

1 因子

血管内皮生长因子(VEGF)是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子,可在体内诱导血管生长。VEGF 是生理性和病理性血管发生的主要驱动力,其在 HCC 中过度表达。Mukozu 等^[1]检测了 124 例肝癌病理样本,结果表明 VEGF 预测丙型肝炎病毒(HCV)相关的肝硬化患者的肝癌更为敏感,同时 VEGF 表达与肿瘤是否有血管侵犯相关。而郭威等^[2]的研究显示,VEGF 表达与肿瘤直径、淋巴结转移有关,其在 HCC 的阳性率为 72.0%。因此 VEGF 对评价肝癌血性转移、预测合并 HCV 的 HCC 有一定应用前景。

2 酶

2.1 DCP DCP 是一种异常的凝血酶原前体,又称维生素 K 缺乏诱导凝血酶原 II。郑海伦等^[3]的研究采用酶联免疫吸附测定法检测 220 例 HCC 患者 DCP 水平,结果显示 DCP 诊断

HCC 的敏感性为 90.0%,特异性为 97.3%。Marrero 等^[4]将 207 例患者分为 G1 健康组、G2 慢性肝病组、G3 肝硬化组和 G4 肝癌组,DCP 取 125 AU/ml 作为阈值,结果显示 AFP 和 DCP 之间无显著相关性,DCP 和 AFP 联合检查可显著提高检测的阳性率,DCP 在血清的表达水平随 G 数值升高而升高。Volk 等^[5]检测 169 例患者 DCP,结果显示其诊断 HCC 敏感性为 86%,特异性为 93%,且优于 AFP、AFP-L3 等肿瘤指标。因而其可用于 AFP 阴性的 HCC 患者的诊断,DCP 可以作为肝癌的早期诊断指标,且具有较高的特异性,而 DCP 的表达水平受 HCC 的病理类型、肿瘤分期、肝脏病变类型影响。

2.2 AFU AFU 最初是 1980 年法国学者 Deugnier 等在 HCC 患者的细胞溶酶体中发现的,其本质是一种广泛存在人体组织内的水解酶。最初其诊断阳性率高于血清 AFP,但随着进一步研究,提示 AFU 的血清高表达同样存在于其他肿瘤。但由于与 AFP 的产生机制不用,AFU 对 AFP(-)的 HCC 患者有较高临床价值。熊利华等^[6]测定 48 例 HCC、28 例肝硬化、74 例乙型肝炎、38 例其他肿瘤患者和 136 例正常人的 AFU,结果显示 AFU 诊断 HCC 的敏感性为 79.2%,其与 AFP 联合诊断,敏感性和准确性达 91.30%和 91.04%。因而 AFU 可用于 AFP(-)的 HCC 的诊断,不宜独立诊断^[7]。

3 基因

3.1 miRNA miRNA 是一类内生的、长度约 20~24 个核苷酸的非编码小 RNA。miRNA 大约调控人类三分之一的基因。miRNA 可通过调控癌基因、抑癌基因从而影响肝脏肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移。HBV 或 HCV 感染、HBeAg 阳性或阴性、隐匿性或主动 HBV 感染都会影响 mRNA 分布。miRNA 失调涉及肝癌的所有阶段,病因不同因而这些与之相关的 miRNA 也有着不同的表达,这使得用 miRNA 作为新的肿瘤指标变得复杂,但 miRNA 还可以在肝癌肿瘤早期变化时给出警告。

目前与肝癌相关 miRNA 的研究相当多,如 miR-17、miR-92、miR-21、miR-221、miR-222、miR-224 在 HCC 肿瘤细胞中常表达上调^[8-9];而 miR-7、miR-200、miR-29、miR-122、miR-123、miR-199A、miR-199B 表达下调^[8,10]。与 HCC 肿瘤细胞侵袭性有关的包括 miR-124、miR-338-3p、miR-30d 等;与肿瘤细胞凋

亡有关的包括 miR-29、miR-122、miR-25；与肿瘤细胞增殖相关的包括 miR-211；其他还包括 miR-520、miR-423、miR-1 等。值得一提的是 Qi 等^[11] 研究结果提示在 HCC 肿瘤细胞中 miR-122 明显下调,而在 HCC 患者血清中 miR-122 却上调,这可能与其被释放入循环系统有关。有研究联合几种 miRNA 组合作为肝癌肿瘤检测指标,Zuo 等^[12] 的研究中,miR-125b 和 miR-27a 对 90 例 AFP 检查阴性的 HCC 患者联合诊断,其敏感性 80.0%,特异性 87.2%。Barshack 等^[13] 对肿瘤组织样本的 miR-126 和 miR-141 进行联合诊断,以鉴别肝癌和其他肝脏疾病。在另一组研究中 miR-15b 和 miR-130b 联合诊断可相对 AFP 更早地对肝癌做出预测诊断^[14]。此外 miR-29A-5P、miR-26 可评估肝癌预后,miR-30b 甚至为药物提供基因治疗靶点。miRNA 将为肝癌的预测、治疗提供新的研究方向。

3.2 AFP-mRNA AFP-mRNA 源于脱落入血的 HCC 细胞,可在 HCC 患者外周血清中检测到,可作为 HCC 的血清肿瘤标志物。Joo 等^[15] 研究显示,AFP-mRNA 在血清的表达水平与肝癌转移有一定联系;李永勤等^[16] 结果显示 APF-mRNA 诊断 HCC 的敏感性 55.43%,特异性 99.02%。AFP-mRNA 与 APF-L3 对 HCC 联合诊断^[17-18],阳性率 64.3%~87.6%,阴性率 12.2%~35.7%。AFP-mRNA 可用于 HCC 早期转移的诊断,且其特异性极高,可有效排除假阳性患者。

3.3 P53 P53 是一个重要的抗癌基因,其与细胞周期的调控、修复、细胞分化、细胞凋亡等生物学功能有关,功能异常可导致细胞生长异常^[19]。P53 与人类大部分肿瘤形成有关。HCC 患者最常见为 P53 突变,P53 通过影响 beta-catenin 信号通路发挥对 EMT 的调控作用,降低 P53 表达能够促进 beta-catenin 的细胞核内积累及转录活性,抑制 beta-catenin 信号通路可减弱 P53 降低所促进的肝癌细胞 EMT、细胞迁移和肿瘤转移,其 P53 突变预示较差的预后。

3.4 SALL4 SALL4 是一种干细胞典型标志物,在胚胎形成、维持胚胎干细胞多能性中起重要作用。SALL4 在 HCC 细胞的阳性率为 81.67%,显著高于癌旁组织的 25%,此外 SALL4 高表达患者的 3 年生存率低于 SALL4 低表达者^[20]。马从乾等^[21] 研究显示,SALL4 的高表达可促进肝癌细胞增殖,而肝癌细胞中 SALL4 蛋白表达水平与性别、年龄、肿瘤大小、乙肝、病理分级、肿瘤包膜和门脉癌栓均无显著相关性,而与 AFP 成正相关性。因而 SALL4 与 HCC 有着密切的临床联系,对判断患者预后有一定临床价值。

3.5 肝肠-钙粘连蛋白(CDH17) CDH17 是钙黏蛋白超家族的新成员,CDH17 基因定位在 8q22.1 染色体,其包含七个钙粘着蛋白重复和一个短的胞质结构域。在正常组织中,CDH17 的表达局限于小肠和结肠的上皮细胞;其参与细胞间识别、粘附过程,在组织发育维持形态有不可替代的功能。CDH17 是诊断消化系统腺癌的有用的免疫组织化学标记^[22]。有证据表明在 HCC 中 CDH17 的表达显著上调^[23]。Takamura 等^[24] 研究表明 CDH17 表达下调后可促进肿瘤去分化和血管浸润,其调节血管生成,进而与 HCC 预后和肿瘤转移相关联。而在 Lee 等^[23] 研究中 CDH17 是 HCC 治疗的有吸引力的靶标,在 HCC 中靶向 CDH17 可以抑制肿瘤生长和灭活 Wnt 信号

通路,后者与肿瘤抑制基因的激活有关。

4 蛋白

4.1 AFP AFP 是人胎血清中发现一种胚胎特异性甲种球蛋白。其为诊断 HCC 极为重要的肿瘤标志物,约 60%~70% 的确诊病例的 AFP 水平高于 20 $\mu\text{g/L}$,但 AFP 水平升高也见于妊娠、慢性肝病活动期以及少数消化道肿瘤等。AFP 持续性升高已作为 HCC 发生的危险因素。由于我国与西方国家 HCC 致病因素不同,ASLD 指南已不再将 AFP 作为筛查指标,结合国内随机研究结果,我国仍保留其作为 HCC 监测指标。同时 35% HCC 患者 AFP 检测呈假阴性(包括 ICC、低分化 HCC、部分高分化 HCC,或 HCC 已坏死液化者),仅靠单纯 AFP 检测不能有效诊断。Daniele 等^[25] 分析显示,AFP 诊断肝癌的敏感性 39%~65%,特异性 76%~94%。研究表明 AFP 阈值的取值很重要,阈值的不同对诊断 HCC 的敏感性、特异性有较大差别,当阈值在 20 ng/ml 时,敏感性 64%,特异性 91%;而阈值在 400 ng/ml 时敏感性 17%,特异性 99%。正常情况,AFP 的诊断阈值通常取 400 ng/ml,约 30% HCC 患者的血清 AFP 水平能达到这个标准。AFP 血清表达水平的升高还与慢性肝病有一定联系。有研究表明 HCC 内 HBV 的各种感染模式之间 AFP 表达水平无差异^[26],当患者患有慢性肝病时,其血清 AFP 表达水平也会相应升高,但 Trevisani 等^[27] 研究显示,慢性肝病组的 AFP 阳性率达 100%,因而没有感染肝炎病毒患者的 AFP 升高有更好的临床价值。在 HCC 的筛选普查、疗效评估、预后判断等方面,APF 都是有价值的指标。

4.2 AFP-L3 AFP-L3 最早是 1900 年由 Taket 在实验室发现,是用扁豆凝集素结合后得到 AFP 糖化异质体,其表达主要指 AFP-L3 占血清中总 AFP 表达水平的百分比,约 30% 的小肝癌(肿瘤直径小于 3 cm)患者可在其血清中检测到 AFP-L3(应用阈值 10%~15%)。吕强声等^[28] 对 245 例 HCC 患者检测,取 15% 作为阈值,结果显示 AFP-L3 的敏感性 90.9%,特异性 88.2%;且 AFP-L3 与 AFP 的浓度无关系;术后 HCC 患者的血清 AFP-L3 表达下降,术后转移复发后其血清表达升高。韩风等^[17] 对 112 例 HCC 患者研究发现,血清 AFP-L3 阳性率为 59.8%。AFP-L3 的研究将提供准确的 HCC 诊断方法,有助于鉴别诊断和转移复发监测。但将其作为肿瘤标志物有一定的局限性,因为此类研究主要针对 AFP 阳性的乙肝多发区的亚洲人口。

4.3 GP73 GP73 蛋白质由 Kladney 等从成人巨大细胞性肝炎患者肝细胞基因文库中筛选出一个 cDNA 克隆,其本质为分布在上皮细胞中的一个 II 型高尔基体跨膜蛋白。GP73 主要在正常的人体胆管上皮细胞中高表达,而肝细胞表达较低,但当肝细胞受到病毒(HBV 和 HCV)感染后其 GP73 的表达增高。孔颖等^[29] 采用 ELISA 法检测 234 份血清 GP73 浓度,采用 ROC 曲线选择血清 GP73 最佳阈值为 77.4 ng/ml,结果显示其诊断 HCC 的敏感性为 89.6%,特异性为 100%。而 Mao 等^[30] 研究显示敏感性 74.6%(95% CI:71.5%~77.6%),特异性 97.4%(95% CI:96.8%~98.3%),阳性预测值 82.7%;且其血清表达水平高于对照组及癌旁组织,其敏感性和特异

性均高于 AFP; 并指出 GP73 血清表达水平与肝癌肿瘤大小无关。付超等^[31] 研究指出 GP73 与肝癌转移有一定联系; 但 GP73 血清表达水平与 AFP 无相关性, 对 HCC 的早期诊断、判断预后具有价值, 有望成为另一个肝癌标记物。

4.4 热激蛋白 27 (heat shock protein 27, HSP27) 热休克蛋白 (HSP) 是从细菌到哺乳动物中广泛存在一类热应激蛋白质。当有机体暴露于高温时, 会由热激发合成此种蛋白, 保护机体自身, 其主要在肝细胞的胞质中高表达, 而在新生的肝细胞表达甚微。HSP 基因由热休克转录因子 1 (HSF1) 的转录水平激活。而 HSP27 是小热激蛋白亚家族中的一员, Fu 等^[32] 的研究显示, HSP27 的表达可通过线粒体死亡胱天蛋白酶依赖的途径从而诱导肿瘤细胞凋亡作用, 特别是在 HCC 细胞中。另有研究证明 HSP27 在乙肝相关性 HCC 中高表达, 其阳性率为 61.9%^[15]; 郭威等^[2] 研究表明 HSP27 表达与 HBsAg 阳性、淋巴结转移、肿瘤分化程度有关 (P 均 < 0.05)。因而 HSP27 其参在肿瘤的形成、凋亡。对诊断 HCC 具有潜在价值。

4.5 骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) OPN 最初由 Franzen 等从骨基质和牙齿中分离出一种磷酸蛋白, 其广泛分布于多种组织和细胞中, 能够参与组织修复、自身代谢等功能, 并且与肿瘤转移、侵袭、恶变有一定联系。有研究应用 ELISA 法检测 222 份血清中 OPN 水平, 阈值取 49.90 ng/ml, 结果显示其对 HCC 诊断的敏感性为 69.7%。而 Shang 等^[33] 研究发现, HCC 患者血清 OPN 表达水平高于其他慢性肝病组和健康对照组; OPN 可作为肝癌早期诊断指标, 对早期肝癌的敏感性 75%; 且其对 AFP 阴性 (AFP < 20 ng/ml) 的 HCC 患者敏感性 85%。因此 OPN 可作为早期肝癌特别是 AFP 阴性的 HCC 的检测。

4.6 GPC3 GPC3 最早是 1996 年 Pilia 等从 1 例出生前、出生后过度生长和畸变综合征中分离鉴定出来的, 是硫酸乙酰肝素糖蛋白。其已被证明能够通过调节 Wnt 信号通路从而影响促进肿瘤细胞的增殖的和细胞黏附。黄兴智等^[34] 的研究通过免疫组化分析 125 例患者样本, 结果显示 HCC 患者的 GPC3 阳性率 82%, 明显高于癌旁组织的阳性率 (30.00%), 且 GPC3 高表达患者预示其有较差预后, 其 1 年无肿瘤生存率低于低表达患者 ($P < 0.01$)。周赟等^[35] 的研究显示, GPC3 蛋白在 HCC 组织中阳性率达到 79.8%, 而在血管瘤旁正常肝组织、胆管细胞癌组织和肝脏良性肿瘤组织中表达甚微, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。苏宁等^[36] 研究显示, HCC 患者的 GPC3 的表达率为 66.7%, 而在相应癌旁组织中有 1 例弱阳性, 表达率为 3.0%, 癌旁组织的 GPC3 蛋白阳性率明显低于肝细胞癌中的, 提示 GPC3 参与肝细胞癌的发生; 研究也发现 GPC3 的分布具有相对不均性, 其在肝胆管细胞癌、肝结节增生、肝硬化中无表达, 可用于诊断 HCC 及鉴别其他肝脏疾病。

4.7 CD166 CD166 是免疫球蛋白超家族的表面构件, 其表达被视为有价值肿瘤指标, 与 HCC 疾病进展情况、疾病预后有一定联系。Ma 等^[37-38] 研究报道, 膜蛋白 CD166 是 YAP (癌基因) 的上游调节器, 其增强 YAP 从而抑制肝脏细胞分化, 且这种效应在晚期肝癌中也存在, 同时在晚期肝癌细胞中抑制 YAP 活性能够重建肝脏分化过程, 导致肿瘤回归, 肝脏中 Hippo/YAP 信号途径缺陷会导致肝脏过度生长并发展为

HCC。其中 CD166 功能发挥表现在 HCC 中是致癌作用, CD166 是 YAP 的上游调节器。Yu 等^[39] 研究显示敲除 CD166, 抑制磷酸化抗致癌 FOXO (转录调节因子) 蛋白; 而过度表达 CD166 不仅加快 FOXO 蛋白质降解率, 而且有着较对照组更多的泛素化 FOXO 转录调节因子, 因为 CD166 的表达上调导致 AKT 活化, 从而促进磷酸化和降解 FOXO。Ma 等^[40] 采取 western blot、ELISA 测定 421 份 HCC 患者血清 CD166 水平, CD166 阈值取 261 ng/ml, 结果显示灵敏度 100.00%, 特异度 89.41%; CD166 促进细胞增殖, 但同时抑制细胞迁移; 肝癌患者 CD166 血清表达水平显著高于癌旁组织和健康人; 在手术切除原发病灶后, 其血清水平显著减少; 其水平与 γ -GT、胆汁酸、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP) 成正相关, 与 Alb 和 pre-Alb 呈负相关。CD166 是一种精确的血清标志物, 用于肝癌的诊断和复发监测, 灵敏度和特异性高于 AFP。建议临床实施血清 CD166 测定作为 HCC 标准检测, 但其诊断阈值还有待研究。

5 总结

本综述概述多种 HCC 的生物标记物及其生物代谢特征, 在考虑生物标志物的应用时, 应认真考虑不同地区种族的生物代谢特征。传统的 HCC 诊断肿瘤标记物如血清 AFP 等, 在敏感性和特异性上不能做到早期有效诊断, 而肝癌的有效治疗窗口期主要在早期, 因而对于新的有效的肝癌肿瘤标记研究是迫切的。我国 HCC 患者多数与乙肝病毒相关, AFP 对于筛查诊断 HCC 的重要性不会改变。而与 AFP 有互补诊断的肿瘤标记物有 DCF、EFG、GPC3、miRNA、AFP-L3、AFU。上述指标与 AFP 的联合诊断可提高 HCC 诊断的特异性; 其中 GP73 特异性最佳, 可作为有效的鉴别诊断指标。GP73 与 AFP 的联合诊断总敏感性高达 96.52%, 特异为 87.46%, GP73 可作为将来诊断 HCC 的较好标志物之一。然而联合诊断在提高敏感性特异性同时一定程度会增加患者的医疗费用。CD166 作为肝癌重要潜在诊断标志物, 其敏感性、特异性均较高, 虽其他实体瘤也可检测但其血清水平远低于 HCC 组; 其是否能替代 AFP 成为新的诊断监测指标, 还有待进一步的临床实践检验。AFP-L3、DCP、mi-RNA、AFP-mRNA、SALL4、CDH17 在判断 HCC 预后、评定转移、评价疗效等方面有重要的临床价值。OPN 对早期 HCC 且 AFP 阴性 HCC 诊断有一定价值。此外 CDH17 对将来 HCC 的靶向治疗有一定的研究价值。多种肿瘤标记物联合检测可提高 HCC 的诊断的阳性率, 具有更高的敏感性、特异性的新的肿瘤标志物 GP73、CD166 有望成为新的肝癌标记。

参考文献

- [1] Mukozu T, Nagai H, Matsui D, et al. Serum VEGF as a tumor marker in patients with HCV-related liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(3): 1013-1021.
- [2] 郭威, 陈谦, 李淑群, 等. 肝细胞癌组织中 HSP27、VEGF 的表达变化及意义[J]. *山东医药*, 2011, 51(30): 13-14.
- [3] 郑海伦, 赵睿, 李大鹏, 等. 肿瘤标志物 DCP 和 AFP 在原发性肝

- 癌中的诊断价值[J]. 中华全科医学, 2016, 14(1): 29-31.
- [4] Marrero JA, Su GL, Wei W, et al. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in american patients [J]. *Hepatology*, 2003, 37(5): 1114-1121.
- [5] Volk ML, Hernandez JC, Su GL, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma may impair the performance of biomarkers: a comparison of AFP, DCP, and AFP-L3 [J]. *Cancer Biomark*, 2007, 3(2): 79-87.
- [6] 熊利华, 陈春琴, 张春峰, 等. 血清 α -L-岩藻糖苷酶与甲胎蛋白和糖类抗原 19-9 在原发性肝癌诊断中的作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(4): 263-264.
- [7] 黄鑫刚, 史小波, 郭新荣. α -L-岩藻糖苷酶联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌诊断中的临床评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(7): 779-780.
- [8] Borel F, Konstantinova P, Jansen PL. Diagnostic and therapeutic potential of miRNA signatures in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2012, 56(6): 1371-1383.
- [9] Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, et al. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 1955.
- [10] Huang S, He X. The role of microRNAs in liver cancer progression [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(2): 235-240.
- [11] Qi P, Cheng SQ, Wang H, et al. Serum microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28486.
- [12] Zuo D, Chen L, Liu X, et al. Combination of miR-125b and miR-27a enhances sensitivity and specificity of AFP-based diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6539-6549.
- [13] Barshack I, Meiri E, Rosenwald S, et al. Differential diagnosis of hepatocellular carcinoma from metastatic tumors in the liver using microRNA expression [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(8): 1355.
- [14] Liu AM, Yao TJ, Wang W, et al. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study [J]. *BMJ Open*, 2012, 2(2): e000825.
- [15] Joo M, Chi JG, Lee H. Expressions of HSP70 and HSP27 in hepatocellular carcinoma [J]. *J Korean Med Sci*, 2005, 20(5): 829-834.
- [16] 李永勤, 陈浩, 耿坤静, 等. AFP、APF-L3、GP73、AFP-mRNA 联合检测在肝细胞癌诊断中的应用价值[J]. 河北医药, 2012, 34(5): 648-650.
- [17] 韩风, 邱大鹏, 陈伟瑜, 等. 甲胎蛋白异质体和甲胎蛋白信使核糖核酸用于诊断肝细胞癌[J]. 中国临床医学, 2010, 17(1): 45.
- [18] 韩风, 邱大鹏, 陈伟瑜, 等. 甲胎蛋白异质体和甲胎蛋白信使核糖核酸用于诊断肝细胞癌[J]. 中国临床医学, 2010, 17(1): 45.
- [19] 傅央波, 陆枫林. 肝细胞肝癌血清标志物的研究进展[J]. 东南大学学报(医学版), 2011, 30(4): 662-666.
- [20] 王亚婷, 何彩霞, 卢振辉, 等. SALL4 在肝癌中的表达及其对预后的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2016, 37(1): 113.
- [21] 马从乾, 王雅, 赵星, 等. 肝细胞肝癌中 SALL4 蛋白表达及其临床病理意义[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(10): 2714-2715.
- [22] Su MC, Yuan RH, Lin CY, et al. Cadherin-17 is a useful diagnostic marker for adenocarcinomas of the digestive system [J]. *Mod Pathol*, 2008, 21(11): 1379-1386.
- [23] Lee NP, Poon RT, Shek FH, et al. Role of cadherin-17 in oncogenesis and potential therapeutic implications in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1806(2): 138-145.
- [24] Takamura M, Yamagiwa S, Wakai T, et al. Loss of liver-intestine cadherin in human intrahepatic cholangiocarcinoma promotes angiogenesis by up-regulating metal-responsive transcription factor-1 and placental growth factor [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(1): 245-254.
- [25] Daniele B, Bencivenga A, Megna AS, et al. Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(5 Suppl 1): S108-S112.
- [26] 徐建波, 祁付珍, 魏天翼, 等. 肝细胞肝癌血清 AFP 值与 HBV 感染的关系[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(12): 2900-2902.
- [27] Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status [J]. *J Hepatol*, 2001, 34(4): 570-575.
- [28] 吕强声, 武寿荣, 吴玮, 等. 肝癌特异性 AFP 及端粒酶活性联合分析对肝癌的诊断价值[J]. 天津医药, 2008, 36(11): 846-849.
- [29] 孔颖, 蒯淑梅, 王维娟, 等. 血清高尔基体蛋白 73 诊断原发性肝癌价值探[J]. 实用肝脏病杂志, 2013, 16(4): 341-343.
- [30] Mao Y, Yang H, Xu H, et al. Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. *Gut*, 2010, 59(12): 1687-1693.
- [31] 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.
- [32] Fu WM, Zhang JF, Wang H, et al. Heat shock protein 27 mediates the effect of 1,3,5-trihydroxy-13,13-dimethyl-2H-pyran [7,6-b] xanthone on mitochondrial apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(15): 4833-4843.
- [33] Shang S, Plymouth A, Ge S, et al. Identification of osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2012, 55(2): 483-490.
- [34] 黄兴智, 刘玉冬. 肝细胞癌 GPC3 蛋白表达与预后分析[J]. 辽宁医学院学报, 2014, 35(3): 44-45.
- [35] 周赞, 谈治雄, 胡栋平, 等. 抗人 GPC3 单克隆抗体在肝脏肿瘤组织学检测中的应用[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(7): 711.
- [36] 苏宁, 郑大勇, 陈斌, 等. 应用组织芯片技术检测 GPC3 蛋白在肝细胞癌及其他肿瘤中的表达[J]. 广东医学, 2009, 30(9): 1312.
- [37] Ma L, Wang J, Lin J, et al. Cluster of differentiation 166 (CD166) regulated by phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)/AKT signaling to exert its anti-apoptotic role via yes-associated protein (YAP) in liver cancer [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(10): 6921-6933.
- [38] Ma L, Pan Q, Sun F, et al. Cluster of differentiation 166 (CD166) regulates cluster of differentiation (CD44) via NF- κ B in liver cancer cell line Bel-7402 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451(2): 334-338.
- [39] Yu W, Wang J, Ma L, et al. CD166 plays a pro-carcinogenic role in liver cancer cells via inhibition of FOXO proteins through AKT [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(2): 677-683.
- [40] Ma L, Lin J, Qiao Y, et al. Serum CD166: a novel hepatocellular carcinoma tumor marker [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 441: 156-162.