

- [J]. Transfusion, 1987, 27(2): 138-141.
- [18] Shulman IA. ABO incompatibility missed by Saline immediate spin compatibility testing[J]. Transfusion, 1981, 21(4): 469-470.
- [19] Berry-Dortch S, Woodside CH, Boral LI. Limitations of the immediate spin cross match when used for detecting ABO incompatibility[J]. Transfusion, 1985, 25(2): 176-178.
- [20] Knox-Macaulay H, McDonald R. Diamed-ID microtyping system for detection of major ABO incompatibility[J]. lancet, 1994, 344(8929): 1089.
- [21] Lin-Chu M, Broadberry RE, Tsai SJ. Incidence of ABO subgroups in Chinese in Taiwan[J]. Transfusion, 1987, 27(1): 114-115.
- [22] Lin M, Broadberry RE. Modification of standard western pretransfusion testing for Taiwan[J]. Vox Sang, 2007, 67(2): 199-202.

(收稿日期: 2011-12-29)

原发性肝癌术后复发转移的研究进展

范高祥 综述, 王洪林[△] 审校 (重庆医科大学附属第一医院肝胆外科 400016)

【关键词】 原发性肝细胞癌; 根治性切除术; 复发转移; 分子标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.049 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)13-1630-02

原发性肝细胞癌(HCC)的发病率居恶性肿瘤中第3位。由于该病无特异性临床表现,确诊时多为中晚期,且大于80%的病例同时伴有肝硬化,预后不良。根治性切除术是治疗HCC的主要手段,但术后高复发转移率已成为制约患者术后长期生存的瓶颈,有报道称根治性切除后5年复发率约为60%~70%^[1]。现HCC术后复发转移机制、诊断及防治已成为国内外研究热点,本文就其研究进展作以下报道。

1 基础研究

1.1 癌基因及抑癌基因 癌基因和抑癌基因的异常表达在肝癌细胞增殖、侵袭和转移中起重要作用。Yano等^[2]研究发现合并突变型P53及hMSH2这两种基因突变的肝癌患者术后3年生存率及总生存率均比没有突变的患者明显降低。Schoniger-Hekele等^[3]发现癌基因小鼠双微体扩增基因(MDM-2)可通过使P53基因失活而增强肝癌的侵袭性。

在体外测定和异种移植的肿瘤模型中,研究人员已发现nm23-H1基因表达增加可以抑制肿瘤细胞的迁移和转移潜能^[4]。nm23-H1基因的缺失可以预测肝癌的复发转移^[5]。N-myc下游调节基因2(DRG2)属于NDRG家族,被定义为抑癌候选基因,研究表明NDRG2除了能抑制肿瘤增殖,增加细胞凋亡外,还能抑制肿瘤转移。最新一项研究分析了100例肝癌患者的免疫组化结果,提示NDRG2降低与淋巴结转移、肿瘤分化程度、门静脉栓塞、肿瘤浸润生长方式及肿瘤复发相关,且将肝癌细胞系转染NDRG2后可明显抑制其浸润及转移能力^[6]。

近年来,随着基因芯片技术的发展,利用基因谱预测肝癌的复发转移已成为可能。一项研究采用基因芯片技术在全基因组范围内比较40例伴或不伴肝内转移的肝癌基因谱表达,发现在9180个基因中153个基因表达存在差异,且仅与是否伴有转移相关。这项技术的发展为预测肝癌术后复发转移提供了有力的支持。

1.2 MicroRNAs 近年来,microRNAs在肝癌复发转移中体现出越来越重要的作用。MicroRNAs是一类内生的,长度约20~24个核苷酸的小RNA,其在细胞内具有多种重要的调节作用。研究发现超过50%的microRNA定位在癌相关基因区域或在脆弱区域,microRNA的异常表达在肿瘤的发生、发展、

诊断、治疗和预后评估等方面极具研究价值。Yoon等^[7]发现根治性切除术后肝癌组织中microRNA-221表达增加与肝癌局部短期复发相关,并且指出小于1次折叠变化的microRNA-221可作为根治性切除患者早期转移的预测因子。Fang等^[8]最近在异种肝癌移植的小鼠模型体内发现MicroRNA-29b能够抑制肝癌细胞转移中的内皮细胞微血管形成及向基质侵袭,研究发现MicroRNA-29b作用的靶点是金属基质酶-2(MMP-2)。利用分子医学技术检测microRNAs,可能成为今后预测肝癌术后复发并进行防治的新思路。

1.3 细胞因子及免疫环境 肝脏切除术造成细胞损伤启动了肝再生机制,使肝细胞生长因子再生。Wang等^[9]发现血清中肝细胞生长因子表达水平在侵袭性病理类型或有肝内转移的肝癌患者中明显增加。肝细胞生长因子受体(c-Met)对于原发性肝癌患者的预后具有指导意义,高度提示肝内复发。研究发现HGF可作用于c-Met,形成了HGF/c-Met信号传导系统,影响肿瘤新生血管的形成和肿瘤细胞对细胞外基质的降解,从而导致肝癌细胞的侵袭、转移。

转化生长因子- β 1(TGF- β 1)是由细胞产生,调节细胞生长与分化。TGF- β 1在癌旁组织和术后患者血清的表达程度与肝癌的组织学分型及肿瘤的恶性程度呈正相关,TGF- β 1持续过度表达可能是导致HCC复发转移和术后免疫功能缺陷的重要因素之一。Li等^[10]发现IL-17A可以通过NF- κ B信号通路上调MMP2和MMP9表达从而促进肝癌的转移,可能与原发性肝癌患者的抗肿瘤免疫存在严重缺陷相关。

在肿瘤侵袭转移过程中,血管生成有着重要的作用。血管内皮生长因子(VEGF)是目前发现的作用最强、特异性最高的血管生成因子。VEGF与特异性受体结合后通过酪氨酸激酶介导的信号传导,调控血管内皮细胞的分化与血管生成,有利于肿瘤的侵袭和转移。Tamesa等^[11]随访32例肝癌患者血清中VEGF的变化,发现高VEGF患者组的生存期较低VEGF组的无瘤生存期短,复发组的血清VEGF水平较未复发组明显增高。胰岛素样生长因子-II,可促进肝癌细胞的增殖分化,间接提高肝癌细胞中血管内皮生长因子的水平,促进肝癌血管形成,亦在术后复发转移中起着重要作用。

1.4 黏附分子 癌细胞与细胞外基质或靶细胞间的黏附是肿

瘤侵袭转移过程中的一个重要步骤,在该步骤中起主要作用的是细胞表面黏附分子。E-选择素是黏附分子中的选择素家族中重要成员,它可以启动肿瘤细胞和内皮细胞的黏附,在肿瘤的转移中具有重要地位。Qian 等^[12]发现 E-选择素在肝癌复发转移组中表达增加,且与术前是否合并门静脉癌栓、肝外转移及卫星病灶相关。

CD44s 蛋白(Cluster differentiation 44 standard isoform)是一种分布极为广泛的细胞表面跨膜糖蛋白,主要参与肿瘤细胞与宿主细胞和宿主基质的黏附,在肿瘤细胞侵袭转移中起促进作用。Ryu 等^[13]对 260 例原发性肝癌患者进行 CD44s 检测发现 CD44s 蛋白表达与肝癌组织分级相关,且与肝癌术后生存期呈负相关。此外细胞间黏附分子-1,整合素家族等也在肝癌术后复发转移中起促进作用。

1.5 其他 Ai 等^[14]通过实验肺转移性模型发现高表达的多聚酶免疫球蛋白受体(pIgR)导致肝癌肺转移,并通过体外实验发现在原发性肝癌细胞株中高表达的 pIgR 可以诱导上皮细胞向间质细胞的转换,与肝癌的转移和复发有着密切联系。

陈荣新等^[15]的研究发现骨桥蛋白表达水平随着肝癌细胞侵袭转移潜能增加逐渐升高,且其水平与肝癌 TNM 分期、是否合并门静脉癌栓及术后复发转移明显相关。表皮生长因子(EGF)可通过激活 PI3K 信号通道诱导骨桥蛋白在肝癌细胞中的表达,对肝癌复发转移起促进作用。

2 临床研究

肝癌术后复发转移分为肝内转移和肝外转移。前者常见于术后早期复发,后者常见于远期复发。Taketomi 等^[16]研究了 252 例肝癌术后复发转移的病例,发现肝外、肝内复发转移的平均时间为 1.8 和 2.2 年。另一项研究分析了 98 例行肝癌根治性切除术后复发患者的病例资料发现,肝癌根治性切除术后早、晚期肝内复发的危险因素不同。其中术前肿瘤破裂出血、卫星灶、血管浸润是早期复发的独立危险因素,而肝硬化及术后高 HBV-DNA 复制状态是晚期复发的独立危险因素。

以上临床研究表明,虽然肝癌的复发转移本质上是由癌细胞的生物学特性决定,但关注其高危因素仍为肝癌根治性切除术后患者预后复发风险预测及早期防治提供了依据。

3 肝癌术后复发转移的早期诊断

目前在临床上诊断原发性肝癌术后复发转移多采用影像和血清学结合的方法,包括定期复查 B 超,及对术前甲胎蛋白(AFP)阳性的患者定期复查血清 AFP 等。Nobuoka 等^[19]研究发现术后 AFP 较术前无明显下降的患者肝癌复发率明显高于下降的患者,肝癌术后甲胎蛋白持续阳性提示残留灶的活动。单独检测血清 AFP 对复发性肝癌的早期诊断率低于 B 超,B 超的早期诊断率又低于 CT,若三者结合将更有助于早期诊断。另外胸部 X 线片及全身骨显像 ECT 已被推荐作为肝癌切除术后常规检查。目前尚无明确证据显示 PET-CT 对于肝癌复发转移有早期诊断价值。

近年来,国内外学者尝试用分子生物学的方法检测血清中 mRNA 水平,期望能找到更加敏感的指标。Marubashi 等^[17]指出外周血 AFP mRNA 阳性预示有癌细胞血源性转移。因此,加强术后对外周血 AFP mRNA 阳性患者的随访可能提高肝癌复发转移灶的早期检出率。由于单个指标敏感性、特异性均不能满足诊断需要,联合检测多种分子已成为目前的研究热点。有学者发现联合分析外周血 AFP 和清蛋白 mRNA 可提高早期诊断准确率。基因芯片技术的出现,为在全基因组范围内研究与肿瘤发生、发展相关的基因变化提供了一个强有力的手段。有人提出利用基因表达谱预测肝癌术后复发,其明显优

于单个或几个临床分子指标,准确度可以达到 73%~93%。

4 治疗及展望

临床上肝癌复发转移的治疗是最为棘手的问题。目前研究表明复发性肝癌的生物学行为及其发展转归与原发性肝癌无异,多个临床研究均表明手术切除仍是肝癌复发治疗的首选方法。罗祥基等^[18]对 267 例行再切除治疗的复发性肝癌患者的临床资料进行回顾性分析发现,二次手术后生存率为 19.4%,平均生存时间为 44 个月,明显优于非手术切除组的生存率。国外有人对比了 312 例行首次肝癌切除和 41 例复发癌再切除的两组病例发现,两组的生存率无显著差别,但后者无瘤生存期明显低于前者。

对于肝癌术后是否需要行肝动脉化疗栓塞术(TACE)目前仍无统一的认识。Ren 等^[19]比较了 185 例肝癌根治性切除术后联合 TACE 治疗和 364 例单纯行肝癌根治性切除术患者,发现对于有危险因素(如肿瘤大于 5 cm、多结节、血管侵犯)的患者术后联合 TACE 可以延长患者生存期,而对于无危险因素者,术后 TACE 并不能延长患者生存期。但仍需更多随机对照研究证实其有效性。另外对合并活动性肝炎的肝癌患者术后行抗病毒治疗,可能为一种有效的方法。目前基因分子靶向治疗、细胞因子免疫治疗、抗黏附及肿瘤血管生成治疗已成为肝癌术后复发转移治疗的研究热点。肝癌根治性切除术后联合上述治疗方式可能为肝癌患者带来福音。

5 结 论

原发性肝癌复发转移受基因、细胞因子、免疫等多方面因素影响,其早期诊断依赖于对肝癌生物学特性的进一步研究。分子靶向治疗、细胞因子免疫治疗等为其治疗开创了一片新天地。对筛选出高危因素患者进行早期分子干预或治疗可能降低肝癌根治术后的复发转移率、延长肝癌患者的生存期。

参考文献

- [1] Shimada K, Sakamoto Y, Esaki M, et al. Analysis of prognostic factors affecting survival after initial recurrence and treatment efficacy for recurrence in patients undergoing potentially curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(8): 2337-2347.
- [2] Yano M, Hamatani K, Eguchi H, et al. Prognosis in patients with hepatocellular carcinoma correlates to mutations of p53 and/or hMSH2 genes [J]. Eur J Cancer, 2007, 43(6): 1092-1100.
- [3] Schoniger-Hekele M, Hanel S, Wrba F, et al. Hepatocellular carcinoma—survival and clinical characteristics in relation to various histologic molecular markers in Western patients[J]. Liver Int, 2005, 25(1): 62-69.
- [4] Marino N, Marshall JC, Steeg PS. Protein-protein interactions: a mechanism regulating the anti-metastatic properties of Nm23-H1[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2011, 384(4-5): 351-362.
- [5] Liu YB, Gao SL, Chen XP, et al. Expression and significance of heparanase and nm23-H1 in hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(9): 1378-1381.
- [6] Zheng J, Li Y, Yang J, et al. NDRG2 inhibits hepatocellular carcinoma adhesion, migration and invasion by regulating CD24 expression[J]. BMC Cancer, 2011, 11(251): 1-9.
- [7] Yoon SO, Chun SM, Han EH, et al. Deregulated expression of microRNA-221 with the potential(下转第 1659 页)

1.3.3 判断方法 在 700 份尿液标本中, H-800 检测结果以白细胞大于或等于 25/ μ L, 显微镜检查以白细胞大于或等于 5/hp, 以此标准判断结果, 超出者为阳性。

2 结 果

在 700 份尿液标本中, 尿沉渣分析仪检测尿白细胞阳性的有 86 例, 占 12.2%; 显微镜镜检阳性的有 77 例, 占 11.0%。其中尿沉渣分析仪检测假阳性有 9 例, 后者经显微镜镜检可见真菌 1 例、上皮细胞 6 例、结晶 2 例, 见表 1。

表 1 迪瑞 H-800 和显微镜检查结果[n(%)]

项目	阳性	阴性	假阳性
尿沉渣分析仪	86(12.2)	614(87.7)	9(1.3)
显微镜	77(11.0)	623(89.0)	0(0.0)

3 讨 论

迪瑞 H-800 全自动尿沉渣分析仪的检测原理是采用流式细胞术和电阻抗技术相结合的方法通过对尿中有形成分进行荧光染色, 从而对尿中有形成分进行鉴别和计数^[1]。对于每一份标本检测模式均一致, 不易受主观因素影响, 是一种高效率、高精度的可用于临床治疗监控的尿沉渣过滤检测仪器。但是仍有一些干扰因素, 如大量上皮细胞, 特别是小圆上皮细胞存在时使白细胞计数不同程度增高, 小圆上皮细胞的大小及染色敏感度与白细胞类似而相互干扰^[2]。本次实验小圆上皮细胞干扰白细胞计数病例 6 例, 造成假阳性明显。同样易受细菌等

的干扰, 使 WBC 计数偏高、出现一些假阳性, 故对菌尿需另外进行镜检。此外还发现在一些肾脏疾病的患者中, 还容易将上皮细胞误认为是白细胞, 滴虫患者中也可将滴虫误认为白细胞。而且尿中融合上皮细胞的检出, 对流行性出血热的早期诊断有一定价值。还可以检测出有意义的结晶, 如药物结晶^[3-4]。

全自动尿沉渣分析仪的出现使检测速度加快, 极大减轻了检验工作者的工作量, 但也受到许多因素的干扰, 尿中有形成分复杂, 形态大小不一, 易出现假阳性, 应进行显微镜复查提高尿沉渣检验质量^[5]。

参考文献

[1] 马丽, 梁陶, 袁汉尧, 等. UF-100 尿沉渣分析仪中荧光相关指标的意义探讨[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(6): 372-373.

[2] 胡正强, 邹胜杰. 上皮细胞对尿沉渣自动化分析仪白细胞检测的影响[J]. 江西医学检验, 2004, 22(5): 431.

[3] 李岱文. 400 例尿液分析检测与镜检结果对比较[J]. 中国医药指南, 2008, 6(17): 354-355.

[4] 周勇, 王佩捷. 几种尿液定量分析检查方法比较的体会[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(4): 359.

[5] 周利霞, 帖彦清, 聂贵红. 尿沉渣分析仪红细胞假阳性的原因探讨[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(11): 1811.

(收稿日期: 2011-12-25)

(上接第 1631 页)

for prognostic biomarkers in surgically resected hepatocellular carcinoma[J]. Hum Pathol, 2011, 42(10): 1391-1400.

[8] Fang JH, Zhou HC, Zeng C, et al. MicroRNA-29b suppresses tumor angiogenesis, invasion, and metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 expression[J]. Hepatology, 2011, 54(5): 1729-1740.

[9] Wang SM, Ooi LL, Hui KM. Upregulation of Rac GTPase-activating protein 1 is significantly associated with the early recurrence of human hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(18): 6040-6051.

[10] Li J, Lau GK, Chen L, et al. Interleukin 17A promotes hepatocellular carcinoma metastasis via NF- κ B induced matrix metalloproteinases 2 and 9 expression[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e21816.

[11] Tamesa T, Iizuka N, Mori N, et al. High serum levels of vascular endothelial growth factor after hepatectomy are associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Hepatogastroenterology, 2009, 56(93): 1122-1126.

[12] Qian SK, Chen D, Li Y, et al. Effects of E-selectin and their ligands on the adhesive metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Zhong Hua Gan Zang Bing Za Zhi, 2010, 18(6): 440-444.

[13] Ryu HS, Park SH, Lee KB, et al. Expression of the Transmembrane Glycoprotein CD44s Is Potentially an

Independent Predictor of Recurrence in Hepatocellular Carcinoma[J]. Gut Liver, 2011, 5(2): 204-209.

[14] Ai J, Tang Q, Wu Y, et al. The role of polymeric immunoglobulin receptor in inflammation-induced tumor metastasis of human hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(22): 1696-1712.

[15] 陈荣新, 叶胜龙, 李涛, 等. 骨桥蛋白在不同转移潜能肝癌细胞系及肝癌组织中表达意义[J]. 中华肝胆外科杂志, 2009, 15(4): 279-282.

[16] Taketomi A, Toshima T, Kitagawa D, et al. Predictors of extrahepatic recurrence after curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(10): 2740-2746.

[17] Marubashi S, Nagano H, Wada H, et al. Clinical significance of alpha-fetoprotein mRNA in peripheral blood in liver resection for hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(8): 2200-2209.

[18] 罗祥基, 陈汉, 吴孟超, 等. 原发性肝癌术后肝内复发与肝外转移再手术切除疗效分析[J]. 中国肿瘤, 2005, 14(3): 158-160.

[19] Ren ZG, Lin ZY, Xia JL, et al. Postoperative adjuvant arterial chemoembolization improves survival of hepatocellular carcinoma patients with risk factors for residual tumor: a retrospective control study[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(19): 2791-2794.

(收稿日期: 2011-12-10)