

乙型肝炎的防治及相关检验指标研究进展

马作新 综述, 李 玲 审校

(辽宁省人民医院检验科, 大连 110016)

关键词: 肝炎, 乙型; 治疗; 研究**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.12.030**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)12-1332-04

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染所引起的乙型肝炎(简称乙肝)是发病率最高的传染病之一,虽然献血员筛查和疫苗接种等预防措施在一定程度上能够降低乙肝发病率,但目前全世界仍有 3 亿 HBV 感染者。彻底清除感染机体的 HBV 依赖于免疫系统的有效参与。尽管核苷类似物及干扰素(interferon, IFN)在治疗慢性乙肝方面取得了一定的效果,但对疗效的评价及治疗应答的预测,主要依赖于对患者免疫状态的监测以及病毒定量检测。因此检测 HBV 抗原和机体产生的特异性抗体,以及对宿主免疫应答状况的监测,对于研究感染的自然史和指导相应的诊断、治疗至关重要。

1 乙肝的预防

中国是 HBV 感染高发地区,母婴传播是 HBV 传播的主要途径之一。接种乙肝疫苗可有效阻断母婴传播,然而仍有 5%~15% 高危新生儿免疫失败或不产生 HBsAb,呈无应答状态^[1-2]。研究表明早期诱导特异性细胞免疫是乙肝疫苗阻断母婴传播的关键^[3]。现行的免疫措施应用于阻断母婴传播时,仍存在免疫失败或不能产生有效免疫应答(即抗 HBV 的滴度小于 10 mIU/mL)的可能。免疫失败或不能产生有效免疫应答有多方面的原因,如孕妇血清病毒含量、疫苗种类和质量、接种部位和途径以及接种程序和剂量等;其次是机体因素,如吸烟、饮酒、性别、年龄、体质质量指数、精神压力、机体免疫功能低下、合并其他疾病等^[4]。

廖雪雁等^[5]研究发现接种重组 CHO 疫苗的儿童 HLA-DRB1*15 在抗体无应答的儿童中出现的频率显著高于免疫成功的儿童;在接种酵母乙肝疫苗的儿童中,HLA-B*48 在抗体免疫无应答的儿童中占有较高频率。因此,接种免疫铝佐剂的乙肝疫苗后无应答反应,即对 HbsAg 耐受的人群应注射新型佐剂的乙肝疫苗,以打破免疫耐受。

DNA 疫苗诱导免疫反应的效率相对较低,因此实际应用受到限制。应用细胞因子作为佐剂是一种行之有效的办法。研究表明,应用白介素-2(interleukin-2, IL-2)为佐剂,将人免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)的 Fc 部分与 IL-2 融合构建于真核表达载体中,构建非细胞溶解性的细胞因子/免疫球蛋白融合体,可延长 IL-2 在体内的半衰期;以质粒形式接种,可减少其用量和毒性作用,也可避免 IL-2 治疗时细胞因子峰值的出现,这可能与避免激活 NK 细胞上的可溶性白介素受体(interleukin receptors, IL-Rs),从而避免高亲和性 IL-2Rs 靶向激活细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)有关,有利于实现效应高、毒性小的低剂量免疫^[5]。用携带 HBV 抗原基因的腺病毒转染树突状细胞(dendritic cells, DCs),不但可以使 DCs 得到高效转染,而且可持续表达抗原,使抗原在

DCs 内得到有效加工处理,以多个抗原表位提呈给 T 淋巴细胞,产生特异性抗 HBV 感染免疫反应,为研制抗 HBV 感染的治疗性疫苗拓展了思路^[6]。

2 HBV 复制相关检验指标

2.1 HBV DNA HBV DNA 是 HBV 存在及复制的标志,对协助临床诊断 HBV 感染现状以及抗病毒治疗疗效观察等具有重要意义。HBV DNA 和 DNA-P(具逆转录活性的 DNA 多聚酶)检测的临床应用曾十分广泛,直至完全被更敏感、快速的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)所代替^[7]。

上世纪 80 年代末、90 年代初,PCR 技术因其敏感、特异、快速而得以广泛应用。传统的 PCR 产物检测采用电泳法,电泳过程中溴化乙锭插入双链 DNA,经紫外光激发产生荧光, DNA 含量为 1 ng 时即可检出。定性 PCR 的敏感度则提高至 10 fg/mL,为前者的 100 倍。

实时定量 PCR 是目前临床检测血清 HBV DNA 常用的分子生物学方法。该系统充分利用 Taqman 酶独特的生物学活性和荧光激发、淬灭性质,分别合成携有荧光基因和淬灭基团的近距引物、探针。在循环进行中即可检测荧光强度并用软件与内参比较进行定量分析。

HBV 属正嗜肝 DNA 病毒,其基因组 DNA 为松弛环状 DNA(relaxed circular DNA, rcDNA),进入肝细胞核后转换为共价闭环环状 DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)。HBVcccDNA 是信使 RNA(messenger RNA, mRNA)和前基因组 RNA(pregenome, pgRNA)合成的模板,在整个自然病程中持续存在^[8]。目前,应用的抗病毒药物,如核苷类似物 α -IFN 能够有效抑制外周血中的 HBV DNA,但对细胞核内 cccDNA 的影响甚微^[9]。李军等^[10]研究发现,应用以 SYBR Green 荧光染料和 β -Globin 作为样本细胞参照所建立的实时荧光定量 PCR 检测肝细胞内 HBVcccDNA,具有较高的特异性、敏感性,且成本较低。

2.2 HBeAg HBV DNA 全基因克隆、测序工作的完成为免疫和分子生物学检测奠定了基础。研究表明, HBeAg 由前 C 区和 C 区共同编码,在启动前 C 区起始密码翻译后切割引导肽和 C 区 C 末端部分多肽后分泌进入血液成为 HBeAg。前 C 区 G1896→A 变异导致产生终止密码 TAG,以至 HBeAg 缺失;前 C 区 C 区启动子 A1762→T 和 G1764→A 的双变异,使得前 C 区 mRNA 产生减少,也会使 HBeAg 分泌减少。HBeAg 阳性程度和滴度大小与 HBV 复制及传染性强弱呈正相关,但前 C 区或 C 区发生启动子/终止密码突变时,可表现为 HBeAg 阴性。这些 HBV 变异株与重型肝炎或慢性肝炎恶化有关。仅以 HBeAg 作为判断 HBV 复制活跃与否的指标是

不够的^[11]。因此,HBsAg 阴性或 HBeAb 持续阳性的乙肝患者,需检测前 S1(Pre-S1)或前 S2 (Pre-S2)抗原,以了解 HBV 复制程度。

2.3 Pre-S1、Pre-S2 抗原 HBsAg 包括前 s(Pre-S)、Pre-S1 和 Pre-S2 共 3 种蛋白,分别由 s 区、pre-S1 区、pre-S2 区编码。Pre-S1 由 108~110 个氨基酸残基组成,其 21~47 位氨基酸为肝细胞膜受体。Pre-S2 含 55 个氨基酸残基,其 C 端与 HBsAg 的 N 端相连,而 N 端 109~133 位氨基酸为聚合人血清蛋白受体^[12]。

多项研究发现 Pre-S1 与 HBV DNA 水平高度相关,是十分重要的病毒复制指标。有研究以探针原位杂交技术检测了慢性乙肝患者肝组织内 HBV DNA 与肝细胞内 HBsAg、HbcAg、Pre-S1 和 Pre-S2,结果显示 Pre-S1 和 Pre-S2 的表达主要位于肝细胞胞浆内,部分位于胞膜上;Pre-S1 阳性率高达 75%,显著高于 Pre-S2 的 35%^[13]。更重要的是,Pre-S1 的表达与 HBV DNA 及 HBcAg 的表达相平行,证实 Pre-S1 可能主要在 HBV 复制阶段表达^[14]。Pre-S2 较 S 蛋白具有更强的免疫原性,能提高机体对 S 蛋白的免疫反应,诱导产生中和抗体和保护性免疫反应,在保护机体免受 HBV 感染中可能有重要作用。Pre-S1、Pre-S2 的持续存在表明有病毒复制和病毒颗粒存在,往往与 HBeAg 及 HBV DNA 同时相伴。此外,研究表明 HBV 膜蛋白 55 氨基酸的 Pre-S2 区有强免疫原性,包含较强的 T 和 B 细胞表位,所诱导产生的抗体能对 HBV 感染提供血清保护作用^[15]。

2.4 HBcAg 由于 HBcAg 主要在核内装配为病毒核心,无引导肽而不易透过细胞膜(质膜表面的 HBcAg 被认为是免疫细胞攻击的靶抗原)进入血液,属碱性蛋白易诱导产生抗体以及在血液中易被蛋白酶水解,因此常规方法不能检出 HBcAg。HBcAg 富含碱性氨基酸,免疫原性强,加之 HBV 在血液中滴度高、持续时间长,抗体滴度高而持久,即使在病毒消失后,HBcAb 仍能持续十年以上。由于上述原因,HBcAg 的检测方法目前采用的是抗体竞争抑制法或抗体捕捉法^[14]。

由于缺少高效的体外 HBV 增殖系统,也很难从 HBV 感染者的肝脏分离到足够的 HBcAg,因此制备 HBcAb 所需的 HBcAg 多来源于用基因工程技术制备的重组抗原。大肠杆菌所表达的 HBcAg 将缺失一部分 HBV 感染者体内的 HBcAg 所具有的非线性表达,无法与相应的特异性抗体结合,有可能导致漏检。而用毕赤酵母表达系统替代大肠杆菌表达系统进行 HBcAg 的表达并用于免疫检测,可提高抗原质量。毕赤酵母表达系统是近发展起来的高效真核生物表达系统,能对表达产物进行多种表达后修饰;重组蛋白具有正确的折叠及由此产生的非线性表位,当作为重组抗原时,能拥有与原本母抗原相近的表位(包括线性表位及非线性表位),具有良好的反应性^[16]。

3 乙肝患者病情进展相关检验指标

3.1 酶学指标 反映肝功能的酶学指标在肝病诊断及治疗中具有十分重要的作用,部分已成为临床不可缺少的常规指标。血清天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferases,AST)和丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferases,ALT)是迄今为止应用最广泛的反映肝细胞损害的酶学指标。AST 和 ALT 在肝脏中的活性分别是血清中的 7 000 倍和 3 000 倍。ALT 只

存在于肝细胞浆中,而 AST 在肝细胞浆内只占 20%,其余 80%存在于线粒体中。各种肝病均可引起血清 ALT 升高。病毒性肝炎患者 ALT 活性一般很少大于参考范围上限的 10 倍,急性病毒性肝炎加盟总金额 ALT 活性可达到参考范围上限的 10~40 倍,而药物性肝炎或缺血性肝病患者 ALT 活性最高可大于参考范围上限的 40 倍。氨基转移酶水平可反映慢性肝病患者疾病的活动性。为了提高血清氨基转移酶测定的诊断和鉴别诊断价值,临床上引入了 AST/ALT 比值。当肝细胞变性,细胞膜通透性增加时,从细胞内逸出的主要是 ALT;而当肝细胞严重病变、坏死时,线粒体内 AST 便被释放出细胞^[17]。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)由肝细胞合成分泌,自胆管排泄,半衰期为 3 d。不同肝病按 ALP 升高程度由高到低依次为胆汁淤积、肝癌、肝细胞损伤。胆管内压增高可使肝脏合成 ALP 增多,而胆道排泄障碍,导致血中 ALP 显著增加。血清 ALP 高于参考值 2.5 倍,氨基转移酶不超过参考值 8 倍的患者,90%为胆汁淤积。ALP 的增高可先于黄疸出现,一般血清 ALP 与胆红素增加多呈平行关系,当两者发生分离时,如胆红素/ALP 比值增大,表示肝脏损害严重且不断发展;其比值减少应考虑局限性肝病。ALP 显著增加,而胆红素和 ALT 不升高时应考虑肝癌。

血中 γ -谷氨酰转氨酶(γ -glutamyltransferase,GGT)主要来源于肝脏,由肝细胞线粒体产生,局限于细胞浆及肝内胆管上皮中,从胆道排泄。急性肝炎时 GGT 升高,而处于恢复期,但其他肝功能指标均已恢复正常时,GGT 尚未恢复正常,提示肝内残存病变,肝炎尚未痊愈。如反复波动或长时间维持较高水平,则应考虑有向慢性肝炎转变的趋势。

受方法学的限制,一些血清酶(如谷氨酸脱氢酶、醛缩酶、亮氨酸氨基肽酶等)虽然发现很早,但未能应用于临床。随着方法学的日趋完善,这些酶在临床诊治中的应用将逐渐广泛。

3.2 肝脏纤维化的早期诊断指标 肝脏纤维化是不同病因所致慢性肝损伤共有的反应,也是慢性肝炎向肝硬化发展的必经阶段。肝纤维化是个可逆的病理过程,如能在肝纤维化早期及时诊断和阻断其病理进展,可显著改善慢性病毒性肝炎的预后。

肝纤维化是由各种因素引起肝细胞脂肪变性、坏死及炎症后,在坏死区发生胶原纤维增生,细胞外基质过度增生和沉积而形成。能反映肝纤维化的指标较多,其中血清透明质酸(hyaluronic acid,HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(precollagen Ⅲ, PCⅢ)和Ⅳ型胶原(type Ⅳ collagen,Ⅳ-C)的应用较为广泛。HA 属蛋白多糖,是构成肝细胞外基质的主要成分,可被肝窦内皮细胞摄取、降解;肝细胞受损可影响内皮细胞功能,使血清 HA 含量升高。LN 是主要的基底膜糖蛋白,在肝纤维化发展过程中,LN 沉积于 Dissee 空隙,用于形成完整的内皮细胞基底膜。LN 与肝纤维化的形成有重要关系,是门静脉高压发生的主要基础,血清 LN 水平常与Ⅳ-C、HA 相平行。Ⅳ-C 组成肝内皮细胞与肝细胞之间的功能性基底膜,肝纤维化时基底膜的形成和破坏均增加,致使血清Ⅳ-C 水平升高。细胞外基质主要以胶原蛋白为基本结构,肝纤维化时胶原细胞增生和活化,Ⅲ型胶原合成增加,导致血清 PCⅢ水平升高^[18-19]。因此血清 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平可作为判断慢性肝炎纤维化活动程度的依据,并指导临床及时进行抗肝纤维

化治疗。

3.3 肝癌相关检验指标 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)广泛用于肝癌的筛查和诊断, AFP $\geq 400 \mu\text{g/L}$ 对影像学高度怀疑肝癌的肝内占位性病变具有确诊价值,但灵敏度仅为 30%~40%。近年来人们对 AFP 的诊断价值提出了质疑。大多数肝癌发生在慢性肝病基础上,约 20%~25%的肝炎和肝硬化患者血清 AFP 中等水平升高,仅以 AFP 很难鉴别肝内良恶性病变。磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)是新近发现的肝癌特异性标志^[20]。GPC3 是通过糖基磷脂酰肌醇(glycosyl-phosphatidyl inositol, GPI)锚定于细胞膜表面脂质的硫酸类肝素蛋白聚糖,参与调节胚胎生长发育。GPC3 在 80%~90%肝癌组织中的表达水平显著上调,在健康成人组织和其他肿瘤组织中低水平表达或不表达,约 50%肝癌患者血清中可检测到高水平的可溶性 GPC3。GPC3 在分化较好的直径小于 3 cm 肝癌中即有较高的阳性表达率(76%),在发良不良的结节和再生结节中极少表达,作为组织学标志物有助于鉴别肝内良恶性病变^[20-21]。因此, GPC3 联合 AFP 可提高诊断肝癌的灵敏度,特别是对于 AFP 阴性的肝癌患者。但 GPC3 可否用于早期肝癌的诊断及疗效评价仍需进一步研究。

4 乙肝的治疗

目前慢性乙肝的治疗主要有 α -IFN 和拉米夫定。 α -IFN 为非特异性抗病毒药物,且有免疫调节作用。拉米夫定为抗病毒药物,是一种双脱氧核苷类似物,吸收后在体内代谢成为拉米夫定三磷酸化物 3TC-TP。HBV 在复制过程中存在 pgRNA 的逆转录过程, 3TC-TP 在逆转录过程中可掺入到新合成的 DNA 链中,由于其戊糖环为双脱氧硫代呋喃糖环,不具有 3'羟基,不能形成磷酸二酯键,所以可以阻止下一个核苷酸的掺入,从而达到抑制 HBV 复制的目的。由于拉米夫定对已形成的 cccDNA 不起作用,所以需要长期治疗才能清除已形成的 cccDNA。在临床治疗中发现,随着治疗时间延长,部分患者出现对拉米夫定耐药现象(在治疗的第 1、2、3、4、5 年耐药率分别为 15%、38%、55%、67%、69%),表现为 HBV 滴度增高、氨基转移酶升高等^[22]。此外,活跃的病毒复制也容易导致耐药株的出现。HBV 聚合酶区由 A-F 7 个基元序列构成,催化的核心部位酪氨酸-甲硫氨酸-天冬氨酸-天冬氨酸(氨基酸缩写为 YMDD)四肽基元序列位于 C 基元序列,其中 550 位的甲硫氨酸突变为异亮氨酸或缬氨酸(M550I/V)是拉米夫定耐药的最常见突变部位。目前,用于 HBV 拉米夫定耐药株监测的方法主要有血清 HBV DNA 测定、HBV DNA 聚合酶基因序列测定、位点特异性引物扩增 HBV DNA、HBV PCR 产物限制性片段长度多态性分析、线性探针分析、肽链核苷酸介导的特异性突变序列扩增等^[23-25]。

总之,在乙肝的诊治及监测中,血清 HBV DNA 测定虽然是非特异性指标,却是慢性肝炎包括拉米夫定治疗过程中的重要指标,可为临床提供重要的信息。此外,新的核苷类似物,如阿德韦(Adefovir)和恩特卡韦(Entecavir)都在进行临床试验,一旦应用于临床有助于提高乙肝的治疗效果。

参考文献

[1] Lemon SM, Thomas DL. Vaccines to prevent viral hepatitis[J]. N Engl J Med, 1997, 336(3):196-204.

[2] Alper CA. The human immune response to hepatitis B surface antigen[J]. Exp Clin Immunogenet, 1995, 12(3):171-181.

[3] Wahl M, Iwarson S, Sony P, et al. Failure of hepatitis B immune globulin to protect against exp infection in chimpanzees[J]. J Hepatol, 1989, 9(2):198-203.

[4] Gandhi RT, Wurcel A, Lee H, et al. Response to hepatitis B vaccine in HIV-1-positive subjects who test positive for isolated antibody to hepatitis B core antigen: implications for hepatitis B vaccine Strategies[J]. Infect Dis, 2005, 191(9):1435-1441.

[5] 廖雪雁, 梁争论, 李艳萍, 等. 细胞免疫和遗传因素对乙型肝炎阻断母婴传播效果的影响[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(12):1070-1075.

[6] 黄呈辉, 欧阳玲, 黄建国, 等. HBV 抗原基因修饰树突状细胞疫苗体外抗 HBV 的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(4):333.

[7] 刘锡光. 病毒性肝炎实验诊断学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999.

[8] Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy [J]. Gastroenterology, 2004, 126(7):1750-1758.

[9] Moraleda G, Saputell J, Aldrich CE, et al. Lack of effect of antiviral therapy in nondividing hepatocyte cultures on the closed circular DNA of woodchuck hepatitis virus[J]. J Virol, 1997, 71(12):9392-9399.

[10] 李军, 宋培新, 韩亚萍, 等. 慢性 HBV 感染者肝组织 HBVcccDNA 的定量检测[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(6):625-630.

[11] Funk ML, Rosenberg DM, Lok AS. World-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core promoter variants[J]. J Viral Hepat, 2002, 9(1):52-61.

[12] 王鸿利. 实验诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001:228-229.

[13] 李琴, 孙桂珍, 魏玉香, 等. 前 S1 蛋白与病毒 DNA 和核心抗原对乙型肝炎病毒复制诊断的对比[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(3):134-136.

[14] 王建, 闵福援. 乙肝病毒血清标志物的检测方法及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(1):113-115.

[15] Cupps TR, Tibbles J, Hurni WM, et al. In vitro T cell immune responses to the preS2 antigen of the hepatitis B virus envelope protein in preS2 + S vaccine recipients. Absence of cross-reactivity of subtypes at a major T cell recognition site[J]. J Immunol, 1993, 151(6):3353-3360.

[16] 梁敏坚, 洪国强, 李朝霞, 等. 乙型肝炎病毒核心基因在毕赤酵母中的表达及表达产物在乙型肝炎病毒核心抗体检测中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(4):417-422.

[17] 孙志强, 毛远丽. 肝病酶学指标及临床应用进展[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(6):659-662.

[18] Patel K, Gordon S, Jacobson I, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients[J]. J Hepatol, 2004, 41(6):935-942.

[19] Wan JY, Wang XL, Liu P. Detection of serum TNF-alpha, IFN-beta, IL-6 and IL-8 in patients with patient B[J]. World Gastroenterol, 1999, 5(2):38-40.

[20] Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, et al. Identification of soluble NH2-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for

early-stage hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64 (12):2418-2433.

[21] Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, et al. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus[J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98(1):144-150.

[22] Leung N. Treatment of chronic hepatitis B: case selection and duration of therapy[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17(4):409-414.

[23] 孙余婕, 沈佐君, 吴赞, 等. 实时荧光 PCR 监测 HBV 感染患者拉

米夫定治疗病毒 YMDD 变异[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30 (5):533-537.

[24] 杨东华, 陈昱湖. 消化系统疾病治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005:837-840.

[25] 赵德, 赵清琳. 乙型肝炎病毒隐性感染诱发肝硬化和肝癌的临床研究[J]. 中华临床医学研究杂志, 2008, 7(14):1035-1036.

(收稿日期:2010-12-10)

• 综 述 •

脱-γ-羧基凝血酶原对肝细胞癌诊治的临床价值

黄 锦 综述, 宋汉明 审校
(安徽省马鞍山人民医院消化科 243000)

关键词:肝肿瘤; 诊断; 脱-γ-羧基凝血酶原
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.12.031 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)12-1335-02

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是常见恶性肿瘤,死亡率居消化系统肿瘤第 3 位。临床上,超过 4/5 的 PHC 患者为肝细胞癌(hepatic cellular cancer, HCC)。防治 HCC 的关键在于早诊断、早治疗。虽然影像诊断技术不断发展,但有一定局限性,肿瘤标志物检测依然不可或缺。甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)是普遍使用的 HCC 血清诊断标志物,但诊断灵敏度只有 40%~60%^[1]。因此,寻找新的肿瘤标志物对 HCC 的早期诊断有重要意义。脱-γ-羧基凝血酶原(Des-γ-carboxy-prothrombin, DCP)又称维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 诱导的蛋白质(protein induced by vitamin K absence or antagonist- II, PIVKA- II)已经被证明有较高的临床应用价值。

1 DCP 的形成机制

生理条件下,经维生素 K 依赖性的羧化酶催化,凝血酶原肽链氨基端的 10 个谷氨酸残基全部羧化,形成有活性的凝血酶。病理条件下,这 10 个谷氨酸残基部分羧化,形成异常凝血酶原(即 DCP)释放入血。理论上,羧化不全的谷氨酸残基可能是 1 个或多个,因此 DCP 具有不同亚结构^[2]。HCC 导致 DCP 产生的原因可能为癌细胞形态变化过程中细胞骨架重排,导致维生素 K 摄取异常^[3];或癌细胞内维生素 K 依赖性的羧化酶存在基因缺陷,造成酶的结构异常、活性改变等^[4]。

2 DCP 在 HCC 进展中的作用

体外研究发现,DCP 具有细胞生长因子活性,可通过 Met-Janus kinase1-STAT3 信号转导通路促进肝癌细胞增殖,并且能刺激血管内皮细胞增殖和迁移,说明 DCP 与肿瘤血管形成密切相关^[5-7]。这些现象表明 DCP 在 HCC 形成和进展过程中起重要作用,有望成为 HCC 治疗的新靶点。

3 DCP 对良、恶性肝病的鉴别诊断价值

DCP 对 HCC 具有很高的诊断灵敏度,研究发现良、恶性肝脏疾病患者血清 DCP 水平差别显著,当诊断临界值为 40 mAU/mL(1 AU 相当于 1 μg)时,其诊断灵敏度为 48%~62%,当诊断临界值为 84 mAU/mL 时,灵敏度高达 87%,高于常用的 HCC 标志物 AFP 或扁豆凝集素结合型 AFP(Lens culinaris agglutinin-reactive AFP, AFP-L3),但存有争议^[8-12]。DCP 诊断特异性高于 AFP 已得到一致认同,其诊断特异性通常在 82%~98%^[13]。重要的是,DCP 与 AFP 诊断 HCC 时相

互独立、互相补充。

Marrero 等^[14]以美国人群为研究对象,设立健康组、慢性肝炎组、肝硬化组、HCC 组共 207 例受试者,血清检测结果表明,DCP 水平由高到低依次为 HCC、肝硬化、肝炎,以 40mAU/mL 作为诊断临界值,其诊断灵敏度高达 89%、特异性为 95%,均高于 AFP;在 AFP 阴性的 HCC 患者中,约 60%呈 DCP 阳性。Tang 等^[15]检测 DCP 在血清、组织中的表达,发现癌组织中 DCP 水平高于癌旁组织,且两者均与预后相关,血清与组织 DCP 均升高的患者生存时间最短。

针对 DCP 已制备了 2 种单克隆抗体:MU-3 和 19B7。其中, MU-3 对肝癌细胞诱生的 DCP 反应性高,而 19B7 对良性肝病诱生的 DCP 反应性较高。Murakami 等^[16]将 DCP 比率(DCP 比率=用 MU-3 检测的 DCP 值/用 19B7 检测的 DCP 值)引入临床诊断,提高了对 HCC 的诊断特异性。

4 DCP 对早期 HCC 的诊断价值

DCP 对早期 HCC 有较高诊断价值,尤其是对病毒性肝病基础上发生的 HCC 诊断阳性率明显高于 AFP,两者联合检测对早期 HCC 的诊断灵敏度更高^[17-18]。Beale 等^[1]验证了多种血清肿瘤标志物,发现 DCP、AFP 明显优于其他标志物,两者联合检测有助与 HCC 的早期诊断。鉴于部分 HCC 患者血清 DCP、AFP 水平低于诊断界定值,并且影像检查容易漏诊, Lok 等^[19]总结认为,监测 HCC 高危人群的血清 DCP、AFP,并联合 B 超或 CT 检查是目前最好的 HCC 早期诊断策略。

5 DCP 与 HCC 的预后

肿瘤的分化程度、血管浸润等都是 HCC 预后的重要指标,研究发现 DCP 与以上因素密切相关。Hasegawa 等^[20]证实血清 DCP 水平能够反映 HCC 分化程度,呈负相关。Nan-ashima 等^[21]研究 271 例术后 HCC 患者,发现血清 DCP 水平是门脉浸润及浸润程度的预后因素。DCP 还可作为 HCC 术后复发的判断标志, Kim 等^[22]对 HCC 手术切除患者的研究发现,血清 DCP 水平与肿瘤血管浸润相关,即使在小肝癌患者中,血清 DCP 水平升高仍然常常发生于组织血管浸润之前,监测血清 DCP 能够早期诊断术后复发。Taketomi 等^[23]研究了 90 例接受活体供体肝移植手术的 HCC 患者,发现移植前血清 DCP 水平大于 300 mAU/mL 是独立的移植后复发相关因素。