

论 著
(临床研究)

肝细胞肝癌患者血清中成纤维细胞生长因子 19 表达对早期诊断的意义

胡晓菡, 田新宇, 沈 瀚

【摘要】 目的 探讨成纤维细胞生长因子 19 (FGF19) 作为生物标志物在肝细胞肝癌患者早期诊断中的意义。**方法** 收集 2017 年 10 月至 2019 年 10 月鼓楼医院经病理学确诊为肝细胞肝癌患者 97 例(肝细胞肝癌组), 以及经实验室数据、临床表现和组织学诊断为慢性肝炎患者 102 例(慢性肝炎组), 并选取同期健康人群 73 例作为健康对照组。收集每组人群的各项临床资料。采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)测定 3 组受试者的血清 FGF19 水平。计算肝细胞肝癌组 TNM 不同病理分期(I 期、II 期、III 期及 IV 期)患者的 FGF19 水平。在肝细胞肝癌患者中将 AFP 与 FGF19 联合检测, 观察其诊断效能的变化。**结果** 3 组研究对象在年龄、甲胎蛋白(AFP)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、清蛋白(ALB)、血小板(PLT)方面比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而性别、总胆红素(TBIL)及家族史比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。慢性肝炎组患者血清 FGF19 水平(57.62 ± 4.66) pg/mL 与健康对照组(49.83 ± 5.79) pg/mL 的差异无统计学意义($P > 0.05$); 而肝细胞肝癌组患者血清 FGF19 水平(122.55 ± 13.28) pg/mL 明显高于慢性肝炎组和健康对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。肝细胞肝癌 I 期、II 期、III 期及 IV 期患者的 FGF19 水平分别为(89.5 ± 12.2)、(103.9 ± 6.9)、(133.9 ± 22.5) 及 (152.6 ± 26.8) pg/mL, 与病理分期呈正相关($r = 0.696, P < 0.001$)。在肝细胞肝癌组 AFP 中加入 FGF19 检测, 敏感性从 43.2% 提高到 69.7%。**结论** 肝细胞肝癌患者血清 FGF19 水平明显增高, 并且浓度随着病理分期增高而增加。显示 FGF19 可作为肝细胞肝癌的潜在肿瘤标志物, 在其早期筛查和病情监测中具有重要意义。

【关键词】 肝细胞肝癌; 成纤维细胞生长因子 19; 酶联免疫吸附试验法; 肿瘤淋巴结远处转移分期; 肿瘤标志物

【中图分类号】 R735.7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2020)05-0473-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.05.005

The serological level of fibroblast growth factor-19 in hepatocarcinoma patients and its significance for early diagnosis of hepatocarcinoma

HU Xiao-han, TIAN Xin-yu, SHEN Han

(Department of Laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To investigate the level of fibroblast growth factor 19 (FGF19) as a serological biomarker in the early diagnosis of hepatocarcinoma (HCC). **Methods** From October 2017 to October 2019, 97 HCC patients and 102 patients with chronic hepatitis were diagnosed by pathology in Nanjing Drum Tower Hospital, and 73 healthy people in the same period were selected as the control group. The demographic and clinical characteristics were collected. The serum level of FGF19 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Besides, 97 HCC patients were divided into four groups by pathological stages (stage I, II, III and IV). Detection of the diagnostic efficacy of FGF19 combined with AFP in HCC group. **Results** The clinical data of the three groups were compared and found that there were significant differences in age, AFP, ALT, AST and ALB ($P < 0.05$), but no significant differences in gender, TBIL

基金项目:江苏省“十三五科教强卫工程”医学重点人才项目 (ZDRCA2016065)

作者单位:210008 南京, 南京大学医学院附属鼓楼医院检验科(胡晓菡、田新宇、沈瀚)

通信作者:沈瀚, E-mail: shenhan10366@sina.com

and family history ($P>0.05$). There was no significant difference for FGF19 level (57.62 ± 4.66) pg/mL between the patients with chronic hepatitis and healthy controls (49.83 ± 5.79) pg/mL ($P>0.05$). However, the level of FGF19 (122.55 ± 13.28) pg/mL in HCC patients was significantly higher than that in patients with chronic liver disease and healthy controls ($P<0.05$). The average level of FGF19 in stage I, II, III and IV among HCC patients was (89.5 ± 12.2), (103.9 ± 6.9), (133.9 ± 22.5) and (152.6 ± 26.8) pg/mL, respectively, and positive correlation with pathological stage ($r=0.696, P<0.001$). The sensitivity of FGF19 combining with AFP increased from 43.2% to 69.7%. **Conclusion** The serological level of FGF19 in HCC patients is significantly increased, which is correlated with pathological stages of HCC. FGF19 may be a potential tumor marker of HCC, which might facilitate the early diagnosis and condition monitoring of HCC.

[Key words] hepatocarcinoma; fibroblast growth factor 19; immunosorbent assay; TNM; tumor marker

0 引言

肝细胞肝癌是肝癌的常见类型,是一种高死亡率的原发性肝癌。近年来,新发病例数逐年上升,并有年轻化趋势。由于其进展迅速,很多患者发现时已经处于疾病的中晚期,导致其预后较差^[1]。因此深入研究肝细胞肝癌的疾病发展机制,寻找其潜在肿瘤标志物用于患者的早期诊断显得尤为重要。肿瘤标志物在肿瘤的诊断、治疗效果及预后的预测方面有着广泛的应用。通常在肝癌疾病中,甲胎蛋白(AFP)被用作血清的生物标志物,在检测肝癌的发病和复发方面起着重要的作用,虽然具有一定的特异性,但其干扰因素较多,且在肝细胞肝癌患者中经常保持在正常范围内^[2-3]。成纤维细胞生长因子 19(fibroblast growth factor 19, FGF19)大部分在肝内表达,通过成纤维细胞生长因子受体促进细胞的分化、参与损伤组织修复,血管生成及干细胞增殖分化等^[4]。研究发现,以自分泌方式产生的 FGF19 激活了成纤维细胞生长因子 19/成纤维细胞生长因子 4(FGF19/FGFR4)信号,参与了肝癌的发展^[5]。还有报道显示,肝癌患者血清 FGF19 的过度表达与疾病预后不良有一定关联^[6],但其是否能在肝细胞肝癌中作为一个生物标志物尚不清楚。本课题组从 2008 年开始对在南京鼓楼医院诊断为慢性乙肝感染人群进行长期随访,近年来发现部分随访者发展为肝癌患者,在这些随访者中收集经病理学确诊为肝细胞肝癌患者临床资料,采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测肝细胞肝癌患者以及慢性肝炎和健康人群血清 FGF19 的水平,进一步探讨其在肝细胞肝癌患者早期诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 10 月至 2019 年 10

月鼓楼医院经病理学确诊为肝细胞肝癌患者 97 例(肝细胞肝癌组),其中男 76 例,女 21 例,平均年龄 57 岁;以及经实验室数据、临床表现和组织学诊断为慢性肝炎患者 102 例(慢性肝炎组),男 71 例,女 31 例,平均年龄 51 岁。并选取同期 73 例健康人作为健康对照组。排除其他恶性肿瘤疾病及免疫性疾病。本研究经过医院伦理委员会批准(批准号:2008022),所有参与者及家属均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本采集及检测 肝细胞肝癌组于术前清晨空腹抽取肘静脉血 5 mL, $3500\times g$ 离心 5 min, 吸取血清放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。健康对照组及慢性肝炎组于清晨空腹抽取肘静脉血 5 mL, 样本处理方式同前。采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)测定受试者血清 FGF19 水平,检测仪器为西门子免疫发光检测仪,试剂盒为 FGF19 检测试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)。AFP 检测使用西门子免疫发光检测仪及配套试剂盒,生化项目检测使用 Beckman 生化仪及配套试剂盒,血小板检测使用 SYSMEX 血常规仪及配套试剂。实验操作严格按照试剂说明书的标准程序进行。

1.2.2 观察指标 收集研究对象的临床资料,包括性别、年龄、肿瘤家族史、FGF19、AFP、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、血小板(PLT)、病理报告。根据肿瘤学国际性分期标准 TNM 分期系统^[7]将肝细胞肝癌患者分为 I 期、II 期、III 期、IV 期,计算不同病理分期患者的 FGF19 水平。在肝细胞肝癌患者中将 AFP 与 FGF19 联合检测,分析 FGF19 检测对现有肝癌检测标记物的影响。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 分析数据,计数资料用频数来表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量

资料符合正态分布的数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较使用 one-way ANOVA;不符合正态分布则使用非参数检验。采用 Prism 软件 logistic 回归分析血清 FGF19 水平与肝细胞肝癌患者病理分期的相关性。诊断效能使用受试者工作特征(ROC)曲线进行分析。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 入组研究对象一般临床资料比较 3 组研究对象在年龄、AFP、ALT、AST、ALB、PLT 方面比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);而性别、肿瘤家族史和 TBIL 方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 入组研究对象一般临床资料比较

项目	健康对照组 (<i>n</i> =73)	慢性肝炎组 (<i>n</i> =102)	肝细胞肝癌组 (<i>n</i> =97)	<i>F</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(<60/≥60岁, <i>n</i>)	46/27	63/39	42/55	7.488	0.006
性别(男/女, <i>n</i>)	52/21	71/31	76/21	1.541	0.214
肿瘤家族史(有/无, <i>n</i>)	8/65	7/95	13/84	1.684	0.194
AFP($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	6.3±4.2	23.9±13.2	129.6±59.6	12.225	0.019
ALT($\bar{x}\pm s$,U/L)	26±16	45±13	123±39	3.792	0.025
AST($\bar{x}\pm s$,U/L)	33±11	55±8	136±25	5.739	0.022
ALB($\bar{x}\pm s$,g/L)	45±3	37±2	35±3	8.979	0.043
TBIL($\bar{x}\pm s$,μmol/L)	21±3	22±3	21±5	2.662	0.272
PLT($\bar{x}\pm s$,×10 ⁹ /L)	183±26	80±12	73±13	25.648	0.003

2.2 血清 FGF19 水平比较 慢性肝炎组患者血清 FGF19 水平(57.62 ± 4.66)pg/mL 与健康对照组(49.83 ± 5.79)pg/mL 比较差异无统计学意义($P>0.05$);而肝细胞肝癌组患者血清 FGF19 水平(122.55 ± 13.28)pg/mL,明显高于慢性肝炎患者和健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 血清 FGF19 水平与肝细胞肝癌患者病理分期的关系 肝细胞肝癌 I 期(29 例)、II 期(23 例)、III 期(30 例)、IV 期(15 例)患者血清 FGF19 水平分别为(89.5 ± 12.2)、(103.9 ± 6.9)、(133.9 ± 22.5)及(152.6 ± 26.8)pg/mL,与 TNM 分期呈正相关($r=0.696, P<0.001$),见图 1。

2.4 血清 FGF19 鉴别肝细胞肝癌的诊断效能 在肝细胞肝癌患者中将 AFP 与 FGF19 联合检测显示,敏感性从 43.2%提高到 69.7%,见图 2。

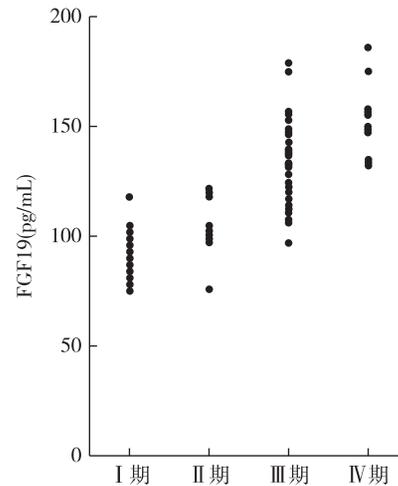


图 1 肝细胞肝癌患者不同病理分期与 FGF19 水平的相关性

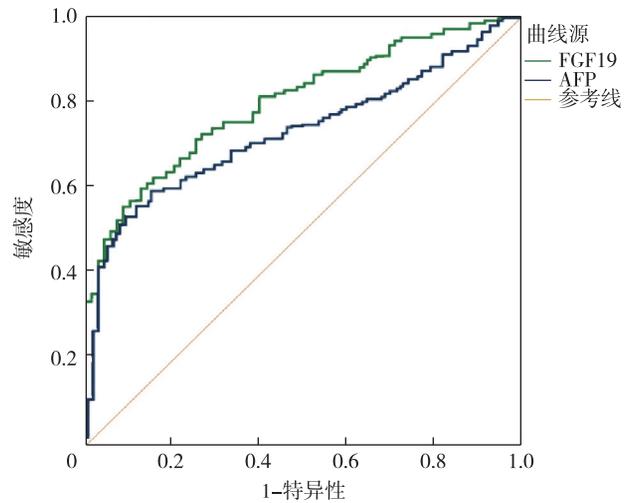


图 2 血清 FGF19 鉴别肝细胞肝癌的诊断效能

3 讨 论

肝细胞肝癌是世界上发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一,其发病机制尚不明确。在肝癌疾病中,AFP 虽被用作血清的生物标志物,但很容易被干扰,不利于疾病的早期诊断。随着基因测序技术的不断完善,在发生异常改变的基因组区域中寻找可能的候选基因成为研究标志物的焦点^[8]。研究证实有部分肝细胞肝癌患者样本中发现位于染色体 11q13 位点的 FGF19 基因出现了部分扩增^[9]。且免疫组化实验显示,肝癌组约 50%的病例中观察到 FGF19 的过度表达^[10]。成纤维细胞生长因子(FGFs)通过 FGF 受体(FGFR)酪氨酸激酶在细胞生长、分化、血管生成和代谢等方面发挥了重要的调节作用^[11]。而 FGF/FGFR 信号转导通路的失调也被认为促进了包括

肝细胞肝癌在内的多种类型癌症的发展^[12-13],而在这些疾病的血清 FGF19 水平确有明显升高。因此本研究试图探讨 FGF19 能否作为肝细胞肝癌的肿瘤标志物,用于该疾病的早期筛查与诊断。

首先用 ELISA 法检测肝细胞肝癌患者血清 FGF19 的水平,结果与王磊等的结论一致^[5],与对照组相比,慢性肝炎组患者组 FGF19 浓度略有升高,肝细胞肝癌组患者则明显升高。有研究认为胆汁淤积和肝功能障碍会增加血液和胆汁中的浓缩胆汁酸,并导致肝细胞损伤,FGF19 通过下调胆固醇 7 α 羟化酶(Cyp7a)抑制胆汁酸合成^[14],因此慢性肝炎患者血清 FGF19 水平的轻度升高可能是血清胆汁酸水平升高的负反馈。为进一步研究 FGF19 与肝细胞肝癌的关系,我们使用 TNM 分期将肝细胞肝癌患者按不同病理分期计算患者的 FGF19 水平,Prizm 软件分析显示,FGF19 数值与 TNM 分期呈正相关性,进一步证实了两者之间的密切关系。很多研究表明,AFP 作为肝癌的重要诊断和监测指标,特异性虽然相对较高,但容易被干扰,对早期诊断有一定影响,而肝癌患者血清 FGF19 水平的升高已被报道,因此本研究在肝细胞肝癌患者中将 AFP 与 FGF19 联合,ROC 曲线显示,两者结合敏感性增加,提高了疾病的诊断效能,进一步为 FGF19 应用于临床诊断提供了有力的佐证。与 AFP 不同的是,FGF19 作为一种功能蛋白,在肿瘤细胞和内皮细胞的增殖中起着重要作用,因此也被认为是很有前途的治疗靶分子^[15]。

本研究发现,肝细胞肝癌患者血清 FGF19 呈显著性上升,同时 FGF19 水平和 TNM 分期呈正相关,与 AFP 联合可提高诊断效能。这些结果提示血清 FGF19 可以作为潜在生物标志物,用于肝细胞肝癌早期筛查和病情监测。同时,本研究也存在一定的不足:FGF19/FGFR4 信号的激活有助于其分子靶向药物的耐药^[16],因此 FGF19 的异常产生可能与这些药物的治疗效果有关,需要在今后的研究中进一步验证。

【参考文献】

[1] 李爱梅,孙一文,贾鹏,等.肝细胞源性肝癌 PET-CT 成像标

准摄取值与葡萄糖转运蛋白 1 的关系[J].东南国防医药,2015,17(6):572-574,590.

- [2] 朱艳,夏芹芹,罗俊,等.甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体与 TNF- α 因子联合检测在原发性肝癌诊断中的应用价值[J].临床和实验医学杂志,2020,19(4):383-386.
- [3] 林凯璇,穆洪,孙玉琳,等.肝细胞肝癌重要表面标志的表达和定位[J].医学研究生学报,2013,26(1):4-8.
- [4] Memon N,Griffin IJ, Lee CW, et al. Developmental regulation of the gut-liver (FGF19-CYP7A1) axis in neonates[J].J Matern Fetal Neonatal Med,2020,33(6):987-992.
- [5] 王磊,陈欣菊.FGF19/FGFR4 信号通路在肝细胞癌中的研究进展[J].现代肿瘤医学,2019,27(16):2949-2954.
- [6] 唐雯华,刘顺芳,陈富平,等.肝癌预后相关生物标志物[J].肿瘤,2019,39(6):500-507.
- [7] 汪升蛟,宋正波,吕镗烽.术后 IB 期浸润性肺腺癌不同病理亚型的预后分析[J].东南国防医药,2019,21(3):234-239.
- [8] Sawey ET, Chanrion M, Cai C, et al. Identification of a Therapeutic Strategy Targeting Amplified FGF19 in Liver Cancer by Oncogenomic Screening[J].Cancer Cell,2011,19(3):347-358.
- [9] 侯婧瑛,凌辉,金小岩,等.lncRNA-MALAT1 通过靶向下调 miR-570-3p 促进胃癌细胞增殖[J].中国病理生理杂志,2018,34(12):2145-2152.
- [10] 赵静静,戴小军,张晓春.Akt 介导的信号通路在肿瘤淋巴管生成中的作用[J].肿瘤防治研究,2016,43(5):422-426.
- [11] 于文静,师盼,潘琼,等.胆汁淤积下 FGF19-ERK 通路可上调 MRP3/4 表达减轻肝细胞损伤[J].中国细胞生物学学报,2019,41(8):1588-1594.
- [12] 陈丹,王凯冰,李加桩,等.原发性肝癌的抗血管生成靶向治疗现状与挑战[J].中国肿瘤,2017,26(3):203-209.
- [13] 冯云,亢君君,方宗平,等.AZD4547 促进自噬并促进索拉非尼耐药肝癌细胞的死亡[J].细胞与分子免疫学杂志,2019,35(4):339-343.
- [14] 卫晶,武希润.贝特类药物治疗原发性胆汁性胆管炎的研究现状[J].临床肝胆病杂志,2020,36(2):442-445.
- [15] Repana D, Ross P. Targeting FGF19/FGFR4 Pathway: A Novel Therapeutic Strategy for Hepatocellular Carcinoma[J].Diseases,2015,3(4):294-305.
- [16] Gao L, Wang X, Tang Y, et al. FGF19/FGFR4 signaling contributes to the resistance of hepatocellular carcinoma to sorafenib[J].J Exp Clin Cancer Res,2017,36(1):8.

(收稿日期:2020-04-02; 修回日期:2020-05-20)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:吕镗烽)