Archive of SID

# نشانگرهای مولکولی پیش‌آگهی‌دهنده در کارسینوم سلول کبدی (مقاله مروری)

دکتر محمدرضا نوری دلویی [1] فاطمه علیزاده [2]

[1] استاد گروه ژنتیک پزشکی، [2] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

مجله پزشکی هرمزگان سال پانزدهم شماره دوم تابستان ۹۰ صفحات ۸۹-۷۴

## چکیده

*کارسینوم سلول کبدی (HCC) پنجمین سرطان رایج در جهان و سومین عامل مرگ و میر سرطان در دنیا محسوب می‌شود. شیوع این بیماری در نقاط گوناگون جهان تفاوت دارد. توانایی تشخیص و پیش‌بینی خطر برگشت دوباره بیماری و در پی آن پیش‌آگهی آن کمک می‌کند تا بیمار، تحت عمل جراحی و یا شیمی‌درمانی قرار گیرد. از آنجایی که یافته‌ها دربارهٔ سرطان‌زایی کبد در حال افزایش است، بسیاری از رخدادهای مولکولی و ژنتیکی مشتمل بر رگزایی، تهاجم و متاستاز که موجب سرطان‌زایی کبد می‌شوند، شناسایی شده‌اند. با پیشرفت‌هایی که در مسیر درک و فهم زیست شناسی تومورها بدست آمده است، مطالعات بر روی نشانگرهای زیستی مولکولی سرطان‌زا، هم به دلیل اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده و هم به جهت اهمیت بالقوه آنها به عنوان هدف‌های درمانی، روز به روز در حال رشد و افزایش می‌باشد. چندین نشانگر مولکولی با اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده در کارسینوم سلول کبدی شناسایی شده‌اند. این نشانگرهای مولکولی نه تنها می‌توانند موجبات تشخیص درست پیش‌آگهی در بیماران HCC را فراهم آورند، بلکه امکان هدف قرار دادن آنها را برای درمان و نیز ارائه هدفهای جدید برای عامل‌های درمانی را مهیا سازند.*

*هدف از این مقاله مروری بررسی مطالعات و پژوهش‌های معتبر و جاری انجام شده در رابطه با نقش پیش‌آگهی‌دهنده مهم‌ترین نشانگرهای زیستی مولکولی در HCC است. در این مطالعه ارزش پیش‌آگهی‌دهنده نشانگرهای مولکولی متعددی مشتمل بر موارد زیر، بررسی شده است: ژنهای سرکوبگر تومور، انکوژنها، تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی، تنظیم کننده‌های آپوپتوز، نشانگرهای رگ‌زایی، تهاجم، و متاستاز، عامل‌های رشد و گیرنده‌ها، تلومراز، نشانگرهای ناپایداری ژنومی، آنیوپلوئیدی و نشانگرهای ناپایداری ریز ماهواره‌ها.*

***کلیدواژه‌ها:*** کارسینوم سلول کبدی - ژن - پیش‌آگهی

نویسنده مسئول:
دکتر محمدرضا نوری دلویی
گروه ژنتیک پزشکی دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
تهران - ایران
تلفن: ۸۸۹۵۳۰۰۵ ۲۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
nooridaloii@sina.tums.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۹/۸/۲۵ اصلاح نهایی: ۸۹/۱۲/۱۵ پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۲۸

**مقدمه:**

کارسینوم سلول کبدی Hepatocellular Carcinoma (=HCC) پنجمین سرطان رایج در جهان و سومین عامل مرگ و میر سرطان در دنیا محسوب می‌شود (۱). شیوع این بیماری در نقاط گوناگون جهان تفاوت دارد. شیوع بالای آن در بخشهایی از آسیا و آفریقا به دلیل ضعف سیستم بهداشتی است (۱)، اما در کشورهای غربی و توسعه یافته علت شیوع رو به افزایش آن بر اثر آلودگی ویروس هپاتیت C، استفاده از الکل و همچنین گسترش سیروز کبدی است (٤-۲).

از عامل‌های خطر این بیماری می‌توان به ویروس هپاتیت C (Hepatitis C Virus=HCV)، ویروس هپاتیت B (Hepatitis B Virus=HBV) و سیروز (cirrhosis) اشاره کرد (۲). بیماری مزمن کبدی موجب سیروز می‌شود که این فرآیند با شکل‌گیری گرهک‌های بسیار شکل‌پذیر (Hyperplastic Nodules) و گرهک‌های بازسازی‌کننده (Regenerative Nodules) همراه است. در خلال این فرآیند ناپایداری ژنومی نیز موجب پیشرفت زیرردههای گوناگون کانون‌های سلولهای کبدی تغییر یافته (Foci of altered hepatocytes=FAH) می‌شود. این عمل گِرهک‌های بد شکل



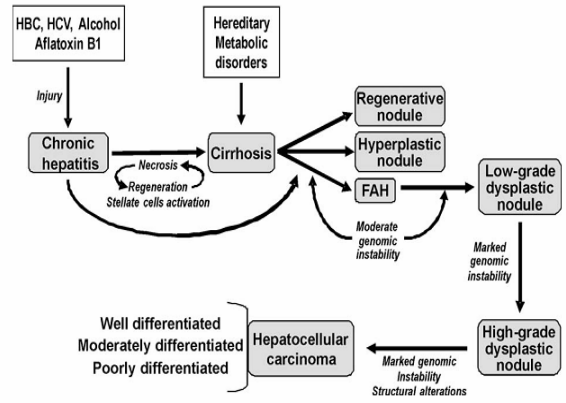
www.SID.ir

Archive of SID



Low-grade و ندول‌های هیپرپلاستیک High-grade را به دنبال دارد. در نهایت، پیشرفت کارسینوم سلول کبدی (HCC) را می‌توان به سه رده تقسیم‌بندی کرد (۲):

به خوبی تمایز یافته (Well differentiated)، به طور متوسط تمایز یافته ( differentiated Moderately) و بسیار اندک تمایز یافته (Poorly differentiated ) (شکل ۱ ).




**شکل ۱- فرآیند سرطان زایی کبد(شرح در متن)، (۲).**

برای درمان بیماری HCC افزون بر شیمی‌درمانی که چندان هم موفق نبوده است، از روشهای برداشت ناحیه توموری (resection) و نیز پیوند کبد استفاده می‌شود. برداشتن ناحیه توموری زمانی موفقیت‌آمیز است که این بیماری متاستاز برون کبدی نداشته باشد (۲). پیوند کبدی نیز مؤثرترین راه درمان برای بیماران HCC بدون مقاومت متاستاز می‌باشد (۵)، اگرچه اکثر بیماران به دلیل پیشرفت بیماری، کهولت سن و مانند آن نامزد مناسبی برای این مورد درمانی نیستند. همچنین اهداءکنندگان کم شماری برای کبد وجود دارد، به نحوی که اکثر افراد منتظر برای دریافت کبد به دلیل پیشرفت تومور و بیماری در این مقطع زمانی می‌میرند (٦). در این سرطان، جراحی مشتمل بر پیوند کبدی تنها روش درمانی است که طی آن تأثیر دارو تغییر کرده و امکان برگشت دوباره بیماری افزایش یافته و احتمال زنده ماندن فرد بیمار، ضعیف و کوتاه مدت می‌باشد.

توانایی تشخیص بیماران با خطر برگشت دوبارهٔ بیماری و پیش‌آگهی ضعیف کمک خواهد کرد که بیمار تحت عمل جراحی قرار گیرد و یا شیمی‌درمانی شود. تلاشها و بررسی‌هایی برای تشخیص درست برگشت دوباره بیماری و پیش‌آگهی ضعیف در بیماران HCC پس از برداشتن کبد با استفاده از مشخصات بالینی انجام شده است (٦).

ویژگی هایی مانند مرحلهٔ تومـوری، انـدازه تومـور، تهـاجم ریزرگ ها و وجود ضایعات ریز ماهواره‌ای همه در پـیش‌بینـی بقا تأثیر دارند (۷). با وجود همه اینهـا کمبـود حـساسیت بـرای تشخیص درست پیش‌آگهی بیماران وجـود دارد. بـرای نمونـه، نـشانگرهای تومـوری سـرم ماننـد آلفـا فتـوپروتئین (Alpha Fetoprotein=AFP) یک عامل پیش‌آگهی‌دهنـده هـستند (۷). اگرچه آنها به شـارژ تومـوری بـا اهمیتـی وابـسته هـستند کـه سـودمندی آنهـا را بـرای تومورهـای قابـل جراحـی و قابـل برداشت، مشکوک و نامعلـوم می‌سازد. امروزه بیشتر توجهات بر روی ارزش تشخیصی نـشانگرهای التهـابی سـرم متمرکـز شده که به عنوان انعکاسی از پاسخ میزبان به تومور اسـت. بـه ویژه، پروتئین فعـال شـونده بـا عامـل C سـرمی (CRP) کـه افزایش میزان آن پیش از عمل جراحـی نـشان دهنـدهٔ همراهـی (association) آن با برگشت دوباره بیماری به میـزان ۷۵٪ در مدت ۱۲ ماه پس از برداشتن بخشی از کبد یـا برداشـت ناحیـه تومورهای آن می‌باشد، همچنین همراهـی آن بـا بقـا مـستقل از بیمـاری (disease-free) [نـسبتی از افـراد مبـتلا بـه یـک نـوع سرطان که تحت درمان قرار گرفته‌انـد و در یـک دوره خاصـی برای نمونه دو سال کاملاً بدون علامت بیمـاری هـستند] و بقـا کلی (overall survival)[ نـسبتی از افـراد مبـتلا بـه یـک نـوع سرطان که پس از تشخیص بیماری زنـــده می‌ماننـد] کـاهش یافته، دیده شده در مقایسه با بیمارانی که سـطح CRP سـرمی آنها پیش از عمل جراحی پایین‌تر است (۸).

با پشرفت‌هایی که در مسیر درک و فهم زیست‌شناسی تومورها بدست آمده است، مطالعات بر روی نشانگرهای زیستی مولکولی سرطان‌زا هم به دلیل اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده آنها و هم به جهت اهمیت بالقوه آنها به عنوان هدفهای درمانی، روز به روز در حال رشد و افزایش می‌باشد. جدول شماره ۱ شماری از نشانگرهای مولکولی را که نقشی در سرطان‌زایی کبدی دارند، نشان می‌دهد.


www.SID.ir

Archive of SID



**جدول شماره ۱- فرآیند دخیل در هپاتوسلولار کارسینوما و نشانگرهای وابسته به آن**

| | |
|---|---|
| 1. Proliferation, self-sufficiency in growth signals, insensitivity to antigrowth signals | p53*, nm-23, Rb, PTEN*, c-met*, c-myc*, cyclin A, cyclin D, cyclin E, p15, p16, p18, p19, p21, p27, p57, TGF-β, EGFR family, growth factors proliferation indices* |
| 2. Avoidance of apoptosis | p53*, Bcl-2, Bcl-xL, Bax, Bak, Bcl-xS, survivin |
| 3. Limitless replicative potential | Telomerase (including TERT)* |
| 4. Sustained angiogenesis | MVD, VEGF*, HIF-1α*, NOS, bFGF, PD-EGF, tissue factor, endostatin/collagen XVIII, interleukin-8, angiopoietin |
| 5. Tissue invasion and metastasis | MMPs*, uPA, cadherin/catenin complex |
| 6. Genomic instability | Chromosomal instability, aneuploidy*, microsatellite instability |

nm-23, non-metastatic protein-23; Rb, retinoblastoma gene; PTEN, phosphatase and tensin homolog; TGF-β, transforming growth factor beta; EGFR family, epidermal growth factor receptor family; TGF-α, transforming growth factor alpha; HB-EGF, heparin-binding epidermal growth factor; TERT, telomerase reverse transcriptase; MVD, microvessel density; VEGF, vascular endothelial growth factor; HIF-1α, hypoxia-inducible factor-1 alpha; NOS, nitric oxide synthase; bFGF, basic fibroblast growth factor; PD-EGF, platelet-derived endothelial growth factor; MMP, matrix

هدف از این مقاله مروری بررسی مطالعات و پژوهش‌های انجام شده در رابطه با نقش پیش‌آگهی‌دهنده مهمترین نشانگرهای زیستی مولکولی در HCC است. در این مطالعه ارزش پیش‌آگهی‌دهنده نشانگرهای مولکولی زیر، بررسی شده است: ژن های سرکوبگر تومور (Tumor suppressor genes)، انکوژنها، تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی، تنظیم‌کننده‌های آپوپتوز، نشانگرهای رگزایی، تهاجم و متاستاز، عاملهای رشد و گیرنده‌ها، تلومراز، نشانگرهای ناپایداری ژنومی، آنیوپلوئیدی و نشانگرهای ناپایداری ریزماهواره‌ها.

**۱- ژن های سرکوبگر تومور:**

**۱- $P^{53}$**

ژن سرکوبگر تومور $P^{53}$ واقع بر روی کروموزوم 17p 13.1 مسؤول تنظیم چرخه سلولی در گذرگاه‌های $G_1/S$ و $G_2/M$ و همچنین القاکننده آپوپتوز در پاسخ به آسیبهای شدید DNA سلولی می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که این ژن در حدود ۶۹٪-۲۴ از موارد HCC، دچار جهش شده است (۹). جهش در این ژن موجب همانند سازی تنظیم نشده DNA معیوب و ناپایداری ژنوم و در نتیجه پیشرفت سرطان می‌شود. آلل وحشی یا طبیعی $p^{53}$ دارای نیمه عمر کوتاه‌تر نسبت به آلل جهش یافته بوده و بنابراین توسط روش شیمی بافت ایمنی (Immunohistochemistry=IHC) قابل ردیابی است. جهش در ژن $P^{53}$ موجب پایداری پروتئین و تجمع هسته‌ای آن و در نتیجه ردیابی آن توسط روش IHC می‌شود. مطالعاتی که بیان $P^{53}$ در HCC را به روش IHC بررسی کرده‌اند، اطلاعات ناهماهنگ و متناقضی را ارائه داده‌اند (۱۰). تبیین و تفسیر تفاوتهای موجود در این نتایج از رهگذر روشهای گوناگون مورد استفاده، تنوع در پادتن‌ها و نحوهٔ تجزیه و تحلیل‌های فردی امکان‌پذیر است. افزون بر آن، فقدان پروتئین



www.SID.ir

Archive of SID



$P^{53}$ قابل ردیابی، مانند برخی جهش‌ها به ویژه جهش‌های تغییر چارچوب و بی‌معنی که پایداری پروتئین در آنها وجود ندارد، لزوماً نشان‌دهنده ژن $P^{53}$ طبیعی نبوده و بنابراین قابل ردیابی توسط روش IHC نیست (گفتنی است که در روش IHC حتماً باید پروتئین قابل ردیابی وجود داشته باشد، اگر پروتئین موجود نباشد، نمی‌توان گفت که جهش وجود ندارد و حالت طبیعی می‌باشد). بنابراین IHC، روش قابل اعتمادی برای ارزیابی حالتهای $P^{53}$ نیست و تجزیه و تحلیل جهش DNA نیازمند روش مناسب‌تری برای بررسی حالتهای $P^{53}$است. بیشتر مطالعاتی که جهش $P^{53}$را بررسی کرده‌اند، همراهی این ژن با بقای مستقل از بیماری و بقای کلی کوتاه‌تر را یافته‌اند.

**۱- ۲- دیگر ژن های سرکوبگر تومور**

ارزش تشخیصی و پیش‌آگهی‌دهنده چندین ژن سرکوبگر تومور در HCC بررسی شده است. بیان مثبت فسفاتاز و ژن سرکوبگر تومور هومولوگ تنسین (Phosphatase and tensin homologe = PTEN) به عنوان عامل پیش‌آگهی برای بقای کلی کاهش یافته به دنبال برداشتن کبدی یا تومورهای آن در HCC شناخته شده است (۱۱). همچنین فقدان بیان ژن سرکوبگر تومور [non- metastatic protein (nm)23] موجب برگشت دوباره بیماری پس از برداشت ناحیه توموری (۱۲) شده و با بقای کلی کوتاه‌تر پس از عمل جراحی همراهی دارد (۱۲). میان بیان ژن سرکوبگر تومور رتینوبلاستوما (Retinoblastoma=Rb) و پیش‌آگهی پس از برداشت ناحیه توموری هیچ ارتباطی یافت نشده است (۱۰).

**۲-انکوژن ها**

انکوژن‌های C-myc وC-met هر دو به دلیل اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده در HCC مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. به طور کلی C-met دارای بیان بیش از حد در HCC است و با بقای کلی کاهش یافته همراهی دارد (۱۳). مطالعات، بیان افزایش یافته C- myc در آن دسته از بیمارانی را که برگشت دوباره سریع بیماری پس از برداشتن کبدی داشته‌اند، نشان داده است (۱۳). و همچنین تکثیر ژن C- myc با بقای کلی و بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشت ناحیه توموری همراهی دارد (۱۳).

**۳-تنظیم کننده‌های چرخه سلولی:**

**۳-۱- سیکلین و کینازهای وابسته به سیکلین**

گذرگاه $G_1/S$ برای پیشرفت و ادامه چرخه سلولی بسیار مهم و ضروری است. فسفریلاسیون Rb بوسیلهٔ مجموعه کیناز وابسته به سیکلین/سیکلین این گذرگاه را غیر فعال کرده و موجب ادامه روند چرخه سلولی می‌شود. بیان بیش از حد سیکلین E, $D_1$, A دارای اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده پس از برداشت ناحیه توموری در HCC است. چائو(Chao) و همکاران (۱٤) نشان دادند که بیان سیکلین A به طور مستقل سبب بقای مستقل از بیماری کاهش یافته بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای می‌شود. در دو مطالعه نیز همراهی بیان افزایش یافته سیکلین $D_1$ با بقای کلی و بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشت ناحیه توموری نشان داده شده است (٤،١٤).

**۳-۲-باز دارنده‌های کیناز وابسته به سیکلین**

بازدارنده‌های کیناز وابسته به سیکلین، تنظیم کننده‌های منفی چرخهٔ سلولی بوسیله بازدارندگی گذرگاه $G_1/S$ هستند. دو خانواده از بازدارنده‌های CDK شناسایی شده است: خانوادهٔ INK4 که شامل $P^{15}$, $P^{16}$, $P^{18}$, $P^{19}$ می‌باشند و به ویژه از مجموعه‌های نوع D سیکلین $CD_4/CDK_6$ ممانعت می‌کنند و خانواده KIP/CIP که شامل $P^{57}$,$P^{21}$, $P^{27}$ می‌باشد که به مجموعه‌های سیکلین/ CDK متصل شده و آنها را غیرفعال می‌کند (١٤).

FOXM1 فعال، لیگاز SKP2-CSK1 را تنظیم کرده که آن نیز بازدارنده ERK را یوبی کوئیتینه کرده و در نتیجه موجب تجزیه پروتئازومی می‌شود. ERK فعال به تنظیم منفی DUSP1 به وسیله فسفریله کردن سرین ۲۹٦ کمک کرده و موجب شکل گرفتن مجموعه SKP2/CKS1/DUSP1 می‌شود. این رویکرد نیز موجب کاهش بازدارندگی پروتئین ERK می‌شود (پیکان بسته شده) که ممکن است فعالیت FOXM1 را با تنظیم بیش از حد فاکتورهای آن بیشتر حفظ


www.SID.ir

Archive of SID

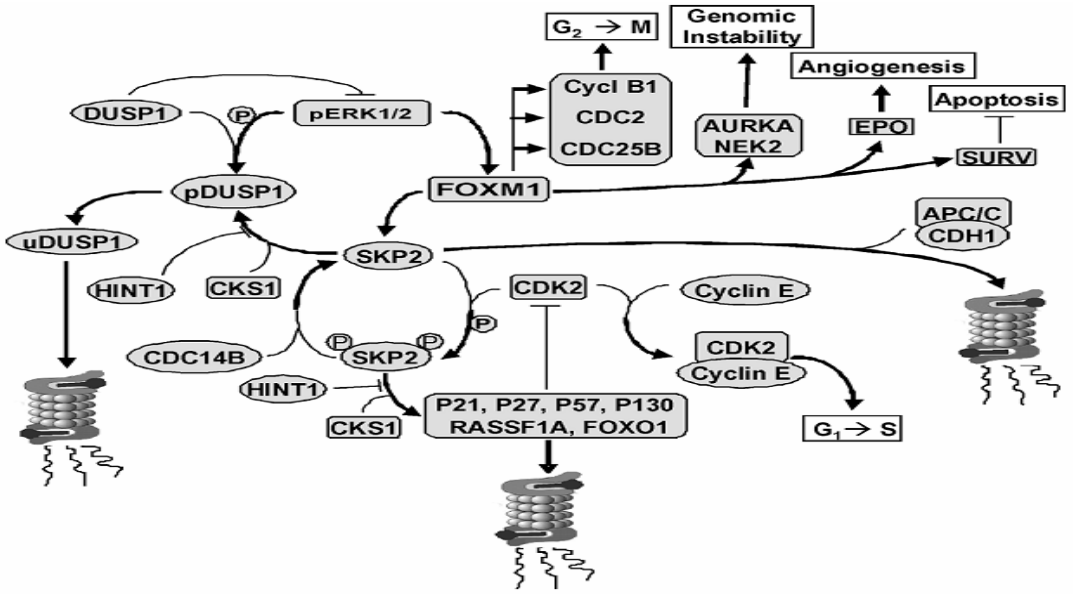


کند، SKP2 در مجموعه با CSK1 تجزیه پروتئازومی تنظیمات چرخه سلولی را القاء کرده و از CDK2 جلوگیری می‌کند. CDK2 با فسفریله کردن SKP2 در سرین ٦٤و ٧٢ به وسیله مجموعه APC/C با CDH1 تجزیه پروتئازومی آن را به تأخیر می‌اندازد. HINT1 نیز با فعالیت تجزیه‌کنندگی SKP2 مقابله می‌کند (علامت فلش و پیکان بسته شده به ترتیب فعالیت و بازدارندگی را نشان می‌دهند (١٤) (شکل ٢).

### ۳-۲-۱ خانوادهٔ INK4

متیله شدن نواحی پروموتری $P^{16}$، $P^{15}$ موجب خاموشی ژن در HCC می‌شود. مطالعات نشان داده است که در بیماران دارای رخداد متیله شدن $P^{16}$، $P^{15}$ بازگشت دوباره بیماری پس از برداشت ناحیه توموری بسیار محتمل است (١٥).

در حالی که هیچ مطالعه‌ای نقش پیش‌آگهی‌دهنده $P^{15}$ را بررسی نکرده است، چند مطالعه به بررسی $P^{16}$ پرداخته‌اند که تنها در یکی از آنها دارای نقش پیش‌آگهی است (١٥) (جدول شماره ٢). همچنین فقدان بیان $P^{18}$ به طور مستقل توسط تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای بقای کلی را پیش‌بینی می‌کند (١٦).




**شکل ٢- مسیرهای مرتبط با (FOXM1) (Forkhed box) که موجب پیشرفت HCC می‌شوند. این مسیرها از طریق G2-> M، ناپایداری ژنومی، رگزایی و جلوگیری از آپوپتوز موجب پیشرفت HCC می‌شوند (١٤).**



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول شماره ۲- شماری از اصلی‌ترین بررسی‌های پیش‌آگهی دهنده بازدارنده‌های سیکلین‌های وابسته به کیناز در کارسینوم سلول کبدی (۱۷)**

| Marker | Method | Cutoff for positivity[a] | % Positive cases | Prognostic role |
|---|---|---|---|---|
| p16 | SSCP-PCR | p16 mutation | 90.2 | No significant prognostic role |
| p16 | MSP-PCR | Promotor methylation | 58 | No significant prognostic role |
| p16 | IHC | Nuclear expression | 70 | p16-positivity independently predicted increased OS on MVA |
| p18 | IHC | >8.4% | 52.9 | p18-positivity independently predicted increased OS on MVA |
| p21 | IHC | >21% | Not reported | No significant prognostic role |
| p21 | IHC | Positive immunoreactivity | 33 | No significant prognostic role |
| p27 | IHC | >10% | 40.4 | p27-positivity associated with increased OS on UVA |
| p27 | IHC | >Median | Not reported | p27-positivity independently predicted increased OS on MVA |
| p27 | IHC | >50% | 54 | p27-positivity associated with increased OS |
| p27 | IHC | >50% | 28.3 | p27-positivity associated with increased DFS |
| p27 | IHC | >1.9% | 48.6 | p27-positivity associated with increased DFS (not OS) |
| p27 | IHC | >50% | 25.9 | p27-positivity independently predicted increased OS on MVA |
| p27 | IHC | >50% | 51 | p27-positivity associated with increased OS |
| p27 | IHC | >50% | 49.4 | p27-positivity independently predicted increased DFS on MVA |

ethylation-specific polymerase chain reaction; SSCP-PCR, single-stranded conformational poly-
overall survival; DFS, disease-free survival; MVA, multivariate analysis; UVA, univariate analysis.
ne percentage of cells with positively staining nuclei unless otherwise stated.

**۳-۲-۲- خانواده KIP/ CIP**

هیچ یک از مطالعاتی که نقش پیش‌آگهی‌دهنده $p^{12}$ را بررسی کرده‌اند ارتباط مهمی با بقا نیافته‌اند (۱۷) (جدول شماره ۲). اما اکثر مطالعاتی که نقش پیش‌آگهی‌دهنده بیان $P^{27}$ را در بیماران HCC مطالعه کرده است، همراهی آن با بقای مستقل از بیماری و بقای کلی بهبود یافته را نشان داده‌اند (۱۷) (جدول شماره ۲). افزون بر آن چندین مطالعه به طور جداگانه نشان داده‌اند که فقدان بیان $P^{57}$ به شکل مستقل بقای کلی و بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشتن کبد در HCC را پیش‌بینی می‌کند (۱۸).

## ۴-آپوپتوز:

**۴-۱- خانوادهٔ Bcl- 2**

خانوادهٔ Bcl-2 یکی از مهم‌ترین عامل‌های مداخله‌کننده در آپوپتوز است. در بین اعضاء این گروه Bax، Bak و Bcl- xs به عنوان پیش برنده‌های آپوپتوز همراه با Bcl-2 و Bcl- xl به عنوان بازدارنده‌های آپوپتوز عمل می‌کنند. اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده چند مورد از این عامل‌ها در HCC بررسی شده است (۱۹،۲۰). بیان Bcl-2 هیچ همراهی با پیش‌آگهی پس از برداشت ناحیه توموری ندارد (۲۱). اما بیان بیش از حد Bcl- xl به نحو بقای مستقل از بیماری و بقای کلی کاهش یافته را توسط تجزیه و تحلیل چند واریته‌ای پیش‌بینی می‌کند (۲۱). گارسیا (Garcia) و همکاران نشان دادند که بیان پیش آپوپتوزی پروتئین Bax به نحو مستقل، بقای کلی افزایش یافته پس از برداشت ناحیه توموری در HCC پیش‌بینی می‌کند (۲۱).

**۴-۲- سوروایوین**

سوروایو.بین (Survivin) یکی از اعضاء خانوادهٔ بازدارنده پروتئین آپوپتوزی inhibitor of apoptosis protein (IPA) از پروتئین‌های ضدآپوپتوز می‌باشد. این عامل عمدتاً به وسیله هدف قرار دادن افکتورهای پایانی کاسپاز سه و هفت در آبشار پروتئازی آپوپتوز از آپوپتوز جلوگیری می‌کند. بیان



www.SID.ir

Archive of SID



سوروایوین با پیش‌آگهی ضعیف پس از برداشت ناحیه توموری در HCC همراهی دارد، همچنین بیان سوروایوین هسته‌ای با بقای مستقل از بیماری کوتاه شده همراهی دارد (۲۲). بیمارانی که دارای تومورهایی با بیان mRNA سوروایوین هستند نسبت به بیمارانی که در تومورهای آنها mRNAی Survivin بیان نمی‌شود از برگشت مجدد بیماری و بقاء کاهش یافته به میزان بیشتری رنج می‌برند (۲۲). نسبت بالای mRNA سوروایوین به GAPDH برگشت دوباره توموری را پس از برداشتن کبد پیش‌بینی کرده و نیز همراهی آن با بقای مستقل از بیماری کاهش یافته را نشان می‌دهد (۲۲).

## ۵- رگزایی:

### ۵-۱ -تراکم مویرگ (Microvessel density)

تراکم مویرگ (Microvessel Density) یا (MVD ) یکی رایج‌ترین و عمومی‌ترین شاخص‌های استفاده شده برای رگزایی در تومورها شامل رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی نشانگرهای سلول آندوتلیالی است. نشانگرهای عمومی استفاده شده شامل CD34 ,CD31 و عامل فون ویله برند (von willebrand=vWF) است. مطالعات نشان داده است که MVD با استفاده از CD34 به نحو مستقل دارای همراهی با بقای مستقل از بیماری کاهش یافته بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند گانه می‌باشد. در بیمارانی که دارای تومورهای کوچکتر از ۵ سانتی‌متر هستند و تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند (۲۳). مطالعه دیگری بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چندگانه همراهی CD34 را با بقای کلی کاهش یافته پیش‌بینی کرده است (۲۳). گفتنی است دو مطالعه دیگر با استفاده از نشانگرهای CD31 و CD34 هیچ ارزش پیش‌آگهی‌دهنده را نشان نداده‌اند (۲٤). MVD ارزیابی شده با استفاده از بیان vWF نیز بقای مستقل از بیماری کاهش یافته را نشان داده است (۲٤). اگرچه در یک مطالعه وسیع‌تر پون (Poon) و همکاران (۲۳) هیچ همراهی پیش‌آگهی‌دهنده با استفاده از همان نشانگرها را نیافتند. تناقض در این نتایج می‌تواند دلایل متعددی شامل موارد زیر داشته باشد: تفاوت در نشانگرهای اندوتلیالی، تفاوت در مکان نمونه‌برداری، انتخاب اریب (bias) در گزینش نقاط داغ برای مشخص کردن MVD. با این وجود، همچنان بحث‌انگیز است که آیا MVD دارای اطلاعات پیش‌آگهی‌دهنده پس از برداشت ناحیه توموری در HCC می‌باشد یا خیر؟

### ۵-۲- نیتریک اکسید سنتاز

نیتریک اکسید سنتاز (Nitric oxide Synthase=NOS) به شکل سه ایزوفرم NOS اندوتلیالی، NOS نورونی و NOS القایی (iNOS) وجود دارد.

NOS یک مرحله محدودکننده میزان تولید نیتریک اکسید (NO) است که نقش مهمی را در رگزایی تومور ایفا می‌کند. بیان بیش از حد iNOS در چندین بدخیمی نشان داده شده است، همچنین بیان افزایش‌یافته آن با فنوتیپ تهاجمی و پیش‌آگهی ضعیف همراهی دارد. در HCC بیان مثبت iNOS با خطر افزایش یافته برگشت دوباره توموری همراهی دارد (۲۵). راهمن (Rahman) و همکاران هیچ ارزش پیش‌آگهی‌دهنده برای iNos به تنهایی نیافتند. اما همراه با بیان $cox_2$ در شکل بیان منفی، بقای مستقل از بیماری و بقای کلی بهتر شده را پس از برداشتن کبد بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته پیش‌بینی می‌کند (۲٦) (شکل ۳). چنانکه گفته شد نیتریک اکسید سنتاز القایی iNOS نقش مهمی را در کارسینوم سلول کبدی ایفاء می‌کند. iNOS بیان بازدارنده کیناز KB (inhibitor of KB kinase=IKB) را تحریک کرده و موجب فسفریلاسیون، یوبی کوئیتینه شدن و تجزیه پروتئازومی پروتئین IKB (inhibitor kappa B) می‌شود، در نتیجه اعضاء خانواده عامل هسته‌ای KB (NF-KB) ممکن است در سیتوپلاسم تجمع یافته و به هسته روند تا در آن مکان چند ژن مانند ژنهای c-MYC، CYCLIN، ژنهای ضدآپوپتوز و ژنهای مرتبط با التهاب مانند ژنهای خانواده نیتریک اکسید سنتاز را ترانس اکتیو کنند. افزایش در تولید نیتریک اسید موجب بیش تنظیمی HIF-œ و VEGF- (vascular endothelial growth factor) و رگزایی می‌شود. سرانجام تحریک بیان NF-KB به وسیله iNOS ممکن است موجب یک چرخه بدخیم شود که به تجمع NF-KB منجر شود. افزون بر آن، فعالیت NO از مسیر RAS/ERK منجر به بیش تنظیمی AURORA A شده و این رویکرد نیز مانع کارکرد IKB می‌شود. همچنین، NO از تکثیر کاسپازها و

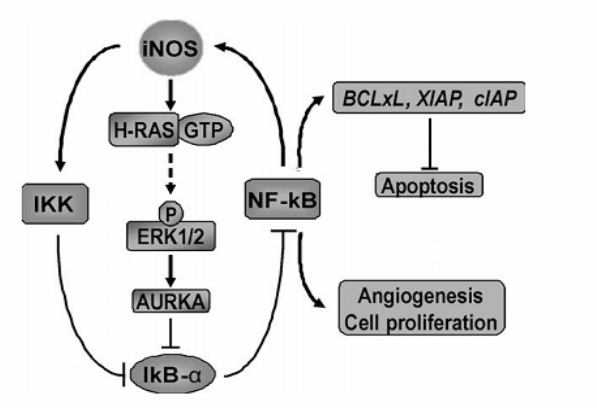


www.SID.ir

Archive of SID



لمفوسیتها جلوگیری کرده و موجب فعالیت تلومراز، P21 و متالوپروتئیناز می‌شود. بنابراین فعالیت بیش از حد iNOS بر ساز و کارهای مهم از جمله آپوپتوز، رگزایی، مهاجرت و تهاجم سلولی تأثیر بسزایی دارد (۲۷).




**شکل ۳- مسیر علامت‌رسانی iNOS در رگزایی و بر همکنش iNOS با IKK/NF-KB و آبشارهای علامت‌دهی H-RAS/ERK (۲۷)**

### ۵-۳- عامل رشد فیبروبلاست پایه

عامل رشد فیبروبلاست پایه (Basic bFGF = fibroblast growth factor) پلی پپتید متصل شونده به هپارین محلول است که اثر بالقوه میتوژنی روی سلولهای اندوتلیالی دارد. اهمیت پیش‌آگهی دهنده bFGF سرمی را به دنبال پس از برداشت ناحیه توموری در HCC ارزیابی شده است. پون و همکاران گزارش دادند که میزان بالاتر از میانگین bFGF (در حدود 10.8 pg/ml <)، بقای مستقل از بیماری کاهش یافته را بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته در ۸۸ بیمار نشان می‌دهد (۲۸). اگرچه چائو (Chao) و همکاران هیچ همراهی با پیش‌آگهی با استفاده از میزان کمتر 2.1 < (pg/ml) مشاهده نکردند (۲۹).

### ۵-۴- اینترلوکین -۸

اینترلوکین-۸ (Interleukin-8=IL-8) یک کموکاین چند کاره می‌باشد که اهمیت آن در القاء رگزایی مشخص شده است. اینترلوکین-۸ هم در تومور و هم در سرم بیماران HCC بیان می‌شود (۳۰). مطالعات، پیش از عمل جراحی، بقای کلی و مستقل از بیماری بهتر شده را در بیمارانی که IL-8 سرمی پایین‌تر نسبت به بیماران واجد سطح بالاتر داشتند، نشان دادند (۳۱). به طور کلی IL-8 عامل پیش‌آگهی‌دهنده برای بقای کلی طبق تجزیه و تحلیل‌های چند واریته می‌باشد (۳۱).

## ۶-تهاجم و متاستاز

### ۶-۱- متالوپروتئازهای ماتریکس

متالوپروتئینازهای تجزیه‌کننده ماتریکس (Matrix metallo proteases=MMP) خانواده‌ای از آنزیم‌های پروتئولیتیک هستند که مشخصه اصلی آنها توانایی در تجزیه کردن ماتریکس برون سلولی است. همچنین نقش مهمی را در تهاجم و متاستاز سرطانی ایفا می‌کنند. سطح افزایش یافته MMP-2 یا ژلاتیناز A( MMP است که کلاژن ٤ را که جزء اصلی غشاء پایه است تجزیه می‌کند) در بیمارانی که از برگشت دوباره بیماری پس از برداشت ناحیه توموری رنج می‌برند دارای همراهی با برگشت دوباره سریع بیماری است (۳۲). بیان بیش از حد همزمان MMP-7 با MMP2 با برگشت دوباره بیماری در سال نخست پس از عمل جراحی همراهی دارد (۳۲). بیان متالوالاستاز ماکروفاژی انسان (MMP-12) به طور مستقل بقای کلی بهتر شده را بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای پیش‌بینی می‌کند (۳۳).

### ۶-۲- فعال‌کننده پلاسمنیوژن اروکیناز

فعال کننده پلاسمنیوژن اروکیناز urokinase (plasminogen activator=uPA) سرین پروتئازی است که پلاسمینوژن را به پلاسمین پروتئاز تبدیل کرده و در پی آن ماتریکس برون سلولی را تجزیه نموده و MMP را فعال می‌کند. بیان uPA و گیرنده آن (uPAR) با رشد توموری و تهاجم همراهی دارد. ارزیابی با روش الیزا نشان داده است که فعالیت افزایش یافته uPA با بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشت ناحیه توموری همراهی دارد (۳٤). افزون بر آن ژنگ (Zheng) و همکاران نشان دادند که بیان ترکیبی uPAR ،uPA و PAI-1 در نمونه‌های برداشت شده از کبد با بقای کلی کاهش یافته همراهی دارد (۳٤).


www.SID.ir

Archive of SID



**۶-۳-مجموعه کادهرین / کاتنین The cadherin/ catenin Complex**

E-cadherin یک گلیکو پروتئین ترا شامه‌ای (transmembrane) است که اتصالات سلول به سلول را میانجگیری می‌کند. β-catenin موجب اتصال E-cadherin به α-catenin (که مستقیماً با اکتین اسکلت سلولی ارتباط دارد) می‌شود. β-catenin هم به عنوان مولکول چسبشی درون سلولی و هم به مثابه اثرکننده درون سلولی مسیر wnt عمل می‌کند. فعالیت مسیر موجب جابه جایی مواد هسته‌ای و تحریک رونویسی ژن‌های دخیل در تکثیر سلولی، ضد آپوپتوز و ژنهای اولیه رگزایی می‌شود. فقدان بیانE- cadherin نیز ارتباط نزدیکی با پیشرفت و تهاجم چندین نوع سرطان دارد. در بیماران HCC فقدان بیان E- cadherin یا mRNA آن با برگشت دوباره سریع بیماری پس از برداشت ناحیه توموری، همراهی دارد (۳۵). همچنین بیان نشدن E-cadherin با بقای کلی کاهش یافته در بیماران HCC، پس از برداشت کبد همراهی دارد (۳۵)، گرچه ایناگاوا (Inagawa) و همکاران بین بیان E-cadherin و بقا پس از برداشت ناحیه توموری در بیماران HCC که دارای تومورهای کوچکتر از۳ سانتی‌متر بودند، هیچ همراهی نیافتند (۳٦). چندین مطالعه نقش پیش‌آگهی‌دهنده میان β-catenin در HCC را بررسی کرده‌اند. اگرچه این مطالعات نتایج ضد و نقیضی را ارائه داده‌اند، بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای با بیان هسته‌ای هم افزایش (۳۷) و هم کاهش بقا را نشان داده است (۳٦). دلایل این تناقضات را می‌توان پادتن‌های گوناگون، سیستم‌های درجه‌بندی و نواحی متفاوت توموری برای تجزیه و تحلیل عنوان کرد.

**۷- عامل‌های رشد و گیرنده‌ها:**

TGF-βs متعلق به خانواده بزرگی از مولکول‌های پلی‌پپتیدی علامت رسانی است که موجب تنظیم رشد سلولی، تمایز، رگزایی و تهاجم و کارکرد ایمنی می‌شوند. TGF-β1 شکل غالب در انسان است که موجب رگزایی و سرکوب کارکرد ایمنی می‌شود. بیان بیشتر TGF-β عامل پیش‌آگهی‌دهنده برای بقاء کاهش یافته در بیماران با HCC غیرقابل جراحی است (۳۸). اگرچه مطالعه‌ای که ارزش پیش‌آگهی‌دهنده بیان TGF-β را پس از هپاتکتومی بررسی کرده است هیچ ارتباطی با بقاء نیافته است (۳۸).

**۷-۲- خانواده گیرنده عامل رشد اپیدرمی**

خانواده گیرنده عامل رشد اپیدرمی ( Epidermal growth factor receptor family=EGFR) شامل چهار گیرنده تیروزین کینازی غشاء گذر به شرح زیر می‌باشد:-erbB 3(HER-3) ,c-erbB-2(HER-2/neu) ,EGFR(erbB-1) -cو c-erbB-4 (HER-4). این عامل ها لیگاندهای خانواده EGF شامل EGF، TGF-α و EGF متصل شونده به هپارین را متصل می‌کنند. در بیماران HCC، EGFR بیان می‌شود و سطوح بالای بیان آن با برگشت دوباره سریع (۳۹،٤۰) و بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشت ناحیه توموری همراهی دارد (٤۰). بیان بیش از حد c-erbB-2(HER-2/neu) در HCC غیرمعمول است. نقش پیش‌آگهی‌دهنده آن تا حدودی گیج‌کننده است: بیماران با تکثیر HER-2 که توسط فن FISH ارزیابی شده‌اند دارای بقای کلی کمتر از دو سال پس از برداشت ناحیه توموری می‌باشند (۳۹). گفتنی است که مطالعه با روش ایمونوهیستوشیمیایی چنین نتیجه‌ای را نشان نداده است (٤۰). این تضاد ممکن است به دلیل استفاده از روشهای متفاوت در مطالعه باشد.

ایتو (Ito) و همکاران بیان c-erbB-3 و c-erbB-4 را بررسی کرده‌اند و مشاهده نموده‌اند که بیان c-erbB-3 با بقای مستقل از بیماری کاهش یافته پس از برداشت ناحیه توموری همراهی دارد اگر چه که c-erbB-4 هیچ همراهی با بقا ندارد (٤۱).

**۷-۳- گیرنده لپتین Leptin receptor**

لپتین (Leptin) هورمون مترشحه از آدیپوسیت‌ها (Adipocytes ) در تنظیم و تعدیل رشد سلولی، تمایز و رگزایی و همچنین در بیماری‌زایی چندین بدخیمی شرکت دارد. لپتین و گیرنده آن ob- R دارای بیان بیش از حد در HCC هستند. بیان افزایش یافته هر دوی آنها نشان می‌دهد که هر دو عامل‌های پیش‌آگهی‌دهنده برای بقای کلی بهتر شده بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای هستند (٤۲).



www.SID.ir

Archive of SID



**۸- تلومراز:**

لومراز انسانی یک پروتئین ریبونوکلئاز متشکل از RNA تلومرازی و ترانس کریپتاز معکوس تلومراز انسانی ( human telomerase reverse transcriptase) یا(hTERT) می‌باشد. کوتاه شدن تلومرها در سلولهای انسانی تا حد طول عمر بحرانی، رشد را به میزان معینی از تقسیمات سلولی پیش از پیری و یا مرگ سلولی محدود می‌کند. عقیده بر آن است که فعالیت تلومراز، طول تلومر را پایدار کرده و از پیری و مرگ سلولی جلوگیری می‌کند. مطالعاتی که ارزش پیش‌آگهی‌دهنده فعالیت تلومراز در بیماران HCC را توسط ارزیابی(TRAP= telomeric repeat amplification protorcol assay) بررسی کرده‌اند، همراهی آن را با بقا کمتر از پنج سال پس از برداشت ناحیه توموری (۴۳) و نیز بقای مستقل از بیماری کاهش یافته بر اساس تجزیه و تحلیل‌های چند واریته‌ای را نشان داده‌اند (۴۴).

**۹- ناپایداری ژنومی:**

**۹-۱- ناپایداری کرومزومی / آنیوپلوئیدی**

تومورهای متهاجم به وسیله ناپایداری ژنومی مشخص شده و موجب پیشرفت سرطان و سازگاری آن می‌شود ناپایداری کرومزومی (به اختصار CIN) از دست دادن یا به دست آوردن یک قطعه کرومزومی در خلال تقسیمات سلولی است. همانند دیگر بدخیمی‌های انسانی،HCC نیز بروز بالایی از CIN را نشان می‌دهد. CIN موجب افزایش آنیوپلوئیدی شده که آن نیز موجب جهش‌های بیشتر و در نتیجه پیشرفت تومورها می‌شود (۴۵).

مطالعاتی برای ارزیابی نقش پیش‌آگهی‌دهنده آسیب‌های ژنومی در HCC با استفاده از فن aCGH، array comparative genomic hybridization)انجام شده‌اند (۴۶). کاتو (Katoh) و همکاران نشان دادند که از دست دادن قطعه‌های کرومزومی در نواحی 4q، 8p، 13q، 14q، 17p و نیز به دست آوردن قطعه‌های کرومزومی در نواحی 8 q، 17q با بقاء کوتاه‌تر همراهی دارد؛ گرچه تنها از دست دادن 17q13/3 و به دست آوردن 8q11 دارای ارزش پیش‌آگهی است (۴۵). کوزانو(kusano) و همکاران همبستگی تغییرات تعداد کل کروموزومی را با افزایش مرحلهٔ توموری مطالعه کردند (۴۶). به دست آوردن قطعه کرومزومی در 8q24 به خوبی در HCC های متمایز شده مشاهده شده است، اما از دست رفتن قطعه کرومزومی 14-13q13 و تکثیر 11q13 با تومورهای بسیار اندک متمایز شده، همراهی دارد. از دست دادن 8p، 13q و تکثیر 11q13 با پیش‌آگهی ضعیف همراهی دارند.

**۹- ۲- ناپایداری ریز ماهواره‌ای**

ریز ماهواره‌ها توالی‌های پشت سر هم کوتاه در سراسر ژنوم هستند. ناپایداری این ریز ماهواره‌ها Microsatellite instability=MSI) بوسیله جهش در ژنهای ترمیم باز ناجور جفت mismatch repair ایجاد شده است. بر اساس گزارش‌های متعدد، میزان بروز MSI بر روی یک کولوس کرومزومی دامنه‌ای بین ۳۴ تا ۶۸ درصد دارد (۴۹-۴۷). این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در ریشه‌یابی HCC و تفاوت در تعداد و نوع نشانگرهای مورد پژوهش باشد. افزون بر این بیان BAT 26 (نشانگر ریز ماهواره‌ای که MSI بسیار بالایی را نشان می‌دهد) به ندرت تغییر کرده است (۴۹،۵۰).

چیاپانی (chiappini) و همکاران شمار بسیاری از بیماران با MSI را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که بقای مستقل از بیماری پایین‌تر است نسبت به آنهایی که بدونMSI هستند، پایین‌تر است (۵۱).

## جمع‌بندی و چشم‌انداز:

پژوهش پیرامون زیست شناسی مولکولی سرطان‌زایی در سلول کبدی، شمار بسیاری از نشانگرهای زیستی مولکولی با اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده بالقوه را شناسایی کرده است. نشانگرهایی که بیشتر بر آنها متمرکز شده اند شامل $P^{53}$ جهش یافته $MMP^{12}$ , $P^{57}$ , $P^{27}$,$P^{18}$, c- myc, c-met, pTEN , $MMP^{2, -7}$ و فعالیت تلومرازی، آنیوپلوئیدی هستند (جدول شماره ۱). بیشتر مطالعات بر روی نشانگرهایی که پیش‌تر بررسی شده‌اند، متمرکز شده است. همچنین فنون متفاوت مورد استفاده در این مطالعات ممکن است دلیل پاسخ‌های متناقض باشد. افزون بر آن، سبب شناسی ریشه HCC و تنوع در بروز و شیوع این بیماری در جمعیت‌های گوناگون نیز


www.SID.ir

Archive of SID



می‌تواند نتایج متفاوتی را ارائه دهد. به طور کلی کارسینوم سلول کبدی یک بیماری پیچیده و ناهمگن است که دارای عامل‌های سبب شناسی متفاوتی می‌باشد و عامل‌ها و اثرات گوناگونی در مسیرهای مولکولی آن شرکت دارند. برای نمونه، ممکن است یک نشانگر ویژه، نشانگر پیش آگهی‌دهنده برای HCC مرتبط با ویروس هپاتیت B(HBV) باشد اما با HCC مرتبط با ویروس هپاتیت C(HCV) رابطه‌ای نداشته باشد. بنابراین یک مطالعه شامل مخلوطی از جمعیت‌های گوناگون ممکن است که نتایج ضد و نقیضی را ارائه دهد، یا اساساً نتیجهٔ مطلوبی حاصل نشود مگر این که تجزیه و تحلیل‌های مناسب و خاص بر روی آنها انجام شود. گفتنی است چنین تجزیه و تحلیل‌هایی به راحتی میسر نیست زیرا به احتمال زیاد بیماران در معرض ترکیبی از عامل‌های سبب شناسی گوناگون هستند.

در این راستا نیازی هم برای استاندارد کردن روش مطالعه و بررسی نشانگرهای زیستی مولکولی و هم ارزش گذاری این نشانگرهای بالقوه در جمعیت بزرگی از بیماران احساس می‌شود که پانل‌های نشانگرهای زیستی را به ابزاری درست فرمول‌بندی کرده تا یک متخصص بالینی بر اساس آن بتواند پیشرفت سریع و پیش‌آگهی بیماری را پیش‌بینی کند. ترکیب کردن پانل‌های نشانگرهای زیستی مولکولی با مشخصات بیماری‌زایی بافتی ممکن است موجب شود تا بیمارانی که در معرض خطر بالایی از پیشرفت بیماری قرار دارند و نیز بیمارانی که بهتر مورد هدف دارویی قرار می‌گیرند، سریع‌تر تشخیص داده شوند. افزون بر بیان نشانگر زیستی در نمونه‌های برداشته شده کبدی یا نمونه‌های بیوپسی شده، باید بر نقش نشانگرهای در گردش سرمی نیز توجه و تأکید شود. بررسی نشانگرهای زیستی مولکولی در سرم (برای نمونه، نشانگر VEGE سرمی پیش از جراحی) و نیز دیگر مایعات بدن شامل ادرار موجب فرموله کردن ضوابط پیش‌آگهی‌دهنده پیش از عمل جراحی برای شناسایی بیماران HCC که به احتمال بیشتری از درمانهای ویژه مانند برداشتن کبد و پیوند کبد بهره می‌برند، شده است و نیز افرادی که احتمالاً نسبت به عامل‌های شیمی‌درمانی گوناگون پاسخ بهتری می‌دهند را تشخیص می‌دهد. استفاده از فن‌آوری ریز آرایه، مطالعه همزمان شماری از ژنهای گوناگون در ارتباط با HCC را میّسر کرده است. هو (Ho) و همکاران از این روش برای مطالعه چهارده ژن در بیماران با هجوم رگزایی و نیز در بیماران بدون هجوم رگزایی استفاده کردند (۵۲)، و در پی آن ارزش پیش‌آگهی‌دهنده این ژنها را در گروه‌های متفاوت ارزیابی نموده و نشان دادند که بقای مستقل از بیماری در بیماران دارای تهاجم رگی که در معرض خطر بالایی از برگشت دوباره بیماری هستند، بسیار ضعیف است (۵۲). مطالعات توسط لی زوکا (Lizuka) و همکاران بر اساس تجزیه و تحلیل ریز آرایه بر روی گروهی از ژنها برگشت دوباره درون کبدی را با ارزش پیش‌بینی مثبت ۸۸ ٪ و ارزش پیش‌بینی منفی ۹۵ ٪ نشان داد (۵۳).

بررسی‌های تکمیلی توسط همان گروه نشانه‌های متفاوتی از ژنها را برای بیمارانی که برگشت دوباره درون کبدی (intrahepatic) درمقایسه با آنهایی که برگشت دوباره برون کبدی (extrahepatic) داشته‌اند، ارائه داد (٥٤). در حالی که این یافته (با کمبود اندام‌های دهنده)، برای تشخیص پیش‌آگهی مهم است. همچنین ممکن است به بیمارانی که احتمالاً از پیوند کبدی سود می‌برند و یا افرادی که به عامل‌های شیمی‌درمانی پاسخ مناسب دهند، کمک کند (۵۵). فن‌آوری جدید دیگری که کشف نشانگرها را مورد توجه قرار داده است، تجزیه و تحلیل پروتئومیک است. امروزه بررسی‌های پروتئومیکس در HCC به طور عمده برای نشان دادن بیان پروتئین‌های گوناگون در بافت‌های بدخیم و خوش‌خیم متمرکز شده‌اند (٥٦). مطالعات پروتئومیکس سرمی نیز در حال تلاش برای یافتن نشانگرهای جدید سرمی است که برای نمونه می‌توان به ( heat- shock- protein) $HSP^{27}$ اشاره کرد. اگرچه هنوز ارزش دقیق پیش‌آگهی‌دهنده آن معلوم نیست (۵۷).

مطالعه‌ای توسط لوک ( luk) و همکاران با استفاده از پروتئومیک، ۳ پروتئین $HSP^{27}$ , $HSP^{70}$ و [(GRP)78] glucose –regulated protein را شناسایی کرد، که به طور هماهنگ بیان بیش از حد در HCC پس از برداشت ناحیه توموری در مقایسه بافت‌های غیرتوموری مجاور و همچنین کبد سالم داشتند (۵۸). هرچند آنها ارزش پیش‌آگهی‌دهنده این پروتئین‌ها را بررسی نکردند اما بیان افزایش یافته GRP 78, $HSP^{27}$ را که به ترتیب با آلفا فتوپروتئین افرایش یافته و



www.SID.ir

Archive of SID



تهاجم رگی همراهی دارد، یافتند که هر دوی این علائم با فنوتیپ تهاجمی و پیش‌آگهی ضعیف همراهی دارند. همچنین تجزیه و تحلیل پروتئومیک بیان بیش از حد $HSP^{27}$ در HCC متاستازدهنده را نشان می‌دهد (۵۹).

تأکید می‌نماید که چندین نشانگر مولکولی با اهمیت پیش‌آگهی‌دهنده در کارسینوم سلول کبدی شناسایی شده‌اند. این نشانگرهای مولکولی نه تنها می‌توانند موجبات تشخیص درست پیش‌آگهی در بیماران HCC را فراهم آورند، بلکه امکان هدف قرار دادن آنها را برای درمان و نیز ارائه هدف‌های جدید برای عامل‌های درمانی مهیا سازند.

تاریخچه بیان ژن به عنوان ابزار جدید برای گسترش تشخیص و پیش‌بینی HCC بسیار مهیج است. پیشرفت بیماری HCC همراه با تجمع تغییرات ژنتیکی است که موجب بیان ژنهای مرتبط با سرطان می‌شود، فن‌آوری جدید (بیان ژن) دانشمندان را برای اندازه‌گیری بیان هزاران mRNA به طور همزمان قادر می‌سازد؛ بنابراین اطلاعات فراگیری برای تشخیص و درمان HCC فراهم می‌آید (۶۲-۶۰).

در آینده ممکن است تاریخچه بیان ژن (انگشت نگاری بیماری) مکملی برای بیوپسی کبد در تشخیص تمایز مولکولی بیماریهای مزمن کبدی و HCC باشد. هم اکنون موفقیت‌هایی در شناسایی زیرردههای HCC بر اساس اطلاعات به دست آمده از بیان مجموعه ژنهای شناخته شده کسب شده است.

از عامل‌های محدودکننده برای استفاده متداول از فن‌آوری مولکولی در بالین می‌توان به هزینه و دسترسی به آنها اشاره کرد. امید است که در آینده‌ای نه چندان دور هزینه‌ها کاهش یافته و این فن‌آوری به سرعت در دسترس مردم قرار گیرد.

## References منابع


1. Chen XP, Qiu FZ, Wu ZD, Zhang ZW, Hung ZY, Chen YF. Long-term outcome of resection of large hepatocellular carcinoma. *Br J Surg*. 2006;93:600–606.
2. Davila JA, Morgan RO, Richardson PA, Du XL, El-Serag HB, McGlynn KA. Use of surveillance for hepatocellular carcinoma among patients with cirrhosis in the United States. *Hepatology*. 2010;52:132-141.
3. Noori Daloii M.R. Principles of Emeris Medical Genetics, Trinpi P, Elards. 5th ed. Jamenegar & Salemi Publishing; 2009. [Persian]
4. Noori Daloii M.R. Molecular genetics in third millennium. First ed. Volume 7 & 2. Tehran: Summer & Akhar Publishing; 2009. [Persian]
5. Song GW, Hwang S, Lee SG. Liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. *Korean J Gastroenterol*. 2010;55:350-360.
6. Zhou L, Rui JA, Wang SB, Chen SG, Qu Q, Chi TY, et al. Clinicopathological features, post-surgical survival and prognostic indicators of elderly patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2006;32:767–772.
7. Zhou YM, Yang JM, Li B, Yin ZF, Xu F, Wang B, et al. Risk factors for early recurrence of small hepatocellular carcinoma after curative resection. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2010;9:33-37.
8. Hashimoto K, Ikeda Y, Korenaga D, Tanoue K, Hamatake M, Kawasaki K, et al. The impact of preoperative serum C-reactive protein on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2005;103:1856–1864.
9. Osada S, Saji S, Kuno T. Clinical significance of combination study of apoptotic factors and proliferating cell nuclear antigen in estimating the prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*. 2004;85:48–54.
10. Qin LX, Tang ZY, Ma ZC, Wu ZQ, Zhou XD, Ye QH, et al. P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. *World J Gastroenterol*. 2002;8:459–563.




www.SID.ir

Archive of SID




11. Hu TH, Huang CC, Lin PR, Chang HW, Ger LP, Lin YW, et al. Expression and prognostic role of tumor suppressor gene PTEN/MMAC1/TEP1 in hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2003;97:1929–1940.
12. Liu YB, Gao SL, Chen XP, Peng SY, Fang HQ, WU YL, et al. Expression and significance of heparanase and nm23-H1 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005;11:1378–1381.
13. Tavian D, DePetro G, Bennetti A. U-PA and c-MET mRNA expression is co-ordinately enhanced while hepatocyte growth factor mRNA is down-regulated in human hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2000;87:644–649.
14. Chao Y, Shih YL, Chiu JH, Chau GY, Lui WY, Yang WK, et al. Overexpression of cyclin A but not Skp2 correlates with the tumor relapse of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*. 1998;58:985–990.
15. Wong IH, Lo YMD, Yeo W, lau WY, Johnson PJ. Frequent p15 promoter methylation in tumor and peripheral blood from hepatocellular carcinoma patients. *Clin Cancer Res*. 2000;6:3516–3521.
16. Li X, Hui AM, Sun L, Hasegawa K, Torzilli G, Minaqawa M, et al. P16INK4A hypermethylation is associated with hepatitis virus infection, age and gender in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10:7484–7489.
17. Matsuda Y, Ichida T, Genda T, Yamaqiwa S, Aoyaqi Y, Asakura H. Loss of p16 contributes to p27 sequestration by Cyclin D1-cyclin-dependent kinase 4 complexes and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2003;9:3389–3396.
18. Nan KJ, Guo H, Ruan ZP, Jing Z, Liu SX. Expression of p57(Kip2) and its relationship with clinicopathology, PCNA and p53 in primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005;11:1237–1240.
19. Noori Daloii M.R, Yaghobi M.M. Apoptosis or programmed cell death and its relation to cancer. *Razi Magazin*. 1999;1:7-27. [Persian]
20. Noori Daloii M.R, Yaghobi M.M. Apoptosis or programmed cell death and its relation to cancer. *Razi Magazin*. 1999;2:18-36. [Persian]
21. Garcia EJ, Lawson D, Cotsonis G, Cohen C. Hepatocellular carcinoma and markers of apoptosis (bcl-2, bax, bcl-x): prognostic significance. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002;10:210–217.
22. Cho S, Lee JH, Cho SB, Yoon KW, Park SY, Lee WS, et al. Epigenetic methylation and expression of caspase 8 and survivinin hepatocellular carcinoma. *Pathol Int*. 2010;60:203–211.
23. Poon RT, Ng IO, Lau C, Yu WC, Yang ZF, Fan ST, et al. Tumor microvessel density as a predictor of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *J Clin Oncol*. 2002;20:1775–1785.
24. Ho JW, Poon RT, Sun CK, Xue WC, Fan ST. Clinicopathological and prognostic implications of endoglin (CD105) expression in hepatocellular carcinoma and its adjacent non-tumorous liver. *World J Gastroenterol*. 2005;11:176–1781.
25. Ikeguchi M, Ueta T, Yamane Y, Hirooka Y, Kaibara N. Inducible nitric oxide synthase and survivin messenger RNA expression in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2002;8:3131–3136.
26. Rahman MA, Dhar DK, Yamaquchi E, Maruyama S, Sato T, Hayashi H, et al. Coexpression of inducible nitric oxide synthase and COX-2 in Hepatocellular carcinoma and surrounding liver: liver possible involvement of cox-2 in the angiogenesis of hepatitis C virus-positive cases. *Clin Cancer Res*. 2001;7:1325–1332.
27. Jeng KS, Sheen IS, Wang YC, Gu SL, Chu CM, Shin SC, et al. Prognostic significance of preoperative circulating vascular endothelial growth factor messenger RNA expression in resectable hepatocellular carcinoma: a prospective study. *World J Gastroenterol*. 2004;10:643–648.
28. Poon RT, Ng IO, Lau C, Yu WC, Fan ST, Wong J. Correlation of serum basic fibroblast growth factor levels with clinicopathologic features and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma. *Am J Surg*. 2001;182:298–304.
29. Chao Y, Li CP, Chau GY, Chen CP, King KL, Lui WY, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin in patients with resectable hepatocellular carcinoma after surgery. *Ann Surg Oncol*. 2003;10:355–362.
30. Ren Y, Tsui HT, Poon RT, Nq IO, Li Z, Chen Y, Jiang G, et al. Macrophage migration inhibitory factor: roles in regulating tumor cell migration and expression of angiogenic factors in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2003;107:22–29.




www.SID.ir

Archive of SID




31. Ren Y, Poon RTP, Tsui HT, Chen WH, Li Z, Lau C, et al. Interleukin-8 serum levels in patients with hepatocellular carcinoma: correlations with clinicopathological features and prognosis. *Clin Cancer Res*. 2003;9:5996–6001.
32. Nart D, Yaman B, Yilmaz F, Zeytunlu M, Karasa Z, Kilic M. Expression of matrix metalloproteinase-9 In predicting prognosis of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2010;16:621-630.
33. Gorrin-Rivas MJ, Arii S, Furutani M, Harada T, Mizumoto M, Nishiyama H, et al. Expression of human macrophage metalloelastase gene in hepatocellular carcinoma: correlation with angiostatin generation and its clinical significance. *Hepatology*. 1998;28:986–993.
34. Dass K, Ahmad A, Azmi AS, Sarkar SH, Sarkar FH. Evolving Role of uPA/uPAR system in human cancers. *Cancer Treat Rev*. 2008;34:122–136.
35. Iso Y, Sawada T, Okada T, Kubota K. Loss of E-cadherin mRNA and gain of Osteopontin mRNA are useful markers for detecting early recurrence of HCV-related Hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*. 2005;92:304–311.
36. Inagawa S, Itabashi M, Adachi S, Kawamoto T, Hori M, Shimazaki J, et al. Expression and prognostic roles of b-catenin in hepatocellular carcinoma: correlation with tumor progression and postoperative survival. *Clin Cancer Res*. 2002;8:450–456.
37. Fujito T, Sasaki Y, Iwao K, Miyoshi Y, Yamada T, Ohigashi H, et al. Prognostic significance of beta-catenin nuclear expression in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2004;51:921–924.
38. Okumoto K, Hattori E, Tamura K, Kiso S, Watanabe H, Saito K, et al. Possible contribution of circulating transforming growth factor-beta to immunity and prognosis in unresectable hepatocellular carcinoma. *Liver Int*. 2004;24:21–28.
39. Daveau M, Scotte M, Francois A, Coulouarn C, Ros G, Tallet Y, et al. Hepatocyte growth factor, transforming growth factor alpha and their receptors as combined markers of prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog*. 2003;36:130–141.
40. Ikeguchi M, Iwamoto A, Taniguchi K, Katano K, Hirooka Y. The gene expression level of transforming growth factor-beta (TGF-beta) as a biological prognostic marker of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2005;24:415–421.
41. Ito Y, Takeda T, Sakon M, Tsujimoto M, Hiqashiyama S, Noda K, et al. Expression and clinical significance of the erb-B receptor family in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*. 2001;84:1377–1383.
42. Wang SN, Yeh YT, Yang SF, Chai CY, Lee KT. Potential role of leptin expression in hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol*. 2006;59:930–934.
43. Aravalli RN, Steer CJ, Cressman EN. Molecular mechanisms of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2008;48:2047-2063.
44. Kobayashi T, Sugawara Y, Shi YZ, Makuuchi M. Telomerase expression and p53 status in hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:3166–3171.
45. Katoh H, Shibata T, Kokubu A, Ojima H, Loukopoulos P, Kosaqe T, et al. Genetic profile of hepatocellular carcinoma revealed by array-based comparative genomic hybridization: Identification of genetic indicators to predict patient outcome. *J Hepatol*. 2005;43:863–874.
46. Kusano N, Okita K, Shirahashi H, Harada T, Shiraishi K, Oga A, et al. Chromosomal imbalances detected by comparative genomic hybridization are associated with outcome of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2002;94:746–51.
47. Macdonald GA, Greenson JK, Saito K, Cherian SP, Appelman HD, Boland CR. Microsatellite instability and loss of heterozygosity at DNA mismatch repair gene loci occurs during hepatic carcinogenesis. *Hepatology*. 1998;28:90-97.
48. Salvucci M, Lemoine A, Saffroy R, Azoulay D, Lepére B, Gaillard S, et al. Microsatellite instability in European hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 1999;18:181–187.
49. Karachristos A, Liloglou T, Field JK, Deligiorgi E, Kouskouni E, Spandidos DA. Microsatellite instability and p53 mutations in hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biol Res Commun*. 1999;2:155–161.




www.SID.ir

Archive of SID




50. Yamamoto H, Itoh F, Fukushima H, Kaneto H, Sasaki S, Ohmura T, et al. Infrequent widespread microsatellite instability in hepatocellular carcinomas. *Int J Oncol*. 2000;16:543–547.

51. Chiappini F, Gross-Goupil M, Saffroy R, Azoulay D, Emile JF, Veillhan LA, et al. Microsatellite instability mutator phenotype in hepatocellular carcinoma in non-alcoholic and non-virally infected normal livers. *Carcinogenesis*. 2004;25:541–547.

52. Ho MC, Lin JJ, Chen CN, Chen CC, Lee H, Yang CY, et al. A gene expression profile for Vascular invasion can predict the recurrence after resection of Hepatocellular carcinoma: a microarray approach. *Ann Surg Oncol*. 2006;13:1474–1484.

53. Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Nishida M, Maeda Y, Mori N, et al. Oligonucleotide microarray for prediction of early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Lancet*. 2003;361:923–929.

54. Iizuka N, Tamesa T, Sakamoto K, Miyamoto T, Hamamoto Y, Oka M, et al. Different molecular pathways determining extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*. 2006;16:1137–1142.

55. Potti A, Dressman HK, Bild A, Riedel RF, Chun G, Sayer R, et al. Genomic signatures to guide the use of chemotherapeutics. *Nat Med*. 2006;12:1294–1300.

56. Feng JT, Shang S, Beretta L. Proteomics for the early detection and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2006;25:3810–3817.

57. Ma Y, Peng J, Liu W, Zhang P, Huang L, Gao B, et al. Proteomics identification of desmin as a potential oncofetal diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer. *Mol Cell Proteomics*. 2009;8:1878–1890.

58. Luk JM, Lam CT, Siu AF, Lam By, Nq IO, Hu MY, et al. Proteomic profiling of hepatocellular carcinoma in Chinese cohort reveals heat-shock proteins (Hsp27, Hsp70, GRP78) up-regulation and their associated prognostic values. *Proteomics*. 2006;6:1049–1057.

59. Song HY, Liu YK, Feng JT, Cui JF, Dai Z, Zhang LJ, et al. Proteomic analysis of metastasis-associated proteins of human hepatocellular carcinoma tissues. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2006;132:92–98.

60. Noori Daloii M.R, Ghafrani M. Ptamr technology, a new approach in molecular medicine, diagnosis and treatment of disease. *Nano Technology Magazine*. 2007;131:375-362. [Persian]

61. Noori Daloii M.R, Ghafrani M. Nano technology laboratory and molecular medicine in the diagnosis, care and vision. *Nano Technology Magazine*. 2006;123:597-607. [Persian]

62. Noori Daloii M.R, Alvandi E. Micro RNA: Smull but full of mystery and use (review article). *The Journal of Tehran Faculty of Medicine*. 2006;64:5-18. [Persian]




www.SID.ir

Archive of SID



# Prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma (Review article)

M.R. Noori Daloii, PhD [1] F. Alizadeh, MSc Student [2]

Professor Department of Medical Genetics [1] , Student of Master of Human Genetics [2] , Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

(Received 16 Nov, 2010 Accepted 17 Apr, 2011)

## ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the 5th commonest malignancy worldwide and is the third most common cause of cancer-related death. The prevalence is different in the world. The ability to predict patients at higher risk of recurrence and with a poor prognosis would help to guide surgical and chemotherapeutic treatment according to individual risk. As understanding of hepatocarcinogenesis has increased, the myriad of genetic and molecular events that drive the hepatocarcinogenic disease process, including angiogenesis, invasion and metastasis, have been identified. With advances in understanding of tumor biology, interest in molecular biomarkers of carcinogenesis has grown, both in terms of their prognostic significance and also their potential as therapeutic targets. Several molecular markers with prognostic significance have been identified in HCC. Not only these molecules may allow accurate prediction of prognosis of patients with HCC and allow targeting of therapy, but they may also represent novel targets for therapeutic agents.

The aim of this review was to examine the current knowledge regarding the prognostic role of the most important molecular biomarkers in HCC. In this article prognostic value of the following molecular markers is discussed: tumor suppressor genes; oncogenes; cell cycle regulators; apoptotic regulators; markers of angiogenesis; markers of invasion and metastasis; growth factors and receptors; telomerase; markers of genomic instability; aneuploidy and markers of microsatellite instability.

*Correspondence:*
*M.R. Noori Daloii, PhD.*
*Department of Medical Genetic, School of Medicine.*
*Tehran University of Medical Sciences*
*Tehran, Iran*
*Tel:+98 21 88953005*
*Email:*
*nooridaloii@sina.tums.ac.ir*

**Key words:** Hepatocellular Carcinoma - Gene - Prognosis



www.SID.ir