

肾细胞癌血清蛋白标志物的研究进展

付玉麟 黄飏 周秀梅*

(浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018)

摘要 肾细胞癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤。近年来, 随着“靶向疗法”的开发与应用, 肾细胞癌的治疗取得了很大进展, 但靶向疗法主要针对的是晚期肾细胞癌或无法手术的肾细胞癌患者。早期肾细胞癌如果能得到及时的手术治疗其5年生存率可以达到90%以上, 但晚期肾细胞癌的5年总体生存率却急剧下降, 仅为12%。肾细胞癌起病隐匿无明显临床特征令患者不易察觉, 临床上肾细胞癌的病例大多是因其他原因进行检查(即腹部成像)期间偶然发现的, 往往被诊时已发展到晚期或是进展为远处转移, 导致预后不良。目前已发现多种癌症血清蛋白标志物, 且它们对肾细胞癌临床早期诊断显示出极好的效果。该文对近几年发现的肾细胞癌血清蛋白标志物进行了回顾性综述, 以期对疾病的早期诊断、治疗、病程监控及预后评估提供理论参考。

关键词 肾细胞癌; 血清蛋白标志物; 诊断; 预后; 临床

Research Progress in Serum Protein Markers of Renal Cell Carcinoma

FU Yulin, HUANG Biao, ZHOU Xiumei*

(College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Renal cell carcinoma is the most common malignancy of the urinary system. In recent years, with the development and application of “targeted therapy”, the treatment of renal cell carcinoma has made great progress, but targeted therapy mainly targets patients with advanced renal cell carcinoma or inoperable renal cell carcinoma. The 5-year survival rate of early-stage renal cell carcinoma can reach more than 90% if timely operation, but the 5-year overall survival rate of advanced renal cell carcinoma drops sharply to only 12%. Renal cell carcinoma has hidden onset and no obvious clinical features, which makes it difficult for patients to detect it. Clinical cases of renal cell carcinoma are mostly discovered incidentally during tests (i.e., abdominal imaging) performed for other reasons, and often have advanced stage or have progressed to distant metastasis at the time of diagnosis, leading to poor prognosis. A variety of cancer serum protein markers have been found, which show excellent effect on early clinical diagnosis of renal cell carcinoma. This article reviews the serum protein markers found in renal cell carcinoma in recent years, in order to provide theoretical reference for early diagnosis, treatment, course monitoring and prognosis assessment of the disease.

Keywords renal cell carcinoma; serum protein marker; diagnosis; prognosis; clinical

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC), 简称肾癌, 起源于肾小管上皮细胞, 是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一, 据估计, 全世界每年约有30多万新的患者被诊断为肾细胞癌, 在美国, 肾细胞癌是男性第七大

最常被诊断的癌症, 女性第八大最常被诊断的癌症, 分别占有新诊断肿瘤的5%和3%^[1]。肾细胞癌发病率正在逐年上升, 且其通常伴有高转移率和高死亡率, 预后较差^[2]。近年来, 新的分子靶向疗法在肾细胞癌的治疗中发挥了关键作用, 不幸的是, 肿瘤经常通过激活旁路途径对这些靶向治疗产生耐药性, 使癌细胞继续存活, 尽管检查点抑制剂免疫疗法的

收稿日期: 2022-03-30

接受日期: 2022-07-05

*通讯作者。Tel: 0571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com

Received: March 30, 2022

Accepted: July 5, 2022

*Corresponding author. Tel: +86-571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com

出现使晚期肾细胞癌的治疗前景发生了重大变化,但仍有许多问题有待解决^[3]。可治愈的肾细胞癌肾切除术只适用于早期、界限明确的肿瘤患者^[4],然而,由于缺乏可用的标志物,加之起病隐匿患者往往忽视检查,大多肾细胞癌患者在临床诊断时已进展为有局部侵袭甚至远处转移^[5],导致预后不良。因此,早期诊断和及时手术仍然是肾细胞癌治疗的关键。鉴于晚期疾病患者预后差,预后预测复杂,因此我们迫切需要开发新的生物标志物用于癌症的早期诊断,并研究标志物在癌症中的潜在机制。

近年来血清蛋白标志物不仅在肿瘤的早期诊断中作用突出,而且在病程监测、预后评估方面拥有快速、简便、对患者伤害小等优势。本文就近几年新发现的一些血清蛋白标志物在肾细胞癌诊断及其预后监测中的应用作一综述,期望能为临床肾细胞癌的诊断、治疗及预后提供参考。

1 RCC概述

肾细胞癌组织病理类型多样,其中有3个较为重要的主要类型和其他一些少见的类型,最常见的病理类型即肾透明细胞癌(clear cell RCC, ccRCC),占肾细胞癌的比例为75%~80%,居于主导地位;然后是乳头状细胞癌(papillary RCC, pRCC),占比为10%~15%;以及嫌色肾细胞癌(chromophobe RCC, chRCC),占比为6%~11%^[6]。

肾透明细胞癌,多发生自肾近端小管^[7]。染色体3p的缺失或是位于3p25染色体上的VHL(Von Hippel-Lindau)肿瘤抑制基因的突变均与肾细胞癌发生有关,VHL基因的异常是诱发肾透明细胞癌极为重要的因素。VHL基因编码的VHL蛋白质有促进缺氧诱导因子 α (hypoxia inducible factor α , HIF α)降解的作用从而诱使肿瘤血管生成和肿瘤细胞增殖^[8]。绝大多数肾透明细胞癌患者存在VHL基因突变或者存在由遗传机制造成的VHL基因的改变^[9]。乳头状肾细胞癌在染色体7号和17号上表现出异常^[10]。乳头状肾细胞癌有两种亚型,为1型和2型^[11]。1型通常存在间质-上皮细胞转化因子(mesenchymal-epithelial transition factor, MET)的激活和突变,2型与核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor-2, NRF-2)抗氧化反应原件(antioxidant reaction element, ARE)途径激活有关^[12]。嫌色肾细胞癌缺乏大多数肾细胞癌所特有的丰富脂质和糖原。嫌色肾细胞癌被认为是来源于集

合管的夹层细胞,其中存在许多线粒体衍生的微泡,且嫌色肾细胞癌可在伴有或不伴有Birt-Hogg-Dubé综合征的嗜酸细胞增多症患者中被观察到^[13]。

2 RCC诊断

肾细胞癌早期无特殊临床表现,起病隐匿,病人无自觉症状,偶尔因健康体检或其他原因做腹部B超或做CT检查时被发现。以往根据三联征包括肉眼血尿、腰痛和可触及的腹部肿块来诊断肾细胞癌,但同时出现三大症状较为少见,这就加大了诊疗难度。当三联征出现时大多已进展为晚期肾细胞癌,造成预后不良。因此,出现其中任何一个症状都应该引起重视。一般需要结合临床症状、影像学检查和病理学检查来诊断肾细胞癌。

影像学检查包括超声检查、X线诊断、CT检查、核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查和核素骨显像^[14-17]。影像学检查在肾细胞癌诊治过程的不同阶段均有重要的作用,可用于原发肿瘤病灶的发现、定位、定性及分期;在术中可辅助定位;在术后及非手术治疗过程中是随诊的重要手段。超声检查和X线诊断,是早期诊断的首选影像技术手段,大多数无症状的肾细胞癌可由B超发现。结合病理学检查,腹部增强CT对早期肾癌和复杂性肾囊肿诊断的准确率达90%以上,且能有效判断病灶位置、形态、边界、囊壁厚度等,诊断价值较高^[18]。腹部MRI检查,准确率与CT相仿,具有分辨率高、多方位成像的技术特点,对明确诊断和确定手术范围有重要的价值。核素骨显像在肾细胞癌术后骨转移的诊断中有重要的应用价值。

对于上述影像学诊断无法确诊肾细胞癌的情况,就需要通过肾肿瘤活检(renal tumor biopsy, RTB)^[19]病理学检查,为影像学不能诊断的肾肿瘤提供病理组织学依据。然而,此方法不仅费用高,而且因其侵入性使得被检测者有极大的不适感,并有引起活检并发症的可能,因此不作为首选或者常用方法。

大多数肾细胞癌病例是在非特异性症状或其他腹部疾病的影像学检查中偶然被诊断的,虽然影像学检查方法多样,且CT和MRI都有较高的准确率,但费用昂贵等原因限制了其在临床上的广泛应用。而且由于肾细胞癌的表现不明显,进而病人易忽视检查,被诊断时已发展成晚期或是进展为远处转移,错过最佳治疗时机而导致预后不良。血常规检测

在目前体检中是常做项目, 通过检测血清中的一个或多个标志物对肾细胞癌进行灵敏、准确的诊断和疗效评估, 将是该疾病诊治的一个关键的技术突破。因此, 筛选出有价值的肾细胞癌血清蛋白标志物具有非常重要的临床意义。

3 RCC血清学标志物

3.1 血管生成素样蛋白4

血管生成素样蛋白4(angiotensin-like protein 4, ANGPTL4), 也被称为肝纤维蛋白原/血管生成素相关蛋白, 在结构上属于ANGPTs家族, 有调节脂质和葡萄糖代谢、血管生成与血管通透性等功能^[20]。ANGPTL4是脂质代谢的关键调节因子, 有文章报道其在高脂血症性肾损伤中可能发挥作用^[21]。另外ANGPTL4还作为一种分泌蛋白, 在内皮细胞以及许多癌症的缺氧坏死区均可被诱导表达, 有通过抑制血管通透性以及肿瘤细胞的运动和侵袭来阻止肾癌细胞转移的作用^[22]。HOTAIRM1作为一种保守的长链非编码RNA(lncRNA), 其转录物细胞质亚型HM1-3在肾透明细胞癌中普遍下调并诱导ANGPTL4表达, 以解除缺氧反应和调节血管生成基因^[23], 说明ANGPTL4在肾细胞癌发展中具有抑制作用。在肾肿瘤中缺氧时, ANGPTL4的mRNA水平和蛋白水平都增加, ANGPTL4产生于坏死区周围的缺氧区, 此外, ANGPTL4仅在常见的透明肾细胞癌中产生, 在其他良性和恶性肾肿瘤细胞中不产生^[24]。VERINE等^[25]研究发现ANGPTL4 mRNA表达与肾透明细胞癌高度相关并将其定义为原发性肾透明细胞癌的诊断标志物, 此外还发现ANGPTL4 mRNA还可以区分来自各种器官的透明细胞癌。

DONG等^[26]通过ELISA分析得出, 肾细胞癌患者血清ANGPTL4水平显著高于健康对照组和其他类型癌症患者($P=0.0001$), 且与性别、Fuhrman分级、转移状态和肿瘤淋巴结转移分期相关($P=0.05$)。用于区分肾细胞癌患者与健康对照组的工作特征曲线下面积(area under the ROC curve, AUC)为0.844, 灵敏度和特异性分别为69.1%和93.9%, 区分有转移患者与无转移患者的AUC为0.725, 灵敏度和特异性分别为90.9%和56.8%。此外, 研究表明低血清ANGPTL4患者比高血清ANGPTL4患者的无进展生存期更长($P=0.033$)。

3.2 热休克同源71 kDa蛋白

热休克同源71 kDa蛋白(heat shock cognate

71 kDa protein, HSC71)是一种组成型表达的伴侣蛋白, 对细胞蛋白酶稳定至关重要。在细胞质中, HSC71在折叠和再折叠中发挥着关键作用, 有促进蛋白质跨膜运输和靶向蛋白质降解等功能^[27]。在癌症中, 细胞内热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)具有保护功能, 一些热休克蛋白被证明与程序性细胞死亡机制的各种组成部分和线粒体事件的上游和下游直接相互作用; 而位于细胞外或膜结合的热休克蛋白介导免疫功能, 它们可以引起由适应性或先天免疫系统调节的免疫反应^[28]。有研究表明, 在肾恶性肿瘤中, 特异性的HSPs可能具有不同的功能^[29], HSPs表达在多种肾脏疾病中被诱导。

ZHANG等^[30]利用基于iTRAQ的定量蛋白质组学进行分析, 并通过Western blot和ELISA进行验证, 筛选出血清蛋白HSC71是诊断肾细胞癌的新的潜在生物标志物, AUC为0.86, 灵敏度和特异性分别为87%和80%, 截止值为15 ng/mL。另有ZHANG等^[31]用免疫组织化学方法检测肾癌患者中HSC71的表达量, 阳性率为41.3%, 认为HSC71表达是导致肾癌患者更高远处转移率、更高死亡率和更短总体生存期的独立危险因素。

3.3 脯氨酰羟化酶-3

脯氨酰羟化酶-3(prolyl hydroxylase-3, PHD3)、缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)是肾细胞癌发病机制的关键调节因子, 它们的作用是激活促血管生成因子, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[32]。肾透明细胞癌中肿瘤抑制蛋白(VHL protein, pVHL)失活导致HIF通路在充氧条件下也被激活, 从而引起调节因子PHD3高表达, MIKKULAINEN等^[33]的研究证明了PHD3在维持肾透明细胞癌中的关键细胞功能(包括糖酵解和蛋白质合成)中起着至关重要的作用。而在肾透明细胞癌的缺氧途径和脂质代谢途径中, 3-磷酸甘油脱氢酶1(glycerol-3-phosphate dehydrogenase-1, GPD1)被证明在肾透明细胞癌组织中表达下调, 而GPD1又被证明可抑制PHD3, 因此可得出PHD3在肾透明细胞癌中高表达^[34]。MIKKULAINEN等^[35]发现, 肾透明细胞癌细胞中PHD3的高表达维持了HIF-2 α 及其靶基因的高表达, 这可能增强了肾细胞癌的侵袭性。KAMPANTAIS等^[36]研究证明, PHD3在肾细胞癌中过度表达, 且研究结果提示PHD3在肾透明细胞癌中起重要作用, 因为PDH3 mRNA的表达与核

分级呈负相关。

KIM等^[37]研究表明,肾细胞癌患者的血清PHD3水平高于对照组,AUC为0.668,截止值为0.761 ng/mL,敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为66.1%、68.1%、28.8%和37.3%,另外在肿瘤大小>2 cm的样品中其预测性能得到改善,且术后肾细胞癌患者的PHD3水平显著低于术前水平。

3.4 葡萄糖调节蛋白78

葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78, GRP78)是热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)超家族成员之一,已被证明是内质网(endoplasmic reticulum, ER)中的分子伴侣,主要响应正常细胞内质网应激,在许多细胞过程(包括蛋白质组装、折叠和跨越内质网膜的易位)中发挥重要作用^[38]。有研究证实,在细胞应激反应中,GRP78从ER逃逸并移动到质膜,在质膜中作为许多配体的受体,还能作为人类疾病和癌症的自身抗原,并具有控制信号转导、增殖、侵袭、凋亡、炎症和免疫等功能^[39]。如在肿瘤细胞中,由于葡萄糖剥夺、缺氧、乳酸酸中毒和炎症反应,GRP78表达水平上调,进而促进癌细胞增殖^[40]。还有研究证明,GRP78过表达通过触发未折叠蛋白反应诱导肾细胞癌细胞对舒尼替尼的耐药性,而GRP78沉默则抑制细胞活力^[41]。FU等^[42]采用RT-PCR和免疫组织化学方法分别检测GRP78 mRNA和蛋白的表达水平,发现肾细胞癌患者的GRP78 mRNA水平和蛋白表达水平均上调,并发现GRP78 mRNA和蛋白表达水平高与肿瘤大、临床分期高有关。GRP78过表达或敲低的功能研究表明,GRP78可促进肾透明细胞癌细胞的增殖并增强其抗凋亡能力^[43]。另有研究证明,特异性降低GRP78表达可显著抑制肾细胞癌细胞生长和菌落形成,并诱导G₁细胞周期阻滞^[44]。

KUMAR等^[45]采用RT-PCR、Western blot、免疫组织化学和ELISA等方法检测GRP78,研究表明与健康对照组相比肾细胞癌患者GRP78在mRNA水平、组织水平和血清水平上均显著上调,并且GRP78的表达与肾细胞癌病理分期、疾病分级、有无转移显著相关。ROC曲线分析显示,GRP78诊断临界值为1.203 ng/mL时,GRP78血清水平区分肾细胞癌和良性患者敏感性和特异性分别为71.7%和66.7%,此外研究结果还表明高水平血清GRP78与RCC预后差相关。

3.5 谷胱甘肽过氧化物酶-1

谷胱甘肽过氧化物酶-1(glutathione peroxidase 1,

GPX1)广泛分布于线粒体和细胞质中,是GPXs家族最关键的成员之一,其表达产物主要存在于肺、肝和肾等高氧张力组织中^[46]。它是人体内最重要的抗氧化酶之一,在活性氧(reactive oxygen species, ROS)的降解中起着重要作用,可保护正常细胞免受氧化应激。有研究发现,胱氨酸转运体(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)在多种肿瘤中高度表达,且可增加胱氨酸转运和细胞内GPX4的合成,从而避免了细胞内ROS过度积累导致的氧化损伤^[47],而GPX1和GPX4在蛋白-蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络中存在相互作用,因此,GPX1可能也参与了这一过程而被诱导表达。CHEN等^[48]推测在肾肿瘤进展过程中,上游调控分子影响Hippo信号通路的同时可能也影响GPX1的表达,从而促进肾肿瘤的发展。此外,还发现肾细胞癌中GPX1的表达量较对照组增加,证实GPX1与肾细胞癌患者预后具有相关性。

CHENG等^[49]的研究显示,GPX1蛋白在肾细胞癌中高度表达,并证明GPX1可促进肾细胞癌细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭。此外,研究还发现高水平GPX1与总生存时间短、远处转移、淋巴转移和肿瘤分期呈正相关。ROC曲线分析显示,血清GPX1水平可区分肾透明细胞癌和正常组织,其AUC为0.790 8,高GPX1水平可将RCC患者与正常人区分开来,且高GPX1水平预示着较短的总生存时间。

3.6 肾损伤因子-1

肾损伤因子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)是一种I型跨膜蛋白,也被称为HAVcr-1和TIM-1,属于T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域(T-cell immunoglobulin and mucin domain, TIM)蛋白家族,KIM-1与其他家族成员的不同之处在于,它不仅能在免疫活性细胞中表达,还能在上皮细胞中表达^[50]。有研究靶向沉默KIM-1基因抑制透明细胞肾细胞癌细胞系786-0的体外和体内生长,结果发现KIM-1可能促进了肾细胞癌细胞的增殖^[51]。在肾脏损伤期间,肾小管上皮细胞中的KIM-1表达量增加,有研究证明尿液和血清中的KIM-1水平对肾细胞癌具有诊断作用^[52]。CUADROS等^[53]的研究结果显示,KIM-1通过诱导IL-6表达,激活STAT-3并促进肿瘤细胞中的生长因子和血管生成因子的表达,以促进肿瘤的生长和转移。在另一项研究中发现,通过检测血浆KIM-1浓度可预测未来5年肾细胞癌的发病率,且诊断前血浆KIM-1

浓度升高与肾细胞癌患者预后较差相关^[54]。

KUSHLINSKII等^[55]研究了透明肾细胞癌患者和良性肾肿瘤患者及健康人对照的血清KIM-1水平,发现KIM-1水平随疾病分期显著升高,在I期癌症中,其水平也高于对照组或良性肿瘤患者,I期肾细胞癌检测的临界值为77 pg/mL,最佳灵敏度、特异度分别为81%和83%; II~IV期肾细胞癌检测的灵敏度为97%。血清KIM-1水平随着原发肿瘤大小和面积的增加而升高,且有转移的患者相比于无转移患者血清KIM-1浓度更高。

3.7 其他潜在标志物

有研究发现,抗抑制素-1(arrestin-1)的自身抗体在肾肿瘤中异常表达,在研究样本中有75%的患者血清中能检测到针对抑制素-1的自身抗体,因此抗arrestin-1自身抗体有成为肾细胞癌的生物标志物的潜力^[56]。白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)是一种同时具备促炎性和抗炎性的细胞因子,有促进肿瘤细胞增殖和转移的作用,在肾细胞癌中可由缺氧的肾细胞癌细胞分泌,可能有助于肾细胞癌的侵袭和转移,且其血清水平对肾细胞癌预后具有预测价值^[57]。另有AMPINEN等^[58]研究发现,在肾细胞癌患者血清中促血管生成素-2(angiopoietin-2, Ang-2)高表达,且其与肾细胞癌分期及预后存在相关性。此外还有多项研究发现,血清中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、半胱氨酸-C(cystatin-C, Cys-C)、铁调素(hepcidin, Hpc)、生长/分化因子15(growth/differentiation factor-15, GDF-15)、C反应蛋白与白蛋白比率

(C-reactive protein to albumin ratio, CAR)以及畸胎瘤衍生生长因子(Cripto-1, CR-1)血清水平在肾细胞癌中具有预后评估价值^[59-63],在术前对它们进行检测可以为治疗方案的选择提供指导,在术后检测可以指示生存期长短而对后续随访工作具有意义。

4 总结与展望

肿瘤标志物是肿瘤所产生或分泌的某种蛋白或是其他物质,与肿瘤的存在和发展密切相关,可用于肿瘤的筛查、诊断、治疗、疗效监测以及预后判断,筛选肿瘤血清蛋白标记物,目前的方法主要是分析某些基因和蛋白质的异常表达。理想的肿瘤标志物应具有灵敏度高,特异性好,能对肿瘤进行定位,与肿瘤严重程度相关,能监测疗效预测预后等特性。现有文献报道的潜在肾细胞癌标志物缺乏特异性,与多种癌症的发生存在相关联,此外大多蛋白在肾细胞癌发病机制中的作用尚不明确,缺乏可靠证据,因此筛选出有实际临床应用价值的肾细胞癌血清蛋白标记物的难度可想而知。不仅如此,为了真正将肾细胞癌潜在的生物标志物纳入临床常规检查,还应该更广泛地研究其临床适用价值,对大量病例进行长期随访,深入研究潜在的肾细胞癌生物标志物与疾病的相关性,不断提高肾细胞癌复查的敏感度和特异性。

综上所述,血清ANGPTL4、HSC71、PHD3、GRP78、GPX1、KIM-1、arrestin-1、IL-6、Ang-2、LDH、Cys-C、铁调素、GDF-15、CAR和CR-1均有成为肾细胞癌标志物的潜力(表1)。但目前相关的研

表1 肾细胞癌的潜在血清标志物及其功能
Table 1 Potential serum markers of renal cell carcinoma and their functions

标志物 Markers	文献 References	截止值 Cut-off value	分期 Stage	转移 Metastasis	预后 Prognosis
ANGPTL4	[23]	28.4 ng/mL	√	√	√
HSC71	[27]	15 ng/mL	—	√	√
PHD3	[32]	0.761 ng/mL	×	—	—
GRP78	[49]	1.203 ng/mL	√	√	√
GPX1	[43]	—	√	√	√
KIM-1	[48]	77 pg/mL	√	√	√
arrestin-1	[49]	—	—	√	√
IL-6	[50]	—	—	√	√
Ang-2	[51]	—	√	—	√
LDH, CR-1, Cys-C, Hpc, GDF-15, CAR	[52-56]	—	—	—	√

“√”表示存在相关性,“×”表示无相关性,“—”表示未研究。

“√” indicates correlation, “×” indicates no correlation, and “—” indicates no study.

究仍然较少,一些蛋白质在肾细胞癌中的作用机制尚不明确,未来还需要更多临床研究来验证其可靠性。此外,这些潜在标志物并非只在肾细胞癌发生期间表达异常,通常其他肿瘤疾病的发生也会影响这些标志物的表达,故存在一定的干扰因素,在诊断多重疾病的患者时缺乏特异性,因此后续研究可以联合检测两个或两个以上的血清标志物,结合影像学检查结果,以增加肾细胞癌诊断的灵敏度和特异性,减少干扰和误差,提高肾细胞癌诊断的效能。文中所述的血清蛋白标志物在肾细胞癌发生时高表达,对癌细胞的增殖和侵袭性有着不同程度的作用,随着对这些蛋白研究的不断深入,将有可能发现肾癌治疗的新靶点。

目前此类肾细胞癌潜在标志物多以ELISA法检测,该方法使用大分子酶来标记抗原或抗体,一定程度上影响了标记物的生物活性。此外,由于ELISA的灵敏度较低,导致了許多假阴性结果的出现。稳定性和检测范围不足也是该方法常见的缺点。时间分辨荧光免疫分析法(time-resolved fluorescence immunoassay, TRFIA)是一种替代的非同位素免疫分析法,它使用小分子镧系元素标记抗原或抗体,尽可能保证了标记物的生物活性。与ELISA检测方法相比,TRFIA具有灵敏度高、稳定性好、检测范围宽等优点^[64-65]。因此,建立肾细胞癌血清标志物高灵敏TRFIA检测方法将有助于提高肾细胞癌诊断的效率。

总之,以上蛋白质都具有成为肾细胞癌血清标志物的潜力,在肾细胞癌早期诊断、分期以及预后评估等方面具有一定价值,可为疾病的早期发现和预后评估提供理论参考。

参考文献 (References)

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] CAPITANIO U, BENSALAH K, BEX A, et al. Epidemiology of renal cell carcinoma [J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1): 74-84.
- [3] YANG D C, CHEN C H. Potential new therapeutic approaches for renal cell carcinoma [J]. *Semin Nephrol*, 2020, 40(1): 86-97.
- [4] LALANI A A, MCGREGOR B A, ALBIGES L, et al. Systemic treatment of metastatic clear cell renal cell carcinoma in 2018: current paradigms, use of immunotherapy, and future directions [J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1): 100-10.
- [5] CHEN X F, PAN Y S, ZHENG B, et al. p38gamma overexpression promotes renal cell carcinoma cell growth, proliferation and migration [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(2): 466-73.
- [6] SIGNORETTI S, FLAIFEL A, CHEN Y B, et al. Renal cell carcinoma in the era of precision medicine: from molecular pathology to tissue-based biomarkers [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(36): 3553-9.
- [7] 方量. HP-1在保护肾功能和抗肾细胞癌方面的作用及机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [8] KIM W Y, KAEHLIN W G. Role of VHL gene mutation in human cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(24): 4991-5004.
- [9] ILIOPOULOS O. Molecular biology of renal cell cancer and the identification of therapeutic targets [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(35): 5593-600.
- [10] NELSON E C, EVANS C P, LARA P N, JR. Renal cell carcinoma: current status and emerging therapies [J]. *Cancer Treat Rev*, 2007, 33(3): 299-313.
- [11] DELAHUNT B, EBLE J N. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors [J]. *Mod Pathol*, 1997, 10(6): 537-44.
- [12] DURINCK S, STAWISKI E W, PAVÍA-JIMÉNEZ A, et al. Spectrum of diverse genomic alterations define non-clear cell renal carcinoma subtypes [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(1): 13-21.
- [13] LOPEZ-BELTRAN A, SCARPELLI M, MONTIRONI R, et al. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults [J]. *Eur Urol*, 2006, 49(5): 798-805.
- [14] 刘彩云. 超声诊断在肾脏肿瘤中的价值分析 [J]. 中国现代药物应用 (LIU C Y. Value analysis of ultrasound diagnosis in renal tumors [J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*), 2019, 13(10): 36-7.
- [15] 董其龙, 许志宏, 唐永平. 肾脏肿瘤影像学诊断 [J]. 实用癌症杂志 (DONG Q L, XU Z H, TANG Y P. Imaging diagnosis of renal tumor [J]. *The Practical Journal of Cancer*), 1996(3): 193-5.
- [16] ABOU ELKASSEM A M, LO S S, GUNN A J, et al. Role of imaging in renal cell carcinoma: a multidisciplinary perspective [J]. *Radiographics*, 2021, 41(5): 1387-407.
- [17] 张建华, 王荣福, 范岩, 等. 核素全身骨显像在肾细胞癌患者术后随访中的应用价值 [J]. 重庆医学 (ZHANG J H, WANG R F, FAN Y, et al. Application value of bone scintigraphy in postoperative follow-up of patients with renal cell cancer [J]. *Chongqing Medicine*), 2012, 41(25): 2569-71, 74.
- [18] 张伟. 囊性小肾癌、复杂性肾囊肿 MSCT 动态增强影像学表现及其诊断价值 [J]. 中国 CT 和 MRI 杂志 (ZHANG W. Imaging features and their diagnostic value of MSCT dynamic enhancement of cystic small renal cell carcinoma and complex renal cyst [J]. *Chinese Journal of CT and MRI*), 2022, 20(2): 111-3.
- [19] HERRERA-CACERES J O, FINELLI A, JEWETT M A S. Renal tumor biopsy: indicators, technique, safety, accuracy results, and impact on treatment decision management [J]. *World J Urol*, 2019, 37(3): 437-43.
- [20] ARYAL B, PRICE N L, SUAREZ Y, et al. ANGPTL4 in metabolic and cardiovascular disease [J]. *Trends Mol Med*, 2019, 25(8): 723-34.
- [21] LI Y, GONG W, LIU J, et al. Angiotensin-like protein 4 promotes hyperlipidemia-induced renal injury by down-regulating the expression of ACTN4 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 595: 69-75.
- [22] LE JAN S, AMY C, CAZES A, et al. Angiotensin-like 4 is a pro-angiogenic factor produced during ischemia and in conventional renal cell carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(5): 1521-8.
- [23] HAMILTON M J, YOUNG M, JANG K, et al. HOTAIRM1 lncRNA is downregulated in clear cell renal cell carcinoma and

- inhibits the hypoxia pathway [J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 50-8.
- [24] GALAUP A, CAZES A, LE JAN S, et al. Angiopoietin-like 4 prevents metastasis through inhibition of vascular permeability and tumor cell motility and invasiveness [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(49): 18721-6.
- [25] VERINE J, LEHMANN-CHE J, SOLIMAN H, et al. Determination of angptl4 mRNA as a diagnostic marker of primary and metastatic clear cell renal-cell carcinoma [J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10421.
- [26] DONG D, JIA L, ZHOU Y, et al. Serum level of ANGPTL4 as a potential biomarker in renal cell carcinoma [J]. *Urol Oncol*, 2017, 35(5): 279-85.
- [27] SILVA N S M, RODRIGUES L F C, DORES-SILVA P R, et al. Structural, thermodynamic and functional studies of human 71 kDa heat shock cognate protein (HSPA8/hHsc70) [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2021, 1869(12): 140719.
- [28] SCHMITT E, GEHRMANN M, BRUNET M, et al. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(1): 15-27.
- [29] BECK F X, NEUHOFFER W, MÜLLER E. Molecular chaperones in the kidney: distribution, putative roles, and regulation [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, 279(2): F203-15.
- [30] ZHANG Y, CAI Y, YU H, et al. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis identified HSC71 as a novel serum biomarker for renal cell carcinoma [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 802153.
- [31] ZHANG Y, ZHU X, QIAO X, et al. Clinical implications of HSC70 expression in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(1): 239-44.
- [32] FREW I J, MOCH H. A clearer view of the molecular complexity of clear cell renal cell carcinoma [J]. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 263-89.
- [33] MIIKKULAINEN P, HÖGEL H, RANTANEN K, et al. HIF prolyl hydroxylase PHD3 regulates translational machinery and glucose metabolism in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cancer Metab*, 2017, 5: 5.
- [34] LIU R, FENG Y, DENG Y, et al. A HIF1 α -GPD1 feedforward loop inhibits the progression of renal clear cell carcinoma via mitochondrial function and lipid metabolism [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 188.
- [35] MIIKKULAINEN P, HÖGEL H, SEYEDNASROLLAH F, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-prolyl hydroxylase 3 (PHD3) maintains high HIF2A mRNA levels in clear cell renal cell carcinoma [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(10): 3760-71.
- [36] KAMPANTAS S, KOTOULA V, KOUNATIDIS I, et al. mRNA overexpression of prolyl hydroxylase PHD3 is inversely related to nuclear grade in renal cell carcinoma [J]. *Mol Clin Oncol*, 2020, 13(3): 11.
- [37] KIM K H, LEE H H, YOON Y E, et al. Prolyl hydroxylase-3 is a novel renal cell carcinoma biomarker [J]. *Investig Clin Urol*, 2019, 60(6): 425-31.
- [38] FARSHBAF M, KHOSROUSHAHI A Y, MOJARAD-JABALI S, et al. Cell surface GRP78: An emerging imaging marker and therapeutic target for cancer [J]. *J Control Release*, 2020, 328: 932-41.
- [39] GONZALEZ-GRONOW M, GOPAL U, AUSTIN R C, et al. Glucose-regulated protein (GRP78) is an important cell surface receptor for viral invasion, cancers, and neurological disorders [J]. *IUBMB Life*, 2021, 73(6): 843-54.
- [40] LI Z W, LI Z Y. Glucose regulated protein 78: a critical link between tumor microenvironment and cancer hallmarks [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1826(1): 13-22.
- [41] HUANG H, GAO Y, LIU A, et al. EIF3D promotes sunitinib resistance of renal cell carcinoma by interacting with GRP78 and inhibiting its degradation [J]. *EBioMedicine*, 2019, 49: 189-201.
- [42] FU W, WU X, LI J, et al. Upregulation of GRP78 in renal cell carcinoma and its significance [J]. *Urology*, 2010, 75(3): 603-7.
- [43] WANG C, CAI L, LIU J, et al. MicroRNA-30a-5p inhibits the growth of renal cell carcinoma by modulating GRP78 expression [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2405-19.
- [44] LIN J A, FANG S U, SU C L, et al. Silencing glucose-regulated protein 78 induced renal cell carcinoma cell line G1 cell-cycle arrest and resistance to conventional chemotherapy [J]. *Urol Oncol*, 2014, doi: 10.1016/j.urolonc.2012.10.006.
- [45] KUMAR M, GARG H, GUPTA N, et al. Glucose-regulated protein 78 (GRP78) in renal cell carcinoma: a novel biomarker for predicting tumor behavior [J]. *Heliyon*, 2021, 7(6): e07300.
- [46] ARSOVA-SARAFINOVSKA Z, MATEVSKA N, EKEN A, et al. Glutathione peroxidase 1 (GPX1) genetic polymorphism, erythrocyte GPX activity, and prostate cancer risk [J]. *Int Urol Nephrol*, 2009, 41(1): 63-70.
- [47] KAJARABILLE N, LATUNDE-DADA G O. Programmed cell-death by ferroptosis: antioxidants as mitigators [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4968.
- [48] CHEN S, SU X, MI H, et al. Comprehensive analysis of glutathione peroxidase-1 (GPX1) expression and prognostic value in three different types of renal cell carcinoma [J]. *Transl Androl Urol*, 2020, 9(6): 2737-50.
- [49] CHENG Y, XU T, LI S, et al. GPX1, a biomarker for the diagnosis and prognosis of kidney cancer, promotes the progression of kidney cancer [J]. *Aging*, 2019, 11(24): 12165-76.
- [50] KARMAKOVA T, SERGEEVA N S, KANUKOEY K Y, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a multifunctional glycoprotein and biological marker (review) [J]. *Sovrem Tekhnologii Med*, 2021, 13(3): 64-78.
- [51] XU J, SUN L, SUN W, et al. Retraction notice to “targeted silencing of Kim-1 inhibits the growth of clear cell renal cell carcinoma cell line 786-0 *in Vitro* and *in Vivo*” [Oncology Research 26(7) (2018) 9971003] [J]. *Oncol Res*, 2022, 29(1): 77.
- [52] ZHANG K J, WILSON G D, KARA S, et al. Diagnostic role of kidney injury molecule-1 in renal cell carcinoma [J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(11): 1893-902.
- [53] CUADROS T, TRILLA E, SARRÓ E, et al. HAVCR/KIM-1 activates the IL-6/STAT-3 pathway in clear cell renal cell carcinoma and determines tumor progression and patient outcome [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5): 1416-28.
- [54] SCELO G, MULLER D C, RIBOLI E, et al. KIM-1 as a blood-based marker for early detection of kidney cancer: a prospective nested case-control study [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(22): 5594-601.
- [55] KUSHLINSKII N E, GERSHTEIN E S, NABEREZHNOV D S, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) in blood plasma of patients with clear-cell carcinoma [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2019, 167(3): 388-92.
- [56] BALDIN A V, GRISHINA A N, KOROLEV D O, et al. Auto-

- antibody against arrestin-1 as a potential biomarker of renal cell carcinoma [J]. *Biochimie*, 2019, 157: 26-37.
- [57] GUDBRANDSDOTTIR G, AARSTAD H H, BOSTAD L, et al. Serum levels of the IL-6 family of cytokines predict prognosis in renal cell carcinoma (RCC) [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(1): 19-30.
- [58] LAMPINEN A M, VIRMAN J P, BONO P, et al. Novel angiogenesis markers as long-term prognostic factors in patients with renal cell cancer [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2017, 15(1): e15-e24.
- [59] SHEN J, CHEN Z, ZHUANG Q, et al. Prognostic value of serum lactate dehydrogenase in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166482.
- [60] GUO K, CHEN Q, HE X, et al. Expression and significance of Cystatin-C in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1237-45.
- [61] TRAEGER L, ELLERMANN I, WIETHOFF H, et al. Serum Heparin and GDF-15 levels as prognostic markers in urothelial carcinoma of the upper urinary tract and renal cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 74.
- [62] TSUJINO T, KOMURA K, HASHIMOTO T, et al. C-reactive protein-albumin ratio as a prognostic factor in renal cell carcinoma: a data from multi-institutional study in Japan [J]. *Urol Oncol*, 2019, 37(11): 812.e1-e8.
- [63] XUE Y J, CHEN S N, CHEN W G, et al. Cripto-1 expression in patients with clear cell renal cell carcinoma is associated with poor disease outcome [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 378.
- [64] XIANG Z, ZHANG L, HU R, et al. Establishment of heparin-binding protein time-resolved immunoassay and some potential clinical applications [J]. *Anal Biochem*, 2021, 631: 114359.
- [65] YU X, CHEN L, LIN B, et al. Establishment of Galectin-3 time-resolved fluoroimmunoassay and its application in idiopathic membranous nephropathy [J]. *J Fluoresc*, 2022, 32(2): 629-36.