

文章编号: 1001-764X(2012)02-116-45

• 规范 • 指南 •

美国临床生化科学院检验医学实践指南: 睾丸、前列腺、结直肠、乳腺及卵巢癌肿瘤标志物的应用

鄢盛恺^{1,2}(1. 卫生部中日友好医院检验科 北京 100029; 2. 北京豪迈生物工程有限公司 北京 100028)

编者按: 经美国临床生化科学院(NCAB)授权,由鄢盛恺教授组织学者、专家翻译审定 2009 年 NCAB 检验医学实践指南: 睾丸、前列腺、结直肠、乳腺及卵巢癌中肿瘤标志物的应用单行本(Catharine M. Sturgeon 教授和 Eleftherios P. Diamandis 教授编辑)。该指南包含第 1 至 6 章共 6 部分内容,参加指南制订的专家阵容强大,分别从临床及检验角度对睾丸、前列腺、结直肠、乳腺及卵巢癌中肿瘤标志物的检测与临床应用方面的问题进行了详细阐述与说明,是目前国内外在肿瘤实验诊断方面的纲领性应用文件。不仅适合广大检验人员、临床医护人员学习使用,也非常适合相关仪器试剂生产厂商研发应用。本指南由刘洋、薛丽、林文涛、李江、梁红艳、顾兵、潘世扬、郑磊等翻译,姜晓峰、沈文梅、田亚平、鄢盛恺审校,最后由鄢盛恺统稿审定。本指南的翻译出版,不仅有助于我国检验人员和医护人员合理的检测和应用睾丸、前列腺、结直肠、乳腺及卵巢癌肿瘤标志物,对我国检验医学指南的编写与应用也有一定的借鉴作用。本刊特在本期刊发,以

飨广大读者。



本指南中文翻译版经华盛顿特区美国临床生化科学院授权许可,其不对译文的准确性负责。版权所有© 2009 美国临床生化科学院、卫生部中日友好医院和北京豪迈生物工程有限公司。

第 1 章 前言

我们给临床化学家、医生、实验室及临床医学其他参与者呈现最新的美国临床生化科学院(NACB)关于睾丸癌、前列腺癌、结直肠癌、乳腺癌和卵巢癌肿瘤标志物应用的检验医学实践指南(LMPG)。该指南旨在激励初级保健医师、内外科医生、肿瘤学专家及其他卫生技术人员更合理地应用肿瘤标志物。临床实践指南通过系统的陈述以协助执行者和患者根据特定的临床环境做出适当的健康保健决策^[1]。指南制定方法的解释见 LMPG 质量要求的前言部分,在 NACB 网站可以找到^[2],也可参见本指南的附录(译者注:待译后另文刊载)。正如所期待的,NACB 的很多建议与其他一些组

织的建议相似,以表格的形式对每一种恶性肿瘤进行比较^[2]。为制订该指南,作者们回顾了肿瘤标志物相关文献,特别关注了一些相关的系统性回顾和专家组发表的指南。NACB 委员会的这些共识建议均有相应的证据证实。LMPG 质量要求介绍了 NACB 委员会关于肿瘤标志物检测的总体质量要求,包括以表格列举肿瘤标志物检测结果出现假阳性的主要原因(如嗜异性抗体干扰,“高剂量钩状效应”),这也是必须重视的内容^[3]。

(翻译: 刘洋、梁红艳; 审校: 姜晓峰, 田亚平、鄢盛恺)

第 2 章 睾丸癌肿瘤标志物

Ulf-Håkan Stenman, Rolf Lamerz, Leendert H. Looijenga

背景

约 95% 的睾丸恶性肿瘤来源于生殖细胞,其余的大部分是淋巴瘤、睾丸间质细胞瘤或睾丸支持细胞肿瘤和间皮瘤。青少年和成人生殖细胞肿瘤主要有两种类型: 睾丸精原细胞瘤和非精原细胞性生殖细胞肿瘤(NSGCT)。睾丸癌占所有男性恶性肿瘤的 1%,但在 15 岁至 35 岁的男性中,睾丸癌是最常见的恶性肿瘤。尽管目前有 90% 的病例可以治愈^[4],睾丸癌仍然是这一年龄段男性的主要死因。生殖细胞肿瘤

也可能起源于性腺以外的部位(如骶尾部、胸腔纵隔膜、松果体腺^[5])。起源于骶骨部位的生殖细胞肿瘤主要见于青年男性。根据组织学、患者诊断时年龄、临床表现和染色体组成,这些肿瘤可被划分为临床及生物学特征不同的 3 种类型^[6-9]: 新生儿及婴幼儿畸胎瘤和卵黄囊瘤、青少年及成人精原细胞瘤和非精原细胞瘤、老年人精母细胞性精原细胞瘤。本指南主要针对第 2 类。

不同国家睾丸癌的发生率有所不同。在美国,每年约有 7 200 例新增病例^[4],校正年龄后的发病率约为 5.2/10 万。

通信作者: 鄢盛恺, 1969 年生, 教授, 研究员, 主要从事临床生化、免疫学及医学检验装备与核心技术研究 E-mail: yanshengkai@sina.com

与黑种人相比,白种人的发生率约高出 4 倍。在欧洲,立陶宛共和国校正年龄后的发病率最低(0.9/10 万),芬兰居中(2.5/10 万),丹麦最高(9.2/10 万)^[10]。欧洲的不同国家,每年发病率约增长 2%~5%。在美国,从上世纪 70 年代中期到 90 年代中期,发病率增长达 52%^[11]。生殖细胞肿瘤的起因尚不明确,但已发现具有家族遗传倾向,隐睾症和莱恩福弗尔特综合征是其诱发因素^[4]。多数患者表现为弥漫性睾丸肿胀、坚硬、疼痛症状。疾病早期,无痛性睾丸肿块是一个特异性病征,但睾丸肿块常常由感染性附睾炎和睾丸炎引起。超声检查通常可以确诊。如疑似睾丸癌,进行治疗前应测定血清甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)和乳酸脱氢酶(LDH)浓度。作为常规,睾丸切除术要先于其他进一步的治疗,但若肿瘤已发生转移危及生命时,则应先进行化疗。睾丸切除术后,要根据疾病的类型和分期进行一些辅助治疗。I 期精原细胞瘤患者应加强随访,对于 IIa 和 IIb 期患者,腹膜后和同侧骨盆淋巴结放疗是标准疗法,相当于短期的顺铂治疗^[12]。90% 经化疗治愈的患者中,约 4%~10% 的患者复发。约 15%~20% I 期精原细胞瘤患者在随访中复发,需要进行化疗。I 期非精原细胞瘤患者需进行睾丸切除术,睾丸切除后,随访和保留神经的腹膜后淋巴结清扫术是公认的治疗方案。随访中约有 20% 患者发生复发,需要进行化疗。对 II 期非精原细胞瘤患者进行化疗或腹膜后淋巴结探查。对晚期睾丸癌患者进行化疗^[4]。

血清肿瘤标志物在睾丸癌患者的管理中起着重要的作用,有助于疾病的诊断、分期、危险评估、疗效评价及转移的早期检测。单独标志物浓度的持续增加足以说明可以开始对患者进行治疗。AFP、hCG 和 LDH 是公认的血清肿瘤标志物。多数 NSGCT 患者血清中有一种或多种标志物水平升高,而 LDH 和 hCG 常在精原细胞瘤患者血清中升高。其他一些肿瘤标志物也在研究中,但仅能提供有限的临床信息。

为了制订该指南,我们回顾了睾丸癌肿瘤标志物相关文献。特别关注综述、包括肿瘤标志物应用的前瞻性随机试验和专家组发表的指南。仅发现了一篇相关的系统性综述^[10]。NACB 委员会的共识建议均有相应的证据证实。

当前有效的睾丸癌肿瘤标志物

表 1 列出了应用最广泛的睾丸癌组织学和血清学肿瘤标志物,还列出了每一种标志物的发展阶段及其临床应用的证据级别(LOE)。

表 2 不同专家组对睾丸癌肿瘤标志物应用的建议

肿瘤标志物	应用	EAU 2001 ^[14]	EGTM 1999 ^[13]	ESMO 2007 ^[17] 2008 ^[21]	NACB 2002 ^[15]		NCCN 2007 ^[18]	NACB 2008	
					推荐	推荐强度*		推荐	推荐强度*
AFP 和 hCG	筛查	否	否	否	否	否	否	否	A
	诊断/病例检出	是	是	是	是	是	是	是	B
	分期/预后	是	是	是	是	是	是	是	A
	复发检测	是	是	是	是	是	是	是	A
	疗效监测	是	是	是	是	是	是	是	A
AFP	鉴别诊断 NSGCT	是	是	是	是	是	是	是	A
LDH	诊断/病例检出	是	是	是	是	是	是	是	B
	分期/预后	是	是	是	是	是	是	是	A
	复发检测	是	是	是	是	是	是	是	B
	疗效监测	是	是	是	是	是	是	是	B

缩略语: EGTM 欧洲肿瘤标志物组织; EAU 欧洲泌尿学家协会; NACB 美国临床生化科学院。

注: * 推荐强度(SOR)^[520]: A = 高(进一步研究不可能改变专家组评估结果的可信度); B = 中等(进一步研究可能对专家组评估结果的可信度产生重要影响,可能会改变结果); C = 低(进一步研究非常可能对专家组评估结果的可信度产生重要影响,可能会改变结果); D = 非常低(任何一个评估结果均不确定)。参见本指南附注表 A。

睾丸癌肿瘤标志物: NACB 的建议

表 2 归纳了目前已出版的具有代表性的睾丸癌肿瘤标志物应用指南中的建议,也对 NACB 关于睾丸癌肿瘤标志物应用的指南进行了概述。

表 1 目前可用的血清学和组织学睾丸癌肿瘤标志物

肿瘤标志物	应用建议	发展阶段	LOE	参考文献
公认的血清肿瘤标志物				
AFP	诊断	普遍应用	II	[4 65 73 89]
	预后/分期		I	
	监测/监控		II	
hCG	诊断	普遍应用	II	[4 89 ,103]
	预后/分期		I	
	监测/监控		II	
LDH	预后/分期	普遍应用	I	[63 ,109]
	危险分层			
hCG β	诊断	试验阶段	IV	[96 ,103]
	监测			
LD-I	诊断	试验阶段	IV	[109]
	危险分层			
PLAP	诊断	试验阶段	IV	[111-112]
	危险分层			
NSE	诊断	试验阶段	IV	[116-117]
	危险分层			
公认的组织学标志物				
PLAP	组织学分类	普遍应用的免	II	[24]
	ITGCNU	疫组化抗体		
c-KIT 干细胞因子	精原细胞瘤及	普遍应用的免	II	[28]
	ITGCNU 分类	疫组化抗体		
CD30	胚胎性癌	普遍应用的免	IV	[60 ,519]
	危险分层	疫组化抗体		
AFP	卵黄囊瘤及	普遍应用的免	II	[24]
	胚胎性癌分类	疫组化抗体		
hCG	精原细胞瘤及	普遍应用的免	II	[24]
	绒毛膜癌分类	疫组化抗体		
12p 扩增	诊断性腺外肿瘤	应用范围有限	II	[107-108]
	危险分层	应用范围有限	II	[54]
OCT3/4 ,POU5F1	危险分层	试验阶段	IV	[58]

缩略语: AFP, 甲胎蛋白; hCG, 人绒毛膜促性腺激素; hCG β , 人绒毛膜促性腺激素 β 亚基; LDH, 乳酸脱氢酶; NSE, 神经元特异性烯醇化酶; NSGCT, 非精原细胞生殖细胞肿瘤; PLAP, 胎盘碱性磷酸酶。

注: 证据级别(LOE)^[120], I 级, 证据来源于单一的、强有力的、前瞻性的对照研究,该研究是特别针对检测标志物进行设计的,或来源于荟萃分析、汇集分析或对水平 II 或 III 研究的概述; II 级, 证据来源于相关的前瞻性治疗研究的标志物资料,该试验用来验证治疗假设而非针对检测标志物的有效性进行特别设计; III 级, 证据来源于大规模的前瞻性研究; IV 级, 证据来自小规模回顾性研究; V 级, 证据来自小规模初步研究。参见本指南附注表 A。

许多研究小组已经对睾丸癌的治疗进行了详细的介绍^[13-21]，其中关于肿瘤标志物的应用总结于表 3。表 4 根据生殖细胞肿瘤国际统一分类(IGCCT) 概述了血清肿瘤标志物

在转移性睾丸癌预后中的重要作用。IGCCT 仍然是睾丸生殖细胞肿瘤诊断和治疗的基础。接下来，简要地回顾睾丸癌的组织学类型，对这些表格中的肿瘤标志物进行更细致的讨论。

表 3 对睾丸癌患者随访过程中肿瘤标志物检测频率的建议^[16]

	肿瘤标志物每年的检测频率(次)					
	第1年	第2年	第3年	第4年	第5年	第6~10年
放疗后 I 期精原细胞瘤	4	3	3	2	2	
化疗后监测 I 期精原细胞瘤	6	4	3	2	2	1
监测 I 期 NSGCT	6 ^a	4 ^b	2	2	2	c
RPLND 或辅助化疗后 I 期 NSGCT	6	3	2	2	2	c
放疗后 II a-II b 期精原细胞瘤	6	4	3	2	2	1
初次化疗或 RPLND 及化疗后 II a-II b NSGCT	4	2	2	2	2	1
晚期精原细胞瘤和 NSGCT	12	6	4	3	2	1

缩略语: NSGCT 非精原细胞性生殖细胞肿瘤; RPLND 腹膜后淋巴结清扫术。

注: a 建议每 2 个月检测 1 次，前 6 个月可每月检测 1 次; b 建议每 3 个月检测 1 次，可以每 2 个月检测 1 次; c 可每年检测 1 次。

表 4 依据国际统一生殖细胞分类法对转移性生殖细胞肿瘤进行危险分层^{[66]*}

	非精原细胞瘤	精原细胞瘤
预后好	睾丸/腹膜后原发 无肺外转移 良好的生物标志物包括: AFP < 1 000 μg/L, hCG < 5 000 U/L (1 000 μg/L) 及 LDH < 1.5 × N (正常上限) 56% 非精原细胞瘤 5 年 PFS 89% , 5 年生存率 92%	任何原发位点 无肺外转移 AFP, hCG, LDH 正常 90% 精原细胞瘤 5 年 PFS 82% 5 年生存率 92%
预后中等	睾丸/腹膜后原发 无肺外转移 中等生物标志物包括: AFP ≥ 1 000 且 ≤ 10 000 μg/L 或 hCG ≥ 5 000 U/L 且 ≤ 50 000 U/L 或 LDH ≥ 1.5 × N 且 ≤ 10 × N 28% 非精原细胞瘤 5 年 PFS 75% , 5 年生存率 80%	任何原发位点 无肺外转移 AFP, hCG, LDH 正常 10% 精原细胞瘤 5 年 PFS 67% , 5 年生存率 72%
预后不良	原发于纵隔 或无肺外转移 或较差生物标志物包括: AFP > 10 000 μg/L 或 hCG > 50 000 U/L (10 000 μg/L 或 LDH > 10 × N 16% 非精原细胞瘤 5 年 PFS 41% , 5 年生存率 48%	无预后不良患者

缩略语: N, 正常参考范围上限; PFS, 无进展生存期。

注: * 引自参考文献^[66]且被授权。

睾丸癌的组织学类型

在最新的 WHO-Mostofi 分类中^[8, 22]，睾丸癌分为两种主要的类型：精原细胞瘤和 NSGCT，两者对于标志物的表达和治疗不同。精原细胞瘤的发病高峰大约在 40 岁，而 NSGCT 约在 30 岁。精原细胞瘤可以是单纯的精原细胞瘤或罕见的老年人高发的精母细胞性精原细胞瘤。多数 NSGCT 是混合组织学类型（如胚胎性癌、绒毛膜癌、畸胎瘤、卵黄囊瘤）。约 10% ~ 20% 的非精原细胞瘤同时也包含精原细胞瘤成分。这些根据英国分类法被列为复合型肿瘤^[23]，但根据 WHO 分类系统则被分为非精原性精原细胞瘤^[22]。畸胎瘤进一步细分为成熟型和未成熟型。体细胞肿瘤偶尔由畸胎瘤发展而来，被归类为非生殖细胞恶性肿瘤。肿瘤转移可能包含原发肿

瘤的一些组成成分，偶尔这些成分在原发肿瘤中未被检出^[22]。仅有不到 10% 的 NSGCT 只包含单一组织类型，所有组织学类型均需描述^[24]。

睾丸精原细胞瘤和非精原细胞瘤的前期病变是原位癌（CIS）^[25]，也被称为生精小管生殖细胞内瘤未定类型（ITGCNU）和睾丸小管内瘤（TIN）。原位癌细胞常发生于成年男性的曲细精管中，靠近睾丸支持细胞，也是精子形成的营养细胞^[26]。多数浸润性肿瘤临近的软组织可检出原位癌细胞，且更常与 NSGCT 而非精原细胞瘤相关联^[27]。ITGCNU 被认为是胚胎恶性肿瘤的癌前病变，最可能是精母细胞或卵母细胞。这一理论有多方面证据支持，包括流行病学、形态学、免疫组织化学和分子特征鉴定^[28-29]。

最新研究数据显示，患两侧小结石症的不育男性罹患精原细胞瘤和 NSGCT 的危险性增加（高达 20%）^[30]。这种情况下，应通过外科活检来判断是否存在 ITGCNU^[31]。

睾丸癌组织学标志物

遗传变异

在源于睾丸和性腺外的生殖细胞肿瘤中均可观察到 12p（12 号染色体短臂）增加的现象。这表明 12p 序列增加对肿瘤的发展至关重要。事实上这一发现已经被用于性腺外的生殖细胞肿瘤的诊断^[32]。但是，12p 序列的表达水平与疾病的分期以及治疗的敏感性/抵抗性并不相关^[33-35]。对顺铂类药物的应答反应的决定子可能位于发生内源性或外源性细胞凋亡或修复途径的 DNA 结合区下游^[36-38]。

虽然多数生殖细胞瘤显示出完整的错配修复途径，在对顺铂抗药的肿瘤中已发现由缺失引起微卫星不稳定性^[39-41]。其他一些与治疗敏感性和抵抗性相关的潜在发现可能与半胱天冬酶 9（caspase 9，一种细胞凋亡蛋白酶）功能缺失有关^[42]。所有这些因素都很重要，单一因素不大可能决定对治疗的敏感性或抵抗性。成熟性畸胎瘤对多数 DNA 损害治疗产生抵抗可能是由于体细胞分化过程中发生的一些后生变化（即表型遗传改变）所致就说明这点^[38]。

多数侵袭性精原细胞瘤和非精原细胞瘤存在 X 染色体拷贝数增加现象^[43]。有趣的是，在女性的正常发育过程中 X 染色体失活可发生于这些肿瘤中，其中 XIST（X 染色体失活特异转录本）是其调节基因^[6]。已建议血浆中未甲基化 XIST DNA 的检测有益于睾丸生殖细胞瘤的分子诊断和治疗监

测^[44]。这一发现值得进一步研究。

许多研究已将生殖细胞瘤与 G₁/S 检查点失调联系在一起,可能与功能性视网膜母细胞瘤基因(RB 基因)细胞周期调控因子缺失^[45]进而诱导 DNA 损伤后 p21 基因没有表达上调有关。不表达 p21 的细胞表现出由顺铂引起的 DNA 损伤修复能力下降,对顺铂的敏感性增加^[46]。难治性成熟畸胎瘤显示,不同于其他浸润成分,多重蛋白染色阳性可能与治疗抵抗有关。此外,成熟畸胎瘤 RB 基因阳性和表达 p21 基因可以使肿瘤出现 G₁/S 细胞周期阻滞^[47-48],这也许能够解释残留成熟畸胎瘤可见于 30%~40% 化疗后转移初期的残余物中。目前已经建立了一个组织学方面的预测残留腹膜后肿块的模型,这个模型以原发肿瘤组织学、化疗前标志物、肿块大小、化疗后肿块减少量为基础^[49]。原发性肿瘤中不含有畸胎瘤成分或存活的癌细胞已可作为预测残留组织是否为良性的有力指标^[50]。但是,必须注意的是,在原发肿瘤中微小的畸胎瘤可能被错过,在残留肿块中未检测到畸胎瘤成分并不能排除存在恶性细胞的可能。这些发现可能又与肿瘤细胞的起源有关^[51]因为人胎儿生殖母细胞和 ITGCNU 中并未发现 RB 基因表达^[52-53]。

血管浸润

特别需要引起注意的是血管浸润存在与否可预测肿瘤扩散和隐匿性转移。区别静脉还是淋巴管浸润,并不能提示隐匿性转移风险^[54]。已有报道称除血管浸润以外,高增殖活性(用 MIB-1 单抗评估)、存在较少范围的原发胚胎性癌、高病理分化阶段可以提示临床 I 期 NSGCT 发生全身性转移^[55]。然而,这种模式的预测价值是有限的,事实上定义为高危组存在 50% 隐匿性转移的风险,低危组存在 16% 的风险。前瞻性评估临床 I 期 NSGCT 复发的危险因素也显示血

管浸润是最强有力的预测因素^[56]。加上两个附加的危险参数(MIB-1 评分 > 70%, 胚胎性癌 ≥ 50%),阳性预测值增至 63.6%。因此,即使是预后因素和病理学标准的最佳结合,仍然有超过三分之一的病理学 II 期或随访过程中复发的患者不存在转移性疾病却被过度进行辅助治疗。相反,对低危患者进行预后评估具有较高的准确性(86.5%),可见对于高依从性的患者,随访是比较合适的选择。近来,聚类分析已被用于胚胎性癌患者的预后分群鉴别^[57]。

睾丸癌血清学标志物

标志物的表达与肿瘤类型

确定的标志物已被用来为精原细胞瘤与 NSGCT 的分类提供信息。胎盘/生殖细胞源性的碱性磷酸酶(PALP)在多数精原细胞瘤和胚胎性癌、50% 卵黄囊瘤和绒毛膜癌中可以检测到,但畸胎瘤很少表达。人绒毛膜促性腺激素(hCG)在合胞体滋养层细胞、绒毛膜癌和 30% 的精原细胞瘤中表达。在其他的组织学标志物中,干细胞因子受体(c-KIT)已主要用于检测 ITGCNU 和精原细胞瘤,CD30 用于检测胚胎性癌,AFP 用于检测卵黄囊瘤和 10%~20% 的胚胎瘤亚型和畸胎瘤。近来,又发现了一个潜在的标志物 OCT3/4,也叫 POU5F1^[58-61]。

尽管研究人员已经研究了大量的血清标志物,目前只有 hCG、AFP、LDH 具有独立诊断和评估预后的价值(表 2,表 3)。其他肿瘤标志物的临床价值仍需要进一步研究。表 5 总结了多数重要的肿瘤标志物检测过程中的分析局限性,这些肿瘤标志物在常规临床应用中的局限性将在后面进行更详细的讨论。

表 5 已被证实或实验性的生殖细胞瘤血清标志物的分析要求和潜在干扰因素

标志物	标本类型	分析要求	干扰因素
已被证实的标志物			
AFP	血清或血浆	检出限 < 1 μg/L	肝炎 嗜异性抗体 药物引起的肝损伤 肝细胞癌
hCG	血清或血浆 已证实尿液可导致错误结果	检出限 < 2 μg/L 与 LH 交叉反应 < 2% 等摩尔识别 hCGβ(或使用单独的方法检测 hCGβ)	化疗引起的 hCG 浓度升高 > 10 U/L 嗜异性抗体 非滋养层产生 hCGβ
LDH	血清	参考值视检测方法而定 临床决定限以参考值上限为基础	检测值偏高归因于溶血 肝脏疾病,肌肉疾病 心肌梗死
实验性的标志物			
hCGβ	血清或血浆	检出限 0.5 pmol/L	非滋养层癌
LD-I	血清	参考值视检测方法而定	溶血 肌肉疾病 心脏病
PLAP	血清	参考值视检测方法而定	吸烟 可致检测结果增加 10 倍
NSE	血清	参考值视检测方法而定	溶血引起检测结果假性升高

缩略语: AFP, 甲胎蛋白; hCG, 人绒毛膜促性腺激素; hCGβ, 人绒毛膜促性腺激素 β 亚基; hCGα, 游离的人绒毛膜促性腺激素 α 亚基; LDH, 乳酸脱氢酶; NSE, 神经元特异性烯醇化酶; PLAP, 胎盘碱性磷酸酶。

睾丸癌血清学肿瘤标志物的临床应用

诊断

睾丸癌(生殖细胞瘤)患者可出现无痛性睾丸肿块症状,一些患者也可出现肿瘤转移性疾病引起的症状。临床常规检查包括体格检查、睾丸超声、骨盆、腹部及胸部 CT 扫描^[62]。所有患者在治疗前必须检测血清 AFP、hCG、LDH 的含量。血清肿瘤标志物的浓度与肿瘤类型和肿瘤负荷(如:阶段)等密切相关。最近的一次大规模协作研究显示,NSGCT 占 64%,

精原细胞瘤占 36%^[63]。精原细胞瘤中 77% 属于 I 期(如:肿瘤局限于睾丸)21% 的患者血清 hCG 升高。NSGCT 中 52% 处于 I 期,79% 的患者血清肿瘤标志物水平升高(AFP 和 hCG 均升高占 44%,仅 AFP 升高占 26%,仅 hCG 升高占 9%)^[63]。精原细胞瘤患者中 hCG 浓度常低于 300 U/L,浓度 > 1 000 U/L 常与 NSGCT 相关联,浓度 > 10 000 U/L 主要见于绒毛膜癌患者,但也偶见于精原细胞瘤患者。40%~60% 的精原细胞瘤或 NSGCT 患者 LDH 升高^[64]。肿瘤的分类常依据组织学检查,但若血清 AFP 升高,精原细胞瘤可能被重

新诊断为 NSGCT 并做相应处理^[4]。

NACB 睾丸癌专家组建议 1: 睾丸癌诊断中应用的肿瘤标志物

当怀疑睾丸癌时, 在治疗前必须检测血清 AFP、HCG、LDH 的浓度 [LOE I; SOR B]。

肿瘤分期、危险分层及治疗方法的选择

血清 AFP、HCG、LDH 浓度升高提示预后不良^[65-66]。血清高浓度 hCG 是预后不良的一个强有力因素, 若浓度持续升高, 复发的危险也相应增加^[67]。国际生殖细胞肿瘤合作小组 (IGCCCG) 已将血清 hCG、AFP、LDH 浓度联合作为转移性生殖细胞肿瘤分类的依据(表 4)。根据标志物的浓度可将肿瘤分为预后较好、一般、较差, 原发性肿瘤及有无肺脏转移^[66]。

通常根据肿瘤的类型和预后分组来选择治疗方案。I 期精原细胞瘤可仅行睾丸切除术, 治愈率约为 80% ~ 85%。睾丸切除术联合腹部淋巴结放射治疗的治愈率可达 97% ~ 99%, 这种方法已常规应用于多个治疗中心。若不联合放射治疗, 约有 15% ~ 20% 的患者出现复发, 但多数可在二线治疗中治愈。因此, 在不进行放射治疗时, 应增加随访次数。

当仅行睾丸切除术时, I 期 NSGCT 患者存在 30% 的复发率。若同时存在血管周围浸润, 复发的危险率将增加至 50%。无血管周围浸润时, 复发的危险率为 15% ~ 20%。联合行腹膜后淋巴结清扫术 (RPLND) 时, 复发的危险将大大降低。这一治疗方案与生存率密切相关, 因此, 在不进行 RPLND 时, 也应增加随访次数。化疗是不进行 RPLND 的又一选择, 但常见的腹膜后残留肿瘤, 包括畸胎瘤需要手术切除。在行 RPLND 后, 若血清肿瘤标志物的水平出现异常或增高, 常提示仍存在腹膜后阳性淋巴结或需要化学治疗的系统性疾病^[68-69]。

远期危险分层

胚胎癌是 NSGCT 最常见的一种细胞类型。全能的且单纯的胚胎癌与早期肿瘤转移相关。因此, 有必要更准确地评估这种细胞型肿瘤的预后。聚类分析血清标志物 AFP、hCG 结合组织学标志物 p53、Ki67 及凋亡指数提示, 高 Ki67 者预示低凋亡, 低 p53 者生存率较其他类型的患者高。已有报道按照这种规则制定的分类方法独立于 IGCCCG 分类^[67]。这些结果一经证实, 将可提供一个更精确的治疗工具。

NACB 睾丸癌专家组建议 2: 睾丸癌各临床分期中的肿瘤标志物 根据国际生殖细胞共识分类方法对肿瘤进行分期及危险分层时, 必须检测 AFP、hCG、LDH 的浓度(表 4) [LOE I; SOR A]。

疗效监测

如果治疗前血清 AFP 或 hCG 的浓度升高, 那么其浓度下降速率则可反映治疗效果。若化疗后肿瘤标志物的浓度持续升高, 则提示尚存在残留病灶, 需要进一步治疗^[70-71]。在治疗的第一周, 化疗可能引起标志物浓度的瞬间升高或波动^[72]。

若睾丸切除术后无残留病灶, hCG 的半衰期约为 1.5 d, AFP 的半衰期约为 5 d^[73-74]。在化疗期间, hCG 的半衰期 > 3.5 d 或 AFP 的半衰期 > 7 d 提示存在复发或预后不良^[75]。肿瘤标志物半衰期由其浓度对数-时间的斜率计算出来。这适于利用若干时间点的肿瘤标志物的浓度以及根据回归线的斜率计算半衰期^[64]。计算半衰期应当在两个周期的化疗期间标志物浓度出现第一次波动之后, 大约在 7 到 56 d 之间。标志物的浓度下降缓慢可潜在用于一般状况差的患者, 暗示其需要进行侵入性治疗^[75]。

NACB 睾丸癌专家组建议 3: 用于睾丸癌患者疗效监测的肿瘤标志物 若在治疗前血清标志物 (AFP、hCG、和/或 LDH) 浓度升高, 应每周检测其浓度直到浓度降到参考范围内。尽可能监测肿瘤标志物的半衰期。治疗后标志物的浓度超出参考区间的上限, 提示存在残留病灶, 应进一步证实, 或用其他方法排除 [LOE II; SOR A]。

监测 在初次治疗成功后, 所有患者均应接受体格检查、肿瘤标志物测定及 CT 扫描的监测。通过这些监测, 多数复发病例可在临床症状出现前即被发现。多数患者在治疗后 1 年内复发, 极少出现在 2 年后, 但也有部分患者甚至在 10 年后复发。监测要依据肿瘤的类型、分期、治疗及复发的可能性进行(表 3)。仅行手术治疗的低危患者需要进行监测的次数最频繁(前 6 个月每 1 ~ 2 周随访 1 次)。一些治疗中心建议每周进行随访, 目的是在肿瘤发展到不良预后(血清 AFP > 500 kU/L, hCG > 1 000 U/L) 之前及时发现复发^[76]。所有患者均需持续随访 5 年^[16]。

NACB 睾丸癌专家组建议 4: 用于睾丸癌患者治疗监控中的肿瘤标志物 即使在治疗前标志物水平并未升高, 专家组仍然建议对患者连续进行血清 AFP、hCG、LDH 的水平监测, 因为在治疗过程中, 肿瘤标志物的水平也可能发生变化。监测的频率应该依照已拟定的方案, 根据肿瘤的分期、病理而定(如表 3)。由于标志物水平存在个体差异, 因此, 浓度的增加较绝对浓度更具有意义。若某次标志物的浓度升高, 应进行重复检测以排除非特异性干扰引起的暂时性升高(如: 医源性性腺功能减退 [LOE II; SOR A])。

分析方面的考虑

在睾丸癌患者的治疗过程中必须检测肿瘤标志物。因此, 有必要更详细地回顾这些重要检测项目的分析要求。

AFP 生物化学与生物学 AFP 是清蛋白的同系物, 在胎儿期可作为载体蛋白。妊娠初期, AFP 由卵黄囊分泌, 后期由胎儿肝脏产生^[77]。在妊娠 12 ~ 14 周, 胎儿血浆 AFP 浓度达到 3 g/L, 随即降低, 至分娩期降至 10 ~ 200 mg/L^[78]。出生后, 血液中 AFP 浓度降低, 半衰期为 5 d, 8 ~ 10 个月时降至正常成人水平^[79-80]。当 AFP 用作婴儿期最常见的睾丸癌—睾丸卵黄囊瘤标志物时, 应当记录儿童早期 AFP 的正常高值^[81-82]。

检测方法、标准化和参考值 AFP 的定量主要是应用单克隆抗体或单克隆与多克隆组合抗体的两点免疫测定法。检测结果通常与以往的竞争性放射免疫测定法具有可比性。以 WHO 72/225 标准品进行校准, 1 U(国际单位) AFP 相当于 1.21 ng。实验室使用质量单位(ng/mL 或 μg/L) 或 kU/L 报告检测值。每种方法均应建立参考值以反映不同方法之间的偏差。多数治疗中心选用的 AFP 参考区间的上限是 10 ~ 15 μg/L。血液中的浓度随着年龄的增加会有轻度升高, 在一项研究中显示年龄小于 40 岁的受试者其血液中 AFP 浓度参考上限为 9.3 kU/L, 年龄超过 40 岁的受试者则为 12.6 kU/L^[83]。

假阳性结果 即使没有影像学证据, 血清 AFP 浓度持续升高, 排除其他原因仍可提示生殖细胞肿瘤^[4]。化疗后血清 AFP 浓度仍可能中等程度持续升高, 特别是当顽疾含有囊性组份, 其不断地向血液中释放 AFP 所致^[84]。大部分肝细胞癌和 10% ~ 30% 的其他胃肠肿瘤, 血清 AFP 浓度升高, 但睾丸癌患者极少合并上述疾病。AFP 浓度升高并不一定由肿瘤引起, 因此鉴别其他疾病引起的阳性结果及非特异性升高尤为重要。良性肝脏疾病, 尤其是肝炎或化疗引起的肝损伤患者, 血清 AFP 浓度中度升高, 可引起误解, 尤其是浓度持续升高^[85-86]。

来自于肝脏和卵黄囊的 AFP 碳水化合物的组成有所不同^[87]。植物血凝素结合物可以区分由睾丸癌和肝脏疾病引起的 AFP 浓度升高^[88]，但这种方法并不常规应用^[89]。如果治疗能够消除 AFP 升高的因素(但不是所有因素)在复发期间原本升高的 AFP 浓度可能在正常水平^[89]。原本中度增高的 AFP 仍保持稳定不降 提示复发^[86]。

NACB 睾丸癌专家组建议 5: AFP 检测的分析要求 AFP 检测方法应用 WHO72/225 标准校准，检测结果以 $\mu\text{g}/\text{L}$ 或 kU/L 为单位报告。AFP 检测下限应 $\leq 1 \mu\text{g}/\text{L}$ (即 $\leq 0.8 \text{kU}/\text{L}$)。参考值的建立应能够反映方法之间的偏倚。良性疾病、睾丸癌以外的恶性肿瘤、或一些非特异性干扰均可引起血清 AFP 浓度的增加 在解释检测结果时应考虑到这些可能性 [LOE not applicable; SOR A]。

hCG 和 hCG β 生物化学与生物学 hCG 是糖蛋白激素家族中的一员，此家族成员还包括促黄体素 (LH)、促滤泡素 (FSH)、促甲状腺素 (TSH) 这四者都包含 α 亚基。 β 亚基具有生物学活性且具有不同程度的同源性 LH β 与 hCG β 的同源性为 80%。hCG β 包含 24 个氨基酸 C 末端而 LH β 没有，因此这部分分子的抗体对 hCG 具有特异性。尽管 β 亚基缺乏 hCG 活性 但已证实 hCG β 通过抑制细胞凋亡来促进肿瘤细胞生长^[90]。包括睾丸绒毛膜癌在内的胎盘和滋养层细胞肿瘤呈现 hCG 高浓度表达。hCG 具有高度糖基化，hCG β 和 hCG α 分别包含 6 个和 2 个糖链。肿瘤细胞分泌的 hCG 糖基化不同于妊娠 hCG。B152 抗体只针对高糖基化的 hCG，这种形式在早期妊娠中占优势，并且可能比正常形式的 hCG 在癌症中更特异^[91]。

命名、检测方法、标准化及参考值 hCG 的特异检测依据抗体与 hCG β 反应^[92]。这也引起了 hCG 检测命名的混淆， β -hCG 或 hCG- β 检测可能表示 hCG、hCG β 均检测或只检测 hCG β 。根据国际临床化学与检验医学联合会 (IFCC) 命名建议 hCG 表示完整的 $\alpha\beta$ 二聚体，hCG β 表示游离的 β 亚基，hCG α 表示游离的 α 亚基^[93]。应根据被测物明确检测方法 (如：单独的 hCG、hCG β 或两者均检测^[64, 94])。

目前 hCG 的检测校准是依据第四批国际标准 (IS 75/589) 浓度以基于生物活性的单位 U 表示。但与之不同的是 hCG β 、hCG α 浓度则采用相关国际标准 (分别是 IS 75/551 和 IRP 75/569) 以任意单位表示。最近公认的 WHO 参考试剂已用摩尔浓度赋值，以便将来直接比较 hCG 和 hCG β 浓度^[93, 95]。

由于精原细胞瘤仅产生 hCG β 而非完整的 hCG，因此当监测睾丸癌时有必要同时检测 hCG 和 hCG β ^[14, 96]。已有文献推荐，抗体的组合应能够识别最重要的 hCG 亚型，且适合在肿瘤学中应用^[94]。同时检测 hCG 和 hCG β 的试剂常应用针对 hCG β C 末端抗原表位的抗体，但其亲和力较低，可能会降低检测的灵敏性^[94]。理论上应当单独检测 hCG 和 hCG β 以提高睾丸癌的检出率^[64, 96]，但这仍需进一步证实。

脑垂体分泌少量的 hCG，因而检测血浆 hCG 需要敏感的方法。血清 hCG 的浓度可能随着年龄的增加而增加，尤其是绝经期后的妇女^[97, 98]。多数检测方法规定 hCG 参考区间的上限为 5~10 U/L。使用超灵敏的方法，绝经期后妇女的参考区间上限为 5 U/L，而月经期女性为 3 U/L。小于 50 岁男性的参考区间上限为 0.7 U/L，超过 50 岁男性的为 2.1 U/L^[98]。用于诊断睾丸癌的临界值常低于 5~10 U/L。然

而 尽管多数睾丸癌患者年纪较轻，其 hCG 浓度的升高可能是由于睾丸功能失调引起。因此，有生殖细胞肿瘤病史的患者罹患活动性疾病需要连续检测其血清 hCG 浓度且持续升高来确诊。多数商品化试剂的检测限不包括低于 5 U/L 的浓度，因此有必要应用超灵敏的方法并确定其更低的临界值^[64]。使用摩尔浓度表示时，5 U/L hCG 相当于 15 pmol/L。参考区间上限为 2 pmol/L 时，与年龄和性别无关^[98]。

特异性及干扰因素 重要的是要注意化疗常引起性腺功能低下，从而导致 hCG 水平升高。当然有些性腺功能低下也是自发的。可通过检测 LH 和 FSH 的浓度加以证实，必要时，可以用睾酮替代疗法来抑制 hCG 增高^[99]。因此，在化疗期间 hCG 浓度从低于 2~5 U/L 增加至 8 U/L 时，常常是由治疗引起的，并不一定提示复发。hCG 浓度中等程度升高可能是脑垂体功能失调引起，尤其在伴有血清 LH 和 FSH 浓度超过 30~50 U/L 时，其升高因性腺的负反馈调节中断所致。这可由短期的睾酮治疗来证实，睾酮治疗可以抑制垂体分泌 hCG^[100-101]。

非滋养层细胞瘤极少分泌 hCG，然而，许多不同种类的肿瘤经常表达中等量的 hCG，如卵巢癌、胃肠道肿瘤、膀胱癌、肺癌、头颈部肿瘤^[101]。当所用试剂同时针对 hCG 和 hCG β 时，这些患者 hCG 浓度升高。

血清 hCG 假性升高常常由嗜异性抗体引起。文献只报道了这种现象发生于女性^[102]，而并没有阐述为什么不发生于男性。通过尿液 hCG 分析或在标本中加入封闭剂 (如：非免疫原性鼠 IgG) 阻断干扰后重新检测可以排除假阳性结果^[64, 102]。

显然，若肿瘤患者分泌 hCG β 而不产生 hCG 时，只检测 hCG 则导致假阴性。这常发生于精原细胞瘤中^[103]，也可见于 NSGCT 患者^[104]。

NACB 睾丸癌专家组建议 6: 测定 hCG 的分析要求 利用血清 hCG 浓度监测睾丸癌时，利用广谱检测方法检测 hCG 及相关亚型或利用特异的抗体分别检测 hCG 及其 β 亚基 (hCG β) 的浓度是必要的。hCG 和 hCG β 被认为是等摩尔水平，检测限 $\geq 1 \text{ U}/\text{L}$ 。IFCC 的 hCG 命名法应被用于描述检测方法。解释 hCG 检测结果时，应当考虑可能的干扰因素 (如：嗜异性抗体) 及暂时性升高 (如：由化疗引起) [LOE 不应用；SOR A]。

LDH 生物化学与生物学 LDH 在血液中以由两种不同亚基 (LDH-A 和 LDH-B) 组成的不同形式的四聚体形式存在。不同亚基可形成 5 种不同的同工酶，LDH-1 (B4)，LDH-2 (B3A1)，LDH-3 (B2A2)，LDH-4 (B1A3) 和 LDH-5 (A4)。编码 LDH-A 的基因位于 11 号染色体，而编码 LDH-B 的基因位于 12 号染色体短臂 (12p)^[105]。有趣的是，所有侵袭性精原细胞瘤和非精原性细胞瘤均显示 12 号染色体短臂拷贝数增加^[106]，故其在疾病进展过程中具有重要的作用。而 ITGCNU 中则无 12p 被检出的现象^[107-108]。已有报道证实 12p 拷贝数与肿瘤转移、血清 LDH-1 浓度之间密切相关，但迄今尚未鉴别出与 12p 相关联基因^[109]。从理论上讲，这些发现需要进一步证实。

特异性和干扰因素 血清 LDH 的浓度采用酶法测定，测定值依检测方法而定。因此，升高的幅度最常以相对于参考区间上倍数来表达。LDH-1 可通过酶谱法，或通过其他同工酶的免疫共沉淀作用后，检测残留的催化活性。LDH 在多种组

织中均表达,因此,其浓度升高可由多种疾病引起。尽管 LDH 特异性低,在对精原细胞瘤和 NSGCT 进行分期时,LDH 是一有用的标志物^[108]。标本溶血可造成假阳性结果,应避免此种情况。

NACB 睾丸癌专家组建议 7: LDH 检测的分析要求 由于 LDH 通过酶法进行检测,测定值依检测方法而定,升高的幅度应根据以相对于参考区间上限倍数来表达。应注意避免标本溶血而出现假阳性结果 [LOE not applicable; SOR A]。

胎盘碱性磷酸酶 生物化学与生物学 与肿瘤相关的碱性磷酸酶同工酶首先在肺癌患者中发现,随后又在其他肿瘤患者血清中被检测到并被证实为胎盘碱性磷酸酶(PLAP)^[110]。事实上,两个基因编码蛋白检出 PLAP 活性(如:PLAP 和生殖细胞酶 GCAP)。这些基因位于 2 号染色体,用常规的酶法和免疫组织化学法难以区分此两种蛋白^[111]。60%~70% 精原细胞瘤患者血清 PLAP 浓度升高^[112-113],而其他生殖细胞肿瘤患者,包括 ITGCNU 却很少升高^[24]。在冰冻组织切片中,可用酶法检测 ITGCNU 细胞^[114]。

检测方法、标准及参考值 PLAP 测定通常采用酶谱法,但也可在免疫捕获后通过免疫测定法或酶法检测^[113]。检测结果应当与当地的参考区间相比对^[113]。由于 PLAP 与其他碱性磷酸酶同工酶具有同源性,因此抗体的选择至关重要。然而,目前可供的抗体尚不能明确区分 PLAP 和 GCAP 同工酶。因此,所测定得的 PLAP 实际包含这两种同工酶。

第 3 章 前列腺癌肿瘤标志物

Hans Lilja, Richard Babaian, Barry Dowell, George G. Klee, Harry Rittenhouse, Axel Semjonow, Paul Sibley, Lori Sokoll, Carsten Stephan

背景

前列腺癌是美国男性最常见的癌症。2007 年新增病例 218 890 例,预测死亡病例 27 050 例。对于一些患者前列腺癌是其明确死因,但大多数男性患者并非死于肿瘤本身^[118]。尸检数据显示 50 岁以上男性 42% 有前列腺癌性病灶,但仅有 16% 的人在生前被诊断为前列腺癌,在这其中仅有四分之一的患者死于前列腺癌。更多人并非死于前列腺癌^[119]。尽管经组织学诊断证明癌症的发生率相似,但目前美国的前列腺癌临床发病率是日本的 15 倍。因此,与癌症临床症状相比,组织学诊断更能提供一个保守的、无干预的癌症攻略。然而,一旦前列腺癌达到晚期阶段,当出现局部或全身骨转移或对激素治疗耐受时,任何治愈的方法几乎不存在。

在任何情况和疾病状态,对前列腺癌患者的最佳治疗都需要使用肿瘤标志物前列腺特异性抗原(PSA)。在某些特

异性和干扰因素 吸烟者血清 PLAP 的浓度可高达正常人的 10 倍,由于其特异性不高,这组人群血清 PLAP 浓度检测并无太大价值^[113]。加上缺少商品化检测试剂限制了其临床应用。因此,在诊断睾丸癌患者的常规肿瘤标志物中并不包括血清 PLAP 测定。

其他标志物

妊娠特异 β-1 糖蛋白(SP1) 和 hCG 均由滋养层细胞分泌,hCG 相对于 SP1 更具有临床意义^[115]。因此,并不常规检测 SP1。30%~50% 精原细胞瘤患者神经元特异性烯醇化酶(NSE) 含量增加,而 NSGCT 患者较少发生^[16,16-17],尽管结果可观,目前 NSE 的应用仍很有限。

肿瘤标志物在睾丸癌中的应用要点

肿瘤标志物在睾丸癌患者的诊断、分期、危险分层及监测中均起着非常重要的作用。已发现了一些血清肿瘤标志物,但只有 AFP、hCG 和 LDH 已通过彻底验证,并且具有独立的预测价值。一些组织学标志物已证实在睾丸生殖细胞瘤患者的临床诊断和分类中起着重要的作用。生殖细胞肿瘤也具有染色体异常现象,12p 复制足以准确诊断起源于性腺外的生殖细胞瘤。基于 DNA 的诊断方法发展所揭示的变化可在将来更准确地对疾病分层和预后。

(翻译:刘洋、梁红艳,审校:姜晓峰、田亚平、鄢盛恺)

殊情况下,应该使用 PSA 相关亚型。因此,我们提出了关于使用 PSA 和其他前列腺癌血清标志物的 NACB 新指南,在该指南中也提供了其他专家组关于这一主题发表的相关指南的总结。

为了准备这些指南,我们复习了肿瘤标志物在前列腺癌中应用的相关文献。特别关注了一些有关综述(包括系统评价)、使用肿瘤标志物的前瞻性随机试验和专家组提出的指南。在可能的情况下,NACB 专家组的共识建议是基于有效证据基础上的(即:有证可循)。

目前可用于前列腺癌的肿瘤标志物

获美国食品与药品监督管理局批准用于前列腺癌患者治疗的商品化的 PSA 标志物详见表 6。表中列出了各种标志物的发展阶段和它们临床应用的证据级别(LOE)^[120]。

表 6 前列腺癌诊治中 NACB 推荐的 PSA 血清标志物临床应用

标志物	应用	NACB 推荐(2008)	LOE*	推荐的强度**	参考文献
PSA	筛查	否	III	B	[136,138,521-522]
	早期检测(采用 DRE)	是	III	B	[136,183,521-522]
	早期检测:特定年龄参考范围	否	专家观点	B	[146]
	分期/预后	是	III	B	[193,201,205-206,523-526]
	监督/监测	是	III	B	[527-528]
	总 PSA 在 2~10 μg/L 时良性前列腺疾病与前列腺癌的区别	是	III	B	[160,529]

缩略语: NACB 美国临床生化科学院; PSA 前列腺特异性抗原; LOE 证据级别; DRE 直肠指诊; % fPSA 游离前列腺特异抗原百分比。

注: * 证据级别(LOE)^[120], **推荐强度(SOR)^[520], 解释均见本指南附注表 A。

NACB 推荐的前列腺癌肿瘤标志物

表 7 总结了 NACB 指南中 PSA 标志物在前列腺癌的应用，并结合了其他关于前列腺癌肿瘤标志物的有代表性指南的建议，包括英国国立卫生与临床规范研究所（NICE，世界上最权威的药物和医疗技术评估机构之一）近来发表的建

议，NICE 已经对最有效的证据进行了系统回顾^[121]。尽管其他标志物已经被研究（表 8），基于目前的有效证据，PSA 及其亚型是唯一被推荐用于前列腺癌的标志物。下面就这些检测项目的使用进行更详细的讨论。

表 7 不同专家组对 PSA、复合 PSA、游离 PSA 与总 PSA 比值作为前列腺癌肿瘤标志物的应用建议

肿瘤标志物	应用	ACS ^[138]	ACP ^[530]	ASTRO ^[527]	AUA ^[528]	EAU ^[531]	EGTM ^[148]
PSA	筛查（采用 DRE）	是	否 ¹	-	是	是	否 ¹
	早期检测：特定年龄的参考范围	-	-	-	-	-	否
	早期检测：PSA 速率	-	-	-	-	-	-
	分期/预后	-	-	-	是	是 ³	-
	随访活组织检查阴性（采用 DRE）	-	-	-	-	-	-
	监督/监测	-	-	是 ⁴	是	是	是
% fPSA ⁵	总 PSA 在 2~10 μg/L 时区分前列腺癌和良性前列腺疾病	-	-	-	-	-	是
	随访活检阴性（采用 DRE）或活检风险增加的患者	-	-	-	-	-	-
肿瘤标志物	应用	ESMO ^[532]	NACB/EGTM 2002 ^[15]	NCCN ^[533]	USPSTF ^[534]	NICE 2008 ^[121, 139]	NACB2008 [*]
PSA	筛查（采用 DRE）	否 ²	是（NACB）	是	<75 岁男性缺乏有效证据，≥75 岁男性不建议筛查 ^[535]	缺乏有效证据	不存在
	早期检测：特定年龄的参考范围	-	是（NACB）	-	-	-	否
	早期检测：PSA 速率	-	-	是	-	是	是
	分期/预后	是	-	是 ³	-	是	是 ³
	随访活组织检查阴性（采用 DRE）	-	-	是	-	是	是
	监督/监测	是	-	是	-	是	是
% fPSA ⁵	总 PSA 在 2~10 μg/L 时区分前列腺癌和良性前列腺疾病	-	是	是	-	-	是
	随访活检阴性（采用 DRE）或活检风险增加的患者	-	-	是	-	-	是

缩略语：ACS，美国癌症协会；ACP，美国内科医师学会；ASTRO，美国放射治疗及肿瘤学会；AUA，美国泌尿外科学会；EGTM，欧洲肿瘤标志物组织；DRE，直肠指诊；ESMO，欧洲医学肿瘤学会；Ins，缺乏推荐证据；NACB，美国临床生化科学院；NCCN，美国国家综合癌症网络；NICE，英国国立卫生与临床规范研究所；PCa，前列腺癌；USPSTF，美国预防服务工作组。

注：1. 非常规，个人决定；2. 除外男性泌尿系统症状；3. 作为 DRE 数据图和活检 Gleason 分级的一部分（部分在表中）；4. 放疗后；5. 男性总 PSA 在 4~10 μg/L 范围内和 DRE 阴性患者；* 表示推荐强度，具体解释见本指南附注表 A。

NACB 推荐的前列腺癌肿瘤标志物

表 7 总结了 NACB 指南中 PSA 标志物在前列腺癌的应用，并结合了其他关于前列腺癌肿瘤标志物的有代表性指南的建议，包括英国国立卫生与临床规范研究所（NICE，世界上最权威的药物和医疗技术评估机构之一）近来发表的建议，NICE 已经对最有效的证据进行了系统回顾^[121]。尽管其他标志物已经被研究（表 8），基于目前的有效证据，PSA 及其亚型是唯一被推荐用于前列腺癌的标志物。下面就这些检测项目的使用进行更详细的讨论。

PSA 标志物在患者治疗中的应用

PSA 标志物在前列腺癌筛查和早期检测中的应用

在美国过去的 20 年，血清 PSA 的广泛测定提高了前列腺癌的检出率。正如流行病学数据显示的确诊为前列腺癌患者的数据有明显增加，也极大地促进了前列腺癌的早期诊断^[122]。大量证据越来越关注“阶段迁移”引起对无痛性癌症（一种很少威胁患者生命和健康的情况）的过度诊断和过度治疗^[123]。当血清 PSA 浓度小幅升高时，由于缺乏特异性，PSA 筛查已受质疑^[124]。尽管大量证据显示，血清 PSA 增高

与前列腺疾病完全相关，但其不是癌症所特异的，在其他情况如良性前列腺增生和前列腺炎时也增高。这就充分证明了传统的 PSA 检测缺乏特异性，甚至研究人员质疑血清 PSA 水平与前列腺癌是否存在任何相关性^[125]。反之，许多其他研究者的报道显示，非常有力的证据表明血清 PSA 水平与前列腺癌的存在或预后相关^[126-130]。而且，PSA 检测缺乏特异性对监测前列腺癌患者的诊断并不是关键的，因为其 PSA 是评价治疗干预反应和检测肿瘤复发最重要的标志物。尽管作为多元小组的成员，前列腺酸性磷酸酶对于鉴别侵袭性癌和/或癌症复发具有潜在价值，但其单独测定并不能为 PSA 检测提供任何有用的附加信息^[131-132]，因此 NACB 并不推荐此项检测。

NACB 前列腺癌专家组建议 1：用于前列腺癌患者治疗的肿瘤标志物的选择。PSA 是目前前列腺癌患者治疗最有用的血清肿瘤标志物，在疾病的任何阶段均需要检测 [LOE III; SOR A]。

基于人口的中位数 PSA 水平，低于 ≥50 岁的男性（0.6 μg/L），这些人中的大多数还没有任何前列腺癌或良性前列腺增生的体征或症状^[130, 133-134]。第 80 百分位数接近 1 μg/L，第 90 百分位数大约为 1.25 μg/L^[130]。根据 ≥50 岁男性第 95 百分位数所确立的 PSA 正常上限大约为 1.5 μg/L，但仍未

用于临床实践。老年男性 PSA 浓度的中度增加 表明年龄越大良性前列腺病变的频发越高。基于人口统计学研究 在 50 ~ 70 岁老年男性中 ,8% ~ 9% 的人 PSA 浓度 $\geq 4.0 \mu\text{g}/\text{L}$, 11% ~ 12% 的人 PSA 浓度 $\geq 3.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 以及 20% 的人 PSA 浓度 $\geq 2.0 \mu\text{g}/\text{L}$ ^[135]。

表 8 目前正在研究的前列腺癌生物标志物

	建议使用或使用和评论	发展阶段	LOE	参考文献
循环血液标志物				
PSA 亚组: 复合 PSA、游离 PSA、PSA 前体、完整 PSA、良性 PSA	血清绝对浓度与总 PSA 相关百分比可能有助于区分良恶性病变。	正在评估(临床检测正在进行)	IV ,V	[536-538]
人激肽释放酶 2(hK2)	占 PSA 氨基酸序列的 80% ,由前列腺上皮细胞产生 ,浓度低于 PSA 50 ~ 100 倍。相对于 BPH ,前列腺癌时 hK2 普遍增高 检测囊外扩散较 PSA 更敏感。	正在评估	IV ,V	[538-539]
胰岛素样生长因子(IGF-1) ,胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP-3)	血清高浓度 IGF-1 与前列腺癌风险增加相关。应用 ProstaScint 在组织中可以检测到 IGFBP-3; 前列腺癌时血清浓度增高; 区分前列腺癌与 BPH 或无疾病; 也被研究作为治疗的靶点。	正在评估	IV ,V	[540-541]
尿液分子标志物				
PCA3	与其他泌尿生殖组织和非肿瘤前列腺组织相比 ,前列腺特异基因在前列腺癌中高表达。经仔细的 DRE 后检测尿液 PCA3 mRNA; mRNA 为非编码、非蛋白产物。	正在评估(下一代 ASR PCA3 检测)	IV ,V	[542-543]
α -甲基-乙酰辅酶 A 消旋酶(AMACR)	与氧化作用相关的线粒体和过氧化物酶; 在前列腺癌时表达; 可通过免疫组织化学 IHC 技术在组织中检测到 ,能够与基底细胞脱落的标志物(如: 基底细胞角蛋白 α -63) 结合有助于通过前列腺针吸活组织检查来确诊癌症。在鉴别重要肿瘤时检测液体反应可以弥补 PSA 筛查。	正在评估(尿液和组织)	IV ,V	[544-548]
谷胱甘肽 S-转移酶-pi(GSTPi)	保护细胞免于氧化损伤; 由于其启动子区的超甲基化 ,前列腺癌时表达降低; 区分 BPH 和癌症; PCR 定量检测前列腺组织、血清、尿液和精浆中细胞的 GSTPi 基因启动子的甲基化情况。	正在一项临床试验中评估	IV ,V	[549-550]
甲基化谱	一批标志物的超甲基化结合组织学检查有助于前列腺癌诊断; 前列腺组织样本异常的甲基化与不良预后的临床病理特征相关。	正在评估(发展中 ASR)	IV ,V	[551-552]
端粒酶活性	大多数前列腺癌可以检测到端粒酶活性 ,但在良性前列腺组织却检测不到。在组织样本和尿液中改进端粒酶的检测方法可能使这种标志物用于前列腺癌早期检测。	正在评估	IV ,V	[553-554]
细胞/基因检测				
循环的前列腺细胞 RT-PCR 基因靶向 PSA , Hk2 和 PMSA mRNAs	测定血液循环中脱落的前列腺和肿瘤细胞的频率: 使用 RT-PCR 测定 PSA-Hk2 和/或 PMSA-mRNA ,作为一种定义侵袭性和/或全身疾病阶段的方法。	正在一项临床试验中评估	IV ,V	[536-555]
PTEN	一种作为肿瘤抑制基因功能的脂质磷酸酶 ,其通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt) 信号途径发挥作用。在一些前列腺癌上该基因缺失或突变。可以通过免疫组织化学 IHC 检测蛋白 ,其水平下降与高分级和分期相关。	正在评估	IV ,V	[556-557]
CDKN1B(P27)	周期素依赖性蛋白激酶抑制因子 ,在前列腺肿瘤细胞该蛋白降低 ,其水平与恶化结果相关。	正在评估	IV ,V	[558-559]
Ki-67	细胞增殖的标志物 ,IHC 中细胞染色阳性的部分与恶化结果相关。	正在评估	IV ,V	[560]
染色体 8p22 丢失和 8q24(C-MYC) 获得	使用 FISH 测定 8q24 最具代表性 ,尤其是当 8q24 与 8p22 缺失结合时 ,其与前列腺癌 pT2N0M0,pT3N0M0 和 pT2N1-3M0 分期患者的进展相关。	正在评估	IV ,V	[561]
前列腺干细胞抗原(PSCA)	主要存在于前列腺的细胞表面蛋白; 在许多高分级的前列腺癌和许多转移病灶表达增高; 与疾病晚期阶段相关; 经 FISH,PCR,IHC 检测前列腺组织。	正在评估	IV ,V	[562]

缩略语: BPH ,良性前列腺增生; FISH ,荧光原位杂交; IHC ,免疫组织化学; LOE ,证据级别; PCR ,聚合酶链反应; DRE ,直肠指诊。

注: 本表基于前列腺癌基金会关于前列腺癌对国家作的报告表 3^[563]。

译者注: ProstaScint 是一种靶向前列腺特异膜抗原(PSMA) 的放射性同位素抗体 ,PSMA 则是一种在良性和平滑肌上皮细胞表达的糖蛋白。

大量证据显示 在血清 PSA 浓度小幅增高的人群中(如: 4 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{L}$) ,通过前列腺活检获取组织进行病理组织学检查 ,证实这些人中约有 25% ~ 35% 的人患有前列腺癌^[136-137]。当血清 PSA 浓度超过 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时 ,检测癌症的特异性可达到 40% ~ 50% 甚至更高。目前美国推荐大多数超过 50 岁的男

性应当每年检测 PSA 和直肠指诊(DRE) 筛查前列腺癌 ,如果 DRE 结果异常或血清 PSA 浓度 $\geq 4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 时应建议进行活组织检查^[138]。NICE 指南总结表明 ,单独血清 PSA 浓度不是一个好的前列腺癌存在的预测因子 ,特别对于一些单独基于 PSA 诊断的癌症不应机械地进行前列腺活检 ,因这些癌症是

低风险的很少甚至不会影响其预期寿命^[121-139]。

正如最近已经讨论的,所有建议都是有局限性的^[140]。依据一个研究组评价 PSA 检测的敏感性和特异性最佳结合的报告,得出 PSA 的临界值 $\geq 4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 代表临床决定水平,在这个研究中的数值分布可能不再使用^[141]。是否推荐 PSA 的临界值低于 $4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 仍有争议。是否仅仅依据 PSA 临界点值(如: $\geq 4.0 \mu\text{g}/\text{L}$)决定推荐前列腺活检也存在争议。低的临界值使越来越多的男性进行组织活检从而增加了癌症的检出率。PSA 浓度从 2.0 (或 3.0)到 $4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 的男性中 20% 甚至更多人经组织活检发现患有前列腺癌^[142-143]。这也被近来的一项研究证实 2950 位 PSA 浓度低于 $4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 组织活检者中 15.2% 的人被诊断为前列腺癌。这项研究表明,62~91 岁的老年男性中 PSA 浓度在 $0\sim 0.5 \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,其前列腺癌的患病率升高($\geq 6.6\%$),PSA 浓度在 $0.6\sim 1.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,患病率 $\geq 10\%$,PSA 浓度在 $1\sim 2 \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,患病率 $\geq 17\%$,PSA 浓度在 $2.1\sim 3.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,患病率达到 23.9% ,PSA 在浓度 $3.1\sim 4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内患病率达到 26.9% ^[128]。高度恶性前列腺癌的患病率也随着 PSA 值的增加而增加。因此,依据活检(组织学)证实为男性前列腺癌得出的 PSA 检测阳性预测值与 PSA 值在 $2\sim 4 \mu\text{g}/\text{L}$ 和 PSA 值在 $4\sim 10 \mu\text{g}/\text{L}$ 相似^[136, 144]。

NACB 前列腺癌专家组建议 2: 临床决定限 对应用 PSA 检测非常小的肿瘤仍存在争议 随着组织活检的临床决定限逐渐降低,获益逐渐增加,但当低于 $4 \mu\text{g}/\text{L}$ 时就不太确定以至于不能给出任何大致建议。当临界点低于常用的 $4 \mu\text{g}/\text{L}$ 时,检测的敏感性提高的同时却降低了特异性,除非给予其他辅助检测或措施来增加特异性。相反,应用 $\text{PSA} > 4 \mu\text{g}/\text{L}$ 作为临床决定限时,将降低敏感性,导致临幊上可能从早期治疗中受益的典型肿瘤患者漏诊[LOE 不适用; SOR B]。

建议 50 岁以上老年男性每年检测 PSA 的策略过于简单化,并不能仅凭过去确定的 PSA 的水平提示的个体风险来改变检测频率^[138]。例如,一位 55 岁男性的 PSA 基线水平为 $0.4 \mu\text{g}/\text{L}$ 与同龄基线水平 PSA 值为 $3.3 \mu\text{g}/\text{L}$ 的男性相比,将来发生前列腺癌的可能性要少得多。Stenman 等^[126] 使用芬兰健康检查调查所用的冰冻血清样本和资料,Gann 等^[145] 使用医师的健康研究信息来检测 PSA 判定男性随后是否被临幊诊断为前列腺癌的能力。Gann 等人的数据说明 PSA 水平在 $2.0\sim 3.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 的男性被诊断为前列腺癌的相对危险性高于 PSA 水平低于 $1.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 者的 5.5 倍。前一组血清 PSA 水平达到 $2.0\sim 3.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 者,平均超过 5 年以后经直肠指诊检测出癌症。最近,在对从未接受过 PSA 检测的瑞典 44~50 岁之间男性的一项大规模研究中,Lilja 等^[130] 证明在前列腺癌诊断前 20 年收集的血样中 PSA 水平与诊断的可能性之间存在明显关联。这些数据和来自其他人的报道表明^[129],对早期中年人进行危险分层是重要的,可以弥补早期癌症检测策略中不完善之处。一些与筛查计划相关的附加问题讨论如下。

特定年龄 PSA 参考范围 由于 40 岁以上男性血清 PSA 水平随年龄逐渐增加,所以我们提出了特定年龄参考范围,期望通过降低临界值以增加年轻人中癌症检出率,通过提高临界值增加老年人群中的特异性^[146]。尽管没有达成共识,但许多专家包括美国国家综合癌症网络(NCCN)在内的大多数专

家都支持在年轻人中使用血清 PSA 浓度低于 $4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 作为临幊决定限。然而,在缺少其他能够明显增加诊断特异性的附加检测(即:减少不必要的活检)的情况下,NACB 也不能令人信服。同时,NACB 建议当决定限超过 $4.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 时应该注意,这可能导致临幊典型肿瘤患者漏诊而延误早期治疗^[147]。因此与以前发表的建议相反,NACB 并不支持使用年龄特异性的参考范围^[148]。

NACB 前列腺癌专家组建议 3: PSA 的年龄特异性参考范围 年龄特异性参考范围不应该用于 PSA 检测 [LOE, 专家观点; SOR B]。

在前列腺癌筛查中增加 PSA 的特异性 循环中总 PSA 大致等于循环游离 PSA(fPSA) 和结合形式的 PSA 之和,结合形式 PSA 是 PSA 与 α -1-抗胰凝乳蛋白酶(PSA-ACT)偶联成稳定的复合物。游离 PSA 占总 PSA 的 5% 到超过 40%^[149]。游离和结合形式的 PSA 通过可供商品化试剂有选择性进行检测,并且没有任何明显交叉反应的干扰^[150]。一些复合物的测定已经被建议用来改善单独血清总 PSA 浓度测定对前列腺癌早期检测的特异性。PSA 密度^[151-153]、PSA 速率^[154]、PSA 倍增时间^[155-156] 和游离 PSA 百分比(% fPSA)^[157-161] 均已在研究中被评价,但仅% fPSA 被广泛证实并用于临床实践。通常良性疾病的% fPSA 高于前列腺癌患者(并无良性增生)。不幸的是,当良性前列腺增生并发前列腺癌时% fPSA 的数据将很难解释^[162]。尽管如此,在 2005 年进行的一项系统回顾中,已经建议使用% fPSA 作为减少不必要的组织活检数量的方法,尤其对于 PSA 浓度在 $4\sim 10 \mu\text{g}/\text{L}$ 之间的患者^[163]。与最近荟萃分析的结果一致,目前 NACB 专家组和欧洲肿瘤标志物组织(EGTM)均建议使用% fPSA 作为高风险人群区分前列腺癌和良性疾病的一种辅助手段(如:当总 PSA < 10 $\mu\text{g}/\text{L}$,DRE 阴性时)。特别指出,% fPSA 能够用于鉴别初期组织活检结果阴性的前列腺癌患者。在恶性疾病高风险的可疑男性中,由于% fPSA 低,要依靠重复组织活检诊断癌症。由于需要验证每种游离 PSA 和总 PSA 的商品化分析的医学决定限,这个建议被暂时搁浅。

NACB 前列腺癌专家组建议 4: % fPSA 在诊断中的应用 对血清总 PSA 在 $4\sim 10 \mu\text{g}/\text{L}$ 而为阴性、频繁进行重复活检、选择的高风险人群 特别是早期活检结果为阴性但鉴定是否为前列腺癌的患者,推荐使用% fPSA 辅助区分前列腺癌和良性前列腺肥大。每种% fPSA 和总 PSA 联合检测的临幊决定限必须被有效验证[LOE I; SOR A]。

超过 95% PSA(cPSA) 免疫复合物片段与 α -1-抗胰凝乳蛋白酶结合,仅有不足 5% 与其他复合物配体结合(如: α -1-蛋白酶抑制剂^[157, 166-168])。目前的 PSA 免疫检测方法不能检测到与 α -2 巨球蛋白结合的 PSA。血液中 cPSA 能够直接使用 PSA-ACT 测定法检测,封闭 fPSA 后测定 cPSA 水平^[170],也可以同时使用两种测定方法并适当标准化,间接的在总 PSA 中减去 fPSA^[171]。单独测定 cPSA 与总 PSA 在癌症检测方面具有可比性,但在很窄的浓度范围内单独测定 cPSA 可显示较好的特异性^[172]。然而,单独 cPSA 水平不能达到与% fPSA 相似的特异性^[170]。

前列腺癌早期检测指南

美国癌症协会(ACS)已经颁布了有关前列腺癌早期检测的指南。该指南建议至少还有 10 年寿命的具有中等前列腺

癌风险的男性从 50 岁开始每年进行 DRE 和血清 PSA 检测筛查前列腺癌^[138]。尽管目前认为 PSA 是检测前列腺癌最有效的生物化学检测方法,但依据 ACS 指南、DRE 检查也应该尽可能地包括在内。对于风险增加人群(包括美国黑人血统和那些一个或多个一级亲属患有前列腺癌的人)建议 45 岁甚至 40 岁开始筛查。这些人群常常较一般人群提前几年发生前列腺癌并趋于呈现更强侵袭性的类型^[173]。

依据 PSA 结果,建议对高危人群进行的随访,筛查应该从 40 岁开始。如 PSA 水平 <1 μg/L, 45 岁时重新检测。PSA >1 但 <2.5 μg/L 者,每年都要进行检测,而 PSA ≥2.5 μg/L 者将被进一步评价并考虑做组织活检^[138]。

这些指南虽不支持 PSA 作为人群筛查常规的建议,但认同个别男性在决定检查之前应该被告知筛查前列腺癌的益处和限制,就如英国前列腺癌风险管理项目^[174]和 NICE^[121, 139, 174]建议的那样。与以往相比,现在更加强调由个人决策。近来这个主题已经成为鉴定和评价 PSA 对诊断的辅助和评定的系统性回顾的目标^[175]。作者得出结论,认为 PSA 决策辅助至少在短期内改善了对 PSA 检测的了解。有许多问题需要考虑,包括由于被诊断为前列腺癌的人数多于最终死于前列腺癌的人数,因此需要考虑前列腺癌相关的发病率和死亡率之间的差异。然而,治疗措施可能时,早期检测可为原位癌的根治提供机会。在美国目前转移性疾病仅占初次诊断的 5%,与 pre-PSA 检测时代相比,显著降低了 50%^[122]。然而,关于疾病的早期治疗仍有许多不确定性,包括临幊上无转移的前列腺癌的首选治疗。

早期检测前列腺癌的优点

关于早期检测前列腺癌的优点仍存在相当大的争议,不是所有的医疗机构都支持常规筛查^[176]。尽管美国泌尿外科学会支持美国癌症协会关于早期检测前列腺癌的方针声明,但其他组织不认同前列腺癌筛查的优点^[177-178]。反对筛查的论点是基于任何随机实验都没有明确的证据显示早期检测和治疗影响整体死亡率,然而对器官局限的前列腺癌进行标准治疗会伴有明显频发的副作用。目前,美国预防服务工作组、美国家庭医师协会、美国内科医师学会、美国国立癌症研究所(NCI)和 EGT 均不建议基于人群的前列腺癌普查^[177-178]。正如最近已经评论的^[179],目前的筛查方式导致了早期疾病的过度诊断和过度治疗,而这些并无重要的临床意义。

NACB 和 EGT 建议,在普通人群中广泛进行前列腺癌筛查应该等正在进行的前瞻性随机研究[特别是欧洲前列腺癌筛查随机研究(ERSPC)]最终结果出来之后,该研究将充分帮助确定是否早期检测和治疗能降低前列腺癌的死亡率。ERSPC 已经进行了 10 年,预计在 2010 年得出结果。在 NCI 和美国公共健康服务部门的支持下,关于前列腺癌筛查对生存率影响的长期多中心试验也在进行中^[182]。

尽管前列腺癌筛查的优点还没有明确的证明,但筛查的支持者已经指出 PSA 检测与癌症早期诊断和减少前列腺癌死亡率的关系。奥地利男性人口大量和稀少筛查的注册数据为我们提供了一个病案。在提洛尔(Tyrol)进行大量筛查地区^[183]与稀少筛查地区相比前列腺癌的预期死亡率明显降低^[184]。观察到的死亡率下降与疾病的早期诊断尤其是器官局限性疾病比率增加有关。早期检测和有效治疗的结果将导致疾病特异的存活率相应改善。来自 NCI 的监督、流行病

学和终点结果项目的数据有相似的趋势,来自明尼苏达州奥姆斯特德的研究^[185]以及 1975 至 2004 年间美国和英国前列腺癌死亡率的比较也观察到了类似趋势^[186]。

尽管最近的数据表明,PSA 检测使疾病阶段明显向早期迁移,加之随后对局限性前列腺癌的治疗确实影响了死亡率,但早期诊断和治疗干预是否改变了疾病的自然史仍然是未解决的问题。就像观察到的益处可能是选择或发展所需时间偏差的结果^[187]。诊断阶段可能更依赖于肿瘤的生物学行为(侵袭性)而不是停滞的表现,这样早期诊断对死亡率可能不会有显著影响。被治疗的局限性前列腺癌的比例增加,可说明统计学上死亡率的一些改变^[181]。

目前,并没有充分证据支持或者反驳日常使用大量、选择性或机会性的基于 PSA 的筛查,同样不清楚是否应该建议反对基于 PSA 的筛查。这是由于 PSA 筛查成功减少前列腺癌死亡率仍有待证实。目前随机对照实验并没有提供关于筛查对生活质量的影响、筛查的缺点和它的经济价值的有力证据。两个正在进行的大规模多中心随机对照试验的结果有利于以后几年作出有关前列腺癌筛查的循证性决定^[188]。

NACB 前列腺癌专家组建议 5: 前列腺癌筛查 是否利用 PSA 在普通人群中进行前列腺癌大规模筛查的决定必须等正在进行的前瞻性随机筛查研究(如:欧洲 ERSPC 实验)结果,其预计在 2010 年前完成 [LOE, III; SOR A]。

PSA 用于患者治疗

疾病早期阶段的最佳治疗方案尚未建立。治疗方案包括期待疗法(有效地监督和观察等待)、根治性前列腺切除术或放疗(外部射线照射或近距离放疗)^[139]。可选择的治疗方式(如:冷冻手术或高度增强聚焦超声)需等待其长期结果的评价。晚期(转移性)疾病患者应用激素疗法抑制雄激素对前列腺的刺激。PSA 由分化的前列腺细胞合成,而这种治疗可以抑制 PSA 合成,同时血液中 PSA 水平反映肿瘤负荷的能力与雄激素抑制前是不同的。当患者对一二线雄激素治疗耐药时,可以对其进行化疗或使用各种制剂的经验治疗[如:赛诺菲安万特的泰索帝(Taxotere)][译者注:属于紫杉类化合物抗肿瘤药]。血液中 PSA 浓度的测定在前列腺癌的诊治中从监督到选择最佳治疗方案、评估预后、治疗后监测等多个方面起到重要作用。在前列腺癌患者随访中游离 PSA 测定并未提供任何超过总 PSA 测定的优势^[189]。

前列腺癌诊断后选择治疗的依据关键在于疾病是否局限在前列腺。前列腺癌根治切除术主要用于器官局限性的疾病,即便囊外的疾病也可以从根治术获益^[190]。然而,病变程度很难准确预测。仅依据 PSA 并不能提供充分的信息^[191],只有结合临床分期和 Gleason 评分来合理预测局限性前列腺癌的病理分期。结合这些参数的预测表格已经发表^[192-194]并被医生用于判断器官局限性疾病的可能性以决定是否采用前列腺癌根治切除术。NICE 推荐泌尿外科的多学科综合团队在对新诊断的局限性前列腺癌进行风险分类时,应把这些参数考虑在内^[121, 139]。

1992 年首次发表了 PSA 浓度随时间[PSA 速率(PSAv)或倍增时间(PSADT)]改变的评估报告^[154],提示随着 PSA 水平的迅速增加,前列腺癌发生具有高风险性。在一些研究中也进一步说明,治疗前 PSA 浓度迅速升高与疾病的恶化和治疗后早期复发相关。D'Amico 等^[195-196]近期的研究表明,诊断

前一年检测 PSA_v 超过 2.0 μg/L/年显示与前列腺癌特异的死亡率密切相关。近来, Carter 等报道 PSA_v 能够在诊断前 15 年预测威胁生命的前列腺癌^[197]。然而, 要证实 PSA_v 具有重要的临床价值, 还必须明确证明 PSA 和 PSA_v 联合的多变量模式(如: 将 PSA_v 加入到包括 tPSA、年龄和日期的诊断模式)优于单独使用 PSA。即使最近有关于这方面的报道, 这一水平证据仍然缺乏。

经过成功的外科手术后, PSA 应该降到无法检测到的水平^[198-199]。PSA 持续增高提示病灶残留。然而, 反过来并不成立, 即术后未检测到 PSA 不能指示手术治愈。从残留病变发展到 PSA 可测得的病变需要大量时间。通常残留病变在术后 3 年内表现出来。进行前列腺癌根治切除术的男性发现在第一个 10 年内有高至 20% ~ 30% 的人出现残留病变。

前列腺癌根治切除术后, PSA 浓度升高是疾病复发的一个生物标志物, 比疾病进程中的其他标志物要早许多年出现。然而, 并不是生物化学指标重新出现的所有患者在有生之年会发展到出现临床疾病症状和转移扩散并需要治疗^[200-201]。有关预测疾病转移发展病程的因素包括生物化学指标重新出现的时间、肿瘤分级(Gleason 评分)和 PSADT^[156, 161]。这些参数用于评价患者有无明显的疾病转移的可能性, 允许医生将患者分为高风险和低风险类型并作出更好的治疗决策。

检测 PSA 在初次治疗后监测治疗反应和随后治疗评估预后结果中具有明显的临床应用意义。PSA 的测定为手术和放疗的效果提供了重要的信息, 有助于确定残留病变的可能(局部或远距离的), 以及可先于其他传统的诊断操作之前即可检测到转移性疾病的复发信号, 为评估治疗反应提供了辅助作用。

PSA 可以为治疗效果或疾病复发提供最早的检测, 这将影响患者的幸福感。对于一些患者而言, 停止测量 PSA 可能更适宜, 尤其是经过有效地替代治疗效果不佳时不必检测 PSA^[148]。

PSA 在前列腺癌治疗后监测中的作用

经治疗后, 专家组认为单独测定 PSA 结果达到或接近检测下限不能充分诊断前列腺癌的复发。经重复和连续检测证明 PSA 水平的上升为诊断前列腺癌的复发提供了更可靠的证据^[121, 139, 202]。前列腺癌根治术后, 如果癌症组织局限在器官内并且所有残留前列腺组织完全切除, 则循环血 PSA 降低到无法测出的水平。若持续检测出 PSA 说明病灶切除不完全或存在转移。如果在这种情况下使用超敏感的 PSA 测定, 那么应当建立测定的功能检测限, 并且应该与最低报告限相对应。

目前, 关于 PSA 水平低于 0.4 μg/L 时前列腺癌复发的证据仍不明确^[200]。然而, 当 PSA 水平仍非常低时($\geq 0.5 \mu\text{g}/\text{L}$) 前列腺癌根治术后辅以放疗已经显示了最佳疗效^[203]。由于循环血 PSA 浓度缓慢下降, 放疗后复发的界限仍不清晰。美国放射治疗及肿瘤学会已经定义经外部照射治疗辅以或不辅以激素治疗后, PSA 高于最低值 2 μg/L 或以上时为生物化学复发^[204]。

尽管 PSA 的临床应用是可变的且取决于患者个体的疾病分期, 但前列腺癌治疗后监测 PSA 是临床实践的主要依据。正如最近指出的, 高质量的信息和临床试验资料的缺乏

阻碍了前列腺癌指南建议的发展, 但有效方针的实施将改善前列腺癌的治疗结果以避免不必要的、无效且昂贵的治疗^[140]。PSA 对检测根治术后的复发有较高的敏感性, 但对放疗后复发不敏感。对于监测激素治疗, PSA 提供了敏感的数据来验证治疗反应和检测肿瘤生长(复发)。然而, 对于在去雄激素治疗期间复发的疾病晚期患者, PSA 仅有有限的能力预测生存结果。

NACB 前列腺癌专家组建议 6: PSA 在前列腺癌治疗后监测中的应用
PSA 被推荐用于监测前列腺癌患者治疗后疾病情况 [LOE, III; SOR A]。

诺摩图结合 PSA 在处理前列腺癌中的作用

诺摩图(Nomograms)结合一种或多种因素可为患者提供最准确的个体化治疗方案并预测结果, 反映患者治疗的最新进展^[205]。诺摩图判断治疗方案和预后并不是依靠医生经验或相似病症患者群的风险评估, 而是依据相对危险回归法(Cox)分析的计算机模式。虽然计算机模式提供的预测结果是不完美的, 但诺摩图在辅助治疗决策中起重要作用。但有时, 当几个竞争版本用于相同的临床决策时很难选择最好的数据分类图。Kattan 和同事们^[205-206]已经研发了术前和术后诺摩图, 结合 PSA、Gleason 评分和其他变量, 从而预测放疗后疾病的复发。

分析前、分析中和分析后方面的考虑

分析前、分析中和分析后阶段的很多因素影响 PSA 结果的临床解释, 因此必须要仔细考虑。许多因素已在 2001 年进行了系统评价^[207]。

分析前样本处理和储存 理想的操作是在直肠指诊、膀胱镜检查或前列腺活检等之前收集血样^[166]。如果不能提前采血, 尽管大多数患者直肠指诊后并未引起循环血 PSA 浓度出现临床相关改变, 但要审慎地在直肠指诊后推迟几天采血检测 PSA^[166]。虽然肾脏能够迅速清除操作过程中前列腺释放的 fPSA, 但是在前列腺活检或外科手术后仍建议推迟几周采血, 使 PSA-ACT 复合物有充足的时间从血液循环中排出^[208-209]。

NACB 前列腺癌专家组建议 7: PSA 分析前要求——前列腺检查 采血应在前列腺进行任何检查之前和前列腺炎消退几周后进行 [LOE 不适用; SOR B]。

为了去除体外杂质, 血液应该在 3 h 内离心并收集血清或血浆^[210]。血清和血浆冷藏 24 h 内不会丢失 PSA。如果检测被推迟更长时间, 最好将标本储存在 -30 °C 以下冷冻避免低共熔点。在 -70 °C 以下长期储存最理想。数据显示 fPSA 较 cPSA 更容易丢失免疫反应活性^[166, 211], 与血清 fPSA 相比, 血浆 fPSA 免疫活性的丢失较慢^[210]。

NACB 前列腺癌专家组建议 8: PSA 分析前要求——样本处理 采血后 3 h 内离心并冷藏; 该建议尤其适用于 fPSA, 其较总 PSA 更不稳定。标本可以冷藏 24 h, 但如果 24 h 内不能进行分析则应该冷冻保存(至少 -20 °C, 最好 -30 °C 甚至更低)。要长期储存, 样本应在 -70 °C 甚至更低温度冷冻 [LOE, 不适用; SOR B]。

PSA 测定标准化 目前有两种参考标准用于 PSA 测定, 它们分别溯源与 WHO 国际标准和 Hybritech 标准。许多临床医生假设所有 PSA 测定给出相似的测定值, 这些值的改变可能与前列腺的病理生理变化相关。假定实验室和生产厂家的 PSA 测定值是一致的, 但这不是必要的情况^[212]。实践指南和疾

病的诊治策略根据随访患者类型 PSA 值的多少而变化,但这些指南很少将各种分析方法的子范畴包括在内。

在实践中 PSA 的检测方法存在相当大的差异。历史上, Hybritech Tandem-R PSA 检测试剂(美国圣地亚哥 Hybritech 公司)是首先被广泛应用的 FDA 认证的商品化分析试剂。1990 年 Graves 等人报道使用 PSA 吸光系数 1.42 mL/mg/cm 对这一分析方法进行标准化^[213]。Hybritech 检测试剂也被医学群体广泛采用,并提出了以传统 4.0 μg/L 为参考范围上限^[141]。第二种广泛应用的商品化分析试剂(美国芝加哥 Abbott 公司的 IMx 系统)被标准化使其与最初的 Hybritech 检测试剂相一致,其他检测试剂也向它们对齐^[214]。然而,1995 年 Stamey 等人发表了一篇文章表明,基于定量氨基酸分析,正确的 PSA 吸光系数是 1.84 ± 0.04 mL/mg/cm^[215]。认为最初重量分析的误差是由冻干制品中存在的结合水、盐和碳水化合物所引起。这种误差导致最初 Hybritech PSA 标准物质值较 WHO 第一 PSA 国际标准 (IRR 96/670) 值约高 20%^[216]。

1999 年应用正确的吸光系数确定了第一国际标准 PSA (IRR 96/670) 和游离 PSA (IRR 96/688) 物质的值。两种包含 PSA 的标准物质来自精浆。IRR 96/670 是 PSA 和 ACT 的混合物,按 90:10 的比率模拟循环血 PSA, IRR 96/688 只包含游离 PSA(未结合)。伴随标准化的文章,一篇名为《WHO 第一前列腺特异性抗原国际标准物质: 分析偏差终结的开始》的“编者按”总结认为,当厂商开始应用这个标准物质对 PSA 检测进行校准时,将使 PSA 检测结果更加一致^[217]。现在推荐用于英国国家卫生署的 PSA 检测试剂必须依据适当的国际标准准确地进行校准,并且必须是等克分子量的^[218],每个独立年都要通过满意的性能认证。尽管一些研究认为,由于引进国际标准各种方法之间的可比性已经得以改善,但 PSA 检测之间仍有差异。在评价某一特殊患者时如果使用不同 PSA 检测试剂可能导致临床错误的解释^[218-220]。

对分析和报告的关注 PSA 最频繁用于与体检结合筛查前列腺癌。单独 PSA 筛查阳性应该在申请组织病理学检查(如: 活检获得)之前,通过另外标本重复的 PSA 测定加以验证。这在本质上减少了不必要的活检数量^[221]。前列腺癌的诊断仅能通过组织病理学检查确定。

分析性能应该采用含 PSA 浓度接近临床相关决定限的质控物进行监测。检测试剂的特性和效用的信息,包括检测的最低可报告浓度[经常定义为小于分析变异系数(CV) 20% 所检测到的 PSA 浓度]和相应的有关临床决定限浓度的分析 CV,通过实验室检测信息资源系统,这些信息应提供给临床医生参考。

NACB 前列腺癌专家组建议 9: PSA 分析要求——质量控制 最低可报告浓度应该由实验室决定并报告给临床医生。应该执行这些浓度的质量控制 [LOE 不适用; SOR A]。

生物学变异 为了解释来自任何个体或一系列收集样本中的 PSA 数据,我们应该考虑血液中 PSA 的变异性^[207-222]。EGTM 最近回顾了已发表的有关 PSA 的变异文献,并且报道了 PSA 浓度范围为 0.1~20 μg/L 的 50 岁以上男性,其 PSA 的生物学变异为 20%^[223]。PSA 浓度低于 2.0 μg/L 的健康男性,其 PSA 生物学变异低于 14%,然而连续测定时变化达

30% 表明有临床意义^[224]。在监测前列腺癌患者中,发现存在 50%~60% 的重要差异^[225]。考虑到个体内生物学变异可以达到 20%,同时 PSA 检测的分析变异为 5%,所以建议 PSA 基线水平改变 50% 被认为是有意义的($P < 0.05$)^[223]。NACB 前列腺癌专家组建议 10: PSA 的分析后要求——个体内生物学变异 在解释临床结果时要考虑个体内部生物学变异的影响 [LOE 未应用; SOR A]。

PSA 结果只是作为一种提醒,一个单独血样筛查结果不能用于作为恶性疾病的存在与否的唯一证据。检验报告应该包括 PSA 检测所用试剂厂家,注意任何相关的临床决定限 必须警告检测结果不能与其他检测试剂结果互换,除非检测前已证实测定值可以互换^[212-220]。

NACB 前列腺癌专家组建议 11: PSA 的分析后要求——临床报告包含的信息 临床报告应该包括测定项目的名称、相关的临床决定限 并且要有一个提醒——单独的血样筛查结果不能作为恶性疾病存在与否的唯一证据 [LOE 未应用; SOR A]。

未来发展

分析血液中循环肿瘤细胞来监测和评估前列腺癌转移阶段的进展

现已开发出检测外周血中循环肿瘤细胞(CTCs)的试剂,其临床应用价值已被 FDA 认证,为淋巴结阳性的乳腺癌妇女提供了预后信息^[226]。但是,我们目前检测和简述前列腺癌转移的能力是有限的。许多技术已经发展起来并经过检测,用以分离和叙述 CTCs 的特征。当针对恶性肿瘤细胞的靶基因表达被限制时,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)的测定是灵敏和高度特异性的。流式细胞仪能用于检测和证实细胞的特性(如 CTCs),但不能评估形态学,也不能区分亚细胞水平的分子改变。利用上皮细胞黏附分子(EpCAM)固定抗体(如:磁珠)这些细胞可以从外周血富集,可用显微镜检测外周血上皮来源的肿瘤细胞。最近一个半自动化检测系统问世,其使用 EpCAM 抗体为基础的免疫磁性捕获和染色方法^[227]。目前已经报道了 CTCs 是前列腺癌检测的预测因素,转移性前列腺癌患者每 7.5 mL 血液检测值 > 5 CTCs 则预测着无进展存活期和总存活期越短,CTC 计数比标准临床参数对预后更有价值^[228]。对于前列腺癌,CTC 计数与 PSA mRNAs 或前列腺特异膜抗原、有效的临床预测因素相关性的初步分析是鼓舞人心的^[229],但还没有得到充分评价或验证以保证推荐用于常规临床实践。

NACB 前列腺癌专家组建议 12: 外周血中循环前列腺癌细胞的测定

尽管初步结果令人兴奋,但这些技术还不能充分有效地保证它们应用于常规临床实践 [LOE IV; SOR C]。

肿瘤标志物在前列腺癌中的应用要点

血清 PSA 标志物的测定对前列腺癌患者的诊断和治疗起着重要作用。将来,进一步加强了解疾病的自然史将能更好地利用这些标志物。

(翻译:薛丽、梁红艳、林文涛,审校:姜晓峰、田亚平、鄢盛恺)

第 4 章 肿瘤标志物在结直肠癌中的应用

Nils Brünner, Michael J. Duffy, Caj Haglund, Mads Holten-Andersen, Hans Jørgen Nielsen

背景

结直肠癌(CRC)是发病率位于第3位的常见癌症,世界上每年约有100万的新病例,并造成每年50万患者死亡^[230]。在美国它也是发病率居第3位的常见恶性疾病,估计2007年新增病例约为15.4万^[118]。多数结直肠癌发生在直肠(38%)、乙状结肠(29%)、盲肠(15%)、横结肠或曲结肠(10%)。仅约5%发生在升结肠,3%发生在降结肠^[231]。

结直肠癌的症状为持续的腹部疼痛、恶心、呕吐或出血。右侧结肠癌的患者可以有腹部的肿块。同结肠癌相比,直肠和乙状结肠癌由于有直肠出血更易被发现。需要着重指出的是,早期结肠癌几乎没有上述症状,而且上述症状不具有特异性。

首诊患者的分期主要用于判断结直肠癌患者的预后。虽然最初的Dukes分期系统已经被修订过几次,但癌组织向肠壁和局部淋巴结侵润依然是分期的主要依据。临幊上最常用的分期系统为国际抗癌联盟(UICC)^[232]和美国癌症联合会^[233]提出的TNM分期系统,T代表初诊时肿瘤原发灶的侵袭程度(肿瘤原发灶);N代表局部淋巴结状态(区域淋巴结);M代表是否在初诊时有远处转移(远处转移)^[234]。

虽然外科手术是大多数结直肠癌患者的一线治疗手段,但对于一些直肠癌患者,接受放疗和/或化疗要优于手术治疗。在1990年的美国国立卫生研究院(NIH)共识会议上推荐结直肠癌Ⅲ期患者应该接受辅助性化疗^[235]。一项对Ⅲ期CRC患者汇集分析研究证实,辅助性化疗将增加5年后无肿瘤复发的可能和提高患者5年存活期的可能^[236]。

然而Ⅱ期(Dukes' B)结肠癌术后辅助性化疗的价值还不清楚。2004年美国临床肿瘤学会(ASCO)专家组建议,在一

般情况下Ⅱ期结肠癌不应该给予辅助性化疗。但是专家组也指出“有几种Ⅱ期患者可以考虑辅助治疗,包括无明显结节患者和T4病变、有穿孔或组织低度分化患者”^[237]。

1990 NIH 共识会议推荐结合辅助性化疗与高剂量体外放射治疗Ⅱ期或者Ⅲ期直肠癌^[235]。虽然放疗并没有提高总体生存率,但它降低了局部的复发率,复发是直肠癌患者死亡的原因之一。

虽然手术有治愈CRC的可能,但仍有40%~50%的患者复发或有转移^[238]。为检测患者术后是否复发,目前大多数Ⅱ期或Ⅲ期患者接受随访或监测。监测策略包括以下一种或几种:临床查体、放射性检查(胸部X光、超声、CT和磁共振成像)、内窥镜检查、临床生化检查和肿瘤标志物检查。

CRC是第一个使用肿瘤标志物[如:癌胚抗原(CEA)]辅助诊治的癌症之一。本章的主要目的是将NACB关于CEA和其他肿瘤标志物在CRC诊断和治疗过程中应用的指南呈现出来,同时也总结了其他专家组关于使用CRC肿瘤标志物的指南。

为准备这些指南,综述了肿瘤标志物在CRC使用的相关文献。特别关注了一些系统评述、使用肿瘤标志物的前瞻性的随机试验的文献和专家组提出的导则。NACB专家的共识建议是基于有效证据基础上的(即:有证据可循)。

目前可用于结直肠癌的肿瘤标志物

表9列出了在结直肠癌中使用最广泛的肿瘤标志物,也列出了每种肿瘤标志物在肿瘤发生的阶段和临床应用的LOE分级。

表9 目前可用于结直肠癌的肿瘤标志物

肿瘤标志物	应用建议	发生阶段	LOE*	参考文献
血液标志物				
CEA	确定预后 监测随后的根治性切除手术 监测疾病晚期的治疗	术前水平可能提供预后信息,但其很少用于临床 在临床应用中通常结合影像资料和病史 在临床应用中通常结合影像资料和病史	III I III	[239-241] [251-255] [239-241]
CA19-9	确定预后 监测随后的根治性切除手术和疾病晚期的治疗	正在评估 正在评估	III IV	[264-269] [262-263]
CA242	确定预后	正在评估	III	[270-271]
TIMP-4	确定预后/筛查高危人群	正在评估	III	[274-275]
组织标志物				
TS	确定预后 预测疾病晚期对化疗药物(5-氟尿嘧啶)的反应	正在评估,荟萃分析表明高水平TS预示不良预后 ^[279] ;分析尚未标准化 正在评估,高水平TS可能预示疾病晚期对5-氟尿嘧啶没有反应;有研究表明TS应该在肿瘤转移部位测定	I III	[276-279, 564] [276-280, 564]
MSI	确定预后 预测化疗的反应	正在评估,汇集分析显示微卫星不稳定肿瘤与微卫星稳定肿瘤相比,有15%较好的预后 ^[285] ;总体上数据是矛盾的 结果矛盾,进一步评估中	III	[282-284, 565]
DCC/18q 表型	确定预后	正在评估,判定预后价值被荟萃分析确认;分析尚未标准化	I	[286-288]
uPA/PAI-4	确定预后	正在评估	III	[289-291]
Ras	确定预后 预示治疗价值	汇集分析显示,对于Dukes'C级患者(非Dukes'B级),ras基因突变有很弱预示性;不可能被用作临床目的 可能对于抗EGFR抗体、西妥昔单抗、帕尼单抗治疗效果有预测价值	I	[292] [294-297]
p53	确定预后	荟萃分析显示,异常p53与不良预后相关性弱,不可能用于临床目的	I	[293]
粪便标志物				
FOBT	无症状人群筛查	随机试验显示,FOBT筛查可降低结直肠癌的死亡率;可用于即时结直肠癌筛查;可行性试验正在一些国家进行;对早期结直肠癌和晚期腺瘤缺乏敏感性,并且会产生许多假阳性结果	I	[300-302-306]

续表 9

肿瘤标志物	应用建议	发生阶段	LOE*	参考文献
DNA 谱	无症状人群筛查	对无症状受者进行大规模研究表明,DNA 检测晚期肿瘤和非侵入性结直肠癌比 FOBT 敏感性更好	对许多谱 [313-317] 为 III / IV; 对特定谱 28 为 I [317]	
遗传标记				
APC	用于鉴定处于高危进展期家族性腺瘤性息肉病(FAP)	在专门研究中心进行临床应用	专家观点 [322-323, 326, 567-568]	
MSI	预筛遗传性非息肉性结直肠癌(HNPCC)	在专门研究中心进行临床应用	III [322-323, 567-569]	
MLH1 / MSH2 / MSH6 / PMS2	用于鉴定处于高危进展期遗传性非息肉性结直肠癌(HNPCC)	在专门研究中心进行临床应用	III / IV [322-323, 326, 567-569]	

缩略词: TIMP-1, 基质金属蛋白酶组织抑制因子 1; TS, 胸腺嘧啶核苷酸合酶; uPA, 尿激酶型纤溶酶原激活物; MSI, 微卫星不稳定性; PAI, 纤溶酶原激活物抑制剂 1; 5-FU, 5-氟尿嘧啶; DCC, 结肠癌缺失基因; FOBT, 粪潜血检测; FAP, 家族性腺瘤性息肉病; HNPCC, 遗传性非息肉性结直肠癌; CRC, 结直肠癌。

注: * 证据级别(LOE) [120], 具体解释见本指南附注表 A。

译者注: DCC/18q 结直肠癌基因(DCC) 18 号染色体长臂缺失。

NACB 推荐的 CRC 肿瘤标志物

表 10 对已发表的具有代表性的有关肿瘤标志物在结直肠癌中应用指南的建议进行了总结。表中还总结了结直肠

癌肿瘤标志物的 NACB 应用指南。下面, 对表 10 列出的研究最广的肿瘤标志物进行详细讨论。

表 10 不同专家组对结直肠癌标志物应用的建议

标志物	应用	ASCO ^{[242-244, 257, 324-325]*}	EGTM ^[245-246, 570]	NACB 2002 ^[15]	ESMO ^[571-574]	NCCN ^[575]
CEA	筛查	否 ^[257]	否	否	-	-
	确定预后	是, 如帮助分期或制定手术治疗计划	是	-	是	是, 作为完善分期的一部分
	术后监测	是, 如患者可以选择手术或系统治疗 ^[257]	是, 用于早期检测肝转移	是, 指示是否需要进行肝转移切除	是	是, 如患者选择手术切除, 应该用于复发的检测
	监测疾病晚期	是 ^[257]	是	是, 特别是在用其他方法难以检测转移时	NR	NR
APC 基因	用于 FAP 筛查	参见 ASCO 的癌症易感基因检测指南 ^[324, 325]	-	-	是	是
MSI	HNPCC 的初筛	-	-	-	-	是
MMR 基因如 MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	HNPPCC 筛查	-	-	-	是	B
FOBT	无症状人群筛查	是, 对 ≥50 岁者	-	-	-	-
标志物	应用	ACS ^[311]	USPSTF ^[311]	NACB 2008	推荐强度 **	
CEA	筛查	-	-	否	A	
	确定预后	-	-	可以与其他预后因素联合协助制定手术治疗计划	C	
	术后监测	-	-	是, 如患者适合进行肝脏切除, 还是接受系统化疗	A	
APC 基因	用于 FAP 筛查	-	-	是, 特别是用其他不能评估时	B	
MSI	HNPPCC 的初筛	-	-	是	B	
MMR 基因如 MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	HNPPCC 筛查	-	-	是	是	
FOBT	无症状人群筛查	是, 对 ≥50 岁者	是, 对 ≥50 岁者	是, 对 ≥50 岁者	A	

缩略词: ASCO, 美国临床肿瘤学会; EGT, 欧洲肿瘤标志物组织; NACB, 美国临床生化科学院; ESMO, 欧洲医学肿瘤学会; AGA, 美国胃肠病协会; ACS, 美国癌症协会; NCCN, 美国国家综合癌症网络; USPSTF, 美国预防服务工作组; NR, 不推荐发表; FOBT, 粪潜血检测; MMR, 错配修复。

注: - 表示无文献报道; * 参考文献^[325]是 ASCO 和外科肿瘤学协会出版的联合研究; ** 推荐强度(SOR), A = 高; B = 中等; C = 低; D = 非常低(见附注表 A)。

CEA

CEA 在肿瘤筛查中的应用 因 CEA 缺乏敏感性和特异性, 且 CRC 在无症状人群中发病率低, 限制了 CEA 在 CRC 筛查中的应用^[239-241]。与 ASCO^[242-244] 和 EGT^[245-246] 建议一致, NACB 专家组声明 CEA 不能用于健康人群早期 CRC 筛查^[245-246]。

NACB 结直肠癌专家组建议 1: 血清 CEA 在健康人群中的筛查 CEA 不能用于健康人群早期 CRC 的筛查 [LOE, IV / V; SOR, A]。

CEA 在判断预后中的应用 如前所述, 疾病的首次诊断分期被广泛用于 CRC 患者的预后。然而, 一些研究表明术前 CEA 浓度也可以提供预后信息, 而且在某些情况下独立于癌症的分期^[239-241, 247]。这一发现已经被两个系统性述评所证实^[248-249]。因此, NACB 专家组声明, 术前 CEA 浓度可以与其他因素结合指导手术治疗方案。然而, 目前术前 CEA 浓度并不适用于辅助治疗的选择, 这一点与 ASCO 和 EGT^[242-244] 之前发表的指南一致^[242-246]。

美国病理家学会(CAP)专家组最近将术前CEA血清浓度与TNNM分期、局部淋巴结转移、血管或淋巴管侵袭、根治术后残留癌联合列为结直肠癌I类预后标志^[250]。根据CAP专家组建议,I类预后因素是“根据已发表临床试验的多重统计学分析和临床应用,已经明确证明对患者诊治中的预后有重要作用”。

NACB 结直肠癌专家组建议 2: 血清 CEA 在预测预后中的应用 术前 CEA 浓度应与其他因素结合指导制定手术治疗方案。对血清 CEA 浓度高的患者(如: >5 μg/L),应该评估是否有远处转移[LOE, III; SOR, C]。目前,术前血清 CEA 浓度还不用于对患者辅助性化疗的选择[LOE, III; SOR, C]。

CEA 用于术后监测 CRC 的根治性切除术后监测的目的是为术后可能发生的并发症、确认有无复发和转移提供保证。6个独立的荟萃分析对患者术后进行密切随访与很少随访或不随访患者进行了对比,所有的研究都认为虽然密切随访对于终点事件只有适度的改善,但统计学意义显著^[251-256]。其中只有一项荟萃分析研究表明,将 CEA 作为随访指标对于存活时间有显著影响^[254]。

最近 ASCO 指南建议,对于Ⅱ或Ⅲ期结直肠癌患者,如果这个患者选择手术治疗或针对转移性癌进行系统的治疗,那么患者在被诊断后的 3 年内,应每 3 个月检测 1 次 CEA 浓度^[244-257]。NACB 专家组也支持这个建议。

尽管 CEA 的连续测定已广泛应用于预后监测,但是对 CEA 连续监测中具有临床意义浓度的增高程度并未达成一致。EGTM 专家认为,如果连续监测中 CEA 的浓度比以前测定值增高 30%,就认为是临床意义的增高。然而,这个增高必须在 1 个月内进行第 2 次标本测定来确定。如果第 2 次测定仍然升高,那么患者就应该接受进一步检查^[246]。但是,增高 30% 还没有临床验证。此外,它也不应该被视为排除指标,例如,小幅度的 CEA 增高(如连续 3 次分析均超过 15%~20%)可能也提示需要干预^[246]。值得一提的是,低 CEA 浓度也不能完全排除癌症进展的可能。对于有复发的临床症状的患者,无论 CEA 浓度如何,都应该进行 CT 扫描、X 线以及结肠镜检^[246]。

NACB 结直肠癌专家组建议 3: 血清 CEA 在术后监测中的作用 对于Ⅱ或Ⅲ期结直肠癌患者,如果这个患者选择手术治疗或针对转移性癌的系统治疗,那么患者至少在被诊断后的 3 年内,应每 3 个月检测 1 次 CEA 浓度[LOE, I; SOR, A]。

CEA 用于 CRC 晚期的治疗监测 近年来,由于新的细胞毒性药物如依立替康、奥沙利铂及单克隆抗体如贝伐单抗(商品名“阿瓦斯汀”)和西妥昔单抗(商品名“埃罗替尼”)的使用,CRC 晚期患者的生存率大幅提高^[258-259]。确实,由于这些新治疗手段的使用,转移性 CRC 患者的中位生存期比 10 年前增加了 1 倍^[258-260]。然而由于这些药物的毒副作用和昂贵价格,应尽快建立有效的评估肿瘤进展的标准。

根据 2006 年 ASCO 指南,CEA 是可作为转移性 CRC 系统治疗时监测的肿瘤标志物^[244]。应该在转移癌治疗开始时测定 CEA,在积极治疗期间,每 1~3 个月测定 1 次。即使没有放射影像支持,CEA 浓度持续增加也表明疾病正在进展^[242-243]。2003 年 EGTM 专家组建议,当患者接受系统治疗时应每 2~3 个月连续检测 CEA^[246]。ASCO 和 EGFML 指南都表明应该特别注意对系统治疗的早期 CEA 浓度升高的解

释^[16, 18]。这是因为有些治疗(如 5-氟尿嘧啶和依立替康、奥沙利铂)能导致 CEA 暂时增高,而并非疾病进展^[246]。

当对正在进行系统治疗的晚期 CRC 患者进行监测时,NACB 专家组建议应该进行定期的 CEA 检测。与 ASCO 专家组意见一样^[242-243],将确认的 CEA 增高(如: >30%)作为疾病进展的依据。当然,这个 CEA 的增高应该与化疗药物使用造成的假阳性及良性疾病发展过程中产生的 CEA 增高相鉴别。

NACB 结直肠癌专家组建议 4: 血清 CEA 在监测疾病晚期中的作用 当对进行系统治疗的晚期 CRC 患者进行监测时,应该进行定期的 CEA 检测。确认的 CEA 增高(如: >30%)表明疾病进展,应排除可能的假阳性增高[LOE, III; SOR, B]。

其他血清标志物

CA19-9

CA 19-9 分析检测的是一种含唾液酸化的 Lewis 血型抗原表位(Lewis-a pentasaccharide epitope, fucopentaose II)的黏蛋白^[261]。与 CEA 相比,CA19-9 检测对于 CRC 的敏感度低^[262-263]。最初发现认为 CA19-9 与 CEA 一样,术前浓度可以反映 CRC 患者的预后^[264-268]。但目前研究数据表明,对于 CRC 患者,不建议常规进行 CA19-9 的检测。

CA242

CA242 分析检测的也是类黏蛋白分子。尽管与 CEA 相比,CA242 对 CRC 的敏感性低,但用于 CRC 患者的监测,CA242 分析可以作为 CEA 的补充^[263, 269]。此外,大量前期研究表明,术前 CA242 浓度可用于 CRC 预后评估^[270-271]。目前对于 CRC 患者,不建议常规进行 CA242 检测。

基质金属蛋白酶组织抑制因子 1

基质金属蛋白酶组织抑制因子 1(TIMP-1)是一种 25 kD 的糖蛋白,可以抑制基质金属蛋白酶活性、促进细胞增殖和抑制细胞凋亡。使用酶联免疫吸附试验(ELISA)可以检测出总的 TIMP-1(TIMP-1 的非复合物形式和 TIMP-1 与金属蛋白酶的结合形式)。CRC 患者血浆 TIMP-1 浓度显著高于健康对照组、炎性肠病及腺瘤或乳腺癌患者^[272-273]。对于 Dukes 分期为 A 和 B 的结肠癌患者,TIMP-1 用于癌症诊断的敏感性要高于 CEA(如:特异性为 95% 时,TIMP-1 和 CEA 的敏感性分别为 58% 与 40%;特异性为 98% 时,敏感性分别为 56% 与 30%)。对于早期直肠癌患者,TIMP-1 与 CEA 敏感性相似^[272]。其他研究表明,术前 TIMP-1 浓度是 CRC 患者的一个独立预后因子(即:不依赖于 Dukes 分期和肿瘤定位^[274-275])。特别值得一提的是,血浆 TIMP-1 浓度低(在 70% 百分位水平上的二分位)的Ⅱ期患者呈现的生存模型,与以年龄和性别匹配的对照人群的生存模型相似。

虽然有关 TIMP-1 的前期研究发现其应用前景好,但目前还不推荐 TIMP-1 用于 CRC 早期诊断或者对患者进行预后评价。

NACB 结直肠癌专家组建议 5: CA19-9、CA242 和 TIMP-1 在 CRC 中的应用 不建议将 CA19-9、CA242 和 TIMP-1 作为 CRC 的常规检测[LOE III/IV; SOP, B/C]。

组织标志物

已经评估了一些肿瘤组织标志物对 CRC 患者的潜在的

预测及预后价值。这些肿瘤组织标志物包括:胸腺嘧啶核苷酸合酶(TS) [276-280]、微卫星不稳定性(MSI) [281-285]、结肠癌染色体缺失基因(DCC) [286-288]、尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA) /纤溶酶原激活物抑制剂 1(PAI-1) [289-291], ras 突变^[292]和 p53 突变/过表达^[293]。基于目前可用的证据表明,这些标志物尚不推荐用于常规判断预后或疗效预测。但是,新的证据表明野生型 k-ras 与抗表皮生长因子受体(EGFR) 抗体、西妥昔单抗及帕尼单抗疗效相关^[294-297]。

NACB 结直肠癌专家组建议 6: 结直肠癌的组织标志物 不推荐用 TS、MSI、DCC、uPA、PAI-1 或 p53 判断预后和预测疗效 [LOE ,III; SOR ,B]。将来检测 k-ras 突变情况可用于预测特异抗 EGFR 抗体的作用。

粪便标志物

最广泛应用的粪便标志物是便隐血检测(FOBT)。两类最广泛描述的 FOBT 是愈创木脂试验和粪便免疫化学测定(FIT) [298-301]。愈创木脂试验是检测血红蛋白中亚铁血红素中非过氧化物酶活性,而免疫化学检测人球蛋白。由于过氧化物酶也存在于水果、蔬菜中,摄入这些食物可能引起愈创木脂试验的假阳性。某些药物像非甾体抗炎药也干扰愈创木脂试验。虽有这些局限性,许多大规模随机试验表明,用愈创木脂试验筛查可减少结直肠癌的死亡率^[302-306]。

FIT 减少结直肠癌的发病率和死亡率的效能尚需大规模人群研究证实。现有证据表明,在没有其他更准确的筛查 CRC 方法之前,FIT 比愈创木脂试验更准确^[298,301,307]。免疫化学检测优于愈创木脂试验有以下几点^[298-299,307]。

FIT 具有较高的敏感性和特异性,它不受饮食或药物影响;有些 FITs 是自动化的;有证据表明使用 FITs 有利于增加参与结直肠癌(CRC) 的筛查患者数;FIT 能够被定量,能校正敏感性、特异性和阳性率;像来自上消化道的被消化的血通常不能检出,FIT 更适合于检测下消化道出血。

与其他专家组观点一致^[308-310],NACB 建议所有≥50 岁者均应进行 CRC 筛查。CRC 存在许多筛查程序^[306-308],但迄今,没有一项程序明显优于其他程序。因此,目前主要依靠实用性、个人喜好和 CRC 进展的风险性来选择筛查方法^[311]。

根据 NCCN 指南,进行 FOBT 检测要求患者接受处方膳食,连续留取 3 次粪便标本^[308]。NCCN 特别推荐应用 Hämoccult SENSA(德国贝克曼公司) 测定方法。NCCN 和美国癌症学会(ACS) 均反对使用直肠指诊获取的标本进行 FOBT 检测^[308,311]。

尽管筛查可以降低结直肠癌的死亡率^[302-305,312],但也同时带来一些负面影响。如假阳性结果导致的心理负担、结直肠镜潜在的并发症、假阴性结果或过度诊断的可能性^[312]。过度诊断可能导致不必要的检查和治疗。

由于 FOBT 对腺瘤和早期结直肠癌的检出的敏感性和特异性不高,近年大量研究主要集中在其他粪便标志物上,特别是 CRC 癌变过程中的基因突变。其中最广泛研究的 DNA 标志物是 ras 突变、p53 突变、APC 突变、特异性甲基化基因、MSI 和长 DNA^[231,313-316]。目前几乎所有发表的关于粪便 DNA 标志物的研究数据都是小样本研究。查阅文献后,Allison 和 Lawson^[298] 发现对于侵袭性 CRC 不同 DNA 标志物

谱的敏感性从 52% 变化到 98% (平均 64%) ,而特异性从 93% 变化到 97% (平均 95%) 。

尽管多数用于评估 DNA 标志物在 CRC 检测中的研究患者例数较少,近来一个特异的 DNA 标志物谱作为 CRC 筛查试验已经在大规模无症状人群中进行^[317]。在已检测出的 31 例侵袭性 CRC 中,通过 DNA 标志物谱检测发现 16 例,然而通过 FOBT 检测仅发现 4 例(分别为 51.6% 和 12.9% P = 0.003)。在 71 例侵袭性癌症和高分化腺瘤中,利用 DNA 标志物谱诊断出 29 例,而 FOBT 仅检出 10 例(P < 0.001)。尽管 DNA 标志物谱表现出比 FOBT 高的敏感性,但两种测定均不能检出大多数晚期腺瘤或癌症^[317]。然而,基于 DNA 的检测优于 FOBT,我们希望它在减少 CRC 死亡率方面与 FOBT 一样。但必须指出的是,粪便 DNA 标志物检测比 FOBT 更昂贵,技术要求更高。而且还不清楚 DNA 标志物联合检测能否最佳地平衡敏感性和特异性^[231]。

目前反对应用 DNA 标志物的主要争议之一是与 FOBT 相比的相对费用^[318-319],特别是应用于大规模人群时。2004 年 Song 等^[318] 用一个模型方法比较了应用粪便 DNA 和标准 CRC 筛查方法的成本效益。主要的结论如下:与未筛查相比,所有筛查策略均增加了预期寿命,被认为是合理的成本;与未筛查相比,利用粪便 DNA 筛查,平均每 10 万人获得增加 4 560 年寿命,平均每生存年增加 4.77 万美元成本;用结肠镜检查和 FOBT/可屈性乙状结肠镜检查是更有效的策略,与未筛查相比,平均每 10 万人分别获得增加 6 190 年寿命和 6 270 年寿命,平均每生存年增加成本分别为 1.701 万美元和 1.7 万美元。所有传统的方法比粪便 DNA 测定都能以更低的成本获得更多的生存寿命。

尽管粪便 DNA 筛查有相对较高的成本、分析技术要求苛刻,同时这些检测还没有通过前瞻性随机试验验证,美国癌症协会(ACS)、联邦协作组、美国放射学会最近联合发布指南认为现在有充足的数据表明粪便 DNA “可以作为 CRC 筛查的可选择的标志物”^[320-321]。

NACB 结直肠癌专家组建议 7: 粪便标志物在结直肠癌筛查中的应用

NACB 推荐所有≥50 岁的人均应该进行 CRC 筛查。由于最有效的筛查方法尚不清楚,筛查方法的选择可能依靠 CRC 危险因素、局部有效性和个人喜好。尽管 FOBT 被验证是最有效的、基于粪便的筛查 CRC 的方法[LOE ,I ; SOR ,A],也可以选择粪便 DNA 检测。筛查结果潜在的危害包括由结肠镜和治疗导致的并发症、过度诊断导致的不必要的检查及假阴性和假阳性结果。

基因检测

CRC 易感性的基因检测(即: 家族性腺瘤性息肉病和遗传性非息肉性结肠直肠癌) NACB 专家组支持以前发表的指南^[308,322-326]。

NACB 结直肠癌专家组建议 8: 结直肠癌的基因检测 CRC 的基因易感性筛查应该从了解详细的家族病史开始。在基因检测前,受试者应该进行遗传咨询。怀疑家族性腺瘤性息肉病,基因检测可用于诊断可疑患者,也可以对无症状的家族成员进行风险评估。倘若家族成员患家族性腺瘤性息肉病的基因突变是已知的,对于高风险家庭成员,应考虑检测 APC 基因突变[LOE ,专家观点; SOR ,B]。MSI 测定和/或利用 IHC 检测特异性错配修复酶被用于遗传性非息肉性结肠直肠癌的预筛。如果一个人拥有很高的 MSI,应该进行 MLH1、MSH2、MSH6 或 PMS2 基因突变检测[LOE ,III /IV; SOR ,B]。

肿瘤标志物在结直肠癌中的应用要点

尽管有许多不同的 CRC 肿瘤标志物已经被评估,但仅有少数被推荐用于临床。这些包括 CEA 用于手术切除或系统化治疗患者的术后监测,FOBT 用于 ≥ 50 岁患者的早期 CRC 筛查,MSI 用来识别哪些人需要进行 MLH1/MSH2/MSH6/PMS2 基因检测来诊断遗传性非息肉性结肠直肠癌(HNPCC),哪些人需要进行腺瘤样息肉基因(APC) 检测来诊

断家族性腺瘤性息肉病。最有应用前景的血浆肿瘤标志物之一是 TIMP-1。正如前面提到,初步研究表明 TIMP-1 可能比 CEA 更早发现 CRC,同样也是一个独立的 CRC 预测因素。这些发现需要通过大量的前瞻性研究证实。最有应用前景的粪便 CRC 筛查试验之一是粪便 DNA 标志物谱^[317],这个检测应该简化、尽可能降低成本,并且进行更深入的研究。

(翻译:梁红艳、林文涛;审校:姜晓峰、田亚平、鄢盛恺)

第 5 章 乳腺癌肿瘤标志物

Michael J. Duffy, Francisco J. Esteva, Nadia Harbeck, Daniel F. Hayes, Rafael Molina

背景

乳腺癌是迄今影响女性的最常见肿瘤,全世界每年大约新增病例 100 万例^[327]。2007 年,美国大约有 18 万女性被诊断为乳腺癌,接近 4.1 万人死于该病^[118]。现在,美国有超过 200 万女性有乳腺癌病史^[328]。虽然乳腺癌在世界范围内的发病率逐渐升高,但是在很多西方国家包括美国和英国,乳腺癌的死亡率正逐渐下降^[329]。

乳腺癌患者的主要特征包括乳房肿块、乳头改变或泌液和皮肤轮廓的改变。确诊需要依靠组织活检和组织病理学检查。现在的血液学生物标志物在乳腺癌的早期诊断中并无价值。

针对局部乳腺癌的一线治疗方法为手术保留乳房加放疗或是切除乳房。一线治疗后,大多数浸润性乳腺癌患者需要接受系统性辅助治疗如化疗、激素疗法,或是化疗联合激素疗法。辅助性化疗和激素疗法均能降低乳腺癌的复发率和死亡率^[330]。例如,一项约有 14.5 万女性参与的荟萃分析包括 194 项进行辅助性系统治疗的随机试验,其研究结论是基于蒽环类的综合化疗。在确诊时年龄小于 50 岁的患者中,乳腺癌年死亡率降低了 38%,而在确诊时介于 50~69 岁之间的患者中,年死亡率则降低了大约 20%^[330]。对于雌激素受体(ER) 阳性的患者,5 年的他莫昔芬治疗使得乳腺癌的年死亡率降低了 31%^[330]。而 ER 阴性的肿瘤患者却并没有从辅助性他莫昔芬治疗中获益^[331]。

并非所有乳腺癌患者均需要辅助治疗(如:约有 70% 的淋巴结阴性患者可通过手术和放疗而得到治愈^[332]),也不是所有患者均能从中获益,因此合理治疗需要具备可靠的预后和预测指标。关于现在可用于乳腺癌的预后和预测指标的使用建议将在下面进行讨论。

表 11 乳腺癌有用及可能有用的标志物

肿瘤标志物	应用建议	发展阶段	LOE*	参考文献
组织肿瘤标志物				
雌激素受体(ER)	预测早期和晚期乳腺癌对激素治疗的反应 与其他因素相结合评估乳腺癌的预后,单独的 ER 是一个相对较弱的预后因素	临床应用 临床应用	I III	[330-331, 576] [576-577]
孕激素受体(PR)	通常和 ER 相结合预测对激素治疗的反应	临床应用	I / II	[578-579]
HER-2	确定预后,主要是应用于淋巴结阳性患者,对淋巴结阴性患者的应用尚有争议 挑选早期或转移性的乳腺癌患者,用曲妥单抗(赫赛汀)进行治疗 预测乳腺癌患者对他莫昔芬的抵抗性,可预测早期乳腺癌患者对他莫昔芬的相对抵抗性 预测早期乳腺癌对 CMF 抵抗性,可预测早期乳腺癌患者对 CMF 的相对抵抗性	临床应用于某些中心 临床应用 结果矛盾,进一步评估中 结果矛盾,进一步评估中	II ~ III I III III	[580] [581-583] [348-349] [348-349]

经过一线治疗后,诊断为乳腺癌的患者通常要接受定期随访。常规来讲,随访内容包括临床病史、体检、乳房 X 线检查、胸部 X 线检查、生化检测以及肿瘤标志物的检测。这种做法是基于这样一种假设:疾病复发早发现,治疗效果会更佳。然而目前严密监视的临床获益仍不清楚^[333]。

虽然辅助治疗能改善患者的终点,但是 25% ~ 30% 的淋巴结阴性女性以及至少 50% ~ 60% 的淋巴结阳性的女性仍会发生复发或转移^[334]。转移性乳腺癌的治疗方法包括化疗(如:蒽环类或紫杉类为主)、激素疗法或靶向治疗,如曲妥单抗(Herceptin,美国 Genentech 公司产品)、拉帕替尼(lapatinib) 或贝伐单抗(bevacizumab),单独使用或与化疗联合使用^[334-335]。现在认为转移性乳腺癌是难以治愈的,通常采取姑息治疗。此时,血清肿瘤标志物连续测定在决定坚持还是终止使用特定类型的治疗、或是更换治疗方案上非常有用。

综上所述,很显然乳腺癌患者的最佳治疗需要使用很多肿瘤标志物。本章的目的是描述 NACB 新指南在乳腺癌中组织和血清的肿瘤标志物的应用,同时也提供了其他专家组发表的关于该主题的指南摘要。

为了准备这些指南,对乳腺癌中使用肿瘤标志物的相关文献进行了回顾。特别关注的是有关系统性综述、使用肿瘤标志物的前瞻性随机试验和专家组提出的指南。在可能的情况下,NACB 专家组的共识建议是基于有效证据基础上的(即:有证可循)。

现行可用的乳腺癌标志物

表 11 列出了乳腺癌中研究最广泛的组织和血清学肿瘤标志物,包括每个标志物的发展阶段以及临床 LOE。

续表 11

肿瘤标志物	应用建议	发展阶段	LOE*	参考文献
尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)	观察早期乳腺癌对以蒽环类为基础治疗的反应 HER-2 可能与以蒽环类为基础的治疗的反应性增强相关 ** 确定乳腺癌预后,包括腋窝淋巴结阴性亚组	进一步评估中 通过前瞻性随机试验和汇集分析验证预后; 在欧洲部分地区临床应用(如德国)	II / III I	[348-349, 351-352] [361-363]
PAI-1	预测晚期乳腺癌对激素治疗的抵抗性 预测早期乳腺癌对化疗的反应性增强 通常与 uPA 相结合进行分析,即确定乳腺癌预后(包括淋巴结阴性组),对 uPA 补充预后信息 和 uPA 相结合预测晚期疾病对辅助化疗和激素疗法的反应性增强有一定的价值 确定乳腺癌预后	正在评估 正在评估 通过前瞻性随机试验和汇集分析验证预后 值:在欧洲部分地区临床应用(如德国) 进一步评估中 结果有矛盾;但是使用特定的 ELISA 方法 大多数报告有预后价值,荟萃分析证实了淋巴结阴性的乳腺癌的预后价值;未在临床应用 当 p53 蛋白通过 IHC 方法确定时结果有矛盾; p53 基因发生特定突变会导致相反的结果;进一步评估中。结果有矛盾,进一步评估中	III / IV III I III	[584-585] [364-365, 586] [361-363] [364-365, 584-586]
组织蛋白酶 D (Cathepsin D)		I (只用于淋巴结阴性的疾病)	I	[587-589]
p53	评估乳腺癌预后	当 p53 蛋白通过 IHC 方法确定时结果有矛盾; p53 基因发生特定突变会导致相反的结果;进一步评估中。结果有矛盾,进一步评估中	III (IHC), I (突变检测)	[590-591]
DNA 二倍体/S 期微阵列基因表达	预测乳腺癌对化疗或激素治疗的反应 评估乳腺癌预后 评估预后	评估中 结果有矛盾,进一步评估中 评估中;文献[62-63]之一计划了一个前瞻性多中心验证研究	III III III	[591-592] [593-594] [385-389]
Oncotype DX™ (多重 RT-PCR 分析)	预测淋巴结阴性、ER 阳性患者接受他莫昔芬辅助治疗的复发。也可以预测淋巴结阴性、ER 阳性患者辅助化疗的疗效	前瞻性研究证实,可对石蜡包埋的组织进行分析;临床应用中一项前瞻性多中心验证的化学预测方法正在进行当中	II (针对他莫昔芬辅助治疗的患者)	[391-395]
血清肿瘤标志物				
CA15-3	术后无疾病迹象患者的监控 监测晚期疾病的治疗 评估预后,术前水平高(如: >30 U/L) 提示预后不良 同 CA15-3 相似,但没有 CA15-3 研究广	临床应用,但患者水平高时改变治疗方法的价值未被高水平研究所证实 临床应用,但是价值未被高水平研究所证实 未在临床应用 临床应用,但是价值未被高水平研究所证实 临床应用,但是价值未被高水平研究所证实	III III III III III	[381, 595] [596-599] [600-601] [377, 602-604]
BR27.29	术后无疾病迹象患者的监控;总体来看,没有 CA15-3/BR27.29 敏感	临床应用,但是价值未被高水平研究所证实	III	[377, 602-604]
CEA	监测晚期疾病疗效,特别是当 CA15-3/BR27.29 水平不升高时 评估预后,术前水平高提示预后不良	未在临床应用 在一些国家临床应用,但是价值未被高水平研究所证实	III III	[596, 598, 604] [377, 603]
TPA	术后无疾病迹象患者的监控 监测晚期疾病疗效,当 CA15-3、BR27.29 或 CEA 水平都不升高时也许有用	在某些国家临床应用,但是价值未被高水平研究所证实	III	[595, 603]
TPS	同 TPA 判断预后,预测激素治疗、化疗和曲妥单抗治疗的反应,术后监控和监测晚期疾病疗效;比 CA15-3 和 CEA 敏感性低,但是当 CA15-3、BR27.29 或 CEA 水平都不升高时对其监测也许有用;初步结果表明,血清 HER-2 可能对于监测晚期乳腺癌患者接受曲妥单抗治疗的疗效是有价值的	同 TPA 评估中	III III ~ IV	[605-606] [353, 607]
蛋白质组学	疾病早期检测和监测	评估中,结果有矛盾	IV / V	[608-609]
肿瘤细胞(苏木精和伊红染色方法检测)				
骨髓瘤细胞	评估预后	汇集分析证实预后价值,未广泛临床应用,对其他预后良好患者的价值尚不明了	I	[610-612]
腋窝淋巴结肿瘤细胞	评估预后	大多数研究结论认为检测腋窝淋巴结肿瘤细胞可预示预后不良,但是预后影响相对较弱,进一步评估中	II ~ III	[613-614]
前哨淋巴结肿瘤细胞	评估预后	评估中,两个前瞻性试验目前在进行中	IV / V	[615-616]
循环肿瘤细胞	评估预后,监测晚期疾病的治疗	评估中,可用但尚未广泛应用于临床实践 前瞻随机试验进行中	III	[226, 617-618]
基因标志物				
BRCA1	在高风险家庭中鉴别乳腺癌或卵巢癌高风险个体	在专门研究中心进行临床应用	专家观点	[324, 347, 382-384]
BRCA2	同 BRCA1	在专门研究中心进行临床应用	专家观点	[324, 347, 382-384]

缩略语: TPA 组织多肽抗原; TPS 组织多肽特异性抗原; CMF 环磷酰胺 甲氨蝶呤 5-氟尿嘧啶; IHC 免疫组织化学; RT-PCR 逆转录聚合酶链反应。

注: * 证据级别(LOE)^[120] 具体解释见本指南附注表 A。 **这种效应可能是由于拓扑异构酶 II a 基因扩增所致^[619, 620]。

乳腺癌肿瘤标志物: NACB 建议

议 并对 NACB 指南在乳腺癌标志物的使用做了总结。下文将对表 12 列出的临幊上最有用的标志物进行更详细的讨论。

表 12 概括了不同专家组有关乳腺癌肿瘤标志物的应用建

表 12 不同专家组对乳腺癌标志物的应用建议

标志物	应用	ASCO ^[242-243, 375]	EGTM ^[371]	EGTM/NACB ^[15]	ESMO ^[372-373]
ER + PR	预测激素治疗的反应	是	是	是	是
	判断预后	对确定预后不宜单独应用	是 和其他因素相结合	-	-
HER-2	预测早期和晚期疾病对曲妥单抗治疗的反应	是	是	-	是
	判断预后	否	是 和其他因素相结合	-	-
uPA/PAI-1	预测激素治疗的反应	否	否	-	-
	预测 CMF 辅助治疗的反应	否	否	-	-
	预测以蒽环类为基础的辅助治疗的反应	是	是	-	-
Oncotype DX test	确定预后	对于初诊为淋巴结阴性的患者判断预后有价值	是	-	-
	确定预后	是, 预测他莫昔芬辅助治疗患者的复发风险	否	-	-
CA15-3/BR27.29	术后监测	否	是	是	否
CA15-3/BR27.29	监控晚期疾病治疗	是, 在可选病例中(如: 缺乏可预测的疾病时)	是	是	是, 在不易预见的疾病中
CEA	术后监测	否	是	-	否
	监控晚期疾病治疗	是, 在可选病例中(如: 缺乏可预测的疾病时)	是	-	否
BRCA1 BRCA2	鉴别乳腺癌高风险女性	参阅文献[324]对癌症易感性的基因检测的一般原则	-	-	-
应用	圣加仑会议 ^[350, 374]	NCCN ^[621]	NACB 2008	推荐强度*	
ER + PR	预测激素治疗的反应	是	是	是	A(对于 ER); B(对于 PR)
	判断预后	是	是	是 和现有因素相结合	B
HER-2	预测早期和晚期疾病对曲妥单抗治疗的反应	是	是	是	A
	判断预后	是	是	是 和其他因素相结合	B
uPA/PAI-1	预测激素治疗的反应	-	-	否	C
	预测 CMF 辅助治疗的反应	-	-	否	C
	预测以蒽环类为基础的辅助治疗的反应	-	是, 可用于预测以蒽环类为基础(优于非蒽环类为基础) 的辅助治疗	是, 同 NCCN	B
Oncotype DX test	确定预后	-	-	是	A(如果应用 ELISA 方法分析)
	确定预后	否	可能对特定亚组估计复发的可能性和化疗疗效是一个选择 ^[622]	是, 针对他莫昔芬辅助治疗患者	A
CA15-3/BR27.29	术后监测	**否	否	可能可以提前检测到早期转移, 但是临床价值尚不明确	C
CA15-3/BR27.29	监控晚期疾病治疗	-	-	是, 特别是对那些不可评估疾病的患者	C
CEA	术后监测	**否	-	否	C
	监控晚期疾病治疗	-	-	是, 同 ASCO 和 EUSOMA	C
BRCA1 BRCA2	鉴别乳腺癌高风险女性	是	是	NACB 支持 CGSCASCO, USPSTF 和 S 圣加伦会议团体意见 ^[324, 350, 382-384]	B

缩略语: ASCO 美国临幊肿瘤协会; EGT M 欧洲肿瘤标志物组织; NACB 美国临幊生化科学院; ESMO 欧洲临幊肿瘤学会; NCCN 美国国家综合癌症网络; NR, 不推荐发表; CGSC 癌症遗传研究协会和美国预防服务工作组。

注: * 推荐强度(SOR)^[520], 具体解释见本指南附注表 A; **建议所示肿瘤标志物不指特定标志物; - 表示未见文献报道。

雌激素和孕酮受体

ASCO、EGTM、欧洲医学肿瘤学会(ESMO) 以及圣加仑会议共识小组的专家组均建议对所有新诊断的乳腺癌患者进行雌激素受体(ER, 如 ER- α) 和孕酮受体(PR) 的常规检测(表 12)。NACB 专家组也同意这些建议。确定 ER 和 PR 的主要目的是为了选择早期或晚期乳腺癌患者对内分泌治疗可能发生的应答。此外 ER 和 PR 与其他因素联合起来也可用做预后指标。然而, 作为患者终点的预测因子, 激素受体是相对较弱的因子, 对淋巴结阴性的患者几乎没有临床价值, 因此不可单独用激素受体进行乳腺癌患者的预后。但是, 激素受体与确定的预后因子联合起来, 可用于预测复发的危险性。目前对 ER- β 的测定并无临床应用。

推荐的 ER 和 PR 检测方法

ER(即 ER- α) 和 PR 可通过配体结合法、ELISA 或免疫组织化学法等测定, 这些不同检测方法的优缺点总结于表 13。值得注意的是, 大多数与 ER 和 PR 相关的临床数据来源于生化检测(配体结合法和 ELISA 法)。但一些新的报告表明, 用免疫组织化学法检测 ER 所提供的临床信息, 至少跟生化检测一样有效^[336-341]。事实上, 一份报道宣称对治疗反应的预测来说, 使用免疫组织化学法检测 ER 优于生化法^[336]。与 ER 相比, 免疫组织化学检测 PR 的临床价值资料更少^[341-343]。与 ER 一起, 免疫组织化学法检测 PR 的预测能力似乎优于配体结合法所得结果^[343]。

表 13 激素受体不同检测方法的优缺点

	特点	配体结合法	ELISA	免疫组化
优点	定量	定量	无放射性	方法简单并且价格相对便宜
	可确定有关与激素结合的受体功能 可确定配体受体的 Km 值 能够检测出总 ER 值, 即 ER- α 和 ER- β ; 但不能将两者区分开来	比配体结合法简单	为 ER 的检测提供阳性对照	可评估组织结构, 区分浸润性、原位和正常乳房组织 只需少量组织, 如细针穿刺和核心针活检所取组织 临近组织的正常乳腺上皮细胞至少半定量
缺点	耗时 繁琐 价格昂贵 需要大量的肿瘤组织 需要冰冻组织(必需迅速冷冻于液氮中并低温保存) 有放射性 可能会对 ER 值产生假阴性*	需要大量冰冻组织 相对耗时	主观解释 难以标准化 不同的抗体会得出不同的结果	只适用于冰冻组织 半定量 主观解释 难以标准化 不同的抗体会得出不同的结果

缩略语: ELISA 酶联免疫吸附试验; ER 雌激素受体。

注: * 在接受他莫昔芬治疗的肿瘤消除患者, 当激素配体的内源水平高, 或者组织块中的癌组织量不够时。

由于 ER 和 PR 易于使用以及能应用到肿瘤的更广范围(如: 小与大的肿瘤、石蜡包埋组织与冰冻组织), NACB 专家组建议使用免疫组织化学法(IHC) 来检测 ER 和 PR。

应用免疫组织化学法检测 ER 和 PR 时应该牢记以下几点: 所用免疫组化法的价值应与生化检测相关, 应被证实具有预测和预后作用; 确证的抗体包括 ER 抗体 6F11 MAb(美国 Novocastra 和英国 Newcastle) 或抗体 ID5(丹麦 Dako) , 以及 PR 抗体 1A6(美国 Novocastra) 、PR88(英国 Biogenex) 或单克隆抗体 1294(丹麦 Dako)^[336-337, 343-345]; 在每次检测中应包括内对照, 之前推荐使用受体阳性的肿瘤细胞和邻近良性上皮细胞的组织对照^[345]; 必须参与外部质量评价(EQA) 计划^[344-345]; 染色评分可用染色细胞的百分比或染色细胞的百分比结合染色强度为基础, 应该报告一个半定量得分, 而不是一个阴性或阳性值^[344-345]。需要强调的是, 低水平 ER 患者(如: 1% ~ 10% 的细胞被染色) 对内分泌治疗有反应^[336], 仅有核染色者应进行评估, 报告中应提及主要抗体的来源以及所使用组织的类型(如: 石蜡包埋或冰冻组织)^[345]。

NACB 乳腺癌专家组建议 1: ER 和 PR 作为预测和预后标志物。所有乳腺癌患者均应检测 ER 和 PR。检测这些受体的主要目的是确定可接受激素疗法的乳腺癌患者[LOE , I ; SOR , A]。与已经确定的预后因子(如: 肿瘤分期、分级和淋巴结转移数量) 相结合, ER 和 PR 也可用于确定新诊断乳腺癌患者的短期预后[LOE , III ; SOR , B]。

HER-2(c-erbB-2)

与 ASCO^[243]、ASCO/CAP^[346] 和 NCCN 专家组^[347] 的建议相一致, NACB 专家组也建议对所有新诊断为侵润性乳腺癌的患者进行 HER-2 检测(表 12)。目前, 检验 HER-2 的主要目的是选择可进行曲妥单抗治疗的早期或晚期乳腺癌患者。与其他因子结合起来, HER-2 也可用于判断预后。HER-2 用来预测对辅助性内分泌治疗或基于环磷酰胺、甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶(CMF) 的辅助性化疗的反应^[243, 348-351], 现在可用的数据尚不充足。HER-2 可用于预测基于蒽环类的辅助性化疗, 且优于 CMF 化疗^[243, 348-350, 352]。目前尚无足够的证据支持推荐常规检测血清 HER-2。然而, 血清 HER-2 用于监测接受曲妥单抗治疗的晚期乳腺癌患者可能有价值^[353]。

推荐的 HER-2 检测方法

2 种主要类型的检测方法被用来检测乳腺肿瘤 HER-2(如: IHC 和 FISH^[354-360])。这些方法的优缺点总结在表 14 中^[354-360]。

对文献系统性回顾后, ASCO/CAP 专家组最近发表了浸润性乳腺癌患者检测 HER-2 的综合性指南^[346]。一些主要结论如下: 目前, 约 20% 的 HER-2 检测可能是不准确的; 在使用经验性的检测方法时, 现有数据无法清楚地表明 IHC 或 FISH 在预测对曲妥单抗治疗的反应中的优越性; 应该对乳腺癌的浸润性部分进行 HER-2 检测; 实验室检测 HER-2 应与其他验证性试验具有至少 95% 的一致性; 验证或改良检测方法, 使用标准操作规程, 符合新检验标准, 应采用严格的实验室认

可标准、能力验证计划和能力来进行监测^[346]。

表 14 不同免疫组织化学检测 HER-2 方法的优缺点

特点	免疫组化	FISH
优点	成本低 方法简单、应用广泛	评分结果相对更客观 易于标准化 比免疫组织化学方法提供的信息更可靠
缺点	评价主观 因此很难标准化 固定使抗原改变导致敏感性降低 抗体不同,分析敏感性存在差异,同一抗体由于染色 步骤不同所得结果也不同 临界值(如:2+)需要进一步测试	价格相对昂贵 没有免疫组织化学法应用范围广(需荧光显微镜) 有时将癌组织和导管原位癌区分开来比较困难 比免疫组织化学需要较长时间的评分 供存储和审查的切片不能保存 设立扩增危急水平的临界值及临床结果不确定

缩略语: FISH 荧光原位杂交。

注: 数据摘自参考文献^[354-360]。

ASCO/CAP 专家组建议用下列规则来确定 HER-2 状态。符合下列条件者定义为 HER-2 阳性: IHC 染色为 3+ (>30% 浸润性癌细胞膜呈均一性强染色)、每个细胞核中 FISH 值 > 6 个 HER-2 的基因拷贝 或者 FISH 比值(HER-2/CEP 17) > 2.2(CEP 染色体 17 的着丝粒探针)。符合下列条件者定义为 HER-2 阴性: IHC 评分为 0 或 1+、每个细胞核中 FISH 值 < 4 个 HER-2 的基因拷贝 或者 FISH 比值 < 1.8。HER-2 可疑: IHC 评分为 2+ (如 整个细胞膜染色不均一或强度很弱, 但至少 10% 细胞周围分布很清楚)。FISH 可疑范围是在缺乏内探针的检测中, HER-2/CEP17 比值为 1.8~2.2 或是平均基因拷贝数为 4.0~6.0。对 IHC 评分不明确的样本, 应进行 FISH 检测。对 FISH 结果不明确的样本, 应进行重复检测或增加细胞计数。NACB 专家组支持这些建议。

近来 FDA 已经批准一系列用于乳腺癌患者 HER-2 检测的方法。2 种检测试剂基于 IHC 方法(美国 Dako 和 Ventana Medical Systems 公司), 2 种基于 FISH 技术(美国 Ventana Medical Systems 和 Vysis 公司)。2 种 IHC 检测方法最初批准用于确定接受曲妥单抗治疗的晚期乳腺癌女性。FISH 检测方法最初是用来明确有进展性的高危淋巴结阴性女性对阿霉素化疗的反应。最近 这些检测方法也被批准用于选择可接受曲妥单抗治疗的转移性乳腺癌女性。2008 年,FDA 为一种新型的显色原位杂交技术(美国 Invitrogen 公司)提供了上市前许可, 用来确定适合接受曲妥单抗治疗的患者。FDA 确认了一项血清 HER-2 检测方法, 用于随访和监测晚期乳腺癌患者(美国 Siemens 公司)。

NACB 乳腺癌专家组建议 2: HER-2 作为预测和预后标志物 所有浸润性乳腺癌患者均应检测 HER-2。检测 HER-2 的主要目的是选择可接受曲妥单抗治疗的乳腺癌患者 [LOE, I; SOR, A]。HER-2 也可用于确定基于蒽环类的辅助性化疗中优先获益的患者 [LOE, II / III; SOR, B]。

uPA 和 PAI-1

一项由 8 000 多名乳腺癌患者组成的汇总分析的结果表明 uPA 和 PAI-1 是很强的(相对危险度 > 2)且是独立的(如: 不依赖淋巴结转移、肿瘤大小以及激素受体状态)预后因子^[361]。对腋窝淋巴结阴性患者来说, 这 2 种蛋白的预后影响已通过随机前瞻性试验(Chemo N₀ 研究)以及小规模回顾性、前瞻性研究的汇总分析得到证实^[361-362]。故 uPA 和 PAI-1 是首类对乳腺癌具有预后价值的生物学因子, 其通过 I 级证据研究得到验证^[363]。

因此 NACB 专家组认为检测 uPA 和 PAI-1 可用来确定

不需要或者不可能从辅助性化疗中获益的淋巴结阴性患者。这 2 种蛋白都应进行测定, 因为联合测定所提供的信息优于其中任何单个项目所提供的信息^[361, 364]。uPA 和 PAI-1 水平均较低的淋巴结阴性患者复发的危险性较低, 从而可免于辅助性化疗带来的毒副作用和昂贵费用。uPA 或 PAI-1 水平均较高的淋巴结阴性患者应该进行辅助性化疗。事实上, Chemo N₀ 试验^[362]的结果以及最近大规模回顾性研究的数据均表明 uPA/PAI-1 水平较高的患者从辅助性化疗中获益较高。

推荐的 uPA 和 PAI-1 检测方法

uPA 和 PAI-1 的检测应采用有效的 ELISA 法。很多 ELISA 法已通过技术认证^[366], 而一些也在 EQA 计划中被评估^[367]。为了确定乳腺癌的预后, NACB 专家组推荐使用在技术上和临幊上均通过验证的 ELISA 法(如: American Diagnostic 公司)。推荐采用 Triton X-100 (美国 Sigma Aldrich 公司) 提取肿瘤组织^[368]。值得注意的是, 为了采用 ELISA 法检测 uPA 或 PAI-1, 一块典型的新鲜的(如: 不用福尔马林中固定) 乳腺癌组织(> 200~300 mg) 必须在组织学诊断后迅速保存在液氮中。

最近, 仅需要 100 mg 肿瘤组织的基因芯片被用于 uPA 和 PAI-1 检测^[369-370]。这种方法也可使用来自 2~3 个中心活检或 5~10 个 90 μm 的厚冰冻切片的材料。尽管在临幊上尚未得到证实, 但初步数据表明中心活检中 uPA 和 PAI-1 的水平与手术切除组织的相应水平具有很好相关性。由于免疫组织化学法检测 uPA/PAI-1 尚未得到临床验证, 因此目前不推荐将这种方法学用于乳腺癌中这些蛋白的常规检测。

NACB 乳腺癌专家组建议 3: uPA 和 PAI-1 用于确定预后 uPA 和 PAI-1 可用来确定不需要或不可能从辅助性化疗中获益的淋巴结阴性乳腺癌患者。uPA 和 PAI-1 应使用新鲜的或新鲜冰冻的肿瘤组织提取物, 采用经过验证的 ELISA 法来进行检测 [LOE, I; SOR, A]。

CA15-3/BR27.29

血清 CA15-3 和 BR27.29(也称作 CA27.29) 测定检出的是相同的抗原(即: MUC1 蛋白) 提供的临床信息也类似。但是 CA15-3 比 BR27.29 研究得更为广泛。CA15-3 和 BR27.29 对接受过乳腺癌根治手术的无症状患者术后监测的价值, 尚有较大争议^[15, 242-243, 371-375]。在约 70% 的无症状患者中, 尽管 CA15-3 或 BR27.29 水平升高先于临床发现远处转移病灶, 但是缺乏高水平的研究证据显示, 进行性疾病得到早期诊断后, 启动治疗对患者的生存或生活质量有积极影响。此外, 公认或临幊确认的有重要临幊意义的肿瘤标志物并无增加。而已证

实至少 25% 的增加,才被解释为有临床重要意义。

基于现有证据,NACB 专家组不建议对诊断为可手术乳腺癌的无症状患者进行常规 CA15-3(或 BR27.29) 检测。然而,专家组可能注意到,有很多小规模研究表明,在血清标志物水平升高的基础上,早期治疗可能带来更好的效果^[376-378]。尽管这些研究并未提供高水平的证据表明在肿瘤标志物水平升高的基础上进行早期治疗对患者具有积极影响,但是一些医生和患者可能希望通过一系列 CA15-3(或 BR27.29) 水平来确定后来的主要手术。在这种情况下,是否使用 CA15-3(或 BR27.29) 的最终决定应由医生跟患者协商后来确定。

ASCO 和 ACCN 专家组建议,CA15-3(或 BR27.29) 不应单独用来监测晚期癌症患者的治疗^[242-243,347,375]。EGTM 专家组建议,转移性癌症患者应在每个化疗疗程前检测标志物,而接受激素疗法的患者至少每 3 个月检测 1 次^[371]。

NACB 专家组认为,CA15-3 或 BR27.29 与影像学及临床检查相结合,可用于监测晚期乳腺癌患者的化疗。这些标志物对无法评估的患者可能特别有帮助。这类患者 2 次连续升高(如: > 30%)很可能表明疾病有进展,导致治疗终止、治疗改变或使患者进入评估新抗癌治疗的临床试验。然而,虽然在术后监测中检测标志物,但在晚期癌症的治疗过程中,肿瘤标志物浓度显著升高的定义并未得到普遍公认或临床确认。

在化疗开始后,血清标志物水平可能会出现一过性升高^[379-380]。这种一过性升高或峰值通常会在化疗开始后的 6~12 周内下降。与肿瘤进展无关的肿瘤标志物水平升高也可见于某些良性疾病^[381]。肿瘤标志物水平的升高呈一过性还是持续性,取决于良性疾病是短暂存在还是继续恶化。

推荐的 CA15-3/BR27.29 检测方法

FDA 已经批准了很多商业化 CA15-3 和 BR27.29 检测试剂盒。

NACB 乳腺癌专家组建议 4: CA15-3 和 BR27.29 用于晚期乳腺癌的术后监测和治疗监测。对确诊为乳腺癌的无症状患者早期检测是否发生复发/转移,CA15-3 和 BR27.29 不应作为常规检测。然而,一些患者以及一些医生可能希望做这些检测,是否使用 CA15-3 或 BR27.29 应由医生与患者协商后确定 [LOE, III; SOR, B]。

CEA

与 CA15-3 和 BR27.29 一样,NACB 专家组也不推荐对乳腺癌患者监测时常规检测 CEA。CEA 不应单独用来监测晚期乳腺癌患者。在监测不可评估的患者时,当 CA15-3/BR27.29 无法提供信息时,CEA 有时可能提供有用信息。作为一个乳腺癌标志物,CEA 的敏感性通常低于 CA15-3/BR27.29,但是当 MUC-1 相关标志物的水平低于临界值时,它能提供有用信息。

推荐的 CEA 检测方法

FDA 已经批准了很多商业化 CEA 检测试剂盒。

NACB 乳腺癌专家组建议 5: CEA 用于晚期乳腺癌的术后监测和治疗监测。对确诊为乳腺癌的患者早期检测是否发生复发/转移,CEA 不应作为常规检测。然而,一些患者以及一些医生可能希望做这些检测,是否使用 CEA 应由医生与患者协商后确定 [LOE, III; SOR, B]。

CEA 与影像学及临床检查相结合,可用于监测晚期乳腺癌患者的化疗。对无法评估的患者来说,CEA 浓度的持续升高意味着渐进性疾病 [LOE, III; SOR, B]。

BRCA1 和 BRCA2

根据癌症遗传学研究会(CGSC)专责小组指南,“建议对 BRCA1 突变的个人进行早期乳腺癌和卵巢癌筛查,对 BRCA2 突变的个人进行早期乳腺癌筛查”^[382]。然而,没有关于赞成或反对预防性手术的建议(如:乳房切除术或卵巢切除术)。该指南进一步指出,“这些手术是突变携带者的一种选择,但缺乏有利的证据。病例报告也证实预防性手术后依旧会发生癌症。建议考虑做基因检测的个人应该咨询检测中的未知效力以降低风险,在制定评价临床结果的研究计划的内容中尽可能关注携带诱发癌症突变的个体”^[382]。着重强调,这些指南仅以专家的意见为基础。

2003 年,ASCO 专家组发表了一份关于癌症易感性基因检测的详尽的政策说明^[324]。该说明包含对以下几个方面的建议:基因检测的适应证、检测规则、保险报销、保护免受歧视、与基因检测相关问题的保密性、继续教育的挑战以及关于人体组织基因检测特殊问题的研究。

根据第 8 届圣加伦会议上 2 005 名专家的一致意见,携带 BRCA1 或 BRCA2 突变基因女性的治疗,“必须包括考虑双侧乳房切除术联合乳房手术重建、预防性卵巢切除术、化疗干预和强化监测”^[350]。NACB 专家组支持 CGSC、ASCO、美国预防服务工作组和圣加伦共识小组的声明^[324,350,382-384]。

多基因的基因标记

基因表达谱

基因表达谱采用微阵列技术同时检测成千上万个基因的表达。至少有 8 个基因标记被描述可用于预测乳腺癌患者的预后(见综述^[385])。尽管这些标记包含数个有重叠的基因,但是大多数提供类似的预后信息^[386]。

在一个最初的临床微阵列研究中,van't Veer 等^[387]在 78 例新诊断为淋巴结阴性的乳腺癌患者中发现了 70 基因标记,这些基因标记准确预测了 65 例出现晚期远处转移的患者。这些患者不足 55 岁,且未接受系统性治疗。在一个由 19 例乳腺癌患者组成的独立体系中应用该标记,仅有 2 例出现分类错误。此 70 基因标记随后在体内^[388]和体外^[389]均得到验证。在体内和体外验证研究中,基因标记的预后影响均独立于常用的乳腺癌预后因子。

当前,这种 70 基因标记正在作为淋巴结阴性疾病避免化疗微阵列试验的一部分进行前瞻性验证^[390]。该试验的主要目的是确定上述基因标记认为复发风险低,而临床病理因素认为复发风险高的淋巴结阴性乳腺癌患者,在不影响无远处转移的生存率的情况下,是否能安全地不接受辅助性化疗。

NACB 乳腺癌专家组建议 7: 通过微阵列检测基因表达谱来预测结果

目前可用的以微阵列为基础的基因标记均未常规用于预测患者的预后 [LOE, III; SOR, B]。

Oncotype DX 检测

Oncotype DX(美国 Genomic Health 公司)是一种将新诊断的、早期乳腺癌女性的复发可能性进行量化的多基因检测方法(综述见^[391])。这种方法不是采用微阵列技术,而是采用 RT-PCR 法来检测 21 个基因的表达(16 个与肿瘤相关基因,5 个对照基因)。根据这些基因的表达水平,计算出一个复发评分(RS),可预测 ER 阳性、接受辅助性他莫昔芬治疗

的患者发生远处转移的低、中、高风险^[392]。在接受辅助性他莫昔芬治疗的淋巴结阴性、ER 阳性患者的独立人群中对 RS 进行前瞻性验证,是国家外科辅助性乳腺与胃肠项目试验 B14 的一部分^[392]。在这项验证研究中 RS 作为患者预后的一个独立预测因子。RS 的独立预测作用在后来一个以人群为基础的病例对照研究中得到证实^[393]。在接受辅助性他莫昔芬治疗的患者中,低 RS 意味着较好的预后,而在接受新辅助疗法或辅助性化疗的患者中,高 RS 与良好的预后相关^[394-395]。该方法一个独特的优点是其可采用福尔马林固定、石蜡包埋的组织进行检测。

NACB 乳腺癌专家组建议 8: Oncotype DX 检测用于预测结果 Oncotype DX 检测可对接受辅助性他莫昔芬治疗的淋巴结阴性、ER 阳性的患者是否复发进行预测。预后较好的患者可能不需要接受辅助性化疗 [LOE , I / II; SOR , A]。

Oncotype DX 检测也可用于预测淋巴结阴性、ER 阳性患者能否从辅助性化疗 (CMF 或甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶) 中获益 (如: 复发评分较高的患者可能比评分较低的患者从化疗中获益更多) [LOE , III; SOR , B]。

当前,RS 正在作为指定个体化治疗选择试验的一部分进行前瞻性验证^[369]。在该试验中,RS 评分为中等的患者被随

机指定接受单独的激素疗法或激素疗法联合化疗。目的是确定中等 RS 评分的患者接受辅助性化疗是否能改善生存。另外,在该试验中,接受他莫昔芬治疗后低 RS 患者将接受内分泌治疗,而高 RS 者则要接受化疗和激素疗法。

肿瘤标志物在乳腺癌中的应用要点

乳腺癌最佳标志物均为组织性的,包括 ER、PR、HER-2、uPA 和 PAI-1。现在对所有新诊断的乳腺癌患者,检测 ER、PR 和 HER-2 是必须的。尽管在技术上和临幊上均已得到确认^[361-363,366-367],但 uPA 和 PAI-1 的检测尚未在临幊上得到广泛使用,主要是由于该检测需要极少量的新鲜组织或新鲜的冰冻组织。然而,这些蛋白的检测可用来帮助选择不需要接受辅助性化疗的淋巴结阴性的乳腺癌患者。同样,Oncotype DX 检测也可用于预测接受辅助性他莫昔芬治疗的淋巴结阴性、ER 阳性患者的复发。尽管在术后监测和晚期癌症的治疗监测中得到广泛使用,但 CA15-3 和其他血清学标志物的临幊价值尚未得到 I 级研究证据的验证。

(翻译: 顾兵、潘世扬, 审校: 沈文梅、田亚平、鄢盛恺)

第 6 章 卵巢癌肿瘤标志物

Daniel W. Chan, Robert C. Bast Jr, Ie-Ming Shih, Lori J. Sokoll, György Sólntormos

背景

卵巢癌已成为美国女性死亡率最高的四大恶性疾病之一,其患病率高达 1:59^[397]。在世界范围内,卵巢癌的患者预计为每年 204 499,其中死亡病例 124 860^[398]。

尽管新型化疗药物显著提高了患者的五年生存率,但卵巢癌总死亡率仍然居高不下^[118]。其主要原因是卵巢癌患者一般不能成功地在早期进行诊断,而大多数患者都死于癌症晚期。相反,如果卵巢癌能被早期诊断,分化良好且癌细胞局限于卵巢的患者存活的概率可达 90%。此外,能可靠地预测卵巢癌患者临床表现和治疗反应的生物标志物相对缺乏。因此,寻找用于卵巢癌早期诊断和预后估计的肿瘤标志物是卵巢癌研究的重要课题之一,具有深远的意义。

尽管通常认为卵巢癌是一种单独的疾病,但它却是由包括上皮性肿瘤、性索间质瘤、生殖细胞瘤在内的几种相关但不同类的肿瘤共同组成的^[399],并且每种肿瘤类型还有许多组织学亚型。上皮性肿瘤(癌)是最常见的卵巢癌类型,根据国际妇产科联合会 (FIGO) 和 WHO 的分类,将其分为浆液性癌、黏液性癌、子宫内膜样癌、透明细胞癌以及转移癌 5 种组织学亚型^[400]。不同类型的卵巢癌不仅存在组织学差异,而且临床表征、肿瘤发生及基因表型也存在差异。根据患病率和死亡率统计,浆液性癌占卵巢肿瘤的绝大部分,能代表几乎所有临床疗效欠佳的卵巢癌^[401]。因此,除非另有说明,通常所说的卵巢癌就是指浆液性癌。

要寻找更有效的生物标志物,必须对卵巢癌的发病机制(如:在其发展过程中的分子机制)有更好的了解。根据最近临床病理和分子研究的总结,一个模拟卵巢癌发展的模型被提出^[402]。在这个模型中上皮性肿瘤分为 I 型和 II 型两大类型,分别对应两种主要的肿瘤发生通路。I 型肿瘤趋于由边

界肿瘤逐步分化而来的低度恶性肿瘤,相反 II 型肿瘤是没有找到明确的前期形态学病变的高度恶性肿瘤,即所谓“新发生”而来。由于浆液性肿瘤是最常见的上皮性肿瘤,所以低度恶性浆液性癌是 I 型肿瘤的前体,高度恶性浆液性癌是 II 型肿瘤的前体。除低级别浆液性癌之外,I 型肿瘤还有黏液性癌、子宫内膜样癌、恶性布伦纳瘤和透明细胞癌。相比于 II 型肿瘤,I 型肿瘤有明显的分子改变,例如浆液性肿瘤的 BRAF 和 KRAS 突变,黏液性癌的 KRAS 突变,以及子宫内膜样肿瘤的 β-连环蛋白、PTEN 突变和 MSI 突变。II 型肿瘤包括高度恶性浆液性癌、恶性中胚叶混合瘤(癌肉瘤)和未分化癌。除了在高度恶性浆液性癌和恶性中胚叶混合瘤中常见有 p53 基因突变外,有关 II 型肿瘤分子改变的资料很少见。这一肿瘤发展模型为新的卵巢癌标志物的研究提供了一个分子平台。

为了准备此指南,我们参阅了有关卵巢癌肿瘤标志物的文献。特别关注了一些有关系统评述、使用肿瘤标志物的前瞻性的随机试验的文献和专家组提出的导则。NACB 专家的共识建议是基于有效证据基础上的(即:有证据可循)。

目前可用的卵巢癌标志物

表 15 列出了目前卵巢癌研究最广泛的基于体液和组织的肿瘤标志物,并归纳了每种标志物的发展阶段及其临床应用的证据级别(LOE)。LOE 评分系统是依据先前已报道的评价肿瘤标志物临床效能的框架来制定的^[120]。以下讨论围绕目前唯一投入卵巢癌临床应用的标志物 CA125 展开。由于其余标志物均处于评估或研发阶段,所以 NACB 专家组并不推荐用这些标志物进行诊断、检测和监测。

表 15 目前可用的卵巢癌血清标志物

肿瘤标志物	应用建议	发展阶段	LOE ¹	参考文献
CA125 ²	骨盆包块的鉴别诊断 化疗效果的监测	公认临床应用 公认临床应用	III I, II	[407-411] [407-408, 411, 428, 623-627]
Her-2/neu	预后预测及治疗效果的组织标志物	评估	IV	[628]
Akt-2	预测预后的组织标志物	研发	V	[500]
抑制素	检测	评估	IV	[506-508]
HLA-G	鉴别诊断	研发	V	[629]
TATI	肿瘤监测	研发	IV, V	[480]
CASA	肿瘤监测, 预后预测	研发	IV	[473, 482-483]
TPA	肿瘤监测	研发	IV	[472-473]
CEA	肿瘤监测	研发	IV	[473]
LPA	检测	评估	IV, V	[474, 631]
PAI-1	预后预测	研发	V	[485-486, 632]
IL-6	预后预测	研发	IV	[487-489]
激肽释放酶(kallikreins) 5、6、7、8、9、10、11、13、14、15	鉴别诊断 肿瘤监测 预后预测	研发	IV, V	[445-465]
hCGβcf	预后预测	评估	III, IV	[491-492]
前列腺蛋白(prostasin)	鉴别诊断	研发	IV	[470]
骨桥蛋白(steopontin)	肿瘤监测	研发	III, IV	[468-469, 633-634]
HE4 ³	骨盆包块鉴别诊断, 疗效监测	一些中心机构临床应用	III, IV	[635-637]
胞外信号调节激酶 (MAPK)	预后预测的组织标志物	研发	V	[504-505]
胰岛素样生长因子结合蛋白 2(IGFBP-2)	预后预测	研发	IV	[638]
RSF-1	预后预测	研发	V	[512-513]
NAC-1	预后预测	研发	V	[516, 518]

注: ¹ 证据级别 [LOE] ^[120] 具体解释见本指南附注表 A; ² 参考表 16 附加信息; ³ 近期 FDA 已确认 HE4 有助于卵巢癌病程的监测。

卵巢癌肿瘤标志物: NACB 建议

欧洲肿瘤标志物专家组(EGT M)^[403-404]、美国内科医师协会^[405]、欧洲医学肿瘤学会^[406]、美国国立综合癌症网络(NCCN)^[407]等组织机构都已将 CA125 作为一种卵巢癌的肿

瘤标志物列入指南。此外, 在 1994 年美国国立卫生研究院(NIH) 亦举办了关于卵巢癌筛查、预防、诊断和治疗的共识会议^[408]。这些研究团体的建议总结于表 16。此表还包括 NACB 的早期建议以及基于下述信息和其他已定指南建议。

表 16 不同专家组对于在卵巢癌中应用 CA125 作为肿瘤标志物的建议

用途	美国内科 医师协会 ^[405]	EGTM2005 ^[404]	ESMO ^[406]	NACB 和 EGT M 2002 ^[15]		NCCN ^[639]	NIH Panel ^[408]	NACB 2008		
				建议	LOE [*]			建议	LOE [*]	SOR ^{* *}
筛查(无家族史或其他)	否	否	-	否	-	-	否	否	III	B
危险因素										
遗传综合征的早期诊断 (与阴道超声联合应用)	否	是	-	是	-	是	是	是	III	B
鉴别诊断(可疑盆腔肿块)	-	是(仅限绝经 期后女性)	-	是(仅限绝经 期后女性)	是	是	是(仅限绝经 期后女性)	是(仅限绝经 期后女性)	III / IV	A
治疗监测	-	是	是	是	是	-	是	是	I / II	A
复发监测	-	是	是	是	是	是	是	是	III	B
预后判断	-	否	是	是	是	-	是	是	III	A / B

缩略语: EGT M: 欧洲肿瘤标志物组织; ESMO: 欧洲医学肿瘤学会; NACB: 美国临床生化科学院; NCCN: 美国国家综合癌症网络; NIH: 美国国立卫生研究院; 建议: 是/否、未见报道;

注: * 证据级别(LOE) ^[120], **推荐强度(SOR) ^[520] 具体解释均见本指南附注表 A。

CA125

1981 年, Bast 等用人卵巢浆液腺癌细胞系 OVCA433 免疫小鼠获得的 OC125 鼠抗人单克隆抗体检测到了 CA125 抗原^[409]。根据已鉴定的核心肽, 得到局部 cDNA 序列, 从而实现了 CA125 抗原分子的克隆^[410]。这种新型黏蛋白分子被命名为 CA125/MUC16(MUC16 基因), 该蛋白分子 N 末端含有一个 156 个氨基酸的串联重复序列区, C 末端可能含有一个跨膜区域与酪氨酸磷酸化位点。

首个 CA125 的免疫测定方法是利用 OC125 抗体同时用于捕获和检测, 并且在 1983 年被商品化^[411, 412]。第二代 CA125 含量测定方法(CA125 II) 则同时利用了针对不同且

非重叠抗原表位的 M11 和 OC125 抗体, CA125 的含量测定从此得以迈向自动化平台。尽管大多数厂商引用了相似的参考区间, 但不同厂商在校准、实验设计以及试剂的特异性等方面存在差异, 使得 CA125 的测定浓度难以一致。临床与实验室组织机构应致力于建立并使用 CA125 的国际标准品, 以便因缺乏国际标准品所致不同方法检测结果可比性差的现状得以改善。目前, 由于不同检测方法所得结果不能互换, 若检测方法改变, 需连续监测的患者就必须重新设定基线^[413]。因此, 厂商应当说明其所用的标准品并详述其所采用的校准方法, 实验室应当明确其所出具的 CA125 临床检测报告所使用的检测方法。

由健康人群包括 99% 正常人中 CA125、CA125 II 值的统计分布资料,可确定将 35 kU/L 作为 CA125、CA125 II 检测的临界值^[414]。对于绝经或年老患者,其值会有所下降^[415]。近来报道不同人种的绝经后妇女 CA125 II 浓度差异达 20%~50%,其中非洲和亚洲的妇女较白人妇女低^[415]。研究发现月经周期亦能影响其水平^[412]。此外,CA125 水平上升还见于 1%~2% 健康人、5% 患良性疾病及 28% 患有非妇科肿瘤的个体^[15,411-412]。

应该在及时离心分离血清并去除凝块后,迅速进行 CA125 的分析测定,样品可置于 4℃(1~5 d) 或者 -20℃(2 周~3 个月) 短期保存或者在 -70℃ 长期保存,以确保其稳定性^[15]。有厂家指出血浆也可作为部分检测方法的样本。与其他免疫测定方法一样,若血清中存在异嗜性抗体,尤其是在使用单克隆抗体进行治疗或者诊断后,CA125 测定结果可能会受干扰。

NACB 卵巢癌专家组建议 1: CA125 测定样品的处理 分析测定应在样品及时离心且分离血清和凝块之后迅速进行,样品可在 4℃(1~5 d) 或者 -20℃(2 周~3 个月) 短期保存,或者 -70℃ 长期保存 [LOE, 未使用; 建议强度, A 级]。

当前 NACB 专家组和其他研究团体关于 CA125 的临床应用建议总结于表 16,具体描述如下。

筛查/早期诊断

在患有上皮性卵巢癌的女性患者中,80% 患者 CA125 水平高于 35 kU/L,其中,临床 I 期患者升高 50%~60%,II 期升高 90%,III 期和 IV 期升高大于 90%^[412,416]。CA125 的浓度与肿瘤的大小与分期有关。由于单独检测 CA125 对卵巢癌诊断的敏感性和特异性不高,NACB 专家组及其他权威组织并不推荐其用于筛查无症状女性^[15,403,405-408]。NIH 专家组认为,目前并无有效证据证明单用 CA125 或者经阴道超声检查能有效降低卵巢癌患者的死亡率^[408]。然而,该专家组却推荐有遗传性卵巢癌家族史的女性每年应进行 CA125 检测联合盆腔超声检查,因为对终生患病风险约达 40% 的易感女性进行早期干预可能获益。

研究者已经尝试了很多方法来提高 CA125 早期诊断卵巢癌的特异性。对于发病率为 40/100 000 的 50 岁以上的女性群体而言,阳性预测值须达到 10%,相应的诊断特异性则须达到 99.7% 以上。这些方法包括连续检测法或者 CA125 结合超声检测的两阶段法、CA125 纵向测定或将 CA125 与其他标志物联合测定,如 OVX1、M-CSF 或者其他通过蛋白质组学方法发现的新型生物标志物^[422,417-419]。为了评估 CA125 在无症状人群中筛查卵巢癌的潜在作用,两个大型的前瞻性随机对照试验正在美国与英国进行。200 000 名女性被随机分配到 3 个组中,分别是用超声筛查、联合 CA125 和超声筛查、不进行筛查。研究结果有力地证实应用 CA125 连续监测联合经阴道超声筛查组的卵巢癌患者的存活率显著提高。

NACB 卵巢癌专家组推荐 2: CA125 用于筛查 对无症状的女性不推荐用 CA125 进行筛查 [LOE, III; SOR, B]。对有遗传性卵巢癌家族史的女性推荐 CA125 测定联合经阴道超声检查进行早期诊断,早期干预可能获益 [LOE, III; SOR, B]。

对盆腔肿块的鉴别判断

除了用于早期检测,CA125 被更广泛地用作鉴别妇女良性与恶性肿瘤的辅助指标,尤其是绝经后出现卵巢肿块的妇

女^[407-408,422],这有助于按最佳治疗原则对患者进行手术分诊。绝经前妇女患有良性疾病很可能会引起 CA125 上升。在英国,CA125 检测是恶性风险指数 (RMI) 评估的必要组成部分,该指数是决定盆腔肿物与附件囊肿的处置方针的基础^[423]。RMI 值是将 CA125 浓度乘以绝经期情况(未绝经为 1, 绝经后为 3) 再乘以超声分数 (0,1 或 3, 根据超声结果评分) 得出,常以 200 或者 250 为临界值。RMI 高于 200 或 250 的患者推荐到妇科肿瘤专科就诊。该方法据相关研究表明有 71%~78% 的敏感性和 75%~94% 的特异性^[414]。绝经后妇女 CA125 水平大于 95 kU/L 作为鉴别恶性、良性盆腔包块的阳性预测值达 95%^[411]。鉴于当前证据,专家组推荐 CA125 作为鉴别盆腔包块良恶性的辅助指标,尤其适用于绝经后妇女。若为疑似生殖细胞肿瘤患者,特别是 40 岁以下妇女,或者是影像结果提示有患生殖细胞肿瘤可能的年长妇女,应联合 AFP 以及 hCG 这两种重要的标志物水平作为诊断及治疗依据,这与 AFP、hCG 对睾丸生殖肿瘤的诊疗作用相似(参见 Staging, Risk Stratification, and Selection of Therapy section p. 6)。

NACB 卵巢癌专家组推荐 3: CA125 用于鉴别盆腔包块 推荐使用 CA125 作为辅助指标鉴别盆腔包块良恶性性质,尤其适用于绝经后妇女 [LOE, III/IV; SOR, A]。

疗效监测

连续检测 CA125 可反映卵巢癌化疗疗效。即使针对触诊或影像方法都无法检出的肿物,CA125 的下降水平也与疗效相关。在一项 531 名病例的荟萃分析中,89% 的患者 CA125 连续监测水平与疾病预后相关^[424-426]。在不同指南中 CA125 作为疗效监测指标已得到广泛认可,但以 CA125 为基础的疗效评估标准还未达成共识^[404,427-428]。妇科癌症团体 (GCIG) 建议:CA125 水平比治疗前下降 50% 或以上,且维持至少 28 d 为治疗有效^[428-431]。但此建议要求治疗前患者的 CA125 水平必须在参考范围上限的两倍以上,这也意味着若患者 CA125 水平在参考范围上限和参考范围上限两倍之间时不适用于此标准。该标准要求首个样本为治疗前 2 周内采样,第二个样本于治疗期间的 2~4 周采样,后续随访监测采样间隔为 2~3 周。此外,检测方法要求始终一致,接受免疫治疗(如:鼠源性抗体)的患者不适用该评估方法。除了监测一线化疗方案疗效,在超过 90% 以上病例中,CA125 水平倍增与疾病进展和治疗失败密切相关,可监测挽救疗法疗效^[411]。然而,肿瘤进展有可能不伴随 CA125 的升高,还需结合体格检查和影像情况判断病情^[15]。Tuxen 等人提出^[427],连续 CA125 水平的变化需要综合考虑检测方法的分析变异和不同个体的生物学变异的统计学估测来解释^[432-433]。最近的综述亦对这些统计评估的理论背景作出了详细说明^[434]。FDA 指出,帮助监测疗效是连续检测 CA125 的第二个用途。有许多临床试验正在进行,包括英国医学研究委员会进行的 OV05 等,它们的目的在于评估相对于传统临床指标,单独根据 CA125 水平上升而采取对复发性卵巢癌进行早期化疗是否有利。因该临床试验尚未有结果,其对临床实践的指导可能会发生相应改变。

NACB 卵巢癌专家组推荐 4: CA125 用于疗效监测 CA125 可用于监测化疗疗效。首个检测样本需在治疗前 2 周以内取样,接下来的样本要于治疗期间 2~4 周取样,后续随访监测取样间隔为 2~3 周。检测方法要求始终统一,接受抗 CA125 抗体免疫治疗的患者不适用此评估方法 [LOE, I/II; SOR, A]。

术后 CA125 测定:二期探查手术

早期研究表明,CA125 可用于术后预估在二期探查手术中发现肿瘤的可能性。这也是 FDA 最初同意 CA125 作为术后监测指标的原因^[412,424]。肿瘤非根治术和化疗后若 CA125 高于 35 kU/L 提示可能存在肿瘤残留病灶(准确度大于 95%),还需要进行化疗^[436]。二期探查手术目前存在争议,仅建议针对纳入临床试验或需根据手术情况改变临床诊治方案患者。首次治疗后无症状的患者,若术前 CA125 水平高,主张根据常规病史、体格检查及经直肠阴道盆腔检查,用 CA125 检测进行监测而非手术^[408]。

术后测定 CA125:复发监测

急剧升高或倍增的 CA125 水平提示肿瘤可能复发。但必须注意的是,即使术后 CA125 水平低于临界值也不能绝对的排除肿瘤复发。

妇科肿瘤国际小组(GCIG)是由 13 个国际妇科肿瘤临床试验组的代表组成的学术组织^[437],制定了 CA125 水平连续检测使用标准^[431]:对治疗前 CA125 水平升高的患者,标准治疗后 CA125 水平 2 次 ≥ 正常值上限的 2 倍应该连续检测;非标准治疗后 CA125 水平在参考范围内或 CA125 水平 2 次 ≥ 最低值应连续检测。2 次测定至少间隔 1 周以上^[431]。

虽然监测间隔尚未确定,现行的做法是每 2~4 月监测一次,两年后逐渐延长间隔时间^[407]。尽管没有证据表明在出现复发的临床症状前进行挽救性化疗可以提高生存率,但 CA125 水平升高可早于临床症状和影像学证据提示复发(中位数时间为 2~6 个月)^[436]。不过,复发的尽早诊断为使用多种药物进行抢救治疗争取了宝贵的时间。由于只有小部分患者对任何单一药物都有反应,且目前还没有可靠的预测试验,因此常常单独使用化疗药物并依次判断这些药物对患者个体是否有效。由于复发和整体存活率间仅存在微小的时间差,故早期检测复发为确定有效地姑息性治疗提供了时间。因此,若患者起初的 CA125 水平较高,主张进行随访监测 CA125。然而,CA125 术前水平低也不能够排除 CA125 水平先于临床症状前增高至临界值以上的可能,CA125 水平在参考值范围内出现的急剧升高可能提示复发^[438]。

NACB 卵巢癌专家组推荐 5:CA125 用于治疗后患者监测 对于治疗前 CA125 水平升高的患者推荐随访监测 CA125。尽管监测的时间间隔尚未明确,现行的做法建议每 2~4 月监测一次,随访两年后逐渐延长间隔时间[LOE, III; SOR, B]。

预后

CA125 水平在术前和术后都具有重要预测意义^[439~442],故 CA125 被推荐为基础治疗期间潜在的预后标志物。在初次手术及化疗后,化疗过程中 CA125 的下降被普遍作为独立的预后指标,在某些研究中还将其视作最重要的指标。CA125 水平不断上升提示预后不良。相对于术前 CA125 水平低于 65 kU/L 的患者,术前 CA125 水平高于 65 kU/L 的患者五年存活率显著降低,且死亡风险为前者的 6.37 倍^[412,426]。除了检测 CA125 水平,CA125 的半寿期也能提示化疗后的预后情况。与半寿期长于 20 d 相比,半衰期短于 20 d 者患者存活率显著提高(28 个月对比 19 个月)^[411,443]。经 3 周期的联合化疗后,若 CA125 水平正常化也与存活率提高相关。最近的一项研究也支持以上结论,该研究结果表明,在诱导化疗中 CA125 的半寿期和 CA125 的谷值是上皮性卵

巢癌预后的独立预测指标^[444]。

NACB 卵巢癌专家组推荐 6:CA125 用于预后 因 CA125 水平在术前和术后都具有重要预测意义,建议在基础治疗期间检测 CA125 作为预后因子。CA125 的浓度持续上升提示预后不良[LOE, III; SOR, A/B]。

其他卵巢癌标志物

已有报道发现其他几个存在于卵巢癌患者体液和组织中的潜在肿瘤相关标志物。尽管这些实验性标志物以后有望成为卵巢癌筛查、诊断和监测的新的生物标志物,但是尚不能确定它们是否将成为可行的临床检测指标(如:其临床意义需通过大量一期卵巢癌患者来评估其敏感性与特异性)。

激肽释放酶家族 激肽释放酶是丝氨酸蛋白酶家族的一个亚组,在人类肿瘤的发展与代谢中发挥重要作用^[445]。已证实激肽释放酶 4、5、6、7、8、9、10、11、13、14 和 15 在卵巢癌的检测、诊断、预后以及监测中具有重要价值^[446~463]。例如,大多数浆液性卵巢癌都表达激肽释放酶 4,而正常卵巢表面上皮细胞却很少表达^[449~450]。激肽释放酶 4 的表达与卵巢癌的分期和分级相关,单因素生存分析显示激肽释放酶 4 表达阳性的卵巢癌患者的复发与死亡率增加^[450]。同样,已有研究表明激肽释放酶 5 是有价值的 I 期与 II 期卵巢癌患者独立的预后指标^[451]。评估激肽释放酶 5 的表达可帮助肿瘤科医生确定高复发风险患者。在卵巢癌组织中表达激肽释放酶 7 提示卵巢癌患者预后差^[464],特别是那些低级别和已经最适减灭术后的患者;相反,激肽释放酶 8 (KLK8/Neuropsin/Ovasin)^[452]、9^[465] 和 11^[462] 的表达是提示卵巢癌患者预后良好的标志物。肿瘤组织高表达激肽释放酶 8 的患者其肿瘤级别低、肿瘤残留较少、生存期较长、复发率低。多变量分析中,激肽释放酶 8 的高表达与治愈生存率密切相关。激肽释放酶 6、10、11 不仅可作为组织标志物,而且可在血清中检出,具有作为卵巢癌的血清学标志物的潜力^[446,448,466]。最近,一项关于在卵巢癌中各种分泌性激肽释放酶的综合平行分析显示,激肽释放酶 6、7、8 和 10 是卵巢癌渗出液中最特异的 4 种分泌性激肽释放酶。这些激肽释放酶可能在卵巢癌与良性对照及其他肿瘤类型的鉴别诊断中具有临床意义。

骨桥蛋白 通过 cDNA 微阵列方法识别卵巢癌细胞的上调基因首次发现了骨桥蛋白(osteopontin),据报道它可作为诊断卵巢癌的潜在生物标志物^[468]。这篇研究报道表明,骨桥蛋白在浸润性卵巢癌中的表达高于卵巢交界性肿瘤、良性卵巢肿瘤和正常卵巢表皮^[468]。与健康对照者、良性卵巢疾病和其他妇科癌症患者相比,上皮性卵巢癌患者血浆骨桥蛋白水平显著增高。新近的报道显示,骨桥蛋白预测治疗引起的临床反应的敏感性低于 CA125。然而 90% 的复发卵巢癌研究病例骨桥蛋白的增高早于 CA125,表明在检测复发性卵巢癌时,骨桥蛋白可能是除 CA125 外的另一种临床有用的辅助指标。

前列腺蛋白 通过 cDNA 微阵列基因表达谱,Mok 等发现了一种称为前列腺蛋白(Prostasin)的过表达基因,其表达一种分泌性产物^[470]。前列腺蛋白最初是从人精液中分离出的,在前列腺中含量最高。卵巢癌组织中的被检出的前列腺蛋白较正常卵巢组织中多。卵巢癌患者血清中前列腺蛋白的平均水平是 13.7 μg/mL,对照者为 7.5 μg/mL。在许多非黏液型卵巢癌患者中,前列腺蛋白与 CA125 联合检测卵巢癌的敏感性为 92%,特异性为 94%。尽管这是一项有希望的发

现,但是前列腺蛋白单独或与 CA125 联合检测作为一项筛查指标或肿瘤标志物还需进一步研究。

组织多肽抗原(TPA) TPA 是一种可能代表细胞角蛋白水解片段的单链多肽。TPA 的产生可能与细胞快速转化有关,已有报道指出在癌症患者和其他可能疾病患者中血清 TPA 水平升高。在浆液型和黏液型卵巢癌患者中,TPA 水平与 FIGO 分期有关。33%~50% 的 I 期或 II 期卵巢癌患者,以及 88%~96% III 期或 IV 期卵巢癌患者血清 TPA 升高。42%~79% 的 TPA 升高的卵巢癌患者,TPA 连续监测显示其与卵巢癌的临床过程相关。这些结果表明 TPA 可作为卵巢癌患者的潜在标志物。

溶血磷脂酸(LPA) 首次发现 LPA 是在卵巢癌患者的腹水中,已被证实其在卵巢癌细胞生长中发挥生物学作用^[474-477]。小样本的初步研究发现,与无明显疾病的对照组相比,尽管 80% 的患其他妇科癌症的女性血浆 LPA 水平也升高,但是 90% 的 I 期卵巢癌患者血浆 LPA 浓度升高,并且 100% 的晚期和复发卵巢癌患者血浆 LPA 浓度升高。CA125 浓度可作为 LPA 水平的补充。

肿瘤相关胰蛋白酶抑制物(TATI) TATI 是从卵巢癌患者尿液中首次发现的^[478]。TATI 的氨基酸序列和生化性质与胰腺分泌的胰蛋白酶抑制物是相同的^[479]。血清和尿中 TATI 浓度升高常见于术后、严重炎症疾病和各种肿瘤患者,尤其是妇科和胰腺肿瘤患者^[473]。TATI 浓度升高可见于卵巢癌患者,尤其是黏液型卵巢癌患者。血清 TATI 水平升高似乎与卵巢癌的分期呈正相关。有一篇文献报道显示,I 期和 II 期患者 TATI 的敏感性仅为 8%,而 III 期和 IV 期患者为 62%^[480]。几篇文献报道显示:在治疗期间,TATI 不是一个很好的监测疾病的标志物,因为 TATI 对残留肿瘤的敏感性较 CA125 低,而且只有不到 50% 的相应临床症状被观察到与血清 TATI 水平相关联。

癌胚抗原(CEA) CEA 是一种癌胚胎抗原,血清 CEA 水平升高常见于各种良性疾病和肿瘤(包括卵巢癌)。随着卵巢癌的组织类型和分期的不同,CEA 浓度升高的程度也不同,一般黏液型和转移性卵巢癌患者血清 CEA 水平较高。作为检测卵巢癌的标志物,CEA 的敏感性大约是 25%,而 CEA 升高的阳性预测率仅 14%^[473]。虽因敏感性较低,CEA 不能作为早期诊断的标志物,但是 CEA 在确定卵巢癌患者对治疗的反应中很有用。

肿瘤相关血清抗原(CASA) CASA 最初是通过与多形上皮细胞黏蛋白的一个表位结合的单克隆抗体而定义的^[481]。血清 CASA 水平升高可见于妊娠后期、老年人、吸烟者和肿瘤患者。CASA 表达于各种组织类型的卵巢癌,其敏感性大约为 46%~73%。只有少数研究指出,CASA 在监测卵巢癌时是一项潜在的有用标志物。Ward 等人报道,在诊断性肿瘤模式中引入 CASA 可能会提高残留疾病的检出,敏感性从 33% 提高到 62%,阴性预测值从 66% 提高到 78%^[482-483]。一研究表明,CASA 可检出比 CA125 更多的小体积肿瘤,而且 50% 的微小肿瘤患者仅可通过 CASA 检出^[473]。另一项研究显示,术后血清 CASA 水平的预后评估价值优于 CA125 和其他指标,包括残留疾病、病理类型、肿瘤分期和以顺铂为基础的化疗等^[484]。

纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1) 和纤溶酶原激活物抑制剂-2

(PAI-2) 近来有文献报道了纤溶标志物(包括 PAI-1 和 PAI-2) 对卵巢癌的诊断和预后价值^[485]。在此研究中发现,PAI-1 虽然在卵巢癌患者血浆中水平显著增高,且其水平与较高的临床分期相关,但其似乎是一项较差的预后指标。PAI-1 是否能用于临床筛查和/或监测卵巢癌还需进一步的研究,包括与临床治疗的关系、与 CA125 的比较。相反,PAI-2 在肿瘤中的表达已证明是一项表明卵巢癌患者预后良好的指标^[485]。

白细胞介素-6(IL-6) 已有报道,在卵巢癌患者血清和腹水中检测到高浓度的 IL-6^[487]。IL-6 与卵巢癌患者的肿瘤体积、临床疾病状态和生存时间相关,这表明 IL-6 可能是一项有用的诊断性标志物。根据多变量分析,研究人员发现血清 IL-6 水平有较好的预后价值,但敏感性较 CA125 低^[488-489]。

人绒毛膜促性腺激素(hCG) 通常 hCG 是由滋养层细胞产生,临床已将其作为妊娠和滋养层细胞疾病的血清或尿液标志物^[490]。然而,异位 hCG 已在各种人类肿瘤中检测到。最近研究表明,血清和尿液总 hCG 免疫反应(尿液 β-hCG 核心片段 hCGβcf) 为卵巢癌提供了一个强有力独立的预后因素,且其预后价值类似于卵巢癌的分级和分期^[491-492]。当血清 hCG 正常时,五年生存率高达 80%,但当血清 hCG 升高时,五年生存率仅为 22%^[491]。在 III 期或 IV 期和微小残留病者中,未检测到 hCG 的患者五年生存率为 75%;如果 hCG 升高,那么五年生存率为 0%。同样,84% 的卵巢癌患者可检测到尿 β-hCGβcf^[492]。尿 β-hCGβcf 阳性率与疾病进展有关,临床分期越高观察到的患者阳性率越高。尽管在手术前这个标志物的应用可方便治疗方案的选择,但是,hCG 及其游离 β 亚单位(β-hCG) 的临床应用对疾病的筛查和诊断是有限的。因为一些其他不同的肿瘤也可产生 hCG 和/或 β-hCG,而仅有小部分卵巢癌表达 hCG 和/或 β-hCG。因此,检测血清 hCG 和/或 β-hCG 或尿液 β-hCGβcf 不能作为卵巢癌的筛查和诊断的一种特异或敏感的手段。

Her-2/neu 原癌基因 c-erbB-2 表达一种跨膜蛋白 p185,其具有酪氨酸激酶活性,又称为 Her-2/neu。通过基因扩增已在包括卵巢癌的几种人类肿瘤中发现 Her-2/neu 基因。在卵巢癌中有 9%~38% 的患者 p105 升高,p105 是 HER-2/neu 蛋白脱去胞外区域形成的^[493-495]。有一研究表明,Her-2/neu 单独检测或与 CA125 联合检测对于鉴别良恶性卵巢癌价值不大。但是,血清中 p105 升高或通过免疫组织化学法检测到肿瘤中 Her-2/neu 的过度表达与恶性肿瘤类型、较高临床分期和临床预后差相关联^[496]。通过筛查 p105 水平升高可确定高危人群^[494],另外,这项检测对监测肿瘤复发具有潜在价值。

AKT2 基因 AKT2 基因是人类 v-akt 基因的同源基因,AKT8 病毒转染的原癌基因,通过实验可诱导小鼠淋巴瘤。编码丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶的 AKT2,由生长因子和其他原癌基因(如人类卵巢癌细胞中 v-Ha-ras 和 v-src 基因)通过人类卵巢癌细胞磷酸肌醇 3-激酶途径被激活^[497-498]。研究表明,大约 12%~36% 的卵巢癌患者,AKT2 基因被扩增或过度表达^[499-501]。然而,在 24 例良性或交界性卵巢癌中未检测到 AKT2 的改变。

有 AKT2 基因改变的卵巢癌患者预后似乎较差。在组织分级或分期较高(III 期或 IV 期)的肿瘤患者中,常可发现 AKT2 基因的扩增,表明如 c-erbB-2 一样 AKT2 基因过表达,可

能与肿瘤的恶化有关。

丝裂原活化蛋白激酶 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK) 的活化源于各种生长信号的刺激,以及上游调节因子 KRAS 和 BRAF 的突变激活所致 在多种人类肿瘤中均可发现。MAPK 的活化激活下游靶蛋白^[502-503],包括多种胞浆蛋白和核蛋白。已有两项研究报道: 卵巢癌组织或腹水细胞中 MAPK 活性的表达与晚期卵巢癌预后较好相关^[504-505]。

抑制素(inhibin) inhibin 是一种糖蛋白,属于转化生长因子 β (TGF β) 家族成员。抑制素 A 和抑制素 B 是由一个 α 亚单位和 β A 或 β B 亚单位通过二硫键连接而成的二聚体^[506-508]。抑制素主要由性腺产生,功能为调节 FSH 的分泌。与 CA125 相反,抑制素与颗粒细胞瘤和黏液瘤相关,而 CA125 与浆液性、子宫内膜及未分化癌相关。另外 α 亚单位具有抑制卵巢癌功能。总抑制素 ELISA 和 CA125 联合检测,检出大多数类型卵巢癌的敏感性与特异性为 95%。

Rsf-1 Rsf-1 在卵巢癌中的临床意义最初是应用染色体数字分型在卵巢癌基因组中通过分析一条新染色体扩增区域 11q13.5 而阐明。Rsf-1 基因属于 SWI/SNF 染色体重建基因家族,Rsf-1 蛋白和 hSNF2h 组成染色体重组复合物 RSF(重建和空间因子)^[509]。已有文献指出,Rsf-1 参与染色体重建^[509]和转录调控^[510-511]。以往研究表明,Rsf-1 基因扩增和过表达与卵巢癌恶性程度最高的类型相关,有 Rsf-1 基因扩增的患者生存期明显缩短^[512-514]。进一步多中心研究需证实 Rsf-1 基因扩增对今后临床实践的临床意义。

NAC-1 NAC-1 基因属于 BTB/POZ 家族,参与一些细胞功能,包括增殖、凋亡、转录调控和维持细胞形态^[515]。最近,已揭示 BTB/POZ 蛋白在人类肿瘤中的功能,如 BCL-6 的几种 BTB/POZ 蛋白参与肿瘤的发展。应用基因表达系列分析(SAGE) 技术,基于分析 130 个基因表达水平所推导 BTB/POZ 基因数据 Nakayama 等人最近已确定 NAC-1 为肿瘤相关 BTB/POZ 基因^[516]。NAC-1 是一种转录抑制物,参与胚胎干细胞的自我更新和多能性^[517]。在卵巢癌中,NAC-1 在高度恶性卵巢癌中明显过度表达,但在交界性和良性囊腺瘤中不过度表达。NAC-1 表达水平与浆液型卵巢癌的复发有关,在原发性卵巢癌中 NAC-1 的强免疫反应预示肿瘤的早期复发^[516-518]。就像 NAC-1 特异性抗体可评估石蜡切片中 NAC-1 蛋白水平一样,单一标志物或结合其他标志物可对卵巢癌患者进行准确预后预测。

NACB 卵巢癌专家组建议 7: 除 CA125 外的其他肿瘤标志物 CA125 是可被推荐作为恶性浆液型卵巢癌临床应用的唯一标志物,新的卵巢癌标志物可为恶性浆液性卵巢癌的应用提供依据,但是,其在目前的诊疗标准中的应用还不确定,还需要在设计合理的临床实验中进一步研究[LOE 不适用; SOR, B]。

肿瘤标志物在卵巢癌中的应用要点

NACB 专家组建议将 CA125 作为唯一卵巢癌标志物临床应用于以下指征: 在遗传综合征中结合反式阴道超声进行早期检测、可疑盆腔包块的鉴别诊断、复发检测、治疗和预后监测。NACB 专家组不建议将 CA125 作为卵巢癌的筛查指标。其他与卵巢癌相关的标志物都仍处于评估或研究/发现阶段,因此,NACB 专家组不建议将这些生物标志物进行临床应用。

(翻译: 郑磊、李江 审校: 沈文梅、田亚平、鄢盛恺)

参考文献

- [1] Field M , Lohr K , eds. Clinical practice guidelines: directions for a new program [M]. Washington DC: National Academy Press , 1990.
- [2] Diamandis EP , Hoffman BR , Sturgeon C. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for the use of tumor markers [J]. Clin Chem , 2008 , 54: 1935-1939.
- [3] Sturgeon CM , Hoffman BR , Chan DW , et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in clinical practice: quality requirements [J]. Clin Chem , 2008 , 54: e1-e10.
- [4] Bosl GJ , Motzer RJ. Testicular germ-cell cancer [J]. N Engl J Med , 1997 , 337: 242-253.
- [5] Mead GM , Stebbing SP. Prognostic factors in metastatic nonseminomatous germ cell tumours: the Medical Research Council studies [J]. Eur Urol , 1993 , 23: 196-200.
- [6] Looijenga LH , Gillis AJ , van Gurp RJ , et al. X inactivation in human testicular tumors. XIST expression and androgen receptor methylation status [J]. Am J Pathol , 1997 , 151: 581-590.
- [7] Looijenga LH , Oosterhuis JW. Pathobiology of testicular germ cell tumors: views and news [J]. Anal Quant Cytol Histol , 2002 , 24: 263-279.
- [8] Woodward P , Heidenreich A , Lhj L. Testicular germ cell tumors: views and news [M]. Lyon: IARC Press , 2004.
- [9] Oosterhuis JW , Looijenga LH , van EJ , et al. Chromosomal constitution and developmental potential of human germ cell tumors and teratomas [J]. Cancer Genet Cytogenet , 1997 , 95: 96-102.
- [10] Huyghe E , Matsuda T , Thonneau P. Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review [J]. J Urol , 2003 , 170: 5-11.
- [11] McGlynn KA , Devesa SS , Sigurdson AJ , et al. Trends in the incidence of testicular germ cell tumors in the United States [J]. Cancer , 2003 , 97: 63-70.
- [12] Oliver RT , Mason MD , Mead GM , et al. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial [J]. Lancet , 2005 , 366: 293-300.
- [13] Tumour markers in germ cell cancer: EGTM recommendations [J]. Anticancer Res , 1999 , 19: 2795-2798.
- [14] Laguna MP , Pizzocaro G , Klepp O , et al. EAU guidelines on testicular cancer [J]. Eur Urol , 2001 , 40: 102-110.
- [15] Fleisher M , Dnistrian A , Sturgeon C , et al. Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical application [M]. Washington: AAC Press , 2002: 33-63.
- [16] Schmoll HJ , Souchon R , Krege S , et al. European consensus on diagnosis and treatment of germ cell cancer: a report of the European Germ Cell Cancer Consensus Group (EGCCCG) [J]. Ann Oncol , 2004 , 15: 1377-1399.
- [17] ESMO Guideline Working Group , Haddart RA. Testicular seminoma: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol , 2007 , 18(Suppl 2) : ii40-ii41.
- [18] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) . Clinical practice guidelines in oncology , testicular cancer. Version 1. 2007 [EB/OL]. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/testicular.pdf (Accessed (Accessed 19th June 2007) .
- [19] Mixed or non-seminomatous germ-cell tumors: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol , 2007 , 18 (Suppl 2) : ii42-ii43.
- [20] Albers P , Albrecht W , Algaba F , et al. Guidelines on testicular cancer [J]. Eur Urol , 2005 , 48: 885-894.
- [21] Huddart R , Kataja V. Testicular seminoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol , 2008 , 19(Suppl 2) : ii49-ii51.
- [22] Mostofi FK , Sesterhenn IA , Davis CJ , Jr. Developments in histopathology of testicular germ cell tumors [J]. Semin Urol , 1988 , 6: 171-188.
- [23] Pugh R. Combined tumours: pathology of testis [M]. Oxford: Blackwell , 1976: 245-258.
- [24] Mostofi FK , Sesterhenn IA , Davis CJ Jr. Immunopathology of germ cell tumors of the testis [J]. Semin Diagn Pathol , 1987 , 4: 320-341.
- [25] Skakkebaek NE. Possible carcinoma-in-situ of the testis [S]. Lancet , 1972 ,

- 2: 516-517.
- [26]Gondos B , Hobel CJ. Ultrastructure of germ cell development in the human fetal testis [J]. Z Zellforsch Mikrosk Anat , 1971 , 119: 1-20.
- [27]Oosterhuis JW , Kersemaekers AM , Jacobsen GK , et al. Morphology of testicular parenchyma adjacent to germ cell tumours. An interim report [J]. APMIS , 2003 , 111: 32-40.
- [28]Rajpert-De ME , Skakkebaek NE. Expression of the c-kit protein product in carcinoma-in-situ and invasive testicular germ cell tumours [J]. Int J Androl , 1994 , 17: 85-92.
- [29]van Gurp RJ , Oosterhuis JW , Kalscheuer V , et al. Biallelic expression of the H19 and IGF2 genes in human testicular germ cell tumors [J]. J Natl Cancer Inst , 1994 , 86: 1070-1075.
- [30]de Gouveia Braza CA , Pierik FH , Oosterhuis JW , et al. Bilateral testicular microlithiasis predicts the presence of the precursor of testicular germ cell tumors in subfertile men [J]. J Urol , 2004 , 171: 158-160.
- [31]Dieckmann KP , Classen J , Loy V. Diagnosis and management of testicular intraepithelial neoplasia (carcinoma in situ)-surgical aspects [J]. APMIS , 2003 , 111: 64-68.
- [32]Motzer RJ , Rodriguez E , Reuter VE , et al. Genetic analysis as an aid in diagnosis for patients with midline carcinomas of uncertain histologies [J]. J Natl Cancer Inst , 1991 , 83: 341-346.
- [33]Rao PH , Houldsworth J , Palanisamy N , et al. Chromosomal amplification is associated with cisplatin resistance of human male germ cell tumors [J]. Cancer Res , 1998 , 58: 4260-4263.
- [34]Roelofs H , Mostert MC , Pompe K , et al. Restricted 12p amplification and RAS mutation in human germ cell tumors of the adult testis [J]. Am J Pathol , 2000 , 157: 1155-1166.
- [35]Zafarana G , Gillis AJ , van Gurp RJ , et al. Coamplification of DAD-R , SOX5 , and EKII in human testicular seminomas , with specific overexpression of DAD-R , correlates with reduced levels of apoptosis and earlier clinical manifestation [J]. Cancer Res 2002 , 62: 1822-1831.
- [36]Spierings DC , de Vries EG , Vellenga E , et al. The attractive Achilles heel of germ cell tumors: an inherent sensitivity to apoptosis-inducing stimuli [J]. J Pathol 2003 , 200: 137-148.
- [37]Masters JR , Koberle B. Curing metastatic cancer: lessons from testicular germ-cell tumors [J]. Nat Rev Cancer , 2003 , 3: 517-525.
- [38]Mayer F , Honecker F , Looijenga LH , et al. Towards an understanding of the biological basis of response to cisplatin-based chemotherapy in germ-cell tumors [J]. Ann Oncol , 2003 , 14: 825-832.
- [39]Mayer F , Gillis AJ , Dinjens W , et al. Microsatellite instability of germ cell tumors is associated with resistance to systemic treatment [J]. Cancer Res , 2002 , 62: 2758-2760.
- [40]Velasco A , Riquelme E , Schultz M , et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity have distinct prognostic value for testicular germ cell tumor recurrence [J]. Cancer Biol Ther , 2004 , 3: 1152-1158; discussion 1159-1161.
- [41]Velasco A , Riquelme E , Schultz M , et al. Mismatch repair gene expression and genetic instability in testicular germ cell tumor [J]. Cancer Biol Ther , 2004 , 3: 977-982.
- [42]Mueller T , Voigt W , Simon H , et al. Failure of activation of caspase-9 induces a higher threshold for apoptosis and cisplatin resistance in testicular cancer [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 513-521.
- [43]van Echten J , Oosterhuis JW , Looijenga LH , et al. No recurrent structural abnormalities apart from i(12p) in primary germ cell tumors of the adult testis [J]. Genes Chromosomes Cancer , 1995 , 14: 133-144.
- [44]Kawakami T , Okamoto K , Ogawa O , et al. XIST unmethylated DNA fragments in male-derived plasma as a tumor marker for testicular cancer [J]. Lancet , 2004 , 363: 40-42.
- [45]Strohmeyer T , Reissmann P , Cordon-Cardo C , et al. Correlation between retinoblastoma gene expression and differentiation in human testicular tumors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A , 1991 , 88: 6662-6666.
- [46]Fan S , Chang JK , Smith ML , et al. Cells lacking CIP1/WAF1 genes exhibit preferential sensitivity to cisplatin and nitrogen mustard [J]. Oncogene , 1997 , 14: 2127-2136.
- [47]Bartkova J , Thullberg M , Rajpert-De Meyts E , et al. Cell cycle regulators in testicular cancer: loss of p18INK4C marks progression from carcinoma in situ to invasive germ cell tumors [J]. Int J Cancer , 2000 , 85: 370-375.
- [48]Mayer F , Stoop H , Scheffer GL , et al. Molecular determinants of treatment response in human germ cell tumors [J]. Clin Cancer Res , 2003 , 9: 767-773.
- [49]Steyerberg EW , Keizer HJ , Habbema JD. Prediction models for the histology of residual masses after chemotherapy for metastatic testicular cancer. ReHiT Study Group [J]. Int J Cancer , 1999 , 83: 856-859.
- [50]Suurmeijer AJ , Oosterhuis JW , Sleijfer DT , et al. Non-seminomatous germ cell tumors of the testis: morphology of retroperitoneal lymph node metastases after chemotherapy [J]. Eur J Cancer Clin Oncol , 1984 , 20: 727-734.
- [51]Rajpert-De Meyts E , Bartkova J , Samson M , et al. The emerging phenotype of the testicular carcinoma in situ germ cell [J]. APMIS , 2003 , 111: 267-278; discussion 278-296.
- [52]Bartkova J , Thullberg M , Rajpert-De Meyts E , et al. Lack of p19INK4d in human testicular germ-cell tumors contrasts with high expression during normal spermatogenesis [J]. Oncogene , 2000 , 19: 4146-4150.
- [53]Bartkova J , Rajpert-De Meyts E , Skakkebaek NE , et al. Dereulation of the G1/S-phase control in human testicular germ cell tumors [J]. APMIS , 2003 , 111: 252-265; discussion 265-266.
- [54]Freedman LS , Parkinson MC , Jones WG , et al. Histopathology in the prediction of relapse of patients with stage I testicular teratoma treated by orchidectomy alone [J]. Lancet , 1987 , 2: 294-298.
- [55]Vergouwe Y , Steyerberg EW , Eijkemans MJ , et al. Predictors of occult metastasis in clinical stage I nonseminoma: a systematic review [J]. J Clin Oncol , 2003 , 21: 4092-4099.
- [56]Albers P , Siener R , Klesch S , et al. Risk factors for relapse in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors: results of the German Testicular Cancer Study Group Trial [J]. J Clin Oncol 2003 , 21: 1505-1512.
- [57]Mazumdar M , Bacik J , Tickoo SK , et al. Cluster analysis of p53 and Ki67 expression , apoptosis , alpha-fetoprotein , and human chorionic gonadotrophin indicates a favorable prognostic subgroup within the embryonal carcinoma germ cell tumor [J]. J Clin Oncol , 2003 , 21: 2679-2688.
- [58]Looijenga LH , Stoop H , de Leeuw HP , et al. POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 2244-2250.
- [59]Cheng L , Thomas A , Roth LM , et al. OCT4: a novel biomarker for dysgerminoma of the ovary [J]. Am J Surg Pathol , 2004 , 28: 1341-1346.
- [60]Jones TD , Ulbright TM , Eble JN , et al. OCT4 staining in testicular tumors: a sensitive and specific marker for seminoma and embryonal carcinoma [J]. Am J Surg Pathol , 2004 , 28: 935-940.
- [61]Rajpert-De ME , Hanstein R , Jorgensen N , et al. Developmental expression of POU5F1 (OCT-3/4) in normal and dysgenetic human gonads [J]. Hum Reprod , 2004 , 19: 1338-1344.
- [62]Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) : SIGN 28. Management of adult testicular germ cell tumors. 1998 [EB/OL]. <http://www.sign.ac.uk/> (Accessed 18th October 2007).
- [63]Germá-Lluch JR , Garcia del Muro X , Maroto P , et al. Clinical pattern and therapeutic results achieved in 1490 patients with germ-cell tumors of the testis: the experience of the Spanish Germ-Cell Cancer Group (GG) [J]. Eur Urol , 2002 , 42: 553-562; discussion 562-553.
- [64]Stenman UH , Alfhahn H , Diamandis EP , et al. Markers for testicular cancer. Tumor markers physiology , pathobiology , technology , and clinical applications [M]. Washington: AAC Press , 2002: 351-359.
- [65]Bosl GJ , Lange PH , Fraley EE , et al. Human chorionic gonadotropin and alfa-fetoprotein in the staging of nonseminomatous testicular cancer [J]. Cancer , 1981 , 47: 328-332.
- [66]International Germ Cell Cancer Collaborative Group. International Germ Cell Consensus Classification: A prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers [J]. J Clin Oncol , 1997 , 15: 594-603.
- [67]Vogelzang NJ. Prognostic factors in metastatic testicular cancer [J]. Int J Androl , 1987 , 10: 225-237.
- [68]Davis BE , Herr HW , Fair WR , et al. The management of patients with non-seminomatous germ cell tumors of the testis with serologic disease only after orchiectomy [J]. J Urol , 1994 , 152: 111-113; discussion 114.
- [69]Rabbani F , Sheinfeld J , Farivar-Mohseni H , et al. Low-volume nodal metastases detected at retroperitoneal lymphadenectomy for testicular cancer: pattern

- and prognostic factors for relapse [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19: 2020-2025.
- [70] Toner GC , Geller NL , Tan C , et al. Serum tumor marker half-life during chemotherapy allows early prediction of complete response and survival in non-seminomatous germ cell tumors [J]. *Cancer Res*, 1990, 50: 5904-5910.
- [71] Coogan CL , Foster RS , Rowland RG , et al. Postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection is effective therapy in selected patients with elevated tumor markers after primary chemotherapy alone [J]. *Urology*, 1997, 50: 957-962.
- [72] Vogelzang NJ , Lange PH , Goldman A , et al. Acute changes of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin during induction chemotherapy of germ cell tumors [J]. *Cancer Res*, 1982, 42: 4855-4861.
- [73] Kohn J. The dynamics of serum alpha-fetoprotein in the course of testicular teratoma [J]. *Scand J Immunol*, 1978, 8 (Suppl 8) : 103.
- [74] Lange PH , Vogelzang NJ , Goldman A , et al. Marker half-life analysis as a prognostic tool in testicular cancer [J]. *J Urol*, 1982, 128: 708-711.
- [75] Mazumdar M , Bajorin DF , Bacik J , et al. Predicting outcome to chemotherapy in patients with germ cell tumors: the value of the rate of decline of human chorionic gonadotrophin and alpha-fetoprotein during therapy [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19: 2534-2541.
- [76] Seckl MJ , Rustin GJ , Bagshawe KD. Frequency of serum tumour marker monitoring in patients with non-seminomatous germ cell tumours [J]. *Br J Cancer*, 1990, 61: 916-918.
- [77] Abelev GI. Alpha-fetoprotein as a marker of embryo-specific differentiations in normal and tumor tissues [J]. *Transplant Rev*, 1974, 20: 3-37.
- [78] Gitlin D , Boesman M. Serum alpha-fetoprotein , albumin , and gamma-G-globulin in the human conceptus [J]. *J Clin Invest*, 1966, 45: 1826-1838.
- [79] Brewer JA , Tank ES. Yolk sac tumors and alpha-fetoprotein in first year of life [J]. *Urology*, 1993, 42: 79-80.
- [80] Blohm ME , Vesterling-Horner D , Calaminus G , et al. Alpha 1-fetoprotein (AFP) reference values in infants up to 2 years of age [J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 1998, 15: 135-142.
- [81] Carroll WL , Kempson RL , Govan DE , et al. Conservative management of testicular endodermal sinus tumor in childhood [J]. *J Urol*, 1985, 133: 1011-1014.
- [82] Huddart SN , Mann JR , Gornall P , et al. The UK Children's Cancer Study Group: testicular malignant germ cell tumours 1979-1988 [J]. *J Pediatr Surg*, 1990, 25: 406-410.
- [83] Christiansen M , Hogdall CK , Andersen JR , et al. Alpha-fetoprotein in plasma and serum of healthy adults: preanalytical , analytical and biological sources of variation and construction of age-dependent reference intervals [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2001, 61: 205-215.
- [84] Beck SD , Patel MI , Sheinfeld J. Tumor marker levels in postchemotherapy cystic masses: clinical implications for patients with germ cell tumors [J]. *J Urol*, 2004, 171: 168-171.
- [85] Germa JR , Llanos M , Tabernero JM , et al. False elevations of alpha-fetoprotein associated with liver dysfunction in germ cell tumors [J]. *Cancer*, 1993, 72: 2491-2494.
- [86] Morris MJ , Bosl GJ. Recognizing abnormal marker results that do not reflect disease in patients with germ cell tumors [J]. *J Urol*, 2000, 163: 796-801.
- [87] Ruoslahti E , Adamson E. Alpha-fetoproteins produced by the yolk sac and the liver are glycosylated differently [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1978, 85: 1622-1630.
- [88] de Takats PG , Jones SR , Penn R , et al. Alpha-fetoprotein heterogeneity: what is its value in managing patients with germ cell tumours? [J] *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 1996, 8: 323-326.
- [89] Perlin E , Engeler JE Jr , Edson M , et al. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumors [J]. *Cancer*, 1976, 37: 215-219.
- [90] Butler SA , Ikram MS , Mathieu S , et al. The increase in bladder carcinoma cell population induced by the free beta subunit of human chorionic gonadotrophin is a result of an antiapoptosis effect and not cell proliferation [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82: 1553-1556.
- [91] Birken S , Yershova O , Myers RV , et al. Analysis of human choriogonadotropin core 2 o-glycan isoforms [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2003, 204: 21-30.
- [92] Vaitukaitis JL. Human chorionic gonadotropin as a tumor marker [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 1974, 4: 276-280.
- [93] Birken S , Berger P , Bidart JM , et al. Preparation and characterization of new WHO reference reagents for human chorionic gonadotropin and metabolites [J]. *Clin Chem*, 2003, 49: 144-154.
- [94] Berger P , Sturgeon C , Bidart JM , et al. The ISOBOm TD-7 Workshop on hCG and related molecules. Towards user-oriented standardization of pregnancy and tumor diagnosis: assignment of epitopes to the three-dimensional structure of diagnostically and commercially relevant monoclonal antibodies directed against human chorionic gonadotropin and derivatives [J]. *Tumour Biol*, 2002, 23: 1-38.
- [95] Bristow A , Berger P , Bidart JM , et al. Establishment , value assignment , and characterization of new WHO reference reagents for six molecular forms of human chorionic gonadotropin [J]. *Clin Chem*, 2005, 51: 177-182.
- [96] Mann K , Saller B , Hoermann R. Clinical use of HCG and hCG beta determinations [J]. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 1993, 216: 97-104.
- [97] Stenman UH , Alftan H , Ranta T , et al. Serum levels of human chorionic gonadotropin in nonpregnant women and men are modulated by gonadotropin-releasing hormone and sex steroids [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987, 64: 730-736.
- [98] Alftan H , Haglund C , Dabek J , et al. Concentrations of human choriogonadotropin , its beta-subunit , and the core fragment of the beta-subunit in serum and urine of men and nonpregnant women [J]. *Clin Chem*, 1992, 38: 1981-1987.
- [99] Lempiainen A , Hotakainen K , Blomqvist C , et al. Increased human chorionic gonadotropin due to hypogonadism after treatment of a testicular seminoma [J]. *Clin Chem*, 2007, 53: 1560-1561.
- [100] Catalona WJ , Vaitukaitis JL , Fair WR. False positive specific human chorionic gonadotropin assays in patients with testicular tumors: conversion to negative with testosterone administration [J]. *J Urol*, 1979, 122: 126-128.
- [101] Stenman UH , Alftan H , Hotakainen K. Human chorionic gonadotropin in cancer [J]. *Clin Biochem*, 2004, 37: 549-561.
- [102] Cole LA , Rinne KM , Shahabi S , et al. False-positive hCG assay results leading to unnecessary surgery and chemotherapy and needless occurrences of diabetes and coma [J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 313-314.
- [103] Saller B , Clara R , Spottl G , et al. Testicular cancer secretes intact human choriogonadotropin (hCG) and its free beta-subunit: evidence that hCG (1hCG-beta) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up [J]. *Clin Chem*, 1990, 36: 234-239.
- [104] Summers J , Raggatt P , Pratt J , et al. Experience of discordant beta hCG results by different assays in the management of non-seminomatous germ cell tumours of the testis [J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 1999, 11: 388-392.
- [105] Li SS , Luedemann M , Sharief FS , et al. Mapping of human lactate dehydrogenase-A , -B , and -C genes and their related sequences: the gene for LDHC is located with that for LDHA on chromosome 11 [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1988, 48: 16-18.
- [106] Looijenga LH , Zafarana G , Grygalewicz B , et al. Role of gain of 12p in germ cell tumour development [J]. *APMIS*, 2003, 111: 161-171.
- [107] Rosenberg C , van Gurp RJ , Geelen E , et al. Overrepresentation of the short arm of chromosome 12 is related to invasive growth of human testicular seminomas and nonseminomas [J]. *Oncogene*, 2000, 19: 5858-5862.
- [108] Summersgill B , Osin P , Lu YJ , et al. Chromosomal imbalances associated with carcinoma in situ and associated testicular germ cell tumours of adolescents and adults [J]. *Br J Cancer*, 2001, 85: 213-220.
- [109] von Eyben FE. A systematic review of lactate dehydrogenase isoenzyme 1 and germ cell tumors [J]. *Clin Biochem*, 2001, 34: 441-454.
- [110] Fishman WH. Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes [J]. *Am J Med*, 1974, 56: 617-650.
- [111] Roelofs H , Manes T , Janszen T , et al. Heterogeneity in alkaline phosphatase isozyme expression in human testicular germ cell tumours: An enzyme-/immunohistochemical and molecular analysis [J]. *J Pathol*, 1999, 189: 236-244.
- [112] Lange PH , Millan JL , Stigbrand T , et al. Placental alkaline phosphatase as a tumor marker for seminoma [J]. *Cancer Res*, 1982, 42: 3244-3247.
- [113] De Broe ME , Pollet DE. Multicenter evaluation of human placental alkaline phosphatase as a possible tumor-associated antigen in serum [J]. *Clin Chem*,

- 1988, 34: 1995-1999.
- [114] Mosselman S , Looijenga LH , Gillis AJ , et al. Aberrant platelet-derived growth factor alpha-receptor transcript as a diagnostic marker for early human germ cell tumors of the adult testis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A , 1996, 93: 2884-2888.
- [115] de Brujin HW , Sleijfer DT , Schraffordt Koops H , et al. Significance of human chorionic gonadotropin, alpha-fetoprotein, and pregnancy-specific beta-1-glycoprotein in the detection of tumor relapse and partial remission in 126 patients with nonseminomatous testicular germ cell tumors [J]. Cancer , 1985, 55: 829-835.
- [116] Kuzmits R , Schernthaner G , Krisch K. Serum neuron-specific enolase. A marker for responses to therapy in seminoma [J]. Cancer , 1987, 60: 1017-1021.
- [117] Fossa SD , Klepp O , Paus E. Neuron-specific enolase-a serum tumour marker in seminoma? [J] Br J Cancer , 1992, 65: 297-299.
- [118] Jemal A , Siegel R , Ward E , et al. Cancer statistics , 2007 [J]. CA Cancer J Clin 2007, 57: 43-66.
- [119] Sakr WA , Grignon DJ. Prostate cancer: indicators of aggressiveness [J]. Eur Urol , 1997, 32 (Suppl 3) : 15-23.
- [120] Hayes DF , Bast RC , Desch CE , et al. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers [J]. J Natl Cancer Inst , 1996, 88: 1456-1466.
- [121] National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) . Prostate cancer: Diagnosis and treatment [EB/OL]. <http://www.nice.org.uk/guidance/index.jsp? action = byID&o = 11924> (Accessed 24th May 2008) .
- [122] Makinen T , Tammela TL , Hakama M , et al. Tumor characteristics in a population-based prostate cancer screening trial with prostate-specific antigen [J]. Clin Cancer Res , 2003, 9: 2435-2439.
- [123] Draisma G , Boer R , Otto SJ , et al. Lead times and overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: estimates from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer [J]. J Natl Cancer Inst , 2003, 95: 868-878.
- [124] Punglia RS , D'Amico AV , Catalona WJ , et al. Effect of verification bias on screening for prostate cancer by measurement of prostate-specific antigen [J]. N Engl J Med , 2003, 349: 335-342.
- [125] Stamey TA , Caldwell M , McNeal JE , et al. The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the last 20 years? [J] J Urol , 2004, 172: 1297-1301.
- [126] Stenman UH , Hakama M , Knekt P , et al. Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with alpha 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer [J]. Lancet , 1994, 344: 1594-1598.
- [127] Gann PH , Hennekens CH , Stampfer MJ. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer [J]. JAMA , 1995, 273: 289-294.
- [128] Thompson IM , Pauley DK , Goodman PJ , et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level , or = 4. 0 ng per milliliter [J]. N Engl J Med , 2004, 350: 2239-2246.
- [129] Whittemore AS , Cirillo PM , Feldman D , et al. Prostate specific antigen levels in young adulthood predict prostate cancer risk: results from a cohort of Black and White Americans [J]. J Urol , 2005, 174: 872-876; discussion 876.
- [130] Lilja H , Ulmert D , Bjork T , et al. Long-term prediction of prostate cancer up to 25 years before diagnosis of prostate cancer using prostate kallikreins measured at age 44 to 50 years [J]. J Clin Oncol , 2007, 25: 431-436.
- [131] Wirth MP , Frohmuller HG. Prostate-specific antigen and prostate acid phosphatase in the detection of early prostate cancer and the prediction of regional lymph node metastases [J]. Eur Urol , 1992, 22: 27-32.
- [132] Kontturi M. Is acid phosphatase (PAP) still justified in the management of prostatic cancer [J]? Acta Oncol , 1991, 30: 169-170.
- [133] Hugosson J , Aus G , Lilja H , et al. Results of a randomized , population-based study of biennial screening using serum prostate-specific antigen measurement to detect prostate carcinoma [J]. Cancer , 2004, 100: 1397-1405.
- [134] Oesterling JE , Jacobsen SJ , Klee GG , et al. Free , complexed and total serum prostate specific antigen: the establishment of appropriate reference ranges for their concentrations and ratios [J]. J Urol , 1995, 154: 1090-1095.
- [135] Aus G , Dammer JE , Khatami A , et al. Individualized screening interval for prostate cancer based on prostate-specific antigen level: results of a prospective , randomized , population-based study [J]. Arch Intern Med , 2005 , 165: 1857-1861.
- [136] Catalona WJ , Richie JP , Ahmann FR , et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men [J]. J Urol , 1994, 151: 1283-1290.
- [137] Crawford ED , Leewansangtong S , Goktas S , et al. Efficiency of prostate-specific antigen and digital rectal examination in screening , using 4. 0 ng/ml and age-specific reference range as a cutoff for abnormal values [J]. Prostate , 1999 , 38: 296-302.
- [138] Smith RA , Cokkinides V , Eyre HJ. American Cancer Society Guidelines for the Early Detection of Cancer , 2005 [J]. CA Cancer J Clin , 2005 , 55: 31-44.
- [139] Graham J , Baker M , Macbeth F , et al. Diagnosis and treatment of prostate cancer: summary of NICE guidance [J]. BMJ , 2008, 336: 610-612.
- [140] Wilt TJ. Commentary: controversies in NICE guidance on prostate cancer [J]. BMJ , 2008 , 336: 612-614.
- [141] Myrtle JF , Klimley PG , Ivor IP , et al. Clinical utility of prostate specific antigen (PSA) in the management of prostate cancer [J]. In: Advance in Cancer Diagnosis [M]. Hybritech Inc , 1986: 1-5.
- [142] Catalona WJ , Smith DS , Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2. 6 to 4. 0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements [J]. JAMA , 1997, 277: 1452-1455.
- [143] Lodding P , Aus G , Bergdahl S , et al. Characteristics of screening detected prostate cancer in men 50 to 66 years old with 3 to 4 ng/ml. Prostate specific antigen [J]. J Urol , 1998, 159: 899-903.
- [144] Thompson IM , Ankerst DP , Chi C , et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial [J]. J Natl Cancer Inst , 2006, 98: 529-534.
- [145] Gann PH. Interpreting recent trends in prostate cancer incidence and mortality [J]. Epidemiology , 1997, 8: 117-120.
- [146] Oesterling JE , Jacobsen SJ , Chute CG , et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges [J]. JAMA , 1993, 270: 860-864.
- [147] Catalona WJ , Smith DS. Comparison of different serum prostate specific antigen measures for early prostate cancer detection [J]. Cancer , 1994, 74: 1516-1518.
- [148] Semjonow AW , Biak P , Gerl A , et al. Tumour markers in prostate cancer: ECTM recommendations [J]. Anticancer Res , 1999, 19: 2799-2801.
- [149] Partin AW , Brawer MK , Bartsch G , et al. Complexed prostate specific antigen improves specificity for prostate cancer detection: results of a prospective multicenter clinical trial [J]. J Urol , 2003, 170: 1787-1791.
- [150] Pettersson K , Piironen T , Seppala M , et al. Free and complexed prostate-specific antigen (PSA) : in vitro stability , epitope map , and development of immunofluorometric assays for specific and sensitive detection of free PSA and PSA-alpha 1-antichymotrypsin complex [J]. Clin Chem , 1995 , 41: 1480-1488.
- [151] Babaian RJ , Fritzsche HA , Evans RB. Prostate-specific antigen and prostate gland volume: correlation and clinical application [J]. J Clin Lab Anal , 1990, 4: 135-137.
- [152] Veneziano S , Pavlica P , Querze R , et al. Correlation between prostate-specific antigen and prostate volume , evaluated by transrectal ultrasonography: usefulness in diagnosis of prostate cancer [J]. Eur Urol , 1990 , 18: 112-116.
- [153] Benson MC , Whang IS , Pantuck A , et al. Prostate specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer [J]. J Urol , 1992 , 147: 815-816.
- [154] Carter HB , Pearson JD , Metter EJ , et al. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease [J]. JAMA , 1992 , 267: 2215-2220.
- [155] Schmid HP , McNeal JE , Stamey TA. Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate-specific antigen in patients with untreated disease as a measure of increasing cancer volume [J]. Cancer , 1993 , 71: 2031-2040.

- [156] Semjonow A , Schmid HP. The rise and fall of PSA: clinical implications of prostate specific antigen kinetics [J]. Urol Res , 2002 , 30: 85-88.
- [157] Lilja H , Christensson A , Dahlén U , et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin [J]. Clin Chem , 1991 , 37: 1618-1625.
- [158] Stenman UH , Leinonen J , Alftan H , et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer [J]. Cancer Res , 1991 , 51: 222-226.
- [159] Catalona WJ , Partin AW , Finlay JA , et al. Use of percentage of free prostate-specific antigen to identify men at high risk of prostate cancer when PSA levels are 2.51 to 4 ng/mL and digital rectal examination is not suspicious for prostate cancer: an alternative model [J]. Urology , 1999 , 54: 220-224.
- [160] Catalona WJ , Partin AW , Slawin KM , et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial [J]. JAMA , 1998 , 279: 1542-1547.
- [161] Raaijmakers R , Blijenberg BG , Finlay JA , et al. Prostate cancer detection in the prostate specific antigen range of 2.0 to 3.9 ng/ml: value of percent free prostate specific antigen on tumor detection and tumor aggressiveness [J]. J Urol , 2004 , 171: 2245-2249.
- [162] Stephan C , Lein M , Jung K , et al. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia [J]. Cancer , 1997 , 79: 104-109.
- [163] Roddam AW , Duffy MJ , Hamdy FC , et al. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis [J]. Eur Urol , 2005 , 48: 386-399; discussion 398-399.
- [164] Lee R , Localio AR , Armstrong K , et al. A meta-analysis of the performance characteristics of the free prostate-specific antigen test [J]. Urology , 2006 , 67: 762-768.
- [165] Oberpenning F , Weining C , Brandt B , et al. Combining free and total prostate specific antigen assays from different manufacturers: the pitfalls [J]. Eur Urol , 2002 , 42: 577-582.
- [166] Lilja H , Haese A , Björk T , et al. Significance and metabolism of complexed and noncomplexed prostate specific antigen forms, and human glandular kallikrein 2 in clinically localized prostate cancer before and after radical prostatectomy [J]. J Urol , 1999 , 162: 2029-2034.
- [167] Allard WJ , Zhou Z , Yeung KK. Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum [J]. Clin Chem , 1998 , 44: 1216-1223.
- [168] Finne P , Zhang WM , Auvinen A , et al. Use of the complex between prostate specific antigen and alpha 1-protease inhibitor for screening prostate cancer [J]. J Urol , 2000 , 164: 1956-1960.
- [169] Lein M , Jung K , Hammerer P , et al. A multicenter clinical trial on the use of alpha 1-antichymotrypsin-prostate-specific antigen in prostate cancer diagnosis [J]. Prostate , 2001 , 47: 77-84.
- [170] Lein M , Kwiatkowski M , Semjonow A , et al. A multicenter clinical trial on the use of complexed prostate specific antigen in low prostate specific antigen concentrations [J]. J Urol , 2003 , 170: 1175-1179.
- [171] Okihara K , Fritzsche HA , Ayala A , et al. Can complexed prostate specific antigen and prostatic volume enhance prostate cancer detection in men with total prostate specific antigen between 2.5 and 4.0 ng./ml [J]. J Urol , 2001 , 165: 1930-1936.
- [172] Keller T , Butz H , Lein M , et al. Discordance analysis characteristics as a new method to compare the diagnostic accuracy of tests: example of complexed versus total prostate-specific antigen [J]. Clin Chem , 2005 , 51: 532-539.
- [173] Moul JW , Sesterhenn IA , Connelly RR , et al. Prostate-specific antigen values at the time of prostate cancer diagnosis in African-American men [J]. JAMA , 1995 , 274: 1277-1281.
- [174] NHS Cancer Screening Programmes: Prostate Cancer Risk Management [EB/OL]. <http://www.cancerscreening.nhs.uk/prostate/index.html> (Accessed 20th October 2007).
- [175] Evans R , Edwards A , Brett J , et al. Reduction in uptake of PSA tests following decision aids: systematic review of current aids and their evaluations [J]. Patient Educ Couns , 2005 , 58: 13-26.
- [176] Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic [J]. Clin Chem , 2002 , 48: 1151-1159.
- [177] Zoorob R , Anderson R , Cefalu C , et al. Cancer screening guidelines [J]. Am Fam Physician , 2001 , 63: 1101-1112.
- [178] Harris R , Lohr KN. Screening for prostate cancer: an update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force [J]. Ann Intern Med , 2002 , 137: 917-929.
- [179] Bangma CH , Roemeling S , Schroder FH. Overdiagnosis and overtreatment of early detected prostate cancer [J]. World J Urol , 2007 , 25: 3-9.
- [180] Schroder FH , Denis LJ , Roobol M , et al. The story of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer [J]. BJU Int , 2003 , 92(Suppl 2) : 1-43.
- [181] de Koning HJ , Liem MK , Baan CA , et al. Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomised Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial [J]. Int J Cancer , 2002 , 98: 268-273.
- [182] Andriole GL , Levin DL , Crawford ED , et al. Prostate Cancer Screening in the Prostate , Lung , Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial: findings from the initial screening round of a randomized trial [J]. J Natl Cancer Inst , 2005 , 97: 433-438.
- [183] Bartsch G , Horninger W , Klocker H , et al. Prostate cancer mortality after introduction of prostate-specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol , Austria [J]. Urology , 2001 , 58: 417-424.
- [184] Oberaigner W , Horninger W , Klocker H , et al. Reduction of prostate cancer mortality in Tyrol , Austria , after introduction of prostate-specific antigen testing [J]. Am J Epidemiol , 2006 , 164: 376-384.
- [185] Xia Z , Jacobsen SJ , Bergstrahl EJ , et al. Secular changes in radical prostatectomy utilization rates in Olmsted County , Minnesota 1980 to 1995 [J]. J Urol , 1998 , 159: 904-908.
- [186] Collin SM , Martin RM , Metcalfe C , et al. Prostate-cancer mortality in the USA and UK in 1975-2004: an ecological study [J]. Lancet Oncol , 2008 , 9: 445-452.
- [187] Hugosson J , Aus G , Becker C , et al. Would prostate cancer detected by screening with prostate-specific antigen develop into clinical cancer if left undiagnosed? A comparison of two population-based studies in Sweden [J]. BJU Int , 2000 , 85: 1078-1084.
- [188] Ilic D , O'Connor D , Green S , et al. Screening for prostate cancer: A Cochrane systematic review [J]. Cancer Causes Control , 2007 , 18(3) : 279-285.
- [189] Hammerer P , Graefen M , Henke RP , et al. Analysis of molecular isoforms of PSA and their ratios in men with PSA-relapse after radical prostatectomy [J]. Anticancer Res , 2000 , 20: 5253-5255.
- [190] Hsu CY , Joniau S , Oyen R , et al. Outcome of surgery for clinical unilateral T3a prostate cancer: a single-institution experience [J]. Eur Urol , 2007 , 51: 121-128; discussion 128-129.
- [191] Narayan P , Gajendran V , Taylor SP , et al. The role of transrectal ultrasound-guided biopsy-based staging, preoperative serum prostate-specific antigen, and biopsy Gleason score in prediction of final pathologic diagnosis in prostate cancer [J]. Urology , 1995 , 46: 205-212.
- [192] Kattan MW , Stapleton AM , Wheeler TM , et al. Evaluation of a nomogram used to predict the pathologic stage of clinically localized prostate carcinoma [J]. Cancer , 1997 , 79: 528-537.
- [193] Partin AW , Kattan MW , Subong EN , et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update [J]. JAMA , 1997 , 277: 1445-1451.
- [194] Ohori M , Kattan MW , Koh H , et al. Predicting the presence and side of extracapsular extension: a nomogram for staging prostate cancer [J]. J Urol , 2004 , 171: 1844-1849.
- [195] D'Amico AV , Chen MH , Roehl KA , et al. Preoperative PSA velocity and the risk of death from prostate cancer after radical prostatectomy [J]. N Engl J Med , 2004 , 351: 125-135.
- [196] D'Amico AV , Manola J , Loffredo M , et al. 6-month androgen suppression

- plus radiation therapy vs radiation therapy alone for patients with clinically localized prostate cancer: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2004, 292: 821-827.
- [197] Carter HB , Ferrucci L , Kettermann A , et al. Detection of life-threatening prostate cancer with prostate-specific antigen velocity during a window of curability [J]. *J Natl Cancer Inst* , 2006, 98: 1521-1527.
- [198] Pontes JE , Jabalami P , Montie J , et al. Prognostic implications of disappearance rate of biologic markers following radical prostatectomy [J]. *Urology* , 1990, 36: 415-419.
- [199] Semjonow A , Hamm M , Rathert P. Half-life of prostate-specific antigen after radical prostatectomy: the decisive predictor of curative treatment? [J]. *Eur Urol* , 1992, 21: 200-205.
- [200] Amling CL , Bergstrahl EJ , Blute ML , et al. Defining prostate specific antigen progression after radical prostatectomy: what is the most appropriate cut point? [J]. *J Urol* , 2001, 165: 1146-1151.
- [201] Pound CR , Partin AW , Eisenberger MA , et al. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy [J]. *JAMA* , 1999, 281: 1591-1597.
- [202] Semjonow A , De Angelis G. "Ultrasensitive" prostate specific antigen (PSA) assays: How low do we want to go?" [J]. *J Lab Med* , 2003, 27: 16-19.
- [203] Stephenson AJ , Scardino PT , Bianco FJ Jr , et al. Salvage therapy for locally recurrent prostate cancer after external beam radiotherapy [J]. *Curr Treat Options Oncol* 2004, 5: 357-365.
- [204] Coquard R , Bachaud J. Report of the 38th meeting of the American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ASTRO) [J]. *Cancer Radiother* , 1997, 1: 88-93.
- [205] Kattan MW , Eastham JA , Stapleton AM , et al. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer [J]. *J Natl Cancer Inst* , 1998, 90: 766-771.
- [206] Kattan MW , Wheeler TM , Scardino PT. Postoperative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer [J]. *J Clin Oncol* , 1999, 17: 1499-1507.
- [207] Price CP , Allard J , Davies G , et al. Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer [J]. *Ann Clin Biochem* 2001, 38: 188-216.
- [208] Oberpenning F , Schmid HP , Fuchs-Surdel W , et al. The impact of intraoperative manipulation of the prostate on total and free prostate-specific antigen [J]. *Int J Biol Markers* 2002, 17: 154-160.
- [209] Bjork T , Ljungberg B , Piironen T , et al. Rapid exponential elimination of free prostate-specific antigen contrasts the slow, capacity-limited elimination of PSA complexed to alpha 1-antichymotrypsin from serum [J]. *Urology* , 1998, 51: 57-62.
- [210] Piironen T , Pettersson K , Suopaa M , et al. In vitro stability of free prostate-specific antigen (PSA) and prostate-specific antigen (PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin in blood samples [J]. *Urology* , 1996, 48: 81-87.
- [211] Woodrum D , French C , Shamel LB. Stability of free prostate-specific antigen in serum samples under a variety of sample collection and sample storage conditions [J]. *Urology* , 1996, 48: 33-39.
- [212] Sturgeon CM , Ellis AR. Improving the comparability of immunoassays for prostate-specific antigen (PSA): Progress and problems [J]. *Clin Chim Acta* 2007, 381: 85-92.
- [213] Graves HC , Kamarei M , Stamey TA. Identity of prostate specific antigen and the semen protein P30 purified by a rapid chromatography technique [J]. *J Urol* , 1990, 144: 1510-1515.
- [214] Vessella RL , Noteboom J , Lange PH. Evaluation of the Abbott IMx automated immunoassay of prostate-specific antigen [J]. *Clin Chem* , 1992, 38: 2044-2054.
- [215] Stamey TA , Teplow DB , Graves HC. Identity of PSA purified from seminal fluid by different methods: comparison by amino acid analysis and assigned extinction coefficients [J]. *Prostate* , 1995, 27: 198-203.
- [216] Rafferty B , Rigsby P , Rose M , et al. Reference reagents for prostate-specific antigen (PSA): establishment of the first international standards for free PSA and PSA (90:10) [J]. *Clin Chem* , 2000, 46: 1310-1317.
- [217] Chan DW , Sokoll LJ. WHO first international standards for prostate-specific antigen: the beginning of the end for assay discrepancies? [J]. *Clin Chem* , 2000, 46: 1291-1292.
- [218] Roddam AW , Rimmer J , Nickerson C , et al. Prostate-specific antigen: bias and molarity of commercial assays for PSA in use in England [J]. *Ann Clin Biochem* , 2006, 43: 35-48.
- [219] Kort SA , Martens F , Vanpoucke H , et al. Comparison of 6 automated assays for total and free prostate-specific antigen with special reference to their reactivity toward the WHO 96/670 reference preparation [J]. *Clin Chem* , 2006, 52: 1568-1574.
- [220] Stephan C , Klaas M , Muller C , et al. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update [J]. *Clin Chem* , 2006, 52: 59-64.
- [221] Singh R , Cahill D , Popert R , et al. Repeating the measurement of prostate-specific antigen in symptomatic men can avoid unnecessary prostatic biopsy [J]. *BJU Int* , 2003, 92: 932-935.
- [222] Eastham JA , Riedel E , Scardino PT , et al. Variation of serum prostate-specific antigen levels: an evaluation of year-to-year fluctuations [J]. *JAMA* , 2003, 289: 2695-2700.
- [223] Soletormos G , Semjonow A , Sibley PE , et al. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice [J]. *Clin Chem* , 2005, 51: 1342-1351.
- [224] Bruun L , Becker C , Hugosson J , et al. Assessment of intra-individual variation in prostate-specific antigen levels in a biennial randomized prostate cancer screening program in Sweden [J]. *Prostate* , 2005, 65: 216-221.
- [225] Bunting PS , DeBoer G , Choo R , et al. Intraindividual variation of PSA, free PSA and complexed PSA in a cohort of patients with prostate cancer managed with watchful observation [J]. *Clin Biochem* , 2002, 35: 471-475.
- [226] Cristofanilli M , Budd GT , Ellis MJ , et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer [J]. *N Engl J Med* , 2004, 351: 781-791.
- [227] Allard WJ , Matera J , Miller MC , et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with non-malignant diseases [J]. *Clin Cancer Res* , 2004, 10: 6897-6904.
- [228] Moreno JG , Miller MC , Gross S , et al. Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer [J]. *Urology* , 2005, 65: 713-718.
- [229] Rissane M , Helo P , Vaananen RM , et al. Novel homogenous time-resolved fluorometric RT-PCR assays for quantification of PSA and hK2 mRNAs in blood [J]. *Clin Biochem* , 2007, 40: 111-118.
- [230] Parkin DM , Bray F , Ferlay J , et al. Global cancer statistics, 2002 [J]. *CA Cancer J Clin* , 2005, 55: 74-108.
- [231] Davies RJ , Miller R , Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis [J]. *Nat Rev Cancer* , 2005, 5: 199-209.
- [232] Sabin LH WCE. TNM: Classification of malignant tumors. 6th ed [M]. New York, NY: Wiley-Liss , 2002.
- [233] Greene FL , Oage DL , Fleming ID , et al. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual [M]. New York: Springer-Verlag , 2002.
- [234] Compton C , Fenoglio-Preiser CM , Pettigrew N , et al. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group [J]. *Cancer* , 2000, 88: 1739-1757.
- [235] NIH Consensus Conference. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer [J]. *JAMA* , 1990, 264: 1444-1450.
- [236] Gill S , Loprinzi CL , Sargent DJ , et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? [J]. *J Clin Oncol* , 2004, 22: 1797-1806.
- [237] Benson AB , III , Schrag D , Somerfield MR , et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer [J]. *J Clin Oncol* , 2004, 22: 3408-3419.
- [238] Kewit J. Follow-up of patients with colorectal cancer: numbers needed to test and treat [J]. *Eur J Cancer* , 2002, 38: 986-999.
- [239] Fletcher RH. Carcinoembryonic antigen [J]. *Ann Intern Med* , 1986, 104: 66-73.
- [240] Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? [J]. *Clin Chem* , 2001, 47: 624-630.
- [241] Goldstein MJ , Mitchell EP. Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer [J]. *Cancer Invest* , 2005, 23:

- 338-351.
- [242] Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. Adopted on May 17, 1996 by the American Society of Clinical Oncology [J]. J Clin Oncol, 1996, 14: 2843-2877.
- [243] Bast RC Jr, Raydin P, Hayes DF et al. 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology [J]. J Clin Oncol, 2001, 19: 1865-1878.
- [244] Locker GY, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer [J]. J Clin Oncol, 2006, 24: 5313-5327.
- [245] Klapdor R, Aronsson AC, Duffy MJ et al. Tumor markers in gastrointestinal cancers: ECTM recommendations [J]. Anticancer Res, 1999, 19: 2811-2815.
- [246] Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, et al. Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines [J]. Eur J Cancer, 2003, 39: 718-727.
- [247] Grem J. The prognostic importance of tumor markers in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract [J]. Curr Opin Oncol, 1997, 9: 380-387.
- [248] Watine J, Miedouze M, Friedberg B. Carcinoembryonic antigen as an independent prognostic factor of recurrence and survival in patients resected for colorectal liver metastases: a systematic review [J]. Dis Colon Rectum, 2001, 44: 1791-1799.
- [249] Watine J, Friedberg B. Laboratory variables and stratification of metastatic colorectal cancer patients: recommendations for therapeutic trials and for clinical practice guidelines [J]. Clin Chim Acta, 2004, 345: 1-15.
- [250] Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999 [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124: 979-994.
- [251] Bruynvels DJ, Stiggelbout AM, Kievit J, et al. Follow-up of patients with colorectal cancer. A meta-analysis [J]. Ann Surg, 1994, 219: 174-182.
- [252] Rosen M, Chan L, Beart RW Jr et al. Followup of colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Dis Colon Rectum, 1998, 41: 1116-1126.
- [253] Renehan AG, Egger M, Saunders MP et al. Impact on survival of intensive follow up after curative resection for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis of randomised trials [J]. BMJ, 2002, 324: 813-820.
- [254] Figueiredo A, Rumble RB, Maroun J et al. Follow-up of patients with curatively resected colorectal cancer: a practice guideline [J]. BMC Cancer, 2003, 3: 26-38.
- [255] Jeffrey GM, Hickey BE. Follow-up strategies for patients treated for nonmetastatic colorectal cancer (Cochrane Review). The Cochrane Library. Vol. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 2004.
- [256] Tjandra JJ, Chan MK. Follow-up after curative resection of colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Dis Colon Rectum, 2007, 50: 1783-1799.
- [257] Desch CE, Benson AB 3rd, Somerfield MR et al. Colorectal cancer surveillance: 2005 update of an American Society of Clinical Oncology practice guideline [J]. J Clin Oncol, 2005, 23: 8512-8519.
- [258] Thirion P, Michiels S, Pignon JP et al. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis [J]. J Clin Oncol, 2004, 22: 3766-3775.
- [259] Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2005, 352: 476-487.
- [260] Gkolimpoulos V, Salanti G, Pavlidis N et al. Survival and disease-progression benefits with treatment regimens for advanced colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Lancet Oncol, 2007, 8: 898-911.
- [261] Duffy MJ. CA 19-9 as a marker for gastrointestinal cancers: a review [J]. Ann Clin Biochem, 1998, 35 (Pt 3): 364-370.
- [262] Carpelan-Holmstrom M, Louhimo J, Stenman UH et al. CEA, CA 19-9 and CA 72-4 improve the diagnostic accuracy in gastrointestinal cancers [J]. Anticancer Res, 2002, 22: 2311-2316.
- [263] Carpelan-Holmstrom M, Louhimo J, Stenman UH et al. CEA, CA242, CA 19-9, CA 72-4 and hCGbeta in the diagnosis of recurrent colorectal cancer [J]. Tumour Biol, 2004, 25: 228-234.
- [264] Lindmark G, Bergstrom R, Pahlman L et al. The association of preoperative serum tumour markers with Dukes' stage and survival in colorectal cancer [J]. Br J Cancer, 1995, 71: 1090-1094.
- [265] Nakayama T, Watanabe M, Teramoto T et al. CA19-9 as a predictor of recurrence in patients with colorectal cancer [J]. J Surg Oncol, 1997, 66: 238-243.
- [266] Reiter W, Stieber P, Reuter C et al. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer [J]. Anticancer Res, 2000, 20: 5195-5198.
- [267] Behbehani AI, Al-Sayer H, Farghaly M et al. Prognostic significance of CEA and CA 19-9 in colorectal cancer in Kuwait [J]. Int J Biol Markers, 2000, 15: 51-55.
- [268] Filella X, Molina R, Pique JM et al. Use of CA 19-9 in the early detection of recurrences in colorectal cancer: comparison with CEA [J]. Tumour Biol, 1994, 15: 1-6.
- [269] Nilsson O, Johansson C, Glimelius B, et al. Sensitivity and specificity of CA242 in gastro-intestinal cancer. A comparison with CEA, CA50 and CA 19-9 [J]. Br J Cancer, 1992, 65: 215-221.
- [270] Carpelan-Holmstrom M, Haglund C, Lundin J et al. Independent prognostic value of preoperative serum markers CA242, specific tissue polypeptide antigen and human chorionic gonadotrophin beta, but not of carcinoembryonic antigen or tissue polypeptide antigen in colorectal cancer [J]. Br J Cancer, 1996, 74: 925-929.
- [271] Carpelan-Holmstrom M, Haglund C, Lundin J, et al. Pre-operative serum levels of CA242 and CEA predict outcome in colorectal cancer [J]. Eur J Cancer, 1996, 32A: 1156-1161.
- [272] Holten-Andersen MN, Christensen IJ, Nielsen HJ et al. Total levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in plasma yield high diagnostic sensitivity and specificity in patients with colon cancer [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8: 156-164.
- [273] Holten-Andersen MN, Fenger C, Nielsen HJ et al. Plasma TIMP-4 in patients with colorectal adenomas: a prospective study [J]. Eur J Cancer, 2004, 40: 2159-2164.
- [274] Holten-Andersen MN, Stephens RW, Nielsen HJ, et al. High preoperative plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels are associated with short survival of patients with colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 4292-4299.
- [275] Holten-Andersen MN, Christensen IJ, Nilbert M, et al. Association between preoperative plasma levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and rectal cancer patient survival: a validation study [J]. Eur J Cancer, 2004, 40: 64-72.
- [276] Johnston PG, Benson AB, III, Catalano P et al. Thymidylate synthase protein expression in primary colorectal cancer: lack of correlation with outcome and response to fluorouracil in metastatic disease sites [J]. J Clin Oncol, 2003, 21: 815-819.
- [277] Edler D, Glimelius B, Hallstrom M, et al. Thymidylate synthase expression in colorectal cancer: a prognostic and predictive marker of benefit from adjuvant fluorouracil-based chemotherapy [J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 1721-1728.
- [278] Allegro C. Thymidylate synthase levels: prognostic, predictive, or both? [J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 1711-1713.
- [279] Popat S, Matakidou A, Houlston RS. Thymidylate synthase expression and prognosis in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. J Clin Oncol, 2004, 22: 529-536.
- [280] Aschele C, Lonardi S, Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2002, 28: 27-47.
- [281] Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with an improved prognosis at the population level [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 10: 917-923.
- [282] Kohonen-Corish MR, Daniel JJ, Chan C, et al. Low microsatellite instability is associated with poor prognosis in stage C colon cancer [J]. J Clin Oncol, 2005, 23: 2318-2324.
- [283] Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis [J]. J Clin Oncol, 2005, 23: 609-618.
- [284] Elsahly H, Powell B, McCaul K, et al. P53 alteration and microsatellite instability have predictive value for survival benefit from chemotherapy in stage III colorectal carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7: 1343-1349.
- [285] Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status

- as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer [J]. N Engl J Med 2003; 349: 247-257.
- [286] Shibata D , Reale MA , Lavin P , et al. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer [J]. N Engl J Med ,1996; 335: 1727-1732.
- [287] Aschehle C , Debernardis D , Lonardi S , et al. Deleted in colon cancer protein expression in colorectal cancer metastases: a major predictor of survival in patients with unresectable metastatic disease receiving palliative fluorouracil-based chemotherapy [J]. J Clin Oncol 2004; 22: 3758-3765.
- [288] Popat S , Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype , DCC status and colorectal cancer prognosis [J]. Eur J Cancer 2005; 41: 2060-2070.
- [289] Skelly MM , Troy A , Duffy MJ , et al. Urokinase-type plasminogen activator in colorectal cancer: relationship with clinicopathological features and patient outcome [J]. Clin Cancer Res ,1997; 3: 1837-1840.
- [290] Mulcahy HE , Duffy MJ , Gibbons D , et al. Urokinase-type plasminogen activator and outcome in Dukes' B colorectal cancer [J]. Lancet ,1994; 344: 583-584.
- [291] Yang JL , Seetoo D , Wang Y , et al. Urokinase-type plasminogen activator and its receptor in colorectal cancer: independent prognostic factors of metastasis and cancer-specific survival and potential therapeutic targets [J]. Int J Cancer 2000; 89: 431-439.
- [292] Andreyev HJ , Norman AR , Cunningham D , et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study [J]. Br J Cancer , 2001; 85: 692-696.
- [293] Munro AJ , Lain S , Lane DP. P53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review [J]. Br J Cancer 2005; 92: 434-444.
- [294] Lievre A , Bachet JB , Boige V , et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab [J]. J Clin Oncol 2008; 26: 374-379.
- [295] De Roock W , Piessevaux H , De Schutter J , et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab [J]. Ann Oncol 2008; 19: 508-515.
- [296] Lievre A , Bachet JB , Le Corre D , et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer [J]. Cancer Res 2006; 66: 3992-3995.
- [297] Amado RG , Wolf M , Peeters M , et al. Wild-type KRAS is required for pan-tumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer [J]. J Clin Oncol 2008; 26: 1626-1634.
- [298] Allison JE , Lawson M. Screening tests for colorectal cancer: a menu of options remains relevant [J]. Curr Oncol Rep 2006; 8: 492-498.
- [299] Imperiale TF , Jemal A , Siegel R , et al. Quantitative immunochemical fecal occult blood tests: is it time to go back to the future? [J]. Ann Intern Med , 2007; 146: 309-311.
- [300] Allison JE , Tekawa IS , Ransom LJ , et al. A comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening [J]. N Engl J Med ,1996; 334: 155-159.
- [301] Allison JE , Sakoda LC , Levin TR , et al. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics [J]. J Natl Cancer Inst 2007; 99: 1462-1470.
- [302] Mandel JS , Bond JH , Church TR , et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study [J]. N Engl J Med ,1993; 328: 1365-1371.
- [303] Kronborg O , Fenger C , Olsen J , et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test [J]. Lancet ,1996; 348: 1467-1471.
- [304] Mandel JS , Church TR , Bond JH , et al. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer [J]. N Engl J Med ,2000; 343: 1603-1607.
- [305] Hardcastle JD , Chamberlain JO , Robinson MH , et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer [J]. Lancet ,1996 , 348: 1472-1477.
- [306] Towler BP IL , Glasziou P , Weller D , et al. Screening for colorectal cancer using the fecal occult blood test ,Haemoccult [S]. Cochrane Database Sys Rev 2 CD001216 1998.
- [307] Allison JE. Colon Cancer Screening Guidelines 2005: the fecal occult blood test option has become a better FIT [J]. Gastroenterology ,2005 ,129: 745-748.
- [308] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology [EB/OL]. Colorectal Cancer Screening. Version 1. www. nccn.org/physician_gls? PDF/colorectal_screening.pdf (Accessed 11 October 2006).
- [309] Smith RA , von Eschenbach AC , Wender R , et al. American cancer society guidelines for the early detection of cancer: update of early detection guidelines for prostate , colorectal , and endometrial cancers. Also: update 2001- testing for early lung cancer detection [J]. CA Cancer J Clin ,2001 ;51: 38-75.
- [310] US Preventive Services Task Force. Screening for colorectal cancer: recommendation and rationale [J]. Ann Intern Med 2002; 137: 129-131.
- [311] Smith RA , Cokkinides V , Eyer HJ. American cancer society guidelines for the early detection of cancer ,2006 [J]. CA Cancer J Clin 2006; 56: 11-25; quiz 49-50.
- [312] Hewitson P , Glasziou P , Irwig L , et al. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test , Hemoccult [S]. Cochrane Database Syst Rev , 2007; CD001216.
- [313] Sidransky D , Tokino T , Hamilton SR , et al. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors [J]. Science , 1992; 256: 102-105.
- [314] Ahlquist DA , Skoletsky JE , Boynton KA , et al. Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: feasibility of a multitarget assay panel [J]. Gastroenterology 2000; 119: 1219-1227.
- [315] Dong SM , Traverso G , Johnson C , et al. Detecting colorectal cancer in stool with the use of multiple genetic targets [J]. J Natl Cancer Inst 2001; 93: 858-865.
- [316] Ahlquist DA , Shuber AP. Stool screening for colorectal cancer: evolution from occult blood to molecular markers [J]. Clin Chim Acta ,2002 ,315: 157-168.
- [317] Imperiale TF , Ransohoff DF , Itzkowitz SH , et al. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population [J]. N Engl J Med 2004; 351: 2704-2714.
- [318] Song K , Fendrick AM , Ladabaum U. Fecal DNA testing compared with conventional colorectal cancer screening methods: a decision analysis [J]. Gastroenterology 2004; 126: 1270-1279.
- [319] Loganayagam A. Faecal screening of colorectal cancer [J]. Int J Clin Pract , 2007 , In press.
- [320] Levin B , Lieberman DA , McFarland B , et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps ,2008: a joint guideline from the American Cancer Society , the US Multi-Society task force on colorectal cancer , and the American college of radiology [J]. Gastroenterology 2008; 134: 1570-1595.
- [321] Levin B , Lieberman DA , McFarland B , et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps ,2008: a joint guideline from the American cancer society , the US multi-society task force on colorectal cancer , and the American college of radiology [J]. CA Cancer J Clin 2008; 58: 130-160.
- [322] American Gastroenterological Association Medical Position statement: Hereditary colorectal cancer and genetic testing [J]. Gastroenterology ,2001 ,121: 195-197.
- [323] Giardiello FM , Brensinger JD , Petersen GM. AGA technical review on hereditary colorectal cancer and genetic testing [J]. Gastroenterology ,2001 ,121: 198-213.
- [324] American Society of Clinical Oncology policy statement update: Genetic testing for cancer susceptibility [J]. J Clin Oncol 2003; 21: 2397-2406.
- [325] Guillem JG , Wood WC , Moley J , et al. ASCO/SSO review of current role of riskreducing surgery in common hereditary cancer syndromes [J]. J Clin Oncol 2006; 24: 4642-4660.
- [326] Lynch HT , Boland CR , Rodriguez-Bigas MA , et al. Who should be sent for genetic testing in hereditary colorectal cancer syndromes? [J]. J Clin Oncol , 2007; 25: 3534-3542.
- [327] Pisani P , Bray F , Parkin DM. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population [J]. Int J Cancer 2002; 97: 72-81.
- [328] Hewitt M , Breen N , Devesa S. Cancer prevalence and survivorship issues:

- analyses of the 1992 National Health Interview Survey [J]. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1480-1486.
- [329] Peto R , Boreham J , Clarke M *et al*. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years [J]. *Lancet* 2000; 355: 1822.
- [330] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) . Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials [J]. *Lancet* ,2005 , 365: 1687-1717.
- [331] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials [J]. *Lancet* , 1998 , 351: 1451-1467.
- [332] Morris AD , Morris RD , Wilson JF *et al*. Breast-conserving therapy vs mastectomy in early-stage breast cancer: a meta-analysis of 10-year survival [J]. *Cancer J Sci Am* ,1997 , 3: 6-12.
- [333] Khatcheressian JL , Wolff AC , Smith TJ *et al*. American society of clinical oncology 2006 update of the breast cancer follow-up and management guidelines in the adjuvant setting [J]. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5091-5097.
- [334] Bernard-Marty C , Cardoso F , Piccart MJ. Facts and controversies in systemic treatment of metastatic breast cancer [J]. *Oncologist* 2004; 9: 617-632.
- [335] Colozza M , de Azambuja E , Cardoso F *et al*. Breast cancer: achievements in adjuvant systemic therapies in the pre-genomic era [J]. *Oncologist* 2006; 11: 111-125.
- [336] Harvey JM , Clark GM , Osborne CK *et al*. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer [J]. *J Clin Oncol* ,1999 ,17: 1474-1481.
- [337] Elledge RM , Green S , Pugh R *et al*. Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR) , by ligand-binding assay compared with ER , PgR and pS2 , by immuno-histochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study [J]. *Int J Cancer* , 2000; 89: 111-117.
- [338] McCarty KS Jr , Miller LS , Cox EB *et al*. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal anti-receptor antibodies [J]. *Arch Pathol Lab Med* ,1985 ,109: 716-721.
- [339] Barnes DM , Harris WH , Smith P *et al*. Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients [J]. *Br J Cancer* ,1996 ; 74: 1445-1451.
- [340] Pertschuk LP , Feldman JG , Kim YD *et al*. Estrogen receptor immunocytochemistry in paraffin embedded tissues with ER1D5 predicts breast cancer endocrine response more accurately than H222Sp gamma in frozen sections or cytosol-based ligand-binding assays [J]. *Cancer* ,1996 ; 77: 2514-2519.
- [341] Fisher ER , Anderson S , Dean S *et al*. Solving the dilemma of the immunohistochemical and other methods used for scoring estrogen receptor and progesterone receptor in patients with invasive breast carcinoma [J]. *Cancer* ,2005 , 103: 164-173.
- [342] Chebil G , Bendahl PO , Ferno M. Estrogen and progesterone receptor assay in paraffin-embedded breast cancer-reproducibility of assessment [J]. *Acta Oncol* 2003; 42: 43-47.
- [343] Mohsin SK , Weiss H , Havighurst T *et al*. Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study [J]. *Mod Pathol* 2004; 17: 1545-1554.
- [344] Leake R , Barnes D , Pinder S *et al*. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. UK Receptor Group , UK NEQAS , The Scottish Breast Cancer Pathology Group , and The Receptor and Biomarker Study Group of the EORTC [J]. *J Clin Pathol* 2000; 53: 634-635.
- [345] Fitzgibbons PL , Page DL , Weaver D *et al*. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999 [J]. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-978.
- [346] Wolff AC , Hammond ME , Schwartz JN *et al*. American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer [J]. *J Clin Oncol* , 2007; 25: 118-145.
- [347] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology , Breast Cancer [EB/OL]. Version 2 ,2007. <http://www>.
- <http://www>.org/patients/patient_gls/_english/_breast/contents.asp (Accessed 14 April 2007) .
- [348] Yamauchi H , Stearns V , Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer [J]. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2334-2356.
- [349] Duffy MJ. Predictive markers in breast and other cancers: a review [J]. *Clin Chem* 2005; 51: 494-503.
- [350] Goldhirsch A , Wood WC , Gelber RD *et al*. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer [J]. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3357-3365.
- [351] Gennari A , Sormani MP , Pronzato P *et al*. HER2 status and efficacy of adjuvant anthracyclines in early breast cancer: a pooled analysis of randomized trials [J]. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 14-20.
- [352] Pritchard KI , Shepherd LE , O'Malley FP *et al*. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy [J]. *N Engl J Med* ,2006 ,354: 2103-2111.
- [353] Esteva FJ , Cheli CD , Fritzsche H *et al*. Clinical utility of serum HER2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies [J]. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R436-R443.
- [354] Bartlett J , Mallon E , Cooke T. The clinical evaluation of HER-2 status: which test to use? [J]. *J Pathol* 2003; 199: 411-417.
- [355] Pauletti G , Dandekar S , Rong H *et al*. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu alteration in human breast cancer: a direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry [J]. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3651-3664.
- [356] Press MF , Hung G , Godolphin W *et al*. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression [J]. *Cancer Res* ,1994 ,54: 2771-2777.
- [357] Press MF , Slamon DJ , Flom KJ *et al*. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens [J]. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3095-3105.
- [358] Bartlett JMS , Going JJ , Mallon EA *et al*. Evaluating HER-2 amplification and over expression in breast cancer [J]. *J Pathol* 2001; 195: 422-428.
- [359] Birner P , Oberhuber G , Stani J *et al*. Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved scoring and test system of HER-2 protein expression in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1669-1675.
- [360] Yaziji H , Goldstein LC , Barry TS *et al*. HER-2 testing in breast cancer using parallel tissuebased methods [J]. *JAMA* 2004; 291: 1972-1977.
- [361] Look MP , van Putten WL , Duffy MJ *et al*. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients [J]. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 116-128.
- [362] Janicke F , Precht A , Thomassen C *et al*. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk , lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 [J]. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 913-920.
- [363] Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 , as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies [J]. *Clin Chem* 2002; 48: 1194-1197.
- [364] Harbeck N , Kates RE , Schmitt M. Clinical relevance of invasion factors urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 for individualized therapy decisions in primary breast cancer is greatest when used in combination [J]. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1000-1007.
- [365] Harbeck N , Kates RE , Look MP *et al*. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424) [J]. *Cancer Res* 2002; 62: 4617-4622.
- [366] Benraad TJ , Geurts-Moespot J , Grondahl-Hansen J *et al*. Immunoassays (ELISA) of urokinase-type plasminogen activator (uPA): report of an EORTC/BIOMED-1 workshop [J]. *Eur J Cancer* ,1996; 32A: 1371-1381.
- [367] Sweep CG , Geurts-Moespot J , Grebenshchikov N *et al*. External quality assessment of trans-European multicentre antigen determinations (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase-type plasminogen activator(uPA) and its type 1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer tissue extracts [J].

- Br J Cancer 1998; 78: 1434-1441.
- [368] Janicke F , Pache L , Schmitt M *et al*. Both the cytosols and detergent extracts of breast cancer tissues are suited to evaluate the prognostic impact of the urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor , plasminogen activator inhibitor type 1 [J]. Cancer Res ,1994 ,54: 2527-2530.
- [369] Abrahama RS , Thomassen C , Harbeck N *et al*. Micromethod for determination of uPA and PAI-1 from preoperative core-needle biopsies in breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat 2003; 82: S144.
- [370] Schmitt M , Lienert S , Prechtel D *et al*. The urokinase protease system as a target for breast cancer prognosis and therapy: technical considerations. Procedure for the quantitative determination of urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 in human breast cancer tissue extracts by ELISA , Vol. : Breast Cancer Protocols ,2005.
- [371] Molina R , Barak V , van DA *et al*. Tumor markers in breast cancer -European Group on Tumor Markers recommendations [J]. Tumour Biol ,2005 ;26: 281-293.
- [372] Pestalozzi BC , Luporsi-Gely E , Jost LM *et al*. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis , adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer [J]. Ann Oncol 2005 ;16 Suppl 1: i7-49.
- [373] Kataja VV , Colleoni M , Bergh J. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis , treatment and follow-up of locally recurrent or metastatic breast cancer (MBQ) [J]. Ann Oncol 2005 ;16 Suppl 1: i10-i12.
- [374] Goldhirsch A , Wood WC , Gelber RD *et al*. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007 [J]. Ann Oncol 2007 ;18: 1133-1144.
- [375] Harris L , Fritzsche H , Mennel R *et al*. American society of clinical oncology 2007 Update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer [J]. J Clin Oncol 2007 In press. [e-pub ahead of print].
- [376] Jager W. The early detection of disseminated (metastasized) breast cancer by serial tumour marker measurements [J]. Eur J Cancer Prev ,1993 ;2 Suppl 3: 133-139.
- [377] Nicolini A , Anselmi L , Michelassi C *et al*. Prolonged survival by 'early' salvage treatment of breast cancer patients: a retrospective 6-year study [J]. Br J Cancer ,1997 ;76: 1106-1111.
- [378] Kovner F , Merimsky O , Hareveni M *et al*. Treatment of disease-negative but mucin-like carcinoma-associated antigen-positive breast cancer patients with tamoxifen: preliminary results of a prospective controlled randomized trial [J]. Cancer Chemother Pharmacol ,1994 ;35: 80-83.
- [379] Hayes DF , Kiang DT , Korzum AH *et al*. CA15-3 and CEA spikes during chemotherapy for metastatic breast cancer [J]. Proc Am Soc Clin Oncol , 1998 ;7: 38.
- [380] Yasasever V , Dincer M , Camlica H *et al*. Utility of CA15-3 and CEA in monitoring breast cancer patients with bone metastases: special emphasis on " spiking" phenomena [J]. Clin Biochem ,1997 ;30: 53-56.
- [381] Duffy MJ. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value [J] ? Clin Chem 2006 ;52: 345-351.
- [382] Burke W , Daly M , Garber J *et al*. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II BRCA1 and BRCA2. Cancer Genetics Studies Consortium [J]. JAMA ,1997 ;277: 997-1003.
- [383] Nelson HD , Huffman LH , Fu R *et al*. Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: systematic evidence review for the U. S. Preventive Services Task Force [J]. Ann Intern Med 2005 ;143: 362-379.
- [384] US Preventive Services Task Force. Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: Recommendation statement [J]. Ann Intern Med 2005 ;143: 355-361.
- [385] Sotiriou C , Piccart MJ. Taking gene-expression profiling to the clinic: when will molecular signatures become relevant to patient care? [J] Nat Rev Cancer 2007 ;7: 545-553.
- [386] Fan C , Oh DS , Wessels L *et al*. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer[J]. N Engl J Med 2006 ;355: 560-569.
- [387] van't Veer LJ , Dai H , van dV *et al*. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer[J]. Nature 2002 ;415: 530-536.
- [388] van de Vijver MJ , He YD , van't Veer LJ *et al*. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer [J]. N Engl J Med 2002 ;347: 1999-2009.
- [389] Buyse M , Loi S , van't Veer L *et al*. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer [J]. J Natl Cancer Inst 2006 ;98: 1183-1192.
- [390] Cardoso F , Van't Veer L , Rutgers E *et al*. Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial [J]. J Clin Oncol 2008 ;26: 729-735.
- [391] Paik S. Development and clinical utility of a 21-gene recurrence score prognostic assay in patients with early breast cancer treated with tamoxifen [J]. Oncologist 2007 ;12: 631-635.
- [392] Paik S , Shak S , Tang G *et al*. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated node-negative breast cancer [J]. N Engl J Med 2005 ;347: 2817-2826.
- [393] Habel LA , Shak S , Jacobs MK *et al*. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients [J]. Breast Cancer Res 2006 ;8: R25.
- [394] Gianni L , Zambetti M , Clark K *et al*. Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer [J]. J Clin Oncol 2005 ;23: 7265-7277.
- [395] Paik S , Tang G , Shak S *et al*. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with nodenegative , estrogen receptor-positive breast cancer [J]. J Clin Oncol 2006 ;24: 3726-3734.
- [396] Sparano JA , Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. J Clin Oncol 2008 ;26: 721-728.
- [397] American Cancer Society Statistics for 2006 [EB/OL]. http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp (Accessed 25th May ,2007) .
- [398] International Agency for Research on Cancer: Cancer Mondial [EB/OL]. http://www-dep.iarc.fr/ (Accessed May 25th ,2007) .
- [399] Young RH , Clement PB , Scully RE , Sternberg SS. The Ovary. Diagnostic Surgical Pathology , Vol. 3 [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins ,1999: 2307-2394.
- [400] Scully RE. World Health Organization International Histological Classification of Tumours [M]. New York: Springer ,1999.
- [401] Seidman JD , Horkayne-Szakaly I , Haiba M , *et al*. The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin [J]. Int J Gynecol Pathol ,2004 ;23: 41-44.
- [402] Shih I , Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis [J]. Am J Pathol ,2004 ;164: 1511-1518.
- [403] Bonfrer JMG , Duffy MJ , Radtke M , *et al*. Tumour markers in gynaecological cancers -EGTM recommendations [J]. Anticancer Res , 1999 ; 19: 2807-2810.
- [404] Duffy MJ , Bonfrer JM , Kulpa J , *et al*. CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use [J]. Int J Gynecol Cancer ,2005 ;15: 679-691.
- [405] American College of Physicians. Screening for ovarian cancer: recommendations and rationale [J]. Ann Intern Med ,1994 ;121: 141-142.
- [406] Vasey PA , Herrstedt J , Jelic S. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis , treatment and follow-up of epithelial ovarian carcinoma [J]. Ann Oncol ,2005 ;16 Suppl 1: i13-15.
- [407] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) . Clinical practice guidelines in oncology [M]. Ovarian Cancer , Version 1 ,Vol. 1 ,2005.
- [408] NIH consensus conference. Ovarian cancer. screening , treatment , and follow-up. NIH Consensus Development Panel on Ovarian Cancer [J]. JAMA ,1995 ;273: 491-497.
- [409] Bast RC , Jr. , Feeney M , *et al*. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma [J]. J Clin Invest ,1981 ;68: 1331-1337.
- [410] Yin BW , Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin , MUC16 [J]. J Biol Chem 2001 ;276: 27371-27375.
- [411] Bast RC , Jr. , Xu FJ , *et al*. CA125: the past and the future [J]. Int J Biol Markers ,1998 ;13: 179-187.
- [412] Jacobs I , Bast RC , Jr. The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature [J]. Hum Reprod ,1989 ;4: 1-42.
- [413] Davelaar EM , van Kamp GJ , Verstraeten RA , *et al*. Comparison of seven

- immunoassays for the quantification of CA 125 antigen in serum [J]. Clin Chem , 1998 , 44: 1417-1422.
- [414] Shih Ie M , Sokoll L , Chan DW. Ovarian cancer. In: Diamandis EP , Fritzsche HA , Lilja H , Chan DW , Schwartz MK , eds. Tumor Markers: Physiology , pathobiology , technology and clinical applications [M] , Washington DC: AACC Press , 2002: 239-252.
- [415] Pauler DK , Menon U , McIntosh M , et al. Factors influencing serum CA125II levels in healthy postmenopausal women [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev , 2001 , 10: 489-493.
- [416] Munkarah A , Chatterjee M , Tainsky MA. Update on ovarian cancer screening [J]. Curr Opin Obstet Gynecol , 2007 , 19: 22-26.
- [417] Bast RC , Jr. , Urban N , et al. Early detection of ovarian cancer: promise and reality [J]. Cancer Treat Res , 2002 , 107: 61-97.
- [418] Skates SJ , Xu FJ , Yu YH , et al. Toward an optimal algorithm for ovarian cancer screening with longitudinal tumor markers [J]. Cancer , 1995 , 76: 2004-2010.
- [419] Zhang Z , Bast RC , Jr. , et al. Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer [J]. Cancer Res , 2004 , 64: 5882-5890.
- [420] Simpson NK , Johnson CC , Ogden SL , et al. Recruitment strategies in the Prostate , Lung , Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial: the first six years [J]. Control Clin Trials , 2000 , 21: 356S-378S.
- [421] Menon U , Jacobs I. Screening for ovarian cancer [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol , 2002 , 16: 469-482.
- [422] Tholander B , Taube A , Lindgren A , et al. Pretreatment serum levels of CA-125 , carcinoembryonic antigen , tissue polypeptide antigen , and placental alkaline phosphatase , in patients with ovarian carcinoma , borderline tumors , or benign adnexal masses: relevance for differential diagnosis [J]. Gynecol Oncol , 1990 , 39: 16-25.
- [423] Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) : SIGN 75. Epithelial ovarian cancer [EB/OL]. <http://www.sign.ac.uk/> Accessed.
- [424] Fritzsche HA , Bast RC. CA 125 in ovarian cancer: advances and controversy [J]. Clin Chem , 1998 , 44: 1379-1380.
- [425] Duffy MJ. Clinical uses of tumor markers: a critical review [J]. Crit Rev Clin Lab Sci , 2001 , 38: 225-262.
- [426] Meyer T , Rustin GJ. Role of tumour markers in monitoring epithelial ovarian cancer [J]. Br J Cancer , 2000 , 82: 1535-1538.
- [427] Tuxen M. CA125 in ovarian cancer [J]. J Tumor Marker Oncol , 2001 , 16: 49-68.
- [428] Gronlund B , Hogdall C , Hilden J , et al. Should CA-125 response criteria be preferred to response evaluation criteria in solid tumors (RECIST) for prognostication during second-line chemotherapy of ovarian carcinoma? [J] J Clin Oncol , 2004 , 22: 4051-4058.
- [429] Rustin GJ , Quinn M , Thigpen T , et al. Re: New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors (ovarian cancer) [J]. J Natl Cancer Inst , 2004 , 96 , 487-488.
- [430] Rustin GJ. Can we now agree to use the same definition to measure response according to CA-125? [J] J Clin Oncol , 2004 , 22: 4035-4036.
- [431] CA125 definitions agreed by GCIG November 2005 [EB/OL]. <http://ctep-cancer.gov/resources/gcig/respdef.html> (Accessed 31st May 2007) .
- [432] Tuxen MK , Soletormos G , Petersen PH , et al. Assessment of biological variation and analytical imprecision of CA 125 , CEA , and TPA in relation to monitoring of ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol , 1999 , 74: 12-22.
- [433] Tuxen MK , Soletormos G , Dombernowsky P. Serum tumour marker CA 125 in monitoring of ovarian cancer during first-line chemotherapy [J]. Br J Cancer , 2001 , 84: 1301-1307.
- [434] Fraser C. Biological variation: from principles to practice [M]. Washington DC: AACC Press , 2001; 67-90.
- [435] MRC Clinical Trials Unit: OV05 Clinical Trial [EB/OL]. <http://www.ctu.mrc.ac.uk/studies/OV05.asp> (Accessed 20th October 2007) .
- [436] Partridge EE , Barnes MN. Epithelial ovarian cancer: prevention , diagnosis , and treatment [J]. CA Cancer J Clin , 1999 , 49: 297-320.
- [437] Vermorken JB , Avall-Lundqvist E , Pfisterer J , et al. The Gynecologic Cancer Intergroup (GCIG) : history and current status [J]. Ann Oncol , 2005 , 16 Suppl 8: viii39-viii42.
- [438] Santillan A , Garg R , Zahurak ML , et al. Risk of epithelial ovarian cancer recurrence in patients with rising serum CA-125 levels within the normal range [J]. J Clin Oncol , 2005 , 23: 9338-9343.
- [439] Cooper BC , Sood AK , Davis CS , et al. Preoperative CA 125 levels: an independent prognostic factor for epithelial ovarian cancer [J]. Obstet Gynecol , 2002 , 100: 59-64.
- [440] Gadducci A , Cosio S , Fanucchi A , et al. The predictive and prognostic value of serum CA 125 half-life during paclitaxel/platinum-based chemotherapy in patients with advanced ovarian carcinoma [J]. Gynecol Oncol , 2004 , 93: 131-136.
- [441] Rustin GJ. The clinical value of tumour markers in the management of ovarian cancer [J]. Ann Clin Biochem , 1996 , 33 (Pt4) : 284-289.
- [442] Fayers PM , Rustin G , Wood R , et al. The prognostic value of serum CA 125 in patients with advanced ovarian carcinoma: an analysis of 573 patients by the Medical Research Council Working Party on Gynaecological Cancer [J]. Int J Gynecol Cancer , 1993 , 3: 285-292.
- [443] Verheijen RH , von Mensdorff-Pouilly S , van Kamp GJ , et al. CA 125: fundamental and clinical aspects [J]. Semin Cancer Biol , 1999 , 9: 117-124.
- [444] Riedlinger JM , Waffart J , Ricolleau G , et al. CA 125 half-life and CA 125 nadir during induction chemotherapy are independent predictors of epithelial ovarian cancer outcome: results of a French multicentric study [J]. Ann Oncol , 2006 , 17: 1234-1238.
- [445] Diamandis EP , Yousef GM. Human tissue kallikreins: a family of new cancer biomarkers [J]. Clin Chem , 2002 , 48: 1198-1205.
- [446] Diamandis EP , Yousef GM , Soosaipillai AR , et al. Human kallikrein 6 (zyme/protease M/neurosin) : a new serum biomarker of ovarian carcinoma [J]. Clin Biochem , 2000 , 33: 579-583.
- [447] Hoffman BR , Katsaros D , Scorilas A , et al. Immunofluorometric quantitation and histochemical localisation of kallikrein 6 protein in ovarian cancer tissue: a new independent unfavourable prognostic biomarker [J]. Br J Cancer , 2002 , 87: 763-771.
- [448] Diamandis EP , Okui A , Mitsui S , et al. Human kallikrein 11: a new biomarker of prostate and ovarian carcinoma [J]. Cancer Res , 2002 , 62: 295-300.
- [449] Dong Y , Kaushal A , Bui L , et al. Human kallikrein 4 (KLK4) is highly expressed in serous ovarian carcinomas [J]. Clin Cancer Res , 2001 , 7: 2363-2371.
- [450] Obiezu CV , Scorilas A , Katsaros D , et al. Higher human kallikrein gene 4 (KLK4) expression indicates poor prognosis of ovarian cancer patients [J]. Clin Cancer Res , 2001 , 7: 2380-2386.
- [451] Kim H , Scorilas A , Katsaros D , et al. Human kallikrein gene 5 (KLK5) expression is an indicator of poor prognosis in ovarian cancer [J]. Br J Cancer , 2001 , 84: 643-650.
- [452] Magklara A , Scorilas A , Katsaros D , et al. The human KLK8 (neuregulin/ovasin) gene: identification of two novel splice variants and its prognostic value in ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res , 2001 , 7: 806-811.
- [453] Chang A , Yousef GM , Jung K , et al. Identification and molecular characterization of five novel kallikrein gene 13 (KLK13; KLK4A) splice variants: differential expression in the human testis and testicular cancer [J]. Anticancer Res , 2001 , 21: 3147-3152.
- [454] Yousef GM , Scorilas A , Katsaros D , et al. Prognostic value of the human kallikrein gene 15 expression in ovarian cancer [J]. J Clin Oncol , 2003 , 21: 3119-3126.
- [455] Borgono CA , Grass L , Soosaipillai A , et al. Human kallikrein 14: a new potential biomarker for ovarian and breast cancer [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 9032-9041.
- [456] Yousef GM , Polymeris ME , Grass L , et al. Human kallikrein 5: a potential novel serum biomarker for breast and ovarian cancer [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 3958-3965.
- [457] Kishi T , Grass L , Soosaipillai A , et al. Human kallikrein 8 , a novel biomarker for ovarian carcinoma [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 2771-2774.
- [458] Diamandis EP , Scorilas A , Fracchioli S , et al. Human kallikrein 6 (hK6) : a new potential serum biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian carcinoma [J]. J Clin Oncol , 2003 , 21: 1035-1043.
- [459] Luo LY , Katsaros D , Scorilas A , et al. The serum concentration of human

- kallikrein 10 represents a novel biomarker for ovarian cancer diagnosis and prognosis[J]. Cancer Res , 2003 , 63: 807-811.
- [460] Yousef GM , Polymeris ME , Yacoub GM , et al . Parallel overexpression of seven kallikrein genes in ovarian cancer [J]. Cancer Res , 2003 , 63: 2223-2227.
- [461] Kurlender L , Yousef GM , Memari N , et al . Differential expression of a human kallikrein 5 (KLK5) splice variant in ovarian and prostate cancer [J]. Tumour Biol , 2004 , 25: 149-156.
- [462] Diamandis EP , Borgono CA , Scorilas A , et al . Human kallikrein 11: an indicator of favorable prognosis in ovarian cancer patients [J]. Clin Biochem , 2004 , 37: 823-829.
- [463] Scorilas A , Borgono CA , Harbeck N , et al . Human kallikrein 13 protein in ovarian cancer cytosols: a new favorable prognostic marker [J]. J Clin Oncol , 2004 , 22: 678-685.
- [464] Kyriakopoulou LG , Yousef GM , Scorilas A , et al . Prognostic value of quantitatively assessed KLK7 expression in ovarian cancer [J]. Clin Biochem , 2003 , 36: 135-143.
- [465] Yousef GM , Kyriakopoulou LG , Scorilas A , et al . Quantitative expression of the human kallikrein gene 9 (KLK9) in ovarian cancer: a new independent and favorable prognostic marker [J]. Cancer Res , 2001 , 61: 7811-7818.
- [466] Luo LY , Bunting P , Scorilas A , et al . Human kallikrein 10: a novel tumor marker for ovarian carcinoma [J]. Clin Chim Acta , 2001 , 306: 111-118.
- [467] Shih Ie M , Salani R , Fieg I M , et al . Ovarian cancer specific kallikrein profile in effusions [J]. Gynecol Oncol , 2007 , 105: 501-507.
- [468] Kim JH , Skates SJ , Uede T , et al . Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer [J]. JAMA , 2002 , 287: 1671-1679.
- [469] Schorge JO , Drake RD , Lee H , et al . Osteopontin as an adjunct to CA125 in detecting recurrent ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res , 2004 , 10: 3474-3478.
- [470] Mok SC , Chao J , Skates S , et al . Prostasin, a potential serum marker for ovarian cancer: identification through microarray technology [J]. J Natl Cancer Inst , 2001 , 93: 1458-1464.
- [471] Yu JX , Chao L , Chao J . Prostasin is a novel human serine proteinase from seminal fluid. Purification, tissue distribution, and localization in prostate gland [J]. J Biol Chem , 1994 , 269: 18843-18848.
- [472] Sundstrom BE , Stigbrand TI . Cytokeratins and tissue polypeptide antigen [J]. Int J Biol Markers , 1994 , 9: 102-108.
- [473] Tuxen MK , Soletermos G , Dombernowsky P . Tumor markers in the management of patients with ovarian cancer [J]. Cancer Treat Rev , 1995 , 21: 215-245.
- [474] Xu Y , Shen Z , Wiper DW , et al . Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecologic cancers [J]. JAMA , 1998 , 280: 719-723.
- [475] Pustilnik TB , Estrella V , Wiener JR , et al . Lysophosphatidic acid induces urokinase secretion by ovarian cancer cells [J]. Clin Cancer Res , 1999 , 5: 3704-3710.
- [476] Hu YL , Albanese C , Pestell RG , et al . Dual mechanisms for lysophosphatidic acid stimulation of human ovarian carcinoma cells [J]. J Natl Cancer Inst , 2003 , 95: 733-740.
- [477] Fang X , Yu S , Bast RC , et al . Mechanisms for lysophosphatidic acid-induced cytokine production in ovarian cancer cells [J]. J Biol Chem , 2004 , 279: 9653-9661.
- [478] Stenman UH , Huhtala ML , Koistinen R , et al . Immunochemical demonstration of an ovarian cancer-associated urinary peptide [J]. Int J Cancer , 1982 , 30: 53-57.
- [479] Huhtala ML , Pesonen K , Kalkkinen N , et al . Purification and characterization of a tumor-associated trypsin inhibitor from the urine of a patient with ovarian cancer [J]. J Biol Chem , 1982 , 257: 13713-13716.
- [480] Gadducci A , Ferdegini M , Rispoli G , et al . Comparison of tumor-associated trypsin inhibitor(TATI) with CA125 as a marker for diagnosis and monitoring of epithelial ovarian cancer [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl , 1991 , 207: 19-24.
- [481] Zoller S , Hageman PC , Lossnitzer A , et al . Tissue and tumor distribution of human polymorphic epithelial mucin [J]. Cancer Rev , 1988 , 11: 55-101.
- [482] Ward BG , McGuckin MA . Are CASA and CA125 concentrations in peripheral blood sourced from peritoneal fluid in women with pelvic masses [J]. Cancer , 1994 , 73: 1699-1703.
- [483] Ward BG , McGuckin MA , Ramm L , et al . Expression of tumour markers CA125 , CASA and OSA in minimal/mild endometriosis [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol , 1991 , 31: 273-275.
- [484] Ward BG , McGuckin MA , Ramm LE , et al . The management of ovarian carcinoma is improved by the use of cancer-associated serum antigen and CA125 assays [J]. Cancer , 1993 , 71: 430-438.
- [485] Chambers SK , Ivins CM , Carcangioli ML . Expression of plasminogen activator inhibitor-2 in epithelial ovarian cancer: a favorable prognostic factor related to the actions of CSF-1 [J]. Int J Cancer , 1997 , 74: 571-575.
- [486] Chambers SK , Ivins CM , Carcangioli ML . Plasminogen activator inhibitor-1 is an independent poor prognostic factor for survival in advanced stage epithelial ovarian cancer patients [J]. Int J Cancer , 1998 , 79: 449-454.
- [487] Gastl G , Plante M , Bartlett JMS . Bioactive interleukin-6 levels in serum and ascites as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer [M]. Methods in molecular medicine-ovarian cancer. Totowa: Humana Press Inc. , 2000: 121-123.
- [488] Foti E , Ferrandina G , Martucci R , et al . IL-6 , M-CSF and IAP cytokines in ovarian cancer: simultaneous assessment of serum levels [J]. Oncology , 1999 , 57: 211-215.
- [489] Scambia G , Testa U , Benedetti PP , et al . Prognostic significance of interleukin 6 serum levels in patients with ovarian cancer [J]. Br J Cancer , 1995 , 71: 354-356.
- [490] Cole LA . hCG , its free subunits and its metabolites. Roles in pregnancy and trophoblastic disease [J]. J Reprod Med , 1998 , 43: 3-10.
- [491] Vartiainen J , Lehtovirta P , Finne P , et al . Preoperative serum concentration of hCG β as a prognostic factor in ovarian cancer [J]. Int J Cancer , 2001 , 95: 313-316.
- [492] Nishimura R , Koizumi T , Das H , et al . Enzyme immunoassay of urinary b-core fragment of human chorionic gonadotropin as a tumor marker for ovarian cancer [M]. Methods in molecular medicine-ovarian cancer. Totowa: Humana Press Inc. , 2000: 135-141.
- [493] Meden H , Fattah-Meibodi A , Marx D , et al . ELISA based quantification of p105 (c-erbB-2 , HER2/neu) in serum of ovarian carcinoma [M]. Methods in molecular medicine-ovarian cancer. Totowa: Humana Press Inc. , 2000: 125-133.
- [494] Meden H , Kuhn W . Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) in ovarian cancer: a new prognostic factor [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol , 1997 , 71: 173-179.
- [495] Cheung TH , Wong YF , Chung TK , et al . Clinical use of serum c-erbB-2 in patients with ovarian masses [J]. Gynecol Obstet Invest , 1999 , 48: 133-137.
- [496] Hellstrom I , Goodman G , Pullman J , et al . Overexpression of HER-2 in ovarian carcinomas [J]. Cancer Res , 2001 , 61: 2420-2423.
- [497] Liu AX , Testa JR , Hamilton TC , et al . AKT2 , a member of the protein kinase B family , is activated by growth factors , v-Ha-ras , and v-src through phosphatidylinositol 3-kinase in human ovarian epithelial cancer cells [J]. Cancer Res , 1998 , 58: 2973-2977.
- [498] Shayesteh L , Lu Y , Kuo WL , et al . PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer [J]. Nat Genet , 1999 , 21: 99-102.
- [499] Cheng JQ , Godwin AK , Bellacosa A , et al . AKT2 , a putative oncogene encoding a member of a subfamily of protein-serine/threonine kinases , is amplified in human ovarian carcinomas [J]. Proc Natl Acad Sci U S A , 1992 , 89: 9267-9271.
- [500] Bellacosa A , de FD , Godwin AK , et al . Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas [J]. Int J Cancer , 1995 , 64: 280-285.
- [501] Yuan ZQ , Sun M , Feldman RI , et al . Frequent activation of AKT2 and induction of apoptosis by inhibition of phosphoinositide-3-OH kinase/Akt pathway in human ovarian cancer [J]. Oncogene , 2000 , 19: 2324-2330.
- [502] Peysonnaux C , Eychem A . The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation [J]. Biol Cell , 2001 , 93: 53-62.
- [503] Allen LF , Sebolt-Leopold J , Meyer MB . CI-1040 (PD184352) , a targeted signal transduction inhibitor of MEK (MAPKK) [J]. Semin Oncol , 2003 , 30: 105-116.

- [504] Hsu CY , Bristow R , Cha MS , et al. Characterization of active mitogen-activated protein kinase in ovarian serous carcinomas [J]. Clin Cancer Res , 2004 , 10: 6432-6436.
- [505] Givant-Horwitz V , Davidson B , Lazarovici P , et al. Mitogen-activated protein kinases (MAPK) as predictors of clinical outcome in serous ovarian carcinoma in effusions[J]. Gynecol Oncol , 2003 , 91: 160-172.
- [506] Robertson DM , Stephenson T , Pruyers E , et al. Characterization of inhibin forms and their measurement by an inhibin alpha-subunit ELISA in serum from postmenopausal women with ovarian cancer [J]. J Clin Endocrinol Metab , 2002 , 87: 816-824.
- [507] Robertson DM , Pruyers E , Burger HG , et al. Inhibins and ovarian cancer [J]. Mol Cell Endocrinol , 2004 , 225: 65-71.
- [508] Robertson DM , Burger HG , Fuller PJ. Inhibin/activin and ovarian cancer [J]. Endocr Relat Cancer , 2004 , 11: 35-49.
- [509] Loyola A , Huang JY , LeRoy G , et al. Functional analysis of the subunits of the chromatin assembly factor RSF [J]. Mol Cell Biol , 2003 , 23: 6759-6768.
- [510] Shamay M , Barak O , Doitsh G , et al. Hepatitis B virus pX interacts with HBXAP , a PHD finger protein to coactivate transcription[J]. J Biol Chem , 2002 , 277: 9982-9988.
- [511] Shamay M , Barak O , Shaul Y. HBXAP , a novel PHD-finger protein , possesses transcription repression activity[J]. Genomics , 2002 , 79: 523-529.
- [512] Shih Ie M , Sheu JJ , Santillan A , et al. Amplification of a chromatin remodelling gene , Rsf-1 /HBXAP , in ovarian carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A , 2005 , 102: 14004-14009.
- [513] Davidson B , Trope CG , Wang TL , et al. Expression of the chromatin remodelling factor Rsf-1 is upregulated in ovarian carcinoma effusions and predicts poor survival[J]. Gynecol Oncol , 2006 , 103: 814-819.
- [514] Mao TL , Hsu CY , Yen MJ , et al. Expression of Rsf-1 , a chromatin-remodelling gene , in ovarian and breast carcinoma [J]. Hum Pathol , 2006 , 37: 1169-1175.
- [515] Stogios PJ , Downs GS , Jauhal JJ , et al. Sequence and structural analysis of BTB domain proteins[J]. Genome Biol , 2005 , 6: R82.
- [516] Nakayama K , Nakayama N , Davidson B , et al. A BTB/POZ protein , NAC-1 , is related to tumor recurrence and is essential for tumor growth and survival [J]. Proc Natl Acad Sci U S A , 2006 , 103: 18739-18744.
- [517] Wang J , Rao S , Chu J , et al. A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells[J]. Nature , 2006 , 444: 364-368.
- [518] Davidson B , Berner A , Trope CG , et al. Expression and clinical role of the brc-a-brac tramtrack broad complex/poxvirus and zinc protein NAC-1 in ovarian carcinoma effusions[J]. Hum Pathol , 2007 .
- [519] Cheng L. Establishing a germ cell origin for metastatic tumors using OCT4 immunohistochemistry[J]. Cancer , 2004 , 101: 2006-2010.
- [520] Atkins D , Best D , Briss PA , et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations [J]. BMJ , 2004 , 328: 1490.
- [521] Cooner WH , Mosley BR , Rutherford CL , et al. Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography , digital rectal examination and prostate specific antigen[J]. J Urol , 1990 , 143: 1146-1152.
- [522] Babaian RJ , Johnston DA , Naccarato W , et al. The incidence of prostate cancer in a screening population with a serum prostate specific antigen between 2. 5 and 4. 0 ng/ml: relation to biopsy strategy [J]. J Urol , 2001 , 165: 757-760.
- [523] Partin AW , Mangold LA , Lamm DM , et al. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium[J]. Urology , 2001 , 58: 843-848.
- [524] Blackledge GR , Lowery K. Role of prostate-specific antigen as a predictor of outcome in prostate cancer[J]. Prostate Suppl , 1994; 5: 34-38.
- [525] Trapasso JG , deKernion JB , Smith RB , et al. The incidence and significance of detectable levels of serum prostate specific antigen after radical prostatectomy[J]. J Urol , 1994 , 152: 1821-1825.
- [526] Bjork T , Lilja H , Christensson A. The prognostic value of different forms of prostate specific antigen and their ratios in patients with prostate cancer [J]. BJU Int , 1999 , 84: 1021-1027.
- [527] Consensus statement: guidelines for PSA following radiation therapy. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology Consensus Panel [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys , 1997 , 37: 1035-1041.
- [528] American Urological Association (AUA) . Prostate-specific antigen (PSA) best practice policy[J]. Oncology (Williston Park) 2000; 14: 267-268 280.
- [529] Partin AW , Brawer MK , Subong EN , et al. Prospective evaluation of percent free-PSA and complexed-PSA for early detection of prostate cancer[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis , 1998 , 1: 197-203.
- [530] Screening for prostate cancer. American College of Physicians [J]. Ann Intern Med , 1997 , 126: 480-484.
- [531] Aus G , Abbou CC , Pacik D , et al. EAU guidelines on prostate cancer[J]. Eur Urol , 2001 , 40: 97-101.
- [532] Prostate cancer: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis , treatment and follow-up[J]. Ann Oncol , 2007 , 18 Suppl 2: ii36-ii37.
- [533] Prostate Cancer , v. 2 [EB/OL]. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp (Accessed May 26th , 2007) .
- [534] Screening for prostate cancer: recommendation and rationale. U. S. Preventive Services Task Force[J]. Ann Intern Med , 2002: 915-916.
- [535] Screening for prostate cancer: U. S. Preventive Services Task Force recommendation statement[J]. Ann Intern Med , 2008 , 149: 185-191.
- [536] Gao CL , Rawal SK , Sun L , et al. Diagnostic potential of prostate-specific antigen expressing epithelial cells in blood of prostate cancer patients[J]. Clin Cancer Res , 2003 , 9: 2545-2550.
- [537] Khan MA , Sokoll LJ , Chan DW , et al. Clinical utility of proPSA and 'benign' PSA when percent free PSA is less than 15% [J]. Urology , 2004 , 64: 1160-1164.
- [538] Steuber T , Niemela P , Haese A , et al. Association of free-prostate specific antigen subfractions and human glandular kallikrein 2 with volume of benign and malignant prostatic tissue[J]. Prostate , 2005 , 63: 13-18.
- [539] Haese A , Vaisanen V , Lilja H , et al. Comparison of predictive accuracy for pathologically organ confined clinical stage T1c prostate cancer using human glandular kallikrein 2 and prostate specific antigen combined with clinical stage and Gleason grade[J]. J Urol , 2005 , 173: 752-756.
- [540] Renehan AG , Zwhalen M , Minder C , et al. Insulin-like growth factor (IGF)-I , IGF binding protein-3 , and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis[J]. Lancet , 2004 , 363: 1346-1353.
- [541] Wolk A. The growth hormone and insulin-like growth factor I axis , and cancer [J]. Lancet , 2004 , 363: 1336-1337.
- [542] Fradet Y , Saad F , Aprikian A , et al. uPM3 , a new molecular urine test for the detection of prostate cancer[J]. Urology , 2004 , 64: 311-315.
- [543] Hessels D , Klein Gunnewiek JM , van OI , et al. DD3(PCA3) -based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer[J]. Eur Urol , 2003 , 44: 8-15.
- [544] Browne TJ , Hirsch MS , Brodsky G , et al. Prospective evaluation of AMACR (P504S) and basal cell markers in the assessment of routine prostate needle biopsy specimens[J]. Hum Pathol , 2004 , 35: 1462-1468.
- [545] Jiang Z , Wu CL , Woda BA , et al. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a multi-institutional study of a new prostate cancer marker[J]. Histopathology , 2004 , 45: 218-225.
- [546] Kumar-Sinha C , Shah RB , Laxman B , et al. Elevated alpha-methylacyl-CoA racemase enzymatic activity in prostate cancer[J]. Am J Pathol , 2004 , 164: 787-793.
- [547] Magi-Galluzzi C , Luo J , Isaacs WB , et al. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a variably sensitive immunohistochemical marker for the diagnosis of small prostate cancer foci on needle biopsy [J]. Am J Surg Pathol , 2003 , 27: 1128-1133.
- [548] Rubin MA , Zerkowski MP , Camp RL , et al. Quantitative determination of expression of the prostate cancer protein alpha-methylacyl-CoA racemase using automated quantitative analysis (AQUA) : a novel paradigm for automated and continuous biomarker measurements[J]. Am J Pathol , 2004 , 164: 831-840.
- [549] Goessl C , Muller M , Heicappell R , et al. DNA-based detection of prostate cancer in urine after prostatic massage[J]. Urology , 2001 , 58: 335-338.
- [550] Ntais C , Polycarpou A , Ioannidis JP. Association of GSTM1 , GSTT1 , and GSTP1 gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev , 2005 , 14: 176-181.
- [551] Maruyama R , Toyooka S , Toyooka KO , et al. Aberrant promoter methylation

- profile of prostate cancers and its relationship to clinicopathological features [J]. Clin Cancer Res ,2002 ,8: 514-519.
- [552]Tokumaru Y , Harden SV , Sun DI , et al . Optimal use of a panel of methylation markers with GSTP1 hypermethylation in the diagnosis of prostate adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res ,2004 ,10: 5518-5522.
- [553]Straub B , Muller M , Krause H , et al . Molecular staging of pelvic surgical margins after radical prostatectomy: comparison of RT-PCR for prostate-specific antigen and telomerase activity[J]. Oncol Rep ,2002 ,9: 545-549.
- [554]Vicentini C , Gravina GL , Angelucci A , et al . Detection of telomerase activity in prostate massage samples improves differentiating prostate cancer from benign prostatic hyperplasia[J]. J Cancer Res Clin Oncol ,2004 ,130: 217-221.
- [555]Ylikoski A , Pettersson K , Nurmi J , et al . Simultaneous quantification of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 mRNA in blood samples from patients with prostate cancer and benign disease [J]. Clin Chem ,2002 ,48: 1265-1271.
- [556]Thomas GV , Horvath S , Smith BL , et al . Antibody-based profiling of the phosphoinositide 3-kinase pathway in clinical prostate cancer[J]. Clin Cancer Res ,2004 ,10: 8351-8356.
- [557]Trotman LC , Niki M , Dotan ZA , et al . Pten dose dictates cancer progression in the prostate[J]. PloS Biol ,2003 ,1: E59.
- [558]Shaffer DR , Viale A , Ishiwata R , et al . Evidence for a p27 tumor suppressive function independent of its role regulating cell proliferation in the prostate [J]. Proc Natl Acad Sci U S A ,2005 ,102: 210-215.
- [559]Gao H , Ouyang X , Banach-Petrosky W , et al . A critical role for p27kip1 gene dosage in a mouse model of prostate carcinogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A ,2004 ,101: 17204-17209.
- [560]Pollack A , DeSilvio M , Khor LY , et al . Ki-67 staining is a strong predictor of distant metastasis and mortality for men with prostate cancer treated with radiotherapy plus androgen deprivation: Radiation Therapy Oncology Group Trial 92-02[J]. J Clin Oncol ,2004 ,22: 2133-2140.
- [561]Qian J , Hirasawa K , Bostwick DG , et al . Loss of p53 and c-myc overrepresentation in stage T(2-3) N(1-3) M(0) prostate cancer are potential markers for cancer progression[J]. Mod Pathol ,2002 ,15: 35-44.
- [562]Han KR , Seligson DB , Liu X , et al . Prostate stem cell antigen expression is associated with gleason score , seminal vesicle invasion and capsular invasion in prostate cancer[J]. J Urol 2004 ,171: 1117-1121.
- [563]Prostate Cancer Foundation: Report to the Nation on Prostate Cancer [EB/OL]. www.prostatecancerfoundation.org (Accessed May 27th ,2007) .
- [564]Johnston PG , Fisher ER , Rockette HE , et al . The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer[J]. J Clin Oncol ,1994 ,12: 2640-2647.
- [565]Boland CR . Clinical uses of microsatellite instability testing in colorectal cancer: an ongoing challenge[J]. J Clin Oncol ,2007 ,25: 754-756.
- [566]Kim GP , Colangelo LH , Wieand HS , et al . Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study [J]. J Clin Oncol ,2007 ,25: 767-772.
- [567]Lynch HT , de la Chapelle A . Hereditary colorectal cancer[J]. N Engl J Med ,2003 ,348: 919-932.
- [568]Rowley PT . Inherited susceptibility to colorectal cancer[J]. Annu Rev Med ,2005 ,56: 539-554.
- [569]Hendriks YM , de Jong AE , Morreau H , et al . Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma) : a guide for clinicians[J]. CA Cancer J Clin ,2006 ,56: 213-225.
- [570]Duffy MJ , van Dalen A , Haglund C , et al . Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (ECTM) guidelines for clinical use[J]. Eur J Cancer ,2007 .
- [571]Van Cutsem EJDKW . ESMO minimum clinical recommendations for diagnosis , adjuvant treatment and follow-up of primary colon cancer[J]. Ann Oncol ,2005 ,16: i16-17.
- [572]Tevit KM , Kataja VV . ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis , treatment and follow-up of rectal cancer[J]. Ann Oncol ,2005 ,16 (Suppl 1) : i20-21.
- [573]Van Cutsem EJ . Colon cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis , adjuvant treatment of follow-up of primary colon cancer[J]. Ann Oncol ,2007 ,18 (Suppl 2) : ii21-22.
- [574]Van Cutsem EJ . Advanced colorectal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis , treatment and follow-up of rectal cancer[J]. Ann Oncol ,2007 ,18 (Suppl 2) : ii25-26.
- [575]National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology ,Colon Cancer. Version 1. 2007 [EB/OL]. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/colon.pdf (Accessed 14th April 2007) .
- [576]Duffy MJ . Estrogen receptors: role in breast cancer[J]. Crit Rev Clin Lab Sci ,2006 ,43: 325-347.
- [577]Mirza AN , Mirza NQ , Vlastos G , et al . Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years[J]. Ann Surg ,2002 ,235: 10-26.
- [578]Ravdin PM , Green S , Dorr TM , et al . Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study[J]. J Clin Oncol ,1992 ,10: 1284-1291.
- [579]Bardou VJ , Arpino G , Elledge RM , et al . Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases[J]. J Clin Oncol ,2003 ,21: 1973-1979.
- [580]Ross JS , Fletcher JA , Linette GP , et al . The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy[J]. Oncologist ,2003 ,8: 307-325.
- [581]Slamon DJ , Leyland-Jones B , Shak S , et al . Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[J]. N Engl J Med ,2001 ,344: 783-792.
- [582]Romond EH , Perez EA , Bryant J , et al . Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer[J]. N Engl J Med ,2005 ,353: 1673-1684.
- [583]Piccart-Gebhart MJ , Procter M , Leyland-Jones B , et al . Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer[J]. N Engl J Med ,2005 ,353: 1659-1672.
- [584]Foekens JA , Look MP , Peters HA , et al . Urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1: predictors of poor response to tamoxifen therapy in recurrent breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst ,1995 ,87: 751-756.
- [585]Meijer-van Gelder ME , Look MP , Peters HA , et al . Urokinase-type plasminogen activator system in breast cancer: association with tamoxifen therapy in recurrent disease[J]. Cancer Res ,2004 ,64: 4563-4568.
- [586]Harbeck N , Lates RE , Look MP , et al . The Pooled Analysis Study of the EORTC Receptor and Biomarker Group (RBC) . ASCO Annual Proceedings , Vol. 22. Post-Meeting Editioned: 523.
- [587]Foekens JA , Look MP , Bolt-de VJ , et al . Cathepsin-D in primary breast cancer: prognostic evaluation involving 2810 patients [J]. Br J Cancer ,1999 ,79: 300-307.
- [588]Ferrandina G , Scambia G , Bardelli F , et al . Relationship between cathepsin-D content and disease-free survival in node-negative breast cancer patients: a meta-analysis[J]. Br J Cancer ,1997 ,76: 661-666.
- [589]Ravdin PM , Tandon AK , Allred DC , et al . Cathepsin D by western blotting and immunohistochemistry: failure to confirm correlations with prognosis in node-negative breast cancer[J]. J Clin Oncol ,1994 ,12: 467-474.
- [590]Elledge RM , Allred DC . Prognostic and predictive value of p53 and p21 in breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat ,1998 ,52: 79-98.
- [591]Pharoah PD , Day NE , Caldas C . Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis [J]. Br J Cancer ,1999 ,80: 1968-1973.
- [592]Soussi T , Beroud C . Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome[J]. Nat Rev Cancer ,2001 ,1: 233-240.
- [593]Colozza M , Azambuja E , Cardoso F , et al . Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? [J]. Ann Oncol ,2005 ,16: 1723-1739.
- [594]Michels JJ , Marnay J , Delozier T , et al . Proliferative activity in primary breast carcinomas is a salient prognostic factor [J]. Cancer ,2004 ,100: 455-464.

- [595] Cheung KL , Graves CR , Robertson JF. Tumour marker measurements in the diagnosis and monitoring of breast cancer[J]. *Cancer Treat Rev* , 2000 , 26: 91-102.
- [596] Molina R , Filella X , Alicarte J , et al. Prospective evaluation of CEA and CA 15.3 in patients with locoregional breast cancer[J]. *Anticancer Res* , 2003 , 23: 1035-1041.
- [597] Gion M , Boracchi P , Dittadi R , et al. Prognostic role of serum CA15.3 in 362 node-negative breast cancers. An old player for a new game[J]. *Eur J Cancer* , 2002 , 38: 1181-1188.
- [598] Ebeling FG , Stieber P , Untch M , et al. Serum CEA and CA15-3 as prognostic factors in primary breast cancer[J]. *Br J Cancer* , 2002 , 86: 1217-1222.
- [599] Duffy MJ , Duggan C , Keane R , et al. High preoperative CA15-3 concentrations predict adverse outcome in node-negative and node-positive breast cancer: study of 600 patients with histologically confirmed breast cancer[J]. *Clin Chem* , 2004 , 50: 559-563.
- [600] Dnistrian AM , Schwartz MK , Greenberg EJ , et al. BR29.29 as a marker in breast cancer[J]. *J Tumor Marker Oncol* , 1995 , 10: 91-97.
- [601] Chan DW , Beveridge RA , Muss H , et al. Use of Truquant BR radioimmunoassay for early detection of breast cancer recurrence in patients with stage II and stage III disease[J]. *J Clin Oncol* , 1997 , 15: 2322-2328.
- [602] Molina R , Zanon G , Filella X , et al. Use of serial carcinoembryonic antigen and CA 15.3 assays in detecting relapses in breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat* , 1995 , 36: 41-48.
- [603] Soletormos G , Nielsen D , Schioler V , et al. Monitoring different stages of breast cancer using tumour markers CA15-3 , CEA and TPA[J]. *Eur J Cancer* , 2004 , 40: 481-486.
- [604] Molina R , Jo J , Filella X , et al. c-erbB-2 oncogene protein , CEA , and CA 15.3 in patients with breast cancer: prognostic value [J]. *Breast Cancer Res Treat* , 1998 , 51: 109-119.
- [605] van Dalen A. TPS in breast cancer-a comparative study with carcinoembryonic antigen and CA15-3 [J]. *Tumour Biol* , 1992 , 13: 10-17.
- [606] van Dalen A , Heering KJ , Barak V , et al. Treatment response in metastatic breast cancer: A multicenter study comparing UICC criteria and tumor marker changes[J]. *Breast* , 1996 , 5: 82-88.
- [607] Carney WP , Leitzel K , Ali S , et al. HER-2/neu diagnostics in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res* , 2007 , 9: 207.
- [608] Li J , Zhang Z , Rosenzweig J , et al. Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer[J]. *Clin Chem* , 2002 , 48: 1296-1304.
- [609] Vlahou A , Laronga C , Wilson L , et al. A novel approach toward development of a rapid blood test for breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer* , 2003 , 4: 203-209.
- [610] Braun S , Pantel K , Muller P , et al. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I , II , or III breast cancer[J]. *N Engl J Med* , 2000 , 342: 525-533.
- [611] Wiedswang G , Borgem E , Karsen R , et al. Detection of isolated tumor cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer[J]. *J Clin Oncol* , 2003 , 21: 3469-3478.
- [612] Braun S , Vogl FD , Naume B , et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer[J]. *N Engl J Med* , 2005 , 353: 793-802.
- [613] Chen SL , Hoehne FM , Giuliano AE. The Prognostic Significance of Micrometastases in Breast Cancer: A SEER Population-Based Analysis [J]. *Ann Surg Oncol* , 2007 .
- [614] International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers[J]. *Lancet* , 1990 , 335: 1565-1568.
- [615] Cserni G , Amendoeira I , Apostolikas N , et al. European Working Group for Breast Cancer Screening Pathology. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines [J]. *Eur J Cancer* , 2003 , 39: 1654-1667.
- [616] Wilke LG , Giuliano A. Sentinel lymph node biopsy in patients with early-stage breast cancer: status of the National Clinical Trials[J]. *Surg Clin North Am* , 2003 , 83: 901-910.
- [617] Cristofanilli M , Hayes DF , Budd GT , et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med* , 2005 , 23: 1420-1430.
- [618] Smerage JB , Hayes DF. The measurement and therapeutic implications of circulating tumour cells in breast cancer[J]. *Br J Cancer* , 2006 , 94: 8-12.
- [619] Tanner M , Isola J , Wiklund T , et al. Topoisomerase-IIalpha gene amplification predicts favorable treatment response to tailored and dose-escalated anthracycline-based adjuvant chemotherapy in HER-2/neu-amplified breast cancer: Scandinavian Breast Group Trial 9401 [J]. *J Clin Oncol* , 2006 , 24: 2428-2436.
- [620] Mano MS , Rosa DD , De Azambuja E , et al. The 17q12-q21 amplicon: Her2 and topoisomerase-IIalpha and their importance to the biology of solid tumours [J]. *Cancer Treat Rev* , 2007 , 33: 64-77.
- [621] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology , Genetic/Familial High Risk Assessment: Breast and Ovarian Cancer. Version 1 , 2007 [EB/OL]. www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp (Accessed 23 May 2007) .
- [622] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology , Breast Cancer. Version 2 , 2008 [EB/OL]. http://www.nccn.org/patients/patient_gls/_english/_breast/contents.asp (Accessed 26 August 2008) .
- [623] Fiskin J , Leonard RC , Roulston JE. Immunoassay of CA125 in ovarian cancer: a comparison of three assays for use in diagnosis and monitoring[J]. *Dis Markers* , 1989 , 7: 61-67.
- [624] Bridgewater JA , Nelstrop AE , Rustin GJ , et al. Comparison of standard and CA-125 response criteria in patients with epithelial ovarian cancer treated with platinum or paclitaxel[J]. *J Clin Oncol* , 1999 , 17: 501-508.
- [625] van der Burg ME , Lammes FB , Verweij J. The role of CA 125 in the early diagnosis of progressive disease in ovarian cancer[J]. *Ann Oncol* , 1990 , 1: 301-302.
- [626] Rustin GJ , Nelstrop AE , McClean P , et al. Defining response of ovarian carcinoma to initial chemotherapy according to serum CA 125[J]. *J Clin Oncol* , 1996 , 14: 1545-1551.
- [627] Rustin GJ , Nelstrop AE , Tuxen MK , et al. Defining progression of ovarian carcinoma during follow-up according to CA125: a North Thames Ovary Group Study[J]. *Ann Oncol* , 1996 , 7: 361-364.
- [628] Camilleri-Broet S , Hardy-Bessard AC , Le TA , et al. HER-2 overexpression is an independent marker of poor prognosis of advanced primary ovarian carcinoma: a multicenter study of the GINECO group[J]. *Ann Oncol* , 2004 , 15: 104-112.
- [629] Singer G , Rebmann V , Chen YC , et al. HLA-G is a potential tumor marker in malignant ascites[J]. *Clin Cancer Res* , 2003 , 9: 4460-4464.
- [630] Sehouli J , Akdogan Z , Heinze T , et al. Preoperative determination of CASA (Cancer Associated Serum Antigen) and CA-125 for the discrimination between benign and malignant pelvic tumor mass: a prospective study[J]. *Anticancer Res* , 2003 , 23: 1115-1118.
- [631] Sutphen R , Xu Y , Wilbanks GD , et al. Lysophospholipids are potential biomarkers of ovarian cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* , 2004 , 13: 1185-1191.
- [632] Chambers SK , Gertz RE , Jr. , et al. The significance of urokinase-type plasminogen activator , its inhibitors , and its receptor in ascites of patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Cancer* , 1995 , 75: 1627-1633.
- [633] Coppola D , Szabo M , Boulware D , et al. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies [J]. *Clin Cancer Res* , 2004 , 10: 184-190.
- [634] Brakora KA , Lee H , Yusuf R , et al. Utility of osteopontin as a biomarker in recurrent epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol* , 2004 , 93: 361-365.
- [635] Hellstrom I , Raycraft J , Hayden-Ledbetter M , et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma [J]. *Cancer Res* , 2003 , 63: 3695-3700.
- [636] Scholler N , Crawford M , Sato A , et al. Bead-based ELISA for validation of ovarian cancer early detection markers [J]. *Clin Cancer Res* , 2006 , 12: 2117-2124.
- [637] Moore RG , Brown AK , Miller MC , et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus [J]. *Gynecol Oncol* , 2008 , 10: 1796-1806.
- [638] Baron-Hay S , Boyle F , Ferrier A , et al. Elevated serum insulinlike growth

factor binding protein-2 as a prognostic marker in patients with ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res ,2004 ,10: 1796-1806.
[639] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guide-

lines in Oncology. Ovarian Cancer. Version 1 , 2007 [EB/OL]. http://www. nccn. org/professionals/physician_gls/f_guidelines. asp (Accessed 20 June 2007.

致谢

我们感谢诸多科学家和临床医生对本工作的贡献 感谢 Hassima Omar Ali 女士的大力协助 感谢 David Bruns 博士和 Nader Rifai 博士同意将这些指南发表于 Clinical Chemistry 杂志 ,当然也感谢美国临床生化科学院(NACB) 和美国临床化学学会(AACC) 对本工作的全力支持和鼓励。

NACB 肿瘤标志物委员会分组成员

睾丸癌: Ulf-Håkan Stenman , Chair , Rolf Lamerz 和 Leendert H. Looijenga

前列腺癌: Hans Lilja , Chair , Richard Babaian , Barry Dowell , George G. Klee , Harry Rittenhouse , Axel Semjonow , Paul Sibley , Lori Sokoll 和 Carsten Stephan

结直肠癌: Nils Brünner , Chair , Michael J. Duffy , Caj Haglund , Mads Holten-Andersen 和 Hans Jørgen Nielsen

乳腺癌: Michael J. Duffy , Chair , Francisco J. Esteva , Nadia Harbeck , Daniel F. Hayes 和 Rafael Molina

卵巢癌: Daniel W. Chan , Chair , Robert C. Bast Jr , Ie-Ming Shih , Lori J. Sokoll 和 György Sölétormos

附注

NACB 肿瘤标志物指南的背景

现指南是对 2002 年首次起草实践指南的更新与扩展^[1]。遵循 NACB 指导委员会所定方向 ,内容涉及 16 个特定癌症和建立完善的肿瘤标志物检测的质量要求 ,以及由于新技术的采用使这些标志物的发展。2005 年 7 月 指南草案在 NACB 网站公布 ,并且在 2005 年奥兰多 AACC/IFCC 联合会议上作为一个教育项目出现。也积极向个人、组织及一些感兴趣的团体收集对指南的正式意见或建议。

NACB 肿瘤标志物指南编制组

19 个委员会小组起草了指南 ,委员会小组成员包括科学、技术、肿瘤标志物临床实践领域的专家。指南中的“专家观点”作为推荐的部分被整合在指南中 ,偏倚、包括利益冲突可能被包含其中^[2]。为了使各层面的专家具有代表性并获得这一领域的远景 在委员会小组中加入有体外诊断行业的成员 主要包括来自 10 多个国家、不同专业背景的大约 100 名科学家和临床医生。

方法路径

在实践指南的准备^[3-4] 和评估^[5] 中 ,查阅了大量的文献。许多专家强调指南制订过程中要有证可循^[3-6] 及指南有效实施过程中面临的挑战^[6-9]。虽然最近已注意到好的方法学特性的报道不是导致更有效建议的必要因素 ,反之亦然^[10] ,但指南制订过程中好的方法学是我们期望的。

最近对 9 个临床肿瘤实践指南的评估证明 ,这些指南的发展、结构、用户和指南的终点存在明显的不均一性 ,作者认为为了迎合分歧的需要^[11] ,这些是有必要的且是无害的。没有指南能够在所有方面均非常完善 - 所有指南均有局限性 ,毋庸置疑 NACB 指南亦如此。然而 ,实践指南的关键作用是清晰确定目标及读者群、遵循标准程序 ,并且对其应用于临床产生的影响进行系统评估^[11] 。

这里采纳相对非正式的方法路径 ,允许委员会小组主席有相当宽的权力范围。指南中出现明显的差异无疑反映委员会小组成员的个人倾向 其中许多是对所描述的每种特定癌症的肿瘤标志物的数目 ,以及临床认知的成熟度和当前这

些标志物的有效证据。期望跨越癌症检查谱达到路径的一致性是不现实的。

然而 ,当制订和编排指南时 ,委员会小组被要求遵从推荐格式 并且考虑肿瘤标志物的主要潜在临床应用(筛查 / 早期检测、诊断、预后、治疗监测) ,以达到在不同癌症的表述中有适当的一致性。委员会小组也强烈鼓励通读文献 ,特别注意综述(含系统性综述) 、包括标志物应用和现有指南的前瞻性随机试验。

重要的是 ,对于每个 NACB 建议 ,要求每个委员会小组将其指南与其他团体的指南进行比较 ,并且将这些比较以表格形式呈现 ,详细描述不同之处 ,并且提供估计的证据级别(LOE)^[7] 和推荐强度分级(SOR)^[12] (表 A)。LOE 和 SOR 分别反映已发表的证据推荐强度和指南编写小组内部共识程度 此表对于每个肿瘤的 NACB 指南进行适当的总结。如果在委员会小组内部不能达到共识 ,则要求对于矛盾的观点进行描述及原因分析等加以解释。

最终的结果是建立一套遵循适当的一致形式和路径的实践指南。每个指南的证据强度和形式被明确阐述 ,对每个建议进行可靠评价 ,这样每个读者能够很容易识别哪些是来源于无异议的临床证据 哪些来源于委员会专家共识。

NACB 肿瘤标志物指南的回顾和改进

在 NACB 网站张贴指南后 委员会小组主席对所收到的建议及修改意见进行了回顾与反馈。随着对肿瘤标志物的认知及肿瘤标志物生物学作用的增加 ,这些 NACB 指南将来不可避免地要被更新、改进和修正。根据十分有帮助的 AGREE 文件中的建议^[5] 和大量肿瘤标志物工作进展 ,当指南被下一次更新时可能包括肿瘤标志物使用性价比的评价 ,患者观点的考虑及肿瘤标志物有效性核查研究的报道。为了这个目标 ,希望能应用与苏格兰大学间联合指南网络(SIGN)相似的咨询形式^[13] 。

NACB 肿瘤标志物指南的执行

采用这些指南是自愿的 ,一些推荐可能不适合于所有情况(如: 临床试验) 并且为了有效地执行这些指南 要求翻译和 / 或对一些部分进行修正。好的证据表明 ,“局部拥有”指南更可能在临床实践中被采纳^[4] 。另外 ,在介绍指南前后 ,

认真设计审查研究是必要的^[11]。

这些容易被普及的推荐意见在 NACB 网站上以电子形式颁布,能够促进临床和实验室人员更好地应用肿瘤标志物,从而提供更好的医学决定信息,以提高癌症患者的临床治疗效果和/或生活质量。

表 A 用于 NACB 指南肿瘤标志物的分级的证据级别和建议强度

评估	标准
证据级别^[8]	
I	证据来源于单一的、强有力的、前瞻性的对照研究,该研究是特别针对检测标志物进行设计的,或来源于荟萃分析、汇集分析或对水平 II 或 III 研究的概述
II	证据来源于相关的前瞻性治疗研究的标志物资料,该试验用以验证治疗假设而非针对检测标志物的有效性进行特别设计
III	证据来源于大规模的前瞻性研究
IV	证据来源于小规模的回顾性研究
V	证据来源于小规模的初步研究
专家观点——建议强度^[14]	
A(高)	进一步研究不可能改变专家组的评估结果的可信度
B(中等)	进一步研究可能对专家组的评估结果的可信度产生重要影响,可能会改变结果
C(低)	进一步研究非常可能对专家组的评估结果的可信度产生重要影响,可能会改变结果
D(非常低)	任何一个评估结果均不确定

注: 引自 Hayes *et al* (8) 和 Atkins *et al* (12) 文献

附注参考文献

- [1] Fleisher M , Dnistrian A , Sturgeon C , *et al*. Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. *Tumor Markers: Physiology, pathobiology, technology and clinical applications* [M]. Washington: AACC Press , 2002: 33-63.
- [2] Detsky AS. Sources of bias for authors of clinical practice guidelines [J]. *Can Med Assoc J* , 2006 , 175: 1033-1035.
- [3] Oosterhuis WP , Bruns DE , Watine J , *et al*. Evidence-based guidelines in laboratory medicine: principles and methods [J]. *Clin Chem* , 2004 , 50: 806-818.
- [4] Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic [J]. *Clin Chem* , 2002 , 48: 1151-1159.
- [5] AGREE Collaboration. Development and validation of an international appraisal instrument for assessing the quality of clinical practice guidelines: the AGREE project [J]. *Qual Saf Health Care* , 2003 , 12: 18-23.
- [6] Price CP , Christenson RH , eds. *Evidence-based laboratory medicine: Principles, practice and outcomes* [M]. 2nd ed. Washington DC: AACC Press , 2007.
- [7] Hayes DF , Bast RC , Desch CE , *et al*. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers[J]. *J Natl Cancer Inst* , 1996 , 88: 1456-1466.
- [8] Hayes DF. Prognostic and predictive factors for breast cancer: translating technology to oncology [J]. *J Clin Oncol* , 2005 , 23: 1596-1597.
- [9] Yamauchi H , Stearns V , Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer [J]. *J Clin Oncol* , 2001 , 19: 2334-2356.
- [10] Watine J , Friedberg B , Nagy E , *et al*. Conflict between guideline methodologic quality and recommendation validity: a potential problem for practitioners [J]. *Clin Chem* , 2006 , 52: 65-72.
- [11] Pentheroudakis G , Stahel R , Hansen H , *et al*. Heterogeneity in cancer guidelines: should we eradicate or tolerate [J]? *Ann Oncol* , 2008.
- [12] Atkins D , Best D , Briss PA , *et al*. Grading quality of evidence and strength of recommendations [J]. *BMJ* , 2004 , 328: 1490.
- [13] Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN): SIGN 28. Management of adult testicular germ cell tumours [EB/OL]. <http://www.sign.ac.uk/> (Accessed 18th October 2007) .

(翻译: 梁红艳、林文涛, 审校: 姜晓峰、田亚平、鄢盛恺)