



原发性肝细胞癌新功能靶标发现与靶向诊治技术进展

王辰瀚^{2†}, 汪翰林^{4†}, 王欣波^{1†}, 邢信昊^{5†}, 吴元昊², 罗萌萌², 潘宇飞⁵, 董立巍⁵, 谈冶雄⁵, 黄河^{1*}, 贺晓鹏^{2*}, 王红阳^{3*}, 李佳^{4*}

1. 中国科学院上海药物研究所, 化学生物学研究中心, 上海 201203

2. 华东理工大学化学与分子工程学院, 费林加诺贝尔奖科学家联合研究中心, 结构可控先进功能材料及其制备教育部重点实验室, 上海 200237

3. 中国人民解放军海军军医大学, 东方肝胆外科医院, 国际合作生物信号转导研究室, 上海 200438

4. 中国科学院上海药物研究所, 国家新药筛选中心, 生命过程小分子调控全国重点实验室, 上海 201203

5. 中国人民解放军海军军医大学, 国家肝癌科学中心, 肿瘤药理学研究室, 上海 201805

† 同等贡献

* 通讯作者, E-mail: hhuang@simm.ac.cn; xphe@ecust.edu.cn; hywangk@vip.sina.com; jli@simm.ac.cn

收稿日期: 2025-01-16; 接受日期: 2025-02-08; 网络版发表日期: 2025-03-17

国家自然科学基金(编号: 92253306)资助项目

摘要 肝细胞癌(HCC)是最常见的原发性肝癌, 其在慢性肝脏炎症环境中发生发展, 与病毒性肝炎感染或暴露于诸如酒精或黄曲霉毒素等有害环境因素密切相关. 本文回顾了HCC在中国人群中的临床现状, 梳理了现有诊治策略及其不足之处, 系统性总结了早先及近期揭示的HCC细胞信号转导机制, 并就以下两类前沿技术进行综述: (1) 蛋白质组学技术, 挖掘新的功能分子靶标; (2) 靶向HCC特异性表达膜蛋白的前沿诊疗技术, 以期HCC的早期、精准诊治提供新的见解.

关键词 肝细胞癌, 信号转导机制, 蛋白质组学, 靶向诊疗

1 引言

世界卫生组织最新统计学数据显示, 2022年全世界共有86.5万肝癌新发病例和75万肝癌患者死亡^[1]. 在肝癌发病中, 肝细胞癌(HCC)是肝癌最常见的类型, 约占全部肝癌发病的80%; 肝内胆管细胞癌(ICC)次之, 约占全部发病的15%; 其他罕见类型的肝癌约占

5%^[2,3]. 在我国, HCC高危人群主要包括: 具有乙型肝炎病毒(HBV)和/或丙型肝炎病毒(HCV)感染、过度饮酒、脂肪肝变性或代谢功能障碍相关性肝病、黄曲霉毒素B1暴露以及其他各种原因引起的肝硬化及有肝癌家族史等人群^[4].

过去几十年中, 肝癌预防、筛查和治疗方面均取得了重要进展, 传统高发国家的发病率和死亡率有所

引用格式: Wang CH, Wang HL, Wang XB, Xing XH, Wu YH, Luo MM, Pan YF, Dong LW, Tan YX, Huang H, He XP, Wang HY, Li J. Progress on the discovery of new functional targets for hepatocellular carcinoma and development of advanced techniques for its targeted diagnosis and therapy. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 892–913, doi: [10.1360/SSC-2025-0009](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0009)

下降. 但随着人口增长和老龄化加剧, 肝癌发病和死亡的病例数绝对值将持续上升. 现阶段晚期肝癌患者的药物治疗选择已经从传统的化疗逐渐转向靶向治疗和免疫治疗, 这些治疗方法提供了更好的疗效和耐受性^[5,6]. 尽管如此, 肝细胞癌病人预后普遍较差, 早诊早治是临床治疗的有效策略, 对肝癌患者进行精准分型并寻找早期肝癌治疗靶点迫在眉睫.

蛋白质组学技术能够发掘可信度高、重复性好的多种生物标志物, 可显著提升肝癌早期诊断和病人预后效果^[7-9]. 翻译后修饰作为真核细胞中蛋白质功能调控的重要机制之一, 其表达水平与恶性肿瘤的发生发展密切相关^[10,11]. 糖基化是蛋白质翻译后修饰的重要形式, 糖蛋白的糖链在细胞识别、细胞间信号传递、细胞迁移、增殖及分化中均具有重要作用, 唾液酸化、岩藻糖基化及糖链分支程度与肿瘤、自身免疫性疾病等发生发展密切相关, 聚糖和异常糖基化糖蛋白为疾病发生发展提供了新型生物标志物和干预靶标, 并已经成为临床诊断与治疗的研究热点^[12-14].

除上述经典技术外, 光学成像在癌症诊断和治疗中发挥日益重要的作用^[15]. 荧光小分子探针凭借其灵敏、安全、可靠、非侵入性等优势受到了广泛的关注, 在肝癌早期筛查、术中导航以及术后疗效跟踪等方面具有巨大应用前景^[16,17]. 此外, 针对临床用药副作用问题, 可通过设计靶向HCC的药物递送体系, 将药物精准地递送到肿瘤部位, 从而提高治疗效果并减少对正常细胞的损伤, 显著降低毒副作用.

本文从肝癌演进过程中已有的重要分子靶标及经典信号通路出发, 总结了现有的肝细胞癌临床治疗策略, 详细阐述了蛋白质组学及修饰组学技术对于挖掘新型分子靶标的重要作用, 并对有望实现HCC临床精准靶向诊疗的前沿手段进行了展望.

2 HCC常见突变相关的部分信号转导机制

肝细胞癌癌变前的演进过程是一个复杂调控的生物学过程, 受到原癌基因和抑癌基因突变的驱动, 以及危险因素的协同促进. 中国HCC人群中最常见的突变基因包括TP53、TERT、CTNNB1等^[18,19], 单核苷酸变异是最常见的突变类型, 最常累及的细胞信号通路包括P53信号通路、Wnt/ β -catenin信号通路、端粒修复通路等(图1). 从HCC的驱动突变和关键信号通路入手,

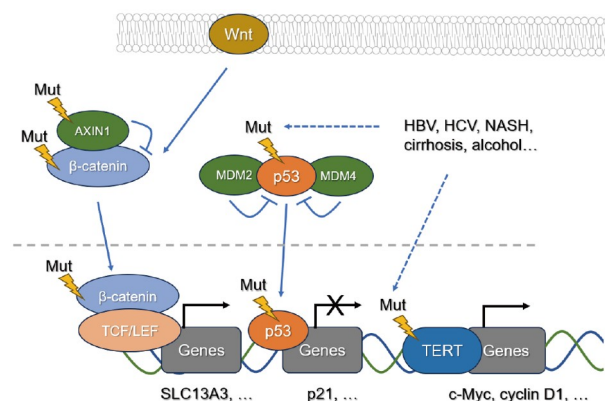


图1 (网络版彩图) HCC常见突变相关的部分信号转导机制

Figure 1 (Color online) Partial signal transduction mechanisms related to common mutations in HCC.

对其进行精确分子分型, 是实现精准治疗的重要前提.

2.1 P53信号通路

P53通常被认为是一个功能强大的抑癌基因, 是HCC中最常见的突变基因. 在P53信号通路中, P53主要作为转录因子直接发挥对下游多种靶基因的转录调节作用, 包括调节细胞周期、凋亡、分化、衰老、代谢、DNA修复等, 其突变主要发挥肿瘤促进作用, 包括增强HCC细胞的增殖和存活、上皮-间充质转化、凋亡逃逸等^[20-22]. P53功能缺失还能调控肿瘤微环境, 促进PD-L1的表达, 减少CD8⁺T细胞的浸润, 促进HCC免疫逃逸^[23]. P53的正性调控因子主要有PML、ASPP1、ASPP2等, 负性调控因子主要有MDM2、MDM4、WIP1、iASPP等. 其中, MDM2是研究最多的P53负性调控因子, 介导P53泛素化降解从而驱动HCC的发展^[24], RBM38通过抑制MDM2挽救P53失活, 为HCC提供了潜在的治疗靶点^[25]. 此外, 也有研究表明P53的激活发挥促HCC发生的作用, 促进慢性肝病向肝癌发展, 揭示了特定条件下P53功能的矛盾性^[26].

2.2 Wnt/ β -catenin信号通路

Wnt/ β -catenin信号的异常激活促进HCC的发生和进展, 与恶性进展、不良预后、癌症相关死亡率的升高密切相关^[27,28]. 在Wnt/ β -catenin信号通路中, HCC最常见的突变基因为 β -catenin蛋白编码基因CTNNB1,

其突变会引起β-catenin的稳定性增加,从而持续激活转录因子TCF/LEF,促进下游信号转导^[29]。β-catenin的降解受到破坏复合体的调控,包括AXIN、APC和两种激酶CK1、GSK-3β,因此该通路的激活亦可由这些因子的失活突变引起^[30]。针对该通路的异常激活,也有很多有望成为潜在精准治疗手段的研究。例如,阻断Wnt-1信号能够抑制Wnt/β-catenin信号通路从而发挥抗HCC作用^[31]。利用小分子拮抗β-catenin与转录因子TCF的结合,能够有效地抑制HCC细胞的生长增殖^[32]。脂肪酸氧化在β-catenin激活驱动的HCC中发挥重要作用,PPARα的缺失足以阻止β-catenin依赖性HCC的发生和发展,抑制脂肪酸氧化是CTNNB1突变HCC精准治疗的潜在策略^[33]。β-catenin下游重要分子SLC13A3在HCC发生中起关键作用,也有望成为CTNNB1突变患者的潜在治疗靶点^[34]。β-catenin下游分子TBX3起到抑制HCC发生的作用,增加TBX3表达或活性的策略可能对HCC治疗有效^[35]。此外,利用药物化学手段筛选出的多激酶抑制剂WNTinib,能通过KIT/MAPK/EZH2通路选择性抑制CTNNB1突变的HCC^[36]。

2.3 端粒修复通路

TERT基因编码端粒酶逆转录酶,在HCC相关的端粒修复通路中,TERT启动子突变是最主要的驱动突变。在HCC发生过程中,端粒酶的再激活是导致恶性转化发生和进展所必需的。在HCC中有多种端粒酶再激活的机制,包括体细胞TERT启动子突变、TERT扩

增、TERT易位和病毒插入TERT基因^[37]。抗TERT的反义寡核苷酸对HCC细胞系的疗效揭示了HCC对TERT的致癌依赖性,为抗TERT治疗提供了临床前依据^[38]。对突变TERT启动子进行碱基编辑的尝试也证明了TERT启动子突变的肿瘤驱动作用^[39]。

危险因素的协同促进主要指病毒、炎症、酒精、毒素等因素能协同驱动基因发挥促肿瘤作用。其中,HBV感染是中国HCC人群中最常见的协同促进因素。TERT启动子被认为是HBV插入整合的重要靶标,HBV的整合能够促进TERT激活和HCC发生^[40]。HBV插入整合的癌症相关基因还包括KMT2B和CCNE1^[41,42]。此外,HBV还能整合至线粒体DNA而促进HCC进展^[43]。在青年HCC人群中,几乎不存在肝癌常见的激活驱动突变(TERT, CTNNB1),但却显著富集HBV非典型整合,强调了HBV整合对青年人群致癌机制的重要意义^[44]。炎症、酒精、毒素等因素亦能促进驱动基因突变或与突变协同发挥促肿瘤作用。

3 HCC临床药物治疗策略

随着众多新药临床实验证据的提出^[45],近年来晚期肝细胞癌的系统治疗指南中新增了越来越多的免疫治疗方案。依据2024年美国国立综合癌症网络(NCCN)晚期肝细胞癌系统治疗推荐指南^[46],目前晚期肝细胞癌的系统治疗方案主要包括免疫疗法与酪氨酸激酶抑制剂疗法(表1)^[46]。

表 1 2024年NCCN晚期肝细胞癌系统治疗推荐指南^[46]

Table 1 2024 NCCN recommended guidelines for systemic treatment of advanced hepatocellular carcinoma

一线系统治疗		
首选方案	其他推荐方案	特定条件下使用
阿替利珠单抗+贝伐珠单抗	度伐利尤单抗	无
替西木单抗+度伐利尤单抗	索拉非尼	
	仑伐替尼	
	帕博利珠单抗	
疾病进展后的二线治疗		
首选方案	其他推荐方案	特定条件下使用
瑞戈非尼	纳武利尤单抗+伊匹木单抗	雷莫芦单抗(仅适用于AFP≥400 ng/mL,且肝功能为Child-PughA级的患者)
卡博替尼	帕博利珠单抗	纳武利尤单抗
仑伐替尼		多塔利单抗(适用于MSI-H/dMMR)
索拉非尼		塞尔帕替尼(适用于RET融合阳性肿瘤)

3.1 HCC免疫治疗策略

3.1.1 阿替利珠单抗+贝伐珠单抗

阿替利珠单抗是一种针对程序性死亡配体(PD-L1或CD274)的单克隆抗体,用于治疗多种血液系统恶性肿瘤和实体肿瘤。通过阻断PD-L1/PD-1免疫检查点,阿替利珠单抗可以减少肿瘤微环境中的免疫抑制信号,从而激活T细胞介导的对肿瘤的免疫杀伤^[47]。贝伐单抗是一种抗血管内皮生长因子VEGF-A的单克隆抗体。贝伐单抗可逆转VEGF介导的免疫抑制并促进肿瘤T细胞浸润,从而增强阿替利珠单抗的抗PD-L1的相关疗效^[48,49]。目前的临床数据支持了贝伐单抗+阿替利珠单抗作为晚期肝细胞癌的一线治疗方案^[50]。一项III期临床试验纳入了501例不可手术切除治疗的肝细胞癌患者,并随机分配至阿替利珠单抗+贝伐单抗组或索拉非尼组,比较两种疗法的疗效。最新分析显示,联合治疗组的中位总生存期(OS)显著延长(19.2个月vs. 13.4个月)。此外,一份收集了6290例患者的荟萃分析评估了分子靶向治疗和免疫治疗在一线治疗中的疗效,结果发现贝伐单抗联合阿替利珠单抗治疗的总生存期优于索拉非尼、纳武利尤单抗和仑伐替尼^[50]。目前该疗法是不可切除晚期肝细胞癌的标准治疗方法。

3.1.2 替西木单抗度伐利尤单抗

替西木单抗是一种针对细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA4)的单克隆抗体,CTLA-4终止生理上不必要的T细胞活动,抑制识别癌症抗原的活化T细胞的激活和增殖,从而调节过度的T细胞免疫反应^[51]。此外,CTLA-4在调节性T细胞(Tregs)上有组织性表达,它抑制树突状细胞(DCs)和CD8阳性T细胞的活性,由于PDL1抗体会激活T细胞对肿瘤的免疫攻击,而Tregs会抑制激活的T细胞,并且CTLA-4抗体可以阻断Tregs的功能,因此,可以通过抑制CTLA-4和PD-1/PD-L1途径来恢复肿瘤免疫^[51,52]。在一项III期临床试验中,1171名中晚期肝细胞癌患者随机被分配入三种药物治疗组,分别是联合用药组(替西木单抗+度伐利尤单抗)、度伐利尤单抗组和索拉非尼组。结果显示联合用药组中位生存期16.43个月,3年生存率30.7%,度伐利尤单抗组16.56个月,3年生存率24.7%,索拉非尼组13.77个月,3年生存率20.2%。与索拉非尼相比,替西木单抗+度伐利尤单抗显著提高了总生存率^[53]。因此目前该疗法

也是不可切除晚期肝细胞癌的标准治疗方法。

3.1.3 帕博利珠单抗

帕博利珠单抗是一种针对程序性死亡受体(PD-1)的单克隆抗体,会与PD-1结合并阻断其与PD-L1及PD-L2的交互作用,阻断由PD-1通路所介导的免疫抑制作用^[54]。根据多项临床试验,对于未接受过全身治疗的晚期肝细胞癌患者,帕博利珠单抗具有持久的抗肿瘤活性,总体生存率较高,目前该疗法是不可切除晚期肝细胞癌的治疗方法之一。

3.1.4 雷莫芦单抗

雷莫芦单抗靶向VEGFR-2是一种重组IgG1单克隆抗体,可抑制VEGFR配体结合以及VEGF-A、C、D,并抑制配体刺激的VEGFR-2活化,从而抑制配体诱导的细胞增殖和人体内皮细胞迁移。一项III期临床试验中,292例接受索拉非尼治疗的进展期肝细胞癌患者被随机分配到雷莫芦单抗组或安慰剂组^[55]。结果显示,雷莫芦单抗组的总生存期显著更长(8.5个月vs. 7.3个月),客观有效率 (ORR, 5% vs. 1%)和总疾病控制率(60% vs. 39%)也高于安慰剂组。此外,最近的研究结果表明血清中带有高浓度甲胎蛋白的肝细胞癌患者显著激活VEGF,这表明了其潜在的作用机制,并证实了生物标志物驱动的临床试验的潜在价值^[56]。目前该疗法是不可切除晚期肝细胞癌的二线治疗方法之一。

3.2 HCC酪氨酸激酶抑制剂治疗策略

3.2.1 索拉非尼

索拉非尼是一种多效酪氨酸激酶抑制剂,主要作用靶点包括Ras/Raf/MAPK通路、VEGF通路、FMS样酪氨酸激酶3 (FLT3),直接作用于肿瘤或血管生成,抑制肿瘤生长^[57]。索拉非尼是第一种针对肝细胞癌的一线靶向抑制剂,在临床治疗中作为晚期肝细胞癌一线治疗方案,多项临床试验也证明索拉非尼是有效且安全的^[58,59],其疗效在十数年内亦有进一步改善,其中位总生存期从10.7个月增加到14.7个月^[60]。

然而,索拉非尼的临床益处仍然不大,在肝细胞癌患者中,与安慰剂相比,索拉非尼仅带来2.8个月的生存优势^[61]。鉴于后续酪氨酸激酶抑制剂的开发与免疫疗法的兴起,索拉非尼不是当前首要推荐的不可切除晚期肝细胞癌的治疗方案。

3.2.2 仑伐替尼

仑伐替尼是一种口服多靶点酪氨酸激酶抑制剂,可抑制VEGFR1-3、PDGFR、KIT、FGFR1-4和RET,显示出强效的抗癌活性。仑伐替尼可阻断激活的FGF通路,具有强效的抗血管生成能力^[62]。仑伐替尼是第二种针对肝细胞癌的一线靶向抑制剂。一项临床试验招募了954名不可切除的肝细胞癌患者,并比较了仑伐替尼和索拉非尼在一线治疗中的疗效^[63]。结果显示,仑伐替尼的疗效不亚于索拉非尼(中位OS 13.6个月vs. 12.3个月),且客观反应率(24% vs. 9%)和中位疾病进展时间(7.4个月vs. 3.7个月)更高。

3.2.3 瑞戈非尼

瑞戈非尼是一种靶向血管生成(VEGFR1-3、TIE2)和酪氨酸激酶(KIT、RAF和RET)的多激酶抑制剂^[64]。在一项III期临床试验中,573名肝细胞癌患者在接受索拉非尼治疗后重新随机分配到瑞戈非尼组或安慰剂组。与安慰剂组相比,瑞戈非尼组的中位生存期更长(10.6个月vs. 7.8个月),客观反应率(11% vs. 4%)和疾病控制率(65% vs. 36%)更高^[65]。目前该疗法是不可切除晚期肝细胞癌的二线治疗方法之一。

3.2.4 卡博替尼

卡博替尼是针对VEGFR2、Kit、Axl、C-Met和Flt3的多种酪氨酸激酶受体的抑制剂^[66]。在一项III期临床试验中,招募了707例晚期肝细胞癌患者,这些患者被随机分配到卡博替尼组或安慰剂组^[67]。相比索拉非尼组,卡博替尼组的中位生存期更长(10.2个月vs. 8.0个月)。目前该疗法是不可切除晚期肝细胞癌的二线治疗方法之一。

3.3 晚期HCC现有治疗方案的挑战与未来趋势

2020年前,治疗晚期HCC的标准治疗药物主要为酪氨酸激酶抑制剂,包含索拉非尼、仑伐替尼等等,主要靶向VEGFR等靶点。如前文所述,索拉非尼等酪氨酸激酶抑制剂治疗晚期肝细胞癌效果不佳,存在有明显的耐药现象^[68]。此外,索拉非尼、仑伐替尼亦会导致多类副作用包括手掌、足底红斑感觉异常和高血压^[69]、肾衰竭、贫血、血小板减少和呼吸困难等,导致70%的患者被迫减少用药剂量,20%的患者被迫停止治疗^[70]。因此,在2020年后,包含免疫检查点抑制剂

在内的免疫疗法成为晚期肝细胞癌的一线治疗方案。虽然阿替利珠单抗+贝伐珠单抗等免疫疗法在延长患者总生存期和无疾病进展期均优于索拉非尼^[71],但仍存在有高血压等3级或4级副作用。同时,由于替代免疫检查点蛋白的表达、免疫抑制细胞增多、上皮间质转化、表观遗传学、干扰素通路下调、抗原加工和呈递通路下调等原因,这类免疫疗法仍存在耐药现象^[72]。因此,亟需为晚期肝细胞癌开发新的免疫疗法,例如研发刺激免疫系统的单克隆抗体、双特异性抗体、改良的细胞因子、抗体-药物偶联物、过继细胞转移和新抗原疫苗等等。另外现有的免疫检查点抑制剂亦可以探索与其他药物的协同治疗方案,例如PD-1/PD-L1抗体、CTLA-4抗体和VEGF激酶抑制剂的组合疗法^[73],同时晚期肝细胞癌的疗法改进也应该同时探寻潜在的新靶点,开发新类型的抑制剂。

3.4 潜在的肝细胞癌新靶点和新药物

尽管晚期肝细胞癌患者的预后有了巨大改善,但只有≤30%的患者对目前的标准治疗有客观反应,其中不到10%的患者完全缓解^[48,53]。因此急需进一步开发潜在的新疗法,包括进一步开发疗效更强的酪氨酸激酶抑制剂或研发新的肝细胞癌相关靶点抑制剂,其中Hedgehog信号通路,Notch信号通路,Plk1,HDAC等通路的激活与肝细胞癌的生存、增殖、恶化与侵袭息息相关,并已有多种相关药物处于治疗肝细胞癌的早期临床阶段^[74]。此外,多纳非尼是一种新型多激酶抑制剂,在Ib期临床试验和以索拉非尼为对照的III期研究中,多纳非尼在治疗晚期HCC时显示出相当或更好的安全性和有效性^[75],并已于2021年获批在中国首先上市。在临床前阶段,针对细胞周期依赖性蛋白激酶(CDK)靶向治疗已显示出良好的前景^[76,77],并有研究报道CDK抑制剂可以克服索拉非尼耐药性或提高肝细胞癌对索拉非尼的敏感性^[78,79]。除去上述对已有相关靶点的深入研究之外,充分利用近年来蓬勃发展的组学分析技术发现更多新的治疗靶点也至关重要。针对相关靶点进行新药设计,为HCC患者提供更多治疗选择,进而有效提高临床治疗效果和患者生存质量。

4 基于蛋白质组学及修饰组学的肝癌靶标发现

蛋白质组是一种基因组所表达的全套蛋白质,包

括一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白质。蛋白质组学作为一门后基因组学主要用来研究一个蛋白质组中的所有蛋白特征, 包括蛋白质的表达水平、蛋白翻译后修饰、蛋白-蛋白相互作用等。通过蛋白质组学研究, 研究人员可以对疾病的发生、细胞代谢等过程在蛋白水平上有一个全面的认识。

4.1 蛋白质组学及修饰组学的技术原理

蛋白质组学的发展依赖于肽/蛋白质分离、质谱分析、同位素标记定量和生物信息学数据分析等技术的进步。蛋白质组学通常运用高分辨质谱和蛋白质芯片等高通量技术, 同时分析生物体中大量蛋白质的表达、修饰及相互作用。质谱技术在蛋白质组学中扮演着核心角色, 可通过测量样本中离子的质荷比获得蛋白质或肽段的分子量信息, 从而在复杂生物样本中准确识别大量蛋白质, 并揭示其序列、修饰及互作网络^[80]。

蛋白质组学的分析策略主要包括两种: “自下而上”(bottom-up)和“自上而下”(top-down)的蛋白分析策略。“自下而上”的蛋白分析策略指的是通过分析蛋白质酶解后释放出来的多肽来表征蛋白质, 首先用特异性蛋白酶将样本水解成肽段, 并通过高效液相初步分离肽段混合物, 具有不同质荷比的肽段在一级质谱中得到初步分离, 电离碎裂后进入二级质谱, 根据二级质谱的离子峰进行数据库搜索鉴定肽段, 将肽段拼接成蛋白进行后续定性或定量分析。“自上而下”的蛋白分析策略是指直接对完整蛋白进行分析。这种蛋白分析策略在研究蛋白质异构体测定以及蛋白翻译后修饰方面具有潜在优势。然而, 这种分析策略存在通量较低, 不适用于分析复杂样品, 完整蛋白质分离技术相对不完善等问题。因此, “自下而上”的蛋白分析策略逐渐发展成蛋白质组学研究中最常用的研究方法^[81]。

许多蛋白质在其功能发挥过程中会发生磷酸化、乙酰化和泛素化等多种翻译后修饰, 质谱技术能够通过检测这些修饰来揭示蛋白质的功能状态和调控机制。但是由于蛋白翻译后修饰存在丰度较低, 修饰不稳定且不同修饰串扰的问题, 通常需要对其富集后进行质谱检测。基于质谱检测的翻译后修饰的富集方法有很多, 主要分为两大类: 亲和富集和化学富集。亲和富集是一种根据翻译后修饰的特定物理化学性质, 通过抗体或亲和色谱将修饰多肽与未修饰多肽分离的方

法, 从而降低样品分析的复杂性, 提高质谱分析的效率和可靠性。但是该方法也存在非特异性结合以及缺少合适抗体等问题。化学富集方法的发展极大改善了上述问题。例如, 利用非天然糖代谢标记是糖蛋白质组学研究中重要的糖肽富集方法^[82]。

蛋白质组学研究可提供不同疾病状态之间蛋白相对丰度, 翻译后修饰以及蛋白-蛋白相互作用等信息, 从而为人类疾病研究中的分子相互作用、信号通路改变以及生物标志物的鉴定提供参考。目前, 蛋白质组学研究被广泛应用于鉴定肿瘤特异性生物标志物、揭示肿瘤发生发展机制、阐明耐药产生机制以及寻找特异性治疗靶点等方面, 对肿瘤的分子分型研究以及精准治疗具有重要意义。

4.2 基于蛋白质组学的肝癌新靶标分子发现

蛋白质表达失调与多种生理及病理过程息息相关, 蛋白质组学技术的快速发展为疾病诊断监测、发病机理解析和创新靶点发现指明了新的方向。研究人员通过对比不同疾病患者群体之间蛋白质组的差异, 从而发现药物靶点、识别生物标志物, 以便进行疾病的早期诊断、预后评估和治疗监测。对不同进展阶段和不同位置的肿瘤组织进行深度蛋白质组学检测及差异蛋白表达分析可以为肿瘤动态监测和临床治疗提供关键的生物标志物和新型靶点^[83]。

蛋白质组学技术能够发掘可信度高、重复性好的多种生物标志物, 显著提升HCC早期诊断和病人预后, 多项HBV相关肝细胞癌的蛋白组学研究揭示了肝癌生物标志物并进行了精确的分子分型(图2)。2019年, Jiang等人^[9]的研究描绘了110例早期HBV相关肝细胞癌的多组学图谱, 并基于蛋白质组图谱进行了精准的分子分型, 其中包括SI型、SII型和SIH型。S-I亚型显著富集代谢相关蛋白如CYP1A2, CYP3A4和OTC等; S-II亚型中CDK1, HDAC2和PCNA等增殖相关蛋白显著高表达; S-III亚型恶性程度更高, 与胆固醇代谢异常和胆固醇酯化酶SOAT1的高表达密切相关, 进一步研究发现SOAT1的抑制剂阿伐麦布(Avasimibe)可以显著抑制该类别肿瘤的生长。此外, 生存分析结果显示SOAT1的表达水平与肿瘤病人总体存活率显著相关, 表明SOAT1高表达可能是多种癌症的普遍特征。因此, SOAT1可能是一个全新有效的诊断生物标志物和潜在的治疗靶点, 可用于改善S-III亚型肝癌患者的不良预

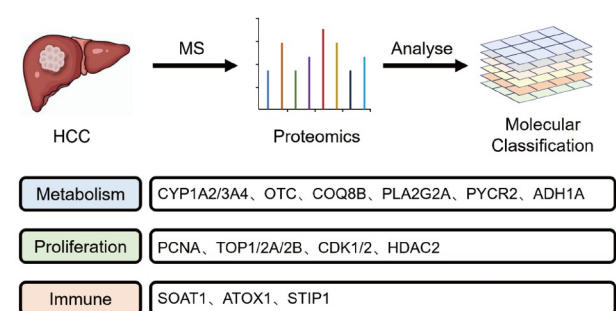


图2 (网络版彩图)基于蛋白质组的肝细胞癌分子分型及生物标志物

Figure 2 (Color online) Molecular typing and biomarkers of hepatocellular carcinoma based on proteomics.

后特征。

在Gao等人^[7]的研究中,通过整合159例HBV相关肝癌蛋白基因组学分析揭示了三种肝癌亚群:代谢驱动型S-Mb、增殖驱动型S-Pf和微环境失调型S-Me。其中增殖驱动型S-Pf中,增殖关键调控因子如TOP1/2A/2B和CDK1/2活性显著上调;而微环境失调型S-Me中显著富集了ATOX1和STIP1等微环境相关因子;代谢驱动型S-Mb中代谢酶COQ8B和PLA2G2A的表达显著升高,并进一步验证得到了代谢相关的脯氨酸生物合成关键蛋白PYCR2和肝脏氧化还原酶ADH1A为肝癌预后生物标志物,从而揭示了肝细胞癌的分子特性并为肝癌个性化治疗提供了新见解。

另外,Ng等人^[84]对不同临床分期和病因的肝癌进行了系统的蛋白基因组学研究,发现相对于早期肝癌,晚期肝癌中细胞周期、DNA损伤修复和转录调控相关的蛋白表达水平显著上调,而细胞外基质和脂肪酸代谢相关蛋白表达则显著下调。此外,该研究根据51例肝癌肿瘤样本蛋白质组数据分为亚组1和亚组2,分别富集到代谢通路和免疫通路。Zhang等人^[85]通过多组学数据对肝癌异质性和免疫分型进行了深入研究,对肿瘤微环境中的免疫细胞进行聚类分析,将肝癌分为免疫激活型、免疫匮乏型和免疫抑制型。

人工智能机器学习在肿瘤精准分子分型和生物标志物发现中发挥重要的作用。Xing等人^[86]进行了160例肝癌多组学研究,并利用机器学习分析蛋白质组学数据和聚类分析,鉴别出了三种肝癌亚型SI~SIII,得到包含9个代谢相关蛋白的队列(DCXR、EHHADH、ALDH4A1、ABAT、ALDH6A1、ALDH7A1、SULT2A1、SORD和ACSM2B),该蛋白队列可以显著区分

上述三种肝癌亚型。SI亚型主要富集到代谢相关通路;SII亚型中细胞生长和免疫相关通路显著升高,代谢通路降低;而SIII亚型则主要富集增殖、转移和免疫通路,但未富集到代谢通路,显示了该亚型更为恶性的特征。此外,通过整合蛋白质组和磷酸化组学数据鉴定了药物靶点和药物敏感性,发现SIII亚型肿瘤对索拉非尼更敏感。以上研究为肝细胞癌精准医学和个性化治疗指明了新的方向。

为了鉴定可靠、非侵入性的肝癌诊断生物标志物,Zhao等人^[87]对74名肝癌患者和82名HBV感染高风险人群的尿液进行了高通量蛋白质组学检测。通过整合分析得出尿液中7个蛋白特征(HPX、GOT1、APOH、APCS、GLRX、PLG和NCR3LG1)可以准确预测肝癌。另外有研究应用蛋白质组学技术,鉴定发现高尔基体蛋白GP73^[88]和热休克蛋白HSP90a^[89]是肝癌检测潜在生物标志物。此外多项研究还发现SCCA、CK19、OPN、MDK、ANXA2/3、DKK1、TRX和RNF6等蛋白可以作为肝癌早期诊断生物标志物^[90],后续研究表明应用生物标志物联合分析,如蛋白组合CIAPIN1、EGFR、MAS1、SLC44A3、ASAHI、UBL7和ZNF428队列可以用于监测早期肝癌发生^[91]。

除了肝癌,非酒精性脂肪肝病和肝硬化等其他肝脏健康问题日趋严重,Sveinbjornsson等人^[92]通过整合蛋白质组等多组学数据分析多种肝脏类疾病,鉴定发现了多种能特异识别非酒精性脂肪肝病和肝硬化的生物标志物。该项研究通过比较冰岛人群Iceland亚组血浆蛋白质组,发现CSTN2和IGFBP2在肝硬化病人中显著上调,而在非酒精性脂肪肝病中表达下调;在英国亚组UKB中,THBS2、IGFBP7和ACY1表达差异性最为显著。以上研究揭示了蛋白质组学在肝癌等肝脏类疾病生物标志物和药物靶点发现中的潜在应用和广阔前景。

4.3 基于修饰蛋白质组的肝癌靶标分子修饰特征分析

翻译后修饰作为真核细胞中蛋白质功能调控的重要机制之一,主要包括磷酸化、乙酰化和糖基化等,其水平异常通常与恶性肿瘤的发生发展密切相关。蛋白质修饰组学可以通过高通量监测肿瘤进展过程中的关键蛋白翻译后修饰变化,为肿瘤发病机制解析及新药研发提供强有力的技术支撑和方向引导。基于关键差

异蛋白修饰开发疾病早期诊断及进行创新药物研发受到越来越多的关注. 蛋白质修饰组学研究在人类疾病基础研究及临床转化领域展现出了巨大的优势和广阔的应用前景^[93].

肝癌的复发率高且总体生存率低, 许多蛋白质翻译后修饰已被证实能够调节肝癌微环境中的多种生物过程, 例如恶性细胞增殖、免疫细胞活化和代谢重编程等, 提示靶向肝癌蛋白翻译后修饰的巨大治疗潜力. 基于蛋白质修饰组学的研究数据表明在肝癌发生发展过程中糖基化、磷酸化、乙酰化和乳酰化等翻译后修饰均发生了显著变化, 这些差异化的蛋白翻译后修饰可以作为肝癌诊断和预后评价的新型生物标志物^[90] (图3).

Ng等人^[84]通过非标记磷酸化组学发现, 与癌旁组织相比, 肝癌组织中细胞周期、mRNA剪切、免疫系统及肿瘤相关信号通路如MAPK、AKT、FGFR、VEGFR和TGF β 中的关键蛋白磷酸化显著富集, 通过KSEA激酶底物富集分析发现肝癌组织中AURKA和CDKs激酶活性明显上调, 而PKC和SGK1激酶活性则显著降低, 表明多种生物学过程中磷酸化修饰的改变会介导肝癌的发生. 一项研究通过iTRAQ标记定量磷酸化组学发现4EBP1的Thr46位点的磷酸化在复发和转移性肝癌中显著增强, 可以用于肝癌监测^[94]. 此外, 多项研究揭示ALDOA-pSer36、ERK2-pT185、ERK1-

pY204、plectin1-pSer4253、a-HS-pSer138/312、LARP1-pT449和Smad2/3-pThr8等位点特异性磷酸化蛋白可以作为潜在的肝癌生物标志物^[90].

乙酰化修饰在细胞代谢和信号转导过程中发挥关键作用, 从而调控肝癌的发生发展. Xue等人^[95]通过质谱技术检测发现甲胎蛋白(AFP)的K194、K211和K242位点可以发生乙酰化修饰, 并可以作为肝癌的生物标志物和治疗靶点. 2020年的一项研究应用乙酰化修饰组学发现m6A去甲基化酶FTO可以调控去乙酰化酶SIRT1介导的肝癌发生^[96]. 此外, Chai等人^[97]的研究发现组蛋白H2B的K120位点、H3.3的K18位点和H4的K77位点的乙酰化水平在肝癌中显著上调. 以上研究表明, 核心组蛋白以及非组蛋白的乙酰化修饰对肝癌诊断发挥着关键作用^[98].

肿瘤中糖酵解增强通常会引起乳酸的积累, 从而导致多种组蛋白和非组蛋白上发生乳酰化修饰, 促进肿瘤的发生和进展. 我们近期的研究探索了肝癌蛋白新型修饰的临床转化前景, 系统绘制了HBV相关肝癌组织乳酰化修饰全景图谱, 揭示了乳酰化对肝癌细胞代谢的关键调节作用. 为探索乳酰化在肝细胞癌中的调控机制, 课题组与临床研究团队合作开展了肝癌乳酰化修饰组学研究, 并开展了肝癌乳酰化功能研究. 该研究共收集52位HBV相关HCC患者的癌与癌旁组织, 开展了深入的乳酰化修饰组分析, 鉴定到了9275个乳酰化位点, 极大拓展了乳酰化修饰底物谱. 其中, 9256个乳酰化修饰位点位于非组蛋白上, 表明该修饰除了转录调控, 可能涉及更广泛的生物学功能. 对乳酰化修饰底物的分析结果表明, 该修饰影响多个重要代谢途径, 包括糖代谢、三羧酸循环、氨基酸代谢、脂肪酸代谢和核苷酸代谢, 揭示该修饰与细胞代谢和能量稳态等生物学功能密切相关. 我们的研究鉴定到了DLD-K66/104/122/267、HADH-K185/192/305、ALDH7A1-K93/528和ADH5-K107/315等差异化表达乳酰化位点, 发现腺苷酸激酶2 (AK2) K28位点的乳酰化可以抑制其活性, 从而促进肝癌细胞的增殖和转移, 可以作为潜在的治疗靶标, 为肝细胞癌靶向治疗提供了新思路. 此外, 上述代谢途径中蛋白质上较高的乳酰化水平与HCC的侵袭性临床特征和驱动突变密切相关, 提示乳酰化修饰在异常肝癌代谢微环境中具有关键性作用.

该研究探索性地将新型修饰组学引入到临床研究

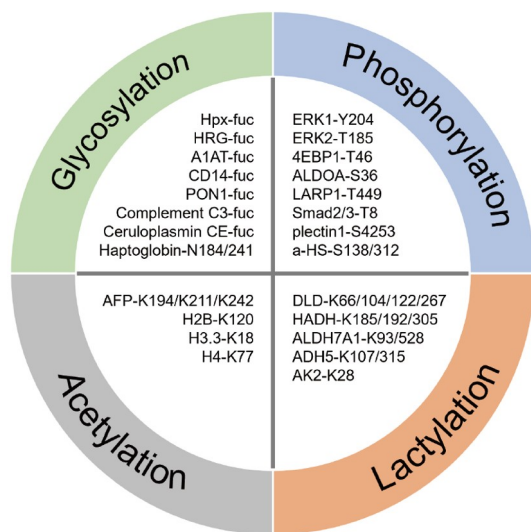


图3 (网络版彩图)基于修饰组学的肝癌相关靶标分子特征
Figure 3 (Color online) Molecular characteristics of liver cancer related targets based on modification omics.

中,首次系统全面绘制了肝癌组织乳酰化修饰全景图谱,揭示了乳酰化对肝癌细胞代谢具有广泛和关键的调节作用,并通过实验验证了乳酰化调控代谢相关蛋白功能,表明乳酰化修饰可能是联系乳酸、肿瘤代谢和患者预后的重要枢纽,为HCC的病程进展和治疗干预提供了新见解。同时,发现了非组蛋白AK2可以作为潜在的治疗靶标,为肝细胞癌转移靶向治疗提供了新的思路^[99]。

4.4 基于糖蛋白组学的肝癌靶标蛋白鉴定

糖基化修饰是糖链在糖基转移酶的作用下与氨基酸侧链上的活性基团发生反应生成糖苷键的过程,在蛋白折叠、蛋白运输、细胞增殖分化、细胞间相互作用以及免疫反应等多种生物学过程中发挥着重要作用。根据糖链与氨基酸生成糖苷键的不同,糖基化修饰可分为N-糖基化和O-糖基化,其中,N-糖基化在真核细胞中普遍存在,研究也最为广泛。N-糖基化识别特异的氨基酸序列Asn-X-Thr/Ser(X指除Pro外的其他任意氨基酸),通常发生在肽链的Asn上,而O-糖基化是指糖链在糖基转移酶的作用下与Ser/Thr上的羟基结合生成O-糖苷键。N-糖链结构中通常含有两个N-乙酰葡萄糖胺和三个甘露糖组成的五糖核心,且核心五糖可进一步通过糖苷键与其他单糖连接,从而形成高甘露糖型、复合糖型和复杂糖型三种结构^[100]。蛋白糖基化修饰异常,如核心岩藻糖基化、外臂岩藻糖基化改变,唾液酸化增加和糖链分支等可通过改变一系列肿瘤相关信号通路促进肝癌的发生发展^[101]。

糖蛋白组学(Glycoproteomics)是指基于质谱进行大规模分离、富集和鉴定糖蛋白的研究。糖蛋白组学技术可实现对糖基化位点和位点特异性聚糖(完整糖肽)的精确分析,促进糖蛋白及其聚糖修饰的识别和定性。近年来,随着质谱技术和分析流程的发展,完整糖蛋白的高通量分析越来越成熟。糖蛋白组学流程主要分为样本制备裂解、蛋白提取酶解、糖肽富集以及质谱检测分析等过程(图4)。其中糖肽富集策略包括亲水相互作用色谱(HILIC)、凝集素亲和层析、多孔石墨碳(PGC)以及可逆和不可逆化学偶联策略等,可用于检测低丰度的聚糖和糖肽。此外,目前已报道多种可提升N-糖基化检测敏感性和特异性的糖肽富集方法,如亲水性MOFS磁性探针和基于聚丙烯酰胺的亲水性微球富集等^[102,103]。糖蛋白组学为深刻理解肝癌的发生

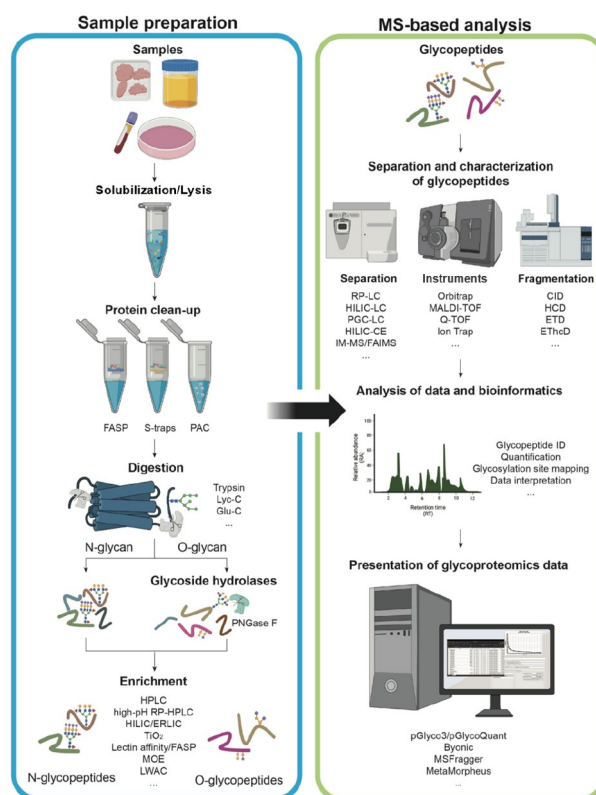


图4 (网络版彩图)糖蛋白组学技术概况^[109]

Figure 4 (Color online) Overview of the glycoproteomics technology. Reproduced with permission from Ref. [109]. Copyright 2023, Taylor & Francis Group.

机理,寻找肝癌诊断、预后评估、治疗靶点和生物标志物提供了强有力的工具。

糖蛋白组学技术在肝癌早期诊断和预后评估生物标志物的发现领域拥有巨大潜力。利用糖蛋白质组学技术鉴定肿瘤组织中发生显著改变的糖基化及糖型,可为肝癌诊断提供新的生物标志物。研究发现肝癌中结合珠蛋白haptoglobin(Hp)的糖基化修饰发生显著改变,其Asn184/Asn241位点的岩藻糖基化可以用于肝癌诊断^[104]。Cao等人^[105]利用糖蛋白质组学,发现糖基转移酶ALG1参与肝癌的发生发展,与癌旁组织相比,ALG1在肝癌组织中低表达,且该蛋白表达与患者预后正相关,进一步研究发现ALG1可以通过N-钙黏蛋白的糖基化调控细胞黏附和迁移过程。Peng等人^[106]发现了肝癌特异性糖型和位点特异性糖链,另外,PON1、A1AT、Hpx、C3、CE、HRG和CD14等蛋白的岩藻糖基化也被报道具有广泛的肝癌早筛应用前景^[90]。除了岩藻糖基化,糖蛋白的高甘露糖水平改变

与肝癌的发生也密切相关, Goldman等人^[107]发现在肝癌中83种N糖肽中有57种发生显著改变. 除此之外, 唾液酸化水平在肝癌中显著升高, 唾液酸化糖蛋白可以显著区分肝癌与癌旁组织^[108].

另外, 糖基化蛋白质组能够高通量检测多种肝脏类疾病相关的糖基化位点和特异糖型, 通过血浆糖基化组学分析技术GlycoCirrhoTest进行高通量糖谱分析, 可以用于评估肝硬化病人中肝癌发生的可能性^[110]. Liu等人^[111]对450例HBV感染的肝癌、肝硬化及肝纤维化病人进行血浆N-糖组学检测, 研究发现与肝硬化和肝纤维化病人血液相比, 肝癌患者血液中分支 α (1,3)-岩藻糖基化三聚糖水平显著升高, 而核心 α (1,6)-岩藻糖基化二聚糖在肝纤维化病人血液中明显富集.

综上所述, 肝癌等肝脏类疾病通常发病机制复杂, 缺少可靠有效的生物标志物, 临床靶点匮乏, 导致病人治疗效果不佳, 预后不良. 蛋白表达失调以及蛋白质翻译后修饰(PTM)改变已被证实能够调节肿瘤微环境中的多种生物过程, 例如恶性细胞增殖、免疫细胞活化和代谢重编程, 表明靶向癌症失调蛋白及翻译后修饰的巨大治疗潜力. 蛋白质组及修饰组学技术可为肝脏类疾病的诊治提供多种早期生物标志物和新型药物靶点, 基于新发现的肝癌特异性标志物, 可通过设计相关配体, 开发具有高度肝癌特异性的靶向递药载体以及原位荧光成像体系, 为HCC患者提供更加精准高效的诊治策略, 有效促进肝癌的早诊早治, 并显著降低药物毒副作用.

5 HCC的靶向递送及荧光可视化

在肝癌治疗中, 靶向递送系统的设计关键在于识别并利用肝癌细胞特有的受体, 如去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR), 以及特异性生物标志物, 如磷脂酰肌醇蛋白聚糖3 (GPC3). 通过递送载体将药物分子与这些受体的特异性配体结合, 可以有效提高药物在肿瘤组织中的积累, 从而提高疗效并减少对正常细胞的损害.

5.1 基于ASGPR靶向HCC

ASGPR是一种跨膜蛋白, 具有肝脏特异性, 其配体为带有末端半乳糖残基或N-乙酰半乳糖胺基的糖链. ASGPR可以与带有糖链配体修饰的蛋白质一起内

化进入细胞, 随后其与靶蛋白分离, 被重新转移到细胞膜上, 而靶蛋白被转运到溶酶体中, 最终被溶酶体蛋白酶所降解. ASGPR由肝癌细胞高度表达, 目前常被当作肝癌治疗中的药物靶点. 由于具有高配体特异性、转运速率和表达水平, 已被广泛探索用于靶向递送化学修饰的核苷酸、siRNA和其他肝癌治疗药物^[112,113].

5.1.1 靶向ASGPR的药物递送策略

Xie等人^[114]开发了一种基于半乳糖修饰的超分子二维糖材料, 用于将美坦新(Maytansine)这一化疗药物靶向递送至肝癌细胞. 利用半乳糖基染料与人血清白蛋白(HSA)之间的主客体相互作用成功构建了超分子半乳糖苷-HSA偶联物, 并将其用于包被二硫化钼(MoS_2)纳米片, 形成了一种新型的2D糖材料(图5). 正是由于这些细胞系高表达半乳糖受体ASGPR, 使得这种2D糖材料展现出对肝癌细胞系HepG2的高度靶向性. 通过这种策略, 美坦新能够被有效地递送到癌细胞, 从而在不损害正常细胞的情况下, 提高了药物对HepG2细胞的杀伤毒性. 这一研究不仅为肝癌的靶向

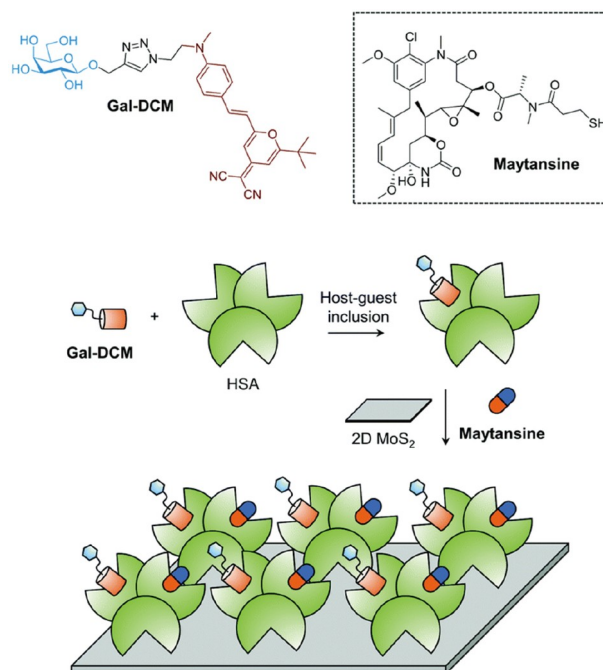


图5 (网络版彩图)半乳糖修饰的靶向ASGPR超分子二维糖材料^[114]

Figure 5 (Color online) Supramolecular two-dimensional sugar material modified with galactose targeting HCC [114]. Reproduced with permission from Ref. [114]. Copyright 2022, Royal Society of Chemistry.

治疗提供了新的思路, 也为其他类型的癌症治疗提供了潜在的靶向递送策略。

5.1.2 靶向ASGPR的蛋白质降解策略

蛋白降解技术如PROTAC (proteolysis-targeting chimers)和LYTAC (lysosome-targeting chimera)能够特异性地靶向和降解肿瘤发展中的关键蛋白, 减少对正常细胞的影响, 从而减少副作用^[115]。

PROTAC技术利用细胞内天然的蛋白降解途径, 通过泛素-蛋白酶体系统催化目标蛋白的降解, 这种高

效的催化机制允许药物在较低剂量下即可达到良好的治疗效果。Chen等人^[116]提出了一种肝脏靶向嵌合体(LIVTAC)方法, 通过将PROTAC分子与ASGPR偶联, 精确诱导靶蛋白在肝脏内降解。研究设计了一种针对哺乳动物溴结构域和末端外结构域(BET)的LIVTAC药物XZ1606, 通过与ASGPR结合, 以内吞方式被肝细胞摄取, 随后在溶酶体中被剪切, 释放出PROTAC分子, 进而通过泛素-蛋白酶体途径降解靶蛋白, 促进肝癌细胞凋亡和生长抑制(图6)。在小鼠肝癌移植瘤模型中, XZ1606显示出良好的抗肿瘤效果, 并且当与索拉

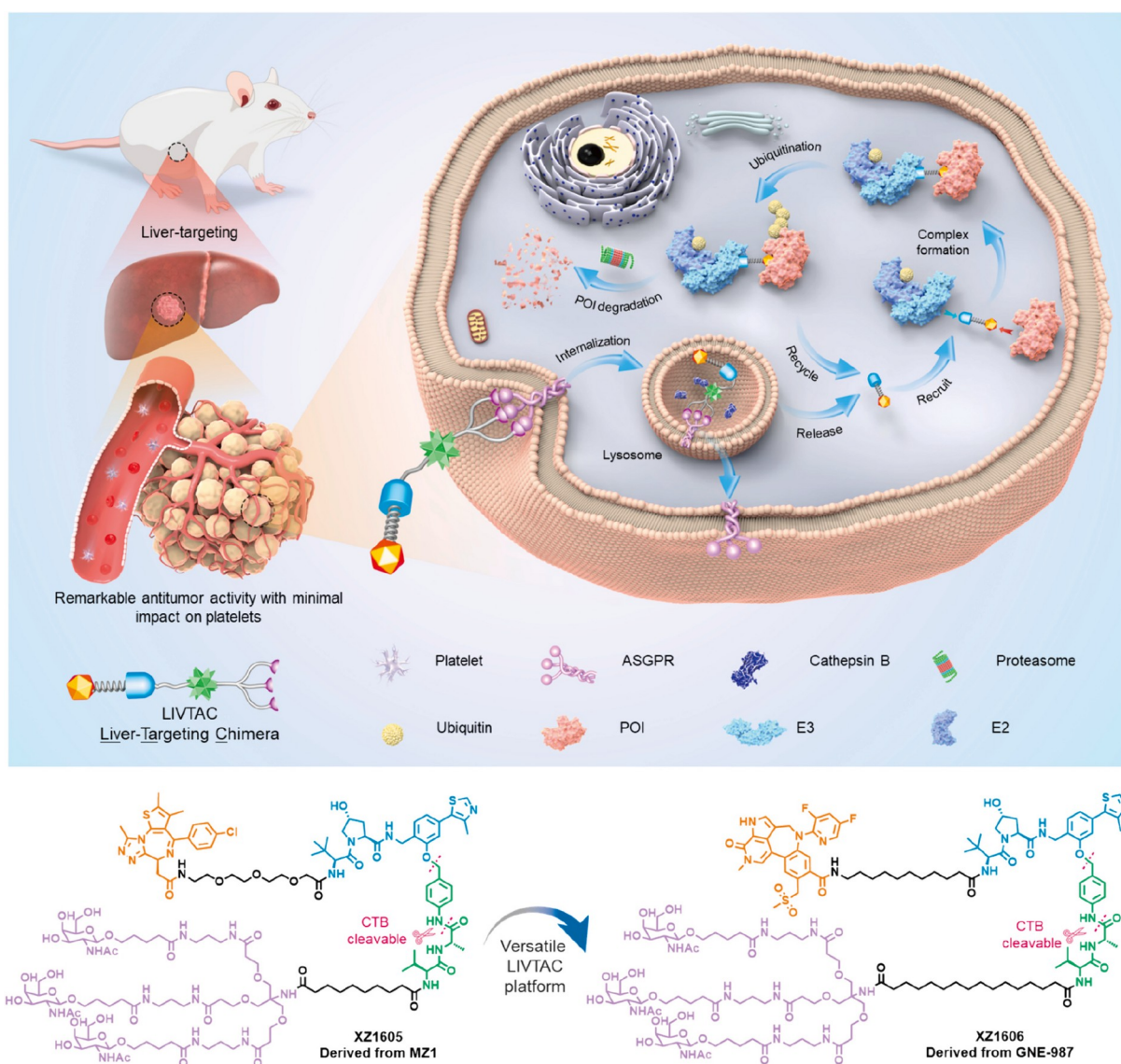


图6 (网络版彩图) 靶向ASGPR的LIVTAC材料^[116]

Figure 6 (Color online) LIVTAC materials targeting ASGPR ^[116]. Reproduced with permission from Ref. ^[116]. Copyright 2024, Elsevier.

非尼联合使用时,能够更有效地抑制肿瘤生长,同时未观察到明显的血小板毒性,这表明LIVTAC技术在提高药效的同时,减少了传统治疗方法可能引起的副作用。

LYTAC技术是一种新型的蛋白质降解策略,这一策略的关键在于利用了CI-M6PR (cation-independent mannose-6-phosphate receptor),这是一种能够将带有磷酸化甘露糖(M6P)的蛋白质高效运送至溶酶体的受体。通过化学合成的含有M6P类似物的糖肽配体,LYTACs能够特异性地结合CI-M6PR,从而将与之结合的任何目标蛋白引导至溶酶体进行降解^[117]。这种技术能够针对那些传统药物难以靶向的膜蛋白和分泌蛋白,在肝癌治疗中的应用具有潜在的重要性。

Ahn等人^[118]通过将LYTACs分子特异性结合ASGPR,实现了肝细胞的细胞型特异性蛋白降解。他们将抗体或小分子药物与GalNAc配体结合,开发了GalNAc-LYTACs,这些LYTACs能够特异性地将肝癌细胞表面的表皮生长因子受体(EGFR)等膜蛋白引导至溶酶体进行降解(图7)。这种方法不仅提高了靶向递送的精确性,还减少了对非靶细胞的潜在副作用。此外,通过使用较小的肽类结合物而非传统的抗体, GalNAc-LYTACs还能够降低治疗成本并提高药物的组织穿透性。

在最近的研究中,LYTAC技术先驱、斯坦福大学Carolyn R. Bertozzi教授等人^[119]在*Science*杂志发表的最新论文为我们提供了新的视角。该研究通过基因组

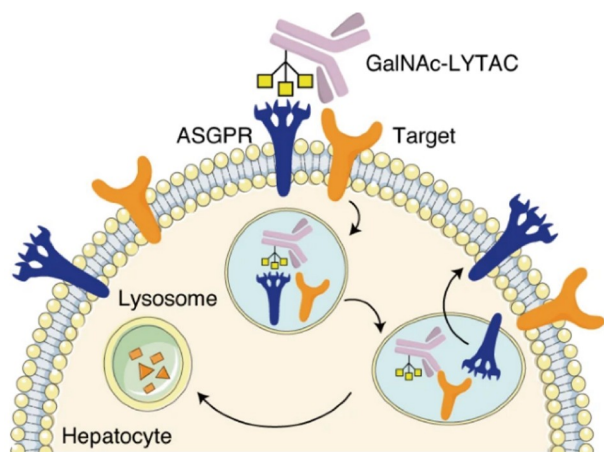


图7 (网络版彩图)靶向ASGPR的LYTAC材料^[118]

Figure 7 (Color online) LYTAC materials targeting ASGPR ^[118]. Reproduced with permission from Ref. ^[118]. Copyright 2021, Springer.

范围的CRISPR筛选,揭示了调控LYTAC介导的膜蛋白降解的关键细胞决定因素,包括retromer复合体的破坏、CUL3的Neddylation以及M6P生物合成基因的干扰(图8)。这些发现不仅增进了我们对细胞内吞生物学的理解,而且为肝癌等疾病的治疗提供了新的靶向策略。特别是,通过破坏M6P生物合成基因,可以增加细胞表面未被占据的CI-M6PR受体,从而增强LYTAC与受体的结合和内化,这为设计更有效的肝癌靶向治疗提供了可能。这些机制的阐明为开发下一代LYTACs提供了重要的设计策略,并可能对依赖于细胞表面至溶酶体运输的其他治疗方式,如酶替代疗法、核酸递送和抗体药物偶联物等产生广泛影响。

5.1.3 靶向ASGPR的光致变色荧光探针

光致变色是指一种分子通过不同波长的照射其结构发生可逆变化的现象,这两种变化的结构拥有不同的吸收以及发射光谱,用不同波长的光可以使得这两个形态发生切换,展现出不同信号,实现多重成像。罗吡喃作为一个典型的光致变色分子,其受到紫外以及可见光的照射能够在开环与闭环之间切换。处于没有荧光的闭环罗吡喃状态通过紫外照射可以开环为发射红色荧光的花青素开环结构,而可见光则可以使其重新闭环,从而实现可控的“无光”到“荧光”再到“无光”的切换。

He等人^[120]开发了半乳糖光致变色荧光探针SP-Gal1,用于远程光调控靶向识别HCC生物标志物ASGPR。该工作中,罗吡喃与内酰亚胺分子偶联,当罗吡喃处于开环的花菁形态时会与内酰亚胺分子共振能

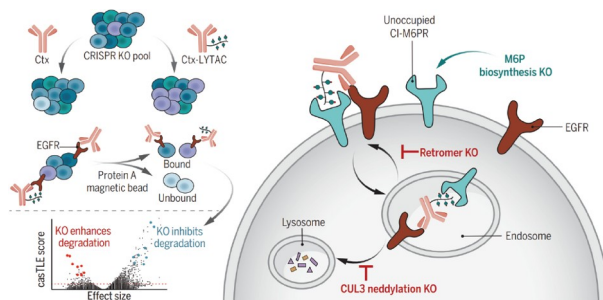


图8 (网络版彩图)鉴定LYTAC介导的膜蛋白降解的细胞决定因素^[119]

Figure 8 (Color online) Identifying cellular determinants of LYTAC-mediated degradation of membrane proteins ^[119]. Reproduced with permission from Ref. ^[119]. Copyright 2023, American Association for the Advancement of Science.

量转移(FRET)机制, 极大减弱绿色荧光的产生, 但当用紫外照射时, 罗吡喃闭环, FRET过程被阻断, 强烈的绿色荧光出现主要通过FRET机制可逆地调节有机染料的荧光发射, 当将其施加紫外光和可见光交替照射时, 萘酰亚胺的荧光可以通过螺吡喃(闭环结构, 荧光关闭, 非萘酰亚胺FRET受体)和花青素(开环结构, 荧光开启, 萘酰亚胺FRET受体)之间可逆的结构转变进行调节. 随后, 如果将花青素溶液中加入亚硫酸根离子, 会与其发生迈克尔加成反应, 损害花青素发色团的光致变色活性, 导致荧光锁定(图9). 该光致变色荧光探针可以在缓冲溶液中形成胶束, 使得高表达ASGPR的HepG2细胞对其内吞作用增强, 而在其他低表达ASGPR的对照细胞则低内吞. 与传统的荧光探针不同, 光致变色探针在紫外光和可见光的交替照射下, 在靶细胞和溶酶体亚细胞器中重复出现荧光闪烁信号, 提高了靶向成像的精准度. 同时, 在光激发后, 该探针能够感知LPS (lipopolysaccharide)诱导细胞产生的内源性亚硫酸根离子. 该研究为开发新一代基于光致变色原理的智能诊断探针奠定了基础.

5.2 基于GPC3靶向HCC

GPC3是一种硫酸肝素蛋白多糖, 在HCC中高表达, 通常位于肝细胞癌细胞膜上, 而在正常肝脏组织中几乎不表达, 这使得GPC3成为HCC诊断和预后的一个重要生物标志物^[121,122].

5.2.1 靶向GPC3的HCC诊断材料

基于GPC3的超分子成像探针为HCC的快速诊断提供了新的工具. Han等人^[123]开发了一种基于二维材

料(2D MoS₂)的超分子成像探针, 用于HCC的精准诊断(图10). 该探针通过荧光肽配体与GPC3特异性结合, 并利用2D MoS₂的荧光猝灭和成像增强特性, 实现了对HCC细胞和组织的快速、特异性成像. 实验表明, 该探针能够在1分钟内快速识别HCC组织, 并在5分钟内达到成像平衡, 与传统的基于抗体的免疫组化方法相比, 具有操作简便、快速高效的优势. 此外, 该探针在HCC组织和癌旁组织之间的荧光强度差异显著, 能够有效区分HCC和非癌组织, 为术中快速病理诊断提供了可能.

在Feng等人^[124]的研究中, 通过噬菌体展示技术筛选出了一种针对GPC3的12-肽(ALLANHEELFQT), 并将其与IRDye800荧光染料结合, 用于HCC的多模态成像(图11). 该肽在体外和体内实验中均显示出对GPC3的特异性结合能力, 在体内实验中, 该肽在注射后1.5小时达到肿瘤摄取峰值, 并在约24小时内清除. 这些结果表明, 该近红外肽有望在HCC的早期临床检测中发挥重要作用.

Zhang等人^[125]成功开发了基于单域抗体的GPC3靶向免疫正电子发射型计算机断层显像(PET)成像材料^{[68Ga]Ga-NOTA-G2}. 免疫PET成像能特异性地显示出皮下HCC病灶, 优于传统的¹⁸F-FDG PET和非特异性的^{[68Ga]Ga-NOTA-NbGFP}免疫PET. 为了使材料具有更佳靶向性和药代动力学特性, 研究团队设计与白蛋白结合域(ABD)融合的^{[68Ga]Ga-NOTA-ABDG2}探针, 有效增加了放射性示踪剂在肿瘤部位的富集, 同时减少了在肾脏部位的积累, 在开发放射免疫治疗药物领域具备潜力(图12).

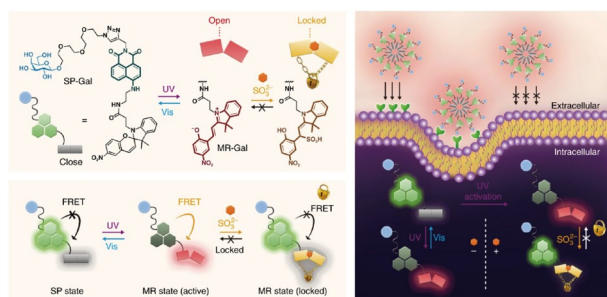


图9 (网络版彩图)半乳糖光致变色荧光探针SP-Gal^[120]

Figure 9 (Color online) Lactose photochromic fluorescent probe SP-Gal^[120]. Reproduced with permission from Ref. [120]. Copyright 2017, Springer.

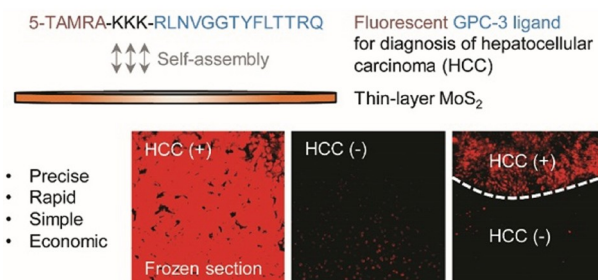


图10 (网络版彩图)靶向GPC3的超分子2D材料用于组织切片精确诊断^[123]

Figure 10 (Color online) Supramolecular 2D materials targeting GPC3 for precise diagnosis of tissue sections^[123]. Reproduced with permission from Ref. [123]. Copyright 2018, Ivyspring International Publisher.

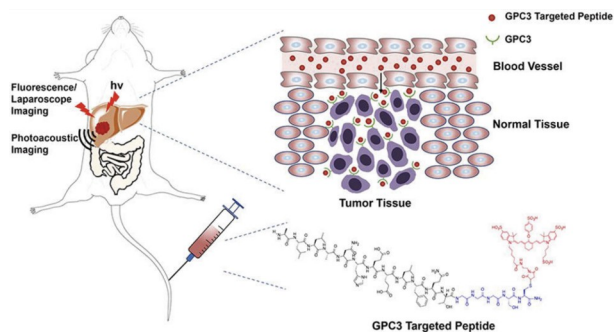


图 11 (网络版彩图)靶向GPC3的多模态探针用于HCC原位诊断成像^[124]

Figure 11 (Color online) Multi-modal probe targeting GPC3 for *in situ* diagnostic imaging of HCC ^[124]. Reproduced with permission from Ref. ^[124]. Copyright 2021, American Chemical Society.

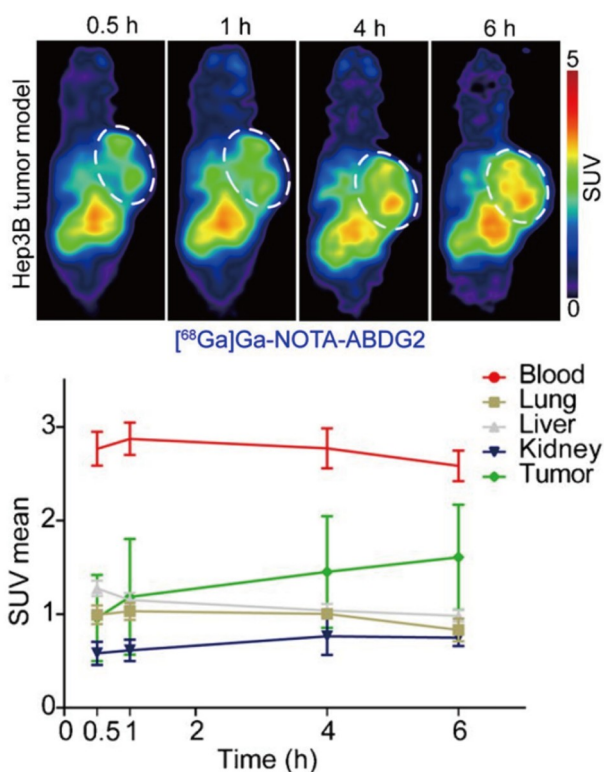


图 12 (网络版彩图)单域抗体修饰的靶向GPC3免疫PET成像材料^[125]

Figure 12 (Color online) ImmunopET imaging materials targeting GPC3 based on single domain antibodies ^[125]. Reproduced with permission from Ref. ^[125]. Copyright 2022, Springer.

5.2.2 靶向GPC3的HCC治疗材料

基于GPC3的靶向递送系统能够特异性识别和靶向HCC细胞,从而实现精准治疗. 近期, Dou等人^[16]通

过正交工程改造人血清白蛋白(HSA), 实现了对肝细胞的靶向可视化和光疗. 研究团队利用共价半胱氨酸偶联和主体-客体化学, 将两个功能独立的肽段正交功能化到HSA上. 其中LH1肽段靶向HCC特异性生物标志物GPC3, SP1肽段则通过免疫检查点刺激减少巨噬细胞的吞噬作用(图13). 这种改造后的HSA在体内外实验中均显示出对GPC3的靶向递送能力, 并对HCC移植瘤产生了显著的杀伤效果, 为HCC的精准诊断和治疗提供了新的视角.

Mu等人^[126]开发了一种靶向GPC3的纳米系统, 可以在肿瘤体积仅为 $3.45 \pm 0.98 \text{ mm}^3$ (接种 5×10^5 H22细胞后2天)时实现清晰的成像, 显著优于传统的叶酸靶向系统($p < 0.01$). 这种高灵敏度的诊断方法为HCC的早期发现和干预提供了有力支持. 此外, 这种GPC3靶向策略能够显著提高药物在肿瘤组织中的富集和疗效, 实现精准治疗. 通过GPC3靶向肽(G12)修饰的脂质体纳米系统(GSI-Lip), 可以将化疗药物索拉非尼和光热治疗剂IR780碘化物共同递送至HCC细胞. 这种靶向纳米系统不仅能够实现近红外荧光成像引导的早期诊断, 还能通过光热治疗(PTT)和化疗的协同作用显著提高抗肿瘤效果(图14). 在体内实验中, GSI-Lip的抗肿瘤抑制率达到了90.52%, 而结合光热治疗后, 抑制率进一步提高至94.93% ($p < 0.01$). 这种GSI-Lip在体内表现出良好的生物相容性和较低的系统毒性, 为临床应用提供了安全保障.

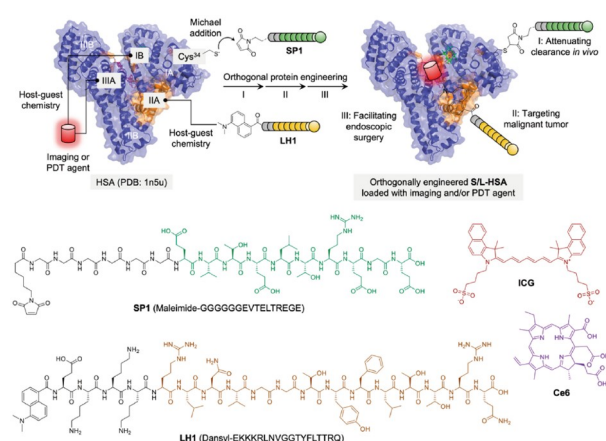


图 13 (网络版彩图) HSA包载的靶向GPC3光动力治疗材料^[16]

Figure 13 (Color online) Photodynamic therapy materials targeting GPC3 encapsulated in HAS ^[16]. Reproduced with permission from Ref. ^[16]. Copyright 2023, American Chemical Society.

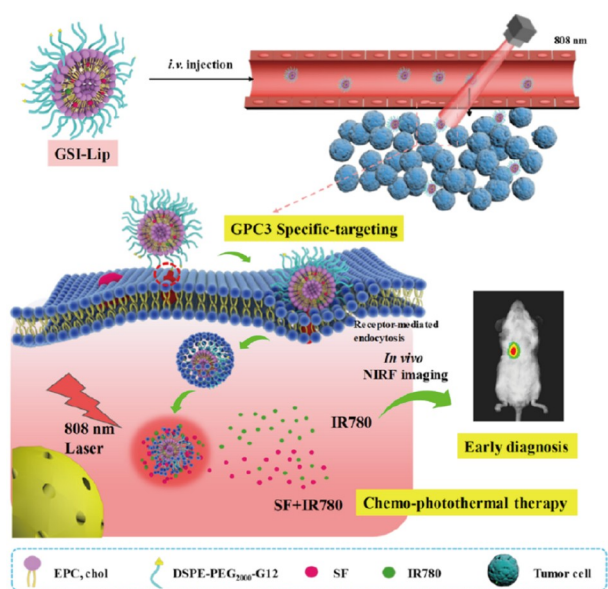


图 14 (网络版彩图)靶向GPC3的肽修饰脂质体共载索拉非尼和IR780碘化物,用于化疗-光热协同治疗^[126]

Figure 14 (Color online) Peptide modified liposomes targeting GPC3 co-loaded sorafenib and IR780 iodide for chemotherapy photothermal synergistic therapy [126]. Reproduced with permission from Ref. [126]. Copyright 2019, American Chemical Society.

Liu等人^[127]设计了一种GPC3靶向的巨噬细胞(RI-LO@MG), 该巨噬细胞表面携带GPC3靶向肽, 能够特异性识别并靶向HCC细胞。这些巨噬细胞内部装载了药物R848和IDO1抑制剂INCB024360, 通过外泌体的形式将药物递送至肿瘤细胞, 从而实现精准治疗(图15)。这种靶向策略不仅提高了药物在肿瘤组织中的浓度, 还减少了药物在正常组织中的分布, 降低了副作用, 具有较大的临床应用潜力。

5.3 荧光靶向材料的潜在问题与优化策略

荧光靶向材料在原位诊疗中已初步展现出独有的优势,然而目前大部分相关工作局限于实验室研究阶段,在向临床转化的过程中仍存在诸多问题。比如靶向荧光染料大多难以对病变位点和周围区域进行精确区分,同时单一靶点可能在其他非病变区域也高表达,容易造成假阳性信号。因此针对多个靶点设计多重响应结构有利于提高特异性。Schauenburg等人^[128]针对肿瘤组织酸性环境以及高浓度的活性氧和谷胱甘肽,设计了基于pH和氧化还原响应的多重锁定结构,只有完全被激活后才会释放药物分子,极大改善了靶点识别能力。此外,靶向递送荧光材料大多未能对药代动

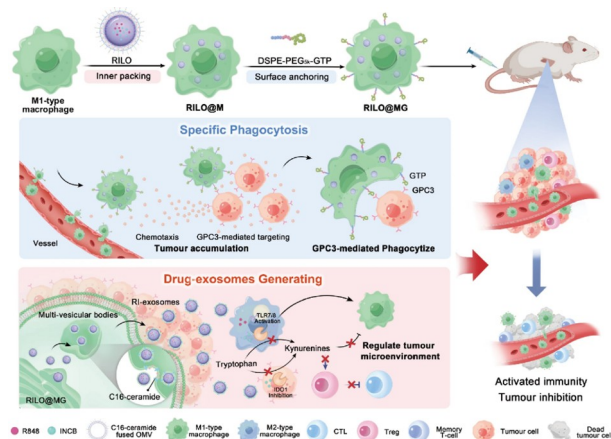


图 15 (网络版彩图)靶向GPC3的巨噬细胞递送体系实现HCC精准治疗^[127]

Figure 15 (Color online) GPC3 targeted macrophage delivery system for precise treatment of HCC [127]. Reproduced with permission from Ref. [127]. Copyright 2024, Springer.

力学进行详细研究, 递送过程存在较高的不确定性, 而递送材料的非天然性容易产生免疫原性, 极大阻碍其临床实用性。而利用体内天然的运送系统可以降低靶向过程的不确定性并降低脱靶率。Luo等人^[129]利用骨髓倾向性中性粒细胞在凋亡前会返回骨髓的特性, 将药物负载在中性粒细胞中, 成功实现骨髓靶向药物递送。由此可见, 提高靶向特异性和生物相容性, 降低材料对正常生理活动的扰动是现阶段HCC靶向材料研究的重要目标。

6 总结与展望

HCC的早诊早治对于提高患者生存率至关重要, 这急需在已有诊疗方案基础上, 探索创造出更为高效、灵敏、可靠的新型诊疗技术手段. 如今, 蛋白及修饰组学在新型肝癌标志物的鉴定发掘以及肝癌精准分型中已展现出显著优势. 糖基化在肝癌诊疗中的作用也逐渐被揭示, 已有研究表明糖基化可作为影响肿瘤进展的生物标志物, 与肿瘤免疫逃逸机制、铁死亡等都有密切联系. 以荧光小分子探针为代表的新型可视化材料也因其高灵敏、高特异、高时空分辨率以及非侵入性等优势, 在肝癌诊疗一体化中取得了重要研究成果. 靶向治疗药物特异性地作用于肝癌细胞上的分子靶点, 可有效减少对正常细胞的损害, 降低毒副作用, 改善患者生活质量. 虽然上述诊疗策略已取得

一定的研究成果, 然而在实际临床应用中仍面临许多挑战. 针对肝癌诊疗手段的未来发展方向, 我们提出以下几点展望.

(1) HCC 临床治疗更加注重联合、精准治疗. 靶向治疗和免疫治疗的联合应用, 可以有效提高治疗响应率, 克服或延迟耐药性. 结合组学分析, 实现基于分子分型的精准治疗, 有助于提高肝癌患者的生存率和生活质量.

(2) 组学研究更加注重多组学联合分析. 整合蛋白质组学、基因组学、修饰组学、代谢组学等多组学数据, 更加全面地解析肝癌的分子特征, 更加精准地发掘

与肝癌发生、发展相关的生物标志物, 鉴定出更多新型肝癌诊疗靶标.

(3) 肿瘤靶向诊疗材料更加注重功能多样性. 基于 HCC 肿瘤特异性靶标, 设计兼具靶向特异性、生物相容性以及具有显著杀伤效用的多功能复合材料, 对 HCC 肿瘤组织进行精准识别、显著富集以及有效杀伤, 从而实现诊疗一体化, 将大大提高肝癌治疗的效率和效果. 此外, 结合荧光成像与其他成像技术(如 MRI、CT、PET)的多模态成像方法, 充分发挥各种技术优势, 探测出更加全面的肝癌信息, 从而实现对 HCC 的精准诊疗.

参考文献

- Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74: 229–263
- Longo DL, Villanueva A. *N Engl J Med*, 2019, 380: 1450–1462
- Zhou M, Wang H, Zeng X, Yin P, Zhu J, Chen W, Li X, Wang L, Wang L, Liu Y, Liu J, Zhang M, Qi J, Yu S, Afshin A, Gakidou E, Glenn S, Krish VS, Miller-Petrie MK, Mountjoy-Venning WC, Mullany EC, Redford SB, Liu H, Naghavi M, Hay SI, Wang L, Murray CJL, Liang X. *Lancet*, 2019, 394: 1145–1158
- National Health Commission of China. *J Clin Hepatol*, 2024, 40: 893–918 (in Chinese) [中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床肝胆病杂志, 2024, 40: 893–918.]
- Llovet JM, Castet F, Heikenwalder M, Maini MK, Mazzaferro V, Pinato DJ, Pikarsky E, Zhu AX, Finn RS. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19: 151–172
- Wang Y, Deng B. *Cancer Metastasis Rev*, 2023, 42: 629–652
- Gao Q, Zhu H, Dong L, Shi W, Chen R, Song Z, Huang C, Li J, Dong X, Zhou Y, Liu Q, Ma L, Wang X, Zhou J, Liu Y, Boja E, Robles AI, Ma W, Wang P, Li Y, Ding L, Wen B, Zhang B, Rodriguez H, Gao D, Zhou H, Fan J. *Cell*, 2019, 179: 561–577.e22
- Fujita M, Chen MJM, Siwak DR, Sasagawa S, Oosawa-Tatsuguchi A, Arihiro K, Ono A, Miura R, Maejima K, Aikata H, Ueno M, Hayami S, Yamaue H, Chayama K, Lee JS, Lu Y, Mills GB, Liang H, Nishizuka SS, Nakagawa H. *Nat Commun*, 2022, 13: 6481
- Jiang Y, Sun A, Zhao Y, Ying W, Sun H, Yang X, Xing B, Sun W, Ren L, Hu B, Li C, Zhang L, Qin G, Zhang M, Chen N, Zhang M, Huang Y, Zhou J, Zhao Y, Liu M, Zhu X, Qiu Y, Sun Y, Huang C, Yan M, Wang M, Liu W, Tian F, Xu H, Zhou J, Wu Z, Shi T, Zhu W, Qin J, Xie L, Fan J, Qian X, He F. *Nature*, 2019, 567: 257–261
- Li W, Li F, Zhang X, Lin HK, Xu C. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6: 422
- Geffen Y, Anand S, Akiyama Y, Yaron TM, Song Y, Johnson JL, Govindan A, Babur Ö, Li Y, Huntsman E, Wang LB, Birger C, Heiman DI, Zhang Q, Miller M, Maruvka YE, Haradhvala NJ, Calinawan A, Belkin S, Kerelsky A, Clauser KR, Krug K, Satpathy S, Payne SH, Mani DR, Gillette MA, Dhanasekaran SM, Thiagarajan M, Mesri M, Rodriguez H, Robles AI, Carr SA, Lazar AJ, Aguet F, Cantley LC, Ding L, Getz G, An E, Anurag M, Bavarva J, Birrer MJ, Babur Ö, Cao S, Ceccarelli M, Chan DW, Chinnaiyan AM, Cho H, Chowdhury S, Cieslik MP, Colaprico A, Carr SA, da Veiga Leprevost F, Day C, Domagalski MJ, Dou Y, Druker BJ, Edwards N, Ellis MJ, Fenyo D, Foltz SM, Francis A, Gonzalez Robles TJ, Gosline SJC, Gümüş ZH, Hiltke T, Hong R, Hostetter G, Hu Y, Huang C, Iavarone A, Jaehnig EJ, Jewel SD, Ji J, Jiang W, Katsnelson L, Ketchum KA, Kolodziejczak I, Kumar-Sinha C, Krug K, Lei JT, Liang WW, Liao Y, Lindgren CM, Liu T, Liu W, Ma W, McKerrow W, Mesri M, Mani DR, Nesvizhskii AI, Newton C, Oldroyd R, Omenn GS, Paulovich AG, Petralia F, Pugliese P, Reva B, Rodland KD, Ruggles KV, Rykunov D, Rodrigues FM, Savage SR, Schadt EE, Schnaubelt M, Schrank T, Shi Z, Smith RD, Song X, Stathias V, Storrs EP, Schürer S, Selvan ME, Tan J, Terekhanova NV, Thangudu RR, Tignor N, Thiagarajan M, Wang JM, Wang P, Wang YC, Wen B,

- Wiznerowicz M, Wu Y, Wyczalkowski MA, Yao L, Yi X, Yao L, Zhang B, Zhang H, Zhang X, Zhang Z, Zhou DC. *Cell*, 2023, 186: 3945–3967. e26
- 12 Zhu Q, Wang H, Chai S, Xu L, Lin B, Yi W, Wu L. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120: e2216796120
- 13 He M, Zhou X, Wang X. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, 9: 194
- 14 Mereiter S, Balmaña M, Campos D, Gomes J, Reis CA. *Cancer Cell*, 2019, 36: 6–16
- 15 Zhang Z, Du Y, Shi X, Wang K, Qu Q, Liang Q, Ma X, He K, Chi C, Tang J, Liu B, Ji J, Wang J, Dong J, Hu Z, Tian J. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21: 449–467
- 16 Dou WT, Qiu P, Shi Y, Zhu L, Guo C, Li N, Zang Y, Liu T, Zhao S, Pan Y, Dong L, Sessler JL, Tan Y, Li J, Wang H, Tian H, He XP. *J Am Chem Soc*, 2023, 145: 17377–17388
- 17 Dou WT, Han HH, Sedgwick AC, Zhu GB, Zang Y, Yang XR, Yoon J, James TD, Li J, He XP. *Sci Bull*, 2022, 67: 853–878
- 18 Wang S, Shi H, Liu T, Li M, Zhou S, Qiu X, Wang Z, Hu W, Guo W, Chen X, Guo H, Shi X, Shi J, Zang Y, Cao J, Wu L. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2021, 10: 172–179
- 19 Chen L, Zhang C, Xue R, Liu M, Bai J, Bao J, Wang Y, Jiang N, Li Z, Wang W, Wang R, Zheng B, Yang A, Hu J, Liu K, Shen S, Zhang Y, Bai M, Wang Y, Zhu Y, Yang S, Gao Q, Gu J, Gao D, Wang XW, Nakagawa H, Zhang N, Wu L, Rozen SG, Bai F, Wang H. *Nature*, 2024, 627: 586–593
- 20 Liu Y, Gu W. *Semin Cancer Biol*, 2022, 85: 4–32
- 21 Zhu Y, Gu L, Lin X, Zhou X, Lu B, Liu C, Li Y, Prochownik EV, Karin M, Wang F, Li Y. *Hepatology*, 2023, 77: 1499–1511
- 22 Lam YK, Yu J, Huang H, Ding X, Wong AM, Leung HH, Chan AW, Ng KK, Xu M, Wang X, Wong N. *Hepatology*, 2023, 78: 727–740
- 23 Yu J, Ling S, Hong J, Zhang L, Zhou W, Yin L, Xu S, Que Q, Wu Y, Zhan Q, Bao J, Xu N, Liu Y, Chen K, Wei X, Liu Z, Feng T, Zhou L, Xie H, Wang S, Liu J, Zheng S, Xu X. *J Immunother Cancer*, 2023, 11: e007479
- 24 Xie X, Wang X, Liao W, Fei R, Wu N, Cong X, Chen Q, Wei L, Wang Y, Chen H. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 28
- 25 Ye J, Liang R, Bai T, Lin Y, Mai R, Wei M, Ye X, Li L, Wu F. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 212
- 26 Makino Y, Hikita H, Fukumoto K, Sung JH, Sakano Y, Murai K, Sakane S, Kodama T, Sakamori R, Kondo J, Kobayashi S, Tatsumi T, Takehara T. *Cancer Res*, 2022, 82: 2860–2873
- 27 Deldar Abad Paskhe M, Mirzaei Jnr S, Ashrafizadeh M, Zarrabi A, Sethi G. *JHC*, 2021, Volume 8: 1415–1444
- 28 Yu F, Yu C, Li F, Zuo Y, Wang Y, Yao L, Wu C, Wang C, Ye L. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6: 307
- 29 Luo X, He X, Zhang X, Zhao X, Zhang Y, Shi Y, Hua S. *MedComm*, 2024, 5: e474
- 30 van Kappel EC, Maurice MM. *Br J Pharmacol*, 2017, 174: 4575–4588
- 31 Wei W, Chua MS, Grepper S, So SK. *Mol Cancer*, 2009, 8: 76
- 32 Wei W, Chua M, Grepper S, So S. *Int J Cancer*, 2010, 126: 2426–2436
- 33 Senni N, Savall M, Cabrerizo Granados D, Alves-Guerra MC, Sartor C, Lagoutte I, Gougelet A, Terris B, Gilgenkrantz H, Perret C, Colnot S, Bossard P. *Gut*, 2019, 68: 322–334
- 34 Zhao W, Wang X, Han L, Zhang C, Wang C, Kong D, Zhang M, Xu T, Li G, Hu G, Luo J, Yee SW, Yang J, Stahl A, Chen X, Zhang Y. *Nat Commun*, 2024, 15: 7522
- 35 Liang B, Zhou Y, Qian M, Xu M, Wang J, Zhang Y, Song X, Wang H, Lin S, Ren C, Monga SP, Wang B, Evert M, Chen Y, Chen X, Huang Z, Calvisi DF, Chen X. *J Hepatol*, 2021, 75: 120–131
- 36 Rialdi A, Duffy M, Scopton AP, Fonseca F, Zhao JN, Schwarz M, Molina-Sanchez P, Mzoughi S, Arceci E, Abril-Fornaguera J, Meadows A, Ruiz de Galarreta M, Torre D, Reyes K, Lim YT, Rosemann F, Khan ZM, Mohammed K, Wang X, Yu X, Lakshmanan M, Rajarethinam R, Tan SY, Jin J, Villanueva A, Michailidis E, De Jong YP, Rice CM, Marazzi I, Hasson D, Llovet JM, Sobota RM, Lujambio A, Guccione E, Dar AC. *Nat Cancer*, 2023, 4: 1157–1175
- 37 Nault JC, Ningharhari M, Rebouissou S, Zucman-Rossi J. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16: 544–558
- 38 Ningharhari M, Caruso S, Hirsch TZ, Bayard Q, Franconi A, Védie AL, Noblet B, Blanc JF, Amaddeo G, Ganne N, Zioli M, Paradis V, Guettier C, Calderaro J, Morcrette G, Kim Y, MacLeod AR, Nault JC, Rebouissou S, Zucman-Rossi J. *J Hepatol*, 2021, 74: 1155–1166
- 39 Zhao G, Ma Q, Yang H, Jiang H, Xu Q, Luo S, Meng Z, Liu J, Zhu L, Lin Q, Li M, Fang J, Ma L, Qiu W, Mao Z, Lu Z. *Hepatology*, 2024, 79:

1310–1323

- 40 Sze KM, Ho DW, Chiu YT, Tsui YM, Chan LK, Lee JM, Chok KS, Chan AC, Tang CN, Tang VW, Lo IL, Yau DT, Cheung TT, Ng IO. *Hepatology*, 2021, 73: 23–40
- 41 Álvarez EG, Demeulemeester J, Otero P, Jolly C, García-Souto D, Pequeño-Valtierra A, Zamora J, Tojo M, Temes J, Baez-Ortega A, Rodríguez-Martin B, Oitaben A, Bruzos AL, Martínez-Fernández M, Haase K, Zumalave S, Abal R, Rodríguez-Castro J, Rodríguez-Casanova A, Diaz-Lagares A, Li Y, Raine KM, Butler AP, Otero I, Ono A, Aikata H, Chayama K, Ueno M, Hayami S, Yamaue H, Maejima K, Blanco MG, Forns X, Rivas C, Ruiz-Bañobre J, Pérez-del-Pulgar S, Torres-Ruiz R, Rodríguez-Perales S, Garaigorta U, Campbell PJ, Nakagawa H, Van Loo P, Tubio JMC. *Nat Commun*, 2021, 12: 6910
- 42 Péneau C, Imbeaud S, La Bella T, Hirsch TZ, Caruso S, Calderaro J, Paradis V, Blanc JF, Letouzé E, Nault JC, Amaddeo G, Zucman-Rossi J. *Gut*, 2022, 71: 616–626
- 43 Giosa D, Lombardo D, Musolino C, Chines V, Raffa G, Casuscelli di Tocco F, D'Aliberti D, Caminiti G, Saitta C, Alibrandi A, Aiese Cigliano R, Romeo O, Navarra G, Raimondo G, Pollicino T. *Commun Biol*, 2023, 6: 684
- 44 Qian Z, Liang J, Huang R, Song W, Ying J, Bi X, Zhao J, Shi Z, Liu W, Liu J, Li Z, Zhou J, Huang Z, Zhang Y, Zhao D, Wu J, Wang L, Chen X, Mao R, Zhou Y, Guo L, Hu H, Ge D, Li X, Luo Z, Yao J, Li T, Chen Q, Wang B, Wei Z, Chen K, Qu C, Cai J, Jiao Y, Bao L, Zhao H. *Gut*, 2024, 73: 1169–1182
- 45 Ruff SM, Shannon AH, Pawlik TM. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 13961
- 46 Brown ZJ, Tsilimigras DI, Ruff SM, Mohseni A, Kamel IR, Cloyd JM, Pawlik TM. *JAMA Surg*, 2023, 158: 410–420
- 47 Markham A. *Drugs*, 2016, 76: 1227–1232
- 48 Wallin JJ, Bendell JC, Funke R, Sznol M, Korski K, Jones S, Hernandez G, Mier J, He X, Hodi FS, Denker M, Leveque V, Cañamero M, Babitski G, Koeppen H, Ziai J, Sharma N, Gaire F, Chen DS, Waterkamp D, Hegde PS, McDermott DF. *Nat Commun*, 2016, 7: 12624
- 49 Hegde PS, Wallin JJ, Mancao C. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52: 117–124
- 50 Sonbol MB, Riaz IB, Naqvi SAA, Almquist DR, Mina S, Almasri J, Shah S, Almader-Douglas D, Uson Junior PLS, Mahipal A, Wee W, Jin Z, Mody K, Starr J, Borad MJ, Ahn DH, Murad MH, Bekaii-Saab T. *JAMA Oncol*, 2020, 6: e204930
- 51 Kudo M. *Liver Cancer*, 2019, 8: 413–426
- 52 Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 490–500
- 53 Abou-Alfa GK, Lau G, Kudo M, Chan SL, Kelley RK, Furuse J, Sukeepaisarnjaroen W, Kang YK, Van Dao T, De Toni EN, Rimassa L, Breder V, Vasilyev A, Heurgué A, Tam VC, Mody K, Thungappa SC, Ostapenko Y, Yau T, Azevedo S, Varela M, Cheng AL, Qin S, Galle PR, Ali S, Marcovitz M, Makowsky M, He P, Kurland JF, Negro A, Sangro B. *NEJM Evid*, 2022, 1
- 54 Khoja L, Butler MO, Kang SP, Ebbinghaus S, Joshua AM. *J immunoTher cancer*, 2015, 3: 36
- 55 Zhu AX, Kang YK, Yen CJ, Finn RS, Galle PR, Llovet JM, Assenat E, Brandi G, Pracht M, Lim HY, Rau KM, Motomura K, Ohno I, Merle P, Daniele B, Shin DB, Gerken G, Borg C, Hiriart JB, Okusaka T, Morimoto M, Hsu Y, Abada PB, Kudo M. *Lancet Oncol*, 2019, 20: 282–296
- 56 Montal R, Andreu-Oller C, Bassaganyas L, Esteban-Fabré R, Moran S, Montironi C, Moeini A, Pinyol R, Peix J, Cabellos L, Villanueva A, Sia D, Mazzaferro V, Esteller M, Llovet JM. *Br J Cancer*, 2019, 121: 340–343
- 57 Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, Schwartz B, Simantov R, Kelley S. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5: 835–844
- 58 Huang A, Yang XR, Chung WY, Dennison AR, Zhou J. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5: 146
- 59 Cheng AL, Guan Z, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, Yang TS, Tak WY, Pan H, Yu S, Xu J, Fang F, Zou J, Lentini G, Voliotis D, Kang YK. *Eur J Cancer*, 2012, 48: 1452–1465
- 60 Bruix J, Raoul JL, Sherman M, Mazzaferro V, Bolondi L, Craxi A, Galle PR, Santoro A, Beaugrand M, Sangiovanni A, Porta C, Gerken G, Marrero JA, Nadel A, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Llovet JM. *J Hepatol*, 2012, 57: 821–829
- 61 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J. *N Engl J Med*, 2008, 359: 378–390
- 62 Matsuki M, Hoshi T, Yamamoto Y, Ikemori-Kawada M, Minoshima Y, Funahashi Y, Matsui J. *Cancer Med*, 2018, 7: 2641–2653

- 63 Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S, Tamai T, Ren M, Cheng AL. *Lancet*, 2018, 391: 1163–1173
- 64 Ettrich TJ, Seufferlein T. *Recent Results Cancer Res*, 2018, 211: 45–56
- 65 Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G. *Lancet*, 2017, 389: 56–66
- 66 Cochin V, Gross-Goupil M, Ravaud A, Godbert Y, Le Moulec S. *Bull du Cancer*, 2017, 104: 393–401
- 67 Abou-Alfa GK, Meyer T, Cheng AL, El-Khoueiry AB, Rimassa L, Ryoo BY, Cicin I, Merle P, Chen YH, Park JW, Blanc JF, Bolondi L, Klumpen HJ, Chan SL, Zagonel V, Pressiani T, Ryu MH, Venook AP, Hessel C, Borgman-Hagey AE, Schwab G, Kelley RK. *N Engl J Med*, 2018, 379: 54–63
- 68 Tang W, Chen Z, Zhang W, Cheng Y, Zhang B, Wu F, Wang Q, Wang S, Rong D, Reiter FP, De Toni EN, Wang X. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5: 87
- 69 Koulouris A, Tsagkaris C, Spyrou V, Pappa E, Troullinou A, Nikolaou M. *JHC*, 2021, Volume 8: 387–401
- 70 Ikeda K, Kudo M, Kawazoe S, Osaki Y, Ikeda M, Okusaka T, Tamai T, Suzuki T, Hisai T, Hayato S, Okita K, Kumada H. *J Gastroenterol*, 2017, 52: 512–519
- 71 Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim TY, Kudo M, Breder V, Merle P, Kaseb AO, Li D, Verret W, Xu DZ, Hernandez S, Liu J, Huang C, Mulla S, Wang Y, Lim HY, Zhu AX, Cheng AL. *N Engl J Med*, 2020, 382: 1894–1905
- 72 Yu SJ. *Pharmacol Ther*, 2023, 244: 108387
- 73 Dong Y, Wong JSL, Sugimura R, Lam KO, Li B, Kwok GGW, Leung R, Chiu JWY, Cheung TT, Yau T. *Cancers*, 2021, 13: 1949
- 74 Chow AKM, Yau SWL, Ng L. *WJCO*, 2020, 11: 589–605
- 75 Liu J, Li X, Zhang H, Chen G, Chen H, Hu Y, Niu J, Ding Y. *Pharmazie*, 2019, 74: 688–693
- 76 Bollard J, Miguela V, Ruiz de Galarreta M, Venkatesh A, Bian CB, Roberto MP, Tovar V, Sia D, Molina-Sánchez P, Nguyen CB, Nakagawa S, Llovet JM, Hoshida Y, Lujambio A. *Gut*, 2017, 66: 1286–1296
- 77 Shen S, Dean DC, Yu Z, Duan Z. *Hepatol Res*, 2019, 49: 1097–1108
- 78 Hsu C, Lin LI, Cheng YC, Feng ZR, Shao YY, Cheng AL, Ou DL. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 2555–2564
- 79 Xu J, Huang F, Yao Z, Jia C, Xiong Z, Liang H, Lin N, Deng M. *Cell Commun Signal*, 2019, 17: 85
- 80 Zhang Z, Wu S, Stenoien DL, Paša-Tolić L. *Annu Rev Anal Chem*, 2014, 7: 427–454
- 81 Toby TK, Fornelli L, Kelleher NL. *Annu Rev Anal Chem*, 2016, 9: 499–519
- 82 Yang F, Wang C. *Chem Commun*, 2020, 56: 13506–13519
- 83 Mani DR, Krug K, Zhang B, Satpathy S, Clauser KR, Ding L, Ellis M, Gillette MA, Carr SA. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 298–313
- 84 Ng CKY, Dazert E, Boldanova T, Coto-Llerena M, Nuciforo S, Ercan C, Suslov A, Meier MA, Bock T, Schmidt A, Ketterer S, Wang X, Wieland S, Matter MS, Colombi M, Piscuoglio S, Terracciano LM, Hall MN, Heim MH. *Nat Commun*, 2022, 13: 2436
- 85 Zhang Q, Lou Y, Yang J, Wang J, Feng J, Zhao Y, Wang L, Huang X, Fu Q, Ye M, Zhang X, Chen Y, Ma C, Ge H, Wang J, Wu J, Wei T, Chen Q, Wu J, Yu C, Xiao Y, Feng X, Guo G, Liang T, Bai X. *Gut*, 2019, 68: 2019–2031
- 86 Xing X, Hu E, Ouyang J, Zhong X, Wang F, Liu K, Cai L, Zhou Y, Wang Y, Chen G, Li Z, Wu L, Liu X. *Cell Rep Med*, 2023, 4: 101315
- 87 Zhao Y, Li Y, Liu W, Xing S, Wang D, Chen J, Sun L, Mu J, Liu W, Xing B, Sun W, He F. *J Proteomics*, 2020, 225: 103780
- 88 Block TM, Comunale MA, Lowman M, Steel LF, Romano PR, Fimmel C, Tennant BC, London WT, Evans AA, Blumberg BS, Dwek RA, Mattu TS, Mehta AS. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 779–784
- 89 Liu W, Li J, Zhang P, Hou Q, Feng S, Liu L, Cui D, Shi H, Fu Y, Luo Y. *Cancer Sci*, 2019, 110: 2941–2959
- 90 Chen F, Wang J, Wu Y, Gao Q, Zhang S. *Front Oncol*, 2022, 12: 822449
- 91 Zhang S, Liu Y, Chen J, Shu H, Shen S, Li Y, Lu X, Cao X, Dong L, Shi J, Cao Y, Wang X, Zhou J, Liu Y, Chen L, Fan J, Ding G, Gao Q. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 85
- 92 Sveinbjornsson G, Ulfarsson MO, Thorolfsson RB, Jonsson BA, Einarsson E, Gunnlaugsson G, Rognvaldsson S, Arnar DO, Baldvinsson M, Bjarnason RG, Eiríksdóttir T, Erikstrup C, Ferkingstad E, Halldorsson GH, Helgason H, Helgadóttir A, Hindhede L, Hjorleifsson G, Jones D,

- Knowlton KU, Lund SH, Melsted P, Norland K, Olafsson I, Olafsson S, Oskarsson GR, Ostrowski SR, Pedersen OB, Snaebjarnarson AS, Sigurdsson E, Steinhorsdottir V, Schwinn M, Thorgeirsson G, Thorleifsson G, Jonsdottir I, Bundgaard H, Nadauld L, Bjornsson ES, Rulifson IC, Rafnar T, Norddahl GL, Thorsteinsdottir U, Sulem P, Gudbjartsson DF, Holm H, Stefansson K. *Nat Genet*, 2022, 54: 1652–1663
- 93 Li Y, Dou Y, Da Veiga Leprevost F, Geffen Y, Calinawan AP, Aguet F, Akiyama Y, Anand S, Birger C, Cao S, Chaudhary R, Chilappagari P, Cieslik M, Colaprico A, Zhou DC, Day C, Domagalski MJ, Esai Selvan M, Fenyő D, Foltz SM, Francis A, Gonzalez-Robles T, Gümüş ZH, Heiman D, Holck M, Hong R, Hu Y, Jaehnig EJ, Ji J, Jiang W, Katsnelson L, Ketchum KA, Klein RJ, Lei JT, Liang WW, Liao Y, Lindgren CM, Ma W, Ma L, MacCoss MJ, Martins Rodrigues F, McKerrow W, Nguyen N, Oldroyd R, Piloizzi A, Pugliese P, Reva B, Rudnick P, Ruggles KV, Rykunov D, Savage SR, Schnaubelt M, Schraink T, Shi Z, Singhal D, Song X, Storrs E, Terekhanova NV, Thangudu RR, Thiagarajan M, Wang LB, Wang JM, Wang Y, Wen B, Wu Y, Wyczalkowski MA, Xin Y, Yao L, Yi X, Zhang H, Zhang Q, Zuhl M, Getz G, Ding L, Nesvizhskii AI, Wang P, Robles AI, Zhang B, Payne SH, Lazar AJ, Paulovich AG, Colaprico A, Iavarone A, Chinnaiyan AM, Druker BJ, Kumar-Sinha C, Newton CJ, Huang C, Mani DR, Smith RD, Huntsman E, Schadt EE, An E, Petralia F, Hostetter G, Omenn GS, Cho H, Rodriguez H, Zhang H, Kolodziejczak I, Johnson JL, Bavarva J, Tan J, Rodland KD, Clauser KR, Krug K, Cantley LC, Wiznerowicz M, Ellis MJ, Anurag M, Mesri M, Gillette MA, Birrer MJ, Ceccarelli M, Dhanasekaran SM, Edwards N, Tignor N, Babur Ö, Pugliese P, Gosline SJC, Jewell SD, Satpathy S, Chowdhury S, Schürer S, Carr SA, Liu T, Hiltke T, Yaron TM, Stathias V, Liu W, Zhang X, Song Y, Zhang Z, Chan DW. *Cancer Cell*, 2023, 41: 1397–1406
- 94 Lin X, Huang Y, Sun Y, Tan X, Ouyang J, Zhao B, Wang Y, Xing X, Liu J. *Cancer Manag Res*, 2020, Volume 12: 103–115
- 95 Xue J, Cao Z, Cheng Y, Wang J, Liu Y, Yang R, Li H, Jiang W, Li G, Zhao W, Zhang X. *Cancer Lett*, 2020, 471: 12–26
- 96 Liu X, Liu J, Xiao W, Zeng Q, Bo H, Zhu Y, Gong L, He D, Xing X, Li R, Zhou M, Xiong W, Zhou Y, Zhou J, Li X, Guo F, Xu C, Chen X, Wang X, Wang F, Wang Q, Cao K. *Hepatology*, 2020, 72: 2029–2050
- 97 Chai X, Guo J, Dong R, Yang X, Deng C, Wei C, Xu JJ, Han W, Lu J, Gao C, Gao D, Huang C, Ke A, Li S, Li H, Tian Y, Gu Z, Liu S, Liu H, Chen Q, Liu F, Zhou J, Fan J, Shi G, Wu F, Cai J. *Clin Transl Med*, 2021, 11: e313
- 98 Wang W, Xu L, Kong J, Fan H, Yang P. *Bioanalysis*, 2013, 5: 327–339
- 99 Yang Z, Yan C, Ma J, Peng P, Ren X, Cai S, Shen X, Wu Y, Zhang S, Wang X, Qiu S, Zhou J, Fan J, Huang H, Gao Q. *Nat Metab*, 2023, 5: 61–79
- 100 Schiel JE. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404: 1141–1149
- 101 Pinho SS, Reis CA. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15: 540–555
- 102 Wang J, Wang X, Li J, Xia Y, Gao M, Zhang X, Huang LH. *J Mater Chem B*, 2022, 10: 2011–2018
- 103 Zhang N, Dong J, Li X, Wang S, Ou J, Ye M. *Anal Chim Acta*, 2022, 1130: 91–99
- 104 Zhu J, Huang J, Zhang J, Chen Z, Lin Y, Grigorean G, Li L, Liu S, Singal AG, Parikh ND, Lubman DM. *J Proteome Res*, 2020, 19: 3452–3466
- 105 Cao X, Shao Y, Meng P, Cao Z, Yan G, Yao J, Zhou X, Liu C, Zhang L, Shu H, Lu H. *Phenomics*, 2022, 2: 230–241
- 106 Peng W, Gutierrez Reyes CD, Gautam S, Yu A, Cho BG, Goli M, Donohoo K, Mondello S, Kobeissy F, Mechref Y. *Mass Spectrometry Rev*, 2023, 42: 577–616
- 107 Goldman R, Ransom HW, Varghese RS, Goldman L, Bascug G, Loffredo CA, Abdel-Hamid M, Gouda I, Ezzat S, Kyselova Z, Mechref Y, Novotny MV. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 1808–1813
- 108 Kamiyama T, Yokoo H, Furukawa JI, Kuroguchi M, Togashi T, Miura N, Nakanishi K, Kamachi H, Kakisaka T, Tsuruga Y, Fujiyoshi M, Taketomi A, Nishimura SI, Todo S. *Hepatology*, 2013, 57: 2314–2325
- 109 Zheng Y, Gao K, Gao Q, Zhang S. *Expert Rev Proteomics*, 2023, 20: 211–220
- 110 Verhelst X, Vanderschaeghe D, Castéra L, Raes T, Geerts A, Francoz C, Colman R, Durand F, Callewaert N, Van Vlierberghe H. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 2750–2758
- 111 Liu XE, Desmyter L, Gao CF, Laroy W, Dewaele S, Vanhooren V, Wang L, Zhuang H, Callewaert N, Libert C, Contreras R, Chen C. *Hepatology*, 2007, 46: 1426–1435
- 112 Fasting C, Schalley CA, Weber M, Seitz O, Hecht S, Koksche B, Denedde J, Graf C, Knapp E, Haag R. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 10472–

10498

- 113 Lepenies B, Lee J, Sonkaria S. *Adv Drug Deliver Rev*, 2013, 65: 1271–1281
- 114 Xie HN, Chen YY, Zhu GB, Han HH, Hu XL, Pan ZQ, Zang Y, Xie DH, He XP, Li J, James TD. *Chem Commun*, 2022, 58: 5029–5032
- 115 Wells JA, Kumru K. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23: 126–140
- 116 Chen C, Pan Y, Yang X, Li H, Cai X, He S, Wang Q, Yang Y, Zheng R, Li H, Yuan S, Dong X, Samarawickrama PN, Zi M, He Y, Zhang X. *J Control Release*, 2024, 374: 627–638
- 117 Banik SM, Pedram K, Wisnovsky S, Ahn G, Riley NM, Bertozzi CR. *Nature*, 2020, 584: 291–297
- 118 Ahn G, Banik SM, Miller CL, Riley NM, Cochran JR, Bertozzi CR. *Nat Chem Biol*, 2021, 17: 937–946
- 119 Ahn G, Riley NM, Kamber RA, Wisnovsky S, Moncayo von Hase S, Bassik MC, Banik SM, Bertozzi CR. *Science*, 2023, 382: eadf6249
- 120 Zhang J, Fu Y, Han HH, Zang Y, Li J, He XP, Feringa BL, Tian H. *Nat Commun*, 2017, 8: 987
- 121 Zhou F, Shang W, Yu X, Tian J. *Med Res Rev*, 2018, 38: 741–767
- 122 Yasuda E, Kumada T, Toyoda H, Kaneoka Y, Maeda A, Okuda S, Yoshimi N, Kozawa O. *Hepatol Res*, 2010, 40: 477–485
- 123 Han HH, Qiu YJ, Shi YY, Wen W, He XP, Dong LW, Tan YX, Long YT, Tian H, Wang HY. *Theranostics*, 2018, 8: 3268–3274
- 124 Feng S, Meng X, Li Z, Chang TS, Wu X, Zhou J, Joshi B, Choi EY, Zhao L, Zhu J, Wang TD. *J Med Chem*, 2021, 64: 15639–15650
- 125 An S, Zhang D, Zhang Y, Wang C, Shi L, Wei W, Huang G, Liu J. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 2022, 49: 2682–2692
- 126 Mu W, Jiang D, Mu S, Liang S, Liu Y, Zhang N. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 23591–23604
- 127 Liu J, Zhao H, Gao T, Huang X, Liu S, Liu M, Mu W, Liang S, Fu S, Yuan S, Yang Q, Gu P, Li N, Ma Q, Liu J, Zhang X, Zhang N, Liu Y. *Nat Commun*, 2024, 15: 8203
- 128 Schauenburg D, Gao B, Rochet LNC, Schüler D, Coelho JAS, Ng DYW, Chudasama V, Kuan SL, Weil T. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63: e202314143
- 129 Luo Z, Lu Y, Shi Y, Jiang M, Shan X, Li X, Zhang J, Qin B, Liu X, Guo X, Huang J, Liu Y, Wang S, Li Q, Luo L, You J. *Nat Nanotechnol*, 2023, 18: 647–656

Progress on the discovery of new functional targets for hepatocellular carcinoma and development of advanced techniques for its targeted diagnosis and therapy

Chen-Han Wang^{2†}, Han-Lin Wang^{4†}, Xin-Bo Wang^{1†}, Xin-Hao Xing^{5†}, Yuan-Hao Wu², Meng-Meng Luo², Yu-Fei Pan⁵, Li-Wei Dong⁵, Ye-Xiong Tan⁵, He Huang^{1*}, Xiao-Peng He^{2*}, Hong-Yang Wang^{3*}, Jia Li^{4*}

¹ State Key Laboratory of Chemical Biology, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

² Key Laboratory for Advanced Materials and Joint International Research Laboratory of Precision Chemistry and Molecular Engineering, Feringa Nobel Prize Scientist Joint Research Center, School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

³ International Cooperation Laboratory on Signal Transduction, Eastern Hepatobiliary Surgery Institute, Naval Medical University, Shanghai 200438, China

⁴ National Center for Drug Screening, State Key Laboratory of Chemical Biology, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

⁵ Oncology Pharmacy Laboratory, National Center for Liver Cancer, Naval Medical University, Shanghai 201805, China

† Equally contributed to this work.

* Corresponding authors (email: hhuang@simmm.ac.cn; xphe@ecust.edu.cn; hywangk@vip.sina.com; jli@simmm.ac.cn)

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary liver cancer, which develops in a chronic inflammatory environment of the liver, and is closely related to viral hepatitis infection or exposure to harmful environmental factors such as alcohol or aflatoxins. This article reviews the clinical status of HCC in Chinese population, discusses the existing diagnosis and treatment strategies and their shortcomings, systematically summarizes the early and recent revealed signal transduction mechanisms of HCC cells, and highlights the following two types of cutting-edge techniques: (1) proteomics technology, mining new functional molecular targets; and (2) advanced diagnostic and therapeutic techniques targeting membrane proteins that are specifically expressed by HCC in order to provide new insights for the early and precise diagnosis and effective treatment of HCC.

Keywords: hepatocellular carcinoma, signal transduction mechanisms, proteomics, targeted diagnosis and therapy

doi: [10.1360/SSC-2025-0009](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0009)