

Estructura y función de la alfa-fetoproteína

María Guadalupe Maldonado Mercado^a, Mohamed Ali Pereyra Morales^b, Edgar Arturo Zenteno Galindo^a

Resumen

La alfa-fetoproteína es una glicoproteína que ha sido considerada como un marcador oncofetal, cuya aplicación se ha demostrado en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades tumorales como el carcinoma hepatocelular, y también es de gran utilidad para identificar malformaciones fetales relacionadas con fallas del cierre del tubo neural y anencefalia. Diversos trabajos establecen una interesante relación entre la estructura y la función de esta proteína que permite regular la respuesta inmune de la madre y que podría participar en los eventos que evitan el rechazo del embrión. En esta revisión se identifican algunos aspectos moleculares de la alfa-fetoproteína que abren interesantes perspectivas para entender mejor su participación en el desarrollo de alteraciones tumorales.

Palabras clave: Alfa-fetoproteína, hepatoma celular, lectinas.

Structure and function of the alpha-fetoprotein Abstract

Alpha-fetoprotein is a glycoprotein that has been considered an oncofetal marker and demonstrated its application in tu-

mor diagnosis and prognosis of diseases such as hepatocellular carcinoma, is also useful to identify fetal malformations related to failure of neural tube closure and anencephaly. There are several works that make an interesting relationship between the structure and function of this protein that allows it to regulate the immune response of the mother and could participate in events that prevent rejection of the embryo. In this review some molecular aspects of alpha-fetoprotein that open interesting perspectives to better understand their participation in the development of tumor abnormalities are identified.

Key words: Alpha-fetoprotein, hepatocellular, lectins.

INTRODUCCIÓN

Los marcadores tumorales son indicadores bioquímicos que pueden ser cuantificados en sangre y orina. Algunos marcadores se encuentran normalmente en etapas embrionarias y fetales, sin embargo, cuando hay alteraciones tumorales su concentración se incrementa, y por ello son muy importantes en medicina. Recientemente ha aumentado el número de marcadores, y entre ellos encontramos el gliptican 3, que es una proteína oncofetal; los antígenos MAGE-A3, utilizados para el diagnóstico de melanoma, y los marcadores NY-ESO-1 y SSX-2,

^aDepartamento de Bioquímica, Laboratorio 9. Facultad de Medicina. UNAM. México, DF.

^bDepartamento de Bioquímica, Laboratorio 6. Facultad de Medicina. UNAM. México, DF.

Correo electrónico: guada@laguna.fmedic.unam.mx

Recibido: 22-junio-2014. Aceptado: 25-mayo-2015.

para carcinoma *in situ* testicular. Algunos marcadores también se sobreexpresan en pacientes con hepatoma celular, al igual que la telomerasa de la transcriptasa inversa (TERT)¹. En este escrito nos referiremos en especial a la alfa-fetoproteína (AFP), ya que se le considera el marcador “universal” para el hepatoma celular.

La AFP fue descubierta por Abelev en 1963². Esta glicoproteína se produce en el humano durante el desarrollo fetal en el hígado fetal y el saco vitelino. El hígado se convierte en la principal fuente de AFP, ya que el saco vitelino degenera en el segundo trimestre. La concentración de esta proteína en el suero del feto es muy alta (1-10 mg/ml), y durante el segundo trimestre del embarazo es en promedio de 30 mg/ml, además, la AFP tiene afinidad por el oxígeno y tiene un papel importante en el transporte de éste, remplazando la función de la hemoglobina fetal. Posteriormente es secretada a la circulación fetal y, finalmente, localizada en el líquido amniótico en concentraciones de entre 7 y 20 µg/ml, durante las semanas 14 y 16 del embarazo.

La síntesis de AFP declina gradualmente y desaparece de 6 a 12 meses después del nacimiento^{3,4}, cuando se inicia una mayor síntesis de albúmina sérica. Se ha sugerido que una función importante de la AFP durante la gestación podría estar relacionada con la supresión de la respuesta inmune de la madre durante el desarrollo del embrión⁵.

Se ha identificado que la variación en el contenido y en las características estructurales de esta proteína en el recién nacido puede ser de utilidad para la detección de anomalías y malformaciones fetales, incluyendo el síndrome de Down, el síndrome del tubo neural abierto, la espina bífida y los tumores del saco vitelino⁶. En el adulto, cuando el nivel sérico de la AFP es alto, es un marcador útil para detectar enfermedades neoplásicas, por ejemplo, el carcinoma hepatocelular y el teratoma testicular, entre otros tipos de cáncer⁷ (tabla 1).

Tabla 1. Patologías asociadas a la concentración de AFP^{a,12}

Durante el embarazo puede haber:		En adultos humanos ^b
Aumento de AFP	Disminución de AFP	
Síndrome de Turner	Pérdida fetal	Cáncer de hígado ^c
Espina bífida	Síndrome de Down	Cáncer testicular (gonadal)
Embarazo múltiple		Cáncer pancreático
Onfalocele		Cáncer de ovario
Tetralogía de Fallot		Cáncer de vías biliares
Atresia duodenal		Cáncer de estómago
		Cirrosis hepática
		Hepatitis no neoplásico

AFP: alfa-fetoproteína.

^a10-150 ng/ml de concentración de AFP en mujeres embarazadas entre las semanas 15 a 18.

^bAumento de AFP en sangre.

^cEn hígado > 500ng/ml¹³.

PROPIEDADES DE LA AFP

El gen de la AFP se localiza en el cromosoma 4 en la región 4q11-q22, es una proteína de 69 a 70 kDa, que consiste de una cadena polipeptídica de 590 residuos de aminoácidos y un contenido de carbohidratos de entre 3.0 a 5.0%. La vida media de esta proteína es de 5 a 7 días. La AFP es miembro de una familia multigénica, de gran homología con la albúmina, incluida la masa molecular similar que varía entre 65 a 70 kDa. Esta familia consiste de 4 miembros que son: la albúmina, la proteína de unión a la vitamina D, la proteína α -albúmina y la AFP; esta familia se caracteriza por presentar residuos de cisteína que se pliegan y unidos por puentes disulfuro, lo que da por resultado 3 dominios, como se muestra en la **figura 1**.

Dentro de esta familia, únicamente la AFP y la proteína de unión a la vitamina D están glicosiladas. Aunque la AFP y la albúmina humanas son similares en estructura general, además de contener carbohidratos hay ciertas partes de las moléculas que las diferencian, principalmente en su estructura secundaria, además de que la AFP es una glicoproteína que posee una bisagra que une a los dominios 2 y 3, y que confiere cierta plasticidad y facilita la interacción con otras moléculas. La unión con diversos ligandos depende del bajo grado de dispersión electrónica, ausente en la albúmina y que, a diferencia de esta última, la AFP no posee sulfidrilos libres. De acuerdo a sus características bioquímicas

y estructurales, en la **tabla 2** se resumen las principales homologías entre las proteínas de la familia albuminoide, de la que la AFP y la albúmina son los principales exponentes⁸⁻¹⁰.

ISOFORMAS DE LA AFP

Recientemente, se ha incrementado el interés por la química, la bioquímica y la biología de carbohidratos, que es el estudio de los glicanos unidos covalentemente a proteínas. El estudio del valor biológico de los glicanos había quedado muy por detrás del estudio de otras moléculas, probablemente debido a su complejidad estructural o a las limitantes para determinar fácilmente su estructura primaria y a que en su biosíntesis participan diversos factores genéticos asociados a la participación de glicosiltransferasas, glicosidasas, isomerasas, etc. Por lo que el desarrollo de nuevas tecnologías, para explorar las estructuras de estas cadenas de azúcar ha abierto una nueva frontera de la biología: la glicobiología, que desde 1980 hasta la fecha ha tenido un gran crecimiento en el campo de las ciencias biomédicas, con relevancia para la investigación básica, biomedicina y biotecnología. La glicosilación de proteínas es la forma más compleja de modificación de biomoléculas que existe; los caminos de la glicosilación ocurren en 3 compartimentos celulares: el citosol, el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi¹⁴.

Los azúcares no se encuentran en la plantilla del ácido desoxirribonucleico (ADN), pero sí son

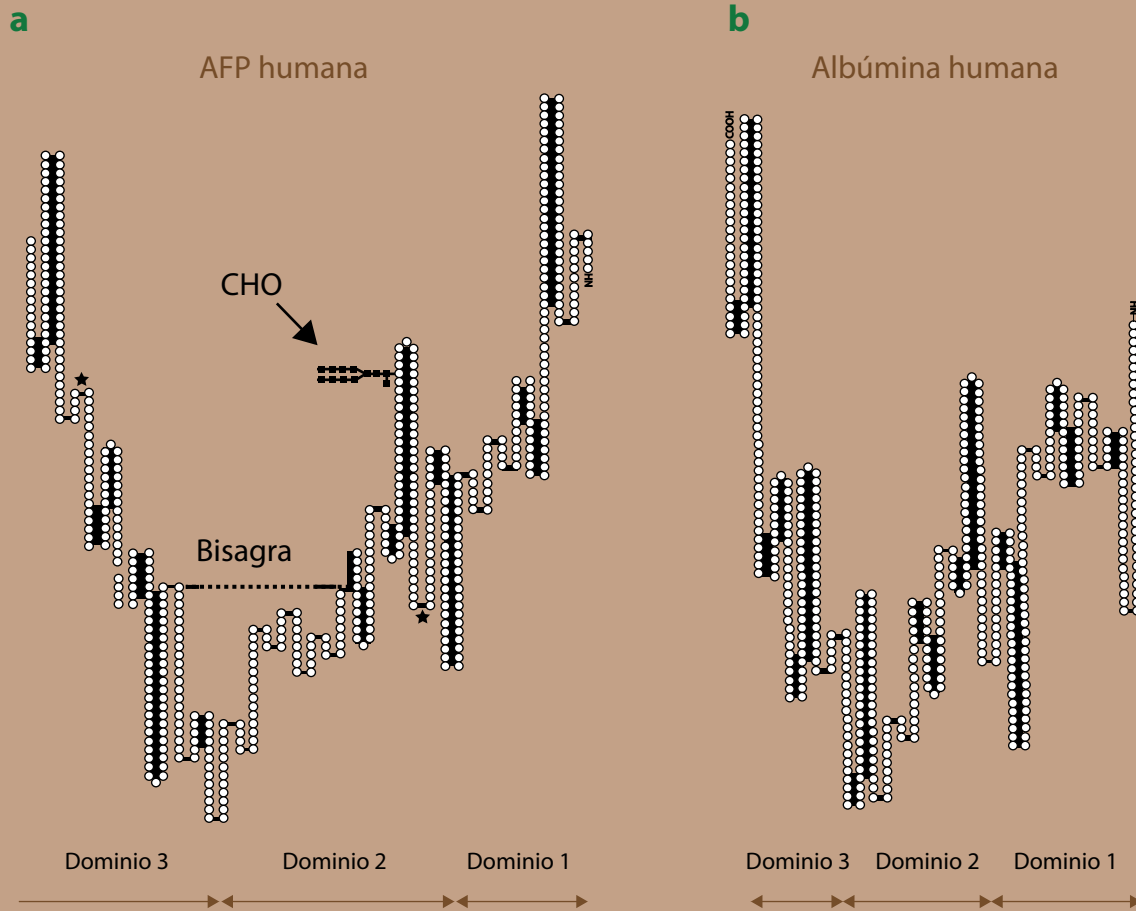


Figura 1. Configuración molecular de la AFP y la albúmina. En la AFP existen 15 puentes disulfuro (■), que generan una estructura plegable de 3 dominios de repetición y un sitio N-glicosilación (CHO). En comparación con la albúmina humana, hay 39% de conservación de la estructura primaria. En la AFP observamos la bisagra que une al dominio 2 con el dominio 3 (-----). La similitud sobresaliente es en el dominio 3 y el más bajo en el dominio 1. Los asteriscos (*) indican los giros beta de la AFP. La albúmina no contiene carbohidratos. Figura modificada de las referencias 8 y 11.

AFP: alfa-fetoproteína; CHO: células de ovario de hámster chino.

dependientes del procesamiento de las enzimas que participan en la glicosilación, como son las glicosidasas y las glicosiltransferasas, presentes en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi¹⁴. Este procesamiento se efectúa tanto en individuos sanos como cuando hay alguna patología, como el hepatoma, entre otras. Estas enzimas se encuentran en diferentes tejidos, en el caso de la AFP sus isoformas son

dependientes de su localización, por ejemplo, la AFP del saco vitelino difiere de la de origen hepático¹⁵. Esto sugiere que también hay diferencias cuantitativas y cualitativas en las enzimas de la glicosilación en cada microambiente tumoral que favorecen isoformas (conocidas como glicofórmis). Asimismo, las enzimas involucradas en la síntesis y catabolismo de los carbohidratos que se unen a la proteína, como las

Tabla 2. Propiedades estructurales y bioquímicas de las proteínas de la familia albuminoide

Proteína	Peso Molecular Kd	Sitios de N-glicosilación	Contenido de carbohidratos (%)	Aminoácidos totales	Cromosoma
AFP	69-70	1	3.0-5.0	590	4
Albúmina	66	0	0.5	585	4
α -albúmina	82	4	21.0	608	4
Proteína de unión a la vitamina D	58	1	5.0	458	4

AFP: alfa-fetoproteína.

En humanos, los 4 genes albuminoides se localizan en tándem en el cromosoma 4, en la región 4q11-q22⁽⁸⁾.

glicosiltransferasas y las glicosidasas, probablemente se puedan usar también como biomarcadores para el cáncer.

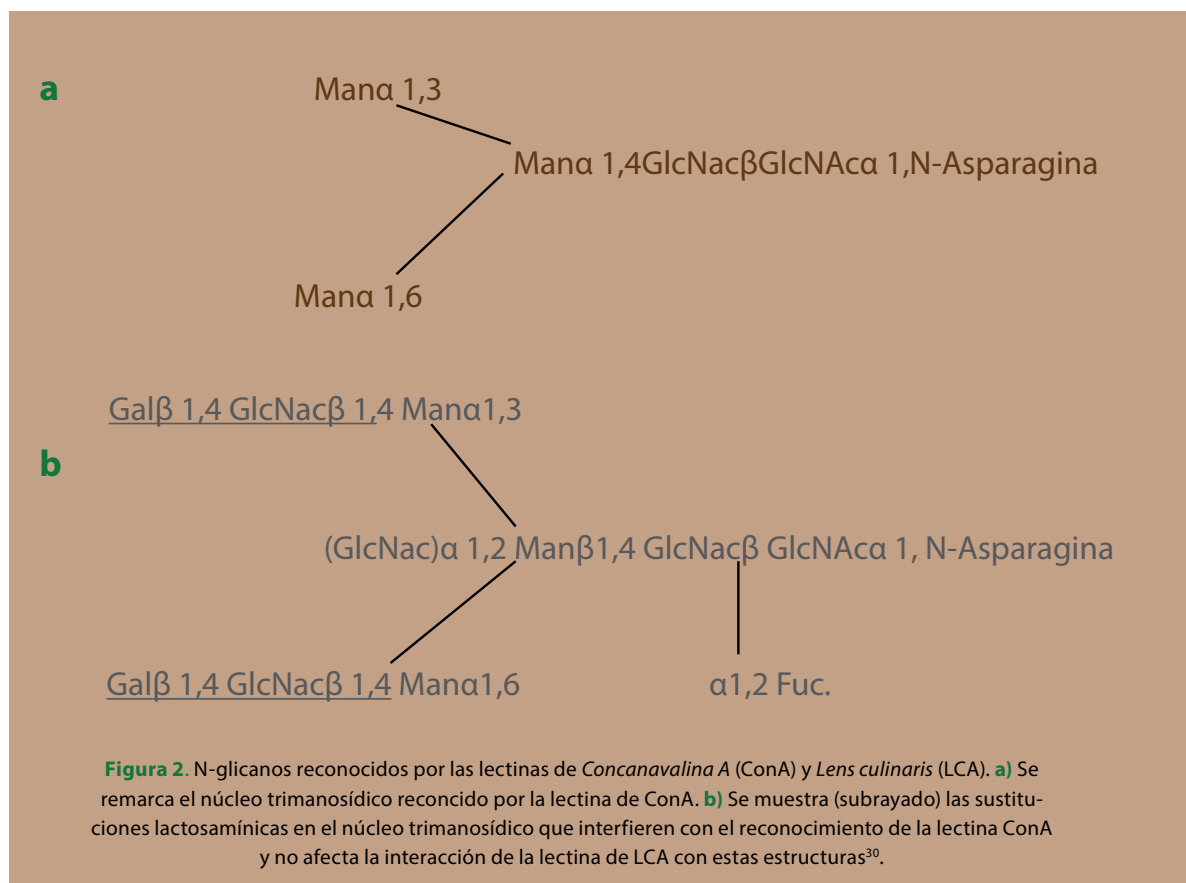
Las glicofomas pueden clasificarse en subconjuntos restringidos de glicoproteínas. Desde los años sesenta se han usado a las lectinas de plantas como valiosas herramientas en la investigación biomédica, ya que son proteínas o glicoproteínas variables y universales de origen no inmune y debido a sus interacciones con el receptor-ligando a glicanos sobre superficies celulares, las lectinas están implicadas en varios procesos biológicos¹⁶.

El uso de las lectinas ha permitido dilucidar algunas características estructurales de la porción glicosídica de la AFP. Fue en los años ochenta que se demostró la existencia de las isoformas de la AFP¹⁴. De acuerdo a sus características de glicosilación y su reconocimiento por lectinas como la aglutinina de *Lens culinaris* (LCA), que reconoce α -manosa y es específica por reconocer estructuras N-glicosídicas en la asparagina 232 en el dominio 2 de la AFP (**figura 2**), se han identificado 3 variantes principales de AFP. Estas 3 glicofomas son denominadas AFP-1, AFP-2 y AFP-3. La AFP-1 no reacciona con LCA. La AFP-2 tiene una afinidad intermedia a LCA, y la AFP-3 es la fracción que se une a LCA. Existen evidencias que sugieren que la expresión de alguna de estas glicofomas está en estrecha relación con el tejido que las sintetiza, tal es el caso de AFP-1, que se presenta en hepatitis crónica, en cirrosis, y constituye una fracción grande en el total de AFP en las enfermedades no malignas del hígado. La AFP-2 deriva de los tumores de saco vitelino y puede detectarse en el suero materno durante el embarazo. La AFP-3 es un marcador

tumoral en hepatoma celular y es reconocida por LCA, teniendo un residuo adicional de α 1-6 fucosa que se une a N-acetilglucosamina por medio de la enzima fucosiltransferasa 8 (Fut8), que es necesaria para producir el núcleo fucosilado de las AFP. Estas modificaciones parecen ser características de células cancerosas^{14,16}. En estudios realizados en humanos, se encontró que la AFP-3 puede detectarse en el suero de aproximadamente el 35% de los pacientes con hepatoma celular en tumores < 2 cm¹⁷. Esto sugiere que la AFP-3 tienen un potencial muy rápido para detectar a distancia el crecimiento y metástasis de los hepatomas.

Además de la LCA, se han usado otras lectinas para demostrar las variantes de las AFP (**tabla 3**) como son *Concanavalina A*¹⁸ y *Pisum sativum*¹⁹, específicas para D-manosa. También se han hecho estudios con las lectinas *Ricinus communis*²⁰ y *Viscum album*²¹, con especificidad para D-galactosa, esta unión se efectúa en la penúltima galactosa de los glicanos de la AFP. Como se identifica en la **tabla 3**, la ausencia de estructuras glicosiladas de tipo mucina con galactosa y N-acetil-galactosamina, es confirmada por la ausencia de reconocimiento de la lectina de cacahuate (PNA). Estudios hechos por varios autores han demostrado que al trabajar con AFP proveniente de pacientes con diferentes tumores como hepatoma celular, líquido amniótico (columna bífida), cáncer de intestino, entre otros, encontraron que hay cambios en los carbohidratos de la AFP¹⁷, es decir la glicosilación se altera.

Existen diferentes estudios que apoyan que la AFP es una glicoproteína versátil, ya que participa en: la proliferación de células NIH/3T3, que son de la línea celular de fibroblastos de embrión de



ratón, para comprobar esto, incubaron *in vitro* estas células marcadas con timidina tritiada en presencia de AFP por 24 horas y se identificó incremento de la incorporación de ese marcador radioactivo en las células NIH/3T3, sugiriendo que la AFP favorece la proliferación celular en forma dependiente de la dosis²². Otro grupo uso la línea celular Bel-7402 (hepatoma celular, productora de AFP) y determinaron el incremento de la proliferación celular²³. Se ha demostrado también que la AFP tiene capacidad de inducir apoptosis en las células Bel-7402, sin embargo en las células HLE que son de una línea celular de hepatoma, que no producen AFP no hay inducción de apoptosis, sugiriendo con esto que la AFP, también regula señales de muerte celular programada²⁴.

También se ha demostrado que la AFP es capaz de interactuar con los macrófagos e induce que haya disminución de su actividad fagocítica²⁵, de la misma forma regula la expresión de moléculas del

complejo principal de histocompatibilidad (Ia en el ratón)²⁶. Además, la AFP inhibe la actividad de las células asesinas naturales (NK)²⁷.

En 2005, mediante ensayos en co-cultivo de células Bel-7402 y Jurkat (línea celular de linfocitos T humanos), se demostró que la AFP puede promover el escape de células de hígado de la vigilancia inmunológica, ya que al bloquear la señal de la caspasa 3 en las células Bel-7402 se impide la fase de ejecución de la apoptosis y no se desencadena la interacción de Fas/Fas L que son moléculas inductoras de la apoptosis²⁸. Hay estudios que sostienen que las células dendríticas tratadas con AFP inducen bajos niveles de IL-12 y TNF-α, un patrón de citocinas que impiden la eficiente respuesta inmune antitumoral²⁹. Estos resultados sugieren que el carcinoma hepatocelular escapa del control inmunológico y además, muestran que la AFP no tiene funciones solamente en el útero y como marcador de alteraciones fetales y de cáncer.

Tabla 3. Las primeras 3 de las lectinas son las más usadas para demostrar las glicofomas de AFP y poseen en común especificidad para D-manosa

Lectina	Especificidad de la lectina	Reactividad o no con la AFP	Isoformas encontradas
<i>Concanavalina A</i>	α -manosa	Sí	2
<i>Lens culinaris</i>	α -manosa	Sí	2
<i>Pisum sativum</i>	α -manosa	Sí	3
<i>Ricinus communis</i>	α -galactosa	Sí	3
<i>Viscum album</i>	α -galactosa	Sí	4
<i>Peanut agglutinin</i> , (PNA)	α -galactosa-1-3 α GalNAc	No	0

AFP: alfa-fetoproteína.

HEPATOMA CELULAR (HCC)

Los antígenos oncofetales son moléculas presentes en tejidos embrionarios normales, que dejan de expresarse durante la maduración fetal. En la transformación maligna de diversos tumores, éste tipo de antígenos, como el carcinoembrionario o la AFP, se pueden expresar asociados a la membrana celular de los tumores o pueden ser secretados al torrente circulatorio y ser considerados como marcadores con valor diagnóstico^{7,31}.

El hepatoma celular es la tercera causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, además de uno de los problemas más importantes de salud, en la distribución geográfica se observa una mayor concentración en regiones específicas de Asia y África en donde hay una recurrencia de 150 casos por cada 100,000 habitantes. Hay estudios que muestran que la fracción AFP-3 es la glicofoma que se encuentra en pacientes con HCC y los niveles no dependen del tamaño o número de tumores, metástasis o recurrencia¹⁶. Debido al alto número de casos en los que se ha identificado a AFP en este carcinoma, éste marcador puede utilizarse de manera específica para el tratamiento temprano, además de los biomarcadores HSGGT (isoenzima glutaril transferasa) o el factor transformante del crecimiento (TGF- β 1), entre otros³².

El organismo responde a la presencia de células tumorales por mecanismos de inmunidad tanto innata como adquirida, considerando que también hay mecanismos de evasión tumoral. La AFP es un antígeno oncofetal con propiedades inmunoregulatorias intrínsecas y, en el caso de HCC, este es un antígeno de tumor³³. Se ha sugerido que en

algunos tumores tales como hepatoma celular o adenocarcinomas, entre otros, la concentración de AFP se sobre expresa y puede activar e incrementar la expansión de células Treg inducibles (linfocitos T reguladores inducibles [LTr])³⁴.

Dentro de las células que conforman la respuesta inmune, encontramos a los linfocitos T reguladores CD4⁺ CD25⁺FOXP3⁺, que representan del 5 al 10%³⁵ de los linfocitos TCD4⁺ en humanos sanos, son una subpoblación especializada de linfocitos T que actúa suprimiendo la activación del sistema inmunitario, manteniendo así la homeostasis de este sistema y favoreciendo la tolerancia hacia auto antígenos. Resulta interesante resaltar el efecto favorecedor de la diseminación del cáncer, que estas células T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ pueden ocasionar al suprimir la respuesta inmune³⁶. Recientemente, diferentes grupos de investigadores han aislado varios péptidos inmunodominantes (epitopos), derivados de AFP y analizado su efecto en cultivos celulares^{37,38}. Mizejewski³⁹ propone que en la célula tumoral hay un receptor para AFP del tipo mucina. Sin embargo, el mecanismo por el cual los LTR se incrementan en presencia de AFP en individuos con hepatoma celular no ha sido bien caracterizado y por lo tanto está sujeto de intensa investigación.

CONCLUSIÓN

Las evidencias presentadas sugieren que la participación de la AFP como marcador en la detección de cáncer hepático es amplia, como también en los procesos inmunológicos, esto nos hace pensar que existen receptores en los linfocitos T reguladores para alguna de las glicofomas de la AFP cuando



Foto: archivo

esta se sobreexpresa y estimula a la población de los LTr, durante la formación de un tumor. Se considera que el receptor para la AFP en el tumor no es “universal” y el sitio de N-glicosilación es un punto importante. Con el uso de las lectinas, que tienen afinidad por carbohidratos, se pueda aislar el receptor que debe estar en la membrana de los linfocitos LTr, para la AFP y tener una prueba de diagnóstico temprano ya que hay tantos casos de cáncer y como hemos visto anteriormente la AFP es una molécula que participa en varios procesos biológicos. ●

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bertino G, Demma S, Ardiri A, Proiti M, Mangia A, Gruttadauria S, Toro A, Di Carlo I, Malaguarnera G, Bertino N, Malaguarnera M, and Malaguarnera M. The system in hepatocellular carcinoma and potential new immunotherapeutic strategies. *Bio Med Res Int. Review.* 2015.
2. Abelev GI, Perova SD, Khramkova NI, Postnikova ZA, Irlin IS. Production of embryonic alpha-globulin by the transplantable mouse hepatomas. *Transplantation.* 1963; 1:174-80.
3. Ruoslahti E, Seppälä M. a-Foetoprotein in normal human serum. *Nature.* 1972;235:161-2.
4. González BF, Foncubierta E, Bailén MdeL, Illanes S, Hervías VB, Bartha JL. Maternal and fetal serum transformed alpha-fetoprotein levels in normal pregnancy. *Obstet Gynaecol Res.* 2009;35:271-76.
5. Crandall BF. Alpha-fetoprotein: a review. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1981;15:127-85.
6. Salas ChP, Aguilar RS, Cunningham LL, Castro VI. Utilidad de la alfa-fetoproteína en el diagnóstico prenatal de defectos del tubo neural y anomalías cromosómicas. *Rev Biomed.* 2003;14:5-10.
7. Deng FY, Zhi ZD, Min Y. Specific molecular markers in hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2007;6:241-7.
8. Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes and conformational variants. *Exp Biol Med (Maywood).* 2001;226:377-408.
9. Gillespie JR, Uversky VN. Structure and function of a-fetoprotein: a biophysical overview.

10. Biochimica et Biophysica Acta. 2000;14:41-56.
11. Terentiev AA, Moldogazieva NT. Alpha-fetoprotein: a renaissance. *Tumor Biol.* 2013 34:2075-91.
12. Chou PY, Fasman GD. Prediction of beta turns. *Biophys J.* 1979;26:367-83.
13. Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstet Gynecol Surv.* 2003;58:804-26.
14. Bennett PE, Mandell U, Clausen H, Gerken TA, Fritz TA, Tabak TA. Control of mucin-type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology.* 2012;22:736-56.
15. Meany DL, Chan DW. Aberrant glycosylation associated with enzymes as cancer biomarkers. *Clin Proteomics.* 2011;8:7.
16. Sharon N. Lectins: Carbohydrate-specific Reagents and Biological Recognition Molecules. *J Biol Chem.* 2007;282: 2753-64.
17. Durazo FA, Blatt LM, Corey WG, Lin JH, Han S, Saab S, Busuttill RW, Tong MJ. Des-gamma-carboxyprothrombin, alpha-fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23:1541-8.
18. Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta.* 2001;313:15-19.
19. Smith CJ, Kelleher PC. Alpha-fetoprotein separation of two molecular variants by affinity chromatography with concanavalin A-agarose. *Biochim Biophys Acta.* 1973;317:231-35.
20. Yin ZF, Tu ZX, Cui ZF, Wu MC. Alpha-fetoprotein reaction to *Pisum sativum* agglutinin in differentiation of benign liver diseases from hepatocellular carcinoma. *Chin Med J.* 1993;106:615-8.
21. Ishiguro T, Takahashi Y. Serum alpha-fetoprotein subfractions identified by *Ricinus communis* agglutinin in hepatic malignancies, yolk sac tumor, benign hepatic diseases, and fetal stage. *Dis Markers.* 1989;7:239-45.
22. Breborowicz J, Mackiewicz A, Breborowicz D. Microheterogeneity of alpha-fetoprotein in patient serum as demonstrated by lectin affino-electrophoresis. *Scand J Immunol.* 1981;14:15-20.
23. Li MS, Li PF, Yang FY, He SP, Du GG, Li G. The intracellular mechanism of alpha-fetoprotein promoting the proliferation of NIH 3T3 cells. *Cell Res.* 2002;12:151-6.
24. Li MS, Li PF, He SP, Du GG, Li G. The promoting molecular mechanism of alpha-fetoprotein on the growth of human hepatoma Bel7402 cell line. *World J Gastroenterol.* 2002;8:469-75.
25. Lin YS, Zhu MY, Zhou S, Xie XJ, Li MS. Effects of alpha-fetoprotein on the expression of TRAIL death receptor-2 and its role on resisting the cytotoxicity of TRAIL in hepatoma cells. *Chinese Journal of Hepatology Issue.* 2010;18: 745-50.
26. Kong M, Tian S, Shi H, Zhao J, Feng X, Zheng S, Duan Z, Chen Y. The effect of alpha-fetoprotein on the activation and phagocytosis of granulocytes and monocytes. *Hepatogastroenterology.* 2012;59:2385-8.
27. Lu CY, Changelian PS, Unanue ER. Alpha fetoprotein inhibits macrophage expression of Ia antigens. *J Immunol.* 1984;32:1722-7.
28. Belyaev NN, Bogdanov AY, Savvulidi PG, Krasnoshtanov VK, Tleulieva RT, Alipov GK, Sekine I, Bae JS, Lee JB, Min YK, Yang HM. The Influence of Alpha-fetoprotein on Natural Suppressor Cell Activity and Ehrlich Carcinoma Growth. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2008;12:193-7.
29. Li M, Liu X, Zhou S, Li P, Li G. Effects of alpha fetoprotein on escape of Bel 7402 cells from attack of lymphocytes. *BMC Cancer.* 2005;5:96:1471-2407.
30. Um SH, Mulhall C, Alisa A, Ives AR, Karani J, Williams R, Bertolletti A, Behboudi S. Alpha-fetoprotein impairs APC function and induces their apoptosis. *J Immunol.* 2004; 1;173:1772-8.
31. Hernández CP, Pérez CE, Martínez ML, Ortiz B y Martínez G. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. *Reb.* 2005;24:21-7.
32. Yao DF, Dong ZZ, Yao M. Specific molecular markers in hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2007;6(3):241-7.
33. Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology.* 2001;34:859-67.
34. Srivatanakul P, Sriplung H, Deerasamee S. Epidemiology of liver cancer: an overview. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2004;5:118-25.
35. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda M, Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev.* 2001;182:18-32.
36. Nomura T, Sakaguchi S. Naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells in tumor immunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005;293:287-302.
37. Zhao HQ, Li WM, Yao YM. Roles of T regs in development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(24):7971-8.
38. Alisa A, Boswell S, Pathan AA, Ayaru L, Williams R, Behboudi S. Human CD4(+) T cells recognize an epitope within alpha-fetoprotein sequence and develop into TGF-beta-producing CD4(+) T cells. *J Immunol.* 2008;180(7): 5109-17.
39. Flecken T, Schmidt N, Hild S, Gostick E, Drogznitz O, Zeiser R, Schemmer P, Bruns H, Eiermann T, Price DA, Blum HE, Neumann HC, Thimme R. Immunodominance and functional alterations of tumor-associated antigen-specific CD8+ T-cell responses in hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2014;59:1415-26.
40. Mizejewski GJ. Review of the putative cell-surface receptors for alpha-fetoprotein: identification of a candidate receptor protein family. *Tumor Biol.* 2011;32:241-58.