

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.11.012

❖ 临床研究 ❖

热休克蛋白 90 α 、胸苷激酶 1 检测对肝癌患者的诊断价值

刘晓玲, 金宇

(成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院检验科, 四川 成都 610051)

【摘要】目的: 检测肝癌患者血清热休克蛋白 90 α (HSP90 α)、胸苷激酶 1 (TK1) 水平, 分析其对肝癌的诊断价值。**方法:** 纳入确诊肝癌患者为肝癌组 ($n=82$); 另纳入同期确诊良性肝病患者为对照组 ($n=82$)。采用酶联免疫吸附法检测两组血清 HSP90 α 、TK1 水平并进行比较, 联合临床病理分析血清 HSP90 α 、TK1 水平和病理特征的关系。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评价各指标对肝癌的诊断价值。**结果:** 肝癌组患者血清 HSP90 α 、TK1 水平均高于良性肝病组患者 ($P<0.05$); 肝外转移、TNM 分期为 III ~ IV 的肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平均较高 ($P<0.05$)。ROC 曲线结果显示, 血清 HSP90 α 、TK1 均对肝癌有一定的诊断价值 ($P<0.05$), 且联合检测诊断肝癌的曲线下面积 (AUC) 为 0.921, 高于各指标单独检测 ($P<0.05$)。**结论:** 肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平升高, 且与病情的发生、发展有一定的关联, 两项指标联合检测诊断肝癌的价值更高。

【关键词】 肝癌; 热休克蛋白 90 α ; 胸苷激酶 1; 联合检测; 诊断价值

【中图分类号】 R735.7; R445 **【文献标志码】** A

Diagnostic value of heat shock protein 90 α and thymidine kinase 1 in patients with liver cancer

LIU Xiao-ling, JIN Yu

(Department of Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, China National Nuclear Corporation 416 Hospital, Chengdu 610051, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To detect levels of serum heat shock protein 90 α (HSP90 α) and thymidine kinase 1 (TK1), and to analyze their diagnostic value in patients with liver cancer. **Methods:** A total of 82 patients with liver cancer and 82 patients with benign liver diseases were enrolled as liver cancer group and benign liver disease group, respectively. The levels of serum HSP90 α and TK1 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay and compared between the two groups. The relationship between serum HSP90 α , TK1 and pathological characteristics was analyzed by clinicopathological analysis. The diagnostic value of HSP90 α and TK1 for liver cancer was evaluated by ROC curves. **Results:** The levels of serum HSP90 α and TK1 in liver cancer group were higher than those in benign liver disease group ($P<0.05$). The levels of serum HSP90 α and TK1 were higher in patients with extrahepatic metastasis and TNM staging at stage III ~ IV ($P<0.05$). The results of ROC curves analysis showed that serum HSP90 α and TK1 were of certain diagnostic value in liver cancer ($P<0.05$), AUC of combined detection (parallel mode) was 0.921, greater than that of single index ($P<0.05$). **Conclusion:** The levels of serum HSP90 α and TK1 are increased in patients with liver cancer, which are correlated with the occurrence and development of the disease. Combined detection of the two indexes has higher diagnostic value in liver cancer.

【Key words】 Liver cancer; Heat shock protein 90 α ; Thymidine kinase 1; Combined detection; Diagnostic value

近年来,肝癌增长率仍在不断上升,其病死率较高^[1]。我国肝癌发病率非常高,占全世界 50% 以上,是肝癌大国,主要是由于乙肝引起的,还包括过度饮酒所导致的酒精肝、肝硬化、黄曲霉毒素等因素导致的肝脏损伤。随着我国医学技术与设备的发展,肝癌患者的五年相对生存率虽有所提高,但相对缓慢,尤其对于晚期肝癌的预后改善仍是难点问题。目前,针对早期肝癌的治疗以手术切除为主,辅以规

范性化疗可有效改善患者的预后生存结局。因此,寻找易于检测并可术前预测肝癌预后的肿瘤标志物早期诊断肝癌患者,并进行患者的预后预测,对于指导治疗决策和改善临床管理具有重要意义。热休克蛋白 90 α (heat shock protein 90 α , HSP90 α) 是重要的肿瘤标志物。研究^[2-4]表明, HSP90 α 在肿瘤的早期诊断、疗效评估及复发监测中发挥着重要作用。通过定期检测 HSP90 α 的含量变化,可以及时发现

基金项目: 四川省科技计划项目 (2018JY0372)

作者简介: 刘晓玲 (1973 -), 女, 主管技师。E-mail: lxl73422@163.com

肿瘤的存在和进展趋势,为临床治疗和预后评估提供有力依据。胸苷激酶 1 (thymidine kinase 1, TK1) 是目前唯一通过细胞增殖反映癌症风险的标志物,与传统的肿瘤标志物相比,可实现癌症的早期诊断和干预^[5];此外,TK1 还能够监测肿瘤细胞的增殖情况,为治疗方案的制定和调整提供依据^[6-7]。虽然有 HSP90 α 和 TK1 在宫颈癌、结肠癌等多种肿瘤应用中的价值报道,但临床数据有限,且研究认为多种血清标志物联合检测能够有效提高诊断效能。因此,本研究欲检测肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平,分析其在肝癌中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2023 年 12 月至 2024 年 5 月成都市第二附属医院接受治疗的原发性肝癌患者为肝癌组 ($n = 82$);另选取同期接受治疗的良性肝病患者为对照组 ($n = 82$)。纳入标准:符合相关指南中原发性肝癌的诊断标准^[8],均行病理组织活检确诊;年龄超过 18 岁;经临床专科医生评估生存时间 > 3 个月;均接受一线治疗;临床资料(包括随访资料)保存完整。排除标准:存在全身重要器官严重损伤;妊娠期或哺乳期女性;存在免疫系统疾病;凝血功能障碍。纳入标准:(1)结合影像学临床诊断为良性肝病;(2)年龄超过 18 岁;(3)临床资料保存完整。排除标准:(1)存在肿瘤治疗史;(2)存在全身重要器官严重损伤;(3)妊娠期或哺乳期女性;(4)凝血功能障碍;(5)存在免疫系统疾病。肝癌组:男性 53 例,女性 29 例;年龄(51.28 ± 9.14)岁;有肝癌家族史 17 例;有长期吸烟史 49 例;有长期饮酒史 56 例;乙肝表面抗原阳性 65 例。对照组:男性 50 例,女性 32 例;年龄(49.83 ± 8.92)岁;有肝癌家族史 19 例;有长期吸烟史 50 例;有长期饮酒史 51 例;乙肝表面抗原阳性 62 例。两组患者一般资料比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究符合《赫尔辛基宣言》相关伦理准则。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 由医院统一专职人员通过医院电子病历系统收集患者的年龄 (≥ 60 岁或 < 60 岁)、性别(男/女)、长期吸烟(每天吸烟根数大于 5 根)、长期饮酒(每天饮酒超过 40 g)、肝癌家族史、乙肝表面抗原(以电化学发光免疫分析法检测乙肝表面抗原,乙肝表面抗原的含量(cut off index, COI)值 ≥ 1.0 时为阳性、肝硬化(肝穿刺活检取得肝脏组织样本,进行病理学检查确诊)、肝外转移(在影像学检查的基础上,对可疑的转移灶进行穿刺活检确

诊)、TNM 分期(参照《原发性肝癌诊疗指南》中相关标准)等临床资料。

1.2.2 血清 HSP90 α 水平检测 所有纳入肝癌患者于入院后次日清晨收集患者空腹肘静脉血 5 mL,离心处理(离心转速 3 000 r/min,离心半径 10 cm)离心 5 min,取上层血清液,2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 保存 48 h 待检测。采用烟台普罗吉生物科技发展有限公司生产的酶联免疫吸附试剂盒检测血清中 HSP90 α 水平,由医院检验科人员严格参照试剂盒说明书进行检测。

1.2.3 血清 TK1 水平检测 所有纳入肝癌患者于入院后次日清晨收集患者空腹肘静脉血 5 mL,离心处理(离心转速 3 000 r/min,离心半径 10 cm)离心 5 min,取上层血清液,2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 保存 48 h 待检测。采用华瑞同康生物技术有限公司生产的酶免疫点印迹化学发光试剂盒检测血清中 TK1 水平,由医院检验科人员严格参照试剂盒说明书进行检测。

1.2.4 联合诊断 血清 HSP90 α 、TK1 水平检测以并联的方式进行联合诊断,指两个指标中任一指标诊断肝癌,即联合诊断为肝癌;两项指标均诊断为非肝癌,即联合诊断为非肝癌。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析。计数资料用 [$n(\%)$] 表示,组间比较用独立样本 χ^2 检验;计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较用独立样本 t 检验。肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平对肝癌的诊断价值行受试者工作特征(ROC)曲线分析,采用 Delong Test 函数比较 ROC 曲线之间的曲线下面积(AUC)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组与对照组患者血清 HSP90 α 、TK1 水平比较

肝癌组患者血清 HSP90 α 、TK1 水平均高于良性肝病组患者 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者血清 HSP90 α 、TK1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	HSP90 α (ng/mL)	TK1 (pmol/L)
肝癌组 ($n = 82$)	128.47 \pm 26.06	4.76 \pm 1.06
良性肝病组 ($n = 82$)	23.61 \pm 4.95	1.53 \pm 0.29
t 值	35.797	26.615
P 值	<0.001	<0.001

2.2 不同临床特征肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平比较

不同性别、年龄、肝癌家族史、长期吸烟史、长期饮酒史、乙肝表面抗原、肝硬化的肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。肝外转移、TNM 分期为 III ~ IV 的肝癌患者

血清 HSP90 α 、TK1 水平均高于无肝外转移、TNM 分期为 I ~ II 的肝癌患者 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同临床特征肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

特征	例数	HSP90 α (ng/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	TK1 (pmol/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别			1.034	0.304		0.613	0.542
男	53	130.67 \pm 26.34			4.81 \pm 1.11		
女	29	124.45 \pm 25.49			4.66 \pm 0.96		
年龄(岁)			0.323	0.747		0.675	0.502
≥ 60	26	129.84 \pm 26.23			4.88 \pm 1.02		
< 60	56	127.83 \pm 26.19			4.71 \pm 1.08		
肝癌家族史			0.622	0.536		0.902	0.370
有	17	131.98 \pm 26.91			4.97 \pm 1.05		
无	65	127.55 \pm 25.97			4.71 \pm 1.06		
长期吸烟史			0.536	0.593		0.664	0.508
有	49	129.74 \pm 26.22			4.83 \pm 1.09		
无	33	126.58 \pm 26.12			4.69 \pm 1.04		
长期饮酒史			0.580	0.564		0.357	0.722
有	56	129.61 \pm 26.20			4.79 \pm 1.07		
无	26	126.01 \pm 26.11			4.70 \pm 1.05		
乙肝表面抗原			0.578	0.565		0.965	0.337
阳性	65	129.32 \pm 26.17			4.82 \pm 1.10		
阴性	17	125.20 \pm 26.15			4.54 \pm 0.91		
肝硬化			1.043	0.300		0.824	0.413
有	63	130.12 \pm 26.17			4.81 \pm 1.12		
无	19	123.01 \pm 25.61			4.58 \pm 0.86		
肝外转移			2.603	0.011		2.614	0.011
有	48	134.56 \pm 25.13			5.01 \pm 1.13		
无	34	119.87 \pm 25.24			4.41 \pm 0.85		
TNM 分期			2.300	0.024		2.528	0.013
I ~ II	20	117.11 \pm 25.01			4.25 \pm 0.93		
III ~ IV	62	132.13 \pm 25.92			4.92 \pm 1.06		

2.3 血清 HSP90 α 与 TK1 对肝癌的诊断价值

ROC 曲线分析显示,血清 HSP90 α 、TK1 均对诊断肝癌有一定的价值, *AUC* 分别为 0.728、0.748 ($P < 0.05$), 截断值分别为 109.07 ng/mL、4.36 pmol/L。以血清 HSP90 α 、TK1 截断值为临界值,采用并联的方式进行联合检测,评估对肝癌的诊断价值,其 ROC 曲线 *AUC* 为 0.921,高于各指标单独检测 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 1。

表 3 血清 HSP90 α 与 TK1 对肝癌的诊断价值

指标	<i>AUC</i> 值	约登指数	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
HSP90 α	0.728	0.390	109.07 ng/mL	53.66	85.37	0.653 - 0.795	<0.001
TK1	0.748	0.463	4.36 pmol/L	59.76	86.59	0.674 - 0.813	<0.001
联合	0.921	-	-	98.78	85.37	0.868 - 0.957	<0.001

3 讨论

肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一,每年大约有 14 万人死于原发性肝癌,对人们的健康产生了严重威胁^[9-10]。癌症诊断的金标准病理检查多为有创的检查方式,而影像学诊断的特异性较差,均无法有效对患者进行诊断。血清学肿瘤标志物检测是目前临床应用广泛的检查手段^[11],且该方式采样方便,因此寻找有效血清学指标辅助临床诊断、监测病情变化具有重要意义。

本研究发现,肝癌患者血清 Hsp90 α 水平升高,且肝外转移、TNM 分期为 III ~ IV 的肝癌患者血清 HSP90 α 较高。HSP90 α 是一种辅助蛋白质折叠的伴侣蛋白,能维持细胞内各种信号转导蛋白的稳定性,从而促进细胞的存活和生长。在癌细胞中,HSP90 α 能维持过度激活或突变信号转导蛋白的活性,加速癌细胞的恶性转化^[12]。HSP90 α 对于早期肿瘤的诊断有着重要的意义,血清 HSP90 α 水平在多种癌症中呈现高表达,并通过调节细胞死亡来促进癌细胞生长、存活和对治疗的抗性,使其成为癌症治疗的有希望的靶点^[13]。Han 等^[14] 的研究表明,血浆 Hsp90 α 水平可用作肝癌的诊断生物标志物,并可预测肝癌患者对手术的反应。丁华洋等^[15] 的研究表明,有淋巴结转移和门脉侵犯的 AFP 低浓度原发性肝癌患者血清 HSP90 α 含量较高。孙伟等^[16] 的研究表明,分期较晚的肝癌患者具有更高水平的血清 HSP90 α 。有研究^[17] 表明,HSP90 α 与肿瘤发生相关的客户蛋白有 48 种,这些蛋白在肿瘤细胞的生长、分化、凋亡等过程中起着重要作用。本研究结合上述报道,提示血清 HSP90 α 水平与肝癌的病情发生、发展有一定的关联。

本研究发现,肝癌患者血清 TK1 水平升高,且肝外转移、TNM 分期为 III ~ IV 的肝癌患者血清 TK1 较高,与 Gong 等^[18] 和 Sharma 等^[19] 的研究结果相似。TK1 作为一种国际公认的细胞增殖特异性标志物,在肿瘤风险评估、预后评估、治疗效果监测以及复发风险评估等方面发挥着重要作用^[20]。健康人血清中 TK1 含量极少,而在肿瘤疾病发生时,细胞会发生过度增殖,导致血清中 TK1 的含量升高^[21]。因此,TK1 在肿瘤的早期筛查、风险评估、治疗效果评估等方面具有重要的临床意义。有研究^[22] 表明,

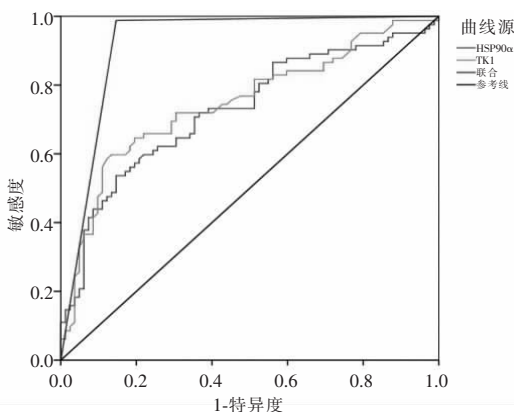


图 1 血清 HSP90 α 与 TK1 诊断肝癌的 ROC 曲线

由于癌变细胞缺失了凋亡调控, DNA 合成剧增会导致 TK1 水平的异常升高; 异常增殖细胞中 S 期或 G2 期含有高水平 TK1, 细胞坏死后, 细胞内容物外溢, 释放到血液, 导致血清中 TK1 水平高。本研究结合上述报道, 提示血清 TK1 水平与肝癌的病情发生、发展有一定的关联。

本研究进一步采用 ROC 曲线评估血清 HSP90 α 、TK1 水平单独及联合检测对肝癌的诊断价值。ROC 曲线显示, 血清 HSP90 α 、TK1 诊断肝癌的 AUC 分别为 0.728、0.748。提示血清 HSP90 α 、TK1 均对肝癌有一定的诊断价值, 但单独检测的敏感度较低。分析原因可能是: 肿瘤异质性, 导致不同患者甚至同一患者体内不同部位的肿瘤可能表达不同的标志物, 或者即使表达相同标志物, 其表达水平也可能存在差异。这种差异性使得单一标志物的检测难以全面反映肿瘤的真实情况, 进而影响诊断的敏感度。本研究进一步对两项指标以并联的形式进行联合诊断, 其 AUC 为 0.921 (95% CI 为 0.868 ~ 0.957), 敏感度 98.78%, 特异度为 85.37%。联合检测的 AUC 高于各指标单独检测。提示两种血清学指标联合检测诊断肝癌, 可能会降低肿瘤异质性的影响, 从而提高整体诊断准确度, 临床可检测肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 辅助影像学, 对疑似肝癌患者进行初步诊断。

综上, 肝癌患者血清 HSP90 α 、TK1 水平升高, 且与病情的发生、发展有一定的关联, 两项指标联合检测诊断肝癌的价值更高。

参考文献

[1] Xia C, Dong X, Li H, *et al.* Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants [J]. *Chinese Medical Journal*, 2022, 135(5): 584 - 590.

[2] 董毅, 徐贵颖, 马牧松, 等. 热休克蛋白 90 α 激活 PI3K/Akt 通路介导乳腺癌他莫昔芬耐药的机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(22): 2758 - 2762.

[3] 李洋, 林家茂, 许晓群. 食管鳞状细胞癌 118 例肿瘤标志物 HSP90 α 联合 Cyfra21-1 和 CEA 检测临床意义 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(3): 202 - 208.

[4] Zhang Y, Zhao G, Yu L, *et al.* Heat-shock protein 90 α protects NME1 against degradation and suppresses metastasis of breast cancer [J]. *British Journal of Cancer*, 2023, 129(10): 1679 - 1691.

[5] McCartney A, Malorni L. Thymidine kinase-1 as a biomarker in breast cancer: estimating prognosis and early recognition of treatment resistance [J]. *Biomarkers in Medicine*, 2020, 14(7): 495 - 498.

[6] 李琼珍, 王婧, 俞海芬, 等. 胸苷激酶 1 表达对宫颈癌顺铂敏感性和恶性进展的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37

(20): 2777 - 2779, 2801.

[7] Wang A, Shang Y, Ni J, *et al.* Thymidine kinase 1 mediates the synergistic antitumor activity of ubenimex and celecoxib via regulation of cell cycle in colorectal cancer [J]. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2022, 382(2): 188 - 198.

[8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗指南(2022 年版) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2022, 30(4): 367 - 388.

[9] Runggay H, Arnold M, Ferlay J, *et al.* Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040 [J]. *Journal of Hepatology*, 2022, 77(6): 1598 - 1606.

[10] 陈倩倩, 芮法娟, 倪文婧, 等. 原发性肝癌的流行病学及其危险因素研究进展 [J]. *中国全科医学*, 2024, 27(6): 637 - 642.

[11] 杜江标, 崔英, 梁新强, 等. 多种肿瘤标志物对原发性肝癌的诊断价值 [J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(12): 2210 - 2214.

[12] Birbo B, Madu EE, Madu CO, *et al.* Role of HSP90 in cancer [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19): 10317.

[13] Liu B, Qian D. Hsp90 α and cell death in cancers: a review [J]. *Discover Oncology*, 2024, 15(1): 151.

[14] Han Y, Zhang Y, Cui L, *et al.* Plasma heat shock protein 90 α as a biomarker for the diagnosis of liver cancer: in patients with different clinicopathologic characteristics [J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2021, 19(1): 228.

[15] 丁华洋, 王兴宇, 刘学谦, 等. GP73 和 HSP90 α 在低浓度甲胎蛋白原发性肝癌诊断中的应用价值 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(8): 1291 - 1294.

[16] 孙伟, 李肖. 血浆热休克蛋白 90 α 预测肝细胞肝癌介入治疗预后的临床价值 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2024, 46(2): 118 - 126.

[17] Wei H, Zhang Y, Jia Y, *et al.* Heat shock protein 90: biological functions, diseases, and therapeutic targets [J]. *MedComm*, 2024, 5(2): e470.

[18] Gong G, Zheng K, Xue S, *et al.* Serum AFU, GGT and TK1 levels in PHC patients and their correlation with clinicopathology and diagnostic value [J]. *Cellular and Molecular Biology*, 2020, 66(5): 111 - 116.

[19] Sharma R, Inglese M, Dubash S, *et al.* Monitoring response to transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma using 18F-fluorothymidine PET [J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 61(12): 1743 - 1748.

[20] Li Q, Zhang L, Yang Q, *et al.* Thymidine kinase 1 drives hepatocellular carcinoma in enzyme-dependent and-independent manners [J]. *Cell Metabolism*, 2023, 35(6): 912 - 927. e7.

[21] Ma H, Hei A, Zhou J, *et al.* Serum thymidine kinase 1 protein concentration for predicting early progression and monitoring the response to TACE in hepatocellular carcinomas: a network meta-analysis [J]. *Future Science OA*, 2021, 7(7): FSO717.

[22] Jagarlamudi KK, Swinkels L, Zupan M, *et al.* Analytical and clinical characterization of an optimized dual monoclonal sandwich ELISA for the quantification of thymidine kinase 1 (TK1) protein in human blood samples [J]. *PLoS One*, 2022, 17(10): e0275444.

(收稿日期: 2024 - 06 - 08

修回日期: 2024 - 08 - 12)