

凋亡抑制基因天然自身抗体在肝细胞癌患者血浆中的表达及其临床意义

王嘉欣¹, 毛俊文¹, 张 莹²

(1. 吉林大学第二医院内分泌科, 吉林 长春 130041; 2. 吉林大学第二医院 吉林省分子化学遗传学重点实验室, 吉林 长春 130041)

[摘要] **目的:** 探讨凋亡抑制基因BIRC5天然自身抗体在肝细胞癌(HCC)患者血浆中的表达特征及其临床意义, 评估其作为HCC预后生物标志物的潜在价值。**方法:** 纳入119例HCC患者作为病例组, 根据巴塞罗那临床肝癌(BCLC)分期将患者分为0+A期、B期和C+D期; 132名健康对照(健康对照组)研究对象来源于本院体检中心。采集所有研究对象血液样本, 通过表位预测软件设计合成2条高效检测的线性抗原肽(BIRC5a和BIRC5b), 采用优化酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测2组研究对象血浆中BIRC5天然自身抗体水平, 并绘制受试者工作特征(ROC)曲线以评估诊断效能, 采用Pearson/Spearman相关分析检验抗体水平与临床指标[甲胎蛋白(AFP)、肝功能、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原199(CA199)、总胆红素(TBil)、白蛋白(Alb)和凝血酶原时间(PT)]的关联性。**结果:** 与健康对照组比较, 病例组男性HCC患者血浆中BIRC5a和BIRC5b天然自身抗体水平升高($P<0.05$), 女性HCC患者抗体水平差异无统计学意义($P>0.05$); 与健康对照组比较, 病例组BCLC C+D期患者血浆中BIRC5a天然自身抗体水平升高($P<0.05$)。相关性分析, BIRC5a天然自身抗体水平随着BCLC分期升高而升高($r=0.132, P<0.05$), 与碱性磷酸酶(ALP)升高和PT延长呈正相关关系($r=0.328, P<0.05$; $r=0.247, P<0.05$), 与Alb降低呈负相关关系($r=-0.423, P<0.01$)。ROC曲线分析BIRC5a曲线下面积(AUC)为0.559; BIRC5b的AUC为0.543; 联合分析AUC为0.561, 最佳诊断临界值(Cut-off)下表现出最佳诊断效能值(AUC=0.569), 诊断HCC的灵敏度为45.1%, 特异度为74.6%。**结论:** BIRC5a天然自身抗体是HCC预后的一种潜在生物标志物, 尤其在男性HCC患者中, 其血浆水平升高与疾病进展及肝功能恶化显著相关, 提示其可能作为影响HCC预后的独立危险因素。

[关键词] 凋亡抑制蛋白; 天然自身抗体; 肝细胞癌; 预后生物标志物

[中图分类号] R735.7 **[文献标志码]** A

Expression of natural autoantibodies against apoptosis inhibitory genes in plasma of patients with hepatocellular carcinoma and its clinical significance

WANG Jiixin¹, MAO Junwen¹, ZHANG Xuan²

(1. Department of Endocrinology, Second Hospital, Jilin University, Changchun 130041, China; 2. Jilin

[收稿日期] 2025-04-13 [录用日期] 2025-06-06

[基金项目] 吉林省财政厅医疗卫生人才专项(2024WSZX-C01)

[作者简介] 王嘉欣(1985-), 女, 吉林省长春市人, 主治医师, 医学博士, 主要从事重大疾病发病机制方面的研究。

[通信作者] 张 莹, 教授, 博士研究生导师(E-mail: jdehyzhangxuan@163.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Provincial Key Laboratory on Molecular and Chemical Genetic, Second Hospital, Jilin University, Changchun 130041, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the expression characteristics of natural autoantibodies against the apoptosis inhibitor gene BIRC5 in plasma of the patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and their clinical significances, and to evaluate the potential value as the prognostic biomarker for HCC. **Methods:** A total of 119 HCC patients were enrolled as case group. According to the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system, the patients were divided into stages 0+A stage, B stage, and C+D stage. A total of 132 healthy control subjects (healthy control group) were recruited from the physical examination center of our hospital. The blood samples were collected from all the subjects. Two highly efficient linear antigenic peptides (BIRC5a and BIRC5b) for detection were designed and synthesized using epitope prediction software; optimized enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect the levels of BIRC5 natural autoantibodies in plasma of the subjects in two groups; receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to evaluate diagnostic performance; Pearson/Spearman correlation analysis was used to examine the association between antibody levels and clinical indicators [alpha-fetoprotein (AFP), liver function, carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 199 (CA199), total bilirubin (TBil), albumin (Alb), and prothrombin time (PT)]. **Results:** Compared with healthy control group, the levels of BIRC5a and BIRC5b natural autoantibodies in plasma of male HCC patients in case group were increased ($P < 0.05$), while no statistically significant difference was observed in female HCC patients ($P > 0.05$). Compared with healthy control group, the level of BIRC5a natural autoantibodies in plasma of the patients with BCLC stage C+D in case group was increased ($P < 0.05$). The correlation analysis results showed that the level of BIRC5a natural autoantibodies increased with higher BCLC stage ($r = 0.132$, $P < 0.05$), was positively correlated with increased alkaline phosphatase (ALP) and prolonged PT ($r = 0.328$, $P < 0.05$; $r = 0.247$, $P < 0.05$), and was negatively correlated with decreased Alb ($r = -0.423$, $P < 0.01$). The ROC curve analysis results showed that the area under the curve (AUC) for BIRC5a was 0.559; the AUC for BIRC5b was 0.543; the combined analysis AUC was 0.561, and it demonstrated the best diagnostic performance (AUC=0.569) under the optimal diagnostic cut-off value, with a sensitivity of 45.1% and a specificity of 74.6% for diagnosing HCC. **Conclusion:** BIRC5a natural autoantibody is a potential biomarker for HCC prognosis, particularly in male HCC patients. Its elevated plasma level is significantly associated with disease progression and deterioration of liver function, suggesting it may serve as an independent risk factor affecting the prognosis of HCC.

KEYWORDS Apoptosis inhibitor proteins; Natural autoantibodies; Hepatocellular carcinoma; Prognostic biomarkers

2022年中国恶性肿瘤流行病学数据显示: 肝癌发病人数高达36.77万, 位列全部瘤种的第4位, 且呈现显著性别差异: 男性患者占比72.8% (26.79万例), 约为女性的2.7倍 (女性: 9.98万例)。同期肝癌死亡人数高达31.65万, 位列癌种死因第2位, 男性死亡率显著高于女性^[1]。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是原发性肝癌最常见的类型, 占有原发性肝癌的75%~85%^[2]。因此, 针对HCC的研究有重要临床意义和社会价值。肿瘤相关自身抗体作为癌症生物标志物已有许多证据支持^[3-4], 自身抗体检测具有高敏

感度、高特异性、高稳定性和非侵入式等优势, 不仅可作为肿瘤早期诊断的生物标志物, 也可作为预后判断和治疗监测的生物标志物及个性化癌症治疗的潜在工具^[5]。BIRC5的常见别名为Survivin, 又称存活素, 是凋亡抑制基因家族 (inhibitor of apoptosis proteins, IAPs) 的成员之一。BIRC5在胚胎组织中高表达, 在正常成人组织中几乎检测不到, 但其在多种恶性肿瘤中多表达^[6-7], 甚至与肿瘤进展、耐药性、生存期和预后等存在相关性^[8-9]。在肝癌组织中, BIRC5 mRNA和蛋白表达水平明显高于癌旁的正常肝组织^[10], 并与肿瘤恶性程度

呈正相关关系^[11]。BIRC5与甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)联合检测可能提高肝癌早期诊断的敏感性^[12]。BIRC5天然自身抗体在多种实体肿瘤中表达水平升高,如卵巢癌^[13]、宫颈癌^[14]和胃癌^[15],但其在HCC中的表达情况尚未明确。本研究通过表位预测技术设计合成BIRC5a/BIRC5b线性抗原肽段,采用优化酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法,定量检测HCC患者血浆中凋亡抑制基因BIRC5天然自身抗体表达变化,探讨BIRC5天然自身抗体在HCC患者血浆中的表达特征及其与临床指标的相关性,并评估其作为HCC预后生物标志物的潜在价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年11月—2024年8月于本院首次确诊且未经治疗的119例HCC患者(病例组),年龄(54.72±9.70)岁,其中男性102例,女性17例。根据巴塞罗那临床肝癌(Barcelona Clinic Liver Cancer, BCLC)分期系统,分为3组:BCLC的0+A期、B期和C+D期。健康对照组132名,年龄(54.97±8.74)岁,其中男性106名,女性26名。病例组患者与健康对照组研究对象年龄和性别占比比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 研究对象纳入标准和排除标准

HCC病例纳入标准:①根据中国《原发性肝癌诊疗规范指南(2022版)》;②年龄>18岁;③病历资料完整,术前未进行放射治疗和化学治疗。排除标准:①孕妇或哺乳期患者;②精神障碍疾病患者;③其他恶性肿瘤病史,有恶性肿瘤家族史;④患有类风湿关节炎和(或)系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病者;⑤心、肾和(或)肺等其他脏器功能不全者。

健康对照组研究对象来源于本院体检中心。本研究经本院伦理委员会审核批准(审批号:2024390),所有研究对象均已签署知情同意书。通过询问研究对象既往病史并查阅既往病历,确定健康对照组研究对象无特殊用药史,无肝癌和其他恶性肿瘤病史,无自身免疫性疾病,如自身免疫甲状腺疾病、恶性贫血、1型糖尿病、乳糜泻、强直性脊柱炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎和多发性硬化症等。

1.3 实验试剂、仪器和检测方法

1.3.1 标本采集 病例组HCC患者和健康对照组研究对象经知情同意后,于清晨、空腹状态下,采集2组研究对象外周静脉血5 mL,2 500 r·min⁻¹离心10 min后收集上层血浆,置于-80℃保存待用。

1.3.2 主要试剂和仪器 96孔酶标板(美国Thermo Fisher Scientific公司),过氧化物酶标记的羊抗人IgG抗体(英国Abcam公司),1.0 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(1.0 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液,含有1.0 mol·L⁻¹ NaCl和10 mmol·L⁻¹ EDTA, pH 7.2)、磷酸盐缓冲片和小牛血清白蛋白(美国Sigma-Aldrich公司),显色剂及终止液(美国Life Technologies公司)。8道自动移液器(型号:4173210,上海宝予德科技有限公司),电子天平(型号:AA-250,美国BIO-RAD公司),摇床(型号:TS-1,海门市其林贝尔仪器制造有限公司),涡轮混合器(型号:G-560E,美国Scientific industries公司),酶标仪(型号:EPOCH,美国BioTek公司)等。

1.3.3 抗原的设计和合成 通过生物信息学数据库及在线表位预测软件(<http://www.iedb.org>),设计抗原多肽步骤:首先,评估每条肽段的pH值、亲水性、柔性及其与人类白细胞抗原Ⅱ类(human leukocyte antigen class II, HLA-Ⅱ)51个等位基因分子的结合力,筛选出与HLA-Ⅱ结合力高的肽段。其次,预测肽段中潜在的B细胞表位。最后,对满足上述条件的肽段进行综合评估,并根据抗原设计原则进行适当调整。最终,设计并委托上海吉尔生化公司合成了2条抗原肽,分别为BIRC5a和BIRC5b,其序列如下:BIRC5a, H-dflkdhrstfknwllhhfqlfpgatslpv-OH; BIRC5b, H-epdddpmqrkptirrknlrklrrkcavps-OH。

1.3.4 抗原的溶解和包被 67%冰乙酸溶解、稀释抗原至工作浓度5 g·L⁻¹。按照Thermo Fisher Scientific说明书操作步骤包被抗原。

1.3.5 优化特异的ELISA法检测天然自身抗体的表达 实验操作步骤详见既往研究^[16],实验步骤:采用0.1%吐温-20磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline with Tween[®]-20, PBST)洗涤96孔酶标板3次,将血浆样本以0.5% BSA稀释100倍后每孔加样50 μL,室温孵育1.5 h。将过氧化物酶标记的IgG二抗以0.5% BSA稀释50 000倍后每孔加入50 μL,室温孵育1 h。洗板3次后每孔加入显

色剂 50 μL , 避光显色 25 min 后加入 25 μL 终止液终止反应, 在 450 nm 标准波长和 620 nm 参考波长下读取吸光度 (A) 值。每板同时设空白对照、阴性对照和正常对照, 每一样本均设双复孔。所有样本均重复测定 2 次, 以 2 次测定值的平均值代表每一样本的 A 值。以特异性结合指数 (specific binding index, SBR) 代表血浆 BIRC5 天然抗体的水平。SBR 的计算公式: $\text{SBR} = (\text{样本 A 值} - \text{阴性对照 A 值}) / (\text{阳性对照 A 值} - \text{阴性对照 A 值})$ 。为了最大限度地减少分析内偏差, 使用每个样本的重复 A 值之差与其总和的比率来评估 ELISA 的精密密度。若比率 $> 10\%$, 数据被视为无效, 不用于数据分析。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。HCC 组患者癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 和白蛋白 (albumin, Alb) 水平, 2 组天然抗体表达水平采用 Kolmogorov-Smirnov 检验, 符合正态分布且方差齐, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间样本均数比较采用两独立样本 t 检验。HCC 组患者 AFP、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、糖类抗

原 199 (carbohydrate antigen 199, CA199)、总胆红素 (total bilirubin, TBil) 和凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 不满足正态分布, 以中位数 (四分位数) [$M (P25, P75)$] 表示, 组间两两比较采用两独立样本的秩和检验 (Mann-Whitney U)。受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线计算曲线下面积 (area under curve, AUC)、95% 置信区间 (confidence interval, CI) 及天然抗体水平的灵敏度和特异度, 评估 BIRC5 天然抗体水平对 HCC 的诊断效能。使用 BIRC5a 和 BIRC5b 天然自身抗体这 2 个变量构建 Logistic 回归模型, 生成联合概率, 以联合概率绘制 ROC 曲线, 采用约登指数 (Youden index, YI) 计算最佳诊断临界值 (Cut-off 值)。采用 Pearson/Spearman 相关性分析评估血浆天然抗体水平与临床指标的关联性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组研究对象的临床资料

BCLC 0+A 期患者占病例组患者的 21.0%, BCLC B 期患者占病例组患者的 36.1%, BCLC C+D 期患者占病例组患者的 42.9%。见表 1。

表 1 2 组研究对象的临床资料
Tab. 1 Clinical data of subjects in two groups

Characteristic	Healthy control group ($n=132$)	Case group ($n=119$)
AFP [$M(P25, P75)$, $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$]	—	46.13(6.50, 611.31)
ALT [$M(P25, P75)$, $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$]	—	43.10(25.00, 108.00)
AST [$M(P25, P75)$, $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$]	—	37.95(28.67, 86.45)
ALP [$M(P25, P75)$, $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$]	—	83.10(69.62, 105.92)
CEA ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	—	2.10 \pm 1.19
CA199 [$M(P25, P75)$, $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$]	—	22.63(13.64, 42.46)
TBil [$M(P25, P75)$, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]	—	16.75(13.02, 23.80)
Alb ($\bar{x} \pm s$, $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	—	39.68 \pm 6.10
PT [$M(P25, P75)$, s]	—	11.40(10.90, 12.60)
BCLC		
0+A [$n(\%)$]	—	25(21.0)
B [$n(\%)$]	—	45(36.1)
C+D [$n(\%)$]	—	51(42.9)

“—”: No data.

2.2 不同性别 HCC 患者血浆中 BIRC5 天然自身抗体水平

与健康对照组比较, 病例组 HCC 患者血浆中

BIRC5 天然自身抗体水平升高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。男性 HCC 患者血浆中 BIRC5a 和 BIRC5b 天然自身抗体水平较健康对照组男性

研究对象升高 ($P < 0.05$); 女性HCC患者血浆中BIRC5a和BIRC5b天然自身抗体水平较健康对照组女性研究对象降低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表2。

2.3 不同BCLC分期HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平

与健康对照组比较, BCLC C+D期HCC患者血浆中BIRC5a自身抗体水平升高 ($P < 0.05$), 其他2组间不同BCLC分期研究对象血浆中BIRC5天然自身抗

体水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表3。

2.4 HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平与临床指标的相关性

HCC患者血浆中BIRC5a天然自身抗体水平与BCLC分期、ALP和PT呈正相关关系 ($r = 0.132$, $P < 0.05$; $r = 0.328$, $P < 0.05$; $r = 0.247$, $P < 0.05$), 与Alb呈负相关关系 ($r = -0.423$, $P < 0.001$)。BIRC5b自身抗体水平与临床指标无相关性。见表4。

表2 不同性别HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平

Tab. 2 Levels of natural autoantibodies against BIRC5 in plasma of subjects in two groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	BIRC5a			BIRC5b		
	Male	Female	Both	Male	Female	Both
Healthy control	0.83 ± 0.31 (107)	0.86 ± 0.29 (25)	0.84 ± 0.31 (132)	1.44 ± 0.59 (107)	1.63 ± 0.58 (25)	1.48 ± 0.59 (132)
Case	0.93 ± 0.37* (102)	0.82 ± 0.2 (17)	0.91 ± 0.36 (119)	1.63 ± 0.70* (102)	1.38 ± 0.68 (17)	1.60 ± 0.70 (119)

* $P < 0.05$ compared with healthy control group.

表3 不同BCLC分期HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平

Tab. 3 Levels of BIRC5 natural autoantibodies in plasma of HCC patients with different BCLC stages ($\bar{x} \pm s$)

Group	BIRC5a			BIRC5b		
	0+A	B	C+D	0+A	B	C+D
Healthy control	0.84 ± 0.31 (132)	0.84 ± 0.31 (132)	0.84 ± 0.31 (132)	1.48 ± 0.59 (132)	1.48 ± 0.59 (132)	1.48 ± 0.59 (132)
Case	0.86 ± 0.25 (25)	0.90 ± 0.32 (43)	0.96 ± 0.43* (51)	1.52 ± 0.76 (25)	1.55 ± 0.64 (43)	1.68 ± 0.74 (51)

* $P < 0.05$ compared with healthy control group.

表4 HCC患者BIRC5天然自身抗体水平与临床指标的相关性

Tab. 4 Correlations between natural autoantibody level of BIRC5 in HCC patients and their clinical indicators

Clinical indicator	BIRC5a		BIRC5b	
	r	P	r	P
BCLC stage	0.132	0.036	0.079	0.210
AFP	0.297	0.062	-0.142	0.381
ALT	0.134	0.411	0.037	0.822
AST	0.084	0.604	0.043	0.791
ALP	0.328	0.039	0.126	0.439
CEA	0.035	0.841	0.005	0.977
CA199	0.308	0.060	0.031	0.852
TBil	0.065	0.518	0.129	0.202
Alb	-0.423	<0.001	-0.150	0.136
PT	0.247	0.015	0.065	0.524

2.5 HCC患者BIRC5天然自身抗体ROC曲线分析

采用ROC曲线判断病例组及各亚组与健康对照组的诊断效能, 结果显示: BIRC5a天然自身抗

体的AUC为0.559, Cut-off值下特异度为74.6%时, 诊断HCC的灵敏度为41.2%; BIRC5b天然自身抗体的AUC为0.543, Cut-off值下特异度为85.4%, 诊断HCC的灵敏度为25.2%。BIRC5天然自身抗体诊断效能较低, 但在BCLC C+D期中针对HCC中晚期阶段表现出最佳的诊断效能值和灵敏度。见表5和图1。

2.6 HCC患者血浆中BIRC5a和BIRC5b天然自身抗体联合分析的ROC曲线

联合分析ROC曲线结果显示: HCC患者血浆中BIRC5a和BIRC5b天然自身抗体联合分析的AUC值为0.561, 95%CI为(0.490, 0.633), Cut-off值下灵敏度为71.2%, 特异度为17.4%, 阳性预测值(positive predictive value, PPV)为43.5%, 阴性预测值(negative predictive value, NPV)为40.4%。

3 讨论

本研究采用优化ELISA法检测BIRC5天然自身抗体在HCC患者血浆中的表达变化及其临床意

表5 HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体ROC曲线分析

Tab. 5 Analysis on ROC curves of natural autoantibodies against BIRC5 in plasma of HCC patients

Group	AUC (95%CI)	SE	Cut-off value	Youden index	Sensitivity ($\eta/\%$)	Specificity ($\eta/\%$)
BIRC5a						
0+A	0.538 (0.429,0.660)	0.059	0.971	0.066	32.0	74.6
B	0.559 (0.466,0.666)	0.051	0.968	0.165	41.9	74.6
C+D	0.569 (0.473,0.678)	0.052	0.971	0.197	45.1	74.6
Overall	0.559 (0.494,0.637)	0.037	0.969	0.158	41.2	74.6
BIRC5b						
0+A	0.496 (0.335,0.594)	0.066	2.165	0.014	16.0	85.4
B	0.526 (0.376,0.586)	0.053	2.151	0.063	20.9	85.4
C+D	0.580 (0.461,0.662)	0.051	2.129	0.187	33.3	85.4
Overall	0.543 (0.439,0.585)	0.037	2.128	0.106	25.2	85.4

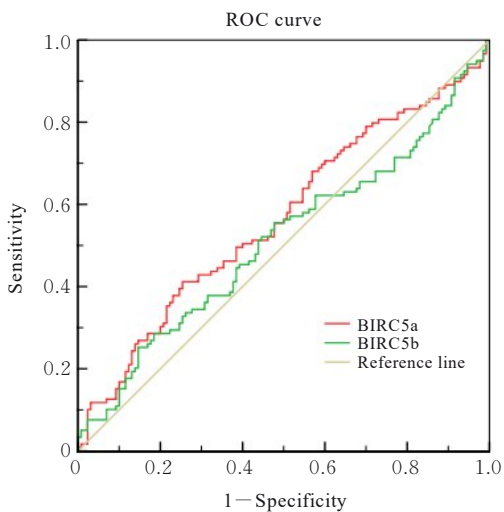


图1 HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平ROC曲线

Fig. 1 ROC curves of BIRC5 natural autoantibody levels in plasma of HCC patients

义。结果显示：HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平较健康对照者升高，但差异无统计学意义。然而，在男性HCC患者血浆中BIRC5天然自身抗体水平较健康对照者升高。这与前期部分研究结果不一致，如ALTIERI等^[17]提出BIRC5作为凋亡抑制蛋白，在多种实体瘤（HCC）中高表达，并可能诱导宿主产生特异性自身抗体。其原因是BIRC5的蛋白表达与抗体生成可能存在复杂的调控关系，如肿瘤免疫逃逸机制抑制抗体反应^[18]，或抗体生成受限于抗原表位暴露的时空特异性^[19]。本研究亚组分析结果显示：男性HCC患者及BCLC C+D期患者的BIRC5a水平较健康对照者升高，提示性别和疾病进展可能通过特定生物学通路影响

其表达。ROC曲线分析结果表明：单独检测BIRC5a或BIRC5b天然自身抗体的诊断效能较低（AUC分别为0.559和0.543），但自身抗体诊断效能随肝癌BCLC期升高其灵敏度也升高，联合检测AUC较单一抗体分析诊断效能略升高，其灵敏度提升至71.2%，但特异度（17.4%）降低，这一结果反映了BIRC5天然自身抗体在HCC中的异质性表达，其作为辅助诊断标志物的潜力需依赖多指标联合分析。

本研究结果显示：男性HCC患者的BIRC5a和BIRC5b天然自身抗体水平较健康对照组男性研究对象明显升高，这可能与激素调控或遗传背景相关。雄激素受体（androgen receptor, AR）信号通路在HCC发生发展中起关键作用，其可能机制为AR激活磷脂酰肌醇3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B, AKT）信号通路，从而促进BIRC5的表达^[20]。BCLC晚期患者的BIRC5a天然自身抗体的升高可能与肿瘤微环境的重塑有关^[21]。晚期HCC常伴随免疫抑制性T细胞（调节性T细胞）浸润和细胞因子（白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素1 β ）分泌增加^[22]，上述因素可能通过增强肿瘤抗原释放或打破免疫耐受，刺激自身抗体生成。然而，患者性别和HCC分期对BIRC5天然自身抗体影响的具体机制尚需通过功能实验进一步验证。

本研究相关性分析结果显示：BIRC5a自身抗体水平随着BCLC分期升高而升高，与ALP升高和PT延长呈正相关关系，与Alb降低呈负相关关系。表明自身抗体水平升高的患者表现出更严重的临床指标变化，可对HCC预后产生影响。PT延长

和Alb降低是肝功能失代偿的标志,而BIRC5与上述指标的相关性可能反映其参与肝损伤与肿瘤进展的交互作用。一方面,BIRC5通过直接抑制细胞凋亡蛋白酶(Caspase)活性^[23],阻断凋亡信号,同时调控细胞周期通路,促进肝细胞异常存活及纤维化;另一方面,肝功能恶化可能通过降低肝脏清除能力,使循环中肿瘤抗原或免疫复合物积累,间接升高自身抗体水平,因此自身抗体水平升高的患者表现出更严重的临床指标变化,可对HCC预后产生影响^[24]。然而,现有研究多聚焦于BIRC5蛋白而非其自身抗体,未来需通过纵向队列研究明确抗体水平与肿瘤动态进展的关系。

本研究结果显示:BIRC5天然自身抗体的诊断效能较低(AUC<0.6),可能受多种因素影响。首先,HCC的高度异质性导致抗体表达在不同病因(乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒或酒精性肝病)或分子亚型(增殖型和炎症型)中存在显著差异^[25],而本研究未对亚组进一步分层。其次,天然自身抗体水平可能受个体免疫状态(免疫衰老或慢性炎症)影响,且检测方法的灵敏度不足可能影响检测结果准确性。如天然自身抗体的抗原表位可能因翻译后修饰或构象变化未被完全捕获^[26]。本研究改进方向包括:①扩大样本量并纳入多中心队列以提高统计效力;②优化抗原设计(采用构象特异性抗原或多肽芯片)以提升检测灵敏度;③整合其他标志物(AFP、异常凝血酶原或肝癌相关的外泌体miRNA)构建多模态诊断模型。探索BIRC5天然自身抗体与治疗反应(靶向治疗或免疫检查点抑制剂疗效)的关联,可能拓展其临床应用价值。

综上所述,BIRC5a天然自身抗体是HCC预后的一个潜在生物标志物,其在男性HCC患者血浆中特异性升高,其水平与HCC肿瘤进展(BCLC分期升高而升高)、肝功能恶化指标(ALP升高、PT延长和ALB减少)存在相关性,未来研究需结合多组学技术,单细胞测序或蛋白质组学等研究,进一步为肝癌的性别差异化预后评估提供了新型血清学标志物,开发高灵敏度的检测平台,推动天然自身抗体从基础研究向临床转化。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

王嘉欣参与研究设计、论文撰写和修改,毛俊文参与临床疗效评估和临床资料收集,张萱参与论文设计和审阅。

[参考文献]

- [1] 郑荣寿,陈茹,韩冰峰,等. 2022年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221-231.
- [2] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
- [3] ZHUANG L P, HUANG C J, NING Z Y, et al. Circulating tumor-associated autoantibodies as novel diagnostic biomarkers in pancreatic adenocarcinoma[J]. Int J Cancer, 2023, 152(5): 1013-1024.
- [4] 王子康,王龙飞,王克雷,等. 肝细胞癌基因诊断标志物和免疫浸润标志物的分析和识别[J]. 郑州大学学报(医学版), 2025, 60(5): 593-597.
- [5] SEXAUER D, GRAY E, ZAENKER P. Tumour-associated autoantibodies as prognostic cancer biomarkers- a review[J]. Autoimmun Rev, 2022, 21(4): 103041.
- [6] FUKUDA S, PELUS L M. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(5): 1087-1098.
- [7] WU J G, LING X, PAN D L, et al. Molecular mechanism of inhibition of survivin transcription by the GC-rich sequence-selective DNA binding antitumor agent, hedamycin: evidence of survivin down-regulation associated with drug sensitivity[J]. J Biol Chem, 2005, 280(10): 9745-9751.
- [8] SALZ W, EISENBERG D, PLESCIA J, et al. A survivin gene signature predicts aggressive tumor behavior[J]. Cancer Res, 2005, 65(9): 3531-3534.
- [9] KHAN Z, KHAN N, TIWARI R P, et al. Down-regulation of survivin by oxaliplatin diminishes radioresistance of head and neck squamous carcinoma cells[J]. Radiother Oncol, 2010, 96(2): 267-273.
- [10] QIU D M, WANG G L, CHEN L, et al. The expression of beclin-1, an autophagic gene, in hepatocellular carcinoma associated with clinical pathological and prognostic significance [J]. BMC Cancer, 2014, 14: 327.
- [11] DE GUILLEBON E, DARDENNE A, SALDMANN A, et al. Beyond the concept of cold and hot tumors for the development of novel predictive biomarkers and the rational design of immunotherapy combination[J]. Int J Cancer, 2020, 147(6): 1509-1518.
- [12] LEE S, LEE S H, VANBIK D, et al. First molecular detection and phylogenetic analysis of Anaplasma

- phagocytophilum in shelter dogs in Seoul, Korea [J]. *Ticks Tick Borne Dis*, 2016, 7(5): 945-950.
- [13] TAYLOR D D, GERCEL-TAYLOR C, PARKER L P. Patient-derived tumor-reactive antibodies as diagnostic markers for ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115(1): 112-120.
- [14] XU Y C, JIN Y L, LIU L L, et al. Study of circulating IgG antibodies to peptide antigens derived from BIRC5 and MYC in cervical cancer [J]. *FEBS Open Bio*, 2015, 5: 198-201.
- [15] KOZIOL J A, ZHANG J Y, CASIANO C A, et al. Recursive partitioning as an approach to selection of immune markers for tumor diagnosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(14): 5120-5126.
- [16] 赵欢, 马小莉, 张莹, 等. BIRC5抗体在非小细胞肺癌血浆中的表达及其与预后的关系 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(1): 93-97.
- [17] ALTIERI D C. Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(1): 61-70.
- [18] CERVANTES-VILLAGRANA R D, ALBORES-GARCÍA D, CERVANTES-VILLAGRANA A R, et al. Tumor-induced neurogenesis and immune evasion as targets of innovative anti-cancer therapies [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 99.
- [19] PLAYOUST E, REMARK R, VIVIER E, et al. Germinal center-dependent and-independent immune responses of tumor-infiltrating B cells in human cancers [J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(9): 1040-1050.
- [20] LIN H Y, YU I C, WANG R S, et al. Increased hepatic steatosis and insulin resistance in mice lacking hepatic androgen receptor [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 1924-1935.
- [21] LIU Y, CHEN X, LUO W W, et al. Identification and validation of Birc5 as a novel activated cell cycle program biomarker associated with infiltration of immunosuppressive myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2023, 12(15): 16370-16385.
- [22] YANG Y, LUO C, FENG R, et al. The TNF- α , IL-1B and IL-10 polymorphisms and risk for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(6): 947-952.
- [23] LIN T Y, CHAN H H, CHEN S H, et al. BIRC5/Survivin is a novel ATG12-ATG5 conjugate interactor and an autophagy-induced DNA damage suppressor in human cancer and mouse embryonic fibroblast cells [J]. *Autophagy*, 2020, 16(7): 1296-1313.
- [24] WANG J X, LIU S Q, ZHANG X. Investigation of circulating natural autoantibodies against ANXA1 and MYC as potential biomarkers in hepatocellular carcinoma [J]. *Adv Med Sci*, 2025, 70(1): 136-140.
- [25] WEN B, ZHANG J, LIU W P, et al. HBV coinfection with HCV alters circulating Tfh cell distribution and impairs HCV neutralizing antibody responses [J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(8): 1002-1010.
- [26] TAN E M, ZHANG J Y. Autoantibodies to tumor-associated antigens: reporters from the immune system [J]. *Immunol Rev*, 2008, 222: 328-340.