

热休克蛋白 90 α 在非小细胞肺癌患者血浆中的表达及应用价值

樊 炜¹, 马 玲², 闫文慧¹, 张汉东¹, 徐秀花², 燕 云¹

(大同市第二人民医院肿瘤医院检验科¹, 病理科², 山西 大同 037000)

摘要:目的 探讨热休克蛋白 90 α (Hsp90 α)在非小细胞肺癌患者血浆中的表达及应用价值。方法 选取 2020 年 8 月–2022 年 1 月于我院经临床和病理确诊为非小细胞肺癌患者 61 例设为肺癌组,肺部良性疾病患者 51 例设为肺部良性疾病组,同期 32 例健康体检人员作为健康对照组。比较各组 Hsp90 α 、癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 125(CA125)、细胞角质蛋白 19 片段(CYFRA21–1)、鳞状细胞癌抗原(SCCAg),并采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各肿瘤标志物单独及联合检测的曲线下面积(AUC)及诊断非小细胞肺癌的敏感性、特异性。**结果** 肺癌组 Hsp90 α 、CEA、CA125、SCCAg、CYFRA21–1 高于肺部良性疾病组、健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);腺癌 CEA、CA125 水平高于鳞癌,CYFRA21–1、SCCAg 水平低于鳞癌,差异有统计学意义($P<0.05$);鳞癌和腺癌 Hsp90 α 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);ROC 曲线分析显示,血浆 Hsp90 α 在肺癌诊断中的最佳临界值为 101.99 ng/ml,其灵敏度为 75.40%,特异度为 74.50%;Hsp90 α 联合其他三项肿瘤标志物诊断非小细胞肺癌时 AUC 最大,为 0.903。当使用特异性为 90%时的值为阳性判定值,Hsp90 α 的灵敏度为 21.30%,而 Hsp90 α 、CEA、SCC、CYFRA21–1 四项联合使用的敏感度达到 75.40%。**结论** Hsp90 α 可作为非小细胞肺癌辅助诊断的血清标志物之一,与其他标志物联合检测可显著提高非小细胞肺癌的检出率,在非小细胞肺癌的早期诊断中有重要的临床价值。

关键词:热休克蛋白 90 α ;非小细胞肺癌;肿瘤标志物

中图分类号:R734.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006–1959.2023.02.021

文章编号:1006–1959(2023)02–0107–04

Expression and Application Value of Heat Shock Protein 90 α in Plasma of Patients with Non-small Cell Lung Cancer

FAN Wei¹, MA Ling², YAN Wen-hui¹, ZHANG Han-dong¹, XU Xiu-hua², YAN Yun¹

(Department of Laboratory¹, Department of Pathology², Datong Second People's Hospital Cancer Hospital, Datong 037000, Shanxi, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and application value of heat shock protein 90 α (Hsp90 α) in plasma of patients with non-small cell lung cancer. **Methods** From August 2020 to January 2022, 61 patients with non-small cell lung cancer diagnosed by clinical and pathological diagnosis in our hospital were selected as lung cancer group, 51 patients with benign lung disease were selected as benign lung disease group, and 32 healthy people were selected as healthy control group. Hsp90 α , carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), cytokeratin 19 fragment (CYFRA21–1), squamous cell carcinoma antigen (SCCAg) were compared among groups. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the area under the curve (AUC) of each tumor marker alone and combined detection and the sensitivity and specificity of diagnosis of non-small cell lung cancer. **Results** The levels of Hsp90 α , CEA, CA125, SCCAg and CYFRA21–1 in lung cancer group were significantly higher than those in benign disease group and healthy control group ($P<0.05$). The levels of CEA and CA125 in adenocarcinoma were higher than those in squamous cell carcinoma, and the levels of CYFRA21–1 and SCCAg were lower than those in squamous cell carcinoma group ($P<0.05$), but there was no significant difference in the level of Hsp90 α between squamous cell carcinoma and adenocarcinoma ($P>0.05$). ROC curve analysis showed that the optimal critical value of plasma Hsp90 α in the diagnosis of lung cancer was 101.99 ng/ml, with a sensitivity of 75.40% and a specificity of 74.50%. The AUC of Hsp90 α combined with other three tumor markers in the diagnosis of non-small cell lung cancer was the largest, which was 0.903. When the specificity was 90%, the sensitivity of Hsp90 α was 21.30%, while the sensitivity of Hsp90 α , CEA, SCC and CYFRA21–1 was 75.40%. **Conclusion** Hsp90 α can be used as one of the markers for the auxiliary diagnosis of non-small cell lung cancer. Combined with other markers, it can significantly improve the detection rate of non-small cell lung cancer, and has important clinical value in the early diagnosis of non-small cell lung cancer.

Key words: Shock protein 90 α ; Non-small cell lung cancer; Tumor markers

肺癌(lung cancer)是当前威胁人类健康最严重的疾病之一,世界卫生组织国际癌症研究机构发布,

2020 年全球肺癌发病率为 11.4%,死亡率为 18.0%,已成为恶性肿瘤致死的首要原因^[1]。在所有的肺癌病理分型中,非小细胞肺癌(non-small lung cancer)占肺癌总数的 80%~85%,腺癌和鳞状细胞癌约占有非小细胞肺癌的 80%^[2]。多数患者发现时已处于

作者简介:樊炜(1985.11–),女,山西大同人,硕士,主管技师,主要从事免疫学的研究

中晚期,尽管肺癌的治疗方法在不断进展,但5年生生存率仅15%^[3]。血清肿瘤标志物、影像学以及病理学检查是目前肺癌的主要检查手段,但这些检查方式在肺癌的临床应用中都具有自身的局限性。血清学肿瘤标志物特异性不足,影像学筛查肺癌假阳性率高,有辐射风险,目前都不能做到早期诊断肺癌,因此寻求早期诊断肺癌的生物标志物仍然是一个很重要的研究方向。热休克蛋白(heat shock proteins)是在细胞中广泛表达的分子伴侣的成员,在蛋白质折叠、蛋白质稳定性和维持细胞内稳态方面发挥着关键作用。Hsp90是一种进化上保守的分子伴侣,在各种应激相关蛋白中最常见,癌细胞通常使用Hsp90的伴侣机制来获得生存优势。因此,Hsp90被认为是“癌基因成瘾”和维持恶性表型的重要促进剂^[4]。Hsp90 α 是人类Hsp90的4种亚型之一,呈诱导性表达^[5]。研究发现^[6],随着肿瘤恶性程度增高,Hsp90 α 分泌量也升高,并认为Hsp90 α 可以作为肿瘤早期检测一种新型肿瘤标志物。本研究将检测非小细胞肺癌患者血浆Hsp90 α 的表达水平,探讨其在非小细胞肺癌临床诊断和治疗中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年8月–2022年1月于大同市第二人民医院肿瘤医院经临床和病理确诊为非小细胞肺癌患者61例设为肺癌组,其中男38例,女23例;年龄49~82岁,平均年龄(67.90 \pm 7.96)岁;腺癌35例,鳞癌26例。肺部良性疾病患者51例设为肺部良性疾病组,其中男30例,女21例;年龄47~82岁,平均年龄(72.02 \pm 10.89)岁;支气管炎患者4例、支气管哮喘3例、慢性阻塞性肺疾病25例、间质性肺病3例、肺部感染9例、肺炎7例。另以同期32例健康体检人员作为健康对照组,其中男18例,女14例;年龄34~52岁,平均年龄(45.09 \pm 4.67)岁。三组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具

有可比性。本研究中所有研究对象知情同意并签署知情同意书,且该研究经医院伦理委员会审批通过。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:肺癌组患者术后病理结果由2位病理医生根据WHO肺癌组织学分型确诊^[7],肺部良性疾病也符合临床相关诊断标准,且健康对照组均为体检健康人群。排除标准:①其他严重系统疾病及恶性肿瘤;②随访资料不完善者。

1.3 方法 采用真空采血管采集待检者空腹静脉血2 ml,经乙二胺四乙酸二钾(ethylene diamine tetraacetic acid-K2, EDTA-K2)抗凝血分离血浆,使用RAYTO RT-6100检测血清中Hsp90 α ;2 ml无抗凝剂静脉血分离血清,使用迈瑞电化学发光仪BSCL2000检测其余指标[癌胚抗原(CEA)、糖链抗原125(CA125)、细胞角质蛋白19片段(CYFRA21-1)、鳞状细胞癌抗原(SCCAg)],均严格按仪器及试剂盒说明进行操作。

1.4 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计量资料以 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,两组间差异比较采用秩和检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis检验。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线以评价多种标志物联合检测肺癌临床诊断中的效能,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清肿瘤标志物水平比较 肺癌组Hsp90 α 、CEA、CA125、SCCAg、CYFRA21-1高于肺部良性疾病组、健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.2 肺癌组不同病理类型患者血清标志物水平比较 腺癌CEA、CA125水平高于鳞癌, CYFRA21-1、SCCAg水平低于鳞癌,差异有统计学意义($P<0.05$);鳞癌和腺癌Hsp90 α 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表1 三组血清肿瘤标志物水平比较 $[M(P_{25}, P_{75})]$

项目	肺癌组($n=61$)	肺部良性疾病组($n=51$)	健康对照组($n=32$)	H	P
Hsp90 α (ng/ml)	145.48(102.54, 207.61)* Δ	77.84(56.53, 107.10)*	57.40(48.48, 69.46)	62.130	<0.05
CEA(ng/ml)	4.34(2.69, 12.52)* Δ	2.11(1.46, 3.33)*	1.87(0.98, 2.62)	44.891	<0.05
CA125(U/ml)	24.21(10.86, 84.48)* Δ	13.29(6.67, 28.65)	10.03(6.86, 18.54)	19.388	<0.05
SCCAg(ng/ml)	0.96(0.63, 2.32)* Δ	0.62(0.45, 0.95)*	0.52(0.30, 0.71)	26.465	<0.05
CYFRA21-1(ng/ml)	6.60(3.20, 20.60)* Δ	2.10(1.60, 3.10)*	1.20(0.90, 1.90)	72.355	<0.05

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与肺部良性疾病组比较, $\Delta P<0.05$

表 2 肺癌组不同病理类型患者血清标志物水平比较[M(P₂₅, P₇₅)]

项目	鳞癌(n=26)	腺癌(n=35)	Z	P
Hsp90α(ng/ml)	144.53(103.17, 195.09)	145.48(100.26, 247.34)	-0.277	>0.05
CEA(ng/ml)	3.13(2.34, 9.64)	4.98(3.01, 28.25)	-2.144	<0.05
CA125(U/ml)	23.10(9.16, 29.31)	24.75(12.82, 124.12)	-1.881	<0.05
SCCAg(ng/ml)	2.38(1.07, 5.70)	0.65(0.48, 0.92)	-5.301	<0.05
CYFRA21-1(ng/ml)	11.95(4.18, 28.73)	3.90(2.60, 8.30)	-2.589	<0.05

2.3 Hsp90α 对肺癌的诊断价值评估 ROC 曲线分析显示, 血浆 Hsp90α 在肺癌诊断中的最佳临界值为 101.99 ng/ml, 当以最佳临界值作为 cut-off 值时, 其灵敏度为 75.40%, 特异度为 74.50%, ROC 曲线下面积为 0.77, 见图 1。

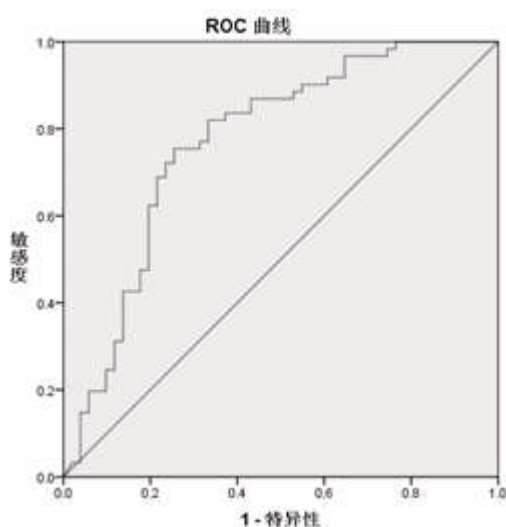


图 1 Hsp90α 诊断肺癌的 ROC 曲线图

2.4 多种标志物联合检测对肺癌的灵敏度及特异度影响 将 Hsp90α 与其他肿瘤标志物使用二项逻辑回归方程进行拟合, 以获得新的联合诊断模型。将 Hsp90α 分别于 CEA、SCC、CYFRA21-1 组合发现最佳组合方式, 结果显示 Hsp90α 结合 CYFRA21-1 的 AUC 为 0.853(95% CI: 0.774, 0.913), 高于单独使用 Hsp90α 的诊断效能($Z=2.165$, $P=0.030$)。Hsp90α 分别与 CEA、SCC 结合的诊断效能与单独 Hsp90α 比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。Hsp90α、CEA、SCC、CYFRA21-1 四项联合使用的 AUC 为 0.903(95% CI: 0.832, 0.951), 高于 Hsp90α 和 CYFRA21-1 联合的诊断效能($Z=2.496$, $P=0.013$)。当使用特异性为 90% 时的值为阳性判定值, Hsp90α 的灵敏度为 21.30%, 而 Hsp90α 与 CYFRA21-1 联合使用的灵敏度为 55.70%, Hsp90α、CEA、SCC、CYFRA21-1 四项

联合使用的灵敏度为 75.40%。

3 讨论

Hsp90 是一种普遍存在的分子伴侣, 负责许多致癌蛋白的稳定和成熟^[8]。Hsp90 通过与参与细胞周期的调节、细胞的转化以及细胞存活和凋亡等过程的受体相结合激活细胞内的信号转导通路, 从而刺激肿瘤细胞的异常增生^[9,10]。基于这一点, Hsp90 被认为是一种抗癌治疗靶点^[11]。此外, 研究发现^[12,13], Hsp90 抑制剂通过抑制肿瘤细胞中 Hsp90 的表达来干扰肿瘤细胞的增殖与转移, 被认为是目前具有开发前景的抗肿瘤药物之一。Hsp90α 作为 Hsp90 家族成员中的一员, 由 732 个氨基酸构成, 相对分子质量为 87 000。本研究的目的是评估 Hsp90α 作为非小细胞肺癌早期诊断标志物的价值。

通过研究结果证实, 肺癌组 Hsp90α、CEA、CA125、SCCAg、CYFRA21-1 高于肺部良性疾病组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 说明以上指标在非小细胞肺癌和肺部良性疾病鉴别上有一定的应用价值。肺部良性疾病组 Hsp90α、CEA、CA125、SCCAg、CYFRA21-1 高于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 说明 Hsp90α 和血清指标在肺部良性疾病组织中也有表达。关于 Hsp90α 在肺部良性疾病组织的表达尚存在争议, 其中张庆辉等^[14]研究显示, Hsp90α 在肺部良性疾病组织中也有表达。姜源等^[15]研究表明, 肺部良性疾病组血浆 Hsp90α 表达水平与健康对照组无明显差异。本研究结果发现, 腺癌 CEA、CA125 水平高于鳞癌, CYFRA21-1、SCCAg 水平低于鳞癌, 差异有统计学意义($P<0.05$); 鳞癌和腺癌 Hsp90α 水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 与既往文献报道一致^[16-18]。目前, 关于 Hsp90α 在腺癌和鳞癌的区分上有不同的结论, 有研究表明^[19], Hsp90 水平与鳞状细胞癌组织学呈正相关, 但有的结论持相反的观点, 认为 Hsp90 在肺鳞癌中的阳性表达率低于在肺腺癌中的表达^[20]。可以看出, 关于 Hsp90α 在腺癌和鳞癌的区分上有一

定争议,有待进一步探讨。

此外,本研究构建了 ROC 曲线,结果显示血浆 Hsp90 α 在肺癌诊断中的最佳临界值为 101.99 ng/ml, 当以最佳临界值作为 cut-off 值时,其灵敏度为 75.40%, 特异度为 74.50%, ROC 曲线下面积为 0.77,表明 Hsp90 α 检测在肺癌诊断中具有较高的灵敏性,在肺癌早期诊断中具有一定的临床意义。为进一步提高肺癌的诊断效能,本研究还评估了单项肿瘤标志物及多项联合检测在肺癌诊断中的灵敏度和特异性,结果显示 Hsp90 α 、CYFRA21-1 联合检测优于单独使用 Hsp90 α 以及 Hsp90 α 与其他两项的联合检测,且 Hsp90 α 、CEA、SCC、CYFRA21-1 四项联合检测的效果最佳。单独使用 Hsp90 α 诊断时,当特异性为 90% 时的值作为阳性判定值时, Hsp90 α 的敏感度仅为 21.30%。而 Hsp90 α 联合其他三项肿瘤标志物诊断时,敏感度提高到 75.40%。因此,联合其他肺癌标志物检测可提高肺癌的检出率。

综上所述, Hsp90 α 可作为非小细胞肺癌辅助诊断的血清标志物之一,与其他标志物联合检测可提高非小细胞肺癌的检出率,在非小细胞肺癌的早期诊断中具有重要的临床价值。

参考文献:

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] 刘苗苗. 基于 NGS 对肺癌组织与血液肿瘤相关基因突变检测临床病理意义及一致性评价的研究[D]. 西安: 空军军医大学, 2019.

[3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[4] Mittal S, Rajala MS. Heat shock proteins as biomarkers of lung cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2020, 21(6): 477-485.

[5] Rong B, Yang S. Molecular mechanism and targeted therapy of Hsp90 involved in lung cancer: New discoveries and developments[J]. Int J Oncol, 2018, 52(2): 321-336.

[6] Wang XF, Song XM, Zhuo W, et al. The regulatory mechanism of Hsp90 α secretion and its function in tumor malignancy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(50): 21288-21293.

[7] Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification[J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(9): 1243-1260.

[8] Ko JC, Chen JC, Chen TY, et al. Inhibition of thymidine phosphorylase expression by Hsp90 inhibitor potentiates the cytotoxic effect of salinomycin in human non-small-cell lung cancer cells[J]. Toxicology, 2019, 417: 54-63.

[9] Park SE, Kim DE, Kim MJ, et al. Vorinostat enhances gefitinib induced cell death through reactive oxygen species dependent cleavage of HSP90 and its clients in non small cell lung cancer with the EGFR mutation[J]. Oncol Rep, 2019, 41(1): 525-533.

[10] Saini J, Sharma PK. Clinical, Prognostic and Therapeutic Significance of Heat Shock Proteins in Cancer [J]. Curr Drug Targets, 2018, 19(13): 1478-1490.

[11] Hyun SY, Le HT, Nguyen CT, et al. Development of a novel HSP90 inhibitor NCT-50 as a potential anticancer agent for the treatment of non-small cell lung cancer [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 13924.

[12] Alarcon SV, Mollapour M, Lee MJ, et al. Tumor-intrinsic and tumor-extrinsic factors impacting HSP90-targeted therapy[J]. Current Molecular Medicine, 2012, 12(9): 1125-1141.

[13] Wei Q, Ning JY, Dai X, et al. Discovery of novel HSP90 inhibitors that induced apoptosis and impaired autophagic flux in A549 lung cancer cells[J]. Eur J Med Chem, 2018, 10(145): 551-558.

[14] 张庆辉, 侯森, 唐新亚, 等. 血浆热休克蛋白 90 α 在肝癌诊断及预后评估中的价值分析 [J]. 癌症进展, 2019, 17(24): 2965-2968.

[15] 姜源, 舒静, 陈敏. 血浆热休克蛋白 90 α 在肺癌中表达及临床价值[J]. 重庆医学, 2018, 47(35): 4500-4503.

[16] 中华医学会呼吸病学分会肺癌学组, 中国肺癌防治联盟专家组. 肺结节诊治中国专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(10): 763-771.

[17] Yang Q, Zhang P, Wu R, et al. Identifying the Best Marker Combination in CEA, CA125, CY211, NSE, and SCC for Lung Cancer Screening by Combining ROC Curve and Logistic Regression Analyses: Is It Feasible? [J]. Dis Markers, 2018, 2018: 2082840.

[18] Li X, Asmitananda T, Gao L, et al. Biomarkers in the lung cancer diagnosis: a clinical perspective [J]. Neoplasia, 2012, 59(5): 500-507.

[19] Su JM, Hsu YY, Lin P, et al. Nuclear Accumulation of Heat-shock Protein 90 Is Associated with Poor Survival and Metastasis in Patients with Non-small Cell Lung Cancer [J]. Anticancer Res, 2016, 36(5): 2197-203.

[20] Wang Y, Seyed Barghi SM, Yang Y, et al. Value of HSP90 α in Lung Cancer Diagnosis and Recurrence Prediction: A Cohort Study[J]. Oncol Res Treat, 2021, 44(11): 583-589.

收稿日期: 2022-03-25; 修回日期: 2022-04-08

编辑/杜帆