

血浆 HSP90 α 检测在肺癌诊断中的临床应用价值研究*

董 莉, 张保平, 冯新平, 王悦喜 (内蒙古医科大学附属医院检验科, 呼和浩特 010050)

摘要:目的 探讨血浆热休克蛋白 90 α (HSP90 α)检测在肺癌诊断中的意义。方法 应用酶联免疫法检测 166 例肺癌患者血浆 HSP90 α 浓度, 化学发光法检测 CEA, NSE, SCC, CYFRA21-1; 同期健康体检者 20 例为正常对照组, 两组数据采用 t 检验进行统计学分析; 采用 Pearson's 相关法分析肺癌患者 HSP90 α 与 CEA, NSE, SCC 和 CYFRA21-1 间的关系; 采用 ROC 曲线评估 HSP90 α 对肺癌的诊断效能。结果 ①肺癌组与对照组 HSP90 α , CEA, NSE, SCC, CYFRA21-1 分别为 190.33 ± 105.86 vs 41.02 ± 19.73 ng/ml, 8.68 ± 5.02 vs 4.02 ± 1.36 ng/ml, 36.32 ± 13.16 vs 8.32 ± 3.96 ng/ml, 6.21 ± 1.62 vs 1.23 ± 0.64 ng/ml, 10.63 ± 4.33 vs 3.02 ± 1.66 ng/ml; 与对照组比较, HSP90 α , CEA, NSE, SCC 和 CYFRA21-1 明显高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($t=10.48, 8.66, 12.36, 9.52, 15.36$, 均 P 值 <0.001)。②以生物参考区间 (HSP90 α : $0 \sim 86$ ng/ml, CEA $1.0 \sim 5$ ng/ml, NSE: $1.0 \sim 17.5$ ng/ml, SCC: $0.2 \sim 1.6$ ng/ml, CYFRA21-1: $1.0 \sim 2.6$ ng/ml) 为标准, 肺癌组中, HSP90 α 增高占 73.49%, CEA 增高占 19.27%, NSE 增高占 37.95%, CYFRA21-1 增高占 21.68%, SCC 增高占 29.51%。③肺癌患者按病理组织分型, 不同肿瘤分型 HSP90 α 浓度比较无差异 ($P>0.05$)。④Spearman 秩相关分析显示, HSP90 α 与 CYFRA21-1 水平呈正相关 ($r_s=0.44, P<0.01$), 差异有统计学意义 ($F=14.98, P=0.00$); HSP90 α 与 CEA, NSE, SCC 无相关性。⑤HSP90 α 与 CEA, NSE, SCC 和 CYFRA21-1 诊断肺癌的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为: 0.961, 0.562, 0.731, 0.465 和 0.632, 最佳 cutoff 值分别为 89.3 ng/ml, 6.32 ng/ml, 18.63 ng/ml, 1.93 ng/ml 和 2.36 ng/ml; 灵敏度分别为 73.49%, 52.3%, 63.2%, 59.6% 和 62.1%; 特异度分别为 98.6%, 46.3%, 66.3%, 61.3% 和 63.4%; 准确度分别为 88.4%, 80.3%, 86.9%, 87.2% 和 89.2%。五项联合诊断肺癌的灵敏度和特异度分别为 100% 和 75%。结论 用 ROC 曲线分析的结果表明, HSP90 α 对诊断肺癌具有辅助作用, 联合 CEA, NSE, CYFRA21-1 及 SCC 可显著提高肺癌的检出率。

关键词: 热休克蛋白 90 α , 肺癌, 联合检测

中图分类号: R734.2; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)04-097-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.027

Plasma HSP90 Alpha Testing Clinical Application Value in the Diagnosis of Lung Cancer Research

DONG Li, ZHANG Bao-ping, FENG Xin-ping, WANG Yue-xi (Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia Medical University Affiliated Hospital, Hohhot 010050, China)

Abstract: **Objective** To study the plasma heat shock protein 90 alpha (HSP90 α) in the diagnosis of lung cancer. **Methods** Chose 166 cases of patients with lung cancer, lung cancer group, the same physical examination of 20 cases of normal (control group), application of plasma concentration of HSP90 α enzyme-linked immunoassay detection, chemiluminescence detection of CEA, NSE, SCC and CYFRA21-1, of the two groups of data by t test statistical analysis, compared two groups of plasma HSP90 α level. With plasma HSP90 α was greater than 86 ng/ml for the critical value, calculation of HSP90 α testing sensitivity. Patients with lung cancer by histopathologic classification, compare different tumor classification in patients with plasma HSP90 α level. Used Pearson's correlation method to analyse the relationship of HSP90 α , CEA and NSE in patients with lung cancer, between SCC and CYFRA21-1 and used ROC curve to evaluate HSP90 α efficiency to the diagnosis of lung cancer. **Results** ① In lung cancer group and control group in the indicators HSP90 α , CEA, NSE, SCC and respectively CYFRA21-1 190.33 ± 105.86 vs 41.02 ± 19.73 ng/ml, 8.68 ± 5.02 vs 4.02 ± 1.36 ng/ml, 36.32 ± 13.16 vs 8.32 ± 3.96 ng/ml, 6.21 ± 1.62 vs 1.23 ± 0.64 ng/ml, 10.63 ± 4.33 vs 3.02 ± 1.66 ng/ml. Compared with control group ($t=10.48, 8.66, 12.36, 9.52, 15.36, P<0.01$), the difference was statistically significant. ② For biological reference range (HSP90 α : $0 \sim 86$ ng/ml, CEA $1.0 \sim 5$ ng/ml, NSE: $1.0 \sim 17.5$ ng/ml, SCC: $0.2 \sim 1.6$ ng/ml, CYFRA21-1: $1.0 \sim 2.6$ ng/ml) as the standard in lung cancer group, HSP90 α increased 73.49%, CEA increased 19.27%, NSE increased 37.95%, CYFRA21-1 (21.68%) and SCC increased 29.51%. ③ Patients with lung cancer by histopathologic classification, different concentration of tumor classification HSP90 α was no difference ($P>0.05$). ④ Spearman rank correlation analysis showed that HSP90 α levels were positively correlated with CYFRA21-1 ($r_s=0.44, P<0.01$). The difference was statistically sig-

* 作者简介: 董 莉 (1964—), 女, 大学本科, 硕士研究生导师, 主任检验师, 主要从事临床免疫检验及相关疾病研究, E-mail: dongsuanzhi@163.com。
通讯作者: 王悦喜 (1963—), 医学博士。

nificant ($F=14.98$, $P=0.00$). HSP90 α and CEA, NSE, SCC had no relevance. ⑤ HSP90 α and CEA, NSE, SCC, CYFRA21-1 the area under the ROC curve (AUC) in the diagnosis of lung cancer were: 0.961, 0.562, 0.731, 0.465 and 0.632 best cutoff value were 89.3 ng/ml, 6.32 ng/ml, 18.63 ng/ml, 1.93 ng/ml and 2.36 ng/ml. Sensitivity of 73.49%, 52.3%, 73.49%, 59.6% and 62.1%, specific degrees respectively. Accuracy of 98.6%, 46.3%, 66.3%, 98.6% and 46.3%, respectively, 88.4%, 80.3%, 86.9%, 87.2% and 89.2% of the five joint, the sensitivity of diagnosis of lung cancer and specific degrees respectively 100% and 75%. **Conclusion** Using ROC curve analysis showed that HSP90 α plays an auxiliary role in diagnosis of lung cancer, CEA, NSE, CYFRA21-1 and SCC can significantly increase the detection rate of lung cancer.

Keywords: heat shock protein 90 alpha, lung cancer, the joint detection

肺癌是我国常见的恶性肿瘤之一,因发病率和病死率均居于恶性肿瘤之首^[1],因此早期诊断和治疗尤为重要。而血清肿瘤标志物检测以无创、方便、快捷等优点^[2]是目前筛查高危人群的首选。近年来的研究^[3~6]表明,热休克蛋白 90 α (HSP90 α) 在许多实体肿瘤和血液系统肿瘤可持续高表达,并与肿瘤的发生、发展及预后相关,故血浆 HSP90 α 检测逐渐被应用于血液系统及全身脏器肿瘤的早期诊断和疗效监测,而国内外研究血浆 HSP90 α 在肺癌早期诊断及进展方面也有报道,但与其他肿瘤指标联合诊断的报道不多。为此我们检测了 166 例具有明确病理诊断的肺癌患者的血浆 HSP90 α 浓度,同时以 20 例健康体检者为对照,探究血浆 HSP90 α 在肺癌辅助诊断中的临床价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 病例来源于 2016 年 8 月~2017 年 2 月我院呼吸内科、胸外科、肿瘤科住院的肺癌患者 166 例(肺癌组),均经纤维支气管镜取得活检组织或由胸腔积液细胞学明确其组织分型;其中小细胞肺癌 41 例,非小细胞肺鳞癌 56 例,非小细胞肺腺癌 43 例,非小细胞肺大细胞癌 26 例;男性 110 例,女性 56 例,年龄 38~84 岁,中位年龄 64.3 岁,均未曾接受过任何放化疗或靶向治疗,均无心肝肾等重要脏器病变、感染、贫血、内分泌及代谢性疾病,无其他器官肿瘤疾病史及家族史;另取同期在本院健康体检人群 20 例作为对照组,男性 13 例,女性 7 例,年龄 38~69 岁,中位年龄 55.5 岁。

1.2 仪器与试剂 采用 ELX800 酶标仪检测样本血浆 HSP90 α 浓度,北京拓普 DE800-M 洗板机,试剂盒由烟台普罗吉科技发展有限公司生产,批号:20150024003;NSE, CYFRA21-1 由罗氏电化学发光仪 E602 测定;CEA, SCC 由雅培化学发光仪 i2000 测定;试剂使用仪器配套试剂,试剂校准品在有效期内使用。

1.3 方法 标本采集:所有患者均于入院次日空腹静脉采血 4 ml,其中 2 ml 用 EDTA-K₂ 抗凝管采集,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,并于-20℃冻存,所有标本统一解冻后利用酶联免疫法检测 HSP90 α 浓度;另外 2 ml 用带分离胶的试管采

集,待血液凝固后分离血清,即刻上机,测定 NSE, CEA, SCC, CYFRA21-1。所有标本均在室内质控在控条件下进行检测。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行处理,检测结果以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验。计量资料以率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;采用 ROC 曲线评估 HSP90 α 对肺癌的诊断效能,将曲线下面积作为反映诊断准确性的指标,得出诊断灵敏度和特异度。采用 Pearman's 相关法分析肺癌患者 HSP90 α 与 CEA, NSE, SCC, CYFRA21-1 间的关系。

2 结果

2.1 各项检测结果 见表 1。肺癌组 HSP90 α , CEA, NSE, CYFRA21-1, SCC 显著高于对照组,差异有统计学意义($t=8.65\sim15.36$, 均 $P<0.005$),特别是 HSP90 α 显著高于对照组,差异有统计学显著性意义($t=10.48$, $P<0.001$)。

表 1 两组检测对象各项肿瘤标志物水平比较($\bar{x}\pm s$, ng/ml)

项目	肺癌组($n=166$)	对照组($n=20$)	t 值	P 值
HSP90	190.33 \pm 105.86	41.02 \pm 19.73	10.48	<0.001
CEA	8.68 \pm 5.02	4.02 \pm 1.36	8.65	0.035
NSE	36.32 \pm 13.16	8.32 \pm 3.9	12.36	0.012
CYFRA21-1	8.63 \pm 4.33	3.02 \pm 1.66	15.36	0.010
SCC	10.21 \pm 1.62	1.23 \pm 0.64	9.52	0.030

2.2 各肿瘤标志物水平分布 见表 2。

表 2 两组血清肿瘤标志物水平异常分布[$n(\%)$]

项目	肺癌组($n=166$)	对照组($n=20$)	t 值	P 值
高 HSP90 α	130(78.31)	0	67.25	0.00
高 CEA	32(19.28)	1(5)	59.21	0.001 1
高 NSE	63(37.95)	4(20)	55.62	0.000
高 SCC	49(29.52)	1(5)	75.62	0.001
高 CYFRA21-1	36(21.69)	0	69.21	0.000

HSP90 α , CEA, NSE, SCC 和 CYFRA21-1 的生物参考区间分别为 0~86 ng/ml, 1.0~5 ng/

ml, 1.0~17.5 ng/ml, 0.2~1.6 ng/ml, 1.0~2.6 ng/ml。肺癌组各标记物异常分布与对照组比较差异均有统计学显著性意义($t=55.62\sim75.62$, 均 $P<0.001$)。

2.3 不同肿瘤分型患者血清 HSP90 α 等肿瘤标志物浓度比较 HSP90 α , CEA 在各组间比较无差异

($P>0.05$); NSE 在小细胞肺癌组与非小细胞肺癌组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); CYFRA21-1 在小细胞肺癌组与非小细胞肺癌比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); SCC 在鳞癌组与其它组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 说明 HSP90 α 检测对肿瘤分型无意义, 仅对肺癌的诊断有价值。

表 3 不同肿瘤分型患者血清 HSP90 α 等肿瘤标志物浓度比较

肿瘤标志物	小细胞肺癌($n=41$)	非小细胞肺癌			P
		鳞癌($n=56$)	腺癌($n=43$)	大细胞癌($n=26$)	
HSP90 α	188.26 \pm 69.76	199.98 \pm 69.56	213.22 \pm 72.31	202.96 \pm 69.56	0.69
CEA	5.76 \pm 2.92	5.23 \pm 3.62	5.02 \pm 3.80	4.96 \pm 3.91	0.72
NSE	33.23 \pm 10.6	18.23 \pm 10.22	7.95 \pm 3.6	10.23 \pm 7.15	0.03
CYFRA21-1	2.32 \pm 1.66	8.96 \pm 4.33	9.21 \pm 5.63	7.66 \pm 5.67	0.01
SCC	2.13 \pm 1.92	8.31 \pm 3.62	3.62 \pm 2.21	2.55 \pm 1.96	0.02

2.4 相关分析显示 HSP90 α 与 CYFRA21-1 水平呈正相关($r_s=0.44$, $P<0.01$), 差异有统计学意义($F=14.98$, $P=0.00$); HSP90 α 与 CEA, NSE, CYFRA21-1 无相关性。

2.5 HSP90 α 与 CEA, NSE, SCC, CYFRA21-1 对肺癌的诊断效能 见表 4。肺癌组患者 HSP90 α

的特异度和阳性预测值为 98.6% 和 86.2%, 与 NSE, SCC, CYFRA21-1 相比差异有统计学意义($P<0.01$), 但 HSP90 α 的敏感度仅为 73.49%, 与 NSE, SCC, CYFRA21-1 相比差异有统计学意义($P<0.01$); 五项指标的阴性预测值和准确度差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 4 肺癌组患者各项肿瘤标记物的诊断效率比较(%)

项 目	HSP90	CEA	NSE	CYFRA21-1	SCC	χ^2	P 值
敏感度	73.49	52.3	63.2	61.9	62.1	14.1	0.000
特异度	98.6	46.3	66.3	61.3	63.4	42.1	0.003
阳性预测值	86.3	51.1	52.3	60.3	59.1	25.3	0.000
阴性预测值	65.2	60.2	63.9	60.3	64.3	5.36	0.12
准确度	88.4	80.3	86.9	87.2	89.2	2.9	0.11

3 讨论 HSP90 是一种细胞内分子伴侣蛋白, 能够辅助蛋白折叠和维持细胞内多种信号传导蛋白的稳定, 从而促进细胞存活和生长。正常细胞内 HSP90 含量约占细胞内总蛋白量的 2%~3%, 在生理状态下不向细胞外分泌; 但在肿瘤细胞中, Quanz 等^[7]发现 HSP90 α 能与肿瘤细胞内的癌基因蛋白结合, 参与细胞核内的 DNA 损伤修复, 维持其稳定性和致癌性; 能够使过度激活或突变的信号传导, 使蛋白保持活性, 加速肿瘤细胞的恶性转变。HSP90 α 是 HSP90 亚型中唯一可以在血浆中被检测到的, 当应激或发生恶变时, HSP90 在肿瘤细胞内含量可高达 7%, HSP90 α 表达增加并分泌到细胞外。我们的研究结果证实了这点, 肺癌组血浆 HSP90 α 浓度明显高于健康对照组, 与 Shi 等^[8]的研究结果相近, 表明血浆 HSP90 α 浓度检测在肺癌的早期筛查中有一定意义。我们通过对 ROC 曲线分析, 确定其诊断肺癌的灵敏度为 73.49%;

特异度为 98.6%, 其结果略低于江倩等^[9]的研究, 是否与样本量少有关, 有待于今后工作中继续探讨。

分泌到细胞外的 HSP90 α 主要功能有: ①细胞外的 HSP90 α 同细胞内的 HSP90 α 一样, 发挥分子伴侣作用; ②细胞外的 HSP90 α 可以促进肿瘤细胞的浸润和转移^[10]。如细胞外的 HSP90 α 可以通过作用于细胞表面的原癌基因 Her-2 和金属基质蛋白酶 2, 促进肿瘤细胞的浸润和转移。还有研究发现, 细胞外的 HSP90 α 可激活血纤维蛋白溶酶原, 后者具有促进肿瘤细胞转移的作用^[11]。不仅如此, 肺癌组织细胞中的 HSP90 α 蛋白可能参与了肺癌血管生成, 细胞增殖、转移、侵袭等活动^[12]。有研究发现细胞外 HSP90 α 通过促进 MMP-2 活化并减少其降解, 提高肿瘤细胞的侵袭力。是否提示我们: 通过检测血浆 HSP90 α 来判定肿瘤细胞的远端侵袭、扩散, 判定病人的预后, 通过血液含量的变

化来判断治疗的敏感性并调整治疗方案,改善预后,同时为实施治疗提供依据,这将在我们以后工作中重点关注。

已有国内学者的研究报道^[13,14]血清中NSE的含量能够用于小细胞肺癌的诊断。NSE是存在于神经元内的烯醇化酶同工酶,神经元在缺血缺氧时NSE释放入血,引起血清浓度增高,同时NSE又是红细胞血小板代谢产物,溶血及血清分离不及时易引起血清浓度增高;CYFRA21-1目前认为是诊断非小细胞肺癌的肿瘤标记物,但灵敏度较低,我们的研究也证实这点,灵敏度为61.%;CEA目前被公认为消化肿瘤的标记物,在腺癌及大细胞癌中升高,但在多种良性疾病中也存在CEA升高,在对肺癌的灵敏度、特异度均差;SCC是鳞状上皮相关抗原,对鳞癌的灵敏度、特异度较高;以上各种标志物用于肺癌的组织分类较好,而对于肺癌的筛查和早期诊断则不适用。我们的研究结果是:HSP90 α 灵敏度高于其他,特别是以上五项联合检测,敏感度达98.19%、特异度为91.7%。对于肺癌高危人群的筛查是较好和较早的方法。同时,酶联免疫检测法技术成熟,操作简单方便,无需贵重仪器且试剂价格低廉,更适合于一般医院开展。

综合以上,HSP90 α 和CEA,NSE,CYFRA21-1,SCC五项联合检测,是肺癌早期诊断的重要策略。

参考文献:

- [1] 陈相,陶国华,周峰,等.叉头框蛋白J2在非小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达及临床意义[J].现代检验医学杂志,2016,31(3):95-97.
Chen X, Tao GH, Zhou F, et al. Expression and its clinical significance of forkhead box J2 in non-small cell lung cancer tissue and paracancerous tissues[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(3): 95-97.
- [2] 曹诗林,韩凤琼,宁丽洁,等.血清相关肿瘤标志物检测联合钼靶CR摄影及高频超声成像在临床触阴性乳腺癌诊断中的应用[J].实用医学杂志,2015,31(4):577-579.
Cao SL, Han FQ, Ning LJ, et al. Serum tumor markers detection combined mammography CR photography and related high frequency ultrasound imaging in the diagnosis of clinical touch negative breast cancer[J]. Journal of Practical Medical Journal, 2015, 31(4): 577-579.
- [3] Jiang H, Duan B, He C, et al. Cytoplasmic HSP90 α expression is associated with perineural invasion in pancreatic cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(6): 3305-3311.
- [4] Chen WS, Chen CC, Chen LL, et al. Secreted heat shock protein 90 α (HSP90 α) induces nuclear factor- κ B-mediated TCF12 protein expression to down-regulate E-cadherin and to enhance colorectal cancer cell migration and invasion[J]. J Bio Chem, 2013, 288(13): 9001-9010.
- [5] Tian WL, He F, Fu X, et al. High expression of heat shock protein 90 alpha and its significance in human acute leukemia cells[J]. Gene, 2014, 542(2): 122-128.
- [6] Huang T, Chen S, Han H, et al. Expression of HSP90 α and cyclin B1 were related to prognosis of esophageal squamous cell carcinoma and keratin pearl formation[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(4): 1544-1552.
- [7] Quanz M, Herbet A, Sayarath M, et al. Heat shock protein 90 (Hsp90) is phosphorylated in response to DNA damage and accumulates in repair foci[J]. J Bio Chem, 2012, 287(12): 8803-8815.
- [8] Shi Y, Liu X, Lou J, et al. Plasma levels of heat shock protein 90 alpha associated with lung cancer development and treatment responses[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(23): 6016-6022.
- [9] 江倩,金蒙蒙,黄锐,等.肺癌患者血浆热休克蛋白90 α 的表达及意义[J].实用医学杂志,2016,32(13):2129-2132.
Jiang Q, Jin MM, Huang R, et al. The expression of plasma heat shock protein 90 α and its clinical significance for lung cancer patients[J]. The Journal of Practical Medicine, 2016, 32(13): 2129-2132.
- [10] Li W, Tsen F, Sahu D, et al. Extracellular Hsp90 (eHsp90) as the actual target in clinical trials: intentionally or unintentionally[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2013(303): 203-235.
- [11] Sims JD, McCready J, Jay DG. Extracellular heat shock protein(Hsp) 70 and Hsp90 α assist in matrix metalloproteinase-2 activation and breast cancer cell migration and invasion[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18848.
- [12] 贺丽亚,房保栓,邱刚,等. NSCLC组织中HSP90 α 的表达及其临床意义[J].河北医学,2014,20(5):717-720.
He LY, Fang BS, Qiu G, et al. Expression and clinical significance of HSP90 α in NSCLC tissues[J]. Hebei Medicine, 2014, 20(5): 717-720.
- [13] 黄宗华,徐丹丹,张飞艳,等.血清ProGRP和NSE对评价小细胞肺癌化疗疗效及其预后的价值[J].中华肿瘤防治杂志,2015,22(22):1774-1778.
Huang ZH, Xu DD, Zhang FY, et al. Utility of Pro-GRP and NSE in therapy monitoring and prognosis evaluating in patients with small cell lung cancer[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Control, 2015, 22(22): 1774-1778.
- [14] 俞北伟,楼立新,章丽琴,等.血清NSE,CEP350,Cyfra21-1和CEA在肺癌诊断中的临床研究[J].中国卫生检验杂志,2015,25(23):4068-4070.
Yu BW, Lou LX, Zhang LQ, et al. Clinical studies of serum NSE, CEP350, Cyfra21-1 and CEA in the diagnosis of lung cancer[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2015, 25(23): 4068-4070.

收稿日期:2017-03-03

修回日期:2017-04-24