

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.35.015

血浆热休克蛋白 90 α 在肺癌中表达及临床价值

姜源¹,舒静¹,陈敏^{2 Δ}

(1.西南医科大学附属医院医学检验部,四川泸州 646000;2.西南医科大学检验系,四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 检测热休克蛋白 90 α (Hsp90 α)在肺癌患者血浆表达水平,探讨其在肺癌临床诊疗中的应用价值。**方法** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测恶性肿瘤疾病组(肺癌组、白血病组、肝癌组、乳腺癌组)、肺部良性疾病组及健康对照组血浆 Hsp90 α 水平,采用电化学发光免疫法测定血清中糖链抗原 125(CA125)、癌胚抗原(CEA)、细胞角质蛋白 19 片段(CYFRA21-1)水平。分析不同疾病组间血浆 Hsp90 α 表达差异;通过受试者工作特征(ROC)曲线,评价 Hsp90 α 在肺癌诊断中的效能;并分析不同肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的灵敏度、特异度。**结果** 各恶性肿瘤疾病组 Hsp90 α 表达水平显著高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与肺部良性疾病组和健康对照组相比,肺癌组血浆 Hsp90 α 水平明显升高($P<0.01$)。ROC 曲线分析显示,Hsp90 α 诊断肺癌的最佳临界值为 61.37 ng/mL,灵敏度为 93.1%,特异度为 62.5%。Hsp90 α 联合 CA125、CEA、CYFRA21-1 检测在多种标志物联合检测中灵敏度最高(88.5%)。**结论** 血浆 Hsp90 α 是一个潜在的肺癌肿瘤标志物,与其他肺癌标志物联合检测可显著提高肺癌的检出率,在肺癌的早期诊断、治疗和预后判断中有重要的临床价值。

[关键词] Hsp90 热休克蛋白质类;肺肿瘤;肿瘤标记,生物学

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)35-4500-04

Expression and clinical value of plasma heat shock protein 90 alpha in lung cancer

JIANG Yuan¹, SHU Jing¹, CHEN Ming^{2 Δ}

(1. Department of Medical Laboratory, First Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Faculty of Laboratory Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To measure the expression level of plasma heat shock protein 90 alpha (Hsp90 α) in the patients with lung cancer and to investigate its clinical application value in the diagnosis and treatment of lung cancer. **Methods** ELISA was used to detect the Hsp90 α level in the patients with malignant tumors (lung cancer, leukemia, liver cancer, breast cancer), benign pulmonary diseases and healthy control group. The levels of carbohydrate antigen 125 (CA125), carcinoembryonic antigen (CEA) and cell keratin 19 fragment (CYFRA 21-1) were detected by adopting the electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA). The differences of plasma Hsp90 α expression level were compared among the different diseases groups. Besides, the efficiency of Hsp90 α for diagnosing lung cancer was evaluated by using the receiver operating characteristic (ROC) curve. Then the sensitivity and specificity of joint detection of different tumor markers in the diagnosis of lung cancer were analyzed. **Results** Results of the expression level of Hsp90 α in the malignant tumor groups was significantly higher than that in the healthy control group, the difference was statistically significant ($P<0.01$). Compared with the lung benign disease group and normal control group, the level of plasma Hsp90 α in the lung cancer group was significantly increased ($P<0.01$). The ROC curve analysis showed that the best critical value of Hsp90 α in the diagnosis of lung cancer was 61.37 ng/mL, the sensitivity was 93.1% and the specificity was 62.5%. The joint detection of Hsp90 α , CEA, CA125 and CYFRA21-1 had the highest sensitivity (88.5%) for diagnosing lung cancer. **Conclusion** Plasma Hsp90 α is a potential tumor marker for lung cancer, its combined detection with other lung cancer marker can significantly increase the detection rate of lung cancer, which has an important clinical value in the early diagnosis, treatment and prognosis judgment of lung cancer.

[Key words] Hsp90 heat-shock proteins; lung neoplasms; tumor markers, biological

肺癌是我国目前最常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年上升,且其易复发、转移快,早诊断、早治疗是提高患者生存期的关键因素。目前,诊断肺癌常用的方法有支气管镜检查、CT 扫描、PET-CT 等,但检查均较为繁琐且耗时长。而现有肿瘤标志物对肺癌针对性较差,采用多种肿瘤标志物联合检测可提高肺癌早期诊断及其复发、转移的检出率。热休克蛋白 90 α (heat shock protein 90alpha, Hsp90 α)是由 732 个氨基酸构成,相对分子质量为 87 000,能够辅助蛋白折叠并维持细胞多种信号传导蛋白的稳定,从而促进细胞存活和生长,是构成人体细胞的关键伴侣蛋白^[1]。WANG 等^[2]研究发现血浆 Hsp90 α 表达水平与多种恶性肿瘤的发生、发展及转移密切相关,细胞 Hsp90 α 的分泌量随肿瘤恶性程度增高而升高,并认为其可以作为肿瘤早期检测及疗效评估的一种新型肿瘤标志物。因此,笔者检测肺癌患者血浆 Hsp90 α 表达水平,探讨其在肺癌临床诊断和治疗中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 9 月至 2018 年 4 月在西南医科大学附属医院就诊的各类癌症患者 269 例,其中男 150 例,女 119 例,年龄 44~77 岁;其中乳腺癌 53 例,肝癌 86 例,肺癌 87 例(小细胞肺癌 41 例,鳞癌 17 例,腺癌 29 例),白血病 43 例,均经病理诊断及其他手段确诊且未经放化疗。选取肺部良性疾病患者 57 例,年龄 48~73 岁,其中支气管炎患者 22 例,慢性阻塞性肺疾病 17 例,肺炎 18 例,并排除其他严重系统疾病及恶性肿瘤。另以同期 30 例健康体检人员作为健康对照组,年龄 22~28 岁,经证实均无心脏、肝、肾等其他系统疾病。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 采用真空采血管采集待检者空腹静脉血 4 mL,2 mL 乙二胺四乙酸二钾(ethylene diamine tetraacetic acid-K₂, EDTA-K₂)抗凝血分离血浆用于 Hsp90 α 测定,2 mL 无抗凝剂静脉血分离血清用于其他指标检测[癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 125(CA125)、细胞角质蛋白 19 片段(CYFRA21-1)]。均严格按仪器及试剂盒说明进行操作。

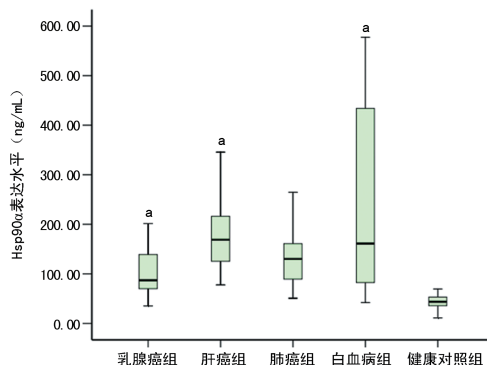
1.2.2 检测方法 采用烟台普罗吉生物科技发展有限公司生产的血浆 Hsp90 α 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒测定待检者血浆 Hsp90 α 水平。选用罗氏 Elec-sys2010 电化学发光仪与原装配套试剂测定血清 CEA、CA125 及 CYFRA21-1。操作步骤严格按仪器及试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料经检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两

比较采用 *t* 检验。绘制血浆 Hsp90 α 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,以评价血浆 Hsp90 α 在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

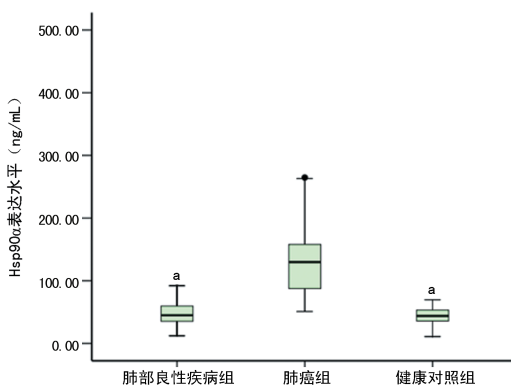
2.1 不同恶性肿瘤疾病组血浆 Hsp90 α 表达水平比较 各恶性肿瘤疾病组血浆 Hsp90 α 表达水平均明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。



^a: $P < 0.05$, 与健康对照组比较

图 1 不同恶性肿瘤疾病组血浆 Hsp90 α 表达水平比较

2.2 肺癌组、肺部良性疾病组、健康对照组血浆 Hsp90 α 水平比较 各组血浆 Hsp90 α 水平分别为:肺癌组(133.61 ± 64.83) ng/mL、肺部良性疾病组(50.28 ± 26.48) ng/mL、健康对照组(47.63 ± 14.98) ng/mL。统计分析显示,与肺部良性疾病组和健康对照组相比,肺癌组血浆 Hsp90 α 水平显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与健康对照组相比,肺部良性疾病组血浆 Hsp90 α 表达水平差异无统计学意义($P = 0.271$),见图 2。



^a: $P < 0.05$, 与健康对照组比较

图 2 肺癌组、肺部良性疾病组、健康对照组血浆 Hsp90 α 水平比较

2.3 Hsp90 α 对肺癌诊断价值评估 ROC 曲线分析显示,血浆 Hsp90 α 在肺癌诊断中的最佳临界值为 61.37 ng/mL,当以最佳临界值作为 cut-off 值时,其灵敏度为 93.10%,特异度为 62.50%,ROC 曲线下面积

为 0.857。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临床意义,见图 3。

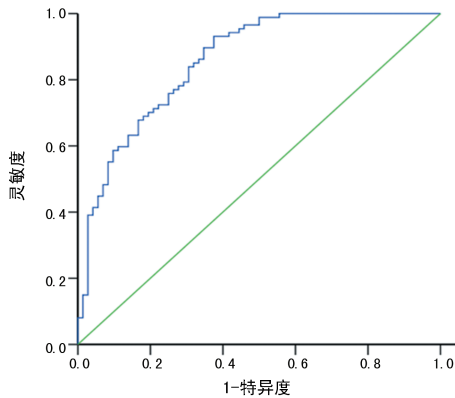


图 3 Hsp90 α 诊断肺癌的 ROC 曲线分析

2.4 多种标志物联合检测对肺癌的灵敏度及特异度的影响 结果显示,CEA、CA125、CYFRA21-1 单项检测在肺癌诊断中的灵敏度分别为 58.62%、55.17% 和 51.72%;灵敏度最高的 2 项联合检测为 CEA+CA125(74.71%);3 项联合检测 Hsp90 α +CEA+CA125 的灵敏度最高(86.21%);Hsp90 α +CEA+CA125+CYFRA21-1 的 4 项联合检测在所有联合检测中的灵敏度最高(88.51%),见表 1。

表 1 肿瘤标志物联合检测对肺癌的灵敏度和特异度(%)

标志物	灵敏度	特异度
CEA	58.62(51/87)	94.74(54/57)
CA125	55.17(48/87)	96.49(55/57)
CYFRA21-1	51.72(45/87)	96.49(55/57)
CEA+CA125	74.71(65/87)	91.23(52/57)
CEA+CYFRA21-1	70.11(61/87)	91.23(52/57)
CA125+CYFRA21-1	68.97(60/87)	92.98(53/57)
CEA+CA125+CYFRA21-1	80.46(70/87)	87.72(50/57)
Hsp90 α +CEA+CA125	86.21(75/87)	82.46(47/57)
Hsp90 α +CEA+CYFRA21-1	80.46(70/87)	82.46(47/57)
Hsp90 α +CA125+CYFRA21-1	83.91(73/87)	84.21(48/57)
Hsp90 α +CEA+CA125+CYFRA21-1	88.51(77/87)	78.95(45/57)

3 讨 论

肺癌严重威胁着人类生命健康。近年来,我国肺癌的发病率和病死率已居恶性肿瘤之首,预计到 2025 年,我国新发肺癌病例人数将超过 100 万,尽管临床已规范化治疗,但预后仍较差,5 年生存率仍较低^[3-4]。血清 CA153、CEA、CA125、CYFRA 是辅助诊断肺癌较常用的肿瘤标志物,但早期辅助诊断肺癌的灵敏度和特异度均欠佳^[1]。

Hsp90 α 是机体在应激状态下合成的一组蛋白质分子,主要作为分子伴侣参与蛋白的合成、折叠和调控细胞内多种信号蛋白功能稳定,是细胞内关键信号

通路或细胞转录的调控者^[5]。新近研究发现:分泌的 Hsp90 α 能够激活基质金属蛋白酶-2(MMP-2),并能协助 MMP-2 的成熟,进而促进肿瘤侵袭与转移^[6-8]。此外,研究表明,癌症患者血浆中 Hsp90 α 的水平与肿瘤发生发展、生物学行为及预后具有显著的相关性^[2],Hsp90 α 抑制剂可在肿瘤生长信号通路中降解效应蛋白,阻断肿瘤增殖信号通路的多个靶点,抑制肿瘤的生长,增强癌细胞对抗癌药物的敏感性^[9-10],因此 Hsp90 α 已成为抗癌药物作用的靶点。本研究入组了肺癌、肝癌、白血病、良性肺部疾病和体检者为研究对象,评估各组血浆中 Hsp90 α 水平,以探讨希望评价血浆中 Hsp90 α 是否能作为诊断肺癌的一种新型生物标志物。同时,笔者进一步分析了 Hsp90 α 联合其他肿瘤标志物诊断肺癌的灵敏度及特异度,以提高早期诊断肺癌的效能。

为了检测 Hsp90 α 与恶性肿瘤的相关性,笔者分别检测了恶性肿瘤疾病组(肺癌、白血病、肝癌、乳腺癌)及健康对照组血浆中 Hsp90 α 表达水平。结果显示,恶性肿瘤疾病组血浆 Hsp90 α 水平均显著高于健康对照组($P < 0.01$)。此外,本研究还发现,肺癌组血浆 Hsp90 α 水平显著高于肺部良性疾病组和健康对照组($P < 0.01$)。这些结果表明,Hsp90 α 水平在恶性肿瘤血浆中明显升高,具有良好的广谱性,可以作为早期诊断恶性肿瘤的通用指标。

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 61.37 ng/mL,当以最佳临界值作为 cut-off 值时,其灵敏度为 93.10%,特异度为 62.50%,ROC 曲线面积为 0.857,这表明血浆 Hsp90 α 具有较好的灵敏度,但特异度不高,与文献报道一致^[2,11]。为进一步提高肺癌的诊断效能,笔者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度。CEA 是一类具有人类胚胎抗原决定簇的酸性糖蛋白,是最早诊断肺癌的常用肿瘤标志物之一,其作为肺癌标志物的灵敏度为 35%~77%^[12];CA125 作为一种糖类抗原,是广泛应用于上皮性卵巢癌和子宫内膜癌诊断的肿瘤标志物。研究结果显示,肺癌患者血清 CA125 水平增高明显,且 CA125 的增高程度与肺癌组织病理分期呈正相关^[13]。CYFRA21-1 为细胞角蛋白-19 的片段,其水平在上皮组织来源的肿瘤组织中明显增高,是诊断非小细胞肺癌较敏感的肿瘤标志物^[14]。本研究结果显示,在肺癌诊断中单项肿瘤标志物检测的灵敏度分别为 CEA(58.62%)、CA125(55.17%)和 CYFRA21-1(51.72%);CEA+CA125 在 2 项联合检测中灵敏度最高(74.71%);在 3 项联合检测中灵敏度最高的为 Hsp90 α +CEA+CA125(86.21%);均低

于 4 项肿瘤标志物 (Hsp90 α + CEA + CA125 + CY-FRA21-1) 联合检测的敏感性 (88.51%)。因此, 血浆 Hsp90 α 可以作为一个潜在的肺癌肿瘤标志物, 具有辅助诊断肺癌的作用, 联合其他肺癌标志物检测可显著提高肺癌的检出率。

研究表明, 在肿瘤进展的不同阶段, 血浆 Hsp90 α 的表达情况也有相应改变^[15]。因此, 后续研究将对血浆 Hsp90 α 在肺癌病理分期、治疗及预后判断等方面的应用作进一步探讨。总之, 血浆 Hsp90 α 是一个潜在的肺癌肿瘤标志物, 具有辅助诊断肺癌的作用, 其联合肺癌标志物检测可显著提高肺癌的检出率, 为肺癌的早期诊断、治疗和预后判断提供有力的依据。

参考文献

- [1] LAZAREV S M, MASSARD Z, RESHETOV A V, et al. Role of biological tumor markers CEA, Cyfra-21, NSE, TU M2-PK in diagnosis and treatment of lung cancer[J]. Vestn Khir Im I I Grek, 2010, 169(1): 39-43.
- [2] WANG X F, SONG X M, 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.
- [3] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [4] 高婷, 李超, 梁铎, 等. 中国癌症流行的国际比较[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(6): 409-414.
- [5] LU X A, WANG X F, ZHUO W, et al. The regulatory mechanism of a client kinase controlling its own release from Hsp90 chaperone machinery through phosphorylation[J]. Biochem J, 2014, 457(1): 171-183.
- [6] SONG X M, WANG X F, ZHUO W, et al. The regulatory mechanism of extracellular Hsp90 α on matrix metalloproteinase-2 processing and tumor angiogenesis[J]. J

Biol Chem, 2010, 285(51): 40039-40049.

- [7] SIMS J D, MCCREARY J, JAY D G. 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.
- [8] GAO F, HU X Y, XIE X J, et al. Heat shock protein 90 stimulates rat mesenchymal stem cell migration via PI3K/Akt and ERK1/2 pathways[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 71(1): 481-489.
- [9] GUO X Y, QI R P, XU D G, et al. Structural and energetic insight into the interactions between the benzolactam inhibitors and tumor marker HSP90 α [J]. Comput Biol Chem, 2015, 10(58): 182-191.
- [10] 姜桔红, 顾莹莹, 刘静, 等. HSP90 抑制剂 Ganetespib 增强肺癌细胞对顺铂的敏感性[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(7): 1348-1355.
- [11] 董鹏飞, 邓晓明. 非小细胞肺癌患者血清热休克蛋白 90 α 的临床意义研究[J]. 中国全科医学, 2015, 18(19): 2354-2356, 2360.
- [12] ZHANG Z H, HAN Y W, LIANG H, et al. Prognostic value of serum CYFRA21-1 and CEA for non-small-cell lung cancer[J]. Cancer Med, 2015, 4(11): 1633-1638.
- [13] ISAKSSON S, JONSSON P, MONSEF N, et al. CA 19-9 and CA 125 as potential predictors of disease recurrence in resectable lung adenocarcinoma[J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0186284.
- [14] ZENG Y, BAO J, ZHAO Y, et al. A sandwich-type electrochemical immunoassay for ultrasensitive detection of non-small cell lung cancer biomarker CYFRA21-1[J]. Bioelectrochemistry, 2018, 4(120): 183-189.
- [15] 张晶锐, 高峰, 李荣江. Hsp90 α , MMP-9 在胆管癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国临床研究, 2017, 30(8): 1067-1069.

(收稿日期: 2018-05-18 修回日期: 2018-07-26)

(上接第 4499 页)

- 病人的营养支持[J]. 肠外与肠内营养, 2016, 23(1): 4-7.
- [10] 王鹏飞, 李幼生, 黎介寿. 严重腹部创伤的损伤控制性手术[J]. 肠外与肠内营养, 2007, 14(5): 297-300.
 - [11] 杨春华, 黄伟. 损伤控制手术在高原偏远地区严重腹部外伤救治中的应用[J]. 中国当代医药, 2017, 24(28): 24-26.
 - [12] 杨志刚, 陈苏杭, 祁向东, 等. 腹部闭合性损伤 86 例诊治体会[J]. 江苏医药, 2014, 40(14): 1710-1711.
 - [13] 柯立池, 万仁华, 高良辉, 等. 损伤控制性手术逆转肝外伤凝血功能障碍的诊治体会[J]. 广东医学, 2014, 35(18): 2868-2869.
 - [14] 霍景山, 陈积圣, 陈务民, 等. 腹腔内压封闭引流治疗严重

胰腺十二指肠损伤: 附 16 例报告[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(3): 343-347.

- [15] 丁威威, 黎介寿. 腹部战创伤后的损伤控制性复苏策略[J]. 解放军医学杂志, 2014, 39(3): 180-183.
- [16] 薛阳阳, 施天奇, 吴翠丽, 等. 1 例严重腹部外伤致肠空气瘘患者行两次腹壁植皮术的护理[J]. 中华护理杂志, 2017, 52(1): 80-83.
- [17] 丁忠阳, 唐建东, 李淦, 等. 早期肠内营养应用对严重腹部外伤患者营养状态和肠屏障功能的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(23): 2290-2292.

(收稿日期: 2018-06-14 修回日期: 2018-08-28)