

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.12.012

文章编号: 1005-8982(2017)12-0060-05

血液 HSP90 α 、CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 联合检测对肺癌的诊断价值研究

杨银忠, 张建英, 程文霞, 肖慈然

(四川省人民医院 城东病区, 四川 成都 610101)

摘要:目的 评价血液热休克蛋白 90 α (HSP90 α)、癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)及鳞状细胞癌抗原(SCCA)在肺癌(LC)中的诊断价值。**方法** 将 LC 患者分为鳞癌(LAC)、腺癌(LSC)及小细胞癌(SCLC)3 组,比较各组标志物。**结果** SCLC 组 HSP90 α 、CEA、NSE 及 CYFRA21-1 较对照组增高,HSP90 α 高于 LAC 组和 LSC 组;LAC 组 HSP90 α 、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 较对照组增高,SCCA 高于 SCLC 组和 LSC 组;LSC 组 HSP90 α 和 CEA 较对照组增高;HSP90 α 的受试者工作特征曲线下面积最大。串联分析 HSP90 α +NSE+CYFRA21-1 可提高 SCLC 的特异性、阳性预测值及正确分类率,HSP90 α +NSE+CYFRA21-1+SCCA 和 HSP90 α +CEA 可分别提高 LAC、LSC 的特异性和阳性预测值,正确分类率为理想水平。**结论** HSP90 是筛查 LC 的理想指标;联合检测 HSP90 α 等 5 种标志物有助于 LC 的分层诊断。

关键词: 热休克蛋白 90 α ;癌胚抗原;神经元特异性烯醇化酶;细胞角蛋白 19 片段;鳞状细胞癌抗原;肺癌
中图分类号: R446.112 **文献标识码:** A

Value of blood HSP90 α , CEA, NSE, CYFRA21-1 and SCCA in diagnosis of lung cancer

Yin-zhong Yang, Jian-ying Zhang, Wen-xia Cheng, Ci-ran Xiao
(The East Ward, Sichuan Provincial People's Hospital,
Chengdu, Sichuan 610101, China)

Abstract: Objective To evaluate the value of HSP90 α , carcinoembryonic antigen (CEA), neuron-specific enolase (NSE), cytokeratin 19 (CYFRA21-1) and squamous cell carcinoma antigen (SCCA) in the diagnosis of lung cancer (LC). **Methods** Patients who were diagnosed as LC were divided into squamous cell carcinoma (LAC) group, adenocarcinoma (LSC) group and small cell carcinoma (SCLC) group. The concentrations of HSP90 α , NSE, CEA, CYFRA21-1 and SCCA in blood were analyzed and compared among the 3 groups. **Results** The levels of HSP90 α , CEA, NSE and CYFRA21-1 in the SCLC group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The HSP90 α level in the SCLC group was higher than that in the LAC and LSC groups ($P < 0.05$). The levels of HSP90 α , NSE, CYFRA21-1 and SCCA in the LAC group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The SCCA level of the LAC group was significantly higher than that of the SCLC and LSC groups ($P < 0.05$). The levels of HSP90 α and CEA in the LSC group were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The AUC of HSP90 α was the highest. The combined detection of HSP90 α , NSE and CYFRA21-1 could significantly improve the specificity (SPE), positive predictive value (PV+), positive likelihood ratio (LR+) and correct classification rate (CCR) in the diagnosis of SCLC. The combined detection of HSP90 α , NSE, CYFRA21-1 and SCCA could significantly improve the SPE, PV+ and CCR of LAC, while the combined detection of HSP90 α and CEA could significantly improve the SPE, PV+, LR+ and CCR of LSC. **Conclusions** HSP90 is an ideal index for diagnosis of LC. Combined detection

of HSP90 α , CEA, NSE, CYFRA21-1 and SCCA contribute to the stratification of lung cancer.

Keywords: heat shock protein 90 α ; carcinoembryonic antigen; neuron-specific enolase; cytokeratin-19-fragment; squamous cell carcinoma antigen; lung cancer

肺癌(lung cancer, LC)是威胁人类健康的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率呈逐年上升趋势^[1-2]。血液肿瘤标志物能够简单、快速地辅助 LC 诊断,但单项指标缺乏足够的敏感性和特异性。本研究通过观察 LC 患者热休克蛋白(heat shock protein 90 α , HSP90 α)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、细胞角蛋白 19 片段(cytokeratin-19-fragment, CYFRA21-1)及鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)在血液中的水平,探讨联合检测在 LC 分层诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2016 年 1 月-2016 年 10 月四川省人民医院门诊和住院的 LC 患者 124 例,依据中国原发性肺癌诊疗规范(2015 年版)中的诊断标准,分为:①小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)组 16 例,男性 10 例,年龄(59.2 \pm 11.3)岁;女性 6 例,年龄(56.0 \pm 6.4)岁。②肺鳞癌(lung squamous cell carcinoma, LSC)组 22 例,男性 16 例,年龄(63.5 \pm 9.1)岁;女性 6 例,年龄(67.0 \pm 4.6)岁。③肺腺癌(lung adenocarcinoma, LAC)组 86 例,男性 40 例,年龄(60.9 \pm 9.7)岁;女性 46 例,年龄(60.2 \pm 9.4)岁。随机选择 96 例对照组,包括本院同期 52 例非肺癌的肺部疾病(non-lung cancer, NLC)患者,男性 34 例,年龄(53.4 \pm 13.3)岁;女性 18 例,年龄(55.8 \pm 12.2)岁,以及 44 例表现健康体检者,男性 28 例,年龄(51.3 \pm 10.3)岁;女性 16 例,年龄(50.8 \pm 11.2)岁。NLC 患者为同期检查排除 LC 的肺部疾病患者。本研究中的 LC 患者均为初诊患者,未接受过任何放疗、化疗及靶向治疗,无重要脏器病变及其他器官肿瘤疾病史。

1.2 仪器与试剂

DG5031 型酶标仪(上海京工实业有限公司),HSP90 α 试剂及校准品(山东省烟台市普罗吉生物科技发展有限公司),Cobas e601 型电化学发光仪(瑞士 Roche 公司),NSE 试剂及校准品等均为瑞士 Roche 公司配套产品,Architecti 2000 SR 型微粒子化学发光免疫分析仪(美国 Abbott 公司),CEA、

CYFRA21-1 及 SCCA 试剂及校准品等均为美国 Abbott 公司配套产品。

1.3 研究方法

各组样本均于清晨空腹采集 EDTA-K2 抗凝血 2.0 ml、无添加抗凝剂静脉血 4.0 ml,30 min 内分离出血浆或血清,4 000 r/min 离心 5 min,分别放置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱冷冻保存。待样本收集齐后,将血清统一解冻,离心取上清液,采用酶联免疫吸附法检测 HSP90 α ,电化学发光法检测 NSE,化学发光微粒子免疫分析法检测 CEA、CYFRA21-1 及 SCCA。所有操作均严格按照实验室的标准操作规程进行,并有严格的质量控制措施。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较用方差分析,两两比较用 SNK- q 检验,利用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)找出最佳临床诊断临界点, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组 HSP90 α 、CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 水平比较

4 组 HSP90 α 、CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$)。SCLC 组 HSP90 α 、CEA、NSE 及 CYFRA21-1 与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),SCLC 组 HSP90 α 水平高于 LAC 组和 LSC 组,CEA 高于 LAC 组,NSE 高于 LSC 组,CYFRA21-1 低于 LAC 组;LAC 组 HSP90 α 、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),LAC 组 SCCA 水平高于 SCLC 组和 LSC 组;LSC 组 HSP90 α 和 CEA 水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 5 种血液肿瘤标志物对 LC 的诊断效能

LC 组 HSP90 α 、CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 的曲线下面积(area under curve, AUC)与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),各组 ROC 的 AUC 分别为 0.887、0.788、0.724、0.764、0.621 和 0.621, HSP90 α 的 AUC 最大,对 LC 的诊断能力最强;将敏感性和 1-特异性最大值所对应的分界点为临床诊断临

界点,分别为 66.3、3.8、15.3、1.8 和 1.1 ng/ml。见表 2 和附图。

2.3 串联分析 5 种血液肿瘤标志物对 LC 的诊断效率

分别以 ROC 曲线图中的临床诊断临界点作为

界值,即 HSP90 α >66.3 ng/ml, CEA >3.8 ng/ml, NSE >15.3 ng/ml, CYFRA21-1 >1.8 ng/ml 及 SCCA >1.1 ng/ml 判断为阳性,采用串联分析,选取肿瘤标志物在 3 组比较差异有统计学意义,分别进行不同组合,组合中各项目均阳性才判断为阳性。串联分析后 HSP90 α +

表 1 4 组 HSP90 α 、CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 水平比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	HSP90 α	CEA	NSE	CYFRA21-1	SCCA
对照组 (n=44)	33.0 \pm 7.8	1.6 \pm 0.7	10.6 \pm 2.2	1.1 \pm 0.3	0.6 \pm 0.1
NLC 组 (n=52)	48.2 \pm 18.0	2.5 \pm 1.6	15.8 \pm 5.3	1.6 \pm 1.2	0.7 \pm 0.3
SCLC 组 (n=16)	222.0 \pm 290.0 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	39.1 \pm 72.0 ¹⁾²⁾³⁾	38.7 \pm 33.9 ¹⁾²⁾⁴⁾	4.8 \pm 5.7 ¹⁾²⁾⁴⁾	1.1 \pm 1.4
LAC 组 (n=22)	93.7 \pm 53.0 ¹⁾²⁾⁴⁾	5.0 \pm 2.6	27.6 \pm 22.2 ¹⁾²⁾	5.2 \pm 4.4 ¹⁾²⁾	2.5 \pm 1.9 ¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾
LSC 组 (n=86)	82.0 \pm 30.6 ¹⁾²⁾	13.9 \pm 35.5 ¹⁾²⁾	18.3 \pm 17.4	2.1 \pm 1.3	0.9 \pm 1.0
F 值	9.323	3.141	5.682	9.474	8.921
P 值	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000

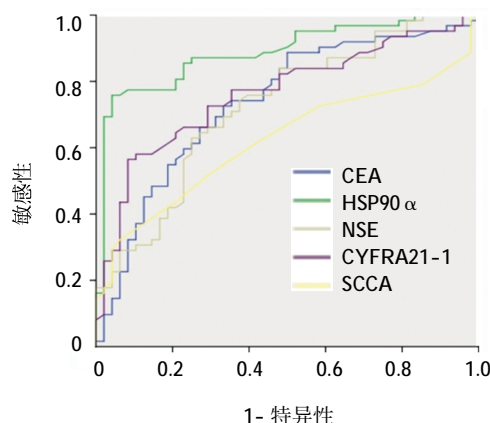
注:1)与对照组比较, P<0.05;2)与 NLC 组比较, P<0.05;3)与 LAC 组比较, P<0.05;4)与 LSC 组比较, P<0.05;5)与 SCLC 组比较, P<0.05

NSE+CYFRA21-1 组合可提高 SCLC 的特异性、阳性预测值、阳性似然比及正确分类率, HSP90 α +NSE+CYFRA21-1+SCCA 组合可提高 LAC 的特异性、阳性预测值及阳性似然比, 正确分类率较为理想水平; HSP90 α +CEA 组合可提高 LSC 的特异性、阳

性预测值及阳性似然比, 正确分类率为理想水平。见表 3 ~ 5。

表 2 5 种血液肿瘤标志物的诊断效能

标志物	AUC	S	P 值	95%CI	
				上限	下限
HSP90 α	0.887	0.032	0.000	0.824	0.950
CEA	0.788	0.041	0.000	0.708	0.868
NSE	0.724	0.049	0.000	0.628	0.819
CYFRA21-1	0.764	0.046	0.000	0.674	0.853
SCCA	0.621	0.053	0.030	0.517	0.726



附图 5 种血液肿瘤标志物的 ROC 曲线

表 3 HSP90 α 、CEA、NSE、及 CYFRA21-1 对 SCLC 的诊断效率

组合方式	SCLC 组		NLC 组 + 对照组		敏感性 / %	特异性 / %	阳性预测值 / %	阴性预测值 / %	阳性似然比	阴性似然比	正确分类率 / %
	例数	阳性例数	例数	阳性例数							
HSP90 α	16	16	96	14	100.0	85.4	53.3	100.0	6.86	0.0	87.5
CEA	16	12	96	10	75.0	89.6	54.6	95.6	7.2	0.3	87.5
NSE	16	16	96	24	100.0	75.0	40.0	100.0	4.0	0.0	78.6
CYFRA21-1	16	12	96	8	75.0	91.7	60.0	95.7	9.0	0.3	89.3
HSP90 α + CEA + NSE	16	12	96	2	75.0	97.9	85.7	95.9	36.1	0.3	94.6
HSP90 α + CEA + CYFRA21-1	16	8	96	2	50.0	97.9	80.0	92.2	24.0	0.5	91.1
HSP90 α + NSE + CYFRA21-1	16	12	96	0	75.0	100.0	100.0	96.0	∞	0.3	96.4
CEA + NSE + CYFRA21-1	16	8	96	2	50.0	97.9	80.0	92.2	24.0	0.5	91.1
HSP90 α + CEA + NSE + CYFRA21-1	16	8	96	0	50.0	100.0	100.0	92.3	∞	0.5	92.9

表 4 HSP90 α 、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 对 LAC 的诊断效率

组合方式	LAC 组		NLC 组 + 对照组		敏感性 / %	特异性 / %	阳性预测值 / %	阴性预测值 / %	阳性似然比	阴性似然比	正确分类率 / %
	例数	阳性例数	例数	阳性例数							
HSP90 α	22	16	96	14	72.7	85.4	53.3	93.2	5.0	0.3	83.1
NSE	22	18	96	24	81.8	75.0	42.9	94.7	3.3	0.2	76.3
CYFRA21-1	22	18	96	8	81.8	91.7	69.0	95.7	9.8	0.2	89.8
SCCA	22	18	96	6	81.8	93.8	75.0	95.7	13.1	0.2	91.5
HSP90 α + NSE + CYFRA21-1	22	10	96	4	45.5	95.8	71.4	88.5	10.9	0.6	86.4
HSP90 α + CYFRA21-1 + SCCA	22	8	96	2	36.4	97.9	80.0	87.0	17.5	0.7	86.4
NSE + CYFRA21-1 + SCCA	22	10	96	4	45.5	95.8	71.4	88.5	10.9	0.6	86.4
HSP90 α + NSE + CYFRA21-1 + SCCA	22	8	96	0	36.4	100.0	100.0	87.3	∞	0.6	88.1

表 5 HSP90 α 和 CEA 对 LSC 的诊断效率

组合方式	LSC 组		NLC 组 + 对照组		敏感性 / %	特异性 / %	阳性预测值 / %	阴性预测值 / %	阳性似然比	阴性似然比	正确分类率 / %
	例数	阳性例数	例数	阳性例数							
HSP90 α	86	64	96	14	74.4	85.4	82.1	78.9	5.1	0.30	80.2
CEA	86	38	96	10	44.2	90.0	79.2	64.2	4.2	0.62	68.1
HSP90 α + CEA	86	32	96	2	37.2	97.9	94.1	63.5	17.9	0.64	69.2

3 讨论

据 2014 年全国肿瘤登记中心发布数据表明,近年来我国 LC 发病率为 35.23/10 万,占恶性肿瘤新发病例的 19.59%;死亡率为 27.93/10 万,占恶性肿瘤死因的 24.87%,均居恶性肿瘤首位^[2]。LC 多不易诊断,常因发病隐匿和早期无明显症状等而延误。目前肿瘤标志物已广泛用于 LC 的早期筛查和诊断,但缺乏较高的敏感性或特异性。

HSP90 是一种高度保守、腺嘌呤核苷三磷酸依赖的,以及具有分子伴侣功能的蛋白质,其在细胞内与多种细胞周期信号通路中的关键蛋白酶相互作用,调控细胞的生存、分化及代谢等重要生理过程^[3-4]。正常生理状态下 HSP9 α 不向细胞外分泌,当发生应激或恶变时,可以被肿瘤细胞主动分泌到细胞外而发挥作用^[4-7]。2009 年 WANG 等^[8]首次发现 HSP90 α 在 LC 患者血液中高表达,血浆含量与 LC 恶性程度呈正相关,并可作为肿瘤标志物进行早期筛查。本研究表明,SCLC 组、LAC 组及 LSC 组 HSP90 α 水平高于对照组和 NLC 组,再结合 ROC 曲线结果表明,HSP90 是早期筛查 LC 比较理想的指标,与文献报道一致,但特异性不高^[6-8]。CEA 是一种酸性糖蛋白,是肿瘤细胞自身产生最广泛应用的肿瘤标志物,在 LC 中也高表达,尤其是在 LSC 中。本实验结果表明,

LSC 组和 SCLC 组的 CEA 水平高于对照组和 NLC 组,与上述报道基本一致,但特异性均不理想^[6-9]。NSE 是糖酵解酶中关键酶,存在神经及神经来源的细胞中,在起源于神经内分泌细胞的肿瘤组织中高表达,是 SCLC 特异的标志物^[4]。TANG 等^[11]发现,血清 NSE 水平对 SCLC 有早期诊断价值。本实验符合国内外研究结果,但特异性均不高。CYFRA21-1 是细胞角蛋白 19 的片段,存在上皮细胞肿瘤中,当肿瘤细胞坏死和溶解时释放入血,导致血清升高;张毅敏等^[12]的报道与本研究均为 LAC 组较高,但本实验 SCLC 组也较高,可能与 SCLC 组收集的病例数较少有关。SCCA 是鳞状上皮细胞来源肿瘤的血清标志物,在诊断 LAC 中很有意义,本研究中 LAC 组 SCCA 水平高于对照组、NLC 组、SCLC 组及 LSC 组,且 4 组间比较,差异无统计学意义,敏感性不高^[13]。

ROC 曲线可客观、准确地反映检测指标的敏感性和特异性,AUC 越接近 1.0,其诊断的准确性越好,越接近 0.5 其诊断的准确性越差,本研究 5 项肿瘤标志物 AUC 结果均 <0.9,因此需要多项指标血液肿瘤标志物联合检测才能为疾病的初步诊断提供依据。根据 5 项肿瘤标志物在 LC 不同病理组中的检测水平,SCLC 组 HSP90 α 、CEA、NSE 及 CYFRA21-1, LAC 组 HSP90 α 、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA, LSC

组 HSP90 α 和 CEA 水平与对照组比较,差异有统计学意义。串联分析 SCLC 组的 HSP90 α 、CEA、NSE 及 CYFRA21-1 后发现,HSP90 α +NSE+CYFRA21-1 组合可提高 SCLC 的特异性(100.0%)、阳性预测值(100.0%)及正确分类率(96.4%);串联分析 LAC 组的 HSP90 α 、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 后发现,HSP90 α +NSE+CYFRA21-1+SCCA 组合可提高 LAC 的特异性(100.0%)和阳性预测值(100.0%),正确分类率(86.1%)为理想水平;串联分析 LSC 组的 HSP90 α 和 CEA 后发现,HSP90 α +CEA 组合可提高 LSC 的特异性(97.9%)和阳性预测值(94.1%),正确分类率(69.2%)为理想水平。表明 HSP90 α +NSE+CYFRA21-1 组合、HSP90 α +NSE+CYFRA21-1+SCCA 组合及 HSP90 α +CEA 组合分别对 SCLC、LAC 及 LSC 有较高的诊断价值。

综上所述,HSP90 是筛查 LC 的理想指标,但与 CEA、NSE、CYFRA21-1 及 SCCA 血液肿瘤标志物一样,特异性均不理想。采用串联分析 5 项肿瘤标志物后,组合的选择虽然降低敏感性,但是提高特异性。因此根据 LC 不同病理类型的各自特点,选择合适的检测组合有助于 LC 的分层诊断。

参 考 文 献:

- [1] 支修益,石远凯,于金明.中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J].中华肿瘤杂志,2015,37(1):67-78.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
- [3] ZUEHLKE A D, BEEBE K, NECKERS L, et al. Regulation and function of the human HSP90AA1 gene[J]. Gene, 2015, 570(1): 8-16.
- [4] WHITESELL L, LINDQUIST S L. HSP90 and the chaperoning of cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(10): 761-772.
- [5] CHENG C F, SAHU D, TSEN F, et al. A fragment of secreted HSP90 α carries properties that enable it to accelerate effectively both acute and diabetic wound healing in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(11): 4348-4361.
- [6] 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.
- [7] 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):2354-2360.
- [8] WANG X, SONG X, ZHUO W, et al. The regulatory mechanism of Hsp90 secretion and its function in tumor malignancy[J]. PNAS, 2009, 106(50): 21288-21293.
- [9] MOLINA R, FILELLA X, AUGÉ J M, et al. Tumor markers (CEA, CA125, CYFRA211, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors[J]. Tumour Biol, 2003, 24(2): 209-218.
- [10] ANDO S, SUZUKI M, YAMAMOTO N, et al. The prognostic value of both neuron-specific enolase (NSE) and Cyfra21-1 in small cell cancer[J]. Anticancer Res, 2004, 24(3): 1941-1946.
- [11] TANG Q F, ZHOU Z W, JI H B, et al. Value of serum marker HE4 in pulmonary carcinoma diagnosis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(10): 19014-19021.
- [12] 张毅敏,夏文进,毛彩萍,等.血清标志物 CYFRA21-1、NSE、CEA、CA19-9、CA125、SCC 联合检测在肺癌诊断中的应用价值[J].中国癌症杂志,2008,18(4):306-309.
- [13] POLBERG K, STEPULAK A, STRYJECKA-ZIMMER M, et al. Squamous cell carcinoma antigen levels in patients with laryngeal cancer[J]. Pol Merkuriusz Lek, 2005, 19(111): 375-376.

(童颖丹 编辑)