

人附睾蛋白 4 检测在良恶性胸腔积液鉴别中的价值*

李 敏¹, 王小燕^{2△}

(1. 东南大学附属南京第二医院输血科, 南京 210003; 2. 南京医科大学附属江宁医院检验科, 江苏江宁 211100)

摘要:目的 探讨人附睾蛋白 4(HE4)检测在良恶性胸腔积液鉴别中的价值。方法 收集肺癌患者胸腔积液 45 例和肺部良性病变者 53 例, 肺部良性病变患者中结核性胸腔积液 30 例, 炎性胸腔积液 23 例。用电化学发光法测定 HE4 水平。结果 恶性胸腔积液的 HE4 水平 $[(980.88 \pm 69.82) \text{ pmol/L}]$ 明显高于肺部良性病变 $[(547.84 \pm 44.35) \text{ pmol/L}]$, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。肺腺癌患者胸腔积液 HE4 水平 $[(1\ 163.34 \pm 83.05) \text{ pmol/L}]$ 高于肺部良性病变患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。肺腺癌患者胸腔积液 HE4 水平明显高于鳞癌和小细胞癌, 差异有统计学意义($P = 0.001$)。结核性胸腔积液与炎性胸腔积液中的 HE4 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 HE4 能够为良恶性胸腔积液的鉴别提供有利的参考价值。

关键词:肺癌; 恶性胸腔积液; 人附睾蛋白 4; 电化学发光法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.018 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)23-3476-03

Value of detection of human epididymis protein 4 in differentiating benign and malignant pleural effusion*

LI Min¹, WANG Xiaoyan^{2△}

(1. Department of Blood Transfusion, the Second Hospital of Nanjing Affiliated to Southeast University, Nanjing 210003, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Jiangning Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 21100 China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical significance of detection of human epididymis protein 4(HE4) in patients with lung cancer. **Methods** Pleural effusion of 45 cases with lung cancer patients and 53 cases with benign pulmonary lesions, including 30 cases with tuberculous pleural effusion and 23 cases with inflammatory pleural effusion. Levels of HE4 were detected by electrochemiluminescence. **Results** The expression level of HE4 in pleural effusion of patients with lung cancer $[(980.88 \pm 69.82) \text{ pmol/L}]$ was significantly higher than that in patients with benign lung lesions $[(547.84 \pm 44.35) \text{ pmol/L}]$ ($P < 0.05$). The level of HE4 in pleural effusion of patients with lung adenocarcinoma $[(1\ 163.34 \pm 83.05) \text{ pmol/L}]$ was significantly higher than that in that in patients with benign lung lesions ($P < 0.05$), which was also significantly higher than that in squamous cell carcinoma and small cell carcinoma ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of HE4 in tuberculous pleural effusion and inflammatory pleural effusion ($P > 0.05$). **Conclusion** HE4 can provide a good reference value for differentiating benign and malignant pleural effusion.

Key words: lung cancer; malignant pleural effusion; human epididymis protein 4; electrochemiluminescence

近年来肺癌发病率持续增加, 恶性胸腔积液主要是由恶性肿瘤侵犯胸膜所致, 故及时诊断和治疗非常重要, 然而恶性胸腔积液的诊断仍十分困难。因此寻找鉴别良恶性胸腔积液的高灵敏度和高特异度的分子标志物尤为迫切。本研究测定胸腔积液中人附睾蛋白 4(HE4)水平, 初步探讨其在良恶性胸腔积液诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 11 月至 2016 年 12 月在本院住院的 98 例胸腔积液患者。恶性胸腔积液 45 例(恶性胸腔积液组), 其中男 32 例, 女 13 例; 年龄 27~91 岁, 平均(68.71±12.99)岁; 均经胸腔积液脱落细胞学、纤维支气管镜病理活检或经皮肺穿刺细胞学等方法得到病理学证实, 并排除其他恶性肿瘤; 组织学分型: 腺癌 28 例, 鳞癌 6 例, 小细胞癌 11 例。肺部良性病变患者 53 例(肺部良性病变组), 其中男 41 例, 女 12 例; 年龄 18~91 岁, 平均(58.28±23.14)岁; 结核性胸腔积液 30 例, 炎性胸腔积液 23 例, 均经病理学、细胞学或病原微生物学检查确诊。所有标本均采集自初诊患者, 采集前未经任何治疗。

1.2 仪器与试剂 HE4 试剂盒购自上海罗氏诊断产品有限

公司, 应用德国罗氏公司 Cobas e601 型全自动电化学发光免疫分析仪检测。

1.3 方法 常规无菌下穿刺抽取胸腔积液 15 mL, 2 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 置于-80℃冰箱保存待测。HE4 严格按照试剂说明书和仪器的操作规程进行测定。

1.4 统计学处理 数据处理和统计采用 SPSS20.0 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间资比较采用单因素方差(ANOVA)分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者 HE4 水平比较 恶性胸腔积液组的 HE4 水平 $[(980.88 \pm 69.82) \text{ pmol/L}]$ 明显高于肺部良性病变组 $[(547.84 \pm 44.35) \text{ pmol/L}]$, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。肺腺癌患者胸腔积液 HE4 水平 $[(1\ 163.34 \pm 83.05) \text{ pmol/L}]$ 高于肺部良性病变患者胸腔积液, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而鳞癌 $[(652.80 \pm 66.84) \text{ pmol/L}]$ 和小细胞癌 $[(669.60 \pm 121.99) \text{ pmol/L}]$ 患者胸腔积液 HE4 水平与肺部良性病变患者比较, 差异无统计学意义($P = 0.332, P = 0.204$)。

2.2 肺部良性病变各病理参数与 HE4 的关系 结核性胸腔

* 基金项目: 南京市卫生和计划生育委员会基金项目(YKK15202)。

作者简介: 李敏, 女, 主管技师, 主要从事临床免疫学检验方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: jnydhxfgs@163.com。

积液 HE4 水平与炎性胸腔积液相比较,差异无统计学意义 ($P=0.576$)。年龄 ≤ 65 岁和年龄 > 65 岁的肺部良性病变患者 HE4 水平差异无统计学意义 ($P=0.184$)。不同性别间的肺部良性病变患者其 HE4 水平差异无统计学意义 ($P=0.205$);有吸烟史和无吸烟史的患者 HE4 水平差异也无统计学意义 ($P>0.05$),见表 1。

表 1 肺部良性病变病理参数之间 HE4 的比较 (pmol/L, $\bar{x} \pm s$)

病理参数	n	HE4	P
病种			
结核性胸腔积液	27	571.57 \pm 65.34	0.576
炎性胸腔积液	26	521.61 \pm 53.26	
年龄(岁)			
≤ 65	27	479.28 \pm 50.65	0.184
> 65	26	587.51 \pm 62.80	
性别			
男性	41	504.44 \pm 47.05	0.205
女性	12	627.80 \pm 75.29	
吸烟史			
有	22	540.85 \pm 53.36	0.806
无	31	520.43 \pm 63.55	

2.3 恶性胸腔积液各病理参数与 HE4 水平的关系 恶性胸腔积液患者的 HE4 水平与性别、年龄无关;肺腺癌患者胸腔积液 HE4 水平明显高于鳞癌和小细胞癌,差异有统计学意义 ($P=0.001$)。而鳞癌和小细胞癌患者胸腔积液 HE4 水平比较,差异无统计学意义 ($P=0.922$)。见表 2。

表 2 恶性胸腔积液各病理参数与 HE4 水平的关系 (pmol/L, $\bar{x} \pm s$)

病理参数	n	HE4	P
年龄(岁)			
≤ 65	15	1 192.65 \pm 117.51	0.060
> 65	30	886.70 \pm 82.83	
性别			
男性	32	931.33 \pm 80.96	0.251
女性	12	1 113.00 \pm 135.80	
病理分型			
腺癌	28	1 163.34 \pm 83.05	0.001
鳞癌	6	652.80 \pm 66.84	
小细胞癌	11	669.60 \pm 121.99	
吸烟史			
有	28	934.57 \pm 84.64	0.289
无	17	1 087.00 \pm 118.58	

2.4 HE4 对良恶性胸腔积液的诊断价值 对恶性胸腔积液与肺部良性病变患者作受试者工作特征(ROC)曲线,HE4 的曲线下面积(AUC)为 0.784,当 HE4 水平为 765.3 pmol/L 时,灵敏度为 57.78%,特异度为 86.79%。

2.5 HE4 对肺腺癌的诊断价值 对肺腺癌作 ROC 曲线分析,HE4 的 AUC 为 0.860,当 HE4 水平为 849.1 pmol/L 时,灵敏度为 71.43%,特异度为 88.68%。

3 讨论

HE4 表达于正常生殖道和呼吸道的上皮细胞中,是蛋白酶抑制剂家族成员之一,编码基因又称为 WFDC2,位于第 20

号染色体长臂 12-13.1 上^[1]。HE4 在上皮性卵巢癌血清中高表达,是上皮性卵巢癌早期筛查和鉴别诊断的一个理想标志物^[2],但在肺癌上的应用却少有报道。

HE4 在肺癌组织和细胞系中均高表达^[3-5],在肺腺癌中的表达明显高于其他病理类型,HE4 表达高者往往和不良预后相关。HE4 在肺癌血清中高表达,因此它还是早期诊断肺癌的一个标记物^[6],亦是鉴别诊断肺结核和肺炎的一个重要指标^[7]。HE4 在非小细胞肺癌血清中过表达,与肿瘤的 TNM 分期、淋巴结转移和远处转移呈正相关。HE4 高水平的患者 5 年生存率明显低于低水平者,是非小细胞肺癌患者预后的一个独立预测因子^[8-10]。晚期非小细胞肺癌患者,HE4 高水平者对化疗药物的反应低于 HE4 低水平者,且预后也差^[11]。HE4 在小细胞肺癌血清中增加,对小细胞肺癌的诊断具有较高的灵敏度和特异度,与其他肿瘤指标联合检测能进一步提高诊断效率^[4]。目前 HE4 和肺癌关系的研究主要集中在血清学方面,而关于胸腔积液中 HE4 的表达情况研究较少。

本研究检测了肺癌和肺部良性病变胸腔积液的 HE4 表达,发现 HE4 在肺恶性胸腔积液中高表达,与肺部良性病变患者胸腔积液比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),提示 HE4 可作为鉴别良恶性胸腔积液的一个生化指标。在恶性胸腔积液组中,HE4 水平与肺癌病因学相关,在肺腺癌患者胸腔积液中的表达明显高于肺鳞癌和小细胞癌患者 ($P<0.05$)。而肺部良性病变胸腔积液中,HE4 水平在炎性胸腔积液和结核性胸腔积液中表达比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。无论恶性胸腔积液还是肺部良性病变胸腔积液的 HE4 水平与性别、年龄、吸烟史均无关。对恶性胸腔积液与肺部良性病变胸腔积液作 ROC 曲线,HE4 的 AUC 为 0.784,当 HE4 的值为 765.3 pmol/L 时,灵敏度为 57.78%,特异度为 86.79%。而对肺腺癌和良性胸腔积液作 ROC 曲线,HE4 的 AUC 为 0.860,当 HE4 水平为 849.1 pmol/L 时,灵敏度为 71.43%,特异度为 88.68%,对肺腺癌的诊断价值明显升高。

综上所述,HE4 在肺恶性胸腔积液中高表达,在肺腺癌引起的胸腔积液中水平最高,可作为鉴别良恶性胸腔积液的一个可靠的生化指标。

参考文献

- [1] Kirchoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors[J]. Biol Reprod, 1991, 45(2): 350-357.
- [2] Zheng LE, Qu JY, He F. The diagnosis and pathological value of combined detection of HE4 and CA125 for patients with ovarian cancer[J]. Open Med(Wars), 2016, 11(1): 125-132.
- [3] Yamashita S, Tokuiishi K, Hashimoto T, et al. Prognostic significance of HE4 expression in pulmonary adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2011, 32(2): 265-271.
- [4] Wang X, Fan Y, Wang J, et al. Evaluating the expression and diagnostic value of human epididymis protein 4(HE4) in small cell lung cancer[J]. Tumour Biol, 2014, 35(7): 6847-6853.
- [5] Wang L, Zhan C, Zhang Y, et al. Quantifying the expression of tumor marker genes in lung squamous cell cancer with RNA sequencing[J]. J Thorac Dis, 2014, 6(10): 1380-1387.

为一段超过 30 000 bp 的染色体 DNA 片段,类似于毒力岛,除携带 mecA 基因复合物外,还可携带转座子和整合质粒,导致各种非 β-内酰胺类药物耐药^[15]。因此,MRCNS 除了对 β-内酰胺类药物耐药外,还可对大环内酯类和氟喹诺酮类药物耐药。

3.4 四环素类药物耐药机制 四环素类药物耐药机制分两类,一类为产核糖体保护蛋白,另一类为产四环素外排泵蛋白。前者编码的基因包括 tetM、tetO、tetQ、tetS 等 23 种耐药基因^[16],后者编码 tetK 基因^[17]。本研究中,tetM 基因检出率为 27.8%,而四环素类药物的耐药率为 25.9%,两者检出率一致,表明结核合并感染的 CNS 均由 tetM 基因介导产生的四环素耐药。

综上所述,结核合并感染的 CNS,特别是 MRCNS 耐药性严重,并呈多重耐药趋势,耐药率高的抗菌药物均可检测相关的耐药基因,并且已经出现耐万古霉素的中介株。虽然本研究没有对耐万古霉素基因进行检测,但并不难预见 CNS 可能已产生了相应的耐药基因。结核合并感染的 MRCNS 携带多种耐药基因,而且携带率高,耐药基因可在同种或不同种类细菌间传播,必须引起广大医务工作者的关注。在结核病治疗过程中,由于治疗时间长,患者免疫力低下,长期使用免疫抑制剂等因素,合并细菌感染情况常见,因而临床治疗结核合并感染 CNS 时更应科学、合理使用抗菌药物,加强耐药基因的检测与研究,强化感染控制措施,避免细菌耐药性的发生及耐药基因的传播。

参考文献

[1] Gler MT, Skripconoka V, Sanchez-Garavito E, et al. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis[J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2151-2160.

[2] Rahman A, Hossain MA, Paul SK, et al. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) by disk diffusion method[J]. Mymansingh Med J, 2013, 22(2): 229-231.

[3] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2013, 20(2): 7-11.

[4] 杨志杰. 861 株住院患者革兰氏阳性菌的分布与耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(12): 939-941.

[5] 陈瑞珊, 王岩, 海东, 等. 唐山地区医院儿科患者感染耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌耐药基因检测及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(5): 454-458.

[6] Rodriguez-Noriega E, Seas C. The changing pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus clones in Lat-

in America; implications for clinical practice in the region [J]. Braz J Infect Dis, 2010, 14(Suppl 2): S87-S96.

[7] Orcau A, Cayla JA, Martinez JA. Present epidemiology of tuberculosis. Prevention and control programs[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2011, 29(Suppl 1): 2-7.

[8] Bates M, O'grady J, Mwaba P, et al. Evaluation of the burden of unsuspected pulmonary tuberculosis and Co-Morbidity with Non-Communicable diseases in sputum producing adult inpatients[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40774.

[9] Mor Z, Pinsker G, Cedar N, et al. Epidemiology of extra-pulmonary tuberculosis in Israel, 1999 - 2010 [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2013, 17(2): 229-233.

[10] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次肺结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.

[11] 胡洪华, 杨永长, 肖代雯, 等. 凝固酶阴性葡萄球菌生物被膜形成及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(11): 721-725.

[12] Bizzarro MJ, Shabanova V, Baltimore RS, et al. Neonatal sepsis 2004 - 2013: the rise and fall of coagulase-negative staphylococci[J]. J Pediatr, 2015, 166(5): 1193-1199.

[13] Zhu W, Clark NC, McDougal LK, et al. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus isolates associated with Inc18-like vanA plasmids in Michigan[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(2): 452-457.

[14] 晏玲, 薛媛, 何念海, 等. 儿科临床分离病原菌构成及药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(11): 1616-1617.

[15] 战晓微, 郑秋月. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性及 SCCmec 基因分型研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(18): 2512-2514.

[16] 刘芳, 虞涛, 鲍连生, 等. 儿童血培养中凝固酶阴性葡萄球菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(2): 416-417.

[17] Martins MA, Santos Sde L, Leao LS, et al. Prevalence of resistance phenotypes in Staphylococcus aureus and coagulase-negative isolates of venous ulcers of primary health-care patients[J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2012, 45(6): 717-722.

(收稿日期: 2017-05-02 修回日期: 2017-08-02)

(上接第 3477 页)

[6] Zeng Q, Liu M, Zhou N, et al. Serum human epididymis protein 4 (HE4) may be a better tumor marker in early lung cancer[J]. Clin Chim Acta, 2016, 455: 102-106.

[7] Nagy B Jr, Bhattoa HP, Steiber Z, et al. Serum human epididymis protein 4 (HE4) as a tumor marker in men with lung cancer[J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(11): 1639-1648.

[8] Jiang Y, Wang C, Lv B, et al. Expression level of serum human epididymis 4 and its prognostic significance in human non-small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(12): 5568-5572.

[9] Lamy PJ, Plassot C, Pujol JL. Serum HE4: An Independ-

ent Prognostic Factor in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e128836.

[10] Iwahori K, Suzuki H, Kishi Y, et al. Serum HE4 as a diagnostic and prognostic marker for lung cancer [J]. Tumour Biol, 2012, 33(4): 1141-1149.

[11] Lan WG, Hao YZ, Xu DH, et al. Serum human epididymis protein 4 is associated with the treatment response of concurrent chemoradiotherapy and prognosis in patients with locally advanced non-small cell lung cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2016, 18(4): 375-380.

(收稿日期: 2017-05-02 修回日期: 2017-08-02)