

血清 hCAP18 对非小细胞肺癌患者的诊断效果

秦 凤, 樊建民

(山东省菏泽市鄄城县人民医院检验科 274700)

摘 要:目的 探究非小细胞肺癌(NSCLC)患者体内血清抗菌肽人类阳离子抗菌蛋白 18(hCAP18)水平的变化及其在 NSCLC 辅助诊断和预后中的价值。方法 选取该院 2014 年 4 月至 2015 年 6 月收治的 48 例 NSCLC 患者,采用病例对照研究法分为对照组和观察组,观察组由 48 例 NSCLC 患者组成,对照组由 48 例同期体检健康者组成。使用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测观察组和对照组患者血清 hCAP18 水平,并对 NSCLC 患者手术前后血清中 hCAP18 水平变化进行比较,通过分析受试者的操作特征(ROC)曲线计算血清中 hCAP18 的灵敏度和特异度,并且对血清内不同 hCAP18 水平的 NSCLC 患者术后复发率进行比较。结果 观察组患者血清中 hCAP18 水平为 $(6\,823.0 \pm 751.8) \mu\text{g/L}$,明显高于对照组的 $(247.0 \pm 7.5) \mu\text{g/L}$,差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组患者肿瘤切除后体内血清 hCAP18 水平为 $(423.5 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$,明显低于术前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血清 hCAP18 对 NSCLC 患者检测的灵敏度和特异度分别为 93.75%和 95.83%,而常用的肿瘤标志物癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19(CyFRA21-1)对 NSCLC 患者检测的灵敏度和特异度分别为 64.58%和 89.58%,62.50%和 89.58%,其差异有统计学意义($P < 0.05$)。对 NSCLC 患者术后两年复发率进行比较,血清中 hCAP18 水平小于或等于 $(390.0 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者复发率为 12.5%(4/32),而血清中 hCAP18 水平大于 $(390.0 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者复发率为 50.0%(8/16),两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血清 hCAP18 检测对 NSCLC 的辅助诊断具有良好的灵敏度和特异度,对于 NSCLC 的诊断有一定的临床应用价值。

关键词:血清抗菌肽人类阳离子抗菌蛋白 18; 非小细胞肺癌; 复发率; 灵敏度; 特异度

中图法分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)08-1168-03

肺癌是一种发病率和致死率极高的恶性肿瘤,近年来我国肺癌发病率逐渐上升,总体发病率高达 0.061%,加上肺癌本身治疗的复杂性和长期性,不论是在我国还是国外,肺癌都是病死率最高的肿瘤之一^[1]。非小细胞肺癌(NSCLC)是肺癌的一种常见类型,在肺癌患者中大约 80%为 NSCLC^[2]。NSCLC 的种类大致分为鳞癌、大细胞癌和腺癌^[3]。抗菌肽人类阳离子抗菌蛋白 18(hCAP18)来源于先天性的免疫细胞,可以消灭部分细菌和真菌细胞,hCAP18 能够在肺癌和结直肠癌等肿瘤中高度表达,并且加速癌细胞的增长。早期的 NSCLC 会出现发热、胸痛、气促、咳嗽等现象,但是这些症状并不明显,很难判断其准确率,大多数患者被发现时已经进入中后期,这时治疗成功率很低,所以,NSCLC 的早期诊断对治疗该病以及减少病死率有重大作用^[4]。NSCLC 相比于小细胞肺癌来说,恶性程度较低,因而致死率远远低于小细胞肺癌,但是由于早期诊断的困难,依然是医学研究的难题。本研究通过对照,分析 hCAP18 在 NSCLC 患者血清中的水平,以及其在辅助诊断、早期诊断和判断预后中的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2014 年 4 月至 2015 年 6 月收治的 48 例 NSCLC 患者及 48 例同期体检健康者

为研究对象。纳入标准:(1)患者符合 NSCLC 病理学诊断标准;(2)年龄 >18 岁,性别不限、自愿参与研究者;(3)无严重心脑血管及躯体疾病;(4)无精神障碍和交流障碍,能够配合医生研究。排除标准:(1)意识障碍、理解力低下不能进行有效沟通者;(2)肝肾功能障碍、严重精神障碍或失语症状、不能配合本研究者。本研究的试验程序已通过地区伦理学相关机构的批准。两组研究对象基本资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 分组方法 将 48 例 NSCLC 患者作为观察组,48 例同期体检健康者作为对照组。观察组中男 21 例、女 27 例,年龄 30~79 岁、平均 (48 ± 5) 岁;对照组中男 21 例、女 27 例,年龄 32~80 岁、平均 (52 ± 7) 岁。

1.2.2 研究方法 在早晨分别空腹采集对照组及观察组术前和术后 30 d 静脉血 5 mL,借助离心直径为 24 cm,转速为 3 000 r/min 的仪器离心 10 min 来提取血清,将提取后的血清放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温下进行保存。对治疗后的观察组患者进行随访,采用电话、住院或者门诊观察的方式来随访,随访时间为两年,频率为每月 1 次。通过观察 CT 图像,分析肿瘤标志物和病理特征情况来判断肿瘤复发状况。

1.2.3 试剂与仪器 hCAP18 酶联免疫吸附测定 (ELISA)试剂盒采购于杭州恒奥专业检测卡研发公司,Bio-Rad680 酶标仪采购于海甘薇生物科技有限公司,自动洗板机使用北京誉朗诺科技有限公司 AT-828 自动酶标洗板机。细胞角蛋白 19(CyFRA21-1)检测采用德国 Roche 公司的 e601 电化学发光仪及配套的试剂盒,癌胚抗原(CEA)ELISA 试剂盒采购于北京华美生物工程有限公司。

1.2.4 检测方法 血清 hCAP18 检测:hCAP18 抗体包被微孔板分别加标准品、空白对照、各组等待检测的血清各 100 μ L,在恒温 37 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min。通过自动洗板机进行洗涤,洗涤 3 次之后在微孔板加入酶标二抗 100 μ L,在恒温 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min。通过自动洗板机进行洗涤,洗涤 3 次,在微孔中加入底物 90 μ L,放置在阴暗处,在恒温 37 $^{\circ}$ C 下孵育 15 min,最后加入终止液 50 μ L,将检测物放于 450 nm 波长下进行检测^[5]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件对研究中得到数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行比较;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验进行比较;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者 hCAP18 指数比较 观察组患者血清 hCAP18 水平明显高于对照组,但低于术后,两组患者血清 hCAP18 水平差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组患者血清 hCAP18 水平比较($\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)					
组别	<i>n</i>	hCAP18		<i>t</i>	<i>P</i>
		治疗前	治疗后		
观察组	48	6 823.0 $\pm$ 751.8	423.5 $\pm$ 37.6	2.457	0.042
对照组	48	247.0 $\pm$ 7.5	247.0 $\pm$ 7.5	1.847	0.065
<i>t</i>		2.124	1.856		
<i>P</i>		0.045	0.062		

2.2 不同肿瘤标志物对 NSCLC 检测的灵敏度和特异度比较 血清 hCAP18 对于 NSCLC 检测的灵敏度和特异度明显高于其他两种肿瘤标志物,三者相比差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 血清 hCAP18、CEA、CyFRA21-1 对 NSCLC 检测的灵敏度和特异度[n(%), <i>n</i> =48]		
项目	灵敏度	特异度
hCAP18	45(93.75)	46(95.83)
CEA	31(64.58)	43(89.58)
CyFRA21-1	30(62.50)	43(89.58)
χ^2	4.162	5.684
<i>P</i>	0.036	0.021

2.3 血清不同 hCAP18 水平 NSCLC 患者术后复发率比较 术后血清中 hCAP18 $\leq(390.0\pm37.6)\mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者复发率明显低于 hCAP18 $>(390.0\pm37.6)\mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 血清中不同水平 hCAP18 复发率比较		
hCAP18 水平($\mu\text{g/L}$)	<i>n</i>	复发[n(%)]
$\leq 390.0\pm 37.6$	32	4(12.5)
$> 390.0\pm 37.6$	16	8(50.0)
χ^2		4.162
<i>P</i>		0.036

2.4 血清中不同 hCAP18 水平 NSCLC 患者预后评估 随访 2 年后,术后血清中 hCAP18 $\leq(390.0\pm37.6)\mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者复发率和变化明显低于血清中 hCAP18 $>(390.0\pm37.6)\mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者,其复发情况差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1。

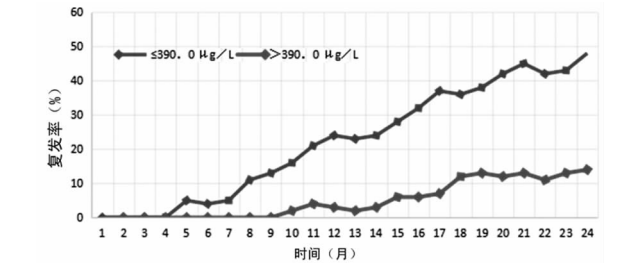


图 1 血清 hCAP18 检测对 NSCLC 患者预后分析

3 讨 论

目前,对于肺癌的检测手段,最常见的是 CT、X 线片及各类支气管镜和痰脱落细胞检查,然而,胸片类检测在 NSCLC 的诊断中灵敏度较差,至于支气管镜类检查则是侵入性方式,对患者身体有所损害^[6]。CT 检查的灵敏性高,但正是因为其过高的灵敏性反而更容易引起假阳性的结果。有研究提出,采用更少剂量的螺旋 CT 来作为诊断肺癌的常用手段,但这种方式尚处于研究阶段,不够成熟。同时,利用肿瘤标志物对 NSCLC 进行辅助诊断、早期诊断、预后判断和疗效监测具有更高的使用价值,但是现在比较常用的肿瘤标志物如 CEA、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、CyFRA21-1、鳞状细胞癌抗原(SCC)、糖类抗原 125(CA125)等在肺癌的各种诊断中尚存在不足,对于 NSCLC 的检测存在局限性^[7]。所以,找到新型且具有更高灵敏度和特异度的肿瘤标志物是当今临床医学所急需的。

hCAP18 来源于免疫细胞自身分泌的一种肽,据相关研究指出,hCAP18 能够在肺癌中具备较高的表达性,加速人体内癌细胞的增加^[8]。阳离子抗菌肽作用机制多种多样,即使细胞膜孔不完全,阳离子抗菌

肽也能发挥作用。阳离子抗菌肽能够让细菌的细胞膜自身的渗透性增强,从而发挥增殖癌细胞的作用。阳离子抗菌肽对温度具有较高的抵抗性,很容易与水相融,并且能够杀死细菌,对病毒原体、各类真菌具有高杀伤力,抗菌肽人类阳离子抗菌蛋白对人体的常规细胞不会造成损伤,基本不会出现耐药菌株^[9]。阳离子抗菌肽能够借助人体的静电作用来穿过细胞膜孔,促成离子通道的出现,导致人体内的水溶性物质溢出细胞,促使人体三磷酸腺苷的水平减少,进而阻碍细胞的正常呼吸,从而杀死细菌^[10]。因为人体的真核细胞膜上存在丰富的胆固醇,能够让细胞膜的稳定性大幅度提高,因此 hCAP18 不会溶解细胞的外膜,也就不会损害人体的真核细胞。

相关研究指出,hCAP18 在人体肺癌细胞中高度的表达,能够促进癌细胞的不断增加和移动。hCAP18 具备组织结构的特异属性,当 hCAP18 具备外源性和内源性的高度表达性时,它就能促进肺癌细胞的迅速增加,hCAP18 的主要来源是肺癌细胞和其他的炎症性细胞群。hCAP18 能够通过多种途径加速癌细胞的增殖,它能促使人体内癌细胞 Wnt/ β -catenin 的苏醒,以及借助其他方式来为癌细胞创造适合肿瘤生存增长的微环境。本研究通过对比 NSCLC 患者和健康体检者血清 hCAP18 水平,发现 NSCLC 患者血清 hCAP18 明显高于对照组。同时,通过对 NSCLC 患者手术前后血清中 hCAP18 水平分析发现,肿瘤切除后患者血清 hCAP18 水平为 $(423.5 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$,明显低于术前的 $(6\ 823.0 \pm 751.8) \mu\text{g/L}$ 。当 hCAP18 水平增加时,能够通过激活 Wnt/ β -catenin 来为癌细胞创造出适合其迅速增长的微环境,增强细胞膜的渗透作用,促进炎症反应的发生,进而召集炎症细胞因子,对肿瘤微环境中相应的血管生成,实现对癌细胞的增殖,而癌细胞的增加也为 hCAP18 的转化增生提供了条件,两者存在互利共生关系,一者的上升或下降会影响另一者的数量水平。

hCAP18 主要来源于巨噬细胞等炎症免疫细胞,而这些细胞可以产生炎症因子,从而推动肿瘤的生长^[11]。NSCLC 患者体内癌细胞分泌的硫酸软骨素蛋白聚糖能够使巨噬细胞苏醒,借助 TLR2 信号途径实现对巨噬细胞内 hCAP18 基因的转录表达,之后在癌细胞的微环境中出现,当肺癌细胞出现时,炎症细胞能够使 hCAP18 高度表达,从而显示出更高的灵敏性^[12]。本研究发现,血清 hCAP18 检测的 NSCLC 灵敏度为 93.75%,特异度为 95.83%,相比于诊断肺癌

常用的 CEA 和 CyFRA21-1 来说,灵敏度和特异度更高,说明血清 hCAP18 对于检测肺癌具有较好的诊断价值。借助对术后的 NSCLC 患者进行为期 2 年的随访观察,发现血清 hCAP18 $\leq (390.0 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者的复发率为 12.5% (4/32),而血清 hCAP18 $> (390.0 \pm 37.6) \mu\text{g/L}$ 的 NSCLC 患者的复发率为 50.0% (8/16),低水平的 NSCLC 患者复发率和病情变化明显低于高水平的 NSCLC 患者,说明检测 hCAP18 水平改变有助于在肺癌术后病理情况的监测和预后分析。

综上所述,血清 hCAP18 检测对 NSCLC 的辅助诊断具有良好的灵敏度和特异度,对于 NSCLC 的辅助诊断和早期诊断有一定的临床应用价值。

参考文献

- [1] 钱桂生,余时沧. 肺癌流行病学最新资料与启示[J]. 中华结核和呼吸杂志,2012,35(2):86-89.
- [2] 罗磊,王永坤,李世康. 香芹酚诱导非小细胞肺癌 1299 细胞凋亡的实验研究[J]. 天津医药,2016,44(12):1418-1422.
- [3] 昌盛,代敏,任建松,等. 中国 2008 年肺癌发病、死亡和患病情况的估计及预测[J]. 中华流行病学杂志,2012,33(4):391-394.
- [4] 姚晓军,刘伦旭. 肺癌的流行病学及治疗现状[J]. 现代肿瘤医学,2014,24(8):1982-1986.
- [5] 李冬,权文强,李泽兵,等. 抗菌肽 hCAP18 在非小细胞肺癌患者血清中的表达及其临床应用价值[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(8):595-598.
- [6] 晋家智. 血清肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的价值分析[J]. 中外医疗,2013,32(6):188-189.
- [7] 刘凤霞. 肿瘤标志物检验在肺癌诊断中的临床价值[J]. 中国医药科学,2014,6(2):107-108,117.
- [8] 洪军,胡建业. 阳离子抗菌肽的杀菌及抗药性机制的研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(11):140-144.
- [9] 陈武,黎定军,丁彦,等. 抗菌肽理化性质的研究进展[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2012,38(2):150-155.
- [10] 刘勃,尹鹏滨,张立海,等. 真核细胞自噬现象及其对骨重塑的作用[J]. 武警医学,2016,27(11):1157-1159.
- [11] 陈宇平,穆传勇,翁根龙,等. 非小细胞肺癌组织 MIP-1 表达及其与树突状细胞浸润的关系[J]. 江苏大学学报(医学版),2008,18(5):440-443.
- [12] 王丽飞,陈刚,王东昌,等. 肿瘤相关巨噬细胞在肺癌中的研究进展[J]. 国际呼吸杂志,2016,36(22):1735-1739.

(收稿日期:2017-07-27 修回日期:2017-10-12)