

• 论 著 •

CXCL5、HMGB1 在非小细胞肺癌患者中的表达及临床意义

孔丽蕊, 张 艳, 徐晓华, 李鸿钏, 刘 翔, 谢叶红, 蒋顺宁

(四川省成都市郫都区中医医院检验科, 四川成都 611730)

摘要:目的 探究 CXC 趋化因子配体 5(CXCL5)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)在非小细胞肺癌(NSCLC)患者中的表达及临床意义。方法 选择该院收治并确诊的 NSCLC 患者 81 例为研究对象, 收集其 NSCLC 组织及经病理检查证实未被浸润的癌旁正常组织用于研究。采用免疫组织化学染色法检测 CXCL5、HMGB1 的表达情况, 分析其与 NSCLC 患者临床病理特征的关系; 采用 Kaplan-Meier 法分析 CXCL5、HMGB1 表达情况与 NSCLC 患者预后的关系。结果 CXCL5 及 HMGB1 在 NSCLC 组织中的阳性率均明显高于癌旁正常组织($P < 0.05$); 不同组织学分级、临床分期、淋巴结转移、血管浸润患者 NSCLC 组织中 CXCL5 阳性率差异均有统计学意义($P < 0.05$); 不同组织学分级、临床分期、淋巴结转移患者 NSCLC 组织中 HMGB1 阳性率差异均有统计学意义($P < 0.05$); CXCL5、HMGB1 阳性患者总生存率、无进展生存率均分别低于 CXCL5、HMGB1 阴性患者($P < 0.05$)。结论 CXCL5、HMGB1 在 NSCLC 组织中呈高表达, 其对 NSCLC 的诊断及预后评估有一定指导意义。

关键词:非小细胞肺癌; CXC 趋化因子配体 5; 高迁移率族蛋白 B1; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.12.022

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2020)12-1500-05

文献标识码:A

Expression and clinical significance of CXCL5 and HMGB1 in patients with non-small cell lung cancer

KONG Lirui, ZHANG Yan, XU Xiaohua, LI Hongchai, LIU Xiang, XIE Yehong, JIANG Shunning

(Department of Clinical Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital of
Pudu District, Chengdu, Sichuan 611730, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of CXC chemokine ligand 5 (CXCL5) and high mobility group protein B1 (HMGB1) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** A total of 81 NSCLC patients admitted and diagnosed in the hospital were selected as the study objects. The NSCLC tissues and normal tissues adjacent to the cancer which were not infiltrated by pathological examination were collected for the study. The expressions of CXCL5 and HMGB1 were detected by immunohistochemical staining, and the relationship between CXCL5, HMGB1 and clinicopathological characteristics were analyzed. Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship between the expression of CXCL5, HMGB1 and the prognosis of NSCLC patients. **Results** The positive rates of CXCL5 and HMGB1 in NSCLC tissues were significantly higher than those in normal tissues adjacent to the cancer ($P < 0.05$). The positive rates of CXCL5 in NSCLC tissues of patients with different histological grades, clinical stages, lymph node metastasis and vascular invasion were statistically significant ($P < 0.05$). The positive rates of HMGB1 in NSCLC tissues of patients with different histological grades, clinical stages and lymph node metastasis were statistically significant ($P < 0.05$). The overall survival rates and progression-free survival rates of CXCL5 and HMGB1 positive patients were lower than those of CXCL5 and HMGB1 negative patients, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** Expressions of CXCL5 and HMGB1 are elevated in NSCLC tissues, it has certain guiding significance for the diagnosis and prognosis evaluation of NSCLC.

Key words:non-small cell lung cancer; CXC chemokine ligand 5; high mobility group protein B1; prognosis

作者简介:孔丽蕊,女,副主任技师,主要从事生化免疫及质量管理研究。

本文引用格式:孔丽蕊,张艳,徐晓华,等.CXCL5、HMGB1 在非小细胞肺癌患者中的表达及临床意义[J].国际检验医学杂志,2020,41(12):1500-1504.

肺癌是目前发病率最高的恶性肿瘤,占肿瘤死因第一位^[1]。非小细胞肺癌(NSCLC)约占肺癌的80%,其具有发病隐匿、病情进展迅速的特点,70%~80%患者就诊时已处于中晚期,治疗后复发率高,且预后不良^[2]。近年来,临床关于影响NSCLC发生、发展因素的研究越来越多。CXC趋化因子配体5(CXCL5)是一种小分子蛋白质,具有较强的粒细胞趋化作用^[3]。高迁移率族蛋白B1(HMGB1)是广泛存在于真核细胞核中的重要非组蛋白,具有诱导炎性反应,促进肿瘤细胞增殖分化,调节血管内皮细胞功能等生物学作用^[4]。相关研究显示,CXCL5、HMGB1在肾癌、胃癌等恶性肿瘤中异常表达,并与这些肿瘤的进展密切相关^[5-6]。但目前关于CXCL5、HMGB1在NSCLC中表达的相关研究较少,本研究检测了CXCL5、HMGB1在NSCLC中的表达情况,并分析了CXCL5、HMGB1与NSCLC患者临床病理特征及预后的关系,旨在为临床NSCLC的诊疗提供理论依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2013年6月至2014年6月本院收治并确诊的81例原发性NSCLC患者为研究对象。收集所有患者的NSCLC组织及经病理检查证实未被浸润的癌旁正常组织用于本研究。所有患者均实施肺癌根治性手术治疗。81例NSCLC患者中,男54例,女27例;年龄23~80岁,中位年龄54岁; <54 岁患者26例, ≥ 54 岁患者55例;肿瘤直径 <3 cm的有39例, ≥ 3 cm的有42例;组织学分级I级18例,II级34例,III级29例。纳入标准:(1)经病理检查确诊为NSCLC;(2)本次治疗前未接受放、化疗;(3)治疗依从性较好,能定期随访;(4)心肝肾等重要脏器功能正常;(5)所有标本收集均征得患者知情同意。排除标准:(1)临床资料不完整;(2)随访期间失访;(3)合并其他恶性肿瘤。本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 将收集的81例NSCLC组织及癌旁正常组织于离体1 h内用10%甲醛溶液固定,脱水,用石蜡包埋成块,采用组织切片机(北京中西远大科技有限公司,型号:M398419)切成4 μm 连续切片,二甲苯脱蜡,柠檬酸钠缓冲液抗原修复,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗,内源性过氧化物酶灭活,加山羊血清(浙江天杭生物科技股份有限公司)封闭。NSCLC组织和癌旁正常组织分别滴加稀释比例为1:200的兔抗人CXCL5单克隆抗体(上海群己生物科技有限公司)和稀释比例为1:200的兔抗人HMGB1单克隆抗体(上海煊翎生物科技有限公司),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育12 h后

37 $^{\circ}\text{C}$ 复温45 min, PBS漂洗,滴加稀释比例为1:500的羊抗鼠IgG(深圳市豪地华拓生物科技有限公司),25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育45 min, PBS漂洗,使用DAB显色试剂盒(上海科敏生物科技有限公司)显色5 min,苏木精复染,梯度乙醇脱水,中性树脂封片剂固封,显微镜(武汉科赛思机电有限公司,型号:ISM-M2000-DIC)下观察CXCL5、HMGB1的表达情况。结果判定:由两名具有执业资格的病理科医师对染色结果进行判定。染色程度评分:0分为细胞不着色,1分为浅黄色,2分为棕黄色,3分为棕褐色。阳性细胞百分比评分:0分为阳性细胞百分比 $<5\%$,1分为阳性细胞百分比为5%~25%,2分为阳性细胞百分比为25%~50%,3分为阳性细胞百分比 $>50\%$ 。染色程度评分与阳性细胞百分比评分之和为最终得分,最终得分0~4分判定为阴性表达, >4 分判定为阳性表达。

1.2.2 随访 采用门诊复查的方式进行随访,术后第1年每3个月随访1次,第2年每6个月随访1次,随访至患者死亡或术后60个月止。记录所有患者的总生存率、无进展生存率。

1.3 统计学处理 采用SPSS22.0软件对数据进行统计分析。计量资料不满足正态分布的以M表示;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;生存分析采用Kaplan-Meier法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CXCL5、HMGB1在NSCLC组织及癌旁正常组织中的表达情况 免疫组织化学染色法结果显示,CXCL5、HMGB1均表达于细胞质内,表现为棕黄色颗粒,见图1、2。NSCLC组织中CXCL5阳性54例,占66.67%,癌旁正常组织中CXCL5阳性16例,占19.75%,CXCL5在NSCLC组织中的阳性率明显高于癌旁正常组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。NSCLC组织中HMGB1阳性65例,占80.25%,癌旁正常组织中HMGB1阳性21例,占25.93%,HMGB1在NSCLC组织中的阳性率明显高于癌旁正常组织,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 CXCL5、HMGB1在NSCLC组织及癌旁正常组织中的表达情况[n(%)]

组别	n	CXCL5		HMGB1	
		阳性	阴性	阳性	阴性
NSCLC组织	81	54(66.67)	27(33.33)	65(80.25)	16(19.75)
癌旁正常组织	81	16(19.75)	65(80.25)	21(25.93)	60(74.07)
χ^2		36.324		49.985	
P		<0.001		<0.001	

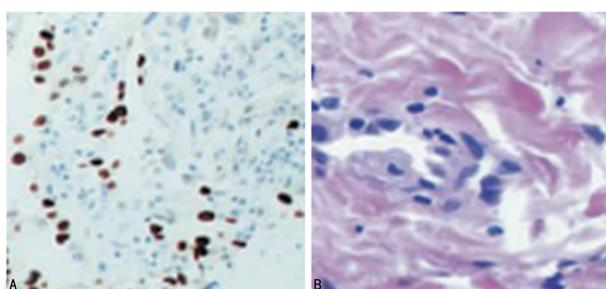
2.2 NSCLC组织中CXCL5、HMGB1阳性率与患者

临床病理特征的关系。不同性别、年龄、病理类型、肿瘤直径患者 NSCLC 组织中 CXCL5 阳性率差异均无统计学意义($P > 0.05$)；不同组织学分级、临床分期、淋巴结转移、血管浸润患者 NSCLC 组织中 CXCL5 阳性率差异均有统计学意义($P < 0.05$)。不同性别、年

龄、病理类型、肿瘤直径、血管浸润患者 NSCLC 组织中 HMGB1 阳性率差异均无统计学意义($P > 0.05$)；不同组织学分级、临床分期、淋巴结转移患者 NSCLC 组织中 HMGB1 阳性率差异均有统计学意义($P < 0.05$)，见表 2。

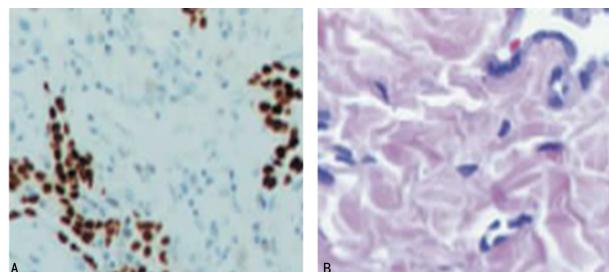
表 2 NSCLC 组织中 CXCL5、HMGB1 阳性率与患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理参数	n	CXCL5			HMGB1		
		阳性率	χ^2	P	阳性率	χ^2	P
性别			0.250	0.617		0.156	0.639
男	54	37(68.52)			44(81.48)		
女	27	17(62.96)			21(77.78)		
年龄(岁)			0.028	0.866		0.007	0.935
<54	26	17(65.38)			21(80.77)		
≥54	55	37(67.27)			44(80.00)		
病理类型			0.025	0.875		0.076	0.782
腺癌	38	25(65.79)			30(78.95)		
鳞癌	43	29(67.44)			35(81.40)		
肿瘤直径(cm)			0.000	1.000		0.027	0.869
<3	39	26(66.67)			31(79.49)		
≥3	42	28(66.67)			34(80.95)		
组织学分级(级)			8.868	0.012		9.275	0.010
I	18	7(38.89)			13(72.22)		
II	34	20(58.82)			25(73.53)		
III	29	27(93.10)			27(93.10)		
临床分期(期)			11.499	<0.001		10.167	0.001
I ~ II	37	17(45.95)			24(64.86)		
III ~ IV	44	37(84.09)			41(93.18)		
淋巴结转移			27.282	<0.001		7.135	0.008
无	32	10(31.25)			21(65.63)		
有	49	44(89.80)			44(89.80)		
血管浸润			19.706	<0.001		0.253	0.615
无	31	11(35.48)			24(77.42)		
有	50	43(86.00)			41(82.00)		



注：A 为 CXCL5 在 NSCLC 组织中的阳性表达；B 为 CXCL5 在癌旁正常组织中的阴性表达。

图 1 CXCL5 在 NSCLC 组织及癌旁正常组织中的表达情况



注：A 为 HMGB1 在 NSCLC 组织中的阳性表达；B 为 HMGB1 在癌旁正常组织中的阴性表达。

图 2 HMGB1 在 NSCLC 组织及癌旁正常组织中的表达情况

2.3 CXCL5 阳性和阴性患者的生存分析

CXCL5 阳性患者总生存率、无进展生存率均明显低于 CXCL5 阴性患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3; Kaplan-Meier 生存曲线见图 3、4。

表 3 CXCL5 阳性和阴性患者总生存率、无进展生存率比较(%)

组别	n	总生存率	无进展生存率
CXCL5 阳性	54	46.12	35.88
CXCL5 阴性	27	77.25	64.13
χ^2		5.511	6.127
P		0.019	0.013

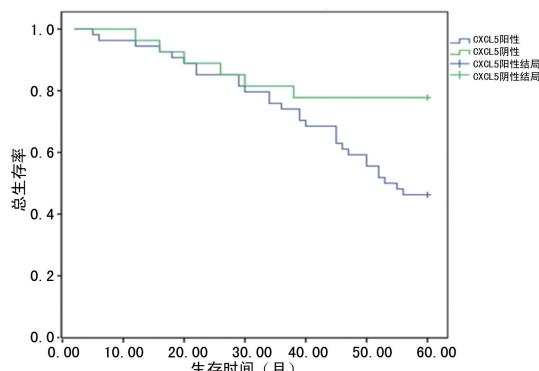


图 3 CXCL5 阳性和阴性患者总生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

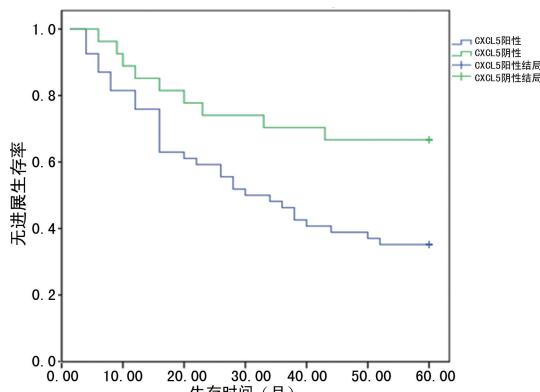


图 4 CXCL5 阳性和阴性患者无进展生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.4 HMGB1 阳性和阴性患者的生存分析

HMGB1 阳性患者总生存率、无进展生存率均明显低于 HMGB1 阴性患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 4; Kaplan-Meier 生存曲线见图 5、6。

表 4 HMGB1 阳性和阴性患者总生存率、无进展生存率比较(%)

组别	n	总生存率	无进展生存率
HMGB1 阳性	65	38.21	32.12
HMGB1 阴性	16	69.39	65.47
χ^2		3.990	4.076
P		0.046	0.044

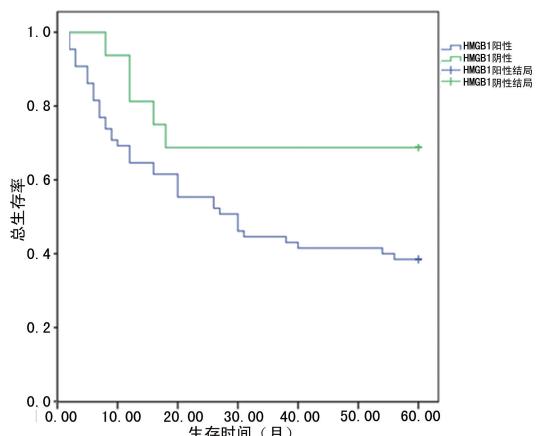


图 5 HMGB1 阳性和阴性患者总生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

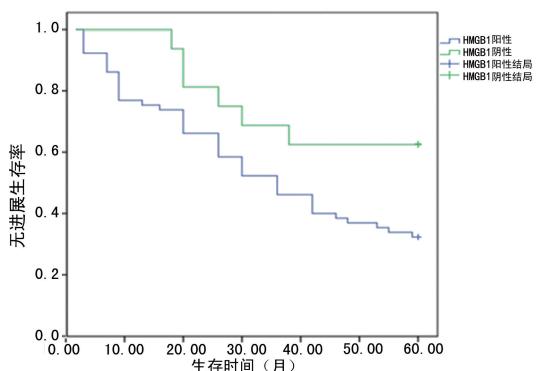


图 6 HMGB1 阳性和阴性患者无进展生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨 论

肺癌是最常见的肺原发性恶性肿瘤, 可向脑、肝脏、胰腺等脏器转移, 脑转移时可因压迫产生脑疝而危及生命, 因此, 肺癌已成为对患者健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一^[7]。肺癌病理类型包括小细胞肺癌和 NSCLC, 其中 NSCLC 是肺癌最常见的病理类型^[8]。NSCLC 早期症状不典型, 常在局部生长、浸润、压迫组织引起特异性症状时被发现, 而此时 NSCLC 多已处于中晚期, 失去最佳治疗时机^[9]。随着分子生物学技术快速发展, 肿瘤分子标志物在恶性肿瘤诊断中的应用价值受到广泛关注。寻找与 NSCLC 发生、发展相关的分子标志物应用于 NSCLC 诊断及治疗, 对提升患者预后有重要指导意义。

趋化因子是一类能够吸引白细胞移行到感染部位的低分子量蛋白质, 能够与淋巴组织中的抗原提呈细胞相互作用而监视病原体入侵; 还可在正常组织修复、血管生成、炎性反应、恶性肿瘤进展过程中发挥重要作用^[10]。CXCL5 属于趋化因子蛋白家族的一员, 具有较强的粒细胞趋化作用, 可促进免疫细胞杀伤肿瘤细胞, 又可与其受体结合促进肿瘤细胞增殖、侵袭及转移^[11]。据报道, NSCLC 组织中存在趋化因子表达水平升高现象^[12], 这在本研究中也得到了证实。本

研究结果显示, CXCL5 在 NSCLC 组织中的阳性率明显高于癌旁正常组织, 提示 CXCL5 可能参与了 NSCLC 的发生。进一步分析显示, 组织学分级高、临床分期Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移、有血管浸润的患者 NSCLC 组织中 CXCL5 阳性率高于组织学分级低、临床分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移、无血管浸润的患者; CXCL5 阳性患者总生存率、无进展生存率均低于 CXCL5 阴性患者, 提示 CXCL5 与 NSCLC 患者的临床病理特征及预后相关, CXCL5 可能参与了 NSCLC 的病情进展。其原因可能是 CXCL5 阳性患者的肿瘤新生血管较多, 血管浸润及淋巴结转移更快; 同时, 组织分化程度越低, 肿瘤恶性程度越高, 患者预后生存期就越短。

HMGB1 为高迁移率族蛋白家族成员之一, 是一种广泛分布于哺乳动物细胞的高度保守核蛋白, 细胞核中 HMGB1 可与 DNA 结合而参与 DNA 转录、修饰^[13]; 且由淋巴细胞、粒细胞、单核-巨噬细胞等免疫细胞分泌的 HMGB1 可参与机体炎性反应。HMGB1 还可与特异性细胞膜受体结合而参与肿瘤细胞增殖、浸润及转移^[14]。据报道, 前列腺癌、结肠癌、甲状腺癌组织中存在 HMGB1 过表达的现象^[15]。本研究结果显示, HMGB1 在 NSCLC 组织中阳性率明显高于癌旁正常组织, 且组织学分级越高、临床分期Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移的 NSCLC 患者 HMGB1 阳性率越高; 且 HMGB1 阳性患者总生存率、无进展生存率均低于 HMGB1 阴性患者, 提示 HMGB1 与 NSCLC 的发生、临床病理特征及预后有密切关系。其原因可能如下: NSCLC 细胞在生长及转移过程中伴随血管快速增长, 血管生长过程中会与正常细胞竞争营养, 正常细胞由于缺乏生长所需营养而死亡, 死亡细胞被动分泌 HMGB1, 导致 NSCLC 组织中 HMGB1 表达水平明显升高。

4 结 论

综上所述, CXCL5、HMGB1 在 NSCLC 组织中呈高表达, 其表达情况与 NSCLC 患者临床病理特征及预后有关。CXCL5、HMGB1 可能对 NSCLC 的临床诊断及预后评估有一定指导意义。但本研究纳入病例数较少, 结果有待扩大样本量进一步研究证实。

参考文献

[1] 黄佳滨, 隋小芳, 王凤玲, 等. CXCL12-G801A 基因多态性在非小细胞肺癌中的表达及发病风险相关性研究[J]. 中

国实验诊断学, 2017, 12(8): 1346-1348.

- [2] 邹佳运, 赵明芳. EGFR 基因靶向治疗非小细胞肺癌的研究进展[J]. 实用药物与临床, 2017, 5(7): 835-839.
- [3] SOLER-CARDONA A, FORSTHUBER A, LIPP K A, et al. CXCL5 facilitates melanoma cell-neutrophil interaction and lymph node metastasis[J]. J Invest Dermatol, 2018, 138(7): 1627-1635.
- [4] UGRINOVA I, PASHEVA E. HMGB1 protein: a therapeutic target inside and outside the cell[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2017, 107(7): 37-76.
- [5] 方成, 郭荣平, 朱洪波, 等. 趋化因子 CXCL5 在肝癌中的表达及其临床意义[J/CD]. 中华普通外科学文献(电子版), 2013, 4(2): 101-105.
- [6] 孔志远, 王海鹏, 孙明媚, 等. 胃癌组织高迁移率族蛋白 1 表达临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(21): 1513-1517.
- [7] 王丽萍. 肺癌免疫治疗现状及展望[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(2): 105-110.
- [8] 张卉, 张树才. 非小细胞肺癌 EGFR 基因靶向治疗研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2017, 11(1): 61-65.
- [9] 宋勇, 高健伟. 精准医学时代的晚期非小细胞肺癌内科治疗进展[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(11): 1121-1127.
- [10] 党珊, 师卫华, 韩冬, 等. 单、双指数模型扩散加权成像对非小细胞肺癌 Ki-67 表达的预测价值[J]. 磁共振成像, 2019, 10(1): 18-22.
- [11] 童天夫. 血清 CEA 和 CYFRA21-1 检测对ⅢB、Ⅳ期非小细胞肺癌患者化疗疗效的评估[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(3): 361-363.
- [12] WU K, YU S, LIU Q, et al. The clinical significance of CXCL5 in non-small cell lung cancer[J]. Onco Targets Ther, 2017, 10(6): 5561-5573.
- [13] CHENG Y, WANG D, WANG B, et al. HMGB1 translocation and release mediate cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in mice through a TLR4/MyD88-dependent signaling pathway[J]. Mol Biol Cell, 2017, 28(1): 201-209.
- [14] 田玲, 吴桂新, 余慧青. 顺铂联合重组人血管内皮抑制素胸腔内灌注治疗非小细胞肺癌并发恶性胸腔积液临床效果观察[J]. 创伤与急危重病医学, 2019, 7(1): 20-22.
- [15] TANG S T, WANG F, SHAO M, et al. MicroRNA-126 suppresses inflammation in endothelial cells under hyperglycemic condition by targeting HMGB1[J]. Vascul Pharmacol, 2017, 88(13): 48-55.

(收稿日期:2019-09-25 修回日期:2020-03-15)