

YKL-40 蛋白在小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义

胡慧娣¹, 万明月¹, 张元庆¹, 徐春华²

(¹南京市胸科医院病理科, ²内镜中心, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨 YKL-40 蛋白的表达与小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)临床病理特征及预后的关系。方法:采用免疫组织化学 Envision 法检测 105 例 SCLC 组织和 40 例癌旁组织 YKL-40 蛋白的表达情况。结果:YKL-40 在 SCLC 组织和癌旁组织中的阳性率分别为 72.4%和 22.5%,差异有统计学意义($P < 0.01$);YKL-40 的表达与患者性别、年龄和吸烟情况无显著相关,而与临床分期、淋巴结转移有关,差异有统计学意义($P < 0.05$)。105 例 SCLC 患者的中位生存期(overall survival, OS)为 16.3 个月;YKL-40 阳性表达者中位 OS 为 12.4 个月,明显短于阴性表达者的中位 OS 25.6 个月,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素分析显示,临床分期和 YKL-40 表达与预后相关;多因素分析显示 YKL-40 的表达可以作为 SCLC 的独立预后因素。结论:YKL-40 蛋白可以作为一个预测 SCLC 患者术后复发、转移及预后的分子标记物。

[关键词] YKL-40 蛋白;小细胞肺癌;预后

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)11-1538-04

doi:10.7655/NYDXBNS20151108

Expression of YKL-40 in small cell lung cancer and its clinical significance

Hu Huidi¹, Wan Mingyue¹, Zhang Yuanqing¹, Xu Chunhua²

(¹Department of Pathology, ²Endoscopic Center, Nanjing Chest Hospital, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship between the expression of YKL-40 and clinicopathologic characteristics and prognosis in small cell lung cancer(SCLC). **Methods:** The expression of YKL-40 in 105 samples of SCLC tissues and 40 samples of para-cancerous tissues were examined by immunohistochemistry. **Results:** The expressions of YKL-40 in cancer tissues and para-cancerous tissues were 72.4% and 22.5%, respectively(both $P < 0.01$). The expression of YKL-40 was not associated with gender, age and smoking, but associated with clinical stage and lymph node metastasis (both $P < 0.05$). Median overall survival (OS) of SCLC patients was 16.3 months. Median OS in patients with YKL-40 expression was 12.4 months, which was shorter than that in patients without YKL-40 expression (25.6 months), and there was statistically differences($P < 0.05$). Univariate analysis showed that clinical stage and the expression of YKL-40 were related to the prognosis of SCLC patients, while multivariate analysis showed that YKL-40 was an independent prognosis factor of SCLC patients. **Conclusion:** YKL-40 may be a molecular marker to predict the relapse, metastasis and prognosis of SCLC patients.

[Key words] YKL-40 protein; small cell lung cancer; prognosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(11):1538-1541]

肺癌是当今世界对人类健康与生命危害最大的恶性肿瘤之一,依据肺癌的分化程度和形态特征分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌两大类,其中约 15%为 SCLC^[1-4]。SCLC 病程发展快,转移早,大多数患者确诊时已为广泛期,临床预后较差。因此,临床上寻找一种能够预测 SCLC 患者预后的分子标志物,从而进行合理治疗,是降低 SCLC 患者病死率的一个重要途径^[5]。YKL-40 是哺乳动物 18 糖基水解酶家族成员之一,与细胞外基

质重构、细胞增殖、血管生成有关,是结直肠癌、膀胱癌、乳腺癌等众多肿瘤的标志物,并与其预后相关^[6-10]。YKL-40 表达与 SCLC 关系研究较少,结论尚不一致。本研究拟采用免疫组织化学方法检测 SCLC 组织中 YKL-40 表达,探讨 YKL-40 表达与 SCLC 预后的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

收集南京市胸科医院 2009 年 1 月—2013 年 12 月临床及病理资料完整的病例 105 例, 其中男 60 例, 女 45 例, 中位年龄 53.5 岁。所有病例均经病理组织学诊断为 SCLC。将 SCLC 分为局限期和广泛期: 病变局限于同一侧胸腔并可安全地包括在一个可耐受的放射野内为局限期; 病变超出同一侧胸腔, 包括恶性胸腔积液、心包积液及远处转移为广泛期。105 例中局限期 40 例, 广泛期 65 例。取距肿瘤组织边缘 ≥ 5 cm 的癌旁组织标本 40 例作对照。

兔抗人 YKL-40 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司, 工作液浓度为 1:200。Envision 免疫组化试剂盒和 DAB 显色剂均购自福州迈新生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化方法

采用 Envision 二步法。3 μ m 厚的石蜡组织切片, 常规二甲苯脱蜡至水。于 10 mmol/L pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液浸泡后, 微波加热进行抗原修复, 流水冲洗冷却至室温; 滴加 0.3% H_2O_2 溶液, 室温下孵育 10 min, 灭活内源性过氧化物酶的活性; 滴加 1:200 YKL-40 一抗工作液, 4 $^{\circ}$ C 过夜; PBS 液冲洗 3 次, 每次 5 min; 二抗室温孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次; DAB 显色剂室温孵育 15 min, 苏木精复染 5 min, 中性树脂胶封固。用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 判定标准

YKL-40 染色结果根据相关文献判断^[11], 分别以显微镜下观察细胞显色程度和比例计分。细胞显色程度: 无显色计 0 分, 浅黄色计 1 分, 棕黄色计 2 分, 棕褐色计 3 分; 显色细胞比例: 显色细胞 < 10%

计 0 分, 显色细胞 10%~<30% 计 1 分, 显色细胞 30%~<60% 计 2 分, 显色细胞 $\geq 60%$ 计 3 分。上述两项分值的乘积 > 3 分者视为 YKL-40 蛋白阳性表达, ≤ 3 分者为 YKL-40 蛋白阴性表达。

1.2.3 生存随访

随访截至 2014 年 12 月 30 日, 采用门诊复诊、电话或信件相结合, 随访率为 100%。总生存期 (overall survival, OS) 计算从手术当日死亡或随访截止日期。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件分析, 计数资料用卡方检验, 采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析, Cox 比例风险模型进行多因素预后分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

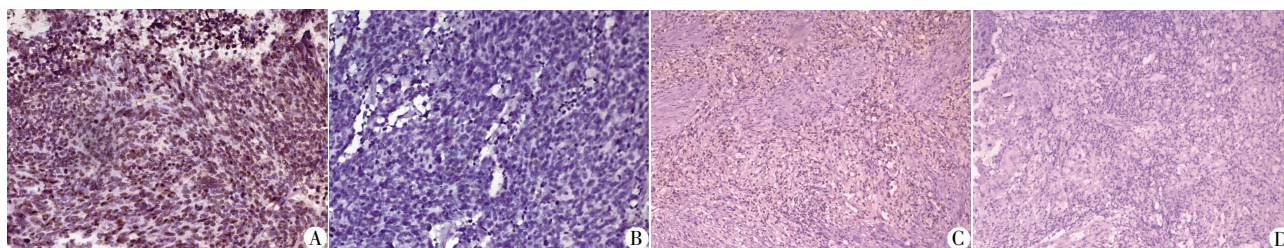
2 结果

2.1 YKL-40 在 SCLC 组织中的表达

YKL-40 主要以棕黄色颗粒的形式表达于细胞核和细胞质。40 例癌旁组织中有 9 例阳性表达 (22.5%), 105 例 SCLC 组织中有 76 例阳性表达 (72.4%), 差异有统计学意义 ($P = 0.001$, 表 1 和图 1)。

表 1 YKL-40 在小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达
Table 1 Expressions of YKL-40 in small cell lung cancer tissues and paracancerous tissues (n)

组织类型	YKL-40	
	阳性	阴性
癌旁组织 (n=40)	9	31
SCLC 组织 (n=105)	76	29



A: 癌组织阳性表达; B: 癌组织阴性表达; C: 癌旁组织阳性表达; D: 癌旁组织阴性表达。

图 1 SCLC 组织和癌旁组织中 YKL-40 的表达情况

Figure 1 Expressions of YKL-40 in small cell lung cancer tissues and paracancerous tissues

2.2 YKL-40 表达与 SCLC 患者临床病理特征的关系

YKL-40 表达水平与患者性别、年龄和吸烟情况无关 ($P > 0.05$)。YKL-40 在局限期和广泛期中的阳性表达率差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。淋巴结转移组 YKL-40 的表达率显著高于无淋巴结转移组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

2.3 YKL-40 表达与 SCLC 患者生存期的关系

截至随访结束时仍存活病例为 46 例。全组中位 OS 为 16.3 个月, YKL-40 阳性表达组的中位 OS 为 12.4 个月, 阴性表达组的中位 OS 为 25.6 个月, 两者差异有统计学意义 ($P = 0.014$, 图 2)。

2.4 SCLC 患者的 OS 与临床病理特征的单因素和

表 2 YKL-40 表达与 SCLC 临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between expression of YKL-40 and clinic pathological features in SCLC patients (n)

临床特征	例数	YKL-40		P 值
		阳性	阴性	
性别				0.186
男	60	40	20	
女	45	36	9	
年龄				0.514
<60 岁	55	38	17	
≥60 岁	50	38	12	
吸烟状况				0.124
有	63	42	21	
无	42	34	8	
分期				0.001
局限性	40	21	19	
广泛期	65	55	10	
淋巴结转移				0.042
有	40	36	4	
无	65	40	15	

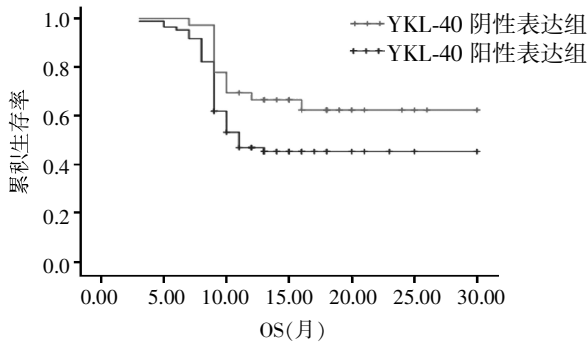


图 2 不同 YKL-40 表达患者的 OS 比较

Figure 2 Relationship between expression of YKL-40 and OS in SCLC patients

多因素分析

单因素分析结果显示,性别、年龄、吸烟状况和淋巴结转移与 SCLC 患者的预后无关,而临床分期和 YKL-40 表达与预后有关。Cox 回归模型进行分析结果表明,仅 YKL-40 是 SCLC 患者 OS 的独立预测因素(P = 0.009,表 3)。

3 讨论

YKL-40 是哺乳动物 18 糖基水解酶家族成员之一,其位于 1 号染色体 q32,编码的蛋白序列与糖基水解酶相似,含 383 个氨基酸,其氨基酸序列的 N 末端为 Tyr-Lys-Leu(YKL)。近年来,YKL-40 已被发现是一种潜在的肿瘤学标记物,可用于评估多种人类恶性肿瘤的发生发展和预后^[6-10]。研究表明 YKL-40 与肺癌也有关联,无论在 SCLC 还是在非小细

表 3 SCLC 患者 OS 的单因素和 Cox 多因素分析

Table 3 Univariate and Cox multivariate analyses for OS in SCLC patients

变量	HR(95%CI)	P 值
单因素分析		
年龄(≥65 岁 vs. <65 岁)	1.47(0.68~2.36)	0.078
性别(男 vs. 女)	1.04(0.40~2.69)	0.932
吸烟状况(有 vs. 无)	1.11(0.59~2.08)	0.745
分期(局限期 vs. 广泛期)	2.18(1.09~4.33)	0.026
淋巴结转移(有 vs. 无)	0.79(0.35~1.77)	0.563
YKL-40(阳性 vs. 阴性)	2.86(1.11~5.85)	0.001
多因素分析		
年龄(≥65 岁 vs. <65 岁)	1.94(0.77~4.91)	0.162
性别(男 vs. 女)	1.02(0.60~1.71)	0.952
吸烟状况(有 vs. 无)	1.06(0.45~2.48)	0.899
分期(局限期 vs. 广泛期)	2.46(1.32~4.59)	0.005
淋巴结转移(有 vs. 无)	0.95(0.47~1.92)	0.889
YKL-40(阳性 vs. 阴性)	1.83(1.28~2.61)	0.009

胞肺癌,血浆 YKL-40 水平升高均预示着肿瘤分期较晚、预后差,可以成为一个独立的判断预后的因子^[12-16]。德国学者通过研究晚期非小细胞肺癌患者,发现治疗前血浆 YKL-40 水平低的患者中位 OS 为 41 周,YKL-40 水平升高的患者中位 OS 为 32 周,通过多变量分析发现血浆 YKL-40 水平升高,可以作为预测非小细胞肺癌患者预后的独立危险因素。但有关 YKL-40 在 SCLC 组织中的蛋白表达及其临床意义,国内外尚未见文献报道。

本研究应用免疫组织化学技术,检测了 SCLC 组织中 YKL-40 蛋白的表达情况,初步发现 YKL-40 表达在 SCLC 组织中有明显上调趋势,分析这种表达改变与临床病理特征之间的关系时发现,其表达与性别、年龄和吸烟无关(P > 0.05),而与临床分期、淋巴结转移有关。YKL-40 在广泛期 SCLC 中的阳性表达率明显高于局限期(P < 0.05),提示临床分期越晚,阳性表达率越高。另外,本研究对 SCLC 组织中 YKL-40 表达与 OS 关系的分析结果发现,YKL-40 阳性表达者的 OS 明显短于阴性表达者,提示 YKL-40 表达与 OS 密切相关。单因素分析显示,临床分期、YKL-40 对 SCLC 患者的 OS 有显著影响。Cox 多因素分析结果显示,YKL-40 与 SCLC 预后相关,进一步证实了 YKL-40 可以作为 SCLC 的独立预后因素。

[参考文献]

[1] Maddison P,Thorpe A,Silcocks P,et al. Autoimmunity to SOX2,clinical phenotype and survival in patients with small cell lung cancer[J]. Lung Cancer,2010,70 (3): 335-339

- [2] 谢小晨,丁文秋,徐华娥,等. 鱼藤素对小细胞肺癌的体外抗肿瘤效果评价及相关机制分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2014,34(6):721-726
- [3] 吴清泉,赵 铭,陈其友,等. 手术治疗局限性小细胞肺癌患者的多因素预后分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2011,31(7):1032-1035
- [4] 俞 龙,谢利军,金琳玲,等. 84 例女性原发性支气管肺癌临床分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2013,33(8):1131-1134
- [5] Tong X, Li K, Luo ZG, et al. Decreased qIP30 expression promotes tumor metastasis in lung cancer[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(5):1931-1939
- [6] Fan JT, Si XH, Liao Y, et al. The diagnostic and prognostic value of serum YKL-40 in endometrial cancer[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2013, 287(1):111-115
- [7] Kang EJ, Jung H, Woo OH, et al. YKL-40 expression could be a poor prognostic marker in the breast cancer tissue[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1):277-286
- [8] Liu X, Zhang Y, Zhu Z, et al. Elevated pretreatment serum concentration of YKL-40: an independent prognostic biomarker for poor survival in patients with colorectal cancer[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(8):85
- [9] Tschirdewahn S, Reis H, Niedworok C, et al. Prognostic effect of serum and tissue? YKL-40 levels in bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(5):663-669
- [10] Schultz NA, Christensen IJ, Werner J, et al. Diagnostic and prognostic impact of circulating YKL-40, IL-6, and CA 19.9 in patients with pancreatic cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e67059
- [11] 翟 博,戴 猛,赵金鹏,等. 乳腺癌 YKL-40 表达与预后关系的研究[J]. 中国现代普外科进展, 2012, 15(8):606-608
- [12] Choi IK, Kim YH, Kim JS, et al. High serum YKL-40 is a poor prognostic marker in patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. *Acta Oncol*, 2010, 49(6):861-864
- [13] Thom I, Andritzky B, Schuch G, et al. Elevated pretreatment serum concentration of YKL-40: An independent prognostic biomarker for poor survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2010, 116(7):4114-4121
- [14] Xu CH, Yu LK, Hao KK. Serum YKL-40 level is associated with the chemotherapy response and prognosis of patients with small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e96384
- [15] Johansen JS, Drivsholm I, Price PA, et al. High serum YKL-40 level in patients with small cell lung cancer is related to early death[J]. *Lung Cancer*, 2004, 46(3):333-340
- [16] Junker N, Johansen JS, Andersen CB, et al. Expression of YKL-40 by peritumoral macrophages in human small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2005, 48(2):223-231

[收稿日期] 2015-08-13

本刊现已启用网上稿件管理系统, 作者登陆
<http://jnmun.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件
审理情况。