

· 论 著 ·

铁蛋白轻链在非小细胞肺癌中的表达及意义

曾广¹, 张文成², 王广舜³

1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2. 天津医科大学宝坻临床学院肿瘤科, 天津 301800;
3. 天津医科大学宝坻临床学院胸外科, 天津 301800

摘要: **目的** 探究铁蛋白轻链(FTL)在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中的表达情况及其与 NSCLC 患者临床病理特征和预后的关系。**方法** 收集 2008 年至 2018 年天津大学宝坻区人民医院病理科 NSCLC 组织标本,采用免疫组化检测 61 例 NSCLC 组织和 51 例癌旁组织中 FTL 的表达水平,并分析 FTL 与 NSCLC 患者临床病理学特征之间的关系,利用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库分析 FTL 的表达水平与 NSCLC 预后的相关性。**结果** FTL 在癌组织中表达明显高于癌旁组织($\chi^2 = 16.859, P < 0.01$)。FTL 在癌组织中表达水平与 NSCLC 患者临床病理特征无明显相关性($P > 0.05$)。Kaplan-Meier Plotter 在线数据库生存分析结果显示,FTL 高表达与 NSCLC 患者较差的总生存时间(OS)相关[$P = 0.0008, HR = 1.27(1.10 \sim 1.45)$],而与患者无进展生存时间(PFS)无关。FTL 表达水平与肺腺癌患者 OS 及 PFS 均相关,其表达越高患者生存越差[$P = 0.0000, HR = 2.20(1.69 \sim 2.86)$]; $P = 0.0005, HR = 1.74(1.27 \sim 2.40)$];在肺鳞癌患者中 FTL 表达与 OS 及 PFS 均无关。在临床分期中,截尾值为 OS 时,FTL 表达仅与临床 I 期和 II 期患者预后相关[$P = 0.0000, HR = 2.12(1.56 \sim 2.87)$]; $P = 0.0000, HR = 2.22(1.49 \sim 3.32)$];截尾值为 PFS 时,FTL 仅与 I 期患者预后相关[$P = 0.0154, HR = 1.74(1.11 \sim 2.74)$]。**结论** FTL 表达与 NSCLC 患者临床病理特征无关,而 FTL 高表达与 NSCLC 患者不良预后相关,FTL 可用于评估 NSCLC 患者预后。

关键词: 非小细胞肺癌; 铁蛋白轻链; 免疫组化; 预后

中图分类号: R 734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)06-0749-05

Expression and significance of ferritin light chain in non-small cell lung cancer

ZENG Guang*, ZHANG Wen-cheng, WANG Guang-shun

* Tianjin Medical University Graduate School, Tianjin 300070, China

Corresponding author: WANG Guang-shun, E-mail: WGS@bddhospital.com

Abstract: Objective To investigate the expression of ferritin light chain (FTL) in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues and its relationship with clinicopathological characteristics and prognosis of NSCLC patients. **Methods** By immunohistochemistry (IHC) method, the expression level of FTL in NSCLC and para-cancerous tissues was detected, and its relationship with the clinicopathological characteristics of NSCLC patients was analyzed. The correlation between FTL expression level and prognosis of NSCLC was analyzed by Kaplan Meier plotter online database. **Results** The expression level of FTL in cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ($\chi^2 = 16.859, P < 0.01$). There was no significant correlation between the expression level of FTL in cancer tissues and the clinicopathological characteristics of NSCLC patients ($P > 0.05$). Survival analysis of Kaplan-Meier Plotter online database showed that high expression of FTL was correlated with poor overall survival (OS) of NSCLC patients [$P = 0.0008, HR = 1.27(1.10 - 1.45)$], but not with progression-free survival time (PFS). In patients with lung adenocarcinoma, FTL expression was statistically correlated with OS [$P = 0.0000, HR = 2.20(1.69 - 2.86)$] and PFS [$P = 0.0005, HR = 1.74(1.27 - 2.40)$], and the higher the expression, the worse the survival. However, the expression of FTL was not associated with OS and PFS in patients with lung squamous-cell carcinoma. As the censored value for OS, the expression of FTL was only related to the prognosis of patients with clinical stage I and II [$(P = 0.0000, HR = 2.12(1.56 - 2.87); P = 0.0000, HR = 2.22(1.49 - 3.32)$]. As the cutoff value for PFS, FTL was only related to the prognosis of patients with stage I [$P = 0.0154, HR = 1.74(1.11 - 2.74)$]. **Conclusion** High expression of FTL is not associated with clinicopathological features but associated with poor prognosis in NSCLC patients. FTL can be used to evaluate the prognosis of NSCLC patients.

Key words: Non-small cell lung cancer; Ferritin light chain; Immunohistochemistry; Prognosis

肺癌是目前全球发病率和死亡率较高的恶性肿瘤之一^[1],预后极差,年龄标准化 5 年生存率仅为 16.1%^[1]。非小细胞肺癌(NSCLC)作为肺癌中最主要的组织类型,寻找新的生物标记物、评估 NSCLC 患者预后十分必要。铁蛋白在人体各组织中广泛存在,目前被认为是一种肿瘤相关蛋白,其由 2 种不同的亚基构成,分别为 H 型亚基即铁蛋白重链和 L 型亚基即铁蛋白轻链(FTL)^[2]。铁蛋白具有强大的结合铁和储备铁的功能,除了在铁代谢过程中起作用外,其在血管形成、细胞增殖及免疫抑制中也有重要作用^[3],在许多恶性肿瘤中检测到铁蛋白高表达,且与肿瘤的转移、侵袭、对化疗药物抗性及相关不良预后相关^[3-4]。相关研究表明血清铁蛋白在骨髓瘤^[5]、肝癌^[6]、前列腺癌^[7]、胃癌^[8]、肺癌^[9]等患者中差异性表达,有助于其临床诊断及预后评估。作为铁蛋白的重要构成成分,FTL 与 NSCLC 的关系尚未见报道。本研究经免疫组化了解 FTL 在 NSCLC 组织中表达情况,探讨 FTL 高表达与 NSCLC 患者预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 组织样本 收集 2008 年至 2018 年天津市宝坻区人民医院病理科组织标本,均为已经完成石蜡包埋的组织蜡块,术后病理诊断为 NSCLC 者,其中癌组织 61 例,癌旁组织 51 例。统计 61 例肺癌组织标本的临床病理资料,定量资料以中位数为分组值,其中病理诊断为肺鳞状细胞癌的患者 23 例,肺腺癌的患者 38 例;年龄 <60 岁 28 例,≥60 岁 33 例;女性 20 例,男性 41 例;吸烟 17 例,不吸烟 44 例;肿瘤直径 <3.5 cm 30 例,≥3.5 cm 31 例;依据第 8 版国际肺癌 TNM 分期标准:I~II 期 36 例,III~IV 期 25 例。

1.2 免疫组化 常规石蜡切片,制片 4 μm 厚,脱蜡并行抗原修复,3% 双氧水阻断内源性过氧化物酶,3% BSA 进行血清封闭,滴加一抗 FTL 抗体(抗体按 1:200 稀释,抗体购自 Abcam 公司),湿盒内 4 ℃ 孵育过夜;滴加山羊抗兔二抗(1:200 稀释),室温孵育 50 min;DAB 显色后苏木素复染,脱水封片,光学显微镜观察并拍照(显微镜:NIKON Eclipse Ci,成像系统:NIKON digital sight DS-FI2,摄片倍数:200 ×),苏木素染细胞核为蓝色,DAB 显出的阳性表达为棕黄色。

组织切片半定量分析方法:组织切片中细胞为淡黄色至棕褐色者为阳性细胞标志。染色强度以多数细胞呈现的染色特性(染色深浅需与背景着色情况相对比)计分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性细胞百分比即某类细胞

5 个视野(200 ×)的阳性细胞平均数:0~5% 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分。每张切片随机取 5 个 200 倍视野,每个视野均进行染色强度计分与阳性细胞百分比计分。染色强度与阳性细胞百分比的乘积:0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为中度阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。计算评分的 ROC 曲线最佳截断点 6.1 为分组值,评分 ≤6.1 为低表达组,评分 >6.1 为高表达组。

1.3 Kaplan-Meier Plotter 生存分析 利用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库评估 FTL 的表达与 NSCLC 患者总生存期(OS)及无进展生存期(PFS)的关系,绘制生存曲线并计算风险比(HR)和 Log-Rank P 值。筛选数据过程为:(1) Cancer:lung cancer;(2) Gene symbol:FTL;(3) 探针选择 JetSet, Affymetrix ID:212788_x_at;(4) Survival:OS 和 PFS;(5) Follow up threshold:60 months。设置在不同截尾值 OS 或 PFS,分别分析 FTL 在肺鳞癌和腺癌中的预后作用及不同临床分期下 FTL 与肺癌患者预后的关系。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 20.0 进行统计学分析。 χ^2 检验评估 FTL 在癌组织和癌旁组织中表达的差异性及癌组织中 FTL 表达与临床病理学特征之间的关系。生存分析采用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库绘制生存曲线并进行 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FTL 在 NSCLC 癌组织和癌旁组织表达的差异 免疫组化检测结果显示,FTL 在 NSCLC 组织中的高表达率 72.1% (44/61) 高于癌旁组织中高表达率为 [33.3% (17/51), $\chi^2 = 16.859, P < 0.01$]。见表 1、图 1。

2.2 FTL 表达与 NSCLC 患者临床病理特征之间的关系 以 NSCLC 癌组织中 FTL 表达量的中位数为分组值,将 61 例患者分为 FTL 低表达组和 FTL 高表达组,两组年龄、性别、吸烟、肿瘤直径、病理类型、临床分期及 TNM 分期差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 FTL 高表达与 NSCLC 预后的关系 利用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库分析,分别绘制 1 926 例患者的 OS 生存曲线及 982 例患者 PFS 生存曲线,结果显示 FTL 高表达的 NSCLC 患者 OS 低于 FTL 低表达患者 [$P = 0.0008, HR = 1.27 (1.10 \sim 1.45)$] (图 2a),而 FTL 的表达水平与患者 PFS 无明显相关性 [$P = 0.2256, HR = 1.13 (0.93 \sim 1.37)$] (图 2b)。

分析 FTL 表达水平与 NSCLC 病理组织学之间的关系。分别绘制 720 例肺腺癌患者 OS 生存曲线和 461 例肺腺癌患者 PFS 生存曲线;524 例肺鳞癌患者 OS 生存曲线和 141 例肺鳞癌患者 PFS 生存曲线,结果显示,FTL 的表达与肺腺癌患者的 OS 及 PFS 均相关,其表达越高生存越差 [$P = 0.0000, HR = 2.20 (1.69 \sim 2.86)$]; $P = 0.0006, HR = 1.74 (1.27 \sim 2.40)$](图 2c、2d)。而 FTL 的表达与肺鳞癌患者 OS 及 PFS 均无关 [$P = 0.3642, HR = 1.13 (0.87 \sim 1.46)$]; $P = 0.8637, HR = 1.05 (0.62 \sim 1.77)$](图 2e、2f)。

进一步分析 FTL 表达水平与 NSCLC 患者临床分期的关系,将截尾值设置为 OS,绘制相应生存曲线,其结果显示 FTL 表达水平与临床 I 期和 II 期患者预后相关 [$P = 0.0000, HR = 2.12 (1.56 \sim 2.87)$]; $P = 0.0000, HR = 2.22 (1.49 \sim 3.32)$],而与临床 III 期患者预后无关 [$P = 0.6747, HR = 1.13 (0.63 \sim 2.03)$](图 3),数据库中 IV 期患者 4 例,样本太少无法做生存分析。将截尾值设置为 PFS,结果显示 FTL 与 I 期患者预后相关 [$P = 0.0154, HR = 1.74 (1.11 \sim 2.74)$],与 II 期患者预后无关 [$P = 0.4359, HR = 0.81 (0.48 \sim 1.37)$](图 4),III 期患者 19 例,IV 期患者 0 例,均因样本太少无法做生存分析。截尾值无论为 OS 还是 PFS,FTL 表达均与早期患者预后具有更好的相关性,且 FTL 表达水平越高其生存越差。

3 讨论

肺癌早期临床表现不明显,发现时多已至中晚期,导致肺癌患者预后极差。NSCLC 作为肺癌的主要病理类型,探究新的生物标记物在 NSCLC 患者的诊断治疗和远期预后评估中具有十分重要的意义。

FTL 作为铁蛋白的重要亚基之一,在人体内铁的代谢和铁储存中起重要作用^[2],其变化必然影响细胞组织的铁摄取和释放,进而可能导致其他分子生物学的变化,参与一系列病理过程和疾病的发生发展。同样,当细胞的结构和功能发生改变时,也会影

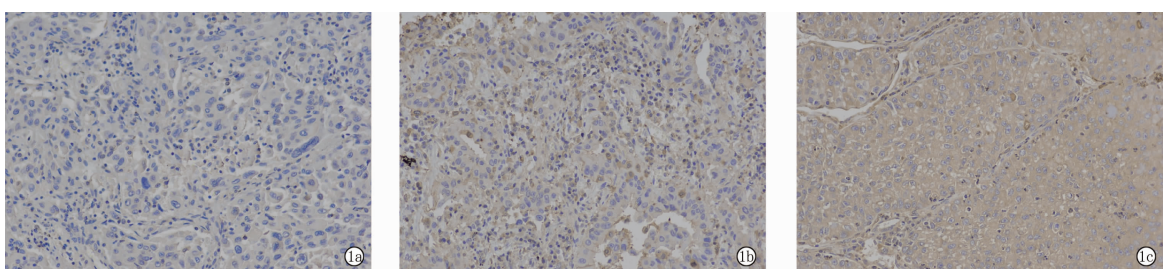
响 FTL 的表达水平,因此,FTL 的变化可能预示着一些疾病的发生。相关报道表明 FTL 与肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 及肿瘤抑制基因 p53 之间存在相互作用^[10-11]。已有大量研究结果显示 FTL 与多种疾病相关,Bertoli 等^[12]研究表明 FTL 在 AML 和白血病干细胞中过表达,认为铁蛋白可能通过激活核因子 κ B (NF- κ B) 信号传导,氧化应激,激活炎症细胞因子参与白血病的发生发展。而对 FTL 自身抗体的检测表明在整个消化道肿瘤尤其肝癌患者中表达增高^[13]。对于一些癌前病变,如肠上皮化生亦检测到高水平的

表 1 FTL 在 NSCLC 组织和癌旁组织中的表达 (例)

组别	例数	FTL		χ^2 值	P 值
		高表达	低表达		
癌旁组织	51	17	34	16.859	<0.01
癌组织	61	44	17		

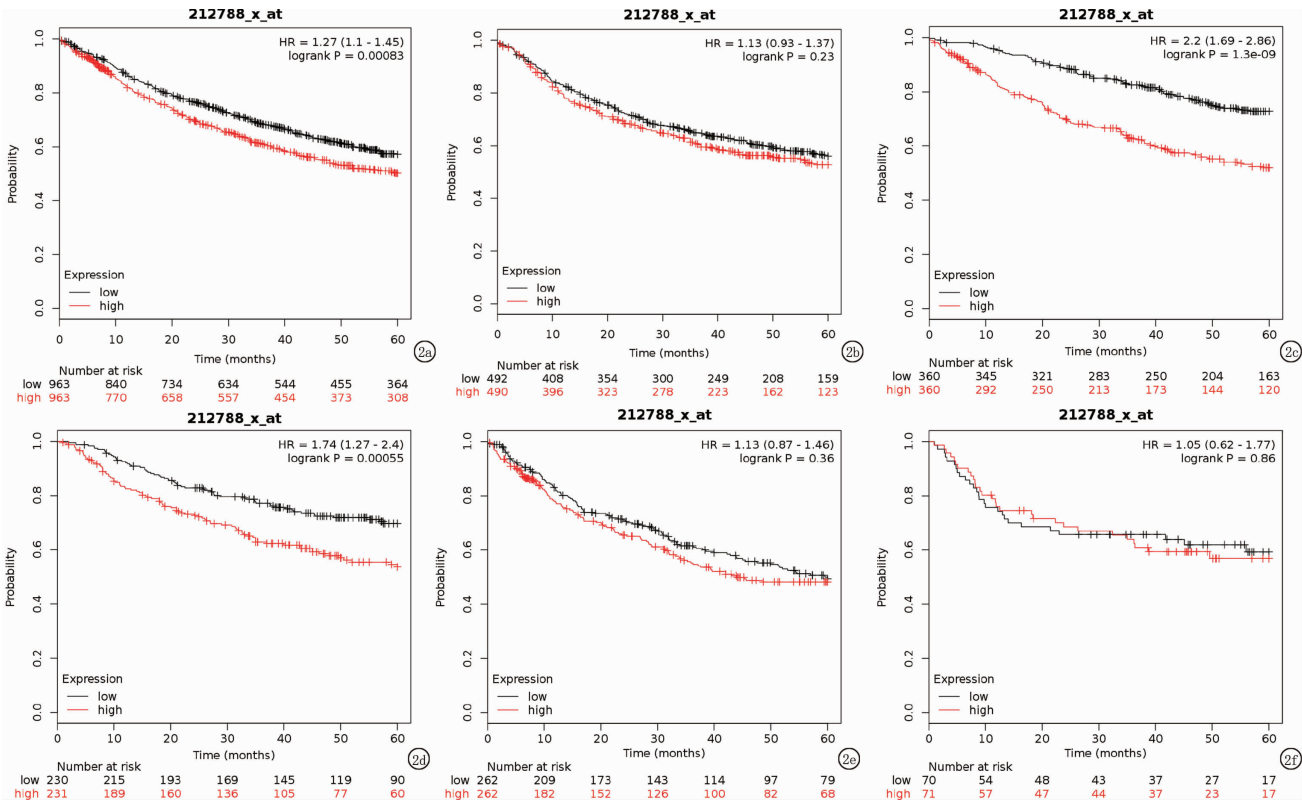
表 2 FTL 表达与 61 例 NSCLC 患者临床病理特征的关系 (例)

临床参数	例数	FTL		χ^2 值	P 值
		低表达(n=29)	高表达(n=32)		
年龄(岁)				2.903	0.088
<60	28	10	18		
≥ 60	33	19	14		
性别				0.664	0.415
女	20	11	9		
男	41	18	23		
吸烟				1.417	0.234
是	17	6	11		
否	44	23	21		
肿瘤直径(cm)				0.794	0.373
<3.5	30	16	14		
≥ 3.5	31	13	18		
病理类型				0.001	0.972
鳞癌	23	11	12		
腺癌	38	18	20		
临床分期				0.338	0.561
I ~ II	36	16	20		
III ~ IV	25	13	12		
T 分期				2.308	0.129
T1 ~ T2	45	24	21		
T3 ~ T4	16	5	11		
N 分期				0.180	0.893
N0	31	15	16		
N1 ~ N3	30	14	16		
M 分期				0.019	0.890
M0	54	25	29		
M1	7	4	3		



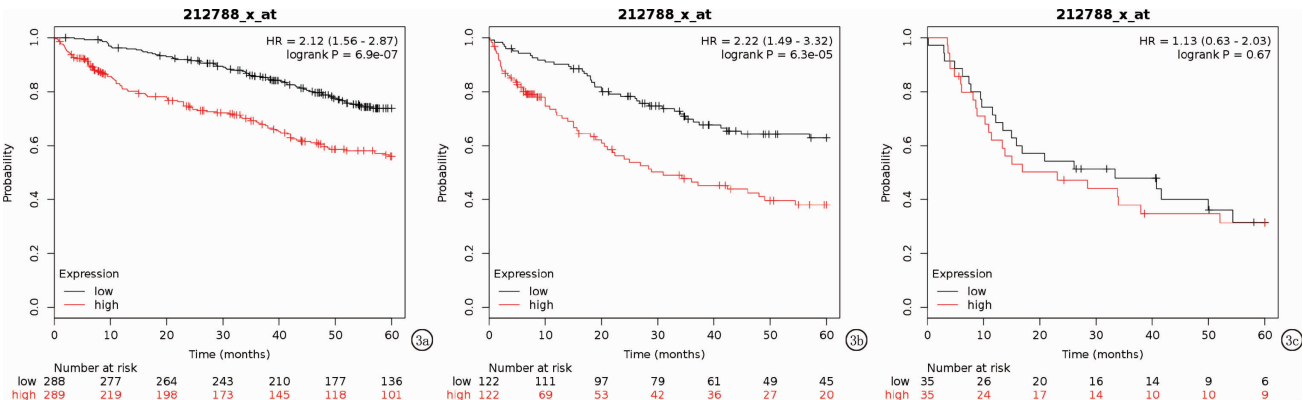
注:1a:为弱阳性;1b:为中性;1c:为强阳性。

图 1 免疫组化检测 FTL 表达结果对比(SP 法, $\times 200$)



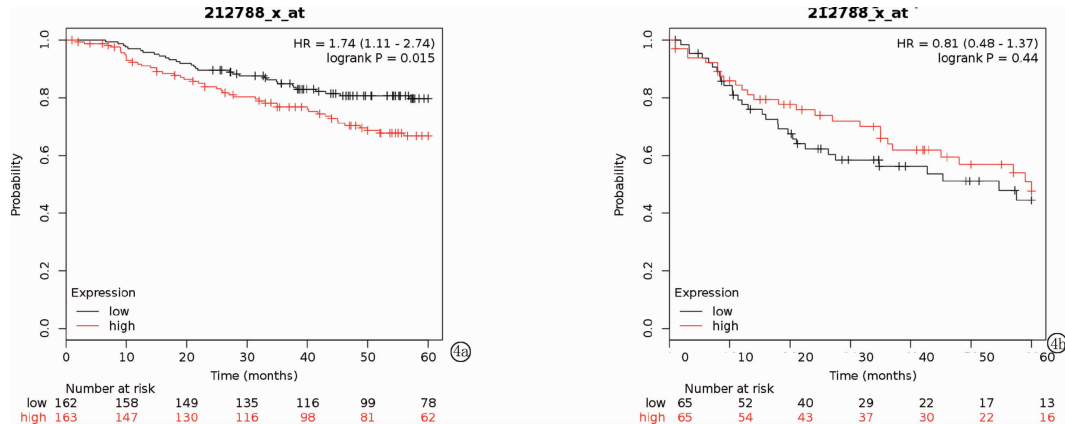
注:2a:1 926 例 NSCLC 患者 5 年 OS 生存曲线;2b:982 例 NSCLC 患者 5 年 PFS 生存曲线;2c:720 例肺腺癌患者 OS 生存曲线;2d:461 例肺腺癌患者 5 年 PFS 生存曲线;2e:524 例肺鳞癌患者 OS 生存曲线;2f:141 例肺鳞癌患者 PFS 生存曲线。

图 2 在线数据库 NSCLC、肺腺癌与肺鳞癌患者 OS、PFS 生存曲线



注:3a:577 例临床 I 期患者 OS 生存曲线;3b:244 例临床 II 期患者 OS 生存曲线;3c:70 例临床 III 期患者 OS 生存曲线。

图 3 在线数据库不同临床分期肺癌患者 OS 生存曲线



注:4a:325 例临床 I 期患者 PFS 生存曲线;4b:130 例临床 II 期患者 PFS 生存曲线。

图 4 在线数据库不同临床分期肺癌患者 PFS 生存曲线

FTL 表达^[14],可见 FTL 对消化道肿瘤患者早期筛查诊断具有重要意义。Jézéquel 等^[15]通过 CD68 和 FTL 的免疫组化比较,得出结论:FTL 是具有侵袭性表型的乳腺肿瘤的标志物,基于蛋白质组学研究结果显示 FTL 是淋巴结阴性乳腺癌的独立预后标记物^[16]。其他相关报道还提示 FTL 与前列腺癌^[17]、卵巢癌^[18]、头颈部肿瘤^[19]等关系密切。以上研究均提示 FTL 参与人体多种肿瘤的发生、发展,并在患者预后中扮演着重要的角色。

FTL 与 NSCLC 之间的关联目前鲜有研究。本研究对 61 例 NSCLC 癌组织及 51 例癌旁组织进行免疫组化检测,半定量评分发现 FTL 在癌组织中表达量明显高于癌旁组织,这可能预示 FTL 在 NSCLC 的发生发展中亦有一定作用。继续研究显示,癌组织中 FTL 表达量与患者相关临床病理参数(年龄、性别、吸烟、肿瘤大小、临床分期、TNM 分期)之间并无明显相关性,此结果可能与样本量较少有关,有待大样本的进一步研究去评估。用 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库进行生存分析,结果显示 FTL 与 NSCLC 患者 OS 相关而与患者 PFS 无关,且 FTL 高表达组 OS 低于 FTL 低表达组;FTL 表达量与肺鳞状细胞癌患者 OS 及 PFS 均无关,而与肺腺癌患者 OS 及 PFS 均相关。在不同临床分期中,截尾值无论是 OS 还是 PFS,均表明 FTL 的表达量对肺癌早期患者具有更好的预后价值。

综上所述,FTL 在 NSCLC 癌组织中高表达,与 NSCLC 患者预后密切相关,对临床判断 NSCLC 患者预后情况具有重要价值。

参考文献

[1] Zheng RS, Zeng HM, Zhang SW, et al. Lung cancer incidence and mortality in China, 2010 [J]. *Thorac Cancer*, 2014, 5 (4): 330 - 336.

[2] Torti SV, Torti FM. Iron and cancer: more ore to be mined [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13 (5): 342 - 355.

[3] Alkhatieb AA, Connor JR. The significance of ferritin in cancer: anti-oxidation, inflammation and tumorigenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1836 (2): 245 - 254.

[4] Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, et al. Ferritin for the clinician [J]. *Blood Rev*, 2009, 23 (3): 95 - 104.

[5] 王海颖,李永伟.血清叶酸、铁蛋白监测在多发骨髓瘤诊治中的价值研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26 (19): 117 - 119.

[6] 袁星星,姜菲菲,贾泳梅,等.血清铁蛋白和甲胎蛋白及甲胎蛋白异质体-L3 单项与联合检测对原发性肝癌辅助诊断的临床应用价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39 (8): 604 - 608.

[7] 薛冬,周萃星,陆皓,等.血清铁蛋白与前列腺癌骨转移的关系[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33 (6): 1507 - 1509.

[8] 王竞,崔桂荣,刘为平.血清铁蛋白对胃癌的诊断价值[J]. *现代中西医结合杂志*, 2015, 24 (36): 4047 - 4048.

[9] 汪硕敏,顾康生.血清癌胚抗原、铁蛋白和糖基抗原 199 在非小细胞肺癌诊断中的临床价值[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53 (9): 1444 - 1447.

[10] Lee JH, Jang H, Cho EJ, et al. Ferritin binds and activates p53 under oxidative stress [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389 (3): 399 - 404.

[11] 张洁,张永泽,柳彩芝,等.铁蛋白轻链真核表达载体的构建[J]. *生物技术*, 2014, 24 (1): 4 - 7.

[12] Bertoli S, Paubelle E, Bérard E, et al. Ferritin heavy/light chain (FTH1/FTL) expression, serum ferritin levels, and their functional as well as prognostic roles in acute myeloid leukemia [J]. *Eur J Haematol*, 2019, 102 (2): 131 - 142.

[13] 王晓蕊,张春霞,任鹏飞,等.消化道肿瘤患者抗 FTL 自身抗体检测及诊断意义[J]. *中国公共卫生*, 2013, 29 (5): 666 - 668.

[14] Hamed Asl D, Naserpour Farivar T, Rahmani B, et al. The role of transferrin receptor in the *Helicobacter pylori* pathogenesis; L-ferritin as a novel marker for intestinal Metaplasia [J]. *Microb Pathog*, 2019, 126: 157 - 164.

[15] Jézéquel P, Campion L, Spyrtos F, et al. Validation of tumor-associated macrophage ferritin light chain as a prognostic biomarker in node-negative breast cancer tumors: a Multicentric 2004 National PHRC study [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131 (2): 426 - 437.

[16] Torti SV, Torti FM. Cellular iron metabolism in prognosis and therapy of breast cancer [J]. *Crit Rev Oncog*, 2013, 18 (5): 435 - 448.

[17] 陈宁,陈晨,李治国,等.铁蛋白轻链在前列腺癌中的表达及意义[J]. *贵州医药*, 2016, 40 (6): 569 - 571.

[18] 蒋金朋.上皮性卵巢癌患者铁代谢状态研究[D]. 荆州:长江大学, 2018.

[19] 冯国飞,梁瑜珊,钟素华,等.转铁蛋白受体 1 在头颈肿瘤中的表达及其意义[J]. *广西医科大学学报*, 2019, 36 (5): 691 - 695.

收稿日期:2019-09-08 编辑:王海琴