

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.12.005

❖ 临床研究 ❖

皮肤鳞状细胞癌血清 PD-L1、Annexin A2 表达及其临床意义

吴海严¹, 张帆²

(南京医科大学附属淮安第一医院, 1. 烧伤整形科; 2. 肿瘤内科, 江苏 淮安 223001)

【摘要】目的: 探讨皮肤鳞状细胞癌 (CSCC) 血清程序性死亡配体-1 (PD-L1)、膜联蛋白 A2 (Annexin A2) 表达及其临床意义。**方法:** 选取 81 例 CSCC 患者为研究组, 40 例同期皮肤良性病变患者为对照组。比较两组患者及研究组不同病理特征和预后患者血清 PD-L1、Annexin A2 表达水平; 分析 PD-L1、Annexin A2 在 CSCC 与皮肤良性病变鉴别诊断中的价值及其表达水平与临床病理特征和预后的相关性。**结果:** 研究组患者血清 PD-L1、Annexin A2 高于对照组 ($P < 0.05$)。研究组不同性别、年龄、肿瘤部位患者血清 PD-L1、Annexin A2 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 不同淋巴结转移情况、分化程度、肿瘤大小、预后情况患者血清 PD-L1、Annexin A2 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示, 血清 PD-L1 和 Annexin A2 诊断 CSCC 的敏感性分别为 85.00% 和 92.50%, 特异性分别为 87.65% 和 58.02%。相关分析显示, CSCC 患者血清 PD-L1、Annexin A2 与淋巴结转移情况、分化程度、肿瘤大小、预后情况水平呈正相关 (PD-L1: $r = 0.711, 0.552, 0.338, 0.261, P < 0.05$; Annexin A2: $r = 0.299, 0.299, 0.334, 0.230, P < 0.05$)。**结论:** 血清 PD-L1、Annexin A2 与 CSCC 患者部分临床病理特征及预后存在一定联系, 有一定诊断价值。

【关键词】 皮肤鳞状细胞癌; 程序性死亡配体-1; 膜联蛋白 A2; 临床病理特征; 预后

【中图分类号】 R739.5 **【文献标志码】** A

Expressions and clinical significance of serum PD-L1 and Annexin A2 in cutaneous squamous cell carcinoma

WU Hai-yan¹, ZHANG Fan²

(1. Department of Burn and Plastic Surgery; 2. Department of Medical Oncology, the Affiliated Huai'an No. 1 Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223001, Jiangsu, China)

【Abstract】Objective: To explore the expressions and clinical significance of serum programmed death ligand-1 (PD-L1) and Annexin A2 in cutaneous squamous cell carcinoma (CSCC). **Methods:** 81 patients with CSCC (study group) and 40 patients with benign skin lesions (control group) were retrospectively analyzed. The expression levels of serum PD-L1 and annexin A2 in patients with different pathological features and prognosis were compared between the two groups. The diagnostic value and expression levels of PD-L1 and Annexin A2 on distinguishing CSCC and benign skin lesions was analyzed, and the correlation between clinicopathological characteristics and prognosis in patients were analyzed. **Results:** The levels of serum PD-L1 and Annexin A2 in study group were higher than those in control group ($P < 0.05$). There were no statistical differences in the levels of serum PD-L1 and Annexin A2 among patients with different genders, ages and tumor sites in the study group ($P > 0.05$), and there were significant differences in the levels of serum PD-L1 and Annexin A2 among patients with different lymph node metastases, differentiation degrees, tumor sizes and prognosis ($P < 0.05$). ROC curve analysis of diagnostic efficacy of serum PD-L1 and Annexin A2 showed that the sensitivity and specificity were 85.00% and 87.65% of serum PD-L1 and 92.50% and 58.02% of Annexin A2 respectively. Spearman correlation analysis showed that serum PD-L1 and Annexin A2 in patients with CSCC were positively correlated with lymph node metastasis, differentiation degree, tumor size and prognosis (PD-L1: $r = 0.711, 0.552, 0.338, 0.261$, Annexin A2: $r = 0.299, 0.299, 0.334, 0.230$, all $P < 0.05$). **Conclusion:** Serum PD-L1 and Annexin A2 have a certain relationship with some clinicopathological characteristics and prognosis of patients with CSCC, and they have certain diagnostic value.

【Key words】 Cutaneous squamous cell carcinoma; Programmed death ligand-1; Annexin A2; Clinicopathological characteristics; Prognosis

基金项目: 江苏省中医药科研课题 (YB2015125)

作者简介: 吴海严 (1992 -), 男, 硕士, 住院医师。E-mail: drwhy0123@163.com

皮肤鳞状细胞癌(cutaneous squamous cell carcinoma, CSCC)是临床第二常见的非黑色素皮肤肿瘤,发病率仅次于基底细胞癌,转移率及病死率均较高^[1]。目前,CSCC 治疗的主要方法为显微外科手术及标准手术切除,亦可选择放疗及进一步淋巴结切除^[2]。程序性死亡受体-1(programmed cell death protein 1, PD-1)是一种 I 型跨膜糖蛋白,在活化的 T 细胞、B 细胞、单核细胞等细胞中均有表达。程序性死亡配体-1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)可识别 PD-1 并与其结合,PD-1/PD-L1 通路的激活可导致免疫抑制性肿瘤微环境形成,进而使肿瘤细胞逃避免疫杀伤^[3]。膜联蛋白 A2(annexin A2)是一类广泛存在于真核细胞的钙磷脂结合蛋白。研究^[4]认为,Annexin A2 与肿瘤大小、病情严重程度、是否转移等密切相关。本文探讨 CSCC 患者血清 PD-L1、Annexin A2 表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月至 2020 年 6 月于南京医科大学附属淮安第一医院收治的 81 例 CSCC 患者为研究组,40 例皮肤良性病变患者为对照组。研究组中,男性 49 例,女性 32 例;平均年龄(49.59 ± 9.46)岁。对照组中,男性 26 例,女性 14 例;平均年龄(47.05 ± 9.12)岁;银屑病 18 例,带状疱疹 9 例,湿疹 8 例,红皮病 5 例。本研究严格遵循赫尔辛基宣言。两组患者性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。纳入标准:(1)经组织活检、全身皮肤检查、MRI 检查,符合 CSCC 诊断标准者^[5];(2)年龄 > 18 岁者;(3)患者及家属充分知情同意,签署知情同意书。排除标准:(1)临床资料如一般资料、病历资料缺失者;(2)入院前进行抗肿瘤治疗者;(3)合并全身其他恶性肿瘤者。

1.2 方法

1.2.1 临床病历收集 包括患者性别、年龄、是否存在淋巴结转移、肿瘤部位、大小及分化程度、预后等。

1.2.2 CSCC 预后评估 参照 Dougherty 疗效评估标准^[6]进行。完全反应(CR):患者病变消失,仅残留色素沉着或色素减退,组织学检查无异常发现;部分反应(PR):> 50% 肿瘤组织被杀死;无效(NR):肿瘤组织缩小 < 50% 或无改变。CR + PR 视为预后有效。

1.2.3 酶联免疫吸附试验 采集患者治疗前清晨空腹外周静脉血,离心处理后进行检测检测患者血清 PD-L1(货号:FNab06281,武汉菲恩生物科技有限

公司)和 Annexin A2(货号:FNab00431,武汉菲恩生物科技有限公司)水平。PD-L1 和 Annexin A2 标准品稀释分别制作标准曲线,100 μL 血清样本添加到 96 孔板中,室温孵育 2 h,清洗液洗两次,加入 A 试剂 100 μL,37 °C 孵育 60 min,再加入 B 试剂 100 μL,37 °C 孵育 30 min,然后加入底物溶液 90 μL,37 °C 孵育 25 min,最后每孔添加终止液 50 μL,酶标仪读取 450 nm 处吸光度值,根据标准曲线分别计算血清 PD-L1 和 Annexin A2 的浓度。

1.3 观察指标

(1)血清 PD-L1 及 Annexin A2 表达水平;(2)PD-L1 及 Annexin A2 在 CSCC 与皮肤良性病变鉴别诊断中的价值;(3)PD-L1 及 Annexin A2 表达水平与 CSCC 患者临床病理特征及预后的相关性。

1.4 统计学分析

采用 SPSS19.0 软件数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 检验;诊断价值采用受试者工作特征曲线(ROC)分析;相关性采用 Spearman 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清 PD-L1 及 Annexin A2 表达水平比较

研究组患者血清 PD-L1、Annexin A2 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者血清 PD-L1 及 Annexin A2 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	PD-L1 (pg/mL)	Annexin A2 (μg/L)
研究组 ($n = 81$)	367.58 ± 79.51	251.83 ± 52.48
对照组 ($n = 40$)	259.21 ± 56.93	192.76 ± 40.24
t 值	7.694	6.263
P 值	<0.001	<0.001

2.2 血清 PD-L1 及 Annexin A2 在 CSCC 中的诊断效能

ROC 曲线分析显示,血清 PD-L1、Annexin A2 诊断 CSCC 的敏感性分别为 85.00%、92.50%,特异性分别为 87.65%、58.02%。见表 2 及图 1。

2.3 不同临床病理特征及预后 CSCC 患者血清 PD-L1 及 Annexin A2 水平比较

血清 PD-L1、Annexin A2 水平与 CSCC 患者性别、年龄、肿瘤部位差异无统计学意义($P > 0.05$),与 CSCC 患者淋巴结转移、分化程度、肿瘤大小、预后差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 血清 PD-L1、Annexin A2 在 CSCC 中的诊断效能

指标	最佳预测临界点	AUC	95% CI	敏感性(%)	特异性(%)	Z 值	P 值
PD-L1 (pg/mL)	279.21	0.899	0.831 ~ 0.946	85.00	87.65	14.161	<0.05
Annexin A2 (μg/L)	243.46	0.827	0.748 ~ 0.890	92.50	58.02	8.857	<0.05

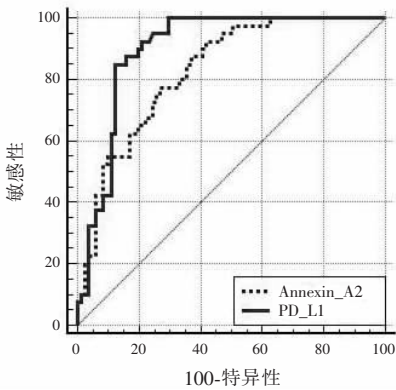


图 1 血清 PD-L1 及 Annexin A2 诊断 CSCC 的 ROC 曲线

表 3 不同临床病理特征及预后 CSCC 患者血清 PD-L1 及 Annexin A2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	PD-L1 (pg/mL)	t 值	P 值	Annexin A2 (μg/L)	t 值	P 值
性别			0.187	0.853		1.213	0.229
女	32	365.54 ± 78.12			243.34 ± 52.18		
男	49	368.91 ± 80.35			257.37 ± 50.04		
年龄(岁)			0.267	0.789		0.436	0.664
<60	36	364.16 ± 75.48			248.68 ± 53.27		
≥60	45	370.32 ± 82.63			254.35 ± 49.56		
淋巴结转移			2.954	0.004		0.490	<0.001
无	20	321.57 ± 70.16			212.83 ± 49.68		
有	61	382.67 ± 83.22			264.62 ± 43.42		
分化程度			2.852	0.006		3.154	0.002
低	31	335.35 ± 76.63			228.64 ± 47.25		
高	50	387.72 ± 82.52			266.21 ± 54.86		
肿瘤部位			0.771	0.443		1.929	0.057
曝光	62	363.90 ± 75.83			246.57 ± 50.84		
生殖器	19	379.58 ± 82.98			268.99 ± 53.38		
肿瘤大小(cm)			2.624	0.010		2.957	0.004
<2	38	344.26 ± 68.25			233.39 ± 51.28		
≥2	43	388.19 ± 80.07			268.13 ± 54.03		
预后			4.609	<0.001		2.228	0.029
有效	55	340.74 ± 72.54			242.97 ± 50.35		
无效	26	424.36 ± 83.66			270.58 ± 55.61		

2.4 血清 PD-L1 及 Annexin A2 水平与 CSCC 患者临床病理特征及预后的相关性

相关分析显示, CSCC 患者血清 PD-L1、Annexin A2 水平与淋巴结转移情况、分化程度、肿瘤大小、预后呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 血清 PD-L1 及 Annexin A2 水平与 CSCC 患者临床病理特征及预后情况的相关性

指标	PD-L1		Annexin A2	
	r 值	P 值	r 值	P 值
淋巴结转移情况	0.711	0.001	0.299	0.011
分化程度	0.552	0.001	0.299	0.011
肿瘤大小	0.338	0.008	0.334	0.005
预后	0.261	0.014	0.230	0.019

3 讨论

CSCC 是一种起源于表皮或附属角质形成细胞的恶性肿瘤,是我国发病率最高的非黑色素皮肤肿瘤,患者表现为局部皮肤呈菜花状,甚至出现溃疡及恶臭^[7]。CSCC 发病机制复杂,与之相关的基因通路尚在不断研究中。目前,治疗 CSCC 的主要方法是手术,在彻底切除患者病灶的同时兼顾患者术后创面的修复,以期最大程度保证患者局部外观及功能的保留和恢复,对于皮损数量较多、面积较大且发生于特殊部位如外阴而无法实施手术治疗的,则予以药物治疗。

PD-L1 属于 B7 家族,与其他 B7 家族分子的不同之处在于 PD-L1 具备负向调节免疫应答的作用^[8]。已有研究^[9]证实,PD-1 与 PD-L1 结合后,不仅可调控淋巴细胞功能,还可影响 T 细胞分化,抑制炎性介质释放,进而促进调节性 T 细胞生成,借此发挥调控免疫应答、建立免疫耐受等作用。Annexin A2 广泛表达于人体的内皮细胞、单核/巨噬细胞、成骨细胞、神经细胞中,参与纤维蛋白溶解、信号转导、细胞迁移等各种生理过程,且在肿瘤细胞呈高表达状态^[10]。邱禹杉等^[11]研究认为,Annexin A2 可通过多种途径影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、转移、侵袭、新血管生成等过程。本研究结果显示,研究组患者血清 PD-L1、Annexin A2 表达水平高于对照组 ($P < 0.05$),原因可能是血清 PD-L1 存在与细胞膜表面分子相似的生物学功能,可参与 CSCC 患者疾病的发生及发展,而皮肤良性病变患者的免疫反应不如 CSCC 患者强烈;Annexin A2 水平的上升则可能与相关指标的异常表达,通过影响血管内皮细胞而促使外周血中的 Annexin A2 水平上升有关。ROC 曲线分析显示,血清 PD-L1、Annexin A2 对

CSCC 的诊断敏感性分别为 85.00%、92.50%，特异性分别为 87.65%、58.02%，说明早期进行血清 PD-L1、Annexin A2 水平检测对区分 CSCC 患者与皮肤良性病变患者有一定临床价值。

相关分析显示，CSCC 患者血清 PD-L1、Annexin A2 与淋巴结转移情况、分化程度、肿瘤大小、预后情况水平呈正相关 ($P < 0.05$)，说明血清 PD-L1、Annexin A2 对预测 CSCC 患者淋巴结转移、分化程度、肿瘤大小及预后情况均有一定价值。现代医学研究^[12]认为，在肿瘤的发生、发展过程中常伴随上皮细胞间质化发生，而上皮细胞间质化的加速对肿瘤的免疫逃避形成及恶性转变有促进作用。在本研究中，血清 PD-L1 与肿瘤大小存在正相关性的原因可能与 PD-L1 的过表达可促进上皮细胞间质化发生，进而促进肿瘤生成有关。PD-L1 可用于预测淋巴结转移情况，原因可能是 PD-L1 可通过抑制 T 淋巴细胞的增殖及存货，诱导抗原特异性 T 细胞凋亡，进而促使肿瘤细胞发生免疫逃逸，使肿瘤发生浸润转移。此外，血清 Annexin A2 水平与 CSCC 患者肿瘤大小正相关的原因可能是 Annexin A2 与 CSCC 患者机体内细胞因子产生相互作用，可调节纤溶亢进、组织重塑，对肿瘤细胞粘附有促进作用，且高 Annexin A2 水平可促进肿瘤新血管生成^[13]。杨世权等^[14]研究认为，Annexin A2 表达水平与组织病理分级存在相关性，中低分化的头颈部鳞状细胞癌患者的 Annexin A2 表达呈现抑制，借此推测 Annexin A2 可通过影响患者上皮组织的生长重塑进而影响肿瘤的发生、生长及转移。因此，高 Annexin A2 水平患者的预后受 Annexin A2 影响而不佳。

综上所述，检测 CSCC 患者的血清 PD-L1、Annexin A2 对患者疾病诊断有一定作用，且二者与 CSCC 的部分临床病理特征及预后均存在相关性，可能对临床预测患者预后结局有一定帮助。

参考文献

[1] Nelson R, Luu L, Silberstein P, et al. Novel treatment of locally ad-

vanced cutaneous squamous cell carcinoma with cemiplimab; a case report [J]. *Int J Dermatol*, 2021, 60(2): 233 - 235.

[2] Tejera-Vaquero A, Caueto J, Llombart B, et al. Predictive Value of Sentinel Lymph Node Biopsy in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Based on the AJCC-8 and Brigham and Women's Hospital Staging Criteria [J]. *Dermatologic Surgery*, 2020, 46(7): 857 - 862.

[3] Salmon H, Idoyaga J, Rahman A, et al. Expansion and Activation of CD103 (+) Dendritic Cell Progenitors at the Tumor Site Enhances Tumor Responses to Therapeutic PD-L1 and BRAF Inhibition [J]. *Immunity*, 2016, 44(4): 924 - 938.

[4] Wang Y, Chen K, Cai Y, et al. Annexin A2 could enhance multidrug resistance by regulating NF- κ B signaling pathway in pediatric neuroblastoma [J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2017, 36(1): 111.

[5] 朱路得, 王佩茹, 张国龙, 等. 2017 年美国皮肤病学会《皮肤鳞状细胞癌的管理指南》解读 [J]. *中国循证医学杂志*, 2018, 18(4): 289 - 294.

[6] 涂彩霞, 林茂, 唐田, 等. 光动力疗法治疗皮肤癌前病变及恶性肿瘤的临床观察 [J]. *中国激光医学杂志*, 2016, 25(5): 46.

[7] 郭济茵, 李青峰. 皮肤鳞状细胞癌的研究进展 [J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2018, 14(2): 59 - 62.

[8] Li CW, Lim SO, Chung EM, et al. Eradication of Triple-Negative Breast Cancer Cells by Targeting Glycosylated PD-L1 [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(2): 187-201.

[9] Goodman A, Patel SP, Kurzrock R. PD-1 - PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas [J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2017, 14(4): 203 - 220.

[10] Christensen MV, Hgdall C, Jensen SG, et al. Annexin A2 and S100A10 as Candidate Prognostic Markers in Epithelial Ovarian Cancer [J]. *Anticancer Research*, 2019, 39(5): 2475 - 2482.

[11] 邱禹杉, 李隆敏, 许桐瑛, 等. AnnexinA2 与肿瘤侵袭和转移关系的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(13): 2152 - 2155.

[12] Lupia M, Angiolini F, Bertalot G, et al. CD73 Regulates Stemness and Epithelial-Mesenchymal Transition in Ovarian Cancer-Initiating Cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(4): 1412 - 1425.

[13] 蒋丽, 张桂英, 张晓梅, 等. 膜联蛋白 A2 对人结肠癌细胞 SW620 侵袭迁移的影响 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2016, 29(5): 249 - 253.

[14] 杨世权, 周晶, 任霞斌, 等. 鼻咽癌组织中 ZEB2、AnnexinA2、LMP2A 的表达及其与预后情况、恶性分子的相关性 [J]. *海南医学院学报*, 2018, 24(13): 1287 - 1290.

(收稿日期: 2021 - 08 - 05 修回日期: 2021 - 08 - 26)