

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2023-02-003

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

肺癌患者血清鞘氨醇的相关性分析^①

李婉莲^{a②}, 黄凯^{a②}, 孙甜^a, 朱容平^a, 肖娟^{ab③}

(桂林医学院附属医院 a. 广西肝脏损伤与修复分子医学重点实验室, b. 中美健康与疾病脂质研究中心, 广西桂林 541001)

摘要 目的:探究血清鞘氨醇与肺癌的相关性。方法:选取155例肺癌患者作为实验组和34例健康者作为对照组,用HPLC法检测血清鞘氨醇的含量,采用ROC曲线确定血清鞘氨醇阈值,Logistic回归分析血清鞘氨醇与肺癌临床病理参数的关系,最后分析血清鞘氨醇与癌胚抗原(CEA)联合诊断肺癌的价值。结果:实验组血清鞘氨醇含量显著高于对照组($P<0.05$);ROC曲线显示术前血清鞘氨醇的最佳诊断值为13.70 ng/ml,诊断特异度为44.10%,灵敏度为80.60%;血清鞘氨醇与肺癌远端转移、肿瘤大小和肿瘤分期有关($P<0.05$);且肿瘤大小和远端转移均为血清鞘氨醇含量上调的两个独立危险因素;血清鞘氨醇和CEA对肺癌诊断的阳性率分别为80.65%和55.48%,联合使用血清鞘氨醇与CEA,阳性率提高到89.68%。结论:血清鞘氨醇可作为潜在的肺癌诊断及恶性程度监测指标。

关键词: 血清鞘氨醇;肺癌;肿瘤大小;远端转移

中图分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2023)02-0018-06

Correlation analysis of serum sphingosine in lung cancer patients^①

LI Wanlian^{a②}, HUANG Kai^{a②}, SUN Tian^a, ZHU Rongping^a, XIAO Juan^{ab③}

(a. Guangxi Key Laboratory of Molecular Medicine in Liver Injury and Repair, b. Sino-American Lipids Research Center for Health and Disease, the Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China)

Abstract Objective: To investigate the correlation between serum sphingosine and lung cancer. Methods: 155 lung cancer patients were selected as the experimental group and 34 healthy people were included as the control group. The content of serum sphingosine was detected by HPLC, and the threshold of serum

① 基金项目:“广西特聘专家”专项经费资助项目(2019B12);桂林市科学研究与技术开发计划项目(20210102-1);广西壮族自治区卫生健康委员会广西神经鞘脂代谢相关疾病基础研究重点实验室建设经费项目(ZJC2020005);广西自然科学基金面上项目(2020GXNSFAA297254);广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2019KY0524);广西肝脏损伤与修复分子医学重点实验室开放课题(20303010101837)。

② 第一作者简介:李婉莲,硕士,助理研究员,研究方向为肝脏再生;黄凯,硕士,助理研究员,研究方向为肝脏再生。

③ 通信作者:肖娟,E-mail:xiaojuan@glmc.edu.cn。

sphingosine was determined by ROC curve. The relationship between serum sphingosine and clinicopathological parameters of lung cancer patients was analyzed by Logistic regression. Finally, the combined diagnostic values of serum sphingosine and carcinoembryonic antigen (CEA) for lung cancer were analyzed. Results: Serum sphingosine content in the experimental group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$); Roc curve indicated that the optimal preoperative diagnostic value of serum sphingosine was 13.70 ng/ml, diagnostic specificity was 44.10%, and the sensitivity was 80.60%; serum sphingosine was associated with the size and TNM stage of distant metastatic lung cancer ($P < 0.05$); tumor size and distal metastasis were two independent risk factors for up-regulated serum sphingosine content; the diagnostic positive rates of serum sphingosine and CEA were 80.65% and 55.48%, respectively, and the positive diagnostic rate could be increased to 89.68% by using the combined serum sphingosine and CEA. Conclusion: Serum sphingosine can be used as a potential indicator for the diagnosis and malignant degree monitoring of lung cancer.

Keywords: serum sphingosine; lung cancer; tumor size; distant metastasis

肺癌是世界上最常见的癌症之一,其发病率居我国肿瘤首位^[1]。目前,用于检测肺癌的生物标志物有神经元特异性烯醇化酶、鳞状细胞癌抗原和细胞角蛋白19片段等^[1-2]。然而,由于这些标志物的早期诊断效果较差,导致肺癌患者预后差,提高早期诊断率可显著改善肺癌患者的预后^[3]。因此,新型高效诊断标志物的发现对该病的治疗具有重要意义。

鞘磷脂不仅是细胞膜的重要组成部分,而且可作为细胞内信使参与细胞生长、凋亡、增殖和侵袭等多种生物活动^[4]。鞘磷脂主要包括神经酰胺、鞘氨醇以及1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)等。其中,神经酰胺可被神经酰胺酶水解生成鞘氨醇,后者经鞘氨醇激酶磷酸化产生S1P,另外鞘氨醇还可以通过神经酰胺合成酶转化成神经酰胺。神经酰胺促进癌细胞凋亡和衰老,而S1P促进肿瘤细胞存活、生长和转移^[4]。有文献^[5]报道,鞘磷脂和肺部疾病存在显著关系,但是血清鞘氨醇作为肺癌预测因子的作用尚不完全清楚。鉴于此,本研究旨在探讨肺癌患者血清鞘氨醇的相关性分析。

1 材料与方法

1.1 样品收集

选取2015—2016年桂林医学院附属医院选取

的155例肺癌患者(入院前均未接受任何其他治疗措施,入院后在本院治疗并未转院)作为实验组,同时选取同一医院34例健康者作为对照组,肿瘤分期按照国家综合癌症网络标准确定。受试者临床信息均来自桂林医学院附属医院的病历,包括性别、年龄、吸烟史、肿瘤大小、肿瘤远端转移、肿瘤生物标记等。本研究经本院医学伦理委员会审核批准。

1.2 化学试剂

D-erythro-鞘氨醇(C12)(美国Avanti Polar Lipids公司),O-邻苯二甲醛(OPA)(美国Sigma化学药品公司),HPLC级溶剂(购自桂林贝尔实验仪器公司),其他的化学试剂(购自桂林恒顺成实验设备有限公司)。

1.3 脂质提取

血清脂质提取和Bligh-Dyer方法一致^[6]。

1.4 HPLC法分析血清鞘氨醇

HPLC法检测血清鞘氨醇与OPA的衍生物质,C12SPH(12碳SPH)作为外标,用于绘制标准曲线,含鞘氨醇的脂质萃取物在HPLC分析前与OPA反应,之后确定检测条件并进行检测分析^[7]。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0和GraphPad Prism 5.0统计学软件分析数据,计数资料以 n 、%表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;绘制ROC曲线得

到曲线下面积(AUC),根据 ROC 曲线确定血清鞘氨醇阈值,以及诊断灵敏度和特异度;采用 Logistic 回归分析血清鞘氨醇与临床病理参数的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清鞘氨醇含量

HPLC 结果显示,实验组血清鞘氨醇含量 (103.11 ± 11.38) ng/ml, 95% CI: (80.64 ~ 125.58) 显著高于对照组血清鞘氨醇含量 (30.92 ± 5.05) ng/ml, 95% CI: (20.650 ~ 41.18) ($t = 2.950, P < 0.05$), 见图 1。

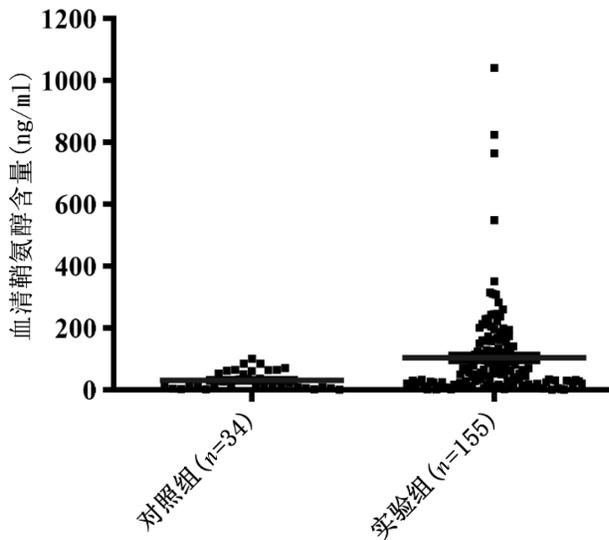


图 1 血清鞘氨醇含量分布

2.2 血清鞘氨醇在肺癌诊断中的价值

绘制受试者工作曲线(ROC),发现 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.715,说明血清鞘氨醇可能具有一定

的肺癌诊断价值。利用 ROC 曲线可得出术前血清鞘氨醇的最佳诊断值为 13.70 ng/ml,此值对应的诊断特异度为 44.10%,灵敏度为 80.60%,95% CI 为 0.632 ~ 0.798,见图 2。

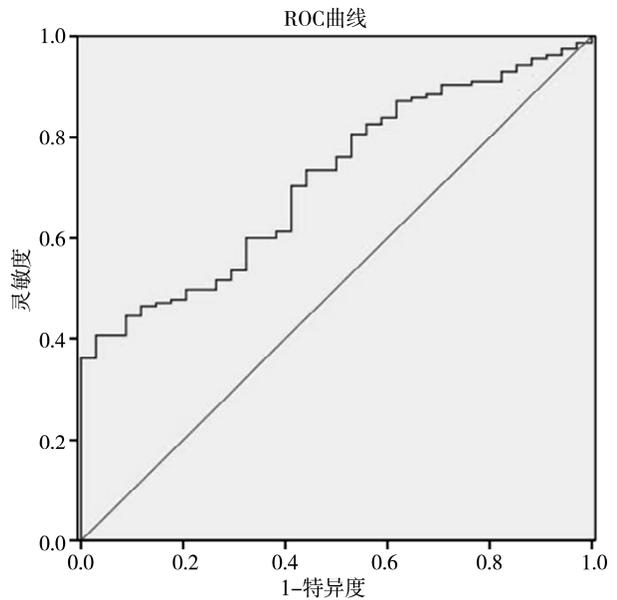


图 2 血清鞘氨醇对肺癌诊断价值的 ROC 曲线

2.3 肺癌患者血清鞘氨醇与临床病理特征的关系

根据 ROC 曲线得出最佳血清鞘氨醇值,将肺癌患者进行分组,一组患者的血清鞘氨醇含量 < 13.70 ng/ml,另一组患者的血清鞘氨醇含量 ≥ 13.70 ng/ml。通过研究发现,患者血清鞘氨醇含量与肿瘤大小、肿瘤远端转移、肿瘤分期具有相关性($P < 0.05$);而血清鞘氨醇含量与其他的临床病理因素,比如年龄、性别、血清标志物、吸烟史等均没有相关性($P > 0.05$),见表 1。

表 1 肺癌患者临床病理变量与血清鞘氨醇含量的相关性分析(n,%)

临床病理变量	分类	患者数量(n)	血清鞘氨醇含量(ng/ml)		χ^2	P
			< 13.70	≥ 13.70		
年龄(岁)	< 60	61	10 (16.39)	51 (83.61)	0.561	> 0.05
	≥ 60	94	20 (21.28)	74 (78.72)		
性别	男	107	24 (22.43)	83 (77.57)	2.093	> 0.05
	女	48	6 (12.50)	42 (87.50)		

续表

临床病理变量	分类	患者数量(<i>n</i>)	血清鞘氨醇含量(ng/ml)		χ^2	<i>P</i>
			<13.70	≥ 13.70		
肿瘤大小(cm)	<5.0	105	26 (24.76)	79 (75.24)	5.070	<0.05
	≥ 5.0	50	4 (8.00)	46 (92.00)		
肿瘤远端转移	否	65	22 (33.85)	43 (66.15)	15.061	<0.05
	是	90	8 (8.89)	82 (91.11)		
CEA(ng/ml)	<3.40	69	16 (23.19)	53 (76.81)	1.171	>0.05
	≥ 3.40	86	14 (16.28)	72 (83.72)		
CYFRA21-1(ng/ml)	<3.30	69	17 (24.64)	52 (75.36)	2.224	>0.05
	≥ 3.30	86	13 (15.12)	73 (84.88)		
SCC(ng/ml)	<1.50	135	25 (18.52)	110 (81.48)	0.469	>0.05
	≥ 1.50	20	5 (25.00)	15 (75.00)		
NSE(ng/ml)	<16.30	121	23 (19.01)	98 (80.99)	0.042	>0.05
	≥ 16.30	34	7 (20.59)	27 (79.41)		
吸烟史	否	72	13 (18.06)	59 (81.94)	0.145	>0.05
	是	83	17 (20.48)	66 (79.52)		
肿瘤分期	I - II	32	11 (34.38)	21 (65.63)	5.829	<0.05
	III -IV	123	19 (15.45)	104 (84.55)		

HPLC 法测定结果显示,肺癌远端转移患者血清鞘氨醇含量明显高于肺癌远端未转移患者($t = 4.338, P < 0.05$),见图 3。

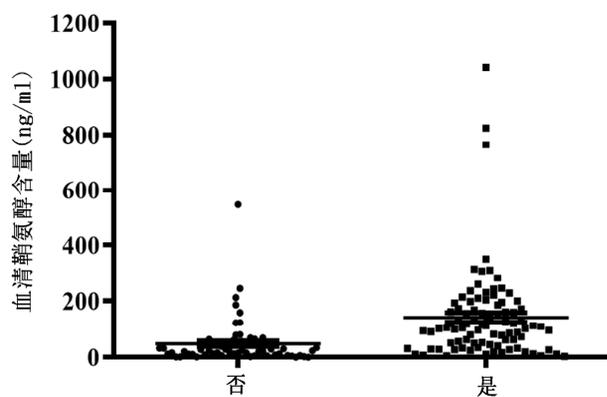


图 3 肺癌远端转移患者血清鞘氨醇含量

2.4 Logistic 回归分析肺癌远端转移和肿瘤大小与血清鞘氨醇含量的关系

Logistic 回归分析结果显示,肿瘤大小($OR = 3.835, P < 0.05$)和远端转移($OR = 5.286, P < 0.05$)均为血清鞘氨醇含量上调的两个独立危险因素,见表 2。

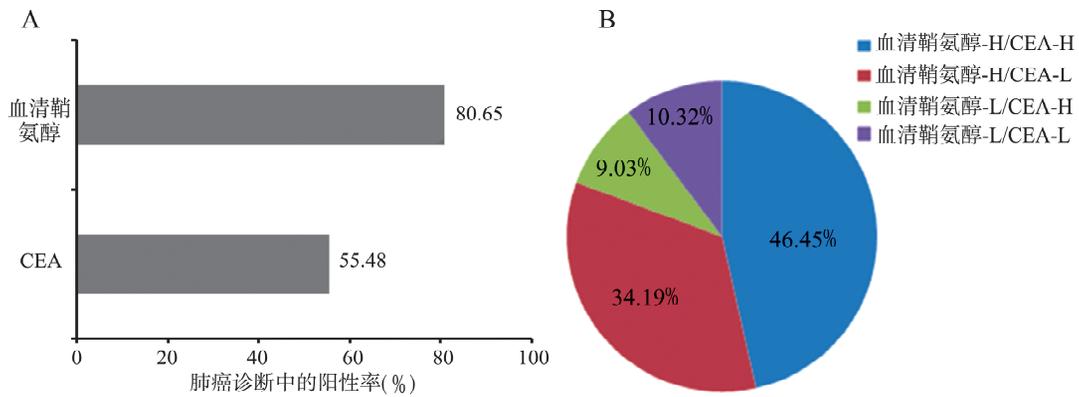
表 2 Logistic 回归分析肺癌远端转移和肿瘤大小与血清鞘氨醇含量的关系

影响因素	β	SE	<i>P</i>	OR	95%CI	
					下限	上限
肿瘤大小	1.344	0.587	<0.05	3.835	1.215	12.107
远端转移	1.665	0.462	<0.05	5.286	2.136	13.083

2.5 血清鞘氨醇与 CEA 在肺癌中的联合诊断价值

本研究根据 ROC 曲线将血清鞘氨醇的最佳诊断阈值定为 13.70 ng/ml,血清鞘氨醇和 CEA 对肺癌的诊断阳性率分别为 80.65% 和 55.48%。肺癌患者

血清鞘氨醇含量的增加与 CEA (≥ 3.40 ng/ml) 的增加并不完全一致。研究显示,血清鞘氨醇与 CEA 联合使用时,阳性率提高到 89.68%,显著提高了肺癌的诊断效率,见图 4。



A. 血清鞘氨醇和 CEA 在肺癌诊断中的阳性率; B. 圆饼图数字表示血清鞘氨醇含量高(H)或低(L)时分别和 CEA 含量高或低时共同诊断肺癌的阳性率

图 4 血清鞘氨醇和 CEA 在肺癌中的诊断价值

3 讨论

本研究采用 HPLC 法检测肺癌患者血清鞘氨醇的含量。结果表明,肺癌患者的血清鞘氨醇含量明显高于正常健康者。根据 ROC 曲线,血清鞘氨醇预测肺癌的最佳参考值为 13.70 ng/ml,其对应的诊断特异度为 44.10%,灵敏度为 80.60%。本研究还发现,血清鞘氨醇含量与肿瘤远端转移、肿瘤分期以及肿瘤大小有一定相关性。肿瘤分期系统是目前世界上应用最广泛的肺癌分期系统^[8]。众所周知,肿瘤分期越高,非小细胞肺癌的复发率和死亡率也越高^[9]。目前研究表明,肿瘤分期为 III~IV 期或肿瘤较大的肺癌患者的血清鞘氨醇含量较高。

HPLC 法测定显示,肺癌远端转移患者血清鞘氨醇含量明显高于肺癌远端未转移患者,提示血清鞘氨醇与肺癌远端转移相关的可能性最大。本研究中 Logistic 分析结果显示,肺癌远端转移患者血清鞘氨醇含量是无转移患者的 5.286 倍,因此血清鞘氨醇含量可以预测肺癌的恶性程度和预后情况。

有研究表明,神经酰胺的含量变化会影响肺癌细胞的活性^[10],据此推断肺癌患者中血清鞘氨醇含量的升高可能是由于神经酰胺水解增多引起。鞘氨

醇通过鞘氨醇激酶激活转化成 S1P,鞘氨醇升高导致 S1P 含量增加,而 S1P 的上调可促进肺癌细胞的增殖,故鞘氨醇可能通过调节 S1P 的量来影响肺癌的发生及发展。因此,本研究中血清鞘氨醇与肺癌肿瘤的大小、肿瘤远端转移及肿瘤分期相关,有一定的理论依据。

肺癌是威胁全世界生命的疾病,尽管肺癌的诊断使用了各种生物标志物,但 5 年生存率仍然很低。本研究结果显示,血清鞘氨醇在肺癌诊断中的阳性率(80.65%)高于传统的生物标志物 CEA (55.48%),表明血清鞘氨醇是一种更好的诊断标志物,血清鞘氨醇与 CEA 联合使用可提高诊断阳性率。因此,血清鞘氨醇可作为肺癌诊断的生物标志物。

参考文献:

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] NOORELDEEN R, BACH H. Current and future development in lung cancer diagnosis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8661.

- [3] LI N D, FENG X B, TAN Q, et al. Identification of circulating long noncoding RNA linc00152 as a novel biomarker for diagnosis and monitoring of non-small-cell lung cancer[J]. *Dis Markers*, 2017, 2017: 7439698.
- [4] GREEN C D, MACEYKA M, COWART L A, et al. Sphingolipids in metabolic disease: the good, the bad, and the unknown[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(7): 1293–1306.
- [5] THOMAS J M, SUDHADEVI T, BASA P, et al. The role of sphingolipid signaling in oxidative lung injury and pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1254.
- [6] FU X Q, CALDERON C, HARM T, et al. Advanced unified monophasic lipid extraction protocol with wide coverage on the polarity scale optimized for large-scale untargeted clinical lipidomics analysis of platelets[J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1221: 340155.
- [7] SHIKANAI H, IKIMURA K, MIURA M, et al. Separation and detection of D-/L-serine by conventional HPLC [J]. *MethodsX*, 2022, 9: 101752.
- [8] NICHOLSON A G, TSAO M S, BEASLEY M B, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015[J]. *J Thorac Oncol*, 2022, 17(3): 362–387.
- [9] SHANG X L, LIU J, LI Z A, et al. Hypothesized TNM staging system based on the number and location of positive lymph nodes may better reflect the prognosis for patients with NSCLC[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 591.
- [10] MOMCHILOVA A, PANKOV R, STANEVA G, et al. Resveratrol affects sphingolipid metabolism in A549 lung adenocarcinoma cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(18): 10870.

[收稿日期: 2022-11-16]

[责任编辑: 杨建香 英文编辑: 阳雨君]