

血液中炎症和脂质相关检测指标对非小细胞肺癌诊断价值的研究

孙楠,李源,孙守国,赫捷

(国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院,北京 100021)

摘要: [目的] 研究血液中炎症因子和脂质分子对非小细胞肺癌(NSCLC)诊断的价值。[方法] 将 965 例 NSCLC 患者和 464 名健康对照随机分成训练集和验证集两组,检测现有肿瘤标志物 CEA、NSE、SCC 及血小板(PLT)、中性粒细胞与单核细胞比例(NMR)、血红蛋白(HGB)、白蛋白(ALB)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)和甘油三酯(TG)等炎症因子和脂质分子。使用受试者工作曲线(ROC)分析单个分子的诊断效果,并使用逻辑二项回归方程在训练集中建立指标组合诊断模型,并在验证集中验证模型效果。[结果] 与健康对照组相比,NSCLC 患者的 PLT、NMR 和 TG 水平明显升高,HGB、ALB 和 HDL 水平显著降低($P<0.001$)。联合 ALB、NMR、TG、NSE 和 SCC 建立的模型对于 NSCLC 的诊断更有效:在训练集和验证集中的曲线下面积(AUC)分别为 0.910 和 0.887,灵敏度分别为 83.44%和 76.76%,特异性为 88.26%和 86.23%。[结论] PLT、NMR、HGB、ALB、HDL 和 TG 在非小细胞肺癌患者与健康对照组间的水平有明显差异,其中 ALB、NMR、TG、NSE 和 SCC 联合使用可提高现有肿瘤标志物的诊断效率。

关键词: 非小细胞肺癌;炎症;脂质;诊断

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2018)06-0465-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2018.06.A012

The Value of Blood Inflammation and Lipid-related Detection in Diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer

SUN Nan, LI Yuan, SUN Shou-guo, et al.

(National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To evaluate the value of blood inflammation and lipid-related detection in the diagnosis of non-small cell lung cancer (NSCLC). [Methods] Total 965 NSCLC patients and 464 healthy controls were randomly divided into two groups: training set and test set. The blood levels of CEA, NSE and SCC, platelet(PLT), neutrophil and monocyte ratio(NMR), hemoglobin(HGB), albumin(ALB), high-density lipoprotein cholesterol(HDL) and triglyceride(TG) were detected. The diagnostic efficiency of individual indicators was analyzed using a receiver operating curve(ROC), and a combination diagnostic model was established in the training set using binary logistic regression, which was further validated in the test set. [Results] Compared with the control group, PLT, NMR and TG levels of NSCLC patients were increased, while HGB, ALB and HDL levels were significantly decreased($P<0.001$). The models combined with ALB, NMR, TG, NSE and SCC were more effective for the diagnosis of NSCLC, the area under the curve(AUC) of the training set and test set was 0.910 and 0.887, the sensitivity was 83.44% and 76.76%, and the specificity was 88.26% and 86.23%, respectively. [Conclusion] The levels of PLT, NMR, HGB, ALB, HDL and TG are significantly different between NSCLC patients and healthy controls. The combination of ALB, NMR, TG, NSE, and SCC may improve the diagnostic efficiency of the conventional tumor markers.

Key words: non-small cell lung cancer; inflammation; lipid; diagnosis

肺癌发病率及死亡率在我国及世界范围内均位于恶性肿瘤首位^[1]。由于治疗手段有限并缺乏早期

及时发现肿瘤的有效方法,肺癌的死亡率一直居高不下^[2]。目前虽已有许多血液生物标志物被报道可辅助预测及诊断非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),但其灵敏度及特异性并不理想^[3,4]。

收稿日期:2018-04-12;修回日期:2018-05-12

基金项目:中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-001)

通讯作者:赫捷, E-mail: prof.jiehe@gmail.com

因此,寻找可以提高现有癌症诊断标志物诊断效率的指标是亟待解决的问题。

近年来,大量证据表明炎症在肺癌的发生和发展中起到关键作用^[5]。炎症反应通常使用血液循环中白细胞(WBC)的相对水平及中性粒细胞(NEU)、淋巴细胞(LYM)和单核细胞(MONO)比例等来衡量。另外,脂质代谢在癌症发展中的作用也越来越引起关注。目前脂质代谢在癌症中的研究多集中于高密度脂蛋白(HDL),已证实较高的 HDL 浓度与许多类型癌症的低风险相关^[6]。随着对肿瘤发生机制的研究逐渐深入,揭示肿瘤的发生和发展与包括炎症和脂质代谢因子在内的微环境之间密切相关。这些指标可在外周血中被检测,具有辅助诊断肺癌的潜力。

在本研究中,我们收集术前外周血中炎症相关指标:WBC、NEU、LYM、MONO、血小板计数(PLT)、血红蛋白(HGB)、白蛋白(ALB)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、血小板与淋巴细胞比值(PLR)、中性粒细胞与单核细胞比值(NMR)、淋巴细胞与单核细胞比值(LMR);血脂相关指标:HDL、低密度脂蛋白(LDL)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT);肿瘤生物标志物:癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)和鳞状上皮细胞癌抗原(SCC),并建立模型以期提高标志物对 NSCLC 的诊断效果。

1 资料与方法

1.1 研究对象

在国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胸外科及防癌科共收集 1000 例 2008~2013 年接受手术治疗的非小细胞肺癌患者(I~IV 期)和 500 名同一时期健康对照的检查信息。根据以下标准选择患者:所有诊断均经过病理证实,患者

既往无癌症史;检测前未接受抗肿瘤治疗。排除标准包括:肝功能(ALT>40U/L)和 WBC(WBC>10×10⁹/L)异常;伴有血细胞计数(急性炎症、血液病)和血脂水平(糖尿病、高脂血症或代谢综合征)上升的疾病患者;接受激素替代疗法或使用任何已知影响脂质代谢药物的患者。健康对照为在胸部 X 射线,肝功能和全血(血常规检查、血液生化分析、肿瘤标志物分析和病毒指数分析)检查后恶性肿瘤诊断为阴性的健康人。35 例 NSCLC 患者和 6 名健康人由于恶性病史或缺少信息而被排除在外。最终,共有 965 例 NSCLC 患者和 494 名健康对照入组本研究。所有患者均根据第 7 版 IASLC/AJCC 分期系统确定肿瘤分期。所有样本采用随机分组的方法分配到训练集和验证集。所有患者均有详细的临床和病理信息,包括人口统计学数据、吸烟状况、病理、淋巴结转移等(Table 1)。

Table 1 The characteristics of the selected population

Factors	Training set			Test set		
	SCC (n=222)	ADC (n=261)	Healthy controls (n=247)	SCC (n=221)	ADC (n=261)	Healthy controls (n=247)
Age(years)						
Median(range)	60(31~86)	59(26~79)	53(29~76)	61(28~85)	57(26~81)	54(33~80)
Sex						
Female/male	12/210	156/105	122/125	16/205	131/130	118/129
BMI(kg/m ²)						
<25	139	175	158	143	152	179
≥25	83	86	89	78	109	68
Lifetime smoking history (cigarette-years)						
0	32	165	204	26	160	185
0~500	57	36	30	48	36	43
>500	133	60	13	147	65	19
T stage						
1	22	55		15	53	
2	153	167		141	171	
3	42	28		55	28	
4	5	11		10	9	
N stage						
0	113	162		98	154	
1	72	23		66	33	
2	36	75		56	73	
3	1	1		1	1	
TNM stage						
I	75	145		67	140	
II	88	30		75	38	
III	56	71		79	68	
IV	3	15		0	15	

1.2 统计分析

使用 SPSS 统计软件包(19.0,SPSS Inc)和 Med-Calc(9.6.2.0)进行数据分析。样品组之间的差异通过使用连续变量的 Mann-Whitney *U* 检验。使用受试者工作(ROC)曲线评估诊断价值,并且通过 *z* 评分比较 AUC。训练集中特异性 95%时的检测值为诊断的最佳临界值,使用二元逻辑回归建立诊断模型。 $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单个指标在 NSCLC 患者与健康对照中的表达水平分析

我们收集了 20 种常见临床指标在 NSCLC 患者和健康对照血液中的水平,根据指标的分类共有三大类:血常规类、血液生化分析类及肿瘤标志物类。在每一类的指标中根据显著性差异(P 值)的排序,选择三类中 P 值由小到大排序排名前三的 9 种指标进行深入分析(Table 2)。这些指标包括:来自血常规检查的 PLT、NMR 和 HGB;血液生物化学分析中的 HDL、TG 和 ALB;肿瘤标志物 NSE、CEA 和 SCC。训练集中,NSCLC 患者组的 PLT、NMR、TG、

NSE、CEA 和 SCC 显著升高($P<0.05$)(Table 2)。HGB、HDL 和 ALB 在 NSCLC 患者组显著降低($P<0.05$)(Table 2)。在验证集中,除了 NSE 在两组之间没有差异外,我们观察到与训练集相似的结果(Table 2)。

2.2 ROC 分析候选指标和 NSCLC 诊断模型的构建

为了评估指标对 NSCLC 的诊断价值,使用 ROC 曲线分析。在训练集中,NSE、CEA 和 SCC 的 AUC 分别为 0.555 (95%CI:0.518~0.591)、0.697 (95%CI:0.662~0.730)和 0.576 (95%CI:0.539~0.612)(Table 3, Figure 1)。PLT、HGB、HDL、TG、ALB 和 NMR 等 6 种指标的 AUC 均大于 NSE。在上述 9 种指标中,ALB (AUC=0.830,95%CI:0.800~0.856)对 NSCLC 的诊断价值最高,特异性为 95%时,其灵敏度为 52.17%(Table 3, Figure 1)。其次是 NMR 和 HDL,AUC 分别为 0.718 (95%CI:0.684~0.751)和 0.676 (95%CI:0.640~0.710)。验证集中的结果与训练集相似。

通过二项逻辑回归建立诊断模型,将候选标志物全部纳入筛选后,ALB、NMR、TG、NSE 和 CEA 五个标志物被挑选出来,它们的联合模型比单纯联合使用肿瘤诊断指标 NSE、CEA 和 SCC 具有更高的 AUC(训练集:AUC=0.910,95%CI:0.887~0.929;验证集:AUC=0.885,95%CI:0.860~0.907, $P<0.001$),在较

Table 2 Levels of individual biomarkers in NSCLC patients and healthy controls

Index	Training set			Test set		
	NSCLC	Healthy controls	<i>P</i> value	NSCLC	Healthy controls	<i>P</i> value
BMI(kg/m ²)	23.94(15.06~36.07)	23.95(17.44~32.05)	0.796	23.95(16.02~35.49)	23.69(16.44~34.79)	0.391
PLT($\times 10^9$ /L)	227(115~562)	214(65~377)	<0.001	224(71~545)	213(105~485)	0.001
WBC($\times 10^9$ /L)	6.29(2.85~10.00)	5.57(3.09~9.86)	<0.001	6.52(2.85~10.00)	5.59(2.90~9.92)	<0.001
NEU($\times 10^9$ /L)	3.72(1.32~8.13)	3.18(1.62~6.70)	<0.001	3.86(1.47~8.90)	3.13(1.48~6.94)	<0.001
LYM($\times 10^9$ /L)	1.95(0.45~4.86)	1.90(0.86~4.23)	0.280	1.89(0.57~4.20)	1.85(1.00~3.94)	0.133
MONO($\times 10^9$ /L)	0.31(0.01~1.02)	0.38(0.06~0.82)	<0.001	0.35(0.01~1.32)	0.37(0.16~0.86)	0.001
HGB(g/L)	136(81~188)	141(88~174)	<0.001	139(90~192)	143(82~174)	0.003
ALT(U/L)	16(3~40)	16(5~38)	0.332	15(2~39)	16(6~38)	0.997
HDL(mmol/L)	1.13(0.36~2.60)	1.33(0.78~2.34)	<0.001	1.10(0.28~2.35)	1.39(0.69~2.88)	<0.001
LDL(mmol/L)	2.96(0.52~6.29)	2.80(1.13~5.42)	0.033	2.85(0.66~6.27)	2.87(1.15~5.55)	0.770
TC(mmol/L)	4.59(0.9~8.91)	4.54(2.48~7.07)	0.427	4.45(0.43~8.18)	4.56(2.50~7.57)	0.010
TG(mmol/L)	1.16(0.33~8.04)	1.00(0.41~3.67)	0.001	1.16(0.33~10.80)	1.07(0.33~7.41)	0.002
ALB(g/L)	41.8(27.2~53.0)	45.9(40.3~64.0)	<0.001	41.7(25.8~73.4)	45.5(37.8~52.5)	<0.001
NSE(ng/ml)	12.010(1.240~86.140)	11.600(0.286~25.000)	0.015	11.980(3.321~72.220)	11.605(4.280~25.460)	0.073
CEA(ng/ml)	2.760(0.262~391.300)	1.680(0.233~26.230)	<0.001	2.780(0.200~2229.000)	1.865(0.429~12.490)	<0.001
SCC(ng/ml)	0.90(0.00~256.20)	0.80(0.30~8.35)	0.001	0.90(0.00~49.30)	0.80(0.30~17.30)	<0.001
NMR(%)	11.95(2.78~247.00)	8.54(3.76~34.50)	<0.001	11.33(3.51~368.00)	8.32(3.36~22.25)	<0.001
NLR(%)	1.88(0.53~9.22)	1.65(0.56~3.68)	<0.001	1.97(0.62~14.83)	1.74(0.65~4.32)	<0.001
PLR(%)	117.11(43.98~396.84)	111.70(29.41~284.73)	0.033	116.75(35.32~376.00)	114.38(2.37~336.81)	0.258
LMR(%)	6.20(1.13~210.00)	5.19(1.96~36.00)	<0.001	5.63(0.43~319.00)	4.99(2.05~11.80)	<0.001

Table 3 The diagnostic efficiency of candidate biomarkers in differentiating NSCLC patients and controls

Index	Cut off	Training set				Test set			
		AUC(95%CI)	SN(%)	SP(%)	P value	AUC(95%CI)	SN(%)	SP(%)	P value
PLT($\times 10^9/L$)	289	0.589(0.552~0.624)	17.18	95.00	<0.001	0.575(0.538~0.611)	18.67	93.52	<0.001
HGB(g/L)	117	0.589(0.552~0.625)	10.14	95.14	<0.001	0.570(0.534~0.607)	4.98	96.76	0.002
HDL(mmol/L)	0.93	0.676(0.640~0.710)	24.84	95.00	<0.001	0.728(0.694~0.760)	25.52	91.50	<0.001
TG(mmol/L)	2.31	0.575(0.538~0.611)	9.73	95.00	<0.001	0.573(0.536~0.609)	8.92	93.93	<0.001
ALB(g/L)	41.9	0.830(0.800~0.856)	52.17	95.00	<0.001	0.802(0.771~0.830)	51.04	95.14	<0.001
NSE(ng/ml)	12.5	0.555(0.518~0.591)	40.99	67.61	0.013	0.538(0.501~0.574)	44.40	67.61	0.092
CEA(ng/ml)	5	0.697(0.662~0.730)	26.09	97.57	<0.001	0.673(0.638~0.707)	24.27	95.95	<0.001
SCC(ng/ml)	1.5	0.576(0.539~0.612)	25.47	93.52	<0.001	0.584(0.547~0.620)	23.24	94.74	<0.001
NMR(%)	13.8	0.718(0.684~0.751)	38.51	95.00	<0.001	0.715(0.681~0.747)	34.02	94.33	<0.001

Table 4 The diagnostic efficiency of models in differentiating NSCLC patients and controls

Combination	Training set				Test set			
	AUC(95%CI)	SN(%)	SP(%)	P value	AUC(95%CI)	SN(%)	SP(%)	P value
NSE+CEA+SCC	0.734(0.701~0.766)	53.83	87.04		0.706(0.671~0.739)	49.17	85.02	
ALB+NMR+TG+NSE+CEA	0.910(0.887~0.929)	83.44	88.26	<0.001	0.887(0.862~0.909)	76.76	86.23	<0.001

高的特异性下,灵敏度在训练集与验证集都远高于单纯联合使用肿瘤指标模型(Table 4,Figure 1)。

3 讨论

通过本研究发现 965 例 NSCLC 患者及 494 名健康对照中的 NMR、PLT、HGB、ALB、HDL 和 TG 水平均有显著差异。我们将现有的临床肿瘤诊断指标 NSE、CEA 和 SCC 与这些指标进行整合分析,建立新的诊断模型,发现对比单纯使用现有肿瘤诊断指标的模型,联合炎症及脂质相关指标的模型具有更高的 AUC、灵敏度及特异性。

目前已有大量文章报道癌症的发生和发展

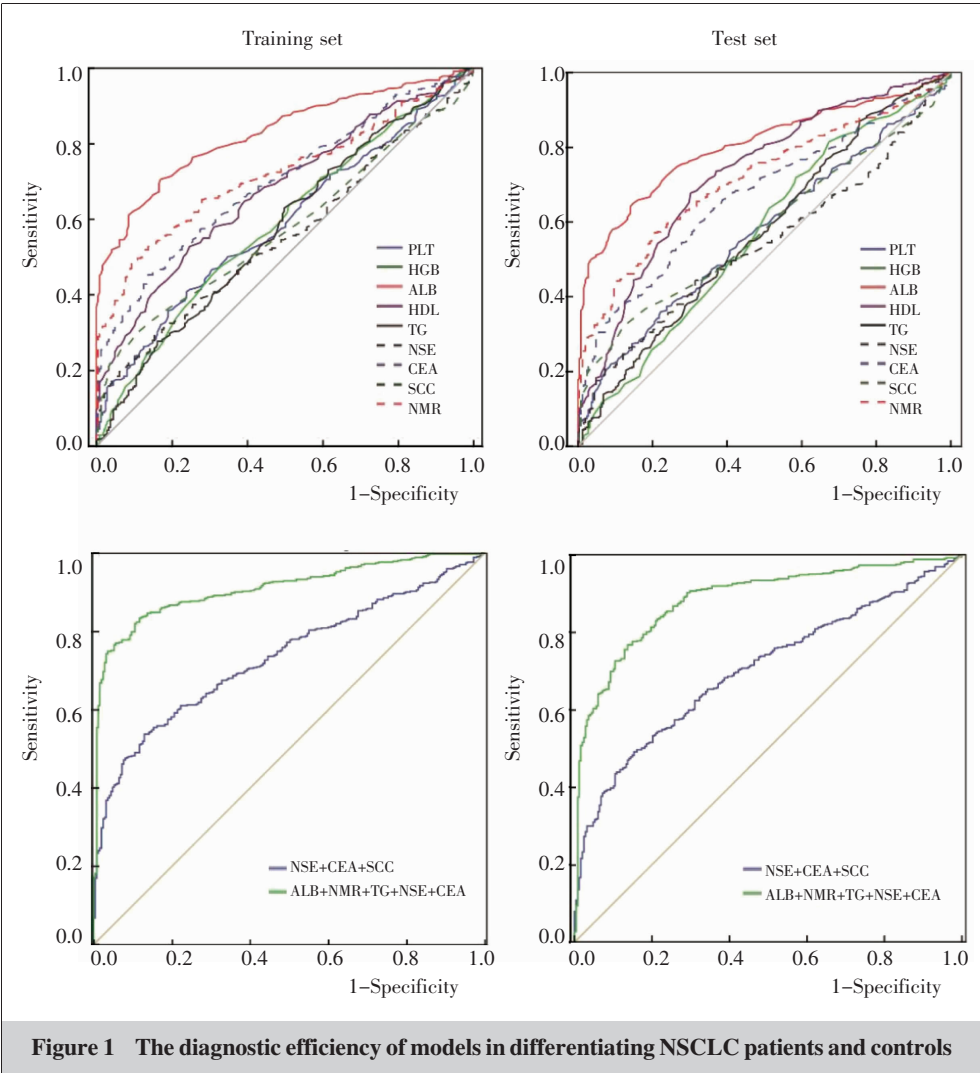


Figure 1 The diagnostic efficiency of models in differentiating NSCLC patients and controls

与炎症细胞和脂质代谢因子相关。癌细胞本身可以通过 T 细胞、特异性趋化因子和前列腺素来招募和激活各种白细胞(特别是 NEU 和 MONO)^[7]。另外,由促炎细胞因子刺激导致的血小板活化被认为是促进肿瘤生长的重要决定因素^[8]。血小板聚集和脱粒以及随之而来的血小板衍生促血管生成介质的释放被认为是肿瘤生长的重要决定因素。并有文献报道在乳腺癌、胃癌和结直肠癌中均发现 NLR、PLR 和 LMR 显著升高^[9-11]。近年来,不少研究显示外周血中的 NLR、PLR 和 LMR 等指标可以作为肺癌的有效预后指标^[12]。但在肺癌诊断中的效果并未得到充分研究,仅在小样本研究中发现 NLR 和 PLR 可用于肺癌诊断^[13],仍需大样本验证。而在本次研究中 NMR 被纳入诊断模型,也提示免疫细胞的比值具有潜在诊断价值。

此外,ALB 和 HGB 不仅反映营养状态,与炎症也密切相关。有报道发现 ALB 和 HGB 浓度降低可作为非小细胞肺癌有效的预后指标,可能是由全身炎症反应和进展为恶病质之前肿瘤引起的营养衰退造成^[14,15]。因癌症患者的早期炎症和能量失衡引起的 ALB 和 HGB 水平降低也可作为潜在的诊断指标。我们的研究结果与之前在许多肿瘤中的报道趋势一致,提示 ALB 可作为潜在的肺癌诊断标志物^[14]。

癌细胞中的胆固醇合成与正常细胞相比增强,而过量的胆固醇及合成途径的中间体在维持癌细胞的高水平增殖中发挥着重要作用^[16]。在肺癌研究中,HDL 已被报道可作为非小细胞癌的临床预后因子^[17]。另有报道高水平的甘油三酯(TG)与不同癌症的发病有关^[6]。总体来说,脂质代谢在肺癌中的诊断价值研究尚不充分,本研究模型中纳入 TG 也为今后研究 TG 与肺癌的发生发展提供了一定线索。

本项研究综合现有临床血液检测指标,挖掘可提高癌症诊断效率的指标组合并建立诊断模型。深入了解这些指标的升高或者降低的原因将有助于阐明癌症与炎症和脂质代谢之间的关系。研究为首次在 NSCLC 中评估炎症和脂质相关指标对已有临床肿瘤诊断标志物提升效果。我们的研究表明,炎症和脂质相关指标可与肿瘤标志物结合,用于辅助 NSCLC 的诊断,提高已有标志物的灵敏度及特异性。

参考文献:

[1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in

- China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [2] Siegel RL,Miller KD,Jemal A. Cancer statistics,2018[J]. CA Cancer J Clin,2018,68(1):7-30.
- [3] Hsu PP,Shaw AT. Lung cancer:a wily genetic opponent [J]. Cell,2017,169(5):777-779.
- [4] Sun N,Chen Z,Tan F,et al. Isocitrate dehydrogenase 1 is a novel plasma biomarker for the diagnosis of non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res,2013,19(18):5136-5145.
- [5] Shinko D,Diakos CI,Clarke SJ,et al. Cancer-related systemic inflammation;the challenges and therapeutic opportunities for personalized medicine[J]. Clin Pharmacol Ther,2017,102(4):599-610.
- [6] Vilchez JA,Martinez-Ruiz A,Sancho-Rodriguez N,et al. The real role of prediagnostic high-density lipoprotein cholesterol and the cancer risk:a concise review [J]. Eur J Clin Invest,2014,44(1):103-114.
- [7] Jungnickel C,Schmidt L,Bittigkoffer L,et al. IL-17C mediates the recruitment of tumor-associated neutrophils and lung tumor growth[J]. Oncogene,2017,36(29):4182.
- [8] Wojtukiewicz MZ,Sierko E,Hempel D,et al. Platelets and cancer angiogenesis nexus[J]. Cancer Metastasis Rev,2017,36(2):249-262.
- [9] Deng Q,He B,Liu X,et al. Prognostic value of pre-operative inflammatory response biomarkers in gastric cancer patients and the construction of a predictive model[J]. J Transl Med,2015,13(1):66.
- [10] Krenn-Pilko S,Langsenlehner U,Thurner EM,et al. The elevated preoperative platelet-to-lymphocyte ratio predicts poor prognosis in breast cancer patients[J]. Br J Cancer,2014,110(10):2524-2530.
- [11] Hamm A,Prenen H,Van Delm W,et al. Tumour-educated circulating monocytes are powerful candidate biomarkers for diagnosis and disease follow-up of colorectal cancer[J]. Gut,2016,65(6):990-1000.
- [12] Lan H,Zhou L,Chi D,et al. Preoperative platelet to lymphocyte and neutrophil to lymphocyte ratios are independent prognostic factors for patients undergoing lung cancer radical surgery:a single institutional cohort study [J]. Oncotarget,2017,8(21):35301.
- [13] Kemal Y,Yucel I,Ekiz K,et al. Elevated serum neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratios could be useful in lung cancer diagnosis[J]. APJCP,2014,15(6):2651-2654.
- [14] Miura K,Hamanaka K,Koizumi T,et al. Clinical significance of preoperative serum albumin level for prognosis in surgically resected patients with non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer,2017,111:88-95.
- [15] Zhang M,Li X,Zhang X,et al. Association of serum hemoglobin A1c,C-peptide and insulin-like growth factor-1 levels with the occurrence and development of lung cancer[J]. Mol Clin Oncol,2014,2(4):506-508.
- [16] Cruz PM,Mo H,Mcconathy WJ,et al. The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis:a review of scientific findings,relevant to future cancer therapeutics[J]. Front Pharmacol,2013,4:119.
- [17] Chi PD,Liu W,Chen H,et al. High-density lipoprotein cholesterol is a favorable prognostic factor and negatively correlated with C-reactive protein level in non-small cell lung carcinoma[J]. PLoS One,2014,9(3):e91080.