

· 临床研究 ·

非小细胞肺癌患者治疗前后血浆 Apelin 水平变化

张明 黄新宇 汪建英 陈欣 徐雁 余晓婷 尹帅 高天巍

[摘要] 目的 观察非小细胞肺癌患者血浆 Apelin 水平治疗前后的变化并探讨其临床意义。方法 入选 21 例早期非小细胞肺癌原发肿瘤未转移患者(G1 组), 23 例非小细胞肺癌伴转移患者(G2 组), 20 例健康志愿组(G3 组)。G1 组、G2 组分别在肿瘤治疗前(T₁)、肿瘤治疗后 1 周(T₂)及肿瘤治疗后 1 个月(T₃)三个时间点经肘静脉途径采血。G3 组同期静脉采血。采用酶联免疫吸附法测定血浆 Apelin 水平, 并监测淋巴细胞亚群水平以评估患者免疫状态。**结果** 在 T₁、T₂ 时刻, G1 组、G2 组血浆 Apelin 水平高于 G3 组, 差异有统计学意义(t 分别=3.99、4.37; 3.03、3.91, P 均 < 0.05), 且 T₁ 时 G2 组血浆 Apelin 水平高于 G1 组($t=1.68, P<0.05$)。在 T₃ 时刻, G1 组血浆 Apelin 水平与 G2 组、G3 组比较, 差异无统计学意义(t 分别=1.01、1.09, P 均 > 0.05), G2 组血浆 Apelin 水平高于 G3 组, 差异有统计学意义($t=1.96, P<0.05$)。在 T₁ 时刻, G1 组和 G2 组 CD3、CD³⁺CD⁴⁺、CD³⁺CD⁸⁺ 及淋巴细胞总数均低于 G3 组, 差异有统计学意义(t 分别=3.78、2.19、2.91、3.14; 4.62、3.46、3.25、3.56, P 均 < 0.05); G1 组和 G2 组比较, 差异无统计学意义(t 分别=1.02、1.16、1.25、1.27, P 均 > 0.05); 而 G1 组和 G2 组肿瘤标记物(CYFRA 21-1、癌胚抗原及神经元烯醇化酶)水平明显高于 G3 组, 差异有统计学意义(t 分别=3.84、3.65、3.49; 3.93、4.08、4.25, P 均 < 0.05), G1 组和 G2 组比较, 差异均无统计学意义(t 分别=1.32、1.21、1.03, P 均 > 0.05)。治疗前非小细胞肺癌患者血浆 Apelin 水平与 CD3、CD³⁺CD⁴⁺ 计数呈负相关(r 分别 = -0.53、-0.47, P 均 < 0.05)。**结论** 非小细胞肺癌患者血浆 Apelin 水平高, 转移患者升高明显, 经治疗后能降低; 血浆 Apelin 水平变化与患者免疫功能状态有关。Apelin 可能参与非小细胞肺癌发生、转移过程。

[关键词] 非小细胞肺癌; Apelin

The change of plasma apelin in patients with non-small cell lung cancer before and after therapy ZHANG Ming, HUANG Xinyu, WANG Jianying, et al. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hangzhou Cancer Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310002, China.

[Abstract] **Objective** To observe the change of plasma apelin in patients of non-small cell lung cancer before and after therapy and explore its potential clinical significance. **Methods** A total of 21 patients who were diagnosed as adenocarcinoma in situ of non-small cell lung cancer (group G1), 23 patients who were diagnosed as metastatic carcinoma of non-small cell lung cancer (group G2) and 20 healthy volunteers (group G3) were enrolled in the study. The plasma apelin was detected before therapy (T₁), a week after therapy (T₂) and a month after therapy (T₃) in group G1 and group G2. The T lymphocyte subgroup and immunoglobulin state in peripheral blood in patients of non-small cell lung cancer were detected at meanwhile. **Results** At T₁ and T₂, the plasma apelin level in group G1 and group G2 was higher than that in G3 group ($t=3.99, 4.37, 3.03, 3.91, P<0.05$), and the plasma apelin level in group G2 was higher than that in group G1 at T₁ ($t=1.68, P<0.05$). At T₃, there was no statistically significant difference between group G1 and group G2, group G3 ($t=1.01, 1.09, P>0.05$), group G2 was higher than group G3 in plasma Apelin level ($t=1.96, P<0.05$). At T₁, the total number of CD3, CD³⁺CD⁴⁺, CD³⁺CD⁸⁺ and lymphocytes in group G1 and group G2 were lower than those in group G3 ($t=3.78, 2.19, 2.91, 3.14, 4.62, 3.46, 3.25, 3.56, P<0.05$), but there was no significant

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.011.007

基金项目: 杭州市科技计划项目(20180533B65)

作者单位: 310002 浙江杭州, 浙江大学医学院附属杭州市肿瘤医院重症医学(张明、汪建英、陈欣、徐雁、余晓婷、尹帅、高天巍), 肿瘤内科(黄新宇)

difference between group G1 and group G2 ($t=1.02, 1.16, 1.25, 1.27, P>0.05$). The levels of tumor markers (CYFRA 21-1, carcinoembryonic antigen and neuron enolase) in group G1 and group G2 were significantly higher than those in group G3 ($t=$

3.84, 3.65, 3.49, 3.93, 4.08, 4.25, $P < 0.05$), and there was no significant difference between group G1 and group G2 ($t = 1.32, 1.21, 1.03, P > 0.05$). There was a negative correlation between the plasma apelin level and the counts of CD3 and CD3⁺CD4⁺ in NSCLC patients before treatment ($r = -0.53, -0.47, P < 0.05$). **Conclusion** The level of plasma apelin was elevated in the patients of non-small cell lung cancer, and increased significantly in metastatic carcinoma, and decreased significantly after therapy. The plasma apelin concentration was correlated with the immunological function status. The plasma apelin may involve in the pathogenesis of non-small cell lung cancer metastasis.

[Key words] non-small cell lung cancer; apelin

肺癌在恶性肿瘤中的发病率和死亡率均居首位,其中非小细胞肺癌约占全部肺癌的85%^[1]。大部分患者发现时多局部转移或远处转移^[2],究其原因复杂,不仅与肿瘤自身血管生成能力、肿瘤细胞分裂增殖能力、患者营养不良、术前放化疗及手术操作有关,也与患者免疫功能紊乱低下肿瘤细胞发生免疫逃逸有关^[3]。爱帕琳肽(Apelin/APJ)是一种由位于人染色体Xq 25~26.1上的APLN基因产生的多肽,该系统广泛分布于人体多个组织器官^[4],如心血管、呼吸、神经等系统特别是内皮细胞、血管平滑肌细胞、脂肪细胞,具有重要生理功能,作为新型血管活性因子有促进血管生成作用。在胸腺、脾脏以及CD4⁺T淋巴细胞内的高表达^[5],说明Apelin参与淋巴细胞免疫调控,因此推测Apelin可能参与肿瘤肝转移的发生、发展、转移过程。本次研究旨在研究非小细胞肺癌患者血浆Apelin水平在治疗前后的变化,探讨其与免疫抑制相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年7月至2022年3月入住浙江大学医学院附属杭州市肿瘤医院经穿刺或手术病理确诊为非小细胞肺癌的部分患者为非小细胞肺癌组,共44例。纳入标准为:①符合非小细胞肺癌诊断标准;②初发患者,无其他肿瘤诊断治疗史;③患者及家属接受诊疗方案,接受治疗、观察和相关检查者。排除:①妊娠患者;②中途放弃治疗或拒绝配合治疗患者;③治疗期间死亡者。根据有无其他部位转移将非小细胞肺癌患者分为无转移组即G1组21例,有转移组即G2组23例。同期入选健康体检志愿者20例为健康志愿组即G3组。本次研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会批准,并由患者或家属签署知情同意书。三组的基线资料比较见表1。三组性别、年龄、体重指数、序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)等基线资料比较,差异均无统计学意义

(P 均 >0.05)。

表1 三组基线资料比较

组别	<i>n</i>	性别 (男/女)	年龄/岁	体重指数 /kg/m ²	SOFA评分 /分
G1组	21	9/12	55.19 ± 4.73	20.13 ± 3.59	4.21 ± 1.03
G2组	23	13/10	57.38 ± 3.76	22.61 ± 2.98	4.37 ± 1.27
G3组	20	11/9	53.14 ± 4.26	25.35 ± 3.27	4.29 ± 1.21

1.2 方法 根据非小细胞肺癌、小细胞肺癌和支气管肺癌AJCC分期手册标准,对I、II A患者选择手术(胸腔镜下)或标准放疗(SBRT)治疗方法;对局部晚期的II B、III C期患者,能手术的患者选择手术(胸腔镜或传统方式)加术后辅助化疗或放疗,对局部晚期不能手术的患者予以同步放化疗(标准方案);对远处(脑,骨,肾上腺和胸膜)转移的IV期G2组患者,若驱动基因(EGFR, ALK及ROSI)阳性即采取靶向治疗,若驱动基因阴性患者采用免疫检查点PD1单克隆抗体抑制剂联合化疗(紫杉醇或卡铂)方案;所有入选患者均邀请中医肿瘤专家协助治疗。

1.3 检测指标 记录非小细胞肺癌患者常规入院后第2天肿瘤治疗前(T₁)、肿瘤治疗后1周(T₂)及肿瘤治疗后1个月(T₃)三个时间点经肘静脉途径采血,检查心、肝、肾及甲状腺和肾上腺功能,淋巴细胞分类计数,凝血指标及肺癌常见肿瘤标记物及实验室放免法测定血浆Apelin水平。健康志愿者G3组同期静脉采血。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0版统计软件进行统计处理,正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,非正态分布计量资料采用非参数检验。相关分析采用Pearson相关。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组在不同时间点血浆Apelin水平变化见表2

表2 各组血浆 Apelin水平在不同时间点水平的变化/pg/ml

组别	T ₁	T ₂	T ₃
G1组	140.32 ± 26.78*	128.47 ± 27.62*	99.72 ± 24.19
G2组	172.91 ± 26.36*#	149.65 ± 24.77*	110.56 ± 28.15*
G3组	81.74 ± 22.87	79.26 ± 23.13	80.31 ± 21.09

注: *: 与G3组比较, $P < 0.05$; #: 与G1组比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见, 组间比较: 在T₁时刻, G1组、G2组血浆 Apelin水平高于G3组, 差异有统计学意义(t 分别=3.99、4.37, P 均 < 0.05), 且G2组血浆 Apelin水平高于G1组($t=1.68$, $P < 0.05$); 在T₂时刻, G1组、G2组血浆 Apelin水平高于G3组, 差异有统计学意义(t 分别=3.03、3.91, P 均 < 0.05), G1组和G2组比较, 差异无统计学意义($t=1.34$, $P > 0.05$); 在T₃时刻, G1组血浆 Apelin水平与G3组比较, 差异无统计学意义($t=1.01$, $P > 0.05$), G2组血浆 Apelin水平高于G3组, 差异有统计学意义($t=1.96$, $P < 0.05$), G1组和G2组比较, 差异无统计学意义($t=1.09$, $P > 0.05$)。组内比较: G1组、G2组血浆 Apelin水平在T₁~T₃点均逐渐下降, 差异均有统计学意义(F 分别=12.25、15.18, P 均 < 0.05)。

2.2 三组在T₁时间点相关指标比较见表3

表3 三组T₁时间点相关指标比较

指标	G1组	G2组	G3组
CD3/ $\times 10^9/L$	0.56 ± 0.12*	0.49 ± 0.12*	1.21 ± 0.55
CD ³⁺ CD ⁴⁺ / $\times 10^9/L$	0.41 ± 0.13*	0.26 ± 0.16*	0.52 ± 0.27
CD ³⁺ CD ⁸⁺ / $\times 10^9/L$	0.13 ± 0.11*	0.22 ± 0.12*	0.36 ± 0.28
淋巴细胞总数/ $\times 10^9/L$	0.73 ± 0.29*	0.58 ± 0.15*	2.63 ± 0.82
CYFRA 21-1/ng/ml	17.75 ± 3.16*	18.83 ± 2.44*	2.08 ± 0.97
癌胚抗原/ng/ml	6.79 ± 2.63*	7.38 ± 1.92*	1.98 ± 0.94
神经元烯醇化酶/ng/ml	60.92 ± 13.64*	64.95 ± 11.83*	14.17 ± 4.16

注: *: 与G3组比较, $P < 0.05$ 。

由表3可见, 在T₁时刻, G1组和G2组CD3、CD³⁺CD⁴⁺、CD³⁺CD⁸⁺及淋巴细胞总数均低于G3组, 差异有统计学意义(t 分别=3.78、2.19、2.91、3.14; 4.62、3.46、3.25、3.56, P 均 < 0.05); G1组和G2组CD3、CD³⁺CD⁴⁺、CD³⁺CD⁸⁺及淋巴细胞总数比较, 差异无统计学意义(t 分别=1.02、1.16、1.25、1.27, P 均 > 0.05); 而G1组和G2组肿瘤标记物(CYFRA 21-1、癌胚抗原及神经元烯醇化酶)水平明显高于G3组, 差异有统

计学意义(t 分别=3.84、3.65、3.49; 3.93、4.08、4.25, P 均 < 0.05), G1组和G2组比较, 差异均无统计学意义(t 分别=1.32、1.21、1.03, P 均 > 0.05)。

2.3 治疗前非小细胞肺癌患者(G1组及G2组)血浆 Apelin水平与淋巴细胞亚群及血肿瘤标记物水平相关性 非小细胞肺癌患者血浆 Apelin水平与CD3、CD³⁺CD⁴⁺计数呈负相关(r 分别=-0.53、-0.47, $P < 0.05$); 与肿瘤标记物包括CYFRA 21-1、癌胚抗原及神经元烯醇化酶无明显相关性(r 分别=-0.17、0.21、0.19, $P > 0.05$)。

3 讨论

Apelin是一种新的血管生成因子, 能促进血管内皮细胞的增殖和迁移, 外源性 Apelin都具有促进血管生成的作用, 并且用 Apelin抑制剂能有效抑制血管生成。近年来随着研究的深入, Apelin与肿瘤的发生发展密切相关^[6]。Sorli等^[7]用DNA微阵列方法检测154个相互配对的肿瘤和正常组织 Apelin的表达后发现, Apelin基因在1/3的人类肿瘤中的表达明显上调。在乳腺导管癌^[8]、前列腺癌^[9]、妇科肿瘤和头颈部肿瘤^[10, 11]的相关研究中均发现患者血清 Apelin的含量有不同程度改变。目前, 有关 Apelin在肺癌患者的水平、是否参与非小细胞肺癌生成转移、其水平的高低是否与免疫状态相关的研究不多。本研究发现, 非小细胞肺癌患者血浆 Apelin水平升高, 转移患者升高更明显, 经治疗后肿瘤负荷下降, 血浆 Apelin水平不同程度下降, 这一研究结果真正的机理尚不明确, 推测可能是因为 Apelin作为新型血管生成因子, 促进肿瘤细胞组织中新生血管形成, 从而提供大量营养底物导致肿瘤细胞组织扩大增殖。与本次研究结果相类似, Berta等^[12]采用人非小细胞肺癌细胞异种移植到免疫缺陷小鼠的方法检测 Apelin对小鼠体内肿瘤生长的影响, 结果发现 Apelin过表达的肺癌细胞显著加快小鼠肿瘤的生长, CD31染色标记后发现 Apelin过表达增加了肿瘤微血管密度和微血管周长, 提示 Apelin参与了肿瘤血管的生成。

本研究发现非小细胞肺癌患者血浆 Apelin水平越高, 患者淋巴细胞亚群中总T细胞(CD3)计数越低, 辅助/诱导T细胞(CD³⁺CD⁴⁺)计数也越低, 两者有明显的负相关性, 提示 Apelin与肿瘤免疫有关。其机制尚不清, 可能是CD⁴⁺辅助T细胞、CD⁸⁺细胞毒T淋巴细胞在细胞因子刺激下分化成熟, 在 γ 干扰素、白介素-2诱导生成细胞毒性T淋巴细胞和活化

NK细胞等方式增强杀伤肿瘤细胞;其中的T辅助细胞2(Th2)可抑制Th1诱导的抗肿瘤免疫反应,导致细胞毒性T淋巴细胞功能及自然杀伤细胞活性下调而促进肿瘤的生长和转移^[5]。Apelin可能与免疫细胞驱动定位有关^[13],抑制干扰素、白介素的产生参与免疫调节等炎症反应病理生理过程。通过接触或分泌细胞因子的方式抑制效应T淋巴细胞的免疫功能^[7]。

综上所述,非小细胞肺癌患者血浆Apelin水平高,转移患者升高明显,经治疗后降低;血浆Apelin水平变化与肿瘤转移病变及患者免疫功能状态有关。提示Apelin在非小细胞肺癌的发生、发展过程中可能扮演重要角色,其真正的机制有待深入研究。

参考文献

- 郭寒菲,李汶倩,崔久崑.新辅助免疫治疗在非小细胞肺癌中的研究进展[J].肿瘤研究与临床,2021,33(1):65-69.
- Roberts EA, Morrison LE, Behman LJ. Chromogenic immunohistochemical quadruplex provides accurate diagnostic differentiation of non-small cell lung cancer[J]. Ann Diagn Pathol, 2020, 45: 151454.
- 张静,黄守国,夏鹰. CeRNA网络介导恶性肿瘤表型调控的机制研究[J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(9): 544-548.
- 杨冬莲,陈露文,杨瑞平. 2型糖尿病肾病患者的Apelin、胱抑素C的变化及其临床意义[J]. 中华肥胖与代谢病电子杂志, 2021, 7(2): 77-80.
- Hu L, Hayashi Y, Kidoya H. Endothelial cell-derived Apelin inhibits tumor growth by altering immune cell localization[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 140-147.
- Masoumi J, Jafarzadeh A, Khorramdelazad H. Role of Apelin/APJ axis in cancer development and progression[J]. Adv Med Sci, 2020, 65(1): 202-213.
- Sorli SC, Le Gonidec S, Knibiehler B. Apelin is a potent activator of tumour neoangiogenesis[J]. Oncogene, 2007, 26(55): 7692-7699.
- Gourgue F, Derouane F, van Marcke C. Tumor apelin and obesity are associated with reduced neoadjuvant chemotherapy response in a cohort of breast cancer patients[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 9922.
- Dogra S, Neelakantan D, Patel MM. Adipokine apelin/APJ pathway promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer cells by regulating lipid metabolism[J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(9): 1534-1545.
- 胡丹,朱伟峰,沈武成. Apelin和Snail蛋白在乳腺癌中的表达及其预后意义[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(10): 743-746.
- Aktan M, Ozmen HK. A preliminary study of serum apelin levels in patients with head and neck cancer[J]. Eurasian J Med, 2019, 51(1): 57-59.
- Berta J, Török S, Tárnoki-zách J, et al. Apelin promotes blood and lymph vessel formation and the growth of melanoma lung metastasis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 5798.
- Hu L, Hayashi Y, Kidoya H. Endothelial cell derived Apelin inhibits tumor growth by altering immune cell localization [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 14047.

(收稿日期 2022-06-21)

(本文编辑 葛芳君)