

喉鳞癌患者血清氨基酸种类和含量差异与临床价值研究*

孙洋¹ 干明月¹ 吴勇延² 高伟² 卢岩¹

[摘要] 目的:检测喉鳞状细胞癌患者与非肿瘤患者外周血清中氨基酸种类及含量差异,探讨他们与喉鳞癌各临床参数之间的关系以及在诊断中的临床价值。方法:采用高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS)法检测锦州医科大学附属第一医院 2018 年 9 月—2021 年 2 月初诊的 62 例喉鳞癌患者(实验组)和同时期的 141 例非肿瘤患者(对照组)血清 22 种非必需氨基酸及必需氨基酸种类与含量差异,应用 ROC 曲线及多元线性逻辑回归模型对差异性氨基酸在喉鳞癌早期诊断中的效能进行分析。结果:实验组较对照组血清中有 14 种氨基酸含量存在差异,其中 13 种氨基酸含量显著高于对照组($P < 0.05$),包括 7 种必需氨基酸:苯丙氨酸、苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸、组氨酸、酪氨酸、瓜氨酸,以及 6 种非必需氨基酸:精氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、甘氨酸、鸟氨酸、脯氨酸。而同型半胱氨酸含量明显低于对照组($P = 0.024$)。进一步分析表明临床早期(I 期+II 期)喉鳞癌患者血清中甲硫氨酸含量显著高于临床晚期(III 期+IV 期)患者($P = 0.026$)。高分化鳞状细胞癌患者血清中组氨酸含量显著高于低分化鳞状细胞癌患者($P = 0.041$)。年龄 >64 岁的喉鳞癌患者血清中天冬酰胺的含量高于 ≤ 64 岁的喉鳞癌患者($P = 0.033$),有吸烟史的喉鳞癌患者血清中色氨酸含量均低于无吸烟史患者($P = 0.033$),有饮酒史的喉鳞癌患者血清中瓜氨酸含量高于无饮酒史的喉鳞癌患者($P = 0.003$)。ROC 曲线分析表明,实验组与对照组间存在差异的 14 种氨基酸中,除同型半胱氨酸和鸟氨酸不具备统计学意义($P > 0.05$),瓜氨酸和半胱氨酸作为独立因素诊断喉鳞癌的效能相对较高(AUC 数值分别为 0.856 及 0.850);而精氨酸作为单独诊断喉鳞癌因素时的灵敏度则最高(0.855);但单独使用瓜氨酸诊断喉鳞癌时其特异度最高(0.830);将 12 种氨基酸联合应用于检测可显著提高喉鳞癌的诊断效能,AUC 为 0.946,灵敏度为 0.887,特异度为 0.894。基于血清差异氨基酸含量建立多元线性逻辑回归模型的风险评分公式,喉鳞癌组的风险评分高于非肿瘤组($P < 0.001$),风险评分诊断喉鳞癌的 AUC 为 0.953(敏感度和特异度分别为 0.957 和 0.855)。结论:喉鳞癌患者与非肿瘤患者比较,14 种氨基酸的含量存在差异,其中 13 种氨基酸的含量在喉鳞癌患者血清中升高,并与年龄、临床分期、病理分化程度、吸烟以及饮酒具有相关性。联合其中 12 种氨基酸进行检测可提高喉鳞癌的诊断效能,具备外周血辅助诊断喉鳞癌的潜力。同时建立风险评分模型发现其对于喉鳞癌的诊断效能更高,表明该模型对于辅助诊断喉鳞癌有重要潜在价值。

[关键词] 喉鳞状细胞癌;外周血血清氨基酸;高效液相色谱-串联质谱;诊断效能

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2024.08.008

[中图分类号] R736.9 [文献标志码] A

Study on the difference and clinical value of serum amino acids in patients with laryngeal squamous cell carcinoma

SUN Yang¹ GAN Mingyue¹ WU Yongyan² GAO Wei² LU Yan¹

(¹Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, 121000, China;²Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Shenzhen Institute of Otorhinolaryngology)

Corresponding author: LU Yan, E-mail: luyan823@163.com

Abstract Objective: To detect the differences in types and levels of amino acids in the peripheral serum of patients with laryngeal squamous cell carcinoma and non-tumor patients, and explore their relationship with clinical parameters of laryngeal squamous cell carcinoma as well as their clinical value in diagnosis. **Methods:** High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS) was employed to detect the serum amino acid contents and levels of 62 patients diagnosed with laryngeal carcinoma and 141 non-tumor patients at the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University between September 2018 and February 2021. The study com-

*基金项目:辽宁省教育厅科学技术研究项目青年科技人才“育苗”项目(No:JYTQN2020032);广东省基础与应用基础研究基金(No:2023A1515010342);深圳市科技计划(No:RCJC20210706091950028,JCYJ20220531102815036)

¹锦州医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科(辽宁锦州,121000)

²深圳市龙岗区耳鼻咽喉医院耳鼻咽喉头颈外科 深圳市耳鼻咽喉研究所

通信作者:卢岩, E-mail: luyan823@163.com

pared the differences in 22 non-essential and essential amino acids found in the serum between the experimental group and the control group. An ROC curve and risk scoring formula of multivariate linear logic regression model was utilized to evaluate the efficiency of serum amino acids in the early diagnosis of laryngeal carcinoma. **Results:** There were significant differences in the contents of fourteen types of amino acids between the experimental and control groups, with thirteen amino acids showing higher levels in the experimental group ($P < 0.05$). Seven of these amino acids were essential, including phenylalanine, threonine, leucine, valine, histidine, tyrosine, and citrulline. The other six amino acids were non-essential, including arginine, asparagine, cysteine, glycine, ornithine, and proline. Interestingly, the content of homocysteine in the experimental group was lower than that in the control group ($P = 0.024$). Further analysis showed that patients with laryngeal squamous cell carcinoma in TNM stage I and II had higher serum methionine levels compared to those in stages III and IV ($P = 0.026$). In addition, the content of serum histidine was higher in patients with poorly differentiated squamous cell carcinoma compared to those with well-differentiated squamous cell carcinoma ($P = 0.041$). The level of asparagine in the serum of patients with laryngeal squamous cell carcinoma older than 64 years old was lower than that in patients younger than 64 years old ($P = 0.033$). The level of tryptophan in the serum of patients with a smoking history was lower than that in patients without a smoking history ($P = 0.033$). The level of citrulline in the serum of patients with a history of alcohol consumption was higher than that in patients with no history of alcohol consumption ($P = 0.003$). ROC curve analysis showed that out of the 14 different amino acids between the experimental and control groups, citrulline and cysteine were relatively effective as independent factors in the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma, with an AUC of 0.856 and 0.850, respectively. Arginine was the most sensitive factor in the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma (AUC = 0.855). However, citrulline alone had the highest specificity (0.830) in the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma, and the combination of 12 amino acids significantly improved the diagnostic efficiency of laryngeal squamous cell carcinoma, with an AUC of 0.946, sensitivity of 0.887, and specificity of 0.894. A risk score formula for a multivariate logistic regression model was established based on the differential amino acid content in the serum. The risk score of laryngeal squamous cell carcinoma group was higher than that of the non-tumor group ($P < 0.001$). The AUC of risk score in the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma was 0.953 with sensitivity and specificity of 0.957 and 0.855. **Conclusion:** This study found that there are differences in the contents of 14 amino acids among which 13 amino acids were increased in serum of patients with laryngeal squamous cell carcinoma, and were associated with age, clinical stage, pathological differentiation, smoking, and drinking. Combined detection of 12 amino acids can improve the diagnostic efficiency of laryngeal squamous cell carcinoma and serve as potential markers for the auxiliary diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma using peripheral blood samples. Additionally, the established risk score model was found to be more effective in the diagnosis of laryngeal squamous cell carcinoma, indicating its important potential value as an auxiliary diagnostic tool.

Key words laryngeal squamous cell carcinoma; serum amino acids in peripheral blood; high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; diagnostic efficiency

代谢组学作为系统生物学领域中的新技术,逐渐在疾病病因与诊断研究、药物作用机制研究、新药开发等多个领域体现出重要作用^[1-2]。氨基酸作为蛋白质合成必备成分,参与能量产生、大分子合成、信号转导和细胞氧化还原稳态维持等诸多生物学过程,特别是作为代谢组学检测中的重要组分,已广泛应用于遗传代谢疾病的辅助筛查^[3]。然而,癌症患者不仅处于高代谢状态,癌细胞本身还具有“代谢重编程”的恶性生物学特性,从而导致蛋白的合成与分解异于健康人群,最终导致肿瘤患者血清中氨基酸种类与含量上的不同,相关研究不仅是肿瘤领域中的热点^[4-5],而且在肿瘤诊断标志物方面更是表现出重要的临床应用潜力,在口腔鳞癌、卵巢癌、食管癌、胃癌、甲状腺癌、结直肠癌、胰腺癌等肿瘤疾病中已有部分研究报道^[6-9]。然而,外周血清中差异性游离氨基酸是否对喉鳞癌具有诊断的临床应用潜力,目前尚知之甚少。本研究利

用高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS)技术对喉鳞癌患者和非肿瘤患者血清中游离氨基酸种类与含量进行检测,同时分析它们与临床参数之间的关系,最终对喉鳞癌患者及非肿瘤患者中血清差异氨基酸的诊断效能进行评估,探讨其作为喉鳞癌诊断生物标志物的临床应用潜力。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性收集 2018 年 9 月—2021 年 2 月初次就诊于锦州医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科的喉鳞癌患者 62 例(实验组),其中男 60 例,女 2 例;年龄 48~83 岁,中位年龄 64 岁;声门型 46 例、声门上 12 例、声门下 4 例;有吸烟史 57 例、无吸烟史 5 例;有饮酒史 54 例、无饮酒史 8 例;T1 期 24 例、T2 期 24 例、T3 期 7 例、T4 期 7 例;N0 期 52 例、N1 期 7 例、N2 期 3 例;临床 I 期 22 例、II 期 22 例、III 期 10 例、IV 期 8 例。

实验组纳入标准:①喉鳞癌为第一原发肿瘤,无第二原发肿瘤;②病理确诊为喉鳞状细胞癌;③术前未行放疗及生物治疗等;④无肝脏、肾脏、心脑血管、糖尿病、过敏性疾病及肥胖等相关性疾病;⑤无乙肝、丙肝、梅毒、艾滋病及结核等传染疾病史;⑥无家族性遗传病史;⑦BMI值属正常范围。选取同时期经临床及(或)病理检查确诊为慢性鼻窦炎、慢性扁桃体炎、咽部囊肿及声带息肉的非肿瘤患者141例作为对照组,其中男75例,女66例;年龄39~73岁,中位年龄55岁。对照组纳入标准:①经临床检查或病理确诊为慢性鼻窦炎、慢性扁桃体炎、咽部囊肿及声带息肉患者;②既往无重大疾病及肿瘤史;③无肝脏、肾脏、心脑血管、糖尿病、过敏性疾病及肥胖等相关性疾病;④无乙肝、丙肝、梅毒、艾滋病及结核等传染疾病史;⑤无家族性遗传病史;⑥BMI值属正常范围。本研究经由锦州医科大学附属第一医院伦理委员会同意并备案(No:202337)。

1.2 主要试剂与仪器

氨基酸代谢谱分析试剂盒购自上海可力梅塔生物医药科技有限公司,色谱级用水与甲醇购自美国赛默飞世尔公司。主要仪器包括三重四级杆质谱仪(Triple Quad™5500, AB SCIEX)和液相色谱仪(Exion LC AD, AB SCIEX)。

1.3 样本采集与质谱流程

患者禁食过夜,于次日清晨空腹采取静脉血1 mL,采集后1 h内以3 000 r/min离心10 min,吸取其上层血清后保存至-80℃冰箱备用。使用移液枪将400 μL乙腈加至200 μL血清样本中,涡旋混匀后于室温静置10 min,再以12 000 r/min离心10 min后用40℃氮气吹干上清液,最终使用100 μL去离子水复溶后上机检测。色谱柱(Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 mm×150.0 mm, 2.7 μm)柱温25℃,流动相A为20 mmol/L甲酸铵水溶液(pH=3),流动相B为20 mmol/L。水相甲酸铵乙腈/水(9:1)溶液(pH=3),流动相流速0.5 mL/min,样品进样量2 μL。流动相线性洗脱梯度如下:0~11.5 min,流动相B由100%下降至70%;11.5~15.0 min,流动相B由70%上升至100%。质谱检测条件如下:Curtain Gas(CUR)为20, Collision Gas(CAD)为Medium, Ionspray Voltage (IS)为5 500, Temperature (TEM)为330℃, Ion Source Gas 1(GS1)为20, Ion Source Gas 2(GS2)为0。

1.4 检测指标

血清中检测氨基酸共计22种,包括甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)、瓜氨酸(Cit)、酪氨酸(Tyr)、天冬酰胺(Asn)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、赖氨酸(Lys)、谷氨酰胺(Gln)、甲硫氨酸

(Met)、丝氨酸(Ser)、鸟氨酸(Orn)、苏氨酸(Thr)、半胱氨酸(Cys)、同型半胱氨酸(Hcy)、脯氨酸(Pro)、组氨酸(His)和精氨酸(Arg)。

1.5 统计学分析

采用SPSS 25.0统计学软件对实验数据进行统计分析,计量数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示,2组间计量资料比较采用独立样本 t 检验,2组间计数资料比较采用秩合检验,根据12个有诊断效能的氨基酸含量的风险评分公式建立多元线性逻辑回归模型以及12种血清氨基酸及其联合筛查效能采用受试者工作特征(ROC)曲线分析差异血清氨基酸水平对喉癌的诊断效能,取约登指数(灵敏度与特异度之和减去1)最大的一点为本次实验的最佳截断值,并计算其对应的筛查灵敏度和特异度。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 2组血清氨基酸种类及含量的差异

与对照组比较,实验组血清中共计存在14种氨基酸种类和含量上的差异,种类上包括7种必需氨基酸:Phe、Thr、Leu、Val、His、Tyr、Cit;以及6种非必需氨基酸:Arg、Asn、Cys、Gly、Orn、Pro,以上氨基酸在实验组血清中的含量显著高于对照组($P < 0.05$);而以上氨基酸中Hcy的含量显著低于对照组($P = 0.024$)。其他8种氨基酸含量在2组中差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 不同年龄、是否吸烟以及饮酒的喉鳞癌患者血清中22种氨基酸含量比较

根据中位年龄64岁分为 >64 岁组和 ≤ 64 岁组,各31例。 >64 岁组喉鳞癌患者血清Asn含量为 $(90.01 \pm 32.34) \mu\text{mol/L}$, ≤ 64 岁组Asn含量为 $(75.95 \pm 14.79) \mu\text{mol/L}$,2组比较差异有统计学意义($t = -2.201, P = 0.033$),其他21种氨基酸数据水平在不同年龄段喉鳞癌患者之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

根据有无吸烟史将喉鳞癌患者分为吸烟组和不吸烟组,其中吸烟组57例,不吸烟组5例,不吸烟组的喉鳞癌患者血清Trp含量为 $74.50(48.00, 14.00) \mu\text{mol/L}$,吸烟组的喉鳞癌患者血清Trp含量为 $51.05(31.00, 77.00) \mu\text{mol/L}$,2组比较差异有统计学意义($Z = -2.133, P = 0.033$),其他21种氨基酸数据水平在是否吸烟的喉鳞癌患者之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

根据有无饮酒史将喉鳞癌患者分为饮酒组(54例)和不饮酒组(8例),饮酒组的喉鳞癌患者血清Cit含量为 $26.65(13.59, 57.67) \mu\text{mol/L}$,不饮酒组的喉鳞癌患者血清Cit含量为 $20.53(14.09, 23.57) \mu\text{mol/L}$,2组比较差异有统计学意义($Z = -2.961, P = 0.003$),而其他21种氨基酸数据水平在是否饮酒的喉鳞癌患者之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 实验组与对照组血清中氨基酸含量的比较

序号	氨基酸(AA)	实验组(n=62)	对照组(n=141)	t	P
1	Pro	399.32±154.50	308.96±109.81	4.741	<0.001
2	Gly	205.31±83.05	165.47±52.43	4.129	<0.001
3	Val	135.47±33.91	110.73±28.73	-2.727	0.024
4	Leu	108.94±29.81	90.43±31.15	4.387	<0.001
5	His	86.55±35.56	71.23±21.20	3.807	<0.001
6	Asn	82.98±25.93	66.88±24.64	4.218	<0.001
7	Phe	50.03±20.96	39.38±12.70	4.461	<0.001
8	Tyr	49.81±17.70	40.77±11.23	4.387	<0.001
9	Orn	45.37±27.00	38.85±17.93	2.029	0.044
10	Thr	42.80±18.41	33.18±9.20	4.967	<0.001
11	Cit	26.57±8.76	17.16±5.01	9.678	<0.001
12	Arg	22.04±18.30	13.68±10.89	4.741	<0.001
13	Hcy	9.96±1.44	10.34±0.94	-2.272	0.024
14	Cys	1.87±0.88	0.84±0.59	9.795	<0.001
15	Ala	229.06±90.76	212.85±60.90	1.492	0.137
16	Lys	201.82±70.91	201.70±61.75	0.563	0.990
17	Glu	147.75±45.48	136.34±34.10	1.975	0.051
18	Ser	75.47±43.37	66.82±25.41	1.798	0.077
19	Trp	54.55±15.00	51.05±11.67	1.798	0.074
20	Asp	52.91±27.44	47.95±16.43	1.594	0.112
21	Met	16.21±7.24	14.61±5.89	0.563	0.100
22	Gln	10.71±3.19	10.42±3.41	0.563	0.574

2.3 不同部位的喉鳞癌、早期和晚期喉鳞癌患者血清中 22 种氨基酸含量比较

声门上型、声门型及声门下型喉鳞癌患者的 22 种氨基酸含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。早期喉鳞癌患者(I 期+II 期)血清 Met 含量高于晚期患者(III 期+IV 期)患者($Z=-2.222, P=0.026$),其他 21 种氨基酸含量在早期或晚期喉鳞癌患者之间的含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。低分化鳞状细胞癌患者血清中 His 含量高于高分化患者水平($Z=-2.048, P=0.041$),其他 21 种氨基酸含量在分化程度不同患者间的差异均无统计学意义($P>0.05$)。伴有颈部淋巴结转移的喉鳞癌患者血清中氨基酸含量与未转移患者间的差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 差异氨基酸含量在喉鳞癌筛查中的效能评估结果

ROC 曲线分析表明,在实验组与对照组存在差异的 14 种氨基酸中,Hcy 和 Orn 的 AUC 即曲线下面积对应的均 $P>0.05$,差异无统计学意义,而 Cit 和 Cys 作为单独诊断喉鳞癌因素时效能较高,AUC 分别为 0.856 和 0.850;Arg 单独筛查喉鳞癌时有最高的灵敏度,达 0.855;而 Cit 单独用于诊断喉鳞癌时则有最高的特异度,高达 0.830;这 12 种氨基酸联合应用于检测时能提高喉鳞癌的诊断效能,AUC 为 0.946,灵敏度为 0.887,特异度为 0.894。根据最佳诊断临界值即截断值可更精确地

诊断喉鳞癌患者,当血清 Arg $>10.310 \mu\text{mol/L}$ 、Asn $>68.970 \mu\text{mol/L}$ 、Cit $>20.320 \mu\text{mol/L}$ 、Cys $>1.195 \mu\text{mol/L}$ 、Gly $>160.870 \mu\text{mol/L}$ 、His $>79.170 \mu\text{mol/L}$ 、Leu $>88.990 \mu\text{mol/L}$ 、Phe $>42.030 \mu\text{mol/L}$ 、Pro $>318.460 \mu\text{mol/L}$ 、Thr $>38.815 \mu\text{mol/L}$ 、Tyr $>45.560 \mu\text{mol/L}$ 、Val $>119.390 \mu\text{mol/L}$ 时可在初步诊断喉鳞癌患者中具有辅助参考价值。见表 2、图 1。

表 2 血清中升高的 12 种氨基酸单独及联合检测对喉鳞癌的诊断效能评估

序号	氨基酸(AA)	AUC	最佳诊断临界值/ $\mu\text{mol/L}$	灵敏度	特异度
1	His	0.661	79.170	0.613	0.730
2	Tyr	0.674	45.560	0.581	0.730
3	Arg	0.703	10.310	0.855	0.504
4	Pro	0.705	318.460	0.694	0.652
5	Thr	0.706	38.815	0.597	0.759
6	Gly	0.711	160.870	0.823	0.574
7	Leu	0.722	88.990	0.790	0.596
8	Asn	0.725	68.970	0.726	0.645
9	Phe	0.736	42.030	0.694	0.709
10	Val	0.772	119.390	0.742	0.723
11	Cys	0.850	1.195	0.806	0.773
12	Cit	0.856	20.320	0.823	0.830
13	12 种氨基酸联合	0.946	0.684	0.887	0.894

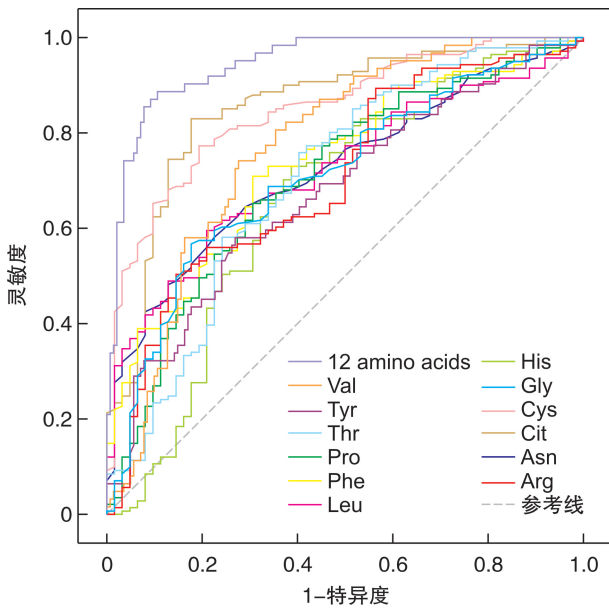


图 1 血清中升高的 12 种氨基酸单独及联合检测诊断喉鳞癌的 ROC 曲线

2.5 差异氨基酸含量风险评分公式的建立

根据 12 个有诊断效能的氨基酸含量的风险评分公式建立多元线性逻辑回归模型。公式如下: 风险评分 = $2.482 - 0.009673 \times \text{精氨酸} - 0.002953 \times \text{天冬酰胺} - 0.270569 \times \text{半胱氨酸} + 0.000130 \times \text{甘氨酸} + 0.007379 \times \text{鸟氨酸} - 0.000126 \times \text{脯氨酸} - 0.001651 \times \text{苯丙氨酸} + 0.002967 \times \text{亮氨酸} - 0.000733 \times \text{缬氨酸} - 0.023428 \times \text{瓜氨酸} - 0.000455 \times \text{组氨酸} - 0.000270 \times \text{酪氨酸}$ 。结果显示喉鳞癌组的风险评分高于非肿瘤组 ($P < 0.001$), AUC 为 0.953, 敏感度和特异度分别为 0.957 和 0.855。见图 2。

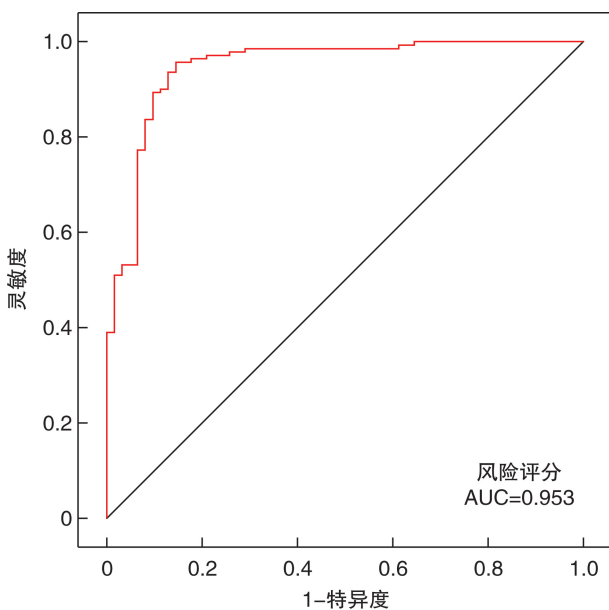


图 2 12 个有诊断效能的氨基酸含量的风险评分诊断模型

3 讨论

喉鳞癌的临床诊断主要依靠内镜、影像学和病理组织学等检查,除声门型喉鳞癌因早期即可出现明显的声音嘶哑而易于被早期发现,其他各型喉鳞癌因解剖部位隐匿和临床症状不典型,患者就诊时多为中晚期,加之周围淋巴组织丰富,肿瘤在早期极易发生颈淋巴结转移,极大程度影响患者的生存时间及生存质量^[10]。因此,寻找喉鳞癌患者血清特异性指标物可为喉鳞癌早期诊断提供新的思路。

肿瘤不仅是多基因病,更是一类代谢紊乱性疾病。部分研究表明,氨基酸代谢在癌基因激活、肿瘤细胞增殖及转移能量供给等方面发挥重要生物学作用,氨基酸代谢已成为肿瘤代谢领域中热点方向^[11-12]。许维东等^[13]采用 HRMS 技术在乳腺癌患者的血清氨基酸样本中筛选出 8 个存在差异的氨基酸,即脯氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、异亮氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸,可应用于预测曲妥珠单抗治疗乳腺癌的疗效。同时发现谷氨酸可作为乳腺癌早期诊断的特异性指标, Varghese 等^[14]发现组氨酸含量低于正常值下限水平,且具有提示肺癌的辅助参考价值。精氨酸是人体代谢时的一种半必需氨基酸,精氨酸琥珀酸合成酶 (ASS) 是精氨酸合成限速的关键酶,然而多种肿瘤细胞中缺乏此酶,可能是肿瘤发生发展过程中外源精氨酸依赖性的原因之一,阻碍黑色素瘤和肝细胞癌模型中精氨酸摄入,可有效遏制肿瘤,是肿瘤治疗的潜在治疗策略^[15-17]。研究表明甘氨酸的生物合成对于维持肿瘤细胞快速增殖至关重要, Wu 等^[18]在恶性头颈部鳞状细胞癌组织样本检测到甘氨酸浓度较正常对照组织升高。以上研究表明,肿瘤患者血清中氨基酸含量和种类的变化不仅是重要的生物学特质,作为诊断、预后及疗效评估的标志物可能具有较好的临床转化应用潜力。

本研究发现喉鳞癌患者血清中 14 种氨基酸存在含量上的异常,其中精氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、组氨酸、亮氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸含量升高,而同型半胱氨酸含量降低。临床分期及病理分化程度与患者的生存预后紧密相关,本研究进一步比较早期及晚期喉鳞癌患者血清氨基酸含量,发现早期患者血清中甲硫氨酸含量高于晚期患者,但甲硫氨酸在喉鳞癌患者与非肿瘤个体血清中的含量差异无统计学意义,其对于喉鳞癌临床分期是否具有预测价值有待进一步探索。组氨酸不仅在喉鳞癌患者血清中的含量升高,而且在低分化喉鳞癌患者血清中的含量也高于高分化患者,因此组氨酸可能对喉鳞癌分化程度辅助诊断具有潜在的临床应用价值。

吸烟与饮酒被认为是喉鳞癌罹患的风险因素,同时与术后复发或恶性进展有关^[19]。本研究发

现,色氨酸在有吸烟史的喉鳞癌患者血清中含量低于无吸烟史患者;瓜氨酸在有饮酒史的喉鳞癌患者血清中含量高于无饮酒史患者。费梦佳等^[20]发现喉鳞癌肿瘤组织中色氨酸代谢明显增强,Gu等^[21]则发现色氨酸与吸烟相关并提出其可能作为与吸烟相关疾病早期检测的生物标志物。机体摄入烟草及酒精后,其本身会发生一系列代谢过程,相关代谢物也会影响机体其他物质代谢,喉鳞癌中色氨酸及瓜氨酸与吸烟和饮酒之间是如何相互影响,其中有哪些调控机制和生物学意义尚需进一步研究。

本研究还发现,天冬酰胺在>64岁组喉鳞癌患者血清中的含量高于≤64岁组患者,有报道表明高水平的天冬酰胺可维持肿瘤细胞的存活和增殖能力,与肿瘤侵袭能力密切相关,同时天冬酰胺合成酶也被证实可作为喉癌患者预后的独立预测因子^[22]。徐娟等^[23]研究发现营养标志物中的白蛋白、球蛋白及白球比与头颈部鳞状细胞癌的预后密切相关,因此天冬酰胺含量在不同年龄段喉鳞癌患者预后预测的临床潜力值得进一步探究。

将喉鳞癌患者血清中含量有差异的14种氨基酸单独及联合分析并绘制ROC曲线,排除不具有统计学意义的同型半胱氨酸及鸟氨酸,计算其余12种氨基酸的最佳截断值及对应的筛查灵敏度和特异度,使用AUC评估以上12种氨基酸对于喉鳞癌的诊断效能,结果显示单独使用瓜氨酸及半胱氨酸诊断喉鳞癌的效能较高,AUC分别为0.856和0.850;而在灵敏度方面,单独使用精氨酸诊断喉鳞癌的效能最高,达0.855;在特异度方面,瓜氨酸单独诊断喉鳞癌时效能最高,达0.830。本研究结果显示联合12种氨基酸时可显著提高诊断喉鳞癌的效能。同时利用差异性氨基酸进一步建立风险评估模型,发现其对喉鳞癌的诊断效能更高,AUC达0.953,对应的敏感度及特异度分别为0.957和0.855,表明该风险评估模型对于辅助诊断喉鳞癌有重要的临床应用价值。

综上所述,本研究发现喉鳞癌患者血清中氨基酸种类与含量较非肿瘤个体存在明显差异,联合应用这些氨基酸诊断喉鳞癌体现出较好的特异性及敏感性,同时依据相关氨基酸含量构建风险预测模型,具有较高的临床应用潜力。但本研究纳入的实验样本量尚有限,需要进一步扩大样本量继续评估,同时差异性血清氨基酸所涉及的代谢通路在喉鳞癌恶性增殖、侵袭转移以及放化疗抵抗中的调控机制值得深入探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吴静,杨睿,张磊,等.基于液相色谱-质谱技术的乳腺癌转移相关代谢标志物的筛选[J].天津医药,2018,46(10):1033-1038.
- [2] 吕翔宇,熊玥,卢嘉微,等.基于液-质联用技术的乳腺癌血清代谢组学分析[J].中国医院药学杂志,2019,39(16):1620-1624.
- [3] Sivanand S, Vander Heiden MG. Emerging Roles for Branched-Chain Amino Acid Metabolism in Cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(2):147-156.
- [4] Muhammad N, Lee HM, Kim J. Oncology Therapeutics Targeting the Metabolism of Amino Acids [J]. *Cells*, 2020, 9(8):1904.
- [5] Liu J, Wang J, Ma X, et al. Study of the Relationship Between Serum Amino Acid Metabolism and Lymph Node Metastasis in Patients with Colorectal Cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:10287-10296.
- [6] Ahmed-Salim Y, Galazis N, Bracewell-Milnes T, et al. The application of metabolomics in ovarian cancer management: a systematic review [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2021, 31(5):754-774.
- [7] Neef SK, Winter S, Hofmann U, et al. Optimized protocol for metabolomic and lipidomic profiling in formalin-fixed paraffin-embedded kidney tissue by LC-MS [J]. *Anal Chim Acta*, 2020, 1134:125-135.
- [8] Paulusma CC, Lamers WH, Broer S, et al. Amino acid metabolism, transport and signalling in the liver revisited [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 201:115074.
- [9] Wang H, Jia H, Gao Y, et al. Serum metabolic traits reveal therapeutic toxicities and responses of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with rectal cancer [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):7802.
- [10] 李梦露,高伟,吴勇延,等.头颈部鳞状细胞癌中肿瘤干细胞生物标记物的研究进展[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2021,35(9):854-858.
- [11] 吕雅鑫,陈龙,蒋义鑫,等.淫羊藿苷抑制非小细胞肺癌生长的代谢组学研究[J].上海中医药杂志,2021,55(6):84-90.
- [12] 陈君宇,曹冬焱.代谢组学在子宫内膜癌中的研究进展[J].现代妇产科进展,2021,33(9):1-5.
- [13] 许维东,姚慧韬,张新平,等.基于超高效液相色谱-四级杆静电场轨道阱高分辨质谱技术的曲妥珠单抗辅助治疗人类表皮生长因子受体-2阳性乳腺癌血清代谢组学研究[J].中国基层医药,2021,28(2):184-289.
- [14] Varghese E, Samuel SM, Lišková A, et al. Targeting Glucose Metabolism to Overcome Resistance to Anti-cancer Chemotherapy in Breast Cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8):2252.
- [15] Niu F, Yu Y, Li Z, et al. Arginase: An emerging and promising therapeutic target for cancer treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149:112840.
- [16] Wu C, You M, Nguyen D, et al. Enhancing the Effect of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand Signaling and Arginine Deprivation in Melanoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14):7628.
- [17] Harding JJ, Yang TS, Chen YY, et al. Assessment of pegylated arginine deiminase and modified FOLFOX6 in patients with advanced hepatocellular carcinoma: Results of an international, single-arm, phase 2 study [J]. *Cancer*, 2021, 127(24):4585-4593.

头颈部结节病 14 例临床特点分析

张诗涵¹ 孟鑫¹ 程龙龙¹ 张静睿¹ 王买全¹ 侯明¹ 蔺栋鹏¹ 王永功¹

[摘要] 目的:探讨以头颈部症状为主的结节病的临床特点,并总结其诊治经验。方法:回顾性纳入 2020 年 1 月—2023 年 8 月于河南省人民医院就诊的以头颈部症状为主的结节病患者,分析其症状特点、病理学特征、治疗方式及预后情况等临床资料。结果:共纳入 14 例患者,其中男 4 例(28.6%),女 10 例(71.4%);年龄 11~71 岁,平均(52.0±15.8)岁。病变位于腮腺 2 例,颈部 12 例。12 例行颈部肿物切除术,2 例行超声引导下腮腺肿物粗针穿刺术,术后均经病理明确诊断。4 例术后辅以激素治疗,术后 3 个月预后良好,病变范围缩小;3 例未服用药物,病变持续存在,仍感不适;7 例术后未服用药物,病变范围扩大,多器官进展。结论:头颈部结节病的患者临床少见,容易漏诊、误诊,选用激素治疗可获得良好疗效。

[关键词] 头颈部结节病;临床特点;诊疗经验;预后

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2024.08.009

[中图分类号] R739.91 **[文献标志码]** A

Analysis of 14 cases of sarcoidosis of head and neck

ZHANG Shihan MENG Xin CHENG Longlong ZHANG Jingrui

WANG Maiquan HOU Ming LIN Dongpeng WANG Yonggong

(Henan University People's Hospital; Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, 450003, China)

Corresponding author: WANG Yonggong, E-mail: wygkyz@163.com

Abstract Objective: To explore the clinical characteristics of sarcoidosis of head and neck symptoms, and to summarize the diagnosis and treatment experience. **Methods:** A retrospective study was conducted on patients with nodular disease with main symptoms in the head and neck who visited Henan Provincial People's Hospital from January 2020 to August 2023. The clinical data including symptom characteristics, pathological characteristics, treatment methods, and prognosis were analyzed. **Results:** A total of 14 patients were included, with 4 males (28.6%) and 10 females (71.4%), age ranged from 11 to 71 years, with an average age of (52.0±15.8) years. The lesions were located in the parotid gland in 2 cases and the neck in 12 cases. Twelve cases underwent neck mass resection surgery, and 2 cases underwent ultrasound-guided core biopsy of parotid gland tumor and postoperative pathological diagnosis was confirmed in all cases. Four cases received steroid treatment postoperatively, and showed good prognosis with reduced lesion size after 3 months. Three cases did not take medication and the lesions continued to persist, causing discomfort. Seven cases did not take medication postoperatively, and the lesions expanded with multi-organ progression. **Conclusion:** Patients with head and neck sarcoidosis are rare in clinical practice, and it is prone to misdiagnosis and missed diagnosis. Steroid therapy can achieve good therapeutic effects.

Key words sarcoidosis of head and neck; clinical features; diagnostic experience; prognosis

¹河南大学人民医院 河南省人民医院口腔颌面外科(郑州,450003)
通信作者:王永功, E-mail: wygkyz@163.com

引用本文:张诗涵,孟鑫,程龙龙,等.头颈部结节病 14 例临床特点分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2024,38(8):721-725. DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2024.08.009.

- [18] Wu D, Gong P, Zeng Q, et al. Prognostic implication of proteomic profiles in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Clin Chim Acta, 2020, 509:304-309.
- [19] 莫海兰,方红雁,罗锐,等.声带癌前病变术后复发和恶变相关影响因素分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2023,37(5):354-359.
- [20] 费梦佳,徐雅男,王家东.甲状腺乳头状癌与喉鳞状细胞癌代谢组学初步研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,31(20):1561-1565.
- [21] Gu F, Derkach A, Freedman ND, et al. Cigarette smoking behaviour and blood metabolomics[J]. Int J Epidemiol, 2016, 45(5):1421-1432.
- [22] 张浩鹏,王丽华,郭裕.天冬酰胺合成酶(ASNS)在喉癌中的表达意义及苦参碱干预机制[J].生物技术,2023,33(1):88-94.
- [23] 徐娟,张立庆,董伟达,等.喉鳞状细胞癌术后患者预后列线图的构建和验证[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2022,36(12):902-909.

(收稿日期:2023-09-12)