

SPP1在肺腺癌中的表达及与M2型巨噬细胞浸润的关系

刘梦玉*, 刘百龙#

¹安徽医科大学第二临床医学院, 安徽 合肥

²安徽医科大学第二附属医院肿瘤放疗科, 安徽 合肥

收稿日期: 2026年4月21日; 录用日期: 2026年5月15日; 发布日期: 2026年5月22日

摘要

目的: 探讨分泌型磷蛋白1 (SPP1)在肺腺癌中的表达及其与M2型巨噬细胞浸润的关系。方法: 基于TCGA数据库及GEPiA、TIMER等平台分析SPP1在肺腺癌中的表达、生存相关性及免疫浸润特征; 收集50例肺腺癌及对应癌旁组织, 采用免疫组织化学和免疫荧光检测SPP1及CD206表达, 并分析其临床意义。结果: 生物信息学分析显示, SPP1在肺腺癌组织中高表达, 并与较差总体生存及髓系免疫细胞浸润增加相关。临床样本验证显示, SPP1在肺腺癌组织中的高表达率高于癌旁组织, 并与TNM分期及疾病进展相关。SPP1高表达组无进展生存期呈缩短趋势, 但差异未达统计学意义, 且多因素Cox分析未提示其为独立预后因素。免疫荧光结果显示, SPP1表达与CD206⁺ M2型巨噬细胞密度呈正相关。结论: SPP1在肺腺癌中高表达, 并与肿瘤进展及M2型巨噬细胞浸润增加相关, 可能参与肺腺癌免疫微环境重塑, 但其独立预后价值仍需进一步验证。

关键词

肺腺癌, SPP1, 肿瘤相关巨噬细胞, 预后, 肿瘤微环境

Expression of SPP1 in Lung Adenocarcinoma and Its Correlation with M2-Type Macrophage Infiltration

Mengyu Liu*, Bailong Liu#

¹The Second Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei Anhui

²Department of Radiation Oncology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: April 21, 2026; accepted: May 15, 2026; published: May 22, 2026

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 刘梦玉, 刘百龙. SPP1 在肺腺癌中的表达及与 M2 型巨噬细胞浸润的关系[J]. 临床医学进展, 2026, 16(5): 2127-2140. DOI: 10.12677/acm.2026.1652020

Abstract

Objective: To explore the expression of secreted phosphoprotein 1 (SPP1) in lung adenocarcinoma and its correlation with M2 macrophage infiltration. **Methods:** The expression level of SPP1 in lung adenocarcinoma, its correlation with survival outcomes and immune infiltration characteristics were analyzed based on the TCGA database and online platforms including GEPIA and TIMER. A total of 50 pairs of lung adenocarcinoma tissues and matched adjacent non-tumor tissues were collected. Immunohistochemistry and immunofluorescence staining were performed to detect the expression of SPP1 and CD206, and their clinical significance was further analyzed. **Results:** Bioinformatics analysis revealed that SPP1 was highly expressed in lung adenocarcinoma tissues, which was correlated with poor overall survival and increased infiltration of myeloid immune cells. Validation of clinical samples demonstrated that the high expression rate of SPP1 in lung adenocarcinoma tissues was significantly higher than that in adjacent non-tumor tissues, and SPP1 overexpression was associated with TNM staging and disease progression. The progression-free survival tended to be shorter in the SPP1 high-expression group, whereas the difference was not statistically significant. Multivariate Cox regression analysis indicated that SPP1 was not an independent prognostic factor. Immunofluorescence results showed that SPP1 expression was positively correlated with the density of CD206⁺ M2 macrophages. **Conclusion:** SPP1 is highly expressed in lung adenocarcinoma and is closely related to tumor progression and elevated M2 macrophage infiltration. It may participate in the remodeling of the tumor immune microenvironment in lung adenocarcinoma, while its independent prognostic value remains to be further verified.

Keywords

Lung Adenocarcinoma, SPP1, Tumor-Associated Macrophages, Prognosis, Tumor Microenvironment

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺腺癌是非小细胞肺癌的主要组织学类型之一,起病相对隐匿,早期临床表现缺乏特异性,部分患者确诊时已处于进展期[1]。尽管近年来靶向治疗和免疫治疗等不断发展,肺腺癌患者的治疗效果有所改善,但仍有部分患者出现耐药、复发及预后差异等问题[2][3]。近年来研究表明,肺腺癌的发生发展不仅与肿瘤细胞本身有关,还与其所处的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)密切相关,肿瘤微环境参与了肿瘤生长、侵袭、转移及耐药等多种关键生物学过程[4][5]。

肿瘤微环境是由肿瘤细胞及多种免疫细胞和基质成分等组成的复杂生态系统[5]。其中,肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)在重塑免疫抑制屏障中发挥关键作用,深入探讨肿瘤微环境中影响 TAMs 浸润及功能的关键分子,对于寻找肺腺癌治疗新靶点具有重要意义。

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是肿瘤微环境的重要组成部分,根据活化状态不同,巨噬细胞可分为经典活化型(M1型)和替代活化型(M2型)[6][7]。与M1型相比,M2型巨噬细胞更倾向于发挥免疫抑制和促肿瘤作用[8]。在肿瘤微环境中,TAMs通常表现出更接近M2型的功能特征,这种表型偏移被认为与肿瘤免疫逃逸、肿瘤进展及不良预后密切相关[9]。

在肺腺癌组织中, 巨噬细胞浸润较为常见, 其数量及功能状态与肿瘤生物学行为密切相关。已有研究提示, 以 CD163 或 CD206 为标志的 M2 型巨噬细胞浸润增加, 常与较高分期、淋巴结转移及较差生存结局相关[10]-[12]。

肿瘤细胞与免疫细胞之间的相互作用是肺腺癌肿瘤免疫微环境的重要特征。已有研究表明, 肿瘤细胞可通过分泌多种细胞因子及趋化因子影响单核细胞募集, 并诱导巨噬细胞向 M2 型表型偏移, 从而形成有利于肿瘤生长和免疫逃逸的局部环境[13]-[15]。在这一过程中, 一些肿瘤相关分泌蛋白被认为可能发挥重要调节作用。其中, SPP1 作为一种细胞外基质相关蛋白, 有研究提示其不仅与肿瘤细胞增殖和侵袭相关[16] [17], 还可能通过调节巨噬细胞功能状态参与肿瘤免疫微环境重塑, 并与 M2 样表型形成相关[18]。

尽管已有研究提示 SPP1 在多种肿瘤中高表达并与免疫微环境重塑相关, 但其在肺腺癌中的组织学表达特征、预后价值, 以及与肿瘤相关巨噬细胞浸润之间的关系尚缺乏来自公共数据库与临床样本相结合的系统评估。基于此, 本研究结合生信分析和组织学验证两个方面, 探讨 SPP1 在肺腺癌中的表达、临床意义及其与 M2 巨噬细胞的相关性。

2. 资料与方法

2.1. 生物信息学分析

本研究利用 TCGA 数据库[19]获取肺腺癌转录组表达谱及临床随访资料, 并借助 GEPIA [20]、Kaplan-Meier Plotter [21]及 TIMER [22]等在线平台进行分析。采用 GEPIA 分析 SPP1 在泛癌及肺腺癌中的表达差异, 并比较肺腺癌组织与正常肺组织中的表达水平。采用 Kaplan-Meier Plotter 分析 SPP1 表达与肺腺癌患者总体生存的关系, 因公共数据库样本量相对较大, 且 OS 资料较为完整, 因此本部分以 OS 作为生存分析终点, 用于初步评估 SPP1 表达与肺腺癌长期生存结局之间的关系。根据中位表达水平将患者分为高表达组和低表达组, 采用 Log-rank 检验比较组间生存差异, 并计算风险比(HR)及 95%置信区间(CI)。利用 TIMER 分析 SPP1 表达与肺腺癌免疫细胞浸润水平之间的相关性, 利用 GEPIA 进一步评估 SPP1 与免疫相关标志基因的相关性。相关性分析采用偏相关分析或 Spearman 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.2. 临床资料随访

收集安徽医科大学第二附属医院 2021 年至 2022 年间经病理确诊并接受手术治疗的肺腺癌患者石蜡组织标本 50 例及对应癌旁非肿瘤组织 50 例。收集患者年龄、性别、吸烟史、淋巴结转移状态、脉管侵犯、神经侵犯、TNM 分期及术后复发或进展情况等临床病理资料。所有纳入病例均为初治患者, 术前未接受化疗、放疗或其他抗肿瘤治疗, 且未合并其他恶性肿瘤。

随访截止时间为 2025 年 12 月。通过门诊复查、电话随访、微信回访及电子病历回溯等方式获取患者术后随访资料。本研究临床样本为单中心术后队列, 随访时间相对有限, 死亡事件数不足, OS 资料尚不成熟, 因此本研究以 PFS 作为主要随访终点, 以反映术后复发或疾病进展情况。无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 定义为自手术日期起至肿瘤复发、疾病进展或死亡的时间。

2.3. 免疫学检测方法

采用免疫组织化学法(IHC)检测 SPP1 蛋白表达。由 2 名病理医师在不知晓临床资料的情况下独立判读结果。采用免疫反应评分(immunoreactive score, IRS)系统进行半定量分析, 包括染色强度(0~3 分)及阳性细胞比例(0~4 分), 两项评分相乘得到总分(0~12 分)。根据 IRS 评分将 SPP1 表达分为低表达(≤ 4 分)和

高表达(>4 分)。

采用免疫荧光(IF)双标染色检测 SPP1 与 CD206 的表达及空间分布。使用共聚焦显微镜采集图像, 并利用 ImageJ 软件进行定量分析。分别测定 SPP1 平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)及 CD206⁺ 巨噬细胞密度(cells/mm²), 并分析二者之间的相关性。

2.4. 统计学方法

本研究采用 SPSS 22.0 软件及 GraphPad Prism 9 软件进行统计学分析与图形绘制。计量资料根据分布情况选择参数或非参数检验进行分析, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数(百分比)表示, 组间比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 并采用 Log-rank 检验比较组间差异。采用 Cox 回归分析影响预后的相关因素, 相关性分析采用 Pearson 相关性分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. SPP1 在肺腺癌中的表达特征分析

GEPIA 分析显示, SPP1 在包括肺腺癌在内的多种肿瘤组织中表达升高; 进一步比较发现, SPP1 在肺腺癌组织中的 mRNA 表达水平显著高于正常肺组织(P < 0.001) (图 1)。

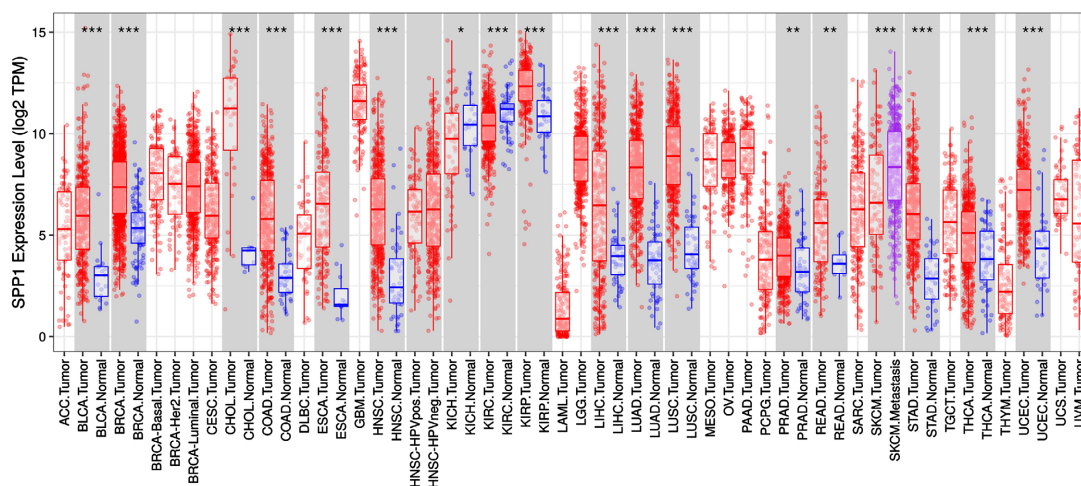


Figure 1. Expression levels of SPP1 mRNA in various cancer types from the TCGA database

图 1. TCGA 数据库中各癌症类型的 SPP1 mRNA 表达水平¹

免疫组织化学法染色结果显示, SPP1 主要定位于细胞质, 在肺腺癌组织中的染色强度及阳性细胞比例均高于癌旁组织(图 2)。对 50 例肺腺癌组织及其对应癌旁组织进行 SPP1 表达分析, 结果显示, 在肺腺癌组织中 SPP1 高表达 28 例(56.0%), 低表达 22 例(44.0%); 而在癌旁组织中 SPP1 高表达 17 例(34.0%), 低表达 33 例(66.0%)。两组比较差异具有统计学意义(P = 0.027)(表 1), 提示 SPP1 在肺腺癌组织中的表达高于癌旁组织。

进一步比较 IHC 评分发现, 癌组织中 SPP1 IHC 评分明显高于癌旁组织, 差异具有统计学意义(P = 0.027)(图 3(A))。在肺腺癌组织中, 随着 TNM 分期的升高, SPP1 表达水平呈升高趋势, III~IV 期患者的 IHC 评分高于 I~II 期患者, 差异具有统计学意义(P = 0.021) (图 3(B))。

¹红色表示肿瘤组织, 蓝色表示正常组织。*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001。

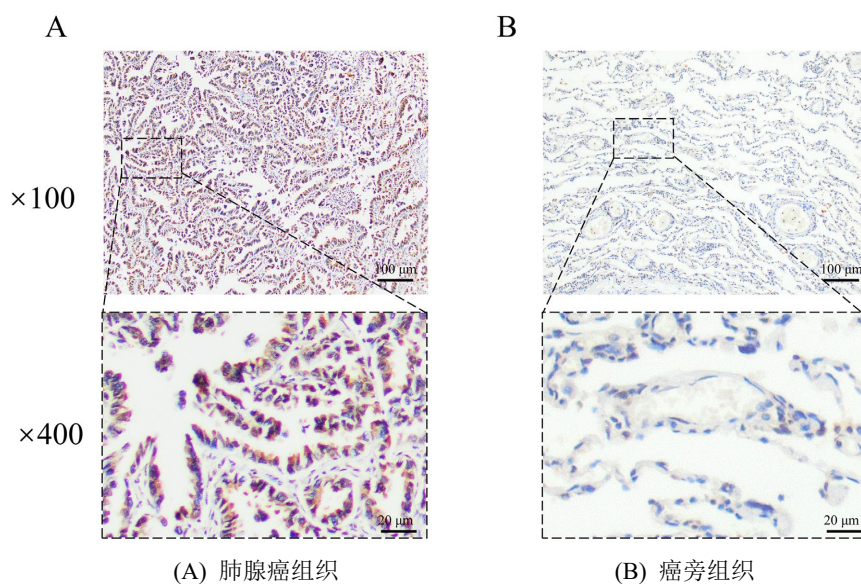


Figure 2. Representative immunohistochemical staining images of SPP1 in lung adenocarcinoma tissues and adjacent non-cancerous tissues. The upper panels show low-magnification images (100 \times), and the lower panels show high-magnification images (400 \times)

图 2. SPP1 在肺腺癌组织及癌旁组织中的代表性免疫组化染色图像。上排为低倍镜图像(100 \times)，下排为高倍镜图像(400 \times)

Table 1. Comparison of SPP1 protein expression in paracancerous tissues and LUAD tissues

表 1. 癌旁组织及 LUAD 组织中 SPP1 蛋白表达的比较²

分组	例数(n)	SPP1		P 值
		高表达	低表达	
癌旁组织	50	17 (34%)	33 (66%)	0.027
LUAD	50	28 (56%)	22 (44%)	

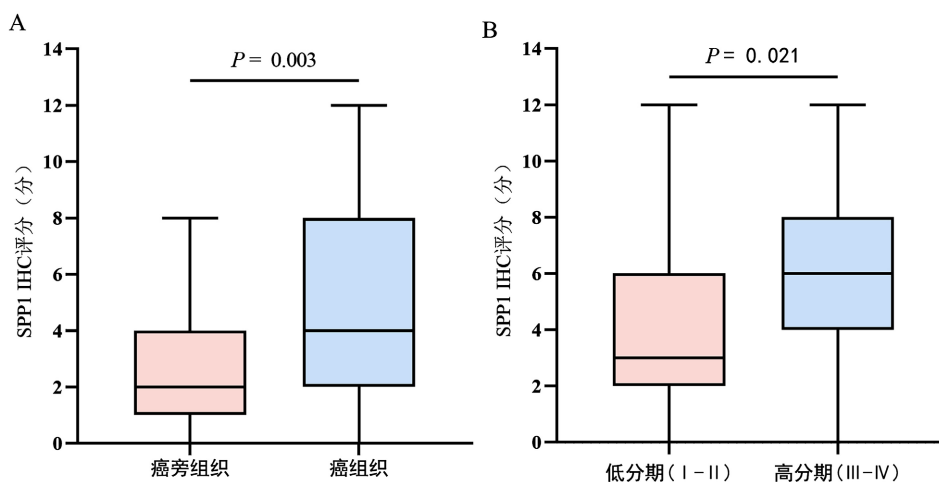


Figure 3. Comparison of SPP1 immunohistochemical scores in lung adenocarcinoma tissues

图 3. 肺腺癌组织中 SPP1 免疫组化评分比较³

²采用 χ^2 检验比较两组 SPP1 蛋白高表达和低表达的构成比差异。

³A: 癌组织与癌旁组织中 SPP1 免疫组化(IHC)评分的比较; B: 低分期(I-II 期, n = 19)与高分期(III-IV 期, n = 31)肺腺癌组织中 SPP1 免疫组化(IHC)评分的比较。组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。

为进一步明确 SPP1 表达与肺腺癌临床病理特征之间的关系, 采用卡方检验对 50 例患者的临床资料进行分析。结果显示, SPP1 表达与患者性别($P = 0.283$)、年龄($P = 0.406$)、吸烟史($P = 0.412$)、脉管癌栓($P = 0.945$)及神经侵犯($P = 0.476$)之间均未见统计学差异。不同 TNM 分期患者之间 SPP1 表达差异具有统计学意义($P = 0.011$), 其中 III~IV 期患者 SPP1 高表达比例高于 I~II 期患者。此外, SPP1 表达与淋巴结转移之间虽呈一定差异趋势, 但未达到统计学显著性($P = 0.137$)。上述结果提示, SPP1 表达水平与肺腺癌分期相关(表 2)。

Table 2. Relationship between SPP1 expression and clinicopathological characteristics of patients with lung adenocarcinoma
表 2. SPP1 表达与肺腺癌患者临床病理特征的关系

临床病理参数	例数	SPP1		P 值
		高表达	低表达	
性别				
男	27	17	10	0.283
女	23	11	12	
年龄				
<60 岁	13	6	7	0.406
≥60 岁	37	22	15	
吸烟史				
有	26	16	10	0.412
无	24	12	12	
TNM 分期				
I~II 期	31	13	18	0.011
III~IV 期	19	15	4	
淋巴结转移				
有	39	24	15	0.137
无	11	4	7	
脉管癌栓				
有	23	13	10	0.945
无	27	15	12	
神经侵犯				
有	9	6	3	0.476
无	41	22	19	

Table 3. Comparison of SPP1 protein expression levels between the progressive group and the non-progressive group
表 3. 进展组与未进展组 SPP1 蛋白表达水平的比较

分组	例数(n)	SPP1	
		高表达	低表达
进展	32	22 (68.8%)	10 (31.3%)
未进展	18	6 (33.3%)	12 (66.7%)
χ^2		4.168	
P 值		0.015	

根据随访结果, 将 50 例肺腺癌患者分为疾病进展组(32 例)和未进展组(18 例)。结果显示, 在疾病进展组中 SPP1 高表达 22 例(68.8%), 低表达 10 例(31.3%); 而未进展组中 SPP1 高表达 6 例(33.3%), 低表达 12 例(66.7%)。两组之间 SPP1 表达水平差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.168, P = 0.015$) (表 3)。

3.2. SPP1 表达与肺腺癌者生存结局的相关性

为评估 SPP1 与肺腺癌患者生存结局的关系, 基于公共数据库, 以 OS 为终点对 SPP1 的生存相关性进行初步分析, 结果显示, SPP1 高表达与肺腺癌患者较差总体生存相关($P = 0.015$), 提示 SPP1 可能与不良生存结局有关(图 4)。

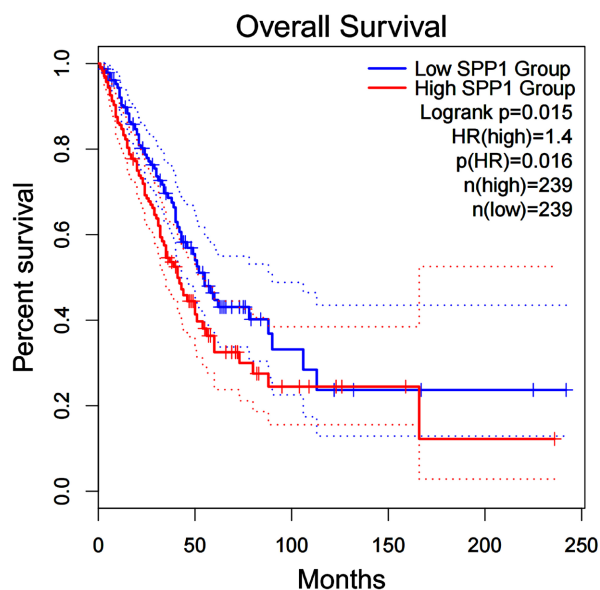


Figure 4 Relationship between SPP1 expression level and overall survival of patients with lung adenocarcinoma

图 4 SPP1 表达水平与肺腺癌患者总体生存期的关系⁴

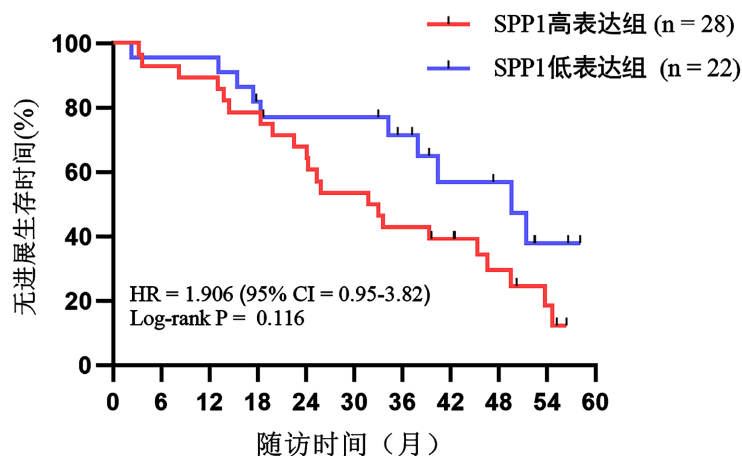


Figure 5 Kaplan-Meier survival curves of progression-free survival (PFS) in lung adenocarcinoma patients with different SPP1 expression levels

图 5 不同 SPP1 表达水平肺腺癌患者无进展生存期(PFS)的 Kaplan-Meier 生存曲线

⁴红线表示 SPP1 高表达组($n = 239$), 蓝线表示 SPP1 低表达组($n = 239$)。虚线表示 95%置信区间。HR = 1.4, $P = 0.015$ 。

为进一步在临床样本中进行验证,本研究共纳入 50 例肺腺癌患者,以 PFS 为终点进行 Kaplan-Meier 分析,中位随访时间为 33.6 个月,随访期间共有 32 例患者出现疾病进展事件。结果显示, SPP1 高表达组患者的中位无进展生存时间为 32.40 个月,而低表达组为 49.60 个月,高表达组 PFS 较短,但差异无统计学意义(Log-rank $P = 0.116$) (图 5)。

根据 SPP1 表达水平将患者分为高表达组($n = 28$)和低表达组($n = 22$)。横坐标表示随访时间(月),纵坐标表示无进展生存率(%)。采用 Log-rank 检验比较两组生存差异, $HR = 1.906$, 95% CI: 0.95~3.82, $P = 0.116$ 。

在 Kaplan-Meier 分析基础上,进一步通过 Cox 比例风险回归模型分析影响肺腺癌患者 PFS 的相关因素。单因素分析显示, TNM 分期、淋巴结转移及 SPP1 表达与 PFS 相关(均 $P < 0.05$),其中 III~IV 期、存在淋巴结转移及 SPP1 高表达患者的疾病进展风险更高(表 4)。

将上述有统计学意义的变量纳入多因素 Cox 回归分析后,仅 TNM 分期仍与 PFS 相关($HR = 2.805$, 95% CI: 1.248~6.301, $P = 0.013$),而 SPP1 表达未显示独立预测价值($P = 0.208$) (表 5)。

Table 4 Univariate Cox regression analysis of influencing factors for PFS in patients with lung adenocarcinoma
表 4 肺腺癌患者 PFS 影响因素的单因素 Cox 回归分析⁵

变量	例数(n)	无进展生存期(PFS)		
		HR	95% CI	P 值
性别(男 vs 女)	27 vs 23	1.050	0.532~2.075	0.887
年龄(≥ 60 岁 vs < 60 岁)	37 vs 13	1.039	0.468~2.310	0.925
吸烟史(有 vs 无)	26 vs 24	1.172	0.593~2.314	0.648
TNM 分期(III~IV 期 vs I~II 期)	19 vs 31	3.440	1.670~7.087	0.001
淋巴结转移(有 vs 无)	39 vs 11	2.686	1.010~7.142	0.048
脉管癌栓(有 vs 无)	23 vs 27	0.595	0.296~1.196	0.145
神经侵犯(有 vs 无)	9 vs 41	0.729	0.301~1.770	0.485
SPP1 表达(高表达 vs 低表达)	28 vs 22	2.785	1.327~5.845	0.007

Table 5 Multivariate Cox regression analysis of influencing factors for PFS in patients with lung adenocarcinoma
表 5 肺腺癌患者 PFS 影响因素的多因素 Cox 回归分析

变量	无进展生存期(PFS)		
	HR	95% CI	P 值
TNM 分期(III~IV 期 vs I~II 期)	2.805	1.248~6.301	0.013
淋巴结转移(有 vs 无)	2.705	0.981~7.464	0.055
SPP1 表达(高表达 vs 低表达)	1.735	0.736~4.089	0.208

3.3. SPP1 表达与免疫浸润的关系

为探讨 SPP1 在肺腺癌肿瘤免疫微环境中的潜在意义,本研究基于 TIMER 数据库分析 SPP1 表达与免疫细胞浸润水平之间的相关性。结果显示,在 LUAD 样本中, SPP1 表达与巨噬细胞浸润呈正相关(partial $r = 0.292$, $P < 0.001$),并与中性粒细胞(partial $r = 0.268$, $P < 0.001$)和树突状细胞浸润水平呈正相关(partial $r = 0.291$, $P < 0.001$),而与 B 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺T 细胞浸润未见明显相关性($P > 0.05$)。此外, SPP1

⁵HR 为风险比(hazard ratio), CI 为置信区间(confidence interval), PFS 为无进展生存期。

表达与肿瘤纯度呈负相关($r = -0.123, P = 0.006$) (图 6)。

进一步相关性分析显示, 在肺腺癌肿瘤组织中, SPP1 表达与单核细胞相关标志物 CD86、CD11b 及肿瘤相关巨噬细胞标志物 CD68、IL-10 均呈正相关。与此同时, SPP1 与部分免疫调节相关分子如 CCR8、TGF- β 及 TIM-3 亦呈正相关, 而与部分 Th1/Th2 相关标志物未见一致相关趋势(表 6)。

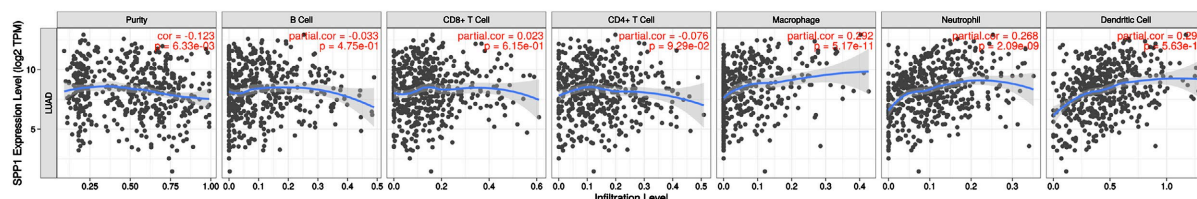


Figure 6 Correlation between SPP1 gene expression and infiltration levels of various immune cells in lung adenocarcinoma (LUAD)

图 6 肺腺中 SPP1 基因表达与各免疫细胞浸润水平的相关性⁶

Table 6. Correlation analysis between SPP1 and immune cell marker genes in lung adenocarcinoma

表 6. SPP1 与肺腺癌免疫细胞标志基因的相关性分析⁷

基因标志物	肿瘤组织		正常组织		
	r	P 值	r	P 值	
单核细胞	CD86	0.40	<0.001	0.33	0.010
	CD11b	0.33	<0.001	0.09	0.500
中性粒细胞	CCR7	-0.06	0.190	0.22	0.090
肿瘤相关巨噬细胞	CD68	0.33	<0.001	0.34	0.009
	IL-10	0.26	<0.001	0.27	0.038
Th1 型 T 细胞	IFN- γ	0.05	0.280	-0.13	0.310
	STAT1	0.17	<0.001	-0.20	0.130
	T-bet	-0.08	0.085	-0.01	0.460
	TNF- α	0.18	<0.001	0.017	0.900
Th2 型 T 细胞	STAT6	-0.16	<0.001	-0.27	0.036
调节性 T 细胞(Treg)	CCR8	0.15	0.001	0.05	0.710
	STAT5B	-0.07	0.120	-0.34	0.009
	TGF- β	0.21	<0.001	0.14	0.310
	CTLA4	0.06	0.210	-0.09	0.500
T 细胞耗竭	PD-1	0.05	0.320	0.13	0.320
	TIM-3	0.40	<0.001	0.40	0.020

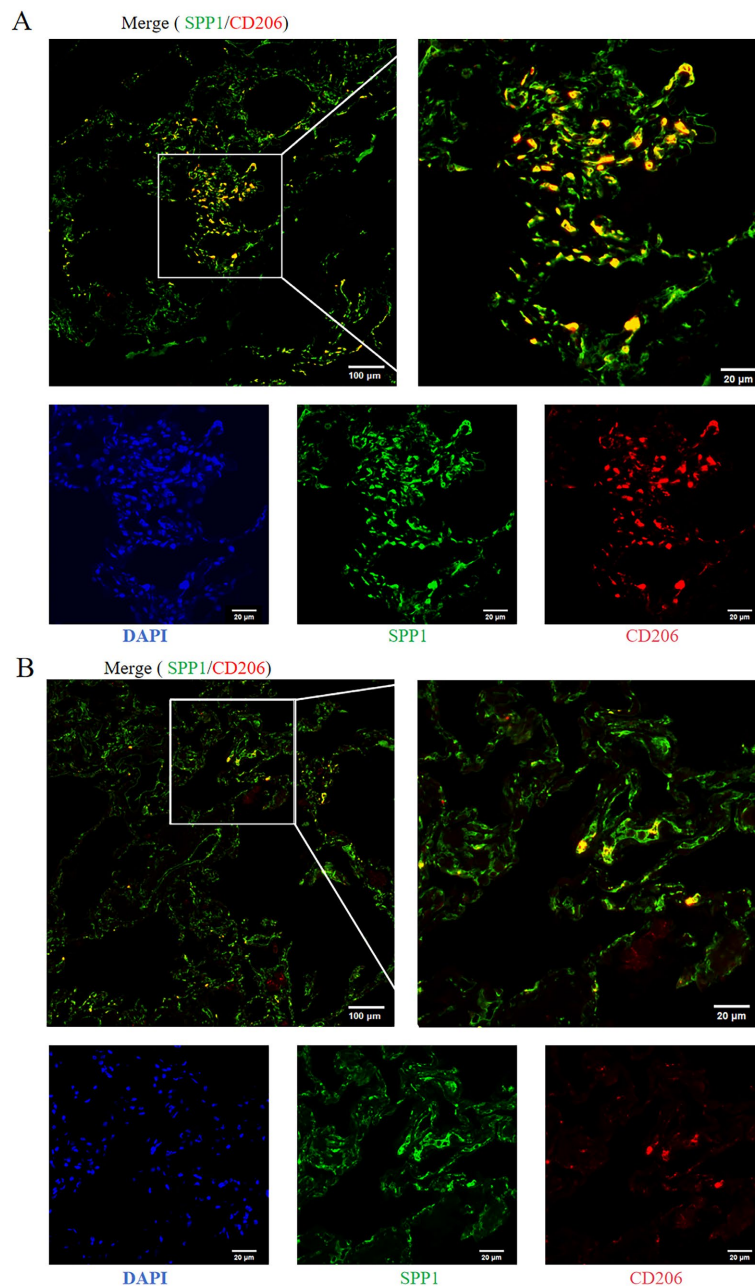
3.4. SPP1 表达与 M2 巨噬细胞浸润的关系

免疫荧光双标染色结果显示, 在肺腺癌组织中, SPP1 (绿色)与 CD206 (红色)均可见表达, 部分区域

⁶数据来源于 TIMER 数据库。采用偏相关分析(partial correlation)评估 SPP1 表达与各类免疫细胞浸润水平之间的相关性, 图中显示相关系数及其对应的 P 值。

⁷ r 代表 Spearman 相关系数; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。免疫细胞相关标志基因选择参考既往文献, 相关性分析采用 Spearman 相关性检验。

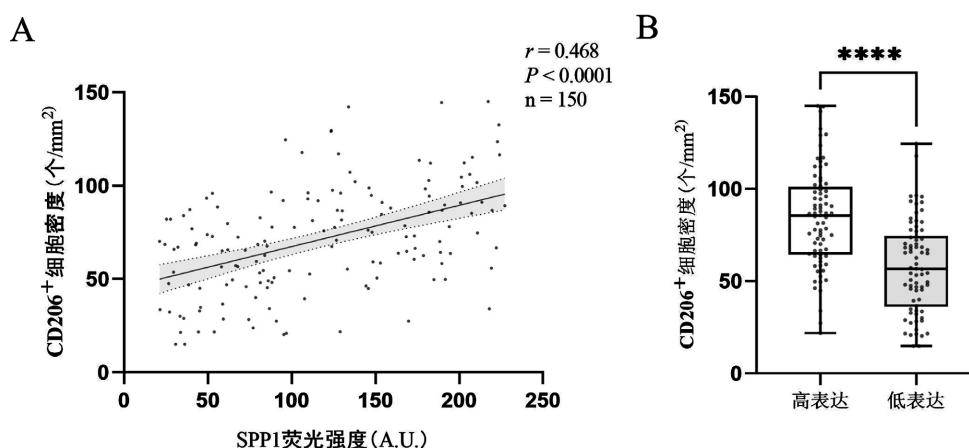
可见共定位现象(图 7)。进一步对肺腺癌组织中 SPP1 荧光强度与 CD206 阳性细胞密度进行相关性分析, 每例标本选取 3 个视野进行统计, 共纳入 150 个视野。结果显示, SPP1 荧光强度与 CD206 阳性细胞密度呈中等正相关($r = 0.468, P < 0.0001$) (图 8(A))。按 SPP1 荧光强度中位数将视野分为高表达组和低表达组后, 高表达组 CD206 阳性细胞密度高于低表达组, 差异有统计学意义($P < 0.0001$) (图 8(B))。



注: A: SPP1 高表达组; B: SPP1 低表达组。绿色表示 SPP1, 红色表示 CD206, 蓝色表示细胞核(DAPI)。上排为合并图及局部放大图, 下排为各单通道图。比例尺: 低倍图 100 μm, 高倍图 20 μm。

Figure 7 Results of immunofluorescence double staining for SPP1 and CD206 in lung adenocarcinoma tissues

图 7 肺腺癌组织中 SPP1 与 CD206 的免疫荧光双标染色结果



注: A: SPP1 荧光强度与 CD206⁺细胞密度(个/mm²)的相关性分析(Pearson 相关性分析, n = 150); B: 按 SPP1 荧光强度中位数将视野分为高表达组和低表达组, 比较两组 CD206⁺细胞密度差异(Mann-Whitney 检验)。****P < 0.0001。

Figure 8 The correlation between SPP1 expression and CD206⁺ cell density

图 8 SPP1 表达与 CD206⁺细胞密度的关系

4. 讨论

本研究结合公共数据库分析与临床样本验证, 系统评估了 SPP1 在肺腺癌中的表达特征、生存相关性及其与 M2 型巨噬细胞浸润之间的关系。结果显示, SPP1 在肺腺癌中呈高表达, 并与较高 TNM 分期及疾病进展相关; 同时, SPP1 表达与 CD206⁺ M2 型巨噬细胞浸润增加呈正相关。

本研究结果显示, SPP1 在肺腺癌组织中高表达, 且其表达水平随 TNM 分期升高而增加, 并在疾病进展组中更为常见, 提示 SPP1 可能与肺腺癌侵袭性生物学行为相关。该结果与既往关于 SPP1 在多种实体瘤中高表达并与肿瘤进展相关的研究结论基本一致[23]-[25]。作为细胞外基质相关分泌蛋白, SPP1 可能通过影响细胞外基质重塑、细胞黏附及迁移等过程参与肿瘤进展。研究未发现 SPP1 表达与淋巴结转移、脉管侵犯等临床病理参数存在显著相关性, 提示 SPP1 在肺腺癌中的作用可能更倾向于反映肿瘤整体进展状态, 而其与淋巴结转移、脉管侵犯等临床病理因素之间的关系仍需进一步验证[26] [27]。

在生存分析方面, 本研究结合公共数据库 OS 资料与本中心临床队列 PFS 资料评估 SPP1 的预后意义。公共数据库样本量较大, 且 OS 终点相对明确, 适合用于初步分析 SPP1 表达与长期生存结局的关系; 而本中心队列随访时间有限、死亡事件数不足, 因此以 PFS 作为主要终点, 以反映术后复发或疾病进展情况。结果显示, 公共数据库中 SPP1 高表达与较差 OS 相关, 而本中心队列中 SPP1 高表达组 PFS 仅呈缩短趋势, 差异未达统计学显著性。造成这一差异的原因可能与样本量、终点设置、随访时间及治疗背景不同有关。因此, SPP1 可能参与肺腺癌进展过程, 但其作为独立预后标志物的价值仍需进一步验证。

肿瘤免疫微环境相关分析是本研究的另一重点。生物信息学分析显示, SPP1 表达与巨噬细胞、中性粒细胞及树突状细胞浸润呈正相关; 免疫荧光结果进一步显示, SPP1 表达水平与 CD206⁺ M2 型巨噬细胞密度呈正相关。上述结果提示, SPP1 可能与以髓系细胞浸润增加和免疫抑制状态为特征的肿瘤微环境相关。既往研究认为, M2 型肿瘤相关巨噬细胞可促进肿瘤生长、血管生成、基质重塑及免疫逃逸[28], 而 SPP1 作为细胞外分泌蛋白, 可能通过影响巨噬细胞募集、极化及局部炎症信号网络参与这一过程。需要指出的是, 本研究主要基于表达相关性和组织共定位结果, 尚不能直接证明 SPP1 在巨噬细胞极化或募集中的因果作用, 相关机制仍需通过体外和体内功能实验进一步验证。

从可能机制上看, SPP1 作为细胞外分泌蛋白, 可与整合素家族受体及 CD44 等分子结合, 并通过 PI3K/AKT、NF- κ B 等通路影响细胞增殖、炎症反应及微环境重塑[29]。本研究观察到的 SPP1 与 CD206⁺ 细胞密度之间的正相关关系, 为其参与肺腺癌免疫抑制性微环境形成提供了组织学支持。但研究主要基于表达水平、浸润分析及空间分布特征进行相关性探讨, 尚不能直接证明 SPP1 在巨噬细胞极化或募集中的因果作用。

此外, SPP1 在肺腺癌中的生物学作用可能并不限于对巨噬细胞的影响。作为肿瘤微环境中的重要分泌因子, SPP1 还可能参与中性粒细胞、树突状细胞及 T 细胞等多类免疫细胞的功能调控, 并通过炎症因子网络和细胞间通讯在肿瘤微环境中发挥重要作用[30]-[33]。肺腺癌本身具有较强异质性, 不同分期、不同驱动基因背景及不同免疫状态下, SPP1 所发挥的作用程度可能并不一致。

本研究仍存在一定局限性。首先, 本研究为单中心回顾性研究, 临床样本量相对有限, 随访时间及终点事件数不足, 可能影响统计效能及结论稳定性。其次, 本研究主要基于表达水平、浸润分析及组织共定位进行相关性探讨, 尚不能直接证实 SPP1 在肺腺癌免疫微环境重塑中的因果作用。再次, 肺腺癌具有明显异质性, 不同分期、驱动基因状态及治疗背景下 SPP1 的生物学意义可能并不完全一致。未来仍需结合更大样本、多中心队列及功能机制研究, 进一步明确 SPP1 在肺腺癌中的作用及其潜在临床应用价值。

声 明

本研究经安徽医科大学第二附属医院医学伦理委员会审核批准(伦理编号为 SL-YX2025-168)。

基金项目

安徽省卫生健康委员会项目号: AHWJ2024BAd20015。

参考文献

- [1] Kanchustambham, V. and Sharma, S. (2023) Lung Adenocarcinoma. StatPearls.
- [2] Skoulidis, F., Goldberg, M.E., Greenawalt, D.M., Hellmann, M.D., Awad, M.M., Gainor, J.F., *et al.* (2018) *STK11/LKB1* Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in *KRAS*-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discovery*, **8**, 822-835. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0099>
- [3] Zavitsanou, A., Pillai, R., Hao, Y., Wu, W.L., Bartnicki, E., Karakousi, T., *et al.* (2023) KEAP1 Mutation in Lung Adenocarcinoma Promotes Immune Evasion and Immunotherapy Resistance. *Cell Reports*, **42**, Article ID: 113295. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113295>
- [4] Lambrechts, D., Wauters, E., Boeckx, B., Aibar, S., Nittner, D., Burton, O., *et al.* (2018) Phenotype Molding of Stromal Cells in the Lung Tumor Microenvironment. *Nature Medicine*, **24**, 1277-1289. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0096-5>
- [5] Cheng, S., Li, Z., Gao, R., Xing, B., Gao, Y., Yang, Y., *et al.* (2021) A Pan-Cancer Single-Cell Transcriptional Atlas of Tumor Infiltrating Myeloid Cells. *Cell*, **184**, 792-809.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.010>
- [6] Wynn, T.A. and Vannella, K.M. (2016) Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, **44**, 450-462. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015>
- [7] Mantovani, A., Sica, A. and Locati, M. (2005) Macrophage Polarization Comes of Age. *Immunity*, **23**, 344-346. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.10.001>
- [8] Yunna, C., Mengru, H., Lei, W. and Weidong, C. (2020) Macrophage M1/M2 Polarization. *European Journal of Pharmacology*, **877**, Article ID: 173090. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173090>
- [9] Zhang, Y., Du, W., Chen, Z. and Xiang, C. (2017) Upregulation of PD-L1 by SPP1 Mediates Macrophage Polarization and Facilitates Immune Escape in Lung Adenocarcinoma. *Experimental Cell Research*, **359**, 449-457. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.08.028>
- [10] Matsubara, E., Komohara, Y., Shinchi, Y., Mito, R., Fujiwara, Y., Ikeda, K., *et al.* (2021) CD163-Positive Cancer Cells Are a Predictor of a Worse Clinical Course in Lung Adenocarcinoma. *Pathology International*, **71**, 666-673.

- <https://doi.org/10.1111/pin.13144>
- [11] Modak, M., Mattes, A., Reiss, D., Skronska-Wasek, W., Langlois, R., Sabarth, N., *et al.* (2022) CD206⁺ Tumor-Associated Macrophages Cross-Present Tumor Antigen and Drive Antitumor Immunity. *JCI Insight*, **7**, e155022. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.155022>
- [12] Zhou, J., Song, Q., Li, H., Han, Y., Pu, Y., Li, L., *et al.* (2024) Targeting Circ-0034880-Enriched Tumor Extracellular Vesicles to Impede SPP1^{high}CD206⁺ Pro-Tumor Macrophages Mediated Pre-Metastatic Niche Formation in Colorectal Cancer Liver Metastasis. *Molecular Cancer*, **23**, Article No. 168. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02086-9>
- [13] Mantovani, A., Marchesi, F., Malesci, A., Laghi, L. and Allavena, P. (2017) Tumour-Associated Macrophages as Treatment Targets in Oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **14**, 399-416. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>
- [14] Sedighzadeh, S.S., Khoshbin, A.P., Razi, S., Keshavarz-Fathi, M. and Rezaei, N. (2021) A Narrative Review of Tumor-Associated Macrophages in Lung Cancer: Regulation of Macrophage Polarization and Therapeutic Implications. *Translational Lung Cancer Research*, **10**, 1889-1916. <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-1241>
- [15] DeNardo, D.G. and Ruffell, B. (2019) Macrophages as Regulators of Tumour Immunity and Immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, **19**, 369-382. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0127-6>
- [16] Huang, R., Quan, Y., Chen, J., Wang, T., Xu, M., Ye, M., *et al.* (2017) Osteopontin Promotes Cell Migration and Invasion, and Inhibits Apoptosis and Autophagy in Colorectal Cancer by Activating the P38 MAPK Signaling Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **41**, 1851-1864. <https://doi.org/10.1159/000471933>
- [17] Dong, Q., Zhu, X., Dai, C., Zhang, X., Gao, X., Wei, J., *et al.* (2016) Osteopontin Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition of Hepatocellular Carcinoma through Regulating Vimentin. *Oncotarget*, **7**, 12997-13012. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7016>
- [18] Li, Y., Liu, H., Zhao, Y., Yue, D., Chen, C., Li, C., *et al.* (2021) Tumor-Associated Macrophages (TaMs)-Derived Osteopontin (OPN) Upregulates pd-L1 Expression and Predicts Poor Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Thoracic Cancer*, **12**, 2698-2709. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14108>
- [19] Tomczak, K., Czerwińska, P. and Wiznerowicz, M. (2015) Review the Cancer Genome Atlas (TCGA): An Immeasurable Source of Knowledge. *Współczesna Onkologia*, **1**, 68-77. <https://doi.org/10.5114/wo.2014.47136>
- [20] Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C. and Zhang, Z. (2017) GEPIA: A Web Server for Cancer and Normal Gene Expression Profiling and Interactive Analyses. *Nucleic Acids Research*, **45**, W98-W102. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx247>
- [21] Györfy, B. (2024) Integrated Analysis of Public Datasets for the Discovery and Validation of Survival-Associated Genes in Solid Tumors. *The Innovation*, **5**, Article ID: 100625. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2024.100625>
- [22] Li, T., Fan, J., Wang, B., Traugh, N., Chen, Q., Liu, J.S., *et al.* (2017) TIMER: A Web Server for Comprehensive Analysis of Tumor-Infiltrating Immune Cells. *Cancer Research*, **77**, e108-e110. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-17-0307>
- [23] Liu, C., Wu, K., Li, C., Zhang, Z., Zhai, P., Guo, H., *et al.* (2024) SPP1⁺ Macrophages Promote Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Progression by Secreting TNF- α and Il-1 β . *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **43**, Article No. 332. <https://doi.org/10.1186/s13046-024-03255-w>
- [24] Yue, B., Xiong, D., Chen, J., Yang, X., Zhao, J., Shao, J., *et al.* (2024) SPP1 Induces Idiopathic Pulmonary Fibrosis and NSCLC Progression via the PI3K/Akt/mTOR Pathway. *Respiratory Research*, **25**, Article No. 362. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02989-7>
- [25] Wang, K., Wan, J., Zheng, R., Xiao, Y., Lv, F., Ge, H., *et al.* (2025) SPP1 as a Prognostic and Immunotherapeutic Biomarker in Gliomas and Other Cancer Types: A Pan-Cancer Study. *Journal of Inflammation Research*, **18**, 2247-2265. <https://doi.org/10.2147/jir.s505237>
- [26] Guo, Z., Huang, J., Wang, Y., Liu, X., Li, W., Yao, J., *et al.* (2020) Analysis of Expression and Its Clinical Significance of the Secreted Phosphoprotein 1 in Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Genetics*, **11**, Article 547. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00547>
- [27] Matsubara, E., Yano, H., Pan, C., Komohara, Y., Fujiwara, Y., Zhao, S., *et al.* (2023) The Significance of SPP1 in Lung Cancers and Its Impact as a Marker for Protumor Tumor-Associated Macrophages. *Cancers*, **15**, Article 2250. <https://doi.org/10.3390/cancers15082250>
- [28] Ricketts, T.D., Prieto-Dominguez, N., Gowda, P.S. and Ubil, E. (2021) Mechanisms of Macrophage Plasticity in the Tumor Environment: Manipulating Activation State to Improve Outcomes. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article 642285. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.642285>
- [29] Qiu, C., Li, C., Zheng, Q., Fang, S., Xu, J., Wang, H., *et al.* (2022) Metformin Suppresses Lung Adenocarcinoma by Downregulating Long Non-Coding RNA (lncRNA) AFAP1-AS1 and Secreted Phosphoprotein 1 (SPP1) While Upregulating miR-3163. *Bioengineered*, **13**, 11987-12002. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2005981>

- [30] Gu, Y. and Muller, W.J. (2025) The Multifaceted Role of Osteopontin in Modulating the Tumor Microenvironment. *Cancer Research*, **85**, 4049-4061. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-25-1486>
- [31] Shurin, M.R. (2018) Osteopontin Controls Immunosuppression in the Tumor Microenvironment. *Journal of Clinical Investigation*, **128**, 5209-5212. <https://doi.org/10.1172/jci124918>
- [32] Zhao, Y., Huang, Z., Gao, L., Ma, H. and Chang, R. (2024) Osteopontin/SPP1: A Potential Mediator between Immune Cells and Vascular Calcification. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article 1395596. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1395596>
- [33] Gao, W., Liu, D., Sun, H., Shao, Z., Shi, P., Li, T., *et al.* (2022) SPP1 Is a Prognostic Related Biomarker and Correlated with Tumor-Infiltrating Immune Cells in Ovarian Cancer. *BMC Cancer*, **22**, Article No. 1367. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10485-8>