

发生血栓的恶性肿瘤患者抗肿瘤治疗前的外周血液学特点分析

冯婷婷^{1,2}, 凌孙彬³, 方美玉¹, 张 阳²

(1. 浙江省肿瘤医院, 浙江 杭州 310022; 2. 大连医科大学附属第二医院, 辽宁 大连 116000;

3. 浙江大学附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

摘要: [目的] 探究恶性肿瘤患者抗肿瘤治疗前的外周血液学特点, 为肿瘤患者的血栓防治提供新线索。[方法] 收集 2003~2012 年间收治的 47 例在抗肿瘤治疗过程中发生血栓的恶性肿瘤患者作为病例组, 同期 47 例未出现血栓的恶性肿瘤患者为对照组的临床资料。危险因素分析采用 Logistic 单因素及多因素分析方法。[结果] 抗肿瘤治疗前血常规中白细胞数、中性粒细胞绝对值、血小板绝对值、大血小板比率、大血小板值的均值, 病例组较对照组显著升高 ($P<0.05$); 血凝常规指标较对照组无显著差异 ($P>0.05$)。Logistic 分析结果示较高水平 WBC 及大血小板值有统计学意义 ($P<0.05$)。而中性粒细胞绝对值、血小板绝对值、大血小板比率未显示统计学意义 ($P>0.05$)。[结论] 抗肿瘤治疗前较高水平的白细胞、大血小板值是恶性肿瘤患者发生血栓的独立危险因素。抗肿瘤治疗前血凝常规指标对于恶性肿瘤患者发生血栓的提示作用可能较小。

关键词: 恶性肿瘤; 血栓形成; 白细胞增多; 大血小板值

中图分类号: R730.6 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2015)11-0966-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.11.A016

The Characteristics of Peripheral Blood Before Anti-neoplastic Therapy in Cancer Patients Complicated with Thrombosis

FENG Ting-ting^{1,2}, LING Sun-bin³, FANG Mei-yu¹, et al.

(1. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China; 3. The First Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the characteristics of peripheral blood before anti-neoplastic therapy, and to find new clues for prevention and treatment of thrombosis in cancer patients. [Methods] The 47 cases of cancer patients complicated with thrombosis treated from 2003 to 2012 were enrolled as the case group, and 47 cases of cancer patients without thrombosis as the control group. The clinical data were analyzed retrospectively, and risk factors for thrombosis were evaluated by Logistic regression. [Results] The patients in case group had significantly higher level in white blood count (WBC), neutrophil (N), platelet (PLT), large platelet ratio (P-LCR) and large platelet count in the blood routine examination before anti-neoplastic therapy compared to the control group ($P<0.05$); while there was no significant difference in activated partial prothrombin time, plasma thrombin time, plasma prothrombin international standardization, and fibrinogen between the two groups ($P>0.05$). Logistic regression results showed that the higher level of WBC and large platelet count had significant difference ($P<0.05$), and N, PLT, P-LCR showed no statistical significance ($P>0.05$). [Conclusion] Higher levels of WBC and large platelet count before anti-neoplastic therapy are independent risk factors of complicated with thrombosis in the cancer patients. Conventional blood coagulation indexes before anti-neoplastic therapy may have limited role in the cancer patients complicated with thrombosis.

Key words: neoplasms; thrombosis; leukocytosis; large platelet count

血栓形成是恶性肿瘤的常见并发症。血栓栓塞症

及相关并发症是恶性肿瘤的重要死亡原因之一^[1,2]。

1%~8% 恶性肿瘤患者在肿瘤发生发展过程中可能出现血栓栓塞性疾病, 是非肿瘤患者的 4.5~4.9

收稿日期: 2015-05-05; 修回日期: 2015-09-15

通讯作者: 张阳, E-mail: dlmzy@163.com

倍^[2,3]。肿瘤患者的血栓多为深静脉血栓,并发血栓可能导致患者的死亡发生率增加2~8倍^[4,5]。吸烟、肥胖、住院期间活动量少、合并感染、一般状况较差、长期身体制动等是深静脉血栓发生的危险因素^[6]。而肿瘤的原发部位、分期、病理类型也会使血栓在不同肿瘤的发生率不同。肿瘤的治疗措施如手术、化疗、激素治疗、中心静脉置管等均使血栓的发生增加^[7-9]。此外,血栓可促进恶性肿瘤细胞生长和转移^[10],延误抗肿瘤治疗的时机可导致生存期的缩短;严重影响患者的生存质量,使患者有较高的病残率和病死率。因而寻找预测肿瘤患者血栓发生的生物学指标,对于防治肿瘤患者的血栓具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取大连医科大学附属第二医院2003年1月至2012年1月间收治的恶性肿瘤合并血栓患者共47例,按性别、年龄 ± 5 岁、瘤种、肿瘤分期、病理类型1:1配对,选取病例组患者同期收治的不伴有血栓性疾病的恶性肿瘤患者47例作为对照患者,两组均满足:(1)均经细胞学和/或组织学病理证实为恶性肿瘤,且有明确的临床病例资料;(2)进行首次抗肿瘤治疗,首诊不合并感染、血小板增多症、急慢性白血病等疾病;(3)首次抗肿瘤治疗前的3月未曾患血栓,未行持续口服抗凝治疗。病例组患者经临床表现及相关影像学检查确诊为血栓^[12]。

1.2 基线资料收集

所有患者均采集住院号、性别、年龄、肿瘤瘤种、病理、分期、诊断时间、血栓诊断时间、内科合并症、血栓部位和抗肿瘤治疗前血常规及血凝检查等血液学检查。并对所有患者的血栓发生高危因素均作详细记载,具体参照2013年NCCN恶性肿瘤相关性血栓性疾病治疗指南^[12]。

病例组及对照组均为男性23例,女性24例。病例组最小31岁,最大82岁,平均年龄 59.13 ± 10.840 岁;对照组平均年龄 56.81 ± 11.571 岁,两组年龄无统计学差异。将恶性肿瘤的原发部位按系统分类,恶性肿瘤合并血栓的患者中,消化系统恶性肿瘤24例,其中胃癌11例,结直肠癌10例,食管癌2例,胰腺癌2例,呼吸系统主要为肺癌,共16例,泌尿生殖

系统肿瘤共6例,其中卵巢癌3例、宫颈癌2例、膀胱癌1例。乳腺癌1例。

1.3 检测仪器

血液常规检测仪器型号 Symex XT1800i。

大血小板比率测定:仪器在2fl-30fl范围内分析血小板。大血小板比率是指相对低鉴别线和高鉴别线间的粒子数,固定识别值和高鉴别线间的粒子的比率,也就是在可识别的血小板中,体积大于或等于12fl的血小板所占比例。计算公式为: $P-LCR = \text{大血小板数} / \text{PLT} \times 100\%$ 。

血凝常规检测仪器 Stago STA-R Evolution。血常规及血凝常规在抗肿瘤治疗前采集。

1.4 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件。分类资料的率的分布选用 χ^2 检验。外周血液相关指标经单样本Kolmogorov-Smirnov检验,符合正态分布的指标以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本 t 检验,不符合正态分布的指标,采取Mann-Whitney检验。危险因素分析采用Logistic单因素及多因素分析。

2 结 果

2.1 两组患者在恶性肿瘤血栓形成危险因素分布的均衡性分析

根据2013年NCCN恶性肿瘤相关性血栓性疾病治疗指南,两组患者恶性肿瘤血栓形成高危因素分布比较无统计学差异(Table 1)。

2.2 抗肿瘤治疗前血常规及血凝的特点

在血液常规检查指标中,与对照组患者相比,病例组白细胞绝对值(white blood count,WBC)、中性粒细胞绝对值(neutrophil,N)、血小板绝对值(platelet,PLT)、大血小板比率(large platelet ratio,P-LCR)、大血小板值均较对照组升高($P < 0.05$);而红细胞绝对值(red blood cell,RBC)、血红蛋白(hemoglobin,HGB)、血小板平均分布容积(mean platelet volume distribution,MPV)均较非血栓组无显著性差异($P > 0.05$)(Table 2,3)。

在血凝常规的检查指标中,两组在血浆凝血酶时间(plasma thrombin time,PT)、部分活化的凝血酶原时间(activated partial prothrombin time,APTT)、血浆凝血酶原国际标准化(plasma prothrombin interna-

Table 1 The distribution of cancer-associated thrombosis risk factors in two groups

Risk factors		Case group	Control group	χ^2	<i>P</i>
Vascular compression	Yes	23	14	3.610	0.057
	No	24	33		
Acute infections	Yes	10	4	2.098	0.147
	No	37	43		
Renal disease	Yes	2	0	-	0.495*
	No	45	47		
Pulmonary disease	Yes	1	3	0.261	0.609
	No	46	44		
Cardiac disease	Yes	3	1	0.261	0.609
	No	44	46		
In bed	Yes	4	2	0.178	0.673
	No	43	45		
Prior VTE	Yes	2	1	0.344	0.557
	No	45	46		
Recent surgery	Yes	5	2	0.617	0.432
	No	42	45		
Smoking	Yes	12	8	1.106	0.450
	No	35	39		
Obesity	Yes	2	0	-	0.495*
	No	45	47		
Surgery	Yes	24	18	1.549	0.213
	No	23	29		
Radiotherapy	Yes	4	8	0.860	0.354
	No	43	39		
Chemotherapy	Yes	47	47	-	1.000*
	No	0	0		
CVAD	Yes	25	16	3.504	0.061
	No	22	31		

*: Fisher's Exact Test.

Table 2 Comparison of the mean of indexes submitted to normal distribution

Index	Case group	Control group	<i>t</i>	<i>P</i>
WBC($\times 10^9/L$)	8.30 $\pm$ 4.00	5.44 $\pm$ 1.57	4.56	<0.001
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.23 $\pm$ 0.60	4.35 $\pm$ 0.58	-0.99	0.325
HGB(g/L)	121.66 $\pm$ 25.77	123.35 $\pm$ 20.05	-0.35	0.724
PLT($\times 10^9/L$)	302.06 $\pm$ 101.36	221.87 $\pm$ 84.44	4.17	<0.001
P-LCR(%)	26.42 $\pm$ 8.11	23.17 $\pm$ 7.63	2.00	0.048
APTT(s)	30.07 $\pm$ 9.90	30.40 $\pm$ 8.49	-0.13	0.898

Table 3 Comparison of the mean of indexes not submitted to abnormal distribution

Index	Case group		Control group		<i>Z</i>	<i>P</i>
	Mean rank	Sum of ranks	Mean rank	Sum of ranks		
N($\times 10^9/L$)	60.16	2827.5	34.84	1637.5	-4.499	<0.001
MPV(fl)	44.59	2095.5	50.41	2369.5	-1.324	0.185
Large platelet count($\times 10^9/L$)	58.13	2732.0	36.87	1733.0	-3.777	<0.001
PT(s)	27.75	832.5	27.19	652.5	-0.131	0.896
INR	29.65	889.5	24.81	595.5	-1.124	0.261
Fbg(g/L)	28.93	868.0	25.71	617.0	-0.749	0.454

tional standardization,INR)、血浆纤维蛋白原(fibrinogen,Fbg)均未显示出统计学差异($P>0.05$)(Table 2,3)。

病例组中有 14.89%(7/47)患者不合并血栓发生危险因素,且所有患者(7/7)均存在较高水平 WBC 和/或大血小板值,其中单纯高 WBC、单纯大血小板值及两者均高的患者分别为 28.6%(2/7)、28.6%(2/7)、42.8%(3/7)例。对照组中 59.57%(28/47)存在血栓发生高危因素:75%(21/28)的患者有较低水平的 WBC 及大血小板值,无两者均高的患者,10.71%(3/28)存在单纯的高水平 WBC,14.29%(4/28)存在较高的大血小板值。

2.3 发生血栓危险因素分析

将经上述检验得出的有统计学差异的计量数据,WBC、N、PLT、PLCR、大血小板值作为自变量,是否血栓发生作为应变变量,代入单因素 Logistic 进行分析,结果显示较高水平 WBC、N、PLT、大血小板值具有统计学差异($P<0.05$)(Table 4)。

将 WBC、N、PLT、PLCR 及大血小板值均作为自变量,进行多因素 Logistic 多因素分析,最后进入方程的变量为较高水平的 WBC 和大血小板值(Table 5)。

3 讨论

肿瘤合并血栓性疾病受多种因素影响。本研究在血栓发生主要相关危险因素均衡可比的情况下,统计学方法分析结果提示治疗前较高水平的 WBC 和大血小板值是恶性肿瘤患者发生血栓的独立危险因素。我们推测抗肿瘤治疗前高水平的 WBC 和大血小板值对血栓发生具有一定预测价值。而本研究中血凝常规的预测血栓

Table 4 Logistic univariate analysis results for the risk factor of thrombosis

Factors	B	S.E.	P	Wald	OR(95%CI)
WBC	0.601	0.155	<0.001	15.052	1.823(1.346~2.469)
N	0.608	0.167	<0.001	13.253	1.837(1.324~2.548)
PLT	0.100	0.003	<0.001	12.650	1.010(1.004~1.015)
P-LCR	0.054	0.028	0.054	3.728	1.056(0.999~1.115)
Large platelet count	0.024	0.008	0.002	9.469	1.024(1.009~1.040)

Table 5 Logistic multivariate analysis results for the risk factor of thrombosis

Factors	B	S.E.	P	Wald	OR(95%CI)
Large platelet count ^a ($\times 10^9/L$)	0.016	0.008	0.039	4.250	1.016(1.001~1.032)
WBC ^a ($\times 10^9/L$)	0.546	0.163	0.001	11.291	1.727(1.256~2.374)
Constant	-4.579	1.107	0.000	17.113	0.010

价值有限。部分研究发现,纤维蛋白原的升高可能提示肿瘤患者发生血栓的风险增加^[13],但在本研究尚未体现出统计学意义,考虑可能与样本量较小有关;其余血凝常规的相关指标却并未表现出差异性,此与相关研究一致^[14]。

Khorana 等^[15]提出化疗相关性血栓的危险评估模型,除了高危肿瘤及肥胖因素外,化疗前 WBC $\geq 11 \times 10^9/L$, PLT $\geq 350 \times 10^9/L$ 及 HGB $< 10g/dl$ 均会增加血栓发生风险。本研究采集的血液学均为首次抗肿瘤治疗前,并非特指化疗治疗前,因此抗肿瘤治疗前的血液常规从血栓防治的角度亦应该受到重视。而对于存在中心静脉置管、局部血管压迫等临床常见血栓发生高危因素的肿瘤患者,若抗肿瘤治疗前存在高水平 WBC 和/或大血小板值,我们可考虑进一步进行预防性抗凝,且就 WBC 及大血小板值的具体界值的确定有待进一步的大样本研究。

研究表明,肿瘤细胞可以促进分泌促凝成分,如组织因子、癌促凝物和炎性细胞因子等促进宿主细胞如白细胞和血小板的活化表达促凝血的表型^[16,17]。同时,白细胞本身亦参与维持肿瘤的高凝状态过程,对肿瘤的生长、转移等具有重要意义。有研究发现在肿瘤患者的白细胞中,组织因子和血管生成因子的水平较非肿瘤患者显著性升高。但白细胞在促进肿瘤患者血栓发生的机制目前仍在探索中。血小板主要通过自身聚集及释放促凝因子发挥促血液凝固的作用,其内含三种类型的功能颗粒发挥促凝活性^[18]。正常人血小板体积差别较大,存在着一定数量的大血小板,大血小板占总血小板的比例即为 P-LCR。有研究提示大体积血小板较小血小板含致密体多,在

超微结构上证实大截面血小板上的细胞器丰富,含有较高的糖原、蛋白质和碳水化合物,其血小板第 3 因子升高,参与因子 X 的激活过程,促进凝血酶的形成^[19],MPV 可以视为血小板体积的另一提示指标,可能是预测深静脉血栓的一种预测指标。研究发现 MPV 较大的患者可能更易发生血栓^[20,21],提示体积大的血小板可能有更强的功能。但在本研究中 MPV 并未体现出统计学差异,可能与样本量较小有关。

本研究中将大血小板值的算法及意义引入到预测血栓的研究中,即 PLT 数量乘以 P-LCR,它并不代表大血小板的真正的数量,而是一定程度上综合了血小板聚集和功能活化对血栓形成的影响。这可能是本研究中大血小板值较 PLT 对血栓形成具有更强的提示意义的原因。但本研究受包括血小板测定、肿瘤本身等多种因素影响,且本研究为回顾性研究,此推论尚待进一步研究论证。

此外值得注意的是,本研究中的血液学指标均于肿瘤治疗前采集,其水平高低可能也与肿瘤的生物学行为相关。有研究报道,低分子肝素钙^[22,23]、华法林^[24]有助于抑制肿瘤血管生成、抑制肿瘤进展的作用。目前肿瘤相关的血栓防治指南推荐的肿瘤患者预防性抗凝常用药物为华法林和低分子肝素,但其风险收益比也一直为是否接受预防性抗凝治疗的焦点。在本研究中,我们发现抗肿瘤治疗前较高水平的大血小板值是肿瘤患者发生血栓的独立危险因素,对大血小板相关机制的深入探索,将有利于我们发现和研发出更多安全有效的抗凝药物。

参考文献:

- [1] Frere C, Debourdeau P, Hij A, et al. Therapy for cancer-related thromboembolism[J]. Seminars Oncology, 2014, 41(3):319-338.
- [2] Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, et al. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis [J]. Blood, 2013, 122(10):1712-1723.
- [3] Walker AJ, Card TR, West J, et al. Incidence of venous thromboembolism in patients with cancer - a cohort study using linked United Kingdom databases [J]. European

- Journal of Cancer, 2013, 49(6): 1404–1413.
- [4] Bergqvist D, Caprini JA, Dotsenko O, et al. Venous thromboembolism and cancer[J]. Current Problems in Surgery, 2007, 44(3): 157–216.
 - [5] Gussoni G, Frasson S, La Regina M, et al. Three-month mortality rate and clinical predictors in patients with venous thromboembolism and cancer. Findings from the RIETE registry[J]. Thrombosis Res, 2013, 131(1): 24–30.
 - [6] Faiz AS, Khan I, Beckman MG, et al. Characteristics and risk factors of cancer associated venous thromboembolism [J]. Thrombosis Res, 2015, 136(3): 535–541.
 - [7] Toledano TH, Kondal D, Kahn SR, et al. The occurrence of venous thromboembolism in cancer patients following major surgery[J]. Thrombosis Res, 2013, 131(1): e1–5.
 - [8] Onitilo AA, Doi SAR, Engel JM, et al. Relationship between Factor V Leiden mutation and venous thromboembolism in patients with breast cancer treated with tamoxifen[J]. Thrombosis Res, 2013, 131(6): 567–568.
 - [9] Joks M, Czyz A, Poplawski D, et al. Incidence and risk factors for central venous catheter-related thrombosis in hematological patients[J]. Medical Oncology, 2014, 31(1): 772.
 - [10] Schaffener F, Yokota N, Ruf W. Tissue factor proangiogenic signaling in cancer progression[J]. Thrombosis Res, 2012, 129(Suppl 1): s127–s131.
 - [11] Li XQ, Wang SM. Guidelines for the diagnosis and treatment of deep venous thrombosis (Version 2)[J]. Chinese Journal of the Frontiers of Medical Science (Electronic Version), 2013, 1: 023–026. [李晓强, 王深明. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南 (第二版)[J]. 中国血管外科杂志 (电子版), 2013, 1: 023–026.]
 - [12] Streiff M B, Bockenstedt P L, Cataland S R, et al. Venous thromboembolic disease [J]. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2013, 11(11): 1402–1429.
 - [13] Tiedje V, Dunkler D, Ay C, et al. The role of fibrinogen plasma levels, the -455G>A fibrinogen and the factor XIII A subunit(FX III -A) Val34Leu polymorphism in cancer-associated venous thrombosis[J]. Thrombosis and Haemostasis, 2011, 106(5): 908–913.
 - [14] Pabinger I, Thaler J, Ay C. Biomarkers for prediction of venous thromboembolism in cancer[J]. Blood, 2013, 122(12): 2011–2018.
 - [15] Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, et al. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis[J]. Blood, 2008, 111(10): 4902–4907.
 - [16] Saadeh FA, Norris L, O'Toole S, et al. Tumour expression of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in ovarian cancer-relationship with venous thrombosis risk [J]. Thrombosis Res, 2013, 132(5): 627–634.
 - [17] Falanga A, Russo L, Verzeroli C. Mechanisms of thrombosis in cancer[J]. Thrombosis Res, 2013, 131(Suppl 1): s59–s62.
 - [18] Golebiewska EM, Harper MT, Williams CM, et al. Syntaxin 8 regulates platelet dense granule secretion, aggregation, and thrombus stability[J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(3): 1536–1545.
 - [19] Connolly GC, Phipps RP, Francis CW. Platelets and cancer-associated thrombosis[J]. Seminars in Oncology, 2014, 41(3): 302–310.
 - [20] Han JS, Park TS, Cho SY, et al. Increased mean platelet volume and mean platelet volume/platelet count ratio in Korean patients with deep vein thrombosis [J]. Platelets, 2013, 24(8): 590–593.
 - [21] Kissova J, Bulikova A, Ovesna P, et al. Increased mean platelet volume and immature platelet fraction as potential predictors of thrombotic complications in BCR/ABL-negative myeloproliferative neoplasms [J]. Int J Hematol, 2014, 100(5): 429–436.
 - [22] Li Y, Liu H, Huang YY, et al. Suppression of endoplasmic reticulum stress-induced invasion and migration of breast cancer cells through the downregulation of heparanase[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(5): 1234–1242.
 - [23] Surbone A, Fuso L, Passera R, et al. Daily administration of low molecular weight heparin increases hepatocyte growth factor serum levels in gynaecological patients: pharmacokinetic parameters and clinical implications [J]. BMC Res Notes, 2012, 5(1): 517.
 - [24] Kirane A, Ludwig KF, Sorrelle N, et al. Warfarin blocks Gas6-mediated Axl activation required for pancreatic cancer epithelial plasticity and metastasis[J]. Cancer Res, 2015, 75(18): 1–7.