

外周血淋巴细胞/单核细胞比值在肝细胞肝癌中的临床意义

沈晓燕, 李婷婷, 童海江

(绍兴第二医院, 浙江 绍兴 312000)

摘要: [目的] 探讨肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者切除术前外周血淋巴细胞/单核细胞的比值(lymphocyte and monocyte ratio, LMR)对 HCC 患者术后复发的影响。[方法] 回顾性分析接受 HCC 根治性切除术的患者 119 例, 使用 X-tile 软件估算 LMR 对于术后复发的最佳决定值, 根据该值将 119 例入组患者分为两组。用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, Log-rank 检验评估 LMR 在全部患者人群以及多种低危风险组中的价值。单因素 Cox 回归模型分析术前各临床参数对于术后复发的影响, 有统计学意义的术前单因素进入 Cox 回归模型进行多因素分析。[结果] 截止 2015 年 7 月, 119 例患者中位随访时间 42.30 个月, 共有 56 例患者发生复发, 占总入组人数的 47.06%。X-tile 计算得到的最佳切点为 4.84, 119 例入组患者分为 LMR ≤ 4.84 者 72 例 (60.50%), LMR > 4.84 者 47 例 (39.50%)。单因素分析显示卫星灶 ($P=0.032$) 和术前 LMR ≤ 4.84 ($P=0.004$) 是术后无瘤生存率的影响因素。多因素分析显示卫星灶和 LMR 分别是预测术后肿瘤复发的独立危险因素 (卫星灶: OR=1.90, 95%CI: 1.07~3.36, $P=0.028$; LMR: OR=0.41, 95%CI: 0.22~0.74, $P=0.003$)。对 AFP 阴性 (≤400ng/ml) 以及 BCLC 0+A 期的早期肝癌两个低复发风险亚组, LMR 依然是一个具有显著意义的复发评估指标 (P 均 < 0.05)。LMR 与肿瘤的血管侵犯显著相关 ($P=0.020$)。[结论] LMR 是一个简便、高效、易检测、低成本的 HCC 切除术后早期复发预测指标, LMR ≤ 4.84 的 HCC 患者术后早期复发风险显著增加。

关键词: 肝细胞肝癌; 淋巴细胞; 单核细胞; 复发

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)08-0774-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.08.B004

Ratio of Lymphocyte to Monocyte in Predicting Recurrence of Patients with Hepatocellular Carcinoma

SHEN Xiao-yan, LI Ting-ting, TONG Hai-jiang

(The Shaoxing Second Hospital, Shaoxing 312000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the application of the ratio of lymphocyte to monocyte (LMR) in predicting recurrence of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) after curative resection. [Methods] The clinical data of 119 patients undergoing curative resection were retrospectively reviewed. X-tile software was used to evaluate the optimal cutoff value for LMR, and the entire cohort of patients were stratified into two groups according to this optimal cutoff value. Difference of recurrence rates between these two groups in entire cohort or low-recurrence-risk subgroups were compared with Kaplan-Meier curves and Log-rank tests. Univariate and multivariate regression analyses were performed to determine the independent predicting factors for tumor recurrence. [Results] The median follow-up time was 42.30 months, and 56 patients encountered recurrence during this period. LMR of 4.84 was set as the optimal cutoff value according to X-tile and patients were stratified into high-risk and low-risk groups based on this value. Univariate regression analysis revealed that satellite lesion ($P=0.032$) and LMR ($P=0.004$) were significantly associated with the tumor recurrence. Furthermore, multivariate regression analysis showed that satellite lesion (OR=1.90, 95%CI: 1.07~3.36, $P=0.028$) and LMR (OR=0.41, 95%CI: 0.22~0.74, $P=0.003$) were the independent indicators for predicting recurrence. LMR retained its prognostic value in low AFP and early-HCC subgroups (all $P<0.05$). [Conclusion] LMR is a convenient and effective prognostic indicator of recurrence prediction in HCC patients after curative resection, and HCC patients with a LMR ≤ 4.84 have higher risk of tumor recurrence.

Subject words: hepatocellular carcinoma; lymphocyte; monocyte; recurrence

肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 在

恶性肿瘤中的发病率高居第 5 位, 其所致的死亡高居恶性肿瘤所致死亡的第 3 位^[1]。目前临床上根治 HCC 的唯一手段是根治性切除术, 但是术后肝内复发或远处转移严重影响了临床 HCC 的疗效。因此,

通讯作者: 童海江, 主任, 主任医师, 学士; 绍兴第二人民医院检验科, 浙江省绍兴市延安路 123 号 (312000); E-mail: zjuhxlxust@sina.cn

收稿日期: 2017-04-13; **修回日期:** 2017-10-09

目前 HCC 临床研究的热点之一是探索新的 HCC 复发风险预测因子^[2-4]。淋巴细胞能够通过细胞免疫杀伤肿瘤细胞,对肿瘤的进展有一定抑制作用,淋巴细胞的数量在一定程度上反映出肿瘤进展的情况。单核细胞在肿瘤的发生发展过程中,会影响肿瘤的血管生成,从而能够反映肿瘤的进展情况^[5-7]。目前关于淋巴细胞/单核细胞的比值(lymphocyte and monocyte ratio, LMR)与 HCC 复发的关系研究较少。本研究回顾性分析了 119 例 HCC 患者的术前外周血 LMR 的比例与患者复发情况的关系,以期分析 LMR 在预测 HCC 复发中的最佳决定值,并评估其临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2012 年 1 月至 2013 年 7 月在绍兴第二医院接受 HCC 根治性切除术的患者 119 例。收集患者临床信息包括年龄、性别、既往手术史、术前诊断、术前影像学资料(腹水、肿瘤数量、肿瘤大小、肉眼癌栓等)、术前传染病史包括乙肝或丙肝病史、术前肝功能生化指标、术前甲胎蛋白(AFP)、术前 γ -谷氨酰转氨酶、术中临床资料(肝硬化、腹水)、术后病理资料(肿瘤大小、数量、包膜完整状态、卫星灶、病理分级、血管侵犯等)。门诊复诊或电话随访,由手术当日开始,随访频率:术后 6 个月内每个月复查 1 次肝脏 CT 或 B 超、AFP、肝功能生化常规以及胸部 X 线片,半年后每 3 个月复查 1 次,2 年后每 6 个月复查 1 次。复发时间定义为手术当日到最初发现复发时之间的时间间隔。随访截止日期 2015 年 7 月。

入组标准:符合临床 HCC 诊断,年龄 ≥ 18 周岁,于本院接受根治性切除术,并由病理报告确认。排除标准:(1)既往有其他恶性肿瘤史;(2)合并有其他恶性肿瘤;(3)术前 1 周无血常规资料;(4)术前无影像学资料;(5)术前有急性感染证据;(6)术后病理证实非肝细胞肝癌诊断;(7)无随访资料或失访。入组患者平均年龄 51.50 岁(23~78 岁),男性 99 例,女性 20 例,患者资料详见 Table 1。

1.2 检测方法

术前 1d 抽取待检者静脉血 6ml,采用血细胞分析仪检查淋巴细胞与单核细胞的数量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理。根据文献报道并验证的方法——X-tile 软件分析法确定最佳决定值^[8]。计量资料两组间比较如正态分布采用独立样本 t 检验,如非正态分布则采用非参数法进行检验;计数资料采用 χ^2 检验。以复发为终点事件,采用 Kaplan-Meier 生存分析法比较两组无瘤生存率,差异比较采用 Log-rank 检验。单因素、多因素分析采用 Cox 风险回归模型进行计算。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

中位随访时间 42.30 个月(1.30~53.80 个月)。随访期间有 56 例患者发生肿瘤复发,占 47.05%(56/119)。

2.1 LMR 决定值的确定

计算 LMR 的比值,平均 LMR 值为 4.42(0.91~8.50)。根据 LMR 值和术后肿瘤复发随访资料使用 X-tile 软件对 LMR 决定值进行评估。根据软件评估的结果 LMR=4.84 为最佳决定值,根据该值将 119 例入组患者分为 LMR ≤ 4.84 者 72 例(60.50%), LMR > 4.84 者 47 例(39.50%)。

2.2 LMR 的预后评估价值

LMR ≤ 4.84 组的复发率为 58.33%(42/72), LMR > 4.84 组的复发率为 29.79%(14/47),中位复发时间:9.70 个月 vs 47.60 个月,两者差异有统计学意义($P=0.003$)。见 Table 1, Figure 1。

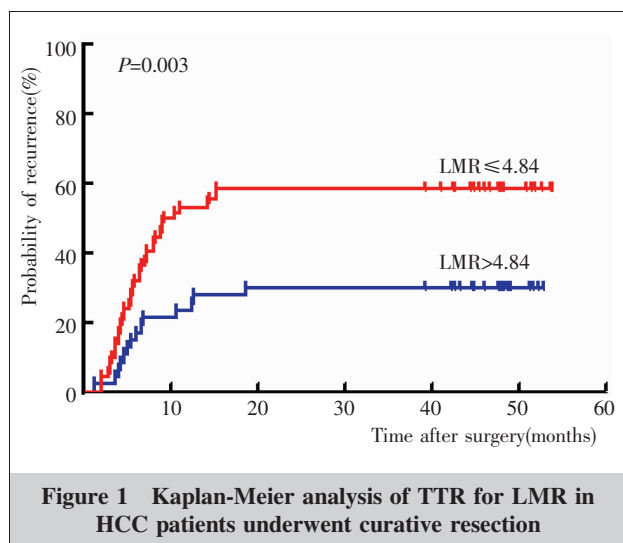


Figure 1 Kaplan-Meier analysis of TTR for LMR in HCC patients underwent curative resection

Table 1 Correlation between LMR ratio and clinicopathologic characteristics

Clinical characteristics	n	LMR ≤ 4.84 (n=72)	LMR > 4.84 (n=47)	χ^2	P
Gender					
Female	99	62(86.11%)	37(78.72%)	1.11	0.323
Male	20	10(12.89%)	10(21.28%)		
Age(years)					
≤ 50	35	23(31.94%)	12(25.53%)	0.56	0.539
> 50	84	49(68.06%)	35(74.47%)		
Liver cirrhosis					
No	38	23(31.94%)	15(31.91%)	0.01	1.000
Yes	81	49(68.06%)	32(68.09%)		
No. of tumor					
Single	96	57(79.17%)	39(82.98%)	0.27	0.644
Multiple	23	15(20.83%)	8(17.02%)		
Child-Pugh score					
A	115	70(97.22%)	45(95.74%)	-	0.647 [#]
B	4	2(2.78%)	2(4.26%)		
ALT(U/L)					
≤ 75	112	67(93.06%)	45(95.74%)	-	0.702 [#]
> 75	7	5(6.94%)	2(4.26%)		
AFP(ng/ml)					
≤ 400	78	52(72.22%)	26(55.32%)	3.60	0.089
> 400	41	20(27.78%)	21(44.68%)		
Tumor size(cm)					
≤ 5	78	47(65.28%)	31(65.96%)	0.01	1.000
> 5	41	25(34.72%)	16(34.04%)		
Tumor encapsulation					
Complete	73	48(66.67%)	25(53.19%)	2.18	0.178
None	46	24(33.33%)	22(46.81%)		
Satellite lesion					
No	93	57(79.17%)	36(76.60%)	0.11	0.822
Yes	26	15(20.83%)	11(23.40%)		
Vascular invasion					
No	64	32(44.44%)	32(68.09%)	6.39	0.020
Yes	55	40(55.56%)	15(31.91%)		
Tumor differentiation					
I ~ II	68	44(61.11%)	24(51.06%)	1.17	0.344
III ~ IV	51	28(38.89%)	23(48.94%)		
BCLC stage					
0+A	97	60(83.33%)	37(78.72%)	0.40	0.630
B+C	22	12(16.67%)	10(21.28%)		
Recurrence					
No	63	30(41.67%)	33(70.21%)	9.30	0.003
Yes	56	42(58.33%)	14(29.79%)		

Note: ALT, alanine aminotransferase; AFP, α -fetoprotein; BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer; LMR: lymphocyte and monocyte ratio.

[#]Fisher exact test.

2.3 影响无瘤生存率的 Cox 回归分析

在单因素 Cox 风险回归模型中, 卫星灶 (OR=1.86, 95%CI: 1.05~3.31, $P=0.032$) 和术前 LMR (OR=

0.41, 95%CI: 0.22~0.74, $P=0.004$) 是术后无瘤生存率的影响因素 (Table 2)。

将影响根治性切除术后 HCC 复发的危险因素卫星灶和术前 LMR 导入多因素 Cox 回归模型, 结果显示, 卫星灶和术前 LMR 均是预测术后 HCC 复发的独立危险因子 (卫星灶: OR=1.90, 95%CI: 1.07~3.36, $P=0.028$; LMR: OR=0.41, 95%CI: 0.22~0.74, $P=0.003$) (Table 3)。

2.4 LMR 在低复发风险组中的预后判断价值

本研究进一步评估了 LMR 在低 AFP (≤ 400 ng/ml) 以及 BCLC 0+A 期的早期肝癌两个低复发风险亚组中的预后预测价值。

在 AFP 阴性亚组中, LMR ≤ 4.84 的患者 53.85% (28/52) 发生复发, LMR > 4.84 的患者仅有 23.08% (6/26) 发生复发, 中位复发时间: 14.40 个月 vs 47.75 个月, 差异有统计学意义 ($P=0.011$), 见 Figure 2。

在 BCLC 0+A 期的早期肝癌亚组中, LMR ≤ 4.84 的患者 55.00% (33/60) 发生复发, LMR > 4.84 的患者仅有 29.73% (11/37) 发生复发, 中位复发时间: 11.00 个月 vs. 47.60 月, 差异有统计学意义 ($P=0.015$), 见 Figure 3。

2.5 LMR 与患者临床病理特征的关系

LMR 与各临床参数关系如 Table 1 所示, 结果显示 LMR ≤ 4.84 与肿瘤的血管侵犯显著相关 ($P<0.05$)。

3 讨论

根治性切除术仍然是目前 HCC 首选治疗方案, 然而切除术后 HCC 患者总体的 5 年复发率高达 70%, 严重影响 HCC 患者的预后^[9-12]。如何在手术前准确、高效的评估 HCC 患者的术后复发风险是临床上亟待解决的问题, 所以, 寻找有效的反映肿瘤侵袭以及

Table 2 Univariate Cox regression analyses of LMR and clinicopathologic characteristics of patients with hepatocellular carcinoma

Variables	HR(95% CI)	P
Liver cirrhosis(yes vs no)	1.13(0.63~2.02)	0.682
ALT(>75U/L vs ≤75U/L)	0.90(0.28~2.87)	0.853
AFP(>400ng/ml vs ≤400ng/ml)	1.43(0.84~2.45)	0.193
No. of tumors(multiple vs single)	1.64(0.91~2.97)	0.101
Tumor size(>5cm vs ≤5 cm)	1.36(0.79~2.32)	0.267
Tumor encapsulation(none vs complete)	1.05(0.61~1.80)	0.869
Satellite lesion(yes vs no)	1.86(1.05~3.31)	0.032
Vascular invasion(yes vs no)	1.12(0.66~1.92)	0.668
Tumor differentiation(Ⅲ~Ⅳ vs Ⅰ~Ⅱ)	1.02(0.60~1.73)	0.938
BCLC stage(B+C vs 0+A)	1.20(0.63~2.26)	0.585
Child-Pugh score(B vs A)	0.49(0.07~3.50)	0.473
LMR(>4.84 vs ≤4.84)	0.41(0.22~0.74)	0.004

Table 3 Multivariate Cox regression analyses of LMR and clinicopathologic characteristics of patients with hepatocellular carcinoma

Variables	HR(95% CI)	P
Satellite lesion(yes vs no)	1.90(1.07~3.36)	0.028
LMR(>4.84 vs ≤4.84)	0.41(0.22~0.74)	0.003

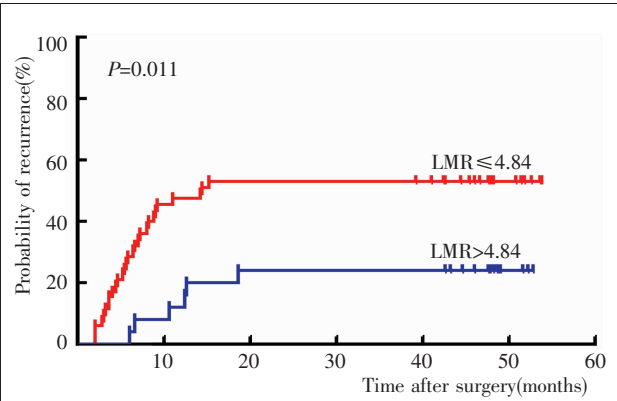


Figure 2 Kaplan-Meier analysis of TTR for LMR in HCC patients with AFP≤400ng/ml

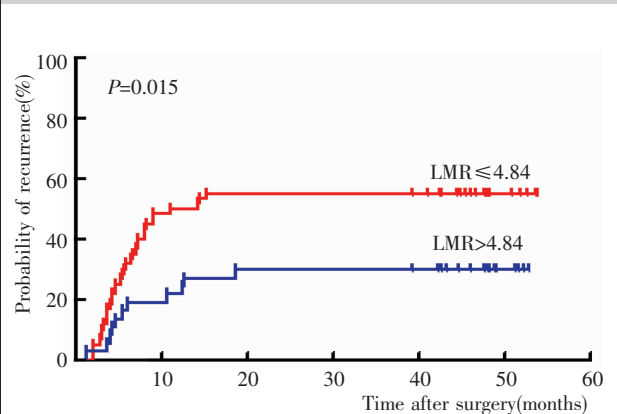


Figure 3 Kaplan-Meier analysis of TTR for LMR of in HCC patients with BCLC 0+A

复发/转移的指标成为目前临床研究的热点。最近研究表明炎症微环境在肿瘤进展中起到非常重要的作用。同时炎症免疫细胞失调在肝癌进展中是重要的调节因素。淋巴细胞作为宿主抗肿瘤免疫的重要组成部分,浸润于肿瘤微环境中淋巴细胞数量会破坏肿瘤细胞的生长。研究表明减少淋巴细胞浸润是肝移植术后复发的独立预测因子,同时低水平的 CD8+T 细胞与 HCC 患者的预后较差密切相关。因此,单核细胞降低能提示肝癌的进展^[13-15]。单核细胞作为一种髓系来源的细胞,具有免疫抑制的活性,它还可以促进肿瘤血管生成,肿瘤细胞的侵袭和转移。循环单核细胞被招募到肿瘤基质,分化为巨噬细胞。作为肝癌微环境的主要组成部分,肿瘤相关的巨噬细胞通过产生各种细胞因子和趋化因子促进肿瘤进展。这提示单核细胞与肝癌的发生发展密切相关^[16-20]。淋巴细胞与单核细胞都能反映 HCC 患者的进展情况,LMR 能够更加准确反映 HCC 患者的发生发展状况,从而对 HCC 患者的预后评估有一定价值。

外周血 LMR,作为一种新的炎症标志物,是在肝癌患者预后中研究分析其临床价值。通过 X-tile 软件的估算,术前 LMR 为 4.84 是预测 HCC 复发的最佳决定值^[8]。相关研究中 LMR 值为 3.23^[21],可能由于人群数量和随访时间差异导致。基于此决定值的单因素 Cox 回归分析证实 LMR 是重要的术后无瘤生存率的影响因素。此外,通过多因素 Cox 回归分析发现 LMR 是 HCC 预后独立的危险因素,说明 LMR 能精确地对 HCC 患者的预后进行评估,进而有利于制定更加周全和个体化的术后监测策略,例如增加随访频率、使用更加精确的影像学手段监测患者等,从而提高 HCC 的整体预后情况。

在目前的临床实践中,对于早期肝癌(例如 BCLC 0+A 期)术后复发评估仍然是一个难题。本研究亦分析了 LMR 在这部分人群中的预后价值。本研究发现 LMR 在早期 HCC 中仍然具有显著的预后评估价值($P<0.05$)。另一方面,尽管 AFP 是目前临床上最常用的 HCC 诊断、监测指标,但约有 30%~40%的 HCC 患者术前血清 AFP 水平不升高,这极大影响了 AFP 的临床使用价值^[22]。本研究发现,低

AFP 亚组中 ($\leq 400\text{ng/ml}$), LMR 仍具有显著的预后评估价值 ($P < 0.05$)。提示 LMR 在早期以及正常血清 AFP 水平的 HCC 患者中仍然是一个具有重要临床意义的预后指标, 且能够作为 AFP 一种有效的补充, 被应用到 HCC 的疾病管理中, 从而帮助临床医生在术前有效地筛选出高复发风险的患者以便制定更加有效的术后辅助化疗或其他综合治疗方案, 改善 HCC 患者的预后。

综上所述, LMR 是一个简便、高效、易检测、低成本且独立的 HCC 切除术后早期复发预测指标, 其最佳的决定值为 4.84。同时在 HCC 治疗过程中评估 LMR 有助于临床为患者制定更加合适的 HCC 综合治疗方案, 从而提高 HCC 治疗效果。

参考文献:

- [1] Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4): 835–853.
- [2] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87–108.
- [3] Degoma EM, Rader DJ. Novel HDL-directed pharmacotherapeutic strategies [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(5): 266–277.
- [4] Forner A, Llovet JM, and Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2012, 379(9822): 1245–1255.
- [5] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144: 646–674.
- [6] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation [J]. *Nature*, 2008, 454: 436–444.
- [7] Hu B, Yang XR, Xu Y, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients after curative resection for hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23): 6212–6222.
- [8] Camp RL, Dolled-Filhart M, Rimm DL. X-tile: a new bioinformatics tool for biomarker assessment and outcome-based cut-point optimization [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(21): 7252–7259.
- [9] Guo W, Yang XR, Sun YF, et al. Clinical significance of EpCAM mRNA-positive circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma by an optimized negative enrichment and qRT-PCR-based platform [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(18): 4794–4805.
- [10] Pascual S, Herrera I, Irurzun J. New advances in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Hepatol*, 2016, 8(9): 421–438.
- [11] Kinoshita A, Onoda H, Imai N, et al. Comparison of the prognostic value of inflammation-based prognostic scores in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(6): 988–993.
- [12] Fu S, Guo Z, Li S, et al. Prognostic value of preoperative serum gamma-glutamyltranspeptidase in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3433–3440.
- [13] Unitt E, Marshall A, Gelson W, et al. Tumour lymphocytic infiltrate and recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation[J]. *J Hepatol*, 2006, 45: 246–253.
- [14] Gao Q, Qiu SJ, Fan J, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25: 2586–2593.
- [15] Chen KJ, Zhou L, Xie HY, et al. Intratumoral regulatory T cells alone or in combination with cytotoxic T cells predict prognosis of hepatocellular carcinoma after resection [J]. *Med Oncol*, 2012, 29: 1817–1826.
- [16] Stotz M, Pichler M, Absenger G, et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110: 435–440.
- [17] Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 162–174.
- [18] Zhou J, Ding T, Pan W, et al. Increased intratumoral regulatory T cells are related to intratumoral macrophages and poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1640–1648.
- [19] Mano Y, Aishima S, Fujita N, et al. Tumor-associated macrophage promotes tumor progression via STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma [J]. *Pathobiology*, 2013, 80: 146–154.
- [20] Zhu XD, Zhang JB, Zhuang PY, et al. High expression of macrophage colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after curative resection of hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26: 2707–2716.
- [21] Lin ZX, Ruan DY, Li Y, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio predicts survival of patients with hepatocellular carcinoma after curative resection [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(38): 10898–10906.
- [22] Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Liver Dis*, 2001, 5(1): 145–159.