

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.32.022
文章编号: 1005-8982 (2018) 32-0112-05

NLR、FIB 和 Pgp1 评估结直肠癌预后的价值

唐孝良, 王亚儒, 姚远, 吕高波

(陕西省宝鸡市中心医院 肛肠外科, 陕西 宝鸡 721008)

摘要:目的 探讨中性粒细胞与淋巴细胞比值 (NLR)、纤维蛋白原 (FIB) 和癌组织 P-糖蛋白 1 (Pgp1) 对结直肠癌预后的临床价值。**方法** 选取陕西省宝鸡市中心医院进行结直肠癌根治性切除术的 223 例患者作为研究对象, 均为经 AJCC 第七版肿瘤分期指南诊断的 I 期或 II 期的结直肠癌患者, 且均术后留取癌组织病理标本, 随访 5 年。以是否发生终点事件为标准, 将患者分为预后良好组与预后不良组, 分别统计 NLR、FIB 和 Pgp1 评估结直肠癌预后的敏感性和特异性。**结果** 多因素 Cox 回归显示病理类型、术前肠梗阻、术后并发症、Pgp1、NLR 及 FIB 是影响结直肠癌预后的独立影响因素 ($P < 0.05$); NLR 联合 FIB 的 AUC 面积相对最高。NLR 联合 FIB 可提高结直肠癌预后的敏感性和特异性, 分别为 78% 和 79%。**结论** NLR 联合 FIB 预测结直肠癌预后的敏感性高于 3 者单独检测, 临床上可先通过联合检测提高结直肠癌患者预后的准确性, 及时制定精准的医疗方案从而改善患者预后。

关键词: 中性粒细胞与淋巴细胞比值; 纤维蛋白原; P-糖蛋白 1; 结直肠癌; 预后

中图分类号: R735.35

文献标识码: A

Value of NLR, FIB and Pgp1 in assessing prognosis of colorectal carcinoma

Xiao-liang Tang, Ya-ru Wang, Yuan Yao, Gao-bo Lü

(Department of Anorectal Surgery, Baoji Central Hospital, Baoji, Shaanxi 721008, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of P-glycoprotein 1 (Pgp1) expression, neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and fibrinogen (FIB) concentration in predicting the prognosis of colorectal carcinoma. **Methods** A total of 223 patients, who underwent radical resection of colorectal carcinoma in our hospital were involved as the research objects. All patients were diagnosed with stage I or II colorectal carcinoma according to the Seventh Edition AJCC Cancer Staging Manual. After operation cancer pathological specimens were collected from all patients, and these patients were followed up for 5 years. The patients were divided into a good prognosis group and a poor prognosis group according to the endpoint of follow-up. The prognostic sensitivity and specificity of Pgp1, NLR, FIB and the combination of Pgp1, NLR and FIB were evaluated. **Results** Pathological type, intestine obstruction before surgery, complications after surgery, Pgp1 expression, NLR and FIB were the independent risk factors influencing prognosis of colorectal cancer ($P < 0.05$). The ROC analysis showed that the AUC of NLR, FIB, and the combination of NLR and FIB were 0.801, 0.678 and 0.856, respectively. The AUC of the combination of NLR and FIB was the largest. The combined detection of NLR and FIB could improve the sensitivity (78%) and specificity (79%) of predicting the prognosis of colorectal carcinoma. **Conclusions** The sensitivity of combined NLR and FIB in predicting the prognosis of colorectal carcinoma is higher than the individual sensitivity of Pgp1, NLR and FIB

alone. Furthermore, the combined detection of NLR and FIB can improve the accuracy of prognosis prediction for the patients with colorectal carcinoma, allowing for the timely development of accurate medical programs to improve the prognosis of the patients.

Keywords: colorectal carcinoma; NLR; FIB; Pgp1; prognosis

结直肠癌是临床常见的恶性肿瘤, 发病率和病死率呈逐年上升趋势^[1-3]。目前临床上对结直肠癌患者的预评估主要是 TNM 分期^[4-5]。但是 TNM 分期无法满足个体化治疗的要求。目前, 临床上正着力研究可以有效评估结直肠癌预后的检测手段。本研究拟综合检测患者中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)、纤维蛋白原 (Fibrinogen, FIB) 和 P-糖蛋白 1 (P-glycoprotein 1, Pgp1) 在癌组织的表达。以早期发现有转移或复发风险的结直肠癌患者, 从而制定精准有效的治疗方案, 提高患者的预后。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 1 月-2012 年 5 月于陕西省宝鸡市中心医院行结直肠癌根治性切除术的 223 例患者作为研究对象。纳入标准: ①原发性结直肠癌且行根治性切除术; ②签署留取病理标本同意书, 病理组织保存完整; ③由 AJCC 第 7 版肿瘤分期指南诊断的 I 期或 II 期的结直肠癌^[6]。排除标准: ①于本院治疗前进行过放疗; ②行根治术时合并其他肿瘤。本研究经医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料 于患者手术前后整理并记录完整临床资料, 包括发病年龄、性别、肿瘤大小、病理学类型、肿瘤位置、TNM 分期、脉管癌栓及淋巴结转移情况, 有无术前肠梗阻、术后并发症等。

1.2.2 NLR 水平的测定 于次日清晨采集所有患者术前外周血, 嘱患者采血前 8 h 内不要喝水进食。以患者肘正中静脉为穿刺点, 穿刺部位 2 次消毒后, 抽取 5 ml 血液于血常规专用紫色真空采血管中, 反复颠倒混匀。标记患者姓名、性别、住院号、采血时间、采血用途及采血人姓名等送检。使用 HF-3800 血液细胞分析仪 (山东海力孚公司) 分析患者血液样本, 记录中性粒细胞计数 (Neutrophil, N)、淋巴细胞计数 (Lymphocyte, L), 计算两者比值: $NLR=N/L$ 。

1.2.3 FIB 水平的测定 于次日清晨采集所有患者术前外周血, 嘱患者采血前 8 h 内不要喝水进食。以患者肘正中静脉为穿刺点, 穿刺部位 2 次消毒后, 抽取 5 ml 血液于凝血四项专用蓝色真空采血管中, 反复颠倒混匀。注意采血时间尽量 ≤ 5 min, 采血带不要扎的太紧, 以防激活凝血机制。操作过程中避免产生气泡, 以防 FIB 变性。标记患者姓名、性别、住院号、采血时间、采血用途及采血人姓名等送检。使用 Clauss 法分析患者血液样本, 获得凝血四项报告单, 记录 FIB 的数值。

1.2.4 肿瘤组织 Pgp1 表达水平的测定和评分 采用 SP 法进行免疫组织化学, 一抗为兔抗人 Pgp1 多克隆抗体, 二抗为加入生物素标记的羊抗兔工作液。4% 中性甲醛固定病理标本, 脱水后石蜡包埋。①以 4 μ m 厚进行连续切片, 常规烤片及二甲苯脱蜡, 梯度酒精脱水, PBS 冲洗 5 min \times 4 次; ② 3% H_2O_2 室温避光孵育 10 min 灭活内源性过氧化氢酶, PBS 冲洗 5 min \times 4 次; ③用柠檬酸抗原修复液进行热抗原修复; ④山羊血清工作液室温下封闭 10 min 后弃去工作液勿洗; ⑤将兔抗人 Pgp1 多克隆抗体分别加入同一患者的几张切片并置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱孵育过夜, 次日 37 $^{\circ}$ C 复温 40 min 后 PBS 冲洗 5 min \times 4 次; ⑥加入生物素标记的羊抗兔二抗工作液, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 冲洗 5 min \times 4 次; ⑦二氨基联苯胺显色, 流水冲洗 15 min 后苏木素轻度复染, 常规脱水、透明、干燥及封片, 最后于光镜下观察并拍照。

由 1 位经验丰富的病理科医生观察所有切片, 每张切片随机观察 10 个高倍镜视野, 根据染色结果进行评分: 0 分为 $<5\%$; 1 分为 $\geq 5\% \sim <25\%$; 2 分为 $\geq 25\% \sim <50\%$; 3 分为 $\geq 50\% \sim <75\%$; 4 分为 $\geq 75\%$ 。染色强度评分: 不显色 0 分; 浅黄色 1 分; 棕黄色 2 分; 深棕色 3 分。每张切片分值 = 染色细胞数分值 \times 染色强度分值。若每张切片分值 <1 分, 则判断免疫组织化学结果阴性 (-); 若为 1 ~ 3 分, 则为弱阳性 (+); 若为 4 ~ 5 分, 则为中度阳性 (++) ; 若 >5 分, 则为强阳性 (+++)。定义 Pgp1 表达中度阳

性(++)和强阳性(+++)为高表达,阴性(-)和弱阳性(+)为低表达。

1.3 随访及观察指标

对所有参与研究的 223 例患者进行为期 5 年的随访,首次随访为治疗结束 1 个月后,之后每隔 1 个月电话随访 1 次。终点事件为:患者自入选时间起于随访期间发生不良预后事件,包括患者结直肠癌复发、分期上升及出现其他器官转移。原始资料参照患者入院记录、手术记录及麻醉记录,并将末次随访记录作为结果,记录患者发生不良预后的人数并定义为预后不良组,其余患者定义为预后良好组。患者拒绝访问、中途退出及死于其他与研究无关的原因定义为失访。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计学软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计数资料以率 (%) 表示,Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,单因素 Cox 回归分析筛选变量,预后影响因素的分析采用多因素 Cox 回归模型。绘制 ROC 曲线,利用 Kolmogorov-Smirnov 检验比较不同指标评估结直肠癌预后的准确性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般资料

223 例患者肿瘤直径平均 (4.32 ± 0.56) cm; TNM 分期 I 期 46 例, II 期 177 例;平均淋巴结转移 10.46 个;脉管癌栓阴性 169 例,阳性 54 例;腺癌 101 例,黏液腺癌 122 例;术前肠梗阻患者 89 例,无术前肠梗阻患者 134 例;术后并发症患者 50 例,无术后并发症患者 173 例;Pgp1 高表达 149 例,低表达 74 例;高 NLR 值 123 例,低 NLR 值 100 例;高 FIB 值 98 例,低 FIB 值 125 例。

2.2 患者随访情况

在随访结束时,失访患者共 11 例,124 例患者随访结束未发生终点事件,5 年生存率为 58.49% (124/212),定义为预后良好组,78 例患者出现了终点事件,定义为预后不良组。Kaplan-Meier 生存曲线显示,随着时间延长,全体患者不良预后增多,在随访的第 20、40 个月产生不良预后的患者增长较为明显。见图 1。

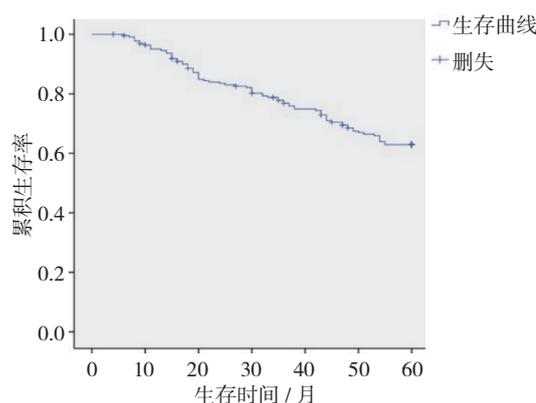


图 1 患者不良预后生存曲线图

2.3 影响结直肠癌患者预后的单因素 Cox 回归分析

将可能影响疾病预后的因素(年龄、性别、肿瘤部位、TNM 分期、病理类型、术前肠梗阻、术后并发症、肿瘤组织 Pgp1 表达、NLR 及 FIB 水平)逐个纳入 Cox 比例风险模型中进行单因素分析。结果发现肿瘤部位、TNM 分期对疾病预后无影响 ($P > 0.05$),患者年龄、性别、病理类型、术前肠梗阻、术后并发症、Pgp1、NLR、FIB 水平对疾病预后影响显著 ($P = 0.027, 0.003, 0.035, 0.021, 0.013, 0.025, 0.012$ 和 0.005)。

2.4 影响结直肠癌患者预后的多因素 Cox 回归分析

筛选单因素 Cox 回归差异有统计学意义的因素进行多因素 Cox 回归分析(引入水准 0.05,剔除水准 0.10)。结果显示:年龄和性别对患者预后的影响不明显 ($P > 0.05$);病理类型、术前肠梗阻、术后并发症、Pgp1、NLR 及 FIB 是结直肠癌预后的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见附表。

2.5 Pgp1 的结直肠癌预后分析

将 Pgp1 表达作为结直肠癌术后预后的指标,Pgp1 在结直肠癌患者预后的敏感性和特异性分别为 60.23% (53/88) 和 70.16% (87/124)。

2.6 NLR 和 FIB 单独及联合诊断对结直肠癌预后转归的评估价值分析

NLR 诊断结直肠癌预后的 AUC 为 0.801,最佳诊断点为 4.15 ng/ml,其敏感性为 62%,特异性为 92%;FIB 的 AUC 为 0.678,低于 NLR,最佳诊断点为 594.82 ng/ml,其敏感性为 36%,特异性为 99%。NLR 和 FIB 两者联合诊断结直肠癌预后的 AUC 最高,为

附表 患者不良预后的 Cox 多因素分析

影响因素	b	S _e	Wald χ^2	P 值	RR	95%CI	
						下限	上限
年龄	0.002	0.014	0.002	0.970	1.002	0.975	1.030
性别 (女 =0, 男 =1)	0.024	0.021	0.025	0.103	1.024	0.983	1.067
病理类型 (腺癌 =0, 黏液腺癌 =1)	1.290	0.312	4.112	0.013	3.632	1.970	6.695
术前肠梗阻 (无 =0, 有 =1)	1.574	0.328	1.004	0.048	4.824	2.536	9.175
术后并发症 (无 =0, 有 =1)	1.344	0.284	1.026	0.045	3.836	2.199	6.693
Pgp1 (低表达 =0, 高表达 =1)	-0.276	0.127	1.031	0.044	0.759	0.592	0.974
NLR	0.601	0.226	1.428	0.032	1.824	1.171	2.841
FIB	1.180	0.273	4.024	0.024	3.254	1.906	5.556

0.856, 其敏感性为 78%, 特异性为 79%。两者联合预测结直肠癌预后的 AUC 与 NLR 和 FIB 比较, 差异有统计学意义 ($Z=4.939$ 和 2.591 , $P=0.000$ 和 0.009)。见图 2。

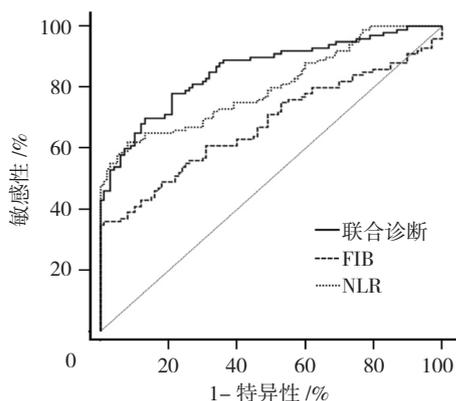


图 2 NLR 和 FIB 单独及联合诊断对结直肠癌预后的 ROC 曲线

3 讨论

结直肠癌在我国的 5 年生存率为 32.8% ~ 61.4%^[7-8]。因此其预后的研究一直是近年的热点。目前临床上主要通过病理分型、TNM 分期等评估预后^[9-10]。然而疾病的演变随着个体及环境的影响愈发复杂, 本研究将 NLR、FIB 水平和癌组织 Pgp1 的表达进行综合分析, 以提高预测结直肠癌患者预后的准确性。

本研究的 5 年生存率为 58.49%, 与 KENNEDY 等研究结果基本一致^[7]。笔者认为可能是由于本研究纳入的患者平均年龄高, 大部分合并有其他非肿瘤性的慢性疾病, 或由于结直肠癌患者本身的危险因素较多, 对预后产生了不良影响。目前越来越多的研究提示血液学指标和免疫学指标与肿瘤预后密切相关^[11-12]。

本研究中病理类型、FIB、NLR、Pgp1、术后并发症及术前肠梗阻依次为结直肠癌的预后影响因子。血液学指标 FIB、NLR 和免疫学指标 Pgp1 会影响结直肠癌患者预后, 可能因为: 一方面纤维蛋白原 FIB 升高预示着由纤维蛋白构成的肿瘤细胞骨架被破坏, 癌细胞发生了浸润与转移, 与大部分发生癌症转移的患者体内凝血系统异常相符^[13]。NLR 升高标志着肿瘤增殖旺盛但体内免疫防卫机制处于被抑制的状态, 预示着预后较差^[14]。另一方面, 近年来, 一些免疫学指标细胞膜跨膜糖蛋白 Pgp1 可主动泵出对正常细胞来说的异物^[15-16]。当其高表达时, 可限制癌细胞浸润和转移, 提示患者预后良好。

为进一步探究 NLR、FIB 和 Pgp1 对结直肠癌患者预后的影响, 患者对其进行 ROC 曲线分析。结果显示, 联合 NLR 和 FIB 评估患者预后的敏感性可达 78%, 较 3 者单独预测时均有提高。可能是因为 NLR 和 FIB 分别从机体免疫状态与凝血功能水平方面客观反映肿瘤细胞的增殖转移情况, 并且双指标的联合评估在一定程度上减少了血清、组织及机体反应等方面个体差异对预测结果的影响, 提高了预测准确性。

本研究纳入的样本量较少, 且 Pgp1 为定性指标, 相比计量指标其准确性有所偏差。建议将来的研究者选择更多计量资料进行分析, 并分别定义年轻患者和老年患者群体各项危险因素指标的临界值, 以提高其预后的准确性。

综上所述, 本研究表明 Pgp1、NLR 及 FIB 是影响结直肠癌患者预后的独立危险因素, NLR 和 FIB 联合检测可提高预后的特异性, 协助临床筛选具有预后不良风险的患者, 从而制定高效的治疗方案。

参 考 文 献:

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] BARONTINI J, ANTINUCCI M, TOFANELLI S, et al. Association between polymorphisms of TAS2R16 and susceptibility to colorectal cancer[J]. *Bmc Gastroenterology*, 2017, 17(1):104.
- [3] HASSAN C, QUINTERO E, DUMONCEAU J M, et al. Post-polypectomy colonoscopy surveillance: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline[J]. *Endoscopy*, 2013, 45 (10) :842-864.
- [4] MAO Y, JIA Y, ZHU H, et al. High expression of PFTK1 in cancer cells predicts poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 16(1): 224-230.
- [5] DAWOOD S, SIROHI B, SHRIKHANDE S V, et al. Potential prognostic impact of baseline CEA level and surgery of primary tumor among patients with synchronous stage IV colorectal cancer: a large population based study[J]. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 2015, 6(3): 198-206.
- [6] 刘荫华, 徐玲. 第七版《AJCC 肿瘤分期手册》结直肠癌内容的更新与解读 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2010, 13(8):629-631.
- [7] KENNEDY A, COHN M, COLDWELL D M, et al. Updated survival outcomes and analysis of long-term survivors from the MORE study on safety and efficacy of radioembolization in patients with unresectable colorectal cancer liver metastases[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2017, 8(4): 614-624.
- [8] PARK S, KANG B W, LEE S J, et al. Clinical significance of systemic chemotherapy after curative resection of metachronous pulmonary metastases from colorectal cancer[J]. *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, 2017, 80(1): 1-7.
- [9] Thomas J, Ohtsuka M, Pichler M, et al. MicroRNAs: clinical relevance in colorectal cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(12):28063-28076.
- [10] LI N S, CHENG X, ZHENG Z, et al. Dicer suppresses cytoskeleton remodeling and tumorigenesis of colorectal epithelium by miR-324-5p mediated suppression of HMGXB3 and WASF-2[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 55776-55789.
- [11] 覃罗, 姚晖, 徐亮, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值联合检测纤维蛋白原对结直肠癌预后的判断价值 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017(4): 527-532.
- [12] 龚兰, 陈振宇, 张伟红, 等. 结直肠癌患者 FIB、CEA、NLR 及病理特征对预后的分析 [J]. *成都医学院学报*, 2016, 11(2): 213-216.
- [13] 唐勤彩, 罗和生, 全晓静, 等. 结肠癌血行转移患者的凝血功能变化 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2015(1): 22-24.
- [14] ZHANG J, ZHANG H Y, LI J, et al. The elevated NLR, PLR and PLT May predict the prognosis of patients with colorectal cancer: a systematic review and metaanalysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40): 68837-68846.
- [15] YE S, ZHANG J, SHEN J, et al. NVP-TAE684 reverses multidrug resistance (MDR) in human osteosarcoma by inhibiting P-glycoprotein (PGP1) function[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2015, 173(3): 613-626.
- [16] 吴帆, 陈蕾, 吴蔚, 等. Pgp1 组织表达与术前血清癌胚抗原联合检测在结直肠癌预后判断中的价值 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2017, 20(4): 443-449.

(李科 编辑)