

• 肿瘤介入 Tumor intervention •

髓源性抑制细胞监测在评估中晚期肝癌 TACE 预后中的临床价值

陈 丽, 余日胜, 赖林强, 应希慧, 吴发宗, 张登科, 胡晓蕾,
王祖飞, 涂建飞, 纪建松

【摘要】 目的 探讨髓源性抑制细胞(MDSC)监测在评估中晚期肝癌 TACE 预后中的临床价值。**方法** 回顾性分析 2012 年 8 月至 2017 年 12 月收治于浙江大学丽水医院的 40 例中晚期肝癌患者。根据 MDSC 的 ROC 曲线,将所有患者分为低 MDSC 组和高 MDSC 组,K-M 分析患者的无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)。Cox 回归分析患者预后的独立危险因素。**结果** 高 MDSC 组和低 MDSC 组患者在甲胎蛋白(AFP)水平、肝硬化、肝内转移及巴塞罗那临床肝癌(BCLC)分期的差异具统计学意义($P<0.05$)。低 MDSC 组的 PFS($P=0.03$)、OS($P=0.0025$)显著优于高 MDSC 组。低 MDSC 组患者术后 6 个月、1 年、2 年的累计 PFS 及术后 1、2 和 3 年的累计生存率显著优于高 MDSC 组($P<0.05$)。Cox 多因素分析显示,MDSC、肝硬化、BCLC 分期是中晚期肝癌患者 TACE 后 OS 的独立预后预测因子。**结论** MDSC 表达水平能够作为中晚期肝癌 TACE 预后的独立预测因子。

【关键词】 原发性肝癌;髓源性抑制细胞;肝动脉化疗栓塞术;预后

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-08-0742-05

The clinical value of myeloid-derived suppressor cell monitoring in predicting the prognosis of advanced hepatocellular carcinoma after TACE

CHEN Li, YU Risheng, LAI Linqiang, YING Xihui, WU Fazong, ZHANG Dengke, HU Xiaolei, WANG Zufei, TU Jianfei, JI Jiansong. Interventional Diagnosis and Treatment Center, Lishui Hospital of Zhejiang University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Imaging Diagnosis and Interventional Minimally-Invasive Research, Lishui, Zhejiang Province 323000, China

Corresponding author: JI Jiansong, E-mail: jjstcty@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical value of myeloid-derived suppressor cell(MDSC) monitoring in predicting the prognosis of advanced hepatocellular carcinoma(HCC) after transcatheter arterial chemoembolization(TACE). **Methods** The clinical data of 40 patients with advanced HCC, who were admitted to Lishui Hospital of Zhejiang University of China during the period from August 2012 to December 2017, were retrospectively analyzed. Based on the ROC curve pattern of MDSC, the patients were divided into low MDSC group and high MDSC group. The overall survival(OS) and progression-free survival(PFS) were calculated by K-M survival curve analysis. Cox regression analysis was used to analyze the independent risk factors for prognosis. **Results** Statistically significant differences in the levels of alpha fetoprotein(AFP), the presence of cirrhosis, intrahepatic metastasis and Barcelona clinical liver cancer(BCLC) staging existed between the high MDSC group and the low MDSC group($P<0.05$). The PFS and OS in the low MDSC group were significantly longer than those in the high MDSC group($P=0.03$ and $P=0.0025$ respectively). The postoperative 6-month,

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.08.008

基金项目:浙江省丽水市科技局高层次人才培养项目(2018RC17)、浙江省公益技术研究国际合作项目(2015C34016)、丽水市科技计划项目(2017ZDXK07)

作者单位:323000 浙江丽水 浙江大学丽水医院介入诊疗中心、浙江省影像诊断与介入微创研究重点实验室(陈丽、赖林强、应希慧、吴发宗、张登科、王祖飞、涂建飞、纪建松)、检验科(胡晓蕾);浙江大学医学院附属第二医院放射科(余日胜)

通信作者:纪建松 E-mail: jjstcty@sina.com

1-year and 2-year cumulative PFS and the postoperative 1-, 2- and 3-year cumulative survival rate in the low MDSC group were remarkably higher than those in the high MDSC group ($P < 0.05$). Cox multivariate analysis indicated that MDSC, cirrhosis and BCLC staging were independent prognostic factors for OS in patients with advanced HCC after TACE. **Conclusion** The expression level of MDSC can be used as an independent prognostic factor for patients with advanced HCC after TACE. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 742-746)

【Key words】 hepatocellular carcinoma; myeloid - derived suppressor cell; transcatheter arterial chemoembolization; prognosis

原发性肝细胞癌(肝癌)是一种世界性的常见恶性肿瘤,是癌症相关死亡的第二大常见原因,其发病率和死亡率逐年上升^[1]。TACE 是中晚期不可切除肝癌的经典疗法,改善患者的预后^[2-4]。然而,当前仍缺少评价中晚期肝癌 TACE 术后预后的有效指标。研究表明肝癌患者全身免疫系统呈抑制状态,评估患者免疫状态对判断患者治疗后肿瘤复发及预后具有重要的参考价值。髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)是一群异质性细胞的统称,在健康个体呈低表达,与肿瘤血管生成、促进肿瘤转移以及机体耐药性关系密切,是肿瘤免疫抑制的关键点^[5]。本研究以中晚期肝癌患者为研究对象,旨在探讨监测 MDSC 表达水平在评估中晚期肝癌 TACE 预后的临床价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 回顾分析 2012 年 8 月 1 日至 2017 年 12 月 31 日丽水市中心医院收治的中晚期肝癌患者 40 例,男 38 例,女 2 例。年龄 34~81 岁,平均年龄(59.1 ± 13.3)岁,肿瘤最大径 3.2~13.7 cm,平均(7.2 ± 3.1) cm。BCLC 为 B 期的 21 例, BCLC 为 C 期的 19 例。肝功能 Child-Pugh A 级 18 例, B 级 22 例。以 1.22 为截断值,将所有数据分为 > 1.22 组(高 MDSC 组)和 < 1.22 组(低 MDSC 组)。

1.1.2 纳入标准 ①病理或临床确诊为原发性肝癌; ②BCLC 分期为 B 或 C 期; ③肝功能 Child-Pugh 分级为 A 或 B 级; ④心肺肾功能、凝血功能等基本正常; ⑤随访时间超过 6 个月。

1.1.3 排除标准: ①转移性肝癌或合并其他恶性肿瘤; ②严重心、肝、肾功能不全者; ③急性感染或慢性感染急性期; ④凝血功能障碍,血常规检查血小板计数 $< 50 \times 10^9/L$ 者。

1.2 方法

1.2.1 术前指标检测 检测所有入组患者 TACE 术前的外周血 MDSC 水平、血常规、肝功能、凝血功

能、AFP 等实验室指标以及术前肝脏增强磁共振、胸部 CT、心电图等辅助检查。据原发性肝癌诊疗规范原则,对所有入组的中晚期肝癌患者进行 TACE 治疗。

1.2.2 外周血液 MDSC(单位:%)测定方法: 表面标记 CD11b 阳性, CD14 及 CD15 双阴性。①加入相应的荧光标记抗体: 混合单抗 (CD45-PC 75 μL + CD14-PC 55 μL + CD11b-FITC 10 μL + CD15-PE 10 μL)。②取新鲜采集的 EDTA-K2 抗凝血 50 μL 。③震荡混匀后避光室温孵育 15 min。④加入红细胞裂解液 300 μL , 震荡混匀,室温避光溶血 10 min。⑤加鞘液至 2 mL, 1 500 r/min 离心 5 min,再加鞘液洗涤一次,弃上清。⑥加入鞘液 0.5 mL 重悬,上流式细胞仪检测。⑦运用流式分析软件,先圈出 CD45^{low}CD11b⁺的髓系细胞,再在这群细胞中圈出 CD14-CD15-的细胞即 MDSC 细胞,记录其在 CD45^{low}CD11b⁺的髓系细胞中占比。

1.2.3 TACE 治疗 采用 Seldinger 法穿刺股动脉,插管至肝总动脉造影,明确病灶大小、位置、数目后,将微导管[麦瑞通医疗器械(北京)有限公司]超选择插管至支配肝癌病灶主要供血动脉,缓慢注入化疗药物:氟尿嘧啶注射液($750 \text{ mg}/\text{m}^2$)和奥沙利铂($60 \text{ mg}/\text{m}^2$)后,再注入碘化油注射液 10~20 mg 栓塞肿瘤末梢血管,必要时辅以明胶海绵颗粒以便尽量完全阻断肿瘤血供。化疗药物碘油及栓塞剂的使用量视肿瘤大小、数量、患者肝功能等情况而定。

1.2.4 随访及评估 所有患者在 TACE 术后每月复查肝功能、AFP、PT、肝脏增强 CT 或 MRI,以评估肿瘤控制及复发情况,统计所有患者的无进展生存期(PFS)和总生存期(OS),最后随访日为 2018 年 11 月。肿块影像学的评估标准采用美国肝病研究学会(AASLD)提出的以“存活肿瘤”作为评估对象,即改良 RECIST 标准(mRECIST),将肿瘤反应分为:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD)^[2]。其中,记录从首次 TACE 术起始至肿瘤新发或复发的 PFS 以及从首次确诊肝癌之日至死

亡或末次随访期间的 OS。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件,年龄、肿瘤最大直径以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用单因素方差分析检验分析,PFS、OS 以中位数表示,采用秩和检验分析;计数资料(性别、乙肝病史、BCLC 分期、Child-Pugh 分级、AFP、肿瘤大小等)采用 χ^2 检验,生存曲线采用 Kaplan-Meier 方法分析,用 Log-rank 比较 PFS 曲线和 OS 曲线差异,Z 检验比较两组不同时间点累计生存率和累计无进展生存率的差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MDSC 曲线下面积

ROC 曲线分析显示,MDSC 的曲线下面积为 0.62,最大约登指数为 0.37,截断值为 1.22。图 1。

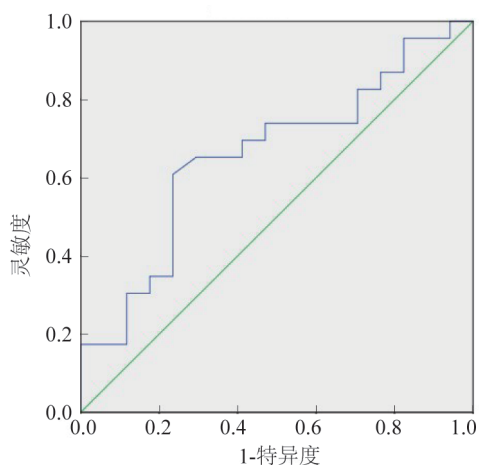


图 1 MDSC 测定的 ROC 曲线分析

2.2 单因素分析

低 MDSC 组和高 MDSC 组患者的性别、年龄、乙肝病史、肿瘤大小、血管侵犯、Child-Pugh 分级、ALT、TBIL、ALB 及 PT 差异均无统计学意义($P > 0.05$),AFP 分级、肝硬化、肝内转移及 BCLC 分期差异具统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 肿瘤 PFS 曲线分析

低 MDSC 组和高 MDSC 组患者的 PFS 中位值为 23 个月(95% CI 14.8~31.1)和 11 个月(95% CI 2.1~19.8)。K-M 生存曲线分析显示,低 MDSC 组的 PFS 较高 MDSC 组延长,Log-Rank 检验显示 $\chi^2=4.35$, $P=0.03$,差异具统计学意义。图 2。低 MDSC 组和高 MDSC 组患者术后 6 个月、1 年、2 年的累计无进展生存率为(87%±4%比 70%±11%, $Z=13.24 > 2.58$, $P < 0.05$)、

(73%±9% 比 50%±13%, $Z=7.66 > 2.58$, $P < 0.05$)、(47%±10% 比 10%±10%, $Z=3.90 > 2.58$, $P < 0.05$)。

表 1 患者一般资料

参数	低 MDSC 组	高 MDSC 组	P 值
年龄/岁	62.2±12.5	56.5±14.0	0.18
性别(男/女)/例	22/1	16/1	0.82
肿瘤大小/cm	6.5±2.8	6.7±3.4	0.84
乙肝病史(无/有)/例	3/14	2/21	0.39
肝硬化(无/有)/例	12/5	9/14	0.04
肝内转移(无/有)/例	10/7	22/1	0.00
血管侵犯(无/有)/例	9/8	15/8	0.43
BCLC 分期(B/C)/例	15/8	5/12	0.02
Child-Pugh 分级(A/B)/例	12/11	6/11	0.29
AFP 分级(/例 <400 ng/L / >400 ng/L)	8/9	18/5	0.04
ALT/(U/L)	35.6±17.8	40.4±27.3	0.50
TBIL/(μmol/L)	18.2(95%CI 15.9~2.8)	18.3(95%CI 2.1~63.8)	0.30
ALB/(g/L)	37.3±4.1	36.4±4.9	0.52
PT/s	12.9±1.3	13.1±1.2	0.77

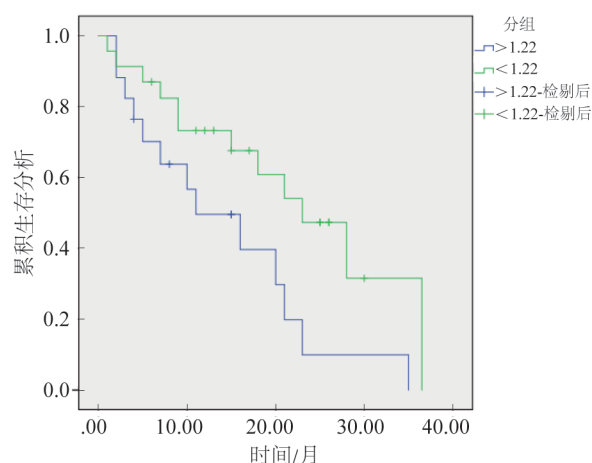


图 2 肿瘤无进展生存曲线分析

2.4 生存曲线分析:

低 MDSC 组和高 MDSC 组患者的 PFS 中位值为 39 个月(95% CI 20.9~57.0)和 22 个月(95% CI 12.1~31.8)。K-M 生存曲线分析显示,低 MDSC 组的 OS 较高 MDSC 组延长,Log-Rank 检验显示 $\chi^2=9.09$, $P=0.0025$,差异具统计学意义。低 MDSC 组和高 MDSC 组患者术后 1、2、3 年的累计生存率为(91%±4%比 75%±11%, $Z=14.18 > 2.58$, $P < 0.05$)、(71%±10%比 48%±13%, $Z=7.25 > 2.58$, $P < 0.05$)、(57%±10%比 24%±12%, $Z=5.19 > 2.58$, $P < 0.05$)。

2.5 Cox 回归分析

Cox 回归分析显示,MDSC(OR=0.35,95% CI 0.15~0.82, $P=0.01$)、肝硬化(OR=2.5,95% CI 1.07~5.9, $P=0.03$)、BCLC 分期(OR=2.8,95% CI 1.11~7.1,

$P=0.03$) 是中晚期肝癌患者 TACE 术后 OS 的独立预后预测因子。图 3

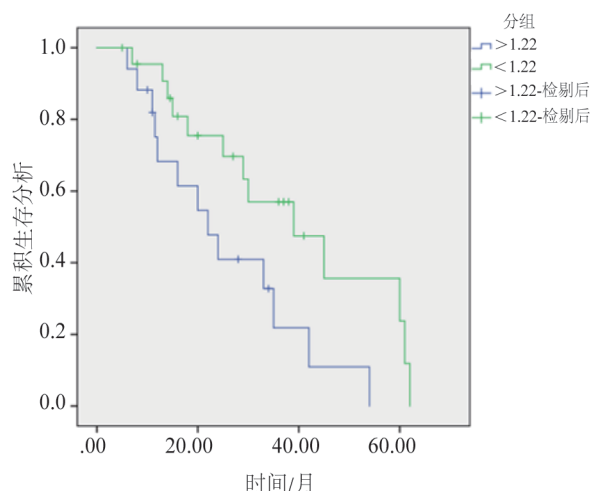


图 3 生存曲线分析

3 讨论

TACE 是中晚期肝癌患者首选的姑息治疗方法^[6], 临床上应用广, 目前最常用的评估 TACE 后不良预后指标包括 Child-Pugh 分级、PT、AFP、影像学检查等, 但均无法早期准确评价肿瘤的进展情况。国内外学者发现 TACE 后不良预后与外周血调节性 T 细胞、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)^[7-9]、平均血小板容积^[10]、MDSC 表达水平^[11-12]、碘油沉积程度^[13]、¹⁸F-氟-脱氧葡萄糖(FDG)PET/CT 基线代谢情况^[14]以及肿瘤组织中 SOCS3 甲基化^[15]等指标密切相关, 但这类指标的临床价值仍存在较多争议。因此, 找到有效评估 TACE 预后的指标具有重要的临床价值。

MDSC 对于维持肿瘤患者的免疫无能与耐受状态, 抑制机体抗肿瘤免疫和促进肿瘤生长、增殖与转移具有重要作用^[5, 16]。Gabitass 等^[17]对 131 例肿瘤患者进行了研究, 并指出外周血液中 MDSC 水平是胰腺癌、食管癌和胃癌患者存活的独立预后判断因子。Mesali 等^[18]研究表明 MDSC 与胃癌的发生机制相关, 其在胃癌中的表达水平明显高于非溃疡性消化不良。Koinis 等^[19]发现 NSCLC 患者外周血中 MDSC 的水平能够反映化疗效果, CD15⁺MDSC 是肺癌进展的危险因素; 也有研究证实与健康受试者相比, 肝癌患者的外周血中 PD-L1⁺ MDSC 百分比明显增加, 经治疗后 PD-L1⁺ MDSC 的百分比明显降低^[20]。

本研究发现, 与高 MDSC 组相比, 低 MDSC 组 PFS 和 OS 明显增加, 并且低 MDSC 组术后 6 个月、1 年、2 年的累计 PFS 和 1 年、2 年、3 年的 OS 较高 MDSC 组明显增加。Cox 分析证实 MDSC、肝硬化、BCLC 分期是中晚期肝癌患者 TACE 术后 OS 的独

立预后预测因子。以上结果表明, MDSC 与肝癌患者的预后密切相关。对于拟行 TACE 治疗的中晚期肝癌患者, 尤其是术前 MDSC 表达水平较高的患者, 预示着可能不良预后, 若在术前做好充分评估, 术后加强并发症关注, 并及时进行干预, 可能为患者带来更好的预后。

本研究系回顾性研究, 且存在样本量过少、单中心临床研究等实际问题, 结果存在偏倚可能, 在接下来的研究中将进一步扩大样本量, 争取进行多中心临床研究, 进一步证实以上观点的同时, 期望获得更多深入的探索。

综上所述, 外周血液中 MDSC 表达水平能够作为中晚期肝癌 TACE 预后的独立预测因子, 而且 MDSC 水平较低的肝癌患者预示着具有更好的临床预后。临床上对中晚期肝癌患者常规行外周血液 MDSC 水平的监测, 可辅助预测 TACE 疗效及预后, 具有重要的临床价值。

[参考文献]

- [1] Castelli G, Pelosi E, Testa U. Liver cancer: molecular characterization, clonal evolution and cancer stem cells[J]. Cancers (Basel), 2017, 9: 1-36.
- [2] Tong H, Wei B, Chen S, et al. Adjuvant celecoxib and lanreotide following transarterial chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized pilot study[J]. Oncotarget, 2017, 8: 48303-48312.
- [3] Murata S, Mine T, Sugihara F, et al. Interventional treatment for unresectable hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 13453-13465.
- [4] 廖玉波, 赵妍, 胡鸿涛, 等. 肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌预后影响因素分析[J]. 中国介入影像与治疗学, 2017, 14: 729-733.
- [5] Woodland DL. Myeloid-derived suppressor cells[J]. Viral Immunol, 2017, 30: 81.
- [6] 李臻, 张恒辉, 韩新巍, 等. 肝细胞癌 TACE 术后残留病灶的早期诊断现状与进展[J]. 介入放射学杂志, 2015, 24: 1016-1020.
- [7] 严守美, 崔新江, 于志军, 等. 经肝动脉化疗栓塞联合微波消融治疗巨块型肝癌术前中性粒细胞与淋巴细胞比率监测的临床意义[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 632-635.
- [8] Sukato DC, Tohme S, Chalhoub D, et al. The prognostic role of neutrophil - to - lymphocyte ratio in patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated with radioembolization[J]. J Vasc Interv Radiol, 2015, 26: 816-824.
- [9] Bruix J, Cheng AL, Meinhardt G, et al. Prognostic factors and predictors of sorafenib benefit in patients with hepatocellular carcinoma: analysis of two phase III studies[J]. J Hepatol, 2017, 67: 999-1008.
- [10] 王海瑞, 刘兆玉. 平均血小板容积对肝细胞癌 TACE 术后疗效

- 判断的临床价值[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 257-262.
- [11] Kalathil S, Lugade AA, Miller A, et al. Higher frequencies of GARP⁺ CTLA-4⁺ Foxp3⁺ T regulatory cells and myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients are associated with impaired T-cell functionality [J]. Cancer Res, 2013, 73: 2435-2444.
- [12] 张巍, 邵明亮, 刘文宗, 等. 髓源性免疫抑制细胞表达与肝动脉化疗栓塞术后肝衰竭的关系分析[J]. 中国当代医药, 2018, 25: 9-12.
- [13] Yang P, Zeng ZC, Wang BL, et al. The degree of lipiodol accumulation can be an indicator of successful treatment for unresectable hepatocellular carcinoma (HCC) patients: in the case of transcatheter arterial chemoembolization (TACE) and external beam radiotherapy (EBRT) [J]. J Cancer, 2016, 7: 1413-1420.
- [14] Song HJ, Cheng JY, Hu SL, et al. Value of 18F-FDG PET/CT in detecting viable tumour and predicting prognosis of hepatocellular carcinoma after TACE[J]. Clin Radiol, 2015, 70: 128-137.
- [15] Zhao R, Chen K, Zhou J, et al. The prognostic role of BORIS and SOCS3 in human hepatocellular carcinoma [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96: e6420.
- [16] Bronte V, Brandau S, Chen SH, et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards[J]. Nat Commun, 2016, 7: 12150.
- [17] Gabitass RF, Annels NE, Stocken DD, et al. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13[J]. Cancer Immunol Immunother, 2011, 60: 1419-1430.
- [18] Mesali H, Ajami A, Hussein-Nattaj H, et al. Regulatory T cells and myeloid-derived suppressor cells in patients with peptic ulcer and gastric cancer[J]. Iran J Immunol, 2016, 13: 167-177.
- [19] Koinis F, Vetsika EK, Aggouraki D, et al. Effect of first-line treatment on myeloid-derived suppressor cells' subpopulations in the peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11: 1263-1272.
- [20] Iwata T, Kondo Y, Kimura O, et al. PD-L1⁺ MDSCs are increased in HCC patients and induced by soluble factor in the tumor microenvironment[J]. Sci Rep, 2016, 6: 39296.

(收稿日期:2018-12-09)

(本文编辑:俞瑞纲)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告