

血液生物标志物与免疫治疗晚期非小细胞肺癌疗效相关性的研究

马风云¹, 肖泽民^{1*}, 董文², 罗家顺¹

¹吉首大学医学院, 湖南 吉首

²中南大学湘雅医学院附属常德医院, 湖南 常德

收稿日期: 2024年10月25日; 录用日期: 2024年11月19日; 发布日期: 2024年11月26日

摘要

目的: 探究NLR、LMR、PLR、D-D与接受免疫治疗的晚期非小细胞肺癌患者的无进展生存期的相关性。方法: 回顾性分析接受免疫治疗的86例患者的临床资料, 收集患者首次治疗前一周内的血常规及血清D-D, 计算出NLR、LMR、PLR指标, 根据RECIST1.1标准评价疗效并随访无进展生存期(progression-free survival, PFS), 使用COX比例风险回归模型进行生存分析, 筛选治疗前的基线参数中与疗效相关的指标。采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线, 用Log-rank检验比较组间生存率。探讨接受免疫治疗NSCLC患者PFS的影响因素。结果: 通过预测非小细胞肺癌患者死亡率的ROC曲线分析确定, NLR最佳临界值为3.985, LMR最佳临界值为2.085, PLR最佳临界值为139.5, D-D最佳临界值为0.96。经过Log-rank检验得出单因素分析结果显示: 性别、基因突变状态、器官转移个数、LMR、NLR、PLR及D-D是PFS的影响因素($p < 0.05$); 经过COX多元回归模型校对后, 多因素分析结果显示: 基因突变状态、NLR、D-D是接受免疫治疗NSCLC患者PFS的影响因素($p < 0.05$); LMR、PLR不是接受免疫治疗NSCLC患者PFS的影响因素($p > 0.05$)。结论: 在接受免疫治疗的NSCLC患者中, 较低水平的NLR、PLR、D-D及较高水平的LMR患者与PFS更长相关, 对其预后有一定的预测作用, 基因突变状态、NLR、D-D是接受免疫治疗晚期NSCLC患者生存的独立预测因素。

关键词

非小细胞肺癌, 免疫治疗, 血常规, D-二聚体, 无进展生存时间, 疗效预测

A Study on the Correlation between Blood Biomarkers and the Efficacy of Immunotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer

*通讯作者。

文章引用: 马风云, 肖泽民, 董文, 罗家顺. 血液生物标志物与免疫治疗晚期非小细胞肺癌疗效相关性的研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(11): 1373-1389. DOI: 10.12677/acm.2024.14113023

Fengyun Ma¹, Zemin Xiao^{1*}, Wen Dong², Jiashun Luo¹

¹School of Medicine, Jishou University, Jishou Hunan

²Changde Hospital Affiliated to Xiangya School of Medicine, Central South University, Changde Hunan

Received: Oct. 25th, 2024; accepted: Nov. 19th, 2024; published: Nov. 26th, 2024

Abstract

Objective: To explore the correlation between NLR, LMR, PLR, D-D and progression free survival in advanced non-small cell lung cancer patients receiving immunotherapy. **Method:** A retrospective analysis was conducted on the clinical data of 86 patients receiving immunotherapy. Blood routine and serum D-D were collected within one week before the first treatment, and NLR, LMR, and PLR indicators were calculated. The efficacy was evaluated according to the RECIST 1.1 standard and progression free survival (PFS) was followed up. The COX proportional hazards regression model was used for survival analysis, and indicators related to efficacy were screened from baseline parameters before treatment. Kaplan Meier method was used to plot survival curves, and Log rank test was used to compare survival rates between groups, exploring the influencing factors of PFS in NSCLC patients receiving immunotherapy. **Result:** Of ROC curve analysis for predicting the mortality rate of non-small cell lung cancer patients, the optimal critical values for NLR, LMR, PLR, and D-D were determined to be 3.985, 2.085, 139.5, and 0.96, respectively. After log rank testing, the results of univariate analysis showed that gender, gene mutation status, number of organ metastases, LMR, NLR, PLR, and D-D were the influencing factors of PFS ($p < 0.05$); After proofreading with Cox multiple regression model, the results of multivariate analysis showed that gene mutation status, NLR, and D-D were the influencing factors of PFS in NSCLC patients receiving immunotherapy ($p < 0.05$); LMR and PLR are not influencing factors of PFS in NSCLC patients receiving immunotherapy ($p > 0.05$). **Conclusion:** In NSCLC patients receiving immunotherapy, lower levels of NLR, PLR, D-D, and higher levels of LMR are associated with longer PFS and have a certain predictive effect on their prognosis. Gene mutation status, NLR, D-D are independent predictors of survival in advanced NSCLC patients receiving immunotherapy.

Keywords

Non Small Cell Lung Cancer, Immunotherapy, Blood Routine, D-Dimer, Progressive Free Survival Time, Therapeutic Effect Prediction

Copyright © 2024 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

肺癌的发病率及死亡率均位于我国首位[1], 确诊时大部分患者已处于疾病晚期, 严重影响肺癌患者的预后。随着肺癌治疗方法的进展, 免疫治疗为部分肺癌患者带来了更好的生存获益, 且已显示良好疗效, 尤其是当 PD-L1 在肿瘤中高表达时[2]。

免疫检查点抑制剂已成为当前最热门的免疫疗法之一, 相关研究也层出不穷, 然而, ICIs 带来的获益仅限于部分 NSCLC 患者, 其总体反应率约为 20% [3], 部分患者甚至出现严重的不良反应。目前常用的免疫治疗疗效预测指标有 PD-L1 表达水平、肿瘤突变负荷(TMB)、微卫星不稳定等[4], 但随着免疫治

疗在各种肿瘤中的广泛应用,上述指标在预测疗效方面均显示出一定的局限性,如其检测手段相对复杂,费用较高等,其次,由于完善该检查涉及组织可及性,部分患者病变组织缺少,临床上完善 PD-L1 表达水平的总体比例较低,迫切需要更简便、快捷的检测手段,相比之下,NLR、LMR、PLR 及 D-二聚体的获取更为便捷,且价格低廉、可重复性高。因此,本文将对 NLR、LMR、PLR 以及血清 D-二聚体与肿瘤免疫治疗的疗效进一步探究,以期更全面地了解 NLR、LMR、PLR 以及血清 D-二聚体对肿瘤免疫治疗的临床意义,对临床制定个体化治疗方案提供一定指导价值。

炎症在肿瘤发生和发展的各个阶段至关重要,可以积极或消极地影响肿瘤的免疫监视和治疗反应[5],同时,肿瘤的发生和进展又可以影响血液中炎症细胞数量的变化,包括中性粒细胞、巨噬细胞及淋巴细胞等。因此,炎症标志物可能是 NSCLC 免疫治疗的潜在预后因素,外周血细胞变化可一定程度上反映机体免疫状态的动态变化[6]。有研究显示 NSCLC 患者接受单药免疫治疗患者的疗效及预后与 NLR 水平相关[7][8]。且免疫疗法的作用机制主要是淋巴细胞的激活,研究发现淋巴细胞亚群与 ICI 的疗效相关[9]。对于不可手术的 NSCLC 患者,2021 年中国临床肿瘤学会(CSCO)已将免疫治疗联合化疗作为一线治疗方案纳入指南,目前对于接受联合治疗的 NSCLC 患者外周血中的各类细胞分类水平与治疗疗效的相关性有待更多研究进一步证实。本研究旨在寻找外周血中有助于预测不可手术 NSCLC 患者一线使用 ICI 联合化疗疗效的标志物。

2. 材料与方法

2.1. 研究对象

回顾 2021 年 1 月至 2023 年 6 月在常德市第一人民医院接受免疫治疗的局部晚期及晚期(III~IV 期)NSCLC 患者作为研究对象。本研究经常德市第一人民医院伦理委员会批准,并已取得了所有研究对象的知情同意。

2.2. 纳排标准

纳入标准:1) 经组织学证据诊断为 NSCLC;2) 根据 TNM 分类法第 8 版 NSCLC 的临床分期 IIIA-IV 期且经全面评估后不可手术患者;3) ECOG 体能评分为 0~1 分。4) 患者接受 ICI 治疗至少 6 周,治疗反应至少评估一次;5) 无脑转移患者;6) 既往无血栓栓塞性疾病,近期末服用过抗凝药物;7) 年龄 ≥ 18 岁;8) 病历资料完整。

排除标准:1) 合并其他系统肿瘤;2) 既往接受过任何系统性抗肿瘤治疗的患者;3) 患活动性传染病、急性感染性疾病、血栓栓塞症、心脑血管梗塞等的患者。

3. 方法

3.1. 临床资料

通过查阅电子病历获得患者基本临床信息,收集接受第一次免疫检查点抑制剂治疗前 1 周内的外周血检验数据,每 2 个疗程根据实体瘤的疗效评价标准(RECIST 1.1)进行疗效评估,直至出现肿瘤进展或死亡的终点。将无进展生存期(PFS)作为预测免疫治疗效果的主要终点。NLR、PLR、LMR 的计算方法如下: $NLR = \text{中性粒细胞计数} / \text{淋巴细胞计数}$, $PLR = \text{血小板计数} / \text{淋巴细胞计数}$, $LMR = \text{淋巴细胞计数} / \text{单核细胞计数}$ 。详见全文英文缩写:表 1。

给予 PD-1 单抗(本研究纳入的为卡瑞利珠单抗)静脉滴注治疗。药物剂量:卡瑞利珠单抗(Karelizumab)治疗:200 mg, d1, Q2W, 经静脉滴注。

Table 1. Comparison table of main English abbreviations**表 1.** 主要英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文名称
NSCLC	Non-small cell lung cancer	非小细胞肺癌
ICIs	Immune checkpoint inhibitions	免疫检查点抑制剂
PD-L1	Programmed cell death ligand 1	程序性死亡配体 1
PD-1	Programmed cell death 1	程序性死亡受体 1
NLR	Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio	中性粒细胞/淋巴细胞比值
LMR	Lymphocyte-to-onocyte Ratio	淋巴细胞/单核细胞比值
PLR	Platelet-to-lymphocyte ratio	血小板/淋巴细胞比值
D-D	D-dimer	D-二聚体
ROC	Receiver operating characteristic curve	ROC 曲线
PFS	Progression-free survival time	无进展生存时间

疗效评估：收集每位患者首次免疫治疗前所行的影像学检查结果(如 CT、MRI、骨扫描等)对靶病灶进行基线评估。患者治疗开始后，根据病历系统所记录的患者的主诉、症状、一般临床特征，复查的影像学结果、血清肿瘤标志物等情况判断患者病情是否进展。

3.2. 主要观察指标

通过查阅电子病例系统收集临床指标包括：年龄、性别、病理类型、TNM 分期、吸烟史、ECOG PS 评分、驱动基因突变状态、组织 PD-L1 表达水平、治疗线数、原发肿瘤位置、有无远处转移、转移器官个数等。治疗前血常规为第一次接受免疫治疗前的数据，通过血常规数据计算出相应的比值。

3.3. 统计学方法

使用 SPSS 26.0 分析数据，临床资料描述性分析采用频数及频率，计量资料采用中位数表示，计数资料采用 n (%)表示，通过预测非小细胞肺癌患者死亡率的 ROC 曲线计算 LMR、NLR、PLR 及 D-D 截断值，分成高 LMR 和低 LMR 组、高 NLR 和低 NLR 组、高 PLR 和低 PLR 组、高 D-D 和低 D-D 组，组间差异采用卡方(chi-squared, 2)检验或 Fisher 精确概率法；非小细胞肺癌患者预后的单因素分析采用 Log-Rank 检验，多因素分析采用 COX 比例风险模型，生存分析采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，并采用 Log-Rank 检验， $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

4. 结果

4.1. NSCLC 患者一般情况

基线资料本研究共纳入 86 例患者，所有患者均为一线使用免疫联合化疗治疗，所有患者 ECOG PS 评分为 0 或 1 分；其中，男 77 例(89.5%)，女 9 例(1.5%)；年龄 45~78 岁，平均(63.55 ± 7.49)岁。ECOG 评分为 0 分的有 29 例(33.7%)，1 分的有 57 例(66.3%)，68 例(79.1%)有吸烟史，18 例(20.9%)无吸烟史；42 例(48.8%) III 期，44 例(51.2%) IV 期；34 例(39.5%)腺癌，52 例(60.5%)鳞癌；14 例检测出基因突变，37 例未发现基因突变，35 例基因检测阴性；检测 PD-L1 表达的患者有 29 例，其中 TPS < 50% 有 11 例，TPS ≥ 50% 有 18 例，另外 57 例 PD-L1 检测情况不详。发生远处转移的 NSCLC 患者共有 43 例(50%)；转移器官个数 < 2 的患者共有 59 例(68.6%)，转移器官个数 ≥ 2 的患者共有 27 例(31.4%)；本组患者的中位 PFS 为 99 天。见表 2。

Table 2. General clinical characteristics of non-small cell lung cancer patients
表 2. 非小细胞肺癌患者一般临床特征

项目	分组	例数	构成比(%)
性别	男	77	89.5
	女	9	10.5
年龄	<64 岁	39	45.3
	≥64 岁	47	54.7
ECOG 评分	0	29	33.7
	1	57	66.3
吸烟史	无	18	20.9
	有	68	79.1
组织类型	鳞癌	52	60.5
	腺癌	34	39.5
分期	III 期	42	48.8
	IV 期	44	51.2
基因突变	阴性/不详	72	83.7
	BRAF	1	1.2
	CTNNB1	1	1.2
	EGFR	2	2.3
	KRAS	5	5.8
	TP53	5	5.8
PD-L1 表达水平	<50%	18	20.7
	≥50%	11	12.6
	阴性/不详	57	66.3
治疗方式	一线治疗	86	100.0
有无远处转移	无	43	50
	有	43	50

注：ECOG：美国东部肿瘤协作组；TNM：恶性肿瘤分期系统。

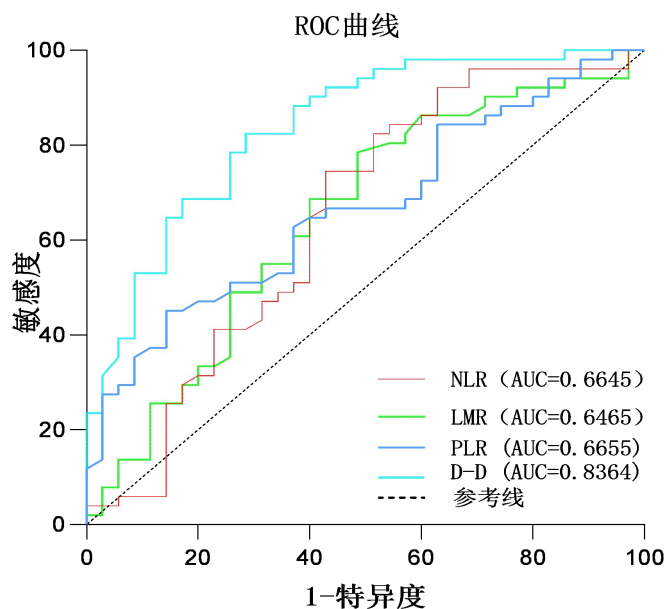
4.2. ROC 曲线分析

治疗前 LMR、NLR、PLR 及 D-D 的最佳截断值通过预测非小细胞肺癌患者死亡率的 ROC 曲线分析确定, NLR 最佳临界值为 3.985 [曲线下面积(AUC)=0.6645 ($p=0.023$)], LMR 最佳临界值为 2.085 [AUC = 0.6465 ($p=0.022$)], PLR 最佳临界值为 139.5 [AUC = 0.6655 ($p=0.009$)], D-D 最佳临界值为 0.96 [AUC = 0.836 ($p<0.001$)], 具体见表 3 和图 1。随后在以下研究中根据 LMR、NLR、PLR 及 D-D 最佳截断值将患者分成不同的亚组。

Table 3. Evaluation of the predictive value of LMR, NLR, PLR, and D-D for mortality in non-small cell lung cancer patients before treatment

表 3. 治疗前 LMR、NLR、PLR 及 D-D 预测非小细胞肺癌患者死亡率能力价值评价

指标	AUC	95% CI	p	灵敏度(%)	特异度(%)	截断值	最大约登指数
LMR	0.6465	0.525~0.767	0.022	78.4	51.4	2.085	128.86
NLR	0.6645	0.519~0.770	0.023	74.5	57.2	3.985	130.65
PLR	0.6655	0.552~0.779	0.009	45.1	85.71	139.5	129.81
D-D	0.836	0.750~0.922	<0.001	82.35	71.43	0.96	152.78



根据 NLR 值, 分为 $NLR \geq 3.985$ (高-NLR, H-NLR)组和 $NLR < 3.985$ (低-NLR, L-NLR)组; 根据 PLR 值, 分为 $PLR \geq 139.5$ (高-PLR, H-PLR)组和 $PLR < 139.5$ (低-PLR, L-PLR)组; 根据 LMR 值, 分为 $LMR \geq 2.085$ (高-LMR, H-LMR)组和 $LMR < 2.085$ (低-LMR, L-LMR)组; 根据 D-D 值, 分为 $D-D \geq 0.96$ (高-D-D, H-D-D)组和 $D-D < 0.96$ (低-D-D, L-D-D)组。

Figure 1. Receiver operating characteristic curves of NLR, LMR, DNLN, and SII before treatment

图 1. 治疗前 NLR、LMR、DNLN 及 SII 的受试者工作特征曲线

4.3. 外周血 LMR、NLR、PLR 及 D-D 与非小细胞肺癌患者临床特征的相关因素分析

4.3.1. 外周血 LMR 水平与非小细胞肺癌患者临床特征的相关因素分析

根据受试者工作特征曲线确定的 LMR 最佳截断值 2.085 为界, 分为高低 LMR 组, 另外年龄按照中位数进行分组。在 86 例 NSCLC 患者中, 高 LMR 组患者 57 例(66.3%), 低 LMR 组患者 29 例(33.7%),

组间差异卡方检验,结果显示,两组患者在性别、年龄、吸烟状况、组织类型、TNM分期、远处转移、免疫治疗线数、基因突变状态、PD-L1表达水平比较时组间差异无统计学意义;两组患者在转移器官个数方面差异具有统计学意义($p < 0.05$, 见表4)。

Table 4. Statistical results of categorical variables for NSCLC patients with high and low LMR

表 4. NSCLC 高 LMR 与低 LMR 患者分类变量统计结果

指标	LMR		χ^2	P
	<2.085	≥2.085		
总计	29 (33.7)	57 (66.3)		
性别				
男	28 (36.4)	49 (63.6)	1.308	0.253
女	1 (11.1)	8 (88.9)		
年龄				
<64 岁	10 (25.6)	29 (74.4)	2.084	1.149
≥64 岁	19 (40.4)	28 (59.6)		
ECOG 评分				
0	7 (24.1)	22 (75.9)	1.798	0.180
1	22 (38.6)	35 (61.4)		
吸烟史				
无	4 (22.2)	14 (77.8)	0.775	0.379
有	25 (36.8)	43 (63.2)		
组织类型				
鳞癌	19 (36.5)	33 (63.5)	0.467	0.494
腺癌	10 (29.4)	24 (70.6)		
分期				
III 期	11 (26.2)	31 (73.8)	2.083	0.149
IV 期	18 (40.9)	26 (59.1)		
基因突变				
阴性/不详	22 (30.6)	50 (69.4)	6.435	0.208
BRAF	1 (100.0)	0 (0.0)		
CTNNB1	1 (100.0)	0 (0.0)		
EGFR	0 (0.0)	2 (100.0)		
KRAS	3 (60.0)	2 (40.0)		
TP53	2 (40.0)	3 (60.0)		
PD-L1 表达水平				
<50%	7 (36.8)	11 (61.1)	0.000	1.000
≥50%	4 (36.4)	7 (63.6)		
治疗方式				
一线治疗	/	/	/	/

续表

有无远处转移				
无	12 (27.9)	31 (72.1)	1.301	0.254
有	17 (39.5)	26 (60.5)		
转移器官个数				
<2	23 (41.8)	32 (58.2)	4.476	0.034*
≥2	6 (19.4)	25 (80.6)		

注: * $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

4.3.2. 外周血 NLR 水平与非小细胞肺癌患者临床特征的相关因素分析

根据受试者工作特征曲线确定的 NLR 最佳截断值 3.985 为界, 分为高低 NLR 组, 另外年龄按照中位数进行分组。在 86 例 NSCLC 患者中, 高 NLR 组患者 33 例(37.2%), 低 NLR 组患者 54 例(62.8%), 组间差异应用卡方检验, 结果显示, 性别、吸烟状况、组织类型、TNM 分期、远处转移、免疫治疗线数、原发肿瘤位置、基因突变状态、PD-L1 表达水平比较时组间差异无统计学意义; 两组患者在年龄、转移器官个数方面差异具有统计学意义($p < 0.05$, 见表 5)。

Table 5. Statistical results of categorical variables for NSCLC patients with high and low NLR
表 5. NSCLC 高 NLR 与低 NLR 患者分类变量统计结果

指标	NLR		χ^2	p
	<3.985	≥3.985		
总计	54 (62.8)	33 (37.2)		
性别			1.816	0.178
男	46 (59.7)	31 (40.3)		
女	8 (88.9)	1 (11.1)		
年龄			6.100	0.014*
<64 岁	30 (76.9)	9 (23.1)		
≥64 岁	24 (51.5)	23 (48.9)		
ECOG 评分			0.01	0.921
0	18 (62.1)	11 (37.9)		
1	36 (63.2)	21 (36.8)		
吸烟史			0.510	0.475
无	10 (55.6)	8 (44.4)		
有	44 (64.7)	24 (35.3)		
组织类型			0.568	0.451
鳞癌	31 (59.6)	21 (40.4)		
腺癌	23 (67.6)	11 (32.4)		
分期			0.528	0.468
III 期	28 (66.7)	14 (33.3)		
IV 期	26 (59.1)	18 (40.9)		

续表

基因突变				
阴性/不详	47 (65.3)	25 (34.7)		
BRAF	0 (0.0)	1 (100.0)		
CTNNB1	0 (0.0)	1 (100.0)	4.315	0.505
EGFR	1 (50.0)	1 (50.0)		
KRAS	3 (60.0)	2 (40.0)		
TP53	3 (60.0)	2 (40.0)		
PD-L1 表达水平				
<50%	12 (66.7)	6 (33.3)	1.266	0.260
≥50%	5 (45.5)	6 (54.5)		
治疗方式				
一线治疗	/54 (62.8)	/32 (37.2)	/	/
有无远处转移				
无	28 (65.1)	15 (34.9)	0.05	0.823
有	26 (60.5)	17 (39.5)		
转移器官个数				
<2	44 (74.6)	15 (25.4)	11.172	0.001*
≥2	10 (37.0)	17 (63.0)		

注: * $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

4.3.3. 外周血 PLR 水平与非小细胞肺癌患者临床特征的相关因素分析

根据受试者工作特征曲线确定的 PLR 最佳截断值 139.5 为界, 分为高低 PLR 组, 另外年龄按照中位数进行分组。在 86 例 NSCLC 患者中, 高 PLR 组患者 54 例(62.8%), 低 PLR 组患者 32 例(37.2%), 组间差异应用卡方检验, 结果显示, 性别、年龄、吸烟状况、组织类型、TNM 分期、远处转移、免疫治疗线数、基因突变状态、PD-L1 表达水平比较时组间差异无统计学意义; 两组患者在转移器官个数方面差异具有统计学意义($p < 0.05$, 见表 6)。

Table 6. Statistical results of categorical variables for NSCLC patients with high and low PLR

表 6. NSCLC 高 PLR 与低 PLR 患者分类变量统计结果

指标	PLR		χ^2	p
	<139.5	≥139.5		
总计	32 (37.2)	54 (62.8)		
性别				
男	29 (37.7)	48 (52.3)	0.000	1.000
女	3 (33.3)	6 (66.7)		
年龄				
<64 岁	17 (43.6)	22 (56.4)	1.243	0.265
≥64 岁	15 (31.9)	32 (68.1)		

续表

ECOG 评分				
0	10 (34.5)	19 (65.5)	0.139	0.709
1	22 (38.6)	35 (61.4)		
吸烟史				
无	6 (33.3)	12 (66.7)	0.146	0.702
有	26 (38.2)	42 (61.8)		
组织类型				
鳞癌	16 (38.1)	36 (69.2)	2.335	0.127
腺癌	16 (47.1)	18 (52.9)		
分期				
III 期	16 (38.1)	26 (61.9)	0.028	0.868
IV 期	16 (36.4)	28 (63.3)		
基因突变				
阴性/不详	27 (37.5)	45 (62.5)	4.805	0.440
BRAF	0 (0.0)	1 (100.0)		
CTNNB1	0 (0.0)	1 (100.0)		
EGFR	0 (0.0)	2 (100.0)		
KRAS	2 (40.0)	3 (60.0)		
TP53	3 (60.0)	2 (40.0)		
PD-L1 表达水平				
<50%	8 (44.4)	10 (55.6)	0.003	0.958
≥50%	5 (45.5)	6 (54.5)		
治疗方式				
一线治疗	/32 (37.2)	/54 (62.8)	/	/
有无远处转移				
无	16 (37.2)	27 (62.8)	0.000	1.000
有	16 (37.2)	27 (62.8)		
转移器官个数				
<2	27 (45.8)	32 (54.2)	5.885	0.015*
≥2	5 (18.5)	22 (62.8)		

注: * $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

4.3.4. 外周血 D-D 水平与非小细胞肺癌患者临床特征的相关因素分析

根据受试者工作特征曲线确定的 D-D 最佳截断值 0.96 为界, 分为高 D-D 组和低 D-D 组, 另外年龄按照中位数进行分组。在 86 例 NSCLC 患者中, 高 D-D 组患者 33 例(38.4%), 低 D-D 组患者 53 例(58.4%), 组间差异应用卡方检验, 结果显示, 性别、年龄、吸烟状况、组织类型、TNM 分期、远处转移、免疫治疗线数、基因突变状态、PD-L1 表达水平比较时组间差异无统计学意义; 两组患者在转移器官个数方面差异具有统计学意义($p < 0.05$, 见表 7)。

Table 7. Statistical results of categorical variables for NSCLC patients with high and low D-D
表 7. NSCLC 高 D-D 与低 D-D 患者分类变量统计结果

指标	D-D		χ^2	P
	<0.96	n (%) ≥0.96		
总计	53 (61.6)	33 (38.4)		
性别			2.003	0.157
男	45 (58.4)	32 (41.6)		
女	8 (88.9)	1 (11.1)		
年龄			6.100	0.014*
<64 岁	30 (76.9)	9 (23.1)		
≥64 岁	24 (51.5)	23 (48.9)		
ECOG 评分			0.771	0.380
0	16 (55.2)	13 (44.8)		
1	37 (64.9)	20 (35.1)		
吸烟史			0.224	0.621
无	12 (66.7)	6 (33.3)		
有	41 (60.3)	27 (39.7)		
组织类型			0.000	0.983
鳞癌	32 (61.5)	20 (38.5)		
腺癌	21 (61.8)	13 (38.2)		
分期			0.881	0.348
III 期	28 (66.7)	14 (33.3)		
IV 期	25 (56.8)	19 (43.2)		
基因突变			5.312	0.379
阴性/不详	47 (65.3)	25 (34.7)		
BRAF	0 (0.0)	1 (100.0)		
CTNNB1	1 (100.0)	0 (0.0)		
EGFR	1 (50.0)	1 (50.0)		
KRAS	2 (40.0)	3 (60.0)		
TP53	2 (40.0)	3 (60.0)		
PD-L1 表达水平			0.056	0.812
<50%	9 (50.0)	9 (50.0)		
≥50%	6 (54.5)	5 (45.5)		
治疗方式			/	/
一线治疗	/54 (62.8)	/32 (37.2)		
有无远处转移			1.229	0.268
无	29 (67.4)	14 (32.6)		
有	24 (55.8)	19 (44.2)		
转移器官个数			3.024	0.082
<2	40 (67.8)	19 (32.3)		
≥2	13 (48.1)	14 (51.9)		

注: *p < 0.05 表示差异具有统计学意义。

5. 非小细胞肺癌患者预后影响因素分析及生存分析

影响非小细胞肺癌患者 PFS 的单因素分析单变量分析显示：性别($p = 0.017$)、驱动基因突变状态($p = 0.001$)、转移器官个数($p = 0.012$)、LMR ($p = 0.000$)、NLR ($p = 0.000$)、PLR ($p = 0.041$)及 D-D ($p = 0.000$)是 NSCLC 患者 PFS 的影响因素；而年龄($p = 0.661$)、ECOG 评分($p = 0.482$)、吸烟状况($p = 0.093$)、组织类型($p = 0.714$)、TNM 分期($p = 0.106$)、PD-L1 表达水平($p = 0.564$)、治疗线数及有无远处转移($p = 0.165$)不是 NSCLC 患者 PFS 的影响因素，详见表 8。

Table 8. Univariate analysis of factors affecting PFS survival in non-small cell lung cancer patients after immunotherapy
表 8. 非小细胞肺癌患者免疫治疗后 PFS 生存期影响因素的单因素分析

项目	例数(%)	平均 PFS (天数)	χ^2	p
性别				
男	77 (89.5)	95.805	5.666	0.017*
女	9 (10.5)	126.556		
年龄				
<64 岁	39 (45.3)	152.0 (64.016~239.984)	0.192	0.661
≥64 岁	47 (54.7)	168.0 (118.427~217.573)		
ECOG 评分				
0	29 (33.7)	99.0 (/)	0.494	0.482
1	57 (66.3)	162.00 (127.655~196.345)		
吸烟史				
无	18 (20.9)	未达到	2.825	0.093
有	68 (79.1)	152.00 (98.041~205.959)		
组织类型				
腺癌	34 (39.5)	152.00 (82.258~218.742)	0.109	0.714
鳞癌	52 (60.5)	162.00 (91.565~232.435)		
分期				
III 期	42 (48.8)	168.0 (112.567~223.433)	2.619	0.106
IV 期	44 (51.2)	114.0 (60.215~167.785)		
PD-L1 表达水平				
<50%	18 (20.7)	114 (69.052~158.948)	0.333	0.564
≥50%	11 (12.6)	94 (43.311~144.689)		
阴性/不详	57 (66.3)	66.3 (82.457~135.543)		
治疗方式				
一线治疗	86 (100)	/	/	/
基因突变				
阴性/不详	72 (83.7)	187.0 (134.009~239.991)	11.249	0.001*
阳性	14 (16.3)	68.0 (55.166~80.834)		
有无远处转移				
无	43 (50)	168 (112.116~223.884)	1.928	0.165
有	43 (50)	137 (85.919~188.081)		

续表

转移器官个数					
<2	59 (64.4)	168.0 (133.191~202.809)	6.309	0.012*	
≥2	27 (27)	74.0 (31.331~116.669)			
LMR					
<2.085	29 (37.9)	74.0 (50.174~97.826)	16.417	0.000*	
≥2.085	57 (70.2)	187.0 (151.161~22.839)			
NLR					
<3.985	54 (70.4)	187.0 (131.815~240.185)	35.358	0.000*	
≥3.985	32 (40.6)	57.0 (42.390~71.610)			
PLR					
<139.5	32 (62.5)	187.0 (157.323~216.671)	4.171	0.041*	
≥139.5	54 (57.4)	109.0 (64.542~153.476)			
D-D					
<0.96	53 (79.2)	187.0 (/)	18.121	0.000*	
≥0.96	33 (27.3)	74.0 (47.161~100.839)			

注: *p < 0.05 表示差异具有统计学意义。

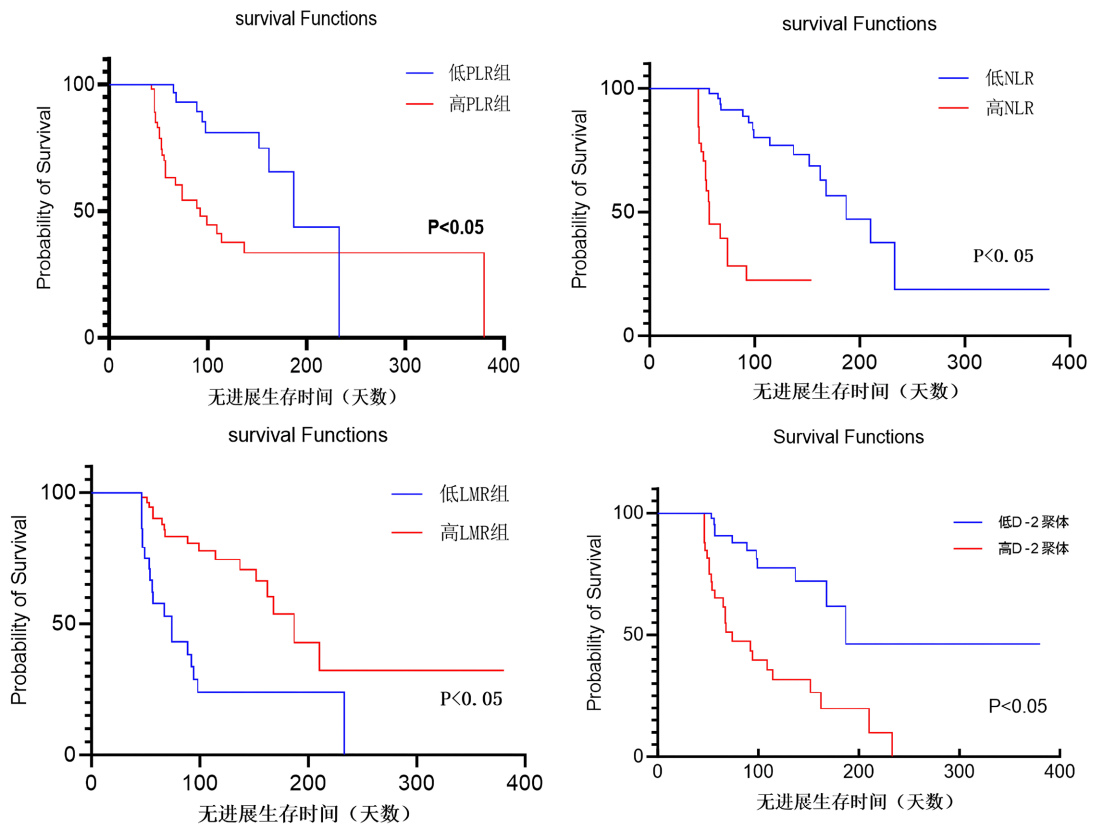


Figure 2. Kaplan-Meier survival analysis of peripheral blood LMR, NLR, PLR, D-D and PFS in non-small cell lung cancer patients

图 2. 外周血 LMR、NLR、PLR 及 D-D 与非小细胞肺癌患者 PFS 的 Kaplan-Meier 生存分析

图 2 是外周血 LMR、NLR、PLR 及 D-D 与非小细胞肺癌患者 PFS 生存分析曲线图。

通过 Kaplan-Meier 生存分析并采用 Log-Rank 检验,结果显示低 NLR 组的中位 PFS 明显长于高 NLR 组,高 LMR 组患者的中位 PFS 明显长于低 LMR 组、低 PLR 组患者的中位 PFS 明显长于高 PLR 组、低 D-D 组患者的 PFS 明显长于高 D-D 组非小细胞肺癌患者的 PFS,差异具有统计学意义($p < 0.05$),见图 2。

6. 影响非小细胞肺癌患者 PFS 的多因素分析

将单因素分析中得出的影响 NSCLC 患者 PFS 的影响因素纳入 COX 比例风险模型中,分析结果显示见表 9,结果显示,驱动基因突变状态($HR = 3.524$, $95\% CI = 1.565 \sim 7.938$, $p = 0.002$)、NLR ($HR = 7.493$, $95\% CI = 2.286 \sim 24.557$, $p = 0.001$)、D-D ($HR = 4.273$, $95\% CI = 1.984 \sim 9.207$, $p = 0.000$)均是 NSCLC 患者 PFS 的独立影响因素。

Table 9. Multivariate analysis of factors affecting PFS survival in non-small cell lung cancer patients after immunotherapy
表 9. 非小细胞肺癌患者免疫治疗后 PFS 生存期影响因素的多因素分析

项目	Hazard ratio (HR)	95% CI	p
性别(男 VS 女)	5.226	0.608~44.934	0.132
基因突变状态(阳性 VS 阴性/不详)	3.524	1.565~7.938	0.002*
转移器官个数(≥ 2 VS < 2)	1.628	0.757~3.502	0.212
LMR (≥ 2.085 VS < 2.08)	1.620	0.604~4.344	0.337
NLR (≥ 3.985 VS < 3.985)	7.493	2.286~24.557	0.001*
PLR (≥ 139.5 VS < 139.5)	1.394	0.513~3.786	0.515
D-D (≥ 0.96 VS < 0.96)	4.273	1.984~9.207	0.000*

注: * $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

7. 讨论

随着肺癌治疗手段的不断发展,免疫治疗为肺癌患者提供了一种可行的治疗选择,为部分患者带来了临床获益。免疫检查点抑制剂(ICIs),已成为当前最热门的免疫疗法之一,然而,ICIs 带来的获益仅限于部分 NSCLC 患者[3],目前用于预测免疫治疗疗效公认的生物标志物指标有 PD-L1 表达水平、肿瘤突变负荷(TMB)等[10],对于预测疗效有一定价值,但也存在一定局限性,例如其检测手段相对复杂,费用相对较高等[11]。

近年来,关于外周血生物标志物预测免疫治疗疗效的研究越来越多,如 NLR、LMR 和 PLR,认为其可能预测肾癌[12]、非小细胞肺癌[13]、直肠癌[14]等多种肿瘤的免疫治疗疗效[15],高 NLR、高 LMR 及高 PLR 可能与预后不良相关,本研究的单因素分析中低 NLR 组的中位 PFS 为 187 天,高 NLR 组的中位 PFS 为 57 天($HR = 7.493$, $95\% CI = 2.286 \sim 24.557$, $p = 0.001$)。而 PLR、LMR 组仅在单因素分析中存在统计学差异。高 PLR 组的中位 PFS 为 109 天,低 PLR 组的中位 PFS 为 187 天。高 LMR 组中位 PFS 为 187 天,低 LMR 组中位 PFS 为 74 天, $p = 0.000$,差异有统计学意义。这与既往研究结果一致,表明淋巴细胞的减少可能与患者预后不良相关。但在 PFS 生存期影响因素的多因素分析中,LMR、PLR 的高低与患者 PFS 无相关性。

Li 进行的一项研究在多因素 Cox 模型分析中,LMR 降低($HR = 0.62$, $95\% CI: 0.4 \sim 0.96$, $p = 0.033$)是 PFS 的独立危险因素;治疗前低 LMR ($HR = 0.4$, $95\% CI: 0.17 \sim 0.94$, $p = 0.036$)和治疗后 LMR 降低($HR = 0.42$, $95\% CI: 0.18 \sim 0.97$, $p = 0.041$)是死亡的独立危险因素[16]。丁南等人发表的一篇荟萃分析中显示 PLR

升高与总生存期呈负相关(HR = 1.33, 95% CI: 1.10~1.62), 但与无进展生存期无关(HR = 1.21, 95% CI = 0.97~1.49) [17], 这与本研究结果一致。

免疫治疗的疗效直接取决于免疫细胞, 尤其是淋巴细胞的活性, 因此其在免疫治疗中发挥着至关重要的作用[18], 淋巴细胞是肿瘤微环境(Tumor microenvironment, TME)的一部分, 肿瘤微环境包括肿瘤细胞和肿瘤相关基质, 肿瘤基质由肿瘤浸润淋巴细胞(Tumor infiltrating lymphocytes, TILs)、成纤维细胞以及肿瘤周围的细胞外基质等共同构成。TILs 是存在 TME 中具有异质性的淋巴细胞, 参与抗肿瘤免疫反应, 主要包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞、巨噬细胞和源性髓抑制细胞等。在微环境中, 肿瘤组织与免疫系统的相互作用常常呈现双向作用, 如机体免疫系统可以对肿瘤产生正向的识别与杀伤, 而肿瘤细胞又可通过其表面表达的抑制性分子和分泌肿瘤相关细胞因子来形成免疫抑制性的微环境, 介导机体对肿瘤产生免疫耐受, 造成免疫逃逸。淋巴细胞减少可能反映了由于免疫衰竭和抗肿瘤淋巴细胞耗竭而导致的 T 细胞功能障碍状态, 并且这些功能失调的淋巴细胞在 ICIs 治疗中发挥抗肿瘤作用的能力有限[19]。本研究中 LMR 水平低患者与 LMR 水平较高的患者相比, 其预后较差, 差别具有统计学意义, 与既往研究结论相同。

肿瘤发生及进展与凝血系统具有相关性[20]。血浆 D-二聚体水平在前列腺癌[21]、结肠直肠癌[22]、肺癌[23]、卵巢癌等患者中被证明是升高的[24]。荟萃分析发现, 对于术后非小细胞肺癌患者, 治疗前 D-二聚体水平高是预后不良的独立预测因子[25]。另一项荟萃分析显示, 在小细胞肺癌患者中, 治疗前 D-二聚体水平升高与 OS 和 PFS 缩短显著相关[26]。本研究也得出一致结果: 在单因素及 COX 多因素回归分析中均显示治疗前高水平 D-D 与较短的 PFS 相关, 差异有统计学意义(HR = 4.273, 95% CI = 1.984~9.207, $p = 0.000$)。既往有研究指出, 抗凝治疗有利于改善患者的生存期, 本研究结果对于临床工作具有一定的指导意义, 对于血浆 D-D 水平高的患者, 是否可以提前进行干预, 通过抗凝治疗, 改善患者预后。未来也需要更多研究进一步探索。

本研究存在一定的局限性, 首先, 是一项单中心回顾性研究, 样本量较少, 样本选择可能存在一定的选择偏倚, 因此, 本研究得出的初步结果在未来需要更多研究来进一步验证。其次, 本研究治疗方案中加入了化疗, 且收集的血液学指标来自血液标本, 可能受到患者基本情况影响, 如年龄、肿瘤负荷、疾病分期、炎症性疾病、基础疾病等影响, 从而对结果产生干扰。最后, 本研究中的研究自变量的最佳截断值与既往研究存在差异, 可能对研究结果产生影响。且本研究未进一步探究 NLR、PLR、LMR、D-D 动态变化对于预测治疗疗效的价值, 在广泛应用于临床之前, 有必要进行前瞻性大样本研究, 以探索并确定最佳的截断值, 从而为临床工作提供便利。

8. 结论

我们的研究结果显示: 治疗前 LMR、NLR、PLR 及血浆 D-D 是晚期 NSCLC 患者的预测因子, 有利于临床工作中早期识别最有可能从免疫治疗中获益的人群, 有利于医疗资源的更有效分配及减少患者治疗费用及避免免疫治疗带来的不良反应。

基金项目

湖北陈孝平科技发展基金会项目《中性粒细胞与淋巴细胞比率(NLR)与卡瑞利珠单抗疗效及免疫相关不良反应的相关性》; 立项编号: CXPJH121005-08。

参考文献

[1] 周昌明, 王泽洲, 郑莹. 2023 年美国癌症数据解读及对中国癌症防治的启示[J]. 中国癌症杂志, 2023, 33(2): 117-

- [2] Qiu, Z., Chen, Z., Zhang, C. and Zhong, W. (2019) Achievements and Futures of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Experimental Hematology & Oncology*, **8**, Article No. 19. <https://doi.org/10.1186/s40164-019-0143-z>
- [3] Herbst, R.S., Baas, P., Kim, D., Felip, E., Pérez-Gracia, J.L., Han, J., *et al.* (2016) Pembrolizumab versus Docetaxel for Previously Treated, PD-L1-Positive, Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-010): A Randomised Controlled Trial. *The Lancet*, **387**, 1540-1550. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)01281-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)01281-7)
- [4] Soyano, A.E., Dholaria, B., Marin-Acevedo, J.A., Diehl, N., Hodge, D., Luo, Y., *et al.* (2018) Peripheral Blood Biomarkers Correlate with Outcomes in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Anti-PD-1 Antibodies. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **6**, Article 129. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0447-2>
- [5] Neufert, C., Heichler, C., Brabletz, T., Scheibe, K., Boonsanay, V., Greten, F.R., *et al.* (2020) Inducible Mouse Models of Colon Cancer for the Analysis of Sporadic and Inflammation-Driven Tumor Progression and Lymph Node Metastasis. *Nature Protocols*, **16**, 61-85. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00412-1>
- [6] Khan, S., Jain, M., Mathur, V., *et al.* (2016) Chronic Inflammation and Cancer: Paradigm on Tumor Progression, Metastasis and Therapeutic Intervention. *Gulf Journal of Oncology*, **1**, 86-93.
- [7] Peng, L., Wang, Y., Liu, F., Qiu, X., Zhang, X., Fang, C., *et al.* (2020) Peripheral Blood Markers Predictive of Outcome and Immune-Related Adverse Events in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated with PD-1 Inhibitors. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **69**, 1813-1822. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02585-w>
- [8] Ruiz-Bañobre, J., Areses-Manrique, M.C., Mosquera-Martínez, J., Cortegoso, A., Afonso-Afonso, F.J., de Dios-Álvarez, N., *et al.* (2019) Evaluation of the Lung Immune Prognostic Index in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients under Nivolumab Monotherapy. *Translational Lung Cancer Research*, **8**, 1078-1085. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.11.07>
- [9] Zhuo, M., Chen, H., Zhang, T., Yang, X., Zhong, J., Wang, Y., *et al.* (2018) The Potential Predictive Value of Circulating Immune Cell Ratio and Tumor Marker in Atezolizumab Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Cancer Biomarkers*, **22**, 467-476. <https://doi.org/10.3233/cbm-171089>
- [10] Mino-Kenudson, M., Schalper, K., Cooper, W., Dacic, S., Hirsch, F.R., Jain, D., *et al.* (2022) Predictive Biomarkers for Immunotherapy in Lung Cancer: Perspective from the International Association for the Study of Lung Cancer Pathology Committee. *Journal of Thoracic Oncology*, **17**, 1335-1354. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.09.109>
- [11] Wang, P., Tang, C. and Liang, J. (2021) Blood-Based Biomarkers in the Immune Checkpoint Inhibitor Treatment in Non-Small Cell Lung Cancer. *Chinese Journal of Lung Cancer*, **24**, 503-512.
- [12] Simonaggio, A., Elaidi, R., Fournier, L., Fabre, E., Ferrari, V., Borchiellini, D., *et al.* (2020) Variation in Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) as Predictor of Outcomes in Metastatic Renal Cell Carcinoma (mRCC) and Non-Small Cell Lung Cancer (mNSCLC) Patients Treated with Nivolumab. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **69**, 2513-2522. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02637-1>
- [13] Diem, S., Schmid, S., Krapf, M., Flatz, L., Born, D., Jochum, W., *et al.* (2017) Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR) as Prognostic Markers in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Treated with Nivolumab. *Lung Cancer*, **111**, 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2017.07.024>
- [14] Peng, H., Yang, L., He, B., Pan, Y., Ying, H., Sun, H., *et al.* (2016) Combination of Preoperative NLR, PLR and CEA Could Increase the Diagnostic Efficacy for I-III Stage CRC. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **31**, e22075. <https://doi.org/10.1002/jcla.22075>
- [15] He, Y.-F., Luo, H.-Q., Wang, W., Chen, J., Yao, Y.-W., Yan, Y., *et al.* (2016) Preoperative NLR and PLR in the Middle or Lower ESCC Patients with Radical Operation. *European Journal of Cancer Care*, **26**, e12445. <https://doi.org/10.1111/ecc.12445>
- [16] Li, B., Wang, S., Li, C., Guo, M., Xu, Y., Sun, X., *et al.* (2019) The Kinetic Changes of Systemic Inflammatory Factors during Bevacizumab Treatment and Its Prognostic Role in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Journal of Cancer*, **10**, 5082-5089. <https://doi.org/10.7150/jca.30478>
- [17] Ding, N., Pang, Z., Shen, H., Ni, Y., Du, J. and Liu, Q. (2016) The Prognostic Value of PLR in Lung Cancer, a Meta-Analysis Based on Results from a Large Consecutive Cohort. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 34823. <https://doi.org/10.1038/srep34823>
- [18] Bai, Z., Zhou, Y., Ye, Z., Xiong, J., Lan, H. and Wang, F. (2022) Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Colorectal Cancer: The Fundamental Indication and Application on Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article 808964. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.808964>
- [19] Diehl, A., Yarchoan, M., Hopkins, A., Jaffee, E. and Grossman, S.A. (2017) Relationships between Lymphocyte Counts and Treatment-Related Toxicities and Clinical Responses in Patients with Solid Tumors Treated with PD-1 Checkpoint Inhibitors. *Oncotarget*, **8**, 114268-114280. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23217>

-
- [20] Bauer, A.T., Gorzelanny, C., Gebhardt, C., Pantel, K. and Schneider, S.W. (2022) Interplay between Coagulation and Inflammation in Cancer: Limitations and Therapeutic Opportunities. *Cancer Treatment Reviews*, **102**, Article 102322. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102322>
- [21] Çalışkan, S. and Sungur, M. (2017) Fibrinogen and D-Dimer Levels in Prostate Cancer: Preliminary Results. *Prostate International*, **5**, 110-112. <https://doi.org/10.1016/j.pnrl.2017.05.001>
- [22] Dai, H., Zhou, H., Sun, Y., Xu, Z., Wang, S., Feng, T., *et al.* (2018) D-Dimer as a Potential Clinical Marker for Predicting Metastasis and Progression in Cancer. *Biomedical Reports*, **9**, 453-457. <https://doi.org/10.3892/br.2018.1151>
- [23] 张剑, 聂晓红, 何瀚夫. 非小细胞肺癌患者血浆 D-二聚体、纤维蛋白原与癌胚抗原、细胞角蛋白 19 片段的相关性研究[J]. 华西医学, 2022, 37(2): 218-223.
- [24] Sakurai, M., Satoh, T., Matsumoto, K., Michikami, H., Nakamura, Y., Nakao, S., *et al.* (2015) High Pretreatment Plasma D-Dimer Levels Are Associated with Poor Prognosis in Patients with Ovarian Cancer Independently of Venous Thromboembolism and Tumor Extension. *International Journal of Gynecologic Cancer*, **25**, 593-598. <https://doi.org/10.1097/igc.0000000000000415>
- [25] Deng, H., Zheng, X., Jiang, R., Wang, R., Zhou, J. and Qiu, X. (2019) Preoperative D-Dimer Level Is an Independent Prognostic Factor for Non-Small Cell Lung Cancer after Surgical Resection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Translational Medicine*, **7**, 366. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.05.35>
- [26] Li, J., Wang, Y., Li, J. and Che, G. (2021) Prognostic Value of Pretreatment D-Dimer Level in Small-Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Technology in Cancer Research & Treatment*, **20**. <https://doi.org/10.1177/1533033821989822>