

• 论 著 •

术前 IgA、补体 C4 和白细胞参数模型预测食管胃结合部腺癌预后的价值*

谢长乐¹, 黄旭纯², 黄彬亮², 柳灿炯^{2△}

1. 开平市中心医院肿瘤外科, 广东开平 529300; 2. 汕头大学医学院附属肿瘤医院检验科, 广东汕头 515041

摘要:目的 探讨术前免疫相关指标 IgA、补体 C4 和白细胞参数模型预测食管胃结合部腺癌(EJA)预后的价值。方法 回顾性分析 2010 年 1 月至 2017 年 12 月在汕头大学医学院附属肿瘤医院行手术治疗的 444 例 EJA 患者的临床资料, 根据纳入时间将其分为训练组(361 例)和验证组(183 例)。分析术前免疫相关指标与预后的关系, 并构建相关预后预测列线图模型。采用 Bootstrap 进行内部检验, 利用校准曲线进行验证。结果 单因素 Cox 回归分析结果显示, 年龄>64 岁、高水平 IgA、高水平补体 C4、高水平中性粒细胞和低水平淋巴细胞均与 EJA 患者不良预后有关。多因素分析结果显示, 年龄、IgA、补体 C4、中性粒细胞绝对值和淋巴细胞绝对值均可作为 EJA 患者预后的独立预测因子($P<0.05$); 联合这 5 项指标和 T 分期、N 分期构建预后预测模型, 在训练组中, 其预测预后的一致性指数为 0.720(0.682~0.757), 在验证组中, 其一致性指数为 0.700(0.643~0.757)。校准曲线显示, 该模型预测预后的能力均与两组患者预后相符。结论 基于 IgA、C4、中性粒细胞绝对值和淋巴细胞绝对值构建的预后预测模型可用于预测 EJA 患者的预后。

关键词:食管胃结合部腺癌; 免疫球蛋白 A; 补体 C4; 白细胞参数; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.16.009

中图法分类号:R735;R446.6

文章编号:1673-4130(2022)16-1959-06

文献标志码:A

Prognostic value of IgA, complement C4 and leukocyte parameters model in patients with esophagogastric junction adenocarcinoma*

XIE Changle¹, HUANG Xuchun², HUANG Binliang², LIU Cantong^{2△}

1. Department of Surgical Oncology, Kaiping Central Hospital, Kaiping, Guangdong 529300, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Cancer Hospital of Shantou

University Medical College, Shantou, Guangdong 515041, China

Abstract: **Objective** To investigate the prognostic value of immune-related indicators IgA, complement C4 and leukocyte parameters model in patients with esophagogastric junction adenocarcinoma (EJA). **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of 444 EJA patients who underwent surgical treatment in the Cancer Hospital of Shantou University Medical College from January 2010 to December 2017, and they were divided into the training group (361 cases) and the validation group (183 cases) according to the enrollment time. The relationships between preoperative immune-related indicators and prognosis were analyzed, and the correlation prognostic prediction nomogram model was established. Bootstrap method was used for internal validation, and calibration curve was applied to verify the nomogram. **Results** Univariate Cox regression analysis showed that over 64 years old, high immunoglobulin A (IgA) level, high complement C4 level, high neutrophil and low lymphocyte associated with poor prognosis of EJA patients. Multivariate analysis also showed that these five indicators (age, IgA, complement C4, absolute values of neutrophil and lymphocyte) were independent prognostic factors for EJA patients (all $P<0.05$). The prognostic prediction model was constructed by combining these five indicators with T stage and N stage, the consistency index of prognostic prediction was 0.720(0.682—0.757) in the training group and 0.700(0.643—0.757) in the validation group. Calibration curves showed that the predictive ability of the model was consistent with the prognosis of patients in both groups. **Conclusion** The prognosis prediction model based on IgA, complement C4, absolute values of neutrophil and lymphocyte might be used to predict prognosis in patients with EJA.

Key words: esophagogastric junction adenocarcinoma; immunoglobulin A; complement C4; leukocyte parameters; prognosis

* 基金项目: 广东省江门市医疗卫生科技计划项目(2020YJLJ019)。

作者简介: 谢长乐, 男, 副主任医师, 主要从事肿瘤外科综合诊治及预后研究。△ 通信作者, E-mail: liucenton@163.com。

根据 2018 年全球肿瘤流行病学数据,胃癌和食管癌在全球癌症死亡率中分别排名第三位和第六位^[1]。食管胃结合部腺癌是一种中心位于食管和胃之间 10 cm 距离内的恶性肿瘤,由德国学者 SIEW-ERT 等^[2]于 1998 年首次描述。据报道,在食管鳞癌发病率较高的地区,食管胃结合部腺癌的患病率也很高,尤其是在东亚地区^[3]。食管胃结合部腺癌患者的预后较差,晚期患者接受手术治疗后的 5 年生存率仅有 32.3%^[4]。传统的 TNM 分期系统包括浸润深度、区域淋巴结转移和远处转移,主要是基于手术或内镜的病理检查结果,以及计算机断层扫描和磁共振成像的影像学结果,但是其存在一定局限性,即临床上同一分期的患者往往出现预后不同的情况。因此,有必要寻找其他指标来协助预测食管胃结合部腺癌患者预后。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2010 年 1 月至 2017 年 12 月在汕头大学医学院附属肿瘤医院行手术治疗的 444 例食管胃结合部腺癌患者的临床资料,根据纳入时间将其分为训练组(2010—2014 年,361 例)和验证组(2015—2017 年,183 例)。训练组男 298 例、女 63 例,平均年龄(62.8 ± 7.8)岁。验证组男 146 例、女 37 例,平均年龄(64.3 ± 7.5)岁。纳入标准:经胃镜和影像学检查初步诊断为食管胃结合部腺癌,并经手术病理检查确诊。排除标准:肾衰竭、自身免疫性疾病患者;其他恶性肿瘤病史患者;首诊入院先行放化疗的患者;首诊入院行手术治疗,但因腹腔粘连严重、肿瘤浸润范围过大等原因导致肿瘤无法切除的患者。本研究经汕头大学医学院肿瘤医院伦理委员会批准,所有患者及家属签署知情同意书。

1.2 方法 收集入选患者基本人口学指标(如性别、年龄、吸烟史、饮酒史和肿瘤家族史)和肿瘤分期(浸润深度、淋巴结转移情况),以及术前免疫生化项目指标[免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)和补体(C3、C4、B 因子)]。同时,收集白细胞参数中性粒细胞绝对值

(NE)、淋巴细胞绝对值(LYM)、中性粒细胞百分比(NE%)和淋巴细胞百分比(LYM%),并计算中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)。术后对患者进行随访,随访开始时间定义为手术时间,截止时间为患者发生死亡、失访或达到最终随访时间(2021 年 4 月)。食管胃结合部腺癌患者 TNM 分期均参考美国癌症联合委员会(AJCC)肿瘤分期第八版相关标准,即肿瘤中心位于贲门近端 2 cm 的患者采用食管癌分期系统,肿瘤中心距离贲门远端超过 2 cm 的患者采用胃癌分期系统^[5]。免疫球蛋白和补体检测采用 BECKMAN COULTER AU5800 全自动生化分析仪(免疫透射比浊法),白细胞的检测采用 BECKMAN COULTER 全自动五分类细胞仪。

1.3 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2007、SPSS24.0 和 R 语言 3.6.1 版软件进行数据统计分析。利用 R 语言中的 survival ROC 包计算年龄和免疫生化指标等连续变量预测预后的曲线下面积(AUC),以最大约登指数对应值作为截断值,将这些变量转化为二分类变量;将单因素 Cox 回归分析差异有统计学意义($P < 0.05$)的指标纳入向后逐步多因素 Cox 回归分析;将筛选出的差异有统计学意义的指标联合构建模型,采用 RMS 包建立预测 EJA 患者总生存期的列线图 and 校准曲线,计算综合校准指数,利用 Bootstrap 进行内部检验,计算一致性指数。在生存分析时,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,并采用 Log-rank 检验进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素 Cox 回归分析 将连续性变量转化为二分类变量后进行单因素 Cox 回归分析,结果显示,年龄 >64 岁、高 IgA 水平、高 C4 水平、高水平中性粒细胞和低水平淋巴细胞均与患者不良预后有关。见表 1。训练组ⅢC 和ⅣA 期患者的 5 年总生存率(OS)较差,仅为(34.0 ± 5.7)%;验证组ⅢC 和ⅣA 期患者的 5 年 OS 亦较差,仅为(29.7 ± 8.8)%,见图 1。

表 1 训练组与验证组单因素 Cox 回归分析[n(%)]

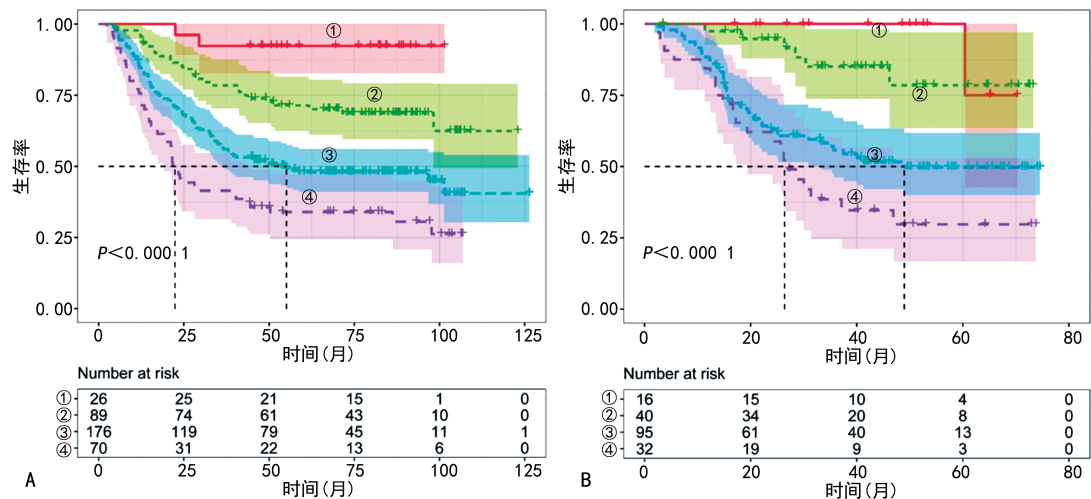
项目	训练组(n=361)	验证组(n=183)	HR	HR 的 95%CI	P
性别			0.785	0.539~1.144	0.208
女	63(17.5)	37(20.2)			
男	298(82.5)	146(79.8)			
年龄(岁)			1.774	1.312~2.398	<0.001
≤64	223(61.8)	86(47.0)			
>64	138(38.2)	97(53.0)			
肿瘤家族史			0.937	0.593~1.481	0.782
无	314(87.0)	161(88.0)			

续表 1 训练组与验证组单因素 Cox 回归分析[n(%)]

项目	训练组(n=361)	验证组(n=183)	HR	HR 的 95%CI	P
有	47(13.0)	22(22.0)			
吸烟史			0.891	0.654~1.216	0.468
无	128(35.5)	70(38.3)			
有	233(64.5)	113(61.7)			
饮酒史			1.181	0.844~1.654	0.331
无	269(74.5)	132(72.1)			
有	92(25.5)	51(27.9)			
T 分期					
T1	16(4.4)	6(3.4)			
T2	20(5.5)	16(8.7)	4.010	0.468~34.328	0.205
T3	114(31.6)	46(25.1)	7.629	1.052~55.291	0.044
T4	211(58.5)	115(62.8)	12.294	1.717~88.036	0.012
N 分期					
N0	105(29.1)	57(31.1)			
N1	82(22.7)	53(29.0)	1.352	0.815~2.243	0.243
N2	81(22.4)	44(24.0)	2.129	1.332~3.403	0.002
N3	93(25.8)	29(15.9)	4.134	2.685~6.367	<0.001
Siewert 分型			0.952	0.691~1.313	0.766
I + II	111(30.7)	59(32.2)			
III	250(69.3)	124(67.8)			
TNM 分期					
I 期	26(7.2)	16(8.7)			
II 期	89(24.6)	40(21.9)	4.482	1.068~18.818	0.040
III 期	176(48.8)	95(51.9)	9.089	2.239~36.902	0.002
IV 期	70(19.4)	32(17.5)	14.822	3.600~61.036	<0.001
NE%			1.399	1.034~1.891	0.029
≤62.0	182(50.4)	71(38.8)			
>62.0	179(49.6)	112(61.2)			
NE(×10 ⁹ /L)			1.391	1.005~1.925	0.047
≤5.04	261(72.3)	123(67.2)			
>5.04	100(27.7)	60(32.8)			
LYM%			0.661	0.487~0.898	0.008
≤27.6	192(53.2)	108(59.0)			
>27.6	169(46.8)	75(41.0)			
LYM(×10 ⁹ /L)			0.671	0.492~0.916	0.012
≤1.86	203(56.2)	99(54.1)			
>1.86	158(43.8)	84(45.9)			
NLR			1.562	1.156~2.111	0.004
≤2.50	209(57.9)	94(51.4)			
>2.50	152(42.1)	89(48.6)			
IgA(g/L)			1.737	1.229~2.455	0.002
≤1.72	125(34.6)	78(42.6)			
>1.72	236(65.4)	105(57.4)			

续表 1 训练组与验证组单因素 Cox 回归分析[n(%)]

项目	训练组(n=361)	验证组(n=183)	HR	HR 的 95%CI	P
IgG(g/L)			0.798	0.568~1.120	0.192
≤14.16	255(70.6)	143(78.1)			
>14.16	106(29.4)	40(21.9)			
IgM(g/L)			0.907	0.662~1.244	0.546
≤1.34	230(63.7)	163(89.1)			
>1.34	131(36.3)	20(10.9)			
C3(g/L)			0.885	0.655~1.197	0.429
≤0.90	161(44.6)	20(10.9)			
>0.90	200(55.4)	163(89.1)			
C4(g/L)			1.577	1.162~2.140	0.003
≤0.29	239(66.2)	154(84.2)			
>0.29	122(33.8)	29(15.8)			
B 因子(g/L)			1.260	0.926~1.715	0.141
≤0.32	224(62.0)	12(6.6)			
>0.32	137(38.0)	171(93.4)			



注:A 为训练组;B 为验证组。

图 1 不同 TNM 分期患者的预后生存曲线

2.2 预后因子筛选 多因素 Cox 回归分析显示,无论是否用 T 分期和 N 分期进行校正,年龄、IgA、C4、NE 和 LYM 均可作为食管胃结合部腺癌总生存期的独立预测因子($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同预测模型的多因素 Cox 回归分析

项目	模型 1			模型 2		
	HR	HR 的 95%CI	P	HR	HR 的 95%CI	P
年龄(>64 岁 vs. ≤64 岁)	1.754	1.295~2.375	<0.001	1.861	1.368~2.530	<0.001
IgA(>1.72 g/L vs. ≤1.72 g/L)	1.528	1.066~2.189	0.021	1.547	1.045~2.151	0.028
C4(>0.29 g/L vs. ≤0.29 g/L)	1.463	1.066~2.007	0.018	1.535	1.126~2.126	0.007
NE(>5.04×10 ⁹ /L vs. ≤5.04×10 ⁹ /L)	1.410	1.017~1.953	0.039	1.524	1.095~2.123	0.013
LYM(>1.86×10 ⁹ /L vs. ≤1.86×10 ⁹ /L)	0.679	0.497~0.928	0.015	0.701	0.512~0.961	0.027
T 分期	—	—	—	1.535	1.180~1.998	0.001
N 分期	—	—	—	1.515	1.309~1.753	<0.001

注:—表示无数据。

2.3 预后模型构建及验证评价 以模型 2 为基础,构建了一个 Cox 预后预测模型,并用列线图使模型直观化(图 2)。在列线图中,患者每项指标对应不同的分数,根据总分数可以预测 1 年、3 年和 5 年 OS。例如,患者年龄 >64 岁(48 分),IgA <1.72 g/L(0 分),C4 >0.29 g/L(34 分),NE $>5.04 \times 10^9$ /L(33 分),LYM $<1.86 \times 10^9$ /L(28 分),术后分期为 T3N2M0 (67 分+65 分),则该患者总分为 275 分,预测 1 年、3 年和 5 年 OS 约为 77%、35% 和 25%。在训练组中,经 Bootstrap 内部检验,其预测预后的一致性指数为 0.720(0.682~0.757);在验证组中,此列线图预测预后的一致性指数为 0.700(0.643~0.757)。校准曲线显示,在训练组和验证组中该模型预测预后的能力均与患者真实预后相符,其综合校准指数分别为 0.007 和 0.030,见图 3。

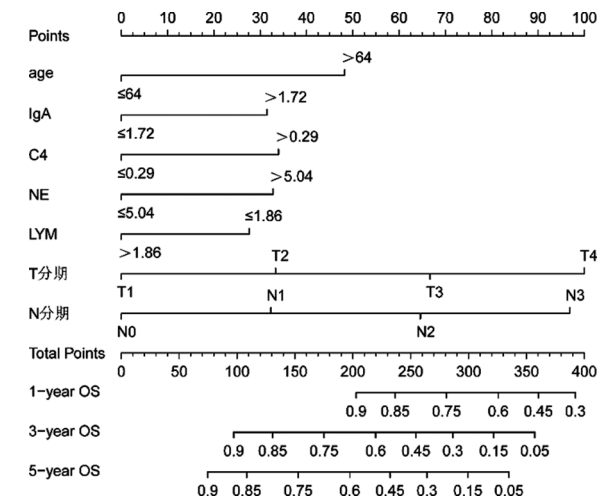
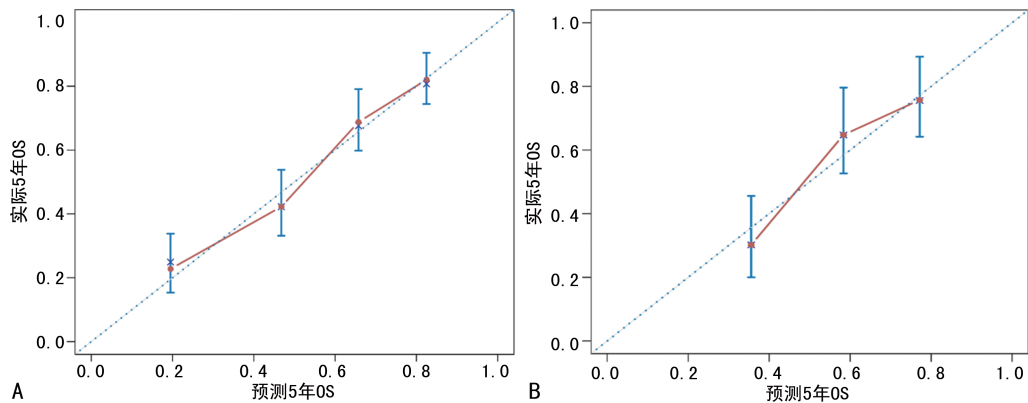


图 2 联合免疫指标与肿瘤分期构建的预测食管胃结合部腺癌患者 OS 的列线图模型



注:A 为训练组;B 为验证组。

图 3 列线图模型预测食管胃结合部腺癌患者 OS 的校准曲线

3 讨论

肿瘤可以通过激活机体免疫系统而使其产生抗体以对抗肿瘤,根据重链恒定区的差异,抗体可分为 5 大类,分别是 IgA、IgG、IgM、IgE 和 IgD。IgA 与可结晶 α 受体结合,在调节固有效应细胞功能中起双重作用;在免疫治疗中,血清 IgA 为治疗癌症提供了一种替代经典 IgG 单克隆抗体的方法^[6]。ISHDORJ 等^[7]在研究慢性淋巴细胞性白血病时,发现高水平 IgA 是其重要的独立预后因子。在食管胃结合部腺癌相关研究方面,潘敦等^[8]在研究脾切除手术对晚期患者免疫功能及其预后的影响时,发现脾切除后的患者长期血清 IgA 水平显著下降,其 1 年 OS 和生存时间均较脾保留者差。本研究结果发现,术前血清高 IgA 水平与患者的 5 年 OS 较差相关,且可作为食管胃结合部腺癌患者的预后独立预测因子。这与潘敦等^[8]的研究结果有所差异,但本研究的患者均未行脾切除手术,因此血清 IgA 的水平影响食管胃结合部腺癌患者肿瘤进展和预后的机制尚需进一步研究。

在免疫系统中,除了抗原抗体系统外,还存在着补体系统。近几年来,有研究提出了补体系统参与肿

瘤微环境调控、肿瘤进展等^[9]。YUAN 等^[10]认为,补体 C3 过表达可以通过激活 JAK2/STAT3 信号通路从而会影响胃癌的进展,使胃癌患者 5 年 OS 降低。另外也有研究发现,胰腺癌患者血浆中的补体 B 因子水平是非胰腺癌患者的 2 倍,其诊断效能 0.958,优于糖类抗原 19-9(CA19-9)^[11]。但是在本研究中并没有发现补体 C3 和 B 因子与食管胃结合部腺癌患者预后的联系。

补体 C4 是补体系统中的一个关键分子,可识别和消除入侵微生物,对经典和凝集素补体途径的功能起着重要的作用。大部分研究聚焦在补体 C4 的缺乏与微生物感染、自身免疫性疾病发生、发展的关系^[12]。在肿瘤研究方面,补体 C4 的活性成分 C4b1 可能是进展期膀胱癌的预后预测因子^[13]。ROUMENINA 等^[14]研究了肾透明细胞癌组织中补体表达情况,发现补体 C4 活化产物增加者预后较差,并通过动物实验进一步证实,缺乏补体 C4 的小鼠肿瘤体积生长减少。该团队后续的研究显示,C4 激活酶 C1s 可以通过激活补体 C4 以级联非正常方式调节肿瘤细胞表型和肿瘤微环境,从而促进肾透明细胞癌进展,进一步从分

子机制水平证实高水平补体 C4 与肿瘤不良预后有关^[15]。这些研究均体现了补体 C4 可以影响肿瘤进展和预后。然而近几年来,补体 C4 在消化道肿瘤中的研究较少。在本研究中,同样发现血清高水平补体 C4 与食管胃结合部腺癌患者的不良预后相关,这与 ROUMENINA 等^[14]的研究结果相似,补体 C4 与食管胃结合部腺癌进展之间是否存在着肾癌相似的机制尚需进一步实验证实,或许可以为食管胃结合部腺癌患者诊治提供一个新方向。

中性粒细胞作为机体固有免疫的关键一员,参与了肿瘤血管生成、细胞周期、肿瘤细胞代谢等^[16]。近期有研究发现,乳腺癌细胞分泌的组织蛋白酶可以通过招募中性粒细胞和形成中性粒细胞细胞外陷阱维持肺转移癌细胞的生长,从而促进乳腺癌肺转移的发生^[17]。此外,作为细胞免疫的主要细胞,淋巴细胞也与肿瘤预后密切相关,如肺癌患者 NE 高者的生存期较长^[18]。本研究结果发现,高水平中性粒细胞和水平淋巴细胞与食管胃结合部腺癌患者不良预后相关,这与 FUCHS 等^[19]的研究结果一致。

在本研究中,训练组和验证组ⅢC和ⅣA期患者晚期食管胃结合部腺癌患者接受手术后的5年OS分别约为34.0%和29.7%,与其他研究报道的32.4%基本相符^[4]。本研究通过单、多因素Cox回归分析确定了年龄、术前免疫球蛋白IgA、补体C4、NE和LYM可作为食管胃结合部腺癌患者总生存期的独立预测因子,并构建相应的模型以协助术前临床预测食管胃结合部腺癌预后,同时也在验证组中得到较好的预测验证。但是本研究为单中心回顾性研究,样本量小,可能存在数据统计偏倚;如果能在多中心、大样本、前瞻性研究中进一步得到验证,或许可以在临床上对患者的诊疗提供更多的帮助。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] SIEWERT J R, STEIN H J. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction[J]. Br J Surg, 1998, 85(11): 1457-1459.
- [3] ARNOLD M, FERLAY J, VAN BERGE HENEGOUWEN M I, et al. Global burden of oesophageal and gastric cancer by histology and subsite in 2018[J]. Gut, 2020, 69(9): 1564-1571.
- [4] RÜDIGER SIEWERT J, FEITH M, WERNER M, et al. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: results of surgical therapy based on anatomical/topographic classification in 1,002 consecutive patients[J]. Ann Surg, 2000, 232(3): 353-361.
- [5] RICE T W, GRESS D M, PATIL D T, et al. Cancer of the esophagus and esophagogastric junction: major changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth Edition Cancer Staging Manual[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(4): 304-317.
- [6] DAVIS S K, SELVA K J, KENT S J, et al. Serum IgA Fc effector functions in infectious disease and cancer[J]. Immunol Cell Biol, 2020, 98(4): 276-286.
- [7] ISHDORJ G, STREU E, LAMBERT P, et al. IgA levels at diagnosis predict for infections, time to treatment, and survival in chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood Adv, 2019, 3(14): 2188-2198.
- [8] 潘敦, 李宗芳, 陈辉, 等. 脾切除对晚期食管胃结合部癌患者免疫功能及预后的影响[J]. 中华消化外科杂志, 2013, 12(10): 788-791.
- [9] ROUMENINA L T, DAUGAN M V, PETITPREZ F, et al. Context-dependent roles of complement in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(12): 698-715.
- [10] YUAN K, YE J, LIU Z, et al. Complement C3 overexpression activates JAK2/STAT3 pathway and correlates with gastric cancer progression[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 9.
- [11] KIM S H, LEE M J, HWANG H K, et al. Prognostic potential of the preoperative plasma complement factor B in resected pancreatic cancer: a pilot study[J]. Cancer Biomark, 2019, 24(3): 335-342.
- [12] WANG H, LIU M. Complement C4, infections, and autoimmune diseases[J]. Front Immunol, 2021, 12: 694928.
- [13] CHEN J, WU W, ZHEN C, et al. Expression and clinical significance of complement C3, complement C4b1 and apolipoprotein E in pancreatic cancer[J]. Oncol Lett, 2013, 6(1): 43-48.
- [14] ROUMENINA L T, DAUGAN M V, NOÉ R, et al. Tumor cells hijack Macrophage-Produced complement C1q to promote tumor growth[J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(7): 1091-1105.
- [15] DAUGAN M V, REVEL M, RUSSICK J, et al. Complement C1s and C4d as prognostic biomarkers in renal cancer: emergence of noncanonical functions of C1s[J]. Cancer Immunol Res, 2021, 9(8): 891-908.
- [16] 周兴, 王英, 张清, 等. 中性粒细胞在肿瘤进展及治疗中的作用[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版), 2021, 35(9): 194-203.
- [17] XIAO Y, CONG M, LI J, et al. Cathepsin C promotes breast cancer lung metastasis by modulating neutrophil infiltration and neutrophil extracellular trap formation[J]. Cancer Cell, 2021, 39(3): 423-437.
- [18] 周晶, 姚杨, 王胜昱, 等. 淋巴细胞绝对计数与肺癌侵袭性及预后的关系分析[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(31): 39-43.
- [19] FUCHS C S, MURO K, TOMASEK J, et al. Prognostic factor analysis of overall survival in gastric cancer from two phase III studies of second-line ramucirumab (REGARD and RAINBOW) using pooled patient data[J]. J Gastric Cancer, 2017, 17(2): 132-144.