

直肠癌肿瘤直径影响因素的广义相加模型分析

徐 龙,汪圣毅,张 震

摘要 目的 探索直肠癌患者肿瘤直径的影响因素。方法

收集直肠癌根治术的横断面研究数据,按肿瘤直径的中位数分组,比较组间临床病理特征差异。局部加权回归散点平滑方法(LOWESS)分析肿瘤直径与连续变量之间的关系。广义相加模型(GAM)进一步分析肿瘤直径的关联因素。结果 直肠癌患者分为肿瘤直径 <4 cm和 ≥ 4 cm组,组间T分期($P < 0.01$)、TNM分期($P < 0.05$)的差异有统计学意义; ≥ 4 cm组癌胚抗原(CEA)的中位数[4.90 ng/ml,四分位间距(2.39,9.53)]高于 <4 cm组[2.93 ng/ml,四分位间距(1.78,4.90)],差异有统计学意义($P < 0.01$)。LOWESS分析发现,年龄、距肛缘的距离、CEA、中性粒细胞、淋巴细胞、血小板、中性粒细胞淋巴细胞比值、血小板淋巴细胞比值与肿瘤直径存在非线性关系。GAM结果显示,血小板增加($P < 0.05$)、T分期越晚($P < 0.01$),肿瘤直径越大;CEA升高与肿瘤直径增大有关($P < 0.01$),存在饱和效应。结论 血小板、T分期、CEA与直肠癌的肿瘤直径存在关联关系,有助于对直肠癌肿瘤直径影响因素的研究。

关键词 直肠肿瘤;肿瘤直径;广义相加模型;局部加权回归散点平滑;癌胚抗原;血小板;T分期

中图分类号 R 735.3+7

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)09-1494-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.09.029

我国的结直肠癌发病率较高,大部分为直肠癌患者^[1],当肿瘤直径较大时,可侵犯前方的子宫、阴道、膀胱、前列腺、精囊腺、尿道,也可累及后方的骶前筋膜或骶骨^[2]。肿瘤进展可致消化道梗阻、肝肺转移和死亡^[3]。综合的新辅助治疗、新的手术方式^[4],依然存在困难和较多的并发症,预后较差^[5]。因此,对直肠癌的肿瘤直径影响因素的研究具有重要意义。肿瘤部位^[6]、某些标志物^[7]、药物、放疗等与直肠癌的肿瘤大小有关,但目前研究多基于线性关联分析。局部加权回归散点平滑方法(locally

weighted scatterplot smoothing, LOWESS)可实现数据点的曲线拟合^[8],广义相加模型(generalized additive models, GAM)可排除混杂因素^[9]。因此,该研究用LOWESS、GAM分析直肠癌患者肿瘤直径的影响因素,以揭示除线性关系以外的非线性关系,为直肠癌肿瘤直径的预测、控制提供思路。

1 材料与方法

1.1 资料收集 查阅2014—2020年安徽医科大学第一附属医院普外科的电子病历系统,收集直肠癌根治术的病例资料。研究变量包括年龄、性别、体质指数(body mass index, BMI)、肿瘤距肛缘的距离(tumour distance from the anal verge, TDAV)、肿瘤分化、T分期、N分期、TNM分期、血管侵犯、癌结节、神经侵犯(术后病理报告有无神经侵犯)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、中性粒细胞(neutrophil, N)、淋巴细胞(lymphocyte, L)、单核细胞(monocyte, M)、血小板(platelet, PLT)、中性粒细胞淋巴细胞比值(neutrophil lymphocyte ratio, NLR)、血小板淋巴细胞比值(platelet lymphocyte ratio, PLR)、淋巴细胞单核细胞比值(lymphocyte monocyte ratio, LMR)。入选标准:①直肠癌行根治性手术的患者;②未进行新辅助放疗、术前其他治疗;③临床和病理资料完整。排除标准:①诊断不明确,缺乏术后病理报告;②变量有缺失值;③变量存在异常值。

1.2 变量定义 根据美国癌症协会第8版的标准,分化情况分为:低分化腺癌、中分化腺癌、高分化腺癌;TNM分期: T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 ,淋巴结转移: N_0 、 N_1 、 N_2 ,无远处转移为 M_0 , M_1 为存在远处转移;术后病理分期:I、II、III、IV期;血管侵犯:无、有;无癌结节编码为0,有癌结节为1;无神经侵犯编码为0,有神经侵犯为1。

1.3 统计学处理 SPSS 24.0和Excel 2016、R 4.1.0软件处理数据,Kolmogorov-Smirnov的方法进行正态性检验,正态分布连续变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。正态连续变量的比较采用 t 检验,非正态分布连续变量的比较采用

2022-02-21 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82172974)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院普外科,合肥 230022

作者简介:徐 龙,男,硕士研究生;

张 震,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhz36@sina.com

Mann-Whitney 检验,计数资料比较用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。LOWESS 方法分析连续变量二维曲线关系,GAM 分析肿瘤直径与相关因素的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般特征 纳入 287 例,30 例存在缺失值,4 例变量存在异常值,排除后共纳入 253 例。其中,男 160 例、女 93 例,平均肿瘤直径 (4.162 ± 1.415) cm,中位数为 4 cm [$P_{25} \sim P_{75} : (3 \sim 5)$ cm]。按照中位肿瘤直径分为 2 组: < 4 cm 和 ≥ 4 cm 组,不同肿瘤直径组与 T 分期、TNM 分期、CEA 有关,见表 1。

2.2 肿瘤直径与相关变量的曲线关系 LOWESS 方法分析肿瘤直径和其他连续变量之间的曲线关联。结果显示,肿瘤直径与年龄、TDAV、CEA、N、L、PLT、NLR、PLR 均具有一定的非线性关系,见图 1A~H。肿瘤直径与 BMI 无明显的非线性关系,见图 1I。

2.3 肿瘤直径影响因素的 GAM 分析 用 $s()$ 函数对连续变量进行处理,分析肿瘤直径的影响因素。结果发现,CEA、PLT、NLR 是有统计学意义的变量,见表 2。非参数效应分析发现,CEA 与肿瘤直径存在曲线关联关系(非参数 $df = 3, F = 3.5892, P = 0.01461$)。

与肿瘤直径有关的分类和连续变量纳入模型,仅对存在曲线关联的 CEA 变量进行 $s()$ 函数处理。结果发现,CEA 与肿瘤直径存在曲线关联关系(非参数 $df = 3, F = 2.8877, P = 0.03627$),在 15 ng/ml 和 60 ng/ml 时,对肿瘤直径的作用出现转折和饱和,见图 2A、表 3。PLT 和 NLR 对肿瘤直径的影响表现为直线关系,见图 2B、C,其中,PLT 对肿瘤直径的正向作用具有统计学意义,见表 3。分类变量 T 分期对肿瘤直径的作用表现为曲线关系,见图 2D,差异有统计学意义,见表 3。N 分期的作用表现为曲线关系,但是差异无统计学意义,见图 2E、表 3。

3 讨论

直肠癌患者肿瘤直径较大、累及临近脏器时,需行新辅助放疗、化疗等综合治疗,在新辅助治疗控制肿瘤后的观察等待期间,部分患者会发生局部肿瘤再生长、增大以及远处转移的可能^[10]。因此,明确直肠癌肿瘤直径的影响因素,具有重要的临床意义。但是,目前缺乏同时包含线性和非线性关联分析的

表 1 直肠癌肿瘤直径与临床病理特征的关系

[$M(P_{25}, P_{75}), n(\%), mean(sd)$]

变量	< 4 cm 组 ($n = 100$)	≥ 4 cm 组 ($n = 153$)	P 值
年龄(岁)	67.00 (53.75, 74.00)	65.00 (54.00, 73.00)	0.96
性别			0.21
男	58 (58.00)	102 (66.67)	
女	42 (42.00)	51 (33.33)	
BMI (kg/m^2)	22.53 (3.43)	22.50 (3.34)	0.95
TDAV (cm)	6.64 (3.90)	6.92 (3.81)	0.56
肿瘤分化			0.33
低	12 (12.00)	24 (15.69)	
中	43 (43.00)	52 (33.99)	
高	45 (45.00)	77 (50.33)	
T 分期			< 0.01
T ₁	16 (16.00)	1 (0.65)	
T ₂	23 (23.00)	25 (16.34)	
T ₃	49 (49.00)	91 (59.48)	
T ₄	12 (12.00)	36 (23.53)	
N 分期			0.05
N ₀	62 (62.00)	94 (61.44)	
N ₁	31 (31.00)	34 (22.22)	
N ₂	7 (7.00)	25 (16.34)	
TNM 分期			0.02
I	29 (29.00)	23 (15.03)	
II	32 (32.00)	66 (43.14)	
III	39 (39.00)	64 (41.83)	
血管侵犯			0.55
无	86 (86.00)	126 (82.35)	
有	14 (14.00)	27 (17.65)	
癌结节			0.88
无	82 (82.00)	123 (80.39)	
有	18 (18.00)	30 (19.61)	
神经侵犯			0.27
无	86 (86.00)	122 (79.74)	
有	14 (14.00)	31 (20.26)	
CEA (ng/ml)	2.93 (1.78, 4.90)	4.90 (2.39, 9.53)	< 0.01
N ($\times 10^9/L$)	3.50 (2.86, 4.51)	3.89 (2.92, 5.10)	0.09
L ($\times 10^9/L$)	1.55 (1.17, 1.91)	1.60 (1.23, 2.02)	0.21
M ($\times 10^9/L$)	0.38 (0.31, 0.48)	0.37 (0.29, 0.47)	0.92
PLT ($\times 10^9/L$)	202.97 (65.53)	215.35 (68.16)	0.15
NLR	2.41 (1.71, 3.20)	2.24 (1.67, 3.42)	0.87
PLR	133.12 (102.46, 169.80)	130.82 (101.89, 171.00)	0.78
LMR	4.15 (2.97, 5.69)	4.51 (3.08, 5.85)	0.45

表 2 连续变量与肿瘤直径关系的参数效应

变量	有效自由度	均方和	均方	F 值	P 值
s(年龄)	1	0.48	0.479 2	0.254 6	0.614 361
s(BMI)	1	0.05	0.049 5	0.026 3	0.871 326
s(TDAV)	1	0.46	0.456 9	0.242 8	0.622 706
s(CEA)	1	16.29	16.286 8	8.655 4	0.003 631
s(N)	1	0.03	0.031 4	0.016 7	0.897 389
s(L)	1	0.11	0.109 3	0.058 1	0.809 795
s(M)	1	1.88	1.879 4	0.998 8	0.318 767
s(PLT)	1	9.52	9.517 0	5.057 7	0.025 565
s(NLR)	1	14.30	14.301 5	7.600 4	0.006 354
s(PLR)	1	0.07	0.066 3	0.035 3	0.851 240
s(LMR)	1	0.86	0.862 2	0.458 2	0.499 208

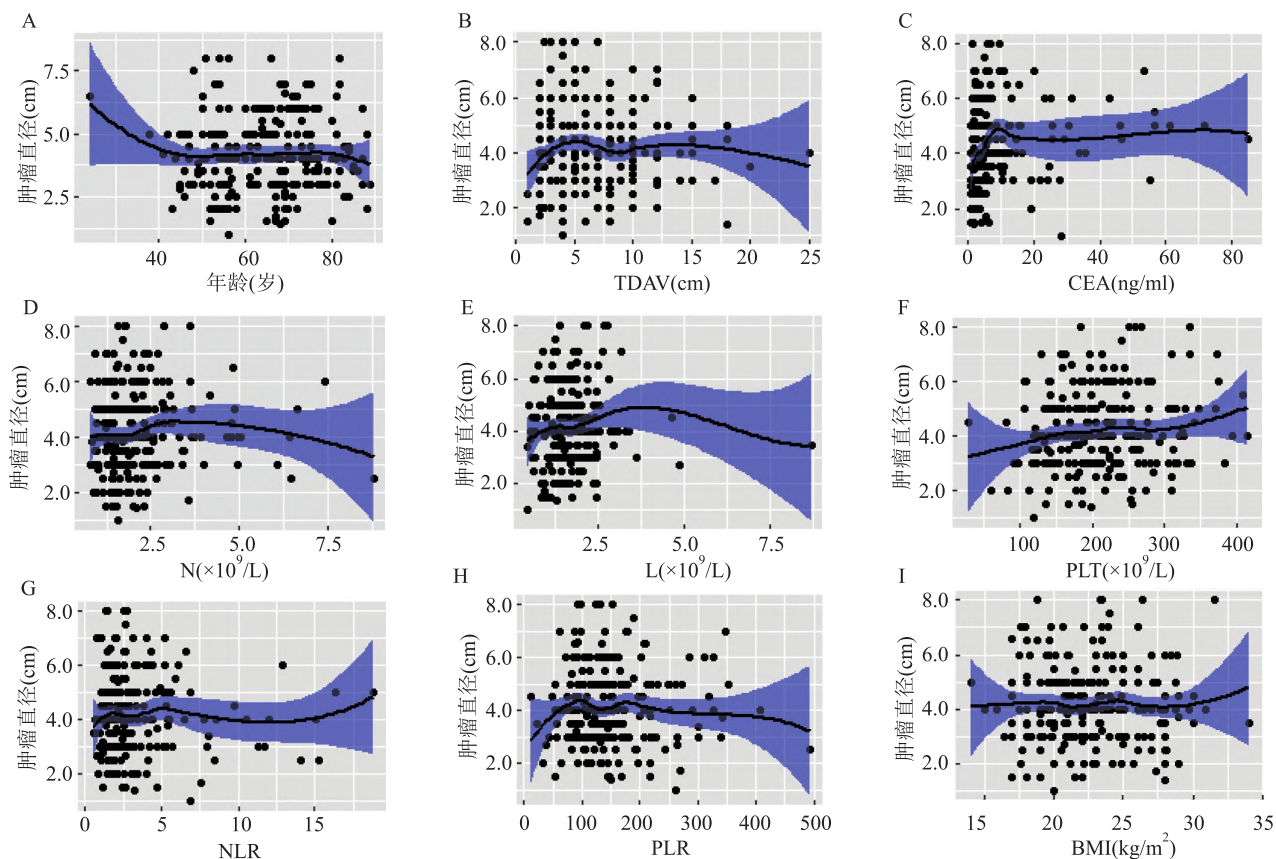


图1 相关因素影响直肠癌肿瘤直径的 LOWESS 分析

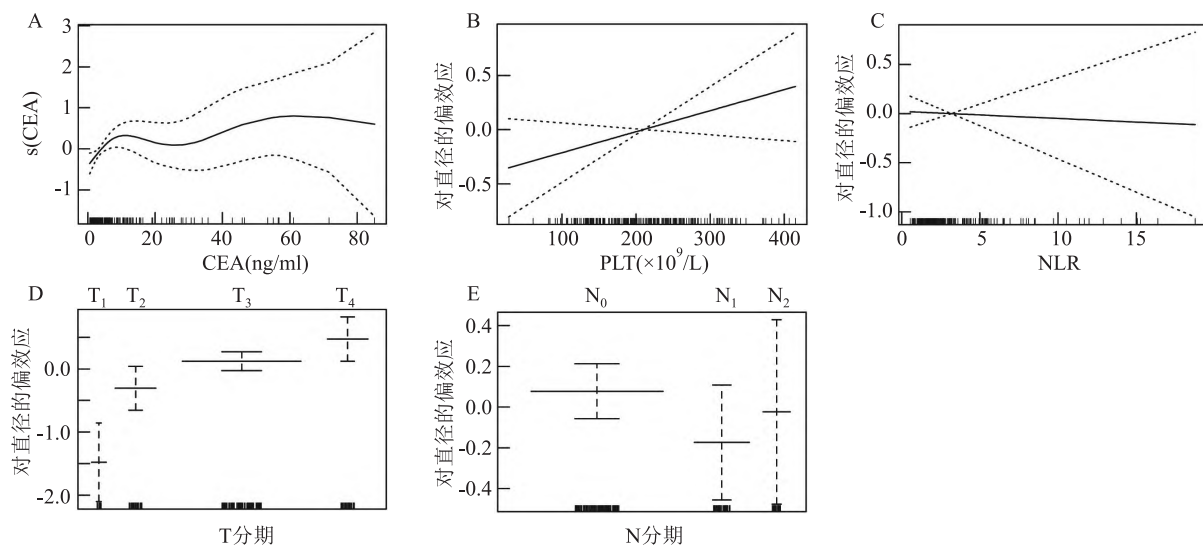


图2 相关因素影响直肠癌肿瘤直径的 GAM 分析

表3 相关变量对肿瘤直径影响的参数检验

变量	有效自由度	均方和	均方	F 值	P 值
s(CEA)	1	14.45	14.449 5	8.477 1	0.003 934
PLT	1	7.38	7.377 9	4.328 4	0.038 539
NLR	1	0.37	0.374 4	0.219 6	0.639 736
T 分期	3	49.81	16.603 2	9.740 6	0.000 004
N 分期	2	2.79	1.395 1	0.818 4	0.443 450

研究。本研究首次应用 LOWESS 和 GAM 方法,分析了直肠肿瘤直径的关联因素,综合运用了不同方法的优势,结果更加可靠,目前尚未见文献报道。本研究发现,直肠癌患者的肿瘤直径增大与 T 分期较晚、CEA 值增加、PLT 增加有关。

本组资料中,随着直肠肿瘤 T 分期的增加,肿瘤直径增大,单因素分析与调整混杂因素的 GAM 分析的结果一致。随着肿瘤的增大,其侵犯的层次越深,逐步向黏膜下、肌层、浆膜层和浆膜外侵犯^[11],此外,局部进展期的直肠癌大多可侵犯直肠系膜的筋膜层^[12]。因此,直肠癌的肿瘤直径与 T 分期增加相关。

本研究发现,直肠癌肿瘤直径增大与 CEA 值存在非线性关联,随着 CEA 值的增加,肿瘤直径有二次增大趋势。CEA 由肿瘤细胞生成,CEA 增加可间接反映肿瘤细胞的活跃状态,与结直肠癌的进展和复发密切相关,手术切除肿瘤后,CEA 有下降趋势。肿瘤增大后癌细胞缺氧,线粒体 DNA 损伤,活性氧浓度降低,与血液中的 CEA 水平升高有关^[13],因此,肿瘤直径在一定范围内增加,会增加 CEA 的水平。本组资料显示,CEA 增加到 15 ng/ml 和 60 ng/ml 时,对肿瘤直径的影响达到了饱和,可能与肿瘤直径达到一定程度后,中央的癌组织因为缺血等原因发生坏死,导致 CEA 表达下降有关。CEA 对直肠癌肿瘤直径影响的阈值和饱和效应,是进一步研究的方向。

本组资料显示,PLT 增加与肿瘤直径增加存在正向关联。肿瘤与炎症有关,Suner et al^[14]报道,在肝癌患者,PLR 增大与最大肿瘤直径增加有关。血小板源生长因子 α 表达与直肠癌的肿瘤直径有关。因此,外周血中的 PLT 数量增加,可能通过分泌血小板源生长因子 α ,影响直肠肿瘤直径,是进一步研究的方向。

肿瘤直径指标存在一定的局限性,用三维重建技术测量肿瘤大小,分析其影响因素是未来的研究方向。增加样本量,行不同分期的亚组分析,对肿瘤直径进行多个分割点的分类分析、进行匹配的病例对照研究,也是未来的研究方向。

综上所述,直肠癌的肿瘤直径与 CEA 水平存在非线性关联,并存在饱和效应,与 T 分期和 PLT 计数均存在正向的关联关系,为直肠癌肿瘤直径关联因素的研究提供了基础。

参考文献

[1] Yang Y, Wang H Y, Chen Y K, et al. Current status of surgical treatment of rectal cancer in china [J]. Chin Med J (Engl),

2020,133(22):2703-11.
 [2] 顾晋. 局部晚期结直肠癌的治疗不能轻易放弃外科手术[J]. 中华胃肠外科杂志,2018,21(3):241-5.
 [3] Ji D, Song C, Li Y, et al. Combination of radiotherapy and suppression of tregs enhances abscopal antitumor effect and inhibits metastasis in rectal cancer [J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(2): e000826.
 [4] 李旭升, 程彦, 汪圣毅. 经肛途径全直肠系膜切除术并发症及其疗效[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(7): 1892-6.
 [5] 张冬冬, 汪圣毅, 李永翔. 直肠癌预后影响因素的 cox 回归及其剂量反应关系[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(11): 1811-6.
 [6] Lapumnuaypol K, Mahmood E, Chaiwatcharayut W, et al. Colorectal cancer in young african americans: clinical characteristics and presentations [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2018, 30(10): 1137-42.
 [7] 袁丽侠, 郭剑, 张玲, 等. 结直肠癌患者血清 GDF-15、LAMB1、ULBP2 水平与临床病理特征和预后的关系及其诊断价值[J]. 海南医学, 2021, 32(19): 2480-3.
 [8] Liang W, He J, Shen Y, et al. Impact of examined lymph node count on precise staging and long-term survival of resected non-small-cell lung cancer: a population study of the us seer database and a chinese multi-institutional registry [J]. J Clin Oncol, 2017, 35(11): 1162-70.
 [9] De Foy B, Heo J, Kang J Y, et al. Source attribution of air pollution using a generalized additive model and particle trajectory clusters [J]. Sci Total Environ, 2021, 780: 146458.
 [10] Fernandez L M, São Julião G P, Figueiredo N L, et al. Conditional recurrence-free survival of clinical complete responders managed by watch and wait after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer in the international watch & wait database: a retrospective, international, multicentre registry study [J]. Lancet Oncol, 2021, 22(1): 43-50.
 [11] Shiraishi T, Ogawa H, Kumasaka S, et al. Comparison of risk factors for locally advanced lower rectal cancer recurrence evaluated by magnetic resonance imaging and pathological factors analysed by longitudinal slicing method [J]. Anticancer Res, 2021, 41(6): 3169-78.
 [12] 李雪萍, 李晓婷, 孙瑞佳, 等. 直肠系膜筋膜状态及新辅助治疗后变化对局部进展期直肠癌患者预后的影响[J]. 中华放射学杂志, 2021, 55(11): 1128-34.
 [13] Bousquet P A, Meltzer S, Sønstevedt L, et al. Markers of mitochondrial metabolism in tumor hypoxia, systemic inflammation, and adverse outcome of rectal cancer [J]. Transl Oncol, 2019, 12(1): 76-83.
 [14] Suner A, Carr B I. Platelet-to-lymphocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios predict tumor size and survival in HCC patients: retrospective study [J]. Ann Med Surg (Lond), 2020, 58: 167-71.

The influential factors on tumor diameters in rectal cancer analyzed with generalized additive model

Xu Long, Wang Shengyi, Zhang Zhen

(Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the influential factors on tumor diameters in rectal cancer. **Methods** Cross sectional study data were collected from patients undergoing radical resection of rectal cancer. Patients were grouped by median value of tumor diameter, and the clinical pathological characteristics were compared between the two groups. The associations between tumor diameter and continuous variables were analyzed using locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) method. The associating factors of tumor diameter were further analyzed using generalized additive model (GAM). **Results** Patients with rectal cancer were divided into two groups with tumor diameter either < 4 centimeters or ≥ 4 centimeters. Proportions of T, TNM stages differed significantly between different groups. Median carcinoembryonic antigen (CEA) in ≥ 4 centimeters group were 4.90 ng/ml (inter-quartile range [IQR] 2.39, 9.53 ng/ml), much higher than that in < 4 centimeters group (2.93 ng/ml [IQR: 1.78, 4.90 ng/ml]), $P < 0.01$. LOWESS analysis showed that there were non-linear relationships between tumor diameter and the following variables: age, the distance between tumor and anal verge, CEA, neutrophils, lymphocytes, platelets, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and platelet-to-lymphocyte ratio. GAM showed that increased blood platelets ($P < 0.05$) and later T stage ($P < 0.01$) were significantly associated with increased tumor diameters, and increased CEA levels were also associated with larger tumors ($P < 0.01$), but there were saturation effects. **Conclusion** Platelets, T stage and CEA are associated with tumor diameter in rectal cancer, indicating that the above factors should be considered when studying associated factors of tumor diameter in rectal cancer.

Key words rectal neoplasms; tumor diameter; generalized additive model; locally weighted scatterplot smoothing; carcinoembryonic antigen; blood platelets; T stage

(上接第 1493 页)

Study on the correlation between B7-H3 and acquired drug resistance of EGFR-TKI targeted therapy in lung adenocarcinoma

Yang Ying¹, Ding Meng², Tang Wei¹, Liu Huanhuan¹, Fan Xingyu¹, Chen Liwen¹

(¹Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

²Dept of Clinical Laboratory, Nanjing Hospital affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023)

Abstract Objective To investigate the correlation between co-signaling molecule B7-H3 and epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) target therapy in acquired drug resistance of lung adenocarcinoma. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect B7-H3 expression in 56 lung adenocarcinoma patients, and the cohort was divided into low and high B7-H3 expression groups. The proportion and occurrence time of acquired drug resistance after EGFR-TKI targeted therapy were compared between the two groups. Gefitinib-resistant EGFR mutant lung adenocarcinoma cell lines H3255 and HCC827 were induced and cultured in vitro. The wild-type cell lines were used as control, and the expression level of B7-H3 on resistant cell lines B7-H3 was analyzed by flow cytometry. **Results** In 56 lung adenocarcinoma patients, 31 cases and 25 cases had low and high B7-H3 expression, respectively. By the end of this study, the cases of acquired drug resistance in patients with low and high B7-H3 expression were 12 cases (38.7%) and 14 cases (56.0%) ($P = 0.19$, $\chi^2 = 1.663$), and the median drug resistance time was 13.2 months and 5.1 months ($P = 0.004$, $t = 3.193$), respectively. Compared with wild-type H3255 and HCC827 cell lines, the expression level of drug-resistant strain B7-H3 further increased. **Conclusion** B7-H3 expression level is correlated with acquired drug resistance of EGFR-TKI targeted therapy in lung adenocarcinoma.

Key words non-small cell lung cancer; adenocarcinoma; EGFR-TKI; B7-H3; drug resistance