

Toll 样受体 4、肝细胞生长因子水平 对肝细胞癌患者切除术后预后的影响

何清¹, 李阳², 邓盼盼¹, 缪宇飞¹, 姜里航¹

(1. 中国人民解放军联勤保障部队第 904 医院 检验科, 江苏 无锡, 214000;

2. 江苏省无锡市中医医院 检验科, 江苏 无锡, 214000)

摘要: **目的** 探讨术前血清 Toll 样受体 4 (TLR4)、肝细胞生长因子 (HGF) 表达水平对肝细胞癌患者切除术后预后的影响。**方法** 选取 78 例肝细胞癌患者作为研究对象, 均接受肝细胞癌切除术治疗并随访 1 年, 依据随访 1 年时预后情况 (带瘤生存或无瘤生存) 将患者分为预后不良组与预后良好组。记录并比较 2 组患者的基线资料, 术前检测患者的血清 TLR4、HGF 水平, 并分析术前血清 TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者肝细胞癌切除术后预后的影响。**结果** 随访 1 年时, 预后不良患者 16 例, 占 20.51% (16/78); 预后不良患者血清甲胎蛋白 (AFP)、 α -L-岩藻糖苷酶 (AFU)、TLR4、HGF 水平均高于预后良好组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 2 组基线资料及其他实验室指标水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 术前血清 AFP、AFU、TLR4 和 HGF 高水平是肝细胞癌患者术后预后不良的危险因素 ($OR > 1, P < 0.05$); 受试者工作特征曲线显示, 术前血清 TLR4、HGF 水平单独及联合检测预测肝细胞癌患者术后预后的曲线下面积均 > 0.70 , 具有一定的预测价值; TLR4、HGF 的 cut-off 值分别取 13.629、0.608 ng/mL 时, 可获得最佳预测价值。**结论** 肝细胞癌患者肝细胞癌切除术后预后可能受术前血清 TLR4、HGF 水平的影响。

关键词: 肝细胞癌; 肝细胞癌切除术; Toll 样受体; 肝细胞生长因子

中图分类号: R 735.7; R 730.56 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)24-043-05 DOI: 10.7619/jcmp.20212710

Effects of Toll like receptor 4 and hepatocyte growth factor expression levels on prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after radical resection

HE Qing¹, LI Yang², DENG Panpan¹, MIAO Yufei¹, JIANG Lihang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the 904th Hospital of Joint Support Force the Chinese People's

Liberation Army, Wuxi, Jiangsu, 214000; 2. Department of Clinical Laboratory, Wuxi Hospital

of Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province, Wuxi, Jiangsu, 214000)

Abstract: **Objective** To explore effects of serum Toll like receptor 4 (TLR4) and hepatocyte growth factor (HGF) expression levels on prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after radical resection. **Methods** A total of 78 patients with hepatocellular carcinoma were selected as research subjects, and all received hepatocellular carcinoma resection and were followed up for 1 year. The patients were divided into poor prognosis group and good prognosis group according to the prognosis of patients at 1 year of follow-up (according to the conditions of patients surviving with or without tumors). The baseline data questionnaire of patients was recorded and compared. Serum TLR4 and HGF levels of patients were detected before surgery, and the effects of serum TLR4 and HGF levels on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatocellular carcinoma resection were analyzed. **Results** At one year of follow-up after liver radical resection, 16 patients had poor prognosis, accounting for 20.51% (16/78); the serum levels of Serum alpha-fetoprotein (AFP), α -L-fucosidase (AFU), TLR4 and HGF of patients in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group ($P < 0.05$); there were no significant differences in baseline data and other

laboratory indicators between the two groups ($P > 0.05$); Logistic regression analysis results showed that high preoperative serum levels of AFP, AFU, TLR4 and HGF were risk factors for poor prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after liver radical resection ($OR > 1, P < 0.05$); the receiver operating characteristic curve showed that the AUC of preoperative serum levels of TLR4 and HGF alone and their combination in predicting the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after liver radical resection were all over 0.70, which had certain predictive value; when the cut-off values of each index were 13.629 ng/mL and 0.608 ng/mL respectively, the best predictive value could be obtained. **Conclusion** The prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after liver radical resection may be affected by the preoperative serum levels of TLR4 and HGF.

Key words: hepatocellular carcinoma; liver radical resection; Toll like receptor; hepatocyte growth factor

手术是治疗早期肝细胞癌的重要手段,可较大程度地提高肝细胞癌病灶根治性清除率,提升患者术后5年生存率^[1]。但由于肝细胞癌发展迅速,患者术后仍有肿瘤复发、转移风险,预后较差^[2]。因此,分析与肝细胞癌患者术后预后有关的指标并采取相应治疗措施,对于减少肿瘤复发、转移和提高患者无瘤生存率具有重要的临床意义。Toll样受体4(TLR4)可介导多种信号通路,介导肿瘤细胞免疫逃逸的发生,进而增强肿瘤细胞侵袭能力,增加肿瘤复发、转移风险^[3]。肝细胞生长因子(HGF)可促进细胞分裂,增强上皮细胞侵袭、迁移能力,已被研究^[4]证实多种恶性肿瘤的发生、进展中发挥重要作用。本研究观察肝细胞癌患者术前血清TLR4、HGF水平,并分析其与肝细胞癌患者肝细胞癌切除术后预后的关系,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年4月—2020年4月联勤保障部队第904医院和无锡市中医医院收治的78例肝细胞癌患者作为研究对象。纳入标准:①肝细胞癌的诊断符合《外科学》^[5]中相关诊断标准者;②接受肝细胞癌切除术治疗者;③经术后病理检查明确诊断,且肿瘤TNM分期^[6]为Ⅱ~Ⅲ期者。排除标准:①肿瘤直径>5 cm的大肝癌与巨大肝癌;②术前及术后接受放疗治疗者;③合并呼吸系统、泌尿系统等其他恶性肿瘤者;④既往有其他器官移植手术史者;⑤术前1周内接受过抗生素或微生态制剂治疗者;⑥随访期间死亡者。78例患者中,男66例,女12例;年龄45~56岁,平均51.50(49.00, 54.00)岁;合并

高血压病14例,合并糖尿病7例;有大量饮酒史者47例。本研究经医院伦理委员会审批,且患者家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 手术治疗:所有患者完善相关检查后,接受肝细胞癌切除术。

1.2.2 基线资料收集:设计患者基线资料调查表,内容包括年龄、性别、合并疾病[高血压病(收缩压 ≥ 140 mmHg或/和舒张压 ≥ 90 mmHg)、糖尿病(随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L或空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L)]、大量饮酒史(男性 > 40 g/d,女性 > 20 g/d,超过5年;或2周内饮酒量达80 g)、病灶最大径(根据术前影像学检查结果评估)、TNM分期(根据术后病理检查明确分期为Ⅱ期或Ⅲ期)、手术时间和术中出血量。

1.2.3 实验室指标检测:术前采集患者空腹静脉血5 mL,离心15 min(离心半径10 cm,转速3 000转/min),留取血清待检。①采用生化分析仪测定血清肝功能指标[谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)]水平;②采用电化学发光法测定血清肿瘤标志物[甲胎蛋白(AFP)、 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)]水平;③采用酶联免疫吸附法测定血清TLR4、HGF水平,酶联免疫试剂盒购自卡迈舒(上海)生物科技有限公司。

1.3 预后评估及分组

所有肝细胞癌患者术后均接受为期1年的随访,并于术后3、6、9、12个月时到院复诊。记录患者随访期间复发、转移情况;每次复诊时对存活患者首先生化检查、影像学检查,对存在异常情况者行超声引导下肝穿刺组织活检,明确复发、转移情况;根据带瘤生存或无瘤生存判断预后,将患者分为预后不良组和预后良好组。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计学软件处理数据。采用 Shapiro-Wilk 检验进行计量资料的正常性检验,符合正态分布以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行独立样本 t 检验,偏态分布的计量资料以 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,比较采用 χ^2 检验;等级资料采用秩和检验。采用 Logistic 回归分析探讨 TNM 分期和术前血清 AFP、AFU、TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者术后预后的影响;绘制受试者工作特征(ROC)曲线,并计算曲线下面积(AUC),分析术前血清 TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者术后预后不良的预测价值,AUC < 0.5 为无价值,

0.5 ~ < 0.7 为价值较低,0.7 ~ 0.9 为价值中等,>0.9 为价值高。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 预后情况

随访至术后 1 年时,78 例肝细胞癌患者中,预后不良者 16 例(占 20.51%)。

2.2 基线资料、实验室指标比较

预后不良组患者术前血清 AFP、AFU、TLR4、HGF 水平均高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$);2 组基线资料和其他实验室指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组患者基线资料和实验室指标结果比较 $(\bar{x} \pm s)$ $[n(\%)]$ $[M(P_{25}, P_{75})]$

指标	预后不良组($n=16$)	预后良好组($n=62$)	$\chi^2/t/Z/U$	P
年龄/岁	52.00(49.00, 55.00)	51.00(49.00, 53.50)	0.702	0.483
性别				
男	15(93.75)	51(82.26)	0.558	0.455
女	1(6.25)	11(17.74)		
高血压病				
有	4(25.00)	10(16.13)	0.211	0.646
无	12(75.00)	52(83.87)		
糖尿病				
有	3(18.75)	4(6.45)	1.090	0.297
无	13(81.25)	58(93.55)		
大量饮酒史				
有	11(68.75)	36(58.06)	0.606	0.436
无	5(31.25)	26(41.94)		
病灶最大径/cm	3.00 ± 0.55	3.24 ± 1.10	0.793	0.428
TNM 分期				
II 期	5(31.25)	38(61.29)	1.876	0.061
III 期	11(68.75)	24(38.71)		
手术时间/h	10.00 ± 2.30	9.38 ± 2.34	0.826	0.409
术中出血量/mL	1 256.00(1 163.50, 1 297.00)	1 310.00(1 232.00, 1 393.00)	1.395	0.163
ALT/(U/L)	77.17 ± 4.65	76.81 ± 4.65	0.260	0.795
AST/(U/L)	58.74 ± 3.55	58.36 ± 3.66	0.368	0.713
AFP/(ng/mL)	513.60 ± 48.16	438.21 ± 58.83	3.924	<0.001
AFU/(μ mol/L)	526.65 ± 52.79	487.73 ± 43.67	2.371	0.018
TLR4/(ng/mL)	15.72 ± 3.48	11.66 ± 2.75	3.693	<0.001
HGF/(ng/mL)	0.68 ± 0.19	0.46 ± 0.16	3.766	<0.001

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; AFP: 甲胎蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶; TLR4: Toll 样受体 4; HGF: 肝细胞生长因子。

2.3 肝细胞癌患者术后预后的影响因素分析

将肝细胞癌患者术后预后情况作为因变量(1 = 预后不良, 0 = 预后良好),将单因素 Logistics 回归分析后组间差异有统计学意义的指标作为自变量(P 值放宽至 < 0.10),进行多因素 Logistics 回归分析,自变量类型与赋值情况见表 2。多因素 Logistics 回归分析结果显示,术前血清 AFP、AFU、TLR4 和 HGF 高水平是肝细胞癌患者术后预后不良的危险因素($OR > 1, P < 0.05$)。见表 3。

2.4 术前血清 TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者术后预后的预测价值

将术前血清 TLR4、HGF 水平单独及联合检测作为检验变量,将肝细胞癌患者术后预后情况

作为状态变量(1 = 预后不良, 0 = 预后良好),绘制 ROC 曲线,见图 1。结果显示,术前血清 TLR4、HGF 水平单独检测及联合检测预测肝细胞癌患者术后预后的 AUC 均 > 0.70,具有一定的预测价值。见表 4。

表 2 自变量类型与赋值情况

自变量	变量类型	赋值
TNM 分期	分类变量	1 = III 期, 0 = II 期
AFP	连续变量	-
AFU	连续变量	-
TLR4	连续变量	-
HGF	连续变量	-

AFP: 甲胎蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶;

TLR4: Toll 样受体 4; HGF: 肝细胞生长因子。

表 3 前血清 TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者术后预后影响的回归分析

相关因素	β	标准误	Wald	P	OR	95% 置信区间
TNM 分期	1.510	1.191	1.607	0.205	4.526	0.438 ~ 46.724
AFP	0.026	0.012	4.690	0.030	1.026	1.002 ~ 1.050
AFU	0.022	0.011	4.007	0.045	1.022	1.000 ~ 1.043
TLR4	0.472	0.230	4.213	0.040	1.603	1.022 ~ 2.515
HGF	8.054	3.834	4.412	0.036	3 146.129	1.713 ~ 5 776 642.632
常量	-36.585	9.840	13.823	<0.001	-	-

AFP: 甲胎蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶; TLR4: Toll 样受体 4; HGF: 肝细胞生长因子。

表 4 术前血清 TLR4、HGF 单独及联合对肝细胞癌患者术后预后的预测价值

项目	AUC	cut-off 值	AUC 的 95% 置信区间	P	特异度	敏感度	约登指数
TLR4	0.808	13.629 ng/mL	0.672 ~ 0.945	<0.001	0.762	0.733	0.495
HGF	0.814	0.608 ng/mL	0.676 ~ 0.953	<0.001	0.857	0.800	0.657
联合	0.822	-	0.691 ~ 0.953	<0.001	0.794	0.800	0.594

TLR4: Toll 样受体 4; HGF: 肝细胞生长因子; AUC: 曲线下面积。

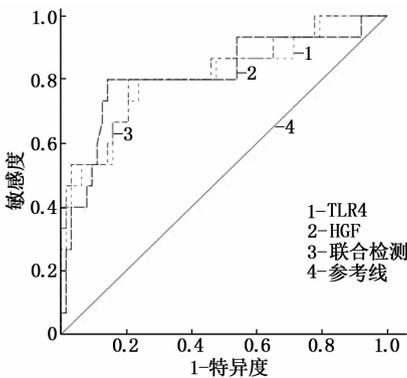


图 1 术前血清 TLR4、HGF 单独及联合预测肝细胞癌患者术后预后的 ROC 曲线

后预后的评估准确性。

TLR4 为 I 型跨膜糖蛋白,可激活细胞内级联分子信号通路,并激活多种与肿瘤相关的信号分子,进而影响肿瘤细胞抵抗淋巴细胞的能力,造成免疫逃逸^[11]。相关研究^[12]指出, HGF 可促进癌细胞向周围组织及血管内迁移,是评估肝细胞癌患者预后的重要指标。基于此,作者推测术前血清 TLR4、HGF 水平可能与肝细胞癌患者术后预后有关。本研究结果显示,预后不良组患者术前血清 TLR4、HGF 水平显著高于预后良好组,初步推测血清 TLR4、HGF 水平与肝细胞癌患者术后预后不良有关,进一步行回归分析发现,术前血清 TLR4、HGF 高水平可能是肝细胞癌患者术后预后不良的危险因素。分析可能原因, TLR4 水平升高可激活活化蛋白 1、核因子- κ B 等转录因子,促进肿瘤细胞增殖,导致术后肿瘤复发、转移^[13]。此外, TLR4 异常表达可通过识别病原相关分子模式,导致信号传导被激活,引起肝脏中趋化因子、炎性因子水平升高,进而加重肝纤维化程度,增加肝细胞癌术后复发风险^[14-16]。HGF 水平升高可刺激肝癌细胞 DNA 的合成,导致肝癌细胞数量增加,并诱导上皮间质转化,促进癌细胞转移、浸润周围组织,增加患者肝细胞癌术后复发风险^[17]。同时, HGF 异常升高后与 HGF 受体结合可导致组织内基质金属蛋白酶水平升高,促使细胞外基质降解,导致肝癌细胞增殖、侵袭及抑制凋亡的能力增强,进而增加术后复发、转移风险^[18]。此外, HGF 还能通过自分泌途径增强肝脏血管内皮细胞增殖,促使恶性肿瘤新生血管形成,引起术后肿瘤复发、转移,增高患者术后带瘤生存率^[19-21]。

3 讨论

肝切除术虽能解决肝硬化、肝癌等肝实质病变问题,但由于肿瘤细胞术前或术中发生微小转移、病灶残留、新生肿瘤及免疫状态异常等,肝细胞癌患者术后肿瘤复发、转移情况较为常见,不利于预后^[7-8]。本研究 78 例肝细胞癌患者中,术后预后不良者 16 例,占 20.51%,说明肝细胞癌患者术后复发风险较高。因此,分析肝细胞癌患者预后不良的影响因素并采取有效的治疗方案,对于改善患者预后意义重大。

AFP 水平持续升高可抑制树突细胞成熟,导致树突细胞抗原递呈能力下降,进而引起肿瘤细胞免疫逃逸,有研究^[9]称 AFP 与肝细胞的发生、发展密切相关。AFU 为溶酶体酸性水解酶,在肝癌患者中呈异常升高,已被临床应用于低水平 AFP 的原发性肝癌诊断中^[10]。但 AFP、AFU 在肝硬化、急慢性肝炎及其他恶性肿瘤患者体内均可呈异常升高,影响了对肝细胞癌患者肝细胞癌术

本研究 ROC 曲线结果显示,术前血清 TLR4、HGF 水平单独及联合预测肝细胞癌患者术后预后的 AUC 均 > 0.70, 具有一定的预测价值;当 TLR4、HGF 的 cut-off 值分别取 13.629、0.608 ng/mL 时,可获得最佳预测价值。由此说明,术前血清 TLR4、HGF 水平不仅与肝细胞癌患者术后预后有关,还可能是肝细胞癌患者术后预后不良的风险因子。因此,临床可考虑在肝细胞癌早期对患者血清 TLR4、HGF 水平进行检测,水平异常升高的患者可采用靶向药物、免疫制剂等治疗或联用中药制剂,降低血清 TLR4、HGF 水平,从而有利于抑制肿瘤细胞生长,减少术后肿瘤复发、转移,延长患者无瘤生存期,改善患者预后。

综上所述,肝细胞癌患者术后预后不良可能与术前血清 TLR4、HGF 水平高有关。术前血清 TLR4、HGF 水平对肝细胞癌患者术后预后具有一定预测价值,临床应早期检测并采取相应治疗措施,从而改善患者预后。

参考文献

- [1] RODRÍGUEZ-PERÁLVAREZ M, CRESPO G, MAIRA T D, *et al.* Incidence and prognostic impact of cancer after liver transplantation[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 276-277.
- [2] 吕少诚, 潘冰, 李立新, 等. 原发性肝癌肝移植患者预后评价及相关影响因素分析[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2019, 25(7): 493-496.
- [3] KUSUHARA Y, DAIZUMOTO K, KAWAI K, *et al.* Low expression of toll-like receptor 4 is associated with poor prognosis in bladder cancer[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(2): 703-711.
- [4] 李建华, 韩玲. 血清 HGF、CA199、CA724 联合检测在胆管癌诊断及复发预测中的价值[J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(5): 745-748.
- [5] 陈孝平, 汪建平, 赵继宗. *外科学*[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 418-420.
- [6] 贾户亮, 钦伦秀. 肝细胞癌术后复发的预测与预防策略[J]. *中华肝脏病杂志*, 2016, 24(5): 330-334.
- [7] LAI Q, VITALE A, IESARI S, *et al.* Intention-to-treat survival benefit of liver transplantation in patients with hepatocellular cancer[J]. *Hepatology*, 2017, 66(6): 1910-1919.
- [8] 张达利, 冯丹妮, 张利娟, 等. 肝细胞癌患者肝移植术后复发的危险因素及预后分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(9): 1985-1989.
- [9] 郁森, 秦兵, 胡道军, 等. 血清甲胎蛋白、高尔基体蛋白 73、 α -L-岩藻糖苷酶、血清铁蛋白联合检测在原发性肝癌早期诊断中的价值[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(20): 37-39, 43.
- [10] BONIN S, PARASCANDOLO A, AVERSA C, *et al.* Reduced expression of α -L-Fucosidase-1 (FUCA-1) predicts recurrence and shorter cancer specific survival in luminal B LN+ breast cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(20): 15228-15238.
- [11] 周东晓, 马英杰, 杨丽, 等. Toll 样受体 4 在乙型肝炎相关性肝癌患者外周血 CD14⁺ 单核细胞表面的表达及意义[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(4): 143-146.
- [12] 万波, 母齐鸣, 贺伟. 肝细胞癌术后血清 AFP、CA19-9、HGF 水平对预后状况的影响[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(1): 114-117.
- [13] 刘开才, 吕维富, 周春泽, 等. 肝细胞肝癌肝动脉化学栓塞术后血清脂多糖、toll 样受体 4 和肠道微生态改变[J]. *中华消化杂志*, 2018, 38(11): 780-782.
- [14] 洪淑贞, 梁海英, 黄彩彩. 高迁移率族蛋白 B1 和 toll 样受体 4 在宫颈组织中的表达及相关性分析[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(6): 1379-1382.
- [15] 王敬, 陈冠男, 吕琪, 等. 高迁移率族蛋白 B1、Toll 样受体 4 在脓毒症大鼠心肌组织中表达及意义[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(12): 2962-2964.
- [16] 孙雪东, 严一核, 褚韦韦, 等. 高迁移率族蛋白 B1/Toll 样受体 4 信号通路在脓毒症大鼠致急性肺损伤中的作用研究[J]. *中华危重症医学杂志: 电子版*, 2020, 13(6): 419-426.
- [17] KATAOKA H, KAWAGUCHI M, FUKUSHIMA T, *et al.* Hepatocyte growth factor activator inhibitors (HAI-1 and HAI-2): Emerging key players in epithelial integrity and cancer[J]. *Pathol Int*, 2018, 68(3): 145-158.
- [18] MATSUMOTO K, UMITSU M, DE SILVA D M, *et al.* Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(3): 296-307.
- [19] 庄晓苹, 林琼琼, 季剑乐, 等. 乳腺癌中 SyK、HGF 表达的相关性及预后的关系[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(5): 126-129.
- [20] 庄晓苹, 谭晓, 朱暉, 等. SyK 和 HGF 在乳腺癌中表达及临床意义[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(11): 145-148.
- [21] 虞小亭, 刘正人, 谢熠, 等. 肝细胞生长因子在乳腺癌新辅助化疗前后的变化及其临床意义[J]. *中华普外科手术学杂志: 电子版*, 2021, 15(3): 306-309.

(本文编辑: 陆文娟)