

第二军医大学

硕士学位论文

血小板增多与非小细胞肺癌关系的初步研究

姓名：喻超

申请学位级别：硕士

专业：内科学（呼吸系病）

指导教师：李强;王昌惠

20090501

血小板增多与非小细胞肺癌关系的初步研究

(摘要)

原发性肺癌是导致死亡最常见的恶性肿瘤，其中约 80%是非小细胞肺癌（NSCLC）。近年来研究发现，包括肺癌、胃肠癌、肾癌、卵巢癌在内的多种恶性肿瘤常伴有血小板增多，其比率约 10%~60%，在原发性肺癌约 10%~32%，并且伴有血小板增多的恶性肿瘤预后较差。目前国内对这一领域的研究很少。

一、研究目的

初步探讨血小板增多与 NSCLC 在临床病理特征、预后、远处转移、血栓事件以及含铂类化疗等方面的关系。

二、材料与方法

对 2003 年 7 月至 2006 年 4 月在第二军医大学附属长海医院经组织病理学确诊的 758 例 NSCLC 住院患者，剔除合并其他肿瘤、血液系统疾病、风湿性疾病、急慢性感染性疾病、慢性炎症性疾病等的病例后，筛选出临床资料较齐全的 523 例，电话随访生存期及远处转移、血栓事件的发生情况，共随访到 308 例。剔除失访的 215 例后，以初诊时血小板计数为准，将 308 例 NSCLC 分为血小板增多组和血小板不增多组，应用 SPSS13.0 软件进行统计分析。组间计数资料和率的比较采用 χ^2 检验，生存分析采用 Cox 比例风险模型前进法、Kaplan-Meier 法、生命表法，两组间生存率的比较采用 Log-Rank χ^2 检验。分析因变量为二分类变量的相关因素时，采用二分类 Logistic 回归模型前进法逐步分析。 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

三、结果

（一）一般情况

在入选的 308 例 NSCLC，一般情况如下：

- 1、年龄：59.6±10.3 岁。
- 2、性别：男性 213 例（69.2%），女性 95 例（30.8%），男：女为 2.2：1。
- 3、确诊方式：手术病理确诊 147 例（47.7%），经皮肺穿刺活检 96 例（31.2%），经支气管镜活检 65 例（21.1%）。
- 4、病理类型：腺癌 180 例（58.4%，包括细支气管肺泡癌 21 例，腺癌伴细支气

管肺泡癌成分 28 例), 鳞癌 120 例 (39.1%), 腺鳞癌 6 例 (1.9%), 大细胞癌 2 例 (0.6%)。

5、TNM 分期: I 期 71 例 (23.0%), II 期 32 例 (10.4%), IIIA 期 44 例 (14.3%), IIIB 期 49 例 (15.9%), IV 期 112 例 (36.4%)。

6、308 例 NSCLC 患者的 MST 为 94.0w (3.6-299.0), 一年生存率 76.0%, 三年生存率 31.5%。

7、308 例 NSCLC 患者初诊时的血小板计数: 平均 $(246.8 \pm 91.9) \times 10^9/L$, 低于正常 4 例 (1.3%), 正常 222 例 (72.1%), 高于正常 82 例 (26.6%)。在高于正常的 82 例 NSCLC 患者中, 轻度增高 ($300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$) 39 例 (47.6%), 中度增高 ($350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$) 26 例 (31.7%), 重度增高 ($\geq 400 \times 10^9/L$) 17 例 (20.7%)。

(二) 血小板增多与 NSCLC 临床分期及病理类型的关系

308 例 NSCLC 中, I、II、IIIA、IIIB、IV 期患者在初诊时发生血小板增多的例数依次为 9 例 (9/71, 12.7%)、9 例 (9/32, 28.1%)、11 例 (11/44, 25.0%)、16 例 (16/49, 32.7%)、37 例 (37/112, 33.0%), 血小板增多的比率与 TNM 分期存在线性相关关系 ($p < 0.05$), 提示 NSCLC 患者的 TNM 分期越晚, 血小板增多的比率越高。

308 例 NSCLC 中, 腺癌、鳞癌、腺鳞癌、大细胞癌患者在初诊时发生血小板增多的例数分别为: 45 例 (45/180, 25.0%)、34 例 (34/120, 28.3%)、1 例 (1/6, 16.7%)、2 例 (2/2, 100%), 比较血小板增多在各病理类型患者中发生的比率, 发现各组间差异无统计学意义 ($p > 0.05$), 提示血小板增多与 NSCLC 病理类型无关。

(三) 血小板增多与 NSCLC 预后的关系

在 308 例 NSCLC, 血小板增多组 (82 例) 和血小板不增多组 (226 例) 的 MST、一年生存率、三年生存率分别为 60.7w、57.3%、12.2% 和 111.6w、82.7%、38.5%, 两组间整体生存差异有统计学意义 ($p < 0.001$), 提示血小板增多的 NSCLC 患者的预后要差于血小板不增多的 NSCLC 患者的预后。

使用 Cox 模型分析 NSCLC 生存期的影响因素, 308 例中有 209 例进入分析, 结果发现初诊时血小板增多、PS 评分 ≥ 2 分、TNM 分期晚、分化程度低、低白蛋白血症、LDH 增高、血沉增快是总体生存时间 (OS) 的危险因素, 提示血小板增多是预测 NSCLC 患者预后差的因素。

(四) 血小板增多与 NSCLC 远处转移的关系

在 308 例 NSCLC, 常见的转移部位及患者例数从多到少依次为淋巴结 218 例 (70.8%)、骨 138 例 (44.8%)、肺 93 例 (30.2%)、脑 67 例 (21.8%)、肝 46 例 (14.9%)、肾上腺 11 例 (3.6%)、肾 5 例 (1.6%)。

在分析以上部位转移在血小板增多组和血小板不增多组的发生情况,并逐个比较它们的发生比率在两组间的差异后,发现只有骨转移与血小板增多有关。发生骨转移的患者在血小板增多组和血小板不增多组的例数分别为50例(50/82, 61.0%)和88例(88/226, 38.9%),比较两组间骨转移发生的比率,发现差异有统计学意义($p < 0.05$),提示血小板增多的患者发生骨转移的比率增高。病程中首次出现血小板增多的程度与骨转移的相关系数为0.336($p < 0.001$)。

(五) 血小板增多与NSCLC患者发生血栓事件的关系

随访期间,308例NSCLC患者共发生血栓事件15例(4.9%)。在15例发生血栓事件的患者中,有12例(12/15, 80.0%)在发生血栓事件的前后伴有血小板增多,占病程中血小板增多患者总数(131例)的9.2%(12/131),有3例(3/15, 20.0%)不伴血小板增多,占病程中血小板不增多患者总数(177例)的1.7%,比较血栓事件在病程中血小板增多组和病程中血小板不增多组的发生比率,两组间差异有统计学意义($p < 0.05$),提示血小板增多与血栓事件有关。

(六) 血小板增多与NSCLC含铂类化疗的关系

在308例NSCLC,有137例初始治疗采用含铂方案化疗,其中血小板增多的患者40例(29.2%),血小板不增多的患者97例(70.8%)。血小板增多组和血小板不增多组的中位PFS、ORR、DCR、MST分别为20.9w、12.5%、42.5%、49.6w和25.7w、32.0%、63.9%、94.7w,两组间除PFS外,ORR、DCR和OS差异有统计学意义($p < 0.05$),提示血小板增多的NSCLC对含铂方案化疗的疗效要差于血小板不增多的NSCLC对含铂方案化疗的的疗效。

四、结论

本研究回顾分析了308例NSCLC患者的临床资料,对血小板增多在NSCLC中的发生情况及其与肿瘤分期、临床病理特征、治疗和预后等方面的关系进行了统计学分析,得出如下结论:

1. 308例NSCLC中,26.6%的患者伴有血小板增多。
2. 在NSCLC,血小板增多与患者的TNM分期有关:TNM分期越晚,血小板增高的比率越大。
3. 与血小板不增多的NSCLC患者相比,血小板增多的NSCLC患者的预后差。
4. 在NSCLC,血小板增多与骨转移有关:血小板增多的患者发生骨转移的比率增高。
5. 308例NSCLC有15例患者发生血栓事件,其中80%伴有血小板增多,血小板增多与血栓事件有关。

6. 血小板增多的 NSCLC 对含铂方案化疗的疗效要差于血小板不增多的 NSCLC 对含铂方案化疗的的疗效。

关键词：血小板增多，非小细胞肺癌，预后，骨转移，血栓事件，化疗

Relationships between Thrombocytosis and Non-Small Cell Lung Cancer: a Preliminary Study

(Abstract)

Primary lung cancer is the leading cause of death in malignancis, in which about 85% is non-small cell lung cancer (NSCLC). Recently, several studies have reported that thrombocytosis is a concomitant in 10%~60% of overall malignancy patients and in 10%~32% of primary lung cancer patients approximately, which indicates poor prognosis. In this field the studies remain poor at present in China.

Objectives

To explore the relationships between thrombocytosis and non-small cell lung cancer at the points of clinicopathologic characteristics, prognosis, bone metastasis, thromboembolic events and platinum-based chemotherapy.

Material and methods

We selected 523 cases with relatively complete clinical records from 758 cases with NSCLC who were admitted to Changhai hospital in 2003.7~2006.4, after cxcluded the patitents with other cancers, hematological diseases, rheumatic diseases, acute or chronic infection, and chronic inflammation diseases. After the follow-up visit including survival and bone metastasis and thromboembolic events, 308 cases remained at last. We divided the 308 cases into two groups according the blood platelet count at diagnosis, and retrospectively analyzed the clinical records by statistics software SPSS13.0. For counting data and rate, chi-square was used. For survival analysis, Cox model, Kaplan-Meier, life table and Log-Rank χ^2 test are used. Binary Logistic regression model was used when we analyzed multiple factors of a binomial dependent variable. $p < 0.05$ as significant cutoff.

Results

1. General condition.

In 308 cases with NSCLC included, the general condition as follows:

A. Age: 59.6 ± 10.3 years old.

B. Gender: male 213 cases (9.2%), female 95 cases (30.8%), the ratio between male

and female is 2.2 : 1.

C. Diagnosis : postoperative 147 cases (47.7%), percutaneous lung puncture biopsy 96 cases (31.2%), bronchoscopic biopsy 65 cases (21.1%).

D. Histological types: adenocarcinoma 180 cases (58.4%) including bronchioalveolar carcinoma (BAC) 21 cases and adenocarcinoma with BAC component 28 cases, squamous carcinoma 120 cases (39.1%), adenosquamous carcinoma 6 cases (1.9%) and large cell carcinoma 2 cases(0.6%).

E. TNM stage: I 71 cases (23.0%), II 33 cases (10.7%), IIIA 43 cases (14.0%), IIIB 49 cases (15.9%) and IV 112 cases (36.4%).

F. In 308 NSCLC patients, the median survival time is 94.0w (3.6-299.0) , the survival rates of one year and were 76.0% and 31.5%,respectively.

G. Blood platelet count at diagnosis: $(246.8 \pm 91.9) \times 109/L$; subnormal 4 cases(1.3%), normal 222 cases (72.1%), above normal 82 cases (26.6%), and among them, mild elevation ($300 \times 109/L \sim 350 \times 109/L$) 39 cases (47.6%), moderate elevation ($350 \times 109/L \sim 400 \times 109/L$) 26 cases (31.7%) and severe elevation ($\geq 400 \times 109/L$) 17 cases (20.7%).

2. The relationships between thrombocytosis and clinical stages and histological types in NSCLC.

In 308 cases with NSCLC, the frequencis of patients with thrombocytosis in I , II , III A,IIIB and IV stage were 9 (12.7%), 10 (30.3%), 10 (23.3%), 16 (32.7%) and 37 (33.0%), respectively. There was linear relationship between the rates of NSCLC patients with thrombocytosis and their TNM stages ($p < 0.05$), which prompts that the rate of patients with thrombocytosis would be higher in the population with advanced TNM stages.

In the 308 NSCLC patients, the frequencis of patients with thrombocytosis at diagnosis in 180 cases with adenocarcinoma, 120 cases with squamouscarcinoma, 6 cases with adenosquamous carcinoma and 2 cases with large cell carcinoma were 45 (45/180, 25.0%), 34(34/120, 28.3%), 1(1/6, 16.7%) and 2(2/2, 100.0%), respectively. After analyzed the rates of patients with thromocytosis in each two histological types, we find the difference was not statistical significance($p > 0.05$), which suggests that thrombocytosis is not significantly related to histological types in NSCLC.

3. The relationship between hrombocytosis and prognosis in NSCLC.

Patients with thrombocytosis had a significantly poorer survival than those with normal platelet counts (MST: 60.7w VS 11.6w, one year survival rate:57.3% VS

82.7%, three years survival rate: 12.2% VS 38.%, $p < 0.001$).

In a multivariate survival analysis (Cox model), the data of 209 cases in 308 were analyzed, and at last 7 factors at diagnosis remained in the model: thrombocytosis, ECOG PS ≥ 2 , advanced TNM stage, lower degree of differentiation, hypoalbuminaemia, elevation of lactic dehydrogenase and faster erythrocyte sedimentation were risk factors to overall survival time, indicating that thrombocytosis is a prognostic factor of poorer survival.

4. The relationship between thrombocytosis and remote metastasis in NSCLC patients.

In 308 cases with NSCLC, the most common metastasis sites and frequencies (from many to few) were lymphoid node 218 (70.8%), bone 138 (44.8%), lung 93 (30.2%), brain 67 (21.8%), liver 46 (14.9%), adrenal gland 11 (3.6%) and kidney 5 (1.6%).

After compared the rates of metastasis in each site between the group with thrombocytosis and the group without thrombocytosis, and we found only bone metastasis was related to thrombocytosis in 308 NSCLC cases. The frequency of patients with bone metastasis in the group with thrombocytosis and the group without thrombocytosis were 50 (50/82, 61.0%) and 88 (88/226, 38.9%), respectively. After compared the rates of bone metastasis in the group with thrombocytosis with the other group, we found that thrombocytosis was significantly correlated with bone metastasis ($p < 0.05$), that is, the rate of bone metastasis in patients with thrombocytosis is higher than the rate in patients without thrombocytosis. The correlation coefficient between thrombocytosis and bone metastasis is 0.336 ($p < 0.001$).

5. The relationship between thrombocytosis and episode of thromboembolism in NSCLC patients.

There were fifteen (4.9%) records of thromboembolic events in the follow-up period in 308 NSCLC patients. In these fifteen cases, 12 cases (12/25, 80.0%) were detected thrombocytosis, which is 9.2% of the frequency of thrombocytosis detected in the course of disease, and 3 cases (3/15, 20.0%) without thrombocytosis, which is 1.7% of the frequency of thrombocytosis undetected in the course of disease. χ^2 test was performed to compare the rate of thromboembolic events in the group with thrombocytosis with the rate of the other group. And there was statistically difference ($p < 0.05$) between these groups. Thrombocytosis is associated with thromboembolic events

6. The relationship between thrombocytosis and therapeutic effect of platinum-

based chemotherapy in NSCLC patients

In 308 NSCLC cases, there were 137 patients accepted platinum-based chemotherapy in their initial management. In these 137 patients, there were 40 cases (29.2%) with thrombocytosis and 97 (70.8%) without thrombocytosis. The median PFS, ORR, DCR and median OS are 20.9w, 12.5%, 42.5% and 49.6w in the group with thrombocytosis, and 25.7w, 32.0%, 63.9% and 94.7w in the group without thrombocytosis, respectively. And there were significant differences lying in the ORR and DCR between the two groups ($p < 0.05$), excluding PFS. These prompted that therapeutic effect of platinum-based chemotherapy in NSCLC patients with thrombocytosis is poorer than that in those without thrombocytosis.

Conclusion

In this study, we retrospectively analyzed the clinical records of 308 cases with NSCLC, and preliminarily studied the relationships between thrombocytosis and non-small cell lung cancer at the points of clinicopathologic characteristics, prognosis, bone metastasis, thromboembolic events and platinum-based chemotherapy. And the conclusion as follows:

1. 26.6% of patients with NSCLC accompany with thrombocytosis in 308 cases.
2. In NSCLC, thrombocytosis is associated with TNM stage: more advanced stage, more common thrombocytosis.
3. The NSCLC patients with thrombocytosis have poorer prognosis than those without thrombocytosis
4. Thrombocytosis is correlated with bone metastasis in patients with NSCLC: the rate of bone metastasis is higher in patients with thrombocytosis than that in those without thrombocytosis.
5. There were 15 thromboembolic events in 308 NSCLC cases, 80% of patients accompanied with thrombocytosis in 15 cases. Thrombocytosis is correlated with thromboembolic events in patients with NSCLC.
6. The therapeutic effect of platinum-based chemotherapy in NSCLC patients with thrombocytosis is poorer than that in those without thrombocytosis.

[**KEY WORDS**] thrombocytosis, non-small cell lung cancer, prognosis, bone metastasis, chemotherapy

缩 略 词 表

英文缩写	英文全称	中文译名
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小细胞肺癌
TPO	thrombopoietin	血小板生成素
IL	interleukin	白介素
LIF	leukaemia inhibitory factor	白血病抑制因子
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor	粒细胞集落刺激因子
TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
ECOG PS	Eastern Cooperative Oncology Group performace status	东方肿瘤协作组体力状态评分
TNM	TNM-classification; tumor, nodes, metastasis-classification	TNM分类, 恶性肿瘤国际临床 病期分类(1997)
T	tumor	肿瘤
N	nodes, lymph nodes	淋巴结
M	metastasis	肿瘤转移
THC	thrombocytosis	血小板增多
MST	median survival time	中位生存时间
OS	overall survival	总生存时间
WL	weight loss, loss of weight, weight lose;	体重减轻
WBC	white blood cells count	白细胞计数
HGB	hemoglobin	血红蛋白测定
PLT	platelet count	血小板计数
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱氢酶
NSE	neurone specific enolase	神经元特异性烯醇酶
AKP/ALP	alkaline phosphatase	碱性磷酸酶
CEA	carcino-embryonic antigen	癌胚抗原

CA-199	carbohydrate antigen-199	糖链抗原-199
PT	prothrombin time	血浆凝血酶原时间
APTT	activated partial thromboplastin time	活化部分凝血激酶时间
FIB	fibrinogen	纤维蛋白原
FDPs	fibrinogen degradation products	纤维蛋白原降解产物
D-D	D-dimer	D-二聚体
ESR	erythrocyte sedimentation rate	红细胞沉降率,血沉
CRP	C-reacting protein	C-反应蛋白
PCNA	proliferating cell nuclear antigen	增殖细胞核抗原
LRP	lung resistance related protein	肺耐药相关蛋白
Topo- II	DNA topoisomerase II	DNA拓扑异构酶 II
BAC	bronchioloalveolar carcinoma	细支气管肺泡癌
TCIPA	tumor cell-induced platelet aggregation	肿瘤细胞诱导的血小板聚集
r	correlation coefficient	相关系数
OR	odds ratio	优势比
BM	bone metastasis	骨转移
CI	confidence interval	可信区间
PFS	progress free survival	无进展生存期
ORR	objective remission rate	客观肿瘤缓解率
DCR	disease control rate	疾病控制率
RFS	relapse free survival	无复发生存时间
RECIST	response evaluation criteria in solid tumors	实体瘤疗效评价标准
CR	complete response	完全缓解
PR	partial response	部分缓解
SD	stable disease	稳定
PD	progressed disease	进展

GP	gemcitabine plus cisplatin	吉西他滨+顺铂
TC	paclitaxel plus carboplatin	紫杉醇+卡铂
NP	vinorelbine plus cisplatin	长春瑞滨+顺铂
TP	paclitaxel plus cisplatin	紫杉醇+顺铂
TO	paclitaxel plus oxaliplatin	紫杉醇+奥沙利铂
GO	gemcitabine plus oxaliplatin	吉西他滨+奥沙利铂
GC	gemcitabine plus carboplatin	吉西他滨+卡铂
NO	vinorelbine plus oxaliplatin	长春瑞滨+奥沙利铂
TO	paclitaxel plus oxaliplatin	紫杉醇+奥沙利铂
TE	thromboembolic episode	血栓事件


独创性声明


本人声明所呈交的学位论文是我个人在导师指导下进行的研究工作。除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。本人承担本声明的法律责任。

学位论文作者签名：  日期：2009 年 4 月 30 日

学位论文版权使用授权声明

本人完全了解第二军医大学有关保留、使用学位论文的规定，第二军医大学有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权第二军医大学可以将学位论文全文或部分内容编入《中国学位论文全文数据库》、《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》等数据库进行检索。可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名： 

导师签名： 

日期：2009 年 6 月 3 日

日期： 年 月 日

前言

原发性肺癌是导致死亡最常见的恶性肿瘤。估计全世界每年新发病例超过 140 万,死亡病例超过 120 万。据世界卫生组织估计,我国每年新发现的肺癌患者超过 40 万,其中约 31.7 万(约 80%)为 NSCLC,死亡病例约 27.2 万。研究包括肺癌在内的恶性肿瘤仍然是十分迫切但有十分艰巨的医学难题之一。

血小板计数增多常见于恶性肿瘤患者。自上世纪 90 年代末以来,人们回顾性研究了一些恶性肿瘤病例的临床资料,结果发现在未经治疗的恶性实体肿瘤患者中,约 10%~60% 伴随血小板计数增多,这些恶性肿瘤包括肺癌、胃肠癌、肝癌、肾癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌等呼吸、消化、泌尿、生殖和头颈部肿瘤等¹⁻⁸。其中,原发性肺癌伴随血小板增多的比率约为 16%~32%¹⁻⁸。血小板升高的程度在 $350 \times 10^9/L \sim 1,000 \times 10^9/L$ 之间,大于 $1,000 \times 10^9/L$ 和低于 $100 \times 10^9/L$ 者罕见。同时,研究者也认为血小板增多可做为判断恶性肿瘤(包括原发性肺癌)患者预后较差的一项独立的预测指标¹⁻⁸。

恶性肿瘤患者伴有血小板增多的原因不是十分清楚。以往的研究认为,恶性肿瘤患者体内的一些体液因素如 TPO、IL-6、IL-11、IL-3、IL-1、SCF、LIF、G-CSF 等的增多可引起血小板生成增多⁹⁻¹⁷。另外,骨髓微环境^{18, 19}、血小板颗粒蛋白²⁰、凝血系统的激活²¹⁻²³、巨核细胞等在反应性血小板增多过程中可能也起着重要作用。

伴有血小板增多的恶性肿瘤患者预后较差的原因目前也不是很清楚。有研究表明,肿瘤细胞诱导的血小板聚集(Tumor cell-induced platelet aggregation, TCIPA)能使进入循环中的肿瘤细胞被许多血小板黏附、包围,就如同穿上了一件防护外套,提升了肿瘤细胞逃避免疫监视如 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用的能力;TCIPA 还能促进肿瘤细胞在微循环血管的粘附、定植。因此血小板参与了肿瘤血路转移的过程^{24, 25}。同时,激活的血小板还能释放 VEGF、EGF、PDGF、HGF、IGF、bFGF、angiopoietin-1 等多种细胞因子促进恶性肿瘤的生长和新生血管形成^{26, 27}。另外,血小板也参与了 Trousseau's syndrome 的发生²³。然而,恶性肿瘤患者体内血小板的活化以及其对预后的影响,在血小板增多的患者和血小板不增多的患者之间是否存在显著差异,并能否达到具有临床意义的水平,仍不清楚。在以往的临床研究中,血小板增多的发生率与恶性肿瘤患者的 TNM 分期、肿瘤的分化程度和大小等的关系报道不太一致¹⁻⁸,而且绝大多数研究表明血小板增多发生率与病理学类型无关¹⁻⁸。因此伴有血小板增多的恶性肿瘤预后较差的原因仍需要进一步研究。

目前国内对这一领域的研究很少。本研究回顾性分析了 308 例 NSCLC 患者的临

床资料，探讨血小板增多与 NSCLC 临床病理病理特征、预后、远处转移（特别是骨转移）、血栓事件以及含铂类化疗疗效的关系，为进一步研究肿瘤性血小板增多积累一些临床资料，提供一些有用的线索。

一、材料与方法

（一）对象

对2003年7月1日至2006年4月30日之间在第二军医大学附属长海医院经组织病理学确诊的758例NSCLC住院患者，剔除合并有或者先后发生其他肿瘤、血液系统疾病及合并有风湿性疾病、急慢性感染性疾病、慢性炎症性疾病等病例，筛选出治疗周期在3次以上或者治疗周期少于3周期就已死亡的、临床病理资料较齐全的523例，电话随访生存期及远处转移、血栓事件发生情况，共随访到308例，中位随访期为93.9w（3.6-299.0），失访215例。

1、入选标准

- （1）年龄：大于18岁；
- （2）确诊时间：2003年7月1日至2006年4月30；
- （3）确诊医院：在长海医院住院的病人；
- （4）确诊依据：组织病理学确诊的NSCLC。

2、剔除标准

- （1）仅有临床或细胞学依据但没有病理学依据的；
- （2）小细胞肺癌或发生于肺部的转移性肿瘤，以及其他部位的肿瘤；
- （3）合并有或者先后发生其他肿瘤的；
- （4）病史中记载有引起造血功能障碍的血液系统疾病；
- （5）合并有风湿性疾病、急慢性感染性疾病、慢性炎症性疾病或初诊时有外伤、手术等因素影响外周血血小板计数的；
- （6）初诊时缺少血常规、病理学报告以及胸部、头颅、全身骨骼、上腹部CT（或腹部超声）等影像学报告的，但有PET-CT报告的除外；
- （7）治疗周期少于3次的，但治疗周期少于3次就已死亡的除外；
- （8）在外院确诊后再来长海医院进一步治疗的；
- （9）失访的，但末次出院时生命体征不平稳者除外。

（二）方法

1、调查项目

对入选患者收集以下项目：

- (1) 一般项目：性别、年龄、吸烟指数、确诊时间；
- (2) 确诊时的项目：有无咯血、发热、体重减轻，PS评分、TNM分期、病理类型、分化程度、血管癌栓、免疫组化指标Ki67、PCNA、P53、P16、LRP、Topo II、外周血WBC、HGB、PLT、PT、APTT、FIB、FDP、D-二聚体、球蛋白、白蛋白、AKP、LDH、CEA、CA-199、NSE、ESR、CRP等；
- (3) 病程中的项目：首次发现血小板增多时的PLT及时间、远处转移的部位及时间（根据病程录、CT、MRI、骨骼ECT、超声、PET-CT报告单以及随访资料等确定）、有无血栓事件（包括全身各部位的动脉或静脉血栓事件，评定依据是根据超声、MRI、CT、血管造影术及血液学检查并结合临床表现以及随访资料等方法确定）；
- (4) 手术完全切除的病例增加的项目：肿瘤大小（肿瘤大小确定为各肺内病灶和阳性淋巴结最长径之和，单位为厘米）；术后初始治疗为含铂类二联化疗的病例增加项目：化疗方案、化疗后RECIST评价（CR、PR、SD、PD）、无复发生存时间，有无在病情进展前放疗、局部介入治疗、靶向治疗等化疗以外的治疗手段；
- (5) 治疗相关项目：是否手术及是否完全切除；初始治疗是否为含铂类化疗及化疗方案、化疗后RECIST评价（CR、PR、SD、PD）、无疾病生存时间；有无在病情进展前接受放疗、局部介入治疗、靶向治疗等化疗以外的治疗手段；
- (6) 随访项目：结局（死亡或截止）、死亡时间或截止时间、远处转移的部位及时间、有无血栓事件。随访截止时间为2009年2月20日

2、诊断、评价标准

- (1) 组织学诊断标准：入选病例均由第二军医大学附属长海医院病理科对手术切除标本、经皮肺穿刺活检标本或者经支气管镜活检标本进行组织学、免疫组织化学检查，病理诊断符合1999/2004年WHO肺部肿瘤组织学分类。
- (2) 临床分期诊断标准：TNM分期由临床医师根据1997年非小细胞肺癌国际分期标准进行分期，记录不全者收集者根据病历资料对照1997年肺癌国际分期系统重新分期。
- (3) 体力状况评分标准：PS评分由临床医师根据ECOG体力状况评分标准进行评定，一部分PS评分缺如的病例，收集者根据病历中对患者的症状、体力状况的记录，对照ECOG体力状况评分标准重新进行评定。
- (4) 实体瘤的疗效评价标准：肿瘤缓解和疾病进展主要由临床医师根据RECIST评价标准进行评估，由资料收集者再根据病历资料进行确认，原则上不由资料收集者进行评估。如有病程记录对RECIST评估记录不完整或不准确的，将不纳入统计范围

之内。评估的时间节点为化疗2周期后第3周期开始前。根据RECIST评价标准, 疗效评估结果分四个等级: 完全缓解 (complete response, CR); 部分缓解 (partial response, PR); 疾病稳定 (stable disease, SD) 和疾病进展 (progressed disease, PD)。

(5) 疗效相关指标的定义:

无进展生存期 (PFS) 的定义是从确诊之日起到首次观察到疾病进展 (以影像学为准) 之间的时间 (周数), 如果在疾病进展前即因其他原因死亡的患者, 则计算从确诊之日到死亡的周数。确诊日期定义为病理科收到肿瘤组织病理标本的日期。肿瘤进展定义为从治疗开始起所记录的最小总长径值为参考, 被测量病灶的长径之和增加至少20%或者出现一个或多个新病灶。任何新病灶的出现意味着疾病进展。在特殊情况下不可测量病灶的明确进展也被作为疾病进展的证据。

总体客观肿瘤缓解率 (ORR) 是指经治疗后达到CR或PR的比率, 即 $(CR+PR) / (CR+PR+SD+PD) \times 100\%$ 。

总体疾病控制率 (DCR) 是指经治疗后达到CR、PR或SD的比率, 即 $(CR+PR+SD) / (CR+PR+SD+PD) \times 100\%$ 。

无复发生存时间 (RFS) 是根治性手术后接受化疗之日起至发现肺癌复发的时间, 单位为周。

(6) 生存期的定义: 总体生存时间 (OS) 是从确诊之日起到任何原因所致死亡或者随访截止时间2009年2月20日之间的时间, 单位为周。

(7) 血小板计数的测定: 外周血血细胞计数采用西门子ADVIA 120血球分析仪分析获得。

3、资料不全的处理

(1) 对初诊时血常规、病理学报告以及胸部、头颅、全身骨骼、上腹部CT (或腹部超声) 等影像学报告的 (有PET-CT报告的除外) 等关键数据缺失任何一项的病例, 予以剔除。

(2) 对失访的病例, 予以剔除。

(3) 血管癌栓、FIB、FDP、D-二聚体、CRP等项目因样本量不足, 这些项目未进入统计分析, 对缺失这些项目的病例, 予以保留。

(4) 对临床资料中无发热、咯血、体重减轻、血栓事件等的记录或描述的, 均按未发生该事件处理。

(5) 对初诊时TNM分期记录不全或不规范者, 收集者根据病历资料对照1997年肺癌国际分期系统重新分期。

(6) 对一部分PS评分缺如的病例, 收集者根据病历中对患者的症状、体力状况

的记录,对照ECOG体力状况评分标准重新进行评定。

(7) 对初始治疗为接受含铂类化疗的病例,其RECIST评估记录均由资料收集者再根据临床资料并对照RECIST评价标准进行确认。对临床资料中虽无RECIST评估记录但有准确描述(包括病程记录、影像学报告等)的,资料收集者根据描述予以评定并保留;对RECIST评估记录缺失且无准确描述的,予以剔除。

(8) PFS、RFS由资料收集者根据临床资料和定义予以计算,收集时计算日数,在统计分析时折算为周数。对初始治疗为接受含铂类化疗的病例中无法获得PFS的病例,将不纳入对含铂类化疗疗效的分析之内。在接收根治性手术的病例中,对复发时在长海医院住院且有临床资料可查的病例,资料收集者根据临床资料计算RFS;对复发时不在长海医院住院但随访资料可靠的病例,资料收集者根据临床资料和随访资料计算RFS;对发生复发的时间不准确或者无法获得的病例,将不纳入对根治性术后含铂类化疗疗效的分析之内。

(9) 对第(1)条中提到的关键数据或者第(3)条中提到的项目以及TNM分期、PS评分和疗效相关指标以外的其他数据,在初诊时缺失达5个或含5个以上(免疫组化检查的多个指标被视为1个、PT及APTT被视为1个)的病例,予以剔除。

(10) 部分资料没有免疫组化检查,并且免疫组化的指标各不相同,本研究仅研究长海医院常用的免疫组化指标Ki67、PCNA、P53、P16、LRP、Topo II,并仅进行单因素分析,不进行多因素分析。对以上6指标以外的免疫组化指标本研究不予探讨。

4、病例分组和分层

最后入选的308例NSCLC,以确诊时外周血血小板计数为准分为两组:(1)血小板增多组: $PLT \geq 300 \times 10^9/L$,共82例;(2)血小板不增多组: $PLT < 300 \times 10^9/L$,共226例。其中血小板增多组进一步分层为:轻度增高组: PLT 在 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$,共39例;中度增高组: PLT 在 $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$,共26例;重度增高组: $PLT \geq 400 \times 10^9/L$,共17例。当需要考虑时间顺序上的关系时,以首次发现血小板增多时的血小板计数为准进行分组或分层。

5、统计学方法

应用SPSS13.0统计软件。频数及率采用描述性统计分析。分析计量资料或等级资料的多个独立样本所来自的多个总体分布是否有差别,采用Kruskal-Wallis H 检验。生存分析使用Cox比例风险模型前进法、Kaplan-Meier法、生命表法,两组间生存率的比较采用Log-Rank χ^2 检验。正态性检验采用Kolmogorov-Smirnov法非参检验。分析因变量为二分类变量的相关因素时,采用二分类Logistic模型前进法逐步回归分析;分

析两变量之间是否存在相关关系,采用双变量相关分析,非正态分布资料,选择等级相关系数(Spearman 相关系数)。分析两个有序分类或等级变量间是否存在线性变化趋势,采用有序分组资料的线性趋势检验。多组均数间的多重比较采用方差分析;两组或多组间计数资料和率的比较,采用 χ^2 检验。非正态分布计量资料组间比较采用Mann-Whitney法非参检验。取 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

(一) 一般情况

1、基本情况

入选总数：308例NSCLC。

年龄：27~83岁，平均 (59.6 ± 10.3) 岁；

性别：男性213例（69.2%），女性95例（30.8%），男女比2.2：1。

确诊方式：术后病理147例（47.7%），非手术161例（52.3%），其中经皮肺穿刺96例（31.2%），经支气管镜活检65例（21.1%）。

病理类型：腺癌180例（58.4%，包括细支气管肺泡癌21例，腺癌伴有细支气管肺泡癌28例），鳞癌120例（39.1%），腺鳞癌6例（1.9%），大细胞癌2例（0.6%）。

TNM分期：I期71例（23.0%），II期32例（10.4%），IIIa期44例（14.3%），IIIb期49例（15.9%），IV期112例（36.4%）。

结局：至截止日死亡244例（79.2%），存活64例（20.8%）。

不完全资料：数据有缺失的项目（数据齐全的例数）包括：吸烟指数（298例，96.8%），体重减轻（288例，93.5%），分化程度（224例，79.2%），肿瘤大小（147例，47.7%），Ki67或PCNA（186例，60.4%），P53（186例，60.4%），P16（182例，59.1%），LRP（71例，23.1%），TOPO-II（135例，43.8%），血沉（242例，78.6%），APTT（258例，83.8%），CEA（287例，93.2%），CA-199（244例，79.2%），NSE（228例，74.0%）。

2、血小板计数的情况

(1) 在308例NSCLC患者

分布：初诊时血小板数量成右偏态分布（图1）。

参数：血小板计数 $(246.8 \pm 91.9) \times 10^9/L$ ，最大值为 $570 \times 10^9/L$ ，最小值为 $85 \times 10^9/L$ ，中位数 $229 \times 10^9/L$ ，95%可信区间为 $112.5 \times 10^9/L$ ~ $469.4 \times 10^9/L$ 。

分层：血小板计数 $<100 \times 10^9/L$ 4例（1.3%）， $100 \times 10^9/L \sim 300 \times 10^9/L$ 222例（72.1%）， $\geq 300 \times 10^9/L$ 82例（26.6%），其中 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$ 39例（47.6%）， $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$ 26例（31.7%）， $\geq 400 \times 10^9/L$ 17例（20.7%）。

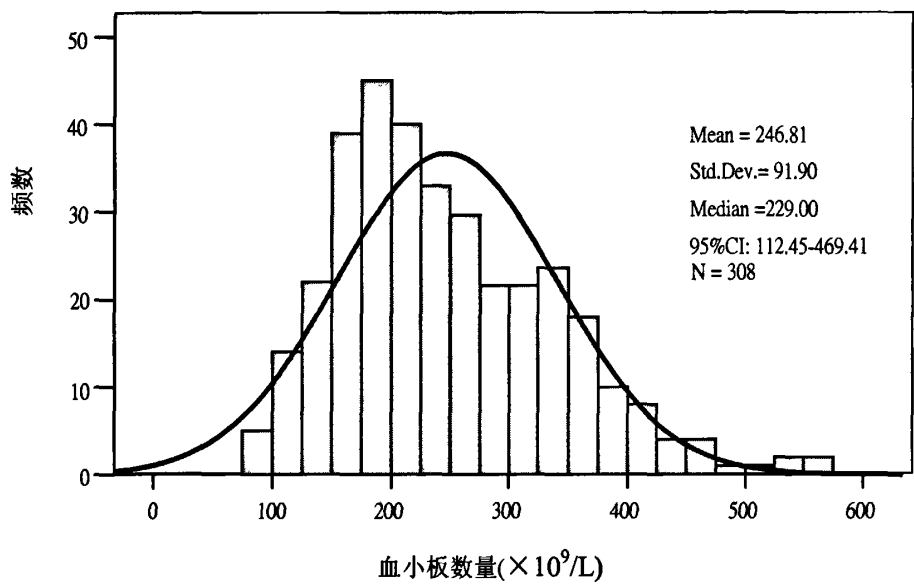


图 1. 308 例 NSCLC 患者确诊时外周血血小板数量呈右偏态分布
(Kolmogorov-Smirnov $Z=1.599$, 双侧检验, $p = 0.012$)

(2) 在147例 I a至IIIa患者

分布: 初诊时外周血中血小板数量成正态分布 (图2A)。

参数: 血小板数量 $(232.3 \pm 86.8) \times 10^9/L$, 最大值为 $566 \times 10^9/L$, 最小值为 $85 \times 10^9/L$, 中位数 $214 \times 10^9/L$, 95%可信区间为 $99.8 \times 10^9/L$ - $467.1 \times 10^9/L$ 。

分层: 血小板计数 $< 100 \times 10^9/L$ 3例 (2.0%), $100 \times 10^9/L \sim 300 \times 10^9/L$ 115例 (78.1%), $\geq 300 \times 10^9/L$ 29例 (19.7%), 其中 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$ 15例 (10.2%), $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$ 8例 (5.4%), $\geq 400 \times 10^9/L$ 6例 (4.1%)。

(3) 在161例IIIb期和IV期患者

分布: 诊时 (未接受任何治疗) 外周血中血小板数量成右偏态分布 (图2B)。

参数: 血小板数量 $(259.0 \pm 96.2) \times 10^9/L$, 最大值为 $570 \times 10^9/L$, 最小值为 $95 \times 10^9/L$, 中位数 $238.5 \times 10^9/L$, 95%可信区间为 $115.9 \times 10^9/L$ - $497.8 \times 10^9/L$ 。

分层: 血小板计数 $< 100 \times 10^9/L$ 1例 (0.6%), $100 \times 10^9/L \sim 300 \times 10^9/L$ 107例 (66.5%), $\geq 300 \times 10^9/L$ 53例 (32.9%), 其中 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$ 24例 (14.9%), $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$ 18例 (11.2%), $\geq 400 \times 10^9/L$ 11例 (6.8%)。

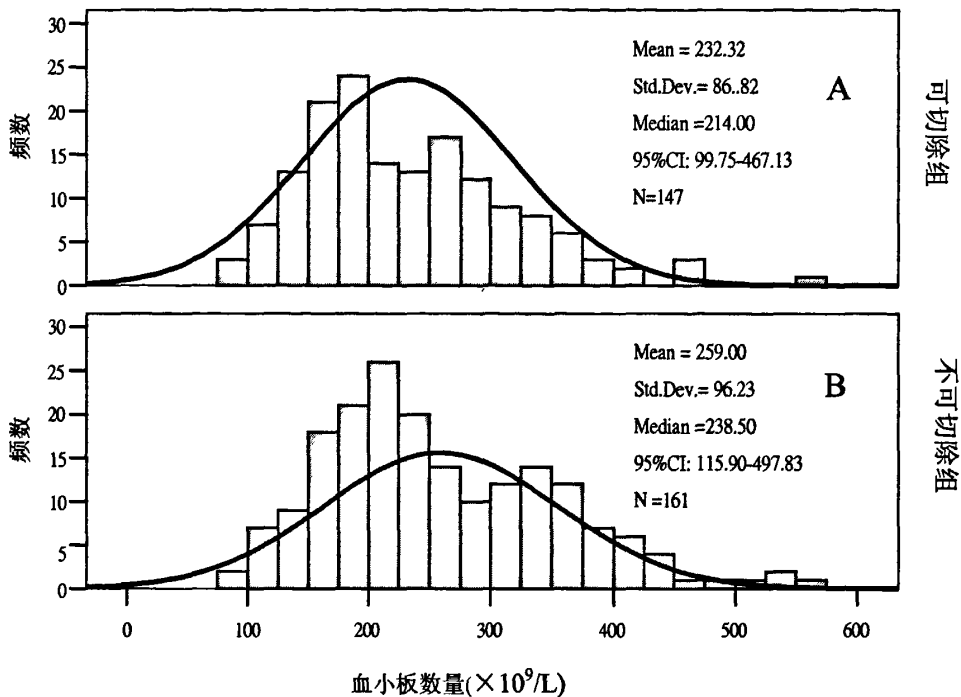


图 2. 147 例可切除病例和 161 例不可切除病例的血小板分布(Kolmogorov-Smirnov 双侧检验, A: $Z=1.279$, $p=0.088$; B: $Z=1.362$, $p=0.047$)

(二) 血小板增多与NSCLC临床病理特征的相关性

1、确诊时外周血血小板计数与TNM分期的关系

(1) 均数

在308例NSCLC中, 确诊时71例 I 期、32例 II 期、44例 IIIA期、49例 IIIB期、112例 IV期患者的血小板计数分别为 $(215.1 \pm 87.2) \times 10^9/L$ 、 $(255.7 \pm 87.6) \times 10^9/L$ 、 $(237.6 \pm 82.9) \times 10^9/L$ 、 $(252.8 \pm 95.1) \times 10^9/L$ 、 $(265.3 \pm 93.7) \times 10^9/L$, 各分期血小板计数的均数变化趋势如图3所示, 随着TNM分期的增高, 血小板计数的均数大致上也有增大的趋势。采用方差分析, 结果显示: 统计量 $F=3.600$, $df=4$, $p=0.007$, 由此可以各分期血小板计数的均数是不同的。

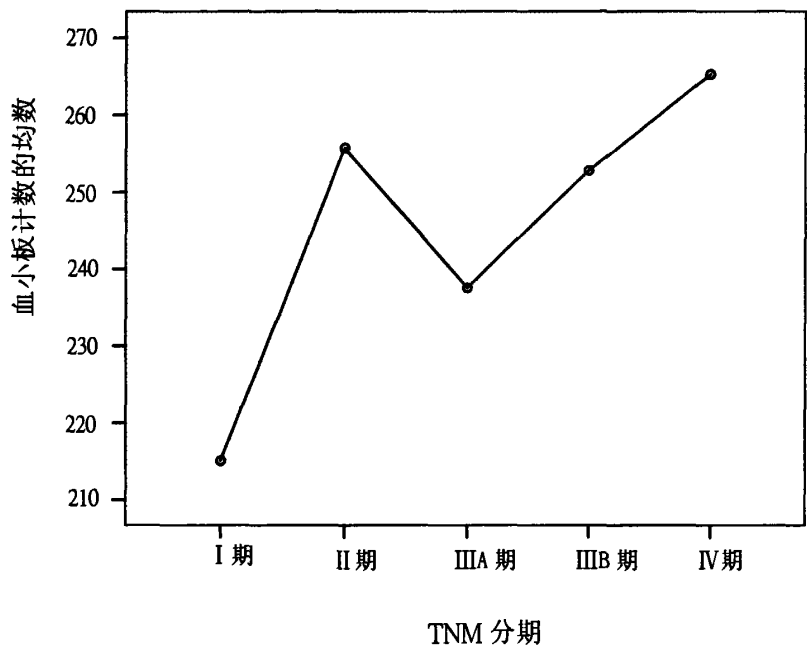


图3. 308例NSCLC确诊时血小板计数的均数随TNM分期变化的趋势

然而在进一步的两两比较（Tukey法）中，发现只有 I 期与IV期患者的血小板计数的均数之间的差异有统计学意义（ $p=0.003$ ），其余各两两比较的 p 值均 >0.05 （表1），因此可以认为 I 期与IV期确诊时血小板计数的均数不同，IV期患者的血小板计数均数大于 I 期的均数。

表1. 各TNM分期患者的血小板计数的均数之间两两比较的 p 值

TNM分期	I 期	II 期	IIIA期	IIIB期	IV期
I 期	/	0.209	0.699	0.166	0.003
II 期	0.209	/	0.909	1.000	0.984
IIIA期	0.699	0.909	/	0.929	0.431
IIIB期	0.166	1.000	0.929	/	0.928
IV期	0.003	0.984	0.431	0.928	/

(2) 频数

血小板增多在各期发生例数分别为9例(12.7%)、9例(28.1%)、11例(25.0%)、16例(32.7%)、37例(33.0%) (表2), 各分期间差异有统计学意义($\chi^2=10.818$, $df=4$, $p=0.029$; 线性趋势 $\chi^2=8.405$, $df=1$, $p=0.004$), 提示血小板增多与TNM分期有关, 血小板增多的比例随着TNM分期的增高而增大。

表2. 血小板增多在不同TNM分期的发生情况

TNM分期	血小板增多	血小板不增多	合 计
I 期	9 (12.7)	62 (87.3)	71 (100.0)
II 期	9 (28.1)	23 (71.9)	32 (100.0)
IIIA期	11 (25.0)	33 (75.0)	44 (100.0)
IIIB期	16 (32.7)	33 (67.3)	49 (100.0)
IV期	37 (33.0)	75 (67.0)	112 (100.0)
合 计	226 (73.4)	82 (26.6)	308 (100.0)

(3) 分层

反过来, 将外周血血小板计数分为4个等级: 血小板不增多组、轻度增高、中度增高和重度增高, 在血小板增多的不同程度水平组比较了TNM分期的构成。如表4所示: 在血小板增多的三个等级组, 较晚的TNM分期所占的比比较大, 而且在同一水平组里随着TNM分期的增高晚期的比率有增大的趋势。采用线性趋势检验, 发现本组病例血小板增高的程度与TNM分期存在线性相关趋势($\chi^2=7.392$, $p=0.007$)。在相关分析中: TNM分期与血小板计数的Pearson相关系数为0.192($p=0.001$), Spearman相关系数为0.210($p<0.001$)。因此单因素分析显示, 确诊时外周血血小板计数与TNM分期存在相关性, 可以大致的认为TNM分期越晚, 血小板计数越高。

表3. 血小板计数不同等级水平与TNM分期的关系

PLT($\times 10^9/L$)	TNM分期					合 计
	I 期	II 期	IIIA期	IIIB期	IV期	
<300	62(27.4)	23(10.2)	33(14.6)	33(14.6)	75(33.2)	226(100.0)
300~	4(10.3)	5(11.6)	6(15.4)	9(23.1)	15(38.5)	39(100.0)
350~	2(8.0)	3(12.0)	3(12.0)	5(20.0)	12(48.0)	25(100.0)
≥ 400	3(16.7)	1 (5.6)	2(11.1)	2(11.1)	10(55.6)	18(100.0)
合 计	71(23.1)	32(10.4)	44(14.3)	49(15.9)	112(36.4)	308(100.0)

2、确诊时外周血血小板计数与病理类型的关系

(1) 频数

在180例腺癌、120例鳞癌、6例腺鳞癌、2例大细胞癌患者，发生血小板增多的例数分别为：45例（25.0%）、34例（28.3%）、1例（16.7%）、2例（100%），比较各病理类型发生血小板增多的比率，发现组间差异无统计学意义（ $\chi^2=6.239$ ， $df=3$ ， $p=0.101$ ）（表4）。

表4. 不同病理类型血小板增多的发生情况的比较

病理类型	病理类型例数	血小板增多组	血小板不增多组	χ^2	自由度	p值
腺癌	180	45 (25.0)	135 (75.0)	6.239	3	0.101
鳞癌	120	34 (28.3)	86 (71.7)			
腺鳞癌	6	1 (16.7)	5 (83.3)			
大细胞癌	2	2 (100.0)	0 (0.0)			

(2) 均数

在308例NSCLC中，180例腺癌、120例鳞癌、6例腺鳞癌、2例大细胞癌患者的初诊时血小板计数分别为 $(238.8 \pm 88.3) \times 10^9/L$ 、 $(257.3 \pm 96.7) \times 10^9/L$ 、 $(238.8 \pm 80.3) \times 10^9/L$ 、 $(363.5 \pm 13.4) \times 10^9/L$ ，采用方差分析，结果显示各组间均数差异无统计学意义（ $F=2.087$ ， $df=3$ ， $p=0.102$ ）。

(3) 血小板计数水平的分层

将外周血血小板计数分为5个等级：血小板减少（ $PLT < 100 \times 10^9/L$ ，共4例）、血小板正常（ PLT 在 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$ ，共222例）、轻度增高（ PLT 在 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$ ，共39例）、中度增高（ PLT 在 $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$ ，共26例）和重度增高（ $PLT \geq 400 \times 10^9/L$ ，共17例）。

各病理类型NSCLC确诊时不同外周血血小板计数等级低的病例数和构成比如表5所示，血小板减少、血小板正常、轻度增高、中度增高和重度增高的例数和百分比在腺癌分别为3例（1.7%）、132例（73.3%）、23例（12.8%）、14例（7.8%）、8例（4.4%），在鳞癌分别为1例（0.8%）、85例（70.8%）、16例（13.3%）、8例（6.7%）、10例（8.3%），腺鳞癌有5例（83.3%）血小板计数正常，1例（16.7%）血小板中度增高，大细胞癌2例（100.0%）均为血小板中度增高。

采用Kruskal-Wallis H 检验分析发现,不同病理类型的NSCLC在确诊时外周血血小板计数的等级的差异都无统计学意义(Kruskal-Wallis $H=7.102$, $df=3$, $p=0.069$)。因此单因素分析显示,在本样本中不同病理类型的NSCLC确诊时的外周血血小板计数无显著差异。

表5. 不同病理类型NSCLC的外周血血小板计数的比较

病理类型	血小板计数($\times 10^9/L$)					合计
	<100	100~	300~	350~	≥ 400	
腺癌	3(1.7)	132(73.3)	23(12.8)	14(7.8)	8(4.4)	180(100.0)
鳞癌	1(0.8)	85(70.8)	16(13.3)	8(6.7)	10(8.3)	120(100.0)
腺鳞癌	0(0.0)	5(83.3)	0(0.0)	1(16.7)	0(0.0)	6(100.0)
大细胞癌	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(100.0)	0(0.0)	2(100.0)
合 计	4(1.3)	222(72.1)	39(12.7)	26(8.4)	17(5.5)	308(100.0)

(4) 平均秩

180例腺癌、120例鳞癌、6例腺鳞癌、2例大细胞癌患者初诊时血小板计数的平均秩分别为147.39、163.40、150.33、273.25,采用Kruskal-Wallis H 检验分析发现,不同病理类型的NSCLC在确诊时外周血血小板计数的差异都无统计学意义(Kruskal-Wallis $H=5.915$, $df=3$, $p=0.116$)。

3、确诊时外周血血小板计数与其他临床病理因素的关系

(1) 单因素分析

我们对308例NSCLC,首先采用交叉表等单因素分析方法分析了初诊时血小板计数(分为血小板增多组和不血小板增多组)与各临床病理因素的关系(表6-8),结果发热、体重减轻、ECOG PS评分 ≥ 2 分、TNM分期晚、白细胞增多、贫血、球蛋白增高、白蛋白降低、血沉增快、APTT延长、AKP升高是血小板增多的危险因素。然而,在我们这组病例中,反映肿瘤本身的其他参数如病理学类型、肿瘤大小、分化程度、免疫组化指标Ki67、PCNA、P53、P16、LRP、Topo II等与血小板增多之间在统计学上也没有显著相关性。

表6. 308例NSCLC的临床因素的单因素分析

临床因素	频数(%)		OR	95%可信区间	χ^2 值	p值
	血小板增多组	血小板不增多组				
性别						
男	58(70.7)	155(68.6)				
女	24(29.3)	71(31.4)	0.866	0.520-1.511	0.130	0.781
年龄(岁)						
<65	59(72.0)	140(61.9)				
≥65	23(28.0)	86(38.1)	1.596	0.895-5.037	2.634	0.105
吸烟(包年,n=298)						
<20	42(53.7)	121(55.8)				
≥20	37(46.3)	98 (44.2)	1.230	0.763-1.981	0.723	0.385
基础疾病						
无	52(52)	148(65.5)				
有	30(36.6)	78(34.5)	0.960	0.582-1.583	0.113	0.736
咯血						
无	57(69.5)	164(72.6)				
有	25(30.5)	62(27.4)	1.358	0.812-2.271	0.277	0.599
发热						
无	62(75.6)	209(92.5)				
有	20(24.4)	17(7.5)	3.531	1.798-6.932	16.197	<0.001
体重减轻						
无	55(67.1)	181(80.1)				
有	27(32.9)	42(19.9)	1.987	1.175-3.362	5.690	0.017
ECOG PS评分						
≤1	72(87.8)	217(96.0)				
≥2	10(12.2)	9(4.0)	3.213	1.262-8.180	7.011	0.008
TNM分期						
I A~ⅢA	29(35.4)	118(52.2)				
ⅢA~Ⅳ	53(64.6)	108(47.8)	1.231	1.012-2.094	6.845	0.009

表7. 308例NSCLC的病理因素的单因素分析

病理因素	频 数		OR	95%可信区间	χ^2	p值
	血小板增多组	血小板不增多组				
组织学类型						
鳞癌	34(41.5)	86(38.1)				
腺癌	45(54.9)	135(59.7)				
腺鳞癌	1(1.2)	5(2.2)				
大细胞肺癌	2(2.4)	0(0.0)			6.239	0.101
分化程度 (n=224)						
未分化	4(7.4)	4(2.4)				
低分化	18(33.3)	54(31.8)				
中分化	25(46.3)	83(48.8)				
高分化	7(13.0)	29(17.1)			6.013	0.113
肿瘤大小(n=147, cm)	4.69±3.03#	4.47±2.19#			1759.0##	0.908
免疫组化						
Ki-67或PCNA(n=186)						
低表达	19(46.3)	56(38.6)				
高表达	22(53.7)	89(61.4)	0.759	0.386-1.491	0.792	0.374
P53 (n=186)						
低表达	26(66.7))	77(52.4)				
高表达	13(33.3)	70(47.6)	0.519	0.254-1.061	2.546	0.111
P16 (n=182)						
无表达	37(100.0)	143(98.6)				
有表达	0(0.0)	2(1.4)			0.516	0.473
LRP(n=71)						
低表达	13(86.7)	39(69.7)				
高表达	2(13.3)	17(30.0)	0.362	0.074-1.781	1.749	0.186
Topo- II (n=135)						
低表达	17(60.7)	56(52.3)				
高表达	11(39.3)	51(47.7)	0.708	0.304-1.648	0.627	0.428

肿瘤大小为接受手术患者的数据, 未手术者不在此范围内。# 均数±标准差, ## Mann-Whitney U.

表8. 308例NSCLC血液学因素在血小板增多组和血小板不增多组间的比较

血液学因素	频 数		OR	95%可信区间	χ^2	P值
	血小板增多组	血小板不增多组				
WBC($\times 10^9/L$)						
<10.0	61(74.4)	217(96.0)				
≥ 10.0	21(25.6)	9(4.0)	7.406	3.351-16.367	32.012	<0.001
HGB (g/L)						
<120	26(31.7)	42(18.6)				
≥ 120	56(68.3)	184(81.4)	0.420	0.246-0.719	6.023	0.014
球蛋白(g/L)						
<30	48(58.5)	177(78.3)				
≥ 30	34(41.5)	49(21.7)	2.393	1.427-4.013	11.961	0.001
ESR(mm/H,n=242)						
<20	18(29.5)	88(48.6)				
≥ 20	43(70.5)	93(51.4)	2.741	1.609-4.670	10.835	0.001
APTT (s,n=258)						
23-43	64(91.4)	184(97.9)				
>43	6(8.6)	4(2.1)	4.985	1.424-17.450	5.894	0.015
白蛋白(g/L)						
<35	8(9.8)	6(2.7)				
≥ 35	74(90.2)	220(97.3)	0.270	0.098-0.748	6.993	0.008
AKP(U/L)						
<92	53(64.6)	174(77.0)				
≥ 92	29(35.4)	52(23.0)	1.896	1.129-3.184	4.740	0.029
LDH (U/L)						
<285	55(67.1)	171(75.7)				
≥ 285	27(32.9)	55(24.3)	1.445	0.862-2.422	2.273	0.132
CEA(U/L,n=287)						
<10	52(66.7)	119(56.9)				
≥ 10	26(33.3)	90(43.1)	0.599	0.358-1.003	1.894	0.169
CA199(U/L,n=244)						
<37	53(84.1)	141(77.9)				
≥ 37	10(15.9)	40(22.1)	0.827	0.437-1.563	0.648	0.421
NSE(U/L,n=228)						
<15.2	33(63.4)	118(67.0)				
≥ 15.2	19(36.6)	58(33.0)	1.178	0.731-1.898	0.429	0.512

(2) 多因素分析

为进一步分析血小板增多与否与临床病理因素的关系,我们将以上单因素分析出来的危险因素进行了多因素分析(Logistic回归分析),结果在308例患者中只有228例进入分析,100例因数据不全被忽略。发现发热、白细胞增多、贫血、血沉增快、球蛋白升高、APTT延长等因素最后进入了Logistic模型(表9),而ECOG PS评分、体重减轻、白蛋白、AKP、CEA、NSE和反映肺癌本身的一些参数TNM分期、组织学类型被筛选(表8)。需要指出的是采用Logistic模型前进法逐步分析时,TNM分期在分析的最后一步 $p=0.068$,因此尽管TNM分期最终没有进入Logistic模型,但TNM分期对血小板计数的影响仍然很大。

表9. 最终进入Logistic模型的血小板增多的危险因素及参数估计(n=228)

临床病理因素	OR	95%可信区间	Wald值	P值
发热				
无				
有	2.575	1.098-6.039	4.365	0.030
WBC ($\times 10^9/L$)				
<10.0				
≥ 10.0	7.596	2.997-19.255	9.941	0.002
HGB (g/L)				
≥ 120				
<120	3.360	1.376-4.735	6.417	0.011
球蛋白 (g/L)				
<30				
≥ 30	2.543	1.262-5.124	5.662	0.017
ESR (mm/H)				
<20				
≥ 20	2.323	1.194-4.517	6.215	0.013
APTT (s)				
≤ 43				
>43	7.869	1.917-32.301	8.273	0.004

(三) 血小板增多与NSCLC预后的关系

1、采用Cox模型分析血小板增多是否为NSCLC的预后影响因素

使用Cox比例风险模型前进法逐步回归分析NSCLC的预后影响因素。在Cox模型中定义自变量为各种临床病理因素，应变量为总生存时间（OS），结局为死亡或随访终止，自变量入选标准为 $p=0.05$ ，剔除标准为 $p=0.10$ 。各变量及影响因素的含义及量化值见表10。

表10. NSCLC的影响因素及量化值

变量	含义	量化值
age	年龄	岁
sex	性别	男=0，女=1
jcjb	基础疾病	无=0，有=1
smoke	吸烟指数	不吸烟=0，<20 包年=1，≥20 包年=2
hemop.	咯血	有=1，无=0
fever	发热	有=1，无=0
WL	体重减轻	千克
Htype	组织学类型	腺癌=1，鳞癌=2，腺鳞癌=3，大细胞癌=4
DD	分化程度	未分化=0，低分化=1，中分化=2，高分化=3
TNM	TNM 分期（1997）	I =1, II =2, IIIa =3, IIIb =4, IV =5
WBC	白细胞计数	$<10.0 \times 10^9/L=0, \geq 10.0 \times 10^9/L=1$
HGB	血红蛋白浓度	$\leq 120g/L=0, > 120g/L=1$
PLT	血小板计数	$<300 \times 10^9/L=0, \geq 300 \times 10^9/L=1$
Alb	白蛋白	$\leq 35g/L=0, > 35g/L=1$
Glb	球蛋白	$< 30g/L=0, \geq 30 g/L=1$
AKP	碱性磷酸酶	$< 92U/L=0, \geq 92U/L=0$
LDH	乳酸脱氢酶	$< 285U/L=0, \geq 285U/L=1$
ESR	血沉	$< 20mm/H=0, \geq 20mm/H=1$
CEA	癌胚抗原	$< 10.0U/L=0, \geq 10.0U/L=1$
CA-199	糖类抗原 199	$< 37.0U/L=0, \geq 37.0U/L=1$
NSE	神经烯醇化酶	$< 15.2U/L=0, \geq 15.2U/L=1$
term.	病人的结局	截尾时存活=0，死亡=1
OS	生存时间	周

(1) 可切除和不可切除的NSCLC患者的预后影响因素分析

使用Cox比例风险模型前进法逐步回归分析308例NSCLC患者数据，入选标准为 $p=0.05$ ，剔除标准为 $p=0.10$ 。结果209例进入分析，99例因数据不全被忽略。经Cox模型筛选后的最佳模型包含7个协变量：血小板增多、PS评分 ≥ 2 分、TNM分期晚、分化程度低、低白蛋白血症、LDH增高、血沉增快等是总体生存时间较短的危险因素，血小板增多的相对危险度为3.015（表 11）；而年龄、性别、基础疾病、吸烟、组织学类型、外周血白细胞、血红蛋白、球蛋白、AKP、CEA、CA-199、PT、APTT、发热、体重减轻等因素被筛除。血管癌栓、FIB、FDP、D-二聚体、CRP等因样本量不足没有分析。

表11. NSCLC患者Cox模型筛选的预后危险因素及参数估计（n=209）

预后因素	相对危险度	95%可信区间	Wald值	p值
PLT($\times 10^9/L$)				
<300				
≥ 300	3.015	2.054-7.017	40.852	<0.001
ECOG PS评分				
≤ 1				
≥ 2	4.857	3.120-6.078	5.759	0.016
TNM分期				
I				
II				
IIIa				
IIIb				
IV	1.598	1.037-4.491	41.148	<0.001
分化程度				
高分化				
中分化				
低分化				
未分化	1.626	1.074-6.517	7.665	0.006
白蛋白(g/L)				
≥ 35				
<35	2.631	1.802-9.063	3.982	0.046
LDH(U/L)				
<285				
≥ 285	2.312	1.210-5.017	18.344	<0.001
ESR (mm/H)				
<20				
≥ 20	1.779	1.217-3.031	13.456	<0.001

(2) 可切除的NSCLC患者的预后影响因素分析

使用Cox比例风险模型前进法逐步回归分析147例可手术切除的NSCLC患者确诊时的数据。入选标准为 $p=0.05$ ，剔除标准为 $p=0.10$ 。结果102例进入分析，45例因数据不全被忽略。经Cox模型筛选后的最佳模型包含4个协变量：血小板增多、术前血红蛋白低、TNM分期晚、PS评分 ≥ 2 分等因素是总体生存时间的危险因素，血小板增多的危险度为3.814（表12）。而年龄、性别、基础疾病、吸烟、发热、体重减轻、组织学类型、分化程度、外周血白细胞、球蛋白、白蛋白、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶、血沉、癌胚抗原、糖类抗原199、神经烯醇化酶等因素均被筛除。血管癌栓、FIB、FDP、D-二聚体、CRP等因样本量不足没有分析

表12.可切除的NSCLC患者Cox模型筛选的预后危险因素及参数估计(n=102)

危险因素	相对危险度	95%可信区间	Wald值	p值
PLT ($\times 10^9/L$)				
<300				
≥ 300	3.814	1.412-9.017	11.299	0.001
HGB (g/L)				
≥ 120				
<120	2.835	1.438-4.062	9.156	0.002
TNM分期				
I a				
I b				
II a				
II b				
IIIa	1.347	1.119-5.624	39.050	<0.001
ECOG PS评分				
≤ 1				
≥ 2	12.908	3.465-48.092	14.009	<0.001

(3) 不可切除的NSCLC患者的预后影响因素分析

使用Cox比例风险模型前进法逐步回归分析161例不可手术切除的NSCLC患者确诊时的数据。入选标准为 $p=0.05$ ，剔除标准为 $p=0.10$ 。结果107进入分析，54例因数据不全被忽略。经Cox模型筛选后的最佳模型包含6个协变量：血小板增多、白细胞

增多、血沉增快、LDH ≥ 285 U/L、CA-199 ≥ 37.0 U/L、TNM分期较晚(Ⅳ期)等因素是总体生存时间的危险因素(表13),其他因素被排除。血小板增多的相对危险度为2.103。血管癌栓、FIB、FDP、D-二聚体、CRP等因样本量不足没有分析。

表13.不可切除的NSCLC患者Cox模型筛选的预后危险因素及参数估计(n=107)

危险因素	相对危险度	95%可信区间	Wald值	p值
PLT ($\times 10^9$ /L)				
<300				
≥ 300	2.103	1.540-4.905	16.276	<0.001
WBC ($\times 10^9$ /L)				
<10				
≥ 10	1.525	1.307-2.438	8.257	0.004
TNM分期				
IIIb				
IV	1.838	1.054-2.865	6.750	0.009
LDH (U/L)				
<285				
≥ 285	1.701	1.080-4.402	6.043	0.014
ESR (mm/H)				
<20				
≥ 20	2.037	1.312-5.113	6.235	0.013

2、血小板增多对NSCLC患者的生存时间和生存率的影响

(1) 分五层分析

我们将血小板不增多组分层为: 1) 血小板减少组(PLT $<100 \times 10^9$ /L), 共4例, 2) 血小板正常组(PLT在 300×10^9 /L $\sim 350 \times 10^9$ /L), 共222例。将血小板增多进一步分层为: 3) 轻度增高组(PLT在 300×10^9 /L $\sim 350 \times 10^9$ /L), 共39例; 4) 中度增高组(PLT在 350×10^9 /L $\sim 400 \times 10^9$ /L), 共26例; 5) 重度增高组(PLT $\geq 400 \times 10^9$ /L), 共17例。

五组的截尾数、中位生存时间和一年生存率、三年生存率见表14。

表14. 308例NSCLC患者确诊时血小板计数不同水平组间的预后

分 组	总例数	死亡数(%)	截尾数 (%)	生存时间(w)		生存数(率)	
				中位数	95%可信区间	1年	3年
血小板减少组	4	2(50)	2(50)	91.3	/	4(100.0)	2(50.0)
血小板正常组	222	166(74.8)	56(25.2)	121.1	98.4-143.9	183(82.4)	85(38.3)
轻度增高组	39	35(89.7)	4(10.3)	64.7	36.7-92.7	23(59.0)	5(12.8)
中度增高组	26	26(100.0)	0(0)	43.1	8.0-78.3	13(50.0)	2(7.7)
重度增高组	17	15(88.2)	2(11.8)	77.1	46.7-107.5	11(64.7)	3(17.6)
合 计	308	244(79.2)	64(20.8)	99.3	87.5-111.1	234(76.0)	97(31.5)

五组的生存曲线如图4所示：血小板增多的三组的生存曲线与血小板不增多的两组的生存曲线明显分开，而血小板增多的三组生存曲线分开不明显，血小板不增多的两组生存曲线分开也不明显。

采用Log-Rank检验结果如下：血小板的三组整体生存间差异的整体比较和两两比较均无统计学意义（三组整体比较Log-Rank $\chi^2 = 2.952$, $p=0.229$ ；轻度增高组与中度增高组Log-Rank $\chi^2 = 1.753$, $p=0.185$ ；轻度增高组与重度增高组 Log-Rank $\chi^2 = 0.032$, $p=0.858$ ；中度增高组与重度增高组Log-Rank $\chi^2 = 0.828$, $p=0.363$ ），血小板减少组与血小板正常组整体生存间的差异也无统计学意义（Log-Rank $\chi^2 = 0.574$, $p=0.449$ ）；其他组合的两组整体生存间的两两比较如表15所示。血小板减少组与轻度增高组和重度增高组整体生存间的比较显示差异无统计学意义。由于血小板减少组与血小板增多各组的生存曲线分开明显，有统计结果假阴性可能，考虑为血小板减少组样本量只有4例，样本量过小所致，增加样本量可能出现两组整体生存的显著差异。

基于以上统计结果，结合本研究样本中血小板减少组血小板计数均 $>85 \times 10^9/L$ ，我们认为在本研究样本中血小板减少组与血小板正常组的整体生存差异无统计学意义，可以合并为一组。而血小板增多的三组整体生存间差异的整体比较和两两比较均无统计学意义，与血小板正常组整体生存差异有统计学意义，因此也可以合并为一组。这样，我们就把本研究样本分成了血小板增多组和血小板不增多两组，来进一步探讨血小板计数与NSCLC预后的关系。

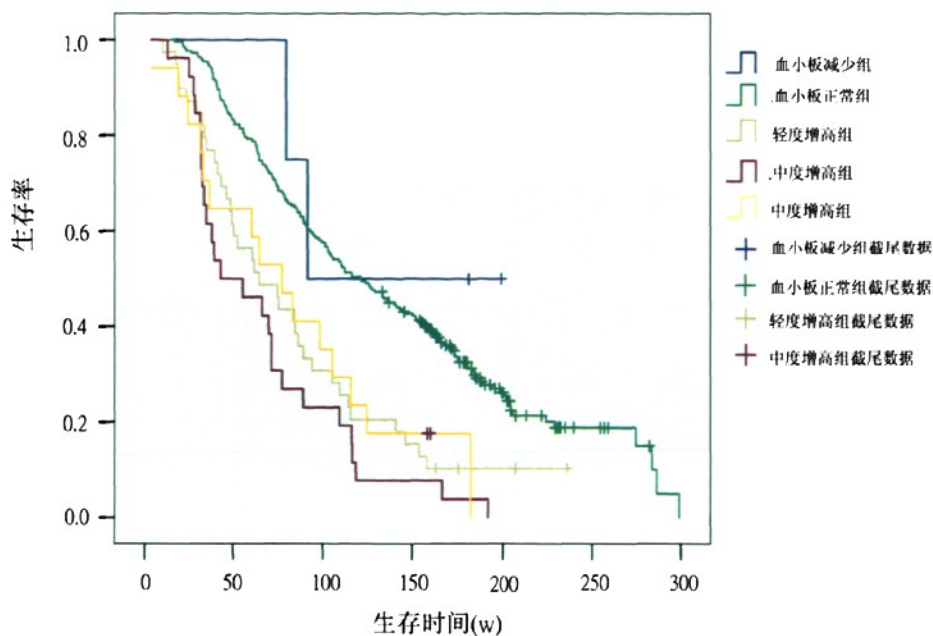


图4. 不同血小板计数水平的NSCLC的生存曲线

表15. 血小板计数不同水平组生存曲线间的两两比较的Log-Rank χ^2 (p) 值

分 组	血小板减少组	血小板正常组	轻度增高组	中度增高组	重度增高组
血小板减少组	/	0.574(0.449)	2.748(0.097)	5.281(0.022)	2.153(0.142)
血小板正常组	0.574(0.449)	/	15.809(0.000)	33.053(0.000)	7.999(0.005)
轻度增高组	2.748(0.097)	15.809(0.000)	/	1.753(0.185)	0.032(0.858)
中度增高组	5.281(0.022)	33.053(0.000)	1.753(0.185)	/	0.828(0.363)
重度增高组	2.153(0.142)	7.999(0.005)	0.032(0.858)	0.828(0.363)	/

(2) 分两组分析

在所有308例NSCLC患者 244例死亡，64例存活，MST为94.0w（3.6-299.0），一年生存率76.0%，三年生存率31.5%。其中82例血小板增多患者（76例死亡，6例存活）的MST为60.7w（3.6-235.9），一年生存率为57.3%，三年生存率为12.2%；226例血小板不增多患者（168例死亡，58存活），MST为111.6w（16.6-299.0），一年生

存率为82.7%，三年生存率为38.5%。两组间一年生存率($\chi^2=21.310, p<0.001$)、三年生存率($\chi^2=19.291, p<0.001$)差异均有统计学意义(表16)。两组的整体生存间差异有统计学意义(Log Rank $\chi^2=43.095, p<0.001$) (图5)。

表16. 308例NSCLC血小板增多组和血小板不增多组间生存的比较

预 后	总体(N=308)	血小板增多组 (n=82)	血小板不增多组 (n=226)	χ^2	p 值
结局					
存活(n(%))	64(2.8)	6(7.3)	58(25.7)		
死亡(n(%))	244(79.2)	76(92.7)	168(74.3)	13.536	<0.001
预后					
MST(w)	94.0	60.7	111.6		
1年生存(n(%))	234 (76.0)	47 (57.3)	187(82.7)	21.310	<0.001
3年生存(n(%))	97(31.5)	10 (12.2)	87 (38.5)	19.291	<0.001

MST = 中位生存时间。

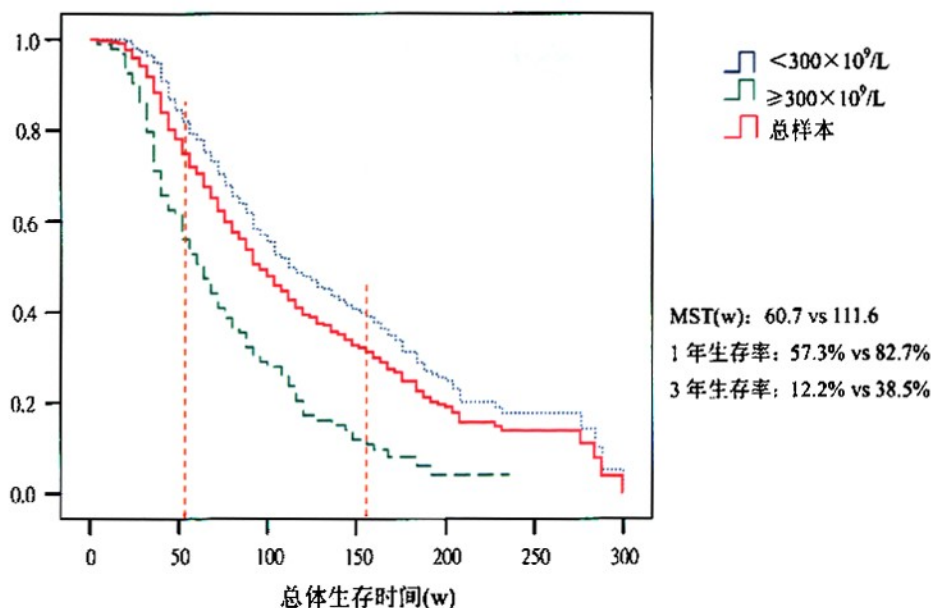


图5. 308例NSCLC血小板增多组的生存显著差于血小板不增多组 ($p<0.001$)

在147例可手术的患者 90例死亡, 57例存活, MST为 167.4w (21.6-299.0), 一年生存率91.2%, 三年生存率52.4%; 其中29例血小板增多患者 (23例死亡, 6例存活) MST为110.0w (25.0-235.9), 一年生存率为86.2%, 三年生存率为31.0%。118例血小板不增多患者 (67例死亡, 51例存活) 的MST为184.3w (21.6-299.0), 一年生存率为92.4%, 三年生存率为57.6%。两组间一年生存率差异无统计学意义 ($\chi^2=1.098, p=0.295$), 但三年生存率差异有统计学意义 ($\chi^2=6.600, p=0.010$) (表17)。两组的整体生存间差异有统计学意义 (Log Rank $\chi^2=15.266, p<0.001$) (图6)。

表16. 147例可手术肺癌血小板增多组和血小板不增多组间生存的比较

预后	总体(N=147)	血小板增多组 (n=29)	血小板不增多组 (n=118)	χ^2	p 值
结局					
存活(n(%))	57(38.8)	6(20.7)	51(43.2)		
死亡(n(%))	90(61.2)	23(79.3)	67(56.8)	6.154	0.013
预后					
MST(w)	167.4	110.0	184.3		
1年生存(n(%))	134(91.2)	25(86.2)	109(92.4)	1.098	0.295
3年生存(n(%))	87(52.4)	9(31.0)	68(57.6)	6.600	0.010

MST =中位生存时间

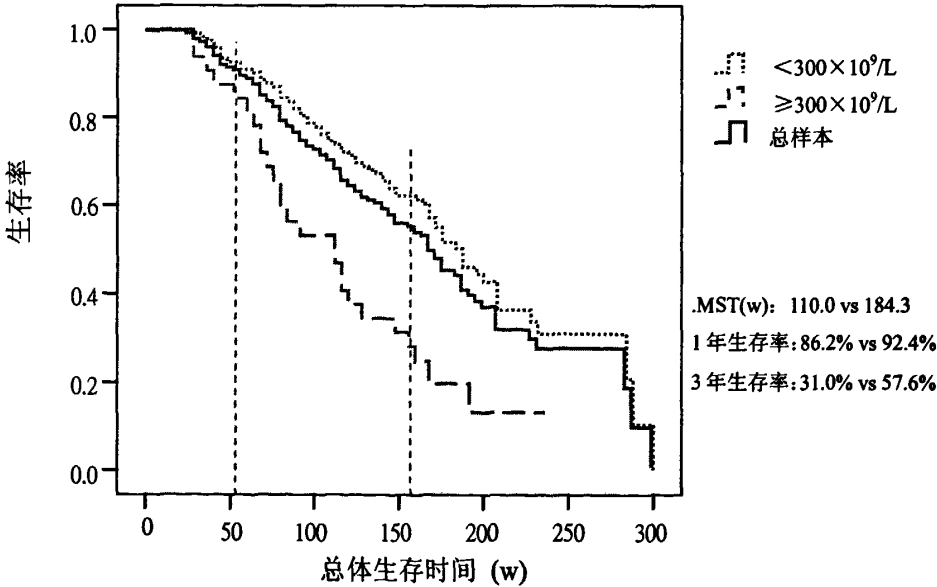


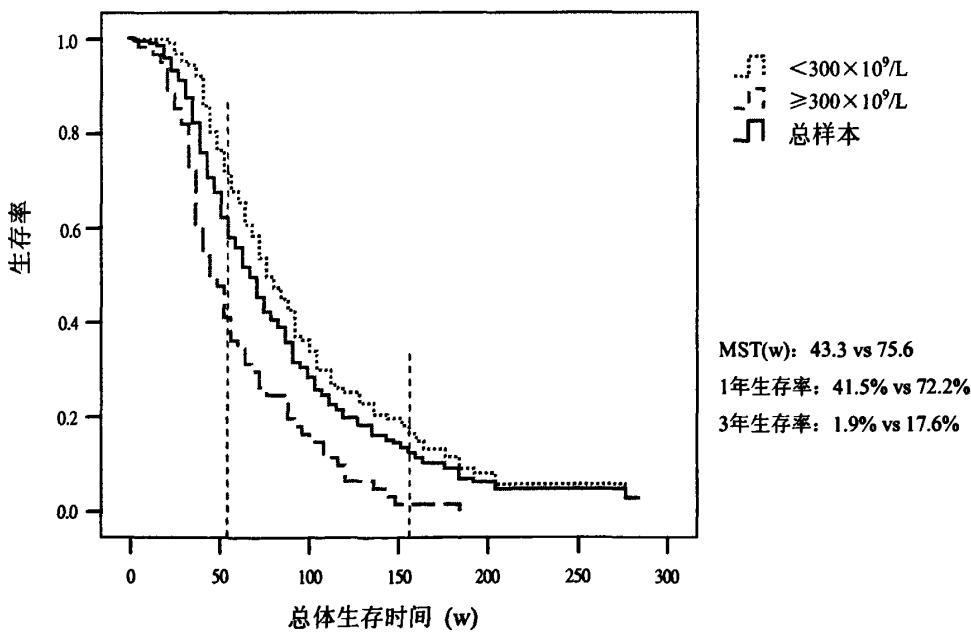
图6. 147例可手术NSCLC血小板增多组的生存显著差于血小板不增多组 ($p<0.001$)

在161例不可手术的患者 154例死亡，7例存活，MST为66.0w（3.6-282.1）；其中53例血小板增多全部死亡，MST为43.3w（3.6-181.7），一年生存率为41.5%，三年生存率为1.9%。108例血小板不增多患者中101例死亡，7例存活，MST为75.6w（16.6-282.1），一年生存率为72.2%，三年生存率为17.6%。两组间一年生存率（ $\chi^2=14.251, p<0.001$ ）、三年生存率（ $\chi^2=8.061, p=0.005$ ）差异均有统计学意义（表18）。两组生存曲线间差异有统计学意义（Log Rank $\chi^2=23.704, p<0.001$ ）（图7）。

表18. 161例不可切除NSCLC血小板增多组和血小板不增多组间生存的比较

预后	总样本(N=188)	血小板增多组 (n=53)	血小板不增多组 (n=108)	χ^2	p 值
结局					
存活(n(%))	7(4.3)	0(0.0)	7(6.5)		
死亡(n(%))	154(95.7)	53(100.0)	101(93.5)	4.013	0.045
预后					
MST(w)	66.0	43.3	75.6		
1年生存(n(%))	100(62.1)	22(41.5)	78(72.2)	14.251	<0.001
3年生存(n(%))	20(12.4)	1(1.9)	19(17.6)	8.061	0.005

MST = 中位生存时间



（四）血小板增多与NSCLC远处转移关系初步分析

1、308例NSCLC的远处转移情况

（1）各种远处转移

确诊时及整个病程中观察到的常见远处转移从多到少依次为淋巴结218例（70.8%）、骨138例（44.8%）、肺93例（30.2%）、脑67例（21.8%）、肝46例（14.9%）、肾上腺11例（3.6%）、肾5例（1.6%）（表19）。

（2）血路转移

病程中血路转移共360例（部分患者有多部位的转移），以骨转移（138例）最常见（占血路转移的38.3%）。诊断时已发生骨转移患者（80例）占总病例数的26.0%，在病程中发生骨转移患者（138例）占总病例数占44.8%。

表19. 308例NSCLC不同部位的转移情况

转移部位	诊断时(%)	病程中(%)
淋巴结	209(67.9)	218(70.8)
骨骼	80(26.0)	138(44.8)
肺	54(17.5)	93(30.2)
脑	25(8.1)	67(21.8)
肝脏	24(7.8)	46(14.9)
肾上腺	6(1.9)	11(3.6)
肾脏	2(0.6)	5(1.6)

2、血小板增多与不同部位远处转移的关系

（1）骨转移在血小板增多组和血小板不增多组间发生率不同

首先，我们将 308 例 NSCLC 分为血小板增多组和血小板不增多组，计算不同部位的远处转移在两组发生的例数，其中初诊时骨转移血小板增多组 29 例（35.4%），在血小板不增多组 51 例（22.6%）；病程中骨转移在血小板增多组 50 例（61.0%），在血小板不增多组 88 例（38.9%）。其他部位转移情况见表 19。

在采用 χ^2 检验，分别比较了血小板增多组和不增多组间确诊时及整个病程中观察到的远处转移（只计有无转移的病例数，未考虑单个病例的转移灶数）在总样本中所占的比率的差异。结果显示，在血小板增多组和血小板不增多组，确诊时发生骨转移的情况分别为 29 例（35.4%）和 51 例（22.6%），两组间的差异有统计学意义（ $\chi^2=5.127$, $p=0.024$ ），整个病程发生骨转移的情况分别为和 50 例（61.0%）和 88 例（38.9%），两组间的差异也有统计学意义（ $\chi^2=11.816$, $p=0.001$ ）。而与其他部位转移在两组间的差异无统计学意义（表 20）。

表 20. 308 例 NSCLC 远处转移情况在血小板增多和和血小板不增多组间的比较

远处转移(n(%))	总样本 (n=308)	血小板增多组 (n=82)	血小板不增多组 (n=226)	χ^2	p 值
淋巴结转移					
诊断时	218(70.8)	61(74.4)	157(69.5)	0.705	0.401
病程中	209(67.9)	59(72.0)	150(66.4)	0.859	0.354
骨转移					
诊断时	80(26.0)	29(35.4)	51(22.6)	5.127	0.024
病程中	138(44.8)	50(61.0)	88(38.9)	11.816	0.001
肺转移					
诊断时	54(17.5)	17(20.7)	37(16.4)	0.791	0.374
病程中	93(30.2)	27(32.9)	66(29.2)	0.396	0.529
脑转移					
诊断时	24(7.8)	7(8.5)	17(7.5)	0.086	0.769
病程中	67(21.8)	17(20.7)	50(22.1)	0.069	0.794
肝转移					
诊断时	24(7.8)	7(8.5)	17(7.5)	0.086	0.769
病程中	46(14.9)	13(15.9)	33(14.6)	0.074	0.785
肾上腺转移					
诊断时	6(1.9)	1(1.2)	5(2.2)	0.311	0.577
病程中	11(3.6)	3(3.7)	8(3.7)	0.002	0.960
肾转移					
诊断时	2(0.6)	1(1.2)	1(0.4)	0.563	0.453
病程中	5(1.6)	3(3.7)	2(0.9)	2.898	0.089

(2) 血小板增多是骨转移的危险因素

在得出骨转移在血小板增多组的发生率显著高于血小板不增多组后,我们分析了骨转移与确诊时临床病理因素的相关性,以明确血小板是不是骨转移的危险因素。

单因素分析 根据确诊时有无骨转移,我们将308例NSCLC分成有骨转移组和无骨转移组,单因素分析(χ^2 检验)中,发现本样本中性别、吸烟、体重减轻、ECOG PS评分、病理类型、血红蛋白浓度、血小板计数、血沉、血清AKP和CEA水平与确诊时骨转移有关,男性、吸烟 ≥ 20 包年、体重减轻、ECOG PS评分 ≥ 2 分、贫血、血小板增多、血沉增快、AKP增高、CEA增高是骨转移的危险因素(表21-22)。

表21. 308例NSCLC确诊时骨转移与临床因素的单因素分析

临床病理因素	频数(%)		OR	95%可信区间	χ^2 值	p值
	骨转移组	无骨转移组				
性别						
男	44(55.0)	169(74.1)	2.344	1.378-3.985	10.153	0.001
女	36(45.0)	59(25.9)				
年龄(岁)						
<65	57(71.3)	142(62.3)	0.904	0.793-1.031	2.084	0.149
≥ 65	23(28.7)	86(37.7)				
吸烟(包年,n=298)						
<20	51(66.3)	113(51.3)	0.537	0.316-0.913	5.341	0.021
≥ 20	26(33.8)	108(48.7)				
发热						
有	12(15.0)	25(11.0)	1.109	0.878-1.400	0.912	0.342
无	68(85.0)	203(89.0)				
体重减轻(n=288)						
有	33(41.3)	39(17.1)	3.403	1.938-5.975	19.274	<0.001
无	47(58.5)	189(82.9)				
ECOG PS评分						
≥ 2	11(13.8)	8(3.5)	4.384	1.695-11.336	10.731	0.001
≤ 1	69(86.3)	220(96.5)				
病理类型						
腺癌	60(75.0)	120(52.9)	/	/	13.898*	0.003*
鳞癌	19(23.8)	100(44.1)				
腺鳞癌	0(0.0)	6(2.6)				
大细胞癌	1(1.3)	1(0.4)				

* Kruskal-Wallis H检验

表22. 308例NSCLC确诊时骨转移与临床因素的单因素分析（续）

临床病理因素	频数(%)		OR	95%可信区间	χ^2 值	p值
	骨转移组	无骨转移组				
PLT($\times 10^9/L$)						
≥300	29(36.3)	53(23.2)	1.878	1.084-3.253	8.127	0.008
<300	51(63.8)	175(76.8)				
WBC($\times 10^9/L$)						
≥10.0	8(10.0)	22(9.6)	1.040	0.444-2.440	0.008	0.927
<10.0	72(90.0)	206(90.4)				
HGB (g/L)						
<120	25(31.3)	43(18.9)	0.511	0.287-0.911	5.285	0.022
≥120	55(68.8)	185(81.1)				
球蛋白(g/L)						
≥30	28(35.0)	55(24.1)	1.160	0.980-1.375	3.559	0.059
<30	52(65.0)	173(75.9)				
ESR(mm/H,n=242)						
≥20	38(68.7)	98(53.9)	1.169	1.027-1.330	5.320	0.021
<20	20(31.3)	86 (46.1)				
白蛋白(g/L)						
<35	4(5.0)	10(4.4)	0.963	0.687-2.861	0.051	0.821
≥35	76(95.0)	218(95.6)				
AKP(U/L)						
≥92	39(48.8)	42(18.4)	1.580	1.270-1.966	28.152	<0.001
<92	41((51.3)	186(81.6)				
LDH (U/L)						
≥285	27(33.8)	55(24.1)	1.141	0.965-1.350	2.810	0.094
<285	53(66.3)	173(75.9)				
CEA(U/L,n=287)						
≥10	49(63.8)	63(30.7)	3.969	2.323-6.782	27.117	<0.001
<10	27(36.3)	148(69.3)				
CA-199(U/L,n=244)						
≥37	13(23.8)	29(17.1)	1.509	0.813-2.805	1.711	0.191
<37	47(76.3)	155(82.9)				
NSE(U/L,n=228)						
≥15.2	33(53.8)	68(41.2)	1.657	0.992-2.766	3.760	0.052
<15.2	28(46.3)	99(58.8)				

多因素分析 将单因素分析得到的与骨转移有关的因素进入多因素分析，这些因素有性别、吸烟、体重减轻、ECOG PS评分、病理类型、血红蛋白浓度、血小板计数、血沉、血清AKP和CEA水平。采用二分类Logistic回归模型前进法分析确诊时有无骨转移与确诊时的各种临床病理因素关系。结果237例进入分析，71例被忽视。发现性别、有无体重减轻、有无血小板增多、血清AKP水平和CEA水平最终进入Logistic回归模型：血小板增多、男性、体重减轻、血清AKP和CEA增高是确诊时已发生的骨转移的危险因素（表23），而病理类型最终没有进入Logistic回归模型（Wald $\chi^2=5.198$, df=3, p=0.158）。如果剔除腺鳞癌和大细胞癌，比较腺癌和鳞癌与骨转移的关系时，病理类型最终进入了Logistic回归模型（n=237），在本样本中，鳞癌是骨转移的保护性因素（Wald $\chi^2=6.242$, p=0.012, OR=0.405, 95%可信区间0.199-0.823）。

表23. NSCLC最终进入Logistic模型的确诊时骨转移的危险因素及参数估计(n=237)

临床病理因素	OR	95%可信区间	Wald值	P值
性别				
女				
男	2.102	1.142-3.871	5.696	0.017
体重减轻				
无				
有	3.002	1.603-5.623	11.790	0.001
PLT($\times 10^9/L$)				
<300				
≥ 300	1.436	1.043-2.871	4.013	0.048
AKP(U/L)				
<92				
≥ 92	3.466	1.887-6.364	16.068	<0.001
CEA(U/L)				
<10				
≥ 10	2.916	1.621-5.247	12.751	<0.001

3、血小板增多与骨转移关系的构成、相关系数

(1) 病程中血小板增多情况

在308例NSCLC中， we发现有131例（42.5%）在病程中出现血小板增多。

(2) 血小板增多与骨转移关系的构成

二者有无/先后关系的构成 根据病程中血小板增多与骨转移发生的时间顺序及有无发生，将二者关系分为六种情况：A.血小板增多与骨转移同时被发现（37例，12.0%）；B.先发现血小板增多，后发现骨转移（36例，11.7%）；C.先发现骨转移，后发现血小板增多（13例，4.2%）；D.有血小板增多，没有骨转移（45例，14.6%）；E.有骨转移，没有血小板增多（52例，16.9%）；F.两者都没有（125例，40.6%）（图8）。我们看到，有血小板增多也有骨转移的病例（A+B+C）是86例（27.9%，占病程中血小板增多患者的65.6%），是有血小板增多没有骨转移的病例（45例，14.6%，占病程中血小板增多患者的34.4%）1.91倍；而且先发生血小板增多后发生骨转移的病例（37例，占12.0%）是先发生骨转移后发生血小板增多的病例（13例，4.2%）的2.85倍。

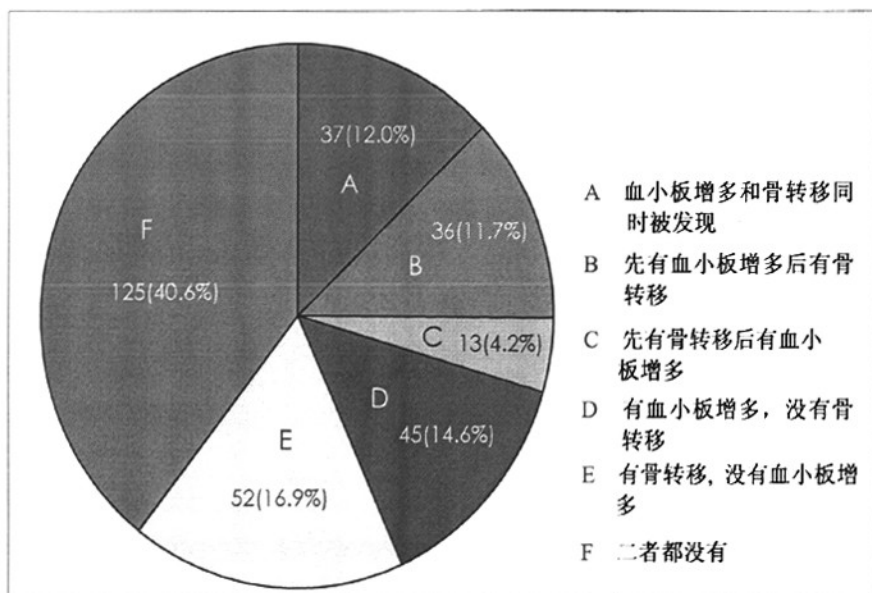


图8. 308例原发性肺癌血小板增多与骨转移时间关系的构成

分层后二者的关系 以确诊时血小板计数为依据,将308例NSCLC分为四个组:血小板不增多组、轻度增高组、中度增高组和重度增高组。

确诊时发生骨转移在血小板计数各水平组的发生情况如表24所示,血小板增高的三组发生骨转移的比率均较高(均>33%),明显高于血小板不增多组的比率(22.6%)。检验后发现各水平组间确诊时发生骨转移的差异无统计学意义($\chi^2=5.176$, $df=3$, $p=0.159$; 线性趋势 $\chi^2=3.653$, $df=1$, $p=0.056$)。

表24. 不同血小板计数水平组确诊时发生骨转移的发生情况

确诊时PLT($\times 10^9/L$)	确诊时骨转移病例数 (%)		合 计
	有	无	
<300	51 (22.6)	175 (77.4)	226(100.0)
300~	14 (35.9)	25 (64.1)	39(100.0)
350~	9 (36.0)	16 (64.0)	25(100.0)
≥ 400	6 (33.3)	12 (66.7)	18(100.0)
合 计	80 (26.0)	138 (74.0)	308(100.0)

但是,病程中发生骨转移在血小板计数各水平组的发生情况有所不同:如表25所示,随着血小板计数的增高,病程中发生骨转移的百分比有升高的趋势,而且血小板升高的三个水平组中,发生骨转移的比率明显高于血小板不增多组的比率。经过检验后发现各水平组间病程中发生骨转移的差异有统计学意义($\chi^2=12.307$, $df=3$, $p=0.006$; 线性趋势 $\chi^2=9.837$, $df=1$, $p=0.002$)。

表25. 不同血小板计数水平组病程中发生骨转移的发生情况

确诊时PLT($\times 10^9/L$)	病程中骨转移病例数 (%)		合 计
	有	无	
<300	88 (38.9)	138 (61.1)	226(100.0)
300~	24 (61.5)	15 (38.5)	39(100.0)
350~	14 (56.0)	11 (44.0)	25(100.0)
≥ 400	12 (66.7)	4 (33.3)	18(100.0)
合 计	138 (44.8)	170 (55.2)	308(100.0)

(3) 血小板增多与骨转移的相关系数

对血小板增多及骨转移进行相关分析,发现初诊时血小板计数与初诊时骨转移的相关系数为0.126 ($p=0.027$), 诊断时血小板增多与病程中发生的骨转移的相关系数为0.187 ($p=0.001$), 病程中首次出现血小板增多时血小板计数的等级与病程中骨转移的相关系数为0.336 ($p<0.001$), 各相关系数均较小, 二者关系不密切。

(五) 血小板增多与NSCLC并发血栓事件关系初步分析

1、血栓事件的发生情况

308例NSCLC患者中发现血栓事件15例(4.9%), 其中14例发生在下肢深静脉, 1例冠状动脉栓塞。在初诊时血小板增多组和血小板不增多组, 初诊和随后发生血栓事件的例数分别为7例(8.5%)和8例(3.5%)。15例血栓事件中12例(80.0%)在病程中伴血小板增多, 3例(20.0%)血小板不增多。在初诊时已发生血栓事件3例, 其中初诊时伴血小板增多的2例, 血小板不增多的1例。在确诊后的病程中发生血栓事件13例, 其中病程中伴血小板增多的11例(84.6%), 血小板不增多的2例(15.4%)。

2、单因素分析

在15例发生血栓事件的患者中, 有12例(12/15, 80.0%)在发生血栓事件的前后伴有血小板增多, 占病程中血小板增多患者总数(131例)的9.2%, 有3例(3/15, 20.0%)不伴血小板增多, 占病程中血小板不增多患者总数(177例)的1.7%, 比较血栓事件在病程中血小板增多组和病程中血小板不增多组的发生比率, 两组间差异有统计学意义($\chi^2=9.056, p=0.003$, 表26), 提示血小板增多与血栓事件有关。

表26. 308例NSCLC并发血栓事件在病程中血小板增多组和不增多组的比较

分 组	血栓事件(n(%))		OR	95%可信区间	χ^2	p值
	有	无				
血小板增多组(n=131)	12(9.2)	119(90.8)	5.849	1.616-21.172	9.056	0.003
血小板不增多组(n=177)	3(1.7)	174(98.3)				

3、分层分析

如果以病程中首次出现血小板增多时血小板计数为依据,分为轻度增高组($PLT\ 300\times 10^9/L\sim 350\times 10^9/L$,共63例)、中度增高($PLT\ 350\times 10^9/L\sim 400\times 10^9/L$,共42例)和重度增高($PLT\geq 400\times 10^9/L$,共26例)三组,再加上血小板不增多组($PLT<300\times 10^9/L$,共177例),则发现血栓事件在这四组的例数分别为3例、5例、6例和1例,因样本量太小,无法进一步分析(表27)。

表27不同血小板计数水平组的NSCLC并发血栓事件的情况

PLT($\times 10^9/L$)	血栓事件例数(%)		合 计
	有	无	
<300	3 (1.0)	174 (56.5)	177 (57.5)
300~	5 (1.6)	58 (18.8)	63 (20.5)
350~	6 (1.9)	36 (11.7)	42 (13.6)
≥ 400	1 (0.3)	25 (8.1)	26 (8.4)
合 计	15 (4.9)	293 (95.1)	308 (100.0)

(六) 血小板增多与NSCLC含铂类化疗关系的初步分析

1、非手术NSCLC患者含铂类化疗的疗效

(1) 研究对象

在308例NSCLC病例中,排除接受手术(包括根治性和姑息性手术)及病情进展前接受放疗或介入治疗等治疗手段的病例后,筛选出初始治疗为接受含铂类二联化疗的137例NSCLC的临床资料作为研究对象。

年龄: 58.7 ± 10.3 岁,最大79岁,最小29岁。

性别: 男性91例(66.4%), 女性46例(33.6%)。

TNM分期: IIIa期5例(3.7%), IIIb期45例(32.8%), IV期87例(63.5%)。

病理类型: 鳞癌58例(33.6%), 腺癌76例(55.5%), 腺鳞癌2例(1.5%), 大细胞癌1例(0.8%); 癌中包括腺癌伴细支气管肺泡癌成分7例(5.1%), 细支气管肺泡癌5例(3.6%)。

化疗方案: TC方案66例(48.2%), GP方案23例(16.8%), NP方案12例(8.8%), TP方案14例(10.2%), TO方案10例(7.3%), GO方案6例(4.4%), GC方案4例(2.9%), NO方案2例(1.5%)。

分组: 确诊时血小板增多组40例(29.2%), 血小板不增多组97例(70.8%)。

(2) 血小板增多组内GP方案和TC方案的比较

在40例血小板增多的NSCLC患者, 男性24例(60.0%), 女性16例(40.0%), 年龄 55.0 ± 9.0 岁; IIIa期3例(7.5%), IIIb期12例(30.0%), IV期25例(62.5%); 鳞癌11例(27.5%), 腺癌28例(70.0%), 大细胞癌1例(2.5%); 接受GP方案8例, TC方案16例, NP方案4例, GC方案1例, TP方案4例, GO方案3例, TO方案4例。

血小板增多的NSCLC患者接受GP方案、TC方案化疗的患者的PFS的中位数为12.9w和16.3w, 四分位数间距为18.6w-8.6w和24.0w-8.4w, 比较GP方案和TC方案两组的总体PFS, 两组间差异无统计学意义(Mann-Whitney $U = 44.000$, $p = 0.238$)。

(3) 血小板不增多组内GP方案和TC方案的比较

在97例血小板不增多的患者, 男性67例(69.1%), 女性30例(30.1%), 年龄 61.1 ± 10.3 岁; IIIa期2例(2.1%), IIIb期33例(34.0%), IV期62例(63.9%); 鳞癌47例(48.4%), 腺癌28例(49.5%), 腺鳞癌2例(2.1%); 接受GP方案15例, TC方案50例, NP方案8例, TP方案10例, GC方案3例, NO方案2例, GO方案3例, TO方案6例。

血小板不增多的NSCLC患者接受GP方案、TC方案化疗的患者的PFS的中位数为32.3w和38.1w, 四分位数间距为39.6w-23.6w和44.0w-18.4w, 比较GP方案和TC方案两组的总体PFS, 两组间差异无统计学意义(Mann-Whitney $U = 262.5.000$, $p = 0.080$)。

(4) 137例NSCLC接受含铂类化疗的疗效

分四层分析

以确诊时血小板计数为依据, 将初始治疗为含铂类化疗的137例晚期NSCLC分为血小板不增多组($PLT < 300 \times 10^9/L$, 97例)、轻度增高组(PLT 在 $300 \times 10^9/L \sim 350 \times 10^9/L$, 17例)、中度增高(PLT 在 $350 \times 10^9/L \sim 400 \times 10^9/L$, 15例)和重度增高($PLT \geq 400 \times 10^9/L$, 8例)。

四组的含铂类化疗RECIST评价结果如表28所示: 只有1例血小板不增高的NSCLC患者达到CR, 有35例达到PR, 43例为SD, 还有58例PD。而且还可看到, 血小板计数的等级越高, PR的百分比越小, PD的百分比越大, 在血小板增多的三个等级组里, PD的百分比均超过了50%。

表28. 137例NSCLC对含铂类化疗的反应

PLT($\times 10^9/L$)	RECIST评价 (例数)				合 计
	CR	PR	SD	PD	
<300	1(1.0)	30(30.9)	31(32.0)	35(36.1)	97(100.0)
300~	0(0.0)	3(17.6)	5(29.4)	9(52.9)	17(100.0)
350~	0(0.0)	2(13.3)	5(33.3)	8(53.3)	15(100.0)
≥ 400	0(0.0)	0(0.0)	2(25.0)	6(75.0)	8(100.0)
合 计	1(0.7)	35(25.5)	43(31.4)	58(42.3)	137(100.0)

采用相关分析显示: Pearson相关系数为0.245, $p=0.004$; 由此可以认为: 在本组NSCLC, 确诊时血小板计数的水平与含铂类化疗的治疗反应相关, 血小板计数越高, 治疗反应越差。

因此, 我们接着又分析了四个水平组的ORR和DCR: 从小到大四个水平组的ORR分别是32.0%、17.6%、13.3%、0.0%, DCR分别是63.9%、47.1%、46.7%、25.0%, 但统计分析后发现四组间ORR、DCR差异均无统计学意义 (ORR: $\chi^2=6.419$, $df=3$, $p=0.093$; DCR: $\chi^2=6.576$, $df=3$, $p=0.087$), 可能与样本量不够有关。

分两组分析

上述对ORR、DCR的分析发现, 尽管四个水平组的ORR、DCR差异无统计学意义, 但也可以看到随着血小板计数水平组的增高, ORR、DCR有逐渐减小的趋势。这一阴性结果有可能为分层过细导致组内样本量太小导致的。因此我们以确诊时血小板计数为依据, 将以上137例晚期NSCLC分为血小板增多组 (40例, 29.2%) 和不增多组 (97例, 70.8%)。

两组的RECIST评价、ORR、DCR、PFS的中位数及25%-75%可信区间、OS的中位数及25%-75%可信区间如表17所示: 所有患者中只有血小板不增多的1例达到CR; 在血小板增多组, 没有一例达到CR, 有12.5%达到PR, 30.0%为SD, 而57.5%为PD; 在血小板不增多组, PR、SD、PD的例数基本相当, 分别占本组的30.9%, 32.0%, 36.1%。通过计算, 血小板增多组合血小板不增多组的ORR分别为12.5%和31.9%, DCR分别为42.5%和63.9%, PFS分别是13.1w和22.0w, OS分别是49.6w和94.7w。

单因素分析结果显示两组间ORR、DCR和OS差异有统计学意义 ($p<0.05$), 而两组间PFS差异无统计学意义 ($p=0.073$) (表29, 图9-11)。

表29. 137例晚期NSCLC采用含铂类化疗的疗效在血小板增多组和不增多组间的比较

疗效指标	血小板增多组(n=40)	血小板不增多组(n=97)	χ^2	p值
RECIST (n(%))				
CR	0(0.0)	1(1.0)		
PR	5(12.5)	30(30.9)		
SD	12(30.0)	31(32.0)		
PD	23(57.5)	35(36.1)		
ORR	12.5%	31.9%	5.536	0.019
DCR	42.5%	63.9%	5.322	0.021
PFS(w)				
Median	13.1	22.0	1562.500*	0.073
P _{75%} -P _{25%}	20.1-8.6	26.7-8.8		
OS(w)				
Median	49.6	94.7		
P _{75%} -P _{25%}	80.8-31.2	116.5-39.2	15.535#	<0.001

* Mann-Whitney U, P_{75%}-P_{25%} = 四分位数间距, # Log Rank χ^2

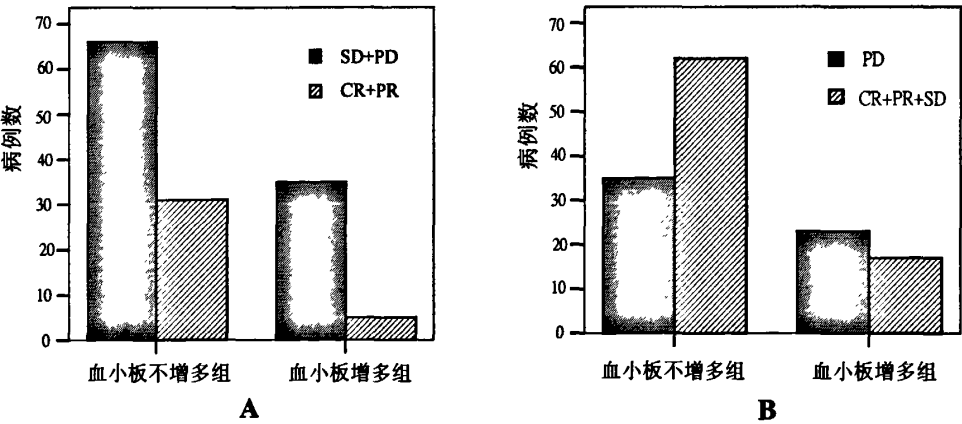


图9. 137例晚期NSCLC对含铂类化疗的反应：A. 根据肿瘤客观缓解率划分，B. 根据疾病控制率划分。

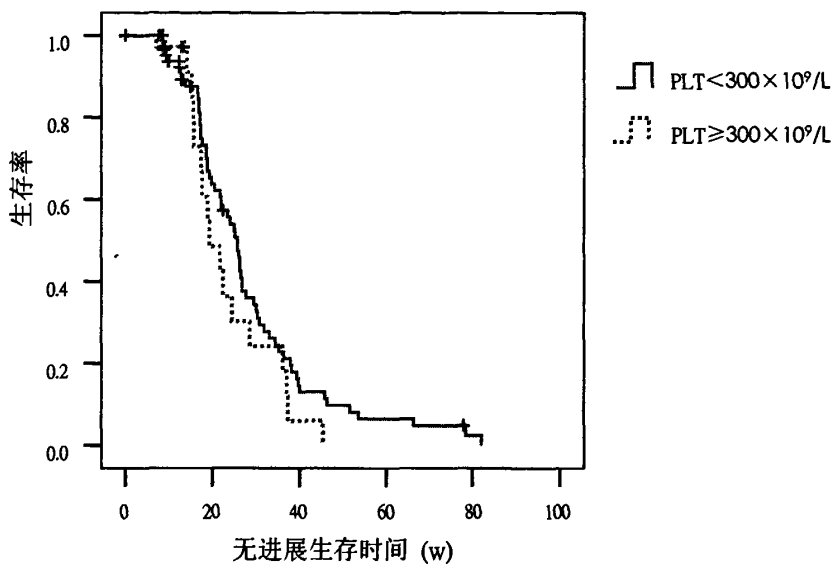


图10. 137晚期NSCLC初始治疗采用含铂类化疗后的PFS在血小板增多组和不增多组间差异无统计学意义($p = 0.073$)。

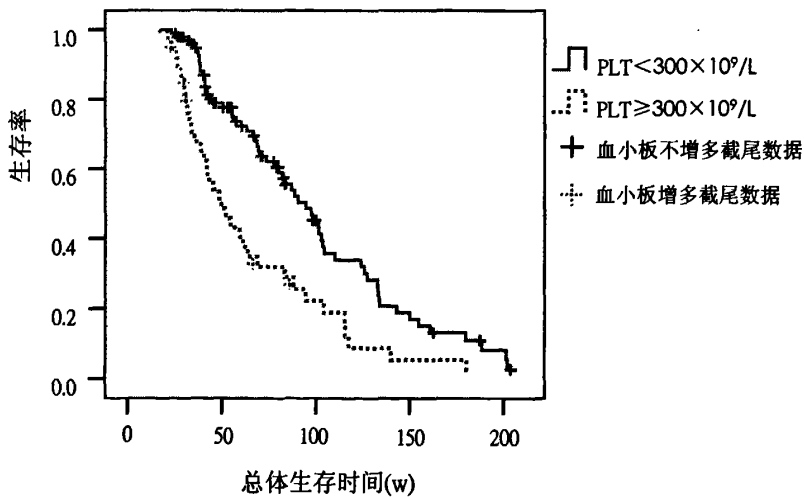


图11. 137初始治疗采用含铂类化疗的晚期NSCLC的总体生存时间在血小板增多组和不增多组间差异有统计学意义 ($p = 0.006$)。

(5) 66例NSCLC接受TC方案的化疗疗效的比较

由于将不同含铂类化疗方案综合在一起分析可能会影响结果，因此我们根据不同化疗方案将这137例NSCLC进一步分层分析。

我们首先分析了初始治疗为TC方案化疗的66例晚期NSCLC患者（排除疾病进展前使用TC方案化疗以外的其他治疗方法的病例）的临床资料。

一般情况

男性40例（60.6%），女性26例（39.4%）；年龄 59.6 ± 8.9 岁，最大78岁，最小29岁；TNM分期：IIIa期4例（6.1%），IIIb期28（42.4%），IV期34例（51.5%）；病理类型：鳞癌25例（37.9%），腺癌39例（59.0%），其中腺癌伴细支气管肺泡癌成分4例（6.1%），细支气管肺泡癌3例（4.5%），腺鳞癌2例（3.0%）；确诊时血小板增多16例（24.2%），血小板不增多50例（75.8%）。

分四层分析

以确诊时血小板计数为依据，将初始治疗为TC方案化疗的66例中晚期NSCLC分为四个等级组：血小板不增多组（50例，75.8%）、轻度增高组（4例，6.1%）、中度增高组（8例，12.1%）和重度增高组（4例，6.2%）。

四组NSCLC含铂类化疗的RECIST评价结果如表30所示：血小板计数的等级越高，PR的百分比越小，PD的百分比越大，在血小板增多的三个等级里，PD的百分比均超过了50%。采用相关分析显示：Pearson相关系数为0.307， $p=0.012$ ，因此可以认为：在本组NSCLC，确诊时血小板计数的水平与TC方案化疗的治疗反应相关，血小板计数越高，治疗反应越差。

表30. 66例NSCLC对TC方案化疗的反应

PLT($\times 10^9/L$)	RECIST评价（例数）				合 计
	CR	PR	SD	PD	
<300	1(1.0)	19(38.0)	16(32.0)	14(28.0)	50(100.0)
300~	0(0.0)	1(25.0)	1(25.0)	2(50.0)	4(100.0)
350~	0(0.0)	1(12.5)	3(37.5)	4(50.0)	8(100.0)
≥ 400	0(0.0)	0(0.0)	1(25.0)	3(75.0)	4(100.0)
合 计	1(1.5)	21(31.8)	21(31.8)	23(34.8)	66(100.0)

分两组分析

由于血小板增多的三个等级组包含的例数小，我们将66例样本只分为血小板增多组（16例，24.2%）和血小板不增多组（50例，75.8%）来分析化疗的疗效指标。

血小板增多和不增多组的RECIST评价、ORR、DCR、PFS的中位数及25%-75%可信区间、OS的中位数及25%-75%可信区间如表18所示，所有患者中只有血小板不增多的1例达到CR；在血小板增多组，没有一例达到CR，有12.5%达到PR，31.3%为SD，而56.3%为PD；在血小板不增多组，PR、SD、PD的例数分别占本组的38.0%，32.0%，28.0%。通过计算，血小板增多组合血小板不增多组的ORR分别为12.5%和40.0%，DCR分别为43.5%和72.0%，PFS分别是17.1w和26.1w，OS分别是46.6w和125.9w。

比较两组间ORR、DCR、PFS、OS的差异，均有统计学意义（表31，图12-14），PFS与OS显著相关（ $r=0.673$ ， $r^2=0.453$ ， $p<0.001$ ，图15）。

表31. 66晚期NSCLC对TC方案化疗的疗效在血小板增多组和不增多组间的比较

疗效指标	血小板增多组(n=16)	血小板不增多组(n=50)	χ^2	p值
RECIST评价(n)				
CR	0(0.0)	1(2.0)		
PR	2(12.5)	19(38.0)		
SD	5(31.3)	16(32.0)		
PD	9(56.3)	14(28.0)		
ORR	12.5%	40.0%	4.125	0.042
DCR	43.8%	72.0%	4.261	0.039
PFS(w)				
Median	17.1	26.1	223.000*	0.008
P _{75%} —P _{25%}	27.8—8.5	37.7—15.6		
OS(w)				
Median	46.6	125.9		
P _{75%} —P _{25%}	81.0—12.2	171.5—80.2	5.342#	0.012

* Mann-Whitney U, P_{75%}—P_{25%} =四分位数间距, # Log Rank χ^2

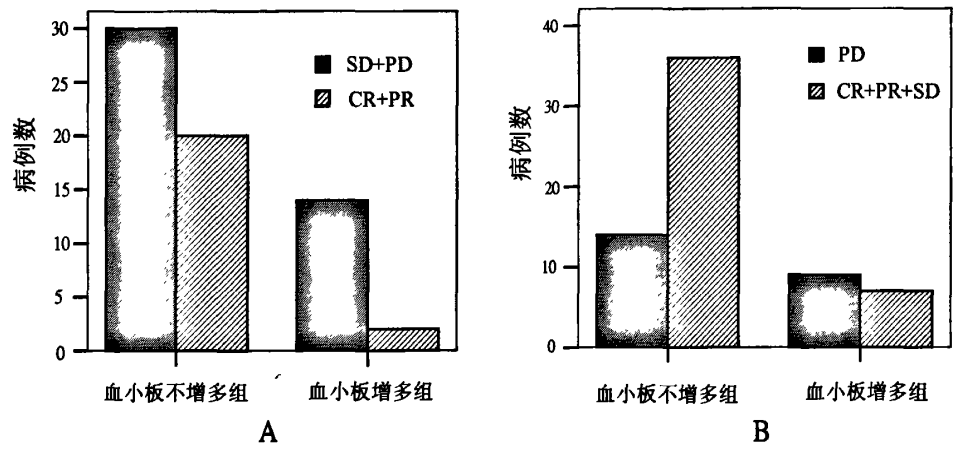


图12. 66例晚期NSCLC对TC方案化疗的反应：A. 根据肿瘤客观缓解率划分，
B. 根据疾病控制率划分。

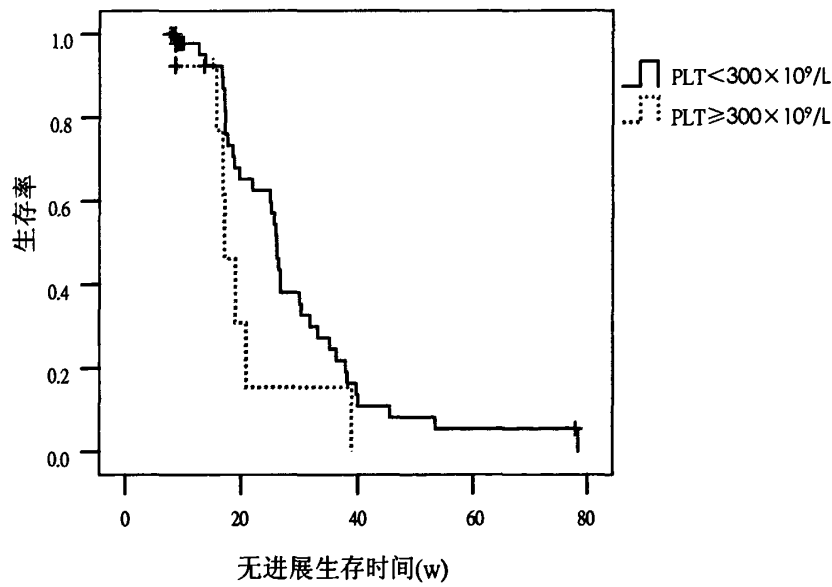


图13. 66晚期NSCLC初始治疗采用TC方案化疗后的PFS在血小板增多组和不增多组间有统计学显著差异($p=0.008$)

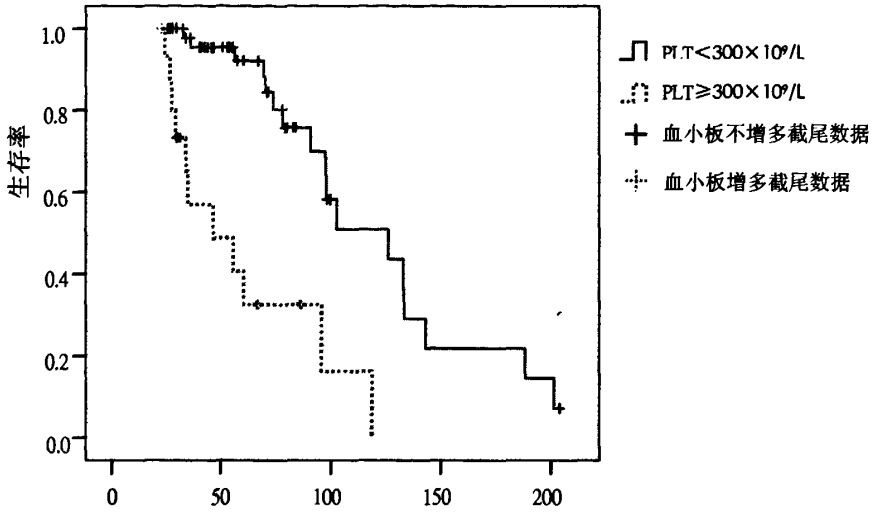


图14. 66例初始治疗采用TC方案化疗的晚期NSCLC的总体生存时间在血小板增多组和不增多组间有统计学显著差异($p=0.012$).

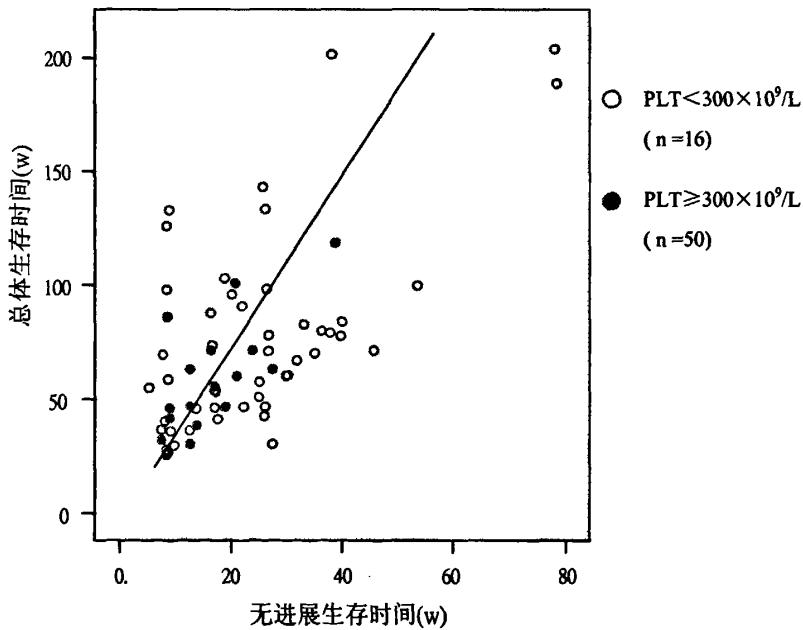


图15. 66例初始治疗采用TC方案化疗的晚期NSCLC的无进展生存时间与总体生存时间显著相关($r=0.673$, $R^2=0.453$, $p<0.001$)。

(6) 23例NSCLC接受GP方案化疗疗效的比较

一般情况

在23例初始治疗为接受GP方案的患者中, 男性15例(65.2%), 女性8例(34.8%); 年龄61.52±10.0岁, 最大76岁, 最小42岁; TNM分期构成如下: IIIa期1例(4.3%), IIIb期8(34.8%), IV期14例(60.9%); 病理类型构成如下: 鳞癌8例(34.8%), 腺癌15例(65.2%), 其中细支气管肺泡癌1例(4.3%); 确诊时血小板增多8例(34.8%), 血小板不增多15例(65.2%)。

血小板比较血小板增多和不增多组的RECIST评价、ORR、DCR、PFS的中位数及25%-75%可信区间、OS的中位数及25%-75%可信区间如(表32)所示: 所有患者中没有1例达到CR; 在血小板增多组, 有12.5%达到PR, 25.0%为SD, 而62.5%为PD; 在血小板不增多组, PR、SD、PD的例数分别占本组的20.0%, 46.7%, 33.3%。通过计算, 血小板增多组合血小板不增多组的ORR分别为12.5%和20.0%, DCR分别为37.5%和66.7%, PFS分别是12.9w和16.6w, OS分别是39.9w和94.7w。

比较两组间ORR、DCR、PFS、OS的差异, 除OS的差异有统计学意义外($p=0.005$), 其余各项均没有统计学意义, 可能与样本量太小有关系。

表32. 23晚期NSCLC采用GP方案化疗的疗效在血小板增多组和不增多组间的比较

疗效指标	血小板增多组(n = 8)	血小板不增多组(n = 15)	χ^2	p值
RECIST评价(n)				
CR	0(0.0)	0(0.0)		
PR	1(12.5)	3(20.0)		
SD	2(25.0)	7(46.7)		
PD	8(62.5)	5(33.3)		
ORR	12.5%	20.0%	0.204	0.651
DCR	37.5%	66.7%	1.806	0.179
PFS(w)				
Median	12.9	16.6	51.000*	0.561
P _{75%} -P _{25%}	16.4-9.3	23.9-9.3		
OS(w)				
Median	39.9	94.7		
P _{75%} -P _{25%}	65.2-14.5	118.9-70.5	6.024#	0.005

* Mann-Whitney U, P_{75%}-P_{25%} =四分位数间距, # Log Rank χ^2

2、完全切除的 NSCLC 患者术后含铂类化疗的疗效

(1) 研究对象

在 308 例 NSCLC，排除肿瘤复发前接受过放疗或介入治疗等化疗以外的治疗手段的病例后，筛选出根治性术后即接受含铂类化疗的 122 例早期 NSCLC 的临床资料作为研究对象。

性别：男性 80 例（65.6%），女性 42 例（34.4%）。

年龄：59.1±9.9 岁，最大 78 岁，最小 28 岁。

TNM 分期：I a 期 23 例（18.9%），I b 期 38 例（31.1%），II a 期 5 例（4.1%），II b 期 27 例（22.1%），IIIa 期 29 例（23.8%）；鳞癌 54 例（44.3%），腺癌 65 例（53.3%，其中腺癌伴细支气管肺泡癌成分 22 例（18.0%），细支气管肺泡癌 14 例（11.5%）），腺鳞癌 2 例（1.6%），大细胞癌 1 例（0.8%）。

化疗方案：GP 方案 31 例（25.4%），TC 方案 16 例（13.1%），NP 方案 25 例（20.5%），GC 方案 15 例（12.3%），TP 方案 14 例（11.5%），GO 方案 14 例（11.5%），TO 方案 7 例（5.7%）。

分组：确诊时血小板增多 21 例（17.2%），血小板不增多 101 例（82.8%）。

(2) 分组分析

以确诊时血小板计数为依据，将以上 122 例术后初始治疗为含铂类二联化疗的早期 NSCLC 分为血小板增多组 21 例（17.2%）和血小板不增多组（82.8%）。

两组的中位 RFS 分别为 37.9w 和 81.7w，MST 为 109.1w 和 184.3w，单因素分析两组间 OS 差异有统计学意义（ $p=0.009$ ），但 RFS 的差异无统计学意义（表 33）。

表33. 122例NSCLC术后采用含铂类化疗的疗效在血小板增多组和不增多组间的比较

疗效指标	血小板增多组 (n=21)	血小板不增多组 (n=101)	Mann-Whitney U	p 值
RFS(w)			716.500	0.066
Median	37.9	81.7		
P _{75%} -P _{25%}	60.7-15.0	118.8-44.6		
OS(w)			5.736#	0.009
Median	109.1	184.3		
P _{75%} -P _{25%}	133.7-84.6	211.1-157.5		

P_{75%}-P_{25%} =四分位数间距，# Log Rank χ^2

在这 122 例 NSCLC 中，样本量最大的是接受 GP 方案化疗的患者。但在接受 GP 方案化疗的 31 例患者中，只有 3 例伴有血小板增多，样本量过小，无法进一步分层分析。

尽管 RFS 在两组间差异无统计学意义，但由于其 $p=0.066$ ，接近界值 0.05，而且样本量也不够大，同时血小板增多组的中位 RFS 比血小板不增多的中位 RFS 缩短很明显，达 43.8w，有假阴性的可能。因此我们接着采用 Cox 风险比例模型前进法对 RFS 的影响因素进行逐步回归分析，来探讨血小板增多是否是术后复发的危险因素。我们选择的变量包括年龄、性别、吸烟指数、体重减轻、组织学类型、分化程度、TNM 分期、白细胞计数、血小板计数、血红蛋白浓度、AKP、LDH、血沉、CEA、CA-199、NSE 和 RFS。结果 103 例进入分析，19 例因数据不全被忽略。经 Cox 模型筛选后的最佳模型包含两个变量：血小板计数和 TNM 分期，血小板增多的相对危险度是 2.532，也就是说，与血小板不增多的接受根治性手术的 NSCLC 相比，伴有血小板增多的 NSCLC 复发的危险要高 2.532 倍（表 34）。

表34. 122例早期NSCLC Cox模型筛选的根治术并化疗后复发危险因素及参数估计

预后因素	频数(n(%))	相对危险度	95%可信区间	Wald值	p值
PLT($\times 10^9/L$)					
<300	101(82.8)				
≥ 300	21(17.2)	2.532	1.210-4.967	5.784	0.016
TNM分期					
I a	23(18.9)				
I b	38(31.1)				
II a	5(4.1)				
II b	27(22.1)				
IIIa	29(23.8)	1.453	1.275-1.655	37.964	<0.001

三、讨论

血小板增多通常分为克隆性血小板增多 (clonal thrombocytosis) 和反应性血小板增多 (reactive/secondary thrombocytosis) 两类。前者是由克隆性骨髓增生性疾病引起, 包括特发性血小板增多症、真性红细胞增多症、慢性髓细胞性白血病、伴有或不伴有骨髓纤维化的骨髓组织转化疾病等¹¹。后者则是由于一些反应性或者继发性的因素如感染、癌症、组织损伤和慢性炎症引起, 是引起血小板增多的最常见的原因。反应性血小板增多是恶性肿瘤常见的一种伴随现象, 已在肺癌、胃肠癌、肝癌、肾癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌等多种恶性肿瘤中报道, 发生率约 10%~60%¹⁻⁸。本研究回顾性分析了 308 例 NSCLC 的临床资料, 在临床层面初步探讨血小板增多在 NSCLC 的表现特征以及血小板增多与 NSCLC 多种临床病理因素的相关性。

(一) 一般情况

在选择临床资料上, 本研究将合并有或者先后发生其他肿瘤、血液系统疾病、风湿性疾病、急慢性感染性疾病、慢性炎症性疾病或者确诊时有外伤、手术等的病例全部剔除, 这是因为这些因素可以影响外周血小板计数。Griesshammer M 等对 732 例外周血血小板计数 $\geq 500 \times 10^9/L$ 的内外科患者的调查研究发现, 有 643 例 (88%) 是继发性血小板增多, 其中最主要的原因是较大手术引起的组织损伤、感染、癌症和慢性炎症²⁸。其他的原因还有急性失血、铁缺乏症、运动后机体反应、溶血性贫血、无脾 (如脾切除术后)、结缔组织病、动脉炎、慢性炎症性肠病、结核、慢性肺炎、药物反应如长春新碱、全反式维甲酸、一些细胞因子和生长因子等等¹¹, 这些因素如果在临床资料中有明确的记载, 我们也将剔除。尽管如此, 由于本研究是回顾性研究, 没有前瞻设计和随机抽样, 一些潜在的因素如记录不完整、资料不全面、检查方法或标准不统一等都会导致信息的缺失或者混杂, 这在一定程度上可能会影响研究的结果, 因此从这个意义上讲, 本研究的结果只是为进一步研究肿瘤性血小板增多提供一些线索, 进一步的结论需要更多大样本的前瞻性研究和基础研究的支持。

本研究入选的 308 例 NSCLC, 手术切除的占较大比率 (47.7%), 高于初诊时可手术切除的早期 NSCLC 在所有初诊的 NSCLC 中所占的比率 (约 20%~30%), 这是因为: 一方面本研究为获得确切的组织学类型和更多的免疫组化检查结果等临床资料, 把经组织学确诊做为最重要的入选标准之一, 因此已将一部分经细胞学确诊的晚期病例剔除出去; 另一方面本研究选择的病例为 2003 年 7 月至 2006 年 4 月的病例, 从确诊至截止日期已经 3~6 年, 大部分晚期 NSCLC 在随访时已死亡较长时间, 这部分患

者失访率较大,而接受手术的早期患者长期生存率高,失访率较小。因此这些主动或者被动的筛选过程是导致早期病例所占比率较大的最主要原因。由于周围性肺癌在接受手术的NSCLC患者占的比率较大,而腺癌是周围型肺癌最常见的病理类型,在周围型肺癌的比率明显高于其在中央型肺癌的比率,因此这一入选标准又间接的导致了本研究样本中腺癌的比率(58.4%)偏高。由于以往的研究和本研究已证实,血小板增多的发生率与肺癌的病理类型无显著相关性¹⁻⁸,同时不同病理类型的NSCLC在发生机制和治疗原则上有很多相似性,因此本组病例在病理类型构成上的偏移不会对研究结果产生重大影响。另外,我们将经细胞学确诊的病例剔除,其结果导致了一部分伴有胸腔积液的IIIB期患者没有入选,因此在本组病例当中,IIIB期患者所占的比率(15.9%)可能比实际的比率要稍小,但由于样本量已达到了49例,在统计分析时也不会对结果产生重大影响。

本研究中,血小板增多的比率为26.6%,与国外文献报道的16%-32%基本相同¹⁻⁸。本组病例血小板计数的95%可信区间为 $112.5 \times 10^9/L \sim 469.4 \times 10^9/L$,显著高于健康国人血小板计数的95%可信区间($100 \times 10^9/L \sim 300 \times 10^9/L$);外周血血小板计数呈右偏态分布,这也从另一角度说明了在未经治疗的原发性肺癌,有相当一部分患者的血小板计数是高于正常人群的。因此本研究进一步验证了在中国人群也存在NSCLC常伴有血小板增多这一现象,而且发生血小板增多的比率也基本相同。需要说明的是,本研究中把外周血血小板计数 $\geq 300 \times 10^9/L$ 作为血小板增多的标准,这是因为我院血小板计数的参考范围是 $100 \times 10^9/L \sim 300 \times 10^9/L$,这也是我国国人血小板计数的95%可信区间;但国外大部分文献把外周血血小板计数 $\geq 400 \times 10^9/L$ 或者 $\geq 350 \times 10^9/L$ 做为血小板增多的标准。目前还没有相关的研究来解释欧美人种与中国人群之间存在这些差异的原因,可能主要与人种差异、使用仪器不同有关。She Min Zeng等通过对比研究发现在外周血血小板计数较高健康高加索人群TPOR基因-550位出现C的概率显著增高,认为外周血血小板计数的高低与血小板生成素受体(TPOR, c-mpl)基因启动子上游-550位置上核苷酸C颠换为A有关²⁹。因此我们猜测,中国人群血小板计数低于欧美人种可能存在基因层面的差异。另外,本研究还将血小板增多分为轻度增多组、中度增多组和重度增多组,这一对血小板增多的等级分层有利于揭示血小板增多的程度与NSCLC的不同临床病理因素的相关性,这已在血小板增多与TNM分期、化疗疗效的关系的分析中得到了初步验证。

(二) 血小板增多与NSCLC临床病理因素

在血小板增多与NSCLC临床病理特征的分析中发现,血小板增多与NSCLC的组织学类型无显著相关性,这与国外的报道相一致¹⁻⁸。同时我们还注意到,本研究中腺

癌、鳞癌和腺鳞癌占了绝大部分，而大细胞肺癌样本量很小只有2例。由于大细胞癌少见，因此血小板增多在大细胞癌的发生率及其增多程度与其他类型的NSCLC之间是否有显著差异，还需要进一步研究。血小板增多与TNM分期的关系已有报道。以往多数研究认为在晚期恶性肿瘤血小板增多的发生率高于其在早期恶性肿瘤的发生率¹⁻⁸。本研究把样本按照TNM分期进行分组，比较了不同TNM分期的患者的外周血血小板计数的差异以及变化趋势，也分析了在不同血小板计数的水平组TNM分期的构成情况，初步发现血小板增多的程度与TNM分期存在线性相关趋势，这一现象提示了在NSCLC疾病进程中随着疾病的进展外周血血小板计数可能有持续增高的动态趋势，同时也可以提醒临床医生，如果发现NSCLC患者血小板增多，提示肿瘤可能正处在进展的状态中。

我们通过单因素分析和多因素分析，发现在本样本中发热、白细胞增多、贫血、血沉增快、球蛋白升高、APTT 延长等因素与血小板增多有关。NSCLC 引起的发热主要是由于肿瘤坏死组织等外源性致热源和肿瘤本身产生的 TNF- α 、IL-6 等内源性致热源引起。一部分肺癌患者合并阻塞性肺炎、感染、药物热和其他疾病，也可以引起发热。本研究在收集血常规等临床资料时，剔除了合并有明确的感染、风湿免疫性疾病、慢性炎症等疾病及药物热的资料，因此我们把入选资料中的发热、血象变化归因于肿瘤。肿瘤患者发热与血小板增多的相关性国内外尚未见报道。血小板增多的NSCLC 患者常常出现发热，但血小板增多与发热之间是否存在直接相关目前不甚清楚。我们认为本研究中出现这一结果的可能情形有：1、在肿瘤患者显著增多的一些致热性的细胞因子可引起反应性血小板增多。有研究表明肿瘤产生的 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等可以通过刺激肝细胞产生 TPO 导致巨核细胞的分化、增生和血小板的产生^{12, 15, 16, 30-36}。2、血小板活化后释放的 PDGF-BB 也可刺激机体发热。研究表明，在肿瘤患者，特别是在晚期恶性肿瘤患者，由于肿瘤细胞进入循环、组织损伤、淋巴细胞及单核细胞活化和凝血系统的激活，有相当一部分血小板被激活，从而释放各种颗粒蛋白，其中包括 PDGF (PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB)²⁰。研究表明，PDGF-BB 可直接作用于下丘脑体温调节中枢，调高体温调定点，使机体产生发热反应³⁷。3、一些无直接联系的因素可能同时通过不同途径引起发热和血小板增多。如在一部分NSCLC 患者，由于坏死组织吸收、阻塞性肺炎和其他原因，常引起发热；患者体内的肿瘤细胞、肝细胞、骨髓间充质细胞可分泌 TPO 或具有类似 TPO 活性的物质，引起血小板增多症，但两者之间并无直接关系。4、由抽样误差引起。因此在恶性肿瘤血小板增多与发热的关系仍需进一步研究。

恶性肿瘤患者常伴随血液学应激综合症 (hematologic stress syndrome)，表现为白细胞增多、贫血、血小板增多，三者常常同时存在。本研究中也进一步验证了白细

胞增多、贫血和血小板增多显著相关性,但是这并不能说明三者间存在直接因果关系,而可能是一些细胞因子如 GM-CSF、TPO 交叉作用于造血干细胞、祖细胞导致白细胞、血小板都升高的结果³⁸。

本研究中血小板增多与血沉增快在统计学上有相关性。在恶性肿瘤患者,常伴有肿瘤分泌的糖蛋白(属球蛋白)增多(本研究也证实了这一点)、肿瘤组织坏死、纤维蛋白原的激活和增多、白蛋白消耗、贫血以及继发感染,可导致红细胞的沉降率增快。我们认为血小板增多和血沉之间可能也不存在直接的关系,可能是肿瘤细胞产生大量的球蛋白,使血沉增快,同时在这些球蛋白当中也包含了一些可促进血小板产生的因子,导致血小板增多。

APTT 全称活化的部分凝血活酶时间,是在受检血浆中加入 APTT 试剂(接触因子激活剂和部分磷脂)和 Ca^{2+} 后,观察血浆凝固的时间,它是内源性凝血系统较敏感和最常用的筛选试验。APTT 延长见于因子 XII、XI、IX、VIII、X、V、II、PK、HMWK 和纤维蛋白原缺乏,尤其是因子 VII、IX、XI 缺乏以及它们的抗凝物质增多。本研究中有 11 例 $\text{APTT} > 43\text{s}$,其中血小板增多 7 例,血小板不增多 4 例,未见 $\text{APTT} < 23\text{s}$ 的病例,单因素 ($p = 0.006$) 和多因素分析 ($p = 0.004$) 显示 APTT 延长在血小板增多与不增多组间有显著差异。由于发生 APTT 延长的样本量较小,因此以上结论的可靠性仍需要进一步探讨。

需要指出的是,在采用 Logistic 模型前进法逐步分析时,TNM 分期在分析的最后一步 $p = 0.068$,因此尽管 TNM 分期最终没有进入 Logistic 模型,但 TNM 分期对血小板计数的影响仍然很大。根据单因素和多因素分析结果,我们认为血小板增多与 TNM 分期有关,TNM 分期越晚,血小板增多的可能性越大。然而,在我们这组病例中,反映肿瘤本身的其他参数如病理学类型、肿瘤大小、分化程度、免疫组化指标 Ki67、PCNA、P53、P16、LRP、Topo II 等与血小板增多之间在统计学上也没有显著相关性。产生这一结果的原因还不是很清楚,可能与抽样误差有关,也可能是由于回顾性研究中部分血小板计数受到了其他因素的干扰,但没有被临床医师和研究者发现。由于本研究样本量偏小,因此需要更大样本的多中心的研究、特别是前瞻性研究来进一步探讨血小板增多与这些肿瘤相关参数的关系。

(三) 血小板增多与 NSCLC 预后的关系

在分析可手术和不可手术的 NSCLC 患者的预后影响因素时,我们没有考虑手术因素,这不是由于手术对生存期没有影响,而是在我们这组病例当中绝大部分可手术的患者都已接受了手术(145/147),而不可手术的患者也只有 2 例接受了手术(2/161),能否手术是根据 TNM 分期来决定的,因此在本组病例当中 TNM 分期与手术与否关

系十分密切且相互影响,将二者同时放入Cox风险比例模型将会影响最后的分析结果。为了不干扰血小板增多对预后的影响,并且突出TNM分期的影响,我们没有把手术放入模型分析,而是根据可否手术进一步分层,来研究NSCLC的预后影响因素。

与肺癌的预后有关的因素有很多。以往的研究认为TNM分期晚、ECOG PS评分高、分化程度低、体重减轻、贫血、白细胞增多、血小板增多、血沉增快、D-二聚体增高、CRP增高、LDH增高等因素与肺癌预后差有关。本研究通过Cox风险比例模型前进法逐步回归分析发现:在总样本,PS评分 ≥ 2 分、TNM分期晚、分化程度低、血小板增多、低白蛋白血症、LDH增高、血沉增快等是总体生存时间较短的危险因素;分层后可手术组,术前血红蛋白低、TNM分期晚、PS评分 ≥ 2 分、血小板增多等因素是总体生存时间的危险因素;在不可手术组,白细胞增多、血小板增多、血沉增快、LDH ≥ 285 U/L、CA-199 ≥ 37.0 U/L、TNM分期较晚(IV期)等因素是总体生存时间的危险因素。通过以上分析进一步发现:1、血小板增多是NSCLC预后较差的危险因素,分层后也是如此;2、其相对危险度在2.103-3.814,说明血小板增多的NSCLC和血小板不增多的NSCLC相比,病人死亡的风险为2.103-3.814倍;3、这一相对危险度小于肿瘤细胞分化程度低、TNM分期晚和ECOG PS评分高等因素的相对危险度,但大于低白蛋白血症、LDH增高、血沉增快、贫血、白细胞增多等因素相对危险度,因此血小板增多是一个较强的预测NSCLC预后的危险因素;4、Cox风险比例模型是一种同时考虑多个协变量的影响的模型,因此本研究利用Cox模型进行逐步回归分析后,得出血小板增多这一NSCLC预后的危险因素,是在考虑了TNM分期、肿瘤细胞分化程度、ECOG PS评分等其他20个观察协变量的影响后得出来的,因此血小板增多是一个独立的危险因素。

本研究的结果与既往研究没有明显偏倚,因此可以认为本研究的样本不是严重偏倚总体的样本。在进行Cox模型分析时,统计学上要求样本含量不能过小,要求样本含量是观察协变量的5-10倍。在本研究中进入Cox模型分析的总样本含量是209例,可手术的是102例,不可手术的是107例,分别是观察协变量(20个)的9.95倍、5.1倍和5.35倍,均达到了统计学的要求。本研究将“确诊”作为观察的起点,就是将明确患者肺癌诊断的病理报告单上标本送检的日期作为观察的起点;将“死亡”作为结局的终止事件,如果到随访截止日(2009年2月20日)患者仍存活,则以截止日为观察终点。为减小研究结果的偏倚,本研究已将失访的数据剔除(215例,不在入选的308例之内),故截尾数据为死亡的64例,占20.8%,比率不大,因此研究结果出现严重偏倚的可能性较小。

本研究还进一步对308例NSCLC进行了生存分析。我们首先将样本分为血小板减少组、血小板计数正常组、血小板轻度增高组、中度增高组和重度增高组,比较了这

五组的生存曲线、1年生存率、3年生存率,发现血小板增多的三组的生存曲线分开不明显,血小板减少组和血小板正常组的生存曲线也分开不明显,而血小板增多的三组生存曲线与血小板不增多的两组生存曲线明显分开,因此我们在统计检验后并从专业的角度,将血小板增多的三组合并为血小板增多组,将血小板减少组和血小板计数正常组合并为血小板不增多组。这一结果同时也说明了血小板增多与否与NSCLC预后有密切相关性,而血小板增多的程度与NSCLC的预后在本组病例当中无显著相关性。

随后我们发现不管是在总样本,还是在根据手术与否进行分层后,血小板增多的NSCLC的生存都显著差于血小板不增多组。在总样本中,血小板增多组与血小板不增多组相比,其MST缩短了50.9w (60.7w VS 111.6w), 1年生存率低了25.4% (57.3% VS 82.7%), 3年生存率低了26.3% (12.2% VS 38.5%), 两组间整体生存、1年生存率、3年生存率间的差异都有统计学意义。在可手术NSCLC中,血小板增多组与血小板不增多组相比,其MST缩短了74.3w (110.0w VS 184.3w), 1年生存率低了6.2% (86.2% VS 92.4%), 3年生存率低了26.6% (31.0% VS 57.6%), 尽管两组1年生存率间差异无统计学意义,但整体生存、3年生存率间差异有统计学意义。在不可手术NSCLC中,血小板增多组与血小板不增多组相比,其MST缩短了32.3w (43.3w VS 75.6w), 1年生存率低了30.7% (41.5% VS 72.2%), 3年生存率低了15.7% (1.9% VS 17.6%), 两组间整体生存、1年生存率3年生存率差异都有统计学意义。因此我们得出如下结论,在本组NSCLC当中,与血小板不增多的NSCLC相比,血小板增多的NSCLC的预后差,这与在其他类型的恶性肿瘤的研究结果相似。

血小板增多对恶性肿瘤生存期的有显著影响,这已在国外的很多文献报道¹⁻⁸。由于血小板增多是一种常见的副癌综合症,是某些特殊的肿瘤在生长、增殖、分化、侵袭、转移过程中伴随的一种现象,因此在某种意义上说,血小板增多是一些特殊的恶性肿瘤的生物学特征性表现之一。血小板增多影响恶性肿瘤的生存期,除了激活、增多的血小板对恶性肿瘤的血路转移、肿瘤生长、新生血管形成等有促进作用外,可能还与伴有血小板增多的恶性肿瘤本身的生物学特征和生物学行为有关²,伴有血小板增多的恶性肿瘤可能在其生长、增殖、分化、侵袭、转移、对治疗的反应以及癌症相关的并发症等方面可能具有与血小板计数正常的恶性肿瘤不同的一些特征,这些因素的相互交织,可能影响患者的预后。尽管在本研究中,与肿瘤本身有关的一些参数没有最终入围与血小板有关的因素,但我们还是认为血小板增多影响恶性肿瘤预后并不在血小板增多本身,而在于伴随有血小板增多的恶性肿瘤自身的生物学特征。因此接着还研究了血小板增多与远处转移、血栓事件以及对含铂类化疗的反应的关系。

(四) 血小板增多与 NSCLC 骨转移的关系

远处转移是恶性肿瘤的重要生物学特征，是影响预后的重要因素。本研究发现 NSCLC 的转移有着自身的特点，易发生转移的部位从高到低依次是淋巴结、骨骼、肺、脑、肝脏、肾上腺和肾脏。本样本中骨骼是 NSCLC 血路转移最常见的部位，比肺、脑、肝、肾上腺等部位的转移更常见。由于骨髓是机体产生血小板的部位，肺癌伴发血小板增多是否与骨转移有关，因此重点研究了血小板与骨转移的关系。

需要指出的是，由于本研究是回顾性研究，随访方式是电话随访，部分患者死亡时间较长，在随访环节中有可能存在如下影响远处转移数据的情况：1) 出院后较长时间没有全面检查，部分转移没有被发现；2) 家属把转移部位记错；3) 家属忘记病情，把有转移的当成没有转移，或把没有转移的当成有转移；4) 家属不熟悉病情；5) 隐瞒病情；6) 其他因素。这些因素有可能导致真实的转移发生率比本研究得到的数据要高。

我们首先采用单因素分析发现血小板增多与骨转移在统计学上相关，接着又分析了与骨转移相关的临床病理因素，最终血小板增多进入了骨转移的危险因素的 Logistic 模型，相对危险度为 1.436，也就是说血小板增多的 NSCLC 患者发生骨转移的风险是血小板不增多的 NSCLC 的 1.436 倍。这就初步证明了血小板增多与骨转移是相关的。

然而，本研究中血小板增多与骨转移的相关系数很小，就是病程中发生血小板增多和病程中发生骨转移的相关系数也只有 0.336，表明关系并不密切。影响二者相关系数可能的原因有：1、多种因素可以引起反应性血小板增多，如感染、风湿免疫性疾病、冠心病、外伤、手术或有创操作、药物、放化疗等¹¹，尽管在收集资料的时候剔除了一些干扰因素，但缺乏前瞻性的观察，可能仍受到一些因素的影响；2、部分信息可能在病史记录、随访等过程中丢失；3、骨转移分为成骨性、溶骨性和混合性骨转移三种类型³⁹，我们猜测血小板增多可能仅与其中某一种类型有关，其他类型的骨转移是混杂因素，需要进一步的分层研究；4、本研究样本量较小，影响抽样误差；5、仍不能排除二者之间没有直接相关关系的可能性。尽管血小板增多与骨转移关系并不密切，但是二者的相关为我们进一步深入理解肿瘤性血小板增多的发生机制有了一个崭新的思考角度，那就是骨骼转移灶特别是微转移灶中的肿瘤细胞分泌的 TPO 或有活性的 TPO 类似物可能更多的通过旁分泌的机制促进血小板的生成，而内分泌途径可能不是其主要的机制。

在本研究中，我们发现血小板增多与骨转移在病程中都出现的比率（占总样本的 27.9%，占病程中血小板增多病例的 65.6%），是有血小板增多而无骨转移的比率（占总样本的 14.6%，占病程中血小板增多病例的 34.4%）的 1.91 倍；先发生血小板增多后发生骨转移的病例（37 例，占总样本的 12.0%，占病程中血小板增多病例的 28.3%）

是先发生骨转移后发生血小板增多的病例（13例，占总样本的4.2%，占病程中血小板增多病例的9.9%）的2.85倍。这提示血小板增多可能与骨转移有关，但是并不能说明血小板增多与骨转移之间存在因果关系。因为技术方法上的限制，目前临床的常用的方法不能检测出来十分微小的骨转移灶。也就是说，在临床上发现骨转移灶之前，骨骼的微转移灶就已经存在了较长时间（大概是几个月到几年）。在从单个癌细胞定植到发展成为临床上可查见的骨转移灶的这一较长过程中，血小板增多是在未能检测出来的微小骨转移灶发生到什么程度的时候才会出现，目前还很难鉴定，并且在恶性肿瘤的血小板增多本身就是一种反应性现象，因此尽管先出现血小板增多后发现骨转移的比率要明显高于先有骨转移后有血小板增多的比率，但我们不能认为血小板增多是骨转移的原因。我们还注意到，在本组病例中，如果病程中发现血小板增多，那么同时发现或者随后发现骨转移的比率（二者占总样本的23.7%，占病程中血小板增多患者的55.7%），也高于发现血小板增多但没有发现骨转移的比率（占总样本的14.6%，占病程中血小板增多患者的30.5%）。这些数据可以提示临床医师，如果在NSCLC患者发现了血小板增多，应更多的注意观察有无骨转移的可能。但是，由于本组病例中出现血小板增多后再发生骨转移的比率（11.7%）比出现血小板增多后而没有发生骨转移（14.6%）还要小，因此我们不能把血小板增多做为在临床上预测骨转移的指标。需要强调的是，由于本研究是回顾性研究，可能存在血小板增多或者骨转移实际已经发生但没有被临床医师发现或者发现被延误的情况，因此以上结果只是初步的，还需要的更大样本的临床研究特别是前瞻性研究来进一步验证。尽管这样，这些结果还是为我们进一步研究肿瘤性血小板增多及骨转移提供了一些线索。

（五）血小板增多与NSCLC并发血栓事件的关系

包括原发性肺癌在内的恶性实体肿瘤常伴随血液高凝状态和血栓事件的发生。这一现象首先于1865年被法国人Trousseau发现，因此人们把部分恶性实体肿瘤患者反复发生的、游走性的静脉或动脉血栓栓塞事件称为Trousseau's syndrome。这些血栓事件包括下肢深静脉、肠系膜上静脉、肾静脉血栓形成；冠状动脉、股动脉血栓形成；脑血管血栓栓塞、肺动脉栓塞以及弥漫性血管内凝血等⁴⁰。在恶性肿瘤，90%的患者可以通过常规的血液检验发现高凝状态，这些复杂的凝血异常包括血小板增多、凝血因子、纤维蛋白原、FDP、D-二聚体等增多，可表现为血栓形成、DIC，当纤溶系统受损时还可以表现为出血倾向⁴¹。尽管血小板参与了血栓事件的发生，但是以往对血栓事件与肿瘤性血小板增多的关系，报道不一。其原因可能是：（1）肿瘤相关的血栓事件不仅与血小板有关，还与血液凝固、手术、化放疗对血管内皮的损伤和凝血异常等有关⁴²。（2）样本量小。尽管高凝状态在恶性肿瘤患者十分常见，但小的血栓

事件在临床上不容易被发现,也容易被临床医师忽视,因此临床上查出的血栓事件不多,即使是较大规模的回顾性临床研究也只能发现几十例,其中血小板增多的例数就更少,很难达到统计学上要求的最小样本量¹。因此本研究进一步探讨血小板增多与肿瘤性血栓事件的关系。

本研究中有4.9%的NSCLC发生血栓事件,在血小板增多和不增多患者分别为8.5%和3.5%,与国外研究结果稍有差异(分别为5.7%,7.3%和5.0%)¹。在单因素分析中,尽管血栓事件发生率在确诊时血小板增多组和血小板不增多组间的差异无统计学意义,但考虑到可能存在时间因素后,就以病程中是否发生血小板增多分为血小板增多组和血小板不增多组,再比较这两组间血栓事件发生率,结果发现两组间差异有统计学意义。这说明血小板增多与血栓事件可能时间上的一致性,也就是说,尽管我们不能把确诊时血小板增多看做随后病程中发生血栓事件的预测因素,但在NSCLC并发血栓事件的患者,伴有血小板增多的比率增大很多(12/15 vs 3/15)。我们注意到本研究的样本量小且为回归性研究,一些血栓事件可能没有被临床医师发现或者记录有遗漏,而且一些小的血栓事件的发现对设备要求较高,因此实际发生的血栓事件可能要更高,因此在确诊时血小板增多组合不增多组间血栓事件发生率的差异无统计学意义,可能是血栓事件的发生率不高并且检出率低,过小的样本例数达不到统计学要求的结果。因此,血小板增多与血栓事件的关系仍需进一步研究,特别是前瞻性临床研究和meta分析等。

(六) 血小板增多与NSCLC含铂类化疗关系

NSCLC的预后不仅与自身的病理生理特征、临床分期有关,而且与治疗手段以及对治疗的反应有关。目前NSCLC的主要治疗手段有手术、化疗、放疗、分子靶向治疗、介入治疗和支持治疗等,而且不同组织学类型的NSCLC有着同样的治疗原则。其中含铂类化疗是肺癌特别是中晚期最常用的手段。研究血小板增多与含铂类化疗疗效的关系,如果血小板增多与含铂类化疗疗效相关,不仅为进一步探讨伴血小板增多的NSCLC预后较差的机制提供一个新的研究角度,而且也将对临床实践起着重要的指导意义,临床医师可能可以根据血小板增多与否选择不同的治疗策略,来提高肺癌的预后,同时也可能为含铂类化疗耐药等基础研究提供一些新的线索。

本研究对NSCLC对含铂类化疗的反应与血小板计数的关系进行了初步分析。我们在选择的NSCLC病例时排除了在疾病进展前使用含铂类化疗以外的放疗、介入治疗、靶向治疗、手术等因素的影响,在疗效评估上统一根据RECIST标准进行评定,虽然缺乏前瞻设计,也缺少影像学图片等资料,但我们根据详尽的检查报告和病历记录获得了较为可靠的RECIST评价结果和PFS。因此虽然是回顾性研究,本研究的结

果还是比较可信的。由于 OS 不仅与初始治疗有关,而且还与后续治疗以及治疗以外的多种因素相关,因此我们只把 OS 做为判断化疗疗效的一项相对次要的参考指标。我们分析 PFS 与 OS 的相关性的主要目的是研究初始治疗的疗效(PFS)在 OS 的决定系数(即相关系数的平方)有多大,以此来初步估计初始治疗的疗效对 NSCLC 预后影响的大小。

我们分别在接受多种化疗方案的 137 例 NSCLC 病例和 66 例接受 TC 方案化疗的 NSCLC 病例,比较了血小板不增多组、轻度增高组、中度增高组和中度增高组 NSCLC 化疗后的 RECIST 评价结果,发现血小板计数的等级越高,PR 的百分比越小,PD 的百分比越大,在血小板增多的三个等级组里,PD 的百分比均超过了 50%。统计分析发现血小板计数的等级与 RECIST 评价等级之间存在显著相关性,因此可以认为,在本组病例中,确诊时血小板计数的水平与含铂类化疗的治疗反应相关,血小板计数越高,治疗反应越差。

我们也分别在血小板增多和不增多的 NSCLC 患者,比较了接受 GP 方案和 TC 方案化疗的 PFS,发现两方案间 PFS 的差异无统计学意义,两方案疗效无显著差异,这与以往的报道的标准含铂类化疗在 NSCLC 的总体疗效无显著差异的研究结果是一致的^{43,44},这一方面验证了本样本没有严重的选择性偏倚,也为我们将采用各种化疗方案 137 例 NSCLC 合在一起分析提供了依据。在 137 例 NSCLC 对化疗反应的分析中,发现血小板增多组合血小板不增多组间 ORR、DCR、OS 差异有统计学意义,尽管 PFS 差异无统计学意义,但我们也看到了血小板增多组的中位 PFS 较短的偏移现象。产生两组间 PFS 差异无统计学意义的原因可能有:1、其他因素的干扰。本研究为回顾性研究,没有按照前瞻性研究那样随机、对照、重复的原则进行科研设计,无法将病理类型、分化程度、临床分期、年龄、性别、吸烟等可能对疗效产生影响因素随机化、均衡化;2、除比较了 TC 方案与 GP 方案的疗效外,其余方案的疗效因样本量小没有进行比较。尽管在 NSCLC 患者 GP、TC、NP、GC 等含铂类化疗方案间总体疗效无显著差异,但如果进一步分层,也就是对血小板增多的 PLC 患者,这些化疗方案之间的疗效可能存在差异,因此将这些方案放在一起分析,可能会得出不同的结果。3、本研究选择的样本包括呼吸内科、胸心外科、肿瘤科等多个科室的病例,这些科室的临床医师对 NSCLC 的理解存在差异,同时入选病例是 2003 年 7 月至 2008 年 9 月间的病例,时间跨度较大,这些专业上和时间上的差异可能会影响临床医师对 NSCLC 患者的治疗,特别临床医师对治疗疗效的评估结果。

针对各种不同的化疗方案合在一起分析可能会影响分析结果这一问题,我们将初始治疗为 TC 方案和 GP 方案的样本量较大的病例进行了进一步的分层研究。在初始治疗为 TC 方案的 66 中晚期 NSCLC 患者,我们发现两组间的疗效指标 PFS、ORR、

DCR、OS 差异均有统计学意义：与血小板不增多的 NSCLC 相比，血小板增多的 NSCLC 对 TC 方案化疗疗效差。由于缺乏多中心、大样本的随机对照研究的证据，因此血小板增多可否做为预测 NSCLC 对 TC 方案不敏感的指标仍需进一步验证。同时 PFS 与 OS 之间存在密切正相关，相关系数为 0.673，PFS 对 OS 的决定系数为 0.453，因此在临床上经 TC 方案化疗的 NSCLC 患者，如果观察到 PFS 较短，那么其生存时间也很可能较短；如果 PFS 较长，那么其生存时间也很可能较长。但是，由于缺乏前瞻性设计和相关基础研究，我们仍无法证实血小板增多影响 NSCLC 预后的原因是否是由于伴血小板增多的 NSCLC 对含铂类化疗不敏感引起的。

在采用 GP 方案的 23 例病例，尽管中位 PFS、ORR、DCR 在统计学上没有显著差异，但我们观察到血小板增多组的中位 PFS、ORR、DCR 均有偏短或偏低趋势，如果增加样本含量，可能会出现两组间 PFS、ORR、DCR 在统计学上均有显著差异的结果。关于 GP 方案等其他含铂类化疗疗效与血小板增多的关系，我们将在以后的研究中进一步探讨。

我们还研究了 122 例接受根治性手术的 NSCLC 患者的资料。在单因素分析中，尽管血小板增多组与血小板不增多组间 RFS 差异无统计学意义，但 p 值为 0.066，接近界值 0.05，而且血小板增多组的中位 RFS 比血小板不增多的中位 RFS 缩短达 43.8w，因此我们接着也进行了多因素分析。在多因素分析中，我们发现 TNM 分期晚、术前血小板增多是术后复发的危险因素，术前血小板增多的 NSCLC 患者术后复发的风险是术前血小板正常患者的 2.532 倍。因此我们认为，在 NSCLC 患者，术前血小板增多是术后复发的危险因素，也可以做为术后含铂类化疗疗效较差的预测指标。Suzuki 等回顾性研究了 105 例接受根治性手术治疗的胰腺癌患者的资料，发现术前血小板增多组的平均无瘤生存时间 (mean disease-free survival, DFS) 显著缩短 (4.9m VS 46.5m, $p=0.006$)⁵。尽管日本学者的研究与本研究有些不同：如前者研究的是胰腺癌，本研究研究的是 NSCLC；前者在病例入选标准上没有强调术后至复发间的治疗为单纯化疗而使病例可能在术后采用了放化疗等多种治疗手段；前者采用的是算术均数和 t 检验的统计方法与本研究中采用的中位数及非参检验的方法不同等等，但两个研究都得出了相似的结果，就是术前血小板增多与术后恶性肿瘤复发相关。

通过以上研究，我们发现：在本组病例中，血小板增多不仅与非手术 NSCLC 对含铂类化疗的反应有关，而且与早期 NSCLC 的术后复发及术后化疗的疗效有关。因此与血小板不增多的 NSCLC 相比，血小板增多的 NSCLC 可能对含铂类化疗不敏感。由于没有大样本、多中心、前瞻性的随机对照研究和相关基础研究，因此在总体上血小板增多的 NSCLC 对含铂类化疗是否不敏感，仍需要进一步研究。

综上所述,我们通过回顾分析 308 例 NSCLC 患者的临床资料,对血小板增多在 NSCLC 中的发生情况及其与肿瘤分期、临床病理特征、治疗和预后等方面的关系进行了统计学分析,发现了以下现象:1. 约 1/4 的 NSCLC 患者伴有血小板增多;2. 在 NSCLC,血小板增多可能与 NSCLC 组织学类型无关;可能与 TNM 分期有关,TNM 分期越晚,血小板计数可能越高;3. 与血小板不增多的相比,伴血小板增多的 NSCLC 可能预后较差;4. 血小板增多可能与 NSCLC 骨转移有关。大约 25%NSCLC 患者出现血小板增多的同时或者随后被检出骨转移;5. NSCLC 并发血栓事件可能与血小板增多有关;6. 与不伴血小板增多的 NSCLC 相比,伴有血小板增多的 NSCLC 可能对含铂类化疗不敏感。

全文小结

反应性血小板增多常出现在恶性肿瘤患者。近10年来人们发现伴血小板增多的恶性肿瘤预后较差。

本研究回顾了我院308例NSCLC的临床资料,通过统计分析,我们得出如下结果:

(1) 26.6%的NSCLC患者出现血小板增多, NSCLC患者外周血血小板数量成右偏态分布; (2) 血小板增多与NSCLC病理学类型无关, 与TNM分期存在线性趋势, TNM分期越晚, 血小板计数可能越高; (3) 血小板增多的NSCLC患者的MST、1年生存率、3年生存率显著差于血小板计数正常的患者; (4) 血小板增多与原发肺癌骨转移之间存在相关性。27.9%的NSCLC有血小板增多也有骨转移, 14.6%有血小板增多但没有骨转移, 前者是后者的1.91倍; 23.7%的NSCLC患者在发现血小板增多的同时或者随后又发现骨转移, 先发生血小板增多后发生骨转移的比率(12.0%)是先发生骨转移后发生血小板增多(4.2%)的2.85倍。血小板增多与骨转移的相关系数为0.336。 (5) 在发生血栓事件的NSCLC, 伴有血小板增多比率是不伴血小板增多的比率的4倍。 (6) 血小板增多的NSCLC对含铂类化疗(包括TC方案)反应较差, 术后采用含铂类化疗无复发生存时间缩短43.8w;

根据以上结果, 我们得出以下结论:

1. 308 例 NSCLC 中, 26.6%的患者伴有血小板增多。
2. 308 例 NSCLC 中, 血小板增多与 TNM 分期有关: TNM 分期越晚, 血小板计数越高。
3. 308 例 NSCLC 中, 血小板增多与骨转移有关: 27.9%的患者伴血小板增多也出现骨转移, 是伴血小板增多但没有骨转移(14.6%)的 1.9 倍; 12.0%的患者先出现血小板增多后出现骨转移, 是先出现骨转移后出现血小板增多(4.2%)的 2.9 倍; 初诊时伴血小板增多的 NSCLC 中, 61.0%的患者发生骨转移。
4. 308 例 NSCLC 中, 4.9%的患者并发血栓事件, 其中 80%伴有血小板增多; 病程中伴血小板增多的 NSCLC 中; 9.2%的患者发生血栓事件。

5. 308 例 NSCLC 中, 伴血小板增多的 NSCLC 对含铂类化疗不敏感, 预后较差。

综上所述, 本论文初步探讨了血小板增多在NSCLC的发生情况, 进一步验证了伴血小板增多的恶性肿瘤预后较差的临床现象, 初步探讨了血小板增多与NSCLC在临床病理特征、骨转移、血栓事件以及含铂类化疗等方面的关系, 为进一步研究提供了一些有用的线索。

文献综述

血小板增多与恶性肿瘤

Thrombocytosis and Malignancis

100 多年前, Riess L 首次描述了恶性肿瘤常伴有血小板增多的现象⁶。尽管人们对血小板的研究已经超过 100 年,但直到 10 多年前, Pedersen LM 等通过回顾性研究发现伴有血小板增多的原发性肺癌患者预后较差的现象以后,人们才开始关注血小板增多与恶性肿瘤的关系¹。本文综述了近年来国内外的有关文献,重点介绍血小板增多与恶性实体肿瘤的关系。

一、恶性肿瘤常伴随血小板增多及其可能的机制

血小板计数增多常见于恶性肿瘤患者。自上世纪 90 年代末以来,人们回顾性研究了一些恶性肿瘤病例的临床资料,结果发现在未经治疗的恶性实体肿瘤患者中,约 10%~60% 伴随血小板计数增多,这些恶性肿瘤包括肺癌、胃肠癌、肝癌、肾癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌等呼吸、消化、泌尿、生殖和头颈部肿瘤等,血小板升高的程度在 $350 \times 10^9/L \sim 1,000 \times 10^9/L$ 之间,大于 $1,000 \times 10^9/L$ 和低于 $100 \times 10^9/L$ 者罕见¹⁻⁸。

恶性肿瘤患者伴有血小板增多的原因不是十分清楚。由于在恶性肿瘤患者,血小板的寿命(5~7 天)比健康人群血小板的寿命(7~14 天,平均 10 天)明显缩短,血小板的破坏、消耗速度明显增快,因此血小板生成增多可能是引起肿瘤性血小板增多的主要原因⁴⁵。人们通过研究发现,一些细胞因子、骨髓微环境和血小板颗粒蛋白等可以引起血小板生成速度的变化,因此这些因素的变化都可能在肿瘤性血小板增多的发生机制中起着重要作用。

(一) 血小板生成素

TPO 是调节巨核细胞分化、增生和血小板生成的最关键的细胞因子⁹。它是由 353 个氨基酸残基组成的糖蛋白,基因位于 3q26.33-27⁴⁶。TPO 受体 c-MPL 存在于血小板和巨核细胞及其祖细胞膜上,c-mpl 基因位于 3q26-27。TPO 与 c-MPL 结合后,主要激活 JAK-STAT 通路,发挥其调节血小板生成的作用^{47,48}。肝细胞、肾近曲小管细胞能组成型分泌 TPO,当循环中血小板计数减少时,骨髓间充质细胞也可诱导分泌 TPO⁴⁹。

在正常生理条件下,肝脏、肾脏组成型合成并分泌到血浆中的 TPO 是稳定的。血浆中的 TPO 一部分结合到血小板的 c-MPL 受体上,并由受体介导发生内吞、泛素

化、降解；少部分血浆游离的 TPO 具有结合到巨核细胞 c-MPL 受体的潜能，从而调节巨核细胞的分化、增生的功能。当循环中血小板计数减少时，结合到血小板上的 TPO 减少，增多的游离 TPO 就会刺激巨核细胞产生更多的血小板；反之，当循环中血小板计数增多时，结合到血小板的 TPO 增多，减少的游离 TPO 就会减慢巨核细胞产生血小板的速度。机体正是通过这样的机制，来维持循环中 TPO、血小板、巨核细胞之间的稳态¹¹。

而在一部分恶性肿瘤患者，尤其是进展期患者，循环中血小板计数增多，血浆中 TPO 水平也增高⁵⁰，骨髓中巨核细胞系增生明显¹¹，这一情形与生理状态是不同的。那么，是什么原因使血浆中 TPO 水平病理性升高呢？

首先，肝脏产生的 TPO 增多。Burmester 等通过研究发现，在炎症诱发的反应性血小板增多的小鼠模型（松节油皮下注射造成无菌性炎症），肝脏内的 TPO 蛋白和 TPO mRNA 表达水平明显增强，而肾脏无明显变化¹²。但是，相关临床研究以及关于恶性肿瘤诱发血小板增多的动物和人的肝脏 TPO 表达的类似在体研究的文献并未报道。

其次，骨髓间充质细胞产生 TPO 增多。Sungaran 等通过向原代培养的人骨髓间充质细胞加入不同的 α 颗粒蛋白发现激活的血小板释放 α 颗粒蛋白 PDGF-BB、FGF-2，能刺激正常人的骨髓间充质培养细胞 TPO 蛋白和 TPO mRNA 表达水平明显增强²⁰。

最后，癌细胞能产生 TPO 及其亚型。已有多个临床研究发现，癌症病人在化疗后血小板计数可降至正常水平，同时伴随血浆 TPO 水平的降低⁵⁰⁻⁵²。这提示肿瘤本身可能产生 TPO。Yutaka Sasaki 等用 RT-PCR 的方法证实了在人类癌细胞中存在 TPO 及其亚型的表达。他们发现，在 27 个癌细胞株（其中有 18 株为肺癌细胞株）中，有 24 株表达 TPO mRNA 及 TPO-1~6 共 6 个亚型；其中 10 株癌细胞株培养液中的 TPO 浓度有 8 株明显升高。同时，他们还分析了这 27 个病人的临床资料和血浆 TPO 水平，发现在反应性血小板增多的患者血浆 TPO 水平明显升高；而在那些未出现血小板增多的进展期患者，血浆 TPO 水平与健康对照组无明显差异⁵³。反应性血小板增多时肾脏、肺、脾等脏器是否产生 TPO 尚未见报道。

但是，在血小板增多的癌症患者中，血小板增多的数量和 TPO 增高的水平之间并没有显著相关性⁵³，提示其他一些刺激血小板生成的因子可能也参与了肿瘤相关性血小板增多的发生。Ryu 等在另外一项肝癌培养细胞研究中也得到了类似的结果⁵⁴。

总之，由于在肝脏、骨髓间充质细胞和癌细胞异常地产生了大量的 TPO，导致血浆游离 TPO 增多，刺激了骨髓巨核细胞系增生、分化的异常增强，从而导致了部分肿瘤患者血小板和血浆 TPO 都明显升高的出现。在这一过程中，既有经过血流的内

分泌机制,也存在旁分泌的作用(譬如骨髓间充质细胞和骨髓中肿瘤细胞微转移灶)^{18,55,56}。

(二) 白介素 6 和白介素 11

IL-6 和 IL-11 同属于 IL-6 家族,共同受体是 GP130,并通过激活 JAK-STAT 通路发生作用⁵⁷。二者对造血系统作用相似,尽管不能单独刺激原始造血细胞,但能协同 IL-3 等刺激原始造血细胞的增生、分化,特别是对巨核系克隆形成单位的形成和成熟巨核细胞的发育有着重要作用,甚至在 1994 年 TPO 被克隆出来以前,有的学者猜测 IL-6 就是 TPO⁵⁸。

IL-6 在肿瘤性血小板增多中起着重要作用。Hollen 等发现在伴有血小板增多的肿瘤患者,血清和腹水中的 IL-6 水平与血小板计数升高的程度显著正相关⁵⁹⁻⁶¹。Kaushansky 等在 IL-6 水平升高的肾细胞癌患者,静脉给予 IL-6 单抗,血小板的计数能降至正常,而在 TPO^{-/-}或者 c-mpl^{-/-}小鼠中,血小板水平为正常的 10%~20%。因此,IL-6 与 TPO 不同,前者对反应性血小板增多有着重要意义,后者在血小板生成过程中起关键的调节作用。Kaushansky 等在小鼠和人的在体研究中,给予 IL-6 和 IL-11 均能升高血小板计数水平;但即使分别给予中毒剂量的 IL-6 或 IL-11,也只能分别升高 70%和 30%~50%,甚至在脾脏切除的动物模型上,结果也是如此⁹。Alexandrakis MG 等通过研究也发现,在炎症引起的反应性血小板增多的患者,血清 IL-6 浓度不仅与血小板增多的水平有关,而且也与 TPO 浓度相关⁶⁰。同时 Burmester 等在野生型小鼠中发现,肝脏内 TPO 蛋白和 TPO-mRNA 表达水平可以被炎症诱导升高,但在 IL-6 基因敲除小鼠中,肝脏内 TPO 蛋白和 TPO-mRNA 表达水平并没有升高,并且血小板计数和红细胞计数轻度下降(与野生型对照)。这提示 TPO 是一种急性期蛋白,而且在肝脏内可以被 IL-6 诱导合成¹²。Wolber 和 Kaser 等在另外几项细胞实验中发现,IL-6 也能诱导培养的肝细胞瘤细胞 TPO 蛋白 TPO-mRNA 的高表达^{14,15}。Legrand-Poels 等通过研究发现,TPO 也可以诱导小鼠肝窦内皮细胞产生 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等;而 IL-1 β 、TNF- α 又可以刺激细胞 IL-6 的高表达^{30,31}。

(三) 骨髓微环境

巨核细胞不仅是血小板的母体细胞,而且也能分泌许多细胞因子通过自分泌的方式来调节自身的成熟和血小板的生成过程⁶²。成熟的巨核细胞需要迁移、突破微血管内皮层才能增加血小板的产生,在这过程中,血管周围的细胞外基质成分的重塑起了重要的作用。Lane 等通过研究发现成熟巨核细胞表达间质细胞衍生因子-1(SDF-1)受体 CXCR4, SDF-1 与 CXCR4 结合后可诱发巨核细胞表达释放基质金属蛋白酶 9(MMP-9)溶解微血管基底膜,同时巨核细胞产生变形运动,突破血管壁,释放大量的血小板⁶³。内皮细胞是骨髓微环境的主要组成成分,它调节造血干细胞和祖细胞

的运输和巢归¹⁸，同时也分泌 IL-6、G-CSF、GM-CSF、kit-ligand 等刺激巨核系和髓系的形成和发育⁵¹。间充质细胞、微血管内皮细胞、破骨细胞和成骨细胞也起着重要作用¹⁸。

（四）血小板微小颗粒

骨髓间充质细胞产生 TPO 的水平可以被血小板颗粒蛋白诱导调节。Sungaran 等通过细胞实验发现血小板衍生生长因子-BB (PDGF-BB) 和成纤维细胞生长因子-2 (FGF-2) 可以剂量依赖和时间依赖的方式刺激人骨髓间充质细胞 TPOmRNA 的表达；同时血小板第四因子 (PF-4)、血小板反应素(TSP)和转化生长因子- β (TGF- β) 可负性调节巨核细胞形成；而血小板溶解产物可以剂量依赖的抑制 TPO 的表达²⁰。这些证据提示血小板颗粒蛋白可通过某种反馈的方式来调节骨髓间充质细胞产生 TPO 的水平，从而影响血小板的生成速度。Sungaran 等也同时认为一些可能是从循环中吸收来的血小板蛋白可以抑制骨髓间充质细胞的 TPOmRNA 的转录。从整体上，血小板蛋白对骨髓间充质细胞的 TPO 转录是抑制性的。McIntosh 等通过细胞实验认为骨细胞和成骨细胞可能对巨核细胞的形成、分化、增生和血小板的产生起着重要作用。在这过程中，旁分泌可能比内分泌起的作用要大得多⁶⁴。Monika Baj-Krzyworzek 等也通过细胞试验证实了血小板衍生的微小颗粒可刺激造血细胞分化、增生、存活、黏附和趋化，这些生物学活性甚至在颗粒加热灭活或者胰蛋白酶消化后仍部分存在，表明了除颗粒蛋白成分外，一些脂质成分也参与其中⁶⁵。

二、伴有血小板增多的恶性肿瘤预后较差及其可能原因

自 Pedersen 以来，人们已在许多恶性肿瘤中发现，伴有血小板增多的恶性肿瘤患者生存期显著缩短，生存率显著降低，预后较血小板计数正常者差¹⁻⁸。人们也回顾性分析了血小板增多与恶性肿瘤的一些临床病理因素的关系，并试图在临床层面解释血小板增多的恶性肿瘤患者预后较差的原因。姚兴伟等回顾了 383 例大肠癌的病理特征和血小板增多的关系后认为分化程度越低，血小板增多的发生率越高。PedersenLM 等认为血小板增多的发生率在进展期明显高于早期^{1,8}。Aoe 等通过研究认为血小板增多发生率及增高的程度与病理学类型无关^{1,2}。然而，这些结果仍存在争议。

在基础研究方面，人们血小板增多的恶性肿瘤预后较差的可能病理生理基础也做了一些探讨，认为可能与肿瘤细胞诱导的血小板聚集 (Tumor cell-induced platelet aggregation, TCIPA)、血小板促进恶性肿瘤的生长和新生血管形成、Trousseau's syndrome 等有关。

（一）、血小板提升肿瘤血路转移的能力

肿瘤细胞具有聚集血小板的潜能，这一潜能与肿瘤的血路转移直接相关。肿瘤细

胞进入循环后,会诱导血小板聚集到自身周围,就好比给肿瘤细胞穿上了防护外套,获得了逃避免疫监视的能力,特别是避免了NK细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。这样,被血小板包裹的肿瘤细胞就获得了在敌对的血液环境中生存的能力。同时,TCIPA也促进肿瘤细胞在微循环血管粘附、定植⁶⁶。TCIPA主要通过粘附分子介导。目前已发现血小板表达的粘附分子有10多种,如GP I b-IX-V(与vWF及P-selection结合,介导血小板粘附、聚集、激活)、GP II b-IIIa(与纤维蛋白原结合,介导血小板粘附、聚集)、GPVI(与胶原结合,介导血小板、肿瘤细胞粘附到血管壁上)、integrin α IIb β 3(与PECAM-1即血小板内皮细胞粘附分子1结合,介导血小板与肿瘤细胞、内皮细胞粘附)、P-selectin(与GP I b-IX-V、PSGL-1即P-选择素糖蛋白配体1结合,介导血小板与肿瘤细胞、内皮细胞粘附)等^{26,66,67}。其他如凝血酶、纤维蛋白在TCIPA中也起着重要作用²¹。

(二)、血小板促进恶性肿瘤的生长和新生血管形成

激活的血小板释放大量的细胞因子能促进肿瘤的生长和新生血管形成。其中VEGF是最重要的促新生血管形成的细胞因子⁶⁸。其他血小板释放的细胞因子如bFGF、EGF、PDGF、HGF、IGF、angiopoietin-1等均有促进新生血管形成作用^{26,66,69}。但是,血小板 α 颗粒中也存在一些新生血管形成抑制因子,如PF-4、内皮他丁(endostatin)等²⁰,这些抑制因子在肿瘤进展中所起的作用仍不清楚。

(三)、血小板增多与Trousseau's syndrome

Trousseau's syndrome包括肿瘤相关的高凝状态、DIC、深静脉血栓形成以及全身各部位的动静脉血栓栓塞事件等。Zecchina等认为血小板增多症可能在触发血栓性并发症中起着重要作用⁷⁰。目前研究恶性肿瘤凝血机制变化的文献较多,但有关血小板增多与Trousseau's syndrome以及预后关系的文献很少,已有的结果之间也存在争议,可能与Trousseau's syndrome定义不统一、临床诊断困难、样本量小有关⁴⁰。

由于血小板始终大量的存在于人体的血液中,因此以上解释并不能回答血小板增多是如何影响恶性肿瘤的预后的重要问题。我们推测,血小板增多可能从一个侧面反映了肿瘤的生物学特征,也就是说,伴随血小板增多的肿瘤患者,肿瘤本身可能具有更强的生长、侵犯、转移的能力,从而影响预后。这些推测需要进一步研究来证实。

三、干预血小板在抗肿瘤中的作用

尽管人们在动物实验和临床观察中发现,减少循环中血小板的数量可以减少肿瘤的血路转移⁶⁷,但由于这一策略无法在临床中实行,因此目前对干预血小板的研究主要在集中在拮抗血小板功能的研究上。血小板在抗肿瘤战略中的可能靶点有粘附分子、细胞因子受体或配体及信号转导通路、花生四烯酸途径、抗凝剂、金属蛋白酶抑制剂、抗纤维蛋白原结合制剂等^{66,69}。目前研究的主要药物有肝素类药物、阿昔单抗、

阿司匹林等。

（一）肝素类药物

Prandoni 发现接受低分子肝素能显著降低伴有静脉血栓形成的癌症患者的 3 个月死亡率⁷¹；2004 年的 FAMOUS 研究，发现接受低剂量的达肝素钠的不伴有血栓形成的癌症患者的中位生存时间显著延长⁷²；同样，2005 年的 MALT 研究发现不伴有血栓形成的癌症患者接受低剂量的那曲肝素 6 周后其中位生存时间也显著延长⁷³。1994 年⁷⁴和 2004 年⁷⁵的两项临床研究结果也都证实在小细胞肺癌患者，接受化疗+低分子肝素治疗比单纯的化疗具有生存期上的优势。近几年，多种经结构改造过的不具备抗凝功能或者抗凝功能很弱的小分子肝素片段，在动物实验和临床实验中被证实具有较强的抗肿瘤功能⁷⁶。

人们发现肝素类药物的抗肿瘤作用具有鲜明的特点，比如肝素类在多种实体肿瘤中均有抗肿瘤作用^{77,78}；普通肝素作用较弱，可能与分子量太大，结合时结构性位阻有关；没有抗凝作用的结构改造后的肝素仍有较强的抗肿瘤作用⁷⁶；抗血路转移作用强于抗肿瘤生长、抗新生血管形成作用；治疗效果在肿瘤早期应用好于晚期，长期应用好于短程应用，大剂量好于小剂量⁷⁹等。

肝素类药物抗肿瘤的可能机制有：抗凝作用；通过结合 P-选择素、E-选择素，竞争性抑制 TICPA 作用²⁵；做为类肝素酶的底物^{80,81}；通过竞争抑制生长因子或其他蛋白结合到细胞外基质（ECM）的硫酸类肝素蛋白多糖（HSPGs）上，从而抑制肿瘤细胞的生长、增殖和新生血管形成⁷⁹。

（二）阿昔单抗及其类似物

阿昔单抗是一种较常用的抗凝药物，可结合血小板细胞膜上的整合素 GP IIb-IIIa，从而抑制血小板粘附、聚集功能⁸²。目前对阿昔单抗抗肿瘤作用的研究较少，在临床回顾性研究和动物实验中发现阿昔单抗有抗肿瘤转移作用，但作用时间短，一次注射阿昔单抗后作用时间只有几十分钟到几个小时⁸²⁻⁸⁴。因此，只有通过改造阿昔单抗，使其抗肿瘤作用更强、作用时间更长，才能具有临床使用价值。

（三）阿司匹林和非甾体类抗炎药

阿司匹林通过抑制 COX-1，减少促进血小板聚集的 TXA2 的生成，从而抑制血栓形成；因在肿瘤患者中 PGE2 显著升高，故有的学者推测抑制 PGE2 的生成可能在抗肿瘤作用中起着更加重要的作用。大量的证据证明口服阿司匹林和非甾体类抗炎药的人群罹患大肠癌的风险显著降低，能降低结肠多发性腺瘤发展成为腺癌的发生率，也能降低结肠癌血路转移的发生率^{85,86}。最近一项大规模病例对照研究显示，口服非甾体类抗炎药物能小幅度的降低罹患肺癌的风险，特别是在腺癌、男性、既往长期吸烟者，这些发现表明非甾体类抗炎药可能是一种化学预防恶性肿瘤的方法⁸⁷。

但是,阿司匹林及非甾体类抗炎药物的抗肿瘤作用,仍需要更多的随机对照长期随访的大规模临床试验来验证。

六、展望

血小板与恶性肿瘤的关系十分复杂也非常重要,尽管研究了 100 多年,但很多方面仍不清楚,如恶性肿瘤患者血小板增多的原因、血小板形态功能的变化、血小板增多影响恶性肿瘤预后的机制、抗血小板药物在抗肿瘤中的应用的方面,今后在这些方面的研究将进一步提高人们对恶性肿瘤的认识水平和治疗效果。抗血小板及抗凝血治疗是有别于细胞毒性药物、靶向治疗、放疗、手术方法等的一种全新的抗肿瘤战略,它们通过作用于肿瘤细胞以外的血小板相关靶点来发挥抗肿瘤、抗转移作用。我们有理由认为,抗血小板和抗凝血药物(特别是肝素类)将在未来的 10 年内在肿瘤预防、早期肿瘤的治疗及预防术后复发等方面应用于临床,发挥重要的辅助作用。

参考文献

- 1 Pedersen LM, Milman N. Prognostic significance of thrombocytosis in patients with primary lung cancer. *Eur Respir J*. 1996; **9**: 1826-30.
- 2 Aoe K, Hiraki A, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, et al. Thrombocytosis as a useful prognostic indicator in patients with lung cancer. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2004; **71**: 170-3.
- 3 Lehmann J, Retz M, Nurnberg N, Schnockel U, Raffenberg U, et al. The superior prognostic value of humoral factors compared with molecular proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer*. 2004; **101**: 1552-62.
- 4 Shimada H, Oohira G, Okazumi S, Matsubara H, Nabeya Y, et al. Thrombocytosis associated with poor prognosis in patients with esophageal carcinoma. *Journal of the American College of Surgeons*. 2004; **198**: 737-41.
- 5 Suzuki K, Aiura K, Kitagou M, Hoshimoto S, Takahashi S, et al. Platelets counts closely correlate with the disease-free survival interval of pancreatic cancer patients. *Hepato-gastroenterology*. 2004; **51**: 847-53.
- 6 Brockmann MA, Giese A, Mueller K, Kaba FJ, Lohr F, et al. Preoperative thrombocytosis predicts poor survival in patients with glioblastoma. *Neuro-oncology*. 2007; **9**: 335-42.
- 7 Iwasaki A, Hamanaka W, Harnada T, Maekawa S, Enatsu S, et al. Significance of platelet counts in patients who underwent surgical treatment for lung metastasis. *International surgery*. 2007; **92**: 103-9.
- 8 Tomita M, Shimizu T, Hara M, Ayabe T, Onitsuka T. Prognostic impact of thrombocytosis in resectable non-small cell lung cancer. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2008; **7**: 613-5.
- 9 Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of platelet production. *Blood*. 1995; **86**: 419-31.
- 10 Kaushansky K. Thrombopoietin the primary regulator of platelet production. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 1997; **8**: 45-50.
- 11 Schafer AI. Thrombocytosis. *The New England journal of medicine*. 2004; **350**: 1211-9.
- 12 Burmester H, Wolber EM, Freitag P, Fandrey J, Jelkmann W. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockout mice with acute inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2005; **25**: 407-13.
- 13 Ceresa IF, Noris P, Ambaglio C, Pecci A, Balduini CL. Thrombopoietin is not uniquely responsible for thrombocytosis in inflammatory disorders. *Platelets*. 2007; **18**: 579-82.
- 14 Wolber EM, Jelkmann W. Interleukin-6 increases thrombopoietin production in human hepatoma cells HepG2 and Hep3B. *J Interferon Cytokine Res*. 2000; **20**: 499-506.
- 15 Kaser A, Brandacher G, Steurer W, Kaser S, Offner FA, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*. 2001; **98**: 2720-5.
- 16 Dan K, Gomi S, Inokuchi K, Ogata K, Yamada T, et al. Effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor on megakaryocytopoiesis: mechanism of reactive thrombocytosis. *Acta haematologica*. 1995; **93**: 67-72.
- 17 Du X, Williams DA. Interleukin-11: review of molecular, cell biology, and clinical use. *Blood*. 1997; **89**: 3897-908.
- 18 Slayton WB, Wainman DA, Li XM, Hu Z, Jotwani A, et al. Developmental differences in megakaryocyte maturation are determined by the microenvironment. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2005; **23**: 1400-8.
- 19 Honn KV, Tang DG, Grossi IM, Renaud C, Duniec ZM, et al. Enhanced endothelial cell retraction

- mediated by 12(S)-HETE: a proposed mechanism for the role of platelets in tumor cell metastasis. *Experimental cell research*. 1994; **210**: 1-9.
- 20 Sungaran R, Chisholm OT, Markovic B, Khachigian LM, Tanaka Y, et al. The role of platelet alpha-granular proteins in the regulation of thrombopoietin messenger RNA expression in human bone marrow stromal cells. *Blood*. 2000; **95**: 3094-101.
- 21 Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, La Jeunesse CM, Flick MJ, et al. Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood*. 2005; **105**: 178-85.
- 22 Verheul HM, Hoekman K, Lupu F, Broxterman HJ, van der Valk P, et al. Platelet and coagulation activation with vascular endothelial growth factor generation in soft tissue sarcomas. *Clin Cancer Res*. 2000; **6**: 166-71.
- 23 Bick RL. Cancer-associated thrombosis. *The New England journal of medicine*. 2003; **349**: 109-11.
- 24 Morimoto K, Satoh-Yamaguchi K, Hamaguchi A, Inoue Y, Takeuchi M, et al. Interaction of cancer cells with platelets mediated by Necl-5/poliovirus receptor enhances cancer cell metastasis to the lungs. *Oncogene*. 2008; **27**: 264-73.
- 25 Borsig L. The role of platelet activation in tumor metastasis. *Expert review of anticancer therapy*. 2008; **8**: 1247-55.
- 26 Sierko E, Wojtukiewicz MZ. Platelets and angiogenesis in malignancy. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2004; **30**: 95-108.
- 27 Italiano JE, Jr., Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood*. 2008; **111**: 1227-33.
- 28 Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, Wennauer R, Bergmann L, et al. Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *Journal of internal medicine*. 1999; **245**: 295-300.
- 29 Zeng SM, Murray JC, Widness JA, Strauss RG, Yankowitz J. Association of single nucleotide polymorphisms in the thrombopoietin-receptor gene, but not the thrombopoietin gene, with differences in platelet count. *American journal of hematology*. 2004; **77**: 12-21.
- 30 McKay S, Hirst SJ, Haas MB, de Jongste JC, Hoogsteden HC, et al. Tumor necrosis factor-alpha enhances mRNA expression and secretion of interleukin-6 in cultured human airway smooth muscle cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2000; **23**: 103-11.
- 31 Legrand-Poels S, Schoonbroodt S, Piette J. Regulation of interleukin-6 gene expression by pro-inflammatory cytokines in a colon cancer cell line. *The Biochemical journal*. 2000; **349 Pt 3**: 765-73.
- 32 Cardier JE. Effects of megakaryocyte growth and development factor (thrombopoietin) on liver endothelial cells in vitro. *Microvascular research*. 1999; **58**: 108-13.
- 33 Folman CC, Ooms M, Kuenen BB, de Jong SM, Vet RJ, et al. The role of thrombopoietin in post-operative thrombocytosis. *British journal of haematology*. 2001; **114**: 126-33.
- 34 Chuen CK, Li K, Yang M, Fok TF, Li CK, et al. Interleukin-1beta up-regulates the expression of thrombopoietin and transcription factors c-Jun, c-Fos, GATA-1, and NF-E2 in megakaryocytic cells. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 2004; **143**: 75-88.
- 35 Sierko E, Wojtukiewicz MZ. Inhibition of platelet function: does it offer a chance of better cancer progression control? *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2007; **33**: 712-21.
- 36 Heits F, Katschinski DM, Wilmsen U, Wiedemann GJ, Jelkmann W. Serum thrombopoietin and

- interleukin 6 concentrations in tumour patients and response to chemotherapy-induced thrombocytopenia. *European journal of haematology*. 1997; **59**: 53-8.
- 37 Almeida MC, Pela IR, Branco LG. Fever induced by platelet-derived growth factor, in contrast to fever induced by lipopolysaccharide, depends only on nitric oxide, but not on carbon monoxide pathway. *European journal of pharmacology*. 2003; **467**: 133-40.
- 38 Suzuki A, Takahashi T, Nakamura K, Tsuyuoka R, Okuno Y, et al. Thrombocytosis in patients with tumors producing colony-stimulating factor. *Blood*. 1992; **80**: 2052-9.
- 39 Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *The New England journal of medicine*. 2004; **350**: 1655-64.
- 40 Varki A. Trousseau's syndrome: multiple definitions and multiple mechanisms. *Blood*. 2007; **110**: 1723-9.
- 41 Gouin-Thibault I, Samama MM. Laboratory diagnosis of the thrombophilic state in cancer patients. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 1999; **25**: 167-72.
- 42 Gouin-Thibault I, Achkar A, Samama MM. The thrombophilic state in cancer patients. *Acta haematologica*. 2001; **106**: 33-42.
- 43 Pujol JL, Barlesi F, Daures JP. Should chemotherapy combinations for advanced non-small cell lung cancer be platinum-based? A meta-analysis of phase III randomized trials. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 2006; **51**: 335-45.
- 44 Clegg A, Scott DA, Hewitson P, Sidhu M, Waugh N. Clinical and cost effectiveness of paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, and vinorelbine in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Thorax*. 2002; **57**: 20-8.
- 45 Sinzinger H, Fitscha P, Peskar BA. Platelet half-life, plasma thromboxane B2 and circulating endothelial-cells in peripheral vascular disease. *Angiology*. 1986; **37**: 112-8.
- 46 Suzukawa K, Satoh H, Taniwaki M, Yokota J, Morishita K. The human thrombopoietin gene is located on chromosome 3q26.33-q27, but is not transcriptionally activated in leukemia cells with 3q21 and 3q26 abnormalities (3q21q26 syndrome). *Leukemia*. 1995; **9**: 1328-31.
- 47 Majka M, Ratajczak J, Villaire G, Kubiczek K, Marquez LA, et al. Thrombopoietin, but not cytokines binding to gp130 protein-coupled receptors, activates MAPKp42/44, AKT, and STAT proteins in normal human CD34+ cells, megakaryocytes, and platelets. *Experimental hematology*. 2002; **30**: 751-60.
- 48 Katayama N, Itoh R, Kato T, Sugawara T, Mahmud N, et al. Role for C-MPL and its ligand thrombopoietin in early hematopoiesis. *Leukemia & lymphoma*. 1997; **28**: 51-6.
- 49 Sungaran R, Markovic B, Chong BH. Localization and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow, and spleen using in situ hybridization. *Blood*. 1997; **89**: 101-7.
- 50 Uppenkamp M, Makarova E, Petrasch S, Brittinger G. Thrombopoietin serum concentration in patients with reactive and myeloproliferative thrombocytosis. *Annals of hematology*. 1998; **77**: 217-23.
- 51 Komura E, Matsumura T, Kato T, Tahara T, Tsunoda Y, et al. Thrombopoietin in patients with hepatoblastoma. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 1998; **16**: 329-33.
- 52 Schwartz GN, Kammula U, Warren MK, Park MK, Yan XY, et al. Thrombopoietin and chemokine mRNA expression in patient post-chemotherapy and in vitro cytokine-treated marrow stromal cell layers. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2000; **18**: 331-42.
- 53 Sasaki Y, Takahashi T, Miyazaki H, Matsumoto A, Kato T, et al. Production of thrombopoietin by human carcinomas and its novel isoforms. *Blood*. 1999; **94**: 1952-60.
- 54 Ryu T, Nishimura S, Miura H, Yamada H, Morita H, et al. Thrombopoietin-producing hepatocellular

- carcinoma. *Internal medicine* (Tokyo, Japan). 2003; 42: 730-4.
- 55 Schulze H, Shivdasani RA. Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost*. 2005; 3: 1717-24.
- 56 Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *The Journal of clinical investigation*. 2005; 115: 3339-47.
- 57 Jenkins BJ, Roberts AW, Greenhill CJ, Najdowska M, Lundgren-May T, et al. Pathologic consequences of STAT3 hyperactivation by IL-6 and IL-11 during hematopoiesis and lymphopoiesis. *Blood*. 2007; 109: 2380-8.
- 58 Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of megakaryocyte and platelet production. *Thrombosis and haemostasis*. 1995; 74: 521-5.
- 59 Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, Burstein SA. Serum interleukin-6 levels in patients with thrombocytosis. *Leukemia & lymphoma*. 1992; 8: 235-41.
- 60 Alexandrakis MG, Passam FH, Perisinakis K, Ganotakis E, Margantinis G, et al. Serum proinflammatory cytokines and its relationship to clinical parameters in lung cancer patients with reactive thrombocytosis. *Respiratory medicine*. 2002; 96: 553-8.
- 61 Bachelot T, Ray-Coquard I, Menetrier-Caux C, Rastkha M, Duc A, et al. Prognostic value of serum levels of interleukin 6 and of serum and plasma levels of vascular endothelial growth factor in hormone-refractory metastatic breast cancer patients. *British journal of cancer*. 2003; 88: 1721-6.
- 62 Kosaki G. In vivo platelet production from mature megakaryocytes: does platelet release occur via proplatelets? *International journal of hematology*. 2005; 81: 208-19.
- 63 Lane WJ, Dias S, Hattori K, Heissig B, Choy M, et al. Stromal-derived factor 1-induced megakaryocyte migration and platelet production is dependent on matrix metalloproteinases. *Blood*. 2000; 96: 4152-9.
- 64 McIntosh B, Kaushansky K. Transcriptional regulation of bone marrow thrombopoietin by platelet proteins. *Experimental hematology*. 2008; 36: 799-806.
- 65 Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, Ratajczak J, Vilaire G, et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Experimental hematology*. 2002; 30: 450-9.
- 66 Jurasz P, Alonso-Escolano D, Radomski MW. Platelet--cancer interactions: mechanisms and pharmacology of tumour cell-induced platelet aggregation. *British journal of pharmacology*. 2004; 143: 819-26.
- 67 Honn KV, Tang DG, Crissman JD. Platelets and cancer metastasis: a causal relationship? *Cancer metastasis reviews*. 1992; 11: 325-51.
- 68 Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *The New England journal of medicine*. 2008; 358: 2039-49.
- 69 Trikha M, Nakada MT. Platelets and cancer: implications for antiangiogenic therapy. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2002; 28: 39-44.
- 70 Zecchina G, Ghio P, Bosio S, Cravino M, Camaschella C, et al. Reactive thrombocytosis might contribute to chemotherapy-related thrombophilia in patients with lung cancer. *Clinical lung cancer*. 2007; 8: 264-7.
- 71 Prandoni P, Lensing AW, Buller HR, Carta M, Cogo A, et al. Comparison of subcutaneous low-molecular-weight heparin with intravenous standard heparin in proximal deep-vein thrombosis. *Lancet*. 1992; 339: 441-5.
- 72 Kakkar AK, Levine MN, Kadziola Z, Lemoine NR, Low V, et al. Low molecular weight heparin, therapy with dalteparin, and survival in advanced cancer: the fragmin advanced malignancy outcome study (FAMOUS). *J Clin Oncol*. 2004; 22: 1944-8.

- 73 Klerk CP, Smorenburg SM, Otten HM, Lensing AW, Prins MH, et al. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 2130-5.
- 74 Lebeau B, Chastang C, Brechot JM, Capron F, Dautzenberg B, et al. Subcutaneous heparin treatment increases survival in small cell lung cancer. "Petites Cellules" Group. *Cancer*. 1994; 74: 38-45.
- 75 Altinbas M, Coskun HS, Er O, Ozkan M, Eser B, et al. A randomized clinical trial of combination chemotherapy with and without low-molecular-weight heparin in small cell lung cancer. *J Thromb Haemost*. 2004; 2: 1266-71.
- 76 Casu B, Vlodavsky I, Sanderson RD. Non-anticoagulant heparins and inhibition of cancer. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. 2008; 36: 195-203.
- 77 von Delius S, Ayvaz M, Wagenpfeil S, Eckel F, Schmid RM, et al. Effect of low-molecular-weight heparin on survival in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma. *Thrombosis and haemostasis*. 2007; 98: 434-9.
- 78 Lee AY. The effects of low molecular weight heparins on venous thromboembolism and survival in patients with cancer. *Thrombosis research*. 2007; 120 Suppl 2: S121-7.
- 79 Niers TM, Klerk CP, DiNisio M, Van Noorden CJ, Buller HR, et al. Mechanisms of heparin induced anti-cancer activity in experimental cancer models. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2007; 61: 195-207.
- 80 Nadir Y, Brenner B. Heparanase coagulation and cancer progression. *Best practice & research*. 2009; 22: 85-92.
- 81 Nadir Y, Vlodavsky I, Brenner B. Heparanase, tissue factor, and cancer. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2008; 34: 187-94.
- 82 Amirkhosravi A, Amaya M, Siddiqui F, Biggerstaff JP, Meyer TV, et al. Blockade of GpIIb/IIIa inhibits the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) from tumor cell-activated platelets and experimental metastasis. *Platelets*. 1999; 10: 285-92.
- 83 Francis JL, Amirkhosravi A. Effect of antihemostatic agents on experimental tumor dissemination. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2002; 28: 29-38.
- 84 Waldmann TA, Levy R, Collier BS. Emerging Therapies: Spectrum of Applications of Monoclonal Antibody Therapy. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology*. 2000: 394-408.
- 85 Elwood PC, Gallagher AM, Duthie GG, Mur LA, Morgan G. Aspirin, salicylates, and cancer. *Lancet*. 2009; 373: 1301-9.
- 86 Yasuda O, Takemura Y, Kawamoto H, Rakugi H. Aspirin: recent developments. *Cell Mol Life Sci*. 2008; 65: 354-8.
- 87 Slatore CG, Au DH, Littman AJ, Satia JA, White E. Association of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with lung cancer: results from a large cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009; 18: 1203-7.

致 谢

本课题是在尊敬的导师李强教授和王昌惠教授的悉心指导和严格教诲下完成的。导师敏锐的科研头脑、渊博的学识、严谨的治学作风深深地影响着我；导师对科学坚持不懈的探索精神、一丝不苟的工作态度和诲人不倦的园丁精神使我终身受用！在此，谨向导师致以崇高的敬意和衷心的感谢！

衷心感谢导师组白冲教授、黄怡教授、韩一平教授、赵立军教授、姚小鹏教授在我研究生就读期间、临床实践以及课题设计、实施阶段给予的悉心指导和认真培养。他们严谨务实、勤奋刻苦的工作作风给我留下了深刻的印象！

衷心感谢在资料收集、整理过程中提供大力帮助的黄海东、孙沁莹主治医师、宁允叶技师和长海医院病案统计室的全体老师！衷心感谢在数据处理、统计分析方面提供无私帮助的第二军医大学统计教研室孙亚林讲师、叶小飞博士、钱志军硕士！衷心感谢在论文撰写过程提供指导帮助的董宇超主治医师、顾红军博士、胡海洋博士、武宁博士、宋小莲博士！

衷心感谢商艳、张伟、张景熙、徐浩、聂小蒙主治医师、王汇、王琴护士长在临床工作中给予的指导，感谢长海医院呼吸内科全体老师和同事的关心支持！

同时感谢三年来朝夕相处的师兄师弟师姐师妹们所给予的支持和帮助：顾红军博士、胡海洋博士、武宁博士、宋小莲博士、胥武建博士、吴俊杰博士、戈霞辉博士、郑溢声硕士、尹慧君硕士、洪伟俊硕士、邵艳硕士、张晶硕士！

最后，感谢我的家人和朋友对我多年来的支持和关爱！