

· 论著 ·

血清VEGF、AFP检测对原发性肝癌PD-1抑制剂联合抗血管生成疗效的预测价值*

李焕焕 聂志勇* 吴涛 袁冬冬 张悦珊 刘文会
安阳市肿瘤医院肿瘤内四科 (河南 安阳 455000)

【摘要】目的 探讨原发性肝癌患者接受信迪利单抗联合贝伐珠单抗治疗前后血管内皮生长因子(VEGF)和甲胎蛋白(AFP)水平变化及联合检测的意义。**方法** 收集80例符合条件的晚期肝癌患者,均接受信迪利单抗联合贝伐珠单抗治疗,分别在治疗前、2周期治疗后检测血清AFP及VEGF水平的变化,同时按RECIST 1.1版判断近期疗效,直至疾病进展,分析近期疗效与血清VEGF、AFP水平变化之间的关系及联合检测的价值。**结果** 80例患者中PR 19例,SD 40例,PD 21例,疾病有效率RR为23.75%,疾病控制率DCR为73.75%。无效组肿瘤分期IV期、多发性肿瘤者、肝功能Child-Pugh分级B级、肿瘤直径>3cm较有效组多,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前相比,治疗后血清VEGF及AFP的水平,PR患者显著降低($t=10.979, P=0.000; t=41.185, P=0.000$),SD患者无明显差异($t=1.866, P=0.070; t=0.931, P=0.358$),PD患者显著升高($t=-12.185, P=0.000; t=-8.001, P=0.000$)。ROC曲线结果显示,VEGF、AFP及两者联合曲线下面积以两者联合最大。**结论** 血清VEGF和AFP的检测有助于判断晚期肝癌患者信迪利单抗联合贝伐珠单抗联合治疗的疗效及可作为预测联合治疗预后的指标。

【关键词】 信迪利单抗; 贝伐珠单抗; VEGF; AFP

【中图分类号】 R735.7

【文献标识码】 A

【基金项目】 河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20191289)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.2.024

Predictive Value of Serum VEGF and AFP Detection in the Efficacy of PD-1 Inhibitor Combined with Anti-angiogenic Drug in Patients with Primary Hepatocellular Carcinoma*

LI Huan-huan, NIE Zhi-yong*, WU Tao, YUAN Dong-dong, ZHANG Yue-shan, LIU Wen-hui.
Department of Oncology, Anyang Tumor Hospital, Anyang 455000, Henan Province, China

Abstract: Objective The aim of this study was to explore the clinical value of expression levels of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and alpha fetal protein (AFP) in monitoring the response to the therapy with sintilimab combined with Bevacizumab for patients with primary hepatocellular carcinoma. **Methods** Eighty patients with advanced liver cancer were selected. All patients received sintilimab combined with Bevacizumab. Venous blood was collected before and after 2 cycles of treatment to detect serum VEGF and AFP levels. Meanwhile, the relationship among the change in expression level of serum VEGF, AFP and the responses to the combination therapy evaluated and the value of the combined testing. **Results** Among the 80 patients, there were 19 cases of PR, 40 cases of SD, and 21 cases of PD. The RR was 23.75%, and the DCR was 73.75%. There were more patients with tumor stage IV, Child-Pugh grade B, tumor diameter > 3cm and multiple tumors in the ineffective group than in the effective group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Serum VEGF and AFP levels were significantly decreased in PR patients after treatment compared with those before treatment ($t=10.979, P=0.000; t=41.185, P=0.000$), there was no significant difference in SD patients ($t=1.866, P=0.070; t=0.931, P=0.358$), PD patients significantly increased ($t=-12.185, P=0.000; t=-8.001, P=0.000$). ROC curve results showed that the combined area of VEGF, AFP was the largest. **Conclusion** Detection of serum VEGF and AFP is helpful to judge the efficacy of sintilimab combined with bevacizumab in patients with advanced liver cancer and can be used as an indicator to predict the prognosis of combined therapy.

Keywords: Sintilimab; Bevacizumab; Vascular Endothelial Growth Factor; Alpha Fetal Protein

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)发病率在我国位于第四位,而在肿瘤致死病因中排第二位^[1-2]。主要病理学类型包括肝细胞癌、胆管细胞癌及混合型,其中肝细胞癌占75%~85%的比例^[3-4]。我国患有HBV感染的人数众多,我国绝大多数肝癌的发生与乙型肝炎病毒(HBV)感染有关,而在西方国家,肝癌的发生则多与丙型肝炎病毒(HCV)感染和饮酒有关^[5-6]。

有研究显示,除了在血管生成中发挥作用外,血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂对VEGF介导的免疫抑制有衰减作用^[7]。免疫检查点抑制剂和一种抗VEGF抗体联合治疗已经成为治疗许多实体肿瘤的有效策略,包括肝细胞癌^[8]。ORIENT-32研究显示,贝伐珠单抗和信迪利单抗两个药物联合对比一线索拉非尼靶向治疗晚期肝癌,可以显著延长患者的无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)^[9]。但仍有部分患者无法获益,因此及时预测联合治疗方案的疗效并对未获益患者实施其他方式的治疗至关重要。甲胎蛋白(AFP)是目前临床上诊断肝癌和疗效预测最常用且最重要的血清标志物

^[10-11];血管内皮生长因子(VEGF)是肿瘤血管生成的早期、持续启动子,贯穿肿瘤发生发展的整个过程,其水平的变化与肿瘤的形成及进展密切相关^[7-9]。但以上两种肿瘤标志物是否能有效预测PD-1抑制剂联合抗血管生成药物对原发性肝癌的疗效还需深入研究。因此,本研究通过对80例中晚期肝癌患者的临床资料进行分析,旨在探讨血清VEGF及AFP用于预测中晚期肝癌患者PD-1抑制剂联合抗血管生成药物联合治疗疗效的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2021年07月至2022年07月于本院行信迪利单抗联合贝伐珠单抗治疗的PHC患者的血清。

纳入标准: 经影像学检查或组织病理学确诊为肝癌;年龄18-70岁;CNLC分期III/IV期;Child-Pugh分级A/B级;PS评分0-2分;具有可测量的病灶;既往均未接受过系统性治疗。排除标准:合并其他恶性肿瘤;预计生存期<3个月;治疗过程中出现严

【第一作者】 李焕焕,女,主治医师,主要研究方向:常见恶性肿瘤的内科治疗。E-mail: shunfeng9797@sina.com

【通讯作者】 聂志勇,男,副主任医师,主要研究方向:常见恶性肿瘤的内科治疗。E-mail: nzy2009@126.com

重不良反应不得不停药或对研究药物过敏。该研究已获得医院医学伦理委员会批准，患者均签署知情同意书。最终入组80例，女17例，男性63例，年龄31~70岁，中位年龄64岁；III期51例，IV期29例；有肝炎史41例，无肝炎史39例；有肝硬化40例，无肝硬化40例；Child-Pugh分级：A级48例，B级32例；肿瘤数目：单发39例，多发41例；肿瘤直径：≤3cm 44例，>3cm 36例。

1.2 实验方法

1.2.1 VEGF、AFP检测 分别于治疗前、2周期治疗后各采集2mL静脉血，分离血清，采用ELISA法检测血清VEGF和AFP表达水平。严格按照试剂盒说明书进行。AFP及VEGF试剂盒分别购自上海纪宁生物科技有限公司及上海尤他生物技术有限公司。

1.2.2 治疗方法 患者均接受静脉注射信迪利单抗(每3周200mg)和静脉注射贝伐珠单抗(每3周15mg/kg)。

1.2.3 疗效评估 治疗前及2周期治疗后分别进行CT检查，按实体瘤疗效评价标准RECIST 1.1版评价近期疗效，包括完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD)。计算疾病有效率(RR=CR+PR)和疾病控制率(DCR=CR+PR+SD)。记录PFS。

1.2.4 随访 病例随访主要来源于门诊复查或住院，随访截止于2023年01月31日或肿瘤复发日。

1.2.5 统计学方法 采用SPSS 27.0软件进行统计分析，患者近期疗效与临床病理特征之间关系的分析采用等级资料的秩和检验、与血清VEGF和AFP水平变化之间的关系采用配对t检验；采用ROC曲线分析两种标志物单独及联合检测对联合治疗疗效的预测价值；以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 80例患者中CR 0例，PR 19例，SD 40例，PD 21例。疾病RR为23.75%，DCR为73.75%。

2.2 患者临床病理特征与疗效的关系 将80例肝癌患者按照临床病理特征因素(性别、年龄、肝炎史、肝硬化、临床分期、Child-Pugh分级、肿瘤数目、肿瘤直径)进行分类，进一步分析不同近期疗效与肺癌患者临床特征的关系，表1显示，不同近期疗效患者之间，性别、年龄、肝炎史、肝硬化比较差异无统计学意义(P>0.05)，无效组肿瘤分期IV期、多发性肿瘤者、肝功能Child-Pugh分级B级、肿瘤直径>3cm较有效组多，差异均有统计学意义(P<0.05)。

2.3 血清VEGF、AFP水平的变化与近期疗效的关系 靶向联合免疫治疗后的血清VEGF、AFP水平与治疗前相比，PR患者均显著降低(t=10.979, P=0.000; t=41.185, P=0.000)，SD患者均无明显差异(t=1.866, P=0.070; t=0.931, P=0.358)，PD患者均显著升高(t=-12.185, P=0.000; t=-8.001, P=0.000)，见表2。

2.4 治疗后VEGF、AFP及两者联合检测对靶向联合免疫治疗疗效的预测价值 ROC曲线结果显示，治疗后VEGF、AFP及两者联合曲线下面积分别为0.786、0.808、0.899，曲线下面积以两者联合最大，见表3和图1。由此可见，治疗后血清VEGF、AFP水平变化在预测肝癌患者靶向联合免疫治疗的疗效中具有一定的优势。

表1 患者临床特征与疗效

临床特征	n	PR	SD	PD	Z	P
性别	男	63	14	32	17	
	女	17	5	8	4	-0.544 0.586
年龄(岁)	<60	47	14	21	12	
	≥60	33	5	19	9	-0.059 0.953
肝炎史	有	41	11	20	10	
	无	39	8	20	11	-0.634 0.526
肝硬化	有	40	10	19	11	
	无	40	9	21	10	-0.005 0.996
分期	III	51	16	26	9	
	IV	29	3	14	12	-2.708 0.007
Child-Pugh						
分级	A	48	15	21	12	
	B	32	4	19	9	-3.299 0.001
肿瘤数目	单发	39	10	19	10	
	多发	41	9	21	11	-2.211 0.027
肿瘤直径	≤3cm	44	12	21	11	
	>3cm	36	7	19	10	-2.895 0.004

表2 肝癌患者接受治疗的近期疗效与血清VEGF、AFP、CA19-9水平变化的关系

近期疗效	n	VEGF(pg/mL)	AFP(ng/mL)
PR	治疗前	304.92±45.64	518.96±102.58
	治疗后	206.49±39.15	312.51±88.33*
SD	治疗前	300.99±44.67	507.91±71.85
	治疗后	290.26±56.08	501.73±62.16
PD	治疗前	303.42±46.19	519.15±98.83
	治疗后	358.49±37.85	603.53±83.68*

注：与治疗前比较，*P<0.05。

表3 治疗后VEGF、AFP及两者联合检测对治疗疗效的预测价值(%)

预测指标	最佳临界值	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC	95%CI
VEGF	0.701	79.66	90.48	0.786	0.809~0.963
AFP	0.643	76.19	88.14	0.808	0.811~0.965
2项联合	0.755	89.83	85.71	0.899	0.903~0.995

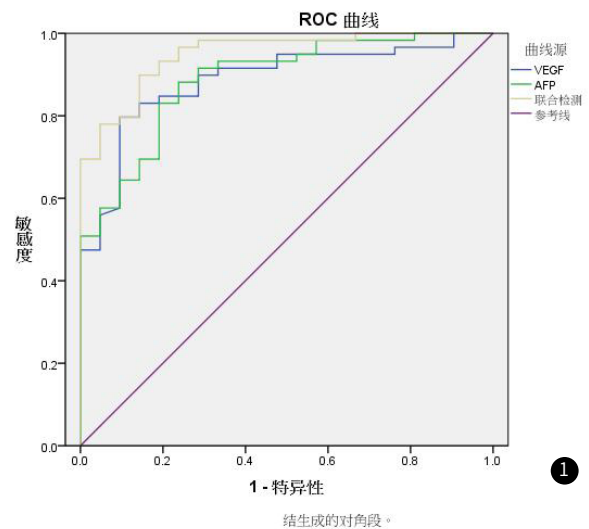


图1 治疗后VEGF、AFP及两者联合检测对治疗疗效的预测价值ROC曲线分析

3 讨论

流行病学研究及临床试验表明肝癌的发生是由多种高危因素共同作用的结果^[12]。早期多无明显症状,一旦进入中晚期,可以表现为腹胀、肝区持续性隐痛等症状,严重降低患者的生活质量^[13]。近几年,免疫检查点抑制剂和抗血管生成药物在肿瘤的治疗上取得了很好的效果,有效延缓和控制了病情的发展,相较于化疗副反应小,极大的改善了患者的生活质量。越来越多的研究也证实两种联合可以起到协同增效的效果。ORIENT-32研究显示,在晚期肝癌患者中,贝伐珠单抗和信迪利单抗联合疗法对比一线索拉非尼可以显著延长患者的PFS和OS。但考虑到中晚期患者体质较弱、病情相对较重,生存期短,预后差,免疫联合抗血管生成药物治疗后仍有部分患者无法获益,因此,如何能提前预测联合治疗的疗效并及时选择最佳的治疗方案还是十分重要的。

VEGF是目前发现的最主要的促血管生长因子,可以通过促进血管内皮细胞的生长和迁移、增加血管通透性等多种机制进而促进肿瘤血管的形成^[14],促进肿瘤的发生发展。VEGF的表达水平与肿瘤的恶性程度和微血管的密度有关,与正常组织相比,在癌症组织中的表达会明显升高^[15-16]。

AFP是由胎儿的卵黄囊细胞或肝脏分泌的一种胚胎性血清蛋白,胎儿出生2~5周后消失。研究表明,肝癌患者血清AFP水平会明显升高,且病情越晚,AFP水平越高,AFP是目前临床上应用最广泛的诊断肝癌的肿瘤标志物^[17-18]。

本次研究中,靶向联合免疫治疗后的血清VEGF、AFP水平与治疗前相比,PR患者均显著降低($P=0.000$; $P=0.000$),SD患者无明显差异($P=0.070$; $P=0.358$),PD患者均显著升高($P=0.000$; $P=0.000$)。说明随着患者病情好转血清VEGF、AFP水平均下降,水平下降越明显,疗效越好。本研究发现,无效组肿瘤分期IV期、肝功能Child-Pugh分级B级、肿瘤直径 $>3\text{cm}$ 及多发性肿瘤者较有效组多,ROC曲线分析得出免疫联合抗血管生成药物治疗后血清VEGF、AFP水平预测中晚期肝癌患者未获益的最佳临界值为:0.701、0.643;两者联合检测预测联合治疗未获益的灵敏度和AUC均高于单独预测,表明治疗后血清VEGF、AFP水平与免疫联合抗血管生成治疗疗效有关,可将治疗后血清VEGF、AFP联合检测用于预测中晚期肝癌患者免疫联合抗血管生成治疗的效果,指导患者的治疗。

临床上部分患者AFP检测呈假阴性,对联合治疗疗效的预测具有局限性;其他肝脏疾病如肝炎、肝硬化等亦会导致VEGF的水平升高。因此使用单独的某一个指标来对疗效进行预测可能仍存在局限性^[19]。目前大多数研究通常会通过多种标志物的联合检测,来预测某种治疗方案的效果^[20]。因此,本研究通过将治疗后的血清VEGF、AFP联合检测,互补不足,有效增强了预测中晚期肝癌联合治疗疗效的效能。

综上所述,PHC患者抗血管生成药物联合PD-1抑制剂治疗后血清VEGF、AFP水平下降越明显,疗效越好,联合治疗后血清VEGF、AFP水平的下降程度可反映治疗成功的程度。血清VEGF、AFP联合检测可增加对PHC患者抗血管生成药物联合PD-1抑制剂治疗疗效的预测价值。

参考文献

[1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394(10204): 1145–1158.

- [2] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115–132.
- [3] 段松, 杨杰斌, 石丹, 等. EP-CAM、N-CAM1及C-KIT与原发肝癌分级与原发肝癌分级、转移及患者预后的关系 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2018, 24(5): 338–343.
- [4] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394–424.
- [5] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115–132.
- [6] 中国人群肝癌筛查指南制定专家组. 中国人群肝癌筛查指南 (2022, 北京) [J]. *中华肿瘤杂志*, 2022, 44(8): 779–814.
- [7] Voron T, Colussi O, Marcheteau E, et al. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8+ T cells in tumors [J]. *J Exp Med*, 2015, 212: 139–148.
- [8] Hegde PS, Wallin JJ, Mancao C. Predictive markers of anti-VEGF and emerging role of angiogenesis inhibitors as immunotherapeutics [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52: 117–124.
- [9] Zhonggang Ren, Jianming Xu, Yuxian Bai, et al. Sintilimab plus a bevacizumab biosimilar (IBI305) versus sorafenib in unresectable hepatocellular carcinoma (ORIENT-32): a randomised, open-label, phase 2–3 study [J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22: 977–990.
- [10] 王计划, 谭文举. 血清AFP、CA19-9、VEGF用于预测中晚期肝癌TACE疗效的价值探讨 [J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(17): 2067–2071.
- [11] 吴君, 韩萍, 张志勇, 等. 血清 VEGF、AFP水平对晚期肝癌TACE联合PD-1抑制剂疗效的评估价值 [J]. *山东医药*, 2022, 62(19): 16–19.
- [12] Lee Y R, Kim G, Tak W Y, et al. Circulating exosomal noncoding RNAs as prognostic biomarkers in human hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(6): 1444–1452.
- [13] Ricke J, Klumpen HJ, Amthauer H, et al. Impact of combined selective internal radiation therapy and sorafenib on survival in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(6): 1164–1174.
- [14] Nasserinejad M, Shojaee S, Ghobakhlou M, et al. The effects of IL-8, IL-6, and IL-1 on the risk of celiac disease: a Bayesian regression analysis [J]. *Gastroenterol Hepatol from Bed Bench*, 2019, 25(10): 173–177.
- [15] 王健, 李存娣, 曹伟娅. 血管内皮生长因子表达及其对肝癌细胞侵袭转移的促进作用 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2019, 39(1): 73–78.
- [16] 熊义富, 张小明, 杨林, 等. 肝细胞肝癌多层螺旋CT征象与肿瘤血管生成相关性的研究 [J]. *中国CT和MRI杂志*, 2015, 13(11): 50–53.
- [17] Montal R, Andreu-Oller C, Bassaganyas L, et al. Molecular portrait of high alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma: implications for biomarker-driven clinical trials [J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(4): 340–343.
- [18] 陈梦丽. 凝血4项指标及肿瘤标志物诊断乙型肝炎相关肝癌的价值及与病理分期的相关性 [J]. *罕少疾病杂志*, 2023, 30(7): 61–62, 65.
- [19] 古曦, 刘畅, 刘双双, 等. 肝癌患者TACE术治疗前后血清VEGF、bFGF、HIF-1 α 水平变化及其临床意义 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(4): 12–15.
- [20] Shigetani K, Datta M, Hato T, et al. Dual programmed death receptor-1 and vascular endothelial growth factor receptor-2 blockade promotes vascular normalization and enhance antitumor immune responses in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2020, 71(4): 1247–1261.

(收稿日期: 2023-02-25)

(校对编辑: 韩敏求)