

放疗相关淋巴细胞减少症对不可手术切除原发性肝癌放疗预后的预测价值

童金龙¹, 王海玉¹, 田小强¹, 李英¹, 鲁世慧², 叶伟³

Prognostic Value of Radiation-Induced Lymphopenia in Patients with Unresectable Primary Hepatocellular Carcinoma Receiving Radiotherapy

TONG Jinlong¹, WANG Haiyu¹, TIAN Xiaoqiang¹, LI Ying¹, LU Shihui², YE Wei³

1. Department No.1 of Oncology, The Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine (Nanjing Second Hospital), Nanjing 210003, China; 2. Department of Radiotherapy, The Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine (Nanjing Second Hospital), Nanjing 210003, China; 3. Liver Cirrhosis Treatment Center, The Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine (Nanjing Second Hospital), Nanjing 210003, China

Abstract: Objective To evaluate the prognostic value of radiation-induced lymphocytopenia in the survival of patients with primary hepatocellular carcinoma receiving radiation therapy. **Methods** The clinical data of 98 patients with unresectable primary hepatocellular carcinoma who received radiotherapy were retrospectively analyzed. The minimum absolute lymphocyte count (min ALC) was graded in accordance with CTCAE V4.0. The optimal threshold of min ALC for prognosis was calculated by using the receiver operating characteristic curve, and the correlation of min ALC with clinical characteristics and dosimetry parameters was analyzed. The Kaplan-Meier method was employed to analyze the survival of patients with different levels of min ALC. Univariate and multivariate Cox proportional regression models were applied to analyze prognostic factors. **Results** The baseline and min ALC of 98 patients during radiotherapy were $1.52 \times 10^9/L$ and $0.45 \times 10^9/L$, respectively ($P < 0.001$). The optimal cut-off value of min ALC for the prediction of the one-year survival rate was $0.38 \times 10^9/L$. GTV, the mean dose of the liver and spleen, the V5 and V10 of the liver and spleen, and the V15 of the spleen were correlated with min ALC, and the V5 of the liver was an independent predictor of min ALC. The overall survival of patients with high min ALC was higher than that of patients with low min ALC. Independent prognostic factors were min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ ($HR = 0.515$, $P = 0.024$), min ALC $\geq$ grade 3 ($HR = 0.576$, $P = 0.032$), tumor thrombus in the portal/vena cava, Child-Pugh grade A, increase of ≥ 2 points in the Child-Pugh score after radiotherapy, and received more than two other therapies. **Conclusion** Min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ and min ALC $\geq$ grade 3 have independent prognostic value in patients with unresectable hepatocellular carcinoma receiving radiotherapy.

Key words: Primary hepatocellular carcinoma; Radiotherapy; Radiation-induced lymphopenia; prognosis

Funding: Wu Jieping Medical Foundation Clinical Research Special Project (No. 320.6750.2024-19-12); The Reserve Talent Project of Nanjing Second Hospital (No. HBRCYL05)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 分析放疗相关淋巴细胞减少症对接受放射治疗的原发性肝癌患者的预后预测价值。**方法** 回顾性分析接受放疗的98例不可手术切除原发性肝癌患者的临床资料, 根据CTCAE V4.0对最低绝对淋巴细胞计数(min ALC)进行分级, 采用受试者工作特征曲线确定对患者预后判断的最佳min ALC阈值, 分析min ALC与临床特征、剂量学参数的相关性, Kaplan-Meier法分析不同水平min ALC的患者生存情况, 单、多因素Cox风险比例回归模型分析相关预后因素。**结果** 98例患者放疗前ALC与min ALC分别为 $1.52 \times 10^9/L$ 和 $0.45 \times 10^9/L$, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), min ALC预测1年生存率的最佳临界值为 $0.38 \times 10^9/L$, GTV、肝脾平均剂量、肝脾V5和V10、脾V15与min ALC相关, 肝V5是min ALC的独立预测因子; $>min$ ALC患者总生存率优于 $\leq min$ ALC患者, 放疗后min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ ($HR = 0.515$, $P =$

收稿日期: 2024-02-02; 修回日期: 2024-09-10
基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项 (320.6750.2024-19-12); 南京市第二医院后备人才项目 (HBRCYL05)

作者单位: 1. 210003 南京, 南京中医药大学附属南京医院 (南京市第二医院) 肿瘤一科; 2. 210003 南京, 南京中医药大学附属南京医院 (南京市第二医院) 放疗科; 3. 210003 南京, 南京中医药大学附属南京医院 (南京市第二医院) 肝硬化治疗中心

作者简介: 童金龙 (1976-), 男, 博士, 主任医师, 主要从事肝癌放疗及肝癌免疫微环境研究, ORCID: 0009-0002-2866-029X

前ALC与min ALC分别为 $1.52 \times 10^9/L$ 和 $0.45 \times 10^9/L$, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), min ALC预测1年生存率的最佳临界值为 $0.38 \times 10^9/L$, GTV、肝脾平均剂量、肝脾V5和V10、脾V15与min ALC相关, 肝V5是min ALC的独立预测因子; $>min$ ALC患者总生存率优于 $\leq min$ ALC患者, 放疗后min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ ($HR = 0.515$, $P =$

0.024)、min ALC $\geq$ 3级($HR=0.576$, $P=0.032$)、门/腔静脉癌栓、Child-Pugh A级、放疗后Child-Pugh评分增加 ≥ 2 分以及接受 ≥ 2 种其他治疗均为独立预后因素。**结论** 放疗后min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ 、min ALC ≥ 3 级对接受放疗的不可手术肝癌患者均有独立预后判断价值。

关键词: 原发性肝癌; 放射治疗; 放疗相关淋巴细胞减少症; 预后

中图分类号: R735.7; R730.55

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

放射治疗作为重要的局部治疗方式,在不可手术的肝细胞肝癌治疗中具有重要的价值,放疗对免疫系统的影响兼有免疫刺激和免疫抑制作用,辐射可以促使肿瘤细胞释放特异性抗原,激活肿瘤特异性免疫反应^[1],但多次分割放疗对骨骼、大血管、心肺肝肾等器官的辐射,均可直接或者间接消耗淋巴细胞,而循环血淋巴细胞、肿瘤浸润淋巴细胞、淋巴结内淋巴细胞,都是肿瘤特异性免疫反应的关键参与者。国外学者使用荷瘤犬研究放疗后淋巴细胞计数对生存期的影响,结果显示血小板与淋巴细胞的比率不是重要的预测因素($P=0.15$),但淋巴细胞减少与生存率降低显著相关($P=0.024$)^[2];许多临床研究显示放疗相关淋巴细胞减少症(Radiation induced lymphopenia, RIL)是众多实体肿瘤预后生存不良的影响因素,荟萃分析结果显示其风险比为1.70(95%CI: 1.55~1.86)^[3],更有研究显示放疗后淋巴细胞绝对值水平与远隔反应的发生相关,直接影响接受放疗和免疫联合治疗肿瘤患者的预后^[4]。

放疗相关淋巴细胞减少症对不可手术原发性肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)患者放疗后生存的影响国内鲜见报道,本研究回顾性分析了放疗相关淋巴细胞减少症在接受放疗的不可切除原发性肝癌患者中的预后判断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾2014年1月—2021年12月在南京市第二医院放疗科接受根治性放疗的不可切除原发性肝癌患者临床资料,所有患者诊断标准参照卫生部制定的《原发性肝癌诊疗指南(2022年版)》^[5]。纳入标准:(1)确诊为原发性肝细胞肝癌,且肝脏病灶接受过放疗;(2)年龄 ≥ 18 岁;(3)体力状况评分 ≥ 80 分;(4)在未行集落细胞刺激因子治疗情况下,放疗前白细胞 $> 2.0 \times 10^9/L$;(5)Child-Pugh评分为A级或B级;(6)在放疗前和放疗后均对肿瘤

进行一次或多次影像学评估;排除标准:(1)双重原发性恶性肿瘤;(2)既往有腹部或者肝脏放疗史;(3)放疗期间乙型肝炎病毒重新激活的患者;(4)患者放疗前后接受干扰素、胸腺肽等免疫治疗;(5)接受放疗剂量 < 30 Gy或者在放疗前和放疗期间没有淋巴细胞计数相关数据的患者;(6)在放疗完成后没有随访或随访时间少于6个月。所有入选患者和(或)其家属均知情同意。

1.2 放射治疗

采用美国瓦里安Unique加速器及Eclipse计划系统实施调强适形放疗,运用热塑膜及体板固定患者体位,体表加压控制呼吸活动,飞利浦Brilliance大孔径CT模拟定位,层厚5 mm,将定位CT图像传输至治疗计划系统,医生根据影像学特征勾画大体肿瘤体积(Gross tumor volume, GTV)及脊髓、胃、正常肝、脾脏等临近危及器官, GTV包括肝癌病灶和门静脉癌栓,头脚方向外放0.5~2 cm,四周外放1 cm,形成计划靶区(Planning target volume, PTV),输入靶区处方剂量及危及器官限量,进行逆向调强计划,根据剂量体积直方图对计划进行优化,治疗计划要求至少95%PTV接受99%的处方剂量,正常肝(肝脏总体积-PTV)平均剂量小于23 Gy,其余危及器官均限制在最小耐受剂量以内,对于巨块型肝癌,则适当缩小靶区或降低靶区剂量均匀性和适形度,降低正常肝的照射剂量,以保护其功能,根据肿瘤退缩情况,在剂量达到40~50 Gy时酌情行二次放疗定位,调整放疗计划。根据患者病灶大小及位置,总剂量为50~64 Gy,分次剂量为1.8~4 Gy,根据肝细胞肝癌 $\alpha/\beta=10$ 将总剂量转化为生物有效剂量(Biological effective dose, BED),所有患者每周治疗5天。

1.3 数据采集

收集入组患者放疗前临床数据,包括年龄、性别、肿瘤分期、体力状态评分、血液检查结果、肝脏超声、腹部增强计算机断层扫描、磁共振成像、正电子发射断层扫描,进行放疗前基线评估;回溯患者放疗前、放疗期间、放疗后2、4个月实验室检查结果,包括全血细胞计数、生化和血清AFP及绝对淋巴细胞计数(Absolute lymphocyte counts, ALC)数据。不同ALC定义如下:(1)放疗前ALC定义为放疗开始前2周内计数;(2)放疗后ALC定义为放疗后2周内绝对淋巴细胞计数;(3)最低淋巴细胞绝对值(Minimum absolute lymphocyte counts, min ALC)定义为放疗期间和放疗结束后1个月内记录的最小值;(4)第一次和第二次随访时的

ALC 定义为完成放疗后2个月和4个月的计数。根据不良事件通用术语标准V4.0版（CTCAE V4.0）对min ALC分级：1级：ALC（0.80~0.99）×10⁹/L，2级：ALC（0.50~0.799）×10⁹/L，3级：ALC（0.20~0.49）×10⁹/L，4级：ALC<0.20×10⁹/L。

记录放疗前基线和放疗期间以及治疗后4个月内最高Child-Pugh评分，记录最高Child-Pugh评分与基线的差值。

1.4 放疗相关参数

治疗计划由物理师根据肝脏肿瘤的处方剂量和危及器官的剂量限制进行逆行调强计划，由物理师从治疗计划中提取相关计划参数，包括GTV、PTV、正常肝剂量体积参数及平均剂量、总剂量及分次剂量、脾脏剂量体积参数及平均剂量。

1.5 疗效评估及随访

放疗结束后，对患者进行规律随访，第一次随访发生在放疗后6~8周，之后每2~3个月复查一次，1年后3~6个月复查1次。复查项目包括血常规等实验室检查、肿瘤标志物及影像学检查。根据放疗结束后6~8周内腹部增强CT或MRI扫描结果，按WHO实体瘤的疗效评价标准RECIST1.1版评价近期疗效^[4]。采用通用不良事件评价标准V4.0版评估治疗相关不良反应，随访截至2023年10月，从放疗结束到因任何原因死亡或最后一次随访日计算总生存期（Overall survival, OS）。

1.6 统计学方法

数据采用SPSS 24.0统计软件进行分析，定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用*t*检验或重复测量方差分析，定性资料用百分率表示，组间比较采用卡方检验，应用受试者工作特征（Receiver operating characteristic curve, ROC）曲线确定观察指标对患者预后具有统计学意义的最佳阈值，Pearson/Spearman相关分析和多元线性回归评估不同变量之间的关联，生存分析采用Kaplan-Meier和Log rank检验，Cox回归模型进行单因素及多因素分析分析对生存期的影响，*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组患者特征

共有98例患者纳入本研究。患者中位年龄58（22~87）岁，29例（29.6%）患者伴有门静脉癌栓，31例患者巴塞罗那临床肝癌（BCLC）分期为B期，中位随访时间为28.4（4.5~61）个月；所有患者中，77例接受常规放射治疗，平均GTV体积（885.8±168.5）cm³，放疗剂量（50~60）Gy/（15~30）f，

平均BED为（58.0±19.8）Gy₁₀，所有患者均完成放疗，没有出现严重并发症。乙肝病毒DNA阳性的患者在整个抗肿瘤治疗期间均接受抗病毒药物（恩替卡韦或拉米夫定）治疗，未观察到肝炎病毒活化病例。98例患者中，94例患者放疗前后接受过靶向药物治疗、免疫治疗、经肝动脉化疗栓塞术其中一种治疗，76例患者接受2种以上上述治疗，资料见表1。

表 1 98例不可手术原发性肝癌患者的基线特征
Table 1 Baseline characteristics of 98 patients with unresectable primary hepatocellular carcinoma

Characteristics	<i>n</i> (%) / ($\bar{x}\pm s$)
Age (years)	
≥65	54 (55.1)
<65	44 (44.9)
Gender	
Male	68 (69.4)
Female	30 (30.6)
Etiology of chronic liver disease	
HBV	66 (67.4)
HCV	12 (12.2)
Other	20 (20.4)
Maximum tumor diameter (cm)	7.8±3.5
GTV (cm ³)	885.8±168.5
Child-Pugh score	
A	36 (36.7)
B	62 (63.3)
Tumor thrombus in the portal/vena cava	29 (29.6)
Barcelona Clinic Liver Cancer stage	
A	67 (68.4)
B	31 (31.6)
Received more than two other therapies	
≥2	76 (77.6)
≥3	35 (35.7)
BED (Gy ₁₀)	58.0±19.8
Liver volume (cm ³)	848.2±76.9
Spleen volume (cm ³)	276±43.4
Extrahepatic spread	27 (27.6)
Number of intrahepatic tumors (≥3)	32 (32.7)

Notes: HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; BED: biologically effective dose.

2.2 放疗期间的淋巴细胞计数动态变化

放疗期间淋巴细胞计数普遍下降，min ALC发生中位时间为放疗后25天，均值为0.45×10⁹/L，与放疗前比较，差异有统计学意义（*P*<0.001）。放疗前、放疗后、第一次随访、第二次随访的平均ALC分别为1.74×10⁹/L、0.62×10⁹/L、1.24×10⁹/L、1.35×10⁹/L，放疗前和放疗后、第一次随访之间存在显著差异（*P*<0.001），第二次和第一次随访比较，淋巴细胞计数有所增加，但差异无统计学意义（*P*=0.155），见图1。

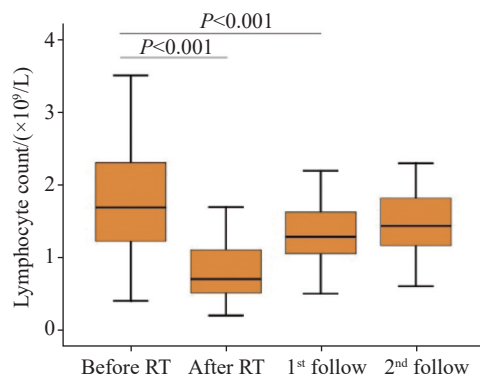


图1 放疗前后及第一次、第二次随访淋巴细胞计数的变化
Figure 1 Changes in lymphocyte counts before and after radiotherapy and at the first and second follow-up

2.3 min ALC预测不可手术肝癌放疗后生存的最佳临界值

随访截至2023年10月，尚有8例（8.2%）患者存活，1年OS率为41.6%，ROC曲线分析确定min ALC的最佳临界值为 $0.380 \times 10^9/L$ （图2），min ALC预测一年生存率的敏感性和特异性分别为91%和72%（ $P<0.001$ ， $AUC=0.885$ ）。

2.4 min ALC和不可手术肝癌放疗患者临床特征之间的关系

依据min ALC最佳临界值，将98位患者分为两组： $\leq$ min ALC组（ $\leq 0.380 \times 10^9/L$ ）（ $n=40$ ）和 $>$ min ALC组（ $> 0.380 \times 10^9/L$ ）（ $n=58$ ），比较两组的临床特征差异，结果显示Child-Pugh分级（ $P=0.026$ ）、等效生物剂量（ $P=0.046$ ）组间差异均有统计学意义，年龄、性别、肿瘤直径、KPS评分、AFP水平等比较，差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ），见表2。

表2 不同水平min ALC和接受放疗的不可手术肝癌患者临床特征之间的关系

Table 2 Relationship between different levels of min ALC and clinical characteristics of patients with unresectable hepatocellular carcinoma receiving radiotherapy

Characteristics	$\leq$ min ALC Group ($n=40$)	$>$ min ALC Group ($n=58$)	χ^2/t	P
Age (years) (median $\pm$ s)	60.5 $\pm$ 17.5	45.9 $\pm$ 20.1	0.476	0.459
Gender (male/female)	27/13	40/18	0.092	0.763
KPS score (≥ 80 / <80)	25/15	38/20	0.017	0.861
Maximum tumor diameter (cm) ($\bar{x} \pm s$)	8.6 $\pm$ 3.7	6.9 $\pm$ 3.1	1.566	0.092
Child-Pugh (A/B)	15/25	21/37	7.856	0.026
Baseline ALC ($\times 10^9/L$)	1.49 $\pm$ 0.69	2.21 $\pm$ 0.56	0.633	0.335
Intrahepatic tumor number (<3 / ≥ 3)	28/12	38/20	1.866	0.063
Extrahepatic spread (yes/no)	29/11	42/16	2.349	0.053
AFP (ng/ml) (<400 / ≥ 400)	9/31	20/38	1.309	0.134
BED (<58 / ≥ 58 Gy ₁₀)	19/21	25/33	3.173	0.046
Segmentation (conventional/unconventional)	22/18	44/14	1.118	0.156

Notes: KPS: Karnofsky performance scale; AFP: α -fetoprotein.

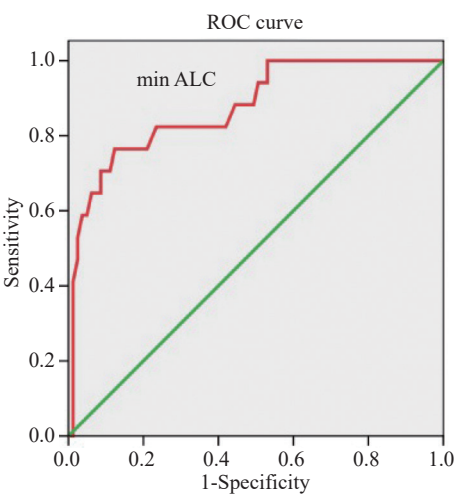
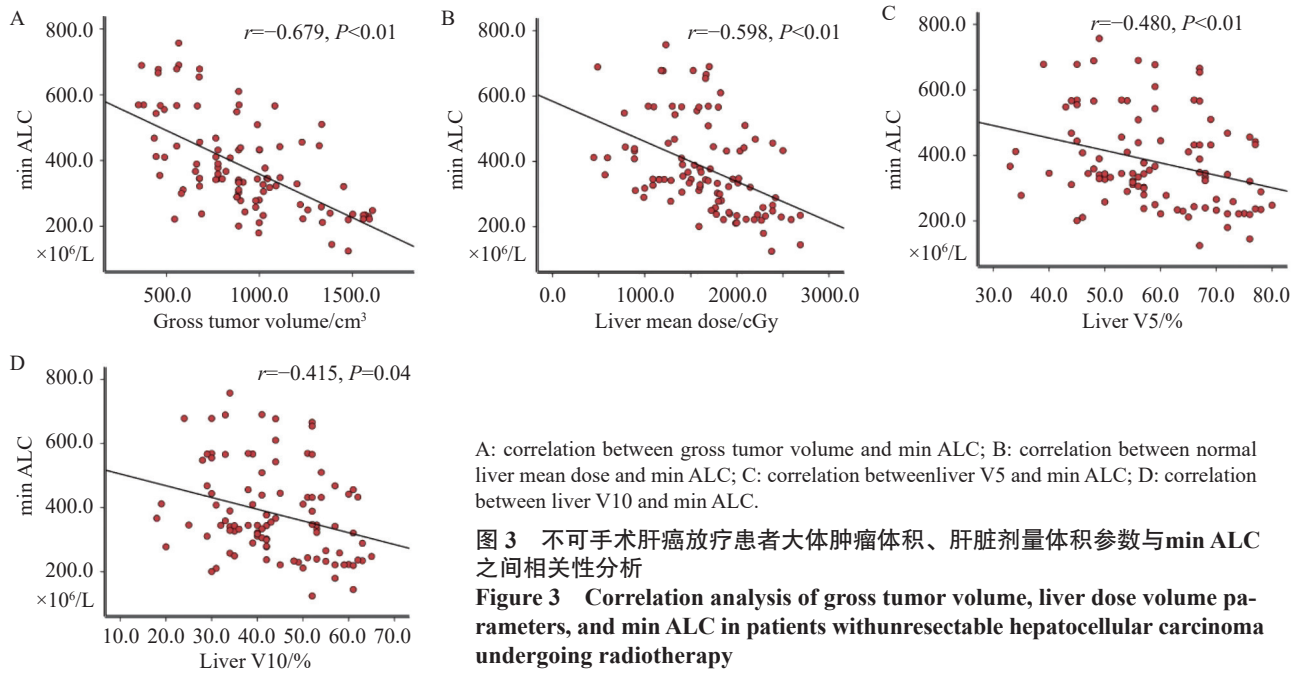


图2 min ALC预测不可手术原发性肝癌患者放疗预后的ROC曲线
Figure 2 ROC curve of min ALC in predicting the prognosis of patients with unresectable hepatocellular carcinoma after radiotherapy

2.5 GTV、肝、脾脏剂量体积参数与不可手术肝癌放疗期间min ALC的相关性分析

Spearman相关分析表明大体肿瘤体积GTV与min ALC存在显著相关性（ $r_s=-0.679$ ， $P<0.01$ ），见图3。为确定该相关性是否由辐射诱导，我们分析放疗前淋巴细胞计数，与放疗后min ALC相比，放疗前淋巴细胞与GTV缺乏显著相关性（ $r_s=0.062$ ， $P=0.504$ ）。

进一步分析正常肝脏、脾脏剂量参数与min ALC的相关性，除外肝脏V15（ $r_s=-0.251$ ， $P=0.49$ ），其余肝脏剂量体积参数（包括平均剂量、V5、V10）均与min ALC显著相关（ $r_s=-0.598$ ， $P<0.01$ ； $r_s=-0.480$ ， $P<0.01$ ； $r_s=-0.415$ ， $P=0.04$ ），见图3，



脾脏剂量参数中不仅脾脏平均剂量 ($r_s=-0.681$, $P<0.01$), 脾脏的V5、V10和V15均与min ALC均存在显著相关性, 见图4。

多元线性回归, 在控制患者的KPS, 性别, 年龄, Child-Pugh等级, 总剂量和肿瘤分期时, 仅正常肝V5被证明是淋巴细胞减少的独立预测因子 ($\beta=-3.643$; 95%CI: $-7.232\sim-0.115$; $P=0.034$)。

2.6 根据min ALC以及ALC分级, 分层分析不同组间生存差异

中位随访时间为28.6 (6.0~61.2) 个月, 随访结束时, 8 (8.2%) 例患者仍然生存, 中位生存期、1年OS率和2年OS率分别为20.2个月、41.6%和20.4%, min ALC $>0.380\times 10^9/L$ 组患者生存期明显优于min ALC $\leq 0.380\times 10^9/L$ 组, 两组患者的中位生存期、1年OS率和2年OS率分别为30.9个月 vs. 11.3个月、47.4% vs. 27.1%和36.8% vs. 11.3% (均 $P<0.001$) ; 根据不同分级min ALC分析结果显示, 1级、2级、3级、4级min ALC患者1年OS分别为86.2%、42.8%、18.6%、0% (均 $P<0.001$) , 2年OS率分别为64.3%、36.7%、14.8%、0% (均 $P<0.001$) , 中位生存期分别为45.8个月、26.8个月、15.3个月和4个月 (均 $P<0.001$) , 见图5。

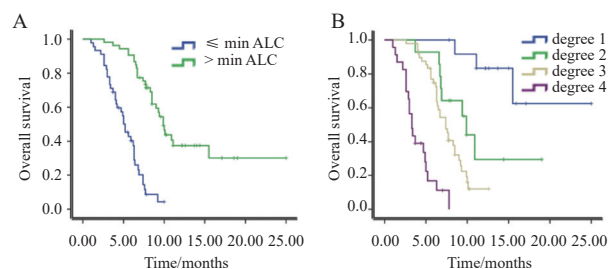
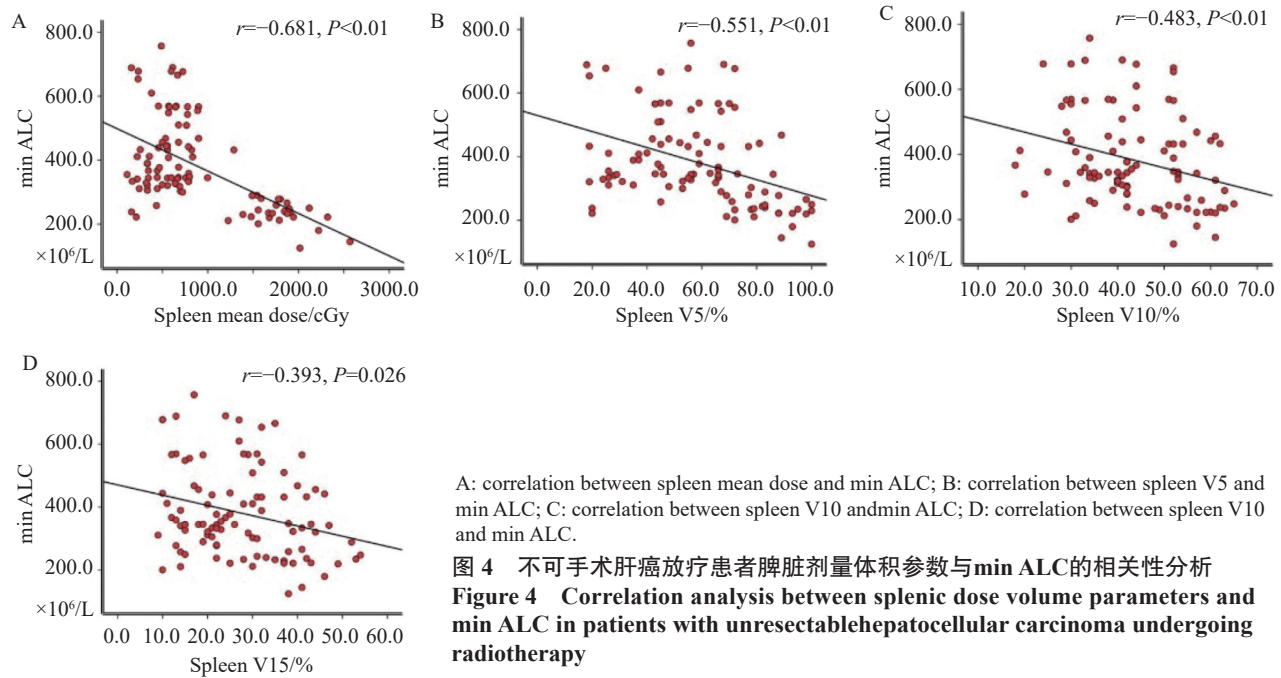
2.7 单因素、多因素Cox比例风险模型分析相关预后因素

采用Cox回归模型进行不可手术肝癌放疗的预后影响因素分析, 根据重要临床特征进行Cox单因素分析, 结果显示KPS评分 (≥ 80 分)、门/腔静脉癌栓、肝外转移、GTV $\geq 885.8\text{ cm}^3$ 、Child-Pugh

A级、放疗后Child-Pugh评分增加 ≥ 2 分、放疗期间min ALC ≥ 3 级、min ALC $\leq 0.38\times 10^9/L$ 以及接受 ≥ 2 种其他治疗, 均为影响预后的风险因素 ($P<0.05$) ; 对上述风险因素进一步组建Cox模型, 调整潜在的混杂因素后, 多因素Cox回归分析显示, 放疗期间min ALC $\leq 0.38\times 10^9/L$ ($HR=0.515$, $P=0.024$) 、放疗期间min ALC ≥ 3 级 ($HR=0.576$, $P=0.032$) 、门/腔静脉癌栓、Child-Pugh A级、放疗后Child-Pugh评分增加 ≥ 2 分以及接受接受 ≥ 2 种其他治疗, 均为影响不可手术肝癌患者放疗的独立预后风险因素, 见表3。

3 讨论

放射治疗相关淋巴细胞减少症是肿瘤患者放疗的常见血液学毒性, 接受外照射放射治疗的患者发生率高达约70%^[6]。众多研究显示, 放疗相关淋巴细胞减少症影响众多实体肿瘤患者的生存预后^[3], 严重RIL已被证明与总体生存率降低、肿瘤复发和转移率增加相关^[7], 随着肿瘤免疫治疗时代来临, 淋巴细胞数量、功能以及肿瘤内部淋巴细胞浸润均成为影响肿瘤免疫治疗的重要因素^[8-9], 淋巴细胞属于放疗敏感细胞, 即使是低剂量辐射也会显著诱发淋巴细胞凋亡^[10], 辐射不仅影响淋巴细胞绝对计数, 其多样性和活性也受到影响^[11]。最新的体外研究表明, 2 Gy或更高的单剂量可诱导淋巴细胞凋亡和坏死, 即使是0.3~0.7 Gy的较低剂量也能影响对辐射更敏感的淋巴细胞亚群^[12]。此外, 最近的其他体外研究表明, 毛细血管扩张性共济失调突变基



A: Comparison of the survival rates of the group with min ALC above the cut-off value and the group with min ALC below the cut-off value; B: Comparison of the survival rate of different groups with degree 1-4 min ALC.

图5 根据分层因素比较接受放射治疗的不可手术肝癌患者的生存曲线

Figure 5 Survival curve of patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated with radiotherapy in accordance with the levels of min ALC

因 (Ataxia-telangiectasia mutated, ATM) 表达的淋巴细胞具有高度放射敏感性^[13], 因此, 接受辐射的重要脏器、骨髓、大血管的体积和剂量均会影响淋巴细胞数量, 甚至造成淋巴细胞耗竭。

本文回顾性探讨放疗相关淋巴细胞减少症在不可手术肝癌放疗中的预后价值。Liu等^[14]发现放疗期间ALC由基线 $1.558 \times 10^9/L$ 降至放疗后 $0.521 \times 10^9/L$, 统计学差异显著 ($P < 0.001$)。Zhang等^[15]研究显示立体定向放疗前、放疗后的平均ALC为 $1.33 \times 10^9/L$ 与 $0.50 \times 10^9/L$ ($P < 0.001$)。他们的结果与本研究结果相似。

本研究结果显示, $>min ALC$ 组与 $\leq min ALC$ 组人群比较, Child-Pugh分级、生物等效剂量差异具有

统计学意义, 其次, min ALC与GTV、正常肝脾平均剂量、肝脾V5、V10、脾脏V15显著相关, 正常肝V5是淋巴细胞减少的独立预测因子。Liu等^[14]探讨59例肝癌患者放疗期间外周血淋巴细胞减少与脾脏照射剂量之间的相关性, 结果显示min ALC与脾脏平均剂量、V5、V25和V30均相关, 多元线性回归模型发现, 排除临床因素影响, 仅脾脏V5与min ALC相关 ($P < 0.05$), 脾脏平均剂量 ≥ 227.72 cGy ($OR = 14.39$; 95%CI: 12.18~16.60) 和V5 ($OR = 7.99$; 95%CI: 6.91~9.07) 显著预测min ALC, 结论显示更高的脾脏照射剂量与肝癌放疗期间较低min ALC显著相关, 脾V5应在放疗实践中加以限制。Zhang等^[15]收集184例接受放疗的肝癌患者的总淋巴细胞计数, 探讨min ALC对肝癌患者的生存影响, 结果显示GTV和分割次数与min ALC呈负相关 ($P < 0.001$ 和 $P = 0.001$), Byun等^[16]回顾性研究多变量分析中, 较大的PTV ($HR = 1.02$, 95%CI: 1.01~1.03, $P < 0.001$) 和较低的基线ALC ($HR = 0.86$, 95%CI: 0.82~0.91, $P < 0.001$) 与急性严重RIL显著相关, 而大分割放疗 ($HR = 0.19$, 95%CI: 0.07~0.49, $P = 0.001$) 与急性严重RIL风险降低显著相关。

本研究结果显示, $>min ALC$ 组患者总生存优于 $\leq min ALC$ 组患者, 放疗期间min ALC $\leq 0.38 \times 10^9/L$ ($HR = 0.515$, $P = 0.024$)、min ALC ≥ 3 级 ($HR = 0.576$, $P = 0.032$) 均为不可手术肝癌放疗的独立预后影响因素。Zhao等^[17]回顾性分析69例肝癌患者放疗期间的min ALC与临床结果之间的关系, 对于min ALC $> 0.45 \times 10^9/L$ 和min ALC $\leq 0.45 \times 10^9/L$ 亚组, 中

表 3 不可手术肝癌患者放疗的预后单因素、多因素Cox回归分析

Table 3 Univariate and multivariate Cox regression analyses for prognosis of patients with unresectable hepatocellular carcinoma receiving radiotherapy

Clinical features	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (95%CI)	P	HR (95%CI)	P
KPS score (≥80)	1.321 (1.015–1.634)	0.031		
Tumor thrombus in the portal/vena cava	0.682 (0.463–0.892)	0.035	0.677 (0.363–0.833)	0.041
Intrahepatic tumor number (≥3)	0.843 (0.405–2.521)	0.347		
Extrahepatic spread	0.704 (0.308–1.852)	0.038		
GTV≥885.8 (cm ³)	0.835 (0.349–3.274)	0.043		
BED≥58 Gy ₁₀	1.937 (0.717–4.766)	0.455		
Child-Pugh A vs. B	1.686 (1.223–5.672)	0.039	1.784 (1.234–4.475)	0.027
Child-Pugh increased by≥2 after RT	0.757 (0.437–0.880)	0.040	0.582 (0.244–0.859)	0.037
Min ALC during RT≥3 grade	0.633 (0.355–0.843)	0.030	0.576 (0.165–0.835)	0.032
Min ALC during RT≤0.380×10 ⁹ /L	0.544 (0.321–0.848)	0.028	0.515 (0.233–0.822)	0.024
Baseline ALC≥1.74×10 ⁹ /L	2.133 (0.423–4.541)	0.325		
Received ≥2 other therapies	1.634 (1.216–1.775)	0.035	1.331 (1.121–3.554)	0.048

Notes: GTV: gross tumor volume; RT: radiotherapy.

位生存期、1年OS率和2年OS率分别为47个月 vs. 15个月、78% vs. 27%、71% vs. 4% ($P<0.001$)，多变量Cox回归分析表明 min ALC可以独立预测患者生存 ($HR=0.32$, 95%CI: 0.15~0.69, $P=0.0042$)。

Zhuang等^[18]观察接受SBRT治疗的78例HCC患者循环淋巴细胞群变化与生存之间的关系，SBRT后10天，CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺和CD16⁺56⁺淋巴细胞亚群均显著下降，其中CD19⁺B细胞计数大部分耗尽，2个月后逐渐恢复，1年、2年、3年OS率分别为94.8%、75.9%和63.3%，多因素Cox回归结果显示，TNF- $\alpha<5.5$ ng/ml 和放疗后总外周淋巴细胞计数 $<0.45\times10^9/L$ 等变量是判断生存的独立预后因素。样本量最大的回顾研究^[16]分析920例肝细胞癌患者接受放疗后出现急性严重淋巴细胞减少症对总生存的影响，其定义为开始放疗后3个月内ALC $<0.50\times10^9/L$ 和ALC $\geq0.50\times10^9/L$ 的肝癌患者的中位生存期分别为13.6个月和46.7个月 ($P<0.001$)，ALC $<0.50\times10^9/L$ 与较差的总体生存率独立相关，风险比为1.40 (95%CI: 1.02~1.91, $P=0.035$)。

放疗相关淋巴细胞减少症在肿瘤免疫治疗时代越发受到重视，放疗所致的循环血液淋巴细胞池消耗，影响患者免疫状态、疗效以及预后，临床实践需要从提升放射治疗技术、优化淋巴细胞相关危及器官保护、治疗计划多角度重新审视，最新文献综述显示肺平均剂量、心脏平均剂量、脑V25、脾平均剂量、免疫细胞估计受照剂量和骨髓V10是放疗相关的严重淋巴细胞减少症的最强预测因子^[19]，针对胸部肿瘤放疗的回顾性研究显示，增加平均心脏

剂量和身体低剂量照射与放疗结束淋巴细胞计数降低显著相关，放疗结束 ≥3 级淋巴细胞减少与胸腔肿瘤患者生存率下降和感染风险增加相关^[20]。其他学者的回顾性研究采用单变量和多变量线性回归分析，提示脾脏V15、脾最高点剂量与放疗后最低淋巴细胞计数 ($P=0.04$, $P=0.046$) 之间存在关联，平均脾脏剂量增加1 Gy与最低淋巴细胞计数减少1%相关^[21]。

总之，我们的研究结果显示放疗相关淋巴细胞减少症对不可手术肝癌预后具有判断价值，临床工作中，需要优化放疗分割方式、射野角度和大小、重要脏器的剂量体积参数，以求最大限度地减少对循环血液、活跃骨髓、免疫相关器官以及重要脏器的照射，保留免疫细胞数量和功能，才可能有望达到根治肿瘤的目标。

利益冲突声明：

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] Lewicky JD, Martel AL, Gupta MR, *et al.* Conventional DNA-Damaging Cancer Therapies and Emerging cGAS-STING Activation: A Review and Perspectives Regarding Immunotherapeutic Potential[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(16): 4127.

[2] Suarez-Rodriguez JJ, Liu CC, Dehghanpir S, *et al.* Lymphopenia predicts reduced survival in canine hepatocellular carcinoma[J]. *J Vet Sci*, 2023, 24(3): e36.

[3] El Houat Y, Massard C, Quillien V, *et al.* Meta-analysis and Critical Review: Association Between Radio-induced Lymphopenia and Overall Survival in Solid Cancers[J]. *Adv Radiat Oncol*, 2022, 8(2): 101038.

- [4] Chen D, Verma V, Patel RR, *et al.* Absolute Lymphocyte Count Predicts Abscopal Responses and Outcomes in Patients Receiving Combined Immunotherapy and Radiation Therapy: Analysis of 3 Phase 1/2 Trials[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(1): 196-203.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. *肿瘤防治研究*, 2022, 49(3): 251-276. [National Health Commission of the People's Republic of China. Standardization for Diagnosis and Treatment of Primary Hepatic Carcinoma(2022 Edition)[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2022, 49(3): 251-276.]
- [6] Ellsworth SG. Field size effects on the risk and severity of treatment-induced lymphopenia in patients undergoing radiation therapy for solid tumors[J]. *Adv Radiat Oncol*, 2018, 3(4): 512-519.
- [7] Damen PJJ, Kroese TE, van Hillegersberg R, *et al.* The influence of severe radiation-induced lymphopenia on overall survival in solid tumors: A systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 111(4): 936-948.
- [8] de Kermenguy F, Meziani L, Mondini M, *et al.* Radio-induced lymphopenia in the era of anti-cancer immunotherapy[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2023, 378: 1-30.
- [9] Jing W, Xu T, Wu L, *et al.* Severe Radiation-Induced Lymphopenia Attenuates the Benefit of Durvalumab After Concurrent Chemoradiotherapy for NSCLC[J]. *JTO Clin Res Rep*, 2022, 3(9): 100391.
- [10] 梁笑星, 杨璐, 马铭梓, 等. 低剂量辐照对人外周血淋巴细胞的影响[J]. *临床输血与检验*, 2023, 25(1): 75-81. [Liang XX, Yang L, Ma MZ, *et al.* Effects of Low dose Irradiation on Human Peripheral Blood Lymphocytes[J]. *Lin Chuang Shu Xue Yu Jian Yan*, 2023, 25(1): 75-81.]
- [11] Paganetti H. A review on lymphocyte radiosensitivity and its impact on radiotherapy[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1201500.
- [12] Falcke SE, Rühle PF, Deloch L, *et al.* Clinically Relevant Radiation Exposure Differentially Impacts Forms of Cell Death in Human Cells of the Innate and Adaptive Immune System[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3574.
- [13] Heylmann D, Badura J, Becker H, *et al.* Sensitivity of CD3/CD28-stimulated versus non-stimulated lymphocytes to ionizing radiation and genotoxic anticancer drugs: key role of ATM in the differential radiation response[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1053.
- [14] Liu J, Zhao Q, Deng W, *et al.* Radiation-related lymphopenia is associated with spleen irradiation dose during radiotherapy in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Radiat Oncol*, 2017, 12(1): 90.
- [15] Zhang HG, Yang P, Jiang T, *et al.* Lymphopenia Is Associated with Gross Target Volumes and Fractions in Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with External Beam Radiation Therapy and Also Indicates Worse Overall Survival[J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 2019: 9691067.
- [16] Byun HK, Kim N, Park S, *et al.* Acute severe lymphopenia by radiotherapy is associated with reduced overall survival in hepatocellular carcinoma[J]. *Strahlenther Onkol*, 2019, 195(11): 1007-1017.
- [17] Zhao Q, Xu X, Yue J, *et al.* Minimum absolute lymphocyte counts during radiation are associated with a worse prognosis in patients with unresectable hepatocellular carcinoma[J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2017, 10(2): 231-241.
- [18] Zhuang Y, Yuan BY, Chen GW, *et al.* Association Between Circulating Lymphocyte Populations and Outcome After Stereotactic Body Radiation Therapy in Patients With Hepatocellular Carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 896.
- [19] Venkatesulu B, Giridhar P, Pujari L, *et al.* Lymphocyte sparing normal tissue effects in the clinic (LymphoTEC): A systematic review of dose constraint considerations to mitigate radiation-related lymphopenia in the era of immunotherapy[J]. *Radiother Oncol*, 2022, 177: 81-94.
- [20] Terrones-Campos C, Ledergerber B, Forbes N, *et al.* Prediction of Radiation-induced Lymphopenia following Exposure of the Thoracic Region and Associated Risk of Infections and Mortality[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2023, 35(7): e434-e444.
- [21] Alexandru M, Rodica A, Dragos-Eugen G, *et al.* Assessing the Spleen as an Organ at Risk in Radiation Therapy and Its Relationship With Radiation-Induced Lymphopenia: A Retrospective Study and Literature Review[J]. *Adv Radiat Oncol*, 2021, 6(6): 100761.

[编辑: 刘红武; 校对: 安凤]

作者贡献:

童金龙: 试验设计、数据收集及文章撰写

王海玉、李英: 数据整理与统计分析

田小强: 数据收集

鲁世慧: 数据校对

叶伟: 文章质量控制及审核