



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.024

http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.024

Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(9):1329-1333.

· 简要论著 ·

pT_{1-4a}N₀M₀ 胃癌淋巴结微转移检测的临床意义

王海磊¹, 冯美燕², 刘春晓³, 赵紫娟¹, 王宽³

(1. 内蒙古赤峰市医院 普通外科, 内蒙古 赤峰 024000; 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2. 病理科 3. 胃肠外科, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要

目的: 探讨淋巴结微转移及临床病理因素对 pT_{1-4a}N₀M₀ 期胃癌患者术后 5 年无瘤生存率的影响。

方法: 纳入 2008 年 1 月—9 月期间 pT_{1-4a}N₀M₀ 期胃癌患者行根治术者 45 例 849 枚 HE 染色阴性淋巴结, 应用免疫组化法检测这些淋巴结中 CK19 表达, 观察其淋巴结发生微转移情况, 并分析发生微转移胃癌患者的临床病理特征及微转移的发生对患者 5 年无瘤生存率的影响。

结果: 经免疫组化染色, 849 枚 HE 常规染色阴性淋巴结中 CK19 阳性表达率为 8.13% (69/849); 有 31.11% (14/45) 患者的淋巴结 CK19 表达阳性。术后随访时间 13~69 个月 (平均随访时间 55.08 个月), 淋巴结中 CK19 阴性表达、阳性表达患者的 5 年总生存率分别为 83.87%、42.86%; 两者无瘤生存率差异有统计学意义 ($\chi^2=9.112$, $P=0.003$)。淋巴结 CK19 阳性表达与胃癌患者的肿瘤直径 ($P=0.007$)、浸润胃壁深度 ($P=0.032$) 有关, 5 年无瘤生存率与临床病理因素无关 ($P>0.05$)。Cox 生存回归分析显示淋巴结微转移为独立预后因素, 14 例患者被检测出微转移, 建议重新分期, 重新分期率为 31.11% (14/45)。

结论: 胃癌 pT_{1-4a}N₀M₀ 期患者, 免疫组化染色能检出常规 HE 染色阴性淋巴结中的微转移, 有助于细化分期、判断预后及指导治疗。

关键词

胃肿瘤 / 病理学; 淋巴结微转移; 免疫组化法; 细胞角蛋白

中图分类号: R735.2

淋巴结转移是影响胃癌患者预后的重要因素之一^[1-2], 临床上常规检查淋巴结无转移者发生复发和转移的比例仍较高。甚至有学者^[3-4]报道, 胃癌患者需多清扫淋巴结, 即使多清除者为阴性淋巴结仍可以提高患者生存率。这样的论断带给我们一系列思考: 只查淋巴结一个切面的常规 HE 染色判定为阴性的淋巴结是否存在微转移的可能? 微转移的比例有多高? 它对患者生存期有无影响? 本文回顾性研究 45 例常规 HE 病理报告的阴性淋巴结 849 枚, 通过免疫组织化学染色 CK19 单克隆抗体对其进行淋巴结微转移情况的检测, 并探

讨淋巴结微转移与胃癌患者临床病理参数及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2008 年 1 月—9 月期间在哈尔滨医科大学附属肿瘤医院接受根治性切除术的 45 例 pT_{1-4a}N₀M₀ 期胃癌患者的临床资料 (采取国际抗癌联盟第 7 版 TNM 分期)、经常规 HE 检测过的淋巴结石蜡包块作为研究对象。其中男 27 例, 女 18 例; 年龄 38~76 岁, 平均 55.33 岁; 行全胃切除 5 例, 近端胃大部切除术 2 例, 远端胃大部切除术 38 例。所有患者均由同一胃肠手术组医师施行 D₂ 或 D₂₊ 根治性切除术 (根治程度标准一致)。

1.2 方法

由 2 位病理医师复检 45 例患者的 849 张原始 HE 染色切片为阴性 (如有转移则排除在本研究

基金项目: 国家自然科学基金 (青年科学基金) 资助项目 (81302058)。

收稿日期: 2014-11-26; **修订日期:** 2015-07-14。

作者简介: 王海磊, 内蒙古赤峰市医院住院医师, 主要从事胃肠方面的研究。

通信作者: 王宽, Email: 88008008@sina.com

之外)。提取相应的849个淋巴结蜡包埋组织块(直径2~20 mm),分别等距离切片4张(厚4 μm),经CK19免疫组化染色检测。

1.2.1 免疫组化染色 采用SP法,抗原预处理采用枸橼酸溶液(pH 6.0微波加热,CK19免疫单克隆抗体为DAKO公司产品,工作浓度为1:100),SP试剂盒为美国Zymed公司产品。操作步骤严格按试剂盒说明进行,常规CK19抗体免疫组化确诊的微转移淋巴结组织做阳性对照,用缓冲液替代CK19抗体作为阴性对照。

1.2.2 结果判断标准 CK19定位于细胞质内,如细胞质经免疫组化染色后成棕褐色,即可判定为微转移阳性。胃癌细胞阳性染色时呈较强的胞质着色,以周边部最强。微转移表现为单个散在和(或)2~3个及数个聚集成小团状的癌细胞位于淋巴窦内,以边缘窦为主。个别淋巴结内巨噬细胞和浆细胞等可见交叉反应,结合细胞形态特点、部位及染色特征可以明确区分^[5]。

1.2.3 随访 术后每3个月随访1次,以电话及信件

随访为主对复发可疑病例于门诊行CT或MRI检查。

1.3 统计学处理

建立病例统计的量化表格及相应的数据库,运用SPSS 18.0软件包进行统计分析。采用 χ^2 检验对微转移与各种临床病理因素的统计数据的相关检验。用Kaplan-Meier法绘制5年生存曲线,并对各组胃癌患者生存资料采用Log-Rank检验,应用Cox比例风险模型做多变量分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 CK19在pT_{1-4a}N₀M₀期胃癌淋巴结中的表达

45例pT_{1-4a}N₀M₀期胃癌患者中共检出849枚淋巴结,每例患者淋巴结10~38枚,平均18.87枚;所有淋巴结经HE切片复检,未发现淋巴结转移。经免疫组化染色,证实微转移的转移度为8.13%(69/849);患者发生微转移的转移率为31.11%(14/45)(图1)。

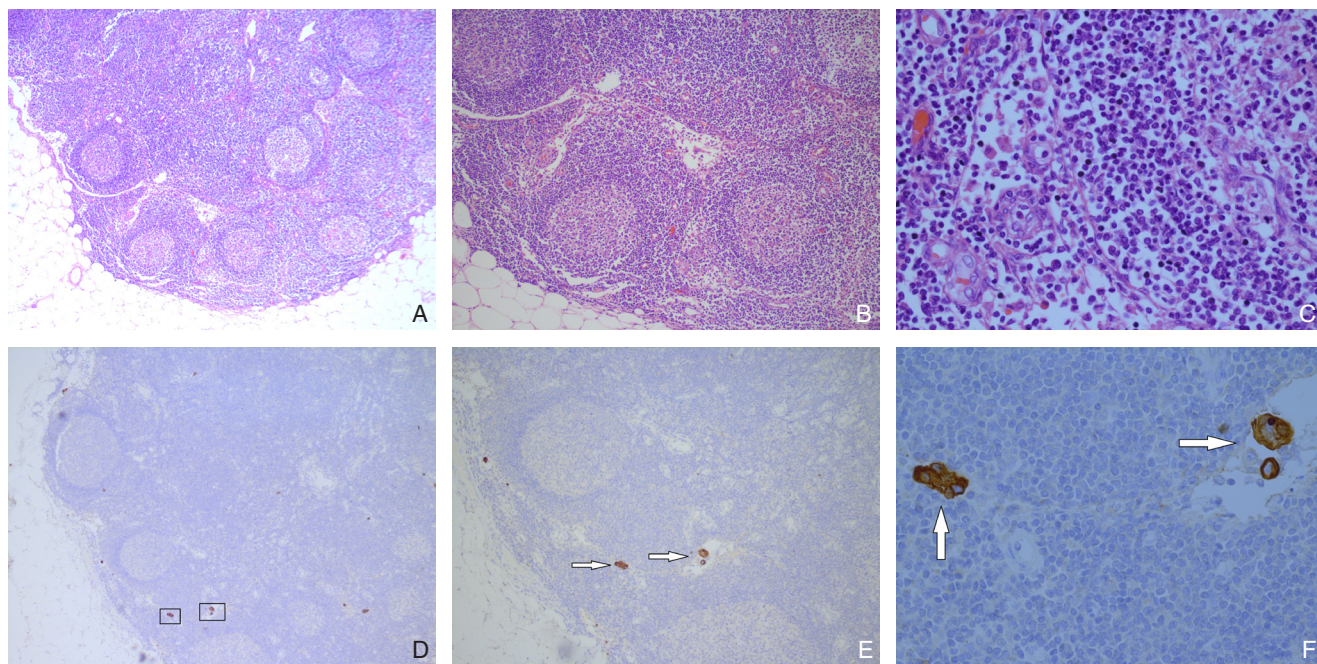


图1 胃癌淋巴结HE染色与免疫组化染色 A-C: HE染色阴性淋巴结;D-F: 免疫组化染色淋巴结CK19阳性表达(A, D: $\times 50$; B, E: $\times 100$; C, F: $\times 400$)

2.2 胃癌患者淋巴结中CK19表达对5年无瘤生存率的影响

随访时间13~69个月,平均时间55.08个月;45例患者5年生存率71.11%;Kaplan-Merier法

生存分析显示淋巴结CK19阴性表达者5年无瘤生存率(83.87%)明显高于CK19阳性表达患者5年无瘤生存率(42.86%),差异有统计学意义($\chi^2=9.112$, $P=0.003$)(图2)。

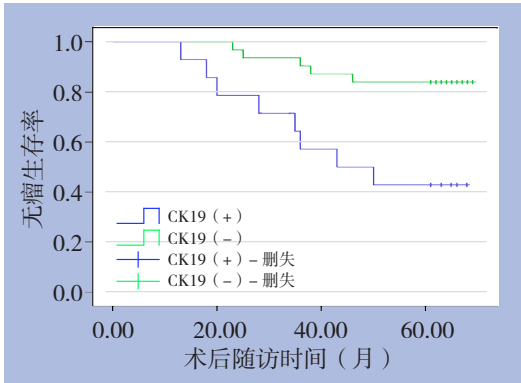


图 2 胃癌淋巴结 CK19 的表达结果对术后 5 年无瘤生存率的影响

2.3 胃癌患者临床病理因素与胃癌淋巴结中 CK19 阳性表达以及 5 年无瘤生存率的关系

分析临床病理因素发现患者的年龄、性别、肿瘤的位置、大体分型、分化程度与胃癌淋巴结微转移无关, 而胃癌淋巴结微转移与肿瘤直径 ($P=0.007$)、浸润胃壁深度 ($P=0.032$) 有关; 胃癌术后 5 年无瘤生存率与临床病理因素无关 ($P>0.05$) (表 1)。

表 1 胃癌患者的临床病理资料与淋巴结中 CK19 阳性表达及 5 年无瘤生存率的关系

临床病理 因素	n	CK19 阳性表达			5 年无瘤生存率		
		n (%)	χ^2	P	百分率(%)	χ^2	P
性别							
男	27	8 (29.63)	0.07	0.793	74.07	0.29	0.591
女	18	6 (33.33)			66.67		
年龄 (岁)							
≥ 60	18	5 (27.78)	0.16	0.693	66.67	0.29	0.591
< 60	27	9 (33.33)			74.07		
肿瘤部位							
胃近端 1/3	2	1 (50.00)	4.71	0.194	50.00	2.81	0.421
胃体端 1/3	8	4 (50.00)			75.00		
胃远端 1/3	32	7 (21.88)			75.00		
累及超过 1/3	3	2 (66.67)			33.33		
肿瘤直径 (cm)							
≥ 5	16	9 (56.25)	7.32	0.007	56.25	2.67	0.102
< 5	29	5 (17.24)			79.31		
大体分型							
肿块型	5	2 (40.00)	1.51	0.765	80.00	3.40	0.335
溃疡型	11	4 (36.36)			90.91		
浸润型	27	7 (25.00)			64.29		
其他	2	1 (50.00)			50.00		
浸润胃壁深度							
T ₁	9	1 (11.11)	8.80	0.032	88.89	6.49	0.090
T ₂	13	2 (15.38)			84.62		
T ₃	10	3 (30.00)			70.00		
T _{4a}	13	8 (61.54)			46.15		
分化程度							
高 / 中分化	13	5 (38.46)	0.46	0.497	53.85	2.65	0.103
低分化	32	9 (26.47)			78.13		

2.4 病理特征与淋巴结微转移的关系

将肿瘤浸润深度、大体分型、淋巴结微转移、肿瘤部位、肿瘤直径、分化程度、患者的性别、年龄等因素依次引入 Cox 回归方程进行单因素分析, 根据对单因素分析有统计学意义的进行 Cox 模型多因素分析, 结果表明淋巴结微转移为独立预后因素 (表 2-3)。

表 2 肿瘤相关因素的单变量分析

临床病理因素	β	SE	Wald	OR	95% CI	P
年龄	-0.005	0.031	0.027	0.995	0.937~1.057	0.869
性别	-0.716	0.557	1.654	0.489	0.164~1.456	0.198
肿瘤直径	0.943	0.557	2.865	2.568	0.862~7.654	0.091
浸润胃壁深度	0.607	0.302	4.040	1.836	1.015~3.320	0.044
分化程度	-0.435	0.659	0.436	0.647	0.178~2.354	0.509
大体分型	0.287	0.389	0.545	1.332	0.622~2.853	0.460
肿瘤位置	0.223	0.532	0.191	1.262	0.445~3.581	0.662
淋巴结微转移	1.562	0.572	7.462	4.769	1.555~14.631	0.006

表 3 肿瘤相关因素的多变量分析

临床病理因素	β	SE	Wald	OR	95% CI	P
浸润胃壁深度	0.354	0.328	1.167	1.425	0.749~2.711	0.280
淋巴结微转移	1.259	0.625	4.054	3.522	1.034~11.996	0.044

2.5 根据免疫组化结果重新分期

14 例胃癌患者被检测出微转移 (14/45、31.11%)。对微转移淋巴结按转移进行重新分期, 会出现分期后移, 14 例分期后移患者如下: 1 例 I_A→II_A, 2 例 I_B→II_B, 1 例 II_A→II_B, 1 例 II_A→III_B, 1 例 II_A→III_A, 5 例 II_B→III_B, 1 例 II_B→III_A, 2 例 II_B→III_C。

3 讨论

局部淋巴结转移情况是判断胃癌患者预后、指导辅助治疗的重要因素之一^[6]。根治性手术后, 即使原发灶清除彻底, 且淋巴结均为阴性, 临床上仍可见一定比例患者死于局部复发和远处转移^[7]。众所周知, 临床病理取材并判定胃癌淋巴结转移的工作量非常繁重, 常规做法是取淋巴结最大直径为切面, 然后石蜡包埋, 然而病理科医生仅通过一个常规 HE 染色的切片来判断淋巴结转移与否, 可能存在着系统上的误差和肉眼难以分辨微转移灶的人为误差。然而淋巴结检测结果却是外科医生对病患预后判定和辅助指导治疗所依赖的证据。本研究出发点, 就是通过等距离多层切片及较客观的免疫组化方法复检曾被临床诊断为“阴

性”的淋巴结,借以引起同行们对胃癌淋巴结微转移存在的重视,它的存在有可能影响到患者的临床分期、无瘤生存、辅助治疗指导等多方面。

目前发现的20多种细胞角蛋白中,CK19在消化道中高表达,但在正常淋巴结或血液中是几乎不表达的,故CK19是诊断上皮恶性肿瘤微转移最有价值标记物之一^[8-9]。本实验发现的淋巴结微转移率为31.11% (14/45),与Yasuda等^[10]报道的相近。

微转移是否影响胃癌预后是正在争论的问题,微转移可有以下几种转归:(1)增生形成大的转移瘤;(2)被机体免疫系统清除;(3)暂时进入G₀期处于休眠状态,待环境适宜时,在增生形成大的转移瘤;(4)其他机制如化疗药物的应用、生物治疗等对肿瘤细胞的破坏。作为初步探讨,本研究有一定的局限性。等距离4层切片849例淋巴结蜡块的工作量对本文纳入患者数量有所限制,仅为45例,pT_{1-4a}N₀M₀分布在I_A~II_B期,生存曲线的绘制随着日后纳入病例的增加,若以同分期内观察微转移对生存情况的影响将更具说服力,即便如此,本文中的生存曲线也能粗略的显示出微转移对生存情况的影响。在本研究中,无淋巴结微转移患者5年无瘤生存率(83.87%)明显高于有淋巴结微转移者(42.86%),差异有统计学意义($\chi^2=9.112$, $P=0.003$);且淋巴结微转移是影响胃癌独立预后的因素,这与Lee等^[11]和陶国强等^[12]报道的相近,而Morgagni等^[13]研究发现淋巴结微转移阴性和阳性的生存率都较高且生存率无统计学差异,淋巴结微转移也不影响患者的预后,我们分析这样的差别可能源于其选择的病例多为早期胃癌患者有关。也有学者^[14-15]预测:微转移患者预后并非一定不良,但对复发存在潜在风险。

在微转移与其他临床病理因素的关系分析中,笔者发现淋巴结微转移与肿瘤的浸润深度、肿瘤直径有关,与Wang等^[16]和Yu等^[17]报道一致,一些学者^[18-19]报道,微转移的高危因素还包括组织分化不良,淋巴管或血管累及等,本实验并未研究这些因素。本研究发现患者的重新分期率31.11%,较文献^[20]报道重新分期率23.30%相对较高,可能与患者的选择及实验方法不同有关,鉴于以上结果笔者预测,免疫组化检测若作为临床病理分期的依据,将导致患者分期移动,Jeuck等^[21]也有相似的报道。

美国癌症联合委员会(American Joint Commission on Cancer, AJCC)提出了MCM(Micrometastasis)和ITCs(isolated tumor cells)

的概念,ITCs直径<0.2 mm,直径在0.2~2 mm之MCM。对于免疫组化阳性淋巴结中MCM与ITCs各占比例多少,检测出阳性的淋巴结(免疫组化)与原有HE染色对比生存期以及术后病理分期是否有差别、是否影响辅助治疗的指导等等,还需要大样本病例的纳入,有待更为细化的分析。

参考文献

- [1] Tang X, Chen Y, Guo L, et al. Prognostic significance of metastatic lymph node number, ratio and station in gastric neuroendocrine carcinoma[J]. J Gastrointest Surg, 2015, 19(2):234-241.
- [2] 倪中凯, 朱家胜. 进展期胃癌D2根治术的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(10):1329-1333.
- [3] Chu X, Yang ZF. Impact on survival of the number of lymph nodes resected in patients with lymph node-negative gastric cancer[J]. World J Surg Oncol, 2015, 13:192. doi: 10.1186/s12957-015-0602-x.
- [4] Kim JJ, Song KY, Hur H, et al. Lymph node micrometastasis in node negative early gastric cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2009, 35(4):409-414.
- [5] 岳欣, 王家仓. N0期31例胃癌患者区域淋巴结组织中CK19的表达[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(12):900-902.
- [6] 欧阳洋, 欧阳植庭, 夏绪东. 胃癌手术患者预后的多因素分析[J]. 中国普通外科杂志, 2010, 19(10):1061-1064.
- [7] Jiao XG, Deng JY, Zhang RP, et al. Prognostic value of number of examined lymph nodes in patients with node-negative gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(13):3640-3648.
- [8] Ru Y, Zhang L, Chen Q, et al. Detection and clinical significance of lymph node micrometastasis in gastric cardia adenocarcinoma[J]. J Int Med Res, 2012, 40(1):293-299.
- [9] 吕成余, 谢洪虎, 王蓓, 等. 实时荧光定量PCR检测胃癌淋巴结微转移及其临床意义[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2012, 19(1):31-36.
- [10] Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, et al. Prognostic effect of lymph node micrometastasis in patients with histologically node-negative gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2002, 9(8):771-774.
- [11] Lee CM, Cho JM, Jang YJ, et al. Should lymph node micrometastasis be considered in node staging for gastric cancer?: the significance of lymph node micrometastasis in gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2015, 22(3):765-771.
- [12] 陶国强, 严轶群, 王兴祥, 等. pT1-3N0期胃癌淋巴结微转移检测的临床意义[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(6):596-600.
- [13] Morgagni P, Saragoni L, Scarpi E, et al. Lymph node micrometastases in early gastric cancer and their impact on prognosis[J]. World J Surg, 2003, 27(5):558-561.
- [14] 吴巨钢, 俞继卫, 倪晓春, 等. 胃腺癌淋巴结转移率的影响因素及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2009, 18(4):311-317.
- [15] 赵爱莲, 李吉友, 孙文清. 常规检查淋巴结阴性胃癌的淋巴结微



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.025

http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.025

Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(9):1333-1337.

· 简要论著 ·

分化型甲状腺癌围手术期循环血微转移相关因素分析

刘勤江, 马世红, 田尤新

(甘肃省肿瘤医院 头颈外科, 甘肃 兰州 730050)

摘要

目的: 探讨分化型甲状腺癌围手术期循环血微转移存在状况及影响因素。

方法: 采用流式细胞术 (FCM) 对 327 例手术治疗的分化型甲状腺癌, 围手术期检测外周血微转移并对其进行相关因素分析。

结果: 分化型甲状腺癌术前循环血微转移阳性 93 例 (28.4%), 其中 74 例 (74/93) 术后 1 周持续阳性、35 例 (35/74) 术后 4 周仍呈阳性。循环血微转移在术前及术后 1 周阳性率与肿瘤大小、淋巴结分期有关 ($P<0.05$), 与病理分化程度无明显关系 ($P>0.05$); 在术后 4 周时微转移阳性率仅与肿瘤的病理分化程度有关 ($P<0.05$)。在术前微转移阴性者中, 有 34 例 (17.3%) 术后 1 周转呈阳性, 其阳性率仅与肿瘤大小有关 ($P<0.001$)。

结论: 分化型甲状腺癌循环血微转移与肿瘤大小、淋巴结分期及手术刺激密切相关, 肿瘤分化程度是循环血微转移阳性持续存在的主要因素。

关键词

甲状腺肿瘤; 肿瘤转移; 流式细胞术; 循环肿瘤细胞

中图分类号: R736.1

分化型甲状腺癌 (differentiated thyroid cancer, DTC) 包括甲状腺乳头状癌和滤泡状癌,

基金项目: 甘肃省中医药科研立项课题资助项目 (GZK-2010-Z9)。

收稿日期: 2014-11-14; **修订日期:** 2015-06-11。

作者简介: 刘勤江, 甘肃省肿瘤医院主任医师, 主要从事头颈肿瘤方面的研究。

通信作者: 刘勤江, Email: liuqj99@126.com

约占甲状腺癌90%左右, 通常发展缓慢、恶性程度低, 10年存活率可达85%以上。但是如果发生转移则预后会明显受到影响^[1-2]。目前尚无有效的生物学指标用来检测和评估甲状腺癌的早期复发, Tg和TgAb对监测全甲状腺切除术后的复发和转移有一定意义, 但对于甲状腺未全切除的病例诊断价值较小^[3]。为此, 笔者采用流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 对手术治疗的327例分化型甲

转移研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(3):222-224.

[16] Wang J, Yu JC, Kang WM, et al. The predictive effect of cadherin-17 on lymph node micrometastasis in pN0 gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(5):1529-1534.

[17] Yu JW, Wu JG, Tajima Y, et al. Study on lymph node metastasis correlated to lymphangiogenesis, lymphatic vessel invasion, and lymph node micrometastasis in gastric cancer[J]. J Surg Res, 2011, 168(2):188-196.

[18] Cao L, Hu X, Zhang Y, et al. Adverse prognosis of clustered-cell versus single-cell micrometastases in pN0 early gastric cancer[J]. J Surg Oncol, 2011, 103(1):53-56.

[19] Li Y, Du P, Zhou Y, et al. Lymph node micrometastases is a poor prognostic factor for patients in pN0 gastric cancer: a meta-analysis of observational studies[J]. J Surg Res, 2014, 191(2):413-422.

[20] 吴泽宇, 詹文华, 李靖华, 等. 淋巴结微转移检测对胃癌病理分期的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2006, 9(3):217-220.

[21] Jeuck TL, Wittekind C. Gastric carcinoma: stage migration by immunohistochemically detected lymph node micrometastases[J]. Gastric Cancer, 2015, 18(1):100-108.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 王海磊, 冯美燕, 刘春晓, 等. pT_{1-4a}N₀M₀胃癌淋巴结微转移检测的临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(9):1329-1333. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.024

Cite this article as: WANG HL, FENG MY, LIU CX, et al. Clinical significance of lymph node micrometastasis in patients with pT_{1-4a}N₀M₀ gastric cancer[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(9):1329-1333. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.024