

Dukes B期大肠癌淋巴结微转移与临床病理关系

赵旗, 戴冬秋

赵旗, 戴冬秋, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110001
项目负责人: 戴冬秋, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院
肿瘤外科. daidq@hotmail.com
电话: 024-23256666-6227
收稿日期: 2004-05-31 接受日期: 2004-06-29

摘要

目的: 探讨 80 例 Dukes B 期大肠癌淋巴结微转移状态及其与临床病理因素与预后的关系。

方法: 对 80 例 Dukes B 期大肠癌淋巴结行间断连续切片结合细胞角蛋白 20 抗体免疫组织化学染色方法检测淋巴结微转移, 并对全部患者进行随访。

结果: 大肠癌淋巴结微转移与性别、年龄、肿瘤部位、大体分型、以及肿瘤最大径长无关, 而与肿瘤的分化程度和肿瘤侵犯肠周径有关;微转移阳性组 5 a 生存率为 36.7%, 微转移阴性组 5 a 生存率为 72.2%, 经 Log-Rank 检验差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 微转移阳性组与阴性组复发率分别为 75% 和 28.8%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

结论: 间断切片法结合 CK20 免疫组织化学方法有助于检出 Dukes B 期大肠癌淋巴结微转移, 增加每个淋巴结的切片数量有助于提高微转移的检出率;低分化及癌肿侵犯肠周径 $> 3/4$ 者易发生淋巴结微转移;淋巴结微转移阳性组与阴性组的生存率与复发率有显著差异。

赵旗, 戴冬秋. Dukes B 期大肠癌淋巴结微转移与临床病理关系. 世界华人消化杂志 2005;13(2):268-269
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/268.asp>

0 引言

淋巴结转移是恶性肿瘤的重要特征, 是影响患者预后的独立因素, 大肠癌 Dukes B 期患者中, 有近 30% 术后 5 a 内死于局部复发或远处转移, 说明 Dukes B 期患者中存在常规病理检查难以发现的微转移. 如何识别这些微转移, 将对临床准确分期和评价预后有重要意义. 我们采用间断连续切片法结合 CK20 免疫组织化学方法检测 Dukes B 期大肠癌淋巴结微转移, 并对患者的生存状况进行随访, 旨在探讨淋巴结微转移与 Dukes B 期大肠癌临床转移病理学因素、肿瘤复发及预后的关系, 病期重新评估。

1 材料和方法

1.1 材料 鼠抗人细胞角蛋白 CK20 mAb 购自福建迈新公司. 鼠抗兔 S-P 超敏试剂盒(链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组织化学染色超敏试剂盒)购自福建迈新公司. 0.5 g/L DAB 购自福建迈新公司; Dukes B 期大肠癌根治术后送检

病理的标本, 选自 1991-03/1996-09 行根治术并有随访的 Dukes B 期大肠癌患者. 80 例 580 枚淋巴结(每例 ≥ 7 枚)标本均经甲醛固定, 石蜡包埋处理。

1.2 方法 每例重新行间断连续切取 10 张厚度为 5 μm 切片, 其中一张用于常规 HE 染色, 其余用于 CK20 免疫组织化学染色. 实验阳性结果以福建迈新公司生物技术开发公司提供的阳性切片为标准, CK20 定位于细胞质内, 阳性细胞呈棕黄色, 边缘处显著. 阴性者无着色. 淋巴结中淋巴细胞不着色. 淋巴结中发现 CK20 着色细胞为肿瘤细胞. 实验设置阳性对照和阴性对照. 以 PBS 替代一抗作为阴性对照, 以原发大肠癌组织 CK20 免疫组织化学染色切片为阳性对照. 所有切片均经有经验的病理医师 2 人阅片, 采用双盲法. 对全部 80 例患者的生存状况进行随访。

统计学处理 应用 SPSS10.0 统计软件包, χ^2 检验;微转移与预后情况用 Kaplan-Meier 曲线法进行分析, 生存率差别对比应用 Log-Rank 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

大肠癌细胞 CK20 染色时, 胞质呈较强着色, 以周边部最显著. 80 例 Dukes B 期大肠癌患者根治术后常规病理染色无转移的 580 个淋巴结中有 28 例 (35%) 共 33 个 (33/580, 5.7%) 淋巴结 CK20 染色微转移阳性; 28 例微转移病例中 3 例所累及的淋巴结为 2 个, 1 例为 3 个, 其余均为 1 个; 微转移表现为单个或 2-3 个细胞聚集, 位置以边缘窦为主; 淋巴结微转移阳性率与每个淋巴结的切片数关系密切, 切片数为 3 张时微转移阳性率 (4/580) 和切片数为 6 张时的微转移阳性率 (26/580) 之间差别有统计学意义 ($P < 0.05$). 6 张切片时与 10 张切片 (33/580) 间差别意义不显著. 微转移的发生与性别、年龄、肿瘤部位、大体分型、以及肿瘤最大径长无关, 而与肿瘤的分化程度(分化 17/61 vs 未分化 11/19, $P < 0.05$) 和肿瘤侵犯肠周径长有关 ($\leq 3/4$, 11/31 vs $> 3/4$, 11/19, $P < 0.05$). 肿瘤分化程度较低者, 易发生微转移, 肿瘤侵犯肠周径超过 $3/4$ 者比不及

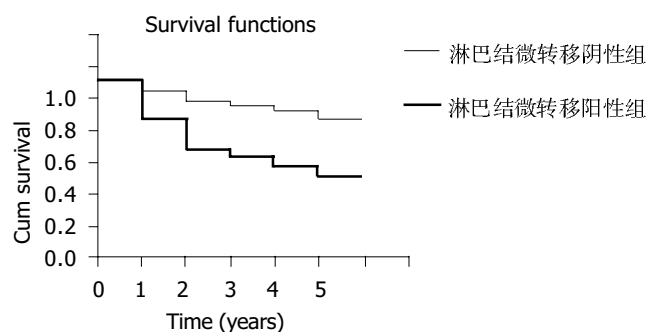


图1 Dukes B 期大肠癌淋巴结微转移阳性、阴性患者生存曲线。

3/4者易发生微转移.从Kaplan-Meier曲线结果可以看到微转移阳性组和阴性组生存率存在明显差异,微转移阳性组5 a生存率为36.7%、微转移阴性组5 a生存率为72.2%,经Log-Rank检验差异有非常重要意义($P < 0.01$);微转移与术后复发率阳性组与阴性组复发率差别有统计学意义($P < 0.01$,图1)

3 讨论

所谓淋巴结微转移一般是指恶性肿瘤在发展过程中,播散并存在于淋巴结中的肿瘤细胞尚未形成结节,无临床表现,常规病理检查难以发现的小于2 mm微小转移^[1-2],常规病理学检查淋巴结,通常只就淋巴结的一个切面制备一、两张切片,并采用HE染色方法,因此就有可能漏检存在于淋巴结偏离切面位置或非常微小的转移^[3],我们采用的间断连续切片法,可以减少由于切片数少而发生的漏检,同时应用细胞角蛋白CK20染色,从而有效地提高了淋巴结微转移的检出率,目前应用于淋巴结微转移的检测方法有多种.近年的研究表明,在常规病理认定无转移的大肠癌患者的淋巴结经免疫组织化学方法或分子生物学方法重新检测后,可检测到微转移^[4-5].本结果表明淋巴结微转移多见于分较差的未分化组(低分化管状腺癌、黏液腺癌、印戒细胞癌和未分化癌),可能与低分化组大肠癌细胞间黏附性低,易脱离并具较强的侵袭性有关.同时微转移多见于绕肠周径大于3/4者,可能与大肠癌生长缓慢,绕肠周径大于3/4者生长时间长,出现转移的机会较多有关;其他各种临床病理因素:年龄、性别、肿瘤部位、以及肿瘤最大径长与微转移的发生无关.

在检测微转移方面,免疫组织化学方法和分子生物学方法各有优缺点.RT-PCR方法敏感性和特异性更高,检测时间短,同时可检测多个标本^[6];免疫组化仅能反映标本的局部,而RT-PCR能反映整个标本的情况,并且操作方法固定,易标准化,人为因素干扰少,判断结果较形态学方法容易且准确的优点;但免疫组织化学方法具有可以用做回顾性研究这一其他方法所不能替代的优点^[7].Des Guetz *et al*^[5]认为微转移与预后的关系仍不明确,到目前2003年为止,无论是免疫组织化学方法还是分子生物学方法所采用的指标的可靠性均有待进一步证实,但是在研究微转移与预后的关系方面,似乎免疫组织化学方法更有实际意义^[8-11],RT-PCR方法发现的阳性的淋巴结未必含有肿瘤细胞,并且与临床上观察到的预后存在相当大的差距^[12-13];相比之下,免疫组织化学方法则更为贴近一些.推测原因可能是其高敏感性降低了其临床应用价值,因为基因诊断的细胞成分非常复杂,并且PCR方法在淋巴结中测到的可能是降解的含有重要序列的肿瘤DNA片段,而非肿瘤细胞.而免疫组织化学方法观察到的细胞形态的微转移可能与预后联系更为紧密一些.Noura *et al*,认为在淋巴结内也存在如下几种可能转归:(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,待环境适宜时,再增生形成;大的转移瘤.因此即使是免疫组

织化学方法证实的微转移,预后并非一定不良.现在对于微转移是否影响预后,下定论为时尚早,目前所有相关研究局限于小样本回顾性研究,并且由于病例的选择、随访的准确性和失访等诸多因素混杂其中,更加科学的结论期待着更大规模的、随机性、前瞻性研究成果.

4 参考文献

- 1 Yuan HY, Cheng FL, Wei ZZ, Yang GL, Chen JK. Clinical Significance of Detecting Lymph Node Micrometastasis of Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR). *Ai Zheng* 2004;23:1069-1073
- 2 Takayama O, Yamamoto H, Ikeda K, Ishida H, Kato T, Okuyama M, Kanou T, Fukunaga M, Tominaga S, Morita S, Fujie Y, Fukunaga H, Ikenaga M, Ikeda M, Ohue M, Sekimoto M, Kikkawa N, Monden M. Application of RT-PCR to clinical diagnosis of micrometastasis of colorectal cancer:A translational research study. *Int J Oncol* 2004;25:597-604
- 3 Braat AE, Oosterhuis JW, Moll FC, de Vries JE. Successful sentinel node identification in colon carcinoma using Patent Blue V. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:633-637
- 4 Noura S, Yamamoto H, Miyake Y, Kim B, Takayama O, Seshimo I, Ikenaga M, Ikeda M, Sekimoto M, Matsuura N, Monden M. Immunohistochemical assessment of localization and frequency of micrometastases in lymph nodes of colorectal cancer. *Clin Cancer Research* 2002;8:759-767
- 5 Des Guetz G, Lacortes JM, Camilleri broet S, Bouillot JL, de Mestier P. Micrometastases in colonic cancers:diagnostic methods and prognostic elements. *J Chir (Paris)* 2002;139:141-148
- 6 Shores CG, Yin X, Funkhouser W, Yarbrough W. Clinical evaluation of a new molecular method for detection of micrometastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130:937-942
- 7 Kwon SY, Kim HJ, Woo JS, Jung KY, Kim I. The usefulness of cytokeratin immunohistochemistry in detection of lymph node micrometastasis in neck dissection specimens. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:300-306
- 8 Karube T, Ochiai T, Shimada H, Nikaidou T, Hayashi H. Detection of sentinel lymph nodes in gastric cancers based on immunohistochemical analysis of micrometastases. *J Surg Oncol* 2004;87:32-38
- 9 Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, Bellocq JP, Bianchi S, Boecker W, Borisch B, Connolly CE, Decker T, Dervan P, Drijkoningen M, Ellis IO, Elston CW, Eusebi V, Faverly D, Heikkila P, Holland R, Kerner H, Kulka J, Jacquemier J, Lacerda M, Martinez-Penuela J, De Miguel C, Peterse JL, Rank F, Regitnig P, Reiner A, Sapino A, Sigal-Zafrani B, Tanous AM, Thorstenson S, Zozaya E, Fejes G, Wells CA. Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European working group for breast screening pathology. *J Clin Pathol* 2004;57:695-701
- 10 Wang GY, Wang SJ, Li Y, Wang LL, Wang XL, Song ZC, Fan LQ. Multi-antibody combined determination of lymph node micrometastasis in patients with gastric cancer. *Ai Zheng* 2004; 23:559-563
- 11 Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2001;8:300-304
- 12 Shores CG, Yin X, Funkhouser W, Yarbrough W. Clinical evaluation of a new molecular method for detection of micrometastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Sur* 2004;130:937-942
- 13 Nagatani S, Shimada Y, Li Z, Kaganoi J, Kan T, Maeda M, Watanabe G, Imamura M. Validation of intra-operative detection of paratracheal lymph node metastasis using real-time RT-PCR targeting esophageal squamous cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2003;33:549-555