

## · 临床研究 ·

## 结直肠癌淋巴结微转移检测的临床意义\*

于游<sup>1</sup>,王灿<sup>1</sup>,彭力<sup>2</sup>,吴强<sup>1</sup>,韩继明<sup>1</sup>,李雅嘉<sup>1</sup>

(重庆市急救医疗中心:1. 普外科;2. 病理科 400014)

**摘要:**目的 探讨结直肠癌淋巴结微转移与临床病理参数的关系及其临床意义。方法 采用免疫组织化学方法,用细胞角蛋白 CK20 及 CEA 检测 53 例常规病理检查无淋巴结转移的结直肠癌周围淋巴结 509 枚。结果 53 例结直肠癌患者中 21 例有淋巴结微转移 (39.6%)。微转移与浸润深度有关,深层组织的微转移阳性率高于浅层,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),PT3、PT4 患者阳性率明显高于 PT1、PT2 患者,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。低分化癌微转移阳性率明显高于高分化癌,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 对常规检查淋巴结为阴性的结直肠癌,微转移检测可能对准确地确定临床分期、指导治疗、判断预后后有积极临床意义。

**关键词:**结直肠肿瘤;淋巴结微转移;免疫组化;肿瘤分期

中图分类号:R735.3;R73-37

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)05-0547-02

Clinical significance of micrometastasis detection in conventional pathologic nonmetastasis lymphnodes of patients with colorectal cancer\*

YU You<sup>1</sup>, WANG Can<sup>1</sup>, PENG Li<sup>2</sup>, et al.

(1. Department of General Surgery; 2. Department of Pathology, Chongqing Medical Emergency Center, Chongqing 400014, China)

**Abstract: Objective** To study the relationship between lymphnode micrometastasis and clinicopathological parameters. **Methods** Immunohistochemical method was adopted to detect CK20 and CEA in 509 lymphnodes from 53 cases of colorectal cancer, in which, conventional pathological diagnosis showed no lymph node metastasis. **Results** Micrometastasis was found in 47 lymphnodes (9.2%) of 21 cases (39.6%). The incidence of micrometastasis was correlated with the depth of invasion, and the incidence of micrometastasis in PT3 and PT4 patients was more than that in PT1 and PT2 patients ( $P < 0.05$ ). The incidence of micrometastasis was also higher in the poorly differentiated cancer than that in well differentiated cancer ( $P < 0.05$ ). The histologic stage of the 19 (35.85%) micrometastasis patients was upstaged by the group of micrometastatic lymph nodes from stage I to stage II in 4 cases, stage III in 15 cases. **Conclusion** Micrometastasis detection in negative lymph nodes of colorectal cancer is recommended to precisely determine the tumor stage, in order to direct cancer therapy and predict prognosis.

**Key words:** colorectal carcinoma; lymph node micrometastasis; IHC; neoplasm staging

周围淋巴结的转移情况直接关系到肿瘤的病理分期、预后判断和术后辅助治疗方案的选择。结直肠癌淋巴结转移与否是临床最为重要的诊断治疗参考指标。然而传统组织学检查对淋巴结转移,尤其是微转移的诊断有很大的局限性。淋巴结转移诊断的遗漏直接影响着临床分期的准确性。因此淋巴结微转移检测对患者术后复发及预后的预测、合理治疗方案的选择有重要的临床意义<sup>[1-2]</sup>。本文应用免疫组织化学方法研究结直肠癌淋巴结微转移与临床病理参数的关系,以探讨微转移检测的临床意义。

### 1 临床资料

**1.1 一般资料** 2003 年 3 月至 2009 年 3 月在本院行结直肠癌根治术的 53 例结直肠癌患者;其中男 31 例,女 22 例;年龄 27~71 岁,平均 (57.1 ± 11.4) 岁。病理分型:高分化腺癌 9 例,中分化腺癌 11 例,低分化腺癌 33 例。其中结肠癌 33 例,直肠癌 20 例。PTNM 分期:Ⅰ期 19 例,Ⅱ期 25 例,Ⅲ期 9 例。收集常规 HE 染色为阴性的淋巴结共 509 枚,平均每例 9.6 枚。

**1.2 试剂及方法** CK20 鼠抗、CEA 鼠抗、即用型抗原修复液及 SP 试剂盒均购自福州迈新生物制品公司。将各蜡块连续

切片 4 张,切片厚度为 4 μm,1 张行 HE 染色,另 3 张行免疫组化 SP 法染色,经二甲苯脱蜡、梯度酒精脱水后,柠檬酸缓冲液微波法修复抗原;3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶的活性;加入抗体,4℃过夜;DAB 显色,显微镜下观察 3~10 min,阳性染色为棕色或黄色;蒸馏水冲洗,苏木素复染,0.1%盐酸分化,PBS 返蓝;切片经梯度酒精脱水干燥,中性树胶封固;光镜下观察结果。每次染色均以 PBS 代替一抗作阴性对照,直肠癌组织作为阳性对照。结果判断以胞浆黄染或棕色为阳性。

**1.3 统计学方法** 所有统计学处理均采用四格表  $\chi^2$  检验,用 SPSS13.0 软件完成统计学分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

结直肠腺癌细胞的 CK20 和 CEA 阳性染色位于胞浆内。53 例结直肠癌共 509 枚淋巴结中有 21 例 (39.6%) 共 47 枚淋巴结出现微转移 (9.2%), 其中有 21 例 (39.6%) 淋巴结共 46 枚 (9.04%) 为 CEA 阳性,有 20 例 (37.7%) 淋巴结共 43 枚 (8.45%) CK20 阳性。二者均为阳性者 42 枚 (8.25%)。微转移表现为单个散在或 2~3 个及数个聚集小团块的癌细胞位于

\* 基金项目:重庆市卫生局科研基金资助项目(06-2-011)。

淋巴管内,以边缘窦为主。微转移与癌肿浸润的深度有关,肿瘤浸润愈深,微转移愈易发生( $P < 0.05$ )。微转移还与组织类型有密切关系,分化程度低者,微转移阳性率高( $P < 0.05$ )。但微转移与肿瘤的部位、大小无关( $P > 0.05$ ) (表 1)。本组经微转移检测有 19 例重新分期,其中 4 例 I 期实属 III 期,15 例 II 期实属 III 期;重新分期率为 35.85% (19/53)。

表 1 53 例结直肠癌淋巴结微转移与临床病理参数的关系

临床病理参数	n	CK20		CEA	
		阳性	P	阳性	P
性别					
男	31	12	$>0.05$	13	$>0.05$
女	22	8		8	
年龄(岁)					
$\leq 45$	15	5	$>0.05$	6	$>0.05$
$> 45$	38	15		15	
浸润程度					
黏膜下	5	0	$>0.05$	0	$>0.05$
肌层	14	3		4	
浆膜层	25	12		12	
浆膜外	9	5		5	
组织类型					
高	9	1	$<0.05$	2	$<0.05$
中	11	5		6	
低	33	14		13	
肿瘤大小(cm)					
$\leq 2$	17	7	$>0.05$	7	$>0.05$
$> 2$	36	13		14	
肿瘤部位					
结肠	33	14	$>0.05$	15	$>0.05$
直肠	20	6		6	

3 项以上参数的 P 值均指与该项指标的第二个参数相比。

### 3 讨 论

虽然目前结直肠癌的治疗疗效较过去 20 年已有了相当大的提高,但复发和转移仍然是治疗失败的主要原因,即使在常规病理学检查未发现淋巴结转移的结直肠癌患者中年内肿瘤的复发率也可达 50%<sup>[3]</sup>。分析其原因可能是因为淋巴结、血管、骨髓中存在的微小转移灶,用传统的病理检查方法很难检出,而导致临床无法及时和正确治疗<sup>[4-5]</sup>。

传统上对淋巴结的病理学检查是通过对其具有代表性的一个切面经 HE 染色作普通光镜检查,这种常规方法不能查及淋巴结的大部分组织,故有可能忽略淋巴结微转移的存在。近年来,随着组织化学和分子生物学技术的发展,利用免疫组化法可以发现常规 HE 染色所不能发现的单个癌细胞和(或)一小簇癌细胞。由于这些微转移有发展成致命的显性转移的可能,因此微转移的检测日益为人们所重视,并已成为目前研究的热点<sup>[6-7]</sup>。Nakajo 等<sup>[8]</sup>对 1 761 枚常规病理检查为阴性的淋巴结应用免疫组化法检查,发现有 30 枚(1.7%)发生微转移。本组对 509 枚阴性淋巴结行微转移检测,微转移阳性率为 9.2%。微转移与浸润深度密切相关,尤其以 T3 以上微转移

的阳性率为高。本组结果显示,微转移检测使 19 例结直肠癌在临床上需要重新分期,重新分期率为 35.85%。因此作者认为,对 PT3N0 应常规作淋巴结微转移检测,这使得临床分期更具科学性。成功的肿瘤微转移的诊断取决于是否具备适当的肿瘤标记物。CK19,CK20,CEA,MUC1 和 CD44<sup>[9]</sup>等标志物都在上皮组织中高度表达,因此可作为消化道肿瘤的特异性标记物。由于大多数肿瘤细胞的表型复杂,而且即使同一肿瘤用不同标记物结果也有所不同。目前的趋势是用多套标记物同步进行。

有学者认为,尽管免疫组化法技术可以检测 HE 无法发现的肿瘤微转移灶,但它并不能提供更好的预后信息<sup>[10]</sup>。而另一方面,赞同微转移检测的学者称,淋巴结微转移检测不但有利于病情的正确分期,而且有助于预后分析,便于术后治疗方案的正确决策和制订<sup>[11]</sup>。McGuckin 等<sup>[12]</sup>报道乳癌淋巴结转移对无瘤生存具有重要意义,但与总的生存率无关。而 Nakajo 等<sup>[8]</sup>对 67 例常规病理淋巴结阴性的胃癌患者进行生存分析,结果表明有淋巴结微转移患者的 5 年生存率明显低于无微转移患者。Perez 等<sup>[13]</sup>也报道结直肠癌有淋巴结微转移患者 82% 生存期低于 5 年。但迄今为止,尚没有一种检查能直接反映癌细胞的数量、生命力、黏附力及随后的免疫应答。本组资料因缺乏随访,未做生存分析。作者认为淋巴结内存在癌细胞毕竟是淋巴转移的第 1 步;淋巴结内存在微转移预示着转移的危险性增加,因此微转移检测可间接地作为预后的监测指标。

### 参考文献:

- [1] Shinji S, Naito Z, Ishiwata T, et al. Clinical and biological significance of lymph node micrometastasis in colorectal cancer[J]. J Nippon Med Sch, 2007, 74(1): 77.
- [2] Kong SL, Salto-Tellez M, Leong AP, et al. Discordant quantitative detection of putative biomarkers in nodal micrometastases of colorectal cancer: biological and clinical implications [J]. J Clin Pathol, 2005, 58(8): 839.
- [3] Hayashi N, Ito I, Yanagisawa A, et al. Genetic diagnosis of lymph-node metastasis in colorectal cancer [J]. Lancet, 1995, 345(8960): 1257.
- [4] 曾庆贵, 王灿, 王忠诚. CK20 对大肠癌的诊断价值探讨 [J]. 重庆医学, 2004, 33(4): 568.
- [5] 廖毅, 曾庆贵. 联合检测大肠癌患者外周血 CK20 和 CEA 的临床意义 [J]. 重庆医学, 2006, 35(8): 718.
- [6] Baton O, Lasser P, Sabourin JC, et al. Ex vivo sentinel lymph node study for rectal adenocarcinoma: preliminary study [J]. World J Surg, 2005, 29(9): 1166.
- [7] Davies M, Arumugam PJ, Shah VI, et al. The clinical significance of lymph node micrometastasis in stage I and stage II colorectal cancer [J]. Clin Transl Oncol, 2008, 10(3): 175.
- [8] Nakajo A, Natsugoe S, Ishigami S, et al. Detection and prediction of micrometastasis in the lymph nodes of patients with PN0 gastric cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2001, 8(2): 158.
- [9] Futamura M, Takagi Y, Koumura H, et al. Spread of colorectal cancer micrometastases in regional lymph nodes by reverse transcriptase polymerase chain (下转第 550 页)

表 2 胆源性与非胆源性 AP 患者肝脏损害程度比较

组别	n	ALT(u/L)	AST(u/L)	ALB(g/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)
非胆源性 AP 组	60	90.8 $\pm$ 22.16	100.1 $\pm$ 23.12	37.6 $\pm$ 4.59	39.2 $\pm$ 22.36
胆源性 AP 组	92	164.5 $\pm$ 31.24*	162.4 $\pm$ 33.04*	26.2 $\pm$ 2.15	79.5 $\pm$ 30.69*

\*: 与非胆源性 AP 组相比较,  $P < 0.05$ 。

表 3 MAP 与 SAP 并肝损害对病程的影响情况比较(d)

组别	n	血淀粉酶恢复时间	住院时间
MAP 组	104	6.34 $\pm$ 1.86	11.32 $\pm$ 4.68
SAP 组	48	12.72 $\pm$ 4.15*	27.38 $\pm$ 16.46*

\*: 与 MAP 组相比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨 论

大量临床和实验研究显示, AP 大多伴有肝细胞不同程度的病理变化, 轻度可有胆红素、碱性磷酸酶和转氨酶的变化, 重者表现为各种凝血因子的紊乱, 导致肝功能衰竭和 DIC, 如果 AP 得到控制, 肝功能紊乱一般是可逆的<sup>[3-4]</sup>。本组 236 例 AP 患者 64.4% 出现肝功能异常。MAP 伴肝损害发生率 56.5%, SAP 伴肝损害发生率 92.3%, 明显高于轻型组, AP 伴肝损害的患者均有不同程度的胆红素、转氨酶升高或清蛋白降低。本组病例中, AP 肝损害主要表现为 ALT、AST、TBIL 升高, ALB 降低; MAP 肝损害较 SAP 轻, SAP 患者 ALT、AST、TBIL 均高于 MAP 患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。SAP 患者的肝功能损害较为严重, 血淀粉酶恢复时间及住院时间较长, 与轻型相比, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。本组研究结果显示, SAP 较 MAP 肝损害发生率高, 损害程度也严重, 提示肝损害程度与 AP 的病情轻重呈正相关, 与国内外报道相符<sup>[5-7]</sup>。

AP 肝损害的机制较为复杂, 病因众多可能与下列因素有关<sup>[8-10]</sup>: (1) 胰腺炎症组织释放各种破坏因子 (如弹性蛋白酶、细胞色素 p450 等) 经静脉回流入肝脏, 直接造成肝细胞变性坏死。(2) AP 时周围血管中血管活性多肽物质浓度升高, 使肝内血管扩张和肝血窦充血, 血流变慢, 而肝血流下降、肝细胞缺血缺氧也是肝损害机制之一。(3) 胰腺水肿造成胆管梗阻, 引起胆道压力升高, 使肝脏结构与功能损害, 出现胆红素代谢障碍。(4) 细胞因子的作用, AP 发生时可释放过量的细胞因子等炎性递质, 如白细胞介素-1、白细胞介素-6、白细胞介素-8、肿瘤坏死因子等, 形成瀑布样连锁放大效应, 在各个器官中激活白细胞和血小板, 产生炎症反应导致严重的组织细胞损害<sup>[11]</sup>。(5) 氧自由基和前列腺素的异常对肝损害的作用, 氧自由基能改变肝细胞内蛋白、DNA 结构及功能, 增加蛋白质对水解酶的敏感性, 在肝脏损害中也起着重要作用<sup>[12]</sup>。

总之, 对于 AP 合并肝损害, 特别是 SAP 合并肝损害, 其肝损害可作为多器官功能障碍的一个表现, 并可使病情加重。在治疗中, 除及时给予抑制胰酶分泌的药物外, 应加强保肝治疗, 及早给予肝细胞膜保护剂和氧自由基清除剂, 稳定肝细胞膜, 促进肝细胞修复、再生, 从而提高胰腺炎并发肝损害的治愈率。

### 参考文献:

- [1] 黄志恒, 王成友. 急性胰腺炎合并肝损害的临床分析[J]. 深圳中西医结合杂志, 2008, 18(2): 102.
- [2] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案)[J]. 中华消化杂志, 2004, 24(3): 190.
- [3] 张东海, 李兆申. 急性胰腺炎肝功能异常及脾脏、胃肠道并发症[J]. 胃肠病学, 2001, 6(1): 49.
- [4] 张喜平, 王蕾. 重症急性胰腺炎并发肝功能损害的机制研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(11): 1335.
- [5] 赵玲, 温俊良, 施媛. 急性胰腺炎合并肝损害的临床分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2006, 9(1): 43.
- [6] 刘国焰, 钟芬梅. 急性胰腺炎肝损害 56 例临床分析[J]. 宁夏医学杂志, 2008, 30(2): 169.
- [7] 李炳庆, 张学军. 急性胰腺炎肝脏损害 117 例临床分析[J]. 承德医学院学报, 2006, 23(4): 371.
- [8] 赵芳, 王建忠, 陈若川. 急性胰腺炎的肝脏损害[J]. 昆明医学院学报, 2003, 24(4): 75.
- [9] 任文涛, 姜文弟, 张东海. 急性胰腺炎并发肝脏损害的临床分析[J]. 胰腺病学, 2005, 5(1): 43.
- [10] 王岩. 急性胰腺炎肝脏损害 137 例临床分析[J]. 实用医学杂志, 2003, 19(6): 670.
- [11] Zhao YF, Zhai WL, Zhang SJ, et al. Protection effect of triptolide to liver injury in rats with severe acute pancreatitis[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2005, 4(4): 604.
- [12] 萧树东. 胃肠病学和肝病学——基础理论与临床进展[M]. 上海: 世界图书出版公司, 2004: 906.

(收稿日期: 2009-03-11 修回日期: 2009-04-22)

(上接第 548 页)

reactions for carcinoembryonic antigen and cytokeratin 20 [J]. J Surg Oncol, 1998, 68(1): 34.

- [10] Choi HJ, Choi YY, Hong SH. Incidence and prognostic implications of isolated tumor cells in lymph nodes from patients with Dukes B colorectal carcinoma[J]. Dis Colon Rectum, 2002, 45(6): 750.
- [11] Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, et al. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2001, 8(4): 300.

- [12] McGuckin MA, Cummings MC, Walsh MD, et al. Occul axillary node metastases in breast cancer: their detection and prognostic significance[J]. Br J Cancer, 1996, 73(1): 88.
- [13] Perez RO, Habr-Gama A, Nishida Arazawa ST, et al. Lymph node micrometastasis in stage II distal rectal cancer following neoadjuvant chemoradiation therapy[J]. Int J Colorectal Dis, 2005, 20(5): 434.

(收稿日期: 2009-06-23 修回日期: 2009-09-08)