维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)04-0417-03

食管鳞癌区域淋巴结微转移分子学检测的临床病理意义

葛明建[1]，李良彬[1]，王 梅[2]，张玉洪[2]

（1. 重庆医科大学临床学院胸心外科；2. 重庆医科大学临床学院检验科，重庆 400016）

【摘 要】目的：评价RT-PCR法检测食管鳞癌区域淋巴结微转移的临床病理意义。方法：取23例食管鳞癌患者的区域淋巴结共104枚，将每枚淋巴结均分为两等份，分别进行病理学检查和上皮组织特异性标志物角蛋白CK19基因的表达分析。对两法测得的淋巴结转移结果与常见临床病理参数间的关系进行统计学分析。结果：23例病人中，病理检查发现其中10例（43.5%）淋巴结存在癌转移，淋巴结是否转移与临床病理参数之间不存在相关性。CK19RT-PCR法不但证实了病理检查的结果，而且还另外发现5例病人存在淋巴结微转移，淋巴结转移与否与组织分化等级（P=0.035）和pTNM分期（P=0.024）间存在相关关系。结论：运用RT-PCR法检测区域淋巴结转移有助于揭示食管癌固有的转移规律。

【关键词】食管肿瘤；淋巴转移；诊断；角蛋白；聚合酶链反应

【中国图书分类法分类号】R735.1；R655.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-11-08

Clinicopathologic value of detection of esophageal squamous carcinoma micrometastases in regional lymph nodes by means of reverse transcriptase-polymerase chain reaction

GE Mingjian, et al

(Department of Thoracic Surgery, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the clinicopathologic value of means of reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) which could be used to detect micrometastases in regional lymph nodes(LNs) of patients with esophageal sequamous carcinoma (ESC). *Methods*: The regional LNs(n =104) were obtained from 23 ESC patients who underwent operation. Each LN was cut into halves. One half of each LN was subjected to histological examination (HE). The other half was subjected to CK19RT-PCR.The correlative relationship of results of metastases in regional LNs and common clinicopathological parameters were analyzed statisticly. *Results*: Among 23 patients analyzed in this study,histological examination was done on each LN, and it revealed metastases in LNs of 10 patients. At the same time these results were confirmed by CK19RT-PCR.Of the 13 patients who were diagnosed to be devoid of metastases by HE, five patients were found to exist micrometastases in regional LNs.The detective rate of metastases in regional LNs was evaluated from 43.5% by HE to 65.2% by CK19RT-PCR.As far as the results of metastases in regional LNs in 23 ESC patients by CK19RT-PCR were concerned, the presence of micrometastases in LNs was associated with grade (P =0.035, exact test) as well as pTNM stage (P =0.024, exact test). *Conclusion*:The assay of RT-PCR which is used to detect micrometastases in regional LNs of ESC patients is helpful for disclosing the inherent metastatic role of this disease.

【Key words】Esophageal neoplasms; Lymphatic metastasis; Diagnosis; Keratin; Polymerase chain reaction

逆转录－聚合酶链反应（RT－PCR）法能准确检测食管鳞癌区域淋巴结微小转移，结果表明，与普通病检法相比，RT－PCR法能提高淋巴结转移检出率，灵敏度和特异性均较理想，该法将有助于食管鳞癌患者亚临床转移的早期诊断和治疗[1]。在此基础上，本文将就RT－PCR法检测食管鳞癌区域淋巴结微转移的临床病理意义进行评价。

1 材料与方法

1.1 临床病理资料

本组共23例食管鳞癌病人，均经病理结果证实，其中男19例，女4例，年龄43～75岁，中位年龄58岁。巨体癌肿长

作者介绍：葛明建（1970-），男，主治医师、硕士，
主要研究方向：胸部肿瘤的生物学行为和综合治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

度≤3.0cm 4例，3.0～5.0cm 4例，＞5.0cm15例。病理证实肿瘤浸润肌层（T2）7例，浸润食管外膜（T3）11例，浸润邻近结构（T4）5例。组织分化为高/中级者14例，低分化9例。术后病理分期（pTNM）按1997UICC标准，其中Ⅱa期6例，Ⅱb期1例，Ⅲ期13例，Ⅳa期3例。

1.2 组织标本的采集、主要实验试剂、仪器以及具体的实验过程见文献[1]。

1.3 统计学处理

本组资料属计数资料，采用四格表确切概率计算法（n=23）进行统计学处理，以$P<0.05$为差异显著性标准。

2 结 果

2.1 病理检测淋巴结转移结果与常见病理参数的关系

病理检测23例食管鳞癌病人的104枚区域淋巴结癌转移情况，结果表明，23例病人中有10例（43.5%）存在淋巴结转移，淋巴结癌转移状况与常见临床病理参数(年龄、性别、癌肿长度、分化等级和pTNM分期等)间不存在相关关系（表1）。

2.2 RT-PCR法检测淋巴结微转移结果与常见临床病理参数的关系

以“上皮组织特异性标志物”角蛋白19（CK19）基因表达为标志物，运用已建立起来的RT-PCR方法测定各淋巴结中CK19mRNA的表达，从而判定淋巴结转移情况。检测结果显示，23例食管鳞癌病人中，除病检法发现的10例区域淋巴结转移结果再次被本法证实外，还发现另外5例存在区域淋巴结微转移，转移阳性率由病检法的43.5%上升至本法的65.2%。淋巴结微转移与年龄、性别和癌肿长度等因素无相关关系，但与组织分化等级（P=0.035）和pTNM分期(P=0.024)间存在相关关系(表1)。

3 讨 论

研究表明，CK19基因在正常食管粘膜及其来源的食管鳞癌组织中有表达，而在正常淋巴结中则无表达，提示CK19为理想的上皮组织特异性标志物[1,2]。目前分析CK19基因表达已被广泛用于乳腺癌等实体瘤淋巴结微小转移（Micrometastases）的研究[3]。RT-PCR法是新建立的用于分析哺乳动物基因表达的分子学方法，目前已被较多地应用于肿瘤研究领域。在此之前，作者曾以CK19基因表达作为检测标志物，通过克服各种干扰因素，建立起特异性较高的CK19RT-PCR法，并且将该法用于食管鳞癌区域淋巴结微转移检测，结果显示本法可检测出1μg正常淋巴结组织RNA中混入的10^{-6}～10^{-4}μg食管鳞癌组织RNA。同时发现，与病检法相比，CK19RT-PCR法能更全面而准确地评估食管鳞癌患者淋巴结转移状况，提高检出率[1,4]。

准确判断肿瘤患者区域淋巴结转移状况有十分重要的意义，它将有助于提高肿瘤分期准确性，对于预测肿瘤术后局部复发和远处转移以及术后辅助性治疗措施的选择都有指导意义。长期以来病理检查结果一直被作为临床医师判断肿瘤淋巴结转移情况和制定各项术后辅助性治疗措施的主要依据。然

表1 23例食管鳞癌病人区域淋巴结微转移与常见临床病理参数间的相关性

项目		病理检查			RT-PCR法		
		病例数	阳性病例	P	病例数	阳性病例	P
年龄	≤60	15	7	>0.05	15	10	>0.05
	>60	8	3		8	5	
性别	男性	19	7	>0.05	19	12	>0.05
	女性	4	3		4	3	
癌肿长度	≤3cm	4	1		4	3	
	3~5cm	4	3	>0.05	4	4	>0.05
	≥5cm	15	6		15	8	
分化程度	中-高级	14	4	>0.05	14	6	0.035
	低级	9	6		9	9	
病理分期	Ⅱ期	7	1	>0.05	7	2	0.024
	Ⅲ/Ⅳ期	16	9		16	13	

维普资讯 http://www.cqvip.com

而传统的病理学方法仅通过单张淋巴结病理切片（约相当于整个淋巴结体积的1%）的转移情况来分析评判整个淋巴结的癌转移情况，难免具有片面性，常低估淋巴结转移的存在[5]。这一现状就给肿瘤临床病理工作者提出了新的课题，即如何寻找新的方法来提高淋巴结癌转移检出率，从而进一步提高肿瘤疗效。

在进行临床病理相关性分析时，发现淋巴结转移病检结果与临床病理参数之间不存在相关关系，而CK19RT-PCR法检查发现淋巴结癌转移与癌肿的组织分化等级以及病理分期等之间均存在相关性。由此可以推测存在这样一种可能，即病理检查法由于低估了淋巴结癌转移的存在，因而导致了肿瘤固有的生物学行为规律被遗漏。与此同时，CK19RT-PCR法比较准确地评判了食管癌区域淋巴结的转移状态，从而揭示了本来存在而以前被忽略了的肿瘤转移规律。

肿瘤分化程度越低，恶性程度越高，就越容易发生淋巴结等部位的播散。本实验结果支持这一论点。根据1976年全国食管癌工作会议拟定的食管癌病理分期标准，食管癌病理分期主要由病变长度、病变范围和淋巴结/远处器官的转移状况三因素决定，其中最重要的因素为病变范围即癌肿的浸润深度。本实验结果还发现癌肿浸润至肌层（T_2期）与浸润至外膜或邻近结构（T_3或T_4期）时区域淋巴结转移情况存在差异（统计学结果未显示出来），而病变长度与区域淋巴结转移间不存在相关性。理论上，局限于粘膜层的早期食管癌病变与侵及或侵透肌层的中晚期病变的淋巴结癌转移状况也应该存在差异，但遗憾的是本组未收集到病变局限于粘膜层或粘膜下层的早期病例，因而无法进行这方面的全面分析，有待进一步观察。

近年来，将RT-PCR法运用于各种实体瘤淋巴结、外周血和骨髓等处微小转移灶的测定在国内外已逐步开展起来，不少研究结果初步显示了该法用于检测肿瘤微转移的临床价值和运用前景[6~9]。但有关食管癌微转移检测的临床意义方面的文献报道则甚少，本文仅进行了初步探讨。今后还需扩大观察对象及密切随访，以便进一步评估本法检测食管鳞癌微转移的临床意义和预后价值。

参 考 文 献

[1] 葛明建，李良彬，张玉洪，等. 食管鳞癌局部淋巴结微小转移的分子学检测[J]. 肿瘤防治研究，2000;27(5):347-349.

[2] Traweek ST,Liu J, Battifora H, et al. Keratin gene expression in no-epithelial tissues[J]. Am J Pathol, 1993;142:1111-1118.

[3] 葛明建，李良彬. 恶性肿瘤淋巴结微转移的检测及其临床意义[J]. 重庆医学，1998;27(3):161-163.

[4] 葛明建，张玉洪，李良彬，等. RT-PCR中加工过的假基因的干扰及解决办法[J]. 中华医学遗传学杂志，1998;15(3):170-172.

[5] Pelkey TJ, Frierson HF, Bruns DE. Molecular and immunological detection of circulating tumor cells and micrometastases from solid tumor[J]. Clinical Chemistry, 1996; 42(9):1369-1381.

[6] Zoubek A, Ladenstein R, Windhager R, et al. Predictive potential of testing for bone marrow involvement in Ewing tumor patients by RT-PCR:a preliminary evaluation[J]. Int J Cancer, 1998;79(1):56-60.

[7] Castaldo G, Tomaicuolo R, Sanduzzi, A, et al. Lung cancer metastatic cells detected in blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and dot-blot analysis[J]. J Clin Oncol. 1997;15(11):3388-3393.

[8] 张 琴，张一楚，顾学范，等. 逆转录-聚合酶链反应检测乳腺癌腋淋巴结微转移的研究[J]. 中华外科杂志，1998;36(7):430-432.

[9] 罗元辉，房殿春，鲁 蓉，等. 应用逆转录聚合酶链反应检测原发性肝癌患者外周血肿瘤细胞[J]. 中华内科杂志，1998;37(3):168-170.