维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1.叶 彬.等.重庆医科大学学报(待发表)
2.Cushison MT,et al.Infect & Immun, 1993;61:4801
3.Hong ST,et al.J Clin Microbiol, 1992;28:1785
4.Lundgren B,et al.Infect & Immun, 1990;58:1705
5.Stringer JR, et al.J Euk Microbiol, 1993;40:733
6.Weinberg GA,et al. J Euk Microbiol, 1994;41:223
7.Weinberg GA, et al. J Euk Microbiol, 1994;41:117S.
8.Liu Y,et al. Nucleic Acids Res, 1992;20:3763
9.Watanabe J, et al. Mol Biochem Parasitol, 1989;32:163
10.Kitada K, et al.J Clin Microbiol, 1991;29:1985
11.Edman JC, et al.Nature, 1988;334:519
12.Lu JJ, et al. J Clin Microbiol, 1994;32:2904
13.Peters SE, et al. J Clin Microbiol, 1994;32:213
14.Sinclair K, et al. Mol Biochem Par isitol, 1991;45:183
15.Wakefield AE, et al. Mol. Microbiol, 1992;6:1903
16.Wakefield AE. Bailliere ' s Clin Infect Dis, 1995;2:431
17.Edman U, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989;86:6503
18.Mazars E, et al. J Euk Microbiol, 1995;42:26
19.Banerji S, et al. J Euk Microbiol, 1995;42:675
20.Edlind TD, et al. Mol Microbiol, 1992;6:3365
21.Weinberg GA,et al. J Euk Microbiol, 1994;41(5):118S.
22.Cushion MT, et al. J Clin Microbiol, 1993,31:127
23.Ortiz-Rivera M,et al. J Euk Microbiol, 1995;42:44
24.Sunkin SM, et al. J Euk Microbiol, 1995;42:12
25.Keely S, et al. J Euk Microbiol, 1994;41:94S
26.Liu Y, et al.Nucleic Acids Res, 1993;21'2415
27.Banerji S, et al. J Euk Microbiol, 1994;41:73S.
28.Lee CH, et al. J Clin Microbiol, 1993;31:754
29.Latouche S, et al. J Clin Microbiol, 1994;32:3052
30.Wakefield AE, et al. J Clin Microbiol, 1994;32:2959
31.Keely SP, et al. J Infect Dis, 1995,172:595
32.Bartlett MS, et al. J Euk Microbiol, 1994;41:121S

(收稿日期 1997-11-05)

恶性肿瘤，肿瘤转移，骨髓微小转移灶

315-317

(38)

恶性肿瘤骨髓微小转移灶检测的临床意义

临床学院胸外科 蒿明建* 综述 李良彬 审校

R73-37

中图分类号 R73-37

肿瘤病人的高死亡率与癌细胞发生异位隐匿性微小转移有关，而骨髓是癌细胞发生微小转移的重要部位，对恶性肿瘤患者骨髓中的微转移进行检测具有重要的临床意义。本文综述近年检测恶性肿瘤骨髓微转移的免疫学和分子学方法及其临床意义。

在癌症病程的早期阶段，癌细胞就可能播散到原发灶以外的远处部位，而传统的诊断方法往往不能检测到这种发生异位播散的隐匿性单个癌细胞或癌细胞集落。骨髓是最重要的转移部位之一，播散至其中的癌细胞能够被免疫学或分子学方法检测到。骨髓微转移(Bone Marrow Micrometastasis，BMM)是指存在于肿瘤病人的骨髓抽吸物或活检标本中能够被检测到的癌细胞，而此时病人往往没有发生远处或骨髓转移的临床或影像学证据。故对BMM进行检测具有重要意义，它可预测

*男，1970-02出生，硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

肿瘤的复发。如研究发现存在BMM的小细胞肺癌患者的平均生存期较无BMM者短[1]。此外BMM的检测对肿瘤患者的自体骨髓移植亦有实用价值[2]

1 免疫学方法

骨髓属间质组织，正常情况下不应有上皮组织特异性抗原的存在，若在骨髓中检测到上皮源性抗原的表达，则表明有上皮源性癌细胞播散至其中[2]。本法通常是采用一系列抗上皮细胞膜或骨架成分的单克隆抗体来检测乳癌[3-6]、肺癌[7,8]、胃癌[9]、结肠癌[10]等上皮性肿瘤播散至骨髓中的单个癌细胞。目前抗上皮细胞骨架成分之一角蛋白18(Cytokeratin 18，CK_{18})的单抗CK_2被较多地运用于上皮性肿瘤BMM的检测。如Cote等[3]运用单抗CK_2检测了49例Ⅰ或Ⅱ期乳癌患者的BMM，结果显示无BMM者2年复发率为3%，而有BMM者为33%($P<0.4$)；无BMM且无腋窝淋巴结转移者的2年发率为0%，而有BMM同时伴腋窝淋巴结转移者为42%。实验表明肿瘤患者BMM的存在与它的临床病理参数相关。Pantel等[5]运用单抗CK_2对可手术的非小细胞肺癌进行BMM检测，发现骨髓中细胞的阳性染色情况与肿瘤大小及分化等级相关联，随访发现有BMM者的术后复发率和骨髓转移率均高于无BMM者($P<0.05$)。有趣的是在对117例无上皮性肿瘤证据的对照者进行检测时发现有2例出现阳性染色，10个月后其中1例被诊断为结肠癌。这个结果提示我们在转移性肿瘤原发灶尚未被检出以前，癌细胞的远处播散就可能已经发生。Maehara[11]运用本法对46例无临床转移的胃癌患者的骨髓进行CK_2染色，结果其中15例存在BMM，并且发现BMM的存在与胃癌的分化类型和侵润深度有关。免疫学法的灵敏度可能较以往的检测方法如骨髓活检法更高。如Frage等[12]同时运用骨髓活检和免疫细胞化学法(抗CD_{90}和抗表面膜抗原EMA)对无临床转移的42例退行性大细胞淋巴癌进行BMM检测，结果17%者骨髓活检阳性，而在活检阴性者中免疫学法可再次检出23%的BMM。综合分析免疫学法检测各类型实体瘤BMM的实验结果可获悉它不但可以预测肿瘤的术后复发，而且与肿瘤的大小、分期、淋巴结转移及血管浸润等均有密切关系[8-14]，因此具有重要临床意义。

有些学者还运用免疫学方法检测骨髓中转移癌细胞的生物学行为[15,16]。如Pantel等[15]对乳癌、胃癌和结肠癌患者骨髓中的CK_{18}阳性细胞进行免疫双标记以检测核增殖相关抗原(Ki－67和p^{120})和C－erbB－2癌基因的表达(癌蛋白$p^{185erbB2}$)，结果发现转移至骨髓中的癌细胞很少表达核增殖相关抗原，但乳癌和胃肠道癌骨髓中微转移细胞$p^{185erbB2}$蛋白的表达与肿瘤的临床分期相关。此外还测定了胃癌、结肠癌及乳癌患者骨髓中转移癌细胞的Ⅰ型主要组织相容性抗原(MHC)，结果表明乳癌患者的骨髓转移癌细胞的MHC比胃癌和结肠癌明显减少，这种MHC表达下调可引起机体免疫系统对乳癌细胞的识别能力降低[16]。

运用免疫学方法对骨髓中的癌细胞进行定量检测具有重要意义，因为存在于骨髓中的微转移癌细胞的数目多少可能与肿瘤的复发关系更密切[8,13,17]。Cote等[8]对49例乳癌患者的临床病理特征进行了多因素分析发现骨髓中癌细胞与有核细胞(NC)的比值是唯一对预测肿瘤早期复发有意义的预后因素，通过30个月的中位随访期，结果发现13例病人中微转移大于10个癌细胞/4×10^6NC的7例复发，而微转移数目小于此值的5例病人均未复发。Moss等[17]运用4种与神经母细胞瘤细胞发生特异性结合的单抗(459、390、HSAN1.2及126－4)检测了197例神经母细胞瘤患者的BMM，结果表明免疫学检测法较细胞形态学法更为灵敏，而且仅有小数目(<6个神经母细胞瘤细胞/10^5个NC)BMM的Ⅱ或Ⅲ期肿瘤患者($n=37$)的生存期超过1年($P=0.001$)，对于那些诊断时BMM相对较多者(>20个癌细胞/10^5个NC，n=13)的生存期则不到1年($P=0.03$)。

尽管免疫学方法检测BMM有预后价值，但目前尚未被广泛运用于肿瘤分期，诸多因素如低分化癌细胞缺乏抗原表达，上皮性抗原可出现在非上皮细胞中[18,19]以及镜下难以区分造血前体细胞与骨髓微转移细胞等都影响了该法的广泛运用。

2 逆转录——聚合酶链反应(Reverse

维普资讯 http://www.cqvip.com

Transcriptase—Polymerase Chain Reaction, RT－PCR)法

RT－PCR法为一种新的检测恶性肿瘤患者BMM的分子学方法，它是通过检测转移至骨髓中的癌细胞的组织特异性基因的表达来进行的，该法已开始被运用于各种类型实体瘤的骨髓微小转移灶的检测，并发现它具有许多独到的优越性。如Wood等[20]运用RT－PCR法对前列腺癌患者骨髓中的前列腺特异抗原(PSA)mRNA进行扩增，发现20例无远处转移证据的局限型前列腺癌中，4例存在BMM(20％)，而23例有远处转移者中15例为阳性(65％)，二者之间具有显著差异。本法可检测到存在于$2－5\times10^7$个骨髓有核细胞中的一个癌细胞。在对本法与免疫组化法的灵敏度进行比较时发现在被检测的29个前列腺癌骨髓标本中的24个RT－PCR法检测阳性，而免疫组化法仅发现19个为阳性，提示RT－PCR法较免疫组化法更灵敏。Gerhard等[21]运用巢式RT－PCR法检测了结直肠癌、胰腺癌、胃癌和乳癌患者骨髓中癌胚抗原(CEA)mRNA，结果用免疫组化法检测阴性的11例胃肠道肿瘤患者的骨髓标本中4例本法检测结果为阳性。因为用免疫组化法未检出BMM者中30％可于术后复发，故RT－PCR法弥补了免疫组化法的缺陷。

RT—PCR法扩增不同组织特异性标志物mRNA可用于各种类型实体瘤BMM的检测。如扩增CK_{19}mRNA用于乳癌细胞的检测[22]；扩增酪氨酸酶mRNA用于骨髓中黑色素瘤细胞的检测[23]；酪氨酸羟化酶mRNA可作为检测神经母细胞瘤细胞的标志物等[24,25]。以上实验均证实RT－PCR为一种快速检测实体瘤BMM的特异而灵敏的分子学方法。

3 结论

运用免疫学和分子学方法对恶性肿瘤患者的微转移进行检测增进了我们对癌症转移的认识，但微转移检测在肿瘤分期中的作用尚未肯定。免疫学法检测骨髓中存在的微转移与临床病理参数相关，亦是预测肿瘤复发的预后因子，因而具有重要的临床意义。RT－PCR法作为新的检测微转移的方法，已引起人们的广泛重视，许多实验结果显示它是较传统的免疫组化法更为灵敏的方法[20,21,26,27]，但由于该法问世不久，用于检测微转移更是近几年才发展起来的，因而尚存在许多影响因素，如实验中基因组DNA或PCR产物的污染[28]以及标志物的非特异性[29]等造成的假阳性问题都尚待解决。今后需获取大量的随访资料以进一步阐明该法检测肿瘤BMM的临床意义。

参考文献

1.Bezwoda, et al.Cancer. 1986;58:1762
2.Papac RJ.Cancer. 1994;74:2403
3.Cote RJ, et al.J Clin Oncol. 1991;9:1749
4.Mansi JL, et al.Eur J Cancer. 1991;27:1552
5.Dearnaley DP. et al.Eur J Cancer. 1991;27:236
6.Diel IJ, et al.J Clin Oncol. 1992;10:1534
7.Pantel K. et al.Cancer Res. 1993;53:1027
8.Pantel K. et al.Lancet. 1996;37:629
9.Schlimok G. et al.Eur J Cancer. 1991;27:1461
10.Lindemann F. et al.Lancet . 1992;340:685
11.Maehara Y. et al.Br J Cancer. 1996;73:83
12.Frage M. et al.Am J Clin Pathol. 1995;103:82
13.Redding WH, et al.Lancet. 1983;ii:1271
14.Leonard RCF. et al.Cancer Res. 1990;50:6545
15.Pantel K, et al.J Natl Cancer Inst. 1993;85:1419
16.Pantel K, et al.Cancer Res. 1991;51:4712
17.Moss JJ. et al.N Engl J Med. 1991;324:219
18.Miettinen M.Pathol Annu. 1991;113
19.Thomas P. et al.Hum Pathol.1987;18:728
20.Wood DP, et al.Cancer. 1994;74:2533
21.Gerhard M. et al.J Clin Oncol. 1994;12:725
22.Datta YH, et al.J Clin Oncol. 1994;12:475
23.Brossart P. et al.J Immunother. 1994;15:38
24.Miyajima Y. et al.Cancer. 1995;75:2757
25.Burchill SA, et al.Int J Cancer. 1994;57:671
26.Wood DP. et al.J Histochem Cytochem. 1994;42:505
27.Wood DP. et al.Cancer. 1994;74:2533
28.Wilke WW, et al.Clin Chem. 1995;41:622
29.Smith M. et al.Cancer Res. 1995;55:2640

(收稿日期 1997－04－23)，