DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.036
第25卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 17
2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003


文章编号:1000-5404(2003)17-1581-02

论著

# RT-PCR法检测食管鳞癌患者淋巴结微转移的预后意义

葛明建[1],李良彬[1],张玉洪[2],王 梅[2] (重庆医科大学附属第一医院:[1]胸外科;[2]检验科)

提 要:目的 评价逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)法检测淋巴结食管癌微转移的预后意义。方法 同时运用RT-PCR法和常规病检法对23例食管鳞癌患者区域淋巴结($n$=104)转移灶进行测定,并且分析两种检测结果对术后生存的影响。生存分析用Kaplan-Meier法,预后分析用COX比例风险模型。结果 寿命表法估计术后5年生存率,mN阴性者为57.14%,mN阳性者为15.38%($P$=0.0103)。通过30个月(2~60个月)的中位观察期发现,存在淋巴结微转移的患者术后无瘤生存期显著短于无微转移者(Log-rank时序检验,$P$=0.0016)。多因素分析显示有无淋巴结微转移(mN)可作为一项独立的预后因素($P$=0.0210),病检法测定结果(pN)对预后无显著影响($P$=0.1031)。结论 RT-PCR法检测淋巴结微转移结果对食管鳞癌患者术后生存有显著影响,同时为术后辅助治疗提供依据。

关键词:食管肿瘤;淋巴转移;预后;聚合酶链反应
中图法分类号:R735.1;R73-37;R730.43 文献标识码:A

# Prognostic significance of lymph node micrometastasis in patients with esophageal squamous carcinoma detected by RT-PCR

GE Ming-jian, LI Liang-bin, ZHANG Yu-hong, WANG Mei (Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the prognostic significance of lymph node micrometastasis in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Methods** The metastases in regional lymph nodes ($n$=104) of patients with ESCC ($n$=23) were detected by both RT-PCR and routine histological examination. The effects of the detected results by two methods on postoperative survival were analyzed. The cumulative survival was calculated by the Kaplan-Meier method and compared by log rank test. The prognostic factors were analyzed by the COX model. **Results** Life tables showed that mN(molecular nodal status)-negative and -positive were 57.14% and 15.38%($P$=0.0103) in the 5-year survival rate. Following a median observation time of 30.0 months (range: 2~60), patients with lymph node micrometastasis showed a significantly shorter disease-free survival duration than node-negative patients (log-rank test, $P$=0.0016). Multivariate analysis showed that mN could be regarded as an independent prognostic factor (COX regression model, $P$=0.021). Results of pathological nodal status had no effect on prognosis. **Conclusion** The molecular lymph node micrometastasis affects significantly the postoperative survival of patients with ESCC. Assessment of nodal status by RT-PCR is useful for patients undergoing curative esophagectomy.

**Key words:** esophageal neoplasm; lymphatic metastasis; prognosis; polymerase chain reaction

淋巴结转移被认为是影响食管癌患者预后的重要因素。然而,临床观察却发现一些常规检测方法未发现淋巴结转移的患者可死于早期转移,提示这部分患者在术前就已经有了癌细胞的播散,只是这些转移灶因为较小而不能被目前临床上使用的常规检查方法发现,称之为微转移(Micrometastases)。作者以前的研究结果虽然显示逆转录—聚合酶链反应法(RT-PCR法)能特异而灵敏地检测到存在于食管癌患者区域淋巴结中的微小转移灶,但其预后价值却未明[1]。本研究旨在分析该法检测食管鳞癌患者淋巴结微转移的预后意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

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。巨体癌肿长度<3.0 cm 4例,3.0~5.0 cm 4例,>5 cm 15例。病理证实肿瘤侵及肌层($T_2$)7例,侵

作者简介:葛明建(1970-),男,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事胸部肿瘤生物行为及综合治疗方面的研究,发表论文20篇。电话:(023)68893044

收稿日期:2002-09-20;修回日期:2002-12-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

及食管外膜($T_3$)11例，侵及邻近结构($T_4$)5例。组织分化为高分化7例，中分化7例，低分化9例。切缘长度两侧均≥5.0 cm 10例，一侧<5.0 cm 8例，两侧均<5.0 cm 5例。术后接受辅助治疗9例，未接受辅助治疗14例。术后病理分期(pTNM)按1997 UICC标准，其中$II_a$期6例，$II_b$期1例，III期13例，$IV_a$期3例。所有病例均接受食管癌切除及区域淋巴结清除术，共获得104枚淋巴结。在无菌条件下将每枚淋巴结沿长轴均分为两等份，分别进行癌转移的病理学检测和分子学评价[1]。

### 1.2 组织标本的采集、所需实验试剂、仪器以及具体的实验过程

参见文献[1]。

### 1.3 随访与观测指标

术后随访方式包括门诊、电话随访以及信访。检查手段包括体格检查、胸部X线检查、食管造影、食管镜检、CT扫描、腹部B超以及全身骨骼同位素扫描等。随访起点时间为1997年7月，随访截止日期为2002年5月1日。每一病例均进行性别、年龄、切缘长度、浸润深度、分化程度、肿瘤长度、pN状态(淋巴结转移病理学检测结果)、mN状态、术后是否接受辅助治疗以及术后无瘤生存期(Disease-free survival duration)等10项指标的观察和评价。

### 1.4 统计学方法

用SPSS for windows 10.0统计软件包建立数据文件并进行统计学分析。术后无瘤生存期以手术当日至末次随访所获得的截至时间为准，死于其它疾病归为失访。将术后无瘤生存期作为因变量，其余指标均分层赋值后作为自变量，分别进行单因素和多因素分析。运用寿命表法(Life Tables)计算累积生存率，Kaplan-Meier法计算术后中位无瘤生存期，Log-rank时序检验评价差异性。多因素分析采用COX比例风险模型。

## 2 结果

### 2.1 随访率和术后生存情况

本组除1例死于手术后糖尿病并发症外，其余均获得随访资料，5年随访率为95.7%。Kaplan-Meier法计算术后中位无瘤生存期为30个月(2~60个月)。寿命表法估计术后5年生存率为21.3%。其中mN阴性者为57.14%，mN阳性者为15.38%($\chi^2$值=6.589，$P$=0.010 3)，pN阴性者为44.55%，pN阳性者为19.41%($\chi^2$值=2.91，$P$=0.088 0)。

### 2.2 单因素分析结果

按$\alpha$=0.05标准，统计学分析结果表明，年龄(Age)、切缘长度(RL)和mN状态对患者术后生存有显著影响($P$<0.05)，而性别(Sex)、浸润深度(ID)、分化程度(Grade)、肿瘤长度(Length)，pN状态以及是否接受术后辅助治疗(PAT)对预后则无显著影响，见表1。图1示分子学检测淋巴结转移结果对食管鳞癌病人术后生存的影响。

### 2.3 多因素分析结果

按$\alpha$=0.05标准，将单因素分析有统计学意义的年龄(Age)、切缘长度(RL)和mN状态等因素进行COX模型多因素分析，发现三者与术后无瘤生存期间均有相关关系，见表2。

表1 23例食管鳞癌病人预后单因素分析

**Tab 1 Univariate analysis of prognostic factors associated with postoperative disease-free survival duration in 23 patients with esophageal squamous cell carcinoma**

| Variable | $\chi^2$ Value[a] | $P$ value[a] | Stratification |
|---|---|---|---|
| Sex | 0.02 | 0.875 0 | Male, female |
| Age | 5.20 | 0.022 6 | 40~59, ≥60 |
| RL[b] | 14.35 | 0.000 8 | Two ends≥5cm, one end<5cm, two ends<5cm |
| ID[b] | 1.94 | 0.379 8 | $T_1$, $T_2$, $T_3$, $T_4$ |
| Grade | 1.66 | 0.435 1 | Well, Mod[b], Poor |
| Length | 2.94 | 0.229 9 | <3cm, 3~5cm, >5cm |
| pN[b] | 2.66 | 0.103 1 | pN0, pN1 |
| mN[b] | 9.93 | 0.001 6 | mN0, mN1 |
| PAT[b] | 2.88 | 0.089 9 | Yes, No |

a: By means of the Log-rank test; b: Abbreviations; RL: Resectional Length; ID: Invasive Depth; Mod: Moderately differentiated; pN: Pathological nodal status; mN: Molecular nodal status; PAT: Postoperative adjuvant therapy

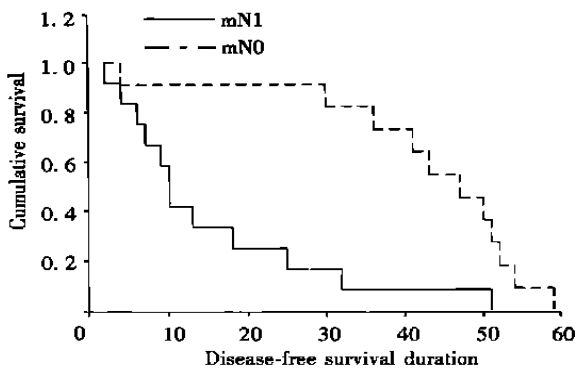



图1 淋巴结mN状态对食管鳞癌病人生存的影响

**Fig 1 Kaplan-Meier overall survival plots for 23 patients with esophageal squamous cell carcinoma according to the occult lymph nodal micrometastases. The prognosis of patients with micrometastasis is significantly poorer than that of patients without micrometastasis ($P$=0.001 6)**

表2 23例食管鳞部病人预后多因素分析

**Tab 2 Multivariate analysis of prognostic factors of the 23 patients with esophageal squamous cell carcinoma by COX's proportional hazards regression model**

| Variable | β | SE | Wald | Sig. | Exp(B) |
|---|---|---|---|---|---|
| Age | −1.184 | 0.550 | 4.637 | 0.031 | 0.306 |
| RL | −1.825 | 0.833 | 7.036 | 0.030 | 0.170 |
| mN | −1.313 | 0.569 | 5.328 | 0.021 | 0.269 |

## 3 讨论

肿瘤转移，以前常认为是肿瘤发生过程中的晚期事件。近年来，大量的实验和临床研究表明，癌细胞的播散可以发生在肿瘤的早期阶段，只是这些早期播散的癌细胞或癌细胞集落不能被目前临床上常用的检测方法所发现而已。血循环、淋巴道、骨髓中存在癌细胞，提示肿瘤已经不再局限于原发灶，有发展为远处转

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

移瘤的可能,预后不良[2]。发现这些早期存在的微小转移灶有助于对患者实施针对性的"个体化"辅助治疗以提高疗效,也有助于提高肿瘤分期的准确性,对于监测肿瘤术后早期复发和远处转移亦有明显的指导意义。

长期以来,肿瘤学家们一直致力于提高淋巴结癌转移检出率的研究,建立了淋巴结连续切片法和免疫组化法等检测手段,但均因各自明显的缺陷而限制了其临床应用。近年来,随着 PCR 技术的出现及其在医学领域的广泛应用,人们开始探索从分子水平来对肿瘤进行诊治。应用分子生物学方法来早期诊断肿瘤转移已成为近年来肿瘤研究领域的热点之一[2]。作者以前的研究结果显示,RT-PCR 在检测淋巴结癌转移方面较普通病理检查优越,它能准确地检测到存在于淋巴结中的微小转移灶,有利于筛选早期发生亚临床转移的人群和提示本来存在的肿瘤转移规律[1]。

目前,对食管癌淋巴结微转移检测的预后意义研究主要集中于免疫组化法(Immunohistochemical method, IHC)检测结果。如日本的 Komukai 等[3] 的研究发现,单因素和多因素分析均显示淋巴结微转移是食管癌病人术后独立的预后因子。Natsugoe 等[4] 发现食管鳞癌病人区域淋巴结微转移对预后的影响与病检法检测到的淋巴结转移对预后的影响是相同的,因而主张运用 IHC 法常规检测淋巴结癌转移。当然也有持不同观点者,如 Sato 等[5] 认为运用 IHC 法检测到淋巴结微转移只提示癌细胞淋巴扩散,但不能作为 pNo 食管癌病人的独立预后因素。

本研究以上皮组织特异性标志物之一细胞角蛋白 19(CK19)作为标志物,运用 RT-PCR 法检测了食管鳞癌患者区域淋巴结微转移,重点对该法检测淋巴结微转移结果即 mN 状态对术后生存的影响进行了分析。单因素和多因素分析均发现 mN 状态对预后有显著影响,为独立的预后因素。mN 阳性病人的术后中位无瘤生存期(22.6 个月)显著短于 mN 阴性病人(42.5 个月)($t=4.363$, $P<0.01$)。pN 状态对术后生存却无显著影响,这提示:传统的病理学方法只是通过对单张淋巴结病理切片的转移情况来评判整个淋巴结的转移情况,难免具有片面性,常低估其转移的存在。而 RT-PCR 法将整个淋巴结作为检测对象,加上方法本身的优越性,能够全面而准确地评价淋巴结癌转移状况,从而揭示肿瘤生物学行为的规律。

迄今为止,尚未见到评价分子生物学方法检测食管鳞癌淋巴结微转移的预后价值方面的报道。本研究在这方面进行了初步探讨,并得出了初步结论即淋巴结微转移可作为食管鳞癌患者的独立的预后因素。以后需深入研究,对其临床意义进行进一步评价,对其临床可行性进行反复验证,以期为食管癌患者的"分子生物学分期"和实施"个体化"治疗提供新的线索和依据。

## 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] 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.

[3] Komukai S, Nishimaki T, Suzuki T, *et al*. Significance of immunohistochemical nodal micrometastasis as a prognostic indicator in potentially curable esophageal carcinoma[J]. Br J Surg, 2002, 89(2): 213－219.

[4] Mueller J D, Stein H J, Oyang T, *et al*. Frequency and clinical impact of lymph node micrometastasis and tumor cell microinvolvement in patients with adenocarcinoma of the esophagogastric junction[J]. Cancer, 2000, 89(9): 1874－1882.

[5] Sato F, Shimada Y, Li Z, *et al*. Lymph node micrometastasis and prognosis in patients with oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Br J Surg, 2001, 88(3): 426－432.


(编辑　张大春)

(上接 1580 页)

小,胞浆少,圆形或卵圆形,呈宽索及缎带状排列,似胚胎的肝组织;③未分化型:细胞小,胞浆少,圆形或卵圆形,似神经母细胞样细胞,并可呈菊形团及假菊形团样排列;另约 1/4 由上皮及间叶成分构成,称为混合型,其上皮及间叶成分均为恶性,上皮多为胎儿型及胚胎型,两者细胞常以不同比例掺杂,有时也可见到肝癌成分、肠型的腺样成分及鳞状上皮成分,间叶为未分化梭形细胞或骨样组织,其它如软骨、平滑肌、横纹肌偶尔也可出现[2,3]。肝母细胞瘤与肝细胞癌的鉴别要点在于:①肝细胞癌的瘤细胞异型性大,细胞核大,可见瘤巨细胞,核分裂像易见;②肝母细胞瘤的瘤细胞幼稚,细胞体积小,细胞大小比较一致。肝母细胞瘤与肝癌肉瘤及肝畸胎瘤的主要鉴别点在于:①前者上皮成分主要为胎儿型与胚胎型细胞,后两者是不具有的;②髓外造血灶是前者常可见到的,而后两者也是不具有的。本例上皮成分以胎儿型、胚胎型为主,掺杂少许未分化细胞,间叶以恶性梭形细胞成分为主,伴有成熟骨组织,免疫组化标记少许间叶成分向横纹肌方向分化,故成人肝母细胞瘤(混合型)的诊断是明确的。本瘤一旦发现应以手术治疗,辅以化疗,后期治疗较肝细胞癌效果好且主要由其临床分期所决定,现已明确,在其组织学亚型中,胎儿型预后较好,胚胎型及混合型较差,未分化型最差[4],其发生于婴幼儿与发生于成人预后差异,目前尚无定论。

关键词:肝母细胞瘤;组织学;免疫组织化学;诊断;鉴别诊断
中图法分类号:R735.7　　文献标识码:B

## 参考文献:


[1] 程嘉骧, 林汉良, 赖日权. 疑难病理诊断精选[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 2000. 250－251.

[2] 梁英锐, 丁　濂, 朱世能. 现代肝脏病理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1998. 345－347.

[3] 周庚寅, 刘洪琪, 张庆慧. 肿瘤组织病理诊断[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2001. 253－254.

[4] 回允中译. 阿克曼外科病理学[M]. 沈阳: 辽宁教育出版社, 1999. 911－912.


(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net