

• 临床研究 •

双重染色标记胃癌前哨淋巴结的临床应用研究

刘 飞,程 翔

(湖北省荆门市石化医院 448000)

摘 要:目的 探讨胃癌前哨淋巴结(SLN)术中标记的方法,评估 SLN 预测胃癌区域淋巴结转移状态的价值及其指导胃癌淋巴结清扫范围的临床意义。方法 32 例胃癌患者,行标准胃癌根治术,在原发癌灶周围选取 2、4、6、8、10、12 点共 6 点,于 2、6、10 和 4、8、12 点处浆膜下分别注射专利蓝,吲哚菁绿 0.8 mL,找到染色的淋巴结(即 SLN),术后收集非前哨淋巴结。行常规 HE 染色和 CK20、CEA 免疫组化染色,分别计算前哨淋巴结诊断胃癌淋巴结转移状态的准确性、敏感性、阴性预测值和假阴性率。结果 双重染色标记胃癌 SLN 假阴性率与单一染料假阴性率分别为 4.55%、18.18%、22.72%,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 双重染色标记示踪胃癌前哨淋巴结是一种简单经济的方法,能准确预测胃癌周围淋巴结的转移状态,可用于指导胃癌的淋巴结清扫范围。

关键词:胃癌;前哨淋巴结

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)12-1542-03

Clinical application study of sentinel lymph node of double-staining mark in gastric cancer

LIU Fei, CHENG Xiang

(Jingmen Shihua Hospital, Hubei 448000, China)

Abstract: Objective To study the method of sentinel lymph nodes (SLN) marking in patients with gastric cancer and assess its potential role in determining the rational extent of lymphadenectomy in gastric cancer surgery. **Methods** Thirty-two cases of gastric cancer patients with standard radical gastrectomy, around the primary foci 2, 4, 6, 8, 10, 12 select six points, at the point of 2, 6, 10 and 4, 8, 12 were injected subserous patent blue and indocyanine green 0.8ml and find staining of the lymph node (SLN), Non-sentinel lymph nodes were collected after the operation. All resected nodes were examined postoperatively by routine HE stain and those negative SLNs were examined with further cytokeratin immunohistochemical staining. The diagnostic accuracy, sensitivity, negative predictive value and false-negative rate of regional lymph node status on the basis of SLN status were calculated respectively. **Results** False-negative rate of SLN by double-staining dye marker of gastric cancer and a single staining dye were, respectively, 4.55%, 18.18%, 22.72%, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Double-staining sentinel lymph node of gastric cancer tracer tag is a simple and economical methods that can accurately predict lymph node metastasis of gastric cancer around the state, can be used to guide the scope of lymph node dissection for gastric cancer.

Key words: gastric cancer; sentinel lymph node(SLN)

前哨淋巴结活检(sentinel lymph node biopsy, SLNB)最早于 1977 年 Cabanas^[1]在研究阴茎癌时观察到了阴茎癌 SLN 的存在,现广泛运用于乳腺癌和黑色素瘤等恶性肿瘤,其预测肿瘤周围淋巴结状态的准确性超过 95.0%,假阴性率低于 5.0%^[2-3],但对胃癌的适用性和可行性尚有争议。程黎阳等^[4]应用生物染料和核素联合示踪法使 SLNB 的假阴性率降至 6.0%,但联合示踪法有放射性污染且设备昂贵,不易普及。因此,有必要寻找一种廉价、简便的方法。冯虎翼和高根五^[5]应用多重染料示踪腋窝前哨淋巴结取得了良好的效果。本研究意在通过应用双重染料标记方法评估前哨淋巴结预测胃癌区域淋巴结转移状态的价值及其指导胃癌淋巴结清扫范围的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2007 年 2 月至 2009 年 2 月在本院治疗的胃癌患者 32 例。术前均行电子胃镜检查,病理证实为胃癌。所有病例术前未发现远处转移。全部病例均行标准胃癌根治术(胃癌切除+D2 式区域淋巴结清扫术)。32 例胃癌患者详细病理资料:(1)肿瘤部位:U 为 3 例,M 为 4 例,L 为 25 例;(2)肿瘤大小:直径范围 0.6~6.5 cm,平均直径 3.9 cm;(3)肿

瘤浸润深度:T1 为 5 例,T2 为 16 例,T3 为 11 例;(4)肿瘤分化程度:高分化 3 例,中分化 16 例,低分化 13 例。

1.2 材料 专利蓝 $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ 分子量为 566.66(美国 Sigma 公司产品)配制灭菌并分装成 2% 的溶液备用,吲哚菁绿 $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$ 分子量为 774.96(沈阳济世制药有限公司 25 mg/支)。免疫组化染色试剂盒,浓缩型 DAB 试剂盒,鼠抗人癌胚抗原(CEA)单克隆抗体,鼠抗人细胞角蛋白 20(CK20)单克隆抗体(上海水源生物有限公司)。

1.3 SLN 标记及检出方法 开腹后,对符合研究条件者,于原发肿瘤灶周围的正常胃壁选取对称的 2、4、6、8、10、12 点共 6 个点,用连接 7 号针头的 5 mL 注射器抽取专利蓝和吲哚菁绿分别注射于 2、6、10 和 4、8、12 点处浆膜下 0.8 mL,注射后数秒即可见到染料沿着淋巴管向远处延伸(见彩插 II 图 1),3~5 min 后待染色淋巴结(见彩插 II 图 2)即 SLN 出现,剥离、切除之,10% 福尔马林溶液固定,同时标注其所属的组别、站数。术毕沿大弯侧纵行剖开胃腔,明确并记录癌肿的确切部位、大小等,查找、切除遗留下的未蓝染淋巴结(nSLN),标注其所属的组别、站数,并确认染料未注入胃腔内。

1.4 手术方法 所有患者行标准根治性胃切除术(胃癌切除

+D2 式区域淋巴结清扫术)。

1.5 病理检查 将所有淋巴结和大体标本送本院病理科行常规 HE 染色检查、CEA 和 CK20 IHC 染色检查。(具体操作步骤严格按照试剂说明书执行)。

1.6 结果判断 免疫组织化学(IHC)染色阳性判断标准:将细胞浆或胞核中出现明显棕黄色颗粒的细胞定义为阳性细胞,含有这类细胞的淋巴结即定为阳性淋巴结(癌转移淋巴结)。HE 染色检测阴性而 IHC 染色检测阳性的淋巴结均视为微转移(micrometastasis, MM)(见彩插 II 图 3、4)。每张切片由 2 名病理医师分别进行判断。

1.7 统计学方法 以检出率、敏感性、准确性、假阴性率等作为胃癌 SLN 检测结果的评价指标,各指标定义参照文献^[6],研究数据行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用 SPSS13.0 软件包进行数据统计。

2 结果

2.1 SLN 检出结果 32 例中共有 31 例找到 SLN,检出率为 96.9%(31/32),其中专利蓝检出 26 例,检出率为 81.3%(26/32),吡啶菁绿检出 25 例,检出率为 75.8%(25/32)。31 例患者共检出 SLN 130 枚,检出范围 1~11 枚/例,平均 4.2 枚/例;其中同时被专利蓝和吡啶菁绿标记 SLN 占 105 枚,仅被专利蓝标记的 SLN 占 17 枚,仅被吡啶菁绿标记 SLN 8 枚,合计占 19.2%(25/130);术后收集 nSLN 共获得 414 枚,平均 12.8 枚/例。

2.2 SLN 的分布 在 31 例检出 SLN 的患者中仅在 N1 者 16 例,仅在 N2 者 2 例,同时在 N1 和 N2 者 10 例,同时在 N1+N2+N3 者 3 例,胃癌 SLN 大部分分布在临近病灶的胃周围(N1)51.6%(16/31),但也有总数达 6.5%(2/31)的首先转移的淋巴结仅发生在远离胃癌病灶的 N2 或 N3 区域,可将其视为胃癌淋巴结的“跳跃性”转移。

2.3 HE 染色检查 SLN 转移率为 35.3%(46/130),非 SLN 转移率为 7.0%(29/414),两者转移率相比差异有统计学意义($\chi^2=67.03, P < 0.05$)。31 例被双重染色标记的病例中有 21 例 SLN 存在转移,其中 18 例非前哨淋巴结(nSLN)亦存在转移,3 例 SLN 为胃周淋巴结惟一转移部位。有 10 例 SLN 无转移,其中 1 例 nSLN 存在转移。SLN 预测胃周淋巴结转移情况的敏感性为 95.5%(21/22),假阴性率为 4.55%(1/22),准确率为 96.8%(30/31);当仅计算专利蓝标记 SLN 预测胃周淋巴结转移情况的假阴性率为 18.18%(4/22),当仅计算吡啶菁绿标记 SLN 预测胃周淋巴结转移情况的假阴性率为 22.72%(5/22)。3 种染色标记的假阴性率结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 免疫组织化学(IHC)染色检查 HE 染色检查 SLN 无转移的 10 例患者中有 3 例 IHC 检查证实为微转移,544 枚淋巴结中 HE 染色检查无转移的 469 枚淋巴结中有 39 枚证实为转移阳性,其中 SLN 15 枚,nSLN 24 枚,其中双重染色标记的 SLN 有 10 枚,专利蓝标记的 SLN 有 2 枚,吡啶菁绿标记的 SLN 有 3 枚。使用 IHC 染色检查胃癌 SLN 淋巴结的转移个数及转移度均高于常规 HE 染色,但两种病理检查结果比较差异有统计学意义($\chi^2=32.38, P < 0.05$)。

3 讨论

前哨淋巴结活检术(sentinel lymph node biopsy, SLNB)是近十多年来发展起来的一种外科技术,其在黑色素瘤和乳腺癌

中已被广泛应用于临床实践^[7-8]。但是人们对于 SLNB 应用于胃癌的治疗一直存在怀疑,主要是因为胃癌的淋巴结转移较乳腺癌、黑色素瘤有其特殊性,胃的淋巴结引流是多向性的,包括胃大小弯、贲门左右和幽门上下组淋巴结的引流,因此,胃癌 SLN 检测应以实际的 SLN 显影结果为依据,其数量有可能超过 1 个,出现多个是可以接受的。国外已有文献^[9]报道胃癌 SLNB 检出的准确率达 96%~100%,并在检测中发现的前哨淋巴结的位置,绝大多数属于第 1 站淋巴结,很少位于第 2、3 站淋巴结。符合胃的淋巴结引流一般规律,即首先到达第 1 站,然后到达第 2、3 站。本研究结果显示:胃癌 SLN 绝大多数分布于病灶附近的淋巴结群,即以 No. 3、No. 4、No. 6、No. 5、No. 1 和 No. 2 最多见,占 89.2%(116/130),与文献报道相近^[10-12]。转移的 SLN 也大部分分布在病灶附近的淋巴结群。由此可认为:同黑色素瘤和乳腺癌一样,胃的淋巴结引流同样具有有序性,胃癌的淋巴结转移同样遵循由近及远的规律。

实施 SLNB 的前提是找到真正的 SLN,目前常用的技术有染料法、同位素法以及二者联合应用的方法。程黎阳等^[4]作了比较研究后认为,核素和核素联合染料较单独使用染料法有更高的成功率。但是核素法存在需要特殊设备、操作复杂、术中存在安全隐患、术后处理环节复杂等缺点,不易推广应用。单独使用一种生物染料检测胃癌 SLN 的假阴性率较高^[13],达 11.4%~13.3%,这是临床应用所不能接受的。本实验应用专利蓝和吡啶菁绿双重染料联合示踪法用于胃癌的前哨淋巴结活检。32 例患者中,有 31 例通过跟踪染色的淋巴管找到了染色的淋巴结。因此,双重染料联合示踪法用于胃癌的前哨淋巴结是一种更简单、更经济同时满足临床要求一种方法。

SLNB 的主要目的是通过 SLN 组织学状态预测整个区域淋巴结转移状况,准确判定 SLN 的转移状态是 SLNB 准确预测淋巴结转移状态的一个关键,从而指导临床治疗和预后判断。但常规 HE 染色有其局限性。约有 9.0%~31.0%的淋巴结微转移(MM)不能被检出^[14]。因此,本文结合细胞角蛋白(CK-20、CEA)免疫组化染色的方法对获得的淋巴结进行检查。在本实验中:常规 HE 染色检查 130 枚中有 46 枚 SLN 存在转移,有 84 枚 SLN 无转移。而 IHC 检查证实常规 HE 染色检查 SLN 无转移的 84 枚患者中有 15 枚为转移阳性及微转移(MM),使 SLN 的转移率提升了 11.5%。这其中包含 1 例常规 HE 染色 nSLN 阳性而 SLN 阴性的患者,通过 IHC 染色检查,从而减低了 SLNB 的假阴性率。国外近期的研究报道同样支持了这一观点^[15]。本实验使用 IHC 染色检查胃癌 SLN 淋巴结的转移个数及转移度均高于常规 HE 染色,但 2 种病理检查结果比较差异有统计学意义($\chi^2=32.38, P < 0.05$)。

SLN 组织学状态预测胃癌区域淋巴结转移状况的可靠性十分重要,这也是决定 SLNB 能否在胃癌外科推广应用的关键因素之一。准确率和假阴性率是评价 SLN 预测区域淋巴结转移状况可靠性的 2 个重要指标。本研究中 32 例患者中有 31 例成功检出 SLN,真阳性为 21 例,真阴性为 9 例,由 SLN 组织学状态预测胃癌区域淋巴结转移状况的准确率为 96.8%(30/31);成功检出 SLN 的 31 例患者中,有 1 例呈现出假阴性,由 SLN 预测胃癌区域淋巴结转移状况的假阴性率为 4.55%(1/22),低于 5%,达到了临床上普遍可以接受的标准。

总之,通过胃癌前哨淋巴结检测预测胃癌区域淋巴结转移情况的方法是切实可行的。但还有许多问题有待解决,例如规

范化的染料注射,染料注射剂量,哪几种染料联用假阴性率最低等。本研究由于病例数较少,还有待于大规模多中心临床随机对照实验和对胃癌生物学特性的进一步认识,以确认该技术在胃癌治疗上的临床应用价值。

参考文献:

- [1] Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma[J]. Cancer, 1977, 39(2):456.
- [2] Kretschmer L, Hilgers R, Mohrle M, et al. Patients with lymphatic metastasis of cutaneous malignant melanoma benefit from sentinel lymphonectomy and early excision of their nodal disease[J]. Eur J Cancer, 2004, 40:212.
- [3] Nieweg OE, Bartelink H. Implication of lymphatic mapping for staging and adjuvant treatment of patients with breast cancer[J]. Eur J Cancer, 2004, 40:179.
- [4] 程黎阳,陈晓东,张玉新,等. 专利蓝和放射物联合示踪检测胃癌其哨淋巴结及其临床意义[J]. 中华外科杂志, 2005, 43(9):569.
- [5] 冯虎翼,高根五. 亮蓝作为腋窝前哨淋巴结勘探示踪剂的实验研究[J]. 重庆医学, 2002, 31(7):609.
- [6] Veronesi U, Paganelli Q, Viale Q, et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series[J]. Natl Cancer Inst, 1999, 91(4):368.
- [7] Suga K, Yamamoto S, Tangoku A, et al. Breast sentinel lymph node navigation with three-dimensional interstitial multidetector-row computed tomographic lymphography[J]. Invest Radiol, 2005, 40(6):336.
- [8] 陆云飞,陈波. 乳腺癌前哨淋巴结定位切除微转移检测及其临床意义[J]. 广西医学, 2006, 28(1):25.
- [9] Kitagawa Y, Ohgami M, Fujii H, et al. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes in gastrointestinal cancer: A novel and minimally invasive approach[J]. Ann Surg Oncol, 2001, 8(9 Suppl):86.
- [10] Chen XM, Shuichi H, Gen T, et al. Tumor growth pattern and selection of treatment modality in limited growth early gastric cancer[J]. Med J Kagoshima, 1997, 49(2):89.
- [11] 刘尚志,张才全. 淋巴结显像技术用于胃肠道肿瘤诊断的进展[J]. 重庆医学, 2005, 34(1):137.
- [12] 曹其彬,陈士远. 胃癌淋巴结转移规律及其清扫范围探讨[J]. 山东医药, 2004, 44(36):45.
- [13] 付建民,刘新杰. 亚甲蓝染色法检测乳腺癌哨兵淋巴结的临床应用[J]. 广东医学, 2002, 2(6):73.
- [14] International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancer[J]. Lancet, 1990, 335(5):1565.
- [15] Karube T, Ochiai T, Shimada H, et al. Detection of sentinel lymph nodes in gastric cancers based on immunohistochemical analysis of micrometastases[J]. Surg Oncol, 2004, 87(1):32.

(收稿日期:2009-08-20 修回日期:2009-11-16)

(上接第 1541 页)

参考文献:

- [1] 张杰峰,刘家隼,李伟道,等. 54 例胆囊结石合并肝硬化的胆囊切除术[J]. 重庆医学, 2007, 36(13):1312.
- [2] 刘路明,辛俊平,邓淑玲,等. 肝功能分级和肝硬化预后相关因素的研究进展[J]. 海南医学, 2007, 18(1):118.
- [3] 耿志宇,许幸. 瑞芬太尼的临床药理学[J]. 国外医学麻醉学与复苏分册, 2004, 25(4):203.
- [4] 李琴,王宝恩,贾继东. 肝功能分级的演变及特点:从 Child 到 MELD[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(5):319.
- [5] Caselitz M, Masche N, Flemming P, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma according to new staging classifications[J]. Dtsch Med Wochenschr, 2004, 129(33):1725.
- [6] Yovita H, Djumhana A, Abdurachman SA, et al. Correlation between anthropometrics measurements prealbumin level and transferin serum with Child-Pugh classification in evaluating nutritional status of liver cirrhosis patient[J]. Acta Med Indones, 2004, 36(4):197.
- [7] 孙宏勋,顾洪涛,李宏峰. 血清丁酰胆碱酯酶与肝硬化 Child-Pugh 分级的关系[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(1):47.
- [8] Gronski TJ, Martin RL, Kobayashi DK, et al. Hydrolysis of a broad spectrum of extracellular matrix protein by human macrophage elastase[J]. J Biol Chem, 1997, 272(18):12189.
- [9] 王炘,詹志刚,袁锦峰. 肝硬化患者血清胆固醇、胆碱酯酶、总胆汁酸的变化及临床意义探讨[J]. 临床肝胆病杂志, 2007, 23(5):371.
- [10] 张瑞霞,杨义明. 血清丁酰胆碱酯酶、前清蛋白评价肝硬化患者肝脏储备功能的临床价值[J]. 山东医药, 2006, 46(31):31.
- [11] 吴建华,夏先考. 动态监测血清胆碱酯酶活性判断慢性肝病预后[J]. 广东医学, 2004, 25(3):292.

(收稿日期:2009-09-21 修回日期:2009-11-20)