

胃癌神经及脉管浸润的危险因素分析

李 禹 程爱兰

摘 要 **目的** 探讨胃癌神经浸润(perineural invasion, PNI)及脉管浸润(lymphovascular invasion, LVI)的危险因素,为临床防治工作提供可靠的理论依据。**方法** 收集胃癌患者的手术病检石蜡标本及相应临床病理资料,应用苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色及免疫组化方法(immunohistochemistry, IHC)检测胃癌组织中 S100、D2-40 和 CD34 的表达情况,根据 HE 及 IHC 结果判断 PNI 及 LVI;采用单因素/多因素方法分析胃癌 PNI 及 LVI 与临床病理因素之间的关系,探讨胃癌 PNI 及 LVI 浸润的危险因素。**结果** 91 例胃癌患者中 PNI 及 LVI 的阳性率为 44.5%;单因素分析显示,肿瘤分化程度、淋巴结转移个数和肿瘤浸润深度与 PNI 及 LVI 有关($P < 0.05$),患者的性别、年龄、肿瘤直径及幽门螺杆菌感染(*Helicobacter pylori*, Hp)均与 PNI 及 LVI 无关($P > 0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示,肿瘤分化程度、淋巴结转移个数和肿瘤浸润深度与 PNI 及 LVI 呈正相关($P < 0.05$)。**结论** 肿瘤分化程度、淋巴结转移个数、淋巴结转移个数和肿瘤浸润深度是影响胃癌 PNI 及 LVI 的独立危险因素。

关键词 胃癌 神经浸润 脉管浸润 危险因素

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.04.008

Risk Factors of Perineural and Lymphovascular Invasion in Gastric Cancer. Li Yu, Cheng Ailan. Cancer Research Institute, Key Laboratory of Tumour Cell and Molecular Pathology, University of South China, Hunan 421001, China

Abstract Objective To explore the risk factors of perineural invasion (PNI) and lymphovascular invasion (LVI) in gastric cancer which could provide reliable theoretical basis for clinical prevention and treatment work. **Methods** To explore the risk factors of PNI and LVI in gastric cancer, we collected pathological paraffin specimens and the corresponding clinical data and detected the expression of S100, D2-40 and CD34 in gastric cancer by hematoxylin-eosin (HE) and immunohistochemistry (IHC) staining. Then, according to the results of HE and IHC to confirm PNI and LVI, we analyzed the relationship between PNI and LVI and clinicopathological factors by univariate / multivariate methods. **Results** The univariate analysis illustrated that tumor differentiation, lymph node metastasis and the depth of tumor invasion were associated with the PNI and LVI. The gender, age, the tumor size, *Helicobacter pylori* (Hp) infection were not associated with the PNI and LVI ($P > 0.05$). The multivariate Logistic regression analysis showed that tumor differentiation, lymph node metastasis and the depth of tumor invasion were related to the PNI and LVI ($P < 0.05$). **Conclusion** Tumor differentiation, lymph node metastasis and the depth of tumor invasion are independent risk factors for PNI and LVI in gastric cancer.

Key words Gastric cancer; PNI; LVI; Risk factors

胃癌是人类常见的恶性肿瘤之一,其发病特点是恶性程度高,病死率高,易复发、易转移,5 年生存率低且预后差^[1]。胃癌的转移途径包括血道转移、淋巴道转移及种植性转移。神经浸润(perineural invasion, PNI)是指肿瘤细胞入侵神经鞘的任意一层(神经外膜、神经束膜、神经内膜),或肿瘤沿着神经生长^[2]。最近的研究表明,PNI 已经成为公认的癌细胞传播的一种新兴的路线,也是影响手术切除、预后及复发的重要因素^[3]。但胃癌发生 PNI 及脉管浸润

(lymphovascular invasion, LVI)的危险因素并不明确,本研究旨在探讨 PNI 及 LVI 的危险因素,为临床生物治疗提供可靠的理论依据。

资料与方法

1. 一般资料:收集 2011 年 1 月~2015 年 4 月南华大学附属第一医院病理科存档的 91 例胃癌根治术后石蜡标本(排除术前经过放化疗的病例),其中男性 59 例,女性 32 例,患者年龄 27~81 岁,中位年龄 57.67 岁;分化程度:高分化 10 例,中分化 39 例,低-未分化 42 例;无区域性淋巴结转移者 30 例,1~6 枚区域性淋巴结转移者 42 例,≥6 枚区域性淋巴结转移者 19 例,浸润深度:肿瘤浸润达固有层及黏膜下层 7 例,肌层 20 例,浆膜层 64 例;肿瘤大小:≥6cm 者 24 例, <6cm 者 67 例。PNI 及 LVI 病理结果经 2

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372894, 81072198);湖南省教育厅重点项目(10A104)

作者单位:421001 衡阳,南华大学医学院肿瘤研究所

通讯作者:程爱兰,电子信箱:ailan_cheng@hotmail.com

名以上病理医师确认。

2. 免疫组化染色:即用型 S100 单克隆抗体、D2-40 单克隆抗体、CD34 单克隆抗体及免疫组化试剂盒均购自福州迈新生物科技开发公司。采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法,常规脱蜡水化,柠檬酸盐缓冲液高温高压抗原修复,分别滴加 3% H₂O₂ 内源性过氧化物酶抑制剂及动物非免疫血清孵育 10min, PBS 缓冲液冲洗,滴加 S100、D2-40 及 CD34 一抗后 4℃ 冰箱过夜,次日分别滴加二抗和 SP 溶液,DAB 显色,苏木素复染,常规脱水、透明、封片。PBS 代替一抗作为阴性对照。

3. 结果判定: S100 特异性的标记神经束, D2-40、CD34 分别定位于淋巴管及血管内皮细胞质中,显微镜下可见单层内皮细胞围成的环状管腔结构, LVI 的诊断标准是病理切片中发现淋巴管、血管内有成团的癌细胞且周围有明确的内皮细胞环绕即为 LVI^[4]。

4. 统计学方法:采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料用百分比(%)表示,计数资料采用 χ^2 检验,对其中有统计学意义的变量进行多因素 Logistic 回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. PNI 及 LVI 与临床病理因素:91 例胃癌患者中 45 例发生 PNI 及 LVI (49.45%) 46 例无 PNI 及 LVI (50.55%)。其中在低-未分化癌中 PNI 及 LVI 阳性率为 61.90%,中分化为 46.15%,高分化为 10%;无淋巴结转移胃癌患者中 PNI 及 LVI 阳性率为 16.67%, 1~6 枚淋巴结转移的阳性率为 61.90%, ≥6 枚淋巴结转移的阳性率 73.68%;浸润达固有层及黏膜下层 7 例患者中有 1 例(14.28%)发生 PNI 及 LVI,肌层 20 例患者中 5 例(25%),浆膜层 64 例患者中 39 例(60.93%);91 例胃癌患者中,发生 PNI 及 LVI 同时携带幽门螺杆菌(Hp)感染患者 20 例(44.44%),无 PNI 及 LVI 同时携带 Hp 感染患者 14 例(30.43%);肿瘤直径 ≥6cm 中有 9 例(37.5%)发生 PNI 及 LVI, <6cm 中有 37 例(55.22%)。

2. PNI 及 LVI 的单因素分析:结果发现,PNI 及 LVI 与患者的性别、年龄、Hp 感染及肿瘤直径均无相关性,差异无统计学意义($P < 0.05$);PNI 及 LVI 与肿瘤的分化程度、淋巴结转移个数和肿瘤浸润深度相关,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

3. PNI 及 LVI 的多因素分析:将单因素分析中差异具有统计学意义的因素如肿瘤的分化程度、淋巴结转移个数、肿瘤浸润深度和临床分期纳入多因素

表 1 PNI 及 LVI 与胃癌临床病理特征的关系 ($n = 91, \bar{x} \pm s$)

临床病理参数	n	PNI		P
		+(n=45)	-(n=46)	
年龄(岁)				
≤60	47	21	26	0.347
>60	44	24	20	
性别				
男性	59	27	32	0.936
女性	32	18	14	
肿瘤直径(cm)				
<6	67	37	30	0.136
≥6	24	8	16	
分化程度				
低	42	26	16	0.05
中	39	18	21	
高	10	1	9	
浸润深度				
T ₁	7	1	6	0.05
T ₂	20	5	15	
T ₃	64	39	25	
淋巴结转移(个)				
0	30	5	25	0.05
1~6	42	26	16	
≥7	19	14	5	
幽门螺杆菌				
有	34	20	14	0.122
无	57	25	32	

Logistic 回归分析,肿瘤分化程度、淋巴结转移个数、肿瘤浸润深度和临床分期与 PNI 及 LVI 呈正相关,肿瘤肿瘤分化越差、淋巴结转移个数越多、浸润深度越深,越容易发生 PNI 及 LVI,是影响胃癌 PNI 及 LVI 的独立危险因素($P < 0.05$)。

讨 论

虽然目前胃癌的诊治水平在不断提高,但其术后生存率仍较低,5 年生存率为 20%~50%^[5]。PNI 及 LVI 与胃癌的预后密切相关,PNI 及 LVI 阳性的胃癌患者生存时间较阴性者明显缩短,是判断预后的独立指标^[6]。本研究强调发生 PNI 的同时伴有 LVI,这是因为大多数患者在 PNI 的同时伴有脉管癌栓^[7]。既往研究主要着重于 PNI 及 LVI 对预后的影响,但对发生 PNI 及 LVI 的危险因素的研究较少。

Scartozzi 等^[6]对 734 例胃癌患者的研究显示 PNI 及 LVI 的阳性率为 26%,并且 PNI 及 LVI 的阳性率与淋巴结转移相关。本研究中 PNI 及 LVI 的阳性率 44.5%,而其发生率具有一定的差距可能与染色方法不一致有关,本研究使用 HE 与 S100、D2-40、CD34 蛋白免疫组化染色,综合判断提高了判别 PNI 及 LVI

的准确性。Duraker 等^[8]及 Selçukbiricik 等^[9]研究发现胃癌中 PNI 的阳性率与分化程度、淋巴结转移、浸润深度及血管浸润相关。

本研究结果显示,高分化胃癌中 PNI 及 LVI 发生率低于中、未-低分化胃癌,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$),提示肿瘤分化程度较低或未分化者具有较强的侵袭能力。淋巴结转移方面,有淋巴结转移者 PNI 及 LVI 的发生率显著增高,PNI 及 LVI 的发生率越大,淋巴结转移的发生率也越大。本研究还发现,肿瘤侵犯胃壁全层者较未侵犯胃壁全层者 PNI 及 LVI 发生率明显增加($P < 0.05$),且 PNI 及 LVI 发生率与癌的胃壁浸润深度呈正相关,癌浸润胃壁的程度越深,PNI 及 LVI 的发生率越大,这可能与癌细胞本身的浸润能力有关。

相关研究表明,Hp 为胃癌的高发因素^[10]。本研究中,胃癌 PNI 及 LVI 携带 Hp 患者 20 例(44.44%);无 PNI 及 LVI 转移携带 Hp 患者 14 例(30.43%),单因素分析结果发现,两组 Hp 差异比较无统计学意义。因此,Hp 对肿瘤的转移与复发无显著影响,可能仅与胃癌的发生有关。研究显示,肿瘤直径与肿瘤的 PNI 有关^[11]。而本研究中肿瘤直径与 PNI 及 LVI 发生与否无直接联系,PNI 及 LVI 在 ≥ 6 cm 的肿物中的发生率为 37.5%, < 6 cm 中为 55.22%,两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。这与文献报道不尽相同,可能与病例样本较小有关,有待于进一步研究证实。

目前,次全、全胃切除结合淋巴结清扫术仍是胃癌治疗的基础。然而,术后如果确定具有影响预后的高危险因素,这些患者可行辅助治疗延长预后。Ji 等^[12]证实,胃癌伴有 PNI、LVI 者给予术后化疗和辅助免疫治疗可以更好的控制患者病情进展,明显改善患者的预后,有效降低肿瘤复发率。本研究结果提示,肿瘤分化程度、淋巴结转移个数和肿瘤浸润深度是影响胃癌 PNI 及 LVI 的独立危险因素,且肿瘤分化程度越差、浸润深度越深,淋巴结转移个数越多越容

易发生 PNI 及 LVI。因此对于分化程度低、淋巴结转移枚数较多、浸润深度深的胃癌患者,可在术后行积极有效的围手术期化疗、新辅助化疗及辅助免疫治疗措施,制定个体化的监测计划,提供一个更准确、合理治疗方案,从而提高胃癌患者的生存率。

参考文献

- 1 Yin C, Li D, Sun Z. Clinicopathologic features and prognosis analysis of mucinous gastric carcinoma[J]. Med Oncol, 2012, 29(2): 864 - 870
- 2 谢洪虎, 黄文斌. 胃癌神经旁浸润的临床特征与预后分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2010, 13(6): 413 - 416
- 3 Li S, Sun Y, Gao D. Role of the nervous system in cancer metastasis[J]. Oncol Lett, 2013, 5(4): 1101 - 1111
- 4 Gakis G, Perner S. Immunohistochemical assessment of lymphatic and blood vessel invasion in T1 urothelial carcinoma of the bladder[J]. Scand Urol, 2015, 28: 1 - 6
- 5 王萍, 胡国清. HER-2、贫血和前白蛋白与胃癌预后的关系[J]. 肿瘤防治杂志, 2013, 40(5): 439 - 443
- 6 Scartozzi M, Cascinu S. Lymphatic, blood vessel and perineural invasion identifies early - stage high - risk radically resected gastric cancer patients[J]. Brit J Cancer, 2006, 95(4): 445 - 449
- 7 刘磊. 肝外胆管癌神经及脉管浸润转移的危险因素[J]. Tumor, 2012, 32(5): 376 - 379
- 8 Duraker N, Sisman S, Can G. The significance of perineural invasion as a prognostic factor in patients with gastric carcinoma[J]. Surg Today, 2003, 33(2): 95 - 100
- 9 Selçukbiricik F, Serdengeçti S. Perineural invasion independent prognostic factors in patients with gastric cancer[J]. Asian Pacific J Cancer Prev, 2012, 13(7): 3149 - 3152
- 10 Timothy L Coverl and Richard M Peek Jr. Diet, microbial virulence, and Helicobacter pylori - induced gastric cancer[J]. Gut Microbes, 2013 4(6): 482 - 493
- 11 Luo T, Ma L. The effect of perineural invasion on overall survival in patients with gastric carcinoma[J]. J Gastrointest Surg, 2008, 12(7): 1263 - 1267
- 12 Ji YC, Tae KH, Sung JK. Clinicopathol characteristics of gastric cancer patients according to the timing of the recurrence after curative surgery[J]. J Gastric Cancer 2011, 11(1): 46 - 54

(收稿日期: 2015 - 08 - 05)

(修回日期: 2015 - 09 - 29)

(上接第 25 页)

- 12 Mishiro K, Imai T, Sugitani S, *et al.* Diabetes mellitus aggravates hemorrhagic transformation after ischemic stroke via mitochondrial defects leading to endothelial apoptosis[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e103818
- 13 Narasimhan A, Chinnaiyan M, Karundevi B. Ferulic acid regulates hepatic GLUT2 gene expression in high fat and fructose - induced type - 2 diabetic adult male rat[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 761: 391 - 397
- 14 Bobba A, Amadoro G, Valenti D, *et al.* Mitochondrial respiratory chain Complexes I and IV are impaired by beta - amyloid via direct

interaction and through Complex I - dependent ROS production, respectively[J]. Mitochondrion, 2013, 13(4): 298 - 311

- 15 Franko A, von Kleist - Retzow JC, Neschen S, *et al.* Liver adapts mitochondrial function to insulin resistant and diabetic states in mice[J]. J Hepatol, 2014, 60(4): 816 - 823
- 16 Wu J, Yan LJ. Streptozotocin - induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic beta cell glucotoxicity[J]. Diabetes Metab Syndr Obes. 2015, 8: 181 - 188

(收稿日期: 2015 - 09 - 22)

(修回日期: 2015 - 10 - 09)