

# 食管鳞癌组织中肿瘤芽孢数及其与临床病理特征和预后的关系

娄丹<sup>1</sup>, 李延荣<sup>2</sup>, 杨玉华<sup>1</sup>, 吕小梅<sup>1</sup>, 刘宏远<sup>1</sup>

1. 石家庄市第一医院病理科, 河北 石家庄 050011;

2. 石家庄市第一医院疼痛科, 河北 石家庄 050011

**摘要:** **目的** 探讨食管鳞癌组织中肿瘤芽孢数及其与临床病理特征和患者预后的关系。**方法** 选取 2010 年 2 月至 2011 年 1 月进行手术根治的 100 例食管鳞癌患者,取患者鳞癌组织制作病理切片,苏木精-伊红染色,显微镜下统计每例切片肿瘤芽的数量、分级,分析肿瘤芽与临床病理特征和患者预后的关系。**结果** 在 100 例食管鳞癌组织中,0 级肿瘤芽 18 例,1 级肿瘤芽 22 例,2 级肿瘤芽 28 例,3 级肿瘤芽 32 例。低分化食管鳞癌患者 3 级肿瘤芽的比例显著高于中分化及高分化( $P < 0.01$ );浸润深度上,黏膜层 3 级肿瘤芽的比例显著高于深肌层、浅肌层、全肌层( $P < 0.05$ );Ⅲ期 3 级肿瘤芽的比例显著高于 I 期、Ⅱ a 期、Ⅱ b 期( $P < 0.05$ );有淋巴转移 3 级肿瘤芽的比例显著高于无淋巴转移( $P < 0.05$ )。1 级肿瘤芽的 3 年生存率、5 年生存率显著高于 2 级、3 级肿瘤芽( $P < 0.05$ ),2 级肿瘤芽的 3 年生存率、5 年生存率显著高于 3 级( $P < 0.05$ )。**结论** 肿瘤芽的表达与食管鳞癌患者的临床病理特征及预后有关。

**关键词:** 食管鳞癌; 肿瘤芽; 病理特征; 预后

**中图分类号:** R 735.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2017)02-0205-03

食管癌是食管黏膜上皮或腺体发生病变的一种恶性消化道肿瘤,发病率较高,主要包括鳞状细胞癌(鳞癌)和食管腺癌两种类型<sup>[1]</sup>,其中鳞癌是我国常见的食管癌类型,主要发生于食管上 1/3 处及食管中部。早期症状不明显,中晚期主要表现为吞咽困难、持续胸痛等。目前,治疗食管癌的方法主要是手术切除法,但食管癌易发生淋巴结转移、深层浸润,难以治愈,且容易复发。因此,寻找一种能够反映肿瘤预后敏感性的指标,对治疗肿瘤、提高患者生存质量具有重要意义。肿瘤芽是肿瘤浸润灶边缘区域内像芽孢一样未分化的单个肿瘤细胞或小灶状肿瘤细胞群,是一种比较容易评估的组织学参数,可以反映肿瘤的侵袭能力,在许多鳞癌组织中具有预后意义<sup>[2-4]</sup>,但关于食管鳞癌组织中肿瘤芽与病理特征及预后关系的研究较少。本研究检测本院 100 例食管鳞癌组织中肿瘤芽的表达,探讨其与临床病理特征和预后关系。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选取 2010 年 2 月至 2011 年 1 月进行根治手术的 100 例食管鳞癌患者为研究对象,所有

患者经组织病理学诊断为食管鳞癌患者,病例分期标准参照国际 TNM 分期法。其中男性 63 例,女性 37 例,年龄 31~69(49.6±8.2)岁,肿瘤最大径为 1.3~8.6(5.12±1.03)cm。所有患者均有完整的临床、随访资料。纳入标准:术后病理分期为 I 期、Ⅱ a 期、Ⅱ b 期和Ⅲ期;术前未进行放疗或化疗。排除标准:临床资料不全;缺乏随访资料病例。

## 1.2 方法

**1.2.1 病理切片的制作** 用锋利的剪刀在肿瘤浸润灶边缘区域内剪取一小块组织,大小为 1.0 cm×1.0 cm×0.1 cm,用 4% 的多聚甲醛固定 24 h 后,全自动生物脱水机脱水,程序如下:70% 酒精,7 h;85% 酒精,5 h;95% 酒精,3 h;100% 酒精,2 次,1 h;二甲苯:酒精=1:1 的混合液,2 次,1 h,石蜡浸泡,2 次,2 h;结束后浸蜡 4 h。事先熔蜡 3 次,以去除杂质和水分。然后进行包埋,首先将熔好的蜡(60℃左右)倒进包埋框里,从脱水机中迅速取出组织,放入蜡中,避免产生气泡,待其冷却凝固后进行切片(切片厚度为 4~5 μm),切片结束后,在 42℃水浴锅中捞片,捞完片后,放在切片架上 60℃烘干,冷却后进行下一步实验。

**1.2.2 苏木精-伊红染色** 将烘干的切片放入二甲苯中,2 次,5 min,以充分脱蜡;二甲苯:酒精=1:1 的混合液,2 次,2 min;100% 酒精,2 次,2 min;95% 酒

精,1 次,2 min;85% 酒精,1 次,2 min;75% 酒精,1 次,2 min;过蒸馏水,Mayer 氏苏木精染色 1 min;流水冲洗,5~10 min;75% 盐酸酒精分化,1~2 s,自来水冲洗,30 s;伊红复染,1~2 min,自来水清洗,30 s;85% 酒精,1 次,1~2 min;95% 酒精,2 次,1~2 min;100% 酒精,2 次,1~2 min;二甲苯:酒精=1:1 的混合液,2 次,2 min;二甲苯,2 次,5~10 min。最后用中性树胶封片。干燥后显微镜下观察肿瘤芽数量及大小。

1.2.3 肿瘤芽计数 癌组织浸润区域内 $\leq 5$  个细胞为 1 个肿瘤芽<sup>[5]</sup>,每例患者选取 3 张病理切片,先用低倍镜(10 倍物镜),选择 3 个高密度区域,然后 20 倍物镜下统计肿瘤芽数,计算出肿瘤芽平均数(肿瘤芽总数/区域数),然后将肿瘤芽平均数结果分级,0 级:0 个肿瘤芽;1 级:1~4 个肿瘤芽;2 级:5~10 个肿瘤芽;3 级: $\geq 11$  个肿瘤芽<sup>[6]</sup>。

1.2.4 随访 以重复住院、门诊病历及电话方式进行随访,前 2 年每 3 个月随访 1 次,以后每 6 个月随访 1 次,随访满 3 年后每年 1 次,随访时间为 12~60 个月。随访内容包括:(1)患者一般情况;(2)是否在其他医院复查及复查情况;(3)最后 1 次复查时间;(4)再次复发及转移时间;(5)随访期间死亡患者死亡原因及有无淋巴转移。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 17.0 软件对研究结果进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$  检验,计数资料用 % 表示,采用  $\chi^2$  检验,等级资料比较采用秩和检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肿瘤芽分级情况 在 100 例食管鳞癌患者中,0 级肿瘤芽 18 例,1 级肿瘤芽 22 例,2 级肿瘤芽 28 例,3 级肿瘤芽 32 例。

2.2 肿瘤芽的表达与临床病理特征的关系 低分化食管鳞癌患者 3 级肿瘤芽的比例显著高于中分化以及高分化( $P < 0.01$ );浸润深度上,黏膜层 3 级肿瘤芽的比例显著高于深肌层、浅肌层、全肌层( $P < 0.05$ );III 期 3 级肿瘤芽的比例显著高于 I 期、II a 期、II b 期( $P < 0.05$ );有淋巴转移 3 级肿瘤芽的比例显著高于无淋巴转移,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

2.3 肿瘤芽的表达与食管鳞癌患者预后的关系

1 级肿瘤芽的 3 年生存率、5 年生存率显著高于 2 级、3 级肿瘤芽( $P < 0.05$ ),2 级肿瘤芽的 3 年生存率、5 年生存率显著高于 3 级,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 肿瘤芽的表达与临床病理特征的关系 (例)

项目	例数	肿瘤芽分级				F 值	P 值
		0 级	1 级	2 级	3 级		
年龄							
≤50 岁	42	8	9	15	10	2.443	0.118
>50 岁	58	10	13	13	22		
肿瘤最大径							
≤5 cm	53	11	14	16	12	0.580	0.446
>5 cm	47	7	8	12	20		
分化程度							
高分化	30	10	8	9	3	10.013	0.002
中分化	37	7	11	10	9		
低分化	33	1	3	9	20		
浸润深度							
黏膜层	21	0	2	4	15	6.833	0.015
浅肌层	27	8	6	7	6		
深肌层	24	1	6	12	5		
全肌层	28	9	8	5	6		
临床分期							
I 期	23	8	6	5	4	4.989	0.026
II a 期	22	6	4	7	5		
II b 期	30	4	9	10	7		
III 期	25	0	3	6	16		
淋巴转移							
有	53	5	10	14	24	5.606	0.018
无	47	13	12	14	8		

表 2 肿瘤芽的表达与患者生存率比较 例(% )

生存率	肿瘤芽分级		
	1 级(n=22)	2 级(n=28)	3 级(n=32)
3 年生存率	17(77.3)	17(60.7)*	14(43.8)**
5 年生存率	15(68.2)	16(57.1)*	13(40.6)**

注:与 1 级相比,\* $P < 0.05$ ;与 2 级相比,\*\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

TNM 是临床上对食管癌常用的分期标准,其中浸润深度及淋巴结转移是合理治疗及预测预后的重要指标,但临床发现 TNM 分期标准不能很好地判断预后,相同 TNM 分期的食管癌患者预后有很大差别。因此,寻找一种新的预后指标非常重要。研究发现,肿瘤在食管鳞状细胞癌中萌芽能反映肿瘤的生物活性以及淋巴管浸润,可能是一个有用的预后指标<sup>[7-8]</sup>。肿瘤芽是单个或小于 5 个成簇的癌细胞,构成“瘤芽”的癌细胞可由多边形、鱼鳞状转变成梭形、成纤维细胞样,并且“瘤芽”与钙黏附蛋白 E(E-cadherin)的表达呈负相关,与波形蛋白(Vimentin)的表达呈正相关,提示“瘤芽”与上皮间质转换(EMT)相关,是 EMT 在组织形态学上的一种表现。肿瘤芽能代表恶性程度更高的癌细胞亚群,可作为舌鳞癌患者独立的预后判断指标<sup>[9]</sup>。

研究发现,肿瘤芽殖强度与淋巴结转移数、浸润深度、肿瘤分化相关,且高分化腺癌的高、低芽殖间 5 年生存率有统计学差异,肿瘤芽殖是可以反映肿瘤

生物学行为及预后的良好指标,且简单客观、易操作、重复性好<sup>[10-11]</sup>。Teramoto 等<sup>[8]</sup>通过探讨肿瘤萌芽在肿瘤浸润性方面的临床反应和生存的重要性,试图建立一种新的肿瘤组织病理学检查方法,发现在所有受试的食管鳞癌患者中,41% 表现为浸润性强的高级肿瘤芽,具有低级肿瘤芽的食管鳞癌患者 5 年生存率为 49%,而中高级肿瘤芽 5 年生存率为 17%,两者比较有统计学差异,且肿瘤芽数与预后呈负相关关系。单因素分析显示,病理性肿瘤浸润深度、淋巴结转移数、病理分期、淋巴管浸润、萌芽及临床反应是影响预后的重要因素。多因素分析发现,肿瘤芽是最重要的预后因素,其次是淋巴结转移数<sup>[12]</sup>。由此可知,肿瘤芽在肿瘤浸润前与接受辅助化疗食管鳞状细胞癌患者的临床反应及预后显著相关。贺健祥等<sup>[13]</sup>发现,肿瘤芽数最大值、平均值及淋巴管浸润是影响淋巴结转移的独立因素。肿瘤芽平均值 1 级、2 级、3 级的平均无瘤生存期分别为 110.5、95.8、60.0 个月,1 级与 2、3 级比较有统计学差异。肿瘤芽最大值 1 级、2 级和 3 级患者的平均无瘤生存期分别为 115.1、98.5、86.0 个月,1 级、2 级与 3 级之间差异有统计学意义,本研究结果与其相似。

本结果发现食管鳞癌组织中肿瘤芽的表达与年龄、肿瘤的最大径无关,与分化程度、浸润深度、临床分期及淋巴转移等显著相关。且随着分化程度的加深,肿瘤芽的数目逐渐减少。TNM 分期 III 期肿瘤芽的数目高于 I 期、II a 期、II b 期。综上所述,肿瘤芽的表达与食管鳞癌患者的临床病理特征及预后有关,适合在常规病理检查中应用。

#### 参考文献

[1] 魏巧,郁玮玮,赵快乐,等. Six1 和 Six4 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其与预后的关系[J]. 中华病理学杂志, 2013, 42(7): 446 - 450.

- [2] Brown M, Sillah K, Griffiths EA, et al. Tumour budding and a low host inflammatory response are associated with a poor prognosis in oesophageal and gastro-oesophageal junction cancers [J]. *Histopathology*, 2010, 56(7): 893 - 899.
- [3] 任燕. 宫颈鳞状细胞癌中肿瘤芽的组织病理学研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2012.
- [4] 延丽雅, 郭健, 陈辉娥, 等. 口腔鳞状细胞癌瘤芽与上皮-间质转化相关性分析及临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(10): 1788 - 1793.
- [5] Nakanishi Y, Ohara M, Doumen H, et al. Correlation between tumor budding and post-resection prognosis in patients with invasive squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus [J]. *World J Surg*, 2011, 35(2): 349 - 356.
- [6] 陈忠, 黄海建, 陈小岩. 低度恶性肌纤维母细胞肉瘤 8 例临床病理分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(9): 987 - 990.
- [7] Park HS, Chang HJ, Park JW, et al. Tumor budding and recurrence in submucosal invasive colorectal cancers of favorable histology: case reports of two early colorectal cancers with advanced recurrences [J]. *Korean J Pathol*, 2012, 46(3): 272 - 277.
- [8] Teramoto H, Koike M, Tanaka C, et al. Tumor budding as a useful prognostic marker in T1-stage squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. *J Surg Oncol*, 2013, 108(1): 42 - 46.
- [9] 陈小华, 王成, 刘习强, 等. 舌鳞癌中“瘤芽”的病理学特征及其与上皮-间质转化之间的关系[J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2012, 10(5): 359 - 366.
- [10] 高显华. 肿瘤芽殖对 III 期结肠癌患者根治术后生存时间的影响 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2010, 13(5): 336.
- [11] 刘少杰, 杨小红, 任镜清, 等. II 期结肠癌患者肿瘤芽胞检测的临床意义 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2013, 16(8): 730 - 734.
- [12] Miyata H, Yoshioka A, Yamasaki M, et al. Tumor budding in tumor invasive front predicts prognosis and survival of patients with esophageal squamous cell carcinomas receiving neoadjuvant chemotherapy [J]. *Cancer*, 2009, 115(14): 3324 - 3334.
- [13] 贺健祥, 王颢, 傅传刚, 等. 肿瘤芽胞与 T2 期直肠癌患者临床病理特征及预后的关系 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2012, 15(4): 363 - 366.

收稿日期: 2016 - 09 - 24 修回日期: 2016 - 10 - 21 编辑: 王国品