

网膜囊冲洗液检测在胃癌诊治中的应用价值

林良庆, 曹毅, 揭志刚, 刘逸, 李正荣, 张国阳

林良庆, 曹毅, 揭志刚, 刘逸, 李正荣, 南昌大学第一附属医院普外科 江西省南昌市 330006

林良庆, 张国阳, 南昌大学研究生院 江西省南昌市 330006

林良庆, 江西省人民医院 江西省南昌市 330006

林良庆, 硕士, 主要从事胃肠外科疾病的研究。

江西省科技厅支撑计划基金资助项目,

No. 20132BBG70054

作者贡献分布: 此课题由揭志刚、曹毅及林良庆设计; 临床操作由揭志刚、刘逸及李正荣完成; 资料收集由林良庆、曹毅及张国阳完成; 论文由林良庆与曹毅完成。

通讯作者: 揭志刚, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院普外科。jiezg123@126.com
电话: 0791-88692522

收稿日期: 2014-12-27 修回日期: 2015-01-27

接受日期: 2015-01-29 在线出版日期: 2015-03-08

Clinical application of omental bursa wash detection in gastric carcinoma

Liang-Qing Lin, Yi Cao, Zhi-Gang Jie, Yi Liu, Zheng-Rong Li, Guo-Yang Zhang

Liang-Qing Lin, Yi Cao, Zhi-Gang Jie, Yi Liu, Zheng-Rong Li, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Liang-Qing Lin, Guo-Yang Zhang, Graduate School of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Liang-Qing Lin, the People's Hospital of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: Science-Technology Foundation of Jiangxi Provincial Department of Science and Technology, No. 20132BBG70054

Correspondence to: Zhi-Gang Jie, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. jiezg123@126.com

Received: 2014-12-27 Revised: 2015-01-27

Accepted: 2015-01-29 Published online: 2015-03-08

Abstract

AIM: To evaluate the application value of omental bursa wash detection in gastric

carcinoma.

METHODS: Omental bursa washes from 78 patients with gastric carcinoma were collected. The expression of carcino-embryonic antigen (CEA) in omental bursa washes was detected by flow cytometry (FCM). Peritoneal lavage cytology (PLC) examinations were also carried out.

RESULTS: The FCM and PLC positive rates of omental bursa washes were 37.1% (29/78) and 11.5% (9/78), respectively, which had a significant difference ($P = 0.001$). The positive rate of omental bursa washes correlated well with the width of tumor, location of lesion, and depth of invasion ($P < 0.05$). The age, gender, differentiation, vessel carcinoma embolus, and area of invasion were not relevant to omental bursa wash detection.

CONCLUSION: FCM can be well used to detect omental bursa washes. The best use of omental bursa wash detection is to assess tumor progression and to predict the emergence of gastric carcinoma micrometastases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Stomach neoplasm; Omental bursa washes; Flow cytometry; Peritoneal lavage cytology

Lin LQ, Cao Y, Jie ZG, Liu Y, Li ZR, Zhang GY. Clinical application of omental bursa wash detection in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(7): 1125-1129 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i7.1125>

背景资料

手术是当前治疗进展期胃癌最有效的手段, 而腹膜微转移则是影响胃癌术后预后的一个重要因素, 准确评估胃癌的腹膜微转移具有重要意义。

同行评议者

王振军, 教授, 主任医师, 首都医科大学附属北京朝阳医院普外科; 吴文溪, 教授, 主任医师, 江苏省人民医院普外科; 南京医科大学第一附属医院

□ 研发前沿

如何及时、准确、快捷地证实胃癌患者已存在腹膜微转移是当前研究的热点。大多数学者主要关注于大腹膜腔的冲洗液检测, 而对小腹膜腔即网膜囊内的研究却较少。

摘要

目的: 初步评估胃癌患者术中网膜囊冲洗液检测的应用价值。

方法: 分析78例胃癌患者的临床资料, 分别收集术中网膜囊冲洗液, 采用流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测网膜囊冲洗液中游离细胞的癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)表达情况, 同时行腹腔冲洗液细胞学(peritoneal lavage cytology, PLC)检查。

结果: 网膜囊冲洗液FCM和PLC的检测阳性率分别为37.1%(29/78)、11.5%(9/78), 两者差异有统计学意义($P = 0.001$)。胃癌网膜囊冲洗液阳性与肿瘤大小、肿瘤部位以及浸润深度密切相关($P < 0.05$), 而与年龄、性别、分化程度、脉管癌栓、侵犯面积无关($P > 0.05$)。

结论: FCM可作为网膜囊冲洗液的快速检测手段, 网膜囊冲洗液检测可评估肿瘤的进展情况, 对预测腹膜微转移有一定的价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肿瘤; 网膜囊冲洗液; 流式细胞术; 腹腔冲洗液细胞学

核心提示: 本研究通过78例胃癌患者术中网膜囊冲洗液的检测了解其冲洗液游离细胞癌胚抗原表达情况, 同时行冲洗液细胞学检查, 总结其与临床病理资料的关系, 以协助临床诊断及指导治疗。

林良庆, 曹毅, 揭志刚, 刘逸, 李正荣, 张国阳. 网膜囊冲洗液检测在胃癌诊治中的应用价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(7): 1125-1129 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i7.1125>

□ 相关报道

我国学者张贤坤等对流式细胞术(flow cytometry, FCM)在胃癌腹腔冲洗液作了深入研究, 将FCM应用到胃癌腹腔灌洗液中检测腹腔游离癌细胞(exfoliated cancer cell, ECC), 阳性率可达到40%以上, 说明了FCM检测网膜囊冲洗液癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)是可行的。

网膜囊内的研究却较少。本研究通过78例胃癌患者术中网膜囊冲洗液的检测了解其冲洗液游离细胞癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)表达情况, 同时行冲洗液细胞学检查, 总结其与临床病理资料的关系, 以协助临床诊断及指导治疗。

1 材料和方法

1.1 材料 选2012-03/2013-09收治于南昌大学第一附属医院普外科拟行手术的胃癌患者78例, 其中男36例, 女42例, 年龄29-79岁, 所有患者均需符合以下标准: (1)术前经病理证实是胃癌, 并经腹部计算机断层扫描(computed tomography, CT)定位肿瘤位置, 临床分期为II-III期(AJCC胃癌TNM分期第七版)的可切除肿瘤; (2)无严重器质性疾病, 能耐受整个手术; (3)术前未行新辅助治疗, 如放、化疗或免疫治疗; (4)无其他恶性肿瘤病史或手术史; (5)手术采用传统开腹方式或手辅助腹腔镜技术进行, 均按D2淋巴结清扫施行胃癌根治术。

1.2 方法

1.2.1 标本收集: 在开腹后, 将横结肠提起, 于横结肠中部打开胃结肠韧带进入网膜囊, 往里面注入无菌生理盐水250 mL, 轻轻搅动后, 立即抽吸网膜囊内的冲洗液, 平均分成两份, 一份送至细胞室行腹水脱落细胞学检查, 另一份立刻离心(1500 r/min), 离心5 min后取沉淀, 6 h内进行流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测。

1.2.2 脱落细胞检测: 网膜囊冲洗液经离心(1600 r/min)10 min后, 取其沉渣制作薄片, Papanicolaou法染色后由经验丰富的细胞学医师阅片查找癌细胞, 运用显微摄影扫描制图报告。

1.2.3 FCM检测: 细胞悬液于300目滤网过滤, 调整细胞浓度至 1×10^6 个/mL, 分别加入单克隆抗体CEA-FITC(ab106739)和同型对照IgG1-FITC(ab91356)(均购自Abcam公司)。详细操作按说明书进行, 并按张贤坤等^[3]操作流程判定检测结果。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行分析, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用连续性校正 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

78例胃癌网膜囊冲洗液中, 腹腔冲洗液细胞学

0 引言

目前, 胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率约占全球胃癌发病率的46.8%^[1]。手术仍是当前治疗进展期胃癌最有效的手段, 而腹膜微转移则是影响胃癌术后预后的一个重要的因素, 其确诊主要依赖于腹腔冲洗液的游离癌细胞或癌细胞相关物质的检测。如何及时、准确、快捷地证实胃癌患者已存在腹膜微转移, 是当前研究的热点。大多数学者^[2-5]主要关注于大腹膜腔的冲洗液检测, 而对小腹膜腔即

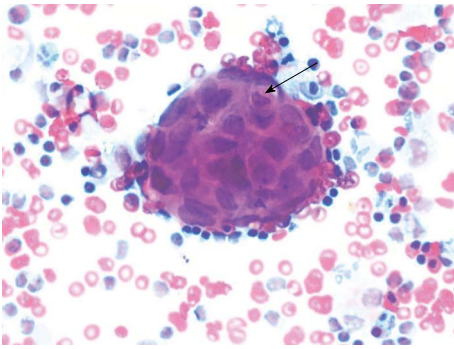


图 1 网膜囊冲洗液PLC检测结果阳性(+). PLC: 腹腔冲洗液细胞学. 箭头指向处为癌细胞.

(peritoneal lavage cytology, PLC)(图1)检测阳性率为11.5%(9/78), FCM检测阳性率为37.1%(29/78)(图2), 两种检测方法比较差异有统计学意义($P<0.05$). 网膜囊冲洗液阳性与胃癌临床病理特点对比如表1. 从表1看出, 两种检测方法均提示网膜囊冲洗液阳性与肿瘤大小、肿瘤部位以及浸润深度有关($P<0.05$), 而与年龄、性别、分化程度、脉管癌栓、侵犯面积等因素无关($P>0.05$). 另外, 网膜囊冲洗液运用FCM法检测阳性率与肿瘤分期、淋巴结转移有关联($P<0.05$), 而PLC法检测却提示无关联($P>0.05$), 可能是检测手段的系统误差所导致.

3 讨论

胃癌恶性程度极高, 是全球第二大导致患者死亡的恶性肿瘤, 其早期诊断及治疗是提高疗效的关键, 腹膜转移或复发是胃癌术后治疗失败的主要原因.

根据“种子-土壤”学说^[4], 腹腔游离癌细胞(exfoliated cancer cell, ECC)是形成腹膜转移或复发的先决条件, 是影响胃癌预后的重要因素之一, 所以, 对ECC的检测意义重大. 由于网膜囊是一个半封闭的潜在小间隙, 受游离腹腔的影响较小, 同时与原发灶距离较近, ECC相对浓度较高, 有利于检测, 这样我们选择网膜囊冲洗液检测是合理并有效的. 目前, ECC检测方法较多, 其中PLC一直被认为是检测ECC的金标准, 但其对微量癌细胞检测敏感性较低, 一般在21%-30%^[5], 且有较高的漏诊率. 近年来, 由于分子生物学技术的不断发展, 采用RT-PCR方法检测ECC水平, 是当前较好的方法, Kodera等^[6]运用定量RT-PCR方法检测胃癌患者腹腔冲洗液

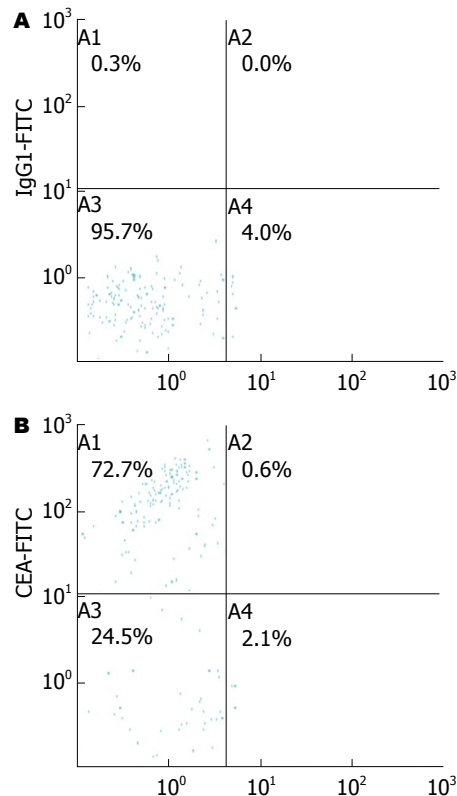


图 2 网膜囊冲洗液FCM检测结果阳性. A: 标记同型对照 IgG1-FITC; B: 标记CEA-FITC. FCM: 流式细胞术; CEA: 癌胚抗原.

的CEA mRNA水平, 证实其敏感度及特异度(80%, 94%)均高于PLC(56%, 91%). 但由于其操作步骤复杂、费时、费用高等不利因素, RT-PCR在临床推广方面存在一定的局限性. 而应用FCM检测ECC, 则可回避以上两种方法的不足, 临床应用也较容易开展. 因此, 我们选择用FCM检测胃癌患者网膜囊冲洗液的CEA表达. FCM在疾病诊断及质量控制方面已经非常成熟, 尤其在血液疾病诊断方面. 在20世纪90年代, Tamai等^[7,8]对于FCM在胃癌的诊疗方面的应用作了大量的研究, 证实FCM可以检测新鲜胃癌细胞表达CEA, 同时CEA可作为判定胃癌预后的一个重要指标. 我国学者张贤坤等^[3,9]对此也作了深入研究, 他们将FCM应用到胃癌腹腔灌洗液中检测ECC, 阳性率可达到40%以上, 这也说明了FCM检测网膜囊冲洗液CEA是可行的.

本研究中胃癌网膜囊冲洗液采用FCM方法检测阳性率为37.1%(29/78), PLC检测阳性率为11.5%(9/78), 两种检测方法比较差异有统计学意义($P<0.05$), 证实检测胃癌网膜囊冲洗液中FCM优于PLC. 另外, 研究中PLC检测

创新点

本文比较网膜囊冲洗液应用流式细胞仪检查CEA阳性表达细胞与肿瘤脱落细胞学检查的效果与临床病理的相关, 提示流式细胞仪CEA阳性表达细胞检查有较高的检出率与临床病理相关性, 为指导选择性网膜囊切除提供理论依据.

应用要点

FCM可作为网膜囊冲洗液的快速检测手段, 网膜囊冲洗液检测可评估肿瘤的进展情况, 对预测腹膜微转移有一定的价值.

■名词解释

流式细胞术 (FCM): 是一种在功能水平上对单细胞或其他生物粒子进行定量分析和分选的检测手段, 他可以高速分析上万个细胞, 并能同时从一个细胞中测得多个参数, 与传统的荧光镜检查相比, 具有速度快、精度高、准确性好等优点, 成为当代最先进的细胞定量分析技术。

表 1 78例胃癌患者术中网膜囊冲洗液使用FCM和PLC两种方法检测的阳性数分别与胃癌临床病理结果的关系

项目	<i>n</i>	FCM(+)	<i>P</i> ¹ 值	PLC(+)	<i>P</i> ² 值
<i>n</i>	-	29	-	9	-
性别			0.320		0.494
男	36	16		3	
女	42	13		6	
年龄(岁)			0.753		0.469
60	30	10		2	
>60	48	19		7	
肿瘤大小(cm)			0.002		0.027
5	41	8		1	
>5	37	21		8	
肿瘤部位 ³			0.000		0.011
胃前壁	44	6		1	
胃后壁	34	23		8	
分化程度			0.449		0.076
低分化	27	8		6	
中高分化	51	21		3	
Lauren's分类			0.332		0.504
肠型	47	20		4	
弥漫型/混合型	31	9		5	
Borrmann分型			0.081		0.814
I + II	11	1		2	
III+IV	67	28		7	
浸润深度			0.000		0.000
T1	18	0		0	
T2	10	1		0	
T3	36	18		2	
T4	14	10		7	
淋巴结转移			0.037		0.108
N0+N1	23	4		0	
N2+N3	55	25		9	
临床分期			0.023		0.461
I + II 2	21	3		1	
III3+IV4	57	26		8	
脉管癌栓及癌结节			0.082		0.112
有	15	9		4	
无	63	20		5	
侵犯面积(cm ²)			0.809		0.079
10	43	17		2	
>10	35	12		7	

¹采用FCM方法检测的*P*值; ²采用PLC方法检测的*P*值; ³肿瘤位于胃大、小弯处时则以占胃前、后壁所占面积较大者为准。PLC: 腹腔冲洗液细胞学; FCM: 流式细胞术。

的阳性率仅为11.5%, 与Bonenkamp等^[10]对胃癌腹腔冲洗液脱落细胞检测阳性率为28.6%相差较大, 可能是由于本研究只探讨网膜囊冲洗液的检测价值, 而未对左上腹、Douglas窝等部位的脱落癌细胞进行研究, Homma等^[11]关于多个部位的腹腔灌洗可增加胃癌脱落细

胞检测的阳性率的研究正好说明了上述差异的原因。

我们发现胃后壁肿瘤网膜囊冲洗液阳性率明显高于胃前壁肿瘤(*P*<0.05), 特别是肿瘤浸润至浆、肌层者(与浸润深度有关), 主要是胃后壁更接近于网膜囊前壁, 按照“种子-土

壤”学说观点,胃后壁肿瘤癌细胞更容易种植于网膜囊内,这也为在胃癌根治性切除术中行网膜囊切除提供了事实依据。目前对是否行网膜囊完整切除尚存在争议^[12-15],我们认为对网膜囊冲洗液阳性者有必要行网膜囊完整切除,网膜囊切除了费时、增加出血外,其短期效果与未行网膜囊切除者无明显差异,至于其远期疗效还需进一步观察,Fujita等^[16]用临床研究的中期数据说明了在缺乏确凿的循证医学证据之前,我们不能忽视网膜囊切除的应用价值。

对于网膜囊冲洗液阳性者,临床工作者有必要对其进行干预治疗,目前临床上较常用的方法是行术中或术后腹腔内化疗,这对提高胃癌患者的生存率及治愈率具有重要的意义。由于本研究样本量相对较少,随访数据尚在完善中,远期应用价值尚需多中心的随机对照研究加以论证。同时,网膜囊冲洗液的检测手段还有待于进一步提高,更快捷、更准确、更经济的检测方法一直是我们研究追求的目标。

4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 刘振芳, 韩晓鹏, 刘宏斌, 朱万坤, 苏琳. 胃癌术中腹腔游离癌细胞检测方法的对比研究. *中国普外基础与临床杂志* 2010; 17: 803-807
- 3 张贤坤, 刘宏斌, 苏琳, 朱万坤, 韩晓鹏. 流式细胞术检测胃癌术中腹腔冲洗液CEA的临床意义. *临床军医杂志* 2011; 39: 1069-1072
- 4 Sugarbaker PH, Averbach AM. Krukenberg syndrome as a natural manifestation of tumor cell entrapment. *Cancer Treat Res* 1996; 82: 163-191 [PMID: 8849950 DOI: 10.1007/978-1-4613-1247-5_11]
- 5 Ribeiro U. Free peritoneal tumour cells are an independent prognostic factor in curatively resected stage IB gastric carcinoma (Br J Surg 2006; 93: 325-331). *Br J Surg* 2006; 93: 1304-1305; author reply 1305 [PMID: 16983745 DOI: 10.1002/bjs.5613]
- 6 Kodera Y, Nakanishi H, Ito S, Yamamura Y, Kanemitsu Y, Shimizu Y, Hirai T, Yasui K, Kato T, Tatematsu M. Quantitative detection of disseminated free cancer cells in peritoneal washes with real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction: a sensitive predictor of outcome for patients with gastric carcinoma. *Ann Surg* 2002; 235: 499-506 [PMID: 11923605 DOI: 10.1097/00000658-200204000-00007]
- 7 Tamai M, Tanimura H, Yamaue H, Iwahashi M, Tsunoda T, Tani M, Noguchi K, Hotta T, Arii K. Expression of carcinoembryonic antigen in fresh human gastric cancer cells assessed by flow cytometry. *J Surg Oncol* 1993; 52: 176-180 [PMID: 8441276 DOI: 10.1002/jso.2930520312]
- 8 Tamai M, Tanimura H, Yamaue H, Iwahashi M, Tsunoda T, Tani M, Noguchi K, Mizobata S, Hotta T, Arii K. Clinical significance of quantitative analysis of carcinoembryonic antigen assessed by flow cytometry in fresh human gastric cancer cells. *Cancer Lett* 1995; 90: 111-117 [PMID: 7736445 DOI: 10.1016/0304-3835(95)03695-5]
- 9 张贤坤, 刘宏斌, 苏琳, 赵宏伟. 流式细胞术检测胃癌患者腹腔冲洗液游离癌细胞的变化. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 2368-2371
- 10 Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, van de Velde CJ. Prognostic value of positive cytology findings from abdominal washings in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 1996; 83: 672-674 [PMID: 8689216 DOI: 10.1002/bjs.1800830526]
- 11 Homma Y, Ushida S, Yamada M, Kobayashi H, Suzuki K. Positive peritoneal washing cytology in multiple cavities can predict poor prognosis of advanced gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 455-460 [PMID: 19847567 DOI: 10.1245/s10434-009-0764-2]
- 12 Yamamura Y, Ito S, Mochizuki Y, Nakanishi H, Tatematsu M, Kodera Y. Distribution of free cancer cells in the abdominal cavity suggests limitations of bursectomy as an essential component of radical surgery for gastric carcinoma. *Gastric Cancer* 2007; 10: 24-28 [PMID: 17334714 DOI: 10.1007/s10120-006-0404-5]
- 13 Eom BW, Joo J, Kim YW, Bae JM, Park KB, Lee JH, Ryu KW, Kook MC. Role of bursectomy for advanced gastric cancer: result of a case-control study from a large volume hospital. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 1407-1414 [PMID: 24119717 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.09.013]
- 14 Kochi M, Fujii M, Kanamori N, Kaiga T, Mihara Y, Funada T, Tamegai H, Takayama Y, Yoshida N, Takayama T. D2 gastrectomy with versus without bursectomy for gastric cancer. *Am J Clin Oncol* 2014; 37: 222-226 [PMID: 22892432 DOI: 10.1097/COC.0b013e31825eb734]
- 15 Hundahl SA. The potential value of bursectomy in operations for trans-serosal gastric adenocarcinoma. *Gastric Cancer* 2012; 15: 3-4 [PMID: 22160297 DOI: 10.1007/s10120-011-0121-6]
- 16 Fujita J, Kurokawa Y, Sugimoto T, Miyashiro I, Iijima S, Kimura Y, Takiguchi S, Fujiwara Y, Mori M, Doki Y. Survival benefit of bursectomy in patients with resectable gastric cancer: interim analysis results of a randomized controlled trial. *Gastric Cancer* 2012; 15: 42-48 [PMID: 21573917 DOI: 10.1007/s10120-011-0058-9]

同行评价

该研究提示网膜囊内脱落细胞学检查阳性高与标准根治手术的重要性,资料较完整可靠,提出的问题可供临床医师参考使用,具有一定价值。

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

