

· 临床研究 ·

# 喉癌颈部淋巴结微转移与早期复发及预后关系探讨

秦小明<sup>1</sup>, 高 下<sup>1</sup>, 丁小琼<sup>1</sup>, 章宜芬<sup>2</sup>, 钱晓云<sup>1</sup>

(南京大学医学院附属鼓楼医院1. 耳鼻咽喉科; 2. 病理科, 江苏南京 210008)

**摘要:** 目的 分析 pN<sub>0</sub> 喉鳞状细胞癌患者颈部淋巴结微转移与早期复发和预后的相关性。方法 收集本院 2005 年 7 月 ~ 2009 年 4 月诊治的喉鳞状细胞癌患者中行颈廓清术后经常规病理学 HE 染色切片检查 pN<sub>0</sub> 癌病例 31 例的临床及病理资料; 石蜡包埋的颈廓清术淋巴结标本行半连续切片 HE 染色, 经多名有经验的病理科医师重新阅片, 证实有无微转移灶。采用  $\chi^2$  检验分析微转移与早期复发的相关性, Kaplan-Meier 曲线用于描述有无微转移两组患者的无瘤生存 (disease-free survival) 曲线分布。**结果** 全部 31 例 418 枚淋巴结蜡块标本中发现微转移 8 例, 除年龄、分化程度外的各临床病理因素与微转移之间均无相关性, 微转移与早期复发之间无相关性 ( $P > 0.05$ )。Kaplan-Meier 曲线用于描述有、无微转移两组患者的无瘤生存 (disease-free survival) 曲线分布, 两组患者的无瘤生存率无明显分离趋势 ( $P > 0.05$ )。**结论** 本研究表明 pN<sub>0</sub> 喉鳞型细胞癌患者中, 颈淋巴结中微转移灶的存在与复发和预后无关。

**关键词:** 喉癌; 微转移; 早期复发; 预后

中图分类号: R739.6

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2012)02-0118-05

## Relationship between micrometastasis in cervical lymph node and early recurrence and prognosis in patients with laryngocarcinoma of pN<sub>0</sub> stage

QIN Xiao-ming, GAO Xia, DING Xiao-qiong, et al.

(Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China)

**Abstract:** **Objective** To analysis the correlation between micrometastasis in cervical lymph node and early recurrence, and prognosis in patients with laryngocarcinoma of pN<sub>0</sub> stage. **Methods** The clinical and pathological data of 31 patients suffering from laryngeal squamous cell carcinoma with pathologically negative node were analyzed retrospectively. The micrometastasis was detected with HE staining combined with semi-consecutive sectioning from the lymph node specimens after neck dissection operation. The chi-square test was used for analyzing the relationship between the micrometastasis and early recurrence, and Kaplan-Meier curve was used for describing the disease-free survival curve. **Results** The correlation between micrometastasis and early recurrence was not significant ( $P > 0.05$ ). The disease-free survival rate of the patients with and without micrometastasis had no obvious separation trend ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** In patients with laryngocarcinoma of pN<sub>0</sub> stage, the clinical and prognostic implications of micrometastasis could not be established.

**Key words:** Laryngeal neoplasm; Micrometastasis; Early recurrence; Prognosis

基金项目:南京市社会发展计划项目(200805012)。

作者简介:秦小明,男,住院医师。

通讯作者:钱晓云,Email:qxy522@yahoo.com.cn.

喉癌是头颈部常见的恶性肿瘤,近年来其发病率有明显增加的趋势。由于头颈部有丰富的血供和淋巴引流途径,该部位的恶性肿瘤常易发生早期转移,淋巴结转移的出现与远处转移有相关性,区域淋巴结转移与否可作为治疗和预后判断的一个独立因素<sup>[1]</sup>。

目前,颈淋巴结微转移灶的检测越来越受到关注。但隐匿性淋巴结转移是否对头颈部恶性肿瘤的复发及预后有影响尚无定论,有学者研究表明 N<sub>0</sub> 患者伴有隐匿性淋巴结转移与未转移的预后存在显著性差异<sup>[2]</sup>,亦有部分学者认为 N<sub>0</sub> 期伴有淋巴结微转移患者与无淋巴结微转移患者的生存期无明显差异<sup>[3]</sup>。

本研究对以往诊治的有完整的临床及病理资料的喉鳞状细胞癌患者 pN<sub>0</sub> 病例进行随访,对颈廓清术的蜡块标本使用半连续切片 HE 染色法检测其中的微转移灶,使用 SPSS 软件进行统计学分析,以期对微转移与早期复发和预后的相关性作出推断。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

收集南京大学医学院附属鼓楼医院 2005 年 7 月~2009 年 4 月诊治的喉鳞状细胞癌患者中行颈廓清扫术后经常规病理学染色切片检查, pN<sub>0</sub> 癌病例 31 例的临床、病理资料,其中临床分期、分型、肿瘤的分化程度及浸润深度均来自于南京大学医学院附属鼓楼医院病理科的病理资料。所有患者中男 30 例,女 1 例,年龄 41~75 岁,平均年龄 60 岁。声门上型喉癌 9 例,声门型 21 例,声门下型 1 例。pT 分级按照国际防癌联盟 UICC 2002 年颁布的分类标准,其中 pT1 1 例, pT2 1 0 例, pT3 1 8 例, pT4 2 例。所有病例均有完整的随访资料,包括电话调查及患者门诊随访,随访截止时间为 2011 年 4 月。所有患者术前均未做放、化疗,按恶性肿瘤手术治疗原则切除原发灶,行择区域性颈淋巴清扫。

### 1.2 实验方法

石蜡包埋的组织标本在超薄切片机上每隔 50 μm 做 5 μm 层厚切片一张,做常规 HE 染色,经多名有经验的病理科医师重新阅片,证实有无微转移灶的发生。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件包进行数据处理分析。采用  $\chi^2$  检验分析微转移与早期复发的相关性, Kaplan-Meier 曲线用于描述两组患者中有、无微转移的无瘤生存 (disease-free survival) 曲线分布。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 微转移与临床病理因素的相关性

全部 31 例 418 枚淋巴结蜡块标本经半连续切片后行 HE 染色,经多名有经验的病理科医师认真阅片,发现 8 例 11 枚淋巴结有微转移灶(图 1),余 23 例 407 枚淋巴结未见微转移灶(图 2)。所有患者的具体临床及病理资料见表 1,经  $\chi^2$  检验除年龄外的各临床病理因素与微转移之间均无统计学意义 (P > 0.05)。

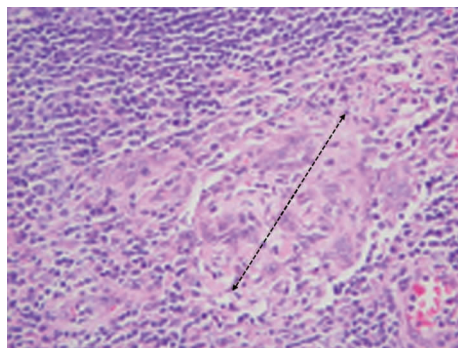


图 1 喉癌患者可见直径为 0.25 mm 的微转移灶,其中癌细胞呈不规则型,细胞浆丰富,红染,细胞核大(HE 染色, ×200)

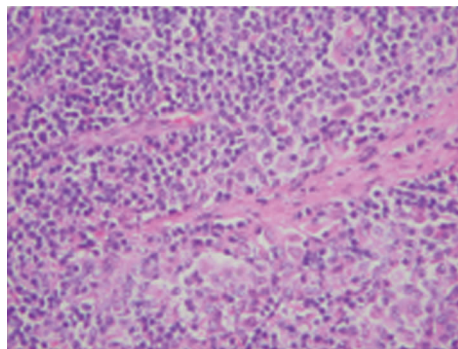


图 2 喉癌患者未见微转移灶(HE 染色, ×200)

表 1 微转移与临床病理因素的相关性

临床及病理因素	无微转移	有微转移	$\chi^2$	$P$
年龄				
<60 岁	8	7	6.605	0.015 *
≥60 岁	15	1		
性别				
男	23	7	2.921	0.258
女	0	1		
T 分级				
pT1、2	8	3	0.019	1.000
pT3、4	15	5		
分型				
声门型	16	5	0.136	1.000
非声门型	7	3		
分化程度				
低分化	5	2	0.982	0.036 *
中分化	15	5		
高分化	3	1		

注: \*  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义

## 2.2 微转移与早期复发的相关性分析

术后患者随访 10 ~ 56 个月, 中位时间 31 个月。8 例早期复发, 其中 2 例为造瘘口复发, 3 例为颈部淋巴结复发, 3 例为喉部复发。1 例患者行半喉切除 + 选择性颈清扫术后 8 个月喉部复发伴颈淋巴结复发, 再次行全喉切除 + 根治性颈廓清术, 术后放疗后再次出现颈淋巴结复发, 该患者于第 1 次术后 25 个月死亡。

对观察时间超过 3 年的 28 例患者使用 Kaplan-Meier 曲线, 用于描述有、无微转移两组患者的无瘤生存曲线分布 (图 3), 两组患者的无瘤生存率无明显分离趋势 ( $P = 0.996$ )。经  $\chi^2$  检验, 微转移与早期复发之间无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

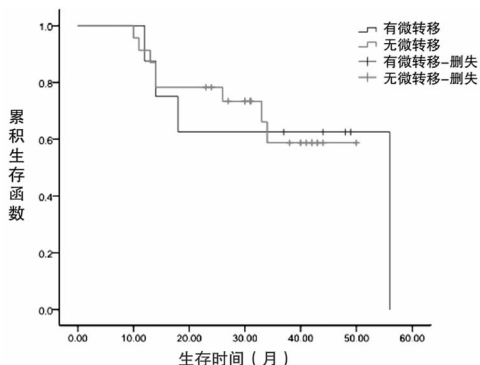


图 3 Kaplan-Meier 曲线 (微转移与无瘤生存率)

表 2 微转移与早期复发的相关性

	无早期复发	有早期复发	$\chi^2$	$P$
无微转移	18	5	0.220	0.683
有微转移	5	3		

## 3 讨论

对于临床检查没有发现淋巴结转移的头颈部鳞癌患者, 其颈廓清术标本经病理检查可以发现 15% ~ 25% 的病例伴有隐匿性转移灶。隐匿性转移灶的概念是相对于体格检查、影像学检查等临床资料未发现的转移灶而言的, 而非微转移灶。虽然不是所有的隐匿性转移灶都是微转移灶, 但是多数学者会将隐匿性转移灶和微转移灶的概念混用, 用于描述临床检查不能发现的转移灶<sup>[4]</sup>。目前国内外对微转移的定义已有共识, 即在各种机体组织、体液及细胞移植物中检测到的镜下及亚显微水平的肿瘤残留, 而常规临床病理学方法无法检出<sup>[5]</sup>。

淋巴结的微转移不是成簇的, 而是分散在整个淋巴结中, 在淋巴结中的分布无特定的位置, 在每个切面都有可能存在。正是由于微转移位置的不确定性, 所以需要淋巴结所有的切面进行详细的检查。常规病理切片明显低估了淋巴结中微转移灶的存在, 其原因在于常规病理切片的做法是每枚淋巴结仅取 1 ~ 2 张切片。若淋巴结连续切片, 则可以较彻底地检查淋巴结内的微转移灶。但是, 真正的连续切片耗时巨大, 无法实际应用。Hamakawa 等<sup>[6]</sup>对 73 例 N<sub>0</sub> 口腔癌的 554 枚淋巴结进行研究, 如以 10  $\mu\text{m}$  的间隔进行半连续切片, 预计约需 60 万切片数量, 耗时巨大。Viale 等<sup>[7]</sup>报道间隔 50  $\mu\text{m}$  厚度连续切片中可以发现 18% 的微转移, 在增加到 300  $\mu\text{m}$  后就会被遗漏掉。徐世影等<sup>[8]</sup>统计检出的 29 枚微转移灶最小直径为 (1.36 ± 0.85) mm, 推荐 1 mm 作为常规可操作的切片间隔。大多数研究者使用的是不同间隔的半连续切片, 同时配合应用免疫组化染色以提高敏感性。本研究选用了 50  $\mu\text{m}$  厚度的间隔, 以减少微转移的遗漏。

颈部淋巴结微转移灶对颈部复发及预后有无影响, 是其临床价值的关键, 也是微转移灶近年来越来越多受到关注的主要原因。存在

于非头颈部恶性肿瘤患者淋巴结及外周血中的微转移灶,其预后意义已经得到大多数学者的肯定<sup>[9-10]</sup>。笔者认为可能与其反映多为远处转移或全身转移状态有关。但目前头颈部恶性肿瘤微转移灶对预后是否有影响尚存在争议,很多研究者认为微转移灶的存在可能有一些临床和预后意义,虽然仍未被最终证实<sup>[11]</sup>。Woolgar等<sup>[12]</sup>研究发现仅有微转移患者的预后与无颈部淋巴结转移一致,并认为微转移灶的发现没有特殊的临床意义。Hamakawa等<sup>[13]</sup>指出pN<sub>0</sub>患者中多发的淋巴结微转移灶,可能反映了原发肿瘤具有较活跃的转移活性,即使微转移灶本身没有预后意义,正确地评估微转移灶也是非常重要的。Rhee等<sup>[14]</sup>研究发现隐匿性淋巴结转移者其局部复发率较无转移者高。随后,Colnot等<sup>[15]</sup>、Yamazaki等<sup>[16]</sup>的研究认为微转移灶可能有一些预后意义。Nieuwenhuis等<sup>[17]</sup>注意到对头颈部恶性肿瘤pN<sub>0</sub>期患者的生存分析中,有一个或多个分子生物学水平的阳性淋巴结患者明显差异于阴性患者。

微转移灶对复发和预后的影响存在争议的一个原因是某些微转移灶可能对颈部复发有影响,而另一些可能无影响。虽然癌临床转移一般皆由微转移发展而来,但是仅有少数的微转移最终可能发展为临床转移。微转移的癌细胞灶常以单个细胞或微小细胞团形成,通过淋巴系统、血液系统转移至其他组织或器官,也可以直接侵袭周围组织或种植于体腔。但是微转移灶可能长期处于G<sub>0</sub>期或处于细胞增殖与调亡的平衡状态。只有当机体遭受打击或免疫力下降时,休眠的肿瘤细胞才会摆脱抑制状态而持续增殖,最终发展成为临床转移。另外,对微转移灶的检测及评估都是在颈廓清术标本中进行,那么对于那些未行颈清扫等待观察的病例是否存在微转移灶、其数量多少及其与颈部复发的关系,均无法了解。此外,选择性颈廓清术对pN<sub>0</sub>的颈部控制已令人满意,即使对于N<sub>1</sub>、N<sub>2b</sub>等病例,选择性颈廓清术也有较好的颈部控制。那么,在已经实施选择性颈廓清术的病例中,探讨颈廓清术标本中微转移灶对颈廓清术后的颈部复发的影响,似颇为牵强。

头颈部肿瘤的隐匿性淋巴结转移可能的相关因素有肿瘤细胞的侵袭力、角化程度( degree

of keratinization)、组织病理分期(G分期)、T分级、年龄、性别等。具体到其中的哪些因素,不同的研究其结果也各异<sup>[18-19]</sup>,学者们各执一词,尚无公论。本组研究中,除年龄、分化程度外的各临床病理因素与微转移之间均无显著相关性( $P > 0.05$ )。谢李等<sup>[20]</sup>通过对335例喉癌患者术后生存率分析也发现年龄是影响患者生存率的主要因素之一。而年龄与微转移之间呈现相关性的原因可能是老年人体质较弱,免疫能力低下,机体失去了抗御肿瘤的能力,较易出现肿瘤的转移,转移灶出现较早,也生长得较快。

本研究中,微转移的发生与早期复发之间亦无显著相关性( $P = 0.683$ ),有、无微转移两组患者的无瘤生存率无明显分离趋势( $P > 0.05$ ),提示pN<sub>0</sub>喉鳞型细胞癌患者中,颈淋巴结中微转移灶的存在与复发和预后无关。但是,本研究样本量较小,统计学的阴性结果可能是由于样本量偏少造成的,因此在后续的研究中,笔者将继续收集相关病例,加大样本量,延长随访时间。只有大样本量和较长随访时间的研究甚至是多中心协作才能得出微转移是否可以作为影响喉癌患者复发和预后的独立因素的结论。

#### 参考文献:

- [1] Jose J, Moor JW, Coatesworth AP, et al. Soft tissue deposits in neck dissections of patients with head and neck squamous cell carcinoma: prospective analysis of prevalence, survival, and its implications [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2004, 130(2): 157-160.
- [2] Rhee D, Wenig BM, Smith RV, et al. The significance of immuno-histochemically demonstrated nodal micrometastases in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Laryngoscope. 2002, 112(11): 1970-1974.
- [3] Enepekides D, Sultanem K, Nguyen C, et al. Occult cervical metastases: immunoperoxidase analysis of the pathologically negative neck [J]. Otolaryngol head Neck Surg, 1999, 120(5): 713-717.
- [4] Ferlito A, Rinaldo A, Devaney KO, et al. Detection of lymph node micrometastases in patients with squamous carcinoma of the head and neck [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2008, 265(10): 1147-1153.
- [5] 孙宁,尤云峰. 恶性肿瘤微转移的临床研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(2): 208-214.
- [6] Hamakawa H, Takemura K, Sumida T, et al. Histological study on pN upgrading of oral cancer [J]. Virchows Arch,

- 2000, 437(2): 116 - 121.
- [7] Viale G, Maiorano E, Mazzarol G, et al. Histologic detection and clinical implications of micrometastases in axillary sentinel lymph nodes for patients with breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2001, 92(6): 1378 - 1384.
- [8] 徐世影, 杨蓓蓓. 头颈部鳞状细胞癌颈部淋巴结微转移灶的研究进展 [J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2006, 20(8): 378 - 381.
- [9] Bilchik AJ, Hoon DS, Saha S, et al. Prognostic impact of micrometastases in colon cancer: interim results of a prospective multicenter trial [J]. *Ann Surg*, 2007, 246(4): 568 - 577.
- [10] Chen SL, Hoehne FM, Giuliano AE. The prognostic significance of micrometastases in breast cancer: a SEER population based analysis [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(12): 3378 - 3384.
- [11] Ferlito A, Devaney KO, Rinaldo A, et al. Micrometastases: have they an impact on prognosis [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1999, 108(12): 1185 - 1189.
- [12] Woolgar JA. Micrometastasis in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma: incidence, histopathological features and clinical implications [J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 1999, 37(3): 181 - 186.
- [13] Hamakawa H, Fukuzumi M, Bao Y, et al. Keratin mRNA for detecting micrometastasis in cervical lymph nodes of oral cancer [J]. *Cancer Lett*, 2000, 160(1): 115 - 123.
- [14] Rhee D, Wenig BM, Smith RV, et al. The significance of immuno-histochemically demonstrated nodal micrometastases in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Laryngoscope*, 2002, 112(11): 1970 - 1974.
- [15] Colnot DR, Nieuwenhuis EJ, Kuik DJ, et al. Clinical significance of micrometastatic cells detected by E48 (Ly-6D) reverse transcription-polymerase chain reaction in bone marrow of head and neck cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(23): 7827 - 7833.
- [16] Yamazaki Y, Chiba I, Hirai A, et al. Clinical value of genetically diagnosed lymph node micrometastasis for patients with oral squamous cell carcinoma [J]. *Head Neck*, 2005, 27(8): 676 - 681.
- [17] Nieuwenhuis EJ, Leemans CR, Kummer JA, et al. Assessment and clinical significance of micrometastases in lymph nodes of head and neck cancer patients detected by E48 (Ly-6D) quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction [J]. *Lab Invest*, 2003, 83(8): 1233 - 1240.
- [18] Esposito ED, Motta S, Cassiano B, et al. Occult lymph node metastases in supraglottic cancers of the larynx [J]. *Otolaryngol head Neck Surg*, 2001, 124(3): 253 - 257.
- [19] 赵洪伟, 李龙江, 谢文扬. 舌根鳞癌颈淋巴结微转移灶检测对预后的影响 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2004, 9(2): 162 - 164.
- [20] 谢李, 田勇泉, 赵素萍, 等. 335 例喉癌患者手术治疗预后多因素分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2009, 15(6): 426-431.

(修回日期: 2012-02-15)

## · 消息 ·

### 关于召开鼻内镜技术进展及耳鼻咽喉腔镜质量控制学习班会议通知

由中南大学湘雅三医院耳鼻咽喉头颈外科举办的全国继续教育项目“鼻内镜技术进展及耳鼻咽喉腔镜质量控制学习班”(编号: 20121807010001), “耳鼻咽喉头颈外科护理新进展学习班”(编号: 20121807010001)将于 2012 年 7 月 20 ~ 23 日在湖南长沙召开。届时邀请国内外相关领域知名专家担任授课嘉宾, 采用专题报道、手术录像、个案讨论及现场尸头解剖示教等方式授课。联系人: 李亮明 (1375821456), 马艳红 (13875938721)。