

文章编号: 1005-2208(2015)10-1049-04

DOI:10.7504/CJPS.ISSN1005-2208.2015.10.05

胃癌术中腹腔灌洗脱落癌细胞 检测及临床意义

李子禹, 苗儒林, 季加孚

【摘要】 胃癌并腹腔游离癌细胞是一种特殊类型的晚期胃癌,是腹腔转移的早期表现形式。目前,腹腔游离癌细胞的检测主要通过腹腔镜探查联合腹腔灌洗细胞学检查进行。诸多分子生物学检测方法也开始出现,但是仍缺乏相关统一规范。腹腔游离癌细胞阳性病人预后较差,而通过全身系统治疗、腹腔局部治疗等使腹腔游离癌细胞转阴后可能为病人带来生存获益。目前,仍需要高质量的前瞻性随机对照研究对腹腔游离癌细胞的检测和治疗方法进行评估,以达到诊断、治疗的规范化、个体化和专业化。

【关键词】 胃癌;腹腔游离癌细胞;腹腔局部治疗;术前化疗

中图分类号:R6 文献标志码:A

Diagnosis and clinical significance of positive peritoneal lavage cytology in gastric cancer surgery LI Zi-yu, MIAO Ru-lin, JI Jia-fu. Center of Gastrointestinal Tumors, Peking University School of Oncology, Beijing Cancer Hospital & Institute; Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Beijing 100142, China

Corresponding author: LI Zi-yu, E-mail:ligregory@outlook.com

Abstract Positive peritoneal lavage cytology is a particular type of late stage gastric cancer that indicates the early pattern of peritoneal metastasis. Currently, the main diagnostic method of peritoneal lavage cytology is the laparoscopic exploration combined with peritoneal lavage examination, and many molecular diagnostic methods have been applied while lack of standardization. Positive peritoneal lavage cytology is a negative prognostic factor and treatments as systemic therapy and peritoneal local control that turn the positive cytology to negative can lead to survival benefit to the patients. More high quality RCTs are still needed to explore the standard methods of diagnosis and treatment to achieve the goal of

作者单位:北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所胃肠肿瘤中心 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室,北京100142

通信作者:李子禹, E-mail:ligregory@outlook.com

standardization, personalization and specialization.

Keywords gastric cancer; peritoneal lavage cytology; peritoneal local treatment; preoperative chemotherapy

胃癌转移主要通过血行转移、淋巴转移及腹腔播散转移3种途径完成,其中腹腔转移是晚期胃癌最常见的转移形式^[1]。腹腔游离癌细胞是胃癌腹腔播散转移的一种早期表现形式,目前认为是一种特殊类型的晚期胃癌类型,现有的胃癌分期标准已将其明确判定为M1期^[2]。特殊之处在于腹腔内无肉眼可见的转移灶,若不进行腹腔灌洗液细胞学检查,极易漏诊。一般认为,胃癌腹腔转移发生的主要原因是由于肿瘤由胃黏膜层浸润生长至浆膜层,进而在腹腔内播散,引起腹腔肿瘤种植转移。随着诊断技术和肿瘤诊疗理念的不断进步,广大胃癌学者开始注意在胃癌腹腔转移发生的早期去阻断该过程。早在1978年,日本学者就提出了胃癌腹腔游离癌细胞是胃癌的预后危险因素,并提出腹腔局部应用丝裂霉素C可改善病人预后。之后20年间,相关研究基本处于停滞状态,直到20世纪90年代中期,随着细胞学检测技术的进步和微创理念的不断深入,针对胃癌腹腔游离癌细胞的相关研究才开始再次进入人们的视野。

临床评估为阴性的胃癌病人中腹腔游离癌细胞检出率一般为10%~20%,部分研究中甚至可高达30%^[3-5]。检出率的差异主要由不同的检测方法引起。在临床实践中,如果不进行相关检测,这些病人往往会被当做是非晚期病例进行治疗,这就造成了大量病人的误诊误治。

近年来随着腹腔游离癌细胞的检测逐渐增多,多项针对胃癌腹腔转移的研究发现,有相当比例的病人术中腹腔游离癌细胞检测呈阳性或出现腹腔肉眼转移病灶,但是病人胃原发灶病理检测并没有侵犯到浆膜层^[6-7]。这一结果开始引起人们的思考,是否胃癌腹腔转移可能由其他转移途径引起?针对这一疑问,目前还没有确凿证据支持。另外,有观点认为该现象的出现可能是由于病理检测没有真正发现肿瘤浸润到浆膜层的位置。

诸多疑问的解决首先需要胃癌腹腔游离癌细胞检测方法的规范化、个体化和专业化。以此为基础,我们才能真正解析胃癌腹腔游离癌细胞的临床意义,并评估相关治疗手段的疗效。本文将

总结分析胃癌腹腔游离癌细胞的检测方法及其临床意义,并对现有的针对性治疗进行介绍评估。

1 术中腹腔灌洗脱落细胞的检测方法

胃癌腹腔游离癌细胞的检测必须通过手术进行。传统为开放手术进行腹腔细胞学检测,近年来,腹腔镜微创技术不断进步和普及,微创治疗理念也开始被诸多外科医生所接受。目前评估胃癌腹腔游离癌细胞的方法主要是通过分期性腹腔镜探查及腹腔灌洗液细胞学检查进行评估。在可切除的进展期胃癌综合治疗中,目前标准治疗模式是根治性手术联合围手术期化疗。在治疗过程中,腹腔灌洗液中游离癌细胞的评估应在治疗开始前或手术切除前进行,但是其具体适应证目前尚存争议。在不同的临床研究中,腹腔灌洗液中游离癌细胞阳性最主要的危险因素为病人肿瘤的T分期及N分期。Power等根据病人肿瘤分期将胃癌病人分为低危组(T1/2, N0)及高危组(T3/4, N+, 或两者均有);其中,腹腔游离癌细胞阳性率在低危病人中为4%,在高危病人中为25%。因此,该研究认为在高危病人中应在治疗前常规行腹腔镜探查及细胞学评估。

美国国家综合癌症网络(NCCN)胃癌诊疗指南中,推荐T1b期及以上胃癌病人治疗前接受腹腔镜探查手术以排除临床影像学难以发现的转移病灶,推荐等级为2B级。指南讨论中建议,对于T3或N1分期及以上的病人,除常规行腹腔镜探查外,还应接受腹腔灌洗液细胞学检测。来自欧洲的ESMO-ESSO-ESTRO胃癌诊疗随访临床实践指南中,推荐对所有潜在可切除的IB-III期胃癌病人行腹腔镜探查及腹腔游离癌细胞的检测,证据等级III级,推荐等级B级。

目前,针对胃癌腹腔灌洗的方法也缺乏统一规范。已有相关研究评估腹腔灌洗的位置和灌洗液的量对评估结果的影响,但仍缺乏前瞻性研究对相关评估方法优劣进行判定。目前,北京大学肿瘤医院胃肠肿瘤中心腹腔镜探查细胞学检测标准操作规程如下:(1)病人体位。通常可将病人置于平卧位或平卧分腿位,根据术中情况调整手术床。(2)建立气腹。气腹针刺法或开放法,保持腹压在0.980~1.176 kPa。(3)放置套管。一般建议建立一个观察孔以及左右两个操作孔,可酌情增加1~2个操作孔。①观察孔(直径10~12 mm套

管):通常选择脐下为观察孔,有下腹部手术史病人可选择脐上。②右侧操作孔(直径5~10 mm套管或直径10~12 mm套管):通常选择右侧腋前线与右肋弓交点下方2 cm。③左侧操作孔(直径5~10 mm套管):通常选择左侧腋前线与左肋弓交点下方2 cm,与右侧操作孔对称位置。④右侧第二操作孔(直径5~10 mm套管,根据情况判断是否使用):通常选择右侧腋前线水平,与右侧第一操作孔的距离约为病人的一拳距离。(4)腹腔游离癌细胞检测。为避免探查和活检操作导致炎性细胞聚集和上皮细胞脱落污染腹水或腹腔灌洗液,建议在建立操作孔并充分止血后,立即收集腹水或行腹腔灌洗。①对于有足够腹水病人可于盆腔Douglas窝收集腹水后行细胞学检查。②对于无腹水或腹水<200 mL者行腹腔灌洗。以500 mL温生理盐水依次冲洗双侧膈顶、肝下区、大网膜、双侧结肠旁沟和Douglas窝;必要时可调整体位为特伦德伦伯格(Trendelenburg)位或反Trendelenburg位;应尽量避免直接冲洗原发病灶;于双侧膈下区、肝下区和Douglas窝收集不少于100 mL灌洗液,行细胞学检查。

除腹腔灌洗方法缺乏标准外,腹腔游离癌细胞的检测方法同样缺乏统一规范。目前多数开展相关工作的中心采用细胞学病理检测方法,但该方法主观性较高,可能影响结果的准确性,且不能对结果进行定量分析。因此,诸多研究开始探索相关细胞、分子诊断方法评估腹腔游离癌细胞情况,包括腹腔灌洗液癌胚抗原(CEA)测定、流式细胞术定量法、转录-逆转录协同反应法(TRC)、逆转录聚合酶链式反应法(RT-PCR)、逆转录环节等温扩增法(RT-LAMP)等^[8-17]。但是还没有定论评估诸多方法中哪一种为金标准方法。北京大学肿瘤医院胃肠肿瘤中心在临床工作中主要采用快速细胞学检查方法评估腹腔游离癌细胞的情况,具体检测方法如下:(1)取送检的全部腹腔灌洗液,使用低速台式离心机以2000 rpm离心10 min。(2)去除离心后的上清液,取沉淀物均匀涂片2张。(3)用95%乙醇固定15 min。(4)常规HE染色。(5)中性树脂封片。(6)与病理科医师共同阅片,如发现恶性细胞则判读为细胞学阳性,否则为细胞学阴性。

2 腹腔脱落癌细胞的临床意义及治疗

胃癌腹腔播散转移病人预后极差。据统计,

腹腔肉眼转移病人的中位总生存期(OS)仅为3~6个月,而腹腔游离癌细胞阳性病人长期生存同样较差,术后5年存活率为0~18%,中位OS为10~15个月,且大多数病人均会在2年内发生腹腔肿瘤复发^[18-22]。

美国NCCN胃癌诊疗指南指出,仅表现为腹腔游离癌细胞阳性的胃癌病人预后较差,尽管有研究提示化疗可改善病人的疾病特异性生存,但治愈病例仍比较少见。治疗方面,NCCN指南没有针对胃癌腹腔转移提出针对性的治疗建议,仅将其列为IV期胃癌的一种,治疗原则和其他类型的IV胃癌相同。

2014年5月最新修订的第4版《日本胃癌学会胃癌诊疗指南》在临床问题的这一部分中,对胃癌腹腔转移的临床处理给出了目前推荐方法。针对腹腔游离癌细胞阳性的病人,基于CCOG0301研究的结果,指南推荐这些病人接受胃癌标准D2手术,且术后接受辅助化疗以进一步改善生存期^[23]。CCOG0301研究中,CY1病人接受常规根治手术后予S-1辅助化疗,中位无复发生存期为376d,中位总生存期为705d,5年无复发存活率及总存活率分别为21%和26%^[24]。但是值得注意的是CCOG0301研究是一项II期非随机临床研究,仅入组病人48例。因此,该指南推荐治疗方案的证据等级并不高,仍需要进一步进行大型III期临床研究以验证该方案。对于腹腔大量种植转移的病人,该指南推荐评估全身一般状况后慎重接受化疗,不推荐接受外科治疗。

我国胃癌诊疗规范中目前还没有针对胃癌腹腔转移的具体治疗原则,有待完善。术前化疗是否能够改善胃癌腹腔游离癌细胞阳性的病人带来生存获益,这一问题目前仍无定论。但是,针对腹腔仅游离癌细胞阳性的病人,相关研究提示术前治疗可能会为病人带来根治的可能。Badgwell等^[25]研究提示,术前治疗可见腹腔游离癌细胞阳性病人的3年总存活率由0提高到12%。Okabe等^[26]研究中46%的病人在接受术前治疗后腹腔游离癌细胞转为阴性,接受根治性手术后病人中位生存期明显延长(43.2个月 vs. 10.3个月)。文献^[27]提示腹腔仅游离癌细胞阳性的病人预后优于肉眼转移阳性病人,且接受新辅助治疗后腹腔游离癌细胞转阴的病人预后优于腹腔游离癌细胞持续阳性的病人。以上研究结果均提示对于术前新辅助治疗

应答良好的高选择性病人可从根治性手术中获益。

除术前化疗外,针对腹腔的局部治疗也是目前经常采用的治疗方式,目前主要包括腹腔热灌注化疗、减瘤手术及大剂量腹腔灌洗。临床实践中,常将这些方式结合起来以达到最佳疗效。一项III期随机对照研究(RCT)GYMSSA研究试图对该结论进一步验证,拟入组病例136例,但是由于病人入组困难,仅16例病人入组可进行评价,因此,腹腔热灌注化疗对于腹腔游离癌细胞阳性病人的意义尚不明确^[9]。目前,北京大学肿瘤医院胃肠肿瘤外科正在进行相关临床试验对腹腔热灌注化疗的疗效进行评估(NCT01471132)。该研究中常规腹腔镜探查及游离细胞学检查腹腔转移和(或)游离癌细胞阳性的胃癌病人,会接受紫杉醇单药的腹腔热灌注化疗,之后再行2周期系统化疗;对于临床评估有效的病人术前再次接受腹腔镜探查及腹腔细胞学评估,阴性者接受根治性胃切除术,术后继续辅助化疗。目前,该研究仍在入组阶段,希望最终结果可以给出关于腹腔转移病人合理治疗模式的一些提示。Kuramoto等^[28]通过III期RCT研究证实术中大量的腹腔灌洗可改善病人的预后。该研究入组88例腹腔游离癌细胞阳性胃癌病人,接受单纯手术联合术后辅助化疗的病人5年存活率为0,接受手术+腹腔灌注化疗+术后辅助化疗的病人5年存活率为4.6%,而接受手术+腹腔灌注化疗+腹腔大量灌洗+术后辅助化疗的病人5年存活率高达43.8%,且该组病人术后腹腔复发转移率显著低于其他两组病人。

综上所述,胃癌腹腔游离癌细胞是胃癌病人腹腔转移一种特殊的早期M1期表现形式,是胃癌病人预后不良的危险因素,目前主要通过腹腔探查联合腹腔灌洗检查进行评估,但是仍然缺乏评估的金标准手段。鉴于其属于肿瘤负荷量相对较小的腹腔转移,现提倡对于这些病人积极的治疗策略,以系统治疗为主,联合腹腔局部治疗如腹腔热灌注化疗、减瘤手术和腹腔大量灌洗等手段有望为病人带来生存获益,特别是部分治疗后腹腔游离癌细胞转阴的病人。

参考文献

- [1] 徐惠绵,徐岩.胃癌转移规律研究新进展[J].中国实用外科杂志,2011,31(8):666-669.
- [2] 胡祥.胃癌分期的变迁——转化医学的重要成果[J].中国实

- 用外科杂志, 2012, 32(1): 31-35.
- [3] 刘庆华, 陈峻青. 胃癌腹腔内游离癌细胞与预后(附100例临床报告)[J]. 中国实用外科杂志, 1996, 16(10): 616-617.
- [4] 盛勇, 张长乐, 管伟宁. 胃癌病人腹腔脱落癌细胞检出率的研究[J]. 中国实用外科杂志, 2003, 23(10): 53-55.
- [5] Yoneda A, Taniguchi K, Torashima Y, et al. The detection of gastric cancer cells in intraoperative peritoneal lavage using the reverse transcription--loop-mediated isothermal amplification method[J]. *J Surg Res*, 2014, 187(1): e1-6.
- [6] Huang B, Sun Z, Wang Z, et al. Factors associated with peritoneal metastasis in non-serosa-invasive gastric cancer: a retrospective study of a prospectively-collected database [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 57.
- [7] 朱少俊, 陈公高, 尹浩然, 等. 胃癌原发病灶与腹腔内游离癌细胞的相互关系(附112例临床分析)[J]. 中国实用外科杂志, 1994, 14(6): 338-339.
- [8] Fujiwara Y, Okada K, Hanada H, et al. The clinical importance of a transcription reverse-transcription concerted (TRC) diagnosis using peritoneal lavage fluids in gastric cancer with clinical serosal invasion: a prospective, multicenter study [J]. *Surgery*, 2014, 155(3): 417-423.
- [9] Jeon CH, Kim IH, Chae HD. Prognostic value of genetic detection using CEA and MAGE in peritoneal washes with gastric carcinoma after curative resection: result of a 3-year follow-up [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2014, 93(11): e83.
- [10] Kagawa S, Shigeyasu K, Ishida M, et al. Molecular diagnosis and therapy for occult peritoneal metastasis in gastric cancer patients [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(47): 17796-17803.
- [11] Kitayama J, Emoto S, Yamaguchi H, et al. Flow cytometric quantification of intraperitoneal free tumor cells in patients with peritoneal metastasis [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2014, 86(1): 56-62.
- [12] Kitayama J, Emoto S, Yamaguchi H, et al. Flow cytometric quantification of intraperitoneal free tumor cells is a useful biomarker in gastric cancer patients with peritoneal metastasis [J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(7): 2336-2342.
- [13] Li Z, Zhang D, Zhang H, et al. Prediction of peritoneal recurrence by the mRNA level of CEA and MMP-7 in peritoneal lavage of gastric cancer patients [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(4): 3463-3470.
- [14] Nishizawa M, Seshimo A, Miyake K, et al. Usefulness of the TRC method in the peritoneal washing cytology for gastric cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2014, 61(129): 240-244.
- [15] Takata A, Kurokawa Y, Fujiwara Y, et al. Prognostic value of CEA and CK20 mRNA in the peritoneal lavage fluid of patients undergoing curative surgery for gastric cancer [J]. *World J Surg*, 2014, 38(5): 1107-1111.
- [16] Tamura S, Fujiwara Y, Kimura Y, et al. Prognostic information derived from RT-PCR analysis of peritoneal fluid in gastric cancer patients: results from a prospective multicenter clinical trial [J]. *J Surg Oncol*, 2014, 109(2): 75-80.
- [17] Yamamoto M, Yoshinaga K, Matsuyama A, et al. CEA/CA72-4 levels in peritoneal lavage fluid are predictive factors in patients with gastric carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140(4): 607-612.
- [18] Sun J, Song Y, Wang Z, et al. Clinical significance of palliative gastrectomy on the survival of patients with incurable advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 577.
- [19] Thomassen I, van Gestel YR, van Ramshorst B, et al. Peritoneal carcinomatosis of gastric origin: a population-based study on incidence, survival and risk factors [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(3): 622-628.
- [20] Tokunaga M, Terashima M, Tanizawa Y, et al. Survival benefit of palliative gastrectomy in gastric cancer patients with peritoneal metastasis [J]. *World J Surg*, 2012, 36(11): 2637-2643.
- [21] Wu XJ, Yuan P, Li ZY, et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves the survival of gastric cancer patients with ovarian metastasis and peritoneal dissemination [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(1): 463-469.
- [22] Yang SW, Kim MG, Lee JH, et al. Role of metastasectomy on overall survival of patients with metastatic gastric cancer [J]. *J Gastric Cancer*, 2013, 13(4): 226-231.
- [23] 日本胃癌学会. 胃癌治療カ“イト”ラソ(医師用2014年5月改訂)[M]. 4版. 東京: 金原出版, 2014: 58.
- [24] Kodera Y, Ito S, Mochizuki Y, et al. Long-term follow up of patients who were positive for peritoneal lavage cytology: final report from the CCOG0301 study [J]. *Gastric Cancer*, 2012, 15(3): 335-337.
- [25] Badgwell B, Cormier JN, Krishnan S, et al. Does neoadjuvant treatment for gastric cancer patients with positive peritoneal cytology at staging laparoscopy improve survival? [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(10): 2684-2691.
- [26] Okabe H, Ueda S, Obama K, et al. Induction chemotherapy with S-1 plus cisplatin followed by surgery for treatment of gastric cancer with peritoneal dissemination [J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(12): 3227-3236.
- [27] Mezhir JJ, Shah MA, Jacks LM, et al. Positive peritoneal cytology in patients with gastric cancer: natural history and outcome of 291 patients [J]. *Indian J Surg Oncol*, 2011, 2(1): 16-23.
- [28] Kuramoto M, Shimada S, Ikeshima S, et al. Extensive intraoperative peritoneal lavage as a standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence in patients with gastric carcinoma [J]. *Ann Surg*, 2009, 250(2): 242-246.

(2015-07-04 收稿)