

·论著·

周围神经侵犯与结直肠癌临床病理因素及预后的关系

韩冬 魏颖 王曦迪 王庚 陈瑛罡

【摘要】目的 探讨周围神经侵犯(PNI)与结直肠癌临床病理因素及预后的关系。**方法** 回顾性收集2011年1月至2012年6月期间于哈尔滨医科大学附属第二医院结直肠肿瘤外科行根治性手术治疗的372例结直肠癌患者的临床病理资料及术后标本。病理标本经苏木精-伊红染色后,将肿瘤细胞侵犯神经鞘任意一层或肿瘤细胞沿神经生长包绕超过神经周径1/3定为PNI阳性。采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法分析PNI与结直肠癌临床病理因素的关系;绘制Kaplan-Meier生存曲线并采用Log-rank检验对PNI阳性与阴性患者的3年生存率进行比较。**结果** 全组372例结直肠癌患者共133例(35.8%)存在PNI阳性。其中PNI阳性患者中男性63例,女性70例;年龄>60岁者76例,≤60岁者57例;肿瘤位于回盲部6例,升结肠33例,横结肠7例,降结肠8例,乙状结肠22例,直肠57例;肿瘤直径>4cm者83例,≤4cm者50例;中高分化者48例,低分化者85例;肿瘤浸润深度T₁期者2例,T₂期者7例,T₃期者93例,T₄期者31例;淋巴结转移N₀期者56例,N₁期者41例,N₂期者36例;肿瘤分期I期者2例,II期者40例,III期者75例,IV期者16例。PNI阳性与肿瘤位置($\chi^2=11.20, P=0.048$)、肿瘤大小($\chi^2=21.80, P=0.000$)、分化程度($\chi^2=60.90, P=0.000$)、浸润深度($\chi^2=19.00, P=0.000$)、淋巴结转移($\chi^2=19.70, P=0.000$)及肿瘤分期($\chi^2=70.80, P=0.000$)有关,差异均有统计学意义,而与患者性别、年龄及脉管侵犯情况无关(均P>0.05)。全组中位随访时间48(8~62)月,PNI阳性患者的3年生存率为52.6%,明显低于PNI阴性患者的78.3%(P=0.000)。进一步对II期和III期结直肠癌患者进行亚组分析显示,II期和III期PNI阳性患者的3年生存率分别为62.3%和43.5%,均明显低于II期和III期PNI阴性患者的91.7%和79.4%,差异均有统计学意义(均P=0.000)。**结论** PNI阳性可能提示结直肠癌患者的预后不良。II期和III期结直肠癌患者PNI状态的检测对判断预后有重要意义。

【关键词】 结直肠肿瘤; 周围神经侵犯; 预后

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531226)

Association of peripheral nerve invasion with clinicopathological factors and prognosis of colorectal cancer Han Dong, Wei Ying, Wang Xidi, Wang Geng, Chen Yinggang

Department of Biochemistry and Molecular Biology (Han D, Wang XD), Department of Anatomy (Wang G), Harbin Medical University, Harbin 150081, China; Department of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China (Wei Y); Department of Colorectal Cancer Surgery, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University; Colorectal Cancer Institute of the Heilongjiang Academy of Medical Sciences, Harbin 150001, China (Chen YG)

Corresponding author: Chen Yinggang, Email: handong85@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the association of peripheral nerve invasion (PNI) with clinicopathological factors and prognosis of colorectal cancer. **Methods** Clinicopathological data and Surgical specimens of 372 colorectal cancer patients who underwent radical resection from January 2011

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2017.01.013

作者单位:150081 哈尔滨医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室(韩冬、王曦迪),人体解剖学教研室(王庚);150030 哈尔滨,东北农业大学生命科学学院(魏颖);150001 哈尔滨医科大学附属第二医院结直肠肿瘤外科 哈尔滨医科大学大肠癌研究所(陈瑛罡)

通信作者:陈瑛罡, Email: chygang777@163.com

to June 2012 in The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University were collected. Histopathological evaluation of tissue samples was conducted with hematoxylin and eosin-stained sections. PNI was considered positive when cancer cells were observed inside the nerve sheath, or when at least 33% of the nerve periphery was surrounded by cancer cells. The relationship between PNI and clinicopathological factors of colorectal cancer was analyzed by χ^2 test or Fisher's exact test. Three-year overall survivals of PNI positive and negative patients were determined using the Kaplan-Meier method. Detection results were compared using log-rank test. **Results** Of 372 colorectal cancer patients, 133 (35.8%) were PNI positive. Among the PNI positive patients, 63 cases were male and 70 cases female; 76 cases were more than 60 years old and 57 cases less than 60 years old; tumors of 6 cases located in the ileocecal colon, of 33 cases in the ascending colon, of 7 cases in the transverse colon, of 8 cases in the descending colon, of 22 cases in the sigmoid colon, and of 57 cases in the rectum; tumor diameter was greater than 4 cm in 83 cases, and less than 4 cm in 50 cases; tumors of 48 cases were moderately or highly differentiated, and of 85 cases poorly-differentiated; tumor invasion depth in 2 cases, T2 in 7 cases, T3 in 93 cases, T4 in 31 cases; lymphatic metastasis was N0 phase in 56 cases, N1 in 41 cases, and N2 in 36 cases; tumors were stage I in 2 cases, stage II in 40 cases, of stage III in 75 cases and stage IV in 16 cases. The positive rate of PNI was significantly associated with tumor location ($\chi^2 = 11.20$, $P = 0.048$), tumor size ($\chi^2 = 21.80$, $P = 0.000$), differentiation ($\chi^2 = 60.90$, $P = 0.000$), depth of invasion ($\chi^2 = 19.00$, $P = 0.000$), lymph node metastasis ($\chi^2 = 19.70$, $P = 0.000$) and TNM staging ($\chi^2 = 70.80$, $P = 0.000$), but not with sex, age or vascular invasion ($P > 0.05$). The median follow-up time was 48 (8 to 62) months. Kaplan-Meier survival curve showed that the 3-year survival rate of PNI positive patients was 52.6%, significantly lower than that of PNI negative patients (78.3%, $P = 0.000$). Further analysis of patients with stage II and III colorectal cancer showed that the 3-year survival rates of PNI positive patients were 62.3% and 43.5%, respectively, which were significantly lower than those of PNI negative patients with stage II and III (91.7% and 79.4%), and the differences were statistically significant ($P = 0.000$). **Conclusions** PNI is a poor prognostic factor of colorectal cancer. It may be a complement of the classic TNM staging classification in stratifying colorectal cancer patients, especially in stages II and III.

[Key words] Colorectal neoplasms; Perineural invasion; Prognosis

Fund program: The Science and Technology Research Project of Education Department in Heilongjiang Province (12531226)

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤。我国结直肠肿瘤的发病率和死亡率分别位居第4位和第5位,2015年新发病例37.6万例,死亡19.1万例,其发病率和死亡率均呈上升趋势^[1]。规范合理的根治性外科手术仍然是绝大多数进展期结直肠癌首选治疗方法^[2]。TNM临床分期系统广泛应用于肿瘤治疗的指导及预后的判断。但是临床实践中发现,即使处于TNM相同分期,其预后也可能完全不同。所以,仍需一些病理学指标来判断肿瘤的恶性生物学行为。对于周围神经侵犯(perineural invasion,PNI)的大部分报道常见于胰腺癌,而且与不良预后相关。NCCN指南虽然将PNI作为Ⅱ期结直肠癌患者的高危因素,但是现有的指南仍缺少具体标准,操作中如何定义神经侵犯各中心并不完全相同,PNI

与临床病理特征及预后关系尚存在争论,很多医疗中心仍然未将PNI检查应用于临床。因此,PNI的临床价值需要进一步明确。

资料与方法

一、研究对象

纳入标准: (1)首次行原发性结直肠癌根治性手术的患者;(2)术后有明确病理诊断;(3)临床病理及随访资料完整者。**排除标准:**(1)异时性、多原发结直肠癌患者;(2)同时或既往患有其他恶性肿瘤的患者;(3)伴有严重的重要脏器功能不全患者;(4)术前行化放疗或免疫治疗等抗肿瘤治疗患者;(5)其他原因死者。

根据以上标准,收集2011年1月至2012年6

月期间于哈尔滨医科大学附属第二医院结直肠肿瘤外科行根治性手术治疗的372例结直肠癌患者的临床病理资料及术后标本。其中男196例,女176例,平均年龄58(27~84)岁,结肠癌患者175例,直肠癌患者197例。全组患者按2010年第7版美国癌症联合会(AJCC)结直肠癌TNM分期标准进行分期。

二、PNI的判断

术后标本以10%甲醛固定,并进行石蜡包埋,切片至4μm厚,行苏木精-伊红染色切片,经两名有经验的临床病理医师分别读片,对所有包含肿瘤组织的切片是否存在神经侵犯进行检查,经检测肿瘤细胞侵犯神经鞘任意一层或肿瘤细胞沿神经生长包绕超过神经周径1/3为PNI阳性,见图1。

三、术后随访方式

术后随访采用门诊、信件和电话相结合的方式进行。术后第1年每3个月随访1次,之后每6个月随访1次,建立完整的个人随访档案。随访时间为手术日至死亡或最后一次随访的时间,末次随访时间为2015年7月10日。

四、统计学方法

应用SPSS 16.0统计软件分析。PNI与临床病理资料之间的关系采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。生存时间的比较采用Kaplan-Meier生存曲线和Log-rank检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、PNI与临床病理特征之间的关系

全组372例结直肠癌患者中,共133例(35.8%)存在PNI阳性。PNI阳性与肿瘤位置、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期有关,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),而与患者性别、年龄及脉管侵犯情况无关(均 $P > 0.05$),见表1。

表1 372例结直肠癌患者临床病理特征与周围神经侵犯的关系[例(%)]

临床指标	例数	周围神经侵犯阳性	χ^2 值	P值
性别			2.35	0.125
男	196	63(32.1)		
女	176	70(39.8)		
年龄(岁)			0.35	0.561
>60	205	76(37.1)		
≤60	167	57(34.1)		
肿瘤位置			11.20	0.048
回盲部	11	6(6/11)		
升结肠	69	33(47.8)		
横结肠	15	7(7/15)		
降结肠	19	8(8/19)		
乙状结肠	61	22(36.1)		
直肠	197	57(28.9)		
肿瘤大小(cm)			21.80	0.000
>4	172	83(48.3)		
≤4	200	50(25.0)		
组织学分化			60.90	0.000
高中分化	232	48(20.7)		
低分化	140	85(60.7)		
T分期			19.00	0.000
T ₁	17	2(2/17)		
T ₂	52	7(13.5)		
T ₃	228	93(40.8)		
T ₄	75	31(41.3)		
N分期			19.70	0.000
N ₀	210	56(26.7)		
N ₁	96	41(42.7)		
N ₂	66	36(54.5)		
脉管侵犯			1.87	0.171
阴性	209	81(38.8)		
阳性	163	52(31.9)		
肿瘤TNM分期			70.80	0.000
I	65	2(3.1)		
II	142	40(28.2)		
III	147	75(51.0)		
IV	18	16(16/18)		

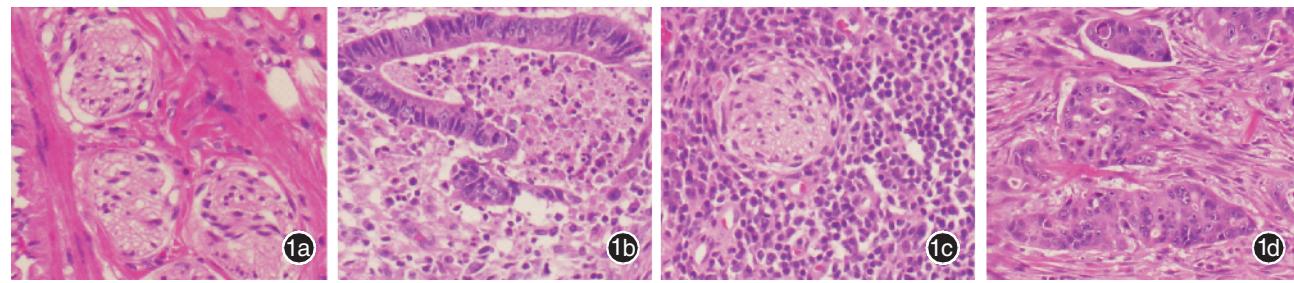


图1 病理检查判断是否存在神经侵犯(苏木精-伊红染色,×150) 1a.神经未受侵犯; 1b.肿瘤环绕神经超过1/3; 1c.肿瘤细胞完全环绕神经; 1d.肿瘤侵入神经内

二、PNI与预后的关系

全组中位随访时间48(8~62)月。PNI阳性患者的3年生存率为52.6%，明显低于PNI阴性患者的78.3%($P=0.000$)，见图2。进一步对Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌患者进行亚组分析显示，Ⅱ期PNI阳性与阴性患者的3年生存率分别为62.3%和91.7%，差异有统计学意义($P=0.000$)；Ⅲ期PNI阳性与阴性患者的3年生存率分别为43.5%和79.4%，差异亦有统计学意义($P=0.000$)。见图3。

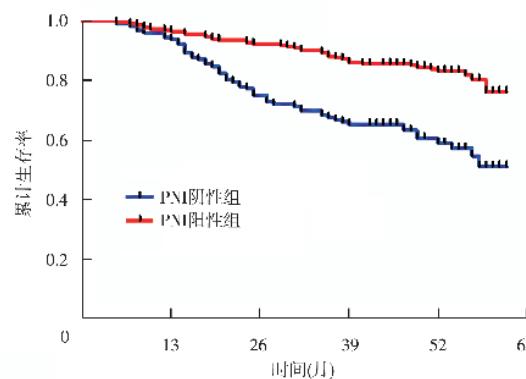


图2 本组结直肠癌患者周围神经侵犯(PNI)阳性与阴性患者生存曲线的比较

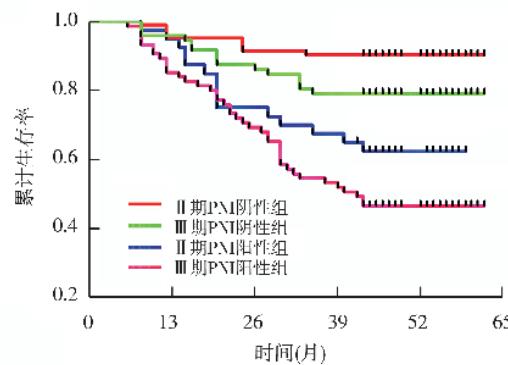


图3 本组Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌周围神经侵犯(PNI)阳性与阴性患者生存曲线的比较

讨 论

在许多肿瘤病例中，即使没有血管及淋巴结转移，也同样可以发生神经侵犯，它是一种独立的转移方式，也是某些肿瘤独有的转移方式，并不是简单的肿瘤细胞的转移迁徙^[3]。但PNI的机制仍未明确。有研究认为，一些神经营养因子包括神经生长因子、神经营养素及神经因子受体可能与神经侵犯有关；神经纤维由于肿瘤微环境中细胞因子的过度分泌，产生相应的神经纤维损伤

性变化，导致其形态学改变，细胞基质中的细胞因子对肿瘤细胞有趋化作用，加上神经纤维形态学的破坏，最终导致神经侵犯的发生^[4]。有学者认为，肿瘤细胞直接从癌巢通过神经束膜或者脉管受到很小的阻力即进入神经间隙；在终末神经中，神经束膜的层数少，而中枢神经汇总的神经束膜层数较多，因此肿瘤细胞容易通过终末神经侵犯神经束膜^[5]。

在PNI阳性与临床病理特征相关性的研究中，有一些学者发现，随着T分期的增加，PNI阳性率增高^[6-8]。本研究也得出相同的结论。Liebig等^[9]研究发现，在结直肠癌中，PNI阳性与肿瘤分化程度、远处转移及TNM分期有关，与本研究的结果一致。此外，也有研究表明，结直肠癌患者中发生脉管侵犯者，其PNI阳性率明显高于无脉管侵犯的患者，提示PNI阳性与脉管侵犯相关^[10-11]。而在本研究中，我们发现结直肠癌患者的脉管侵犯程度与PNI阳性率无关，我们推测该结果可能与患者的地域分布以及样本数量的局限性有关。因此，在后续的研究中，我们还将扩大样本量以及增加多地区人群样本，力求得到更科学严谨的结论。

本研究发现，PNI阳性患者的预后更差。Poeschl等^[12]和Liebig等^[9]发现，无论是总生存率还是无病生存率，PNI阳性的患者都相对较差。另外本研究对Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌患者根据PNI情况进行分析发现，与PNI阴性患者相比，PNI阳性同期结直肠癌患者预后更差。以上结果提示，PNI状态可以作为TNM分期系统的有力补充，尤其对于Ⅱ期、Ⅲ期结直肠癌患者，根据PNI状态区分出预后更差的患者，给予积极的治疗，可能会使这部分患者获益^[13]。

虽然NCCN指南和ESMO指南都将PNI作为早期结肠癌的不良预后的因子，但并没有提及具体的操作标准。对于神经侵犯检测，许多学者得认为苏木精-伊红染色可取得较高的病理诊断率。有学者研究，对结直肠病理标本切片采用苏木精-伊红染色检查，PNI的检出率随着肿瘤的进展而升高^[14]。本研究中采用苏木精-伊红染色法，PNI阳性率为35.8%。苏木精-伊红染色与免疫组织化学染色法相比，具有经济便捷的优势，便于在各级别医院推广。病理技术人员应严格遵守病理检测流程，控制切片及染色的质量，对标本多个层次取材，多位病理医生阅片，保证PNI的检出率。

综上,结直肠癌神经侵犯与肿瘤的进展密切相关,PNI阳性提示肿瘤可能具有不良的生物学行为,更易侵犯和转移^[15]。应在围手术期制定个体化治疗措施,严密随访,提高生存率。Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌患者PNI状态的检测对判断预后有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] 王锡山.恶性肿瘤的“治疗过度”及“治疗不足”[J/CD].中华结直肠疾病电子杂志, 2016, 5(1):95-97.
- [3] 夏启俊,陈凛.胃癌神经侵袭的细胞与分子机制[J].中华胃肠外科杂志, 2015, 8(2):198-200.
- [4] McCuskey RS. Anatomy of efferent hepatic nerves [J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2004, 280 (1):821-826. DOI: 10.1002/ar.a.20087.
- [5] Pour PM, Bell RH, Batra SK. Neural invasion in the staging of pancreatic cancer[J]. Pancreas, 2003, 26(4):322-325.
- [6] Ceyhan GO, Liebl F, Maak M, et al. The severity of neural invasion is a crucial prognostic factor in rectal cancer independent of neoadjuvant radiochemotherapy [J]. Ann Surg, 2010, 252:797-804. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181fcab8d.
- [7] Poeschl EM, Pollheimer MJ, Kornprat P, et al. Perineural invasion: correlation with aggressive phenotype and independent prognostic variable in both colon and rectum cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28:e358-e360. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.3581.
- [8] Mayo E, Llanos AA, Yi X, et al. Prognostic value of tumour deposit and perineural invasion status in colorectal cancer patients: a SEER-based population study [J]. Histopathology, 2016, 69(2):230-238. DOI: 10.1111/his.12936.
- [9] Liebig C, Ayala G, Wilks J, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(31):5131-5137. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4949.
- [10] Peng J, Sheng W, Huang D, et al. Perineural invasion in pT3N0 rectal cancer: the incidence and its prognostic effect [J]. Cancer, 2011, 117:1415-1421. DOI: 10.1002/cncr.25620.
- [11] Ueno H, Shirouzu K, Eishi Y, et al. Characterization of perineural invasion as a component of colorectal cancer staging [J]. Am J Surg Pathol, 2013, 37:1542 - 1549. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318297ef6e.
- [12] Poeschl EM, Pollheimer MJ, Kornprat P, et al. Perineural invasion: correlation with aggressive phenotype and independent prognostic variable in both colon and rectum cancer [J]. J Clin Oncol, 2010, 28 (21):e358-e360; author reply e361-e362. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.3581.
- [13] Peng SL, Thomas M, Ruszkiewicz A, et al. Conventional adverse features do not predict response to adjuvant chemotherapy in stage II colon cancer [J]. ANZ J Surg, 2014, 84(11):837-841. DOI: 10.1111/ans.12444.
- [14] Knijn N, Mogk SC, Teerenstra S, et al. Perineural invasion is a strong prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review [J]. Am J Surg Pathol, 2016, 40 (1):103-112. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000518.
- [15] Liu F, Zhao J, Xie J, et al. Prognostic risk factors in patients with bone metastasis from colorectal cancer [J]. Tumour Biol, 2016, in press. DOI: 10.1007/s13277-016-5465-4.

(收稿日期:2016-05-11)

(本文编辑:王静)

·读者·作者·编者·

关于中华医学会系列杂志指南共识类文章撰写与发表的推荐规范

制定和推广临床指南是当前规范医疗卫生服务的重要举措,为保证临床指南制定的科学、公正和权威,以及使临床指南适应于我国国情,从而更好地发挥指导作用,中华医学会杂志社对指南共识类文章的撰写与发表推荐规范如下。

一、指南共识类文章的撰写

指南共识类文章指具有学术权威性的指导类文章,包括指南、标准、共识、专家建议、草案等。

拟在中华医学会系列杂志发表的指南共识类文章,需具备以下条件:(1)有明确的应用范围和目的;(2)制定方为该学科学术代表群体,权益相关各方均有合理参与;(3)有科学的前期研究铺垫,有循证医学证据支持,制定过程严谨规范,文字表述明确,选题有代表性;(4)内容经过充分的专家论证与临床检验,应用性强;(5)制定者与出版者具有独立性,必要时明确告知读者利益冲突情况;(6)制定者提供内容和文字经过审核的终稿。

二、指南共识类文章的发表

1. 指南共识类文章宜在符合其报道范围和读者定位的相关学术期刊上发表。
2. 不同期刊可共同决定同时或联合发表某篇指南,版式可有所不同,但内容必须一致。
3. 指南类文章的二次发表应遵循《关于中华医学会系列杂志论文二次发表的推荐规范》。