

早期胃癌组织中上皮钙粘蛋白表达与淋巴结微转移及临床病理的关系

刘 津¹, 蔡建辉¹, 阎庆辉¹, 王凤安¹, 宋伟庆¹, 周保军¹, 池口正英²

Expression of Epithelial Cadherin in Early Gastric Cancer and Its Correlation to Lymph Node Micrometastasis and Clinicopathologic Features

LIU Jin¹, CAI Jian-Hui¹, YAN Qing-Hui¹, WANG Feng-An¹,
SONG Wei-Qing¹, ZHOU Bao-Jun¹, Masahide Ikeguchi²

1. 河北医科大学第二医院
胃肠外科,
河北 石家庄 050000
2. 鸟取大学医学部附属病院
第一外科,
日本 鸟取 米子 683-8504

1. *Department of Gastrointestinal
Surgery,
The Second Affiliated Hospital,
Hebei Medical University,
Shijiazhuang, Hebei, 050000,
P. R. China*
2. *First Department of Surgery,
Faculty of Medicine,
Tottori University,
Yonago, Tottori, 683-8504,
Japan*

通讯作者:蔡建辉

Correspondence to: CAI Jian-Hui
Tel: 86-311-87222983
Fax: 86-311-87222989
E-mail: liujin68@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-07-31

修回日期:2006-09-11

[ABSTRACT] **BACKGROUND & OBJECTIVE:** Lymph node micrometastasis in early gastric cancer is being widely discussed. Cytokeratin (CK) staining is an important way to distinguish epithelial cancer cells. This study was to investigate the correlations of epithelial cadherin (E-cad) expression to lymph node micrometastasis, and clinicopathologic features of early gastric cancer, and to evaluate its clinical significance. **METHODS:** Morphology of 4522 lymph nodes from 162 patients with early gastric cancer was observed with HE staining and CK immunostaining. E-cad expression in 135 primary lesions of these patients was detected by immunohistochemistry. The correlations of E-cad expression to clinicopathologic features were analyzed. **RUSULTS:** The detection rate of lymph node metastasis by CK staining was significantly higher than that by HE staining (26.5% vs. 6.8%, $P<0.001$). CK immunostaining detected 32 cases of lymph node micrometastasis which were missed by HE staining. Lymph node micrometastasis was frequently found in primary tumors with a diameter of more than 1.0 cm, in those that were poorly differentiated, deeply invaded (for example, to the submucosa), showed lymphatic or vascular invasion, and in those that showed loss of E-cad expression ($P<0.05$). The reduced expression rate of E-cad in primary tumor was 57.0%, closely correlated to lymph node micrometastasis. The 5-year survival rate was significantly lower in the patients with lymph node micrometastasis than in those without such metastasis (93.6% vs. 100%, $P<0.01$). **CONCLUSION:** Primary tumor more than 1.0 cm in diameter, poor differentiation, deep invasion, lymphatic or vascular invasion, and loss of E-cad expression are risk factors for lymph node metastasis in early gastric cancer.

KEYWORDS: Gastric neoplasm; Lymph node metastasis; Immunohistochemistry; Epithelial cadherin; Cytokeratin

【摘 要】 背景与目的:早期胃癌淋巴结微转移问题日益受到关注,胞浆角蛋白(cytokeratin,CK)染色是识别上皮源性恶性肿瘤细胞的重要方法,本研究拟探讨早期胃癌原发灶上皮钙粘蛋白(epithelial cadherin,E-cad)的表达情况与淋巴结内出现微转移之间的关系及临床意义。方法:用免疫组织化学染色的方法对162例早期胃癌患者的4522枚淋巴结进行苏木精-伊红(HE)和胞浆角蛋白(cytokeratin,CK)染色,并对其中135例患者的原发灶切片进行E-cad染色,结合临床病理资料和随访结果进行分析。结果:HE染色发现的淋巴结转移率为6.8%(11/162),而CK染色发现的淋巴结转移率为26.5%(43/162),二者差异有统计学意义($P<0.001$)。在151例HE染色未见淋巴结转移的患者中通过CK染色发现了32例(21.2%)有淋巴结微转移,且淋巴结微转移多见于原发灶直径大于1.0cm,组织分化不良,肿瘤浸润较深的(如浸及粘膜下层),淋巴管和血管受累,以及E-cad低表达标本($P<0.05$)。原发灶E-cad的低表达率为57.0%(77/135),与淋巴结出现微转移有密切关系,有淋巴结微转移患者的5年生存率比没有微转移者明显低($P<0.01$)。结论:肿瘤直径大于1.0cm,组织

分化不良,较深的浸润,淋巴管或血管受累,以及 E-cad 低表达是早期胃癌患者出现淋巴结转移的高危因素。

关键词:胃肿瘤;淋巴结转移;免疫组织化学;上皮钙粘蛋白;胞浆角蛋白

中图分类号:R735.2 文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2007)05-0541-06

早期胃癌是指无论是否存在淋巴结转移,肿瘤原发灶局限于粘膜层或粘膜下层的胃癌^[1]。随着消化道内镜技术的进步和大屏幕显示器的广泛应用,早期胃癌的诊断日益趋前,术后生存期显著延长,生存率明显提高^[2-4]。虽然施行 D2 淋巴结清扫的胃癌根治术已成为治疗早期胃癌的标准术式^[5,6],但仍有一些不带淋巴结清扫的所谓“低侵袭性”术式被用于治疗某些早期胃癌患者。与 D2 根治术相比,这些针对早期胃癌的低侵袭性手术不但取得了同样好的治疗效果,同时还使患者获得了更好的术后生活质量^[7]。

淋巴结转移是影响早期胃癌患者预后的最重要因素^[8,9],而通过胞浆角蛋白(cytokeratin,CK)免疫组织化学染色的方法则可以发现早期胃癌淋巴结的微转移^[10,11]。上皮钙粘蛋白(epithelial cadherin, E-cad)已被认为在上皮源性恶性肿瘤的转移过程中起重要作用^[12],但 E-cad 在原发灶的表达情况及与早期胃癌淋巴结微转移之间关系的临床意义尚未清楚。术前评估早期胃癌淋巴结受累情况往往非常困难,通过深入研究其淋巴结微转移的临床病理特征,对合理选择术式有着重要指导意义。本研究旨在检测并评估早期胃癌患者原发灶 E-cad 的表达与其淋巴结微转移之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

162 例早期胃癌患者于 1986 年 1 月至 1990 年 12 月间在日本鸟取大学医学部附属病院接受了胃切除术,均得到术后病理证实。其中男性 98 例,女性 64 例,年龄 37~82 岁,中位年龄 63 岁。全部病例术前未经化疗或放疗,全胃切除 19 例(11.7%),远端次全胃切除 126 例(77.8%),近端胃次全切除 15 例(9.3%),胃局部切除 2 例(1.2%)。D1 淋巴清扫 2 例,D2 淋巴清扫 115 例,部分 D3 淋巴清扫 45 例。全部病例术后随访 5 年。

1.2 临床病理资料

临床病理资料采自病案记录,并参照日本胃癌协会(JRSGC)诊断标准第 13 版^[1]进行评价,早期胃

癌指原发灶局限于粘膜层或粘膜下层的胃癌,肿瘤大小取原发灶基底部最大直径,其中肿瘤直径 ≤ 1 cm 的 18 例, $>1\sim 2$ cm 的 41 例, >2 cm 的 103 例;肉眼形态:I 为隆起型 23 例,II 为浅表型 27 例,III 为凹陷型 112 例;组织学类型:分化型 107 例(51 例分化良好,56 例分化程度中等),55 例为分化不良或未分化型。以苏木精-伊红(HE)染色将肿瘤浸润深度分为 3 个亚组:84 例粘膜内癌(肿瘤局限于粘膜内,m-cancer 组),49 例粘膜下癌 1 (肿瘤浸润深度限于粘膜下层的上 2/3,sm1 组),29 例粘膜下癌 2 (肿瘤浸润深度超过粘膜下层 2/3 但未达肌层,sm2 组);其中 15 例有淋巴管侵犯,14 例存在血管侵犯。

1.3 免疫组织化学染色

1.3.1 淋巴结 CK 免疫染色 全组 162 例早期胃癌患者术后标本共采集到 4522 枚淋巴结,平均每例 28 枚(10~61 枚),常规制作标本石蜡块,作 4 μ m 连续切片,分别进行 HE 染色和 CK 免疫组化染色,以 20 例胃良性溃疡患者的每例 2 份共 40 份胃周淋巴结作为正常对照,135 例肿瘤原发灶作为阳性对照。以标准 SAB 免疫组织化学染色法^[13]进行 CK 染色:切片经脱蜡脱水后以 3%双氧水甲醇溶液封闭内生性过氧化物酶的活性,以鼠抗人单克隆抗体 CAM5.2(Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)作为一抗(25 μ g/ml),于 4℃环境中孵育过夜后,将兔抗鼠免疫球蛋白生物素抗体作为第二抗体孵育,再加辣根酶标记的链霉卵白素,并以 DAB 显色,以亚甲蓝进行背景染色,以 PBS 作为阴性对照。

1.3.2 原发灶 E-cad 免疫染色 分别对 162 例患者中的 135 例早期胃癌原发灶组织制备 4 μ m 层厚石蜡切片(另外 27 例由于原发灶的石蜡包埋标本所剩过小而切取失败)。用标准 ABC 免疫组织化学染色法^[14]检测每例标本 E-cad 的表达。切片于脱蜡脱水后在 3%双氧水甲醇溶液中孵化 20 min 以封闭内生性过氧化物酶的活性,以鼠抗人 E-cad 单克隆抗体(Clone HECD-1,1:100 稀释,日本 TaKaRa 公司)作为一抗孵育于摄氏 4℃环境中过夜,将兔抗鼠免疫球蛋白生物素抗体作为第二抗体孵育 45 min,再加 ABC 溶液孵育 30 min (Vectastain ABC 标准免疫组织化学染色试剂盒,美国 VECTOR 实验室),以二氨基联苯胺作为显影剂对切片进行着色,再以苏木精进行复染作为对照染色,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。将每例患者原发灶切片内的部分非癌性胃粘膜细胞的着色情况作为内部阳性对照。

1.4 染色结果的评价

首先由有病理诊断经验的医师对 HE 染色切片进行诊断,判断肿瘤浸润深度及是否存在淋巴结转移,CK 免疫组化切片由其他有经验的医师进行诊断,双方结果进行对比,并结合临床及病理学指标进行综合分析。淋巴结微转移是指:只在 CK 染色中发现,但 HE 染色未能诊断转移的淋巴结内出现肿瘤细胞。将原发灶癌细胞 E-cad 染色情况与临近非癌性胃粘膜细胞染色情况进行比较,按照其在全癌细胞中出现正常染色细胞的百分率将染色情况评定为 0~3 级:无染色为 0 级($<10\%$),出现胞浆弱染色为 1 级,低染色为 2 级($10\%\sim 90\%$),正常染色为 3 级($>90\%$)^[15]。0、1 和 2 级诊断为 E-cad 低表达,3 级为 E-cad 高表达。

1.5 统计学处理

Statview 软件,用卡方检验对临床病理资料以及实验数据的组间差异进行分析,应用 Kaplan-Meier 法对生存率进行统计,以 Wilcoxon's log-rank test 对生存曲线进行组间差别分析,用 Cox's regression model 进行多变量分析, $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结 果

2.1 早期胃癌淋巴结转移情况

162 例中,HE 染色发现的淋巴结转移 11 例(6.8% , $11/162$),其中 84 例粘膜内癌有淋巴结转移的 1 例(1.2% , $1/84$),78 例粘膜下癌淋巴结转移 10 例(12.8% , $10/78$);而 CK 免疫组化染色发现的淋巴转移 43 例(26.5% , $43/162$, $P<0.0001$),其中粘膜内癌的淋巴结转移率为 19.0% ($16/84$),粘膜下癌的淋巴结转移率为 34.6% ($27/78$);在全部 4 522 枚淋巴结中,淋巴结受累率 HE 染色发现的为 0.5% ($22/4\ 522$),而 CK 免疫组化染色发现的为 2.5% ($112/4\ 522$, $P<0.000\ 1$);有 32 例(19.8% , $32/162$) 早期胃癌患者 HE 染色未能诊断,但 CK 免疫组化染色发现淋巴结微转移。16 例 CK 染色发现淋巴结微转移的粘膜内癌中,12 例(75.0%) 其转移癌细胞是以单个或散在的形式存在于淋巴结内;27 例 CK 染色发现淋巴结微转移的粘膜下癌中,19 例(70.4%)其转移癌细胞是以散在或聚集的形式存在(图 1);全部 43 例微转移病例中,19 例(44.2%)属第 2、3 组淋巴结微转移,其中 16 例为第 2 组淋巴结转移,3 例为第 3 组淋巴结转移。在 40 份胃良性溃疡患者的淋巴结内均未

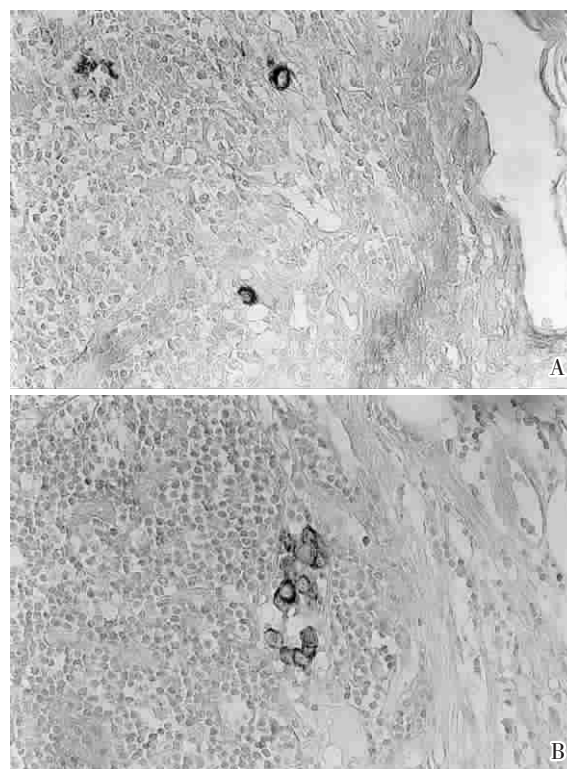


图 1 早期胃癌的淋巴结微转移(CK $\times 200$)

Figure 1 Lymph node micrometastases in early stage gastric cancer (CK $\times 200$)

A: Scattered cancer cells in the lymph node.

B: Clustered cancer cells in the lymph node.

发现 CK 免疫组化染色阳性的细胞。

2.2 淋巴结微转移与肿瘤原发灶大小的关系

我们分析了 43 例通过 CK 免疫组化染色发现淋巴结微转移患者的临床病理特征,发现淋巴结微转移在肿瘤原发灶直径大于 2 cm 时较直径小于 1 cm 时更易发生($P<0.05$);27 例发生微转移的粘膜下癌中,23 例(85.2%)的肿瘤直径大于 2 cm,其他 4 例直径小于或等于 2 cm,且这 4 例中有 3 例为第 2 组淋巴结微转移,1 例为第 1 组淋巴结转移;16 例发生淋巴结微转移的粘膜内癌中,癌细胞均以单个的形式存在于第 1 组淋巴结,其中 6 例(38.0%)肿瘤直径小于或等于 2 cm,而这 6 例中有 5 例的肿瘤直径在 1~2 cm 间。在 43 例发生淋巴结微转移的病例中,肿瘤直径大于 2 cm 的淋巴结中的转移癌细胞主要以散在或聚集的形式而非单个的形式存在,肿瘤分化程度,浸润深度及淋巴管与血管受侵犯情况也与淋巴结转移密切相关($P<0.05$);在 26 例其淋巴结内微转移的癌细胞以散在或聚集形式存在的病例中,16 例(61.5%)其原发灶为分化不良或未分化型肿瘤($P<0.05$);全部 20 例

发生微转移的分化不良或未分化型肿瘤中,12 例(60.0%)表现为第 2 或第 3 组淋巴结的微转移($P<0.05$)。

2.3 早期胃癌的 E-cad 表达情况

对 135 例早期胃癌原发灶切片进行了 E-cad 免疫组织化学染色,与肿瘤组织相连的正常胃粘膜全部表现为 E-cad 的高表达;肿瘤原发灶 E-cad 低表达 77 例(57.0%)(图 2),高表达 58 例;E-cad 的低表达多见于肿瘤直径大于 1 cm ($P<0.05$)、分化不良或未分化型肿瘤($P<0.000\ 1$),肿瘤向深部浸润($P<0.005$),及发生淋巴管和血管侵犯($P<0.05$)时。135 例中有 37 例的淋巴结 CK 染色阳性,其中有 30 例(81.1%)其原发灶组织的 E-cad 低表达($P<0.000\ 5$);无论微转移淋巴结内的癌细胞是以单个,散在还是聚集的形式存在,其原发灶均易出现 E-cad 的低表达;在原发灶 E-cad 低表达的病例中,往往会同时发现更多的微转移淋巴结和更多的第 2、3 组淋巴结微转移(表 1)。

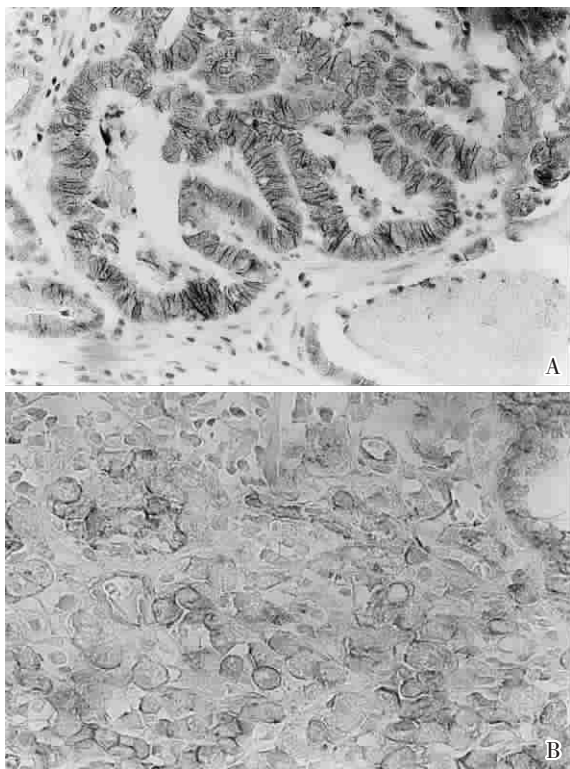


图 2 早期胃癌细胞 E-cad 表达情况(ABC ×200)
Figure 2 Expression of E-cadherin in cell-cell boundaries of early gastric cancer cells (ABC ×200)
A. Preserved expression of E-cadherin in cancerous mucosa of a primary gastric cancer lesion.
B. Loss of expression of E-cadherin in cancerous mucosa of another primary gastric cancer lesion.

表 1 135 例早期胃癌患者原发灶 E-cad 表达与淋巴结转移情况之间的关系

Table 1 Correlation of E-cadherin expression to lymph node metastases in the 135 patients with early gastric cancer			
Lymph node involvement	Cases	Loss of E-cad expression [cases (%)]	<i>P</i>
Features of involvement			
Negative	98	47(47.9)	<0.001
Single or scattered cells	26	19(73.1)	
Clusters of cells	11	11(100)	
Location of involvement			
Group 1	22	16(72.7)	<0.01
Group 2 or 3	15	14(93.3)	
Number of CK-positive nodes			
1	13	9(69.2)	<0.01
2-3	17	14(82.4)	
≥4	7	7(100)	

2.4 早期胃癌患者的预后

本组 162 例患者的 5 年生存率为 97.5%;4 例死于术后复发(1 例肝转移,3 例腹膜和淋巴结转移),其中 2 例术后 HE 染色已诊断了淋巴结转移,另 2 例术后 HE 染色诊断为未见淋巴结转移,经 CK 免疫组化染色发现了微转移。本组 162 例中,119 例经 HE 染色和 CK 免疫组化染色均未发现淋巴结转移,他们的 5 年生存率为 100%;11 例经 HE 染色发现淋巴结转移的病例,其 5 年生存率为 81.8%;其余 32 例为 HE 染色未发现而经 CK 免疫组化染色发现淋巴结微转移者,5 年生存率为 93.6%,彼此间差异有统计学意义($P<0.01$,图 3)。

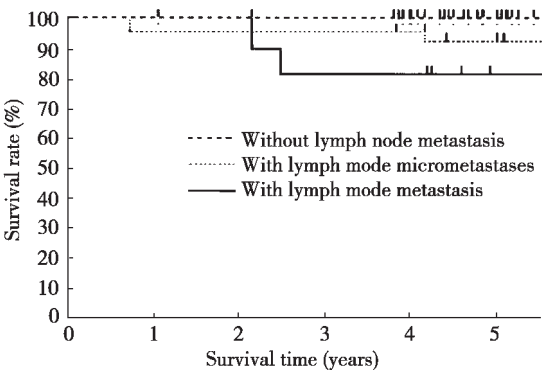


图 3 162 例早期胃癌患者的 5 年生存曲线
Figure 3 Survival curves of the 162 patients with early gastric cancer

通过多变量分析发现: 原发灶淋巴管受侵犯情况和 E-cad 表达情况可以成为对淋巴结 CK 免疫组化染色情况的独立判断因素 ($P<0.05$, 表 2); 多变量生存分析表明: 原发灶的肉眼病理类型及溃疡是否形成可以成为独立的预后因素 ($P<0.05$), 而淋巴管受侵犯情况不能作为独立的预后因素。

表 2 CK 免疫组化染色检测淋巴结转移的相关风险因子的多变量分析

Table 2 Logistic regression multivariate analysis of risk factors associated with lymph node metastasis detected by CK immunostaining

Variable	Regression coefficient	P
Macroscopic type (elevated, depressed)	0.061	0.489
Ulceration (negative, positive)	0.123	0.284
Histological type (differentiated, undifferentiated)	0.107	0.214
Depth of invasion (mucosal, submucosal)	0.100	0.224
Lymphatic invasion (negative, positive)	0.394	0.010
Vascular invasion (negative, positive)	0.041	0.775
Expression of E-cad (preserved, loss)	0.222	0.006

3 讨 论

肿瘤较大, 淋巴管受侵犯及粘膜下深度浸润是胃癌淋巴结转移的高危因素已得到共识^[2,3], 但本研究发现, 除上述 3 个因素以外, 血管受侵犯和肿瘤分化不良也是早期胃癌出现淋巴结转移的高危因素。以传统观点来看, 肿瘤直径小于 2 cm 时发生淋巴结转移的几率很小^[2,6]。我们的研究也发现肿瘤直径大于 2 cm 时更易出现淋巴结转移, 而且大多数转移淋巴结内的癌细胞是以聚集的形式存在。但本研究也同时发现, 肿瘤直径为 1.0~2 cm 之间的 5 例粘膜内癌和 4 例粘膜下癌的淋巴结有单个或散在的转移癌细胞。

一个有趣的现象是 5 例发生微转移的粘膜内癌均为第 1 组淋巴结的转移, 而 4 例发生微转移的粘膜下癌中, 有 3 例出现了第 2 甚至第 3 组淋巴结的转移。这一发现与 Yasuda 等^[16]的研究很相似, 他们提出肿瘤直径在 1~2 cm 之间时存在淋巴结转移的可能。这些发现说明: 当早期胃癌原发灶直径大于 1 cm 时, 就已存在淋巴结转移的危险。

当胃癌原发灶出现深部浸润性生长和淋巴管受侵犯时更易出现淋巴结转移的观点已被广泛接受^[17,18], 本研究通过 CK 免疫组化染色发现的淋巴结受累率在粘膜内癌为 19.0%, 在粘膜下癌为 34.6%, 且大多数粘膜内癌的淋巴结微转移表现为

单个或散在的癌细胞, 而大多数粘膜下癌的淋巴结微转移表现为散在或聚集的癌细胞, 这一现象似乎表明肿瘤浸润深度越深, 淋巴结内转移的癌细胞可能就越多。本研究中存在淋巴管侵犯的患者中, 66.7% 在淋巴结内发现了微转移的存在, 多变量分析亦显示淋巴管受侵犯情况可以作为一个判断淋巴结是否存在微转移的独立风险因素。胃壁粘膜下层内存在大量淋巴管网是导致胃癌发生淋巴结转移的重要原因之一^[17,19], 当肿瘤细胞侵入粘膜下层时就易于进入粘膜下层内丰富的淋巴管网, 进而向更远的淋巴结转移。由于向粘膜下层侵犯较深的胃癌存在较高的淋巴结转移风险, 所以我们认为应对这部分患者施行淋巴结清扫术。

E-cad 基因一般被认为是一种转移抑制基因^[12,20], 它在保持上皮组织正常结构方面发挥重要作用, 其低表达说明肿瘤存在发生转移的潜在危险^[21,22]。为了评估 E-cad 的表达与早期胃癌微转移之间的关系, E-cad 免疫组化染色发现在与癌组织相连的正常胃粘膜 E-cad 均高表达, 与 Bolk 等^[23]的发现相似, 有 57.0% 的原发灶癌组织出现了 E-cad 的低表达, 肿瘤分化差, 侵犯胃壁深, 肿瘤直径大于 1.0 cm, 及肿瘤侵犯淋巴管和血管, E-cad 的低表达均较多见, 且上述所有因素都与通过 CK 免疫组化染色诊断微转移之间存在着密切的相关性。45 例分化不良或未分化型早期胃癌, 40 例 (88.9%) 出现了 E-cad 的低表达, 这 40 例中出现的淋巴结转移多属于第 2 或第 3 组淋巴结, 且癌细胞在转移淋巴结内多以聚集的形式存在。通过 CK 染色发现淋巴结微转移的患者中, 81.1% 存在 E-cad 的低表达, 而 E-cad 低表达显然可以导致其转移抑制作用的丧失, 从而使肿瘤细胞更易于从原发灶脱落, 进一步促进肿瘤向淋巴结的转移^[20,22]。我们与其他一些研究者的相似发现是: E-cad 的低表达可能是早期胃癌发生淋巴结转移的重要危险因素之一^[24,25]。

本研究中 43 例淋巴结 CK 染色阳性的早期胃癌, 28 例 (65.1%) 表现了微转移淋巴结内癌细胞以单个或散在的形式存在, 虽然尚无法确定这些单个或散在的癌细胞在淋巴结内究竟是继续生长, 还是将被机体的免疫防御系统清除^[10]。但一个令人感兴趣的现象是在那些淋巴结内存在单个或散在转移癌细胞的病例中, 73.1% 的病例其肿瘤原发灶为 E-cad 的低表达, 多变量分析也显示原发灶 E-cad 的低表达是淋巴结内以单个或散在形式存

在微转移的一个独立高危因素。通过生存分析发现,那些存在淋巴结微转移的早期胃癌患者,5年生存率要显著小于那些没有微转移者,这说明尽管仅仅是淋巴结内出现了单个或散在癌细胞的微转移,但却可能造成与淋巴结内以聚集形式出现转移癌细胞时一样的结果,同样会对患者的5年生存率产生不良影响。

近年来倾向于对一些早期胃癌患者施行胃镜下粘膜切除或腹腔镜胃壁部分切除等微创性手术,根据本研究结果,我们认为,胃镜下粘膜切除或腹腔镜胃壁部分切除仅适用于肿瘤直径小于1 cm的胃粘膜癌患者,因为这部分患者出现淋巴结转移的情况较罕见;如肿瘤直径在1~2 cm之间则需进行D1淋巴结清扫,因为这部分患者很少会出现第2,3组的淋巴结转移;肿瘤直径大于2 cm的胃粘膜癌患者及所有粘膜下癌患者,均应施行D2甚至选择性D3淋巴结清扫,因为这部分患者往往存在第2组,甚至是第3组淋巴结已发生微转移的潜在危险。术前胃镜下组织活检及E-cad免疫组织化学染色将有助于在术前评估早期胃癌患者的淋巴结受累情况。

[参 考 文 献]

- [1] Aikou T, Hokita S, Natsugoe S. Japanese classification of gastric carcinoma (the 13th edition, June 1999): points to be revised [J]. *Nippon Rinsho*, 2001,59(Suppl 4):159-165.
- [2] Abe N, Sugiyama M, Masaki T, et al. Predictive factors for lymph node metastasis of differentiated submucosally invasive gastric cancer [J]. *Gastrointest Endosc*, 2004,60(2):242-245.
- [3] Katai H, Sano T. Early gastric cancer: concepts, diagnosis, and management [J]. *Int J Clin Oncol*, 2005,10(6):375-383.
- [4] Custureri F, D'Orazi V, Peparini N, et al. Choice of the surgical treatment in early gastric cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2004,51(58):1210-1214.
- [5] Isozaki H, Tanaka N, Okajima K. General and specific prognostic factors of early gastric carcinoma treated with curative surgery [J]. *Hepatogastroenterology*, 1999,46(27):1800-1808.
- [6] Yamamoto H, Kita H. Endoscopic therapy of early gastric cancer [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2005,19(6):909-926.
- [7] Kunisaki C, Akiyama H, Nomura M, et al. Clinicopathologic characteristics and surgical outcomes of mucinous gastric carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2006,13(6):836-842.
- [8] Shen K H, Wu C W, Lo S S, et al. Factors correlated with number of metastatic lymph nodes in gastric cancer [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999,94(1):104-108.
- [9] Kunisaki C, Akiyama H, Nomura M, et al. Significance of long-term follow-up of early gastric cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2006,13(3):363-369.
- [10] Morgagni P, Saragoni L, Scarpi E, et al. Lymph node micrometastases in early gastric cancer and their impact on prognosis [J]. *World J Surg*, 2003,27(5):558-561.
- [11] Cai J, Ikeguchi M, Maeta M, et al. Clinicopathological value of immunohistochemical detection of occult involvement in pT3N0 gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 1999,2(2):95-100.
- [12] Zhou Y N, Xu C P, Han B, et al. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival [J]. *World J Gastroenterol*, 2002,8(6):987-993.
- [13] Kazama S, Watanabe T, Ajioka Y, et al. Tumour budding at the deepest invasive margin correlates with lymph node metastasis in submucosal colorectal cancer detected by anticytokeratin antibody CAM5.2 [J]. *Br J Cancer*, 2006,94(2):293-298.
- [14] Brathauer G L. The avidin-biotin complex (ABC) method [J]. *Methods Mol Biol*, 1994,34:175-184.
- [15] Wu C Y, Chen J T, Chen G H, et al. Lymph node metastasis in early gastric cancer: a clinicopathological analysis [J]. *Hepatogastroenterology*, 2002,49(47):1465-1468.
- [16] Yasuda K, Shiraishi N, Suematsu T, et al. Rate of detection of lymph node metastasis is correlated with the depth of submucosal invasion in early stage gastric carcinoma [J]. *Cancer*, 1999,85(10):2119-2123.
- [17] Endo K, Kohnoe S, Okamura T, et al. Evaluation of endoscopic mucosal resection and nodal micrometastasis in pN0 submucosal gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2005,13(6):1059-1063.
- [18] Son H J, Song S Y, Kim S, et al. Characteristics of submucosal gastric carcinoma with lymph node metastatic disease [J]. *Histopathology*, 2005,46(2):158-165.
- [19] Ishigami S, Natsugoe S, Hokita S, et al. Carcinomatous lymphatic invasion in early gastric cancer invading into the submucosa [J]. *Ann Surg Oncol*, 1999,6(3):286-289.
- [20] Chen H C, Chu R Y, Hsu P N, et al. Loss of E-cadherin expression correlates with poor differentiation and invasion into adjacent organs in gastric adenocarcinomas [J]. *Cancer Lett*, 2003,201(1):97-106.
- [21] Liu J, Ikeguchi M, Nakamura S, et al. Re-expression of the cadherin-catenin complex in lymph nodes with metastasis in advanced gastric cancer: the relationship with patient survival [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2002,21(1):65-71.
- [22] Hirohashi S, Kanai Y. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis [J]. *Cancer Sci*, 2003,94(7):575-581.
- [23] Blok P, Craanen M E, Dekker W, et al. Loss of E-cadherin expression in early gastric cancer [J]. *Histopathology*, 1999,34(5):410-415.
- [24] Wu Z Y, Zhan W H, Li J H, et al. Expression of E-cadherin in gastric carcinoma and its correlation with lymph node micrometastasis [J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(20):3139-3143.
- [25] Ramesh S, Nash J, McCulloch P G. Reduction in membranous expression of beta-catenin and increased cytoplasmic E-cadherin expression predict poor survival in gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 1999,81(8):1392-1397.

[编辑及校对:杨允贵]