·临床研究·

细支气管肺泡癌与其它肺腺癌复发转移特性的比较

钟小军[1,2]， 李道堂[3]， 李秀玲[4]， 穆殿斌[5]， 张兴国[3]， 罗景玉[3]

Comparison of the Characteristics in Recurrence and Metastasis between Bronchioloalveolar Carcinoma and Other Lung Adenocarcinomas

ZHONG Xiao-Jun[1,2], LI Dao-Tang[3], LI Xiu-Ling[4], MU Dian-Bin[5], ZHANG Xing-Guo[3], LUO Jing-Yu[3]

1. 天津医科大学研究生院，天津 300070
2. 山东省肿瘤医院，放二科，
3. 山东省肿瘤医院胸外科，
4. 山东省肿瘤医院放三科，
5. 山东省肿瘤医院病理科，山东 济南 250117

1. Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin, 300070, P. R. China
2. The Second Department of Radiation Oncology, Shandong Provincial Tumor Hospital, Jinan, Shandong, 250117, P. R. China
3. Department of Thoracic Surgery, Shandong Provincial Tumor Hospital, Jinan, Shandong, 250117, P. R. China
4. The Third Department of Radiation Oncology, Shandong Provincial Tumor Hospital, Jinan, Shandong, 250117, P. R. China
5. Department of Pathology, Shandong Provincial Tumor Hospital, Jinan, Shandong, 250117, P. R. China

通讯作者：李道堂
Correspondence to: LI Dao-Tang
Tel：86-531-87514127
Fax：86-531-87984079
E-mail：ldt2207@163.com

收稿日期：2006-08-16
修回日期：2007-03-05

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: The histological definition of bronchioloalveolar carcinoma (BAC) has been changed recently by the revised World Health Organization (WHO) classification. Although bronchioloalveolar carcinoma is a subtype of lung adenocarcinoma, its biological features are better than those of other lung adenocarcinomas. This study was to analyze differences in metastatic activity between bronchioloalveolar carcinoma and other lung adenocarcinomas. METHODS: The expression of E-Cadherin, Collagen Ⅳ, vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in 28 specimens of stage Ⅰ bronchioloalveolar carcinoma confirmed pathologically and 40 specimens of other stage Ⅰ lung adenocarcinomas were detected by immunohistochemistry. Their correlations to tumor recurrence and metastasis were analyzed. RESULTS: The 5-year survival rate was significantly higher in ths patients with bronchioloalveolar carcinoma than in the patients with other lung adenocarcinomas (88.7% vs. 57.3%, $P < 0.05$). The intrathoracic recurrence rate was significantly higher and the extrathoracic metastasis rate was significantly lower in the patients with bronchioloalveolar carcinoma than in the patients with other lung adenocarcinomas (75% vs. 33.3%, 25% vs. 66.7%, $P < 0.05$). The positive rates of Collagen Ⅳ, E-Cadherin and TIMP-1 were significantly higher in bronchioloalveolar carcinoma than in other lung adenocarcinomas (78.6% vs. 42.5%, 78.6% vs. 40.0%, 67.5% vs. 42.9%, all $P < 0.01$). The positive rate of VEGFR-2 was significantly higher in other lung adenocarcinomas than in bronchioloalveolar carcinoma (85.7% vs. 77.5%, $P < 0.05$). There was no significant difference in the positive rate of MMP-9 between bronchioloalveolar carcinoma and other lung adenocarcinomas (85.0% vs. 78.6%, $P = 0.494$). CONCLUSION: As compared with other lung adenocarcinomas, stage Ⅰ bronchioloalveolar carcinoma is less aggressive in clinical behavior and likely to develop intrathoracic recurrence, with less extrathoracic metastases and better prognosis.

KEYWORDS: Lung neoplasm; Adenocarcinoma; Bronchioloalveolar carcinoma; Recurrence; Metastasis; Immunohistochemistry

【摘 要】 背景与目的：WHO 对细支气管肺泡癌(bronchioloalveolar carcinoma，BAC)进行了严格定义，虽然它是肺腺癌的一个亚型，但研究显示新定义后的细支气管肺泡癌生物学特性好于其它类型肺腺癌。本研究探讨新定义后的细支气管肺泡癌和其它肺腺癌在复发转移特性的区别，及转移相关因子的表达情况。方法：采用免疫组织化学 SP 法对 28 例病理确诊的Ⅰ期细支气管肺泡癌和 40 例Ⅰ期其它肺腺癌标本进行上皮型钙粘附蛋白(E-Cadherin)、Ⅳ型胶原

(Collagen Ⅳ)、血管内皮生长因子受体-2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和组织基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1)检测,并分析它们的表达与患者复发转移的关系。结果:Ⅰ期细支气管肺泡癌5年生存率为88.7%,其它肺腺癌为57.3%($P<0.05$);胸内复发在细支气管肺泡癌和其它肺腺癌的比例为75.0%和33.3%,胸外转移的比例为25.0%和66.7%($P<0.05$)。Collagen Ⅳ、E-Cadherin、TIMP-1在细支气管肺泡癌中的阳性率高于其它肺腺癌,分别是78.6%和42.5%、78.6%和40.0%、67.5%和42.9%($P<0.01$);VEGFR-2在其它肺腺癌的阳性率高于细支气管肺泡癌(85.7% vs 77.5%, $P<0.05$);MMP-9在两组间的表达差异无统计学意义(85.0% vs 78.6%, $P=0.494$)。结论:Ⅰ期细支气管肺泡癌与其它肺腺癌相比具有更低的转移倾向,更易出现胸内复发,而其它肺腺癌易于发生远处转移。Ⅰ期细支气管肺泡癌预后好于其它肺腺癌。

关键词:肺肿瘤;腺癌;细支气管肺泡癌;复发;转移;免疫组化
中图分类号:R734.2 文献标识码:A
文章编号:1000-467X(2007)07-0785-05

细支气管肺泡癌(bronchioloalveolar carcinoma, BAC)是肺腺癌的一种特殊类型,采用2004年版的WHO肺癌分类标准[1]对过去诊断的细支气管肺泡癌病例,有部分很可能诊断为肺腺癌。研究显示细支气管肺泡癌的生物学特性有别于其它的肺腺癌亚型,其转移以肺内扩散为主,很少发生肺外转移,而其它肺腺癌则多发生肺外转移[2],其预后明显好于其它肺腺癌[3]。本研究探讨新定义后的细支气管肺泡癌和其它肺腺癌在复发转移特性方面的差别。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集1990年1月至2004年7月间在山东省肿瘤医院接受手术治疗的肺癌病例石蜡标本,排除术前有抗肿瘤治疗史,术后病理诊断为细支气管肺泡癌的病例127例。采用新的WHO肺癌分类标准,由有经验的两名病理医师对这些病例盲法重新阅读病理切片,结合术中描述及病理以排除胸膜和淋巴结转移,最后确诊为Ⅰ期细支气管肺泡癌28例,并取同期手术的Ⅰ期其它肺腺癌40例(不含细支气管肺泡癌成分)进行比较。细支气管肺泡癌、其它肺腺癌临床资料见表1。两组发病年龄、性别构成比、吸烟史差异均无统计学意义,两组具有可比性($P>0.05$)。

表1 28例细支气管肺泡癌和40例其它肺腺癌临床资料
Table 1 Characteristics of the 28 patients with bronchioloalveolar carcinoma (BAC) and the 40 patients with other lung adenocarcinomas [cases (%)]

Item	BAC	Other adenocarcinomas
Median age (years)	60	57
Sex		
Male	14(50.0)	15(37.5)
Female	14(50.0)	25(62.5)
Smoking history		
Non-smokers	15(53.6)	19(47.5)
Smokers	13(46.4)	21(52.5)

1.2 主要试剂和检测方法

MMP-9、E-Cadherin和Collagen Ⅳ一抗为鼠抗人单抗,TIMP-1和VEGFR-2一抗为兔抗人多抗,SP即用型试剂盒。所有试剂均购自福建迈新试剂公司。将标本制成4 μm厚连续石蜡切片,采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶连接(SP)免疫组织化学方法,行DAB染色。用已知阳性片作阳性对照,PBS代替一抗作为阴性对照。染色步骤按产品说明书进行。

1.3 结果判断

光学显微镜下评估染色结果,每张切片至少观察5高倍视野,评价标准:Collagen Ⅳ表现为棕黄色线性结构位于细胞外;VEGFR-2以胞浆着棕黄染色为阳性细胞;E-cadherin、MMP-9和TIMP-1阳性细胞胞浆/胞膜着色呈棕黄色。分为4级:(-)阳性细胞数<5%;(+)阳性细胞数5%~25%;(++)阳性细胞数26%~50%;(+++)阳性细胞数超过50%。

1.4 随访

患者的随访采用病历跟踪,电话随访及信件随访的方式;随访时间从手术日开始到死亡(或最近一次随访),随访截止日期为2006年6月30日。

1.5 统计学方法

采用SPSS 10.0软件作统计分析;可行性比较采用Fisher精确检验;各指标表达采用等级资料的秩和检验;生存分析采用Kaplan-Meier法,以log-rank法检验;Spearman相关分析;显著性检验水准$\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 免疫组化检测结果

Collagen Ⅳ在其它肺腺癌表达的连续性明显低于细支气管肺泡癌，多呈断续状，间质薄，且染色较浅。细支气管肺泡癌中 Collagen Ⅳ的表达连续，浓染，肺泡间质未破坏，有些病例可见肺泡间质明显增厚（图 1）。Collagen Ⅳ在细支气管肺泡癌中的阳性率（78.6%）高于其它肺腺癌（42.5%）（$P<0.01$）。

E-Cadherin 表达在肿瘤细胞的胞膜和胞浆（图 2），在细支气管肺泡癌中表达强度、阳性率明显大于其它肺腺癌（78.6% vs 40.0%，$P<0.01$）。

VEGFR-2 主要在间质和毛细血管中表达（图 3）。VEGFR-2 在其它肺腺癌中的阳性率高于细支气管肺泡癌分别为 85.7%和 77.5%（$P<0.05$）。

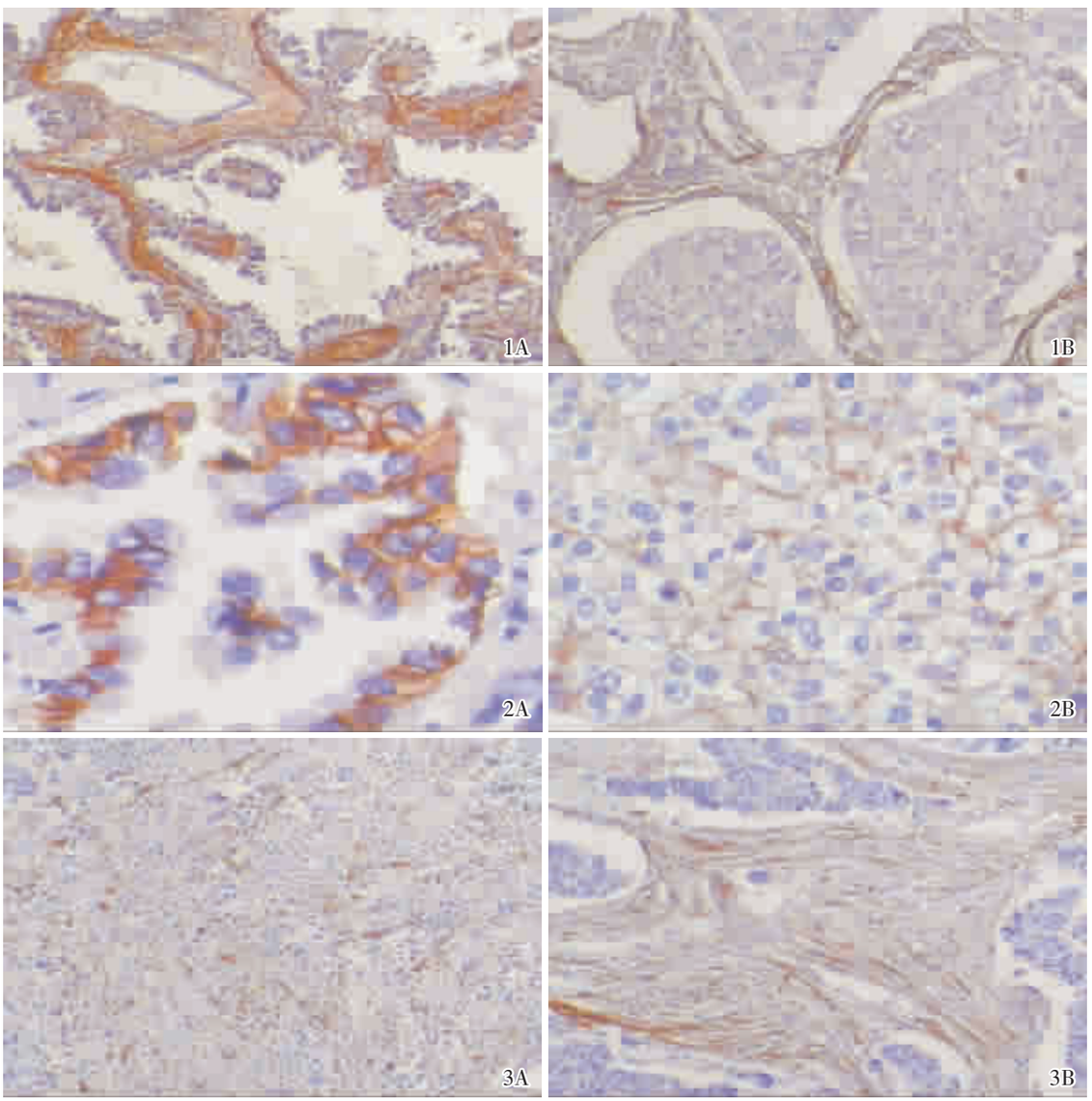


图 1 Ⅳ型胶原在肺癌组织中的表达（SP ×200） **图 2** E-cadherin 在肺癌组织中的表达（SP ×400）
图 3 VEGFR-2 在肺腺癌中的表达（SP ×200）

Figure 1 Expression of Collagen Ⅳ protein in lung cancer (SP ×200)
A: The expression of Collagen Ⅳ in bronchioloalveolar carcinoma is intact and thick.
B: The expression of Collagen Ⅳ in solid adenocarcinoma with mucin production is destroyed and broken.
Figure 2 Expression of E-cadherin protein in lung cancer (SP ×400)
A: E-cadherin protein is expressed in the cytoplasm and on the membrane of bronchioloalveolar carcinoma cells.
B: E-cadherin protein is weakly expressed in clear cell adenocarcinoma.
Figure 3 Expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) protein in lung adenocarcinoma (SP ×200)
A: VEGFR-2 protein is expressed in the mesenchyme of grade Ⅲ adenocarcinoma.
B: VEGFR-2 protein is expressed in the mesenchyme of grade Ⅲ acinar adenocarcinoma.

MMP-9 的表达部位主要是癌细胞和癌周间质细胞，位于胞浆内，在癌细胞内表达强，间质细胞表达弱（图 4）。MMP-9 在其它肺腺癌和细支气管肺泡癌中的阳性率差异无统计学意义（85.0% vs 78.6%，$P=0.494$）。

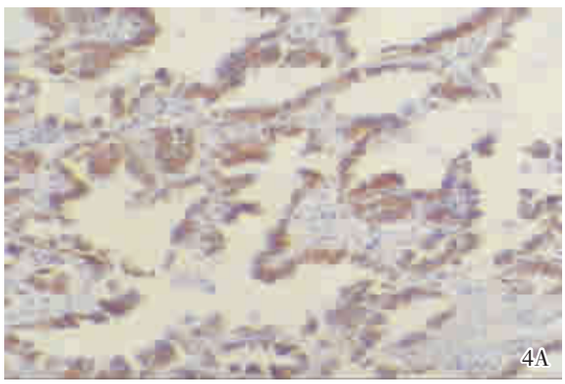
TIMP-1 主要在癌细胞和间质细胞的胞浆内表达，癌细胞表达较强，而间质表达较弱（图 5）。TIMP-1 在其它肺腺癌的表达低于细支气管肺泡癌（42.9% vs 67.5% $P<0.01$）。

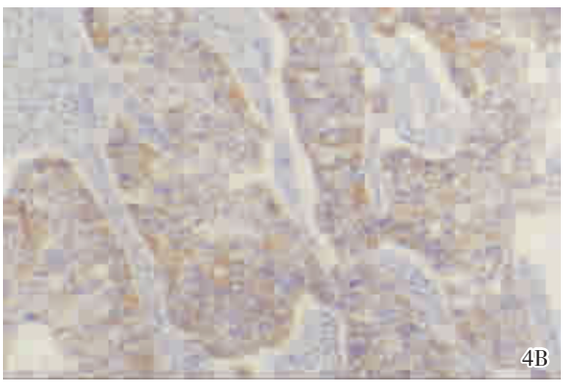
2.2 生存率

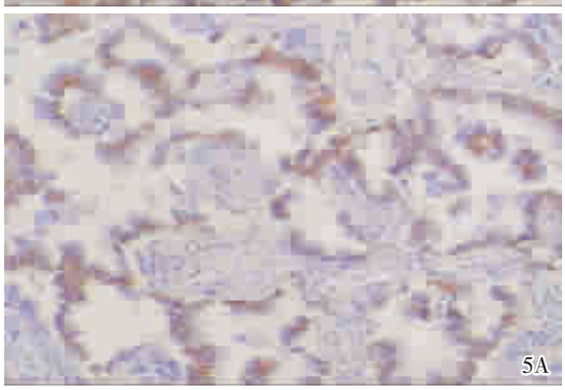
本组细支气管肺泡癌术后 5 年生存率为 88.7%，而其它肺腺癌术后 5 年生存率为 57.3%（$P<0.05$）。

2.3 复发转移情况

本组细支气管肺泡癌术后以胸内复发为主，8 例复发患者中有 6 例复发发生在胸内（75.0%），其中肺内复发为主；其它肺腺癌术后有 21 例复发，胸内复发仅有 33.3%，而胸外转移多见（14 例，66.7%）（$P<0.05$），主要见于骨、脑和肝脏（表 2）。







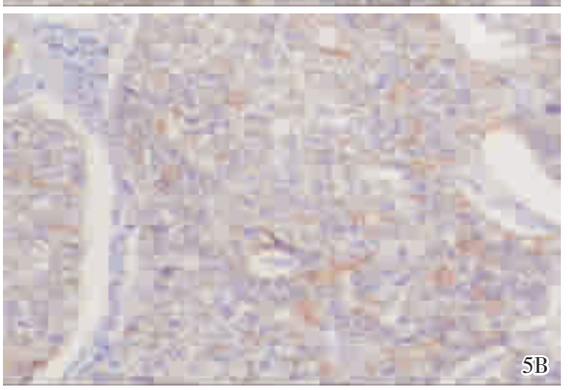


图 4 MMP-9 在肺癌组织中的表达（SP ×200） 图 5 TIMP-1 在肺癌组织中的表达（SP ×200）

Figure 4 Expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) protein in lung cancer (SP ×200)
A: MMP-9 protein is expressed in the cytoplasm and on the membrane of bronchioloalveolar carcinoma cells.
B: MMP-9 protein is expressed in solid adenocarcinoma with mucin production.
Figure 5 Expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) protein in lung cancer (SP ×200)
A: TIMP-1 protein is expressed in the cytoplasm and on the membrane of bronchioloalveolar carcinoma cells.
B: TIMP-1 protein is mainly expressed on the membrane of solid adenocarcinoma cells with mucin production.

表 2 8 例细支气管肺泡癌和 21 例其它肺腺癌转移部位

Table 2 Metastasis sites of 8 cases of BAC and 21 cases of other lung adenocarcinomas [cases (%)]

Site	BAC	Other adenocarcinomas
Intrathoracic recurrence	6(75.0)	7(33.3)
Lung	5(62.5)	3(14.3)
Mediastinum	1(12.5)	4(19.0)
Extrathoracic metastases	2(25.0)	14(66.7)
Bone	1(12.5)	7(33.3)
Brain	1(12.5)	4(19.0)
Liver	0 (0)	2 (9.5)
Others	0 (0)	1 (4.8)

相关分析未见各转移因子（E-Cadherin、Collagen Ⅳ、VEGFR-2、MMP-9、TIMP-1）与胸内/外转移相关（$P>0.05$）。

3 讨 论

2004 年版 WHO 细支气管肺泡癌诊断标准[1]定义为：肺腺癌中除基质、血管或胸膜侵犯的独特的支气管肺泡生长特性的亚型。基于新的分类标准，如果具有胸内淋巴结、胸膜肺外转移及肿瘤的坏死的肺腺癌特征，则可排除细支气管肺泡癌的

诊断,因此,细支气管肺泡癌的诊断只能在外科完整切除,病理阅片后才能作出。影像学、穿刺活检、细胞学等方法不能排除肿瘤侵犯血管、基质,因而不能作出细支气管肺泡癌诊断[4]。根据新标准,可以把细支气管肺泡癌理解为非侵袭性肿瘤,本组随访资料证实手术切除的早期细支气管肺泡癌预后良好,这与文献报道相符[5]。可见外科切除在细支气管肺泡癌的诊断和治疗方面都有重要意义。

本研究发现细支气管肺泡癌的复发转移发生在胸内为多,与其它肺腺癌易于远处转移的特性不同。与 Gaeta 等[6]的报道相符。肿瘤侵袭转移是一个多步骤、序贯的复杂过程,其中原发瘤的血管化、肿瘤细胞脱离原发瘤、对基底膜和其它细胞基质的降解,是肿瘤转移的重要步骤。为探讨细支气管肺泡癌和其它肺腺癌之间不同复发转移特性的原因,我们采用免疫组化方法检测了在这个过程中起了重要作用的几个相关因子:Ⅳ型胶原(Collagen Ⅳ)、上皮型钙粘附蛋白(E-Cadherin)、血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)、基质金属蛋白酶及其组织抑制因子(MMP-9 和 TIMP-1)。其中 Collagen Ⅳ作为基底膜的主要成分,能限制癌的浸润和转移;E-Cadherin 是介导细胞间及细胞与细胞外基质粘附的主要分子;VEGFR-2 在肿瘤血管的形成中起重要作用;MMP-9 和 TIMP-1 和细胞外基质和基底膜的降解有关[7-10]。结果显示肿瘤转移的抑制因子 Collagen Ⅳ、E-Cadherin、TIMP-1 在细支气管肺泡癌中表达高,转移的促进因子 VEGFR-2 在肺腺癌表达高。但统计检验发现它们与复发转移的方式不相关。由于复发转移是许多因素控制的,这些因子并不能起决定性作用。

细支气管肺泡癌分为三种临床类型:孤立结节型、多发结节型和肺炎型,本研究中均为孤立结节型,且病例数较少,具有一定的局限性。

目前,有的作者[3]将 WHO 新分类后的细支气管肺泡癌称为纯粹的细支气管肺泡癌(pure bronchioloalveolar carcinoma)。而被新标准排除细支气管肺泡癌诊断的病例,只能诊断为含有细支气管肺泡癌成分的混合型肺腺癌,这类混合型肺腺癌在临床出现的几率远大于纯粹的细支气管肺泡癌,它的生物学特性与纯粹的细支气管肺泡癌有何差别,与其它类型的肺腺癌有何差别还需要更多的研究证实。

[参 考 文 献]

[1] Beasley M B, Brambilla E, Travis W D. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors [J]. Semin Roentgenol, 2005,40(2):90-97.

[2] 张灿斌,徐中一,张 克. Ⅰ期细支气管肺泡癌和腺癌的临床对比分析 [J]. 中国肿瘤临床, 2004,31(1):33-35.

[3] Sakurai H, Dobashi Y, Mizutani E, et al. Bronchioloalveolar carcinoma of the lung 3 centimeters or less in diameter: a prognostic assessment [J]. Ann Thorac Surg, 2004,78(5):1728-1733.

[4] Travis W D, Garg K, Franklin W A, et al. Evolving concepts in the pathology and computed tomography imaging of lung adenocarcinoma and bronchioloalveolar carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2005,23(14):3279-3287.

[5] 林志潮,龙 浩,戎铁华,等. 130 例细支气管肺泡癌外科治疗疗效分析 [J]. 癌症, 2006,25(9):1123-1126.

[6] Gaeta M, Blandino A, Pergolizzi S, et al. Patterns of recurrence of bronchioloalveolar cell carcinoma after surgical resection: a radiological, histological, and immunohistochemical study [J]. Lung Cancer, 2003,42(3):319-326.

[7] Matsuo Y, Hashimoto S, Koga T, et al. Growth pattern correlates with the distribution of basement membrane and prognosis in lung adenocarcinoma [J]. Pathol Res Pract, 2004,200(7-8):517-529.

[8] Behrens J. Cadherins and catenins: role in signal transduction and tumor progression [J]. Cancer Metastasis Rev, 1999,18(1):15-30.

[9] Bremnes R M, Veve R, Hirsch F R, et al. The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer [J]. Lung Cancer, 2002,36(2):115-124.

[10] Reynolds A R, Reynolds L E, Nagel T E, et al. Elevated Flk1 (vascular endothelial growth factor receptor 2) signaling mediates enhanced angiogenesis in beta3-integrin-deficient mice [J]. Cancer Res, 2004,64(23):8643-8650.

[编辑:钟均行;校对:杨允贵]