

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00672

早期肾癌腹腔镜肾部分切除术安全切除边距的选择

沈弋桢¹, 郑军华^{2*}, 于观贞³, 高 轶¹, 闵志廉¹

1. 第二军医大学长征医院泌尿外科, 上海 200003
2. 同济大学附属上海市第十人民医院泌尿外科, 上海 200072
3. 第二军医大学长征医院肿瘤科, 上海 200003

[摘要] **目的:**观察早期肾透明细胞癌及癌旁 0.5、1.0、2.0 cm 组织上皮膜抗原(epithelial membrane antigen, EMA)、肾细胞癌标志物(renal cell carcinoma marker, RCC-Ma)的表达差异,初步探讨早期肾癌行肾部分切除术时的安全切除边距。**方法:**构建包含 44 例早期肾透明细胞癌及癌旁 0.5、1.0、2.0 cm 肾皮质的组织芯片,采用免疫组化染色分别观察癌及癌旁(距肿瘤边缘 0.5、1.0、2.0 cm)组织 EMA、RCC-Ma 的表达差异。**结果:**EMA、RCC-Ma 在癌及癌旁组织均为细胞膜和(或)胞质染色。癌组织 EMA 和 RCC-Ma 强阳性表达率明显高于癌旁组织各组(15.91%/18.18% vs 84.09%/79.55%、86.36%/77.27%、79.55%/75.00%, $P < 0.01$);而癌旁组织各组(距肿瘤边缘 0.5、1.0、2.0 cm)间差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**0.5 cm 可能是早期肾透明细胞癌腹腔镜肾部分切除术安全的切除边距。

[关键词] 上皮膜抗原;肾细胞癌标志物;肾肿瘤;组织芯片;肾切除术

[中图分类号] R 737.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)06-0672-04

Determination of safe margin of laparoscopic partial nephrectomy for early renal carcinoma

SHEN Yi-zhen¹, ZHENG Jun-hua^{2*}, YU Guan-zhen³, GAO Yi¹, MIN Zhi-lian¹

1. Department of Urology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China
2. Department of Urology, The 10th People's Hospital of Shanghai, Tongji University, Shanghai 200072
3. Department of Oncology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the differential expression of epithelial membrane antigen (EMA) and renal cell carcinoma marker (RCC-Ma) in early renal carcinoma and corresponding adjacent (0.5, 1.0, and 2.0 cm) tissues, so as to estimate the safe margin of laparoscopic partial nephrectomy for renal tumors. **Methods:** Tissue microarrays, including 44 tissues of clear cell renal cell carcinoma [A] and normal renal cortex tissues of different distances to the tumor; 0.5 cm [B], 1.0 cm [C] and 2.0 cm [D], were constructed. The expression of EMA and RCC-Ma was examined by immunohistochemical staining in the four groups. **Results:** Intensive membranous and (or) cytoplasmic staining of EMA and RCC-Ma was observed in the cancer and adjacent tissues. The positive rate in group A was significantly higher than those of the other three groups (A [15.91%/18.18%], B [84.09%/79.55%], C [86.36%/77.27%] and D [79.55%/75.00%], $P < 0.01$). The positive rates of EMA and RCC-Ma expression were not significantly different between the group B, C, and D ($P > 0.05$). **Conclusion:** Our data denote that, when laparoscopic partial nephrectomy is done for early renal carcinoma, at least 5 mm of normal parenchyma tissue beyond the pseudocapsule should be excised with the tumor.

[KEY WORDS] epithelial membrane antigen; renal cell carcinoma marker; kidney neoplasms; tissue microarray; nephrectomy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(6): 672-675]

肾癌约占全身恶性肿瘤的 2%~3%,更是泌尿系统常见恶性肿瘤之一,其中肾透明细胞癌约占肾癌的 85%^[1]。随着我国社会经济水平的发展和医学

技术的进步,早期肾癌的发现率逐年提高。肾部分切除术由于可以保留肾单位,保护肾功能,且具备必要的安全性,所以较标准肾癌根治术在治疗早期肾

[收稿日期] 2008-11-21 **[接受日期]** 2008-12-17

[基金项目] 上海市科委医学引导科技项目(074119618)。Supported by Fund of Health Department of Science Committee of Shanghai Municipal Government(074119618)。

[作者简介] 沈弋桢, 博士生。E-mail: syz@medmail.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel: 021-66307478, E-mail: zhengjh0471@sina.com

癌方面拥有诸多优势^[2]。采用肾部分切除术治疗早期肾癌逐渐得到认可,但行肾部分切除术时安全边距的选择始终存在争议^[3]。这是因为若切除过多,在引起有效肾单位减少的同时又增加了手术的破坏性和操作的难度,可引起漏尿、出血量增多和缝合困难;若切除范围不够,又担心肿瘤的残余,可能会引发肿瘤破裂和肿瘤复发。传统的肿瘤开放手术切除边距一般为2 cm。因此,从保留肾单位和腹腔镜实际可操作性出发,有学者主张切除边距为1.0 cm,也有学者主张切除边距0.5 cm就可以满足需要^[3-5]。

随着以腹腔镜为代表的微创外科的兴起,经腹或经后腹腔镜腹腔镜肾部分切除术作为早期肾癌治疗的新术式近年来得到了蓬勃发展。因此,早期肾癌的安全切除边距的选择也愈发重要^[6]。上皮膜抗原(epithelial membrane antigen, EMA)和肾细胞癌标志物(renal cell carcinoma marker, RCC-Ma)是肾透明细胞癌较好的肿瘤标志物,且在肿瘤和正常肾组织均有表达^[7]。因此,本研究利用组织芯片技术平行检测44例早期肾透明细胞癌以及癌旁0.5、1.0、2.0 cm肾皮质组织EMA和RCC-Ma的表达,希望能够为明确早期肾癌部分切除术中安全切除边距的选择提供依据。

1 材料和方法

1.1 一般资料 选取第二军医大学长征医院和同济大学附属上海市第十人民医院2006年1月~2007年10月间行早期肾癌腹腔镜根治性切除术并经术后病理证实为肾透明细胞癌的患者共44例,其中长征医院21例,上海市第十人民医院23例。年龄46~67岁,平均(56.7±3.2)岁;男32例,女12例;肿瘤直径1.8~4.2 cm,平均(3.1±0.3) cm;TNM分期:T₁N₀M₀期38例,T₂N₀M₀期6例;核分级:G₁级36例,G₂级8例。术后已临床随访8~17个月,未见临床复发,5年随访正在进行。

1.2 肿瘤标本的获取及组织芯片的构建 分别在显微外科放大镜下辨别、测量并采集肿瘤组织及距肿瘤边缘0.5、1.0、2.0 cm厚度为0.2 cm的肾皮质组织共计44组,分别经常规甲醛溶液固定、石蜡包埋备用。参照文献^[7]方法采用组织芯片构建仪(Beecher Instruments, Silver Spring)构建44组肿瘤及瘤旁组织石蜡标本组织芯片备用。

1.3 免疫组化染色 采用S-P法,PBS替代一抗作阴性对照。阳性染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色,表达多位于细胞膜,偶有细胞质染色。EMA抗体购自

上海长岛生物技术有限公司(克隆号:GP1.4),稀释度1:100;RCC-Ma抗体购自福州迈新生物技术开发有限公司(克隆号:PN-15),稀释度1:100。采用二级计分法,计算阳性细胞的平均百分数,综合染色强度进行半定量处理。分布范围评分标准:阳性细胞数<10.0%为0分,10.0%~25.0%为1分,25.0%~50.0%为2分,50.0%~75.0%为3分,>75.0%为4分;染色强度:阴性为0分,染色弱但强于阴性对照为1分,染色清晰为2分,染色强为3分。上述两种评分结果相加0~1分为(-,阴性),2~3分为(+,弱阳性),4~5分为(++ ,强阳性),6~7分为(+++,强阳性)。

1.4 统计学处理 采用SPSS 11.0软件进行统计学分析,组内变量采用 χ^2 检验,检验水准 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 组织芯片构建情况 成功构建包含44组癌组织和癌旁组织(距肿瘤边缘0.5、1.0、2.0 cm)的组织芯片(图1),缺失的组织点由常规切片染色后补齐。

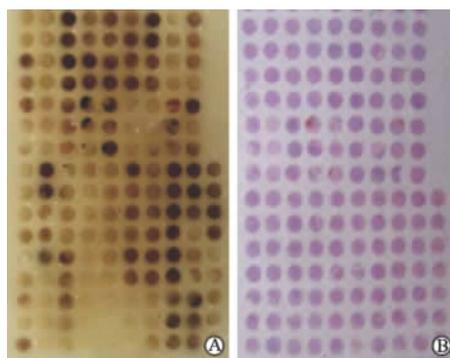


图1 组织芯片H-E染色结果

Fig 1 Tissue microarray H-E staining

A: Tissue microarray with paraffin block; B: Tissue microarray slide (H-E staining)

2.2 免疫组化染色结果 EMA和RCC-Ma在肾透明细胞癌和癌旁组织(距肿瘤边缘0.5、1.0、2.0 cm)均以细胞膜染色为主,偶有胞质染色,阳性染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色;癌组织较癌旁组织染色强度和阳性细胞数均明显偏低(图2)。半定量结果(表1)表明:癌组织EMA和RCC-Ma强阳性表达率明显高于癌旁组织各组(15.91%/18.18% vs 84.09%/79.55%、86.36%/77.27%、79.55%/75.00%, $P<0.01$);而癌旁组织各组(距肿瘤边缘0.5、1.0、2.0 cm)间无统计学差异($P>0.05$)。

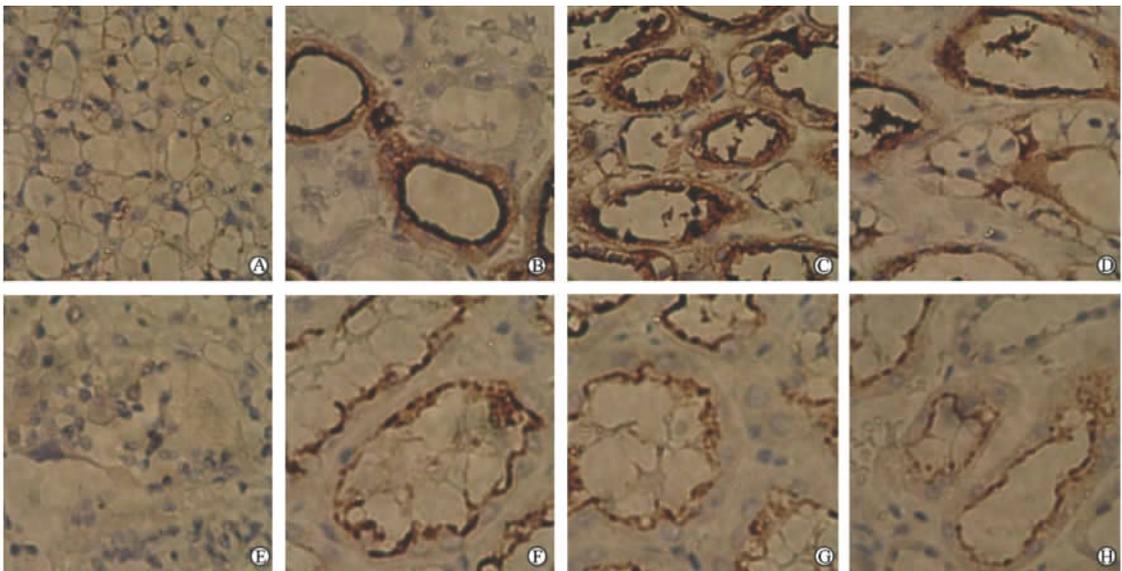


图 2 肾透明细胞癌和癌旁组织 EMA(A~D)、RCC-Ma(E~H)免疫组化染色结果

Fig 2 Immunohistochemical staining results of EMA(A-D) and RCC-Ma(E-H)

A, E; Clear cell renal cell carcinoma tissue; B, F; Normal renal tissue with 0.5 cm margin; C, G; Normal renal tissue with 1.0 cm margin; D, H; Normal renal tissue with 2.0 cm margin. Original magnification: $\times 400$

表 1 肾透明细胞癌和癌旁组织 EMA 和 RCC-Ma 组织芯片染色结果的统计分析

Tab 1 Immunohistochemical staining results and statistical results of EMA and RCC-Ma

(N=44)

| | EMA | | | | RCC-Ma | | | |
|--------------|-----|----|----|-----|--------|----|----|-----|
| | - | + | ++ | +++ | - | + | ++ | +++ |
| Tumor tissue | 7 | 30 | 6 | 1 | 5 | 31 | 6 | 2 |
| Margin | | | | | | | | |
| 0.5 cm | 2 | 5 | 8 | 29 | 3 | 6 | 11 | 24 |
| 1.0 cm | 2 | 4 | 10 | 28 | 4 | 6 | 12 | 22 |
| 2.0 cm | 3 | 6 | 7 | 28 | 3 | 8 | 9 | 24 |

3 讨论

肾部分切除术治疗肾癌的绝对适应证包括:(1)孤立肾肾癌;(2)双侧肾癌;(3)对侧肾功能不全;(4)对侧存在发生远期肾功能不全的严重疾病和潜在危险。对于目前临床日益常见的早期肾癌是否采用肾部分切除术目前还存在争议。多数学者主张肾部分切除术的相对适应证包括:(1)肿瘤直径小于4 cm;(2)肿瘤呈外向型生长并位于肾脏的上极或下极;(3)肿瘤为单发,无卫星灶和肾内转移;(4)肿瘤包膜(假包膜)相对完整;(5)肿瘤为早期(分期小于T₂,核分级小于G2)^[9-11]。无论绝对适应证还是相对适应证,安全性都是影响该术式应用的关键,而手术切缘的选择是影响安全性的主要因素之一。随着国外经腹和经后腹腔镜早期肾癌肾部分切除术的成功施行,近年来国内多个中心也相继开展了这一术式,逐渐积累了很多成功病例。传统的开放手术切缘可达

2 cm,而在腹腔镜条件下,更多的学者实践中采用的切缘边距有的是1.0 cm,有的则是0.5 cm,缺乏统一的规范和标准。

EMA是一组高相对分子质量糖蛋白,以膜型广泛分布于各种类型的正常上皮,肿瘤上皮也表达EMA,但其分布与正常上皮不同,高分化癌主要呈膜型分布,低分化或未分化癌主要以浆型分布。RCC-Ma是针对正常肾脏近曲小管和足细胞抗原的单克隆抗体,肾透明细胞癌中RCC-Ma主要为膜染色。EMA和RCC-Ma是肾透明细胞癌较好的肿瘤标志物,且在肿瘤和正常肾组织均有表达^[12-13]。

本研究对满足相对适应证但选择肾癌腹腔镜根治性切除术的早期肾癌患者44例,分别在显微外科放大镜下辨别、测量并采集肿瘤组织及距肿瘤边缘0.5、1.0、2.0 cm厚度为0.2 cm的正常肾皮质组织制作了组织芯片,平行检测了肿瘤组织及瘤旁组织间EMA、RCC-Ma的表达差异,结果显示:肿瘤组织

与瘤旁组织间二者的表达均有明显差异,而不同切除边距的瘤旁组织间无明显差异;研究结果表明0.5 cm是安全的切除边距。

需要指出的是,本研究还存在一些局限性,今后进一步的研究方向包括:搜集更多病例和对其他肾癌标志物进行研究;对已采用肾部分切除术的患者按手术切缘分0.5 cm组和1.0 cm组做好临床资料搜集、长期随访和生存分析。希望通过上述努力能够早日结束关于早期肾癌安全切除边距的争议。

[参考文献]

- [1] Haber G P, Gill I S. Laparoscopic partial nephrectomy: contemporary technique and outcomes[J]. *Eur Urol*, 2006, 49: 660-665.
- [2] Permpongkosol S, Bagga H S, Romero F R, Sroka M, Jarrett T W, Kavoussi L R. Laparoscopic versus open partial nephrectomy for the treatment of pathological T₁N₀M₀ renal cell carcinoma: a 5-year survival rate[J]. *J Urol*, 2006, 176: 1984-1988.
- [3] 郑军华, 孙颖浩. 早期肾癌行腹腔镜肾部分切除术的相关问题思考[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 10: 1045-1047.
- Zheng J H, Sun Y H. Laparoscopic partial nephrectomy for early renal carcinoma: a discussion of related issues[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2007, 10: 1045-1047.
- [4] Sutherland S E, Resnick M I, MacLennan G T, Goldman H B. Does the size of the surgical margin in partial nephrectomy for renal cell cancer really matter[J]? *J Urol*, 2002, 167: 61-64.
- [5] Permpongkosol S, Colombo J R Jr, Gill I S, Kavoussi L R. Positive surgical parenchymal margin after laparoscopic partial nephrectomy for renal cell carcinoma: oncological outcomes[J]. *J Urol*, 2006, 176 (6 Pt 1): 2401-2404.
- [6] Caruso R P, Phillips C K, Kau E, Taneja S S, Stifelman M D.

- Robot assisted laparoscopic partial nephrectomy: initial experience[J]. *J Urol*, 2006, 176: 36-39.
- [7] Zhou M, Roma A, Magi-Galluzzi C. The usefulness of immunohistochemical markers in the differential diagnosis of renal neoplasms[J]. *Clin Lab Med*, 2005, 25: 247-257.
- [8] Guan-Zhen Y, Ying C, Can-Rong N, Guo-Dong W, Jian-Xin Q, Jie-Jun W. Reduced protein expression of metastasis-related genes (nm23, KISS1, KAI1 and p53) in lymph node and liver metastases of gastric cancer[J]. *Int J Exp Pathol*, 2007, 88: 175-183.
- [9] Bensalah K, Zeltser I, Tuncel A, Cadettu J, Lotan Y. Evaluation of costs and morbidity associated with laparoscopic radiofrequency ablation and laparoscopic partial nephrectomy for treating small renal tumours[J]. *BJU Int*, 2008, 101: 467-471.
- [10] Srinualnad S, Mahawong P. Conventional laparoscopic partial nephrectomy for a small renal mass[J]. *J Med Assoc Thai*, 2007, 90: 1225-1230.
- [11] Ortiz-Rey J A, Gómez De María C, Peláez Boismorand E, Fernández Costas A, Barbosa Barreiro M J, Antón Badiola I. Expression of CD10 and renal cell carcinoma marker in clear cell renal cell carcinoma: analysis on tissue arrays[J]. *Actas Urol Esp*, 2006, 30: 281-286.
- [12] Ortiz-Rey J A, Gómez De María C, Peláez Boismorand E, Fernández Costas A, Barbosa Barreiro M J, Antón Badiola I. Expression of CD10 and renal cell carcinoma marker in clear cell renal cell carcinoma: analysis on tissue arrays[J]. *Actas Urol Esp*, 2006, 30: 281-286.
- [13] Langner C, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Zigeuner R. Expression of MUC1 (EMA) and E-cadherin in renal cell carcinoma: a systematic immunohistochemical analysis of 188 cases [J]. *Mod Pathol*, 2004, 17: 180-188.

[本文编辑] 贾泽军

· 消息 ·

《第二军医大学学报》被《剑桥科学文摘》(CSA)收录

《第二军医大学学报》已通过美国《剑桥科学文摘生物学数据库》(CSA Biological Sciences Database)的评估,被正式列入该数据库的来源期刊。这是《第二军医大学学报》在相继被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(VINITI Abstracts Journal)、荷兰《医学文摘》(EMBASE)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《国际农业与生物科学研究中心文摘》(CAB Abstracts)、WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)等国外数据库收录之后,再次被国际重要文献检索系统收录,标志着本刊在不断提高质量、扩大影响、增加国际显示度方面又迈进了一步。

美国《剑桥科学文摘》(Cambridge Scientific Abstracts, CSA)是国际重要文摘检索系统。它是美国剑桥科学文摘社于1971年创办的大型综合性数据库,现拥有148个数据库或分文摘。《剑桥科学文摘生物学数据库》收录了7000余种期刊以及会议论文集、技术报告、专著等出版物,涵盖了生物化学、生物技术、生态学、遗传学、微生物学、分子生物学、医学等领域,可溯及1982年以来出版的文献,且数据每月更新,是相关领域的重要检索工具。