

胃癌腹膜转移患者腹腔脱落细胞学阳性的影响因素分析

彭耀辉¹, 熊文俊², 徐钰婷¹, 罗思静¹, 李金², 郑燕生², 罗立杰², 黄海鹏², 陈妍¹, 曾海平¹, 王伟^{2*}

1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510120

2. 广州中医药大学第二附属医院 广东省中医院 胃肠外科, 广东 广州 510120

【摘要】 目的 探讨晚期胃癌腹膜转移患者中腹腔脱落细胞学阳性的相关影响因素。方法 纳入2017年6月至2020年6月在广东省中医院住院且病理明确为胃癌腹膜转移的患者60例, 通过腹腔镜探查收集冲洗液并行腹腔冲洗细胞学检查(peritoneal lavage cytology, PLC)。收集患者的性别、年龄、临床T分期、肿瘤部位、Borrmann分型、Lauren分型、腹水量、PCI、分化程度等, 进行单因素和多因素分析, 总结腹腔脱落细胞学检查阳性的相关影响因素。结果 60例患者的PLC阳性检出率为70% (42/60)。单因素分析发现, 不同肿瘤部位、Lauren分型、腹水量、PCI、分化程度之间PLC阳性检出率差异有统计学意义差异($P < 0.050$)。进一步多因素分析发现, PCI、腹水量是晚期胃癌腹膜转移患者的独立影响因素($P < 0.05$)。结论 PLC阳性检出率与晚期胃癌腹膜转移的实际情况存在一定差异。腹腔脱落细胞学检查的主要影响因素有PCI、腹水量。关于晚期胃癌腹膜转移的诊断方面, 单纯的PLC检查可能尚有欠缺, 临床漏诊率较高, 必要时仍需进一步的腹腔镜探查辅助明确诊断。

【关键词】 腹腔冲洗细胞学检查; 胃癌; 腹膜转移; 阳性检出率

Analyzing the influencing factors of positive abdominal exfoliation cytology in patients with gastric cancer and peritoneal metastasis

Peng Yaohui¹, Xiong Wenjun², Xu Yuting¹, Luo Sijing¹, Li Jin², Zheng Yansheng², Luo Lijie², Huang Haipeng², Chen Yan¹, Zeng Haiping¹, Wang Wei^{2*}

1. The Second Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, Guangdong, China

2. Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Department of Gastrointestinal Surgery, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, Guangdong, China

Corresponding author: Wang Wei, E-mail: ww1640@yeah.net

【Abstract】 Objective In order to investigate the influencing factors of the positive result of Peritoneal lavage cytology in patients with advanced gastric cancer with peritoneal metastasis. **Methods** From June 2017 to June 2020, 60 patients who were hospitalized in the Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, and whose pathology was confirmed to be gastric cancer and peritoneal metastasis were enrolled. All patients using diagnostic laparoscopy to collect washing fluid for peritoneal lavage cytology (PLC). Collecting the clinical data such as patient's gender, age, clinical T stage, the tumor site, Borrmann classification, Lauren classification, ascites, PCI, and the degree of tumor differentiation and so on, which for the single-factor and multi-factor analysis, and summarized the relevant influencing factors of positive abdominal exfoliation cytology. **Results** The positive detection rate of PLC in 60 patients was 70% (42/60). Single-factor analysis found that there were statistically significant differences in the positive detection rate of PLC among different tumor locations, Lauren classification, ascites volume, PCI, and degree of differentiation

($P<0.050$). Further multivariate analysis found that PCI and ascites volume was independent influencing factors in patients with advanced gastric cancer and peritoneal metastasis($P<0.05$). **Conclusion** There is a certain difference between the positive detection rate of PLC and the actual situation of advanced gastric cancer with peritoneal metastasis. The main influencing factors of peritoneal lavage cytology are PCI and ascites volume. Regarding the diagnosis of advanced gastric cancer with peritoneal metastasis, the simple PLC examination may still be lacking, and the clinical missed diagnosis rate is relatively high. If necessary, further laparoscopic exploration is needed to assist in the diagnosis.

【Key words】 Peritoneal lavage cytology; Gastric cancer; Peritoneal metastasis; Positive detection rate

胃癌是严重影响人类健康的疾病,根据世界卫生组织国际癌症研究机构(The International Agency for Research on Cancer, IARC)估计,2020年,全球胃癌的发病率居于恶性肿瘤的第5位,居常见恶性肿瘤死亡原因的第4位^[1]。胃癌的高死亡率主要与其转移有关,腹腔内种植转移是胃癌患者死亡的主要原因^[2,3]。对因胃癌死亡患者进行尸体解剖研究发现,其中有57.8%(100/173)的患者存在腹膜种植转移^[4]。腹腔内游离的癌细胞是腹膜转移的先决条件,也是胃癌根治术后局部复发及腹腔内种植的主要因素^[5,6]。腹腔冲洗细胞学检查(peritoneal lavage cytology, PLC)是目前腹腔游离癌细胞主要的常用检测手段,在胃癌的临床治疗和预后判断方面有着重要意义^[7,8]。但是,PLC阳性检出率相对较低,即使临床及术中病理已经明确诊断为腹膜转移的胃癌患者中,PLC的结果也并非都是阳性。本研究基于诊断性腹腔镜检查证实存在胃癌腹膜转移的前提下,分析胃癌腹膜转移的PLC阳性检出率及其相关影响因素。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究为一项院内随机对照研究的前期分析,该研究已通过伦理审查。其纳入标准:18岁~80岁;胃原发病灶经内镜活检组织病理学诊断为胃腺癌;腹腔镜探查并术中病理活检明确诊断为胃癌腹膜转移;术前 ECOG 体力状态评分 0/1 分;术前 ASA 评分 I~III 级;患者知情同意。排除标准:未行腹腔镜探查;未收集标本行 PLC;术中未进行病理活检;5年内有其他恶性疾病史;病例资料不完整。

根据上述标准,收集2017年6月至2020年6月在广东省中医院病理活检明确诊断的胃癌腹膜转移患者。共纳入60例患者,其中男性21例,女性39例,年龄(55.80 ± 13.55)岁,体质量指数

(20.57 ± 3.42) kg/m^2 。按临床 T 分期,其中 cT_{4a} 期患者 50 例, cT_{4b} 期患者 10 例。肿瘤部位:胃下部 23 例,胃中部 20 例,胃上部 8 例,残胃癌 9。Borrmann 分型中, I/II 型 9 例, III/IV 型 51 例。Lauren 分型, 肠型 6 例,混合型 6 例,弥漫型 48 例。腹水量 $< 200 \text{ ml}$ 28 例, $\geq 200 \text{ ml}$ 32 例。PCI 为 1~10 者 32 例, 11~20 者 17 例, > 20 者 11 例。肿瘤分化程度分级中, G1/G2 有 4 例, G3/G4 有 56 例。

1.2 腹腔冲洗液的采集与检测

1.2.1 腹腔镜探查 气管插管全身麻醉下,于脐下 1 cm 处切开约 1.5 cm 皮肤,建立气腹后,行腹腔镜探查腹腔,探查顺序:左右膈下→肝脏、脾脏→腹腔壁腹膜→盆腔→大网膜、小肠及系膜→横结肠系膜→胃。探查内容:原发肿瘤位置、浆膜侵犯、淋巴结转移情况、Borrmann 分型、腹水量、腹膜指数等。探查完毕后,活检 1 块的腹膜转移结节送病理检查。

1.2.2 腹水标本采集 标本至少要 200 ml 冲洗液。如果发现腹腔内存在足量腹水,则直接抽取作为标本;如果没有足量腹水,则用 500 ml 生理盐水注入直肠子宫陷凹、胃周(避开原发灶)、副结肠沟和左右盆腔进行反复冲洗、搅拌,然后再抽取冲洗液作标本。

1.2.3 标本的制作与检测 收集的腹水用离心机以 2000 r/min 频率离心 10 min,离心后小心吸出上清液,取细胞沉淀直接涂片 2 张,采用液基薄层法制片,并进行苏木精-伊红染色。由有经验的病理科医师在显微镜下找腹水中的癌细胞。腹水中可见癌细胞者记为阳性(PLC+),反之记为阴性(PLC-)。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 26.0 软件进行数据处理及统计分析。计数资料采用单因素 χ^2 检验,其中有统计学意义的变量再纳入二元多因素 Logistic 回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腹腔脱落细胞学阳性检出率 60例患者中有42例患者PLC阳性,检出率70.0%。

2.2 晚期胃癌腹膜转移患者PLC腹腔脱落细胞学阳性检出率的单因素分析 不同性别、年龄、临床T分期和Borrmann分型之间的PLC阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$);而不同肿瘤部位、Lauren分型、腹水量、PCI、分化程度之间PLC阳性检出率差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.3 晚期胃癌腹膜转移患者PLC阳性检出率的多因素分析 对上述单因素分析有统计学意义的变量如肿瘤部位、Lauren分型、腹水量、PCI、分化程度等因素行二元多因素Logistic回归分析,如表2所示。结果显示,PCI、腹水量是晚期胃癌腹膜转移患者的独立影响因素($P<0.05$)。

3 讨论

胃癌早期症状并不明显,多数患者重视程度不高,而且我国早期胃癌诊断筛查尚未普及,有研究发现我国15%~50%的患者初诊即存在腹膜转移^[9]。关于胃癌腹膜转移的机制方面,目前普遍认同“种子-土壤学说”,即胃癌细胞由于各种因素脱落于腹腔内形成“种子”,并黏附种植于在腹膜^[10]。因此,很多学者认为腹腔内脱落的游离癌细胞是腹膜转移的先决条件,是胃癌预后不良的独立危险因素^[11,12]。因此,2017版《胃癌腹膜转移防治中国专家共识》提出将腹腔游离癌细胞阳性作为IV期胃癌的独立诊断指标^[13]。腹腔脱落细胞学检查对胃癌的后续治疗有很大的意义,尤其在一些肉眼不可见的腹膜癌中^[14]。有研究对128例细胞学检查阳性且无其他远处转移的胃癌患者行R1胃切除术,发现中位生存时间仅为18.6个月^[15]。

腹腔脱落细胞学检查方式多种多样,如PLC、免疫学或分子生物学、流式细胞学方法、免疫磁珠技术、胃癌腹腔灌洗液中端粒酶活性等。PLC由于

操作简单、方便、快捷,及时、有效,目前被作为胃癌术后腹腔脱落细胞学检查的主要检测手段。但是,PLC也存在不足之处,其敏感性较低,仅为21%~30%^[16]。即使是在发生浆膜侵犯的病理中,其腹腔脱落细胞学阳性检出率也低于40%,临床漏诊率较高^[17]。如何提高PLC的阳性检出率,减少实验误差是目前一直困扰临床医生的一大问

表1 晚期胃癌腹膜转移患者PLC阳性检出率的单因素分析

项目	例数	PLC阳性(例)	PLC阳性检出率(%)	χ^2 值	P值
性别				0.171	0.679
男	21	14	0.667		
女	39	28	0.718		
年龄				0.272	0.602
<60岁	37	25	0.676		
≥60岁	23	17	0.739		
临床T分期				0.143	0.705
cT _{4a} 期	50	34	0.660		
cT _{4b} 期	10	8	0.800		
肿瘤部位				13.207	0.003
胃下部	23	17	0.739		
胃中部	20	16	0.800		
胃上部	8	1	0.125		
残胃癌	9	8	0.889		
Borrmann分型				2.017	0.156
I/II型	9	4	0.444		
III/IV型	51	38	0.745		
Lauren分型				14.388	<0.001
肠型	6	0	0		
混合型	6	4	0.667		
弥漫型	48	38	0.792		
腹水量				10.000	0.002
≥200 ml	32	28	0.875		
<200 ml	28	14	0.500		
腹膜指数				10.413	0.005
1~10	32	17	0.531		
11~20	17	14	0.824		
>20	11	11	1.000		
肿瘤分化程度				9.833	0.006
G1/G2	4	0	0		
G3/G4	56	42	0.750		

表2 晚期胃癌腹膜转移患者PLC阳性检出率的二元多因素Logistic回归分析

因素	估计值	标准误	Wald值	OR值	95%CI	P值
肿瘤部位	0.617	0.436	2.007	1.854	0.789~4.354	0.157
Lauren分类	-1.235	0.703	3.082	0.291	0.068~0.935	0.079
腹水量	-1.824	0.891	4.190	0.161	0.028~0.925	0.041
PCI	-1.457	0.734	3.944	0.233	0.055~0.981	0.047
分化程度	-18.552	19 711.455	0	0	0~∞	0.999

题。因此,本研究以诊断性腹腔镜检查明确为胃癌腹膜转移的患者为研究对象行 PLC, 探索 PLC 阳性检出率的相关危险因素。

根据“种子-土壤学说”的理论,晚期胃癌患者腹膜转移与 PLC 阳性之间有高度一致性^[10],但本研究最终 PLC 阳性检出率仅为 70%, 两者之间存在一定差异,考虑可能与下面因素相关:取样尚有不足,PLC 阳性检出率与冲洗充分程度相关,大量液体冲洗送检可提高 PLC 阳性检出率^[18],本研究的 500 ml 冲洗量及 200 ml 标本收集量可能尚存不足;实验检测的误差,当肿瘤细胞较少并散布在炎症细胞和间皮细胞中时,此时冲洗液中细胞往往有较明显的退变现象,难以靠形态学检查做出诊断;检查方法上的不足,最新的免疫组织化学、核酸检测、基因检测在胃癌的腹腔脱落细胞学的预测方面似乎更加有效^[19-21]。

为了明确胃癌腹膜转移患者的 PLC 阳性检出率的影响因素,本研究对于所得到的临床数据进行单因素分析,发现不同肿瘤部位、Lauren 分型、PCI、腹水量及肿瘤分化程度之间 PLC 的阳性检出率存在差异,这与一些国内外一些相关的研究数据基本相符^[22, 23]。其中,Lauren 分型代表肿瘤的弥散程度,弥散程度越高,其代表的肿瘤侵袭性更强,侵犯面积更大,更容易导致肿瘤细胞弥散并脱落至腹腔,因此也更容易被 PLC 检出。弥漫型胃癌与腹膜转移有较高的相关性,弥漫型胃癌患者中腹膜转移发生率高达 80%^[24]。弥漫型胃癌对常规的苏木精和伊红的敏感性和特异性相对更高,对常规的苏木精-伊红染色相对更敏感^[25]。在肿瘤分化程度分级中,分级越高,代表肿瘤分化越差,细胞间结合力越弱,因此易于脱落,其阳性发生率也越高。而对于一些研究认为有意义的 Borrmann 分型,由于本研究纳入患者基本为晚期患者,临床上大多数属于 Borrmann 分型中的 III/IV 型,因此得出的结果为阴性。

进一步二元多因素 Logistic 回归分析发现,PCI、腹水量是胃癌腹膜转移患者 PLC 阳性的独立危险因素。PCI 本身代表患者腹膜种植转移情况,同时也代表肿瘤细胞的脱落情况。PCI 越大,肿瘤细胞脱落越多,被检出的概率越高。腹水量方面,腹水一般由于肿瘤侵犯淋巴系统导致淋巴回流受阻引起,其腹水一般为癌性腹水,腹水量较低时,其 PLC 检出率也相对较低。Matsuo 等^[26]纳入 183 例

晚期胃癌患者的研究发现,腹水与腹膜转移 ($P < 0.005$)、病理性 T4 ($P < 0.005$)、R1~R2 ($P < 0.01$) 和 PLC 阳性诊断 ($P < 0.05$) 之间存在统计学差异,是胃癌腹膜转移的独立危险因素 ($HR = 2.6$)。当然,本研究纳入数据相对较少,分析的因素有限。

综上所述,PLC 阳性检出率与晚期胃癌腹膜转移的实际情况并不完全一致。腹腔冲洗细胞学检查虽然简单方便,但是存在一定的误差和不足之处。PLC 阳性检出率的主要影响因素有 PCI、腹水量。对于晚期胃癌腹膜转移的诊断方面,单纯的 PLC 可能尚有欠缺,特别对于 PCI 值为 1~10、腹水量较少的患者,PLC 临床漏诊率较高,必要时需进一步的腹腔镜探查以明确诊断。如何减少腹腔脱落细胞学检查误差率,正确选择合适的检测方法,是本研究中心即将进一步探索的内容。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021,71(3):209-249.
- [2] NASHIMOTO A, AKAZAWA K, ISOBE Y, et al. Gastric cancer treated in 2002 in Japan: 2009 annual report of the JGCA nationwide registry[J]. Gastric Cancer, 2013,16(1):1-27.
- [3] WANG Z, ZHANG X, XU H, et al. Detection of peritoneal micrometastasis by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for heparanase mRNA and cytology in peritoneal wash samples[J]. J Surg Oncol, 2005,90(2):59-65.
- [4] ESAKI Y, HIRAYAMA R, HIROKAWA K. A comparison of patterns of metastasis in gastric cancer by histologic type and age[J]. Cancer, 1990,65(9):2086-2090.
- [5] LEE S D, RYU K W, EOM B W, et al. Prognostic significance of peritoneal washing cytology in patients with gastric cancer[J]. Br J Surg, 2012,99(3):397-403.
- [6] NAKAGAWA S, NASHIMOTO A, YABUSAKI H. Role of staging laparoscopy with peritoneal lavage cytology in the treatment of locally advanced gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2007,10(1):29-34.
- [7] HIGAKI E, YANAGI S, GOTOHDA N, et al. Intraoperative peritoneal lavage cytology offers prognostic significance for gastric cancer patients with curative resection[J]. Cancer Sci, 2017,108(5):978-986.
- [8] 李坤, 刘宏斌, 朱万坤, 等. 胃癌腹腔脱落癌细胞的研究现状与进展[J]. 现代肿瘤医学, 2011,19(5): 1001-1005.
- [9] YANG X J, LI Y, AL-SHAMMAA H A, et al. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival in selected patients with peritoneal carcinomatosis from abdominal and pelvic malignancies: results

- of 21 cases[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009,16(2):345-351.
- [10] PAGET S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1989,8(2):98-101.
- [11] 殷放, 李怀富, 陈凯. 胃癌腹膜种植多因素分析[J]. *中国临床实用医学*, 2010(7):73-74.
- [12] YAMAMOTO M, MATSUYAMA A, KAMEYAMA T, et al. Prognostic re-evaluation of peritoneal lavage cytology in Japanese patients with gastric carcinoma[J]. *Hepatogastroenterology*, 2009,56(89):261-265.
- [13] 季加孚, 沈琳, 徐惠绵, 等. 胃癌腹膜转移防治中国专家共识[J]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2017,11(5):289-297.
- [14] YAMAGUCHI T, TAKASHIMA A, NAGASHIMA K, et al. Impact of preoperative chemotherapy as initial treatment for advanced gastric cancer with peritoneal metastasis limited to positive peritoneal lavage cytology (CY1) or localized peritoneal metastasis (P1 a): a multi-institutional retrospective study[J]. *Gastric Cancer*, 2021,24(3):701-709.
- [15] ENDO S, NISHIKAWA K, IKENAGA M, et al. Prognostic factors for cytology-positive gastric cancer: a multicenter retrospective analysis[J]. *Int J Clin Oncol*, 2021,26(5):858-866.
- [16] 刘振芳, 韩晓鹏, 刘宏斌, 等. 胃癌术中腹腔游离癌细胞检测方法的对比研究[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2010,17(8):803-807.
- [17] NAOTO F Y S J. Prognostic factors of T4 gastric cancer patients undergoing potentially curative resection [J]. *World J Gastroenterol*, 2011,17(9):1180-1184.
- [18] 黄海燕, 鲁斌. 不同腹腔灌洗量对进展期胃癌根治术患者腹腔脱落细胞检出率的影响 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2017,23(2):107-109.
- [19] SUENAGA M, FUJII T, YAMADA S, et al. Peritoneal Lavage Tumor DNA as a Novel Biomarker for Predicting Peritoneal Recurrence in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2021,28(4):2277-2286.
- [20] QU L, HE L, JIA Z, et al. Prognostic value of CEA/CA72-4 immunohistochemistry in combination with cytology for detecting tumor cells in peritoneal lavage in gastric cancer[J]. *J Cancer*, 2020,11(21):6319-6325.
- [21] GECA K, RAWICZ-PRUSZYNSKI K, MIELKO J, et al. Rapid Detection of Free Cancer Cells in Intraoperative Peritoneal Lavage Using One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Gastric Cancer Patients[J]. *Cells*, 2020,9(10):2168.
- [22] 丁平安, 杨沛刚, 田园, 等. 进展期胃癌病人发生腹腔脱落细胞学阳性的危险因素分析及风险预测评分模型建立[J]. *腹部外科*, 2021,34(1):34-39.
- [23] LISIECKI R, SPYCHAŁA A, PATER K, et al. Analysis Of Risk Factors Of Positive Peritoneal Cytology In Patients Treated For Gastric Cancer - Preliminary Report[J]. *Pol Przegl Chir*, 2015,87(10):506-512.
- [24] RAWICZ-PRUSZYNSKI K, MIELKO J, PUDLO K, et al. Yield of staging laparoscopy in gastric cancer is influenced by Lauren histologic subtype[J]. *J Surg Oncol*, 2019,120(7):1148-1153.
- [25] HANSSON L E, LINDGREN A, NYREN O. Can endoscopic biopsy specimens be used for reliable Lauren classification of gastric cancer? [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1996,31(7):711-715.
- [26] MATSUO H, KOMATSU S, ICHIKAWA D, et al. Clinical significance of ascites on preoperative MDCT in patients with advanced gastric cancer [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2014,41(12):2229-2231.