

论 著

螺旋CT扫描联合HMGN5免疫组织化学染色检测预测膀胱癌患者盆腔淋巴结转移风险的价值*

1. 湖南省人民医院放射科

(湖南 长沙 410002)

2. 中南大学湘雅三医院泌尿外科

(湖南 长沙 410013)

李 丹¹ 姚 鲲² 刘 芳¹孔凡磊¹ 戴英波² 刘建滨¹

【摘要】目的 了解螺旋CT扫描联合癌组织HMGN5免疫组织化学染色检测预测膀胱癌患者盆腔淋巴结转移风险的价值。**方法** 回顾性的研究了2015年1月至2017年12月期间行根治性膀胱全切、盆腔淋巴结清扫的患者47例,采集CT扫描结果、术后盆腔淋巴结病理结果,并对石蜡包埋的癌组织进行HMGN5免疫组织化学染色。统计CT扫描结果、免疫组织化学染色结果与淋巴结转移的关系。**结果** 术前CT扫描淋巴结阳性的8例患者中,有6例病理证实存在淋巴结转移;CT扫描淋巴结阴性的39例患者中,有7例病理证实存在淋巴结转移。免疫组织化学染色阳性的15例患者中,有12例病理证实存在淋巴结转移;染色阴性的32例患者中,有1例存在淋巴结转移。CT扫描淋巴结和免疫组织化学染色均为阳性的6例患者,有5例术后病理证实存在淋巴结转移。CT扫描淋巴结和免疫组织化学染色均为阴性的30例患者,术后病理无一例提示淋巴结转移。螺旋CT扫描联合癌组织HMGN5免疫组织化学染色检测预测盆腔淋巴结转移的假阴性率明显低于单用螺旋CT扫描。**结论** 螺旋CT扫描联合癌组织HMGN5免疫组织化学染色检查可准确预测盆腔淋巴结转移。建议患者术前使用螺旋CT扫描联合HMGN5免疫组织化学染色检测,以指导术中盆腔淋巴结清扫范围。

【关键词】 电子计算机断层扫描; 膀胱癌; 盆腔淋巴结; 转移

【中图分类号】 R737.14; R445.3

【文献标识码】 A

【基金项目】 湖南省卫生计生委科研计划课题项目, 编号B2016014

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2019.06.038

通讯作者: 刘建滨

The Predictive Value of Combination of Computed Tomography and Immunohistochemical Staining of Bladder Cancer Tissue with HMGN5 Protein to Risk of Pelvic Lymphonodus Metastases*

LI Dan, YAO Kun, LIU Fang, et al., Department of Radiology, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410002, Hunan Province, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the predictive value of combination of computed tomography (CT) and immunohistochemical staining of bladder cancer tissue with HMGN5 protein to the risk of pelvic lymphonodus metastases. **Methods** 47 cases of bladder cancer who underwent radical cystectomy and pelvic lymph node dissection (PLND) between Jan 2015 to Dec 2017 were investigated, and the data of their CT of urinary system and pelvic cavity, pathology of pelvic lymph nodes and results of immunohistochemical staining of bladder cancer tissue with HMGN5 protein were collected and analyzed. **Results** The results of CT scanning of pelvic lymph nodes of 8 cases were positive, and 6 of them with pelvic lymphonodus metastases determined in pathology. The results of CT scanning of pelvic lymph nodes of 39 cases were negative, and 7 of them with pelvic lymphonodus metastases determined in pathology. The results of immunohistochemical staining of 15 cases were positive, and 12 of them with pelvic lymphonodus metastases determined in pathology. The results of immunohistochemical staining of 32 cases were negative, and 1 of them with pelvic lymphonodus metastases determined in pathology. Both of results of CT and immunohistochemical staining of 6 cases were positive, and 5 of them with pelvic lymphonodus metastases determined in pathology. Both of results of CT and immunohistochemical staining of 30 cases were negative, and none of them with pelvic lymphonodus metastasis determined in pathology. **Conclusion** Combination of computed tomography (CT) and immunohistochemical staining of bladder cancer tissue with HMGN5 protein may predict the risk of pelvic lymphonodus metastases. The two examinations should be suggested before radical surgeries, because the decisions of ranges of PLND may depend on the results.

[Key words] Computed Tomography; Bladder Cancer; Pelvic Lymphonodus; Metastasis

根治性膀胱全切、盆腔淋巴结清扫是中晚期膀胱癌的主要治疗方案。合适的淋巴结清扫范围可在保证治疗效果的同时,减少并发症的发生。淋巴结转移的风险程度是决定淋巴结清扫范围的主要因素。目前常规的影像学检查只能诊断明显增大或融合成团的淋巴结。对于轻度增大和体积正常的淋巴结,目前尚无简单、可靠的方法准确评估其转移的风险。高迁徙率蛋白家族N5(high-mobility group nucleosome-binding domain 5, HMGN5)目前被证实在膀胱癌中高表达,并参与膀胱癌的发生和发展,可调控膀胱癌的转移和侵袭能力。本研究通过分析膀胱癌患者癌组织中HMGN5的表达情况、电脑断层扫描(computed tomography, CT)检查结果与淋巴结转移的关系,尝试建立HMGN5免疫组织化学染色检测和螺旋CT检查相结合的方法,用以评估膀胱癌淋巴结转移的风险。

1 材料和方法

收集2015年1月至2017年12月期间,因膀胱癌于湖南省人民医院泌

尿外科和中南大学湘雅三医院泌尿外科行根治性膀胱全切术的患者47例,其中男性35例,女性12例。采集CT扫描结果、术后病理结果、淋巴结转移情况,并对石蜡包埋标本进行HMG5免疫组织化学染色检测。

1.1 螺旋CT扫描 所有患者均接受64排螺旋CT全泌尿系统增强扫描,图像由两个年资相同的影像科主治医师阅片,判断是否存在盆腔淋巴结肿大,如两人均判断为淋巴结肿大,则记录为淋巴结阳性。

1.2 手术方式 所有患者均接受了根治性膀胱全切术,10例为开放性手术,25例为腹腔镜手术,12例为机器人辅助腹腔镜手术。所有患者均进行了扩大范围的双侧盆腔淋巴结清扫(淋巴结清扫平面上界至髂总动脉分叉处)。

1.3 术后病理检查 所有患者的膀胱、盆腔淋巴结标本均送病理科检查。以病理科医师出具的报告为依据,记录有无盆腔淋巴结转移。

1.4 免疫组织化学染色 取已被病理科医师确认为癌灶的蜡块,制成4 μ m石蜡切片,常规脱蜡,梯度乙醇脱水,3%过氧化氢溶液孵育5分钟,PBS冲洗,进行热抗原修复。滴加一抗(兔抗人HMG5多克隆抗体1:100稀释,北京博奥森生物技术有限公司),湿盒孵育过夜,PBS冲洗,加辣根酶标记的二抗(山羊抗兔IgG抗体-HRP多聚体,北京中杉金桥生物技术有限公司)湿盒孵育20分钟,PBS冲洗,DAB显色剂显色。苏木素复染核,分化、返蓝,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。各步之间均PBS替代一抗作为阴性对照。

染色结果判断:阴性(-)表示无胞质染成棕色的细胞,或胞

质呈棕色的细胞数10%;阳性(+)表示胞质染成棕色的细胞数>30%(图1、图2)。

1.5 统计学方法 如CT扫描淋巴结为阴性,而病理检查证实有盆腔淋巴结转移,则判定CT扫描预测淋巴结转移的结果为假阴性;如CT扫描淋巴结为阳性,而病理检查提示盆腔淋巴结无转移,则判定CT扫描预测淋巴结转移的结果为假阳性。同理判定HMG5免疫组织化学染色预测淋巴结转移的结果。

χ^2 检验比较各种检测方法预测盆腔淋巴结病理阳性的假阳性率和假阴性率。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

所有患者均顺利完成手术。术前CT扫描提示淋巴结阳性的8人,HMG5免疫组织化学染色阳性的有15人,术后病理检查提示淋巴结转移的13人。术前CT扫描淋巴结阳性的8例患者中,有6例病理证实存在淋巴结转移;CT扫描淋巴结阴性的39例患者中,有7例病理证实存在淋巴结转移。免

疫组织化学染色阳性的15例患者中,有12例病理证实存在淋巴结转移;免疫组织化学染色阴性的32例患者中,有1例存在淋巴结转移。CT扫描淋巴结和免疫组织化学染色均为阳性的6例患者,有5例术后病理证实存在淋巴结转移。CT扫描淋巴结和免疫组织化学染色均为阴性的30例患者,术后病理无一例提示淋巴结转移。各方法预测盆腔淋巴结转移的假阳性率和假阴性率详见表1-3。

3 讨 论

膀胱癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,严重影响人类的健康。在美国,膀胱癌在男性中位于所有恶性肿瘤新发病例的第四位,在女性中位于第十二位^[1]。而在国内,近50年来膀胱癌患者占有泌尿男性生殖系统肿瘤住院患者的比例始终高达40-50%左右^[2-3]。尽管75%的UBC患者首诊为非肌层浸润性膀胱,可通过经尿道膀胱肿瘤切除术及膀胱灌注化疗获得较好的疗效。但约半数的NMIBC患者在接受治疗的过程中会进展成为肌层浸润性膀胱癌,甚

表1 CT扫描和HMG5免疫组织化学染色分别预测盆腔淋巴结转移的假阳性率和假阴性率对比

	CT扫描	HMG5染色	P值
预测假阳性率	25.0%	20.0%	0.035, $\chi^2=4.444$
预测假阴性率	17.9%	3.1%	0.055, $\chi^2=3.687$

表2 CT扫描结合HMG5免疫组织化学染色与单纯CT扫描预测盆腔淋巴结转移的假阳性率和假阴性率对比

	CT扫描+HMG5染色	CT扫描	P值
预测假阳性率	16.7%	25.0%	0.121, $\chi^2=2.400$
预测假阴性率	0	17.9%	0.012, $\chi^2=4.190$

表3 CT扫描结合HMG5免疫组织化学染色与单纯HMG5免疫组织化学染色预测盆腔淋巴结转移的假阳性率和假阴性率对比

	CT扫描+HMG5染色	HMG5染色	P值
假阳性率	16.7%	20.0%	0.121, $\chi^2=2.400$
假阴性率	0	3.1%	无法计算

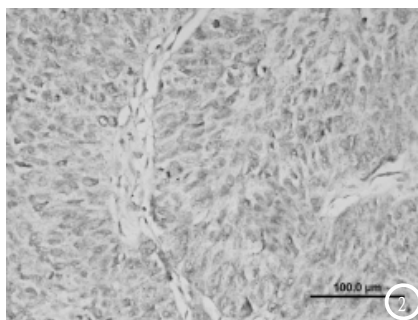
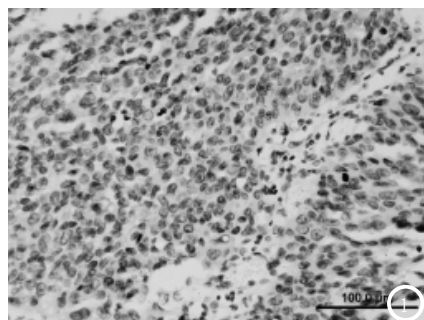


图1 膀胱癌组织HMGN5免疫组织化学染色阳性(DAB染色, ×400)。图2 膀胱癌组织HMGN5免疫组织化学染色阴性(DAB染色, ×400)。

至发生远处转移^[1]。

膀胱癌发生转移最常见的途径是淋巴转移, 盆腔淋巴结是膀胱癌转移最常见的部位, 也是发生转移的第一站。对于中晚期膀胱癌, 行根治性膀胱全切, 同时行盆腔淋巴结清扫, 是目前的标准方案。有文献报道, 淋巴结清扫的范围越大, 患者的预后越好^[4], 因此, 有学者主张行扩大范围的淋巴结清扫^[5]。但是也有研究发现, 部分淋巴结转移低风险的患者, 如淋巴结无转移者, 行标准范围的淋巴结清扫即可^[6]。扩大淋巴结清扫范围, 将导致手术时间延长、手术难度增加, 并且加大了对盆腔组织结构的破坏, 使患者创伤增大、恢复时间延长, 术中和术后的并发症发病率增高^[7]。目前, 大部分学者认为, 低淋巴结转移风险患者行标准范围淋巴结清扫即可, 而高淋巴结转移风险患者需要行扩大淋巴结清扫。因此, 如何在术前确认患者淋巴结转移的风险显得尤为重要。

目前, CT和核磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)技术已经广泛应用于膀胱癌的诊断^[8-9]。许多学者对膀胱癌淋巴结转移的影像学诊断做出了尝试。目前, 这两项检查可以发现明显增大、融合成团的淋巴结, 这类患者属于淋巴结转移的风险较高, 需要行扩大范围的淋巴结

清扫。诊断体积正常或轻度增大的淋巴结是否存在转移, 需要更先进的技术, 如超微超顺磁氧化铁颗粒增强和弥散成像核磁共振扫描^[10-11]。但是, 此类技术费用昂贵、操作复杂, 目前难以在国内医院尤其是基层医院推广。

高迁移率族蛋白(High mobility group protein, HMG蛋白)影响染色质的高阶结构, 维持和调控染色质稳定性, 是近期生物学领域研究的热点之一^[12]。HMGN5蛋白既往又称核小体结合蛋白1(nucleosome-binding protein 1, NSBP1), 是HMGN蛋白中的新成员。近期大量的研究证实, HMGN5蛋白与多种恶性肿瘤的发生、发展相关, 是潜在的致癌基因^[13-15]。据文献报道, HMGN5同样也在膀胱癌组织中高表达, 并且表达水平与膀胱癌的分期、分级呈正相关^[16]。抑制HMGN5的表达后, 膀胱癌细胞生长受抑, 侵袭能力下降, 与侵袭和转移相关的蛋白表达亦发生明显变化^[17-19], 对顺铂化疗的耐药性亦减弱^[20]。因此, 我们推测, HMGN5在膀胱癌淋巴结转移过程中发挥重要作用, 试图通过本研究进一步确定它是否可以作为膀胱癌淋巴结转移的预测因子, 并与螺旋CT检查相结合, 提高淋巴结转移诊断的准确性。

我们的结果表明, HMGN5免疫组织化学染色结合螺旋CT扫描预

测膀胱癌盆腔淋巴结转移的预测假阳性率与单纯使用螺旋CT检查的预测假阳性率相似, 但其预测假阴性率明显低于螺旋CT, 在本组有限的患者中, HMGN5免疫组织化学染色和螺旋CT扫描盆腔淋巴结均为阴性的患者, 术后病理均证实不存在淋巴结转移。这个结果具有较大的意义, 如果两者均为阴性的患者, 即可避免扩大范围的淋巴结清扫。CT检查淋巴结或HMGN5免疫组织化学染色任一结果为阳性时, 盆腔淋巴结转移的风险较高; 如两项结果均为阳性, 盆腔淋巴结转移的风险极高。本研究的局限性在于样本量较少, 今后需要积累更多的数据来验证目前的结论。

膀胱癌患者行根治性膀胱切除术前应常规完善螺旋CT扫描检查, 并且行膀胱镜活检取癌灶进行HMGN5免疫组织化学染色检测。螺旋CT扫描盆腔淋巴结阴性, 并且癌组织HMGN5免疫组织化学染色阴性的患者, 盆腔淋巴结转移的风险较低, 可考虑仅行标准盆腔淋巴结清扫术; 两者有一项结果为阳性者, 盆腔淋巴结转移的风险较高, 建议行扩大盆腔淋巴结清扫术; 如两者均为阳性, 盆腔淋巴结转移的风险极高, 强烈建议行扩大淋巴结清扫术。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A, et al. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] 张思维, 马建辉, 李鸣. 中国部分市县膀胱癌发病趋势比较研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2009, 30(10): 673-676.
- [3] 顾方六, 刘玉立. 50年泌尿男生殖系肿瘤发病和构成情况的变迁[J]. 中华泌尿外科杂志, 2002, 23(2): 88-90.
- [4] Mandel P, Tilki D, Eslick GD.

- Extent of lymph node dissection and recurrence-free survival after radical cystectomy: a meta-analysis[J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(8): 1184-1190.
- [5] Siemens DR, Mackillop WJ, Peng Y, et al. Lymph node counts are valid indicators of the quality of surgical care in bladder cancer: A population-based study[J]. *Urol Oncol*, 2015, 33(10): 425.e15-23.
- [6] Zlotta AR. Limited, extended, superextended, megaextended pelvic lymph node dissection at the time of radical cystectomy: what should we perform[J]. *Eur Urol*, 2012, 61(2): 243-244.
- [7] Larcher A, Sun M, Schiffmann J, et al. Differential effect on survival of pelvic lymph node dissection at radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2015, 41(3): 353-360.
- [8] 王斌, 陶佳意. 膀胱癌的CT及MRI临床诊断分析[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2016, 14(6): 88-90, 94.
- [9] 陈敏明, 张杰, 苏显球. 多层螺旋CT尿路造影对膀胱疾病的应用价值分析[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2017, 15(3): 97-99, 封2.
- [10] Birkhauser FD, Studer UE, Froehlich JM, et al. Combined ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide-enhanced and diffusion-weighted magnetic resonance imaging facilitates detection of metastases in normal-sized pelvic lymph nodes of patients with bladder and prostate cancer[J]. *Eur Urol*, 2013, 64(6): 953-960.
- [11] Triantafyllou M, Studer UE, Birkhauser FD, et al. Ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide allow for the detection of metastases in normal sized pelvic lymph nodes of patients with bladder and/or prostate cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(3): 616-624.
- [12] Hock R, Furusawa T, Ueda T, Bustin M. HMG chromosomal proteins in development and disease[J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(2): 72-79.
- [13] Chen P, Wang XL, Ma ZS, et al. Knockdown of HMGN5 expression by RNA interference induces cell cycle arrest in human lung cancer cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(7): 3223-3228.
- [14] Zhang XY, Guo ZQ, Ji SQ, et al. Small interfering RNA targeting HMGN5 induces apoptosis via modulation of a mitochondrial pathway and Bcl-2 family proteins in prostate cancer cells[J]. *Asian J Androl*, 2012, 14(3): 487-492.
- [15] Weng M, Song F, Chen J, et al. The high-mobility group nucleosome-binding domain 5 is highly expressed in breast cancer and promotes the proliferation and invasion of breast cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(2): 959-966.
- [16] 姚鲲, 周利群, 李学松, 等. 核小体结合蛋白1在膀胱癌中的表达和意义[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2010, 4(1): 50-54.
- [17] Wahafu W, He ZS, Zhang XY, et al. The nucleosome binding protein NSBP1 is highly expressed in human bladder cancer and promotes the proliferation and invasion of bladder cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(5): 931-939.
- [18] Gan Y, Tan J, Yang J, et al. Knockdown of HMGN5 suppresses the viability and invasion of human urothelial bladder cancer 5637 cells in vitro and in vivo[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(4): 136.
- [19] Yao K, He L, Gan Y, et al. MiR-186 suppresses the growth and metastasis of bladder cancer by targeting NSBP1[J]. *Diagn Pathol*, 2015, 10: 146.
- [20] Gan Y, He L, Yao K, et al. Knockdown of HMGN5 increases the chemosensitivity of human urothelial bladder cancer cells to cisplatin by targeting PI3K/Akt signaling[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6): 6463-6470.

(本文编辑: 刘龙平)

【收稿日期】2018-06-08