

文章编号 1006-8147(2019)06-0634-04

论 著

44例EBV相关性胃癌临床病理分析

郭玉虹, 孙燕, 孙保存

(天津医科大学肿瘤医院病理科, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

摘要 目的: 讨论EBV相关性胃癌(EBVaGC)的病理特征。方法: 回顾44例手术治疗的诊断EBV相关性胃癌病理切片, 分析临床病理学特征、免疫组化、原位杂交检测结果, 结合相关参考文献进行分析讨论。结果: 44例EBV相关性胃癌患者中男性32例, 女性12例, 年龄31~85岁。病理特征为肿瘤细胞排列成条索状、巢片状结构, 部分可见小的腺腔样结构, 间质有大量淋巴细胞浸润。免疫组化染色显示CKpan肿瘤细胞浆阳性, 32例CK8&18肿瘤细胞浆阳性, 12例CK7肿瘤细胞浆阳性, 12例LCA相应细胞膜阳性, 5例Syn和CgA肿瘤细胞浆阳性, 原位杂交44例EB病毒早期RNA(EBER)肿瘤细胞核阳性。随访1到5年, 40例无瘤存活, 3例死亡, 1例失访。结论: EBV相关性胃癌具有独特的临床病理学特征, 以男性为主, 诊断的金标准为EBER-ISH检测, 预后较好。

关键词 胃肿瘤; 病理学; EBV相关性胃癌

中图分类号 R735.2

文献标志码 A

To investigate the pathological features of EBV-associated gastric cancer

GUO Yu-hong, SUN Yan, SUN Bao-cun

(Department of Pathology, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China)

Abstract **Objective:** To investigate the pathological features of EBV-associated gastric cancer (EBVaGC). **Methods:** A retrospective study was performed on 44 patients with EBV-associated gastric cancer. The clinicopathological features, immunohistochemistry, in situ hybridization results, and related references were analyzed. **Results:** Of the 44 patients with EBV-associated gastric cancer, 32 were male and 12 were female, aged 31~85 years. The pathological feature is that the tumor cells are arranged in a strip-like shape, a nest-like structure, and some small glandular structures are seen, and a large amount of lymphoid cells infiltrate in the interstitium. Immunohistochemistry showed CKpan(+), 32 cases of CK8&18(+), 12 cases of CK7(+), 12 cases of LCA corresponding (+), 5 cases of Syn and chrome A scattered (+), in situ hybridization of 44 cases of EBER (+). After 1 to 5 years of follow-up, 40 patients survived without tumor, 3 died, and 1 was lost to follow-up. **Conclusion:** EBV-associated gastric cancer has unique clinicopathological features, especially in male. The gold standard for diagnosis is EBER-ISH, and the prognosis is good.

Key words gastric neoplasm; pathology; EBV-associated gastric cancer

胃癌是病死率居世界第二位的恶性肿瘤^[1]。EBV相关性胃癌(EBV-associated gastric cancer, EBVaGC)在全球胃癌病例中占近10%。1990年Burke等^[2]应用PCR技术首次证明胃淋巴瘤样癌中存在EB病毒的感染, 1993年Tokunaga等^[3]通过原位杂交技术证实胃癌细胞EB病毒早期RNA(Epstein-Barr virus early RNA, EBER)阳性者定义为EBVaGC, 其余为非EBV相关EBVnGC。目前国内文献报道EBVaGC较少, 本文收集44例EBVaGC, 结合相关文献探讨临床病理特征。

1 材料与方法

1.1 临床材料 收集2013年1月-2017年12月

作者简介 郭玉虹(1980-), 女, 医师, 硕士在读, 研究方向: 病理学; 通信作者: 孙保存, E-mail: sunbaocun@aliyun.com。

天津医科大学肿瘤医院根治性手术切除598例胃癌病例, 由两名病理医师重新复查诊断, 筛选出EBVaGC44例, 占胃癌根治病例的7%。

1.2 方法 所有标本经10%中性甲醛固定, 石蜡包埋, 制片, HE染色。免疫组化检测采用罗氏VENTANA全自动免疫组化仪染色, 一抗CKpan、CK8&18、CK7、Syn、CgA购自福州迈新生物技术开发有限公司。一抗LCA和二抗检测系统购自罗氏试剂公司。原位杂交采用罗氏VENTANA全自动免疫组化仪染色, 试剂均购自罗氏试剂公司。

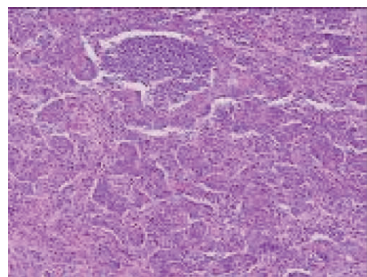
2 结果

2.1 临床特点 男性32例, 女性12例, 年龄31~85岁, 中位年龄60岁。患者临床主要症状为间断上腹部疼痛, 偶有呕血、黑便。

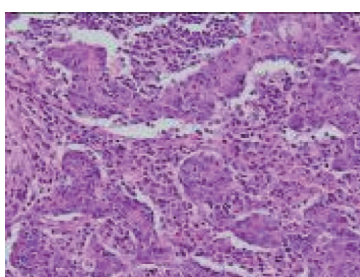
2.2 病理学特征 肿瘤位于贲门3例,胃体25例,胃窦2例,幽门14例。肉眼所见:32例溃疡型,10例隆起型,2例平坦型。肿瘤长径2~8cm。其中38例单发肿瘤,6例多发肿瘤。切面灰红、灰白色,晚期边界不清、质硬。显微镜下观察:大量的淋巴细胞弥漫

浸润,呈条索状、小巢状(图1a)。肿瘤细胞中等大小,圆形或不规则形,胞质嗜双色,核呈空泡状,核膜较厚,可见核仁,有的可见核分裂象(图1b、c),间质可见淋巴细胞、浆细胞,少见纤维组织。

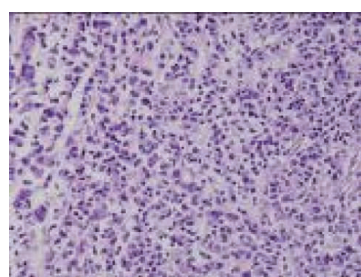
2.3 免疫表型 免疫组化染色显示肿瘤细胞浆



a. HE×200



b. HE×400



c. HE×400

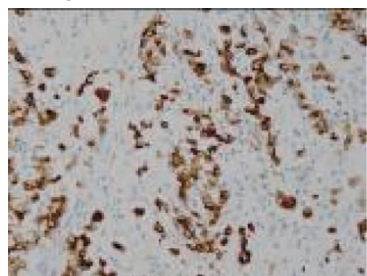
图1 EBV相关性胃癌病理HE染色图片

Fig 1 EBVa Gc HE staining

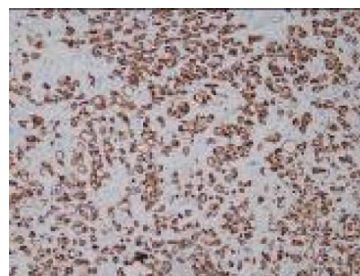
CKpan(+)(图2a),32例肿瘤细胞浆CK8&18(+)(图2b、c)可清晰描绘标出肿瘤细胞,12例淋巴细胞膜LCA(+)(图2d),4例CD20相应细胞膜(+)(图2e),4例CD3相应细胞膜(+)(图2f),5例肿瘤细胞浆Syn和CgA散在(+).

2.4 原位杂交 EBER原位杂交检测44例均显示核阳性(图3)。

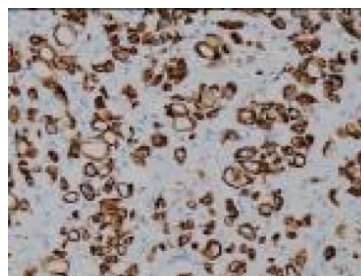
2.5 治疗及随访 44例行腹腔镜下胃癌根治术,随访1~5年,40例无瘤存活,3例死亡,1例失访。



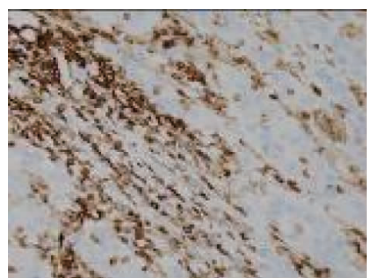
a. CK×400



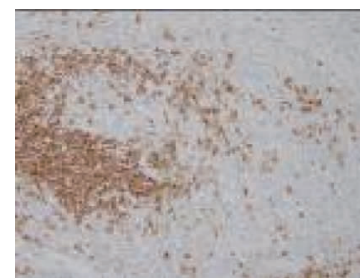
b. CK8&18×200



c. CK8&18×400



d. LCA×400



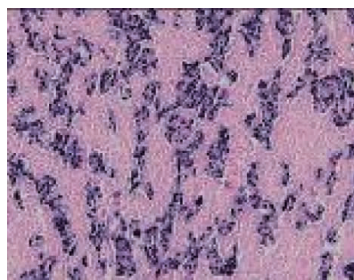
e. CD20×200



f. CD3×200

图2 EBV相关性胃癌病理免疫组化染色图片

Fig 2 EBVaGC IHC staining



EBER×200

图3 EBV相关性胃癌病理原位杂交染色图片

Fig 3 EBVaGC EBER staining

3 讨论

恶性肿瘤中,胃癌在世界范围内致死率排名第2^[1],在我国发病率和致死率排名第3^[4-6]。研究显示胃癌的发病与遗传、饮食、免疫缺陷和环境等因素有关。EB病毒(epstein-Barr virus, EBV)是一种常见的致癌性的人类疱疹病毒,同时是第一个证明与肿瘤发生相关的病毒,在世界范围内,其成人感染率90%^[7]。EBV感染上皮细胞恶性肿瘤主要是多见于鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC),在Burkitt

淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤中也可检测到 EBV。自 1990 年 Burke 等应用 PCR 技术在胃癌中检测出 EBV, 近几年研究更证实 EBV 的感染与部分胃癌的发生密切相关, 通过 EBER-ISH 检测出胃癌中 EBV 感染的患者被定义为 EBVaGC。

3.1 发病机制 几乎所有的健康人都是 EBV 携带者, 通过口腔粘膜分泌传播, 也可经血液传播。EBV 是普遍存在的 IV 型人类疱疹病毒, 属于双链 DNA 致癌病毒。一种 EBERs 是 EB 病毒编码的双链小 RNA, 是 EB 病毒的表达产物, EBER 原位杂交是检测 EBV 感染的金标准。EBV 通过不同的方式感染 B 细胞和上皮细胞。EBV 包膜蛋白 gp350/220 与 B 细胞上的 CD21 (EBV 受体) 结合, 在 EBV 糖蛋白 gp42 与 B 细胞表面的 HLA-II 类分子相互作用下, 形成 gh/gL/gp42 复合体, 进而诱导 EBV 包膜与 B 细胞膜融合, 释放病毒颗粒进入 B 细胞^[8], 引发 B 细胞感染。但 EBV 引起上皮细胞感染机制至今不太清楚。EBV 在肿瘤细胞中以潜伏蛋白形式存在, 根据不同类型, 分为潜伏 I 型、潜伏 II 型和潜伏 III 型, 其中 EBV 相关性胃癌属于潜伏 I 型, 包括 EBNA1、EBER、LMP2A 和 BARTs 等潜伏基因。EBNA1 是 EBV 相关胃癌中唯一表达病毒核蛋白的潜伏基因, 维持受感染细胞的潜伏和生存状态^[9-10]。LMP2A 在 EBV 相关性胃癌的发生、发展起重要作用, 其在胃癌细胞中抑制转化因子 B1 诱导的凋亡和促进 ERK/Fra-1 介导的上皮间质转化^[11]。另外有研究发现, EBV 相关胃癌中肿瘤抑制基因甲基化率 94.1%, EBV 阴性胃癌中仅 21.8%^[12]。此外 P53 突变在 EBV 相关性胃癌低于 10%^[13]。

3.2 临床特征 EBV 相关性胃癌男性发病多于女性, 男性发病率是女性的 2 倍以上。年龄多在 60 岁以上。肿瘤好发于胃体、幽门, 胃窦、贲门少见。胃体的发生率在 50% 以上。临床症状与普通胃腺癌类似, 多为上腹痛, 偶有黑便、呕血。临床特征基本符合文献报道。

3.3 形态学特征 大体所见, 病灶多见溃疡型, 隆起型少见。切面通常灰红、灰白色, 早期病例边界清楚, 质硬。可呈边界清楚的结节状特征, 部分病例 B 超可显示胃壁明显增厚, 且较少淋巴结转移。EBVaGC 发生部位多见于近端胃 (胃体)^[14], 这种情况可能与在口咽部的 EBV 进入胃部感染有关。但贲门部的感染率低^[15]。Huang 等^[16]认为 EBV 相关性胃癌可分为淋巴上皮样瘤型和普通型胃癌两种。本次收集的病例淋巴上皮样瘤型 16 例, 占总病例数的 36.4%。普通型 28 例, 占总病例数的 63.6%。其中管状腺癌 15 例,

低粘附性癌 2 例, 黏液腺癌 2 例, 混合癌 9 例 (管状腺癌和黏液腺癌混合)。

镜下观察: 淋巴细胞大量浸润, 呈条索状、小腺管状、小巢状, 不规则融合排成花边状或网状。肿瘤细胞中等大小, 圆形或不规则形, 胞质嗜双色, 核呈空泡状, 核膜较厚, 可见核仁, 有的可见核分裂象, 间质可见淋巴细胞、浆细胞, 少见纤维组织。免疫组化显示 CKpan(+), 32 例 CK8&18(+) 可清晰描绘标出上皮肿瘤细胞, 12 例 CK7 (+), 12 例 LCA (+)。EBER 原位杂交 44 例均显示核阳性。上述病理特点基本符合文献报道。

3.4 鉴别诊断 (1) 传统的胃腺癌伴炎症反应: 浸润炎细胞以中性粒细胞为主, 炎性细胞呈破坏浸润性生长, 肿瘤细胞多见管状、乳头状、实性弥漫状结构。(2) 神经内分泌肿瘤: 肿瘤细胞多见巢状、梁状、菊花团状, Syn、CgA 阳性。(3) 淋巴瘤: 与粘膜相关淋巴组织边缘 B 细胞淋巴瘤和间变性大细胞淋巴瘤区别。淋巴细胞弥漫性肿瘤性增生, 并表达相应淋巴细胞标记物阳性, 组织边缘 B 细胞淋巴瘤 LCA、CD20 阳性。另外间变性大细胞淋巴瘤 CD30、ALK 阳性。(4) 恶性黑色素瘤: 肿瘤细胞多样化, 核大而明显, 空泡状, 异型性多见, 免疫组化 S-100、HMB45 均阳性。

3.5 治疗与预后 目前 EBVaGC 没有特殊的治疗方法, 仍以手术根治切除为主, 术后也无特殊敏感化疗药。但已证实 P13K 抑制剂 Ly294002 可以增加 EBVaGC 对氟尿嘧啶敏感性^[19]。近期发现槲皮素刺激细胞凋亡, 诱导 EBV 基因转录, 可作为潜在抗癌毒药^[17]。应用 5-氮胞苷甲基化酶抑制剂可以使受感染细胞裂解^[18]。有文献观察到对早期的 EBVaGC 患者进行内镜下治疗, 超过 4 年未复发和转移。

大多数研究认为, EBVaGC 具有显著低死亡率的特点, 并且可以把 EBV 阳性作为较好的预后因素。Camargo 等^[21]通过近 1 000 例病例分析, 发现 EBVaGC 具有低病死率。Khan 和 Hashim 等^[20]统计 1990~2010 年间的数据显示, EBVaGC 患者占胃癌总死亡率 9%。本组病例的 pTNM 分期较早, I 期和 II 期 39 例, III 期 5 例, 并提示无淋巴结远程转移。本组 44 例行腹腔镜下胃癌根治术, 随访 1~5 年, 40 例无瘤存活, 3 例死亡, 1 例失访。

综上所述 EBVaGC 是一种少见的胃癌类型, 具有独特的临床病理诊断特点, EBV 检测可作为分子诊断标准。好发于中老年男性, 目前发病机制尚不明确。治疗与普通胃腺癌相同, 但早期诊断治疗预后较好, 复发率和转移率低。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Shin R, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010,127(12):2893
- [2] Chen J N, He D, Tang F, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a newly defined entity[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2012,46(4):262
- [3] Burke A P, Yen T S, Shekitka K M, et al. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-barr virus demonstrated by polymerase chain reaction[J]. *Mod Pathol*, 1990,3(3):377
- [4] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014,64(1):9
- [5] Ferro A, Peleteiro B, Malvezzi M, et al. Worldwide trends in gastric cancer mortality (1980–2011), with predictions to 2015, and incidence by subtype[J]. *Eur J Cancer*, 2014,50(7):1330
- [6] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Annual report on status of cancer in china, 2010[J]. *Chin J Cancer Res*, 2014,26(1):48
- [7] Neparidze N, Lacy J. Malignancies associated with Epstein-barr virus; pathobiology, clinical features, and evolving treatments[J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2014,12(6):358
- [8] Shannon-Lowe C, Rowe M. Epstein-barr virus entry; kissing and conjugation[J]. *Curr Opin Virol*, 2014,4:78
- [9] Westhoff Smith D, Sugden B. Potential cellular functions of Epstein-Barr Nuclear Antigen 1(EBNA1) of Epstein-Barr virus[J]. *Viruses*, 2013,5(1):226
- [10] Frappier L. Contributions of Epstein-Barr nuclear antigen 1(EBNA1) to cell immortalization and survival[J]. *Viruses*, 2012,4(9):1537
- [11] Lan Y Y, Hsiao J R, Chang K C, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A promotes invasion of nasopharyngeal carcinoma cells through ERK/Fra-1-mediated induction of matrix metalloproteinase 9[J]. *J Virol*, 2012,86(12):6656
- [12] Lee J H, Kim S H, Han S H, et al. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009,24(3):524
- [13] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014,513(7517):202
- [14] Murphy G, Pfeiffer R, Camargo M C, et al. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location[J]. *Gastroenterology*, 2009,137(3):824
- [15] Genitsch V, Novotny A, Seiler C A, et al. Epstein-barr virus in gastro-esophageal adenocarcinomas—single center experiences in the context of current literature[J]. *Front Oncol*, 2015,5:73
- [16] Huang S C, Ng K F, Chen K H, et al. Prognostic factors in Epstein-barr virus-associated stage I–III gastric carcinoma: Implications for a unique type of carcinogenesis[J]. *Oncol Rep*, 2014,32(2):530
- [17] Lee M, Son M, Ryu E, et al. Quercetin-induced apoptosis prevents EBV infection[J]. *Oncotarget*, 2015,6(4):12603
- [18] Jung E J, Lee Y M, Lee B L, et al. Lytic induction and apoptosis of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer cell line with epigenetic modifier and ganciclovir[J]. *Cancer Lett*, 2007,247(1):77
- [19] Chen J. Roles of the P13K/Akt pathway in Epstein-barr virus-induced cancers and therapeutic implication[J]. *World J Virol*, 2012,1(6):154
- [20] Khan G, Hashim M J. Global Burden of deaths from Epstein-barr virus attributable malignancies 1990–2010[J]. *Infect Agent Cancer*, 2014,9(1):38
- [21] Camargo M C, Kim W H, Chiaravalli A M, et al. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: an international pooled analysis[J]. *Gut*, 2014,63(2):236

(2019-03-01 收稿)

(上接第 630 页)

- conduit[J]. *Ann Thorac Surg*, 2011,91(5):1479
- [17] Amark K M, Karamlou T, O'Carroll A, et al. Independent factors associated with mortality, reintervention, and achievement of complete repair in children with pulmonary atresia with ventricular septal defect[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006,47(7):1448
- [18] 张永辉, 花中东, 王旭, 等. 不同姑息性手术对肺动脉闭锁合并室间隔缺损患者肺血管发育促进作用的比较[J]. *中国循环杂志*, 2018,33(11):1108
- [19] 鲁中原, 李守军, 王旭, 等. 体-肺动脉分流与右心室肺动脉连接术治疗肺动脉闭锁合并室间隔缺损术后早期疗效的对比研究[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2014,21(4):468
- [20] De Giovanni J V. Timing, frequency, and results of catheter intervention following recruitment of major aortopulmonary collaterals in patients with pulmonary atresia and ventricular septal defect[J]. *J Interv Cardiol*, 2004,17(1):47
- [21] Fouilloux V, Bonello B, Kammache I, et al. Management of patients with pulmonary atresia, ventricular septal defect, hypoplastic pulmonary arteries and major aorto-pulmonary collaterals: Focus on the strategy of rehabilitation of the native pulmonary arteries[J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2012,105(12):666

(2019-02-25 收稿)