

常规涂片联合瘤包石蜡切片在胸水病理诊断中的应用

彭大云, 张伟, 陈晓东, 赖续文, 钟晓静, 赖日权

广州军区广州总医院病理科, 广东 广州 510010

摘要: **目的** 探讨常规涂片联合瘤包石蜡切片辅免疫组织化学技术在胸水细胞学病理诊断中的应用。**方法** 收集 2015 年 1 月至 2016 年 5 月收检的胸水标本 416 例,以常规涂片 189 例为对照组(其中有活检组织学病理结果者 68 例),以常规涂片联合瘤包石蜡切片 227 例为观察组(其中有活检组织学病理结果者 91 例),辅免疫组化技术的应用。基于组织病理学活检结果的比较,统计分析两组的阳性检出率、诊断准确率及胸水细胞学病理诊断的具体分型。**结果** 两组胸水细胞学结果显示,对照组阳性检出率 18.5% (35/189),观察组为 34.8% (79/227),观察组阳性率明显高于对照组($P < 0.01$)。基于组织学病理活检结果分析两组的诊断准确率,对照组诊断准确率为 80.9% (55/68),观察组为 95.6% (87/91),观察组明显高于对照组($P < 0.01$)。诊断分型中以腺癌为主,占 87.3% (69/79)。**结论** 常规涂片联合瘤包石蜡切片在胸水细胞学病理诊断中可有效提高阳性检出率和准确率;辅以运用免疫组化技术可为临床对疾病的诊断、分型及个体化的精准靶向治疗提供可靠依据。

关键词: 细胞学; 石蜡切片; 胸水; 腺癌; 细胞块; 免疫组织化学

中图分类号: R 446.8 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0038-04

Application of conventional cytology smear combined with tumor sediment embedding paraffin section in pathological diagnosis of pleural effusion

PENG Da-yun, ZHANG Wei, CHEN Xiao-dong, LAI Xu-wen, ZHONG Xiao-jing, LAI Ri-quan

Department of Pathology, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou, Guangdong 510010, China

Corresponding author: CHEN Xiao-dong, E-mail: 13318872246@163.com

Abstract: Objective To discuss the application of conventional cytology smear combined with tumor sediment embedding paraffin section plus immunohistochemical technique as supplementary means in cytologic pathological diagnosis of pleural effusion. **Methods** A total of 416 pleural effusion samples between January 2015 and May 2016 were collected. The specimens using conventional smears examination were served as control group (189 cases including 68 cases with biopsy pathology results), and the specimens using conventional smear plus tumor sediment embedding paraffin section were served as observation group (227 cases including 91 cases with biopsy pathology results), in which immunohistochemistry was added as assistant for detectable positive cases. Based on histopathological biopsy results, the positive detectable rate, accuracy rate and the type of pathological diagnosis of pleural effusion were analyzed. **Results** For the cytological examination results, positive rate of pleural effusion in observation group [34.8% (79/227)] was significantly higher than that in control group [18.5% (35/189), $P < 0.01$]. Based on histopathological biopsy results, the diagnostic accuracy rate in observation group was significantly higher than that in control group [95.6% (87/91) vs 80.9% (55/68), $P < 0.01$]. Based on immunohistochemical marker, The type of pathological diagnosis mainly was adenocarcinoma [87.3% (69/79)]. **Conclusions** The method of conventional cytology smear combined with tumor sediment embedding paraffin section can effectively improve the positive rate and accuracy rate in the pathological diagnosis of pleural effusion, and they together with immunohistochemical technique as a supplementary means can further provide reliable basis for diagnosis, typing of disease and individualized precise targeting therapy.

Key words: Cytology; Paraffin section; Pleural effusion; Adenocarcinoma; Cell pattern block; Immunohistochemistry

胸水在许多疾病共有的临床表现,其产生机制复杂,准确快速地判定其良、恶性对疾病的诊断和治疗有重要意义^[1]。胸水脱落细胞学涂片检查已成为临床常规辅助检查,具有方法简便快速、创伤小等优点,但临床实际工作中因缺少组织学结构支持等众多因素影响,阳性检出率低、准确性差,进而易导致延诊、误诊和误治^[2-4]。本研究采用常规涂片联合瘤包石蜡切片辅以免疫组织化学(免疫组化)技术的运用,不仅提高了胸水脱落细胞学病理诊断中的阳性检出率和准确性,更为临床对疾病的诊断治疗及判断预后提供了可靠依据,现具体报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 收集分析本院 2015 年 1 月至 2016 年 5 月收检的胸水标本共 416 例,其中住院患者 399 例,门诊患者 17 例;男性 273 例,女性 143 例;年龄 16 ~ 94 岁,中位年龄 55 岁。将因细胞沉淀物量少仅能单独行常规涂片检查的 189 例设为对照组(其中有活检组织学病理结果者 68 例);将常规涂片联合瘤包石蜡切片检查的 227 例设为观察组(其中有活检组织学病理结果者 91 例)。影像学提示占位或临床疑有肺部肿瘤者 359 例。

1.2 方法

1.2.1 胸水 留取新鲜胸水标本于冰箱内 2 ~ 8 °C 条件下静置 60 min,去上清液,留取近瓶底液体约 100 ml,混匀后取液体于 4 个 10 ml 离心管内离心 10 min(3 000 r/min),去上清液后将 4 管沉淀物汇集于 1 支管中,此时取少量沉淀物常规涂片经 Leica ST5020 全自动染色机行巴氏染色^[5];剩余的沉淀(如为血性标本先加入醋酸乙醇 10 ml,振荡混匀,离心 10 min,去除血细胞干扰)加入 10% 的中性甲醛 10 ml 振荡混匀,离心 10 min,去上清液,再加入无水乙醇 10 ml 振荡混匀,离心 10 min,去上清液,取出离心沉淀物用通透性好的擦镜纸将其包裹后放入包埋盒经 10% 中性甲醛固定。

1.2.2 活检 通过 CT 引导下经皮肺穿刺活检 37 例,经支气管纤维镜活检 61 例,手术切除 61 例,共 159 例行组织学病理检查。标本全部充分取材,均经 10% 中性甲醛固定。所有胸水瘤包及活检标本均经 Leica Peloris 全自动脱水机处理,常规石蜡包埋切片,厚度 $\leq 3 \mu\text{m}$,经 Dako CoverStainer 全自动 HE 染色机染色,光镜观察。

1.3 免疫组化方法 采用 EnVision 法,一抗细胞角蛋白(CK)、CK5/6、CK7、P63、甲状腺转录因子-1

(TTF-1)、间皮细胞(MC)、神经特异性钙结合蛋白(CR)、突触素(Syn)、神经细胞黏附嗜铬蛋白 A(CgA)、CD56、天门冬氨酸蛋白酶(Napsin-A)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,均为即用性工作液。全自动免疫组化染色仪为 Dako Autostainer Link48,PTlink 脱蜡修复一体机,二抗及 DAB 显色系统为仪器自带封闭配套试剂,选用已知阴性和阳性的组织设置为阴、阳性对照。

1.4 判断标准 由两位经验丰富的病理医师阅片,阳性病例为镜下见恶性(癌)、疑癌和疑恶性细胞的病例;其他则为阴性病例,包含镜下见核异质细胞、炎细胞和增生细胞等;免疫组化判断标准为各抗体相对应部位的胞膜、胞质和胞核着色;以活检组织学病理结果结合免疫组化结果诊断为依据,分别计算各组的诊断准确率,诊断准确率 = (真阴性 + 真阳性)例数 \div 总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组细胞学阳性结果 对照组 189 例胸水常规涂片阳性检出率为 18.5% (35/189),观察组 227 例胸水常规涂片联合瘤包石蜡切片阳性检出率为 34.8% (79/227),观察组阳性检出率高于对照组 ($P < 0.01$)。见表 1。癌细胞常规涂片见图 1a,肺腺癌和鳞癌瘤包石蜡切片见图 1b 和图 1f。

2.2 观察组免疫组化结果 观察组检出的 79 例阳性病例中加做相应免疫组化,结果显示肺腺癌 CK7、TTF-1、Napsin-A 阳性(见图 1c ~ 1e),鳞癌 CK5/6、P63 阳性(见图 1g ~ 1h),小细胞癌 Syn、CgA、CD56 阳性、间皮瘤 MC、CR 阳性^[6-7];确诊具体分型如下:腺癌 69 例(87.3%)、鳞癌 5 例(6.3%)、小细胞癌 3 例(3.8%)、恶性间皮瘤 1 例(1.3%)、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)1 例(1.3%)。

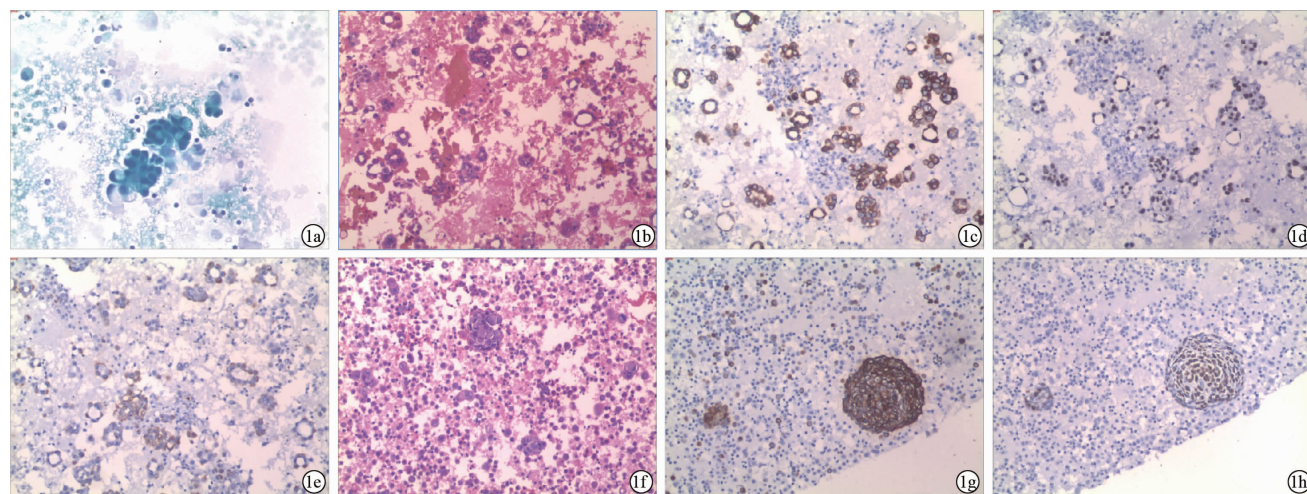
2.3 两组活检组织学病理结果及各组诊断准确率分析 159 例获活检组织学病理结果,其中观察组 91 例,对照组 68 例。基于活检组织学病理结果分析两组的诊断准确率,观察组真阳性、假阳性、真阴性、假阴性分别为 65、3、22、1 例,对照组真阳性、假阳性、真阴性、假阴性分别为 21、8、34、5 例;观察组诊断准确率为 95.6% (87/91),对照组诊断准确率为 80.9% (55/68),观察组明显高于对照组 ($\chi^2 = 8.834, P < 0.01$)。见表 2。

表 1 常规涂片组及联合瘤包石蜡切片组的
阳性检出率结果比较

组别	例数	阳性例数		阳性率(%)
		恶性	可疑	
对照组	189	30	5	18.5
观察组	227	77	2	34.8
χ^2 值				13.745
P 值				<0.01

表 2 两组基于组织学病理活检结果及诊断准确率对比

组别	例数	细胞学阴性(例)		细胞学阳性(例)		准确率(%)
		组织学 阴性	组织学 阳性	组织学 阴性	组织学 阳性	
对照组	68	34	5	8	21	80.9(55/68)
观察组	91	22	1	3	65	95.6(87/91)
χ^2 值						8.834
P 值						<0.01



注:1a:癌细胞常规涂片(巴氏染色, $\times 400$);1b:肺腺癌瘤包石蜡切片(HE, $\times 200$);1c:肺腺癌免疫组化 CK7(+)(EnVision 法, $\times 200$);1d:肺腺癌免疫组化 TTF-1(+)(EnVision 法, $\times 200$);1e:肺腺癌免疫组化 Napsin-A(+)(EnVision 法, $\times 200$);1f:鳞癌瘤包石蜡切片(HE, $\times 200$);1g:鳞癌免疫组化 CK5/6(+)(EnVision 法, $\times 200$);1h:鳞癌免疫组化 P63(+)(EnVision 法, $\times 200$)。

图 1 癌细胞常规涂片和肺腺癌、肺鳞癌的瘤包石蜡切片及其免疫组化所见

3 讨论

胸水产生原因复杂多样,胸膜部位原发病及各种可能累及胸膜的炎症、结核、恶性肿瘤、变态反应及心肝肾功能不全等因素均可导致,其中以恶性肿瘤引起最为常见^[6];引起的原因不同,其治疗方案和预后也不一样,脱落细胞病理学检查作为初始诊断工具,目前已成为标准诊断程序^[7]。

目前胸水脱落细胞学检查方式有三种^[8]:常规涂片法、液基细胞学和瘤包石蜡切片(细胞蜡块)法。常规涂片法采用人工涂片,先涂片后固定,方法简便,快速经济,但常由于厚薄不均、细胞分散、退变重叠、血性及炎性细胞背景,给诊断带来干扰;液基细胞学技术作为一项新技术于 1999 年被引入国内,广泛应用于妇科宫颈脱落细胞学诊断及筛查,后被移植应用于体液的细胞学病理检查与诊断,其主要采用薄层涂片技术将细胞集中于 2 cm 左右的范围内,背景干净,细胞结构清晰,可清晰观察到细胞的三维结构,较传统常规涂片阳性率、准确性虽有所提升,但其制片工序较复杂,标本不能长期保存,在增生间皮细胞和间皮瘤、可疑癌细胞的分辨方面和常规涂片一样存在困难,虽国内有大量文献报道其应用,但仍然处于积累

经验阶段^[9-15]。瘤包石蜡切片行 HE 染色,不但能够提供较高的细胞密度,而且能提供质量更高的结构模式、形态特征,在提高阳性检出率、准确性的同时,蜡块还能长期保存^[16],同时可根据诊断需要连续切片加做免疫组化^[17]、分子病理检查,为肿瘤的组织学来源、分型、临床分期以及个体化的精准靶向治疗提供帮助,完全能达到组织学活检的目的^[18];可作为临床那些因身体、病情等原因不能行病理活检患者的有效替代,不仅能让患者免受穿刺活检痛苦,更能有效避免穿刺引起出血、气胸、感染等并发症的发生。

本研究中观察组的阳性检出率(34.8%)明显高于对照组的阳性检出率(18.5%),差异有统计学意义。观察组中 79 例阳性病例经加做相应免疫组化,结果确诊分型如下:腺癌 69 例(87.3%)、鳞癌 5 例(6.3%)、小细胞癌 3 例(3.8%)、恶性间皮瘤和 DLBCL 各 1 例(1.3%、1.3%);提示恶性胸水主要由腺癌引起,同其他文献报道大致相同。

本研究中部分患者因身体状况、病情恶化、放弃治疗未做组织学活检确诊,获活检组织学病理结果的 159 例中,观察组 91 例,对照组 68 例。基于活检组织学病理结果分析两组的诊断准确率,观察组真阳性、假阳性、真阴性、假阴性分别为 65、3、22、1 例,对

照组真阳性、假阳性、真阴性、假阴性分别为 21、8、34、5 例;观察组诊断准确率为 95.6% (87/91),对照组诊断准确率为 80.9% (55/68),观察组明显高于对照组,由此说明常规涂片联合瘤包石蜡切片在恶性胸水的病理诊断中明显优于单独的常规涂片,且观察组细胞学阳性病例中的 3 例组织学阴性患者均因未能准确穿刺到位,活检结果均显示为慢性炎症,而结合其他临床表现及辅助检查证明其为恶性,由此说明瘤包石蜡切片技术在胸水细胞学病理诊断中可作为临床疾病诊断的有效补充。

综上所述,常规涂片联合瘤包石蜡切片在胸水细胞学的病理诊断中不仅可以有效提高阳性率、准确率;更能联合运用免疫组化、分子病理技术为临床对疾病的诊断、分型、预后和个体化的精准靶向治疗提供可靠依据。

参考文献

[1] 周秋媛,张惠箴,蒋智铭,等.胸腹水沉渣包埋切片中 Napsin-A、CK7、TTF-1 等的表达及临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2013,29(6):671-673.

[2] 魏丽.肺癌胸腔积液液基细胞学与沉渣包埋的对比研究[J].中国实用医药,2016,11(5):31-32.

[3] 陈杰生.胸水细胞块在良、恶性胸水中的鉴别意义[J].汕头大学医学院学报,2014,27(2):109-110.

[4] 宋银绵,闫香琴,邢文晓.多项肿瘤标记物检测在良恶性胸水鉴别及肺癌诊断中的应用[J].热带医学杂志,2015,15(6):809-811.

[5] 张伟,彭大云,周永梅,等. Leica ST5020 全自动染色机在常规病理中的应用[J].医疗卫生装备,2015,36(6):127-128.

[6] 邢荣格,张晓玲,周玮玮,等.胸膜上皮型恶性间皮瘤临床病理特征及相关抗体研究[J].中国煤炭工业医学杂志,2016,19(1):64-68.

[7] Kishimoto T, Fujimoto N, Nishi H. Clinical Pathological Diagnosis, and Treatment for Pleural Mesothelioma[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2016,43(5):513-517.

[8] 王守梅,杨秋红,魏静静,等.比较胸腹水液基细胞学剩余标本制作细胞块的 3 种方法[J].第二军医大学学报,2013,34(2):160-163.

[9] 商建东,周玉国.胸膜活检术联合 CEA、细胞学检查对不明原因胸腔积液的临床诊断价值分析[J].国际呼吸杂志,2013,33(24):1861-1863.

[10] Abbadi MA. Basics of cytology [J]. Avicenna J Med, 2011,1(1):18-28.

[11] 宋新兰,付娟娟.恶性胸腹水液基细胞学及免疫组化检查的临床病理分析[J].新疆医学,2015,45(9):1247-1250.

[12] 何立群.液基细胞学与细胞蜡块对肺癌的诊断价值比较[J].浙江实用医学,2015,20(2):53-55.

[13] 邢杞,王咏梅,王承志.液基细胞学在恶性胸腔积液检查中的价值[J].吉林医学,2013,34(28):5770-5771.

[14] 刘汉忠,王岚,何惠华,等.液基薄层细胞学检查在肺癌诊断中的应用研究[J].临床与病理杂志,2014,34(6):688-692.

[15] Rossi ED, Bizzarro T, Schmitt F, et al. The role of liquid-based cytology and ancillary techniques in pleural and pericardial effusions: An institutional experience [J]. Cancer Cytopathol, 2015,123(4):258-266.

[16] Grillo F, Pigozzi S, Ceriolo P, et al. Factors affecting immunoreactivity in long-term storage of formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections [J]. Histochem Cell Biol, 2015,144(1):93-99.

[17] Zhong J, Li X, Bai H, et al. Malignant pleural effusion cell blocks are substitutes for tissue in EML4-ALK rearrangement detection in patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. Cytopathology, 2016,27(6):433-443.

[18] 杨新,王秋实,李艳青,等.细胞蜡块结合免疫组化有效提高胸水细胞学阳性检出率的临床研究[J].现代肿瘤医学,2014,22(12):2894-2897.

收稿日期:2016-09-16 修回日期:2016-10-12 编辑:王国品