

液基薄层细胞学检测技术在肺癌诊断中的作用

邹萍,胡怀远,宋瑞,张辉,雍祥,吴静静

(皖北煤电集团总医院病理科,安徽 宿州 234000)

摘要:目的 探讨液基薄层细胞学检测(TCT)技术在肺癌诊断中的应用价值。方法 收集400例肺癌患者和200例非肺癌患者的痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗液及支气管刷片共600例,同时进行TCT和传统涂片法(CS)检测,比较两种方法的敏感度和特异度。结果 TCT检测的敏感度为73.0%,特异度为97.5%,CS法检测的敏感度为29.0%,特异度为99.5%,TCT检测的敏感度高于CS法($P < 0.05$)。TCT法在涂片质量、判断癌细胞形态学方面均较CS法好。TCT分类诊断和病理组织学诊断的总符合率为86.6%。TCT分类诊断和细胞蜡块结合免疫细胞化学诊断的总符合率为89.0%。结论 TCT检测法能明显提高肺癌细胞的阳性检出率,值得推广应用。

关键词:肺癌;液基薄层细胞学;传统涂片

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.01.027

Application of ThinPrep cytology test in the diagnosis of lung cancer

ZOU Ping, HU Huaiyuan, SONG Rui, ZHANG Hui, YONG Xiang, WU Jingjing

(Department of Pathology, General Hospital of Wanbei Coal-Electricity Group, Suzhou, Anhui 234000, China)

Abstract: **Objective** To explore the diagnostic value of ThinPrep cytology test (TCT) in lung cancer. **Methods** Six hundred samples of sputum, pleural effusion, alveolar lavage fluid and bronchial mucosa brush were collected, including 400 cases of lung cancer patients and 200 cases of benign lung disease patients. They were detected by TCT and method of conventional smear (CS), respectively. The sensitivity and specificity of the two methods were compared. **Results** The sensitivity of TCT was higher than that of CS (73.0% vs 29.0%, $P < 0.05$) and the specificities of TCT and CS were 97.5% and 99.5%, respectively. TCT is better than CS in the smear quality and the morphology of cancer cell. TCT concordance rates with histopathological diagnosis and diagnosis of cell block in combination with immunocytochemistry were 86.6% and 89.0%, respectively. **Conclusions** TCT can increase the detection rate of lung cancer and is worthy of application in clinical practice.

Keywords: lung cancer; ThinPrep cytology test; conventional smear

肺癌是我国最常见的严重危害人类健康的恶性肿瘤之一。早期诊断对肺癌的治疗有着重大的意义。肺癌细胞学诊断在减少患者痛苦、避免损伤

性操作、节约医疗资源等方面体现出巨大的优势。目前我国常用的传统细胞学涂片(CS)阳性率不高,涂片质量低下,影响肺癌的诊断。液基薄层细胞学检测(TCT)技术是目前国际领先的脱落细胞检查新技术,已广泛应用于宫颈癌的诊断,近年来其在肺癌诊断方面的应用价值也越来越被重视。本文计

通信作者:胡怀远,男,副主任医师,研究方向:病理学,E-mail: hu-huaiyuan@126.com

- [3] 郑彬,詹河涓,陈岳. 386例输尿管上段结石合并轻、中度肾积水的微创治疗方法比较[J]. 重庆医学, 2011, 40(23): 2321-2323.
- [4] 夏圻儿,盛畅,孙晓文. 微创经皮输尿管镜与逆行输尿管镜治疗嵌顿性输尿管上段结石的疗效比较[J]. 临床泌尿外科杂志, 2011, 26(5): 350-352.
- [5] KNUDSEN BE, COOK AJ, WATTERSON JD, et al. Percutaneous antegrade endopyelotomy: long-term results from one institution [J]. Urology, 2004, 63(2): 230-234.
- [6] 詹辉,王剑松,左毅刚,等. 输尿管镜与微创经皮肾镜治疗输尿管上段结石的临床疗效比较[J]. 昆明医学院学报, 2012, 33(7): 94-96.
- [7] WIGNALL GR, CANALES BK, DENSTEDT JD, et al. Minimally

invasive approaches to upper urinary tract urolithiasis [J]. Urol Clin North Am, 2008, 35(3): 441-454.

- [8] 田良,唐金娥,王永德. 输尿管镜钬激光治疗输尿管中下段结石疗效观察(附157例报告)[J]. 临床泌尿外科杂志, 2013, 28(3): 180-181.
- [9] CHENG F, YU W, ZHANG X, et al. Minimally invasive tract in percutaneous nephrolithotomy for renal stones [J]. J Endourol, 2010, 24(10): 1579-1582.
- [10] 徐刚,阎家骏,徐国强,等. 经皮肾镜联合输尿管镜下碎石取石术一期治疗同侧肾输尿管结石[J]. 中国内镜杂志, 2011, 17(8): 828-830, 833.

(收稿日期:2016-09-21,修回日期:2016-11-10)

划对比 TCT 检测技术和 CS 检测技术在痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗液及支气管刷片的中敏感度和特异度,结合细胞蜡块及细胞免疫化学的方法,探讨 TCT 检测技术在肺癌诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 9 月—2016 年 9 月 600 例患者的痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗液及支气管刷片。其中男 398 例,女 202 例;年龄 23 ~ 92 岁。根据临床诊断或病理诊断将患者分为肺癌组(400 例)和非肺癌组(200 例)。临床诊断肺癌指胸部 X 线、CT 或磁共振显示有明确肺部占位性病灶,有肺癌特征表现,并在短期内逐渐增大或伴有明确的转移灶(包括肺内、脑、骨、肝脏等)。病理诊断肺癌指有明确组织病理学诊断,包括活检标本和手术切除标本。肺癌组 400 例患者中,临床诊断 162 例,组织病理学诊断 238 例。非肺癌患者 200 例,包括肺炎症性病变、肺结核,支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、肺不张等。检查标本包括:254 例患者的痰液标本;199 例患者的胸腔积液标本;147 例患者的支气管肺泡灌洗液及支气管刷片。

1.2 实验分组 采用配对设计原则,采用配对设计原则,将每例患者所取的标本分为 3 份,2 份随机进入 TCT 组或 CS 组,1 份备制作细胞蜡块。

1.3 实验方法

1.3.1 TCT 操作方法 将标本转移至离心管中,采用离心沉降技术(600 g、10 min),弃去上清液,置漩涡混合器上震荡 30 s,往离心管中加入 5 mL 缓冲液进行第 2 次离心(600 g、5 min),弃去上清液,置漩涡混合器上震荡 30 s。将离心管放入 LBP SYS-TEM 液基细胞沉降式自动制片染色系统进行自动制片及染色。

1.3.2 细胞蜡块的制作 将标本转移至离心管中,加入适量冰醋酸,静置 10 min,离心(600 g、5 min),弃上清液,加入 95% 的乙醇静置 20 min,弃乙醇,滤纸包裹底部沉淀物,中性福尔马林固定,常规脱水包埋制片,光镜观察。

1.3.3 免疫细胞化学 石蜡切片厚 4 μm ,全自动免疫组化仪操作,每组均设阳性对照。所选一抗为 TTF-1、CK7、CK5/6、P63、Syn、CD56、Calretinin 等(试剂及试剂盒均购自安必平医药科技公司)。

1.4 细胞学及免疫细胞化学的诊断 分别对两组涂片阅片,结果采用 3 级分类诊断法,即将检查结果分为阴性、可疑恶性、恶性。可疑恶性及恶性病例进行病理学分型,包括腺癌、鳞癌、小细胞癌及未明确分型。免疫细胞化学结果判定标准:细胞核和

(或)细胞质中出现棕黄色颗粒的细胞为阳性细胞。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 进行数据分析,计数资料采用例数表示,独立样本间计数资料采用独立样本 χ^2 检验,两组间检验结果一致性采用配对 χ^2 检验,当总样本量 < 40 或最小理论频数 < 1 时采用 Fisher 确切概率法,当最小理论频数 ≥ 1 且 < 5 时采用校正 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCT 和 CS 的检测结果与评价 按照标本例数进行统计,TCT 和 CS 的检测结果见表 1。TCT 检测诊断肺癌的敏感度为 73.0%,特异度为 97.5%。CS 检测诊断肺癌的敏感度为 29.0%,特异度为 99.5%。肺癌组 TCT 的敏感度明显高于 CS($\chi^2 = 154.942, P < 0.001$);非肺癌组间,两种方法检测结果差异无统计学意义。

表 1 肺癌组和非肺癌组标本 TCT 和 CS 检测结果/例

组别	标本数	TCT		CS		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性	阳性	阴性		
非肺癌组	200	5	195	1	199	1.523	0.217
肺癌组	400	292	108	116	284	154.942	0.000

痰液、胸腔积液、支气管肺泡灌洗液及支气管刷片 TCT 检测的敏感度分别为 70.9%、82.0%、57.9%,特异度分别为 97.6%、97.0%、96.2%;CS 检测的敏感度分别为 21.5%、36.8%、30.5%,特异度分别为 100%、98.5%、100%;TCT 的敏感度显著高于 CS($P < 0.05$),特异度与 CS 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 三种标本的 TCT 和 CS 检测结果/例

项目	标本数	TCT		CS		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性	阳性	阴性		
痰液	172	122	50	37	135	84.494	0.000
胸腔积液	133	109	24	49	84	56.118	0.000
灌洗液及刷片	95	61	34	30	65	20.268	0.000

2.2 TCT 细胞学分类诊断的准确性 本文所收集的 400 例肺癌组患者,同时有 TCT 分类诊断和组织病理学诊断结果的标本 238 例,TCT 分类诊断和病理组织学诊断的总符合率为 86.6%,两种方法总符合率差异无统计学意义($P = 0.609 > 0.05$),见表 3。

本文所收集的 400 例肺癌组患者,同时有 TCT 分类诊断和细胞蜡块结合免疫细胞化学结果的标本 163 例,TCT 分类诊断和细胞蜡块结合免疫细胞

化学结果的总符合率为 89.0%,两种方法总符合率差异无统计学意义($P=1.0>0.05$),见表 4。

表 3 TCT 检测结果与组织活检结果比较/例

TCT 诊断	组织学诊断			
	腺癌	鳞癌	小细胞癌	未明确分型
腺癌	118	4	1	0
鳞癌	8	76	7	0
小细胞癌	2	4	12	0
未明确分型	3	1	2	0

表 4 TCT 结果与细胞蜡块结合免疫细胞化学
诊断结果比较/例

TCT 诊断	细胞蜡块结合免疫细胞化学诊断			
	腺癌	鳞癌	小细胞癌	类型不明确
腺癌	89	6	2	0
鳞癌	5	47	0	0
小细胞癌	1	1	9	0
类型不明确	2	2	0	0

2.3 涂片质量、癌细胞形态 TCT 法和 CS 法在涂片质量、癌细胞形态学方面的比较:TCT 涂片的制片、染色、涂片质量均较 CS 好,标本满意度也较 CS 高,且涂片中的癌细胞形态较 CS 清晰,易辨认(图 1,2)。TCT 涂片薄而均匀,细胞结构清晰,背景干净、污染少,染色质量高,细胞团三维结构明显,便于判断其组织学类型。CS 涂片厚薄不均,肿瘤细胞往往存在于血液、炎性细胞的背景中,细胞常由于固定不当或受外力挤压造成退变或变形,影响染色造成诊断困难。

2.4 免疫细胞化学结果 免疫细胞化学结果的判断:CK7、CK5/6、Syn 以细胞质着棕黄色为阳性,

TTF-1、P63 以细胞核着棕黄色为阳性,CD56 以细胞膜着棕黄色为阳性,Calretinin 以细胞核/质棕黄色着色为阳性。腺癌可见 CK7、TTF-1 阳性,鳞癌可见 CK5/6、P63 阳性,小细胞癌可见 CD56、Syn 呈阳性着色(见图 3)。间皮细胞可见 Calretinin 阳性。

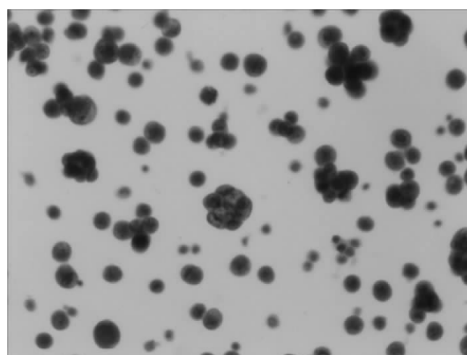


图 1 TCT 中腺癌的表达

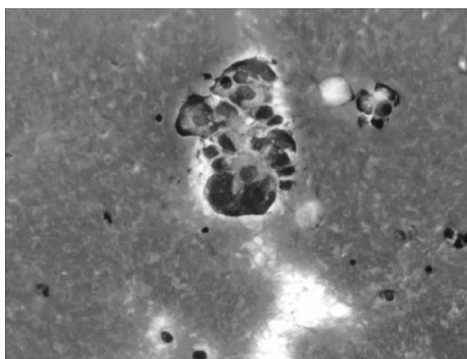


图 2 CS 中腺癌的表达

3 讨论

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,其发病率及病死率均位列各类恶性肿瘤首位^[1]。由于肺癌早期缺乏特异性症状,早期肺癌因无症状而发现困难,5 年

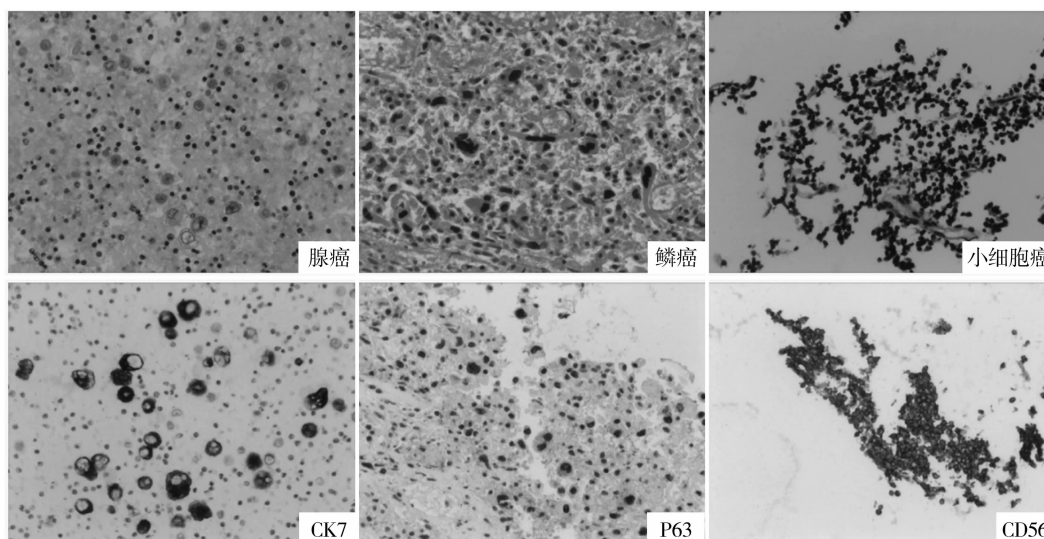


图 3 肺腺癌、鳞癌及小细胞癌中 CK7、P63、CD56 的表达

总体生存率不足 15%^[2]。早期诊断是提高肺癌治愈率的前提。直接涂片法一直是我国脱落细胞学检查的常用手段,但其存在明显的不足,包括涂片厚薄不匀,背景污秽不清晰,易受人为因素影响等,延误临床的诊断与治疗。TCT 检测是细胞学检查的一项新技术,该技术优点突出:(1)标本利用充分,所取材料均可制片观察;(2)细胞保存及时,可明显减少黏液及炎性细胞的干扰,背景干净,细胞结构清晰立体,易于识别;(3)能最大限度地收集到癌细胞成分;(4)涂片范围小且固定,细胞分布均匀,能够避免因观察时间长而产生的疲劳、粗心、漏诊等情况;(5)可以根据需要制作细胞蜡块,以备进行免疫细胞化学检查,有研究表明,TCT 联合免疫细胞化学检测在恶性肿瘤细胞的诊断中具有重要意义^[3-4];(6)避免医生直接与患者体液接触,减少医护人员的医源性感染,最大程度的保护了医护人员健康。

TCT 涂片中细胞保持完整,细胞分布均匀,背景干净,细胞结构清晰,核大小不等,核膜清晰,染色质细腻,核仁明显,胞质较丰富、淡染^[5]。TCT 涂片中背景清晰,癌细胞易辨认,往往能过对癌细胞的观察准确肿瘤组织学分型:(1)腺癌细胞:细胞形态为圆形、多角形或柱状,双核及多核均可见;胞质淡染透明、呈细颗粒状,核质比例增大,核常居中心或偏位,核仁明显;细胞可单个散在,也可聚集成团,排列呈乳头状、腺管状,因细胞常互相重叠,造成三维立体结构明显,清晰度多层面,癌细胞凸现。(2)鳞癌细胞:细胞核大、染色质深、异形性明显、核质比例增高,癌细胞往往单个散在,少见细胞聚集。高分化鳞癌细胞常可见角化形成,出现蝌蚪形、纤维形等异形的细胞。(3)小细胞癌细胞:细胞单个分散,紧密成群,也可聚集成团、“列兵”样排列;核染色质加深,核仁不明显,核排列拥挤呈镶嵌状;细胞质稀少,核质比例高。除准确分型的病例外,仍有少数病例未能明确分型,主要是由于细胞成分较少,且淋巴瘤与小细胞癌、低分化鳞癌在形态上极度相似,鉴别诊断困难,需进一步行免疫细胞化学检查以明确分型^[6-7]。联合应用免疫细胞化学可明确诊断、明确分型,提高阳性检出率,降低假阴性比率,为鉴别诊断提供了重要依据^[8]。

本文选取 163 例 TCT 诊断恶性或可疑恶性病理,制作细胞蜡块后进行免疫细胞化学检查,选用了肺癌常用的标志物抗体,包括 TTF-1、CK7、CK5/6、P63、Syn、NSE、Calretinin 等。结果显示:TCT 分类诊断和细胞蜡块结合免疫细胞化学结果的总

符合率为 89.0%,其中 TCT 诊断结果与免疫细胞化学结果完全符合 145 例。免疫细胞化学结果显示:TTF-1、CK7 联合表达证实为腺癌 89 例,P63、CK5/6 联合表达证实为鳞癌 47 例,Syn、NSE 联合表达证实为小细胞癌 9 例。与 TCT 阳性病例比较,发现有 3 例 TCT 阳性病例为增生的间皮细胞(TTF-1、CK7 阴性,Calretinin 阳性);TCT 中未能明确分型 4 例,经免疫细胞化学证实为腺癌 2 例、鳞癌 2 例。因此,在出现 TCT 结果可疑恶性或恶性肿瘤未能明确分型的情况下,可结合细胞蜡块及免疫细胞化学,有助于进一步证实良恶性及病理学分型。

从本文结果可以看出,TCT 检测诊断肺癌的敏感度为 73.0%,特异度为 97.5%。TCT 分类诊断与组织活检病理完全符合率为 86.6%,其中 TCT 诊断癌的 238 例中经病理活检完全符合 206 例。未能明确诊断的原因包括取材组织过少或组织挤压明显影响阅片,未能准确分型的原因多见于癌细胞分化较差。因此可见 TCT 检测具有较高的敏感度及符合率,结合细胞蜡块及细胞免疫化学,能够准确判断肿瘤病理学分型,在肺癌的临床诊断中具有重要的意义,值得在临床细胞病理学诊断工作中推广应用。

参考文献

- [1] SHIN HR, CARLOS MC, VARGHESE C. Cancer control in the Asia Pacific region: current status and concerns[J]. Jpn J Clin Oncol, 2012, 42(10): 867-881.
- [2] 马丽, 文仲光. 肺癌早期筛查及诊断方法的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2014, 21(11): 1406-1408.
- [3] 陈江帆, 杜明伟, 姜海娇, 等. 免疫细胞化学方法对胸腔积液中心恶性肿瘤细胞的分类与诊断[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2013, 22(1): 49-53.
- [4] 陈江帆, 姜海娇, 祝迪, 等. MOC-31 和 CD44v6 在良恶性腹水鉴别诊断中的应用[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2013, 22(5): 411-415.
- [5] 贾伟, 黄礼年. 液基薄层细胞学在肺癌诊断中的进展[J]. 中华全科医学, 2012, 10(7): 1133-1134.
- [6] 虞红珍, 吴强, 秦蓉, 等. 联合组织学与细胞学对肺小细胞癌的诊断和鉴别诊断[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(1): 61-64.
- [7] 刘尽国, 张杰, 张俭, 等. 液基薄层细胞学与免疫细胞化学联合在肺癌分型及鉴别诊断中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(8): 871-875.
- [8] 陈学敬, 周立娟, 曲杨, 等. 沉渣包埋联合免疫组化在胸水转移性肺腺癌与胸膜恶性间皮瘤鉴别诊断中的应用[J]. 诊断病理学杂志, 2014, 21(5): 263-266.

(收稿日期: 2016-12-12, 修回日期: 2017-01-11)