

• 论 著 •

肺癌锁骨上淋巴结转移的最优免疫组化诊断指标^{*}

张 剑¹, 高美华²

(1. 山东省淄博市临淄区桓公路 139 号临淄区人民医院检验科, 山东淄博 255400;

2. 青岛大学医学院免疫学教研室, 山东青岛 266000)

摘 要:目的 探求诊断肺癌锁骨上转移的最优免疫组化(IHC)指标。方法 在符合循证医学原则的前提下,对临床上 135 例肺癌锁骨上淋巴结转移患者进行淋巴结活检,选取 7 个抗体进行检测。将 135 例患者分为两类,A 类 110 例,B 类 25 例。其中 A 类又包括:通过组织学分析显示存在肺内原发病灶的 14 例;通过细胞学检测显示存在肺内原发病灶的 43 例;通过临床放射学分析显示存在肺内原发病灶的 53 例。B 类,通过组织学分析证明存在肺外病灶的 25 例。待检抗体包括 CK7、CK20、EMA、CEA、TTF-1、SPB 以及波形蛋白。结果 单个抗体在推断肺内原发病灶过程中所表现的灵敏度和特异度分别为:CK7(90%、56%),CK20(98%、40%),EMA(90.9%、4%),CEA(80.9%、36%),TTF-1(62.7%、100%),SPB(65.6%、100%),波形蛋白(60.9%、60%)。四联抗体(CK7、CK20、TTF-1、SPB)表现出了最高的灵敏度(85%)和特异度(100%),这使得肺癌在临床上有很高的检出率(80%)。结论 循证医学理论前提下分析研究 IHC 结果对指导外科病理学的实践具有重大意义。

关键词:最优免疫组化指标; 肺癌; 锁骨上淋巴结; 转移; 循证医学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)01-0005-03

Optimal immunohistochemical diagnostic index for supraclavicular lymph node metastasis in lung cancer

Zhang Jian¹, Gao Meihua²

(Department of Clinical Laboratory, Zibo Municipal People's Hospital, Zibo, Shandong 255400, China; 2. Teaching and Researching Section of immunology, Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China)

Abstract: **Objective** To explore the optimal immunohistochemical (IHC) diagnostic index for supraclavicular lymph node metastasis in lung cancer. **Methods** In the premise of conforming to the evidence-based medicine, the biopsy of lymph node in 135 patients with supraclavicular lymph node metastasis was performed and 7 antibodies were selected to be detected. 135 cases were divided into two classes; class A (110 cases) and B (25 cases). The class A included 14 cases of primary lesion inside the lung by the histological analysis, 43 cases of primary lesion inside the lung by the cytological detection and 53 cases of primary lesion inside the lung by the radiographic analysis. The class B included 25 cases of lesion outside the lung by the histological analysis. The detecting antibodies included CK7, CK20, EMA, CEA, TTF-1, SPB and vimentin. **Results** The sensitivity and specificity of single antibody for deducing the primary lesion inside the lung were 90% and 56% for CK7, 98% and 40% for CK20, 90.9% and 4% for EMA, 80.9% and 36% for CEA, 62.7% and 100% for TTF-1, 65.6% and 100% for SPB, and 60.9% and 60% for vimentin. The quadruple antibodies (CK7, CK20, TTF-1 and SPB) showed the highest sensitivity(85%) and highest specificity(100%), which made the relatively high detection rate (80%) of lung cancer in clinic. **Conclusion** Analyzing and researching the IMC results is of great significance to guide the surgical pathological practice based on the evidence-based medicine.

Key words: optimal immunohistochemical index; lung cancer; supraclavicular lymph nodes; metastasis; evidence-based medicine

肺癌是世界范围内常见的死亡率极高的恶性肿瘤,且常会伴有锁骨上淋巴结的转移,肺脏本身也是肺外肿瘤转移的肥沃土壤^[1]。传统意义上认为肺癌是难以治愈的高侵袭性疾病,甚至直到现在外科病理医生起到的作用也非常有限^[2]。随着更多有效药物、单克隆抗体以及络氨酸激酶抑制剂的出现,肺癌治疗方法的增加,使得病理医生已经成为制定肺癌患者治疗方案的中坚力量^[2-3]。已经有研究证实单克隆抗体可以广泛用于福尔马林固定和组织包埋。抗体的灵敏度和特异度有所不同^[4]。临床病理医生对抗体数量的把握能力有限,而且他们不知该如何选择抗体。外科病理学实践研究很大程度上依赖于非随机化观察性研究,并且很少使用系统回顾以及 Meta 分析等循证医学方法。在外科病理学文献中有关特殊技术应用指南的记载更是甚少^[5],也无经统计学证实的关于 IHC 最优检

测指标的文献记载。因此进行本研究是非常必要的,以便指导外科病理学的实践。

1 资料与方法

1.1 一般资料 135 例肺癌锁骨上淋巴结转移患者中包括男性 96 例(71.1%),女性 39 例(28.9%),年龄 24~73 岁,平均(49.7±0.3)岁,所有患者均有持续 4 个月的临床症状。33 例(24.4%)患者以锁骨上淋巴结肿大为主要临床表现。A 类患者中有 56 例(50.9%)存在右侧锁骨上淋巴结转移;B 类患者有 20 例(80%)存在左侧锁骨上淋巴结转移。从组织学类型上划分:A 类患者中腺癌 54 例(49.1%),鳞癌 47 例(42.7%),大细胞癌 4 例(3.7%),多形细胞癌 3 例(2.7%),腺鳞癌 2 例(1.8%);B 类患者中腺癌 16 例(64.0%),鳞癌 9 例(36.0%)。

1.2 方法 搜集近 8 年的临床资料筛选出 135 例患者,已排

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81273206)。 作者简介:张剑,男,检验技师,主要从事临床免疫学与检验工作。

除小细胞肺癌和淋巴瘤患者。将其分为 A、B 两类。A 类 110 例患者通过组织细胞学、影像学以及临床病史搜集证明存在肺内病灶;B 类 25 例患者存在肺外病灶。A 类患者又分为:经组织学(经支气管或胸廓活检)确诊者 14 例(12.7%);经细胞学(痰细胞、经胸廓细针穿刺、支气管肺泡灌洗、纤支镜活检以及胸腔积液细胞检查)确诊者 43 例(39.1%);通过临床表现和影像学检查确诊者 53 例(48.2%)。对 135 例活检组织进行福尔马林固定、石蜡包埋。所有鳞癌以 P⁶³ 为指标进行 IHC。用亲和素-过氧化酶方法进行染色,并将 DAB 显色剂作为色素原。待检抗体包括 CK7、CK20、EMA、CEA、TTF-1、SPB 以及波形蛋白,阳性 IHC 结果记为 1,阴性结果记为 0。对于 CK20 来说,视阴性免疫染色为肺癌的预警,记为 1。

1.3 统计学处理 所有结果在 SPSS14.0 和 Stata 软件上进行统计来区分肺及肺外肿瘤。单一抗体采用单变量分析来计算其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、总体精确度、比值

比(OR)以及 2 * 2 列联表。不同抗体组合结果包括最少 2 个抗体一组到最多 7 个抗体一组,组合的确定采用了样本等分法。检验标准以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 单一抗体 IHC 表达的统计学评价 由表 1 可见,A 类患者中只有 CK20 阳性率很低(1.8%)。与 B 类相比,CK7、CK20、TTF-1、SPB 抗体结果差异具有统计学意义($P < 0.05$)。两类患者的 EMA、CEA 以及波形蛋白的 IHC 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。由表 2 可见,CK7、CK20 以及 EMA 表现出高灵敏度,但特异度较低;TTF-1 和 SPB 表现出高特异度,但灵敏度较低。就每个抗体的 OR 值来看,单一地利用其预测肿瘤从肺处转移或从肺外转移,结果按降序排列如下: TTF-1 阳性(OR=43.3)、CK20 阴性(OR=36)、SPB 阳性(OR=16.7)、CK7 阳性(OR=11.5)。所以,作为特异性标记物,CK20 的阴性数比 CK7 高。

表 1 两类患者 IHC 结果 (n=135)

IHC	分类	A 类患者			B 类患者			P
		总例数(n)	阳性数[n(%)]	阴性数[n(%)]	总例数(n)	阳性数[n(%)]	阴性数[n(%)]	
上皮标记物	CK7	110	99(90.0)	11(10.0)	25	14(56)	11(44)	<0.001
	CK20	110	2(1.8)	108(98.2)	25	10(40)	15(60)	<0.001
	EMA	110	100(90.9)	10(9.1)	25	24(96)	1(4)	0.689
	CEA	110	89(80.9)	21(19.1)	25	16(64)	9(36)	0.106
肺特异度标记物	TTF-1	110	69(62.7)	41(37.3)	25	0(0)	25(100)	<0.001
	SPB	61	40(65.6)	21(34.4)	8	0(0)	8(100)	0.001
间叶细胞标记物	波形蛋白	110	67(60.9)	43(39.1)	25	10(40)	15(60)	0.074

表 2 单个抗体的统计学指标 (n=135)

IHC marker	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	总体精确度(%)	OR 值
CK7	90.0	56	90	56	83.7	11.50
CK20	98.2	40	87.8	83.3	87.4	36.00
EMA	90.9	4	80.6	9.1	74.8	0.41
CEA	80.9	36	84.8	30	71.8	2.38
TTF-1	62.7	100	100	38	69.6	43.30
SPB	65.6	100	100	27.6	69.5	16.70
波形蛋白	60.9	60	87	25.8	60.7	2.33

2.2 组合抗体 IHC 表达的统计学评价 由表 3 可见,为了找到最佳抗体组合,IHC 结果分析覆盖了从最少的 2 个抗体组合到最多的 7 个抗体组合。最好最小的组合包括的抗体有:CK20(筛选标记物)和 TTF-1(特异性标记物),其灵敏度为 63%,特异度为 100%。最优组合包括 4 个抗体:CK7、CK20、

TTF-1 和 SPB,这个组合既包含筛选标记物,又包含特异性标记物,灵敏度为 85%,特异度为 100%,且在推断肺癌的作用上有最高的二项概率值(0.80),与之相对的 CK20 和 TTF-1 组合的二项概率为 0.61。

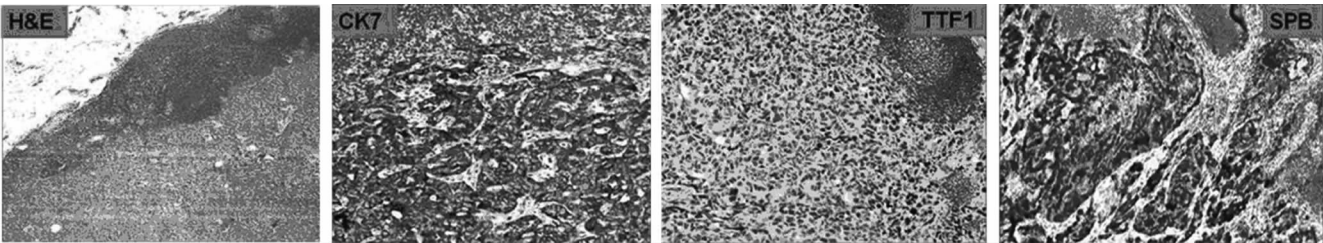


图 1 CK7、TIF1、SPB 免疫组化结果

表 3 不同抗体组合 IHC 结果的统计学评价

抗体组合	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	二项概率值
CK7 和 CK20	88	64	92	0.56
CK7 和 TTF-1	60	100	100	0.60
CK20 和 TTF-1	63	100	100	0.61
CK20 和 SPB	62	100	100	0.60
CK7、CK20 和 CEA	74	88	96	0.76
CK7、CK20 和 TTF-1	65	100	100	0.70
CK7、CK20 和 SPB	63	100	100	0.64
CK7、CK20、TTF-1 和 SPB	85	100	100	0.80
CK7、CK20、CEA 和波形蛋白	43	60	82	0.52

2.3 组织学亚型中的 IHC 表达 如图 1 所示,腺癌细胞中 CK7、TTF-1、SPB 以及波形蛋白的免疫荧光染色有显著高表达,这与鳞癌细胞相反。此外,在所有情况下,P⁶³ 在鳞癌细胞核中有阳性表达。

3 讨 论

现代医学研究证明,IHC 可以作为一种有效的手段来推断可能的肺癌病灶,适用的情况有^[6]:(1)锁骨上淋巴结肿大但未发现临床原发灶;(2)有其他部位原发病史(如乳腺癌)或者新的肺部结节表示有转移或者肺内原发病灶;(3)多发性肺部结节表示有浸润性原发癌或转移癌。IHC 最优检测指标得出对于提高诊断结果的准确性、降低费用以及减少用于石蜡包埋时不必要的组织浪费都是非常必要的。

众所周知,在单个解剖位点研究肿瘤时用单一自身抗体的特异度和灵敏度是很低的,在某些特殊的解剖位点同时有 CK7 和 CK20 的表达对于发现癌有意义^[7]。CK7 阳性和 CK20 阴性同时出现来推断肺癌的灵敏度是 88%,特异度是 64%,二者联合检测的低特异性可能导致出现假阳性结果。相比之下,TTF-1 和 SPB 虽表现了较低的灵敏度,但却有较高的特异度(见表 2),可能导致假阴性结果。以上与现有的研究结果相似^[8]。考虑到以上的影响因素,当应用单一抗体时,有效的抗体组合应该包括非血系和非特异性抗体。通过计算不同抗体组合的二项概率来找到最佳抗体(见表 3)。阴性反应可能会有较高的特异度,但是病理研究人员更倾向于用阳性结果来说明问题。所以本文选择了四联抗体作为最优抗体指标来推断肺癌的锁骨上淋巴结转移。

此外,肺腺癌和肺鳞癌的区别也是临床病理实践中所必需的^[9]。在本研究的 IHC 结果中显示,鳞癌细胞中 CK7、TTF-1 和 SPB 是低表达的,再加上 P⁶³,能够提高四联抗体鉴别肺腺癌和肺鳞癌的能力。最近一项研究运用了 2-marker 抗体标记,包含 TTF-1/P⁶³,表明了 90%的肺腺癌和肺鳞癌是可以被鉴别的。总的来看,除了现在研究已经证实的四联抗体外,更多的基于循证医学的统计分析和检测也证实了 CK5、CK6、P⁶³ 以及 Napsin 的应用。有研究认为进行最优免疫组化诊断指标研究是有必要的,因为这或许可以减少 IHC 染色时的无鉴别和随机化因素^[10]。

参考文献

[1] Gupta N,Rajwanshi A,Srinivasan R,et al. Pathology of supracla-

vicular lymphadenopathy in Chandigarh, North India;an audit of 200 cases diagnosed by needle aspiration[J]. Cytopathol,2006,17(1):94-96.

[2] Cagle PT,Allen TC,Dacic S,et al. Revolution in lung Cancer:new challenges for the surgical pathologist[J]. Arch Pathol Lab Med,2011,135(1):110-116.

[3] Travis WD,Brambilla E,Noguchi M,et al. International association for the study of lung Cancer/American thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol,2011,6(2):244-285.

[4] Bhargava R,Dabbs DJ. Immunohistochemistry of metastatic carcinoma of unknown primary, in Diagnostic immunohistochemistry: thernostic and genomic application (David Dabbs) [M]. 3rd ed. PA:Saunders,2010.

[5] Marchevsky AM. Evidence based medicine in pathology:an introduction[J]. Semin Diagn Pathol,2005,22(2):105-115.

[6] Dennis JL,Hvidsten TR,Wit EC,et al. Markers of adenocarcinoma characteristic of the site of origin:development of a diagnostic algorithm[J]. Clin Cancer Res,2005,11(4):3766-3772.

[7] Johansson L. Histopathologic classification of lung Cancer: relevance of cytokeratin and TTF1 in immunophenotyping[J]. Ann Diagn Pathol,2004(8):259-67.

[8] Chang YL,Yc L,Liao WY,et al. The utility and limitation of thyroid transcription factor-1 protein in primary and metastatic pulmonary neoplasms[J]. Lung Cancer,2004,44(1):149-157.

[9] Rekhman N,Ang DC,Sima CS,et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens[J]. Mod Pathol,2011,24(10):1348-1359.

[10] Marchevsky AM. The application of special technologies in diagnostic anatomic pathology: is it consistent with the principles of evidence based medicine? Semin Diagn Pathol [J]. Semin Diagn Pathol,2005,22(1):155-166.

(收稿日期:2014-11-08)