

• 临床研究 •

深圳东部地区儿童呼吸道合胞病毒与肺炎支原体感染的相关性研究^{*}

吴 意, 金 娟, 樊春卉, 赵 毅, 朱平安
(广东省深圳市第七人民医院检验科 518081)

摘 要:目的 分析深圳东部地区儿童呼吸道合胞病毒(RSV)与肺炎支原体(MP)感染的相关性。方法 运用荧光定量聚合酶链反应技术检测 2011—2015 年儿童咽拭子中 RSV 与 MP, 并进行比较。结果 2011—2015 年 RSV 与 MP 总感染率为 14.26%(639/4 482), 其中 RSV 感染率为 7.24%(312/4 311), MP 感染率为 7.30%(327/4 482)。2011—2015 年 RSV 合并 MP 双重感染率为 0.18%(7/3 956)。RSV 上半年与下半年及逐年之间均存在明显差异。RSV 与 MP 在 5 种常见呼吸道疾病中以支气管肺炎 55.45%(173/312)与 69.42%(227/327)感染率最高, 其次是急性支气管炎 31.73%(99/312)与 20.80%(68/327)。结论 RSV 与 MP 双重感染应引起临床高度重视; RSV 流行与季节和气候环境相关, 而且会出现连续性的高峰期; MP 流行无明显季节性规律; RSV 与 MP 在同一气候环境条件下高发流行呈相反趋势; RSV 与 MP 主要引起儿童支气管肺炎, 其次是急性支气管炎。

关键词:儿童; 呼吸道合胞病毒; 肺炎支原体; 双重感染; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)14-1966-04

呼吸道合胞病毒(RSV)是世界范围内引起婴幼儿严重呼吸道感染与医院感染的重要病原体之一^[1-2]。RSV 通过呼吸道、手和污染物品传播。临床研究表明, RSV 感染症状主要包括咳嗽、鼻塞、流涕、咽喉不适等呼吸道局部症状, 以及发热、乏力、头痛、肌肉酸痛等全身症状, 婴幼儿常伴发热、气促, X 线胸片常出现明显的支气管炎和/或毛细支气管炎表现。在 6 周至 9 个月婴幼儿中易发展成严重的下呼吸道感染, 较大儿童和成人则是上呼吸道感染。肺炎支原体(MP)大小介于细菌与病毒之间, 是能独立生存的最小原核细胞型微生物, 通过呼吸道传播, 可引起人类原发性非典型性肺炎, 病理变化以间质性肺炎为主, 多发于儿童、青年和中年人, 以 5~20 岁感染率最高, 临床表现以发热、咳嗽、头痛、咽喉痛和肌肉痛为主。临床上单独对 RSV 或 MP 的流行病学研究有不少相关报道, 但关于两者之间的相关性研究国内外较少见。本研究探讨了儿童 RSV 与 MP 感染的相关性, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 7 月至 2015 年 6 月本院儿科收治的急性呼吸道感染患儿 4 482 例作为研究对象, 年龄 7 d 至 14 岁, 其中男 2 317 例, 女 2 165 例; 门诊患儿 526 例, 住院患儿 3 956 例。RSV 和 MP 检测阳性患儿根据临床相关疾病诊断标准, 按临床症状、影像学 and 体征三者结合共确诊 5 种疾病, 分别为急性喉气管支气管炎、支气管肺炎、支气管哮喘、急性支气管炎和急性上呼吸道感染。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集、运送和保存 用鼻咽拭子取患儿咽部分泌物, 将标本密封立即送检, 运送采用 0℃冰壶。标本未及检测可保存于-20℃, MP 标本保存期为 6 个月, RSV 标本保存期为 12 个月。

1.2.2 仪器与试剂 BSC-1100A2X 型生物安全柜(济南鑫贝西公司)、DW-FL253 低温冰箱(中科美菱低温科技股份有限公司)、漩涡振荡混匀器(美国 Vortex 公司)、C1301 型迷你离心机(美国 Labnet 公司)、微量加样器(德国 Eppendorf 公司)、Mastercycler ep realplex2 荧光定量 PCR 仪(德国 Eppendorf 公司)、RSV 试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司)、MP 试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司)。

1.2.3 RSV-RNA 的提取 在咽拭子标本管内加入 1 000 μL

生理盐水震荡洗脱分泌物, 转入 1.5 L 的离心管内; 12 000 r/min 离心 5 min, 吸掉上层液体留管底沉淀物 100 μL; 加入 200 μL Trizol 和 100 μL RNA 氯仿, 震荡 20 s 后, 放置 3 min, 12 000 r/min 离心 2 min, 吸取无色上层液体转入新的 1.5 L 离心管内; 加入 10 μL RNA 提取液 A, 充分震荡混匀, 8 000 r/min 离心 1 min; 去上清液再加入 400 μL 溶液 C(已加入 18 mL 无水乙醇), 震荡混匀, 8 000 r/min 离心 1 min; 开盖 60℃干浴 5 min, 加 30 μL 焦碳酸二乙酯(DEPC)水溶解沉淀备用。

1.2.4 MP-DNA 的提取 在咽拭子标本管内加入 1 000 μL 生理盐水震荡洗脱分泌物, 转入 1.5 L 的离心管内; 12 000 r/min 离心 5 min, 吸掉上层液体留管底沉淀物; 加 50 μL DNA 提取液混匀溶解沉淀; 100℃干浴 10 min; 12 000 r/min 离心 5 min 上清液备用。

1.2.5 PCR 扩增 RSV 加 10 μL 模板进 PCR 试剂盒反应管内; MP 加 2 μL 模板进 PCR 试剂盒反应管内, 高速离心数秒后进行 PCR 扩增。RSV-RNA 的扩增循环条件为: 40℃30 min, 94℃3 min, 93℃15 s, 55℃45 s 共 10 个循环, 93℃15 s, 55℃45 s 共 30 个循环。MP-DNA 的扩增循环条件为: 93℃2 min, 93℃45 s, 55℃60 s 共 10 个循环, 93℃30 s, 55℃45 s 共 30 个循环。

1.2.6 结果分析及质量控制 每次实验设置阴性质控品、强阳性质控品和临界(弱)阳性质控品作为质量控制, 保证实验结果的准确可靠性。RSV 阴性质控品荧光信号无增长, 且无明显 S 型扩增曲线; RSV 强阳性和临界阳性质控品荧光信号增幅明显, 呈典型 S 型扩增曲线; 且 RSV 强阳性质控品 CT 值范围为 9~12, 临界阳性质控品 CT 值范围为 17~20, 此 3 项要求必须在同次实验中同时满足, 否则实验无效, 需重新检测。MP 阴性质控品荧光信号无增长或者不呈 S 型曲线; MP 阳性质控品和弱阳性质控品荧光信号增幅明显, 呈典型 S 型扩增; MP 强阳性质控品检测值允许范围为 $2.5 \times 10^6 \sim 4.0 \times 10^7$ copies/mL, 弱阳性质控品检测值允许范围为 $2.5 \times 10^4 \sim 4.0 \times 10^5$ copies/mL, 此 3 项要求必须在同次实验中同时满足, 否则实验无效, 需重新检测。每次实验荧光定量 PCR 仪在扩增的同时, 实时检测不同浓度的阳性定量参考品的荧光信号值, 并生成相应的标准曲线, 待检样本荧光信号值与标准曲线荧光信号值通过电脑自动分析, 得相应的待检样本拷贝数。

^{*} 基金项目: 深圳市盐田区科技局科技计划资助项目(20160102)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料采用例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2011—2015 年 RSV 与 MP 感染率情况 2011—2015 年 RSV 与 MP 总感染率为 14.26%(639/4 482),其中 RSV 感

率为 7.24%(312/4 311),MP 感染率为 7.30%(327/4 482);2011—2015 年 RSV 合并 MP 双重感染率为 0.18%(7/3 956)。各年度 RSV 感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=369.90, P<0.05$);各年度 MP 感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=39.92, P<0.05$);各年度 RSV 与 MP 合并感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=79.35, P<0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 2011—2015 年 RSV 与 MP 感染率情况

年度 (年)	RSV			MP			RSV+MP		
	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	感染率(%)	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	感染率(%)	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	感染率(%)
2011	349	56	16.05	310	11	3.55	284	1	0.35
2012	1 223	90	7.36	1 024	69	6.74	1 092	1	0.09
2013	1 795	13	0.72	1 525	160	10.49	1 641	1	0.06
2014	597	53	8.88	987	58	5.88	545	1	0.18
2015	347	100	28.82	636	29	4.56	394	3	0.76
合计	4 311	312	7.24	4 482	327	7.30	3 956	7	0.18

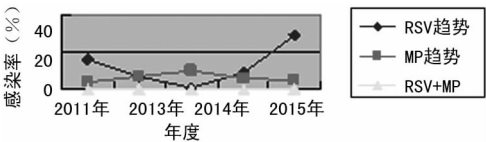


图 1 2011—2015 年 RSV 与 MP 流行趋势

2.2 2011—2015 年 RSV 与 MP 感染的逐年逐月分布情况 2011—2014 年逐年下半年(7—12 月)RSV 感染病例总数差异有统计学意义($\chi^2=61.63, P<0.05$);MP 感染病例总数差异有统计学意义($\chi^2=21.45, P<0.05$)。2012—2015 年逐年上半年(1—6 月)RSV 感染病例总数差异有统计学意义($\chi^2=329.79, P<0.05$);MP 感染病例总数差异有统计学意义($\chi^2=$

17.94, $P<0.05$);2012—2014 年 RSV 上半年与下半年感染率差异有统计学意义($\chi^2=70.18, P<0.05$)。见表 2。

2.3 2011—2015 年 RSV 与 MP 在 5 种常见呼吸道疾病中的感染率分布情况 RSV 与 MP 在同种疾病中的感染率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.36, P>0.05$);RSV 与 MP 在不同种疾病各组间的感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=424.42, P<0.05$),见表 3。其中包括 2011 年 RSV 合并 MP 感染支气管肺炎 1 例,2012 年 RSV 合并 MP 感染疱疹性咽喉炎 1 例,2013 年 RSV 合并 MP 感染急性咽喉炎 1 例,2014 年 RSV 合并 MP 感染支气管肺炎 1 例,2015 年 RSV 合并 MP 感染支气管肺炎 3 例。见表 3。

表 2 2011—2015 年 RSV 与 MP 感染的季节性分布情况(*n*)

月份(月)	RSV					MP				
	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年
1	—	2	3	0	9	—	0	15	2	2
2	—	7	1	1	11	—	2	4	0	1
3	—	45	1	11	22	—	1	7	5	2
4	—	12	1	14	24	—	4	11	4	4
5	—	16	1	7	16	—	15	11	5	4
6	—	2	3	2	18	—	7	15	7	16
7	8	1	2	2	—	1	9	23	8	—
8	26	3	1	4	—	2	8	18	9	—
9	14	0	0	4	—	0	7	14	4	—
10	1	0	0	2	—	3	5	14	3	—
11	4	0	0	2	—	5	3	18	4	—
12	3	2	0	4	—	0	8	10	7	—

注:—为无数据。

表 3 2011—2015 年 RSV 与 MP 在 5 种常见呼吸道疾病中的感染率分布情况[*n*(%)]

临床诊断	RSV 阳性	MP 阳性
急性喉气管支气管炎	2(0.64)	1(0.31)
支气管肺炎	173(55.45)	227(69.42)
支气管哮喘	9(2.88)	7(2.14)
急性支气管炎	99(31.73)	68(20.80)
急性上呼吸道感染	29(9.29)	24(7.34)
合计	312(100.00)	327(100.00)

2.4 2011—2015 年 5 种常见呼吸道疾病中 RSV 与 MP 的感染率各年度分布情况 2011—2015 年急性喉气管支气管炎中 RSV 各年度感染率差异无统计学意义($\chi^2=2.52, P>0.05$);MP 各年度感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=6.50, P<0.05$)。在支气管肺炎中,RSV 与 MP 各年度感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=24.70, P<0.05$; $\chi^2=7.90, P<0.05$)。在支气管哮喘中,RSV 与 MP 各年度感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=23.55, P<0.05$; $\chi^2=14.99, P<0.05$)。在急性支气管炎中,RSV 各年度感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=18.58, P<0.05$);而 MP 各年度感染率比较,差异无统

计学意义($\chi^2 = 2.71, P > 0.05$)。在急性上呼吸道感染中, RSV 各年度感染率比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 19.73, P < 0.05$); MP 各年度感染率比较, 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.17, P > 0.05$)。见表 4。

表 4 2011—2015 年在 5 种常见呼吸道疾病中 RSV 和 MP 的感染率逐年分布情况(n)

临床诊断	RSV					MP				
	2011	2012	2013	2014	2015	2011	2012	2013	2014	2015
急性喉气管支气管炎	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
支气管肺炎	33	35	8	43	54	4	45	118	41	19
支气管哮喘	7	2	0	0	0	2	2	2	1	0
急性支气管炎	12	35	3	7	42	3	18	28	12	7
急性上呼吸道感染	4	18	2	2	3	2	4	12	4	2
合计	56	90	13	53	100	11	69	160	58	29

3 讨 论

本研究显示, RSV 的感染率为 7.24%, 与国内耿佳等^[3]报道的 RSV 检出率 11.85%~27.30% 差异明显, 但与曹晓月等^[4]报道的 RSV 感染率为 7.75% 比较接近, 这可能与研究人群所处地理位置和气候环境条件有关, 所以 RSV 流行情况也不同。热带、亚热带和寒带地区 RSV 可常年流行, 且气温在 2~6℃ 时 RSV 检出率达到高峰, 而温带地区 RSV 主要流行于冬、春季^[5-6]。Yusuf 等^[5]的研究结果提示, RSV 流行与气温呈负相关, 且 RSV 流行与日光中紫外线辐射呈负相关。本研究显示, 2013 年出现全年 RSV 感染率整体降低的情况, 而 MP 感染率却是这几年中最高的, 这可能与 2013 年台风多, 暴雨多, 全年持续高温的天气有关。据深圳市气象局统计资料显示 2013 年全年低于 10℃ 气温仅 15 d, 平均气温 28.2℃, 是近 10 年寒冷季节最短, 高温天气持续最久的 1 年, 2013 年全市雨量也是近 5 年最多的一年。这与国外 Yusuf^[5]和 Du Prel^[6]等报道 RSV 的流行与气温的相关性是一致的, 符合他们的观点; 同时也说明 MP 的感染率同样受气候环境条件影响。深圳属于亚热带海洋性季风气候, 一年中季节变化不是很明显, 而且冬季寒冷时间比较短。由表 2 可以看出 RSV 上半年与下半年感染率存在明显差异, 深圳东部地区 RSV 主要是在上半年(1—6 月)春夏季节流行, 而且每次 RSV 的流行都会出现连续性的高峰期, 以 3—5 月份为高发季节。2011 年 7—9 月出现一次高发流行, 可能与当时的持续暴雨气候潮湿有关。Madhi 等^[7]研究提示, 低温可提高 RSV 在气溶胶中的稳定性, 同时寒冷使儿童呼吸道毛细血管痉挛、缺血, 黏膜上皮纤毛运动减弱, 利于 RSV 的繁殖。

本研究中, MP 的感染率为 7.30%, 与花盛浩等^[8]报道的 MP 总感染率 19.01% 差异明显, 同时由表 2 可以看出 MP 每年各月感染病例数并无明显变化, 这可能与深圳四季平均温差不大的亚热带海洋季风气候环境有关。但与蔡德丰等^[9]报道的深圳地区儿童 MP 的感染率 15.84%~16.17% 也不符, 其原因有可能与医疗机构的患者来源、该区人员流动性和局限性有关。由表 2 也可以看出 MP 上半年与下半年感染率均存在明显差异, MP 主要是下半年(7—12 月)感染率高。这说明 MP 在深圳沿海地区主要是秋冬季节流行。由表 1 可以看出 2011—2015 年整体感染趋势上, 以 2013 年为中心, 出现 RSV 感染率下降或升高时, MP 感染率则升高或下降, 两者相反的局面(见图 1)。这说明在同一气温环境条件下, MP 的高发流行与 RSV 呈相反趋势。有研究表明, 病原微生物在高温天气下容易形成大的气溶胶^[5], 从而延长了 MP 的存活时间, 增加了儿童感染的机会, 在一定程度上导致 MP 的流行, 因此 2013 年 MP 的高发流行证实了此观点的正确性, 同时也符合 Madhi

等^[7]研究结果, RSV 感染率也因其全年持续高温天气导致明显下降。

由表 3 可以看出 RSV 与 MP 在急性喉气管支气管炎、支气管肺炎、支气管哮喘、急性支气管炎和急性上呼吸道感染 5 种常见呼吸道疾病中的感染率以支气管肺炎最高, 分别为 55.45% 和 69.42%, 其次是急性支气管炎, 分别为 31.73% 和 20.80%。说明 RSV 和 MP 主要引起支气管肺炎和急性支气管炎, 与 Haque 等^[10]报道 RSV 感染可致急性支气管炎暴发, 以及 Chen 等^[11]报道的 RSV 在急性支气管炎中的感染率为 28.7% 较一致。由表 4 可以看出 MP 在 2013 年以支气管肺炎高发流行, 病例数最多; RSV 和 MP 很少引起急性喉气管支气管炎, 其次是支气管哮喘。此次实验研究发现每年均有 RSV 合并 MP 双重感染病例发生, 虽然病例数不是很多, 但还是应引起临床高度重视, 以免影响治疗效果。

通过研究发现, RSV 与 MP 感染在流行病学方面存在一定的相关性, RSV 与 MP 在同一气候环境条件下高发流行呈相反趋势, 同时两者均主要引起儿童支气管肺炎和急性支气管炎, 这在国内外鲜有报道, 研究结果对临床疾病的诊断和治疗、预防和控制方面有一定的指导意义。

参考文献

[1] Goldstein E, Greene SK, Olson DR, et al. Estimating the hospitalization burden associated with influenza and respiratory syncytial virus in New York City, 2003-2011 [J]. Influen Other Res Vir, 2015, 9(5): 225-233.

[2] Chen K, Jia R, Li L, et al. The aetiology of community associated pneumonia in children in Nanjing, China and aetiological patterns associated with age and season [J]. BMC Public Health, 2015, 15: 113.

[3] 耿佳, 郭万亮, 张学兰. 苏州儿童医院住院儿童呼吸道合胞病毒流行特点及与气候因素相关性研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(5): 482-486.

[4] 曹晓月, 陈文青, 骆昆明, 等. 2012-2014 年清远地区儿童呼吸道合胞病毒感染流行情况[J]. 职业与健康, 2015, 31(10): 封二-封三.

[5] Yusuf S, Piedimonte G, Auais A, et al. The relationship of meteorological conditions to the epidemic activity of respiratory syncytial virus [J]. Epidemiol Infect, 2007, 135(7): 1077-1090.

[6] Du Prel JB, Puppe W, Grondahl B, et al. Are meteorological parameters associated with acute respiratory tract infections? [J]. Clin Infect Dis, 2009, 15, 49(6): 861-868.

- [7] Madhi SA, Kuwanda L, Cutland C, et al. Five-year cohort study of hospitalization for respiratory syncytial virus associated lower respiratory tract infection in African children[J]. J Clin Virol, 2006, 36(3): 215-221.
- [8] 花盛浩, 邵雪君, 何萍, 等. 2007~2013 年苏州地区儿童肺炎支原体感染流行特点[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18): 2638-2642.
- [9] 蔡德丰, 袁艳, 张霞, 等. 深圳地区儿童 MP 实验室常规检测及分子流行病学特征[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(5): 569-571.

- [10] Haque F, Husain MM, Ameen KM, et al. Bronchiolitis outbreak caused by respiratory syncytial virus in south-west Bangladesh 2010[J]. Int J Infect Dis, 2012, 16(12): e866-e871.
- [11] Chen ZR, Ji W, Wang YQ, et al. Etiology of acute bronchiolitis and the relationship with meteorological conditions in hospitalized infants in China[J]. J Formos Med Assoc, 2014, 113(7): 463-469.

(收稿日期: 2017-02-08 修回日期: 2017-04-13)

• 临床研究 •

上皮细胞黏附分子表达与乳腺癌病理分型及预后的相关性分析

周立民¹, 张哲², 孙湄杨¹, 王长青¹, 苏美华^{3△}

(1. 吉林省肿瘤医院乳腺外二科, 吉林长春 130000; 2. 吉林省肿瘤医院甲状腺微创外科, 吉林长春 130000; 3. 吉林大学中日联谊医院风湿免疫科, 吉林长春 130000)

摘要:目的 分析乳腺癌患者体内上皮细胞黏附因子(EpCAM)的表达情况及其与患者临床病理分型和预后的联系。方法 应用 MaxVision 法对 776 例患者体内的 EpCAM 表达情况进行检测, 并结合患者的病理分型和预后情况进行统计学分析。结果 不同淋巴结转移、肿瘤大小、人表皮生长因子受体-2(HER2)的表达和临床分期的乳腺癌患者 EpCAM 的表达阳性率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 单因素 COX 分析显示, EpCAM 阳性表达的患者预后较差, 具体相关的分型为三阴型、腺腔 B 型(HER2+)和 HER2 过表达型, 多因素 Logistic 分析显示, EpCAM(+)及 HER2 过表达型均为影响乳腺癌患者预后的危险因素。结论 EpCAM 可影响乳腺癌的发展与其分子分型, 尤其对于三阴型和 HER2 过表达型乳腺癌患者来说可以独立影响预后, 检测可针对 EpCAM 的分子靶点对乳腺癌进行靶向治疗。

关键词:人表皮生长因子受体-2; 乳腺癌; 分子分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)14-1969-03

上皮细胞黏附因子(EpCAM)表达于人类多种上皮细胞, 是一种细胞跨膜蛋白, 在包括细胞增殖、分化、组织迁移的多种生物学行为中具有重要的意义^[1]。对于肿瘤组织来说, 其往往具有细胞增殖迅速, 易转移等特点, 因此在恶性肿瘤组织中往往出现 EpCAM 的高表达现象^[2]。乳腺癌目前是影响我国女性健康的重要疾病, 具有较强的异质性, 可根据免疫组化染色结果分为腺腔 A 型、腺腔 B 型[人表皮生长因子受体-2(HER2)-]、腺腔 B 型(HER2+)、HER2 过表达型和三阴型^[3]。为探究 EpCAM 在不同类乳腺癌患者中的表达情况及其对预后的指导意义, 笔者对 776 例乳腺癌患者进行了相关分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择吉林省肿瘤医院 2006 年 9 月至 2016 年 9 月收治的 776 例乳腺浸润癌患者为研究对象。776 例患者年龄为 34~78 岁, 平均(57.46±13.57)岁; 所有患者均为首次诊断, 并经病理活检诊断为乳腺癌; 其中 396 例已绝经, 380 例未绝经; 217 例腺腔 A 型, 244 例腺腔 B 型(HER2-), 78 例腺腔 B 型(HER2+), 68 例 HER2 过表达型, 169 例三阴型。

1.2 检测方法 收集其完整切片、石蜡档案及诊疗病历。进行组织芯片的制作并统一进行免疫组化染色分析。根据文献[4]应用 MaxVision 法对标本进行免疫组化染色; 对石蜡切片进行脱蜡操作, 后应用磷酸盐缓冲溶液(PBS)进行冲洗, 并应用 pH 为 6.0 的柠檬酸盐进行抗原热修复。对内源性过氧化物酶进行封闭, 具体试剂为 3%过氧化氢。随后加入一抗, 室

温下孵育 60 min, 后用 PBS 再次冲洗并加入 MaxVision 试剂, 于室温下培育 15 min。培育后再用 PBS 冲洗加入 DAB 溶液(新鲜配制), 用自来水冲洗。用苏木精对标本进行复染、脱水、透明, 并用树脂密封固定。阴性对照为 PBS 代替一抗。

1.3 判定标准 EpCAM 和 HER2 的阳性定位于细胞膜, 而雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)阳性定位于细胞核。EpCAM 阳性的判定标准为细胞膜着色并出现清晰连续的棕黄色颗粒。根据文献[5]对免疫组化结果进行如下计分: 对组织中阳性细胞数量的百分率和其阳性的强度进行统计, 取其乘积为 H 评分, 范围为 0~300 分。H≥100 分时为阳性; 反之为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布、方差齐性的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 预后生存率的分析应用时序检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EpCAM 的表达与乳腺浸润性导管癌临床病理学特点及分子分型的关系 在全部 776 例患者中, EpCAM 的阳性表达率为 55.0%(427/776)。与 EpCAM 的阳性表达有关的临床病理特征包括: 组织学分类、淋巴结转移、肿瘤大小、ER 表达、PR 表达、HER2 表达和临床分期, 上述临床病理特征不同患者 EpCAM 阳性及阴性表达率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而是否绝经和其表达无关($P > 0.05$)。见表 1 及

△ 通信作者, E-mail: sumeihua825@126.com。