

• 短篇论著 •

细胞学、DNA 倍体分析及细胞蜡块在胸腹腔积液病理学诊断中的应用*

邓晓红, 石新兰[△], 崔铁莉, 李振强, 亢紫涵, 贾 静, 李玉广, 常亚娅

(首都医科大学石景山教学医院北京市石景山医院病理科, 北京 100043)

摘要:目的 探讨细胞学、DNA 倍体分析及细胞蜡块在胸腹腔积液病理诊断中的应用价值。方法 收集该院 2015 年 9 月至 2017 年 3 月送检查找瘤细胞的胸腹腔积液标本 206 例, 进行离心涂片、细胞 DNA 倍体分析、细胞蜡块切片 HE 染色及相关免疫细胞化学染色。结果 恶性胸腹腔积液 45 例, 其中, 细胞涂片找到瘤细胞 25 例(55.56%); DNA 倍体异常细胞阳性 37 例(82.22%); 离心沉渣包埋细胞蜡块切片 40 例, 细胞多而集中, 细胞形态清楚并具有一定的组织结构, 背景清晰, 能较好地满足诊断。30 例进一步行免疫细胞化学染色, 均能明确肿瘤细胞来源。结论 常规细胞涂片结合 DNA 倍体分析及细胞蜡块技术可有效提高肿瘤细胞的检出率, 免疫细胞化学染色在胸腹腔积液细胞病理诊断、鉴别诊断及确定肿瘤细胞来源方面具有重要价值。

关键词:胸腹腔积液; 细胞蜡块; DNA 倍体分析; 免疫细胞化学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.024

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2018)02-0202-03

文献标识码:B

胸腹腔积液是全身性疾病及胸腹部疾病常见并发症, 而脱落细胞学诊断是明确胸腹腔积液病因的重要手段。传统脱落细胞学诊断恶性胸腹腔积液特异度高, 但是灵敏度较差。结合 DNA 倍体分析, 制作细胞蜡块并辅助以免疫组化和分子检测, 可有效提高胸腹腔积液肿瘤细胞检出率, 并可进一步明确肿瘤的诊断、鉴别诊断、判断细胞来源及辅助临床用药治疗^[1-3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2015 年 9 月至 2017 年 3 月临床科室送检的胸腹腔积液 206 例, 其中胸腔积液 124 例, 腹腔积液 82 例, 男 127 例, 女 79 例, 年龄 45~91 岁, 恶性胸/腹腔积液 45 例(21.85%), 良性胸/腹腔积液 161 例(78.16%)。恶性胸腔积液病因主要为肺腺癌, 良性胸腔积液病因主要是结核性胸膜炎, 恶性腹腔积液病因主要是女性生殖系统肿瘤及胃肠道肿瘤, 良性腹腔积液病因主要是肝硬化。

1.2 仪器与试剂 兰丁细胞 DNA 定量分析仪。福尔根染色法的 DNA 染液购于武汉兰丁公司; 细胞保存液购于北京奥特邦润生物科技有限公司; 所有的免疫组化试剂均购于自北京中杉金桥生物制品有限公司。

1.3 方法 (1)取适量胸腹腔积液于 50 mL 离心管中, 2 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液; 向沉渣中加入适量保存液充分混合均匀后, 取适量沉渣混合液制作 2 张薄层液基细胞学涂片, 其中一张行福尔根染色, 经 DNA 倍体分析系统进行 DNA 倍体分析, 另一张行巴氏染色以观察细胞形态; 剩余沉渣混合液再次离心 5

min, 弃上清液, 将沉渣常规脱水、浸蜡、包埋, 制作 HE 染色切片。(2)TCT 涂片及细胞块病理诊断: 所有病例的胸腔积液 TCT 涂片及细胞块切片均经 2 位病理医师仔细阅读, 在涂片和/或切片中出现呈腺腔样、实性巢团状或单个散在排列的异型细胞即诊断为恶性胸腹腔积液, 结合细胞形态及免疫表型确定肿瘤细胞来源。(3)采用免疫组化 PV-6000 法对 30 例胸腹腔积液细胞块进行了细胞角蛋白(CK)、波形蛋白(Vim)、细胞角蛋白 7(CK7)、细胞角蛋白 20(CK20)、钙视网膜蛋白(CR)、细胞角蛋白 5(CK5)、癌胚抗原(CEA)、甲状腺转录因子 1(TTF-1)、肺泡上皮标记物(NapSinA)、Wilm's 肿瘤基因(WT-1)、转录配对象子基因 8(PAX8)、绒毛蛋白(Villin)、同源蛋白 CDX2、抑癌基因 P53、细胞核增值抗原 Ki67 等抗体染色。

1.4 结果判读 (1)DNA 倍体分析系统可对每例 4 000 个以上细胞核进行自动聚焦测定, 二倍体细胞(G_1/G_0)DNA 含量为 2c, 当 DNA 含量为 4c 时, 多为四倍体细胞(G_2/M 期), 当有 3 个以上 DNA 含量为 $>5c$ 的细胞或当异倍体细胞 DNA 含量在 2~4c 之间形成峰时, 即可诊断为恶性。(2)DNA 倍体异常细胞数量 N: 未见 DNA 倍体异常细胞($N=0$); 少量 DNA 倍体异常细胞($0<N<3$); 可见 DNA 倍体异常细胞($3\leq N<15$); 可见大量 DNA 倍体异常细胞($N\geq 15$); (3)恶性胸腹腔积液: 细胞块 HE 染色切片或细胞涂片查见恶性肿瘤细胞; 良性胸腹腔积液: 细胞块 HE 染色切片及细胞涂片均未查见恶性肿瘤细胞; (4)免疫细胞化学染色结果判定: 参照组织学原则, CK、

* 基金项目: 石景山区医学重点扶持专科建设项目资助(20170008)。

[△] 通信作者, E-mail: dxhong_0352@126.com。

本文引用格式: 邓晓红, 石新兰, 崔铁莉, 等. 细胞学、DNA 倍体分析及细胞蜡块在胸腹腔积液病理学诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 202-204.

Vim、CK7、CK20、Calretinin、CK5、CEA、NapSinA、Villin、CDX-2 以胞膜/胞质着棕黄色判定为阳性，胞膜或胞质未见棕黄色判定为阴性；TTF-1、WT-1、P53、Ki67 以胞核着棕黄色判定为阳性，胞核未见棕黄色判定为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行分析，计数资料采用卡方检验， $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

206 例胸腹腔积液中，细胞涂片找到瘤细胞 25 例，细胞涂片或细胞蜡块找到瘤细胞 45 例，细胞涂片找到瘤细胞的灵敏度为 55.56%。124 例胸腔积液中，27 例为恶性胸腔积液（21.77%），其中，19 例进行了免疫细胞化学检查，16 例肺腺癌（16/19，84.21%），1 例间皮瘤，1 例胆管来源，1 例女性生殖系统来源。82 例腹腔积液中，18 例为恶性腹腔积液（21.95%），其中，11 例进行了免疫细胞化学检查，5 例来源于女性生殖系统（5/11，45.45%），3 例来源于胃肠道（3/11，27.27%），1 例来源于乳腺，1 例来源于膀胱，1 例来源于淋巴造血系统。30 例细胞块辅助以免疫细胞化学检查者均能明确恶性胸腹腔积液病因，并能利用细胞块进行与治疗相关的免疫细胞化学项目及分子病理项目检查。而且，当胸腹腔积液细胞学形态不典型，良恶性不能确定时，辅助以免疫细胞化学也能准确地进行鉴别诊断。45 例恶性胸腹腔积液中，37 例查见 DNA 倍体异常细胞（82.22%）；8 例未见 DNA 倍体异常细胞，其中 3 例细胞涂片中仅见极少量肿瘤细胞，3 例细胞涂片中的肿瘤细胞相互黏附而呈大片状细胞巢，2 例在细胞涂片未见肿瘤细胞而沉渣中见到较多肿瘤细胞。161 例良性胸腹腔积液中，仅 11 例（6.83%）查见 DNA 倍体异常细胞且异常细胞数目均少于 3 个，150 例（93.17%）未见 DNA 倍体异常细胞，见表 1、2。

表 1 胸腹腔积液 DNA 异倍体细胞检出率						
类型	n	DNA 倍体异常细胞(n)				阳性率(%)
		N≥15	3≤N<15	0<N<3	N=0	
恶性胸腹腔积液	45	17	11	9	8	82.22
良性胸腹腔积液	161	0	0	11	150	6.83

表 2 胸腹腔积液 DNA 异倍体细胞和涂片瘤细胞检出率[% (n/n)]				
类型	n	DNA 异倍体细胞检出率	涂片瘤细胞检出率	DNA 异倍体细胞或涂片瘤细胞检出率
恶性	45	82.22(37/45)*	55.56(25/45)	100.00(45/45)
良性	161	6.83(11/161)	0.00(0/161)	6.83(11/161)

注：与良性比较，* $P<0.05$

3 讨论

常规胸腹腔积液标本直接离心涂片 HE 染色诊断，涂片厚，细胞重叠，结构不清，细胞量少，虽然涂片

查找癌细胞特异度高，但灵敏度较低，容易导致恶性胸腹腔积液的漏诊。另外，细胞涂片很难鉴别肿瘤细胞及增生的间皮细胞，并且不能判断瘤细胞的起源^[4-5]。因此，常规胸腹腔积液涂片在病理诊断中存在很多不足之处。

每一个正常细胞有固定的 DNA 含量，通常用 DNA 指数或容量为单位，当细胞处于 G₁/G₀ 期时，细胞 DNA 含量为 DI=1 或 2c。当细胞处于增殖期时，DNA 含量可倍增，表达为 DI=2 或 4c。细胞在癌变过程中，细胞核的大小、核内 DNA 含量及 DNA 在细胞核内的分布和排列形式等都会发生改变，而这种改变是细胞癌变过程中最早期的变化。福尔根染色中的细胞核着色深浅度与 DNA 含量成正比，通过兰丁细胞 DNA 定量分析仪测量核内 DNA 含量^[6]的变化，能发现早期癌变细胞，倍体分析定位准确。因此，分析胸腹腔积液中细胞染色体数量，明确是否存在异倍体细胞，有助于及时发现和诊断恶性胸腹腔积液^[6-8]。研究结果表明，恶性胸腹腔积液 DNA 异倍体细胞检出率高达 82.22%，明显高于传统细胞学检查癌细胞检出率。

在胸腹腔积液诊断中，不仅需要判断良恶性，而且确定引起恶性胸腹腔积液肿瘤原发部位也十分重要。任何恶性肿瘤均可转移到胸腹膜引起恶性胸腹腔积液，引起恶性胸腔积液最常见原因是肺腺癌^[9]。本研究中，19 例经免疫细胞化学检查明确了组织来源，其中，18 例为腺癌（94.74%），16 例为肺腺癌（占腺癌总数 84.21%），1 例为间皮瘤；引起恶性腹腔积液最常见原因是女性生殖系统肿瘤及胃肠道肿瘤。11 例进行了免疫细胞化学检查，5 例来源于女性生殖系统（45.45%），3 例来源于胃肠道（27.27%），1 例来源于乳腺。在胸腹腔积液细胞学诊断时，仅根据细胞形态鉴别腺癌、间皮瘤与间皮细胞反应性增生有时很困难，必须仔细询问临床病史，结合影像学等其他检查以查找原发病灶。同时，可辅助免疫细胞化学方法以确定原发部位，在鉴别腺癌和间皮瘤方面，间皮细胞标记物 Calretinin、CK5 和癌胚抗原具有较好的鉴别作用，而 TTF-1 和 NapSinA 在确定腺癌的肺来源上具有重要作用^[10-12]，Villin 和 CDX-2 有助于确定肿瘤是否来源于胃肠道^[13]，WT-1 和 PAX-8 有助于判断肿瘤是否来源于女性生殖系统^[12]。

参考文献

[1] 王应霞,张旋,吴莹莹,等.液基细胞学检测联合 DNA 倍体分析在良恶性胸腹水鉴别诊断中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2016,32(10):1152-1155.

[2] 林静,周英琼.脱落细胞学的细胞块制作及应用的研究进展[J].医学综述,2014,20(15):2739-2740.

[3] 朱琳,肖锋,钱铮,等.细胞块石蜡切片联合免疫细胞化学技术在浆膜腔积液细胞学诊断中的应用[J].南通大学学报(医学版),2016,36(3):182-185.

[4] 张玉文.胸腹水恶性肿瘤病理细胞学检查分析[J].中国

医学创新,2012,9(9):11-12.

[5] UGURLUOGLU C,KURTIPEK E,UNLU Y,et al. Importance of the cell block technique in diagnosing patients with non-small cell carcinoma accompanied by pleural effusion[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2015,16(7):3057-3060.

[6] 杨倩.脱落细胞学检查、DNA 倍体分析与血清肿瘤标志物联合检测诊断恶性胸腹水的价值[J].蚌埠医学院学报,2015,40(8):1046-1048.

[7] CHITTURI R T,NIRMAL R M,SUNIL P M,et al. Evaluation of ploidy status using DNA-image cytometry of exfoliated mucosal cells in oral lichen planus[J]. J Cytol, 2014,31(3):131-135.

[8] BRADLEY G,ODELL E W,RAPHAEL S,et al. Abnormal DNA content in oral epithelial dysplasia is associated with increased risk of progression to carcinoma[J]. Bri J Cancer,2010,103(9):1432-1442.

[9] 韩军平,王丽,曾达春.恶性胸腔积液临床病理分析[J].

• 短篇论著 •

海拔 5 000 m 以上男性健康习服青年血红蛋白和血氧饱和度参考值研究*

李 年 华,高 亮,李 彬,阳盛洪[△]
(解放军第 18 医院高山病研究所,新疆喀什 844900)

摘 要:目的 建立喀喇昆仑山海拔 5 000 m 以上高原移居男性青年人群血红蛋白(Hb)及血氧饱和度(SaO₂)参考区间,为移居高原人群卫生保健提供依据。**方法** 选择 5 070~5 400 m 海拔的 123 例健康男性青年移居人群作为研究对象,通过现场检测其 Hb 及 SaO₂ 值等,并计算其参考值范围。**结果** 海拔 5 000 m 以上健康男性青年的 Hb 参考区间为 130.2~221.2 g/L,SaO₂ 的单侧参考区间为大于或等于 76.0%。**结论** 为对海拔 5 000 m 以上移居人群实施有效健康保障,根据该海拔人群习服特点,建议将 Hb 参考区间确定为 130.0~220.0 g/L,SaO₂ 的单侧参考区间为大于或等于 76.0%。

关键词:高原; 血红蛋白; 血氧饱和度; 参考值
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.025
文章编号:1673-4130(2018)02-0204-03

甘肃医药,2016,35(5):332-335.

[10] YAN J,WEI Q,JIANG W,et al. A fine decision tree consisted of CK5/6,IMP3 and TTF1 for cytological diagnosis among reactive mesothelial cells,metastatic adenocarcinoma of lung and non-lung origin in pleural effusion[J]. Int J Clin Exp Pathol,2014,7(9):5810-5818.

[11] SHI H Z,LIANG Q L,JIANG J,et al. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in malignant pleural effusion:a meta-analysis[J]. Respirology,2008,13(4):518-527.

[12] 刘玉艳,姜乃光,赵青亮,等.浆膜腔积液中 Napsin A 和 Pax-8 的表达及临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2015,31(4):452-454.

[13] 丁彩霞,黄颖楠,张娟.细胞蜡块在恶性浆膜腔积液中的应用[J].陕西医学杂志,2016,45(4):387-388.

(收稿日期:2017-07-27 修回日期:2017-10-14)

中图法分类号:R594.3
文献标识码:B

5 000 m 以上海拔地区,大气压及氧分压约为平原的一半,肺泡气氧分压仅为平原的 43%,空气干燥,水蒸气含量约为平原的十分之一,对移居人群的身心健康影响极大^[1]。血红蛋白(Hb)在此环境下大量增生,可作为监测人群慢性高原病指标;血氧饱和度(SaO₂)是反应机体供氧程度的重要参数,对急/慢性高原病监测具有重要意义。为提高海拔 5 000 m 以上高原地区健康监测保障及为临床诊断提供客观依据,课题组对本区驻守海拔 5 000 m 以上的某边防部队习服人群 Hb 和 SaO₂ 指标进行分析和总结,拟建立相关参数的参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2015 年 5 月本课题组对喀喇昆仑山

地区海拔 5 000 m 以上常驻部队进行常规体检及收集习服人群的相关资料,并在高原现场筛查符合标准的人群抽取肘静脉血液并检测其 Hb 值。筛查标准:进驻高原前体检健康;心肺功能正常,能正常参加高原工作和训练,近期按训练大纲考核合格,并将高原肺水肿及高原脑水肿患者,阻塞性呼吸道疾病患者,心脏疾病及具有血液病和家族遗传病史人群排除。共筛选出研究对象 123 人,移居海拔为 5 070~5 400 m,人群年龄 18~36 岁,平均(21.9±2.9)岁,均为世居平原的健康男性,汉族,移居高原 3~12 个月,平均(7.7±3.9)个月。

1.2 仪器与试剂

Hb 的检测采用氢化高铁法,仪器为 WJX 型血红蛋白检测仪(江苏康健),试剂由长春

* 基金项目:2016 年军队后勤科研重点项目(BWS16J009001);2016 年军队创新工程专项(16CXZ014)。
[△] 通信作者,E-mail:ysh0751@163.com。
本文引用格式:李年华,高亮,李彬,等.海拔 5 000 m 以上男性健康习服青年血红蛋白和血氧饱和度参考值研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(2):204-206.