

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.019

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.019

腹腔积液细胞蜡块细胞来源及免疫细胞化学的诊断价值

程凯, 涂频, 周晓蝶, 沈勤, 何燕, 石群立

(解放军南京总医院/南京大学金陵医院病理科, 南京 210002)

[摘要] 目的: 探讨腹腔积液细胞蜡块细胞来源并分析PAX8, ER, CDX-2和CDH17免疫染色的鉴别诊断价值。方法: 回顾性分析解放军南京总医院/南京大学金陵医院病理科146例腹腔积液细胞蜡块归档样本病理资料, 并进行免疫细胞化学染色检测PAX8, ER, CDX-2和CDH17的表达。结果: 腹腔积液细胞蜡块中, 可见卵巢癌转移35例, 胃肠道腺癌转移21例, 也可以见到肺癌、乳腺癌、淋巴瘤、恶性黑色素瘤等恶性肿瘤转移。PAX8和ER在卵巢癌中的阳性率均为97%, 在其他样本中阳性率分别为0%和5%, 差异具有统计学意义($\chi^2=140.56$, $P<0.001$; $\chi^2=116.65$, $P<0.001$)。在21例胃肠道腺癌中, CDX-2及CDH17的阳性率分别为90%和71%; 在其余的125例细胞蜡块样本中, 可以检测到5例CDX-2表达及3例CDH17表达, 差异具有统计学意义($\chi^2=97.88$, $P<0.001$; $\chi^2=79.26$, $P<0.001$)。结论: 多种恶性肿瘤细胞可以转移至腹腔积液, 其中卵巢癌最多, 胃肠道腺癌次之; PAX8, ER, CDH17和CDX-2具有较好的鉴别诊断价值。

[关键词] 细胞蜡块; 腹腔积液; 免疫细胞化学染色

Cell block cytology and the diagnosis value of immunocytochemical staining in peritoneal effusion

CHENG Kai, TU Pin, ZHOU Xiaodie, SHEN Qin, HE Yan, SHI Qunli

(Department of Pathology, Nanjing Jingling Hospital, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210002, China)

Abstract **Objective:** To study the source of cells in the cell block deriving from peritoneal effusion and to analysis the value of PAX8, ER, CDX-2 and CDH17 in the differential diagnosis. **Methods:** The clinical and pathological data in 146 cases of archived peritoneal effusion cell blocks were retrospectively analyzed, and the expression of PAX8, ER, CDX-2 and CDH17 were detected by EnVision immunocytochemical technique. **Results:** There were 35 cases of ovarian carcinoma and 21 cases of gastrointestinal adenocarcinoma. In all the 146 cell blocks; besides, lung cancer, breast carcinoma, lymphoma and melanoma were found in these specimens. Both of the PAX8 and ER was detected in 97% (34/35) of all the 35 ovarian cell blocks, while the positive rate was 0% and 5% in the remaining samples, respectively. The positive rate in ovarian carcinomas was significant higher than the rest samples

收稿日期 (Date of reception): 2017-09-06

通信作者 (Corresponding author): 石群立, Email: shiqunli@aliyun.com

基金项目 (Foundation item): 解放军南京总医院院管课题 (2016055)。This work was supported by the Youth Grant supported by Jinling Hospital, China (2016055).

($\chi^2=140.56, P<0.001$; $\chi^2=116.65, P<0.001$). In all of the 21 gastrointestinal adenocarcinomas, the expression rate of CDX-2 and CDH17 was 90% and 71%, respectively; from the other 125 samples, we observed 5 cases express CDX-2 and 3 cases expressed CDH17. The expression rate in gastrointestinal adenocarcinomas was significant higher than the other samples ($\chi^2=140.56, P<0.001$; $\chi^2=116.65, P<0.001$). **Conclusion:** Many malignant tumor cells have the ability to spread to peritoneal effusion, with ovarian carcinoma most common and gastrointestinal adenocarcinoma secondly; PAX8, ER, CDH17 and CDX-2 expressions are of great value in differential diagnosis.

Keywords cell block; peritoneal effusion; immunocytochemical staining

浆膜腔积液细胞学诊断是临床病理诊断中常用方法。以前,通常用“阴性”与“阳性”进行诊断浆膜腔积液细胞学。随着细胞蜡块技术、分子诊断技术发展以及免疫组织化学抗体的大量应用,浆膜腔积液脱落细胞学样本能够提供更有价值的信息。目前,浆膜腔积液细胞蜡块样本至少可以明确3点:首先,可以明确浆膜腔积液的性质,即“癌”与“非癌”;其次,可以明确细胞来源,即明确原发病灶;再次,可以为靶向治疗提供诊断依据。已经有大量研究^[1-2]探讨胸腔积液细胞蜡块的应用,但是对于腹腔积液细胞蜡块的研究较少。本研究总结近3年腹腔积液细胞蜡块样本的信息,为腹腔积液细胞蜡块在临床中的应用提供一定参考依据。

1 对象与方法

1.1 对象

选取146例解放军南京总医院病理科2015年1月至2017年8月归档的腹腔积液细胞蜡块标本。所有标本均有术后病理活检结果或相关病史。本研究已经过解放军南京总医院伦理委员会批准。

1.2 实验方法与试剂

采用EnVision两步法免疫组织化学染色:切片经脱蜡,水化,行高温高压抗原修复(10%柠檬酸盐抗原修复缓冲液, pH 6.0; 每张切片滴加50 μ L一抗, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h, PBS冲洗; 每张切片滴加50 μ L EnVision试剂, 室温下孵育30 min; PBS冲洗, DAB显色, 苏木素复染, 中性树胶封片。

一抗:即用型抗体PAX8(克隆号: ZR-1), ER(克隆号: EP1), CDX-2(克隆号: EP25)和CDH17(克隆号: EP86)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。HRP标记的鼠兔通用型二抗抗DAB显色液均购自丹麦DAKO公司。

1.3 评判标准

PAX8, CDX-2和ER阳性定位于细胞核, CDH17阳性定位于细胞膜。计数10个高倍视野, 计算平均阳性细胞数, 按阳性细胞所占比例分为: <1%(-), 1%~25%(1+), 26%~50%(2+), 51%~100%(3+), 1+及其以上判读为阳性。

1.4 统计学处理

采用STATA 12.0统计软件进行处理, 采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法分析免疫细胞化学各标记之间的表达差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腹腔积液细胞蜡块疾病类型分布

在146例腹腔积液细胞蜡块中, 卵巢癌35例, 胃肠道腺癌21例, 乳腺癌7例, 肺癌5例, 淋巴造血系统肿瘤5例, 胰腺癌5例, 胆管癌2例, 肝癌1例, 恶性黑色素瘤1例, 未分化肉瘤1例, 良性间皮增生46例。此外尚有不明来源肿瘤9例和难以明确诊断的可疑癌8例。由此可见, 约88%的病例可以通过细胞蜡块得到明确诊断, 其中, 卵巢癌和胃肠道腺癌占总数的38%(56/146), 占恶性腹腔积液的67%(56/83)。

2.2 PAX8和ER免疫细胞化学染色在卵巢癌细胞蜡块中的诊断价值

对146例腹腔积液细胞蜡块进行PAX8和ER免疫组织化学染色, 结果显示卵巢癌中PAX8和ER阳性率均为97%(34/35), PAX-8在其他来源的细胞蜡块中未见表达(0/111), ER在其他来源的细胞蜡块中阳性率为5%(5/111), 差异有统计学意义($\chi^2=140.56, P<0.001$; $\chi^2=116.65, P<0.001$; 表1, 图1A, 1B)。

2.3 CDX-2 和 CDH17 免疫细胞化学染色在卵巢癌细胞蜡块中的诊断价值

对146例腹腔积液细胞蜡块进行CDX-2和CDH17免疫组织化学染色, 胃肠道腺癌细胞蜡块中CDX-2及

CDH17的阳性率分别为90%(19/21)和71%(15/21), 其他来源细胞蜡块中二者阳性率分别为4%(5/125)和2.4%(3/125), 差异有统计学意义($\chi^2=97.88$, $P<0.001$; $\chi^2=79.26$, $P<0.001$; 表2, 图1C, 1D)。

表1 PAX-8及ER在卵巢癌腹腔积液细胞蜡块中的鉴别诊断价值

Table 1 Diagnosis value of the PAX-8 and ER in ovarian carcinoma peritoneal effusion cell blocks

类别	PAX-8		χ^2	P	ER		χ^2	P
	阳性	阴性			阳性	阴性		
卵巢癌	34	1	140.56	<0.001	34	1	116.65	<0.001
其他	0	111			5	106		

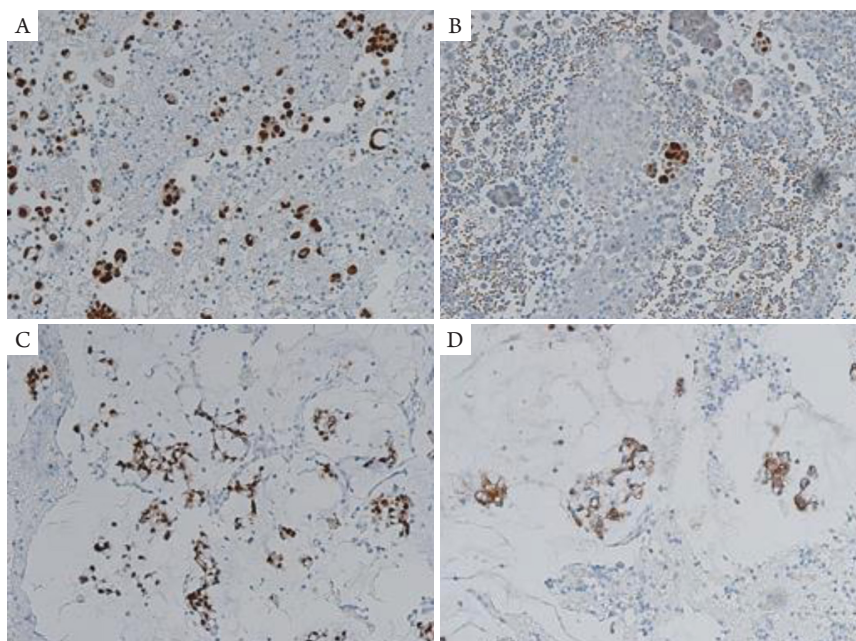


图1 PAX-8, ER, CDX-2和CDH17在细胞蜡块中的表达(EnVision, $\times 200$)

Figure 1 Expressions of the PAX-8, ER, CDX-2 and CDH17 in lung adenocarcinoma and atypical mesothelial cells in pleural effusion (EnVision, $\times 200$)

(A) PAX-8在细胞蜡块中免疫染色; (B)ER在细胞蜡块中免疫染色; (C)CDX-2在细胞蜡块中免疫染色; (D)CDH17在细胞蜡块中免疫染色。

(A) Immunostaining of PAX-8 in cell block; (B) Immunostaining of ER in cell block; (C) Immunostaining of CDX-2 in cell block; (D) Immunostaining of CDH17 in cell block.

表2 CDX-2及CDH17在胃肠道腺癌腹腔积液细胞蜡块中的表达

Table 2 Diagnosis value of the CDX-2 and CDH17 in gastrointestinal adenocarcinomas peritoneal effusion cell blocks

类别	CDX-2		χ^2	P	CDH17		χ^2	P
	阳性	阴性			阳性	阴性		
胃肠道腺癌	19	2	97.88	<0.001	15	6	79.26	<0.001
其他	5	120			3	122		

3 讨论

浆膜腔积液可以发生在胸腔、腹腔及心包腔, 虽以良性积液居多, 但是恶性胸腔积液在临床中也常见到。因此, 对于浆膜腔积液的良恶性判断是细胞病理学中的一个重要任务。恶性浆膜腔积液可能发生在肿瘤确诊之后, 也可能作为肿瘤的首发症状出现^[3]。在没有任何病史及影像学资料辅助的情况下, 由于浆膜腔积液中中间皮细胞的影响, 单凭细胞学形态诊断腹腔积液的性质, 往往具有一定的挑战性。因此, 细胞蜡块的出现, 较好地解决了这一问题。

虽然细胞蜡块技术是一种传统细胞学技术^[4], 但是, 该技术在国内外大范围开展尚处于早期。作为细胞学涂片的重要补充诊断, 细胞蜡块不仅增加恶性肿瘤的检出率, 也降低了诊断的假阳性率^[5]。肿瘤细胞经过离心, 脱水后, 即可常规包埋制片。简单易行, 且可以长时间保存样本以便进行回顾性分析^[6]。目前, 由于分子靶向治疗的广泛开展, 对细胞蜡块的研究多集中于胸腔积液。而有关腹腔积液细胞蜡块鉴别诊断的研究尚未见到。

从本研究结果看, 88%的腹腔积液细胞蜡块可以得到明确诊断, 不仅能够区分腹腔积液性质, 同时能查明病因以指导治疗。患者发生腹腔积液后通常会就诊于消化内科, 而此时查明腹水的成因, 明确疾病类型至关重要。本研究首先分析了腹腔积液细胞蜡块可能出现的病种。其中, 明确的恶性腹腔积液约57%, 明确的良性腹腔积液约为32%。在明确恶性腹腔积液中, 卵巢癌占42%, 胃肠道腺癌占25%, 二者合计占恶性腹腔积液细胞蜡块的67%。因此, 鉴别二者至关重要。

免疫组织化学技术在鉴别转移癌中有重要作用。PAX8通常表达于女性生殖系统肿瘤、肾细胞癌和甲状腺乳头状癌^[7]。ER的表达与激素分泌的腺癌相关, 比如卵巢癌和乳腺癌。CDX-2和CDH17是消化系统起源的腺癌的有效标志^[8]。CDX2不仅能够用于诊断结直肠癌, 同时与结直肠癌的预后相关^[9]。因此, 我们尝试在细胞蜡块中, 是否能用组织学的免疫组织化学抗体进行免疫细胞化学检测。本研究表明PAX8在卵巢癌腹腔积液细胞蜡块中的阳性率为97%, 未见到其他类型肿瘤表达PAX-8, 而ER的阳性率与PAX8一致, 但是5例乳腺癌转移的细胞蜡块中也可见表达。因此, 对于腹腔积液卵巢癌鉴别诊断可用PAX-8作为首选抗体, ER作为次选抗体。有研究^[10]表明: 在组织

学样本中, PAX8在卵巢高级别浆液性癌中的阳性率为99%, 无浆液的卵巢上皮性肿瘤中阳性率为71%。与研究的结论较一致。此外, 对于消化道腺癌恶性腹腔积液细胞蜡块的抗体选择同样参考组织学的诊断标记^[9]。Ordóñez^[8]复习了大量文献, 认为CDX-2在胃癌中阳性率为62.5%, 在结肠癌中的阳性率为99%, 而CDH17在二者之中的阳性率分别为44%和99%。本研究中CDX-2在胃肠道腺癌中的阳性率为90%, CDH17为71%。因此, 对于胃肠道腺癌腹腔积液细胞蜡块的诊断, 可选用CDX-2作为首先抗体, CDH17作为次选抗体。

本研究尚存在一个不足之处: CDX-2与CDH17仅仅能够证明肿瘤来源胃肠道, 但是并不能对肿瘤准确定位。结直肠癌和胃癌, 无论是手术方式、化疗方案, 还是靶向治疗策略, 均有一定的差异。SATB2表达在成人下消化道(如阑尾、结肠、直肠)上皮细胞^[11]及其来源的肿瘤, 其阳性率约为85%^[12]。胃癌不表达SATB2。因此, 如果采用CDX-2, CDH17和SATB2组合, 有可能鉴别结直肠癌和胃癌。但是由于样本胃肠道肿瘤样本例数较少, 未能完成此实验。在后续实验设计中, 从胃肠道转移癌的组织学和细胞学两方面明确CDX-2, CDH17和SATB2抗体组合的诊断价值。

参考文献

1. 薛秋婷, 顾兵, 朱立强. 液基细胞学联合免疫细胞化学对疑难肺腺癌转移胸腔积液的诊断价值[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(12): 1938-1943.
XUE Qiuting, GU Bing, ZHU Liqiang. Application of BD TriPath liquid-based cytologic test and immunocytochemistry in diagnosis of lung adenocarcinoma in pleural effusion[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(12): 1938-1943.
2. 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.
3. Ghosh I, Dey SK, Das A, et al. Cell block cytology in pleural effusion[J]. J Indian Med Assoc, 2012, 110(6): 390-392.
4. Light RW, Erozan YS, Ball WC Jr. Cells in pleural fluid. Their value in differential diagnosis[J]. Arch Intern Med, 1973, 132(6): 854-860.
5. Bhanvadia VM, Santwani PM, Vachhani JH. Analysis of diagnostic value of cytological smear method versus cell block method in body fluid cytology: study of 150 cases[J]. Ethiop J Health Sci, 2014, 24(2): 125-131.

6. Shivakumarswamy U, Arakeri SU, Karigowdar MH, et al. Diagnostic utility of the cell block method versus the conventional smear study in pleural fluid cytology[J]. *J Cytol*, 2012, 29(1): 11-15.
7. Ordóñez NG. Value of PAX 8 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update[J]. *Adv Anat Pathol*, 2012, 19(3): 140-151.
8. Ordóñez NG. Cadherin 17 is a novel diagnostic marker for adenocarcinomas of the digestive system[J]. *Adv Anat Pathol*, 2014, 21(2): 131-137.
9. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, et al. CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(3): 211-222.
10. Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(6): 816-826.
11. 程凯, 吴楠, 石群立. SATB2免疫组化染色在肿瘤病理诊断应用中的研究进展[J]. *诊断病理学杂志*, 2015, 22(9): 571-573.
CHENG Kai, WU Nan, SHI Qunli. Research progress of application of SATB2 in tumor diagnosis[J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2015, 22(9): 571-573.
12. Magnusson K, de Wit M, Brennan DJ, et al. SATB2 in combination with cytokeratin 20 identifies over 95% of all colorectal carcinomas[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(7): 937-948.

本文引用: 程凯, 涂频, 周晓蝶, 沈勤, 何燕, 石群立. 腹腔积液细胞蜡块细胞来源及免疫细胞化学的诊断价值[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(11): 2402-2406. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.019

Cite this article as: CHENG Kai, TU Pin, ZHOU Xiaodie, SHEN Qin, HE Yan, SHI Qunli. Cell block cytology and the diagnosis value of immunocytochemical staining in peritoneal effusion[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(11): 2402-2406. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.019