

• 技术与方法 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.33.028

液基细胞制片术在纤维支气管镜抽吸物检测中的应用*

万涛, 黄习臣, 粟毅, 李岱容[△]

(重庆医科大学附属第一医院呼吸内科 400016)

摘要:目的 探讨液基细胞制片技术在纤维支气管镜抽吸物检测中的应用价值。方法 采用安必平(LBP)沉降式液基细胞制片系统并结合传统涂片方法处理纤维支气管镜抽吸标本 2 000 例,制成薄片,显微镜下观察,进行细胞学诊断。结果 液基细胞制片法共检出细胞学阳性病例 614 例(30.7%),其中鳞癌 267 例(13.4%),腺癌 217 例(10.9%),小细胞癌 83 例(4.2%),未定型癌 47 例(2.4%)。液基制片法诊断肺癌敏感度为 64.6%,传统涂片法诊断肺癌敏感度为 49.2%。同时发现真菌阳性 7 例,结核病典型的干酪样坏死 35 例。结论 液基细胞制片比传统方法制备的涂片背景更干净,细胞结构保持完整,阅片效率更高,癌细胞检出的阳性率得到提高,两种方法同时采用能最大限度提高纤维支气管镜细胞学检测的准确性和阳性检出率,同时还能为真菌、结核菌感染提供诊断依据。

关键词:纤维支气管镜抽吸物;液基细胞制片;细胞学诊断

中图分类号:R446.19

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)33-4500-03

Application of liquid based cytology test in detection of fiber bronchoscopic aspirates*

Wan Tao, Huang Xichen, Su Yi, Li Dairong[△]

(Department of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital of
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study liquid based cytology test and its application values in the detection of fiber bronchoscopic aspirates. Methods LBP sedimentation type of ThinPrep cell production system combined with the conventional smear were used to detect 2000 specimens of fiber bronchoscopic aspirates, and conduct microscope observation and cytological diagnosis. Results Based on liquid based cytology cell production method, there were 614 positive cases (30.7%), 267 cases of squamous cell carcinoma (13.4%), and 217 cases of adenocarcinoma (10.9%), 83 cases of small cell carcinoma (4.2%), and 47 cases of undifferentiated carcinoma (2.4%). The diagnostic sensitivity for lung cancer of liquid-based cytology test was 64.6% and conventional smear was 49.2%. We also found 7 cases of fungus positive, 35 cases of typical caseous necrosis with liquid based cytology test. Conclusion The ThinPrep cell production has a more clean background, more intact cell structure, more efficient observation and increased positive rate of detection of cancer cells than the smears made by traditional methods. A combination of two methods can increase the accuracy of cytological detection of fiber bronchoscope aspirates and positive detection rate, and also can assist the diagnosis of fungi and TB infections.

Key words: fiber bronchoscopic aspirates; liquid based cytology test; cytological diagnosis

纤维支气管镜检查是诊断肺部占位病变的主要方法,尤其对肺癌的诊断有着重要作用,通过对病变部位支气管进行抽吸、刷片、灌洗以及钳取组织等手段获取该部位细胞或组织标本,通过细胞病理或组织病理学检测,得到对病变性质的最终确诊。过去纤维支气管镜获取的细胞学标本一般采用直接涂片的方法进行检查,该方法所制备的涂片厚薄不一,且常混有黏液等杂质,易发生人为的异常变化,影响对恶性细胞的观察而延误临床诊断与治疗。随着液基细胞制片技术的出现,很好地解决了传统涂片的一些缺点。本研究将该技术用于纤维支气管镜抽吸物的检测,能够加强整个制片过程的质量控制,获得优良的细胞薄片,提高了诊断的阳性率,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 2~10 月在本科纤维支气管镜室进行支气管镜检查的门诊或住院患者 2 000 例,其中男 1 358 例,女 642 例,年龄 16~84 岁,平均 58 岁。纤支镜抽吸物行常规涂片及液基细胞制片。所有病例中 967 例具有组织学对照(包括经纤支镜钳取、经皮肺穿刺活检及手术后病检),其中经组织病理学明确诊断肺癌 567 例。

1.2 仪器与试剂 LBP 液基细胞制片系统(广州安必平公司),包括半自动样本转移机、离心机、振荡器、染色板、一次性耗材包括液基细胞保存液、12 mL 离心管、过滤器、黏液消化液、黏附载玻片、移液器、苏木素染液等,自备试剂:Tris 缓冲液、伊红、无水乙醇、二甲苯。

1.3 方法

1.3.1 样本采集 内镜室医师将纤维支气管镜检查过程中的抽吸物或适量灌洗液注入液基瓶内,拧紧瓶盖并摇匀,作好标识后送细胞室检查。每例标本同时拉片制备两张常规片一同送检。

1.3.2 制片染色 根据安必平(LBP)沉降式液基细胞制片系统操作规程进行制片,HE 染色。

1.3.3 封片 染色完成后,玻片经无水乙醇脱水,再放入二甲苯内进行透明处理,保持湿片,中性树脂胶封固。

1.3.4 细胞学诊断 采用 5 级分类诊断法,即将细胞学检查结果分为恶性细胞阳性、可疑恶性细胞、恶性细胞不确定、恶性细胞阴性和标本不满意。肺癌细胞分为鳞癌细胞、腺癌细胞、小细胞癌细胞及未定型癌细胞。所有涂片结果均由同一人阅

* 基金项目:国家临床重点专科建设项目经费资助(卫办医政函[2012]949 号)。 作者简介:万涛(1983-),初级技师,硕士,主要从事细胞病理学研究工作。 [△] 通讯作者, Tel: (023)89012745; E-mail: lidairong@126.com。

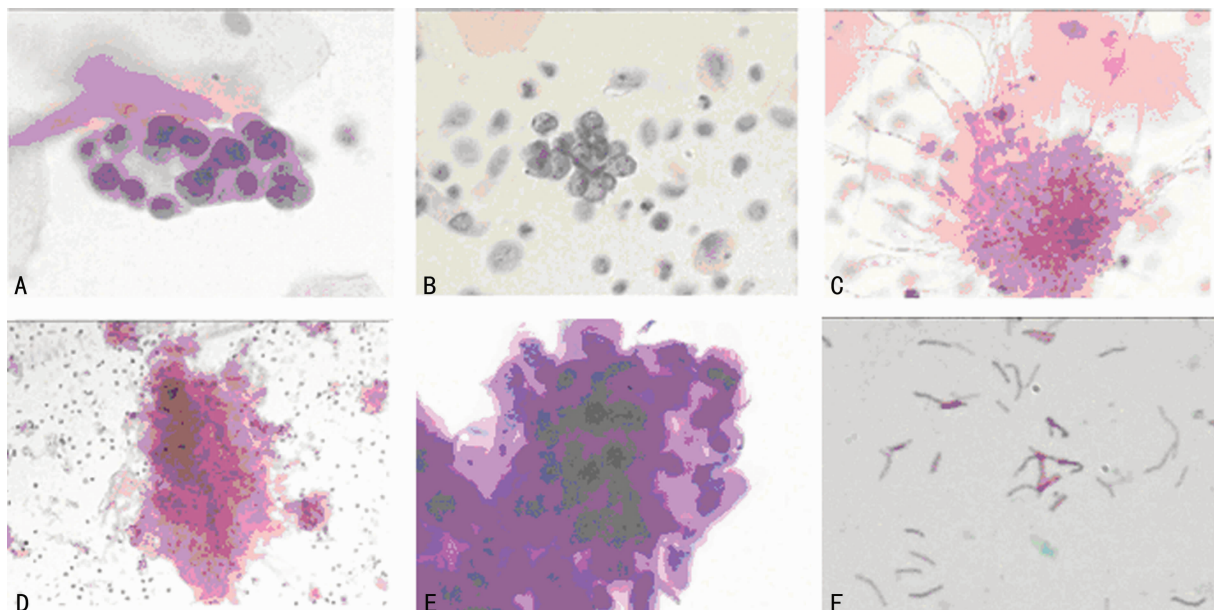
片诊断。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件进行分析, 计数资料以率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

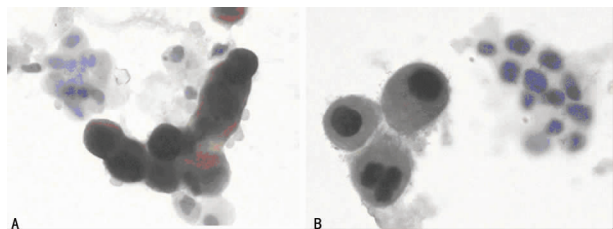
2.1 镜检结果 液基细胞制片背景清晰, 黏液杂质少。由于细胞固定及时, 保存较好, 立体感强, 镜下可见细胞比常规涂片的细胞小, 核染色质略深。液基涂片中鳞癌细胞体积大, 有明显异形性, 核/质比例增大, 核居中央, 染色质呈粗颗粒状, 可见较大的核仁浓染, 固缩; 有的染色质呈团块状、细胞质丰富粉

染, 高分化鳞癌细胞似蝌蚪形、纤维形或蛇形。腺癌细胞则呈单个、腺样聚集, 大圆形、多角形及柱状, 双核或多核细胞常见, 细胞质淡染透明, 核/质比例增大, 核居中心或偏位, 染色质中细颗粒状, 有明显核仁; 也有呈乳头状或管状腺样排列或三五成群, 群内细胞互相重叠形成立体三维结构, 清晰、多层面, 癌细胞凸现。小细胞癌表现为疏松的和不规则的或合胞体样的细胞簇, 也可表现为单个散在密布, 每 1 个肿瘤细胞的核/质比较高, 甚至为裸核, 外形呈卵圆形至不规则形。同时, 数例涂片中分别发现真菌菌丝及孢子和干酪样坏死 (经病检或抗酸染色证实为结核)。镜检结果详见图 1、2。



A: 腺癌; B: 小细胞癌; C: 真菌; D: 干酪样坏死; E: 鳞癌; F: 抗酸杆菌。

图 1 液基薄片镜下所见



A: 癌胚抗原 (CEA); B: 甲状腺转录因子-1 (TTF-1)。

图 2 液基细胞制片后进行细胞免疫组织化学

2.2 液基细胞制片结合传统涂片的细胞学检出率 2 000 例细胞学标本共检出阳性 614 例, 检出率 30.7%。细胞学分型情况, 见表 1。

表 1 2 000 例细胞学诊断结果

类型	n	百分率 (%)
鳞癌	267	13.4
腺癌	217	10.9
小细胞癌	83	4.2
未定型癌	47	2.4

2.3 液基细胞制片与传统涂片结果的比较 通过液基细胞制片技术和传统涂片分别处理纤维支气管镜抽吸标本, 567 例肺癌病例中液基细胞制片诊断 366 例, 经常规涂片诊断 279 例。二者诊断肺癌的敏感性分别为 64.6% (366/567) 和

49.2% (279/567); 液基细胞制片检测肺癌的敏感性高于传统涂片, 而二者结合对肺癌检测敏感性为 69.7%, 高于两种方法单独使用的敏感性, 见表 2。

表 2 液基制片与传统涂片结果比较

制片方法	鳞癌 (n)	腺癌 (n)	小细胞癌 (n)	未定型癌 (n)	敏感性 (%)
液基制片	224	60	73	9	64.6 *
传统涂片	177	47	52	3	49.2
两者结合	240	63	82	10	69.7

*: $P < 0.05$, 与传统涂片比较。

3 讨 论

对可疑的肺癌患者进行纤维支气管镜检查时, 通常采取刷检、支气管灌洗、钳取组织活检等方法获取组织或细胞学证据, 但这几种取材方法各自有其缺点和不足, 刷检获得的标本较少, 灌洗则导致标本稀释, 而当镜下未见明确新生物时, 钳取组织活检阳性率较低。利用塑胶管经纤支镜活检孔插入病变部位抽吸分泌物进行细胞学检查, 能够获得来自病变部位较多的标本, 而对于解剖结构处于远端, 纤支镜不能到达的周围型肺癌, 通过负压吸引可以获得来自远端支气管的分泌物, 使肺癌的阳性检出率得到提高^[1]。

传统支气管黏膜细胞学检查是在纤维支气管镜检查过程中, 将取自于病变部位的标本直接在普通玻片上涂片, 这种涂片中细胞多层重叠甚至被黏液覆盖, 细胞受机械力等因素影响发生人为的变异, 从而影响了诊断的准确性。而液基细胞涂片

背景比较干净,细胞形态和内部结构细节保持良好,纤毛上皮细胞表面的纤毛十分清楚,细胞内核染色质清晰,明显提高了涂片质量和检出率^[2-5]。本研究中利用液基细胞制片技术,诊断的敏感性为 64.6%,高于传统涂片检测的敏感性 49.2%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。尤其对于小细胞癌的诊断,液基细胞制片具有明显的优势。同时,根据需要,保存在液基瓶内的细胞可以制作多张涂片,同时可进行免疫细胞化学检查(图 2)及用于基因检测为靶向治疗提供参考^[6-7]。

虽然液基细胞制片技术克服了传统涂片的一些缺点,提高了纤维支气管镜抽吸物癌细胞检测的阳性率^[8-9],但是传统涂片也有其优点,如能够及时得到固定,细胞结构保存完整,可有效避免“景深”现象,方便医师进行显微镜观察,同时也有利于拍摄。本研究采用的沉降式液基细胞制片术,所制涂片中细胞不在同一平面,观察时须不停转动微调,不易拍出清晰而高度集中的细胞群体图像^[10-12]。本研究中也有 19 例液基细胞制片诊断为阴性,而通过传统涂片得到诊断,这说明传统方法并不能被完全否定,两者结合,能最大限度提高纤维支气管镜细胞学检测的准确性和阳性检出率。

同时,笔者在液基片中还发现多例真菌感染的标本以及结核病典型的干酪样坏死背景,真菌菌丝及孢子经 HE 染成淡红,其形态和结构保持良好,说明液基细胞技术不破坏真菌结构,能够使其沉降黏附于载玻片上,从而为真菌感染提供诊断依据。另外在液基片中可见红色淡染的片状坏死背景,多为结核病典型的干酪样坏死物,这类标本往往提示可能存在结核,本研究中有 35 例后经抗酸染色或病理组织活检证实为结核菌感染。因此,当细胞学检测过程中涂片内出现这类坏死,可以结合患者临床情况,进一步行抗酸染色或病检,提高结核菌的检出率。

综上所述,液基细胞制片技术应用于纤维支气管镜抽吸物的检测当中,能够克服传统涂片的一些缺点,提高细胞学诊断的阳性率,但是,传统涂片仍有应用于实际工作中的必要,两者同时应用能更好地弥补相互之间的不足,提高总体检测的阳性率。并能为真菌和结核菌感染提供形态学依据,为临床此类疾病诊断提供帮助。同时液基细胞制片能够更好地保存细胞,为后续复检及进行免疫细胞化学、基因检测等提供样本,具有广泛的应用前景。

参考文献:

[1] 刘忠,黄仕聪.纤维支气管镜塑胶管抽吸法在肺癌诊断中

的价值[J].中华呼吸和结核杂志,2000,23(10):626.

[2] Leek SK, terBrugge KG. Cerebral venous thrombosis in adults; the role of imaging evaluation and management[J]. Neuroimaging Clin N Am, 2003, 13(1): 139-152.

[3] 张恒,徐亮,闵生萍.液基薄层细胞学检测技术在肺癌诊断中的应用[J].中华全科医学,2011,8(10):1296-1297.

[4] 何淑蓉,马正中,贺青.痰细胞学液基薄片与传统涂片的对比研究[J].中华病理学杂志,2005,34(7):438-439.

[5] 曹箭,潘秦镜,李中林.纤维支气管镜 ThinPrep 技术刷片细胞病理检查的诊断价值[J].中华肿瘤杂志,2006,28(7):536-538.

[6] Michael CW, Pang Y, Pu RT, et al. Cellular adequacy for thyroid aspirates prepared by ThinPrep: how many cells are needed[J]. Diagn Cytopathol, 2007, 35(12): 792-797.

[7] Kelly D, Kincaid E, Franler Z, et al. Detection of cervical high-gradesquamous intraepithelial lesions from cytologic samples using a novel immunocytochemical assay (Pro-ExC)[J]. Cancer, 2006, 108(6): 494-500.

[8] Wu GP, Wang EH, Li JH, et al. Clinical application of the liquid-based cytological test in cytological screening of sputum for the diagnosis of lung cancer[J]. Respirology, 2009, 14(1): 124-128.

[9] Kim S, Owens CL. Analysis of ThinPrep cytology in establishing the diagnosis of small cell carcinoma of lung [J]. Cancer Cytopathol, 2009, 117(1): 51-56.

[10] Kobayashi Y, Uehara T, Ota H. Liquid-based thin-layer cytology can be routinely used in samples obtained via fiberoptic bronchoscope [J]. Acta Cytol, 2011, 55(1): 69-78.

[11] Choi YD, Han CW, Kim JH, et al. Effectiveness of sputum cytology using ThinPrep method for evaluation of lung cancer[J]. Diagn Cytopathol, 2008, 36(3): 167-171.

[12] Fan YB, Wang QS, Ye L, et al. Clinical application of the SurePath liquid-based Pap test in cytological screening of bronchial brushing for the diagnosis of lung cancer[J]. Cytotechnology, 2010, 62(1): 53-59.

(收稿日期:2014-04-08 修回日期:2014-08-22)

(上接第 4499 页)

A new in vivo method for testing closures of gastric NOTES incisions using leak of the closure or gastric yield as endpoints[J]. J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 2012, 22(1): 46-50.

[10] Yoshizumi F, Yasuda K, Suzuki K. Feasibility of fibrin glue versus endoclips to close the transgastric peritoneal access site in NOTES: a survival porcine study[J]. Asian J Endosc Surg, 2011, 4(2): 73-77.

[11] Tomikawa M, Xu H, Hashizume M. Current status and prerequisites for natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) [J]. Surg Today, 2010, 40(10): 909-916.

[12] Guarner-Argente C, Martínez-Pallí G. Inflammatory im-

pact of NOTES peritoneoscopy is not different from that of laparoscopy: a randomized comparative study in a survival porcine model[J]. Surg Endosc, 2012, 26(2): 374-380.

[13] 朱军,宋炜,刘恩宇,等.国内首例经自然腔道内镜手术(NOTES)——经阴道内镜胆囊切除术[J].中国现代普通外科进展,2009,12(5):459-460

[14] Rolanda C, Lima E, Silva D, et al. In vivo assessment of gastrotomy clouser with over-the-scope clips in an experimental model for varicolectomy (with video) [J]. Gastrointest Endosc, 2009, 70(6): 1137-1145.

(收稿日期:2014-03-11 修回日期:2014-08-02)