

超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化及基因检测在诊断肺癌锁骨上淋巴结转移中的价值

田海英 徐海苗 杨琛 赵惠琤 王立平 徐栋

摘要 目的 探讨超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化及基因检测对老年肺癌锁骨上淋巴结转移患者的临床应用价值。方法 选取 85 例肺癌锁骨上淋巴结转移患者(共 95 个淋巴结),采用超声引导下细针穿刺获得标本,行细胞学涂片检查,同时制作细胞蜡块行免疫组织化学和基因检测。结合随访结果分析两种检查方法的临床应用价值。结果 85 例患者共穿刺 95 个淋巴结,超声引导细针穿刺诊断淋巴结阳性率为 44.8%(30/67),组织学正确分类比例为 37.3%(25/67),淋巴结阴性率为 55.2%(37/67),穿刺成功率为 70.5%(67/95)。联合细胞蜡块切片行免疫组织化学检查后,淋巴结阳性率为 77.4%(72/93),组织学正确分类比例为 59.1%(55/93),淋巴结阴性率为 22.6%(21/93),穿刺成功率为 97.9%(93/95)。两种方法比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。37 例肺腺癌细胞蜡块样本中 22 例行表皮生长因子受体基因突变检测,16 例突变阳性,突变率 72.7%。结论 超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化诊断肺癌锁骨上淋巴结转移简单实用,可提高临床诊断准确率。

关键词 超声检查;肺癌;锁骨上淋巴结;细胞蜡块;组织学
[中图分类号] R734.2;R445.1 [文献标识码] A

Value of ultrasound-guided fine-needle aspiration cell blocks immunohistochemistry and gene detection in diagnosis of metastatic supraclavicular lymph nodes in lung cancer

TIAN Haiying, XU Haimiao, YANG Chen, ZHAO Huicheng, WANG Liping, XU Dong

Department of Ultrasound, the Second Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

ABSTRACT Objective To investigate the clinical value of ultrasound-guided fine-needle aspiration combined with cell block immunohistochemical and gene testing in the elderly patients with supraclavicular lymph node metastasis of lung cancer. **Methods** Eight-five patients with supraclavicular lymph node metastasis of lung cancer were collected (95 lymph nodes). Using ultrasound-guided fine-needle aspiration, the specimens were obtained cytological smears, and also made into cell block for immunohistochemical and genetic testing. Combined with follow-up results, the diagnosis of cytological smears and cell block immunohistochemical were retrospectively analyzed and compared. **Results** A total of 95 lymph nodes were punctured in 85 patients, the positive rate of lymph nodes diagnosis was 44.8% (30/67) by ultrasound-guided fine-needle aspiration, histological correct classification rate was 37.3% (25/67), the negative rate of lymph nodes was 55.2% (37/67), and the success rate of puncture was 70.5% (67/95). Combined with immunohistochemistry, the positive rate of lymph nodes diagnosis was 77.4% (72/93), the histological correct classification rate was 59.1% (55/93), the negative rate of lymph nodes was 22.6% (21/93), and the success rate of puncture was 97.9% (93/95). The difference between the two methods was statistically significant ($P < 0.05$). 37 cases of lung adenocarcinoma cell block samples in 22 cases of EGFR gene mutation detection, 16 cases of mutation-positive, mutation rate was 72.7%. **Conclusion** The diagnosis of supraclavicular lymph node metastasis in lung cancer is simple and practical under the ultrasound-guided fine-needle aspiration combined with cell block immunohistochemical. It also can improve the clinical diagnosis rate.

KEY WORDS Ultrasonography; Lung cancer; Supraclavicular lymph nodes; Cell block; Histology

作者单位:310053 杭州市,浙江中医药大学第二临床学院超声医学科(田海英);浙江省肿瘤医院病理科(徐海苗),超声科(杨琛、赵惠琤、王立平、徐栋)

通信作者:徐栋, Email: xudnj@163.com

肺癌是目前危害人类健康最常见的恶性肿瘤,其中 80%~90% 为非小细胞肺癌^[1],而锁骨上淋巴结转移是肺癌常见的转移方式。肺癌发生锁骨上淋巴结转移被认为是 N3 期,外科手术的远期获益不明显^[2]。目前临床上有一部分患者在原发灶病理组织获取方面出现困难,主要原因是病灶较小或位置靠近肺组织外周,纤支镜或 CT 定位下难以获取有效组织成分,从而无法进行免疫组化和基因检测。对于这部分患者如发现有锁骨上淋巴结转移,则可在超声引导下进行细针穿刺并制作细胞蜡块。本研究通过在超声引导下进行锁骨上淋巴结细针穿刺并制作细胞蜡块,结合免疫组化和基因检测,探讨其对肺癌锁骨上淋巴结转移的临床价值。

资料与方法

一、临床资料

选取 2014 年 1 月至 2016 年 4 月浙江省肿瘤医院收治的 85 例肺癌患者,其中男 63 例,女 22 例,年龄 49~85 岁,平均

(62.68±9.13)岁,60 岁以上老年患者占 76.5%,所有患者临床病理资料完整。85 例患者共 95 个淋巴结,结节最大直径为 4~19 mm,平均(8.19±3.18)mm。

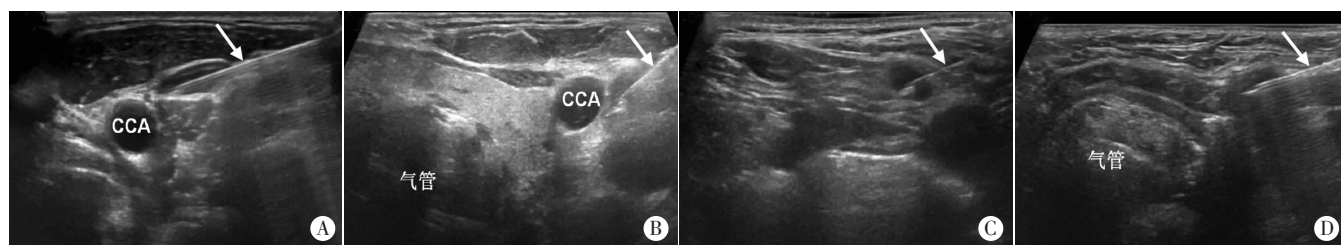
二、仪器与试剂

1.仪器:使用 GE Logiq E9 彩色多普勒超声诊断仪,9L-D 线阵探头和 ML6-15D 探头,频率 9~15 MHz。

2.试剂及抗体:免疫组织化学染色的相关抗体购自上海基因公司。表皮生长因子受体(EGFR)试剂盒购自厦门艾德公司。

三、方法

1.细针穿刺:患者去枕取平卧位,对锁骨上可疑转移性淋巴结行多轴位扫查,确定结节大小,选择进针位置。常规对锁骨上区域局部皮肤进行消毒后,在超声引导下避开大血管、气管及周围神经等重要组织,沿淋巴结长轴经皮刺入淋巴结皮质内,保持针管内持续负压,反复旋转抽吸并进行多点多方向提插,抽取 10~15 次,直至所需标本进入针头柄及针管后去负压退针(图 1)。



A、B: 结节位于颈总动脉(CCA)旁,体积较小,不适合粗针穿刺;C、D: 结节位于气管旁,为避免损伤采用细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化(箭头示穿刺针位置)。

图 1 超声引导下细针穿刺示意图

2.涂片制作及细胞学诊断:将针管内的穿刺标本均匀涂布于载玻片上,立即置入 95%乙醇,固定 15 min 后行常规巴氏染色,显微镜下观察并做出细胞学诊断。

3.细胞蜡块制作:将针管内剩余样本注射至 10%中性福尔马林 10 ml 中固定 30~60 min 以上,2000 r/min,离心 5 min,沉淀后弃上层清液,沉淀物琼脂凝胶集成块,滤纸包裹,常规脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,厚 4 μm 连续切片 10 张以上行 HE 染色并在显微镜下观察^[3]。

4.免疫组织化学染色:每例样本的细胞蜡块切片同时进行 ALK(D5F3)(+),ALK-NC(-),ROS1(-),c-Met(++),80%),CK7(+),Napsin A(+),P40(-),P63(-),TTF1(+)及 CK5/6(-)等 10 项免疫组织化学染色,采用 Lab Vision 公司生产的 Labvision Autostainer 720 型自动免疫组织化学染色,Envision 法,处理过程与一般的组织学检查相同^[3]。

5.EGFR 检测:确认为肺腺癌的细胞蜡块样本采用突变特异性扩增系统荧光聚合酶链反应法进行 EGFR 基因突变的检测。

四、统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件,率的比较行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、穿刺时间和并发症情况

所有患者均穿刺成功,穿刺时间不超过 10 min,未出现血肿、

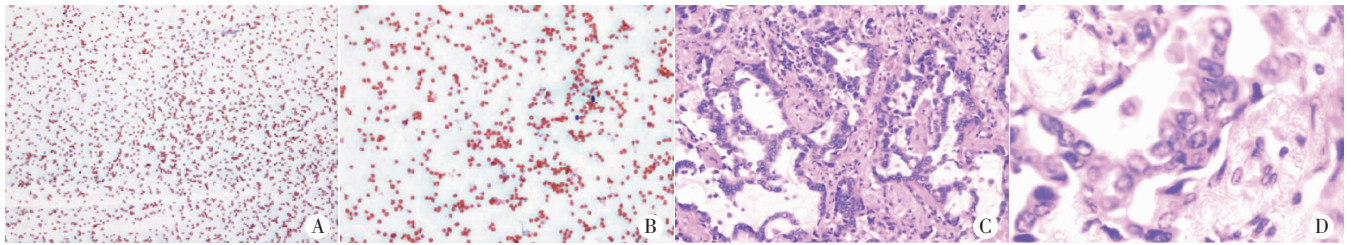
感染、食管气管损伤及神经损伤等并发症。

二、超声引导细针穿刺与联合细胞蜡块免疫组化诊断结果比较

95 个淋巴结超声引导细针穿刺常规涂片及联合细胞蜡块诊断结果比较见表 1 和图 2。其中,常规涂片取材成功 67 个,超声引导细针穿刺诊断淋巴结阳性率为 44.8%(30/67),组织学正确分类比例为 37.3%(25/67),淋巴结阴性率为 55.2%(37/67),穿刺成功率为 70.5%(67/95)。超声引导联合细胞蜡块取材成功 93 个,免疫组织化学检查后,淋巴结阳性率为 77.4%(72/93),组织学正确分类比例为 59.1%(55/93),淋巴结阴性率为 22.6%(21/93),穿刺成功率为 97.9%(93/95)。两种方法比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 95 个淋巴结超声引导细针穿刺常规涂片及联合细胞蜡块诊断结果比较

病理结果	常规涂片	联合细胞蜡块
腺癌	16	37
鳞癌	6	7
小细胞癌	0	2
非小细胞癌	3	9
低分化癌	5	17
正常组织	37	21
合计	67	93



A、B:巴氏染色常规涂片无有效细胞成分(A为放大100倍,B为放大200倍);C、D:HE染色细胞蜡块中腺癌细胞成群分布(C为放大100倍,D为放大200倍)。

图2 肺腺癌锁骨上淋巴结转移细针穿刺病理图

三、细胞蜡块 EGFR 基因检测

本研究 22 例确诊为肺腺癌病例的细胞蜡块切片采用突变特异性扩增系统法行 EGFR 基因突变检测,其中 16 例突变阳性,突变率 72.7%。EGFR 突变阳性患者均采用靶向药物治疗。

讨 论

目前组织学检查虽然是锁骨上淋巴结病变公认的诊断标准,但多需采用外科手术切除或粗针穿刺获取组织学标本^[4],对锁骨上淋巴结的初始诊断而言,患者难以接受。为解决这一问题,本院超声科开展了超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化检查。

常规超声引导下淋巴结穿刺活检在诊断淋巴结疾病中有着重要作用,超声定位引导穿刺活检可实时监控穿刺针头,避开重要血管和神经组织,具有安全、微创及可重复性高的特点^[5]。有研究^[6]显示,超声联合超声定位引导穿刺活检对腋窝淋巴结转移的准确性和特异性均较高。在超声引导下,穿刺针可对常规超声认为可疑的肿大淋巴结进行标本采集,并可根据标本质量实时调整穿刺次数,为诊断提供更多信息。同时穿刺操作者可通过二维超声选择最佳进针路径,并在穿刺过程中尽量避开大血管和神经,减少对组织的损伤,以及大出血等并发症的发生,较外科手术切除或粗针穿刺创伤更小,降低了操作难度,有利于临床推广应用。

细胞蜡块免疫组化检查是一种介于涂片细胞学和病理组织学之间的一种有效的临床诊断方法^[7-9],利用细针穿刺标本呈现局部组织病理学形态,细胞蜡块切片中细胞数量丰富而且相对集中,为进行免疫组织化学染色后分子病理学检测提供了良好的样本平台。近年来,许多获批的抗癌药物均为靶向治疗药物,在给药前对患者进行特定基因突变的筛查,能够使部分患者获得最大的治疗益处。而目前临床对于肺癌选择用药的重要依据是明确组织学类型,尤其是区分小细胞肺癌和非小细胞肺癌。对于非小细胞肺癌临床要求进一步区别鳞癌和腺癌,并提供与药物使用相关的分子病理学检测结果,然而目前超过 70% 的肺癌确诊依赖小活检和细胞学样本^[10-11]。本研究对 85 例临床怀疑肺癌却无法获取原发灶组织病理学的患者在超声引导下锁骨上可疑肿大淋巴结细针穿刺,结合细胞蜡块免疫组化做出了明确诊断及分型,避免了更高风险的其他侵袭性活检,必要时对部分患者进行了 EGFR 基因检测,为临床的靶向治疗及预后评估等方面提供了依据。

本研究显示应用超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组

化及基因检测有较高的临床推广价值:①超声引导下细针穿刺在一定程度上有效避免了高风险的侵袭性活检及不必要的外科手术,对大血管周围或 1 cm 以下的转移淋巴结更具优势;②超声引导下穿刺具有微创、可重复取样的优点,适用范围广,尤其适用于晚期老年患者,对于气道阻塞及上腔静脉综合征引起端坐呼吸的患者同样适用;③随着临床需求不断提高,如精确定性分型、药物敏感及预后相关性的各类分子检测项目的广泛应用,细针穿刺结合细胞蜡块技术逐渐成熟和广泛应用;④超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块可最终明确病理诊断和疾病分期,为制定治疗方案及评估预后提供了依据,提高了临床的治疗水平。

综上所述,超声引导下的多点多方向针吸细胞学检查诊断准确率高、安全性好,穿刺靶点、穿刺针及血管在超声图像下可清晰显示,对于明确颈部肿大淋巴结性质有重要的应用价值,可作为诊断的首选方法。超声引导下细针穿刺联合细胞蜡块免疫组化不仅为临床提供诊断依据,更为临床的靶向治疗及预后评估等方面提供了有力证据。

参考文献

- [1] DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(4): 252-271.
- [2] Verhagen AF, Bulten J, Shirango H, et al. The clinical value of lymphatic micrometastases in patients with non small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2010, 5(8): 1201-1205.
- [3] 徐海苗,程晔,孙文勇.肺癌细胞病理学样本组织学分类及分子病理学检测[J].中华实验外科杂志,2013,30(4):741-742.
- [4] 董宝玮,温朝阳.介入超声学实用教程[M].北京:人民军医出版社, 2013:66-69.
- [5] 张荣,王晓荣,姚兰辉.超声新技术诊断浅表淋巴结病变的进展[J].临床超声医学杂志,2015,17(11):761-763.
- [6] Ciatto S, Brancato B, Risso G, et al. Accuracy of fine needle aspiration cytology (FNAC) of axillary lymph nodes as triage test in breast cancer staging[J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 103(1): 85-91.
- [7] Simone G, Mangia A, Malfetone A, et al. Chromogenic in situ hybridization to detect EGFR gene copy number in cell blocks from fine-needle aspirates of non small cell lung carcinomas and lung metastases from colo-rectal cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 29(15): 125.
- [8] Gauchotte G, Vignaud JM, Ménard O, et al. A combination of smears and cell block preparations provides high diagnostic accuracy for

endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration[J]. Virchows Arch, 2012, 461(5):505-512.

- [9] 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.
- [10] Ceyhan K, Kupana SA, Bekta M, et al. The diagnostic value of on-site cytopathological evaluation and cell block preparation in fine-needle

aspiration cytology of liver masses[J]. Cytopathology, 2006, 17(5): 267-274.

- [11] Kimbrell HZ, Gustafson KS, Huang M, et al. Subclassification of non-small cell lung cancer by cytologic sampling: a logical approach with selective use of immunocytochemistry[J]. Acta Cytol, 2012, 56(4): 419-424.

(收稿日期:2016-07-16)

· 病例报道 ·

Ultrasonic manifestations of retroperitoneal atypical lipoma tumor: a case report 后腹膜非典型脂肪瘤样肿瘤超声表现 1 例

周 君 苏冬明

[中图法分类号] R445.1

[文献标识码] B

患者女, 25 岁, 因“头晕、腰酸 1 个月”入院。体格检查: 左肾区叩痛(+), 左侧腹部可触及一大约 16.0 cm×10.0 cm 肿物, 质韧, 轻微压痛, 固定, 入院时血压 150/110 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)。超声检查: 左侧肾上腺区沿胰腺后方、肾脏腹侧包绕肾脏至肾脏下方见一大约 17.0 cm×10.3 cm×6.1 cm 不均质团状高回声, 边界清, 可见少量血流信号(图 1~3)。超声提示: 左侧腹部实质肿块(考虑来自腹膜后, 嗜铬细胞瘤? 脂肪瘤?)。腹部 CT 检查提示: 左腹内脂肪瘤(后腹膜来源可能)。查血、尿儿茶酚胺, 肾

素、醛固酮等均未见明显异常, 药物控制血压降至正常, 后行腹腔肿物切除术, 探查可见后腹膜肿物, 大小约 16.0 cm×10.0 cm, 边界清, 质韧, 包膜完整, 基底部位于肾脏上方, 有血流供应。起初触碰时有血压波动, 最高达 160/100 mm Hg, 术中予以乌拉地尔及艾司洛尔使用后恢复正常, 再次触碰无明显血压波动。术后患者无需药物治疗血压降至正常。病理提示: (左后腹膜) 脂肪源性肿瘤。血管周围少量细胞有不典型性, 符合非典型脂肪瘤样肿瘤/分化良好型脂肪肉瘤(ALT/WDL)。



图 1 声像图示左侧腹部巨大不均质团状高回声 图 2 左侧腹部团状高回声位于脾与左肾之间, 图 3 左侧腹部团状高回声内可见点状血流信号沿肾脏腹侧包绕肾脏至肾脏下方

讨论: ALT/WDL 是一种由近似成熟脂肪细胞组成的肿瘤, 是脂肪肉瘤中最常见的一种类型。ALT/WDL 多发于下肢, 特别是大腿、臀部及腘窝, 其次是腹膜后、小腿、肩部及上臂, 还可见于大网膜、胸壁及纵膈等。临床表现无特异性, 手术时肿块体积多已较大, 多呈结节状或分叶状, 有菲薄的纤维性包膜, 大病灶周围偶可见多个大小不一的卫星结节。切面呈黄色, 似脂肪瘤, 可伴有出血和梗死等继发改变。根据其分型及内部成分不同, 超声表现也不同。分化良好型脂肪肉瘤多表现为巨大的混合性回声包块, 其内绝大部分为细密的点状强/高回声, 这与其含有大量成熟脂肪细胞有关; 黏液样脂肪肉瘤因含有较多的黏液样基质, 超声表现为肿块内部以低至无回声为主, 点状强回声分布

欠均匀; 去分化型脂肪肉瘤超声表现为混杂回声包块, 其内各回声之间的分界较清楚; 多形性脂肪肉瘤超声表现为其内以中低回声为主的实质性肿块, 并可见散在分布的边界清楚的团状稍强回声及不规则无回声区。本例患者为年轻女性, 肿块位于后腹膜, 超声表现为边界尚清的不均质团状高回声, 且患者术前血压升高, 需与嗜铬细胞瘤、原发性醛固酮增多症等鉴别。患者术后无需药物治疗血压即恢复正常, 说明高血压可能与该肿瘤体积巨大压迫有关, 由于该类疾病局部切除后有一定的复发率, 术后超声定期随访非常必要。

(收稿日期:2016-10-14)