

细胞块及免疫组织化学技术的病理学诊断价值

赵永辉

定州市人民医院 河北 定州 073000

【摘要】目的：探究胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术在病理学诊断中的应用价值。**方法：**本次资料选取 2020 年 10 月~2021 年 10 月期间在我院接受治疗的 56 例患者，均需进行胸腹水检验，检验中先进行石蜡包埋胸腹水细胞块石，细胞块切片 HE 染色，对相关抗体使用免疫组织化学技术进行免疫细胞化学染色，选择性标记，观察病理学诊断。**结果：**在 56 例患者在接受胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术后，已确诊腺癌 36 例，非肿瘤性间皮增生 20 例。与常规涂片方法比较，该方法制片色彩鲜艳，背景清晰，有利于收集到更多的细胞，且具有一定的组织结构。说明免疫组织化学染色效果好，对于阳性细胞定位准确，比较可靠。因抗体不同，切片中所表达的阳性部位与组织学相同，所以阳性颗粒呈棕黄色。**结论：**胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术可以提高胸腹水肿瘤细胞的检出率，对临床上对肿瘤的诊断鉴别很有价值，值得在临床上推广。

【关键词】：胸腹水细胞；块石蜡包埋；免疫组织化学技术；病理学诊断；非肿瘤性间皮增生；腺癌

Study of Paraffin-embedded Pleural Effusion Cell Block Combined with Immunohistochemical Technique in Pathological Diagnosis

Yonghui Zhao

Dingzhou People's Hospital Hebei Dingzhou 073000

Abstract: Objective: To explore the application value of paraffin embedding combined with immunohistochemistry in the pathological diagnosis of pleural and ascites fluid. Methods: The data selection during 10 October 2020 ~ 2021 in our hospital for treatment of 56 patients, all needs to chest water inspection, the inspection of first paraffin embedding chest water stone cells, cell block section of HE staining, the related antibodies for immunocytochemistry staining using immunohistochemical technique, selective markers, observe pathological diagnosis. Results: Among 56 PATIENTS, 36 cases of adenocarcinoma and 20 cases of non-neoplastic mesothelial hyperplasia were diagnosed after paraffin-embedded pleural effusion cell block and immunohistochemistry. Compared with the conventional smear method, this method has bright color and clear background, which is beneficial to collect more cells and has certain tissue structure. The results showed that immunohistochemical staining was effective, accurate and reliable for the localization of positive cells. Because of the different antibodies, the positive parts expressed in the sections are the same as the histology, so the positive particles are brown and yellow. Conclusion: The paraffin-embedded pleural effusion cell block combined with immunohistochemistry can improve the detection rate of pleural effusion tumor cells, which is valuable for the diagnosis and differentiation of tumors in clinical practice, and is worthy of clinical promotion.

Keywords: Hydrothorax and abdomen; Block paraffin embedding; Immunohistochemical technique; Pathological diagnosis; Non-neoplastic mesothelial hyperplasia; adenocarcinoma

胸腹水也被称之为胸腹腔积液，是临床癌症判断的重要方式，临床上胸腹水严重会威胁患者的生命安全^[1]。对于各医院病理科来讲，实施细胞脱落病检属于重要工作，胸腹水细胞学检查是肿瘤疾病确定的方式，对比细胞的内部构造、性状、大小，进而实施定性判断，此种方式特点为痛苦小、快捷、简单等^[2]。临床可以根据细胞直接离心涂片法对病情判断，但是该种方式存在较厚的细胞，并不能将单一的细胞层呈现出来，不易观察内部结构，较少的细胞量，存在较低的阳性检出率等，使得临床对间皮细胞、肿瘤细胞进行分辨非常不利。所以，临床上采取了细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术，利用此方式切片染色细胞，细胞被染色后存在清晰的结构，且薄厚均匀的切片以及完整的细胞结构等特点，并且反复切片，染色后对肿瘤细胞的源发地和分类鉴别的更加准确^[3]，本文分析该种技术在病理学诊断中价值，如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本次资料选取 2020 年 10 月~2021 年 10 月期间在我院接受治疗的 56 例患者，均需进行胸腹水检验，其中男性患者 32 例，女性患者 24 例。腹水患者 14 例，胸水患者 42 例。年龄最大 75 岁，最小年龄 37 岁，平均年龄（55.27±10.38）岁。目前临床已经确诊，恶性胸腹水 20 例，胸腹水原因待查 34 例。

1.2 试剂

免疫化学试剂：CEA、CK（pan）、P53、PCNA、Cal、Vimentin、GST-II、P-gp，即用型 S-P 试剂盒购于福州迈新生物试剂公司，DAB 显色剂购于福州迈新生物试剂公司生产，使用 DaKO 全制动免疫组化仪按说明书进行实验步骤操作。

1.3 方法

①将患者的胸腹水收集起来，结合胸腹水的浓度实施取用，离心处理 30~90ml 胸腹水，2000 转/min，10min 离

心处理；②离心胸腹水后，将上清液舍弃，将少量的沉淀取出后进行细胞图片；③在其他沉淀中加入 95% 乙醇至 30ml，2min 震荡后再离心处理，2000 转/min，5min 离心；④离心后将上清液去除，将福尔马林（15%、15ml）固定；⑤ 3~5h 静止后，将福尔马林液体去除，用纸包裹沉淀和其他组织，利用全自动脱水机实施脱水处置；⑥利用苏木精 - 伊红对常规细胞切片染色，中性树胶封固；⑦使用 CK7、CK20、CA125、CK、ME、CDX-2、Calretinin、TTF-1、Vi-mentin 等抗体，使用细胞免疫进行染色。胸水加做 TTF-1，腹水加做 CA125，与提供的对照物质进行阳

性的比对，DAB 显色。

2 结果

在 56 例患者在接受胸腹水细胞块石蜡包埋后，联合免疫组织化学技术，已确定诊断结果，即：腺癌 36 例，非肿瘤性间皮增生 20 例。同常规图片方式进行对比，此种方式存在背景清晰、色彩鲜艳的优点，对于更多细胞的收集非常有利，存在一定的组织结构。由于抗体不同，切片的阳性部位同组织学存在相同的表达，因此阳性颗粒为棕黄色。

表 1 本组标本免疫细胞化学染色结果（n，%）

类别	例数	CEA	CK (pan)	Vimentin	Cal	P53	PCNA	GST- II	P-gp
腺癌	36	27 (75.0)	36 (100.0)	0 (0.0)	1 (2.8)	31(86.1)	25 (69.4)	20 (55.6)	17 (47.2)
非肿瘤性间皮增生	20	3 (15.0)	6 (30.0)	17 (85.0)	19 (95.0)	7 (35.0)	8 (40.0)	-	-

3 讨论

在临床常见的特征中，胸腹水为其中一种，在临床中常在癌细胞的来源、类型进行鉴别，同时对肿瘤细胞是否存在癌变进行鉴别，也可对肿瘤的性质进行确定。但是胸腹水常常受其他因素的影响，所以在鉴别期间出现较多问题。常规涂片存在很多缺点，如细胞进行涂片时数量较少，常存在黏液、其他炎症渗出液、红细胞，且没有清晰的背景，在涂片时存在较厚涂片，重叠较多层细胞，在诊断时，这些原因都会对细胞的观察产生严重影响。

细胞块石蜡包埋切片法获得的细胞结构清晰且数量较多，同常规的涂片法相对比，其存在更高的细胞学阳性检出率，对于少量的细胞样本来讲存在重要意义。细胞病理诊断中，细胞蜡块技术属一项重要方法，其借助特殊手段处理含脱落细胞的灌洗液、体液或借助细针穿刺的细胞，以此制作常规病理蜡块，病理切片制作完成，其可记住免疫组化标记将肿瘤俩元明确，也可检测分子病理，作为提取 DNA 样品的来源，将重要依据提供给临床诊治，还可开展连续切片，制作细胞蜡块，便于长期保存，方便后续研究应用。特别是针对肺癌晚期患者，常常难以获取肿瘤实体活检的组织，此时成功获取细胞蜡块尤为关键。有关资料显示，细胞蜡块可用于检测非小细胞晚期肺癌，属良好替代物。但制作细胞蜡块仍有诸多实际问题存在，特别是收集细胞量、包埋细胞块，保证细胞完整成分，以及最大量保存和收集。尽管胸腹水病理样本可借助直接离心取得细胞大量沉淀，但部分样本需借助保存液处理，在开展离心，如细针穿刺等，进的获得很少细胞属良，因此，收集细胞有效成分显得尤为关键。细胞传统收集时，为避免细胞流失，我们常借助擦镜纸包裹，但因细胞成分中含有红细胞、黏液等，易于黏附，对完成收集细胞十分不利，包埋时难免有纸屑存在。切片时，极易对刀刃产生损伤，使之产生划痕，破坏细胞成分，而染色时有棉絮残存会将有效细胞遮盖，

常出现不完整的细胞结果，而免疫组化也有背景着色出现，对判读产生影响，对后续检测组织也十分不利。经多次对比、摸索，我们截断一次性塑料试管呈圆环，高度与包埋盒相同，约为 0.2cm，借助此圆环限定细胞成分在网环内，最大化对细胞成分实施收集，防止细胞弥散，利于聚集和包埋细胞有效成分，避免细胞流失，防止其粘附包埋纸。将包面绵纸覆盖在塑料圆环上下，处理组织期间可完全渗透液体，完好处理组织。因圆环围挡，包埋时，聚集细胞难以粘连周边，包埋出的蜡块细胞成分完整且较多，经常规染色后，镜下细胞形态完整，可媲美组织细胞，免疫组化染色背景清晰、干净，定位阳性细胞清晰、准确。明显提升了制作细胞蜡块质量、检出肿瘤细胞的几率。采取细胞块做免疫细胞化学染色既可以连续切片，对于多种抗体组合运动或比较观察特定的细胞非常有利，阳性颗粒是棕黄色，准确可靠的定位且清晰的背景，且常规的涂片也可以做免疫细胞染色，因为其存在的 H2O2 酶较多，在其作用下，会快速出现泡沫而发生脱片，而采取细胞块切片做免疫细胞化学染色，可将此现象有效避免^[4]；此外，因为细胞块做免疫化学染色对于集中细胞可以节省很多的试剂，避免边缘现象，获得更可靠结果。细胞蜡块可以保存时间很久，多次利用，应用于科研、鉴别诊断、疾病的诊断非常有利。所以，在临床中，常常对胸腹水用福尔马林进行浸泡，可以将胸腹水似组织块一样进行脱水，后再实施包埋切片。

胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术存在如下 7 个优点：A 方法便捷、操作简单，不用较多的仪器；B 在包埋切片中，细胞是单层切片，方便观察；C 可将全部细胞收集，完整的将碎小组织切出，对于切片的读取非常有利；D 制作胸腹水为蜡块，保存方便，在临床会诊时可反复应用；E 可以采取化学方式对切片的免疫细胞进行染色，准确的对肿瘤的来源、类型进行诊断，在鉴别时可以对阳性细胞清晰的观察，对于临床鉴别非常有利；F 利用生物分子标记法标记切片组织，可以及时对临床中的治疗

进行调整,对于分析和确诊疾病非常方便;G 分子检测切片的细胞块,实施分子靶向治疗,检测组织细胞的耐药基因。在炎性胸腹水退变或增生期间,其存在的同皮细胞在结构、外观上易同恶性细胞混淆,所以,临床上对患者实施胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术,不但对于诊断的需求满足,也可以将阳性细胞的检出率提升^[5]。

① Calretinin、vimentin、MC,此类阳性细胞为间皮增生细胞

②多来源于肺的阳性细胞为 CK-7、TTF-1 等;③多来源于胃肠道的阳性细胞是 CDX2、CK20 等;④来源于卵巢的阳性细胞为 CK7、CA125 等。但是阳性细胞是非特异性细胞,且抗体的组织特异性并不是绝对的,需要进一步观察。

总而言之,胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术对于临床病理学诊断存在较大的价值,值得推广应用。

参考文献:

- [1] 李延新,杜雄,刘永霞.胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术在病理学诊断中的应用价值[J].婚育与健康,2021(6):128.
- [2] 杜桂清,王秋红,邓桂霞,等.胸腹水细胞块石蜡包埋联合免疫组织化学技术在病理学诊断中的应用价值[J].健康大视野,2019(11):10-11.
- [3] 邱前程,卢善明,黄杰雄.胸腹水细胞块石蜡包埋及免疫细胞化学染色在胸腹水细胞病理学诊断中的价值[J].汕头大学医学院学报,2005,18(1):43-44.
- [4] 李潇,田保玲,刘娟娟,等.胸腹水细胞沉渣石蜡包埋免疫组化检测法指导晚期卵巢癌新辅助化疗研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2016,32(9):890-895.
- [5] 袁勤钊,吴月琴,许刚,等.SYT-SSX 基因检测联合免疫组织化学技术对滑膜肉瘤的临床诊断价值[J].肿瘤研究与临床,2016,28(4):226-230.
- [6] PUSCASIU, DANIELA ANCA, TANASIE, GABRIELA, GEORGESCU, MARIUS, et al. The Contribution of Histochemical and Immunohistochemical Techniques in Assessing the Proliferative Capacity and Prognosis for Renal Cell Carcinoma[J]. Revista de Chimie, 2017, 68(8): 1804-1806.
- [7] HUPP, MEGHAN, WILLIAMS, SARAH, DUNNETTE, BRIAN, et al. Comparison of evaluation techniques, including digital image analysis, for MYC protein expression by immunohistochemical stain in aggressive B-cell lymphomas[J]. Human Pathology, 2019, 83: 124-132.
- [8] MORIO AZUMA, TAKEHIRO TSUKADA, TAKESHI INAGAKI, et al. Immunohistochemical Study of the Laminin alpha5 Chain and Its Specific Receptor, Basal Cell Adhesion Molecule (BCAM), in both Fetal and Adult Rat Pituitary Glands[J]. Acta histochemica et cytochemica, 2018, 51(1/6): 145-152.
- [9] 张晓斌,杨勇,赵玲玲,等.胸腹水细胞包埋并进行免疫组化标记对良恶性肿瘤的诊断与临床指导的意义[J].世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2015(74):111-112.
- [10] 许晶晶,肖琳,李素红,等.胸腹水沉渣包埋切片免疫组化检查的诊断意义探索[C].//中华医学会第九届全国细胞学学术会议论文集.2011:259-261.