

宫颈癌淋巴结内细胞角蛋白与抗上皮膜抗原检测的意义

杨云成¹, 李笑云², 罗菊玉¹, 胡友瑞¹, 杨晓琼²

(1. 黔东南州人民医院 妇产科, 贵州 凯里 556000; 2. 黔东南州人民医院 病理科, 贵州 凯里 556000)

[摘要] 目的: 探讨宫颈癌盆腔淋巴结常规病理检查阴性者有无微转移。方法: 采用免疫组织化学染色法, 检测淋巴结内有无细胞角蛋白与抗上皮膜抗原。结果: 187个阴性淋巴结中1个淋巴结内细胞角蛋白与上皮膜抗原均阳性, 为微转移。结论: 常规淋巴结病理检查阴性者确实存在微转移, 免疫组织化学检查可提高淋巴结转移诊断的准确性。

[关键词] 宫颈肿瘤; 癌; 淋巴结; 角蛋白; 上皮膜抗原

[中图分类号] R737.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2013)01-0074-02

有些早期宫颈癌行广泛子宫切除加盆腔淋巴结清扫术, 术后常规病理检查未发现淋巴结转移, 但术后很快复发, 推测与淋巴结转移有关。众所周知, 宫颈癌淋巴转移与否与预后关系密切。在临床实际工作中, 常规病理检查淋巴结已有转移而未被检出称之为微转移。广谱细胞角蛋白(cytokeratin, CK)主要标记角化上皮、复层鳞状上皮、复层上皮、增生的角化细胞和单层上皮。抗上皮膜抗原(Epithelial Membrane Antigen, EMA)是一组糖蛋白, 广泛分布在各种正常上皮细胞膜上及其肿瘤中。淋巴组织为非上皮组织, 如在宫颈癌患者淋巴结中检出上皮成分则提示有淋巴转移。采用CK、EMA检查淋巴结是否存在微转移, 以期临床诊断处理提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

回顾性分析2005年1月~2007年6月收治的85例宫颈癌患者中病历及病理资料完整并能随访的患者14例作为研究对象。14例患者按1994年FIGO的分期标准分为Ia₂期1例, Ib₁期1例, Ib₂期5例, IIa期7例。中分化鳞状细胞癌9例, 低分化鳞状细胞癌5例。年龄最大58岁, 最小26岁, 平均38.78岁。5年内死亡6例, 其中淋巴结阳性4例, 淋巴结阴性2例。存活5年以上者8例, 淋巴结阳性2例, 淋巴结阴性6例。

1.2 方法

取上述病例手术切除之淋巴结标本, 经4%中性甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm厚连续切片, 分别行常规HE染色和免疫组织化学染色, 光镜观察。免疫组织化学染色采用MaxVision两步法。所用一抗CK、EMA均购自福州迈新生物技术开发有限公司(即用型)。具体操作严格按说明书进行。

1.3 判断标准

细胞浆内或细胞膜上见棕黄色者为阳性视为瘤细胞, 根据阳性显色细胞数量分为: 阴性: 阳性染色细胞≤1%; 阳性: 1%~50%瘤细胞呈阳性染色; 强阳性: ≥50%的瘤细胞呈阳性染色。

2 结果

共检测14例患者的207个淋巴结, 7例患者淋巴结HE染色阳性20个, 其中1个阳性3例, 2个阳性2例, 4个阳性及7个阳性各1例; 阴性187个淋巴结。HE染色阳性20个淋巴结中, 1个淋巴结可疑癌转移, 经CK、EMA检测均阴性, 排除转移; 19个淋巴结经CK、EMA检测均阳性。

HE染色阴性淋巴结187个中, 1个淋巴结被膜下窦内见CK、EMA检测均为强阳性的细胞巢, 与HE染色形成明显对比, 为癌的微小转移灶, 见图1~4。该例患者术后病理检测淋巴结阴性, 术后4年宫颈癌复发死亡。微转移检出率为0.53%(1/187), 余186个淋巴结CK、EMA均阴性。阳性淋巴结阴性检出率与阴性淋巴结阳性检出率经Fisher检验法检验 $P>0.05$, 差异无显著性。

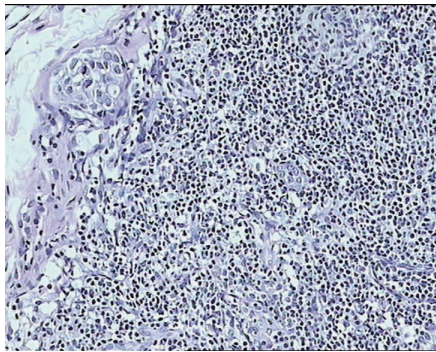


图 1 淋巴结被膜下窦见少许
异型细胞(HE, ×400)

Fig.1 Small amount of herterocells occurred
in subcapsular sinuses of lymph node

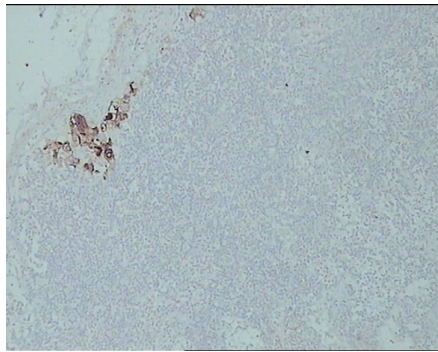


图 2 淋巴结被膜下窦异型细胞 EMA
胞浆阳性(Max Vision, ×400)

Fig.2 Positive epithelial membrane antigen plasm
of herterocells in subcapsular sinuses

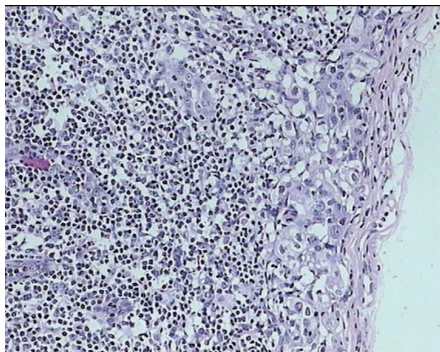


图 3 淋巴结被膜下窦见少许异型
细胞(HE, ×400)

Fig.3 Small amount of herterocells occurred
in subcapsular sinuses of lymph node

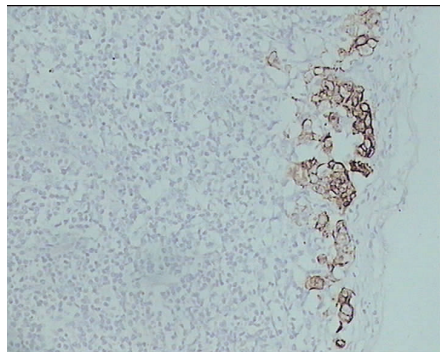


图 4 淋巴结被膜下窦异型细胞广谱 CK
胞浆阳性(Max Vision, ×400)

Fig.4 Positive cytokeratin plasm of herterocells
in subcapsular sinuses

3 讨论

微转移又称隐性转移,一般指非血液系统的恶性肿瘤在发展过程中,播散并存活于淋巴系统、血循环、骨髓、肝、肺等组织器官中的微小肿瘤细胞灶^[1]。本文微转移的定义为常规病理检查淋巴结已有转移,而未被检出者称之为微转移。盆腔淋巴结有无转移与患者预后密切相关,也是术后是否需要进一步治疗的重要依据。然而,有些宫颈癌患者手术治疗后,常规病理检查未发现淋巴结转移,但术后很快复发,推测可能为淋巴结清扫不彻底,已有转移的淋巴结未被切除或淋巴结已有微转移,病理检查未检出。从本文检查结果看确实存在淋巴结微转移灶。因病灶小,常规染色检查极易忽略淋巴结中单个或小簇癌细胞,因而易出现漏诊,至

使术后易复发。随着免疫组织化学和分子生物学技术的发展,微转移的检出率有升高趋势。刘永存等^[2]用免疫组织化学法和逆转录聚合酶链反应法检测胃癌淋巴结微转移,淋巴结阳性检出率由传统的 HE 染色的 70.6% 分别上升至 82.7% 和 89.2%。王荣业^[3]报道,Ⅰ、Ⅱ期宫颈癌手术治疗后 5 年生存率为 71.4%,1 个淋巴结转移 5 年生存率为 85.7%,2 个以上转移者为 63.3%,因此淋巴结转移个数的多少与预后有关。本文 7 例患者淋巴结阳性 20 个,其中 1 个可疑转移,经 CK、EMA 检测后排出转移,如未经 CK、EMA 检测按阳性处理,势必增加病人不必要的治疗。HE 染色阴性 187 个淋巴结中 1 个淋巴结 CK、EMA 检测强阳性,微转移检出率为 0.53%,与应晔^[4]报道的检出率 0.8% 相近,比李智伟^[5]报道的阳性检出率 2.43%

(下转第 78 页)

体大鼠耳蜗虽经戊二醛灌流和四氧化锇双重固定,但因没有专用的显微操作器械,凭借手工打开微小、精细的骨性蜗壳,在这种条件下必然造成耳蜗膜性结构的损伤,毛细胞也会受到损伤。因此,对所观察到的图像和两组大鼠耳蜗的形态学变化,应作有可能是损伤所致的考虑。但本实验对两组大鼠耳蜗毛细胞的观察,是立足在相同取样、相同制样、相同扫描电镜下、相同参数下观察获得的结果,两组大鼠的图像出现较明显的差异,并非能够用损伤解释。

国内胡爱云等^[4]对氟中毒引起听力的影响做了相关研究,发现氟中毒确能导致听功能损害。曹郁琦等^[5]通过对慢性氟中毒大鼠耳蜗螺旋器扫描电镜的观察,发现氟中毒大鼠内毛细胞静纤毛失去正常排列,呈融合在一起呈团块状,并有部分缺失。外毛细胞静纤毛也呈现不同程度的排列紊乱、倒伏、粘连、甚至脱落,这种改变以底回明显。这与本实验观察到的现象有不同程度的相似,只是本实验观察到的图像内毛细胞静纤毛形态尚属正常。

耳蜗毛细胞的缺失是引起听觉损伤的一个主要原因^[6]。扫描电镜对正常大鼠、实验大鼠耳蜗毛细胞观察到的现象,是否实验组大鼠的听力有损害,还有待于相关实验和大鼠的临床表现来证实。

与此同时,扫描电镜观察蜗结构和毛细胞的制样方法,也有待于进一步改进和提高,本实验如能运用快速冷冻、硬组织切片机,从不同层面和立面精确剖切,最大程度的减小手工剖切对样品的损坏,其观察的效果和准确性将会提高。

4 参考文献

- [1] 上官存民,罗金燕. 地方性氟中毒的非骨损害[J]. 中华内科杂志,1982(4):217.
- [2] 王之贤,曾一同. 耳蜗显微与超微结构图谱[M]. 1988:180.
- [3] 谢鼎华. 基础与应用听力学[M]. 湖南科学出版社,2003:160.
- [4] 胡爱云,李进贤. 无机氟对听力影响的配对研究[J]. 中国地方病防治杂志,1987(5):296.
- [5] 曹郁琦,宋可钦. 慢性氟中毒大鼠耳蜗螺旋器扫描电镜观察[J]. 中国地方病防治杂志,1992(6):260.
- [6] 张媛,郭维. 大鼠耳蜗毛细胞前体细胞与耳蜗间质细胞共培养的实验研究[J]. 听力学及言语疾病杂志,2007(3):120.

(2012-10-29 收稿,2013-01-17 修回)

编辑:张丽君

(上接第75页)

低,分析其原因可能与所检淋巴结个数较少有关。阳性淋巴结阴性检出率与阴性淋巴结阳性检出率经 Fisher 法检验 $P > 0.05$,虽无显著性差异,但随着所检淋巴结数量增加,阴性淋巴结阳性检出率可能会增加。从图 1~4 可看出,HE 染色与 CK、EMA 染色形成明显对比,可清晰见到 CK、EMA 为棕黄色颗粒(阳性染色),避免了病理医师在常规 HE 染色下的局限性和主观性,更容易识别癌灶,提高了癌转移的检出率,为术后化疗或放疗提供了有力的证据,因而 CK、EMA 检测具有临床应用价值。因病例数少,需积累更多资料,进一步研究。

4 参考文献

- [1] 杨雪炎,熊兵红,马利,等. 宫颈癌微转移检测研究进展

[J]. 包头医学院学报,2009(3):98-101.

- [2] 刘永存,龚建安,梁盛枝,等. 免疫组织化学法和逆转录聚合酶链反应法检测胃癌微转移的研究[J]. 中华普通外科学文献,2009(4):42-43.
- [3] 王荣业. I、II 期子宫颈癌的淋巴结转移及治疗[J]. 中华妇产科杂志,1997(3):168-171.
- [4] 应晔,高永良,倪型灏,等. 免疫组织化学检测子宫颈癌盆腔淋巴结隐匿转移的探讨[J]. 中华妇产科杂志,2003(6):369-370.
- [5] 李智伟,朱一迪,温放. 早期宫颈癌盆腔淋巴结微转移免疫组化法检测及临床价值[J]. 中国医科大学学报,2009(12):933-936.

(2012-11-29 收稿,2013-01-19 修回)

编辑:张丽君