

组织学、电镜及免疫组化技术 确诊口腔粘膜恶性黑色素瘤的对比研究

王志良 杨连甲 高玉好 董绍忠

摘要 总结了15例口腔粘膜原发性恶性黑色素瘤,对比研究了Fontana染色、电镜观察和免疫组化方法检查在确诊恶性黑色素瘤方面的诊断价值。结果发现,15例口腔粘膜原发性恶性黑色素瘤中,4例为无色型黑色素瘤,这4例中Fontana染色2例阳性。电镜观察的3例无色型黑色素瘤,均未发现典型黑色素小体存在。15例黑色素瘤的抗单克隆抗体染色全部阳性。本研究显示,对Fontana染色阴性,可疑为恶性黑色素瘤的病例,应做免疫组化染色,进一步确诊。

关键词 口腔肿瘤 恶性黑色素瘤 免疫组化

口腔粘膜原发性恶性黑色素瘤虽不多见,但由于形态的多形性和不典型性,常导致诊断的困难¹。本文从方法上系统探讨了Fontana染色、透射电镜观察、免疫组化技术检查对口腔粘膜原发性恶性黑色素瘤的确诊价值。

1 材料和方法

1.1 标本

选择1980~1992年间第四军医大学口腔医学院病理科确诊为口腔粘膜原发性恶性黑色素瘤病例15例,另选2例口腔粘膜色素痣标本做对照,所有标本均为10%福尔马林固定,常规石蜡包埋处理。

1.2 组织学研究

所有标本分别切成5μm厚的石蜡切片做常规HE染色和黑色素染色(Fontana染色)²。

1.3 透射电镜研究

根据HE光镜观察结果,取3例无色型和3例有色素型恶性黑色素瘤,共6例,做透射电镜观察。在蜡块上切取典型肿瘤组织1mm×1mm×1mm,二甲苯脱蜡,经逐级酒精至水后,1%四氧化锇后固定后,逐级酒精脱水,Epon812包埋,LKB-5超薄切片机超薄切片,醋酸铀和硝酸铅对比染色,日本电子J2000透射电镜观察³。

1.4 免疫组化研究

抗恶性黑色素瘤单克隆抗体由第四军医大学免疫教研室提供,工作浓度1:100。切片经脱蜡至水后,分别经双氧水甲醇抑制内源酶30min,3mol/L尿素消化30min,1%ZnSO₄微波处理5min(750W)后,按常规免疫组化法(ABC法)对切片进行处理⁴。设空白对照和替代对照。按阳

性细胞的多少分四级:阳性细胞少于5%为阴性(-),33%以下为弱阳性(+),33%~66%为中度阳性(#+),多于66%为强阳性(##)。

2 结果

2.1 15例口腔粘膜恶性黑色素瘤的组织学、电镜和免疫组化观察结果见附表。

2.2 HE染色观察到有4例无色素颗粒,Fontana染色黑色素阳性13例(图1)。

附表 口腔粘膜恶性黑色素瘤的组织学、电镜、免疫组化观察结果

细胞型	HE染色		Fontana染色		透射电镜		免疫组化	
	+	-	+	-	+	-	+	-
小圆细胞型	2	0	2	0	0	0	2	0
上皮样细胞型	3	1	3	1	1	1	4	0
梭形细胞型	6	3	8	1	2	2	9	0
小计	11	4	13	2	3	3	15	0
%	73.33	26.60	86.60	13.30	50.00	50.00	100.00	0.00

6例电镜观察表明,2例HE染色及Fontana染色黑色素均阴性的病例,及1例HE染色无色素而Fontana染色阳性的病例,电镜观察均未发现典型的黑色素小体存在,其他3例HE染色有色素Fontana染色阳性的病例,均观察到黑色素小体

(图2)。典型的黑色素小体位于肿瘤细胞的胞浆中,呈圆形或卵圆形短棒状,大小不一,成簇或散在分布,电子密度较高。免疫组化结果阳性率为100%,其阳性颗粒主要位于细胞胞浆中(图3)。

3 讨 论

恶性黑色素瘤是恶性程度较高的肿瘤,其发病率虽低,但预后较差,故早期明确诊断很重要。在形态学上其特征性改变是在肿瘤细胞胞浆中出现多少不等的黑色素颗粒。但由于肿瘤的异质性导致其形态的多样性和不典型性,而且部分恶性黑色素肿瘤细胞中,黑色素颗粒极少或没有,在光镜下不易被发现,而易被误诊为其他肿瘤,对于这些无色素型不典型黑色素瘤的病理诊断,目前主要依赖于组织学特殊染色、电子显微镜技术和免疫组化技术检查。至于哪一种方法更为可靠和简便?本文为此进行了研究。

本研究表明,用常规HE染色时,在15例口腔粘膜恶性黑色素瘤中,11例胞浆内明确有黑色素颗粒,占73.33%,4例无色素颗粒,占26.67%。这说明口腔粘膜恶性黑色素瘤中,无色素型比例相当大。在形态学上这些病例与恶性淋巴瘤、未分化癌的鉴别诊断颇为棘手。

Fontana染色是利用硝酸铵银经黑色素还原为黑色金属银,从而显示黑色素颗粒,作为常规用于显示无色素型黑色素瘤黑色素颗粒。本研究表明,15例口腔粘膜黑色素瘤,Fontana染色13例阳性(占86.67%),2例阴性。Fontana染色虽可出现少数假阴性,但对于石蜡处理过的组织,这种染色诊断恶性黑色素瘤是有一定价值。对于Fontana染色阴性尚不能最后排除恶性黑色素瘤的可能性。

在电镜下,恶性黑色素瘤细胞浆中可发现黑色素小体、黑色素前体或衣平行小管(Coated, Parallel, tubules)⁵。本研究在15例黑色素瘤中对其中6例进行了透射电镜观察,6例中有3例为无色素型黑色素瘤。结果显示,3例无色素型黑色素瘤均未观察到典型黑色素小体存在。由于标本形态保存较差,对于黑色素前体和衣平行小管难以辨认。造成这种结果的原因可能有两方面,其一与肿瘤的异质性有关,部分黑色素瘤无典型的黑色素小体结

构,只有黑色素前体和衣平行小管存在。其二与电镜标本处理有关,电镜超微结构的保存,标本及时固定和处理方法很关键。本研究属回顾性研究,电镜标本只能取材于福尔马林固定石蜡包埋的组织。经过这些处理的组织,超微结构形态保存较差,只能辨认出典型的黑色素小体,而黑色素前体和衣平行小管难以辨认。提示说明,恶性黑色素瘤的电镜标本应取材于新鲜标本,或至少取材于10%福尔马林固定的表面组织。蜡块组织的电镜观察效果较差。

抗恶性黑色素瘤单抗的出现,使通过免疫组化方法鉴别无色素型恶性黑色素瘤成为可能。本文研究证明,15例恶性黑色素瘤的抗黑色素瘤单抗染色均为阳性。提示说明,免疫组化方法鉴别无色素型黑色素瘤较为可靠,即避免了Fontana染色的假阴性,也比电镜观察简便。

总之,对于Fontana染色阴性,可疑为恶性黑色素瘤的病例,应进一步做免疫组化研究。电镜观察石蜡包埋组织效果较差,应取材于新鲜组织或10%福尔马林固定未做石蜡包埋的表面组织。

(本文图见中心插页10)

4 参考文献

- 1 顾绥岳主编 实用外科病理学 南京:江苏科学技术出版社,1987:39
- 2 卡林主编 组织病理学与组织化学技术手册 北京:科学出版社,1982:476
- 3 洪涛主编 生物医学超微结构与电子显微镜技术 北京:科学出版社,1980:111
- 4 Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase compound (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures J Hist Chem Cytochem, 1986, 29: 577
- 5 黄文清主编 肿瘤电子显微镜诊断学 上海:上海科学技术出版社,1992:179
- 6 Gazit D, Danniell TE. Oral melanocytic lesions, differences in expression of HMB-45 and S-100 antigens in round and spindle cells of malignant and benign lesions J Oral Pathol Med, 1994, 23(2): 60

(1997-03-18 收稿)

Study on Diagnosis of Oral Mucosal Melanoma with Histology, Electron Microscopy (EM) and Immunohistochemistry

Wang Zhiliang, Yang Lianjia, Gao Yuhao, et al

Department of Oral Pathology, College of Stomatology, the Fourth Military Medical University

Abstract

Fifteen cases of primary oral mucosal melanoma were studied with the methods of Fontana Staining, EM, and immunohistochemistry. The results showed that 4 of 15 cases were non-pigmented lesions. In these cases, two were positive with Fontana staining. Pigment body could not be found in three cases observed under EM, but all the 15 cases were positive with immunohistochemical staining. The results suggested that the immunohistochemical staining should be done for those cases suspected as non-pigmented melanoma.

Key words: oral neoplasm malignant melanoma immunohistochemistry

术前取模预制牙弓夹板在颌骨骨折治疗中的应用

张 信 谭方平

牙弓夹板已广泛应用于颌骨骨折的治疗,手术时在患者口内即时弯制牙弓夹板,使手术时间延长。而术前取模预制好牙弓夹板具有方法简便、易于掌握、缩短手术时间、减少患者痛苦之优点。我科自1992年3月至1994年12月应用此法辅助治疗各类颌骨骨折51例,现总结报告如下。

1 临床资料

选择适应于牙弓夹板治疗颌骨骨折的患者51例,男47例,女4例,年龄14~65岁。上颌骨LeFort I, II型骨折12例,下颌骨骨折39例,包括下颌骨正中联合骨折12例,下颌骨体部骨折7例,下颌角骨折6例,髁状突颈部骨折3例,髁状突颈部与下颌骨体联合骨折2例,上下颌骨单纯性联合骨折4例,下颌骨体陈旧性骨折5例。

2 材料与方法

采用成都军区总医院生产的铝制带钩牙弓夹板,分I, II型。牙结石较多者先行洁治术。因颌骨骨折多伴有不同程度的移位,为减少取模时疼痛,应选用比牙列较宽的带孔托盘或自制托盘,操作应轻巧。用藻酸钠印模材料,分别取上下颌牙列阴模。常规灌制石膏阳模。石膏凝固后,用线锯沿骨折线处将错位之阳模锯断,对移位不明显者无需锯断,恢复上下颌牙正常的咬合关系,断端用水门汀粘接。在此模型

上,根据牙列长度和弧度及骨折类型,选择合适的牙弓夹板,分别弯制上下颌牙弓夹板备用。根据骨折类型和打结方法准备结扎丝。手术多在局麻下进行。手术时先将骨折断端相邻两牙用结扎丝行牙间结扎,以保持颌骨的连续性及恢复咬合关系,便于安放。结扎牙弓夹板。将预制好的牙弓夹板分别结扎固定于上下颌牙列上,用橡皮圈作颌间牵引。对上下颌骨单纯性骨折移位不明显者仅作单颌牙弓夹板结扎固定即可。陈旧性骨折或手法复位困难者应结合手术切开复位内固定,再用预制好的牙弓夹板辅助固定。

3 讨 论

术前预制牙弓夹板由于在石膏模型上弯制精密程度较高,与牙列贴合紧密,穿引结扎丝方便快捷,该方法固定力强,疗效肯定,对周围软组织损伤小。手术时间较术中即时弯制牙弓夹板缩短一半以上,从而减小了患者痛苦。

此法主要适应于各型上下颌骨骨折移位不甚明显的骨折复位固定。其方法简单,取材方便,易于掌握,便于基层医院应用。

(1996-07-10收稿)

作者单位: 266700 山东省平度市人民医院口腔科