

多形性腺瘤内癌病理形态及免疫组化研究

杨小玲,朱 剑,毛永荣

摘要:目的 通过多形性腺瘤内癌病理形态及免疫组化研究 1、探讨多形性腺瘤伴细胞生长活跃,原位癌及其亚型之间的差异。2、对多形性腺瘤内癌病理形态、细胞增殖活性及癌基因方面的联合指标进行测定,加深对生物学行为的认识。方法 选用多形性腺瘤伴细胞生长活跃 36 例、恶性混合瘤 9 例、侵袭性癌 26 例、良性多形性腺瘤 18 例重新连续切片,作特染 AgNORs,免疫组化 PCNA、Ki67、p53、VEGF 并复习临床资料。结果 多形性腺瘤内癌及其亚型,AgNORs 及 Ki67、PCNA、VEGF、p53 表达阳性,而癌旁组织表达为可疑阳性或阴性。结论 根据多形性腺瘤内癌病理形态、细胞增殖活性、VEGF、p53 的检测,首次在国内提出了原位癌、侵袭性癌及恶性混合瘤病理学诊断标准及其鉴别诊断。

关键词:多形性腺瘤内癌;原位癌;侵袭性癌;恶性混合瘤;免疫组化

中图分类号:R730.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2001)06-0444-04

The Pathologic Picture and Immunohistochemical Study Of Carcinoma In Pleomorphic Adenoma

YANG Xiao -ling, ZHU Jian, MAO Yong -rong

Pathology Department of Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430079, China

Abstract: Objective 1. To solve mixed tumor with cell activated growth, so called "semi-malignant" malignant and the difference with subtype. 2. Measure the pathologic picture of pleomorphic adenoma and its combined index with cell proliferation activity and onco gene, deepenthe known geofbiological behavior. **Methods** select 36 cases of mixed tumor with cell growth active and 9 cases of malignant mixed tumor and 16 cases of invasive carcinoma, to slice continuously, and stain with specific immunohistochemistry, and review clinical data. **Results** the expression of AgNORs, Ki-67, PCNA, VEGF and p53 are positive, and the p53 is strong positive in area of malignant mixed tumor, but the expression of tissue adjacent tumor is skeptical positive or negative. **Conclusion** through the detection of pathologic picture and cell proliferation activity of carcinoma in pleomorphic adenoma, first put forward the diagnosis criteria of carcinoma in situ, invasive carcinoma and malignant mixed tumor.

Keywords: Carcinoma in pleomorphic adenoma; Carcinoma in situ; Invasive carcinoma; Malignant mixed tumor; Immunohistochemistry

多形性腺瘤内癌(carcinoma in pleomorphic adenoma)病理学诊断标准不统一。国内外学者对其生物学行为的认识各抒己见,对该病变的病理形态及免疫组化有过零星报道,但有关多形性腺瘤内癌大宗病例,病理形态及免疫组化系统研究文献甚少。本文通过病理形态及免疫组化联合应用探讨 1、癌

在多形性腺瘤中诊断标准,恶性及其亚型之间的差异。2、通过多形性腺瘤内癌病理形态、细胞增殖活性及癌基因方面的联合指标进行测定,加深对生物学行为的认识。

1 资料和方法

1.1 复习 1973~1999 年 10 月经我院外科切除及病理诊断为涎腺肿瘤 386 例全部临床资料及病理切片。并经二人重新阅片,重点将原病理诊断为多形性腺瘤的 276 例,其中良性多形性腺瘤 161 例,恶性混合瘤 9 例,多形性腺瘤癌变(侵袭性癌)26 例,多形性腺瘤伴细胞生长活跃 67 例,复发性病变 13 例,

收稿日期:2000-11-14; 修回日期:2001-04-09

作者单位:430079 武汉,湖北省肿瘤医院病理科

重新连续切片并阅片。选用诊断多形性腺瘤细胞生长活跃 67 例中的更为接近癌变标准的 36 例,侵袭性癌 26 例,恶性混合瘤 9 例、良性多形性腺瘤 18 例共计 79 例作特染及免疫组化共 5 种,包括 AgNOR、PCNA、Ki67、VEGF、p53 (其中恶性混合瘤分别加用 CK 及 Vimentin) 等在内的多参数指标。选择肿瘤旁正常涎腺组织作对照组。

1.2 AgNOR (染色试剂及技术由福建三强生物化工有限公司提供) 计数方法:用油镜观察切片,计数 100 个核内 AGNOR 颗粒总数,凡界限清楚,不管大小皆算一点,将总数除以 100 即为该细胞的 AgNOR 颗粒数。评判细胞阳性即恶性的标准:(1)颗粒数增多,每个核内达 4 个以上。(2)颗粒离散度较大。(3)颗粒大小不均。

1.3 免疫组化(试剂由福建迈新公司提供)使用 SP 免疫组化染色法。PCNA、Ki67、p53 免疫组化表达产物均分布在细胞核内。VEGF 受体主要表现在血管周围的癌细胞。

1.4 判断细胞着色标准

1.4.1 细胞着色数 25% 以下 1 分,25% ~ 50% 2

分,50% ~ 75% 3 分,75% 以上 4 分。

1.4.2 细胞着色强度 微弱黄色 1 分,淡黄色 2 分,棕色 3 分,强棕色 4 分。

细胞着色数及强度相加,1 ~ 2 分 (+/-), 3 ~ 4 分 (+), 5 ~ 6 分 (++) , 6 分 (+++) 。

2 结果

2.1 临床资料

性别及年龄:266 例多形性腺瘤,年龄 16 ~ 75 岁,平均年龄 32.3 岁,男性 193 例,女性 73 例,男:女为 2.5:1, 部位右侧腮腺 161 例,左腮腺 64 例,颌下腺 29 例,舌下腺 12 例。病程 3 月 ~ 26 年,平均 5.5 年。临床症状:大多数肿瘤表现为腮腺区域无痛性肿块,大小 2cm x10cm 不等,直径平均为 4cm。175 例多形性腺瘤伴细胞生长活跃均为首发,其中 93 例获得随访,随访率为 73%。所有切片采用常规福尔马林固定、石蜡包埋、HE 染色,部分病例作 AgNORs 及免疫组化。

2.2 多形性腺瘤内癌 AgNOR 及免疫组化表达见表 1。

表 1 癌在多形性腺瘤中 AgNOR 和免疫组化表达结果

病理类型	AgNOR		Ki67		PCNA		VEGF		p53	
	阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%
混合瘤细胞生长活跃(36)	19	52.77	19	52.77	19	52.77	18	52.00	17	47.22
恶性混合瘤(9)	9	100.00	8	88.88	8	88.88	7	77.77	6	66.66
浸润性癌(26)	24	87.50	24	87.50	24	87.50	24	87.50	24	87.50
良好多形性腺瘤(18)	2	11	3	17	2	11	1	5	1	5

经统计学处理, $\chi^2=31.96$, P 值 <0.001 , AgNOR 及四组免疫组织化学表达结果良性及恶性多形性腺瘤比较差异有显著性。

2.3 肉眼观 肉眼观 肿瘤大小不一,境界清楚可活动,表面光滑,富有弹性。有 7 例为多结节,切面分叶彼此分隔不全。伴出血坏死 6 例中 4 例曾描述过。由于含有结缔组织和软骨样成份,质地不均,切面多为灰白色,粘液样区呈半透明胶冻状,软骨样区域坚实,带蓝色。当肿瘤较大时也可有出血坏死及囊性变。

2.4 显微镜下观

2.4.1 276 例多形性腺瘤,同一肿瘤的不同平面表现不一致。主要成份为上皮样瘤细胞、粘液样组织和软骨样组织构成。上皮细胞排列呈腺管样,内层为导管上皮,外层为梭形或星形的肌上皮细胞。管周肌上皮细胞增生呈梭形,浆细胞样或胞浆透明,细胞逐渐疏松排列移行为粘液样组织和软骨样组织。

2.4.2 19 例非侵袭性癌(non-invasivecarcinoma),我们对 67 例多形性腺瘤第一次诊断伴细胞生长活跃病例在复习时,发现有以下特点:1. 组织形态具有

典型的多形性;2. 部分腺上皮细胞增生,其中有 19 例除细胞增生活跃外上皮成份有异型性,有的形成乳头状结构,瘤细胞呈条索状排列极向紊乱但未突破包膜。每 5 个高倍视野下可见到一个核分裂。肿瘤中见大片出血坏死,背景中有纤维玻璃样变,但没有血管、淋巴管及神经侵犯,结合免疫组化及 AgNOR 阳性,诊断为原位癌或多形性腺瘤内癌。

2.4.3 侵袭性癌(invasivecarcinoma) 26 例镜下有明显的多形性腺瘤区域,但部分区域腺体有异型性,细胞呈条索状,中央有坏死及玻璃样变,并可见到腺瘤及癌变的移行区。癌变部分已超出原先的多形性腺瘤范围,突破包膜,伴有邻近脂肪及肌肉的侵犯,其中 3 例有侵犯血管,2 例侵犯淋巴管,1 例侵犯神经。本组 26 例,14 例高分化腺癌,2 例乳头状腺癌,3 例腺泡细胞癌,2 例粘液表皮样癌,2 例中分化腺癌,2 例腺样囊腺癌,1 例为鳞状细胞癌。

2.4.4 9 例癌肉瘤或称恶性混合瘤(carcinosarcoma)

重新阅片,镜下既有癌又有肉瘤成份,此型也称真正恶性混合瘤。本组 5 例上皮有高分化腺癌成

份,高分化软骨肉瘤成份,2例并有平滑肌肉瘤样成份,1例并有纤维肉瘤样成份,1例有小圆形细胞肉瘤成份。

3 讨论

Seifert^[1] WHO 涎腺肿瘤新分类协作中心讨论,将多形性腺瘤内癌分为四型:1、非侵袭性癌(Noninvasive carcinoma),恶变部分未超越原先存在的多形性腺瘤的范围,有人称包膜内癌。2、侵袭性癌;3、癌肉瘤;4、转移性多形性腺瘤。本文研究是通过对诊断为多形性腺瘤的 276 例大宗病例材料的回顾性复习,将其中 67 例多形性腺瘤伴细胞生长活跃中的 36 例,9 例恶性混合瘤,26 例侵袭性癌,18 例良性多形性腺瘤,再次复习并作免疫组化,提出对多形性腺瘤生物学行为观点的新认识即多形性腺瘤有良恶性之分,多形性腺瘤恶变者根据肿瘤侵及范围分为原位癌,侵袭性癌,癌肉瘤(恶性混合瘤)组织病理特点及免疫组化进行讨论。

3.1 多形性腺瘤内癌诊断标准,应具有典型良性多形性腺瘤的组织结构,又有典型癌的特征,故称为原位癌或多形性腺瘤内癌(Carcinomain pleomorphic adenoma)。根据我们 67 例多形性腺瘤细胞生长活跃中 19 例确定原位癌有以下特征:1、患者年龄较大。2、男性多见。3、肿瘤 3~5cm 以上,呈多结节状。镜下:有典型的多形性腺瘤特征,6 例肿瘤伴明显出血坏死,7 例间质有明显玻璃样变,12 例细胞增生活跃,有一定间变,包括细胞大小不一,非典型增生的腺上皮细胞形成腺腔并扩张且多位于包膜下,肿瘤中央有明显纤维玻璃样变基底呈低度恶性癌的表现,核染色质增粗,核浆比失调,并有异常核分裂,没有侵犯神经、血管、淋巴管等,上述特征仅靠病理形态来作为原位癌的诊断依据似乎不足,毕竟没有突破包膜。疑为癌变而认为量化不够时,应作 AgNORs、PCNA/Ki67、VEGF 及癌基因 p53 免疫组化测定帮助诊断,因此我们选用几组有针对性的免疫组化来进一步证实(免疫组化选择见表)。

3.2 侵袭性癌(invasive carcinoma)镜下有典型多形性腺瘤图像,部分区域腺体有异形性,发生癌变部分已超过多形性腺瘤范围,突破包膜,可出现有血管、淋巴管、神经、肌肉、脂肪侵犯。

3.3 恶性混合瘤,又称癌肉瘤(caicosarcoma);此型为真正恶性混合瘤,即有瘤的成份又有肉瘤的成份,肉瘤的成份可以多样,但以软骨肉瘤为主。而癌变-原位癌指上皮成份癌变。且预后差。Vajda^[2]报道一例 43 岁的男性病人的恶性混合瘤(sarcinosarcoma),癌显示为管状腺癌间叶部分显示为恶性纤维组织细胞瘤的巨细胞型、Cytokeratin 阳性支持癌的

部分,Vimentin₁和 CD6 阳性在肉瘤部分为阳性。Chen^[3]报道 5 例并有随访结果,其中 4 例在术后 6 个月、1 年、2 年、6 年死于肿瘤。我们 9 例恶性混合瘤除 2 例癌随访 1~8 年健在,另 7 例分别于术后 2~3 年复发(5 例死亡),其中 1 例转移至邻近淋巴结。19 例原位癌患者随访 2~12 年无瘤生存。16 例侵袭性癌中;2 例 13~16 年,8 例存活 3~8 年,3 例 1 年内复发,2 例 2 年内复发,1 例 5 年后死于肿瘤复发。随访观察与他们的结论基本相似。单纯性的原位癌预后较好,但侵袭性涎腺癌哪怕是早期浸润,预后则较原位癌差,恶性混合瘤预后较差,可能与两者都具有恶性成份有关。

3.4 细胞增殖活性指标应用及其意义

传统评价增殖活性的方法包括细胞分裂指数和肿瘤分级,但这些分类方法在不同的病理医师之间存在明显误差,因此我们选用几组连同 AgNORs 在内的 PCNA、Ki67、p43、VEGF 多指标的测试并结合病理形态进行探讨以希作为评判原位癌诊断及与其良性多形性腺瘤的鉴别诊断标准。

Allison^[4]和 Giri 等^[5]提出处于增殖的细胞中,染色体和 AgNOR 呈散在分布,因此形成多个小的核仁,因此,NORs 的数目反映细胞和细胞核的活性。从本组 PA 细胞生长活跃者中的 19 例 AgNORs 计数显著高于良性,26 例侵袭性癌及 9 例恶性混合瘤计数增多。由于 NORs 的数目反映细胞和细胞核的活性,因此在研究中计数和细胞增殖间的关系我们加用了 Ki67、PCNA 进行评估细胞增殖活性的程度,Ki-67 和 PCNA (proliferatin gcellnuclearanti gen)单克隆抗体来实现对瘤细胞增生抗原进行定位、定量最为简例、可靠。

3.5 免疫组化

PCNA 是近年来发展的原位检测细胞增殖活性的新型探针,其量的变化与 DNA 合成一致,能反应细胞增殖活性。Takahashi^[6]和 Zhur-Q^[7]等分别提到 PCNA 可以作为临床观察涎腺肿瘤预后的指标及鉴别良恶性。与 Akiyama^[8]和 Ruoslahti^[9]相似。我们对 36 例多形性腺瘤细胞生长活跃进行检测发现 13 例增生活跃的腺上皮细胞着色是 ++,6 例是 +,16 例侵袭性癌 PCNA 中 2 例 +++。

Ki67 也是与细胞增殖有关的核抗原,在乳腺癌、胃癌等的研究中发现,与组织学分级、核分裂指数和淋巴结转移情况密切相关。通过我们这组的观察,认为用于多形性腺瘤内癌诊断的价值与 PCNA 联合检测更增加我们诊断的信心。

血管内皮生长因子(VEGF),本研究用免疫组织化学染色方法对 36 例多形性腺瘤细胞生长活跃

(其中 19 例为原位癌),侵袭性癌 26 例,恶性混合瘤 9 例,良性多形性腺瘤 18 例进行标记。血管周围的癌细胞表达阳性,而癌旁涎腺组织表达(+/- 或 -),这可能与血管周围的肿瘤细胞由于得到充分的氧和营养物质而生长迅速,增殖处于活跃状态有关。Chow^[10] 等报道 VEGF 的受体不仅可出现于血管内皮细胞,肿瘤细胞上也有 VEGF 受体的存在。

Yamamoto^[11] 及 Kajja 等^[12] 提到 P53 的表达与涎腺病变的早期有关,但与局部复发关系不大。从我们一组 P53 的表达来看:19 例 PA 病理诊断原位癌,26 例侵袭性癌,均见到 P53 蛋白在核内的分布形式呈阳性或弱阳性,9 例恶性混合瘤反应强阳性,与他们的观点相似。说明癌在多形性腺瘤中 P53 与肿瘤的恶性程度、浸润及预后有关。

我们的研究表明,AgNORs、PCNA、Ki-67、VEGF 联合免疫组化法对于疑为多形性腺瘤内癌进行检测发现,1、增生活跃的肿瘤细胞以腺上皮着色明显,分别为 ++ ...+++。2、对于粘液部分及肌上皮部分着色阴性。3、同一切片着色程度强弱不一,似有跳跃性,可能与细胞增殖周期不同步有关。4、P53 的检测表明与多形性腺瘤内癌的恶性程度关系不大,而与浸润的程度和预后有关。

参考文献:

[1] Seifert G. Histology of salivary gland tumors. 2nd ed[M]. New York: Springer-Verlag, 1991, 9.
 [2] Vajdak. True mixed tumor of the parotid gland[J]. Orv Hetil, 1995, 136 (46): 2511-2514.

[3] Chen KTK. Metastasis of pleomorphic adenoma of the salivary gland[J]. Cancer, 1978, 42: 2407.
 [4] Allison RT, Spencer S. Nuclear organization of genes in odontogenic cysts and ameloblastomas[J]. Br J Biomed Sci, 1993, 50: 309-312.
 [5] Giri DD, Nottin gham JF, Lawa y J, et al. Solvent-binding nuclear organization (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: correlation with ploidy and malignant breast lesions; correlation with ploidy and growth phase of DNA flow cytometry[J]. J Pathol, 1989, 157: 307-313.
 [6] Takahashi M, Adachi T, Matsui R, Mi yokawa N. Assessment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining in parotid tumors[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 1998, 255 (6): 311-314.
 [7] Zhu Q, White FH, Tio GL. The assessment of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining in human benign and malignant epithelial lesions of the parotid gland[J]. Oral Oncol, 1997, 33 (1): 29-35.
 [8] Akiyama SK, Olden K, Yamada KM. Fibronectin and integrins in invasion and metastasis[J]. J Cancer and Metastasis Rev, 1995, 14: 173-189.
 [9] Ruoslahti E. Cell adhesion and tumor metastasis[J]. Princess Takamatsu Symposium, 1994, 24: 99-105.
 [10] Chow NH, Hsu PI, Lin XZ, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in normal liver and hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study[J]. H U m Pathol, 1997, 28 (6): 698-703.
 [11] Yamamoto Y, Kishimoto Y, Wistuba II, et al. DNA analysis of p53 locus in carcinomas arising from pleomorphic adenomas of salivary glands: comparison of molecular study and p53 immunostaining[J]. Pathol Int, 1998, 48 (4): 265-272.
 [12] Kajja Vj, Syrjanen KJ, Kurvinen AK, et al. Expression and mutation of P53 in salivary gland tumors[J]. J Oral Pathol Med, 1997, 26 (5): 217-223.

(李奇明校对)

中华医学会第七届全国实验外科学学术会议征文通知

为展示我国实验外科近年来的新进展、新成果,中华医学会外科学分会实验外科学组定于 2002 年 4 月 26~30 日在南京召开中华医学会第七届全国实验外科学学术会议,本届会议将授予会议代表中华医学会一类继续医学教育学分。现将征集论文的有关事项通知如下:

1. 征文内容 (1) 消化系外科(肝、胆、胰、胃、肠、脾、食管等)的实验研究、临床研究;(2) 外科基础(感染、休克、营养、创伤、多系统功能衰竭、移植与免疫、疼痛治疗等)研究;(3) 外科临床实验研究的经验和体会;(4) 外科新技术、新方法;(5) 组织工程、细胞工程研究;(6) 其他。

2. 征文要求 (1) 论文请寄全文及 800 字以内的摘要各一份(自留底稿)。摘要应包括文题,作者单位,邮编,姓名及论文目的,方法,结果,结论等。无摘要者恕不受理;(2) 论文应体现先进性、科学性和具有理论价值或临床实用价值,投稿须由作者所在单位审查盖章同意,并在信封正面注明会议征文字样;(3) 欢迎在基层医院临床一线工作的外科医师踊跃投稿,介绍解决临床疑难问题的工作经验;(4) 凡在全国性学术会议交流或发表过的论文,不予受理;(5) 征文截稿日期:2002 年 1 月 30 日;(6) 来稿请寄:南京市广州路 300 号南京医科大学第一附属医院肝脏外科病区钱建民主任收或张浩博士收。邮编:210029。电话:025-3718836 转肝脏外科。