



DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.06.006

http://www.gjbl.net/gjblx/fileup/PDF/201306481.pdf

· 论 著 ·

## 联合抗体在胸水细胞块肺腺癌细胞和增生性间皮细胞中的表达及意义

雷亚丽<sup>1</sup>, 易红梅<sup>1</sup>, 李艳春<sup>1</sup>, 陈志鸿<sup>1</sup>, 李红玲<sup>1</sup>, 刘宇<sup>1</sup>, 李代强<sup>2</sup>

(1.湖南省人民医院病理科, 长沙 410004; 2.中南大学湘雅二医院病理科, 长沙 410011)

**[摘要]** 目的: 探讨联合抗体的运用在鉴别胸水肺腺癌细胞和反应性增生间皮细胞中的意义。方法: 胸水细胞块切片后行免疫组织化学SP法检测25例胸水转移性肺腺癌细胞和20例反应性增生间皮细胞中甲状腺转录因子-1、细胞角蛋白-7、间皮细胞及钙结合蛋白表达。结果: 甲状腺转录因子-1、细胞角蛋白-7、间皮细胞和钙结合蛋白在胸水肺腺癌细胞和反应性增生间皮细胞中的表达比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。甲状腺转录因子-1和细胞角蛋白-7联合标记胸水肺腺癌细胞的敏感性为88%, 特异性为100%; 间皮细胞和钙结合蛋白联合标记胸水增生性间皮细胞的敏感性为60%, 特异性为95%。结论: 联合应用甲状腺转录因子-1、细胞角蛋白-7、间皮细胞和钙结合蛋白抗体检测胸水细胞块对鉴别肺腺癌细胞和反应性增生间皮细胞具有较高的应用价值。

**[关键词]** 胸水; 细胞块; 抗体; 肺腺癌细胞; 间皮细胞; 免疫组织化学

## Expression of combined antibodies in pulmonary adenocarcinoma cells and reactive mesothelial cells in pleural effusion cell block

LEI Yali<sup>1</sup>, YI Hongmei<sup>1</sup>, LI Yanchun<sup>1</sup>, CHEN Zhihong<sup>1</sup>, LI Hongling<sup>1</sup>, LIU Yu<sup>1</sup>, LI Daiqiang<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410004;

2. Department of Pathology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

**Abstract** **Objective:** To determine the differential diagnosis between reactive mesothelial cells and lung adenocarcinoma cells in pleural effusion. **Methods:** SP immunohistochemical method was used to examine the expression of thyroid transcription factor-1, cytokeratin-7, and calretinin in 25 samples of lung adenocarcinoma cells or 20 samples of reactive mesothelium cell. **Results:** There was a significant difference in expression of

收稿日期 (Date of reception): 2013-04-26

作者简介 (Biography): 雷亚丽, 硕士, 医师, 主要从事肿瘤病理研究。

通信作者 (Corresponding author): 雷亚丽, Email: lyl2855@163.com

thyroid transcription factor-1, cytokeratin-7, and calretinin between reactive mesothelial cells and pulmonary adenocarcinoma cells ( $P < 0.05$ ). For the pulmonary adenocarcinoma cells, the sensitivity and specificity of combined thyroid transcription factor-1 with cytokeratin-7 were 88% and 100%, respectively. For reactive mesothelial cells, the sensitivity and specificity of combined mesothelial cell with calretinin were 60% and 95%, respectively. **Conclusion:** It is great helpful for differentially diagnosis of metastatic lung adenocarcinoma cells from mesothelial cells in pleural effusion cell block through using combination of antibodies, including thyroid transcription factor-1, cytokeratin-7, and calretinin.

**Key words** pleural effusion; cell block; antibodies; lung adenocarcinoma cell; mesothelial cell; immunohistochemistry

胸水细胞学检查是肺癌合并胸腔积液患者最常见检查项目之一, 胸水中是否存在腺癌细胞, 对肺腺癌患者诊断分期、化学治疗及判断预后至关重要。有时普通细胞涂片中分化好的腺癌细胞与增生间皮细胞, 或者浆膜腔原发性间皮肿瘤细胞形态非常相似, 鉴别两者一直是细胞病理诊断的难点<sup>[1]</sup>。本实验在液基薄层细胞制片基础上, 行胸水细胞块免疫组织化学(组化)联合检测上皮细胞相关抗体甲状腺转录因子-1 (thyroid transcription factor-1, TTF-1)、细胞角蛋白-7(cytokeratin-7, CK7)和间皮细胞相关抗体间皮细胞蛋白(mesothelial cell, MC)、钙结合蛋白(calretinin, CR)鉴别肺腺癌细胞和反应性增生间皮细胞, 为临床肺腺癌的诊断、治疗及判断预后提供更可靠的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收集湖南省人民医院病理科2010年12月至2013年3月胸水转移性肺腺癌病例25例及反应性增生间皮细胞病例20例。其中男性20例, 女性25例, 肺腺癌组年龄40~75(平均57.5)岁, 增生间皮细胞组年龄22~70(平均46)岁。45例的诊断依据临床资料、影像学检查和(或)病理组织学结果。TTF-1, CK7, MC, CR抗体试剂盒均购自福州迈新生物科技有限公司。

### 1.2 液基薄层细胞学制片

所有胸水标本使用沉降式液基薄层细胞技术制作, HE染色。沉降式液基细胞处理试剂盒购自泰普生物科学有限公司中国福州分公司。

### 1.3 胸水细胞块制备方法

临床送检新鲜胸水至少150 mL, 用50 mL尖底

离心管取2管胸水, 置于离心机以2500 r/min, 离心10 min; 弃去上清, 如细胞沉淀过少, 可将胸水加至50 mL离心, 弃去上清, 加入10%中性甲醛10 mL, 室温下固定1~12 h; 取出离心管底部的细胞沉淀用显微镜擦纸包好, 放入自动脱水机中进行处理, 制成石蜡细胞块, 切片, 采用常规HE染色, 均以镜下见到肿瘤细胞为阳性细胞块制片。

### 1.4 免疫组化方法

所有细胞块标本均经10%中性甲醛固定, 用常规石蜡包埋方法连续切片, 厚度约3  $\mu\text{m}$ , 于60  $^{\circ}\text{C}$ 烘干1 h, 以SP免疫组化方法染色, DAB显色, 苏木精复染, 中性树胶封片, 置显微镜下观察。阴性对照采用PAS代替一抗, 阳性对照采用已证实为阳性的组织切片。

### 1.5 结果判定

TTF-1染色阳性为细胞核呈现棕黄色; CK7染色阳性为细胞膜呈现棕黄色; MC染色阳性为间皮细胞的胞膜呈棕黄色或肿瘤细胞浆呈现棕黄色; CR染色阳性为细胞质或细胞核呈棕黄色。敏感性=真阳性病例数/(真阳性病例数+假阴性病例数) $\times 100\%$ ; 特异性=真阴性病例数/(真阴性病例数+假阳性病例数) $\times 100\%$ 。

### 1.6 统计学处理

采用SPSS13.0统计系统分析数据, 两组间免疫组化结果的比较采用 $\chi^2$ 检验, 以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 液基细胞制片中两种细胞的形态学改变

反应性增生间皮细胞形态特征: 细胞多以片状排列、拥挤, 大小不一致, 其中部分间皮细胞

核增大、深染, 无核仁或1~2个小核仁, 但胞浆丰富、核边缘整齐、核染色质细腻、浅染; 可出现多核间皮细胞, 细胞稍大, 一般3~5个核, 胞核虽大而胞浆量较多。增生的间皮细胞还可出现特殊的排列方式, 如梅花状、乳头状、腺腔样等, 但这些细胞群呈平铺状, 无三维立体结构感。

胸水肺腺癌细胞在液基制片中常成团分布, 细胞之间紧密排列成三维立体结构, 成团细胞大多排列呈腺腔样、乳头状等; 但也可以单个散在, 癌细胞核大, 大小、形态、染色不一, 核深染, 染色质粗、核浆比例增大甚至倒置, 细胞质可有一个或多个空泡, 有时可见明显推挤核, 使之呈印戒细胞样, 分化好的腺癌细胞核异型

性不大。

## 2.2 免疫组化

### 2.2.1 TTF-1, CK7, MC 和 CR 在胸水肺腺癌细胞中的表达

25例胸水肺腺癌细胞中TTF-1阳性表达22例(图1); CK7阳性表达者25例(图2); MC阳性表达者4例; CR阳性表达者3例(表1)。

### 2.2.2 TTF-1, CK7, MC 和 CR 在胸水增生间皮细胞中的表达

20例反应性增生间皮细胞中MC阳性表达16例(图3); CR阳性表达15例(图4); CK7阳性表达6例; TTF-1在间皮细胞中没有表达(表1)。

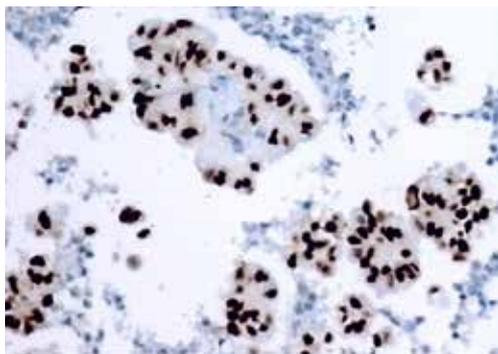


图1 TTF-1表达阳性(SP法, ×200)。

Figure 1 Positive for TTF-1(SP, ×200).

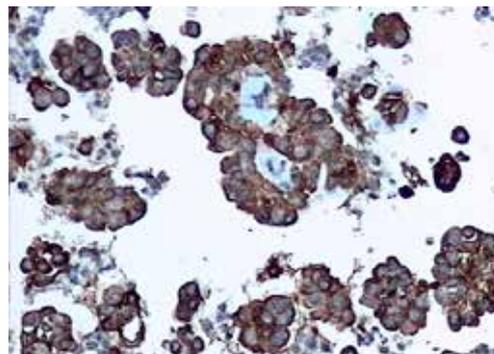


图2 CK7表达阳性(SP法, ×200)。

Figure 2 Positive for CK7(SP, ×200).

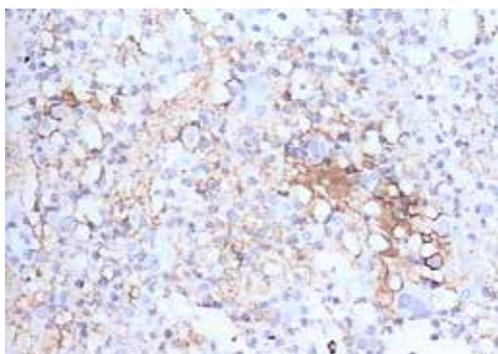


图3 MC表达阳性(SP法, ×200)。

Figure 3 Positive for MC(SP, ×200).

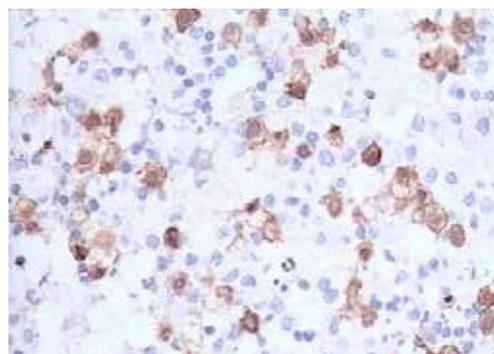


图4 CR表达阳性(SP法, ×200)。

Figure 4 Positive for CR(SP, ×200).

表1 TTF-1, CK7, MC, CR在胸水肺腺癌细胞和增生间皮细胞中的表达/例

Table 1 Expression of TTF-1, CK7, MC, and CR proteins in lung adenocarcinoma cells and reactive mesothelial cells/No.

组别	n	TTF-1		CK7		MC		CR	
		+	-	+	-	+	-	+	-
腺癌细胞	25	22	3	25	0	4	21	3	22
间皮细胞	20	0	20	6	14	16	4	15	5
$\chi^2$		31.0		22.24		15.93		15.84	
P		<0.01		<0.01		<0.01		<0.01	

### 2.2.3 TTF-1 和 CK7 或 MC 和 CR 联合标记在肺腺癌细胞或反应性增生间皮细胞中的表达

TTF-1和CK7联合标记胸水肺腺癌细胞阳性者为22例, 敏感性为88%, 特异性为100%; 而MC和CR联合标记反应性增生间皮细胞阳性者为12例, 敏感性为60%, 特异性为95%(表2)。

表 2 TTF-1 和 CK7 或 MC 和 CR 联合标记在胸水肺腺癌细胞或增生间皮细胞中的表达 / 例

Table 2 Expression of TTF-1 with CK7 or MC with CR proteins in lung adenocarcinoma cells or reactive mesothelial cells/No.

组别	n	TTF-1 和 CK7(+)	MC 和 CR(+)	敏感性 / %	特异性 / %
腺癌细胞	25	22	1	88	100
间皮细胞	20	0	12	60	95

## 3 讨 论

近年来, 随着免疫组化技术的发展和各种特异性抗体的出现, 使许多疑难肿瘤得到了明确诊断, 免疫组化技术在肿瘤诊断和鉴别诊断中的实用价值得到了普遍认可。随着细胞病理学的快速发展, 细胞块制作技术的不断成熟, 细胞块切片后运用免疫组化方法检测细胞内蛋白质表达, 对提升细胞病理诊断准确率, 判断肿瘤来源, 减少假阳性或假阴性等方面有极大的帮助。它提升了传统细胞学诊断停留在“找到肿瘤细胞”或“未找到肿瘤细胞”的水平; 同时对确定肿瘤类型、判断肿瘤来源发挥了重要作用, 对临床疾病诊断、治疗及预后判断起着至关重要的作用。肺腺癌合并胸腔积液时腺癌细胞与增生间皮细胞有时很难区分, 仅通过液基薄层细胞形态学来确诊恶性胸腔积液是很困难的。本研究选取了TTF-1, CK7, MC, CR抗体, 评估其在胸水肺腺癌细胞和反应性增生间皮细胞鉴别中的应用价值。

TTF-1表达于甲状腺腺上皮和肺上皮细胞中, 在肺腺癌、肺小细胞癌和非典型类癌中表达率较高, 而肺鳞癌、肺大细胞癌和肺典型类癌中不表达或低表达。并且TTF-1不在间皮细胞中表达, 故认为TTF-1是肺腺癌的一种特异性标志物, 且有利于肺腺癌和间皮瘤的鉴别<sup>[2-4]</sup>。在有关TTF-1判断浆膜腔积液转移性腺癌原发部位的研究<sup>[5-7]</sup>中表明, 其对肺腺癌的灵敏度为54.0%~88.2%, 特异性为98%~100%。本组实验数据显示TTF-1在胸水肺

腺癌细胞表达敏感性和特异性与上述文献<sup>[5-7]</sup>结果相符, 且增生性间皮细胞不表达TTF-1, 故特异性较高, 可以作为肺腺癌的特异性标志物。

CK7识别的是相对分子质量为54000的一种碱性细胞角蛋白, 存在于大多数正常组织的腺上皮和移行上皮细胞中, 一般非上皮来源的细胞无表达。卵巢浆液性和子宫内膜样腺癌、乳腺腺癌、肺腺癌中呈阳性表达, 宫颈肿瘤、胆管癌、膀胱移行细胞癌中也可见阳性表达<sup>[8]</sup>。本组资料中CK7在胸水肺腺癌细胞中敏感性高, 在少数增生性间皮细胞中亦表达, 故特异性相对较低。但与TTF-1联合标记, 可以提高肺腺癌细胞诊断特异性。

CR是一种相对分子质量为29000的钙结合蛋白, 和S-100同属EF-hand蛋白家族。表达CR的正常组织有中枢和周围神经系统的神经元和神经纤维、视网膜、间皮、子宫内膜及外分泌腺等。表达calretinin的肿瘤有间皮瘤和某些腺癌、肺的某些鳞状上皮癌(未分化的大细胞癌阴性)及造釉细胞瘤等。CR主要被用于鉴别渗出液中的非肿瘤性间皮细胞和肿瘤细胞; 区分腺癌和间皮瘤等<sup>[8]</sup>。CR在间皮细胞中表达率较高(80%~100%), 而在腺癌中表达率较低(近10%)<sup>[9]</sup>。本实验中CR标记增生性间皮细胞阳性率的例数为15例, 而在肺腺癌细胞中表达仅3例, 与文献<sup>[9]</sup>结果较一致。

MC蛋白是近几年才较广泛应用的一种间皮细胞标志物, 关于MC的报道较少。MC主要分布于间皮细胞中, 其他腺上皮一般不表达, 主要用于恶性间皮瘤的诊断。在鉴别诊断中, 恶性间皮瘤的MC阳性部位应为细胞膜, 而其他腺癌多为胞浆阳性, 在判断阳性时应多加注意。文献<sup>[10]</sup>报道, MC和CR在浆膜腔恶性间皮瘤的表达阳性率分别为100%和95%; 而非小细胞肺癌中阳性率仅为1.93%和2.72%, 对胸水内恶性间皮瘤与非小细胞肺癌的鉴别起到重要作用。本组实验检测MC在胸水增生性间皮细胞中的表达敏感性为80%, 与CR联合标记增生性间皮细胞能提高特异性。

由于肿瘤细胞异质性, 目前发现具有理想敏感性和特异性的器官特异性抗体(如TTF-1、前列腺特异性抗原等)还不是很多, 因此在病理诊断过程中采用免疫组化多种抗体联合检测尤为重要。它可以明显提高检测的特异性, 对病理诊断起着重要辅助作用。TTF-1与CK7及MC与CR的联合运用, 可对鉴别胸水肺腺癌细胞和增生性间皮细胞起到重要作用。

## 参考文献

1. Thapar M, Mishra RK, Sharma A, et al. Critical analysis of cell block versus smear examination in effusions[J]. J Cytol, 2009, 26(2): 60-64.
2. Stenhouse G, Fyfe N, King G, et al. Thyroid transcription factor 1 in pulmonary adenocarcinoma[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(4): 383-387.
3. Nakamura N, Miyagi E, Murata S, et al. Expression of thyroid transcription factor-1 in normal and neoplastic lung tissue[J]. Mod Pathol, 2002, 15(10): 1058-1067.
4. Bakir K, Kocer NE, Deniz H, et al. TTF-1 and surfactant-B as co-adjuvants in the diagnosis of lung adenocarcinoma and pleural mesothelioma[J]. Ann Diagn Pathol, 2004, 8(6): 337-341.
5. Gomez-Fernandez C, Jorda M, Delgado PI, et al. Thyroid transcription factor 1: A marker for lung adenocarcinoma in body cavity fluids[J]. Cancer, 2002, 96(5): 289-293.
6. Ng WK, Chow JC, Ng PK. Thyroid transcription factor-1 is highly sensitive and specific in differentiating metastatic pulmonary from extrapulmonary adenocarcinoma in effusion fluid cytology specimens[J]. Cancer, 2002, 96(1): 43-48.
7. Hecht JL, Pinkus JL, Weinstein LJ, et al. The value of thyroid transcription factor-1 in cytologic preparation as a marker for metastatic adenocarcinoma of lung origin[J]. Am J Clin Pathol, 2001, 116(4): 483-488.
8. 吴秉铨, 刘彦仿. 免疫组织化学病理诊断[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2007: 506-528.  
WU Bingquan, LIU Yanfang. Immunohistochemistry for diagnostic pathology[M]. Beijing: Beijing Science and Technology Publishing House, 2007: 506-528.
9. Wiczorek TJ, Krane JF. Diagnostic utility of calretinin immunohistochemistry in cytologic cell block preparations[J]. Cancer, 2000, 90(5): 312-319.
10. 陈江帆, 杜明伟, 姜海娇, 等. 免疫细胞化学方法对胸膜腔积液中的恶性肿瘤细胞的分类与诊断[J]. 中国组织化学与细胞化学, 2013, 22(1): 49-53.  
CHEN Jiangfan, DU Mingwei, JIANG Haijiao, et al. Classification and identification of malignant tumor cells by IHC in pleural effusion diagnosis[J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2013, 22(1): 49-53.

(本文编辑 陈丽文)

本文引用: 雷亚丽, 易红梅, 李艳春, 陈志鸿, 李红玲, 刘宇, 李代强. 联合抗体在胸水细胞块肺腺癌细胞和增生性间皮细胞中的表达及意义[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(6): 481-485. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.06.006

**Cite this article as:** LEI Yali, YI Hongmei, LI Yanchun, CHEN Zhihong, LI Hongling, LIU Yu, LI Daiqiang. Expression of combined antibodies in pulmonary adenocarcinoma cells and reactive mesothelial cells in pleural effusion cell block[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2013, 33(6): 481-485. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.06.006