应用细针穿刺制作细胞块技术诊断 腮腺区肿块的临床意义

陈宏¹ 方庆全² 涂金花² 蔡巧玲³ 张素花⁴ 1.厦门大学附属第一医院药学部; 2.病理科; 3.口腔科; 4.超声影像科, 厦门 361003

[摘要] 目的 探讨超声引导下细针穿刺制作细胞块在诊断腮腺区肿块方面的应用价值。方法 在彩色超声仪引导下,对285个腮腺区肿块进行细针穿刺,将穿刺标本制成细胞块,以进行病理学诊断。对非肿瘤性肿块采取保守治疗,囊肿与肿瘤性肿块采取手术治疗。对术后病理确诊为腺样囊性癌(ACC)与多形性腺瘤(PA)对应的细胞块行干细胞因子受体CD117免疫组织化学检测。结果 标本制作满意率为 95.1%(271/285),诊断准确率为 94.5%(256/271);诊断敏感度为87.0%(67/77),特异度为98.1%(157/160)。CD117在ACC中的阳性表达率为95.2%(20/21),在PA中为20.3%(25/123),ACC中阳性表达率明显高于PA,二者差异有统计学意义(P<0.01)。结论超声引导下腮腺区肿块细针穿刺制作细胞块结合分子标志物检测,对腮腺区肿块的诊断具有重要意义。

[关键词] 腮腺; 肿块; 细针穿刺; 细胞块; 分子标志物 [中图分类号] R 780.2 [文献标志码] A [doi] 10.7518/hxkq.2016.05.010

Clinical efficacy of the fine needle aspiration of the cell block in the diagnosis of parotid gland masses Chen Hong¹, Fang Qingquan², Tu Jinhua², Cai Qiaoling³, Zhang Suhua⁴. (1. Pharmaceutical Department, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China; 2. Dept. of Pathology, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China; 3. Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China; 4. Supersonic Phantom Branch, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China)

Correspondence: Fang Qingquan, E-mail: fqq1260@163.com.

[Abstract] Objective To investigate the clinical significance of cell blocks obtained by ultrasound-guided fine needle aspiration in diagnosing parotid gland masses. Methods Cell blocks were made in 285 parotid gland masses by ultrasound-guided fine needle aspiration. Diagnosis was conducted using the cell blocks. Non-tumor masses were subjected to conservative treatment, and cysts and tumors were treated with surgery. The cell block sections from masses with the diagnosis of adenoid cystic carcinoma (ACC) and pleomorphic adenoma (PA) were applied to the detection of immunocytochemical staining for the stem cell factor receptor CD117. Results The satisfaction rate of the specimen was 95.1% (271/285). The accuracy rate of the diagnosis was 94.5% (256/271), the sensitivity was 87.0% (67/77), and the specificity was 98.1% (157/160). The positive rate of CD117 in ACC was 95.2% (20/21), whereas that in PA was 20.3% (25/123). The positive rate of CD117 in ACC was higher than that in PA (*P*<0.01). Conclusion The use of cell blocks obtained from ultrasound-guided fine needle aspiration, together with molecular marker detection, has great significance in diagnosing parotid gland masses.

[Key words] parotid gland; mass; fine needle aspiration; cell block; molecular marker

腮腺肿瘤的自身特点、腮腺的生理功能以及腮腺区复杂的解剖结构使腮腺肿瘤的切取活检成为禁忌^[1]。如果术前能精确诊断肿块性质,一些腮腺区非肿瘤性肿块就可以避免手术治疗,肿瘤性肿块也

[收稿日期] 2016-03-15; [修回日期] 2016-07-02

[作者简介] 陈宏,主管药师,学士,E-mail: fqqch1999@163.com [通信作者] 方庆全,主任技师,学士,E-mail: fqq1260@163.com 查(fine needle aspiration cytology, FNAC)是近20年来发展起来的一种简便、快速、准确的新诊断方法^[2-3]。有学者^[4]认为,FNAC所取得的细胞标本量不足,且缺乏组织学结构,其结果有一定的局限性。为克服这种局限性,笔者在超声引导下,行腮腺区肿块细针穿刺并制作成细胞块,结合分子标志物检

可为手术方式的选择提供依据。细针穿刺细胞学检

测,研究FNAC在诊断腮腺区肿块方面的价值。

1 材料和方法

1.1 材料

选择2011年1月—2014年12月厦门大学附属第一医院收治的腮腺区肿块并有随访资料的患者783例,对其中曾行超声引导下FNAC并制作成细胞块的患者276例(肿块285个)进行回顾分析。276例患者中男性174例,女性102例,年龄17~61岁,平均年龄(38.4±10.3)岁。

1.2 方法

- 1.2.1 超声检查 采用LOGIQ7彩色超声仪(美国通用电气公司)对患者的腮腺区肿块进行多轴位扫描,仔细观察肿块的部位、数量、形状、大小,以及边界情况,有无囊性变,与血管和神经的关系,结合患者病史,选定符合行FNAC适应证的肿块。
- 1.2.2 穿刺 彩色超声仪引导下,用6号注射针头配 20 mL注射器,经皮刺入预先选定的腮腺区肿块内,持续保持约200 kPa负压(注射器针栓位于10 mL处),多方向提插针8~10次,所需标本进入针头柄及针管后,带约40 kPa负压(注射器针栓位于2 mL处)拔针。
- 1.2.3 制作细胞块 1)穿刺组织为碎块时细胞块制 作法:用包埋纸将穿刺条形组织或组织碎块包裹后, 置于包埋盒内,按常规组织学脱水处理。2)穿刺组 织为液体时细胞块制作法:将穿刺的液体标本直接 打在载玻片上,用穿刺针将载玻片上的标本聚集成 细胞团,吸弃周围多余的血液,将载玻片略倾斜, 浸入95%乙醇中0.5~1.0 min。取出载玻片浸入10%中 性甲醛溶液中固定30~60 min。拿出载玻片,用刀片 将细胞团刮下,放入包埋盒(如细胞团块太小,可 用包埋纸包好),固定2~4 h,常规脱水处理。3) 穿刺物过少时细胞块制作法:15~20 mL生理盐水反 复抽吸冲洗穿刺针头与针管,将冲洗液注入50 mL 尖底离心管内, 2 000 r·min-1离心10 min, 轻轻吸弃 上清液,离心沉渣用10%中性甲醛溶液固定1h,再 以2 000 r·min-1离心10 min, 吸弃上清液,滴加少许 已经熔化的琼脂,摇动离心管使其充分混合,将离 心管放入冰箱冷藏20 min , 使混合液呈凝胶状。挑 出锥形琼脂块,切去多余的琼脂,将琼脂块放入包 埋盒,10%甲醛溶液固定2h后常规脱水处理。
- 1.2.4 标本质量评估 细胞块切片缺乏足够、保存较好和结构清晰的上皮细胞为不满意标本,否则为满意标本。
- 1.2.5 免疫组织化学检测 使用Ventana Benchmark

XT全自动免疫组织化学检测仪,对经术后病理组织学确诊为腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma,ACC)与多形性腺瘤(pleomorphic adenoma,PA)的细胞块检测干细胞因子受体CD117的表达。CD117试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司,其阳性表达为细胞质和细胞膜呈棕黄色颗粒,参照文献[5]判断结果。先按照染色强度计分:细胞未着色为0分,浅黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;再按阳性细胞所占百分比计分:无阳性细胞为0分,阳性细胞数 10%为1分,11%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分。将两项得分结果相加得出CD117表达强度:0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~5分为中度阳性(++),6~7分为强阳性(+++),+、++、+++均计为阳性。

1.2.6 治疗 细胞病理学诊断为炎症肿块的患者给予抗菌药物治疗1~4周,治疗无效者行手术治疗;腮腺结核接受抗结核治疗;嗜酸性肉芽肿和腮腺结节病患者行糖皮质激素治疗;囊肿和腮腺肿瘤行手术治疗。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件进行数据分析,组间比较采用卡方检验,检验水准为双侧 α =0.05。

2 结果

2.1 标本满意率

穿刺285个腮腺区肿块 , 有271个获得了满意的 标本 ,满意率为95.1% ,14个 (4.9%) 标本不满意。

2.2 诊断准确性分析

本组病例诊断的总准确率为94.5%(256/271)。 2.2.1 保守治疗组 10个经FNAC诊断为炎性肿块的 患者有1例抗菌药物治疗无效,后经手术治疗证实为 误诊。3个经FNAC诊断为腮腺结核的患者经规范抗 结核治疗后均痊愈。18个诊断为淋巴结反应性增生 者经药物治疗15~20 d,17个肿块缩小,质地变软, 治疗结束时,腮腺已基本恢复正常;1例误诊。2个 嗜酸性肉芽肿和1个腮腺结节病患者经糖皮质激素 治疗后均痊愈。本组误诊2例,诊断准确性为94.1% (32/34)。

2.2.2 手术治疗组 以术后病理结果为标准,本组病例诊断为腮腺囊肿的准确性为92.3%(12/13),腮腺肿瘤的准确性为94.6%(212/224)。由表1可见,FNAC与术后病理学诊断相比,其诊断敏感度为87.0%(67/77)、特异度为98.1%(157/160)。

2.3 免疫组织化学检查结果

经术后组织病理学确诊为ACC的细胞块共21个, ACC细胞块图像见图1;确诊为PA的细胞块共123 个,PA细胞块图像见图2。CD117在ACC和PA中表达的图像见图3、4。CD117在ACC中的阳性表达率为95.2%(20/21),在PA中为20.3%(25/123),差异有统计学意义(χ^2 =43.43,P<0.01)。

表 1 FNAC与组织病理学诊断结果比较

Tab 1 FNAC diagnosis compared with histopathology

FNAC诊断 —	组织病理学诊断	
	阳性	阴性
阳性	67	3
阴性	10	157

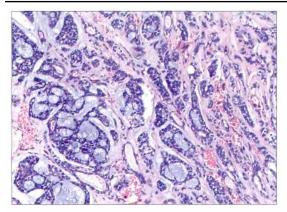


图 1 ACC细胞块 苏木精-伊红染色 × 100

Fig 1 The ACC cell block hematoxylin-eosin staining \times 100

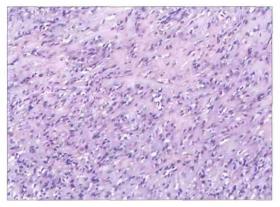


图 2 PA细胞块 苏木精-伊红染色 × 100

Fig 2 The PA cell block hematoxylin-eosin staining × 100

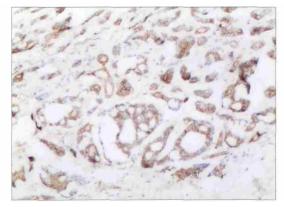


图 3 CD117在ACC中的阳性表达 DAB × 100

Fig. 3 Positive expression of CD117 in the ACC $\,$ DAB $\,$ $\times\,100$

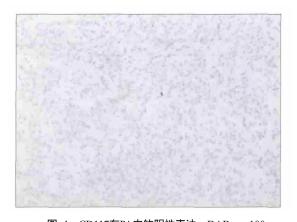


图 4 CD117在PA中的阴性表达 DAB × 100

Fig. 4 Negative expression of CD117 in the PA $\,$ DAB $\,$ \times 100

3 讨论

腮腺区肿块的临床表现多变,常见的有肿瘤、囊肿、炎症、结核、淋巴结病变等。不同类型肿块的治疗手段和方法各不相同,部分病例不需要手术治疗,因此明确诊断对于治疗十分重要。本研究中,34个肿块通过FNAC诊断为炎性肿块、腮腺结核、淋巴结反应性增生等非肿瘤性疾病,均给予对症治疗,32个非肿瘤性肿块的患者避免了手术,因此具有一定的临床意义。

与传统FNAC相比较,超声引导下的FNAC的适 应证更广:1)传统FNAC不能成功穿刺的肿块,如 直径>1 cm但不能触及的肿块;2)肿块可触及但直 径<1 cm;3)深部腮腺区肿块;4)邻近血管或神经 的肿块;5)囊性或混合性肿块。有报道□指出,在 头颈部疾病的诊断中,超声诱导下的穿刺成功率接 近100%。此外,超声能够发现穿刺区的血管,可以 指导医师选择更加合理的进针位置及角度,减少损 伤血管的风险;超声还能够及时发现某些穿刺的并 发症,如亚临床出血,有利于医师及早处理。通过 超声引导下穿刺而制成的细胞块具有如下优点:1) 细胞块切片能保持部分原有组织的排列结构,细胞 成分丰富,图像背景清晰,易于作出准确诊断;2) 切片的细胞集中,克服了传统穿刺涂片中细胞重叠 堆积、厚薄不均的现象;3)细胞块可连续切片,能 有效减少漏诊;4)可反复重切,克服传统穿刺涂片 固定不佳、脱片、染色失败等难以弥补的缺陷;5) 能作多种组织化学染色、免疫组织化学染色或分子 病理学检测。但是通过该方法制作的细胞块也有一 定的局限性,在穿刺吸出物极少时难以完成。

细针穿刺所能取得的标本量相对于活检要少得 多,因此细胞块制作有一定难度,故熟练掌握细胞 块制作方法尤为重要。操作技术关键点有以下几点。

1)在穿刺前需事先做好相关准备工作,包括试剂、 用品、器械等,如生理盐水不但要事先备好,且必 须处于开启随时可用状态,一旦发现穿刺吸取物过 少,应立即取15~20 mL生理盐水反复抽吸冲洗穿刺 针管及针头,如果生理盐水不能在第一时间取用, 穿刺物就有可能干涸并/或黏附于穿刺针管及针头 内,无法冲洗出来。2) 拔针时,需带约40 kPa负压 拔针,否则穿刺物有可能被重新"拉回"肿块内或 遗留在穿刺针道内。3)需根据穿刺物的性状及穿刺 吸取物量的多少,采取不同的方法制作细胞块,如 果方法选择错误就有可能造成细胞块制作失败。如 穿刺液采用穿刺组织碎块制作法就会制作失败。4) 穿刺液细胞块制作过程中,借助空气压力将针管内 的穿刺液推至载玻片上时,推动的力量应适宜,推 出穿刺液应尽量集中,否则穿刺液过于分散后就难 于聚集成团。5)穿刺物过少的细胞块制作中,有两 次离心后弃上清液的步骤,不能简单粗暴地倾去上 清液,而应该用吸管轻轻吸弃上清液,否则有可能 连同沉淀物一起倾去,导致标本遗失和细胞块制作 失败。6) 用10%中性甲醛溶液固定穿刺标本或离心 沉淀物时,甲醛溶液的体积必须是标本体积的10倍 以上,固定要充分,若固定不佳将影响制片质量, 造成难以制片,诊断困难,误诊或细胞块制作失败。

FNAC制作细胞块应用于诊断腮腺区肿块是术 前明确腮腺区肿物诊断的方法之一,有一定的临床 意义;但是目前国内外口腔病理医生在日常工作中 并没有广泛应用该方法,其原因有以下几点。1)许 多临床医生对术前FNAC检查的重要性及诊断准确性 认识不够[6],许多临床医生与病理医生对细针穿刺 制作细胞块的临床意义认识不够。2) 受传统FNAC 局限性的影响,医生会认为通过针吸的组织是肿物 的某一点,获得肿物成分少,难以概括肿瘤全貌。 笔者穿刺时,在肿物内多方向提插针8~10次,克服 了此局限性,为制作细胞块奠定了基础。3)FNAC 对位置深而小的肿物有可能漏诊或误诊[7],且传统 FNAC易抽吸到囊肿液或血液,使穿刺失败。笔者 在超声引导下进行FNAC,克服了传统FNAC的诸多 局限性。4)由于细针穿刺所能取得的标本量相对 于活检要少得多,制作细胞块难度很大,如果穿刺 操作者没有熟练掌握细胞块制作方法,制作细胞块 的成功率很低,有可能因此而放弃该方法。笔者所 在单位曾于2006~2009年间因制作细胞块的成功率 低而暂停使用该方法,后因改进了细胞块的制作方 法而得以恢复。

腮腺肿瘤穿刺的种植性复发也是众所担心的问题之一。郑苍尚⒄研究发现,未见由FNAC诊断所致

的种植性肿瘤复发的病例和文献报告。王芬等的在 B超引导下对妇科盆腔肿物进行针吸穿刺,未发现 针道种植及感染。笔者穿刺时,在腮腺区肿物内多 方向提插针8~10次,尚未发现对PA等唾液腺肿瘤复 发率有明显影响。

CD117 (原癌基因蛋白质 C-kit) 及其配体干细 胞因子是人类多种组织细胞生长发育的重要调控因 子,在造血及维持生殖细胞的存活、 增殖及分化过 程中起重要作用^[8]。Arbiser等^[9]研究表明,CD117阳 性表达的肿瘤易侵犯邻近组织,易复发和转移。有 研究[10]显示,在常见的筛状或实体型ACC中,CD117 主要表达在细胞巢的内层细胞;而在具有基底细胞 样特征的ACC中,CD117在瘤细胞巢全层均可观察 到。本研究发现,CD117在ACC中的阳性表达率为 95.2%(20/21),显著高于PA的20.3%(25/123), 有助于两种肿瘤的诊断。CD117在ACC中强阳性表 达对于该肿瘤的鉴别诊断具有一定的意义,而且这 种过表达可能与治疗和预后有一定相关性。Vila等[11] 研究发现,涎腺原发性ACC存在C-kit基因突变,其 中11号外显子突变率最高,9、13、17号外显子也有 一定的突变率,提示该基因可能与涎腺ACC的发病 有关。梁军等[12]研究发现,CD117在上皮性卵巢癌 组织血管生成拟态中的表达与肿瘤恶性程度有关, 是患者预后的重要指标。此外, CD117还有助于鉴 别ACC和基底细胞腺瘤与多形性低度腺癌。徐瑶等[13] 研究发现,CD117在ACC和基底细胞腺瘤间的强阳 性表达率差异有统计学意义; Andreadis等[14]和Penner 等[15]均认为,C-kit蛋白有助于ACC和多形性低度腺 癌的鉴别诊断。

随着分子诊断技术的进步,有关涎腺肿块分子标志物检测的研究[13-17]不断深入,对于涎腺肿块的诊断、预后甚至选择合适的治疗方案均具有重要作用。但是目前分子诊断技术多应用于手术后涎腺肿块的诊断,不能进行早期诊断。本研究发现,在超声引导下行腮腺区FNAC并制作成细胞块,结合分子标志物检测,能早期诊断涎腺肿块,具有操作简便,创伤小,并发症少的优点,可以避免不必要的手术,在腮腺区肿块诊断方面具有重要意义。

[参考文献]

[1] 门乙, 李春洁, 李龙江, 等. 超声介导下的细针穿刺活检在腮腺肿瘤中的诊断价值的系统评价和Meta分析[J]. 国际口腔医学杂志, 2013, 40(4):447-450.

Men Y, Li CJ, Li LJ, et al. Systematic review and Metaanalysis of ultrasonography guided fine-needle aspiration

- cytology for parotid tumors[J]. Int J Stomatol, 2013, 40(4): 447-450.
- [2] 王德田, 董建强. 实用现代病理学技术[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2013:329.
 - Wang DT, Dong JQ. Practical modern pathology techniques [M]. Beijing: China Union Medical University Press, 2013: 329.
- [3] Díaz KP, Gerhard R, Domingues RB, et al. High diagnostic accuracy and reproducibility of fine-needle aspiration cytology for diagnosing salivary gland tumors: cytohistologic correlation in 182 cases[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2014, 118(2):226-235.
- [4] 周志田, 赵萌, 吕晓智. 超声引导下粗针穿刺活检在腮腺区肿块诊断中的意义[J]. 南昌大学学报, 2015, 55(1):23-40. Zhou ZT, Zhao M, Lü XZ. Significance of ultrasound-guided core biopsy in diagnosis of masses in parotid region[J]. J Nanchang Univ, 2015, 55(1):23-40.
- [5] 周全, 韩一丁, 昌红, 等. 腺样囊性癌中CD117的表达及其与临床病理关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(3): 273-276.
 - Zhou Q, Han YD, Chang H, et al. Analysis of overexpression of CD117 in adenoid cystic carcinoma and the relationship between its expression and clinic behavior[J]. J Clin Exp Pathol, 2013, 29(3):273-276.
- [6] 王芬, 李霞, 玛依努尔·尼牙孜. 新疆地区超声引导下细针 穿刺细胞学检查在妇科盆腔肿瘤临床诊断及治疗中的作 用[J]. 中国生育健康杂志, 2015, 26(5):450-451.
 - Wang F, Li X, Mayinue N. Xinjiang region of ultrasound guided fine needle biopsy cytology in the role of clinical diagnosis and treatment of gynecological pelvic tumors[J]. Chin J Reprod Health, 2015, 26(5):450-451.
- [7] 郑苍尚. 腮腺肿物细针吸取细胞学定性分类诊断——附96例报告[J]. 华西口腔医学杂志, 2002, 20(1):70-71.

 Zheng CS. Qualitative classification of parotid gland neoplasm needle absorbing cytology diagnosis—96 cases report [J]. West Chin J Stomatol, 2002, 20(1):70-71.
- [8] 黄明莉, 徐小茜, 刘骥, 等. 成血管干细胞标志物CD117及 VEGFR-2在女性早孕子宫内膜表达变化及与血管形成关系的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2012, 46(1):27-31. Huang ML, Xu XQ, Liu J, et al. Angiogenesis stem cell marker CD117 and VEGFR-2 expression changes in the early pregnant endometrium and its correlation with vasoformation[J]. J Harbin Med Univ, 2012, 46(1):27-31.
- [9] Arbiser JL, Govindarajan B, Bai X, et al. Functional tyrosine kinase inhibitor profiling: a generally applicable method

- points to a novel role of platelet-derived growth factor receptor-beta in tuberous sclerosis[J]. Am J Pathol, 2002, 161(3): 781-786.
- [10] 周若骥, 胡春燕, 喻林, 等. 具有基底细胞样特征的乳腺 实体型腺样囊性癌的临床病理学观察[J]. 中华病理学杂志, 2012, 41(12):803-807.
 - Zhou RJ, Hu CY, Yu L, et al. Solid variant of mammary adenoid cystic carcinoma with basaloid features: a clinicopathologic and immunohistochemical study[J]. Chin J Pathol, 2012, 41(12):803-807.
- [11] Vila L, Liu H, Al-Quran SZ, et al. Identification of C-kit gene mutations in primary adenoid cystic carcinoma of the salivary gland[J]. Mod Pathol, 2009, 22(10):1296-1302.
- [12] 梁军, 杨波, 吴小华. 肿瘤干细胞标志物CD117在上皮性 卵巢癌血管生成拟态中的表达及意义[J]. 肿瘤, 2016, 36 (1):70-76.
 - Liang J, Yang B, Wu XH. Expression of CD117 in vasculogenic mimicry of epithelial ovarian cancer and its clinical significance [J]. Tumor, 2016, 36(1):70-76.
- [13] 徐瑶, 印洪林, 陆珍凤, 等. 涎腺腺样囊性癌和基底细胞腺瘤的免疫表型及临床病理特征[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(5):510-513.
 - Xu Y, Yin HL, Lu ZF, et al. Clinicopathological characteristic and immuniohistochemical staining of the adenoid cystic carcinoma and basal cell adenoma in salivary gland[J]. J Clin Exp Pathol, 2012, 28(5):510-513.
- [14] Andreadis D, Epivatianos A, Poulopoulos A, et al. Detection of C-KIT (CD117) molecule in benign and malignant salivary gland tumours[J]. Oral Oncol, 2006, 42(1):57-65.
- [15] Penner CR, Folpe AL, Budnick SD. C-kit expression distinguishes salivary gland adenoid cystic carcinoma from polymorphous low-grade adenocarcinoma[J]. Mod Pathol, 2002, 15(7):687-691.
- [16] 王红霞, 陈昊, 闫蓉, 等. 涎腺癌组织中EGFR和HER-2表 达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(8): 900-904.
 - Wang HX, Chen H, Yan R, et al. Expression of EGFR and HER-2 and their clinical significance in salivary gland carcinoma[J]. J Clin Exp Pathol, 2014, 30(8):900-904.
- [17] 马大权, 高岩. 唾液腺癌的诊治进展[J]. 中华口腔医学杂志, 2015, 50(5):257-260.
 - Ma DQ, Gao Y. Progress of diagnosis and treatment of carcinoma of salivary glands[J]. Chin J Stomatol, 2015, 50(5): 257-260.

(本文编辑 吴爱华)