

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 04. 018

超声内镜细针活检联合免疫组化对纵膈实质性病变的研究

向国卿,朱 佳[△],高 娜

(中国医科大学肿瘤医院/辽宁省肿瘤医院内镜中心,沈阳 110042)

摘 要:目的 评价经食管超声内镜细针活检(EUS-FNA)联合免疫组化在纵膈实质性病变诊断中的应用价值。方法 回顾性分析该院连续性 83 例纵膈实质性病变经 EUS-FNA 诊断的细胞学、组织学及免疫组化结果。结果 79 例(95.2%)最终经 EUS-FNA 确诊,包括 72 例恶性肿瘤,7 例非恶性肿瘤。EUS-FNA 对纵膈恶性肿瘤诊断的灵敏度为 94.7%,特异度为 100.0%,准确率 95.2%,阳性预测值 100.0%,阴性预测值 63.6%。39 例(49.4%)患者行免疫组化辅助诊断,其中 32 例为肺癌,占全部肺癌的 50.8%(32/63)。结论 EUS-FNA 联合免疫组化可提高纵膈实性占位诊断的准确性,特别是有利于肺癌合并纵膈转移的精准分型。

关键词:纵膈实性病变; 超声内镜细针活检; 免疫组化; 肺癌

中图分类号:R445.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)04-0488-04

The value of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration combining with immunohistochemistry in solid mediastinal lesions

XIANG Guoqing, ZHU Jia[△], GAO Na

(Department of Endoscopy, Cancer Hospital of China Medical University/
Liaoning Cancer Hospital & Institute, Shenyang, Liaoning 110042, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the value of esophageal endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) combining with immunocytochemistry (IHC) in patients with solid mediastinal lesions. **Methods** A total of 83 patients with solid mediastinal lesions were diagnosed by EUS-FNA consecutively, the results of cytology, histology and immunohistochemistry were analyzed retrospectively. **Results** A total of 79 patients (95.2%) were diagnosed by EUS-FNA finally, including malignant tumor 72 cases and benign tumor/ tuberculosis 7 cases. The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value for EUS-FNA of mediastinal malignant tumor in patients were 94.7%, 100.0%, 95.2%, 100.0%, 63.6%, respectively. 39 cases (49.4%) were diagnosed by immunohistochemistry, of which 32 were lung cancer, accounting for 50.8% (32/63) of all lung cancer. **Conclusion** EUS-FNA joint immunohistochemical can improve the accuracy of the diagnosis in solid mediastinal lesions, especially for precision classification in lung cancer with mediastinal metastasis.

Key words: solid mediastinal lesions; EUS-FNA; immunohistochemistry; lung cancer

纵膈实性病变可由多种原因造成,包括癌症转移、淋巴瘤、结核及结节病等,虽然诊断成像技术的改进与肿瘤标志物的使用,纵膈实性病变的诊断已经有了较大的进步,但若缺乏病理依据盲目手术与化疗可能造成不必要的医疗风险与负担。因此,如何获取纵膈病变组织学诊断这一金标准,仍然是临床治疗的关键所在。超声内镜是近 30 年新兴的诊疗技术,目前广泛应用于消化道周围病变的诊断与治疗,临床大多数肿瘤可通过组织细胞形态确诊。有研究显示大多数鳞癌和腺癌(56%)可从细胞形态学确诊,但仍有相当部分的肿瘤无法准确分型^[1]。免疫组化应用于病理诊断,将肿瘤诊断与分型从细胞学水平提高到生物化学及分子学水平,从而极大地提高了肿瘤诊断的准确性。现对该院食管超声内镜引导下细针活检

(EUS-FNA)联合免疫组化对 83 例纵膈实性病变诊断的经验,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 基于 PACS 系统检索辽宁省肿瘤医院 2013 年 1 月 1 日至 2016 年 6 月 30 日内镜中心经 EUS-FNA 的临床资料,83 例纵膈实性病变或疑似肺癌纵膈及肺门淋巴结转移患者的细胞学、组织学及免疫组化结果纳入研究。

1.2 仪器与方法 超声采用宾得 EG-3870 超声内镜及日立 6500 超声主机,EUS-FNA 采用 COOK 公司活检针。常规阅读相关影像学资料,评估患者生命体征,排除严重心肺功能及凝血机制障碍者,签署知情同意书并通过该院伦理委员会审查。穿刺前 15~20 min 以利多卡因胶浆表面麻醉口咽部,超声内镜进镜

明确病灶范围、性质、血流及与周围血管关系,选择合适进针路径,常规采用 22G 穿刺针连同针鞘经内镜钳道穿刺入肿瘤,根据病变大小确定进针深度,采用微负压或 5 mL 负压反复抽吸 20~25 次,若负压头端可见血液即刻停止抽吸,穿刺 2~5 针,部分患者更换 PRO Core 以期获得足够组织标本。

1.3 标本处理 用穿刺枕芯将穿刺物少量(1 滴)滴至载玻片行细胞学涂片,稍干后立即置入无水乙醇固定,HE 染色行细胞学检查;余穿刺物推入生理盐水中,将有形成分取出放入 10% 甲醛液固定,石蜡包埋切片行组织学检查,无法准确定性及分型者进行免疫组化检测。

1.4 结果判定 病理诊断标准及分类参考世界卫生组织(WHO)制定的《肿瘤分类(2015 版)》。细胞学、组织学中任何 1 项显示恶性肿瘤细胞即判定为阳性。高度可疑恶性肿瘤或异形细胞即不典型增生,结合临床肿瘤标志物及影像学随访或采用其他方式明确诊断判定为阳性。非肿瘤患者结合临床资料随访 6 个月以上。

2 结 果

2.1 一般资料结果 83 例纵膈实质性病变常规气管镜均无法确诊而行 EUS-FNA 或 FNB(EUS-FNB),年龄 32~79 岁,中位年龄 57.9 岁,男 57 例,女 26 例,男、女性比例为 2.2 : 1.0,其中 3 例第 1 次 EUS-FNA 未确诊但临床高度疑似恶性肿瘤而再次行 EUS-FNB,2 例仅有细胞学诊断,39 例(49.4%)最终行免疫组化检测。

2.2 病理学结果 83 例患者有 79 例(95.2%)经 EUS-FNA 确诊,其中 72 例恶性肿瘤,7 例非恶性肿瘤。72 例恶性肿瘤分别为肺癌 63 例(87.5%);9 例(12.5%)为非肺癌;4 例为转移性癌(包括甲状腺髓样癌 1 例、贲门癌 1 例、结肠癌 1 例、肾癌 1 例),2 例淋巴瘤,1 例恶性黑色素瘤,2 例恶性间皮瘤。7 例非恶性肿瘤分别为:2 例结核,3 例结节病,2 例非特异性肉芽肿。4 例仅见少量异形细胞或不典型增生不足以诊断肺癌,1 例经支气管内超声引导细针穿刺活检术(EBUS-TBNA)确诊为肺癌,1 例反复多次胸水查瘤细胞确诊肺腺癌,1 例随访 6 个月时出现颈部淋巴结肿大,穿刺活检确诊肺鳞癌,1 例为随访 4 个月后再次行气管镜确诊为肺癌。EUS-FNA 或 FNB 对纵膈恶性肿瘤诊断的灵敏度为 94.7%,特异度为 100.0%,准确率为 95.2%,阳性预测值 100.0%,阴性预测值 63.6%。见表 1。

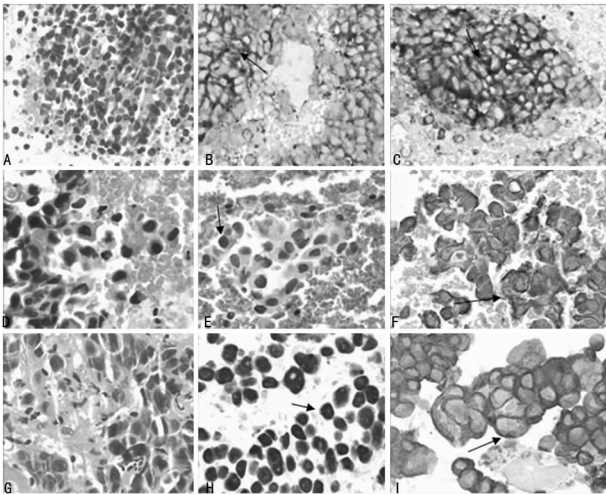
表 1 EUS-FNA 诊断结果与确诊结果比较(n)

EUS-FNA	确诊诊断		合计
	恶性肿瘤	非恶性肿瘤	
恶性肿瘤	72	0	72
非恶性肿瘤	4	7	11
合计	76	7	83

表 2 不同类型肺癌免疫组化标志物的表达结果比较[n(%)]

检测指标	NEC(n=19)	腺癌(n=10)	鳞癌(n=3)
Syn	18(94.7)	1(10.0)	—
CgA	13(68.4)	—	1(33.3)
TTF-1	12(63.2)	7(70.0)	—
CD56	16(84.2)	1(10.0)	2(66.7)
P63	5(26.3)	3(30.0)	3(100.0)
CK7	4(21.1)	10(100.0)	—
CK8/18	6(15.1)	3(30.0)	2(66.7)
CK	12(63.2)	4(40.0)	1(33.3)
CK5/6	2(10.5)	3(30.0)	2(66.7)
SCLC	3(15.8)	—	—
Ki-67	14(73.7)	6(60.0)	2(66.7)

注:—表示无数据



注:A 表示小细胞肺癌(HE,×400);B 表示 Syn 阳性(SP,×400);C 表示 CD56 阳性(SP,×400);D 表示腺癌(HE,×400);E 表示 TTF-1 阳性(HE,×400);F 表示 CK7 阳性(HE,×400);G 表示鳞癌(HE,×400);H 表示 P63 阳性(SP,×400);I 表示 CK5/6 阳性(SP,×400)

图 1 免疫组化结果

2.3 免疫组化结果 39 例(49.4%)患者最终进行免疫组化检测,32 例肺癌,占肺癌的 50.8%(32/63),包括神经内分泌肿瘤(NEC)19 例,腺癌 10 例,鳞癌 3 例。免疫组化显示,NEC 突触素(Syn;图 1B)、CD56(图 1C)、甲状腺转录因子-1(TTF-1)、嗜铬素(CgA)阳性表达率分别为 94.7%、84.2%、63.2%、71.4%;而腺癌 TTF-1(图 1E)、细胞角蛋白 7(CK7;图 1F)阳性表达率分别为 100.0%、70.0%;鳞癌 P63(图 1G)、CK5/6(图 1I)、CK8/18 阳性表达率分别为 100.0%、66.7%、66.7%;大细胞神经内分泌癌以 Syn、CK 阳性居多。其他非肺癌免疫组化结果:1 例甲状腺髓样癌病史,TTF-1(+)、降钙素(CT)(+)、CD56(+)、CK7(+);1 例结肠癌病史,CK(+)、CK7(-)、CDX2(+)、CK20(+);间皮瘤 Calretinin(+),TTF-1(-)、HBME(-)、CK5/6(+)、Vim(+)、CK7(+);非霍奇

金淋巴瘤 LCA(+)，CK(-)，TTF-1(-)，CD20(+)；恶性黑色素瘤 S-100(+)，CK(-)，TTF-1(-)。见表 2。

3 讨论

EUS-FNA 作为一种微创、安全、无严重并发症的检查技术，在临床已广泛应用，特别是消化道周围病变不仅有诊断作用，还有治疗作用。系统综述及最近研究显示，EUS-FNA 对纵膈实性病变诊断的灵敏度超过 80%，特异度为 88%~100%，准确率可达 95%^[2-4]。本研究结果显示，EUS-FNA/FNB 对纵膈实质性病变诊断的灵敏度为 94.7%，特异度为 100.0%，准确率为 95.2%，阳性预测值 100.0%，阴性预测值 63.6%，与文献报道相似。超声内镜下穿刺与以往的经皮穿刺相比，由于进针距离近，更安全、更容易成功，且超声内镜具有多普勒功能，可适时避开大血管，降低并发症，但其应用范围有限，无法对气管前的纵膈肿瘤及淋巴结进行探查活检。

纵膈占位性病变包括种类较多，转移癌特别是肺癌纵膈转移是其最重要的疾病。本研究结果显示，79.7%(63/79)的纵膈占位为肺癌或肺癌纵膈转移。肺癌患者生存率与其治疗方案的选择密切相关，大多数肺癌确诊时已处于进展期而不能手术，随着个体化治疗及精准医疗的进展，通过活检标本准确区分鳞癌或腺癌预测靶向治疗的反应十分重要。免疫组化应用于病理诊断，极大地提高了临床诊断的可靠性与准确性。美国胸科学会与欧洲呼吸病学会推荐 CK5/6、TTF-1 和 P63 用于肺癌的鉴别诊断^[5]。此外，临床常用于肺癌诊断与鉴别诊断的标志物还有 Napsin-A、Syn、CgA、CD56、Calretinin。STEINFORT 等^[6]报道，经 EBUS-TBNA 对非小细胞肺癌的分型中，应用免疫组化染色的标本一致性最高。另一项包含 774 例疑似非小细胞肺癌患者行 EBUS-TBNA 检查的多中心研究表明，应用免疫组化可降低非小细胞肺癌无法准确分型的比例^[7]。NODA 等^[8]研究显示细胞块联合免疫组化染色可提高肿瘤细胞学诊断率。本研究 39 例(49.4%)患者进行免疫组化检测，32 例为肺癌，占肺癌的 50.8%(32/63)，表明免疫组化不仅可应用于手术及活检标本，还可应用于细针活检标本，特别是在肺癌合并纵膈转移的精确分型中有较高的临床价值。本研究结果显示，70%(7/10)的腺癌患者 TTF-1 阳性，100.0%的腺癌患者 CK7 阳性，与文献报道基本一致。TTF-1 在原发性肺腺癌中的表达具有较高的灵敏度和特异度，提示 TTF-1 可作为一种有价值的标志物用于原发或转移性肺腺癌的鉴别；鳞癌几乎不表达 TTF-1，因而对肺原发性低分化腺癌和鳞癌鉴别的灵敏度和特异度几乎可达 100.0%^[9]。CK7 是一种碱性细胞角蛋白，相对分子质量为 54×10^3 ，在不同部位的腺癌中表达，其表达模式可用于鉴别转移腺癌的原发部。CK7 也常使用于肺腺癌的鉴

别诊断，其灵敏度可高达 96.0%^[10]。有研究报道，联合 TTF-1 和 Napsin-A 诊断 FNA 标本对腺癌患者有较好的灵敏度和特异度^[11]。由于大多数 SCLC 也表达 TTF-1 阳性，因此细针活检标本细胞形态学高度疑似肺腺癌的患者推荐采用 TTF-1、CK7、Napsin-A 三联标志物辅助诊断。

P63、P40、CK5/6 是鳞状细胞癌常见的标志物。本研究结果表明，3 例经免疫组化确诊的鳞癌患者 P63、CK5/6、CK8/18 的阳性表达率分别为 100.0%、66.7%、66.7%。P63 与促进各种组织的鳞状分化有关，研究显示其对鳞癌的鉴别诊断具有重要的指导作用。既往研究显示 P63、CK5/6 诊断鳞癌有较高的灵敏度，且特异度几乎可达 100.0%^[9,12-13]。因此对细针穿刺标本受有效诊断成分的影响，优先选用 P63、CK5/6 辅助诊断。

《肺部肿瘤病理分型标准(2015 版)》将小细胞肺癌、大细胞神经内分泌肿瘤及类癌统一归为 NEC^[14]。Syn、CD56、CgA 是诊断 NEC 的灵敏指标。本研究结果显示，NEC 的 Syn、CD56、TTF-1、CgA 阳性表达率分别为 94.7%、84.2%、63.2%、71.4%，与既往研究相符。Syn 作为小细胞肺癌诊断的特异性指标之一，在小细胞肺癌组织中的表达高于非小细胞肺癌和正常组织，Syn 诊断小细胞肺癌的灵敏度和特异度分别为 81.6%和 93.5%^[15]。CD56 在 NEC 高表达，研究显示 CD56 诊断小细胞肺癌的灵敏度和特异度分别为 86.3%和 82.9%，是当前诊断小细胞肺癌最灵敏且特异的标志物。因此在小细胞肺癌诊断中，细针活检组织较小而不能提供充足切片时，建议优先选用 CD56 和 Syn 辅助鉴别诊断^[16]。CgA 被认为是一系列内分泌和 NEC 特异、灵敏、可靠的标志物，已广泛用作多种 NEC 的免疫组化诊断指标，包括嗜铬细胞瘤、胃肠道神经内分泌肿瘤、小细胞肺癌、大细胞神经内分泌肿瘤等。

此外，免疫组化技术常用于肿瘤纵膈转移原发部的鉴别及其他少见肿瘤的诊断。文献报道 80%以上的甲状腺髓样癌表达 CT，因此若纵膈肿物高表达 CT，提示源于甲状腺髓样癌转移。结直肠癌转移特异表达 CDX-2，与 CK7、CK20、Villin 配合寻找原发灶。Calretinin 是诊断间皮瘤的良好标志，绝大多数呈阳性表达，仅有 9.8%的腺癌阳性表达，鉴别间皮瘤和腺癌具有较高的灵敏度和组织特异度，还用于原发性纵膈淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤的鉴别。尽管免疫组化技术能够提高病理诊断的准确性，但细胞形态学仍然是诊断的基础与关键，临床可采用的分子标志物种类与数量繁多，选择合理的标志物不仅可为诊断与鉴别诊断提供客观依据，同时还可降低患者的经济负担。

综上所述，EUS-FNA 是纵膈实质性病变诊断安全、有效的方法之一，与 TBNA、EBUS-FNA 等方法

相互补充, Meta 分析显示在肺癌纵膈淋巴结分期中, EBUS-TBNA 联合 EUS-FNA 基本能完成对纵膈淋巴结所有区域的活检。免疫组化技术是纵膈恶性肿瘤确诊分型的重要手段与依据, 在晚期肺癌患者指导肺癌诊治策略时, 应充分考虑小样本的病理组织类型的不确切性, 尽量明确分子病理诊断, EUS-FNA 联合免疫组化技术可提高肿瘤诊断的准确性, 优化治疗方案, 改善患者预后。

参考文献

[1] KIMBRELL Z, GUSTAFSON S, HUANG M, et al. Subclassification of non-small cell lung cancer by cytologic sampling: a logical approach with selective use of immunocytochemistry[J]. *Acta Cytol*, 2012, 56(4): 419-424.

[2] SRINIVASAN R, BHUTANI M S, THOSANI N, et al. Clinical impact of EUS-FNA of mediastinal lymph nodes in patients with known or suspected lung cancer or mediastinal lymph nodes of unknown etiology[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2012, 21(2): 145-152.

[3] HAN C Q, LIN R, ZHANG Q, et al. Role of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration in the diagnosis of mass lesions[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2): 1085-1092.

[4] REDONDO-CEREZO E, MART-NEZ-CARA G, ESQUIVIAS J, et al. Endoscopic ultrasonography-fine needle aspiration versus PET-CT in undiagnosed mediastinal and upper abdominal lymphadenopathy: a comparative clinical study [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 27(4): 455-459.

[5] TRAVIS W D, BRAMBILLA E, NOGUCHI M, et al. International association for the study of lung cancer/American thoracic society/European respiratory society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma; executive summary[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2011, 8(5): 381-385.

[6] STEINFORT D P, RUSSELL P A, TSUI A, et al. Inter-observer agreement in determining non-small cell lung cancer subtype in specimens acquired by EBUS-TBNA [J]. *Eur Respir J*, 2012, 40(3): 699-705.

[7] NAVANI N, BROWN J M, NANKIVELL M, et al. Suitability of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens for subtyping and genotyping of non-small cell lung cancer: a multicenter study of 774

patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185(12): 1316-1322.

[8] NODA Y, FUJITA N, KOBAYASHI G, et al. Diagnostic efficacy of the cell block method in comparison with smear cytology of tissue samples obtained by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration [J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(8): 868-875.

[9] ARGON A, NART D, VERAL A. The value of cytokeratin 5/6, p63 and thyroid transcription factor-1 in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and Non-Small-Cell lung cancer of the lung [J]. *Turk Patoloji Derg*, 2015, 31(2): 81-88.

[10] WARTH A, MULEY T, HERPEL E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies [J]. *Histopathology*, 2012, 61(6): 1017-1025.

[11] AO M H, ZHANG H, SAKOWSKI L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer [J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(5): 926-934.

[12] PELOSI G, ROSSI G, BIANCHI F A, et al. Immunohistochemistry by means of widely Agreed-Upon markers (cytokeratins 5/6 and 7, p63, thyroid transcription factor-1, and vimentin) on small biopsies of non-small cell lung cancer effectively parallels the corresponding profiling and eventual diagnoses on surgical specimens [J]. *J Thoracic Oncol*, 2011, 6(6): 1039-1049.

[13] ZHAO W, WANG H, PENG Y, et al. Δ Np63, CK5/6, TTF-1 and napsin A, a reliable panel to subtype non-small cell lung cancer in biopsy specimens [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(7): 4247-4253.

[14] TRAVIS WD, BRAMBILLA E, BURKE A P, et al. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart [M]. 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2015: 9-96.

[15] 张莉萍, 侯立坤, 谢惠康, 等. p63、p40、CK5/6 在小细胞肺癌中的表达及其意义 [J]. *中华病理学杂志*, 2015, 44(9): 644-647.

[16] 张宝燕, 李向红, 崔海宏. CD56、嗜铬蛋白 A 和突触素在小细胞肺癌中的表达及其临床诊断价值 [J]. *诊断病理学杂志*, 2009, 16(5): 340-342.

(收稿日期: 2017-07-26 修回日期: 2017-10-18)

(上接第 487 页)

养支持对老年胃肠手术后免疫功能及肠黏膜通透性的作用[J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(23): 3953-3955.

[10] 王海燕, 武丽萍, 杨秀芬, 等. 谷氨酰胺强化的肠内营养在

重症颅脑损伤患者中的临床应用 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2014, 23(9): 945-947.

(收稿日期: 2017-07-07 修回日期: 2017-08-11)