

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.19.004

## 细针穿刺细胞块石蜡包埋切片技术联合 CK19、CD56、Galectin-3、HBME-1 检测在甲状腺结节诊断中的临床意义\*

周 宁,许婷婷,王帆荣,胡书娅,李 韬

四川绵阳四〇四医院病理科,四川绵阳 621000

**摘 要:**目的 探讨细针穿刺细胞块石蜡包埋切片技术联合人骨髓内皮细胞标记物-1(HBME-1)、细胞角蛋白 19(CK19)、半乳糖凝集素-3(Galectin-3)、CD56 检测在甲状腺结节诊断中的临床意义。**方法** 选取 2018 年 7 月至 2020 年 5 月于该院进行甲状腺结节细针穿刺病理检查的 196 例患者为研究对象,根据制片方法不同分为细胞涂片组 98 例,细胞块石蜡包埋切片组 98 例。细胞块石蜡包埋切片组中 26 例进行了 CK19、CD56、Galectin-3、HBME-1 免疫组织化学染色。以术后病理检查结果为“金标准”,分析细针穿刺标本的不同制片方法在甲状腺结节诊断中的价值。**结果** 制作的细胞块石蜡包埋切片中可清楚观察到细胞排列方式及组织结构,染色鲜艳、定位准确、背景清晰。甲状腺乳头状癌 HBME-1 阳性率为 93.75%,CK19 阳性率为 87.50%,Galectin-3 阳性率为 81.25%;滤泡性腺瘤 CD56 阳性率为 100.00%。细胞涂片组的检测准确率为 71.43%,低于细胞块石蜡包埋切片组的 95.92%,且良性符合率和恶性符合率也均低于细胞块石蜡包埋切片组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 甲状腺细针穿刺细胞块石蜡包埋切片技术联合 CK19、CD56、Galectin-3、HBME-1 检测能提高甲状腺结节病理诊断的准确性。

**关键词:**甲状腺结节; 细胞块石蜡包埋切片; 细胞涂片**中图法分类号:**R736.1**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2021)19-2799-04

The clinical significance of fine-needle aspiration cell block paraffin-embedded section technique combined with CK19, CD56, Galectin-3, HBME-1 detection in the diagnosis of thyroid nodules\*

ZHOU Ning, XU Tingting, WANG Fanrong, HU Shuya, LI Tao

Department of Pathology, Mianyang 404 Hospital, Mianyang, Sichuan 621000, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical significance of fine-needle aspiration cell block paraffin-embedded section technique combined with the detection of human bone marrow endothelial cell marker-1 (HBME-1), cytokeratin 19 (CK19), Galectin-3 and CD56 in the diagnosis of thyroid nodules. **Methods** A total of 196 patients who underwent fine-needle aspiration pathological examination of thyroid nodules in the hospital from July 2018 to May 2020 were selected as the research objects. According to different preparation methods, they were divided into 98 cases in the cell smear group and 98 cases in the cell block paraffin-embedded section group. Twenty-six cases in the cell block paraffin-embedded section group were stained by immunohistochemistry for CK19, CD56, Galectin-3 and HBME-1. Took the results of postoperative pathological examination as the "gold standard", the value of different preparation methods of fine-needle aspiration specimens in the diagnosis of thyroid nodules was analyzed. **Results** The cell arrangement and tissue structure could be clearly observed in the paraffin-embedded section of the cell block, with bright staining, accurate positioning and clear background. The positive rates of HBME-1, CK19 and Galectin-3 in papillary thyroid carcinoma were 93.75%, 87.50% and 81.25% respectively. The positive rate of CD56 in follicular adenoma was 100.00%. The detection accuracy of cell smear group was 71.43%, which was lower than 95.92% of cell block paraffin-embedded section group, and the benign coincidence rate and malignant coincidence rate were also lower than those of cell block paraffin-embedded section group, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Thyroid fine-needle aspiration cell block paraffin-embedded section technique combined with CK19, CD56, Galectin-3, HBME-1 detection can improve the accuracy of pathological diagnosis of

\* 基金项目:国家卫生健康委员会疾控局癌症早诊早治项目(GTCZ-2020-SC-51-009)。

作者简介:周宁,男,副主任医师,主要从事肿瘤病理学研究。

本文引用格式:周宁,许婷婷,王帆荣,等.细针穿刺细胞块石蜡包埋切片技术联合 CK19、CD56、Galectin-3、HBME-1 检测在甲状腺结节诊断中的临床意义[J].检验医学与临床,2021,18(19):2799-2802.

thyroid nodules.

**Key words:** thyroid nodules; cell block paraffin-embedded section; cell smear

甲状腺结节十分常见,在一般人群中甲状腺结节的检出率为 20%。临床上甲状腺癌的发病率较高,尤其是甲状腺乳头状癌,约占全身恶性肿瘤的 4%,早期准确诊断对改善患者预后有十分重要的意义<sup>[1]</sup>。目前,在超声引导下对甲状腺结节行细针穿刺细胞学检查是早期诊断甲状腺疾病的重要方法。传统的细胞学检查是将标本直接涂片并染色观察,由于涂片厚、重叠、结构不清等因素导致细胞学检测阳性率和灵敏度均不高,而细胞块石蜡包埋切片技术能够提高细胞学检测阳性率及准确率。本研究对细针穿刺细胞块石蜡包埋切片技术联合人骨髓内皮细胞标记物-1(HBME-1)、细胞角蛋白 19(CK19)、半乳糖凝集素-3(Galectin-3)、CD56 检测在甲状腺结节诊断中的临床价值进行了分析,以期临床诊断提供依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 7 月至 2020 年 5 月于本院进行甲状腺结节细针穿刺病理检查的 196 例患者为研究对象,对其病理检查结果进行回顾性分析。根据制片方法不同分为细胞涂片组 98 例,细胞块石蜡包埋切片组 98 例。细胞涂片组男 45 例,女 53 例;年龄 23~57 岁,中位年龄 51.3 岁。细胞块石蜡包埋切片组男 43 例,女 55 例;年龄 26~51 岁,中位年龄 48.6 岁。两组患者性别、年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞涂片组** 应用传统细胞涂片法进行制片。细针穿刺后抽吸,抽吸结束后将针管中抽吸物滴于距离标签一侧玻片边缘 2~3 cm 处,位于玻片两侧的中央,标本滴的最大径不超过 3 mm。涂片时,一手握持标本玻片,拇指位于标签表面,其余四指并排位于标本玻片背面以支撑整个玻片;另一手推展开玻片,展开玻片下边缘中央位于标本滴上方,展开玻片以垂直于标本玻片的角度缓缓向下接近标本玻片,当展开玻片接触到标本滴时,标本滴在展开玻片下方散开,只需要施加轻微压力即可。然后将展开玻片沿远离标签侧的方向呈直线拉开,使标本滴呈卵圆形分布。最后,将制作好的细胞涂片放入 95%酒精溶液中湿固定 30 min,常规 HE 染色,阅片。

**1.2.2 细胞块石蜡包埋切片组** 采用细胞块石蜡包埋切片制作方法。(1)细针穿刺后抽吸,抽吸结束后将针管中抽吸物注入含有生理盐水的 10 mL 离心管内,以 2 500 r/min 离心 10 min,弃上清液。(2)将所得沉淀与 4%甲醛溶液 1:1 混匀,室温下静置 20 min 后以 2 000 r/min 离心 5 min,弃上清液后取离心管底

部沉淀待用。(3)在赛默飞世尔冰冻切片机内制作胶水标本托,取市场所售普通胶水适量均匀平铺于冰冻切片机标本托上冷冻 2 min,制作成直径 1.5~2.0 cm,厚 4 mm 的胶水标本托。(4)用吸管将离心管底部的沉淀转移到胶水标本托中心,放入-20℃冰冻切片机冷冻台上冷冻约 1 min,在其表面滴加 0.5 mL 胶水覆盖细胞团,待胶水凝固后迅速取出,此时细胞团与胶水标本托凝固成冰块,将细胞团与标本托分离,以伊红染液点染并用拭镜纸封包,然后放入脱水机内进行脱水。(5)脱水处理后常规石蜡包埋、切片、HE 染色、阅片。当细胞块石蜡包埋切片标本病理检查结果判定为恶性病变及疑难病例时,取切片进行免疫组织化学染色进一步判断,采用 DAKO LINK48 全自动免疫组织化学染色机染色,所用一抗(HBME-1、CK19、Galectin-3、CD56)均购于北京中杉金桥生物有限公司。

**1.2.3 病理诊断标准** 选取患者合格的病理标本进行细胞形态观察,合格标本是指涂片上至少有 6 个滤泡细胞团,且每个细胞团的滤泡上皮细胞需在 10 个以上。病理诊断应用 Bethesda 报告系统进行鉴别分析,分为 6 类标本:良性、恶性、可疑恶性、可疑滤泡性肿瘤或滤泡性肿瘤、意义不明的滤泡性病变及无法诊断的标本。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 细胞涂片检测结果** 制作的细胞涂片中可见细胞分布不均,排列较分散,细胞呈单个或片状分布,细胞重叠排列,可见一些不典型的乳头样、滤泡样结构等。检出 60 例良性,10 例恶性,6 例可疑恶性,2 例可疑滤泡性肿瘤或滤泡性肿瘤,2 例意义不明的滤泡性病变,共 80 例,占 81.63%,见表 1。

**2.2 细胞块石蜡包埋切片检测结果** 制作的细胞块石蜡包埋切片中可清楚观察到细胞排列方式及组织结构,染色鲜艳、定位准确、背景清晰。细胞块石蜡包埋切片组共检出 94 例异常标本,占 95.92%,其中良性 74 例,恶性 20 例,见表 1。有 26 例细胞块石蜡包埋切片标本进行了多种抗体免疫组织化学染色,染色效果较好,定位清晰,因红细胞等背景已被处理,因此非特异性染色较少。经细胞块石蜡包埋切片及免疫组织化学染色诊断为恶性的 20 例标本中,16 例为乳头状癌,2 例为低分化癌,1 例为髓样癌,1 例为未分化癌,免疫组织化学染色 HBME-1、CK19、Galectin-3、CD56 阳性率见表 2。

表 1 细胞涂片组及细胞块石蜡包埋切片组诊断结果[n(%)]

| 组别         | n  | 良性        | 恶性        | 可疑恶性    | 可疑滤泡性肿瘤<br>或滤泡性肿瘤 | 意义不明确的<br>滤泡性病变 | 无法诊断      |
|------------|----|-----------|-----------|---------|-------------------|-----------------|-----------|
| 细胞涂片组      | 98 | 60(61.22) | 10(10.20) | 6(6.12) | 2(2.04)           | 2(2.04)         | 18(18.37) |
| 细胞块石蜡包埋切片组 | 98 | 74(75.51) | 20(20.41) | 0(0.00) | 0(0.00)           | 0(0.00)         | 4(4.08)   |

| 表 2 免疫组织化学染色各抗体阳性率分布[n(%)] |    |           |           |            |           |
|----------------------------|----|-----------|-----------|------------|-----------|
| 类型                         | n  | HBME-1    | CK19      | Galectin-3 | CD56      |
| 乳头状癌                       | 16 | 15(93.75) | 14(87.50) | 13(81.25)  | 6(37.50)  |
| 髓样癌                        | 1  | 0(0.00)   | 0(0.00)   | 0(0.00)    | 0(0.00)   |
| 低分化癌                       | 2  | 1(50.00)  | 2(100.00) | 1(50.00)   | 1(50.00)  |
| 未分化癌                       | 1  | 0(0.00)   | 0(0.00)   | 0(0.00)    | 0(0.00)   |
| 滤泡性腺瘤                      | 6  | 0(0.00)   | 2(33.33)  | 3(50.00)   | 6(100.00) |

**2.3 两组检测准确率、良性符合率及恶性符合率比较** 根据术后病理检查结果,196 例受检者均为甲状腺结节患者,其中细胞涂片组中术后病理检查结果为良性的有 72 例,占 73.47%,恶性有 26 例,占 26.53%;细胞块石蜡包埋切片组中术后病理检查结果为良性的有 74 例,占 75.51%,恶性有 24 例,占 24.49%。以术后病理检查结果为“金标准”,则细胞涂片组的检测准确率为 71.43%,低于细胞块石蜡包埋切片组的 95.92%,且良性符合率和恶性符合率也均低于细胞块石蜡包埋切片组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

| 表 3 两组检测准确率、良性符合率及恶性符合率比较[% (n/n)] |    |              |               |              |
|------------------------------------|----|--------------|---------------|--------------|
| 组别                                 | n  | 检测准确率        | 良性符合率         | 恶性符合率        |
| 细胞涂片组                              | 98 | 71.43(70/98) | 83.33(60/72)  | 38.46(10/26) |
| 细胞块石蜡包埋切片组                         | 98 | 95.92(94/98) | 100.00(74/74) | 83.33(20/24) |
| $\chi^2$                           |    | 5.01         | 6.73          | 5.21         |
| P                                  |    | 0.03         | 0.01          | 0.02         |

3 讨论

女性甲状腺结节发病率高于男性,且多发性结节较单发性结节更常见<sup>[1]</sup>。甲状腺乳头状癌是甲状腺恶性肿瘤最常见的病理类型,占 80%~90%<sup>[2-3]</sup>。临床上甲状腺乳头状癌的淋巴结转移率较高,仅在中央区淋巴结的转移率就高达 24%~64%,并有较高的复发率和病死率<sup>[4-5]</sup>。细针穿刺细胞学检查可以早期有效地对甲状腺结节的良恶性进行鉴别诊断,从而早期指导临床治疗。传统的甲状腺细针穿刺后细胞涂片由于涂片质量欠佳,细胞分散或重叠,以及受到血液等因素的干扰,导致诊断准确率不高。采用细胞块石蜡包埋切片技术制作的标本质量相对较好,细胞集中,切片厚薄均匀,能在一定程度上保留原肿瘤形态及组织结构,提供更多的诊断信息。同时,细胞块可

以反复连续切片,且对切片进行免疫组织化学染色不仅可以定性诊断,还可以明确肿瘤类型,对于疑难病例可以进一步行相关分子检测获得准确的诊断结果。

CK19 是腺体组织表达的一种角蛋白微丝,在 80%以上的甲状腺乳头状癌中呈强阳性表达,刘翠云等<sup>[6]</sup>对 105 例甲状腺标本的研究发现,CK19 在甲状腺乳头状癌、乳头状增生、癌旁组织中的阳性率分别为 100.0%、25.0%、10.0%,且有研究认为,CK19 是辅助诊断甲状腺乳头状癌的有效指标<sup>[7-8]</sup>。HBME-1 是一种单克隆抗体,在恶性肿瘤中具有显著特异性。OHTA 等<sup>[9]</sup>研究发现,HBME1-1 在甲状腺良、恶性肿瘤鉴别诊断中的灵敏度、特异度、阳性预测值和准确度分别为 80.0%、96.0%、96.7%和 86.4%。本研究 16 例甲状腺乳头状癌中有 15 例为 HBME-1 阳性,阳性率为 93.75%,而 6 例良性病变(滤泡性腺瘤)均未表达 HBME-1,与文献报道较一致<sup>[9]</sup>。Galectin-3 鉴别良、恶性甲状腺滤泡性肿瘤的灵敏度、特异度、准确度分别为 84.7%、91.2%、87.5%<sup>[10]</sup>。还有研究发现,联合检测 HBME-1、CK19 和 Galectin-3 诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度达 99.9%,特异度达 95.4%,提示多种分子标志物联合检测具有更高的诊断价值<sup>[10]</sup>。CD56 是神经细胞黏附分子,其在甲状腺肿瘤诊断中有重要的应用价值<sup>[11]</sup>,特别是在鉴别滤泡型甲状腺乳头状癌和其他甲状腺滤泡性肿瘤时具有较高的效能。SCARPINO 等<sup>[12]</sup>报道了 61 例甲状腺乳头状癌中有 18 例 CD56 呈阴性,另外 43 例呈阳性,且 CD56 阳性肿瘤细胞位于肿瘤浸润的边缘,提示 CD56 的表达可能与肿瘤侵袭能力有关。而本研究中 CD56 在甲状腺乳头状癌中的阳性率较低,仅为 37.50%(6/16),而 6 例良性病变(滤泡性腺瘤)均表达 CD56,提示 CD56 可能在甲状腺乳头状癌的诊断中具有一定价值。

本研究中,细胞块石蜡包埋切片技术切片厚薄均匀,细胞集中,保留了病变的组织结构,能清楚观察到细胞形态特点。细胞块石蜡包埋切片组的检测准确率(95.92%)明显高于细胞涂片组(71.43%)。细胞块还可以反复连续切片,进行相关免疫组织化学染色,可对病变进一步准确诊断及分型。此外,由于细胞块具有可重复利用的优势,临床常用其进行相关基因检测来进一步辅助诊断及指导治疗<sup>[13]</sup>。

参考文献

[1] 彭凤英,黄朝斌,何诚,等.液基膜式薄层细胞学技术(TCT)在B超引导下甲状腺细针穿刺病理诊断中的应用[J].诊断病理学杂志,2019,25(9):664-665.

[2] PARK J Y,YI J W,PARK C H,et al. Role of BRAF and RAS mutations in extrathyroidal extension in papillary thyroid cancer[J]. Cancer Genom Proteom,2016,13(2):171-181.

[3] JIANG L X,CHU H D,ZHENG H T. B-Raf mutation and papillary thyroid carcinoma patients[J]. Oncol Lett,2016,11(4):2699-2705.

[4] CHO S Y,LEE T H,KU Y H,et al. Central lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma can be stratified according to the number, the size of metastatic foci, and the presence of desmoplasia[J]. Surgery,2015,157(1):111-118.

[5] LIU F H,KUO S F,HSUEH C,et al. Postoperative recurrence of papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis[J]. J Surg Oncol,2015,112(2):149-154.

[6] 刘翠云,成慧,董惠,等. CK19 与 Bcl-2 联合检测在甲状腺乳头状癌诊断中的意义[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(4):21-24.

[7] 熊茉莉,刘英,张国福,等. 甲状腺弥漫性滤泡型乳头状癌 2 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志,2018,34

(8):907-908.

[8] 位嘉,赵丽华,槐英丽,等. CK19、Galectin-3、HBME-1、TPO 和 CD56 在甲状腺乳头状癌病理诊断中的价值[J]. 标记免疫分析与临床,2018,25(10):1445-1449.

[9] OHTA M,OOKOSHI T,NAIKI H,et al. HBME-1 and CD15 immunocytochemistry in the follicular variant of thyroid papillary carcinoma[J]. Pathol Int,2015,65(3):119-125.

[10] GUCER H,BAGCI P,BEDIR R,et al. The value of HBME-1 and claudin-1 expression profile in the distinction of BRAF-like and RAS-like phenotypes in papillary thyroid carcinoma[J]. Endocr Pathol,2016,27(3):224-232.

[11] 杨俊杰,仇玲玲,寿乐意. 甲状腺微小乳头状癌中 CD56 的表达及意义[J]. 现代实用医学,2011,23(9):1044-1045.

[12] SCARPINO S,DI NAPOLI A,MELOTTI F,et al. Papillary carcinoma of the thyroid; low expression of NCAM (CD56) is associated with down regulation of VEGFD production by tumor cells[J]. J Pathol,2007,212(4):411-419.

[13] 赵娟,宋春娇,王诚. 甲状腺穿刺细胞学及其 BRAF V600E 突变检测的临床价值[J]. 临床与实验病理学杂志,2019,35(6):688-691.

(收稿日期:2021-01-23 修回日期:2021-04-01)

(上接第 2798 页)

无需 PCR 后处理;(4)方法可靠、结果易判断;其结果自动判断,减少人为因素判读失误;(5)成本更低<sup>[13-14]</sup>。

综上所述,与传统的酶活性法比较,MMCA 法具有灵敏度、特异度高的优点,是一种快速、准确、适用于临床诊断 G6PD 缺乏症的方法。

参考文献

[1] 林彩娟,罗超,李旺,等. 2014 年广西地区新生儿 G6PD 筛查及确诊情况分析[J]. 中国妇幼保健杂志,2015,31(21):5361-5363.

[2] 王维鹏,邹琳,王治国. 新生儿疾病筛查与产前诊断实验室管理[M]. 北京:人民卫生出版社,2018:138-145.

[3] 李嶝,卓召振,王怡萌,等. 贵阳地区 5 486 例孕妇 G6PD 缺乏症基因突变筛查[J]. 贵州医科大学学报,2019,44(7):777-780.

[4] JIANG J,LI B,CAO W,et al. Screening and prevention of neonatal glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency in Guangzhou, china[J]. Genet Mol,2014,13(2):4271-4279.

[5] 吴新秀,杨学煌,曾宪琪,等. 荧光 PCR 溶解曲线法检测广东韶关地区 G6PD 缺乏的基因突变[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2017,14(3):174-177.

[6] 杨紧根. 湖南娄底地区新生儿黄疸葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变分析[J]中国现代医学杂志,2014,24(19):38-40.

[7] KAPLAN M,HAMMERMAN C,VREMAN H J,et al.

Acute hemolysis and severe neonatal hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient heterozygotes[J]. J Pediatr,2001,139(1):137-140.

[8] 李梨平,邹爱军,祝兴元. 湖南长沙地区 G6PD 基因突变与新生儿黄疸关系的研究[J]. 医学临床研究杂志,2004,22(3):299-301.

[9] 沈玉燕,黎剑,肖刚. 怀化部分地区 295 例新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(12):65-67.

[10] 严提珍,中青燕,唐宁,等. 多色探针荧光 PCR 熔解曲线法在 G6PD 基因突变检测中的临床应用评价[J]. 中华医学遗传学杂志,2014,31(2):156-162.

[11] 胡韦维,李进,刘益,等. 应用多色探针熔解曲线法检测 G6PD 缺乏症杂合子的基因突变[J]. 第三军医大学学报,2018,40(9):830-835.

[12] 王朝,赵玉平. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的发病机制及诊疗现状[J]. 国际输血及血液学杂志,2017,40(2):178-181.

[13] 张娟,余朝文,苗静琨,等. 基于测序分析的新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症分子诊断与基因新突变鉴定[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(11):843-847.

[14] 刘秀莲,王洁,林燕,等. 346 例海南黎族新生儿 G6PD 基因突变分析[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(9):4224-4229.

(收稿日期:2021-01-26 修回日期:2021-05-09)