

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2006.02.19

· 临床研究 ·

液基细胞学检查系统在肺癌患者痰液检查中的临床应用价值

吴广平 王恩华 李建华 付志民 韩硕 范玉

【摘要】 背景与目的 传统的痰涂片内常混有大量粘液、血液、各种炎性细胞及坏死细胞碎屑,故阳性诊断率较低。液基细胞学检查系统(liquid-based cytologic test, LCT)已成功而广泛地应用于宫颈细胞学诊断,而用于痰液细胞学诊断国内外报道均较少。本研究的目的是探讨 LCT 在肺癌患者痰液检查中的应用价值,寻找早期诊断肺癌的新途径。方法 比较 LCT 与传统痰涂片方法应用于肺癌诊断的镜下特点及诊断率。结果 LCT 法涂膜面积明显缩小,背景干净,图像清晰,三维立体感突出。LCT 对小细胞肺癌的诊断率显著高于传统涂片法($P < 0.05$)。LCT 与传统涂片法联合应用后,对肺癌的阳性诊断率可高达 85.1%,明显优于单纯的传统涂片法(63.4%) ($P < 0.01$)。结论 LCT 在痰液制片、染色等方面便于实施质量控制,是值得推广的一种新技术,与传统涂片法联合应用具有重要的临床价值。

【关键词】 细胞病理学 痰液 肺肿瘤

【中图分类号】 R734.2

Clinical value of liquid-based cytologic test in sputum examination of patients with lung cancer WU Guangping*, WANG Enhua, LI Jianhua, FU Zhimin, HAN Shuo, FAN Yu. * Pathological Diagnosis Center, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, P. R. China

Corresponding author: WANG Enhua, E-mail: wangeh@hotmail.com

【Abstract】 **Background and objective** There are lots of mucus, blood, inflammatory cells and necrotic material in the pick-and-smear slides, resulting in a low detection rate. Liquid-based cytologic test (LCT) has been applied for cervical cytology diagnosis successfully and widely, however it is few reported yet for sputum cytology diagnosis at present. The aim of this study is to evaluate the clinical value of LCT in sputum examination of patients with lung cancer, and to find a novel method of early diagnosis of lung cancer. **Methods** The cytologic findings and the diagnostic rate for lung cancer were compared between LCT and conventional pick-and-smear method. **Results** There were smaller area of smear membrane, clearer background, more distinctly cytologic picture and stereoscopic fell by LCT comparing with pick-and-smear method. The diagnostic rate for small cell lung cancer by LCT was significantly higher than that by pick-and-smear method ($P < 0.05$). After combined detection of the two methods, the diagnostic rate for lung cancer was obviously improved (85.1%), which was remarkably higher than that by pick-and-smear method alone ($P < 0.01$). **Conclusion** It is operated easily for LCT to be well controlled in making smear and dyeing. LCT may be a novel technique worthy of wide use. Combination of LCT with pick-and-smear method appears to be of great value in clinical application.

【Key words】 Cytopathology Sputum Lung neoplasms

This work was supported by a grant from Science Foundation of Liaoning Province (to WANG Enhua) (No. 20033002).

痰液细胞学检查是早期诊断肺癌的重要方法之一,尤其对隐性肺癌具有独特的作用^[1]。此方法简便

易行,患者无痛苦,容易接受,是非损伤途径早期诊断肺癌的最佳手段^[2]。然而该方法的阳性诊断率一直很难提高,重要的原因是痰液内细胞成分混杂,坏死细胞碎屑较多,加之粘液的干扰,常将癌细胞包裹、掩蔽,故假阴性问题比较突出^[3]。液基细胞学检测系统(liquid-based cytologic test, LCT)是 1999 年获美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)

本研究受辽宁省科委重大攻关项目基金(No. 20033002)资助

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学附属第一医院病理诊断中心(吴广平、付志民、韩硕);中国医科大学基础医学院病理教研室(王恩华、李建华);香港新顺国际有限公司(范玉)(通讯作者:王恩华, E-mail: wangeh@hotmail.com)

批准用于临床的一项新技术,通过祛除标本内的粘液、杂质及炎性细胞,制成视野清晰的薄层涂片,在宫颈细胞学诊断上已得到了细胞学工作者的一致认可。但该方法是否可以应用于痰液细胞学检查以及在痰液细胞学诊断中意义如何,目前国内外尚未见报道。本研究将 LCT 法与传统涂片法同时用于痰液细胞学诊断中,并对其进行比较和评价,探讨该方法用于肺癌诊断的可能性。

1 材料与方法

1.1 研究对象及标本的采集

收集中国医科大学附属第一医院 2004 年 1~10 月具有呼吸道症状的门诊及住院患者 708 例,嘱患者早晨咳痰之前漱口、刷牙,以避免食物残渣和细菌的污染。指导患者深呼吸后用力咳痰,重复几次,咳出肺深部的痰液,尽量选择含血丝部分或粘液丝部分的痰液收集在盒内送检。每例患者连续送检三天。将其中经纤维支气管镜组织活检和刷取涂片细胞学检查证实为肺癌的 101 例作为研究对象,其中男 68 例,女 33 例;年龄 30~93 岁;组织学分型为肺鳞癌 48 例,肺腺癌 36 例,小细胞肺癌 17 例。

1.2 标本的处理

将痰液用传统法涂片 4 张,巴氏染色。余下部分倒入含有 CytoRich 保存液的小瓶中,每一体积痰液混合相同体积的 CytoRich 保存液;在上述混合液中每 10 mL 加入 1 mL 粘液溶解液,混合后放置 30 min,再将混合液在震荡器上震动 10 s,如混合液中仍有凝结,可再增加一些粘液溶解液,直至粘液溶

解。所用试剂为美国 Tripath 公司生产,购于香港新顺国际有限公司。

1.3 LCT 的制备

将溶解后的痰液倒入 50 mL 的离心管中,按 1860 r/min 离心 10 min,离心后去掉上清,加去离子水至 7.5 mL,重新震荡混匀,按上述标准再离心 5 min,弃上清,震荡离心管,放在 AutoCyte 机器上制片、染色。所用仪器为美国 Tripath 公司生产,香港新顺国际有限公司代理的 AutoCytePrep 配套产品。

1.4 研究方法

由 2 名细胞病理学家同时阅片镜检,盲法比较;统计学处理以 SPSS10.0 软件包进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 与传统痰涂片相比,LCT 法具备如下优点

细胞涂膜面积明显缩小:传统涂膜面积一般为 1375 mm²,阅片时间一般为 7 min,而 LCT 法涂膜面积仅为 134 mm²,阅片最低时间减少到 2.5 min,工作效率明显提高;涂片背景干净:红细胞大多破坏消失,粘液丝溶解,炎性细胞数量明显减少,异常细胞显而易见,阳性细胞不易漏诊;细胞图像清晰,层次分明:核膜、核仁及染色质等细微结构清晰可见;三维立体感突出:鳞癌细胞均一分布,片状排列,背景无粘液;单个腺癌细胞呈球状,立体感明显,成群排列者可见不典型腺腔样结构或彩球样结构(图 1);小细胞肺癌细胞常呈桑葚状或镶嵌状结构(图 2)。

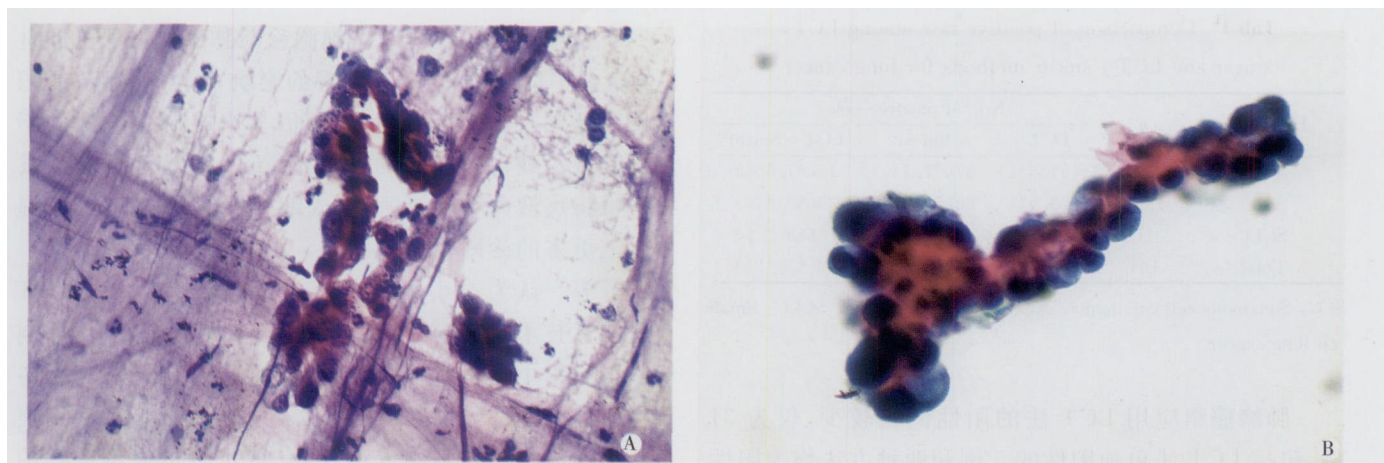


图 1 腺癌细胞(巴氏染色,原始放大倍数 $\times 400$)

A:常规痰涂片;B:与 A 同一病例的 LCT 薄片,背景干净,数团癌细胞呈腺腔样排列

Fig 1 Adenocarcinoma cells (Papanicolaou stain, original magnification $\times 400$)

A: Conventional pick-and-smear slide; B: Slide of LCT from the same case as Fig A, which showed a clearer background and the small aggregates of cancer cells arranging in an adenoid pattern

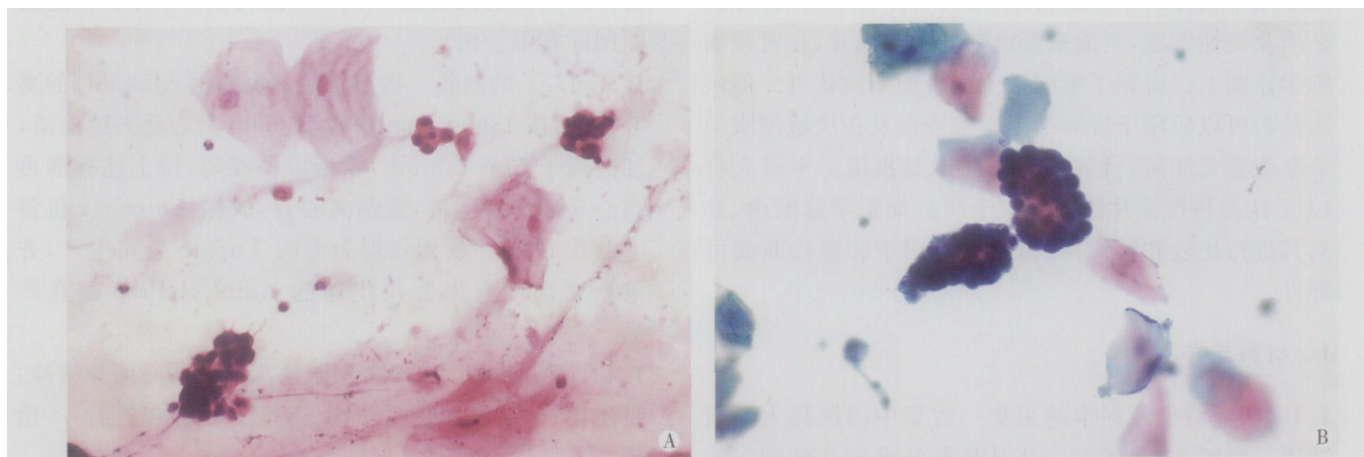


图 2 小细胞肺癌细胞(巴氏染色,原始放大倍数 $\times 400$)

A:常规痰涂片;B:与 A 同一病例的 LCT 薄片,背景干净,癌细胞拥挤成群,核小、形态单一,裸核多见

Fig 2 Small cell lung cancer cells (Papanicolaou stain, original magnification $\times 400$)

A: Conventional pick-and-smear slide; B: Slide of LCT from the same case as Fig A, which showed a clearer background, crowded cell clusters, small and uniform nuclei and scanty cytoplasm

2.2 LCT、传统痰涂片及 LCT + 传统痰涂片阳性率的比较(表 1) 传统痰涂片由于受粘液丝、炎性细胞及坏死细胞碎屑的干扰,101 例肺癌中仅有 64 例痰液中了癌细胞,其阳性率仅为 63.4% (64/101);而 LCT 法痰涂片背景干净、细胞图像清晰,其阳性率达 72.3% (73/101),虽然两者差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但两者联合应用其阳性率可高达 85.1%,与传统涂片法比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 1 LCT、传统痰涂片及 LCT + 传统痰涂片检测肺癌细胞的阳性率比较

Tab 1 Comparison of positive rate among LCT, smear and LCT + smear methods for lung cancer

Histology	n	No. of positive cases		
		LCT	Smear	LCT + Smear
SCC	48	31 (64.6%)	37 (77.1%)	42 (87.5%)
ADC	36	27 (75.0%)	20 (55.6%)	29 (80.6%)
SCLC	17	15 (88.2%)	7 (41.2%)	15 (88.2%)
Total	101	73 (72.3%)	64 (63.4%)	86 (85.1%)

SCC: Squamous cell carcinoma; ADC: Adenocarcinoma; SCLC: Small cell lung cancer

肺鳞癌组应用 LCT 法的阳性例数较少,仅为 31 例,包括 LCT 法单独阳性的 5 例和两种方法均为阳性的 26 例;而传统涂片法的阳性例数为 37 例,包括传统涂片法单独阳性的 11 例和两种方法均为阳性的 26 例。两种方法联合应用其阳性率达 87.5%,与单独任何一种方法比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。腺癌组应用 LCT 法的阳性例数相对较多,为 27 例,包括

LCT 法单独阳性的 9 例和两种方法均为阳性的 18 例;而传统涂片法的阳性例数为 20 例,包括传统涂片法单独阳性的 2 例和两种方法均为阳性的 18 例。两种方法联合应用其阳性率达 80.6%,与单独任何一种方法比较差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。小细胞肺癌组应用 LCT 法的阳性例数高达 15 例,其中包括传统涂片法阳性的 7 例,另 8 例传统涂片法为阴性。其 LCT 法阳性率为 88.2%,显著高于传统涂片法 (41.2%) ($P < 0.05$)。

3 讨论

采用痰液涂片检查癌细胞诊断肺癌的方法已问世 100 多年,但由于受多种因素的影响,国内外报道的阳性诊断率差异颇大,其主要原因多来自制片方法的不同。曾一度得到公认的 Saccomanno 机械混合制片技术可将痰液内粘液溶解,制成细胞均一分布的涂片,提供了更多的诊断信息,减少了假阴性结果^[4],但 Perlman 等^[5]认为对小细胞肺癌的诊断帮助不大。DTT 法制片技术是采用改良的粘液溶解剂将痰液溶解,制成细胞集中且背景清晰的涂片^[6],然而却无法消除各种炎性细胞及红细胞的干扰。近来国内又有人应用痰液沉渣经石蜡包埋制成切片,其特点是可显示良好的组织结构,但也未能消除粘液、炎性细胞及红细胞的干扰^[7]。

LCT 又称自动细胞学检测系统 (autocyte prep cytologic test),是一种明显优于传统巴氏涂片的检查方法^[8,9]。基本方法是将收集的细胞注入放有细胞保

存液的特制小瓶中,通过比重液离心后,将标本中比重小的成分,如粘液、血液和炎性细胞分离,收集比重大而沉下的有效上皮细胞成分,制成薄片,其细胞标本直径仅为 13 mm。每次可以同时处理 48 份标本,使用统一标准的操作步骤,并在全自动制片过程中同时完成染色。由于制片、染色程序化,时间准确,所用染液均为一次性使用,故制出的薄片细胞显示清晰、背景干净、对比性强,对小细胞肺癌的特点显示较突出。本研究中对小细胞肺癌的阳性诊断率由传统涂片法的 41.2% 增加到 88.2% ($P < 0.05$)。

传统涂片面积一般为 1375 mm²,阅片时间一般为 7 min。LCT 技术将阅片范围缩小到直径为 13 mm 的范围内,阅片面积仅为 134 mm²,阅片最低时间减少到 2.5 min。使得细胞学工作者精力更加集中,容易观察每个视野,明显提高了工作效率,并基本上避免了因过度疲劳而造成的假阴性。

LCT 制片技术的另一重大革新是将收集的有效上皮细胞成分在自动程序控制下,自然沉落到赋予细胞粘附液的载玻片上,无人为涂抹、牵拉和挤压,故细胞的三维立体感明显,并多存在原有组织的特有结构,因此可以说 LCT 制片技术的问世是细胞图像迈向三维立体结构的一个飞跃。LCT 对腺癌细胞的体现尤为突出,本研究中其阳性例数由传统涂片法的 20 例增加到 27 例,两者联合应用其阳性例数可达 29 例 (80.6%),有 2 例 LCT 法为阴性的病例传统涂片法为阳性,而有 9 例传统涂片法为阴性的病例 LCT 法检测为阳性。

尽管以上论述了 LCT 应用于痰液检查的优点,但在肺癌患者痰液检测中单独应用 LCT,是否可以真正地提高阳性诊断率目前尚不能给予确切的结论,因为我们发现在鳞癌细胞的诊断率上尚不尽如人意。本研究中对鳞癌的诊断率不但没增加,反而降低了,传统涂片法阳性诊断例数为 37 例,而应用 LCT 制片技术后阳性诊断例数仅为 31 例。分析其原因,可能与我们每例标本只制作 1 张 LCT 薄片有关。在本组材料中,曾有 8 例应用 LCT 法各自制成 2 张薄片,第一张薄片显示阴性,而在追加的第二张薄片上发现了癌细胞,说明 1 张 LCT 薄片并不能完全代表一例标本的所有成分,建议在可能的情况下每次制片数量应不少于 2 张。在今后的研究中,我们准备将 LCT 法制片数量增加至 3~4 张,甚至用尽标本,再观察其结果。Motherby 等^[10]采用两种不同的粘液溶解剂对支气管分泌物分别进行两次处理,经过两次离心,然后通过半自动程序制片系统制成薄片。如果每例标本只制作 1 张薄片,

其阳性诊断率为 82.6%;制作 2 张薄片阳性诊断率为 88.8%;最后当制作 7 或 8 张薄片时,其阳性诊断率可高达 94.0%^[10]。他们的结果也说明了 1 张薄片不能完全代表一次标本的所有成分,这可能是造成漏诊的主要原因。

尽管 LCT 法与传统涂片法比较,阳性诊断率在统计学上差异不显著,但在本研究中有提高的趋势,尤其对小细胞肺癌的诊断具有很好的应用价值。当两种方法联合应用时,其阳性诊断率可高达 85.1%,与单纯的传统涂片法相比 (63.4%),差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。鉴于 LCT 法本身的优点,它不仅可用于临床痰液细胞学诊断,更适合肺癌高危人群的筛查,是肺癌早期诊断的不可忽略的手段之一。

参 考 文 献

- 1 Petty TL. The early identification of lung carcinoma by sputum cytology. *Cancer*, 2000, 89(11 Suppl) 2461-2464.
- 2 Erkilic S, Ozsarac C, Kullu S. Sputum cytology for the diagnosis of lung cancer. Comparison of smear and modified cell block methods. *Acta Cytol*, 2003, 47(6) 1023-1027.
- 3 Wang GS, Lee YC, Perng RP. A novel method of sputum processing for cytologic diagnosis of lung cancer. *Anal Quant Cytol Histol*, 2004, 26(3) 121-126.
- 4 Rizzo T, Schumann GB, Riding JM. Comparison of the pick-and-smear and Saccomanno methods for sputum cytologic analysis. *Acta Cytol*, 1990, 34(6) 875-880.
- 5 Perlman EJ, Erozan YS, Howdon A. The role of the saccomanno technique in sputum cytopathologic diagnosis of lung cancer. *Am J Clin Pathol*, 1989, 91(1) 57-60.
- 6 Tang CS, Tang CM, Lau YY, et al. Sensitivity of sputum cytology after homogenization with dithiothreitol in lung cancer detection. Two years of experience. *Acta Cytol*, 1995, 39(6) 1137-1140.
- 7 Weng JL, Huang JX, Ma QF. Comparative study of sputum sediment paraffin section and sputum smear examinations for diagnosis of lung cancer. *Chin J Lung Cancer*, 2004, 7(4) 354-356. [翁俊良, 黄杰雄, 马琼凤. 痰液沉渣切片和痰涂片检查诊断肺癌的比较性研究. *中国肺癌杂志*, 2004, 7(4) 354-356.]
- 8 Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, et al. Clinical trials of the CytoRich specimen-preparation device for cervical cytology. Preliminary results. *Acta Cytol*, 1997, 41(1) 24-29.
- 9 Laverty CR, Farnsworth A, Thurloe J K, et al. Evaluation of the CytoRich slide preparation process. *Anal Quant Cytol Histol*, 1997, 19(3) 239-245.
- 10 Motherby H, Nicklaus S, Berg A, et al. Semiautomated monolayer preparation of bronchial secretions using AutoCyte PREP. *Acta Cytol*, 1999, 43(1) 47-57.

(收稿:2005-04-21 修回:2005-07-20)

(本文编辑 李蓓兰)