细胞学诊断在浆膜腔积液中的应用现状

梁海红

(天津港口医院病理科,天津 300456)

摘要:细胞学检查是诊断浆膜腔积液的重要手段,不仅可以评估疾病的良恶性,还可以用于判断肿瘤的类型、来源、预后等方面的信息。本文主要从制片技术、肿瘤标志物检测、DNA 倍体分析、免疫组化和分子病理在浆膜腔积液中的应用进行综述,旨在为浆膜腔积液的临床诊治提供参考。

关键词:浆膜腔积液;肿瘤标志物;免疫细胞化学;DNA 倍体

中图分类号:R446.8

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.13.009

文章编号:1006-1959(2020)13-0030-05

Application Status of Cytological Diagnosis in Serous Cavity Effusion

LIANG Hai-hong

(Department of Pathology,Tianjin Port Hospital,Tianjin 300456)

Abstract: Cytological examination is an important method for diagnosing serous cavity effusion. It can not only evaluate the benign and malignant diseases, but also be used to judge the type, source, and prognosis of tumors. This article mainly reviews the application of preparation technology, tumor marker detection, DNA ploidy analysis, immunohistochemistry and molecular pathology in serous cavity effusion, aiming to provide reference for clinical diagnosis and treatment of serous cavity effusion.

Key words: Serous cavity effusion; Tumor markers; Immunocytochemistry; DNA ploidy

浆膜腔积液(*serous effusion*)是指胸腔、腹腔和心包腔内过多液体积聚形成,是临床上常见的良性或恶性疾病的并发症。浆膜腔积液良、恶性的诊断及鉴别诊断是临床的一个难题,细胞病理学检查是其诊断的重要方法。细胞病理学检测方法在不断改进,每种方法各有其优缺点,近几年 DNA 倍体分析方法的应用可以发现早期病变的肿瘤细胞,免疫细胞化学可以帮助判断肿瘤的类型及来源,分子病理可以帮助基因诊断及治疗,多种方法联合应用可提高诊断的准确率。本文对近年来浆膜腔积液诊断方法作一综述,旨在为该病的诊断与鉴别诊断提供参考。

1 传统涂片和液基薄层制片

合格的细胞涂片是细胞病理学诊断的基础,细胞涂片的主要制备方法包括两种:传统涂片法和液基薄层制片法。将送检积液标本离心后手工制成传统细胞涂片 HE 染色;也可以上机进行液基薄层制片,巴氏染色;两种方法均可通过显微镜观察初步做出有无恶性细胞或非典型细胞存在的诊断。传统涂片法是简单易行的一种方法,省时,成本低,基层医院即可实行;缺点:由于是人工涂片,会出现厚薄不均、大量红细胞及黏液混杂,造成背景不清晰,阳性检出率低。在整个制作涂片过程中,取样最为重要,根据标本性质的不同采用不同的处理方式是制作优质涂片的关键^[1]。有研究认为固定是制备合格细胞涂片的前提条件,涂片后即使在空气中暴露短短 30s,足以使部分细胞发生变性、肿胀,染色质不清,若干燥后再固定则所有细胞会出现退变。因此需要

及时湿固定,即涂片后立即置入 95%乙醇中,且涂片过程要迅速,不宜在空气中暴露^[2]。液基薄层细胞涂片是对传统涂片的一种改进,成本相对较高,但是制片过程采取了湿固定,具有细胞核、浆结构清晰,均匀分布于玻片,薄层,巴氏染色鲜艳,血液和粘液成分少,背景清晰等优点,利于显微镜观察诊断。禹乐等^[3]研究显示,液基薄层细胞涂片法恶性肿瘤确诊率为 30.8%,高于传统细胞涂片法的 11.2%,其在胸腹水诊断中可以提高恶性肿瘤的确诊率,且涂片质量、染色效果均优于常规涂片法。

2 肿瘤标志物检测

肿瘤标志物是肿瘤细胞产生的一些物质,可以在恶性肿瘤患者的血液、尿液、粪便或其他体液中检出。肿瘤标志物在肿瘤中的检测和治疗中发挥着越来越重要的作用^[4]。血清肿瘤标志物检测是最常用的方法,近年来浆膜腔积液肿瘤标志物的检测也越来越受重视。有研究比较患者血清及浆膜腔积液中肿瘤标志物的含量,发现浆膜腔积液中肿瘤标志物明显高于血清中含量^[5]。

癌胚抗原(CEA)是一种临床上常用的肿瘤标志物,常见于胃肠道恶性肿瘤,也见于乳腺癌、肺癌、宫颈癌、卵巢癌及其他一些非恶性病变,属于广谱肿瘤标志物。有研究显示恶性组胸腔积液及血清肿瘤标志物均高于良性组和对照组,CEA 是敏感性最高(41.6%),特异性最高(100%),准确率最高(74.1%)^[6];胸腔积液 CEA 诊断非小细胞肺癌的敏感性为 100%,胸腔积液和阴性胸腔细胞学患者胸腔积液 CEA 水平升高提示需要更具侵袭性的手术(如 VATS 引导的活检),而低胸腔积液 CEA 可能支持随访^[7]。有研究指出 CEA 是区分良恶性胸腔积液

作者简介:梁海红(1981.10-),女,河北肃宁人,硕士,主治医师,主要从事肿瘤的病理诊断工作

的最佳单一指标,CEA 和 CA15-3 比 CA125 和 CA19-9 更可靠地鉴别良恶性胸腔积液^[8]。CYFRA21-1 是细胞角蛋白 19 的片段,临床上主要用于非小细胞肺癌(NSCLC)的诊断^[9],研究显示胸腔积液 CYFRA 21-1 加 CEA、胸腔积液 CYFRA21-1 加血清 CYFRA21-1 的并行诊断大大提高了恶性胸腔积液诊断的敏感性和准确性^[10]。胸腔积液肿瘤标志物 CEA、CYFRA21-1 和 CA19-9 联合应用可将诊断肺腺癌敏感性提高到 95.06%^[11]。CYFRA21-1 与 CA125 联合应用诊断恶性腹水的敏感性为 65.5%,特异性为 96.5%,提高了恶性胸腔积液的诊断准确性^[12]。sB7-H4 即可溶性 B7-H4(Soluble B7-H4)属于 B7 家族成员,主要通过负向调控相关 T 细胞免疫过程而诱发癌变^[13]。有研究表明 sB7-H4 是鉴别良性胸腔积液和恶性胸腔积液的一个有价值的肿瘤标志物并且 sB7-H4 与 CEA 联合检测胸腔积液的敏感性为 90.91%,特异性为 97.62%^[14]。细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)作为 T 细胞活化的负性调节因子,与许多恶性疾病有着密切的关系。研究表明 CTLA-4 诊断恶性胸腔积液的敏感性和特异性分别为 58.30% 和 83.30%,CTLA-4、CEA 和 CYFRA 21-1 联合应用可使诊断敏感性提高到 88.89%^[15]。

因此早期进行肿瘤标志物检测对恶性浆膜腔积液的诊断有重要意义,多项指标联合应用可相互补充,从而提高良恶性浆膜腔积液鉴别诊断的敏感性和特异性。最新研究认为腹腔积液 CEA 对大肠癌患者的患腹膜癌几率和预后有一定的预测价值^[16]。有学者对 10836 名乳腺癌妇女进行队列研究,发现术前检测 CA15-3 和 CEA 水平可能有助于预测乳腺癌的生存率,并为 luminal A 和基底样亚型患者提供个性化的治疗策略^[17]。可见肿瘤标志物不仅辅助病理诊断,而且对恶性肿瘤的预后和治疗有重要意义。

3 DNA 倍体分析

每个正常的体细胞核内有 23 对染色体,只有增殖期的细胞才会有染色体的复制。在生理状态下,人体绝大多数的细胞处于静止期,除生殖细胞外,染色体数均为二倍体,DNA 含量恒定。当细胞处于 G1/G0 期时,细胞 DNA 指数为 1 或 2C(二倍体细胞);当细胞处于增殖期(G2/M 期)时,DNA 指数可倍增,表达为 2 或 4C(多为四倍体细胞)。当细胞受到致癌物刺激或 DNA 损伤时,导致细胞基因突变或染色体畸形断裂,细胞增殖早期细胞核内出现 DNA 含量,结构及染色体数量改变,即产生单条或多条染色体,成为异倍体,最终发展为细胞形态异常和恶性肿瘤^[18]。因此,DNA 异倍体的出现是染色体异常变化的标志,对胸腹水中细胞进行 DNA 倍体分析,不仅可以观察

正常细胞的周期变化,还可以及时发现恶性增殖的肿瘤细胞,可以用来鉴别诊断胸腹水的良恶性^[19]。目前,把 DNA 倍体分析应用于细胞学的方法有两种:流式细胞术 DNA 倍体分析(flow cytometry,FCM-DNA)和细胞图像 DNA 倍体分析(image cytometry,ICM-DNA)。

3.1 流式细胞术 DNA 倍体分析 先将积液制成单细胞悬液,然后加入 DNA 倍体分析试剂盒中的细胞膜穿透液,和 PIN 荧光染色剂,制成符合条件的细胞悬液,使用流式细胞仪进行 DNA 细胞周期分析(G0/G1,S,G2/M 期)及 DI 测定。利用激光激发结合在细胞核内 DNA 上的荧光染料,通过自动收集并多参数综合作用,得到的荧光强度反映 DNA 的含量,以相对荧光强度做为横轴,以细胞数为纵轴,即可得到一个直方图^[20]。测定结果以单参数直方图表示。FCM 检测良、恶性浆膜腔积液的判断标准^[21]:正常二倍体细胞的 DI 值为 0.9~1.1,其余均为异倍体即为恶性;有一个突出的四倍体峰和大于 15%的 S 期细胞,并伴有 G0/G1 期变异系数(CV)值大于 9%为恶性;G0/G1 期 CV 值增大,并伴有大于 10%~15%的 S 期和一个突出的四倍体峰,为可疑恶性。有研究显示,用流式细胞术 DNA 倍体分析检测浆膜腔积液的灵敏度为 78.6%,特异性为 80.0%,准确性为 79.2%,明显高于传统光学显微镜检查^[22]。流式细胞术 DNA 倍体分析相对细胞学检查对诊断良恶性浆膜腔积液的灵敏度更高,可作为细胞学检查的补充^[13]。但其也有一定的缺点:费用较昂贵,需要检验技术较高,检测后样本不能保存并进行重复性检测,不利于临床普及。

3.2 细胞图像 DNA 倍体分析 取浆膜腔积液标本液基制片,应用 Feulgen 染色法对细胞核染色,其中的 Schiff 试剂可与 DNA 分子特异性结合而着色,从而根据染色深浅及着色颗粒在核内分布等因素衡量 DNA 含量。细胞 DNA 定量分析系统可对每例标本中 4000 个以上细胞核进行自动聚焦,测定每个细胞核的 132 个核特征,自动进行细胞分类和计数,计算出细胞核的 DNA 倍体变化,确定是否有病变细胞及其所占比例。当 DI 值在 1.1~1.9,2.1~2.8 的细胞被认为是异倍体细胞,当异倍体细胞 DI 值在 1.1~1.9 形成峰值,或有 3 个以上细胞 DI 值>2.5(除外整倍体);或细胞 DI=2 的细胞数占被测细胞总数 10%以上时,即可诊断为恶性^[23]。所有被检测细胞中 DNA 倍体异常细胞,必须由人工对每一个异倍体细胞进行仔细核实,以排除系统将重叠的细胞核或垃圾误认为异常细胞。有研究表明,在可疑性渗出液中,ICM-DNA 的灵敏度可能高达 87.5%,在恶性肿瘤的检测中,ICM-DNA 优于流式细胞术^[24]。也有研究表明细胞图像 DNA 倍体分析对恶性积液的诊断敏感

性为 88.3%, 特异性为 100%, 是一种简单、实用、经济的恶性积液辅助诊断方法^[25]。因此 DNA 倍体分析可作为浆膜腔积液良恶性分析的重要指标, 其阳性结果可作为临床诊疗依据。与流式细胞术 DNA 倍体分析比较, 细胞图像 DNA 定量分析具有细胞玻片可长期保存并重复检测、检测敏感性更高、操作简单且人为因素影响小、价格适中、利于临床普及等优点。

4 免疫组织化学

免疫组织化学是组织病理学最常用的辅助诊断技术, 可以帮助判断肿瘤的良好性、组织来源及组织学亚型。近几年越来越多的研究集中在把免疫组织化学应用于细胞学上。常用免疫细胞化学 (ICC) 检测的抗体有: 上皮源性标记 CK (Pan)、EMA、MOC-31、BerEP4 等; 间皮细胞标记 CK5/6、WT-1、Calretinin、HBME-1、MC 和 D2-40 等; 淋巴细胞来源标记 LCA、CD3、CD20 等; 肺源性肿瘤 CK7、TTF-1、NapsinA 等; 卵巢来源 PAX-8、CK7、CA125、WT-1 等; 乳腺源性 GATA3、GCDFP-15、Mammaglobin、E-cadherin 等; 胃肠道来源 CEA、CDX-2、CK20 等。目前为止没有一种抗体对间皮或上皮细胞完全敏感或特异, 在判断每种细胞来源中, 至少需两种抗体联合应用。解建军等^[26]研究得出 D2-40、Calretinin、MOC-31 和 CEA 四种抗体联合应用, 对于间皮性病变更和转移腺癌诊断的灵敏度和特异度分别达到 99.2% 和 100.0%, 远远高于任何一种抗体的单独应用或其他抗体的组合应用, 可作为一线抗体联合应用。目前为止把免疫组织化学应用于细胞学主要有三种方法: ①细胞涂片退染后, 行 ICC 染色; ②同时制备多张涂片进行 ICC 染色; ③细胞块加 ICC 染色。

4.1 细胞涂片退染 经 HE 染色的涂片清除盖玻片, 置入二甲苯中脱胶, 梯度乙醇 (从高浓度至低浓度) 水化, 蒸馏水洗涤; 1% 的盐酸乙醇浸泡 3 min, 水洗后待用做 ICC。赵银环等^[27]通过利用唇膏和金刚笔正反划分区域在细胞 HE 涂片褪色后做 ICC 标记, 最多可以用八分格在一张涂片上做 8 项 ICC 染色, 其定位准确。但是常规涂片做 ICC 时, 常会出现背景深、非特异性着色、出现假阳性, 易掉片等缺点, 因此操作有一定难度。

4.2 制备多张涂片行 ICC 染色 在薄层液基制片的基础上行 ICC 染色, 同一标本可制作多张涂片, 一张用于 HE 染色, 其余用于 ICC 染色, 先存于 -20℃ 冰箱备用。根据 HE 病变特点判断 ICC 的抗体的选择。与常规涂片相比, 液基制片具有背景清晰, 细胞分布均匀, 厚薄一致, 且同一标本可制作多张涂片, 便于抗体组合应用。赵乐通过研究发现应用薄层液基涂片及 ICC 相结合方法, 采用 CR、HMBE-1、

WT1、CDX2、E-cadherin、GLUT1 六种抗体组合应用对胸腹水中腺癌细胞与增生间皮细胞鉴别诊断很有帮助^[28]。但由于液基制片后, 每张切片细胞种类和分布会有所差异, 可致使抗体的选择应用准确率降低。

4.3 细胞块加 ICC 技术 对胸腹腔积液进行离心, 然后取沉淀物包埋, 对于肉眼有凝集物者可直接包埋, 然后脱水, 石蜡包埋成细胞块。与传统涂片制片相比, 细胞块切片 HE 染色提供了更好的与组织学非常相似的形态结构, 从而提高了细胞诊断的敏感性^[29]。细胞蜡块能长期保存及重复使用, 可以继续做 ICC 及基因检测, 更能有效满足临床诊断和确定治疗方案的要求。细胞蜡块联合 ICC 可以连续多张切片, 有利于多种抗体组合运用; 背景干净, 细胞集中, 定位准确, 可重复性高; 可以帮助细胞分型, 降低了漏诊率。细胞块结合 ICC 技术明显提高了胸水恶性肿瘤的检出率, 同时为靶向治疗尤其是腺癌分子遗传学分析提供了材料^[30]。Woo CG 等^[31]研究得出常规应用细胞蜡块和 CEA 染色结合液基细胞学可提高恶性胸腔积液诊断的敏感性和特异性, 提高诊断的准确性。

林梅英等^[32]研究认为细胞蜡块检测虽具有可重复性和可长期保存的优点, 但在实际工作中常会遇到细胞数量少或者难以发现涂片中可疑细胞团的情况, 这时就需要使用涂片褪色后行免疫组化染色的方法帮助诊断。因此以上 3 种方法可以互相配合使用, 能够提取细胞蜡块的标本首选细胞蜡块结合 ICC 诊断, 若细胞沉渣过少, 推荐同时应用传统涂片或 TCT 退染两种方法, 以提高阳性率^[33]。

5 分子病理

随着分子病理学的发展, 使得恶性浆膜腔积液患者尤其是晚期不能进行手术的患者对症治疗得以实现。细胞蜡块成为能进一步进行分子检测, 明确治疗方案, 判断预后, 可进行回顾性研究的材料。现就目前常用的分子检测技术总结如下。

5.1 FISH 技术 是利用已知核酸序列制备探针, 先以非放射性物质标记或用荧光素直接标记探针, 探针与靶 DNA 进行杂交, 再通过免疫细胞化学反应连接上荧光素标志物, 然后在荧光显微镜下观察杂交信号, 对标本中待测核酸进行定性、定量和定位分析的方法。有学者用 FISH 检测了 137 例 NSCLC 患者胸腔积液细胞蜡块间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 基因重排情况, 结果有 11.7% 发生了 ALK 重排, 认为 FISH 检测细胞学标本中的 ALK 基因重排是筛选 NSCLC 适合靶向治疗晚期患者的敏感方法^[34]。

5.2 RT-PCR 逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 通过逆转录 (RT) 将 RNA 转化为 cDNA, 然后通过聚合

酶链式反应(PCR)扩增 cDNA。常见应用包括表达基因检测、转录物变异检测,以及克隆和测序用 cDNA 模板制备。Nakamichi S 等^[35]采用 RT-PCR 方法对肺癌患者的细胞学标本进行间变性淋巴瘤激酶(ALK)易位分析,发现 3% 阳性,RT-PCR 阳性的 4 份标本同时进行 IHC 和 FISH 检测,均为阳性,认为 RT-PCR 是检测原发性肺癌细胞 ALK 易位的一种有效方法。ALK 抑制剂克唑替尼和阿来替尼均可用于晚期 ALK 阳性非小细胞肺癌患者的一线治疗,客观缓解率和无进展生存时间显著优于含铂化疗,并改善患者的生活质量^[36]。

5.3 第二代测序(NGS) 利用高保真 DNA 聚合酶生成与单链 DNA 模版互补的拷贝。在每个反应中,一个可以特异性识别模版的单链引物,可以从 3 端开始启动 DNA 合成,根据碱基互补配对原则,脱氧核糖核苷酸或简单的核苷酸是一个接一个的与模版配对。Gornjec A 等^[37]用第二代测序-NGS 法研究输卵管卵巢高级别浆液性癌 BRCA1/2 基因突变中发现细胞学和组织学标本 BRCA1/2 突变检测结果一致性为 100%,具有足够比例肿瘤细胞的细胞学标本可用于 HGSC 患者 BRCA1/2 基因突变分析,并能更快地处理基因分型,而 BRCA 突变的患者可以用聚(ADP-核糖)聚合酶抑制剂(PARPI)治疗。

6 总结

对良恶性浆膜腔积液的诊断及鉴别诊断是细胞学研究的重点课题,单靠一项指标对恶性浆膜腔积液的诊断都存在误诊和漏诊的问题,为提高对恶性浆膜腔积液的诊断率,一般提倡多项指标联合检测并综合分析。因此在细胞学检测作为基础,联合肿瘤标志物检测、DNA 倍体分析,细胞蜡块和免疫组化多项指标联合检测可达到提高诊断准确率的目的。分子技术的发展有效指导了肿瘤的分子靶向治疗,为恶性肿瘤患者提供了一条新的诊断和治疗途径。

参考文献:

[1]陈肖霞.探讨如何制作优质胸腹水涂片[J].医学信息,2015,28(21):337.
 [2]王全志,丁伟,田少华.浆膜腔脱落细胞学制片方法质量控制的对比研究[J].诊断病理学杂志,2015,22(1):60-62.
 [3]禹乐,孟加榕,朱启滢,等.液基薄层细胞涂片在胸腹水诊断中的应用价值[J].山西医科大学学报,2017,48(2):149-152.
 [4]Faria SC,Sagebiel T,Patnana M,et al.Tumor markers:myths and facts unfolded [J].Abdominal Radiology,2018 (44):1575-1600.
 [5]张盟,王宗兰,杨东昌,等.肿瘤标志物检测在良恶性胸腹水鉴别价值研究[J].国际免疫学杂志,2015,38(4):340-342.
 [6]Pasaoglu G,Zamani A,Can G,et al.Diagnostic Value Of CEA, CA19-9,CA125 And CA15-3 Levels In Malignant Pleural Fluids[J].European Journal of General Medicine,2015,4(4):165-171.

[7]Tozzoli R,Basso SM,D'Aurizio F,et al.Evaluation of predictive value of pleural CEA in patients with pleural effusions and histological findings:A prospective study and literature review[J].Clin biochem,2016,49(16-17):1227-1231.
 [8]Zhai K,Wang W,Wang Y,et al.Diagnostic accuracy of tumor markers for malignant pleural effusion:a derivation and validation study[J].J Thorac Dis,2017,9(12):5220-5229.
 [9]Kanaji N,Kadota K,Tadokoro A,et al.Serum CYFRA 21-1 but not Vimentin is Associated with Poor Prognosis in Advanced Lung Cancer Patients [J].Open Respir Med J,2019(13):31-37.
 [10]Gu Y,Qiao X,Wang L,et al.The diagnostic value of parallel detection of cytokeratin 19 fragment-based tumor markers in malignant pleural effusion:a systematic review and metaanalysis [J].Biomedical Research,2017,28(18):8105-8114.
 [11]Feng M,Zhu J,Liang L,et al.Diagnostic value of tumor markers for lung adenocarcinoma-associated malignant pleural effusion:a validation study and meta-analysis [J].Int J Clin Oncol,2017,22(2):283-290.
 [12]Trapé J,Gurt G,Franquesa J,et al.Diagnostic Accuracy of Tumor Markers CYFRA21-1 and CA125 in the Differential Diagnosis of Ascites [J].Anticancer research,2015,35 (10):5655-5660.
 [13]Sica GL,Choi IH,Zhu G,et al.B7-H4,a molecule of the B7 family,negatively regulates T cell immunity[J].Immunity.2003,18(6):849-861.
 [14]Jing X,Wei F,Li J,et al.Diagnostic value of soluble B7-H4 and carcinoembryonic antigen in distinguishing malignant from benign pleural effusion[J].Clin Respir J,2018,12(3):986-990.
 [15]Chen M,Xie S,Wan C,et al.Diagnostic performance of CT-LA-4,carcinoembryonic antigen and CYFRA 21-1 for malignant pleural effusion[J].Postgrad Med,2017,129(6):644-648.
 [16]Kim BC,Bae JH,Park SM,et al.Is ascites CEA a risk factor for peritoneal carcinomatosis in colorectal cancer:a long-term follow-up study[J].Int J Colorectal Dis,2020,35(1):147-155.
 [17]Li J,Liu L,Feng Z,et al.Tumor markers CA15-3,CA125,CEA and breast cancer survival by molecular subtype:a cohort study[J].Breast Cancer,2020,27(4):621-630.
 [18]Gordon DJ,Resio B,Pellman D.Causes and consequences of aneuploidy in cancer[J].Nat Rev Genet,2012,13(3):189-203.
 [19]王应霞,张旋,吴莹莹,等.液基细胞学检测联合 DNA 倍体分析在良恶性胸腹水鉴别诊断中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2016,32(10):1152-1155.
 [20]胡艳芬,陈龙,荆超,等.流式细胞术检测 DNA 倍体数对鉴别良恶性肿瘤价值的 Meta 分析[J].中国医科大学学报,2015,(2):136-142.
 [21]何秋阳,钟国梁,杨国顺,等.DNA 倍体分析与细胞学检测对良恶性浆膜腔积液诊断的比较[J].实验与检验医学,2018,36(3):317-319.
 [22]He Z,Li Y,Wang W.Combination of flow cytometry and image cytometry for detecting DNA aneuploidy and improving the diagnostic efficiency of effusion (Article)[J].Anal Quant Cy-

- topathol Histopathol,2018,40(2):85-90.
- [23]孙小蓉,汪键.DNA 定量细胞学[M].武汉:湖北科学技术出版社,2011:135-148.
- [24]AGJM Hanselaar.Additional techniques in serous effusions[J]. Anal Cell Pathol,2002,24(1):1-4.
- [25]Meng Z,Shi J,Zhu C,et al.Automated quantification of DNA aneuploidy by image cytometry as an adjunct for the cytologic diagnosis of malignant effusion[J].Anal Cell Pathol(Amst), 2013,36(3-4):107-115.
- [26]解建军,敖腾巴雅尔,张永欢.可疑恶性浆膜腔积液细胞块中免疫组织化学抗体的应用[J].中华病理学杂志,2018,47(11): 858-860.
- [27]赵银环,杜芸,王珩,等.细胞 HE 涂片褪色后行免疫细胞化学的改良技术[J].临床与实验病理学杂志,2016,32(1):106-107.
- [28]赵乐.细胞学胸腹水腺癌与间皮细胞的鉴别诊断[J].辽宁医学杂志,2019(5):12-14.
- [29]Ranade RS,Reddy P,Giriyan SS.Cytological Diagnosis Of Serous Effusion By Comparative Approach Of Routine Staining And Modified Cell Block Technique [J].J Evid Based Med, 2018,5(3):229-232.
- [30]Güldaval F,Anar C,Polat G,et al.Contribution of Cell Block Obtained by Thoracentesis in the Diagnosis of Malignant Pleural Effusion[J].J Cytol,2019,36(4):205-208.
- [31]Woo CG,Son SM,Han HS,et al.Diagnostic benefits of the combined use of liquid-based cytology,cell block,and carcinoembryonic antigen immunocytochemistry in malignant pleural effusion[J].J Thorac Dis,2018,10(8):4931-4939.
- [32]林梅英,李伟,王伟源.免疫组化染色在肺腺癌胸水涂片褪色后的应用研究[J].临床肺科杂志,2018,23(3):410-412.
- [33]马晓燕,王敏,李静,等.肺癌胸水多种制片法与免疫细胞化学的联合应用[J].诊断病理学杂志,2018,25(11):770-775.
- [34]Li W,Zhang Z,Guo L,et al.Assessment of cytology based molecular analysis to guide targeted therapy in advanced non-small-cell lung cancer[J].Oncotarget,2016,7(7):8332-8340.
- [35]Nakamichi S,Seike M,Miyayama A,et al.RT-PCR for detecting ALK translocations in cytology samples from lung cancer patients[J].Anticancer Res,2017,37(6):3295-3299.
- [36]中国非小细胞肺癌 ALK 检测模式真实世界多中心研究专家组,中华医学会病理学分会分子病理学组.中国非小细胞肺癌 ALK 检测临床实践专家共识 [J]. 中华病理学杂志,2019,48(12):913-920.
- [37]Gornjec A,Novakovic S,Stegel V,et al.Cytology material is equivalent to tumor tissue in determining mutations of BRCA1/2 genes in patients with tubo-ovarian high grade serous carcinoma[J].BMC Cancer,2019,19(1):296-396.

收稿日期:2020-03-16;修回日期:2020-04-15

编辑/成森