

宫颈细胞蜡块制作方法在宫颈病变筛查中的比较研究

苏纳敏, 易驰喆, 黄灵泉, 张雪梅

(柳州市工人医院病理科, 广西 柳州 545005)

摘要:目的 比较三种不同的细胞蜡块制作方法在宫颈病变筛查中的作用, 探索更好的宫颈细胞蜡块制作方法, 提高诊断准确率, 使患者在早期筛查中得到合理分流。方法 收集柳州市工人医院 2018 年 1 月~12 月妇科宫颈液基细胞学检测(TCT)剩余样本 270 例, 其中炎症、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、鳞状细胞癌(SCC)的病例, 分别为 148 例、35 例、72 例、15 例。将同一样本分为 3 份, 分别用传统琼脂包埋法、琼脂温箱凝固包埋法、琼脂冷冻凝固包埋法进行细胞蜡块制备。比较三种方法制片效果、诊断阳性率及诊断的符合率。结果 三种细胞蜡块制备方法对高级别以上病变筛查阳性率与 TCT 诊断结果比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 传统琼脂包埋法的符合率较低, 与另外两种琼脂包埋法比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 琼脂温箱包埋法与琼脂冷冻包埋法诊断符合率较高, 两者比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 琼脂冷冻包埋法细胞更集中、平铺, 制作简便。结论 宫颈细胞蜡块制备可以辅助宫颈病变早期分流, 琼脂冷冻包埋法是一种较好的宫颈细胞制备方法。

关键词: 宫颈病变; 琼脂; 细胞蜡块

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.07.049

文章编号: 1006-1959(2021)07-0170-04

Comparative Study on the Methods of Making Cervical Cell Wax Blocks in the Screening of Cervical Lesions

SU Ne-min, YI Chi-zhe, HUANG Ling-quan, ZHANG Xue-mei

(Department of Pathology, Liuzhou Workers' Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China)

Abstract: Objective To compare the effects of three different methods of making cell wax blocks in the screening of cervical lesions, to explore better methods of making cervical cell wax blocks, to improve the diagnostic accuracy, and to allow patients to get a reasonable shunt in the early screening. Methods 270 remaining samples of gynecological cervical liquid-based cytology (TCT) were collected from Liuzhou Workers Hospital from January to December 2018, including inflammation, low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), squamous cell carcinoma (SCC) cases, 148 cases, 35 cases, 72 cases, and 15 cases respectively. The same sample was divided into 3 parts, and the cell wax block was prepared by the traditional agar embedding method, agar incubator coagulation embedding method, and agar freezing coagulation embedding method. Compare the film production effects, diagnostic positive rate and diagnostic coincidence rate of the three methods. Results There was no statistically significant difference in the positive rate of three cell wax preparation methods for screening high-grade lesions and above with the TCT diagnosis results ($P>0.05$); The coincidence rate of the traditional agar embedding method was relatively low. Compared with the other two agar embedding methods, the difference was statistically significant ($P<0.05$); The diagnostic coincidence rate between agar incubator embedding method and agar freezing embedding method was higher, and the difference between the two was not statistically significant ($P>0.05$); The agar freezing embedding method was more concentrated, flat, and easy to make. Conclusion The preparation of cervical cell wax block can assist in the early shunting of cervical lesions. Agar freezing embedding method is a better method for preparing cervical cells.

Key words: Cervical lesions; Agar; Cell wax block

子宫颈癌(cervical cancer)是妇科常见的恶性肿瘤,也是威胁亚洲妇女健康的第2大恶性肿瘤^[1]。宫颈液基细胞学检查方法的出现,为宫颈癌癌前病变及早癌筛查提供了重要手段。然而,液基细胞学检测易受主观影响,部分患者可能因非典型鳞状细胞(ASC-UC)被漏诊或因过度诊断而被分流至不必要的活检检查^[2,3],对其身体及心理均造成一定影响。研究显示^[4],利用宫颈液基细胞学标本制作成细胞蜡块能够有效收集细胞,对于液基细胞学可疑阳性的病例进一步进行免疫组化检测,可以协助提高诊断的准确性,为临床进一步分流患者提供可靠的依据^[5-7]。传统的琼脂包埋法^[8]是常用的细胞蜡块制备方法,顾维娜等^[9]在传统方法的基础上进行改良,

使细胞更加集中,通过放入温箱使琼脂凝固,取得了较好的制片效果(以下称琼脂温箱凝固包埋法),本研究在两者的基础上,优化凝固条件,保持细胞集中平铺,简化流程,旨在为后续的免疫组化及分子病理检测提供可能,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 收集柳州市工人医院病理科 2018 年 1 月~12 月经宫颈液基细胞学检查(TCT)剩余细胞学标本 270 例,其中经组织活检诊断为炎症、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、鳞状细胞癌(SCC)的病例分别为 148 例、35 例、72 例、15 例。

1.2 方法 将检测剩余的宫颈液基细胞样本平均分为 3 份,倒入对应编号的离心管中,以 2000 rpm 离心 10 min 收集细胞,分别用传统琼脂包埋法、琼脂温箱凝固包埋法、琼脂冷冻凝固包埋法进行细胞蜡块制备。3 种细胞蜡块制备完成后均进行常规切片,HE 染色,由 2 位高年资病理医师共同阅片诊断。

基金项目:广西卫健委课题(编号:Z20170913)

作者简介:苏纳敏(1987.11-),女,广西柳州人,本科,技师,主要从事病理技术工作

通讯作者:张雪梅(1983.10-)女,山西孝义人,硕士,副主任医师,主要从事病理诊断及分子病理研究

1.2.1 传统琼脂包埋法 用吸管吸取上清液弃掉;取 60 ℃ 3%琼脂 1 滴滴入离心管中,摇动使琼脂与细胞充分混合,将离心管置于 4 ℃冰箱 20 min;待混合液呈凝胶状后取出,用包埋纸包好,按常规石蜡包埋制作细胞蜡块。

1.2.2 琼脂温箱凝固包埋法^[9] 用吸管吸去大部分上清液,余留高于沉渣 1 cm 的液体,混匀细胞悬液;将一滴 60 ℃ 3%的琼脂滴在胃镜包埋盒的小槽中,使琼脂均匀铺满小槽内,并置于 60 ℃温箱 2 min;吸取全部细胞悬液于包埋盒的小槽,放置温箱 4 min;待细胞沉渣凸面变为凹面时,在胃镜包埋盒的小槽内再次滴加琼脂,直至覆盖沉渣表面少许,再次将包埋盒放入温箱 2 min;包埋盒置于冰箱冷冻仓冷冻 3 min 后,将琼脂块取出,用包埋纸包好,按照常规石蜡包埋制备细胞蜡块。

1.2.3 琼脂冷冻凝固包埋法 吸取 1 滴滴入 60 ℃ 3%的琼脂滴在小号包埋盒中,使琼脂均匀平铺于包埋盒,置于冰箱冷冻仓 3 min,使琼脂凝固;用吸管吸去离心管上清液,将细胞沉渣吸出尽可能平铺于凝固的琼脂中心后在包埋盒中再次滴加琼脂至刚好覆盖沉渣完全,包埋盒放入冰箱冷冻仓 3 min 后,将琼脂块取出,按照常规石蜡包埋制备细胞蜡块。

1.3 观察指标及评价标准 比较 3 种方法制片效果、

诊断阳性率及诊断的符合率。细胞学:参照《子宫颈细胞学 Bethesda 报告系统》(第 2 版)标准。组织学:依据 2014 年第 4 版 WHO 女性生殖器官肿瘤分类标准分为:炎症、低级别低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)及鳞状细胞癌(SCC)。以活检组织学诊断为金标准,以发现高级别鳞状上皮内病变及鳞状细胞癌为阳性。

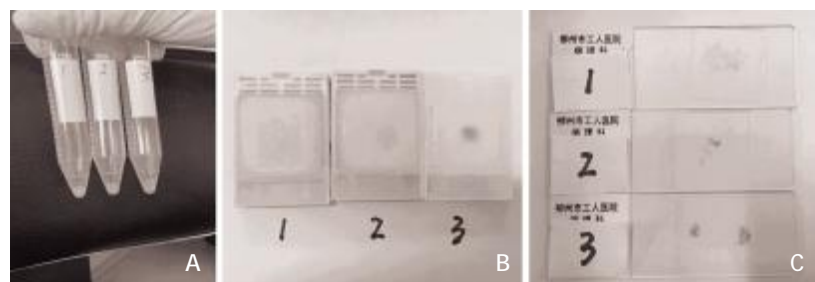
1.4 统计学方法 数据使用 SPSS 19.0 软件分析,计数资料使用[n(%)]表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 蜡块及切片制作效果

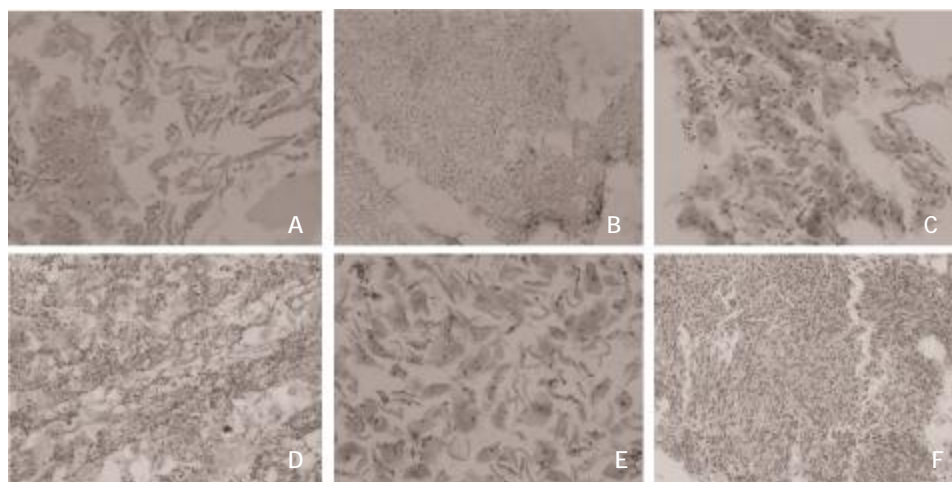
2.1.1 肉眼观察 利用传统琼脂包埋法制作的细胞蜡块因细胞与琼脂混杂,细胞较分散,肉眼观组织轮廓不清晰,琼脂温箱凝固包埋法及琼脂冷冻凝固包埋法所制的细胞蜡块因细胞沉渣被琼脂包裹于中心,细胞较集中,组织轮廓清晰,见图 1。

2.1.2 显微镜下观察 传统琼脂包埋法细胞较分散,背景混杂琼脂无定型物,每张切片能够观察到的细胞较少,另外两种方法制成的切片细胞相对集中,观察细胞数量较多,其中琼脂冷冻凝固包埋法较琼脂温箱凝固包埋法细胞更加集中和平铺,所观察的细胞数也更多,见图 2。



注:A:将液基细胞标本 3 等分,置于离心管;B:3 种方法制成的细胞蜡块;C:3 种方法制备的 HE 染色切片

图 1 三种细胞蜡块制备方法蜡块及切片肉眼观



注:A、B:传统琼脂包埋法,细胞分散,量少,背景可见琼脂无定型物($\times 100, \times 40$);C、D:琼脂温箱凝固包埋法,细胞较集中,重叠较多($\times 100$);E、F:琼脂冷冻凝固包埋法,细胞集中,平铺,易见片状脱落的细胞($\times 100$)

图 2 三种细胞蜡块制备方法的 HE 染色切片显微镜下形态

2.2 操作过程及用时 传统琼脂包埋法操作简单,但琼脂及细胞混合物凝固时间较后2种长;琼脂冷冻凝固法相对琼脂温箱凝固法操作步骤简单,用时较短。

2.3 筛查阳性率及诊断符合率 3种方法每组各270例标本,细胞蜡块制作均满意,TCT及3种细胞蜡块制备法诊断阳性率分别为25.92%(70/270)、24.44%(66/270)、27.41%(74/270)、30.00%(81/270),3种细胞蜡块制备方法诊断阳性率分别与TCT结果相比,

差异无统计学意义($P>0.05$);3种方法与其诊断符合率分别为86.67%(234/270)、92.59%(250/270)、95.93%(259/270),与后2种细胞蜡块制备法相比,传统琼脂包埋法诊断符合率较低,差异有统计学意义($P<0.05$),琼脂温箱凝固包埋法与琼脂冷冻凝固包埋法与组织病理诊断符合率较高,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 TCT、三种细胞蜡块制备法以及组织活检结果(n)

诊断项目	活检	TCT	传统琼脂包埋法	琼脂温箱凝固包埋法	琼脂冷冻凝固包埋法
炎症	148	148	148	148	148
LSIL	35	18	20	28	30
HSIL	72	56	58	63	68
SCC	15	14	8	11	13

3 讨论

目前对于宫颈癌前病变的筛查最常用的方法是液基细胞学检查,因其取材简单,操作方便,易于观察被临床广泛使用^[10],然而对于部分可疑阳性的病例,临床处理过程中,部分患者被建议3~6个月后复查,部分被分流至宫颈活检及进一步行免疫组化检测协助诊断,极易漏诊或过度处理^[11],同时对患者身心都造成一定影响,因此有必要探索一种既能在早期提高宫颈病变筛查的准确率,又操作简单便捷的方法,如何充分有效利用细胞学标本显得尤为重要。液基细胞的保存有一定的时限性,且需要耗费的资源及成本较高,研究显示细胞蜡块技术可弥补这一缺陷,并且有助于提高细胞病理学诊断的敏感性和特异性^[12]。将TCT剩余标本制作成细胞蜡块,能够收集更多刷取的脱落细胞,实现组织学重构,便于反复、连续切片,并为进一步免疫组化及分子检测提供可能,为细胞学诊断提供更多依据,大大提高了细胞学诊断及分流的时效性及可能性。

宫颈液基细胞不同于胸腹水具有纤维蛋白网罗细胞的功能,宫颈液基细胞标本细胞含量较少且较为松散,制作细胞蜡块时细胞沉渣的收集及取出比较困难。文献报道的传统琼脂包埋法^[9]是在离心管内滴加琼脂,将细胞沉渣及琼脂混合后取出混合物。本研究发现在滴加琼脂的过程中,细胞沉渣被琼脂冲散,琼脂与细胞混合物不易成形、细胞分散、不易成团、切片时细胞难以处于同一平面,导致可观察的细胞数较少,同时镜下易出现琼脂无定型物背景,影响观察及诊断。顾维娜等^[9]报道的琼脂温箱凝固包埋法相比传统琼脂包埋法,采用琼脂上下包裹细胞,使细胞聚集在一定范围内,易于观察切片。然而本研究发现采用温箱蒸发凝固胃镜包埋盒中平铺的琼脂时,由于水分的蒸发,琼脂表面会凹凸不平,局部下陷,再将细胞放入琼脂表面时,也将造成细胞分布

层次不一,影响切片观察,并且整个操作过程步骤较多,较费时。

本研究在上述琼脂温箱凝固包埋法的基础上,经过改良,优先快速冷冻凝固底层琼脂使其产生一个平面,将细胞沉渣平铺于琼脂平面上,保证了细胞团块的集中和平整,有利于切片,可以减少蜡块修整导致的细胞含量损失,后将表层琼脂覆盖并快速冷冻凝固,易于将琼脂块整体取出,切片后细胞量多,集中、平铺,制片效果好,且操作过程简单省时,是一种较好的宫颈细胞蜡块制备方法。

对细胞蜡块诊断数据分析显示:TCT及3种细胞蜡块制备法诊断阳性率分别为25.92%、24.44%、27.41%及30.00%,差异无统计学意义($P>0.05$),提示细胞蜡块对于宫颈病变筛查阳性率与TCT结果相仿,可以作为除TCT外的选择,并通过后续免疫组化及分子病理检测进一步对病变进行分流,这一结论与朱勇等^[12]的研究结果一致。此外,与后2种细胞蜡块制备法相比,传统琼脂包埋法与组织活检诊断符合率较低,琼脂温箱凝固包埋法与琼脂冷冻凝固包埋法与组织病理诊断符合率较高,差异无统计学意义($P>0.05$),提示经过改良后的2种琼脂凝固包埋法均较传统琼脂包埋法有助于提高诊断的准确率,虽然2种改良后的方法在诊断准确率上无明显差异,但琼脂冷冻凝固包埋法在操作便捷及用时方面优于琼脂温箱凝固包埋法。

综上所述,可以考虑将宫颈液基细胞蜡块制备技术作为TCT替代方案,不仅可以提高早期宫颈病变筛查的准确性,同时也为部分需要进一步明确诊断的患者提供了检测机会,如通过对细胞蜡块P16及Ki-67表达情况可以早期发现宫颈高级别上皮内病变,避免不必要的创伤性活检及漏诊,为患者节约了检测成本,减轻了患者身心负担。琼脂冷冻凝固包埋法是一种较好的宫颈细胞蜡块制备方法。

参考文献:

- [1] Lertkhachonsuk AA, Yip CH, Khuhaprema T, et al. Cancer prevention in Asia: resource-stratified guidelines from the Asian Oncology Summit 2013 [J]. *Lancet Oncology*, 2013, 14(12): e497-e507.
- [2] 王新艳, 陈少敏. 宫颈杂交捕获二代人乳头瘤病毒 DNA 检测与液基细胞学诊断效能比较 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2013, 29(10): 818-819.
- [3] Kassa RT. Risk factors associated with precancerous cervical lesion among women screened at Marie Stops Ethiopia, Adama town, Ethiopia 2017: a case control study [J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 145.
- [4] 孙蕾蕾, 李绍条, 骆珍珍. 细胞蜡块在宫颈液基细胞学中的应用及研究 [J]. *浙江创伤外科*, 2017, 22(6): 1037-1039.
- [5] 吴晓超. 薄层液基细胞学检查联合阴道镜检查在宫颈癌前病变筛查中的应用价值 [J]. *临床合理用药*, 2019, 12(12): 156-158.
- [6] 张双丽, 宋丽, 刘军. 阴道镜联合 p16/Ki-67 双染对不典型鳞状细胞诊断的应用价值 [J]. *肿瘤学杂志*, 2020, 26(1): 75-77.
- [7] Onuma T, Tajima K, Sato K, et al. Clinical significance of atypical squamous cells of undetermined significance after treatment for cervical intraepithelial grade 3 neoplasia: a retrospective single center cohort study [J]. *Molecular & Clinical Oncology*, 2017, 7(6): 1032-1038.
- [8] 曹跃华, 杨敏, 陈隆文, 等. 细胞病理学诊断图谱及实验技术 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2009: 411-412.
- [9] 顾维娜, 于伟, 徐双双, 等. 子宫颈液基细胞蜡块的制作方法 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015(7): 826-827.
- [10] 郑国华, 代云, 蒋丽, 等. 宫颈液基薄层细胞学检测技术联合阴道镜在宫颈癌前病变筛查中的应用价值 [J]. *河北医药*, 2017, 39(4): 524-527.
- [11] Tai YJ, Chen YY, Hsu HC, et al. Risks of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or invasive cancers in ASCUS women with different management: a population-based cohort study [J]. *Journal of Gynecologic Oncology*, 2018, 29(4): e55.
- [12] 朱勇, 高浩, 贺其志, 等. 宫颈脱落细胞蜡块在宫颈病变初筛中的作用 [J]. *同济大学学报(医学版)*, 2018, 39(5): 54-59.

收稿日期: 2020-10-13; 修回日期: 2020-10-25

编辑/宋伟