

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.15.024  
文章编号: 1005-8982 (2018) 15-0110-04

## 不同检查方法对乳腺癌侵犯 NAC 临床检出率的影响

董良鹏, 张景航

(新乡医学院第一附属医院 河南 新乡 453100)

**摘要: 目的** 探讨不同检查方法对乳腺癌侵犯乳头乳晕复合体 (NAC) 临床检出率的影响。**方法** 收集 240 例女性原发性乳腺癌患者病理标本, 分为观察组与对照组, 每组各 120 例。对照组于乳头的正中矢状面取材, 取材深度 5 mm, 观察组取乳头与乳晕皮肤以及连同皮下 10 mm 的整块组织, 采用自创 5 刀法取材; 两组均分别经常规苏木精-伊红染色 (HE) 及免疫组化染色 (IHC) [细胞角蛋白 19 (CK-19) 为目标蛋白] 处理后镜检。**结果** 观察组经 HE 及 IHC 处理后的检出率分别为 8.33% 与 24.17%, 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 对照组经 HE 及 IHC 处理后的检出率分别为 6.67% 与 8.33%, 两者比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 经 HE 处理后, 两组患者检出率比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 经 IHC 处理后, 观察组检出率高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 样本经 IHC 处理可观察到 NAC 的微侵犯灶。**结论** 采用乳头矢状面 5 刀法取材, 联合以 CK-19 为目标蛋白的 IHC 检查可提高乳腺癌侵犯 NAC 检出率, 更准确地反应乳腺癌 NAC 受累的真实情况。

**关键词:** 乳腺癌; 乳头乳晕复合体; 标本取材; 免疫组织化学法  
**中图分类号:** R737.9 **文献标识码:** A

## Effect of different examination methods on clinical detection rate of nipple-areolar complex invasion in breast cancer

Liang-peng Dong, Jing-hang Zhang

(The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453100, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of different examination methods on the clinical detection rate of nipple-areolar complex (NAC) invasion in breast cancer. **Methods** A total of 240 pathological specimens of primary breast cancer were divided into observation group and control group, with 120 cases in each group. The specimens were taken from the median sagittal plane in the control group for depth of 5 mm, and those in the observation group were taken from the nipple and areola skin and subcutaneous tissue together with the whole 10 mm by homemade 5 blade. The two groups were treated with regular HES and IHC (CK-19 as target protein) and microscopically examined after the treatment. **Results** The detection rates in the observation group by HES and IHC were respectively 8.33% and 24.17%, and the detection rate by IHC was significantly higher than that by HES ( $\chi^2 = 9.052$ ,  $P = 0.008$ ). The detection rates in the control group by HES and IHC were 6.67% and 8.33%, and the detection rate by IHC was not statistically significantly higher than that by HES ( $\chi^2 = 1.076$ ,  $P = 0.087$ ).

After HES, the detection rate was not significantly different between the two groups ( $\chi^2 = 0.240, P = 0.103$ ). After IHC, the detection rate in the observation group was significantly higher than that of control group ( $\chi^2 = 11.375, P = 0.002$ ). NAC micro invasive lesions can be observed in sample treated by IHC. **Conclusion** Papillary sagittal 5 blade combined with IHC examination with CK-19 can improve detection rate of NAC invasion in breast cancer, which can more accurately reflect the involvement of NAC in breast cancer.

**Keywords:** breast cancer; nipple-areola complex; specimen collection; IHC

近 100 年来, 乳腺癌的临床手术方式不断演变与革新。当今, 肿瘤完整切除与乳房外形美容效果并重的理念在乳腺癌术式发展趋势中愈发成为主流。其中, 乳头乳晕复合体 (nipple-areola complex, NAC) 被保留, 对重建后好的乳房外形美容效果具有重要影响。作为一种全身性疾病, 乳腺癌在发病早期, 可通过血液发生远处转移<sup>[1-2]</sup>; NAC 归属于乳腺导管系统, 将其保留意味着在一定程度增加残留癌的风险。行保留 NAC 乳房切除术 (nipple-areola complex sparing mastectomy, NSM) 即乳腺癌改良根治术, 预知 NAC 受癌侵犯的概率非常必要。然而关于乳腺癌侵犯 NAC 的临床检出率相关报道有差异, 2008 ~ 2014 年的文献显示为 8.9% ~ 28.0%, 平均 16.7%<sup>[3-14]</sup>。有学者指出, NAC 的不同病理标本获取方式及检查方法是影响乳腺癌侵犯 NAC 临床检出率的重要因素<sup>[12]</sup>。本研究采用两种不同的 NAC 取材方法, 分别经苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色与免疫组织化学法 (简称免疫组化) 染色 (immunohistochemistry, IHC), 旨在考察不同检查方法对乳腺癌侵犯 NAC 临床检出率的影响, 继而为临床乳腺癌患者接受 NSM 术治疗提供可行性参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月-2016 年 11 月在本院接受乳腺癌根治术治疗的原发性乳腺癌女性患者病理标本 240 例, 采用随机数字表法分为观察组与对照组, 各 120 例。其中, 观察组病理标本所属患者年龄 28 ~ 48 岁, 平均 (37.4 ± 8.2) 岁; 参照美国癌症联合委员会提出的乳腺癌分期标准, I 期 33 例, II 期 87 例。对照组病理标本所属患者年龄 27 ~ 51 岁, 平均 (38.6 ± 9.4) 岁; I 期 39 例, II 期 81 例。另同期选取已证实为乳腺癌与乳腺腺病患者各 20 例, 将乳腺癌组织与乳腺腺病皮肤组织分别作为本研究 IHC 检查的阳性与阴性对照样本。乳腺癌病理组织标本排除标准: ①明确为

Paget's 病; ②合并 NAC 肉眼可见异常, 如凹陷、溃疡破损、出血溢液、湿疹样改变、乳头后方扪及肿块等; ③术前有接受新辅助化疗治疗; ④初治时已发生有远处转移。

### 1.2 方法

**1.2.1 取材** 对照组于乳头的正中矢状面进行取材, 取材深度 5 mm; 观察组取乳头与乳晕皮肤以及连同皮下 10 mm 的整块组织, 采用本院自创 5 刀法: 于乳头正中矢状面切 1 刀作为首刀, 再根据患者乳头实际大小平行首刀于两侧每隔 1 ~ 2 mm 各切 2 刀, 最后在乳头根部一分为二。

**1.2.2 检查** 分别经常规 HE 及 IHC 处理后镜检。IHC 处理方法为: 选择细胞角蛋白 19 (cytokeratin-19, CK-19) 为目标蛋白, 抗体及相关试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。将取得的组织标本经 10% 甲醛固定, 再经脱水、透明、浸蜡及包埋程序处理后, 4 μm 连续切片, 采用 En Vision 2 步法, 将切片经烤片、脱蜡, 逐级乙醇由高至低至入水, 入 3% 过氧化氢液 5 min, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 浸 3 遍, 5 min/遍, 放入 pH 6.0 柠檬酸缓冲液中高温高压修复: 高压锅喷气后, 加热 2 min, 改中火 2 min, 之后关火并持续焖 10 min, 结束后放至冷水中冷却至 37℃ 并进行 1 min 胃酶消化, 放入 PBS 缓冲液洗 3 遍, 加 CK-19 一抗 (鼠抗人单克隆抗体), 4℃ 冰箱孵育过夜, PBS 缓冲液浸 3 遍, 5 min/遍, 加二抗 PV6000 (通用型抗体) 37℃ 10 min, PBS 缓冲液浸 3 遍, DAB 显色, 苏木素复染, 乙醇由低至高浓度逐级脱水至入二甲苯, 封片。完成后由 2 位经验丰富的检验科诊断医师共同评估, 所得结果定为最终的病理诊断结果。以镜检中观察到细胞膜细胞浆内有棕黄色颗粒为阳性。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计数资料以率 (%) 表示, 比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

20 例已证实为乳腺癌的乳腺癌组织经 IHC 处理后检查结果显示均为阳性, 20 例已证实为乳腺腺病的乳腺腺病皮肤组织经 IHC 处理后检查结果显示均为阴性。将乳腺癌侵犯 NAC 的检出情况分别进行组内及组间比较, 结果显示: 两种方法处理后的检出率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 观察组 IHC 处理后的检出率高于 HE 检出率; 对照组两种方法处理后的检出率比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 经 HE 处理后, 两组患者检出率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 经 IHC 处理后, 观察组检出率高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 见附表和图 1 ~ 2。

附表 两组患者乳腺癌侵犯 NAC 的检出率比较  
[ $n = 120$ , 例 (%) ]

组别	HE	IHC	$\chi^2$ 值	$P$ 值
观察组	10 (8.33)	29 (24.17)	9.052	0.008
对照组	8 (6.67)	10 (8.33)	1.076	0.087
$\chi^2$ 值	0.240	11.375	-	-
$P$ 值	0.103	0.002	-	-

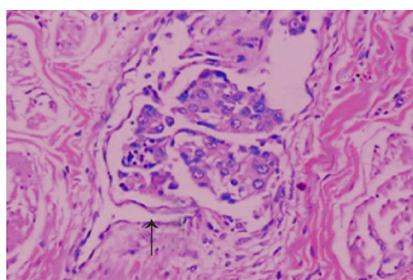
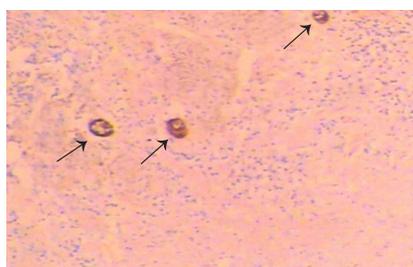


图 1 NAC 癌细胞侵犯 (HE)



箭头示为微侵犯灶

图 2 NAC 癌细胞微侵犯 (IHC)

## 3 讨论

在理想控制肿瘤病情的基础上最大程度提升手

术美容效果是现代乳腺外科的重要目标之一<sup>[15]</sup>。传统乳腺癌乳房切除术通常要求先将 NAC 切除, 乳房重建手术时一并将其重建。相关资料显示, 有 36% 的乳房重建患者对乳头重建效果并不满意, 甚至由此诱发心理问题<sup>[16]</sup>。FREEMAN<sup>[17]</sup>1962 年首次提出 NSM 术式和相关理念, 但该术式对乳腺癌治疗的安全性曾一度引发争议。随着对乳腺癌生物学特性认知的加深及其治疗手段的持续进步, 目前多个医疗机构通过大样本前瞻性试验证实 NSM 在长期生存率方面已愈发趋近传统根治术<sup>[18]</sup>。尽管如此, 关于 NSM 治疗当前仍尚有许多问题未达成统一, 其中每位患者是否具备有接受 NSM 治疗的指征尤为关键, 而开展 NSM 术前病例筛选的基本标准即是要求肿瘤未侵犯 NAC<sup>[19]</sup>。在临床实际工作中, NSM 治疗多在 I、II 期乳腺癌患者中开展, 故本研究所收集的 240 例病例标本其患者均为 I、II 期乳腺癌, 具有临床代表性。

在临床乳腺癌标本的切除处理过程中, NAC 病理取材方法主要涉及取材方向、取材深度以及取材间隔和数量等因素, 这些因素选择不同的标准是导致最终获得 NAC 侵犯检出率呈差异的重要原因。就取材方向来看, 主要包括依照矢状面与冠状面两种方法取材, 临床采用矢状面取材为主, 而传统 NAC 取材通常于乳头正中矢状面取 1 块。有学者研究发现, 乳腺癌侵犯 NAC 并非完全呈中心性特征, 因此于乳头正中矢状面取材可造成假阴性率严重偏高<sup>[20]</sup>。就取材深度来看, 各研究也存在较大差异, 从 3 ~ 20 mm 不等。侵犯较轻者若取材过浅也可能导致假阴性率升高; NAC 定义为乳头与乳晕及其下方 10 mm 之内的乳腺组织, 故取材过深, 甚至达到 RUSBY<sup>[4]</sup>报道的 20 mm, 则可能导致假阳性率升高。在其研究中, NAC 侵犯率达到 24.6%。在本研究纳入的对照文献中处于较高水平, 不排除有假阳性样本的可能。就取材间隔及数量来看, 参考复旦大学附属肿瘤医院病理科所采用的取材方法: 垂直于乳腺表面沿矢状面每隔 3 ~ 5 mm 将 NAC 多切面切开, 再于最大矢状面选择性取材 1、2 块。在本研究中, 笔者考虑到实际临床操作时, 为预防 NAC 在术后发生缺血坏死往往于基底多保留 5 ~ 10 mm, 这也比较符合 NAC 的解剖结构, 故本研究在取材时选取乳头与乳晕皮肤以及连同皮下 10 mm 的整块组织更具临床参考意义。另外采用本院自创 5 刀法, 提示该取材方法通过缩小取材间隔并适当增加样本获取量, 可实现更全面且多点位掌握 NAC 受侵

犯情况, 避免传统取材造成的漏诊或误诊; 同时基于取材深度与 NAC 解剖结构的贴合, 其结果也更具客观性与准确性。

乳腺癌在其早期即可发生微小转移, 因此在该阶段内及时发现这些微侵犯灶对指导临床开展乳腺癌治疗具有特殊意义。细胞角蛋白 (cytokeratin, CK) 是一种分布于外胚层起源细胞中的中间纤维丝, 为细胞骨架的组分之一。研究认为<sup>[21]</sup>, 在细胞转化过程中 CK 所具有的亚微结构及免疫学特性一般不会改变, 故检测其类型有助于判断肿瘤组织学来源。本研究所选择的目标蛋白 CK-19 正常情况下在上皮性肿瘤 (如乳腺癌、胃肠癌及肺癌等) 组织中稳定表达, 但在外周血、淋巴结、皮肤以及 NAC 中不表达<sup>[22]</sup>。也就是说, 在 NAC 中找到 CK-19 阳性细胞即可被认定为已经发生转移的乳腺肿瘤细胞。自上世纪 90 年代以来, CK-19 即被广泛应用于包括乳腺癌在内的多种恶性肿瘤微转移的检测, 并呈高敏感性与特异性。本研究 20 例已证实为乳腺癌的组织样本均为阳性, 20 例已证实为乳腺腺病的组织样本均为阴性, 进一步验证将 CK-19 作为目标蛋白的可行性。

综上所述, 本研究采用的乳头矢状面 5 刀法取材是一种更客观更全面的取材方法。选择 CK-19 为目标蛋白并行 IHC 处理有助于发现 NAC 的微侵犯灶, 将以上取材方法及检测方法联合运用所获得的乳腺癌侵犯 NAC 检出率可更准确地反应乳腺癌 NAC 受累的真实情况, 具有临床指导意义。

#### 参 考 文 献:

- [1] 阮森, 水若鸿. 乳腺癌乳头乳晕复合体受侵犯的相关临床病理因素 [J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(5): 361-366.
- [2] 杨后圃, 王伟琦, 王殊, 等. 1190 例乳腺癌患者乳头浸润相关因素分析 [J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(2): 67-71.
- [3] 胡震. 保留乳头乳晕复合体乳房切除术的专家共识与争议(2015 年版) [J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(6): 476-480.
- [4] 张馨方, 杨卓, 王丹波. 细胞角蛋白 20 在宫颈鳞癌中的表达及意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(21): 3185-3187.
- [5] 郑文添, 黄汉兴, 许东兴, 等. 取材及检测方法不同对乳腺癌乳头乳晕复合体浸润检出率的影响 [J]. 辽宁医学院学报, 2015, 36(04): 84-86.
- [6] 孙昌瑞, 邓君, 冯林, 等. 乳腺癌患者外周血循环肿瘤细胞分子学检测方法的对比研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(10): 666-671.
- [7] 李妙珊, 冯占武, 刘娟娟, 等. 超声评价三阴性乳腺癌新辅助化疗疗效的价值 [J]. 中国超声医学杂志, 2015, 31(12): 1067-1070.
- [8] 高伟, 周阳. 超声造影在乳腺癌诊断及新辅助化疗疗效评估中的应用价值 [J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(2): 168-170.
- [9] 崔智淼, 骆成玉, 李鑫, 等. 乳腔镜辅助保留 NAC 乳腺癌改良根治术并假体植入 I 期成形的临床研究 [J]. 首都医科大学学报, 2016, 37(3): 341-345.
- [10] OHASHI R, KAWAHARA K, FUJII T, et al. Higher expression of EpCAM is associated with poor clinical and pathological responses in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy [J]. Pathology International, 2016, 66(4): 210-217.
- [11] 孙建伟, 刘春生, 赖明华, 等. 保留 NAC 的改良根治术并一期乳房重建术治疗早期乳腺癌的临床效果 [J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(11): 1530-1535.
- [12] 崔建春, 李立, 董齐. 乳腺癌新辅助化疗效果评价方法的研究进展 [J]. 肿瘤研究与临床, 2017, 29(2): 133-137.
- [13] HIMURO T, HORIMOTO Y, ARAKAWA A, et al. Activated caspase 3 expression in remnant disease after neoadjuvant chemotherapy may predict outcomes of breast cancer patients [J]. Annals of Surgical Oncology, 2016, 23(7): 1-7.
- [14] 杨良权, 娄欢欢, 周东光, 等. 不同分子分型乳腺癌新辅助化疗对 Top II  $\alpha$  蛋白表达的影响 [J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(2): 230-233.
- [15] 杨畅发. 常用乳腺癌筛查方法诊断价值的应用分析 [J]. 浙江预防医学, 2016, 10(3): 454-458.
- [16] GERASHCHENKO T S, ZAVYALOVA M V, DENISOV E V, et al. Intratumoral morphological heterogeneity of breast cancer as an indicator of the metastatic potential and tumor chemosensitivity [J]. Acta Naturae, 2017, 9(1): 56-67.
- [17] 冷晓玲, 黄国福, 贾志莺, 等. 超声造影在乳腺癌新辅助化疗疗效评估中的应用价值 [J]. 中华超声影像学杂志, 2015, 24(11): 984-988.
- [18] 杨绍英, 刘朝荣, 张志刚, 等. 乳腺癌新辅助化学治疗前后雌激素受体、孕激素受体、Ki-67 抗原和人类表皮生长因子受体-2 的表达 [J]. 新乡医学院学报, 2017, 34(2): 125-128.
- [19] 何艳春, 徐超杰, 刘妙贞. 不同检查方法对不同分期乳腺癌检出率的比较 [J]. 广东医学, 2016, 37(1): 63-65.
- [20] 徐超丽, 魏淑萍, 谢迎东, 等. 超声对乳腺癌新辅助化疗的效果评估 [J]. 临床超声医学杂志, 2016, 18(7): 442-444.
- [21] 谭辉, 张宏伟, 傅毅鹏, 等. 不同检查方法对乳腺癌的诊断价值比较 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2015, 21(6): 519-523.
- [22] 赵丹, 廖威, 于韬, 等. 乳腺 X 线摄影在乳腺癌 NAC 疗效评价上的应用 [J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(8): 669-672.

(唐勇 编辑)