

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.28.011
文章编号: 1005-8982 (2017) 28-0056-05

术中分层冷冻切片在乳腺癌前哨淋巴结 活检中的诊断价值*

黄自明, 王蓉, 郑媛, 卢文亮, 陈波, 魏刚, 高丹, 薛明兴, 叶春梅
(湖北省妇幼保健院 甲乳外科, 湖北 武汉 430070)

摘要: 目的 探讨术中应用不同分层冷冻切片检测前哨淋巴结 (SLN) 的方法在乳腺癌手术治疗中的应用价值。**方法** 67例乳腺癌患者术中行亚甲蓝示踪并成功行前哨淋巴结活检 (SLNB), SLN均行术中冷冻切片 HE 染色, 依次记录单层切片组、3层切片组及6层切片组冷冻病理结果, 术后 SLN 常规 HE 染色石蜡切片为确诊 SLN 转移的标准。不同切片方法冷冻病理诊断结果与石蜡切片 HE 染色结果进行比较分析。**结果** 67例患者常规石蜡切片结果中19例 SLN 阳性, 3例为 SLNB 假阴性, 假阴性率为13.6% (3/22)。不同切片方法冷冻病理结果与 SLN 石蜡切片 HE 染色结果比较: 单层切片的敏感性为21.1% (4/19)、符合率为73.1% (49/67)、特异性为100% (45/45); 3层切片的敏感性为31.6% (6/19)、符合率为76.1% (51/67)、特异性为97.8% (44/45); 6层切片的敏感性为84.2% (16/19)、符合率为91.1% (61/67)、特异性为95.6% (43/45)。敏感性和符合率, 6层切片组与3层切片组、单层切片组分别比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 6层切片组高于3层切片组、单层切片组。而单层切片组与3层切片组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** SLN 术中冷冻病理检查诊断 SLN 转移可靠而快速, 多层切片方法可以提高 SLN 微小转移灶的检出率, 6层切片组冷冻病理检查结果与术后石蜡切片结果接近。

关键词: 乳腺肿瘤; 前哨淋巴结; 冷冻切片; 病理诊断

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

Diagnostic value of intraoperative frozen section in sentinel lymph node biopsy of breast cancer*

Zi-ming Huang, Rong Wang, Yuan Zheng, Wen-liang Lu, Bo Chen, Gang Wei,
Dan Gao, Ming-xing Xue, Chun-mei Ye
(Department of Breast and Thyroid Surgery, Hubei Maternal and Child Health Care Hospital,
Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of method of detecting sentinel lymph node (SLN) by different frozen sections in the surgical treatment of breast cancer. **Methods** Sixty-seven breast cancer patients were given methylene blue and successfully underwent sentinel lymph node biopsy. Intraoperative frozen sections of SLN were made and HE staining was performed. The pathological results of single slice, 3 slice and 6 slice were recorded. Postoperative routine HE staining of SLN paraffin sections was performed and considered as the standard of the diagnosis of SLN metastasis. Results of pathological diagnosis of different frozen sections were compared with the results of paraffin sections. **Results** The routine paraffin section results of the 67 patients revealed positive SLN in 19 cases, false negative SLN in 3 cases, the false negative rate was 13.6% (3/22). Comparison of the results of different slicing methods of frozen sections with paraffin sections of SLN showed the sensitivity of single slice was 21.1% (4/19), the coincidence rate was 73.1% (49/67), the specificity was 100% (45/45); the sensitivity of 3 slice was 31.6% (6/19), the coincidence rate was 76.1% (51/67), the specificity was 97.8% (44/45); the sensitivity of 6

收稿日期: 2017-01-16

*基金项目: 湖北省自然科学基金 (No: 2013CFB047)

通信作者: 叶春梅, E-mail: 2498702558@qq.com; Tel: 18971075812

slice was 84.2% (16/19), the coincidence rate was 91.1% (61/67), the specificity was 95.6% (43/45). The sensitivity and coincidence rates of the 6 slice were significantly higher than those of 3 slice and single slice, the differences were significant ($P < 0.05$). The difference between the single slice group and the 3 slice group were not significant ($P > 0.05$). **Conclusions** SLN intraoperative frozen pathological diagnosis is a reliable and fast method for diagnosis of SLN metastasis. Multilayer section method can improve the detection rate of SLN metastasis, the results of 6 layer frozen section is close to postoperative pathological results of paraffin section.

Keywords: breast cancer; sentinel lymph node; frozen section; pathological examination

前哨淋巴结 (sentinel lymph node, SLN) 是首先接受原发肿瘤淋巴回流的第 1 枚或数枚淋巴结, 其组织病理学状态可代表整个区域淋巴结的可能状态。前哨淋巴结活检 (sentinel lymph node biopsy, SLNB) 能较准确评估早期乳腺癌患者的腋窝淋巴结状态。如果 SLN 能得到准确的术中诊断, 则术者可根据术中 SLN 是否转移的情况进行选择性的腋窝淋巴结清扫术 (axillary lymph node dissection, ALND), SLN 阴性的乳腺癌患者可以免行 ALND。但目前尚无 SLN 术中快速诊断的标准方法^[1]。

本研究通过对 70 例乳腺癌患者行 SLNB, SLN 冷冻切片依次采用单层、3 层、6 层的单、多层切片冷冻病理检查, 诊断结果与术后石蜡切片 HE 染色病理结果分析比较, 探讨术中冷冻切片对诊断 SLN 转移的准确性和可靠性及增加 SLN 切片数量对 SLN 微小转移灶检出的临床意义和存在的问题。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 6 月 -2014 年 12 月在湖北省妇幼保健院甲乳外科住院治疗的 70 例经术前空心针活检确诊为浸润性乳腺癌的女性患者。年龄 25 ~ 68 岁, 平均 45.2 岁; 肿块最大直径 1.0 ~ 6.0 cm。患者行前哨淋巴结活检的入组条件: 临床检查、乳腺 B 超检查腋窝淋巴结阴性; 因乳腺癌首次手术治疗; 术前未行新辅助化疗; 患侧腋窝无手术、放疗史; 非妊娠哺乳期。鉴于目前国内对单纯美蓝定位前哨淋巴结还存在争议^[1], 同时为了准确了解腋窝淋巴结分期, 70 例患者术中在进行前哨淋巴结活检后均接受了腋窝淋巴结清扫, 其中 60 例予以单纯乳房切除 + 腋窝淋巴结清扫术; 10 例行乳腺癌保乳手术 + 腋窝淋巴结清扫术。SLNB 均采用亚甲蓝示踪法。术后病理报告: 浸润性导管癌 65 例, 黏液腺癌 2 例, 导管原位癌伴微浸润 3 例。

1.2 SLN 定位活检方法

示踪剂亚甲蓝购自江苏济川制药公司。术中用

0.5% 亚甲蓝溶液 4 ml (1% 亚甲蓝 2 ml 以生理盐水 2 ml 稀释) 等分量分 4 点向肿块周围腺体内或乳晕边缘 3、6、9、12 点向乳晕部皮内注射, 皮肤消毒后, 随后按正常程序行乳房单纯切除术, 约 15 min 后游离皮瓣及分离切除乳房至胸大肌外侧缘处 (如果行保乳手术则约 15 min 左右腋窝部另取切口), 在乳房外上象限部向腋窝处寻找蓝染淋巴管, 沿蓝染淋巴管分离至胸大肌外侧缘旁, 寻找与蓝染淋巴管相连的淋巴结或蓝染淋巴结; 如果淋巴管无蓝染则胸大肌附近单纯蓝染淋巴结以及蓝染淋巴结附近触诊可疑的淋巴结; 如果淋巴结广泛蓝染, 则距肿瘤中心最近的蓝染淋巴结和附近触诊可疑的淋巴结或与认定为 SLN。如未发现蓝染淋巴结或淋巴管则定位失败。取下 SLN, 术中立即将获得的 SLN 行冷冻切片病理检查。继续腋窝淋巴结清扫术。SLN 和腋窝其他非 SLN 术后石蜡切片 HE 染色常规病理检查, 并单独记录病理结果。

1.3 SLN 的病理检测

1.3.1 冷冻切片方法 沿长轴将淋巴结先切成 1 ~ 1.5 mm 厚的切片, OCT 复合物包埋, -20° 冷冻切片内冷冻 10 min。依次行单层切片、3 层切片及 6 层切片, 每张切片厚约 3 ~ 5 μm , HE 染色, 镜下观察。

1.3.2 石蜡切片方法 石蜡包埋的 SLN 组织, 切片厚度 2 ~ 5 μm , 切片的间隔及切片数目根据 SLN 的数目及大小以及目测诊断来确定。多层切片判断结果如果检出癌细胞, 则为阳性, 如果未发现癌细胞, 则为阴性。

1.4 统计学方法

应用 SPSS18.0 软件进行数据分析。应用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。参照美国 Louisville 大学标准计算, 冷冻切片的敏感性、特异性、总符合率、假阴性率的计算公式如下^[2]: 敏感性 = SLN 真阳性例数 / SLN 总阳性例数 $\times 100\%$, 特异性 = SLN 真阴性例数 / SLN 总阴性例数 $\times 100\%$, 总符合率 = (SLN 真阳性例数 + SLN 真阴性例数) / SLN 总例数 $\times 100\%$, 假

阴性率 = SLN 假阴性例数 / SLN 总阳性例数 $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 SLNB 检出率和假阴性率

70 例患者中成功检出 SLN 者 67 例, 检出率为 95.7% (67/70)。67 例患者共取出淋巴结 1 608 枚, 平均每例 21 枚。取出 SLN 174 枚, 其中 1 枚者 14 例, 2 枚者 21 例, 3 枚者 17 例, 4 枚者 10 例, 5 枚者 3 例, 6 枚者 2 例, 平均每例 2.2 枚。67 例患者石蜡切片 LN 转移者 22 例, LN 转移率为 32.8% (22/67), 其中 19 例 SLN 阳性, 3 例非 SLN 阳性, 而 SLN 呈阴性, 即 SLNB 假阴性。SLN 检出率 67 (SLN 检出例数) / 70 (实施 SLN 检测所有例数) $\times 100\% = 95.7\%$; 常规石蜡切片病理的假阴性率为 3 (SLN 假阴性例数) / 22 (腋窝淋巴结转移阳性例数) $\times 100\% = 13.6\%$ 。

2.2 SLN 术中诊断与术后诊断

SLN 石蜡切片阳性率为 32.8% (22/67), 假阴性率为 13.6% (3/22)。
① 单层冷冻切片组: 冷冻 (-) 而石蜡 (+) 15 例, 冷冻 (+) 而石蜡 (-) 0 例, 两者均阳性者 4 例。石蜡切片阳性 19 例, 冷冻切片阳性 4 例, 2 种方法联合检测阳性率为 28.4% (19/67)。
② 3 层冷冻切片组: 冷冻 (-) 而石蜡 (+) 13 例, 冷冻 (+) 而石蜡 (-) 1 例, 两者均阳性者 6 例。石蜡切片阳性 19 例, 冷冻切片阳性 7 例, 2 种方法联合检测阳性率为 29.8% (20/67)。
③ 6 层冷冻切片组: 冷冻 (-) 而石蜡 (+) 3 例, 冷冻 (+) 而石蜡 (-) 2 例, 两者均阳性者 16 例。石蜡切片阳性 19 例, 冷冻切片阳性 18 例, 2 种方法联合检测阳性率为 31.3% (21/67)。
④ 相对于石蜡切片, 单层、3 层、6 层切片组 SLN 冷冻病理 HE 染色的评价指标见表 1。

2.3 单层、3 层和 6 层切片组 SLN 冷冻病理敏感性和符合率的比较

6 层切片组冷冻病理的诊断敏感性与 3 层切片组和单层切片组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 6 层切片组高于 3 层切片组和单层切片组。而单层切片组与 3 层切片组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2、3。3 组特异性比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 单层切片组最高, 为 100%, 6 层切片组最低为 95.6%。相对 SLN 石蜡切片 HE 染色标准, 6 层切片组与 3 层切片组和单层切片组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 6 层切片组符合率最高, 为

91.1%, 高于 3 层切片组和单层切片组; 3 层切片组也高于单层切片组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4、5。

表 1 3 组常规石蜡切片的评价指标比较 %

组别	敏感性	特异性	总符合率	假阴性率
单层切片	21.1 (4/19)	100 (45/45)	73.1 (49/67)	81.8 (18/22)
3 层切片	31.6 (6/19)	97.8 (44/45)	76.1 (51/67)	65.2 (15/23)
6 层切片	84.2 (16/19)	95.6 (43/45)	91.1 (61/67)	16.7 (4/24)

表 2 19 例石蜡切片阳性 SLN 单层切片、3 层切片敏感性比较

组别	转移 / 例	无转移 / 例	敏感性 / %
单层切片	4	15	21.1
3 层切片	6	13	31.6
χ^2 值			2.710
P 值			0.114

表 3 19 例石蜡切片阳性 SLN 6 层切片、3 层切片敏感性比较

组别	转移 / 例	无转移 / 例	敏感性 / %
6 层切片	16	3	84.2
3 层切片	6	13	31.6
χ^2 值			12.830
P 值			0.026

表 4 6 层切片组、3 层切片组 (相对石蜡切片标准) 符合率比较

组别	符合 / 例	不符合 / 例	符合率 / %
3 层切片	51	16	76.1
6 层切片	61	6	91.1
χ^2 值			14.450
P 值			0.032

表 5 3 层切片组、单层切片组 (相对石蜡切片标准) 符合率比较

组别	符合 / 例	不符合 / 例	符合率 / %
3 层切片	51	16	76.1
单层切片	49	18	73.1
χ^2 值			1.320
P 值			0.213

3 讨论

临床上, 常规以术后石蜡切片 HE 染色结果来判断阳性或阴性淋巴结; 而连续切片可以发现微转移灶, 这成为诊断 SLN 转移的“金标准”。术中快速、准确诊断 SLN 可以有效地帮助手术医师及时判断 SLN 转移情况, 如果 SLN 诊断阳性则立即术中行 ALND, 避免 2 次手术。SLN 的术中病理诊断方法主要有术中细胞印片、术中快速免疫组织化学和术中冷冻切片。前 2 种方法均有一定的局限性, 如敏感性不理想、检测结果易受到多种因素影响。SLN 冷冻切片可以识别淋巴结结构, 特异性高, 但最主要问题是对淋巴结微转移的检出不足, 故敏感性不稳定。冷冻切片的诊断准确敏感性大多在 60% ~ 75%^[3]。ALESSANDRO 等^[4]对 137 例早期乳腺癌患者 250 枚 SLN 冷冻切片, 结果发现其对淋巴结微转移的特异性和阳性预测值均为 100%, 宏转移的敏感性为 83.3%, 微转移的敏感性为 40%, 其结果提示乳腺癌 SLN 术中冷冻切片可以较准确判断 SLN 的癌转移情况, 当其结果是阳性时可立即行腋窝淋巴结清扫术。LUIS 等^[1]报道, 370 例 T1-T2 期乳腺癌术中前哨淋巴结冷冻切片的宏转移敏感性为 81%, 宏转移和微转移敏感性为 67%, 特异性为 100%, 认为术中 SLN 冷冻切片对术中腋窝淋巴结分期是有效的和可靠的。好的病理切片质量以及多剖面取材可以提高诊断的准确性, 连续切片是诊断 LN 微转移的金标准, 更多层、更薄片切片使得病理医师能够观察到更多层次, 更有效发现 LN 中存在的微小转移灶, 大大提高了诊断的准确性^[5-6]。JEFFREY 等^[7]对 717 例临床早期乳腺癌 SLN 术中冷冻切片, 术中对 SLN 应用多步骤切片法, 结果宏转移诊断的敏感性为 93.3%, 特异性为 99.3%, SLN 冷冻诊断的敏感性明显提高。也有研究报道^[8]586 例乳腺癌 SLN 冷冻切片的敏感性为 87.0%, 特异性为 100%, 并认为冷冻切片不能检测 SLN 微转移是假阴性的主要原因, 通过进一步深层组织的多层切片或连续切片可以发现 SLN 微小转移灶。

本组亚甲蓝成功定位 SLN 的乳腺癌患者 67 例, 共取出的 SLN 174 枚, 所有的 SLN 均术中行单层、多层 (包括 3 层和 6 层) 冷冻切片和术后石蜡切片, 并记录相应的病理结果。相对术后 SLN 石蜡切片 HE 染色诊断标准而言, 19 例石蜡切片阳性的 SLN 的冷冻切片病理结果为: 3 层切片的敏感性为 31.6% (6/19); 与石蜡切片诊断的符合率为 76.1% (51/67)。6 层切片

诊断的敏感性为 84.2% (16/19); 与石蜡切片诊断的符合率为 91.1% (61/67)。该结果提示, 随着 SLN 标本切片层数增加, 其诊断的敏感性和相应的诊断符合率也逐渐提高, 且 6 层切片组高于单层、3 层切片组, 差异有统计学意义; 而 3 层切片组虽然也高于单层切片组, 但差异无统计学意义。结果说明只有当 SLN 标本切片增加到 6 层时, SLN 冷冻病理的诊断价值才接近石蜡病理, 结果才更可信, 可以发现更多小的转移灶, 提高 SLN 的诊断准确率, 减少假阴性率。如仅增加到 3 层切片, 虽然可以增加小转移灶的发现, 但还是会漏诊一部分 SLN 转移灶。6 层切片冷冻切片与术后石蜡切片结果比较, 具有较好的敏感性和特异性, 两者结果的符合率也较高。当评价术后的 SLN 诊断率时, 提示相对传统的单层切片来说, 术中多层冷冻切片对 SLN 的转移状况评判具有较好的可靠性, 也具有与单层切片接近的特异性, 对于 SLN 阳性者可以指导术中行 ALND。从统计的资料可以发现, 当为了追求 SLN 诊断的准确率, 增加 SLN 冷冻切片达到 6 层时, 出现了 2 例冷冻为阳性, 而石蜡为阴性的情况, 这是与 SLN 冷冻切片对组织有损耗有关系, 当 SLN 中转移灶特别微小时, 冷冻切片阳性结果而石蜡切片出现阴性结果。如果 2 种结果中均为阳性或其中 1 种为阳性则诊断 SLN 阳性, 则术中多层冷冻切片对 SLN 的诊断是没有影响的, 但当 SLN 冷冻切片时由于异常细胞数量少且不典型时, 6 层切片可能会影响 SLN 术中和术后的判断。

SLN 冷冻切片诊断癌转移的敏感性略高于其他文献结果, 可能与病理科对 SLN 组织多剖面多点取材提高了 SLN 癌转移的诊断率有关; 也可能和术中只检出 1 枚或少数几枚 SLN 有关。笔者相信, 随着手术样本量的增加, 并对所有 SLN 进行更详细的分析, 术中多层冷冻切片可以为临床患者提供更准确的腋窝淋巴结分期, 避免乳腺癌手术中因为腋窝淋巴结清扫带来的并发症, 值得在临床推广和使用。

参 考 文 献:

- [1] LUIS B A, GIL R C, MIGUEL A A, et al. Diagnostic management of breast cancer[J]. Rev Esp Med Nucl Imagen Mol, 2014, 33(4): 193-198.
- [2] VERONESI U, PAGANELLI G, VIALE G, et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: result in a large series[J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91(4): 368-373.
- [3] HORVATH J W, BARNETT G E, JIMENEZ R E, et al. Comparison

- of intraoperative frozen section analysis for sentinel lymph node biopsy during breast cancer surgery for invasive lobular carcinoma and invasive ductal carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2009, 7: 34.
- [4] ALESSANDRO S, ANDREA P, ROBERTA L. et al. Breast cancer micrometastasis and axillary sentinel lymph nodes frozen section. Our experience and review of literature[J]. International Journal of Surgery, 2014, 12: s12-s15.
- [5] ISHIKAWA T, SASAKI T, MIYAJIMA E, et al. Pathological examination with two-millimetre serial sectioning for sentinel lymph node biopsies in breast cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2009, 35(3): 895-896.
- [6] VILCEA I D, VASILE I, MIREA C S, et al. Sentinel lymph node study in colorectal cancer using serial sectioning and Hematoxylin-Eosin staining: importance and limitations[J]. Rom J Morphol Embryol, 2011, 52(5): 379-383.
- [7] JEFFREY L, SASIREKHA G, AJAY S, et al. Multiple Step-section Frozen Section sentinel lymph node biopsy-A review of 717 patients[J]. The Breast, 2013, 22: 639-642.
- [8] QINGHUI L, ERN-YU T, BERNARD H, et al. Achieving breast cancer surgery in a single setting with intraoperative frozen section analysis of the sentinel lymph node[J]. Clinical Breast Cancer, 2013, 13(2): 140-145.

(张蕾 编辑)

欢迎订阅《中国现代医学杂志》

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年，是一本医学综合性学术期刊。由中华人民共和国教育部主管，中南大学、中南大学湘雅医院主办。创刊以来始终坚持以服务广大医药卫生科技人员、促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨，密切关注世界医学发展的新趋势，积极推广国内医药卫生领域的新技术、新成果，及时交流广大医药卫生人员的医学科学理论和业务技术水平，成为国内外医学学术交流的重要园地，已进入国内外多个重要检索系统和大型数据库。如：中文核心期刊（中文核心期刊要目总览 2008、2011 和 2014 版）、中国科技论文与引文数据库即中国科技论文统计源期刊（CSTPCD）、俄罗斯文摘（AJ）、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网全文数据库（CNKI）、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库（CMCC）、超星“域出版”及中国生物医学期刊光盘版等。

《中国现代医学杂志》辟有基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。主要刊登国内外临床医学、基础医学、预防医学以及医学相关学科的新理论、新技术、新成果，以及医院医疗、教学、科研、管理最新信息、动态等内容。主要读者为广大医药卫生科技人员。

《中国现代医学杂志》为旬刊（2017 年 7 月开始），国际标准开本（A4 幅面），全刊为彩色印刷，无线胶装。内芯采用 90 g 芬欧汇川雅光纸（880×1 230 mm），封面采用 200 g 紫鑫特规双面铜版纸（635×965 mm）印刷，每个月 10、20、30 日出版。定价 25 元/册，全年 840 元。公开发行，国内统一刊号：CN 43-1225/R；国际标准刊号：ISSN 1005-8982；国内邮发代号：42-143。欢迎新老用户向当地邮局（所）订阅，漏订或需增订者也可直接与本刊发行部联系订阅。

联系地址：湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国现代医学杂志》发行部，邮编：410008

电话：0731-84327938；传真：0731-89753837；E-mail：journal@zgxdyx.com

唯一官网网址：www.zgxdyx.com

《中国现代医学杂志》编辑部