

*Pathology of
Digestive System Tumors*

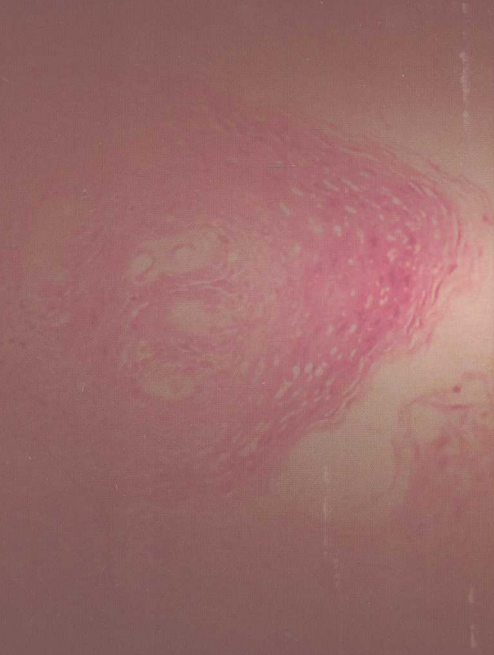
消化系肿瘤 病理学



江苏金陵科技著作出版基金

编著 吕 翔 王益华 戴小波

凤凰出版传媒集团
江苏科学技术出版社



Pathology of
Digestive System Tumors

消化系统肿瘤 病理学

第2版

主编 陈孝平 王澍

副主编 王澍 王 澍 王 澍
王 澍 王 澍 王 澍



Pathology of Digestive System Tumors

消化系肿瘤病理学

编 著 吕 翔 王益华 戴小波

名誉编者 [瑞士] Jan-Olaf GEBBERS

(Bern和Hamburg大学教授, 医学博士)

凤凰出版传媒集团
 江苏科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

消化系肿瘤病理学/吕翔主编. —南京:江苏科学技术出版社, 2008. 11

ISBN 978-7-5345-5666-1

I. 消... II. 吕... III. 消化系统疾病:肿瘤—病理学 IV. R735

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007) 第 145046 号

消化系肿瘤病理学

编 著 吕 翔 王益华 戴小波
责任编辑 董 玲
责任校对 郝慧华
责任监制 张瑞云

出版发行 江苏科学技术出版社(南京市湖南路 47 号, 邮编:210009)

网 址 <http://www.pspress.cn>

集团地址 凤凰出版传媒集团(南京市中央路 165 号, 邮编:210009)

集团网址 凤凰出版传媒网 <http://www.ppm.cn>

经 销 江苏省新华发行集团有限公司

照 排 南京奥能制版有限公司

印 刷 江苏新华印刷厂

开 本 787 mm×1092 mm 1/16

印 张 32.75

字 数 800 000

版 次 2008 年 11 月第 1 版

印 次 2008 年 11 月第 1 次印刷

标准书号 ISBN 978-7-5345-5666-1

定 价 190.00 元(精)

图书如有印装质量问题,可随时向我社出版科调换。

致读者

社会主义的根本任务是发展生产力,而社会生产力的发展必须依靠科学技术。当今世界已进入新科技革命的时代,科学技术的进步已成为经济发展、社会进步和国家富强的决定因素,也是实现我国社会主义现代化的关键。

科技出版工作肩负着促进科技进步、推动科学技术转化为生产力的历史使命。为了更好地贯彻党中央提出的“把经济建设转到依靠科技进步和提高劳动者素质的轨道上来”的战略决策,进一步落实中共江苏省委、江苏省人民政府作出的“科教兴省”的决定,江苏科学技术出版社于1988年倡议筹建江苏省科技著作出版基金。在江苏省人民政府、江苏省委宣传部、江苏省科学技术厅(原江苏省科学技术委员会)、江苏省新闻出版局负责同志和有关单位的大力支持下,经江苏省人民政府批准,由江苏省科学技术厅、凤凰出版传媒集团(原江苏省出版总社)和江苏科学技术出版社共同筹集,于1990年正式建立了“江苏省金陵科技著作出版基金”,用于资助自然科学范围内符合条件的优秀科技著作的出版。

我们希望江苏省金陵科技著作出版基金的持续运作,能为优秀科技著作在江苏省及时出版创造条件,并通过出版工作这一平台,落实“科教兴省”战略,充分发挥科学技术作为第一生产力的作用,为建设更高水平的全面小康社会、为江苏的“两个率先”宏伟目标早日实现,促进科技出版事业的发展,促进经济社会的进步与繁荣做出项献。建立出版基金是社会主义出版工作在改革发展中新的发展机制和新的模式,期待得到各方面的热情扶持,更希望通过多种途径不断扩大。我们也将实践中不断总结经验,使基金工作逐步完善,让更多优秀科技著作的出版能得到基金的支持和帮助。

这批获得江苏省金陵科技著作出版基金资助的科技著作,还得到了参加项目评审工作的专家、学者的大力支持。对他们的辛勤工作,在此一并表示衷心感谢!

江苏省金陵科技著作出版基金管理委员会

序 言

消化系统肿瘤不仅常见,而且种类繁多,形态复杂,对人类健康危害极大。我国是消化系统肿瘤的高发国家,在我国发病率最高的十大恶性肿瘤中,消化系统的肿瘤就占五位,已成为恶性肿瘤造成人口十大死亡原因之首。

众所周知,肿瘤的正确治疗首先取决于正确诊断,病理学诊断对于对绝大多数消化系统肿瘤的诊断来说是金标准,是最可靠的诊断,是终极诊断。为反映近年来国内外的消化系统肿瘤病理学的进展,并尽快将之融入消化系肿瘤病理诊断的实际工作,提高消化系统肿瘤的诊断和治疗水平,吕翔主任检索和查阅了大量文献资料,不仅对消化系统的常见肿瘤,而且对于许多少见的及罕见的,以往国内资料极少或未报道的消化系统肿瘤,也尽可能根据文献上散在的报道做了认真详细的研究。他青灯黄卷数载研读文献和专著,并结合自己的心得体会写出了这本图文并茂、内容全面的消化系统肿瘤病理学的专著——《消化系统肿瘤病理学》。该书内容丰富,不仅对消化系统常见肿瘤的病因、发病概况、病理学诊断、肿瘤的发生发展规律,患者的预后等方面都做了较为详细的介绍和充分的讨论,而且对当今国内外有关消化系统肿瘤的免疫组织化学及分子生物学等方面的新进展都做了较为详细的论述。

该书约 100 万字,有 1 000 多幅彩色插图,其中不乏多种罕见肿瘤的第一手珍贵资料和照片。全书分九章,不仅涵盖了胃肠道、肝、胆和胰等器官的常见和罕见肿瘤,而且介绍了免疫组织化学、透射电镜、免疫电镜、扫描电镜、生物芯片、分子生物学和体视学等现代先进生物学技术。因而,该书是病理科医师、消化科医师、肿瘤科医师、普外科医师,以及相关专业医学大专院校教师、研究生及各级科研人员等的一本有用的参考书。由于本书较好地描述了消化系统肿瘤的病理特点、诊断和鉴别诊断,对基层和低年资病理科医师帮助尤其大。为此衷心感谢吕翔主任和江苏科技出版社对我国消化系统肿瘤病理学发展付出的努力和做出的贡献。

张建民

前 言

消化系统是人体结构最复杂、功能最广泛、代谢最活跃的系统之一。消化系统不仅具有对于维持人体正常新陈代谢和生长发育最基本、最重要的消化和吸收功能,而且无时无刻不在进行各种千变万化的生理生化反应,有规律有序地参与一系列精细微妙的神经内分泌活动和免疫调节机制。由于消化系统具有与各种物理的、化学的、生物的、免疫的及代谢的等致病因子及有害因素广泛接触的机会,且易受到基因遗传缺陷及生长发育异常等因素的影响,所以消化系统是人体最敏感、最脆弱、最易受到侵害及最常发生病变的系统。

我国是消化系统疾病尤其是肿瘤的高发区域,许多消化系统肿瘤患者的人数和发病率都高居世界首位;在我国发病率最高的十大恶性肿瘤中,消化系统的肿瘤就占有五位,其对人体巨大危害由此可见一斑。随着我国国民经济的发展和医疗事业水平的不断提高,我国绝大多数县市级医院都设立了病理科,病理科医师在日常病理诊断工作中最常遇到的问题即如何对消化系统肿瘤进行诊断;诊断正确与否,直接决定了对肿瘤的治疗方法,关系到患者治疗的成败和预后的优劣,其重要意义不言而喻。与此不相称的是,迄今为止我国尚缺乏一本有关消化系统肿瘤的病理学专著,有鉴于此,及时出版《消化系肿瘤病理学》一书是十分必要的。

笔者博览近年来国内外文献,总结专家多年来的工作经验、体会、教训,编写了《消化系肿瘤病理学》一书。全书力求全面系统地论述消化系统各种良恶性肿瘤和瘤样病变的形态学特点,并对免疫组化、电子显微镜及分子生物学等在消化系统肿瘤病理学诊断中的应用作了简明介绍;本书的内容追踪前沿,体现进展,尽量将新方法、新技术、新动向、新成果等反映在书中,再配以大量第一手的彩色照片,可以说《消化系肿瘤病理学》一书反映了当前世界上消化系统肿瘤病理学的水平。书中不当之处,欢迎读者指正。

吕 翔

南京大学医学院附属鼓楼医院

南京同仁医院

目 录

第一章 现代病理学常用技术	1
第一节 病理标本的固定和取材.....	1
第二节 病理标本的特殊染色.....	4
第三节 冰冻切片检查.....	6
第四节 微波固定技术在病理学中的应用.....	7
第五节 免疫组织化学技术.....	9
第六节 透射电子显微镜.....	22
第七节 免疫电子显微镜技术.....	29
第八节 扫描电子显微镜技术.....	32
第九节 激光扫描共聚焦显微镜的原理及在生物学中的应用.....	34
第十节 扫描探针显微镜.....	35
第十一节 原位杂交技术.....	36
第十二节 比较基因组杂交在肿瘤病理诊断中的应用.....	39
第十三节 聚合酶链反应及其在肿瘤病理学研究中的应用.....	41
第十四节 原位 PCR 实验技术及其应用前景.....	43
第十五节 组织切片显微切割技术在肿瘤研究中的应用.....	45
第十六节 生物芯片技术.....	47
第十七节 细胞凋亡.....	48
第十八节 端粒和端粒酶.....	53
第十九节 连环蛋白与肿瘤.....	54
第二十节 微卫星稳定性的遗传调控.....	56
第二十一节 淋巴结微转移癌的诊断方法及其临床意义.....	57
第二十二节 肿瘤休眠.....	58
第二十三节 体视学在生物医学领域中的应用.....	59
第二十四节 模糊计量病理专家诊断系统.....	83
第二章 食管肿瘤	87
第一节 食管的组织学.....	87
第二节 食管肿瘤的组织学分类.....	88
第三节 食管良性肿瘤及瘤样病变.....	89
第四节 食管恶性肿瘤.....	94
第五节 食管胃交界腺癌.....	124
第三章 胃肿瘤	128
第一节 胃组织学.....	128
第二节 胃肿瘤的组织学分类.....	131
第三节 胃良性肿瘤及瘤样病变.....	132

第四节 胃恶性肿瘤·····	144
第四章 小肠肿瘤·····	198
第一节 小肠组织学·····	198
第二节 小肠肿瘤的发病情况及组织学分类·····	200
第三节 小肠良性肿瘤及瘤样病变·····	204
第四节 小肠恶性肿瘤·····	225
第五章 大肠肿瘤·····	251
第一节 大肠组织学·····	251
第二节 大肠肿瘤的组织学分类·····	253
第三节 大肠良性肿瘤及瘤样病变·····	254
第四节 大肠恶性肿瘤·····	273
第五节 阑尾肿瘤和瘤样病变·····	306
第六节 肛区肿瘤·····	317
第六章 腹膜、肠系膜及网膜肿瘤·····	328
第一节 腹膜、肠系膜及网膜的组织学·····	328
第二节 腹膜、肠系膜及网膜肿瘤的发病概况·····	328
第三节 腹膜、肠系膜及网膜的良性肿瘤及瘤样病变·····	330
第四节 腹膜、肠系膜及网膜的恶性肿瘤·····	344
第七章 肝脏肿瘤·····	360
第一节 肝脏的解剖学形态和组织结构·····	360
第二节 肝脏肿瘤的分类·····	366
第三节 肝脏的良性肿瘤及瘤样病变·····	368
第四节 肝脏恶性肿瘤·····	390
第八章 胆囊与肝外胆管肿瘤·····	445
第一节 胆囊与胆管组织学·····	445
第二节 胆囊肿瘤的组织学分类·····	445
第三节 胆囊与肝外胆管的良性肿瘤及瘤样病变·····	447
第四节 胆囊与肝外胆管的恶性肿瘤·····	453
第九章 胰腺肿瘤·····	471
第一节 胰腺组织学·····	471
第二节 胰腺外分泌部肿瘤组织学分类·····	473
第三节 胰腺良性肿瘤及瘤样病变·····	474
第四节 胰腺交界性肿瘤及病变·····	479
第五节 胰腺恶性肿瘤·····	483
第六节 胰腺内分泌肿瘤及其瘤样病变·····	500
索引·····	509

第一章 现代病理学常用技术

第一节 病理标本的固定和取材

病理活检标本的及时固定和正确取材对于临床病理学诊断具有非常重要的意义。要想做出正确的病理学诊断,首先必须尽可能地保存好组织和细胞处于原始生活状态下,以尽可能真实地反映病变的本质。病理标本必须经及时固定后才能制备出染色鲜艳、图像清晰的组织切片,其对于病理诊断的准确性具有不可估量的重要影响。病理标本必须及时固定的原因在于:① 新鲜的组织细胞内含有蛋白分解酶,可分解蛋白质,引起组织自溶;② 细菌的繁殖可导致组织腐败,破坏组织的形态结构;③ 固定可使细胞内蛋白质、脂肪、糖和酶等各种成分凝固成不溶性物质,保持其原来的形态结构;④ 固定后组织细胞中各种成分发生凝固及沉淀,经染色后其具有不同的折射率,形成光学上的差异,有利于对其进行观察和鉴别;⑤ 固定剂具有硬化作用,组织经固定后发生硬化,有利于切片;⑥ 组织中的不同成分经固定后对染料具有不同程度的亲和力,其染色后颜色更加鲜艳,图像更加清晰。为了达到不同的目的和要求,有的放矢地选择适当的固定液对于获得最佳的固定效果具有重要的意义。

一、常用的固定液

(一) 甲醛(formaldehyde) 价格便宜,固定效果好,为最常用的固定液。目前市场所售甲醛原液的浓度为 37%~40%,又称为福尔马林。现使用的 10%的甲醛,是由 10 ml 甲醛加 90 ml 的水配制而成,其实际浓度为 4%。甲醛固定液的优点为:对组织的穿透力强,固定均匀,引起组织收缩较小,对脂肪、神经及髓鞘的固定效果好,也可固定高尔基体、线粒体,并可保存糖,使肝糖原变成微细的颗粒团。经甲醛固定后的标本,细胞核染色甚佳。

(二) 中性甲醛 其固定效果要优于甲醛。中性甲醛配方为 40%甲醛溶液 120 ml、蒸馏水 880 ml、磷酸氢二钠 4 g、磷酸二氢钠 13 g、其 pH 值为 7.0。

(三) 乙醇 又名酒精,易被氧化为乙醛,再变为醋酸,所以不能与铬酸、重铬酸钾、钼酸等氧化剂混合。乙醇具有使病理标本硬化、固定、脱水等作用,其使用浓度为 80%~90%。如要证明组织内含有尿酸盐结晶和糖类等物质则可用 100%的乙醇进行固定。但乙醇渗透组织的能力较弱,其虽能使白蛋白、球蛋白和核蛋白沉淀,但核蛋白沉淀后能溶于水,所以使用乙醇不利于对染色体进行固定,经乙醇固定后的组织,其细胞核着色不良。乙醇可溶解脂肪及类脂质,并可溶解血红蛋白和损伤色素。因此,如要证明细胞内存在脂肪、类脂质及色素,则标本不可用乙醇进行固定。使用高浓度的乙醇进行固定,可使组织硬化变脆,使组织明显收缩,而使用 70%的乙醇则可较长时间地保存组织。

(四) Bouin 液 由苦味酸饱和水溶液 75 ml、40%甲醛溶液 25 ml、冰醋酸 5 ml 配制而成。其渗透力强,对组织固定均匀,很少使组织收缩,染色效果好,不会使组织变硬、发脆。经 Bouin 液固定后的组织经水洗 12 小时或经 70%~80%的酒精洗涤,可加速清除固定后组织块上的黄色。

(五) 其他固定液 除了上述固定液以外,其他固定液尚有 Zenker 液、Helly 液、Müller

液及 Carnoy 液等。

二、标本固定过程中的注意事项

为了能在最短的时间内充分地组织进行固定,以最大限度地保存组织的良好形态和结构,在固定之前首先应将病理标本按一定的方向切开,以利于固定液尽快地穿透和渗入组织内部。病理标本切开后应尽可能保持标本的完整性,尽可能充分地暴露和显示标本的病变,以便于观察和取材。病理标本在固定过程中的处理可以遵循以下一些原则:

首先,脏器或组织一般应以最大面切开,或从脏器的皮质部及脏器的边缘向脏器门部的方向切开,如脏器或组织较大则应作多个平行切面,以利于固定液渗入组织内部。

其次,对于胃切除的标本可沿胃大弯剪开,对于肠道切除的标本可沿肠系膜的对侧将肠管剪开,对于食管癌根治切除的标本可沿肿瘤所在部位的对侧缘剪开。

第三,固定液应完全浸没标本,对于较大的,不能完全浸没于固定液中的病理标本暴露于空气中的部分,应用浸湿了固定液的纱布覆盖,将纱布的边缘浸于固定液中,以利用纱布的虹吸作用将固定液吸取至脏器的表面,从而能够对本高出固定液的部分进行固定和防止其干燥。对于空腔脏器则可通过灌注固定液的方法对其进行固定。

最后,对于有些脏器及标本,为了能使其在固定后可维持一定的形状以便于观察和取材,在将其切开后应用适当的器具,或将其钉在木板或泡沫塑料板上进行固定。

三、巨检标本的描写和记录

(一) 巨检标本的描写 病理标本的巨检描写和记录是病理诊断起始的第一步。病理标本经固定后,应仔细地对其进行观察,准确地描写和记录,及时取材,其对于初步判断病变的部位和性质,为显微镜下做出正确的病理诊断提供充分的诊断依据,为今后的科研、教学等积累资料都具有十分重要的意义。更重要的是,有些病变只在巨检时可见形态结构的异常,而在显微镜下并无细胞形态变化的特征,因此,只有通过对本的仔细观察和描写记录,才能够对其做出正确的病理诊断。所以,病理标本的正确描写和记录极为重要。为了能够对病理标本进行详细和全面地观察、描写和记录,在具体描写时可按标本取材过程中的自然步骤,对病理标本按下列提示有序地进行描写并记录。

首先,组织或脏器的名称,或什么形态的组织。

其次,标本的大小、重量及块数或件数。

第三,标本表面的状况,如标本表面的颜色、光滑或粗糙,是否呈结节状、分叶状或息肉状,有无蒂等。

第四,标本切面的状况,如标本切面的颜色,病变是否具有清楚的界限,有无包膜,质地软硬,病变与周围组织的关系等。

第五,如送检标本为囊性,则应详细地描写标本内表面的情况:如标本内表面的颜色、光滑或粗糙程度,是否具有乳头,囊壁的厚度以及标本呈单房性或多房性等。

第六,必要时在取材之前,标本保存尚完整时首先照相,以保留完整的病理标本巨检形态资料。

最后,对于重要的或复杂的病理标本,应画图标明病变的取材部位,以利于显微镜下对病变进行定位及做出正确的病理诊断。

(二) 巨检标本的记录 病理标本的观察、描写和取材记录工作看似简单,实则不易。要能做到眼观、口述、手切同时进行,有条不紊,疏而不漏,必须要经过长期的认真探索和实践。为了提高工作效率,在对病理标本取材记录时应当充分注意下列一些问题:

首先,对于标本的描述必须遵循一定的顺序,一般是先描述标本的表面,再描述标本的切面;先描述脏器的浆膜面,再描述标本的黏膜面,对于囊性肿块,应先描述其外表面,再描述其内表面。

其次,对于标本的不同部位,应遵循先描写其左侧,再描写其右侧;先描写其上方(上面、上切缘、上端),再描写其下方(下面、下切缘、下端);先描写其前面,再描写其后面;先描写脏器的皮质部分,再描写脏器的髓质部分的原则,逐一加以描写和记录,以防疏漏。

第三,对于几个相连而同时送检的脏器,应逐个加以描述,先描述完一个脏器的表面及切面的状况,再描述第二个脏器表面及切面的状况,乃至第三个脏器的表面及切面的状况。例如,对于胰头癌下半胃、十二指肠及胰头切除的标本,应对胃、十二指肠及胰头的表面及切面情况分别逐一加以描写记录,以防疏漏。

第四,对于一个脏器的不同部位应先描述一个部位的表面及切面状况,再描述另一个部位的表面及切面的状况。例如,对于全子宫标本应先描述宫体的表面及切面的状况,再描述宫颈表面及切面的状况。

第五,同时送检的几块标本组织,应先描述第一块组织,再描述第二块组织。先描述较大的一块组织,再描述较小的一块组织。

第六,对于送检的肿瘤标本组织,应特别注意描写肿瘤浸润的深度,记录肿瘤与标本切缘的距离,肿瘤在标本中的位置及其与标本中解剖定位标记的关系及距离等。例如,对于回盲部的肿瘤应明确地记录肿瘤是位于回肠或盲肠,及肿瘤距离回盲部的距离等。

最后,在对病理标本进行描述时,应详实而具体,用词要简明,能反映出送检组织或脏器的形态学特点,而不可简单地运用诊断性语言,予以抽象地肯定或否定,如某脏器组织未见异常等。

四、病理标本的取材

病理标本的理想取材不仅要求病理科医生能准确地取到典型的病变部位,而且要求在所取的组织块中既能看到患者脏器及组织中的主要病变,又能看到其周围的次要病变。所取的组织块要能反映患者脏器及组织中的主要病变及其与周围组织的关系。所取组织块的大小和平整度对于组织的下一步处理,如标本的脱水、浸蜡和切片染色等具有重要的影响,因此,一般要求取材的大小最大不超过 $2.0\text{ cm} \times 1.5\text{ cm}$,取材的厚度不超过 0.4 cm ,所取的组织表面应平整,没有血液、黏液等覆盖,取材的组织内不应含有金属、玻璃碎屑及线头等异物,以免在下一步的切片过程中造成切片刀的损坏。病理标本取材的一般原则为:

首先,应在病变最明显、最典型或肿瘤主体部位取材。

其次,应在肿瘤瘤体或病变最明显处与周围组织交界处或肿瘤的包膜处取材。

第三,所取的组织要能反映出肿瘤的浸润深度及浸润的范围。

第四,若送检的组织为肿瘤标本,应常规地对送检标本的切缘进行取材,以观察肿瘤是否已浸润切缘。如标本的切缘有肿瘤细胞浸润常提示预后不良。

第五,对于肿瘤周围或主要病变周围的次要病变、合并性病变也应取材,以利于观察肿瘤或疾病的发生和发展过程,与周围组织的关系,及其与周围组织之间的相互影响等。

第六,以往的经验表明,对于送检标本中的可疑病变,或不明情况的病变也应取材,以免忽略了重要的病变。

第七,对于送检标本中无明显病变的脏器,或脏器中肉眼观察形态正常的部位,也应常规地对每一重要的部位一一加以取材,以在显微镜下证实其确实没有明确的病变。

最后,对于送检的肿瘤性标本,应常规地寻找肿瘤周围局部淋巴结,详细地记录其大小、数量及部位,并加以取材。因为,肿瘤是否已有淋巴结转移对于患者预后的估价具有重要的意义。

第二节 病理标本的特殊染色

通常在大多数情况下,对于大多数疾病和肿瘤通过对石蜡切片进行常规的苏木素伊红染色(HE染色),光镜观察即可做出正确的病理学诊断。组织切片 HE 染色是目前公认的、较好的、标准的、基本染色方法。然而在许多情况下如仅根据常规 HE 染色切片诊断则会使诊断受到很大的限制。因此开展一项或多项更好的特殊的染色方法对于某些疾病的病理学诊断具有重要的意义。特殊染色的方法在许多情况下对于疾病的病理学诊断和鉴别诊断能提供重要的帮助,其往往方法简单,结果可靠,因而常具有其他方法不可替代的作用。因此,在今天,尽管许多高新技术在病理学这一领域已得到了广泛的应用,特殊染色的方法仍然倍受人们的重视。现将常用的特殊染色方法和染色结果归纳概括如表 1-1。

表 1-1 常用的特殊染色方法和结果

染色目的	固定剂、包埋剂	染色方法	染色结果
常规染色	甲醛溶液、石蜡	苏木素伊红(HE)	细胞核:紫蓝色;胶原、肌肉纤维:红色
胶原	甲醛溶液、石蜡	范基森(van Gieson, VG)	胶原:红色;细胞浆和肌肉:黄色;细胞核:蓝黑色
	甲醛溶液、石蜡	马洛利亚尼林蓝(Mallory aniline blue, MAB)	胶原:蓝色;细胞核、肌肉纤维:鲜红色
	甲醛溶液、石蜡	孟森(Masson)三色染色	胶原:蓝绿色;细胞核、肌肉纤维:暗红色;细胞核:黑色
	甲醛溶液、石蜡	酸性地衣红-姬姆萨(Acid orcein-Giemsa)	弹力纤维:褐色;胶原:粉红色;黑色素:黑色;含铁血黄素:淡黄绿色;肥大细胞颗粒:深紫色
弹力纤维	甲醛溶液、石蜡	外格忒-范基森(Weigert-van Gieson)	弹力纤维:深蓝色至黑色;胶原:红色
	甲醛溶液、石蜡	威尔霍夫(verhoeff)	弹力纤维:黑色
	甲醛溶液、石蜡	醛品红(Aldehyde fuchsin)	弹力纤维:深紫色;肥大细胞颗粒:深紫色
	甲醛溶液、石蜡	付特(Foot)	网状纤维:黑色
网状纤维	甲醛溶液、石蜡	果莫瑞(Gomori)	网状纤维:深褐色至黑色
	甲醛溶液、石蜡	韦尔德(Wilder)	网状纤维:深褐色至黑色
神经纤维	甲醛溶液、石蜡	布丁(Bodian)	神经纤维:黑色
糖原	甲醛溶液、石蜡	过碘酸-Schiff(PAS)反应	糖原:紫红色;真菌壁及某些黏多糖:玫瑰红至淡紫红色

续表

染色目的	固定剂、包埋剂	染色方法	染色结果
酸性黏多糖	甲醛溶液、石蜡	阿辛蓝(Alcian blue)	酸性黏多糖:淡蓝色
	甲醛溶液、石蜡	胶性铁	酸性黏多糖:淡蓝色
	甲醛溶液、石蜡	甲苯胺蓝	酸性黏多糖:异染性,染成紫色
真菌	甲醛溶液、石蜡	淀粉酶消化性 PAS 反应	真菌孢子和菌丝壁:红色
DNA	甲醛溶液、石蜡	福尔真(Feulgen)	DNA:紫红色
脂肪	冰冻切片	苏丹(Sudan)Ⅲ	脂肪:橙黄色
	甲醛溶液、石蜡	苏丹(Sudan)Ⅳ	脂肪:橘红色或红色
黏蛋白	甲醛溶液、石蜡	梅依尔(Mayer)胭脂红	黏蛋白:红色
	甲醛溶液、乙醇	硫堇	黏蛋白:紫红色
淀粉样蛋白	甲醛溶液、石蜡	结晶紫、甲基紫	淀粉样蛋白:紫红色
	甲醛溶液、石蜡	刚果红	淀粉样蛋白:橙红色
纤维蛋白	甲醛溶液(用乙醇固定更佳)、石蜡	外格式-革兰(Weigert-Gram)法	纤维蛋白:蓝色至黑色
尿酸盐和钙	乙醇、石蜡	范柯萨(Von Kossa)	钙质:深黑色;尿酸盐:黑褐色
黑色素	甲醛溶液(Bouin液最佳)、石蜡	方天纳(Fontana)	黑色素:黑色
纤维蛋白	甲醛溶液(用乙醇固定更佳)、石蜡	外格式-革兰(Weigert-Gram)法	纤维蛋白:蓝色至黑色
尿酸盐和钙	乙醇、石蜡	范柯萨(Von Kossa)	钙质:深黑色;尿酸盐:黑褐色
黑色素	甲醛溶液(Bouin液最佳)、石蜡	方天纳(Fontana)	黑色素:黑色
含铁血黄素	甲醛溶液、石蜡	普鲁士蓝反应	含铁血黄素:蓝色
肥大细胞颗粒	甲醛溶液、石蜡	多色性美蓝法	肥大细胞颗粒:淡蓝紫色,其中颗粒呈淡紫红色;细胞核呈蓝色
	甲醛溶液、石蜡	姬姆萨(Giemsa)	肥大细胞颗粒:鲜红色
病毒包含体等	甲醛溶液、石蜡	姬姆萨(Giemsa)	病毒包含体、利朵(L. D.)小体、荚膜组织胞浆菌、嗜酸性细胞颗粒、弗瑞西(Frisch)杆菌等:鲜红色;细菌:蓝色
球菌	甲醛溶液、石蜡	革兰	球菌:青蓝色;细胞核:红色
抗酸杆菌	甲醛溶液、石蜡	萁尔-利森(Ziehl-Neelsen)法	结核杆菌和麻风杆菌:红色
	甲醛溶液、石蜡	韦德-菲特(Wade-Fite)法	麻风杆菌:鲜红色;细胞核:蓝色
利什曼原虫	甲醛溶液、石蜡	瑞氏,姬姆萨法	原虫核:紫蓝色;原浆:淡红色

第三节 冰冻切片检查

冰冻切片因不需对组织进行固定和浸蜡而制片迅速,现已广泛应用于临床病理学诊断。在冰冻切片上的组织由于未经固定和浸蜡,因此其抗原成分等保存好,尤其适用于免疫组化染色等。然而冰冻切片亦存在其固有的缺陷,尤其是在冰冻切片上易将良性病变误认为是恶性肿瘤,从而导致对患者的过度治疗,使其在病理诊断中的应用受到了一定的限制。因此,充分了解冰冻切片的特点,熟悉和掌握冰冻切片上常见的人为现象,严格控制冰冻切片的适应证,对于指导临床医师对患者的治疗具有极其重要的意义。国内文献报道在 7 190 例冰冻切片中不能确诊的病例有 185 例(2.58%),假阳性误诊病例 23 例(0.32%),假阴性误诊病例 45 例(0.63%)。国内冰冻切片诊断与石蜡切片诊断相比,其完全符合或基本符合率为 95.85%~97.9%(表 1-2)。在冰冻切片上不能确诊的病例中,神经组织病变占第一位(27%),其次为软组织、乳腺和卵巢组织的病变。在冰冻切片误诊病例中,以神经组织、淋巴管和唾液腺组织病变误诊率最高,占 46%,其他病变易误诊的组织依次为:甲状腺、食管及乳腺。

表 1-2 冰冻切片诊断准确率国内外资料比较

作者	例数	准确率(%)	假阳性率(%)	假阴性率(%)	不能确诊率(%)
陈乐真等	7 190	96.47	0.32	0.63	2.58
Ackerman 等	1 269	98.8	0.3	1.7	/
Rogers	1 414	98.5	0.4	1.1	/
涂莲英等	807	96.15	0.78	1.58	1.49
朱世能等	6 850	95.85	0.34	0.68	3.12
朱梅刚等	1 000	97.9	0.1	0.6	1.4

一、冰冻切片检查易误诊的原因

(一) 冰冻切片质量较差 冰冻时由于组织骤冷,组织内水分形成冰晶,使组织内出现大量空泡,特别是水分较多的脑组织,更易因冰晶形成过多,使组织切片呈空网状而无法做出诊断。因此应该用干纱布包裹组织送检,这样可明显提高冰冻切片的质量,以利于诊断。切忌用湿纱布包裹或用生理盐水浸泡组织后再做冰冻切片检查。

(二) 冰冻切片造成细胞形态发生改变 冰冻切片中组织因未经固定,细胞发生胀大,胞浆背景不清,极易给人造成细胞核增大,具有异型性的错觉,从而导致错误地诊断为恶性肿瘤。这方面的经验和教训可以说是屡见不鲜。

(三) 在冰冻切片上病变显示不清 在冰冻切片上常难以准确地对细胞形态进行辨认,尤其是对于一些嗜酸性染色的细胞和组织结构难以辨认,从而导致对基本病变解释错误,这是常见的误诊原因。

(四) 医师缺乏经验 医师对冰冻切片所造成的人为现象不熟悉。

二、在冰冻切片检查时易误诊的病变

(一) 炎症细胞浸润 许多学者指出,在冰冻切片上炎细胞浸润是个陷阱,易被误诊为恶性肿瘤。在冰冻切片上浆细胞较大而细胞核偏位,细胞核的车轮状结构和胞浆嗜碱性不

明显,细胞常形成假腺腔样结构,易误诊为腺癌。文献报道:①胃溃疡底部浆细胞浸润易误诊为印戒细胞癌;②脑组织陈旧性血肿伴感染可误诊为转移性腺癌;③乳腺组织中浆细胞浸润易误诊为单纯癌;④子宫肌瘤合并感染,浆细胞浸润易误诊为低分化腺癌。因此,对于上述病变必须特别提高警惕。

(二) 间皮细胞增生 阑尾炎时其表面间皮细胞常见肥大和增生,核仁显著,易误诊为腺癌。

(三) 肺泡上皮增生肥大 在肺炎性假瘤时,肺泡上皮细胞核增大,突出于肺泡腔,易误诊为肺泡细胞癌。

(四) 嗜酸性白细胞和巨细胞病变 嗜酸性白细胞和巨细胞在冰冻切片上染色不清,因此,在冰冻切片上嗜酸性肉芽肿、巨细胞瘤、霍奇金淋巴瘤等常难以确诊。

三、对冰冻切片进行诊断时应注意的问题

(一) 甲状腺 在冰冻切片上最困难的是甲状腺滤泡性癌的诊断,对胚胎性腺瘤和嗜酸性细胞腺瘤亦难以诊断。因此,许多学者主张不对其做冰冻切片检查。在 HE 切片上甲状腺乳头状腺癌可见毛玻璃样核,而其在冰冻切片中则难以看清。Silva 等认为毛玻璃样核为甲醛固定后的人为现象,所以,Silva 等主张对甲状腺乳头状腺癌在做冰冻切片检查时,应同时做印片巴氏染色,如细胞核内可见假包含体,则是诊断乳头状腺癌的可靠的形态学证据。

(二) 乳腺 导管内乳头状病变是乳腺冰冻切片诊断中最困难的问题,特别是乳晕下导管内乳头状瘤的假浸润现象,极易被误诊为癌。在硬化性腺病中亦可见类似的现象。其鉴别要点为:导管内乳头状瘤假浸润中细胞受挤压现象明显,上皮细胞拉长并与周围结缔组织相平行,上皮细胞排列成双行。浸润的癌细胞则排列成单行,癌细胞无明显的受挤压现象。

(三) 神经组织 神经组织病变误诊最多,其主要原因为:①脑组织制片困难,病变显示不清;②用抽吸方法活检,使细胞变形,组织小而碎。

在冰冻切片上神经组织易误诊的病变有:①分化好的胶质瘤与胶质细胞增生:胶质瘤的特点为细胞密度高,分布不均匀,细胞核大小不一,具有异型性。胶质细胞增生则相反;②鞍区脑膜瘤与垂体腺瘤:两者鉴别困难时可做快速网状纤维染色,对于鉴别诊断具有重要的意义。脑膜瘤内网状纤维增多,垂体腺瘤网状纤维减少。

(四) 淋巴结 冰冻切片一般难以诊断淋巴瘤,淋巴结冰冻切片检查的主要目的在于检查有无转移癌。但在冰冻切片检查时,由于转移癌灶常很小,病变显示不清及阅片时间仓促等原因,很容易被漏诊。

第四节 微波固定技术在病理学中的应用

微波(microwave, MW)是一种电磁波,在病理学上用于对组织进行固定的微波的频率为 2.5 GHz。目前人们已成功地将微波技术应用于常规石蜡切片、冰冻切片、超薄切片及免疫组化染色切片等标本的固定。微波保存组织的作用机制尚未明了,仅根据目前现有的知识还无法完全解释微波固定作用的原理。一般认为其原理有以下两个方面:①热传递作用:双极分子物质,如水、双链蛋白质容易受到非离子化放射的影响,它们随微波周期以每秒 24.5 亿次的速度进行 180°的快速振动,从而瞬间产热。交替变化的电磁波造成的快速分子运动促进了试剂在组织内的扩散,加速了试剂与细胞内各种物质的结合,通过分子间的简单碰撞完成了化学反应并达到了平衡。但在进行免疫组织化学反应时,仅用热传递来解释是

不恰当的。Hjerpe 等在 ELISA 系统内检测了微波对 CEA 和抗 CEA 的促进作用,尽管持续用冰进行了降温,但细胞经微波照射后反应速度仍加快。② 低强度的微波能很快地影响疏水性相互作用、氢键和范德华引力。

一、微波固定在常规石蜡包埋、HE 染色切片制备过程中的应用

在常规石蜡包埋 HE 染色切片制备过程中最常用的固定剂是甲醛。但甲醛能挥发出具有强烈刺激性的有毒气体,对于人体具有较大的危害性。因此,如何进一步选择更优良的固定剂和固定方法始终是人们关注的焦点。1970 年 Mayers 首先将 1 cm^3 的小鼠及人体组织置于室内用 630 W 微波炉照射 90 秒钟,获得了满意的固定效果,由此创立了微波固定术。Leong 等则把微波快速固定应用于组织学诊断。他们将标本组织切成 2 mm^3 小块后,立即置于生理盐水中,在 58°C 温度下,用微波照射 90 秒钟,然后进行常规脱水及包埋等处理。这一过程在微波炉内仅需 15~20 分钟即可完成。较小组织的制片全过程可在 1.5 小时内完成,较大组织亦可在 3.5 小时内完成。对于大多数组织通过微波固定后可获得满意的固定效果,HE 切片染色质量完全达到,甚至优于使用常规方法制作的切片。对大标本可先将其浸没于生理盐水中,然后用微波照射($67\sim 74^\circ\text{C}$)。由于 2.4 GHz 的微波仅能穿透几厘米厚的生物组织,因此尚须将大组织修整为 2 mm^3 的小块,然后再进行常规固定。照射后的整块组织既保持了原来的颜色和韧性,又增加了硬度。除了大块皮肤组织在微波照射之前须用甲醛固定 30 分钟外,对于其他组织不需甲醛进行固定,仅用微波照射后就能制得高质量的切片。

二、微波固定在冰冻切片中的应用

将刚切好的冷冻切片浸于 Kryofix 或 Wolman's 溶液(95%乙醇和 5%冰醋酸)中,用 450 W 的微波照射 20 秒钟,这样制成的切片冷冻和融化后都不会发生形态变化,切片显示出优良的图像,细胞形态大为改善。

三、微波固定在组织化学和免疫组织化学方面的应用

微波应用于各种组织化学染色具有显著的优点:① 经微波照射后的组织染色效果更好,背景更清晰;② 经微波固定后的组织染色所需时间大大缩短;③ 微波固定可广泛应用于各种染色,如六胺银染色、氨银染色、Grocott's 六胺硝酸银染色、阿辛蓝 PAS 染色及酸和乙醇的快速染色等。

微波应用于免疫组织化学技术亦具有显著的优点。在进行免疫组化检查时最重要的是必须最大限度地保存组织中抗原的完整性。但甲醛固定液对组织中的抗原具有不同程度的破坏作用,因此如何尽可能地保存好组织内的抗原一直为人们所高度关注。Leong 对 25 个抗原进行观察研究后发现,一些抗原在经甲醛固定 3 天后阳性反应强度就明显减弱,而大多数抗原在固定 7 天后即丧失。除白细胞共同抗原外,由 LN1、LN2、LN3 及 UCHL1 产生的淋巴细胞抗原在固定 3 天后已普遍丢失。而 Leong 等把这些组织抗原放在生理盐水内,然后用微波照射(63°C)发现,有 23 个抗原保存良好。一般除了细胞角蛋白和结蛋白染色外,其他经微波照射后的组织都不需要用水解酶消化。对微波照射后的组织进行免疫组化染色,可获得较高的清晰度和染色强度。微波还可用于对包埋后的切片进行照射,其能促使免疫组化染色,也可用单克隆抗体进行快速免疫试剂盒染色。微波固定组织也非常适用于免疫荧光染色。在用微波对组织进行固定后,其切片的免疫荧光染色强度、染色分布及敏感性等均与冷冻切片无明显差别。