

实用肿瘤病理方法学

PRACTICAL METHODOLOGY OF ONCOPATHOLOGY

许良中 主编

上海医科大学出版社

实用肿瘤病理方法学

许庚中 主编

上海医科大学出版社

责任编辑 沈彬源 何剑秋
封面设计 朱仰慈
版面设计 丁 玮
责任校对 冯佳祺 刘兰生
王汇珊 蒋建安

实用肿瘤病理方法学

主编 许良中

上海医科大学出版社出版发行

上海市医学院路 138 号

邮政编码 200032

新华书店上海发行所经销

常熟人民印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 49.125 插页 14 字数 1 116 000

1997 年 9 月第 1 版 1997 年 9 月第 1 次印刷

印数: 1—3 000

ISBN7-5627-0379-5/R·359

定 价: 108.00 元



内 容 提 要

本书阐述肿瘤病理学领域最新理论及全面而又实用的技术,理论联系实践,并与临床及科研密切结合,突出新颖(新方法、新技术)、深入(方法具体、详尽)、全面、实用八个字。对初学者能引导入门,对常用者亦能起检索参考作用。全书共分四篇三十七章,分别介绍组织病理学、组织化学、免疫组织化学、癌基因、抗癌基因、染色体、AgNoR、ICM、FCM、PCR、FISH、原位杂交、免疫电镜、扫描电镜、DNA 测序等新技术新方法。反映了近年来肿瘤病理学研究的新进展和新成就。本书系供肿瘤学、病理学、解剖学、组织胚胎学、病理生理学、生物学、细胞学等方面的基础与临床专业工作者阅读的参考书,也可作为本科生、研究生和进修生的参考书。

主 编	许良中
编 委	(按姓氏笔画为序)
马积庆	上海市肿瘤研究所研究员
王懿龄	上海医科大学肿瘤医院教授
叶诸榕	上海医科大学教授
朱梅刚	中国人民解放军第一军医大学教授
朱雄曾	上海医科大学肿瘤医院教授
向正华	中国人民解放军第二军医大学副教授
许良中	上海医科大学肿瘤医院教授
许祖德	上海医科大学副教授
许凯黎	上海市肿瘤研究所研究员
杨文涛	上海医科大学肿瘤医院博士研究生
杨静莹	上海市肿瘤研究所副研究员
张廷璆	上海医科大学肿瘤医院教授
张丽萍	上海市第六人民医院主治医师、肿瘤病理学博士
张素娟	中国人民解放军第一军医大学高级技师
张锦生	上海医科大学教授
张锚链	遵义医学院副教授
陈 岗	上海市胸科医院主治医师、肿瘤病理学博士
武文森	上海市第一人民医院副主任医师
周国民	上海医科大学副教授
周美云	中国科学院上海细胞生物研究所高级实验师
周晓燕	上海医科大学肿瘤医院博士研究生
金志军	中国人民解放军第二军医大学长征医院副教授
施达仁	上海医科大学肿瘤医院教授
徐元鼎	上海医科大学教授
徐丛剑	上海医科大学妇产科医院博士研究生
曹世龙	上海医科大学肿瘤医院教授
梁国桢	遵义医学院教授
韩 军	陕西省肿瘤医院主治医师、肿瘤病理学博士
潘小平	上海医科大学教授

前 言

有关肿瘤病理学的研究日新月异,从组织、细胞和分子三个水平开展的研究工作广泛而深入。目前国内还缺少一本从三个水平阐述肿瘤病理学,特别是理论联系实际,并与临床及科研密切结合,具有实用价值的专著。在当前“科教兴国”的大好形势下,为了满足国内日益增长的需要,上海医科大学肿瘤医院以全国重点学科“肿瘤学”和上海市领先医学“肿瘤病理学”为基础,组织了院内外有关专家、教授,特别是一些年轻的后起之秀,以自己的工作为基础,结合国内外进展,撰写成本书。全书共分四篇,计三十七章,执笔有关章节的都是从事这方面实际工作的有丰富经验的专家。各章力求在叙述基本概念时简洁明了,并反映当前研究工作的最新进展,注意学术性、先进性和实用性。在描述具体技术方法时尽量做到详尽、具体、条目化,使人读后一目了然,避免泛泛空谈。对初学者能引导入门,对常用者亦能起检索参考作用。各章都附有主要参考文献,以利于进一步研究时参考。

本书在编写出版过程中,得到美国 PERKIN ELMER 公司(PE-ABD)、上海国宝生物工程研究所、上海华联制药厂、华美生物工程公司等单位的支持和赞助,在此表示衷心的感谢。由于本人经验不足,本书存在的缺点和不足之处,欢迎读者批评指正。

许良中

1996 年 12 月

目 录

第一篇 组织病理学

第一章 病理解剖技术.....	3
第二章 临床病理检验技术	30
第三章 组织化学	78

第二篇 免疫组织化学

第四章 有关的免疫学理论和技术.....	129
第五章 免疫组织化学的原理和基本技术.....	148
第六章 常用免疫组织化学方法.....	161
第七章 免疫胶体金技术.....	176
第八章 亲和组织化学法的应用.....	188
第九章 原位杂交组织化学.....	216
第十章 免疫组织化学的实际应用.....	232
第十一章 细胞骨架.....	257
第十二章 S-100 蛋白	270
第十三章 癌胚抗原与甲胎蛋白.....	276
第十四章 卵巢肿瘤的免疫组织化学.....	286
第十五章 内分泌系统肿瘤的免疫组织化学.....	295
第十六章 病毒的免疫组织化学.....	320
第十七章 恶性淋巴瘤和白血病.....	335
第十八章 软组织和骨肿瘤的免疫组织化学.....	397

第三篇 肿瘤的癌基因和抗癌基因

第十九章 癌基因.....	425
第二十章 抑癌基因.....	445
第二十一章 多药耐药基因.....	452
第二十二章 肿瘤转移相关基因	479

第四篇 新技术的应用

第二十三章	染色体的检查	489
第二十四章	核仁组织区嗜银染色	529
第二十五章	定量病理技术	557
第二十六章	人体实质性肿瘤的流式细胞分析术	578
第二十七章	原位杂交技术在病理学中的应用	596
第二十八章	细胞凋亡的检测	611
第二十九章	聚合酶链反应技术	636
第三十章	Southern 杂交	662
第三十一章	Northern 杂交	676
第三十二章	限制性核酸内切酶片段长度多态性分析	681
第三十三章	透射电镜	692
第三十四章	免疫电子显微镜技术	716
第三十五章	扫描电子显微镜技术	727
第三十六章	微波技术	732
第三十七章	肿瘤细胞基因 DNA 位点突变和构象变化的测定	740
索 引		755

第 一 篇
组 织 病 理 学

第一章 病理解剖技术

第一节 病理解剖的意义[4]

- 一、提高临床诊断和治疗质量[5]
- 二、促进病理教学和学科发展[5]
- 三、提供医学科学研究的素材[5]

第二节 有关尸体解剖的条例[5]

第三节 病理解剖室的设备和器械[7]

- 一、病理解剖室的基本设备[7]
 - (一) 病理解剖室的设计[7]
 - (二) 病理解剖台的设计[8]
- 二、病理解剖器械[8]
- 三、清洁、消毒和个人防护[9]
 - (一) 病理解剖室的清洁和消毒[10]
 - (二) 病理解剖器械的清洗与消毒[10]
 - (三) 个人防护[10]

第四节 病理剖验方法和步骤[10]

- 一、剖验前准备[10]
- 二、体表检查[10]
 - (一) 尸冷[10]
 - (二) 尸斑[11]
 - (三) 尸僵[11]
- 三、胸腹腔检查[11]
 - (一) 病理解剖切口[11]
 - (二) 腹腔检查[12]
 - (三) 胸腔检查[12]
- 四、内脏器官的取出和检查[12]
 - (一) 颈部器官的取出和检查[13]
 - (二) 胸腔脏器的取出和检查[13]
 - 1. 心脏的取出与剖验[13]
 - 2. 主动脉的检查[14]
 - 3. 肺的取出与剖验[14]

(三) 腹腔脏器的取出和检查[15]

1. 脾的取出与检查[15]
2. 肠及肠系膜的取出与剖验[15]
3. 胃及十二指肠的剖验[15]
4. 胰的检验[15]
5. 肝和胆囊的取出与检查[16]
6. 肾及肾上腺的检查[16]

(四) 盆腔脏器的取出和检查[16]

(五) 颅腔检查和脑的取出与检查[16]

(六) 椎体和骨髓检查及脊髓的取出[17]

(七) 尸体外貌的修复[17]

1. 头颅的修复[17]
2. 胸腹腔的修复[18]

(八) 微生物和寄生虫检查[18]

1. 细菌学检查[18]
2. 病毒学检查[18]
3. 寄生虫学检查[18]
4. 其他检查[18]

(九) 化学和毒物检查[19]

(十) 尸检记录[19]

1. 尸检申请书及家属同意签字[19]
2. 临床病历摘要[19]
3. 病理解剖记录[19]
4. 病理诊断及死亡原因[22]
5. 总结和讨论[23]

第五节 死胎和新生儿解剖[23]

一、胎龄的估计[23]

二、脐带和胎盘的检查[23]

三、新生儿解剖的特点[24]

第六节 病理标本的处理和保存[24]

一、巨体标本的固定[24]

二、组织学检查标本的选择和处理[25]

三、残余标本的处理及巨体标本的制作[26]

(一) 标本的选择和预处理[26]

(二) 标本固定液的选择[27]

(三) 缸内标本的固定[27]

(四) 标签[27]

第七节 正常成人器官的重量和大小[27]

第一节 病理解剖的意义

病理解剖就是通过对尸体进行解剖观察,从而发现死者生前各器官的病理变化,找出其主要病变,分析疾病的发生、发展,判断其直接死亡原因的一种重要方法。通过病理解剖可以验证临床诊断的正确性及治疗措施的效果,进而增进医务人员技术水平,提高医疗质量,改进治疗方法。因此,各医学院校和有条件的医院都应积极开展。近年来随着各种新方法、

新技术在病理学中的应用,病理解剖已成为全面认识疾病和发现新病种的重要途径,其在医学教学和科研等方面起着十分重要的作用。

一、提高临床诊断和治疗质量

病理解剖是促进医学科学发展、验证临床诊断及疗效的一个重要手段。有些病例虽然临床医生想尽办法,但最终还是不治。而尸检可直接观察体内各脏器、组织,乃至细胞水平的各种改变,因此可以观察到临床不易查到的病变,发现临床诊断和治疗上存在的问题,解释其发生、发展,并找出死亡原因。最后通过临床病理讨论会的形式,实现病理和临床的交流与统一,达到积累经验和提高医疗水平的目的。

二、促进病理教学和学科发展

病理剖验技术是病理学的一个重要方法,是病理学不可分割的部分,更是病理教学资料和标本的重要来源。尸检是病理工作者的一种重要技术操作,也是医学生学习病理学,使理论与实践结合的一条途径。通过具体尸检病例的剖验,系统地观察各个器官的病变,不仅可加深和巩固病理知识,而且有助于培养和训练临床分析、思维的能力。

三、提供医学科学研究的素材

病理学以至整个医学,特别是现代医学的建立与发展依靠大量解剖材料的积累。就是现在,由于免疫组织化学、原位杂交、原位聚合酶链反应(原位 PCR)、电镜和免疫电镜等新技术的应用,通过尸检还可发现一些由环境中有害物质或药物等引起的新的疾病,对某些疾病的病因、发病和分类产生新的见解,进而有助于疾病的防治。

此外,病理解剖还能临床器官移植和基础医学研究提供材料,也是解决医疗纠纷和进行法医鉴定的重要方法。因此,应该呼吁医学界和整个社会对病理解剖的理解、重视和支持。另一方面,在尸检中要充分应用新方法、新技术,尽快帮助解决临床的现实问题,注意病理教学和医学科研材料的积累,以促进病理学和医学科学的发展。

第二节 有关尸体解剖的条例

为了推广尸体解剖,也使尸体解剖有章可循,国家有关部门曾多次发布有关尸体解剖的条例,对一些具体方法和要求都有详细的规定。如:1979年卫生部发布的《解剖尸体规则》,把尸体解剖分为普通解剖、法医解剖和病理解剖三种。其中有关病理解剖的相关条文列举如下:

“三、病理解剖:限于教学、医疗、医学科学研究和医疗预防机构的病理科(室)施行。凡符合下列条件之一者应进行病理解剖:

- (1) 死因不清楚者;
- (2) 有科学研究价值者;
- (3) 死者生前有遗嘱或家属愿供解剖者;
- (4) 疑似职业中毒、烈性传染病或集体中毒死亡者。

上述1、2项的尸体,一般应先取得家属或单位负责人的同意。但对享受国家公费医疗或劳保医疗并在国家医疗卫生机构住院病死者,医疗卫生机构认为有必要明确死因和诊断时,原则上应当进行病理解剖,各有关单位应积极协助医疗卫生机构做好家属工作。

第三条 解剖尸体必须经过医师进行死亡鉴定,签署死亡证明后,方可进行。

第四条 供普通解剖使用的无主尸体,应保存 1 个月后方可使用。在此 1 个月内,如发现姓名及通讯地点时,应及时通知尸主,在限期内前来认领。逾期不领者,在呈报主管机关或公安部门批准后,即可解剖。

第五条 病理解剖科(室)只接受医疗、预防、科研、卫生行政机构和其他有关国家机关的委托进行尸体解剖。

第六条 在实行病理解剖时,如发现有他杀或自杀可疑时,病理解剖单位应报公安局派法医进行解剖或由法医与病理医师共同解剖。

第七条 凡病理解剖或法医解剖的尸体,可以留取部分组织或器官作为诊断及研究之用。但应以尽量保持外形完整为原则。如有损坏外形的必要时,应征得家属或死者生前所在单位的同意。

第八条 病理解剖或法医解剖,一般应在 1 个月内向委托单位发出诊断报告。如发现其死因为烈性传染病者,应于确定诊断后 12h 内报告当地卫生主管部门。

第九条 病理解剖应尊重少数民族风俗习惯,要积极宣传病理解剖的科学意义,提倡移风易俗。

第十条 死者生前有遗嘱或家属自愿供解剖者,如系自费医疗,医院可酌情补助火葬费(每例不超过 40 元为限)。

第十一条 凡开展病理解剖和法医解剖的单位,应建立解剖簿,登记下列事项:

- (1) 尸体编号、姓名、年龄、性别、籍贯;
- (2) 尸体来历;
- (3) 附解剖原因;
- (4) 临床诊断;
- (5) 解剖年、月、日;
- (6) 解剖人姓名;
- (7) 解剖后诊断;
- (8) 解剖报告日期;
- (9) 备注。

如无法知其姓名、籍贯者,第 1 项可仅列编号、性别以及估计年龄,其余可填未详字样。

第十二条 施行病理解剖和法医解剖的单位,应将解剖尸体的情况(包括尸体解剖诊断),每年至少向其主管部门书面汇报 1 次。”

1994 年卫生部《解剖尸体规则》补充规定(征求意见稿)指出:“疑似职业中毒、烈性传染病或集体中毒死亡者必须进行病理解剖。一般病人死因不清楚者或有科学研究价值者都应进行病理解剖。自费医疗者由医院酌情适当减除部分医疗费用;对拒绝病理解剖的职工医疗保险享受者,医院有权建议职工医疗保险主管部门降低其所享受的医疗保险的比例。职工医疗保险部门和有关单位,对医院此项工作应予配合支持。

医疗纠纷的病例,有尸检意义或死因不明者,执行国务院 1987 年颁布的《医疗事故处理办法》的有关规定。

从事尸检工作人员履行职责受法律保护。

医院或医学院校每年必须向卫生主管部门报告尸检开展情况,包括尸检率、尸检诊断与临床诊断符合率和主要疾病的漏诊率等,并作为评价医院工作质量的指标之一。”

1987 年国务院发布的医疗事故处理办法在论述医疗事故的处理程序时也指出：“凡发生医疗事故或事件、临床诊断不能明确死亡原因的,在有条件的地方必须进行尸检。尸检应在死后 48h 以内,由卫生行政部门指定医院病理解剖技术人员进行,有条件的应当请当地法医参加。医疗单位或者病员家属拒绝进行尸检,或者拖延尸检时间超过 48h、影响对死因的判定的,由拒绝或拖延的一方负责。”

第三节 病理解剖室的设备和器械

一、病理解剖室的基本设备

(一) 病理解剖室的设计

病理解剖一般应在特定的病理解剖室内进行。病理解剖室最好建在与医院太平间相邻的地方,以利于病理解剖前后尸体的存放和保管(图 1-1)。病理解剖室四周应有明亮的门窗,窗子宜开于较高处,在尸体解剖操作时可以利用间接自然光线,阴雨天或夜间最好利用手术无影灯,无条件的可用日光灯组合灯光,而不要采用带色光源照明,以免改变脏器和病变的自然色彩。

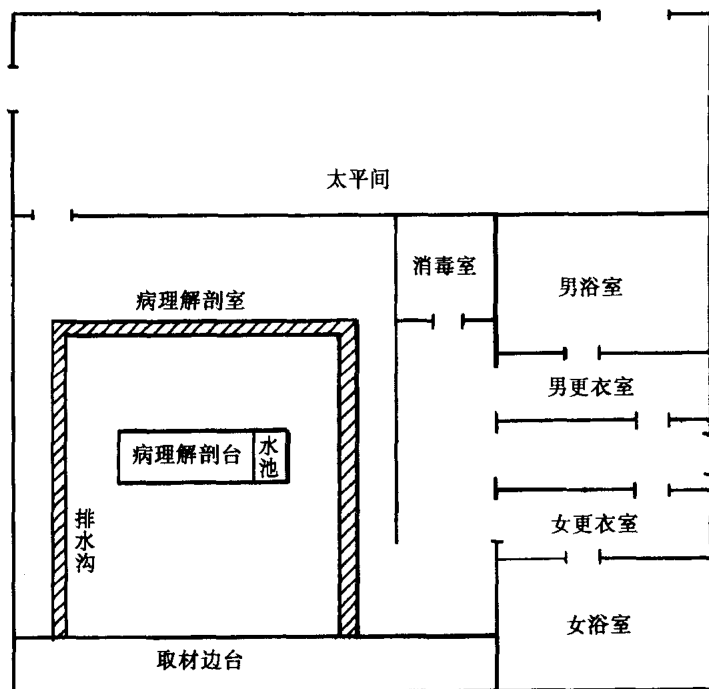


图 1-1 病理解剖室平面设计图

室内的地面最好采用白色磨石子结构,墙壁下部铺设瓷砖,病理解剖台四周最好铺设排水沟和落水管,以便病理解剖后的洗刷和清洁。

室内空气必须保持流通,除玻璃窗外,最好安装纱门和纱窗。室内应装有空调,但不宜安装风扇。有条件的应装备通风设备,进气口可设计在屋顶正中,而出气口应设在病理解剖室四周墙壁的下部,以改善室内的环境,防止细菌的播散。

医学院校及有教学任务的医疗单位,病理解剖室内要设置示教看台,其设计最好采取外

科手术观摩式楼顶看台。

病理解剖室内一侧靠墙设计取材边台和带有脚控开关的自来水冲洗槽,取材台应备有称重器具,以备病理解剖过程中冲洗器械和病理解剖后各脏器称重和取材。

在病理解剖室入口两侧应设置男女更衣室、浴室和消毒室,确保工作人员的健康和消毒防护。

(二) 病理解剖台的设计

病理解剖台可以采用不锈钢材料,但其价格昂贵,一般可用钢筋水泥结构(图 1-2, 1-3)。高低适宜,以免弯腰操作。台面和边缘要求光滑,可采用白色磨石子或表面覆以不锈钢板。台面大小除能容纳尸体外,还须留有充分的余地放置病理解剖器械和取出之脏器。台面边缘应稍高出台面,以防污水溅出,在一侧边缘可嵌镶不锈钢尺,以测量尸体身长和取出脏器的大小。台面则由四边逐渐向中央倾斜,中央设有较大出水槽口,以免尸体阻住出水口,槽中盖有铜质或不锈钢格板,在下水管入口处再盖有栅形网板,以避免小块组织漏入。下水管应通入特制的污水消毒池,污水经消毒后才能排入城市下水道。

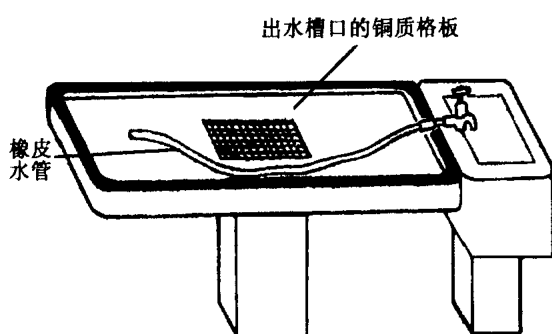


图 1-2 病理解剖台及其辅助设备

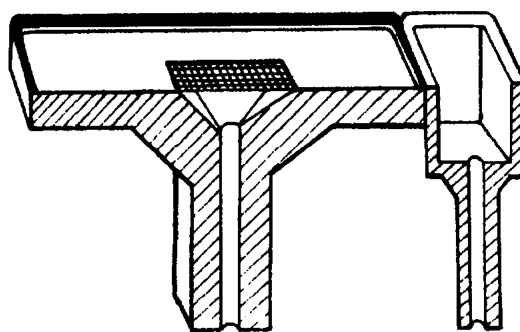


图 1-3 病理解剖台的剖面观

病理解剖台四周应嵌镶安装多孔水管,在病理解剖过程中保持冲洗水自四周逐渐向中央,流经出水槽、下水管进入污水消毒池。在病理解剖台的尾端应安装水管,并与橡皮管或塑料管连接,以冲洗尸体和病理解剖台面之用。与病理解剖台相邻的水池,供剖验冲洗肠腔内容物等用,其出口也应通入消毒池。各水管开关应尽可能采用脚踏式,以便剖验人员自行启闭。

污水消毒池应设在病理解剖室附近,病理解剖过程中所用的水均应流入污水消毒池,故此池应有一定的容量,在池的一侧离池底一定高处装一出水开关与城市下水道相通。病理解剖用水时应将出水口关闭,病理解剖结束后加入一定比例的漂白粉或次氯酸钠消毒处理后,才能排入下水道。

二、病理解剖器械

病理解剖器械是病理剖验的重要工具(图 1-4),主要包括下列几类:

(1) 刀类: 解剖刀、剖验刀和截肢(截断)刀: 为解剖皮肤、筋膜和切割脏器之用。

肋骨刀: 用于肋骨的切割。

脏器剖验刀: 剖切肝、肺等较大脏器之用。

切脑刀: 切脑专用。

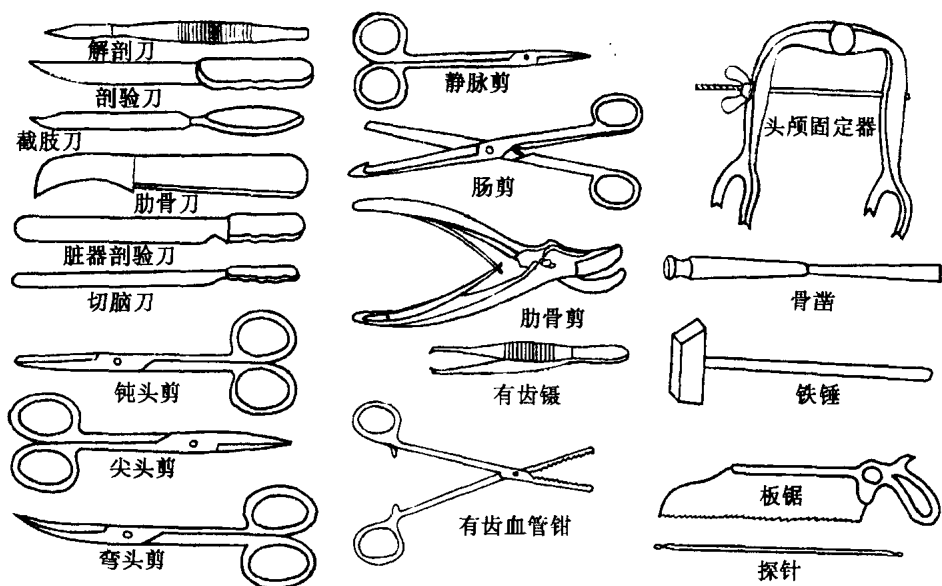


图 1-4 病理解剖器械

- (2) 剪类：钝头及尖头解剖剪，弯头剪，静脉剪：分离软组织和脏器之用。
肠剪：剖验肠管之用。
肋骨剪：用于剪已钙化之肋骨。
- (3) 镊和钳：有齿镊，无齿镊，弯血管钳，直血管钳。
有齿血管钳：常用于空肠起始部夹扎和分离。
- (4) 头颅固定器、锯(电锯或板锯)、铁锤和骨凿：为开颅取脑和切取脊髓之用。
- (5) 大小探针：检查胆道、输尿管、尿道之用。
- (6) 金属药膏刀：用来烧炙脏器表面，以作无菌取材。
- (7) 搪瓷刻度量杯及汤勺：称量胸腹腔积液和胃肠道内容物用。
- (8) 注射器和针头：采取血液和渗出液用。
- (9) 量尺：测尸体长度和器官大小用。
- (10) 缝皮针和线：剖验结束后缝合皮肤用。
- (11) 天平：称量脏器重量(量程 0.1~2 000g)和新生儿尸体重量(量程 1~5 000g)之用。
- (12) 推车及落地秤：为搬运尸体和称尸体重量之用，车身長不小于 200cm，阔约 60cm，高度应与解剖台相等。
- (13) 木枕：朝上面应有半月形凹槽，用于锯颅骨时作为支托。
- (14) 脏器剖切台：长方形或方形，长度不能超过解剖台的宽度，高 15~20cm 长方形，台面四周应有浅槽及落水孔，以免液体逸出。
- (15) 瓷盆和塑料桶：装盛取出之脏器用。
- (16) 其他：医用乳胶手套、薄质纱手套、滑石粉、海绵等。

三、清洁、消毒和个人防护