D2-40 联合 Calretinin 在恶性胸膜间皮瘤诊断及鉴别诊断中的价值

The Value of D2-40 and Calretinin in the Diagnosis and Differential Diagnosis of Malignant Pleural Mesothelioma // *ZHANG Ji-xian, ZHAO Ying, LU Shao-hua*

张继贤[1],赵　莺[1],卢韶华[2]

(1.宁波大学医学院附属阳明医院,余姚市人民医院,浙江 余姚 315400;
2.复旦大学附属中山医院,上海 200032)

摘　要:[目的] 探讨 D2-40 在恶性胸膜间皮瘤诊断中的潜在价值。[方法]对余姚市人民医院及复旦大学附属中山医院病理科自 1999~2009 年诊断的 31 例恶性胸膜间皮瘤和 30 例肺腺癌进行回顾性分析并进行免疫组化检测，观察 D2-40、Calretinin、CEA、TTF-1 在恶性间皮瘤和肺腺癌中的表达。[结果] D2-40、Calretinin 在恶性胸膜间皮瘤中的灵敏度分别为 80.6%、83.9%,特异性分别为 93.3%、86.7%,两者联合诊断的灵敏度 93.5%，其中上皮型间皮瘤为 100.0%。CEA、TTF-1 在肺腺癌中的灵敏度分别为 90.0%、83.3%，特异性分别为 87.1%和 100.0%。[结论] D2-40 联合 Calretinin 可以提高恶性胸膜间皮瘤鉴别诊断的准确率。D2-40、Calretinin、CEA、TTF-1 联合检测是鉴别恶性胸膜间皮瘤和肺腺癌的一组有价值的抗体。

主题词:恶性胸膜间皮瘤;肺腺癌;D2-40;Calretinin;CEA;TTF-1;免疫组织化学
中图分类号:R734.2　　**文献标识码**:B
文章编号:1671-170X(2012)08-0632-04

恶性间皮瘤是一种少见的中胚层源性的恶性肿瘤,好发于胸膜、腹膜,甚至可原发于睾丸、卵巢及心包膜。胸膜恶性间皮瘤与胸膜转移性腺癌的鉴别，特别是上皮型间皮瘤,单纯从组织学上是很难与胸膜转移性腺癌进行鉴别的。免疫组织化学方法是常用的辅助诊断方法之一,本文采用新近出现的抗体 D2-40 进行免疫组化染色,与目前临床上常用的标志物比较,来确认一组更有利于恶性胸膜间皮瘤与肺腺癌鉴别诊断的抗体。

1　资料与方法

1.1　临床资料

收集余姚市人民医院病理科和复旦大学附属中山医院病理科 1999~2009 年恶性胸膜间皮瘤病例 31 例,其中 25 例上皮型(男性 12 例,女性 13 例,年龄 50~78 岁),4 例混合型(男性 1 例,女性 3 例,年龄 54~70 岁),2 例肉瘤型(男性 1 例,女性 1 例,年龄 57~66 岁)。另外随机收集 30 例肺腺癌患者作对照,其中男性 19 例,女性 11 例。每例恶性间皮瘤确诊依赖于目前的组织学标准,并联合免疫组化及临床和影像学资料，肺腺癌诊断依据世界卫生组织诊断标准。每例均有 2 位资深病理专家复诊。

1.2　方　法

全部标本均用 10%甲醛(福尔马林)固定,常规石蜡包埋，切片厚度 4μm,HE 染色。免疫组化采用链球菌生物蛋白——过氧化酶(SP)法。免疫组织化学第一抗体选用 D2-40、Calretinin 和 CEA、TTF-1。所有抗体和试剂盒均购自 Dako 公司(即用型产品),严格按照试剂盒说明书操作。每种抗体都用已知阳性作为阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3　结果判断

以阳性细胞的百分比进行判定:D2-40 阳性表达主要定位于肿瘤细胞胞膜;Calretinin 定位于胞浆及核;TTF-1 定位于胞核;CEA 定位于胞浆。以阳性细胞数占总瘤细胞的百分比进行判断[1]:阳性细胞<10%为阴性(-);10%~25%为弱阳性(+);26%~50%为阳性 (++);>50%为强阳性 (+++)。(+)~(+++)均计为阳性。

1.4　统计学处理

以 Excel 2003 整理数据，使用 SPSS for Windows11.5 分析数据,对不同抗体在恶性间皮瘤和肺腺癌中的表达率采用 χ^2 检验,检验水准 α=0.05。灵敏度=真阳性病例数/(真阳性病例数+假阴性病例数)×100%;特异性=真阴性病例数/(真阴性病例数+假阳性病例数)×100%。

2　结　果

D2-40 和 Calretinin 在恶性间皮瘤中的阳性表达率高于在肺腺癌中的表达,经 χ^2 检验,P<0.05,两者的差异有统计学意义。CEA 和 TTF-1 在恶性胸膜间皮瘤中的阳性率低于在肺腺癌中的表达,经 χ^2 检验,P<0.05,两者阳性率比较,有显著性差异,具体见表 1~4 及图 1~4。

25 例(80.6%)恶性胸膜间皮瘤 D2-40 阳性表达(图 1),其中 22 例上皮型中(+++)5 例,(++)12 例,(+)5 例;4 例混合型间皮瘤中 2 例局部胞浆弱阳性;2 例肉瘤型间皮瘤 1 例局部胞浆弱阳性表达。30 例腺癌中仅有 2 例(6.7%)D2-40 局部胞浆弱阳性。D2-40 在恶性胸膜间皮瘤中表达的灵敏度和特异性分别是 80.6%和 93.3%。

26 例(83.9%)恶性间皮瘤 Calretinin 表达阳性(图 2),其中上皮型 23 例,23 例上皮型中 (+++)12 例,(++)7 例,(+)4 例;4 例混合型中 3 例局部弱阳性表达,(++)1 例,(+)2 例;2 例肉瘤型均为阴性。4 例(13.3%)腺癌有 Calretinin 局灶阳性。

基金项目:余姚市科技局计划项目(2008Y06)
收稿日期:2011-11-08;**修回日期**:2012-02-09

表 1　D2-40、Calretinin、CEA、TTF-1 在恶性胸膜间皮瘤和肺腺癌中的表达

抗体	恶性胸膜间皮瘤						肺腺癌						χ^2	P
	−	+	++	+++	阳性例数	阳性率	−	+	++	+++	阳性例数	阳性率		
D2-40	6	8	12	5	25	80.6	28	2	0	0	2	6.7	33.82	0.00
Calretinin	5	6	8	12	26	83.9	26	4	0	0	4	13.3	30.35	0.00
CEA	27	4	0	0	4	12.9	3	5	10	12	27	90.0	36.26	0.00
TTF-1	31	0	0	0	0	0.0	5	4	12	9	25	83.3	113.77	0.00

表 2　D2-40、Calretinin、CEA、TTF-1 在恶性胸膜间皮瘤和转移性腺癌中的阳性表达率(%)

类型	例数	D2-40	Calretinin	CEA	TTF-1
间皮瘤	31	80.6	83.9	12.9	0.0
上皮型	25	88.0	92.0	0.0	0.0
混合型	4	50.0	75.0	0.0	0.0
肉瘤型	2	50.0	0.0	0.0	0.0
腺癌	30	6.7	12.9	90.0	83.3

表 3　D2-40 联合 Calretinin 诊断恶性胸膜间皮瘤中的表达

Calretinin	D2-40		合计
	+	−	
+	22	4	26
−	3	2	5
合计	25	6	31

表 4　CEA 联合 TTF-1 诊断肺腺癌中的表达

Calretinin	TTF-1		合计
	+	−	
+	23	4	27
−	2	1	3
合计	25	5	30

Calretinin 在间皮瘤细胞表达的灵敏度和特异性分别为 83.9%和 86.7%。

D2-40 和 Calretinin 联合在间皮瘤细胞中的表达情况：6 例未表达 D2-40 有 5 例 Calretinin 表达阳性，其中(++)2 例，(+)3 例；5 例未表达 Calretinin 的间皮瘤细胞 4 例 D2-40 表达阳性，其中 (++)1 例，(+)3 例。间皮瘤细胞在 D2-40 和 Calretinin 均为阴性表达仅为 2 例，两者联合诊断在恶性间皮瘤的阳性率达 93.5%，其中上皮型恶性间皮瘤中达 100.0%。

27 例肺腺癌 CEA 均表达阳性 (90.0%)(图 3)，其中(+++)12 例，(++)10 例，(+)5 例；4 恶性间皮瘤 CEA 局部弱阳性达。CEA 在腺癌的灵敏度和特异性分别为 90.0%和 87.1%。

25 例(83.3%)肺腺癌 TTF-1 表达阳性(图 4)，其中(+++)9 例，(++)12 例，(+)4 例；31 例恶性间皮瘤细胞均为阴性。TTF-1 在腺癌细胞中的灵敏度和特异性分别为 83.3%和 100.0%。CEA 和 TTF-1 联合诊断腺癌的阳性率达 96.7%。

3　讨　论

恶性间皮瘤组织学上可分为上皮型、肉瘤型和混合型(双向型)，其中上皮型最多见，其组织学图像与腺癌相似，特别是在胸膜活检的小组织中，鉴别非常困难。因此需要结合免疫组织化学方法，进行鉴别诊断。自 20 世纪 90 年代中期以来，通过与间皮瘤有反应而不与腺癌反应的标志物，大大地提高了恶性间皮瘤的组织学诊断的准确率[2,3]。但迄今为止，仍没有哪一个抗体对间皮瘤完全敏感和特异。对恶性间皮瘤的免疫组化的诊断仍依赖于一连串的标志物，包括一些阳性的标志物(CR、CK5/6、Vimentin，WT-1)[4-7]，和一些通常在腺癌中表达而不在间皮瘤表达的阴性标志物(CEA、TTF-1、MOC-31)。

Calretinin 是目前常用的间皮瘤阳性标志物之一[8-10]。有文献报道 Calretinin 在上皮型间皮瘤的表达率较高 (80%~

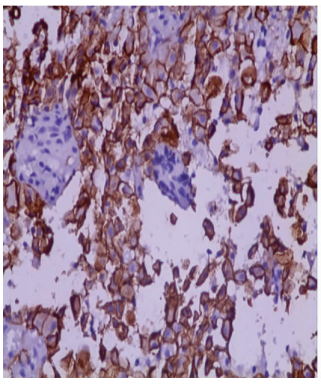

图 1　间皮瘤 D2-40 阳性 (×200)

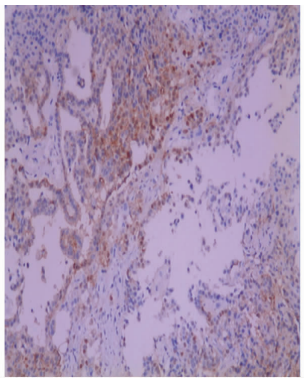

图 2　间皮瘤 Calretinin 阳性 (×100)

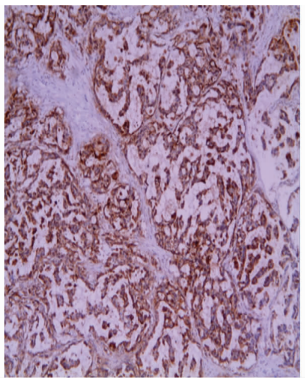

图 3　肺腺癌 CEA 阳性 (×200)

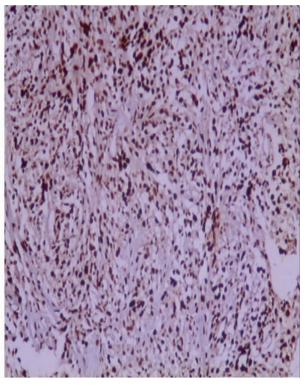

图 4　肺腺癌 TTF-1 阳性 (×100)

100%），而在腺癌表达率较低（近 10%）[11]。此外，有报道 Calretinin 在滑膜肉瘤、结肠癌、肺巨细胞癌、肺非小细胞癌均有较多的表达，故 Calretinin 只适用上皮型恶性间皮瘤与肺腺癌的鉴别[12,13]，而 Calretinin 在肉瘤型间皮瘤中的表达报道不一[14,15]。本研究表明，26 例恶性间皮瘤 Calretinin 阳性表达，其中 23 例上皮型阳性，30 例肺腺癌中仅有 4 例局部弱阳性，其灵敏度和特异性分别 83.9%和 86.7%，特别是上皮型间皮瘤其灵敏度更高，结果与文献报道一致[11]，因此，Calretinin 是间皮瘤诊断中的最有用的阳性标志物。

D2-40 是近年才商业化的抗 M2A 癌胚抗原的单克隆抗体，该抗体可以选择性地表达于淋巴管内皮细胞以及淋巴组织起源的肿瘤和原发肿瘤的淋巴管浸润[16,17]。Chu 等[18]发现 D2-40 在上皮型间皮瘤中有较高的灵敏度和特异性，而在其它肿瘤中不表达，并提出 D2-40 在上皮型间皮瘤与腺癌鉴别诊断中的价值。此后，Ordonez 等[19]研究发现，D2-40 主要表达于上皮型间皮瘤和混合型间皮瘤中的上皮样成分的胞膜，其染色方式主要是细胞的胞膜弥漫强阳性，因此 D2-40 在上皮型间皮瘤与腺癌的鉴别诊断中的价值得到认可，并且在临床上逐渐广泛使用。由于 D2-40 在肉瘤型间皮瘤中不表达或者仅有局部胞浆弱阳性[18,19]，因此，D2-40 在肉瘤型间皮瘤中的诊断价值不大，但也有研究报道 D2-40 在肉瘤型间皮瘤中的表达优于其他间皮瘤阳性标志物[20]。本研究结果显示，25 例恶性胸膜间皮瘤 D2-40 阳性表达，其中上皮型 22 例（88.0%），2 例混合间皮瘤表达阳性，1 例肉瘤型表达阳性，该结果与文献报道一致[8]，说明 D2-40 是诊断恶性间皮瘤较为理想的标志物。本研究中 D2-40 灵敏度为 80.6%略低于 Calretinin（83.9%），但特异性（93.6%）高于 Calretinin（86.7%），两者联合其灵敏度可达 93.5%，特别是上皮型间皮瘤灵敏度可达 100.0%。因此，两者联合可以提高恶性间皮瘤诊断准确率。

CEA 是恶性间皮瘤与腺癌鉴别诊断中最常用的阴性标志物之一。据报道[10,21]，CEA 在肺腺癌中有 85%~90%的表达率，而恶性胸膜间皮瘤中则几乎无表达。Carella 等[21]在回归分析中也证明了 CEA 是鉴别恶性间皮瘤与肺腺癌的最敏感阴性抗体，然而值得注意的是，CEA 在转移到肺部的非肺部起源的腺癌和上皮型间皮瘤的鉴别诊断中时，主要取决于转移性腺癌的起源。相比之下，TTF-1 仅表达于肺部起源及甲状腺起源的腺癌中[7,20]。TTF-1 阳性在组织学上排除甲状腺来源即可确定肺来源肿瘤。有报道[10]TTF-1 在甲状腺腺癌或者 75%以上的肺腺癌中表达，而间皮瘤中未见表达。Mimura 等[22]报道 66 例肺腺癌 TTF-1 阳性表达率为 92.4%（61/66）；Ordóñez[23]报道对 30 例上皮型间皮瘤和 30 例肺鳞腺癌进行 TTF-1 标记均为阴性。到目前为止，未见 TTF-1 在间皮瘤中表达的报道。本研究中 TTF-1 在腺癌中的灵敏度为 80.0%，略低于 CEA，但在恶性间皮瘤中均为阴性，与文献报道一致[10,22]。两者联合诊断腺癌的阳性率可达 96.7%，由于两种抗体在腺癌中高度表达的特征，支持腺癌的诊断，而在恶性间皮瘤细胞中几乎不表达，则是鉴别恶性间皮瘤有力的反证。因此，认为 CEA、TTF-1 是理想的阴性标志物。

总之，本研究结果表明，D2-40 作为新的标志物，在恶性间皮瘤中，特别是上皮型间皮瘤中有较高的灵敏度和特异性，是较为理想的间皮瘤阳性标记物。D2-40 联合 Calretinin 可提高间皮瘤诊断的准确率，4 种抗体联合使用可以使大多数间皮瘤得以确诊，值得临床推广使用。

参考文献：

[1] Ordóñez NG. D2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma[J]. Hum Pathol, 2005, 36(4):372–380.

[2] Ordóñez NG. Immunohistochemical diagnosis of epithelioid mesotheliomas: a critical review of old markers, new markers[J]. Hum Pathol, 2002, 33(10): 953–967.

[3] Ordóñez NG. In search of a positive immunohistochemical marker for mesothelioma: an update [J]. Adv Anat Pathol, 1998, 5(1):53–60.

[4] Ordóñez NG. Value of calretinin immunostaining in differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma [J]. Mod Pathol, 1998, 11(10):929–933.

[5] Clover J, Oates J, Edwards C. Anti-cytokeratin 5/6: a positive marker for epithelioid mesothelioma[J]. Histopathology, 1997, 31(2):140–143.

[6] 刑荣格，张欣，张晓玲，等. 胸膜恶性间皮瘤临床病例特征及相关抗体研究[J]. 河北医药，2010，32（8）：934–936.

[7] 张艳梅，付红，张颖. 免疫组化在胸膜上皮型恶性肿瘤鉴别诊断中的价值[J]. 中国肺癌杂志，2007，10(7):320–323.

[8] Ordóñez NG. Immunohistochemical diagnosis of epithelioid mesotheliomas: an update [J]. Arch Pathol Lab Med, 2005, 129(11):1407–1414.

[9] 邵晋晨，何卫中，陈岗，等. 免疫组化在恶性胸膜间皮瘤与肺腺癌鉴别诊断中的作用 [J]. 诊断病理学杂志，2008，15(6):471–474.

[10] Ordóñez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma. A comparative study of epitheliod mesothelioma[J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(8):1031–1051.

[11] Wieczorek TJ, Krane J F. Diagnostic utility of calretinin immunohistochemistry in cytologic cell block preparations [J].Cancer, 2000, 90(5):312–319.

[12] Miettinen M, Limon J, Niezabitowski A, et al. Calretinin and other mesothelioma markers in synoval sarcoma: analysis of antigenic similarities and differences with malignant mesothelioma[J]. Am J Surg Pathol, 2001, 25(5):610–617.

[13] Miettinen M, Sarlomo-Rikala M. Expression of calretinin, thrombomodulin, keratin 5, and mesothelioma in lung carcinomas of different types: an immunohistochemical analysis of 596 tumors in comparision with epithelial mesothelioma of the pleura[J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(2):150–158.

[14] Attanoos RL, Dojeinov SD, Webb R, et al. Anti-mesothelioma markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms[J]. Histopathology, 2000, 37(3):224–231.

[15] Lucas DR, Pass HI, Madan SK, et al. Sarcomatoid mesothelioma and its histological mimics: a comparative immunohistochemical sdudy [J]. Histopathology, 2003, 42 (3):270–279.

[16] Kahn HJ, Bailey D, Marks A. Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi's sarcoma and a subset of angiosarcomas [J]. Mod Pathol, 2002, 15(4):434–440.

[17] Aakanami I. Lymphatic microvessel density using D2-40

is associated with nodal metastasis in non-small cell lung cancer[J]. Oncol Rep,2006,15(2):437–442.
[18] Chu AY,Llizky LA,Pasha TL,et al. Utility of D2-40,a novel mesothelial marker,in the diagnosis of malignant mesothelioma[J]. Mod Pathol,2005,18(1):105–110.
[19] Ordóñez NG. D2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma[J]. Hum Pathol,2005,36(4):372–380.
[20] Padgent DM,Cathro HP,Wick MR,et al. Podoplanin is a better immunohistochemical marker for sarcomatoid mesothelioma than calretinin [J]. Am J Surg Pathol,2008,32(1):123–127.
[21] Carella R,Deleonardi G,D'Errico A,et al. Immunohistochemical panels for differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma [J]. Am J Surg Pathol,2001,25(1):43–50.
[22] Mimura K,Ito A,Sakuma T,et al. New marker D2-40,combined with Calretinin,CEA,and TTF-1: an optimal set of immunohistochemical markers for pleural mesothelioma [J]. Cancer,2007,109(5): 933–938.
[23] Ordóñez NG. The diagnositic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomaa and squamous carcinomas of the ling: a comparative study [J]. Modern Pathol,2006, 19(3):417–428.

阑尾黏液腺癌 1 例

Mucinous Adenocarcinoma of the Appendix:One Case Report

ZHANG Hong-juan,WANG Xiu-li,ZHANG Hong-bo,et al.

张红娟[1],王秀丽[1],张红波[2],沈卫章[1],金立方[1],李小丰[1]

(1.吉林大学第二医院,吉林 长春 130041;2.北华大学,吉林 吉林 132013)

主题词:阑尾肿瘤;黏液腺癌;病例报告
中图分类号:R735.3+6　　**文献标识码**:B
文章编号:1671–170X(2012)08–0635–01

1　临床资料

患者,女性,24 岁,因腹部胀痛进行性加重 1 周入院。患者入院前 2 个月余开始出现下腹疼痛,疼痛程度较轻,可忍受,在当地医院行腹部超声发现盆腔肿物,未在意,病情反复。1 周前腹部胀痛症状加重,难以忍受入院。入院后查体:腹部平坦,未见胃肠型及蠕动波,全腹软,下腹压痛明显,无反跳痛,无肌紧张,肝脾肋缘下未触及,Murphy 征阴性,全腹未触及明显异常包块,移动性浊音阴性,肠鸣音正常,腰大肌试验、闭孔内肌试验及结肠充气试验均阴性。辅助检查:术前腹部超声:肝胆胰脾肾未见异常,腹腔大量积液;盆腔 CT:腹水、腹腔囊性占位,盆腔积液,膀胱充盈欠佳,子宫、附件显示欠清;两次腹水脱落细胞检查未见恶性细胞;胸片:未见实质性病灶。临床诊断为盆腔肿物。经术前准备,行盆腔肿物切除术,术中见腹膜壁散在分布粟粒样结节病灶,已出现腹膜转移,并为病理所证实。术后病理:(左卵巢)肠型交界性黏液性囊腺瘤,(阑尾)低级别(高分化)黏液腺癌,浸润阑尾壁全层,(腹膜)内有浸润性种植。"卵巢肠型交界性黏液性囊腺瘤术后,阑尾黏液腺癌术后"诊断明确。治疗上参照结肠癌化疗的方案。

通讯作者:王秀丽,主任医师,教授,硕士生导师;吉林大学第二医院肿瘤血液内科,吉林省长春市自强街 218 号(130041);E-mail:zhanghongjuan1314@163.com。
收稿日期:2012–06–01

2　讨　论

阑尾黏液腺癌又称阑尾恶性黏液性囊肿,属阑尾腺癌的一种,临床较罕见的疾病,症状和体征不具有特异性,其发病率仅 0.08%~0.20%[1],约占阑尾肿瘤的 10%[2],以淋巴转移为主,早期无明显症状,随着病情发展,可能出现右下腹不适、隐痛等类似慢性阑尾炎的症状,故常被忽略。出现明显腹痛、腹胀、腹部包块或消瘦等症状时,多数女性患者还易被误诊为妇科疾病就诊于妇科,均为术中或术后病理诊断此病。有作者认为,术前腹部 CT 检查是发现阑尾肿瘤较为可靠的诊断方法[3],确诊时 68.4% 患者发生远处转移[4],而难以手术根治切除。治疗上尚无公认的化疗方案,但阑尾肿瘤有较高的合并结直肠癌的可能[5],术后可辅以结肠癌化疗方案,远期疗效目前尚无定论。本病例患者因盆腔肿物出现疼痛症状,得以就诊手术,发现时早已发生腹腔转移,延误了治疗时机,因全身脏器衰竭死亡。

本病例讨论意义在于提高临床医生对阑尾黏液腺癌患者的认识,特别是应做各种影像学检查,及时做出诊断和治疗。

参考文献:

[1] 奚拥军.原发性阑尾黏液腺癌的诊断与治疗(复习文献 34 例分析)[J].黑龙江医学,2007,31(6):422–423.
[2] 王浩,王奎海,厉周,等. 阑尾肿瘤 12 例诊治体会[J]. 腹部外科,2005, 18(4) : 234–235.
[3] 孙屹岩,刘增胜,丁月云,等. 原发性阑尾肿瘤的 CT 诊断[J] . 实用医学影像杂志, 2005, 6(2) : 78–80.
[4] 张子诚,刘晓霞,杨重庆. 阑尾原发性腺癌 110 例特征的文献分析[J]. 世界华人消化杂志,2000,8(10):1196–1197.
[5] 宗兵,徐继增,艾则孜,等.阑尾类癌 6 例临床分析[J].肿瘤学杂志,2004,10(6):429.