

微波消融对甲状腺乳头状癌病理学诊断的影响

陈建发¹, 谢明², 冯蕊¹, 覃夏¹, 谢奎龙¹, 冯巧智¹, 林子峰¹, 朱文彬¹ (南部战区海军第一医院
1. 普通外科; 2. 病理科, 广东湛江 524009)

摘要: **目的** 观察微波消融对甲状腺乳头状癌结节组织病理学诊断的影响。**方法** 26个甲状腺乳头状癌结节离体后即刻一分为二, 其中一份送病理科行常规石蜡病理和免疫组化检查, 另一份行微波消融处理(室温, 功率35 W, 40 s)。对比观察消融前后组织结构、细胞形态和免疫组化检查结果的变化。**结果** 所有标本甲状腺乳头状癌结节经消融后呈黄白色, 与正常组织界线清楚; 癌结节周围正常甲状腺组织的滤泡结构、滤泡上皮细胞, 以及癌结节中乳头状癌的特征性乳头状结构清晰可见。诊断甲状腺乳头状癌的细胞核特征, 如毛玻璃状细胞核、核沟和核内包涵体等消融前后未发生明显改变。消融和未消融标本中甲状腺乳头状癌标志物TTF-1和CK19表达亦没有明显变化。消融标本的免疫组化评分与未消融标本比较略有降低, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 甲状腺乳头状癌的病理诊断特征, 如乳头状结构、毛玻璃状细胞核、TTF-1和CK19免疫组化检查等不受常规参数条件下微波消融作用的影响; 微波消融后即刻行组织学检查不会导致乳头状癌特征性病理结构的丧失。

关键词: 微波消融; 甲状腺; 乳头状癌; 病理

中图分类号: R 445

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2023) 02-0184-05

Influence of microwave ablation on pathological diagnosis of thyroid papillary carcinoma

CHEN Jian-fa¹, XIE Ming², FENG Rui¹, QIN Xia¹, XIE Kui-long¹, FENG Qiao-zhi¹, LIN Zi-feng¹, ZHU Wen-bin¹
(1. Department of General Surgery; 2. Pathology Department, the First Naval Hospital of Southern Theater Command of PLA, Zhanjiang 524009, China)

Abstract: **Objective** To observe the influence of microwave ablation on pathological diagnosis of thyroid papillary carcinoma nodules. **Methods** A total of 26 fresh papillary thyroid carcinoma nodules were divided into two parts immediately after detachment, with one immediately sent to the Pathology Department for routine paraffin pathological and immunohistochemical examination and the other immediately undergoing microwave ablation (room temperature, power: 35W, 40s). The changes of tissue structure, cell morphology and immunohistochemical examination results before and after ablation were observed and compared. **Results** The papillary thyroid carcinoma nodules in all specimens treated by microwave ablation were yellowish white, with a clear boundary from normal tissues. The follicular structure and follicular epithelial cells of normal thyroid tissue around the carcinoma nodules, as well as the characteristic papillary structure of papillary carcinoma in the carcinoma nodules were clearly visible. The cytoblast features for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma, such as ground-glass like nucleus, nuclear sulcus and nuclear-inclusion-body, did not changed significantly after ablation. The immunohistochemical expression of papillary thyroid carcinoma marker CK19 and TTF-1 did not change significantly in ablated and unablated specimens. Compared with unablated specimens, the immunohistochemical score of ablated specimens was slightly decreased, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** The features of thyroid papillary carcinoma for pathological diagnosis, such as papillary structure, ground-glass like nucleus, immunohistochemical CK19 and TTF-1, were not affected by microwave ablation under conventional parameters. Histological examination immediately after microwave ablation does not result in loss of the pathological features of papillary carcinomas.

Key words: microwave ablation; thyroid gland; papillary carcinoma; pathology

微波消融术是近年发展起来的一种微创治疗技术,其原理为通过微波产生高温,使靶组织细胞发生凝固性坏

死,临床上已广泛应用于小肝癌、肺癌等^[1-3]。由于其具有损伤小、恢复快、重复性好、多数不影响美观且更好地保

收稿日期: 2022-12-10

作者简介: 陈建发(1971-),男,硕士,主任医师, E-mail: chenjf623@163.com

留了甲状腺功能、提高了患者生活质量等特点,超声引导下经皮微波消融术(UPMA)已成为甲状腺疾病微创治疗的研究热点和趋势^[4-5]。但是,就目前而言,没有足够的循证医学证据证明UPMA对原发性甲状腺癌治疗的有效性,故不推荐将UPMA作为甲状腺癌治疗的常规手段。因此,国内外指南均推荐行UPMA的患者术前需穿刺活检以获得满意的病理结果^[6-7]。与超声引导下细针穿刺细胞学(US-FNA)相比,虽然超声引导下粗针穿刺组织学(US-CNB)具有相似的特异度和阳性预测值,但其灵敏度、阴性预测值和准确度更高。因此,US-CNB检查对甲状腺结节的诊断具有更高价值^[8-9]。然而,US-CNB有一个明显的不足之处在于术中出血风险高,严重制约了其临床开展。能否在甲状腺结节行微波消融治疗后再行术后即刻US-CNB,使其既可以提高穿刺病理检查的取材满意率和诊断准确性,又可以减少穿刺过程的出血风险,相关研究鲜有报道。该技术路线可行与否的关键点在于微波消融是否会造成甲状腺癌病理特征的丧失,如乳头状结构、毛玻璃样核、核沟或核包涵体等。本研究通过对比观察甲状腺乳头癌切除标本行微波消融前后的病理特征变化,明确微波消融对甲状腺乳头癌组织结构、细胞形态和免疫组化检查的影响,为甲状腺结节微波消融术后即刻US-CNB提供科学依据。

1 资料和方法

1.1 病例

选取2020年12月1日至2021年12月1日南部战区海军第一医院收治的甲状腺乳头状癌患者。甲状腺乳头状癌由2名病理科专家依据病理学检查结果独立诊断,意见不同时由2人共同会诊再做出最后诊断。诊断标准参照《临床病理科诊断常规》^[10]。纳入标准:(1)术前细针穿刺活检细胞学病理FNA-Bethesda报告系统报告为V或VI类;(2)肿瘤结节长径 ≥ 10 mm。排除标准:(1)重要脏器功能不全;(2)严重凝血功能障碍;(3)患者不同意手术;(4)术后病理学诊断为良性病变。共纳入26例,其中男8例,女18例,年龄28~72岁,平均 (43.2 ± 5.8) 岁。甲状腺肿瘤

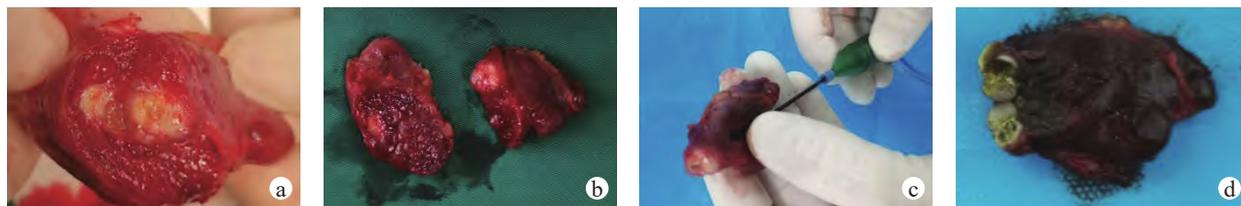
结节大小10~31 mm,平均 (13.0 ± 6.4) mm。手术方式:甲状腺患侧全切、峡部切除及中央区淋巴结清扫术23例,甲状腺全切、中央区淋巴结和颈侧区淋巴结清扫术3例。本研究经医院医学伦理委员会批准,所有患者及家属对研究内容均知晓并签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

兔抗人甲状腺转录因子1(TTF-1)和细胞角质蛋白19(CK19)多克隆抗体、抗兔二抗购自迈新公司。微波消融仪为南京亿高微波消融仪KY-2000及其匹配的循环水冷却系统,包括频率为2 450 MHz的微波发生器,输出功率30~55 W。配备KY-2450A-1A一次性无菌微波消融针,外径为18 G,针长18 cm,消融有效长度为3 cm。

1.3 实验方法

(1)按甲状腺乳头状癌根治术操作流程规范完成甲状腺腺叶及峡部切除或全甲状腺切除和相关区域淋巴结清扫^[11]。(2)甲状腺标本离体后即刻用手术刀将癌结节一分为二(图1a、b),其中一份立即送病理科行术中快速及术后常规石蜡切片检查和免疫组织化学染色,另一份即刻行微波消融干预(图1c、d)。微波消融条件参照临床甲状腺结节热消融操作流程^[5],输出功率35 W,作用时间40 s。完成消融处理后立即行10%福尔马林液浸泡,送病理科行常规石蜡切片检查以及CK19、TTF-1免疫组织化学染色。(3)免疫组织化学染色:取经甲醛溶液固定、石蜡包埋的手术切除癌组织标本,4 μ m厚连续切片,脱蜡,浸于0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液内,微波炉加热至沸腾并保持该状态15 min修复抗原;切片冷却后洗涤,采用迈新公司封闭缓冲液封闭非特异性背景染色;滴加迈新公司兔抗人CK19或TTF-1多克隆抗体(稀释400倍),4 $^{\circ}$ C过夜;洗涤,浸于含0.3% H_2O_2 的甲醇中灭活内源性过氧化物酶;洗涤,加入迈新公司抗兔二抗(稀释1 000倍),室温反应15 min;洗涤后二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精轻染后封片。结果判定CK19或TTF-1评分系统和标准:CK19或TTF-1蛋白主要定位于胞质。采用双评分半定



a. 新鲜离体甲状腺乳头状癌标本; b. 将离体癌标本一分为二; c. 对其中一份标本的癌结节实施微波消融处理; d. 经微波消融处理后的标本状况。

图1 新鲜离体甲状腺癌结节的微波消融处理

量分析,根据阳性细胞百分比及显色程度计分。200倍镜下随机取5个视野,计算阳性细胞平均数,阳性细胞平均数为0计0分, $\leq 25\%$ 计1分,26%~50%计2分,51%~75%计3分, $\geq 76\%$ 计4分;显色程度无着色计0分,淡黄色计1分,棕黄色计2分,棕褐色计3分。两种分数相加后综合判定,0~1分为(-),2~3分为(+),4~7分为(++).(-/+)为阴性,定义为CK19或TTF-1低表达; (++)为阳性,定义为CK19或TTF-1高表达。

1.4 观察指标

(1)甲状腺乳头状癌结节周围正常腺体组织的滤泡形态;(2)癌结节的组织结构;(3)癌结节的细胞形态;(4)癌结节的TTF-1和CK19免疫组织化学表达。

1.5 统计学处理

应用SPSS 26.0软件进行处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 微波消融对正常甲状腺组织的影响

消融和未消融标本中癌结节周围正常甲状腺组织的滤泡形态无明显差别。正常甲状腺组织的滤泡结构、滤泡上皮细胞清晰可见。热消融作用会使甲状

腺组织发生脱水和轻度挤压变形,部分滤泡腔内胶质与滤泡上皮细胞分离,但不影响病理结果的判断(图2A、a)。

2.2 微波消融对甲状腺乳头状癌组织形态和细胞结构的影响

消融和未消融标本的癌结节组织结构没有明显变化。所有消融后标本中甲状腺乳头状癌的特征性乳头状结构依然清晰可见(图2B、b)。消融和未消融标本的细胞形态没有明显变化。诊断甲状腺乳头状癌的细胞核特征,如毛玻璃状细胞核、核沟和核内包涵体等消融前后未发生明显改变(图3)。

2.3 微波消融对甲状腺乳头状癌标志物的影响

消融和未消融标本中甲状腺乳头状癌标志物TTF-1和CK19表达没有明显变化,消融标本的免疫组化评分与未消融标本比较略有降低[TTF-1:(5.50 \pm 0.76)分 vs (5.54 \pm 0.81)分;CK19:(5.38 \pm 0.85)分 vs (5.50 \pm 0.81)分],但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图4。

2.4 微波消融后病理诊断符合率

微波消融后的26个标本经病理诊断均明确为乳

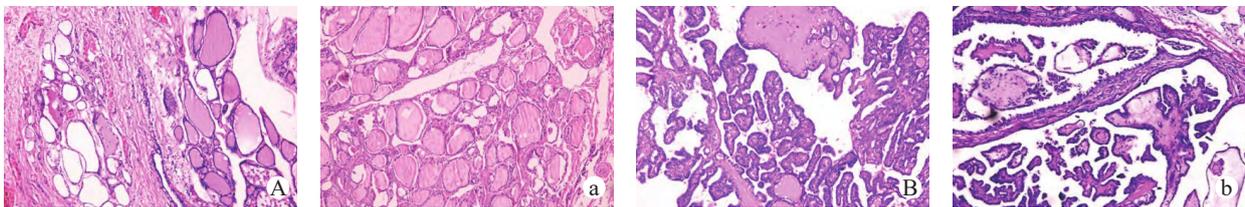
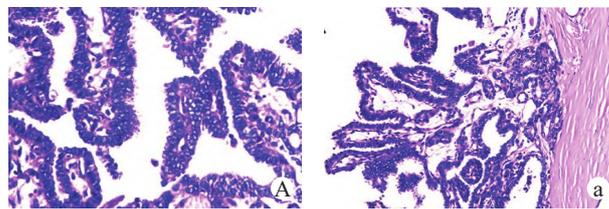


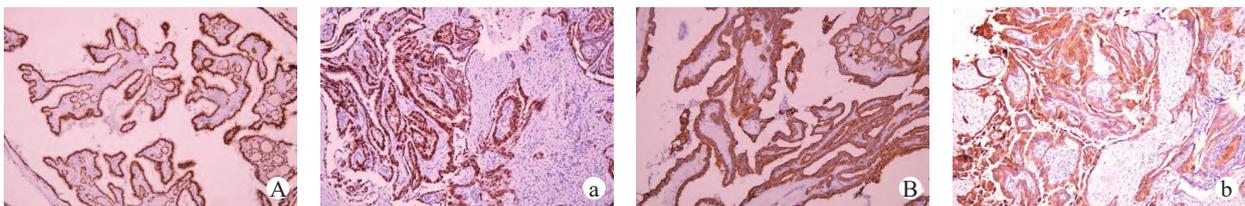
图2 甲状腺癌结节微波处理前后比较(HE染色,×100)
A. 消融前癌结节旁正常甲状腺组织; a. 消融后癌结节旁正常甲状腺组织; B. 消融前癌结节的乳头状结构; b. 消融后癌结节的乳头状结构

图2 甲状腺癌结节微波处理前后比较(HE染色,×100)



A. 消融前; a. 消融后

图3 微波消融前后甲状腺癌结节毛玻璃样核比较(HE染色,×200)



A. 消融前CD19染色; a. 消融后CD19染色(MaxVision法); B. 消融前TTF-1染色; b. 消融后TTF-1染色(SP法)

图4 甲状腺癌结节微波消融前后CD19和TTF-1免疫组织化学染色比较(HE染色,×100)

头状癌,与未行微波消融的标本相符,诊断符合率为100%。

3 讨论

随着高分辨率超声的普及和人们健康意识的增强,甲状腺结节的检出率明显升高,已成为临床常见病之一。由于良恶性甲状腺结节的治疗原则和预后相差甚远,大多良性结节可采取临床观察,而恶性结节多需行根治性手术,因此,甲状腺结节的良恶性鉴别诊断具有重要的临床意义。国内外多项指南都将US-FNA推荐为甲状腺结节良恶性鉴别的首选方法^[11-13],但由于其穿刺取材量少(临床实践中取材不良率高达10%~30%),易受结节性质和血液干扰,以及细胞病理学诊断难度大等原因,约35%甲状腺结节无法通过US-FNA确定其性质,出现较高的假阳性和假阴性率^[14-17]。与US-FNA相比,US-CNB可取出完整的组织条,组织标本量大,标本所具有的病理学信息更为丰富。虽然两者具有相似的特异度和阳性预测值,但US-CNB的灵敏度和阴性预测值明显高于US-FNA,其总体准确度也明显高于US-FNA,因此,US-CNB检查对甲状腺结节的诊断具有更高价值^[8-9]。

由于甲状腺血供丰富,每分钟血流量可达150 mL,因此,行US-CNB具有一个明显的不足之处在于穿刺过程出血风险高,甚至出现危及生命的大出血,严重制约其临床开展^[18-19]。而在微波消融针作用下,甲状腺组织血管内血液吸收微波能产热,血液中的水份迅速蒸发,血液立即变稠和凝固,从而堵塞血管达到止血效果。因此,甲状腺结节先行微波消融治疗后再行即刻的US-CNB理论上可以大大降低出血风险。作者应用UPMA治疗原发性甲状腺功能亢进症后即刻在超声引导下半自动活检枪穿刺活检,取材满意率达100%,且无1例在穿刺过程中出血^[20]。但是,甲状腺组织经微波消融治疗后是否会使甲状腺癌的病理特征溶解消失,降低US-CNB的准确性,甚至产生假阴性和漏诊,鲜有相关研究报道。

临床上分化型甲状腺癌约占成人甲状腺癌的90%以上,其中乳头状癌是甲状腺癌的最主要类型^[21]。其病理诊断要点:(1)肿瘤组织呈复杂分支乳头状,含纤维血管轴心;(2)乳头上皮细胞核呈毛玻璃状,有核沟、核内假包涵体和核相互重叠;(3)砂粒体;(4)免疫组化CK19和TTF-1阳性^[10]。如果甲状腺乳头状癌结节经微波消融作用后,其病理诊断特征仍然存在,即乳头状癌诊断仍旧可以得到准确确立,则微波消融后

即刻US-CNB的准确性便可以得到保证。

热量是迅速固定组织和细胞的一种手段。遇到60~100℃高温时组织和细胞迅速发生变性失活,但是并未立即发生坏死。坏死是以酶溶性变化为特点的活体内局部组织中细胞的死亡^[22]。组织变性失活后的坏死是一个渐进的过程。坏死过程中细胞结构不断崩解,细胞形态逐渐丧失,最后变为无结构的凝固性物质。消融后肿瘤细胞的形态学特征不会立刻消失,至少在消融后一个月内仍可得以保存^[23-24]。本研究结果证实了以上观点,26例甲状腺乳头状癌结节离体后即刻将其一分为二,其中一份立即送病理科行常规石蜡切片检查和免疫组织化学染色。另一份即刻按照临床甲状腺结节热消融操作流程行微波消融干预,结果发现消融和未消融标本的正常甲状腺组织的滤泡形态无明显差别。所有消融后标本中癌结节周围正常甲状腺组织的滤泡结构、滤泡上皮细胞清晰可见。虽然,热消融作用会使甲状腺组织发生脱水和轻度挤压变形,部分滤泡腔内胶质与滤泡上皮细胞分离,但不影响病理结果的判断。消融和未消融标本的癌结节组织结构没有明显差异。所有消融后标本中甲状腺乳头状癌的特征性乳头状结构依然清晰可见,毛玻璃状细胞核、核沟和核内包涵体等特点消融前后未发生明显改变。在未消融标本呈阳性表达的甲状腺乳头状癌标志性组织化学物质CK19和TTF-1在所有消融后标本中均呈阳性表达。微波消融后的26个标本经病理诊断均明确为乳头状癌,与未行微波消融的标本相符,诊断符合率达100%。

虽然热消融后甲状腺结节迅速发生脱水固定,标本可能出现挤压变形,对诊断产生一定影响,但是不影响病理诊断的准确性,而且还具有以下优点:(1)对于质地松软、胶质成分丰富或毛细血管丰富的结节,热消融可以让标本成型,更利于病理制作;(2)热消融可以使甲状腺组织内的血管发生挛缩闭合,因此对于动脉血管丰富的结节而言,消融后穿刺活检可以减少出血的发生率。

综上所述,微波消融不会造成术后甲状腺病理组织中乳头状癌的相关病理特征的即刻丧失。因此,微波消融后立即行甲状腺结节组织学活检不会影响病理诊断的准确性。临床上可选择微波消融后即刻US-CNB,不但不影响结节活检标本病理诊断的判定,而且可降低粗针穿刺过程中出血的发生率。

参考文献:

- [1]李劲松,王涛,戴秀梅,等. CT引导下微波消融治疗晚期肺部恶性肿瘤的临床疗效[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016,

- 10(22): 3483-3486.
- [2] 訾洋, 韦伟, 杨泽军, 等. 外科切除与微波消融对非小细胞肺癌治疗的应用比较[J]. 中华介入放射学电子杂志, 2021, 9(3): 331-335, 344.
- [3] 何泽华, 吴秋林, 叶行, 等. 肝癌微波消融的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(10): 371-377.
- [4] 杨雪丰, 陈建发, 冯蕊, 等. 超声引导下经皮微波消融术治疗甲状腺良性结节 55 例临床分析[J]. 广东医学院学报, 2016, 34(2): 169-172.
- [5] 葛明华, 徐栋. 甲状腺良性结节、微小癌及颈部转移性淋巴结热消融治疗专家共识及操作指南[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(9): 670-672.
- [6] PAPINI E, MONPEYSSSEN H, FRASOLDATI A, et al. 2020 European thyroid association clinical practice guideline for the use of image-guided ablation in benign thyroid nodules[J]. *Eur Thyroid J*, 2020, 9(4): 172-185.
- [7] 甲状腺结节及相关疾病热消融中西医结合诊疗指南(2021版) [J]. 中国卫生标准管理, 2022, 13(7): 1-7.
- [8] 姚苗苗. 超声引导下细针抽吸细胞学及粗针穿刺组织学在甲状腺结节诊断中的应用对比研究[D]. 新疆: 新疆医科大学, 2020.
- [9] 曾庆欣, 赖焯钤, 陈会林, 等. 超声引导甲状腺结节粗针与细针穿刺活检对比[J]. 广东医学, 2018, 39(15): 2348-2351.
- [10] 陈杰. 临床病理科诊断常规[M]. 北京: 中国医药科技出版, 2013: 316.
- [11] 赫捷, 李进, 程颖, 等. 中国临床肿瘤学会(CSCO) 分化型甲状腺癌诊疗指南 2021[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(12): 1164-1201.
- [12] HAUGEN B R, ALEXANDER E K, BIBLE K C, et al. 2015 american thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The american thyroid association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer[J]. *Thyroid*, 2016, 26(1): 1-133.
- [13] 刘奕博, 李丽, 叶玉泉. 超声引导下细针穿刺活检在甲状腺中的应用研究进展 [J]. 中国超声医学杂志, 2020, 36(10): 957-959.
- [14] INCI M F, OZKAN F, YUKSEL M, et al. The effects of sonographic and demographic features and needle size on obtaining adequate cytological material in sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules[J]. *Endocrine*, 2013, 43(2): 424-429.
- [15] SHIN J H, BAEK J H, CHUNG J, et al. Ultrasonography diagnosis and imaging-based management of thyroid nodules: Revised Korean society of thyroid radiology consensus statement and recommendations[J]. *Korean J Radiol*, 2016, 17(3): 370-395.
- [16] 郭宏恂, 张冰洁, 臧亚萍, 等. 甲状腺结节超声引导下细针抽吸细胞学无法诊断结果的影响因素分析[J]. 临床超声医学杂志, 2014, 16(8): 523-526.
- [17] LIU X, MEDICI M, KWONG N, et al. Bethesda categorization of thyroid nodule cytology and prediction of thyroid cancer type and prognosis[J]. *Thyroid*, 2016, 26(2): 256-261.
- [18] 万文博, 汪伟, 夏长虹, 等. 甲状腺结节超声引导下粗针穿刺组织学活检的安全性探讨[J]. 解放军医学院学报, 2019, 40(3): 238-242.
- [19] JEONG E J, CHUNG S R, BAEK H J, et al. A comparison of ultrasound-guided fine needle aspiration versus core needle biopsy for thyroid nodules: Pain, tolerability, and complications[J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2018, 33(1): 114-120.
- [20] 陈建发, 杨雪丰, 陈引香, 等. 超声引导下经皮穿刺微波消融术治疗 Graves 病 30 例效果观察[J]. 广东医科大学学报, 2017, 25(5): 528-531.
- [21] 陈孝平, 汪建平, 赵继宗. 外科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 231.
- [22] 步宏, 李一雷. 病理学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 21-24.
- [23] WANG Q, HUANG J, MA K, et al. Evaluation of ghost cell survival in the area of radiofrequency ablation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e53158.
- [24] CLASEN S, KROBER S M, KOSAN B, et al. Pathomorphologic evaluation of pulmonary radiofrequency ablation: Proof of cell death is characterized by DNA fragmentation and apoptotic bodies[J]. *Cancer*, 2008, 113(11): 3121-3129.