

• 临床研究 •

荧光 ROSE 在肺恶性肿瘤细胞学诊断中的应用分析

刘加夫 张宏英 陈晓红 林清华 陈友轩 吴联平 林玉琼 黄小红

【摘要】 目的 探讨在 CT 引导经皮肺活检 (PTLB) 联合荧光细胞学现场快速评估 (F-rose) 在肺恶性肿瘤细胞学诊断中的应用价值。**方法** 收集在我院进行的微创 CT 引导下经皮肺穿刺活检的住院患者 120 例。在 CT 引导定位下对病变区域细针穿刺取材, 将穿刺针残留液涂至两张载玻片上, 并分别用另两张清洁载玻片叠放、轻压, 反向匀速拉开, 制成 4 张涂片, 迅速放置于 95% 酒精中固定后取出干燥。通过荧光 ROSE 染色和 ROSE 染色来评估两种染色方法在肺部占位性病变中的差异性。根据组织病理学结果明确病理诊断筛选出 94 例患者, 其中确诊恶性肿瘤 66 例, 非肿瘤性病变 28 例。患者以真菌和抗酸分枝杆菌阳性为非肿瘤性病变患者。以病理组织学结果为金标准, 分析两种方法对肺恶性肿瘤细胞学诊断的灵敏度及特异性, 并评估两种方法对肺恶性肿瘤的细胞学诊断价值差异性。**结果** 荧光 ROSE 和 ROSE 组的总确诊率分别为 60.64% 和 48.94% ($P < 0.05$); 诊断肺部恶性肿瘤的灵敏度两组均为 68.18% ($P > 0.05$); 荧光 ROSE 和 ROSE 组的特异性分别为 42.86%、3.57% ($P < 0.05$)。**结论** 荧光 ROSE 联合 PTLB 可提高肺部占位性病变的确诊率, 尤其可提高肺部恶性肿瘤细胞学诊断的特异性, 在肺部占位性病变细胞学诊断中具有一定临床应用价值。

【关键词】 荧光细胞学现场快速评估; 恶性肿瘤; CT 引导经皮肺活检; 细胞学

【中图分类号】 R734 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)04-0006-04

Analysis of fluorescence ROSE in cytological diagnosis of lung malignant tumors

LIU Jiafu, ZHANG Hongying, CHEN Xiaohong, LIN Qinghua, CHEN Youxuan, WU Lianping, LIN Yuqiong, HUANG Xiaohong

Fuzhou Pulmonary Hospital, Fuzhou, Fujian 350008, China

【Abstract】 Objective To explore the clinical application of CT-guided percutaneous lung biopsy (PTLB) combined with fluorescence cytology rapid on-site evaluation (F-rose) in the cytological diagnosis of lung malignant tumors. **Methods** One hundred and twenty hospitalized patients who underwent minimally invasive CT-guided percutaneous lung puncture biopsy in our hospital were collected. Under CT-guided localization of the lesion area fine-needle puncture sampling, the puncture needle residual fluid was applied to two slides, and respectively, the other two clean slides were stacked, lightly pressed, and pulled apart at a uniform speed in the reverse direction to make four smears, which were quickly placed in 95% alcohol for fixation and then removed for drying. Differences between the two staining methods in lung occupying lesions were evaluated by fluorescent ROSE staining and ROSE staining. Ninety-four patients were screened for definitive pathological diagnosis based on histopathological findings, of which 66 were confirmed malignant tumors and 28 were non-neoplastic lesions. Patients with fungal and Mycobacterium antacidum-positive is non-neoplastic lesions. The sensitivity and specificity of the two methods for the cytological diagnosis of lung malignant tumors were analyzed using the pathohistological results as the gold standard, and the differences in the cytological diagnostic value of the two methods for lung malignant tumors were evaluated. **Results** The overall confirmed diagnosis rates of fluorescent ROSE and ROSE groups were 60.64% and 48.94% respectively ($P < 0.05$); the sensitivity of diagnosing lung malignant tumors was 68.18% in both groups ($P > 0.05$); and the specificity of the fluorescent ROSE and ROSE groups were 42.86% and 3.57% ($P < 0.05$), respectively. **Conclusion** Fluorescence ROSE combined with PTLB can improve the confirmation rate of lung occupying lesions, especially the specificity of cytological diagnosis of lung malignant tumors, which has certain clinical application value in the cytological diagnosis of lung occupying lesions.

【Key words】 fluorescence cytology rapid on-site evaluation; malignant tumor; CT-guided percutaneous lung biopsy; cytology

基金项目: 福州市科技局市级科技计划项目 (2021-S-255)

作者单位: 福建省福州肺科医院, 福州 350008

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.04.002

传统 ROSE 染色技术是基于病理科原有细胞学及微生物诊断技术,通过普通光学显微镜观察,普遍存在敏感性低、操作复杂等问题,非特异性染色无法实现快速精确诊断。传统染色方法在占位性病变恶性肿瘤诊断上有较高的诊断率,而在真菌、细菌及抗酸分枝杆菌等致病菌的阳性率过低,造成漏诊^[1]。传统染色针对细胞学染色形态不确切,易因人为主观因素造成误诊漏诊。亟须寻找更加较为精准、快速、简便的检验方法,优化现有的 ROSE 技术。国内在临床工作中应用 PTLB 联合荧光 ROSE 较少相关研究,本研究主要是在回顾性分析 PTLB 联合荧光 ROSE 对肺部恶性肿瘤诊断的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料 收集我院 2023 年 3—4 月肺部占位性病变在 CT 引导下经皮肺活检病例 120 例,依据病理结果筛选出 94 例患者,将 94 例患者以病理组织学诊断后分为肿瘤组和非肿瘤组两组。随访观察与最终病理组织学结果的符合率、一致性等,从而评估该方法的临床应用价值。本项目取得医院伦理委员会批准,本研究中使用的数据为匿名数据,故本研究无需知情同意,并符合《赫尔辛基宣言》。入选标准:胸部影像学 CT 或 PET-CT 等影像学检查提示肺部占位性病变;患者临床资料完整;患者穿刺前未接受过其他治疗;签署知情同意。排除标准:一般情况不能耐受肺部穿刺活检,如存在严重肝肾功能不全、凝血功能障碍,剧烈咳嗽患者等;对术前准备用药和/或术中麻醉用药存在过敏或疑似过敏情况者;符合微创细针穿刺检查的标准,但不符合本实验纳入标准要求,如其他脏器终末期患者,妊娠期妇女等。

1.2 方法

1.2.1 病理穿刺 在 CT 引导下对肺部明确占位性变区域穿刺取材,将穿刺针残留液涂至两张载玻片上,并将穿刺活检组织的细针细胞液涂至两张清洁载玻片上,再分别用另两张清洁载玻片叠放、轻压,并反向匀速拉开,制成四张涂片,迅速置入 95% 的酒精中固定 3 min 后取出干燥。采用特殊荧光试剂染液及迪夫染液(Diff-Quick stain)分别对荧光 ROSE 细胞学涂片和 ROSE 细胞学涂片进行快速染色,比较荧光 ROSE 染色和 ROSE 染色评估肺部占位性病变中差异性;涂片中细胞的异型性和排列方式,细胞核的异型性及胞浆着色情况,是判断良性和恶性病变的主要依据。针对组织标本细

胞涂片,评估荧光 ROSE 及 ROSE 细胞学诊断结果;与最终石蜡病理诊断结果进行对比,评价荧光 ROSE 组和 ROSE 组判断良恶性病变的敏感性和特异性。穿刺活检组织经 10% 中性福尔马林固定后送病理科行常规组织检查,荧光 ROSE 组和常规 ROSE 组操作结束后由两名高年资病理科医师阅片。

1.2.2 评价标准 本项目由 2 名经验丰富的高年资细胞学病理医师观察分析,并记录判读结果。常规 ROSE 组,快速迪夫染液染色后发现明显异型细胞,认定为阳性;未发现异型细胞而仅查见淋巴细胞、红细胞、组织细胞、中性粒细胞等,认定为阴性。荧光 ROSE 组,活检组织细针细胞液涂片经特殊荧光试剂染色后,在荧光显微镜 B 波段下,病变组织异型细胞,细胞核呈黄绿色且异常增大,胞浆为橙红色,核浆比显著失调,临床判断为异型细胞,可进行下一步检测;阴性细胞定义为细胞核呈亮绿色,胞质呈灰绿色。最终诊断结果由病理科医师依据细胞学特征、组织学病理形态学及免疫组化结果确定。比较两种染色方法在染色时长、诊断的敏感度、特异度及诊断符合率等方面的差异性。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 26.0 统计学软件进行分析。符合正态分布的计量资料用均数±标准差表示,并采用 *t* 检验,不符合正态分布的采用非参数检验;计数资料以百分数表示,应用卡方检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 数据搜集 在收集的 120 例病例中,筛选出 94 例,最终经病理组织学确诊为恶性肿瘤 66 例,其中非小细胞肺癌 54 例,小细胞癌 3 例,其他恶性肿瘤 9 例;非肿瘤性病变 28 例(抗酸分枝杆菌病 19 例,真菌 9 例)。

2.2 两组细胞学特征 经迪夫快速染色,异型细胞表现为细胞核大,深染,细胞核异型明显,细胞胞浆丰富;经荧光试剂染色,异型细胞表现为体积较大,细胞核增大、异型明显,呈现黄色荧光,胞浆呈现橘红色;菌体表现为细长略弯曲的,有时有分枝或出现丝状体的抗酸分枝杆菌;曲霉菌菌丝粗细相对较为一致,有横隔,呈竹节状,呈锐角分支。图 1 见封三。

2.3 两组细胞学检查的诊断效能比较 荧光 ROSE 和 ROSE 组的总确诊率分别为 60.64% 和 48.94%;诊断肺部恶性肿瘤的灵敏度均为 68.18% ($P>0.05$);荧光 ROSE 和 ROSE 组的特异度分别

为 42.86% 和 3.57%。本项目组荧光 ROSE 的总确诊率及特异度均高于常规 ROSE 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 荧光 ROSE 及 ROSE 组的诊断效能 ($n=94, \%$)

诊断效能	荧光 ROSE 组	ROSE 组	χ^2 值	P 值
总确诊率	60.64 (57/94)	48.94 (46/94)	4.37	0.04
恶性肿瘤诊断灵敏度	68.18 (45/66)	68.18 (45/66)	0	1
恶性肿瘤诊断特异度	42.86 (12/28)	3.57 (1/28)	10.38	0.001

2.4 两组制片时长比较 荧光 ROSE 组制片时长约 4 min, ROSE 组制片时长约 4 min, 两组在恶性肿瘤的制片及诊断耗时基本相当。

3 讨论

微创 CT 引导下经皮肺穿刺活检是较为成熟的介入技术, 其以创伤小、安全性高及耐受性好而易被患者接受, PTLB 对肺部占位性病变的诊断及临床分期有着非常重要的应用价值^[2]。操作过程中获取的组织标本满意度直接影响到随后的病理诊断及分子检测, 如何取到高质量的组织标本尤为重要。在临床实践中发现, 标本取材不合格, 会增加患者多次取材的痛苦; 而且传统 ROSE 染色技术是基于病理科原有细胞学及微生物诊断技术, 通过普通光学显微镜观察, 普遍存在敏感性低、操作复杂等问题, 非特异性染色无法实现快速精确诊断。传统染色方法针对真菌, 细菌及结核杆菌等致病菌阳性率过低, 造成漏诊; 传统染色针对细胞学染色形态不确切, 人为主观因素造成误诊; 作为非特异性染色, 易造成假阳性。这亟须我们寻找更精准, 快速, 简便的检验方法, 优化现有的 ROSE 技术。

荧光 ROSE 染色方法及操作流程与常规 ROSE 相似, 是基于细胞形态学的一种诊断技术, 由于荧光 ROSE 染色技术的改进, 完全可以满足对细胞学标本进行快速评价、判断所取标本是否满意, 可实时指导下一步操作, 进而做出初步诊断并进行下一步分流工作, 是目前介入肺部疾病诊疗中心一项新的诊疗技术^[3-4]。该项技术在介入肺部疾病、呼吸系统感染性疾病的诊断和治疗中指导作用意义显著。特别是在不明原因的肺部阴影、肿瘤、感染性病原学 (特别是真菌及抗酸杆菌) 等疾病中做出快速判断。

有研究表明, 联合 ROSE 可提高 TBLB 和 EBUS-TBNA 在肺肿瘤诊断中有一定应用价值^[5-7], 而 CT 引导下经皮肺穿刺活检联合荧光 ROSE 在临

床工作中应用的数据相对较少。CT 引导下经皮经胸穿刺活检作为一种微创、安全、有效的诊疗方法, 有研究表明其诊断阳性率在 87% 以上^[8]。本研究主要将肺部占位性病变患者作为研究对象, 分析荧光 ROSE 对 CT 引导下经皮肺穿刺活检病理结果的影响。荧光 ROSE 和 ROSE 组对肺部病变的总体确诊率分别为 60.64% 和 48.94%, 特异度分别为 42.86% 和 3.57%, 提示荧光 ROSE 联合 CT 引导下经皮肺穿刺活检在而对肺部占位性具有重要临床应用价值, 特别是非肿瘤性疾病中的真菌病及抗酸分枝杆菌病。在病变细胞学诊断的恶性肿瘤灵敏度均为 68.18%, 提示细胞形态的异型性在恶性肿瘤细胞的诊断具有十分重要意义。尽管荧光 ROSE 在诊断肿瘤细胞相关的异型细胞荧光显微镜下表现得更加易于判读, 但在与 ROSE 染色显现的异型细胞整体判读上没有展现出应有的优势, 这种结果的出现不除外与对肿瘤细胞的判读是基于细胞的形态为基础, 同时与本组病例数相对较少有一定的关系, 这与国内的相关研究略有不同^[2]。CT 引导下经皮肺穿刺活检操作过程中, 由于是在 CT 引导下精准定位, 可减少无效的重复操作, 提高了取材的准确性。同时特异性荧光标记, 细胞着色较为确切, 减少假阳性及人为主观因素造成的误诊, 临床符合率高。在恶性肿瘤诊断中荧光 ROSE 组染色的制片时长与 ROSE 组染色制片时长相当, 两组间无统计学意义。并且在非肿瘤性疾病的诊断, 特别是在真菌及抗酸杆菌的诊断中, 荧光 ROSE 组的敏感性 & 特异度显著高于 ROSE 组。

结合本文, 微创 CT 引导下经皮肺穿刺活检联合荧光 ROSE 提高了肺部占位性病变的确诊率及恶性肿瘤诊断的特异度。因此, CT 引导下经皮肺穿刺活检联合使用荧光 ROSE 具有简易、快速、准确等优点, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] JAIN D, ALLEN T C, AISNER D L, et al. Rapid onsite evaluation of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirations for the diagnosis of lung cancer: a perspective from members of the pulmonary pathology society [J]. Arch Pathol Lab Med, 2018, 142 (2): 253-262.
- [2] 辛红梅, 仇红. CT 引导下经皮肺穿刺活检术在肺肿瘤定性诊断中的应用 [J]. 中国医药导报, 2013, 10 (10): 104-106.
- [3] 周任远, 何家扬. 尿脱落细胞荧光试剂染色诊断膀胱移行细胞癌的意义 [J]. 现代泌尿外科杂志, 2003, 8 (3): 142-144.
- [4] 王剑, 宋嘉, 陈清勇. 荧光快速现场评价在恶性胸膜疾病诊断中的应用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31 (10):

- 925-928.
- [5] 张敬, 邢春燕, 王欣. 细胞学快速现场评价技术联合纤维支气管镜检查在肺占位性疾病诊断中的应用 [J]. 山东医药, 2020 (35): 60.
- [6] 田智丹, 常立功, 王粮, 等. ROSE 在肺部病变活检病理诊断中的价值 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2020 (11): 5.
- [7] 李燕, 蔡后荣, 演欣, 等. 快速现场评价技术在肺占位病变良恶性判断中的作用 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17 (5): 4.
- [8] 杨二乐. CT 引导下经皮肺穿刺活检术在肺肿瘤定性诊断中的应用价值 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19 (48): 101.

• 临床研究 •

角膜后前表面曲率半径比值的临床研究

关 照¹ 秦筱钰² 张 嵘³ 袁源智² 庄雪梅¹ 叶向或³

【摘 要】 目的 分析白内障患者的术前角膜后前表面曲率半径比值 (B/F ratio) 的分布特点及其与眼内生物参数的相关性。为优化常规白内障人工晶体 (IOL) 计算公式和角膜屈光术后 IOL 计算公式提供有用的信息。**方法** 将 169 名白内障患者的 182 只眼纳入了研究, 对其术前的 Pentacam 眼前节分析仪和 IOL Master 的检查结果进行统计分析, 并计算出每只眼的矫正角膜折射指数。**结果** 本研究人群 B/F Ratio 均值为 $(82.04 \pm 1.68)\%$, 与年龄 ($r_p = 0.313$, $P < 0.001$)、角膜屈光度 (K_p , $r_p = 0.567$, $P < 0.001$)、角膜后表面曲率半径 (R_2 , $r_p = 0.566$, $P < 0.001$) 成正相关。矫正角膜屈光指数 (N) 为 $1.3229 \sim 1.3306$ (1.3282 ± 0.0010)。**结论** 本研究样本的 B/F Ratio 值、N, 与国内外同类研究结果接近, 比 Gullstrand 模型眼的 B/F Ratio 值、N 小。当白内障患眼 B/F Ratio 较低时, 需要考虑使用特殊的 IOL 屈光力计算公式。

【关键词】 角膜后前表面曲率半径比值; 白内障; 角膜折射指数; 角膜后表面屈光度

【中图分类号】 R778 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)04-0009-05

Clinical study of posterior/anterior corneal curvature radii ratio

GUAN Zhao¹, QIN Xiaoyu², ZHANG Rong³, YUAN Yuanzhi², ZHUANG Xuemei¹, YE Xiangyu³

¹ Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China; ² Zhongshan Hospital (Xiamen), Fudan University, Xiamen, Fujian 361015, China; ³ Fuzhou Eye Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

Corresponding author: Guan Zhao, Email: 254583537@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the distribution characteristics of the posterior/anterior corneal curvature radii ratio (B/F ratio) in cataract patients and their correlation with intraocular biological parameters. To provide useful information for optimizing IOL calculation formula of routine cataract and with previous corneal refractive surgery. **Methods** One hundred and eighty-two eyes of 169 cataract patients were enrolled in the study. The preoperative results of Pentacam and IOL Master were statistically analyzed, and the corrected corneal refraction index of each eye was calculated. **Results** The average B/F ratio of the population in this study was $(82.04 \pm 1.68)\%$, which was positively correlated with age ($r_p = 0.313$, $P < 0.001$), K_p ($r_p = 0.567$, $P < 0.001$) and posterior corneal curvature radius R_2 ($r_p = 0.566$, $P < 0.001$). Corrected corneal refractive index N was $1.3229 \sim 1.3306$ (1.3282 ± 0.0010). **Conclusion** The B/F ratio of the population in this study and the corrected corneal refractive index N are similar to the results of related studies at home and abroad, and smaller than those of Gullstrand model eye. When the B/F ratio is low in cataract eyes, a special IOL refractive power calculation formula should be considered.

【Key words】 B/F ratio; cataract; corrected corneal refractive index; posterior corneal surface diopter

现代白内障手术已发展为屈光性手术, 而人工 晶状体 (intraocular lens, IOL) 度数计算的准确

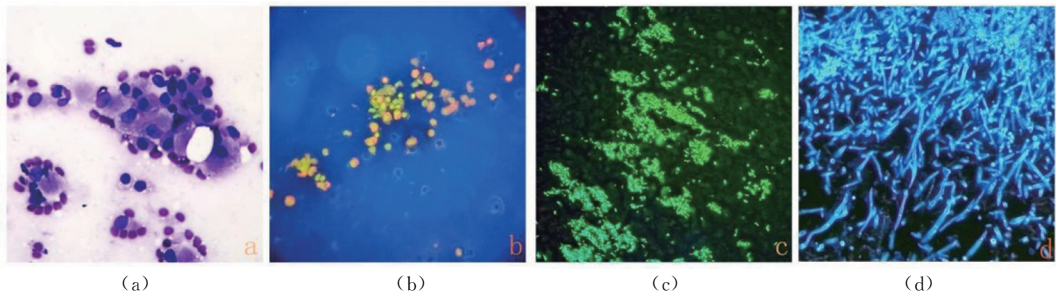
基金项目: 福州市卫生健康中青年科学研究项目资助 (2021-S-wq5)

作者单位: 1 福建省福州市第二总医院, 福州 350007; 2 复旦大学附属中山医院厦门医院, 厦门 361015; 3 福州眼科医院, 福州 350007

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.04.003

荧光 ROSE 在肺恶性肿瘤细胞学诊断中的应用分析

(详见正文第 6 页)



注：(a) 细胞核大，深染，细胞核异型明显，细胞胞浆丰富（Diff-Quik 染色，普通光学显微镜 10×40）。(b) 显示异型细胞，细胞核染色呈黄绿色且体积异常增大，细胞浆染色为橙红色，核浆比失调（荧光特殊染色，带有 B 波段荧光模块的生物显微镜下观察，10×40）。(c) 见菌体表现为细长略弯曲的的抗酸分枝杆菌（荧光特殊染色，带有 UV 波段荧光模块的生物显微镜下观察，10×40）。(d) 显示曲霉菌菌丝粗细相对较为一致，有横隔，呈竹节状，呈锐角分支（荧光特殊染色，带有 340~400 nm 滤镜的显微镜下观察，10×40）。

图 1 组织病理染色图

多序列 MR 影像组学模型对局灶性结节增生及肝细胞癌的诊断价值

(详见正文第 26 页)

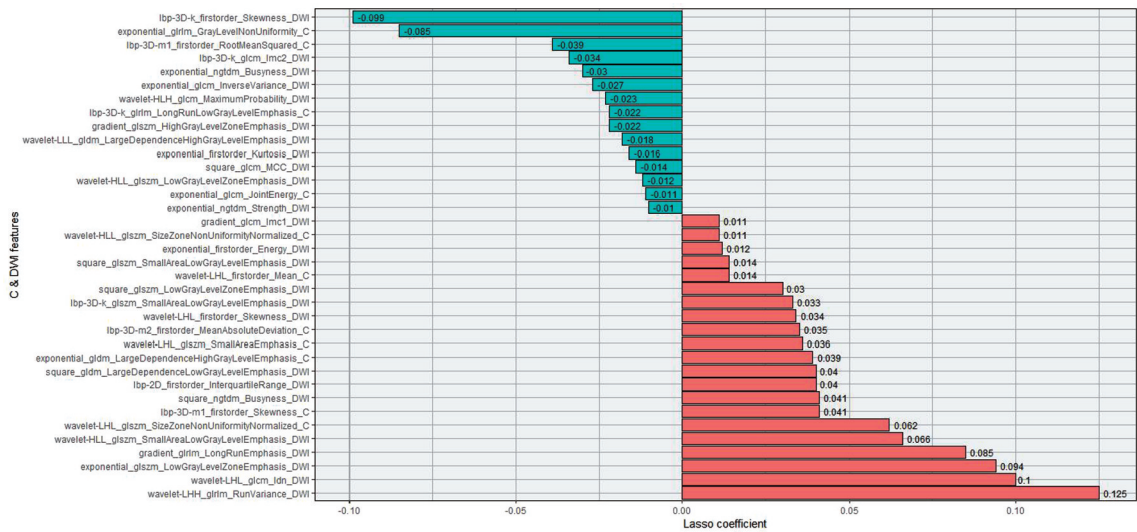
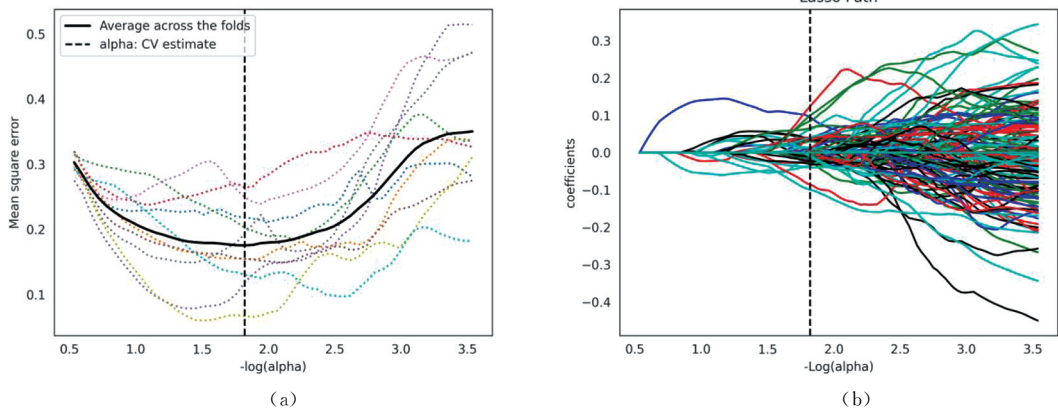


图 1 最小绝对收缩和选择算子 (LASSO) 的图像特征和相关系数



注：(a) LASSO 回归模型中采用 10 倍交叉验证选择最佳调优参数 (λ)；(b) 利用 λ 获得非零系的影像组学特征（每条彩线代表其系数的变化情况）。

图 2 特征提取 Lasso 回归图