

# 全切缘显示ESD标本病理检查方法的优点及推广

崔艳梅, 刘伟, 吴在增, 刘建强, 郑智勇

崔艳梅, 刘伟, 吴在增, 郑智勇, 解放军福州总医院病理科  
福建省福州市 350025

崔艳梅, 福建中医药大学附属人民医院病理科 福建省  
福州市 350025

刘建强, 解放军福州总医院消化内科 福建省福州市 350025

崔艳梅, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤病理的研究.

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由崔艳梅与郑智勇完成;  
技术操作由崔艳梅、刘伟、吴在增及刘建强完成; 数据分析  
由崔艳梅完成.

通讯作者: 郑智勇, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 350025,  
福建省福州市西二环北路156号, 解放军福州总医院病理科.  
768203566@qq.com  
电话: 0591-83717703

收稿日期: 2017-06-05

修回日期: 2017-07-18

接受日期: 2017-07-26

在线出版日期: 2017-09-18

## Full incisal margin pathological examination for endoscopic submucosal dissection specimens

Yan-Mei Cui, Wei Liu, Zai-Zeng Wu, Jian-Qiang Liu,  
Zhi-Yong Zheng

Yan-Mei Cui, Wei Liu, Zai-Zeng Wu, Zhi-Yong Zheng,  
Department of Pathology, Fuzhou General Hospital,  
Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Yan-Mei Cui, Department of Pathology, the People's Hospital  
Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese  
Medicine, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Jian-Qiang Liu, Department of Gastroenterology, Fuzhou  
General Hospital, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Correspondence to: Zhi-Yong Zheng, Professor, Chief  
Physician, Department of Pathology, Fuzhou General  
Hospital, 156 Xihuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian

Province, China. 768203566@qq.com

Received: 2017-06-05

Revised: 2017-07-18

Accepted: 2017-07-26

Published online: 2017-09-18

## Abstract

### AIM

To improve the technique of pathological  
sampling of digestive tract specimens during  
endoscopic submucosal dissection (ESD), and  
establish a way of precisely displaying high  
level intraepithelial neoplasia (HGEIN) with  
early infiltration.

### METHODS

A full incisal margin dissection method was  
established and then applied to 120 digestive  
tract ESD specimens. Immunohistochemical  
staining for type IV collagen was performed to  
observe whether the basement-membrane in  
HGEIN was complete and whether there was  
early infiltration or not. Data including gender,  
age, anatomic site, macroscopic classification,  
histology, and incisal margin infringement  
were analyzed.

### RESULTS

The study group consisted of 70 males and 50  
females with ages ranging from 23 to 81 years  
(mean, 58 years). There were 30 esophageal  
cases, 64 stomach cases, and 26 colon cases of  
ESD specimens. With regard to macroscopic  
classification, there were 42 type I cases,  
43 type II A, 29 type II B, and 6 type II C.  
Pathological examinations revealed 39 cases of  
HGEIN and 17 cases of cancer (including 3 M1  
cases, 5 M2 cases, 6 M3 cases, and 3 SM2 cases).

### 背景资料

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)作为治疗消化道早癌的有效手段,在国内已得到快速的发展.而关于怎样准确评估ESD疗效就显得至关重要,而目前国内相关文献偏少,对切缘的全面完整判断有偏差,对早癌和高级别上皮内病变的鉴别观点不明确.

### 同行评议者

管桦, 硕士, 主任医师, 上海交通大学医学院附属瑞金医院核医学科

#### ■ 研究前沿

目前对于消化道早癌的治疗, ESD越来越受到青睐, 如何更精确的评估术后ESD标本, 以反馈给临床, 成为目前研究的热点。

There were two HGEIN cases that were incisal margin positive. For 8 suspected cancer cases in the HGEIN group, immunohistochemical staining for type IV collagen revealed that 6 cases were HGEIN, and the other two cases were cancer.

#### CONCLUSION

The full incisal margin dissection method for ESD specimens allows to display the full incisal margins, without increasing workload or requiring large embedding box and horizontal pushing type sliding slicer. For HGEIN cases suspected of being cancer, immunohistochemical staining for type IV collagen could reveal early infiltration well.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic submucosal dissection; Pathology dissection; Pathological section; Pathologic diagnosis

Cui YM, Liu W, Wu ZZ, Liu JQ, Zheng ZY. Full incisal margin pathological examination for endoscopic submucosal dissection specimens. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(26): 2401-2406 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i26/2401.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i26.2401>

#### 摘要

##### 目的

对“消化道内镜黏膜下层剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)标本取材规范”进行改进, 并提出精确显示高级别上皮内瘤变(high grade intraepithelial neoplasia, HGEIN)早期浸润的方法。

##### 方法

建立一种“全切缘显示”的ESD标本取材法, 应用于120例消化道ESD标本。用0.05% 24型蛋白酶消化40 min修复的IV型胶原免疫组化染色, 观察HGEIN基底膜是否完整, 判断有无早期浸润。对患者性别、年龄、病变的部位、肉眼分型、组织学类型、切缘侵犯情况等进行分析, 以判断该取材法的临床实用性。

##### 结果

食管30例、胃64例、肠26例; 男性70例, 女性50例, 年龄23-81岁, 平均58岁。肉眼分型: Ⅱ型42例, A型43例, B型29例, C型6例。组织学类型: HGEIN39例; 癌变17例, 其中3例为M1, 5例为M2, 6例为M3, 3例

为SM2。HGEIN有2例口端切缘侵犯。8例疑癌变标本, 通过Ⅱ型胶原标记后6例证实为HGEIN, 2例为癌变。

#### 结论

“全切缘显示”ESD标本病理检查方法, 不仅上下切缘及两侧切缘都可以完整显示, 且不增加工作量, 无需大包埋盒和平推式滑动切片机等专用设备。对于HGEIN疑癌病例用Ⅱ型胶原免疫组化染色显示早期癌浸润效果佳。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 内镜黏膜下剥离术; 取材; 制片; 病理诊断

核心提要: 本文增加了口端、肛端两切缘从左至右间隔3 mm垂直切开, 可以更全面的显示四周切缘。而24型蛋白酶消化40 min作为Ⅱ型胶原修复方法的使用, 可以显示基底膜阳性着色效果理想, 进而避免假浸润病例的报告。

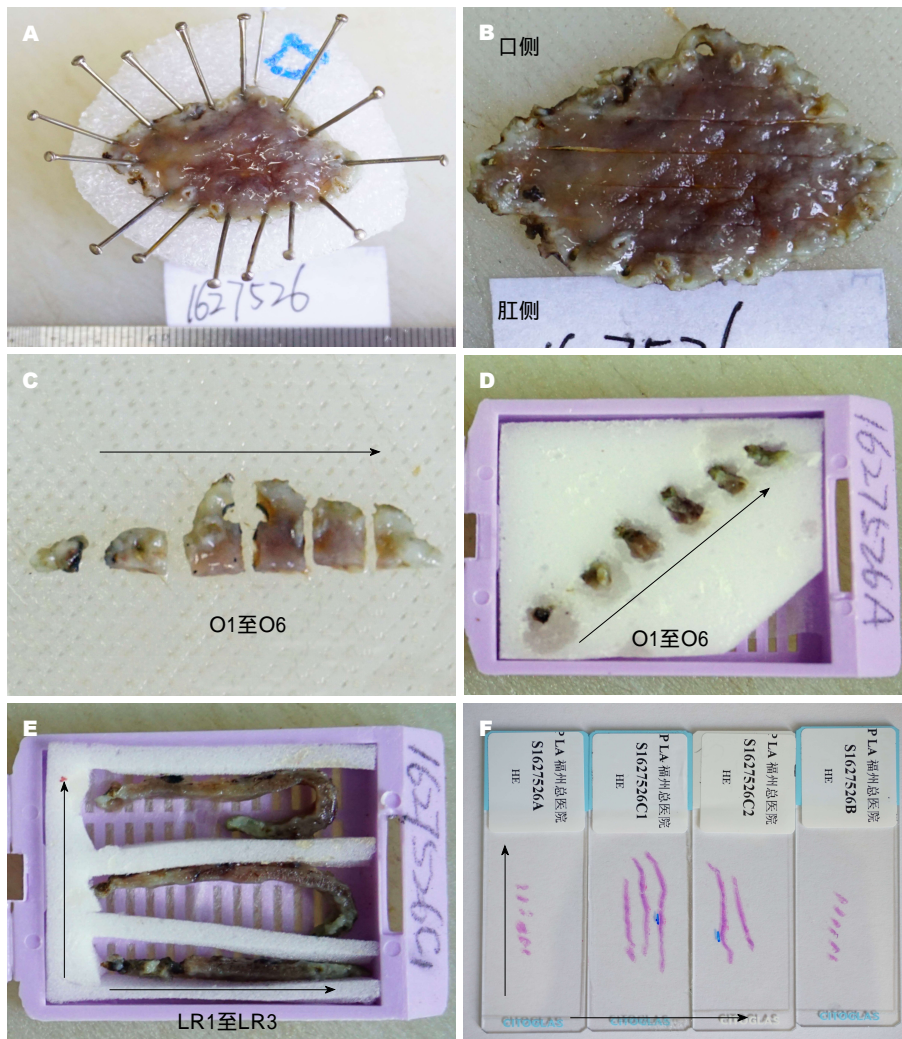
崔艳梅, 刘伟, 吴在增, 刘建强, 郑智勇. 全切缘显示ESD标本病理检查方法的优点及推广. *世界华人消化杂志* 2017; 25(26): 2401-2406 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i26/2401.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i26.2401>

#### 0 引言

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)作为治疗消化道早癌的有效手段, 在国内已得到快速的发展。ESD疗效的准确评估取决于对ESD标本全面精确的病理学检查, 为此2014年国内权威机构颁布了ESD标本病理学检查规范(草案)<sup>[1]</sup>。福州总医院病理科在实际工作中对“规范”进行了部分改进, 设计了一种既不增加工作量又可达到“全切缘显示”的ESD标本取材方法; 并采用IV型胶原免疫组化染色和PAMS-Masson染色观察基底膜有无消散, 对高级别上皮内瘤变(high grade intraepithelial neoplasia, HGEIN)的内翻性生长或累腺与早期癌浸润进行鉴别。

#### 1 材料和方法

1.1 材料 选取2015-01-01/2016-06-30, 福州总医院消化科内镜室送检的消化道ESD标本共120例。ESD标本均匀适度伸展开、黏膜面朝上、用大头针沿四周钉在泡沫板, 并标注“口



**创新点**  
本文在目前有关ESD病理检查方法基础上, 对如何更全面显示切缘及对早癌及高级别上皮内瘤变的鉴别提出新的染色方法, 2者结合可以更精确的评估ESD的疗效。

图1 胃窦内黏膜下层剥离术。A: 标本均匀适度伸展开、黏膜面朝上、用大头针沿四周钉在泡沫板, 并标注“口端”, 切缘无墨汁染色, 中性福尔马林溶液固定后送检; B: 去掉标本上大头针, 将标本从口侧到肛侧间隔3 mm沿平行线切开黏膜但不切断组织后照相; C: 口端组织从左至右间隔3 mm垂直切开; D: 口端组织块从左至右排序, 黏膜面朝左, 上切缘朝上, 置入包埋盒内塑料泡沫板挖好的洞中; E: 横切组织条LR-1-LR-3从下向上排序, 左切缘朝左, 黏膜面朝下, 置入包埋盒内塑料泡沫板剪好的框中; F: 胃窦ESD标本完整制片。最左侧玻片为口侧组织块, 左端在下, 上切端朝外; 中间2张玻片为LR-1-LR-5横切组织条从左至右排序, 左端在下, 黏膜面朝左; 最右侧玻片为肛侧组织块, 左端在下, 下切端朝内; LR-3和LR-4横切组织块旁用记号笔标注高级别上皮内瘤变区域。

端”, 切缘无需墨汁染色, 中性福尔马林溶液固定后送检(图1A)。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本取材:** (1)去掉标本上大头针, 描述并测量标本及病灶肉眼分型, 记录病灶与最近切缘的距离及部位。(2)将标本从口端至肛端间隔3 mm沿平行线切开黏膜但不切断组织后照相(图1B), 再将组织完全切断, 并将口端和肛端的两条组织从左至右间隔3 mm垂直切开(图1C)。

**1.2.2 组织块编号:** (1)口侧组织块从左至右依次编号为O-1-O-X, 肛侧为A-1-A-X; (2)横切组织条从口侧至肛侧依次编号为LR-1-LR-X, 并将每一条组织平均分成左、中、右(A、B、

C)3段; (3)用编号显示HGEIN或癌变的区域, 如: 癌变位于LR-8A, 指横切组织条第8条左段有癌变病灶; (4)包埋盒内组织排序: a: 所有组织块均顺一个方向翻转90°, 使一侧切面向下(竖埋)。b: 口侧及肛侧的组织块从左向右依次排列, 切缘向上, 黏膜面朝左(图1D); c: 中间组织条LR-1-LR-X从下至上依次排列, 左切缘朝左, 黏膜面朝下(图1E); d: 包埋盒内用预先裁剪好的塑料泡沫板固定组织, 也可以用多层拭镜纸盖压等其他方法来防止组织错位; e: 口侧及肛侧的组织块各放一个包埋盒; 中间组织条2-3条放1个包埋盒, 如果组织条较长, 可将右端弯曲折叠; (5)包埋切片: 组织块位置按包埋



#### 应用要点

本文提供的取材法可更精确的评估切缘情况, 并且可以更好的鉴别早癌及高级别上皮内瘤变, 为临床可以提供更准确的病理报告, 为临床后期的治疗提供更准确的指导。

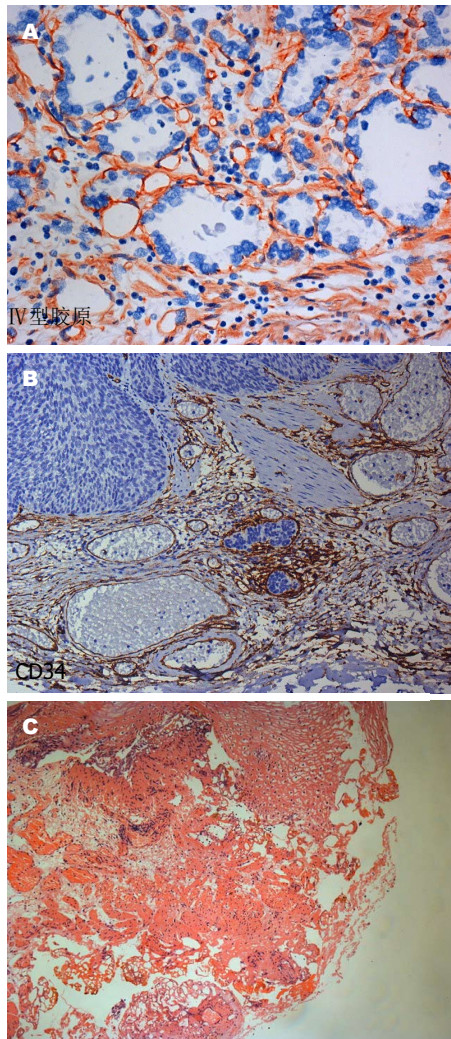


图 2 免疫组化及特殊染色图。A: 胃窦内镜黏膜下层剥离术; 标本腺体高级别上皮内瘤变, 部分腺体 胶原有消融现象, 且腺体外周缘微凸状, 腺体间小灶异性上皮巢无胶原围绕, 诊断为局部点状癌变, 黏膜内浸润, EliVision法; B: 食管内镜黏膜下层剥离术标本低分化鳞癌小静脉血管内侵犯, EliVision法; C: 高频电刀切割形成的食管内镜黏膜下层剥离术; 标本切缘呈多泡状结构, 镜下易于识别, 因此无需再用墨汁标志切端(HE × 200)。

盒中的摆放位置包埋组织; 切片后裱片时组织块相对位置呈“镜像倒影”, 看片时要注意将组织块位置反过来看(图1F)。

**1.2.3 染色:** (1)常规HE染色1张, 胃黏膜标本要做一张HP染色; (2)癌变浸润最深的切片要加染PAMS-Masson染色<sup>[2]</sup>和EliVision法免疫组化IV型胶原、CD34、D2-40及CgA染色。EliVision™试剂盒购自福州迈新公司。抗原修复: IV型胶原用0.05% 24型蛋白酶消化40 min修复, 其余抗体用高温高压修复。染色步骤按试剂盒说明书操作。

**1.2.4 病理诊断:** (1)主要病变: 上皮内瘤变分

级、部位; 癌变部位、组织学类型、浸润深度及分期、有无血管淋巴管侵犯等; (2)切缘侵犯: HGEIN或癌侵犯的周切缘和底切缘的准确部位, 如果病灶距切端在1个高倍视野内, 则诊断为紧邻切端; (3)背景病变: 炎症的类型程度, 肠化程度, HP有无阳性; 病因分型包括幽门螺杆菌相关胃炎、自身免疫性胃炎及化学性(酒精、胆汁反流或药物等)胃炎等; (4)免疫组化及特殊染色: IV型胶原染色和PAMS-Masson染色用于观察HGEIN基底膜是否完整, 如果局部基底膜消散, 且HGEIN超出正常腺体范围, 则诊断为腺癌早期浸润(图2A); D2-40用于观察淋巴管内有无癌栓; CD34用于观察血管内有无癌栓(图2B); CgA用于观察肿瘤细胞有无神经内分泌分化。2名病理医师阅片并诊断, 上皮内瘤变及癌变分型、分期遵有关文献<sup>[3]</sup>。

## 2 结果

120例消化道ESD标本中, 食管30例、胃64例、肠26例(其中十二指肠1例, 其余为结肠); 男性70例, 女性50例, 男女比为1.4:1; 年龄23-81岁, 平均58岁。标本肉眼分型<sup>[4]</sup>: I型42例, II A型43例, II B型29例, II C型6例。组织学类型: HGEIN 39例; 癌变17例, 其中3例为M1, 5例M2, 6例M3, 3例SM2。HGEIN有2例切缘侵犯, 均在口端。8例疑癌变标本, 通过PAMS-Masson染色和IV型胶原染色后, 证实6例为HGEIN, 2例为癌变(表1)。随访3 mo-1年半, 2例ESD标本诊断为癌变(SM2)的患者再次行胃癌根治手术, 其余病人通过定期胃镜检查及活检病理均未发现复发。

## 3 讨论

ESD标本的病理学检查要求不同于黏膜活检及常规手术根治标本<sup>[5,6]</sup>, 不仅需确定病变的组织学类型, 还要提供HGEIN和癌变的范围及浸润深度, 切缘有无侵犯, 血管、淋巴管有无癌栓等信息<sup>[1]</sup>, 这些信息对后续治疗至关重要。切缘侵犯的标本要求再次扩大切缘切除, 黏膜下深层癌、有脉管内侵犯的癌要求追加根治手术治疗。因此ESD标本要按顺序全部取材及包埋、制片。

国内ESD标本取材方案主要是学习国外方案。目前国内“规范”要求: “ESD标本取材时选择距病灶最近的切缘, 以此处切缘的切

表 1 120例消化道ESD标本病理诊断结果

部位	n	肉眼分型				HGEIN	癌变				切缘侵犯
		I	II A	II B	II C		M1	M2	M3	SM2	
食管	30	3	9	18	0	17	1	2	4	0	1
胃	64	24	23	11	6	16	1	2	2	2	1
肠	26	15	11	0	0	6	1	1	0	1	0
合计	120	42	43	29	6	39	3	5	6	3	2

ESD: 内镜黏膜下层剥离术; HGEIN: 高级别上皮内瘤变。

#### 名词解释

内镜下黏膜剥离术(ESD): 是近年出现的一项新的治疗手段, 指在微创技术下, 通过标记、黏膜下注射、边缘切开、剥离病灶和创面处理等步骤可完整大块的切除病灶。

线为基准, 垂直于切线方向进行切割”<sup>[1,7,8]</sup>, 意在重点观察病灶最近切缘有无肿瘤侵犯。但ESD标本中病灶呈多灶性、地图状分布时, 则不易于采用上述方法取材。由于每例标本的改刀模式都不同, 就造成临床医生阅读病理报告时对病灶分布不能与大体标本对接, 需要病理医生完整拼接切片, 恢复原标本的大体形态, 同时还要用颜色标注病灶的范围, 以便临床医生判断侵犯切端的部位<sup>[7]</sup>。这种取材方法要求比较精细, 标本组织块要求平行直放不能弯曲, 如果遇到比较大的标本, 要有大包埋盒、大包埋槽和切大组织块的平推切片机等专用设备, 因此在国内不易广泛推广。

我们的ESD标本取材方法是, 所有标本都采用从上至下、从左至右的同样改刀模式。该法不需要将组织条拉直, 不需要精密拼出原形图, 而是将改刀后所有组织区域都编号, 出现HGEIN和癌的区域都记录在报告中。医生看到报告时, 可根据改刀后标本照片找到病灶相应位置, 便于临床医生理解病理报告所指出的病变部位, 以便决定是否采取下一步措施。

关于切割后ESD标本组织条的包埋方法, 目前一般采用最外侧的两条组织分别向外翻转90°, 使切面向下; 中间的组织条顺一个方向翻转90°, 使一侧切面向下, 以达到显示周切缘的目的<sup>[7]</sup>。但ESD标本口端、肛端切缘都不平整, 修片时为了显示完整组织面, 会修掉部分上、下切缘, 这样就会丢失部分切缘的信息。我们的“全切缘显示”方案优点在于, 上下切缘及两侧切缘都可以完整显示, 尤其是上、下切缘因增加了从左至右间隔3 mm垂直切开, 不会修掉两端的切缘, 可以更全面地显示, 切缘结果更准确, 取材时只要注意方向, 可以几条组织放在一个包埋盒, 组织可以弯曲, 所以每例标本的组织蜡块数不多, 故不增加取

材医生及技术员的工作量。本文总结的病例中有两例切缘阳性, 且都是在口端, 可见手术时口侧处理有一定难度; 所以口端、肛端切缘状态的判断甚为重要。ESD标本手术过程是内镜下高频电刀切割, 切缘在显微镜下显示独特的烧灼现象而易于识别(图2C), 再加上固定的方向, 因此不需要切缘涂抹墨汁标记, 避免高昂的墨汁费用, 也解决了普通墨汁染色不理想的问题; 但要注意组织包埋时要平整, 如果切缘上翘也会造成切片中切缘缺损。

ESD标本HE染色片镜下诊断有2个难点: 一是HGEIN癌变早期浸润, 二是单个或极少癌细胞侵犯毛细血管或淋巴管; 由于病变细微易被忽略。上皮组织和HGEIN都有完整基底膜, 癌变早期浸润发生时首先出现基底膜消融, 进而异型细胞超出腺体范围向间质内浸润。采用免疫组化IV型胶原染色, 可清晰显示HGEIN癌变早期浸润微灶(图2A), 避免将HGEIN累腺或内翻性生长误判为浸润生长。有时炎症、水肿也会造成基底膜溶解假象, 加染PAM-Masson染色显示腺体基底膜, 可以避免这种假象造成的误判。采用常规热修复免疫组化IV型胶原染色, 基底膜显示不清晰。有报道<sup>[9]</sup>采用EDTA修复加上胃酶消化后再行染色效果较好, 但该法缺点是双重修复易导致间质成分部分剥脱。我们采用24型蛋白酶消化40 min作为IV型胶原修复方法, 不会造成组织脱落, 免疫组化IV型胶原染色显示基底膜阳性着色效果稳定且理想。采用CD34和D2-40显示毛细血管或淋巴管内癌栓是目前通用的做法, 但对单个或极少癌细胞侵犯毛细血管或淋巴管的病灶仍需仔细观察才能发现。

总之, “全切缘显示”的ESD标本取材方法不仅可以更全面的显示四周切缘, 尤其是上、下切缘, 还可以减少工作量, 避免更多设备开支; 24型蛋白酶消化40 min作为IV型胶原

□ 同行评价  
本文作者描述了全切缘显示ESD标本病理检查方法的优点及推广, 有一定的借鉴意义。

修复方法, 不会造成组织脱落, 且显示基底膜阳性着色效果理想。2者结合, 可以避免一些切缘假阳性及假浸润病例的报告, 进而避免一些病人不必要的大手术, 并且大大提高了早癌的诊断率, 有利于ESD这项治疗手段的进一步的发展, 所以该项改进值得推广。

#### 4 参考文献

- 1 中华医学会消化内镜学分会病理学协作组. 中国消化内镜活组织检查与病理学检查规范专家共识(草案). 中华消化内镜杂志 2014; 31: 481-485
- 2 郑伟, 胡志坚, 张春梁, 林建忠, 林少敏. 基底膜染色方法比较及在胃黏膜异型增生胃腺癌中的应用. 中国组织化学与细胞化学杂志 2016; 25: 169-173
- 3 Stolte M. The new Vienna classification of epithelial neoplasia of the gastrointestinal tract:

- advantages and disadvantages. *Virchows Arch* 2003; 442: 99-106 [PMID: 12596058]
- 4 The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: S3-43 [PMID: 14652541 DOI: 10.1016/S0016-5107(03)02159-X]
- 5 陈晓宇. 胃肠道活检和手术标本的病理检查要点. 胃肠病学 2012; 17: 641-645
- 6 陈晓宇, 施尧. 胃镜活检检查和内镜下黏膜切除标本的病理检查规范. 内科理论与实践 2010; 5: 252-255
- 7 杨京彦, 管冰心, 王海涛, 王晓映, 滕国鑫, 季昌华, 于洁, 张廷国, 周成军. 胃ESD标本的病理取材及切片制作方法. 临床与实验病理学杂志 2015; 31: 939-941
- 8 陈光勇, 张澍田. 制作规范化内镜下黏膜剥离术标本病理切片要点. 内科急危重症杂志 2016; 22: 5-8.9
- 9 陈余朋, 张声, 王行富, 李国平, 王鹏程, 王密. 不同的抗原修复方法在 型胶原免疫组化染色中的应用. 临床与实验病理学杂志 2014; 30: 98-100

编辑: 马亚娟 电编: 杜冉冉



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

