

基于细胞形态学定量参数的良恶性胸/腹水鉴别诊断模型

袁帅, 张焜和, 肖波, 陈江, 祝金泉, 朱萱, 吕农华

袁帅, 广东省南方医科大学附属小榄医院消化科 广东省中山市 528415

张焜和, 肖波, 陈江, 祝金泉, 朱萱, 吕农华, 南昌大学第一附属医院 江西省消化疾病研究重点实验室 江西省南昌市 330006

袁帅, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病临床和基础研究。江西省主要学科学术与技术带头人计划资助项目, No. 030002
作者贡献分布: 此课题由张焜和, 祝金泉, 朱萱, 吕农华及袁帅设计; 标本收集由张焜和, 袁帅及肖波完成; 研究过程由袁帅, 张焜和及陈江完成; 数据分析由袁帅与张焜和完成; 论文写作由袁帅与张焜和完成。

通讯作者: 张焜和, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院消化内科。yfyzkh@sina.com

电话: 0791-8692507 传真: 0791-8623153

收稿日期: 2008-12-05 修回日期: 2008-12-25

接受日期: 2009-01-05 在线出版日期: 2009-01-28

A differential diagnostic model based on the morphological parameters of exfoliated cells for differentiating malignant pleural and peritoneal effusions from the benigns

Shuai Yuan, Kun-He Zhang, Bo Xiao, Jiang Chen, Jin-Quan Zhu, Xuan Zhu, Nong-Hua Lv

Shuai Yuan, Department of Gastroenterology, Xiaolan Hospital Affiliated to Nanfang Medical University, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China

Kun-He Zhang, Bo Xiao, Jiang Chen, Jin-Quan Zhu, Xuan Zhu, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Jiangxi Key Laboratory for Digestive Diseases, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the Training Program for Science and Technology Leaders of Main Disciplines in Jiangxi Province, No. 030002

Correspondence to: Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzkh@sina.com

Received: 2008-12-05 Revised: 2008-12-25

Accepted: 2009-01-05 Published online: 2009-01-28

Abstract

AIM: To establish a mathematical model based on the morphological parameters of exfoliated cells in pleural and peritoneal effusions and to evaluate their diagnostic values in differentiating malignant from the benign pleural and peritoneal effusions.

METHODS: Nine morphological cellular param-

eters (area, perimeter, equivalent diameter, max-axis, min-axis, max-axis/min-axis ratio, form factor, cycle degree, atypical index) were measured using a pathological image analysis system on cell smears from 61 patients with benign or malignant pleural or peritoneal effusions, and the coefficients of variation (CV) of above parameters were calculated. Discriminate functions, diagnostic models, were established with different groups of parameters by stepwise discriminatory analysis, in which the cytological result of each specimen was taken as the dependent variable and the morphological parameters as independent variables, and their diagnostic performances for malignant effusions were calculated.

RESULTS: Two parameters, equivalent diameter and max-axis, entered the model based on cellular morphological parameters. Seven CVs of all parameters except for perimeter and cycle degree entered the model based on the CVs. Three parameters, area, min-axis and CV of min-axis, entered the model based on all those parameters. The sensitivities of above three models for diagnosing malignant effusions were 72.7%, 90.9% and 97.0%, respectively; the specificities were 100.0%, 92.9% and 92.9%, respectively, and the accuracies were 85.2%, 91.8% and 95.1%, respectively.

CONCLUSION: Simple models could be established based on the cellular morphological parameters and their coefficients of variation, and they are valuable in differentiating malignant from benign pleural and peritoneal effusions.

Key Words: Pleural effusion; Ascites; Tumor metastasis; Differential diagnosis; Diagnostic model

Yuan S, Zhang KH, Xiao B, Chen J, Zhu JQ, Zhu X, Lv NH. A differential diagnostic model based on the morphological parameters of exfoliated cells for differentiating malignant pleural and peritoneal effusions from the benigns. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(3): 279-283

摘要

目的: 探讨以脱落细胞形态学定量参数及其变异系数建立数学诊断模型对良恶性胸/腹水

■背景资料

胸水或腹水是临床常见病症, 按病因可分为两大类, 即由良性疾病引起的良性胸/腹水和由恶性肿瘤胸/腹膜转移引起的恶性胸/腹水。正确鉴别两类不同性质的胸/腹水是此类患者临床诊疗中的首要问题。

■同行评议者

金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科

■研发前沿

尽管脱落细胞学检查鉴别良恶性胸/腹水的敏感性低,要求检查者经验丰富,但仍是诊断金标准,有关的诊断新技术研究主要是围绕克服细胞学检查的缺陷而展开,如免疫细胞化学染色、肿瘤标志物测定、细胞形态学定量分析等。

的鉴别诊断价值。

方法:应用病理显微图像分析系统采集61例良恶性胸/腹水脱落细胞涂片的细胞面积、周长、等效直径、长径、短径、长短径比、形状因子、圆形度、异形指数等9项形态学参数,计算各参数的变异系数。以各参数为自变量,以细胞学诊断结果为因变量,采用逐步判别法分别建立基于不同类型参数的诊断模型,并评价各模型对恶性胸/腹水的诊断价值。

结果:等效直径和长径2项参数进入基于细胞形态学参数的诊断模型;除周长和圆形度两项参数的变异系数外其余7项参数的变异系数进入基于各参数变异系数的诊断模型;面积、短径和短径变异系数3项参数进入基于全部参数的诊断模型。上述3个诊断模型诊断恶性积液的敏感度分别为72.7%、90.9%和97.0%,特异度分别为100.0%、92.9%和92.9%,准确度分别为85.2%、91.8%和95.1%。

结论:以细胞学形态学参数及其变异系数可建立起简便的数学模型,对胸/腹水良恶性质的鉴别诊断具有良好的价值。

关键词:胸水;腹水;肿瘤转移;鉴别诊断;数学模型

袁帅, 张焜和, 肖波, 陈江, 祝金泉, 朱莹, 吕农华. 基于细胞形态学定量参数的良恶性胸/腹水鉴别诊断模型. 世界华人消化杂志 2009; 17(3): 279-283

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/279.asp>

0 引言

脱落细胞学检查是目前诊断恶性胸/腹水的基本方法,但其敏感性只有50%左右,且有一定的假阳性^[1-2]。细胞学诊断还需要检查者有丰富的经验,在较基层医院难以有效地开展,因此人们一直在寻找细胞学辅助诊断新方法^[3-7]。近年来病理显微图像分析技术的发展和应用于细胞学诊断从主观定性向客观定量发展开辟了新途径^[8],并已应用于浆膜腔积液的脱落细胞分析^[9]。Antonangelo *et al*^[10]以胸水脱落细胞的5项形态学指标和核仁蛋白嗜银染色(AgNOR)特点建立判别函数,对判别胸水的良恶性质有较好的诊断价值。本研究尝试单纯使用脱落细胞形态学参数建立数学诊断模型,是否能获得良好的良恶性胸/腹水鉴别诊断效果。

1 材料和方法

1.1 材料 南昌大学第一附属医院和韶关市第一人民医院2003-2006年具有胸/腹水的住院患者61

例。抽取胸/腹水100 mL左右,常规离心,取细胞沉淀涂片数张,950 mL/L乙醇固定,并进行苏木精-伊红(HE)染色,由南昌大学第一附属医院细胞室专家读片,作出细胞学诊断。根据细胞学诊断结果分为良性积液和恶性积液。同时收集临床资料,作出病因诊断。

1.2 方法 使用HMIAS-2000高清晰度彩色医学图文分析系统(武汉千屏影像技术有限责任公司)采集细胞涂片的显微图像,然后应用该系统的细胞测量功能进行细胞分割和各项参数测量。具体步骤简述如下:选择细胞分布较均匀、细胞边界清晰的视野采集4-10幅400倍图片,保证有核细胞200个以上。应用该系统的细胞测量功能对图片中的有核细胞进行自动分割,必要时辅以手工分割。对分割出的单个细胞进行各种形态学参数自动测量。采集的细胞形态学参数如下:(1)面积;(2)周长;(3)等效直径;(4)长径;(5)短径;(6)长短径比;(7)形状因子;(8)圆形度;(9)异形指数。

统计学处理 良性与恶性标本间细胞形态学参数比较采用 t 检验, $P<0.05$ 有统计学意义。以上述细胞形态学参数、细胞形态学参数的变异系数或全部的两类参数为自变量,以人工细胞学诊断结果为因变量(恶性为1,良性为2),分别进行逐步判别分析,求出判别函数即为标本性质诊断模型,并作数据组内回代检验模型的诊断效率。诊断效率以敏感度、特异度、准确度、预测值和似然比表示。具体计算使用SPSS13.0软件完成。

2 结果

2.1 临床资料 本组病例临床诊断和胸/腹水脱落细胞学诊断明确,共61例,其中良性组28例,恶性组33例。胸水43例,腹水18例,男32例,女29例,年龄16-86(平均 56.0 ± 18.4)岁。良性胸/腹水的病因主要为结核性胸/腹膜炎、肝硬化,恶性胸/腹水的主要病因为肺癌、卵巢癌和原发肿瘤灶不明(表1)。

2.2 良性与恶性标本细胞形态学参数及其变异

2.2.1 良性与恶性标本细胞形态学测定结果:所测定的9项细胞形态学参数见表2。恶性标本脱落细胞各项参数均值除圆形度外均比良性标本大,各参数在两组间的差异均有统计学意义。

2.2.2 良性与恶性标本脱落细胞形态学参数的变异程度:为评价良性与恶性标本细胞形态学参数的变异程度,对以上参数的变异系数(CV)

■相关报道

Antonangelo *et al*以胸水脱落细胞的5项形态学指标和核仁蛋白嗜银染色(AgNOR)特点建立判别函数,对判别胸水的良恶性质有较好的诊断价值,唯指标较复杂,除有形态学指标外,还涉及核仁蛋白嗜银染色,临床应用有一定限制。

表 1 61例胸/腹水患者的病因诊断

分组	病因诊断	n
良性组	结核性胸膜炎	12
	结核性腹膜炎	4
	肝硬化(失代偿期)	6
	心源性胸水(肺心病、心包炎)	2
	急性胰腺炎	2
	胆汁性腹膜炎	1
	肾病综合征	1
		28
恶性组	肺癌	21
	卵巢癌	3
	胃/贲门癌	2
	乳腺癌	2
	腹腔转移癌(原发灶不明)	3
	胸腔转移癌(原发灶不明)	2
		33
		61

表 2 良性与恶性胸/腹水标本脱落细胞形态学参数测定结果比较

参数	良性标本(n = 28)	恶性标本(n = 33)	P值
面积(μm^2)	28.00 ± 13.18	152.02 ± 95.01	0.000
周长(μm)	18.01 ± 3.58	35.55 ± 12.85	0.000
等效直径(μm)	5.56 ± 1.06	10.74 ± 3.79	0.000
长径(μm)	5.90 ± 1.19	11.49 ± 4.14	0.000
短径(μm)	5.27 ± 0.95	10.05 ± 3.51	0.000
长短比	1.11 ± 0.03	1.14 ± 0.04	0.033
形状因子	1.06 ± 0.02	1.08 ± 0.03	0.000
圆形度	0.94 ± 0.02	0.92 ± 0.02	0.000
异形指数	3.64 ± 0.03	3.69 ± 0.04	0.000

进行了计算与统计, 结果显示恶性标本各参数变异程度均较良性标本大(表3), 其中面积、周长、等效直径、长径、短径5个参数两组间差异有统计学意义。

2.3 标本良恶性诊断模型及其判别准确率

2.3.1 以细胞形态学参数建立诊断模型: 在以逐步判别法建立判别函数的过程中, 脱落细胞的9项形态学参数中只有等效直径和长径进入判别函数 Y_1 : $Y_1 = -3.057 + 1.534 \times \text{等效直径} - 1.095 \times \text{长径}$ 。将数据回代于判别函数 Y_1 , 28例良性积液均判别准确(100%), 33例恶性积液有24例判别准确(72.7%), 总的诊断符合率为85.2%。

2.3.2 以细胞形态学参数的变异系数建立诊断模型: 在以逐步判别法建立判别函数的过程中, 脱落细胞9项形态学参数的变异系数中有7项(面积 V 、等效直径 V 、长径 V 、短径 V 、长短比 V 、形状因子 V 、异形指数 V)进入判别函数 Y_2 : $Y_2 =$

表 3 良性与恶性胸/腹水标本脱落细胞形态学参数变异系数比较 (mean ± SD)

指标	变异系数		P值
	良性标本(n = 28)	恶性标本(n = 33)	
面积	0.81 ± 0.47	1.88 ± 0.81	0.000
周长	0.29 ± 0.14	0.77 ± 0.25	0.000
等效直径	0.28 ± 0.14	0.74 ± 0.24	0.000
长径	0.29 ± 0.14	0.74 ± 0.22	0.000
短径	0.28 ± 0.13	0.73 ± 0.21	0.000
长短比	0.09 ± 0.06	0.13 ± 0.13	0.170
形状因子	0.03 ± 0.03	0.08 ± 0.24	0.272
圆形度	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.23	0.259
异形指数	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.24	0.315

$-3.941 - 0.576 \times \text{面积} - 6.099 \times \text{等效直径} - 5.808 \times \text{长径} + 19.930 \times \text{短径} + 16.645 \times \text{长短比} - 35.437 \times \text{形状因子} + 25.124 \times \text{异形指数}$ 。将数据回代于诊断模型 Y_2 , 28例良性积液有26例判别准确(92.9%), 33例恶性积液有30例判别准确(90.9%), 总的诊断符合率为91.8%。

2.3.3 以细胞形态学参数及其变异系数建立诊断模型: 在以逐步判别法建立判别函数的过程中, 有面积、短径和短径 V 进入判别函数 Y_3 : $Y_3 = -7.597 - 0.019 \times \text{面积} + 0.780 \times \text{短径} + 6.376 \times \text{短径}V$ 。将数据回代于诊断模型 Y_3 , 28例良性积液有26例判别准确(92.9%), 33例恶性积液中32例判断准确(97.0%), 总的诊断符合率为95.1%。

2.4 数学模型对恶性胸/腹水的诊断价值 3个数学模型对恶性胸/腹水的诊断价值见表4。以数据回代于3个模型的计算值分别作ROC曲线图(图1), 曲线下面积分别为0.958(95%CI: 0.907-1.009, $P = 0.000$)、0.982(95%CI: 0.957-1.006, $P = 0.000$)和0.995(95%CI: 0.984-1.006, $P = 0.000$)。

3 讨论

细胞形状、大小和大小不一反映细胞异型性的主要指标。恶性标本由于癌细胞的形态特点与正常细胞的差异性, 可导致脱落细胞的整体形态特点与良性标本不同。本研究中9项细胞形态学参数, 在良性与恶性胸/腹水标本中差异均有显著性意义, 提示各项参数从不同的角度反映细胞大小和形状特点。以各细胞形态学参数建立的诊断模型 Y_1 有较好的诊断效率, 诊断恶性积液的特异度达100%, 唯敏感度较低, 只有72.7%, 准确率为85.2%。

以脱落细胞涂片中有核细胞的形态学参数均值为变量建立的诊断模型 Y_1 , 主要反映了细

■创新盘点

本模型的建立只使用了细胞形态学指标, 不涉及胞核指标(胞核分割较细胞分割难度大, 效果差), 还应用了形态学参数的变异系数(反映同一标本不同细胞间的变异程度), 因而模型更为简便实用和有效。

■应用要点

本模型的判读结果与细胞学专家的诊断结果一致性达95%,在没有细胞学诊断专业人员的单位可以试用本模型辅助临床诊断,细胞学诊断专业人员可验证本模型的辅助诊断作用。

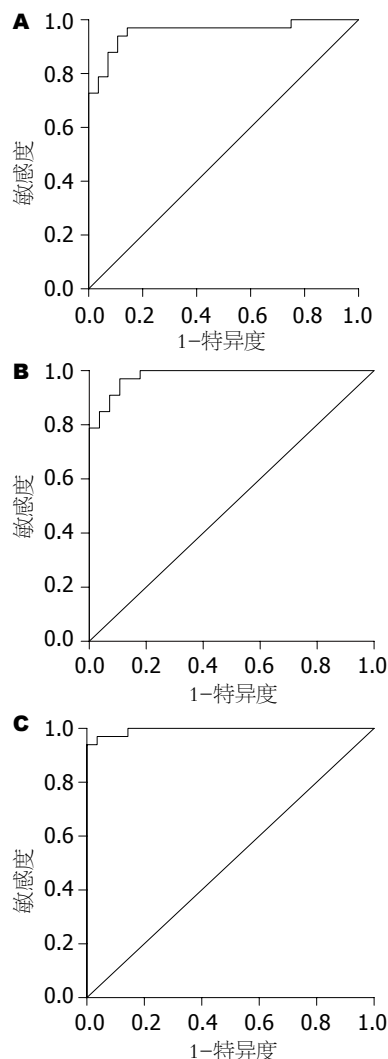
表 4 诊断模型对恶性胸/腹水的诊断价值

指标	诊断模型		
	Y ₁	Y ₂	Y ₃
敏感度(%)	72.7	90.9	97.0
特异度(%)	100.0	92.9	92.9
准确度(%)	85.2	91.8	95.1
阳性预测值(%)	100.0	93.8	94.1
阴性预测值(%)	75.7	89.7	96.3
阳性似然比	—	12.73	13.58
阴性似然比	0.27	0.10	0.03

细胞的形状和大小,对于细胞大小不一这一恶性标本的信息未充分利用。为此,本研究计算了各形态学参数的变异系数,发现恶性标本各项参数的变异度均较良性标本大,且反映恶性标本细胞大小的参数较反映形态特征的参数变异度更大。以形态学参数的变异系数建立的诊断模型Y₂,获得了较Y₁更好的诊断效率,敏感度、特异度和准确率均达到90%以上,准确率提高了5%左右。且进入模型的参数较多,提示参数间的共线性关系较弱,多数参数有相对独立的诊断价值。

综合考虑形态学参数及其变异程度,以全部的两组数据建立数学模型Y₃,诊断效率进一步提高,对恶性积液的诊断特异度、敏感度和准确率分别达到97.0%、92.9%和95.1%,ROC曲线下面积高达0.995,95%可信限范围窄小(0.984-1.006)。进入模型的指标只有3项(细胞面积、细胞短径和细胞短径的变异系数),非常简便,实用价值大。

Athanassiadou *et al*^[11]用计算机图像分析系统对104例渗出液的细胞学涂片分析,发现恶性组的核长轴长度和核面积两个参数与良性组有显著差异;徐炜^[12]发现脱落细胞的面积、周长、最大和最小直径、形状因子、核浆比等6项形态学参数在82例良性与恶性胸/腹水组间差异有显著性意义。但相关研究多是在剔除胸/腹水中的淋巴细胞而得出的结论,存在人为选择细胞进行分析的主观因素。本研究对所采集的图像视野内所有有核细胞进行形态学定量测定,更为客观地反映了标本脱落细胞的形态学特点。另外,多数研究涉及到胞核的形态学参数,尽管后者可有一定的诊断价值,但我们在实际操作中发现,软件的核分割效果比细胞分割差,常需要辅以手工分割,实际应用和准确性都有所限制。因此,本研究仅以自动分割效果良好的细胞

图 1 模型诊断恶性胸/腹水的ROC曲线图。A: Y₁; B: Y₂; C: Y₃。

形态学参数建立模型,便于实用。

随着计算机辅助诊断技术和数据挖掘技术的临床应用不断深入^[13-14],定量诊断和自动化诊断成为诊断学的重要发展趋势,也为胸/腹水的鉴别诊断开辟了新的途径^[15-16]。本研究应用胸/腹水脱落细胞的2项形态学原始参数和1项衍生参数,建立起简便的数学诊断模型,获得了良好的效果,尽管例数较少,其实用价值有待更多样本验证,但已显示良好的前景,值得进一步研究。

4 参考文献

- Oyafuso MS, Longatto Filho A, Bortolan J, Rahal P, Bisi H, Lombardo V. Cytological diagnosis of serous effusions in a cancer hospital in Brazil. *Pathologica* 1996; 88: 128-131
- Metzgeroth G, Kuhn C, Schultheis B, Hehlmann R, Hastka J. Diagnostic accuracy of cytology and immunocytochemistry in carcinomatous effusions. *Cytopathology* 2008; 19: 205-211
- Motherby H, Pomjanski N, Kube M, Boros A, Heiden T, Tribukait B, Böcking A. Diagnostic DNA-flow- vs. -image-cytometry in effusion cytology. *Anal Cell Pathol* 2002; 24: 5-15
- 张焜和, 付曲波, 操凤, 祝金泉, 陈江, 吕农华, 朱莹, 王

- 崇文. 浆膜腔积液端粒酶逆转录酶mRNA检测及其意义. 中华消化杂志 2005; 25: 116-118
- 5 He DN, Zhu HS, Zhang KH, Jin WJ, Zhu WM, Li N, Li JS. E-cadherin and calretinin as immunocytochemical markers to differentiate malignant from benign serous effusions. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2406-2408
- 6 Pereira TC, Saad RS, Liu Y, Silverman JF. The diagnosis of malignancy in effusion cytology: a pattern recognition approach. *Adv Anat Pathol* 2006; 13: 174-184
- 7 Zhang KH, Cao F, Fu QB, Zhu JQ, Chen J, Lv NH. Detection of mRNAs of GA733 genes by RT-PCR in exfoliated cells of pleural and peritoneal effusions and its clinical values. *Intern Med* 2007; 46: 1489-1494
- 8 陈蔚, 龚一鸣, 许亚勇. 细胞低温显微图像的计算机处理及定量分析. 生物医学工程学杂志 1991; 8: 67-70
- 9 彭善友, 黎辉, 汪艳, 王则胜. 胸腹水中腺癌细胞的图像分析研究. 湖北医科大学学报 1999; 20: 19-20
- 10 Antonangelo L, Saldiva PH, Amaro Júnior E, Capelozzi VL. Capelozzi VL. Utility of computerized morphometry combined with AgNOR staining in distinguishing benign from malignant pleural effusions. *Anal Quant Cytol Histol* 1994; 16: 247-252
- 11 Athanassiadou P, Kavantzias N, Davaris P, Gonidi M, Liossi A, Nakopoulou L, Petrakakou E, Athanassiades P. Diagnostic approach of effusion cytology using computerized image analysis. *J Exp Clin Cancer Res* 2002; 21: 49-56
- 12 徐炜. 形态定量分析在胸腔积液诊断中的应用价值. 诊断病理学杂志 2002; 9: 311-312
- 13 陈明. 医学数据挖掘综述. 医学信息 2008; 21: 19-21
- 14 曹厚德. 我国自主研发的三项计算机辅助诊断(CAD)软件先后通过国家认证. 中国医疗器械杂志 2008; 32: 309
- 15 Neves DD, Dias RM, Cunha AJ. Predictive model for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 83-88
- 16 Esquerda A, Trujillano J, López de Ullibarri I, Bielsa S, Madroño AB, Porcel JM. Classification tree analysis for the discrimination of pleural exudates and transudates. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 82-87

■同行评价

本文具有一定的创新性, 技术路线合理, 数据可靠, 逻辑性强, 具有一定的实用价值。

编辑 史景红 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

● 消息 ●

世界华人消化杂志参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页. (常务副总编辑: 张海宁 2009-01-28)