

Sysmex XE-5000 血细胞分析仪体液模式对胸腔积液和腹水肿瘤细胞的筛查作用

李艳丽, 朱立强, 方先勇[△](徐州医学院附属医院检验科, 江苏徐州 221002)

【摘要】目的 评价 Sysmex XE-5000 血细胞分析仪体液模式对胸腔积液和腹水中肿瘤细胞的筛查作用。**方法** 用 Sysmex XE-5000 血细胞分析仪体液模式测定 91 份乙二胺四乙酸二钾抗凝的胸腔积液和腹水标本, 分析其研究参数中高荧光细胞比率及其散点图对胸腔积液和腹水中肿瘤细胞的筛查作用。采用 SPSS11.5 及 Excel 软件对相关数据进行统计分析。**结果** 在肿瘤细胞阳性的标本中, 高荧光细胞比率较阴性标本显著增高; 散点图上, 在高侧向荧光及高侧向散射光区域呈现细胞密集构成亮带的标本检出恶性肿瘤的可能性大。**结论** Sysmex XE-5000 血细胞分析仪体液模式所提供的高荧光细胞比率及其散点图可以提供肿瘤细胞的筛选信息以做进一步显微镜检查。

【关键词】 血细胞分析仪; 体液; 散点图; 肿瘤细胞; 高荧光细胞比率

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.24.033 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)24-3108-02

Evaluation of the new body fluid mode on the Sysmex XE-5000 for detecting of tumor cells in ascitic and pleural fluids

LI Yan-li, ZHU Li-qiang, FANG Xian-yong[△] (Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical college, Jiangsu 221002, China)

【Abstract】Objective To evaluate the capability for detecting of tumor cells in ascitic and pleural fluids by Sysmex XE-5000 hematology analyzer. **Methods** 91 EDTA-K₂ ascitic and pleural fluids samples were counted by Sysmex XE-5000 hematology analyzer. Highly fluorescent body fluid cells percent (HF-BF%) and scatter diagram were observed in the samples to evaluate the capability of detection of tumor cells. SPSS11.5 and Excel were used for statistical analysis. **Results** The samples with tumor cells showed increased Highly fluorescent body fluid cells percent (HF-BF%) compared with benign samples. Bright band composed by dense cells whose distribution was located at the zone with high side fluorescence lights (SFL) and side scattered lights (SSC) in scatter diagram provided information about the possible presence of tumor cells. **Conclusion** Highly fluorescent body fluid cells percent (HF-BF%) and distinguishing feature of scatter diagram can provide screening information about the presence of tumor cells. This suggests that such increase should lead to a manual differential review and an extensive examination of slides to check the presence of abnormal cells.

【Key words】 blood analyzer; body fluid; scatter diagram; tumor cells; highly fluorescent body fluid cells percent

胸腔积液、腹水等体腔液中出现肿瘤细胞对疾病的诊断及病情的评估及预后具有重要的临床意义。以往的胸腔积液常规检测中的细胞学检测多采用传统的显微镜手工计数及分类, 此种方法费时费力, 常由于检测者经验和差异的影响, 检测结果重复性较差, 且难以提供肿瘤细胞的筛查信息。随着荧光染色技术及高性能全自动分析仪的发展, Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪(以下简称 Sysmex XE-5000)提供的体液模式不仅可以检测体液白细胞数及分类, 还可以提供一些研究参数, 如高荧光细胞比率及其散点图。本研究将其与脱落细胞学结果进行对比, 以此探讨 Sysmex XE-5000 体液模式对胸腔积液和腹水中肿瘤细胞的筛查作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2012 年 6~8 月住院患者 91 例, 年龄 23~83 岁, 平均 53 岁。符合本院医学伦理委员会标准, 受试者均知情同意。抽取受试者胸腔积液和腹水 50~100 mL (胸腔积液 58 例, 腹水 33 例), 取 2 mL 置于乙二胺四乙酸二钾

(EDTA-K₂) 抗凝管内, 用于 Sysmex XE-5000 上检测; 其余标本送细胞室做脱落细胞学检查与诊断。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-5000 血细胞分析仪为日本 Sysmex 公司生产, 序列号为 A2141(使用前已进行原厂校准及质控, 结果均在控); XE-5000 使用试剂为仪器配套试剂。日本生产 OLYMPUS-BX51 显微镜。EDTA-K₂ 抗凝管由广州阳普公司生产。

1.3 方法

1.3.1 仪器检测 严格按照《Sysmex XE-5000 标准操作手册》^[1] 执行, 标本采集后 2 h 内完成检测。记录检测出的高荧光细胞比率及散点图的特征。

1.3.2 脱落细胞学检查与诊断 将相对应的胸腔积液和腹水标本 2 500 r/min 离心 5 min, 取沉渣制片、染色, 具体操作参见文献^[2]。采用盲法同时由 2 名主管以上的细胞学诊断医生进行肿瘤细胞的识别及诊断, 同时对非肿瘤细胞进行分类。

1.4 统计学处理 所用数据采用 SPSS11.5 进行统计学分

[△] 通讯作者, E-mail: fangxianyongxb@yahoo.com.cn.

析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脱落细胞学检查结果 在 91 例胸腔积液和腹水标本中, 脱落细胞学查到恶性肿瘤细胞 21 例, 未查到恶性肿瘤细胞 70 例。在良性标本中, 以淋巴细胞、中性粒细胞为主, 间皮细胞、组织细胞少见的病例 39 例, 间皮细胞或组织细胞多见病例 31 例。

2.2 XE-5000 血细胞分析仪检测结果 XE-5000 血细胞分析仪体液模式测定的结果中, 除了常规参数, 如白细胞计数、单个核细胞数及分叶核细胞数以外, 高荧光细胞及比率以及其散点图也在研究参数中显示出来。21 例恶性病例中, 高荧光细胞比率的平均值为 21.3% (2.9%~116.8%); 70 例良性病例中, 高荧光细胞比率的平均值为 9.1% (0.1%~48.7%)。用 ROC 曲线分析二者之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。高荧光细胞比率的值越大, 标本中发现肿瘤细胞的可能性越大。用 ROC 曲线分析高荧光细胞比率对肿瘤细胞的检出功能, ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.710, 面积的标准误为 0.054, 发现在高荧光细胞比率为 2.85% 时, Youden index 值最大, 为 50.0%。表明其对肿瘤细胞的识别能力不强。

将 XE-5000 血细胞分析仪体液模式提供的散点图与脱落细胞学镜下结果比较, 发现各种细胞出现的区域有明显的不同 (图 1)。左下区主要以淋巴细胞、中性粒细胞为主, 是良性体液标本中常见的有核细胞。在本组中, 39 例在散点图上只出现此区域的细胞图像, 高荧光细胞比率的平均值为 2.3% (0.1%~15.5%), 经细胞学及临床证实均为良性标本。左上区的细胞成分比较复杂, 间皮细胞、组织细胞及体积小、恶性程度低的癌细胞都可出现在本区域, 有时会在顶部形成一道细胞密集的亮带, 本组中 31 例含有较多间皮及组织细胞的良性标本 (高荧光细胞比率的平均值为 17.6%) 及 8 例恶性标本均可此区见到该散点图像。散点图的右上区主要以恶性肿瘤细胞为主, 本组 13 例标本在此区域均散点图像出现, 经细胞学证实均为恶性积液。右下区基本无细胞图像出现。

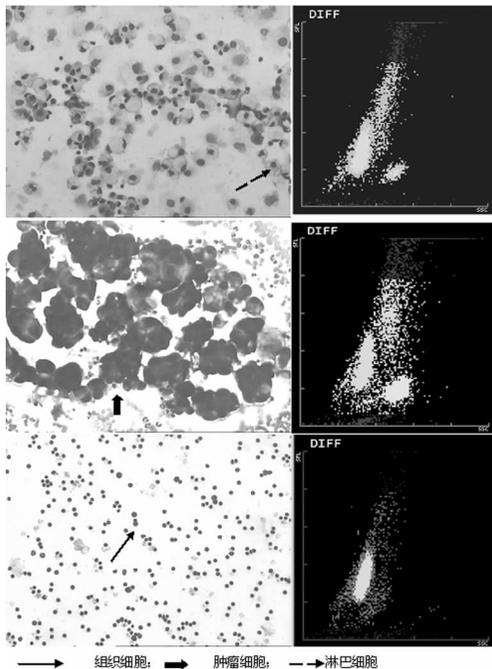


图 1 体液模式测定的散点图与相应的显微镜下细胞图像的对比

3 讨 论

胸腔积液和腹水常规细胞检查用传统显微镜手工计数方法费时费力, 精密度不高且难以对肿瘤细胞进行筛查。XE-5000 是日本希森美康的新一代全自动血液分析仪, 而且具备专用的体液分析模式, 其检测原理为流式细胞术加核酸荧光染色方法, 根据细胞内核酸含量的多少进行荧光定量, 侧向荧光 (SFL) 反应细胞核酸含量, 侧向散射光 (SCC) 测定细胞内容物复杂程度, 具有相对精确而灵敏的计数及鉴别功能, 能够应对脑脊液、胸腔积液、腹水等多种体液进行白细胞计数测定及分类, 同时其提供的研究参数中高荧光细胞比率及散点图能提供更丰富的肿瘤细胞筛查信息^[2]。

本研究应用 XE-5000 全自动血细胞分析仪体液模式检测 91 例胸腔积液和腹水标本, 对其提供的研究参数高荧光细胞比率及散点图进行了细致深入观察。分析得出恶性胸腔积液、腹水的高荧光细胞比率平均值明显高于良性标本, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。体腔积液中高荧光细胞比率高的标本中, 肿瘤细胞出现的概率增大。但高荧光细胞比率 AUC 值较低, 说明对恶性肿瘤细胞的识别能力不高, 这与 Takemura 等^[3]的观点一致。主要原因是 XE-5000 测定 HF-BF 区域中不仅包括肿瘤细胞, 还包括部分组织细胞及间皮细胞, 这些细胞的核酸含量与肿瘤细胞相似, 干扰了对肿瘤细胞的识别^[4-5]。

同时, 在该仪器提供的细胞散点图中, 各种细胞呈现在散点图中的分布是不同的。散点图数的左下区域主要是一些体积小、核酸含量较低、且核型规则、复杂程度低的细胞图像, 如淋巴细胞或嗜中性粒细胞。良性积液特别是漏出液中的细胞, 主要以淋巴细胞为主, 间皮细胞及组织细胞罕见, 因而散点图上只表现左下区域有细胞图像。本研究中, 39 例标本在散点图上只出现此区域的细胞图像, 经细胞学及临床证实均为良性标本。因而, 仅该区域出现细胞图像对良性标本的特异性为 100%。而间皮细胞、组织细胞及肿瘤细胞主要出现在图的上部区域, 主要是因为这些细胞的体积及核酸含量较淋巴细胞及嗜中性粒细胞高, 甚至超出了散点图所能显示的范围, 因而在散点图中表现为在最上方出现一道细胞密集的亮带。而亮带在横坐标上的位置也代表不同的细胞群, 本研究经过对散点图及脱落细胞学的对比, 发现横坐标 4 格以内的亮带主要对应间皮细胞、组织细胞及体积小、恶性程度低的肿瘤细胞, 如肺泡细胞癌转移至胸膜腔的癌细胞; 但也有少数良性病例, 特别是含有大量活化吞噬细胞的标本也可在此区域出现细胞图像, 这可能将来仪器提供更精确的区域划分来更准确的反应肿瘤细胞出现的信息。横坐标 4 格以外的往往对应恶性程度较高的肿瘤细胞。这些癌细胞往往具有以下特征: 细胞体积大、可见瘤巨细胞、核的体积增大且畸形明显、核膜增厚且不规则, 因而这些细胞不仅核酸含量高 (侧向荧光高), 而且细胞内容物复杂程度 (侧向散射光) 比一般的组织细胞及间皮细胞要大。如果在此区域出现细胞密集图像, 提示体液中查到恶性肿瘤的可能性极大。本研究的 13 例标本在此区域均散点图像出现, 经细胞学证实均为恶性积液, 但还需要更大的标本量来证实。

总之 Sysmex 公司 XE-5000 全自动血细胞分析仪体液通道 (核酸荧光染色流式细胞法) 功能的问世解决了单纯通过显微镜人工计数及形态上鉴定细胞性质这一难题。通过体液通道的检测, 结合高荧光细胞比率及散点图的特点能够对肿瘤细胞起到更好的筛查功能, 具有重要的指 (下转第 3111 页)

阳性组 FGR 发生率较高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而乙肝病毒表面抗体(抗-HBs)阳性的新生儿的发育状况则与健康对照组差异无统计学意义。

表 1 母亲 HBV 感染状态与胎儿生长发育情况的关系 ($\bar{x} \pm s$)

指标	HBV 状态	n	出生体质量 (kg)	出生身长 (cm)	FGR (%)	胎盘体积 (cm ³)
HBeAg	阳性	11	3.1±0.5	50.1±1.6	6.3	832.4±212.4
	阴性	26	3.1±0.4	50.1±1.7	1.5	888.1±243.4
HBV-DNA	阳性	20	3.1±0.4	50.1±1.5	4.9	829.1±234.6
	阴性	17	3.1±0.4	49.8±1.5	1.1	911.4±298.5
ALT	异常	3	3.1±0.4	49.9±1.6	0.0	998.7±310.4
	正常	34	3.2±0.5	50.0±1.5	3.4	845.7±278.4

表 2 新生儿 HBV-M 与生长发育情况的关系 ($\bar{x} \pm s$)

HBV-M	感染状况	n	出生体质量 (kg)	出生身长 (cm)	FGR (%)	胎盘体积 (cm ³)
HBsAg	阳性	4	2.8±0.3	48.1±1.6	15.0	699.4±247.1
	阴性	33	3.1±0.4	50.1±1.7	1.7	845.7±278.4
抗-HBs	阳性	16	3.1±0.4	50.1±1.5	0.0	934.7±241.8
	阴性	21	3.1±0.4	49.8±1.5	5.2	832.4±212.4
HBeAg	阳性	8	3.1±0.4	49.9±1.6	10.3	888.1±243.4
	阴性	29	3.2±0.5	50.0±1.5	1.3	829.1±234.6

3 讨 论

在新生儿出生时 HBV-M 在一定程度上能够反映宫内的感染状况, 研究表明, 新生儿出生的体质量、身长的状况均与出生时血清内 HBsAg 阳性相关。由于 HBV 垂直传播中, 胎盘感染是一个主要途径, 所以有学者认为 HBV 的感染很可能会导致胎盘屏障受损, 通透性改变导致宫内发生感染。同时 HBV 的感染也会导致绒毛膜血管发生病变, 导致发生母婴之间的垂直传播, 这也是导致宫内感染的原因之一^[4]。另一方面, 部分新生儿 HBeAg 也可能是由 HBV 宫内感染引起的, 从而导致胎盘的体积变小, 进一步造成血液在胎盘的运行受到影

响, 影响胎儿的生长发育。但有研究认为, 40%~50% 的抗-HBs 或 HBeAg 阳性的婴幼儿在出生后半年转阴, 因此不能诊断为宫内感染。

胎盘是胎儿营养供应和氧供应的惟一来源, 胎儿的正常发育是建立在胎盘正常发育的基础上的, 所以二者之间必然相关。从本研究可以发现, HBV 的宫内感染会导致胎盘体积变小, 同时导致胎儿的体质量变低, 很可能是由于 HBV 影响了胎盘的的生长从而减少了对胎儿的营养供应。乔云波等^[5]研究表明, HBV 感染能使胎盘出现炎性改变, 得出 HBV 及 HBV 抗原可使胎盘受到损害, 从而引起胎盘的形态学改变, 影响胎盘的生理功能的结论。

本研究结果表明, 宫内感染 HBV 会对新生儿的生长发育造成影响, 直接体现在胎盘体积的缩小和新生儿出生体质量的降低上, 但是新生儿抗-HBs 阳性会对胎盘具有一定的保护作用, 这说明虽然孕妇的 HBV 感染状况会对新生儿的发育造成影响, 但并非影响胎儿 FGR 的主要原因。而且在孕期内的治疗能够对新生儿生长发育的改善起到一定的作用, 预测胎盘体积缩小可能与宫内感染存在有一定的联系, 但尚需进一步的实验数据来证明。因此作者建议, 对于存在 HBV 感染的孕妇应当及时予以监测并给予支持治疗, 避免胎儿出现生长发育不良的现象, 改善胎儿的预后情况。

参考文献

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 130.
- [2] 季成叶. 从胎儿到青春期——肥胖发生和流行的生长发育轨迹[J]. 中国儿童保健杂志, 2010, 18(6): 445-447.
- [3] 肖小敏, 郗爱珍, 刘东洋, 等. 新生儿乙型肝炎病毒血清标志物检测及其转归[J]. 中国实用儿科杂志, 2009, 24(1): 31-33.
- [4] 刘文琼. 妊娠合并乙型肝炎病毒感染临床分析[J]. 重庆医学, 2006, 35(11): 1005-1009.
- [5] 乔云波, 于爱莲, 邹威中, 等. 胎盘 HBV 感染病理形态学研究[J]. 济宁医学院学报, 2005, 28(4): 28-29.

(收稿日期: 2012-07-19)

(上接第 3109 页)

导作用, 应引起临床高度重视。

参考文献

- [1] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 123-137.
- [2] 朱立强, 赵利, 朱玉秋, 等. 一种提高浆膜腔积液细胞学阳性检出率的简易制片方法[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(17): 2133-2135.
- [3] Takemura H, Tabe Y, Ishii K, et al. Evaluation of capability of cell count and detection of tumor cells in cerebrospi-

nal and body fluids by automated hematology analyzer [J]. Rinsho Byori, 2010, 58(6): 559-564.

- [4] Tanaka C, Nagai T, Nakamura M, et al. Automated Hematology Analyzer XE-5000; Overview and Basic Performance[J]. Sysmex J Int, 2008, 17: 125-130.
- [5] Boer K, Deufel T, Reinhoefer M. Evaluation of the XE-5000 for the automated analysis of blood cells in cerebrospinal fluid[J]. Clin Biochem, 2009, 42(7): 684-691.

(收稿日期: 2012-07-27)