

· 讲 座 ·

支气管肺上皮不典型增生及原位癌的病理学研究进展

余英豪

〔摘要〕 支气管肺上皮不典型增生及原位癌主要包括支气管鳞状上皮不典型增生及原位癌(SD/CIS)、肺泡上皮不典型腺瘤样增生(AAH)及原位腺癌。由于上述病变属于肺癌浸润前病变,因此受到越来越多的关注。近年来关于这些病变的病理学研究,特别是与临床的相关性研究等取得了一些新进展,本文进行简要介绍。

〔关键词〕 鳞状上皮不典型增生;不典型腺瘤样增生;原位癌;病理学

〔中图分类号〕 R734.2 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2014.01.021

支气管肺上皮不典型增生及原位癌主要包括支气管鳞状上皮不典型增生及原位癌(squamous dysplasia/carcinoma in situ, SD/CIS)、肺泡上皮不典型腺瘤样增生(atypical adenomatous hyperplasia, AAH)及原位腺癌(adenocarcinoma-in-situ, AIS)。近年来关于这类病变的病理学研究取得了一些重要进展,包括病因学、形态学特征、诊断及鉴别诊断、分子生物学等方面。本文进行简要介绍如下。

1 鳞状上皮不典型增生及原位癌

1.1 SD/CIS 是遗传学改变/异常不断堆积的结果

支气管 SD/CIS 具有一定的恶性形态学特征及浸润潜能,属于肺癌的浸润前病变。研究表明,最初的呼吸道上皮反应主要是炎症及上皮细胞的损伤,引起细胞增生及修复反应,继而发生鳞状上皮化生,最后出现不典型增生的支气管上皮恶性转化^[1]。已知吸烟是导致人类 SD/CIS 最重要的因素,烟草中除了含有 50~60 种致癌物外,大约还包括 4000 种其他的化学物质,其中一些会引起气管支气管上皮慢性刺激性反应^[2],并导致上皮的一系列形态学改变,这些反应性改变可能已经代表了分子学及形态学特征向恶性转化的开始。

恶性表型细胞的出现是遗传学改变或遗传学异常不断堆积的结果,SD/CIS 病变的形态学就代表了这些遗传学改变的累积,而恶性表型的不断积累与肿瘤的浸润相关。目前认为恶性转化过程至少需要 3~12 种遗传学改变并以特定的顺序发生。事实上,遗传学改变的累积超过了不典型增生或 CIS 的遗传学改变即发展为癌,但没有一种所累积的遗传学改变对受累细胞而言是专一的,而且最早的遗传

学改变往往先于形态学的改变。

1.2 SD/CIS 的病理学特征 SD/CIS 的肉眼特征非常不明显,同时由于病变组织区域有限,大多数病变在纤维支气管镜观察或病理标本中难以看到。SD/CIS 常发生于气管隆凸处,可表现为黏膜皱褶变浅消失,表面粗糙无光泽,偶尔呈轻微隆起的斑块状。大部分病灶通常很小,CIS 直径为 2~17 mm,平均 8~9 mm。而 SD 病变趋于更小,大多数最大径为 1.5~5 mm。

组织学上按 WHO 分类标准将 SD/CIS 分为轻度、中度、重度 SD 及 CIS 四级。SD 主要按上皮的上中下 1/3 层的改变进行评价。轻度 SD 表现为基底部 1/3 层的鳞状上皮改变,上皮轻度增厚、成熟,细胞大小形态仅轻度改变,核仍垂直于基底部,核染色质细颗粒状,核仁及核分裂象不易见。中度 SD 时,细胞轻度改变的范围延伸到上皮的中 1/3 层,上皮更趋于增厚,但仍成熟,核分裂象可见,限于上皮的下 1/3 层,细胞体积增大并出现多形性。重度 SD 时不典型增生细胞延伸到上皮全层,上皮显著增厚,细胞明显不成熟,棘层细胞层很难见到,细胞核呈垂直方向,延伸到上 1/3 层,细胞体积增大,多形性明显,核染色质粗糙、分布不均,多角形及扭曲核易见,核仁明显,易见核分裂。CIS 时细胞显著不典型性,细胞不成熟,病变上皮明显增厚或变薄,也可出现乳头状结构,CIS 全层中均可见核分裂。

1.3 SD/CIS 的鉴别诊断 SD/CIS 需要与浸润性鳞癌、反应性增生或化生性病变进行鉴别^[3],浸润是鉴别 CIS 和鳞癌的关键。CIS 与浸润性鳞癌的细胞学特征并没有明显差别,在纤维支气管镜活检的小标本中,浸润主要依赖于切片中见到上皮下的间质浸润,缺乏间质的 CIS 上皮组织形态通常仍保持光滑的轮廓,而浸润性鳞癌则常常形态不规则,呈

结节状,簇状或岛状。CIS 上皮不出现坏死,而浸润性癌可见到局灶性坏死,同时结构上更趋于多样化。

患者的临床信息非常有用,可以帮助纤维支气管镜医生在活检前了解需要观察的重点。组织学上如果缺乏浸润证据,但又可疑浸润时可以采用“至少是原位癌”的诊断。同时与临床医生沟通,必要时再次活检。轻度 SD 与鳞状上皮化生或基底细胞增生的鉴别非常困难,诊断通常需要高质量的很薄的切片。通常炎细胞浸润的出现提示不典型细胞属于反应性改变。

1.4 SD/CIS 的诊断意义 一项随访资料显示痰细胞学出现中度 SD、重度 SD 及 CIS 与肺癌发生的时间间隔分别为 4.8、2.9 及 2.5 年。由于荧光内镜 (AFB) 能够检测并定位 SD/CIS,因此为这样的研究提供了一个最好的手段^[4],在一段时间内可以通过重复 AFB 检查对 SD/CIS 病变进行观察。SD/CIS 的确诊无一例外依赖于活检,同时活检基本上就能完全去除病灶。从诊断意义上讲,SD/CIS 的研究目前有以下一些观点:①SD/CIS 可能进展为浸润性癌;②高级别病变比低级别病变进展的风险可能更高;③任何级别的病变都可以逆转为更低级别的病变,一些低级别病变甚至可以完全消退;④病变可以变大也可以缩小;⑤病变可能较为稳定,甚至是 CIS 亦可长期存在;⑥戒烟和病变消退无明显相关性。

1.5 SD/CIS 的分子生物学 近年来有关 SD/CIS 分子生物学的文献报道越来越多,尽管如此,目前对病变进展起关键作用的分子改变还了解甚少^[5],关于 SD/CIS 分子生物学方面主要有以下认识。

P53 基因及其相关基因改变。SD/CIS 上皮细胞常有 P53 表达,且与病变的级别有关,P53 基因很少发生突变,或仅见于高级别 SD/CIS。高级别的 SD/CIS 可有 17p13 的杂合性缺失 (LOH) 及 P63 基因的扩增及蛋白表达增加。在一些 SD/CIS, Bcl-2 与 bax 的阳性比例随病变进展增加,而鼠双微体 2 (MDM2)、读码框移位蛋白 14 (P14ARF) 和核仁磷酸蛋白 (NPM) 在 SD/CIS 中的作用尚无定论^[6]。

表皮生长因子受体-1 (EGFR-HER1) 改变。许多研究已经证明在 SD/CIS 病变早期阶段 EGFR 上调,并随不典型增生程度的增加而增加。丝/苏氨酸激酶 (AKT) 磷酸化和 k-ras 是 EGFR 介导不同信号通路的下游靶点,但没有证据表明 k-ras 的变化与 SD/CIS 的进展有关,而 AKT 磷酸化与 SD/CIS 的进展及演变有关^[7]。

人端粒酶逆转录酶 (hTERT) 改变。研究显示从

SD 到 CIS, hTERT 活性增加,几乎所有的 CIS 病变显示 hTERT 的 mRNA 水平上升。

转录因子和其他基因或蛋白表达改变。SD/CIS 时核因子- κ B (NF- κ B)、上游刺激因子 1 和 2 (USF1, USF2)、c-E26 转录因子 1 (c-ETS-1)、热休克蛋白 (HSP) 10 和 60 等表达增加;肿瘤抑制基因维甲酸受体 β (RAR β), 脆性组氨酸三联体基因 (FHIT) 的表达减少。

此外,蛋白质组学上 SD/CIS 还可出现蛋白表达谱和 microRNAs 改变^[8-9], p16, p53, cyclinD1, bcl-2, bax 和 hTERT 与病变进展的风险性有关^[10],但这些分子学特征能否独立于病变级别而预测病变风险仍有争议,这些分子标记物亦尚未应用于临床。

2 不典型腺瘤样增生及原位腺癌

AAH 在 WHO 分类中被确定为肺腺癌的浸润前病变。现认为至少有一定比例的肺腺癌依腺瘤-癌的顺序发展而来,类似于结肠腺癌的发病机制,AAH 就相当于腺瘤。几乎所有的肺原位腺癌 (AIS) 均来源于正常的支气管肺泡上皮,只是不确定是否都要经历不典型增生发展阶段。日本学者 Shimosato 等和 Noguchi 等凭借 AAH 可能转变为 AIS,提出周围型肺腺癌的“阶梯式进展”学说而备受赞誉。关于肺 AIS 我们已在相关论文中做过介绍^[11],在这里不再赘述。

2.1 AAH 的病理学特征^[12-13] AAH 被定义为肺泡上皮细胞局限性轻到中度不典型增生,有时累及呼吸性细支气管,导致周围型肺泡发生局灶性病变。AAH 直径通常 <5 mm,一般缺乏间质性炎症和纤维化。

AAH 在肺组织切面上呈边界不清,苍白色,直径数 mm 的斑点状结构。由于大体特征无特异性,因此与其他肺部病变如肺炎、弥漫肺气肿或肺纤维化大体上几乎无法鉴别。为了最大限度的发现 AAH,合适的标本制备非常重要。手术切除的新鲜肺标本宜用 10% 中性福尔马林固定使其膨胀,悬浮固定 24 h 后再沿矢状面切成 1 cm 厚的组织块,用清水边冲洗边观察。冲水后部分肺组织复张,使得小的病灶容易观察,并对所有可疑的 AAH 病变进行取材。

光镜下,AAH 表现为肺泡壁轻微增厚并衬覆增生的上皮细胞,与周围正常的肺组织界限较明显。衬覆上皮为间断排列的单层扁平、立方或低柱状细胞,细胞圆形、卵圆形或突起于肺泡腔面,即所谓的“贴壁样”细胞。AAH 细胞具有明显的异质性,细胞

体积大,胞浆通常没有特征性,偶见小空泡。细胞核较为规则且多型性不明显,核深染,核分裂象罕见。

2.2 AAH 的鉴别诊断 最重要的是与 AIS 的鉴别。两种病变都由相邻肺泡衬覆不典型细胞构成。Minami 等^[14]提出了 5 个诊断指标来区分这两种病变,AIS 需具备其中 ≥ 3 个的特征,而 AAH 很少 > 1 个。这些特征包括:①核染色质粗,核仁明显;②细胞密度高,拥挤重叠,且无细胞间隔;③细胞明显分层;④细胞变长,大于周围细支气管的正常柱状上皮细胞的高度;⑤“栅栏状”细胞生长模式,可以呈复杂的结构或乳头状。

与 AAH 相比,AIS 的贴壁样细胞更多,细胞形态更为一致;AIS 病灶直径常常 $> 10\text{mm}$ 。如遇到病变既完全满足 AIS 的诊断标准,又有部分仍然像 AAH 的区域,这种情况下宁可诊断为 AIS。

AAH 还需与许多良性病变进行鉴别诊断^[3],绝大多数情况下这些病变与 AAH 的鉴别并不困难。如大多数肺良性肿瘤的体积要比 AAH 大。乳头状腺瘤显示肺泡衬覆一致的立方上皮或柱状上皮,乳头以纤维血管间质为轴心,可见纤毛细胞。肺泡腺瘤为微囊样肺泡结构衬覆有类似 AAH 细胞,但结构与正常肺泡结构不同,其腔隙被纤维及梭形细胞间质包绕。硬化性血管瘤则显示肺泡细胞的分化特征,与 AAH 和 AIS 均可表达甲状腺转录因子-1 (TTF-1),但硬化性血管瘤无肺泡结构,且同时表达波形蛋白(vimentin)。

AAH 与反应性肺泡上皮细胞增生的鉴别很困难。事实上任何情况下只要有肺间质纤维化、炎症反应,就一定有肺泡细胞的反应性增生。AAH 中肺泡壁内炎细胞浸润和纤维化局限于病灶内,而周围肺泡壁不出现这些改变。因此,当有间质性肺炎存在时则不诊断为 AAH。

细支气管周上皮化生(PBM)又被称为“肺泡的细支气管化”,也需要与 AAH 鉴别。PBM 常为多灶性,受累的肺组织内见扭曲的终末细支气管,细支气管样的上皮细胞衬覆在呼吸性细支气管及邻近肺泡壁上,常伴有明显的纤维化和炎细胞浸润。PBM 重要的特征是上皮细胞为细支气管样的上皮细胞,不仅有 Clara 细胞还有纤毛柱状细胞,这点对鉴别很重要。

2.3 AAH 和 AIS 的临床意义 AAH 和 AIS 的重要性在于这些病变可能发展为浸润性肺腺癌的风险。随着高分辨率在肺癌筛查中的应用,能辨认出一些小的所谓纯磨玻璃样不透光区(GGO),GGO 影像特征与周围肺实质肺泡病变相对应,但并非特异。目

前,影像学上亦无法将 AAH 与非特异性纤维炎性病变或其他人工假象鉴别开来。只有切除病变后通过病理检查才能确诊 AAH 或 AIS。个体病变的纵向研究将不得不依赖于未来更精确的影像学诊断,就目前而言,影像学对某些 AIS 的诊断是有可能的,但 AAH 则不然。

2.4 AAH 的分子生物学 越来越多的数据显示 AAH 发展为 AIS 继而进展为浸润性癌时伴有分子遗传学的改变,但与 SD/CIS 的分子遗传学证据相比还较少。许多研究证明 AAH 的细胞大小、形态、核的大小、DNA 的含量均介于正常肺泡上皮和 AIS 之间,部分 AAH 病例与 AIS 之间存在某些特征的重叠^[15]。免疫组化显示 AAH 的细胞增殖指数高于正常肺泡上皮,但低于 AIS。

AAH 的 P53 阳性表达范围变化比较大,为 3% ~ 35%,AAH 很少发生 P53 突变,但 16% ~ 33% 的 AIS 存在 P53 突变,有报道 6% 的 AAH,11% 的 AIS 及 36% 的早期浸润性腺癌存在杂合性丢失(LOH)。细胞周期素 D1(cyclinD1)在 AAH 中表达上调,而在 AIS 及腺癌中几乎不表达。在 AAH 中还发现 P16 基因启动子的超甲基化,在高级别病变中则更多见。

研究显示疾病级别越高,EGFR 突变率也越高^[16]。EGFR 突变率在 AAH 为 3% ~ 44%,AIS 为 10.8% ~ 100%,而腺癌为 8% ~ 90%。AAH 患者中 KRAS 突变高达 39%^[17]。HER2 过表达偶见于高级别 AAH,在 AIS 及腺癌中更常见。从低级别到高级别 AAH,再到 AIS 及腺癌,数个端粒相关分子表达呈递增趋势。其他潜在的重要分子,如 eIF4E,丝/苏氨酸激酶 1(AKT1)及 NF- κ B 在病变进展中亦呈进行性上调。

【参考文献】

- [1] Doll R. Commentary: the age distribution of cancer and a multistage theory of carcinogenesis[J]. Int J Epidemiol, 2004, 33(6): 1183-1184.
- [2] Hecht SS. Cigarette smoking; cancer risks, carcinogens and mechanisms[J]. Langenbecks Arch Surg, 2006, 391(6): 603-613.
- [3] Kerr KM, Popper HH. The differential diagnosis of pulmonary pre-invasive lesions[J]. Eur Respir Mon, 2007, 39(1): 37-62.
- [4] Bancerjee AK. Preinvasive lesions of the bronchus[J]. J Thorac Oncol, 2009, 4(4): 545-551.
- [5] Lantuejoul S, Salameire D, Salo S, et al. Pulmonary preneoplasia-sequential molecular carcinogenic events [J]. Histopathology, 2009, 54(1): 43-54.
- [6] Mascaux C, Bex F, Martin B, et al. The role of NPM, p14arf and MDM2 in precursors of bronchial squamous cell carcinoma[J]. Eur

Respir J,2008,32(3):678-686.

[7] Massion PP, Taflan PM, Shyr Y, et al. Early involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in lung cancer progression[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170 (10) : 1088-1094.

[8] Rahman SM, Shyr Y, Yildiz PB, et al. Proteomic patterns of preinvasive bronchil lesion[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172 (12):1556-1562.

[9] Mascaux C, Laes JF, Anthoine G, et al. Evolution of microRNA expression during human bronchial squamous carcinogenesis[J]. Eur Respir J, 2009, 33(2):352-359.

[10] Salaun M, Swsboue R, Moreno-Swirc S, et al. Molecular predictive factors for progression of high-grade preinvasive bronchial lesion [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(8):880-886.

[11] 刘伟, 余英豪. 肺腺癌 2011 年国际新分类[J]. 实用癌症杂志, 2012, 27(4):432-434.

[12] Travis WB, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lungcancer/American thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of

lung adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(2):244-285.

[13] 余英豪, 陈炜生, 主译. 肺癌外科病理新进展[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012:272-277.

[14] Minami Y, Matsuno Y, Iijima T, et al. Prognostication of small-sized primary pulmonary adnocarcinomas by histopathological and karyometric analysis[J]. Lung Cancer, 2005, 48(3):339-348.

[15] Kerr KM. Morphology and genetics of preinvasive pulmonary disease[J]. Curr Diag Pathol, 2004, 10(4):259-268.

[16] Ideda K, Nonori H, Ohba Y, et al. Epidermal growth factor receptor mutation in multicentric lung adenocarcinomas and atypical adenomatous hyperplasias[J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(5):467-471.

[17] Sartori G, Cacaza A, Bertolini F, et al. A subset of lung adenocarcinomas and atypical adenomatous hyperplasia-associated foci are genotypically related: an EGFR, HER2, and K-ras mutational analysis[J]. Am J Clin Pathol, 2008, 129(2):202-210.

(收稿日期:2013-09-22;修回日期:2013-11-12)

(本文编辑:张仲书)



(上接第 59 页)

膳食中粗粮和脏腑类食物等的摄入较少以及其他一些因素有关。钙元素的摄入低于正常水平,一直是我国居民和我军指战员营养状况的较大问题,奶类及豆制品是钙、优质蛋白质和维生素的最好来源之一,《中国居民膳食指南》建议“每天吃奶类、豆类及其制品”。维生素和无机盐是构成人体,维持生命、生长发育、生殖等机能所必需的物质,也是调节机体物质代谢,构成某些辅酶的主要成分^[11]。部队指战员担任特殊而艰巨的任务,各种维生素及微量元素的摄入应充足且比例合理,如果摄入不足,将会对指战员身体健康造成影响并降低部队战斗力。

根据上述调查结果,建议在今后类似的军事行动中应调整和改进膳食供应的结构,限制膳食中总脂肪的摄入量,降低烹调油的用量,增加动物脏腑、蔬菜品种和量的供应,适度提高粮食、豆类及其制品以及食用菌和干菜的供应比例,同时进一步增加乳类及乳制品、海带及虾皮、紫菜等含钙丰富食物的供应量,使摄入食物的结构更趋合理;同时加强健康教育,正确引导官兵食物消费,帮助指战员充分认识合理营养和平衡膳食的重要性,加强对食品采购人员和炊事员营养知识的学习,制定科学的食谱和合理的膳食制度,合理配膳和对食物进行合理加工烹调,以便改善部队的营养状况,提高执行任务指战员的

身体健康和抗疲劳能力,保障军事活动的顺利圆满完成。

【参考文献】

[1] 中国人民解放军总后勤部. GJB 1636-1993. 军队膳食营养调查方法[S]. 北京:中国人民解放军总后勤部,1993.

[2] 杨月欣,王光亚,潘兴昌. 中国食物成分表[M]. 2 版. 北京:北京大学医学出版社,2009:3-191.

[3] 中国人民解放军总后勤部. GJB 826B-2010. 军人食物定量[S]. 北京:中国人民解放军总后勤部,2010.

[4] 金宏,郭长江,刘民航,等. 军人食物定量[J]. 解放军预防医学杂志,2012,30(3):157-159.

[5] 中国人民解放军总后勤部. GJB 823A-1998. 军人营养素供给量[S]. 北京:中国人民解放军总后勤部,1998.

[6] 吴健全,郭长江,韦京豫,等. 我军炮兵部队膳食调查与评价[J]. 军事医学科学院院刊,2009,33(3):259-261.

[7] 蒋与刚,李树田,房恒通,等. 我军步兵与通信兵部队营养健康现状调查[J]. 解放军预防医学杂志,2008,26(4):261-264.

[8] 杨林,任立松,党荣理,等. 新疆执行特殊任务某部膳食营养调查[J]. 解放军预防医学杂志,2011,29(2):100-102.

[9] 裴素萍,崔征,于瑞敏,等. 阅兵徒步方队训练期间膳食营养调查[J]. 解放军预防医学杂志,2012,30(3):224.

[10] 苏宜香,张彩霞. 脂类[J]. 营养学报,2013,35(2):116-118.

[11] 郭长江,顾景范. 核黄素[J]. 营养学报,2013,35(2):119-121.

(收稿日期:2013-07-24;修回日期:2013-09-26)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)