

doi: 10.3969/j.issn.1674-1242.2024.03.005

特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中的应用与价值分析

席乐峰, 孙建平, 张德臣, 王利勤, 李凤营, 谢福森

(郑州颐和医院病理科, 河南郑州 450000)

【摘要】背景 肿瘤的准确诊断对患者治疗和预后至关重要。特殊染色和免疫组化染色各具优势, 但两者单独使用时仍存在局限性。将两者相结合可能提供更全面、更准确的诊断信息, 但其临床应用价值尚需系统评估。目的 探讨特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中的应用价值, 评估其诊断效能。方法 选取2021年1月至2023年12月在郑州颐和医院接受诊治的80例肿瘤患者, 包括转移性肿瘤患者25例、原发性肝癌患者20例、血管瘤患者15例、内胆管瘤患者20例。对患者组织样本分别进行免疫组化染色、Masson染色、PAS染色和刚果红染色。以病理确诊结果为金标准, 比较各染色方法的诊断效能, 包括准确度、敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。采用ROC曲线分析各染色方法的诊断效能。结果 特殊染色联合免疫组化染色的ROC曲线下面积最大(0.943), 显示出最高的诊断效能。该方法的准确度为97.50%, 敏感度为98.57%, 特异度为90.00%, 均在不同程度上高于单一染色方法($P < 0.05$)。单独使用免疫组化染色时的准确度为92.50%, 敏感度为95.71%, 特异度为70.00%。Masson染色、PAS染色和刚果红染色的准确度分别为82.50%、87.50%、80.00%, 均低于特殊染色联合免疫组化染色($P < 0.05$)。结论 特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中具有较高的应用价值, 能够显著提高诊断的准确度、敏感度和特异度, 优于单一染色方法。该联合技术可为临床肿瘤诊断提供更可靠的依据。

【关键词】特殊染色; 免疫组化染色; 肿瘤诊断; 诊断效能; ROC曲线**【中图分类号】**R446.6**【文献标志码】**A

文章编号: 1674-1242(2024)03-0221-07

Analysis of the Application and Value of Special Staining Combined with Immunohistochemistry Staining in Tumor Diagnosis

XI Lefeng, SUN Jianping, ZHANG Dechen, WANG Liqin, LI Fengying, XIE Fusen
(Department of Pathology, Zhengzhou Yihe Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China)

【Abstract】**Background** Accurate diagnosis of tumors is crucial for patient treatment and prognosis. Special staining and immunohistochemistry staining each has its own advantages, but they still have limitations when used individually. Combining the two may provide more comprehensive and accurate diagnostic information; however, the clinical value of this approach requires systematic evaluation. **Objective** To explore the application value of special staining combined with immunohistochemistry staining in tumor diagnosis and to evaluate its diagnostic efficacy. **Methods** A total of 80 tumor patients treated at Zhengzhou Yihe Hospital from January 2021 to December 2023 were selected, including 25 cases of metastatic tumors, 20 cases of primary liver cancer, 15 cases of hemangiomas, and 20

收稿日期: 2023-08-27。

作者简介: 席乐峰(1987—), 女, 河南省新乡市人, 硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 肺癌的发病机制; 邮箱(E-mail): xlf12315@163.com; 电话(Tel.): 15939036979; 地址: 河南省郑州市金水区农业东路69号郑州颐和医院门诊二楼病理科。

cases of intrahepatic cholangiocarcinomas. Tissue samples from the patients were subjected to immunohistochemical staining, Masson staining, PAS staining, and Congo red staining. Using pathological diagnosis as the gold standard, the diagnostic efficacy of various staining methods was compared, including accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value. The diagnostic efficacy of each staining method was analyzed using ROC curves. **Results** The ROC curve area for the combination of special staining and immunohistochemical staining was the largest (0.943), indicating the highest diagnostic efficacy. This combined method showed an accuracy of 97.50%, a sensitivity of 98.57%, and a specificity of 90.00%, all of which were significantly higher than those of the individual staining methods ($P < 0.05$). When immunohistochemistry staining was used alone, the accuracy was 92.50%, the sensitivity was 95.71%, and the specificity was 70.00%. The accuracy of Masson staining, PAS staining, and Congo red staining was 82.50%, 87.50% and 80.00% respectively, all lower than that of the combined staining method ($P < 0.05$). **Conclusion** The combination of special staining and immunohistochemistry staining has high application value in tumor diagnosis, significantly improving diagnostic accuracy, sensitivity and specificity, superior to single staining method. This combined technique can provide more reliable evidence for clinical tumor diagnosis.

【Key words】 Special Staining; Immunohistochemistry Staining; Tumor Diagnosis; Diagnostic Efficacy; ROC Curve

0 引言

肿瘤的准确诊断对患者的治疗和预后具有至关重要的意义。随着医学技术的不断进步,病理诊断方法不断发展和完善。在众多诊断技术中,特殊染色和免疫组化染色因其独特的优势而受到广泛的关注与应用。免疫组化染色是通过抗原-抗体反应,利用标记的抗体定位,定性或定量地检测组织中的特定抗原的方法。这种染色方法具有高度特异性,能够精确识别肿瘤细胞的特定蛋白质表达,从而帮助鉴别肿瘤的类型和来源。然而,免疫组化染色也存在一些局限性,如存在出现假阳性结果和假阴性结果的可能性,以及某些罕见肿瘤缺乏特异性标记物等。特殊染色技术,如 Masson 染色、PAS 染色和刚果红染色,可以显示组织的特定成分或结构。Masson 染色主要用于显示结缔组织,特别是胶原纤维^[1]; PAS 染色可以显示多糖类物质,对于诊断某些特殊类型的肿瘤有重要价值^[2];刚果红染色常用于淀粉样变性的检测^[3]。这些特殊染色方法可以提供组织形态学和细胞学方面的重要信息,补充免疫组化染色方法的不足。近年来,研究者们开始探索将特殊染色与免疫组化染色相结合的诊断方法^[4-6]。这种联合应用有望整合两种染色方法的优势,提供更全面、

更准确的诊断信息。然而,关于这种联合染色方法在实际临床应用中的效果和价值,目前仍缺乏系统性的研究和评估。此外,随着精准医疗的发展,人们对肿瘤诊断的准确性和特异性要求越来越高。传统的单一染色方法可能无法满足这一需求,因此探索新的诊断策略变得尤为重要。特殊染色结合免疫组化染色的应用,可能为提高肿瘤诊断的准确性开辟新的途径。鉴于上述背景,本研究旨在系统评估特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中的应用价值。通过比较该联合染色方法与单一染色方法的诊断效能,我们希望为临床实践提供科学依据,并为未来的相关研究提供参考。本研究不仅有助于提高肿瘤诊断的准确性,还可能为个体化治疗方案的制定提供更可靠的病理学基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究为回顾性分析,选取2021年1月至2023年12月在本院接受诊治的80例肿瘤患者作为研究对象,其中男性40例,女性40例。入组患者年龄为25~75岁,中位年龄为50岁。所有患者均经病理确诊,包含以下类型:转移性肿瘤患者25例、原发性肝癌患者20例、血管瘤患者15例、内胆管瘤患者20例。

1.2 方法

本研究使用4种不同的染色方法来对肿瘤样本进行分析,包括免疫组化染色、Masson染色、PAS染色和刚果红染色。具体步骤如下。

1.2.1 样本准备

收集肿瘤患者的手术切除组织样本或活检组织样本,固定于10%中性福尔马林中,常规脱水,石蜡包埋,切片厚度为4 μ m。将每个病例的组织样本分为4份,分别进行免疫组化染色、Masson染色、PAS染色和刚果红染色。

1.2.2 免疫组化染色

(1)脱蜡和水化:石蜡切片经二甲苯脱蜡,梯度酒精水化。

(2)抗原修复:采用柠檬酸盐缓冲液高温修复。

(3)阻断内源性过氧化物酶:用3% H₂O₂ 孵育切片10min。

(4)一抗孵育:加入特异性一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜。

(5)二抗孵育:加入特异性二抗,37 $^{\circ}$ C孵育30min。

(6)DAB显色:用DAB显色,在显微镜下观察显色情况,适时终止反应。

(7)苏木精复染:用苏木精复染核,脱水封片。

以下为不同肿瘤类型选择的一抗种类和稀释比例。

(1)转移性肿瘤:pan-CK(AE1/AE3,1:100稀释),CK7(OV-TL12/30,1:200稀释),CK20(Ks20.8,1:100稀释),CDX2(DAK-CDX2,1:50稀释)。

(2)原发性肝癌:Hep Par 1(OCH1E5,1:100稀释),Glypican-3(1G12,1:200稀释),AFP(C3,1:100稀释)。

(3)血管瘤:CD31(JC70A,1:50稀释),CD34(QBEnd 10,1:100稀释),Factor VIII(F8/86,1:200稀释)。

(4)内胆管癌:CK19(RCK108,1:100稀释),CK7(OV-TL 12/30,1:200稀释),CA19-9(121SLE,1:100稀释)。

1.2.3 Masson染色、PAS染色、刚果红染色按照染色试剂盒操作说明进行染色

(1)Masson染色。①常规脱蜡至水。②苏木精染色5~10min,自来水冲洗。③1%盐酸酒精分化数秒,自来水冲洗。④返蓝5~10min。⑤庞森氏染液染色5~10min,蒸馏水洗。⑥1%醋酸水分化1min。⑦0.5%磷钼酸染色3~5min。⑧不洗,直接用苯胺蓝染色5min。⑨1%醋酸水处理1min。⑩95%酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

(2)PAS染色。①常规脱蜡至水。②0.5%过碘酸氧化10min,蒸馏水冲洗。③Schiff试剂染色15~30min。④亚硫酸水洗涤3次,每次2min。⑤自来水冲洗10min。⑥苏木精复染1~2min。⑦1%盐酸酒精分化,自来水返蓝。⑧常规脱水、透明、封片。

(3)刚果红染色。①常规脱蜡至水。②刚果红染液染色10~20min。③自来水冲洗。④1%盐酸酒精分化数秒。⑤0.2%氢氧化钾溶液浸泡3~5s。⑥苏木精复染1~2min。⑦1%盐酸酒精分化,自来水返蓝。⑧常规脱水、透明、封片。

1.3 观察指标

1.3.1 染色结果判定

在显微镜下观察并记录各组染色结果,根据病理学诊断标准判定为阳性或阴性。特殊染色联合免疫组化染色阳性定义为:免疫组化染色呈阳性,同时Masson染色、PAS染色和刚果红染色任意一种染色方法呈阳性。

1.3.2 金标准

以病理确诊结果作为金标准,比较各染色方法的诊断结果。

1.3.3 ROC曲线分析

通过绘制受试者工作特征(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲线,计算各染色方法的曲线下面积(Area Under the Curve, AUC),评估其诊断效能。

1.3.4 诊断效能指标

计算各染色方法的准确度、敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。

1.4 统计学分析

所有数据均使用 SPSS26.0 统计软件进行分析。计数资料采用 χ^2 检验。通过绘制 ROC 曲线并计算 AUC 值评估各染色方法的诊断效能。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 各种染色方法与金标准筛查结果分析

通过表 1 可以看出，特殊染色联合免疫组化染色的阳性检出率最高，阴性误判率最低。

2.2 各种染色方法对肿瘤的诊断效能分析

从表 2 和图 1 中可以看出，免疫组化染色 ($P = 0.001$)、特殊染色联合免疫组化染色 ($P < 0.001$) 对于诊断肿瘤具有一定的价值。特殊染色联合免疫

组化染色的 AUC 最大 (0.943)，显示出了最高的诊断效能。由表 3 可知，特殊染色联合免疫组化染色在各个诊断效能指标上均表现优越，尤其是在准确度 (97.50%)、敏感度 (98.57%)、特异度 (90.00%) 方面，均在不同程度上优于单一染色方法 ($P < 0.05$)。

3 讨论

Masson 染色、PAS 染色和刚果红染色在肿瘤诊断中有各自的价值：Masson 染色用于区分结缔组织和胶原纤维，帮助评估纤维化和结缔组织瘤；PAS 染色用于检测糖原和黏蛋白，常用于腺癌、肾癌和淋巴瘤等检测；刚果红染色用于识别淀粉样蛋白沉积，常用于多发性骨髓瘤和相关淀粉样变性肿

表 1 各种染色方法与金标准筛查 (例)
Tab.1 Various staining methods and screening with gold standard (n)

染色方法	金标准		合计
	阳性	阴性	
免疫组化染色			
阳性	67 (83.75)	3 (3.75)	70 (87.50)
阴性	3 (3.75)	7 (8.75)	10 (12.50)
Masson 染色			
阳性	64 (80.0)	8 (10.00)	72 (90.00)
阴性	6 (7.50)	2 (2.50)	8 (10.00)
PAS 染色			
阳性	66 (82.50)	6 (7.50)	72 (90.00)
阴性	4 (5.00)	4 (5.00)	8 (10.00)
刚果红染色			
阳性	59 (73.75)	5 (6.25)	64 (80.00)
阴性	11 (13.75)	5 (6.25)	16 (20.00)
特殊染色联合免疫组化染色			
阳性	69 (86.25)	1 (1.25)	70 (87.50)
阴性	1 (1.25)	9 (11.25)	10 (12.50)
合计	70 (87.50)	10 (12.50)	80 (100.00)

表 2 各种染色方法诊断肿瘤的 AUC 分析
Tab.2 Analysis of AUC for various staining methods in tumor diagnosis

检验结果变量	AUC	标准差	P	渐近 95% 置信区间	
				下限	上限
免疫组化染色	0.829	0.089	0.001	0.654	1.000
Masson 染色	0.557	0.103	0.561	0.355	0.760
PAS 染色	0.671	0.106	0.081	0.464	0.879
刚果红染色	0.671	0.101	0.081	0.474	0.869
特殊染色联合免疫组化染色	0.943	0.056	<0.001	0.833	1.000

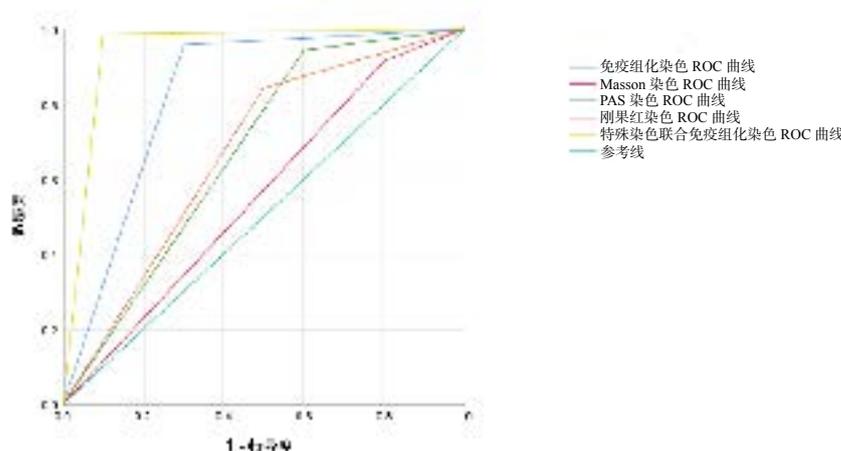


图1 各种染色方法诊断肿瘤的 ROC 曲线
Fig.1 ROC curves of various staining methods in tumor diagnosis
注：对角段由绑定值生成。

表3 各染色方法对肿瘤的诊断效能比较 (%)
Tab.3 Comparison of diagnostic performance of various staining methods for tumor (%)

项目	准确度	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
免疫组化染色	92.50	95.71	70.00	95.71	70.00
Masson 染色	82.50* ($P = 0.003$)	91.43* ($P = 0.042$)	20.00* ($P < 0.001$)	88.89* ($P = 0.021$)	25.00* ($P < 0.001$)
PAS 染色	87.50* ($P = 0.015$)	94.29 ($P = 0.157$)	40.00* ($P < 0.001$)	91.67* ($P = 0.036$)	50.00* ($P = 0.002$)
刚果红染色	80.00* ($P < 0.001$)	84.29* ($P < 0.001$)	50.00* ($P < 0.001$)	92.19* ($P = 0.047$)	31.25* ($P < 0.001$)
特殊染色联合免疫组化染色	97.50	98.57	90.00	98.57	90.00

注：*，与特殊染色联合免疫组化染色比较， $P < 0.05$ 。

瘤检测。这些染色方法通过提供细胞和组织成分
的详细信息，可显著提高肿瘤诊断的准确性^[7-9]。本
研究通过比较免疫组化染色、Masson 染色、PAS
染色、刚果红染色及特殊染色联合免疫组化染色在
肿瘤诊断中的应用价值，得出了一些重要结论。研
究结果显示，特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊
断中具有显著优势，其诊断效能明显优于单一染色
方法。

本研究数据表明，特殊染色联合免疫组化染
色的 AUC 最大 (0.943)，显著高于其他单一染色
方法。这一结果充分证明了该联合方法具有最高的
诊断效能。进一步分析发现，该联合方法的准确度
(97.50%)、敏感度 (98.57%) 和特异度 (90.00%)
均在不同程度上高于单一染色方法 ($P < 0.05$)。这
种优越性可能源于联合方法整合了免疫组化染色和
特殊染色各自的优势：①免疫组化染色提供了肿瘤
细胞特异性蛋白表达的信息，有助于精确鉴别肿瘤

类型和来源。②特殊染色补充了组织形态学和细胞
学方面的重要信息，弥补了免疫组化染色可能存
在的局限性。③两种方法的结合不仅提高了诊断的
准确性，还增强了结果的可靠性，降低了假阳性和假
阴性的风险。因此，本研究强调了单一染色方法在
肿瘤诊断中的限制，并提出了采用特殊染色联合免
疫组化染色的优势。联合方法不仅提高了诊断的综
合准确度，还能在一定程度上弥补单一染色方法在
特异性上的不足。免疫组化染色的高敏感度使其能
有效检测特定抗原或蛋白质的表达，特殊染色则补
充了对组织结构和化学成分的详细分析。例如，
Masson 染色用于胶原和纤维组织的观察；PAS 染
色用于糖原和黏蛋白的显示；刚果红染色用于淀粉
样蛋白的检测。这种联合方法不仅提高了诊断的全
面性和可靠性，还为个体化治疗提供了更精确的病
理学依据。

我们分析，单一染色方法在诊断效能上存在一

定的局限性：①免疫组化染色虽然表现较好（准确度 92.50%，敏感度 95.71%），但其特异度（70.00%）相对较低，说明单独使用该方法可能会导致一定比例的误诊，并暗示了在特定情境下可能存在误诊风险。② Masson 染色、PAS 染色和刚果红染色的准确度分别为 82.50%、87.50%、80.00%，均显著低于特殊染色联合免疫组化染色。这表明单一染色方法可能无法提供全面的诊断信息。③特殊染色方法的特异度普遍较低（Masson 染色为 20.00%，PAS 染色为 40.00%，刚果红染色为 50.00%），这可能导致较高的假阳性率，影响诊断的准确性。

本研究的创新之处在于系统地评估了特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中的应用价值。研究结果为临床实践提供了重要的科学依据：①联合方法的高准确度和特异度有助于减少误诊与漏诊，为患者的治疗决策提供更可靠的依据。②高敏感度意味着该联合方法能够更早期地发现肿瘤，有助于改善患者的预后。③该联合方法的应用可能减少不必要的重复检查，提高诊断效率，降低医疗成本。

尽管本研究取得了积极的结果，但仍存在一些局限性。首先，样本量相对较小（80 例），后续的研究应扩大样本规模以提高结果的可靠性。其次，本研究仅涉及部分肿瘤类型，未来可扩展到更多种类的肿瘤，以评估该联合方法的普适性。此外，本研究未探讨该联合方法在不同分化程度肿瘤中的诊断效能差异，这可能是未来研究的一个重要方向。该联合方法需要进行多种染色，可能增加诊断成本和所需时间，这在资源有限的医疗环境中可能构成挑战。在此过程中，对多种染色结果的综合分析可能增加解读的复杂性，需要更丰富的经验和专业知识，由此可能增加出现主观性误差的风险。同时，该过程还存在一定的标准化问题，不同实验室之间的染色技术和结果判读标准可能存在差异，从而影响结果的可比性和普适性。未来研究可以考虑以下方向：探索更多特殊染色与免疫组化染色的最佳组合，以进一步提高诊断效能；研究联合方法在预后评估和治疗方案选择中的应用价值；结合分子生物学技术，如基因测序，探索多模态诊断方法的可能性。

综上所述，本研究证实了特殊染色联合免疫组化染色在肿瘤诊断中的显著优势。该联合方法不仅提高了诊断的准确性，还为个体化治疗提供了更可靠的病理学基础。我们建议在临床实践中推广应用该联合方法，以提高肿瘤诊断的质量和效率。同时，进一步研究也是必要的，以优化该联合方法并探索其在更广泛领域的应用潜力。

利益冲突声明：作者声明，本研究不存在任何已知的利益冲突。

参考文献

- [1] 张涛涛. 网状纤维染色、Masson 三色染色在子宫平滑肌肿瘤良恶性鉴别中的应用价值分析 [J]. *现代诊断与治疗*, 2021, 32 (15): 2456-2458.
ZHANG Taotao. Application value analysis of reticulin staining and Masson trichrome staining in the differential diagnosis of benign and malignant uterine smooth muscle tumors [J]. *Modern Diagnosis and Treatment*, 2021, 32(15): 2456-2458.
- [2] 穆腾, 陈俞, 覃雅淳, 等. AB-PAS 染色联合免疫组织化学检查在卵巢黏液性肿瘤中的应用研究 [J]. *华南国防医学杂志*, 2022, 36 (11): 869-874.
MU Teng, CHEN Yu, QIN Yachun, et al. Application study of AB-PAS staining combined with immunohistochemistry in ovarian mucinous tumors [J]. *Military Medical Journal of South China*, 2022, 36(11): 869-874.
- [3] 石韵楠, 徐凯文. 分析特殊染色联合免疫组化技术用于肿瘤诊断中的效果与意义 [J]. *中国现代药物应用*, 2023, 17 (7): 49-52.
SHI Yunnan, XU Kaiwen. Analysis of the effectiveness and significance of special staining combined with immunohistochemistry in tumor diagnosis [J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*, 2023, 17(7): 49-52.
- [4] 潘勇权, 区可谊, 林小龙. 肿瘤病理鉴别中特殊染色技术联合免疫组化技术的价值分析 [J]. *系统医学*, 2023, 8 (14): 73-76.
PAN Yongquan, QU Keyi, LIN Xiaolong. Value analysis of special staining techniques combined with immunohistochemistry in tumor pathological diagnosis [J]. *Systems Medicine*, 2023, 8(14): 73-76.
- [5] 原新丽. 特殊染色联合免疫组化技术在肿瘤病理诊断中的效果分析 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2020, 7 (15): 2, 4.
YUAN Xinli. Analysis of the effectiveness of special staining combined with immunohistochemistry in tumor pathological diagnosis [J]. *Electronic Journal of Clinical Medical Literature*, 2020, 7(15): 2, 4.
- [6] 梁春红. 特殊染色联合免疫组化技术在肿瘤病理诊断中的效果及

- 价值分析 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2020, 7 (68): 136, 145.
- LIANG Chunhong. Analysis of the effectiveness and value of special staining combined with immunohistochemistry in tumor pathological diagnosis [J]. *Electronic Journal of Clinical Medical Literature*, 2020, 7(68): 136, 145.
- [7] 王雪晴, 王国庆, 许娇娇, 等. 良恶性子宫平滑肌瘤坏死组织中网状纤维及Masson染色评分差异研究 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2019, 20 (4): 354-355.
- WANG Xueqing, WANG Guoqing, XU Jiaojiao, *et al.* Study on the differences in reticulin fiber and Masson staining scores in necrotic tissues of benign and malignant uterine smooth muscle tumors [J]. *Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2019, 20(4): 354-355.
- [8] 郑伟, 陈淑勤. 胃腺癌组织中免疫组织化学与AB-PAS组织化学组合染色技术 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2022, 31 (2): 191-193.
- ZHENG Wei, CHEN Shuqin. Combined immunohistochemistry and AB-PAS histological staining technique in gastric adenocarcinoma tissues [J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2022, 31(2): 191-193.
- [9] 涂艳娟, 出树强, 陈玮珊, 等. 甲状腺透明变梁状肿瘤5例临床病理分析 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2023, 39 (6): 730-733.
- TU Yanjuan, CHU Shuqiang, CHEN Weishan, *et al.* Clinical pathological analysis of 5 cases of thyroid transparent-cellular variant of pheochromocytoma [J]. *Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2023, 39(6): 730-733.