



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.001
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.001
Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(7):939-943.

· 指南与共识 ·

提高肝癌规范化病理诊断水平，为临床精细化治疗保驾护航 —《原发性肝癌规范化病理诊断指南（2015年版）》解读

董辉，丛文铭

（中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院 病理科，上海 200438）

摘要 原发性肝癌主要指肝细胞癌和肝内胆管癌，一直缺乏规范化的诊断标准和诊断体系。《原发性肝癌规范化病理诊断指南（2015年版）》从肝癌的大体标本取材、慢性肝病评估、小肝癌、微血管癌栓、卫星结节以及免疫组化等临床关切的重要指标对肝细胞癌的病理诊断提供了很好的指导性意见和建议。

关键词 原发性肝癌；规范化；病理诊断；微血管癌栓
中图分类号：R735.7

Increasing the standardized pathology diagnosis level of primary hepatocellular carcinoma, escorting clinical precised treatment- -Interpretation of "Guidelines for the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma (2015)"

DONG Hui, CONG Wenming

(Department of Pathology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

Abstract Primary hepatic carcinoma refers mainly to hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma which always lacks standardized diagnostic criteria and system. "Guidelines for the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma (2015)" gives the pathologists and clinicians guiding suggestions and advice for the pathologic diagnosis of hepatocellular carcinoma from the respects of gross specimen examination, evaluation of chronic liver disease, small hepatocellular carcinoma, satellite nodules as well as immunohistochemistry which are of deep clinical concern.

Key words Primary hepatocellular carcinoma; standardized; pathology diagnosis; microvascular invasion
CLC number: R735.7

由我国40余位肝脏外科、内科及病理学领域的专家共同参与制定的《原发性肝癌规范化病理诊断指南（2015年版）》（简称《2015版指南》），采用循证医学证据等级评价标准，吸收

近五年国内外肝癌临床病理学研究的成果，广泛听取多学科专家的意见和建议，提出了肝癌大体标本取材规范和微血管侵犯（MVI）病理诊断规范等临床关切的病理诊断指标。本文拟就与肝细胞

收稿日期：2016-06-01；修订日期：2016-06-16。

作者简介：董辉，中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院主治医师、讲师，主要从事肝胆肿瘤分子病理学方面的研究。

通信作者：丛文铭，Email: wmcong@smmu.edu.cn

癌（肝癌）相关的内容进行重点解读，以便于临床及病理医生更好地理解和应用。

1 大体标本取材

《2015版指南》建议，手术切除标本应尽可能在离体30 min内完整送达病理科切开固定，目的是最大限度地保留细胞内核酸和蛋白质的完整性，防止细胞自溶，为后续分子病理检测提供高质量的基因组DNA。手术医师对手术切缘、可疑病变以及胆管及血管切缘等需要重点取材的部位，应用染料染色或缝线标记，以保证病理医师取材的准确性，对淋巴结和血管癌栓等切除小标本，应单独放置容器内并贴好标签说明，以避免漏取或遗失；病理医生应垂直于切缘并沿瘤体的最大直径，每隔1 cm做多个平行剖面，以测量肿瘤距切缘的实际距离。

肝癌标本“7点”基线取材方案（图1）是《2015版指南》的新亮点，该方案推荐：(1) 分别在12点、3点、6点和9点的位置上于癌与癌旁肝组织交界处取材（图1A-D），癌与癌旁肝组织的比例约为1:1，以着重观察肿瘤对包膜、微血管以及邻近肝组织的侵犯情况；(2) 在肿瘤内部无出血和坏死的部位至少取材1块（图1E），以供分子病理学检查之用；(3) 对距肿瘤边缘 ≤ 1 cm（定义为近癌旁肝组织）和 >1 cm（定义为远癌旁肝组织）范围内的肝组织分别取材（图1F-G），注意在多剖面检查的基础上，对可疑病灶重点取材，以观察MVI、异型增生灶以及肝组织背景病变（肝纤维化和肝硬化）等情况，并对较大肿瘤或质地和色泽有差异的肿瘤还应适当增加取材数量。建立“7点”基线取材方案的理论依据是肝癌生长的异质性特点，目的是提高评估MVI和卫星结节分布数量和范围等肝癌生物学特征的准确性。因为在肿瘤标本的不同方位，其癌细胞生长和侵袭方式可存在差异性，因此应多方位取材；如果单一方向取材，有可能遗漏MVI并低估肿瘤生物学行为。MVI和卫星结节的检出率还与癌旁肝组织的切除范围有关，因此在病理报告中应描述癌旁肝组织的大小。

2 慢性肝病评估

肝癌常伴有不同程度的慢性肝病背景，评估慢性肝病的程度对临床评估预后和制定治疗方案

有重要参考价值。慢性病毒性肝炎组织学分级和分期系统较多，包括国际肝脏研究学会（IASL）^[1]、Knodell^[2]、Scheuer^[3]、Batts-Ludwig^[4]、METAVIR^[5]以及Ishak^[6]系统等，其中Scheuer系统根据炎症程度轻重分为0~4级，纤维化程度分为0~4期，与中国2000年提出的慢性病毒性肝炎组织学分级和分期标准^[7]基本对应，易于操作，主观误差小，《2015版指南》建议在常规病理诊断工作中选用较为简便且国际通用的病理分级系统。通常应做Masson三色染色^[8]和网状纤维染色以辅助评估肝纤维化和肝小叶改建的程度。

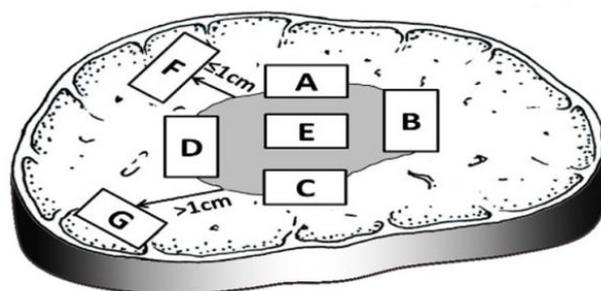


图1 肝癌标本“7点基线取材方案”示意图 A、B、C、D: 12、3、6、9点的癌与癌旁肝组织交界处；E: 肿瘤区域；F: 近癌旁肝组织区域；G: 远癌旁肝组织区域

Figure 1 Seven-point baseline sample collection of the liver cancer specimen A, B, C, D: Points corresponding to 12, 3, 6 and 9 o'clock positions alongside the border between tumor and adjacent tissue; E: Tumor area; F: Area of liver tissue proximal to tumor-adjacent region; G: Area of liver tissue distal to tumor-adjacent region

3 小肝癌

参照中国肝癌病理协作组分类和卫生部《原发性肝癌诊疗规范（2011年版）》分类^[9]，单个肿瘤直径 ≤ 1 cm为微小癌、 >1 cm $\sim \leq 3$ cm为小肝癌（small hepatocellular carcinoma, SHCC）。BCLC肝癌临床分期将A期SHCC定义为瘤结节数量 ≤ 3 个，瘤体总直径 ≤ 3 cm^[10]，但有肝癌克隆起源模式研究显示^[11]，与复发性肝癌起源模式相似，多结节性肝癌也存在单中心（肝内转移）和多中心（新生肿瘤）两种起源模式，因而从严格意义上讲，BCLC定义的SHCC并非特指病理学概念上的原发性小肝癌。因此，在《2015版指南》中将SHCC的数量定义为单个结节。

SHCC是临床早诊早治的切入点，是有望取得远期疗效的重要病理学阶段。有研究^[12]显示，肝

癌生长至近3 cm大小时,是其生物学特性由相对良性向高度恶性转变的重要时期, ≤ 3 cm SHCC可出现与 >3 cm大肝癌不同的基因改变^[13-14]; >3 cm肝癌发生微血管侵犯、卫星结节以及不良预后的风险明显增加^[12,15]; ≤ 3 cm SHCC患者的术后5年总生存率和无复发生存率分别为67.8%和52%,显著好于 >3 cm肝癌患者的42.3%和29.3% ($P<0.001$)^[12]。 ≤ 3 cm SHCC多表现出分化良好、膨胀性生长、微血管侵犯和卫星结节发生率低等相对温和的生物学行为,具有根治性治疗的病理学基础;在SHCC出现高侵袭性行为之前进行根治性治疗,对提高肝癌患者远期疗效具有重要的临床实际意义。但是,值得注意的是,由于肝癌的高度异质性,SHCC作为一个瘤体积概念,并不完全等同于生物学意义上的早期肝癌。虽然大部分SHCC表现为相对良性的生物学行为,但少部分SHCC甚至微小癌也可以出现分化差、侵袭性生长和MVI等恶性生物学行为,提示这类SHCC已较早进入恶性演进阶段。因此,对 ≤ 3 cm SHCC的肿瘤组织可全部取材做病理检查,以检查肿瘤的生长侵袭状况,临床上对SHCC也应注意保留一定的切除范围^[16]。

4 微血管癌栓

微血管侵犯 (microvascular invasion, MVI), 也称微血管癌栓, 主要是指在显微镜下于内皮细胞衬覆的血管腔内见到癌细胞巢团 (图2)。MVI与血管内出现悬浮肿瘤细胞簇有所不同, 后者是主瘤内癌细胞通过包膜内血管空隙, 在压力差作用下流入包膜内或包膜旁血管, 瘤细胞排列松散, 尚未形成实性巢团^[17]。有文献^[18]报道, 血管内悬浮肿瘤细胞数量 ≥ 50 个与肝癌患者的预后密切相关; 如果悬浮癌细胞数量 <50 个, 则有可能抵抗不住机体局部免疫攻击而难以生存, 被视为低度复发风险。为此, 应在病理报告中另行说明血管内悬浮癌细胞的数量。此外, Roayaie等^[19]的一项多因素分析显示, MVI发生血管壁肌层侵犯以及MVI数量在5个以上时与术后复发率显著相关, MVI发生于癌旁肝组织 >1 cm范围与术后生存率显著相关, 病理医师在诊断工作中可加以关注。

以往, MVI病理诊断多被忽略, 并未列入肝癌病理诊断常规指标, 也无统一诊断标准。许多研究表明, MVI是肝癌预后差的独立预测因子^[20], 是评估肝癌患者复发和转移风险最直接的形态学

指标。为此, 《2015版指南》提出, 应规范化和常规化诊断MVI, 为临床评估复发风险和制定抗复发治疗方案提供病理学依据。病理诊断时, 应将全部组织切片内的MVI进行计数, 在诊断MVI的基础上, 再根据MVI的数量和分布情况进行风险分级: M0为未发现MVI; M1 (低危组) 为 ≤ 5 个MVI, 且发生于近癌旁肝组织区域 (≤ 1 cm); M2 (高危组) 为 > 5 个MVI, 或MVI发生于远癌旁肝组织区域 (>1 cm)。

病理医师可根据血管的组织学结构判断MVI发生的血管部位, 比如门静脉分支MVI最为常见, 常有伴行的肝动脉和小胆管; 肝动脉有平滑肌层, 肝静脉位于小叶中央, 没有其他管道伴行, 管壁更薄, 形状更不规则。此外, 胆管和淋巴管也可以发生癌细胞侵犯, 能分清的情况下尽量报肿瘤侵犯的血管类型, 必要时可采用免疫组化的方法对脉管进行标记以辅助诊断。MVI的正确诊断与分级, 除了与正确掌握诊断标准相关以外, 还与大体标本的取材方式和方法有密切关系, 这也是强调肝癌“7点基线取材”的主要原因之一。此外, 如果肿瘤旁肝组织较少, 这种情况下评估MVI很有可能会降低MVI实际风险分级。

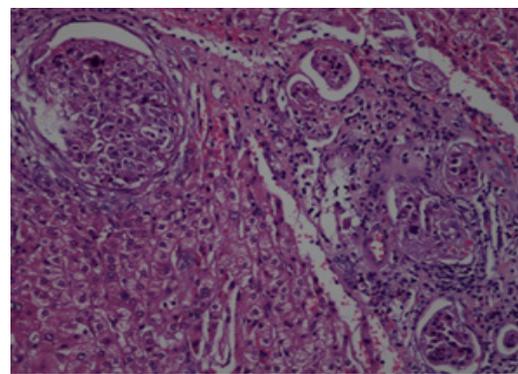


图2 肝细胞癌微血管癌栓 (汇管区多个小门静脉分支内见癌细胞巢)

Figure 2 Microvascular thrombosis in hepatocellular carcinoma (presence of tumor cell nests in several small portal vein branches within the portal area)

5 卫星结节

《2015版指南》对卫星结节的概念做了明确的定义, 即卫星结节也称为卫星灶或子灶, 主要是指主瘤周边近癌旁肝组织内出现的肉眼或显微镜下小癌灶, 与主瘤分离, 与主瘤之间有正常肝组织分隔。一般而言, 卫星结节起源于MVI, 提示肿瘤转移过程进入后期病理阶段,

当两者在组织学上不易区分时可诊断为卫星结节^[21]。Lim等^[22]统计发现,在<5 cm、5~10 cm和>10 cm肝癌中,卫星结节的发生率分别为7%、23%和27% ($P<0.0001$);在<5 cm和5~10 cm肝癌组中,卫星结节均是总生存率差的预测因素 ($P=0.0054$)。MVI和卫星结节的病理诊断对临床治疗模式的选择也有实际参考价值,如Meniconi等^[23]研究发现,首次切除肝癌标本中无MVI和卫星结节的患者出现早期肝内复发时,选择再次肝切除 ($P=0.01$)或射频消融 ($P=0.007$)治疗后的总生存率要明显好于肝动脉插管化疗栓塞。

在病理诊断卫星结节时,应注意向临床提供以下信息:(1)卫星结节的数量;(2)卫星结节的分布范围(近癌旁肝组织区域/远癌旁肝组织区域);(3)远癌旁肝组织内出现的癌结节(包括多结节性肝癌)多为肝内转移灶,但也可能是多中心起源的新生癌灶,两者的临床意义不同,必要时可做分子克隆检测以明确癌灶的来源。事实上,肝癌伴发卫星结节也是多结节性肝癌的一种病理表现形式,常规的影像学或组织病理学检查难以确切了解克隆起源方式。

Wang等^[11]研究显示,复发性肝癌的克隆起源至少包括6个亚型,分别为:孤立性新生肿瘤(pattern I)、孤立性肝内转移结节(pattern II)、多发性肝内转移结节(pattern III)、多发性新生肿瘤(pattern IV)、新生肿瘤继而发生肝内转移(pattern V)、新生肿瘤合并原发肿瘤肝内转移(pattern VI)。显然,临床上发生肝癌术后复发以及多结节性肝癌,并不简单地意味着发生肝内转移,或病变已进入晚期阶段。上述复发性肝癌克隆起源的模式同样也适用于多结节性肝癌的克隆起源,对临床制定复发性肝癌和多结节性肝癌的个体化治疗策略具有重要的参考价值。从理论上讲,一种临床治疗模式显然不能适用于肝癌复杂的多起源模式;从治疗原则上讲,对于单克隆起源(即肝内转移)的复发性肝癌和多结节性肝癌,需采取介入和靶向药物等综合性治疗措施为主,对于多克隆起源(即新发肿瘤)的复发性肝癌和多结节性肝癌,则仍适合手术切除或肝移植治疗,并有望取得与首次原发性肝癌外科治疗相似的疗效。为此,《2015版指南》建议,可采用多种分子克隆检测方法,如微卫星杂合性缺失检测等,来评估复发性肝癌、卫星结节及多结节性肝癌的克隆起源,临床可依据分子克隆检测结果制定治疗方案和评估预后。

6 免疫组化

肝癌的高度异质性既可表现在形态学上的多样性,也可表现为蛋白表型上的差异性。例如,在组织学上,肝细胞癌可出现假腺管结构以及纤维间质增多的现象;在临床上,肝内胆管癌患者可出现HBV感染和血清AFP升高,这些表现常常给肝细胞癌与肝内胆管癌的诊断和鉴别诊断带来很大困扰,因此在病理外检中常常需要借助免疫病理学和分子病理学的检查来帮助进行诊断。《2015版指南》推荐了特异性和敏感性较好的几种免疫组化诊断标志物,例如肝细胞癌常用标志物包括肝细胞抗原(Hep Par-1,肝细胞特异性,不能区别肝细胞性肿瘤的性质)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(GPC-3)、精氨酸酶1(arginase-1)、多克隆性癌胚抗原(pCEA,肝细胞特异性,不能区别肝细胞性肿瘤的性质)、CD10(肝细胞特异性,不能区别肝细胞性肿瘤的性质)、CD34(标记肿瘤新生血管)、谷氨酰胺合成酶(GS)等。上述标志物除GPC-3在肝癌组织表达,在正常肝细胞不表达,具有肿瘤特异性外,多用于与非肝细胞性肿瘤的鉴别诊断。

CD34免疫组化染色并不直接标记肝脏实质细胞,但可显示不同类型肝脏肿瘤的微血管密度和分布特点:如肝细胞癌为弥漫型、胆管癌为稀疏型、肝细胞腺瘤为斑片型、肝局灶性结节性增生为条索型等,有助于肝细胞性肿瘤性质的鉴别诊断。肝内胆管癌常用标志物为细胞角蛋白CK19、CK7、黏蛋白1(MUC-1)。CK19是干细胞性标记之一,除了在肝内胆管癌中表达,在具有干性特征的肝细胞癌中也可表达,例如在双表型肝细胞癌中可以出现CK19阳性,这类肝细胞癌亚型侵袭性更强^[24]。CK7在胆管癌中弥漫阳性表达,但是在纤维板层型肝癌中也可呈阳性^[25],两者在HE表现上很容易鉴别。由于肝癌存在表型特征差异,在免疫组化谱系的选择上,《2015版指南》建议需根据组织学特点搭配使用,以提高确诊率。

综上所述,《2015版指南》涉及到肝癌的大体标本描写、大体标本取材、显微镜下描写、癌前病变诊断、免疫组化谱的选择以及分子病理诊断的应用等方面,内容十分丰富,对于开展肝癌的规范化病理诊断提供了很好的指导性意见和建议。作为肝脏外科的重要支撑学科,肝脏外科病理学应注重根据临床关切提高精细化和规范化病理诊断的水平,为临床提高肝癌疗效切实提高自身的“金标准”诊断水平。

参考文献

- [1] Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging[J]. *Hepatology*, 1994, 19(6):1513-1520.
- [2] Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis[J]. *Hepatology*, 1981, 1(5):431-435.
- [3] Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment[J]. *J Hepatol*, 1991, 13(3):372-374.
- [4] Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting[J]. *Am J Surg Pathol*, 1995, 19(12):1409-1417.
- [5] Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 1996, 24(2):289-293.
- [6] Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis[J]. *J Hepatol*, 1995, 22(6):696-699.
- [7] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 中华医学会肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6):324-329. Chinese Society of Infectious Diseases and Parasitology, Chinese Society of Hepatology of Chinese Medical Association. The prevention and treatment plans for viral hepatitis[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2000, 8(6):324-329.
- [8] 顾怡瑾, 陆新元, 付华辉, 等. Masson染色在辅助诊断肝纤维化中应用[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(1):101-102. Gu YJ, Lu XY, Fu HH, et al. Application of Masson staining in auxiliary diagnosis of hepatic fibrosis[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2012, 28(1):101-102.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版)[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(10):929-946. Chinese Ministry of Health. Standardization of diagnosis and treatment of primary liver cancer[J]. *Chinese Clinical Oncology*, 2011, 16(10):929-946.
- [10] Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-Based Diagnosis, Staging, and Treatment of Patients With Hepatocellular Carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):835-853.
- [11] Wang B, Xia CY, Lau WY, et al. Determination of clonal origin of recurrent hepatocellular carcinoma for personalized therapy and outcomes evaluation: a new strategy for hepatic surgery[J]. *J Am Coll Surg*, 2013, 217(6):1054-1062.
- [12] Lu XY, Xi T, Lau WY, et al. Pathobiological features of small hepatocellular carcinoma: correlation between tumor size and biological behavior[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(4):567-575.
- [13] Moribe T, Iizuka N, Miura T, et al. Methylation of multiple genes as molecular markers for diagnosis of a small, well-differentiated hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(2):388-397.
- [14] Llovet JM, Chen Y, Wurbach E, et al. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis[J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(6):1758-1767.
- [15] Ueno S, Kubo F, Sakoda M, et al. Efficacy of anatomic resection vs nonanatomic resection for small nodular hepatocellular carcinoma based on gross classification[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2008, 15(5):493-500.
- [16] 吴孟超. 应重视小肝癌的诊断与治疗[J]. *中华医学杂志*, 2007, 87(30):2089-2091. Wu MC. Paying attention to diagnosis and treatment of small liver cancer[J]. *National Medical Journal of China*, 2007, 87(30):2089-2091.
- [17] Quaglia A, Eteessami N, Sim R, et al. Vascular invasion and herniation by hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A wolf in sheep's clothing?[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2005, 129(5):639-644.
- [18] Iguchi T, Shirabe K, Aishima S, et al. New Pathologic Stratification of Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma: Predicting Prognosis After Living-donor Liver Transplantation[J]. *Transplantation*, 2015, 99(6):1236-1242.
- [19] Roayaie S, Blume IN, Thung SN, et al. A system of classifying microvascular invasion to predict outcome after resection in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(3):850-855.
- [20] Du M, Chen L, Zhao J, et al. Microvascular invasion (MVI) is a poorer prognostic predictor for small hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:38. doi: 10.1186/1471-2407-14-38.
- [21] Okusaka T, Okada S, Ueno H, et al. Satellite lesions in patients with small hepatocellular carcinoma with reference to clinicopathologic features[J]. *Cancer*, 2002, 95(9):1931-1937.
- [22] Lim C, Mise Y, Sakamoto Y, et al. Above 5 cm, size does not matter anymore in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *World J Surg*, 2014, 38(11):2910-2918.
- [23] Meniconi RL, Komatsu S, Perdigo F, et al. Recurrent hepatocellular carcinoma: a Western strategy that emphasizes the impact of pathologic profile of the first resection[J]. *Surgery*, 2015, 157(3):454-462.
- [24] Lu XY, Xi T, Lau WY, et al. Hepatocellular carcinoma expressing cholangiocyte phenotype is a novel subtype with highly aggressive behavior[J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(8):2210-2217.
- [25] Ward SC, Waxman S. Fibrolamellar carcinoma: a review with focus on genetics and comparison to other malignant primary liver tumors[J]. *Semin Liver Dis*, 2011, 31(1):61-70.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 董辉, 丛文铭. 提高肝癌规范化病理诊断水平, 为临床精细化治疗保驾护航—《原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015年版)》解读[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(7):939-943. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.001

Cite this article as: Dong H, Cong WM. Increasing the standardized pathology diagnosis level of primary hepatocellular carcinoma, escorting clinical precised treatment--Interpretation of "Guidelines for the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma (2015)"[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(7):939-943. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.07.001