文章编号:1000-5404(2010)06-0619-02

技术方法

不同分化程度胃癌细胞核三维结构的体视学定量研究

龚 平[1],郭华雄[1],汤绍迁[2],张克难[3],王向阳[3],王 静[2] (434020 湖北 荆州,华中科技大学同济医学院附属荆州医院(荆州市中心医院):病理科[1],消化内科[2],胃肠外科[3])

[摘要] **目的** 探讨采用体视学方法定量不同分化程度胃癌细胞核的三维形态结构特点及变化规律。**方法** 利用HMIAS-2000医学图文分析测量系统,对20例慢性胃炎及高、中、低分化胃腺癌各15例的组织病理学切片中的腺上皮细胞细胞核进行多参数的形态测定。**结果** 在22个参数中,面积[高分化癌为(55.50±7.12)μm^2,中分化癌为(49.70±6.37)μm^2,低分化癌为(50.77±9.67)μm^2,慢性胃炎为(30.79±5.54)μm^2]、周长[高分化癌为(29.26±2.00)μm^2,中分化癌为(27.67±1.79)μm^2,低分化癌为(28.07±2.63)μm^2,慢性胃炎为(6.17±0.58)μm^2]等参数在良性病变与不同分化程度胃癌组间存在统计学差异($P\leqslant 0.05$),而不同分化程度的胃癌组间只有面积周长、等效直径、面积体积、周长体积等少数参数存在统计学意义。**结论** 胃癌三维结构的形态定量分析,可用于慢性胃炎与不同分化程度的胃癌鉴别诊断,同时获得的少量参数可判断胃癌的分化程度。

[关键词] 胃癌分化程度;细胞核;多参数;定量研究;鉴别诊断
[中图法分类号] R730.2;R735.2 **[文献标志码]** B

目前对胃癌的鉴别诊断主要依赖于组织病理学的形态结构观察,而对细胞核的体视学定量有待进一步研究。将生物体视学和图像分析技术引入病理图像定量诊断中可以克服这一缺陷[1]。为从三维结构水平上,定量认识不同分化程度胃癌细胞核的形态结构的基本特点和变化规律,我们采用体视学方法对3种不同分化程度的胃癌细胞核的形态结构改变进行了系统的定量研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例

收集荆州中心医院消化内科及胃肠外科,2006年1月至2008年12月间住院胃活检及手术切除标本共65例。其中男性42例,女性23例,平均年龄45(30~62)岁。组织病理学最终诊断为慢性胃炎20例,胃高分化腺癌、中等分化腺癌、低分化腺癌各15例。

1.2 仪器

NIKON OPITPHOT-2型多功能显微镜,JVC-TK 1180E摄像头,HMIAS-2000高清晰度彩色医学图文分析测量系统(武汉千屏影像技术责任有限公司)。

1.3 方法

所有病例常规进行石蜡包埋切片,厚度4 μm,HE染色。按WHO诊断标准进行组织病理学诊断。图像分析:①像素点长度单位定标。按HMIAS-2000系统要求对测量系统进行定标。②图像处理及测量。在测量系统中选择细胞核测量功能,对每例组织切片中的目标细胞核进行形态学定量测定,测定的方法可用二值化处理方式或自由画线法等。③参数选择。共选择参数22项,分别为面积、周长、等效直径、面积体积、周长体积、长径、短径、长短比等。每例组织切片中随机选择50个目标细胞核(测定正常胃组织及癌组织内腺上皮细胞核)进行测量。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.5统计软件对不同组别的测量值进行单因素方差分析和组间 t 检验。

2 结果

在胃高分化腺癌、中等分化腺癌及低分化腺癌的细胞核体视学参数中,面积、周长等多个参数的分布在各组中均有重叠,且其有相似的变异系数(表1)。

作为良性对照的慢性胃炎组,其面积、周长等参数的分布与其他3组不同分化程度的胃癌间也存在交叉重叠(表1)。

表1 胃3种不同分化程度腺癌及慢性胃炎细胞核体视学测量结果参数($\bar{x}\pm s$)

病理分型	面积(μm^2)	周长(μm)	等效直径(μm)	面积体积(μm^3)	周长体积(μm^3)	长径(μm)	短径(μm)	长短比	X轴投影(μm)	Y轴投影(μm)	最大投影(μm)
慢性胃炎	30.79±5.54	21.85±2.03	6.17±0.58	133.97±34.58	195.31±50.21	7.32±0.65	5.18±0.56	1.45±0.10	6.14±0.71	6.34±0.54	7.68±0.66
胃高分化腺癌	55.50±7.12^{ab}	29.26±2.00^{ab}	8.30±0.56^{ab}	322.55±59.32^{ab}	461.02±88.25^{ab}	9.72±0.71^{ab}	7.04±0.47^{ab}	1.40±0.05	8.33±0.54^{ab}	8.37±0.71^{ab}	10.09±0.71^{ab}
胃中等分化腺癌	49.70±6.37^{a}	27.67±1.79^{a}	7.86±0.51^{a}	273.22±52.62^{a}	388.34±73.53^{a}	9.16±0.57^{a}	6.70±0.51^{a}	1.40±0.09	8.00±0.56^{a}	7.81±0.52^{a}	9.57±0.59^{a}
胃低分化腺癌	50.77±9.67^{a}	28.07±2.63^{a}	7.93±0.75^{a}	284.13±82.12^{a}	412.61±116.98^{a}	9.27±0.84^{a}	6.74±0.69^{a}	1.40±0.07	8.12±0.84^{a}	7.92±0.81^{a}	9.70±0.84^{a}

病理分型	最小投影	平均投影(μm)	投影比	中心X坐标(μm)	中心Y坐标(μm)	形状因子	圆形度	椭圆度	矩形度	圆球度	异形指数
慢性胃炎	5.25±0.56	6.59±0.59	0.78±0.04	312.25±16.17	260.47±17.67	1.31±0.18	0.79±0.02	0.03±0.01	0.81±0.01	5.86±0.15	4.01±0.09
胃高分化腺癌	7.11±0.48^{ab}	8.77±0.59^{ab}	0.78±0.03	318.50±20.34^{c}	260.76±20.66^{c}	1.26±0.02	0.80±0.01	0.02±0.00	0.81±0.01	5.90±0.07	3.98±0.03
胃中等分化腺癌	6.77±0.51^{a}	8.31±0.52^{a}	0.79±0.03	318.82±25.45^{c}	258.20±12.24^{c}	1.26±0.03	0.80±0.02	0.02±0.01	0.81±0.01	5.91±0.12	3.97±0.05
胃低分化腺癌	6.84±0.70^{a}	8.41±0.76^{a}	0.79±0.03	341.96±23.39^{a}	244.84±15.11^{a}	1.27±0.03	0.79±0.02	0.02±0.01	0.80±0.01	5.85±0.13	4.00±0.05

a:$P<0.05$,与慢性胃炎比;b:$P<0.05$,与胃中等分化腺癌比;c:$P<0.05$,与胃低分化腺癌比

[通信作者] 汤绍迁,E-mail:tsq-jz@163.com

不同分化程度胃癌组内及与慢性胃炎组间的统计学表明，面积、周长、等效直径、面积体积等部分参数在良性与3种不同分化程度的胃癌间均存在着统计学差异，而3种不同分化程度的胃癌组内只有高分化与中分化胃癌的面积、周长、等效直径等参数存在统计学意义（表2）。

表2 不同分化程度胃癌细胞核组间及与慢性胃炎的统计学对比分析（P）

参数	良性与高分化	良性与中分化	良性与低分化	高分化与中分化	高分化与低分化	低分化与中分化
面积（μm^2）	0.00	0.00	0.00	0.03	0.14	0.72
周长（μm）	0.00	0.00	0.00	0.03	0.17	0.63
等效直径（μm）	0.00	0.00	0.00	0.03	0.13	0.78
面积体积（μm^3）	0.00	0.00	0.00	0.02	0.15	0.67
周长体积（μm^3）	0.00	0.00	0.00	0.02	0.21	0.50
长径（μm）	0.00	0.00	0.00	0.03	0.13	0.69
短径（μm）	0.00	0.00	0.00	0.07	0.18	0.84
长短比	0.13	0.15	0.14	0.91	0.93	0.98
X轴投影（μm）	0.00	0.00	0.00	0.11	0.41	0.66
Y轴投影（μm）	0.00	0.00	0.00	0.02	0.12	0.66
最大投影（μm）	0.00	0.00	0.00	0.04	0.17	0.63
最小投影	0.00	0.00	0.00	0.07	0.23	0.77
平均投影（μm）	0.00	0.00	0.00	0.03	0.16	0.68
投影比	0.58	0.25	0.36	0.49	0.68	0.79
中心X坐标（μm）	0.26	0.36	0.00	0.97	0.01	0.01
中心Y坐标（μm）	0.78	0.67	0.01	0.68	0.02	0.01
形状因子	0.27	0.28	0.44	0.95	0.16	0.22
圆形度	0.36	0.30	0.85	0.75	0.23	0.21
椭圆度	0.11	0.17	0.14	0.97	0.97	1.00
矩形度	0.83	0.63	0.30	0.71	0.11	0.10
圆球度	0.36	0.30	0.85	0.75	0.23	0.21
异形指数	0.19	0.20	0.63	0.89	0.17	0.22

3 讨论

恶性肿瘤的异型性常常主要表现在核的多形性改变，这点已被很多肿瘤的光镜下的细胞学观察所证实。但光镜下的观测，只能作出大致上的描述。体视学技术引入临床细胞及病理学领域，为客观记录胃肿瘤的形态结构的变化提供了可能。在乳腺癌针吸细胞学的定量细胞研究中，发现核的三维结构可以用于鉴别诊断乳腺癌，为其提供佐证[2]。文献[3]报道对胃间质细胞进行定量研究，发现黏膜上皮异型增生时，间质中细胞数量明显多于高分化腺癌间质细胞数，从而区别胃黏膜异型增生和高分化腺癌。另有部分文献对胃癌的形态定量研究见则主要集中于胃癌细胞的DNA计量[4]、AgNORs定量[5]、胃黏膜的超微结构（电子显微镜）定量[6]以及免疫组织化学的表达物[7]（如肿瘤标志物）定量[8,9]等方面，而在本研究中仅仅针对胃癌细胞核本身，并同时对高、中、低3种分化程度的胃癌进行多达22项参数的多参数形态分析。

不同分化程度的胃腺癌间及与慢性胃炎组织的形态结构有不同或类似之处，而对细胞核进行三维结构的测定，则是从量化角度反映其细胞变化的形态特征，对其进行定量描述与鉴别。本研究的结果显示，高分化腺癌、中等分化腺癌及低分化腺癌的胃细胞核面积范围分别是38.01～65.36、40.56～59.81、36.51～67.59 μm^2，从数据上来看，不同分化程度的腺癌，其细胞面积参数的分布存在着交叉与重叠，不同分化程度胃癌的组间只有高分化癌与中等分化癌存在统计学差异，而组内其他二者比较则没有统计学意义。胃细胞面积的分布广泛充分说明了肿瘤细胞生长的异质性，组内统计学意义的缺失正好与组织病理学中关于分化程度的标准相吻合，因为关于分化程度的WHO标准中主要是以是否具有规则的腺体结构进行分级的[10]。然而，3种不同分化程度的胃癌的细胞核面积与良性病变（慢性胃炎细胞核面积范围22.29～38.25 μm^2）比较，不仅细胞分布的范围较少重叠，而且均值分别是良性病变的1.80、1.61和1.65倍，并与之均存在着非常显著的统计学差异（$P<0.01$），这一点对于良、恶性病变的鉴别诊断具有较为重要的意义。类似情况，也见于本研究中的其他部分定量参数，如周长、等效直径、面积体积、周长体积、长径、短径、长短比、X轴投影、Y轴投影、最大投影、最小投影、平均投影等。

本研究的形态定量参数中，不同分化程度的胃癌与良性病变部分参数有着明显的统计学差异，可用于良恶性性病变的鉴别；同时不同分化程度的胃癌间高分化与中分化也存在着统计学意义，表明形态定量研究也可辅助应用于胃癌分化程度的判断。

参考文献：

[1] 李宏，惠起源. 胃癌病理图像的定量分析[J]. 延安大学学报：医学科学版，2006，4(4)：4－5.

[2] 周治兰，张国明，王昌富，等. 细胞形态在乳腺良恶性病变中的体视学定量研究[J]. 中国体视学与图像分析，1998，3(2)：105－107，83.

[3] 周秀田，谭敏，王华，等. 胃粘膜上皮异型增生与高分化腺癌的间质细胞定量研究[J]. 衡阳医学院学报，1996，24(3)：194－196.

[4] 林冬岩，张学武，孙权. 人胃癌及其癌前病变的DNA、AgNORs定量分析[J]. 临床军医杂志，2003，31(5)：11－13.

[5] 胡应光，田宁，汪祖权，等. 胃异型增生和早期胃癌AgNOR图像定量分析和PCNA表达[J]. 蚌埠医学院学报，2004，29(3)：207－209.

[6] 魏曼莎，邵珠艳，贾瑞平. 原发性胃癌三类细胞超微结构形态参数的分析[J]. 济宁医学院学报，2003，26(4)：38－39.

[7] 王桂兰，陈莉，李杏玉，等. NET-1、Ki67和CD34在胃癌组织中的表达及其临床病理意义[J]. 肿瘤防治研究，2009，36(3)：216－220.

[8] 梁启廉，陈小东，王三明，等. VEGF和抑癌基因maspin在胃癌组织中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报，2007，29(14)：1416－1418.

[9] 刘辉，郭建文，刘江惠，等. EphA2/EphrinA1在胃癌组织中的表达及与血管生成的关系[J]. 第三军医大学学报，2008，30(23)：2183－2186.

[10] Hamilton S R，Aaltonen L A. 消化系统肿瘤病理学和遗传学（WHO肿瘤分类及诊断标准系列）[M]. 虞积耀，崔全才. 译. 北京：人民卫生出版社，2006：52.

[11] 龚平，郭华雄，王文清，等. 基于人工神经网络的诊断模型对针吸细胞学诊断小细胞型乳腺癌的应用研究[J]. 中国体视学与图像分析，2008，13(2)：98－101.

（**收稿**：2009-09-02；**修回**：2009-10-10）

（编辑 龙 亮）