DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.012

膀胱移行细胞癌核DNA含量检测及其与预后关系的探讨

朱英桂* 柳凤轩 贺光友 付晓岚** (第三军医大学西南医院病理科) 630038

提 要 对膀胱粘膜良、恶性病变进行了核DNA含量研究,其中不典型增生(Ⅰ、Ⅱ级),乳头状瘤各5例,移行细胞癌45例(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级各15例),正常膀胱粘膜5例。结果显示:正常粘膜,不典型增生主要为2C细胞,乳头状瘤以3C为主,且部分不典型增生和乳头状瘤核DNA含量与移行细胞癌Ⅰ级相近。提示不典型增生和乳头状瘤中部分病例有恶变可能。移行细胞癌随分级升高而DNA含量递增,非倍体、S期细胞增多,各级间以及与不典型增生和乳头状瘤间相差非常显著($P<0.01$)。随访结果显示随着分级升高DNA含量增加而复发率、死亡率上升,故DNA含量检测有助于临床判断预后。

关键词 移行细胞癌,膀胱;DNA/分析;预后

中图法分类号 R737.1402

膀胱移行细胞癌是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤。迄今,对于肿瘤的不同分化程度与预后关系,尚不能以较客观的指标准确预测。我科对正常膀胱粘膜、不典型增生(Ⅰ、Ⅱ级)及乳头状瘤和移行细胞癌不同级别进行了DNA含量定量分析,旨在探讨不典型增生、乳头状瘤与移行细胞癌的鉴别诊断和移行细胞癌分级意义与预后的关系。

1 材料和方法

本组材料采用我校三所附属医院1971年12月~1991年12月间切除的膀胱移行细胞癌375例,在获得随访结果的病例中按不同分级取45例移行细胞癌(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级各15例),作核DNA含量定量分析。为了比较对照取远离病变的正常膀胱粘膜5例做对照,同时取已往确诊的膀胱粘膜不典型增生(Ⅰ级2例、Ⅱ级3例)、乳头状瘤各5例检测观察。标本经10%福尔马林液固定,石蜡包埋,连续切切片2张厚5 μm的切片,分别进行HE及Fenlgen染色,在用Leilzmpv-Ⅱ型显微分光光度计,取单波扫描无重叠、无约析分散好的完整单个细胞进行核DNA含量测量,每例测100个细胞,每个细胞检测的结果为该细胞核DNA的相对含量,取任意单位(Akbirry unit,AU),每例测25个小淋巴细胞,取其均值作为2倍体DNA含量的对照值,分别求出2c,2c~3c,3c~4c,4c~5c……和8c以上细胞的百分比,绘制细胞核DNA含量分布的直方图。为消除标本间细胞核DNA含量的个体偏差带来的影响,将DNA含量转换为DNA指数(DNA index,DI)。

$$DI=\frac{\text{瘤细胞DNA含量均值}}{\text{小淋巴细胞DNA含量均值}}$$

所测数据均经电子计算机贮存,并进行统计学处理。(方差分析,ANONA检验)。

2 结果

2.1 显微分光光度计DNA定量

表1为各组细胞核DNA含量的测定结果。表2为各组细胞周期的分布与增殖指数(Proliferation index,PI)。

表1 各组细胞核DNA含量

Tab 1 The content of nuclear DNA in 6 groups

Groups	Cases	Cell numbers	DNA($\bar{x}\pm s$)	DI($\bar{x}\pm s$)	P value
Normal mucosa	5	500	11.23±1.21	1.03±0.07	
Atypical hyperplasia	5	500	14.87±0.48	1.26±0.12	<0.01
Papilloma	5	500	16.84±1.39	1.48±0.26	<0.05
TCC Ⅰ	15	1500	20.68±2.38	2.12±0.33	<0.01
TCC Ⅱ	15	1500	24.76±1.31	2.62±0.15	<0.01
TCC Ⅲ	15	1500	31.43±2.65	3.32±0.47	<0.01

* 本校基础部病理学教研室
** 本校基础部中心实验室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表2 各组细胞周期分布及增殖指数

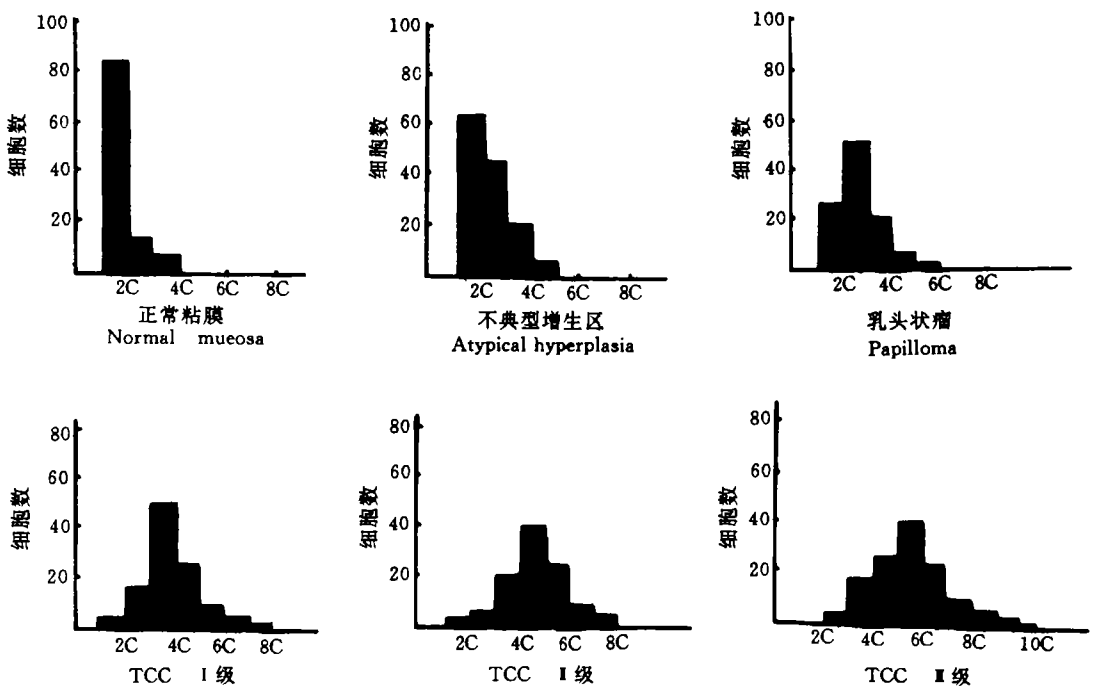
Tab 2 The distribution of cell cycle and prolifeation index of the groups cell cycle (%)

Groups	Cases	<G_0/G_1	cell cycle (%)			Hypertetraploid	Aneuploid	PI
			G_0/G_1	S	G_2/M			
Normal mucosa	5	1.70	89.18	4.60	4.52			
Atypical hyperplasia	5	0.21	80.42	4.40	5.74	9.23	13.63	11.19
Papillma	5		71.18	6.30	10.47	12.22	18.35	18.91
I	15		24.62	10.86	18.45	46.07	56.93	52.59
TCC I	15		13.82	15.43	19.84	50.91	66.34	68.66
II	15		4.63	18.36	23.56	53.45	71.81	88.86

DI小于1±1.64×S淋/$\bar{X}$淋者为<G_0/G_1期细胞，位于1±1.64×S淋/$\bar{X}$淋范围内者为G_0/G_1期细胞，位于2±1.64×S淋/$\bar{X}$淋范围内者为G_2/M期细胞，介于其间者为S期细胞；DI大于2±1.64×S淋/$\bar{X}$淋者为超四倍体(hypertetraploid)细胞；非倍体为超四倍体细胞和S期细胞之和。

$$PI=\frac{S+G_2/M}{G_0/G_1+S+G_2/M}\times 100$$

附图为各组细胞核DNA含量的直方图，纵座标为细胞数，横座标为DNA相对含量。



附图 各组细胞核DNA含量直方图

Fig Histograms of nuctear DNA contents of the six groups

2.2 统计学处理

所测各组结果，经统计学处理显示：正常膀胱粘膜与各组间细胞核DNA含量均相差非常显著($P<0.01$)，不典型增生与乳头状瘤间有显著差异($P<0.05$)，它们各自与膀胱移行细胞癌各组间以及移行细胞癌各级间均相差非常显著($P<0.01$)。

2.3 移行细胞癌核DNA含量与预后的关系

移行细胞癌核DNA含量与预后有一定相关性，我们将随访5年以上的34例术后患者其肿瘤DNA含量与5年存活率列表如下：从表3中可以看出，随着肿瘤分化程度的降低，而肿瘤细胞核DNA含量增加，非倍体数量增多。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 3　34 例随访五年以上者细胞核 DNA 含量及五年存活率

Tab 3　The nuclear DNA contents and 5-year survival rates in 34 case followed up over 5 years

Groups		Case No. (followed up over 5 years)	Case No. (recurene/death within 5 years)	DNA ($\bar{x}\pm s$)	Aneuploids	5-year survival rates
	Ⅰ	9	2/0	23.68/—	58.98/—	100%
TCC	Ⅱ	13	5/4	25.11/27.56	67.20/69.56	69.23%
	Ⅲ	11	4/6	31.82/36.75	72.41/74.23	45.45%

3　讨论

膀胱移行细胞癌 DNA 含量异常增加。此癌和其他恶性肿瘤一样，瘤细胞的发生与细胞核内遗传物质 DNA 分子的质和量的异常有关，表现在基因物质的过量表达，使其生长失去控制以致不断增殖直至远处转移。由于肿瘤的这种基因的扩增和过度表达，势必造成肿瘤细胞核 DNA 含量的异常增加。本组检测的结果（表 1）也说明了这一点。移行细胞癌 DNA 含量随细胞分化程度的降低而含量增加，且各级间相差非常显著（$P<0.01$），超四倍体、S 期细胞亦有逐级增多趋势。同时，DI 值亦从 2.12～3.22，增殖指数由 52.59 上升至 88.86。本组直方图中亦显示随着肿瘤分级的升高，峰值后移，且分布范围增宽、弥散。尤其是移行细胞癌Ⅲ级组中，几乎没有或很少 G_0/G_1 期细胞，较良性病变明显降低，而 S 期、G_2/M 期细胞又明显高于良性病变。Chin[1]用流式细胞计做的膀胱肿瘤细胞核 DNA 含量亦发现异倍体核检出率随肿瘤细胞的病理分级升高而明显升高，直方图显示细胞分布越弥散，范围则明显加宽，超四倍体和非倍体的出现率则越高，这与 Friedllander[2]报导相一致。

细胞核 DNA 含量与其分化程度密切相关。我们检测的膀胱正常粘膜细胞核 DNA 含量属于 2c 细胞（89%），属 G_0/G_1 期细胞，直方图分布亦为单主峰模型，G_2/M 期细胞不明显，无超 4c 细胞。不典型增生（Ⅰ、Ⅱ级）仍以 2c 细胞为主，有 2 例核 DNA 含量较高，且有超四倍体和非倍体。乳头状瘤 DNA 含量高于不典型增生组（$P<0.05$），非倍体及 S 期细胞较前者增多。提示，重度不典型增生和乳头状瘤有恶变的潜在危险。Macartney[3]、Tribukait[4]均指出：细胞核 DNA 含量增高，非倍体增多对癌变可做出早期诊断，虽在组织学上无特殊病变特征，但其已具备了恶性的潜在性质。由于我们例数尚少，尚不能定论，目前仍在进行追踪随访。但我们也认为：DNA 含量增高，说明细胞进入了周期，是细胞增生活跃的标志，至于是否恶变，还应视非倍体和超四倍体的出现率，如仍以 3c 细胞为主峰，应视并以反应性增生活跃为主，但同时伴有非倍体、超四倍体明显升高者，应警惕恶变的可能性，尤其是超四倍体，它不受正常粘膜生理性增生和修复的影响，又占非倍体的绝大部分，它的增高预示着恶变。不典型增生、乳头状瘤虽细胞核 DNA 含量增高，但仍与移行细胞癌组各级有明显差异（$P<0.01$），所以细胞核 DNA 含量检测，为良、恶性肿瘤区分和肿瘤分级提供了较客观的指标。

膀胱移行细胞癌 DNA 含量与预后的关系：判断恶性肿瘤预后的因素很多，我科曾对膀胱肿瘤的异型性、浸润深度及有无血管、淋巴管浸润、转移进行了观察[5]，显示了分级高、深肌层浸润、伴血管、淋巴管浸润者预后差。本实验通过肿瘤细胞核 DNA 含量的检测，在 45 例移行细胞癌中，随访时间从 6 个月～20 年，术后生存时间最短 24 天，最长 20 年以上，复发多在术后 3 年内。我们检测结果也表明：无论是复发病例还是死亡者，其 DNA 含量均高于所在组的 DNA 均值，与文献报道相一致[6]，且显示出随着其 DNA 含量增加，非倍体增多，病人预后差[7]，且五年存活率低。故通过细胞核 DNA 含量检测，我们认为可作为临床判断预后的客观指标。同时，对于良性病变细胞核 DNA 含量的增高和非倍体增多，应注意追踪随访，有可能为早期癌的诊断提供帮助。

参考文献

1　Chin JL, Huben RP, Nava E, et al. Flow cytometric analysis of DNA content in human bladder tumor and irrigation fluds. Cancer, 1985, 56: 1677

2　Friedlander ML, Hedley DM, Taylor LM. Clinical and biological significance of aneupioidy in humen tumor. J Clin Pathol, 1984, 37: 961

3　Macartney JC, Campleiohr RS. DNA Flow cytometry of histologieal material from dysplastic lesions of human gastric mucosa. J Pothol, 1986, 150: 113

4　Tribukait B, Gustafson H, Espostl PL. The significance of

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

ploidy and proliferation in the clinical and biological evaluatien of bladder tumer. Br J Urol, 1982, 54: 130

5 于冬梅，柳凤轩. 90例膀胱移行细胞癌病理观察及其预后探讨. 第三军医大学学报，1991，13(1)：42

6 曹世龙，王 泽，缪延述，等. 膀胱癌细胞DNA倍体类型对研究肿瘤恶化程度的意义及应用. 中华医学杂志，1990，(3)：143

7 Merkel DE, Meguire WL. Ploidy, proliferative activity and prognosis DNA flow cytometry of solid tumors. Cancer, 1990, 65: 1194

(收稿：1993-11-04；修回：1994-06-01)

Measurement of nuclear DNA content of bladder benign and malignant lesions and assessment of its prognostic significance

Zhu Yinggui, Liu Fengxuan, He Guangyou, Fu Xiaolan (Department of Clinical Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The nuclear DNA content was determined in 5 cases of grade Ⅰ or Ⅱ dysplasia of the mucosal epithelium, 5 cases of papilloma and 45 cases of transtional-cell carcinoma (15 cases each of grade Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ respectively) of the urinary bladder and that of 5 cases of normal epithelium was also determined to serve as the control. It was found that the DNA pattern was mainly diploid in normal and dysplastic epithelium and triploid in papilloma. Some cells of the dysplastic epithelium and papilloma showed the DNA pattern in supertetraploid and S phase cells. The DNA content of 1 papilloma was similar to that of grade Ⅰ transitional-cells carcinoma. The DNA pattern of aneuploid and S phase cells were increased along with the increasing of the grade of transitional-cells carcinoma. The value of DNA content was significantly different among grade Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ transitional-cell carcinoma and was significantly higher in transitional-cell carcinoma than in dysplasia and papilloma ($P<0.01$). The rate of recurrence and mortality became higher along with the increasing of the grade of the carcinoma and of its DNA content. It is believed that the determination of the DNA content of the bladder lesions is of significance for the prognosis of the lesions.

Key words bladder neoplasms; carcinoma, transitional cell; DNA/AN; prognosis

针刺与中药并用治疗婴儿鹅口疮60例

Treatment with acupuncture and Chinese herb in 60 cases of infant thrush

徐 明 (第三军医大学新桥医院针灸科) 630037

鹅口疮是婴儿常见病之一。系由白色念珠菌感染所致。以口腔粘膜、舌上满布白屑为特征，因状如鹅口而得名[1,2]。自1989年5月至1994年3月，笔者采用针刺和家传中药方剂治疗鹅口疮60例，疗效满意，现报告如下。

1 临床资料

鹅口疮60例，其中男婴36例，女婴24例；年龄最大1周岁，最小40 d；病程最长20 d，最短3 d。

2 临床表现及体征

舌上或两侧颊粘膜上出现白色点状或片状物，可互相融合，状如凝乳，不易拭去，重拭可见潮红粗糙面，不久又生。白屑周围绕以红晕，哭闹不安，甚则拒乳、厌食。重者，白屑侵入咽喉食道，可影响呼吸和吮乳。患儿常伴身热、大便干结、小便短黄。

3 治疗方法

3.1 针刺

用0.5寸毫针点刺承浆穴、劳宫穴(双)，每日一次，一个疗程3次；伴消化不良的患儿须点刺四缝穴(双)，并挤出少许血液，病程长者可挤出白色粘液，3 d后再点刺一次。

3.2 内服中药

处方：黄连5 g，赤芍5 g，连翘5 g，木通5 g，灯芯6 g，竹叶6 g。

(下转273页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net