DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.014

胃癌、萎缩性胃炎及胃粘膜异型增生形态测量和AgNOR计数研究

闫梦勇* 徐采朴 柳凤轩** (第三军医大学西南医院消化科) 630038

提 要 应用自动真彩色图像分析仪测定细胞核DNA含量、核形态参数、核/腺比值及AgNOR计数,对66例胃癌、胃粘膜异型增生、萎缩性胃炎进行了研究。结果显示:DNA含量测定各变量在各级异型增生中有显著性差别;核/腺比值对萎缩性胃炎有鉴别意义;AgNOR计数对各级病变均有鉴别能力。DNA含量、2c～3c、>5c、U值、核面积、核/腺比值、AgNOR计数鉴别能力较强。对12个变量进行综合差别分析;其所建判断函数回代正确率达93.9%。表明多变量综合分析能对以上病变作出较为准确的诊断。

关键词 胃肿瘤;胃炎,萎缩性;增生

中图法分类号 R735.202

目前胃癌前病变的分级存在一定的主观性,而客观地鉴别各级癌前病变对胃癌的早期诊断和治疗具有重要意义。近年来,一些作者对胃粘膜异型增生进行了定量研究,但结合多项指标进行综合判别分析国内外较少报道。本文通过对66例胃癌、萎缩性胃炎及胃粘膜异型增生病变形态测量、AgNOR计数进行综合判别分析,旨在探讨其定量指标在上述病变诊断中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料

胃手术切除和粘膜活检标本共66例(手术标本12例,活检标本54例),男∶女为5∶1,平均年龄52岁;其中高分化腺癌11例;异型增生,轻度11例,中度10例,重度9例;萎缩性胃炎,轻度9例,中度10例,重度6例;正常胃粘膜10例为对照。

1.2 方法

标本经10%福尔马林液固定,石蜡包埋,每例标本连续切片,厚度3～5 μm,分别作常规HE染色,AgNOR染色、Feulgen染色。

在HE切片上,按1978年全国胃癌防治协作组病理组制定的标准分级[1],经两名病理医师确定。

AgNOR染色参考Croker所用方法[2],在×100油镜下观察,随机选择100个细胞,计数镜下可辨别清楚的黑点,再换算成每个细胞平均AgNOR点数。

应用LEI CA MD_{20}自动真彩色图像分析仪,取Feulgen染色切片,选择适当灰度阈值将细胞核与背景分开,每例随意测量病变细胞核100个,间质淋巴细胞核20～30个,测量值I、O、D即DNA相对含量。将每例正常淋巴细胞核DNA含量中间值的1.25倍作为该例二倍体(2c)细胞的上限值,并推算3c、4c、5c细胞的上限值,统计出每例2c～3c、3c～4c、4c～5c、>5c的细胞所占百分比,计算出DNA含量的相对倍体值即U值,U值=病变细胞核DNA含量/淋巴细胞核DNA含量均值。

在测量细胞核DNA含量的同时,测量每个细胞核面积、核周长、最大直径、形状因子。形状因子=$100-4\pi\times$面积/周长^2、形状因子愈大,形状愈不规则。

取HE切片,放大150倍,选择病变最明显的视野,测试视频监视器范围内每一个完整腺体细胞总面积和细胞核面积,所测腺体数为5～10个,每个腺体细胞核面积除以腺体细胞总面积得核/腺比值。

所测量的形态测量参数,由研究者在每组取两例各重复测量两次,再由另一人员按指定区域再重复测量两次,同一人两次测量符合率为90.5%,观察者间符合率AgNOR为78.6%,形态测量参数为88.1%,经t检验,相差无显著性($P>0.05$)

1.2 统计学分析

利用SPLM统计程序包(第四军医大学编制),分别进行单因素方差分析,多元判断分析,并用回代法检验判别效果。

2 结果

AgNOR计数、DNA含量测定,核形态参数测量结果分别见表1,表2,表3,表4。

* 成都军区总医院内一科(610083)
** 西南医院病理科

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

表1 各组 AgNOR 计数结果

Tab 1 Results of AgNOR counting in various groups

	normal	AG			dysplasia			adenocarinoma
		mild	moderate	severe	mild	moderate	severe	well-differentiated
No. of cases	10	9	10	6	11	10	9	11
No. of cells	1100	900	1000	680	1100	1000	900	1100
mean	1.83	2.10△	2.22	2.83	2.73	3.31	3.96	6.01
SD	0.24	0.22	0.25	0.17	0.28	0.36	0.24	0.83
range	1.29～2.08	1.52～2.21	1.59～2.50	2.60～3.10	2.18～3.07	2.91～3.98	3.66～4.47	4.15～6.63

Abbreviations: AG, atrophic gastritis; △: $P>0.05$ comparod with moderate AG.

表2 各组图像分析仪测定 DNA 含量及细胞频率分布结果

Tab 2 Nuclear DNA contents and ploidy cells frequency distribution of various groups

goups	No. of cases	No. of cells	I.O.D	U Value	cell (%)			
					2c～3c	3c～4c	4c～4c	>5c
normal	10	1000	96.37±15.49	1.28±0.09	95.14± 5.46	3.36± 3.42	0.40±0.09	0
AG								
mild	9	910	106.52±14.25	1.33±0.10	80.93± 3.35△	15.80± 2.46△	3.42±1.94	0.59±0.59
moderate	10	1098	126.76±15.99	1.48±0.16	75.80± 4.68	17.54± 3.96※	6.52±2.67	0.68±0.47
severe	6	620	143.16± 8.58	1.63±0.05	63.13± 5.00	19.36± 5.04	13.94±1.96	4.24±0.43
dysplasia								
mild	11	1180	133.55±11.98	1.78±0.11	64.50± 4.42	24.68± 3.49	7.46±1.94	2.07±0.81
moderate	10	1050	145.88± 5.94	2.07±0.17	47.77± 4.33	30.62± 5.56	11.87±1.56	6.21±1.95
severe	9	940	215.85±62.34	2.83±0.47	22.86±11.13	38.28± 6.13	22.62±6.82	13.62±3.35
adenocarcinoma								
well-differentiated	11	1100	339.61±38.41	3.23±0.19	17.14± 5.43	27.36±12.07	27.99±4.39	31.30±6.51

△: $P>0.05$ compared with moderate AG; ※: $P>0.05$ compared with severe AG.

表3 各组形态测量参数均值及标准差

Tab 3 Mean values ±SD of the morphometrical parameters in various groups

groups	No. of cases	No. of cells	nuclear area	nuclear perimeter	maximm diameter	nuclear form factor
normal	10	1153	279.17± 26.91	81.86± 8.59	18.49±7.50	57.98±2.26
AG						
mild	9	946	290.97± 33.79△	84.97± 9.75△	21.83±5.17△	53.26±2.60△
moderate	10	1053	335.44± 29.36	88.93± 5.87※	25.44±3.46※	50.14±5.01
severs	6	654	373.84± 28.95	92.28± 7.43	26.76±2.94	41.75±4.46
dysplasia						
mild	11	1105	398.38± 41.72	112.00±13.64	28.43±1.13	50.53±5.25
moderate	10	1010	489.85± 44.80	120.27±10.23	30.57±1.15	46.43±4.11
severe	9	966	590.85±136.86	130.35±12.66	34.08±3.84	37.24±2.52
adenocarcinoma						
well-differentiated	11	1100	864.74±124.28	140.54±16.94	39.65±5.96	34.23±4.67

△: $P>0.05$ compared with moderate AG; ※: $P>0.05$ compared with severs AG.

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

表 4　各组核/腺比值的均值及标准差

Tab 4　Mean values±SD of the nuclear/gland ratio in various groups

	normal	AG			dysplasia			adenocarcinoma
		mild	moderate	severs	mild	moderate	severs	well-differentiated
No. of cases	10	9	10	6	11	10	9	11
No. of visual fields	10	40	45	30	52	45	41	50
mean	0.089	0.150△	0.158	0.192	0.241	0.306	0.333	0.349
SD	0.023	0.008	0.011	0.007	0.017	0.031	0.003	0.024

△：$P>0.05$ compared with moderate AG.

经方差分析比较测定结果，显示 AgNOR、DNA 相对含量、2c～3c、>5c U 值、核面积、核腺比值对各级病变的鉴别能力较强。

多元差别分析变量选入的最小 F 值为1，所建判别函数的一般形式为

$$Y(i)=A(i,0)+\sum_{j=1}^{n}A(i,j)\cdot X(i,j)\quad i=1,2,\cdots G$$

以 DNA 含量测定所建判别函数回代正确率为92.4%，以萎缩性胃炎错判较多。

以核形态参数及核/腺比值5个变量所建判别函数回代正确率为89.4%。

结合以上两组共11个变量所建判别函数回代正确率为95.4%，但良恶性有错判(见表5)，对包括 AgNOR 计数在内共12个变量进行逐步判别分析，结果，除核周长外，均被选入判别函数，正判率93.9%，良恶性病变无错判(见表6)，经判别函数式显著性检验，除轻、中度萎缩性胃炎之间相差不显著外($P>0.05$)，其余各病变相差显著($P<0.05$)或非常显著($P<0.01$)，说明所建判别函数式有效。

表5　判别效果检验(DNA、形态测量参数、核/腺比值所建判别函数)

Tab 5　The test of discriminant effect (classification equation derived from DNA、morphometrical parameters、nuclear/gland ratio)

	primary classification							
discriminant classification	mild AG	moderate AG	severe AG	mild dysplasia	moderates dysplasia	severe dysplasia	well-differentiated adenocarcinoma	total
mild AG	8							8
moderate AG	1	10						11
severe AG			6					6
mild dysplasia				11				11
moderate dyplasia					10	1		11
severe dysplasia						7		7
well-differentiated adenocarinoma						1	11	12
total	9	10	6	11	10	9	11	66

表6　判别效果检验(DNA、形态测量参数、核/腺比值、AgNOR 所建判别函数)

Tab 6　The test of discriminant effect(classification equation derived from DNA、morphometrical parameters、nuclear/gland ratio、AgNOR)

	primary classification							
discriminant classification	mild AG	moderate AG	severe AG	mild dysplasia	moderates dysplasia	severe dysplasia	well-differentiated adenocarcinoma	total
mild AG	8	2						10
moderate AG	1	8						9
severe AG			6					6
mild dysplasia				11				11
moderate dyplasia					10	1		11
severe dysplasia						8		8
well-differentiated adenocarinoma							11	11
total	9	10	6	11	10	9	11	66

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

3 讨论

一般认为，AgNOR 数目增多，细胞增殖越活跃[3]。本文研究结果显示，随胃粘膜病变程度的加重，AgNOR 计数值增高，良性病变明显低于恶性病变，与上述观点一致。重度萎缩性胃炎，AgNOR 计数明显高于轻、中度者，中、重度异型增生明显高于轻度者，表明这些病变细胞增殖活跃，具有癌变趋势。方差分析结果表明 AgNOR 计数对各种病变的分级有鉴别能力。

本文采作图像分析仪测量细胞核 DNA 含量，其结果与流式细胞仪和显微分光光度计测定结果相一致。也证实了 DNA 含量测定可作为癌前病变监测的重要参数，且对癌前一些病变的分级及良恶性病变的鉴别有很大帮助[4]。

本文选择的与细胞核有关的5项参数，在萎缩性胃炎，虽呈递增性变化，但大多相差不显著，主要是由于其划分是以腺体的减少为主要依据；也表明萎缩性胃炎核形态无明显变化。胃粘膜异型增生核形态参数有较强的鉴别能力，反映了其核形态变化大，尤以重度异型增生，某些参数已接近胃癌，进一步证明它是最重要的癌前病变[5~7]。

多元判别分析特别适宜于分级，分界不清的病变，主要是由于它能将各变量提供的信息，加以综合，同时考虑各变量间的内在联系，选择判别作用大的变量组成判别函数，对受检病例作出诊断。对胃粘膜异型增生形态定量分析，由于选择的变量组合不同，其判别效果差异较大，我们选择的核形态参数，未包括病变细胞的全部形态特征，因此回代正确率仅为89.4%，细胞核 DNA 含量反映了核染色体数量及分布的变化规律，故正判率较高；表明 DNA 含量能提供更多的揭示癌前病变及胃癌内在联系的信息。综合以上两组变量及对12个变量组合进行判别分析，回代正确率已达95.4%和93.9%，后者良恶性无错判，可见通过多变量参数综合判别分析能对胃粘膜病变作出较为正确的诊断与鉴别诊断[6,8]。

参考文献

1 全国胃癌防治协作组病理组。慢性胃炎、胃癌分类及诊断标准。沈阳：辽宁人民出版社. 1978，29～35，89～100

2 Croker J，Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. J Pathol，1987，15：111～118

3 Underwood JCE，Giri DD. Nucleolar organizer regions as the diagnostic disciminants of malignancy. J Pathol，1988，155：95～96

4 Mellin W. Cytophotometry in human pathology：a critical review of methods and applications，and some results of DNA analysis. Path Res Pract，1990，186：37～62

5 申　洪. 形态测量学在病理中的应用. 中华病理学杂志，1990，19(1)：71～72

6 Javis LR，Whithehead R. Morphometric analysis of gastric dysplasia. J Pathol，1985，147：133～138

7 Tosi P，Luzi P，Baak JPA，et al. Gastric dysplasia：A stereological and morphometrical assesment. J Pathol，1987，152：83～94

8 Wan Rui Nian. A model assessmant of gastric precancerous lesions by morphometric analysis. Chin Med J，1988，101：43

（收稿：1993-06-28；修回：1994-06-01）

Studies of morphometric assessments and AgNOR counting in the discrimination of gastric cancer，atrophic gastritis and dysplasia

Yan Mengyong，Xu Caipu，Liu Fengxuan（Department of Gastroenterology，Southwest Hospital，Third Military Medical College，Chongqing，630038）

Abstract Measurement of DNA content，morphometric features and AgNOR counting were performed on the epithelial cells of 66 cases of gastric cancer，atrophic gastritis and dysplasia with an MD－20 color image analysis system. It was found that DNA content and AgNOR counting had a better capacity to discriminate the different grades of gastric precancerous lesions；nuclear morphometric parameters had a singficant capacity to distinguish different grades of dysplasia；and nucleus/gnald ratio was helpful to distinguish different grades of atrophic gastritis. DNA content，2c～3c，5c，U value，nuclear area，nucleus/gland ratio and AgNOR counting in combination had even a higher discriminant capacity. Application of the discremination equation derived from our discriminant analysis to predict the progress of gastric lesions showed satisfactory results.

Key wrods stomach neoplasms；gastritis，atrophic；hyperplasia

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