DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.010

膀胱移行细胞癌AgNOR数量与病理分级及预后的关系

张哉根 谢 青 王 勇 高广正 (第三军医大学新桥医院病理科) 630037

提 要 本文用银染技术对100例膀胱移行细胞癌NoR进行了定量研究。结果表明癌细胞核内AgNOR颗粒数目的平均数,在不同级别的移行细胞癌之间具有显著性差异和明确的级别倾向性,并与预后密切相关。研究提示AgNOR技术既简单又经济,并有助于膀胱移行细胞癌的病理分级及其生物学行为的评价。

关键词 癌,移行性细胞;膀胱肿瘤;染剂和染色法

核仁组成区(Nucleolar Organizer Regions—NOR)是位于细胞核仁内的DNA片断。由于其能用银染技术显示,也称AgNOR。NOR与核糖体RNA(rRNA)的转录活性有关,在蛋白质合成中起重要作用[1~3]。细胞内NOR的数量变化,取决于核仁内rRNA转录活性水平。因此NOR数量的变化可直接反映细胞增生活跃程度。目前该技术被用来鉴别肿瘤的良恶性以及分级[3~6]。本文对100例不同级别的膀胱移行细胞癌(TCC)进行AgNOR的定量观察,探讨其在膀胱TCC分级及预后判断中的意义。

1 材料与方法

1.1 标本

选用我校一、二院膀胱TCC外检标本100例,其中80例有随访资料(表1),随访时间1~168个月不等。肿瘤按WHO分级法,由2名病理医师共同确诊。Ⅰ级25例,Ⅱ级45例,Ⅲ级30例(其中5例Ⅰ~Ⅱ级归入Ⅱ级,7例Ⅱ~Ⅲ级归入Ⅲ级)。正常膀胱粘膜5例(供肾组),腺性膀胱炎5例。

表1 80例膀胱TCC术后随访情况

Tab 1 Following up of postoperation in 80 cases TCC of the urinary bladder

group	n	Following time (year)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ⅰ	20	2	5	2	1	4	1	1	0	0	4
Ⅱ	35	8	4	7	1	6	2	2	1	0	4
Ⅲ	25	13	5	3	2	5	0	0	0	0	0

1.2 AgNOR染色

组织均由10%福尔马林液固定,常规石蜡包埋,切片厚4μm,脱蜡后逐级酒精脱水,去离子水洗后再用50%硝酸银,2%明胶液加上1%甲酸配成AgNOR液,避光室温下浸染30~40min,去离子水洗,梯度酒精脱水,树胶封片。

1.3 定量观察方法

采用10×100油镜,选癌细胞染色最清晰区,随机计数100个应测细胞核仁颗粒数目。在装有微米单位刻度目镜尺的油镜下测量AgNOR颗粒大小,按直径大于1.8μm、形态不规则者为异型颗粒。所有数据均由我校计算机室作统计学处理,并进行显著性(Q-T)检验。

2 结果

切片经胶质银染后,细胞核呈浅黄色,核内AgNOR颗粒呈棕黑色,胞浆不着色,背景清晰。NOR有3种颗粒:一是规则的中等大小、圆或卵形主颗粒;二是位于主颗粒周围的卫星颗粒;三是粗大的圆形或不规则异型颗粒。

2.1 TCC Ⅰ级

AgNOR颗粒呈圆形、卵圆形,颗粒间界限清楚,多位于中央。多数核内AgNOR颗粒为2个,少数1个或3个(图1)。外形规则,直径绝大部分在1.8μm以下,其异型颗粒出现率10%。

2.2 TCC Ⅱ级

AgNOR颗粒多数呈卵圆或椭圆形,少数界限不清,有融合现象,卫星颗粒数目增加。核内颗粒2~3个占大多数,少数为1个,也有3个以上者。核仁异型率占24.3%(图2)。

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

2.3 TCC Ⅲ级

AgNOR 颗粒数目明显增加，多数 4 个或 5 个以上(图 3)，最多达 16 个，少数为 3 个。颗粒外形不规则，大小不一。分布不均，界限不清，融合现象增多，也有少数颗粒细小而密集，巨核仁颗粒增加(图 4)。核仁异型率 39.8%。

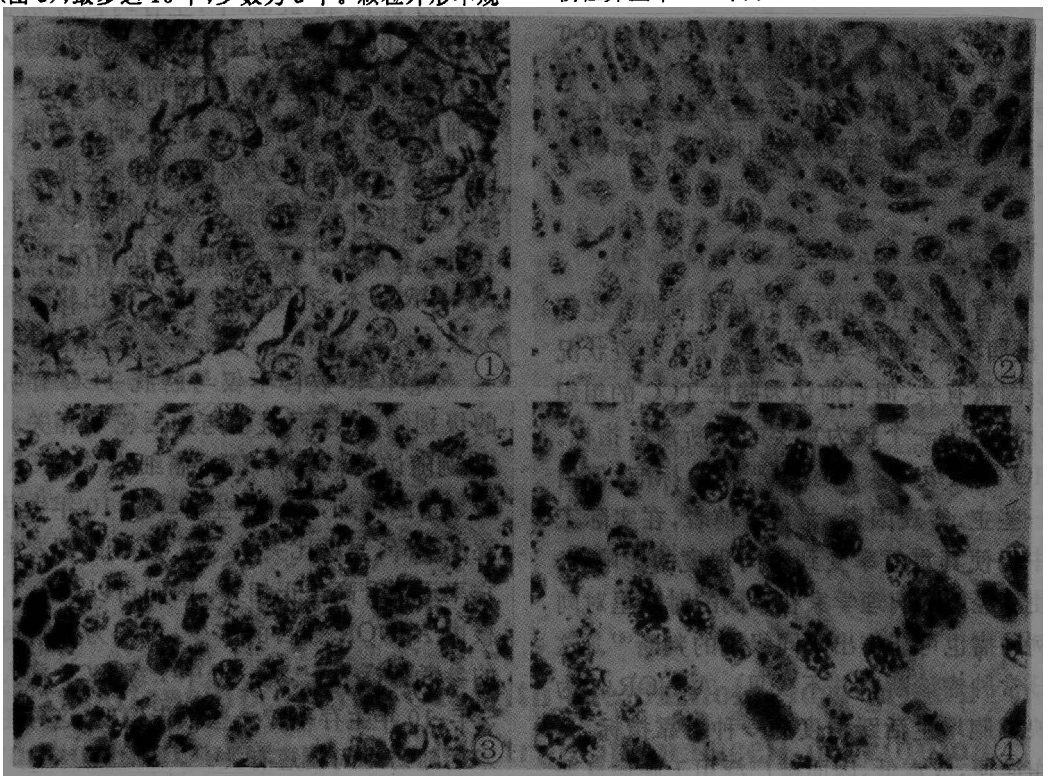


图 1 膀胱 TCC Ⅰ级，多数癌细胞核内 AgNOR 颗粒 2 个，少数 1 个或 3 个，颗粒大小基本一致，形态略不规则。 银染×1 000

Fig 1 grade Ⅰ TCC of urinary bladder, AgNOR granules is regular. ×1 000
2 in most of intranucleus

图 2 膀胱 TCC Ⅰ级，癌细胞核内 AgNOR 颗粒增多，颗粒大小不一，分布不均。 银染×1 000

Fig 2 grade Ⅰ TCC of urinary bladder, Satellite granules increase. ×1 000
2 or 3 in most intranucleus

图 3 膀胱 TCC Ⅱ级，癌细胞核内 AgNOR 颗粒多数在 4 个以上，颗粒分布不均。 银染×1 000

Fig 3 grade Ⅱ TCC of urinary bladder, AgNOR granules increase significantly. ×1 000
It is inrregular and diffirent in size, more than 4 or 5 in most intranucleus

图 4 膀胱 TCC Ⅳ级，癌细胞核内 AgNOR 颗粒大小不均，血核红及异型核红增多。 银染×1 000

Fig 4 grade Ⅳ the massive hudeoles in increased ×1 000

2.4 正常膀胱粘膜

多数细胞核内 AgNOR 颗粒为 1 个，少数为 2 个。颗粒规则，大小相似，多位于中央。5 例中无 1 例核仁大于 1.8μm。

2.5 腺性膀胱炎

多数细胞核内 AgNOR 颗粒为 2 个，少数为 1 个或 3 个。颗粒大小基本一致，较规则，仅 1 例核仁直径大于 1.8μm。

以上各组平均每个核含 AgNOR 颗粒分别为

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

TCC Ⅰ级 2.35±0.29、Ⅱ级 3.38±0.77、Ⅲ级 4.77±0.44、正常膀胱粘膜上皮 1.64±0.12、腺性膀胱炎上皮 2.04±0.1。Ⅰ级和Ⅱ级、Ⅱ级和Ⅲ级、Ⅰ级和Ⅲ级相比，差异均有非常显著性，$P<0.01$(Q-T 检验)。正常膀胱粘膜上皮与Ⅰ级相比 $P<0.01$。腺性膀胱炎与Ⅰ级相比 $P<0.05$，差异有显著性。正常膀胱粘膜上皮与腺性膀胱炎相比 $P>0.05$(t 检验)。

3 讨论

尽管膀胱 TCC 的预后与癌细胞分化程度、浸润深度、转移与否及肿瘤病人免疫状况等诸因素有关，但目前认为膀胱 TCC 的组织学分级仍为一个较为重要的判断预后指标。WHO 的三级分类法虽有严格的标准，但由于一些主、客观因素，尤其是前者，在实际工作中仍使其重复率受到不同程度的影响[1]。即使有经验的病理学家在不同的时间里对同一例肿瘤也可能作出不同级别的判断[8]。这在日常肿瘤诊断中并不少见。AgNOR 作为反映细胞增生活跃程度的一种可靠指标，且操作简便，成本低，因而被广泛用于肿瘤良恶性鉴别、肿瘤分级及预后的判定[1~6]。本组材料观察表明：AgNOR 数目随肿瘤级别的升高而增加，并与 TCC 分化的高低呈反比。在 5 例Ⅰ～Ⅱ级、7 例Ⅰ～Ⅲ级 TCC，核内 AgNOR 数目接近于高级别，因而分别被归入Ⅱ级和Ⅲ级。值得提出的是 100 例中有 3 例虽经 2 名病理医师共同确定分级，但 AgNOR 的数目与原级别差异很大。1 例Ⅰ级 TCC 每核内 AgNOR 均数为 4.29 个，且病人在术后 5 月死于肿瘤。2 例Ⅲ级 AgNOR 每核内均数分别为 2.70 和 2.80 个，生存时间分别在 5 年，10 年以上。复查 HE 切片，原分级与 AgNOR 检测结果差异的原因可能是与这些肿瘤细胞体积小、浸润较浅有关。研究表明 AgNOR 具有明确的级别倾向性，这提示 AgNOR 颗粒计数与病理分级之间有较高的符合率。在膀胱 TCC 分级困难的情况下，应用 AgNOR 技术，有助于对 TCC 作出较准确的分级。

AgNOR 数目不仅与膀胱 TCC 有明显的级别倾向性，而且也与预后密切相关。从 80 例随访资料分析，随着癌细胞 AgNOR 颗粒数目的增加，其 5 年生存率和 10 年生存率逐渐下降，呈反比关系。而 TCC 的复发和死亡率逐渐升高呈正相关。因而可以认为 TCC 核内 AgNOR 数目的多少，可作为判断预后的参考指标之一。表(2)中Ⅰ级 TCC 病人的 5 年、10 年生存率较一些报告偏低，这可能与术后随访时间较短有关。

在观察中我们也注意到，AgNOR 除了数目的变化外，还有大小，形状及分布上的改变，细胞分化越差，异型核仁出现率越高，这与一些研究的结果相似[9]。在研究 AgNOR 数目变化的同时，对其大小、形状及分布进行综合评价，可能对膀胱良恶性病变的鉴别以及对恶性程度的判断具有更大的意义。

表 2 AgNOR 数目与膀胱 TCC 病人术后生存、复发及死亡关系

Tab 2 The relationship of AgNOR with the surival recurrence and mortality of postoperation

AgNOR granules (averege)	nucleolar atypic rate	postoperative surival time (year)		recurrent rate	mortality
		≥5	≥10		
2.35(Ⅰ)	10%	50%	20%	5%	0%
3.38(Ⅱ)	24.3%	40%	11.4%	28.5%	17.16%
4.77(Ⅲ)	39.8%	20%	0%	36%	52%

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

参考文献

1. 王瑞年。AgNOR——肿瘤研究的一项新指标。国外医学:肿瘤学分册,1989;1:22～24
2. Editorial. Nucleolar organizer regions as diagnostic discrinants for malignancy. J Pathol, 1988; 155:95～97
3. Ruschoff J, Plate K, Bittinger A, et al. Nuleolar organizer regions (NORs) basic concepts and practical application in tumor. Path Res Pract, 1989;878～885
4. Cairus P, Suarez V, Newman J, et al. Nucleolar organizer regions in transitional cell tumors of the bladder. Arch Pathol Lab Med, 1989; 113: 1250～1254
5. Takeuchi T. Nucleolar organizer regions in rat urinary bladder tumors induced by N-Butyl-N-(4-hydroxybuty) nitrosamine. Virchows Arch B cell Pathol, 1990;58:383～388
6. Derenzini M, Betts Cm, Trere D, et al. Diagnostic value of silver-stained interphase nucleolar organizer regions in breast tumors. Ultrastructural Pathology, 1990;14:233～245
7. Colpaert C. Factors influencing the subjective grading of bladder cancer. Virchows Arch A Pathol Anat, 1987:471～479
8. OOMs ECM, Anderson WAD, Alon CL, et al. Analysis of the performance of pathologists in the grading of bladder tumors. Hum Pathol, 1983:140～143
9. Crocker J, Egan MJ. Correlation between NOR sizes and numbers in non-Hodgkin's lymphomas. J Pathol, 1988;156:233～238

(收稿:1992-07-08;修回:1992-10-15)

The relationship of AgNOR with the pathological grading and prognosis of urinary bladder transitional cell carcinoma

Zhang Zeigen, Xie Qing, Wang Yong, et al (Department of Clinical Pathology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract The nuclear organizer region stained with silver colloid technique(AgNOR) was quantitatively studied in 100 cases of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. It was found that the average number of AgNOR granules was significantly different between various grades of transitional cell carcinoma of the bladder and was closely correlated with the prognosis of the patient. It is believed that AgNOR counting is a simple, economic and reliable method for the grading and the evaluation of the biological behavior of the transitional cell carcinoma of the urinary bladder.

Key words carcinoma, transitional cell; bladder neoplasms; stains and staining

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