DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.06.023

大肠癌细胞核 DNA 含量与预后关系的探讨

朱英桂 柳凤轩* 贺光友* 傅晓岚** (第三军医大学训练部病理学教研室) 630038

提 要 本文对 30 例大肠癌细胞核 DNA 含量进行了检测,其中管状腺癌 15 例(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级各 5 例),乳头状腺癌、粘液腺癌、印戒细胞癌各 5 例,同时,选正常大肠粘膜 5 例做对照。测定结果:正常大肠粘膜 DNA 含量为 13.54±1.76 Au,管状腺癌Ⅰ级 22.62±3.36 Au,Ⅱ级 26.41±0.70 Au,Ⅲ级 31.12±2.32 Au,乳头状腺癌、粘膜腺癌、印戒细胞癌分别为:27.22±1.41 Au、27.94±2.41Au、20.4±3.40Au。各组癌细胞 DNA 含量与正常粘膜;管状腺癌Ⅰ级、印戒细胞癌与管状腺癌Ⅲ级、乳头状腺癌、粘液腺癌相差非常显著($P<0.01$),管状腺癌Ⅲ级与Ⅱ级、乳头状腺癌、粘液腺癌相差显著($P<0.05$)。随访结果表明:DNA 含量越高,分布范围宽、高峰后移预后差。检验结果表明:大肠癌 DNA 含量可为大肠癌的分类和估价预后提供客观参考指标。

关键词 肠肿瘤;肠,大;DNA 含量;预后

胃肠道肿瘤的研究逐渐深入,已由普通光镜观察发展为电镜、免疫组化、免疫电镜等方法,但对其与肿瘤分化程度密切相关的染色体分子的基础 DNA 含量变化研究较少。本组采用显微分光光度计,对于各类型大肠癌细胞核 DNA 含量进行了观察,其目的是为了探讨各类型大肠癌其分化程度与核 DNA 含量的分布,并探讨与预后的关系,为临床治疗和判断预后提供参考。

1 材料与方法

本组 30 例大肠癌均选自我院手术切除标本,由两人阅片,按"全国大肠癌病理研究统一规范"分为 6 组即:管状腺癌 15 例(高分化腺癌,Ⅰ级;中分化腺癌,Ⅱ级;低分化腺癌,Ⅲ级),乳头状腺癌、粘液腺癌、印戒细胞癌各 5 例。此外,选用其他病人大肠病变的远残端无病变区取材 5 例,做为正常对照组。

组织经 10%福尔马林液固定,石蜡包埋,连续切片 2 张(厚约 5μ),分别做 HE、Feulgen 染色,切片脱蜡后先经 60℃ 1mol/L 盐酸水解 15min,然后于室温下水解 2min,浸入 Schiff 氏试剂染 1.5 h,用亚硫酸水洗 3 次,每次 2min,以除去非特异性色素,水洗后室温干燥,二甲苯透明,树胶封固。

显微分光光度计测定:采用 MPVⅢ型(西德)显微分光光度计,取单波(波长 560nm)扫描法对单个细胞核 DNA 含量进行定量测量,选择分散好无趋折、完整典型的瘤细胞核进行测定,每例标本测定 100 个细胞核,单个细胞核的测定结果为该核 DNA 含量的相对含量,即任意单位(arbitrary unit,Au),并在同一张切片中测 25 个正常淋巴细胞,取其均值作为二倍体 DNA 含量(2C)的对照值,测定结果以 DNA 含量作横座标,细胞数为纵座标,绘出每例标本细胞核 DNA 含量的直方图,并标出 2C～4C、4C～6C、6C～8C 以及 8C 以上的百分数。

统计学处理:所测定的数据均由电子计算机贮存,求出每例标本细胞核 DNA 含量的均值,然后借助电子计算机用方差分析(ANONA)检验,进行统计学处理。

2 结果

2.1 组织学检查

2.1.1 管状腺癌Ⅰ级:癌组织由大小不一的腺管构成,瘤细胞分化尚好,上皮柱状,多单层排列。胞浆丰富,并可见有杯状细胞,少数腺体有共壁、搭桥现象。核位于基底部染色质增多,核分裂象少见。Ⅱ级:瘤细胞大小不一,多呈假复层排列,极性紊乱、消失,瘤细胞构成大小、形态不规则腺腔,部分区域呈条索状或

* 西南医院病理科
** 中心实验室

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

团块状结构，胞浆少。核体积大，位置参差不齐，核分裂象可见。Ⅲ级：瘤细胞极少呈腺管状排列，多数区域形成大小不一的实性癌巢或筛状，细胞大小形态不一，核大而深染，核分裂象易见并见有坏死、出血区。

2.1.2 乳头状腺癌：瘤细胞排列成粗细不等的乳头状结构，分支多少不一，乳头中心间质较少，排列为单层或假复层。部分区域可有乳头状囊腺癌样结构，乳头较乱，细胞明显异型性，核深染，可见核分裂象。

2.1.3 粘液腺癌：癌细胞部分呈管状，部分呈囊腺癌结构，囊内含多少不等的粘液，囊壁衬复分化较好的上皮细胞，呈柱状或立方形；另一种呈"粘液糊"形，其内漂浮小堆或散在分布的癌细胞，核多深染。

2.1.4 印戒细胞癌：癌细胞多呈弥漫性分布，胞浆丰富，淡染或透明状，核多被挤压于一侧，多呈半月状，少数瘤细胞胞浆红染，核大而圆。部分区域可见细胞外有少量粘液。

2.2 测定结果

2.2.1 各组瘤细胞核 DNA 含量(附表)

附表 30 例大肠癌细胞核 DNA 含量 (Au)

组别	例数	细胞数	平均值 ($\bar{x} \pm s$)
正常大肠粘膜	5	500	13.54±1.76
管状腺癌Ⅰ级	5	500	22.62±3.35
管状腺癌Ⅱ级	5	500	26.41±0.70
管状腺癌Ⅲ级	5	500	31.12±2.31
乳头状腺癌	5	500	27.22±1.41
粘液腺癌	5	500	27.93±2.14
印戒细胞癌	5	500	20.04±3.39

2.2.2 各组细胞分布情况：5 例正常大肠粘膜胞核 DNA 含量均值为 13.54±1.76 Au，82%的细胞分布于 2C 之内，仅 4%的细胞超过 3C 且分布集中，分布范围窄(图 1)。管状腺癌Ⅰ级均值 22.62±3.58 Au，86%的瘤细胞分布于 3C 以上，超过 4C 者为 47%，高峰位于 3C～4C 之间分布范围较正常粘膜明显增宽(图2)；Ⅱ级瘤细胞核DNA含量明显增多，均值31.12±3.31 Au，63%以上细胞位于 5C 以上，直方图中见高峰位于 5C～6C 之间，分布最弥散，范围亦最宽(图 3)。管状腺癌Ⅱ级、乳头状腺癌和粘液腺癌 3 组，情况相似，多数细胞分布在 4C～5C 之间，无论其核 DNA 含量还是直方图分布都介于管状腺癌Ⅰ、Ⅱ级之间。印戒细胞癌的DNA 含量和直方图分布与管状腺癌Ⅰ级相近，超 4C 细胞为 38%。

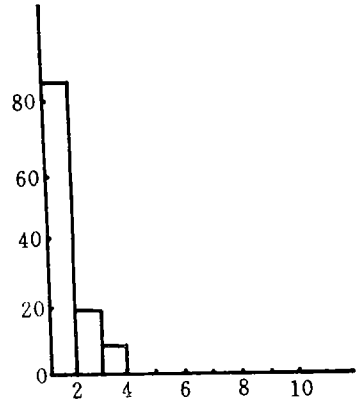


图 1 正常粘膜上皮 DNA 含量直方图

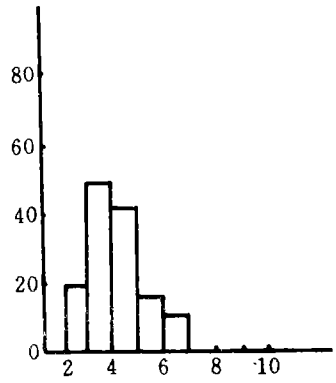


图 2 管状腺癌Ⅰ级 DNA 含量直方图

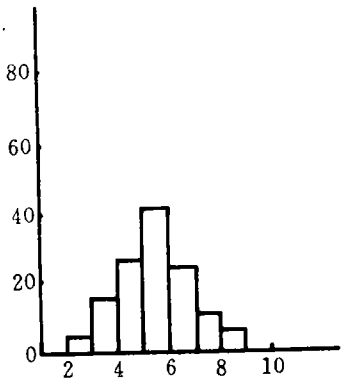


图 3 管状腺癌Ⅱ级 DNA 含量直方图

2.2.3 统计学处理：各组癌细胞核 DNA 含量测定结果，管状腺癌Ⅰ级与Ⅱ级、乳头状腺癌、粘液腺癌均有

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

非常显著差异（$P<0.01$），管状腺癌Ⅱ级与Ⅰ级、乳头状腺癌、粘液腺癌之间有明显差异（$P<0.05$），印戒细胞癌除与管状腺癌Ⅰ级无明显差异外，与其他各组均有明显差异（$P<0.01$），各组癌细胞 DNA 含量与正常大肠粘膜有非常显著差异（$P<0.01$），而管状腺癌Ⅰ级、乳头状腺癌、粘液细胞癌之间无差异（$P>0.05$）。

3 讨论

大肠癌是较常见的肠道恶性肿瘤，对于不同级别，不同类型的肿瘤预后报道有一定差异，但各家说法不一。为了寻找较为客观的反映大肠细胞增殖情况，我们根据肿瘤遗传学的研究中指出的瘤细胞染色体数目增加，结构畸变，DNA 做为染色体分子的基础，其含量和分布也会出现改变，Sandritter 等已证明肿瘤细胞核 DNA 含量平均值增加，以非倍体为主，而 Friedlander[1] 等亦认为，多倍体、非倍体增多，且随恶性程度的增加而增多[2]。流式细胞计法证实了肿瘤细胞存在着核 DNA 含量不同的细胞群，大肠癌常常是多细胞克隆构成的嵌合体[3]。本组测定的各类型大肠癌核 DNA 含量均高于正常肠粘膜，且相差非常显著（$P<0.01$），亦证明其 DNA 含量是增加的，且随着分级升高而递增。管状腺癌Ⅰ级～Ⅲ级，瘤细胞 DNA 含量存在着显著差异和非常显著差异（$P<0.05$～$P<0.01$）。Böhrm 等报告分化好的结肠癌都表现为双峰 DNA 直方图，分化差的多为单峰直方图，我们检测的管状腺癌直方图表现与其较一致，管状腺癌Ⅰ级，高峰值位于 3C～4C 之间，但 4C～5C 之间的细胞数略低于前者，即可认为为 3C、5C 两个峰值。管状腺癌Ⅲ级，高峰位于 5C～6C 之间，4C 和超 4C 细胞占 82%，分布弥散，范围宽，而Ⅰ级介于两者之间。此结果表明：不同分化程度的管状腺癌，其核 DNA 含量不同，直方图也随之改变，故借助于显微分光光度计，对核 DNA 含量测定为管状腺癌不同分级提供了客观标准。乳头状腺癌、粘液腺癌核 DNA 含量略高于管状腺癌Ⅰ级，三者无差异，印戒细胞癌核 DNA 含量最低。

恶性肿瘤核 DNA 含量与预后有关，在胃肠道平滑肌肿瘤等我科已有报道[4]，其直方图分布弥散、高峰后移和超过 4C 者预后差，Goh[5] 等认为 DNA 非倍体为预后不良的标志。我们检测的管状腺癌Ⅰ级，除 1 例于术后 1 年内死亡外，4 例已分别术后 6～12 年健在。而死亡的 1 例，核 DNA 含量均值为 25.93±7.37 Au，明显高于均值，与管状腺癌Ⅰ级均值相近。Ⅰ级 3 例分别术后 9 个月～3 年 4 个月内死亡，2 例术后 6、10 年以上健在，而 10 年以上的这 1 例，DNA 均值为 24.57±5.41 Au，较其他例为低。管状腺癌Ⅲ级，4 例于术后 7 个月～3 年内死亡，1 例术后 5 年健在。此组是大肠癌中核 DNA 含量最高，分布最弥漫的一组，此结果与文献相一致[6]。

乳头状腺癌与粘液腺癌情况相似，乳头状腺癌中有 2 例术后 4 个月、2 年内死亡，3 例已术后 5、8、11 年健在；粘液腺癌组中 4 例术后 1、3、4、8 年内死亡，1 例术后 8 年健在。印戒细胞癌 3 例术后 3 个月～1 年内死亡，2 例术后 1～5 年健在。印戒细胞癌核 DNA 含量虽最低，但预后却最差，核 DNA 含量不能反映生物学行为，可能与核体积小，半月状有关，有待进一步探讨[7]，故印戒细胞癌 DNA 含量不能作为判断预后的指标。

以上结果表明：大肠癌细胞核 DNA 含量增加，倍体增多，且其直方图高峰随肿瘤细胞分化程度而改变，分化越差，高峰后移，而范围增宽、弥散，预后也越差。本检测结果显示大肠癌核 DNA 含量可为临床判断预后提供客观的参考指标。

参考文献

1. Friedlander ML, Hedley DW, Taylor LW, et al. Clinical and biological significance of aneuploidy in

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

human tumors. J Clin Pathol, 1984; 37: 961
2. Forsslund G, Cedermark B, Öhman U, et al. The significance of DNA distribution patterm in rectal carcinoma. Dis Colon Rectal, 1984; 27: 579
3. Barlogie B, Drewinho B. Cellular DNA content as a marker of neoplasia in man. Am J Med, 1980; 69: 195
4. 柳凤轩 贺光友 李才安，等。胃肠道平滑肌肿瘤细胞核 DNA 含量测定研究。中华肿瘤杂志，1989；11(1)：16
5. Goh H, Jass TR. DNA Content and adenomacorcinoma sequenee in the colorectum. J Clin Pathol, 1986; 39: 387
6. 王鲁平 曹希贤 邢惠清，等。大肠良恶性肿瘤 DNA 含量分析。中华病理学杂志，1992；1：47
7. 李义清 宋伯根 朱清岩，等。胃印戒细胞癌的形态发生、肿瘤标志及 DNA 含量分析的研究。中华病理学杂志，1992；1：17

(收稿：1992-04-15；修回：1992-07-30)

Study on nuclear DNA content of colorectal carcinoma and its prognostic significance

Zhu Yinggui, Niu Fengxuan, He Guangyou, et al (Department of Clinical Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The DNA content was quantitively determined in 30 specimens of colorectal carcinoma including 15 cases of tubular adenocarcinoma (TAC, 5 cases each of grade Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ respectively), 5 cases of papillary adenocarcinoma (PAC), 5 cases of mucoid adenocarcinoma (MAC) and 5 cases of signet-ring cell carcinoma (SCC), and 5 specimens of normal colonic nucosa with microspectro-photometry.

The average DNA contents of different tissues were as follows:

Normal colonic mucosa:	13.54±1.76 Au.
TAC-Ⅰ:	22.62±3.36Au.
TAC-Ⅱ:	26.41±0.70Au.
TAC-Ⅲ:	31.12±2.32Au.
PAC:	27.22±1.41Au.
MAC:	27.94±2.41Au.
SCC:	20.04±3.40Au.

The difference of DNA contents of various types of carcinoma with normal mucosa, and that of TAC-Ⅰ and SCC with TAC-Ⅲ, PAC and MAC was statistically very significant ($P<0.01$), and that of TAC-Ⅱ with TAC-Ⅰ, PAC and MAC was significant ($P<0.05$).

Followup study of these cases revealed that the higher the DNA content, the wider the distribution range, and more leftward shift of the peak value, the poorer the prognosis. Laboratory study revealed that the DNA content of colorectal carcinoma can be used as an objective reference for prognosis and TAC grading.

Key words intestinal neoplasms; intestine, large; DNA content; prognosis

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