DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.03.013

星形细胞瘤瘤细胞核 DNA 含量测定的研究

卞修武 柳凤轩* 史景泉 (第三军医大学训练部病理学教研室) 630038

提 要 本文对 36 例有明确随访资料的星形细胞瘤(Ⅰ、Ⅱ级各 10 例,Ⅲ、Ⅳ级各 8 例)外检标本的 Feulgen 染色切片采用显微分光光度计进行星形细胞核面积和 DNA 含量的测定。结果显示,星形细胞瘤Ⅰ级与胶质细胞增生组核面积之间无显著差异,但 DNA 含量明显高于后者,直方图分布也有明显不同;各级瘤细胞核面积随级别增高而增大,DNA 含量递增,峰值后移且分散;随着 DNA 指数增大,患者生存率曲线下移,生存期显著缩短。研究表明,DNA 含量测定可做为胶质细胞增生和星形细胞瘤Ⅰ级鉴别诊断的辅助手段,并能较客观地反映星形细胞瘤的分化程度及和预后的关系。

关键词 星形细胞瘤;脱氧核糖核酸/分析;预后

研究瘤细胞核 DNA 含量对于了解肿瘤细胞动力学、分化程度及预后情况具有重要意义[1,2]。近几年来,这方面的报道日益增多,但采用人脑星形细胞瘤组织切片的研究尚少[3],特别是在分级和预后判断方面;国内尚未见详细报道。本文对星形细胞瘤外检标本进行细胞核面积和 DNA 含量测定,旨在探讨二者的变化规律及其与肿瘤分级、预后的关系。

1 材料与方法

材料来自我校西南医院、新桥医院 1977～1987 年脑外科手术标本。从 243 例胶质瘤中随机选择有完整随访资料、组织学结构典型的星形细胞肿瘤 36 例(Ⅰ、Ⅱ级各 10 例,Ⅲ、Ⅳ级各 8 例);另用正常脑组织和胶质细胞增生各 5 例做为两组对照。石蜡切片进行 Feulgen 染色,条件控制一致。采用 Leitz MPV-3 型显微分光光度计镜扫描法进行样本吸光率测定。波长=560nm,物镜放大 63 倍,扫描光栏直径 0.05nm;测定阈值:Low=5,Mean=15。每例切片于组织学典型区域随机选择高倍视野约 20 个,每个视野中选择测定异型性大且无重叠的星形细胞 5 个(见附表)。另在每级瘤组织中随机测定小淋巴细胞核 50 个,共 200 个,取其 DNA 含量均值做为正常二倍体(2C)细胞核 DNA 含量均值的参照值;每例 DNA 含量分布的峰值除以此均值即为该例 DNA 指数(Index of DNA,ID)[2,3]。测定值以任意单位(AU)表示,数据存入计算机并进行显著性检验。对不同 ID 组的随访资料采用 Kaplan-Meier 生存率曲线法进行比较和统计学处理。

所用肿瘤的诊断均经免疫组化染色证实(抗 GFAP、S-100 蛋白和 Vimentin 呈不同程度的阳性)。

2 结果

2.1 核面积

结果见附表。其中增生组均值显著高于正常组

附表 星形细胞及星形细胞瘤核面积和 DNA 含量($\bar{x}\pm s$,AU)

分组	细胞数(n)	核面积	DNA 含量
正常	447	28.03±7.20	9.04±2.29
		(27.36,28.70)	(8.82,9.26)
增生	500	36.03±6.61*	9.96±2.11
		(35.45,36.61)	(9.73,10.09)
星形细胞瘤			
Ⅰ级	995	35.49±9.45*	13.08±2.77
		(34.90,36.00)	(12.91,13.25)
Ⅱ级	1010	52.36±9.72	20.44±4.97
		(51.71,52.96)	(20.13,20.75)
Ⅲ级	802	67.39±12.13	30.30±7.97
		(66.55,68.23)	(29.75,30.86)
Ⅳ级	800	98.43±23.97	47.76±12.96
		(96.70,100.07)	(46.86,48.66)

注:括号内为 95%置信区间;*统计无显著差异($P>0.05$)

* 西南医院病理科

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

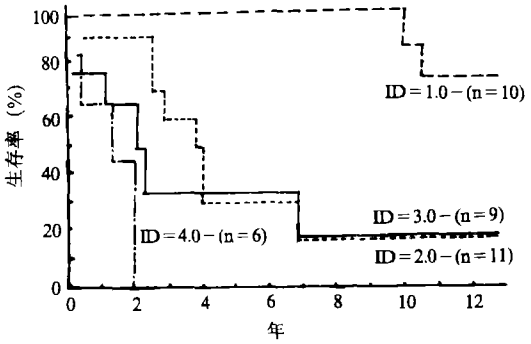
($P<0.01$)，但与星形细胞瘤Ⅰ级之间无显著差异（$P>0.05$）。各级肿瘤组均值之间差异显著($P<0.01$)，且随级别增高而增大，其 95%置信区间彼此互不重叠。

2.2 核 DNA 含量

正常小淋巴细胞核 DNA 含量相对值为 8.82±1.50($\bar{x}\pm s$)。正常组 86.1%的星形细胞为 2C 细胞，低于和高于 2C 的细胞分别占 5.6% 和 8.3 %。增生组星形细胞级以 2C 细胞为主(82.4%)，低于和高于 2C 者分别占 1.4%和 16.2%，后者包括一些 3C 细胞，个别细胞达 4～6C。其均值显著高于正常组($P<0.01$)。各级星形细胞瘤 DNA 含均值之间差别显著，且均高于正常组和增生组(均$P<0.01$)；随级别增高，DNA 含量显著增高(附表)，2C 细胞逐渐减少，代之以多倍体和非整倍体细胞；直方图高峰右移，且分布离散(Ⅰ～Ⅳ级峰值分别位于 2～4C、3～6C、5～8C 和 7～11C)。变异系数(CV)值亦有逐渐增大趋势(Ⅰ～Ⅳ级分别为 21.2%、24.3%、26.3%和 27.1%)，提示各级内 DNA 含量差异增大。

2.3 星形细胞瘤核 DNA 含量对预后的影响

将 36 例肿瘤患者按 ID 分别为 1.0-、2.0-、3.0-和 4.0-分为 4 组，其生存率曲线见附图。



附图 不同 ID 组生存率曲线

4 组患者生存期之间相差显著($P<0.01$)，其中 ID=1.0-组长于 ID=2.0-组，后者长于 ID=4.0-组，而 ID=3.0-组与 ID=4.0-组之间无显著性差别 ($P>0.05$)。

3 讨论

星形细胞瘤的分型、分级较为混乱，意见不一[4]。由于常规形态观察中存在一定的主观因素，常常很难区分非瘤性胶质细胞增生与星形细胞瘤Ⅰ级或确切地进行分级。从我们所获得 149 例星形细胞瘤的随访资料表明，患者的预后在不同级别之间有显著差别[4]。因此，寻求一种能反映星形细胞瘤恶性程度的客观指标无疑很有意义。

近年来，不少作者报道核 DNA 含量与细胞的分化程度有密切关系[1,2,5]，并可做为不典型增生和肿瘤分级的指标。有人还发现[2,6,7]，在卵巢癌、乳腺癌、淋巴瘤等肿瘤中瘤细胞核 DNA 含量与预后有关系，可做为判断预后的指标之一。而 Julisova 等对儿童不同部位的星形细胞瘤Ⅰ～Ⅱ级核 DNA 含量的研究发现，DNA 含量虽与镜下分级相关，但与患者术前病程无关[8]。

本组材料的测定结果表明，增生性星形细胞的核面积和 DNA 含量均较正常脑星形细胞显著增加，这种变化可能是星形细胞对损伤的一种反应。增生组与Ⅰ级星形细胞瘤之间虽然核面积无显著差异，但二者 DNA 含量差异显著，直方图亦有明显不同，此对二者的鉴别诊断有重要作用。核面积、核 DNA 含量与星形细胞瘤的级别之间有密切联系，随级别增高，核面积增大，DNA 含量增加；DNA 含量分布范围逐渐扩大，高峰右移且分散，多倍体、非整倍体细胞增多。这些特性与其他肿瘤类似[9,10]。可见，瘤细胞核面积和 DNA 含量测定在星形细胞瘤分级上有一定的参考与辅助价值。本结果还表明，瘤细胞核 ID 对患者的生存率曲线有明显影响；ID 增大，曲线下移，生存期显著缩短，提示 ID 对于分析、判断预后也有一定意义。由于本材料例数较少，其结果尚待进一步探讨。

由于星形细胞瘤瘤组织中常存在大量增生的血管及出血甚至坏死，特别是分化低的星形细胞瘤，而这些内皮细胞的 DNA 含量和分布与瘤细胞不同[3]，因此在测定时一定要避开这些区域。我们认为，采用显微分光光度计测定核

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

DNA 含量能满足这一要求，且具有方便、简单、直观等优点，可避免流式细胞计测定时缺乏组织学对照的弊病。

参考文献

1. Hall TL, Fu YS. Application of quantitative microscopy in tumor pathology. Lab Invest 1985;53:5
2. Rutger DH, Wils IS, Schaap AH, et al. DNA flow cytometry, histological grade, and age as prognostic factors in human epithelial ovarian carcinomas. Path Res Pract 1987;182(2):207
3. Davenport RD, Mckeever PE. Ploidy of endothelium in hith-grade astrocytomas. Anal Quant Cytol Histol 1987;9(1):25
4. 卞修武 史景泉 柳凤轩。243 例脑胶质瘤免疫组织化学及超微结构观测与预后探讨。中华病理学杂志 1992;21(3):171
5. Davenport RD, McKeever PE. DNA content and marker expression in humor glioma explants. Acta Neuropathol (Berl)1987;74:362
6. Kallionicemi OP, Blanco G, Alavaikko M, et al. Tumor DNA ploidy as an independent prognostic factor in breast cancer. Br J Cancer 1987;56(5):637
7. Baak JP. Quantitative pathology today—A technical view. Path Res Pract 1987;182(3):396
8. Julisova I, Julis I. Cytometry of astrocytomas grade I ~II in children. Path Res Pract 1987;182(4):506
9. Avtandilov GG. Perspectives on the use of microspectrophotometry in the diagnosis of pretumo-rous processes and malignant tumors. Cancer 1976;38:254
10. 吴爱如。用 FCM 测定人类宫颈上皮及宫颈癌细胞 DNA 含量并分析其在预后中的意义—Ⅰ结果。中华肿瘤杂志 1988;10(3):194

(收稿:1991-09-04;修回:1991-12-25)

Determination of cellular nuclear DNA content in astrocytomas

Bian Xiuwu, Liu Fengxiuan, Shi Jingquan (Department of Pathology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract Thirty-six cases of astrocytoma (10 cases each of grade Ⅰ and grade Ⅱ, and eight cases each of grade Ⅲ and grade Ⅳ) with definite followup data were studied with microspectrophotometry on Feulgen stained slides to determine the nuclear area and the DNA content. 10 specimens of normal brain tissue or brain tissue with gliosis were observed with the same technique. It was found that there was no significant difference of the nuclear size between the cells of grade Ⅰ astrocytoma and those with gliosis, but the DNA content was significantly higher in the former than in the latter. And there was also defference of the histograms between the 2. The higher the grading of astrocytoma, the larger the nuclear area, and the higher the DNA content. The peak values of the histograms were shifted rightward with a scattering of the values. In addition, along with the increase of DNA index, there was a decline of the survival curve of the patients with an obvious shortening of the survival time. The findings suggest that nuclear DNA quantitation can serve as an auxillary tool to differentiate grade Ⅰ astrocytoma from gliosis, to grade astrocytomas and to predict the prognosis.

Key words astrocytoma; DAN/AN; prognosis

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