DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.06.027

应用流式细胞仪对肺癌细胞增殖活力的分析

刘国祥 沈宽放 吴 善 (第三军医大学西南医院呼吸科) 630038

摘 要 本文应用流式细胞仪对 35 例肺癌、10 例良性病变肺组织及 10 例正常肺组织的细胞增殖活力(S%)进行了分析,结果显示肺癌组织细胞增殖活力非常显著高于良性病变组,良性病变组细胞增殖活力亦非常显著高于正常组,提示检测细胞增殖活力对肺癌的诊断、筛选有一定意义。

关键词 肺肿瘤;细胞增殖活力;流式细胞仪

细胞增殖活力(S%)即细胞增殖周期时相中 S 期细胞占所有各期细胞总数的百分比,反映了该细胞的增殖程度。流式细胞仪的应用,使得 S%的计算变得快速、精确、重复性好。本文通过对 35 例肺癌细胞 S%的分析,探讨其在临床病理诊断中的意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 肺癌组:35 例,男 28 例,女 7 例,年龄 43～75 岁,平均 54.24 岁;组织类型[1]:鳞癌 19 例,腺癌 13 例,小细胞癌 3 例;病理分级:Ⅰ级 9 例,Ⅱ级 11 例,Ⅲ级 7 例;TNM 分期[2]:Ⅰ期 16 例,Ⅱ期 5 例,Ⅲ期 8 例。全组病例均有病理学诊断依据,术前未行放疗或化疗。

1.1.2 肺部良性病变组:10 例,男 6 例,女 4 例,年龄 30～68 岁,平均 45.24 岁;其中肺结核 5 例,炎性假瘤 4 例,支气管扩张 1 例,均有病理学诊断依据。

1.1.3 正常肺组织组:10 例,均为男性,年龄 30～40 岁,采自意外伤亡者。常规大体及光镜检查均未见异常。

以上标本均离体后立即取材,然后常规石蜡包埋保存。

1.2 细胞增殖活力的测定

1.2.1 单细胞悬液制备[3]:将组织蜡块连续切片,厚度为 50μm,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化后,再由胃蛋白酶消化,离心沉淀,去掉细胞碎片,然后以 100 目筛孔去掉未消化组织残块,加入 70%乙醇固定,放入 4℃冰箱备测。

1.2.2 染色:单细胞悬液调整到细胞数为 10^5/ml,经溴化乙啶(10μg/ml)、RNA 酶(10μg/ml)、Triton-X 100(1.0%)染色 30min 即可上机检测。

1.2.3 测定:应用荧光激活细胞分选仪(FACS 420 型),以波长 488nm,功率 300mW 氩离子激光为激发光源,细胞发出信号以组方图、数字形式在多道脉冲分析仪上显示,所得数据输入 HP-310 计算机,最后得出 DNA 合成期(即 S 期)细胞占所有各期细胞总数的百分比,即细胞增殖活力(S%)。

2 结果

2.1 不同肺组织细胞增殖活力(表 1)

表 1 不同肺组织细胞增殖活力

分组	例数	$\bar{x}\pm s$	P 值
正常组	10	10.35±1.91	
良性病变组	10	13.88±2.93	<0.01△
肺癌组	35	19.11±4.62	<0.01△※

注:△与正常组比较 ※与良性病变组比较

2.2 肺癌组织细胞增殖活力与病理分级、组织类型及 TNM 分期的关系(表 2、3、4)

表 2 肺癌细胞增殖活力与病理分级的关系

病理分级	例数	$\bar{x}\pm s$	P 值
Ⅰ	9	17.50±5.36	
Ⅱ	11	19.21±1.47	>0.05△
Ⅲ	7	21.28±3.84	>0.05△※

注:△与Ⅰ级比较 ※与Ⅱ级比较

表 3 肺癌细胞增殖活力与组织类型的关系

组织类型	例数	$\bar{x}\pm s$	P 值
鳞癌	19	19.46±3.92	
腺癌	13	17.36±7.92	>0.05△
小细胞癌	3	24.34±4.17	>0.05△※

注:△与鳞癌比较 ※与腺癌比较

表 4 肺癌细胞增殖活力与 TNM 分期的关系

TNM 分期	例数	$\bar{x}\pm s$	P 值
Ⅰ	16	17.67±3.09	
Ⅱ	5	17.40±4.48	>0.05△
Ⅲ	8	23.69±6.19	>0.05△※

注:△与Ⅰ期比较 ※与Ⅱ期比较

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

3 讨论

以 DNA 含量或倍体率作为肺癌临床病理诊断的指标，目前已取得一致的意见[4]，但对细胞增殖活力(S%)研究较少。细胞增殖活力越高，该细胞的增殖程度越大。本研究显示，肺癌细胞 S%非常显著高于正常及良性病变肺组织细胞，再次证明了肺癌细胞增殖程度大于正常及良性病变肺组织细胞。若以 S%≥14.09(正常值+1.96×标准差)作为诊断肺癌的标准，敏感性为88.59%，特异性为75.00%，准确性为 83.66%。说明 S%是一个较好的诊断或筛选肺癌的指标。此指标可以弥补单纯形态学诊断的局限性，尤其对其某些有争议的形态学改变进行 S%分析更具有意义。若能对支气管灌洗液、胸水以及针吸活性组织细胞进行 S%分析，可以较快地得出有价值的诊断线索。若把 S%与 DNA 含量及倍体率结合起来，其诊断价值更高[5]。

本文发现，良性病变组 S%虽显著低于肺癌组，但却非常显著高于正常组，说明长期炎性刺激可使组织细胞增殖活力提高。动物实验表明，S 细胞对致癌因子较敏感，S 期细胞比例增高时，在致癌因子作用下，癌的发生率明显增高[6]。因此，对一些细胞增殖活力(S%)很高的良性病灶应有所警惕，密切随访，对早期发现其恶变可能有实际意义。

本文结果还可以看出，随着肺癌病理分级、TNM 分期的增加其细胞增殖活力(S%)也有增高趋势，但未达到统计学上显著意义，可能与样本数量偏少有关，至于它们之间的确切关系有待于进一步研究。

参考文献

1. World Health Organization. Histological typing of lung tumors. Am J Clin Pathol, 1982; 77: 123～126
2. 陈国桢 主编。内科学。北京：人民卫生出版社，1986: 114
3. 左连富 刘洪祥 郭建文，等。流式细胞术检测石蜡包埋肿瘤细胞 DNA 含量的样品制备方法。中华病理杂志，1988; 17: 232
4. Sahin AA, Ro JY, El-Naggar AK, et al. Flow cytometric analysis of the DNA content of non-small cell lung cancer. Cancer, 1990; 65: 530～537
5. Kuo SH. Cytophotometric measurements of nuclear DNA content of brongenic carcinoma. Diagnostic value on benign and malignant brochial lesions. J Foremosan Med Assoc, 1985; 84: 785～789
6. Charnley G, Tannenbaum SR. Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res, 1985; 45: 5608～5616

(收稿：1992-04-08；修回：1992-06-19)

Determination of cellular proliferative activity of lung cancer with flow cytometry

Liu Guoxiang, Shen Hanfang, Wu Shan (Department of Respiratory Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The cellular proliferative activity (CPA) of the surgical specimens of 35 patients with lung cancer, 10 patients with benign lesions of the lungs, and 10 normal subjects was studied with flow cytometry. It was found that CPA was significantly higher in lung cancer than in benign pulmonary lesion and it was significantly higher in benign pulmonary lesion than in the normal lungs. The finding suggests that CPA is useful in the screening of lung cancer patients.

Key words lung neoplasms; cellular proliferative activity; flow cytometry

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