DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.02.001

论 著

胃粘膜癌前病变的粘液组化、免疫组化及流式细胞DNA定量的研究

李春启 刘为纹 王伯欧* 李继昌* （第三军医大学西南医院 消化科） 630038

提 要 I_b型肠化生MG_7-Ag表达阳性率显著地高于其它型肠化生（$P<0.05$）；伴异型增生的II_b型肠化生MG_7-Ag阳性率、DNA非整倍体检出率、S及G_2+M期细胞比率又显著高于II_b型肠化生（$P<0.05$、$P<0.01$），前者可能有高度恶变倾向。结果支持由萎缩性胃炎，II_b型肠化生，异型增生到胃癌的系列演变过程。

关键词 癌前状态；胃肿瘤；脱氧核糖核酸；粘液

本文应用粘液组织化学、抗人胃癌单克隆抗体MG_7的ABC免疫组织化学和流式细胞DNA定量的方法，观察胃粘膜肠化生和异型增生组织中粘液分泌、胃癌相关的MG_7-Ag表达和DNA含量的变化，藉此进一步阐明肠化生、异型增生与胃癌发生的关系，为预测胃癌前病变的演变规律及临床确定胃癌高危人群提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

168例胃粘膜活检肠化标本按基础病变的不同分为3组：萎缩性胃炎95例，异型增生44例，胃癌旁粘膜29例。

1.2 主要试剂和仪器

抗人胃癌单克隆抗体MG_7由第四军医大学西京医院消化病实验室惠赠；生物素标记的马抗鼠IgG和ABC液为Vector公司产品；流式细胞仪FACS-420型。

1.3 方法

标本经10%甲醛溶液固定，石蜡包埋，每例标本连续切片4张（厚5μm），1张行HE染色用于常规病理诊断，2张行AB(pH2.5)/PAS和HID/AB (pH2.5)两种粘液组化染色，1张作ABC免疫组化染色。其中36例标本再行30～50μm厚切片用于流式细胞DNA测定。肠化生被区分为完全小肠型（I_a）、完全结肠型（I_b）、不全小肠型（I_a）和不全结肠型（I_b）[1]。将前3型统称为非不全结肠型（N-I_b）。免疫组化染色按作者报道的方法进行[2]，用PBS代替第一抗体作为空白对照，切片中呈现棕色颗粒者判为MG_7-Ag标记阳性。流式细胞仪DNA测定方法见文献[3]。病理学诊断与分级按全国胃癌研究协作组制定的标准（内部资料，1980）判定。

1.4 统计学处理

粘液组化和胃癌单克隆抗体MG_7免疫组化的染色结果采用X^2检验进行资料分析。流式细胞仪DNA定量测定的资料处理方法见文献[4]。

2 结 果

2.1 粘液组化染色结果

2.1.1 不同类型肠化在各病变中的分布（表1）

I_b型肠化在异型增生和癌旁粘膜的检出率显著高于萎缩性胃炎组（$P<0.01$），而前两组间差异无显著性（$P>0.05$）。

2.1.2 伴异型增生的肠化生分型与分级比较

44例伴异型增生的肠化中，属I_b型者24例，N-I_b型者20例（I_a 6例、I_b 4例、I_a 10例）。伴异型增生的I_b型肠化多为中、重度异型增生（22/24，91.7%）；伴异型增生的N-I_b型肠化多

* 河南医科大学第一附属医院内科

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

表1　不同类型肠化在各组病变中的分布

组　别	肠化类型				例　数
	I_a(%)	I_b(%)	$\mathbf{I}_a$(%)	$\mathbf{I}_b$(%)	
萎缩性胃炎	27(28.4)	16(16.8)	36(38.0)	16(16.0)	95
异型增生	6(13.6)	4(9.1)	10(22.7)	24(54.6)	44
癌旁粘膜	4(13.8)	3(10.4)	7(24.1)	15(51.7)	29
合　计	37	23	53	55	168

为轻度异型增生（13/20，65.0%）。$\mathbf{I}_b$型较N-$\mathbf{I}_b$型肠化容易发生异型增生。两组比较差异有显著性（$P<0.05$）。

2.2　胃癌单抗MG_7的免疫组化染色结果

2.2.1　不同类型肠化中MG_7-Ag阳性检出率

$\mathbf{I}_b$型肠化中MG_7-Ag阳性检出率（47.3%）显著地高于I_a（29.7%）、I_b（26.1%）、$\mathbf{I}_a$（28.3%）组（$P<0.05$），而后3组间差异无显著性（$P>0.05$）。

2.2.2　伴异型增生的肠化生MG_7染色结果

伴异型增生的$\mathbf{I}_b$型肠化生MG_7-Ag阳性率为62.5%（15/24），伴异型增生的N-$\mathbf{I}_b$型肠化生MG_7-Ag阳性率为30.0%（6/20），两组比较差异有显著性（$P<0.05$）。

2.3　流式细胞计DNA定量分析结果

2.3.1　DNA含量组方图

正常胃粘膜和N-$\mathbf{I}_b$型肠化均为二倍体型（图1）。8例$\mathbf{I}_b$型肠化中，7例为二倍体型，1例为不规则的非整倍体型(图2)。8例伴异型增生的$\mathbf{I}_b$型肠化DNA组方图可分为两型：（1）二倍体型3例，病理诊断均为轻、中度异型增生；（2）非整倍体型5例。典型非整倍体组方图呈现两个或两个以上主峰，不规则型表现为底宽不对称，峰顶分裂(图3)，此型病理诊断均为中、重度异型增生。8例胃癌中，二倍体型2例，非整倍体6例（图4，A为非整倍体峰）。DNA非整倍体检出率，伴异型增生的$\mathbf{I}_b$型肠化组（62.5%）与胃癌组（75.0%）显著地高于$\mathbf{I}_b$型肠化组（$P<0.05$），而前两组间差异无显著性（$P>0.05$），$\mathbf{I}_b$型肠化组（12.5%）显著地高于正常胃粘膜和N-$\mathbf{I}_b$型肠化组（$P<0.01$）。

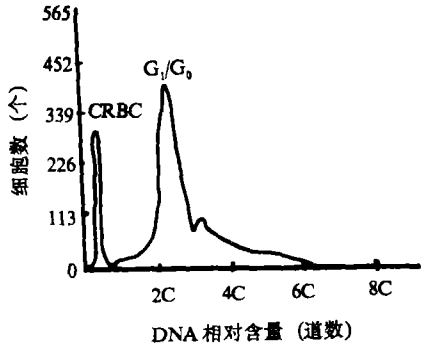


图1　正常胃粘膜细胞DNA含量组方图

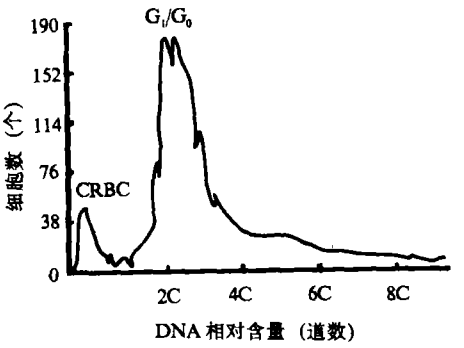


图2　不全结肠型肠化生细胞DNA含量组方图

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

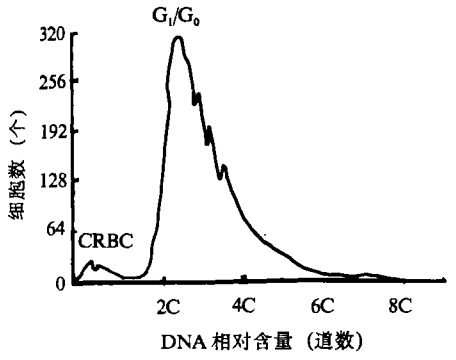


图 3 伴异型增生的不全结肠型肠化生DNA含量组方图

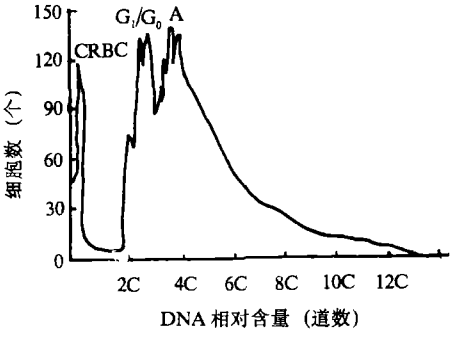


图 4 胃腺癌细胞DNA含量组方图

2.3.2 细胞周期分析（表2）

表中显示G_1/G_0期细胞比率，胃癌和伴异型增生的I_b型肠化组较I_b型肠化为低（$P<0.01$），I_b型肠化组又低于N-I_b型肠化组（$P<0.05$）。但增殖期细胞（S及G_2+M）比率，胃癌及伴异型增生的I_b型肠化组显著高于I_b型肠化组（$P<0.01$），I_b型肠化组又显著地高于N-I_b型肠化组（$P<0.05$），N-I_b型肠化组与正常胃粘膜组间以及胃癌与伴异型增生的I_b型肠化组间差异均无显著性（$P>0.05$）。

表2 细胞周期分析

组别	例数	DNA含量（$\bar{x}\pm s$）			P
		$G_1/G_0=2C$	S	$G_2+M=4C$	
正常胃粘膜	4	87.7±3.8	8.3±2.9	3.7±2.3	
非不全结肠型肠化	8*	84.4±3.4	9.6±3.1	6.0±2.9	>0.05
不全结肠型肠化	8	80.6±3.2	12.7±2.9	6.7±2.7	<0.05
伴异型增生的不全结肠型肠化	8	74.3±3.6	14.3±3.2	11.4±2.3	<0.01
胃癌	8	72.8±3.8	16.9±3.7	10.3±3.0	>0.05

*$I_a=2$ $I_b=3$ $I_a=3$

3 讨论

本组不全结肠型肠化生多见于异型增生和癌旁粘膜，胃癌相关的MG_7-Ag表达阳性率、DNA非整倍体检出率及S期细胞比例均显著地高于非不全结肠型肠化组，说明不全结肠型肠化生分化不良，DNA合成及细胞分裂增殖功能旺盛，在致癌因子的作用下可能容易癌变。

Hattori等[5]应用^{3}H-TdR放射自显影观察异型增生胃粘膜增殖情况时发现，肠化位于腺管的中、下部，而异型增生位于腺管的上部，两者都发生于肠化腺管的增殖带，有的异型增生灶与不完全型肠化相似。Falck等报告，不全结肠型肠化生在异型增生组织的检出率为55%，认为该型肠化生容易发生异型性改变[6]。本研究中，不全结肠型肠化生在异型增生组织中的检出率为54.6%，与在癌旁的检出率相近似（$P>0.05$）；在抗原性方面，伴异型增生的不全结肠型肠化组MG_7-Ag阳性率显著高于不全结肠型肠化组（$P<0.05$）；在细胞遗传特性上，DNA非整倍体检出率和增殖期细胞比率，由非不全结肠型肠化→不全结肠型肠化→伴异型增生的不全结肠型肠化→胃癌呈递增性变化。伴

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

异型增生的不全结肠型肠化组DNA非整倍体检出率显著高于不全结肠型肠化组（$P<0.05$），前者的DNA含量组方图多数呈胃癌样改变，S及G_2+M期细胞比率亦显著高于不全结肠型肠化组而类似于胃癌组，说明就细胞生物学和遗传物质改变而言，虽然不全结肠型肠化较其它型肠化在性质上接近于胃癌，但真正的癌前病变可能属于伴异型增生的不全结肠型肠化生，即不全结肠型肠化生经异型增生阶段而恶变为癌。结果支持由萎缩性胃炎，不全结肠型肠化，异型增生到胃癌的系列演变过程。对胃粘膜活检组织联合应用病理组织学诊断和粘液组化染色，其中伴有异型增生的不全结肠型肠化生可能有高度恶变倾向，应密切加以随访。

参 考 文 献

1. 房殿春　刘为纹。不同类型肠化上皮中癌胚抗原的免疫组织化学研究。中华消化杂志 1988；8（3）:144
2. 李春启。石蜡切片单克隆抗体PAP染色法探讨。河南医科大学学报 1989；24（4）:340
3. 左连富　刘洪详　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。中华病理学杂志 1988；17（3）:232
4. 左连富　高国栋　郭建文。胃癌前病变细胞DNA倍体的研究。中华肿瘤杂志 1991；13（3）:180
5. Hattori T, Fujita S. Tritiated thymidine autoradiographic study on histogenesis and spreading of intestinal metaplasia in human stomach. Path Res Pract 1979; 164:224
6. Falck VG, Novelli MR, Wright NA, et al. Gastric dysplasia: inter-observer variation, sulphomucin staining and nucleolar organizer region counting. Histopathology 1990; 16:141

（收稿：1991-06-24；修回：1991-09-10）

A study of precancerous gastric lesions with mucohistochemistry, immunohistochemistry and cell DNA quantitative analysis

Li Chunqi, Liu Weiwen, Wang Baiou, et al (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract One hundred and sixty-eight specimens of precancerous lesions of gastric mucosa were studied with mucohistochemistry, and ABC immunohistochemistry stains of MG_7 which is a monoclonal antibody against human gastric cancer (GC). In addition, quantitative analysis of cell DNA was performed with flowcytometry in 36 specimens. It was found that the incidence of type I_b intestinal metaplasia (IM) was significantly higher in dysplasia and in the mucosa adjacent to GC than in chronic atrophic gastritis (CAG), and the positive rate of MG_7-Ag in type II_b IM was significantly higher than that in type I_a, I_b and II_a IM. Type II_b IM could degenerate into dysplasia. MG_7-Ag positive rate, DNA aneuploid rate and the percentage of S and G_2+M cells were significantly higher in type II_b IM with dysplasia than in simple type II_b IM. These findings support the supposed progressive course of CAG →type II_b IM→dyspalsia→GC, and type II_b IM with dysplasia is closely associated with GC.

Key words precancerous conditions; stomach neoplasms; DNA; mucuc

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