DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.01.009

喉鳞状细胞癌细胞核DNA含量的研究

蔡铀庆Δ 朱以钊* 袁伯庆* （第三军医大学新桥医院 耳鼻喉科） 630037

提 要 本文采用MPV-Ⅱ型显微分光光度计（microspectrophotometry，MSPM）探讨了33例喉鳞状细胞癌细胞核DNA含量的变化规律。结果发现，其胞核DNA含量总体均值及标准差为26.29±12.84；癌细胞平均DNA指数和超四倍体细胞出现率的95%正常值范围之下限各为2.02%和34.55%，以此做为诊断喉癌的DNA标准。本文探讨了喉癌的细胞分布和DNA指数、超四倍体细胞出现率、S期细胞所占的比例在反映喉癌生物学特性上的意义以及它们与喉癌病理分级之间的关系。

关键词 喉鳞状细胞癌；细胞核DNA含量；DNA指数；超四倍体

喉癌为头颈部常见恶性肿瘤之一，占全身恶性肿瘤发生率的1%～5%，且约90%为鳞状细胞癌[1]。目前，喉癌的诊断主要依据光镜下细胞形态学观察，缺乏定量性诊断标准。人们知道，肿瘤的发生其分子基础在于细胞核内DNA分子质和量的异常。因此，测定喉癌细胞核内DNA含量无疑有着重要的意义。本文采用MSPM探讨喉癌细胞核DNA含量的变化规律，旨在从DNA水平了解喉癌细胞的生物学特性，为其客观、科学的定量诊断提供依据。

1 材料与方法

1.1 本文33例标本为1983年至1989年病理诊断为喉鳞状细胞癌的石蜡包埋标本。每例标本常规切片2张，均厚5μm，分别行HE和Feulgen氏染色。

1.2 HE染色片光镜下对肿瘤进行病理分级。

1.3 Feulgen染色片采用西德Leitz公司生产的MPV-Ⅱ型MSPM在560nm波片下测定胞核DNA含量。每张片平均随机测定22个小淋巴细胞核DNA含量，取其均值做为正常二倍体细胞对照[2~6]，实验组随机测定50～56个喉癌细胞核DNA含量。为清除标本间细胞核DNA含量个体偏差带来的影响，将喉癌细胞核DNA含量转换为DNA指数（DNA index，DI），$DI=\frac{\text{喉癌细胞核DNA含量均值}}{\text{小淋巴细胞核DNA含量均值}}$。

1.4 所获数据进行统计学处理。

2 结果

2.1 表1为33例喉癌细胞核和小淋巴细胞核DNA含量总体均值（$\bar{x}$）、标准差（s）。MSPM测定的数据为任意单位（arbitrary unit，AU）。

表1 喉癌细胞核和小淋巴细胞核DNA含量的比较

Tab.1 Comparison of Nuclear DNA Conrents Between Laryngeal Cancer Cells and Small Lymphocytes

No of Specimen	Control $\bar{x}\pm s$		Laryngeal Cancer $\bar{x}\pm s$		P^*
33	8.99	2.35	26.29	12.84	<0.01

*：t-Test

Δ研究生； *指导

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

2.2 表2为33例喉癌的细胞分布和增殖指数 (Proliferation index, PI)。DI小于1±1.64×s淋/$\bar{x}$淋者为<G_0/1期细胞，位于1±1.64 s淋/$\bar{x}$淋范围内者为G_0/1期细胞，位于2±1.64 s淋/$\bar{x}$淋范围内者为G_2/M期细胞，介于其间者为S期细胞；DI大于2+1.64 s淋/$\bar{x}$淋者为超四倍体 (hypertetraploid) 细胞，非倍体细胞为超四倍体细胞和S期细胞的总和。$PI=\frac{S+G_2/M}{G_0/1+S+G_2/M}\times 100$[7]。

表2 33例喉癌细胞分布 (%) 和增殖指数 (PI)

Tab.2 Cell-distribution and Proliferation Index (PI) of Laryngeal Cancers

No of Specimen	<G_0/1 (%)	Cell Cycle (%)			Hypertetraploid (%)	Aneuploid (%)	PI
		G_0/1	S	G_2/M			
33	0.11	5.28	6.09	23.21	65.31	71.40	84.72

2.3 表3为33例喉癌各标本的平均DI ($\overline{DI}$)、超四倍体细胞出现率 (%) 及其病理分级结果。

表3 各例喉癌的$\overline{DI}$、超四倍体出现率和病理分级

Tab.3 Mean DI, Ocurring Rate of Hypertetraploid, and Pathological Grading of 33 Specimens of Laryngeal Cancers

No	$\overline{DI}$	ORH(%)	PG	No	$\overline{DI}$	ORH(%)	PG	No	$\overline{DI}$	ORH(%)	PG
1.	2.58	54	Ⅱ	12.	3.01	73.08	Ⅱ	23.	2.75	50	Ⅰ
2.	2.38	45.28	Ⅰ—Ⅱ	13.	3.04	73.08	Ⅰ—Ⅱ	24.	3.17	67.92	Ⅱ
3.	2.88	88.24	Ⅰ—Ⅱ	14.	2.01	41.51	Ⅰ—Ⅱ	25.	2.31	39.29	Ⅰ—Ⅱ
4.	3.02	66	Ⅰ—Ⅱ	15.	3.24	88.68	Ⅱ	26.	3.13	77.36	Ⅱ
5.	2.15	35.29	Ⅰ	16.	3.03	56.60	Ⅰ—Ⅱ	27.	1.85	16.98	Ⅱ
6.	3.24	80.77	Ⅰ	17.	4.55	90.57	Ⅰ—Ⅱ	28.	4.29	96.23	Ⅱ
7.	2.26	42.31	Ⅱ	18.	2.97	75.47	Ⅱ	29.	3.25	83.33	Ⅱ
8.	2.35	42.31	Ⅱ	19.	3.57	76.36	Ⅰ	30.	4.96	96.23	Ⅱ
9.	2.64	55.77	Ⅱ	20.	2.91	66.04	Ⅰ	31.	2.70	56.60	Ⅱ
10.	3.41	92.31	Ⅰ	21.	2.58	50.91	Ⅰ—Ⅱ	32.	2.69	58.49	Ⅱ
11.	2.62	62.26	Ⅰ—Ⅱ	22.	2.87	77.36	Ⅱ	33.	2.90	79.25	Ⅰ—Ⅱ

ORH: Occurring Rate of Hypertetraploid; PG: Pathological Grading

2.4 表4为喉癌病理分级与DI、超四倍体出现率和S期比例(S-phase fraction, SPF)之间的关系。$\overline{DI}$为不同病理分级各喉癌DI均值，超四倍体出现率和SPF同样为各级均值。

2.5 附图为33例喉癌细胞直方图。横座标为DNA含量，纵座标为细胞数。

3 讨 论

喉癌为头颈部常见恶性肿瘤之一。人们知道，肿瘤的发生与细胞核内遗传物质DNA分子质和量的异常有关，其明显突出的特点之一为生长失控，恶性细胞不断生长增殖乃至远处转移。肿瘤此特性的分子基础为基因的扩张和过度表达，势必恶性细胞胞核内DNA含量

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

表 4　33例喉癌病理分级与$\overline{DI}$、超四倍体出现率和SPF之间的关系

Tab.4　Relation of Laryngeal Cancers'PG to Mean DNA Index, ORH, and S-Phase Fraction

	Pathological Grading (PG)				
	I	I-II	II	II-III	III
DI	3.01	2.92	3.03	2.66	2.84
ORH(%)	66.80	67.53	66.42	50.93	66.24
SPF(%)	4.05	6.84	7.33	4.40	4.46
n	6	8	13	3	3

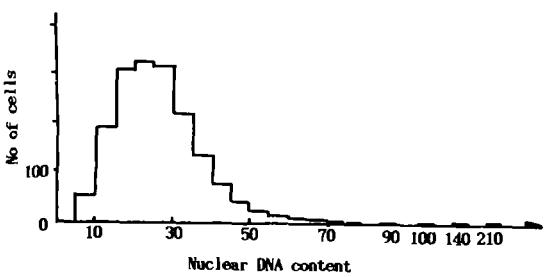
DI: mean of DNA Indexes of specimens with different PG;

ORH: mean of occurring rates of hypertetraploid of specimens with different PG;

SPF: mean of S-Phase Fractions of specimens with different PG;

I: high differentiation; II: moderate differentiation;

III: low differentiation; *n*: number of specimen



附图 33例喉癌细胞直方图

Fig. Histogram of 33 specimens of Laryngea[1] Cancers

异常地增加。此点同样从本研究结果中得到证实：喉癌细胞核内DNA含量非常显著地高于正常对照组的DNA含量，且具有很大的离散性，表现为变异系数高（48.84%）、方差大（164.87）、DI变化范围广（0.43～20.67）和直方图明显加宽。Jakobsson[2]等报道过MSPM测定的2例喉癌细胞DNA含量，除外胞浆中的DNA，与本结果相当。从喉癌各标本的$\overline{DI}$和超四倍体细胞出现率的频数分布（略）可以看出，两者均为偏态分布。因此，两者95%正常值范围之下限分别为2.02%和34.55%（百分位数法计算）。其意义有待进一步探讨。从理论上说，测定细胞核DNA含量较形态学诊断更能早期发现细胞恶变，因为恶变的本质在于细胞核内DNA的变异，而形态学表现只不过是这种本质的外部表像而已，况且从本质到表像的显露需经过一定的时间，包括DNA复制、转录、翻译表达出外部性状所需的时间。因此建立一套早期诊断喉癌的DNA标准是有可能的。Böcking[3]等在这方面的研究给人们展示出诱人的前景。

从表2可以看出，喉癌从总体上说具有超四倍体出现率、非倍体百分率和增殖指数均较高的特性。本文认为超四倍体在反映喉癌细胞生物学特性上较非倍体更有意义，可以做为肿瘤诊断的指标之一。Bjelkenkrantz[6]等将超四倍体视为肿瘤的标志，作者在研究中发现：正常声带上皮和轻度不典型增生上皮无超四倍体细胞出现，而喉癌中则可出现，且出现率明显比中、重度不典型增生喉上皮中出现的高。当然，不少作者[7-10]认为非倍体在反映肿瘤生物学特性上有它的作用，认为非倍体肿瘤复发率、淋巴结转移、向周围组织侵袭性高于二倍体肿瘤，在判断患者预后上由于不同的肿瘤各家治疗方法不同结论不一。前文提到非倍

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

体包括S期细胞和超四倍体细胞，因此难于区分处于S期的正常增殖上皮细胞抑或其他增殖细胞（如组织缺损的修复和其他组织的生理性增补等），而超四倍体不牵涉此问题，且其占非倍体细胞的大多数，与之又有共性。同样，DI和SPF在判断肿瘤患者预后上也有积极的作用[11~13]，DI小、SPF低者预后佳，而DI大、SPF高者预后差。而做为反映癌肿细胞基因扩增和过度表达情况的DI自然可以做为癌肿诊断的理想指标之一。

本文尚探讨了喉癌$\overline{DI}$、超四倍体出现率和SPF与喉癌病理分级之间的关系，经相关性检验发现：喉癌$\overline{DI}$、超四倍体出现率和SPF与喉癌病理分级之间无显著关联（包括正相关和负相关，$P>0.05$）。其原因可能各组例数分布不均衡、有的组例数过少有关。

参考文献

1. 魏能涧。耳鼻咽喉科学。第二版。北京：人民卫生出版社，1986:176
2. Jakobsson PA, Killander PD, Silfversward C, et al. DNA contents of individual cells from squamous cell carcinomas of the larynx and tongue. Cancer 1975;85:1701～1706
3. Böcking A, Auffermann W, Vogel H, et al. Diagnosis and grading of malignancy in squamous epithelial lesions of the larynx with DNA cytophotometry. Cancer 1985;56:1600～1604
4. Barlogie B, Drewinko B, Schumann J, et al. Celluler DNA content as a marker of neoplasia in Man. The American Journal of Medicine 1980;69:195～202
5. Kreicbergs A, Silvfersward C, Tribukait B. Flow DNA analysis of primary bone tumors. Cancer 1984;53:129～136
6. Bjelkenkrantz K, Lundgren J, Olofsson J. Single-cell DNA measurement in hyperplastic, dysplastic and carcinomatous laryngeal epithelia, with special reference to the occurrence of hypertetraploid cell nuclei. Anal-Quant-Cytol 1983;5(3):184～188
7. Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW. Clinical and biological significance of aneuploidy in human tumours. J Clin Pathol 1984;37:961～974
8. Kaketani K. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in esophageal cancer. Cancer 1989;64:887～891
9. Yu JM, Yang Lihua, Cuo Qian, et al. Flow cytometric analysis DNA content in esophageal carcinoma. Cancer 1989;64:80～82
10. Tomita T, Yasue M, Herbert H, et al. Flow cytometric DNA analysis of medulloblastoma. Cancer 1988;61:744～749
11. Holm LE. Cellular DNA amounts of squamous cell carcinomas of the head and neck region in relation to prognosis. Laryngoscope 1982;92:1064～1069
12. Kallioniemi OP, Punnonen R, Mattila J, et al. Prognostic significance of DNA Index, multiploidy, and S-phase fraction in Ovarian cancer. Cancer 1988;61:334～339
13. Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M, et al. Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA Index and S-phase fraction. Cancer 1988;62:2183～2190

（收稿：1990.04.29；修回：1990.12.22）

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

A Study of Nuclear DNA Content of Laryngeal Squamous Cancers

Cai Youqing, Zhu Yizao, and Yuan Boqing. (Department of Ear, Nose, and Throat, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing 630037)

Abstract The nuclear DNA content of 33 specimens of pathologically confirmed laryngeal squamous cancers was determined with a Model MPV-Ⅲ microspectrophotometer (MSPM Leitz Company, West Germany). It was found that the nuclear DNA content of laryngeal squamous cancer was 26.29±12.84($\bar{x}\pm s$), and the normal range of the 95% of the average DNA content and the occurrence of hypertatraploid cells was 2.02% and 34.55% respectively, which were considered as the diagnostic criteria of laryngeal squamous cancers. In addition, the distribution of the cancer cells, and the relation of the DNA content, the occurrence rate of hypertatraploid cells, and the fraction of S-phase cells with the pathological classification of the cancers and their biological characteristics were discussed.

Key words laryngeal squamous cancer; nuclear DNA content; DNA index; hypertatraploid

---

多抗甲素局封斑秃致4例过敏

赵莉蓉 李文维 蔡国芳（大坪医院 皮肤科）

近1年来我科用多抗甲素局封治疗斑秃近百例，疗效明显，但近期遇到过敏反应4例，报道如下：

1 一 般 情 况

男女各2例，年龄25岁～28岁，注射次数2～5次。

2 临床表现

4例患者均于局封后2 min～3min即出现胸闷、气紧、喉梗、呛咳、打喷嚏、流涕等不适，其中1例还出现局部发痒，全身起风团。有2例经注射地塞米松5 mg，1例注射肾上腺素1 mg，1例注射地塞米松、肾上腺素、苯海拉明后症状逐渐缓解，30min后症状完全消失。反应过程中测血压、脉搏均正常，呼吸稍急促。

追问病史，4例患者均无药敏史。

3 讨 论

多抗甲素是免疫增强剂，它是α-溶血性链球菌33*菌株经深层培养提练精制而得到的1种多糖类物质。能改善和增强机体免疫功能和应激能力，有抗炎作用。故我科用来治疗斑秃疗效显著。但本品对少数患者有一过性发热，起皮疹的副作用。我科仅出现4例过敏反应，但临床表现较为严重，以喉头水肿及胃肠型荨麻疹等为主要表现。在今后使用中应引起注意。此4例患者均系2次以上注射，对多次注射此药患者应常规备用急救药，一旦发生反应，立即使用肾上腺素或地塞米松治疗，能很快缓解症状。

（收稿：1990.02.28；修回：1990.12.25）

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