DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.06.015

丁酸引起人肺巨细胞癌胞核超微结构变化的定量分析

——数字图象处理

仇玉福 余立清（病理学教研室）

朱庆华 严慕陵（重庆大学无线电系）

提 要 本文旨在应用数字图象处理技术研究丁酸对人肺巨细胞癌PLA-801D细胞株胞核超微结构的影响。癌细胞在含2 mmol丁酸的条件下培养4天后，同对照组相比，胞核的周长无明显变化，但胞核面积比对照组者约大1.4倍，说明丁酸处理后癌细胞核外形趋向规则。实验组胞核的光密度比对照组者明显降低（后者比前者大2.7倍），表明丁酸作用后胞核中的染色质颗粒减少。结果提示丁酸可能具有促使恶性细胞胞核的某些恶性表型逆转化的生物学效应。

关键词 人肺巨细胞癌；丁酸；数字图象处理；形态参数

丁酸是机体内自然存在的四碳短链脂肪酸，在牛奶脂肪酸中亦较丰富。自Prasad和Sinha[1]于1976年发表了关于丁酸钠对哺乳类动物细胞的作用以来，已引起人们广泛的兴趣。嗣后的研究结果表明，正丁酸和正丁酸盐对某些肿瘤细胞具有多种效应，诸如诱导肿瘤细胞的分化[2]，抑制肿瘤细胞的生长和DNA合成等。1979年Tralka等[7]在研究人肺癌细胞系（ChaGo）的过程中注意到该细胞经正丁酸盐处理后胞核内致密染色质块明显减少。我们亦曾在培养条件下观察过丁酸对人肺巨细胞癌PLA-801D细胞株的影响[3]。计算机数字图象处理技术引入细胞学领域始自五十年代[4]，国内也有少数学者采用图象分析仪对小细胞肺癌的组织切片进行分析[5]，但对细胞超微结构的分析尚未见诸文献。作者试图应用这种技术进一步从量的方面探讨丁酸对上述细胞株胞核超微结构的影响。

材 料 与 方 法

将人肺巨细胞癌PLA-801D细胞株单层密闭培养于37℃RPMA-1640培养液中。取第28代接种24小时后的细胞分成实验组和对照组，前者加2 mmol正丁酸培养4天，后者不加丁酸培养4天。两组细胞分别在培养液中离心成团，按电镜制样常规切成60nm厚的薄片，电子染色后用JEM-2000EX型电镜观察。随机抽取两组各50个细胞核，在放大3000倍和曝光3秒的条件下摄取照片。

用摄象机对两组电镜照片扫描，将摄取的信息经采样、量化，输入计算机，存入软盘，再在Super AT微机中进行图象处理。一幅图象按256×256个点的点阵进行采样。用灰度拉伸法将灰度值量化为256个灰度级，以增加图象的对比度和灰度级的动态范围。

为了研究细胞核的形态变化，作者根据文献[6]设计了5个形态参数，即周长、面积、形状因子、伸长度和光密度。形状因子的公式是：形状因子=(周长)^2/4π×面积；伸长度是描述胞核在0°，45°，90°，135°这四个方向上其中哪一个方向伸得最长。光密度是测量胞核中染色质颗粒含量与胞核面积的相对大小的指标。

结 果 和 讨 论

一、透射电镜观察

PLA-801D细胞核外形极不规整，深切迹和核内假包含体常见，核膜较厚，核膜内缘致密染色质颗粒较多，核内染色质常聚集成块；核仁数目、大小和形态变化较大，每见边移现象（图1）。细胞浆中含有丰富的游离核糖体（图2），偶见滑面内质网增生，有时见线粒体嵴肥大，高尔基器和粗面内质网发达。经丁酸作用后PLA-801D细

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

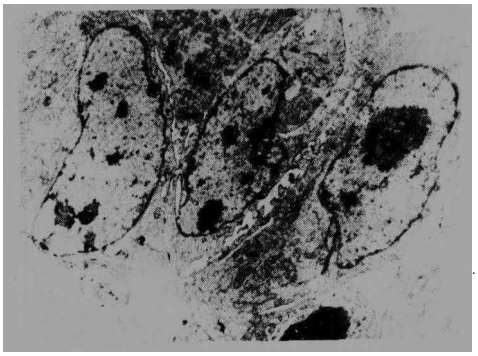


图1 未经丁酸处理的癌细胞，胞核外形不规整，核膜厚，染色质聚集成块，核仁肥大×3000



图2 未经丁酸处理的癌细胞，胞浆内游离核糖体丰富，粗面内质网排列成层状×8000

胞的胞核外形趋于规整，深切迹和核内假包含体少见，核膜内缘染色质颗粒较少，核内染色质多作细颗粒状（图3）；核仁数目较少，体积较小。细胞浆内游离核糖体明显减少（图4），脂滴增多。

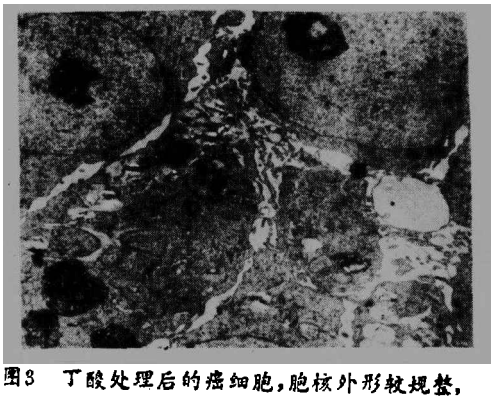


图3 丁酸处理后的癌细胞，胞核外形较规整，核膜菲薄，染色质颗粒细小×3000

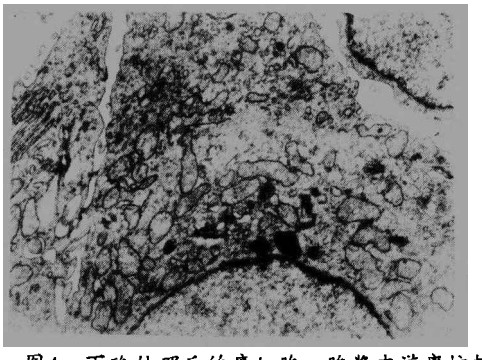


图4 丁酸处理后的癌细胞，胞浆内游离核糖体较少×8000

二、数字图象处理

从材料和方法中获得的两组细胞核的5个特征参数，通过计算机运算分别得出均值和标准差，结果见附表。

附表 细胞核的几项形态参数

		均值（$\bar{X}$）	标准差（SD）
实验组	周长	3.94660×10^{2}	8.44314×10^{2}
	面积	8.09270×10^{3}	3.11158×10^{3}
	形状因子	6.35839×10	4.07657×10^{2}
	伸长度	9.58297×10^{-1}	8.43000×10^{-2}
	光密度	1.29979×10^{-1}	5.63600×10^{-2}
对照组	周长	3.97036×10^{2}	3.92811×10^{2}
	面积	5.98244×10^{3}	5.91686×10^{3}
	形状因子	2.37943×10^{2}	2.15546×10^{-2}
	伸长度	9.58273×10^{-1}	9.48170×10^{-1}
	光密度	3.56249×10^{-1}	3.52270×10^{-1}

对两组各项对应的参数进行统计学处理（t检验）发现：两组的周长和伸长度相差不显著（$P>0.05$）；面积相差显著（$P<0.05$）；形状因子和光密度相差非常显著（$P<0.01$）。

根据附表中的数值和统计学处理的结果可以看出：

1．实验组和对照组二者的胞核周长相近，但前者的面积比后者约大1.4倍，说明

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

丁酸处理前细胞核的外形比处理后的外形更不规则，而处理后的胞核面积虽然增大，却说明凹陷的核膜向外伸展后导致胞核外形趋向规则。

2．根据形状因子公式，当两组在胞核周长相近的情况下，对照组的形状因子比实验组约大3.7倍，足以说明丁酸处理前的胞核外形较之处理后的外形有更多更深的凹陷。这种形态变化在两组间的差异若用一般光镜检查殊难作出精确的结论。

3．伸长度是研究胞核在数个方向上的伸长情况。从所获数据来看，两组间的伸长度并无明显的差异。结合上述三点分析，似乎可以认为丁酸能使凸凹不平的细胞核的核膜伸展而使细胞核外形变得较为规整，却不能使细胞核变得更长。

4．根据两组光密度的数值算出对照组的光密度比实验组的大2.7倍，换言之，实验组的染色质颗粒比对照组有较明显的减少，这似能说明丁酸可能抑制染色质颗粒的形成，或使染色质颗粒解聚。有人提出这种现象很可能是丁酸使核内组蛋白过乙酰化所使然。本实验结果与Tralka[7]和Ko[8]等人的观察一致。

（本文采用的细胞株系解放军301医院病理科馈赠，谨致谢意。）

参 考 文 献

1. Prasad KN and Pk Sinha. Effect of sodium butyrate on mammalian cells in culture A Review In Vitro 1976; 12(12):125
2. Augeron C and CL Laboisse. Emergence of permanently differentiated cell clones in a human colonic cancer cell line in culture after treatment with sodium butyrate. Cancer Res 1984; 44: 3961
3. 余立清，等。丁酸对人肺癌细胞的生长、细胞周期和形态的影响（待发表）
4. 陈彩廷，等译。数字图象处理。北京：科学出版社，1987
5. 徐元鼎，等。形态测量及免疫组织化学测定在小细胞肺癌分型中的意义。中华病理学杂志 1988；17(3)：164
6. 洪继光，等。细胞图象的特征描述。信息与控制 1983；(2)：28
7. Tralka TS, et al. Sodium n- butyrate causes reversible decrease in condensed chromatin clumps in Hela cells (40595). Proc Soci Exp Biol Med 1979; 161:543
8. Ko L-W, et al. Morphologic and morphometric analyses of butyrate-induced alterations of rat glioma cells in vitro. J Natl Cancer Inst 1980; 65(5): 1017

Quantitative Analysis of Butyric Acid-Induced Nuclear Ultrastructual Alterations of Human Lung Giant Cell Carcinoma Cells by Digital Image Processing

Qiu Yufu, et al (Department of Pathology, Third Military, Medical Colllege.)

The effects of butyric acid (BA) on nuclear ultrastructure of human lung giant cell carcinoma (Strain PLA-801 D) were studied with the digital image processing. It was found that the length of the nuclear circumference of the tumor cells incubated with 2mmol BA for 4 days was approximately equal to that of the control,

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

whereas the nuclear area increased 1.4 times. It suggested that the nuclear profile tended to decome more regular. In addition, the nuclear optical density in the experimental group decreaed significantly compring with that of the control. This finding indicated that the chromatin granules within the nuclei were decreased by virtue of BA.BA may have a biological effect of reverse-transformation on the malignant cells.

Key Words: Lung neoplasms/UL; Neoplasms by site; Neoplasms by histologic type; Butyric acid/PD; Image processing, computer-assisted; Biometry

个案与短篇

小儿急性肾功能衰竭15例临床分析

宗海红 李为明（新桥医院 儿科）

我院近8年来共收治15例小儿急性肾性肾功能衰竭（ARF），本文和临床资料进行回顾性分析。

一 般 资 料

全部15例均为急性肾性肾功能衰竭[1]。轻、中、重度各2、4、9例。少尿型13例，非少尿型2例。血尿素氮(BuN)10.71～68.54mmol/L，血肌酐（Cr）208.6～1025.5mmol/L。电解质紊乱12例，其中代谢性酸中毒5例。

治 疗

1、间断性腹膜透析疗法 本组有4例进行了腹透，腹透时间平均7.8天。2、非氨基酸(EAA疗法 ARF病人在少尿期时除给予传统的非透析疗法外加用利尿利和血管活性药物。本组13例均用连速尿（1～5mg/kg/日），7例加用酚妥拉明（1～3mg/kg/日），其中因血压偏低故与小剂量多巴胺应用。3、EAA疗法 本组2例重度ARF在进行一般非透析治疗的同时给予EAA治疗。剂量0.3～0.4g/kg/日。

结 果

本组15例ARF，治愈9例，好转3例，死亡1例，自动出院2例。重度ARF详见表1。

表1 重度ARF的治疗方法及转归

治疗方法	例数	BUN CR恢复时间（天）	转归		
			治愈	死亡	自动出院
腹膜透析	4	14.8	4		
非EAA	3	16	2		1
EAA	2	9	2		

讨 论

1、间断性腹膜透析 腹透在治疗ARF中至关重要。目前国内外学者多主张早期透析或预防透析。本组4例腹透者均急。2、非EAA疗法 在少尿期病人给予查尿、酚妥拉明、多巴胺三药合用，可缩短少尿期时间。这是因为它们可以扩张肾血管，解除血管痉挛及血流瘀滞，增加心搏量，从而改善肾循环，并避免各自的副作用。3、EAA疗法 Abel曾报道双育法证明EAA加高渗葡萄糖治疗成人ARF，较单用高渗葡萄缩短肾功能不全期，提高恢复率，改善存活率[2]。近年来我院2例重度ARF使用EAA后，其BUN下降较其它病人快。这说明了ARF的再生肾组织中游离氨基酸低，经EAA治

（下转467页）

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