DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.02.005

用显微分光光度计对几种不同类型肺癌癌细胞DNA含量的初步观测

王登顺 史景泉 仇玉福（病理解剖教研室）

傅晓岚 李才安（中心仪器室）

提 要 本文用显微分光光度计对39例手术切除的不同组织学类型的人体肺癌标本癌细胞核的DNA含量进行了测量。其中高、中、低分化的鳞癌分别为3、6和5例；高、中、低分化的腺癌分别为3、5和5例；未分化癌大细胞型和小细胞型各为3例和6例。结果发现各类型肺癌的DNA含量均有统计学上的差异（$P<0.01$）。各DNA含量直方图的峰值部位及分布范围亦不同。从而提示了根据DNA含量的不同，可能有助于肺癌组织学类型及其分化程度的判别；而DNA含量直方图对肺癌类型的判别亦可能是有益的。

关键词 脱氧核糖核酸；显微分光光度计；人体肺癌；病理学；定量化

一定的形态是以一定的物质为基础的。肿瘤组织在形态学上的千变万化，实质上是构成组织和细胞的物质成分在质和量上变化的体现。近年来，科学技术的发展，使得我们对不同形态的肿瘤中某些组成物质进行定量研究成为可能[1][2]。本文对39例不同组织学类型的人体手术切除肺癌标本的DNA含量进行了研究，旨在对DNA含量在肺癌的分类、分型方面的意义作一探讨，以期把定量的客观指标引入定性的肿瘤病理学诊断中。

材料与方法

标本取自本校三所附属医院的外科手术切除标本。组织用福尔马林液固定24～48小时，常规石蜡包埋。以美国产AO型石蜡切片机切片，片厚5μm。每一例标本均连续切片2张，分别作HE染色和Feulgen染色。HE片用作肿瘤组织光镜下的组织学分类及分型，并以此为对照在Feulgen染色切片相应的部位上选择测量视野，进行肿瘤细胞细胞核DNA含量的测量。Feulgen染色过程中，DNA水解的盐酸浓度为1N，水解温度为60℃，水解时间为8分钟。整个水解过程于恒温水浴锅中进行。用Shiff氏试剂染色时间为90分钟，室温下进行。

DNA的测量系用西德Leitz公司产MPV-Ⅱ型显微分光光度计（microspectrophotometer），采用镜扫描法。物镜放大倍数为63倍，扫描光栅为0.05。扫描光波波长为555nm，扫描电压为950V，扫描电流为7A。测量结果选入阈值上限为20，下限为15。每个细胞核的吸光度由与主机相联的电子计算机统计输出，统计程序为CELANB。细胞核DNA含量以吸光度值（相对单位Relative Unit，下简称RU）表示，并经电传打字机打印输出。

选择待测细胞的方法：在与HE片上相对应的Feulgen染色切片上，每一例标本任选10个互不重叠的视野作为测量视野，每一个测量视野中测10个肿瘤细胞核，每一例标本共测100个细胞核。被选测的细胞必须满足下列条件：①与周围细胞的胞核互不重叠；②这10个细胞必须是测量视野中最大者；③如在一个测量视野中出现在全片中极少见的个别极端变异的大细胞，则予以剔除。

标本的组织学分类分型根据世界卫生组织（WHO）1982年肺癌组织学分类[2]，并稍加改动。

为保证Feulgen染色过程中各个操作环节条件的相对恒定性，对于每例标本均测量25个浸润于癌间质的淋巴细胞DNA含量作为监测条件，因为淋巴细胞的DNA含量是相对恒定的（均为正常二倍体细胞DNA含量），它们的DNA含量如与全部样本淋巴细胞DNA含量的均值无显著性差异，则我们认为该例样本的制样条件是合适的。

结果

在研究的39例外检肺癌标本中，高分化鳞癌4例，中分化鳞癌6例，低分化鳞癌5例；高分化腺

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

表1 不同组织学类型肺癌的DNA含量（相对单位）

鳞癌			腺癌			未分化癌	
高分化	中分化	低分化	高分化	中分化	低分化	大细胞型	小细胞型
25.27	38.61	54.46	72.34	39.75	29.18	17.29	22.01
26.74	35.36	50.34	66.59	37.25	30.47	16.29	23.22
26.32	34.20	48.06	51.28	44.39	31.39	16.10	26.01
24.05	31.64	51.46		39.37	34.22		18.92
	35.05	54.02		36.31	27.36		22.12
	37.92						21.39
均值25.60	35.46	51.67	63.40	39.42	30.51	16.56	22.28

癌3例，中分化腺癌5例，低分化腺癌5例；未分化癌大细胞型3例，未分化癌小细胞型6例。各例所测得的100个肿瘤细胞核的DNA含量均值见表1。对各种不同类型之间的均值进行统计学处理，发现各组DNA含量均值间有显著差异（$P<0.01$）。

DNA含量直方图类型：以5个相对单位为组距，绘制出各类型肺癌DNA含量的直方图（如图1～8）。从图中可以看出，不同分化程度的鳞癌DNA含量均具有明显的峰值，其中高分化鳞癌DNA含量峰值位于20～25RU之间；中分化鳞癌DNA含量的峰值在30～35RU之间；低分化鳞癌在40～45RU之间；中分化和低分化腺癌的DNA含量峰值分别在35～40RU和25～30RU之间，而高分化的腺癌则未见明显的峰值，但分布范围却明显增宽；大细胞型肺癌的DNA含量亦未见有明显的峰值，但大多数细胞的DNA含量集中于25～45RU之间，分布范围亦较宽；小细胞未分化型者DNA含量具有明显的峰值，位于15～20RU之间，分布范围较为狭窄。

作为制样条件监控的淋巴细胞核DNA含量为10.36±1.21RU。

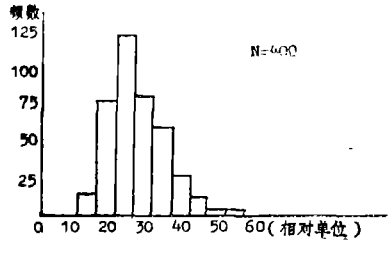


图1 肺高分化鳞癌癌细胞核吸光率频数分布

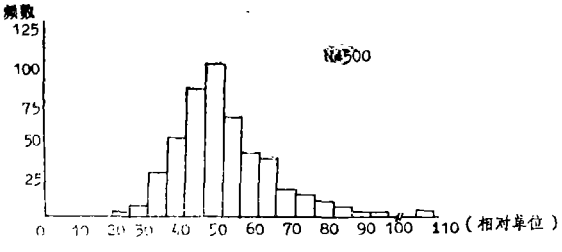


图3 肺低分化鳞癌癌细胞核吸光率频数分布

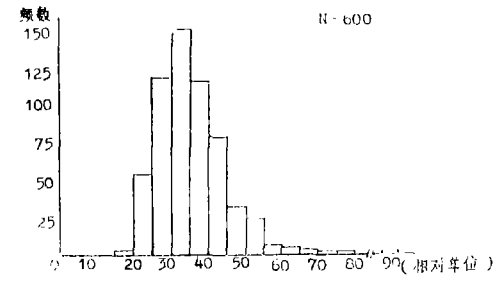


图2 肺中分化鳞癌癌细胞核吸光率频数分布

讨 论

肺癌的组织学表现复杂多变，其形态学分类虽日趋完善，但由于受光学显微镜及人们眼睛分辨率的限制，难以对肺癌作出更加细致的分类。近年来用各种定量手段对肺癌进行了大量的研究，但多是从癌细胞核型的研究，探讨DNA含量的变化与病人预后间的关系[4,5,6,7]；亦见少数用DNA含量的变化来鉴别肺部良恶性病变的报道[8]。就我们所知，尚未见直接用DNA的含量变化规律，来探讨其与肺癌组织学关系的全面研究报告。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

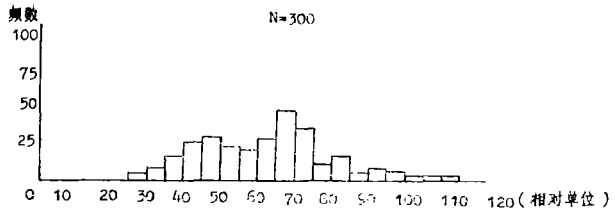


图4 肺高分化腺癌癌细胞核吸光率频数分布

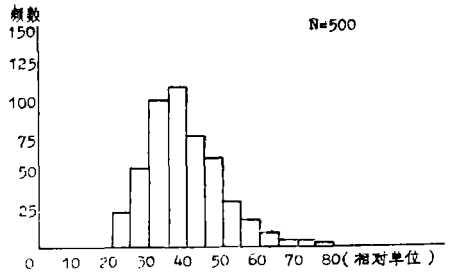


图5 肺中分化腺癌癌细胞核吸光率频数分布

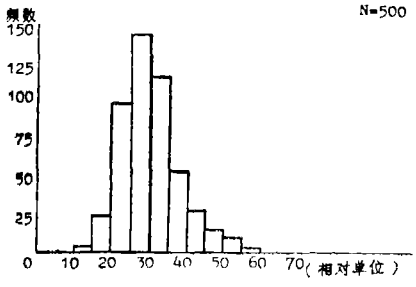


图6 肺低分化腺癌癌细胞核吸光率频数分布

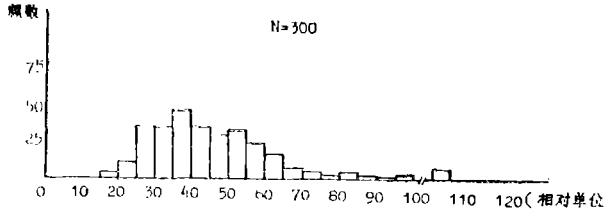


图7 肺大细胞未分化癌癌细胞核吸光率频数分布

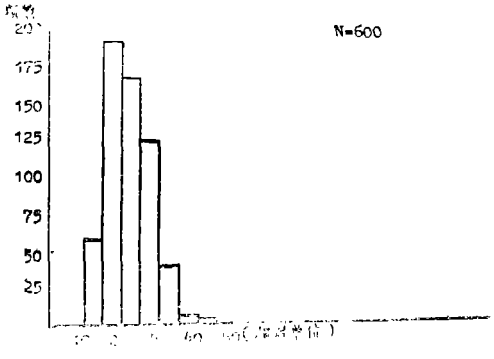


图8 肺小细胞未分化癌癌细胞核吸光率频数分布

本实验对39例不同组织学类型肺癌的DNA含量进行了比较研究，发现不同类型的肺癌之间，DNA含量是有显著差异的($P<0.01$)。在鳞癌组，随着肿瘤分化程度的降低，DNA含量呈逐渐升高趋势，且DNA含量分布范围亦逐渐增宽，与文献报道的结果一致[8]。反映了随分化程度的降低，鳞癌癌细胞的增殖活跃，而分布范围的增宽是与其细胞形态学上异型性的增大是一致的。腺癌组的DNA含量则随分化程度的降低，呈现逐渐降低的趋势，这与文献报道的结果不符[4][8]。出现这种现象的主要原因，我们认为一是因为肺腺癌在形态学上的表现极为复杂，各研究者用以对其分级的标准很难完全统一。二是由于本实验中所收集到的高分化腺癌全为腺泡状腺癌，而这仅有的3例高分化腺癌，在形成腺泡的癌细胞之间形态学大小上是不同的，且例数又较少，这就使得高分化腺癌组的DNA含量没能出现明显的峰值，但它并不能说明高分化腺癌的细胞异型性大。值得注意的是这3例各自的DNA含量是有明显峰值的，故它只能说明形态学上虽然都是高分化腺癌，可在DNA含量的定量分析上它们仍是有区别的，这正是反映了用DNA定量进行肿瘤的分级优于形态学分级之处。同时由于本实验所收集到的低分化腺癌主要为粘液腺癌和粘液实体癌，这些癌组织的实质细胞多呈印戒状，客观上造成了高分化腺癌的DNA含量高于低分化者。再者，在本实验中对被测细胞采取了条件限制，即被测细胞必须满足前文提及的几个条件，这既保证了被选测细胞的随机性，又避免或至少减少了在测量过程中主观因素的影响。以上均可能造成本组实验结果与某些文献报道结果不符。从实验结果可以看出，以形

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

态学为基础的“高分化腺癌DNA含量低，低分化腺癌DNA含量高”的概念是值得商榷的。未分化癌组的大细胞型者DNA含量明显高于小细胞型者，且前者的DNA含量分布范围远较后者宽。将鳞癌、腺癌及未分化癌各型的DNA含量进行统计学分析，均有显著性差异（$P<0.01$）。因此，我们认为只要对制样条件进行严格控制，并逐步标准化，再制订出客观的选择被测细胞的标准，是有可能根据癌细胞核DNA含量的不同来辅助临床病理诊断中对肺癌的分类与分级的。而且本实验中还发现，组织学上不典型的肺鳞癌和腺癌，其DNA含量往往介于典型类型者之间，据此我们认为在判定不同类型肺癌的分化程度上，DNA含量的测定可能是有价值的。

从DNA含量直方图类型来看，不同类型肺癌的DNA峰值位置及分布范围亦是不同的。文献中有关肺癌DNA含量直方图的报道，各家结果是有出入的[4][6][9][10]，这可能与各研究者的制样、选择测量细胞的条件及绘制直方图所用的组距有关。鉴于本实验中测量细胞数量较多，所以在绘制直方图时，以5个任意单位为组距，以便更精确地反映DNA的峰值部位及变化范围。结果可见具有明显峰值者，各自的峰值部位是互相分开的，而没能显示明显峰值的高分化腺癌和大细胞型未分化癌，却也呈现出不同的分布，前者大多数细胞分布在40～75RU之间，且在40～50RU之间有一小高峰，而在65～70RU之间有一大高峰；后者大多数细胞分布在25～60RU之间，并在35～40RU之间有一不明显的小高峰。可见DNA含量直方图类型对肺癌组织学类型的判定可能是有益的。

虽然本实验研究的病例数比较少，但我们认为，结果提示DNA含量的不同在判定肺癌的分化程度上是有价值的；而DNA含量直方图的类型，对判别肺癌的组织学类型是有帮助的。

（本文得到中一、王钟国医院病理科张建中、宋梅刚、柯风轩、周小河等同志的大力支持，在此致以衷心感谢）

参考文献

1. Sandritter W, Carl M, and Ritter W. Cytophotometric measurements of the DNA content of human malignant tumors by menas of the Feulgen reaction. Acta Cytol (Philad) 1966;(10):26～27
2. Torbjorn O. Casperssen, Quantitative Tumor Cytochemistry.—GHA Clowes Memorial Lecture. Cancer Res 1979;39:2341
3. The World Health Organization. Histological typing of lung tumors. Second edition, Am J Clin Pathol 1982;77:123
4. Blondal T, Lidgren A. Fluorescence cytophotometric measurements of nuclear DNA in adenocarcinoma of lung; relation of proliferative activity and DNA ploidy to prognosis. Anal Quant Cytol 1982 sep; 4(3): 225～32
5. Blondal T, Bengtsson A. Nuclear DNA measurements in squamous cell carcinoma of the lung; a guide for prognositic evaluation. Anticancer Res 1981;1(2):79～86
6. Blondal T, Ponten J. DNA ploidy in small cell carcinoma of the luug. Anticancer Res 1983; Jan-feb; 3(1): 47～51
7. Volm M, et al. Prognostic significance of DNA patterns and resistance-predictive tests in non-small cell lung carcinoma. Cancer 1985 Sep 15;56(6):1396～1403
8. Sow-Hsong Kuo, et al. Cytophotometric measurements of nuclear DNA content of brongenic carcinomas. I. Diagnostic value on benign and malignant bronchial lesions. J. Foremosan Med Assoc 1985;84:27～34
9. Oktyabrina Sgibneva and Victor Ermilov, Quantitative histochemical estimation of the DNA content of the main histological types of lung cancer, with particular reference to the diagnosis of the degree of differention. Acta Histochem 1983; 73:23～26
10. Sow-Hsong Kuo, et al. Cytophotometric measurements of nuclear DNA content of bronchogenic carcinomas. Ⅱ. The DNA Ploidy and Bronchogenic Carcinomas. J Formosan Med Assoc 1985;84:785～792

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

multivalent serum of Reovirus type 1—3.

(5) The E6 cells infected by CPE strains of virus can almost fully absorb the specific antibodies in EHF patients or in EHF and KHF antisera.

(6) The suspension of the mouse brain infected by CPE strains can form positive agglutination reaction with the sentitized blood cells by EHF virus strain A9 McAb 25-1.

On the basis of our observation, it can be concluded that at least certain strains of EHF virus can produce CPE in Vero-E6 cell culture.

Key words: Epidemic hemorrhagic fever virus; Cytopathogenic effect; Vero-E6 cell

(p.139)

Determination of DNA content in Different Human Lung Cancers with Microspectrophotometer

Wang Dengshun, et al (Department of Pathology, Third Military Medical College)

The DNA contents of 39 surgically resected specimens of different histopathological kinds and types of human lung cancer were determined with microspectrophotometer. Among them, 3, 6, and 5 cases were diagnosed as well, moderately and poorly differentiated squamous cell carcinoma; 3, 5, and 5 as well, moderately and poorly differentiated adenocarcinoma; and 3 and 6 cases as large and small cell types of undifferentiated carcinoma respectively.

It was found that the DNA contents of different histopathological kinds and types of lung cancers were significantly different($P<0.01$). The histograms of various kinds and types of lung cancers based on the values of DNA contents were also different.

On the basis of this study, it is suggested to make more precise classification of human lung cancers according to the DNA contents, and the histograms of the DNA contents of lung cancers are helpful in the identification of the pathological kinds and types of the cancers.

Key words: DNA; Microspectrophotometer; Human lung cancer; Pathology; Quantification

(p.143)

Applied Anatomy of the Platysma

Cheng Gengli, et al (Department of Anatomy, Third Military Medical College)

The platysma of 50 sides of abult cadavers were studied under operating

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n