

DNA 定量分析在非妇科脱落细胞学中的应用价值

黄 莱

(湖南省肿瘤医院病理科,长沙 410013)

【摘要】目的 通过 DNA 定量分析与普通脱落细胞学涂片检查,探讨这两种技术在体液细胞学,支窥涂片及肺穿脱落细胞学诊断中的应用价值。方法 2013 年 10 月~2014 年 6 月,我院住院门诊及住院病人送检标本 393 例,其中包括体液细胞学 106 例,经过滤法处理标本后进行常规 HE 染色,两张经 Feulgen 染色后进行 DNA 定量自动分析,对照两者结果 287 例支窥,肺穿标本由临床医生取材涂片后送检我科,两张使用 DNA 定量自动分析,其余送检玻片行 HE 染色,进行常规细胞学诊断,同时送检病理切片检查病例共 242 例,对照结果。结果 393 例非妇科脱落细胞学中,常规细胞学诊断恶性病例 166 例(42.2%),良性病例 227 例(57.8%),其中 DNA 倍体分析异常细胞 3 个,病例数 177 例(45%),DNA 倍体异常细胞 1-2 个共 52 例(13.2%),未见异常共 164 例(41.7%)。支窥及肺穿送检标本中同时行细胞学常规检查,病理切片及 DNA 倍体分析检查病例共 195 例。细胞学诊断恶性病例 86 例(44.1%),良性病例 109 例(55.9%)。病理切片检查诊断恶性病例 101 例(51.8%),良性病例 94 例(48.2%),DNA 倍体检查异常细胞 3 个共 92 例(47.2%),1~2 个异常细胞 39 例(20%),未见异常 64 例(32.8%)。其中细胞学与病理切片阳性病例符合率为 85%,DNA 倍体分析检测与病理切片阳性病例符合率为 98%。结论 DNA 定量分析敏感性高于常规细胞学诊断,但 DNA 定量分析易出现假阳性,二者联合检查,若 DNA 发现异常细胞 3 个,应引起细胞学医生高度关注,在进行常规阅片时增加仔细度,认真判断,以提高诊断阳性率,减少假阴性的发生。

【关键词】细胞学诊断 DNA 定量分析 病理学检查 非妇科脱落细胞学

【中图分类号】R737.33 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-016X(2015)02-0081-03

Clinical Study on Application value of DNA quantitative analysis Approach in non gynecologic exfoliated cytology

Huang Lai

(Hunan Cancer Hospital &The Affiliated Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine, Changsha 410013, China)

【Abstract】Objective: Through application of the quantitative analysis of DNA and conventional cytology smears, their application value were discussed in the cytological diagnosis of the fluid cell, smear and lung wear-off. Methods During 2013 October to 2014 June, outpatient and inpatient specimens of 393 cases in our hospital including 106 cases fluid cytology were

收稿日期 2015-01-16

通讯作者 黄莱 E-mail: huanglai888@163.com

管病学进展,2012,33(2):198-198.

- [5] 刘蓉,杨跃进,乔树宾.高敏C反应蛋白对急性ST段抬高型心肌梗死患者近期预后的预测价值[J].中国循环杂志,2011,26(1):19-22.
- [6] 刘卫其,张励庭,黄炫生,等.急性ST段抬高型心肌梗死的急诊介入治疗与择期介入治疗预后对比[J].中国动脉硬化杂志,2011,19(9):781-784.
- [7] 崔波,郭莹,张翼.急性冠脉综合症介入治疗前早期应用替罗非班的临床研究[J].湖南师范大学学报(医学版),2009,6(4):33-36.
- [8] 张红雨,王佩显.冠状动脉内注射替罗非班对急性心肌梗死患者介入治疗中无复流现象的疗效研究[J].临床心血管病杂志,2011,27(1):26-28.
- [9] 胡大一.急性ST段抬高心肌梗死溶栓治疗的中国专家共识(2009年版)(上)[J].中国临床医生,2010(10):70-73.
- [10] 张步春,周志文,侯磊,等.静脉溶栓联合早期经皮冠状动脉介入治疗急性ST段抬高型心肌梗死的荟萃分析[J].中华医学杂志,2011,91(28):1961-1965.
- [11] 封尊玉.低分子肝素与前列腺素E-1合用治疗不稳定性心绞痛临床观察[J].中国药房,2010,28(10):2678-2680.
- [12] 郑勇,缪蔚冰,林军,等.脂质体携载前列地尔介入心肌灌注显像评价心肌梗死患者心肌活性[J].中华核医学杂志,2007,27(2):91-93.
- [13] 王立中,俞晓薇,赵冬婧,等.替罗非班联用前列地尔对急诊经皮冠状动脉介入治疗后心肌梗死患者心肌再灌注和心功能短期预后的影响[J].中国医药导报,2013,10(17):77-79,82.

assayed, after filtration treatment, specimens were stained by routine HE, and two slides of every specimen Feulgen staining for automatic quantitative analysis of DNA; 287 cases of endoscopic lung biopsy specimen were smeared by the clinician for automatic analysis using DNA quantitative inspection, the rest of the slides were stained by HE staining for routine cytologic diagnosis, and 242 cases of them were sent for pathological examination. Results 393 cases of no gynecologic cytology, cytological diagnosis included 166 malignant cases (42.2%), 227 benign cases (57.8%), of which DNA ploidy analysis showed 177 cases (45%) had more than or equal to 3 DNA ploidy abnormal cells, 52 cases (13.2%) had 1-2 DNA ploidy abnormal cells and 164 cases (41.7%) had no abnormal DNA ploidy. At the same time, 195 cases were conducted by cytological routine examination, pathology and DNA ploidy analysis. Cytological diagnosis of 86 cases of malignant tumors (44.1%), 109 cases of benign cases (55.9%); pathological biopsy diagnosis of 101 cases of malignant tumors (51.8%), 94 cases of benign cases (48.2%), DNA ploidy examination of abnormal cells is greater than or equal to 3 of a total of 92 cases (47.2%), 1-2 abnormal cells in 39 cases (20%), in 64 cases no abnormality (32.8%). The coincidence rate of cytological and pathological diagnosis was 85%, positive coincidence rate of DNA ploidy analysis and pathological diagnosis was 98%. Conclusion DNA quantitative analysis sensitivity is higher than that of conventional cytology diagnosis, but the quantitative analysis of DNA may lead to a false positive. With the two combined inspection, if less than 3 abnormal cells by DNA method were found, cytologists must pay high attention to these cases with more seriously judgement in routine cytological diagnosis in order to improve positive rate and reduce the occurrence of false negative.

[Key words] cytology diagnosis; DNA quantitative analysis; pathological examination; non gynaecological cytology

近年来随着 DNA 检测技术的日益成熟, DNA 定量分析技术已经在临床上广泛使用。DNA 分析技术可有效显示细胞的倍体情况, 而恶性肿瘤的一个特征是细胞增殖失控, 其重要表现是 DNA 发生异常改变, 故恶性肿瘤细胞中可出现异倍体如多倍体、亚二倍体, 通过 DNA 倍体分析为判断某个细胞是否是恶性肿瘤诊断提供重要的客观指标和依据, 是对细胞形态性诊断的重要补充和提升。研究显示, DNA 定量分析技术的敏感性远远大于液基细胞学^[1-2]。本组我们主要是针对非妇科脱落细胞学普通细胞学涂片与细胞 DNA 定量分析比较^[3], 探讨两者在细胞学诊断中的作用, 以便为 DNA 定量分析技术更有效应用于临床提供依据。

1 资料与方法

1.1 材料 选用 2013 年 10 月~2014 年 6 月间在本院住院患者送检我科的体液标本 106 例, 287 例支窥和肺穿标本, 其中 195 例同时送检病理学检查。

1.2 方法 体液细胞学标本采用过滤法处理后, 制成四张玻片, 两张使用 HE 染色用于常规细胞学诊断, 另两张采用 Feulgen 染色, 进行自动细胞 DNA 定量分析。支窥, 肺穿标本由临床医生取样后送检我科, 两张用 Feulgen 染色进行自动细胞 DNA 定量分析, 其余送检玻片均行 HE 染色用于常规诊断。

1.3 常规细胞学诊断 所有 HE 染色玻片均有病理细胞学医生作出诊断, 报告方式: 体液细胞学: 涂片中找到癌细胞, 涂片倾向恶性, 不能排除恶性, 涂片中见淋巴样细胞, 间皮样细胞, 未见恶性证据。支窥和肺穿涂片报告方式: 找到癌细胞, 倾向恶性, 不能排除恶性, 未

见癌细胞。我们将报告中找到癌细胞, 倾向恶性, 不能排除恶性均归于阳性病例, 未见癌细胞报告归于阴性病例。

1.4 细胞学 DNA 倍体细胞定量分析 经 Feulgen 染色玻片采用全自动 DNA 倍体细胞定量分析检测仪 (Moticytometer, 麦克奥迪(厦门)医疗诊断系统有限公司)对全片进行扫描, 根据 DNA 指数(DI)作为 DNA 的衡量尺度, 将检测的数据使用以下的报告方式: (1) 未见 DNA 倍体异常细胞(阴性)(2)可见少量细胞增生(5%-10% 增生)(3)可见少量 DNA 倍体异常细胞(1~2 个 DI 2.5)(4)可见细胞异常增生(10% 增生)(5)可见 DNA 倍体异常细胞(3 个及 3 个以上 DI 2.5)(6)可见异倍体细胞峰, 其中结果(1)代表检测阴性, (2, 3)代表可疑或少量病变, (4, 5, 6)代表检测阳性。凡 DI 值大于 2.5 以上的玻片, 都需通过操作技术人员在显微镜下对其细胞进行复检核实, 以排除系统将垃圾和重叠细胞误认为癌细胞核异常细胞。

1.5 病理学检查 我们将同时送检了细胞学检查的支窥, 肺穿标本由病理学医生取材后, 进行染色, 做出常规病理诊断, 对照结果。

1.6 统计学分析 数据分析用 SPSS 统计软件, 采用卡方检验, 以 P<0.05 为差异, 有统计学意义。

2 结果

2.1 DNA 倍体细胞定量分析检测与普通细胞学检查结果比较 所有送检的 393 例标本中, 通过 DNA 倍体细胞定量分析发现异常细胞 3 者为 177 例, 而通过普通细胞学检查, 结果显示阳性者为 163 例, 两者比较有

统计学意义($P < 0.01$),说明 DNA 倍体细胞定量分析敏感性高于普通细胞学检查,结果见表 1。

表1 DNA倍体细胞定量分析与普通细胞学检查结果比较

例数	DNA倍体异常细胞		未见异常 (n=164)
	3 (n=177)	1~2个异常细胞 (n=52)	
细胞学(+)	163	7	8
细胞学(-)	14	45	156

卡方=13.25, $P < 0.01$,两者比较有统计学意义,说明DNA敏感性高于普通细胞学涂片。

2.2 DNA 倍体细胞定量分析与病理学检查结果对较
在送检的 195 例标本同时进行 DNA 倍体细胞定量分析与病理学检查中,通过 DNA 倍体分析发现异常细胞 3 者为 92 例,而通过病理细胞学检查,结果显示阳性者为 84 例,两者比较有无统计学意义,结果见表 2。

表2 DNA倍体检测与病理学检查结果比较

例数	DNA倍体异常细胞		未见异常 (n=64)
	92	39	
病理学(+)	84	4	4
病理学(-)	8	35	60

2.3 DNA 倍体细胞定量分析、普通细胞学与病理细胞学检查结果比较 由表 3 可见,同时送检三项检查的 195 例标本中,DNA 倍体细胞定量分析发现异常细胞 3 者为 92 例,细胞学检查结果为阳性者为 78 例,病理学细胞检查为阳性者为 84 例,三者比较有统计学意义($P < 0.01$)。说明 DNA 倍体细胞定量分析敏感性高于普通细胞学检查和病理学检查。

表3 DNA倍体、细胞学与病理学结果比较

	DNA倍体异常细胞 (n=92)		1-2个异常细胞 (n=39)		未见异常 (n=64)	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
细胞学	78	14	4	35	4	60
病理学	84	8	4	35	13	51

卡方=21.7, $P < 0.01$,三者比较有统计学意义,DNA敏感性高于细胞学与病理学。

3 讨论

细胞 DNA 倍体细胞定量分析主要是通过对细胞核内 DNA 含量或染色体倍数测定来判断细胞的生理状态和病理改变,是病理学由传统的形态学描述向定量分析发展的产物。正常细胞 DNA 倍体为二倍体,具有较恒定的 DNA 含量,而细胞癌变过程中 DNA 含量和(或)

染色体结构异常较为常见,尤其是分化低恶性程度高的肿瘤更为常见,并以 DNA 指数的形式表现出来,出现非整倍体细胞峰^[4],常规传统的诊断方法结合 DNA 倍体检测更有助于将良恶性病变的鉴别,国外运用 ICM-DNA 检测系统研究的报道认为 DNA 倍体异常对判断肿瘤恶性程度有帮助,且与肿瘤预后相关性^[5]。据文献报道常规细胞学检查诊断渗出液中肿瘤细胞的敏感性约为 60%,特异性约为 97%^[8]。在本组病例中,体液细胞学普通细胞学涂片阳性率为 69.5%,而 DNA 倍体细胞定量分析检测阳性率为 74.4%,DNA 倍体细胞定量分析检测与病理学对照结果及细胞学与病理学对照结果比较,其阳性率明显高于普通细胞学涂片。普通细胞学对于体液细胞学诊断时对于增生的间皮细胞诊断是诊断中的难点,而 DNA 倍体定量分析能发现一般光镜检测时不能发现的细胞改变,敏感性高,但由于细胞在凋亡过程中也可出现异倍体峰,所以不能单凭 DNA 定量分析发现异倍体细胞就判断恶性,仍需结合细胞学结果。若 DNA 倍体发现有异常细胞而细胞学未发现异常,可督促细胞学医生对普通细胞学涂片进行更为细致的阅片或者临床再次送检,所以在细胞学初步筛选良恶性病变中 DNA 倍体分析提高细胞学的阳性检出率有着重要的辅助价值。

参考文献

- [1] 贾永蕊. 流式细胞术在DNA检测中的应用 [J]. 中国医学装备, 2010, 4: 4-6.
- [2] 张学艳, 王军. 流式细胞仪在血液学检验中的应用 [J]. 中国医学装备, 2008, 5: 8-11.
- [3] 余秀荣, 刘勇, 王旭等. 细胞DNA倍体定量分析技术对宫颈癌普查中的应用价值. 诊断病理学, 2011, 8:289-292.
- [4] 徐姗, 梅金红, 韩永良, 等. 宫颈脱落细胞DNA定量分析与薄层液基细胞学检查在宫颈早期病变筛查中的应用比较 [J]. 广东医学, 2013, 34(9): 1387-1390.
- [5] 张卫国, 童强, 王强, 等. T淋巴细胞亚群和DNA倍体检测在腹水鉴别诊断中的价值 [J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(17): 1972-1975.
- [6] Van der Avoort IA, van de Nieuwenhof Hp, Otte-Höller I, et al. High levels of p53 expression correlate with DNA aneuploidy in (pre)malignancies of the value [J]. Hum Pathol, 2014, 41: 1475-1485.
- [7] Sherman ME, Marks EJ. Effusions cytology in the diagnosis of malignant epithelioid and biphasic pleural mesothelioma [J]. Arch Pathol Lab Med, 1990, 114: 845-851.
- [8] Motherby H, Marcy T, Hecker M, et al. Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology. I DNA aneuploidy for identification and differentiation of primary and secondary tumors of the serous membranes [J]. Anal Quant Cytol Histol, 1998, 20: 153-161.