

网络出版时间:2014-10-23 08:25 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13315/j.cnki.cjcep.2014.10.021.html>

• 短篇论著 •

DNA 倍体分析在胃黏膜上皮反应性增生与异型增生鉴别中的价值

田智丹¹ 齐琼² 王劲松² 林庆秀² 赵有财²

摘要:目的 探讨图像细胞测量术(image cytometry, ICM)在鉴别胃黏膜腺体上皮异型增生(gastric epithelial dysplasia, GED)和胃黏膜腺体反应性增生(gastric epithelial reactive hyperplasia, GERH)中的价值。方法 GED 和 GERH 蜡块各 50 例,应用 ICM 技术分别检测 DNA 指数。结果 GED 的 DNA 指数、超二倍体率均明显高于 GERH。结论 ICM 有助于鉴别 GED 和 GERH 达到胃癌早期诊断的目的。

关键词:胃黏膜腺体上皮异型增生;胃黏膜腺体反应性增生;图像细胞测量术

中图分类号:R 735.2 文献标志码:A

文章编号:1001-7399(2014)10-1164-03

doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2014.10.021

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,已有研究表明肠型胃癌的发生是由胃黏膜腺体上皮异型增生(gastric epithelial dysplasia, GED)发展而来。因此,及早发现和正确诊断 GED 并及时进行干预性治疗,可减少胃癌的发生。然而,GED 的形态学与胃黏膜腺体反应性增生(gastric epithelial reactive hyperplasia, GERH)极为相似,而后者为炎性刺激或胃黏膜上皮损伤后的再生性变化,经治疗后可恢复正常。因此,二者的鉴别对患者的治疗和随访具有重要意义。在实际工作中,二者的区分带有很大的主观性,不同作者之间和同一作者不同时间均有重复性差的特点。

恶性肿瘤的发生是 DNA 发生异常导致的,肿瘤细胞 DNA 含量异常是恶性肿瘤的标志之一^[1]。由于 GED 属于癌前病变,检测细胞核内 DNA 含量变化,有助于鉴别 GED 和 GERH 达到及早发现和诊断的目的。因此,本文采用图像细胞测量术(image cytometry, ICM)检测 GED 和 GERH 的 DNA 含量及倍体的差异,分析 ICM 在鉴别二者中的价值。

1 材料与方

1.1 材料 收集 2006 年 1 月~2012 年 12 月南京市第一医院病理科胃镜活检存档蜡块 100 例。其中 GERH 50 例,男

性 26 例,女性 24 例,年龄 20~63 岁;GED 50 例,男性 29 例,女性 21 例,年龄 35~78 岁。所有标本均经两名病理医师进行病理诊断,意见不一致者由两名病理医师在多头显微镜下共同阅片确定诊断。

1.2 方法

1.2.1 染色方法 所有标本均经 10% 中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,3 μm 厚切片。DNA 倍体染色采用 Feulgen 染色。

1.2.2 检测方法 切片经 Feulgen 染色后行 DNA 倍体分析,采用武汉呵尔公司提供的 SPICM-DNA 全自动细胞肿瘤筛查分析系统,对染色切片中的每一个细胞核进行扫描分析,根据细胞核的 125 个核特征参数值,自动进行分类和计数,输出 DNA 指数、DNA 倍体分析直方图、细胞点阵图、积分光密度的平均值(integrated optical density, IOD)、核面积、周长、形状因子等参数。

1.3 结果判断 DNA 含量采用 DNA 指数(DNA index, DI)表示,当 $DI = 1.0 \pm 0.1$ (0.9~1.0) 为二倍体; $DI = 1.0 \pm 0.15$ (0.85~1.15) 为近二倍体; $DI = 2.0 \pm 2CV$ (1.90~2.10) 为四倍体; $DI > 2.10$ 为多倍体^[2], $DI \leq 1.1$ 为二倍体/近二倍体, $DI > 1.1$ 为超二倍体。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料间的比较用 *t* 检验,计数资料之间的比较用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 DI 分析 50 例 GERH 中的 DI 值为 0.99 ± 0.08 , 而 50 例 GED 中的 DI 值为 1.14 ± 0.17 , GED 的 DI 值明显高于 GERH, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 1)。

2.2 DNA 倍体分析 50 例 GED 中有 19 例为二倍体/近二倍体, 31 例为超二倍体, 超二倍体率为 62%; 50 例 GERH 中, 二倍体/近二倍体为 46 例, 超二倍体 4 例, 超二倍体率为 8%, 二者的超二倍体率相比, 差异具有显著性 ($P < 0.05$)。

3 讨论

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,大多数由胃黏膜经过异型增生发展而来(尤其是肠型胃癌)。大量研究表明,GED 是肿瘤性改变,其癌变是一个漫长且复杂的过程,随着时间的发展,可进展为胃癌^[3,4]。Padova 国际分级标准将胃黏膜病变分为 5 类,包括 I 类:无 GED(即 GERH、肠上皮化生); II 类:不能确定 GED(即 GERH、修复性再生与低级别 GED,包括腺凹上皮增生、增生性肠化生); III 类:非浸

收稿日期:2014-05-15

基金项目:南京医科大学科技发展基金面上项目(2011NJMU016)

作者单位:南京医科大学附属南京医院/南京市第一医院,南京 210029

作者简介:田智丹,女,硕士研究生,医师。E-mail: tianzhidan@fox-mail.com

赵有财,男,硕士研究生,主治医师,通讯作者。E-mail: zhaoyc1st@aliyun.com

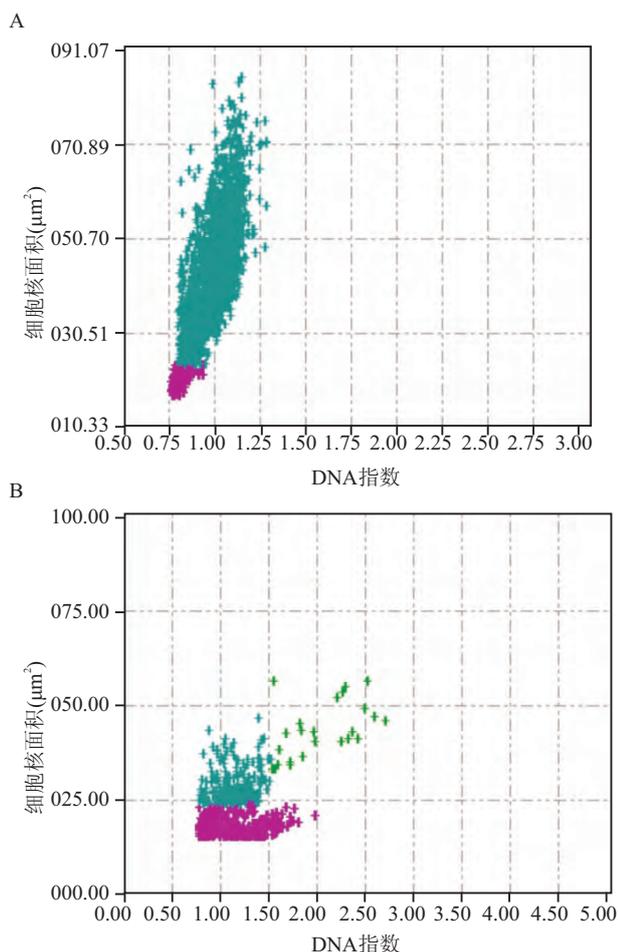


图1 DI分析:A. GERH的DI值;B. GED的DI值

润性肿瘤(即低~高级别GED);IV类:可疑浸润性癌(不能确定肿瘤细胞是否突破基膜);V类:明显浸润癌。GED的组织学特征:常位于浅表黏膜内,由单纯的管状腺体和小分支腺体构成,腺上皮呈高柱状,核排列呈轻度参差不齐、假复层,核体积增大,染色加深,形状不规则,并见核分裂象。反应性增生是在炎症刺激或破坏下,胃小凹腺颈部增殖带细胞增生活跃,腺上皮细胞可呈非典型性改变,为非肿瘤性质,属于胃黏膜腺体的再生过程。实际工作中,由于内窥镜取材的局限性,以及组织形态学胃黏膜异型增生和反应性增生有诸多重叠,区分GERH和GED有很大的主观性,多数病理医师易将二者混淆^[5,6]。周木秀等^[7]通过随访研究发现,保守治愈的病例多为GERH或修复性再生,因GED不能通过保守治愈,且癌变率为14.30%。Testin^[8]研究表明,胃黏膜腺体低级别GED发展为胃癌的概率为9%,高级别GED发展为胃癌的概率为74%。临床对于胃黏膜活检中出现GERH及GED状态的早期干预及规范治疗存在较大差异。因此,探讨鉴别GED与GERH的病理诊断方法,及早发现GED并及时对其进行干预性治疗,可减少胃癌的发生。

国内外研究表明,肿瘤细胞DNA非整倍体是恶性肿瘤的特征性标志之一,随着DNA含量上升,异倍体或非整倍体的发生率也随之升高。因此,测定细胞核DNA含量与倍体

可以了解细胞增殖状态,从而判断细胞有无恶变倾向或恶性程度,其对恶性肿瘤的早期诊断具有重要价值。恶性肿瘤的发生是DNA发生异常导致的,肿瘤细胞DNA含量异常是恶性肿瘤的标志之一^[1]。研究发现人体器官组织在恶变之前细胞核内DNA含量即已开始变化,表现为DNA含量增加、异倍体增多等。由于大多数胃癌是由胃黏膜上皮的异型增生发展而来,胃黏膜异型增生的细胞核DNA含量会发生改变,表现为异倍体增加和多倍体等。因此,检测胃黏膜GERH及GED细胞核内DNA含量,有助于区分二者。目前检测DNA含量的方法有流式细胞仪(flow cytometry, FCM)和ICM,二者通过DNA峰值来确定细胞的良、恶性以及预后和治的关系。ICM是根据Feulgen染细胞核后的颜色深浅确定其DNA的含量,它的要求是具有较高的吸光度测量精度,具有准确性和重复性^[9],避免FCM在检测中丢失肿瘤组织细胞形态学的重要信息,不能将细胞碎片、色素团或重叠粘连的细胞与单细胞分开等不足^[10,11]。目前DNA倍体分析系统虽然主要用于宫颈癌前病变的诊断及胸腹水的良恶性诊断,但在其他实体肿瘤包括胃癌中也有报道。Nishida等^[12]对117例胃癌标本进行DNA倍体分析,结果显示65例(56%)胃癌为异倍体,进展期胃癌异倍体高于早期胃癌,且DNA异倍体率随组织学分级增加而增加。Biesterfeld等^[13,14]研究显示ICM有助于胆道、胰腺和壶腹部良恶性病变的诊断。Kamphues等^[15]发现胆管上皮癌中DNA倍体含量与患者预后有关。然而,DNA倍体分析在胃GED和GERH鉴别诊断中的价值尚未见文献报道。本组采用ICM分别检测50例GED和50例GERH中细胞核的DNA指数和DNA倍体,结果发现,胃GED的DNA指数、超二倍体率明显高于GERH,提示在胃GED中,黏膜上皮细胞核内DNA已发生异常,此异常改变可能在形态学上尚无法识别,应用ICM不仅可以分析病变细胞DNA含量变化,还可以了解DNA倍体改变,再结合细胞的形态学改变,有助于区分GED和GERH,对临床不确定性增生进行分析,指导临床医师进行合理治疗,达到胃癌早期诊断和早期治疗的目的。

总之,应用ICM技术可以获得形态学上无法确认的细胞核DNA改变,通过了解DNA含量和DNA倍体改变,再结合HE形态学改变,有助于GED和GERH的鉴别,从而指导临床医师进行随访和治疗。

参考文献:

- [1] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2001, 144(5):646-74.
- [2] Smith M L, Hawcroft G, Hull M A. The effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on human colorectal cancer cells: evidence of different mechanisms of action [J]. Eur J Cancer, 2000, 36(5):664-74.
- [3] 虞积耀. 胃及结肠黏膜活检异型增生的诊断及其意义 [J]. 中华病理学杂志, 2009, 38(2):77-80.
- [4] 石宇, 李连宏. 复合因素诱发大鼠胃黏膜癌前病变的动物模型 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2000, 16(5):406-8.

胃肠道间质瘤合并良恶性消化系统肿瘤的临床病理及分子遗传学特征

刘秋雨¹, 缙向南¹, 阚云珍¹, 田鹏², 史玉洁¹, 贺慧¹, 孔令非¹

摘要:目的 探讨 14 例胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 合并消化系统肿瘤的临床病理及遗传学特征。方法 病例采用免疫组化 SP 法对 14 例 GIST 合并消化系统肿瘤中 CD117、DOG1、CD34 等的表达进行检测, 基因测序法检测 KIT、血小板源性生长因子受体 α (platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFRA) 的基因突变情况。结果 消化系统肿瘤中 12 例为恶性, 以癌为主 (11/12); 合并的 GIST 中 13 例发生于胃, 直径均 < 2 cm, 梭形细胞为主, 核分裂象少见或无, 免疫组化标记 CD117、DOG1、CD34 强表达; 基因突变 10 例位于 KIT 第 11 号外显子, 且 14 例均无 PDGFRA 基因突变。结论 GIST 合并消化系统肿瘤中以腺癌多见, 但也可合并其他组织来源良恶性病变; 合并其他肿瘤的 GIST 以微小 GIST 为主, 多存在 KIT 基因 11 号外显子变异。

关键词:消化系统肿瘤; 胃肠道间质瘤; KIT; DOG1

中图分类号: R 735 文献标志码: A
 文章编号: 1001-7399(2014)10-1166-04
 doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2014.10.022

收稿日期: 2014-08-14

作者单位: 河南省人民医院¹ 病理科, ² 微创外科, 郑州 450003

作者简介: 刘秋雨, 女, 硕士, 主治医师。Tel: (0371) 65580511,

E-mail: qiuyuliu7825@163.com

孔令非, 男, 博士, 教授, 主任医师。E-mail: lfkong9@163.com

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 是最常见的胃肠道间叶源性肿瘤。自 20 世纪 90 年代以来, 随着对 GIST 研究的不断深入, 目前其在肿瘤分子遗传学发生机制、信号通路异常及分子靶向治疗中取得了很大进步。合并消化道肿瘤的 GIST 的病例已有相关文献报道, 但其在分子遗传学上的特点如何? 合并的消化系统肿瘤的组织学类型和组织学来源有哪些? 本文对 14 例合并消化系统肿瘤的 GIST 进行临床病理和遗传学特征分析, 以提高对其的认识。

1 材料与方法

1.1 标本收集 选取 2005~2013 年河南省人民医院确诊为 GIST 合并消化系统肿瘤的病例共 14 例, 相应的临床资料和手术记录均从住院病历中获得。复查 14 例患者的临床病理资料及 HE 切片。

1.2 免疫组化及结果判读 石蜡标本 4 μ m 厚切片, 免疫组化采用 SP 法, DAB 显色, 光镜观察。所用抗体: CD117 (Dako A4502, 1 : 70)、CD34 (Dako QBEND10, M7165, 1 : 150)、S-100 (Dako Z0311, 1 : 300)、SMA (Dako M0851, 1 : 200)、desmin (Dako M0760, 1 : 150)、Ki-67 (Dako M7248, 1 : 100)、DOG1 (LabVision clone SP31, Cat. #RM-9132, 即用型)。结果判读: CD117、DOG1 阳性信号定位于细胞膜和细胞质, S-100、Ki-67 定位于细胞核, 其余抗体定位于胞质。

1.3 基因突变分析 石蜡包埋组织均 10 μ m 厚连续切片 5 张, 放入 Eppendorf 管中备用, 检测 KIT 基因 9、11、13、17 号

[5] Satoh K, Kawata H, Tokumaru K, et al. Change in apoptosis in the gastric surface epithelium and glands after eradication of *Helicobacter pylori* [J]. *Dig Liver Dis*, 2003, 35(2):78-84.

[6] Asaka M, Sugiyama T, Nobuta A, et al. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in Japan: results of a large multicenter study [J]. *Helicobacter*, 2001, 6(4):294-9.

[7] 周木秀, 涂抗美, 何玉霞, 等. 胃黏膜异型增生 54 例临床病理学回顾性研究 [J]. *中华消化内镜杂志*, 2001, 18(6):328-31.

[8] Testino G. Gastric preneoplastic changes [J]. *Recenti Prog Med*, 2004, 95(5):239-44.

[9] 夏潮涌. 肿瘤细胞核 DNA 含量测定与倍体分析的现状 [J]. *中华病理学杂志*, 1996, 25(3):182-4.

[10] Ishikuro A, Dosaka-Akita H, Kato M, et al. Ki-67 labeling indices in non-small cell lung cancer: comparison between image cytometry and flow cytometry [J]. *Cytometry*, 1997, 30(4):186-91.

[11] Marcos B, Gonzalez-Ageitos A, Garcia R, et al. Correlation of flow and static cytometry, their application to the study of anaplastic lymphomas [J]. *Sangre (Barc)*, 1998, 43(1):25-9.

[12] Nishida K, Takano H, Ohtsuki T, et al. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in the endoscopic biopsy tissues of gastric cancer [J]. *Am J Clin Oncol*, 1995, 18(4):325-30.

[13] Biesterfeld S, Deacu L. DNA image cytometry in the differential diagnosis of benign and malignant lesions of the bile duct, the pancreatic duct and the papilla of Vater [J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(5):1579-84.

[14] Biesterfeld S, Leitloff M, Rath W, et al. DNA image cytometry in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and adenocarcinoma [J]. *Anal Quant Cytol Histol*, 2001, 23(2):123-8.

[15] Kamphues C, Al-Abadi N, Dürr A, et al. The DNA index is a strong predictive marker in intrahepatic cholangiocarcinoma: the results of a five-year prospective study [J]. *Surg Today*, 2014, 44(7):1336-42.