

## 大肠癌细胞 DNA 倍体及增殖活性与临床病理学的关系

高飞 国永生 王宇

[摘要] 目的 研究癌细胞的 DNA 异倍体及增殖活性与大肠癌的临床病理因素的关系。方法 应用流式细胞仪对 119 例新鲜大肠癌组织细胞的 DNA 倍体及细胞周期各相中的分布进行检测,与大肠癌的血清癌胚抗原、癌肿大小、形态、淋巴结转移、Dukes' 分期、组织学类型及组织分化程度等病理因素进行前瞻性研究比较。结果 血清癌胚抗原与癌细胞的 DNA 异倍体及增殖活性均无关。溃疡型中的 DNA 异倍体出现率为 56.5%,显著高于隆起型(14.7%) ( $P < 0.01$ )。中低分化组中的异倍体出现率为 64.7%,显著高于高分化组(36.5%) ( $P < 0.01$ )。癌肿大小、淋巴结转移、Dukes' 分期及癌组织学类型均与 DNA 异倍体无关。大肠癌上述各临床病理因素均与癌细胞增殖活性无关。结论 癌细胞 DNA 异倍体能反映大肠癌的恶性程度,但癌细胞增殖活性(SPF、PI)与各临床病理因素无关。血清癌胚抗原与癌细胞 DNA 倍体及增殖活性无关。

[关键词] 大肠癌;DNA 异倍体;增殖活性

Relation of DNA ploidy and proliferative activity with the clinical and pathologic features in colorectal cancer GAO Fei, GUO Yongsheng, WANG Yu. Department of Surgery, Beijing Charity Hospital, Beijing 100077, China

[Abstract] Objective To study the relationship between DNA aneuploidy and proliferative activity and the clinical and pathologic features. Methods DNA ploidy and cell cycle analysis were analyzed in 119 colorectal fresh cancer specimens using flow Cytometry and prospectively compared with the CEA in serum, tumor size, tumor morphology, lymph node metastases, Dukes' Classification, histologic type and grade in colorectal cancer. Results There was no relation between serum CEA and DNA aneuploidy and proliferative activity. Aneuploidy was detected at 56.5% in ulcerating carcinoma, which was significantly higher than 14.7% in bulge carcinoma ( $P < 0.01$ ). Aneuploidy was detected at 64.7% in middle and lower grade carcinoma, which was significantly higher than 36.5% of high grade carcinoma ( $P < 0.01$ ). No significant differences in aneuploidy were observed with respect to tumor size, lymph node metastases, Dukes' classification, tumor histologic type. Conclusions DNA aneuploidy of cancer cell can express the degree of malignancy of colorectal cancer. But proliferative activity does not relate to all the clinical and pathologic features. CEA in serum does not relate to DNA aneuploidy and proliferative activity.

[Key words] colorectal cancer; DNA aneuploidy; proliferative activity

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2003)05-0290-03

近年来,有关大肠癌细胞 DNA 倍体及增殖活性与临床病理特性的关系各家报道不一,其原因可能与采用存档石蜡包埋病理组织进行回顾性研究有关。我们采用新鲜癌组织对大肠癌细胞 DNA 倍体及增殖活性与临床病理特性的关系进行前瞻性研究,同时探讨癌胚抗原(CEA)与癌细胞 DNA 倍体及增殖活性的关系。

### 1 材料与方法

1.1 病例资料 1998 年 12 月至 2000 年 7 月间经手术切除大肠癌 119 例,其中结肠癌 74 例、直肠癌 45 例;男性 60 例、女性 59 例;年龄 24 - 80 岁,平均 60.6 岁。

1.2 方法 所有患者术前全面体检、摄胸部 X 线片及做腹部 B 超等检查,了解有无癌转移。术中由副主任以上外科医师进行探查,确定癌肿浸润范围、淋巴结转

移及腹腔内转移等情况,并测定癌肿的最大直径,结合术后病理报告,参照我国改良的 Dukes' 分期<sup>[1]</sup>进行分期。91 例患者术前查血清 CEA,抽取空腹血 2 - 3 ml, 1000rpm 离心,抽取血清, - 4℃ 低温冰箱储存,按 ELIASA 德国试剂盒步骤进行。

1.2.1 DNA 倍体及癌细胞周期各相中的分布测定 取新鲜癌组织标本 2cm × 2cm × 2cm 大小,做流式细胞术(FCM)检查,其余标本做系统病理学检查。用剪碎机械法制备单细胞悬液样品,经荧光染色后上机,入血淋巴细胞悬液作为内参标准。用 Beton Dickinson 公司的 FACS Calibur 型流式细胞仪测定,用 Modtit 2.0 软件对测量值进行分析,测细胞 DNA 含量及癌细胞在细胞周期各相( $G_0G_1$  期、S 期、 $G_2M$  期)中的分布。以 DNA 指数(DI)表示 DNA 含量,DI 在 0.9 - 1.0 为二倍体,其余为异倍体。细胞增殖活性以合成期细胞百分比(SPF)和增殖指数(PI)表示。

$$SPF = [S / (G_0G_1 + S + G_2M)] \times 100\%$$

$$PI = [(S + G_2M) / (G_0G_1 + S + G_2M)] \times 100\%$$

作者单位:1.100077 北京市,北京博爱医院外科(高飞);2.100051 北京友谊医院普外科(国永生、王宇)。作者简介:高飞(1962-),男,江西南昌市人,副主任医师,主要从事普通外科临床与教学。

1.2.2 病理形态 组织学分类、分化程度及癌淋巴转移 根据病理学标准确定每份癌标本的病理形态、组织学分类、组织分化程度,按病理报告确定癌局部淋巴转移情况。

1.2.3 统计学分析 计数资料用  $\chi^2$  检验,计量资料用  $t$  检验或方差分析。

2 结果

见表 1—7。

表 1 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与 CEA 的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
+	41	17	13.09 $\pm$ 9.50	18.47 $\pm$ 13.30
-	50	21	10.02 $\pm$ 7.76	15.23 $\pm$ 10.74

表 2 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与癌肿大小的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
$\leq 5$ cm	58	26	13.34 $\pm$ 9.31	18.13 $\pm$ 12.22
$> 5$ cm	61	27	10.37 $\pm$ 7.97	15.67 $\pm$ 10.84

表 3 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与癌肿形态的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
隆起型	34	5	11.63 $\pm$ 7.78	16.45 $\pm$ 12.44
溃疡型	85	48 <sup>a</sup>	11.89 $\pm$ 9.14	17.10 $\pm$ 11.14

注:与隆起型比较,a: $P<0.01$ 。

表 4 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与淋巴结转移的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
+	53	24	10.70 $\pm$ 9.01	16.32 $\pm$ 11.83
-	66	29	12.72 $\pm$ 8.48	17.39 $\pm$ 11.25

表 5 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与 Dukes' 分期的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
A	5	1	16.74 $\pm$ 2.94	24.00 $\pm$ 12.15
B	39	17	12.77 $\pm$ 8.91	16.86 $\pm$ 11.19
C	42	21	11.02 $\pm$ 8.49	15.68 $\pm$ 10.44
D	33	14	10.96 $\pm$ 9.35	17.35 $\pm$ 12.91

表 6 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与组织学分类的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
腺癌	89	38	12.60 $\pm$ 9.45	17.36 $\pm$ 12.00
腺癌部分呈粘液腺样结构	13	6	9.06 $\pm$ 5.26	14.10 $\pm$ 6.28
粘液腺癌	11	5	10.62 $\pm$ 6.47	15.76 $\pm$ 8.97
印戒细胞癌	4	3	7.99 $\pm$ 5.41	12.01 $\pm$ 3.63
恶性间质瘤	1	1	6.55	45.3
恶性类癌	1	0	8.47	11.07

表 7 DNA 异倍体、SPF 及 PI 与组织分化程度的关系

	例数	异倍体(例)	SPF( $\bar{x}\pm s$ )	PI( $\bar{x}\pm s$ )
高分化	85	31	12.49 $\pm$ 9.00	17.22 $\pm$ 11.86
中低分化	34	22 <sup>a</sup>	10.14 $\pm$ 7.94	16.15 $\pm$ 10.57

注:与高分化比较,a: $P<0.01$ 。

91 例大肠癌术前查血清 CEA,其中阳性 41 例,阴性 50 例,两组的 DNA 异倍体、SPF 及 PI 相比较均无

明显差别( $P>0.05$ )。

119 例大肠癌中,癌肿最大直径  $\leq 5$ cm 58 例, $> 5$ cm 61 例,两组的 DNA 异倍体、SPF 及 PI 相比较均无明显差别( $P>0.05$ )。

癌肿形态:隆起型 34 例,溃疡型 85 例,无浸润型。隆起型异倍体出现率 14.7%,溃疡型为 56.5%,有高度显著性差异( $P<0.01$ ),SPF 及 PI 无显著性差异( $P>0.05$ )。

有淋巴结转移者 53 例,无淋巴结转移者 66 例,两组的 DNA 异倍体、SPF 及 PI 相比较均无显著性差异( $P>0.05$ )。

Dukes' 分期:A 期 5 例,B 期 39 例,C 期 42 例,D 期 33 例。它们的异倍体出现率分别为 20%、43.6%、52.4%、42.4%,各期的异倍体出现率相比较均无显著性差异( $P>0.05$ ),SPF 及 PI 相比较无显著性差异( $P>0.05$ )。

组织学分类:腺癌 89 例,腺癌部分呈粘液腺样结构 13 例,粘液腺癌 11 例,印戒细胞癌或含印戒细胞癌的混合癌 4 例,恶性间质瘤 1 例,恶性类癌 1 例。前 4 类的异倍体出现率分别为 42.7%、46.2%、45.5%、75%,印戒细胞癌的异倍体出现率非常高,但统计学分析表明它们之间无显著性差异( $P>0.05$ ),各类型之间的 SPF 及 PI 相比较均无显著性差异。恶性间质瘤和恶性类癌因病例少未进行统计。

高分化癌 85 例,中低分化癌 34 例(包括 4 例印戒细胞癌)。高分化组中异倍体出现率 36.5%,中低分化组异倍体出现率 64.7%,两组间相比较有高度显著性差异( $P<0.01$ )。两组之间的 SPF、PI 相比较均无显著性差异( $P>0.05$ )。

3 讨论

大量研究表明,DNA 倍体及 SPF、PI 的异常与肿瘤的临床病理特点密切相关,能反应肿瘤的恶性程度及生物学行为。DNA 异倍体提示,肿瘤恶性程度高,肿瘤细胞增殖旺盛,肿瘤的复发率高、转移率高、死亡率高,预后不良<sup>[2,3]</sup>。SPF、PI 作为肿瘤细胞增殖活性的指标,其增高亦提示肿瘤细胞增殖旺盛,肿瘤组织分化低<sup>[3]</sup>。但 DNA 倍体与大肠癌的临床病理特点之间的关系却意见不一,有的认为 DNA 倍体与大肠癌 Dukes' 分期无关<sup>[4]</sup>,与淋巴转移无关<sup>[3]</sup>,与组织学类型无关<sup>[5]</sup>,造成矛盾结果的可能原因是使用存档石蜡包埋组织而进行回顾性研究结果所致<sup>[3]</sup>。

我们采用新鲜癌组织的研究表明,大肠癌患者血清 CEA 表现为阴性或阳性与癌细胞 DNA 异倍体、SPF 及 PI 等均无关系,癌肿大小、淋巴结转移情况、Dukes' 分期等均与癌细胞 DNA 异倍体无关,而癌肿形态及组织分化与 DNA 异倍体相关,呈溃疡型生长及较

低分化程度的大肠癌者,其癌细胞的 DNA 异倍体出现比例高。这可能是由于 CEA 存在于肿瘤细胞膜上,在血清中是否异常增多可能与癌细胞的 DNA 活动无关。癌肿的大小、淋巴结转移情况及 Dukes' 分期反映了大肠癌发展中处于不同的病程阶段,研究提示癌细胞的生物学特点并不随病情的变化而改变。而异倍体大肠癌具浸润性、恶性程度高的特点。

癌组织类型与 DNA 异倍体可能有一些关系。一般认为,印戒细胞癌较其他组织类型具有较高的恶性程度,但统计分析表明它与其他组织类型之间无显著性差异,原因可能是腺癌及粘液腺癌中均有癌细胞分化程度的高低问题,而 DNA 异倍体只与大肠癌的恶性程度有关,与癌组织的类型关系不大,但能显示恶性程度很高的癌组织类型。

一般认为,SPF 及 PI 增高提示肿瘤恶性程度高,但本组资料表明了相反的结果,中低分化的 SPF 及 PI 的均值均分别低于高分化的 SPF 及 PI,统计分析表明它们之间无显著性差异。统计结果还表明,大肠癌的

癌肿大小、淋巴结转移情况、Dukes' 分期及组织学类型均与 SPF 及 PI 无关。癌细胞呈进行性分裂增殖,其增殖周期均需经历  $G_1$ 、S、 $G_2$ 、M 等期,在某一时刻,手术切除的癌肿停止分裂增殖,此时癌细胞可能随机地处于增殖周期中的某一期,而与大肠癌的各临床病理特点无关。

#### [参考文献]

- [1] 郁宝铭.结、直肠癌[A].见:吴孟超.腹部外科学[C].上海:上海科学技术文献出版社,1993.223.
- [2] Douglas E, Merkel MD, William L, et al. Ploidy proliferative and prognosis DNA flow Cytometry of solid tumors[J]. Cancer, 1990, 65:1194 - 1205.
- [3] 左连富.流式细胞学与生物医学[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1996.199 - 239.
- [4] Emdin SD, Stenling R, Roos G. Prognostic value of DNA content in colorectal carcinoma[J]. Cancer, 1987, 60:1282.
- [5] Brunns S. Flow cytometric DNA ploidy in colorectal adenomas and family history of colorectal[J]. Cancer, 1988, 61:114.

(收稿日期:2003-02-22)