

图像法 DNA 分析在骨肿瘤 穿刺活检的应用

廖威明 黄承达 何其华*

(附属第一医院骨科)

提 要 应用图像分析仪测定35例骨肿瘤穿刺组织的肿瘤细胞核 DNA 含量。结果表明恶性骨肿瘤 DNA 含量高于良性,良恶性之间差异非常显著。骨巨细胞瘤 DNA 指数广泛分布在良恶性之间,显示出“中间性肿瘤”的特征。骨巨细胞瘤复发组含量显著高于无复发组,提示 DNA 含量与肿瘤生物学行为有密切关系。术前穿刺 DNA 含量分析,有助于对肿瘤增殖能力的了解,作为术式选择,良、恶性肿瘤的鉴别和预后估计的参考。穿刺 DNA 图像分析法的开展是可行的,具有一定的临床价值。

关键词 DNA 分析;骨肿瘤;穿刺活检;图像分析仪

中图分类号 R738.1

骨肿瘤治疗的选择决定于肿瘤的性质和生物学行为。光镜检查主要从细胞和组织形态学方面确定肿瘤的性质和种类。而肿瘤细胞中 DNA 含量则有助于对肿瘤增殖能力的了解和评价。国内、外文献曾报道对肿瘤术后标本作 DNA 含量分析^[1,5,7,8]。作者应用图像分析仪检测术前骨穿刺组织的 DNA 含量,旨在了解肿瘤的增殖能力,为拟订合理的手术方案提供参考。

检测方法与结果

测量方法及主要仪器

蜡块切成 8 μ 切片,Feulgan 染色。采用西德 Kontron 公司的带图像阵列处理机的 IBAS 图像分析系统。细胞图像通过摄像管送入阵列处理机的内存中,并经转换后显示在彩色监视器上。该系统的主计算机用来管理阵列机、外围设备并进行参数运算和各种统计学处理,自动打印结果,所有数据均可贮存在磁盘上。

每切片先随机测量 20 个正常淋巴细胞光密度,以其均值作为正常细胞二倍体 DNA 水平。然后经消除杂质噪声,编辑和细胞识别后,对同一视野内所有完整的肿瘤细胞核进行测量,如此随机无选择地测量至少 100 个肿瘤细胞。

由计算机输出 DNA 分布组方图以及所需指标并进行统计学分析。

测量结果的计算与统计:

$$\text{DNA 指数(DI)} = \frac{\text{肿瘤细胞DNA均值}}{\text{淋巴细胞DNA均值}}$$

方差分析和 q 检验作统计学分析。

结 果

骨肿瘤穿刺组织蜡块 35 例。其中恶性 9 例(骨肉瘤 5 例,骨旁骨肉瘤 2 例,软骨肉瘤和血管外皮瘤各 1 例);良性 5 例(纤维结构不良 2 例,软骨母细胞瘤,神经纤维瘤和韧带样纤维瘤各 1 例);骨巨细胞瘤 21 例。其中将随访资料完全的骨巨细胞瘤 16 例分为两组,一组为经刮除术后无复发共 9 例,另一组为复发病例共 7 例。随访时间 2 年 4 月~9 年,平均 5 年 2 个月。

恶性骨肿瘤 DNA 指数(DI)较高,均值为 1.67;良性为 1.04,接近正常二倍体水平;骨巨细胞瘤居中,平均 1.25。恶性肿瘤 DI 与良性差异非常显著($P < 0.01$);恶性肿瘤 DI 与骨巨细胞瘤差异非常显著($P < 0.01$);而良性与骨巨细胞瘤差异无显著性($P > 0.05$)见表 1。

*北京医科大学

两组骨巨细胞瘤DI差异显著($P<0.01$)。见表2。

表1 不同骨肿瘤DNA相对含量测量结果

n		DNA Index	
		Min - Max	$\bar{x} \pm s$
恶性肿瘤	9	1.20~2.30	1.67 ± 0.38
骨巨细胞瘤	21	0.92~1.61	1.25 ± 0.19
良性病变	5	0.95~1.07	1.04 ± 0.08

表2 两组骨巨细胞瘤DNA测量结果

n		DNA Index	
		Min - Max	$\bar{x} \pm s$
无复发组	9	0.92~1.21	1.09 ± 0.09
复发组	7	1.20~1.53	$1.37 \pm 0.11^*$

* 两组差异非常显著(t检验 $P<0.01$)

讨 论

1. 用显微分光光度计和流式计作DNA分析的方法已用于多种肿瘤的研究^[5,7,8],本工作应用图像分析仪测量35例骨肿瘤和瘤样病变,结果显示恶性骨肿瘤DNA指数(DI)平均高达1.67,显著高于良性肿瘤和骨巨细胞瘤,明显表现出恶性肿瘤增殖活跃的恶性本质。骨巨细胞瘤DI则从0.92~1.61之间广泛分布,其低值与良性,高值与恶性相类似,充分表现其异质性,显示其中间性肿瘤的特征,即具有发展较慢的良性特点,又有易复发的侵袭性本质。本结果与国外在骨肿瘤范畴的一些研究一致。Kreicbergs^[3,4]在研究中发现,良性骨肿瘤为二倍体肿瘤,恶性骨肿瘤DNA含量明显增高,为异倍体肿瘤。Mankin的研究也表明高度恶性肿瘤的DNA分布模式与低度恶性肿瘤不同^[6]。本组有3例低度恶性肿瘤,其DI均值为1.40,也与高度恶性明显不同。肿瘤细胞的分裂增殖实质是染色体DNA的复制,因此肿瘤细胞DNA含量可视为反映肿瘤增殖能力的生物学指标,较为客观地反映其生物学特性。

2. 对穿刺活检进行DNA图像法分析具有临床价值。骨肿瘤不同的术式对肿瘤切除的范围和功能的影响有很大的不同,制定合理的手术方案是临床医师面临的难题。以往穿刺活检虽然术前确定肿瘤的类型,但并未能很好反映出肿瘤的增殖能力。由肿瘤类型决定术式和估计预后,往往与临床实际不一致,因为同一类型的肿瘤,其侵袭性或恶性程度可以有所不同。本研究表明,同是骨巨细胞瘤,DI分布广泛,复发组DNA含量明显高于无复发组。对骨巨细胞瘤一律采用简单的刮除术,部分侵袭性强的肿瘤则有较大的复发倾向。结果提示,DNA分析可以反映肿瘤的增殖或侵袭能力,对DNA含量低的骨巨细胞瘤可采用刮除术,而对含量高的病例采用不彻底术式则复发可能性大,而应加强灭活措施或采用段截等较为彻底的术式。DNA含量分析展示了这样一种可能性,即具体地根据每个肿瘤的增殖能力,而不仅是依据肿瘤类型来选择术式。

3. 骨穿活检已被证实是安全、简便、阳性率高的方法,目前广泛使用这一方法^[9]。本组病例表明,经穿刺活检作常规病理检查和DNA图像法分析是可行的。本研究使用的仪器是带图像阵列处理机的图像分析系统,阵列机是近几年发展起来的新型计算机系统,具有多种图像处理及编辑功能,可以增强图像的反差,突出主体轮廓。该系统具有处理功能强,速度快,测量精度高的特点。因此,采用图像分析仪进行测量和分析是十分可靠的。由于图像法可结合细胞形态有选择地测量,从而有可能检出流式细胞计难以检出的少数异倍体细胞,加上测量简便迅速,因而更适用于标本小,细胞数少的骨肿瘤穿刺标本。值得指出的是,DNA含量分析不能取代常规病理检查,骨肿瘤诊断仍需由临床、放射和病理三结合的全面分析与评价。

参 考 文 献

1. Jianhua X, et al. Flow cytometric analysis of DNA in bone and soft-tissue tumours using nuclear suspension. Cancer 1987;59

- 1951
2. Kreicbergs A, et al. Prognostic factors in chondrosarcoma. *Cancer* 1982;50:577
 3. Kreicbergs A, et al. Cellular DNA content in human osteosarcoma. *Cancer* 1982;50:2476
 4. Kreicbergs A, et al. Flow DNA analysis of primary bone tumours. *Cancer* 1984;53:129
 5. Mankin HJ, et al. Grading of bone tumours by analysis of nuclear DNA content using flow cytometry. *J Bone and Joint Surg* 1985;67A:404
 6. 黄承达,廖威明. 一种新的骨肿瘤穿刺活检针的应用与价值. *中山医科大学学报* 1989;10(4):70
 7. Matsuura H, et al. Malignant potentiality of squamous cell carcinoma of the esophagus predictable by DNA analysis. *Cancer* 1986;57:1810
 8. Kallioniemi OP, et al. Tumour DNA ploidy as independent prognostic factor in breast cancer. *Br J Cancer* 1987;56:637
- (1990-05-22收稿 1991-11-5修回)

APPLICATION OF DNA IMAGE ANALYSIS IN NEEDLE BIOPSY OF BONE TUMOURS

Liao Weiming Huang Chengda

(Orthopaedic Department, Affiliated First Hospital)

He Qihua

(Beijing Medical University)

The nuclear DNA content was measured in 35 needle biopsy of bone tumours and tumour-like lesions by means of image analytic system. The result showed that the DNA content in malignant bone tumours was higher than that in benign ones. The difference was statistically highly significant. DNA index of giant cell tumour of bone was widely distributed between malignant and benign tumours, exhibiting characteristic of "medial tumour". DNA content in recurrence group of giant cell tumour was significantly higher than non-recurrence group, which indicated that there was close relation between DNA content and biological behaviour of tumour. DNA analysis of needle biopsy help to get more information about proliferating ability as guideline for selection of operation types, differentiation between benign and malignant tumours, and prediction of prognosis. Image DNA analysis of needle biopsy in bone tumours is practical and shows certain significant clinical value.

Key words DNA analysis; bone tumour; needle biopsy; image analytic system