

DNA 倍体分析技术在诊断妇科肿瘤中的研究进展

兰雪丽 贺昕红

摘要 目前,全球范围内妇科肿瘤的发生率呈逐年上升趋势,并逐渐趋于年轻化,其中卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌为最常见的三大妇科肿瘤,严重威胁女性的生命、生活质量,主要存在的问题是早期发现困难、早期诊断困难、术后高复发率。通过 DNA 倍体分析,利于全面了解细胞生物学行为,从而有助于妇科肿瘤的及时诊断、治疗和预后判断。

关键词 DNA 倍体分析 妇科肿瘤

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.005

一、DNA 倍体分析技术

DNA 倍体分析方法:正常细胞是二倍体复制分裂为四倍体细胞,如果细胞在某些因素下发生了癌变,细胞核内的染色体就会发生异常增生,DNA 含量多超过 5 倍体。我们利用这个原理,对液基细胞玻片采取福根(Feulgen)染色,再使用计算机自动检测玻片中每 1 个细胞的 DNA 含量,并完成细胞的形态分析,就会识别出癌变细胞。DNA 倍体分析技术不但可以提高癌前病变和癌诊断的客观性,还可以减少甚至避免细胞学诊断中的人为误差。DNA 异倍体的出现是细胞癌变的特征性表现。DNA 图像分析仪(DNA image cytometry, DNA-ICM)能在细胞形态发生改变之前,发现细胞核 DNA 含量及结构的改变,从而预测癌变的发生。并且病变级别越高,DNA 倍体异常细胞和异倍体细胞峰出现的频率越大,DNA 异倍体的定量分析可作为一种评估肿瘤预后的指标^[1]。

二、DNA 倍体分析与妇科肿瘤

1. 子宫颈癌:现阶段,DNA 倍体分析在诊断妇科肿瘤方面的研究主要集中在宫颈癌上。Nghiem 等^[2]研究发现,在廉价和半自动化的服务必不可少的卫生保健体系中,DNA 倍体分析是更具成本效益的。已有研究表明在宫颈疾病筛查中,DNA 倍体分析技术的敏感度远大于液基细胞学^[3]。唐绪明等^[4]分别对所选患者同时进行宫颈常规液基检查和 DNA 倍体分析,再对检查阳性者行阴道镜活检,其研究发现 DNA 倍体分析检查的阳性率较常规液基检查显著提高,且

DNA 倍体分析检查阳性者阴道镜下活检的阳性率显著提高,指出 DNA 倍体分析对宫颈疾病的诊断准确率较高。同样有研究指出相对于 TCT,DNA 倍体分析方法观察的细胞量大,是一个高重复性的客观方法,减少了人为误差,其联合电子阴道镜,可以发现早期宫颈病变患者,有利于早期诊断和治疗,进一步降低宫颈癌的病死率^[5,6]。

也有研究发现,DNA 倍体分析和 TCT 敏感度均不足,不适合单独作为宫颈理理想的初筛方法;在具有较高细胞病理学水平分析检查者的地方,TCT 联合 HR HPV 检测为宫颈高度病变最优筛查方案。在缺乏专业细胞诊断人员的基层医疗机构,DNA 倍体分析联合 HR HPV 检测作为筛查手段具有更广泛的研究前景,更适合中国国情^[7]。阳艳等^[8]也指出 DNA 倍体分析技术较液基细胞学价格更便宜,更适用于基层医院及贫困地区。还有报道认为 DNA 倍体分析可用于 ASCUS 患者的分流,能够较早发现有癌变倾向的病例,降低宫颈高级别病变的漏诊率^[9]。比如彭全洲等^[10]研究发现,ASCUS 患者单独进行 HR-HPV 或 DNA 倍体分析,对可能发生的 HSIL 都有很好的提示作用,差异有统计学意义;HR-HPV 检测具有更高的特异性(68.8%),DNA 倍体分析具有更高的敏感度(89.5%),若两者联合敏感度将大幅度提高(96.1%)。Mei 等^[11]也对 DNA 倍体异常伴 ASCUS 的病例进行了分析,发现 ASCUS 伴 ≥ 3 个异倍体细胞者患 CIN II 及以上病变的风险更高,液基细胞学检查与 DNA 倍体分析联合检测可分流 ASCUS 患者,指导其随访和治疗。Zhang 等^[12]更是明确指出,在对 ASCUS 患者的分流处理中,HR HPV 阳性并 DNA 倍体分析阴性者可以继续随访,而异倍体阳性者可行阴道镜下活检,这样既可以避免阴道镜的过多处理,又

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院妇产科

通讯作者:贺昕红,副主任医师,电子信箱:helen1616@vip.sina.

com

可以减少 CIN 和宫颈癌的漏诊。冯晓杰等^[13]收集了 50 例局部晚期宫颈癌患者化疗前的宫颈活检标本,采用 DNA 倍体分析技术分析患者化疗前 DNA 倍体的表达情况,行新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NACT)后发现 DNA 异倍体表达者的化疗耐药性较高。

2. 子宫内膜癌:在全球范围内,每年约有 28 万新确诊的子宫内膜癌患者。DNA 非整倍体及细胞增殖水平增高发生在癌变之前,对诊断和预测癌变是 1 个非常有价值的指标,其发生早于临床病理诊断;子宫内膜癌患者 DNA 异倍体是否出现是重要的预后因素,子宫内膜癌异倍体患者约 50% 在 5 年内死亡。研究发现 DNA 指数、二倍体和异倍体可以区分内膜病变的显著不同,评价内膜发生增生还是癌变,可以作为内膜癌前病变发生非典型增生诊断的辅助技术;此外,在诊断困难的情况下, DNA 倍体分析可能为预测子宫内膜增生增添一些客观标准^[14]。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是多种生物学功能的磷酸化酸性分泌型糖蛋白,可以促进肿瘤细胞的侵袭、转移。郑伟等^[15]研究发现,在子宫内膜腺癌中 OPN 表达率与 DNA 异倍体率呈正相关,说明 OPN 表达量的多少,可能影响并调控着细胞 DNA 的合成,具有 DNA 异倍体的恶性肿瘤细胞侵袭性高、患者存活期短、预后差,因此 OPN 的表达结合 DNA 倍体分析可用于筛查子宫内膜腺癌的高危人群及判断预后。

国外研究发现,非整倍体的恶性子宫内膜样腺癌患者的复发风险高于二倍体肿瘤患者^[16]。对内膜癌患者术中肿瘤组织行 DNA 倍体分析的一项研究发现,计算 DNA 相对含量(DI 值)、S 期细胞比率(SPF)及增殖指数(PI),结合临床病理诊断,研究发现 50 岁以上患者、2 年内复发的患者、临床期别越高,异倍体率、SPF 及 PI 指数均明显升高,故 DNA 倍体分析为内膜腺癌早期预测、早期诊断、判断分期有非常重要的价值,为治疗和预后提供了良好全面的客观指标。同时, DNA 倍体类型是内膜癌患者临床结局中最强的独立预后因素, DNA 倍体分析有助于区分低危的二倍体肿瘤和具有不良结局的非整倍体肿瘤,以肿瘤的倍体类型来指导辅助治疗的选择,患者的预后情况将会改善。赵文波等^[17]用流式细胞仪对 40 例子宫内膜癌、20 例子宫内膜不典型增生以及 8 例正常子宫内膜行 DNA 含量检测,发现内膜癌患者的癌组织 DNA 异倍体率(72.4%)明显高于不典型增生内膜(40%)与正常子宫内膜组织(0%),研究说明子宫内

膜癌演进的过程与 DNA 含量的变化有关联。有国外报道, DNA 倍体分析是子宫内膜样腺癌的重要预后因素,与 FIGO 分级和组织病理学类型相结合,可以代替肌层浸润在需要更广泛手术的高危病例中的定义^[18]。同样有研究指出非整倍体的 I 期子宫内膜癌复发率较高,当某患者在肿瘤分期、分级、组织学类型被评定为低风险阶段时, DNA 倍体分析的存在可以发现其中的高风险病例^[19]。

3. 卵巢肿瘤:在妇科恶性肿瘤患者中病死率居首位的是卵巢恶性肿瘤,主要原因是 70% 的卵巢上皮癌患者发现时已为晚期,治疗后 70% 的患者将会复发,所以表现为难以治愈^[20]。肿瘤的诊断主要依靠组织病理学,但是病理学检测时间长、阳性率低、主观性强,对临界肿瘤和癌前病变的恶变倾向判断不佳。蔡元菊等^[21]研究发现卵巢癌异倍体率(80%)比良性卵巢肿瘤异倍体率(20%)高, SPF 也显著升高,所以 DNA 倍体和 SPF 用于卵巢肿瘤的早期诊断具有重要价值。同样,李际春等^[22]对新鲜卵巢恶性肿瘤及交界性肿瘤组织标本进行 DNA 倍体分析发现,正常卵巢组织均为 DNA 二倍体,上皮性恶性卵巢肿瘤、非上皮性卵巢癌、交界性卵巢肿瘤的 DNA 异倍体率分别为 60%、100%、60%,与正常卵巢组比较差异均有统计学意义,细胞 DNA 含量的分析可用于卵巢恶性肿瘤的定性诊断^[23]。

有研究报道, DNA 异倍体率与肿瘤组织学分级呈正相关,肿瘤恶性程度越高,异倍体出现率越高。但 DNA 异倍体率及 DI 值与临床分期无关。有外文文献指出, DNA 倍体分析可鉴别出具有恶变倾向的交界性肿瘤^[24]。但是有研究发现, DNA 倍体在卵巢交界性肿瘤中未被证实是预后影响因素^[25]。中晚期卵巢癌及盆腹腔结核患者均具有盆腹腔包块、腹腔积液和腹胀症状,两者不易鉴别,血清 CA125 诊断卵巢癌的特异性较低,腹腔积液 DNA 倍体分析可以提高卵巢癌诊断的敏感度和特异性(93.33%),联合检测血清 CA125 与腹腔积液 DNA 倍体,将在很大程度上提升中晚期卵巢癌的正确诊断率。

4. 子宫肉瘤:子宫肉瘤较少见,但其组织成分繁杂、分类繁多。国内报道子宫肉瘤约占女性生殖系统恶性肿瘤的 0.83%,占子宫恶性肿瘤的 1.46%。子宫肉瘤恶性程度高,预后较差,术后复发率高。Kildal 等研究发现,在 Cox 多因素分析下, DNA 倍体是预测子宫腺肉瘤患者生存期的唯一显著因素。有研究报道 DNA 非整倍体的子宫内膜间质肉瘤晚期患者预后

极差。目前国内尚无相关的报道,近期国外暂无最新进展。

目前,DNA 倍体分析技术越来越多的应有于妇科肿瘤疾病的诊治,对于癌前病变的预测和癌变的诊断具有重要的指导意义。通过对癌前病变细胞的 DNA 异倍体检测,有助于对癌前病变作出病理学诊断的超早期癌诊断。DNA 指数随不典型增生逐渐升高。对于在形态学上诊断为癌前病变的病例,非常有必要进行 DNA 倍体的检测,对出现 DNA 异倍体的患者,应进行密切的随访,及时发现早期癌变征象,做到早诊断、早治疗。细胞周期和倍体分析简便快速,但是不能脱离病理形态学和化学染色结果而直接作出诊断。因为标本质量、标本量、标本中所含肿瘤细胞数及流式细胞仪检测状态均可直接影响检测结果的准确性。目前在国内,DNA 倍体分析技术未完全作为诊断标准,但越来越受到临床医师的关注,希望 DNA 倍体分析技术的检测水平更加精确,在癌前病变及癌变诊治中发挥越来越重要的作用。

参考文献

- 1 武卫华,曹红英,黄庆玉. DNA 定量细胞学与液基细胞学联合检测宫颈癌的研究进展[J]. 医学综述,2011,17(17):2689-2691
- 2 Nghiem VT, Davies KR, Beck JR, *et al.* Evaluation of DNA ploidy analysis vs liquid-based cytology for cervical screening[J]. Br J Cancer, 2015, 112(12): 1951-1957
- 3 徐珊,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
- 4 唐绪明,田玉生,邹颀阳,等. 宫颈细胞 DNA 倍体分析在临床上的应用[J]. 深圳中西医结合杂志, 2015, 25(19): 86-87
- 5 Demirel D, Akyurek N, Ramzy I. Diagnostic and prognostic significance of image cytometric DNA ploidy measurement in cytological samples of cervical squamous intraepithelial lesions [J]. Cytopathology, 2013, 24(2): 105-112
- 6 蒋秋敏,谢凯圣. DNA 倍体分析联合电子阴道镜在宫颈癌筛查中的临床价值[J]. 中国现代医药杂志, 2016, 18(4): 37-39
- 7 林丹,罗新,蒋学风,等. DNA 倍体分析联合高危型人乳头瘤病毒检测筛查宫颈病变[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(7): 531-534
- 8 阳艳,段洁,黄燕明,等. DNA 倍体分析和液基细胞学在宫颈病变早期筛查中的应用[J]. 实用预防医学, 2016, 23(4): 444-446
- 9 李菲,张蔚,吕琼莹,等. DNA 倍体分析在非典型鳞状上皮细胞分流诊断中的应用[J]. 武汉大学学报:医学版, 2015, 36(1): 90-92
- 10 彭全洲,王晓玫,刘汉勇,等. DNA 倍体分析和 HPV 检测在宫颈

ASCUS 诊断中的意义[J]. 中国热带医学, 2015, 15(3): 335-337

- 11 Mei JH, Xu S, Han YL, *et al.* Diagnostic implications of atypical squamous cells of unknown significance with abnormal DNA ploidy for early cervical lesions [J]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 2013, 42(12): 829-832
- 12 Zhang DL, Yang Y, Zhou LM. Significance of DNA ploidy analysis in diagnosis of ASCUS [J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2012, 47(4): 259-262
- 13 冯晓杰,马一鸣,王莉. DNA 倍体及 MDR1 与宫颈癌新辅助化疗耐药相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(23): 1824-1826
- 14 El-Sharkawy SL, Abbas NF, El-Henawy AM, *et al.* Morphometric and DNA Image Analysis of Endometrial Hyperplasia and Carcinoma [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2015, 25(1): 1
- 15 郑伟,王素萍,崔淑贞,等. OPN 在子宫内膜样腺癌中的表达及其与 DNA 倍体相关性研究[J]. 内蒙古医学杂志, 2015, 47(8): 951-952
- 16 Pradhan M, Abeler VM, Danielsen HE, *et al.* Prognostic importance of DNA ploidy and DNA index in stage I and II endometrioid adenocarcinoma of the endometrium [J]. Ann Oncol, 2012, 23(5): 1178-1184
- 17 赵文波,樊爱军,楼正青. 子宫内膜癌组织 DNA 含量分析及意义[J]. 中国医师杂志, 2012, 14(9): 1278-1279
- 18 Sorbe B. Prognostic importance of DNA ploidy in non-endometrioid, high-risk endometrial carcinomas [J]. Oncol Lett, 2016, 11(3): 2283-2289
- 19 Taejong Song, Jeong-Won Lee, Ha-Jeong Kim, *et al.* Prognostic significance of DNA ploidy in stage I endometrial cancer [J]. Gynecologic Oncology, 2011, 122: 79-82
- 20 沈铿,崔恒,丰有吉. 常见妇科恶性肿瘤诊疗指南[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 83-84
- 21 蔡元菊,黄文波,马占忠. 卵巢肿瘤细胞 DNA 倍体和 S 期细胞比率的检测及临床意义[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(7): 3196-3197
- 22 李际春,李妍. 卵巢恶性肿瘤的 DNA 倍体分析及临床意义[J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(2): 220-222
- 23 何玲,文玉军,李际春. DNA 倍体和 Survivin 蛋白在卵巢肿瘤组织中的表达[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34(12): 1246-1248
- 24 A A. Gamal el Din, Manal A. Badawi, Shereen E. Abdel Aal, *et al.* DNA cytometry and nuclear morphometry in ovarian benign, borderline and malignant tumors [J]. OA Maced J Med Sci, 2015, 3(4): 537-544
- 25 Lıbalov P, Vernerov Z, Hubickov - Heringov L, *et al.* Risk factors for recurrent disease in borderline ovarian tumors [J]. Ceska Gynekol, 2012, 77(1): 31-35

(收稿日期:2016-09-28)

(修回日期:2016-10-06)