

● 临床研究 ●

细胞核 DNA 含量在慢性萎缩性胃炎伴异型增生
中医证型中的比较及其意义

张冬英 吴耀南 张玉凤
(福建省厦门市中医院 厦门 351009)

摘要:目的:观察细胞核 DNA 含量在慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医各证型中的变化,探索中医辨证分型的客观指标,以更好地协助指导中医药防治慢性萎缩性胃炎伴异型增生。方法:选取 146 例慢性萎缩性胃炎伴异型增生患者进行中医辨证分型;采用 Feulgen 染色、病理图像定量分析细胞核 DNA 含量。结果:(1)DNA 含量随异型增生程度的加重逐渐增加,且轻、中、重度异型增生之间存在非常显著性差异($P<0.01$)。(2)DNA 含量在各证型间存在非常显著性差异($P<0.01$),且胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型。结论:(1)慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医辨证分型有其一定的分子生物学基础。(2)轻、中、重度异型增生均有癌变的可能,且随着异型增生程度的加重癌变的可能性逐渐增大。(3)慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医证型在病情上存在一定的轻重递进关系,具体表现为胃络瘀血型>胃阴不足型>脾胃虚弱型>脾胃湿热型>肝胃不和型。(4)检测 DNA 含量可作为活检慢性萎缩性胃炎伴异型增生的诊断、分级和中医辨证分型的参考指标,并能协助指导临床诊治。

关键词:慢性萎缩性胃炎;异型增生;中医证型;DNA 含量

Study the Nuclear DNA Content in the Syndromes of Traditional Chinese Medicine for Chronic Atrophic Gastritis with Dysplasia

ZHANG Dong-ying, WU Yao-nan, ZHANG Yu-feng
(Xiamen Hospital of TCM, Fujian, Xiamen351009)

Abstract: Objective: Observing the nuclear DNA content in the syndromes of traditional chinese medicine (TCM) of chronic atrophic gastritis with dysplasia, studying the difference of the syndromes of TCM in the molecule biology level. Exploring objective indicators of syndromes of TCM as a guidance for preventing and treating the chronic atrophic gastritis with dysplasia in TCM. Methods: 146 Cases with chronic atrophic gastritis with dysplasia were divided into five types according to the Syndrome differentiation of TCM. The nuclear DNA content was quantitatively determined by Feulgen dying method and pathological image analysis. Results: (1) The nuclear DNA content increased with the increment of the severity of dysplasia in gastric mucosa, and there was very significant difference among Mild, moderate and severe types of dysplasia ($P<0.01$). (2) Significant difference of the nuclear DNA content was found in all types of the syndromes of TCM, and the regular sequence was Disharmony between the Liver and Stomach, Damp Heat in the Spleen and Stomach, Deficiency of the Spleen and Stomach, Deficiency of Stomach Yin, Blood Stagnation of the Stomach. Conclusions: (1) The syndromes of TCM of chronic atrophic gastritis with dysplasia were on the basis of molecule biology reliably, and it might play partly a good guidance in treating this disease. (2) Mild, moderate and severe dysplasia had the possibility of carcinogenesis, and this kind of possibility increased with the increment of the severity of dysplasia in gastric mucosa. (3) The worse of the syndromes of TCM of chronic atrophic gastritis with dysplasia increased by degrees, and the regular sequence was Disharmony between the Liver and Stomach, Damp Heat in the Spleen and Stomach, Deficiency of the Spleen and Stomach, Deficiency of Stomach Yin, Blood Stagnation of the Stomach. (4) It had been approved that the nuclear DNA content could be used as some important indexes for diagnosis and classification of chronic atrophic gastritis with dysplasia, and the guidance of treatment, too.

Key words: Chronic atrophic gastritis; Gastric epithelial dysplasia; Syndrome of TCM; The nuclear DNA content

中图分类号:R573.3

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.01.003

胃黏膜上皮异型增生是国内外公认的癌前病变,代表肿瘤性生长的起始阶段,属于浸润前阶段,若不及时治疗可能发展为浸润性癌^[1]。胃癌的发生发展与癌基因激活、抑癌基因失活、抗凋亡基因过度表达、抑制细胞凋亡、刺激细胞分化和增殖密切相关^[2]。特别是 DNA 含量的异常与胃黏膜癌前期病变的关系引起了高度重视。多种癌基因被激活而抑癌基因被抑制,使增殖加快,胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡之间的动态平衡被破坏,并由此增加 DNA 损伤却

得不到及时修复,产生非整倍体,而又启动不了凋亡机制使之自行死亡,则可能逐渐进展为癌^[3]。本研究旨在观察细胞核 DNA 含量在慢性萎缩性胃炎伴异型增生的中医各证型中的变化情况,探讨各证型之间在分子生物学水平上有一定的差异,探索中医辨证分型的客观指标,更好地协助指导中医药防治慢性萎缩性胃炎及胃癌前期病变。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有入选病例均来自于厦门市中

医院 2011 年 1 月~2014 年 2 月门诊及住院病人,均经电子胃镜检查及胃黏膜病理组织活检证实为慢性萎缩性胃炎伴异型增生,并经我院消化内科专家根据 2002 年中国医药科技出版社出版的《中药新药临床研究指导原则》第一版中的中医证候诊断标准进行辨证分型。观察对象共 146 例,其中男 78 例,女 68 例;年龄 24~85 岁,平均年龄(54.86± 14.02)岁;病程 2~40 年,平均(8.58± 4.27)年;中医辨证为肝胃不和型 22 例,脾胃虚弱型 26 例,脾胃湿热型 32 例,胃阴不足型 39 例,胃络瘀血型 27 例;属轻度萎缩性胃炎者 55 例,中度 48 例,重度 43 例;异型增生属轻度 95 例,中度 30 例,重度 21 例。上述各证型间性别、年龄经检验无显著性差异($P>0.05$)。

1.2 治疗方法 对 146 例患者进行常规胃镜检查,取胃窦、胃体部或病灶处胃黏膜组织进行病理组织活检,新鲜标本用 10%中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋,4 μm 厚度切片,HE 染色。病理检查依照上述标准证实为慢性萎缩性胃炎伴异型增生者,进一步检测细胞核 DNA 倍体含量。

1.3 DNA 含量的测定 取备用的石蜡块作厚度为 4 μm 的切片,行常规 Feulgen 染色。在 MDIAS-500 型彩色病理图像分析系统下对 Feulgen 染色切片作细胞核 DNA 原位定位测量,切片放大 400 倍(40×10),每例随机检测 100~200 个细胞及 50 个以上淋巴细胞,取其均值作为 2 C 对照值。由主计算机对细胞核积分光密度值进行运算,得出细胞核 DNA 的相对含量,用 DI 表示^[4]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计学软件,计数资料采用 χ^2 检验及四格表 χ^2 检验进行两样本率的比较。计量资料采用 F 检验,两两之间比较采用 q 检验。

2 结果

2.1 各级异型增生与 DNA 含量 (DI 值) 的关系 见表 1。经 F 检验, $P=0.00<0.01$,说明三组间 DNA 倍体含量存在非常显著性差异。进一步以 q 检验进行多重比较,得出两两之间均存在非常显著性差异(P 均 <0.01),而且 DNA 含量重度异型增生 $>$ 中度异型增生 $>$ 轻度异型增生。

表 1 各级异型增生中 DNA 含量(DI 值)情况						
异型增生	<i>n</i>	平均值	标准差	标准误	最大值	最小值
轻度	95	1.2215	0.1560	1.601E-02	1.41	0.00
中度	30	1.3857	0.1264	2.307E-02	1.77	1.13
重度	21	1.5471	0.1396	3.046E-02	1.86	1.32

2.2 证型类别与异型增生的关系 见表 2。经 χ^2 检验, $P=0.002<0.01$,可认为各证型在轻、中、重度异

型增生分布上具有非常显著性差异,且肝胃不和型、脾胃湿热型、脾胃虚弱型、胃阴不足型、胃络瘀血型的轻度异型增生百分率依次逐渐下降,而中、重度异型增生的百分率依次上升。

表 2 证型类别与异型增生的关系[例(%)]				
证型类别	<i>n</i>	轻度	中度	重度
肝胃不和	22	21 (95.5)	1 (4.5)	0 (0)
脾胃湿热	32	26 (81.2)	3 (9.40)	3 (9.40)
脾胃虚弱	26	18 (69.2)	5 (19.2)	3 (11.5)
胃阴不足	39	21 (53.8)	10 (25.6)	8 (20.5)
胃络瘀血	27	9 (33.3)	11 (40.7)	7 (25.9)

2.3 慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型与 DNA 含量 (DI 值) 的关系 见表 3。经检验, $P=0.010$,表明不同证型间 DNA 倍体含量具有非常显著性差异,进一步以 q 检验进行多重比较,可得出脾胃湿热与胃阴不足、胃络瘀血之间,肝胃不和与胃阴不足、胃络瘀血之间,脾胃虚弱与胃络瘀血之间 DNA 含量均有显著性差异(P 均 <0.05),其余各证型之间无显著性差异(P 均 >0.05),而且 DNA 非整倍体含量胃络瘀血型 $>$ 胃阴不足型 $>$ 脾胃虚弱型 $>$ 脾胃湿热型 $>$ 肝胃不和型。

表 3 各证型中 DNA 倍体含量(DI 值)情况						
证型类别	<i>n</i>	平均值	标准差	标准误	最大值	最小值
肝胃不和	22	1.230 8	0.283 0	6.034E-02	1.63	0.00
脾胃湿热	32	1.251 0	9.272E-02	1.639E-02	1.42	1.11
脾胃虚弱	26	1.271 6	0.135 3	2.653E-02	1.66	1.07
胃阴不足	39	1.350 3	0.193 4	3.097E-02	1.86	1.04
胃络瘀血	27	1.378 1	0.150 9	2.905E-02	1.75	1.08

3 讨论

正常体细胞是 DNA 含量比较恒定的二倍体细胞,不随性别、种族和年龄而改变。少数组织如肝、肾、心肌等可有少量多倍体细胞,其 DNA 含量直方图呈整倍多倍体分布,如 2 c、4 c、8 c 等。受到致癌因素刺激时,DNA 受到损伤,细胞基因突变与染色体畸形或断裂,细胞在分裂增殖过程中出现 DNA 量的丢失、扩增或染色体移位、不分离等,导致细胞 DNA 的质和量异常,基因排列顺序发生改变,使原有的细胞生物学特征发生改变,成为 DNA 含量异常(增多或减少)的肿瘤细胞,即 DNA 非整倍体细胞,亦称异倍体细胞^[5]。张军等^[6]研究显示从正常胃粘膜、慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎伴肠化、伴不典型增生,直至发生胃癌,随着胃黏膜病变的逐渐加重,DNA 异倍体的出现率逐渐升高。这可能是细胞染色体组发生某些不稳定性改变的结果,一旦这些不稳定性的改变积累到一定程度,出现优势细胞克隆时,必然发生细胞癌变。说明 DNA 异倍体的出现可能是胃癌前病变发生癌变的一个重要标志物。

国内外研究均表明,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^[7]。

本研究发现所选病例标本的细胞核 DNA 相对含量均为非整倍体,且随异型增生的程度加重, DNA 含量逐渐增加,经检验各组间存在非常显著性差异(P 均 <0.01),见表 1。由此可知随着胃黏膜异型增生程度的加重,其 DNA 含量越接近于胃癌。因此 DNA 含量检测对胃癌前病变的临床监测具有实用价值,可作为检测胃黏膜癌变潜能的一个重要参考指标。

中医学中并没有“慢性萎缩性胃炎伴异型增生”这一病名,但根据其临床症状特征,可将其归于中医“胃痛、痞证、嘈杂、反胃”等范畴。病因主要与饮食不节、喜进热烫粗糙或刺激性食物、嗜好烟酒、情志不节、郁思恼怒、素体虚弱、劳倦内伤或用药不当、久病体虚等有关。对于其病机目前国内已较一致地认为是以脾胃气阴两虚为本,兼有气滞、胃热、血瘀的本虚标实之证;因虚挟邪,因实致虚是其主要的病机转化规律^[8]。本研究在所观察的病例中发现轻度异型增生期以肝胃不和型、脾胃湿热型为多见,中度异型增生期以脾胃虚弱型和胃阴不足型多见,至重度异型增生则以胃络瘀血型多见(见表 2)。可见胃络瘀血是癌前病变的晚阶段事情,整个过程与因邪致虚,因虚生邪及久病入络、久病必瘀的观点是相一致的。

通过检索可知中医对本病的认识主要集中于对病因病机方面的阐述及中医药治疗的经验,而就中医证型与 DNA 含量的关系探讨为之甚少。涂福音等^[9]研究发现中医分型与病理类型存在相关性,病理诊断为浅表性胃炎者,中医辨证多为肝胃不和型或脾胃湿热型;病理诊断为萎缩性胃炎者,中医辨证多为胃阴不足型或脾胃虚弱型。林一凡等^[10]研究表明胃络瘀滞型与胃络灼伤型胃黏膜 DNA 含量、超 2 倍体、超 4 倍体细胞百分数及核平均面积、周长、体积均较胃热型与胃寒型明显增高, DNA 含量直方图非整倍体型组中胃络瘀滞型黏膜明显高于整倍体型组。对其中 63 例进行了 6~72 个月的随访,癌变组

中胃络瘀滞型黏膜明显高于未癌变组,差异均有显著意义。表明胃络瘀滞型胃黏膜异型增生与癌变关系密切。本研究结果显示:慢性萎缩性胃炎伴异型增生中医各证型间 DNA 含量胃络瘀血型 $>$ 胃阴不足型 $>$ 脾胃虚弱型 $>$ 脾胃湿热型 $>$ 肝胃不和型,经检验各证型间存在非常显著性差异($P=0.010$),见表 3。此与中医学的观点是相一致的,中医学认为本病发病初期以实证为主,故临床以肝胃不和型、脾胃湿热型多见;病久则因邪致虚,出现气虚、阴虚等证候,以脾胃虚弱型、胃阴不足型多见;后期则因虚生邪,虚实夹杂,以胃络瘀血型多见。

以上这些结果从分子生物学角度证实了慢性萎缩性胃炎伴异型增生从中医证型的肝胃不和型 $\rightarrow$ 脾胃湿热型 $\rightarrow$ 脾胃虚弱型 $\rightarrow$ 胃阴不足型 $\rightarrow$ 胃络瘀血型是一个病情由轻到重的渐进过程,说明中医的辨证分型不是笼统的、主观的概念,而是由量化的、客观的病理组织学及分子生物学的改变衍生到外的投射。通过对本病中医各证型中细胞核 DNA 含量的变化分析比较,不仅为揭示本病的中医证型的客观化提供了帮助,也为深入研究其病理实质、及对临床上的合理组方、提高临床疗效提供了必要的条件,对于指导中医药诊治胃黏膜癌前病变具有一定的意义。

参考文献

[1]房殿春.胃黏膜癌前病变的研究进展[J].现代消化及介入诊疗,2013,18(2):87-90
[2]张遵红,刘启兰.P53 在胃粘膜上皮非典型增生和胃癌中的表达及意义[J].右江民族医学院学报,2004,26(2):155-157
[3]陈灏珠.实用内科学[M].第 13 版.北京:人民卫生出版社,2013.1924
[4]斯頓伯格.诊断外科病理学[M].第 3 版.北京:北京大学医学出版社,2003.1314-1315
[5]夏潮涌.图像分析仪在测定肿瘤细胞 DNA 含量、倍体中的若干问题[J].中华病理学杂志,1999,28(4):307-308
[6]张军,张振玉,孙丹莉,等.细胞核 DNA 含量在胃粘膜癌变过程中的变化及意义[J].医学临床研究,2003,20(11):836-838
[7]田智丹,齐琼,王劲松,等.DNA 倍体分析在胃粘膜上皮反应性增生与异型增生鉴别中的价值[J].临床与实验病理学杂志,2014,30(10):1164-1166
[8]劳绍贤.胃癌癌前病变的中医药研究[J].江苏中医药,2007,39(8):9
[9]涂福音,裴明,郑启忠,等.慢性胃炎中医证型与胃黏膜活检病理变化的关系[J].中国中西医结合杂志,2004,12(6):323-325
[10]林一帆,周学文,朱虹,等.胃粘膜异型增生微观辨证分型与细胞核 DNA 含量变化及随访研究[J].中医药学刊,2002,20(3):296-297

(收稿日期: 2015-09-02)

+++++

欢迎广告惠顾! 欢迎投稿! 欢迎订阅!