

# DNA 倍体类型与鼻咽癌放射敏感性及预后关系的研究

石小燕<sup>1</sup>,袁响林<sup>1</sup>,陶德定<sup>2</sup>,龚建平<sup>2</sup>,胡国清<sup>1</sup>

## Relationship between DNA-ploidy and Radiosensitivity and Prognosis of Nasopharyngeal Carcinoma

SHI Xiao-yan<sup>1</sup>, YUAN Xiang-lin<sup>1</sup>, TAO de-ding<sup>2</sup>, GONG Jian-ping<sup>2</sup>, HU Guo-qing<sup>1</sup>

1. Oncological Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of Surgery/ Molecular Medical Center

**Abstract :Objective** To explore the correlation between DNA-ploidy and radiosensitivity and prognosis of nasopharyngeal carcinoma ( NPC ). **Methods** The DNA-ploidy of 45 cases NPC cells was analyzed before the radiotherapy by means of FCM. The short-term curative effect was assessed in the sixth month after the radiotherapy was end up. The patients were followed up periodically after the treatment. And the relationship between DNA-ploidy and radiosensitivity and prognosis was then statistically analyzed .

**Results** There was no relationship between DNA-ploidy and the sex and pathologic type. But there was a remarkable correlation between DNA-ploidy and the following factors: clinical stage, short-term curative effect, radiosensitivity and prognosis. The percentage of the DNA aneuploidy in early stage ( + stage) was 11.11 % (2/18), while in late stage ( + stage) it was 40.74 % (11/27) (  $P < 0.05$  ). The aneuploidy tumors were more radiosensitive than the diploidy tumors (  $P < 0.01$  ) and the short-term curative effect of the aneuploidy tumors was much better than that of the diploidy tumors (  $P < 0.05$  ). But the prognosis of the aneuploidy tumors were much more poor than that of the diploidy tumors (  $P < 0.01$  ).

**Conclusion** Based on these findings, DNA-ploidy is considered as an independent factor of radiosensitivity and prognosis for NPC. The analysis of DNA-ploidy by means of FCM may be as an objective index to choose different divide-up radiotherapy for each individual patient of NPC.

**Key words** :FCM ;DNA-ploidy ;Radiosensitivity ;Prognosis ;Nasopharyngeal carcinoma (NPC)

**摘要:**目的 探讨 DNA 倍体类型与鼻咽癌放射敏感性及预后的关系。方法 应用流式细胞术 (FCM) 分析 45 例放疗前鼻咽癌细胞的 DNA 倍体,放疗结束六个月评定疗效。对患者进行定期随访,分析 DNA 倍体性与鼻咽癌放射敏感性、预后有无相关性。结果 DNA 倍体性与鼻咽癌临床分期、近期疗效、放射敏感性、预后均有明显的相关性,但与性别、病理类型无关。早期肿瘤( + 期)的 DNA 异倍体率为 11.11 % (2/18) 远低于晚期( + 期)者的 40.74 % (11/27) (  $P < 0.05$  ),异倍体肿瘤较二倍体肿瘤对放疗更敏感 (  $P < 0.01$  ),且异倍体肿瘤的近期疗效明显好于二倍体肿瘤 (  $P < 0.05$  ),但异倍体肿瘤的预后较二倍体肿瘤差 (  $P < 0.01$  )。结论 DNA 倍体类型可作为评估鼻咽癌放射敏感性和预后的一个独立指标。FCM 的肿瘤细胞 DNA 倍体分析可能成为鼻咽癌选择放疗分割方案的客观指标。

**关键词:**流式细胞术;DNA 倍体;放射敏感性;预后;鼻咽癌

中图分类号:R739.63;R730.55 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2005)06-0368-03

### 0 引言

流式细胞计数技术是近年来新开展的分子生物学检测方法,在肿瘤细胞增殖动力学参数 DNA 倍体性的检测方面,具有标本获取简单、测量迅速、结果客观准确等优点,已广泛用于各种实体肿瘤的研究。

我们应用该技术检测 45 例鼻咽癌患者的肿瘤细胞核 DNA 倍体类型,探讨其与鼻咽癌放射敏感性、预后关系。

### 1 资料和方法

1.1 一般资料 1999 年 10 月~2000 年 10 月间收治的鼻咽癌患者,行 FCM DNA 倍体分析且临床资料完整者 45 例,其中男性 35 例,女性 10 例,年龄 24~67 岁,中位年龄 47 岁。按 WHO 1997 年分类

收稿日期:2004-07-01;修回日期:2004-12-22

基金项目:973 肿瘤计划资助项目(G1998051212)

作者单位:1. 430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤中心,2. 外科/分子医学中心

标准,鳞癌 35 例,未分化癌 10 例(其中包括泡状核细胞癌)。按 1992 年福州会议 TNM 分期标准, T1 6 例、T2 27 例、T3 7 例、T4 5 例; N0 6 例、N1 20 例、N2 16 例、N3 3 例; 临床分期 期 1 例、期 17 例、期 17 例、10 例。

1.2 DNA 倍体分析方法及判断标准 将鼻咽癌组织标本制成单细胞悬液,进行细胞核 DNA 染色,用美国 BD 公司 FASCalibur 流式细胞仪,每例检测  $10^4$  个细胞, Modfit 软件进行 DNA 分析,结果在多道脉冲分析仪上以组方图数字显示,同时将实验图形和数据输入 HP-300 Consort 30 计算机进行处理,测定前以正常组织样品调节仪器的 CV 值在 8% 以内。DNA 含量分析方法是以前 DI 作为判定 DNA 倍体水平的定量标准,  $DI = (\text{样本细胞 } G_0 / G_1 \text{ 峰道均值}) / (\text{标准样本细胞 } G_0 / G_1 \text{ 峰道均值})$ , DNA 倍体的判断标准是  $DI = 0.9 \sim 1.1$  为二倍体,其他倍体统称为异倍体。

1.3 治疗方法 全部病例均采用 6MV X 线常规分割放疗。放疗方案: 2 Gy/次, 1 次/日, 5 天/周, 鼻咽部 DT(65 - 78) Gy/ (6.5 ~ 8) 周, 疗终鼻咽残存者加腔内放疗,参考点剂量 (6 - 8) Gy/次,共 2 ~ 3 次。颈部照射视淋巴结转移情况设半颈或全颈切线野,然后改用侧颈垂直照射野照射治疗剂量总量 (56 ~ 65) Gy/ (6 ~ 7) 周,如有肿瘤残存,改用小野加照 (10 ~ 15) Gy; 预防量 (50 ~ 54) Gy/ (5 ~ 5.5) 周。

1.4 放射敏感性及疗效判断 以  $DT < 40$  Gy 鼻咽肿瘤明显消退(即间接鼻咽镜下肉眼观察肿瘤缩小超过原肿瘤大小的二分之一) 视为放射敏感,  $DT > 40$  Gy 鼻咽肿瘤消退不明显(即间接鼻咽镜下肉眼观察肿瘤缩小不足原肿瘤大小的二分之一) 或疗终仍有肿瘤残存视为放射不敏感。放疗结束六个月评定疗效,疗效评定参考国际抗癌联盟推荐的实体瘤客观疗效评定标准,根据治疗前后临床观察及肿瘤局部 CT 检查判定肿瘤大小的变化。

1.5 统计学分析 数据用 SPSS 10.0 统计学方法进行处理。

2 结果

本组 45 例鼻咽癌患者中二倍体 32 例,占 71.11%, DNA 组方图只有单一的  $G_0 / G_1$  峰(见图 1); 异倍体 13 例占 28.89%, DNA 组方图呈现两个或两个以上  $G_0 / G_1$  峰(见图 2)。DNA 倍体性与鼻咽癌临床分期、近期疗效、放射敏感性、预后均有明显的相关性,但与性别、病理类型无关(见表 1)。S 期百分数(SPF)、DI、PI 值与 DNA 倍体之间的关系(见表 2),放射敏感性与预后的相关性分析(见表 3)。

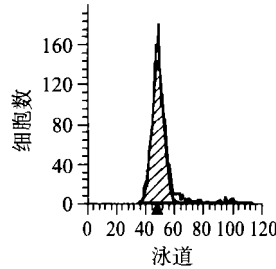


图 1 二倍体

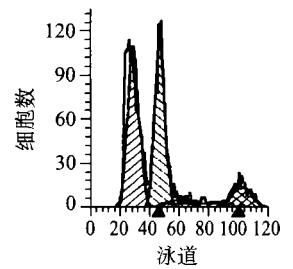


图 2 异倍体

表 1 DNA 倍体类型与 NPC 临床参数的关系

临床病理因素		例数	倍体类型		P
			二倍体	异倍体	
性别	男	35	25	10	> 0.05
	女	10	7	3	
临床分期	~	18	16	2	< 0.05
	~	27	16	11	
T 分期	T1 ~ 2	32	23	9	> 0.05
	T3 ~ 4	13	9	4	
N 分期	N0 ~ 1	26	23	3	< 0.01
	N2 ~ 3	19	9	10	
病理类型	低分化鳞癌	35	24	11	> 0.05
	未分化癌	10	8	2	
放射敏感性	敏感	23	12	11	< 0.01
	不敏感	22	20	2	
近期疗效	CR	27	16	11	< 0.05
	PR	18	16	2	
预后(三年)	生存	32	27	6	< 0.01
	死亡	13	5	7	
合计		45	32	13	

表 2 DNA 倍体类型与 SPF、PI 值、DI 值的关系( $\bar{x} \pm s$ )

项目	倍体类型		P
	二倍体	异倍体	
SPF	10.1156 $\pm$ 10.7182	17.7369 $\pm$ 10.3168	< 0.05
PI 值	14.8863 $\pm$ 12.5430	24.1731 $\pm$ 12.1655	< 0.05
DI 值	1.0072 $\pm$ 0.0354	1.6158 $\pm$ 0.2571	< 0.01

表 3 放射敏感性与预后的关系( $\bar{x} \pm s$ )

放射敏感性	生存数	死亡数	P
敏感	14	9	$P = 0.055$
不敏感	19	3	$r = -0.288$

3 讨论

DNA 是细胞的遗传物质基础,正常人体各类组织细胞核中的 DNA 为较恒定的二倍体。从分子生物学及细胞学水平分析,肿瘤是细胞变异的结果,即在正常细胞向癌细胞转化的开始, DNA 不仅在结构上有所改变,而且在含量上也发生了变化。由于几乎所有恶性肿瘤都有染色体异常和 DNA 的大量合成,使得肿瘤细胞的细胞核 DNA 含量增高,异倍体增多。这是 DNA 异倍体可作为诊断鼻咽癌的理论

基础。而流式细胞术是在定量细胞化学基础上发展起来的新技术,能定量分析细胞的 DNA 倍体含量及倍体类型,反映细胞的增殖情况,在肿瘤的诊断、治疗反应及预后的预测上具有重要价值<sup>[1]</sup>。本组中 DNA 异倍体率在鳞癌、未分化癌中分别是 34.4% 和 20%,无统计学意义( $P > 0.05$ ),与文献报道细胞核 DNA 异倍体率与病理类型无关相一致<sup>[2]</sup>。+ 期异倍体检出率高于 + 期,两组间存在显著性差别( $P < 0.05$ ),进一步证明肿瘤中 DNA 异倍体的检出率与临床分期呈正相关<sup>[2,3]</sup>。然而,最近有人提出 DNA 含量增高和高倍体比率增加是食管癌发展的早期分子事件<sup>[4]</sup>。

本研究表明异倍体肿瘤较二倍体肿瘤对放疗更敏感( $P < 0.01$ ),且异倍体肿瘤患者的近期疗效明显好于二倍体肿瘤患者( $P < 0.05$ )。其原因可能是:1) 异倍体肿瘤进入分裂期的细胞比例较多,细胞受照射后修复能力差,放疗效果相对较好;2) 异倍体 DNA 的肿瘤增殖能力强,细胞周期短,细胞生物学行为活跃,有丝分裂期细胞多,易被射线损伤,因而提高了肿瘤细胞的放射敏感性;3) 异倍体受照射后,凋亡细胞的比例增加<sup>[5]</sup>。但是,高的放射敏感性未必有好的预后,正是由于异倍体的高增殖活性,往往使得此类肿瘤预后极差,患者较早发生局部复发和远处转移。本实验亦将患者的放射敏感性和预后作了相关性分析( $P = 0.055$ ,  $r = -0.288$ ),未能提示二者之间有明显的相关性,考虑可能与样本数目较少有关。已有文献报道, DNA 倍体状况与头颈部鳞癌的预后密切相关,且异倍体往往预示着不良的预后和高的复发及远处转移率<sup>[6,7]</sup>。另有文献报道 DNA 倍体的异质性与肿瘤淋巴结转移<sup>[8,9]</sup>及患者的预后相关<sup>[8-11]</sup>,认为 DNA 倍体的异质性是反映肿瘤生物学特性的确切指标<sup>[8]</sup>。我们的研究也得出了同样的结论。本组研究发现 DNA 倍体类型与颈淋巴结转移有着密切的相关性,异倍体肿瘤患者的颈淋巴结转移的程度明显高于二倍体肿瘤患者( $P < 0.01$ ),而颈淋巴结转移情况也是影响鼻咽癌预后的重要因素,这间接说明 DNA 倍体类型与鼻咽癌的预后有关。

本组研究表明异倍体 DNA 的肿瘤细胞中代表增殖活性的 S 期细胞比例(SPF)及 DI、PI 值较二倍体 DNA 肿瘤高( $P < 0.05$ ),说明异倍体 DNA 的肿瘤处于分裂期的细胞数较二倍体肿瘤细胞数多,增殖能力强,细胞周期短。近年来,超分割放疗在恶性肿瘤放疗中的作用已得到了有关专家的肯定,这种放疗方法主要针对增殖快的肿瘤。常规分割照射虽然可基本达到癌细胞致死和避免正常组织损伤之间

的平衡,但加速了增殖快的肿瘤放疗后克隆源性肿瘤细胞的再群体化,从而降低了肿瘤的局控率。超分割治疗为解决这一问题作出了贡献,但同时也加重了正常组织的放疗反应。说明放疗前 DNA 倍体分析有助于充分利用不同分割放疗方法的优势,同时也提示 DNA 异倍体肿瘤更适合超分割放疗。因此,根据放疗前 DNA 倍体分析结果来选择分割放疗方案对实施个体化放疗十分重要。

综上所述, DNA 倍体类型可作为评估鼻咽癌放射敏感性和预后的一个独立指标。以 FCM 的 DNA 倍体分析结果来选择分割放疗方案有客观理论依据及现时可行性。FCM 的肿瘤细胞核 DNA 倍体分析可能成为鼻咽癌选择放疗分割方案的客观指标。

#### 参考文献:

- [1] Marlogie BD, Betilycowu QJ, Havrilesky DR, et al. Flow cytometry in Clinical Cancer Research[J]. *Cancer Res*, 1999, 43(10):3982-3985.
- [2] Zuo LF. Analysis of DNA ploidy in 3,050 cases of malignant tumors[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 1992, 21(3):167-170.
- [3] 蔡海英,何为民,王爱基. 流式细胞术在鼻咽癌研究中的应用[J]. *中山医科大学学报*, 1990, 11(4):16-19.
- [4] Zuo LF, Lin PZ, Qi FY, et al. Flow cytometric analysis of DNA, telomerase content and multi-gene expression in esophageal epithelial dysplasia[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(11):2409-2412.
- [5] Radford IR, Aldridge DR. Importance of DNA damage in the induction of apoptosis by ionizing radiation: effect of the scid mutation and DNA ploidy on the radiosensitivity of murine lymphoid cell lines[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(2):143-153.
- [6] Ensley JF, Maciorowski Z. Clinical applications of DNA content parameters in patients with squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. *Semin Oncol*, 1994, 21:330-339.
- [7] Jun MA, Nicholas H. A. Terry, Suxia LIN, et al. Prognostic significance of DNA ploidy and proliferative indices in patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2002, 21(6):644-650.
- [8] Yuan Z, Jiang H, Xu C. Study of heterogeneity in DNA ploidy and its clinical - pathological significance in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 1996, 25(3):159-161.
- [9] Kawaguchi A, Shibata J, Kodama M, et al. Correlation between DNA ploidy patterns and tumor progression, prognosis, and tumor infiltrating lymphocytes in human esophageal cancer[J]. *Nippon Geka Gakkai Zasshi*, 1990, 91(11):1659-1666.
- [10] Ge C, He S, Tian Y. DNA quantitative analysis of small bowel carcinoma and its clinical significance[J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 1996, 34(12):744-747.
- [11] Brinck U, Korabiowska M, Buschmann N, et al. Relevance of ploidy related parameters for prognosis in malignant fibrous histiocytomas[J]. *Anticancer Res*, 1999, 19(6B):5211-5216.

[编辑:安凤;校对:杨卉]