

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.020

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.020>

## DNA定量分析在支气管镜刷检及肺泡灌洗液中的应用价值

颜云

(扬州大学附属医院病理科, 江苏 扬州 225000)

**[摘要]** 目的: 对比支气管镜刷检、肺泡灌洗液的液基细胞学与DNA定量分析结果, 探讨细胞DNA定量分析在支气管镜刷检及肺泡灌洗液中的应用价值。方法: 选取支气管镜刷检+肺泡灌洗液, 并进行细胞DNA定量分析与液基细胞学诊断的368例患者, 将两者结果与病理活检结果进行对比。结果: 支气管镜刷检细胞DNA定量分析灵敏度、特异度分别为90.8%和79.8%, 肺泡灌洗液DNA定量分析的灵敏度、特异度分别为85.8%和78.9%。液基细胞学在支气管镜刷检诊断的灵敏度、特异度分别为68.1%和63.4%, 在肺泡灌洗液中的灵敏度、特异度分别为65.9%和60.8%。支气管镜刷检及肺泡灌洗液的细胞DNA定量检测的灵敏度、特异度均高于液基细胞学, 二者比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。支气管镜刷检、肺泡灌洗液的细胞DNA定量分析的阳性预测值分别为83.5%和82.4%。结论: 细胞DNA定量分析在支气管镜刷检和肺泡灌洗液中有很好的应用价值, 同时联合液基细胞学检查能提高恶性肿瘤的检出率, 降低漏诊和误诊的风险。

**[关键词]** 支气管镜; 刷检细胞; 肺泡灌洗液; DNA定量分析; 液基细胞学

## Application value of DNA quantitative analysis in bronchoscopy brush examination inspection and alveolar lavage fluid

YAN Yun

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225000, China)

**Abstract** **Objective:** To compare the results of quantitative analysis of cytology and DNA of bronchoscope brush and alveolar lavage, and to explore the application value of quantitative analysis of cellular DNA in bronchoscope brush and alveolar lavage. **Methods:** A total of 368 cases of bronchoscopy and alveolar lavage were selected, and the results were compared with pathological biopsy. **Results:** The sensitivity and specificity of the quantitative analysis of cellular DNA were 90.8% and 79.8% in bronchoscopy brush fluid, and 85.8% and 78.9% in alveolar lavage fluid, respectively. The sensitivity and specificity of liquid-based cytology in bronchoscopy examination were 68.1% and 63.4% in bronchoscopy brush fluid, and 65.9% and 60.8% in alveolar lavage fluid, respectively, in alveolar lavage. The sensitivity and specificity of the quantitative detection of cellular DNA by bronchoscopy and alveolar lavage were higher than that of liquid-based cytology ( $P<0.01$ ). The positive predictive values of the quantitative analysis

收稿日期 (Date of reception): 2018-09-28

通信作者 (Corresponding author): 颜云, Email: baiyunzhou999@sina.cn

of cellular DNA in bronchoscopy and alveolar lavage were 83.5% and 82.4%, respectively. **Conclusion:** The quantitative analysis of cell DNA has a good application value in bronchoscope brush and alveolar lavage fluid, and the combination of liquid-based cytology can improve the detection rate of malignant tumors and reduce the risk of missed diagnosis and misdiagnosis.

**Keywords** bronchoscope; brush detection of cells; alveolar lavage fluid; quantitative analysis of DNA; liquid-base cytology

肺癌是严重威胁人类健康和生命的恶性肿瘤之一, 在世界范围内, 肺癌的患病率和病死率都居首位<sup>[1-2]</sup>。患者病死率高与发现时多数是晚期、肿瘤发生转移有关。对早期肺癌的检测是改善肺癌生存率的关键。支气管镜刷检及肺泡灌洗液细胞学检查具有创伤小、获取标本简便、可重复性高等优点, 在临床已广泛应用。但其诊断依赖人工显微镜观察, 诊断可重复性差, 且标本细胞数量有限, 时有漏诊、误诊出现。细胞DNA定量分析具有可重复性强、对诊断灵敏度高优点, 在宫颈细胞中已得到广泛应用<sup>[3-6]</sup>。本研究拟分析支气管镜刷检、肺泡灌洗液的液基细胞学与DNA定量分析的结果, 探讨DNA定量分析在支气管镜刷检、肺泡灌洗液中的应用价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取扬州大学附属医院2016年1月至2018年8月送检支气管镜刷检+肺泡灌洗液368例患者, 同时进行细胞DNA定量分析与沉降式液基细胞学诊断, 其中男281例, 女87例, 男女比为3:1, 中位年龄为67岁。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 制片染色

支气管镜刷检和肺泡灌洗液细胞标本均采用全自动沉降式制片机(美国BD公司)2份制片, 1份做HE染色镜检, 另1份采用Feulgen染色, 干片后做细胞DNA定量分析。

#### 1.2.2 液基细胞学诊断

支气管刷检及肺泡灌洗液的液基细胞片由具有细胞学诊断资质的医师做出诊断。诊断结果分为癌细胞、疑癌细胞、核异质细胞及阴性4类。其中癌细胞、疑癌细胞及异型细胞作为阳性诊断, 与DNA定量分析相对照。

#### 1.2.3 DNA定量检测

采用细胞DNA定量自动分析系统(武汉兰丁医学高科技有限公司), 3个以上DNA含量>5 c为大量异倍体细胞, 1~2个DNA含量>5 c为见少量异倍体细胞, 无>5 c的为未见DNA倍体异常细胞<sup>[4,6]</sup>。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析, 百分率比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 支气管镜刷检-DNA定量分析与液基细胞学结果对比

支气管镜刷检细胞DNA定量分析结果显示: 368例中, 阳性212例, 阴性156例; 支气管镜刷检液基细胞学诊断癌细胞71例, 疑癌细胞39例, 核异质细胞82例, 阴性176例(表1)。支气管镜刷检DNA定量分析诊断阴性的病例中有液基细胞学诊断阳性17例, 病理活检结果均为良性。DNA定量分析诊断阳性而液基细胞学诊断阴性的37例病例中, 病理活检仅4例为正常, 异型28例, 疑癌1例, 癌4例。支气管镜刷检液基细胞学诊断阳性的病例DNA定量分析均为阳性。

表1 DNA定量分析及液基细胞学诊断

Table 1 DNA quantitative analysis and liquid-based cytology diagnosis

送检标本	DNA定量分析/[例(%)]		液基细胞学诊断/[例(%)]			
	阳性	阴性	癌	疑癌	异型	正常
支气管镜刷检	212 (57.6)	156 (42.4)	71 (19.3)	39 (10.6)	82 (22.3)	176 (47.8)
肺泡灌洗液	205 (55.7)	163 (44.3)	56 (15.2)	21 (5.7)	93 (25.3)	198 (53.8)

### 2.2 肺泡灌洗液-DNA定量分析与液基细胞学结果对比

肺泡灌洗液DNA定量分析结果显示：阳性205例，阴性163例。肺泡灌洗液液基细胞学诊断癌56例，疑癌21例，异型93例，正常198例(表1)。肺泡灌洗液DNA定量分析诊断阴性的病例中有液基细胞学诊断阳性18例，病理活检18例结果均为良性。DNA定量分析诊断阳性而液基细胞学诊断阴性的35例病例中，病理活检6例为正常，22例异型，5例疑癌，2例为恶性。肺泡灌洗液液基细胞学诊断阳性的病例DNA定量分析均为阳性。

### 2.3 DNA定量分析与组织学诊断结果的对比

支气管镜刷检细胞DNA定量分析显示：阳性病例中诊断大量异倍体(图1~4)105例，病理诊断为癌47例，疑癌28例，异型增生24例，正常6例，诊断准确率94.3%；诊断少量异倍体107例，活检病理结果为癌5例，疑癌2例，异型71例，正常29例，诊断准确率72.9%。肺泡灌洗液DNA定量分析阳性病例中诊断大量异倍体90例，病理结果为癌36例，疑癌14例，异型增生32例，正常8例，诊断准确率91.1%；诊断少量异倍体115例，活检病理结果为癌3例，疑癌1例，异型83例，正常28例，诊断准确率75.7%。DNA大量异倍体诊断准确率较少量异倍体诊断准确率高。支气管镜刷检DNA定量分析阴性156例中，活检病理结果为癌2例，疑癌1例，异型15例，正常138例，诊断准确率88.5%。肺泡灌洗液DNA定量分析阴性163例中，活检病理结果为癌2例，疑癌1例，异型25例，正常135例，诊断准确率82.8%。

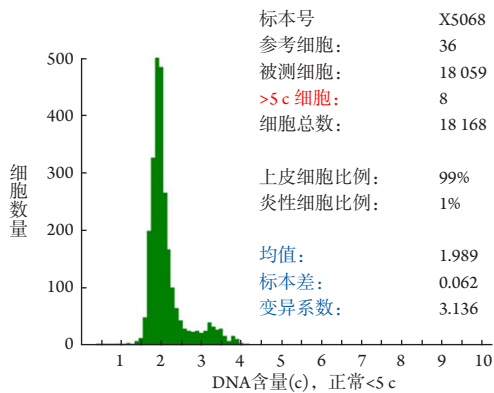


图1 大量异倍体细胞的分布直方图

Figure 1 Distribution histogram of a large number of heteroploid cells

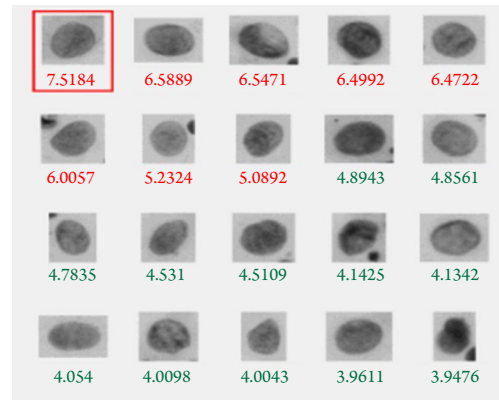


图2 大量异倍体细胞的细胞核面积分布图

Figure 2 Nuclear area map of a large number of heteroploid cells

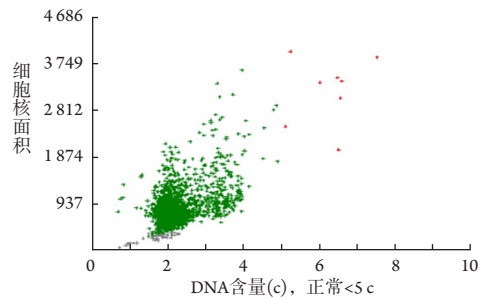


图3 大量异倍体细胞的分布散点图

Figure 3 Distribution scatter plot of a large number of heteroploid cells

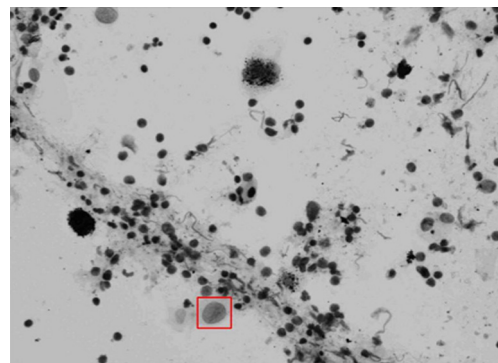


图4 镜下所见大量异倍体细胞( $\times 40$ ), 方框为异倍体细胞核  
Figure 4 A large number of aneuploidy cells were seen microscopically ( $\times 40$ ), with the box showing the nuclei of aneuploidy cells

### 2.4 DNA定量分析、液基细胞学与组织学诊断的对比

DNA定量分析：支气管镜刷检DNA定量分析灵敏度为90.8%(177/195)，特异度为79.8%(138/173)，

阳性预测值为83.5%(177/122), 阴性预测值为88.5%, 准确率为85.6%(138/156)。肺泡灌洗液DNA定量分析灵敏度为85.5%(169/197), 特异度为78.9%(135/171), 阳性预测值为82.4%(169/205), 阴性预测值为82.8%(135/163), 准确率为82.6%(304/368)。

液基细胞学诊断: 支气管镜刷检液基细胞学诊断灵敏度为68.1%(124/182), 特异度为63.4%(118/186), 阳性预测值为64.6%(124/192), 阴性预测值为67.0%(118/176)。肺泡灌洗液液基细胞学诊断灵敏度为65.9%(118/179), 特异度为60.8%(115/189), 阳性预测值为61.5%(118/192), 阴性预测值为65.3%(115/176), 准确率为63.3%(233/368)。

支气管镜刷检和肺泡灌洗液的细胞DNA定量分析灵敏度、特异度、阳性诊断符合率及阴性诊断符合率均高于液基细胞学, 二者比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

支气管镜刷检及肺泡灌洗液细胞学检查在肺癌的诊断中起重要作用。但细胞学诊断一直依赖于人工观察形态学的改变, 加上标本数量稀少, 时有漏诊、误诊的发生。而DNA定量分析仪极大地改善了这种情况, 减少人为的观察误差, 使细胞学诊断走向分子水平。除妇科宫颈细胞外, 此项技术现已在甲状腺、乳腺及口腔细胞<sup>[7-9]</sup>中得到应用。

DNA定量分析法通过对细胞DNA进行特异染色(Feulgen染色), 显微镜下图像定量分析。研究<sup>[10]</sup>显示: DNA定量分析诊断恶性肿瘤比病理学诊断可提早15个月。DNA定量分析的优点是实现了细胞学检查的自动化诊断、标准化和数字化<sup>[11]</sup>, 能判断有无病变细胞, 缺点是不能诊断出病变类型以及分化高低。而液基细胞学擅长形态学诊断, 两者联合可以扬长避短。相比液基细胞学诊断, DNA定量分析不仅具有同样的预测价值, 还能检测无异常增生的风险病损<sup>[12]</sup>。

DNA定量分析结论分3种, 第1种为未见DNA倍体异常细胞; 第2种为少量DNA倍体异常细胞(1~2个细胞DNA指数 $\geq 2.5$ ); 第3种为大量DNA倍体异常细胞(3个及以上细胞DI值 $\geq 2.5$ )。诊断假阴性可能与以下因素有关: 标本数量少、取材质量

不佳, 细胞过少、取材没有取到病变均会导致假阴性诊断; 肿瘤细胞是二倍体, 仪器无法识别, 或者肿瘤细胞DNA指数异常, 但仪器不能检测出; 细胞重叠导致机器自动剔除, 不能识别一些有黏附性的肿瘤而出现假阴性诊断。DNA定量分析的假阳性结果有可能由细胞反应性增生或受病毒、真菌等感染引起<sup>[13]</sup>。

本研究应用DNA定量分析仪对支气管镜刷检和肺泡灌洗液进行检测, 同时和液基细胞学进行结果对比, 以病理活检为对照, 结果显示: 支气管镜刷检和肺泡灌洗液DNA定量分析的阳性预测值、阴性预测值及灵敏度、特异度均高于液基细胞学<sup>[14-17]</sup>。

综上所述, 支气管镜刷检和肺泡灌洗液DNA定量分析可明显提高诊断的准确率, 自动化诊断过程不仅节省了诊断医生的时间和精力, 还减少了漏诊、误诊的发生, 在支气管镜刷检和肺泡灌洗液的检查中具有较好的应用价值。

### 参考文献

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386.
2. 曾筱琳. 低剂量螺旋CT与血液检测在肺癌早期筛查中的研究进展[J]. *影像研究与医学应用*, 2017, 1(10): 1-4.  
ZENG Xiaolin. Research progress of low-dose spiral CT and blood detection in the early screening of lung cancer[J]. *Journal of Imaging Research and Medical Applications*, 2017, 1(10): 1-4.
3. 蔡君慧. 宫颈DNA倍体测定联合HPV分型对宫颈癌筛查的临床意义[J]. *临床医学研究与实践*, 2016, 1(24): 64-65.  
CAI Junhui. The clinical significance of cervical DNA ploidy combined with HPV typing for cervical cancer screening[J]. *Clinical Research and Practice*, 2016, 1(24): 64-65.
4. 宋晓兵. HPV感染联合细胞DNA检测在宫颈癌筛查中的临床应用价值[J]. *中国实用医药*, 2014, 9(7): 90-91.  
SONG Xiaobing. Clinical application value of HPV infection combined with DNA detection in cervical cancer screening[J]. *China Practical Medical*, 2014, 9(7): 90-91.
5. 徐灵, 徐军, 陶敏芳. DNA异倍体定量检测用于高危型HPV感染妇女分流诊治的临床价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2016, 15(8): 783-786.  
XU Ling, XU Jun, TAO Minfang. Quantitative detection of DNA

- aneuploidy for shunt diagnosis and treatment of high-risk HPV infection in women[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2016, 15(8): 783-786.
6. Yamal JM, Guillaud M, Atkinson EN, et al. Prediction using hierarchical data: Applications for automated detection of cervical cancer[J]. *Stat Anal Data Min*, 2015, 8(2): 65-74.
  7. 杨新, 方三高, 马强, 等. 细胞DNA定量分析检测在甲状腺癌冷冻组织中的应用研究[J]. *诊断病理学杂志*, 2018, 25(10): 692-696.  
YANG Xin, FANG Sangao, MA Qiang, et al. Application of quantitative analysis of cellular DNA in frozen thyroid carcinoma tissue[J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2008, 25(10): 692-696.
  8. 任单阳, 刘爱云, 贾兰, 等. 乳腺及甲状腺肿瘤液基联合ICM-DNA检测诊断价值探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(17): 1247-1250.  
REN Danyang, LIU Aiyun, JIA Lan, et al. Discussion on the diagnostic value of combined ICM-DNA test for breast and thyroid neoplasms[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2008, 25(17): 1247-1250.
  9. Giaretti W, Monteghirfo S, Pentenero M, et al. Chromosomal instability, DNA index, dysplasia, and subsite in oral premalignancy as intermediate endpoints of risk of cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 22(6): 1133-1141.
  10. Maraki D1, Becker J, Boecking A. Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer[J]. *J Oral Pathol Med*, 2004, 33(7): 398-404.
  11. 吴康, 满艳茹, 唐文潇, 等. 自动尿液细胞DNA定量分析对泌尿系统炎症与膀胱癌的鉴别诊断价值[J]. *中国临床医学*, 2016, 23(5): 629-632.  
WU Kang, MAN Yanru, TANG Wenxiao, et al. The value of automatic quantitative analysis of urine cell DNA in the differential diagnosis of urinary system inflammation and bladder cancer[J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2016, 23(5): 629-632.
  12. Wang M, Hao C, Ma Q, et al. DNA image cytometry test for primary screening of esophageal cancer: a population-based multi-center study in high-risk areas in China[J]. *Chin J Cancer Res*, 2016, 28(4): 404-412.
  13. Garner D. Clinical application of DNA ploidy to cervical cancer screening: a review[J]. *World J Clin Oncol*, 2014, 5(5): 931-965.
  14. 张海彪, 崔荟楠. 进展期胃癌患者手术前后脱落细胞及DNA异倍体阳性率分析[J]. *肿瘤学杂志*, 2018, 24(8): 838-840.  
ZHANG Haibiao, CUI Huinan. Analysis of positive rate of exfoliated cells and DNA heteroploid before and after surgery in patients with advanced gastric cancer[J]. *Journal of Oncology*, 2008, 24(8): 838-840.
  15. Macey R. DNA-image cytometry and computer-assisted brush biopsy have potential as diagnostic tools for clinically suspected oral precancer and oral cancer[J]. *J Evid Based Dent Pract*, 2016, 16(2): 113-114.
  16. Abt E. DNA-image cytometry has promise for oral cancer detection[J]. *Evid Based Dent*, 2015, 16(4): 106-107.
  17. 何秋阳, 钟国梁, 杨国顺, 等. DNA倍体分析与细胞学检测对良恶性浆膜腔积液诊断的比较[J]. *实验与检验医学*, 2018, 36(3): 317-319.  
HE Qiuyang, ZHONG Guoliang, YANG Guoshun, et al. Comparison between DNA ploidy analysis and cytology in the diagnosis of benign and malignant serous cavity effusion[J]. *Experimental and Laboratory Medicine*, 2008, 36(3): 317-319.

**本文引用:** 颜云. DNA定量分析在支气管镜刷检及肺泡灌洗液中的应用价值[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(2): 353-357. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.020

**Cite this article as:** YAN Yun. Application value of DNA quantitative analysis in bronchoscopy brush examination inspection and alveolar lavage fluid[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(2): 353-357. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.020