

· 临床研究 ·

少突胶质瘤染色体 1p/19q 联合缺失与 Ki-67 表达的关系

张应春¹, 刘丽媛²

(1. 重庆市巫山县人民医院神经外科 404700; 2. 重庆医科大学公共卫生与管理学院 400016)

摘要:目的 观察少突胶质细胞瘤 1 号染色体短臂(1p)和 19 号染色体长臂(19q)联合杂合性缺失(LOH)与 Ki-67 蛋白表达的相关性,探索预测少突胶质瘤化疗敏感性的分子标记物。**方法** 少突胶质瘤肿瘤组织标本 31 例作为实验组,少突胶质瘤旁正常脑组织标本 13 例作为对照组,免疫组化方法检测两组 Ki-67 蛋白的表达,荧光原位杂交技术检测 1p/19q 的缺失情况。**结果** 对照组有 1 例 Ki-67 表达呈现阳性(7.7%),实验组有 14 例 Ki-67 表达呈现阳性(45.0%),两组阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组无 1p/19q 缺失,实验组有 13 例(41.9%)1p/19q 联合缺失,其中 1p 单独缺失 2 例(6.4%),19q 单独缺失 1 例(3.2%)。Ki-67 蛋白表达与 1p/19q 联合缺失显著相关($r = 0.403, P < 0.05$)。**结论** Ki-67 蛋白表达是预测少突胶质瘤化疗敏感性的潜在分子标记物。

关键词:少突胶质瘤;1p/19q;Ki-67;相关性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.20.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)20-2347-02

Correlation research between loss of chromosome 1p/19q and protein expression of Ki-67 of oligodendrocytes glioma

Zhang Yingchun¹, Liu Liyuan²

(1. Department of Neurosurgery, the People's Hospital of Wushan, Wushan, Chongqing 404700, China;

2. School of Public Health and Management, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To observe oligodendrocytes gliomas chromosome 1p/19q deletion and Ki-67 protein expression, explore new molecular markers forecasting chemosensitivity of oligodendrocytes glioma. **Methods** 31 oligodendrocytes glioma specimens as the experimental group, 13 cases adjacent normal brain tissue of oligodendrocytes glioma as a control group, the Ki-67 protein detected by immunohistochemistry and 1p/19q detection detected by fluorescence in situ hybridization. **Results** Compared with control group, the experimental group had 14 cases of Ki-67 expression with positive rate 45%; 1p/19q deletions was not detected in the control group, 1p/19q loss for 13 cases(41.9%) in the experimental group of 31 cases of oligodendrogloma glioma specimens, 1p alone missing for 2 cases(6.4%), 19q alone missing for 1 case(3.2%). Ki-67 protein expression and the 1p/19q loss was significant correlation($P < 0.05$). **Conclusion** Ki-67 protein expression in the gliomas may be as the potential molecular markers of chemosensitivity oligodendrocytes gliomas.

Key words: oligodendrocytes glioma; 1p/19q; Ki-67; correlation

胶质瘤细胞具有无限增殖和侵袭性生长的特点,在其形成过程中,胶质瘤细胞与周围正常脑组织没有明显界限,呈交织侵袭性生长,很难界定肿瘤的范围,这就使手术中彻底切除肿瘤比较困难。因此,胶质瘤术后的复发率高、预后较差。少突胶质细胞瘤 1 号染色体短臂(1p)和 19 号染色体长臂(19q)联合杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)是其典型的遗传学特征,在星形细胞瘤中则很少发生^[1]。伴有 1p/19q LOH 的少突胶质细胞肿瘤对放疗化疗较敏感,并有较好的预后,而 Ki-67 可作为少突胶质细胞肿瘤的预后标志物^[2]。少突胶质细胞瘤染色体 1p/19 联合 LOH 和 Ki-67 的蛋白表达是否有相关性、是否可以共同作为化疗敏感性的预测指标尚无研究报道。本研究检测了 31 例少突胶质瘤染色体 1p/19q LOH 和 Ki-67 蛋白的表达,分析了其相关性及其与临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析本院及重庆市肿瘤医院 2010 年 7 月至 2012 年 6 月经病理确诊的少突胶质瘤标本 31 例作为实验组,其中男 18 例,女 13 例,年龄 35~58 岁,平均(47.2±10.8)岁,实验组瘤旁正常脑组织标本 13 例作为对照组,其中男 8 例,女 5 例,年龄 35~55 岁,平均(45.5±9.2)岁。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 标本经中性缓冲甲醛固定,常规石蜡包埋,每个组织连续切片 6 张,厚度为 4 μm,一张进行苏木精-伊红(HE)染色用于复查确认,3 张采用免疫组织化学方法(下称免疫组化法)检测 Ki-67 表达,2 张采用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)法检测 1p/19q LOH。

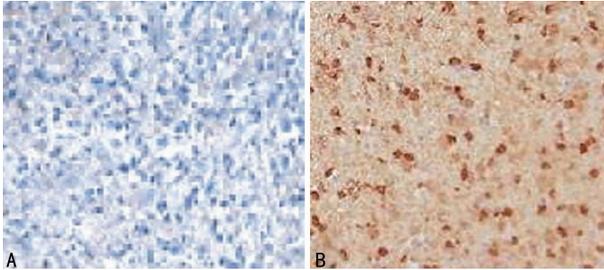
1.2.2 结果判断 免疫组化法检测:免疫组化法检测参照北京中杉公司免疫组化法检测试剂盒操作说明进行,免疫组化结果判断由病理科医生完成, Ki-67 阳性细胞多数为核着色,呈棕黄色,结果判断标准参考顾文栋等^[3]报道的方法:计算每个高倍镜视野内阳性细胞占总观察肿瘤细胞的百分数,取其平均值定义为该标本阳性细胞的百分比,其中阳性细胞数小于 10%记为阴性(-),阳性细胞数大于 10%记为阳性(+)。荧光原位杂交检测及结果判断:选用 Vysis 公司的 1p/19q 探针试剂盒,按 Vysis 试剂盒的说明操作。荧光原位杂交结果由病理科医师完成,结果判定选择细胞核大小一致、核的边界完整、DAPI 染色均一、细胞核孤立无重叠、对照信号清晰的细胞。每例标本随机计数 200 个肿瘤细胞,1p/19q 分别在 2 张玻片上检测,其中 1p 检测探针用红色荧光标记,其对照 1q 检测探针用绿色荧光标记;19q 检测探针用红色荧光标记,其对照 19p 检测探针用绿色荧光标记。1p 缺失评判标准:1p/1q 大于

30%为阳性;19q 缺失评判标准:19q/19p 大于 30%。同一标本 1p 和 19q 同时缺失即 1p/19q LOH。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 15.0 软件进行统计分析。两组间均数的比较采用 t 检验,计数资料的比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

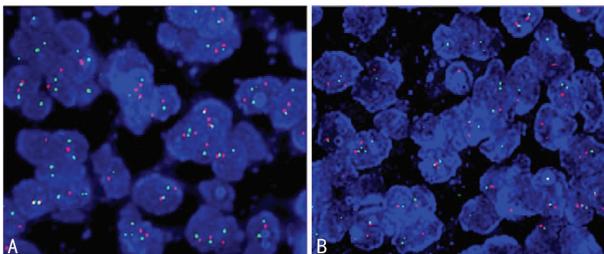
2.1 Ki-67 的表达及 1p/19q 缺失情况 对照组 Ki-67 有 1 例表达高于 10%,其余均为阴性(图 1A),对照组阳性率为 7.7%。实验组有 14 例 Ki-67 表达高于 10%,即呈现阳性,表现为细胞核呈黄棕色、颗粒状(图 1B),实验组阳性率为 45%,两组阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。



A: 对照组($\times 400$);B: 实验组($\times 400$)。

图 1 免疫组织化学检测少突胶质瘤 Ki-67 的表达情况

荧光原位杂交检测 1p/19q 的缺失,发现对照组无 1p/19q 缺失,实验组有 13 例(41.9%)1p/19q 联合缺失,1p 单独缺失为 2 例(6.4%),19q 单独缺失为 1 例(3.2%)。荧光原位杂交检测结果在荧光显微镜油镜下观察,其中 1p 的对照为 1q(图 2A),19q 的对照为 19p(图 2B),蓝色为 DAPI 染色,标记的是细胞核。



A: 1p/19q($\times 1000$);B: 19q/19p($\times 1000$)。

图 2 荧光原位杂交方法检测少突胶质瘤 1p/19q 缺失情况

2.2 Ki-67 的表达与 1p/19q 缺失的相关性 在 31 例少突胶质细胞肿瘤中,Ki-67 阳性率为 45%,1p/19q 联合缺失率为 41.9%。在实验组 1p/19q 联合缺失的肿瘤细胞中,Ki-67 的表达基本上为阴性,反之,Ki-67 的表达为阳性。 χ^2 检验结果显示,1p/19q 联合性缺失与 Ki-67 表达显著相关($r=0.403$, $P<0.05$)。

3 讨论

少突胶质细胞肿瘤大多位于幕上,额叶最多,胶质瘤细胞与周围正常脑组织呈交织侵袭性生长,难以彻底切除肿瘤,因此,在术后的进一步化疗就显得尤为重要。但化疗在实际临床实践中,不同的患者对化疗的敏感性各异。这就是目前提倡的需针对患者基因的个体差异,进行“量体裁衣”制定化疗方案,实现个体化治疗,使患者在化疗中最大获益,减少不必要的化疗。对脑胶质瘤治疗专家来说,精确的病理分型是治疗的关键,同时也标志着分子医学时代的到来^[4]。

目前研究发现,与少突胶质细胞瘤化疗敏感性密切相关的是 1p/19q 的杂合性缺失,且与 1p 关系更为密切,可能是染色

体 1p 区段上与肿瘤密切相关的抑癌基因、细胞凋亡相关基因等发生缺失,进而激活癌基因或耐药基因等,因此,1p/19q 的缺失是指导临床医师选择少突胶质细胞瘤治疗方法及判断预后的较好分子指标^[5-6]。

有研究证实,1p/19q 联合缺失的含少突胶质细胞瘤对 PCV 方案化疗相对敏感,生存期较长^[7-8]。目前,1p/19q 联合缺失已成为预测少突胶质细胞瘤化疗敏感性的独立指标,在欧洲国家胶质瘤治疗的临床实验中,亦将伴有 1p/19q 缺失的少突胶质细胞瘤及间变少突胶质细胞瘤视为一个独立的生物学分类^[9-11]。

Ki-67 是一种与细胞周期相关的细胞增殖核抗原,参与 DNA 的合成。人类 Ki-67 基因定位于第 10 号染色体,它在细胞周期的 G₁ 期开始表达,在 S 期及 G₂ 期表达逐步增强,至 M 期达高峰,很快消失在细胞分裂晚期。目前,免疫组化法检测 Ki-67 表达可用于胶质瘤患者的临床预后,即 Ki-67 高表达表示胶质瘤细胞增殖活性高,预后差;反之则预后佳^[12-14]。本研究通过免疫组化检测少突胶质细胞瘤中 Ki-67 蛋白的表达,荧光原位杂交检测 1p/19q 的缺失情况,分析两者的相关性,发现两者显著相关,与黄磊等^[2]研究结果基本一致,即在 Ki-67 蛋白高表达的少突胶质细胞瘤中,很少发生 1p/19q 联合缺失。这一结果提示,Ki-67 蛋白高表达和无 1p/19q 缺失发生可能与少突胶质细胞瘤患者不良预后有关。

研究胶质瘤 1p/19q LOH 的方法主要包括 PCR、FISH、变性高效液相色谱分析和比较基因组杂交等技术^[15]。国内对 1p/19q 缺失检测尚未广泛推广,许多医院无条件开展荧光原位杂交检测,因此,应当创建快速、简单、廉价,适合国内普及的实验室检测方法,来提高病理学的诊断准确性,为临床医师选择治疗方案提供思路。在没有条件检测 1p/19q 缺失情况下,可以通过相对较简单易行的免疫组化方法检测 Ki-67 等蛋白的表达,也有助于少突胶质瘤的预后判断,评估个体化疗敏感性。

参考文献:

- [1] 苏江,江涛,袁芳.少突胶质细胞肿瘤 1p/19q 杂合性缺失及其密切相关的分子遗传学改变研究进展[J].中国微侵袭神经外科杂志,2011,16(8):378-381.
- [2] 黄磊,江涛,袁芳.胶质瘤染色体 1p 和 19q 杂合性缺失与 O6-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶 p53 和 Ki-67 蛋白表达的关系[J].中华肿瘤杂志,2011,33(10):752-758.
- [3] 顾文栋,裴红蕾. Ki-67、P53 及 PCNA 对脑胶质瘤预后的影响[J].中国现代药物应用,2012,6(19):16-18.
- [4] 江涛. 大脑胶质瘤的分子病理分型与化疗[J].中国微侵袭神经外科杂志,2009,14(1):1-2.
- [5] Mueller W, Hartmann C, Hoffmann A, et al. Genetic signature of oligoastrocytomas correlates with tumor location and denotes distinct molecular subsets[J]. Am J Pathol, 2002, 161(1): 313-319.
- [6] Igle-Donadey F, Mattin-Duve meuil N, Eane J, et al. Correlations between molecular and radiologic pattern in oligodendroglial tumors[J]. Neurology, 2004, 63(12): 2360-2362.
- [7] 任晓辉,崔向丽,林松,等.胶质瘤 1p/19q 联合缺失与病理类型的相关性研究[J].中华医学杂志,2010,90(25): 1781-1784.

到自己发生了消化道穿孔,而且失败并不影响进一步的外科手术治疗。作者查阅外科文献显示,在 30 例大宗的外科穿孔修补术中,患者的术中、术后病死率为 7%,低于外科手术病死率^[2,8,13],本研究无死亡病例。作者认为对急性医源性消化道穿孔,内镜下 OTSC 闭合术可取代外科手术作为首选治疗方法。当然,鉴于本研究的样本数量较少,还有待进一步大样本的观察研究。

本次回顾性研究表明,急性医源性消化道穿孔的内镜下 OTSC 闭合术的成功率为 84%,且相对快速、简单,让患者避免了外科手术带来的创伤和相关并发症。作者的分析表明,对医源性急性消化道穿孔,内镜医生可首选 OTSC 闭合术,若手术不成功,再移送外科进行手术治疗。这样可以最大程度地让患者避免创伤较大的外科手术。

参考文献:

- [1] Heylen AM, Jacobs A, Lybeer M, et al. The OTSC-clip in revisional endoscopy against weight gain after bariatric gastric bypass surgery [J]. *Obes Surg*, 2011, 21 (10): 1629-1633.
- [2] Paeodi A, Repici A, Pedroni A, et al. Endoscopic management of GI perforations with a new over-the-scope clip device (with videos) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 22 (4): 881-886.
- [3] Von Renteln D, Rusolph HU, Schmidt A, et al. Endoscopic closure of duodenal perforations by using an over-the-scope clip: a randomized, controlled porcine study [J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 71(1): 131-138.
- [4] Cobb WS, Heniford BT, Sigmon LB, et al. Colonoscopic perforations: incidence, management, and outcomes [J]. *Am Surg*, 2011, 70(9): 750-757.
- [5] Voermans RP, van Berge Henegouwen MI, Bemelman WA, et al. Novel over-the-scope-clip system for gastroto-my closure in natural orifice transluminal endoscopic surgery: an ex vivo comparison study [J]. *Endoscopy*, 2009, 41(12): 1052-1055.
- [6] Gerke H, Crowe GC, Lannetoni MD. Endoscopic closure of cervical esophageal perforation caused by traumatic insertion of a mucosectomy cap [J]. *Ann Thorac Surg*,

2007, 84(1): 296-298.

- [7] Minani S, Gotoda T, Ono H, et al. Complete endoscopic closure of gastric cancer using endoclips can prevent surgery [J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 63(4): 596-601.
- [8] Stapfer M, Selby RR, Stain SC, et al. Management of duodenal perforation after endoscopic retrograde cholangio-pancreatography and sphincterotomy [J]. *Ann Surg*, 2011, 232(2): 191-198.
- [9] Schurr MO, Hartmann C, Ho CN, et al. An over-the-scope clip device [J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 72: 881-886.
- [10] Leers JM, Vivaldi C, Schafer H, et al. Endoscopic therapy for esophageal perforation or anastomotic leak with a self-expandable metallic stent [J]. *Surg Endosc*, 2009, 23(10): 2258-2262.
- [11] Voermans RP, Worm AM, van Berge Henegouwen MI, et al. In vitro comparison and evaluation of seven gastric closure modalities for natural orifice transluminal endoscopic surgery [J]. *Endoscopy*, 2008, 40(7): 595-601.
- [12] Voermans RP, van Berge Henegouwen MI, Bemelman WA, et al. Novel over-the-scope-clip system for gastroto-my closure in natural orifice transluminal endoscopic surgery: an ex vivo comparison study [J]. *Endoscopy*, 2009, 41(12): 1052-1055.
- [13] Yang DH, Byeon JS, Lee KH, et al. Is endoscopic closure with clips effective for both diagnostic and therapeutic colonoscopy associated bowel perforation [J]. *Surg Endosc*, 2010, 24(5): 1177-1185.
- [14] Iqbal CW, Culinane DC, Schiller HJ, et al. Surgical management and outcomes of 165 colonoscopic perforations from a single institution [J]. *Arch Surg*, 2008, 143(7): 701-706.
- [15] Salminen P, Gullichen R, Laine S. Use of self-expandable metal stents for the treatment of esophageal perforations and anastomotic leaks [J]. *Surg Endosc*, 2009, 23(7): 1526-1530.

(收稿日期: 2013-01-11 修回日期: 2013-03-15)

(上接第 2348 页)

- [8] 任晓辉, 崔向丽, 姜中利. 胶质瘤 1p/19q 联合缺失与临床病理因素的相关性分析 [J]. *中华神经外科杂志*, 2011, 27(2): 116-119.
- [9] 任晓辉, 林松, 王忠诚. 低级别胶质肿瘤的 1p/19q 缺失研究 [J]. *中国神经肿瘤杂志*, 2009, 7(3): 171-174.
- [10] Zalatimo O, Zoccoli CM, Patel A, et al. Impact of genetic targets on primary brain tumor therapy: what's ready for prime time [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 779: 267-289.
- [11] Yan W, Zhang W, You G, et al. Molecular classification of gliomas based on whole genome gene expression: a systematic report of 225 samples from the Chinese Glioma Cooperative Group [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(12): 1432-1440.

- [12] Viacoz A, Lekoubou A, Ducray F, et al. Chemotherapy in low-grade gliomas [J]. *Curr Opin Oncol*, 2012, 24(6): 694-701.
- [13] Gupta K, Salunke P. Molecular markers of glioma: an update on recent progress and perspectives [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(12): 1971-1981.
- [14] Suri V, Jha P, Agarwal S, et al. Molecular profile of oligodendrogliomas in young patients [J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13(10): 1099-1106.
- [15] 崔向丽, 赵志刚, 任晓辉, 等. 胶质瘤染色体 1p/19q 联合缺失特点分析 [J]. *中华外科杂志*, 2010, 48(11): 852-855.

(收稿日期: 2013-01-08 修回日期: 2013-03-21)