论著

文章编号:1000-5404(2006)12-1308-03

孕激素受体与增殖细胞核抗原在人原发性脑肿瘤中的表达

王顺和,杨慧敏,李园园,王光辉 (重庆医科大学基础医学院病理学教研室,重庆 400016)

提 要:目的 检测孕激素受体(progesterone receptor, PR)及增殖细胞核抗原(proliterating cell nuclear antigen, PCNA)在人原发性脑肿瘤中的表达情况,探讨PR及PCNA与脑肿瘤增殖活性之间的关系及其在脑肿瘤临床治疗方面的意义。**方法** 应用免疫组织化学S-P法,检测PR及PCNA在90例原发性脑肿瘤中的表达。**结果** 星形细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤肿瘤细胞中PR表达的阳性率分别为57.89%、50%、58.33%,PCNA阳性率分别为65.79%、92.86%、66.67%,星形细胞瘤中PR表达与PCNA表达、PR表达与肿瘤分级以及PCNA表达与肿瘤分级之间相关性有统计意义($P<0.05$)。**结论** 星形细胞瘤、室管膜瘤和髓母细胞瘤中有相当数量PR存在,推测PR可能部分参与了星形细胞瘤的恶性生长,对于PR阳性的星形细胞瘤患者手术后选择PR拮抗剂治疗可能有效。

关键词:受体-孕酮;增殖细胞核抗原;脑肿瘤;免疫组织化学

中图法分类号:R392.11;R392.3;R739.41 **文献标识码**:A

Expression of PR and PCNA in human primary brain tumors

WANG Shun-he, YANG Hui-min, LI Yuan-yuan, WANG Guang-hui (Department of Pathology, Institute of Basic Medical Sciences, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between the expressions of PR, PCNA and primary brain tumor proliferative activity and its significance in clinical therapy for brain tumor. **Methods** Immunohistochemical staining (S-P method) was used to detect the expressions of PR and PCNA in 90 various brain tumor tissues (astrocytoma, ependymoma and medulloblastoma). **Results** The positive rate of PR expression in astrocytoma, ependymoma, and medulloblastoma was 57.89%, 50% and 58.33%, respectively. The positive rate of PCNA expression in astrocytoma, ependynoma, and medulloblastoma was 65.79%, 92.86% and 66.67% respectively. Significant relationship was found between PR and PCNA, PR and histological grade of astrocytoma, PCNA and histological grade of astrocytoma ($P<0.05$). **Conclusion** A considerable number of PR-positive tumor cells exist in astrocytoma, ependynoma and medulloblastoma, indicating PR may partly participate in the malignant growth of astrocytoma. PR antagonist may be effective in postoperative treatment of PR-positive astrocytoma.

Key words: Progesterone receptor; PCNA; brain tumor; immunohistochemistry

目前国内外对脑肿瘤中孕激素受体(progesterone receptor, PR)的表达以及增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达有一定的研究,认为孕激素通过PR在脑肿瘤生长发展中起调节作用[1],而PCNA则可用于评价脑肿瘤的增殖活性[2]。但对于二者表达相互关系的研究则鲜有报道。我们采用免疫组化S-P法观察PR与PCNA在不同类型原发性脑肿瘤中的表达情况及其与肿瘤病理分级之间的关系,初步探讨PR与PCNA在原发性脑肿瘤发生发展中的作用及其与肿瘤恶性程度的关系及脑肿瘤治疗的潜在方向。

1 材料与方法

1.1 材料

选用重庆医科大学病理学教研室存档的2002-2004年脑肿瘤手术标本64例,其中男性34例,女性30例,年龄1.83~79岁,平均32.12岁;星形细胞瘤38例,按Daumas-Duport分类标准:Ⅰ级9例、Ⅱ级13例、Ⅲ、Ⅳ级16例,室管膜瘤28例(其中间变性室管膜瘤8例),髓母细胞瘤24例。试剂:鼠抗人PR单克隆抗体,鼠抗人PCNA单克隆抗体和DAB显色试剂盒,购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 免疫组化方法

免疫组化染色采用S-P法,DAB显色。每次测定均设阳性组和阴性组对照,可疑者重复试验。阳性结果判断:PR为细胞核和(或)细胞质内及PCNA为细胞核内出现棕黄色或棕褐色

作者简介:王顺和(1964-),男,重庆市潼南县人,硕士,副教授,主要从事神经病理方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68485789,E-mail: wangshunhe120@yahoo.com

收稿日期:2006-03-27;修回日期:2006-05-01

细颗粒。每张切片 PR 染色阳性细胞所占比例 > 5% 者为阳性[3]。计数 PCNA 染色切片上的 10 个高倍镜视野下 1 000 个肿瘤细胞数，PCNA 阳性细胞数所占百分比即为 PCNA 标记指数(PCNA LI)，按 PCNA LI 并参考着色强度确定分级如下：无明显阳性细胞为阴性(－)，阳性细胞数 < 25% 为弱阳性(＋)，阳性细胞数 25% ~ 50% 为中度阳性(＋＋)，阳性细胞数 > 50% 为强阳性(＋＋＋)。

1.3　统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件进行 χ^2 检验、四格表 Fisher 精确概率检验和相关性检验(Kendall 相关分析)。

2　结果

2.1　PR 免疫组化及与脑肿瘤的关系

绝大多数 PR 阳性染色定位于细胞质，呈棕黄色细颗粒或弥漫性分布，大部分病例 PR 阳性细胞在肿瘤组织中的分布比较弥漫，无一定规律，阳性染色较淡(图 1)。星形细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤的 PR 阳性率分别是 57.89%、50% 和 58.33%，表明 PR 的表达在 3 种不同组织类型的肿瘤中差异无显著性(表 1)。星形细胞瘤中组织分级较高的 PR 阳性比例较高，Ⅲ ~ Ⅳ级星形细胞瘤 PR 阳性比例为 13/16，高于Ⅰ、Ⅱ级星形细胞瘤 PR 阳性比例(分别为 2/9 和 7/13)，PR 表达与星形细胞瘤组织分级有显著相关性($r = 0.441$，$P = 0.005$)。星形细胞瘤Ⅰ、Ⅱ及Ⅲ ~ Ⅳ级中 PR 表达比较差异有显著性($P = 0.015$)，且Ⅰ与Ⅲ、Ⅳ级表达比较差异亦有显著性($P = 0.009$)，而Ⅰ与Ⅱ级和Ⅱ与Ⅲ ~ Ⅳ级间差异无显著性($P > 0.05$)。低级别分化较好的室管膜瘤与间变性室管膜瘤 PR 阳性率差异无显著性($P > 0.05$)。髓母细胞瘤中 PR 表达较均匀，差异不存在显著性($P > 0.05$)。3 种脑肿瘤的 PR 表达在性别、年龄间差异无统计学意义。

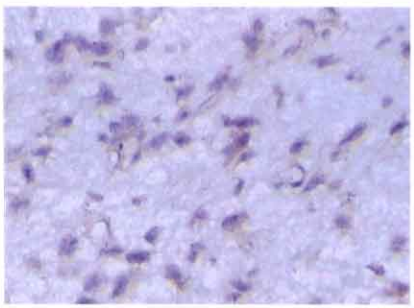


图 1　PR 在星形细胞瘤(Ⅲ级)中的阳性表达　(S-P × 400)

2.2　PCNA 免疫组化及与脑肿瘤分级的关系

阳性反应产物呈棕褐色且多定位于核内(图 2)，阳性反应除见于肿瘤细胞外，尚可见于部分良性增生的细胞(血管内皮细胞及胶质细胞)。在星形细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤中 PCNA 阳性率分别是 65.79%、92.86% 和 66.67%(表 1)。星形细胞瘤中 PCNA LI 分级随肿瘤恶性程度增高而增高，呈显著相关性($r = 0.529$，$P = 0.000$)，且星形细胞瘤Ⅰ与Ⅲ、Ⅳ级 PCNA 的表达差异有显著性($P < 0.01$)。室管膜瘤中 PCNA 的表达在低级别和间变性间差异无显著性。髓母细胞瘤中 PCNA LI 分级分布为－、＋、＋＋各 8 例，分布无统计学意义。

表 1　PR 及 PCNA 的表达及与脑肿瘤病理分级的关系(例数)

项目	星形细胞瘤				室管膜瘤			髓母细胞瘤
	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ、Ⅳ级	合计	低级	间变性	合计	
PR								
－	7	6	3[b]	16[a]	8	6	14	10
＋	2	7	13	22	12	2	14	14
PCNA LI 分级								
－	7	4	2[b]	13[a]	2	0	2	8
＋	2	5	6	13	6	2	8	8
＋＋	0	3	4	7	6	4	10	8
＋＋＋	0	0	5	5	6	2	8	0

a：$P < 0.05$，星形细胞瘤各组织分级之间比较；b：$P < 0.01$，与星形细胞瘤Ⅰ级比较

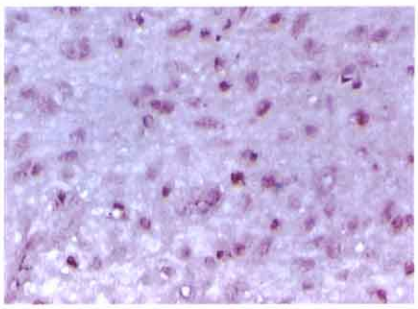


图 2　PCNA 在星形细胞瘤(Ⅰ级)中的阳性表达　(S-P × 400)

2.3　PR 与 PCNA 在脑肿瘤中表达的相关性(表 2)

在星形细胞瘤中 PR 的表达和 PCNA 表达程度间有显著性联系($P = 0.041$)，PCNA LI －、＋、＋＋、＋＋＋的 PR 阳性率分别为 30.77%、69.23%、57.14% 和 100%，显示 PR 和 PCNA 阳性率随星型细胞瘤级别增高而增高，二者并呈显著正相关($r = 0.371$，$P = 0.014$)。在室管膜瘤、髓母细胞瘤中则与 PCNA 表达程度无相关性($P > 0.05$)。

表 2　PR 与 PCNA 在脑肿瘤中表达的相互关系(例数)

PCNA	星形细胞瘤		室管膜瘤		髓母细胞瘤	
	PR －	PR ＋	PR －	PR ＋	PR －	PR ＋
－	9	4	0	2	2	6
＋	4	9	6	2	6	2
＋＋	3	4	4	6	2	6
＋＋＋	0	5	4	4	0	0

3　讨论

据统计，在中枢神经系统中神经上皮性肿瘤(包括星形细胞瘤、室管膜瘤和髓母细胞瘤)的比例占 34%，对这类脑肿瘤的最基本有效的治疗方法是手术切除。而手术后肿瘤残存体积大小明显影响患者生存期，但由于脑肿瘤浸润生长的特性，临床很难做到真正的肿瘤完全切除，故手术后放化疗成为必要的辅助治疗[4]。星形细胞瘤术后放射治疗后 5 年生存率为 31.9%，高度恶性胶质瘤术后生存期有报道为平均 20 周，且儿童全中枢神经系统放射治疗可导致身体和智力发育受阻，而化学治疗方面，由于肿瘤细胞的异质性和对药物的屏障作用，在治疗神经系统恶性神经上皮

肿瘤中效果不佳,寻求脑肿瘤治疗有效的辅助治疗手段十分必要,近年来脑肿瘤的生物学治疗成为研究者新的研究领域。

近年来不少研究者发现脑肿瘤中存在甾体激素受体,其中以脑膜瘤中雌、孕激素受体情况研究得较为深入,而 PR 在星形细胞瘤中的表达也逐渐有人研究,Carroll 等[5] 用 PCR-Southern blot 研究发现 PR mRNA 在较高级别的星形细胞瘤中有较多表达(与低级别星形细胞瘤比较);Khalid 等[3] 通过对 63 例星形细胞瘤 PR 免疫组化分析发现胶质母细胞瘤 PR 阳性细胞数与间变性星形细胞瘤及低级别星形细胞瘤相比差异有显著性;Assimakopoulou[6] 和 Gonzalez-Aguero 等[7] 的研究也证实星形细胞瘤中 PR 表达随组织病理分级增高而增加。本研究表明星形细胞瘤中级别较高的 PR 阳性率较高,且 PR 表达与星形细胞瘤组织分级有显著相关性,结果与文献报道一致,提示 PR 在星形细胞瘤的发展及向恶性表型转化的过程中可能起着重要作用。本实验也显示 PR 在室管膜瘤、髓母细胞瘤细胞中有阳性表达,据我们所知,这是迄今第 1 次报道 PR 在这两种脑肿瘤中的表达,但我们未发现 PR 表达在室管膜瘤两种级别间及髓母细胞瘤中分布的差异有统计学意义,可能与样本量不足有关。

研究表明,脑内有孕激素(progestogen,P)产生,被称为神经甾体激素,P 通过 PR 起作用。P 进入细胞后,与细胞质中受体蛋白结合,然后此复合物转移到核内,与目标基因启动子区特定位点结合,增加转录的启动,引致蛋白合成及细胞增殖。因此可以认为脑肿瘤中 PR 的功能为启动细胞增殖。在实验中我们发现 PR 阳性的星形细胞瘤中 PCNA 表达相对较高,二者有显著正相关,且 PR 表达的增加平行于肿瘤的增殖活性,因此我们推测在较高增殖活性的星形细胞瘤中 PR 的高表达可能刺激肿瘤的恶性生长,其作用的程度取决于 PR 阳性细胞在肿瘤中所占比例。这一结果与 Khalid 等[3] 对星形细胞瘤中 PR 与 Ki-67 的研究结果一致。本实验未显示室管膜瘤、髓母细胞瘤中 PR 与 PCNA 的相关现象。

PCNA 是一种细胞周期调节蛋白,作为 DNA 聚合酶的辅助因子,直接参与 DNA 合成,是目前肿瘤增殖活动研究中可靠的增殖期标志物,可用于评价肿瘤的级别、复发情况和恶性程度,与肿瘤分级密切相关[8]。国内外已有较多学者将 PCNA 表达情况用于脑肿瘤增殖活性研究,显示在胶质瘤中随病理分级的增加 PCNA 阳性表达率也增高,但报道的 PCNA 表达数值不尽相同[9,10],而对髓母细胞瘤中 PCNA 表达普遍认为与肿瘤预后有关,与肿瘤细胞分化无明显联系[11,12]。本实验结果显示星形细胞瘤中高级别肿瘤(Ⅲ、Ⅳ级)PCNA LI 显著高于低级别(Ⅰ级)的 PCNA LI,但Ⅰ与Ⅱ级和Ⅱ与Ⅲ~Ⅳ级间差异不显著,提示 PCNA 标记指数可在某种程度上反映肿瘤的恶性程度。本实验室管膜瘤 PCNA 的表达各级别间差异无显著性,髓母细胞瘤中 PCNA LI 分级分布差异无显著性,可能因为髓母细胞瘤是由异质性肿瘤群体构成,同一肿瘤不同部位增殖分化程度可以不一致,因此我们认为尚不能将 PCNA 检测作为髓母细胞瘤增殖情况的指标;室管膜瘤分级与 PCNA 表达有待进行更多样本的研究。

综上所述,PR 在星形细胞瘤、室管膜瘤和髓母细胞瘤中有表达,在星形细胞瘤中 PR 的表达与组织学分级相关,提示 PR 可能部分参与了星形细胞瘤的恶性生长,对于 PR 阳性的星形细胞瘤患者,手术后选择 PR 拮抗剂治疗可能有效。

参考文献:

[1] INOUE T, AKAHIRA J, SUZUKI T, *et al*. Progesterone production and actions in the human central nervous system and neurogenic tumors [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(11): 5325-5331.

[2] OUINONES-HINOJOSA A, SANAI N, SMITH J S, *et al*. Techniques to assess the proliferative potential of brain tumors[J]. J Neurooncol, 2005, 74(1): 19-30.

[3] KHALID H, SHIBATA S, KISHIKAWA M, *et al*. Immunohistochemical analysis of progesterone receptor and Ki-67 labeling index in astrocytic tumors[J]. Cancer, 1997, 80(11): 2133-2140.

[4] 王忠诚. 现代颅脑肿瘤外科学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 1, 16.

[5] CARROLL R S, ZHANG J, DASHNER K, *et al*. Steroid hormone receptors in astrocytic neoplasms[J]. Neurosurgery, 1995, 37(3): 496-503.

[6] ASSIMAKOPOULOU M, SOTIROPOULOU-BONIKOU G, MARAZIOTIS T, *et al*. Does sex steroid receptor status have any prognostic or predictive significance in brain astrocytic tumors? [J]. Clin Neuropathol, 1998, 17(1): 27-34.

[7] GONZALEZ-AGUERO G, ONDARZA R, GAMBOA-DOMINGUEZ A, *et al*. Progesterone receptor isoforms expression pattern in human astrocytomas[J]. Brain Res Bull, 2001, 56(1): 43-48.

[8] KAYASELCUK F, ZORLUDEMIR S, GUMURDUHU D, *et al*. PCNA and Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological type and grade[J]. J Neurooncol, 2002, 57(2): 115-121.

[9] 王顺和, 吕长虹, 李园园. 星形细胞起源肿瘤 p16 mRNA 原位杂交及增殖细胞核抗原表达的相关性研究[J]. 中华病理学杂志, 1998, 27(5): 379.

[10] LAFUENTE J V, ALKIZA K, GARIBI J M, *et al*. Biologic parameters that correlate with the prognosis of human gliomas[J]. Neuropathology, 2000, 20(3): 176-183.

[11] 姜 曙, 毛伯镛, 张尚福, 等. 增殖细胞核抗原在髓母细胞瘤的表达及其与预后的关系[J]. 华西医科大学学报, 1999, 30(4): 460-462.

[12] 梁思泰, 张庆慧, 顾跃捷, 等. 髓母细胞瘤增殖活性的研究及其与预后的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 1998, 14(6): 608-609.

(编辑 张大春)