文章编号:1000-5404(2010)13-1391-04

论著

35例原始神经外胚层肿瘤的病理及预后因素分析

陈利娟,贾永旭,范菲菲,李醒亚 (450052 郑州,郑州大学第一附属医院肿瘤科)

[摘要] **目的** 探讨人原始神经外胚层肿瘤(primitive neuroectodermal tumors,PNET)的病理学特点及诊断标准,并分析影响患者预后的因素。**方法** 收集2003年3月至2009年5月我科及河南省肿瘤医院收治的PNET患者35例,常规HE染色,免疫组织化学(En Vision法)检测CD99、FLI-1、Syn、NSE、S-100、NF、Vim在本组患者肿瘤组织中表达,并应用COX回归分析方法对其中临床资料完整的33例患者进行生存分析。**结果** CD99阳性率为88.57%,FLI-1阳性率为51.43%,FLI-1与CD99联合灵敏度达100%;Vim、Syn、NSE和S-100阳性率分别为91.42%、48.57%、45.71%和22.86%;NF均为阴性。在其他因素不变的情况下,年龄因素对生存的影响无差异($P>0.05$),而肿瘤的位置(原发肿瘤位于盆腔或中线位、非中线位)以及治疗方式(单纯局部治疗、局部治疗联合全身化疗)对生存的影响有差异($P<0.05$)。**结论** PNET的常规病理及免疫组化可提供诊断依据,免疫组化FLI-1和CD99结合能提高诊断的敏感性,肿瘤的原发位置及治疗方式是影响PNET患者预后的主要因素。

[关键词] 原始神经外胚层肿瘤;免疫组化;生存分析
[中图法分类号] R446.8;R730.264 **[文献标志码]** A

Pathology of primary neuroectodermal tumor and its prognostic factors: A report of 35 cases

Chen Lijuan, Jia Yongxu, Fan Feifei, Li Xingya (Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450052, China)

[Abstract] **Objective** To study the pathology of primary neuroectodermal tumor (PNET), and its diagnostic standards and prognostic factors. **Methods** Expression of CD99, FLI-1, Syn, NSE, S-100, NF, and Vim was detected in PNET tissues stained with HE and immmunohistochemistry (En Vision method). Survival rate of 33 PNET patients with complete clinical information was analyzed with COX regression analysis method. **Results** The positive expression rate of CD99, FLI-1, Vim, Syn, NSE and s-100 was 88.57%, 51.43%, 91.42%, 48.57%, 45.71%, and 22.86%, respectively. The sensitivity of combined CD99 and FLI-1 was 100%. However, NF was not expressed in all PNET tissues. When other factors were unchanged, no difference was found in the effect of age on the survival rate of patients. However, a significant difference was observed in the effect of PNET site and its treatment modalities on the survival rate of patients ($P<0.05$). **Conclusion** Routine pathologic and immunohistochemical examination can provide diagnostic evidence of PNET. Detection of CD99 and FLI-1 expression with immunohistochemistry can increase the diagnostic sensitivity of PNET. The main factor affecting the prognosis of PNET is its primary site and treatment modality rather than the age of patients.

[Key words] primary neuroectodermal tumor; immmunohistochemistry; survival analysis

Supported by the National Science Foundation of China (30672423). Corresponding author: Li Xingya, Tel: 86-371-66295093, E-mail: zlzjonline@yahoo.com.cn

原始神经外胚层肿瘤(primitive neuroectodermal tumors,PNET)是一类罕见的恶性小圆细胞肿瘤,属于尤文氏肉瘤家族肿瘤[1]。根据发生部位不同可分为外周性原始神经外胚层肿瘤(peripheral primitive neuroectodermal tumors,pPNET)和中枢性原始神经外胚层肿瘤(central primitive neuroectodermal tumors,cPNET),二者均有高侵袭性,预后相似。除临床表现和转移方式不同外,pPNET和cPNET的区别主要为生长位置及免疫组织化学特点[2]。PNET诊断较困难,按传统诊断标准(即免疫组化CD99阳性结合其他神经标记物)去诊断时容易出现漏诊。最近研究发现,针对EWS基因(22q12)的核内转录因子FLI-1蛋白免疫组化检测对PNET有较高应用价值[3]。虽然近年来PNET的报道逐渐增加,但目前把统计学方法应用于

[基金项目] 国家自然科学基金(30672423)
[通信作者] 李醒亚,电话:(0371)66295093,E-mail:zlzjonline@yahoo.com.cn

PNET研究方面的文献极少。一直以来关于PNET患者预后影响因素问题,尤其是年龄因素,长期以来争议较大。本研究收集35例PNET病例,进行病理分析及生存分析,探讨PNET的诊断及影响患者预后的因素。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集2003年3月至2009年5月共35例PNET患者病历及手术标本蜡块,其中8例病例来源于郑州大学第一附属医院,27例来源于河南省肿瘤医院。全部病例经免疫组织化学检测及高年资病理医生重新阅片证实。男性22例,女性13例,年龄1.75~63.00岁,其中27例发病年龄小于35岁,中位年龄24.14岁。发病部位肿瘤位于非中线部位为17例,位于盆腔或中线部位为18例。肿瘤体积8.00~2 592.00 cm^3,中位体积为684.27 cm^3。通过电话及信函进行随访,其中有2例患者失访。随访到的33例患者中,局限期PNET为20例,广泛期为13例。经手术后放化疗联合治疗者为9例,单纯局部治疗者(手术或放疗)为24例患者。随访结束时,24例患者死亡,9例患者生存。

1.2 病理组织检查

35例患者术后常规病理已证实淋巴细胞共同抗原(LCA)及肌源性免疫组化(Myoglobin,Myosin)均为阴性。重新阅片再次证实。标本均经过10%甲醛固定、石蜡包埋,切片厚约4 μm,切片进行HE染色和FLI-1、CD99、Syn、NSE、S-100、NF、Vim免疫组织化学染色(EnVision法)。所用CD99、Syn、NSE、S-100、NF、Vim抗体试剂盒购于福州迈新生物技术工程公司,FLI-1为Santa Cruz公司产品。切片双盲读片。FLI-1阳性为细胞核呈棕黄色至褐色染色,CD99阳性呈弥漫性细胞膜和细胞质染色,NSE、S-100、Vim、Syn、NF染色阳性呈细胞质弥漫棕黄色至褐色染色。阳性细胞数占0%为(-);0~20%为(±);21%~80%为(+);≥80%为(++)。(-)和(±)为阴性,(+)和(++)为阳性。

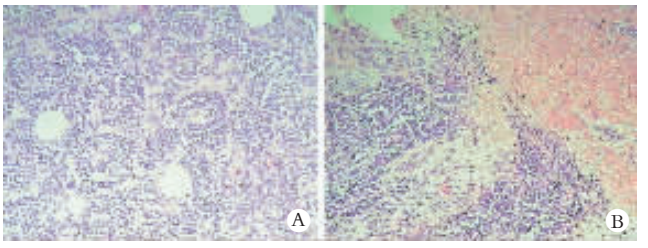
1.3 统计学方法

采用SPSS 15.0统计软件,应用COX回归模型进行生存分析。

2 结果

2.1 35例PNET组织病理形态学结果

所有肿瘤光镜下由大小一致的圆形或椭圆形细胞形成,细胞质少。细胞核较大且深染,可见1~3个核仁,核分裂相易见。肿瘤细胞排列紧密,呈大片状或巢状分布,肿瘤间质成分较少。本组患者中有7例出现典型菊形团(Homer-Wright,H-W菊形团),见图1。2例可见部分区域细胞质透亮,所有病例均未见神经纤维分化。

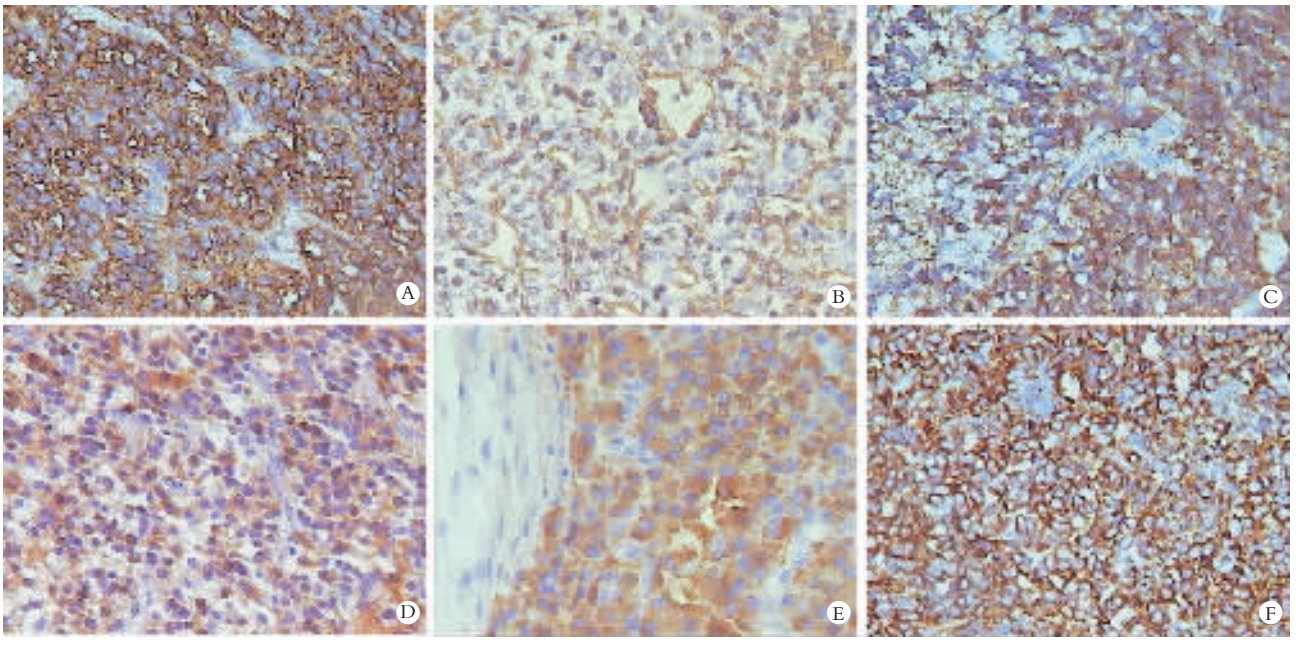


A:小圆肿瘤细胞;B:小圆细胞肿瘤肌肉组织浸润

图1 原始神经外胚层肿瘤病理组织学观察 (HE ×100)

2.2 35例PNET免疫组织化学染色结果及病理学诊断

CD99阳性率为88.57%(31/35),FLI-1阳性率为51.43%(18/35),FLI-1与CD99联合灵敏度达100%;Vim、Syn、NSE和S-100阳性率分别为91.43%(32/35)、48.57%(17/35)、45.71%(16/35)和22.86%(8/35)。NF仅3例为(±),其余均为(-),见图2。



A:CD99阳性(×200);B:FLI-1阳性(×200);C:NSE染色阳性(×200);D:S-100染色阳性(×200);E:PNET肿瘤细胞Syn染色阳性(右侧部分)与阴性非肿瘤组织对比(×400);F:Vim阳性(×200)

图2 免疫组化观察PNET细胞CD99、FLI-1、NSE、S-100、Syn、Vim的表达 (EnVision)

CD99 阳性(共 31 例)时,联合以下 3 种情况之一:① Vim、Syn、NSE 和 S-100、NF 至少两项阳性(共 24 例);②FLI-1 阳性,结合其他至少一项神经标记物(共 3 例);③Homer-Wright 菊形团和至少一项神经标记物阳性(共 4 例)。排除其他小圆细胞肿瘤(术后病理证实 LCA 及 Myo 均为阴性排除淋巴瘤和肌源性肿瘤),均可考虑为 PNET。

CD99 阴性(共 4 例)的情况下,FLI-1 阳性,联合 Syn、NSE、S-100、Vim,结合组织病理学为小圆细胞肿瘤,出现菊形团或菊形团趋势。排除淋巴瘤和肌源性肿瘤,也可考虑 PNET(表 1)。

表 1 CD99 阴性患者免疫组化结果

序号	CD99	FLI-1	Vim	Syn	NSE	S-100	NF
32	-	+	+	+	-	-	-
33	-	+	+	+	-	-	-
34	-	+	-	+	-	+	-
35	-	+	+	+	-	-	-

2.3 33 例 PNET 患者生存状况分析结果

随访到的这 33 例 PNET 患者,年龄(21.99 ± 15.93)岁,年龄呈正态分布。男∶女为1.75∶1。中位生存期 14.80 个月,1 年生存率为 48.48%,3 年生存率为 12.12%,5 年生存率不到 5%。

2.4 33 例 PNET 患者生存资料多因素分析结果

对随访到的 33 例 PNET 患者生存资料,用 COX 回归模型进行多因素生存分析。该模型总体检验有显著意义(P = 0.000),即至少有 1 个回归系数不为 0。从表 2 可以看出,年龄因素、性别、肿瘤的分期及肿瘤的体积对患者生存的影响差异无统计学意义(P > 0.05);而肿瘤的位置(肿瘤位于盆腔或中线位、非中线位)和肿瘤治疗(单纯局部治疗、局部治疗联合全身化疗)对生存的影响有统计学意义(P < 0.05)。原发肿瘤位于盆腔或中线位置的患者预后较差,非中线位肿瘤患者死亡的风险为中线位或盆腔位患者的 0.180;局部治疗联合全身化疗的患者较单纯局部治疗的患者预后好,联合治疗患者为单纯局部治疗患者死亡风险的 0.754。

表 2 33 例 PNET 患者生存资料多因素 COX 回归分析

因素名称	回归系数	P	相对危险度	95% CI
年龄	-0.013	0.388	0.988	0.960 - 1.016
性别	-0.282	0.603	0.754	0.260 - 2.185
肿瘤位置	1.716	0.004	0.180	0.055 - 0.587
分期	0.387	0.436	1.473	0.556 - 3.900
治疗	-0.283	0.015	0.754	0.600 - 0.947
肿瘤体积	0	0.329	1.000	0.999 - 1.000

3 讨论

PNET 可发生于各个年龄阶段,但大多发生于 35 岁以前,平均年龄为 20 岁,男性发病略高于女性。本组患者中位年龄为 24.14 岁,男女之比为 22∶13,与文献[4]一致。本组患者发病部位主要为小脑、盆腔、腹腔、胸肺、大脑、四肢及颈肩部。也有发生于胰腺、肾脏、会厌等病例,与文献[5,6]报道基本一致。PNET 的临床表现无特异性。临床主要表现为生长迅速伴有疼痛的肿块,以及肿块所引起的压迫症状。肿块呈浸润性生长,侵袭性强,高度恶性,转移的途径主要是经血行播散,常见转移的部位依次是肺、骨、骨髓和肝脏。另外,cPNET 也可以随脑脊液循环转移到其他部位。

常规 HE 染色肿瘤细胞为大小一致的小圆细胞组成。在分化程度较高的 PNET 中,可见到 Homer-Wright 菊形团,为 PNET 的特征性表现,可作为 PNET 诊断的重要依据[7,8]。30% ~ 70% PNET 病例出现 Homer-Wright 菊形团,因此不能仅凭光镜下去诊断 PNET。

目前,免疫组化是确诊 PNET 的主要手段。临床上最常用的诊断标准为:CD99 表达阳性,并有两种以上不同神经标记(如 NSE、Syn、S-100、Vim、NF)的表达,而淋巴细胞共同抗原(LCA)阴性及标记肌源性肿瘤的免疫组化(Myoglobin,Myosin)阴性来排除淋巴瘤及小圆细胞肌源性肿瘤可以确诊[8,9]。另有一些学者认为,Homer-Wright 菊形团结构及菊形团排列趋势和免疫组化 2 种以上不同神经标志物的表达,是诊断 PNET 的重要依据[7,8]。本研究进一步证实以上两种方法均可以诊断 PNET。PNET 中 CD99 阳性率高达 90% ~100%。但 CD99 的表达并不专属于 PNET。有些肉瘤比如分化较差的滑膜肉瘤、间叶性软骨肉瘤 CD99 也可阳性表达,且 cPNET 呈 CD99 染色阴性[10,11]。本组患者中 CD99 的阳性率为 88.57%(31/35),稍低于文献报道,可能为本组病例中 cPNET 所占比例较高所致。NF 仅有 3 例出现 10% 以下的染色阳性,可能因为该组肿瘤分化程度较低。近年来,FLI-1 在 PNET 中的表达引起越来越多的关注。国外文献报道 FLI-1 在 PNET 表达大约在 70% ~ 80%。联合检测 FLI-1 和 CD99 可提高诊断 PNET 的敏感性,在实际工作中具有一定的诊断价值。本组病例联合应用 CD99 和 FLI-1 使敏感性提高至 100%。CD99 阳性情况下,至少一项其他神经标记物(Syn、NSE、S-100、NF、Vim)阳性,结合 FLI-1 阳性,排除其他小圆细胞肿瘤,可考虑为 PNET;CD99 阴性的情况下,FLI-1 阳性,联合其他神经标记物(Syn、NSE、S-100、NF、Vim)至少两项阳性,排除其他,也可考虑 PNET。因此,FLI-1 可作为 PNET 的一项补充诊断指标,减少实际工作中的漏诊。另外,原始神经外胚层肿瘤和尤文肉瘤有着共同的基因易位特征,目前已把二者视为同一肿瘤。

由于 PNET 发病率较低,目前尚无最佳治疗方案。单纯局部治疗(手术或放疗)的复发率高达 90%,大多数 PNET 患者的治疗为手术、局部大剂量放疗及化疗联合的综合治疗[12]。本研究结果进一步证实了局部治疗与全身化疗联合的综合治疗较单纯局部治疗能明显改善 PNET 患者的预后。目前临床应用最多、最有

效的化疗方案为“ADM +VCR +CTX”方案与“IFO + Vp-16”方案每3周交替[13],化疗联合局部治疗完全缓解率高达95%[14]。

总体来看,PNET患者的预后较差,复发率、死亡率仍较高。单纯局部治疗(手术或放疗)的患者5年生存率<10%,但单纯局部治疗联合全身化疗后,局限期PNET和转移性PNET(骨转移除外)患者的5年生存率分别为60% ~70%和20% ~40%,且骨转移性PNET患者5年生存率<10%[15]。本组33例患者预后比文献报道稍差,可能原因为:①样本量不大,为33例;②本组患者肿瘤分化较差,恶性程度高。

有研究者通过对945例患者进行研究,证实并非年龄越大的患者预后越差,年龄不是影响预后的主要因素,而预后不良的主要因素为广泛期PNET、肿瘤体积较大、原发于盆腔或中线部位(如鼻窦、脊柱、膀胱、直肠、心脏及纵隔等)的肿瘤、术前化疗组织学反应较差[16]。Verrill等[17]提出肿瘤的局部浸润、侵袭情况是影响预后的最重要因素,其次是对化疗的反应。本组33例病例经COX回归分析,进一步证实年龄不是影响PNET患者预后的主要因素($P>0.05$);非中线位肿瘤患者死亡的风险为中线位患者的0.180,提示肿瘤原发于盆腔或中线位预后较差,在其他因素不变情况下,这种差异有统计学意义。但关于肿瘤分期、肿瘤体积对生存的影响仍无统计学意义,可能原因为:①与治疗情况和原发肿瘤位置相比,肿瘤分期、体积不是影响患者预后的主要因素;②由于该肿瘤发病率低,本组样本量为33例,样本量小而引起偏倚。

由此可以看出,PNET患者预后差,但积极的规范化治疗仍能给患者带来明显的生存获益,尤其是局部治疗(手术和放疗)联合全身化疗能明显改善患者预后。这就需要我们在临床上探索更敏感、更特异的方法来早期发现、早期诊断PNET。由于PNET有着特定的基因易位,比如形成EWS/FLI-1基因、EWS/ERG基因,可以通过RT-PCR和FISH等新技术发现这些特定的基因易位[18]。但这些技术尚不完善,且并非每个试验室都具备这些条件,在临床尚未应用,目前临床诊断主要依靠组织病理及免疫组织化学方法。因此,关于PNET的诊断方法及规范化治疗仍是今后临床探索的重点。

参考文献:

[1] Doi H, Ichikawa S, Hiraoka A, *et al*. Primitive neuroectodermal tumor of the pancreas[J]. Intern Med, 2009, 48(5): 329 -333.

[2] Jingyu C, Jinning S, Hui M, *et al*. Intraspinal primitive neuroectodermal tumors: Report of four cases and review of the literature[J]. Neurol India, 2009, 57(5): 661 -668.

[3] 刘宝岳, 杨郁, 杜娟, 等. EWS易位分离探针荧光原位杂交和免疫组织化学抗体(FLI-1和CD99)在尤文肉瘤/原始神经外胚层肿瘤诊断中的价值[J]. 北京大学学报: 医学版, 2008, 40(4): 358 -362.

[4] 罗伟, 肖恩华. 8例外周性原始神经外胚层肿瘤的病理、CT、MRI表现并文献复习[J]. 癌症, 2008, 27(6): 627 -632.

[5] Ellinger J, Bastian P J, Hauser S, *et al*. Primitive neuroectodermal tumor: rare, highly aggressive differential diagnosis in urologic malignancies[J]. Urology, 2006, 68(2): 257 -262.

[6] Lee Y Y, Kim-do H, Lee J H, *et al*. Primary pulmonary Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor in a 67-year-old man[J]. J Korean Med Sci, 2007, 22(Suppl): S159 -S163.

[7] Sen S, Kashyap S, Thanikachalam S, *et al*. Primary primitive neuroectodermal tumor of the orbit[J]. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 2002, 39(4): 242 -244.

[8] Schmidt D, Herrmann C, Jurgens H, *et al*. Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma. A report from the Kiel Pediatric Tumor Registry[J]. Cancer, 1991, 68(10): 2251 -2259.

[9] Kiatsoontorn K, Takami T, Ichinose T, *et al*. Primary epidural peripheral primitive neuroectodermal tumor of the thoracic spine[J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2009, 49(11): 542 -545.

[10] Bano S, Yadav S N, Garga U C. Case Report: Intracranial peripheral primitive neuroectodermal tumor - Ewing's sarcoma of dura with transcalvarial-subgaleal extension: An unusual radiological presentation [J]. Indian J Radiol Imaging, 2009, 19(4): 305 -307.

[11] Kampman W A, Kros J M, De-Jong T H, *et al*. Primitive neuroectodermal tumours (PNETs) located in the spinal canal; the relevance of classification as central or peripheral PNET: case report of a primary spinal PNET occurrence with a critical literature review[J]. J Neurooncol, 2006, 77(1): 65 -72.

[12] Shah J P, Jelsema J, Bryant C S, *et al*. Carboplatin and paclitaxel adjuvant chemotherapy in primitive neuroectodermal tumor of the uterine corpus[J]. Am J Obstet Gynecol, 2009, 200(2): e6 -e9.

[13] Miser J S, Krailo M D, Tarbell N J, *et al*. Treatment of metastatic Ewing's sarcoma or primitive neuroectodermal tumor of bone: evaluation of combination ifosfamide and etoposide——a Children's Cancer Group and Pediatric Oncology Group study[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(14): 2873 -2876.

[14] Nagaya T, Tanaka N, Kamijo A, *et al*. Primitive neuroectodermal tumor as a differential diagnosis of CD56-positive tumors in adults [J]. Intern Med, 2009, 48(15): 1267 -1272.

[15] Paulussen M, Bielack S, Jurgens H, *et al*. Ewing's sarcoma of the bone: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2009, 20 (Suppl 4): 140 -142.

[16] Scurr M, Judson I. How to treat the Ewing's family of sarcomas in adult patients[J]. Oncologist, 2006, 11(1): 65 -72.

[17] Verrill M W, Judson I R, Harmer C L, *et al*. Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor in adults: are they different from Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor in children? [J]. J Clin Oncol, 1997, 15(7): 2611 -2621.

[18] Manduch M, Dexter D F, Ellis P M, *et al*. Extraskeletal Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor of the posterior mediastinum with t(11;22)(q24;q12)[J]. Tumori, 2008, 94(6): 888 -891.

(**收稿**:2009-12-04;**修回**:2009-12-28)

(编辑 栾 嘉)