但还有待前瞻性的临床研究。

早期的报道术中和术后的总体死亡率5%～25%，当前报道术后生存率100%[5]。本组无术中死亡病例，术后随访死亡1例(1.5%)。手术中死亡多是由于在切除肿瘤时损伤到脑干或者小脑深部神经核导致，术后并发症导致死亡者罕见。随访显示，1例间变性星形细胞瘤术后3年死亡，余患者获得长期生存。术后并发症是影响患者生活质量的重要原因。

综上所述，儿童小脑星形细胞瘤低级别者多见，经显微外科治疗可获长期生存；高级别者少见，且预后不良。

参考文献：

[1] Davis C H, Joglekar V M. Cerebellar astrocytomas in children and young adults[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1981, 44(9): 820-828.

[2] Fisher P G, Tihan T, Goldthwaite P T, *et al*. Outcome analysis of childhood low-grade astrocytomas[J]. Pediatr Blood Cancer, 2008, 51(2): 245-250.

[3] Villarejo F, de-Diego J M, de-la-Riva A G. Prognosis of cerebellar astrocytomas in children[J]. Childs Nerv Syst, 2008, 24(2): 203-210.

[4] Lach B, Al-Shail E, Patay Z. Spontaneous anaplasia in pilocytic astrocytoma of cerebellum[J]. Br J Neurosurg, 2003, 17(3): 250-252.

[5] 李大鹏，齐巍，王稳恒，等. 小儿小脑星形细胞瘤101例分析[J]. 中国康复理论与实践，2009，15(3)：274-275.

[6] 郭志祥，何文，王硕，等. 小脑占位性病变的术中超声应用研究[J]. 中华超声影像学杂志，2009，18(9)：786-788.

[7] Viano J C, Herrera E J, Suarez J C. Cerebellar astrocytomas: a 24-year experience[J]. Childs Nerv Syst, 2001, 17(10): 607-610.

[8] Due-Tonnessen B J, Helseth E. Management of hydrocephalus in children with posterior fossa tumors: role of tumor surgery[J]. Pediatr Neurosurg, 2007, 43(2): 92-96.

[9] Gudrunardottir T, Sehested A, Juhler M, *et al*. Cerebellar mutism: review of the literature[J]. Childs Nerv Syst, 2011, 27(3): 355-363.

[10] Kupeli S, Yalcin B, Bilginer B, *et al*. Posterior fossa syndrome after posterior fossa surgery in children with brain tumors[J]. Pediatr Blood Cancer, 2011, 56(2): 206-210.

[11] 戴慧. 低分级脑星形细胞瘤术后放疗或放化疗综合治疗的临床分析[J]. 临床医学，2005，25(1)：15-16.

[12] Fossati P, Ricardi U, Orecchia R. Pediatric medulloblastoma: toxicity of current treatment and potential role of protontherapy[J]. Cancer Treat Rev, 2009, 35(1): 79-96.

[13] Pace A, Vidiri A, Galie E, *et al*. Temozolomide chemotherapy for progressive low-grade glioma: clinical benefits and radiological response[J]. Ann Oncol, 2003, 14(12): 1722-1726.

(**收稿**：2011-08-04；**修回**：2011-09-02)

(编辑　王小寒)

短篇论著

文章编号：1000-5404(2011)21-2310-03

PTEN、p38MAPK在人脑胶质瘤中的表达及意义

辛艳超，刘献志，刘　新，翟　广，徐　滨，张风江，杨　斌　(450052 郑州，郑州大学第一附属医院神经外科)

[**摘要**] **目的**　初探PTEN和p38MAKP在人脑胶质瘤中的表达及意义。**方法**　采用免疫组织化学S-P法检测43例低级别胶质瘤(Ⅰ和Ⅱ级)和21例高级别胶质瘤(Ⅲ级和Ⅳ级)PTEN和p38MAKP的表达情况，并分析二者之间的关系。**结果**　PTEN和p38MAKP在不同级别胶质瘤中的表达不同，随着病理级别的升高，PTEN表达均逐渐减弱[Ⅰ级77.27%(17/22)；Ⅱ级66.67%(14/21)；Ⅲ级46.15%(6/13)；Ⅳ级37.50%(3/8)]，而p38MAKP表达均逐渐增强[Ⅰ级22.73%(5/22)；Ⅱ级39.10%(8/21)；Ⅲ级53.85%(7/13)；Ⅳ级75.00%(6/8)]，低级别胶质瘤组与高级别胶质瘤组比较，差异有统计学意义($P<0.05$)，且两者在人脑胶质瘤中的表达呈负相关($r=-0.411$，$P<0.05$)。**结论**　PTEN和p38MAKP蛋白的异常表达可能参与胶质瘤的恶性进展，检测二者蛋白的表达水平有助于评价胶质瘤的恶性程度和生物学行为。

[**关键词**]　胶质瘤；PTEN；p38MAKP；免疫组化

[**中图法分类号**]　R730.264　　[**文献标志码**]　A

胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤，占成人中枢神经系统肿瘤的50%～60%，成人发病率为每年8/10万，胶质瘤患者的预后不佳[1]。目前的主流观点认为，肿瘤的恶性生物学特性涉及细胞中癌基因的激活、扩增、过度表达，以及抑癌基因的失活、变异、缺失和一些重要的细胞信号转导通路的异常等相关分子机制[2-3]。本研究通过免疫组化检测探讨第10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tenson homologue deleted on chromosome ten，PTEN)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase，p38MAPK)的表达，初步探讨两者蛋白的表达与胶质瘤恶性程度及生物学行为的关系，为胶质

[**通信作者**]　刘献志，E-mail：lxz@zzu.edu.cn

瘤的分子机制研究及综合治疗,提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 标本来源

研究对象为郑州大学第一附属医院神经外科 2008 年 5 月至 2010 年 10 月的胶质瘤手术切除且保存完好的石蜡包埋标本 64 例,其中男性 33 例,女性 31 例,年龄 9 ~ 82 岁,平均 45.5 岁。组织学分级根据 2007 年修改的 WHO 神经系统肿瘤分级标准对其进行组织学的分类分级,其中Ⅰ级 22 例,Ⅱ级 21 例,Ⅲ级 13 例,Ⅳ级 8 例。其中把Ⅰ级和Ⅱ级胶质瘤合并为低级别胶质瘤组,把Ⅲ和Ⅳ级胶质瘤级合并为高级别胶质瘤组。选取标准:所有患者无其他严重并发症,无肥胖、糖尿病等代谢性疾病,术前均行 MRI 或 CT 检查,且患者均为第 1 次手术治疗,术前未进行过化疗和放疗。排除标准:①颅脑发育异常、外伤、栓塞、出血或合并非胶质瘤肿瘤等的未开颅手术,癫痫、痴呆等严重功能性颅脑疾病;②不符合选取标准。所有标本在手术切除后去除出血、坏死、电灼的组织,用生理盐水冲洗,2 h 内用 10% 甲醛固定,1 周内用石蜡包埋,留以备用。

1.2 实验主要试剂

兔抗人多克隆抗体 PTEN 和 p38MAPK 均购自美国 Signalway antibodys 公司, S-P 9000 试剂盒和 DAB 显示增强剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法

采用免疫组化 S-P 法,操作严格按照试剂盒说明书进行。兔抗人多克隆抗体 PTEN 和 p38MAPK 均按照 1∶100 浓度进行稀释, PTEN 和 p38MAPK 免疫组化均采用 PBS 代替一抗作为空白对照,采用已知有阳性表达的肿瘤标本作为阳性对照,同时应用组内对照。

1.4 结果分析

PTEN 和 p38MAPK 蛋白均定位于细胞质,部分位于细胞膜,阳性表达为细胞细胞质染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色。采用半定量积分法判定结果。阳性细胞计数:根据阳性细胞所占 5 个以上高倍显微镜视野比例计数,阳性细胞百分数评分:0(0 ~ 4%),1(5% ~ 25%),2(26% ~ 50%),3(51% ~ 75%)和 4(>75%)。染色强度分类:无色为 0 分、浅黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕褐色为 3 分。二者计分相乘为免疫组化染色指数,0 分为阴性(-),1 ~ 4 分为弱阳性(+),5 ~ 8 分为中等阳性(++),9 ~ 12 分为强阳性(+++)。结果采取双盲法进行计分。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 17.0 统计软件行 Spearman 等级相关分析、χ^2 检验、Fisher 精确概率法。

2 结果

2.1 免疫组化检测结果

随着胶质瘤病理级别的升高,PTEN 蛋白(主要定位于细胞质)在低级别胶质瘤中比高级别胶质瘤中的表达明显增强,着色颗粒粗大(图 1);PTEN 蛋白的表达阳性率分别为Ⅰ级 77.27%(17/22);Ⅱ级 66.67%(14/21);Ⅲ级 46.15%(6/13);Ⅳ级 37.50%(3/8)。低级别胶质瘤组阳性率为 72.09%(31/43),与高级别胶质瘤组阳性率[42.86%(9/21)]比较差异有统计学意义($P<0.05$)。p38MAPK 蛋白(主要定位于细胞质)在低级别胶质瘤中比高级别胶质瘤中的表达明显减弱,着色颗粒细小(图 2);p38MAPK 蛋白的表达阳性率分别为Ⅰ级 22.73%(5/22);Ⅱ级 39.10%(8/21);Ⅲ级 53.85%(7/13);Ⅳ级 75.00%(6/8)。低级别胶质瘤组阳性率为 30.23%(13/43),与高级别胶质瘤组阳性率[61.90%(13/21)]比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。同时根据免疫反应评分(表 1),对所得数据进行统计分析,低级别胶质瘤组 PTEN 的表达强度显著高于高级别胶质瘤组($P<0.05$),而 p38MAPK 却相反。

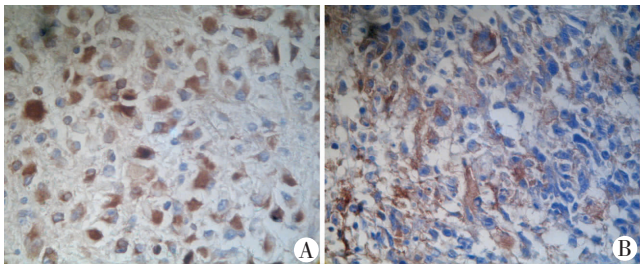
2.2 PTEN 和 p38MAPK 表达相关性分析

根据免疫组化结果,对 PTEN 与 p38MAPK 行 Spearman 相关分析值,结果显示 p38MAPK 的表达强度与 PTEN 蛋白的表达水平在人脑胶质瘤中的表达呈负相关($r = -0.411$, $P < 0.01$)。

表 1 人脑胶质瘤中 PTEN 和 p38MAPK 表达的相对值($\bar{x} \pm s$)

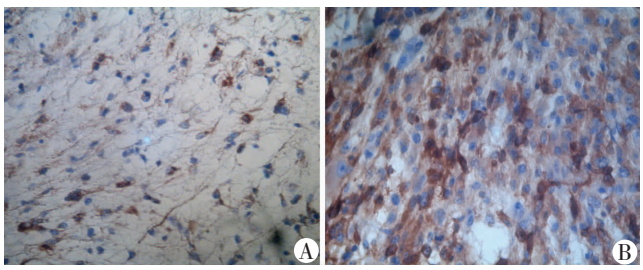
组别	n	PTEN	p38MAPK
低级别胶质瘤组	43	6.80 ± 4.67[a]	1.00 ± 2.06[a]
高级别胶质瘤组	21	1.19 ± 1.83	6.09 ± 5.20

a: $P<0.05$,与高级别胶质瘤组比较



A:低级别胶质瘤组; B:高级别胶质瘤组

图 1 PTEN 在 2 组人脑胶质瘤中的表达 (S-P ×400)



A:低级别胶质瘤组; B:高级别胶质瘤组

图 2 p38MAPK 在 2 组人脑胶质瘤中的表达 (S-P ×400)

3 讨论

PTEN 是磷酸酶家族中的第一个具有抑癌作用的基因[4],p38MAPK 作为一种新发现的酪氨酸磷酸化蛋白激酶,属于 MAPK 信号转导通路的一种[5]。近年来有关 PTEN 和 p38MAPK 在胶质瘤中的表达,及与胶质瘤的发生、发展、治疗、预后等方面的相关研究较多,但两者在胶质瘤中共同表达及两者相关性研究尚少见报道。目前研究[6]表明,PTEN 作为抑癌基因有研究表

明 PTEN 对 MAPK 信号转导通路有负性调节作用,其中细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)介导的信号转导通路,是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)转导系统的其中一条。p38MAPK 转导通路的激活途径具有磷酸化高度保守的特性[7],通过 MAPKKK(MKKK)-MAPKK(MKK)-MAPK 的三级酶促级联反应,把细胞外信号向细胞内转导,从而在细胞生长、分化和增殖以及在细胞恶性转化过程中发挥重要作用。Kanda 等[8]研究发现,PTEN 具有脂质磷酸酯酶活性,在人体内主要底物为第二信使磷酸磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K),通过对磷脂酰肌醇三磷酸(PI3P)去磷酸化,降低 PI3K 水平,阻止 PI3K 调控的生长因子信号转导通路,导致其下游原癌基因产物丝苏氨酸激酶(AKT)失活,从而抑制了促细胞分裂素蛋白激酶(MAPK)细胞转导信号途径,引起细胞周期的抑制,阻止细胞的增殖。另有研究表明[9],PTEN 能直接使 SH2 包含蛋白(SH2 containing protein,Shc)的酪氨酸磷酸去磷酸化,阻滞 Shc 与 Grb 相关结合蛋白(Gab)的结合,使 Shc 调控的下游 ERK 信号转导受到抑制。PTEN 通过对 MAPK 通路的负性调节,影响细胞生长、分化和增殖,扼制细胞恶性转化进程,可能是其抑癌的一个重要因素。

本实验依据选取和排除标准,通过使用免疫组化 S-P 的方法对 PTEN 和 p38MAPK 蛋白在人脑胶质瘤组织中表达的情况进行检测,在 64 例胶质瘤标本中,有 40 例出现 PTEN 表达阳性,阳性率 62.50%(40/64),PTEN 在低级别胶质瘤组的阳性率为 72.09%,在高级别胶质瘤组的阳性率为 42.86%,低级别胶质瘤组的阳性率明显高于高级别胶质瘤组($\chi^2=5.146$,$P=0.023$),同时图 1 示:低级别胶质瘤 PTEN 蛋白在胶质瘤细胞的染色数量及程度大于高级别胶质瘤,因此 PTEN 的表达随胶质瘤级别的增高而降低,这表明 PTEN 的阳性表达与胶质瘤的恶性程度有明显的负相关,是人脑胶质瘤分化良好的一个重要指标。有 26 例出现 p38MAPK 表达阳性,阳性率 40.63%(26/64),p38MAPK 在低级别胶质瘤组的阳性率为 30.23%,在高级别胶质瘤组的阳性率为 61.90%,低级别胶质瘤组的阳性率明显低于高级别胶质瘤组($\chi^2=5.868$,$P=0.015$),同时图 2 示:低级别胶质瘤 p38MAPK 蛋白在胶质瘤细胞的染色数量及程度大于高级别胶质瘤,因此 p38MAPK 的表达随胶质瘤级别的增高而增高,这表明 p38MAPK 的阳性表达与人脑胶质瘤的恶性程度呈明显的正相关,是人脑胶质瘤分化不良的一个重要指标。而两者的相关性分析结果显示:p38MAPK 的表达强度与 PTEN 蛋白的表达水平呈明显负相关($r=-0.411$,$P<0.01$),PTEN 蛋白表达愈强,p38MAPK 表达愈弱,反之亦然。这就证实了一些实验的结果:PTEN 的存在可以使 PI3P 去磷酸化或抑制 ERK 介导的信号转导通路,从而使 p38MAPK 激活受到抑制。说明在胶质瘤的发生、发展中,可能是由于 PTEN 蛋白表达降低或缺失,不能有效抑制由致癌因子异常激活的 p38MAPK 信号转导通路,使胶质瘤细胞发生异常增殖和恶性转化。为我们在治疗胶质瘤过程中提供了实验支持。

总之,随着 PTEN 和 p38MAPK 在胶质瘤的产生、发展过程中相互作用研究的不断深入,联合检测胶质瘤组织中两者的表达,可能成为临床判断胶质细胞瘤恶性程度,侵袭性及预后的有效参考指标;同时以 PTEN 或 p38MAPK 为靶点,增强 PTEN 基因的活性或抑制 p38MAPK 在胶质瘤细胞中的信号转导途径,将可能为胶质瘤基因治疗的提供新的理论依据。

参考文献:

[1] 周良辅. 现代神经外科学[M]. 上海:复旦大学出版社, 2008:375-428.

[2] Maher E A, Furnari F B, Bachoo R M, *et al*. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter[J]. Genes Dev, 2001, 15(11): 1311-1333.

[3] Gurney J G, Kadan-Lottick N. Brain and other central nervous system tumors: rates, trends, and epidemiology[J]. Curr Opin Oncol, 2001, 13(3): 160-166.

[4] 陈力学, 姜利人, 刘宝松, 等. PTEN 表达下调对神经元缺氧损伤的保护及其作用机制[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(19): 1942-1944.

[5] 李静, 许峰, 胡兰, 等. 高氧对幼鼠肺组织细胞凋亡及 p38 MAPK 丝裂原活化蛋白激酶的影响[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(17): 1598-1600.

[6] Hartmann W, Digon-Sontgerath B, Koch A, *et al*. Phosphatidylinositol 3′-kinase/AKT signaling is activated in medulloblastoma cell proliferation and is associated with reduced expression of PTEN [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(10): 3019-3027.

[7] Kanamoto T, Mota M, Takeda K, *et al*. Role of apoptosis signal-regulating kinase in regulation of the c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptosis in sympathetic neurons [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(1): 196-204.

[8] Kanda S, Kanetake H, Miyata Y. Loss of PTEN function may account for reduced proliferation pathway sensitivity to LY294002 in human prostate and bladder cancer cells[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2009, 135(2): 303-311.

[9] Gu J, Tamura M, Yamada K M. Tumor suppressor PTEN inhibits integrin- and growth factor-mediated mitogen-activated protein (MAP) kinase signaling pathways [J]. J Cell Biol, 1998, 143(5): 1375-1383.

(**收稿**:2011-07-07;**修回**:2011-09-01)

(编辑 王小寒)