维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)05－0673－03

ER 在脑肿瘤中的表达与细胞增殖和临床病理的关系

王顺和，王光辉，李园园，杨慧敏

(重庆医科大学基础医学院病理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨脑肿瘤中激素受体 ER 的表达与肿瘤细胞增殖和临床病理的关系。方法:应用免疫组织化学 SP 法,检测 ER 和 PCNA 在 64 例脑肿瘤标本中的表达。结果:星形细胞瘤、室管膜瘤和髓母细胞瘤肿瘤细胞中 ER 表达的阳性率分别为 39.47%(15/38)、35.71%(5/14)和 41.60%(5/12),PCNA 阳性率分别为 65.79%(25/38)、92.86%(13/14)和 66.67%(8/12),高度恶性星形细胞瘤(Ⅲ级)ER 阳性率(42.8%)明显高于良性Ⅰ级(33.3%)。星形细胞瘤中 ER 与 PCNA、ER 与肿瘤分级及 PCNA 与肿瘤分级之间有显著相关性($P<0.05$)。结论:ER 在神经胶质瘤中表达随着肿瘤的恶性程度的增高而增加,PCNA 的表达与恶性增殖正相关。推测 ER 可能参与了胶质细胞恶性生长以及原癌基因的调控过程。

【关键词】雌激素受体;星形细胞瘤;增殖细胞核抗原;免疫组织化学

【中国图书分类法分类号】R739.41 【文献标识码】A 【收稿日期】2005－03－18

Correlation of estrogen receptor expression to activity of cell proliferation and chincopathology in brain tumors

WANG Shunhe, et al

(*Department of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the correlation of ER expression to the activity of cell proliferation and clinicopathology in brain tumors(astrocytomas, ependynomas, and medulloblastomas). *Methods*: The expression of ER and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) were determined by SP immunohistochemical method in 64 cases of brain tumors tissues. Correlation ER expression with chinicopathological characteristics was studied. *Results*: The positive rates of ER expression in astrocytomas, ependynomas, and medulloblastomas were 39.47% (15/38), 35.71% (5/14) and 41.60% (5/12) respectively. Maliganat astrocytomas(42.8%) had a significantly higher ER expression rate compared with Benign astrocytomas(33.3%) ($P<0.05$). ER positive glial tumors had higher PCNA labeling index(LI)compared with ER negative glial tumors ($P<0.01$). The expression of ER in astrocytomas tissues was significantly related with PCNA. *Conclusion*: Frequency of ER occurrence is higher in highly malignant astrocytomas. ER expression is correlated with proliferative activity. The expressions of ER in astrocytomas is related to higher rate of cell proliferation and histological grated and may play a pivotal role in astrocytic tumor initiation and regulation of proto－oncogene.

【Key words】Estrogen receptor(ER); Astrocytomas; Proliferating cell nuclear antigen(PCNA); Immunohistochemistry

神经胶质瘤(Glioma)等脑肿瘤的发生与雌激素受体(Estrogen receptor, ER)的表达有一定的关系。目前国内外对脑肿瘤中雌激素受体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,但对于二者表达相互关系的研究结论很不一致。我们采用 SP 免疫组织化学方法观察 ER 与 PCNA 在星形细胞瘤(38 例)、室管膜瘤(14 例)和髓母细胞瘤(12 例)中的表达情况及其与临床肿瘤病理分级之间的关系,初步探讨 ER 在脑肿瘤发生发展和预后中的作用及其与细胞恶性增殖的关系,为临床上脑肿瘤的治疗提出了一种新的思路。

作者介绍:王顺和(1964－),男,硕士,副教授,主要研究方向:神经病理。

1 材料和方法

1.1 研究对象和材料

收集 2002 年 1 月～2004 年 6 月在重庆医科大学病理科确诊的原发性脑肿瘤病例标本 64 例,其中男性 34 例,女性 30 例;年龄 $1^{10}/_{12}$～79 岁,平均年龄 32.12 岁;星形胶质细胞瘤 38 例,按 WHO 分类标准:Ⅰ级(良性)9 例、Ⅱ级(间变性)8 例、Ⅲ级(高度恶性)21 例,室管膜瘤 14 例(间变性室管膜

维普资讯 http://www.cqvip.com

瘤 4 例),髓母细胞瘤 12 例。

主要试剂为小鼠抗人 ER 单克隆抗体(1A6),小鼠抗人 PCNA 单克隆抗体(PC10),即用型 SP 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒,均购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 实验方法

免疫组织化学技术:免疫组织化学染色采用 SP 法,石蜡标本连续切片 4μm 厚,常规二甲苯脱蜡入水后,经 pH6.0,0.001mol/L 柠檬酸钠溶液,微波炉(92～98℃)加热处理 10min,冷至室温后用 SP 法标记 ER 和 PCNA,按照中山公司试剂盒说明书操作,DAB 显色。以 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照,用已知阳性切片做阳性对照,可疑者重复试验。

1.3 观察指标

ER 为细胞核和(或)细胞质内出现棕黄色或棕褐色细颗粒,PCNA 为细胞核内出现棕黄色或棕褐色细颗粒。每张切片 ER 染色阳性细胞所占比例大于 5% 者为阳性[1]。计数 PCNA 染色切片上的 10 个高倍镜视野下 1000 个肿瘤细胞数,PCNA 阳性细胞所占百分比即为 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(＋＋＋)。

1.4 实验数据处理

用 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),采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 ER 免疫组化与脑肿瘤的关系

绝大多数 ER 阳性染色定位于细胞质内,呈棕黄色细颗粒或弥漫性分布,大部分病例 ER 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(见图 1)。星形细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤的 ER 阳性率分别是 39.47% (15/38)、35.71%(5/14)和 41.60%(5/12),表明 ER 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者 ER 阳性比例较高,Ⅲ级星形细胞瘤(高度恶性)ER 阳性比例为 42.8%(9/21),Ⅰ级星形细胞瘤 ER 阳性比例为 33.3%(3/9),Ⅱ级星形细胞瘤 PR 阳性比例 37.5%(3/8),ER 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级中 ER 表达比较差异有显著性($P=0.015$),且Ⅰ与Ⅲ级表达比较差异亦有显著性($P=0.009$),而相邻级别间差异无显著性。良性室管膜瘤与间变性室管膜瘤 ER 阳性率差异无显著性。髓母细胞瘤中 ER 表达较均匀,差异无显著性。

2.2 PCNA 免疫组化与脑肿瘤 WHO 分级的关系

阳性反应产物呈棕褐色且多定位于核内(见图 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% (25/38)、92.86% (13/14)和 66.67% (8/12),差异无显著性(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($r=0.529$, $P=0.001$),且星形细胞瘤Ⅰ级与Ⅱ级和Ⅲ级 PCNA 的表达差异有显著性。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 4 例,分布无统计学意义。

表 1 ER 及 PCNA 的表达(例数)及与脑肿瘤病理分级的关系

项目	星形细胞瘤				室管膜瘤			髓母细胞瘤
	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级	合计	良性	间变性	合计	
ER								
－	6	5	12	23	6	2	8	7
＋	3	3	9	15	5	1	6	5
PCNA LI 分级								
－	7	4	2	13	1	0	1	4
＋	2	5	6	13	3	1	4	4
＋＋	0	3	4	7	3	2	5	4
＋＋＋	0	0	5	5	3	1	4	0

注:①3 种肿瘤 ER 表达比较(χ^2 检验):$\chi^2=0.275$, $P=0.832$;星形细胞瘤 3 种组织分级 PR 表达比较:$\chi^2=8.253$, $P=0.014$;各组织分级之间(Fisher 精确概率法):Ⅰ与Ⅱ级:$P=0.221$;Ⅰ与Ⅲ、Ⅳ级:$P=0.007$;Ⅱ与Ⅲ级:$P=0.214$。良性室管膜瘤与间变性室管膜瘤比较:$P=0.499$。髓母细胞瘤:$\chi^2=0.353$, $P=0.581$。②3 种肿瘤 PCNA 表达比较:$\chi^2=3.746$, $P=0.142$;星形细胞瘤 3 种组织分级 PCNA 表达比较:$\chi^2=15.478$, $P=0.012$;各组织分级之间:Ⅰ与Ⅱ级:$\chi^2=4.773$, $P=0.092$;Ⅰ与Ⅲ:$\chi^2=12.5$, $P=0.006$;Ⅱ与Ⅲ级:$\chi^2=5.193$, $P=0.158$。良性室管膜瘤与间变性室管膜瘤比较:$\chi^2=0.69$, $P=0.843$。髓母细胞瘤:$\chi^2=0$, $P=1$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

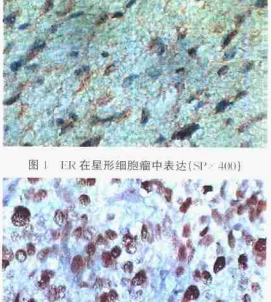


图 1 ER 在星形细胞瘤中表达(SP×400)

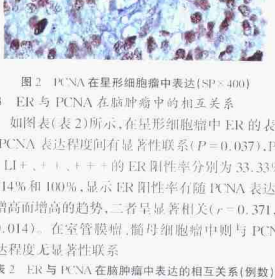


图 2 PCNA 在星形细胞瘤中表达(SP×400)

2.3 ER 与 PCNA 在脑肿瘤中的相互关系

如图表(表 2)所示,在星形细胞瘤中 ER 的表达和 PCNA 表达程度间有显著性联系($P=0.037$),PCNA LI+、++、+++的 ER 阳性率分别为 33.33%、57.14%和 100%,显示 ER 阳性率有随 PCNA 表达级别增高而增高的趋势,二者呈显著相关($r=0.371$, $P=0.014$)。在室管膜瘤、髓母细胞瘤中则与 PCNA 表达程度无显著性联系

表 2 ER 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	
	ER−	ER+	ER−	ER+	ER−	ER+
−	8	7	0	1	3	1
+	10	5	2	1	3	1
++	3	4	2	3	3	1
+++	0	1	2	2	0	0

注:星形细胞瘤中 ER 与 PCNA 表达的关系:$\chi^2=8.135$, $P=0.041$;室管膜瘤中:$\chi^2=2.221$, $P=0.512$;髓母细胞瘤中:$\chi^2=2.753$, $P=0.244$

3 讨 论

神经胶质瘤是发病率最高的脑肿瘤,约占颅内肿瘤 49.7%。由于多数呈浸润性生长,边界不清,虽经手术治疗但是不能够完全切除,所以预后多不良,中位存活期仅 45~51 周,常于手术后约 35 周左右复发。复发后,在治疗选择上仍分歧很大[2,3]。目前认为复发性脑肿瘤再手术的效果,在延长生存期与提高存活质量上均不令人满意。另外肿瘤组织与正常组织分界不清,放疗仅仅起到了一定的辅助治疗作用,尚不能完全杀死癌细胞。资料显示星形细胞瘤术后放射治疗后 5 年生存率仅为 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障碍。药物化疗方面,由于癌细胞抗药性和血脑屏障对药物的阻挡作用往往疗效不佳,胶质瘤成为最棘手的肿瘤之一。为了进一步进行有效治疗,脑肿瘤恶性增殖相关因素的研究尤为重要。

早在 1893 年 Cushining 就报告脑肿瘤患者病情在妊娠期加重,以后又有不少学者报告了类似病例,流行病学显示乳腺癌后发生脑肿瘤的机会比一般人群高 3.5 倍。70 年代末学者们就开展了脑肿瘤 ER 和 PR 的检测工作,到最近已有相当数量的 ER 和 PR 检测到。Koeborst 等[4]的研究结果表明,脑肿瘤富含 PR 而缺乏 ER 的原因是肿瘤组织中的 ER 有变异,这种变异的 ER 仍可刺激基因产生 PR,但缺乏和配体结合的能力,因而用一般检测方法就很难测出。用 PCR 扩增 cDNA 用来检查 8 例 PR 阳性而 ER 阴性的脑肿瘤 ER mRNA。结果 8 例脑肿瘤中均发现丢失了外显子 4 和 7 的一个转录后拼接产物,作者发现这种 ER 与普通 ER 不同,它不与热休克蛋白结合。因而可以持续显示活性,刺激肿瘤细胞表达 PR。应用 PCR-Southern blot 研究发现 ER mRNA 在组织分级较高的星形细胞瘤中有较多表达[5]。我们的用免疫组织化学方法测定Ⅰ级和Ⅲ级星形细胞瘤中的 ER 阳性率分别为 39.47%(15/38)和 42.8%,与国外报道的结果相一致[6]。

PCNA 作为 DNA 聚合酶的辅助因子,直接参与 DNA 合成,肿瘤增殖活性研究显示随病理分级的增加 PCNA 阳性表达率也增高[7,8],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[9]。本实验结果显示高度恶性(Ⅲ级)PCNA LI 显著高于良性(Ⅰ级)的 PCNA LI,但各相邻级别之间差异不显著,提示 PCNA 标记指数可以在某种程度上反映肿瘤的分化情况。髓母细胞瘤中 PCNA LI 分级分布无显著性差异,与髓母细胞瘤是由异质性肿瘤群体构成有关,(下转第 682 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

这些人也可能成为向普通人群扩散 HIV 的传播链。因此,由 MSM 人群直接和间接涉及人数将不断增加。再者,因为 MSM 人群的自我保护、群体封闭等多种原因,对该人群中的生活特性、HIV 感染的实际状况还不甚了解,这也增加了对该群体开展防艾工作难度,所以了解该人群的生活特性和较准确掌握 STI、HIV 感染情况,建立起 MSM 和普通人群平等交流的渠道,相互尊重、共建防艾屏障,对于降低 MSM 人群 STI、HIV 的感染率,防止向普通人群扩散的工作非常迫切和重要。

参 考 文 献

[1] DC. Pneumocystis pneumonia - Los Angeles. MMWR, 1981;30:250.

[2] 中国卫生部和联合国艾滋病中国专题组. 迎战艾滋病. 北京,1997;11-12.

[3] 李银河. 同性恋亚文化[M]. 北京:今日中国出版社,1998;10.

[4] 张北川,李秀芳,史同新,等. 对中国男同/双性爱者人口数量与艾滋病病毒感染率的初步估测[J]. 中国性病艾滋病防治,2002;8(4):197-199.

[5] UNAIDS Technical up date. AIDS and men who have sex with men[J]. May,2000.

[6] Catania JA, Osmond D, Stall RD, et al. The continuing HIV epidemic among men who have sex with men[J]. Journal of Public Health,2001;91:907-914.

[7] Durbois Arber F. Evaluation OF AIDS prevention among homosexual and bisexual men in Switzerland[J]. Soc Sci Med, 1993;37:1539-1544.

(上接第 675 页)

而室管膜瘤分级与 PCNA 表达关系因本实验样本数量的局限更有待进行更多样本的统计研究。

通过实验证实 ER 在星形细胞瘤、室管膜瘤和髓母细胞瘤组织中均有不同程度的表达。更有意义的是 ER 表达与星形胶质细胞瘤 WHO 病理学分级密切相关,并且随着肿瘤的恶性程度的增高表达增加。另外,通过对肿瘤细胞 PCNA 表达检测也同时证实肿瘤的恶性程度与增殖活性正相关。根据以上实验结论,我们推测 ER 与雌激素作为一个功能整体所组成的信号系统可能部分参与了肿瘤细胞的恶性生长及原癌基因的调控过程,为临床上脑肿瘤的治疗和预防提供了新的理论依据,但其具体作用机制尚有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] 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.

[2] Ammirati M. Reoperation in the treatment of recurrent intracranial malignant gliomas[J]. Neurosurgery, 1997; 21: 607.

[3] Harsh GR. Reoperationfor gliobiastoma[J]. Jneur Osurg, 1991;55:17.

[4] Koehorst SG, Jacobs HM, Thijssen JH, et al, Journal of steroid[J]. Biochmistry and Molecular Biology, 1992;43(1-3):57.

[5] Carroll RS, Zhang J, Dashner K, et al. Steroid hormone receptors in astrocytic neoplasms[J]. Neurosurgery, 1995; 37(3): 496-503.

[6] Berny W, Weiser A, Jarmundowicz W, et al. Analysis of expression of estrogen (ER) and progesterone receptors (PR) in brain glial tumors and its correlation with expression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen (PCNA)[J]. Neurol Neurochir Pol, 2004;38(5): 367-371.

[7] 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):279.

[8] Lafuente JV, Alkiza K, Garibi JM, et al. Biologic parameters that correlate with the prognosis of human gliomas[J]. Neuropathology, 2000;20(3):176-183.

[9] 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.