维普资讯 http://www.cqvip.com

第23卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.23 No.2
1998 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1998

细胞增殖指标对判断脑膜瘤生物学行为的意义

基础医学院病理学教研究 曾友德* 李志荣 吕长虹

提 要 运用DNA图像分析(IAT)，核仁组成区嗜银染色技术(AgNOR)，增殖细胞核抗原(PCNA)及Ki－S_1单克隆抗体免疫组化染色对93例脑膜瘤外科切除标本进行观察。结果显示恶性脑膜瘤(MM)、有复发的良性脑膜瘤(RBM)、有局部浸润的良性脑膜瘤(IBM)增殖能力高于无复发、无浸润的单纯良性脑膜瘤(SBM)($P<0.01$)，良性脑膜瘤的复发或浸润行为与细胞增殖潜能有关。上述四种方法中Ki－S_1是一种敏感性较高的简便方法；AgNOR不仅敏感性高，且重复性和稳定性好。结果进一步表明，当AgNOR颗粒数大于或等于2.8时，良性脑膜瘤复发的可能性较大($P<0.05$)。

关键词 脑膜瘤；细胞动力学；生物学行为；DNA；NgNOR；PCNA；Ki－S_1
中图分类号 R739.45

脑膜瘤(Meningioma)是颅内常见肿瘤之一。恶性脑膜瘤多生长快，包膜不完整，常有浸润，术后易于复发；多数良性脑膜瘤生长缓慢，包膜完整，手术能完全切除治愈。但是，部份良性脑膜瘤，虽然组织显示高分化特点，却具有恶性的生物学行为：有的即使手术完全将肿瘤切除后仍有复发；有的还有局部组织浸润。探讨这类脑膜瘤复发、浸润等恶性行为，对揭示其本质，判断其预后有重要意义。

本文采用DNA图像分析(Image Analysis Technology，IAT)，增殖细胞核抗原(Proliferating Cell Nuclear Antigen，PCNA)，Ki－S_1免疫组化染色及核仁组成区银染色(Argyrophilic Nucleolar Organizer Region，AgNOR)研究脑膜瘤的细胞增殖特性，重点探讨其与良性脑膜瘤复发、浸润的关系，并力求筛选出1～2种对判断良性脑膜瘤预后有价值的指标，为临床术后随访或辅以其它治疗提供理论依据。

1 材料和方法

收集我室1981～1991年间有完整临床、病理及随访材料共93例脑膜瘤。其中恶性脑膜瘤(Malignant Meningioma，MM)21例，良性脑膜瘤(Benign Meningioma，BM)72例。从研究目的出发，将BM又分为：有完整包膜、手术完全切除后有复发者(Recurrent Benign Meningioma，RBM)25例；包膜不完整伴有局部浸润者(Invasive Benign Meningioma，IBM)12例；经6年以上随访无复发的单纯良性脑膜瘤(Simple Benign Meingioma，SBM)35例。

所有93例作连续石蜡切片HE染色；PCNA、Ki－S_1免疫组化染色(ABC法，PCNA系DAKO产品，Ki－S_1由德国Kiel大学H.Kreipe教授赠送)；AgNOR染色及DNA含量图像分析测定。PCNA、Ki－S_1阳性率、AgNOR颗粒数及DAN倍体含量在各组间作Student－Newman－Keuls两两比较，各指标相互间作相关分析及t检验。

2 结果

2.1 HE观察

MM瘤细胞异型性明显，有较多核分裂像，砂粒体、漩涡状结构少。10例有灶性坏死，6例包膜有浸润，3例浸及脑组织，7例有颅骨破坏。BM细胞分化好，异型性小，无核分裂像，无坏死。RBM、SBM及IBM各组织学类型型别无明显差异。IBM中浸及硬脑膜6例，浸及颅骨4例，浸及颅骨外肌肉2例(图1)。

2.2 PCNA、Ki－S_1染色结果

PCNA、Ki－S_1染色阳性者形态一致，整个细胞核呈均棕黄色或淡黄色。各组脑膜瘤PCNA、Ki－S_1染色阳性率结果见表1。

*男，1964－11出生，讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com



图1 IBM－显示组织学为良性的脑膜瘤细胞浸润及颅骨HE ×200

表1 各组脑膜瘤Ki－S_1,PCNA染色结果(单位:%)

	例数	Ki－S_1($\bar{x}\pm s$)	PCNA($\bar{x}\pm s$)
MM	21	27.10±15.0	16.30±9.3
RBM	25	24.69±19.3	13.75±12.6
IBM	12	19.96±13.1	8.63±3.1
SBM	35	5.34±2.3	2.67±1.15

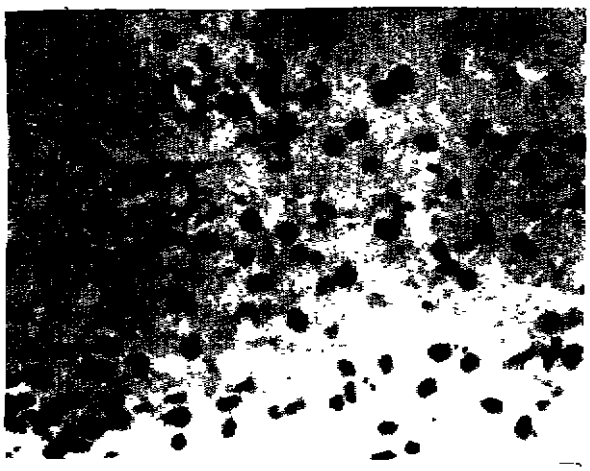


图2 MM——恶性脑膜瘤细胞核显示较多阳性Ki－S_1表达Ki－S_1染色 ×200

PCNA、Ki－S_1阳性率在MM、RBM、IBM均比SBM高(图2,3)($P<0.01$)。并且各组中Ki－S_1阳性率高于PCNA阳性率(图4)($P<0.05$)

2.3 AgNOR染色结果

AgNOR染成棕褐色颗粒，位于细胞核内。各组中AgNOR计数及形态分类如表2。

MM中AgNOR颗粒多，分散或聚集成粗大颗粒，直径1～3.5μm(图5)。RBM中多数颗粒呈聚集

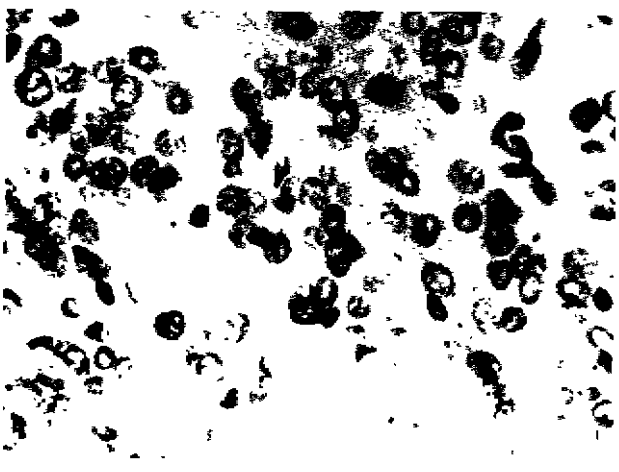


图3 RBM——有复发的良性脑膜瘤有较多细胞核显示PCNA阳性表达 PCNA染色 ×400

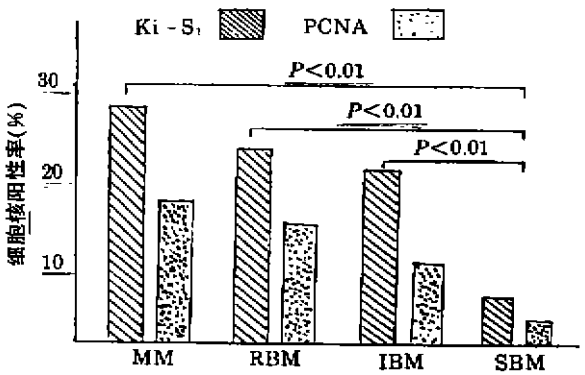


图4各组脑膜瘤Ki－S_1、PCNA阳性率及显著性检验结果 Ki－S_1 PCNA

维普资讯 http://www.cqvip.com

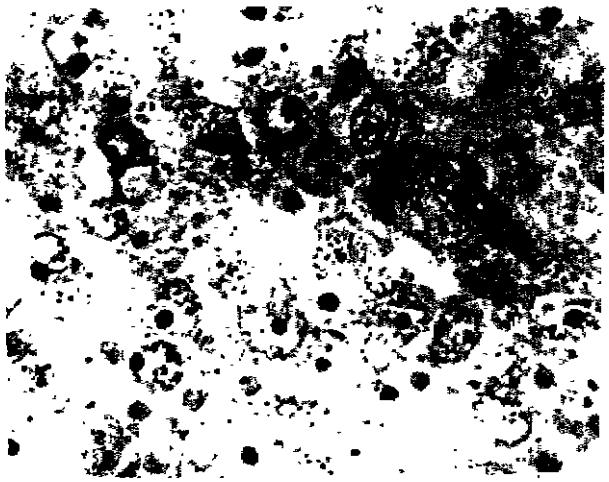


图5 MM中AgNOR颗粒多、呈聚集状 AgNOR染色 ×1000

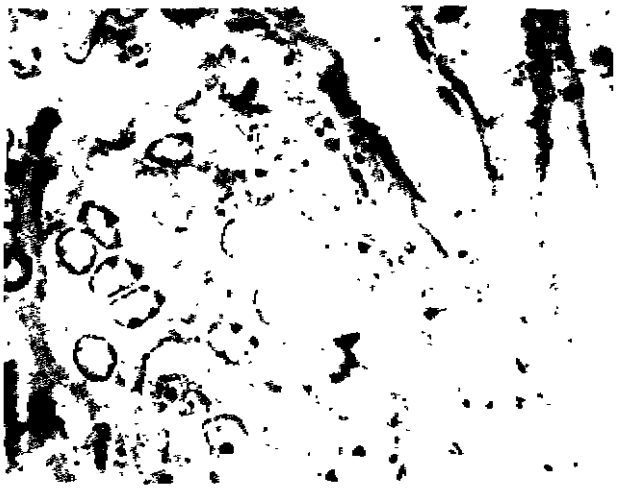


图6 IBM中AgNOR颗粒数多为2－3个较大颗粒(图右上为浸及的颅骨)AgNOR染色 ×1000

或粗颗粒，大者可达3.0μm。IBM中多2～3颗粒分散或聚集(图6)。SBM颗粒小，形态一致，多为1～2个。AgNOR平均计数在MM、RBM、IBM中明显高于SBM($P<0.01$)。

2.4 DNA含量图像分析结果

如表3。在MM、RBM、IBM中有较高的非整倍体和4倍体，而在SBM中多为2倍体($P<0.01$)。

表3 各组脑膜瘤DNA倍体分布情况

	例数	2倍体(%)	4倍体(%)	非整倍体(%)
MM	21	7.7	26.0	66.3
RBM	25	60.9	13.6	25.5
IBM	12	53.3	13.5	29.2
SBM	35	88.3	/	11.7

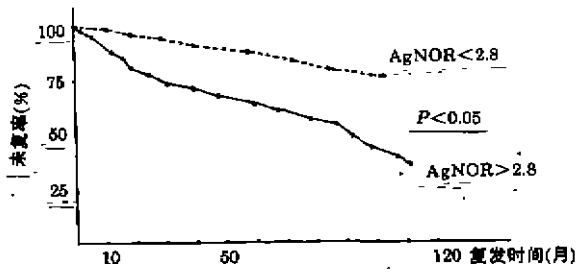


图7 良性脑膜瘤未复发—生存率曲线
AgNOR颗粒数>2.8的良性性脑膜瘤其复发率明显高于AgNOR<2.8的良性脑膜瘤($P<0.05$)。

2.5 相关分析结果

所有病例PCNA，Ki－S_1，AgNOR，DNA结果均作两两间相关分析，结果显示各指标相互间有较好的相关性($P<0.01$)。

2.6 随访结果及复发率曲线

所有病例均随访信随访。21例MM中，9例术后有复发(复发时间1月－9年，平均12个月)，12例无复发(随访时间2－11年)，MM术后10年复发率为42.8%；12例IBM，5例术后复发，复发率为42%；25例RBM复发时间3月－10年，平均40个月，术后10年复发率为14.2%

将随访所得25例RBM通过Kaplan－Meiner法作出的未复发——生存率曲线如图7。当AgNOR颗粒数>2.8时，良性脑膜瘤的复发率明显高于AgNOR<2.8的病例($P<0.05$)。

3 讨论

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 各组脑膜瘤AgNOR值及形态分析

	例数	AgNOR数($\bar{x}\pm s$)	形态(例数)				
			单一型	弥漫型	聚集型	核仁内型	混合型
MM	21	5.46±1.75	1	4	15	/	1
RBM	25	3.47±0.96	3	5	12	/	5
IBM	12	2.42±0.61	2	5	4	/	1
SBM	35	1.47±0.38	28	/	3	4	/

针对脑膜瘤的病理组织学与其生物学行为的不一致关系，特别是对组织学为良性的脑膜瘤出现复发，浸润等恶性行为的研究，文献报道不多。然而这对判断脑膜瘤的预后具有重要实用意义。细胞动力学研究方法可以反映肿瘤细胞的增殖能力，从而成为确定肿瘤性质、判断预后的重要手段。

3.1 DNA,PCNA,Ki－S_1,AgNOR在脑膜瘤研究中的意义

运用流式细胞术等手段发现恶性脑膜瘤及有复发的脑膜瘤的DNA异倍体较高[1,2]。应用PCNA于脑膜瘤研究仅见个别少量报道[3,4]。我们用图像分析测定脑膜瘤DNA，用PCNA免疫组化染色，结果提示DNA,PCNA在MM,RBM,IBM与SBM比较有明显差别，DNA,PCNA检测可作为判断脑膜瘤细胞动力学的方法之一。1992年H.kreipe发现了一种新的细胞周期相关的核抗原Ki－S_1[5]，Steven,Kreipe发现Ki－S_1对乳腺癌预后判断更有价值，是一种新型、独立判断预后的方法[6]。Ki－S_1在脑膜瘤研究目前未见报道。我们结果显示MM,RBM,IBM的Ki－S_1指数均显著高于SBM，并且与其它三种方法有较好相关性。同时结果显示在各组中Ki－S_1指数高于PCNA。文献报道当组织固定时间超过72小时后PCNA抗原将明显减弱，而Ki－S_1抗原受影响小[5]。因此Ki－S_1指数高于PCNA可能与此有关，因而Ki－S_1的敏感性高于PCNA。AgNOR可以反映肿瘤细胞增殖程度。Kunishio应用其在脑膜瘤中发现可将AgNOR作为良性脑膜瘤手术完全切除后是否复发的评价方法[7]。结合我们的研究结果，我们认为AgNOR同样可以判断不同组脑膜瘤增殖潜能。与DNA测定相比，AgNOR法更简便；与PCNA-、Ki－S_1方法相比，AgNOR结果受固定时间，包埋温度影响小，特别是国内93年及95年两次制定了应用AgNOR的统一方法及分析判断标准[8,9]，使得AgNOR结果的稳定性，可靠性进一步提高。

综上所述，DNA,PCNA,Ki－S_1,AgNOR检测均可作为判断脑膜瘤增殖能力的方法。其中Ki－S_1是一种敏感性好的简便方法，AgNOR不仅敏感性高而且是重复性和可靠性都较好的方法。

3.2 脑膜瘤的细胞动力学特性及其意义

恶性脑膜瘤细胞动力学各指标都表现出较高增殖特性，复发率高，复发时间短。其组织学，细胞动力学与生物学行为及预后间呈一致关系。

对良性脑膜瘤而言。虽然它们组织学表现相似，但细胞动力学却各不相同，特别是RBM,IBM与SBM相比，前者各项细胞动力学指标均较高，提示RBM,IBM是界于MM与SBM间的交界性或是一种潜在恶性肿瘤。因此，利用细胞动力学方法对良性脑膜瘤术后复发的预测，具有重要意义。

然而，通常用以估计脑膜瘤术后复发的方法WHO分级法和Simpson手术分级法都不很满意[10]。既使手术将良性脑膜瘤完全切除后仍可有9－32%复发[2]。我们随访完全手术切除的良性脑膜瘤有14.2%复发。经用多种细胞动力学方法研究显示其增殖能力明显增高。故认为良性脑膜瘤术后复发与其细胞增殖潜能有关。这和文献报道结果相似[7]。特别是我们用AgNOR对RBM进一步观察发现，当AgNOR颗粒数＞2.8时，良性脑膜瘤复发率明显高于AgNOR颗粒数＜2.8的良性脑膜瘤，这和文献报道结果很相近[7]。因此，当良性脑膜瘤AgNOR多于2.8时，需要特别警惕其复发可能并应考虑辅以其它治疗，加强随访。

维普资讯 http://www.cqvip.com

良性脑膜瘤的浸润行为也直接影响到治疗与预后。其肿瘤细胞不仅仅只沿颅骨缝隙向外生长，还可以造成颅骨破坏，甚至肌肉或皮下难于切除。本研究显示IBM的增殖能力比SBM高，其复发率也较高，因此当良性脑膜瘤显示较高的增殖能力时，即使在临床上手术中未见浸润或肿瘤残留，也应考虑肿瘤细胞残留或复发的可能而采取相应补救措施。

致 谢

本研究承蒙德国Kiel大学kreipe教授赠送Ki－S$_1$单克隆抗体，特此致谢！

参 考 文 献

1.Paul L.John C.John L.et al.J Neurosurg 1989:71:347
2.史玉泉，吉拉勒丁·努尔，江登川，等.中华神经外科杂志 1993;9(3)125
3.Allegranza A.Girlando.S.Arrigoni G.L.et al.Uirchows Archiv A Pathol Anat 1991:419:417
4.Penelope K.Panayota C.Athanassios P.et al.Am J Surg Pathol 1993:17(9):921
5.Kreipe H.Heidebrecht H.J.Hanson S.et al.Am J Patnol 1993:142(1):3
6.Kreipe H.Alm P.Olsson H.et al.Am J Pathol 1993:142:651
7.Katsuzo Kunishio.Takashi Ohmoto.Takashi Matsunisa.et al.Cancer 1994:73:2200
8.许良中.中华肿瘤 1993:15(5):380
9.许良中.中华肿瘤 1996:18(1):69
10.MirimanoffRo.Dosoretz DE.Linggood RM.et al J Neutosurg 1985:62:18

(收稿日期 1997－9－11)

Cell prolification indices and their values in the biological behaviours of meningioms

Cao Youde, et al
Department of Pathology, College of Basic Medical Sciences

A study was made on 93 surgical specimens of meningiomas.The specimens included 21 malignant meningiomas(MM).25 benign meningiomas with recurrence after completely surgical removal (RBM).12 benign meningiomas with invasion into dura.skull or muscle (IBM)and 35 simple benign meningiomas without recurrence after surgical treatment 6 or more years(SBM). Four methods were used.namely.DNA image analysis technology(IAT).proliferating cell nuclear antigen(PCNA).Ki－S$_1$ monoclonal antibodies immunohistochemical staining and argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR) in order to study the characteristics of meningioma is cell kinetics and their values in biological behaviours.The results indicate:(1)The proliferating potential of the MM.RBM and IBM is much greater than that of the SBM($P<0.01$) and the benign meningioma's recurrence or invasion is related to its proliferating ability;(2) The DNA.PCNA.Ki－S$_1$ and AgNOR are all useful to assess the meningioma's proliferating potential.and are significantly related to each other($P<0.01$).Among the methods.Ki－S$_1$ is the simplest and most sensitive.AgNOR is not only sensitive but also repeatable;(3) when benign meningima's AgNOR number per cell nucleus is 2.8 or more the meningioma is more likely to recur ($P<0.05$).

KEY WORDS Meningioma; Cell kinetics; Biological behaviour; DNA;PCNA;Ki－S$_1$;AgNOR.