文章编号: 1000-5404(1999)12-0893-03

应用多元线性回归与多元逐步回归模型研究骨肉瘤的预后影响因素

郭乔楠,陈意生 (第三军医大学基础医学部病理学教研室,重庆 400038)

【提要】 目的: 探讨骨肉瘤的性别、年龄、肿瘤部位、病理分型、肿瘤大小、核丝分裂像计数、DNA图像分析、AgNORs计数、PCNA分级、KiS1分级、肥大细胞计数共 11个观察指标与骨肉瘤预后的关系。方法: 单因素分析: Kaplan-Meier生存曲线法, Log-rank检验法。多因素分析: 多元线性回归法,多元逐步回归法。结果: 经多元回归获得预后预测方程,其总 $F=12.575$, $r=0.7134$, $P<0.0001$ 逐步回归检验显示 6个明显的骨肉瘤预后影响因素,其作用强度依次为 DNA图像分析、AgNORs计数、肿瘤大小、年龄、性别、肿瘤部位。结论: 几项骨肉瘤细胞增殖活性指标对骨肉瘤预后的判断有一定的应用价值。

关键词 骨肉瘤;多元回归;预后
中图法分类号 R195.1; R738.1 文献标识码 A

迄今为止,对骨肉瘤的治疗方法尚不够理想。其病死率及致残率皆较高[1,2]。因而对骨肉瘤预后影响因素的研究更显重要。我们应用多元线性回归及多元逐步回归检验对影响骨肉瘤预后的 11项指标进行了分析,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

收集 1978~1994年间我校附一、二院及重庆市肿瘤医院骨肉瘤患者共 96例,均为有完整随访资料的存档蜡块。

1.2 方法

1.2.1 组织学观察及分型标准 采用 WHO 1993年骨肿瘤分型标准。核丝分裂像计数为每 10个高倍视野(40× 10)中核分裂像数。

1.2.2 细胞核 DNA染色及图像分析方法 DNA染色采用 Feulgen染色法。应用 CMIAS真彩色图像分析系统,综合采用图像分割及交互分割方法。以同切片中的间质细胞或淋巴细胞作为二倍体 DNA含量的对照值,测定结果以 DNA含量为横坐标,细胞数为纵坐标,自动绘出每个标本细胞核 DNA含量直方图,并绘出每例的 2倍体,3倍体,> 5倍体各自百分率及分析细胞/淋巴细胞平均积分光密度值(DI)。

1.2.3 AgNORs染色及观察方法 采用胶质银染色,油镜下观察,每例取 100个肿瘤细胞核内 AgNORs总数,再换算成每个细胞核内 AgNORs平均数。

1.2.4 单克隆抗体 SP免疫组化染色方法及判断标准 PCNA单克隆抗体 PC-10(工作浓度 1∶50)及 S-P试剂盒购自北京中山生物技术有限公司, KiS1单克隆抗体(工作浓度 1∶10 000)由德国 Kiel大学 Kreipe教授惠赠。

细胞核呈黄色至棕色染色为阳性,计算整张切片阳性细胞分布数,按百分比计数,阳性细胞数 < 50%定为低分级(Low grade, L),阳性细胞数> 50%定为高分级(High grade, H)。

1.2.5 肥大细胞染色方法 采用甲苯胺蓝法。

1.3 统计学方法

单因素分析法: Log-rank时序检验法;多因素分析法: 多元线性回归和多元逐步回归。采用我校数学教研室医用统计程序包 SPMR。

2 结果

2.1 一般情况

96例骨肉瘤患者中男性 63例,女性 33例,男女之比为 1.91∶1。年龄范围 9~58岁。中位年龄 21岁,高发年龄组为 20~29岁。随访时间 1~18年。平均为 3.3年。3年生存率为 51.04% (49/96),总生存率为 44.79% (43/96)。

2.2 单因素分析

将选取的 11个观察指标(见表 1)逐个用 Log-rank检验方法进行检验,以上各指标均对预后的判断有意义($P<0.05$, $P<0.01$)[6]。

2.3 多因素分析

从 96例人骨肉瘤 Kaplan-Meier生存曲线看,患者多于 3年内死亡,所以采用 3年生存率为标准[3]。预后因素分析变量及赋值见表 1。

作者简介: 郭乔楠,女, 1964.08.05生,湖南省桃源县人,博士,副教授,主要从事肿瘤病理方面的研究,发表论文 10余篇。
电话: (023) 68753291

收稿日期: 1998-12-22 修回日期: 1999-09-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 预后因素分析变量及赋值

Tab 1 Prognostic factors and their values

Variables	Meanings	Values
X	Prognosis	Death= 1 Survival= 2
X_1	Sex	Female= 1 Male= 2
X_2	Age	< 30= 1 ≥ 30= 2
X_3	Site	Typical site= 1 Atypical site= 2
X_4	Typing	Classical type= 1 MFH-like= 2 Small cell type= 3 Giant cell type= 4
X_5	Size	< 10 cm= 1 ≥ 10 cm= 2
X_6	Mitotic count	≤ 5= 1 > 5= 2(/10HFPs)
X_7	DNA index	1 for DI= 1 2 for DI= 2 3 for DI= 3 4 for DI= 4
X_8	AgNORs count	< 3.5= 1 ≥ 3.5= 2
X_9	PCNA count	L= 1 H= 2
X_{10}	KiS1 count	L= 1 H= 2
X_{11}	Mast cell count	< 5= 1 ≥ 5= 2 (/10HFPs)

得如下多元直线回归方程:

$$Y = 2.6574 - 0.2166X_1 + 0.1462X_2 + 0.1028X_3 - 0.0044X_4 - 0.2333X_5 + 0.020X_6 - 0.1752X_7 - 0.1187X_8 - 0.1113X_9 - 0.1080X_{10} + 0.0926X_{11}$$

该方程的复相关系数为 0.7134,$F = 12.575$, $P < 0.0001$方程有非常显著的意义。作偏相关系数的显著性检验,结果见表 2

表 2 多元直线回归各因素偏回归系数及其显著性检验

Tab 2 Multivariate partial regression and significant test

Variables	Partial regression	F	P
X_1	- 0.2613	6.155	0.0151
X_2	0.1854	2.989	0.0875
X_3	0.2003	3.513	0.0644
X_4	- 0.0167	0.023	0.8793
X_5	- 0.2929	7.882	0.0062
X_6	- 0.0275	0.063	0.8019
X_7	- 0.4696	23.766	< 0.0001
X_8	- 0.1577	2.141	0.1471
X_9	- 0.1440	1.780	0.1858
X_{10}	- 0.1424	1.739	0.1908
X_{11}	0.1042	0.922	0.3398

X_5和 X_7(即肿瘤大小和 DNA含量)的偏相关系数有非常显著的统计学意义($P < 0.01$),X_1(性别)有显著的统计学意义($P < 0.05$)。作逐步回归分析,将显著性检验 F值定为 $F > 4$,共有 6个变量进入方程。

$$Y = 2.6452 - 0.2460X_1 + 0.1700X_2 + 0.1099X_3 - 0.2637X_5 - 0.1729X_7 - 0.1949X_8$$

复相关系数为 0.7220,$F = 16.1515$, $P < 0.0001$方程有非常显著的意义。各自变量对 Y的作用见表 3

表 3 多元逐步回归自变量 X对 Y的作用

Tab 3 The actions of variables X of multivariate regression on Y

Selected variables	F ratio	Important rank
X_7	42.3936	1
X_8	8.8857	2
X_5	6.5144	3
X_2	7.9548	4
X_1	6.6932	5
X_3	4.5819	6

3 讨论

找寻一个对骨肉瘤预后判断有意义的模型一直是骨科医师与临床病理医师共同努力的目标[4]。我们对 11项常用的临床与病理指标进行统计学处理,得到一个有非常显著意义的多元直线回归方程,其中偏相关系数与预后的线性关系有统计学意义的变量有 DNA含量,肿瘤大小及性别。作逐步回归发现对预后有明确影响的因素有性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小, DNA含量及 AgNORs计数。本组资料表明,年龄小于 30岁,男性患者,发生于典型部位者 (近膝关节),以及肿瘤直径大于 10 cm者的预后差。为什么在单因素分析中有统计学意义的 PCNA KiS1及肥大细胞计数在多因素分析中反而无意义了呢? 我们认为, PCNA KiS1计数与 DNA含量及 AgNORs计数间存在线性相关性 (都反映肿瘤细胞增殖活性),其作用可能部分或完全地被 DNA含量代替,在多元分析中被掩盖。肥大细胞计数在单因素中的分析显示有显著意义,但在多元直线回归和逐步回归中皆无显著意义。因此将其作为判断预后的手段恰当与否。还需作进一步的资料积累和证实。

从以上模型可知,肿瘤患者的预后主要取决于肿瘤本身的恶性程度和增殖能力, DNA含量测定及图像分析, AgNORs计数方法简便,快捷、重复性好,尤其是 DNA含量图像分析不受形态学改变的影响,在同一肿瘤中的值是恒定的,使其更具优越性。而 PCNA, KiS1常规免疫组化染色也可作为一项补充手段来测定肿瘤增殖活性[5,6],既然肿瘤大小是判断预后的明确因素,对肿瘤直径的测量也是必要的。

Cox回归模型是一种半参数生存分析数学模型,是生存分析中理论较为完善、应用最广泛的统计方法。我们国内随着计算机的推广应用也开始应用 Cox模

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

型进行预后分析。但我校目前还未建立此软件,不能开展此项工作。Davis等[1]对上百篇有关骨肉瘤预后的文章进行分析评述,不论是单因素分析,还是多因素分析,结果都不尽相同。我们采用多元直线回归和多元逐步回归模型,从某种程度上损失了截尾数据这个协变量的信息。但在没有 Cox回归软件的情况下,采用 Kaplan-Mier生存曲线,log-rank时序检验有意义的一些单因素进行多元直线回归和多元逐步回归,其结果仍有一定的临床意义。

参考文献

[1] Davis A M, Bell R S, Goodwin P J. Prognostic Factors in osteosarcoma: A critical review [J]. J Clin Oncol, 1994, 12(2): 423-431.

[2] Glasser D B, Lane J M, Huros A G, *et al*. Survival, prognosis and therapeutic response in osteogenic sarcoma [J]. Cancer, 1992, 69(3): 698-701.

[3] 郭乔楠,陈意生. 96例人骨肉瘤预后影响因素的研究 [J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(2): 116-118.

[4] Wisman P, Enneking W F, Roesner A, *et al*. Local growth and the prognosis of osteosarcoma [J]. Int Orthopaed, 1992, 16(1): 55-58.

[5] Linden M D, Torres F X, Kwbus J, *et al*. Clinical Application of morphologic and immunocytochemical assessments of cell proliferation [J]. Am J Clin Pathol, 1992, 97(5): s4-s13.

[6] Quinn C M, Wright N A. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumors: Evaluation of methods and applications as prognostic variables [J]. J Pathol, 1990; 160(1): 93-102.

(编辑　王　红)

Analysis of prognostic factors of human osteosarcoma with multivariate regression

GUO Qiao-nan, CHEN Yi-sheng (Department of Pathology, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract **Objective**: To analyze the prognostic significance of sex, age, tumor site, tumor size, mitotic count, DNA content AgNORs count, PCNA grading, KiS1 grading and mast cell count for osteosarcoma with multivariate regression. **Methods**: Univariate analysis including Kaplan-Meier survival curve and Log-rank test and multivariate analysis including multivariate linear regression and multivariate partial regression were used. **Results**: A significant regression equation was obtained as following: $F = 12.575$, $r = 0.7134$ and $P < 0.0001$. Partial regression revealed that the most useful prognostic factors for osteosarcoma were DNA ploidy and DI value, tumor size, tumor site, KiS1 grading and AgNORs count. **Conclusion**: Certain indices denoting the activity of cellular proliferation of osteosarcoma are useful to its prognosis.

Key words osteosarcoma; multivariate regression; prognosis

(上接 892页)

碱能神经具有阿托品样作用,乙酰胆碱合成应当增加,本实验未发现 L-NAME有促进乙酰胆碱合成作用,故认为 L-NAME并无抑制毒蕈受体作用,于 Prast[4]结论一致。

总之,我们通过实验发现一氧化氮能促使胃窦肌间神经元合成乙酰胆碱,并认为 L-NAME并无拮抗毒蕈受体作用。

关键词　一氧化氮;胆碱能神经;乙酰胆碱

中图法分类号　R333.2　　文献标识码　B

参考文献

[1] Llewellyn-smith I J, Song Z M, Costa M, *et al*. Ultrastructural localization of nitric oxide synthase immunoreactivity in guinea-pig enteric neurons [J]. Brain Res, 1992, 577(2): 377-382.

[2] Mothet J, Fossier P, Tauc L, *et al*. Opposite action of nitric oxide on cholinergic synapses: Which pathway [J]? Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(16): 8721-8726.

[3] Katalina H, Kilbinger H. Differential effects of nitric oxide donors on basal and electrically evoked release of acetylcholine from guinea-pig myenteric neurons [J]. Br J Pharmacol, 1996, 118(8): 2073-2078.

[4] Prast H, Fischer H, Werner E, *et al*. Nitric oxide modulates the release of acetylcholine in the ventral striatum of the freely moving rat [J]. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1995, 352(1): 67-73.

(编辑　汪勤俭)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net