

· 研究简报 ·

# PCNA、MMP-9 表达与胶质瘤复发的相关性

张明杰,刁宏宇,王成林

关键词:胶质瘤;复发;PCNA;MMP-9

中图分类号:R739.41 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2007)03-0218-02

## 0 引言

本研究选取了反映肿瘤细胞增殖性及侵袭性的指标,增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen,PCNA)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9,MMP-9),运用免疫组织化学染色技术检测 PCNA、MMP-9 在人脑胶质瘤中的表达,探讨其与胶质瘤复发的关系。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料来源

收集中国医科大学附属第二医院在 1998 ~ 2004 年间手术切除同一患者原发、复发胶质瘤标本。其中男 15 人,女 9 人,每位患者均取两次术后石蜡病理组织块,共计 48 块。另外取 2004 年 1 ~ 3 月间因重度颅脑损伤而行内减压手术切除的脑组织,制成石蜡标本作为非肿瘤对照组,计 10 例。

### 1.2 临床资料

1.2.1 病理分级 原发胶质瘤组 级 6 例、级 7 例、级 6 例、级 5 例;复发胶质瘤组 级 2 例、级 3 例、级 8 例、级 11 例。其中,原发肿瘤有 7 例行术后化疗,6 例行术后放疗。

1.2.2 胶质瘤复发时间 24 例原发胶质瘤复发时间最短的为 1 个月,最长的为 34 个月。其中, ~ 级胶质瘤平均复发时间分别为 20 个月、10.71 个月、8 个月、4 个月。

### 1.3 免疫组织化学染色方法

鼠抗人 PCNA 单克隆抗体、鼠抗人 MMP-9 单克隆抗体、鼠超敏 SP 试剂盒(即用型)和 DAB 显色试剂盒均购自福建迈新生物技术有限公司;采用链菌素亲生物素-过氧化物酶法(SP 法)进行免疫组织化学染色。

### 1.4 结果判定

PCNA 在正常组织和个别低级别肿瘤中不表达,阳性染色主要位于增殖细胞细胞核,少数位于细

胞浆,染色特点为细胞核呈棕黄色着色(图略);MMP-9 一般在正常脑组织不显色,在胶质瘤中主要位于侵袭边缘瘤细胞和血管基底膜上及内皮细胞胞浆,呈棕褐色异质染色者为阳性(图略)。随机选取 5 个视野,然后在高倍视野( $\times 400$ )下计数染色阳性的细胞核数,取其均值并计算出阳性细胞核数占所计数细胞总数的百分率。

### 1.5 统计学分析方法

采用 SPSS 10.0 统计软件对所获数据进行统计学处理,根据实验资料要求,选用两独立样本  $t$  检验,配对资料  $t$  检验,配对资料的符号秩和检验以及 Spearman 等级相关分析。

## 2 结果

### 2.1 胶质瘤复发前后的比较

将肿瘤复前后病理级别行配对资料的符号秩和检验,显示随着胶质瘤复发,病理级别有增加趋势( $P < 0.01$ )。PCNA、MMP-9 在肿瘤复发后表达强度整体上均呈现增强趋势,经配对资料的  $t$  检验,二者  $P$  值均  $< 0.01$ ,具有统计学意义。

表 1 PCNA、MMP-9 在原发组和复发组胶质瘤中的对比(%)

	PCNA	MMP-9
原发组	50.23 $\pm$ 10.68	41.46 $\pm$ 8.80
复发组	62.71 $\pm$ 8.98 <sup>a</sup>	53.79 $\pm$ 8.68 <sup>b</sup>

注:与原发组的比较采用配对资料  $t$  检验:<sup>a</sup> $t = 2.908, P < 0.01$ ;<sup>b</sup> $t = 3.027, P < 0.01$

### 2.2 PCNA、MMP-9 在不同恶性程度胶质瘤中的表达

PCNA 和 MMP-9 在非肿瘤脑组织中均未见表达,在不同恶性程度肿瘤标本中的表达情况,见表 2。统计结果显示在原发和复发胶质瘤中,PCNA、MMP-9 的表达强度均随着肿瘤恶性度的增加而增强。

表 2 PCNA、MMP-9 在不同恶性程度胶质瘤中的表达(%)

分组	病理分级	PCNA	MMP-9	例数
原发组	、级	31.80 $\pm$ 11.73	29.69 $\pm$ 8.57	13
	、级	67.42 $\pm$ 9.04 <sup>a</sup>	55.36 $\pm$ 12.13 <sup>b</sup>	11
复发组	、级	44.80 $\pm$ 10.68	31.60 $\pm$ 9.89	5
	、级	72.00 $\pm$ 6.39 <sup>c</sup>	59.63 $\pm$ 8.05 <sup>d</sup>	19

收稿日期:2006-02-07;修回日期:2006-08-25  
作者单位:110004 沈阳,中国医科大学附属第二医院神经外科  
作者简介:张明杰(1978-),男,硕士,医师,主要从事胶质瘤的基础研究

2.2.1 原发组中不同恶性度之间的比较(独立样本  $t$  检验):<sup>a</sup>  $t = 5.597, P = 0.000$ ; <sup>b</sup>  $t = 3.464, P = 0.002$

2.2.2 复发组中不同恶性度之间的比较(独立样本  $t$  检验):<sup>c</sup>  $t = 2.159, P = 0.042$ ; <sup>d</sup>  $t = 2.976, P = 0.007$

2.3 PCNA、MMP-9 的表达与胶质瘤复发的相关性

PCNA 和 MMP-9 的表达强度之间无统计学关联( $r = 0.254, P > 0.05$ )。肿瘤复发时间与 PCNA 表达、病理级别之间存在统计学意义( $r_1 = -0.857, P < 0.01$ ;  $r_2 = -0.701, P < 0.01$ ), 而与 MMP-9 表达之间无统计学关联( $r = -0.305, P > 0.05$ )。

### 3 讨论

PCNA 的表达及合成与细胞的增殖周期有关, 其量的变化与 DNA 合成一致。目前认为 PCNA 可以代表肿瘤细胞增殖能力, 在一定程度上反映肿瘤恶性程度, 对于分析、判断胶质瘤的预后具有重要意义。MMP-9 是基质蛋白酶中一种较为重要的酶<sup>[1]</sup>, 在肿瘤细胞对细胞外基质的降解、对周边组织的侵袭过程中发挥着重要的作用, 同时作为血管发生启动系统的成员影响肿瘤新生血管的生成<sup>[2]</sup>。有关研究证明, 在胶质瘤侵袭边缘的瘤细胞、肿瘤血管基底膜及内皮细胞上均有 MMP-9 的表达, MMP-9 同胶质瘤侵袭程度、水肿带范围、肿瘤血管生成密切相关, 其表达强度与胶质瘤恶性程度正相关<sup>[3,4]</sup>。

在本研究中, PCNA 和 MMP-9 的表达强度均随着胶质瘤的复发而增强, 并与胶质瘤组织学分化正相关, 但二者之间并不存在统计学关联。说明胶质瘤细胞的增殖能力和侵袭能力均受到组织学分化的影响, 并在肿瘤复发后得到进一步增强。然而肿瘤细胞的增殖性、侵袭性在不同方面反映了肿瘤的生物行为。增殖性只是肿瘤恶性度的标志之一, 恶性度最高的胶质瘤并不一定表现出最高的增殖水平和侵袭能力。并非是瘤细胞的增殖能力越强、其侵袭能力越强, 正如脑膜瘤虽具有相对缓慢的增殖速度, 却对周边的硬脑膜和颅骨具有很强的侵袭能力。在体外肿瘤细胞培养实验中也证实了肿瘤细胞侵袭和增殖之间的差异<sup>[5]</sup>。

3.2 目前多数人认为, 引起胶质瘤术后复发的根本原因在于肿瘤细胞残留。有研究表明, 在 Ⅱ级以上胶质瘤瘤周水肿带内均有肿瘤细胞浸润, 正是由于胶质瘤浸润生长的特点, 术中难以明确肿瘤的界限, 因而不可避免的要残留一定的瘤细胞, 而这些瘤细胞的残留将导致术后复发。其中, 80% 以上胶质瘤复发的部位出现在原发灶周围 2cm 范围以内, 少数可位于原发灶范围外甚至发生于原发灶的对侧<sup>[6]</sup>。在本组资料中, 24 例复发肿瘤中 21 例复发于原发

灶周围, 3 例发生于原发灶范围以外的区域, 这也反映胶质瘤术后复发与瘤细胞的残留密切相关, 而个别复发后位置的改变与术中瘤细胞的脱落、沿脑脊液播散有关。

本组资料中, 胶质瘤复发的时间间隔最短的 1 个月, 最长的 34 个月。经 Spearman 等级相关分析, 肿瘤复发时间与 MMP-9 表达之间并不存在统计学关联, 说明 MMP-9 主要是影响肿瘤细胞对瘤周组织的侵袭, 对于肿瘤复发的影响较小; 而肿瘤复发时间与病理级别、PCNA 指数之间存在统计学意义的负相关, 即 PCNA 表达强度和病理级别越高, 肿瘤复发所需的时间越短, 说明 PCNA 可以作为病理诊断的补充, 能够预测术后复发的危险性, 与国内、外的类似研究结果一致<sup>[7-9]</sup>。同一级别肿瘤中 PCNA 的表达也存在很大差异, 个别低级别肿瘤因具有较高的增殖分数, 仍在较短时间内复发。因此, 相对于胶质瘤细胞的侵袭能力、组织学分化程度而言, 肿瘤细胞的增殖速度对于复发的影响可能更为重要。但由于本组资料中的部分原发病例经过术后放、化疗, 而在统计分析时并未除外放、化疗这一因素, 这对于肿瘤复发可能具有一定影响, 有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Mizoue T, Kawamoto H, Arita K, et al. Secretion of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by meningiomas detected by cell immunoblot analysis[J]. Acta Neurochir, 1999, 141(5): 481-486.
- [2] Seandel M, Noack-Kunmann K, Zhu D, et al. Growth factor-induced angiogenesis in vivo requires specific cleavage of fibrillar type collagen[J]. Blood, 2001, 97(8): 2323-2332.
- [3] 江长震, 陈锦峰, 何理盛, 等. MMP-2 和 MMP-9 在人脑原发性胶质瘤侵袭中的作用[J]. 解剖学报, 2001, 32(4): 346-349.
- [4] Wang M, Wang M, Liu S, et al. The expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human gliomas of different pathological grades[J]. Brain Tumor Pathol, 2003, 20(2): 65-72.
- [5] Berens ME, Rief MD, Loo MA, et al. The role of extracellular matrix in human astrocytoma migration and proliferation studied in a microliter scale assay, Clin. Exp. Metastasis, 1994, 12(6): 405-415.
- [6] Klepper Lia. Method of calculating the equivalent tumor dose as a function as to irradiated tumor tissue volume[J]. Med Tekh, 2001, 4: 15-20.
- [7] Korshunov A, Golanov A, Sycheva R. Immunohistochemical markers for prognosis of cerebral glioblastomas[J]. Neurooncol, 2002, 58(3): 217-236.
- [8] Kayaselcuk F, Zorludemir S, Gumurduhu D, et al. PCNA and Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological type and grade[J]. J Neurooncol, 2002, 57(2): 115-121.
- [9] 屈建强, 杨庆余, 师蔚, 等. 人脑胶质瘤组织中 PCNA 表达与病理分级、患者预后的相关性研究[J]. 西安医科大学学报, 2000, 21(7): 54-55.

[编辑: 贺文]