

脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达 及与患者临床病理特征的关系

杨秋雄¹, 林成达¹, 蔡奋忠¹, 陈煌辉²

1. 中国人民解放军第九五医院神经外科, 福建 莆田 351100;

2. 中国人民解放军第九五医院普外科, 福建 莆田 351100

摘要: **目的** 探讨脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达及与患者临床特征的关系。**方法** 收集 2014 年 1 月至 2017 年 4 月 60 例手术切除脑膜瘤组织标本(脑膜瘤组)及 18 例因外科手术切除的正常脑膜组织标本(正常组)。采用免疫组化染色检测两类组织标本中 Ki-67 蛋白的表达水平,并探讨其与患者临床特征的关系。**结果** 脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率为 73.33% 显著高于正常组的 5.55% ($\chi^2 = 26.060, P < 0.01$);脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率与患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜尾征无明显关系(P 均 > 0.05);出现瘤周水肿、世界卫生组织(WHO)中枢神经系统肿瘤分级 II 级和 III 级、出现骨侵犯的脑膜瘤患者肿瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率均显著的高于未出现瘤周水肿、WHO 分级 I 级、未出现骨侵犯的脑膜瘤患者,差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** 脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白表达增强,并与患者肿瘤分级、骨侵犯及发生瘤周水肿有关。

关键词: 脑膜瘤; Ki-67; 肿瘤分级; 骨侵犯; 瘤周水肿

中图分类号: R 739.45 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2018)03-0362-04

Expression of Ki-67 protein in meningioma tissues and its relationship with clinicopathological features

YANG Qiu-xiong*, LIN Cheng-da, CAI Fen-zhong, CHEN Huang-hui

* Department of Neurosurgery, No. 95 Hospital of PLA, Putian, Fujian 351100, China

Corresponding author: CHEN Huang-hui, E-mail: xyehh3000@126.com

Abstract: Objective To investigate the expression of Ki-67 protein in meningioma tissues and its relationship with patients' clinic features. **Methods** Sixty meningioma tissue specimens of surgical resection(meningioma group) and 18 normal meningeal tissue specimens excised by surgery(normal group) from January 2014 to April 2017 were collected. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of Ki-67 protein in two kinds of tissue specimens and investigate its association with patients' clinic features. **Results** The positive expression rate of Ki-67 protein in meningioma tissues was significantly higher than that in normal group (73.33% vs 5.55%, $\chi^2 = 26.060, P < 0.01$). There was no significant relationship between Ki-67 protein expression in meningioma tissues and age, sex, tumor size, with or without dural tail sign(all $P > 0.05$). Ki-67 protein expression rates in meningioma patients with appearance of peritumoral edema, stages II and III of World Health Organization (WHO) central nervous system tumor staging and with bone invasion were significantly higher than those in meningioma patients without peritumoral edema, with stage I of WHO central nervous system tumor staging and without bone invasion (all $P < 0.05$). **Conclusion** Ki-67 protein expression in meningioma tissues increases, and it has association with tumor staging, bone invasion and appearance of peritumoral edema.

Key words: Meningioma; Ki-67; Tumor staging; Bone invasion; Peritumoral edema

脑膜瘤是发病率仅次于颅内胶质瘤的原发性肿瘤,手术切除是治疗脑膜瘤的有效方法,常用显微手术切除,但因脑膜瘤的病理级别和切除程度与肿瘤复

发关系密切,必要时还需要采取放疗等手段联合治疗^[1],但脑膜瘤术后常会出现转移和复发,而且有些类型肿瘤,例如世界卫生组织(WHO)中枢神经系统

肿瘤分级 II 级和 III 级肿瘤常呈侵袭性,手术无法将其完整切除,导致术后极易复发^[2]。

Ki-67 作为一个细胞增殖的标志物,能够很好地评估某一细胞群生长(增殖)比例,Ki-67 阳性肿瘤细胞(Ki-67 标记指数)常与前列腺癌、脑瘤、乳腺癌和神经母细胞瘤等肿瘤患者的生存期和复发风险强相关^[3]。本研究探讨了脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达变化及与患者临床病理特征的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 基本资料 选取本院病理科收集的 60 例手术后脑膜瘤组织(脑膜瘤组)、18 例因外科手术切除的正常脑膜组织(正常组)标本,收集时间 2014 年 1 月至 2017 年 4 月。脑膜瘤组男 23 例,女 37 例,年龄 16~77(43.8±19.0)岁,依据 WHO 中枢神经系统肿瘤分级标准:I 级 36 例、II 级 20 例、III 级 4 例。正常组男 6 例,女 12 例,年龄 20~70(41.3±15.0)岁。两组患者的年龄、性别比较无明显差异(P 均 > 0.05)。

1.2 纳入排除标准

1.2.1 纳入标准^[4] (1)脑膜瘤组织均来源于本院神经外科手术病理标本,并经病理学检查证实;(2)正常组的脑膜组织来源于外伤性脑组织切除,包含脑膜组织;(3)患者术前未接受放疗;(4)一般资料完整;(5)本研究获得医学伦理委员会的批准。

1.2.2 排除标准 (1)未经病理学证实的患者;(2)术前有放疗史;(3)伴有其他部位恶性肿瘤疾病;(4)既往具有脑血管病史或手术史。

1.3 免疫组化检测方法 利用 ElivisionTM免疫组化法检测标本^[5]。一抗为 Ki-67,ElivisionTM检测试剂盒、内源性过氧化物酶阻断剂、抗体稀释液及二氯基联苯胺(DAB)显色剂。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。所有标本染色均设置已被验证的阳性对照。人乳腺癌组织为 Ki-67 的阳性对照。免疫组化结果判定^[6]:Ki-67 蛋白的阳性着色表达于脑膜瘤组织的细胞核,呈黄色、棕黄色、褐色表达,(1)根据着色强度:0 分为无色、1 分为淡黄色、2 分为棕黄色、3 分为褐色、黑色;(2)根据阳性细胞比例:阳性细胞数目所占比例 ≤10% 为 1 分、阳性细胞所占比例 11%~50% 为 2 分、阳性细胞数 51%~75% 为 3 分、阳性细胞数所占比例 >75% 为 4 分。两种积分相乘总分 <3 分为阴性、≥3 分为阳性。总分 <3 分:记为“-”;3~5 分,记为“+”;6~9 分,记为“++”;>9 分,记为“+++”。

1.4 统计学方法 统计采用 SPSS 16.0,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述;计数资料用例(%)表示,两组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Ki-67 蛋白表达比较 脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率为 73.33%,显著高于正常组的 5.55%,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1、图 1。

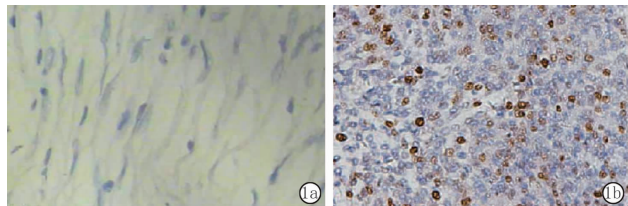
2.2 脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达与患者临床特征的关系 脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜尾征关系不显著(P 均 > 0.05);出现瘤周水肿、WHO 分级 II 级和 III 级、出现骨侵犯的脑膜瘤患者肿瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率均显著高于未出现瘤周水肿、WHO 分级 I 级、未出现骨侵犯的脑膜瘤患者,差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 2。

表 1 两类标本中 Ki-67 蛋白的表达情况比较 (例)

组别	例数	-	+	++	+++	阳性[例(%)]
脑膜瘤组	60	16	18	20	6	44(73.33)
正常组	18	17	1	0	0	1(5.55)
χ^2 值						26.060
P 值						<0.001

表 2 脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达与患者临床特征的关系 例(%)

临床特征	阳性($n=44$)	阴性($n=16$)	χ^2 值	P 值
年龄				
≥50 岁	18(40.91)	5(31.25)	0.463	0.496
<50 岁	26(59.09)	11(68.75)		
性别				
男	16(36.36)	7(43.75)	0.271	0.603
女	28(63.64)	9(56.25)		
瘤周水肿				
是	6(13.64)	6(37.5)	4.176	0.041
否	38(86.36)	10(62.5)		
肿瘤大小				
≥3 cm	23(52.27)	5(31.25)	2.084	0.149
<3 cm	21(47.73)	11(68.75)		
WHO 分级				
I 级	23(52.27)	13(81.25)	4.105	0.043
II 级 + III 级	21(47.73)	3(18.75)		
骨侵犯				
是	20(45.45)	2(12.5)	5.487	0.019
否	24(54.55)	14(87.5)		
脑膜尾征				
是	25(56.82)	7(43.75)	0.805	0.370
否	19(43.18)	9(56.25)		



注:1a 为正常脑膜组织;1b 为脑膜瘤组织(400 倍,Elivision)。

图 1 Ki-67 蛋白免疫组化染色结果

3 讨论

脑膜瘤为常见颅内肿瘤,流行病学研究显示该病的发病率约占所有脑肿瘤的 32.45%^[7-8],其中成人发病较为常见,女性发病率高于男性,比例约为 2:1,发病年龄一般在 42~69 岁。

2007 年 WHO 分级系统将脑膜瘤主要分为 3 类:良性脑膜瘤(91%, I 级)、不典型脑膜瘤(5%, II 级)和恶性脑膜瘤(4%, III 级)。随着磁共振技术和 CT 的广泛应用,脑膜瘤的发病率呈上升趋势。Telugu^[9]的研究发现颅底脑膜瘤手术完整切除率仅为 63.16%,其中术后复发率和病死率分别可达到 15.2% 及 2.8%。此外,术后还可出现眼球活动障碍及肢体瘫痪等永久性神经障碍,发病率约为 3.7%^[10]。恶性脑膜瘤尽管有良性脑膜瘤的相关特征,但恶性脑膜瘤还具有生长快、侵袭性强及复发率高等特征,此外复发的 I 级、II 级脑膜瘤还可演变为恶性脑膜瘤,影响患者的预后和治疗。手术切除是治疗脑膜瘤的常用手段,但因脑膜瘤的生长部位的特殊性、具有恶性生物学特征等因素,手术切除经常无法完全切除肿瘤,残余肿瘤极易引发脑膜瘤复发,对患者的预后造成严重不良影响。故而,从生物学角度寻找治疗脑膜瘤的有效方法具有必要性。

Ki-67 作为反映细胞周期和细胞增殖活性的一个重要指标,常用于脑膜瘤组织的恶性程度和增殖状态的评价。Swiderska-Chadaj^[11]的研究发现免疫组化法检测 125 例脑膜瘤患者发现高 Ki-67 表达率的脑膜瘤区域常伴随着多功能肿瘤抑制基因(p53),并可通过核积累,破坏 DNA 结构进而调节细胞凋亡,p53 的突变还可稳定异常蛋白的新陈代谢,造成细胞核异常蛋白的积累,因而易达到免疫组化法检测水平。本研究的免疫组化法对两类标本中 Ki-67 蛋白的表达情况比较发现脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率显著的高于正常组。上述结果提示脑膜瘤患者 Ki-67 表达率较高,Ki-67 表达可能与脑膜瘤的恶性增殖有关。

本研究结果发现脑膜瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜

尾征关系不显著。陈倩倩^[12]的研究发现膀胱癌组织中 Ki-67 蛋白阳性表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜尾征关系不显著;蒋依娜^[13]的实验发现咽喉癌组织中 Ki-67 蛋白阳性表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜尾征关系亦不显著。本研究结果与上述研究的结果均相符,也提示患者的年龄、性别、肿瘤大小、是否出现脑膜尾征关系与 Ki-67 蛋白的表达无相关性。

出现瘤周水肿、WHO 分级 II 级和 III 级、出现骨侵犯的脑膜瘤患者肿瘤组织中的 Ki-67 蛋白阳性表达率均显著高于未出现瘤周水肿、WHO 分级 I 级、未出现骨侵犯的脑膜瘤患者。上述结果提示瘤周水肿、WHO 分级 II 级和 III 级、出现骨侵犯是导致 Ki-67 高表达的独立危险因素。Ki-67 作为细胞增殖的标记,细胞凋亡的 M 期、G2 期及 S 期均有表达,并可在 M 期达到顶峰^[14]。其与 DNA 聚合酶及细胞增殖核抗原相比具有较短的半衰期,并可在增殖周期后迅速降解。蒋春秀^[15]的研究显示免疫组化法 Ki-67 与肿瘤的恶性程度、增殖指数及生物学行为密切相关。上述结果提示患者肿瘤分级、骨侵犯及发生瘤周水肿与脑膜瘤的 Ki-67 表达关系密切。

综上所述,脑膜瘤组织中 Ki-67 蛋白的表达增强,并且与患者肿瘤分级、骨侵犯及发生瘤周水肿有关。

参考文献

- [1] 梁颖莉,余力,熊威斌,等. HER2、p-AKT、FASN 及 Ki-67 在脑膜瘤中的表达及意义[J]. 广东医学,2015,36(17):2716-2719.
- [2] 张娇娇,谢新明,梁华,等. Ki-67 增殖指数与脑膜瘤病理分级及预后的相关性[J]. 临床与实验病理学杂志,2015,31(11):1281-1283.
- [3] 王洪财,孙成丰,陈海,等. 脑膜瘤自发性出血的临床特点及机制探讨[J]. 中华神经外科杂志,2015,31(4):337-340.
- [4] 张莹,任占平,张莞. Ki-67 表达与乳腺癌分子分型及临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2014,30(11):1220-1223.
- [5] Pavelin S, Bečić K, Forempoher G, et al. The significance of immunohistochemical expression of merlin, Ki-67, and p53 in meningiomas[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2014, 22(1):46-49.
- [6] 韩义明,郑杰,姜云惠,等. 非小细胞肺癌中 EGFR 基因突变与 ERCC1、Ki-67 表达及临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2015,31(7):759-763.
- [7] Tang Y, Dundamadappa SK, Thangasamy S, et al. Correlation of apparent diffusion coefficient with Ki-67 proliferation index in grading meningioma[J]. AJR Am J Roentgenol, 2014, 202(6):1303-1308.

肿瘤发生发展,也可以作为抑癌蛋白抑制肿瘤的生长^[5,10]。本实验发现,在胃癌细胞发生 EMT 的过程中 FHL2 表达也会发生改变,具体表现为明显表达上调。

综上所述,目前针对 FHL2 的靶向治疗仍处于起步状态,也仅限于体外实验,但已有的数据显示利用 SiRNA 或质粒靶向针对 FHL2,下调或上调肿瘤细胞内 FHL2 的表达能抑制细胞的增殖,降低细胞存活率^[11-12]。在胃癌细胞发生 EMT 的过程中,通过干预 FHL2 的表达可能会为逆转该过程提供新的思路。所以本课题组接下来将进一步研究其中所涉及的相关信号通路或传导因子,为可能的新的靶向治疗靶点提供证据。

参考文献

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.

[2] 胡祥. 日本《胃癌治疗指南》(第 3 版)解读[J]. 中国实用外科杂志, 2010, 30(1): 25-30.

[3] 王舒宝. 进展期(Ⅱ、Ⅲa)胃癌的治疗[J]. 中国实用外科杂志, 2001, 21(7): 385.

[4] 张伟, 吴瑾. 肿瘤多药耐药机制的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2015, 29(4): 364-367.

[5] 蔡婷, 何伟春, 骆静, 等. FHL2 蛋白在肿瘤中的转录调控及其分

子生物学机制[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(10): 1958-1961.

- [6] Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells [J]. J Cell Biol, 1982, 95(1): 333-339.
- [7] Medici D, Muñoz-Cánoves P, Yang PC, et al. Mesenchymal transitions in development and disease [J]. Stem Cells Int, 2016, 2016: 5107517.
- [8] Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition [J]. J Cell Sci, 2012, 125(Pt 19): 4417-4422.
- [9] Brinkmann BF, Tuncay H, Ebnet K. Homotypic cell-cell interactions and apical-basal polarity in epithelial cells and endothelial cells [M]//Ebnet KT, eds. Cell polarity 1: Biological role and basic mechanisms, Heidelberg: Springer International Publishing AG, 2015: 277-302.
- [10] 卢文婷, 王敏. FHL2 基因及其相关疾病的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(4): 645-649.
- [11] Zienert E, Eke I, Aust D, et al. LIM-only protein FHL2 critically determines survival and radioresistance of pancreatic cancer cells [J]. Cancer Lett, 2015, 364(1): 17-24.
- [12] Xu J, Zhou J, Li MS, et al. Transcriptional regulation of the tumor suppressor FHL2 by p53 in human kidney and liver cells [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e99359.

收稿日期: 2017-10-12 编辑: 王国品

(上接第 364 页)

[8] Choi Y, Lim DH. Prognostic significance of Ki-67 labeling index in WHO Grade II meningioma [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2015, 93(3): E115.

[9] Telugu RB, Chowhan AK, Rukmangadha N, et al. Histopathological and immunohistochemical evaluation of meningiomas with reference to proliferative markers p53 and Ki-67 [J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(1): EC15-9.

[10] 沈金花, 董光, 方龙江, 等. 脑膜瘤中 ADC 值、rADC 值与 Ki-67 增殖指数的相关性分析 [J]. 临床放射学杂志, 2017, 36(1): 11-14.

[11] Swiderska-Chadaj Z, Markiewicz T, Grala B, et al. Content-based analysis of Ki-67 stained meningioma specimens for automatic hotspot selection [J]. Diagn Pathol, 2016, 11(1): 93.

- [12] 陈倩倩, 杜君, 林瑞, 等. Ki-67 在 T₁ 期非肌层浸润性膀胱癌中的表达及意义 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(7): 316-320.
- [13] 蒋依娜, 王鸿雁, 杨喆. 孤立性纤维性肿瘤/脑膜血管周细胞瘤 14 例临床病理观察 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(6): 672-674.
- [14] Fakhrou A, Meshkini A, Shadravan S. Status of Ki-67, estrogen and progesterone receptors in various subtypes of intracranial meningiomas [J]. Pak J Biol Sci, 2012, 15(11): 530-535.
- [15] 蒋春秀, 朱建彬, 邹天宇, 等. 颅内孤立性纤维瘤/血管外皮瘤与脑膜瘤的临床和 MRI 对比分析 [J]. 中国医学影像技术, 2017, 33(6): 848-852.

收稿日期: 2017-10-09 修回日期: 2017-10-27 编辑: 周永彬