

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.009

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.009>

脑胶质瘤患者的 Ki-67 与 GFAP 表达及病理学意义

陈阿静, 勾荣彬

(中国康复研究中心北京博爱医院病理科, 北京 100068)

[摘要] 目的: 研究脑胶质瘤患者的增殖细胞核抗原(Ki-67)与胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)表达及病理学意义。方法: 选择中国康复研究中心北京博爱医院86例脑胶质瘤患者, 按照患者肿瘤分化级别分成低分化组与高分化组, 同期选择45例健康正常患者作为对照组, 均借助免疫化学测定其Ki-67和GFAP的表达情况。比较3组Ki-67与GFAP阳性表达率、Ki-67和GFAP灰度值及阳性反应物密度。结果: Ki-67阳性表达率、Ki-67灰度值和阳性反应物浓度在高级别组和低级别组均明显高于对照组($P<0.05$)。GFAP阳性表达率、GFAP灰度值及阳性反应物浓度在高级别组均显著低于低级别组和对照组($P<0.05$)。结论: 随着Ki-67阳性表达率的提高和GFAP阳性表达率的降低, 脑胶质瘤患者病理级别随之增加。Ki-67和GFAP在脑胶质瘤鉴别、病理分级及患者预后评估中均可发挥较好的指导作用。

[关键词] 胶质纤维酸性蛋白; 增殖细胞核抗原; 胶质瘤; 病理学

Expression and pathological significance of Ki-67 and glial fibrillary acidic protein in glioma patients

CHEN Ajing, GOU Rongbin

(Department of Pathology, Beijing Bo'ai Hospital, China Rehabilitation Research Center, Beijing 100068, China)

Abstract **Objective:** To study the expression of proliferating cell nuclear antigen (Ki-67) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) and their pathological significance in patients with brain glioma. **Methods:** A total of 86 patients with brain malignant glioma in our hospital were selected and divided into a low-grade group and a high-grade group according to the tumor differentiation level of the patient. At the same time, 45 healthy and normal patients were selected as a control group, and their Ki-67 and GFAP expression were determined by immunochemical analysis. The Ki-67 and GFAP positive expression rates, Ki-67 and GFAP gray values, and the density of positive reactants were compared. **Results:** The Ki-67 positive expression rates, Ki-67 gray values and the density of positive reactants in the high grade and the low grade group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). However, the GFAP positive expression rates, GFAP gray values and the density of positive reactants in the high grade group were significantly lower than those in the low grade and the control group ($P<0.05$). **Conclusion:** With the increase of Ki-67 and GFAP positive expression rate, the pathological grade of patients with

收稿日期 (Date of reception): 2020-03-28

通信作者 (Corresponding author): 陈阿静, Email: caj0830@163.com

brain glioma will increase. Ki-67 and GFAP can play a good guiding role in the identification of malignant brain gliomas, pathological grading and patient prognosis.

Keywords glial fibrillary acidic protein; proliferating cell nuclear antigen; glioma; pathology

脑胶质瘤即指发源于神经上皮的肿瘤,在颅脑肿瘤中占40%~50%,属于常见的颅内恶性肿瘤^[1-3]。世界卫生组织(WHO)神经系统肿瘤病理学分级标准将胶质瘤分为4级,级别越高表明恶性程度越高。低级别胶质瘤生长于脑组织非功能区域,几乎可以完全切除,术后患者生存时间也较长,甚至可治愈。而术前予以临床病理分级,对患者临床治疗与预后均具有重要作用。目前,临床上主要根据肿瘤坏死、微血管增生、细胞异型性程度和核分裂象来评估患者病理级别,但该种判断方式缺乏一定的客观性^[4-6]。Ki-67为诊断脑胶质瘤的常用指标,可有效观察肿瘤增生状况^[7-8]。GFAP为判断肿瘤去分化状况的常用指标,对胶质瘤病理分级判断可起到一定的参考^[9-10]。鉴于此,可将GFAP和Ki-67共同用于胶质瘤病理分级评估中,以提高病理分级判断的客观性与准确性。本研究对中国康复研究中心北京博爱医院86例脑恶性胶质瘤患者、45例健康正常者展开探讨,拟明确GFAP和Ki-67在脑胶质瘤患者病情评估与病理分级中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象

选择中国康复研究中心北京博爱医院2017年1月至2020年1月收治的86例脑胶质瘤患者,其中I级28例,II级20例,III级22例,IV级16例。86例患者均符合脑胶质瘤临床诊断标准,并经病理检查确诊,皆为首次发病,术前未实施化疗与其他治疗。根据WHO肿瘤分级标准,将86例患者分为低级别(I~II级)组48例与高级别(III~IV级)组38例。同期选择45例健康正常者作为参照组。在低级别组中,男22例,女26例,年龄37~78(52.37±3.62)岁。在高级别组中,男17例,女21例,年龄38~77(52.43±3.58)岁。在参照组中,男20例,女25例,年龄36~79(52.46±3.60)岁。纳入标准:临床资料完整;依从性较佳。排除标准:存在其他恶性肿瘤者;无法有效配合研究者或中途退出者;精神疾病者。3组一般资料相比,

差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经中国康复研究中心北京博爱医院医学伦理委员会审核批准,患者均签署知情同意书。

1.2 方法

利用免疫组织化学法检查参与研究者体内Ki-67和GFAP表达情况。选用小鼠抗人单克隆抗体Ki-67和GFAP,DAB显色试剂盒、SP试剂盒、病理图像分析系统。收集各组人脑组织标本,用4%甲醛实施固定,用石蜡进行包埋,开展连续切片处理,层厚控制为4 μm 。切片后,依次进行烤片-脱蜡-水化操作,随后苏木精染色10 min,用自来水冲洗。以盐酸乙醇进行分化,水洗,伊红染色3 min,再次水洗。用梯度乙醇脱水,以二甲苯透明,中性树胶封片。

以SP法进行免疫组织化染色,予以常规脱蜡处理:通过高压修复抗原,以蒸馏水反复冲洗2次,在室温条件下放于3%双氧水内约20 min,以PBS缓冲液反复冲洗3次,封闭血清,予以水浴(37 $^{\circ}\text{C}$)10 min;然后,添加一抗,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜;取出在室温条件下放置10 min,水浴(20 $^{\circ}\text{C}$)20 min,用PBS缓冲液反复冲洗3次,将辣根过氧化物酶与链霉菌抗生素蛋白复合物加入,水浴(37 $^{\circ}\text{C}$)20 min,以PBS缓冲液反复冲洗3次。应用DAB显色,以苏木精进行重新染色,通过中性树胶进行封片。

通过病理图像分析系统进行定量检测,每张切片随意抽选5个视野,分别检测Ki-67与GFAP的灰度值和阳性反应物密度。

1.3 观察指标

统计3组Ki-67与GFAP阳性表达率;观察3组Ki-67与GFAP灰度值与阳性反应物密度。

1.4 统计学处理

用统计学软件SPSS 22.0进行数据分析,计数资料以例(%)表示,采用Z检验;计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组Ki-67与GFAP阳性表达率对比

与参照组相比,低级别组、高级别组的Ki-67和GFAP阳性率均显著较高;与低级别组相比,高级别组阳性率明显较高($P<0.05$,表1)。提示Ki-67和GFAP阳性表达随胶质瘤病理分级的增加

而上升。

2.2 3组Ki-67与GFAP灰度值与阳性反应物密度对比

低级别组、高级别组的Ki-67灰度值与阳性反应物密度均明显高于参照组;高级别组的GFAP灰度值与阳性反应物密度明显低于低级别组和参照组($P<0.05$,表2)。

表1 3组Ki-67和GFAP阳性表达率对比

Table 1 Comparison of the positive expression rates of Ki-67 and GFAP among the 3 groups

组别	<i>n</i>	Ki-67阳性/[例(%)]	GFAP阳性/[例(%)]
参照组	45	1 (2.22)	0 (0.00)
低级别组	48	23 (47.82)	25 (52.08)
高级别组	38	32 (84.21)	33 (86.84)
<i>Z</i>		12.852	15.485
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表2 3组Ki-67和GFAP灰度值与阳性反应物密度对比

Table 2 Comparison of the gray values of Ki-67 and GFAP with the density of positive reactants among the 3 groups

组别	<i>n</i>	Ki-67		GFAP	
		灰度值	阳性反应物密度	灰度值	阳性反应物面积密度
参照组	45	162.85 ± 10.56	0.51 ± 0.24	187.62 ± 4.83	8.63 ± 0.32
低级别组	48	184.34 ± 5.13	5.93 ± 0.36	183.15 ± 4.23	6.97 ± 0.28
高级别组	38	186.41 ± 3.46	8.59 ± 0.38	171.26 ± 5.34	1.96 ± 0.64
<i>F</i>		10.724	16.928	15.496	17.254
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

胶质瘤又称神经胶质瘤,为一种神经系统常见的肿瘤,具体表现为侵袭性生长,对人类身体健康危害程度较大。该病来源于脉络丛上皮、室管膜、神经胶质等神经间质细胞,发生于神经外胚层。依照胶质瘤病理类型与所处位置的不同,患者病程表现也不尽相同,从发生症状到就诊时间可为数周至数月,甚至为数年^[11-13]。脑胶质瘤临床症状主要以颅内压升高症状(呕吐、恶心、癫痫发作、复视等)及脑组织受压发生的局部症状,可对神经系统造成严重损伤。目前,临床上主要采用手术方式治疗脑胶质瘤,但因肿瘤呈浸润性生长,与脑组织之间未有显著边界,难以彻底切

除病变组织^[14-15]。故而,临床上通常选用综合治疗方案,即术后实施化放疗等,以延长患者生存时间,降低其复发率,晚期手术效果通常较差,风险性较高,且易出现神经功能缺损。因此,在开展临床治疗工作前,需了解患者病理级别,并据此制定针对性治疗方案,以提高临床治疗的有效性。

既往由于医院技术及资源的限制,临床上多根据患者具体症状表现对开展脑胶质瘤病理分级评估工作。但不同患者由于肿瘤发生部位的不同,临床症状轻重不一,单凭该点无法有效保证评估工作的正确性。近年来,随着医院技术的快速发展,临床上用于鉴别诊断脑恶性胶质瘤的方法随之增多,如放射性核素、超声波等,但还是缺乏准确评估该

病病理级别的方法。因此,临床上一直在找寻能客观评估脑胶质瘤病理分级的方法。

Ki-67由2条多肽链构成分布于增殖细胞核内的非组蛋白性核内蛋白,可客观提示恶性肿瘤细胞增殖状况,与恶性肿瘤的发展与预后存在密切关系。Ki-67能有效显示细胞核增殖能力,从细胞进入G₁期便进行表达,于M期和G₂期表达最高。目前,Ki-67已成为观测细胞增殖指数的重要指标。在本研究中,高级别组和低级别组的Ki-67阳性表达率、灰度值及阳性反应物密度均高于参照组,说明Ki-67可作为脑胶质瘤的诊断参考指标。

GFAP为胶质瘤标志蛋白,常被临床上用于判断颅内胶质瘤起源。GFAP主要分布于神经干细胞上,在脑胶质瘤患者中呈异常过度表达。此外,GFAP还可选择性表达于室管膜细胞、肿瘤性星形胶质细胞、正常胶质细胞中,而于成纤维细胞、神经元、神经节细胞中则不表达,目前临床上主要将其用于脑肿瘤分化方向鉴别诊断中。在本研究中,高级别组GFAP阳性表达率、灰度值、阳性反应物浓度均显著低于低级别组和参照组,表示GFAP在脑胶质瘤病理分级评估中可起到较好的指导作用。

综上,在脑胶质瘤患者中,Ki-67和GFAP均处于异常表达,对二者的联合使用在脑胶质瘤的病理诊断和分级工作中具有重要意义。

参考文献

1. Bao S, Wu Q, McLendon RE, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 756-760.
2. Xue L, Lu B, Gao B, et al. NLRP3 Promotes glioma cell proliferation and invasion via the interleukin-1 β /nf-kb p65 signals[J]. *Oncol Res Featur Preclin Clin Cancer Therap*, 2019, 27(5): 557-564.
3. Zhou D, Alver BM, Li S, et al. Distinctive epigenomes characterize glioma stem cells and their response to differentiation cues[J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 43.
4. Burnet NG, Lynch AG, Jefferies SJ, et al. High grade glioma: Imaging combined with pathological grade defines management and predicts prognosis[J]. *Radiother Oncol*, 2007, 85(3): 371-378.
5. Chen SD, Hou PF, Lou L, et al. The correlation between MR diffusion-weighted imaging and pathological grades on glioma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2014, 18(13): 1904-1909.
6. Yang X, Lv S, Zhou X, et al. The clinical implications of transforming growth factor beta in pathological grade and prognosis of glioma patients: a meta-analysis[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 52(1): 270-276.
7. Lin Y, Wu Z. MicroRNA-128 inhibits proliferation and invasion of glioma cells by targeting COX-2[J]. *Gene*, 2018, 658(6): 63.
8. Paulus W. GFAP, Ki-67 and IDH1: perhaps the golden triad of glioma immunohistochemistry[J]. *Acta Neuropathol*, 2009, 118(5): 603-604.
9. Sharma K, Juhi S, Frost EE, et al. MeCP2 overexpression inhibits proliferation, migration and invasion of C6 glioma by modulating ERK signaling and gene expression[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 674: 42-48.
10. Pinchi E, Frati A, Cipolloni L, et al. Clinical-pathological study on β -APP, IL-1 β , GFAP, NFL, Spectrin II, 8OHdG, TUNEL, miR-21, miR-16, miR-92 expressions to verify DAI-diagnosis, grade and prognosis[J]. *Sci Rep-UK*, 2018, 8(1): 2387.
11. Burnet NG, Lynch AG, Jefferies SJ, et al. High grade glioma: Imaging combined with pathological grade defines management and predicts prognosis[J]. *Radiother Oncol*, 2007, 85(3): 371-378.
12. Salem AM, Elfeky MA, Nawar N, et al. Prognostic value of combined; cox-2, cyclin D1 and P21 expression in colorectal cancer (CRC) patients: an immunohistochemical study[J]. *Open J Pathol*, 2018, 8(3): 106-121.
13. Zhu T, Xie P, Gao YF, et al. Nucleolar and spindle-associated protein 1 is a tumor grade correlated prognosis marker for glioma patients[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(3): 178-186.
14. Liu L, Liu Z, Wang H, et al. 14-3-3 β exerts glioma-promoting effects and is associated with malignant progression and poor prognosis in patients with glioma[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 15(3): 2381-2387.
15. Li J, Wang Y, Meng X, et al. Modulation of transcriptional activity in brain lower grade glioma by alternative splicing[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e4686.

本文引用: 陈阿静, 勾荣彬. 脑胶质瘤患者的Ki-67与GFAP表达及病理学意义[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(7): 1688-1691. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.009

Cite this article as: CHEN Ajing, GOU Rongbin. Expression and pathological significance of Ki-67 and glial fibrillary acidic protein in glioma patients[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(7): 1688-1691. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.009