

[文章编号]1000-2057(2002)03-0257-03

P27、Ki-67 在人脑星形胶质细胞肿瘤中的表达和意义

严耀华*, 刘道坤

(南通医学院附属医院神经外科, 南通 226001)

[摘要] 目的:探讨 P27、Ki-67 抗原在人脑星形胶质细胞肿瘤中的表达及预后意义。方法:原发性星形细胞肿瘤 73 例采用 S-P 免疫组化方法检测手术切除标本石蜡块的 P27 抗原和 Ki-67 抗原,并分别算得两者标记指数。使用 COX 比例风险模型分析预后。结果:单因素分析显示患者年龄、手术治疗方式、术前 KPS 评分、组织学分级、Ki-67 LI、P27 LI、术后放疗等因素与患者预后有关(logrank $P < 0.01$)。多因素分析结果显示年龄、P27 LI、Ki-67 LI、术前 KPS 评分、组织学分级均为独立的预后因素。结论:组织学分级、患者的年龄、P27 LI、Ki-67 LI、术前 KPS 评分均是独立的预后影响指标。P27 LI 随着各病理级别增高而下降;在同一病理级别中, P27 LI 不同,其预后具有显著性差异。

[关键词] 星形胶质细胞肿瘤;P27;Ki-67

[中图分类号] R739.41 **[文献标识码]** A

THE VALUE OF P27 AND KI-67 IN HUMAN ASTROCYTIC TUMOR

YAN Yaohua, LIU Daokun (Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Nantong Medical College, Nantong 226001)

[Abstract] *Objective*: To explore the prognostic factors for patients with astrocytic tumors and to determine the value of P27 labeling index obtained using P27 monoclonal antibody in predicting survival. *Methods*: Data of 73 patients with astrocytic tumors were collected. P27 and Ki-67 was determined with immunohistochemistry using monoclonal antibody. Cox's proportional-hazards model was used to ascertain a simultaneous effect of outcome-related variables on survival. *Results*: Univariate analysis showed that patient age, KPS score, histologic grade, Ki-67 LI, P27 LI and radiation were significant factors for survival. And Multivariate survival analysis showed that patient age, histologic grade, Ki-67 LI, P27 LI and KPS score were independent, statistically significant prognostic factors for patients with astrocytic tumors. *Conclusion*: Histologic grade and age, preoperative KPS, P27LI, Ki-67LI are all independent prognosis factors. In the same histologic grade there is a significant difference in patient's prognosis due to the different P27LI.

[Key words] astrocytic tumor; P27; Ki-67

P27Kip1 是一个广谱 CDK (Cyclin dependent kinase) 抑制剂,在细胞周期进程中主要功能为抑制细胞周期蛋白 E/CDK2 复合物,进而抑制细胞由 G₁-S 期的转化^[1],因此通常被认为是抑癌基因。Ki-67 是一个核蛋白抗原,它存在于除 G₀ 期以外的所有细胞周期中^[2],Ki-67 标记指数是目前已知的增殖抗原中最具增殖能力代表性的指标。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集 1992 年 1 月~1997 年 12 月南通医学院附属医院神经外科手术治疗的原发性星形细胞肿瘤 73 例资料。术前机能状况:以 KPS 评分 (Karnofsky Performance Score, KPS) 评定、手术日期、手术切除的程度以手术医师肉眼所见为标准。肿瘤的部位(幕上或幕下)、术后放疗、生存时间以患者手术日期至死亡日期或最后一次随访日期计算。根据 1993 年 WHO 诊断标准进行病理分级。

1.2 P27 和 Ki-67 免疫组化

1.2.1 试剂 一抗为鼠抗人 P27 单克隆抗体和 Ki-67 单克隆抗体 MIB-1 (即用型),购自福州迈新生物技术公司。

1.2.2 方法 应用 S-P 法 (Streptavidin-Peroxidase, S-P) 进行免疫组化染色。切片常规脱蜡、水化,在加一抗前行微波抗原修复。

1.2.3 结果判定 在高倍显微镜下 (400×) 随机计数 1000 个肿瘤细胞中的阳性细胞数,换算成百分比,成为标记指数 (Labeling Index, LI),即 $LI = (\text{阳性细胞数} / 1000) \times 100\%$ 。阳性细胞以细胞核内出现棕黄色颗粒为标准 (血管上皮细胞、淋巴细胞及坏死处除外)。

1.3 统计学分析 采用 Stata 6.0 统计软件包处理分析数据。生存分析单因素使用 Kaplan-Meier 法计算生存率并采用 logrank (时序) 检验。多因素分析使用 COX 比例风险模型,采用逐步回归分析进行危

* [作者简介] 严耀华,男,生于 1970 年 7 月,汉族,江苏省如皋市人,住院医师,医学硕士,研究方向:脑肿瘤。

险因素判断。

2 结 果

2.1 临床因素与组织学分级的关系 73 例中男 47 例,女 26 例;年龄 17~69 岁,平均 46.61 岁;生存时间:4.2~69.5 个月,平均 32.94 个月,最后 1 次随访时仍有 5 例存活;术前 KPS 评分 60~100 分,平均 76.97 分;术后 47 例放疗,26 例未放疗;其中 29 例手术时行全切除,44 例行大部分切除。P27LI 范围 3.15%~86.42%,平均 24.76%±22.01%。Ki-67LI 范围 0%~14.30%,平均 6.41%±3.64%。见表 1。

表 1 临床因素与组织学分级的关系

组织学(WHO)	Ⅱ级	Ⅲ级	Ⅳ级
例数	23	20	30
性别(男/女)	14/9	13/7	20/10
年龄(岁)	40.17±12.46	44.4±11.36	53.03±39.85
术前 KPS 评分	84.35±9.45	76.50±9.33	75.33±7.76
评分<80/≥80	4/19	12/8	16/14
生存时间(月)	50.99±18.02	37.09±11.45	6.35±10.50
全切除	14	6	9
部分切除	9	14	21
放疗(有/无)	15/8	11/9	21/9
部位(幕上/幕下)	18/5	17/3	28/2
P27LI	38.61±19.86	27.82±24.75	2.11±13.34
Ki-67LI	3.75±2.68	6.61±3.14	8.30±3.42

2.2 统计分析结果

2.2.1 性别、手术治疗、术后放疗等因素在组织学 3 个级别中的构成比差异均无显著性(P>0.05);而年龄、生存时间以及 P27LI、Ki-67LI 等因素在 3 个级别中的构成比差异均有显著性(P<0.05)。

2.2.2 预后因素分析 单因素分析使用 Kaplan-Meier 法,使用 logrank 检验。其中年龄为 2 组:<50 岁,≥50 岁;术前 KPS 评分分为两组:<80 分,≥80 分;P27LI 分为两组<17.42%(中位数),≥17.42%。Ki-67 LI 分为两组:<7.13%(中位数)及≥7.13%。结果显示与预后有关的因素有:年龄、术前 KPS 评分、手术方式、组织学分级、P27LI、Ki-67 LI、术后放疗(logrank P<0.01)。而性别、肿瘤部位等因素与预后无关(logrank P>0.05)。

2.2.3 多因素分析采用 COX 比例风险模型。显示患者的年龄、P27 LI、Ki-67 LI、术前 KPS 评分、组织学分级等均有显著统计学意义,均是独立的预后因素。

2.2.4 为了进一步了解 P27 LI 在预后中的作用,在不同病理级别中以 P27LI=17.42%为界分组并对其进行单因素分析,结果显示 II 级中 P27LI<17.42%与≥17.42%生存期差异无显著性,Ⅲ级、Ⅳ级中 P27LI<17.42 与≥17.42 生存期差异有显著性(P<0.05);同样处理 Ki-67LI 未能有阳性发现。

3 讨 论

众多的研究结果表明组织学分级与患者预后关系密切^[3~5],即组织学级别越高,术后生存期越短。但 Wakimoto 等发现Ⅲ级、Ⅳ级星形细胞瘤患者预后间无显著差异^[6]。本实验研究发现Ⅱ级、Ⅲ级、Ⅳ级的术后平均生存时间差异显著,单因数和多因数分析都具有明显的统计学意义。提示组织学分级仍然是临床上可靠的预后指标。

P27 LI 与众多肿瘤预后关系密切。在肺癌、前列腺癌、淋巴瘤、乳癌等的研究中,P27LI 都显示了良好的预后指示性能^[7~10]。1999 年,Alleyne 等发现 P27 LI 与星形胶质细胞肿瘤患者生存时间呈明显正相关^[11],本研究结果亦已证实。Shinichin 的研究发现 P27 LI>50% 在高级别星形胶质细胞肿瘤患者提示预后较佳^[12]。本实验中以 P27 LI=17.42%为界,在同一病理级别中(Ⅲ、Ⅳ级),Logrank 检验也具有显著性预后价值。这表明 P27LI 是一个独立的预后指标。

Ki-67LI 与星形胶质细胞肿瘤患者预后关系,为 KI-67 LI 越高,预后越差^[2,6,13,14]。本实验的研究结果证实了此观点。但 Meckecven 等^[13]的研究发现,在Ⅱ级星形细胞瘤中,Ki-67 LI>2.0%与<2.0%的患者其生存期差异显著,且在多因素分析中,发现 Ki-67 LI 预测预后的能力甚至大于病理级别^[15]。本次实验中以 Ki-67=7.13%为界,行 Logrank 检验未能发现其在Ⅲ、Ⅳ级中的预后意义。

手术是治疗星形细胞肿瘤的首选方法,手术切除程度与生存时间的相互关系究竟如何一直是颇有争议的问题。大多研究结果表明肉眼肿瘤全切除对延长患者生存时间,改善预后功不可没^[3,5,15]。但 Andrew 等^[4]发现不同切除程度间的患者预后无显著差异^[5],Isabelle Salmon 等^[16]发现手术前后患者机能状况无明显改变,手术切除程度对预后的影响也甚微。McKeever^[15]等也认为手术治疗方式对星形细胞肿瘤病人预后无影响。在本实验中,单因素检验发现手术切除程度与患者预后明显相关。

Andrew 等^[4]认为放疗是一个剂量依赖式的预后变量;本次实验中发现放疗患者平均生存时间较未放疗者为长,单因素检验 P<0.01,提示术后放疗可能改善预后;但多因素分析放疗对预后影响无统计学意义。Stephen 等发现 KPS>80 分与 KPS<80 分的患者术后平均生存时间统计学差异显著。本实验发现,术前 KPS 是神经功能状态和患者整体机能状况的良好反映,其高低对患者的预后具有指导意义。

[参考文献]

[1] Charles J,Sharr G. Phase progression;cyclinon cue[J].

Cell , 1994,79 : 551.

- [2] Lewis J Kirkegaard,Particia B. Derose,Bin Yao MS,et al. Image cytometric measurement of nuclear proliferation markers(MIB-1,PCNA)in astrocytomas (prognostic significance)[J]. *Am J Clin Pathol* , 1998, 109 : 69.
- [3] 王 勇,罗其忠,费智敏,等. 颅内星形细胞瘤术后的生存期影响因素分析[J]. *肿瘤*,1996,16(3) : 395.
- [4] Andrew K, R. Loch M, Chris A, et al. Quantitative imaging study of extent of surgical resection prognosis of malignant astrocytomas [J]. *Neurosurgery* , 1997,41(5) : 1028.
- [5] Fred G. Beaker, Michael D, Prades, Susan M. Chang, et al. Radiation response and survival time in patient with glioblastoma multiforme[J]. *J neurosurg* , 1996, 84 : 442.
- [6] Noraki W, Masura A, Takieo N, et al. Prognostic significance of Ki - 67 labeling index obtained by using MIB - 1 monoclonal antibody in patients with supratentorial astrocytomas[J]. *Cancer* , 1996,77 : 373.
- [7] Coardo V, Lori A, Long J, et al. P27kip1: A multifunctional cyclin - dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancer [J]. *American J of Pathol* , 1999,154(2) : 313.
- [8] John Tsihlias, Linda R Kapusta, Gerrit Debier, et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27/kip1 if a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma[J]. *Cancer research* , 1998,58 : 542.
- [9] Carious S, Catzavelos C, Slingerland JM. Prognostic implications if the cell cycle inhibition protein p27/kip1[J]. *Breast Cancer Res Treat* , 1998,52(1-3) : 29.

- [10] Moller MB, Skjodt K, Morrensen LS, et al. Clinical significance of cyclin - dependent kinase inhibitor p27/kip1[J]. *Br J Hamatol* , 1999,105(3) : 730.
- [11] Alleyne CH Jr, He J, Yang J, et al. Analysis of cyclin dependent kinase inhibitors in malignant astrocytoma [J]. *Int J Oncol* , 1999,14(6) : 1111.
- [12] Shinichin M, Takashi T, Yashuiro Ono, et al. Expression of scycle regulator p27/kip1 is correlated with survival of patients with astrocytoma[J]. *Clinical Cancer Research* , 1999,5 : 551.
- [13] Meckever PE, Ross DA, Strawderman MS, et al. Comparison of the predictive power for survival in gliomas provided by MIB - 1 bromodeoxyuridin and proliferating cell nuclear antigen with histopathologic and clinical parameters [J]. *J Neuropathol Exp Neurol* , 1997,56 : 798.
- [14] Enestrom S, Vavruch I, Franlund B, et al. Ki - 67 antigen expression as prognostic in primary and recurrent astrocytomas [J]. *Nourochirurgie* , 1998, 44 : 25.
- [15] Arie Perry, Robert B. Jenkins, Judith R. Ofallon, et al. Clinicopathologic study of 85 similarly treated patients with anaplastic astrocytic tumors; an analysis of DNA contents (ploidy), cellular proliferation, and p53 expression[J]. *Cancer* , 1999,86 : 672.
- [16] Isabelle Salmon, Olivier Dewitte, Jean - Lambert Pasteels, et al. Prognostic scoring in adult astrocytic tumors using patient age histopathological grade, and DNA histogram type [J]. *J Neurosurgery* , 1994,80 : 877.

[收稿日期]2002-05-08

(上接第 256 页)神经保护作用,又抑制由 NOS 产生 NO 的神经毒性作用。

[参考文献]

- [1] Jonathan W, Graham M. Management of severe head injury[J]. *Contemporary Neurosurgery* , 1996,18 : 1.
- [2] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: 1. methodology and local effects of contusions in the rat[J]. *Brain Res* , 1981,211 : 66.
- [3] Dixon CE. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat[J]. *J Neurosurg* , 1987 ,67 : 110.
- [4] Dunnett SB. Transplantation of embryonic central forebrain neurons to neocortex of rats with lesions of nucleus basalis magnocellularis - II sensorimotor and learning impairments [J]. *Neuroscience* , 1985 ,16 : 787.
- [5] Miyamoto M. Lesioning of the rat basal forebrain leads

to memory impairments in passive and active avoidance tasks[J]. *Brain Res* , 1985,328 : 97.

- [6] Petrov T and Rafols JA. Acute alterations of endothelin - 1 and iNOS expression and control of the brain microcirculation after head trauma [J]. *Neurol Res* , 2001,23(2~3) : 139.
- [7] Gahm C, Holmin S, Mathiesen T. Temporal profiles and cellular sources of three nitric oxide synthase isoforms in the brain injury after experimental contusion [J]. *Neurosurgery* , 2000,46(1) : 169.
- [8] 胡小吾, 缪明永, 王来兴, 等. 一氧化氮合酶抑制剂和一氧化氮供体对沙土鼠缺血性损伤的影响[J]. *第二军医大学学报*, 1999,20(10) : 795.
- [9] Stoffel M, Rinecker M, Pleanila N, et al. Role of nitric oxide in the secondary expansion of a cortical brain lesion from cold injury[J]. *J Neurotrauma* , 2001,18(4) : 425.

[收稿日期]2002-04-23