

· 基础研究 ·

# 垂体腺瘤侵袭性与质地的相关性研究

朱 权, 刘 振, 刘春生, 郝解贺, 陈来照, 王宏勤

(山西医科大学第一医院 神经外科, 山西 太原 030001)

**摘要:** **目的** 探讨垂体腺瘤侵袭性与质地的关系。**方法** 收集2008年1月~2010年1月经病理证实的垂体腺瘤患者76例,其中功能腺瘤44例,无功能腺瘤32例;根据术前影像学检查分为侵袭组32例,非侵袭组44例;根据术中判断分为质地软组54例和质地硬组22例。应用免疫组化SP法检测76例垂体腺瘤标本中Ki-67和基质金属蛋白酶2(MMP2)的表达水平。统计分析垂体腺瘤侵袭性与Ki-67和MMP2表达的关系及垂体腺瘤侵袭性与质地的关系。**结果** 侵袭组Ki-67和MMP2的表达水平分别为 $7.573 \pm 3.991$ 和 $18.623 \pm 9.689$ ,显著高于非侵袭组 $2.811 \pm 2.095$ 和 $6.871 \pm 7.230$  ( $t_1 = 6.161$ ,  $t_2 = 5.788$ ,  $P < 0.01$ ),Ki-67与MMP2表达呈正相关( $r = 0.476$ ,  $P < 0.01$ )。垂体腺瘤的侵袭性与质地无明显相关性( $P = 0.056$ )。**结论** Ki-67和MMP2可作为诊断垂体腺瘤侵袭性的分子标记物,检测Ki-67和MMP2表达水平可指导临床评价垂体腺瘤侵袭性及制定个体化治疗方案,而术前仅依靠垂体腺瘤的侵袭性影像学特征并不能判断其质地。

**关键词:** 垂体腺瘤;侵袭性;质地;Ki-67;基质金属蛋白酶2

中图分类号:R651 文献标识码:A 文章编号:1007-1520(2012)04-0249-04

## Correlation between invasion and texture in human pituitary adenomas

ZHU Quan, LIU Zhen, LIU Chun-sheng, et al.

(Department of Neurosurgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**Abstract:** **Objective** To detect the correlation between the invasiveness and texture of pituitary adenomas (PA). **Methods** 76 cases of PA being verified surgically and pathologically were collected at our hospital from January 2008 to January 2010, then were divided into different groups based on different criteria: invasive group (32 cases) and non-invasive group (44 cases) according to their MRI finding; hard group (22 cases) and soft group (54 cases) in texture according to surgical finding. Immunohistochemical staining (SP method) was used for detecting the expression of Ki-67 and MMP2 (matrix metalloproteinase2) in these samples of PA. The correlation between the invasiveness and the expressions of Ki-67 and MMP2, and the correlation between the invasiveness and the texture of PA was statistically analyzed. **Results** The expression of Ki-67 and MMP2 in invasive group was  $7.573 \pm 3.991$  and  $18.623 \pm 9.689$  respectively, which significantly higher than the one in non-invasive group ( $2.811 \pm 2.095$  and  $6.871 \pm 7.230$ ,  $t_1 = 6.161$ ,  $t_2 = 5.788$ ,  $P < 0.01$ ). Ki-67 was positively correlated with MMP2 ( $r = 0.476$ ,  $P < 0.01$ ). There was no correlation being found between the invasiveness and the texture of PA ( $P = 0.056$ ). **Conclusion** Ki-67 and MMP2 can be used as molecular markers to evaluate the invasiveness of PA, therefore to guide the individual therapy. The texture of PA can not be determined simply by its radiological features of invasiveness.

**Key words:** Pituitary adenomas; Invasiveness; Texture; Ki-67; MMP2

基金项目:山西省回国留学人员科研资助项目(2008-54)。

作者简介:朱 权,男,副教授。

通讯作者:朱 权,Email:zhuquan11@yahoo.com.cn.

垂体腺瘤是一种常见的神经外科良性肿瘤,但约 6% 的垂体腺瘤具有侵袭性的生物学特性<sup>[1]</sup>,具体表现为增殖旺盛,浸润包裹邻近组织和术后易复发等特点。了解不同垂体腺瘤的质地对于选择合理的手术方法有重要的参考价值。关于垂体腺瘤侵袭性与其质地之间的关系报道不多,本研究拟在这一方面做一探讨。同时采用免疫组化方法检测 Ki-67 和基质金属蛋白酶 2 (MMP2) 在垂体腺瘤中的表达,以期寻找诊断垂体腺瘤侵袭性的分子标志,指导临床评价垂体腺瘤的侵袭性及制定个体化治疗方案。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

回顾性收集 2008 年 1 月~2010 年 1 月经手术病理证实的垂体腺瘤患者 76 例,其中男 37 例,女 39 例;年龄 17~75 岁,平均年龄 46 岁。功能腺瘤 44 例,其中泌乳素型 20 例、生长激素型 5 例、促甲状腺激素型 3 例、促肾上腺皮质激素型 1 例、混合型 15 例;无功能腺瘤 32 例。全部患者术前均常规行鞍区 MRI 平扫和增强三维成像检查。腺瘤最大径为 1~3 cm 者 53 例,大于 3 cm 者 23 例;手术切除经鼻-蝶入路 47 例,开颅手术 29 例。

### 1.2 术前垂体腺瘤侵袭性判定标准

参照 Wilson 改良的 Hardy 分类法<sup>[2]</sup>和 Knosp<sup>[3]</sup>分级标准,将符合以下标准之一者确定为侵袭性垂体腺瘤:①侵犯蝶窦;②肿瘤组织向鞍旁生长超过颈内动脉海绵窦段和床突上段血管管径的外侧连线或肿瘤完全包绕海绵窦段颈内动脉;③第三脑室受压移位;④肿瘤侵犯周围脑组织。依据以上标准其中侵袭组 32 例,非侵袭组 44 例。

### 1.3 术中垂体腺瘤质地判定标准

笔者根据术中所见并依照以下自定标准判定,其中质地软组 54 例:切开硬脑膜后,肿瘤自行涌出,用吸引器易于吸除,或肿瘤虽不会自行涌出,但用刮匙容易刮除。质地硬组 22 例:刮匙刮除困难,用取瘤镊取瘤时有较强的牵拉感,有时需反复电凝或需用锐器切割才

能小块切除。

## 1.4 免疫组化检测 Ki-67 和 MMP2 的表达

1.4.1 主要试剂 一抗、二抗及显色剂(二氨基联苯胺, DAB)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。Ki-67 一抗为兔抗人单克隆抗体, MMP2 一抗为兔抗人多克隆抗体,二抗均为兔二步法检测试剂盒(PV-6001)。

1.4.2 染色方法 采用链霉素抗生物蛋白过氧化酶免疫组化染色法(SP法),切片厚度 3  $\mu\text{m}$ ,按试剂盒所附说明略作改动进行 Ki-67 和 MMP2 免疫组化染色,一抗工作浓度均为 1:100,全部予抗原修复。以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。

1.4.3 染色结果判定及测量 Ki-67 阳性细胞染色为细胞核出现棕黄色或黄色颗粒; MMP2 阳性细胞染色为细胞质出现棕黄色颗粒。在阳性表达区域随机选择 5 个高倍视野( $\times 400$ ),利用 Image-proplus (IPP6.0) 软件进行图像分析,测定每一视野下阳性表达区累积光密度( $\text{IOD} = \text{平均光密度} \times \text{面积}$ ),然后取其 IOD 的平均值(A 值)。

## 1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件对各项指标的实验数据进行处理,结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,具体值以  $A \times 10^3$  表示。采用两独立样本的  $t$  检验进行组间比较, Ki-67、MMP2 之间的相关性分析用 Pearson 相关分析,垂体腺瘤侵袭性与质地的关系用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha = 0.01$ 。

## 2 结果

### 2.1 垂体腺瘤侵袭性与 Ki-67、MMP2 表达的关系

Ki-67 表达水平在侵袭组为  $7.573 \pm 3.991$ ,在非侵袭组为  $2.811 \pm 2.095$ ;两组比较差异具有统计学意义( $t_1 = 6.161, P < 0.01$ ); MMP2 的表达水平在侵袭组为  $18.623 \pm 9.689$ ,在非侵袭组为  $6.871 \pm 7.230$ ,两者比较差异具有统计学意义( $t_2 = 5.788, P < 0.01$ ) (图 1, 2)。Ki-67 与 MMP2 呈正相关( $r = 0.476, P < 0.01$ )。

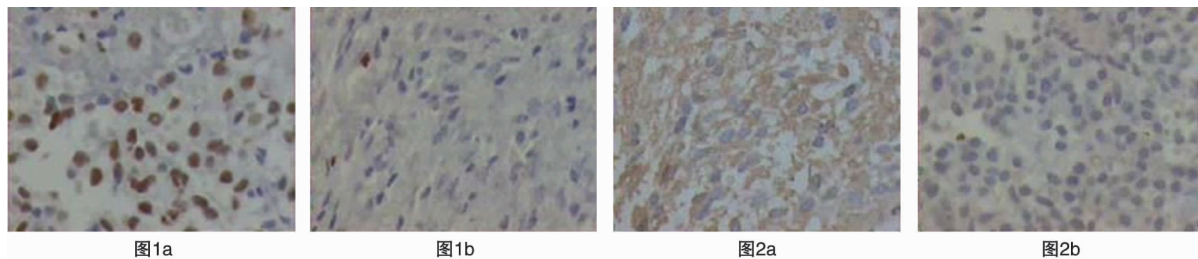


图1a

图1b

图2a

图2b

图 1 垂体腺瘤组织中 Ki-67 表达 (SP 法,  $\times 400$ ) a: 非侵袭组 Ki-67 的表达; b: 侵袭组 Ki-67 的表达 图 2 垂体腺瘤组织中 MMP2 的表达 (SP 法,  $\times 400$ ) a: 非侵袭组 MMP2 的表达; b: 侵袭组 MMP2 的表达

## 2.2 垂体腺瘤侵袭性与质地的关系

本研究侵袭组垂体腺瘤质地软 19 例, 质地硬 13 例; 非侵袭组质地软 35 例, 质地硬 9 例。经  $\chi^2$  检验垂体腺瘤侵袭性与质地间无明显相关性 ( $\chi^2 = 3.665$ ,  $P = 0.056$ )。

## 3 讨论

Jefferson 于 1940 年提出了侵袭性垂体腺瘤的概念, 认为其生物学行为介于良性垂体腺瘤和恶性垂体腺瘤之间, 手术全切困难, 生长迅速, 可侵犯硬脑膜, 术后容易复发, 功能性腺瘤术后内分泌学指标常无法完全恢复正常。垂体腺瘤手术方法的选择应依据肿瘤的大小、质地、生长部位和方向等因素决定<sup>[4]</sup>。术前判断垂体腺瘤质地的软硬度, 对选择合理的手术入路和方法, 判断手术预后有重要意义。近 20 年来, 随着微侵袭神经外科理念的深入, 特别是神经内镜技术的应用, 多数学者已将经鼻-蝶入路作为垂体腺瘤的主要手术径路, 但经鼻-蝶入路切除垂体腺瘤的效果与肿瘤的质地关系很大。肿瘤质地软则容易被吸除或刮除, 鞍隔下陷好, 鞍上部分肿瘤也易于全切; 而质地硬的肿瘤则切除困难。经鼻-蝶入路手术很难解除肿瘤对视交叉等鞍上结构的压迫, 需选择传统的经额底或纵裂入路进行手术<sup>[5]</sup>。肿瘤间质的成份决定肿瘤的质地, Ishii 等<sup>[6]</sup>发现, 质地硬韧的垂体腺瘤间质胶原含量较高。肿瘤质地也与其内分泌学类型相关, 生长激素型腺瘤和泌乳素 (PRL) 超过 200 ng/ml 的泌乳素腺瘤大多质地较软, 仅有少数质地硬韧<sup>[5]</sup>。本研究也发现质地硬的肿瘤术中在夹取时往往有较多的纤维样组织。然而, 关于垂体腺瘤侵袭性与质地关系的报道并不多, 本组研究发

现二者间不具有统计学意义 ( $P > 0.01$ ), 提示临床上不能单纯依赖术前影像学上的垂体腺瘤侵袭特性来间接推断肿瘤的质地。

临床上垂体腺瘤侵袭性的判断依赖术前肿瘤 MRI 表现。1984 年 Wilson 改良的 Hardy 分类法<sup>[2]</sup>将鞍底破坏和第三脑室受压移位定为侵袭性垂体腺瘤, 此分级标准对垂体腺瘤向蝶鞍上、下方向侵袭性生长描述较清楚, 但对垂体腺瘤侵袭海绵窦的情况未作具体描述。1993 年 Knosp<sup>[3]</sup>详细描述了垂体腺瘤向鞍旁生长的情况, 并提出了垂体腺瘤侵袭海绵窦的判断标准, 将肿瘤超过颈内动脉海绵窦段和床突上段横断面外侧壁连线定为侵袭性垂体腺瘤, 为肿瘤的横向侵袭提供了具体判断标准。本研究综合了这两种分级标准进行垂体腺瘤术前影像学侵袭性判断, 然而垂体腺瘤的影像学侵袭性是否能真正反映其生物学侵袭特性, 也是本研究关注的一个要点。

Ki-67 广泛用于研究肿瘤细胞的增殖活性。Ekramullah 等<sup>[7]</sup>研究认为在预测无功能垂体腺瘤的增殖复发能力方面, Ki-67 优于 PCNA (增殖细胞核抗原), 故本研究选用 Ki-67 作为研究垂体腺瘤侵袭性的标志物。本实验结果表明, 侵袭性垂体腺瘤 Ki-67 表达水平明显高于非侵袭性垂体腺瘤 ( $P < 0.01$ ), 与文献结果一致<sup>[8]</sup>, 提示 Ki-67 的蛋白表达水平变化可作为诊断垂体腺瘤侵袭性的分子标记, 但其表达程度是否受肿瘤的激素分泌类型等因素影响, 有待进一步研究。MMP 是一类锌、钙依赖性的蛋白水解酶家族, 具备降解基底膜和除糖以外的全部细胞外基质成份的作用, 可促进肿瘤侵袭和转移<sup>[9]</sup>, MMP 的活动在许多恶性肿瘤中被发现, 迄今为止, 已经发现 20 余种 MMP。由于 MMP2 在基底膜降解中发挥主要作用, 故

受特别关注。Nakada 等<sup>[10]</sup>证实, MMP2 在多形性胶质母细胞瘤中的表达明显高于星形细胞瘤。本研究采用免疫组织化学 SP 法对 MMP2 在垂体腺瘤中的表达进行了分析, 结果发现侵袭性垂体腺瘤 MMP2 的表达明显高于非侵袭性垂体腺瘤 ( $P < 0.01$ ), 并与 Ki-67 表达呈正相关 ( $r = 0.476$ ,  $P < 0.01$ ), 这和 Kawamoto 等<sup>[11]</sup>的研究结果相似。笔者认为 MMP2 是提示垂体腺瘤侵袭性的另一项有效指标。

综上所述, 垂体腺瘤影像学上的侵袭特征可以反映其生物学上的侵袭特性。Ki-67 和 MMP2 的表达可作为临床客观评价垂体腺瘤侵袭性、预后判断及指导术后个体化治疗方面的参考指标, 两者表达水平具有一致性。术后标本 Ki-67、MMP2 表达水平高者, 无论术中肿瘤是否全切除, 均应按复发高危人群而予以术后早期放射治疗或药物治疗, 并定期行内分泌激素水平及影像学随诊。术前单纯依靠垂体腺瘤影像学侵袭特征不能准确判定其质地的软硬, 应进一步结合垂体腺瘤的其他临床特性进行综合判断。

#### 参考文献:

- [1] Selman WR, Laws ER Jr, Scheithauer BW. The occurrence of dual invasive in pituitary adenomas [J]. *J Neurosurg*, 1986, 64(3): 402 - 427.
- [2] Wilson CB. A decade of pituitary microsurgery: The Herbert Olivecrona lecture [J]. *J Neurosurg*, 1984, 61(5): 814 -

- 833.
- [3] Knosp E, Steiner E, Kitz K, et al. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: A magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings [J]. *Neurosurgery*, 1993, 33(4): 610 - 618.
- [4] 于春江, 朱广延, 耿素民. 巨大垂体腺瘤的显微外科治疗 [J]. *中华医学杂志*, 2000, 80(6): 435 - 438.
- [5] 王集生, 谢坚, 罗世祺. 垂体腺瘤质地与手术入路的探讨 [J]. *中华神经外科杂志*, 2001, 17(2): 106 - 108.
- [6] Ishii K, Ikeda H, Takahashi S, et al. MR imaging of pituitary adenoma with sphenoid sinus invasion: characteristic MR findings indicating fibrosis [J]. *Radiat Med*, 1996, 14(4): 173 - 178.
- [7] Ekramullah SM, Saitoh Y, Arita N, et al. The correlation of Ki-67 staining indices with tumor doubling times in regrowing non-functioning pituitary adenomas [J]. *Acta Neurochir (wien)*, 1996, 138(12): 1449 - 1455.
- [8] 黎军, 孙炜. Ki-67 抗原在侵袭性垂体腺瘤中的表达研究 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2003, 8(2): 124 - 126.
- [9] Duffy MJ, McCarthy K. Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and targets for therapy [J]. *Int J Oncol*, 1998, 12(6): 1343 - 1348.
- [10] Nakada M, Kita D, Futami K, et al. Roles of membrane type 1 matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinases 2 in invasion and dissemination of human malignant glioma [J]. *J Neurosurg*, 2001, 94(3): 464 - 473.
- [11] Kawamoto H, Uozumi T, Kawamoto K, et al. Type IV collagenase activity and cavernous sinus invasion in human pituitary adenomas [J]. *Acta neurochir (wien)*, 1996, 138(4): 390 - 395.

(修回日期: 2012 - 07 - 02)

## · 消息 ·

### 《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》稿件远程处理系统

中国耳鼻咽喉颅底外科杂志已经开通网上远程处理系统, 请各位作者和专家登陆 <http://www.xyosbs.com/index.htm> 此网页。作者可进入左侧的“作者投稿查稿”进行在线投稿和查稿。各位专家请进入左侧的“专家在线审稿”, 帐号和密码编辑部邀请专家审稿时会通过邮件传给各位专家, 同时也可通过编辑部发的邮件直接连接进入审稿系统。有什么问题请随时联系, 谢谢合作!

地址: 湖南省长沙市湘雅路 87 号(湘雅医院内)中国耳鼻咽喉颅底外科杂志社

邮编: 410008

电话(传真): 0731 - 84327469

投稿网址: <http://www.xyosbs.com>

Email: [xyent@126.com](mailto:xyent@126.com)