

. 实验研究 .

GRP 在人脑胶质瘤中的表达及意义

朱晓伟 郝解贺

【摘要】目的 探讨胃泌素释放肽(GRP)在人脑胶质瘤中的表达情况及其意义。方法 运用免疫组化法检测 70 例不同病理级别人脑胶质瘤标本和 5 例正常人脑组织中 GRP 的表达水平。结果 GRP 在正常人脑组织中均未见表达,而在人脑胶质瘤组织中高表达。胶质瘤 GRP 表达的阳性率[67.1%(47/70)]明显高于正常脑组织($P<0.05$);而且,高级别脑胶质瘤 GRP 表达阳性率(87.2%,34/39)明显高于低级别脑胶质瘤(41.9%,13/31; $P<0.05$)。结论 GRP 高表达可能对人脑胶质瘤细胞的发生、发展具有促进作用。

【关键词】胶质瘤;胃泌素释放肽 GRP;基因表达

【文章编号】1009-153X(2015)03-0161-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Expression of GRP in the human brain gliomas and its meanings

ZHU Xiao-wei¹, HAO Jie-he². 1. Postgraduates School, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

【Abstract】Objective To study the expression of gastrin-releasing peptide (GRP) in the human brain gliomas, and its relationship with malignant degree of the tumors. Methods Expression levels of GRP were detected by immunohistochemical technique in 70 patients with brain gliomas of whom, 31 had low grade gliomas (WHO grades I and II) and 39 high grade (WHO grades III and IV), and 5 samples of normal brain tissues. Results There were no GRP expression in the normal brain tissues. The positive rate of GRP expression was 67.14% (47/70) in human glioma tissues. The positive rate (87.18%, 34/39) of GRP expression was significantly higher in the high grade gliomas than that (41.94%, 13/31) in the low grade gliomas ($P<0.01$). Conclusion It is suggested that the pathogenesis and development of human brain gliomas may be related to GRP overexpression.

【Key words】Gliomas; Immunohistochemistry; Gastrin-releasing peptide; Expression; Malignance

神经胶质瘤是中枢神经系统发病率最高,治愈率最低,治疗效果最差的一类肿瘤,目前临床上能协助判断胶质瘤恶性程度、预后评价和复发等方面的肿瘤标志物很多,但均缺乏高度敏感性和特异性。近年来,研究发现胃泌素释放肽(gastrin-releasing peptide, GRP)在许多恶性肿瘤的发生、发展、转移、进展等方面发挥着重要的作用^[1-3]。但目前其在人脑胶质瘤中的研究却鲜见报道。本实验采用免疫组化技术对人脑胶质瘤 GRP 的表达情况进行研究,为协助判断胶质瘤恶性程度及病理分级提供新的线索,并初步探讨 GRP 的表达水平对胶质瘤细胞发生、发展的影响。

1 材料与方法

1.1 标本 选取山西医科大学第一医院神经外科

2010 年 7 月至 2014 年 7 月手术切除并经病理学证实的 70 例胶质瘤石蜡标本,所有脑胶质瘤患者术前没有急性感染和接受过放化疗或激素治疗,均为首次手术,其中男 38 例,女 32 例;年龄 16~69 岁,平均 43.2 岁。所有标本收集均获得医院伦理委员会批准,符合赫尔辛基公约要求,每个被保留胶质瘤组织和正常脑组织的患者都由本人或家属签署了知情同意书。肿瘤组织病理级别根据 WHO 标准判定分为:Ⅰ级毛细胞性星形细胞瘤 14 例;Ⅱ级纤维型星形细胞瘤 11 例,Ⅱ级少突胶质细胞瘤 6 例;Ⅲ级间变性星形细胞瘤 11 例,Ⅲ级间变性少突胶质细胞瘤 3 例;Ⅳ级胶质母细胞瘤 25 例。将Ⅰ、Ⅱ级 31 例称为低级别组,将Ⅲ、Ⅳ级 39 例称为高级别组。另取 5 例颅脑损伤后行颅内减压的正常脑组织作为对照,其中男 3 例,女 2 例;年龄 19~65 岁,平均年龄 46.4 岁。

1.2 免疫组织化学染色 标本蜡块连续切片 6 张,片厚 4 μm,其中 1 张重做 HE 染色再次确定诊断,4 张免疫组织化学染色,1 张备用。采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶连接免疫组化法检测 GRP 的表达,

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.03.011
作者单位:030001 太原,山西医科大学研究生学院(朱晓伟);030001 太原,山西医科大学第一医院神经外科(郝解贺)
通讯作者:郝解贺, E-mail:neurosurgongg@126.com

GRP 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;以已知阳性切片为阳性对照,以 PBS 磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果观察与判断标准 双盲法在光镜下观察每一张切片,随机选取连续的 10 个高倍视野($\times 400$),根据染色深浅及阳性细胞百分率用半定量积分法判断结果。①染色深浅:淡黄色为 1 分;黄或深黄色为 2 分;褐或棕褐色为 3 分。②细胞阳性率: $<5\%$, 0 分; $5\% \sim 25\%$, 1 分; $26\% \sim 50\%$, 2 分; $51\% \sim 75\%$, 3 分; $>75\%$, 4 分。细胞染色强度积分=染色深浅积分 \times 细胞阳性率积分。二者相乘 ≤ 1 分者为阴性,将 ≥ 2 分者为阳性。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 18.0 软件进行分析;计数资料采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

正常脑组织未见 GRP 表达,胶质瘤组织 GRP 表达阳性率较正常脑组织明显增高($P<0.05$)。高级别胶质瘤组织 GRP 表达阳性率明显高于低级别胶质瘤($P<0.05$)。详见表 1、图 1~5。

3 讨论

近年来,随着影像诊断学技术的不断发展与进

表 1 不同组织 GRP 表达阳性率比较(例)

组别	阳性	阴性
胶质瘤组织	47(67.14%)*	23
低级别胶质瘤组织	13(41.94%)	18
高级别胶质瘤组织	34(87.18%)*	5
正常脑组织	0	5

注:与正常脑组织相应值比,* $P<0.05$;与低级别胶质瘤组织相应值比,# $P<0.05$;GRP:胃泌素释放肽

步,显微外科手术技术的广泛开展与应用,术后个体化以及特异性放、化疗计划的深入推广与实施,脑胶质细胞瘤的综合治疗水平有了长足的进展,然而这些进步并没有从根本上控制肿瘤的恶性增殖,延长患者的生存期和提高患者的生存质量。以多形性胶质母细胞瘤为例,即使采用手术、放疗、化疗相结合的综合治疗方案,患者的中位生存期也仅 9~12 个月^[4]。

GRP 是近年来研究较多的肿瘤标记物,其表达情况与肿瘤的性质、类型、分化程度、侵袭力和分级分期等密切相关,已成为肿瘤诊断、治疗的有效靶点^[5],GRP 最早是在 1978 年由 McDonald 等从猪的胃组织中分离出的一种具有促胃泌素分泌作用的胃肠道激素,是有效的促分泌素或调节肽,由 27 个氨基酸组成的肠、脑肽,普遍存在于非胃窦组织、神经纤维、

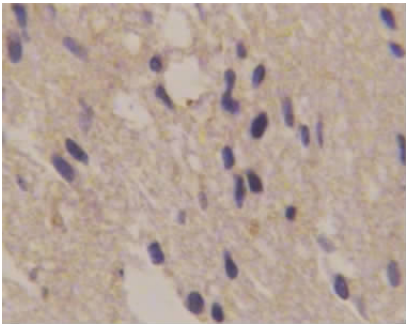


图 1 正常脑组织胃泌素释放肽免疫组化染色($\times 400$)

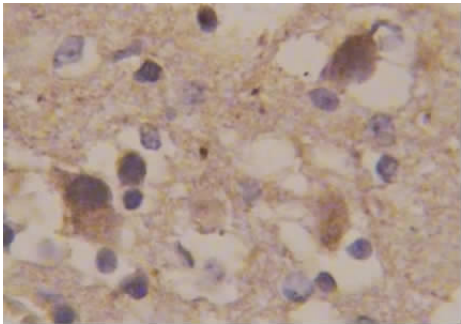


图 2 I 级人脑胶质瘤组织胃泌素释放肽免疫组化染色($\times 400$)

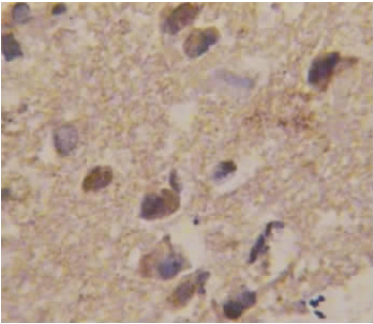


图 3 II 级人脑胶质瘤组织胃泌素释放肽免疫组化染色($\times 400$)

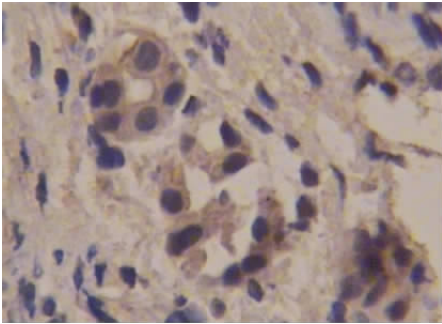


图 4 III 级人脑胶质瘤组织胃泌素释放肽免疫组化染色($\times 400$)

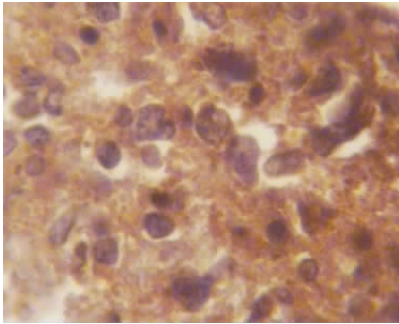


图 5 IV 级人脑胶质瘤组织胃泌素释放肽免疫组化染色($\times 400$)

脑和肺组织的神经内分泌细胞中,通过自分泌、异常分泌、神经内分泌等方式作用于特异性受体胃泌素释放肽受体 (gastrin-releasing peptide receptor, GRPR)。GRPR 是铃蟾肽的受体亚型之一,主要位于跨膜区域和第三胞内区域,属于 G 蛋白受体超家族。Flores 等^[6]对正常人脑组织和人脑胶质瘤组织进行免疫组织化学染色研究发现,正常人脑组织神经胶质细胞中未检测到 GRPR 的表达,而 GRPR 在人脑神经胶质瘤组织中的阳性表达率却为 100%。在肿瘤组织中,两者结合后通过影响信号转导途径刺激肿瘤的发生、增殖、血管形成及侵袭、转移^[7,8]。

本研究运用免疫组化染色法检测 70 例不同病理级别人脑胶质瘤标本和 5 例正常人脑组织中 GRP 的表达情况,结果显示 GRP 阳性染色定位于胞质,为弥漫分布;正常人脑组织均未发现 GRP 的表达,而人脑胶质瘤组织 GRP 表达的阳性率而且,高级别胶质瘤 GPR 表达阳性率明显高于低级别胶质瘤。因此,我们认为人脑胶质瘤组织 GRP 高表达,并且随着胶质瘤恶性分级的增加,其表达强度也随之增加。GRP 在人脑胶质瘤中的作用机制可能为 GRP 及其配体 GRPR 特异性结合后启动受体后的信号转导途径,从而刺激某些原癌基因的转录、翻译或抑制瘤细胞的凋亡,促进癌细胞增殖、血管生成、浸润转移等多个步骤,最终导致了肿瘤的生长、侵袭和转移。

综上所述,胶质瘤 GRP 呈高表达,但是其表达与肿瘤的生物学关系还有待进一步的研究。

【参考文献】

[1] Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrin-releasing peptide and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1766(1): 23-41.

[2] Van de Wiele C, Dumont F, van Belle S, *et al.* Is there a role for agonist gastrin-releasing peptide receptor radioligands in tumour imaging [J]? *Nucl Med Commun*, 2001, 22(1): 5-15.

[3] Levine L, Licci JA 3rd, Townsend CM Jr, *et al.* Expression of gastrin-releasing peptide receptors in endometrial cancer [J]. *J Am Coll Surg*, 2003, 196(6): 898-904.

[4] 杨学军,杨树源. 神经上皮性肿瘤[M]. 见:赵继宗. 神经外科学. 北京:人民卫生出版社,2007. 376-395.

[5] 赵开军. 胃泌素释放肽受体在肿瘤中分布的临床意义[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2008, 35(9): 660-663.

[6] Flores DG, Meurer L, Uberti AF, *et al.* Gastrin-releasing peptide receptor content in human glioma and normal brain [J]. *Brain Res Bull*, 2010, 82(1-2): 95-98.

[7] Perona R. Cell signalling: growth factors and tyrosine kinase receptors [J]. *Clin Transl Oncol*, 2006, 8(2): 77-82.

[8] Larrán López J, Aparicio Patino J, López Muñoz A, *et al.* Effect of the neuropeptides bombesin and calcitonin on the growth of prostate cell lines, PC-3, DU145, and LNCaP [J]. *Actas Urol Esp*, 2000, 24(10): 779-784.

(2014-10-09 收稿, 2014-11-16 修回)



· 消 息 ·

第七届国际听神经瘤会议征文通知

由上海交通大学医学院附属新华医院、复旦大学附属华山医院、中国人民解放军总医院、北京天坛医院联合主办的第七届国际听神经瘤会议现定于 2015 年 4 月 12-15 日在上海举办。该会议自 1991 年在丹麦哥本哈根召开以来,每 4 年召开一次,已分别在法国巴黎、意大利罗马、英国剑桥、西班牙巴塞罗那、美国洛杉矶举办六届会议,参会代表为来自全球各地的耳鼻咽喉头颈外科医师、神经外科医师、放疗医师、影像医师、整形外科医师等专业人士,代表了听神经瘤及侧颅底肿瘤临床诊治及基础研究的最高水平。本次会议官方语言为英语,以专题讲座、圆桌讨论及论文交流为主,旨在促进世界各地专家的学术交流,推动先进技术和经验交流,使相关疾病的诊治得以规范,热忱欢迎全国同道积极踊跃投稿参会。

1、征文要求:统一登录 <http://www.2015an.com>, 网上投递英文摘要;2、联系方式:Email: abstract@2015an.com 或 registration@2015an.com; 电话:0 21-23123591 (10:00-18:00); 传真:021-23123600。