

. 实验研究 .

恶性脑胶质瘤组织 MGMT 的表达及临床意义

常丙林

【摘要】目的 探讨恶性脑胶质瘤组织 O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)的表达与临床意义。方法 选取2012年11月至2014年4月收治的166例恶性脑胶质瘤患者为研究对象,分为>50岁组86例,≤50岁组80例,采用免疫组化技术检测所有肿瘤组织MGMT蛋白表达情况。比较不同年龄患者MGMT蛋白表达情况及MGMT表达水平与患者生存时间的相关性。结果 166例中,MGMT阴性表达82例,弱阳性表达40例,强阳性表达42例;MGMT阴性表达、弱阳性表达、强阳性表达患者生存时间分别为(24.15±3.27)、(17.35±3.16)、(13.25±1.34)个月,两两比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 恶性脑胶质瘤组织MGMT表达水平与患者预后存在一定相关性,MGMT表达水平越高,患者预后越差。

【关键词】恶性脑胶质瘤;O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶;基因表达;预后;相关性

【文章编号】1009-153X(2017)03-0171-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Expression of MGMT in malignant glioma tissues and its clinical meaning

CHANG Bing-lin. Department of Neurosurgery, Hospital of Anyang District, Anyang 455000, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of O6-methyl guanine-DNA methyltransferase (MGMT) in malignant gliomas and its clinical meaning. Methods The MGMT protein expression was determined by immunohistochemical technique in 166 specimens of malignant gliomas tissues derived from 166 patients treated in our hospital from November, 2012 to April, 2014. The relationship between the MGMT protein expression level with patients' age and survival time was analyzed. Results The survival time [(24.15±3.27) months] was significantly longer in MGMT negative expression group than that [(17.35±3.16) months] in MGMT positive expression group ( $P<0.01$ ), which was significantly longer than that [(13.25±1.34) months] in MGMT strongly positive expression group ( $P<0.01$ ). Conclusions The expression level of MGMT in the malignant gliomas tissues is correlated with the patients' prognoses. High expression level of MGMT in the malignant gliomas tissues suggests bad prognosis in the patients with malignant gliomas.

【Key words】Malignant gliomas; MGMT; Expression level; Prognosis; Relationship

大部分恶性脑胶质瘤表现为侵袭性生长,即使在显微镜下采用全切手术治疗,其短期复发率仍处于较高水平,因此术后放疗、化疗被广泛应用于恶性脑胶质瘤的治疗<sup>[1]</sup>。O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)是一种DNA烷基化损伤修复酶,可消除烷化剂对肿瘤细胞造成的毒性作用<sup>[2,3]</sup>。本研究采用免疫组织化学染色技术检测166例恶性脑胶质瘤MGMT蛋白表达情况,为判断预后效果提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 入选标准

1.1.1 纳入标准 ①临床及随访资料完整;②术后病理分级为Ⅲ级、Ⅳ级,诊断为脑恶性胶质细胞瘤;③首次入院患者,术前未采用生物免疫治疗、放疗及化

疗;④依从性好,配合本次研究;⑤年龄为20~75岁;⑥排除其他部位肿瘤;⑦手术为显微镜下全切;⑧KPS评分>60分。

1.1.2 排除标准 ①妊娠及哺乳期妇女;②患有严重传染性疾病;③术后病理石蜡组织质量较差。

1.2 一般资料 2012年11月至2014年4月收治符合标准恶性脑胶质瘤166例,其中男88例,女78例;年龄23~72岁,平均(45.36±2.65)岁。病理分级:Ⅲ级85例,Ⅳ级81例。以50岁为界将患者进行分组,其中年龄>50岁(>50岁组)有86例,男46例,女40例;病理分级Ⅲ级44例,Ⅳ级42例。年龄≤50岁(≤50岁组)有80例,男40例,女38例;病理分级Ⅲ级41例,Ⅳ级39例。1.3 治疗方法 所有患者均在术后15 d后接受放疗,其方案为光子刀适形放疗1个疗程以上,总剂量40~60 Gy。在放疗结束后,采用替莫唑胺(江苏天士力帝益药业有限公司,国药准字H20040636)化疗,初始剂量为150 mg/(m<sup>2</sup>·d),1个周期为28 d,用药5 d,停药23 d,疗程≥2个周期,从下个周期开始,若患者耐药性良好,可将药量加为200

mg/(m<sup>2</sup>·d),若耐药性一般且出现不良反应,可将药量减为100 mg/(m<sup>2</sup>·d)。治疗期间加强对患者病情变化的观察,若发生脑水肿,可用甘露醇及地塞米松进行利尿、脱水以降低颅内压。

1.4 MGMT蛋白表达水平检测 ①切片与干燥。②脱蜡与脱水。③修复组织抗原。④阻断内源过氧化物酶活性。⑤滴加一抗。⑥滴加二抗。⑦加显色液。⑧复染、分化及返蓝。⑨再次脱水、透明及封片。本研究主要实验试剂均由上海科兴生物有限公司提供。随机在显微镜下计数5个高倍视野(×400),共观察1 000个细胞,MGMT阳性染色定位于细胞质或细胞核,表现为棕黄色。阴性(-),MGMT阳性细胞数<10%或无MGMT阳性表达;弱阳性(+),MGMT阳性细胞数为10%~30%;强阳性(++),MGMT阳性细胞数>30%。

1.5 观察指标 观察不同年龄患者MGMT蛋白表达情况及不同MGMT表达水平与患者生存时间的相关性。对所有患者进行长期随访,记录生存时间,时间段选择为开始化疗至死亡或末次回访时间。

1.6 统计学处理 采用SPSS 18.0软件进行处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 $t$ 检验,计数资料用 $\chi^2$ 检验;生存时间采用F检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MGMT免疫组化染色结果 166例恶性脑胶质瘤组织中,82例(49.40%)MGMT蛋白表达阴性(图1A);84例(50.60%)MGMT蛋白表达阳性,其中40例(24.10%)为弱阳性(图1B),44例(26.51%)为强阳性(图1C)。

2.2 不同年龄患者MGMT蛋白表达情况 >50岁组患者MGMT蛋白阳性表达44例,阴性表达42例;≤50岁组患者MGMT阳性表达40例,阴性表达40例。两组患者MGMT阳性表达率差异无统计学意义( $P>$

0.05)。

2.3 MGMT蛋白表达与生存时间相关性 MGMT阴性表达患者随访时间为(38.25±3.52)个月,其中死亡8例。MGMT弱阳性表达患者随访时间为(38.23±3.45)个月,其中死亡3例。MGMT强阳性表达患者随访时间为(38.31±3.56)个月,其中死亡3例。3组随访时间及病人病死率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。MGMT阴性表达、弱阳性表达、强阳性表达患者生存时间分别为(24.15±3.27)、(17.35±3.16)、(13.25±1.34)个月;两两比较均有统计学差异( $P<0.05$ )。

3 讨论

脑胶质瘤是大脑和脊髓胶质细胞癌变所产生的、最常见的原发性颅内肿瘤。恶性脑胶质瘤指病理分级为Ⅲ级、Ⅳ级的脑胶质瘤,主要包括胶质母细胞瘤及间变性星形细胞瘤。手术切除是目前治疗恶性脑胶质瘤的首选方式,但效果不理想,容易复发<sup>[4]</sup>。分析原因为恶性脑胶质瘤的瘤细胞增殖活性相对较强,大部分表现为侵袭性生长,瘤细胞可产生溶解性物质或毒素,对正常组织进行侵犯。胶质瘤细胞可沿着血管基底膜进行侵袭,导致新生血管的形成,为肿瘤局部转移提供基础,同时还可沿着髓神经纤维进行侵袭,经胼胝体或前交叉,促进大脑半球相互扩散<sup>[4,5]</sup>。

近年来,化疗被广泛应用于恶性脑胶质瘤手术切除后辅助治疗。相关研究表明,术后放疗加化疗可有效延长恶性脑胶质瘤患者的生存时间,但其疗效不佳,原因可能与肿瘤细胞对化疗药物的耐药性有关<sup>[6]</sup>。MGMT是一种普遍存在于原核生物及人类细胞中的一种DNA修复蛋白,包括4个内含子及5个外显子。烷化剂可在鸟嘌呤的多个部位损伤细胞DNA,其中损伤O6-甲基鸟嘌呤对细胞威胁最大,主

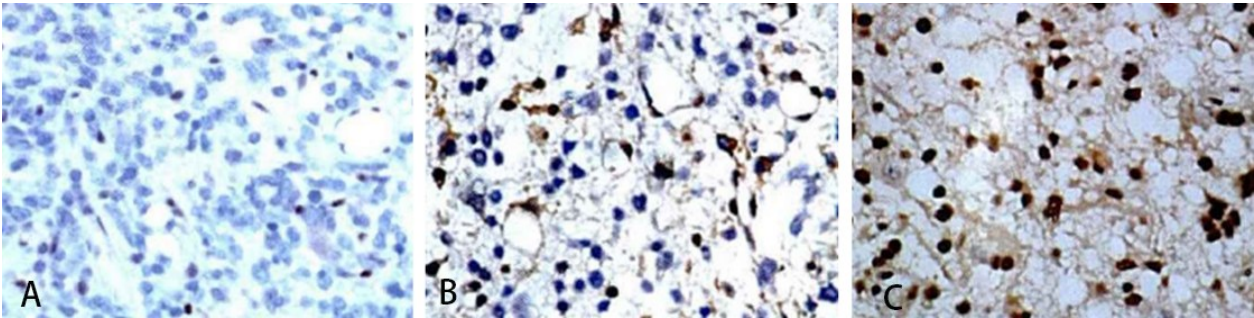


图1 O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶在胶质瘤组织表达的免疫组化染色表现(×400)  
A. 阴性表达;B. 弱阳性表达;C. 强阳性表达

要是由于这种损伤是碱基 G 与碱基 C 不再配对,而与碱基 T 配对,导致 DNA 链交联,从而造成细胞死亡及突变的发生<sup>[7]</sup>。相关研究表明,MGMT 抵抗烷化剂损伤的原理主要与修复 O6~甲基鸟嘌呤有关<sup>[8]</sup>。MGMT 蛋白可与鸟嘌呤 6 位氧上的烷基加合物进行结合,并将烷基转移至半胱氨酸活性位上,还原烷基化的鸟嘌呤。MGMT 修复烷化剂损伤,可避免正常组织受到烷化剂损伤及肿瘤的复发,同时也可导致肿瘤细胞产生对化疗药物的耐药性。据文献<sup>[9]</sup>报道,MGMT 阳性表达的恶性脑胶质瘤的患者化疗效果明显不及 MGMT 阴性表达患者。提示 MGMT 阳性表达的肿瘤细胞比 MGMT 阴性表达的肿瘤细胞对烷化剂的耐药性明显更强,降低 MGMT 蛋白的表达,虽可以提高肿瘤细胞对化疗敏感性,但增加化疗的毒副作用,降低患者的耐受性,也可能使一些基因发生突变而出现新的肿瘤。因此,测定恶性脑胶质瘤组织中 MGMT 表达水平,可间接反映患者对烷化剂药物的敏感性,对于临床治疗具有重要价值<sup>[10]</sup>。

本研究 MGMT 弱阴性、MGMT 强阳性表达患者的生存时间明显低于 MGMT 阴性患者。在文军等<sup>[2]</sup>的研究结果中,恶性脑胶质瘤 MGMT 表现为阳性的患者生存时间明显低于阴性表达患者,与本研究结果一致。提示恶性脑胶质瘤组织中 MGMT 表达水平与患者预后存在一定相关性,MGMT 表达水平越高,患者预后越差。

本研究通过对恶性脑胶质瘤组织 MGMT 表达水平进行检测,并分析与患者预后的相关性,结果发现恶性脑胶质瘤组织 MGMT 表达水平与患者预后存在一定相关性,MGMT 表达水平越高,患者预后越差。这为临床降低肿瘤耐药性、提高化疗效果提供新的思路及依据。但由于本研究收集样本较少、观察时间有限,未对术后放疗、化疗对不同 MGMT 表达水平的恶性脑胶质瘤患者的疗效进行评价,临床需加大样本数量、延长观察时间进一步探讨。

【参考文献】

[1] 马继伟,赵新利,庞长河,等. 经侧裂入路岛叶胶质瘤的显微外科治疗[J]. 中华显微外科杂志, 2015, 38(5): 486-489.

[2] 文 军,王向宇,王立江,等. 替尼泊忒联合司莫司汀治疗脑胶质瘤疗效与 MGMT 表达关系的研究[J]. 中华神经医学杂志, 2010, 9(1): 47-50.

[3] 张文学,孙 健,曹永珍,等. 采用不同边界适形调强放疗结合替莫唑胺化疗治疗恶性胶质瘤的近期疗效观察[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(31): 2522-2525.

[4] 郝振强,卢培刚,袁绍纪,等. MGMT 表达检测指导恶性脑胶质瘤个体化化疗研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2013, 12(3): 262-264.

[5] Milena C, Marina NN, Matija S, *et al.* The role of MGMT testing in clinical practice: a report of the association for molecular pathology [J]. J Mol Diagn, 2013, 15(5): 539-555.

[6] 张国锋,胡卫星,顾培元,等. 脑干桥延部肿瘤显微外科手术及并发症的防治[J]. 中华神经外科杂志, 2013, 29(4): 367-369.

[7] 吴 涛,刘 胜,王 诚,等. 塞来昔布影响胶质瘤细胞增殖及运动、侵袭的生物特性研究[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(5): 288-292.

[8] 杨洪宽,毛 峰,万 锋,等. LRIG3 基因对脑胶质瘤细胞系 U87 和 U251 的细胞周期、侵袭性和凋亡的影响[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(4): 220-223.

[9] 唐天友,许莹莹,王建设,等. 人脑胶质瘤组织 MGMT 和 EGFR 及 Ki-67 表达临床意义分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(11): 840-844.

[10] 许洪升,张俊英,岳伟英,等. 脑胶质瘤 MGMT 表达与体外药敏相关性及其临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2007, 12(5): 263-266.

(2016-10-24 收稿, 2016-12-07 修回)