

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.05.019

恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 和 PCNA 的表达及其与病理特征和预后的关系

章剑剑¹, 陈汉平^{1*}, 彭翔¹, 翁睿光¹, 刘军¹, 叶晖¹, 祝源¹, 郑伟明², 李剑敏³(1. 江汉大学附属第二医院神经外科, 湖北武汉 430050; 2. 温州医学院附属第一医院神经外科, 浙江温州 325000; 3. 温州医学院附属第一医院病理科, 浙江温州 325000)

[摘要] 目的: 检测人脑恶性胶质瘤组织中 IL-13R α 2 和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的表达强度, 分析其与患者临床病理特点和预后之间的关系。方法: 选取 2002-2006 年温州医学院附属第一医院手术治疗的 43 例恶性胶质瘤标本; 采用免疫组织化学法检测并用图像分析系统分析 IL-13R α 2 和 PCNA 在恶性胶质瘤组织中的表达, 分析两者间的相关性; 分析它们与临床特征和预后的关系。结果: (1) 43 例恶性胶质瘤标本有 40 例(93%)IL-13R α 2 阳性表达和 36 例(84%)PCNA 阳性表达; (2) IL-13R α 2 和 PCNA 表达强度与肿瘤部位和肿瘤大小无相关性($P > 0.05$); 在 WHO III 级与 IV 级间两者表达强度差异均有统计学意义($P = 0.031$, $P = 0.002$); 在生存时间 ≤ 6 个月与 > 6 个月患者间 IL-13R α 2 表达强度差异有统计学意义($P = 0.028$)。(3) IL-13R α 2 和 PCNA 的表达强度呈显著的正相关($r = 0.653$, $P = 0.000$)。结论: 人恶性胶质瘤组织中 IL-13R α 2 和 PCNA 均高表达, 前者表达强度与肿瘤恶性分级和患者预后密切相关, 在恶性胶质瘤的诊断和预后判断中具有潜在的临床应用价值。

[关键词] 胶质瘤; 白细胞介素 13 受体; 增殖细胞核抗原(PCNA); 预后

[中图分类号] R739.4; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)05-0516-04

Expression of IL-13R α 2 and PCNA in malignant glioma and its relationship with pathological characteristics and prognosis

ZHANG Jian-jian¹, CHEN Han-ping^{1*}, PENG Xiang¹, WENG Rui-guang¹, LIU Jun¹, YE Hui¹, ZHU Yuan¹, ZHENG Wei-ming², LI Jian-min^{3*}(1. Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuhan 430050, Hubei, China; 2. Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang, China; 3. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective:** To examine the expression of IL-13R α 2 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in malignant glioma, and to investigate its relationship with clinical pathological characteristics and prognosis. **Methods:** Forty-three surgical samples of malignant glioma were obtained from First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College during 2002-2006. Expression of IL-13R α 2 and PCNA proteins was examined by immunohistochemistry staining, and the integrated optical density (IOD) was analyzed by image analysis system. The correlation between the expression of IL-13R α 2 with that of PCNA, and their relationship with clinical characteristics and prognosis of glioma were studied. **Results:** (1) The positive rates of IL-13R α 2 and PCNA in malignant glioma tissues were 93% (40/43) and 84% (36/43), respectively. (2) No relationship of IL-13R α 2 and PCNA expression with the location and tumor size of glioma was found ($P > 0.05$). The expression of IL-13R α 2 and PCNA in glioma was significantly different between III grade and IV grade glioma tissues ($P = 0.031$, $P = 0.002$). Patients who survived less than 6 months had a significantly higher expression of IL-13R α 2 than those who survived more than 6 months ($P = 0.028$). (3) The expression of IL-13R α 2 was positively correlated with that of PCNA ($r = 0.653$, $P = 0.000$). **Conclusion:** IL-13R α 2 and PCNA are overexpressed in malignant glioma tissues, and IL-13R α 2 expression is correlated with differentiation grade and prognosis of glioma. IL-13R α 2 has potential roles in clinical diagnosis and prognostic evaluation of malignant glioma.

[作者简介] 章剑剑(1979-), 男, 湖北省通城县人, 硕士研究生, 主要从事颅内肿瘤的基础与临床研究

* 通信作者(Corresponding author)。E-mail: zj57470@126.com

[**Key words**] glioma; interleukin-13 receptor; proliferating cell nuclear antigen (PCNA); prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(5): 516-519]

胶质瘤作为中枢神经系统最常见的神经上皮性肿瘤,具有极强的侵袭性和增殖活性。学者们^[1-2]在研究胶质瘤恶性增殖机制时发现白细胞介素 13 受体 α 2 (interleukin-13 receptor α 2, IL-13R α 2)在恶性胶质瘤(WHO, III ~ IV级)细胞表面存在特异性的高表达,并指出其可以作为恶性胶质瘤诊断的特异性标志物。IL-13R α 2 是一种由 380 个氨基酸残基组成的膜受体,属于促红细胞生成素受体家族,其编码基因定位于 Xq24^[3],在许多恶性肿瘤细胞上存在高表达^[4]。而增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)是 DNA 聚合酶的 δ 辅酶,参与细胞增殖过程中 DNA 的合成,它对判断胶质瘤细胞增殖活性、胶质瘤生长方式、浸润程度、复发情况等生物学特性方面具有较好的指导意义^[5]。

本研究应用免疫组织化学方法检测 43 例恶性胶质瘤上 IL-13R α 2 和 PCNA 的表达,通过探讨恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 与 PCNA 表达强度之间的关系,分析 IL-13R α 2 在恶性胶质瘤恶性增殖过程中所起的作用和机制;同时对其部分病例进行随访,分析恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 的表达强度与患者预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

所有 43 例脑恶性胶质瘤蜡块均取自温州医学院附属第一医院病理科保存的 2002-2006 年手术标本,患者临床资料均较为完整。其中男 26 例,女 17 例,男女比例 3:2,年龄 8 ~ 68 岁,中位年龄 42 岁。所有标本均经 H-E 染色明确为胶质瘤。按 WHO1999 年分类和分级标准^[6],标本中包括间变型星形细胞瘤(III级)16 例,成胶质细胞瘤(IV级)23 例,成髓细胞瘤 4 例;对照组 5 例正常脑组织取自温州医学院附属第一医院神经外科因颅脑损伤行颅内减压术的患者。所有标本经 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μ m 连续切片。所有患者术前均未经过放疗和化疗。

1.2 免疫组织化学染色检测恶性胶质瘤组织中 IL-13R α 2 和 PCNA 的表达

石蜡切片常规脱蜡至水,滴加 3% H₂O₂ 后行微波抗原修复,正常山羊血清封闭,滴加 1:75 鼠抗人 IL-13R α 2 单克隆抗体(法国 Diaclone 公司),PBS 冲洗,滴加抗小鼠 IgG1 的二抗,PBS 冲洗,滴加 VEC-

TASTAIN[®] ABC 试剂后 DAB 显色,苏木精衬染,中性树胶封片,镜检。

PCNA 的免疫组织化学染色步骤基本同上,一抗为鼠抗人 PCNA 单克隆抗体,二抗为通用型二抗。每例标本均同时用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组织化学染色图像分析与结果判断

免疫组织化学染色阳性反应为棕黄色或(和)棕褐色颗粒。每张切片随机选取 5 ~ 10 个高倍镜视野,应用 Image-Pro-Plus 真彩色医学图像分析软件测定染色的积分光密度(Integrated optical density, IOD),取其平均值代表强度,数值越高,表达愈强(积分光密度 = 阳性区面积 \times 平均光密度)。(1)IL-13R α 2 表达判断标准:在胶质瘤细胞质内出现棕黄色或(和)棕褐色颗粒即是阳性细胞^[7]。(2)PCNA 表达判断标准:以肿瘤细胞核出现棕黄色或(和)棕褐色颗粒细胞为阳性细胞。

1.4 随访条件及方法

随访条件:患者术前 Karnofsky 评分 \geq 70 分;手术镜下全切;术后曾行放疗而未化疗。随访方法:主要以电话随访方式。所有死亡病例记录其入院时间和死亡时间,以此计算患者生存时间。

1.5 统计学处理

使用 SPSS 12.0 统计学软件包进行数据处理,多组阳性区 IOD 值的比较使用方差分析,两两比较使用 *t* 检验。判断 IL-13R α 2 和 PCNA 之间的相关性使用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 和 PCNA 蛋白的表达

IL-13R α 2 阳性染色大部分定位于肿瘤细胞质,胞膜未见着色,仅极少数细胞核出现阳性染色;阳性细胞多呈弥漫性分布,少数呈片灶状。PCNA 阳性表达多呈弥漫或颗粒状分布,定位于肿瘤细胞核,胞质和胞膜未见着色(图 1)。43 例恶性胶质瘤标本有 40 例(93%)IL-13R α 2 阳性表达,36 例(84%)PCNA 阳性表达。5 例正常脑组织中均未见 IL-13R α 2 阳性表达,1 例存在 PCNA 弱阳性表达。

2.2 IL-13R α 2 和 PCNA 表达与患者临床病理特征

(1)病理级别:绝大多数恶性胶质瘤存在 IL-13R α 2 的表达,尤其是成胶质细胞瘤和成髓细胞瘤存在 IL-13R α 2 高表达,正常脑组织未见表达(图 1);比较 WHO 分级 III 级与 IV 级胶质瘤 IL-13R α 2 和

PCNA 阳性染色的 IOD 值之间差异有统计学意义。
 (2) 肿瘤部位: 幕上和幕下肿瘤患者 IL-13R α 2 和 PCNA 的 IOD 值之间无显著性的差异。(3) 肿瘤大小: 按肿瘤的最大径分 3 组(< 4 cm、4 ~ 6 cm、> 6 cm), 分别比较 IL-13R α 2 和 PCNA 的 IOD 值无明显差异(表 1)。

2.3 IL-13R α 2 和 PCNA 表达的强度与患者预后的关系

依据随访条件, 本组共随访成功 36 例患者, 目前均已死亡, 比较生存时间 \leq 6 月和 > 6 月患者 IL-13R α 2 IOD 值差异有统计学意义, 而 PCNA IOD 值无统计学意义(表 1)。

2.4 IL-13R α 2 和 PCNA 表达强度间的相关性分析

以 PCNA 的 IOD 值为 X 轴, 以 IL-13R α 2 的 IOD 值为 Y 轴做散点图(图 2), 行线性相关分析, 相关系数 $r = 0.653$ ($P = 0.000$), 恶性胶质瘤 IL-13R α 2 和 PCNA 的表达呈高度正相关。

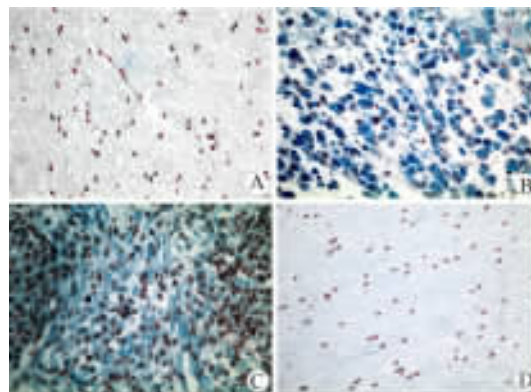


图 1 免疫组织化学法检测恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 的表达(SABC, $\times 400$)

Fig. 1 Expression of IL-13R α 2 in malignant glioma tissues as detected by immunohistochemistry (SABC, $\times 400$)

A: Astrocytoma (WHO I grade); B: Glioblastoma (WHO IV grade); C: Medulloblastoma (WHO IV grade); D: Normal brain tissue (negative control)

表 1 恶性胶质瘤组织中 IL-13R α 2 和 PCNA 的表达与临床病理特征的关系

Tab. 1 Expression of IL-13R α 2 and PCNA in malignant glioma tissues and its relationship with patients' clinical characteristics

Clinical characteristic	N	IL-13R α 2		PCNA	
		IOD	P	IOD	P
Tumor location					
Supratentorial	37	2.58 \pm 0.66	0.217	3.05 \pm 0.39	0.093
Subtentorial	6	2.91 \pm 0.61		3.33 \pm 0.17	
Tumor size					
< 4 cm	19	2.70 \pm 0.47	0.802	3.13 \pm 0.24	0.290
4 ~ 6 cm	14	2.55 \pm 0.95		2.97 \pm 0.54	
> 6 cm	10	2.59 \pm 0.49		3.20 \pm 0.21	
Pathological grade					
III	16	2.35 \pm 0.78	0.031	2.87 \pm 0.41	0.002
IV	27	2.79 \pm 0.52		3.22 \pm 0.29	
Survival time					
\leq 6 month	16	2.92 \pm 0.62	0.028	3.21 \pm 0.43	0.321
> 6 month	20	2.46 \pm 0.58		3.09 \pm 0.28	

3 讨论

研究^[8]发现人脑胶质瘤与许多细胞因子存在密切的关系, 包括 IL-4、IL-6、IL-10、IL-13 等, 这些细胞因子与相应受体结合后在胶质瘤的发生、发展

过程中起着重要的作用。IL-13 受体以复合物形式存在, 有 4 种组成成分(IL-4R α 、IL-2R γ 、IL-13R α 1 和 IL-13R α 2)和 3 种组成形式; 胶质瘤细胞上主要存在 I 型 IL-13R^[4]; 由 IL-4R α 、IL-13R α 1、IL-13R α 2 共同组成。目前研究^[1]发现, 胶质瘤细胞和正常胶

质细胞均存在 IL-4R α 和 IL-13R α 1 的阳性表达,两者表达强度无显著性差异,而胶质瘤细胞尤其是恶性胶质瘤细胞存在 IL-13R α 2 高表达,且与正常胶质瘤细胞差异显著,恶性程度越高其表达越强,提示 IL-13R α 2 可能在胶质瘤恶性增殖过程中起重要作用。

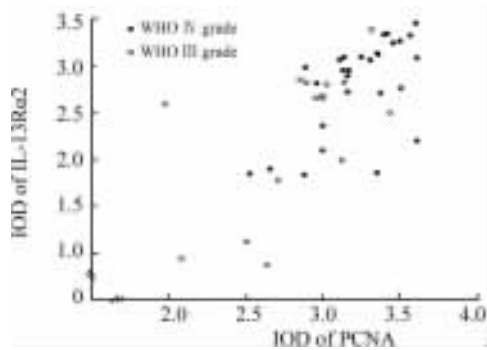


图2 恶性胶质瘤中 IL-13R α 2 和 PCNA 表达的相关性分析
Fig. 2 Correlation between IL-13R α 2 expression with PCNA expression in malignant glioma tissues

本组结果中 WHO IV 级胶质瘤细胞 IL-13R α 2 的 IOD 值高于 III 级胶质瘤细胞,两者比较有显著性差异。据此认为,在恶性胶质瘤临床病理诊断相对困难的情况下,IL-13R α 2 表达强度检测有助于明晰其诊断。研究还发现,IL-13R α 2 的表达强度与肿瘤部位和肿瘤大小并无明显联系(P 均 > 0.05)。PCNA 是反映肿瘤的恶性增殖活性较为良好的指标之一,本组同样分析发现在恶性胶质瘤中它们的表达呈明显正相关($r = 0.653, P = 0.000$),说明 IL-13R α 2 同样在某种程度上可以反映胶质瘤的增殖活性。对此,Kawakami 等^[9]研究发现在正常的胶质细胞和脑胶质瘤细胞中,IL-4 和 IL-13 通过和由 IL-4R α 、IL-13R α 1 组成的二聚体结合激活 Jak-STAT6 信号转导途径,防止胶质细胞的有丝分裂并最终导致胶质细胞生长的停止。而 IL-13R α 2 可能通过阻碍 IL-4、IL-13 依赖的信号转导途径的活化而导致胶质瘤的恶性增殖。Rahaman 等^[10]的研究表明,IL-13R α 2 的确能够抑制 IL-4、IL-13 依赖的信号转导途径的活化,其作用机制是其短的胞内区能够与 IL-4R α 结合而阻断 IL-13 与由 IL-4R α 、IL-13R α 1 组成的二聚体结合后激活的信号转导途径。另外,IL-13R α 2 由于缺乏进行信号转导的能力因此被认为是一种诱骗性受体,它与 IL-13 高亲和力结合而竞争性抑制 IL-13 与 IL-13R α 1 结合后激活的信号转导途径。这些均说明 IL-13R α 2 通过阻断 IL-4、IL-13 介导的信号转导途径而导致了胶质瘤的恶性增殖。

IL-13R α 2 目前被认为是判断胶质瘤患者预后

的一项良好的指标。本研究中随访成功的 36 例患者目前均已死亡,对比生存时间 ≤ 6 个月和 > 6 个月 IL-13R α 2 表达强度有着显著性的差异,前者高于后者,说明 IL-13R α 2 可以在某种程度上帮助判断胶质瘤患者的预后,其表达越强患者预后越差。

本研究初步探讨了恶性胶质瘤组织 IL-13R α 2 表达的临床意义,相信随着对此研究的不断深入,必将为阐明恶性胶质瘤的病因、发病机制提供有力的依据,而针对此膜受体进行免疫靶向治疗和基因治疗也必将大大改善恶性胶质瘤患者的预后。

[参考文献]

- [1] Joshi BH, Plautz GE, Puri RK. Interleukin-13 receptor alpha chain: a novel tumor-associated transmembrane protein in primary explants of human malignant gliomas [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(5): 1168-1172.
- [2] Debinski W, Gibo DM, Hulet SW, *et al.* Receptor for interleukin 13 is a marker and therapeutic target for human malignant gliomas [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(5): 985-990.
- [3] Donaldson DD, Whitters MJ, Fitz LJ, *et al.* The murine IL-13 receptor alpha 2: molecular cloning, characterization, and comparison with murine IL-13 receptor alpha 1 [J]. *J Immunol*, 1998, 161(5): 2317-2324.
- [4] Oshima Y, Joshi BH, Puri RK. Conversion of interleukin-13 into a high affinity agonist by a single amino acid substitution [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(19): 14375-14380.
- [5] 陈腾, 吴承远, 王建刚, 等. 增殖细胞核抗原在脑胶质瘤中的表达 [J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(11): 1014-1015.
- [6] 张福林. 神经系统肿瘤的 WHO(1999)分类 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2001, 27(2): 153-154.
- [7] Kawakami M, Kawakami K, Kasperbauer JL, *et al.* Interleukin-13 receptor alpha 2 chain in human head and neck cancer serves as a unique diagnostic marker [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(17): 6381-6388.
- [8] 胡永生, 张庆林, 田志刚, 等. TH1/TH2 类细胞因子在脑胶质瘤中的不平衡表达及其意义 [J]. *中国医学科学院学报*, 2001, 23(6): 594-598.
- [9] Kawakami K, Taguchi J, Murata T, *et al.* The interleukin-13 receptor alpha 2 chain: an essential component for binding and internalization but not for interleukin-13-induced signal transduction through the STAT6 pathway [J]. *Blood*, 2001, 97(9): 2673-2679.
- [10] Rahaman SO, Sharma P, Harbor PC, *et al.* IL-13R(alpha)2, a decoy receptor for IL-13 acts as an inhibitor of IL-4-dependent signal transduction in glioblastoma cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(4): 1103-1109.

[收稿日期] 2009-07-07

[修回日期] 2009-08-25

[本文编辑] 王莹