

◆ 中枢神经影像学

Correlation of intraoperative ultrasonography and immunohistochemical markers expression in glioma

YU Haige¹, HE Wen^{1*}, CHENG Linggang¹, JIN Zhanqiang¹,LIU Mengze¹, WEI Shiji¹, LI Haijin²

(1. Department of Ultrasound, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University,

Beijing 100050, China; 2. Department of Ultrasound, Beijing Haidian Section of

Peking University Third Hospital, Beijing 100080, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between intraoperative ultrasonographic features and expression of immunohistochemical markers in patients with glioma. **Methods** Totally 116 patients with glioma confirmed pathologically were collected. Ultrasonic features were observed, including the main site of the tumor, maximum diameter, border, cystic degeneration, calcification, the degree of peritumoral edema and CDFI blood flow classification, and the correlation between ultrasonographic features and immunohistochemical results such as Ki-67 and isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) was analyzed. **Results** Univariate analysis showed that the border, peritumoral edema and CDFI blood flow were significantly different between negative and positive Ki-67 expression patients ($P < 0.01$). The border, cystic degeneration and peritumoral edema were distinct between negative and positive IDH1 patients ($P < 0.01$). Multivariate analysis showed that gliomas with clear border, high degree of peritumoral edema and rich CDFI blood flow tended to show positive Ki-67 expression, while those with vague border, low degree of peritumoral edema were frequently accompanied by positive IDH1 expression. **Conclusion** The border of gliomas, peritumoral edema and blood flow showed on ultrasonography may predict the expression of Ki-67 and IDH1. It is of great significance for preliminary evaluation on biological behaviors and prognosis of the tumors before surgical operation.

[Key words] Glioma; Intraoperative ultrasound; Ki-67 antigen; Isocitrate dehydrogenase 1; Immunohistochemistry

DOI:10.13929/j.1003-3289.201711091

胶质瘤术中超声表现与免疫组化分子 标记物表达的相关性

余海歌¹, 何文^{1*}, 程令刚¹, 金占强¹, 刘梦泽¹, 魏世纪¹, 李海欣²

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 北京 100050;

2. 北京大学第三医院海淀院区超声科, 北京 100080)

[摘要] **目的** 探讨脑胶质瘤术中超声声像图特征与免疫组化分子标记物的相关性。**方法** 收集经手术病理证实的 116 例胶质瘤患者的资料, 分析其声像图特征(肿瘤主要部位、最大径、边界、囊变、钙化、瘤周水肿程度及 CDFI 血流分级)与免疫组化分子标记物 Ki-67、异柠檬酸脱氢酶 1(IDH1)表达的相关性。**结果** 单因素分析显示, 肿瘤边界、瘤周水肿及 CDFI 血流分级在 Ki-67 阴性与阳性患者间, 肿瘤边界、囊变、瘤周水肿在 IDH1 阴性与阳性患者间差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。多因素分析显示, 边界清晰、瘤周水肿程度高、CDFI 血流丰富的胶质瘤 Ki-67 阳性率高, 边界模糊、瘤周水

[基金项目] 国家自然科学基金(8173000716)、中国医师协会科技新星计划(2017003)、北京市属医院科研培育计划(PX2018021)。

[第一作者] 余海歌(1992—), 女, 河南汝州人, 在读硕士, 医师。研究方向: 血管超声及颅脑术中超声。E-mail: yuhaige92@163.com

[通信作者] 何文, 首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 100050。E-mail: hewen168@sohu.com

[收稿日期] 2017-11-19 **[修回日期]** 2018-03-29

肿程度低的胶质瘤 IDH1 阳性率高。**结论** 超声声像图显示脑胶质瘤患者肿瘤边界、瘤周水肿程度及 CDFI 血流对 Ki-67、IDH1 的表达有预测价值,对术前初步判断肿瘤生物学行为及远期预后具有重要意义。

〔关键词〕 胶质瘤;术中超声;Ki-67 抗原;异柠檬酸脱氢酶 1;免疫组织化学

〔中图分类号〕 R445.1; R739.41 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1003-3289(2018)06-0831-05

胶质瘤是神经上皮组织来源肿瘤,也是最常见的原发性颅内肿瘤^[1]。手术切除是治疗胶质瘤最主要的方法^[2]。术中超声方便灵活、实时诊断、可重复性好,可清晰显示颅内占位的位置、大小及其与正常脑组织的分界,成为术中不可或缺的工具,术后可准确定位,术后可显示肿瘤残余^[3],且二维超声结合 CDFI 可对胶质瘤进行初步分级^[4]。目前已知不同分子表达与肿瘤多样化的预后和生物学行为密切相关。本研究旨在探讨胶质瘤术中超声表现与 Ki-67、异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase, IDH1) 等分子标记物表达的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2016 年 5 月—2017 年 6 月我院经手术病理证实且术中超声和免疫组化资料完整的 116 例胶质瘤患者的资料,男 72 例,女 44 例,年龄 28~75 岁,平均(49.2±14.9)岁;主要临床症状为头晕、头痛、视力减退、肢体活动障碍、记忆力下降等。

1.2 仪器与方法 术中超声检查采用日立 Aloka α7 和 α10 超声诊断仪,扇形凸阵探头,频率 3~6 MHz。术中将探头表面消毒并覆以耦合剂置于无菌套中,经硬脑膜外或直接置于脑组织表面,多切面多方位扫查,记录肿瘤主要部位(病变主体所在部位)、大小、边界、瘤周水肿、囊变、钙化及 CDFI 血流情况。根据肿瘤最大切面上的最大径,将肿瘤分为<3 cm、3~5 cm 及>5 cm。以肿瘤最大切面上肿瘤边缘距水肿边缘的最远距离为标准,参考 Schoenegger 等^[5]的方法评价瘤周水肿程度:≤2 cm 为轻度水肿,>2 cm 为重度水肿。以肿瘤内部无回声为有囊变,将强回声判定为钙化。

依照 Adler 血流分级法,将血流分为 0~3 级^[6]。

1.3 免疫组化 于有代表性的肿瘤区域取样切片。将细胞核染为棕黄或棕褐色定义为 Ki-67 阳性细胞。在高倍镜下随机选取 5 个视野,计数阳性细胞数,并据此对 Ki-67 标记指数 (labeling index, LI) 进行分级:LI<10% 为阴性(-),LI≥10% 为阳性,

其中 10%≤LI<25% 为弱阳性(+),25%≤LI<50% 为阳性(++),LI≥50% 为强阳性(+++)。

IDH1 测序结果显示,突变者 132 号密码子中间碱基由 G 变为 A,突变型为阳性(+),未突变者为阴性(-)。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计分析软件,两组间计数资料比较采用 Pearson χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析;将有统计学意义的因素采用二元 Logistic 回归处理,计算比值比 (odds ratio, OR),以确定影响 Ki-67、IDH1 表达的预测因子。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料 116 例胶质瘤均位于幕上,其中额叶 38 例,颞叶 31 例,顶叶 22 例,枕叶 12 例,岛叶 10 例,脑室内 3 例。其中胶质母细胞瘤 40 例,少突胶质细胞瘤 18 例,星形细胞瘤 23 例,少突星形细胞瘤 30 例,节细胞胶质瘤 5 例;WHO 分级 I 级 4 例,II 级 50 例,III 级 22 例,IV 级 40 例。

2.2 免疫组化 116 例患者中,103 例接受 Ki-67 分析,其中阳性 65 例(Ki-67 阳性组),阴性 38 例(Ki-67 阴性组);95 例接受 IDH1 分析,其中阳性 51 例(IDH1 阳性组),阴性 44 例(IDH1 阴性组)。见图 1、2。

2.3 Logistic 回归分析 单因素分析显示,肿瘤边界、瘤周水肿及 CDFI 血流分级在 Ki-67 阴性与阳性患者间差异均有统计学意义(P 均<0.01,表 1);Logistic 回归分析结果显示,肿瘤边界($P<0.01$)、瘤周水肿程度($P=0.01$)和 CDFI 血流($P<0.01$)均是 Ki-67 表达分级有意义的预测因子(表 2)。相关分析显示,Ki-67

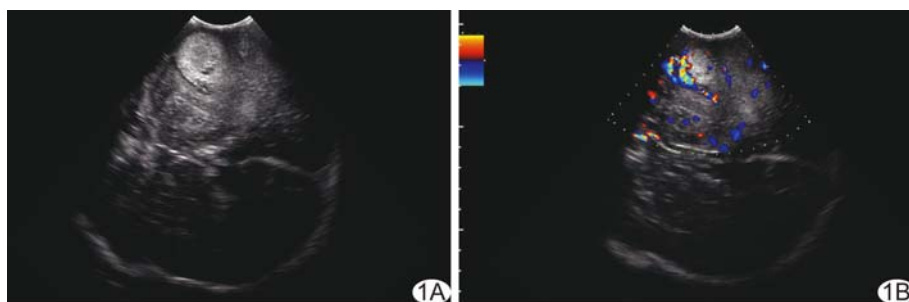


图 1 患者男,49 岁,胶质母细胞瘤(WHO IV 级),术后免疫组化:Ki-67 LI>50%(+++),IDH1 未突变(-) 术中声像图显示肿瘤边界清晰,瘤周水肿>3 cm (A),CDFI 血流分级 3 级(B)

表达程度与瘤周水肿程度($r=0.497, P<0.01$)和 CDFI 血流分级($r=0.439, P<0.01$)均呈正相关。

单因素分析显示,与 IDH1 表达有关的因素为边界、囊变和瘤周水肿程度(P 均 <0.01 ,表 1);Logistic 回归分析结果显示,肿瘤边界($P<0.01$)、瘤周水肿程度($P<0.01$)均为 IDH1 阳性有意义的预测因子(表 3)。

3 讨论

本研究结果显示,肿瘤边界、瘤周水肿程度、CDFI 血流分级在 Ki-67 阴性与阳性患者间及肿瘤边界、瘤周水肿程度在 IDH1 阴性与阳性患者间差异均有统计学意义(P 均 <0.01),且 Ki-67 表达程度与瘤周水肿程度和 CDFI 血流分级均呈正相关($P<0.05$),提示边界、瘤周水肿程度、CDFI 血流分级等征象可能对胶质瘤 Ki-67、IDH1 表达有一定预测意义。

即使是同级别同病理类型的肿瘤,患者预后也存在很大差异^[7]。目前判断胶质瘤的预后已不再单独依据组织病理学,而不同亚型之间临床治疗方案及预后差异较大^[8]。Ki-67 增殖指数与肿瘤的分化程度、浸润或转移及预后关系密切,是判断肿瘤预后的重要参考指标之一(I 级证据)。Ki-67 是一种细胞增殖核抗原^[9],在细胞增殖的各期(G1、S、G2 和 M)中均有表达,反映细胞增殖活跃程度,是影响患者预后的独立危险因素^[10];其高表达反映肿瘤浸润性强、病理级别高、恶性程度大及预后较差、生存期较短^[9,11]。IDH1 基因突变对于胶质瘤病理诊断、治疗选择和预后评估有重要意义(I 级证据)^[1]。IDH1 突变后的功能类似于肿瘤抑制基因^[12]。Chen 等^[13]分析近年 24 组定量随机对照试验、前瞻性 & 回顾性研究,发现在胶质瘤、尤其是高级别肿瘤患者中,无论手术治疗还是非手术治疗(放、化疗),IDH1 突变均预示

表 1 影响 Ki-67、IDH1 表达的单因素分析结果(例)

参数	Ki-67		χ^2	P 值	IDH1		χ^2	P 值
	阳性	阴性			阳性	阴性		
肿瘤主要部位			7.34	0.22			2.33	0.81
额叶	22	10			16	17		
颞叶	20	8			14	9		
顶叶	9	10			9	9		
枕叶	7	4			7	3		
岛叶	4	6			4	5		
脑室	3	0			1	0		
肿瘤最大径			3.29	0.19			2.82	0.24
<3 cm	12	6			6	9		
3~5 cm	26	22			28	17		
>5 cm	27	10			17	18		
肿瘤边界			10.49	<0.01			11.48	<0.01
清晰	42	12			17	30		
不清	23	26			34	14		
囊变			2.34	0.13			9.30	<0.01
有	21	7			6	17		
无	44	31			45	27		
钙化			1.32	0.42			3.12	0.12
有	3	4			6	1		
无	62	34			45	43		
瘤周水肿程度			12.22	<0.01			13.49	<0.01
轻度	39	35			45	24		
重度	26	3			6	20		
CDFI 血流分级			18.29	<0.01			5.42	0.14
1 级	9	15			16	6		
2 级	11	13			12	10		
3 级	14	4			10	9		
4 级	31	6			13	19		

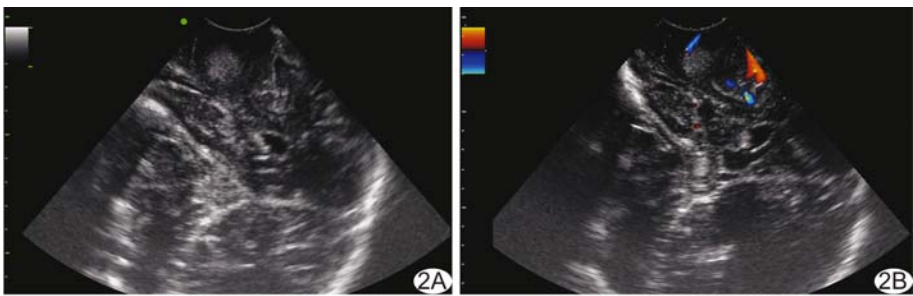


图 2 患者女,66 岁,胶质母细胞瘤(WHO IV 级),术后免疫组化:Ki-67 LI 10%(+),IDH1 突变(+),术中声像图示肿瘤边界不清,瘤周水肿<1 cm (A),CDFI 血流分级 0 级(B)

着较长的总生存期和无进展生存期。IDH1 突变患者对化疗也比未突变者更敏感。术中预测 Ki-67、IDH1 表达,对于评估肿瘤分化程度、生物学行为和预后以及完善手术策略具有重要意义。

表 2 Ki-67 阳性的多因素 Logistic 回归分析结果

参数	回归系数	标准误	χ^2 值	P 值	OR 值
肿瘤边界	-3.21	0.93	11.96	<0.01	0.04
瘤周水肿程度	1.81	0.70	6.60	0.01	6.10
CDFI 血流分级	0.65	0.21	9.19	<0.01	1.91

表 3 IDH1 阳性的多因素 Logistic 回归分析结果

参数	回归系数	标准误	χ^2 值	P 值	OR 值
肿瘤边界	3.15	0.80	15.52	<0.01	23.39
囊变	-1.07	0.59	3.31	0.07	0.34
瘤周水肿程度	-1.69	0.57	8.85	<0.01	0.19

MRI 上瘤周水肿、增强程度等特征与分子标记物的表达有关。严宁^[14]观察 42 例幕上单发胶质瘤 MRI 特点及免疫组化检测肿瘤标本 Ki-67、MGMT 表达情况,结果表明,Ki-67 表达水平与肿瘤囊变或坏死、高增强以及存在占位效应呈正相关。本研究中关于 Ki-67 阳性与 CDFI 血流分级呈正相关的结果与之相符,表明血流丰富程度可能是 Ki-67 表达较可靠的预测因子。本组结果提示,肿瘤边界、瘤周水肿分度也是有意义的预测因子,瘤周水肿 > 1 cm 者 Ki-67 阳性率 82.26%(51/62),而瘤周水肿 > 2 cm 者 Ki-67 阳性率高达 88.89%(24/27),且 Ki-67 表达程度与瘤周水肿分级也呈正相关,与洪宇等^[15]对 74 例胶质瘤患者 PTBE 和 Ki-67 表达相关性的研究结果相符。Schoenegger 等^[5]也认为有可能根据 MRI 上瘤周水肿程度独立预测高级别胶质瘤的预后。

由于开颅后脑脊液的释放和颅内压改变,术中超声对肿瘤占位效应尚无法评估,因而未能观察占位效应与 Ki-67 的相关性。本研究中肿瘤囊变在 Ki-67 表达阳性与阴性患者间差异无统计学意义,提示对于肿瘤囊变的预测价值有待进一步观察。另外,二维超声声像图对于非液化性坏死的判断效能有限,仅能准确识别囊变类坏死,对于坏死的预测价值还需借助 CEUS 等增强检查。

陈加贝等^[16]分析 198 例原发胶质母细胞瘤 MRI 特点及免疫组化检测肿瘤标本 IDH1、MGMT 表达情况,认为与胶质瘤 IDH1 阳性表达有关的因素为瘤周水肿分度、主要侵袭部位、肿瘤最大直径和 MRI 增强方式,且轻度瘤周水肿与 IDH1 阳性呈正相关。本研究中瘤周水肿至肿瘤边界最大距离 < 1 cm 的胶质瘤 IDH1 阳性率高达 78.95%(30/38),提示瘤周水肿程度可能是 IDH1 表达较可靠的预测因素。

本研究结果显示,CDFI 血流分级($P=0.14$)、肿瘤主要侵袭部位($P=0.81$)、最大径($P=0.24$)在 IDH1 阳性与阴性患者间差异无统计学意义,提示上述特征可能与 IDH1 表达无明显相关。CEUS 中的增强模式可能更准确地反映肿瘤血供程度及模式,从而提供更多信息。造成上述结果的原因也有可能在于样

本量不足等因素引起偏倚,有待进一步观察。

综上所述,术中超声声像图中瘤周水肿程度、边界和 CDFI 血流分级等征象与 Ki-67、IDH1 的表达具有相关性,对于术前初步判断肿瘤生物学行为、选择术中对策实施个性化治疗以及判断远期预后等具有重要辅助意义。

本研究不足:样本量较小,声像图特征不够全面,在今后的研究中可进一步引入 CEUS,联合应用多种影像学手段,加强对肿瘤坏死及微血流灌注的显示。

[参考文献]

- [1] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南(2012). 中华医学杂志, 2013, 93(31):2418-2449.
- [2] Yasargil MG, Kadri PA, Yasargil DC. Microsurgery for malignant gliomas. J NeuroOncol, 2004, 69(1):67-81.
- [3] 王立淑, 何文, 刘会昭, 等. 术中超声与病理评价颅脑胶质瘤切除程度的对照研究. 中华医学超声杂志(电子版), 2009, 6(3):43-46.
- [4] 杨红, 黄晓玲. 彩色多普勒超声在颅内胶质瘤分级及切除术中的价值研究. 中国超声医学杂志, 2009, 25(9):838-841.
- [5] Schoenegger K, Oberndorfer S, Wuschitz B, et al. Peritumoral edema on MRI at initial diagnosis: An independent prognostic factor for glioblastoma? Eur J Neurol, 2009, 16(7):874-878.
- [6] 李宏, 李德华, 胡波. 乳腺癌超声征象与 Ki67、p53 表达的相关性及临床意义. 中国临床医学影像杂志, 2015, 26(5):321-324.
- [7] Michaelis M, Baumgarten P, Mittelbronn M, et al. Oncomodulation by human cytomegalovirus: Novel clinical findings open new roads. Med Microbiol Immunol, 2011, 200(1):1-5.
- [8] Gupta K, Salunke P. Molecular markers of glioma: An update on recent progress and perspectives. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(12):1971-1981.
- [9] Hu X, Miao W, Zou Y, et al. Expression of p53, epidermal growth factor receptor, Ki-67 and O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase in human gliomas. Oncol Lett, 2013, 6(1):130-134.
- [10] Jin Q, Zhang W, Qiu XG, et al. Gene expression profiling reveals Ki-67 associated proliferation signature in human glioblastoma. Chin Med J (Engl), 2011, 124(17):2584-2588.
- [11] Zeng A, Hu Q, Liu Y, et al. IDH1/2 mutation status combined with Ki-67 labeling index defines distinct prognostic groups in glioma. Oncotarget, 2015, 6(30):30232-30238.
- [12] Zhao S, Lin Y, Xu W, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 α . Science, 2009, 324(5924):261-265.
- [13] Chen JR, Yu Y, Xu HZ, et al. Isocitrate dehydrogenase (IDH) 1/2 mutations as prognostic markers in patients with glioblastomas. Medicine (Baltimore), 2016, 95(9):e2583.

- [14] 严宁. 幕上单发胶质瘤磁共振影像学特点与 Ki-67、MGMT 的相关性研究. 福州: 福建医科大学, 2016: 19-21.
- [15] 洪宇, 郑勇, 吴永刚, 等. 胶质瘤周水肿、病理级别、Ki-67 表达

- 三者相关性研究. 国际肿瘤学杂志, 2015, 42(3): 165-168.
- [16] 陈加贝. GBM 个体化手术切除及分子标记物与磁共振影像的相关性研究. 广州: 南方医科大学, 2015: 23-25.

Intraoperative ultrasonographic features of craniopharyngioma:

Case report

颅咽管瘤术中超声表现 1 例

苟泽辉, 彭玉兰

(四川大学华西医院超声诊断科, 四川 成都 610041)

[Key words] Ultrasonography; Craniopharyngioma

[关键词] 超声检查; 颅咽管瘤

DOI: 10.13929/j.1003-3289.201708080

[中图分类号] R739.41; R445.1 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2018)06-0835-01

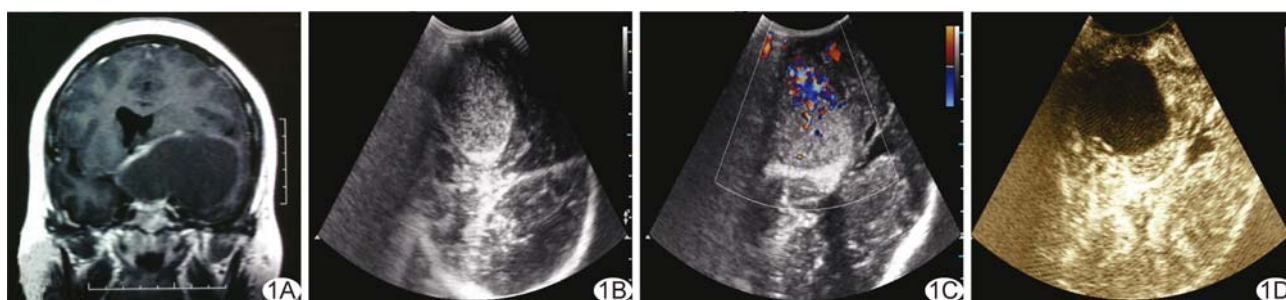


图 1 颅咽管瘤切除术患者 A. 术前 MRI; B. 术中灰阶超声; C. 术中 CDFI; D. 术中 CEUS

患者女, 38 岁, 主因“头痛 10 天”入院。10 天前无明显诱因出现头痛, 呈持续性胀痛, 1 天前头痛症状加重, 伴恶心、呕吐数次。入院查体: 体温 36.7℃, 心率 107 次/分, 呼吸 20 次/分, 血压 97 mmHg/70 mmHg; 精神差, 右侧肢体肌力 4 级。MRI 提示鞍上池区、第三脑室、左侧颞部巨大肿物(图 1A)。遂行颅内肿瘤切除术。术中超声: 于左侧翼点手术骨瓣区距离软脑膜 1.0 cm 处见大小 7.2 cm×4.0 cm、边界清楚、形态规则的稍强回声包块(图 1B), 其内回声不均匀并可见细密点状回声沉积, 轻微抖动探头, 可见包块内呈飘雪样运动; CDFI 示包块见闪烁花色信号(图 1C); 经头静脉团注射造影剂后, 可见包块周围脑组织呈明显强化, 包块内持续无强化(图 1D)。术中见病变呈囊性, 位于左侧颞叶、基底核及鞍区, 大小 6.0 cm×7.0 cm×6.0 cm, 囊内为淡黄色液体, 内有固醇样结晶, 深及前颅底, 与视

神经、颈内动脉、对侧动眼神经等粘连。病理诊断: 左侧颞叶及基底核占位, 颅咽管瘤(craniopharyngioma, CP; 造釉细胞型)。

讨论 CP 是一种颅内实体瘤或囊-实性混合肿瘤, 起自于沿鼻咽至间脑连线上的 Rathke 囊的残余部分, 好发于第三脑室以下、鞍区以上范围, 其内部可形成大小不一的囊腔, 囊液成分主要为角蛋白、鳞状上皮碎屑、胆固醇等, 多呈机油状。本例为单囊腔 CP, CEUS 表现为整体稍强回声, CDFI 表现为花色闪烁伪像。术中超声可准确区分正常脑组织与病变区域: 正常脑组织通常表现为脑回样排列的等回声及低回声区, CDFI 可见其内血流信号, CEUS 可进一步显示其微循环; 病变区域表现为边界清楚、与周边相邻脑室不连通的囊性结构, 病变内无血流供应, CDFI 及 CEUS 表现为边界清晰、无血流信号、无造影剂充填区域。此外, 通过术中超声, 可避开功能区在软脑膜表面选择与肿瘤最近的点进行标记定位, 指导手术操作角度及深度, 最大限度避免神经损伤, 切除尽可能多的肿瘤。当肿瘤由多个囊腔组成或囊腔内存在不相通分隔时, 关闭术区前复查超声非常必要。

[第一作者] 苟泽辉(1983—), 男, 云南昭通人, 学士, 医师。

E-mail: hellogzh@qq.com

[收稿日期] 2017-08-31 [修回日期] 2018-03-22