

拓扑异构酶 II 在 81 例脑胶质瘤中的表达及意义

阴鲁鑫 徐伟文 许 儒 张 奇 陈 洋

摘 要 **目的** 探讨拓扑异构酶 II (TOP II) 在 81 例不同级别脑胶质瘤中的表达及相关性, 分析其与 81 例胶质瘤临床病理因素的相关性, 探究其在 81 例胶质瘤中的临床价值。**方法** 收集 81 例术后免疫组化包含 TOP II 的胶质瘤患者临床病理资料和随访情况。采用 χ^2 检验分析 TOP II 在 81 例不同级别脑胶质瘤中表达差异, TOP II 与 81 例不同分级胶质瘤的关联性用 Spearman 等级相关分析法检验, 采用 χ^2 检验探讨 TOP II 表达与临床特征之间的关系, 采用 COX 回归分析探究影响 81 例胶质瘤的预后因素。**结果** TOP II 在 81 例胶质瘤组织中阳性表达率为 69.14%。TOP II 在 II 级、III 级、IV 级脑胶质瘤中表达存在差异, 提示与脑胶质瘤病理分级相关 ($P < 0.05$)。TOP II 表达在 81 例不同病理分级胶质瘤中呈正相关 ($r = 0.644, P = 0.000$)。TOP II 表达与胶质瘤患者年龄、病理级别、术前 KPS 评分和 IDH1 表达有关。TOP II 阳性表达是影响胶质瘤预后的重要因素。**结论** 81 例胶质瘤患者 TOP II 呈高表达, 与脑胶质瘤病理分级相关, 在不同病理分级胶质瘤中呈相关关系, 且 TOP II 表达与胶质瘤患者年龄、病理级别、术前 KPS 评分和 IDH1 表达有关, 可作为判断胶质瘤恶性程度及预后的生物学指标。

关键词 胶质瘤 拓扑异构酶 II 预后

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.02.018

Expression and Significance of TOP II in 81 Cases of Glioma. YIN Luxin, XU Weiwen, XU Ru, et al. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu 221000, China

Abstract **Objective** To investigate the expression and correlation of TOP II in 81 cases of different grades of glioma, analyze the correlation between TOP II and clinicopathological factors of glioma, and explore its clinical value in glioma. **Methods** The clinicopathological data and follow-up status of 81 patients with glioma including TOP II were collected after immunohistochemistry. Chi-square test was used to analyze the differences in the expression of TOP II in different grades of glioma. The correlation between TOP II and 81 gliomas of different grades of glioma was tested by Spearman's rank correlation analysis. Chi-square test was used to explore the relationship between TOP II expression and clinical characteristics. COX regression analysis was used to explore the prognostic factors of glioma. **Results** The positive expression rate of TOP II in 81 cases of glioma tissue was 69.14%. The expression of TOP II in grade II, III, and IV glioma was different, indicating that it was related to the pathological grade of glioma ($P < 0.05$). TOP II expression was positively correlated in different pathological grades of 81 gliomas ($r = 0.644, P = 0.000$). TOP II expression was related to the age, pathological grade, preoperative KPS score and IDH1 expression of patients with glioma. The positive expression of TOP II is an important factor affecting the prognosis of glioma. **Conclusion** The expression of TOP II is high in 81 patients with glioma, which is related to the pathological grade of glioma. TOP II has a certain correlation in different pathological grades of glioma, and the expression of TOP II is related to the age, pathological grade, preoperative KPS score and IDH1 expression of patients with glioma, and can be used as biological indicators for judging the malignancy and prognosis of glioma.

Key words Glioma; Topoisomerase II; Prognosis

神经胶质瘤是一种起源于神经胶质细胞的颅内肿瘤, 是最常见的原发性颅内肿瘤。全球每年有近 10 万名新诊断患者^[1]。WHO 将胶质瘤分为 4 级, 4 级又称胶质母细胞瘤, 是人类所有类型肿瘤中预后最

差的一种。其高致残率和病死率严重影响人们的生活质量, 威胁人们的生命^[2]。在诊断出恶性胶质瘤的成年人中, 超过 2/3 的人在诊断后 2 年内死亡^[3]。目前人脑胶质瘤采用的是手术切除、辅助放化疗和免疫治疗的综合方法^[4,5]。由于易侵犯相邻组织, 瘤体常与邻近组织界限不清, 全切难度高, 易再发等特点, 脑恶性肿瘤的治疗始终是人类医学史上的一个重大挑战。因此基因检测与治疗成为当今世界研究胶质瘤的热门话题。研究表明拓扑异构酶 II (topoisomer-

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目 (2015M571821)

作者单位: 221000 徐州医科大学附属医院神经外科 (阴鲁鑫、许儒、张奇、陈洋), 康复科 (徐伟文)

通信作者: 陈洋, 电子邮箱: 1415499422@qq.com

ase II , TOP II) 作为肿瘤标志物,与胶质瘤发生、发展密切相关,提示其表达与恶性程度与预后相关^[6]。本研究采取回顾性分析,研究拓扑异构酶II在不同级别脑胶质瘤中的表达及相关性,分析其与胶质瘤临床病理因素的相关性,并探讨 TOP II 在胶质瘤中的临床价值。

材料与方法

1. 材料:收集 2015 年 10 月 ~ 2017 年 12 月徐州医科大学附属医院脑外科胶质瘤标本 81 例,其标本结果已经由病理科证明。标本均为第 1 次在笔者医院行手术取得。标本中男性患者 44 例,女性患者 37 例,患者年龄 11 ~ 74 岁,平均年龄为 52.65 ± 13.11 岁。低恶度胶质瘤(WHO II 级) 28 例(34.57%),包括少突胶质细胞瘤 9 例、星形细胞瘤 19 例;高恶度胶质瘤(III ~ IV 级) 53 例(65.43%),包含间变性星形细胞瘤 16 例、胶质母细胞瘤 37 例。

2. 试剂与方法:即用型鼠抗人 TOP II 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司, DAB 显色剂、EDTA pH 8.0 修复液、PBS 缓冲液、二抗均购自罗氏诊断产品上海有限公司。标本常规 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,4μm 厚连续切片,分别行 HE 及免疫组化 Envision 法染色,染色步骤按步骤说明书严格进行。PBS 代替一抗做阴性对照。

3. 免疫组化评判标准:结果由两位有经验的病理医师阅片后,取得一致意见得出,且所有指标只看肿瘤细胞,以肿瘤周围正常脑组织为内对照。免疫组化染色结果以细胞膜、质、核中分别存在粗细一致的棕黄色颗粒为阳性。TOP II 阳性为核表达,每张切片计数所有 TOP II 阳性细胞数/肿瘤细胞总数,为 TOP II 的百分比,采用染色判定标准:阳性肿瘤细胞数 ≥ 5% 为表达“+”。

4. 统计学方法:应用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析,采用 χ^2 检验分析 TOP II 在不同级别脑胶质瘤中表达差异, TOP II 与不同分级胶质瘤的关联性用 *Spearman* 等级相关分析法检验, χ^2 检验探讨 TOP II 表达与临床特征之间的关系,影响胶质瘤预后因素用 *COX* 回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. TOP II 在 81 例不同病理分级胶质瘤中的分布: TOP II 在胶质瘤组织中染色定位主要于细胞核(图 1), 81 例胶质瘤标本中表达阳性有 56 例,其表达率占 69.14%。在选取的 81 例脑胶质瘤标本中, TOP

II 表达阳性在病理级别 II 级、 III 级和 IV 级所占比例分别为 25.00%、87.50% 和 94.59%,其表达阳性率随着肿瘤病理级别的增高呈现出上升的趋势, χ^2 检验分析, TOP II 在 II 级、 III 级和 IV 级胶质瘤中分布比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 TOP II 表达与胶质瘤分级有关。经 χ^2 检验分析, TOP II 表达在胶质瘤病理级别 II 和 III 级、 II 和 IV 级之间比较,差异均有统计学意义($P < 0.001$),详见表 1。

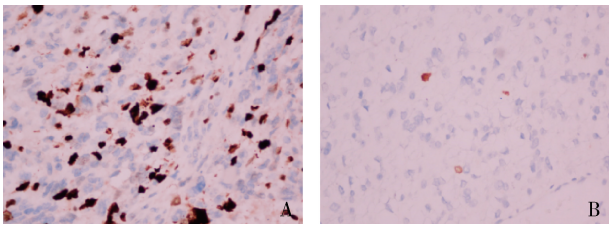


图 1 TOP II 在胶质瘤中表达(Envision 法, × 400)
A. 胶质瘤组织中 TOP II 阳性; B. 胶质瘤组织中 TOP II 阴性

表 1 TOP II 表达与 81 例脑胶质瘤患者各项
临床因素的比较[n (%)]

项目	n	TOP II		χ^2	P
		+	-		
年龄(岁)				15.202	<0.001
>45	59	48(81.36)	11(18.64)		
≤45	22	8(36.36)	14(63.64)		
性别				0.582	0.445
男性	44	32(72.73)	12(27.27)		
女性	37	24(64.86)	13(35.14)		
病理分级				39.329	<0.001
II 级	28	7	21		
III 级	16	14	2		
IV 级	37	35	2		
病理级别				39.065	<0.001
低	28	7(25.00)	21(75.00)		
高	53	49(92.45)	4(7.55)		
术前 KPS 评分(分)				11.082	0.001
≥80	62	37(59.68)	25(40.32)		
<80	19	19(100.00)	0(0.00)		
IDH1 表达				28.622	<0.001
+	30	10(33.33)	20(66.67)		
-	51	46(90.20)	5(9.80)		

2. TOP II 表达与 81 例不同病理分级胶质瘤的关联性:采用 *Spearman* 秩相关分析法分析 TOP II 表达与不同病理分级胶质瘤的相关性, TOP II 表达在 81 例不同病理分级肿瘤中呈正相关($r = 0.644$, $P = 0.000$)。

3. TOP II 表达与 81 例脑胶质瘤临床病理特征的相关性: TOP II 表达与各项临床因素之间的关系,按

照年龄、性别、病理分级、高低病理级别、术前 KPS 评分、IDH1 表达,进行分组分析,分析结果详见表 1,在所选的 81 例脑胶质瘤患者,年龄 >45 岁的 TOP II 阳性表达率为 81.36%,年龄 ≤45 岁阳性表达率为 36.36%;男性患者中阳性表达率为 72.73%,女性患者中阳性表达率为 64.86%;其中 28 例低级别胶质瘤患者中 TOP II 阳性表达 7 例(25%),53 例高级别胶质瘤患者中阳性表达 49 例(92.45%);62 例术前 KPS 评分 ≥80 分患者中 TOP II 阳性表达 37 例(59.68%),19 例术前 KPS 评分 <80 分患者中阳性表达 19 例(100%);30 例 IDH1 表达阳性患者中 TOP II 阳性表达 10 例(33.33%),51 例 IDH1 表达阴性患者中 TOP II 阳性表达 46 例(90.20%),经 χ^2 检验分析表明,年龄 >45 岁、高病理分级、术前 KPS 评分 <

80 分、IDH1 阴性表达者中 TOP II 阳性表达率分别高于年龄 ≤45 岁、低病理分级、术前 KPS 评分 ≥80 分、IDH1 阳性表达者($P < 0.05$),而性别比较差异无统计学意义($P = 0.445$)。

4.81 例脑胶质瘤预后影响因素的 COX 回归分析:患者出院后,每隔 5 个月对患者或其家属进行定期随访,随访截止时间为 2020 年 8 月。依据年龄、性别、病理级别高低、术前 KPS 评分、术后是否行辅助治疗、TOP II 表达、IDH1 表达分组,结果显示,病理级别、术前 KPS 评分、术后辅助治疗、TOP II 表达和 IDH1 表达对 81 例胶质瘤患者术后生存期限影响较大($P < 0.05$),而年龄、性别对术后生存期影响较小($P > 0.05$),详见表 2。

表 2 影响 81 例胶质瘤术后生存期的 COX 回顾分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95% CI
年龄	0.186	0.519	0.129	0.720	1.205	0.435 ~ 3.335
性别	0.020	0.296	0.004	0.947	1.020	0.571 ~ 1.821
病理级别	1.809	0.738	6.006	0.014	6.104	1.437 ~ 25.938
术前 KPS 评分	-0.644	0.316	4.145	0.042	0.525	0.282 ~ 0.976
术后辅助治疗	-0.972	0.397	5.988	0.014	0.378	0.174 ~ 0.824
TOP II 表达	1.357	0.657	4.264	0.039	3.884	1.071 ~ 14.080
IDH1 表达	-2.908	0.876	11.018	0.001	0.055	0.010 ~ 0.304

讨 论

胶质瘤是最常见的脑肿瘤类型,恶性胶质瘤具有极高的致死性,患者的 5 年生存率不到 10%^[7]。胶质瘤包括源于星形胶质细胞、室管膜细胞和少突胶质细胞或脉络丛的肿瘤,其中星形细胞瘤是最常见的。星形细胞瘤,起源于星形细胞,可以是局限性或弥漫性的。局限性星形细胞瘤包括毛细胞性星形细胞瘤、多形性黄色星形细胞瘤和室管膜下巨细胞星形细胞瘤。弥漫性星形细胞瘤包括低级纤维星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑胶质瘤病和多形性胶质母细胞瘤^[8]。胶质瘤是成人脑肿瘤中预后较差的一种^[9]。脑胶质瘤也是所有儿科实体瘤中最常见和最致命的。迄今为止,脑部恶性肿瘤的治疗始终是人类医学史上的一个重大挑战,这在很大程度上是由于这些癌症的生物学特性导致的。然而,脑胶质瘤的发生、进展、具体侵袭机制尚不是完全清楚。但有研究发现,胶质瘤的发生、进展是一个极其繁杂的经过,涉及多种途径及因素,其中包含多个细胞因子及癌症基因的共同作用,其中一些具有诊断及影响预后的作用^[10]。近年来,随着分子生物学、分子遗传学的发展及分子诊断、

免疫组化等技术的兴起,有关肿瘤增殖、诊断和预后的分子标志物逐渐被发现,如拓扑异构酶 II 等。

拓扑异构酶是种同源二聚体蛋白,在复制、转录、重组、修复和染色质重塑过程中调节 DNA 螺旋的上旋或下旋^[11,12]。这些酶通过提供短暂的 DNA 断裂来执行拓扑转换,通过该断裂可以解决由于 DNA 螺旋的展开和重绕而导致的 DNA 纠缠的独特问题^[13]。根据它们是否在 DNA 中造成瞬时单链或双链断裂,分为 I 和 II 两类^[14]。目前 TOP II 在人体细胞内是普遍存在的酶,在许多基本的 DNA 过程中发挥重要作用。它们通过在双螺旋的糖磷酸主链上产生短暂的断裂来消除遗传物质中的结和缠结。由于 II 型拓扑异构酶在其催化循环中产生 DNA 链断裂是必不可少的,所以它们在每次起作用时都有可能产生基因组断裂。因此,这些酶对增殖细胞的生存至关重要。

根据研究报道, TOP II 在胶质瘤中呈高表达,不同病理级别脑胶质瘤细胞中表达阳性率不同,随着病理级别的升高而升高^[15]。研究表明, TOP II 表达与男女性别因素无关,与高低病理分级有关,在高病理分级脑癌中的表达要显著高于低病理分级的脑癌,同

时认为 TOP II 可作为人脑胶质瘤的增殖指数^[16]。通过检测 TOP II 在脑胶质瘤细胞中的表达情况发现, TOP II 的表达与脑癌病理分级有关,提示 TOP II 能作为评价胶质瘤生存的相关指标^[6]。本研究结果表明,男女性别差异对 TOP II 表达影响较小,年龄、病理分级和术前 KPS 评分对 TOP II 表达影响较大;TOP II 在胶质瘤组织中阳性表达率为 69.14%,在病理级别 II 级、III 级和 IV 级所占比例分别为 25.00%、87.50% 和 94.59%,其表达强度随着肿瘤恶性程度的升高而升高,在低度与高度恶性组之间的表达水平也有较大差异;TOP II 表达与肿瘤恶性程度呈正相关,且与胶质瘤预后有关,可见 TOP II 与胶质瘤患者病情及预后呈正相关,提示 TOP II 表达可能通过某种未知的机制促使胶质瘤进一步恶性转化,同时可作为评价胶质瘤恶性程度及预后的重要指标之一。

分析 TOP II 表达预后不良的原因,可能与细胞增殖活化有关。通常来说,肿瘤增殖活化与生存有着紧密联系,增生能力越强,其病理分级越高,生存期也越短。TOP II 是 DNA 复制、转录和细胞生长必需的,在增殖迅速的肿瘤中活性升高,提示其与肿瘤的增殖能力有关。研究显示, TOP II 在细胞周期的 S 期、G₂ 期、M 期、部分 G₀ 期和 G₁ 期均有表达,且与 Ki-67 表达有较高的关联性, Ki-67 作为一种增殖抗原,具有体现肿瘤增殖潜能水平的能力,故认为 TOP II 可作为人脑胶质瘤的增殖指数^[17]。此外,有研究指出, TOP II 家族通过调节靶基因和参与能量代谢介导肿瘤细胞缺氧耐受而促进靶基因蛋白 survivin 表达,进而提高肿瘤侵袭性^[18]。这与本研究结果大致相符,然而具体机制尚需开展深入的基础研究予以证实。

综上所述, TOP II 在胶质瘤中呈高表达,在不同级别胶质瘤中分布不同,提示与病理分级及预后相关,且 TOP II 表达与年龄、病理级别、术前 KPS 评分和 IDH1 表达有关,因此,临床可通过检测 TOP II 的表达,实现对胶质瘤患者病情严重程度及预后的评估。

参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- Wang H, Xu T, Huang Q, *et al.* Immunotherapy for malignant glioma: current status and future directions[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41(2): 123-138
- Zhang Y, Yu X, Chen L, *et al.* EZH2 overexpression is associated with poor prognosis in patients with glioma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 565-573
- Kong Z, Yan C, Zhu R, *et al.* Imaging biomarkers guided anti-angiogenic therapy for malignant gliomas[J]. *Neuroimage Clin*, 2018, 20: 51-60
- Delgado-Lopez P, Corrales-García E, Martino J, *et al.* Diffuse low-grade glioma: a review on the new molecular classification, natural history and current management strategies[J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(8): 931-944
- 李炜. MGMT、GST- π 、TOP-II 在脑胶质瘤的表达及意义[D]. 保定: 河北大学, 2010
- Li S, Ding X. TRPC channels and glioma[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 976(14): 157-165
- Mohammadzadeh A, Mohammadzadeh V, Kooraki S, *et al.* Pretreatment evaluation of glioma[J]. *Neuroimag Clin North Am*, 2016, 26(4): 567-580
- Reni M, Mazza E, Zanon S, *et al.* Central nervous system gliomas[J]. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 2017, 113: 213-234
- D'Haene N, Blanchard O, De Nève N, *et al.* How molecular biology can improve the clinical diagnosis of gliomas? [J]. *Rev Med De Bruxelles*, 2016, 37(3): 152-158
- Norihiko N, Orié A, Masahiro E, *et al.* Casein kinase II-dependent phosphorylation of DNA topoisomerase II suppresses the effect of a catalytic topo II inhibitor, ICRF-193, in fission yeast[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(10): 3772-3782
- Emma B, Silvia S, Elisabetta B, *et al.* Multiple topoisomerase I (Topo I), topoisomerase II (Topo II) and tyrosyl-DNA phosphodiesterase (TDP) inhibitors in the development of anticancer drugs-Sciencedirect[J]. *Eur J Pharmaceut Sci*, 2020, 156: 105594
- Qin SY, Yuan YM, Hu X, *et al.* Structural, mechanistic and functional insights into topoisomerase II[J]. *Shengli Xuebao: Acta Physiol Sin*, 2016, 68(1): 98-106
- Maxwell A, Bush NG, Evans-Roberts K. DNA topoisomerases[J]. *Ecosal Plus*, 2015, 6(2): 1-34
- 孙彦辉, 张亚卓, 王忠诚, 等. DNA 拓扑异构酶在人脑胶质瘤中的表达及与患者生存期的关系[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(35): 8012-8014
- 孙淑清, 徐莉, 崔云, 等. 胶质瘤中 P170、MGMT、TOP 和 GST- π 的蛋白表达与化疗药物敏感性的研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2008, 24(7): 499-502
- 孙淑清, 李桂林, 苏玉金, 等. 脑胶质瘤中 P170、TOP II 表达与其增殖活性关系的研究[J]. *中国康复理论与实践*, 2008, 14(4): 349-351
- Cunha IW, Brot L, Carvalho KC, *et al.* Prognostication of soft tissue sarcomas based on chromosome 17q gene and protein status: evaluation of TOP2A, HER-2/neu, and survivin[J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(6): 1790-1799

(收稿日期: 2021-08-04)

(修回日期: 2021-09-24)