

论 著

脑胶质瘤瘤体及瘤周MRS、ADC值与p53的相关性研究

安徽省立医院南区影像中心
(安徽 合肥 230000)

刘 畅 季学兵 王堂娟

【摘要】目的 探讨脑胶质瘤瘤体与瘤周水肿区的相关代谢物磁共振表观弥散系数(ADC)值及氢质子磁共振波谱(¹H-MRS)物比值与p53基因突变表达的相关性及其应用价值。**方法** 2011年9月至2015年12月收集脑胶质瘤病人30例,术前均行常规MR扫描、¹H-MRS及DWI扫描,术后对瘤体及瘤周组织进行p53基因突变表达的检测;对比分析瘤体及瘤周感兴趣区主要代谢产物N-乙酰天门冬氨酸(NAA)、胆碱(Cho)、肌酸(Cr)比值及ADC值与相应肿瘤组织p53基因突变表达的相关性。**结果** (1)胶质瘤瘤体及瘤周Cho/NAA比值与p53基因突变表达呈正相关($r=0.621$, $P=0.012$; $r=0.421$, $P=0.022$);胶质瘤瘤体Cho/Cr比值与p53基因突变表达呈正相关($r=0.901$, $P=0.019$);(2)胶质瘤瘤周水肿区Cho/Cr比值与p53基因突变表达不相关($P=0.431$);瘤体及瘤周NAA/Cr比值与p53基因突变表达均不相关($P=0.912$, $P=0.742$);(3)胶质瘤瘤体ADC值与p53基因突变表达呈负相关($r=-0.792$, $P=0.014$);瘤周ADC值与p53基因突变表达不相关($P=0.291$)。**结论** DWI检查及氢质子磁共振波谱(¹H-MRS)检查均可以准确反应脑胶质瘤p53基因突变表达的情况,其中Cho/NAA比值的诊断价值最高,应用这些指标可以准确的评价胶质瘤恶性基因突变表达的生物学行为。

【关键词】 胶质瘤;表观弥散系数;氢质子磁共振波谱;p53

【中图分类号】 R445.2; R739.41

【文献标识码】 A

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.11.009

通讯作者:季学兵

The Correlation of ¹H-MRS, ADC Value and Mutation of p53 Gene in Brain Gliomas and Peritumoral Edema Region

LIU Chang, JI Xue-bin, WANG Tang-juan. Department of Radiology, Hospital of Anhui Provincial, Hefei 230000, Anhui Province, China

[Abstract] Objective To investigate the correlation of ¹H-MRS, ADC value with mutation of p53 gene in brain gliomas and peritumoral edema region, which could improve application values. **Methods** Between September 2011 and December 2015, the MR scanning, ¹H-MRS, and DWI were conventionally performed before the operations in 30 patients with gliomas diagnosed by the postoperative pathological examination. Postoperative mutation of p53 gene was detected in parenchyma region. N-acetyl aspartic acid (NAA), choline (Cho), creatine (Cr), which were main metabolic products in the glioma parenchyma and peritumoral edema region, The correlativity of Cho/NAA, Cho/Cr, NAA/Cr and ADC with P53 expression in tumor was analyzed. **Results** (1) The Cho/NAA ratio was positively correlated with the mutation of p53 gene in brain gliomas and peritumoral edema region ($r=0.621$, $P=0.012$, $r=0.421$, $P=0.022$), the Cho/Cr ratio was positively correlated with the mutation of p53 gene in brain gliomas ($r=0.901$, $P=0.019$). (2) The Cho/Cr ratio was not correlated with the mutation of p53 gene in peritumoral edema region ($P=0.431$). The NAA/Cr ratio was not correlated with the mutation of p53 gene ($P=0.912$, $P=0.742$) in brain gliomas and peritumoral edema region. (3) The ADC values was negatively correlated with mutation of p53 gene ($r=-0.792$, $P=0.014$). The ADC values was not correlated with mutation of p53 gene ($P=0.291$) in peritumoral edema region. **Conclusion** DWI examination and ¹H-MRS can effectively show the mutation of p53 gene in the glioma, especially Cho/NAA ratio is highest, these indicators could exactly evaluate mutation of p53 gene for glioma.

[Key words] Glioma; Apparent Diffusion Coefficient; Magnetic Resonance Spectroscopy; p53

胶质瘤起源于神经胶质细胞,是最常见的原发性脑肿瘤,约占全部脑肿瘤的40%~50%,其治疗与预后与其病理分级相关^[1],对胶质瘤p53基因突变做出准确的评价尤为重要。在临床工作中,常规磁共振成像为判断肿瘤的良恶性及肿瘤分级提供了一定的帮助。目前利用氢质子磁共振波谱技术可以测定脑组织和肿瘤组织的能量代谢、神经元破坏、细胞膜增殖及坏死等信息,实现对病变的定性甚至是定量的诊断^[2]。本研究旨在通过分析胶质瘤瘤体及瘤周水肿区的¹H-MRS代谢产物比值、ADC值与肿瘤细胞P53基因突变标记指数的相关性,探讨使分子影像学指标成为无创、活体评价胶质瘤瘤体P53基因突变表达的一项有力依据。

1 材料和方法

1.1 一般资料 收集2011年9月至2015年9月神经外科拟胶质瘤收诊病人,术前均行MRI平扫+增强扫描、¹H-MRS、DWI检查。排除患者外伤、颅内感染、胶质瘤术后放疗病史、病变坏死、囊变完全等情况,入组病人共30例,其中男性17例,女性13例;年龄18~69岁,平均42.7岁。

1.2 MR检查

1.2.1 检查顺序:采用飞利浦3.0T磁共振成像系统,16通道相阵

线圈。常规MRI平扫结束后,行DWI检查;再行增强扫描,最后进行¹H-MRS检查。对比剂使用钆双胺注射液。

1.2.2 常规扫描序列及参数:包括T2WI(T2W-TSE, TRA, 层厚5mm, 间隔1mm。TR/TE 2178ms/80ms, 体素0.68 mm×0.55mm, NSA1); T1WI(3D-T1FFE, TRA, 层厚5mm, 间隔1mm, TR/TE 230ms/2.3ms, 翻转角10°, 体素0.82 mm×0.65mm, NSA3), 扫描FOV为240mm×240mm。

1.2.3 DWI扫描序列及参数:采用单次激发自回波-回波平面成像序列。TR/TE 4200ms/72.3ms, 层厚5mm, 间距1mm, 扫描FOV为240mm×240mm, 矩阵192×192, 梯度因子b选用0、1000s/mm², NSA4。

1.2.4 ¹H-MRS扫描序列及参数:采用点分辨表面线圈法。扫描参数:TR/TE 2000ms/144ms, 自动匀场, NSA4。根据常规增强图像,选取病变最大直径层面作为定位层面,选取感兴趣区,避免来自头皮、骨骼、脂肪、脑脊液、病灶出血等的干扰。

1.2.5 数据处理¹H-MRS选取多个感兴趣区(ROI为15mm×15mm×15mm)放置于肿瘤实性部分(取肿瘤强化程度最大的区域),计算出代谢物N-乙酰天门冬氨酸(NAA2.02ppm)、肌酸(Cr3.02)、胆碱(Cho3.22)等物质代谢物参数值,并计算出Cho/NAA、Cho/Cr、NAA/Cr比值,选取三组基线平稳的ROI并计算平均值作为最终各代谢产物的相对值及比值。DWI选取相同层面的感兴趣区,获得ADC图。

1.3 病理学检查

1.3.1 标本获取与组织学检查:切取1个肿瘤实性部分及2-3个瘤周水肿带行甲醛固定,石蜡包埋切片,常规HE染色并进行免

疫组化法测定p53蛋白表达。

1.3.2 p53染色结果的判定:肿瘤细胞的细胞核褐黄色染色者为阳性细胞。每张切片均在高倍(200倍)显微镜下随机选择5个视野,计数每个视野下100个细胞,数出阳性细胞个数,以百分数表示p53基因阳性表达标记指数率(Labeling index, LI), LI=(阳性细胞数计数/细胞总数)×100%。

1.4 统计学分析 采用SPSS13.0统计软件包,对数据进行正态检验和方差齐性检验;胶质瘤瘤体及瘤周¹H-MRS各代谢物比值、ADC值及p53各指标间比较采用两独立样本t检验;各波谱代谢物比值与p53标记的相关性采用pearson相关性检验;以P<0.05为差异显著。

2 结果

2.1 胶质瘤瘤体及瘤周p53蛋白染色结果 具研究表明, p53在正常脑组织不表达或少量表达, 本研究中30例胶质瘤瘤周p53 LI为(9.23±2.71)%, 而胶质瘤瘤体区p53 LI为(46.32±6.94)%(图1-3)。

2.2 胶质瘤瘤体及瘤周Cho/NAA、Cho/Cr、NAA/Cr比值、ADC值、p53标记差异性比较 30例胶质瘤瘤体区的代谢物波谱Cho/NAA、Cho/Cr、NAA/Cr比值、ADC值、p53标记结果比较, 差异均具有统计学意义(表1, 图4-5)。

2.3 胶质瘤瘤体区Cho/NAA、Cho/Cr、NAA/Cr比值和ADC值与胶质瘤瘤体区p53突变基因表达的相关性 pearson相关性分析显示

(1)胶质瘤瘤体及瘤周Cho/NAA比值与p53基因突变表达呈正相关(r=0.621, P=0.012; r=0.421, P=0.022)(图6-7); 胶质瘤瘤体Cho/Cr比值与p53基因突变表达呈正相关(r=0.901, P=0.019)(图8); (2)胶质瘤瘤周水肿区Cho/Cr比值与p53基因突变表达不相关(P=0.431); 瘤体及瘤周NAA/Cr比值与p53基因突变均不相关(P=0.912, P=0.742)。 (3)胶质瘤瘤体ADC值与p53基因突变呈负相关(r=-0.792, P=0.014)(图9); 瘤周ADC值与p53基因突变表达不相关(P=0.291)。

3 讨论

肿瘤的发生、发展是多因素、多基因、多阶段综合作用的结果, 其中原癌基因与抑癌基因对细胞周期及凋亡通路调节的失控是细胞癌变的主要原因。p53是目前公认与人类多数肿瘤密切相关的抑癌基因, 分为野生型和突变型^[3], 野生型p53是抑癌基因, 而突变型却参与致癌作用。在高度恶性肿瘤中p53基因突变的频率很高, 提示p53基因突变是肿瘤恶性进展的一个信号。野生型p53作用机制包括调控细胞周期, 对于有DNA损伤的细胞, 使细胞停滞于G1期而不能进入S期, 促使DNA修复, 或把逃过G1期的DNA损伤的细胞停滞于G2期而不能进入M期, 诱导有DNA损伤的细胞凋亡, 具有显著的细胞周期负调控作用^[4]; 突变p53不能有效激活p53下游的DNA损伤应激反应, 进而失去了肿瘤抑制功能, 且突变型p53还具有获

表1 胶质瘤瘤体P53标记结果、波谱代谢物比值、ADC值比较

	胶质瘤瘤体 (n=30)	瘤周 (n=30)	t值	P值
Cho/NAA	2.922 ± 0.516	1.560 ± 0.412	6.632	0.000
NAA/Cr	0.614 ± 0.124	1.311 ± 0.102	-7.925	0.000
Cho/Cr	2.296 ± 0.324	1.442 ± 0.125	4.765	0.000
ADC	1.453 ± 0.134	1.632 ± 0.435	-4.650	0.000
P53	46.32% ± 6.94%	9.23% ± 2.71%	17.32	0.000

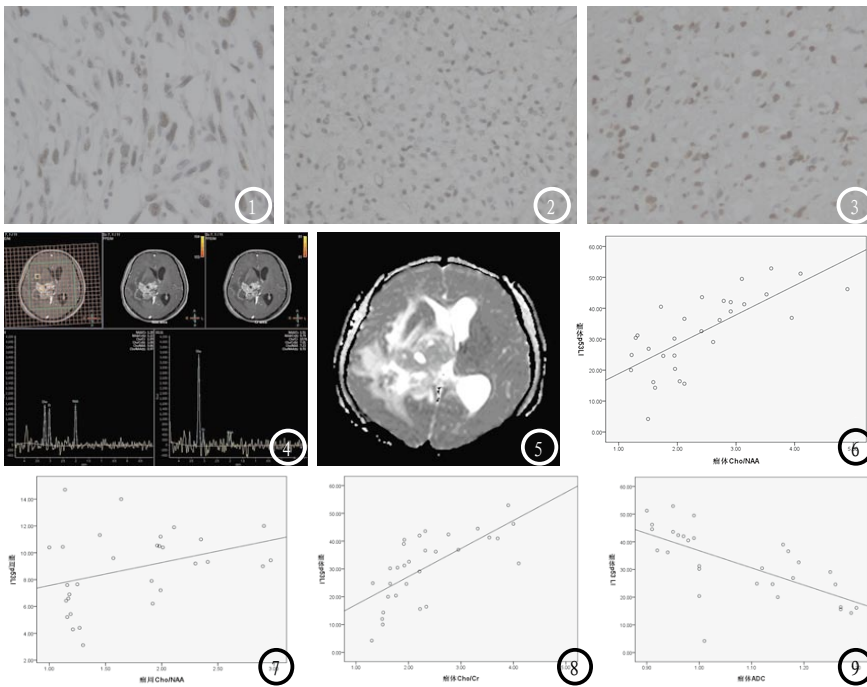


图1 显示肿瘤细胞密集, 细胞大小不等, 核浓染, 细胞异型性显著, 核分裂象易见 ($\times 200$)。 **图2** 瘤体区细胞密集, p53染色呈棕褐色 ($\times 200$)。 **图3** 瘤周水肿区的肿瘤细胞密度较瘤体区低 ($\times 200$)。 **图4** 肿瘤及瘤周T1W增强横断定位图, 扫描野包含肿瘤区、瘤周水肿区及正常组织参照区; 瘤周水肿区波谱代谢图显示NAA峰及Cr峰下降幅度低于肿瘤区, Cho峰上升, 幅度低于肿瘤区; 肿瘤区波谱代谢图显示NAA峰及Cr峰下降明显, Cho峰上升明显。 **图5** ADC图显示肿瘤实体区呈等信号, 肿瘤水肿区呈高信号。 **图6** 胶质瘤瘤体区Cho/NAA比值与P53基因突变表达呈正相关 ($r=0.621$, $P=0.012$)。 **图7** 胶质瘤瘤周Cho/NAA比值与P53基因突变表达呈正相关 ($r=0.421$, $P=0.022$)。 **图8** 胶质瘤瘤体区Cho/Cr比值与P53基因突变表达呈正相关 ($r=0.901$, $P=0.019$)。 **图9** 胶质瘤瘤体区ADC值与P53基因突变呈负相关 ($r=-0.792$, $P=0.014$)。

得性功能, 通过抑制p53的活性和诱导一些异常基因的表达来促进肿瘤的发生^[5]。突变后的p53基因, 稳定性增加, 半衰期延长, 能够用免疫组化的方法检测, 所以一般认为免疫组化检测组织中的p53蛋白与突变型p53基因是一致的^[6]。

本实验中胶质瘤瘤体及瘤周突变型p53蛋白表达存在差异性, Wishchhusen认为脑胶质瘤的进展与p53基因突变细胞的克隆性增殖及分化程度有关^[7], 提示p53参与了脑胶质瘤发生发展, 是其预后不良的指标之一, 另有学者报道p53与胶质瘤复发和预后密切相关, 可以作为判断肿瘤发生、发展和预后的肿瘤标志物^[8]。

DWI的ADC值能够反映组织水分子的运动情况, 肿瘤水分子运动取决于肿瘤细胞结构, 肿瘤细胞密度越高, 生长越旺盛, 生物膜结构对水分子扩散的限制作用越明显^[9], ADC值缩小; 而瘤周细

胞结构松散, ADC值增加。多位学者^[10]研究报道了ADC值对于治疗前胶质瘤进行分级, 本实验中瘤周ADC值显著高于瘤体ADC值, 与p53标记指数的相关性进行研究, 结果是胶质瘤瘤体ADC值与p53呈负相关 ($r=-0.792$, $P=0.014$), 胶质瘤瘤周ADC值与p53不相关 ($P=0.291$)。p53蛋白表达的增加, 表明了瘤体肿瘤细胞数目增多, 使水分子弥散受到限制; 而瘤周水肿区主要是的产生以血管源性为主, 是血脑屏障破坏的结果, 部分恶性胶质瘤易沿脑白质神经纤维束及血管周围呈浸润性生长, 因此普遍认为恶性胶质瘤瘤周水肿带除单纯血管源性水肿外还有肿瘤细胞浸润, 至于恶性胶质瘤瘤周水肿带的ADC值是否与p53相关, 还有待今后大宗病例进一步研究。

MRS是人体组织在活体的情况下获得的生化信息, 是一种功能和分子成像技术, 可以反映肿

瘤细胞的活性及其代谢状态^[11]。主要包括以下几种重要的代谢产物, 即Cho、Cr、NAA。Cho参与细胞膜磷脂合成, 反映细胞膜的转换。肿瘤细胞浸润, 细胞膜合成加速, 可使Cho峰升高, 通常认为是恶性肿瘤的标志物^[12]。NAA仅存在于神经元内, 是神经元存在活性的标志^[13], 它在体内的浓度反映神经元的功能情况和神经元细胞的完整性。一些研究表明NAA是脑渗透的调节物, 这意味着NAA的变化是可逆的。Cr反映能量代谢, 被认为是脑内相对恒定的^[14], 在大多数病理情况下不发生改变。

胶质瘤病理分级是由细胞核的异型性、核分裂活跃、细胞密度增高、血管内皮细胞增生和坏死决定的^[15-16], 与p53相关性最高。随着p53突变细胞的不断增殖, 这些细胞达到足以维持肿瘤高度恶性的表型, 使肿瘤细胞从低度恶性向高度恶性转化, 代表恶性肿瘤的标志物的Cho与p53具有明显的正相关性。本实验的结果是瘤体区Cho/NAA、Cho/Cr比值与p53正相关, 肿瘤区Cho值上升来源于肿瘤浸润增殖, NAA降低来源于肿瘤细胞破坏所致的神经元数量减少。Cho/NAA比值既无Cr值在病理环境中可能下降对结果的影响, 也排除了单纯胶质增生或神经元功能受损而不是肿瘤浸润对结果的影响。瘤周Cho/Cr比值与p53不相关, 这与Cho代谢物增加的原理符合, 而且瘤周水肿区环境复杂, 不能单纯反映肿瘤细胞的增加。而胶质瘤瘤体及瘤周NAA/Cr比值均与P53不相关, 可能与NAA数目减少及功能的缺失均可表现为NAA下降, 所以NAA下降在瘤体及水肿区没有特异性; 综上, 本实验结果认为Cho/NAA比值是能够较好反映胶质瘤瘤体及瘤周p53的波谱代谢物指标。

(下转第 91 页)