

## • 胸部影像学 •

## 胸腺瘤 MSCT 征象与 PCNA 及 MMP-2 表达的相关性

王丰, 李晓陵, 温颖, 姚家琪, 赵德利, 曹丹娜

**【摘要】 目的:**探讨胸腺瘤 MSCT 征象与增殖细胞核抗原(PCNA)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)在胸腺瘤组织中表达的相关性。**方法:**对 46 例胸腺瘤患者行 MSCT 平扫,其中 21 例行增强扫描,所有胸腺瘤标本行免疫组化 SP 法染色,分析 MSCT 征象与 PCNA、MMP-2 表达水平的相关性。**结果:**胸腺瘤 CT 征象中的病灶直径大于 10 cm,分叶征,病灶边缘不光滑,纵膈脂肪线消失,胸膜、心包及大血管侵犯,纵隔淋巴结、远处转移及病灶高强化程度与胸腺瘤组织 PCNA 及 MMP-2 的高表达具有显著相关性( $P<0.05$ )。**结论:**MSCT 征象能在一定程度上反映胸腺瘤的病理学特点,有利于术前无创地评估肿瘤生物学行为。

**【关键词】** 胸腺瘤;免疫组织化学;增殖细胞核抗原;基质金属蛋白酶 2;体层摄影术,X 线计算机

**【中图分类号】** R814.42; R736.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2012)04-0390-04

**Correlation of PCNA and MMP-2 expression with multi-slice spiral CT manifestations of thymoma** WANG Feng, LI Xiaoling, WEN Ying, et al. Department of Radiology, the First Clinical College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, P. R. China

**【Abstract】 Objective:** To investigate the correlation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-2) expression with multi-slice spiral CT (MSCT) manifestations of thymoma. **Methods:** Forty-six thymoma patients underwent MSCT scanning, 21 of them also had enhanced CT. All of the thymoma specimen had immunohistochemistry SP staining, the correlation of MSCT findings with PCNA and MMP-2 expression were studied. **Results:** Significant correlation was observed between high PCNA and MMP-2 expression with the following CT findings such as tumor diameter  $>10\text{cm}$ , lobulation, ill-defined margin, invasion of pleura, pericardium and great vessels within mediastinum and loss of mediastinal fat, distal/mediastinal lymph node metastases and marked enhancement ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Certain MSCT findings can reflect the pathology characteristics of thymoma, which might be served as a noninvasive modality for preoperative evaluation of thymoma.

**【Key words】** Thymoma; Immunohistochemistry; Proliferating cell nuclear antigen; Matrix metalloproteinase 2; Tomography, X-ray computed

胸腺瘤是常见的前纵隔肿瘤,是一种起源于胸腺上皮的肿瘤<sup>[1]</sup>。随着病程的进展,胸腺瘤具有局部外侵、复发和远处转移等生物学特性,故临床上一般认为该肿瘤属于低度恶性或具有潜在恶性倾向的肿瘤。MSCT 是诊断胸腺瘤较可靠的检查方式。增殖细胞核抗原(PCNA)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)是反映胸腺瘤生物学特性常用指标。PCNA 反映细胞增殖能力,细胞增殖动力学的变化与肿瘤的发生、发展以及恶性程度有密切的关系。细胞增殖能力的增加,导致细胞分裂次数的增多,使基因突变的机率增加;而大量基因突变的累积,使细胞容易发生癌变<sup>[2]</sup>。MMP-2 是基质金属蛋白酶(MMPs)家族成员之一,它的主要底物是Ⅳ型胶原,主要作用是降解细胞外基质,它能分解基底膜中的纤维连接蛋白和层粘连蛋白,因此它在肿瘤细胞突破基底膜屏障而浸润转移中起重要作用。笔

者通过分析胸腺瘤的 MSCT 征象与瘤组织中 PCNA、MMP-2 表达水平的相关性,探讨胸腺瘤影像学征象与其生物学行为的关系。

## 材料与方法

## 1. 临床资料

搜集 2005 年 1 月—2011 年 2 月经手术病理证实、资料完整的 46 例胸腺瘤患者的病例资料,其中男 31 例,女 15 例,年龄 17~76 岁,平均 51 岁。肿块大小  $1.0\text{ cm} \times 2.0\text{ cm} \sim 11.0\text{ cm} \times 18.5\text{ cm}$ ,平均  $5.5\text{ cm} \times 8.6\text{ cm}$ 。18 例有重症肌无力表现,吞咽困难 6 例,上腔静脉综合征 3 例,12 例有不同程度的声嘶、咳嗽、胸痛、气短、疲乏无力等,其中 2 例伴有单纯红细胞再生障碍性贫血,4 例无明显自觉症状,均在体检时发现。

## 2. CT 检查及免疫组织化学方法

CT 扫描设备为美国 GE Lightspeed VCT 64 层螺旋 CT 扫描仪,扫描参数:120kV,125mA,范围从

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学附属第一医院 CT 磁共振科(王丰、李晓陵、温颖、姚家琪、曹丹娜);150001 哈尔滨,哈尔滨医科大学附属第二医院影像科(赵德利)

作者简介:王丰(1974—),男,哈尔滨人,硕士,副主任医师,主要从事 CT、磁共振诊断及教学科研工作。

胸廓入口至横膈,层厚、层距为 5~10 mm,部分病例加用 1~3 mm 薄层扫描。其中 21 例行增强扫描,对比剂为欧乃派克(300 mg I/ml)60~100 ml,注射流率为 2.0~3.0 ml/s。在工作站进行血管重建和多平面重组(MPR),进一步显示胸腺瘤与纵隔血管的关系。由两位有经验的高年资放射科医师独立阅片,并记录观察数据。

免疫组化 SP 法染色:试剂 1 为 MMP-2 兔抗人多克隆抗体;试剂 2 为 PCNA 鼠抗人单克隆抗体;试剂 3 为免疫组化 SP 试剂盒;试剂 4 为 PBS(粉剂);其它包括二甲苯无水酒精苏木精等。以上试剂均购自北京中杉生物技术有限公司。

主要实验步骤:实验步骤按试剂盒说明书进行,取已知阳性切片作为阳性对照,以 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。组织切片的制作步骤将实验所需蜡块按常规方法连续切片,厚 4  $\mu$ m,在 40℃温水中捞片,裱于多聚赖氨酸处理的载玻片,80℃烤片 30 min。免疫组化染色采用链菌素抗生物素蛋白-生物素(Streptavidin-Peroxidase)免疫染色法。具体操作步骤:①脱蜡、水化组织切片;②3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 去离子孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶;③根据所应用的一抗的特殊要求,对组织切片进行预处理;④滴加一抗,4℃过夜,PBS 冲洗 2 min,冲洗 3 次;⑤滴加试剂 1,37℃孵育 20 min,PBS 冲洗 2 min,冲洗 3 次;⑥滴加试剂 2,37℃孵育 20 min,PBS 冲洗 2 min,冲洗 3 次;⑦应用 DBA 底物工作液显色;⑧自来水充分冲洗、复染、脱水、透明、封片。

免疫组化染色结果分析:PCNA 以细胞核出现棕黄色或黄色颗粒为阳性细胞。MMP-2 以细胞浆内出现黄色、棕黄色或棕褐色颗粒为阳性细胞。在 400 倍视野下连续选择 5 个视野,每个视野计数 200 个细胞,肿瘤细胞阳性细胞数<1%为阴性(-),阳性细胞数占 1%~25%为弱阳性(+),26%~50%为阳性(++),>50%为强阳性(+++)。根据 PCNA 及 MMP-2 表达的强度不同各将其分为两组:高表达组(++/+),低表达组(-/+).

以上结果判定由两位以上病理医师对免疫组化染色进行评价,出现争议性结论时由三名有经验的病理医师共同讨论决定。

3. 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计学软件,对胸腺瘤 CT 征象与 PCNA 及 MMP-2 表达强度的关系进行  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为具有显著相关性。

结 果

胸腺瘤 CT 征象与 PCNA、MMP-2 表达的关系见表 1。经统计学分析,胸腺瘤 CT 征象中病灶 $\geq 10$  cm 16 例,分叶征 26 例,病灶边缘粗糙 19 例,密度不均 18 例,纵膈脂肪线消失 25 例,胸膜、心包及大血管侵犯 15 例,纵膈淋巴结及远处转移 6 例,且以上征象均与 PCNA、MMP-2 的高表达有显著相关性。21 例增强病例中有 11 例肿瘤呈明显强化,其中 PCNA 阳性或强阳性表达有 10 例,MMP-2 阳性或强阳性表达有 11 例(图 1~7)。

表 1 胸腺瘤 CT 征象与 PCNA、MMP-2 表达的关系 (例)

| CT 征象       | PCNA |        | $\chi^2$ 值 | P 值   | MMP-2 |        | $\chi^2$ 值 | P 值   |
|-------------|------|--------|------------|-------|-------|--------|------------|-------|
|             | -/+  | ++/+++ |            |       | -/+   | ++/+++ |            |       |
| 病灶直径(cm)    |      |        |            |       |       |        |            |       |
| <10         | 18   | 12     | —          | —     | 19    | 11     | —          | —     |
| $\geq 10$   | 4    | 12     | 5.12       | <0.05 | 5     | 11     | 4.30       | <0.05 |
| 密度均匀        |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 是           | 18   | 10     | —          | —     | 18    | 10     | —          | —     |
| 否           | 5    | 13     | 5.84       | <0.05 | 7     | 11     | 2.85       | >0.05 |
| 分叶征         |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 有           | 6    | 20     | —          | —     | 8     | 18     | —          | —     |
| 无           | 13   | 7      | 8.19       | <0.01 | 14    | 6      | 6.97       | <0.01 |
| 边缘光滑        |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 是           | 18   | 9      | —          | —     | 18    | 9      | —          | —     |
| 否           | 6    | 13     | 5.50       | <0.05 | 4     | 15     | 9.29       | <0.01 |
| 纵膈脂肪线存在     |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 有           | 11   | 10     | —          | —     | 15    | 6      | —          | —     |
| 无           | 5    | 20     | 5.27       | <0.05 | 6     | 19     | 10.34      | <0.01 |
| 胸膜、心包及大血管侵犯 |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 有           | 1    | 14     | —          | —     | 0     | 15     | —          | —     |
| 无           | 19   | 12     | 12.27      | <0.01 | 18    | 13     | 14.30      | <0.01 |
| 纵膈淋巴结及远处转移  |      |        |            |       |       |        |            |       |
| 有           | 0    | 6      | —          | —     | 0     | 6      | —          | —     |
| 无           | 28   | 12     | 7.99       | <0.01 | 30    | 10     | 9.84       | <0.01 |

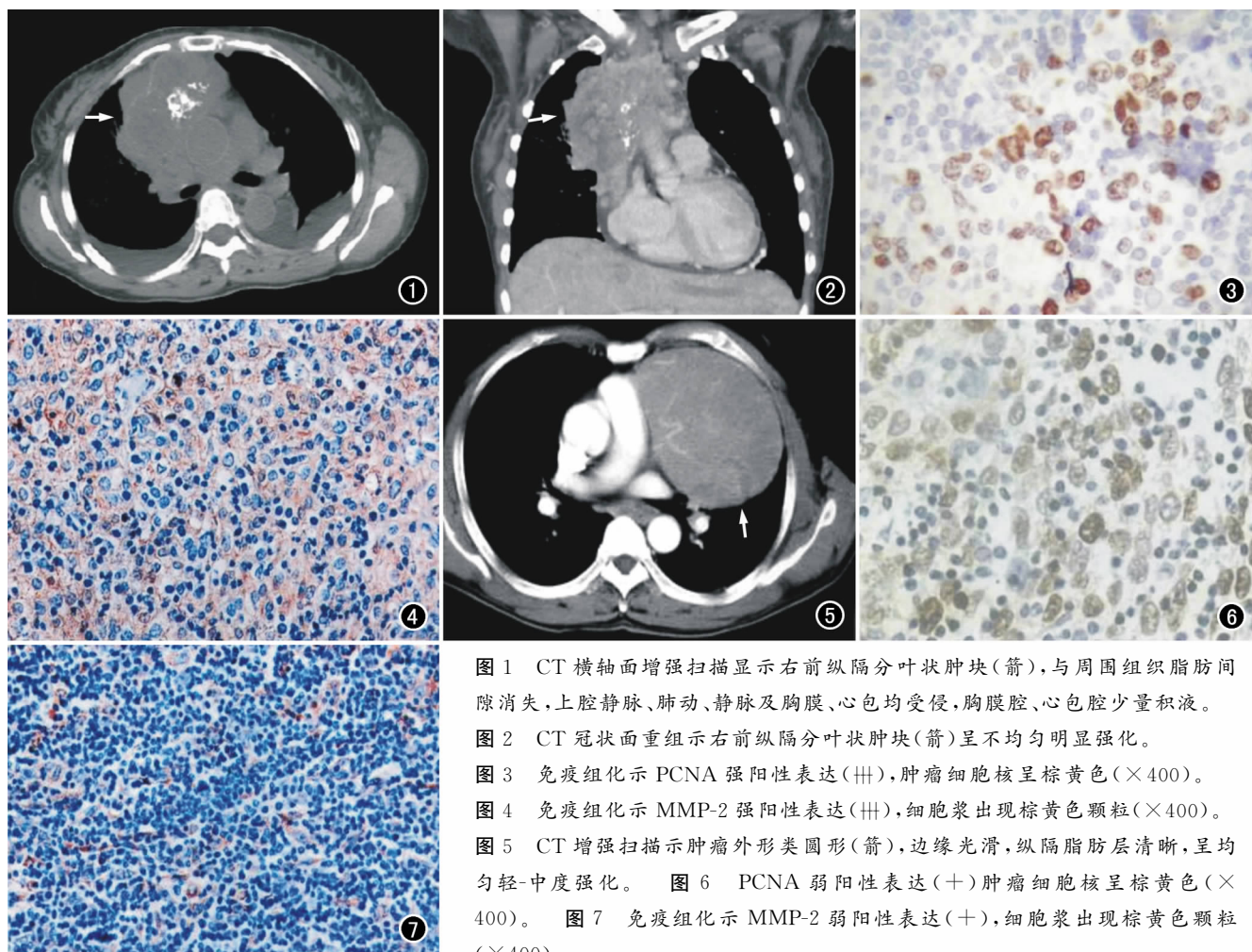


图 1 CT 横轴面增强扫描显示右前纵隔分叶状肿块(箭),与周围组织脂肪间隙消失,上腔静脉、肺动、静脉及胸膜、心包均受侵,胸膜腔、心包腔少量积液。  
图 2 CT 冠状面重组显示右前纵隔分叶状肿块(箭)呈不均匀明显强化。  
图 3 免疫组化示 PCNA 强阳性表达(+++),肿瘤细胞核呈棕黄色( $\times 400$ )。  
图 4 免疫组化示 MMP-2 强阳性表达(+++),细胞浆出现棕黄色颗粒( $\times 400$ )。  
图 5 CT 增强扫描示肿瘤外形类圆形(箭),边缘光滑,纵隔脂肪层清晰,呈均匀轻-中度强化。图 6 PCNA 弱阳性表达(+),肿瘤细胞核呈棕黄色( $\times 400$ )。图 7 免疫组化示 MMP-2 弱阳性表达(+),细胞浆出现棕黄色颗粒( $\times 400$ )。

## 讨 论

### 1. 胸腺瘤 PCNA、MMP-2 表达的研究状况

PCNA 是目前研究较多的一种反映细胞增殖能力的指标。PCNA 是一种细胞周期调节蛋白, DNA 聚合酶  $\delta$  的附属蛋白<sup>[3-4]</sup>, 其合成水平反映了细胞增殖率及 DNA 合成率, 并与多种细胞周期调节因子密切相关, 是目前肿瘤增殖活动研究中可靠的增殖期标志物。增殖细胞核抗原作为细胞增殖状态的理想标记物, 其表达状况可以反映胸腺瘤细胞的增殖活性。基质金属蛋白酶系统(MMPs)是恶性肿瘤侵袭和转移的重要标志, 然而此系统在胸腺上皮性肿瘤中的研究较少, MMP-2 是目前胸腺肿瘤中研究最多的基质金属蛋白酶。MMP-2 是 MMPs 中分子量较大的一种酶, MMP-2 基因位于人类染色体 16q21<sup>[5]</sup>, 由 13 个外显子和 12 个内含子组成, 结构基因总长度为 27kb。MMP-2 的主要功能是降解细胞外基质中的主要成分 IV 型胶原, 分解基底膜的主要成分血浆纤维连接蛋白和层粘蛋白, 与胸腺瘤的侵袭和转移能力有关。基质金属蛋白酶除了直接影响胸腺瘤细胞的转移, 还通过促进新生血管的形成来影响肿瘤的发展。因此 PC-

NA、MMP-2 是胸腺瘤增殖分化、侵袭和转移等恶性生物学行为的重要标志。本研究中所有的胸腺瘤 PCNA、MMP-2 均表达为阳性, 只是强弱有差别。

### 2. 胸腺瘤 CT 征象与 PCNA、MMP-2 表达的关系

肿瘤大小、密度: 研究中发现肿瘤直径  $\geq 10$  cm 与  $< 10$  cm 的 PCNA 和 MMP-2 表达差异有明显统计学意义,  $< 10$  cm 的胸腺瘤 PCNA、MMP-2 表达无明显差异, 而密度是否均匀与 PCNA 表达有相关性, 与 MMP-2 表达无明显统计学意义。这可能与胸腺瘤是一潜在、低度恶性肿瘤, 且病程缓慢有关, 但在 CT 征象与临床诊断上, 瘤体越大越趋向于按 WHO(1999) 胸腺肿瘤组织学分类诊断 B 型胸腺瘤和胸腺癌<sup>[6]</sup>, 尤其是肿瘤直径  $\geq 10$  cm 者, 肿瘤越趋向于恶性, 而肿瘤越大, 瘤组织中心部因缺血而导致囊性变、坏死, 显示为密度不均匀。可能肿瘤在 10 cm 左右时, 处于生长速度、浸润能力等恶性生物学行为发生转变的时期, 亦可能由于样本量低, 还有待于进一步研究。

分叶征和肿瘤边缘情况: 本研究中发现边缘不规则并有分叶征的胸腺瘤, 尤其是深分叶的肿瘤, 其 PCNA、MMP-2 表达水平明显高于无分叶征组 ( $P <$

0.01)。研究发现分叶征是由于肿瘤多核形成及相互融合或瘤体各部分生长速度不均衡而形成,还可由于肿瘤生长过程中受血管阻挡所致。也就是说分叶处即为肿瘤生长、浸润的前沿,所以有分叶征尤其是深分叶者肿瘤细胞的生长更为活跃,具有较强的增殖及浸润能力,肿瘤的生物行为呈高度恶性。本研究证实了此观点。

纵隔脂肪线存在与否:纵隔脂肪线存在与否与胸腺瘤 PCNA、MMP-2 表达无相关性,主要是因为纵隔脂肪线存在时,对于病理镜下显示的早期浸润,由于 CT 敏感性较差,不易显示早期浸润,从而出现假阴性<sup>[7]</sup>,但对于 CT 上表现为纵隔脂肪线大部分或完全消失的胸腺瘤,应考虑为 B 型胸腺瘤和胸腺癌,表明其已具备了侵袭性( $P<0.05$ )。

胸膜、心包及大血管侵犯:CT 主要表现为肿块与心脏大血管分界不清,增强扫描显示心脏大血管被推移、包绕或冻结,肿块与大血管接触面呈灌注型生长。肿瘤浸润纵隔胸膜及邻近肺野,肿块-肺接触面可见增厚呈尖角或锯齿征,胸膜种植表现为远隔胸膜区不规则软组织增厚或结节状突起,大多合并胸腔积液。本研究中 15 例表现为胸膜、胸壁、心包及大血管侵犯,其 PCNA、MMP-2 表达明显高于 31 例没有合并以上征象的胸腺瘤( $P<0.01$ )。有研究表明尖角或锯齿征是纵隔-肺受侵的可靠征象<sup>[8]</sup>,本研究结果与其相符。但对于仅在镜下显示的早期浸润,CT 敏感性较差。

纵隔淋巴结及远处转移:CT 表现为肺内或远处转移瘤,单发多发均有可能。本研究病例中有 6 例, B 型 4 例,胸腺癌 2 例,其与 PCNA、MMP-2 高表达有明显相关性。CT 上出现肺门、肺内远处转移征象时,则应考虑为胸腺癌,根据文献报道胸腺癌在侵袭方式上在周围浸润方面与 B 型胸腺瘤无明显差异,但更易发生远隔转移,生物学行为更具有恶性及侵袭性<sup>[9,10]</sup>。

胸腺瘤 CT 强化程度:本研究中强化越明显的胸腺瘤,PCNA、MMP-2 表达越高。因此,可以根据 CT 增强扫描的强化程度来推断肿瘤的侵袭性、转移及预

后情况。增强扫描强化越明显的病灶,恶性程度越高,其转移的可能性会比强化程度低的肿瘤高,预后也更差。胸腺瘤强化幅度增高可能与 MMPs 在血管形成中的作用相关,因为新生血管的形成必须降解基底膜,是内皮细胞增殖并穿过基底膜到达间质从而分化形成新的血管,在基底膜降解的同时,MMPs 有助于为新的血管提供空间。新生血管形成包括毛细血管内皮层下基底膜降解、内皮细胞迁移和增殖、新生血管的形成和新生基底膜的形成等一系列过程。体外实验表明,在血管形成与肿瘤转移的过程中,血管内皮细胞与肿瘤细胞均能分泌蛋白水解酶降解细胞外基质,而血管内皮细胞必须穿越基底膜才能形成新生血管,所以基质金属蛋白酶在此过程中具有重要作用。

#### 参考文献:

- [1] 陈迪,丁嘉安,计威廉,等.原发性纵隔肿瘤的外科治疗(附 101 例分析)[J]. 中华肿瘤杂志,1981,3(3):200-203.
- [2] Dworakowska D, Gozdz S, Jassem E, et al. Prognostic relevance of proliferating cell nuclear antigen and P53 expression in non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2002, 35(1):35-41.
- [3] Micheal BN, Robert MB, Rogert BF, et al. Identify of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin[J]. Nature, 1984, 309(5):374-376.
- [4] Bravo R, Frank R, Blundell PA, et al. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta[J]. Nature, 1987, 326(6112):515-517.
- [5] Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis[J]. J Pathol, 1999, 189(3):300-308.
- [6] 印洪林,吴剑平,周晓军,等. B1 型胸腺瘤 25 例临床病理研究[J]. 诊断病理学杂志, 2002, 9(1):9-11.
- [7] Richard RF, Williamw R. Thymoma: benign appearance, malignant potential[J]. Oncologist, 2006, 11(8):887-894.
- [8] 葛建立,王培军. CT 对恶性胸腺瘤诊断价值的探讨[J]. 实用放射学杂志, 1997, 13(12):735-737.
- [9] 李文波,白林,付凯,等. 恶性胸腺瘤 WHO 病理分类及其 CT 表现[J]. 医学影像学杂志, 2006, 16(5):463-465.
- [10] 李英,于铁链,李东,等. 胸腺上皮肿瘤 MSCT 影像与 WHO 组织学分型的对照分析[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(3):431-433.

(收稿日期:2011-05-20 修回日期:2011-09-06)