

垂体腺瘤中六氧-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶的表达及其与垂体腺瘤侵袭性的关系*

蒋小兵¹, 胡斌¹, 范翔¹, 何东升¹, 毛志钢¹, 陈沐², 朱永红², 王海军^{1△}

1. 广东省医学重点实验室 中山大学附属第一医院 神经外科 (广州 510080);

2. 广东省医学重点实验室 中山大学中山医学院 组织与胚胎学教研室 (广州 510080)

【摘要】 目的 通过检测垂体腺瘤中六氧-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)的表达,了解MGMT在不同类型垂体腺瘤中的表达水平及其与垂体腺瘤侵袭性的关系。方法 收集2011年10月至2012年8月在我院经病理证实的垂体腺瘤患者。采用免疫组织化学染色法检测肿瘤组织中MGMT的表达,并分析其不同类型、不同功能垂体腺瘤中的表达差异。结果 共138名患者纳入本研究,其中大部分病变为无功能瘤(71%)和垂体大腺或巨大腺瘤(92.8%);43例(31.2%)病变为侵袭性垂体腺瘤,12例为复发性垂体腺瘤(8.7%)。79例病变判断为MGMT低表达,其表达与患者的性别、年龄,垂体腺瘤的大小、是否复发或侵袭生长无明显相关。MGMT在泌乳素瘤中低表达率明显高于无功能瘤组($P=0.025$)和生长激素瘤组($P=0.043$)。结论 MGMT的表达与垂体腺瘤侵袭性、有无复发无明显相关;其在泌乳素瘤中的低表达率明显高于其它类型垂体腺瘤,提示替莫唑胺可能是难治性泌乳素瘤的另一治疗方案。

【关键词】 垂体腺瘤 MGMT 侵袭性

The Expression of MGMT in Pituitary Adenomas and its Association with Tumour Aggressiveness JIANG Xiaobing¹, HU Bin¹, FAN Xiang¹, HE Dong-sheng¹, MAO Zhi-gang¹, CHEN Mu², ZHU Yong-hong², WANG Hai-jun^{1△}. 1. Key Laboratory of Pituitary Adenoma in Guangdong Province, Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Key Laboratory of Pituitary Adenoma in Guangdong Province, Department of Histology and Embryology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

△ Corresponding author, E-mail: wzwxr_1995@yahoo.com.cn

【Abstract】 **Objective** To determine the expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) in pituitary adenomas and its association with tumour aggressiveness. **Methods** From October 2011 to August 2012, all the patients with pathologically confirmed pituitary adenomas in our hospital were recruited for this study. The expression of MGMT in the tumor tissues was detected with immunohistochemistry. **Results** A total of 138 (including 71 male) patients participated in this study. The majority of the participants had nonfunctional (71%) and macroadenomas (92.8%). Aggressive and relapsed pituitary adenomas accounted for 31.2% and 8.7% of the cases, respectively. Low MGMT expression was found in 79 cases. The MGMT expression had no significant associations with gender, age, aggressiveness and relapse of tumors. However, prolactinomas were more likely to have low MGMT expression than nonfunctional adenomas ($P=0.025$) and growth hormone adenomas ($P=0.043$). **Conclusion** The expression of MGMT has no associations with the aggressiveness and relapse of pituitary adenomas. Prolactinomas are more likely to have low expression of MGMT, which indicates that temozolomide might become an alternative treatment for aggressive and dopamine resistant prolactinomas.

【Key words】 Pituitary adenoma MGMT Aggressive

垂体腺瘤是颅内最常见的肿瘤之一,国外系统尸检及影像学提示,普通人群中垂体腺瘤的发生率高达16.7%^[1]。治疗方法主要包括手术、药物

及放射治疗,大多数患者可以获得理想的治疗效果,但仍有6%~12%的垂体腺瘤呈侵袭性生长^[2],治疗效果较差,亟需有效的治疗方法。

六氧-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)是评估替莫唑胺治疗高级别胶质瘤预后的主要指标。近年来,多篇文献报道,采用替莫唑胺治疗难治

* 教育部广东省产学研重点项目(No. 2011B090400219)和广东省自然科学基金(No. 10151008901000176)

△ 通讯作者, E-mail: wzwxr_1995@yahoo.com.cn

性垂体腺瘤和垂体腺癌,部分病例取得了较好的疗效^[3-5]。进一步研究发现,MGMT 的低表达与垂体腺瘤对替莫唑胺的敏感性正相关^[3-7]。目前,关于 MGMT 在垂体腺瘤中的表达,特别是针对中国人群的研究还很少。因此,我们检测了 MGMT 在不同类型垂体腺瘤中的表达,并分析其与垂体腺瘤侵袭性和复发的关系。

1 材料与方法

1.1 基本资料

收集 2011 年 10 月至 2012 年 8 月在中山大学附属第一医院神经外科经手术及病理证实为垂体腺瘤患者的临床及影像资料。所有患者均未接受过替

表 1 垂体腺瘤的临床特征

Table 1 Clinical characteristics of the patients with pituitary adenomas

Tumor type	Invasive (n=43)	Non-invasive (n=95)	Relapse (n=12)	Non-relapse (n=126)	Macroadenomas (n=23)	Large adenomas/ small adenomas (n=115)
Non-functional (n=98)	34	64	7	91	18	80
Prolactinoma (n=22)	4	18	2	20	2	20
GH (n=16)	5	11	3	13	3	13
ACTH (n=2)	0	2	0	2	0	2

GH: Growth hormone tumor; ACTH: Adrenocorticotropic hormone tumor

1.2 免疫组织化学染色

垂体腺瘤组织常规经福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚度 5 μ m。采用 SP 法行免疫组化染色,修复抗原后,3%过氧化氢处理。MGMT 为鼠抗人单克隆抗体(工作液 1:50),购自北京中杉金桥生物技术有限公司。血管内皮细胞作为内部阳性对照;阴性对照不滴加一抗,仅滴加二抗。

1.3 结果判定

肿瘤细胞胞质或颗粒状核染色被视为阴性,仅有肿瘤细胞核染色定义为 MGMT 阳性染色^[8]。采用半定量评分法,随机选择 10 个高倍(400 \times)视野,计算阳性细胞占镜下细胞比例;MGMT 染色阳性细胞小于 10%计为 1 分,10%~25%计为 2 分,25%~50%计为 3 分,大于 50%计为 4 分;1~2 分视为 MGMT 低表达,3~4 分视为高表达。

1.4 统计学方法

采用列联表 χ^2 检验判定 MGMT 在不同类型垂体腺瘤中的表达差异, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床表现垂体腺瘤组织中 MGMT 的表达情况

所有组织均行 MGMT 免疫组化染色,阳性表

达为胞核呈棕黄色或咖啡色(附图)。其中 MGMT 染色阳性细胞小于 10%为 61 例(44.2%),10%~25%为 18 例(13%),25%~50%为 17 例(12.3%),大于 50%为 42 例(30.4%)。因此,79 例(57.2%)病变判断为 MGMT 低表达。但分析显示,MGMT 的表达与患者的性别、年龄,垂体腺瘤大小、是否复发或侵袭生长无明显关系(表 2)。

莫唑胺治疗。根据患者的临床表现、实验室检查及病理结果,将所有肿瘤分为功能型和无功能型垂体腺瘤;根据肿瘤最大直径分为小腺瘤(<10 mm)、大腺瘤(<40 mm)和巨大腺瘤(\geq 40 mm);根据术前 MRI 检查或术中发现,分为侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤;根据增强 CT 或 MRI 资料,采用 Knosp 五级分类法评定垂体腺瘤的侵袭性^[7]。手术标本均经福尔马林固定,石蜡包埋,切片后行免疫组化染色。

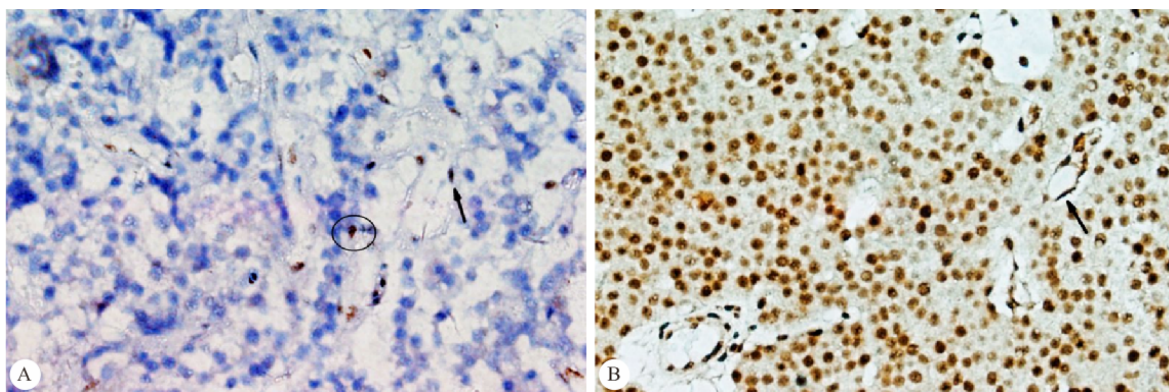
共有 138 名患者纳入本项研究,其中男性 71 例,女性 67 例。年龄(44 \pm 14.5)岁。如表 1 所示,大部分病变为为无功能瘤(71.0%)和垂体大腺或巨大腺瘤(92.8%);43 例(31.2%)患者为侵袭性垂体腺瘤,12 例为复发性垂体腺瘤(8.7%),详见表 1。

达为胞核呈棕黄色或咖啡色(附图)。其中 MGMT 染色阳性细胞小于 10%为 61 例(44.2%),10%~25%为 18 例(13%),25%~50%为 17 例(12.3%),大于 50%为 42 例(30.4%)。因此,79 例(57.2%)病变判断为 MGMT 低表达。但分析显示,MGMT 的表达与患者的性别、年龄,垂体腺瘤大小、是否复发或侵袭生长无明显关系(表 2)。

表 2 MGMT 在不同临床表现垂体腺瘤患者中的表达差异〔例数(%)〕

Table 2 MGMT immunorexpression and patient characteristics [case (%)]

	Low expression (n=79)	High expression (n=59)	P
Age (yr.)			0.24
\geq 55	24 (30.38)	12 (20.34)	
<55	55 (69.62)	47 (79.66)	
Sex			0.731
Male	37 (46.84)	30 (50.85)	
Female	42 (53.16)	29 (49.15)	
Tumor invsive			0.581
Invasive	23 (29.11)	20 (33.9)	
Non-invasive	56 (70.89)	39 (66.1)	
Tumor diameter (mm)			
\geq 40	12 (15.19)	11 (18.64)	0.648
<40	67 (84.81)	48 (81.36)	
Relapse			0.556
Yes	8 (10.13)	4 (6.78)	
No	71 (89.87)	55 (93.22)	



附图 垂体腺瘤组织的 MGMT 免疫组化染色。SP $\times 400$

Fig MGMT immunohistochemistry staining, SP $\times 400$

A: Low level of MGMT staining; B: High level of MGMT staining. Positive staining of MGMT in endothelial cells (arrows) and nucleus (oval)

2.2 不同类型垂体腺瘤组织中 MGMT 的表达情况

我们进一步分析了 MGMT 在不同类型垂体腺瘤中的表达情况。结果显示,无功能垂体腺瘤中有 54 例(54/98, 55.1%)低表达,泌乳素瘤有 16 例(16/22, 72.7%)低表达,生长激素瘤仅有 7 例(7/16, 43.8%)低表达,促肾上腺皮质激素瘤有 2 例低表达。分析发现 MGMT 在泌乳素瘤中低表达率明显高于无功能瘤组($P=0.025$)和生长激素瘤组($P=0.043$)。

3 讨论

垂体肿瘤绝大多数为良性,经积极治疗后可以获得理想的治疗效果;但对于侵袭性、耐药的垂体腺瘤患者,仍缺乏有效的治疗方法。近年来,替莫唑胺逐渐被用于治疗难治性垂体腺瘤和垂体腺癌,并获得了一定的疗效^[3-5]。MGMT 是评估替莫唑胺治疗高级别胶质瘤预后的主要指标,因此,本研究详细描述了不同类型垂体腺瘤中 MGMT 的表达水平,旨在为应用替莫唑胺治疗难治性垂体腺瘤提供依据。研究发现 MGMT 的表达水平与患者的年龄、性别,垂体腺瘤大小、侵袭性及是否复发无明显关系。但在泌乳素腺瘤中,特别是在侵袭性、复发泌乳素腺瘤中,其表达率明显高于其它类型肿瘤。这提示替莫唑胺可能是耐药的、侵袭性泌乳素瘤的另一治疗选择。

MGMT 作为一种 DNA 修复酶,能够消除烷化剂对 DNA 序列中鸟嘌呤 O6 位点的突变毒性,修复损伤的鸟嘌呤,这也是肿瘤耐受烷化剂药物的主要原因之一;在脑胶质瘤患者中,MGMT 是造成恶性

胶质瘤对 TMZ 耐药的主要原因之一^[9]。更多研究显示,MGMT 的表达与胶质瘤的侵袭性呈负相关,过度表达 MGMT 可以显著降低胶质瘤细胞的侵袭性^[10]。近年来,国内外学者开始尝试用替莫唑胺治疗难治性垂体腺瘤,部分患者取得了较好的效果^[3-5, 11]。

目前,MGMT 与垂体腺瘤侵袭性的关系尚不清楚。Lau 等^[12]在对 15 例侵袭性垂体腺瘤及 15 例非侵袭性垂体腺瘤患者的临床研究中发现,60% 的侵袭性垂体腺瘤和 40% 的非侵袭性垂体腺瘤患者表现出 MGMT 低表达;Salehi 等^[13]报道了 40 例促肾上腺皮质激素腺瘤中 MGMT 的表达,60% 的侵袭性和 86% 的复发性垂体腺瘤 MGMT 低表达。但也有学者认为 MGMT 的表达与垂体腺瘤的侵袭性无明显相关,McCormack 等^[14]发现 MGMT 的表达在侵袭性与非侵袭性腺瘤之间,复发和非复发垂体腺瘤之间无明显差异。本研究中,53.5% 的侵袭性和 67.7% 的复发性垂体腺瘤中 MGMT 低表达,MGMT 的表达在侵袭性与非侵袭性腺瘤之间,复发和非复发垂体腺瘤之间无明显差异。我们分析研究结果差异的原因主要包括:①免疫组织化学染色过程中可能出现假阳性染色;② MGMT 染色阳性界定的标准不一致^[13];③纳入研究标准不一,放疗、药物治疗等均可能改变 MGMT 的表达水平;④人种差异。

我们的结果还显示,泌乳素瘤中 MGMT 低表达率(72.7%)明显高于无功能瘤(55.1%)和生长激素腺瘤(43.8%)。而且,4 例侵袭性和 2 例复发性泌乳素瘤均为 MGMT 低表达,这与国外的研究结果相一致。McCormack 等^[14]报道,在 14 例侵袭性

泌乳素瘤患者中,约60%检测出MGMT低表达,而在Lau等^[12]的报道中,MGMT低表达率高至80%。目前关于采用替莫唑胺治疗垂体腺瘤有效的研究中,大多数为泌乳素瘤^[3]。而他们大多数是需要手术治疗的患者;同时,也往往是耐药或者侵袭生长的泌乳素瘤。这就提示我们,MGMT的低表达可能是这一类型泌乳素瘤的一大特征;而替莫唑胺可考虑作为耐药的、复发性泌乳素瘤的另一治疗选择。

MGMT启动子甲基化的测定多采用甲基化特异性聚合酶链反应(MS-PCR)、焦磷酸测序等方法。但是其耗费高、操作复杂,不便于大量样本的检测。采用免疫组化法检测MGMT的水平,以此反应MGMT启动子甲基化状态,则相对简单。而且,MGMT启动子的甲基化与MGMT蛋白的表达存在明显的相关性^[8]。这种方法已经普遍用于评估替莫唑胺治疗高级别胶质瘤的预后。因此,本研究通过免疫组织化学的方法检测MGMT水平,以反映其启动子甲基化状态。

总之,替莫唑胺在治疗侵袭性、耐药性垂体腺瘤以及垂体腺癌方面的疗效已经逐渐被肯定,但仍需要长期的随访来确定其疗效。我们期待大型的前瞻性研究进一步确定替莫唑胺治疗难治性垂体腺瘤的有效性,以及MGMT指导替莫唑胺治疗垂体腺瘤的可靠性。对于耐药的、复发性泌乳素瘤,可根据患者MGMT的表达水平进行个体化治疗,有利于减少耐药、减轻患者负担,使替莫唑胺的治疗达到最好的临床疗效。

参 考 文 献

- Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, *et al.* The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer*, 2004; 101(3):613-619.
- Kaltsas GA, Mukherjee JJ, Plowman PN, *et al.* The role of cytotoxic chemotherapy in the management of aggressive and malignant pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83(12):4233-4238.
- Whitelaw BC, Dworakowska D, Thomas NW, *et al.*

- Temozolomide in the management of dopamine agonist-resistant prolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012; 76(6):877-886.
- Syro LV, Ortiz LD, Scheithauer BW, *et al.* Treatment of pituitary neoplasms with temozolomide: a review. *Cancer*, 2011; 117(3):454-462.
- 马四海, 姚 勇, 代从新等. 替莫唑胺治疗难治性垂体腺瘤一例报告并文献复习. *中华神经外科杂志*, 2011; 27(5):484-488.
- Kovacs K, Scheithauer BW, Lombardero M, *et al.* MGMT immunoeexpression predicts responsiveness of pituitary tumors to temozolomide therapy. *Acta Neuropathol*, 2008; 115(2):261-262.
- Knosp E, Steiner E, Kitz K, *et al.* Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery*, 1993; 33(4):610-618.
- McCormack AI, McDonald KL, Gill AJ, *et al.* Low O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) expression and response to temozolomide in aggressive pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009; 71(2):226-233.
- Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, *et al.* MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med*, 2005; 352(10):997-1003.
- Chahal M, Abdulkarim B, Xu Y, *et al.* O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase is a Novel Negative Effector of Invasion in Glioblastoma Multiforme. *Mol Cancer Ther*, 2012; 11(11):2440-2450.
- Raverot G, Castinetti F, Jouanneau E, *et al.* Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumours: merits and pitfalls of temozolomide treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012; 76(6):769-775.
- Lau Q, Scheithauer B, Kovacs K, *et al.* MGMT immunoeexpression in aggressive pituitary adenoma and carcinoma. *Pituitary*, 2010; 13(4):367-379.
- Salehi F, Scheithauer BW, Kovacs K, *et al.* O-6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) immunohistochemical expression in pituitary corticotroph adenomas. *Neurosurgery*, 2012; 70(2):491-496.
- McCormack AI, McDonald KL, Gill AJ, *et al.* Low O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) expression and response to temozolomide in aggressive pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009; 71(2):226-233.

(2013-01-15收稿, 2013-03-20修回)

编辑 汤洁