

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.14.004
文章编号: 1005-8982(2020)14-0019-05

临床研究·论著

Glypican-1 在脑胶质瘤中的表达及与 临床病理特征和预后的关系*

贾国萍¹, 李鑫¹, 宋雨茜¹, 宋涛², 王珊¹

(1. 中南大学化学化工学院 制药工程系, 湖南 长沙 410038; 2. 中南大学湘雅医院
神经外科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 目的 探究 Glypican-1 在脑胶质瘤中的表达、分布, 以及与临床病理特征和预后的关系。**方法** 通过免疫组织化学法检测 Glypican-1 在 171 例脑胶质瘤组织芯片中的表达及分布, 分析其与脑胶质瘤患者临床病理特征及总生存期的关系。**结果** Glypican-1 在脑胶质瘤细胞质、细胞膜中均有表达。不同年龄患者脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 高表达率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同性别、肿瘤分级患者脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 高表达率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肿瘤分级 III、IV 级患者脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平高于 I、II 级患者 ($P < 0.05$); 而不同性别、年龄患者脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 高表达率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。不同脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 表达水平患者的总生存期比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平越高, 患者总生存期越短 ($P < 0.05$)。年龄 > 50 岁 [$\hat{HR} = 0.325$ (95% CI: 0.185, 0.570)]、肿瘤分级 III 和 IV 级 [$\hat{HR} = 14.658$ (95% CI: 6.835, 31.432)]、Glypican-1 在脑胶质瘤细胞膜中高表达 [$\hat{HR} = 2.351$ (95% CI: 1.081, 5.114)] 是患者预后的影响因素。**结论** 脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平与患者肿瘤分级有关, 且脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平越高, 总生存期越短。

关键词: 脑胶质瘤 / 神经胶质瘤; Glypican-1/Glypicans; 细胞膜; 病理学, 临床; 预后

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

Glypican-1 expression in gliomas and its relationship with clinicopathological features and prognosis*

Guo-ping Jia¹, Xin Li¹, Yu-xi Song¹, Tao Song², Shan Wang¹

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha, Hunan 410038, China; 2. Department of Neurosurgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and distribution of Glypican-1 in glioma and the correlations with clinicopathology and prognosis. **Methods** The expression and distribution of Glypican-1 were detected by immunohistochemistry method in the tissue microarray from 171 glioma patients, and the correlations with clinicopathological features and overall survival of glioma patients were analyzed. **Results** Glypican-1 was expressed in both cytoplasm and cytomembrane of tumor cells in glioma tissues. Difference of the high expression rate of Glypican-1 in cytoplasm of glioma cells with different ages showed statistically significance ($P < 0.05$). Difference of the high expression rate of Glypican-1 in cytoplasm of glioma cells with different genders and pathological grades showed no statistically significance ($P > 0.05$). Glypican-1 expression in cytomembrane of glioma cells in III and IV grade glioma was higher than that in I and II grade glioma ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in the rate of high expression of glypican-1 between different genders and ages ($P > 0.05$). Difference of overall survival of glioma patients with different Glypican-1 expression in cytoplasm of tumor cells showed no statistically significance ($P > 0.05$), while glioma patients

收稿日期: 2020-02-28

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No: 81872919)

[通信作者] 王珊, E-mail: wangshancsu0717@163.com

with higher Glypican-1 expression in cytomembrane of glioma cells had shorter overall survival ($P < 0.05$). Age > 50 years old [$\hat{HR} = 0.325$ (95% CI: 0.185, 0.570)], tumor grade III and IV [$\hat{HR} = 14.658$ (95% CI: 6.835, 31.432)] and high expression of glypican-1 in glioma cell membrane [$\hat{HR} = 2.351$ (95% CI: 1.081, 5.114)] were the influencing factors of patients' prognosis. **Conclusions** Glypican-1 accumulation in cytomembrane of glioma cells in glioma is associated with high WHO grade ($P < 0.05$) and low overall survival ($P < 0.05$).

Keywords: glioma; glypican-1/glypicans; cell membrane; pathology, clinical; prognosis

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤,占颅内肿瘤的 50% 以上,具有起病隐匿、恶性程度高等特点^[1]。目前治疗方式以手术切除联合化疗为主。由于脑胶质瘤细胞呈弥漫性浸润且中枢神经系统比较脆弱,所以患者预后较差,术后易复发,生存期短^[2]。全球每年约有 18.9 万新发病例,其中 14.2 万例死亡,严重影响了人类健康^[3-5]。因此,急需寻找脑胶质瘤早期诊断及预后评估的有效分子靶标,为脑胶质瘤的诊断及治疗提供理论依据。

Glypican-1 在人脑胶质瘤组织中高表达,具有促进胶质瘤细胞增殖的能力^[6]。一项包含 53 例脑胶质瘤患者的临床研究结果表明,脑胶质瘤组织中 Glypican-1 的表达与患者总生存期相关^[7],提示 Glypican-1 可能是脑胶质瘤预后的重要评价指标。然而,另一项包含 31 例脑胶质瘤患者的临床研究结果表明,Glypican-1 的表达与临床病理特征(包括总生存期和肿瘤分级)无关^[8]。因此,只关注 Glypican-1 在脑胶质瘤组织的总体表达水平可能不足以准确地评价脑胶质瘤患者的预后。除了蛋白的总体表达水平,蛋白的分布规律对评估疾病的预后亦有一定的指导意义。鉴于 Glypican-1 可以在细胞膜及细胞质表达,本研究收集 171 例脑胶质瘤患者的组织芯片,检测 Glypican-1 在脑胶质瘤细胞质和细胞膜中的表达,并探讨其与临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 材料与试剂

人脑胶质瘤组织芯片购自上海芯超生物科技有限公司,共 171 例脑胶质瘤组织。其中,男性 108 例,女性 63 例;年龄 2 ~ 80 岁。所有标本按世界卫生组织(WHO)(2007)神经上皮肿瘤分级标准^[9]进行分级:I 级 20 例,II 级 79 例,III 级 51 例,IV 级 21 例。

Glypican-1 兔多克隆抗体购自美国 Proteintech 公司(货号:16700-1-AP),免疫组织化学试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司,苏木精购自美国 Sigma 公司。

1.2 方法

采用免疫组织化学法检测 Glypican-1 的表达。

脑胶质瘤组织芯片经二甲苯、梯度乙醇依次浸泡、脱蜡。在柠檬酸盐抗原修复液中高压修复,经 PBS 缓冲液清洗后,加入 1 : 50 稀释的兔抗 Glypican-1 抗体 4 ℃ 孵育过夜。玻片室温下复温 > 30 min,经 PBS 缓冲液冲洗后滴加二抗,室温孵育 30 min。使用 DAB 试剂盒显色,冲洗后苏木精复染,盐酸乙醇分化,自来水冲洗,室温晾干后用中性树胶封片。

结果的判读采用双盲法。聘请 2 位病理学专家对组织芯片的免疫组织化学结果进行评分。①根据细胞染色强度进行评分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;②根据细胞染色阳性率进行评分:0% 为 0 分, $> 0\% \sim 25\%$ 为 1 分, $> 25\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\% \sim 100\%$ 为 4 分;最终总评分为染色强度评分与染色阳性率评分的乘积^[10]。总评分 ≤ 3 分为 Glypican-1 低表达,总评分 > 3 分为 Glypican-1 高表达。

1.3 随访

随访期限为手术时间(2008 年 2 月—2011 年 10 月)至 2017 年 7 月,每 3 个月电话随访 1 次,随访时间为 6.0 ~ 9.4 年,以患者死亡为终点。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件。计数资料以率(%)表示,比较用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,比较用 Log-rank χ^2 检验;影响因素的分析采用 Cox 比例风险回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Glypican-1 在脑胶质瘤组织中的表达

免疫组织化学染色结果显示,Glypican-1 在脑胶质瘤细胞质及细胞膜中均有表达,且 Glypican-1 在脑胶质瘤细胞膜的黄染程度及范围随患者肿瘤分级升高而加深或扩大。见图 1。

2.2 不同临床病理特征患者脑胶质瘤细胞 Glypican-1 的表达

不同年龄患者脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 高表达率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$), > 50 岁

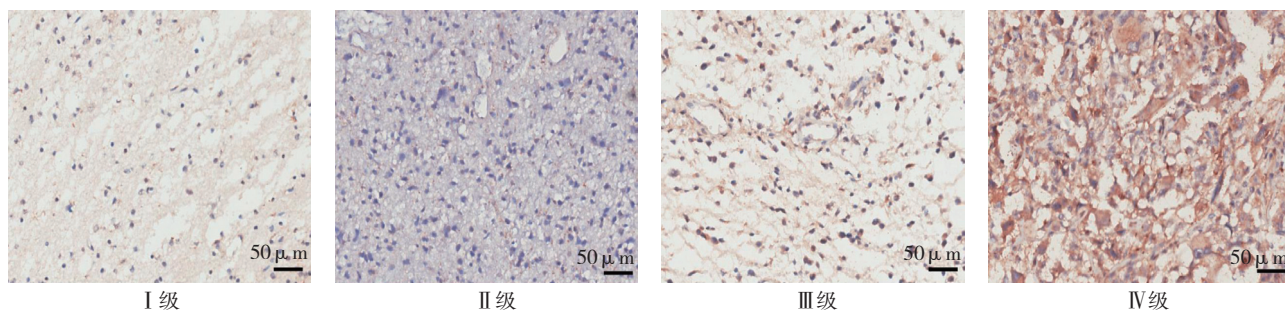


图 1 Glypican-1 在不同肿瘤分级患者脑胶质瘤组织中的表达 (免疫组织化学染色)

患者较高;不同性别、肿瘤分级患者脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 高表达率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

不同肿瘤分级患者脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1

高表达率比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), III、IV 级患者较高;不同性别、年龄患者脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 高表达率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 不同临床病理特征患者脑胶质瘤细胞质及细胞膜 Glypican-1 高表达率比较 例 (%)

临床病理特征	n	细胞质 Glypican-1 高表达	χ^2 值	P 值	细胞膜 Glypican-1 高表达	χ^2 值	P 值
性别							
男	108	42 (38.9)	0.094	0.759	16 (14.8)	1.747	0.186
女	63	26 (41.3)			5 (7.9)		
年龄							
≤ 50 岁	119	36 (30.2)	15.360	0.000	12 (10.1)	0.668	0.414
>50 岁	52	32 (61.5)			9 (17.3)		
肿瘤分级							
I、II 级	99	34 (34.3)	2.886	0.089	8 (8.1)	3.850	0.049
III、IV 级	72	34 (47.2)			13 (18.0)		

2.3 Glypican-1 与脑胶质瘤患者预后的关系

不同性别患者的总生存期比较, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。不同年龄、肿瘤分级患者的总生存期比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), >50 岁和 III、IV 级患者总生存期较短。不同脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 表达水平患者的总生存期比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。不同脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平患者的总生存期比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平越高, 患者总生存期越短。见表 2 和图 2。

以是否死亡为因变量, 以其他参数为自变量, 其中女性、年龄 >50 岁、肿瘤分级 III 和 IV 级、脑胶质瘤细胞质 Glypican-1 高表达、脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 高表达赋值为 1。逐步多因素 Cox 回归分析结果显示, 年龄 >50 岁、肿瘤分级 III 和 IV 级、Glypican-1 在脑胶质瘤细胞膜中高表达是患者预后的影响因素 ($P<0.05$)。见表 3。

表 2 影响脑胶质瘤患者预后的单因素分析

临床病理特征	n	中位生存时间 / 月	χ^2 值	P 值
性别				
男	108	83.5	1.885	0.170
女	63	75.0		
年龄				
≤ 50 岁	119	87.0	14.964	0.000
>50 岁	52	71.5		
肿瘤分级				
I、II 级	99	95.0	79.638	0.000
III、IV 级	72	40.5		
脑胶质瘤细胞质 Glypican-1				
低表达	103	86.0	3.022	0.082
高表达	68	82.5		
脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1				
低表达	150	85.0	5.223	0.022
高表达	21	55.0		

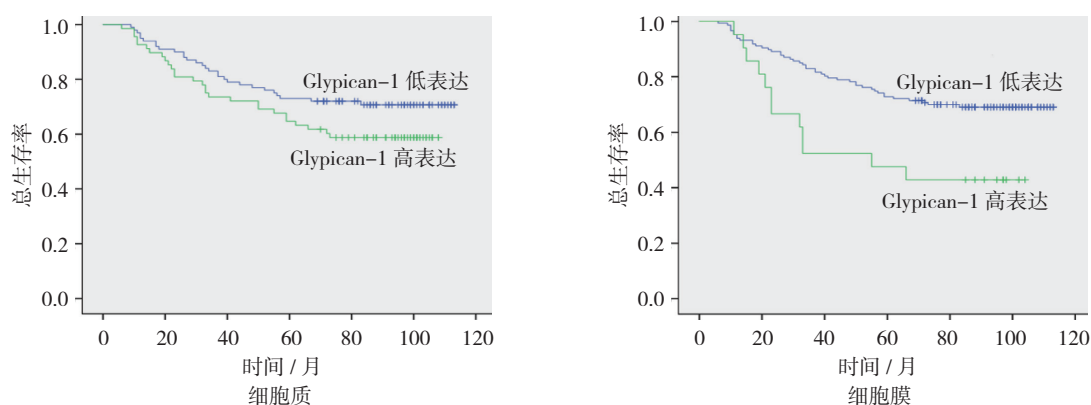


图 2 脑胶质瘤细胞质和细胞膜不同 Glypican-1 表达水平患者的生存曲线

表 3 影响胶质瘤患者预后的多因素分析参数

自变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	$\hat{H}R$	95% CI	
						下限	上限
性别	-0.464	0.294	2.491	0.115	0.629	0.353	1.119
年龄	-1.124	0.287	15.368	0.000	0.325	0.185	0.570
肿瘤分级	2.685	0.389	47.588	0.000	14.658	6.835	31.432
脑胶质瘤细胞质 Glypican-1	-0.485	0.333	2.114	0.146	0.616	0.320	1.184
脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1	0.855	0.397	4.648	0.031	2.351	1.081	5.114

3 讨论

GPCs 是 HSPG 家族的一员, 通过 GPI 锚定附着于细胞膜表面^[11]。GPCs 家族包括 6 位成员 (Glypican-1 ~ Glypican-6)^[12]。其中 Glypican-1 定位于染色体 2q36, 邻近 COL4A3/4^[13]。Glypican-1 在胰腺癌、乳腺癌及食管鳞状细胞癌等多种恶性肿瘤中高表达^[14-17], 其表达水平与多种癌症的预后相关^[15-17], 且 Glypican-1 能促进肿瘤细胞增殖、转移、侵袭及血管生成^[15-19], 综上所述, Glypican-1 可能在肿瘤发生、发展中发挥重要作用。

研究表明, Glypican-1 在脑胶质瘤细胞系 U251 及脑胶质瘤组织中呈高表达^[8]。SAITO 等^[7]发现经放疗及替莫唑胺治疗后, 脑胶质瘤患者 Glypican-1 表达水平与总生存期有相关性, 但该研究未对 Glypican-1 表达水平与脑胶质瘤肿瘤分级的相关性进行探讨。笔者首次研究了 Glypican-1 在脑胶质瘤细胞膜及细胞质中的表达, 并分析其与临床病理特征及预后的关系。结果发现, 脑胶质瘤细胞膜 Glypican-1 表达水平与肿瘤分级有关, 且细胞膜 Glypican-1 表达水平越高, 患者预后越差, 提示检测 Glypican-1 在脑胶质瘤细胞膜中的表达水平可能比检测 Glypican-1 在脑胶质瘤细

胞的总体表达水平更具有临床意义。此外, 本研究选取组织芯片进行研究, 在同等条件下检测 Glypican-1 的表达及分布, 降低了实验误差; 且该组织芯片包括 171 例脑胶质瘤患者的标本, 并对上述患者进行 6.0 ~ 9.4 年的随访。因此, 本研究具有样本量大、随访时间长、实验误差小的优势, 所得结论具有一定的说服力, 将为脑胶质瘤的临床诊断及预后判断提供理论依据。

参考文献:

- [1] TAYLOR O G, BRZOZOWSKI J S, SKELDING K A. Glioblastoma multiforme: an overview of emerging therapeutic targets[J]. Front Oncol, 2019, 9: 963.
- [2] LOUIS D N, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathologica, 2016, 131(6): 803-820.
- [3] 李欣龙, 曾山, 彭里磊, 等. 脑胶质瘤的微环境 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(5): 65-68.
- [4] 林祖岩, 董白晶, 赵天书, 等. 脑胶质瘤神经干细胞治疗研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(6): 1191-1193.
- [5] 陈正和, 陈忠平. 脑胶质瘤的治疗进展 [J]. 新医学, 2015, 41(7): 112-113.

- [6] SU G, NANDINI C D, FRIEDL A, et al. Glypican-1 is frequently overexpressed in human gliomas and enhances FGF-2 signaling in glioma cells[J]. *Am J Pathol*, 2006, 168(6): 2014-2026.
- [7] SAITO T, SUGIYAMA K, HAMA S, et al. High expression of Glypican-1 predicts dissemination and poor prognosis in glioblastomas[J]. *World Neurosurgery*, 2017, 105: 282-288.
- [8] KAZANSKAYA G M, TSIDULKO A Y, VOLKOV A M, et al. Heparan sulfate accumulation and perlecan/HSPG2 up-regulation in tumour tissue predict low relapse-free survival for patients with glioblastoma[J]. *Histochemistry and Cell Biology*, 2018, 149(3): 235-244.
- [9] LOUIS D N, OHGAKI H, WIESTLER O D, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. *Acta Neuropathologica*, 2007, 114(2): 97-109.
- [10] LU H Z, NIU F F, LIU F, et al. Elevated glypican-1 expression is associated with an unfavorable prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cancer Medicine*, 2017, 6(6): 1181-1191.
- [11] LI N, GAO W, ZHANG Y F, et al. Glypicans as cancer therapeutic targets[J]. *Trends in Cancer*, 2018, 4(11): 741-754.
- [12] STRATE I, TESSADORI F, BAKKERS J. Glypican 4 promotes cardiac specification and differentiation by attenuating canonical Wnt and Bmp signaling[J]. *Development*, 2015, 142(10): 1767-1776.
- [13] de CAT B, DAVID G. Developmental roles of the glypicans[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2001, 12(2): 117-125.
- [14] QIU W L, ZHANG H F, CHEN X, et al. A GPC1-targeted and gemcitabine-loaded biocompatible nanoplatfor for pancreatic cancer multimodal imaging and therapy[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2019, 14(17): 2339-2353.
- [15] DUAN L, HU X Q, FENG D Y, et al. GPC-1 may serve as a predictor of perineural invasion and a prognosticator of survival in pancreatic cancer[J]. *Asian Journal of Surgery*, 2013, 36(1): 7-12.
- [16] MATSUDA K, MARUYAMA H, GUO F, et al. Glypican-1 is overexpressed in human breast cancer and modulates the mitogenic effects of multiple heparin-binding growth factors in breast cancer cells[J]. *Cancer Research*, 2001, 61(14): 5562-5569.
- [17] HARA H, TAKAHASHI T, SERADA S, et al. Overexpression of glypican-1 implicates poor prognosis and their chemoresistance in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *British Journal of Cancer*, 2016, 115(1): 66-75.
- [18] AIKAWA T, WHIPPLE C A, LOPEZ M E, et al. Glypican-1 modulates the angiogenic and metastatic potential of human and mouse cancer cells[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118(1): 89-99.
- [19] QIAO D, MEYER K, FRIEDL A. Glypican-1 stimulates Skp2 autoinduction loop and G1/S transition in endothelial cells[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(8): 5898-5909.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 贾国萍, 李鑫, 宋雨茜, 等. Glypican-1 在脑胶质瘤中的表达及与临床病理特征和预后的关系 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(14): 19-23.