

本文引用格式:张跃欣,赵墨,魏康康,等.白细胞介素33在脑胶质瘤组织中的表达及临床价值[J].安徽医学,2023,44(10):1222-1226.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.10.016

· 临床医学 ·

白细胞介素33在脑胶质瘤组织中的表达及临床价值

张跃欣 赵 墨 魏康康 周国平

[摘要] **目的** 探讨脑胶质瘤组织中白细胞介素33(IL-33)表达水平与临床-病理特征及预后的关系。**方法** 选取2018年1月1日至2020年12月31日就诊于南阳市中心医院的140例脑胶质瘤患者(脑胶质瘤组)和35例脑外伤行颅内减压的手术患者(对照组)作为研究对象,采用免疫组化方法检测脑胶质瘤组肿瘤组织和对照组正常脑组织中IL-33表达水平。采用logistic回归分析脑胶质瘤患者发生不良预后的影响因素,肿瘤组织中IL-33表达水平诊断脑胶质瘤患者发生不良预后的临床效能采用受试者工作特征曲线(ROC)分析。**结果** 脑胶质瘤组IL-33高表达107例,低表达33例,对照组IL-33高表达11例,低表达24例,与对照组相比,脑胶质瘤组织中IL-33高表达率升高($\chi^2=25.817, P<0.001$)。脑胶质瘤组织中IL-33主要表达于胞浆中,呈黄色、棕黄色或棕褐色颗粒。脑胶质瘤组织中IL-33表达水平与肿瘤直径、KPS评分、组织学分级和远处转移相关($P<0.05$)。脑胶质瘤患者发生不良预后85例,预后良好55例,KPS评分($OR=2.221, 95\%CI: 1.431\sim4.092, P=0.002$)、组织学分级($OR=2.786, 95\%CI: 1.231\sim8.002, P=0.001$)、远处转移($OR=5.117, 95\%CI: 1.661\sim9.234, P<0.001$)及IL-33表达($OR=6.322, 95\%CI: 1.432\sim10.221, P<0.001$)是脑胶质瘤患者发生不良预后的影响因素。组织中IL-33表达诊断脑胶质瘤患者发生不良预后的AUC为0.912($95\%CI: 0.837\sim0.915$),当截断值为4.56分时,诊断灵敏度和特异度分别为92.22%和91.45%。**结论** IL-33在脑胶质瘤组织中高表达,与不良预后有关。

[关键词] 脑胶质瘤;白细胞介素33;肿瘤标志物;诊断

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.10.016

脑胶质瘤起源于神经胶质细胞,属于常见的颅内恶性肿瘤之一,病理类型以星形细胞瘤最为常见,胶质瘤发病率约为5.26/10万^[1]。脑胶质瘤易浸润生长,对周围神经组织破坏性较大,大多数患者确诊时已处于中晚期,手术难以完全切除,故而患者预后较差^[2]。白细胞介素33(interleukin 33, IL-33)在多种恶性肿瘤中显著高表达,参与了多种肿瘤如胃癌^[3]、肝癌^[4]等恶性肿瘤细胞的增殖、迁移及侵袭。苏博等^[5]也发现宫颈癌患者癌组织中IL-33高表达与患者的不良预后显著相关。本研究回顾性分析脑胶质瘤患者的临床资料,探讨脑胶质瘤组织中IL-33表达水平及其与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月1日至2020年12月31日于南阳市中心医院神经外科就诊的140例脑胶质瘤患者作为研究对象(胶质瘤组),其中男性80例,女性60例,年龄52~67岁,平均(59.33 ± 6.55)岁,依据WHO分期参考指南^[6],I期28例、II期35例、III期40例、IV期37例,病理类型均为星形细胞瘤。另选

择我院同期35例脑外伤行颅内减压手术患者作为对照组,其中男性15例、女性15例,年龄51~66岁,平均年龄(58.67 ± 7.33)岁。两组研究对象性别($\chi^2=2.303, P=0.129$)、年龄($t=0.520, P=0.603$)相比较差异无统计学差异,具有可比性。本研究所有研究对象及其家属均知情同意且签署知情同意协议书。本研究经过我院伦理委员会批准(编号:YXLL2019-0109)。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①脑胶质瘤诊断符合“中国脑胶质瘤分子诊疗指南”^[7],且通过术后组织病理学确诊;②我院首次确诊,且既往未行放化疗治疗;③临床病理数据完整。排除标准:①合并其他类型的恶性肿瘤;②合并急慢性肝肾功能不全、自身免疫性疾病等;③肿瘤体积太小无法获取标本者;④随访期间发生失访者。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化法检测组织中IL-33的表达 选取我院病理科脑胶质瘤患者石蜡包埋的肿瘤组织切片及脑外伤行颅内减压手术的正常脑组织切片,连续切片后进行脱蜡、水化及柠檬酸钠缓冲液加热抗原修复等过程处理,于3% H_2O_2 溶液室温孵育15 min后,采用PBS

基金项目:河南省2018科技发展计划(编号:182102310099)

作者单位:473000 河南南阳 南阳市中心医院神经外科

通信作者:周国平, xinxinlife@163.com

洗涤2次,每次4 min左右。继续使用浓度为10%的山羊血清封闭30 min,加入一抗后孵育24 h,继续PBS洗涤2次,每次4 min,再次加入二抗孵育1 h,苏木精染色及中性树胶封片。以PBS作为一抗用于阴性对照。参考本课题组前期发表的文献^[5],脑胶质瘤组织中IL-33表达水平根据细胞染色强度及细胞染色率评估,其中细胞染色强度分为无着色、淡黄色、棕黄色、棕褐色,分别计0分、1分、2分和3分;细胞染色率为随机采集10个代表性的视野计算,阳性表达率为0%计为0分,阳性表达率 $\leq 25\%$ 计为1分,25% $<$ 阳性表达率 $\leq 50\%$ 计为2分,50% $<$ 阳性表达率 $\leq 75\%$ 计为3分,75% $<$ 阳性表达率计为4分。组织中IL-33表达水平为细胞染色强度得分 $\times$ 细胞染色率得分,得分 >3 分为IL-33高表达, ≤ 3 分为IL-33低表达。兔源性IL-33单克隆抗体、SP免疫组化染色试剂盒及二抗(HRP标记羊抗兔IgG)均购买于上海碧云天生物试剂有限公司(上海,中国)。

1.3.2 临床病理资料的收集 通过住院系统病历收集脑胶质瘤患者的临床及病理资料,具体包括性别、年龄、肿瘤部位及直径、卡诺夫斯基(Karnofsky, KPS)功能状态评分、组织学分级、远处转移等数据。其中远处转移定义为原发性脑肿瘤向中枢神经系统外转移,且组

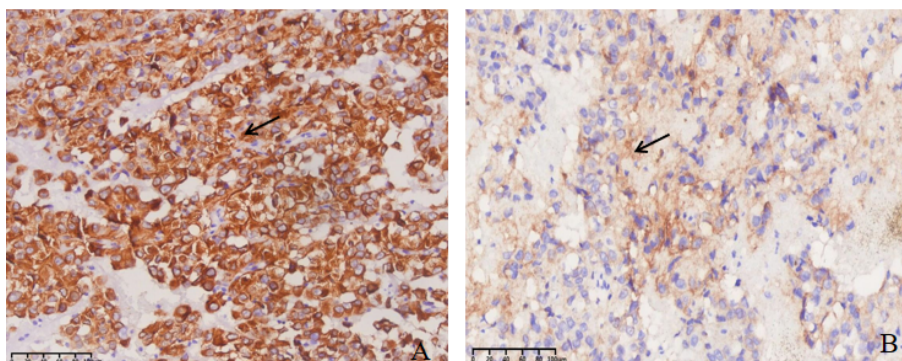
织活检证实转移灶与原发性灶的形态学特征基本一致^[8]。

1.3.3 患者随访 所有脑胶质瘤患者术后每月至少进行影像学检查1次,终止随访日期为2022年6月1日或末次随访时间,每位患者末次随访日期为术后复发时间或死亡时间,若未出现复发或死亡,则随访到2022年6月1日截止。患者出现复发或死亡定义为不良预后,其余为预后良好。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。计数资料采用百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;不良预后的影响因素采用logistic回归分析,诊断效能采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 脑胶质瘤组织中IL-33的表达 脑胶质瘤组IL-33高表达107例,低表达33例,对照组IL-33高表达11例,低表达24例,与对照组相比,脑胶质瘤组织中IL-33高表达率升高,差异有统计学意义($\chi^2=25.817, P < 0.001$)。脑胶质瘤组织中IL-33主要表达于胞浆中,呈棕黄色颗粒。见图1。



注:A为脑胶质瘤组织中IL-33高表达;B为脑胶质瘤组织中IL-33低表达;箭头所示为胞浆中IL-33表达。

图1 脑胶质瘤组织IL-33免疫组化染色结果($\times 200$)

2.2 脑胶质瘤组织中IL-33表达与临床-病理特征的关系 脑胶质瘤组织中IL-33低表达组与高表达组在肿瘤直径、KPS评分、组织学分级和是否远处转移上存在差异,差异有统计学意义($P < 0.05$),在性别、平均年龄和肿瘤部位上差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.3 脑胶质瘤患者不良预后的危险因素分析 到随访截止时间,脑胶质瘤患者发生不良预后85例,其余预后良好55例。logistic分析结果显示,KPS评分、组织学分级、远处转移及IL-33高表达水平是影响脑胶质瘤患者不良预后的危险因素($P < 0.001$)。见表2、3。

2.4 脑胶质瘤组织中IL-33表达水平预测发生不良预后的ROC曲线分析 以结果2.3中脑胶质瘤发生不良预后的85例患者组织中IL-33表达水平为状态变量,以所有脑胶质瘤患者组织中IL-33表达水平为检验变量,绘制ROC曲线发现,组织中IL-33表达水平诊断脑胶质瘤患者发生不良预后的AUC为0.912(95%CI:0.837~0.915),当截断值为4.56时,诊断灵敏度和特异度分别为92.22%和91.45%。见图2。

3 讨论

因为脑胶质瘤的广泛侵袭性特点,与周围正常脑

表 1 脑胶质瘤患者组织中 IL-33 表达水平与临床-病理特征的关系

临床-病理特征参数	低表达组(<i>n</i> =33)	高表达组(<i>n</i> =107)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别(男/女,例)	15/18	65/42	2.409	0.121
年龄(岁)			3.067	0.080
≥60	17	73		
<60	16	34		
肿瘤部位			3.277	0.070
小脑幕上	20	82		
小脑幕下	13	25		
肿瘤直径(cm)			6.544	0.011
≥3 cm	13	69		
<3 cm	20	38		
KPS 评分(分)			10.706	0.001
≥80	18	26		
<80	15	81		
组织学分级			22.946	<0.001
Ⅲ~Ⅳ	14	90		
Ⅰ~Ⅱ	19	17		
远处转移			6.000	0.014
有	20	87		
无	13	20		

注:IL-33 为白细胞介素 33;KPS 评分为诺夫斯基功能状态评分。

表 2 赋值表

临床-病理特征参数	赋值
性别	男=1,女=0
年龄	≥60 周岁=1,<60 周岁=0
肿瘤部位	小脑幕上=1,小脑幕下=0
肿瘤直径	≥3 cm=1,<3 cm=0
KPS 评分	<80=1,≥80=0
组织学分级	Ⅲ~Ⅳ=1,Ⅰ~Ⅱ=0
远处转移	有=1,无=0
IL-33 表达	高表达=1,低表达=0

组织边界不清,难以手术完全切除,故而复发率较高。有研究报道脑胶质瘤患者 5 年生存率仅为 30% 左右^[9]。因此,探讨早期与脑胶质瘤患者预后显著相关的

生物学标志物显得尤其重要。

IL-33 与脑胶质瘤的发病机制密切相关,IL-33 可通过活化 NF- κ B 信号通路后促进脑胶质瘤 U251 细胞的增殖、迁徙和侵袭^[10-11],同时发现当 NF- κ B 失活后胶质瘤细胞 U251 中 MMP2 和 MMP9 表达水平显著降低,而 MMP2 和 MMP9 早已证实为脑胶质瘤发生发展的靶基因^[12];另一方面,IL-33 可通过其受体 ST2 激活 JNK 信号通路后增加脑胶质瘤细胞的上皮细胞-间充质转化,同时抗 ST2 或沉默 IL-33 后显著增加肿瘤对替莫唑胺的药物敏感性^[13]。本研究结果显示,IL-33 在脑胶质瘤组织中呈高表达,且肿瘤直径越大、KPS 评分越低、组织学分级越高及存在远处转移的脑胶质瘤组织中 IL-33 表达水平越高。崔承志等^[14]对 51 例胶质

表 3 logistic 回归分析脑胶质瘤患者发生不良预后的危险因素

临床-病理特征参数	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
性别	0.107	0.224	0.228	1.113	0.671~1.932	0.763
年龄	0.291	0.387	0.565	1.338	0.438~2.449	0.645
肿瘤部位	0.135	0.662	0.041	1.145	0.763~3.229	0.755
肿瘤直径	-0.921	0.327	7.932	0.398	0.145~1.226	0.088
KPS 评分	0.798	0.376	4.504	2.221	1.431~4.092	0.002
组织学分级	1.025	0.663	2.390	2.786	1.231~8.002	0.001
远处转移	1.632	0.578	7.972	5.117	1.661~9.234	<0.001
IL-33 表达	1.844	0.668	7.620	6.322	1.432~10.221	<0.001

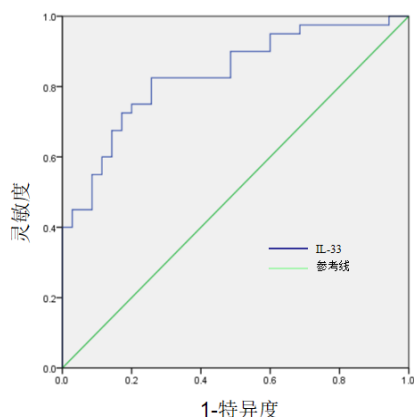


图2 胶质瘤组织中IL-33表达水平预测发生不良预后的ROC曲线分析

瘤术后患者进行随访后同样发现,肿瘤直径、组织学分级和KPS评分均是胶质瘤患者预后不良的危险因素。胶质瘤瘤体直径越大,手术切除后瘤体残留及术后复发的风险较高^[15];另一方面,KPS评分主要用于反映患者机体的功能状态,KPS得分越低,提示机体健康状态越差。因此,笔者认为IL-33可能在一定程度上参与了脑胶质瘤的发生发展和不良预后。然而,笔者在对照组中发现部分病例组织中IL-33呈现高表达,这可能与个体差异、组织类型等有关。

笔者对脑胶质瘤患者术后进行动态随访发现,发生不良预后共85例,logistic分析结果显示,KPS评分<80、组织学分级Ⅲ~Ⅳ级、有远处转移及IL-33高表达是脑胶质瘤患者不良预后的危险因素。脑胶质瘤患者KPS越低,预后越差,白庆岭等^[16]也证实术前KPS<70是脑胶质瘤患者发生不良预后的独立危险因素($P=0.022$);脑胶质瘤高级别(Ⅲ~Ⅳ)与低级别(Ⅰ~Ⅱ)相比,脑胶质瘤高级别预后相对较差^[17-18]。同时一项随访性研究结果显示,高级别脑胶质瘤患者中位总生存时间仅仅为36.00(22.85,49.16)个月,3年和5年生存率仅仅为40.63%和17.19%,组织学分级Ⅲ~Ⅳ是影响脑胶质瘤不良预后的独立危险因素($P=0.024$)^[19]。脑胶质瘤患者出现远处转移往往提示预后不良^[20-21],此外,本研究发现,与未转移的脑胶质瘤患者相比,IL-33在发生远处转移的脑胶质瘤患者中表达水平升高,提示IL-33可能参与了胶质瘤的远处转移机制,同时本研究也进一步证实出现远处转移和IL-33高表达均是影响脑胶质瘤患者不良预后的危险因素。

对85例不良预后和55例预后良好的脑胶质瘤患者组织切片的IL-33表达水平进行免疫组化评分,通过ROC曲线证实,诊断灵敏度和特异度分别为92.22%和91.45%。

综上所述,本研究证实脑胶质瘤组织中IL-33显

著高表达,且IL-33高表达与脑胶质瘤患者的不良预后相关,然而,本研究的局限性在于样本量较少,日后仍需要大样本量的临床研究证实。

参考文献

- [1] OMURO A, DEANGELIS L M. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review[J]. JAMA, 2013, 310(17): 1842-1850.
- [2] 李德培,陈忠平. 脑胶质瘤治疗现状与进展[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(18): 2312-2316.
- [3] ZHOU Q, WU X, WANG X, et al. The reciprocal interaction between tumor cells and activated fibroblasts mediated by TNF- α /IL-33/ST2L signaling promotes gastric cancer metastasis[J]. Oncogene, 2020, 39(7): 1414-1428.
- [4] JIN Z, LEI L, LIN D, et al. IL-33 released in the liver inhibits tumor growth via promotion of CD4+ and CD8+ T cell responses in hepatocellular carcinoma[J]. J Immunol, 2018, 201(12): 3770-3779.
- [5] 苏博, 闫振宇, 郝尚辉, 等. 宫颈癌患者癌组织中IL-33表达水平与临床病理特征及预后的相关性[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(17): 2214-2218.
- [6] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015)[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(7): 485-509.
- [7] 中国脑胶质瘤协作组, 中国脑胶质瘤基因组图谱计划. 中国脑胶质瘤分子诊疗指南[J]. 中华神经外科杂志, 2014, 30(5): 435-444.
- [8] KIRSCH M, SCHACKERT G, BLACK P M. Angiogenesis, metastasis, and endogenous inhibition[J]. J Neurooncol, 2000, 50(1-2): 173-180.
- [9] RYAN C S, JUHN Y J, KAUR H, et al. Long-term incidence of glioma in Olmsted County, Minnesota, and disparities in postglioma survival rate: a population-based study[J]. Neurooncol Pract, 2020, 7(3): 288-298.
- [10] ZHANG J F, TAO T, WANG K, et al. IL-33/ST2 axis promotes glioblastoma cell invasion by accumulating tenascin-C[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 20276.
- [11] ZHANG J F, WANG P, YAN Y J, et al. IL-33 enhances glioma cell migration and invasion by upregulation of MMP2 and MMP9 via the ST2-NF- κ B pathway[J]. Oncol Rep, 2017, 38(4): 2033-2042.
- [12] 陈亮, 秦军, 雷军荣, 等. LncRNA-UCA1对MMP2/MMP9对脑胶质瘤细胞生物学行为的影响[J]. 脑与神经疾病杂志, 2021, 29(7): 439-442.
- [13] LIN L, LI Y, LIU M, et al. The Interleukin-33/ST2 axis promotes glioma mesenchymal transition, stemness and TMZ resistance via JNK activation[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(2): 1685-1703.
- [14] 崔承志, 刘翠, 丛培雨. 手术治疗多中心脑胶质瘤患者预后的相关影响因素分析[J]. 贵州医药, 2022, 46(3): 450-452.

- [15] 朱焱, 王伊旻, 徐晓婷. 成人高级别胶质瘤患者的预后影响因素分析[J]. 医学研究杂志, 2022, 51(10): 156-160.
- [16] 白庆岭, 胡长伟, 彭莹, 等. 影脑胶质瘤预后影响因素分析[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(7): 91-94.
- [17] 祝展鹏, 罗方接, 张代龙, 等. 脑胶质瘤组织中胞质多聚腺苷酸化成分结合蛋白 1, 细胞周期蛋白 B2 的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(1): 168-172.
- [18] 姚俊朝, 张祥, 王垒垒, 等. LncRNA FAS-AS1 在脑胶质瘤中的表达及与临床病理参数和预后的关系[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2021, 13(5): 479-483.
- [19] 刘桂云, 江蓉, 徐晨阳, 等. 高级别脑胶质瘤综合治疗后生存分析[J]. 中南大学学报: 医学版, 2018, 43(4): 388-393.
- [20] 赵树鹏, 马继伟, 王向阳, 等. 脑胶质瘤 ABCC3, PEBP4 及 Anxa7 的表达及与病理特征和预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(3): 434-438.
- [21] 李伟, 袁方, 刘丙丽, 等. 血清胶质纤维酸性蛋白对脑胶质瘤的诊断及判断预后的价值[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(5): 719-721.

(2022-12-16 收稿)
(本文编校: 朱岚, 张迪)