

肿瘤相关成纤维细胞与垂体瘤的大小、侵袭性、质地及术后垂体功能的相关性

江迁,张卓,黄逸民,卢亮,雷霆

摘要 目的:探讨垂体瘤中肿瘤相关成纤维细胞(TAF)与肿瘤的大小、侵袭性、质地及术后垂体功能的相关性。**方法:**回顾性分析经鼻蝶入路手术切除垂体腺瘤治疗的112例垂体腺瘤患者的临床资料,取其中24例的垂体腺瘤组织,行免疫组织化学染色检测TAF的3种生物标志物: α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA),血小板衍生长因子受体(PDGFRB)和转胶蛋白(TAGLN)。根据术后激素水平将患者分为垂体功能减退组和垂体功能正常组;根据肿瘤质地将患者分为质地韧组和质地软组。分析TAF水平与肿瘤的大小、侵袭性、质地及术后垂体功能的关系。**结果:**①与垂体功能正常组相比,垂体功能减退组患者男性比例更高($P<0.001$),年龄更大($P=0.043$),肿瘤更大($P<0.001$),Knosp分级更高($P=0.041$),肿瘤质地韧性比例更高($P<0.001$)。②与垂体功能正常组相比,垂体功能减退组患者垂体瘤中的 α -SMA、PDGFRB和TAGLN阳性比例明显增高(均 $P<0.01$);与质地软组相比,质地韧性组患者垂体瘤中的 α -SMA、PDGFRB和TAGLN阳性比例明显增高(均 $P<0.01$)。TAF数量与垂体瘤的肿瘤大小(均 $P<0.01$)和Knosp分级(均 $P<0.01$)均呈显著正相关。**结论:**垂体瘤中的TAF在术后垂体功能减退患者中表达量更高,在肿瘤质地韧的患者中表达量更高,并且TAF与垂体瘤的大小和侵袭性呈显著正相关。

关键词 垂体瘤;肿瘤相关成纤维细胞;垂体功能减退

中图分类号 R741;R741.02;R651.1 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220372

作者单位

华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科

武汉 430030

基金项目

国家自然科学基金(No. 82173136)

收稿日期

2022-08-09

通讯作者

雷霆

tlei@tjh.tjmu.edu.cn

A Study of the Correlation between TAF in Pituitary Tumors and Tumor Size, Invasion, Texture, and Postoperative Pituitary Gland Function JIANG Qian, ZHANG Zhuo, HUANG Yi-min, LU Liang, LEI Ting. Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract Objective: To investigate the correlation between tumor-associated fibroblasts (TAF) in pituitary tumor and tumor size, aggressiveness, texture, and postoperative pituitary function. **Methods:** The clinical data of 112 pituitary adenoma patients treated with pituitary adenoma by transnasal sphenoidal approach surgery was retrospectively analyzed. The pituitary adenoma tissues of 24 cases were collected and immunohistochemical staining was performed to detect three biomarkers of TAF: α -SMA, PDGFRB and TAGLN. Patients were divided into hypopituitarism group and normal function group according to the postoperative hormone test results. And patients were divided into hard texture group and soft texture group according to texture of tumors. The correlation between TAF in pituitary tumor and tumor size, aggressiveness, texture, and postoperative pituitary function were analyzed. **Results:** (1) Compared with the normal function group, the hypopituitarism group had higher proportion of men, older age, larger tumor size, higher Knosp grading and higher proportion of hard texture (all $P<0.05$). (2) Compared with the normal function group, the hypopituitarism group had higher expressions of α -SMA, PDGFRB and TAGLN (all $P<0.01$). Compared with the soft texture group, the hard texture group had higher expressions of α -SMA, PDGFRB and TAGLN (all $P<0.01$). And expression level of TAF was significantly positively correlated with the size of pituitary tumors and the Knosp grading (all $P<0.01$). **Conclusion:** TAF in pituitary tumor are expressed in higher amounts in patients with hypopituitarism after surgery and in patients with harder tumor texture. The level of TAF in pituitary tumors is significantly positively correlated with the size and aggressiveness of pituitary tumors.

Keywords pituitary adenoma; tumor-associated fibroblasts; hypopituitarism

垂体腺瘤为腺垂体发生的良性肿瘤,其发病率约占所有颅内肿瘤的15%^[1]。由于垂体腺瘤生长部位特殊,周围解剖结构复杂,部分垂体腺瘤呈侵袭性生长,治疗上仍存在诸多难点^[2]。已有研究指出肿瘤大小与侵袭性相关,互相作用更影响手术效果^[3]。肿瘤

微环境在肿瘤发生发展过程中起重要作用,其中肿瘤相关成纤维细胞(tumor-associated fibroblast, TAF)是微环境中含量较高的基质细胞,对肿瘤的生长,侵袭有着促进作用,并与肿瘤的预后不良有关^[4]。此外,垂体瘤术后垂体功能减退的发生率可高达30%~

70%,因此早期的诊断与治疗至关重要^[5]。本研究探讨TAF与肿瘤的大小、侵袭性和质地情况的相关性,以及对于术后垂体功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科2016年1月至2021年1月收治的通过经鼻蝶入路手术^[6-8]切除垂体腺瘤的患者112例,其中男52例,女60例;年龄17~76岁,平均年龄(47.21±13.44)岁。纳入标准:经头颅MRI诊断符合垂体瘤诊断标准;伴不同程度视野缺损、头痛、视力减退、内分泌紊乱等症状;符合手术指征;首次接受手术治疗。排除标准:伴其他脑部器质性疾病。

本研究经我院医学伦理委员会审批通过,患者对本研究知情并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集及指标评价 详细记录患者的临床、MRI及手术记录资料。MRI影像用于判断肿瘤的大小及侵袭性,侵袭性标准采用Knosp分级^[9]。肿瘤质地以手术记录为标准。记录患者术后甲状腺轴、肾上腺轴、性腺轴激素分泌水平(包括促甲状腺激素、甲状腺激素、促肾上腺皮质激素、皮质醇、泌乳素、黄体生成素、卵泡刺激素、睾酮、孕酮、雌二醇、激素水平),≥1项低于正常范围诊断为垂体功能减退^[10]。

1.2.2 TAF检测 收集近1年内接受垂体腺瘤手术切除的24例患者的垂体腺瘤组织,常规法行免疫组织化学染色,检测TAF的3种生物标志物:α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA),血小板衍生生长因子受体(PDGFRB),转胶蛋白(TAGLN)。免疫组化试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;α-SMA购自Santa Cruz生物公司(货号sc-32251),PDGFRB购自Abclonal生物公司(货号A2180),TAGLN购自Prointech生物公司(货号10493-1-AP)。倒置荧光显微镜为OLYMPUS CKX5。

1.3 统计学处理

免疫组化染色照片用ImageJ2X 2.1.4.7批量定量分析。采用GraphPad Prism 8软件处理分析数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组

间比较采用独立样本均数t检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性采用线性回归分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 垂体瘤患者术后垂体功能减退的相关因素分析

本研究术后垂体功能减退患者共45例(40.18%),与以往报道的30%~70%相符^[5]。根据术后垂体功能是否减退,将患者分为垂体功能减退组(45例)和垂体功能正常组(67例)。比较相关因素结果显示,与垂体功能正常组相比,垂体功能减退组患者男性比例更高($P < 0.001$),年龄更大($P = 0.043$),肿瘤更大($P < 0.001$),Knosp分级更高($P = 0.041$),肿瘤质地韧性比例更高($P < 0.001$),见表1。

将肿瘤质地韧的患者25例纳入质地韧组,肿瘤质地软的患者87例纳入质地软组,比较结果显示,质地韧组患者肿瘤最大径更大[(2.64±1.49) cm vs. (2.14±0.895) cm, $P = 0.046$],Knosp分级更高[(1.96±1.37) cm vs. (1.39±1.07) cm, $P = 0.036$],见图1A-B。

2.2 TAF含量与肿瘤的大小、侵袭性、质地及术后垂体功能的相关性

24例完成TAF免疫组化染色定量分析的组织标本中,肿瘤质地韧的11例纳入质地韧组,肿瘤质地软的13例纳入质地软组。

免疫组化染色定量分析结果显示:①α-SMA表达水平在质地韧组表达更高($t = 2.280, P = 0.030$),与肿瘤大小呈显著正相关($r = 0.560, P = 0.005$),与Knosp分级呈显著正相关($r = 0.716, P < 0.001$);②PDGFRB表达水平在质地韧组表达更高($t = 3.056, P = 0.005$),与肿瘤大小呈显著正相关($r = 0.664, P < 0.001$),与Knosp分级呈显著正相关($r = 0.557, P < 0.001$);③TAGLN表达水平在质地韧组表达更高($t = 4.144, P < 0.001$),与肿瘤大小呈显著正相关($r = 0.792, P < 0.001$),与Knosp分级呈显著正相关($r = 0.685, P < 0.001$),见图1C、图2、图3。

24例完成TAF免疫组化染色定量分析的组织标本中,术后垂体功能正常的13例纳入术后垂体功能正常组,术后垂体功能减退的11例纳入术后垂体功能减退组。

表1 垂体瘤患者术后垂体功能减退的相关因素分析($\bar{x} \pm s$)或例]

组别	例数	性别(男/女)	年龄/岁	肿瘤最大径/cm	Knosp 分级/级	质地(韧/软)
垂体功能正常组	67	22/45	45.10±13.05	2.07±0.97	1.52±1.21	3/64
垂体功能减退组	45	30/15	50.33±13.55	2.87±1.24	2.02±1.32	22/23
P值		<0.001	0.043	<0.001	0.041	<0.001

相比于术后垂体功能正常组,术后垂体功能减退组患者垂体瘤中的 α -SMA、PDGFRB和TAGLN阳性比例明显增高[分别为 $(3.491\pm1.686)\%$ vs. $(1.456\pm1.274)\%$, $P=0.003$; $(3.902\pm1.456)\%$ vs. $(2.347\pm0.980)\%$, $P=0.005$;

$(4.312\pm1.300)\%$ vs. $(2.533\pm1.374)\%$, $P=0.004$],见图4。结果表明,TAF含量与肿瘤的大小、肿瘤侵袭性、肿瘤质地以及术后垂体功能显著相关,均具有显著的统计学意义。

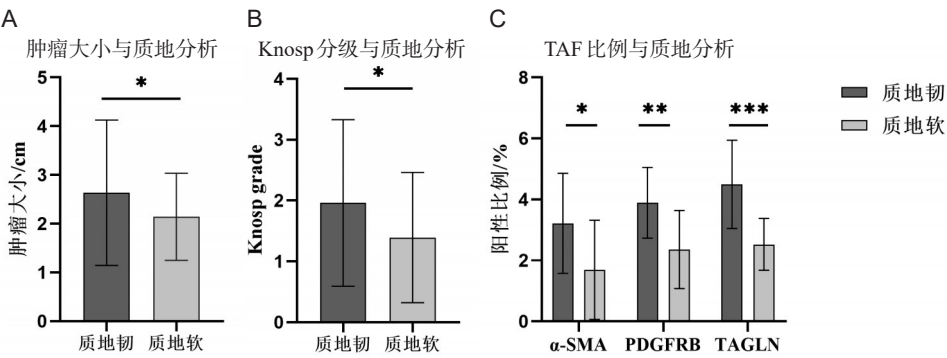


图1 肿瘤质地与垂体瘤侵袭程度、肿瘤大小的分析

注:(A)与质地软组相比,质地硬组患者的肿瘤更大($P=0.046$);(B)与质地软组相比,质地硬组患者的Knosp分级更高($P=0.036$);(C)质地硬组的 α -SMA($P=0.030$)、PDGFRB($P=0.005$)及TAGLN($P<0.001$)表达水平平均高于质地软组;* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

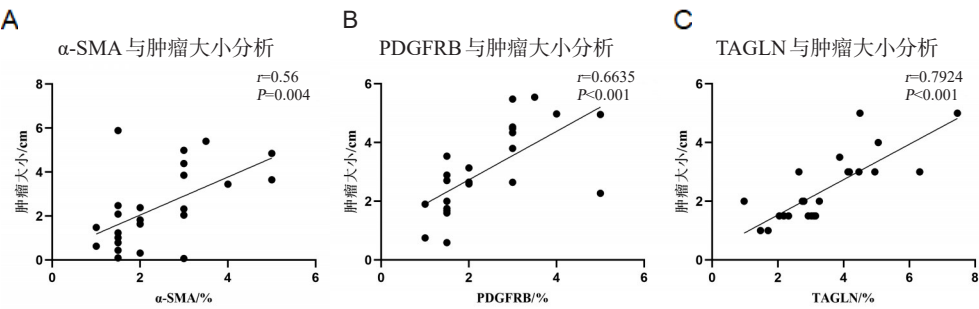


图2 肿瘤大小与TAF阳性比例呈正相关

注:(A)肿瘤大小与 α -SMA阳性比例呈显著正相关($r=0.560$, $P<0.001$);(B)肿瘤大小与PDGFRB阳性比例呈显著正相关($r=0.664$, $P<0.001$);(C)肿瘤大小与TAGLN阳性比例呈显著正相关($r=0.792$, $P<0.001$); $n=24$,线性回归

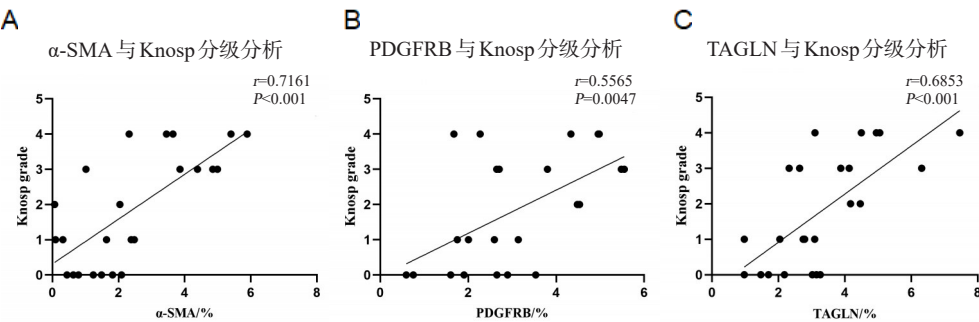
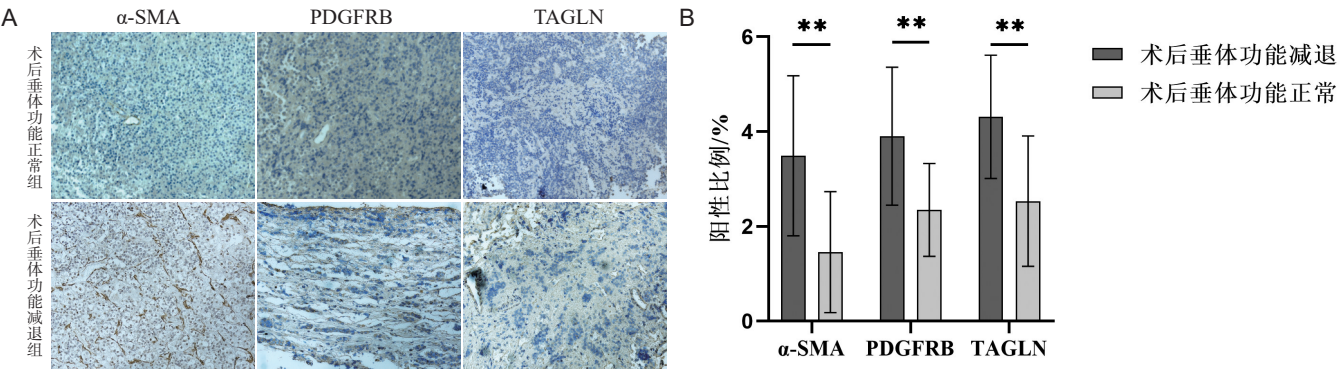


图3 肿瘤Knosp分级与TAF阳性比例呈正相关

注:(A)肿瘤Knosp分级与 α -SMA阳性比例呈显著正相关($r=0.716$, $P<0.001$);(B)肿瘤Knosp分级与PDGFRB阳性比例呈显著正相关($r=0.557$, $P=0.005$);(C)肿瘤Knosp分级与TAGLN阳性比例呈显著正相关($r=0.685$, $P<0.001$); $n=24$,线性回归



注:(A)术后垂体功能正常组和术后垂体功能减退组 α -SMA、PDGFRB和TAGLN免疫组化检测图片;(B)2组 α -SMA、PDGFRB和TAGLN阳性比例比较柱状图;均提示术后垂体功能减退组的TAF阳性比例高于术后垂体功能正常组; ** $P<0.01$

图4 术后垂体功能减退患者TAF阳性比例更高

3 讨论

垂体瘤是颅内肿瘤中常见的良性肿瘤,但由于侵袭性等各种原因,垂体瘤术后可能造成垂体功能减退^[10]。TAF 是肿瘤微环境中的重要成分之一,已有研究证明 TAF 在促进肿瘤增殖、侵袭方面起重要作用^[4]。此外, TAF 还可以促进胶原沉积以及细胞外基质僵硬,增加肿瘤硬度^[11]。本研究也从临床与实验角度证实了这一点,临床垂体瘤患者数据分析表明,肿瘤的最大径越大或者侵袭性越高,肿瘤的质地则越韧,从影像资料中也可以看出,质地较韧的患者 MRI 信号较高(图 5)^[12],而这一特征也与术后垂体功能的减退相关。该结果也从侧面证明肿瘤的体积与侵袭性对预后的影响,与既往研究结果一致^[13]。本研究还证明了 TAF 在垂体瘤生长、侵袭以及预后中的重要作用。本研究免疫组化使用的 3 个指标 α -SMA、PDGFRB 和 TAGLN 均为 TAF 的标志物^[14,15],结果显示,垂体腺瘤中 TAF 的含量与肿瘤大小、肿瘤侵袭性以及肿瘤质地相关,含量越高,肿瘤的最大径也越大,肿瘤的侵袭性也越高,肿瘤的质地也偏韧。已有研究证明,高侵袭性的垂体瘤患者影响术后垂体功能^[16],而质地较韧的垂体腺瘤也会增加术者手术治疗的难度^[17],可以推测无法顺利全切的肿瘤将会对患者术后的垂体功能造成影响,本研究证实了这一推测。对 TAF 与术后垂体功能作相关性分析存在统计学差异,证明 TAF 不仅对肿瘤本身有着促进作用,也会影响术后垂体功能,这也说明 TAF 的含量较高与垂体瘤患者预后不良有关,抑制成纤维细胞的治疗方法或可以辅助手术治疗,提高手术效果。本研究对 TAF 促进肿瘤进展这一观点也从侧面给予了佐证,为肿瘤微环境影响肿瘤生长与侵袭提供了支持证据。

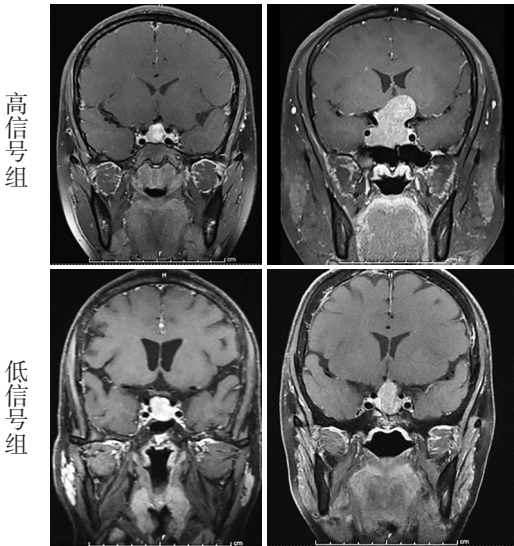


图5 不同患者肿瘤质地影像资料中表现的差异

本研究分析了术后垂体功能与患者一般信息的相关性,发现的危险因素与既往研究结果相同^[1,4,18]。研究还发现垂体功能减退也与年龄相关,年龄越高垂体功能减退的风险越高,这与本课题组之前报道的结论一致^[19]。

综上所述,本研究从临床资料以及免疫组化的角度发现了垂体瘤的大小、垂体瘤侵袭程度以及肿瘤质地与垂体瘤 TAF 的相关性。不仅如此,TAF 的高含量可以导致垂体瘤术后垂体功能的降低,影响患者预后。

参考文献

[1] 雷霆,舒凯,李龄. 垂体腺瘤的诊断与治疗[J]. 临床内科杂志, 2008, 25: 581-583.

[2] 雷霆,叶飞,王俊文. 人垂体腺瘤细胞信号转导网络间交叉通讯机制与靶向药物治疗前景[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35: 799-801.

[3] 孙敏娟,张木勋,雷霆,等. 746例经手术治疗的垂体腺瘤患者临床资料分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26: 657-661.

[4] Marques P, Silva A L, Lopez-Presa D, et al. The microenvironment of pituitary adenomas: biological, clinical and therapeutical implications[J]. Pituitary, 2022, 25: 363-382.

[5] Kim SY. Diagnosis and Treatment of Hypopituitarism[J]. Endocrinol Metab (Seoul), 2015, 30: 443-455.

[6] 万学焱,徐钰,张华楸,等. 侵袭性垂体腺瘤治疗和预后影响因素分析[J]. 中华神经外科杂志, 2013, 29: 451-455.

[7] 李俊,王雷,王俊文,等. 经鼻蝶入路显微手术切除垂体腺瘤 63 例[J]. 中国临床神经外科杂志, 2010, 15: 726-728.

[8] Jiao W, Huang Y, Sun W, et al. Microscopic Transnasal Transsphenoidal Surgery for Pediatric Pituitary Adenomas[J]. J Craniofac Surg, 2017, 28: 1010-1012.

[9] 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[J]. Neurosurgery, 1993, 33: 610-618.

[10] Romero CJ, Nesi-Franca S, Radovick S. The molecular basis of hypopituitarism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2009, 20: 506-516.

[11] Jiang H, Hegde S, DeNardo DG. Tumor-associated fibrosis as a regulator of tumor immunity and response to immunotherapy[J]. Cancer Immunol Immunother, 2017, 66: 1037-1048.

[12] 沈晓黎,雷霆,舒凯,等. MRI推断垂体腺瘤质地、侵袭性与经蝶入路术中所见的比较[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2004, 10: 214-217.

[13] 李勇,舒凯,董芳永,等. 侵袭性垂体腺瘤侵袭性的综合判断及其与临床预后的关系[J]. 中国临床神经外科杂志, 2004, 9: 90-92.

[14] Kryza T, Silva LM, Bock N, et al. Kallikrein-related peptidase 4 induces cancer-associated fibroblast features in prostate-derived stromal cells[J]. Mol Oncol, 2017, 11: 1307-1329.

[15] Nurmik M, Ullmann P, Rodriguez F, et al. In search of definitions: Cancer-associated fibroblasts and their markers[J]. Int J Cancer, 2020, 146: 895-905.

[16] 李勇,舒凯,董芳永,等. 侵袭性垂体腺瘤的组织学与临床预后的关系[J]. 中德临床肿瘤学杂志(英文版), 2005, 4: 179-182.

[17] Wang Z, Chang M, Zhang Y, et al. Multi-Omics Investigations Revealed Underlying Molecular Mechanisms Associated With Tumor Stiffness and Identified Sunitinib as a Potential Therapy for Reducing Stiffness in Pituitary Adenomas[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 820562.

[18] 曾梅芳,蒋翠萍,叶红英,等. 215例垂体腺瘤术后患者腺垂体功能评估及替代状况分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28: 546-550.

[19] Liu J, Li C, Xiao Q, et al. Comparison of Pituitary Adenomas in Elderly and Younger Adults: Clinical Characteristics, Surgical Outcomes, and Prognosis[J]. J Am Geriatr Soc, 2015, 63: 1924-1930.

(本文编辑:唐颖馨)