

·信息研究·

## 神经母细胞瘤 60 例预后因素分析

檀卫平<sup>1</sup>, 见须英雄<sup>2</sup>, 马渊理<sup>2</sup>

(1. 中山大学附属第二医院儿科, 广东 广州 510120; 2. 兵库县立儿童医院血液肿瘤科, 神户 日本 〒654-0081)

**摘要:**【目的】探讨影响神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)患儿预后的因素。【方法】用回顾性研究方法对在日本兵库县立儿童医院随访资料完整的60例NB患儿,按首次就诊时临床资料(年龄、性别、原发部位、转移部位、Shimada组织学分型、INSS分期、手术能否根治性切除);生化指标(尿香草杏仁酸/高香草酸(vanillylmandelic acid/homovanillic acid, VMA/HVA比值)、血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血清铁蛋白(ferritin)、神经原特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)、肿瘤组织NMYC拷贝及DNA指数)等因素进行分组。以Kaplan-Meier法计算无事件生存率(event-free survival, EFS)。单因素分析用Kaplan-Meier生存曲线法比较组间EFS,显著性检验采用Log-rank法。多因素分析用COX模型处理各组数据。【结果】单因素分析发现:年龄>1岁、腹部原发、骨骼转移、INSS第3期,4期、Shimada组织类型不良型、无法根治性切除、血清LDH>1500 IU/L、ferritin>150 μg/L、NSE>100 μg/L、肿瘤组织NMYC拷贝>1及DNA指数=1等组别的5年EFS均显著低于其对照组。性别与尿HVA/VMA比值对EFS无影响。COX模型多因素分析显示:只有骨骼转移、Shimada组织类型不良与NMYC拷贝>1对EFS产生不良影响。【结论】早期行肿瘤组织原癌基因NMYC分析,Shimada组织学分型及骨骼扫描对估计NB预后具有重要意义。

**关键词:**神经母细胞瘤;预后分析**中图分类号:** R739.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2003)01-0092-05

## Analysis of Prognostic Factors on 60 Cases with Neuroblastoma

TAN Wei-ping<sup>1</sup>, MISU Hideo<sup>2</sup>, MABUCHI Osamu<sup>2</sup>

(1. Department of Pediatrics, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2. Department of Hematology and Oncology, Kobe Children's Hospital, Kobe 〒654-0081, Japan)

**Abstract:** 【Objective】 To investigate variables that contribute to the prognosis of neuroblastoma. 【Methods】 Data of 60 neuroblastoma patients who were continuously followed up in Kobe Children's Hospital were studied retrospectively. Kaplan-Meier methods were used to estimate the event-free survival(EFS) from the time of diagnosis. For univariate analysis, the Kaplan-Meier survival was used to compare the EFS probabilities; Log-rank statistic was used to test the significance of the differences in 5-year EFS between subgroups of patients. Analysis of multivariables was performed using the Cox regression method. The examined factors including clinical variables (age, sex, primary site of tumor, metastatic sites, Shimada classification, stages, surgical resection) and biological variables(urine HVA/VMA ratio, serum LDH, ferritin, NSE, NMYC gene amplification and DNA index of tumor tissue). 【Results】 Univariate analysis showed that five-year EFS of patients with age >1 year, abdominal origin, bone metastasis, INSS 3-4 stage, Shimada unfavorable histology, unresectable tumor, or with serum LDH>1500 IU/L, ferritin>150 μg/L, NSE>100 μg/L, or with NMYC gene amplification and DNA index = 1 was significantly lower than that of the control group. Multivariate analysis demonstrated that only the bone metastasis, NMYC gene amplification and unfavorable Shimada his-

收稿日期:2002-09-26

**作者简介:**檀卫平(1966-),女,安徽东至人,博士生,儿科主治医师,2000年曾作为广东省-日本兵库县友好交流项目研修员,赴兵库县立儿童医院研修。

tology contributed negative effect to the EFS of neuroblastoma. 【Conclusion】 Early detection of NMYC gene amplification, DNA index of tumor tissue and bone scanning are important for evaluation of outcome of neuroblastoma.

**Key words:** neuroblastoma; prognosis analysis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2003,24(1):92~96]

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是小儿时期最常见的颅外实体瘤,约占小儿肿瘤的8~10%。与肾上腺及交感神经节一样起源于神经脊细胞。肿瘤在部分患儿(特别是小婴儿)可自发分化,自然消失,呈良性经过;而部分则起病后迅速恶性增生,多脏器转移,预后不良。能否在初诊时利用临床指标及肿瘤生化标志对神经母细胞瘤病例进行前瞻性的评估,进而指导更适当的治疗,值得进一步探讨。我们于2001年3月对神戸市儿童医院随访时间0~9.5年(平均7.7年),资料完整的60例NB患儿进行了总结,探讨影响NB预后的因素。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

本文所选患者为1991年1月至1997年12月期间在神戸市儿童医院初诊住院,经病理及细胞学检查确诊的NB患儿,共60例。住院期间的病历资料通过病历复习获得,随访资料来源于血液肿瘤专科门诊。随访内容主要包括患者自确诊的当天起至2000年12月是否还存活,死亡者是否由于NB所至。该组患者接受相类似的治疗方案。即根据国际分期(International neuroblastoma stage system, INSS)<sup>[1]</sup>采用不同级别的治疗方案。1期患者采用肿瘤全摘,不接受化疗。3,4期患者于手术摘除前接受2~4个疗程CVCA(连续5d的顺铂20 mg/m<sup>2</sup>,依托泊苷100 mg/m<sup>2</sup>,以及第1天环磷酰胺600 mg/m<sup>2</sup>,第5天盐酸阿霉素30 mg/m<sup>2</sup>),术后再接受2年CVCA化疗。分期为第2期,第4s期患者于手术切除后,再接受2~4个疗程CVCA化疗。

### 1.2 研究方法

主要就临床指标(就诊年龄、性别、原发部位、转移部位、INSS分期、Shimada组织分型),生化指标[包括尿香草杏仁酸/高香草酸(vanillylmandelic acid/homovanillic acid, VMA/HVA)比值、血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血清铁蛋白

(ferritin)及神经原特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)水平、肿瘤组织NMYC基因拷贝及DNA指数],手术是否根治性切除13项指标对生存时间的影响进行分析。

### 1.3 统计学方法

将分析因素:①年龄>1岁与≤1岁,②男与女,③原发部位腹部与其他部位,④转移到骨骼的有与无,⑤INSS分期为3+4与1+2+4s,⑥Shimada组织类型不良与良好型,⑦尿HVA/VMA>1与≤1,⑧血清LDH LDH>1 500 IU/L与≤1 500 IU/L,⑨ferritin>150 μg/L与≤150 μg/L,⑩NSE>100 μg/L与≤100 μg/L,⑪肿瘤组织NMYC增幅>1与=1,⑫DNA指数=1与>1,⑬根治性与非根治性切除作为自变量,分别赋值1分和0分;患儿生存时间为因变量;死亡与存活分别赋值1分和0分。单因素分析采用Kaplan-Meier生存曲线比较5年EFS,显著性检验采用Log-rank法,多因素分析用COX回归模型,全部数据应用SPSS10.0软件处理。

## 2 结果

### 2.1 流行病学数据

60例中男28例,女32例,初诊时年龄最小1天,最大8岁4个月,平均年龄26.5个月,其中年龄<1岁27例(占45%),≥1岁33例(占55%);原发于腹部者46例(其中原发于肾上腺32例,脊柱旁神经节14例),后纵隔的11例,盆腔的2例,原发部位不明的1例;初诊时已发生肿瘤转移者48例(80%),骨骼转移14例(占23%);INSS分期1期6例,2期8例,3期13例,4期27例,4s期6例;Shimada组织类型不良型24例,良好型36例;手术完全切除29例,部分切除26例,单纯活检5例;尿HVA/VMA比值≥1者33例,<1者27例;血清LDH>1 500 IU/L者21例,≤1 500 IU/L者39例;ferritin>150 μg/L者26例,≤150 μg/L者34例;NSE>100 μg/L者29例,≤100 μg/L者31例;肿瘤组织NMYC拷贝>1者11例,=1者49

例;DNA指数=1(diploid)者24例,≠1者36例。

## 2.2 生存分析结果

60例NB患者随访截止时,无病生存者共42例,带病生存者1例,死于其他疾病2例,因NB恶化、复发死亡15例。3年无事件生存率(EFS)为(86.7±4.4)%,5年EFS为(72.7±6.1)%。死亡病例均发生于确诊后5年内,其中8例死亡于3年内。

单因素分析发现:年龄>1岁,腹部原发,骨骼转移,INSS分期为3,4,Shimada分型为非满意型,无法根治性切除,血清LDH>1500 IU/L, ferritin >150 μg/L, NSE>100 μg/L, 肿瘤组织NMYC拷

贝>1和DNA指数=1等组别的5年无事件生存率(EFS)均显著低于其对照组;性别与尿HVA/VMA比值对EFS无影响(表1)。多因素COX模型回归分析发现只有骨骼转移、Shimada组织类型不良与NMYC基因扩增三项对EFS产生不良影响(表2,图1~3)。

## 3 讨论

神经母细胞瘤(NB)是小儿最常见实体瘤之一。NB多发于肾上腺,其次为腹膜后、纵隔、盆腔及颈部等交感神经节细胞分布的部位。肿瘤呈浸

表1 单因素Kaplan-Meier分析和Log-rank检验结果

Table 1 The result of Kaplan-Meier univariate analysis of 5 years EFS between subgroups

Variables	Group	5 years EFS(%)	$\chi^2$	P
Age/yr	>1	60.2±9.3	5.47	0.019 2
	≤1	87.2±8.6		
INSS Stage	3+4	62.7±8.0	5.44	0.001 97
	1+2+4s	95.0±4.9		
Primary site of tumor	Abdomen	65.0±7.7	3.90	0.048 2
	Other site	94.1±5.7		
Bone metastasis	(+)	19.1±11.2	40.01	0.000 0
	(-)	89.6±4.9		
Shimada histology	UFH	35.5±10.6	28.97	0.000 0
	FH	96.3±3.6		
Resection of tumor	Biopsy	20.0±17.9	17.68	0.000 1
	Part	64.6±10.3		
	All	89.4±5.8		
Serum LDH(IU/L)	>1500	43.6±10.9	15.71	0.000 1
	≤1500	91.2±4.9		
Serum ferritin (μg/L)	>150	44.3±10.4	18.39	0.000 0
	≤150	93.2±4.8		
Serum NSE(μg/L)	>100	52.9±9.9	9.56	0.002 0
	≤100	93.1±4.7		
NMYC gene amplification/copy	>1	18.2±11.6	40.60	0.000 0
	=1	85.1±5.7		
DNA Index	=1(diploid)	29.5±11.5	26.89	0.000 0
	≠1(Ap/Hp)	97.1±2.8		
Sex	Male	80.2±7.3	1.02	0.202 8
	Female	63.2±10.0		
Urine HVA/VMA Ratio	<1	64.0±8.9	2.69	0.100 8
	≥1	83.5±7.6		

UFH: Unfavorable histology; Ap: aneuploid; Hp: hyperploid

表2 多因素 COX 模型回归分析结果

Table 2 The result of multivariate Cox regression analysis

Variable	B	SE	Wald	df	sig	R	Exp(B)
Bone metastasis	1.909	0.681	7.864	1	0.005	0.1937	6.749
NMYC>1	3.641	0.859	17.946	1	0.000	0.3258	38.113
Shimada-Unfavorable	4.074	1.328	9.411	1	0.002	0.2058	58.770

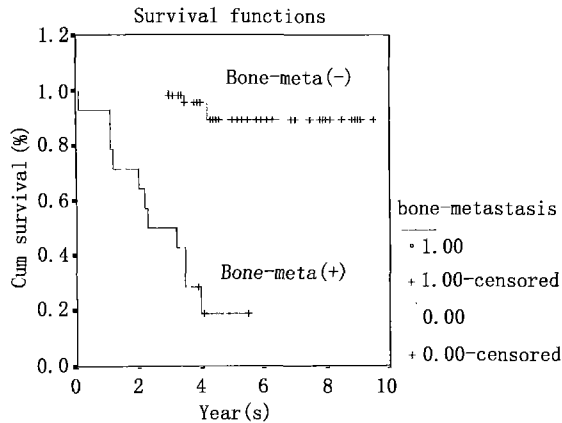


图1 骨转移与否 Kaplan-Meier 生存率曲线

Fig.1 Kaplan-Meier survival of bone metastasis +/-

Upper line: bone-metastasis -; Lower line: bone-metastasis +

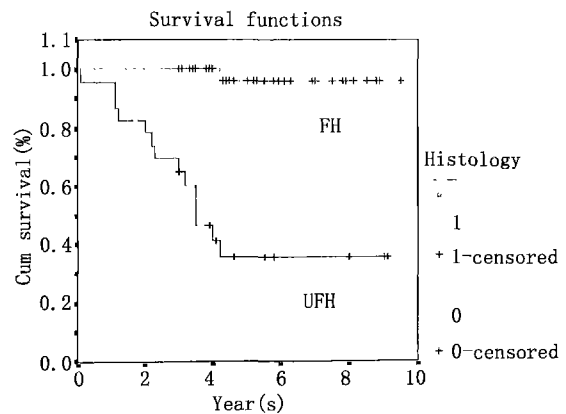


图3 不同 Shimada 分型 Kaplan-Meier 生存率曲线

Fig.3 Kaplan-Meier survival of Shimada histology

Upper line: Shimada favorable histology; Lower line: Shimada unfavorable histology; FH: favorable histology; UFH: unfavorable histology

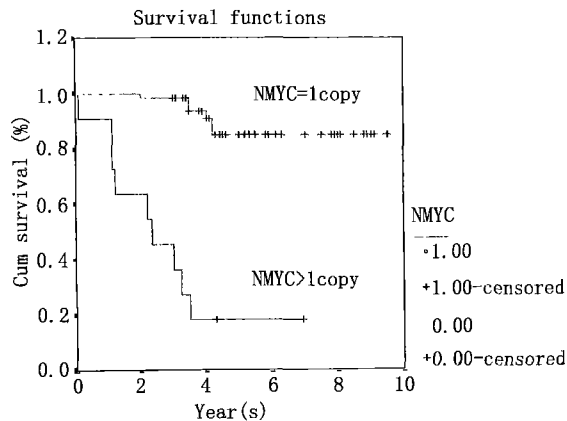


图2 NMYC 扩增与否 Kaplan-Meier 生存率曲线

Fig.2 Kaplan-Meier survival of NMYC amplification +/-

Upper line: NMYC = 1 copy; Lower line: NMYC > 1 copy

润性生长,转移发生较早,易转移至肝脏、骨髓、皮肤、淋巴结、肾脏及骨骼等组织。由于原发部位及转移部位不同,肿瘤组织分化程度不一,临床表现多种多样。虽然近 20 余年来在治疗上有了很大进展,但死亡率仍较高。如何在初诊时利用临床及生化指标对肿瘤病程及预后进行正确评估,而制定出适当的治疗方案将是提高其生存率的关键。

3.1 单因素分析

本组表 1 资料表明:年龄 > 1 岁,腹部原发,骨骼转移,INSS 分期 3,4 期,Shimada 组织学类型不

良型,无法根治性切除,血清 LDH > 1 500 IU/L, ferritin > 150 μg/L, NSE > 100 μg/L,肿瘤组织 NMYC 拷贝 > 1, DNA 指数 = 1 等组别的 5 年 EFS 均显著低于其对照组。性别与尿 HVA/VMA 比值对 EFS 无影响。即年龄大,肿瘤浸润范围广,无法切除,腹部原发(起病隐匿),骨骼转移,组织学恶性度高,等均预示预后不良;同时血液中代表肿瘤负荷的非特异性指标(LDH, ferritin)与特异性指标(NSE)水平的升高也预示预后不良。而原癌基因 NMYC 扩增及肿瘤细胞 DNA 指数则是最近研究的 NB 遗传学特征,可较好的表明 NB 恶性程度。性别对预后无影响。尿 HVA、VMA 水平虽然在 NB 诊断中有重要意义,有文献报道 HVA/VMA 比值影响预后,本资料显示 HVA/VMA 对生成时间无影响。

3.2 多因素分析

多因素 Cox 回归分析发现,只有骨骼转移、NMYC 拷贝 > 1 和 Shimada 组织类型不良型可对预后不良产生影响(表 2,图 1~3)。NB 易于早期转移(80%),骨骼转移达 23%。本资料表明发生骨骼转移的 NB 患儿 5 年 EFS 为(19.1 ± 11.2)%,无骨骼转移者 5 年 EFS 为(89.8 ± 4.9)%。因为

无转移者多为早期患者,或为肿瘤恶性度低,而骨髓、肝脏、肾脏、皮肤等部位均为化疗药物容易到达的部位,骨骼则是化疗药物最难抵达,成为肿瘤细胞的庇护所,并为以后复发的根源。NB细胞的分化程度有相当大的差异,可由完全未分化的细胞到完全成熟的细胞组成。典型的未分化原始神经母细胞为“小蓝色圆细胞”,胞浆极少,核染色较深。Shimada在Hughes三级组织学分型的基础上,提出加上有丝分裂核破裂指数(MKI)及肿瘤间质成分之多少,并结合年龄将肿瘤分成组织类型良好及不良型。因为间质成分也是肿瘤的组成部分,来源于神经脊,也代表了肿瘤组织的分化程度。故Shimada分型<sup>[2]</sup>是目前广为采用而被认为十分合理的分型。本组资料也显示Shimada组织学分型对预后预测作用。NMYC基因是近年发现的定位与2号染色体短臂远端的细胞核原癌基因,具有核内转录因子功能,编码的基因产物影响DNA复制的启动过程,调节细胞生长、增殖与分化。正常情况下,每条染色体上只含有单个拷贝的NMYC基因,在细胞的生长过程起着重要的调节作用;而当NMYC基因扩增,拷贝数增多时,将会导致肿瘤细胞的恶性增殖。Seegar等<sup>[3]</sup>早在1985年已经注意到晚期NB患者常伴有NMYC基因拷贝的增加。本组60例NB患儿NMYC基因多拷贝组11例死亡9例,5年生存率为 $(18.2 \pm 11.6)\%$ ,单个拷贝组为 $(85.1 \pm 5.7)\%$ 。Gallego等<sup>[4]</sup>多因素分析也发现NMYC增幅可对NB预后造成不良影响。关于NMYC基因影响预后的机制尚不清楚。Chambery<sup>[5]</sup>研究表明NMYC可增加NB细胞胰岛素样因子受体表达,促进NB细胞增殖。Fotsis<sup>[6]</sup>发现NMYC基因的扩增可通过下调内皮细胞生长抑制因子而增加肿瘤血管形成,进而促进肿瘤生长与播散。因而抑制NMYC扩增的药物如顺式维甲酸可改善高危NB患儿预后<sup>[7]</sup>。

虽然以往有报道年龄、肿瘤分期、原发部位,以及LDH、ferritin、NSE与肿瘤细胞DNA含量对NB预后影响,本文分析显示只有骨骼转移、Shimada组织类型不良和NMYC基因扩增可对预后产生不良影响,上述其他指标并不能添加有效信息。可能因为NB的预后主要取决于肿瘤本身内在的生物学特性,而NMYC基因扩增与否和Shimada组织学分型可较好反映肿瘤细胞遗传特征及恶性程度。结合NMYC检测与Shimada分型可有助于发现高危NB亚群<sup>[8]</sup>。骨骼转移也间接提示肿瘤细胞的

粘附性与侵袭性较强<sup>[9]</sup>。不论是年龄、分期还是原发部位均不能很好反映肿瘤细胞的内在特性。LDH、ferritin、NSE这些肿瘤体积负荷指标虽然在追踪观察肿瘤病情有无复发、恶化方面具有重要意义,但同样不能反映肿瘤的内在特性与恶性程度。因而早期行肿瘤组织活检进行原癌基因NMYC分析,Shimada分型及骨骼扫描对估计NB预后进而指导适当治疗具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Brodeur G M, Seeger R C, Barrett A, *et al.* International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma[J]. *J Clin Oncol*, 1988, 6(12):1874.
- [2] Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr, *et al.* Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and age-linked classification of neuroblastomas[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1984, 73(2):405.
- [3] Seeger R C, Brodeur G M, Schwab M, *et al.* Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas[J]. *N Engl J Med*, 1985, 313(18):1111.
- [4] Gallego S, Parareda A, Munell F, *et al.* Clinical relevance of molecular markers in neuroblastoma: results from a single institution[J]. *Oncol Rep*, 1999, 6(4):891.
- [5] Chambery D, Mohseni Z S, De GB, *et al.* N-myc regulation of type I insulin-like receptor in a human neuroblastoma cell line[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(12):2898.
- [6] Fotsis T, Breit S, Lutz W, *et al.* Down-regulation of endothelial cell growth inhibitors by enhanced MYCN oncogene expression in human neuroblastoma cells[J]. *Eur J Biochem*, 1999, 263(3):757.
- [7] Matthay K K, Villablanca J G, Seeger R C, *et al.* Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid[J]. *N Engl J Med*, 1999, 16(341):1165.
- [8] Shimada H, Stram D O, Chatten J, *et al.* Identification of subsets of neuroblastoma by combined histopathologic and N-myc analysis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1995, 87(19):1470.
- [9] Zaizen Y, Taniguchi S, Suita S. The role of cellular motility in the invasion of human neuroblastoma cells with or without N-myc amplification and expression[J]. *J Pediatr Surg*, 1998, 33(12):1765.

(编辑 张恩健)