

骨肉瘤保留肢体治疗术后生存分析^①

黄纲 李佛保 韩士英 廖威明 沈靖南

(中山医科大学附属第一医院骨科; 广州, 510080)

摘要 目的: 探讨骨肉瘤保肢治疗中肿瘤大小、临床分期、手术方式、术前、术后化疗以及肿瘤多药耐药基因(*mdr*)表达产物P糖蛋白(P-170)对术后生存时间的影响。方法: 统计分析近7年47例骨肉瘤保肢术患者的病理、临床资料及生存时间, 并用链菌素-生物素标记法(LSAB)免疫组织化学法回顾性检测肿瘤标本中P-170糖蛋白。结果: 临床分期为II_B期患者1~5年生存率分别是97.4%, 76.0%, 46.3%, 38.9%和34.0%; II_A期患者相应的生存率为100%, 80.0%, 80.0%, 80.0%和80.0%; I_B期患者相应的生存率皆为100%; 各临床分期期间的生存率有统计学差异($P < 0.01$)。术前有化疗的患者1~5年生存率分别是97.5%, 84.5%, 67.4%, 57.1%和53.0%; 术前无化疗的患者相应的生存率分别为85.7%, 42.9%和0%; 两组生存率有统计学意义($P < 0.01$)。术后有化疗的患者1~5年生存率分别是97.1%, 94.2%, 72.7%, 61.6%和57.2%; 术后无化疗的患者相应的生存率分别是90%, 20.0%和0%; 差异有统计学意义($P < 0.01$)。P-糖蛋白阳性组1~5年生存率分别是97.4%, 73.3%, 47.1%, 35.9%和30.7%; P-糖蛋白阴性组的相应值皆为100%, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。此外, 在不同保肢术式中人工关节置换术患者1~5年生存率最高, 分别是96.7%, 93.0%, 70.0%, 63.1%和52.0%, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论: 肿瘤临床分期、肿瘤大小、保肢术式、术前、术后化疗及P-170糖蛋白阳性表达是影响骨肉瘤保肢治疗预后的主要因素。人工关节置换是保肢术中较理想的方法。P-170糖蛋白检测可作为骨肉瘤保肢术后化疗敏感性的指标。

关键词 骨肉瘤/外科学; 四肢/外科学; P-糖蛋白; 免疫组织化学

中图分类号 R 738.1

Survival Analysis after Limb-salvage Surgery for Osteosarcoma

Huang Gang Li Fobao Han Shiyang Liao Weiming Shen Jingnan

(Department of Orthopaedic Surgery, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Abstract Objective: Analysis the relation of survival time to sizes of tumor, surgical grades, operative methods, chemotherapy, and expression product of multidrug resistance gene (P-170 glycoprotein) after limb-salvage surgery for osteosarcoma. **Methods:** Pathological, clinical data and survival time in 47 patients of osteosarcoma with limb-salvage surgery were studied and P-170 glycoprotein was detected and reviewed in those osteosarcoma tissues by using the labelled streptavidin-biotin method (LSAB). **Results:** The survival rates of 1 to 5 years in patients which were II_B in surgical grades were 94.4%, 76.0%, 46.3%, 38.9%, 34.0%, higher than the corresponding rates of II_A which were 100%, 80.0%, 80.0%, 80.0%, 80.0%, and lower than that of I_B which were 100% in all ($P < 0.01$). Moreover, the survival rates of 1 to 5 years in patients with chemotherapy before operation were 97.5%, 84.5%, 67.4%, 57.1%, 53.0%, those rates without chemotherapy were 85.7%, 42.9%, 0% ($P < 0.01$). Furthermore, the survival rates of 1 to 5 years in patients with chemotherapy after operation were 97.1%, 94.2%, 72.7%, 61.6%, 57.2%, higher than those rates without chemotherapy ($P < 0.01$). Besides, the survival rates were lower in group of patients with positive expression of P-glycoprotein than group of negative expression ($P < 0.01$). Finally the study showed that the survival rates of patients with the artificial joint replacement were the highest in contrast with rates of other limb-salvage surgical methods ($P < 0.01$). **Conclusion:** The significant factors affecting prognosis in patients with limb-salvage surgery were surgical grades, chemotherapy before and after operation, and positive expression of P-170 glycoprotein. Artificial joint replacement was a relative good method in limb-salvage surgery. The detection of P-170 glycoprotein can be as a sensitive index for

chemotherapy after limb-salvage surgery.

Subject headings osteosarcoma/surgery; extremities/surgery; P-glycoprotein; immunohistochemistry

近20年来,骨肉瘤治疗的进展很快。大剂量综合化疗使骨肉瘤患者的生存率大幅度提高,而保留肢体手术后局部复发率未见上升。使得传统的骨肉瘤患者的截肢不再视为唯一的选择。保留患肢治疗越来越受重视。意大利 Rizzoli 研究所治疗 125 例骨肉瘤,截肢仅 8%。但是影响患者生存时间的因素有哪些?治疗经验有哪些?我科从 1991 年 1 月至 1998 年 9 月共收治骨肉瘤 132 例,其中 47 例行保留患肢治疗并得到随访,现总结分析如下。

1 材料与方 法

1.1 临床资料

47 例患者,所有病例的标本均经过常规石蜡切片而确诊。男 30 例,女 17 例,男女之比为 1.76 : 1。年龄 6 ~ 57 岁,平均 19.8 岁。股骨下段 30 例,胫骨上段 6 例,肱骨上段 8 例,肩胛骨 3 例,膝关节周围占 76.60%。

1.1.1 肿瘤大小 根据 X 线,CT 或 MRI 报告,如肿瘤长径大于肿瘤所在骨直径 5 倍为大肿瘤,15 例;相反为小肿瘤,32 例。

1.1.2 外科分期 根据 Enneking^[1] 外科分期 B 期 3 例,II_A 期 6 例,II_B 期 38 例。

1.1.3 术前化疗 47 例患者中 40 例术前行常规化疗和肿瘤血管插管化疗栓塞各 1 次,2 周后行保留患肢手术。常规化疗的药物为大剂量 MTX (3 ~ 10 g/人)。肿瘤动脉插管化疗栓塞的药物为 MTX (1 ~ 2 g/人),阿霉素及环磷酰胺。栓塞剂为无水酒精及含阿霉素的明胶。

1.1.4 术后化疗 37 例患者术后进行常规化疗,时间为每月 1 次,持续 1 年至 1 年半。术后化疗药物为大剂量 MTX (3 ~ 10 g) 及阿霉素、环磷酰胺、卡铂交替联合应用。

1.1.5 保留患肢手术方式 保肢手术指征为 I_B 期、II_A 期或 II_B 期肿瘤,血管、神经束未受累,肿瘤能够完整切除的患者。保留患肢手术原则是肿瘤大块切除,按 Enneking^[1,2] 外科切除标准为广泛切除或边缘切除。本组手术方式 4 种:肿瘤广泛切除+灭活再植 6 例;肿瘤广泛切除+带阿霉素骨水泥假体或填塞 6 例;肿瘤广泛切除+植骨或异体半关节移植 5

例;肿瘤广泛切除+人工关节置换 30 例。

1.1.6 随 诊 此组病例通过定期住院化疗、定期门诊复查及专人定期信访得到较准确随诊,随诊时间 18 ~ 84 月,平均随访时间 46.3 月,随诊时间超过 24 月的病例有 44 例。

1.2 肿瘤多药耐药基因产物 P 糖蛋白 (P-170) 检测^{3~5}

患者手术切除的新鲜组织,置于一 80 °C 低温冰箱保存。实验前取出,冰冻切片 (6 μm),分别用 HE 及免疫组织化学检测。免疫组织化学染色按链菌素-生物素标记法 (ISAB) 的试剂盒所附说明进行,一抗为鼠抗人单克隆抗体,抗 P-glycoprotein/C 219,一抗稀释度 1 : 20,以已知 P-170 阳性的 MCF-7/ADM 耐药株为阳性对照;以 MCF-7/敏感株为阴性对照。染色后,于光学显微镜高倍镜下计数 200 个有核细胞,其中胞浆有棕黄色颗粒标记物者为阳性,计算阳性细胞百分数,阳性细胞 > 15% 为该蛋白阳性,否则为阴性。

1.3 统计学处理

用 Kaplan-Meier 法估计生存率,用 Log-Rank 法作假设检验,用 SPSS 8.0 软件计算。

2 结 果

2.1 保肢术后生存情况

此组病例都得到随访。无瘤生存 22 例,复发及转移 25 例。患者 1 ~ 5 年生存率分别是 97.9%, 78.2%, 56.8%, 48.1% 和 44.7%。其中局部复发 6 例 (12.77%), 肺转移 20 例 (42.55%), 1 例股骨上段骨肉瘤切除术后髌骨转移, 1 例股骨下段骨肉瘤切除术后跟骨转移, 1 例肩胛骨骨肉瘤切除术后第 4 腰椎及对侧肩胛骨转移, 2 例股骨下段肿瘤切除术后腹股沟淋巴结及肝转移, 以上共 31 处复发及转移都发生在 25 例患者中, 随访超过 5 年 7 例, 无瘤生存 3 例, 死亡 4 例, 死因为肺转移。复发及转移患者的中位数生存期为 (822 ± 73) d, 1 ~ 4 年生存率为 96.0%, 58.8%, 19.6%, 5.9%。

2.2 Log-Rank 检验分析

1 ~ 5 年生存率比较: 大肿瘤, 人工关节置换, 术前化疗, 术后化疗, P-170 糖蛋白阳性的患者较对应组患者高 ($P < 0.01$)。而患者年龄、性别、部位、X 线分型, 病理分型与预后无明确相关 (表 1, 图 1 ~ 4)。

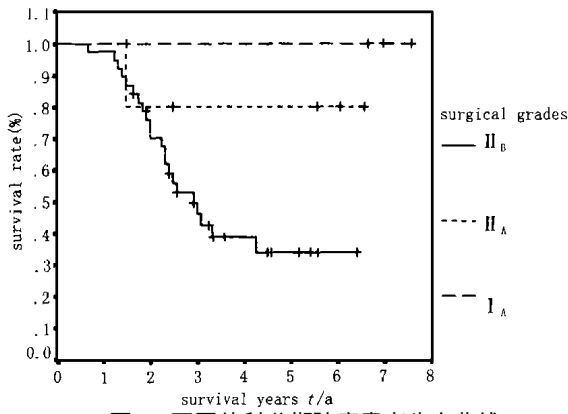


图1 不同外科分期肿瘤患者生存曲线

Fig. 1 The survival curve of different surgical grades

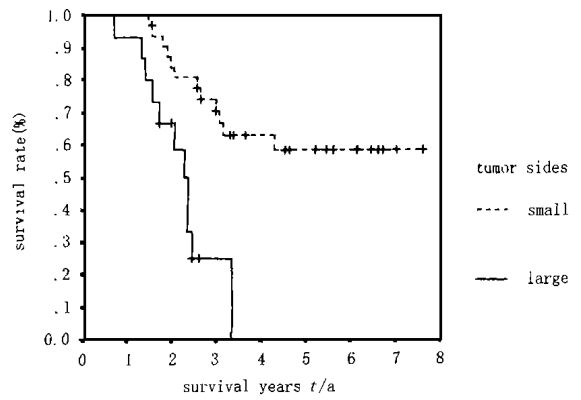


图2 不同肿瘤大小患者生存曲线

Fig. 2 The survival curve of different tumor sizes

2.3 外科分期与生存情况的关系

I_B 期的 1~5 年生存率皆为 100%，II_A 期的 1 年生存率为 100%，2~5 年生存率为 80%，II_B 期 1~5 年生存率分别是 97.4%，76.0%，46.3%，38.9% 和

34.0%。Log-Rank 检验 $P = 0.08$ ，由于样本较小(I_B 期仅 3 例，II_A 期 6 例)，为不致遗漏一些有苗头的因素，故取检验值 $\alpha = 0.10$ ，认为各分期的生存率有统计学差异(表 1)。

表 1 骨肉瘤保肢术后 1~5 年生存分析

Table 1 Survival analysis of 1~5 years after limb salvage surgery for osteosarcoma

	Cases	Survival rates of each year (%)					P^D
		1	2	3	4	5	
Surgical grades							
I _B	3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.08
II _A	6	100.0	80.0	80.0	80.0	80.0	
II _B	38	97.4	76.0	46.3	38.9	34.0	
Tumor sizes							
Small	15	96.9	84.0	70.6	63.2	58.7	0.0002
Large	32	93.3	58.3	25.0	0	0	
Surgical method							
Extensive excision and cauterization and replantation	6	83.3	50.0	16.7	16.7	16.7	0.0052
Extensive excision and bone cement tamping or prosthesis with adriamycin	6	83.3	50.0	33.3	0	0	
Extensive excision and bone grafting or osteoarticular allograft transplantation	5	80.0	60.0	60.0	60.0	60.0	
Extensive excision and hinge endoprosthesis implantation	30	96.7	93.0	70.1	61.3	51.7	
Chemotherapy before operation							
Chemotherapy	40	97.5	84.5	67.4	57.1	53.0	0.001
No chemotherapy	7	85.7	42.9	0	0	0	
Chemotherapy after operation							
Chemotherapy	37	97.1	94.2	72.7	61.6	57.2	0.001
No chemotherapy	10	90.0	20.0	0	0	0	
P-glycoprotein							
Positive	38	97.4	73.3	47.1	35.9	30.7	0.0034
Negative	9	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

D) Log Rank test result

3 讨论

3.1 骨肉瘤化疗与保肢治疗发展与效果

骨肉瘤是恶性度极高的肿瘤,易于早期肺转移,确诊时80%骨肉瘤已发生血行性显微转移。发生转移的高峰是术后第5~6月,从发生转移到死亡时间为6个月,死亡的主要原因是肺转移。单纯手术,即使是高位截肢也难以解决早期肺转移问题。80年代前,5年生存率约为10%。骨肉瘤术后辅助治疗主要是化疗。但是骨肉瘤对常规化疗药物及剂量低度敏感。70年代以前,单药治疗效果不佳,有效率仅15%,对患者生存率帮助不大,更难以谈及保肢治疗。通过筛选敏感药物,1971年,Jaffe^[9]开展大剂量MTX加醛氢叶酸(CF)解救治疗骨肉瘤,使骨肉瘤术后肺转移减少,有效率达35%,为骨肉瘤治疗开创了一个新局面。80年代后,根据Hyniuk有关剂量强度的理论,化疗效果与单位时间内给药的剂量明显相关。所以新辅助化疗方案(HD-MTX-CFR方案)^[7]不断改进,MTX剂量为8~12 g/m²,最大量达25 g/m²,此方案有效率为50%~80%^[6-8]。随着生存率提高,复发率减少,使保肢治疗得以开展。意大利Rizzol研究所1990年以来治疗125例肢体骨肉瘤,保肢率为92%,持续生存率达87%。Simon在1993年回顾大量保肢治疗文献后指出,保肢治疗与截肢治疗的生存率和局部复发率相同。

本组病例结果也显示,术前、后有化疗的患者1~5年生存率较无化疗组低($P < 0.05$)。化疗是影响患者预后的主要因素,新辅助化疗能减少复发及转移,提高生存率,为保肢治疗提供有利保障。

3.2 骨肉瘤保留肢体治疗的方式

在大剂量新辅助化疗方案支持下,骨肉瘤保留肢体治疗日益受到重视及推广。骨肉瘤保肢治疗的主要目的是尽可能地彻底切除肿瘤及尽快恢复肢体功能,改善患者生活质量。要达到上述目的,保留患肢治疗有多种方法,包括人工关节置换,肿瘤灭活再植,现场制作的骨水泥假体及异体骨或半关节移植等。目前国内外以人工关节置换术为最多,原因是人工关节置换术可达到相对彻底地切除肿瘤,术后无需异体或自体骨爬行替代过程,能早期负重,关节功能好,恢复快,可提高患者生存质量。而肿瘤骨灭活再植术存在术后肿瘤骨强度不足,内固定物难以支持早期负重,并且灭活的瘤骨出现骨坏死吸收及

炎症反应都会影响患者早期功能活动。另一目前较为常用的保肢术式为骨移植或异体半关节移植,但现常用的冻干及预处理过程较复杂,且移植的半关节因骨吸收及失神经性支配,晚期常出现严重的关节破坏,特别见于负重关节如膝关节。本组统计也显示人工关节置换术组的生存率较其他方式的生存率高($P < 0.01$)。所以,综合上述观点,我院以人工关节置换作为骨肉瘤保肢手术首选方法。在选择适合行保肢技术的部位方面,我院主要选择股骨下段、肱骨上段及肩胛骨的肿瘤行保肢治疗,而胫骨上段、腓骨上段的肿瘤主张截肢,因为考虑胫、腓骨上段肿瘤周围软组织少,后部有丰富血管、神经,难以达到广泛切除肿瘤的目的,且胫骨上段肿瘤切除后腓韧带重建较困难,影响术后行走。

尽可能彻底切除肿瘤,减少局部复发是保肢治疗的关键。文献报告复发率在10%~20%^[6-9],本组为12.7%。要减少局部复发,我院的治疗体会是,首先术前须行高选择性肿瘤血管化疗栓塞^[10],它能使肿瘤缩小、变硬、肿瘤组织坏死、假包膜形成,利于术中边界的掌握。小部分患者通过多次插管化疗,使原需截肢手术变为保肢手术治疗。但即使高选择性插管化疗栓塞也可能出现较为严重的并发症,我院各有两例栓塞后出现大片皮肤坏死及坐骨神经损伤,影响了保肢治疗。栓塞剂可选用无水酒精及我院研制的带阿霉素明胶微囊(可缓慢释放阿霉素,将另文报道)。其次,术中强调无瘤操作,在切除肿瘤的周围保留一层正常组织,截骨平面根据术前患肢MRI结果选择在肿瘤边界近端5~7 cm^[11],并且术中行残端冰冻切片,以保证较彻底地清除肿瘤。虽然MRI信号对肿瘤组织分辨率较敏感,能早期显示肿瘤在皮质外及髓腔内侵犯的范围,但我院有一例患者在MRI显示的肿瘤边界的近端10 cm截骨,近端残腔仍发现肿瘤细胞。

3.3 影响骨肉瘤保肢治疗预后的因素

影响骨肉瘤保肢治疗预后的因素除了肯定的新辅助化疗方案及术中按Enneking外科切除标准做肿瘤广泛边缘切除外,其他影响因素还包括肿瘤临床分期,肿瘤大小,P-170糖蛋白阳性表达。本组病例中II_B期、II_A及I_B期患者的1~5年生存率不相同,有统计学差异,其中以II_B期的生存率最低。但是因每组术式的样本例数较少,可能影响统计结果,有待进一步收集病例分析。

3.4 P-170糖蛋白对骨肉瘤保肢治疗的影响及意义

肿瘤细胞对化疗药物产生耐药是肿瘤治疗失败的重要原因。在肿瘤细胞耐药机制中,由多药耐药基因(*mdr-1*)表达产物 P-糖蛋白(P-170)所致耐药是其中主要原因。正常细胞中多药耐药基因不表达或低度表达。在化疗过程中,某些肿瘤细胞基因突变或调控失调,使耐药基因过度表达,其蛋白产物为 P-170 糖蛋白^[3~5],它在胞膜上形成 ATP 依赖性跨膜通道,当抗癌药物进入细胞后,通过 ATP 水解释能把药物泵出胞外,导致肿瘤抗药,从而使化疗失效。通过这些耐药细胞增殖,产生转移及复发。P-170 糖蛋白表达阳性提示肿瘤细胞对多蒽环类药物如长春新碱、鬼臼毒类、紫杉醇等耐药^[3~5]。人类肿瘤如白血病、肾癌、淋巴瘤等研究表明,多药耐药基因与化疗效果密切相关。多药耐药基因高表达者缓解率低、易复发、生存时间短。Noonan K E 和 Baldin 分别检测骨恶性肿瘤中骨肉瘤多药耐药基因的表达产物 P-糖蛋白的阳性率为 53.6% 及 46.27%。在本组病例检测中 P-糖蛋白阳性率为 66.53%,与上述结果相近,且 P-170 糖蛋白表达阳性组的生存率低于阴性组,有统计学上意义。说明骨肉瘤中存在多药耐药基因产物 P-糖蛋白表达,且阳性表达者生存率低,对于骨肉瘤此类以化疗作为重要治疗手段的肿瘤,预测化疗敏感性关系到患者预后及生存。所以, P-170 糖蛋白测定有重要意义。本免疫组织化学检测方法简单,重复性好,可作为骨肉瘤化疗的检测指标。一旦 P-170 糖蛋白阳性,需更改化疗方案,选用不同类药物联合应用或选用化疗增敏剂等。

本组病例较其他报道 5 年生存率低,可能受化疗方案不规范(如化疗药物、剂量、间隔时间等)或患者因经济原因和不良反应而中止化疗等因素影响。再而本组病例多数在下级医院处理后再来就诊,病程长,也可能影响患者的生存率。进一步在保证广泛切除肿瘤前提下应在扩大保肢治疗适应症,筛选敏感化疗药物,保证化疗规范化等方面努力,并探求综合治疗(包括免疫治疗及基因治疗)。其次,本组病例较少,肿瘤预后受多种因素同时作用和影响,加

上人体差异,统计学上较难作出全面的判断,有待进一步扩大病例数分析总结。

(本文图 3、4 见第 XII 页)

(本文在数据统计分析方面得到本校卫生统计学教研室骆福添副教授的指导,谨致衷心感谢)

参 考 文 献

- 1 Enneking W F. A system of staging musculoskeletal neoplasms. *Clin Orthop*, 1986, 20(4): 9
- 2 Heare T C, Enneking W F, Heare M M. Staging techniques and biopsy of bone tumors. *Orthop Clin North Am*, 1989, 20(3): 273
- 3 Biedler J L. Genetic aspects of multidrug resistance. *Cancer*, 1992, 70 Suppl 1799
- 4 Ling V. Does P-glycoprotein predict response to chemotherapy. *J Natl Can Inst*, 1989, 81(2): 84
- 5 Wunder J S, Bell R S, Wold L. Expression of the multidrug resistance gene in osteosarcoma. *J Orthop Res*, 1992, 11(3): 396
- 6 Jaffe N. Chemotherapy for malignant bone tumor. *Orthop Clin North Am*, 1989, 20(3): 487
- 7 Glasser D B, Lane J M, Huvos. Survival prognosis and therapeutic response in osteogenic sarcoma. *Cancer*, 1992, 69(3): 698
- 8 Ruggieri P, Cristofaro D, Picci P. Complication and surgical indication in 144 cases of nonmetastatic osteosarcoma of the extremities treated with neoadjuvant chemotherapy. *Clin Orthop*, 1993, 29(5): 226
- 9 Rosen G. Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma. *Cancer*, 1982, 49(6): 1221
- 10 Eilber F R, Morton D L, Eckardt J. Limb salvage for skeletal and soft tissue sarcoma, multidisciplinary preoperative therapy. *Cancer*, 1984, 53(12): 2579
- 11 Kalmar J A, Eick J J, Merritt C R B. A review of applications of MRI in soft tissue and bone tumors. *Orthopedics*, 1988, 11(3): 417

(1999-04-02 收稿 1999-09-30 修回)

本刊改为双月刊通知

经本刊编委会讨论通过、校领导同意及广东省新闻出版局核准《中山医科大学学报》将于 2000 年起正式改为双月刊。欢迎广大作者踊跃投稿。

大鼠心肌急性缺血再灌注 Fos 蛋白表达及其意义 (正文见第 272 页)

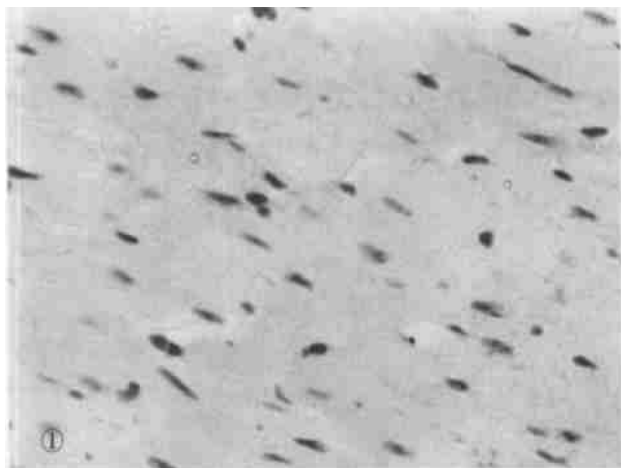


图 1 对照组心肌细胞核 Fos 阴性

Fig. 1 Fos negative nuclei of cardiac myocytes in control groups(SABC \times 400)

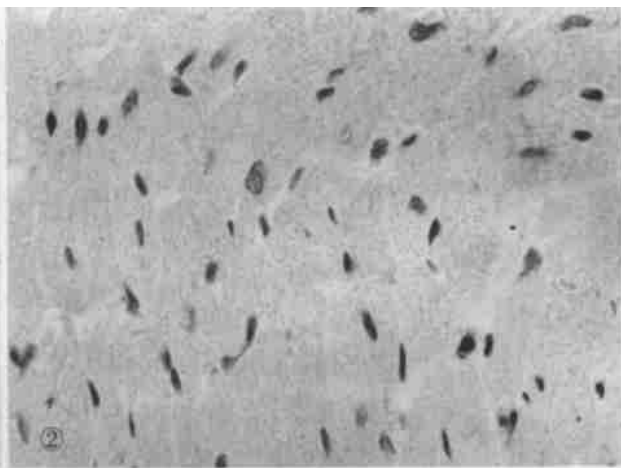


图 2 再灌注区大量的心肌细胞核 Fos 阳性

Fig. 2 A large amount of Fos positive nuclei of cardiac myocytes can be seen in reperfusion area (Group C₁, SABC \times 400)

骨肉瘤保留肢体治疗术后生存分析 (正文见第 288 页)



图 3 骨肉瘤 P-170 糖蛋白表达阳性

Fig. 3 Positive expression of P-170 glycoprotein in osteosarcoma

Brown granules in the cytoplasm (LSAB \times 400)

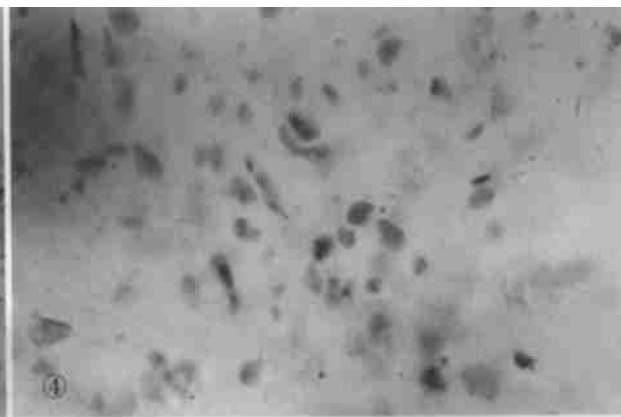


图 4 骨肉瘤 P-170 糖蛋白表达阴性

Fig. 4 Negative expression of P-170 glycoprotein in osteosarcoma

No granules in the cytoplasm (LSAB \times 400)