



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113671187 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 19

(21) 申请号 202110922034.6

(22) 申请日 2021.08.12

(71) 申请人 上海交通大学医学院附属上海儿童
医学中心

地址 200127 上海市浦东新区东方路1678
号

(72) 发明人 李彦欣 杨怡 冯海忠

(74) 专利代理机构 天津知川知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 12249

代理人 胡翠

(51) Int. Cl.

G01N 33/574 (2006.01)

C12Q 1/6841 (2018.01)

C12Q 1/6886 (2018.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54) 发明名称

一种用于检测MYCN蛋白的IHC检测试剂盒

(57) 摘要

本发明涉及一种用于检测MYCN蛋白的IHC检测试剂盒,包括MYCN的蛋白杂交抗体。所述的MYCN的蛋白杂交抗体购自Cell Signaling Technology公司,货号为#84406s。本发明发现Cell Signaling Technology公司的货号是#84406s的MYCN的抗体可以用于神经母细胞瘤组织样本的免疫组化技术;其与FISH的吻合度在75%以上,与预后的吻合度较FISH的显著升高;其更有利于临床MYCN的检测与预后的判断;解决了国际上MYCN没有商业抗体进行免疫组化检测的问题。并且提高了其对MYCN的检测的精准性与对预后的判断性。

1. 一种MYCN的蛋白杂交抗体作为儿童神经母细胞瘤的MYCN蛋白的IHC临床检测试剂中的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在於:所述的MYCN的蛋白杂交抗体购自Cell Signaling Technology公司,货号为#84406s。
3. 根据权利要求1或2所述的应用,其特征在於:在所述的应用中,所述的样本为组织样本。
4. 一种预测儿童神经母细胞瘤预后的IHC试剂盒,其特征在於:包括MYCN的蛋白杂交抗体。
5. 根据权利要求4所述的一种预测儿童神经母细胞瘤预后的IHC试剂盒,其特征在於:所述的MYCN的蛋白杂交抗体购自Cell Signaling Technology公司,货号为#84406s。
6. 根据权利要求5所述的一种预测儿童神经母细胞瘤预后的IHC试剂盒,其特征在於:所述的IHC试剂盒还包括二抗anti-rabbit-IgG,HRP linked,购自Cell Signaling公司,货号为#7074。
7. 一种预测儿童神经母细胞瘤预后的试剂盒,其特征在於:包括MYCN的FISH检测试剂盒和权利要求5-6所述IHC检测试剂盒。

一种用于检测MYCN蛋白的IHC检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测试剂盒,具体是一种用于检测MYCN蛋白的IHC(蛋白免疫组化)检测试剂盒。

背景技术

[0002] 神经母细胞瘤是儿童最常见的颅外实体瘤,占儿童癌症死亡率约12%。其病程具有2极分化,一些病人不需要治疗可以自愈,一些病人经过各种治疗还是不能挽回生命。因此探寻预测预后的指标在儿童神经母细胞瘤中至关重要。神经母细胞瘤的MYCN扩增率约为22%,是神经母细胞瘤具有重要临床和预后价值的第一个遗传标记。目前国际神经母细胞瘤风险分组(INRG)和儿童肿瘤分组(COG)使用的分组指标中MYCN的扩增都占有很大分量。

[0003] 迄今为止,由于缺乏可靠的MYCN的IHC抗体,临床和实验室检测方法主要局限于核酸水平,如常规聚合酶链式反应(PCR)、定量实时定量PCR(qRT-PCR)、半定量差异PCR(sq-PCR)、数字PCR(ddPCR)、荧光原位杂交(FISH)、染色体原位杂交(CISH)、多重连接依赖探针扩增(MLPA)等。目前已将FISH检测的MYCN基因状况整合到风险分类中。然而,一些研究已经证实,在DNA水平MYCN无扩增的病例中也可见MYCN蛋白的高表达,而DNA水平MYCN基因扩增的病人也有发现在蛋白水平表达不高的现象。即目前临床上广泛应用的MYCN的FISH检测,检测的是DNA水平的MYCN的COPY数,一般情况下,DNA水平COPY数高,RNA水平和蛋白水平会高。但还是有一定量的病人因为转录和翻译以及翻译后修饰,泛素化降解的问题,而不一致。从而影响其对预后的判定。

[0004] MYCN是在蛋白水平发挥其生物学效应,蛋白水平的检测,免疫组化检测时应用非常广泛的一个检测细胞内蛋白水平的方法。但很多MYCN的抗体灵敏性达不到,其与FISH结果以及预后的吻合度都很差,达不到用于临床的要求。因此寻找一种快速、可靠、经济的检测MYCN蛋白表达的方法具有重要意义。目前在国际上还没有一个MYCN的IHC商业抗体可以用于临床检测。

发明内容

[0005] 本发明的目的是:提供了一种MYCN的蛋白杂交抗体作为儿童神经母细胞瘤的MYCN蛋白的IHC临床检测试剂中的应用。

[0006] 本发明采用的技术方案为:

[0007] 本发明提供了一种MYCN的蛋白杂交抗体作为儿童神经母细胞瘤的MYCN蛋白的临床检测试剂中的应用。在该应用中,所述试剂通过免疫组织化学检测样本中MYCN的表达水平。

[0008] 进一步,所述的MYCN的蛋白杂交抗体购自Cell Signaling Technology公司,货号为#84406s。

[0009] 进一步,在所述的应用中,所述的样本为组织样本。

[0010] 本发明还提供了一种预测儿童神经母细胞瘤预后的IHC试剂盒,包括MYCN的蛋白

杂交抗体。

[0011] 进一步,所述的MYCN的蛋白杂交抗体购自Cell Signaling Technology公司,货号为#84406s。

[0012] 进一步,所述的IHC试剂盒还包括二抗anti-rabbit-IgG,HRP linked,购自Cell Signaling公司,货号为#7074。

[0013] 本发明还提供了一种预测儿童神经母细胞瘤预后的试剂盒,包括上述IHC检测试剂盒和MYCN的FISH检测试剂盒。

[0014] 本发明儿童神经母细胞瘤预后预测的判断方法为:

[0015] 用兔抗MYCN抗体(#84406s,Cell Signaling Technology)免疫组织化学方法检测MYCN蛋白的表达。MYCN染色强度分级为0-3级(0=负,1=弱,2=中,3=强),阳性比例分级为0-4级(0为0%,1级为<25%,25%≤2级<50%,50%≤3级<75%,75%≤4级≤100%)。免疫组化分级由两位病理学家独立评分,取平均值,最终得分=染色强度*阳性比例。0分级为阴性,1-4分级为低表达,5-8分级为中位表达,9-12分级为高表达。

[0016] 如果用FISH和免疫组化结合,诊断标准:

[0017] 当该病人的FISH是阳性,IHC是在9以上(≥ 9),预示其预后不良,如果IHC在0-8之间,说明预后会好;如果该病人的FISH为阴性,IHC的值等于0,预后好,IHC大于0,预后差。

[0018] 本发明其免疫组化评级用大于0和等于0,指导预后比用FISH显著准确;如果用FISH和免疫组化结合:FISH+的IHC小于9以及FISH-,IHC等于0的病人为一组,预后好,FISH+的IHC大于等于9,以及FISH-的IHC大于0的病人为一组,预后差。较单独利用FISH和免疫组化与预后更相关。

[0019] 本发明所具有的有益效果:

[0020] 本发明发现Cell Signaling Technology公司的货号是#84406s的MYCN的抗体(已公开的其商业应用技术领域为蛋白质印记,免疫沉淀,免疫荧光,流式细胞,染色质免疫沉淀技术),本发明发现其还可以用于神经母细胞瘤组织样本的免疫组化技术。其与FISH的吻合度在75%以上,与预后的吻合度较FISH的显著升高。其更有利于临床MYCN的检测与预后的判断。解决了国际上MYCN没有商业抗体进行免疫组化检测的问题。并且提高了其对MYCN的检测的精准性与对预后的判断性。

附图说明

[0021] 图1.IHC与FISH结果的一致性比较,其中a)利用IHC检测MYCN蛋白表达并对结果进行综合评分;b)分析IHC和FISH检测MYCN表达的一致性;c-e)根据FISH检测结果(c、d)、INSS分期((c、d)和临床结局(e)对IHC结果进行归类分组。

[0022] 图2联合IHC和FISH检测方法能更好的预测预后分析图;其中a-b)根据IHC结果分别对MYCN-amp(a)和MYCN-non(b)群体进行进一步分组及Kaplan-Meier生存分析;c)同时纳入FISH和IHC结果作为分组标准,并利用Kaplan-Meier生存分析比较各组间差异;d)利用色阶图谱归纳总结各临床因素与患者预后之间的关系(无*,表示 $P>0.05$,差异不具有统计学意义,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$,****表示 $P<0.0001$,差异具有统计学意义)。

具体实施方式

[0023] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,但不限定本发明的保护范围。

[0024] 下列实施例中未注明具体条件的实验方法,均采用本技术领域常规技术,或按照生产厂商所建议的条件;所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0025] 样本采集

[0026] 2010年至2019年,病理检测证实有332名NB初诊患者于我院诊断治疗,其中有41名患者存在MYCN-amp。由于肿瘤样本保存时间过长导致肿瘤组织遭严重破坏、或肿瘤细胞过少,不利于蛋白检测等因素,仅28例MYCN-amp患者的肿瘤组织参与本试验。作为对照,我们另外选择了28名MYCN-non患者的肿瘤样本进行IHC检测,其中7名发生疾病相关死亡,19名患者末次随访时状态良好。所有患者确诊时年龄均不超过12岁,其中男性30例,女性26例。表3列出了患者年龄、性别、临床分期、危险分组、原发部位、FISH检测结果、MYCN免疫组化评分、预后、目前状态、随访时间等信息。按照伦理审查委员会规定的制度,每个病人在取样前均签署了知情同意书。

[0027] 组织样本制备:

[0028] 手术切出的肿瘤样本,半小时内切成小块,放在10%的福尔马林中固定,进行标准的石蜡包埋,切成2-3 μ m厚的薄片进行后续分析。

[0029] 试验方法

[0030] 1. IHC的实验方法

[0031] 石蜡切片预处理:

[0032] a. 室温保存的石蜡切片置65 $^{\circ}$ C孵育1h,使石蜡熔化;

[0033] b. 将切片依次于3个装有二甲苯的染缸内浸泡脱蜡,每次15min;

[0034] c. 将切片依次于梯度酒精内浸泡复水:无水乙醇2次,3-5min/次;90%乙醇2次,3-5min/次;70%乙醇2次,3-5min/次;自来水1次,3min/次;

[0035] 将切片置于3% H_2O_2 内室温避光浸泡10min后,于自来水中室温浸泡5min;

[0036] 将切片置于1 \times 柠檬酸抗原修复液中,使用高火(98 $^{\circ}$ C-100 $^{\circ}$ C)微波加热至沸腾(可在染缸下垫纸,若纸巾浸湿即表示沸腾,一般约3min-4min),断电后于微波炉内静置10min;

[0037] 从微波炉内取出染缸,冰上冷却至室温(注:期间勿打开染缸);

[0038] 待柠檬酸抗原修复液冷却至室温后,取出切片,使用1 \times PBS洗片3次,3-5min/次;

[0039] 用纸巾拭去多余液体,使用免疫组化笔在目标区域上画出疏水隔离区,滴加一抗(anti-MYCN,Cell Signaling公司,84406s,1:200稀释),于潮湿暗盒中4 $^{\circ}$ C孵育过夜;将湿盒自4 $^{\circ}$ C取出后,室温静置10min,使用1 \times PBS洗片3次,3-5min/次;

[0040] 用纸巾拭去多余液体,滴加二抗(anti-rabbit-IgG,HRP linked,Cell Signaling公司,#7074,不用稀释),于室温内孵育20-25min;

[0041] 使用1 \times PBS洗片3次,3-5min/次;

[0042] 用纸巾拭去多余液体,滴加适量按比例配置的DAB显色剂,于室温内反应,显微镜下观察显色变化,适时于自来水中终止显色反应;

[0043] 使用苏木素复染约1-2min、盐酸酒精分化1-2s后,于自来水中浸泡返蓝10-15min;

[0044] 将切片依次于梯度酒精内浸泡脱水:70%乙醇2次,3-5min/次;90%乙醇2次,3-

5min/次;无水乙醇2次,3-5min/次;

[0045] 将切片依次于3个装有二甲苯的染缸内浸泡,每次5min;

[0046] 将树胶与纯净二甲苯按照2:1比例稀释,作为封片剂封片,于室温下自然晾干玻片,至二甲苯完全挥发后可镜检。

[0047] 2石蜡切片荧光免疫原位杂交(FISH),试剂盒名称LSI N-MYC SpectrumOrange Probe:

[0048] 1) 石蜡切片预处理:

[0049] a. 室温保存的石蜡切片置65℃孵育1h,使石蜡熔化;

[0050] b. 将切片依次于3个装有二甲苯的染缸内浸泡脱蜡,每次15min;

[0051] c. 将切片依次于梯度酒精内浸泡复水:无水乙醇2次,3-5min/次;90%乙醇2次,3-5min/次;70%乙醇2次,3-5min/次;

[0052] d. 将切片置于0.2M HCl内,室温孵育10min;

[0053] e. 使用1×PBS洗片3次,3-5min/次;

[0054] f. 将切片置于0.01M枸橼酸盐缓冲液(PH=6.0)内80℃孵育1h;

[0055] g. 使用2×SSC缓冲液洗片2次,3-5min/次;

[0056] h. 使用DDW洗片,3-5min/次;

[0057] i. 将0.5mg/ml pepsin及0.02M HCl溶液于37℃内预热5min后按1:1等比例混合,配制为0.25mg pepsin/ml 0.01M盐酸溶液;

[0058] j. 在切片上滴加300μl pepsin/HCL溶液,盖上盖玻片,37℃孵育10min;

[0059] k. 使用2×SSC缓冲液洗片2次,3-5min/次;

[0060] l. 使用0.4%多聚甲醛室温固定切片10min;

[0061] m. 使用1×PBS洗片3次,3-5min/次;

[0062] n. 将切片依次于梯度酒精内浸泡脱水:70%乙醇2次,3-5min/次;90%乙醇2次,3-5min/次;无水乙醇2次,3-5min/次

[0063] o. 于室温下自然晾干玻片;

[0064] 2) 探针预处理:

[0065] 将探针于75℃孵育5min后立即置于0℃内5-10min,使双链DNA探针变性;

[0066] 3) 杂交:

[0067] 在已变性脱水的切片上滴加10μl探针混合液,盖上盖玻片,封片后置于潮湿暗盒中37℃杂交过夜(约15-17h);

[0068] 4) 洗脱:

[0069] a. 次日,将切片取出后轻轻揭下盖玻片,放入4×SSPE中,47℃孵育5min;

[0070] b. 再次将玻片放于4×SSPE中,55-72℃孵育10min;

[0071] c. 将切片依次于梯度酒精内浸泡脱水:70%乙醇2次,3-5min/次;90%乙醇2次,3-5min/次;无水乙醇2次,3-5min/次;

[0072] d. 将切片放入己烷/异丙醇混合液内室温浸泡10min(己烷:异丙醇按6:4比例混合);

[0073] e. 将切片放入异丙醇内室温浸泡5min;

[0074] f. 将切片放入无水乙醇内室温浸泡5min;

[0075] g. 于室温下自然晾干玻片至乙醇完全挥发;

[0076] h. 使用DAPI复染后盖上盖玻片,轻轻挤压出多余液体,封片后4℃避光保存;

[0077] 2MYCN表达水平的判定

[0078] 1) MYCN免疫组化(IHC)评分:

[0079] ①MYCN染色强度分为0-3分,其中0=阴性,1=弱,2=中,3=强;

[0080] ②MYCN染色阳性比例分为0-4分,其中0%=0分,<25%=1分,25%≤2分<50%,50%≤3分<75%,75%≤4分≤100%;

[0081] ③最终评分=染色强度×阳性比例。0分为“阴性”,1-4分为“低表达”,5-8分为“中位表达”,9-12分为“高表达”。

[0082] 2) MYCN的FISH结果判定

[0083] MYCN/PAX3比值>5为阳性,即MYCN扩增;MYCN/PAX3比值≤1为阴性,即MYCN非扩增

[0084] 实验结果

[0085] 1检测本发明IHC检测所用抗体的有效性:

[0086] 为验证在本发明中所用抗体(MYCN#84406s,Cell Signaling)的有效性,我们纳入更多的样本(n=56)进行IHC检测。实验所用肿瘤样本均经FISH检测,其中1/2确诊为MYCN-amp(表1)。结果显示,不同肿瘤组织间,在恶性细胞阳性比例和染色强度方面存在较大差异。为了便于后续分析,我们基于以上两点对染色结果进行综合评分(图1a)。在此基础上,我们对FISH和IHC结果的一致性进行了分析(表2)。结果显示,无论MYCN-amp与否,≥75%的IHC结果与FISH结果一致(表4,图1b)。而对于两种检测结果不一致的患者,我们纳入患者的临床信息进行综合分析,以确认哪种方法与预后更加相关(为了确保个人预后的准确性,涉及到随访时间时,我们只纳入2016年及之前确诊的患者)。结果显示,IHC评分随INSS分期升高而升高,并与患者临床预后高度相关(图1c-e)。在MYCN-amp患者中,11例MYCN蛋白高表达(IHC评分≥9)患者中7例预后不良,而5例无表达或低表达患者均无不良事件发生;在MYCN-non患者中,所有(4例)检测到MYCN蛋白表达的患者均预后不良,而17例预后良好的患者,均无MYCN蛋白表达(表3)。所有这些数据均表明,该MYCN抗体具有良好的灵敏度和特异性,与FISH结果具有较高的一致性,而对于FISH未检出的患者,IHC具有补充作用,能提高MYCN检出率,临床应用价值大。

[0087] 表1患者临床信息

编号	性别	年龄	分期	分级	原发部位	FISH	IHC	事件	EFS(月)	OS(月)	随访状态
1	0	2.9	4	4	3	5	6	复发	15.2	16.3	死亡
2	1	2.4	4	4	3	5	6		8.1	8.1	CR
3	1	1.9	3	3	3	5	2		10.5	10.5	CR
4	1	1.8	4	4	3	5	9	进展	16.5	18.9	CR
5	0	3.6	3	3	3	5	12		27.1	27.1	CR
6	1	1.4	3	3	3	5	12	进展	35.1	53.9	死亡
7	1	4.2	4	4	3	1	4	死亡	0.5	0.5	死亡
8	1	4.1	4	4	3	1	0	复发	35.3	38.3	死亡
9	1	7.1	4	4	3	1	0	复发	24.0	24.0	死亡
10	1	0.3	1	1	2	1	0		62.1	62.1	CR
11	1	0.2	2	1	3	1	0		75.3	75.3	CR
12	1	0.1	5	2	3+4	1	0		71.5	71.5	CR
13	1	0.2	1	1	2	1	0		109.7	109.7	CR
14	1	12.0	1-3	2-3	3	1	0		82.2	82.2	CR
15	0	3.0	3	3	1	1	0		80.9	80.9	CR
16	0	0.3	1	1	3	1	0		65.9	65.9	CR
17	0	0.6	3	2	1	1	0	死亡	10.3	10.3	死亡
[0088]	18	0	3.3	3	3	3	1	0	96.6	96.6	CR
19	1	3.0	4	4	3	1	4	复发	19.8	20.6	死亡
20	1	1.6	3	3	3	5	2		55.0	55.0	CR
21	1	6.6	3	3	3	5	6		2.6	2.6	CR
22	0	1.3	4	3	3	5	12	复发	9.4	9.4	死亡
23	1	3.8	4	4	3	1	2	复发	62.7	63.1	死亡
24	1	1.2	4	2	3+4	1	0		61.6	61.6	CR
25	1	3.1	3	3	3	5	12		42.7	42.7	CR
26	0	3.8	3	3	3	1	1	死亡	13.4	13.8	死亡
27	0	1.0	1	2	3	5	6		74.2	74.2	CR
28	0	1.2	3	3	3+4	5	12		68.8	68.8	CR
29	0	2.9	3	3	3	5	12	复发	11.8	11.8	死亡
30	0	3.3	2	2	2	1	0		63.5	63.5	CR
31	1	4.0	4	4	3	5	9	复发	13.3	13.3	死亡
32	0	1.7	3	3	3	5	12	复发	6.2	14.1	死亡
33	1	2.5	4	4	3	5	12		32.3	32.3	CR
34	0	2.5	4	4	2+3	1	6	复发	14.0	17.3	死亡
35	1	0.6	1	1	2	1	0		58.4	58.4	CR
36	1	3.7	4	4	3	5	12		55.7	55.7	CR
37	0	0.2	3	2	1	1	0		54.4	54.4	CR

	38	1	0.4	4	2	3	1	0		48.9	48.9	CR
	39	0	3.3	4	4	3	1	0		53.7	53.7	CR
	40	1	0.4	5	2	3	1	0		58.8	58.8	CR
	41	0	3.8	3	3	3	1	0	复发	21.1	30.5	死亡
	42	1	1.5	4	4	3	1	12	复发	4.7	5.9	死亡
	43	0	0.3	3	2	3	1	0		16.6	16.6	CR
	44	0	2.1	3	3	3	5	12	复发	13.8	20.2	CR
	45	0	1.0	3	3	4	5	0		45.0	45.0	CR
	46	1	0.3	1	2	3	5	0		44.9	44.9	CR
[0089]	47	0	0.2	1	1	2	1	0		11.2	11.2	CR
	48	0	1.2	4	3	3	5	12		28.0	28.0	CR
	49	1	3.1	4	4	3	1	2	复发	1.0	1.0	死亡
	50	1	0.5	4	2	3	5	12		0.3	0.3	CR
	51	1	3.9	4	4	3	5	12		12.8	12.8	CR
	52	0	4.8	4	4	3	5	0		11.5	11.5	CR
	53	0	3.4	4	4	3	5	0	复发	9.5	17.2	死亡
	54	0	1.5	4	4	3	5	12		7.2	7.2	CR
	55	0	4.1	3	3	3	5	12		6.5	6.5	CR
	56	1	1.9	4	4	3	5	12		4.2	4.2	CR

[0090] 性别:0=女;1=男;

[0091] 危险分级:1=低危;2=中危;3=高危;4=极高危;

[0092] 原发部位:1=颈部;2=胸部;3=腹部;4=盆腔;

[0093] CR:完全缓解(complete remission)

[0094] 表2本次实验中,IHC与FISH结果的一致性比较

	FISH	IHC core=0	0<IHC		Concordance by		Discordance	
			score<9	9≤IHC score	FISH	By FISH		
[0095]	MYCN-non(n=28)	21(75%)	6(21.4%)	1(3.6%)	75%		25%	
	MYCN-amp(n=28)	4(14.3%)	6(21.4%)	18(64.3%)	85.7%		14.3%	

[0096] 表3 MYCN蛋白表达与临床预后的相关性分析

	FISH		IHC		0<IHC		9≤	
	Amplified(n=16)		core=0(n=2)		score<9(n=3)		IHC score(n=11)	
[0097]	Event-free		9(56.2%)		2(100%)		3(100%)	
	Event		7(43.8%)		0(0%)		7(63.6%)	

	FISH Non-		IHC		0<IHC		9≤	
	Amplified(n=27)		core=0(n=21)		score<9(n=5)		IHC score(n=1)	
[0098]	Event-free		17(63.0%)		17(81.0%)		0(0%)	
	Event		10(37.0%)		4(19.0%)		5(100%)	

[0099] 2联合IHC和FISH检测方法能更好的预测预后

[0100] 根据前期结果可以看出, IHC能更准确的检测MYCN在肿瘤中的表达以及预测预后。为了进一步证明这一点, 利用IHC结果对MYCN-amp和MYCN-non群体进行进一步分组, 并利用Kaplan-Meier生存分析进行统计分析。结果发现, IHC结果可进一步区分MYCN-amp和MYCN-non群体的预后情况(图2a-b)。此外, 如果我们仅纳入FISH结果作为分组依据, MYCN-amp和MYCN-non的无事件生存率分别为是56.2%和63.0%, 生存分析显示两组间没有统计学差异。而只纳入IHC结果作为分组依据, 两组间生存率差异具有统计学意义(图2c)。结合两种方法, 即将FISH+IHC<9、FISH-IHC=0作为一组, FISH+IHC≥9、FISH-IHC>0作为另一组, 则可以达到最佳临床预测效果(图2c)。同时, 我们发现如果FISH检测提示MYCN-non, 但如果IHC可检测到MYCN蛋白表达, 此患者多预后不佳; 相反, FISH检测提示MYCN-amp, 而IHC无法检测到MYCN蛋白表达或仅为低表达, 此患者多预后良好(图2d)。综上所述, IHC可以弥补FISH在评估预后和指导治疗方面的不足, 两种检测结果联合分析可达到最佳临床预测效果。

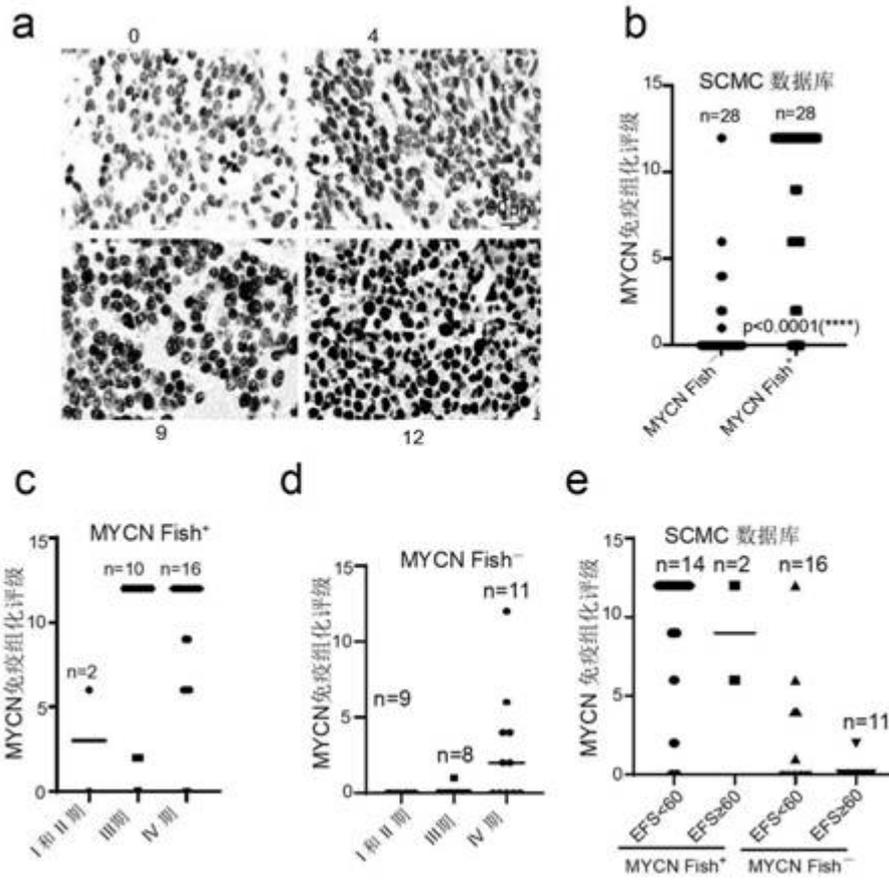


图1

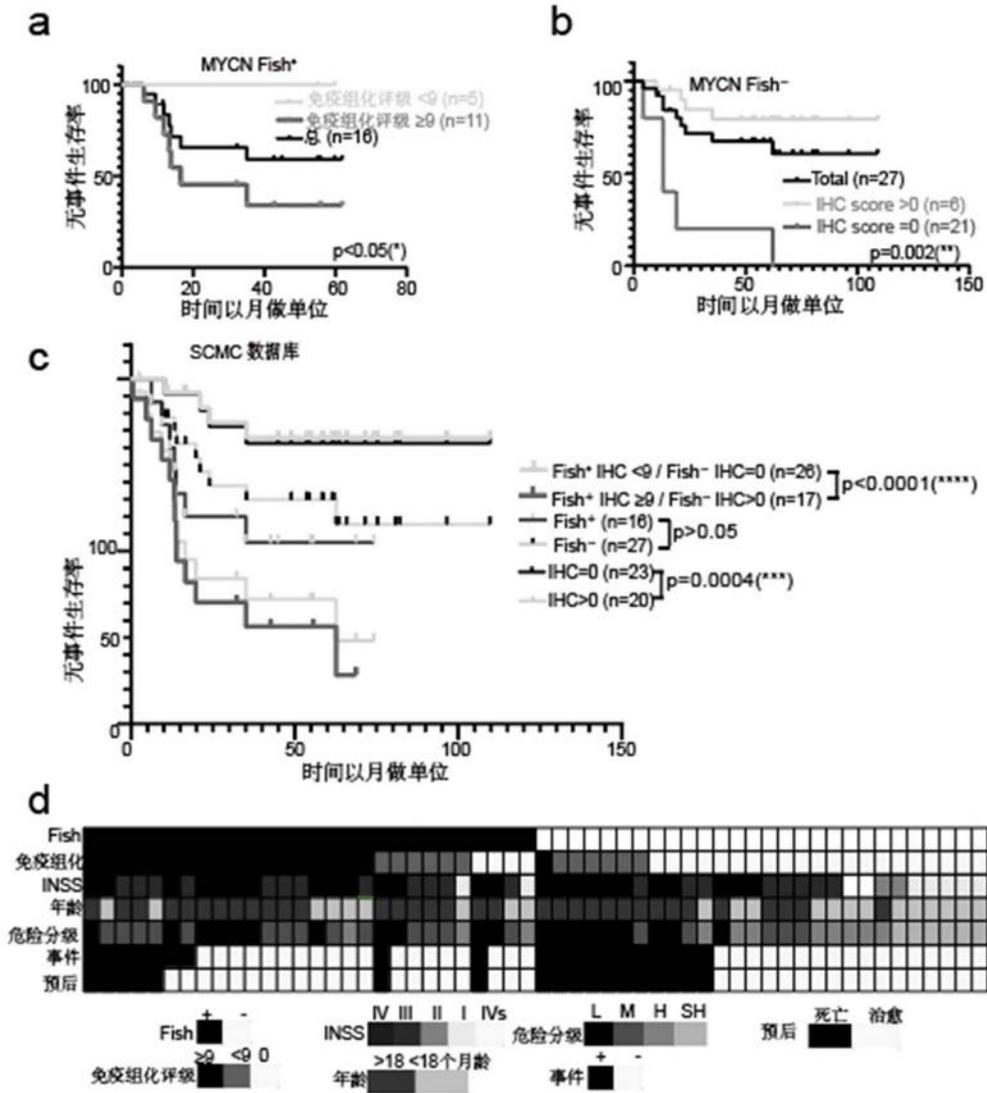


图2