

中国脑胶质瘤分子诊疗指南

中国脑胶质瘤协作组(CCGG) 中国脑胶质瘤基因组图谱计划(CGGA)

一、意义和背景

制订本指南的目的是建立以循证医学为基础的脑胶质瘤分子检测分析体系,描述最普遍的胶质瘤相关的分子改变、潜在的治疗靶点和生物标志物,从而用于指导临床实践并做出治疗选择。对于哪一个(类)患者或者样本需要进行检测,何时检测和如何检测,本指南中也给出了推荐。临床实践指南(clinical practice guideline, CPG),不同于临床随机对照试验,是在特定的临床条件下经过系统的分析后形成的诊疗指南,能够有效地帮助临床医生做出准确的诊断,并选择合适的治疗方案。指南应满足:清晰性、有效性、可靠性、可重复性、应用灵活性、多学科融合、有依据性和可作为指导性。临床实践指南的目标是服务于临床工作,从而改善患者的临床预后,并为医疗教育提供指导,为疗效评估、专业审核提供依据,为合理治疗和建立临床路径提供帮助。

二、前言

脑胶质瘤是最常见的原发性脑肿瘤,其中一半以上为恶性程度最高的胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)。GBM患者即使采用了最为积极的治疗手段,中位生存期仍然少于15个月。近年来,神经肿瘤分子病理取得了重大进展,目前已发现一系列有助于脑胶质瘤临床诊断和预后判断的分子标志物。目前的WHO病理分级仍然依赖形态学进行肿瘤分级,然而,有充分的证据表明,组织特征相同或相似的胶质瘤可以具有不同的分子遗传学背景,导致WHO分级相同的个体间预后有着较大差异。基于肿瘤遗传学水平的分子病理分型能够更准确地判断临床预后;并且对组织学上较难鉴别的混合性胶质瘤(少突星形细胞瘤和间变性少突星形细胞瘤)还能帮助明确诊断和分级。另外,这些新近发现的分子变异有可能成为未来治疗的新靶点。近10年来,尽管脑胶质瘤的基础和临床研究有了较大突破,但是弥漫性胶质瘤患者预后的改善仍然十分缓慢。进一步了解胶质瘤的分子生物学特征,通过临床试验明确更多潜在的分子标志物,有望揭开脑胶质瘤病理生理和发病机制的神秘面纱。除了种族、性别、年龄、生活习惯等临床常见因素,重要的分子标志物的筛选,对临床应用均有深远的意义。指南由资深专家参与拟订,可靠性、实用性强,指南中的分子标志物是治疗的靶点、预

测因子或判断预后的指标,也能作为制订行业规范的依据。

三、流行病学

胶质瘤占有原发性中枢神经系统肿瘤的32%,占中枢神经系统恶性肿瘤的81%。恶性胶质瘤的发病率为(5~8)/100万,5年病死率在全身肿瘤中仅次于胰腺癌和肺癌,位列第3位。世界卫生组织1998年公布按肿瘤致死率排序,恶性胶质瘤是34岁以下肿瘤患者的第2位死亡原因,是35~54岁患者的第3位死亡原因。2012年中国肿瘤登记报告指出中国脑及中枢神经系统恶性肿瘤死亡率为3.87/10万,位列十大高病死率肿瘤之第9位。以恶性胶质瘤为代表中枢神经系统恶性肿瘤造成了巨大的社会经济及家庭负担,一直是当今肿瘤研究的热点^[1]。

四、现有的胶质瘤分类系统

胶质瘤是指来源于胶质细胞的肿瘤,本指南中特指来源于星形胶质细胞或少突胶质细胞的肿瘤。根据肿瘤生长方式,胶质瘤可以分为两类:局限性胶质瘤(毛细胞型星形细胞瘤)与弥漫性胶质瘤。根据WHO中枢神经系统肿瘤分类(2007年,第四版),弥漫性胶质瘤可以分为II、III和IV级。病理特征:弥漫性星形细胞瘤(WHO II级)具有大量增生的胶质纤维,伴有轻中度核异型和明显活跃的核分裂象。少突胶质细胞瘤(WHO II级)表现为细胞边界清楚、胞浆透明,有位于细胞中央的圆形细胞核,呈蜂巢样排列。间变性少突胶质细胞瘤(WHO III级)表现为明显的细胞核异型性和血管增生。GBM(多形性胶质母细胞瘤,WHO IV级),作为最有侵袭性的胶质瘤,表现为有瘤组织内细胞丰富,瘤细胞大,明显核异型,核分裂多见,血管内皮细胞增生,可见大量的不成熟血管,可合并大片出血和坏死。原发的GBM多发生于55岁以上的中老年患者,而继发的GBM多发生于年龄小于55岁患者中,是由低级别胶质瘤发展而来,占GBM的5.0%~10%^[2-3]。WHO II级和WHO III级胶质瘤发展成GBM的时间平均为5年和2年^[4]。在分子病理水平上,原发GBM(5.0%)的IDH突变明显低于继发GBM(84.6%)^[2,5-8]。

五、当前的治疗方法

目前治疗指南建议对胶质瘤采用手术和(或)放疗和(或)化疗的综合治疗方式。手术推荐最大程度安全切除肿瘤;放疗推荐分次外照射;化疗推荐替莫唑胺(TMZ)化疗^[9]。替莫唑胺是相对耐受良好的口服烷化药剂,易通过血脑屏障,在细胞内转化为强效的烷化剂,使鸟嘌呤烷基化,损伤DNA,导致瘤细胞死亡^[10]。现有的标准治疗还未达到个体化治疗的水平。

六、胶质瘤分子标志物(表1)

(一)IDH突变

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2014.05.002

基金资助:脑胶质瘤分子分型与生物标志物研究(2012-2015), 2012AA02A508, 国家高技术研究发展计划(863计划)

通信作者:江涛,北京市神经外科研究所,首都医科大学附属北京天坛医院神经外科,Email:jiangtao_369@163.com;毛颖,复旦大学附属华山医院神经外科,Email:yingmao168@hotmail.com

表 1 11 种胶质瘤分子标志物一览表

分子标志物	生物学功能	检测方法	诊断价值	预后价值	预测价值	推荐检测的级别
IDH1/2 突变	增加与 G-CIMP 亚型相关的 2-羟戊二酸的浓度	IHC 焦磷酸测序	无	存在 IDH1/2 突变的患者预后好	如无突变、建议检测 MGMT 启动子甲基化来预测预后	II、IV
1p/19q 联合性缺失	不明确	FISH、微卫星分析	与 O 形态密切相关, 与其他具有透明细胞的脑肿瘤区分	有联合性缺失的患者预后较好	对于有联合缺失的少突或间变性少突胶质细胞瘤患者、推荐化疗或联合放化疗	II
MGMT 启动子甲基化	干扰 DNA 修复、与 IDH1/2 突变肿瘤中的 G-CIMP 相关	MSP 或焦磷酸测序	无	对于间变性胶质瘤患者(可能伴有 IDH 突变)放/化疗有好的疗效	有 MGMT 启动子甲基化的 GBM(可能没有 IDH 突变)对烷化剂敏感。对老年患者有预测价值。	III、IV
EGFR 扩增	对细胞的生长、增殖和分化等生理过程有重要作用	Fish	与 GBM 密切相关	有 EGFR 扩增、大于 60 岁的 GBM 患者预后差	无	IV
EGFRv III 重排	不依赖配体激活	RT-PCR, IHC, MLPA	与 GBM 密切相关	有 EGFRv III 重排的患者预后差	如免疫疗法成熟、可尝试疫苗接种	IV
PTEN 突变	使细胞停止分裂并进入凋亡	Sanger 测序	不详	对间变性星形细胞瘤是一个判定预后的因子	无	III、IV
TP53 突变	诱导癌细胞自杀、防止癌变; 基因修复缺陷	Sanger 测序	低级别 A 和继发 GBM	不明确	无	II
BRAF 融合	激活 MAPK 信号转导通路	FISH, RT-PCR	PA 密切相关	不明确	可能的靶向治疗靶点	I
BRAF 点突变	激活 MAPK 信号转导通路	针对 BRAF V600E 的 IHC 焦磷酸测序	PA	不明确	可能的靶向治疗靶点	I、II(PXA)
Ki-67	细胞增殖相关的核抗原	IHC	判断恶性程度和分级	对于低级别弥漫性胶质瘤是一个预测预后的可靠指标	无	II、III、IV
miR-181d	直接靶点为 MGMT	ISH	不详	对于 GBM 是一个预测预后的可靠指标	miR-181d 的表达状态预测替莫唑胺的敏感性	IV

分子标志物	胶质瘤病理类型 (%)						
	PCA	PXA	DA	O/OA	AA	AO/AOA	GBM
IDH1/2 突变	0	0	70 ~ 80	70 ~ 80	50 ~ 70	50 ~ 80	5 ~ 10
1p/19q 联合性缺失	0	0	15	30 ~ 60	15	50 ~ 80	<5
MGMT 启动子甲基化	<10	10 ~ 20	40 ~ 50	60 ~ 80	50	70	35
EGFR 扩增	0	0	0	0	17	17	50 ~ 60
EGFRv III 重排	0	0	0	0	0	0	25 ~ 30
PTEN 突变	0	0	0	0	0	18	26 ~ 34(原发)
TP53 突变	0	0	50 ~ 60	40	36	17	25 ~ 37(原发)70(继发)
BRAF 融合	50 ~ 70	极少	极少	极少	极少	极少	极少
BRAF 点突变	10	60 ~ 70	极少	极少	极少	极少	3 ~ 5
Ki-67	低	低	低	低	高	高	高
miR-181d	0	0	0	0	0	0	0

注: A: 星形细胞瘤、PCA: 毛细胞型星形细胞瘤(WHO I 级)、PXA: 多形性黄色瘤型星形细胞瘤(WHO II 级)、DA: 弥漫性星形细胞瘤(WHO II 级)、O: 少突胶质细胞瘤(WHO II 级)、OA: 少突星形细胞瘤(WHO II 级)、AA: 间变性星形细胞瘤(WHO II 级)、AO: 间变性少突胶质细胞瘤(WHO III 级)、AOA: 间变性少突星形细胞瘤(WHO III 级)、GBM: 胶质母细胞瘤(WHO IV 级); FISH = 荧光原位杂交, MSP = 甲基化特异性 PCR, RT-PCR = 实时定量 PCR, MLPA = 多重探针依赖式扩增技术, IHC = 免疫组织化学。毛细胞型星形细胞瘤患者中有约 15% 会发生神经纤维瘤蛋白 1 基因的突变

1. 背景: 异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)是三羧酸循环中的一种关键限速酶, 催化异柠檬酸(isocitrate)氧化脱羧生成 α -酮戊二酸(α -KG)及 CO_2 , 为细胞新陈代谢提供能量和生物合成的前体物质。IDH 基因家族有三种异构酶(IDH1, IDH2 和 IDH3)。IDH1 催化反应生成的产物包括 α -KG 和还原型辅酶 II (NADPH), NADPH 作为体内还原性氢的供体一方面参与了细胞抵御氧化应激反应; 另一方面还参与了不饱和脂肪酸的氧化过程。 α -酮戊二酸可能与胶质瘤的发生有关。IDH1 和 IDH2 的突变在原发性 GBM 中发生率很低(5.0%), 但是在继发性 GBM (84.6%) 和 WHO II 级、III 级胶质瘤(星形细胞瘤(83.3%)、少突胶质细胞瘤(80.4%)、少突星形细胞瘤(100%)、间变性星形细胞瘤(69.2%)、间变性少突胶质细胞瘤(86.1%))中发生率很高^[7-8]。IDH1/IDH2 突变发生在胶质瘤形成的早期, 随后根据星形细胞或少突胶质细胞的谱系分化不同可以分别伴随 TP53 基因突变或 1p/19q 杂合性缺失^[5]。在继发性 GBM 和低级别弥漫性胶质瘤中, IDH1/IDH2 基因突变与 TP53 突变、染色体 1p/19q 杂合性缺失以及 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)启动子区甲基化状态呈正相关; 在原发性 GBM 中, IDH1 基因的突变与 10 号染色体缺失和 EGFR 扩增呈负相关^[2,5,11-13]。IDH1/IDH2 突变独立于常规预后指标包括染色体 1p/19q 状态及 MGMT 基因启动子甲基化, 与较长的无进展生存期有关^[14]。IDH1/IDH2 基因的突变通常发生在年轻成年人^[5]和青少年^[15]弥漫性胶质瘤患者中。超过 90% 的 IDH 基因突变为 IDH1 突变(以 R132 类型最为常见), 其余的为 IDH2 突变, IDH2 突变发生在同源的密码子(密码子 172)^[16], 至今未有 IDH3 突变的报道^[8,16-18]。含有 IDH 基因突变的高级别胶质瘤有显著较好的预后^[8,11,14,19-20]。IDH 突变状态对胶质瘤预后的影响被认为优于组织学分级^[13-20]。IDH1/IDH2 突变对间变性星形细胞瘤和 GBM 的预后有很强的预测价值: IDH1/IDH2 突变的间变性星形细胞瘤和 GBM 的生存期分别为 65 与 20 个月, 而 IDH1/IDH2 野生型的间变性星形细胞瘤和 GBM 的生存期仅为 31 与 15 个月。虽然 IDH 突变对高级别胶质瘤的预后有很强的预测价值, 但是对于低级别弥漫性胶质瘤预后作用还不明确^[13,21-29]。IDH1 (R132H) 突变占 IDH 总突变的 90% 以上, 它是由 IDH1 基因第 395 位的鸟嘌呤突变为腺嘌呤(CGT→CAT), 进而导致编码蛋白中第 132 位精氨酸(R)被组氨酸(H)取代所造成。IDH1 的这种突变多发生于青年患者和继发性 GBM 患者, 并且发生突变与患者的总生存率成正相关, 野生型 IDH1 患者平均存活时间仅 1.1 年, 而突变型 IDH1 患者平均存活时间则长达 3.8 年。IDH1 突变在胶质瘤中具有普遍性, 针对 IDH 突变蛋白的抗体已经成为检测 IDH 突变情况的常规手段^[18,30]。考虑到突变体特异性抗体的可靠性, 可以用免疫组织化学方法评估 IDH (R132H) 蛋白表达, 若结果显示阳性, 可以看作存在突变; 若结果显示阴性, 可以进一步检测 132 和 172 氨基酸的 IDH1 和 IDH2 序列来排除突变^[31]。此外, IDH 突变在 GBM 年轻患者发生率较

高, 建议 50 岁以下的 GBM 患者首选检测。

2. 实验室检测方法: 在基因水平, 可采用焦磷酸测序; 在蛋白质水平, 可采用免疫组织化学法。推荐使用焦磷酸测序。

3. 建议: 在各级别胶质瘤中, 相对于 IDH 野生型, IDH 突变的患者预后较好。IDH 突变状态可辅助诊断胶质瘤。

(二) MGMT 启动子甲基化

1. 背景: O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT) 定位于 10q26, 编码一种修复 O⁶-甲基鸟嘌呤的酶。其启动子包括富含 97 个 CG 二核苷酸(CpG 位点)的 CpG 岛。在正常组织中, CpG 位点一般都处在非甲基化状态。CpG 位点甲基化会导致染色质结构改变, 从而阻止转录因子结合、导致基因的沉默。MGMT 主要分布于细胞质, DNA 损伤后才转移到细胞核^[32]。在细胞核中, MGMT 可以使烷化剂作用下形成的 O6 位甲基化鸟嘌呤去甲基化, 有效地修复 DNA 损伤, 同时自身不可逆失活为烷基化 MGMT。MGMT 一个分子只能修复一个烷基加合物, 因此, MGMT 被称为“自杀”酶。细胞的修复能力取决于 MGMT 在细胞内的含量和合成速率, 而 MGMT 基因启动子甲基化可以导致基因沉默和抑制蛋白合成, 阻碍 DNA 的修复。MGMT 启动子甲基化在少突胶质细胞瘤中发生率为 60%~80%, 在混合性少突星形细胞瘤发生率为 60%~70%, 在 GBM 发生率为 20%~45%, 在间变性星形细胞瘤中发生率为 40%~50%, 在毛细胞型星形细胞瘤发生率为 20%~30%^[33-35]。在继发性 GBM 和低级别弥漫性胶质瘤中, MGMT 启动子甲基化状态与 IDH 基因突变^[2,5,11-13,21,36]和 1p/19q 缺失的状态^[37]呈正相关。复发胶质瘤样本中 MGMT 启动子甲基化水平较第一次手术样本多有明显的增加^[38], 但胶质瘤患者的中位生存期只受初治胶质瘤中 MGMT 启动子甲基化状态的影响。在 TCGA (癌症图谱研究网络) 进行的一项大样本、多中心的原发性 GBM 研究中, 存在 MGMT 甲基化的 GBM 患者放疗后基因组发生了大量的突变, 其中包括错配修复(MMR)基因突变, 而 MGMT 蛋白无法修复突变^[39]。高级别胶质瘤放疗联合 TMZ 同步化疗后, 影像学上常常出现和肿瘤进展酷似的假性进展^[7,40-42], MGMT 甲基化者假性进展的发生率明显高于非甲基化者, 同时假性进展的出现提示预后较好^[40]。具有 MGMT 启动子甲基化的胶质瘤患者对化疗^[14,37,43]、放疗^[44]敏感, 生存期较长。对于 70 岁以上 GBM 患者, 若 KPS 评分低于 70 分, 在可耐受的情况下应用替莫唑胺治疗可延缓复发并延长总生存期, 改善生存质量; 若同时伴有 MGMT 启动子甲基化, 则替莫唑胺效果更佳^[45]。老年 GBM 患者中 MGMT 基因启动子甲基化发生率高, 单纯放疗联合辅助化疗可以延长生存期, 而无 MGMT 基因启动子甲基化的老年患者辅助化疗并没有延长生存期^[46]。

2. 实验室检测方法: 焦磷酸测序或甲基化特异性 PCR 是评估 MGMT 启动子甲基化状态的最佳选择。用免疫组织化学检测 MGMT 蛋白表达从而推测 MGMT 启动子区甲基化状

态并不可靠^[47-49]。推荐焦磷酸测序的方法。

3. 建议:MGMT 启动子甲基化提示 GBM 患者预后较好。对于年龄 >70 岁的老年患者,如果有 MGMT 启动子甲基化,放疗联合辅助化疗或单纯化疗可以延长生存期,改善生活质量;无 MGMT 启动子甲基化的老年患者不建议辅助化疗。

(三)染色体 1p/19q 缺失

1. 背景:染色体 1p/19q 联合性缺失 (codeletion) 是指 1 号染色体短臂和 19 号染色体长臂同时缺失,最早发现于少突胶质细胞瘤样本中^[41,50]。1p/19q 联合性缺失在少突胶质细胞瘤中的发生率为 80%~90%,在间变性少突胶质细胞瘤中发生率为 50%~70%^[7,51-53],在弥漫性星形细胞瘤中发生率为 15%,而在胶质母细胞瘤中发生率仅为 5.0%。具有 1p/19q 联合性缺失的少突胶质细胞瘤患者通常伴随着 IDH 基因的突变^[54],MGMT 启动子甲基化^[55],和 G-CpG 岛甲基化表型 (G-CIMP)^[56],但是与 TP53 突变相互独立发生^[5,13]。目前认为 1p/19q 联合性缺失是少突胶质细胞瘤的分子特征,是其诊断性分子标志物^[57-58]。通常对疑似少突胶质细胞瘤或混合性少突星形细胞瘤均应进行 1p/19q 联合性缺失的检测,从而协助组织学的诊断,1p/19q 缺失可以帮助区分混合性少突星形细胞瘤更倾向于少突还是星形,这对于治疗选择有一定的意义。存在 1p/19q 联合性缺失的少突胶质细胞瘤生长速度较慢,并对化疗敏感^[29,59]。目前的治疗指南对少突胶质细胞瘤均推荐检测 1p/19q 联合性缺失的状态^[60],用替莫唑胺或单纯放疗治疗 1p/19q 联合性缺失的少突胶质细胞瘤的患者均会延长无进展生存期^[59,61-62],仅有 1p 缺失的患者进行单一治疗的时候也会延长无进展生存期^[59,63]。一项 1000 例病例的大规模的国际临床回顾性研究表明,对 1p/19q 联合性缺失的间变性少突胶质细胞瘤患者进行替莫唑胺 (TMZ) 单纯化疗和 PCV 联合放疗,PCV 化疗方案 (甲基苄肼 + 洛莫司汀 + 长春新碱) 比 TMZ 化疗方案对肿瘤控制更好,但是否能够延长存活期并不明确^[64]。对于伴有 1p/19q 联合性缺失、无症状的少突胶质细胞瘤患者,肿瘤生长缓慢并且总生存期长,一部分医师选择了临床观察。而对于有症状的患者,治疗效果较好,治疗后能改善症状、提高生活质量^[7,65]。

2. 实验室检测方法:实验室检测 1p/19q 状态的方法包括荧光原位杂交、基于杂合性缺失分析的聚合酶链式反应 (PCR) 和阵列比较基因组杂交 (CGH)^[7]。推荐采用荧光原位杂交技术。

3. 建议:对于有 1p/19q 联合缺失的少突或间变性少突胶质细胞瘤患者,推荐化疗或联合放疗。

(四)EGFR 扩增和 EGFRv III 重排

1. 背景:表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 基因定位于染色体 7p12,编码一种跨膜酪氨酸激酶受体 (EGFR/Erb/Her1)。EGFR 编码蛋白有三个功能结构域:分别是细胞外段的氨基酸结合区、跨膜区和细胞内段的酪氨酸激酶区。EGFR 与 EGF、TGF- α 或双调蛋白 (amphiregulin, AR) 的结合后使酪氨酸激酶磷酸化,进一步激

活胞内下游信号通路 (促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K),从而促进细胞增殖、迁移。EGFR 扩增在许多癌症中的发生并不普遍,而在脑胶质瘤中确有很高的发生率,并常常伴随编码蛋白的过表达。间变性星形细胞瘤中 EGFR 扩增的发生率为 17%^[66],GBM 中的发生率为 50%~60%^[2-3],TCGA 的经典型^[67]与 Phillips 增殖型和间质型的发生率高达 94%^[68-69]。组织学上,小细胞 GBM 中 GFAP 表达很低,从形态学上难以和高级别的少突胶质细胞瘤相鉴别。由于小细胞 GBM 中 EGFR 扩增很普遍^[70],据此能鉴别诊断小细胞 GBM 与高级别的少突胶质细胞瘤。对于临床症状和神经影像学提示诊断为 GBM 的患者,由于取材的局限导致组织病理学上不能充分的证明是 GBM,针对 EGFR 扩增进行检测就能确诊或排除 GBM 的诊断^[68]。FISH 可以确定的检测 EGFR 扩增^[71-73],所以可作为判定肿瘤级别的一个备选指标。在临床上,60 岁的 GBM 患者伴随 EGFR 扩增提示预后不良^[66]。存在 EGFR 扩增的肿瘤可以伴发其他 EGFR 基因的改变,最常见的是外显子 2~7 框内缺失形成的 EGFRv III 重排,EGFRv III 重排在 GBM 患者的发生率为 20%~30%。EGFR 的扩增会导致 EGFRv III 成为截断体蛋白,从而不能绑定配体的短胞外区。由于降解能力受损和激酶活性增加,EGFRv III 重排能够激活下游信号转导通路。EGFRv III 重排是否与预后相关还存在着争议,但是长期来看,有 EGFRv III 重排的患者预后有差的趋势。至今 EGFR 的靶向治疗对治疗 GBM 还没有明显的疗效,然而 EGFRv III 重排给我们提供了一个靶向治疗的平台,多个二期临床试验已经发现针对于 EGFRv III 重排的疫苗能够改善患者的预后。现在,三期临床试验 (ClinicalTrials.gov, No. NCT01480479) 正在进行。对于 EGFRv III 重排阳性的 GBM 患者,可通过监测外周血 EGFRv III 重排来观察治疗反应并能监测是否复发^[74-75]。未来针对于 EGFRv III 重排的疫苗有望改善 EGFRv III 重排阳性患者的预后。

2. 实验室检测方法:EGFR 扩增:荧光原位杂交;EGFRv III 重排:实时定量 PCR,免疫组织化学,多重探针依赖式扩增技术。推荐使用荧光原位杂交检测 EGFR 重排。

3. 建议:有 EGFR 扩增的大于 60 岁的 GBM 患者预后差^[66],诊断方面的意义表现在两方面:对小细胞 GBM 的诊断;辅助判定活检组织的病理结果。

(五)PTEN 基因突变

1. 背景:磷酸酯酶与张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN),定位于染色体 10q23.3,是蛋白质酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTP) 基因家族成员,其蛋白产物为含有一酪氨酸磷酸酶的功能区和约 175 个氨基酸左右的与骨架蛋白 tenascin、auxilin 同源的区域。PTEN 是重要的抑癌基因,于 1997 年首次被报道^[76],是迄今发现的第一个具有双特异磷酸酶活性的抑癌基因,也是继 TP53 基因后另一个较为广泛地与肿瘤发生关系密切的基因。PTEN 蛋白是磷酸酶,它使蛋白质去磷酸化而发挥作用。PTEN 参与信号通路的转导,在细胞生长、分裂的速度过快或

者分裂不受控制时,能够调控细胞分裂周期,使细胞停止分裂并诱导凋亡,这些功能可以阻止细胞的异常增殖进而限制肿瘤的形成。PTEN 还可以辅助抑制细胞转移、细胞与周围基质的粘附和血管发生等功能。此外,它在维持细胞遗传信息的稳定性上也可能具有重要作用。PTEN 基因是众多肿瘤预后的评价指标,研究其作用机制对肿瘤的诊断及其基因治疗具有重要意义。PTEN 参与了 RTK/PI3K 通路,86% 的 GBM 患者会有包括 PTEN 基因缺失和突变的 RTK/PI3K 通路基因的改变。在原发性 GBM 中 PTEN 的点突变率为 26% ~ 34%^[17,66]。间变性星形细胞瘤(18%)突变率明显少于 GBM。有 PTEN 突变的间变性星形细胞瘤患者预后较差^[66]。

2. 实验室检测方法:对外显子区域进行 PCR, Sanger 测序检测 PTEN 突变。

3. 建议:建议对 WHO III 级和 IV 级的胶质瘤样本检测 PTEN 的突变。有 PTEN 突变的间变性星形细胞瘤患者预后较差。

(六) TP53 基因突变

1. 背景:TP53 为抑癌基因,定位于染色体 17p13.1,编码蛋白称为 p53 蛋白或 p53 肿瘤蛋白。p53 蛋白能调节细胞周期和避免细胞癌变发生。超过 50% 的人类肿瘤涉及 TP53 基因突变的发生^[77]。TP53 基因突变在低级别星形细胞瘤中发生率为 50% ~ 60%,在少突胶质细胞瘤中 TP53 基因突变发生率很低^[25],混合性少突星形细胞瘤发生率为 40%,继发性 GBM 发生率为 70%,原发性 GBM 发生率为 25% ~ 37%^[2,6,25,77]。在低级别星形细胞瘤和继发性 GBM 中,TP53 基因突变多在胶质瘤形成早期发生^[77-78],而在原发性 GBM 中,TP53 基因突变多在胶质瘤形成后期发生,主要是由于基因组的不稳定性增加导致^[2]。在弥漫性胶质瘤患者中 TP53 突变是生存率降低的原因^[25]。对于低级别胶质瘤而言,TP53 突变提示预后较差^[25,78],但是对 GBM 而言并没有预测价值^[33]。目前 p53 蛋白的表达已被作为诊断的生物标志物,可通过福尔马林固定、石蜡包埋的组织定期免疫组织化学检测。然而,其免疫组织化学的结果必须结合详尽的临床信息进行分析,因为无证据证明基因突变和蛋白的过度表达具有相关性,蛋白的过度表达并不能用来推断 TP53 突变状态^[78]。p53 在未来有可能成为药物靶点,提高肿瘤细胞对化疗的敏感性,这还有待进一步的研究^[77]。

2. 实验室检测方法:对外显子区域进行 PCR, Sanger 测序检测 TP53 突变。

3. 建议:TP53 突变在低级别星形细胞瘤和继发 GBM 中发生率高。有 TP53 突变的低级别胶质瘤预后较差。

(七) BRAF 融合和点突变

1. 背景:BRAF 基因位于 7q34,长约 190 kb。BRAF 基因编码一种丝/苏氨酸特异性激酶 (serine/threonine specific kinase)。BRAF 基因是 RAF 家族的成员之一,RAF 家族还包括 ARAF 和 RAF1 (CRAF) 基因,是 RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK 通路重要的转导因子,参与调控细胞内多种生物学事

件,如细胞生长、分化和凋亡等。BRAF 蛋白由 783 个氨基酸组成,功能上从 N 端到 C 端依次为 RAS 结合区、富半胱氨酸区 (Cys)、甘氨酸环 (Gloop) 和激活区。在绝大多数组织和细胞类型中,BRAF 是 MEK/ERK 最为关键的激活因子。它主要有 CR1、CR2 和 CR3 三个保守区。其中 CR1 区含 RBD 区 (Ras-binding domain, RAS 蛋白结合区) 和富半胱氨酸区 (Cys); CR3 区为激酶结构域,含甘氨酸环 (Gloop),为 ATP 结合位点和激活区,该区 T598 和 S601 两个位点的磷酸化对 BRAF 蛋白的激活至关重要。BRAF 蛋白的主要磷酸化位点为 S364、S428、T439、T598 和 S601。BRAF 蛋白的完全活化需要 T598 和 S601 两个位点的磷酸化,这两个位点氨基酸的置换将导致激酶持续性激活。此外,这两个位点的磷酸化对于 ERK 的 BRAF 诱导性激活以及 NIH3T3 的转化亦很重要。BRAF 基因的串联重复导致了基因的融合,如 KIAA1549-BRAF 和 FAM131B-BRAF (少见)^[79]。KIAA1549-BRAF 融合在毛细胞型星形细胞瘤中高发(50% ~ 70%),而在其他级别胶质瘤或其他肿瘤中极为少见^[80-81]。KIAA1549-BRAF 融合是一个重要的诊断标志物,由于毛细胞型细胞瘤也存在微血管的增生,在组织学上难以与 GBM 区分,如果检测有 KIAA1549-BRAF 融合则高度提示为毛细胞型星形细胞瘤。在各个级别的胶质瘤中,均检测到了 BRAF 发生在 Val600Glu 位点的错义突变^[82-83]。通过针对该种突变的特异性抗体的免疫组织化学检测发现,多形性黄色瘤型星形细胞瘤中约有 60% ~ 70% 发生该突变,是突变最多的一种星形细胞瘤。在毛细胞型星形细胞瘤中发生率为 10%,其他胶质瘤中少见。针对于 Val600Glu 突变的药物,如威罗菲尼 (vemurafenib),为存在 BRAF 突变的胶质瘤的治疗提供了新的治疗方式。

2. 实验室检测方法:KIAA1549-BRAF 基因融合:荧光原位杂交,实时定量 PCR; BRAFVal600Glu 突变:免疫组织化学,焦磷酸测序。

3. 建议:KIAA1549-BRAF 融合基因和 BRAF Val600Glu 突变与毛细胞型星形细胞瘤密切相关,具有很强的诊断价值;是靶向治疗的标志物。

(八) Ki-67

1. 背景:Ki-67 是一种增殖细胞相关的核抗原,其功能与有丝分裂密切相关,在细胞增殖中是不可缺少的。Ki-67 作为标记细胞增殖状态的抗原,其染色阳性说明癌细胞增殖活跃。Ki-67 蛋白存在于所有的有活性的细胞周期中 (G1, S, G2, M),而不存在于静止期 (G0)。Ki-67 已经作为判定增殖细胞数比例的指标。然而至今为止,并没有确定的阈值作为评定肿瘤级别的指标。Ki-67 表达水平均能较客观地反应脑肿瘤的增殖速度和恶性程度^[84],但 WHO 指南至今仍旧根据有丝分裂的活性来区别 II 级和 III 级的肿瘤。现在多使用免疫组织化学技术检测 Ki-67 蛋白,这在病理诊断中已获得普遍认可。在许多肿瘤中,Ki-67 阳性标记指数对于区别良恶性、确定分级都有参考价值。总体说来,Ki-67 阳性标记指数越高,则恶性程度(分级)越高,预后越差。在不同肿瘤中,其

良恶性之间、不同级别之间,阳性标记指数总有一些重叠交叉,而且不同研究者所得的结果还常有相当大的差别,很难一概而论。一般主张选择肿瘤细胞丰富、阳性细胞(定位于细胞核)较多的热点区域,选择至少 10 个高倍视野,计算这些视野内肿瘤细胞中阳性细胞的平均值(%),作为 Ki-67 阳性标记指数。在胶质瘤中,高级别胶质瘤的 Ki-67 代表的阳性标记指数明显高于低级别胶质瘤。早期及近期研究揭示 Ki-67 和磷酸化组蛋白 H3 在弥漫性脑胶质瘤中有预后价值,尤其是低级别弥漫性胶质瘤^[85-86]。在间变性少突胶质细胞瘤中,Ki-67 是一个重要的单因素分析预后指标,而不是多因素分析预后指标。

2. 实验室检测方法:免疫组织化学。

3. 建议:对于低级别弥漫性胶质瘤是一个预测预后的可靠指标

(九)miR-181d

1. 背景:微小 RNA (miRNAs)是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,约 20~25 个核苷酸。成熟的 miRNAs 可以降解靶 mRNA 或者阻遏靶 mRNA 的翻译。miRNA 参与了各种各样的调节途径,包括发育、病毒防御、造血过程、器官形成、细胞增殖和凋亡、脂肪代谢等等。miRNA 可以担任抑癌基因或癌基因,与肿瘤的恶性进展有着密切的联系。中国胶质瘤基因组图谱计划 (Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA)与美国波士顿贝斯医疗中心合作研究发现:与正常脑组织相比,胶质瘤中的 miR-181d 表达明显下调^[87],尤其是在 GBM 中,这个结果在 TCGA 和独立样本中也得到了证实,miR-181d 连同其他 4 个 miRNA 一同可以预测 GBM 患者的预后^[88]。miR-181d 能够抑制胶质瘤的增殖、促进细胞周期停滞并促进凋亡。已证明 miR-181d 有多个靶基因,与肿瘤相关的靶点包括 KRAS、BCL-2 和 MGMT^[87,89]。miR-181d 能够负调控 MGMT mRNA 的翻译,从而使其表达下调,同时在肿瘤样本中 miR-181d 与 MGMT 的表达呈负相关。miR-181d 高表达的患者组的中位生存期明显比低表达的组群长;表达上调的 miR-181d 能够增加 GBM 对替莫唑胺的敏感性,部分的原因是 miR-181d 下调 MGMT 的作用。MGMT 有修复 DNA 损伤的功能,而替莫唑胺能够促进 GBM 的 DNA 损伤,miR-181d 通过下调 MGMT 达到了提高 GBM 对替莫唑胺敏感性的作用。miR-181d 对于替莫唑胺治疗效果是一个预测因子。同时,miR-181d 的其他靶基因的作用也参与其抗肿瘤作用机制中。在 GBM 中 miR-181d 高表达提示预后较好。

2. 实验室检测方法:原位杂交。

3. 建议:miR-181d 对于 GBM 是一个预测预后的可靠指标。临床检测 miR-181d 的表达水平能提示 GBM 患者对 TMZ 化疗的敏感性。

七、根据特定基因分类的胶质瘤亚型

胶质瘤分子基因表达研究的进一步开展,将为胶质瘤分类与新型分子治疗靶点的寻找提供更多的依据。Phillips 等^[68]在一项 107 例胶质瘤 (WHO III 和 IV 级)的研究中,用 35

个基因将胶质瘤分为三个亚型:前神经元型,增殖型和间质型。前神经元型表达神经发生相关的基因,具有完整的 PTEN、正常的 EGFR 和 Notch 信号通路,常发生在 40 岁左右的人群中,有较好的预后。增殖型与间质型肿瘤分别表达细胞增殖和血管生成/间质相关的基因,如 10 号染色体缺失,7 号染色体的扩增,PTEN 基因的缺失,正常或扩增的 EGFR 基因和 Akt 的活化。常发生在年龄稍大的人群中 (> 50 岁),有不良的预后。Verhaak 等^[67]在分析了癌症基因组图谱计划 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 中 202 例 GBM 的表达谱后,利用了 840 个基因,将 GBM 分为四个亚型:前神经元型、神经元型、经典型和间质型。前神经元型的发生率较低,有少突胶质细胞的特性,主要发生在继发性 GBM 年轻患者中,其主要特点是 IDH 突变、TP53 基因突变和 1p/19q 杂合性缺失、PDGFR-A 改变、10 号染色体缺失和 7 号染色体扩增。神经亚型表现为表达神经元相关基因,包含有星形细胞和少突细胞,其主要特点是 EGFR 扩增 (5/19, 26%),它的表达模式和正常脑组织样本是最相似的。经典亚型表达了神经前体和干细胞的标志物,具有星形细胞的特性,其特点是 7 号染色体扩增和 10 号染色体的缺失 (93%),EGFR 扩增 (95%),TP53 缺失,激活的 Notch 和 shh (Sonic hedgehog signaling) 信号通路,PTEN 缺失 (5/22, 23%) 和 EGFRv III 重排 (5/22, 23%)。间质亚型具有培养的星形细胞瘤的特点,包括 PTEN 缺失 (12/38, 32%),NF1 基因突变 (14/38, 37%),坏死和炎性反应的增加。中国脑胶质瘤基因组图谱计划 (chinese glioma genome atlas, CGGA) 共利用了 225 例脑胶质瘤的样本进行了分子亚分型^[90],将脑胶质瘤分为了三个亚型 (G1, G2 和 G3)。G1 亚型包含了极度高发的 IDH 突变,主要见于年轻的患者,有良好的预后。而相对于 G1 亚型,G3 亚型预后较差,主要见于年老的患者,包含了非常低的 IDH 突变率。G2 亚型的以上临床特点介于 G1 和 G3 亚型之间,但是 1p/19q 的缺失在 G2 亚型中比 G1 和 G3 的发生率要高。上述分型使用 TCGA 和 Rembrandt 的数据库验证的得到了相似的结果。

八、胶质瘤分子诊断的质控

分子遗传学和分子生物学的技术进展,将胶质瘤的诊治水准提升到了分子水平,同时也对肿瘤样本的质量提出了更高的要求。因此,肿瘤样本的质量控制是包括胶质瘤在内的所有肿瘤临床样本分子诊断过程中的基本环节。根据胶质瘤病程长、易复发、异质性强等特点,在进行分子诊断检测之前,应当从以下几个方面进行质控。

1. 标准操作程序 (standard operation procedure, SOP) 和临床实践指南 (clinical practice guideline, CPG)。一旦胶质瘤样本离开患者身体后,由于缺乏必需的生存环境,必然发生组织降解,使其内部的生物分子发生降解,导致生物信息改变、甚至丢失,从而降低样本的可利用价值^[91-99]。样本降解的速度与很多因素 (pre-analytical variables) 有关,需要检测的目的生物分子对降解因素的易感性也各不相同。因而,严格执行 SOP 与 CPG,在分子诊断中将人为影响和环境因素的

作用降到最低,才能最大限度地维持所检分子的完整性,确保胶质瘤分子诊断的准确性。

2. 个体化分析:需要指出的是患者自身体质、肿瘤血运分布、肿瘤细胞组成等个体因素可以对单个胶质瘤标本的降解速度的影响不尽相同;因此,在临床操作中,应当对每例患者样本的取材方法、冷冻时间、保存运输条件等诸多分子诊断前数据做个体化分析。推荐对各例样本进行降解程度评估,用以校正分子诊断结果^[100]。对经历放、化疗的患者,做分子诊断时应当考虑放、化疗等因素对所检分子的影响,并区别放化疗因素造成胶质瘤的继发性分子变化。

3. 推荐的精细化的分子诊断:首先,考虑到胶质瘤的异质性,不宜将整块肿瘤组织一同匀浆进行分子分析;而应当对每例待检样本进行病理切片和组织学观察。根据组织形态学特点,必要时应当在显微镜下(石蜡切片)或冰冻切片机上(冰冻切片)对细胞进行选择性收集(selective tissue dissection)^[101]。

4. 本版本提出的胶质瘤分子诊断指南是在基因水平(包括 DNA、mRNA 和 miRNA)所做的定性分析,无法获知具有基因分子特征的细胞在所检胶质瘤组织中的比例和分布情况,因而在根据这些基因特征选择治疗方案和预后分析时可能出现偏差。为了提高胶质瘤分子诊断水准、最终实现精确精准治疗的目的,适时研发并优化以 RNA、蛋白质为标准的定量分子诊断手段,条件允许的时候利用诸如靶向蛋白定量质谱之类的先进技术手段对胶质瘤进行量化的分子诊断,是胶质瘤分子诊断的最终目标与方向。

《中国脑胶质瘤分子诊疗指南》编写组成员名单:马文斌(中国医学科学院北京协和医院神经外科)、于士柱(天津医科大学总医院、天津市神经病学研究所神经肿瘤研究室)、王任直(中国协和医科大学北京协和医院神经外科)、王伟民(广州军区广州总医院神经外科)、王洪军(哈尔滨医科大学附属第二医院神经外科)、王永志(首都医科大学附属北京天坛医院神经外科、北京市神经外科研究所)、王政(首都医科大学附属北京天坛医院神经外科、北京市神经外科研究所)、王引言(首都医科大学附属北京天坛医院神经外科、北京市神经外科研究所)、毛颖(复旦大学附属华山医院神经外科)、毛庆(四川大学华西医院神经外科)、尤永平(南京医科大学第一附属医院神经外科)、史之峰(复旦大学附属华山医院神经外科)、白红民(广州军区广州总医院神经外科)、李文斌(北京市世纪坛医院神经肿瘤内科)、李学军(中南大学湘雅医院神经外科 35 病区)、李桂林(北京市神经外科研究所神经病理科)、吴安华(中国医科大学附属第一医院神经外科)、陈凌(解放军总医院神经外科、全军神经外科研究所)、陈忠平(中山大学附属肿瘤医院神经外科)、邱晓光(首都医科大学附属北京天坛医院放疗科)、杨学军(天津医科大学总医院神经外科)、周良辅(复旦大学附属华山医院神经外科)、周定标(解放军总医院神经外科)、林毅(中国医科大学附属第一医院神经外科)、赵继宗(首都医科大学附属北京天坛医院神经外科)、康春生(天津医科大学总医院神经外科、

天津市神经病学研究所神经肿瘤实验室)、姚坤(首都医科大学北京三博脑科医院病理科)、蒋传路(哈尔滨医科大学附属第二医院神经外科)、秦智勇(复旦大学附属华山医院神经外科)、赛克(中山大学附属肿瘤医院神经外科)、樊小龙(北京师范大学生命科学院神经科学和脑发育实验室)、颜伟(南京医科大学第一附属医院神经外科)。

分子诊疗指南的参与人员和机构

1. 胶质瘤分子诊疗指南制定的团队,组长:江涛、毛颖;副组长:马文斌、杨学军、陈忠平。制定小组:王伟民、蒋传路、吴安华、康春生、尤永平、李学军、陈凌、邱晓光、李文斌、秦志勇。

学术指导:赵继宗、周良辅、周定标、王任直。

2. 文献、资料收集和入组评估小组:王洪军、颜伟、林毅、王永志、王政、王引言、姚坤、史之峰。

3. 指南起草小组:江涛、毛颖、马文斌、杨学军、陈忠平、毛庆、蒋传路、吴安华、康春生、尤永平、李学军、陈凌、邱晓光。

4. 指南修改小组:江涛、毛颖、马文斌、杨学军、陈忠平、毛庆、蒋传路、吴安华、康春生、尤永平、李学军、陈凌、邱晓光、王伟民、李文斌、赛克、白红民。

5. 评定、监督小组:李桂林、于士柱、樊小龙、Clark Chen(美国加利福尼亚大学神经肿瘤转化和应用中心)、Min Li(美国德州大学医学院神经外科)。

组织机构的共同认证:北京市神经外科研究所、首都医科大学附属北京天坛医院、复旦大学附属上海华山医院、哈尔滨医科大学附属第二医院、天津医科大学总医院、南京医科大学第一附属医院、中南大学湘雅医院、四川大学华西医院、中山大学附属肿瘤医院、广州军区广州总医院、中国协和医科大学北京协和医院、中国医科大学附属第一医院、中国脑胶质瘤协作组(CGCG)、中国脑胶质瘤基因组图谱计划(CGGA)。

免责声明:本指南不作为法律依据。

指南附录见本期杂志 523 ~ 527 页。

参 考 文 献

- [1] Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. Cbtrus statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the united states in 2005-2009 [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14 Suppl 5: v1-v49.
- [2] Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170: 1445-1453.
- [3] Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, et al. Genetic pathways to glioblastoma; A population-based study [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 6892-6899.
- [4] Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64: 479-489.
- [5] Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, et al. Idh1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas [J]. *Am J Pathol*, 2009, 174: 1149-1153.

- [6] Ohgaki H, Kleihues P. Genetic profile of astrocytic and oligodendroglial gliomas [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2011, 28: 177-183.
- [7] Jansen M, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: Diagnostic, prognostic, and predictive markers [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9:717-726.
- [8] Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. Idh1 and idh2 mutations in gliomas [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360:765-773.
- [9] Stupp R, Hegi ME, van den Bent MJ, et al. Changing paradigms--an update on the multidisciplinary management of malignant glioma [J]. *Oncologist*, 2006, 11:165-180.
- [10] Wesolowski JR, Rajdev P, Mukherji SK. Temozolomide (temodar) [J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2010, 31:1383-1384.
- [11] Sonoda Y, Kumabe T, Nakamura T, et al. Analysis of idh1 and idh2 mutations in japanese glioma patients [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100:1996-1998.
- [12] van den Bent MJ, Dubbink HJ, Marie Y, et al. Idh1 and idh2 mutations are prognostic but not predictive for outcome in anaplastic oligodendroglial tumors: A report of the european organization for research and treatment of cancer brain tumor group [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16:1597-1604.
- [13] Metellus P, Coulibaly B, Colin C, et al. Absence of idh mutation identifies a novel radiologic and molecular subtype of who grade ii gliomas with dismal prognosis [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, 120:719-729.
- [14] Wick W, Hartmann C, Engel C, et al. Noa-04 randomized phase iii trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27:5874-5880.
- [15] Pollack IF, Hamilton RL, Sobol RW, et al. Idh1 mutations are common in malignant gliomas arising in adolescents: A report from the children's oncology group [J]. *Childs Nerv Syst*, 2011, 27:87-94.
- [16] Hartmann C, Meyer J, Balss J, et al. Type and frequency of idh1 and idh2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: A study of 1,010 diffuse gliomas [J]. *Acta Neuropathol*, 2009, 118:469-474.
- [17] Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme [J]. *Science*, 2008, 321:1807-1812.
- [18] Horbinski C, Kofler J, Kelly LM, et al. Diagnostic use of idh1/2 mutation analysis in routine clinical testing of formalin-fixed, paraffin-embedded glioma tissues [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009, 68:1319-1325.
- [19] Weller M, Felsberg J, Hartmann C, et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: A prospective translational study of the german glioma network [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27:5743-5750.
- [20] Hartmann C, Hentschel B, Wick W, et al. Patients with idh1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than idh1-mutated glioblastomas, and idh1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: Implications for classification of gliomas [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, 120: 707-718.
- [21] Sanson M, Marie Y, Paris S, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27:4150-4154.
- [22] Dubbink HJ, Taal W, van Marion R, et al. Idh1 mutations in low-grade astrocytomas predict survival but not response to temozolomide [J]. *Neurology*, 2009, 73:1792-1795.
- [23] Houillier C, Wang X, Kaloshi G, et al. Idh1 or idh2 mutations predict longer survival and response to temozolomide in low-grade gliomas [J]. *Neurology*, 2010, 75:1560-1566.
- [24] Ahmadi R, Stockhammer F, Becker N, et al. No prognostic value of idh1 mutations in a series of 100 who grade ii astrocytomas [J]. *J Neurooncol*, 2012, 109:15-22.
- [25] Kim YH, Nobusawa S, Mittelbronn M, et al. Molecular classification of low-grade diffuse gliomas [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177:2708-2714.
- [26] Thon N, Eigenbrod S, Kreth S, et al. Idh1 mutations in grade ii astrocytomas are associated with unfavorable progression-free survival and prolonged postrecurrence survival [J]. *Cancer*, 2012, 118:452-460.
- [27] Hartmann C, Hentschel B, Tatagiba M, et al. Molecular markers in low-grade gliomas: Predictive or prognostic? [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17:4588-4599.
- [28] Juratl TA, Kirsch M, Robel K, et al. Idh mutations as an early and consistent marker in low-grade astrocytomas who grade ii and their consecutive secondary high-grade gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2012, 108:403-410.
- [29] Goze C, Bezzina C, Goze E, et al. 1p19q loss but not idh1 mutations influences who grade ii gliomas spontaneous growth [J]. *J Neurooncol*, 2012, 108:69-75.
- [30] Capper D, Reuss D, Schittenhelm J, et al. Mutation-specific idh1 antibody differentiates oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from other brain tumors with oligodendroglia-like morphology [J]. *Acta Neuropathol*, 2011, 121:241-252.
- [31] Ichimura K. Molecular pathogenesis of idh mutations in gliomas [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2012, 29:131-139.
- [32] Matsukura S, Soejima H, Nakagawachi T, et al. CpG methylation of mgmt and hmlh1 promoter in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis viral infection [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88:521-529.
- [33] Bleeker FE, Molenaar RJ, Leenstra S. Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma [J]. *J Neurooncol*, 2012, 108:11-27.
- [34] Weller M, Stupp R, Reifenberger G, et al. Mgmt promoter methylation in malignant gliomas: Ready for personalized medicine? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6:39-51.
- [35] Kaina B, Christmann M, Naumann S, et al. Mgmt: Key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2007, 6:1079-1099.
- [36] Mellai M, Monzeglio O, Piazzini A, et al. Mgmt promoter hypermethylation and its associations with genetic alterations in a series of 350 brain tumors [J]. *J Neurooncol*, 2012, 107: 617-631.
- [37] van den Bent MJ, Dubbink HJ, Sanson M, et al. Mgmt promoter methylation is prognostic but not predictive for outcome to adjuvant pcv chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors: A report from eortc brain tumor group study 26951 [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27:5881-5886.
- [38] Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, et al. O(6)-methylguanine DNA-methyltransferase methylation status can change between first surgery for newly diagnosed glioblastoma and second surgery for recurrence: Clinical implications [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12:283-288.
- [39] Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways [J]. *Nature*, 2008, 455: 1061-1068.
- [40] Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, et al. Mgmt promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26: 2192-2197.
- [41] Jenkins RB, Blair H, Ballman KV, et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma [J]. *Cancer Res*, 2006, 66:9852-9861.
- [42] Cairncross G, Jenkins R. Gliomas with 1p/19q codeletion: A.

- K. A. Oligodendroglioma[J]. *Cancer J*, 2008, 14:352-357.
- [43] Everhard S, Kaloshi G, Criniere E, et al. Mgmt methylation: A marker of response to temozolomide in low-grade gliomas[J]. *Ann Neurol*, 2006, 60:740-743.
- [44] Rivera AL, Pelloski CE, Gilbert MR, et al. Mgmt promoter methylation is predictive of response to radiotherapy and prognostic in the absence of adjuvant alkylating chemotherapy for glioblastoma[J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12:116-121.
- [45] Gallego Perez-Larraya J, Ducray F, Chinot O, et al. Temozolomide in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma and poor performance status: An anocef phase ii trial[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29:3050-3055.
- [46] Reifenberger G, Hentschel B, Felsberg J, et al. Predictive impact of mgmt promoter methylation in glioblastoma of the elderly[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131:1342-1350.
- [47] Felsberg J, Thon N, Eigenbrod S, et al. Promoter methylation and expression of mgmt and the DNA mismatch repair genes mlh1, msh2, msh6 and pms2 in paired primary and recurrent glioblastomas[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129:659-670.
- [48] Preusser M, Charles Janzer R, Felsberg J, et al. Anti-O⁶-methylguanine-methyltransferase (mgmt) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: Observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker[J]. *Brain Pathol*, 2008, 18:520-532.
- [49] Rodriguez FJ, Thibodeau SN, Jenkins RB, et al. Mgmt immunohistochemical expression and promoter methylation in human glioblastoma[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2008, 16:59-65.
- [50] Griffin CA, Burger P, Morsberger L, et al. Identification of der (1; 19) (q10; p10) in five oligodendrogliomas suggests mechanism of concurrent 1p and 19q loss[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65:988-994.
- [51] Reifenberger G, Louis DN. Oligodendroglioma: Toward molecular definitions in diagnostic neuro-oncology[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 62:111-126.
- [52] Cairncross G, Berkey B, Shaw E, et al. Phase iii trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup radiation therapy oncology group trial 9402[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24:2707-2714.
- [53] van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: A randomized european organisation for research and treatment of cancer phase iii trial[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24:2715-2722.
- [54] Labussiere M, Idhah A, Wang XW, et al. All the 1p19q codeleted gliomas are mutated on idh1 or idh2[J]. *Neurology*, 2010, 74:1886-1890.
- [55] Xiong J, Liu Y, Wang Y, et al. Chromosome 1p/19q status combined with expression of p53 protein improves the diagnostic and prognostic evaluation of oligodendrogliomas[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123:3566-3573.
- [56] van den Bent MJ, Gravendeel LA, Gorlia T, et al. A hypermethylated phenotype is a better predictor of survival than mgmt methylation in anaplastic oligodendroglial brain tumors: A report from eortc study 26951[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17:7148-7155.
- [57] Aldape K, Burger PC, Perry A. Clinicopathologic aspects of 1p/19q loss and the diagnosis of oligodendroglioma[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2007, 131:242-251.
- [58] Eoli M, Bissola L, Bruzzone MG, et al. Reclassification of oligoastrocytomas by loss of heterozygosity studies[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119:84-90.
- [59] Kaloshi G, Benouaich-Amiel A, Diakite F, et al. Temozolomide for low-grade gliomas: Predictive impact of 1p/19q loss on response and outcome[J]. *Neurology*, 2007, 68:1831-1836.
- [60] Yip S, Iafrate AJ, Louis DN. Molecular diagnostic testing in malignant gliomas: A practical update on predictive markers[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2008, 67:1-15.
- [61] Smith JS, Perry A, Borell TJ, et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas[J]. *J Clin Oncol*, 2000, 18:636-645.
- [62] Abrey LE, Louis DN, Paleologos N, et al. Survey of treatment recommendations for anaplastic oligodendroglioma[J]. *Neuro Oncol*, 2007, 9:314-318.
- [63] Hoang-Xuan K, Capelle L, Kujas M, et al. Temozolomide as initial treatment for adults with low-grade oligodendrogliomas or oligoastrocytomas and correlation with chromosome 1p deletions[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22:3133-3138.
- [64] Lassman AB, Iwamoto FM, Cloughesy TF, et al. International retrospective study of over 1000 adults with anaplastic oligodendroglial tumors[J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13:649-659.
- [65] Walker C, Haylock B, Husband D, et al. Clinical use of genotype to predict chemosensitivity in oligodendroglial tumors[J]. *Neurology*, 2006, 66:1661-1667.
- [66] Smith JS, Tachibana I, Passe SM, et al. Pten mutation, egfr amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93:1246-1256.
- [67] Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in pdgfra, idh1, egfr, and nfl[J]. *Cancer Cell*, 2010, 17:98-110.
- [68] Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, et al. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9:157-173.
- [69] Gao G, Ren S, Li A, et al. Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor therapy is effective as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer with mutated egfr: A meta-analysis from six phase iii randomized controlled trials[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131:E822-E829.
- [70] Burger PC, Pearl DK, Aldape K, et al. Small cell architecture--a histological equivalent of egfr amplification in glioblastoma multiforme? [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2001, 60:1099-1104.
- [71] Kersting C, Packeisen J, Leidinger B, et al. Pitfalls in immunohistochemical assessment of egfr expression in soft tissue sarcomas[J]. *J Clin Pathol*, 2006, 59:585-590.
- [72] Kersting C, Tidow N, Schmidt H, et al. Gene dosage pcr and fluorescence in situ hybridization reveal low frequency of egfr amplifications despite protein overexpression in invasive breast carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2004, 84:582-587.
- [73] Dei Tos AP, Ellis I. Assessing epidermal growth factor receptor expression in tumours: What is the value of current test methods? [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41:1383-1392.
- [74] Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport rna and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10:1470-1476.
- [75] Shao H, Chung J, Balaj L, et al. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy[J]. *Nat Med*, 2012, 18:1835-1840.
- [76] Li J, Yen C, Liaw D, et al. Pten, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. *Science*, 1997, 275:1943-1947.
- [77] Mendrysa SM, Ghassemifard S, Malek R. P53 in the CNS: Perspectives on development, stem cells, and cancer[J]. *Genes*

- Cancer, 2011, 2:431-442.
- [78] Stander M, Peraud A, Leroch B, et al. Prognostic impact of tp53 mutation status for adult patients with supratentorial world health organization grade ii astrocytoma or oligoastrocytoma: A long-term analysis[J]. Cancer, 2004, 101:1028-1035.
- [79] Cin H, Meyer C, Herr R, et al. Oncogenic fam131b-braf fusion resulting from 7q34 deletion comprises an alternative mechanism of mapk pathway activation in pilocytic astrocytoma[J]. Acta Neuropathol, 2011, 121:763-774.
- [80] Pfister S, Janzarik WG, Remke M, et al. Braf gene duplication constitutes a mechanism of mapk pathway activation in low-grade astrocytomas[J]. J Clin Invest, 2008, 118:1739-1749.
- [81] Jones DT, Gronych J, Lichter P, et al. Mapk pathway activation in pilocytic astrocytoma[J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69: 1799-1811.
- [82] Nicolaides TP, Li H, Solomon DA, et al. Targeted therapy for brafv600e malignant astrocytoma[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17:7595-7604.
- [83] Schindler G, Capper D, Meyer J, et al. Analysis of braf v600e mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma[J]. Acta Neuropathol, 2011, 121:397-405.
- [84] 于士柱, 杨露春, 张景全, 等. 脑肿瘤细胞 p53 和 ki-67 表达的对比观察[J]. 中国临床肿瘤, 1997, 4:264-268.
- [85] Habberstad AH, Gulati S, Torp SH. Evaluation of the proliferation markers ki-67/mib-1, mitotin, survivin, phh3, and DNA topoisomerase α in human anaplastic astrocytomas--an immunohistochemical study[J]. Diagn Pathol, 2011, 6:43.
- [86] Colman H, Giannini C, Huang L, et al. Assessment and prognostic significance of mitotic index using the mitosis marker phospho-histone h3 in low and intermediate-grade infiltrating astrocytomas[J]. Am J Surg Pathol, 2006, 30:657-664.
- [87] Zhang W, Zhang J, Hoadley K, et al. Mir-181d: A predictive glioblastoma biomarker that downregulates mgmt expression[J]. Neuro Oncol, 2012, 14:712-719.
- [88] Zhang W, Zhang J, Yan W, et al. Whole-genome microrna expression profiling identifies a 5-microrna signature as a prognostic biomarker in chinese patients with primary glioblastoma multiforme[J]. Cancer, 2013, 119:814-824.
- [89] Wang XF, Shi ZM, Wang XR, et al. Mir-181d acts as a tumor suppressor in glioma by targeting k-ras and bcl-2[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138:573-584.
- [90] Yan W, Zhang W, You G, et al. Molecular classification of gliomas based on whole genome gene expression: A systematic report of 225 samples from the chinese glioma cooperative group[J]. Neuro Oncol, 2012, 14:1432-1440.
- [91] Pinhel IF, Macneill FA, Hills MJ, et al. Extreme loss of immunoreactive p-akt and p-erk1/2 during routine fixation of primary breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12:R76.
- [92] De Cecco L, Musella V, Veneroni S, et al. Impact of biospecimens handling on biomarker research in breast cancer[J]. BMC Cancer, 2009, 9:409.
- [93] Sauter G, Lee J, Bartlett JM, et al. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: Biologic and methodologic considerations[J]. J Clin Oncol, 2009, 27: 1323-1333.
- [94] Moatamed NA, Nanjangud G, Pucci R, et al. Effect of ischemic time, fixation time, and fixative type on her2/neu immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization results in breast cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2012, 136:754-761.
- [95] Selvarajan S, Bay BH, Mamat SB, et al. Detection of her2/neu gene amplification in archival paraffin-embedded breast cancer tissues by fluorescence in situ hybridization[J]. Histochem Cell Biol, 2003, 120:251-255.
- [96] Striebel JM, Bhargava R, Horbinski C, et al. The equivocally amplified her2 fish result on breast core biopsy: Indications for further sampling do affect patient management[J]. Am J Clin Pathol, 2008, 129:383-390.
- [97] Anagnostou VK, Welsh AW, Giltane JM, et al. Analytic variability in immunohistochemistry biomarker studies[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19:982-991.
- [98] Bai Y, Tolles J, Cheng H, et al. Quantitative assessment shows loss of antigenic epitopes as a function of pre-analytic variables[J]. Lab Invest, 2011, 91:1253-1261.
- [99] Tolles J, Bai Y, Baquero M, et al. Optimal tumor sampling for immunostaining of biomarkers in breast carcinoma[J]. Breast Cancer Res, 2011, 13:R51.
- [100] Li J, Kil C, Considine K, et al. Intrinsic indicators for specimen degradation[J]. Lab Invest, 2013, 93:242-253.
- [101] Pack SD, Weil RJ, Vortmeyer AO, et al. Individual adult human neurons display aneuploidy: Detection by fluorescence in situ hybridization and single neuron per[J]. Cell Cycle, 2005, 4: 1758-1760.

(收稿:2014-02-28)

(本文编辑:薛超强)

· 消息 ·

关于申报 / 申请 2014 年度“王忠诚中国神经外科医师年度奖”的通知

由中国医师协会神经外科医师分会和北京市王忠诚医学基金会设立的“王忠诚中国神经外科医师年度奖”申报工作已经开始。评选具体奖项有“终身荣誉奖”1名,“成就奖”2名,“青年奖”5名。请全国各神经外科、神经外科医师积极推荐和申报 2014 年度“王忠诚中国神经外科医师年度奖”。申报人需要有 2 名神经外科著名专家做推荐人,向北京市王忠诚医学基金会 (Email: yuqi9597@sina.com, zhangp417@126.com) 领取并填写“申请 / 评审书”,此“申请 / 评审书”要在 2014 年 6 月 31 日前寄回。

评审时间及地点:2014 年 9 月 12~13 日在西安召开的中国医师协会神经外科医师分会第九届全国代表大会期间。

评审材料请寄:北京清华大学玉泉医院神经外科 张玉琪 收 邮编:100049。

联系电话:13311330912, 13681382409 (张萍)。