

therapy of glioblastoma with the fusion protein DTAT in immunodeficient mice. *Int J Cancer*, 2007, 120 (2): 411-419.

- [22] Rustamzadeh E, Vallera DA, Todhunter DA, et al. Immunotoxin pharmacokinetics: a comparison of the anti-glioblastoma bi-specific fusion protein (DTAT13) to DTAT and DTL13. *J Neurooncol*, 2006, 77(3): 257-266.
- [23] Oh S, Ohlfest JR, Todhunter DA, et al. Intracranial elimination of human glioblastoma brain tumors in nude rats using the bispecific ligand-directed toxin, DTEGF13 and convection enhanced delivery. *J Neurooncol*, 2009, 95(3): 331-

342.

- [24] Laske DW, Muraszko KM, Oldfield EH, et al. Intraventricular immunotoxin therapy for leptomeningeal neoplasia. *Neurosurgery*, 1997, 41(5): 1039-1051.
- [25] Holzman DC. Whatever happened to immunotoxins? Research, and hope, are still alive. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(9): 624-625.
- [26] Hansen JK, Weldon JE, Xiang L, et al. A recombinant immunotoxin targeting CD22 with low immunogenicity, low non-specific toxicity, and high antitumor activity in mice. *J Immunother*, 2010, 33(3): 297-304.

## 髓母细胞瘤分子生物学研究

王小平 综述 刘丕楠 审校

首都医科大学附属北京天坛医院神经外科, 北京 100050

**摘要:** 髓母细胞瘤 (Medulloblastoma, MB) 是发生于小脑的恶性侵袭性胚胎性肿瘤, 好发于儿童, 极易通过脑脊液 (cerebro-spinal fluid, CSF) 途径传播。近年来, 人们对髓母细胞瘤进行了大量的研究, 并发现了和其发生相关的常见的遗传学改变。同时, 还发现了多种信号通路和髓母细胞瘤的发生、发展密切相关。信号通路的引入给髓母细胞瘤的个体化生物治疗提供了新的思路。本文综述了髓母细胞瘤常见的遗传学改变及其相关的信号通路和生物治疗。

**关键词:** 髓母细胞瘤; 遗传学; 基因; 信号通路; 生物治疗

### 1 概述

髓母细胞瘤是发生于小脑的恶性侵袭性胚胎性肿瘤, 好发于儿童, 极易通过 CSF 途径传播。在小于 15 岁的小孩中, 发生率为 0.5/100000<sup>[1]</sup>。在成人中, 髓母细胞瘤的发生率比较低, 并多见于 21~40 岁年龄组<sup>[2]</sup>。

在组织学上, 髓母细胞瘤典型的形态特点为成群、核染色质丰富并缺乏胞质的肿瘤细胞, 有时还可见假菊形团及假栅栏状结构, 常伴有明显的核多形性, WHO 分级为 IV 级。2007 年 WHO 最新病理分型将 MB 分为五个亚型: 分别为经典型、促纤维增生型、伴大量结节形成型、间变型和大细胞型。目前, 髓母细胞瘤的治疗方案包括手术、放疗以及化疗等, 这些综合的治疗方法大大改善了患者的预后, 其 5 年生存率从 1970 年的 20% 上升到目前的 70%<sup>[3]</sup>。但是, 部分肿瘤切除困难, 对放、化疗不

敏感, 而且容易早期转移播散, 为了进一步提高患者的生存率, 大量的研究已进入分子遗传学水平。

### 2 遗传学变化

髓母细胞瘤最常见的遗传学异常出现在 17q 的等臂染色体, 大约可见于 50% 的肿瘤中<sup>[4]</sup>。随着比较基因组杂交 (comparative genetic hybridization, CGH) 技术的开展应用, 更多的髓母细胞瘤遗传学改变被发现。复习目前相关文献显示, 17p 的丢失和 17q 的获得仍是最常见的, 在其他非随机改变中, 最常见的是 8p、10q、16q、11 号染色体丢失以及 14q、7q、1q、4q、12q 的获得<sup>[5-7]</sup>。

#### 2.1 常见的基因获得

应用分子遗传学技术证实, 17p 的丢失、17q 的获得以及 17q 等臂染色体的形成是髓母细胞瘤最突出的遗传学改变。有研究者报道, 髓母细胞瘤 17q 的获得也并不是全是由于 17q 等臂染色体的形

收稿日期: 2011-06-24; 修护日期: 2011-07-22

作者简介: 王小平, 男 (1988-), 硕士在读, 研究方向: 颅脑肿瘤的临床治疗和基础研究。

通讯作者: 刘丕楠, 男 (1967-), 博士, 主任医师、教授, 研究方向: 颅脑肿瘤 邮箱: pinanliu@yahoo.com.cn

成,17q 等臂染色体所导致的 17p 的丢失和 17q 的获得是可以单独存在的。在 Tong 等<sup>[8]</sup>的 array-CGH 分析中,髓母细胞瘤的 17q 上存在 D17S1670 (61.5%) 和 erbB-2 (38.5%) 2 个位点的扩增。而殷晓璐等<sup>[9]</sup>进一步应用荧光原位杂交方法,证实 44.5% 的髓母细胞瘤中存在 erbB-2 基因的扩增,免疫组化显示 erbB-2 蛋白也相应有较高水平的表达。有研究显示<sup>[9]</sup>,在染色体 17q 特异性位点上 ERBB-2 基因的异常改变很可能在髓母细胞瘤的发病机制中起着重要的作用,其过度表达与患者的预后密切相关。

在初发的肿瘤中,MYC 基因的扩增也是很常见的,这预示着 MYC 可能促进肿瘤的生长<sup>[10]</sup>。MYCC 基因的获得最常见的地方是染色体 8q24,在初发的髓母细胞瘤中通过 Southern 印记,FISH 和 CGH 等方法可以验证,其扩增的频率为 4% ~ 17%。MYCC 或者 MYCN 的扩增和侵袭性的大细胞肿瘤亚型和不良临床预后相关。

## 2.2 常见的基因丢失

通过限制性片段长度多态性和微卫星分析,还有荧光免疫原位杂交分析研究的杂合性丢失,揭示了在 38% ~ 54% 的髓母细胞瘤病例中存在着 17p 染色体臂的丢失或重组。在大部分的病例中,绝大部分的染色体短臂丢失,断点在 17p11.2 区域<sup>[11]</sup>。少数病例中见到 17p 部分丢失与 17p13.3 有少量的重叠。由于 TP53 位于 17p13 并且在多种人类肿瘤中有突变,所以最初被认为是获选致病基因。在少部分(5% ~ 10%)的髓母细胞瘤中发现有 TP53 基因的突变,但是 p53 旁路在 21% 的病例中可以通过其他机制被改变,比如 INK4A/ARF 的丢失。由于 TP53 基因突变发生率较低,而且染色体缺失与 17p13.3 较远(在 17p13.1 的 TP53 远端),所以认为 TP53 不是 17p 缺失的主要靶基因。

在以往应用传统的核型分析技术的报道中,髓母细胞瘤 8 号染色体结构或数量的改变并不常见,而应用 CGH 或全基因组等位基因型分析等敏感性更高的研究方法时,8p 上遗传物质的丢失相当常见。在 10q 染色体上有两个获选基因,PTEN 和 DMBT1。在肿瘤中,在 10q23 上编码双特异性磷酸酶的肿瘤抑制基因 PTEN 经常是丢失的<sup>[12]</sup>。大部分的髓母细胞瘤研究很少能检测出 PTEN 的丢失,但是在一个研究中,通过差别 PCR 检测到了 30% 的病例有 PTEN 纯合性的丢失<sup>[13]</sup>。PTEN 的甲

基化是肿瘤抑制因子下调的常见机制。应用代表性差异分析在髓母细胞瘤细胞系中发现 10q 25.3-26.1 有一个纯合性丢失,DMBT1 跨越了这个缺失位点。DMBT1 基因富含于半胱氨酸的清道夫受体基因超家族,但它在肿瘤发病机理中所起的作用仍不清楚。

## 3 髓母细胞瘤研究的新热点

### 3.1 髓母细胞瘤相关信号通路

有关 MB 肿瘤形成与细胞信号通路相关性,目前研究较多的是 Sonic Hedgehog 信号通路(Sonic Hedgehog Pathway, SHH)和 Wntless 信号通路(wingless Pathway, WNT)<sup>[14-16]</sup>。自然状况下,这两个信号通路在神经系统的胚胎发育中发挥了重要作用。如 SHH 作为信号通路配体由浦肯野细胞分泌,对小脑颗粒细胞祖细胞的分裂起促进作用;而 WNT 属于生长因子受体家族,通过基因调控和细胞之间调控机制来影响胚胎发育,同时又参与细胞周期相关控制基因的转录调控,包括 MYC, NMYC 等。WNT 细胞信号通路异常导致 MB 发生的主要机制是,由于该信号通路的关键调控蛋白 CTNNB1 基因激活突变引起一系列反应,最终导致肿瘤发生,而 SHH 通路异常则由于调控因子 PTCH1 突变导致通路激活,而致肿瘤形成。

进一步的研究发现<sup>[15,17,18]</sup>,SHH 和 WNT 这两种信号通路与 MB 瘤细胞分化调控有关,在此两种细胞信号通路下产生的 MB,其组织学类型,肿瘤的生物学行为截然不同。WNT 通路激活所致肿瘤,常见于年龄较大的儿童,瘤细胞的组织学亚型多可归为典型髓母细胞瘤(Classic medulloblastoma, CMB),患者对常规的治疗方法反应较好,预后满意。SHH 通路激活所致肿瘤则与前者完全不同,此类肿瘤通常在年幼的儿童中发生,而病理亚型多为促纤维增生型/结节型髓母细胞瘤(Desmoplastic/nodular medulloblastoma, DNMB)和大细胞型髓母细胞瘤(Large cell medulloblastoma, LCMB)/未分化型髓母细胞瘤(Anaplastic medulloblastoma, AMB)(LCMB/AMB)型,并且对常规的治疗方法反应欠佳,预后极差。

和 SHH 及 WNT 一样,Notch 在神经系统的发育中起了重要的作用,像脑及神经干细胞的调控。在小脑中,Notch 2 促进了外周颗粒层细胞组细胞的增生。在人的髓母及髓母细胞系中,Notch 信号水平是升高的。Fan 等<sup>[19]</sup>发现在髓母细胞瘤及原始

神经外胚叶肿瘤中 Notch 2 呈高表达,而 Notch1 表达低或缺失;还发现转染 Notch 2 于髓母细胞瘤细胞株可促进肿瘤细胞增殖,导入外源性 Notch1 则可抑制肿瘤生长;说明在髓母细胞瘤中 Notch1 与 Notch 2 起着截然相反的作用。

### 3.2 生物治疗

在过去的十几年里,有大量的证据表明<sup>[20]</sup>,单纯依靠组织病理学和临床标准对胚胎肿瘤进行分类是不合理。通过临床表现和镜下观察有时候很难把髓母细胞瘤和其他高度恶性的肿瘤分开,但是,一些特殊的基因突变已经被发现且被用来把髓母细胞瘤和其他的高度恶性的肿瘤分开。在预后的判断方面,比起单纯用临床标准,生物学标记物能够更好地判断髓母细胞瘤的预后。更重要的而是,对分子生物学机制的研究,能为肿瘤的分子生物学治疗引入特殊的治疗靶点。

Eberhart 等通过转基因小鼠的研究证实了神经外胚层细胞能够转化为 MB,而这一转化过程与 SHH 通路的激活密切相关<sup>[21]</sup>。SHH 通路的拮抗剂可导致小鼠体内的移植瘤衰退,并能诱导瘤细胞迅速凋亡。Romer 则更进一步证实了 SHH 通路拮抗剂 cyclopamine 治疗小鼠 MB 的有效性<sup>[22]</sup>。γ-分泌酶抑制因子能阻止 Notch 信号通路活性,减慢髓母细胞瘤的生长,还能减少茎状的髓母细胞瘤细胞。这些新的作用靶点为 MB 的治疗开拓了一个新的方向。

### 4 展望

在过去的几年中,人们对于髓母细胞瘤的遗传学改变已作了大量的研究工作,目前的结果,已经初步锁定了与该肿瘤发生有关的某些癌基因或候选癌基因,以及与该肿瘤相关的一些染色体丢失区。根据肿瘤的组织病理学亚型分组,对 5 个组织病理学亚型间基因表达,特别是细胞信号通路相关基因表达的特点和差异性进行对比研究,对于揭示 MB 多样化的成瘤机制,完善分子亚型的确定,引入个体化治疗具有重要意义,但目前国内外尚无相关研究报道,这也给我们将来的研究提供了方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Kleihues P, Cavenee WK. WHO classification of tumor. Pathology and genetics of tumors of the nervous system. Lyon: LARC Press, 2000, 123-140.
- [2] Spreafico F, Massimino M, Gandola L et al. Survival of adults treated for medulloblastoma using pediatric protocol. Eur J Cancer, 2005, 41(9):1304-1310.
- [3] Chan MY, Teo WY, Seow et al. Epidemiology, management and treatment outcome of medulloblastoma in Singapore. Ann Acad Med Singapore, 2007, 36(5):314-318.
- [4] 张世蕾,殷晓璐,邱永明. 髓母细胞瘤的分子遗传学研究. 诊断病理学杂志, 2008, 15(4):333-336
- [5] 孙雅静,于士柱,孙翠云等. 髓母细胞瘤染色体 DNA 失衡的比较基因组杂交研究. 中华病理学杂志, 2010, 39(9):606-610.
- [6] 殷晓璐,吴浩强. 髓母细胞瘤分子遗传学研究的回顾与新进展. 临床与实验病理学杂志, 2001, 17(5):427-431.
- [7] Michiels EM, Weiss MM, Hoovers IM, et al. Genetic alterations in childhood medulloblastoma analyzed by comparative genomic hybridization. J Pediatr Hematol Oncol, 2002, 24(3):205-210.
- [8] Tong CY, Hui AB, Yin XL et al. Detection of oncogene amplifications in medulloblastomas by comparative genomic hybridization and array-based comparative genomic hybridization. J Neurosurg, 2004, 100(2 Suppl Pediatrics):187-193.
- [9] 殷晓璐,许雁萍,吴浩强. 髓母细胞瘤比较基因组杂交分析及 ERBB-2 异常表达的意义. 临床与实验病理学杂志, 2005, 21:390-394.
- [10] Haberler C, Slavic I, Czech T, et al. Histopathological prognostic factors in medulloblastoma: high expression of survivin is related to unfavourable outcome. Eur J Cancer, 2006, 42(期):2996-3003.
- [11] McCabe MG, Ichimura K, Liu L et al. High-resolution array-based comparative genomic hybridization of medulloblastomas and supratentorial primitive neuroectodermal tumors. J Neuropathol Exp Neurol, 2006, 65(6):549-561.
- [12] Hartmann C, Digon-Sontgerath B, Koch A, et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT signaling is activated in medulloblastoma cell proliferation and is associated with reduced expressing of PTEN. Clin Cancer Res, 2006, 12:3019-3027.
- [13] Inda MM, Mercepide J, Munoz J, et al. PTEN and DMBT1 homozygous deletion and expression in medulloblastomas and supratentorial primitive neuroectodermal tumors. Onvol Rep, 2004, 12:1341-1347.
- [14] Stefan Rutkowski, Katja von Hoff, Angela Emser, et al. Survival and prognostic factors of early childhood medulloblastoma: an international meta-analysis. JCO November 20, 2010, 28(33):4961-4968.
- [15] Amar Gajjar, Murali Chintagumpala, David Ashley, et al. Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term results from a prospective, multicentre trial. Lancet

Oncol. 2006, 7: 813-820.

[16] Margaret C. Thompson, Christine Fuller, Twala L. Hogg, et al. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J. Clin. Oncol* 2006, 24(12), 1924-1931.

[17] Marcel Kool, Jan Koster, Jens Bunt, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS ONE*, 2008, 3(8), e3088.

[18] David W. Ellison, Olabisi E. Onilude, Janet C. Lindsey, et al. beta-Catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: the United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee. *J Clin Oncol*,

2005, 23(31): 7951-7957.

[19] Fan X, Mikolaenko I, Elhassan I, et al. Notch1 and notch2 have opposite effects on embryonal brain tumor growth. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7787-7793.

[20] Louis DN, Pomeroy SL, Cairncross JG: Focus on central nervous system neoplasia. *Cancer Cell*, 2002, 1:125-128.

[21] Eberhart CG. In search of the medulloblast: Neural stem cells and embryonal brain tumors. *Neurosurg Clin N Am*, 2007, 18(1): 59-69.

[22] Romer JT, Kimura H, Magdaleno S, et al. Suppression of the Shh pathway using a small molecule inhibitor eliminates medulloblastoma in Ptc1(+/-)p53(-/-) mice. *Cancer Cell*, 2004, 6(3): 229-240.

## 侵袭性垂体腺瘤的临床研究进展

肖群根 综述 雷霆 审校

华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科,湖北 武汉 430030

**摘要:**侵袭性垂体腺瘤因其侵袭性生长,手术全切率低,复发率高,治疗非常困难。其诊断缺乏特异性的分子生物学标准,主要依靠影像学,术中所见和术后病检。近年来随着神经内镜、术中MRI、γ刀的应用及药物治疗和放射治疗水平的提高,侵袭性垂体腺瘤的治疗效果明显改善。但任何一种单一的治疗都很难治愈侵袭性垂体腺瘤,还需要多学科干预的综合治疗和密切的随访。

**关键词:**侵袭性垂体腺瘤;诊断;手术治疗;药物治疗;放射治疗

垂体腺瘤是鞍区最常见的肿瘤,而侵袭性垂体腺瘤(invasive pituitary adenoma, IPA)占垂体腺瘤的45%~55%,因其侵袭性生长,手术难全切,术后复发率高等临床特点,其治疗一直是神经外科的一个难题。随着神经影像学、内分泌学和显微神经外科等学科的迅速发展,侵袭性垂体腺瘤的诊断和治疗有了很大发展,本文就其临床研究进展作一综述。

### 1 IPA诊断及临床特点

#### 1.1 IPA定义

Jefferson最早提出了侵袭性垂体腺瘤(invasive pituitary adenoma, IPA)的概念,认为垂体腺瘤中侵犯包膜和局部广泛浸润者为侵袭性垂体腺瘤,出现远处转移为垂体癌。Martins等将其定义为突破包

膜生长或向邻近结构侵袭的垂体瘤,而很多学者将IPA归于介于非侵袭性垂体瘤和垂体癌之间的过渡类型<sup>[1,2]</sup>。三者和组织学上不能完全分开,只是生物学行为上不同。对于IPA虽然没有明确定义,通常定义为垂体肿瘤细胞侵袭到周围结构,包括硬膜、骨质、海绵窦、颅神经、颈内动脉等<sup>[3]</sup>。其侵袭性并不表示肿瘤具有非典型性或恶性,只有其出现脑脊髓或远处转移时才诊断为垂体癌<sup>[2]</sup>。非侵袭性垂体腺瘤呈膨胀性生长,常有假性包膜。

#### 1.2 IPA诊断

近年来关于IPA分子生物学的研究进展迅速,但迄今仍缺乏特异性的组织学和分子生物学标准来评估其侵袭性,用常规的病理组织学检查,很难

基金项目:国家自然科学基金资助项目(基金号:30672161)

收稿日期:2011-07-02;修回日期:2011-08-28

作者简介:肖群根(1986-),男,在读博士研究生,研究方向:鞍区肿瘤的基础与临床研究。

通讯作者:雷霆(1962-),男,博士学位,主任医师、教授、博士生导师,研究方向:鞍区肿瘤的基础与临床研究