

侵袭性脑膜瘤的分子生物学研究进展

张浩宇 李达 郝淑煜 综述 张俊廷 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:脑膜瘤是中枢神经系统常见肿瘤,多表现为良性,但预后却多样化。为探究不同级别和不同侵袭性脑膜瘤之间的差异性,已对其进行了大量研究。本文就 NF2 基因、Hedgehog 信号通路、Ki-67、E-钙粘蛋白与 β -连环蛋白、基质金属蛋白酶与组织抑制因子、尿激酶纤溶酶原激活剂及其抑制剂、骨桥蛋白等研究热点对脑膜瘤侵袭性相关因素进行综述。

关键词:脑膜瘤;侵袭性;分子生物学

脑膜瘤起源于蛛网膜帽状细胞,是中枢神经系统最常见肿瘤之一,约占颅内原发肿瘤的 13%~26%。大多数脑膜瘤表现为良性(WHO I 级),但约 4.7%~7.2% 脑膜瘤为非典型性(WHO II 级),及 1.0%~2.8% 的脑膜瘤为恶性(WHO III 级)^[1]。非典型性以及恶性脑膜瘤、甚至少数良性脑膜瘤在组织学或临床上表现为侵袭性,即使肿瘤全切仍易复发。目前在侵袭性脑膜瘤的发生方面已进行了大量分子生物学研究,试图找出其与非侵袭性脑膜瘤间的差异,以期为侵袭性脑膜瘤提供新的治疗方法。本文将对近几年来侵袭性脑膜瘤的分子生物学研究进展从基因、信号传导及蛋白等角度做如下综述。

1 NF2 基因

NF2 基因定位于 22 号染色体,是肿瘤抑制基因“蛋白 4.1”家族的一部分,编码蛋白为 Merlin。NF2 基因的突变以及 22 号染色体短臂的变异都有可能造成 NF2 基因表达异常。一般认为 NF2 基因本身的表达异常在脑膜瘤的发生起始中起到了极其重要的作用,超过半数的单发脑膜瘤都存在 NF2 基因异常,但是这并不直接影响脑膜瘤的级别和侵袭性^[2,3,4]。但 NF2 等位基因缺失常伴有 22 号染色体短臂的大规模基因缺失或变异(如 TIMP3 基因、CHEK2 基因等),这些基因与 NF2 基因变异共同作用,增加了脑膜瘤侵袭性^[5,6]。

Barski 等^[5]研究了 39 例脑膜瘤标本,发现其中 20 例(51%)存在 22 号染色体短臂杂合性缺失,除 1 例外均发现 TIMP3 基因甲基化,而甲基化导致

的 TIMP3 表达减少与脑膜瘤侵袭性增加相关。他们认为 NF2 基因突变与 TIMP3 基因甲基化的共同作用促进了脑膜瘤的发生和发展。Yang^[6]等在研究了 47 例脑膜瘤样本后认为,位于 22 号染色体的肿瘤抑制基因 CHEK2 与 NF2 基因的共同缺失增加了染色体不稳定性,导致大量染色体变异的积累,从而促进了肿瘤的侵袭性行为。

2 Hedgehog 信号通路(Hedgehog signaling pathway, Hh 信号通路)

Hh 信号通路最早在果蝇中发现,在一系列生物的胚胎发育过程中起重要作用。Hh 信号通路的主要组成包括:信号蛋白 HH 蛋白,膜受体 PTCH,功能受体 SMO,胞质蛋白 Costal2、Fu、SuFu、Gli(脊椎动物有 Gli1、Gli2、Gli3 三种)等,其中 Fu、Gli1、Gli2 起正调控作用,而 SuFu 和 Gli3 起负调控作用。Hh 信号通路可能参与了调节增殖、血管生成、基质重塑及干细胞更新等,从而促进肿瘤的发生发展,已经证实 Hh 信号通路的过度活化与乳腺癌、小细胞肺癌、髓母细胞瘤等肿瘤有关。也有研究表明,Hh 信号通路的激活与脑膜瘤有关,尤其在恶性脑膜瘤中^[4,7,8]。Laurendeau 等^[9]研究了 16 个与 Hh 信号通路有关的基因及其靶点与脑膜瘤的关系,发现 HHAT, DISP1, SMO, STK36 及 GLI1/2 5 个能够促进 Hh 信号通路激活的基因在脑膜瘤中高表达,而抑制 Hh 信号通路的 PTCH1, HHIP 及 SUFU 基因低表达。另外, GLI1 等基因的高表达在侵袭性脑膜瘤中更明显,提示 Hh 信号通路可能与脑膜瘤侵袭性有关,但是两者之间的具体联系及机制还有待进一步研究。

基金项目:北京市自然科学基金:衰老相关基因 WRN 在脑膜瘤侵袭性中的分子机制研究(编号:7122062)北京市科技新星(编号 2012033; 2011086)

收稿日期:2013-04-10; **修回日期:**2013-06-13

作者简介:张浩宇(1989-),男,在读硕士研究生。研究方向:神经外科肿瘤的研究。

通讯作者:张俊廷(1955-),男,北京天坛医院神经外科中心副主任,博士研究生导师,主要从事颅底及脑干肿瘤的临床及基础研究。

3 Ki-67

Ki-67 是存在于增殖细胞核中的一种非组蛋白性核蛋白,其表达随细胞周期的变化而变化:G0 期无表达,G1 中晚期出现,S 期和 G2 期逐渐增加,M 期达高峰,M 期后迅速降解或丢失抗原决定簇。大量研究^[3,10-12]显示 Ki-67 在不同级别脑膜瘤中表达水平不同,在原发和复发脑膜瘤中也存在差异,可用于预测脑膜瘤复发。临床上也常通过对病理标本进行 Ki-67 免疫组织化学染色来判断肿瘤的良恶性及预后。上述研究普遍认为在同级别脑膜瘤中 Ki-67 与肿瘤侵袭性无明显相关性。Babu 等^[13]在证实上述观点的同时,认为 Ki-67 的高表达与脑膜瘤的侵袭性也有相关性,并综合分析了 Ki-67 与影响脑膜瘤预后的诸多因素之间的关系,证明了 Ki-67 与脑膜瘤术后复发相关。

4 E-钙粘蛋白(E-cadherin)与 β-连环蛋白(β-catenin)

钙粘蛋白是一类介导细胞与细胞间相互粘附的钙依赖性跨膜糖蛋白,由细胞外肽段、跨膜区和相对较小的细胞内肽段组成,几乎存在于所有正常的上皮细胞表面。细胞外肽段通过 Ca^{2+} 依赖的嗜同种受体反应介导细胞间相互粘附,细胞内肽段通过连环蛋白与细胞骨架连接。β-连环蛋白是细胞内的一种骨架蛋白,同时也是 Wnt 信号传导通路中的重要分子。E-钙粘蛋白与 β-连环蛋白的直接作用在相邻细胞之间发生粘附和信号传导的过程中起重要的作用。E-钙粘蛋白/连环蛋白复合物的减少可以引起细胞间联系的减少,组织和细胞形态学的改变,细胞运动性增加以及细胞接触抑制的减少。CDH1 基因是 E-钙粘蛋白的编码基因,其异常可引起脑膜瘤中 E-钙粘蛋白减少。Pećina-Slaus 等^[14]研究的 60 例脑膜瘤标本中,32% 存在 CDH1 基因杂合性缺失,28 例 CDH1 基因杂合子中 3 例存在错误复制,这些均导致了 CDH1 基因总数减少,继而引起 E-钙粘蛋白表达减少。另外该研究发现,随着脑膜瘤级别升高,CDH1 基因总数减少,β-连环蛋白表达增加,且从细胞膜逐渐局限于细胞核内。这些变化提示了上皮细胞-间充质转化,促进了肿瘤的侵袭和转移^[15]。Zhou 等^[16]发现 E-钙粘蛋白在较高级别(I 级 92.69%;II 级 33.33%;III 级 0)及侵袭性脑膜瘤(非侵袭性 94.12%;侵袭性 46.67%)中阳性率明显降低,β-连环蛋白在侵袭性脑膜瘤(非侵袭性 88.24%;侵袭性 33.33%)

中表达阳性率也明显降低。同时两种蛋白在复发脑膜瘤及伴严重瘤周水肿的脑膜瘤中表达亦明显降低。Masaya 等^[17]也证实了这一点,并提出将 E-钙粘蛋白作为一种脑膜瘤的免疫组化标记物。Utsumi 等^[18]还发现,在侵袭性脑膜瘤的不同位置,E-钙粘蛋白和 β-连环蛋白的表达水平也不同,在肿瘤向周围浸润部位的两种蛋白阳性率为 33%,而在肿瘤中心部位为 66.7%。

5 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)与组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)

MMPs 为多基因家族编码的蛋白,主要介导细胞外基质的降解及生理、病理过程中的组织循环,根据其作用底物不同分为许多亚型。其中经常被研究的有 MMP-2 及 MMP-9 等。

Okuducu 等^[19]发现 MMP-2 和 MMP-9 的表达水平升高与脑膜瘤级别升高和侵袭性增加有关。Barresi 等^[20]分析了不同级别、组织分型的脑膜瘤中 MMP-9 的表达情况,并将其与临床预后联合分析,在 64% 的标本中发现了 MMP-9 表达,并且证实了 MMP-9 的高表达与肿瘤的高级别和高增值性相关;MMP-9 高表达的肿瘤即使全切也伴较高的复发风险和较差预后,这为预测和预防脑膜瘤的复发提供了新的可能的途径。Pei 等^[21]研究了 46 例脑膜瘤标本,其中 26 例伴骨质增生,20 例无任何颅骨改变。他们分别检测了肿瘤部分和骨质增生部分的 MMP-2、MMP-9、MMP-13、膜型 1-MMP(membrane type 1-MMP, MT1-MMP)表达情况。结果显示不伴骨质增生的肿瘤中 MMP-13 和 MT1-MMP 的表达明显少于伴骨质增生肿瘤,MMP-2 和 MMP-9 则无明显差异。而 MMP-2、MMP-9、MT1-MMP 的表达水平在骨质增生部分中明显高于肿瘤部分,其中以 MMP-2 的升高最为明显。这提示了 MMP 在脑膜瘤骨侵袭和骨质增生中可能起重要的作用。然而,MMPs 表达水平与脑膜瘤侵袭性相关性仍存争议。Fateme 等^[22]认为 MMP-2 表达与脑膜瘤侵袭性可能无明显相关性。他们检测了蝶眶部和前颅窝底具不同侵袭性的脑膜瘤的 MMP-2 表达情况,发现 MMP-2 的表达并无明显差异。他们发现在具骨侵袭性的前颅窝底脑膜瘤中血管内皮表达 MMP-2 的水平要低于非侵袭性标本,于是提出 MMP-2 可能参与抑制肿瘤增殖的过程。

一般认为 TIMP 能够抑制 MMPs 的活性,故

TIMP 的表达减少可引起脑膜瘤侵袭性增加。Barski 等^[5]发现 TIMP-3 基因的甲基化程度与 TIMP-3 mRNA 的表达水平呈负相关。在 50 例脑膜瘤中 (WHO I 级 27 例; WHO II 级 11 例; WHO III 级 12 例), 67% 的 WHO III 级脑膜瘤存在 TIMP-3 基因甲基化, 而 WHO II 级和 I 级中只有 22% 和 17%。所以 TIMP-3 基因的甲基化造成了 TIMP-3 表达水平下降, 从而使肿瘤向高级别发展。

6 尿激酶纤溶酶原激活剂 (urokinase-type plasminogen activator, uPA) 及其抑制剂 (plasminogen activator, PAI)

uPA 为丝氨酸蛋白酶家族中的一员, uPA 及 PAI-1 在纤溶、细胞迁移、血管发生、趋化性伤口愈合和胚胎发育中扮演着重要的角色, 与肿瘤的进展、侵袭和转移有关。Kandenwein 等^[23]研究了来自 58 位患者的 65 例脑膜瘤样本中 (WHO I 级 26 例, II 级 27 例, III 级 12 例) uPA 和 PAI-1 的含量。结果显示, uPA 基因启动子甲基化导致了 uPA 表达下调, 从而降低了肿瘤的侵袭性和转移性, 这一点被 Gogineni 等^[24]证实, 后者认为 uPA 表达增加与转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 的高表达有关。另外, Kandenwein 等^[23]发现, 肿瘤中 PAI-1 的含量与肿瘤级别、侵袭性及不良预后也明显相关。在 PAI-1 含量小于 6 ng/ml 的肿瘤中无复发, 而在 23 例含量大于 6 ng/ml 的脑膜瘤中有 7 例在随访过程中出现复发。他们认为 PAI-1 的表达水平可以作为一个有用的判断脑膜瘤预后的标志物。

7 骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)

OPN 是一种分泌性磷酸化的糖蛋白, 参与机体的免疫调节和血管重建, 并参与机体细胞免疫。Lin 等^[25]发现 OPN 的高表达与较高级别的脑膜瘤有关。研究发现^[25,26] OPN 的表达与 WHO 分级相对较低的脑膜瘤的复发有关, 从而考虑 OPN 可作为预测相对良性病理表现的脑膜瘤短期复发的一个分子标志物。而 Fateme 等^[22]虽然在研究中并未发现 OPN 在肿瘤中的表达与颅底脑膜瘤侵袭性有明显相关性, 但他们发现在前颅窝底侵袭性脑膜瘤的血管中膜 OPN 的表达明显高于非侵袭性脑膜瘤, 而在蝶眶部的侵袭性脑膜瘤中则未发现这种情况, 他们考虑这种差异可能与脑膜瘤的解剖学位置有关, 而这种关系还有待进一步发现和证实。

综上所述, 对于侵袭性脑膜瘤的研究已经取得了一定进展, 随着研究的深入, 一些被广泛研究的因

子, 如 Ki-67、MMP-9、PAI-1 等, 有望应用于临床预测脑膜瘤的预后。但对于 Hh 信号通路等因子的研究还处于初始阶段, 甚至 MMP-2、OPN 等分子对脑膜瘤侵袭性的影响还存在一些争议, 需进一步探索, 以明确其具体机制及作用。后期研究需致力于多因子间综合分析, 并结合患者临床预后, 以期选择出最能反映脑膜瘤侵袭性的分子生物学指标, 从而将研究成果尽早应用于临床判断预后及指导术后治疗。

参 考 文 献

- [1] Modha A, Gutin PH. Diagnosis and treatment of atypical and anaplastic meningiomas: a review. *Neurosurgery*, 2005, 57 (3): 538-550.
- [2] Riemenschneider MJ, Perry A, Reifenberger G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol*, 2006, 5 (12): 1045-1054.
- [3] Pavelin S, Bećić K, Forempoher G, et al. The Significance of Immunohistochemical Expression of Merlin, Ki-67, and p53 in Meningiomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2013, Feb 28. [Epub ahead of print].
- [4] Mawrin C, Perry A. Pathological classification and molecular genetics of meningiomas. *J Neurooncol*, 2010, 99 (3): 379-391.
- [5] Barski D, Wolter M, Reifenberger G, et al. Hypermethylation and transcriptional downregulation of the TIMP3 gene is associated with allelic loss on 22q12.3 and malignancy in meningiomas. *Brain Pathol*, 2010, 20 (3): 623-631.
- [6] Yang HW, Kim TM, Song SS, et al. Alternative splicing of CHEK2 and codeletion with NF2 promote chromosomal instability in meningioma. *Neoplasia*, 2012, 14 (1): 20-28.
- [7] Clark VE, Erson-Omay EZ, Serin A, et al. Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. *Science*, 2013, 339 (6123): 1077-1080.
- [8] Aavikko M, Li SP, Saarinen S, et al. Loss of SUFU function in familial multiple meningioma. *Am J Hum Genet*, 2012, 91 (3): 520-526.
- [9] Laurendeau L, Ferrer M, Garrido D, et al. Gene expression profiling of the hedgehog signaling pathway in human meningiomas. *Mol Med*, 2010, 16 (7-8): 262-270.
- [10] Kayaselcuk F, Zorludemir S, BalN, et al. The expression of survivin and Ki-67 in meningiomas: correlation with grade and clinical outcome. *J Neurooncol*, 2004, 67 (1-2): 209-214.
- [11] Bruna J, Brell M, Ferrer I, et al. Ki-67 proliferative index predicts clinical outcome in patients with atypical or anaplastic meningioma. *Neuropathology*, 2007, 27 (2): 114-120.
- [12] Tao Y, Liang G, Li Z, et al. Clinical features and immuno-

histochemical expression levels of androgen, estrogen, progesterone and Ki-67 receptors in relationship with gross-total resected meningiomas relapse. *Br J Neurosurg*, 2012, 26 (5): 700-704.

[13] Babu S, Uppin SG, Uppin MS, et al. Meningiomas: correlation of Ki67 with histological grade. *Neurol India*, 2011, 59 (2): 204-207.

[14] Pećina-Slaus N, Nikuseva Marti? T, Deak AJ, et al. Genetic and protein changes of E-cadherin in meningiomas. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(5): 695-702.

[15] Pecina-Slaus N, Cievvara-Pecina T, Kafka A. Epithelial-to-mesenchymal transition: possible role in meningiomas. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2012, 4: 889-896.

[16] Zhou K, Wang G, Wang Y, et al. The Potential Involvement of E-cadherin and β -catenins in Meningioma. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11231.

[17] Nagaishi M, Nobusawa S, Tanaka Y, et al. Slug, Twist, and E-Cadherin as immunohistochemical biomarkers in meningeal tumors. *PLoS One*, 2012, 7(9): e46053.

[18] Utsuki S, Oka H, Sato Y, et al. Invasive meningioma is associated with a low expression of E-cadherin and beta-catenin. *Clin Neuropathol*, 2005, 24(1): 8-12.

[19] Okudusu AF, Zils U, Michaelis SA, et al. Ets-1 is up-regulated together with its target gene products matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in atypical and anaplastic meningiomas. *Histopathology*, 2006, 48(7): 836-845.

[20] Barresi V, Vitarelli E, Tuccari G, et al. MMP-9 expression in meningiomas: a prognostic marker for recurrence risk? *J Neurooncol*, 2011, 102(2): 189-196.

[21] Pei J, Jung S, Jin SG, et al. Possible role of matrix metalloproteinases (MMPs) in hyperostosis of intracranial meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)*, 2012 Apr, 154(4): 611-620.

[22] Salehi F, Jalali S, Alkins R, et al. Proteins involved in regulating bone invasion in skull base meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)*, 2013, 155(3): 421-427.

[23] Kandenwein JA, Park-Simon TW, Schramm J, et al. uPA/PAI-1 expression and uPA promoter methylation in meningiomas. *J Neurooncol*, 2011, 103(3): 533-539.

[24] Gogineni VR, Gupta R, Nalla AK, et al. uPAR and cathepsin B shRNA impedes TGF- β 1-driven proliferation and invasion of meningioma cells in a XIAP-dependent pathway. *Cell Death Dis*, 2012 Dec 6, 3: e439.

[25] Lin CK, Tsai WC, Lin YC, et al. Osteopontin predicts the behaviour of atypical meningioma. *Histopathology*, 2012, 60(2): 320-325.

[26] Tseng KY, Chung MH, Sytwu HK, et al. Osteopontin expression is a valuable marker for prediction of short-term recurrence in WHO grade I benign meningiomas. *J Neurooncol*, 2010, 100(2): 217-223.

间充质干细胞载体基因治疗恶性胶质瘤研究进展

张海旺 综述 陈礼刚 审校

泸州医学院附属医院神经外科,四川 泸州 646000

摘要:间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有肿瘤趋向性生长的能力,并具有抑制肿瘤生长的特性,提示其可能成为治疗恶性胶质瘤的有效载体。MSCs 可将特定的细胞因子运至恶性胶质瘤细胞从而发挥抗肿瘤作用,还可通过向恶性胶质瘤分泌抑瘤因子等机制发挥抗肿瘤作用,在恶性胶质瘤的基因治疗中有良好的应用前景。本文就 MSCs 在恶性胶质瘤基因治疗的研究进展作一综述。

关键词:基因治疗;恶性胶质瘤;载体

胶质瘤是颅内最常见恶性肿瘤。特别是 III 级胶质瘤(间变性星形细胞瘤、间变性少突星形细胞瘤及间变性少突胶质细胞瘤等)和 IV 级胶质瘤(多

形性胶质母细胞瘤等),肿瘤生长快和生存期短,常又被称为恶性胶质瘤,约占胶质瘤的四分之三以上。目前,恶性胶质瘤治疗原则是尽可能手术全

收稿日期:2013-04-07;修回日期:2013-07-15

作者简介:张海旺(1987-),男,泸州医学院在读研究生,研究生在读方向为立体定向及功能神经外科。

通讯作者:陈礼刚(1966-),男,教授,主任医师,主要从事脑肿瘤的基础及临床研究。