DOI:10.16016/j.1000-5404.201911013

IDH1 突变型胶质母细胞瘤临床病理分析

曾 英[1,2],钟 鹏[2],朱祥凤[2],林 俐[2],杜 娟[2],肖华亮[2],郭乔楠[1] 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院病理科[1];400042 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)大坪医院病理科[2]

[摘要] **目的** 探讨 IDH1 突变型胶质母细胞瘤(glioblastoma IDH1-mutant, GBM IDH1-mut)的临床病理学特征。**方法** 收集 2014-2018 年陆军军医大学大坪医院病理科 10 例 GBM IDH1-mut 患者临床及影像学资料,观察其病理学形态及免疫表型,检测其分子改变,并复习相关文献,探讨 GBM IDH1-mut 的临床病理特征及分子机制。**结果** GBM IDH1-mut 患者 10 例,其中男性 6 例,女性 4 例;年龄 28~63 岁;7 例累及额叶,以头昏、头痛为主要症状,5 例有胶质瘤病史。显微镜下观察 GBM IDH1-mut 共同形态学特征为细胞密集,细胞呈圆形、梭形、多角形,细胞异型明显,核分裂象易见,微血管增生、坏死。微血管增生以肾小球样微血管增生为主,坏死表现为栅栏状坏死和凝固性缺血性坏死,根据累及范围分为大片和局灶。8 例 GBM IDH1-mut 周围见 WHOⅡ/Ⅲ胶质瘤成分。免疫组化结果:GFAP、Nestin、IDH1 呈阳性表达,Olig-2 可见不同程度表达(9/10),P53 呈弥漫阳性表达(9/10);ATRX 均不表达;Ki-67 标记指数为 10%~80%,而肿瘤细胞 NeuN、NF、CD68、Syn、CD34 均为阴性,CD34 血管内皮细胞阳性。分子病理结果:10 例均见 IDH1R132H 突变,9 例 MGMT 启动子发生甲基化,1p/19q 未缺失(0/4),未检测到 TERT 突变和 BRAFV600E 突变(0/3)。**结论** GBM IDH1-mut 少见,坏死局限和微血管增生不显著提示预后较好,坏死广泛和微血管显著增生提示预后较差。

[关键词] 中枢神经系统肿瘤;IDH1 突变型胶质母细胞瘤;免疫组化;临床病理特征

[中图法分类号] R446.8; R730.264 [文献标志码] A

Clinical and pathological features of IDH1-mutant glioblastoma: analysis of 10 cases

ZENG Ying[1,2], ZHONG Peng[2], ZHU Xiangfeng[2], LIN Li[2], DU Juan[2], XIAO Hualiang[2], GUO Qiaonan[1] [1]Department of Pathology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037; [2]Department of Pathology, Daping Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate clinical and pathological features of IDH1-mutant glioblastoma (GBM IDH1-mut). **Methods** The clinical and radiological data of 10 patients with GBM IDH1-mut were collected, and their pathological, immunohistochemical, and molecular features were analyzed. The pathological diagnosis and molecular genetic features of GBM IDH1-mut were explored based on the findings in these cases and the previously reported cases. **Results** Of the 10 patients with GBM IDH1-mut (including 6 male and 4 female patients), 7 had temporal lobe involvement with headache and dizziness as the main symptoms. Pathological examination revealed that the tumors were highly cellular, and the tumor cells were pleomorphic (spherical, spindle-shaped and polygonal) with nuclear atypia and brisk mitotic activity. All the tumors showed microvascular proliferation and foci of necrosis. Microvascular hyperplasia was characterized mainly by a glomeruloid appearance; tumor necrosis, featured mostly by palisading necrosis and coagulative ischemic necrosis, could be either extensive or focal. The component of glioma (WHO Ⅱ/Ⅲ) was found in 8 cases. The tumor cells were immunohistochemically positive for GFAP, Nestin, and IDH1 in all the cases,

[通信作者] 郭乔楠,E-mail:qiaonan85@263.net

肖华亮,E-mail:xhl616@hotmail.com

and Olig-2 expression of varying intensity was found in 9 cases; diffuse expression of P53 was observed in 9 cases. ATRX was negative in all the cases. The tumor cells were negative for NeuN, NF, CD68, Syn, and CD34, and the microvascular endothelial cells were positive for CD34. All the tumors showed IDH1R132H mutation. MGMT promoter methylation was detected in 9 cases, and none of the cases showed loss of 1p/19q (0/4); TERT mutation or BRAFV600E mutation (0/3) was detected in none of the cases. **Conclusion** GBM IDH1-mut is rare. About half of the patients with GBM IDH1-mut have favorable prognoses, which may be related to focal necrosis and mild microvascular proliferation; the other half of the patients have poor prognoses possibly due to extensive necrosis and significant microvascular proliferation.

[**Key words**] central nervous system tumor; glioblastoma IDH1-mutant; immunohistochemistry; clinicopathological features; molecular genetics

Corresponding author: GUO Qiaonan, E-mail: qiaonan85@263.net; XIAO Hualiang, E-mail: xhl616@hotmail.com

IDH 突变型胶质母细胞瘤(glioblastoma IDH-mutant,GBM IDH-mut)是 2016 年中枢神经系统肿瘤 WHO 分类(修订的第 4 版)中正式提出的胶质母细胞瘤亚型。它被定义为以星形细胞分化为主要成分的高级别胶质瘤,组织学上以核异型性大、细胞多形性、核分裂活性高,弥漫生长模式,微血管增生和/或坏死为特征,伴 IDH1 或 IDH2 基因突变。GBM IDH-mut 约占所有胶质母细胞瘤的 10%。由于由弥漫型星形细胞瘤(WHO Ⅱ级)或者间变型星形细胞瘤(WHO Ⅲ级)恶变而来的胶质母细胞瘤与 IDH 突变有关,也称作“继发性胶质母细胞瘤(secondary glioblastoma IDH mutant,sGBM IDH-mut)”[1]。GBM IDH-mut 诊断时平均年龄 45 岁,主要位于额叶,预后显著好于 IDH 野生型胶质母细胞瘤(glioblastoma IDH wide-type,GBM IDH-wt)[1],然而亦有少数报道部分 GBM IDH-mut 进展迅速,预后差[2-3]。因此,GBM IDH-mut 的临床病理特征及预后影响因素仍值得深入探讨。本研究回顾性分析 2014-2018 年病理切片,发现 10 例符合诊断 GBM IDH1-mut,并结合文献探讨该肿瘤的临床病理学特征、免疫表型、分子遗传学特征及分子机制。

1 资料与方法

1.1 材料

收集 2014-2018 年陆军军医大学大坪医院病理科 GBM IDH1-mut 病例 10 例,由高年资病理医师复核组织切片,并结合临床表现及影像学资料。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 通过查阅住院病历及询问患者收集病例的临床资料,包括临床表现、性别、年龄、病程、肿瘤部位、大小、影像学表现、手术记录、术后治疗和随访情况。以病理确诊之日起计算开始随访的时点,按月记录。随访截止原因有:死亡、中途失访,随访截止日期 2019 年 8 月 30 日。

1.2.2 HE 切片制备及免疫组化染色 送检组织用 4%中性甲醛液固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μm 厚度切片,HE 染色,光镜观察。免疫组化染色采用 Envision 法。第一抗体为 GFAP、Nestin、Vim、NeuN、NF、Olig-2、IDH1、P53、Ki-67、MGMT、Syn、CD34,以上所有抗体及所用免疫组化试剂购自福州迈新生物技术公司,为即用型抗体。

1.2.3 分子病理检测 FISH 检测 1p/19q 的缺失情况,1p/19q 探针购自雅培公司。采用巢式甲基化特异性 PCR(MS-PCR)检测 MGMT 启动子甲基化;采用 Sanger 测序检测 IDH1 突变情况,采用荧光定量 PCR 检测 TERT 突变和 BRAFV600E 突变情况,严格按照试剂说明书和操作步骤进行。

1.2.4 病理形态学观察 重点观察肿瘤细胞形态、坏死模式及范围、血管增生,周围有无低级别胶质瘤成分,以及伴随病变如钙化等。

2 结果

2.1 临床资料

10 例 GBM IDH1-mut 患者,其中男性 6 例,女性 4 例;年龄 28~63 岁,平均 44.6 岁;部位分别是左侧额叶 3 例,右侧额颞叶 2 例,右侧额叶 1 例,额底 1 例,左侧颞叶 1 例,左侧枕顶叶 1 例,左侧颞顶叶 1 例,以累及额叶多见,其中 4 例累及两叶。5 例患者有明确胶质瘤病史,病史 14~144 个月,分别是弥漫型星形细胞瘤 3 例,间变型少突星形细胞瘤和间变型星形细胞瘤各 1 例;4 例临床表现为头昏、头痛伴或不伴呕吐,病程 2 周至 1 个月,1 例在复查时头颅 MRI 示右侧额叶胶质瘤术后复发。5 例患者无明确胶质瘤病史,病程 1 d 至 24 个月,其中 4 例临床表现为头痛伴或不伴头昏或肢体乏力,病例 7 和病例 10 病程较长,分别是 6 个月、2 年;

1 例表现为反复意识丧失 2 个月。肿块大小 3 cm×3 cm×1 cm~8 cm×6 cm×3 cm 不等。患者均行手术完整切除,病例 1、2、6 分别于术后 3、3、24 个月死亡,病例 2 使用 TMZ 化疗,其余 2 例患者术后未行其他治疗;病例 4、5、7 术后行放疗+TMZ 化疗,现存活,存活时间分别是 60、56、40 个月,病例 3 术后行 TMZ 化疗,术后 5 个月复发,失访;病例 8 术后 9 个月存活,病例 9 失访,病例 10 术后 2 个月记忆力减退,仍在随访中,具体见表 1。

2.2 影像资料

头颅 CT 和 MRI 能清楚显示病灶的位置及大小,病例 4 示右侧额叶囊实性病灶,约 7.8 cm×6.6 cm×5.8 cm 大小,可见不均匀环状强化;病例 7 头颅 MRI 示左侧额叶见大片状长 T1 长 T2 信号影,范围约 4.4 cm×6.9 cm,FLAIR 呈高信号,增强扫描病变内可见斑片状及环形不均匀强化(表 1)。

2.3 手术所见

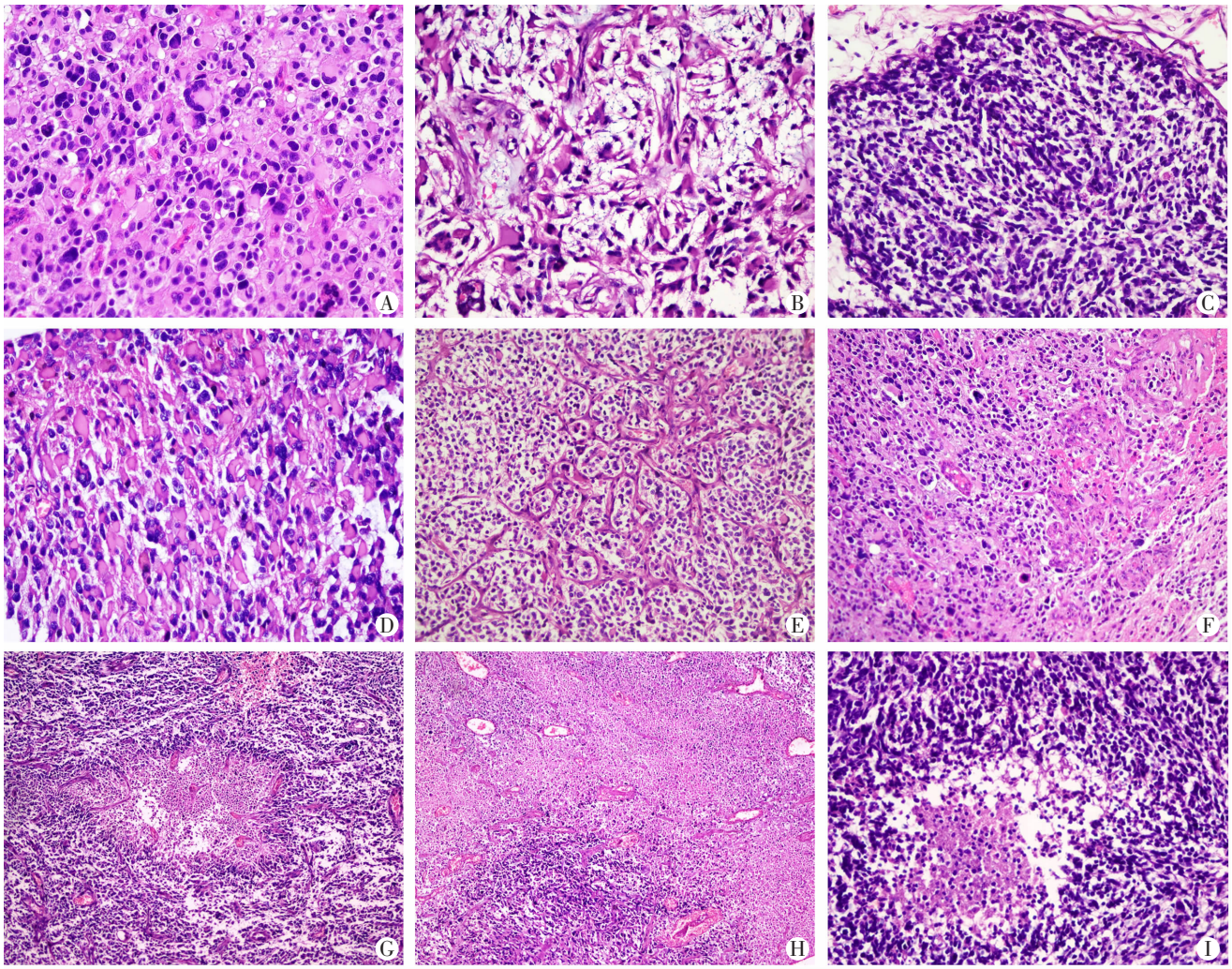
4 例肿瘤位于脑表面,1 例肿瘤位于皮层下 2.5 cm,1 例肿瘤位于颞叶深面,4 例肿瘤位置深浅不清楚,颜色呈暗红色、灰白色、灰黄色、黄褐色;7 例质地软,3 例质韧、质硬。所有肿瘤血供十分丰富,2 例肿瘤与周围脑组织分界不清楚,1 例肿瘤与周围脑组织有边界,7 例肿瘤与周围脑组织的关系不清楚,3 例有囊性变,囊液呈黄色,张力高。

表 1 10 例 GBM IDH1-mut 的临床、影像及病理学资料

病例	性别	年龄/岁	部位	肿块大小	主诉	进展前诊断	进展时间/月	影像	大体描述	治疗方式	预后(总生存期)
1	男	63	右侧额颞叶	6 cm×4 cm×2.5 cm	胶质瘤术后 3 年;高血压病	间变型少突星形细胞瘤	36	MRI 示:右侧额叶胶质瘤术后复发	灰黄色组织 2 块,大小共约 6 cm×4 cm×2.5 cm,切面灰黄色,质嫩	手术	术后 3 个月死亡
2	男	45	左侧枕顶叶	5 cm×4 cm×1.5 cm	左枕叶胶质瘤术后 29 个月;头昏头痛,右侧肢体乏力 2 周;糖尿病 7 年	间变型星形细胞瘤	29	MRI 示:左顶枕叶胶质瘤复发	灰黄灰红色组织 2 块,大小共约 5 cm×4 cm×1.5 cm,切面灰红,质嫩	手术+TMZ	术后 3 个月死亡
3	女	33	右侧额颞叶	3 cm×3 cm×1 cm	右侧额颞叶胶质瘤术后 14 个月复发,头昏头痛等不适 1 个月,加重 1 周	弥漫型星形细胞瘤	14	MRI 示:右侧额颞叶胶质瘤切除术后改变,考虑复发	灰白灰褐色碎脑组织一堆,大小约 3 cm×3 cm×1 cm,质地细嫩	手术+TMZ	术后 5 个月再次复发为胶质母细胞瘤,失访
4	女	28	右侧额叶	5.5 cm×3 cm×2 cm	脑胶质瘤术后 2 年 9 个月复发,头痛伴呕吐 2 周	弥漫星形细胞瘤	33	MRI 示:右侧额叶囊实性病灶,大小 7.8 cm×6.6 cm×5.8 cm,可见不均匀环状强化	灰黄色组织 2 块,大小共约 5.5 cm×4 cm×2.5 cm,切开见一灰黄色质嫩区,与周围组织分界欠清	手术+放疗+TMZ 化疗	术后 60 个月存活
5	男	47	左侧额叶	6.5 cm×4.5 cm×2.5 cm	突发头痛 1 d;2 型糖尿病 8 年	无	0	CT 示:左侧额颞叶高密度影,周围大片水肿,考虑胶质瘤并瘤卒中	灰黄色不规则组织 1 块,大小约 6.5 cm×4.5 cm×2.5 cm,切面灰黄色,质嫩	手术+放疗+TMZ 化疗	术后 56 个月存活
6	女	39	左侧额叶	5.5 cm×5.5 cm×2 cm	反复头痛 10 d	无	0	CT 示:左侧额叶占位性病变,考虑少突胶质瘤可能性大	灰黄灰红色不规则组织 1 块,大小 9 cm×5 cm×3 cm,切开见一质嫩区,大小约 5.5 cm×5.5 cm×2 cm,切面灰红色	手术	术后 24 个月死亡
7	男	49	左侧额叶	8 cm×6 cm×3 cm	头痛 6 个月加重 1 周	无	0	MRI 示:左侧额叶见大片状长 T1 长 T2 信号影,范围约 4.4 cm×6.9 cm,增强扫描病变内可见斑片状及环形不均匀强化	灰褐色组织一堆,大小约 8 cm×6 cm×3 cm,切面灰黄灰红色,质嫩	手术+放疗+TMZ 化疗	40 个月存活
8	女	46	额底	3 cm×2 cm×1 cm	反复意识丧失 2 个月	无	0	CT 示:考虑颅内恶性肿瘤	额底肿瘤 1:灰黄色碎组织一堆,大小约 3 cm×2 cm×1 cm,质地软;额底肿瘤 2:灰黄色组织 1 块,大小约 3.5 cm×2.5 cm×0.8 cm,切面灰黄色,质嫩	手术	术后 9 个月存活
9	男	49	左侧颞叶	5.1 cm×4 cm×1.2 cm	胶质瘤术后 12 年,胶质瘤术后复发 4 年,头昏 2 周	弥漫型星形细胞瘤	144	MRI 示:双侧额叶占位性病变,考虑胶质瘤复发	灰黄色组织一堆,大小 5.1 cm×4 cm×1.2 cm,切面灰黄色,质嫩	手术	失访
10	男	47	左侧颞顶叶	4.8 cm×4.7 cm×2.3 cm	头昏头痛 2 年,加重 2 周	无	0		灰黄色组织一堆,大小约 4.8 cm×4.7 cm×2.3 cm,切面灰黄色,质嫩	手术+依托泊苷化疗	术后 2 个月存活,随访中

2.4　病理特点

大体检查:灰白灰褐色碎组织一堆,切面灰褐色、灰黄色、灰红色、灰白色,质地细嫩(9 例),质地软(1 例)。显微镜观察:8 例的形态学共同特征为细胞密集,细胞多形,细胞呈圆形(图 1A)、梭形、多角形(图 1B),细胞异型明显,核分裂象易见,微血管增生、坏死。1 例形态表现为密集的异型小细胞组成(图 1C);1 例表现为上皮样细胞及横纹肌样细胞(图 1D)。7 例微血管增生密集,分支状薄壁血管(图 1E)及肾小球样血管(图 1F)均有增生,3 例微血管增生不密集,但血管增生内皮明显,肾小球样性血管及薄壁血管均有增生;坏死表现为:3 例(病例 1、5、6)见栅栏状坏死,其中病例 1、6 栅栏状坏死广泛,病例 5 见局部栅栏状坏死(图 1G),2 例(病例 2、3)见栅栏状坏死+广泛凝固性缺血性坏死(图 1H),4 例(病例 4、7、8、10)局灶凝固性缺血性坏死(图 1I),1 例(病例 9)局灶凝固性缺血性坏死+栅栏状坏死。2 例(病例 2、3)未观察到 WHO Ⅱ/Ⅲ成分,8 例观察到胶质母细胞瘤周围有 WHO Ⅱ/Ⅲ成分,其中 3 例(病例 1、4、6)周围成分为间变型少突胶质细胞瘤;3 例(病例 5、7、8)周围成分为弥漫型星形细胞和/或间变型星形细胞瘤;2 例(病例 9、10)见少突胶质细胞瘤和星形细胞瘤混合成分或间变型少突胶质细胞瘤和星形细胞瘤混合成分。4 例见瘤巨细胞,2 例见钙化(表 2)。



A~D:GBM IDH1-mut 的细胞形态(HE ×400)　A:细胞呈圆形,散在多核巨细胞;B:细胞呈多角形、梭形;C:小细胞形态;D:上皮样及横纹肌样细胞;E~F:增生血管形态　E:薄壁血管增生呈网状(HE ×200);F:肾小球样血管(HE ×200);G~I:坏死形态　G:栅栏状坏死(HE ×100);H:广泛凝固性缺血性坏死(HE ×100);I:局灶凝固性缺血性坏死(HE ×400)

图 1　GBM IDH1mut 组织学表现

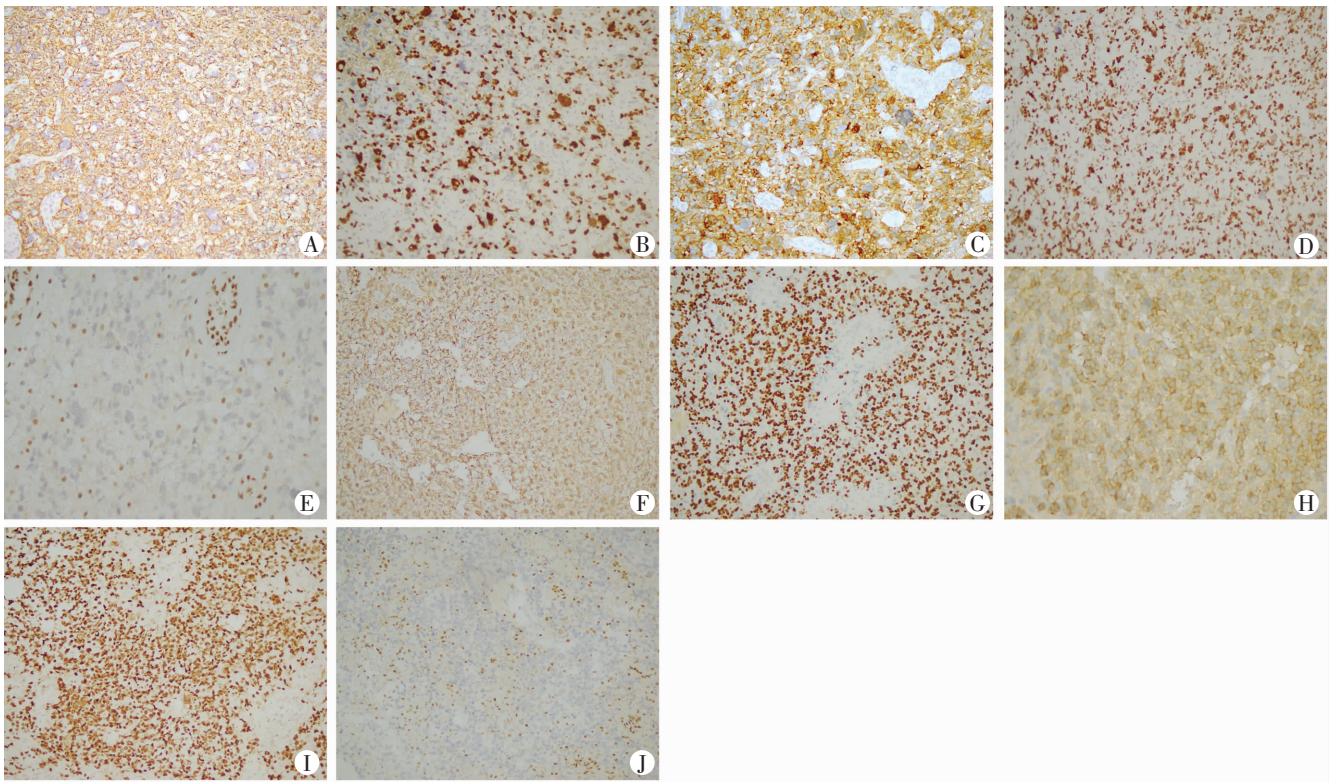
表 2 10 例 GBM IDH1-mut 组织病理学改变

病例	性别	年龄/岁	组织学诊断	细胞形态	WHOⅡ/Ⅲ成分	血管增生	坏死	出血	钙化
1	男	63	胶质母细胞瘤伴少突细胞瘤成分	细胞密集,小细胞形态为主,细胞呈圆形,细胞异型明显,核分裂象易见	间变型少突胶质细胞瘤	微血管增生密集,肾小球样性血管及分支状薄壁血管均有增生,可见血管套结构	大片栅栏状坏死	有	无
2	男	45	胶质母细胞瘤	细胞密集,细胞多形性,细胞圆形、梭形,细胞异型明显,可见瘤巨细胞,核分裂象易见	无	微血管增生密集,分支状薄壁血管增生呈网状,肾小球样血管,薄壁畸形血管	栅栏状坏死+大片凝固性缺血性坏死	有	无
3	女	33	胶质母细胞瘤;再次复发形态为胶质肉瘤,肉瘤成分为梭形细胞未分化肉瘤	小细胞形态为主,细胞圆形、梭形,细胞异型明显,核分裂象易见	无	微血管增生密集,肾小球样性血管及薄壁血管均有增生	栅栏状坏死+大片凝固性缺血性坏死	大片出血	无
4	女	28	胶质母细胞瘤伴少突胶质成分	细胞圆形、梭形,细胞异型明显,核分裂象易见,凋亡明显	间变型少突胶质细胞瘤	微血管增生不密集,厚壁、薄壁、微血管增生	局灶凝固性缺血性坏死	有	无
5	男	47	胶质母细胞瘤	细胞密集,细胞圆形,细胞异型明显,核分裂象易见	弥漫星形细胞及间变星形细胞瘤	微血管增生不密集,薄壁血管及肾小球样血管增生	局灶栅栏状坏死	大片出血	无
6	女	39	胶质母细胞瘤伴少突胶质瘤成分	细胞密集,细胞圆形、梭形,细胞异型明显,核分裂象易见	间变型少突胶质细胞瘤	微血管增生密集,分支状薄壁血管增生呈网状	大片栅栏状坏死	无	有
7	男	49	胶质母细胞瘤	细胞密集,细胞多形,细胞呈圆形,局部细胞呈上皮样、横纹肌样,细胞异型明显,核分裂象易见,间质黏液变	间变型星形细胞瘤	微血管增生不密集,薄壁血管及局限肾小球样血管增生,可见血管套结构	局灶凝固性缺血性坏死	有	无
8	女	46	胶质母细胞瘤,弥漫性星形细胞瘤	上皮样细胞、横纹肌样细胞、小细胞多种细胞组成,横纹肌样细胞胞浆丰富、嗜酸性,核偏位,部分细胞核多、环形,可见瘤巨细胞,核染色质深,粗糙,核分裂象易见	弥漫性星形细胞瘤为胶质母细胞瘤旁边的瘤体	微血管增生密集,大、小血管及肾小球样血管增生,血管壁玻璃样变性,可见血管套	局灶凝固性缺血性坏死	有	无
9	男	49	胶质母细胞瘤	小细胞及部分横纹肌样细胞,细胞异型明显,核分裂象易见	弥漫星形细胞瘤+间变型少突胶质细胞瘤	微血管增生局部密集,薄壁血管增生为主,局部区域见肾小球样血管	局灶凝固性缺血性坏死+栅栏状坏死	有	无
10	男	47	胶质母细胞瘤	细胞多形,细胞圆形、梭形,局灶横纹肌样细胞,可见瘤巨细胞,核染色质深,粗糙,核分裂象易见	弥漫星形细胞瘤和少突胶质细胞瘤	血管增生密集,薄壁血管和肾小球增生样血管	局灶凝固性缺血性坏死	有	有

免疫表型:瘤细胞表达 GFAP(2A、F)、9 例部分肿瘤细胞表达 Olig-2(图 2B、G)Nestin、S-100、IDH1(图 2C、H)呈阳性表达,ATRX 表达缺失(图 2E、K),9 例 P53 核弥漫阳性表达(图 2D、I),1 例未见表达;9 例 MGMT 阴性,1 例表达;其中 1 例 GFAP 呈局灶阳性,Ki-67 阳性比例 10%~80%,CD34 示增生血管,肿瘤细胞 NeuN、NF、CD68、Syn、CD34 均为(-),CD34 血管内皮细胞阳性(表 3)。

2.5 分子病理学改变

一代测序法(Sanger 测序法)显示 10 例均见 IDH1R132H 突变(图 3A、C、E),MS-PCR 显示其中 9 例 MGMT 启动子发生甲基化(图 3B、D、F);FISH 显示 4 例 GBM IDH1-mut 未发现 1p/19q 缺失;实时荧光定量 PCR 检测 3 例中未见检测到 BRAFV600E 突变,3 例中未见检测到 TERT 突变(表 3)。

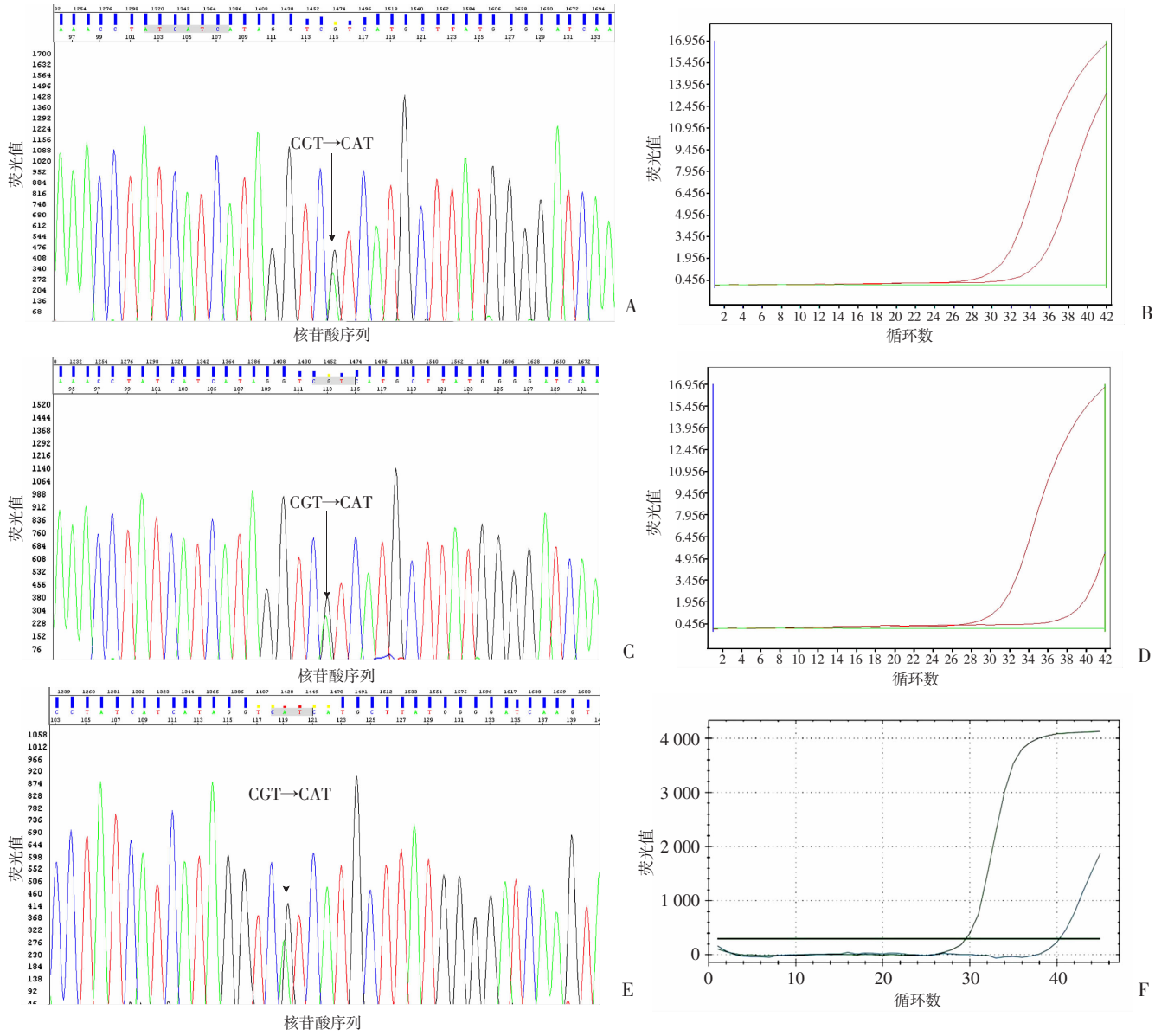


A~E:病例 8 免疫组化结果 A:GFAP 呈阳性表达;B:部分瘤细胞 Olig-2 呈阳性表达;C: IDH1 呈阳性表达;D: P53 弥漫性表达;E: ATRX 无表达;F~J:病例 9 免疫组化结果 F:GFAP 呈阳性表达;G:部分瘤细胞 Olig-2 呈阳性表达;H: IDH1 呈阳性表达;I: P53 弥漫性表达;J: ATRX 无表达

图 2 GBM IDH1-mut 免疫组化结果 (Envision 法 ×200)

表 3 10 例 GBM IDH1-mut 免疫组化结果及分子检测结果

病例	GFAP	Olig-2	Nestin	S-100	ATRX	IDH1	P53	MGMT	Ki-67	IDH1 突变(Sanger 测序)	MGMT 启动子甲基化(MS-PCR)	1p/19q FISH	BRAF 突变(RT-PCR)	TERT 启动子突变(RT-PCR)
1	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	80%	IDH1R132H	+	未检测	未检测	未检测
2	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	20%	IDH1R132H	+	未检测	未检测	未检测
3	局灶+	+	+	+	缺失	+	3+	+	80%	IDH1R132H	-	未检测	未检测	未检测
4	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	25%	IDH1R132H	+	未检测	未检测	未检测
5	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	80%	IDH1R132H	+	未检测	未检测	未检测
6	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	40%	IDH1R132H	+	未检测	未检测	未检测
7	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	10%	IDH1R132H	+	未缺失	未检测	未检测
8	+	+	+	+	缺失	+	3+	-	20%	IDH1R132H	+	未缺失	未突变	未突变
9	+	-	+	+	缺失	+	3+	-	20%	IDH1R132H	+	未缺失	未突变	未突变
10	+	-	+	+	缺失	+	-	-	15%	IDH1R132H	+	未缺失	未突变	未突变



A:Sanger 测序示病例 2 IDH1R132H 突变(CGT 突变为 CAT);B:MS-PCR 病例 2 MGMT 启动子发生甲基化;C:Sanger 测序显示病例 9 IDH1 R132H 突变(CGT 突变为 CAT);D:MS-PCR 病例 9 MGMT 启动子发生甲基化;E:Sanger 测序显示病例 10 IDH1R132H 突变(CGT 突变为 CAT);F:示 MS-PCR 病例 10 MGMT 启动子发生甲基化

图 3 GBM IDH1mut 分子检测 IDH1、MGMT 启动子甲基化结果

2.6 整合诊断

根据组织学诊断结果和分子病理学改变,本组 10 例均诊断为胶质母细胞瘤(WHO Ⅳ级),IDH1 突变型。

2.7 病例小结

10 例 GBM IDH1-mut 患者中 4 例(4、5、7、8)手术后,行放疗+TMZ 化疗,预后较好,存活时间分别为 60、56、40、9 个月,组织学表现为局灶坏死和血管增生不显著;3 例(病例 1、2、6)手术后(3、3、24 个月)死亡及 1 例(病例 3)术后 5 个月复发,预后差,其组织学表现为坏死广泛和血管显著增生;1 例(病例 10)随访时间短和 1 例(病例 9)失访。预后好的患者和预后差的患者在 P53 突变、ATRX 突变、MGMT 启动子甲基化改变无明显差异。

3 讨论

本组 10 例 GBM IDH1-mut 是在 165 例胶质瘤母细胞瘤中经免疫组化检测 IDH1 表达及 PCR 检测发现

IDH1 突变,符合诊断 GBM IDH1-mut,占胶质母细胞的 6.0%,略低于 7.8%[4]。这可能是由于本研究采用免疫组化检测 IDH1R132H 的表达初筛,再用 Sanger 测序检测 IDH1 基因突变,可能会漏掉罕见的 IDH2 突变或 IDH1 其他突变的患者,但同时也发现免疫组化检测到 IDH1 表达,再用 Sanger 测序均能检测到 IDH1 R132H 基因突变,二者有很好的吻合。为了避免漏掉罕见的 IDH2 突变或 IDH1 其他突变的患者,对于年轻胶质母细胞瘤患者,若免疫组化 IDH1R132H 初筛阴性时强烈推荐进行 IDH 基因测序[1]。GBM IDH1-mut 少见,以下就其临床特征、病理学特点、分子病理改变进行讨论。

3.1 临床特征

GBM IDH1-mut 平均年龄 48 岁,较缺乏 IDH1 突变的 GBM(平均年龄 61 岁)明显年轻[5]。GBM IDH1-mut 发生部位以额叶为主[5-6],常常累及单叶,累及多叶少见[7]。本组病例平均年龄 44.6 岁,部位以额叶多见,占 70%,但是有 4 例累及两叶。本组病例男女之比 1.5∶1;高于有报道的 1.05∶1[1],可能与病例数较少有关。

GBM IDH1-mut 多为低级别弥漫型星形细胞瘤和间变型星形细胞瘤恶变而来,故又称“sGBM IDH1-mut”[8]。sGBM IDH1-mut 的平均病史为 15.2 个月,长于 pGBM IDH1-wt 的 3.9 个月[8]。本组 50%患者有明确胶质瘤病史,病史为 14~144 个月,平均 51.2 个月。sGBM IDH1-mut 肿瘤相关的水肿较 pGBM IDH1-wt 患者局限,颅内高压症状进展较 pGBM IDH1-wt 缓慢[1],但本组有 4 例患者继发进展为 GBM 以后,其颅内高压症状进展快速,与 GBM IDH1-wt 相似,均表现为头昏、头痛伴或不伴呕吐,病程 2 周至 1 个月。

本组 50%的患者无明确胶质瘤病史,病程突发 1 d 至 24 个月,其中 2 例病史较长,分别 6、24 个月。这 2 例可能经历了低级别胶质瘤过程;另外 3 例病程短,即所谓的“IDH1 突变型原发性胶质母细胞瘤(IDH1mutant primary GBM,pGBM IDH1-mut)”。有无胶质瘤病史的 GBM IDH1-mut 的基因表达谱和甲基化模式一致[9-10]。这些相同的基因改变包括频繁的 TP53 突变和缺乏 EGFR 扩增[1,4],MGMT 启动子甲基化、高表达 TP53 和低表达 Ki-67[4,11]或 EGFR[11],与本研究结果一致。由于 pGBM IDH1-mut 和 sGBM IDH1-mut 的临床特征和分子特征相似,有学者推测由于 IDH1-mut pGBM 的低级别胶质瘤阶段在临床过程非常迅速,常无明显临床症状,当出现症状时病变已演变为胶质母细胞瘤,故被误认为原发性胶质母细胞瘤[1]。

3.2 病理学特点

IDH 突变型胶质母细胞瘤形态上与 IDH 野生型胶质母细胞瘤无法区分,除了较少程度的坏死[1,3]。另有报道二者具有 2 个显著差异:①凝固性缺血性坏死和/或栅栏状坏死在 50%的 GBM IDH-mut 出现,低于 GBM IDH-wt 出现的比例(90%);②少突胶质细胞瘤样的成分更常见于 GBM IDH1-mut[7,12]。本组大多数病例可见到细胞异型、细胞多形,可呈圆形、梭形、多角形核,分裂象易见,微血管增生、坏死等共同特征,少数病例可见小细胞和上皮样细胞瘤形态。大部分病例周围可观察到 WHOⅡ/Ⅲ成分,其中 5 例可见少突胶质瘤细胞样成分。少数病例可见瘤巨细胞和钙化。微血管增生可表现为肾小球样血管、分支状薄壁血管及中等大小的血管增生。坏死表现为:栅栏状坏死和凝固性缺血性坏死,根据累及范围分为大片和局灶,6 例见局部坏死,4 例见广泛坏死。

免疫表型方面,绝大多数 GBM IDH-mut 表达 IDH1R132H,少数病例由于 IDH1 或 IDH2 罕见突变可能会阴性。GFAP、Nestin 的表达在 GBM IDH1-mut 与 GBM IDH1-wt 中差异不明显,P53 过表达、ATRX 表达缺失在 GBM IDH1-mut 更常见,与文献[1]报道相似。

3.3 分子病理改变

3.3.1 IDH1 基因突变及相关分子改变 IDH1 突变最早报道于 2008 年,被认为是低级别胶质瘤和继发性胶质母细胞瘤最重要的分子生物学标记[8],最常见的是 R132H(CGT 突变为 CAT)突变[8]。IDH1 基因突变是脑胶质瘤早期发生的现象,早于 P53 突变和 1p/19q 共缺失[13]。IDH1 突变后,如发生 1p/19q 共缺失,肿瘤就向少突胶质细胞瘤发展,如发生 P53 和 ATRX 基因突变,肿瘤则向弥漫型星形细胞瘤发展[14]。在 IDH1 突变型胶质瘤中,突变的 IDH1 催化产生过量原癌代谢产物 2-羟戊二酸,而非正常时的 α-酮戊二酸,导致胶质瘤超甲基化表型[14],是肿瘤细胞表观遗传不稳定的主要原因。本组 9 例(9/10)检测到 MGMT 启动子甲基化。ATRX 突变在 86%的 IDH 突变肿瘤中被发现,与 TERT 启动子突变相互排斥[14],本组有 3 例行 TERT 检测均未检测到 TERT 突变。IDH1 突变引起胶质瘤中能量代谢、蛋白质代谢及一些癌症相关基因表达水平等生物学过程的变化[15]。IDH 突变状态亦与肿瘤免疫微环境有关,IDH 野生型胶质瘤中肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)更多和 PD-L1 表达更高[16]。GBM IDH1-mut 中小胶质细胞和巨噬细胞(GAMMs)明显减少,但其更具促炎性,提示这有助于

改善肿瘤预后[17]。

3.3.2 IDH-mut Ⅱ~Ⅲ级星形细胞瘤快速进展为GBM IDH-mut的机制 Ⅱ~Ⅲ级星形细胞瘤分为IDH-wt和IDH-mut,IDH-mut的Ⅱ~Ⅲ级星形细胞瘤患者在无疾病进展生存期和总生存期明显长于IDH-wt的Ⅱ~Ⅲ级星形细胞瘤患者。研究发现一组IDH1 R132H突变的Ⅱ~Ⅲ星形细胞瘤,迅速复发随后发展为胶质母细胞瘤[2-3]。本组2例死亡和1例复发的患者由低级别胶质瘤进展为胶质母细胞瘤的时间是29、36、14个月,亦可归为快速进展的病例。甲基化阵列检测发现这些肿瘤的总拷贝数变化(copy number alterations,CNA)显著增加。这些胶质瘤侵袭性增加可能与基因组不稳定性增加有关[2-3]。染色体不稳定性可以抵消IDH突变对WHO Ⅱ~Ⅲ型星形细胞瘤的有益影响,CNA升高可作为肿瘤快速进展危险性的生物标志物[3]。

3.4 *治疗*

IDH-mut胶质瘤的治疗包括手术切除、放疗和化疗。标准的手术+放疗+化疗有助于GBM IDH-mut患者获得长时间生存期。靶向IDH1或IDH2酶抑制剂在脑胶质瘤患者中的疗效仍有待观察[14]。IDH突变肿瘤可能对聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂更敏感[14]。IDH突变胶质瘤免疫治疗是基于烷化抑制剂TMZ和洛莫司汀治疗后的胶质瘤DNA错配修复出现缺陷,使肿瘤突变负荷增加,而肿瘤突变负荷增加与新抗原生成增加有助于改善免疫治疗反应[14]。

3.5 *预后*

GBM IDH1-mut和IDH1-mut弥漫性胶质瘤患者预后较好[1,11],然而有研究显示多因素回归分析中IDH突变作为独立的预后作用有限[4,6]。CDKN2A/B纯合缺失[17-18]、坏死及CNV总数均与总生存期相关[18],CDKN2A/B纯合缺失与生存期缩短有关[18]。这也提示GBM IDH1-mut分层研究的必要性。我们对死亡的3例患者(分别于3、3、24个月死亡)及复发的1例肿瘤的形态学进行分析发现,这4例患者均表现为血管增生显著,坏死范围广泛。4例患者中有3例累及两叶,总生存期为24个月的患者累及单叶(左侧额叶),这也提示病变累及的范围也是预后因素。对存活的5例患者(60、56、40、9、2个月)形态学进行分析发现其坏死表现局限,而前3例长时间存活患者的肿瘤内血管增生也不密集,这也提示血管增生的密集程度和坏死的范围是预后的预测因素。GBM IDH1-mut患者预后良好的机制包括:①局部黏附信号受损导致肿瘤细胞迁移减弱;②HIF-1α信号受抑制[19],导致下游生物学功能如血管生成受到抑制[20]。而部分患者预后差与本组病例所观察到的组织学的特点(坏死范围广泛和微血管显著增生)有关;其分子改变包括CNA显著增加和CDKN2A/B纯合缺失[17-18],其分子机制值得深入研究。

本研究收集了10例GBM IDH1-mut的临床病理资料,并复习了文献报道的GBM IDH1-mut,发现存在无低级别胶质瘤病史的GBM IDH1-mut和快速进展的GBM IDH1-mut。GBM IDH1-mut的预后不相同,半数GBM IDH1-mut患者预后好,半数GBM IDH1-mut患者预后差,预后差与组织学的特点(坏死范围广泛和血管显著增生)有关;也可能与其他分子生物学的改变如CNA显著增加和CDKN2A/B纯合缺失有关。这需要大样本的进一步研究。本研究结果提示IDH1突变可能不是独立的预后指标,也展示了胶质母细胞瘤分子机制的复杂性,GBM IDH1-mut仍需进一步分层研究。

参考文献:

[1] LOUIS D N, OHGAKI H, WIESTLER O D, *et al*. WHO classification of the tumors of the central nervous system[M]. 2016: 52-56.

[2] RICHARDSON T E, SNUDERL M, SERRANO J, *et al*. Rapid progression to glioblastoma in a subset of IDH-mutated astrocytomas: a genome-wide analysis[J]. J Neurooncol, 2017, 133(1): 183-192. DOI:10.1007/s11060-017-2431-y.

[3] RICHARDSON T E, SATHE A A, KANCHWALA M, *et al*. Genetic and epigenetic features of rapidly progressing IDH-mutant astrocytomas[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2018, 77(7): 542-548. DOI:10.1093/jnen/nly026.

[4] OHNO M, NARITA Y, MIYAKITA Y, *et al*. Glioblastomas with IDH1/2 mutations have a short clinical history and have a favorable clinicaloutcome[J]. Jpn J Clin Oncol, 2016, 46(1): 31-39. DOI:10.1093/jjco/hyv170.

[5] YAN W, ZHANG W, YOU G, *et al*. Correlation of IDH1 mutation with clinicopathologic factors and prognosis in primary glioblastoma: a report of 118 patients from China[J]. PLoS ONE, 2012, 7(1): e30339. DOI:10.1371/journal.pone.0030339.

[6] LAI A, KHARBANDA S, POPE W B, *et al*. Evidence for sequenced molecular evolution of IDH1 mutant glioblastoma from a distinct cell of origin[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(34): 4482-4490. DOI: 10.1200/jco.2010.33.8715.

[7] PALDOR I, DRUMMOND K J, KAYE A H. IDH1 mutation may not be prognostically favorable in glioblastoma when con-

trolled for tumor location: a case-controlstudy[J]. J Clin Neurosci, 2016, 34: 117-120. DOI: 10.1016/j.jocn.2016.05.016.

[8] OHGAKI H, KLEIHUES P. The definition of primary and secondaryglioblastoma[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(4): 764-772. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-12-3002.

[9] HATA N, HATAE R, YOSHIMOTO K, *et al*. Insular primary glioblastomas with IDH mutations: Clinical and biological-specificities[J]. Neuropathology, 2017, 37(3): 200-206. DOI: 10.1111/neup.12362.

[10] KORSHUNOV A, CASALINI B, CHAVEZ L, *et al*. Integrated molecular characterization of IDH-mutantglioblastomas[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2019, 45(2): 108-118. DOI:10.1111/nan.12523.

[11] WANG P F, LIU N, SONG H W, *et al*. IDH-1R132H mutation status in diffuse glioma patients: implications for classification[J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 31393-31400. DOI: 10.18632/oncotarget.8918.

[12] HA S Y, KANG S Y, DO I G, *et al*. Glioblastoma with oligodendroglial component represents a subgroup of glioblastoma with high prevalence of IDH1 mutation and association with youngerage[J]. J Neurooncol, 2013, 112(3): 439-448. DOI:10.1007/s11060-013-1073-y.

[13] TURKALP Z, KARAMCHANDANI J, DAS S. IDH mutation in glioma: new insights and promises for the future[J]. JAMA Neurol, 2014, 71(10): 1319-1325. DOI: 10.1001/jamaneurol.2014.1205.

[14] MILLER J J, SHIH H A, ANDRONESI O C, *et al*. Isocitrate dehydrogenase-mutant glioma: Evolving clinical and therapeuticimplications[J]. Cancer, 2017, 123(23): 4535-4546. DOI: 10.1002/cncr.31039.

[15] 胡慧敏, 王政, 江涛. 异柠檬酸脱氢酶1突变的原发性胶质母细胞瘤差异表达基因的生物学功能分析[J]. 中华神经外科杂志, 2016, 32(5): 502-505. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2016.05.019.
HU H M, WANG Z, JIANG T. Biological function analysis of differentially expressed genes of primary glioblastomas of isocitrate dehydrogenase 1 mutation[J]. Chin J Neurosurg, 2016, 32(5): 502-505. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2016.05.019.

[16] BERGHOFF A S, KIESEL B, WIDHALM G, *et al*. Correlation of immune phenotype with IDH mutation in diffuse glioma[J]. Neuro-oncology, 2017, 19(11): 1460-1468. DOI: 10.1093/neuonc/nox054.

[17] POON C C, GORDON P M K, LIU K, *et al*. Differential microglia and macrophage profiles in human IDH-mutant and -wild type glioblastoma[J]. Oncotarget, 2019, 10(33): 3129-3143. DOI: 10.18632/oncotarget.26863.

[18] SHIRAHATA M, ONO T, STICHEL D, *et al*. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocyticgliomas[J]. Acta Neuropathol, 2018, 136(1): 153-166. DOI: 10.1007/s00401-018-1849-4.

[19] HU H M, WANG Z, LIU Y W, *et al*. Genome-wide transcriptional analyses of Chinese patients reveal cell migration is attenuated in IDH1-mutant glioblastomas[J]. Cancer Lett, 2015, 357(2): 566-574. DOI:10.1016/j.canlet.2014.12.018.

[20] KICKINGEREDER P, SAHM F, RADBRUCH A, *et al*. IDH mutation status is associated with a distinct hypoxia/angiogenesis transcriptome signature which is non-invasively predictable with rCBV imaging in human glioma[J]. Sci Rep, 2015, 5: 16238. DOI: 10.1038/srep16238.

(**收稿**:2019-11-03;**修回**:2020-01-01)

(编辑 汪勤俭)