

. 综 述 .

脑胶质瘤的循环生物标志物研究进展

张水仙 刘 丹 李 飞 胡 荣 冯 华

【关键词】脑胶质瘤;循环生物标志物;循环肿瘤细胞;细胞外囊泡;肿瘤相关的蛋白;循环肿瘤 DNA

【文章编号】1009-153X(2018)12-0824-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41

脑胶质瘤是一种最常见的颅内原发恶性肿瘤,占原发性脑肿瘤的 50%。据美国中枢神经系统肿瘤登记组织统计,恶性胶质瘤约占原发性恶性脑肿瘤的 70%,年发病率约为 5/10 万^[1,2],恶性脑胶质瘤 5 年生存率不足 10%。脑胶质瘤多呈浸润性生长,手术全切难度大,术后放、化疗效果差。因此寻找脑胶质瘤早期诊断、疗效评价及判断预后的指标至关重要^[3,4]。已有研究表明,早期发现与诊断脑胶质瘤是提高胶质瘤病人预后的核心环节^[5];而且,脑胶质瘤特异的循环生物标志物对未来胶质瘤的诊治具有重要作用。本文对脑胶质瘤的循环生物标记物的研究现状进行阐述。

1 循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)

CTC 是从肿瘤脱落进入循环系统的肿瘤细胞,能全面反应肿瘤的性质,可作为肿瘤的生物标志物^[6]。Macarthur 等^[7]对 11 例脑胶质瘤病人 CTC 进行研究,8 例检测到 CTC,其中 5 例 CTC 数量较多。CTC 数量可能跟病人的放疗有关,因为放疗后 CTC 数量锐减。另一项研究中,在 141 例病人的外周单核细胞中用胶质纤维酸性蛋白来鉴定胶质母细胞瘤的 CTC,其中 20%的病人检测到 CTC,但部分病人 10 ml 血液样本中仅能发现一个 CTC^[8]。因此,CTC 数量限制了其大规模的临床应用,CTC 评估胶质母细胞瘤细胞性质的精确程度有待明确。

2 胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)

EVs 是直接从血浆膜出芽分泌的、装载有多种

肿瘤标志物的囊泡,可能含有肿瘤蛋白分子、无细胞核酸分子和微小核糖核酸(microRNA, miRNA)分子等。EVs 可保护可溶性分子标志物,防止其降解^[9]。细胞释放的囊泡能够在细胞间进行长距离的信号传递,从而对慢性或急性疾病作出反应。在癌细胞中,当微环境发生改变时,EVs 能快速释放最有效的肿瘤细胞标志物^[10]。循环血 EVs 内含物的半衰期很短,来源于肿瘤的 EVs 能快速反映细胞表型的改变或转化。

胶质瘤治疗过程中 EVs 的相关研究尚处起步阶段。有学者对 22 例脑胶质瘤病人免疫治疗过程中 EVs 的进行研究,发现在免疫治疗后核外的信使核糖核酸,包括白细胞介素-8、转化生长因子- β 和基质金属蛋白酶抑制剂 1 水平和免疫反应存在明确的相关性^[11]。另有一项研究对 7 例胶质瘤病人核外及亲本组织 O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)和烷基嘌呤-DNA-N-糖基化酶(Alkylpurine-DNAN-glycosylase, APNG)水平进行研究,结果发现 EVs 中 MGMT 和 APNG 水平与胶质瘤治疗反应有很强相关性^[12]。

3 肿瘤相关蛋白

蛋白质是最常见、应用最广泛的肿瘤标志物,例如前列腺癌标志物前列腺的特异性抗原、结直肠癌标志物癌胚抗原、胰腺癌标志物糖类抗原 199、卵巢癌标志物糖类抗原 125 等^[13]。与 CTC 和循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)相比,循环蛋白质作为生物标志物的不足之处在于它是肿瘤的衍生产物,特异性不高。但由于其标本易采集、检测费用较低、易动态监测,因而在临床应用上最为广泛。目前,胶质母细胞瘤血清蛋白组学研究仍处于起步阶段。最近,有研究认为趋化因子受体 4、钙结合蛋白 S100A8 和 S100A9 可能是胶质瘤潜在的生物标志物

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2018.12.023

基金项目:国家自然科学基金(81672783);国家公益性行业科研专项(201402008)

作者单位:400038 重庆,陆军军医大学第一附属医院神经外科(张水仙、刘 丹、李 飞、胡 荣、冯 华)

通讯作者:冯 华, E-mail: fenghua8888@vip.163.com

^[14]。另有学者利用质谱技术得到结合珠蛋白和甲状腺素运载蛋白两种特异性蛋白生物标志物^[15]。表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)Ⅷ突变是胶质瘤比较特异的蛋白之一,在外泌体中能检测到,EGFR Ⅷ突变可能是靶向治疗中很有价值的生物标志物,例如肽疫苗接种,但是 EGFR Ⅷ检测的临床价值仍未明确。

4 miRNA

miRNA 是非编码的 RNA 分子 (21~24 个核苷酸),在调控肿瘤细胞和正常细胞中有显著作用^[16]。在 EVs 的复杂构成中,miRNA 是细胞内通讯的主要组成部分^[17],具有调控致癌基因和抑制基因的功能,在肿瘤的诊断和预后评估中有着极其重要的作用^[18, 19]。最近研究发现,胶质母细胞瘤 miRNA 亚型特征对病人生存期的预估有重要价值^[20]。有学者在对癌症基因组图谱数据进行回顾性研究发现,miR-130a 与替莫唑胺对 MGMT 甲基化状态的反应具有明确的相关性^[21];miR-603 是调控 MGMT 的另一个因子,能够对 MGMT 的甲基化进行补充评估,可作为治疗反应的预测标志物^[22];miR-181d 可直接下调 MGMT 的表达,血清 miR-181 的水平与病人对替莫唑胺的反应相关^[23];miR-21 是诊断胶质瘤最可靠的生物标志物,在区分肿瘤的假性进展或放射性坏死中有很重要的价值^[24]。尽管 miRNA 作为生物标志物还需进一步验证和评估,但其独特的生物学特性更适合作为循环标志物。

5 ctDNA

ctDNA 是由原发灶 (继发灶)释放入血液的肿瘤 DNA,从血浆中分离出来的 ctDNA 能反映恶性胶质瘤的突变位点。ctDNA 是细胞降解后的产物,其来源可以为坏死或凋亡的肿瘤细胞、CTC 以及外泌体等,大小为 150~200 bp^[25]。ctDNA 的绝对含量会随着肿瘤负荷和治疗反应而发生变化。对不同类型肿瘤 (包括胶质瘤)的 ctDNA 研究表明,ctDNA 可以反映原发肿瘤或转移瘤基因变异或突变的特点^[26]。ctDNA 是非常敏感的参数,在恶性细胞中预计产生 50×10^6 的 ctDNA。ctDNA 在血浆中的半衰期很短,其动态水平可实时反映肿瘤的稳定状态^[27]。目前,通过分析循环 DNA 片段能够在胶质瘤病人的血浆中检测到异柠檬酸脱氢酶 1 突变^[28]。

目前,脑胶质瘤的诊断主要依靠 MRI、超声、脑电图、放射性同位素、病理组织学等检查,确诊主要

依赖于组织病理学检查,但受限于组织取样困难,不能对肿瘤进行动态监测。脑胶质瘤病人的循环生物标志物的变化可先于影像学改变或临床症状数月,且取样方便、相对无创、方法简单,从而能克服时空异质性和实现动态监测;也可用于预测疗效及预后,预警复发,评价疗效等。随着人们对胶质瘤异质性认识的提升,有助于生物标志物的发现。对神经胶质瘤来说,寻找生物标志物的主要挑战是如何确定哪些标志物能反应肿瘤内外部异质性和对症治疗 (包括化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗等可能影响单信号通路的治疗过程)的动态反应,从而实现动态监测。

迄今为止,在胶质瘤病人外周血中已发现多种潜在循环生物标志物,包括 CTC、循环蛋白、EVs、ctDNA 等,其中最主要的标志物为 CTC。目前,临床上已普遍使用 CTC 检查来判断乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等上皮细胞来源的肿瘤病人的预后情况。国外已有文献报道在胶质瘤病人血液中检测到 CTC,不过胶质瘤病人 CTC 目前仍处于研究探索阶段,离临床运用还有一定距离。许多研究将肿瘤蛋白作为潜在的生物标志物,在血清蛋白中能检测到。关于这些肿瘤蛋白对胶质瘤的诊断和预后的提示作用在临床上尚未达成共识。不过随着蛋白组检测技术的不断发展和众多研究者的努力,目前,已从胶质瘤病人血清蛋白质图谱中筛选出几个有价值的候选标志物,相信能够为胶质瘤病人的诊断和预后带来福音。ctDNA 在相关研究中应用较广泛,目前已发现胶质瘤病人血清存在特异性 ctDNA 和多种与胶质瘤相关的 miRNA。由于核酸类标志物半衰期比蛋白质更短,因而更加灵敏,数量更多,可以追踪肿瘤的消失、扩散和复发,更适合作为生物标志物。因此 ctDNA 和 miRNA 作为脑胶质瘤潜在的生物标志物,有可能为胶质瘤的治疗带来新的途径和希望,为胶质瘤病人的精准治疗提供有力的武器。

【参考文献】

[1] Groot D, John F. High-grade gliomas [J]. Continuum: Life-long Learning Neurol, 2015, 21: 332-344.
[2] Li XQ, Ouyang ZG, Zhang SH, *et al.* Synergistic inhibition of angiogenesis and glioma cell-induced angiogenesis by the combination of temozolomide and enediyne antibiotic lidamycin [J]. Cancer Biol Ther, 2014, 15(4): 398-408.
[3] 陈正和,陈忠平. 高级别胶质瘤的治疗现状及思考[J]. 中

- 国临床神经外科杂志, 2016, 21(6): 350-352.
- [4] 赛克, 陈忠平. 胶质瘤的疗效评价[J]. 中国临床神经外科杂志, 2016, 21(6): 321-322.
- [5] Westphal M, Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas [J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(10): 556-566.
- [6] Toss A, Mu Z, Fernandez S, *et al.* CTC enumeration and characterization: moving toward personalized medicine [J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(11): 108.
- [7] Macarthur KM, Kao GD, Chandrasekaran S, *et al.* Detection of brain tumor cells in the peripheral blood by a telomerase promoter-based assay [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(8): 2152-2159.
- [8] Muller C, Holschmidt J, Auer M, *et al.* Hematogenous dissemination of glioblastoma multiforme [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(247): 247ra101.
- [9] Redzic JS, Ung TH, Graner MW, *et al.* Glioblastoma extracellular vesicles: reservoirs of potential biomarkers [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2014, 7: 65-77.
- [10] Belting M, Christianson HC. Role of exosomes and microvesicles in hypoxia-associated tumour development and cardiovascular disease [J]. *Intern Med*, 2015, 278(3): 251-263.
- [11] Muller L, Muller HS, Mitsuhashi M, *et al.* Exosomes isolated from plasma of glioma patients enrolled in a vaccination trial reflect antitumor immune activity and might predict survival [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(6): e1008347.
- [11] Shao H, Chung J, Lee K, *et al.* Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6999.
- [12] 林昌海, 李丽仙, 冉静, 等. 脑胶质瘤血液循环肿瘤标志物研究进展[J]. 重庆医学, 2016, 45(30): 4293-4296.
- [13] Popescu ID, Codrici E, Albulescu L, *et al.* Potential serum biomarkers for glioblastoma diagnostic assessed by proteomic approaches [J]. *Proteome Sci*, 2014, 12(1): 47.
- [14] Gollapalli K, Ray S, Srivastava R, *et al.* Investigation of serum proteome alterations in human glioblastoma multiforme [J]. *Proteomics*, 2012, 12(14): 2378-2390.
- [16] Floyd D, Purow B. Micro-masters of glioblastoma biology and therapy: increasingly recognized roles for microRNAs [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(5): 622-627.
- [17] 刘征, 徐国政. 胶质瘤相关循环生物标志物的研究进展[J]. 中国临床神经外科杂志, 2017, 22(3): 201-203.
- [18] Godlewski J, Krichevsky AM, Johnson MD, *et al.* Belonging to a network- microRNAs, extracellular vesicles, and the glioblastoma microenvironment [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(5): 147-158.
- [19] 赵建辉, 胡世颀, 费舟. miRNA在胶质瘤临床诊疗中的研究进展[J]. 中国临床神经外科杂志, 2016, 21(10): 642-645.
- [20] Li R, Gao K, Luo H, *et al.* Identification of intrinsic subtype-specific prognostic microRNAs in primary glioblastoma [J]. *Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33(1): 9.
- [21] Chen H, Li X, Li W, *et al.* miR-130a can predict response to temozolomide in patients with glioblastoma multiforme, independently of O6-methylguanine-DNA methyltransferase [J]. *Transl Med*, 2015, 13(1), 69.
- [22] Kushwaha D, Ramakrishnan V, NgK, *et al.* A genome-wide miRNA screen revealed miR-603 as a MGMT-regulating miRNA in glioblastomas [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(12): 4026-4039.
- [23] Zhang W, Zhang J, Hoadley K, *et al.* miR-181d: a predictive glioblastoma biomarker that downregulates MGMT expression [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(6): 712-719.
- [24] Qu S, Guan J, Liu Y. Identification of microRNAs as novel biomarkers for glioma detection: a meta-analysis based on 11 articles [J]. *Neurol Sci*, 2015, 348(1-2): 181-187.
- [25] Francis G, Stein S. Circulating cell-free tumour DNA in the management of cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(6): 14122.
- [26] Lebofsky R, Decraene C, Bernard V, *et al.* Circulating tumor DNA as a non-invasive substitute to metastasis biopsy for tumor genotyping and personalized medicine in a prospective trial across all tumor types [J]. *Mol Oncol*, 2014, 9(4): 783-790.
- [27] Wang WY, Twu CW, Chen HH, *et al.* Plasma EBV DNA clearance rate as a novel prognostic marker for metastatic/recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(3): 1016-1024.
- [28] Boisselier B, Gallego PJ, Rossetto M, *et al.* Detection of IDH1 mutation in the plasma of patients with glioma [J]. *Neurology*, 2012, 79(16): 1693-1698.

(2018-01-26收稿, 2018-04-13修回)