

. 综 述 .

分子病理指导下的胶质瘤手术治疗前景

王 强 综述 潘 灏 审校

【关键词】胶质瘤;分子病理;手术模式

【文章编号】1009-153X(2022)08-0701-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; R 651.1*1

胶质瘤是颅内最常见的原发恶性肿瘤,治疗效果一直不佳。手术是胶质瘤综合治疗的第一步,目前的指南推荐在保证安全的情况下进行最大程度的肿瘤切除,在保护功能的同时实现对肿瘤组织的全切除^[1]。目前的手术模式是在众多辅助技术的帮助下实现对胶质瘤尤其是功能区胶质瘤的精准切除。这些辅助技术包括神经导航技术、术中磁共振技术、术中B超技术、术中电生理技术、唤醒麻醉技术、荧光导航技术等等。近年来,分子病理的进展对现今的胶质瘤治疗起到全程指导意义,分子病理指导下的手术切除模式,在手术切除程度、生存期及神经功能保护之间获得更好的平衡。但是如何解决在术前、术中获取肿瘤分子信息这一难题仍有待进一步研究。本文就目前影像学技术、活检组织、脑脊液液态活检、色谱分析技术及拉曼光谱技术对肿瘤组织分子病理信息获取的优缺点进行总结,为临床提供参考。

1 胶质瘤分子病理对胶质瘤手术模式的影响

近年来,分子病理研究发现了一些与胶质瘤相关的重要分子标志物,如IDH突变、1p/19q共缺失、MGMT启动子区甲基化、TERT启动子突变等。这些分子标志物对胶质瘤的诊断、预后判断及治疗均起到重要的作用,同时也对传统的胶质瘤组织病理提出了新的挑战。

2016版WHO中枢神经系统病理诊断指南中引入了分子病理,胶质瘤的诊断进入组织病理及分子病理结合的整合诊断时代。之后,中枢神经系统肿

瘤分类分子信息及实践方法联盟-非WHO官方组织(cIMPACT-NOW)进行了7次更新^[2]。2021年,WHO发布了第五版中枢神经系统肿瘤分类指南^[3],对近年来分子病理的研究进展进行总结,提出了多个改变肿瘤组织病理分级的分子特征,如IDH野生型星形细胞瘤一旦出现EGFR扩增、TERT启动子突变或7号染色体获得/10号染色体缺失中的任何一项,不论组织病理级别,均可直接定义为胶质母细胞瘤(IDH野生型,WHO分级4级);而IDH突变型星形细胞瘤出现CDKN2A/B纯合缺失,也可以直接定义为星形细胞瘤(IDH突变型,WHO分级4级)。这些分子病理的进展说明仅依赖于组织病理诊断容易造成误诊、漏诊,已无法满足目前胶质瘤的规范诊疗。目前,在胶质瘤的诊断、治疗及预后判断等过程中,均需要结合分子病理与组织病理进行整合分析。

胶质瘤分子病理的研究进展不仅仅在指导胶质瘤的诊断、预后判断以及化疗、放疗等综合治疗,其对胶质瘤手术模式的影响也逐渐引起重视。研究指出对于IDH突变、1p/19q非共缺失的胶质瘤,建议行全切除,而IDH突变合并1p/19q共缺失的胶质瘤,不需要强求全切除^[4]。这样的手术方式对于功能区肿瘤可以在明确肿瘤分子病理的情况下选择部分切除,将残余肿瘤留待后续放、化疗,以更好地实现肿瘤治疗和生活质量之间的平衡。基于这些进展,Li等^[5]提出分子病理指导下的胶质瘤手术切除模式,要求在肿瘤病理级别、分子表型以及是否累及功能区的基础上,决定对肿瘤进行超全切除、全切除、强化范围切除或部分切除:对非功能区低级别IDH野生型弥漫胶质瘤建议行超全切除,对功能区IDH突变合并1p/19q共缺失的弥漫胶质瘤建议行次全切除,对于IDH野生型间变胶质瘤或胶质母细胞瘤建议行增强病灶切除,其余胶质瘤建议行全切除。这一模式的提出是首次将分子病理的概念引入胶质瘤手术切除过程,利用肿瘤分子病理信息指导手术切除模

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2022.08.028

基金项目:国家自然科学基金(81772689)

作者单位:210002 南京,中国人民解放军东部战区总医院(南京大学医学院附属金陵医院)神经外科(王 强、潘 灏)

通讯作者:潘 灏,E-mail:panhao_nz@163.com

式,对神经外科医生提出了新的要求。但是,这一模式要求术前或术中实时了解肿瘤的分子病理特征。

2 术前获取胶质瘤分子病理信息

2.1 肿瘤组织病理检查 既往依赖开颅手术切除或穿刺活检取得肿瘤组织标本进行分子检测,以获得肿瘤组织的分子病理信息,而且多需要数天的检测时间。开颅术前先进行穿刺活检可以获得肿瘤组织进行常规组织病理分析和分子病理检测,但是胶质瘤属于高度异质性的肿瘤,同一肿瘤内不同部位肿瘤细胞的分子特征存在较大的差异,活检必然存在一定程度的误诊率^[6]。此外,穿刺获取的标本量有限,有可能难以确定组织病理级别,甚至无法诊断^[7]。同时,对富血供的高级别胶质瘤,穿刺活检有可能诱发肿瘤出血导致颅内压增高甚至脑疝。对脑干、大静脉旁等重要部位的肿瘤,穿刺活检也存在较大的风险。术中常规快速病理检查仅能获得组织病理信息,难以提供分子病理相关信息。因此,需要新的技术在术前、术中提供肿瘤准确的肿瘤分子病理信息。

2.2 影像学技术 近年来,随着影像组学技术的发展,通过对磁共振影像细节的详细分析,有望通过影像组学技术在术前发现胶质瘤内特定的分子标志物信息。如利用影像组学技术,在术前MRI影像中筛选出若干影像组学特征,通过这些特征进行IDH突变情况的判定。当特征数达到85个时,判定IDH突变与否的准确性和特异性都能接近100%^[8]。同样,通过相似技术对1p/19q共缺失情况的判定,也能有较好的准确性和特异性^[9]。虽然影像组学技术提供了通过术前MRI获得相关分子病理信息的途径,但是影像组学技术繁琐的分析过程限制了其临床大规模开展的可能,同时影像组学分析多针对某一个特异性的分子标志物,无法同时对多个分子标志物进行分析。

除了影像组学技术之外,分子影像技术也是近年来影像科学的热门研究方向。通过对特殊代谢产物的波谱分析,可以分析IDH突变几率。Choi等^[10]利用磁共振波谱技术定量分析胶质瘤内IDH代谢产物2-HG,发现2-HG浓度与病灶是否稳定相关,并随治疗起效出现明显下降;而且通过对2-HG定量分析可以判断肿瘤是否存在IDH突变。此外,利用一些特异性的分子示踪剂结合磁共振增强扫描或PET、SPECT扫描,也可以发现一些分子标志物如PDGFR β 、EGFR、C-MET的变化特征^[11-13]。但是,这

些示踪剂只能针对某一特殊分子,难以进行多靶点综合分析,而且这些研究目前也多处于基础研究或临床试验阶段。

2.3 液态活检技术 液态活检是通过检测体液中的肿瘤特异性蛋白、循环肿瘤细胞或循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)片段进行分子分型,来获取肿瘤相关信息的一项新兴技术。目前,在胶质瘤领域,基于血液、尿液及脑脊液的液态活检技术均有文献报道^[14,15]。但是由于颅内血脑屏障的存在,血液、尿液的目标片段较少,检出阳性率不高^[16]。基于脑脊液的ctDNA检测已有多篇文献发表,证实脑脊液ctDNA检测不仅可用于胶质瘤的诊断,还可根据脑脊液ctDNA丰度改变来监测肿瘤对治疗的反应^[14,17]。Pan等^[18]研究显示,对脑干肿瘤的主要突变,术前脑脊液分子检测结果与肿瘤组织分子结果完全一致率达83%(31/37),半数以上一致率达91.9%(34/37),且10例组织检测阴性病人仅在脑脊液中检测出重要突变,而且脑脊液检测阳性率显著高于血浆ctDNA检出阳性率。Duan等^[19]发现术前收集10例胶质母细胞瘤病人的脑脊液,与术中所取得肿瘤标本同样进行分子检测,可以获得相似的基因突变结果,提示通过术前的脑脊液分子检测,能够同时获取胶质瘤多种重要分子病理信息,了解肿瘤基因组,这就有可能将此分子病理信息应用于指导胶质瘤手术。但是由于分子检测所需时间在5~7 d,周期较长,而且目前的全外显子检测费用较高,难以广泛推广。

3 术中实时获取肿瘤分子病理信息

3.1 色谱技术 色谱技术可以利用色谱分析检测组织中某种特定物质含量。检测IDH代谢产物2-HG的含量可以确定胶质瘤组织中是否存在IDH突变。基于该原理,利用液相色谱-质谱可以准确地区分是否存在IDH突变,敏感性、特异性分别为97.5%、100%^[20]。利用气相色谱-质谱法分析87例胶质瘤标本IDH突变情况,与常规PCR技术相比较,其敏感性、特异性均达100%,且检测时间仅需40 min^[21]。而基质辅助激光解析离子化飞行时间质谱也被用于检测胶质瘤内IDH突变情况,在保证检测准确性的同时耗时缩短至5 min^[22]。色谱技术从检测所需时间和准确性、特异性方面完全可以满足术中实时检测的要求,但是色谱分析主要针对某一种化合物检测,难以一次检测多个基因改变情况,某些基因尚缺乏特异性底物。此外,色谱分析仪属于大型精密仪器,目前尚难以在医院临床环境中常规开展,限制了此类

技术的广泛应用。

3.2 拉曼光谱技术 拉曼光谱技术利用特定拉曼光谱峰对应于化学键的特定振动模式这一特性,可以检测生物组织中的分子,从而用于生物组织中化学成分的分析。近年来,拉曼光谱技术在脑肿瘤的鉴别诊断中的应用得到快速发展。Kalkanis 等^[23]利用拉曼技术分析脑肿瘤术中冰冻切片标本以鉴别正常脑组织、坏死及胶质母细胞瘤,其精确性达 97.8%。Livermore 等^[24]利用拉曼技术在术中新鲜标本直接进行检测,对肿瘤组织和正常脑组织的区分能够达到 100% 的特异性、敏感性和精确性。利用拉曼光谱技术对胶质瘤手术标本进行 IDH 突变、IDH 野生型两分类,其准确性在 87%~89%^[25]。Livermore 等^[26]利用拉曼光谱技术,对 62 例新鲜胶质瘤组织进行分类,区分 IDH 野生型星形细胞瘤、IDH 突变型星形细胞瘤及少突胶质细胞瘤,可以获得 79%~94% 的敏感性和 90%~100% 的特异性,所需时间为 9.5 min。这些技术可在术中实时进行检测,并根据分析所得的分子病理结果直接指导手术切除策略。既往,拉曼技术探针检测面积狭小,只能进行单点小面积检测,不利于临床实践操作,同时需要标本离体在仪器上检测。目前,手持式拉曼探针技术不但扩大单次检测面积到 95 mm²,且对猪的脂肪与肌肉边缘判断的准确性达 95%^[27]。小型化的手持设备有望可以直接在术中对手术创面进行实时检测而且耗时较短。但该型手持拉曼探针尚未在胶质瘤领域进行临床试验。

综上所述,在分子病理时代,胶质瘤手术的切除方式会依据肿瘤的分子病理进行修正,根据不同的分子特征,进行超全切除、全切除、强化范围切除或功能区的部分切除,以期获取肿瘤切除、神经功能保护及生存时间的最佳平衡。随着术前、术中获取肿瘤分子病理信息的众多技术不断进步,尤其是术中实时获取分子病理信息的拉曼技术小型化、快速化的发展,分子病理指导下的胶质瘤手术切除模式有望从设想进入临床,并使胶质瘤病人获益。

【参考文献】

- [1] 国家卫生健康委员会医政医管局. 脑胶质瘤诊疗规范 (2018年版)[J]. 中华神经外科杂志, 2019, 35(3): 217-239.
- [2] Louis DN, Ellison DW, Brat DJ, *et al.* cIMPACT-NOW: a practical summary of diagnostic points from Round 1 updates [J]. Brain Pathol, 2019, 29(4): 469-472.
- [3] Louis DN, Perry A, Wesseling P, *et al.* The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary [J]. Neuro Oncol, 2021, 23(8): 1231-1251.
- [4] Delev D, Heiland DH, Franco P, *et al.* Surgical management of lower-grade glioma in the spotlight of the 2016 WHO classification system [J]. J Neurooncol, 2019, 141(1): 223-233.
- [5] Li L, Wang Y, Li Y, *et al.* Role of molecular biomarkers in glioma resection: a systematic review [J]. Chin Neurosurg J, 2020, 6: 18.
- [6] Parker NR, Khong P, Parkinson JF, *et al.* Molecular heterogeneity in glioblastoma: potential clinical implications [J]. Front Oncol, 2015, 5: 55.
- [7] Woodworth G, McGirt MJ, Samdani A, *et al.* Accuracy of frameless and frame-based image-guided stereotactic brain biopsy in the diagnosis of glioma: comparison of biopsy and open resection specimen [J]. Neurol Res, 2005, 27(4): 358-362.
- [8] Liu X, Li Y, Li S, *et al.* IDH mutation-specific radiomic signature in lower-grade gliomas [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(2): 673-696.
- [9] Han Y, Xie Z, Zang Y, *et al.* Non-invasive genotype prediction of chromosome 1p/19q co-deletion by development and validation of an MRI-based radiomics signature in lower-grade gliomas [J]. J Neurooncol, 2018, 140(2): 297-306.
- [10] Choi C, Raisanen JM, Ganji SK, *et al.* Prospective longitudinal analysis of 2-hydroxyglutarate magnetic resonance spectroscopy identifies broad clinical utility for the management of patients with IDH-mutant glioma [J]. J Clin Oncol, 2016, 34(33): 4030-4039.
- [11] Tolmachev V, Varasteh Z, Honarvar H, *et al.* Imaging of platelet-derived growth factor receptor beta expression in glioblastoma xenografts using affibody molecule ¹¹¹In-DOTA-Z09591 [J]. J Nucl Med, 2014, 55(2): 294-300.
- [12] Mishra G, Panwar P, Mishra AK. Tumor targeting using anti-epidermal growth factor receptor (iobgfr3) immun-conjugate with a tetraaza macrocyclic agent (DO3A-EA) [J]. Mol Imaging, 2012, 11(5): 408-416.
- [13] Kim EM, Park EH, Cheong SJ, *et al.* Characterization, biodistribution and small-animal SPECT of I-125-labeled c-Met binding peptide in mice bearing c-Met receptor tyrosine kinase-positive tumor xenografts [J]. Nucl Med Biol, 2009, 36(4): 371-378.

[14] Panditharatna E, Kilburn LB, Aboian MS, *et al.* Clinically relevant and minimally invasive tumor surveillance of pediatric diffuse midline gliomas using patient-derived liquid biopsy [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(23): 5850-5859.

[15] Saratsis AM, Yadavilli S, Magge S, *et al.* Insights into pediatric diffuse intrinsic pontine glioma through proteomic analysis of cerebrospinal fluid [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(5): 547-560.

[16] Piccioni DE, Achrol AS, Kiedrowski LA, *et al.* Analysis of cell-free circulating tumor DNA in 419 patients with glioblastoma and other primary brain tumors [J]. *CNS Oncol*, 2019, 8(2): CNS34.

[17] Stallard S, Savelieff MG, Wierzbicki K, *et al.* CSF H3F3A K27M circulating tumor DNA copy number quantifies tumor growth and in vitro treatment response [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 80.

[18] Pan C, Diplas BH, Chen X, *et al.* Molecular profiling of tumors of the brainstem by sequencing of CSF-derived circulating tumor DNA [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(2): 297-306.

[19] Duan H, Hu JL, Chen ZH, *et al.* Assessment of circulating tumor DNA in cerebrospinal fluid by whole exome sequencing to detect genomic alterations of glioblastoma [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(12): 1415-1421.

[20] Kanamori M, Maekawa M, Shibahara I, *et al.* Rapid detection of mutation in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 genes using mass spectrometry [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2018, 35(2): 90-96.

[21] Xu H, Xia YK, Li CJ, *et al.* Rapid diagnosis of IDH1-mutated gliomas by 2-HG detection with gas chromatography mass spectrometry [J]. *Lab Invest*, 2019, 99(4): 588-598.

[22] Longuespee R, Wefers AK, De Vita E, *et al.* Rapid detection of 2-hydroxyglutarate in frozen sections of IDH mutant tumors by MALDI-TOF mass spectrometry [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 21.

[23] Kalkanis SN, Kast RE, Rosenblum ML, *et al.* Raman spectroscopy to distinguish grey matter, necrosis, and glioblastoma multiforme in frozen tissue sections [J]. *J Neurooncol*, 2014, 116(3): 477-485.

[24] Livermore LJ, Isabelle M, Bell IM, *et al.* Raman spectroscopy to differentiate between fresh tissue samples of glioma and normal brain: a comparison with 5-ALA-induced fluorescence-guided surgery [J]. *J Neurosurg*, 2020. doi: 10.3171/2020.5.JNS20376. Online ahead of print.

[25] Uckermann O, Yao W, Juratli TA, *et al.* IDH1 mutation in human glioma induces chemical alterations that are amenable to optical Raman spectroscopy [J]. *J Neurooncol*, 2018, 139(2): 261-268.

[26] Livermore LJ, Isabelle M, Bell IM, *et al.* Rapid intraoperative molecular genetic classification of gliomas using Raman spectroscopy [J]. *Neurooncol Adv*, 2019, 1(1): vdz008.

[27] Daoust F, Nguyen T, Orsini P, *et al.* Handheld macroscopic Raman spectroscopy imaging instrument for machine-learning-based molecular tissue margins characterization [J]. *J Biomed Opt*, 2021, 26(2): 022911.

(2022-04-16 收稿, 2022-07-02 修回)

(上接第 700 页)

[11] Tang AT, Choi JP, Kotzin JJ, *et al.* Endothelial TLR4 and the microbiome drive cerebral cavernous malformations [J]. *Nature*, 2017, 545(7654): 305-310.

[12] Castro M, Lavina B, Ando K, *et al.* CDC42 deletion elicits cerebral vascular malformations via increased MEKK3-dependent KLF4 expression [J]. *Circ Res*, 2019, 124(8): 1240-1252.

[13] Richardson BT, Dibble CF, Borikova AL, *et al.* Cerebral cavernous malformation is a vascular disease associated with activated RhoA signaling [J]. *Biol Chem*, 2013, 394(1): 35-42.

[14] Ma J, Sanchez-Duffhues G, Goumans MJ, *et al.* TGF-beta-induced endothelial to mesenchymal transition in disease and tissue engineering [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 260.

[15] Zhang Y, Li C, Huang Y, *et al.* EOFAZ inhibits endothelial to mesenchymal transition through downregulation of KLF4 [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(1): 300-310.

[16] Distefano PV, Glading AJ. VEGF signalling enhances lesion burden in KRIT1 deficient mice [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 632-639.

(2020-08-19 收稿, 2021-01-21 修回)