

# 人脑幕上 WHO II 级胶质瘤 *IDH1* 基因突变与 临床病理特征的关系\*

汤俊佳, 谢飞, 王翔, 张豆豆, 刘双, 刘艳辉, 毛庆<sup>△</sup>

四川大学华西医院 神经外科(成都 610041)

**【摘要】** 目的 探讨异柠檬酸脱氢酶 1(*IDH1*)基因突变与人脑幕上 WHO II 级胶质瘤临床病理特征的关系。方法 收集 2009 年 1 月至 2011 年 1 月间我科收治的 95 例幕上 WHO II 级胶质瘤患者的术后病理标本及临床资料。通过对标本组织 *IDH1* 基因直接测序,分析 *IDH1* 基因突变与临床病理特征的关系。结果 95 例患者中发现 69 例(72.6%)*IDH1* 突变,均为 R132H 型突变。弥漫性星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、混合性少突星形细胞瘤的突变率分别为 73.6%、68.8%、73.1%。*IDH1* 突变型和野生型患者平均年龄的差异有统计学意义[(39.6±7.4)岁 vs. (46.9±11.6)岁,  $P < 0.05$ ]。年龄 ≥50 岁和 <50 岁组患者的突变率分别为 43.8% 和 78.5% ( $P < 0.05$ );男性和女性组的突变率分别为 68.6% 和 77.3% ( $P > 0.05$ );肿瘤大小(直径) ≥5 cm 和 <5 cm 组患者的突变率分别为 60.0% 和 90.0% ( $P < 0.05$ );肿瘤仅累及单个脑叶和累及深部组织患者的突变率分别为 93.3% 和 32.0% ( $P < 0.05$ )。结论 *IDH1* 在幕上 WHO II 级胶质瘤中突变率较高。*IDH1* 突变与幕上 WHO II 级胶质瘤患者年龄、肿瘤大小及生长部位密切相关,与患者性别无关。

**【关键词】** 异柠檬酸脱氢酶 1 基因 WHO II 级胶质瘤 临床病理特征

## Relationship Between *IDH1* Mutation and Clinic Pathologic Features in Human Supratentorial WHO Grade II Gliomas

TANG Jun-jia, XIE Fei, WANG Xiang, ZHANG Dou-dou, LIU Shuang, LIU Yan-hui, MAO Qing<sup>△</sup>.

Department of Neurosurgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: qingmao2000@yahoo.com.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the relationship between isocitrate dehydrogenase 1 (*IDH1*) mutation and clinicopathological features in human supratentorial WHO grade II gliomas. **Methods** Ninety five supratentorial WHO grade II glioma patients were treated in our department from January 2009 to January 2011. The clinical data and tumor samples of each patient were collected. *IDH1* mutation in the tumor was measured by sequencing the *IDH1* gene of tumor specimen. The relationship between *IDH1* mutation and the clinicopathological features was analyzed. **Results** There were 69 cases (72.6%) with *IDH1* mutations were found, all of which were R132H type mutations. The mutation rates of diffuse astrocytoma, oligodendroglioma and oligoastrocytoma were 73.6%, 68.8% and 73.1% respectively. The mean ages of *IDH1* mutant group and wild type group were significantly different [(39.6±7.4) yr. vs. (46.9±11.6) yr.,  $P < 0.05$ ]. The mutant rates of patients aged ≥50 years and <50 years were 43.8% and 78.5% respectively ( $P < 0.05$ ), while those of male patients and female patients were 68.6% and 77.3% respectively ( $P > 0.05$ ). The mutant rates of patients whose tumor ≥5 cm and <5 cm were 60.0% and 90.0% respectively ( $P < 0.05$ ), while those of monolobe involvement group and deepen structures involvement group were 93.3% and 32.0% respectively ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The mutation of *IDH1* in supratentorial WHO grade II glioma is common, and is associated with patients' age, tumor size and tumor location.

**【Key words】** Isocitrate dehydrogenase 1 gene WHO grade II glioma Clinic pathologic features

胶质瘤是颅内最为常见的原发性肿瘤。目前其诊断的金标准仍为世界卫生组织(WHO)2007年发布的标准,即根据组织形态学差异将其分为 I~IV 级<sup>[1]</sup>。尽管总体上低级别胶质瘤患者较高级别患者生存时间更长,但临床上仍有一部分低级别胶质瘤

患者肿瘤呈侵袭性生长,易进展为更高级别的胶质瘤,且预后较差。

近年来,各国学者对影响胶质瘤患者预后的各方面因素进行了大量的研究,尤其是对异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, *IDH*)基因突变的研究目前已成为胶质瘤中的研究热点之一。国外已有研究证明 *IDH1* 在 WHO II 级胶质瘤中有着较高的突变率<sup>[2]</sup>。为进一步探讨 WHO II 级胶质瘤 *IDH1*

\* 四川省科技支撑计划 (No. 2012SZ0152)资助

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: qingmao2000@yahoo.com.cn

基因突变与临床病理特征的关系,我们进行了本研究,以期在临床上对其诊断、评价预后以及制定个体化的治疗方案有指导作用,也为胶质瘤今后的靶向治疗提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床病理资料及标本来源

收集 2009 年 1 月至 2011 年 1 月在我校华西医院神经外科术后病理诊断为 WHO II 级胶质瘤的 95 例患者的临床病理资料及石蜡标本(按照 WHO 2007 中枢神经系统肿瘤病理分级标准<sup>[1]</sup>诊断)。

### 1.2 IDH1 基因突变的检测

根据 FFPE DNA Kit 试剂盒(OMEGA 公司)说明书从肿瘤石蜡包埋标本中提取 DNA, -20 °C 冰箱内保存。IDH1 基因引物序列参考文献报道<sup>[3]</sup>,由华大基因公司合成。序列如下: IDH1 F 5'-ACGGTCTTCAGAGAAGC-3'; IDH1 R 5'-GGTGTAGATACCAAAAGATAAGAAT-3'。配置 50 μL PCR 反应体系:DNA 模板 4 μL; IDH1 引物使用液 2 μL; 2×Taq Master Mix 25 μL; 去离子水 19 μL。PCR 反应参数为:94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 经过 40 次循环; 72 °C 再延伸 10 min。扩增片段长度为 202 bp。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后于紫外灯下观察并摄影。通过 IDH1 直接测序(上海美吉生物医药科技有限公司),根据碱基信号峰图判定是否存在突变。

### 1.3 统计学方法

IDH1 突变型与野生型两组间的平均年龄采用 *t* 检验比较其差异。IDH1 突变率与肿瘤类型、患者年龄、性别、肿瘤大小、生长部位之间的关系采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。α=0.05。

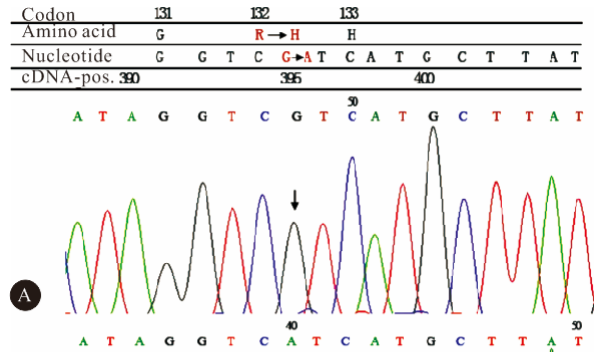
## 2 结果

### 2.1 患者基本临床资料

95 例患者中,男性 51 例,女性 44 例。年龄范围 17~73 岁,平均 40.7 岁。肿瘤大小(直径):≥5 cm 45 例,<5 cm 50 例。肿瘤主要分布于脑叶中额叶(65.3%, 62/95)、颞叶(49.5%, 47/95)、顶叶(13.7%, 13/95)、枕叶(4.2%, 4/95),其它部位中胛胝体(10.5%, 10/95)、岛叶(14.7%, 14/95)。病理类型为弥漫性星形细胞瘤 53 例,少突胶质细胞瘤 16 例,混合性少突星形细胞瘤 26 例。

### 2.2 IDH1 基因突变检测结果

95 例标本发现有 69 例(72.6%) IDH1 突变,均为杂合性 R132H 型突变,即第 132 位氨基酸碱基序列由 CGT 突变为 CAT,从而引起精氨酸转变为组氨酸。野生型与突变型 IDH1 测序结果见附图。



附图 IDH1 野生型与 R132H 突变型测序图

Fig Sequencing of IDH1 wild type and R132H mutant type

A: Wild type; B: Mutant type

### 2.3 IDH1 基因突变与临床病理特征的关系

见附表。69 例有 IDH1 突变的患者平均年龄为(39.6±7.4)岁(18~54 岁),26 例 IDH1 野生型患者平均年龄为(46.9±11.6)岁(17~73 岁),突变

附表 IDH1 基因突变与 WHO II 级胶质瘤临床病理特征的关系  
Table Relationship between IDH1 mutation and clinic pathologic features in WHO grade II gliomas

Clinical variables	n	Mutant type [case (%)]	Wild type	P
Tumor classification				0.929
Diffuse astrocytoma	53	39 (73.6)	14	
Oligodendroglioma	16	11 (68.8)	5	
Oligoastrocytoma	26	19 (73.1)	7	
Age (yr.)				0.011
≥50	16	7 (43.8)	9	
<50	79	62 (78.5)	17	
Sex				0.346
Male	51	35 (68.6)	16	
Female	44	34 (77.3)	10	
Tumor diameter (cm)				0.009
≥5	45	27 (60.0)	18	
<5	50	42 (84.0)	8	
Location				0.000
Monolobe	30	28 (93.3)	2	
Deepen structures	25	8 (32.0)	17	

Only the location of tumors involved monolobe and deepen structures were analyzed, while multilobe and other brain areas were not included in our study. Therefore, the total case number was 55. Deepen structures include thalamus, insula lobe, or basal ganglion involvement

型与野生型的患者之间平均年龄差异有统计学意义( $P=0.005$ )。WHO II 级胶质瘤在 3 种病理类型(弥漫性星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、混合性少突星形细胞瘤)、性别间的 IDH1 突变率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。而在年龄、肿瘤大小和生长部位组间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

近年来,各国学者针对胶质瘤相关分子水平的遗传学改变进行了深入的研究。许多胶质瘤相关分子标记物的改变已被证明在肿瘤的发生机制中起着重要的作用,且对于胶质瘤的诊断及预后评价方面有着重要的意义。

IDH1 突变是由 Parsons 等<sup>[4]</sup>在 2008 年发现的一个对胶质瘤诊断和预后具有重要价值的分子遗传学事件。随后 Yan 等<sup>[5]</sup>对 445 例颅内肿瘤患者进行了 IDH 测序,结果发现超过 70% 的 WHO II 级胶质瘤样本存在 IDH1 突变,在部分样本中发现有少量的 IDH2 突变,且均不包含 IDH1 突变。IDH1 在低级别胶质瘤中如此高的突变率提示我们 IDH 基因突变是胶质瘤发生、发展过程中的一个早期事件<sup>[6]</sup>。

IDH 基因位于染色体 2q33,编码生成异柠檬酸脱氢酶。该酶是三羧酸循环中的一个关键性限速酶,可催化异柠檬酸氧化脱羧生成  $\alpha$ -酮戊二酸( $\alpha$ -ketoglutarate,  $\alpha$ -KG)和还原型辅酶 II (NADPH)。人体内存在 3 种 IDH 酶,其中 IDH1 位于胞浆和过氧化物酶体内, IDH2 和 IDH3 位于线粒体内参与三羧酸循环。IDH 突变导致了相应的酶的活性的改变:一方面,降低了 IDH 催化异柠檬酸生成  $\alpha$ -酮戊二酸和 NADPH 的能力,从而使细胞易受到氧化应激性损伤;同时,突变的 IDH 又获得了催化  $\alpha$ -酮戊二酸生成 2-羟戊二酸(2-hydroxyglutarate, 2HG)的能力<sup>[7]</sup>,通过一系列的反应,使得体内缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )水平升高,激活了 HIF 通路,增加了肿瘤发生的风险<sup>[8]</sup>。

尽管国外对 IDH 的研究已有较多报道,但是国内对于 IDH 突变的探索则刚刚起步,并且国内外关于低级别胶质瘤临床特征与 IDH 基因突变的关系报道极少。因此本课题主要针对 IDH1 基因突变与 WHO II 级胶质瘤临床病理特征的关系进行研究,以期待能够解答我国低级别胶质瘤的临床相关问题。

#### 3.1 IDH1 突变在 WHO II 级胶质瘤中的分布

本研究通过对 95 例人脑幕上 WHO II 级胶质瘤样本进行 IDH1 基因测序,结果 69 例发生 IDH1 突变,且均为 R132H 型杂合性突变。在 3 种病理类型中突变率均超过了 60%。这与文献报道的低级别胶质瘤中的 IDH1 突变率较为一致<sup>[5,6,9]</sup>。比较 WHO II 级 3 种病理类型胶质瘤的突变率,发现各型之间突变率的差异并无统计学意义。

IDH1 突变率在 WHO II 级胶质瘤各病理类型中均超过 60%,且各病理类型之间突变率无差异,提示我们星形细胞瘤和少突胶质瘤虽然在组织病理学形态上具有差异,但是在肿瘤分化过程中可能有着共同的细胞来源。

#### 3.2 IDH1 突变与 WHO II 级胶质瘤患者临床特点的关系

本研究发现, IDH1 突变型和野生型患者平均年龄之间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。因此可认为在 WHO II 级胶质瘤中,野生型 IDH1 患者年龄较突变型患者大,这与 Watanabe 等<sup>[6]</sup>及 Metellus 等<sup>[10]</sup>的研究结果相似。此外,通过对年龄进行分组,分析认为在 WHO II 级胶质瘤患者中,较大年龄组( $\geq 50$  岁组) IDH1 突变率比较小年龄组( $< 50$  岁组)低( $P<0.05$ )。

按性别分组,发现在 WHO II 级胶质瘤患者中,男性与女性之间 IDH1 突变率差异无统计学意义。

有研究已发现胶质瘤发生部位与其相关分子标记物有关。Zlatescu 等<sup>[11]</sup>最先报道,在间变性少突胶质细胞瘤中 1p/19q 缺失的病例肿瘤更易发生于额顶枕叶,而累积颞叶、岛叶和中脑的病例中 1p/19q 缺失相对少见。但是目前关于 IDH1 突变与胶质瘤大小和部位关系的研究很少。此外,有研究报道,肿瘤的大小和部位均是影响低级别胶质瘤患者预后的重要因素<sup>[12-14]</sup>。因此本研究选择了对肿瘤的大小和部位与 IDH1 突变的关系进行研究。

通过对 95 例 WHO II 级胶质瘤病例按肿瘤大小进行分组( $\geq 5$  cm 和  $< 5$  cm),本研究发现在 WHO II 级胶质瘤中,肿瘤  $< 5$  cm 的患者 IDH1 突变率更高。另外,我们根据肿瘤的生长部位,将其分为仅累及单个脑叶(额、颞、顶、枕叶)组和累及深部重要结构(岛叶、丘脑、基底节区等)组,经检验后认为,在 WHO II 级胶质瘤中,肿瘤仅累及单个脑叶的患者其 IDH1 突变率高于累及深部结构组。以上结果与 Metellus 等<sup>[10]</sup>研究相近。

通过对以上结果进行分析,本研究认为 IDH1 突变与否与低级别胶质瘤的自然生长过程之间可能

存在一定的联系,从而导致了发病年龄、肿瘤大小、生长部位的差异。但是对于 *IDH1* 突变与年龄、肿瘤大小和发生部位之间的内在关联,其具体机制仍有待于进一步研究。

根据对 *IDH1* 突变与 WHO II 级胶质瘤患者临床特点的研究,我们可以对传统的组织病理学分型进行完善,引入胶质瘤新的分子病理学诊断分型。即将 *IDH1* 野生型的低级别胶质瘤视为独立的一种病理类型,通常此类患者年龄较大( $\geq 50$  岁)、肿瘤较大( $\geq 5$  cm)、更易累及深部重要结构。

综上所述,*IDH1* 突变与 WHO II 级胶质瘤的临床病理特征密切相关。对 *IDH1* 突变的研究不仅能揭示胶质瘤的发生发展机制,而且能够辅助临床诊疗和评价预后。因此,我们应该把 *IDH1* 突变与临床相结合,从而指导个体化的治疗方案。

### 参 考 文 献

- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, *et al.* The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system. *Acta Neuropathol*,2007;114(2):97-109.
- Bourne TD, Schiff D. Update on molecular findings, management and outcome in low-grade gliomas. *Nat Rev Neurol*,2010;6(12):695-701.
- Horbinski C, Kelly L, Nikiforov YE, *et al.* Detection of *IDH1* and *IDH2* mutations by fluorescence melting curve analysis as a diagnostic tool for brain biopsies. *J Mol Diagn*, 2010;12(4):487-492.
- Parsons DW, Jones S, Zhang X, *et al.* An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*,2008;321(5897):1807-1812.
- Yan H, Parsons W, Jin G, *et al.* *IDH1* and *IDH2* mutation in gliomas. *N Engl J Med*,2009;360(8):765-773.
- Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, *et al.* *IDH1* mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol*,2009;174(4):1149-1153.
- Nikiforova MN, Hamilton RL. Molecular diagnostics of gliomas. *Arch Pathol Lab Med*,2011;135(5):558-568.
- Zhao S, Lin Y, Xu W, *et al.* Glioma-derived mutations in *IDH1* dominantly inhibit *IDH1* catalytic activity and induce HIF-1 $\alpha$ . *Science*,2009;324(5924):261-265.
- Blass J, Meyer J, Mueller W, *et al.* Analysis of the *IDH1* codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol*,2008; 116(6):597-602.
- Metellus P, Coulibaly B, Colin C, *et al.* Absence of *IDH* mutation identifies a novel radiologic and molecular subtype of WHO grade II gliomas with dismal prognosis. *Acta Neuropathol*,2010;120(6):719-729.
- Zlatescu MC, TehraniYazdi A, Sasaki H, *et al.* Tumor location and growth pattern correlate with genetic signature in oligodendroglial neoplasms. *Cancer Res*,2001;61(18):6713-6715.
- Chang EF, Clark A, Jensen RL, *et al.* Multiinstitutional validation of the University of California at San Francisco Low-Grade Glioma Prognostic Scoring System. *Clinical article. J Neurosurg*,2009;111(2):203-210.
- Chang EF, Smith JS, Chang SM, *et al.* Preoperative prognostic classification system for hemispheric low-grade gliomas in adults. *J Neurosurg*,2008;109(5):817-824.
- Pignatti F, van den Bent M, Curran D, *et al.* Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. *J Clin Oncol*,2002;20(8):2076-2084.

(2012-05-29 收稿,2012-07-31 修回)

编辑 沈进