

神经胶质瘤生物标志物研究进展

郝明炫¹, 梁有沣¹, 郭蕊¹, 李小宁¹, 李永超^{1,2}, 王磊¹, 喻长远¹, 杨昭^{1,2*}

1 北京化工大学生命科学与技术学院 分子诊断技术创新研究中心, 北京 100029

2 塔里木大学生命科学学院 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300

郝明炫, 梁有沣, 郭蕊, 李小宁, 李永超, 王磊, 喻长远, 杨昭. 神经胶质瘤生物标志物研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(4): 1445-1461.

HAO Mingxuan, LIANG Youfeng, GUO Rui, LI Xiaoning, LI Yongchao, WANG Lei, YU Changyuan, YANG Zhao. Advances of glioma biomarkers[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(4): 1445-1461.

摘要: 神经胶质瘤(glioma)是最常见的原发性脑肿瘤, 占颅内肿瘤的 81%。神经胶质瘤的诊断手段与预后评估主要以影像学为主, 但因神经胶质瘤的浸润性生长特点, 影像学不能完全作为诊断及预后评估依据。因此, 发现和鉴定全新生物标志物对神经胶质瘤的诊断、治疗和预后评估显得尤为重要。最新研究结果表明, 在神经胶质瘤患者组织和血液中, 多种生物标志物可用于神经胶质瘤的辅助诊断和预后评估。其中, 诊断标志物包括 *IDH1/2* 基因突变、*BRAF* 基因突变与融合、*p53* 基因突变、端粒酶活性增加、循环肿瘤细胞和非编码 RNA 等。预后标志物包括 1p/19p 共缺失、*MGMT* 基因启动子甲基化及基质金属蛋白酶-28、胰岛素样生长因子结合蛋白-2 和 CD26 的表达上调和 Smad4 的表达下调。本文重点介绍了上述神经胶质瘤生物标志物在诊断和预后评估方面的最新研究进展。

关键词: 神经胶质瘤; 生物标志物; 诊断; 预后; *IDH1/2* 基因突变; *MGMT* 基因启动子甲基化

资助项目: 中央高校基本科研业务费(buctrc201910); 2021 年新疆科协青年人才托举工程项目; 京津冀基础研究合作专项[19JCZDJC65800(Z)]; 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关计划项目(2022AB022)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (buctrc201910), the Young Elite Scientists Sponsorship Program by Xinjiang Association for Science and Technology (2021), Beijing-Tianjin-Hebei Basic Research Cooperation Special Project (19JCZDJC65800(Z)), and the Scientific and Technological Research Project of Xinjiang Production and Construction Corps, China (2022AB022).

*Corresponding author. Tel: +86-10-64421335, E-mail: yangzhao@mail.buct.edu.cn

Received: 2022-09-13; Accepted: 2023-01-26

Advances of glioma biomarkers

HAO Mingxuan¹, LIANG Youfeng¹, GUO Rui¹, LI Xiaoning¹, LI Yongchao^{1,2}, WANG Lei¹, YU Changyuan¹, YANG Zhao^{1,2*}

1 Innovation Center of Molecular Diagnostics, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2 Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin of Xinjiang Production and Construction Corps, College of Life Science and Technology, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China

Abstract: Glioma is the most common primary brain tumor, accounting for 81% of intracranial tumors. The diagnosis and prognosis assessment of glioma are mainly based on imaging. However, imaging cannot be fully used as the basis for diagnosis and prognosis assessment due to the infiltrative growth characteristics of glioma. Therefore, the discovery and identification of novel biomarkers is particularly important for the diagnosis, treatment and prognosis assessment of glioma. The latest findings suggest that a variety of biomarkers in the tissues and blood of glioma patients can be used for the auxiliary diagnosis and prognosis assessment of glioma. Among them, *IDH1/2* gene mutation, *BRAF* gene mutation and fusion, *p53* gene mutation, increased telomerase activity, circulating tumor cells and non-coding RNA can be used as diagnostic markers. Prognostic markers include 1p/19p codeletion, *MGMT* gene promoter methylation, upregulation of matrix metalloproteinase-28, insulin-like growth factor-binding protein-2 and CD26, and downregulation of Smad4. This review highlights the latest advances of biomarkers in the diagnosis and prognosis assessment of glioma.

Keywords: glioma; biomarker; diagnosis; prognosis; *IDH1/2* gene mutation; *MGMT* gene promoter methylation

神经胶质瘤(glioma)是颅内最为常见的一种原发性恶性肿瘤,占恶性脑肿瘤的81%^[1]。2022年,全球神经胶质瘤的发病率为5.48/10万,而我国的神经胶质瘤发病率为7.00/10万。I-IV级神经胶质瘤患者的5年总生存率分别为98%、50%、30%和5%^[2],是预后最差的癌症类型之一。根据2021年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)颁布的最新文件,神经胶质瘤可分为成人弥漫性胶质瘤[包括大部分原发性脑肿瘤,如胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)]、小儿弥漫性低级别胶质瘤、小儿弥漫性高级别胶质瘤、限制性星形胶质瘤、胶质神经元、神经元肿瘤和室管膜瘤^[3]。

神经胶质瘤的临床诊断方法主要为电子计

算机断层扫描(computed tomography, CT)和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)。其中, MRI是诊断、术前计划和治疗后监测的非侵入性技术,对脑肿瘤敏感性较高。但成像的准确性一般只有80%–90%^[4],不能作为确诊的唯一依据,还需活检等手段综合判断。神经胶质瘤的预后评估仍然以MRI为主的影像学手段判断,具有准确性不高、可能发生假性进展等局限性^[5]。

生物标志物是生物体内一种确定的特征,该特征可测量正常生物过程、致病过程、对暴露或干预(包括治疗干预)反应的指标以及分子、组织学、放射学或生理学特征,其在人的血液、尿液等体液或组织中可被检测到。根据美国食品药品监督管理局(Food and Drug

Administration, FDA)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)制定的标准,生物标志物目前可分为诊断、监测、反应、预测、药效和预后 6 大类^[6]。相较经典的影像学等观测方式,生物标志物非侵入性取样,具有方便、易于重复、成本低廉等特点^[7]。在癌症治疗中,生物标志物可以快速诊断、监测进程和评估预后等^[8-9]。如在前列腺癌诊断中,尿液中的前列腺癌抗原 3 (prostate cancer antigen 3, PCA3)作为诊断标志物的敏感性为 82%, 特异性为 76%^[10];已在膀胱癌诊断中应用的端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)是膀胱癌复发的可靠的非侵入性预后标志物, Descotes 等^[11]对 348 名经尿道膀胱切除术治疗尿路上皮膀胱癌(urothelial bladder carcinoma, UBC)的患者进行分析,发现端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)诊断膀胱癌的敏感性为 80.5%, 特异性为 89.8%。

随着对神经胶质瘤发生机制的深入研究,WHO 于 2016 年在中枢神经系统肿瘤分类中首次引入了分子特征,与其他肿瘤类似,神经胶质瘤的生物标志物对其诊断、预后等阶段均起

到了重要的作用。诊断方面, *IDH1/2* 基因突变、鼠类肉瘤病毒癌基因同源物 B1 (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, *BRAF*)基因突变与融合、端粒酶活性等拓宽了神经胶质瘤的诊断方式,部分已经作为辅助诊断方式应用于临床;预后方面, 1p/19q 共缺失、*MGMT* 基因启动子甲基化等在神经胶质瘤患者的预后评估中展现出了良好的效果和应用前景,并可以有效避免影像学分析中可能会产生的假性进展。本文旨在介绍神经胶质瘤生物标志物(按照组织和血液来源划分)在神经胶质瘤诊断及预后方面的研究进展及应用。

1 神经胶质瘤诊断相关生物标志物

最新研究表明,多种生物标志物在神经胶质瘤诊断、预后方面展现出了一定的应用价值^[12]。本文介绍神经胶质瘤诊断相关生物标志物,包括 *IDH1/2* 基因突变、*p53* 基因突变、*BRAF* 基因突变与融合、端粒酶活性增加、循环肿瘤细胞和非编码 RNA 等(图 1)。

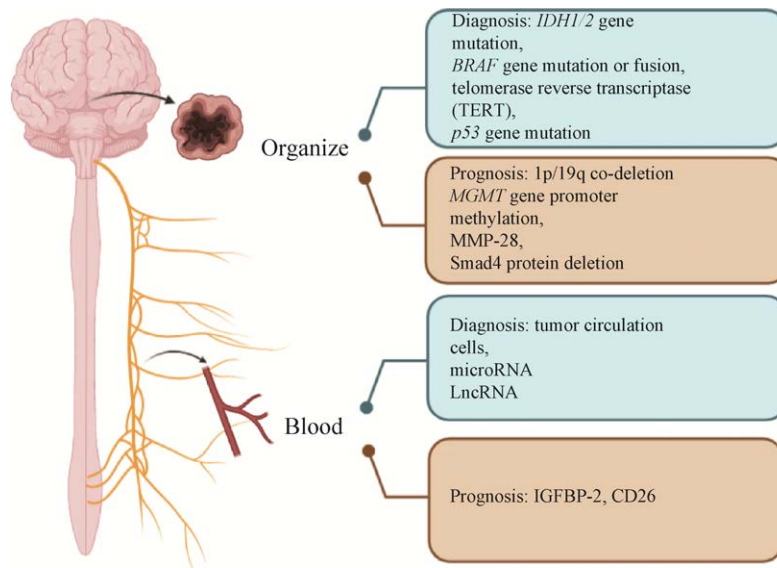


图 1 神经胶质瘤生物标志物
Figure 1 Biomarkers of glioma.

1.1 组织来源的生物标志物

1.1.1 IDH1/2 基因突变

异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)在柠檬酸循环中催化异柠檬酸转化为 α -酮戊二酸。IDH 参与许多代谢过程,例如信号转导、脂质合成、氧化应激和氧化呼吸^[13]。IDH 基因的突变对神经胶质瘤的发生起到促进作用,编码 IDH 的基因有多种同工型,其中 IDH1 和 IDH2 突变最为常见, IDH1 或 IDH2 最常见的突变是单个残基改变,导致精氨酸突变为组氨酸,如 IDH1 的 R132H, IDH2 的 R140H 或 R172H。这一突变使异柠檬酸脱氢酶获得了一个新的功能,它能够将 α -酮戊二酸催化生成 D-2-羟基戊二酸(disodium-2-hydroxyglutarate, D-2HG),而 D-2HG 则会诱导神经胶质瘤的发生^[14-16]。

经 WHO 统计,70%~80%的 II 期和 III 期星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤及 2 级和 3 级弥漫

性神经胶质瘤会发生 IDH1/2 基因突变^[17]。Horbinski 等^[18]采用了荧光溶解曲线分析的方式对 67 例 2 级神经胶质瘤样本进行了检测,其中 67.0%的样本发生了 IDH1/2 基因突变。Zhao 等^[19]采用机器学习分析了来自 9 项研究的共 996 名神经胶质瘤患者的突变情况,结果证实, IDH 突变辅助诊断神经胶质瘤的敏感性和特异性分别为 88.0%和 87.0%(表 1)。此外,与单独使用影像结果相比, IDH 突变检测联合影像结果具有更高的敏感性(90.0%对 83.0%)和特异性(90.0%对 82.0%)($P<0.05$)。

研究人员开发了识别 IDH1 R132H 突变体的单克隆抗体,可以对神经胶质瘤 IDH1 R132H 突变进行免疫组织化学分析^[20-21],从而提高检测的效率和特异性。因此, IDH1/2 基因突变是一种非常有前景的神经胶质瘤辅助诊断标志物。

表 1 神经胶质瘤诊断相关生物标志物

Table 1 Diagnostic biomarkers of glioma

Biomarkers	Sources	Sample size (number)	Incidence (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	P value	Reference
IDH1/2 mutation	Tumor tissue	996	NA	88.0	87.0	$P<0.05$	[19]
BRAF gene mutation or fusion	Tumor tissue	105	43.8	94.0	94.0	$P=0.03$	[22]
BRAF gene mutation or fusion	Tumor tissue	41	22.6	NA	NA	$P=0.016$	[23]
Telomerase activity	Tumor tissue	42	43	NA	NA	$P<0.001$	[24]
Telomerase activity	Tumor tissue	128	86	NA	NA	$P<0.001$	[25]
p53	Tumor tissue	715	Primary tumors: 28 Secondary tumors: 65	NA	NA	$P<0.001$	[26]
p53	Tumor tissue	60	Low-grade group: 33.5±13.6 High-grade group: 72.00±16.58	NA	NA	$P<0.001$	[27]
Circulating tumor cells	Peripheral blood	141	20.6	94.0	100.0	$P<0.001$	[28]
Circulating tumor cells	Peripheral blood	33	39.3	NA	NA	$P<0.001$	[29]
miRNA	Peripheral blood	2 528	NA	85.0	90.0	$P<0.01$	[30]
LncRNA	Peripheral blood	NA	NA	86.0	87.5	$P<0.05$	[31]

NA: Not available.

1.1.2 *BRAF* 基因突变与融合

BRAF 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,在有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路中发挥作用,而指导该激酶合成的 *BRAF* 基因在包括神经胶质瘤在内的多种癌症中作为原癌基因起作用^[32-33]。*BRAF* 可以通过突变或与另一个基因融合来激活。最常见的突变体是 *BRAF-V600E*,它导致组成型 *BRAF* 激活,常见于多形性黄色星形细胞瘤、间变性神经节神经胶质瘤,分别约占其 66%和 50%^[23];*BRAF* 激活与 INK4A/ARF 通路(inhibitor of CDK4/alternative reading frame, INK4A/ARF)丢失或蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)激活结合时,便会诱导肿瘤的发生^[34-35]。而 *BRAF* 基因融合则是由于 DNA 串联复制导致 *BRAF* 与 *KIAA1549* 基因融合,进而导致细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK/MAPK)通路的激活并促进细胞周期中的 G2/M 转换,最终诱导癌症的发生^[28]。

BRAF 基因突变与融合对毛细胞星形细胞瘤的诊断鉴别帮助较大,尤其是结合 *IDH1/2* 基因突变分析^[28],Tosuner 等^[22]使用免疫组织化学染色(immunohistochemistry, IHC)方式检测出 *BRAF-V600E* 突变的敏感性和特异性均大于 94% ($P < 0.05$)。Lee 等^[36]对 105 名患者的 51 例脑肿瘤进行了突变检测,发现其中 46 例发生了 *BRAF-V600E* 突变,认为 *BRAF-V600E* 是具有神经元成分或分化的低级别神经胶质瘤的常见基因突变。Schiffman 等^[37]对 41 个星形细胞瘤样本进行了分析,所有样品都经过了详细的组织病理学检查,研究者从中获取足量的 RNA 用于确定 *KIAA1549-BRAF* 融合转录物的存在,并同时提取 DNA 用于基因序列分析,其中 22.6% 的肿瘤发生了 *KIAA1549-BRAF* 融合,表明 *BRAF* 融合突变是毛细胞星形细胞瘤中常见的

基因突变之一。目前有多种 *BRAF* 信号通路抑制剂正在进行临床试验^[25]。以上研究表明, *BRAF* 基因突变或融合作为神经胶质瘤诊断相关标志物有较好前景。

1.1.3 *p53* 基因突变

TP53 (*p53*)是人类癌症中最易改变的单一基因,约 50%的侵袭性肿瘤中均存在其丢失或发生损害性功能突变^[38-39],高级别神经胶质瘤中,78%发生了 *p53* 突变^[40]。*p53* 基因位于人类染色体 17p13 上,是一种肿瘤抑制因子,起到转录因子的作用,可以促进细胞凋亡、抑制 DNA 复制和抑制细胞增殖等,该基因的过表达在神经胶质瘤的发生过程中发挥重要作用^[41]。此外, *p53* 蛋白是一个评估神经胶质瘤临床进展的潜在标志物,可作为肿瘤分级的辅助手段^[27]。

p53 通路在许多不同的细胞反应中发挥作用,例如细胞周期调节、细胞凋亡、细胞分化和 DNA 损伤反应,在癌变细胞中表达较高^[42]。Ohgaki 等^[43]对一项针对 715 名 GBM 确诊患者的 *p53* 突变进行了分析,认为在原发性 GBM 中, *p53* 突变发生率为 28%;而在继发性 GBM 中, *p53* 突变发生率为 65%。Hayes 等^[26]对 40 例神经胶质瘤患者和 20 例正常志愿者的脑组织进行了病理 HE 染色及免疫组化检测,经统计分析,对照组的 *p53* 突变阳性率为 2.25%±1.41%,而低级别神经胶质瘤组的 *p53* 突变阳性率为 33.50%±13.05%,高级别神经胶质瘤 *p53* 突变阳性率为 72.00%±16.58%,表明 *p53* 突变在神经胶质瘤中发生率远高于正常脑组织。因此, *p53* 突变可以成为区分正常脑组织与肿瘤病灶的判断依据。

1.1.4 端粒酶活性

端粒是真核生物染色体末端的特殊结构,由重复的非转录序列以及结合蛋白构成,对细胞复制、衰老、凋亡起着重要作用^[44]。而端粒

酶是一种结构复杂的核糖核蛋白,负责维持染色体末端的端粒 DNA,用于维持端粒长度,并被认为在细胞永生化和肿瘤发展过程中具有重要作用^[45],它由两个核心亚基,端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase hTERT)和一个 RNA 亚基(hTR)组成^[46]。人类 *TERT* 启动子(*pTERT*)区域中的 2 个特殊突变 *C228T* 和 *C250T* 十分重要,因为它们促进了转录增强子新结合位点的形成,这反过来又推动了端粒酶的表达和活性增加,这一过程被认为是细胞永生化的关键,也是肿瘤发生的标志^[47]。

端粒酶活性已被证明是几乎所有恶性肿瘤的有效判断指标,神经胶质瘤也不例外。Shervington 等^[24]在通过端粒重复扩增方案检测 42 个神经胶质瘤中的端粒酶活性的研究中发现,高龄以及高端粒酶活性和 hTERT mRNA 水平是判断神经胶质瘤发生及进程的重要因子,其中 43%的 GBM 中具有高端粒酶活性。Spiegel-Kreinecker 等^[48]检查了 126 个 GBM 样本,其中 86%的样本发生 *pTERT* 突变。突变样本中,75%为 *C228T* 变异,25%为 *C250T* 变异。目前已有研究证实,hTERT 在测试的神经胶质瘤细胞系和组织中表达,在对照的细胞和组织中不表达,因此 hTERT 可于神经胶质瘤的辅助诊断^[49]。

1.2 血液来源的生物标志物

1.2.1 循环肿瘤细胞

肿瘤循环细胞(circulating tumor cells, CTCs)是存在于人体循环系统中的肿瘤细胞,具有 3 个典型特征:起源于原发肿瘤或转移、出现在血管中、参与血液循环^[50]。CTCs 表现出各种高级特性,例如上皮间充质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和休眠,这对于支持肿瘤细胞在血液中抵抗放射治疗和药物治疗、促进转移至关重要^[51]。来自原发性或转移

性病变并在血液循环系统中长期存活的 CTCs 代表了肿瘤细胞最具侵袭性的亚克隆。这些肿瘤细胞的精确分子分型可以帮助临床医生诊断肿瘤进程,并可用于监测疾病进展的程度和治疗反应。同时,大量临床试验数据证明,CTCs 同样可以作为一种预后因素,是晚期乳腺癌、肺癌和前列腺癌患者靶向治疗的标志物和靶标^[52]。研究发现,脑转移患者的 CTCs 少于其他转移患者,寡转移患者的外周血 CTCs 计数少于多发转移患者^[53],脑转移瘤切除后患者的 CTCs 数量低于未手术或仅放化疗的患者,CTCs 数量与脑转移患者的生存率显著相关,CTCs 的检测对于评估脑转移患者的生存率,甚至对于识别可能从更强治疗中受益的脑转移患者具有重要的临床价值^[29]。

虽然外周神经胶质瘤转移较为罕见,但在神经胶质瘤患者的血液中仍可以检测到 CTCs^[54]。Boldrini 等^[49]对一项含 141 例 GBM 的样本进行了测序分析,其中 20.6%的肿瘤检测到 CTCs,并且敏感性较高,但具有检出率低的局限性。Zhang 等^[29]通过分子分型和遗传图谱对 33 例 GBM 进行测定,其中 39.3%的肿瘤中检测到 CTCs。vanBussel 等^[55]对脑脊液中检出 CTCs 的敏感性和特异性进行了测定,认为当临界值为 0.9 CTCs 时,敏感性为 94.0%,特异性为 100.0%。因此,CTCs 的鉴定对 GBM 的早期诊断具有重要的临床应用价值。

1.2.2 非编码 RNA

非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指不编码蛋白质的 RNA。其中包括 rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA 和 microRNA 等多种已知功能的 RNA,还包括未知功能的 RNA。这些 RNA 的共同特点是都能从基因组上转录,但是不翻译成蛋白,在 RNA 水平上就能行使各自的生物学功能。而在神经胶质瘤的治疗过

程中,目前 miRNA 作为潜在的诊断生物标志物,已在临床上展开大量研究。除 miRNA 之外,其他的功能性非编码 RNA 如长非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNAs)及环状 RNA (circular RNA, CircRNAs)在神经胶质瘤中同样具有辅助诊断或预后的潜力。

miRNA 是短链(约 22 个核苷酸)单链非编码 RNA。最早在 1993 年, Lee 等^[56]在秀丽隐杆线虫中发现了 miRNA, 这些分子不编码蛋白质,而是通过反义 RNA-信使 RNA 相互作用在转录后水平上调细胞生长。如今,这些分子被认为是所谓的表观遗传机制的重要组成部分,它们参与全部基因表达的调节,并且参与许多生理和病理过程,癌症就是其中之一^[57]。miRNA 生物发生的第一步是通过 RNA 聚合酶 II (DNA polymerase II, Pol II)从细胞核中的编码基因转录成为 pri-miRNA 的长初级转录物。然后 pri-miRNA 组成的复合物加工成一种较短的前体 pre-miRNA, miRNA 最后通过 Exportin-5 从细胞核中输出。在细胞核外, pre-miRNA 切割成包含单链成熟 miRNA 分子的成熟 miRNA 双链体^[58]。以上 miRNA 已被证明可以调节已知的癌基因或肿瘤抑制基因,或者通过直接靶向参与各种癌症类型的细胞分化、增殖、血管生成、细胞凋亡或侵袭的其他基因。

在神经胶质瘤中, miRNA 表达谱会影响与神经胶质瘤形成、肿瘤生长、增殖、细胞凋亡和抗癌基因转录后调控有关的基因的功能。如 miR-21 过度表达导致了神经胶质瘤的恶性进展,其通过 STAT3 信号通路激活 β -连环蛋白,增强神经胶质瘤的侵袭能力^[59]。而 miR-26a 则可通过调节其靶点抑制素以促进神经胶质瘤的进展^[60]。

Zhou 等^[30]在对 28 项研究包括 2 528 名胶质瘤患者和 2 563 名对照的荟萃分析中发现,

miRNA 在神经胶质瘤诊断中保持 85.0%的总敏感性以及 90.0%的总特异性,而其中 miR-21 的诊断价值最高,具有 86.0%的敏感性和 96.0%的特异性。Hayes 等^[46]采用微阵列分析的方式对 475 例神经胶质瘤患者进行了分析,鉴定出 9 个与神经胶质瘤病理高度相关的 miRNA,如 miR-124a 和 miR-10b 等,通过这些 miRNA 特性可以将神经胶质瘤患者分为高风险组和低风险组,低风险组的中位生存时间为 13.1 个月,高风险组的中位生存时间为 9.5 个月。综上所述, miRNA 在神经胶质瘤中有较好的应用前景,是潜在的诊断标志物之一。

LncRNA 是转录长度超过 200 nt 的 RNA 分子,通常被归类为 ncRNA。它们通过与蛋白质、RNA 和 DNA 相互作用来调节基因表达^[61]。由于血液中存在大量 RNA 酶,血浆中游离 LncRNA 的半衰期仅为 3 h,容易分解。但 LncRNA 通过将外泌体作为载体,可稳定地存在于外周血中^[62]。因此,外周血和脑脊液中的 LncRNA 可能是胶质瘤诊断的潜在生物标志物。研究表明,目前 LncRNA 在神经胶质瘤中表达状况并不统一^[62],不同 LncRNA 的表达情况有所差异,如 AB073614 和 ATB 等在神经胶质瘤进程中上调,而 ADAMTS9-AS2 和 CASC2 等表现为下调。血清中 LncRNA HOX 转录本反义 RNA (HOTAIR)的高表达可作为 GBM 的诊断生物标志物,敏感性为 86.1%,特异性为 87.5%^[31]。LncRNA 同样具有预后评估的潜力。Zhi 等^[63]对 130 名星形胶质瘤患者进行了检测与随访,分析了其中 7 种 LncRNA,结果表明 BC002811 和 XLOC-010967 具有预后价值,上述两种 LncRNA 低表达的患者具有更长的生存期(约 80 个月),而高表达的患者生存期则相对较短(约 60 个月)。

CircRNA 是一种生物活性核酸分子,以闭

环 RNA 形式存在, 其与信使 RNA 相比, 缺乏聚腺苷酸化的尾巴^[64]。多项研究表明, CircRNA 的异常表达与多种肿瘤的发生和进展密切相关^[65]。Zhang 等^[66]发现, CircRNA-133 的表达量在胃癌患者的胃癌组织和血浆中显著升高, CircRNA-133 的高表达可以提高 PRDM16 的表达, 而 PRDM16 则起到促进肿瘤进展的作用。Fan 等^[67]在 60 例胶质瘤患者的手术标本中发现, 肿瘤组织中 CircRNA-0079593 的高水平与肿瘤大小和病理分级的增加以及胶质瘤患者的低存活率有关。这些结果表明, CircRNA-0079593 可作为胶质瘤患者多变量分析的独立预后因素。因此, CircRNA 的表达水平有望用于预测胶质瘤的预后。然而, 目前还没有关于单独使用 CircRNA 作为神经胶质瘤治疗的治疗靶点或载体的临床前报告, 仍需进一步深入研究。

2 神经胶质瘤预后相关生物标志物

多种生物标志物展现出了其在神经胶质瘤预后方面的应用价值, 例如 1p/19q 共缺失、MGMT 基因启动子甲基化及基质金属蛋白酶-28、胰岛素样生长因子结合蛋白-2 和 CD26 的表达上调和 Smad4 的表达下调(图 1)。

2.1 组织来源的生物标志物

2.1.1 1p/19q 共缺失

1994 年, Reifenberger 等^[68]使用限制性片段长度多态性分析, 首次报道了许多少突胶质细胞肿瘤显示染色体臂 1p 和 19q 的杂合性 (LOH) 丢失, 之前的研究表明, 1p/19q 丢失实际上是由于不平衡易位 t(1:19)(q10:p10) 导致衍生染色体之一的丢失, 而临床结果证实是 1p 和 19q 的整个臂的丢失, 不是较小的末端或间质缺失, 后者由完全不同的机制发生并且偶尔在星形细胞肿瘤中遇到, 例如 GBM^[69]。目前通过

全基因组测序等方法检测, 1p/19q 共缺失被证明是唯一在低级别弥漫性胶质瘤及其复发的空间区域内稳定的拷贝数畸变, 并且 1p/19q 共缺失的复发性间变性少突胶质细胞瘤对丙卡巴肼-洛莫司汀-长春新碱 (procarbazine-lomustine-vincristine, PCV) 化疗的反应要大得多, 几乎所有肿瘤都有反应^[70]。所以 1p/19q 共缺失可以作为神经胶质瘤的预后标志物。

临床上, 对 1p/19q 共缺失的检测一般使用组织切片样品进行荧光杂交检测或提取基因组进行体外扩增, Weller 等^[71]使用荧光杂交方法检测了 76 名患有少突胶质细胞瘤、少突星形细胞瘤或间变性少突胶质细胞瘤患者的肿瘤, 经历了 3.8 年中位随访时间, 认为 63% 的患者的 1p/19q 缺失, 5.2%、2.6% 和 28.9% 的患者有孤立的 19q 丢失、1p 丢失或完整的染色体 1p 和 19q。孙等^[72]采用体外扩增的方法对 148 例患者的 1p/19q 进行检测, 结果表明少突胶质细胞瘤总体的 1p、19q 缺失率分别为 70.8% 和 66.7%, 并且神经胶质瘤中含少突胶质细胞成分越多, 就具有更高的 1p、19q 缺失率及 1p/19q 联合缺失率(表 2)。Weller 等^[73]对 368 例间变性少突神经胶质瘤患者进行了分析, 经检测, 21% 的患者表现出 1p/19q 共缺失, 表现出 1p/19q 共缺失的患者中位 OS 为 40.3 个月, 而未出现 1p/19q 共缺失的患者中位 OS 为 30.6 个月 ($P=0.23$)。上述研究证实 1p/19q 共缺失可作为临床上神经胶质瘤的预后指标之一。

2.1.2 MGMT 基因启动子甲基化

O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT) 是一种自杀性 DNA 修复蛋白, 通常催化甲基从鸟嘌呤 DNA 核苷酸的 O⁶ 转移到其自身位置 145 的半胱氨酸残基上, 这种烷基化是单向过程, 并且最终产生退化^[78]。在神经胶质瘤

表 2 神经胶质瘤预后相关生物标志物
Table 2 Prognostic biomarkers of glioma

Biomarkers	Sources	Sample size (number)	Survival time	P value	Reference
1p/19q co-deletion	Tumor tissue	368	mOS of positive patients: 40.3 months mOS of negative patients: 30.6 months	$P=0.23$	[73]
<i>MGMT</i> promoter methylation	Tumor tissue	573	mOS of positive patients: 18.2 months mOS of negative patients: 12.2 months	$P<0.001$	[72]
MMP-28	Tumor tissue	68	MS of positive patients: 17.5 months MS of negative patients: 20.2 months	$P<0.01$	[74]
Smad4	Tumor tissue	252	OS of positive patients: (22.8±1.3) months OS of negative patients: (8.0±0.5) months	$P<0.001$	[75]
IGFBP-2	Peripheral blood	83	OS of patients with plasma IGFBP-2 levels above 627.5 ng/mL: (303.6±24.9) days OS of patients with plasma IGFBP-2 levels below 627.5 ng/mL: (589.3±29.8) days	$P<0.001$	[76]
CD26	Peripheral blood	70	OS of patients with low CD26 levels: 17 years OS of patients with high CD26 levels: 15 years	$P<0.0001$	[77]

mOS: Median overall survival; MS: Median survival; OS: Overall survival.

中，因为烷基化化疗药物(如替莫唑胺，temozolomide, TMZ)的应用会导致烷基与鸟嘌呤的 O⁶ 结合，从而导致 DNA 错配、DNA 双链断裂并最终导致细胞凋亡，从而产生治疗效果，而 MGMT 蛋白通过修复 DNA 损伤来抵消化疗药物替莫唑胺的正常致死作用，从而产生耐药效果。已有的研究表明^[72]，与缺乏 MGMT 基因启动子甲基化的肿瘤患者相比，接受放疗和替莫唑胺治疗且具有甲基化 MGMT 启动子(在大约 40% 的原发性 GBM 中可见)的肿瘤患者存活时间明显更长。

过去 10 年，在新诊断的 GBM 患者治疗及其后续研究中，显示具有 MGMT 启动子高甲基化的患者在 2 年和 5 年时的存活率分别为 49% 和 14%。若同时辅助以替莫唑胺和放疗治疗，在仅接受放疗的类似患者中，估计的 2 年和 5 年生存率分别为 24% 和 5%^[72]。而肿瘤缺乏 MGMT 启动子高甲基化的 GBM 患者在接受联合放疗时的 2 年和 5 年生存率分别为 15% 和 8%，仅接受放疗时则下降至仅 2% 和 0%^[79]。Hegi 等^[72]对 573 个神经胶质瘤样本进行了免疫组化检测，并随访了这些患者，结果显示甲基化患者的中位总生存期为 18.2 个月，而无甲基化患者

的中位总生存期为 12.2 个月，具有明显差异。以上数据显示，MGMT 基因启动子甲基化与神经胶质瘤患者的总生存时间正相关，是神经胶质瘤潜在的预后因子。

2.1.3 基质金属蛋白酶-28 (MMP-28)

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是锌指金属蛋白家族一员，用于降解细胞外基质蛋白，MMPs 可以影响细胞的各种生物学功能，包括发育、修复、炎症反应和肿瘤侵袭等^[80]。MMP-28 是 MMP 家族近年来新发现的成员，在角质形成细胞与睾丸中首先被发现。研究表明，MMP-28 蛋白在恶性肿瘤和癌细胞系中均出现了明显上调^[81]，其同样在神经胶质瘤中广泛表达。目前已有研究证实，神经胶质瘤中 MMP-28 能够诱导转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)表达和诱导上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)从而导致神经胶质瘤的侵袭^[82]，加速肿瘤进展^[83-84]。

MMP-28 和 TGF- β 之间的相互作用目前已被证实，即 MMP-28 在神经胶质瘤细胞中具有诱导 TGF- β 产生的功能。Wang 等^[85]在一项分析中对比了 68 例老年神经胶质瘤患者和 50 例健康志愿者

的 MMP-28 水平,发现 MMP-28 在神经胶质瘤中的阳性表达率(63.2%)明显高于正常脑组织(12.0%)。并且在患者组中, MMP-28 阳性的神经胶质瘤患者中位生存期为 17.5 个月,显著低于 MMP-28 阴性患者的 20.2 个月。因此, MMP-28 是神经胶质瘤预后评估的潜在标志物。

2.1.4 Smad4

Smad4 蛋白是 TGF- β 通路的下游分支,作为 TGF- β 信号通路的核心介质, Smad4 蛋白本身不具备促进肿瘤形成的能力,但会通过诱导其他基因启动,影响肿瘤进展^[74]。较为典型的肿瘤抑制通路例如 TGF- β /Smad4 信号通路,其通过诱导细胞周期停滞在 G1 期,并通过定位于细胞核的 Smad2/3/4 复合物诱导细胞凋亡^[86-87];其他已被证实的通路包括管理细胞生长和存活的 ERK 通路,可通过磷酸化接头区域的丝氨酸或苏氨酸残基处的 Smad2 和 Smad3 来抑制 TGF- β /Smad4 通路,从而防止其易位进入细胞核^[88-89];而当 Smad4 纯合性缺失时,则会使慢性 EGF 诱导 β 连环蛋白活化,从而抑制 Wnt/ β T 连环蛋白信号通路^[90]。Smad4 的杂合性或纯合性缺失首先在胰腺癌中发现,后来在多种癌症中发现^[91]。研究发现,约 60%的人类胰腺癌发生 Smad4 上游基因杂合性缺失^[92],约 30%的大肠癌发生 Smad4 上游基因杂合性缺失^[93],这些异常表达共同导致了 Smad4 表达下调,此现象在神经胶质瘤中同样存在。

He 等^[75]使用免疫组化、qRT-PCR 及 Western blotting 等方法在一项针对 252 个临床标本的分析表明,45.2%的神经胶质瘤病例发生了 Smad4 表达下调,其染色呈阴性。而 Smad4 染色阴性的患者的存活率(8.0 \pm 0.5)个月低于 Smad4 阳性染色的患者(22.8 \pm 1.3)个月,证明低 Smad4 蛋白水平是神经胶质瘤患者预后不良的标志。基因和蛋白质水平的 Smad4 表达下调与神经胶质瘤

患者的不良预后相关,是神经胶质瘤的潜在预后因子。

2.2 血液来源的生物标志物

2.2.1 胰岛素样生长因子结合蛋白-2

胰岛素样生长因子结合蛋白-2 (insulin-like growth factor binding protein-2, IGFBP-2)是一种与胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)具有高亲和力的蛋白^[94],同时是有丝分裂的重要调节剂。在癌症研究方面, IGFBP-2 的表达与磷酸酶张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的功能紧密相关^[95-96],而 PTEN 能够诱导 IGFBP-2 下调,而当癌症发生时, IGFBP-2 的高水平表达与 PTEN 的丧失相关,因此,表达量升高的 IGFBP-2 可能成为癌症的预后标志物^[95]。目前 IGFBP-2 已在多种癌症中证实了其作用,如前列腺癌细胞分泌的 IGFBP-2,与正常组织相比,转移性前列腺癌患者血清中的 IGFBP-2 显著增加^[97];乳腺癌中,与良性病变相比, IGFBP-2 在大多数类型和等级的乳腺癌组织中始终高度表达,同时, IGFBP-2 的表达水平与恶性程度密切相关, IGFBP-2 的细胞质水平和细胞表面结合增加是原位和浸润性乳腺癌的一个显著特征^[98]。

在神经胶质瘤方面, Han 等^[76]在 2014 年通过 ELISA 检测对 83 名神经胶质瘤病例的分析表明,化疗加放疗后血浆 IGFBP-2 水平与患者总生存期(OS)显著相关,血浆 IGFBP-2 高水平组(水平高于 627.5 ng/mL)的患者平均 OS 为(303.6 \pm 24.9) d 明显低于血浆 IGFBP-2 低水平组(水平低于 627.5 ng/mL)的患者,为(589.3 \pm 29.8) d。同时,此项研究证实较高的血浆 IGFBP-2 水平与较低的卡氏评分(karnofsky performance status, KPS)相关^[99],KPS 是总体全身状态的常用指标,也是众所周知的预后预测指标。Santosh 等^[74]采

用 qPCR 及免疫组化等方式对 223 个神经胶质瘤样本进行了检测, 相比于健康组织(0%), 神经胶质瘤中 IGFBP-2 的表达水平(30.07%±17.15%)明显增高。以上研究表明, IGFBP-2 在神经胶质瘤治疗中具有评估预后水平的潜力, 是神经胶质瘤潜在的预后标志物。

2.2.2 CD26

CD26/二肽基肽酶(dipeptidyl peptidase-4, DPP4)是一种存在于身体许多细胞类型中的膜结合蛋白, 并且以可溶形式存在于体液中。已有的证据表明, 各种原发性肿瘤和转移灶都会在不同程度上表达 CD26/DPP4^[100]。CD26 具体通过调节肠促胰岛素激素、趋化因子等多肽活性, 从而对肿瘤进程起到促进作用。

神经胶质瘤中 CD26/DDP4 的上调促进了肿瘤进展, 一种可能的机制是 DPP4 切割趋化因子 CXCL12, 在 CXCL12 刺激神经胶质瘤生长的同时诱导 CXCL12 上调^[101], Zhang 等^[77]在一项对 70 例神经胶质瘤患者与随机健康对照的分析中发现, 神经胶质瘤患者血清 CD26 水平 [WHO I 级(496.10±16.67) pg/mL]明显高于健康组(408.30±10.31) pg/mL, 且在 2 级神经胶质瘤患者中发现, 生存率与 CD26 水平呈负相关, 低 CD26 水平 2 级胶质瘤患者的总生存期约为 17 年, 高 CD26 水平 2 级胶质瘤患者的总生存期约为 15 年($P<0.000 1$)。以上结果证明 CD26 表达水平升高变化与神经胶质瘤预后不良进展相关。

3 总结与展望

多年来的临床经验告诉我们理想诊断相关生物标志物要求具有较强的敏感性和特异性, 并能够在神经胶质瘤发生的早期阶段被检测到, 本文介绍了较为典型或前沿的几种前景较好的生物标志物(表 1), 如 *IDH1/2* 基因突变,

BRAF 基因突变或融合, 循环肿瘤细胞, 微小 RNA 和 LncRNA 已在临床上应用, 具有较高的敏感性和特异性(分别为 88.0%和 87.0%, 94.0%和 94.0%, 94.0%和 100.0%, 85.0%和 90.0%, 86.0%和 87.5%)。同时, 微创性或无创性是理想诊断相关生物标志物的另一个标准。病灶的局部侵入性取样会可能无法完全捕捉肿瘤内的异质性, 并对患者造成了一定的安全风险, 也很难跟进肿瘤的后续发展状态。相比之下, 液体活检, 即用血液等体液样本代替活检组织样本, 大大提高了取样的安全性和便捷性。从侵入性角度分析, 相比于组织来源的诊断, 采取无创采样的循环肿瘤细胞、微小 RNA 和 LncRNA 等相关生物标志物具有更好的应用前景。

由于血脑屏障的存在以及其浸润性生长模式, 神经胶质瘤的组织活检较为困难, 所以体液水平的标志物开发在未来具有更好前景, 如 CTCs、miRNA、LncRNA 等, 这些生物标志物能够在微创甚至无创条件下被采集, 进而辅助神经胶质瘤诊断、分型及评估预后, 弥补了影像学在治疗周期中的缺陷, 对于治疗方案的制定有着非常重要的意义, 有利于疾病的早期诊断和后期复发监测。虽然近年来神经胶质瘤生物标志物的研究进展较快, 但正在开发或试验的标志物, 如端粒酶活性、*p53* 突变等, 仍需要更明确的分子评估、样本统计从而确保这些开发中的标志物能够在临床诊断或预后发挥应有的作用, 同时也能够允许分子特征的更复杂的患者定制治疗方案。

随着对神经胶质瘤研究的不断深入, 分子机制和靶向治疗已经得到了更多的关注。未来的诊断和治疗将越来越多的依赖于生物标志物确定肿瘤的进展, 再通过分子靶向治疗以特异性消除肿瘤细胞, 从而建立个体化精确诊疗方案, 最大化提高肿瘤治疗效果。

REFERENCES

- [1] OSTROM QT, BAUCHET L, DAVIS FG, DELTOUR I, FISHER JL, LANGER CE, PEKMEZCI M, SCHWARTZBAUM JA, TURNER MC, WALSH KM, WRENSCH MR, BARNHOLTZ-SLOAN JS. The epidemiology of glioma in adults: a state of the science review[J]. *Neuro-oncology*, 2014, 16(7): 896-913.
- [2] ELIZABETH DAVIS M. Epidemiology and overview of gliomas[J]. *Seminars in Oncology Nursing*, 2018, 34(5): 420-429.
- [3] WEN PY, PACKER RJ. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: clinical implications[J]. *Neuro-oncology*, 2021, 23(8): 1215-1217.
- [4] KUMAR V, GU YH, BASU S, BERGLUND A, ESCHRICH SA, SCHABATH MB, FORSTER K, AERTS HJWL, DEKKER A, FENSTERMACHER D, GOLDFOF DB, HALL LO, LAMBIN P, BALAGURUNATHAN Y, GATENBY RA, GILLIES RJ. Radiomics: the process and the challenges[J]. *Magnetic Resonance Imaging*, 2012, 30(9): 1234-1248.
- [5] KIM Y, CHO HH, KIM ST, PARK H, NAM D, KONG DS. Radiomics features to distinguish glioblastoma from primary central nervous system lymphoma on multi-parametric MRI[J]. *Neuroradiology*, 2018, 60(12): 1297-1305.
- [6] HARGADON KM, JOHNSON CE, WILLIAMS CJ. Immune checkpoint blockade therapy for cancer: an overview of FDA-approved immune checkpoint inhibitors[J]. *International Immunopharmacology*, 2018, 62: 29-39.
- [7] WU L, QU X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(10): 2963-2997.
- [8] CHAMBERS CA, SULLIVAN TJ, TRUONG T, ALLISON JP. Secondary but not primary T cell responses are enhanced in CTLA-4-deficient CD8⁺ T cells[J]. *European Journal of Immunology*, 1998, 28(10): 3137-3143.
- [9] COUGHLAN D, GIANFERANTE M, LYNCH CF, STEVENS JL, HARLAN LC. Treatment and survival of childhood neuroblastoma: evidence from a population-based study in the United States[J]. *Pediatric Hematology and Oncology*, 2017, 34(5): 320-330.
- [10] de WIT MC, de BRUIN HG, EIJKENBOOM W, SILLEVIS SMITT PE, van den BENT MJ. Immediate post-radiotherapy changes in malignant glioma can mimic tumor progression[J]. *Neurology*, 2004, 63(3): 535-537.
- [11] DESCOTES F, KARA N, DECAUSSIN-PETRUCCI M, PIATON E, GEIGUER F, RODRIGUEZ-LAFRASSE C, TERRIER JE, LOPEZ J, RUFFION A. Non-invasive prediction of recurrence in bladder cancer by detecting somatic TERT promoter mutations in urine[J]. *British Journal of Cancer*, 2017, 117(4): 583-587.
- [12] WOOD MD, HALFPENNY AM, MOORE SR. Applications of molecular neuro-oncology—a review of diffuse glioma integrated diagnosis and emerging molecular entities[J]. *Diagnostic Pathology*, 2019, 14(1): 29.
- [13] RIEMENSCHNEIDER MJ, JEUKEN JWM, WESSELING P, REIFENBERGER G. Molecular diagnostics of gliomas: state of the art[J]. *Acta Neuropathologica*, 2010, 120(5): 567-584.
- [14] FRIEDRICH M, SANKOWSKI R, BUNSE L, KILIAN M, GREEN E, RAMALLO GUEVARA C, PUSCH S, POSCHET G, SANGHVI K, HAHN M, BUNSE T, MÜNCH P, GEGNER HM, SONNER JK, von LANDENBERG A, CICHON F, ASLAN K, TROBISCH T, SCHIRMER L, ABU-SAMMOUR D, et al. Tryptophan metabolism drives dynamic immunosuppressive myeloid states in IDH-mutant gliomas[J]. *Nature Cancer*, 2021, 2(7): 723-740.
- [15] YAN H, PARSONS DW, JIN GL, McLENDON R, RASHEED BA, YUAN WS, KOS I, BATINIC-HABERLE I, JONES S, RIGGINS GJ, FRIEDMAN H, FRIEDMAN A, REARDON D, HERNDON J, KINZLER KW, VELCULESCU VE, VOGELSTEIN B, BIGNER DD. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2009, 360(8): 765-773.
- [16] BALSS J, MEYER J, MUELLER W, KORSHUNOV A, HARTMANN C, von DEIMLING A. Analysis of the *IDH1* codon 132 mutation in brain tumors[J]. *Acta Neuropathologica*, 2008, 116(6): 597-602.
- [17] GUPTA K, SALUNKE P. Molecular markers of glioma: an update on recent progress and perspectives[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2012, 138(12): 1971-1981.
- [18] HORBINSKI C, KELLY L, NIKIFOROV YE, DURSO MB, NIKIFOROVA MN. Detection of *IDH1* and *IDH2* mutations by fluorescence melting curve analysis as a diagnostic tool for brain biopsies[J]. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 2010, 12(4): 487-492.
- [19] ZHAO J, HUANG YQ, SONG YK, XIE DX, HU MS,

- QIU HS, CHU JP. Diagnostic accuracy and potential covariates for machine learning to identify IDH mutations in glioma patients: evidence from a meta-analysis[J]. *European Radiology*, 2020, 30(8): 4664-4674.
- [20] CAPPER D, WEISSERT S, BALSS J, HABEL A, MEYER J, JÄGER D, ACKERMANN U, TESSMER C, KORSHUNOV A, ZENTGRAF H, HARTMANN C, von DEIMLING A. Characterization of R132H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors[J]. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 2010, 20(1): 245-254.
- [21] KATO Y, JIN GL, KUAN CT, McLENDON RE, YAN H, BIGNER DD. A monoclonal antibody IMab-1 specifically recognizes IDH1^{R132H}, the most common glioma-derived mutation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 390(3): 547-551.
- [22] TOSUNER Z, GEÇER MÖ, HATIBOĞLU MA, ABDALLAH A, TURNA S. BRAF V600E mutation and BRAF VE1 immunopositivity profiles in different types of glioblastoma[J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(2): 2402-2408.
- [23] SCHINDLER G, CAPPER D, MEYER J, JANZARIK W, OMRAN H, HEROLD-MENDE C, SCHMIEDER K, WESSELING P, MAWRIN C, HASSELBLATT M, LOUIS DN, KORSHUNOV A, PFISTER S, HARTMANN C, PAULUS W, REIFENBERGER G, von DEIMLING A. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma[J]. *Acta Neuropathologica*, 2011, 121(3): 397-405.
- [24] SHERVINGTON A, PATEL R, LU C, CRUICKSHANKS N, LEA R, ROBERTS G, DAWSON T, SHERVINGTON L. Telomerase subunits expression variation between biopsy samples and cell lines derived from malignant glioma[J]. *Brain Research*, 2007, 1134: 45-52.
- [25] MONTAGUT C, SETTLEMAN J. Targeting the RAF-MEK-ERK pathway in cancer therapy[J]. *Cancer Letters*, 2009, 283(2): 125-134.
- [26] HAYES J, THYGESEN H, TUMILSON C, DROOP A, BOISSINOT M, HUGHES TA, WESTHEAD D, ALDER JE, SHAW L, SHORT SC, LAWLER SE. Prediction of clinical outcome in glioblastoma using a biologically relevant nine-microRNA signature[J]. *Molecular Oncology*, 2015, 9(3): 704-714.
- [27] ARSHAD H, AHMAD Z, HASAN SH. Gliomas: correlation of histologic grade, Ki67 and p53 expression with patient survival[J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 2010, 11(6): 1637-1640.
- [28] KORSHUNOV A, MEYER J, CAPPER D, CHRISTIANS A, REMKE M, WITT H, PFISTER S, von DEIMLING A, HARTMANN C. Combined molecular analysis of BRAF and IDH1 distinguishes pilocytic astrocytoma from diffuse astrocytoma[J]. *Acta Neuropathologica*, 2009, 118(3): 401-405.
- [29] ZHANG HK, YUAN FN, QI YZ, LIU BH, CHEN QX. Circulating tumor cells for glioma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 607150.
- [30] ZHOU Q, LIU J, QUAN J, LIU WL, TAN H, LI WP. microRNAs as potential biomarkers for the diagnosis of glioma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Science*, 2018, 109(9): 2651-2659.
- [31] YAN YL, XU ZJ, LI Z, SUN LQ, GONG ZC. An insight into the increasing role of lncRNAs in the pathogenesis of gliomas[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, 10: 53.
- [32] ASCIERTO P, KIRKWOOD J, GROB J, SIMEONE E, GRIMALDI A, MAIO M, PALMIERI G, TESTORI A, MARINCOLA F, MOZZILLO N. The role of BRAF V600 mutation in melanoma[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2012, 10: 85.
- [33] CHI AS, BATCHELOR TT, YANG D, DIAS-SANTAGATA D, BORGER DR, ELLISEN LW, IAFRATE AJ, LOUIS DN. BRAF V600E mutation identifies a subset of low-grade diffusely infiltrating gliomas in adults[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2013, 31(14): e233-e236.
- [34] MISTRY M, ZHUKOVA N, MERICO D, RAKOPOULOS P, KRISHNATRY R, SHAGO M, STAVROPOULOS J, ALON N, POLE JD, RAY PN, NAVICKIENE V, MANGEREL J, REMKE M, BUCZKOWICZ P, RAMASWAMY V, STUCKLIN AG, LI M, YOUNG EJ, ZHANG C, CASTELO-BRANCO P, BAKRY D, et al. BRAF mutation and CDKN2A deletion define a clinically distinct subgroup of childhood secondary high-grade glioma[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2015, 33(9): 1015-1022.
- [35] ROBINSON JP, VANBROCKLIN MW, GUILBEAULT AR, SIGNORELLI DL, BRANDNER S, HOLMEN SL.

- Activated BRAF induces gliomas in mice when combined with Ink4a/Arf loss or Akt activation[J]. *Oncogene*, 2010, 29(3): 335-344.
- [36] LEE D, CHO YH, KANG SY, YOON N, SUNG CO, SUH YL. BRAF V600E mutations are frequent in dysembryoplastic neuroepithelial tumors and subependymal giant cell astrocytomas[J]. *Journal of Surgical Oncology*, 2015, 111(3): 359-364.
- [37] SCHIFFMAN JD, VANDENBERG SR, FLAHERTY P, POLLEY MY C, YU MM, FISHER PG, ROWITCH DH, FORD JM, BERGER MS, JI H, GUTMANN DH. Oncogenic BRAF mutation with CDKN2A inactivation is characteristic of a subset of pediatric malignant astrocytomas[J]. *Cancer Research*, 2010, 70(2): 512-519.
- [38] DUFFY MJ, SYNNOTT NC, CROWN J. Mutant p53 as a target for cancer treatment[J]. *European Journal of Cancer*, 2017, 83: 258-265.
- [39] MULLER PAJ, VOUSDEN KH, NORMAN JC. p53 and its mutants in tumor cell migration and invasion[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2011, 192(2): 209-218.
- [40] MAO H, LEBRUN DG, YANG JX, ZHU VF, LI M. Deregulated signaling pathways in glioblastoma multiforme: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. *Cancer Investigation*, 2012, 30(1): 48-56.
- [41] van MEYEL DJ, RAMSAY DA, CASSON AG, KEENEY M, CHAMBERS AF, CAIRNCROSS JG. p53 mutation, expression, and DNA ploidy in evolving gliomas: evidence for two pathways of progression[J]. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 1994, 86(13): 1011-1017.
- [42] LUDWIG K, KORNBLUM HI. Molecular markers in glioma[J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2017, 134(3): 505-512.
- [43] OHGAKI H, DESSEN P, JOURDE B, HORSTMANN S, NISHIKAWA T, di PATRE PL, BURKHARD C, SCHÜLER D, PROBST-HENSCH NM, MAIORA PC, BAEZA N, PISANI P, YONEKAWA Y, YASARGIL MG, LÜTOLF UM, KLEIHUES P. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study[J]. *Cancer Research*, 2004, 64(19): 6892-6899.
- [44] 郭玥, 吴霞, 夏帆, 娄筱叮. 端粒酶活性检测研究进展[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(12): 1819-1826.
- GUO Y, WU X, XIA F, LOU XD. A review on telomerase activity detection strategies[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2021, 40(12): 1819-1826 (in Chinese).
- [45] McNAMARA MG, SAHEBJAM S, MASON WP. Emerging biomarkers in glioblastoma[J]. *Cancers*, 2013, 5(3): 1103-1119.
- [46] DONG CK, MASUTOMI K, HAHN WC. Telomerase: regulation, function and transformation[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2005, 54(2): 85-93.
- [47] WU L, QU XG. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(10): 2963-2997.
- [48] SPIEGL-KREINECKER S, LÖTSCH D, GHANIM B, PIRKER C, MOHR T, LAABER M, WEIS S, OLSCHOWSKI A, WEBERSINKE G, PICHLER J, BERGER W. Prognostic quality of activating TERT promoter mutations in glioblastoma: interaction with the rs2853669 polymorphism and patient age at diagnosis[J]. *Neuro-oncology*, 2015, 17(9): 1231-1240.
- [49] BOLDRINI L, PISTOLESI S, GISFREDI S, URSINO S, ALI G, PIERACCI N, BASOLO F, PARENTI G, FONTANINI G. Telomerase activity and hTERT mRNA expression in glial tumors[J]. *International Journal of Oncology*, 2006, 28(6): 1555-1560.
- [50] GUPTA GP, MASSAGUÉ J. Cancer metastasis: building a framework[J]. *Cell*, 2006, 127(4): 679-695.
- [51] KIM YN, KOO KH, SUNG JY, YUN UJ, KIM H. Anoikis resistance: an essential prerequisite for tumor metastasis[J]. *International Journal of Cell Biology*, 2012, 2012: 306879.
- [52] LEE JS, MAGBANUA MJM, PARK JW. Circulating tumor cells in breast cancer: applications in personalized medicine[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2016, 160(3): 411-424.
- [53] HANSEN A, RIEBENSAHM C, MOHME M, JOOSSE SA, VELTHAUS JL, BERGER LA, BERNREUTHER C, GLATZEL M, LOGES S, LAMSZUS K, WESTPHAL M, RIETHDORF S, PANTEL K, WIKMAN H. Frequency of circulating tumor cells (CTC) in patients with brain metastases: implications as a risk assessment marker in oligo-metastatic disease[J]. *Cancers*, 2018, 10(12): 527.
- [54] ARMSTRONG TS, PRABHU S, ALDAPE K, HOSSAN B, KANG S, CHILDRESS A, TOLENTINO L, GILBERT MR. A case of soft tissue metastasis from glioblastoma and review of the literature[J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2011, 103(1): 167-172.
- [55] van BUSSEL MTJ, PLUIM D, MILOJKOVIC KERKLAAN B, BOL M, SIKORSKA K, LINDERS DTC, van den BROEK D, BEIJNEN JH, SCHELLENS JHM, BRANDSMA D. Circulating epithelial tumor

- cell analysis in CSF in patients with leptomeningeal metastases[J]. *Neurology*, 2020, 94(5): e521-e528.
- [56] LEE RC, FEINBAUM RL, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [57] HUMMEL R, MAURER J, HAIER J. MicroRNAs in brain tumors[J]. *Molecular Neurobiology*, 2011, 44(3): 223-234.
- [58] GARZON R, FABBRI M, CIMMINO A, CALIN GA, CROCE CM. MicroRNA expression and function in cancer[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2006, 12(12): 580-587.
- [59] HAN L, YUE X, ZHOU X, LAN FM, YOU G, ZHANG W, ZHANG KL, ZHANG CZ, CHENG JQ, YU SZ, PU PY, JIANG T, KANG CS. MicroRNA-21 expression is regulated by β -catenin/STAT3 pathway and promotes glioma cell invasion by direct targeting RECK[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2012, 18(7): 573-583.
- [60] QIAN X, ZHAO P, LI W, SHI ZM, WANG L, XU Q, WANG M, LIU N, LIU LZ, JIANG BH. MicroRNA-26a promotes tumor growth and angiogenesis in glioma by directly targeting prohibitin[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2013, 19(10): 804-812.
- [61] XING C, SUN SG, YUE ZQ, BAI F. Role of lncRNA LUCAT1 in cancer[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 134: 111158.
- [62] RYNKEVICIENE R, SIMIENE J, STRAINIENE E, STANKEVICIUS V, USINSKIENE J, MISEIKYTE KAUBRIENE E, MESKINYTE I, CICENAS J, SUZIEDELIS K. Non-coding RNAs in glioma[J]. *Cancers*, 2018, 11(1): 17.
- [63] ZHI F, WANG Q, XUE L, SHAO NY, WANG R, DENG DN, WANG SN, XIA XW, YANG YL. The use of three long non-coding RNAs as potential prognostic indicators of astrocytoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135242.
- [64] CHEN L, WANG CL, SUN HY, WANG JX, LIANG YC, WANG Y, WONG G. The bioinformatics toolbox for circRNA discovery and analysis[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, 22(2): 1706-1728.
- [65] CHEN L, SHAN G. CircRNA in cancer: fundamental mechanism and clinical potential[J]. *Cancer Letters*, 2021, 505: 49-57.
- [66] ZHANG HY, ZHU L, BAI M, LIU Y, ZHAN Y, DENG T, YANG HO, SUN W, WANG XY, ZHU KG, FAN Q, LI JL, YING GG, BA Y. Exosomal circRNA derived from gastric tumor promotes white adipose browning by targeting the miR-133/PRDM16 pathway[J]. *International Journal of Cancer*, 2019, 144(10): 2501-2515.
- [67] FAN JN, WANG YY, LIANG X, ZHOU FL, LI SJ, LI XJ, LI Y. Roles of circular RNAs in regulating the development of glioma[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2022: 1-15.
- [68] REIFENBERGER J, REIFENBERGER G, LIU L, JAMES CD, WECHSLER W, COLLINS VP. Molecular genetic analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p[J]. *The American Journal of Pathology*, 1994, 145(5): 1175-1190.
- [69] IDBAIH A, MARIE Y, PIERRON G, BRENNETOT C, HOANG-XUAN K, KUJAS M, MOKHTARI K, SANSON M, LEJEUNE J, AURIAS A, DELATTRE O, DELATTRE JY. Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas[J]. *Annals of Neurology*, 2005, 58(3): 483-487.
- [70] CAIRNCROSS JG, UEKI K, ZLATESCU MC, LISLE DK, FINKELSTEIN DM, HAMMOND RR, SILVER JS, STARK PC, MACDONALD DR, INO Y, RAMSAY DA, LOUIS DN. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, 90(19): 1473-1479.
- [71] WELLER M, BERGER H, HARTMANN C, SCHRAMM J, WESTPHAL M, SIMON M, GOLDBRUNNER R, KREX D, STEINBACH JP, OSTERTAG CB, LOEFFLER M, PIETSCH T, von DEIMLING A, NETWORK GG. Combined 1p/19q loss in oligodendroglial tumors: predictive or prognostic biomarker?[J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2007, 13(23): 6933-6937.
- [72] HEGI ME, DISERENS AC, GORLIA T, HAMOU MF, de TRIBOLET N, WELLER M, KROS JM, HAINFELLNER JA, MASON W, MARIANI L, BROMBERG JEC, HAU P, MIRIMANOFF RO, CAIRNCROSS JG, JANZER RC, STUPP R. *MGMT* gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 352(10): 997-1003.
- [73] WELLER M, STUPP R, HEGI ME, van den BENT M, TONN JC, SANSON M, WICK W, REIFENBERGER G. Personalized care in neuro-oncology coming of age: why we need *MGMT* and 1p/19q testing for malignant

- glioma patients in clinical practice[J]. *Neuro-Oncology*, 2012, 14(suppl_4): iv100-iv108.
- [74] SANTOSH V, ARIVAZHAGAN A, SREEKANTHREDDY P, SRINIVASAN H, THOTA B, SRIVIDYA MR, VRINDA M, SRIDEVI S, SHAILAJA BC, SAMUEL C, PRASANNA KV, THENNARASU K, BALASUBRAMANIAM A, CHANDRAMOULI BA, HEGDE AS, SOMASUNDARAM K, KONDAIAH P, RAO MRS. Grade-specific expression of insulin-like growth factor-binding proteins-2, -3, and-5 in astrocytomas: IGFBP-3 emerges as a strong predictor of survival in patients with newly diagnosed glioblastoma[J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: a Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 2010, 19(6): 1399-1408.
- [75] HE SM, ZHAO ZW, WANG Y, ZHAO JP, WANG L, HOU F, GAO GD. Reduced expression of SMAD4 in gliomas correlates with progression and survival of patients[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2011, 30(1): 70.
- [76] HAN S, MENG LX, HAN S, WANG YJ, WU AH. Plasma IGFBP-2 levels after postoperative combined radiotherapy and chemotherapy predict prognosis in elderly glioblastoma patients[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93791.
- [77] HAN YD, SUN YX, ZHANG YS, XIA QX. High *DPP4* expression predicts poor prognosis in patients with low-grade glioma[J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(3): 2189-2196.
- [78] von DEIMLING A, KORSHUNOV A, HARTMANN C. The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations[J]. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 2011, 21(1): 74-87.
- [79] STUPP R, MASON WP, van den BENT MJ, WELLER M, FISHER B, TAPHOORN MJB, BELANGER K, BRANDES AA, MAROSI C, BOGDAHN U, CURSCHMANN J, JANZER RC, LUDWIN SK, GORLIA T, ALLGEIER A, LACOMBE D, EISENHAUER E, MIRIMANOFF RO, European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 352(10): 987-996.
- [80] YAN HC, WANG W, DOU CW, TIAN FM, QI ST. Securin promotes migration and invasion via matrix metalloproteinases in glioma cells[J]. *Oncology Letters*, 2015, 9(6): 2895-2901.
- [81] BISTER V, SALMELA MT, KARJALAINEN-LINDSBERG M, URJA J, LOHI J, PUOLAKKAINEN P, LOPEZ-OTIN C, SAARIALHO-KERE U. Differential expression of three matrix metalloproteinases, MMP-19, MMP-26, and MMP-28, in normal and inflamed intestine and colon cancer[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2004, 49(4): 653-661.
- [82] PIEK E, WESTERMARK U, KASTEMAR M, HELDIN CH, van ZOELLEN EJ, NISTÉR M, TEN DIJKE P. Expression of transforming-growth-factor (TGF)-beta receptors and Smad proteins in glioblastoma cell lines with distinct responses to TGF-beta1[J]. *International Journal of Cancer*, 1999, 80(5): 756-763.
- [83] 张洪欣, 马瑞敏, 张国军, 康熙雄. 胶质瘤预后相关分子标志物的研究进展[J]. *中国医药生物技术*, 2016, 11(1): 58-63.
- ZHANG HX, MA RM, ZHANG GJ, KANG XX. Research progress of molecular markers related to prognosis of glioma[J]. *Chinese Medicinal Biotechnology*, 2016, 11(1): 58-63 (in Chinese).
- [84] ILLMAN SA, LEHTI K, KESKI-OJA J, LOHI J. Epilysin (MMP-28) induces TGF-beta mediated epithelial to mesenchymal transition in lung carcinoma cells[J]. *Journal of Cell Science*, 2006, 119(Pt 18): 3856-3865.
- [85] WANG XP, CHEN X, SUN L, BI XL, HE HT, CHEN L, PANG JF. The function of MMP-28/TGF-beta induced cell apoptosis in human glioma cells[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018, 16(4): 2867-2874.
- [86] DERYNCK R, AKHURST RJ, BALMAIN A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression[J]. *Nature Genetics*, 2001, 29(2): 117-129.
- [87] TACHIBANA I, IMOTO M, ADJEI PN, GORES GJ, SUBRAMANIAM M, SPELSBERG TC, URRUTIA R. Overexpression of the TGFbeta-regulated zinc finger encoding gene, TIEG, induces apoptosis in pancreatic epithelial cells[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1997, 99(10): 2365-2374.
- [88] LU ZM, XU SC. ERK1/2 MAP kinases in cell survival and apoptosis[J]. *IUBMB Life*, 2006, 58(11): 621-631.
- [89] KRETZSCHMAR M, DOODY J, TIMOKHINA I, MASSAGUÉ J. A mechanism of repression of TGFbeta/Smad signaling by oncogenic Ras[J]. *Genes*

- & Development, 1999, 13(7): 804-816.
- [90] MOZ S, BASSO D, BOZZATO D, GALOZZI P, NAVAGLIA F, NEGM OH, ARRIGONI G, ZAMBON CF, PADOAN A, TIGHE P, TODD I, FRANCHIN C, PEDRAZZOLI S, PUNZI L, PLEBANI M. SMAD4 loss enables EGF, TGF β 1 and S100A8/A9 induced activation of critical pathways to invasion in human pancreatic adenocarcinoma cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 69927-69944.
- [91] ZHAO M, MISHRA L, DENG CX. The role of TGF- β /SMAD4 signaling in cancer[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2018, 14(2): 111-123.
- [92] HAHN SA, SEYMOUR AB, HOQUE AT, SCHUTTE M, da COSTA LT, REDSTON MS, CALDAS C, WEINSTEIN CL, FISCHER A, YEO CJ. Allelotype of pancreatic adenocarcinoma using xenograft enrichment[J]. *Cancer Research*, 1995, 55(20): 4670-4675.
- [93] WANG H, STEPHENS B, von HOFF DD, HAN HY. Identification and characterization of a novel anticancer agent with selectivity against deleted in pancreatic cancer locus 4 (DPC4)-deficient pancreatic and colon cancer cells[J]. *Pancreas*, 2009, 38(5): 551-557.
- [94] 郑双华, 王泽夏, 刘菲, 李敏才. 人胶质瘤中胰岛素样生长因子结合蛋白 2 表达与功能[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2020, 41(1): 52-57.
ZHENG SH, WANG ZX, LIU F, LI MC. Expression and function of insulin-1 like growth factor binding protein 2 gene in human glioma[J]. *Medical Journal of Wuhan University*, 2020, 41(1): 52-57 (in Chinese).
- [95] RUSSO VC, AZAR WJ, YAU SW, SABIN MA, WERTHER GA. IGFBP-2: the dark horse in metabolism and cancer[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2015, 26(3): 329-346.
- [96] LEVITT RJ, GEORGESCU MM, POLLAK M. PTEN-induction in U251 glioma cells decreases the expression of insulin-like growth factor binding protein-2[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, 336(4): 1056-1061.
- [97] COHEN P, PEEHL DM, STAMEY TA, WILSON KF, CLEMMONS DR, ROSENFELD RG. Elevated levels of insulin-like growth factor-binding protein-2 in the serum of prostate cancer patients[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1993, 76(4): 1031-1035.
- [98] WANG HM, ARUN BK, WANG H, FULLER GN, ZHANG W, MIDDLETON LP, SAHIN AA. IGFBP2 and IGFBP5 overexpression correlates with the lymph node metastasis in T1 breast carcinomas[J]. *The Breast Journal*, 2008, 14(3): 261-267.
- [99] STATHAKI M, STAMATIOU ME, MAGIORIS G, SIMANTIRIS S, SYRIGOS N, DOURAKIS S, KOUTSILIERIS M, ARMAKOLAS A. The role of kisspeptin system in cancer biology[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2019, 142: 130-140.
- [100] ENZ N, VLIEGEN G, de MEESTER I, JUNGRAITHMAYR W. CD26/DPP4-a potential biomarker and target for cancer therapy[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2019, 198: 135-159.
- [101] STREMENOVA J, KREPELA E, MARES V, TRIM J, DBALY V, MAREK J, VANICKOVA Z, LISA V, YEA C, SEDO A. Expression and enzymatic activity of dipeptidyl peptidase-IV in human astrocytic tumours are associated with tumour grade[J]. *International Journal of Oncology*, 2007, 31(4): 785-792.

(本文责编 陈宏宇)