

·病例报告·

粤北地区遗传性弥漫型胃癌与 CDH1 种系突变关系初探

周学付^{1,2}, 陈国星¹, 彭晓飞¹ (1.广州医科大学附属第六医院胃肠外科, 广东 广州, 511518; 2.中山大学附属第七医院胃肠外科, 广东 深圳, 518017)

【摘要】 目的 通过5例临床标准遗传性弥漫型胃癌综合征(HDGC)病人外周血细胞 CDH1 基因测序,探讨粤北地区 HDGC 形成与 CDH1 种系突变可能的关系。**方法** 2010年6月~2016年12月期间,我院胃肠外科手术治疗胃癌病人425例,通过临床和病理资料分析,筛选出符合国际胃癌联盟制定的临床标准 HDGC 病例5例。采集病人外周血提取 DNA,对 CDH1 基因全部外显子编码区进行测序。**结果** 5例病人外周血细胞 CDH1 基因外显子测序未检测到明确致病性突变。**结论** 粤北地区 HDGC 形成与 CDH1 种系突变关系仍不清楚,有待更多大样本检测的进一步探究。

【关键词】 遗传性弥漫型胃癌; 种系突变; E-钙粘素蛋白基因; CDH1

To explore the possible relationship between hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) and CDH1 germline mutations in North region of Guangdong ZHOU Xue-fu^{1,2}, CHEN Guo-xing¹, PENG Xiao-fei¹ (1.Gastrointestinal surgical department, the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University; 2.The Seventh Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangdong Shenzhen, 518017)

Corresponding author: ZHOU Xue-fu, E-mail: 416579240@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the possible relationship between hereditary diffuse gastric cancer syndrome (HDGC) and CDH1 germline mutations by peripheral blood cell CDH1 gene sequencing of 5 patients conforming to the clinical diagnosis of HDGC from North region in Guangdong. **Methods** 425 gastric cancer patients were operated in our department from June 2010 to December 2016. Clinical features, especially the family history and pathology, of 5 patients conformed to HDGC according to the clinical criteria set by International Gastric Cancer Linkage Consortium. No less than 2 ml peripheral blood was extracted from 5 patients, with DNA extracted and all exon code areas of CDH1 gene subsequently sequenced. **Results** No any pathogenic mutations of CDH1 exon code areas were detected in all patients. **Conclusions** The relationship between CDH1 germline mutations and HDGC in North region of Guangdong is still unclear, with more large-sample sequences required to detect the local feature.

【Key words】 Hereditary diffuse gastric cancer; Germline mutation; E-cadherin; CDH1

胃癌(gastric cancer, GC)位居肿瘤发病的第3~4位,全球每年新确诊病人约950000例;GC相关死亡每年约720000例(占肿瘤相关死亡人群10%),位居肿瘤相关死亡的第2~3位^[1,2]。GC发病在地域、种族、性别和个体间均表现出高度异质性,原因在于发病分子机制的复杂性。癌症是细胞多基因突变叠加后的结果,本质上是遗传性疾病,

但真正属于遗传性癌综合征的仅约1%^[3]。胃癌人群中约5%~10%表现为家族聚集性,绝大多数的遗传学机制并不清楚。遗传性弥漫型胃癌(hereditary diffuse gastric cancer, HDGC)是一种浸润胃壁导致胃壁增厚(呈“皮革胃”)而无明显肿块的低分化腺癌类型,为常染色体显性遗传,约占胃癌群体的1%~3%,且为首个发现明确与钙粘素-1(Cadherin-1, CDH1)基因种系突变有关的遗传性胃癌综合征^[3]。

国际胃癌联盟(International Gastric Cancer Linkage Consortium, IGCLC)制定了HDGC目标人

经费来源:广东省医学科学技术研究基金会资助,项目编号:WSTJJ2012112032010619661212203X
通信作者:周学付, E-mail: 416579240@qq.com

群基因筛查的临床标准^[3,4]:①一级至二级亲属中胃癌成员≥2例,至少1例弥漫型胃癌(diffuse gastric cancer,DGC);②<40岁的弥漫型胃癌;③个人或家族史(一至二级亲属)中有弥漫型胃癌和小叶乳腺癌,且1例诊断年龄<50岁。此外胃癌病人有以下情况者^[3]:①本人双侧小叶乳腺癌病史,或家族有2例<50岁的小叶乳腺癌;②先天性唇、腭裂;③印戒细胞原位癌,即印戒样癌细胞未浸润基底膜但沿黏液腺基底膜表面排列(Paget样播散)。令人困惑的是,HDGC报道多来自于胃癌低发区(欧美),而非胃癌高发区(东亚地区)。韩国和日本胃癌高发地区据报道临床标准的HDGC约0.3%~3%,中国尚缺乏明确的数据^[5]。本研究通过5例符合临床标准的HDGC病人外周血细胞CDH1基因测序,初探发生在粤北地区的HDGC与CDH1基因突变之间的联系。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2010年6月~2016年12月期间,广州医科大学附属第六医院胃肠外科手术治疗胃癌病人425例,从中筛选出符合临床标准HDGC病例5例。收集病人家族史情况和术后病理诊断,并根据WHO组织学分型,转化为Laurén病理分型,5例均符合Laurén的DGC类型,详细资料见表1。

1.2 基因测序 采集病人外周血≥2 ml于EDTA抗凝管中摇匀,标本送广州金域医学检验中检测。检测程序如下:①从EDTA抗凝外周血中提取DNA;②对CDH1基因全部外显子编码区进行测

序;③当质控标准可接受时,于测序数据分析软件进行数据分析,标准序列来源于NCBI和UCSC基因数据库;④检测到突变的位点均会使用其它检测方法进行结果确认;⑤突变的位点与OMIM、HGMD、LOVD、NCBI等多个病理数据库进行对比。

2 结果

该研究期间内共计发现5例满足HDGC临床诊断标准的病人,约占全部胃癌病人的1.2%。通过高通量基因测序,本研究共对CDH1基因的16个外显子内的共计50个明确的突变位点进行了检测(图1,引自HGMD®)。

然而,通过反复验证,未在这5例病人的CDH1基因外显子中检测到明确致病的突变位点。此外,常规胃癌外显子位点突变(BRCA2,SDHB,PRSS1,ATM,MSR1等)未在本研究中进一步检测。

3 讨论

目前认为,多数肿瘤都存在至少一个癌变驱动基因(driver gene),CDH1种系突变便是HDGC形成的重要驱动基因^[6,7]。突变携带者胃癌发生、

表1 5例胃癌病人临床和病理特征

序号	性别	年龄(岁)	病理类型	胃癌家族史
1	男	56	印戒细胞癌	父胃癌、姑卵巢癌
2	男	44	黏液腺癌伴印戒细胞癌	父、兄胃癌
3	男	63	印戒细胞癌	弟胃癌(发病年龄<50岁)
4	男	47	低分化腺癌并印戒细胞样变	兄胃癌
5	男	35	印戒细胞癌	伯父肺癌

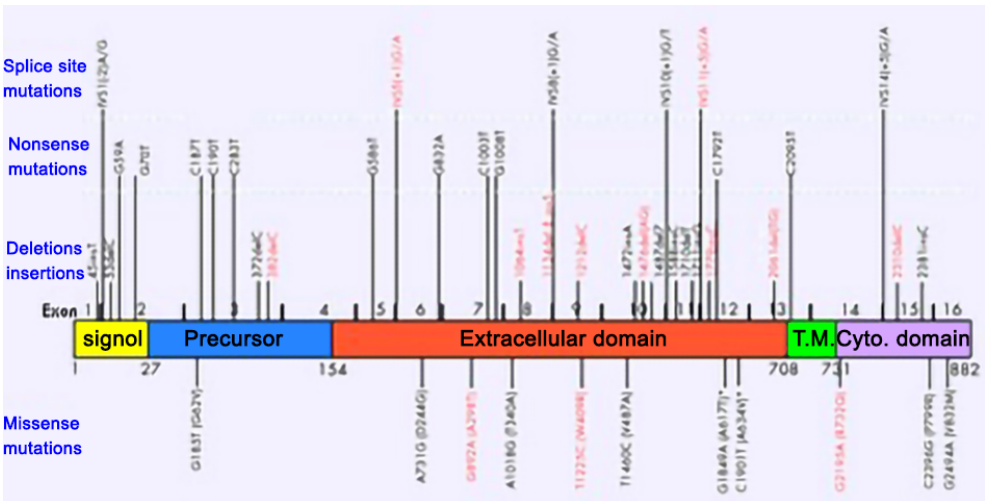


图1 目前已知的CDH1外显子可检测的突变位点 本研究对上述位点进行了全测序

发展的重要特点包括^[7]:癌巢内可见典型的印戒样癌细胞,肿瘤早期可表现为局灶性、多点黏膜下分布;后期多为印戒样癌细胞弥漫浸润,不形成明显的溃疡病灶。胃癌 Laurén 病理学分型主要为肠型(intestinal gastric cancer, IGC)和 DGC 两型,很少一部分包含上述两型而划归至所谓的中间型。国内外文献均显示 IGC 远较 DGC 多见,欧美报道 DGC 仅约 10~15%,而在胃癌高发的东亚地区(如中、日、南韩等国)的比例应该更低^[8,9]。

我国胃癌病理分型一直以来应用 WHO 的组织学分型,其中腺癌,如乳头状、管状、黏液腺癌等常见的组织学类型,属于 Laurén 的 IGC 型;而印戒细胞癌以及其它黏附性较差的胃腺癌属于 DGC 型^[9]。WHO 组织学分型的印戒细胞癌通常指视野中印戒样癌细胞数目比例不少于 50%,其在全部分型中的比例不到 10%^[9]。除了病理类型外,特定条件的家族史和发病年龄也使得符合 HDGC 临床诊断标准的胃癌家族十分罕见。本研究从 425 例胃癌中筛选出 5 例符合 IGCLC 临床标准的 HDGC 病人,本样本内发病率仅占 1.2%,这与日、韩国家报道的发病率相似^[5]。

早在 1999 年,IGCLC 就制定了 CDH1 种系突变筛查须满足的两项临床标准:①家族成员中 DGC 成员 ≥ 2 例,且一例发病年龄 <50 岁;②家族成员中 DGC 成员 ≥ 3 例,不论发病年龄^[3,4]。符合该标准的家系 CDH1 种系突变阳性率可达 20~50%。然而,上述特定条件较为苛刻,临床实践中极难发现符合这样标准的病例,而在胃癌高发区更是罕见。2010 年,IGCLC 为提高 CDH1 筛查的敏感性,在此前两项标准基础之处额外增加了两项可适用的标准:③ <40 岁无家族史的 DGC;④个人或家族史(一至二级亲属)中有 DGC 和小叶乳腺癌,1 例诊断年龄 <50 岁^[3,4]。2015 年,IGCLC 又将 1999 年提出的两项标准合并为:一级至二级亲属中胃癌成员 ≥ 2 例,不论发病年龄,至少 1 例 DGC^[3,4]。因 CDH1 先天异常还与乳腺癌等其它疾病有关,胃癌病人伴有下列情况也应纳入筛查范围:①本人双侧小叶乳腺癌病史,或家族有 2

例 <50 岁的小叶乳腺癌;②先天性唇、腭裂(CDH1 表达异常影响胚胎发育中细胞间连接形成);③印戒细胞原位癌,即印戒样癌细胞未浸润基底膜但沿粘液腺基底膜表面排列(Paget 样播散)。从临床标准的变迁可以看出,遗传性胃癌家族发病特点表现也很不均一,因此,同样的特点并不意味着分子机制一致,不同的特点可能存在一致的分子事件。

HDGC 首先在胃癌低发区的欧美地区发现,符合临床标准约 20%~50%存在 CDH1 致病性截短突变;另约有 20%存在错义突变,但错义突变的临床意义至今仍待研究;余下的遗传学机制尚不清楚(图 2)^[10,11]。随着临床标准放宽和更多可疑家系的纳入,CDH1 突变筛查阳性率明显降低。以此同时,随着不同临床类型 HDGC 的发现,更多 CDH1 以外的异常驱动基因也相继出现。随着基因扫描技术的进步,近年来不断发现新的可疑候选突变基因,如 INSR、FBXO24、DOT1L 和 CTNNA1 等的种系突变,这些候选基因的功能和 CDH1 十分相近,极有可能是诱导 HDGC 的另一类驱动基因^[4,12-13]。因此,现今认为 HDGC 应最好定义为 CDH1 及其密切相关基因的突变,而不是依据临床标准去捕捉不同异质性的易感家族^[14]。

我国地处东亚胃癌高发区,有着和日本、韩国相似的流行病学特点,临床中 HDGC 应该相对少见,CDH1 种系突变阳性更为罕见^[9,13]。目前报道的 HDGC 家族中 50%~70%未能检测到 CDH1 突变,而本研究全部病例均未发现该突变,提示上述家族可能由尚未鉴定的 HDGC 易感基因突变引起。肿瘤的异质性本质上是细胞生长调节信号路径的

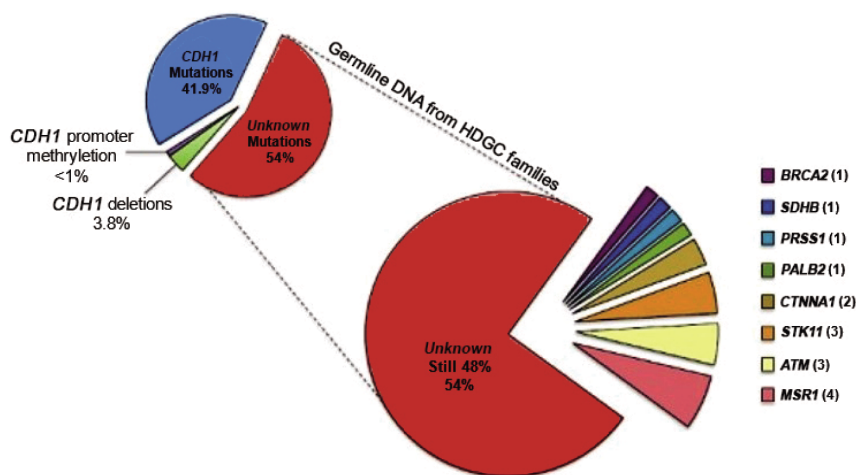


图2 目前关于可引起 HDGC 的基因突变谱示意图——引自 GeneReviews® [Internet].

千差万别,幽门螺杆菌诱导的慢性炎症一直被认为是胃癌发生的重要诱因之一,这也意味着环境因素可诱导细胞调节信号路径的变化,这与遗传因素诱导的可能不同,因而可能涉及的细胞信号调控基因组也存在差异。此外,目前文献中有关HDGC的组织学类型罕有发现印戒细胞癌以外的“细胞间黏附性差”的弥漫型。来自国内的文献有显示Laurén的DGC高达48.7%,尽管WHO分型中印戒细胞癌的比例不到10%,由此可见Laurén病理分型中所谓的弥漫型,可能本质上并不同于HDGC的弥漫型^[1,4,15]。最后,本研究检测仅检测点突变以及小片段缺失与插入,当CDH1基因发生大范围缺失或插入时,可能无法检出突变。因而现有检测方法可能也会产生假阴性的结果。

综上所述,本研究结果提示粤北地区HDGC的形成与CDH1种系突变关系仍不明确,是否存在其它异常驱动基因的作用,或是环境因素起主导作用导致的遗传性胃癌均有待更大样本的研究。

参考文献

- [1] Qiu MZ, Cai MY, Zhang DS, et al. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China[J]. J Transl Med, 2013, 11(1):58.
- [2] Jang Kyu Choi, Young Suk Park, Do Hyun Jung et al. Clinical Relevance of the Tumor Location-Modified Lauren Classification System of Gastric Cancer [J]. J Gastric Cancer, 2015, 15(3):183-190.
- [3] Zhang H, Feng M, Feng Y, et al. Germline mutations in hereditary diffuse gastric cancer [J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(1):122-130.
- [4] Van der Post RS, Vogelaar IP, Manders P, et al. Accuracy of Hereditary Diffuse Gastric Cancer Testing Criteria and Outcomes in Patients With a Germline Mutation in CDH1 [J]. Gastroenterology, 2015, 149(4):897-906.
- [5] McLean MH, El-Omar EM. Genetics of gastric cancer [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(11):664-674.
- [6] Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, et al. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas[J]. Cell, 2018, 173(2):321-337.
- [7] Mi EZ, Mi EZ, di Pietro M, et al. Comparative study of endoscopic surveillance in hereditary diffuse gastric cancer according to CDH1 mutation status [J]. Gastrointest Endosc, 2018, 87(2):408-418.
- [8] Stoffel EM. Heritable Gastrointestinal Cancer Syndromes [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2016, 45(3):509-527.
- [9] Berth F, Bollschweiler E, Drebber U, et al. Pathohistological classification systems in gastric cancer: diagnostic relevance and prognostic value [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(19):5679-5684.
- [10] Hata K, Yamamoto Y, Kiyomatsu T, et al. Hereditary gastrointestinal cancer[J]. Surg Today, 2016, 46(10):1115-1122.
- [11] Melo S, Figueiredo J, Fernandes MS, et al. Predicting the Functional Impact of CDH1 Missense Mutations in Hereditary Diffuse Gastric Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12):2687.
- [12] Donner I, Kiviluoto T, Ristimäki A, et al. Exome sequencing reveals three novel candidate predisposition genes for diffuse gastric cancer[J]. Fam Cancer, 2015, 14(2):241-246.
- [13] Petrovich I, Ford JM. Genetic predisposition to gastric cancer [J]. Semin Oncol, 2016, 43(5):554-559.
- [14] Hansford S, Kaurah P, Li-Chang H, et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 Mutations and Beyond [J]. JAMA Oncol, 2015, 1(1):23-32.
- [15] 张玉洁, 时永全. 遗传性弥漫性胃癌的诊治进展 [J]. 胃肠病学, 2017, 22(4):199-202.

(收稿日期:2018-05-06)