

肾错构瘤 TSC1/2 基因检测与依维莫司 药物干预的研究

郭刚¹ 蔡伟¹ 王威¹ 朱捷¹ 张旭¹

【摘要】 目的:探讨肾错构瘤(AML)患者 TSC1/2 基因突变情况及依维莫司在结节性硬化(TSC)相关肾错构瘤治疗中的疗效及安全性。**方法:**2015 年 1 月~2016 年 3 月,对单中心 49 例肾 AML 患者进行外周血白细胞基因组 TSC1/2 基因突变检测。对临床诊断为 TSC 或存在 TSC1/2 基因突变的 AML 患者,如果肿瘤直径超过 4 cm 且暂时不适应手术者,给予依维莫司(10 mg 口服,1 次/d)药物治疗,收集患者临床资料及药物治疗的疗效及不良反应,并与未治疗组进行对比。**结果:**本组患者男 15 例,女 34 例,平均年龄 35.5(18~56)岁,肾 AML 平均最大直径 9.6(4~30)cm,其中 25 例患者临床诊断为 TSC。基因检测结果示总体突变发生率 85.7%(42/49),其中 TSC1 29 例次,TSC2 22 例次,两者同时突变 18 例,不同外显子突变分布未见明确差异。临床诊断为 TSC 的患者基因突变率为 88.0%(22/25),20 例患者仅伴有基因突变而无 TSC 典型临床表现。共有 25 例患者接受了依维莫司治疗,1 个月疗效评估:客观缓解率 88.0%,疾病控制率 100%,实体肿瘤直径平均缩小 3.6 cm (38.2%);3 个月疗效评估:客观缓解率 92.0%(23/25),疾病控制率 100%,实体瘤直径平均缩小 3.8 cm (44.5%)。到达 AML 最佳缓解的患者比例为 36.0%(9/25),未接收药物治疗的对照组为 0。而临床诊断者与无症状者疗效差异无统计学意义。伴中心液化坏死或 CT 强化后 CT 值仍为负值的瘤体多无显著变化,部分形态已失常的肾脏出现重新塑形表现。主要不良反应包括轻度口腔黏膜炎 4 例,皮疹 3 例,泌尿系感染 1 例。平均随访 5.4 个月,无患者出现疾病进展。**结论:**TSC1/2 基因的突变已被用于 TSC 相关肾 AML 的诊断。尽管部分患者肾 AML 不具有 TSC 的典型临床特征,但依维莫司对于临床诊断的 TSC 患者和单纯依靠基因诊断的患者均显示出良好的临床效果。短期应用安全性良好,可作为 TSC 相关肾 AML 的有效非手术治疗选择。

【关键词】 错构瘤;结节性硬化;突变;依维莫司

doi: 10.13201/j.issn.1001-1420.2016.12.012

【中图分类号】 R737.11 **【文献标识码】** A

TSC1/2 gene detection and everolimus treatment for renal angiomyolipoma

GUO Gang CAI Wei WANG Wei ZHU Jie ZHANG Xu

(Department of Urology, General Hospital of PLA, Beijing, 100853, China)

Corresponding author: ZHANG Xu, E-mail: xuzhang@foxmail.com

Abstract Objective: To evaluate the TSC 1/2 gene mutation in renal angiomyolipoma (AML) and the feasibility and safety of everolimus treatment for renal AML. **Method:** From Jan. 2015 to Mar. 2016, TSC 1/2 gene were detected in 49 renal AML patients. TSC1/2 gene mutation were detected by PCR-SSCP. Twenty-one exon of TSC1 and 41 exon of TSC2 were detected. Twenty-five patients were treated with everolimus (10mg Qd) who had any TSC1/2 mutation or had been diagnosed as tuberous sclerosis complex (TSC), the biggest diameter of tumor was longer than 4 cm and refused operation. Toxicities and tumor responses were monitored. **Result:** The study included 15 male and 34 female patients, whose average age was 35.5 (range, 18-56) years old. The average max diameter of tumor was 9.6 (range, 4-30) cm and 25 patients were diagnosed with TSC by clinical diagnostic criteria. The result of TSC 1/2 gene detection: mutation rate was 85.7% (42/49) in all and 88.0% (22/25) in TSC group, including TSC1 mutation in 29 cases, TSC2 mutation in 22 cases and TSC1/TSC2 mutation in 18 cases. There was no significant difference in the mutation rate of any exon. Twenty-five patients received everolimus (10mg Qd) treatment. One month result: objective response rate (ORR) was 88.0%, disease control rate was 100%, the average diameter reducing was 3.6 cm (38.2%). Three months result: ORR was 92.0%, disease control rate was 100%, the average diameter reducing was 3.8 cm (44.5%). AML best response rate (total tumor volume shrinkage rate $\geq 50\%$) was 36.0% (9/25) for everolimus compared with 0% (0/24) for placebo. The change was not obvious in tumor with liquefaction or necrosis in centre and negative CT value. Some abnormal kidney appeared to remodel. The main adverse reaction was oral mucositis in four cases, rash in three cases and urinary system infection in one case. The average follow-up period was 5.4 months, and no tumor progress was

¹解放军总医院泌尿外科(北京,100853)

通信作者:张旭,E-mail: xuzhang@foxmail.com

found. **Conclusion:** The TSC 1/2 gene mutation in renal AML had a close correlation with TSC. Everolimus therapy can impact the size and density of the primary tumor and appears safe and feasible in renal AML patients with TSC1/2 mutation, even the patients did not accompanied by TSC. Short-term application security is good, so everolimus is an effective non-surgical treatment option for TSC associated with renal AML.

Key words angiomyolipoma; tuberous sclerosis complex; mutation; everolimus

错构瘤(angiomylipoma, AML)是肾脏常见的良性肿瘤,可以是散发性的,也可以是结节性硬化症(tuberous sclerosis complex, TSC)的肾脏表现。TSC是一组常染色体显性遗传并累及三个胚层多种器官的综合征,主要由 TSC1 和 TSC2 基因失活性突变所致,特征性临床表现为面部血管纤维瘤、癫痫、智力低下三联征,病变随年龄增长逐渐进展^[1]。文献报道,约 10% 的肾脏 AML 患者合并有 TSC,而 TSC 患者中超过 80% 合并有肾脏 AML。与散发性肾脏 AML, TSC 相关的肾脏 AML 多表现为双侧多发,易出现出血、肾衰竭等严重后果。该病的主要治疗办法包括:手术切除、栓塞及药物治疗^[2]。近年来,依维莫司等 mTOR 抑制剂被用于 TSC 相关 AML 的治疗并取得良好效果,被国外指南推荐为一线治疗选择^[3]。我们尝试对肾 AML 患者进行 TSC1 和 TSC2 基因突变检测,并依据临床或基因诊断对 TSC 相关 AML 患者进行依维莫司药物干预,取得了初步的结果,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2015 年 1 月~2016 年 3 月,共有 49 例临床诊断为肾错构瘤患者在我中心参加研究,其中男 15 例,女 34 例;平均年龄 35.5(18~56)岁,所有患者均行增强 CT 及彩色超声检查明确肿瘤大小、位置、数量及主要成分构成。所有患者肿瘤数量均>2 个,最大瘤体直径均>4 cm,平均最大直径 9.6(4~30)cm,其中单侧发病 5 例,双侧发病者 34 例。依据 2012 版结节性硬化临床诊断标准,25 例患者临床诊断为 TSC 相关 AML。

1.2 TSC1/2 基因检测

对所有瘤患者进行外周血白细胞基因组 TSC1/2 基因突变检测。检测方法采用 PCR-SS-CP/测序,主要步骤包括:分离外周血白细胞,提取基因组 DNA,PCR 扩增 TSC1/2 基因外显子,SS-CP 检测基因突变,部分突变列测序方法复核。共检测 TSC1 基因 21 个外显子和 TSC2 基因 41 个外显子。记录所有患者的基因突变发生情况。

1.3 药物治疗

对临床诊断为结节性硬化或存在任意 TSC1/2 基因突变,肿瘤直径超过 4 cm 且暂时不愿接受手术的患者给予依维莫司(诺华制药,瑞士)药物治疗,治疗方案为 10 mg 口服 1 次/d,连续用药 3 个月。药物治疗直至所有瘤体无显著缩小或者出现

需要减量或停药的Ⅲ级或Ⅳ级药物不良反应,如果 3 个月时疗效评估仍存在瘤体缩小则继续原方案药物治疗至瘤体无显著变化。收集患者临床资料及药物治疗的疗效及不良反应发生情况。

1.4 疗效及不良反应评价

依维莫司治疗前所有患者均采用螺旋 CT 或者 MRI 测定肿瘤病灶,以肿瘤最大径线>1 cm 作为靶病灶,同侧肾脏最多选择 5 处,双侧选择不超过 10 处病灶作为靶病灶。疗效判定应用实体瘤评价标准(RECIST 1.0)^[4]。前 3 个月每个月进行疗效评价,之后每 3~6 个月进行疗效评价。不良反应每周期进行评价,按照《美国国立癌症研究所不良事件通用术语标准》(NCI CTCAR 3.0 版,2006 年 8 月)进行分级。

1.5 统计学方法

主要研究终点为到达 AML 最佳缓解的患者比率,即所有靶病灶的总体积较基线缩小 $\geq 50\%$,没有非靶病灶的加重,没有直径 ≥ 1 cm 的新病灶,没有 2 级或以上的 AML 相关出血,肾体积较最低点增加 $\leq 20\%$ 。其它统计指标包括客观反应率、疾病控制率、不良反应发生率等。数据以表示,各均数间比较采用 t 检验,发生率的比较采用方差分析,所有数据统计学分析用 SPSS 13.0 软件包处理。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TSC1/2 基因检测

共有 49 例患者完成 TSC 基因突变检测(TSC1 21 个外显子, TSC2 41 个外显子),突变发生率 85.7%(42/49)。其中 TSC1 突变 29 例次,具体突变位点包括:Exon5/23(各 7 例),Exon7(6 例),Exon13/17/18/22(各 5 例),Exon15(4 例),Exon8/12/16(各 3 例),Exon3/4(各 2 例),Exon6/14/19/20/21(各 1 例); TSC2 突变 22 例次,具体突变位点包括:Exon6/17/33/36(各 4 例),Exon1/4/5(各 3 例),Exon7/9/11/21/22/23(各 2 例),Exon3/8/12/13/20/27/28/34/35/38(各 1 例)。两个基因同时突变者 18 例,无基因突变者 7 例,不同外显子突变分布未见明确差异。临床诊断为 TSC 的患者中 TSC1/2 基因突变发生率为 88.0%(22/25),有 20 例患者依靠基因诊断确诊为 TSC 相关肾脏 AML。

2.2 依维莫司疗效与安全性评估

共有 25 例确诊为 TSC 相关肾 AML 的患者

接受了依维莫司治疗,其中单纯基因诊断 10 例,单纯临床诊断 1 例,基因诊断与临床诊断同时符合者 14 例。另有 20 例临床诊断或基因诊断为 TSC 相关肾 AML 患者未接收药物治疗,设为对照组。治疗组与对照组组间各项基本资料的差异无统计学意义,具有可比性(表 1)。治疗 1 个月后疗效评估:客观缓解率 88.0%(22/25),疾病控制率 100%。肿瘤直径平均缩小 3.6(0~6.8)cm,平均缩小百分比为 38.2%(0~60.1%);3 个月后疗效评估:客观缓解率 92.0%(23/25),疾病控制率 100%,实体瘤直径平均缩小 3.8(0~6.8)cm,平均缩小百分比为 44.5%(0~62.5%)。3 个月时仅有 1 例患者肿瘤直径继续缩小,继续治疗至 4 个月时复查未见肿瘤显著变化,遂中止治疗。到达 AML 最佳缓解的患者比率为 36.0%(9/25),而对照组为 0(图 1)。伴中心液化坏死或 CT 强化后 CT 值仍为负值的瘤体多无显著变化,同时观察发现部分形态已失常肾脏出现重新塑形表现(图 2)。单纯基因诊断 TSC 者与伴有典型临床症状者对比,各项疗效指标无显著统计学差异。瘤体强化 CT 值为正值者与强化 CT 为负值和/或伴有中心液化坏死者对比,瘤体直径变化存在显著统计学差异。本组患者平均随访 5.4(2~30)个月,无患者出现疾病进展。

本组患者主要不良反应包括:口腔黏膜炎 4 例,皮疹 3 例,泌尿系感染 1 例。所有不良反应均为 I~II 级,2 例患者因不良反应短期剂量调整为 5 mg 口服 1 次/d。通过对症支持治疗,所有不良反应可以控制并耐受。大部分不良反应在治疗结束 1 个月后消失。

3 讨论

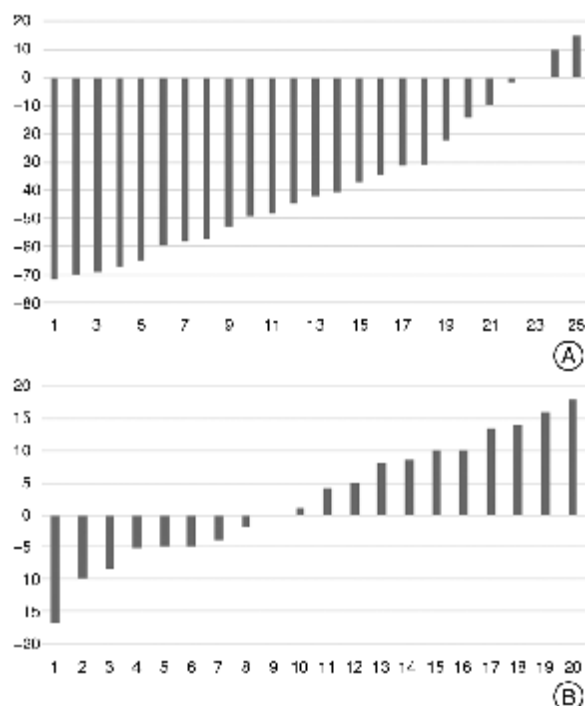
TSC 是一类有 TSC1/2 基因突变导致的常染色体显性遗传病,其抽样人群发病率为 1/5 800,全世界范围内有不超过 100 万的 TSC 患者,然而这些患者会受到 TSC 相关疾病的严重影响,包括肾脏 AML、脑巨细胞星型细胞瘤及肺淋巴管瘤等^[5]。大部分 TSC 合并肾 AML 的患者并没有肾脏相关的临床症状,其症状出现与瘤体大小相关。文献报道瘤体直径<4 cm 者多无临床症状,较少需要手术或选择性介入动脉栓塞等有创治疗;而肿瘤直径>4 cm 者则易出现腰痛、血尿及腹部肿块等不适^[6]。有文献提示,82%~94%肿瘤直径>4 cm 者可出现临床不适症状,而 50%~60%可出现自发性出血,如果肿瘤中的动脉瘤直径>5 mm 以上也容易增加出血风险^[7,8]。目前 TSC 合并 AML 尚缺乏规范的治疗指南,基本治疗原则是尽可能地保留肾单位,保护肾功能。对于瘤径<4 cm 且无症状者可选择等待观察,定期行腹部超声复查。当

表 1 患者基本信息

项目	依维莫司治疗组(<i>n</i> =25)	对照组(<i>n</i> =20)	例 P 值
平均年龄/岁	35(20~56)	36(18~50)	0.975
<30	9	7	
≥30	16	13	
性别			0.214
男	5	10	
女	20	10	
临床诊断 TSC			0.549
是	15	10	
否	10	10	
TSC1/2 基因突变			0.602
无突变	4	3	
TSC1 突变	6	6	
TSC2 突变	6	4	
TSC1/2 同时突变	9	7	
既往治疗			0.840
肾部分切除术	1	4	
肾切除术	3	1	
动脉栓塞	3	1	
肿瘤最大直径			0.791
<4 cm	0	2	
≥4 cm 且<8 cm	9	8	
≥8 cm	16	10	
双侧 AML	23	17	0.693
靶 AML 病灶数目			0.615
1~5	10	9	
6~10	15	11	
平均靶病灶直径总和	18(5~65)	12(4~60)	0.375

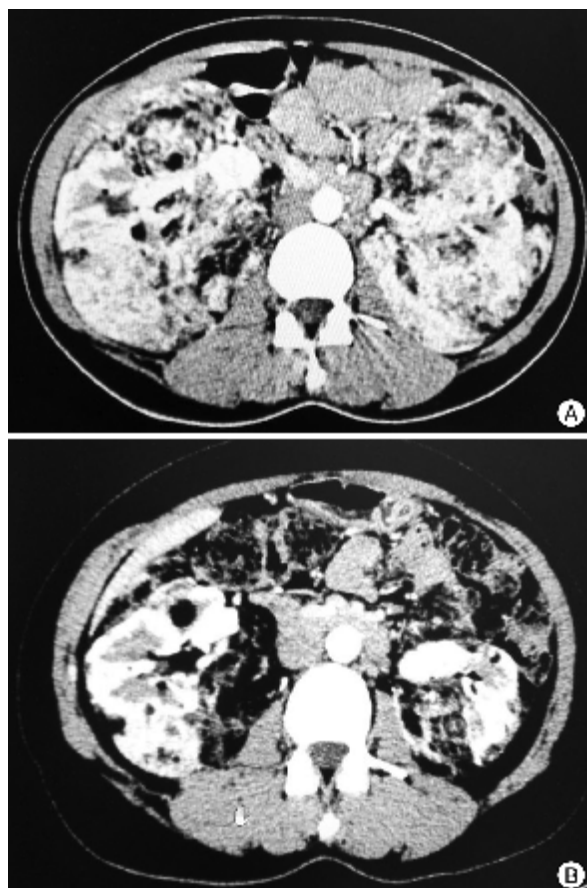
出现进展性增长、瘤径>4 cm 或出现腰痛、血尿、腹部可触及肿块时,首选保留肾单位的肿瘤切除术。选择行介入动脉栓塞术使用于 AML 急性出血、无法手术的有症状的 AML 患者及预防性治疗无症状的 AML 病变。肾根治性切除术仅有在无功能肾、肿瘤浸润周围组织、肾静脉瘤栓、强烈证据提示恶性肿瘤情况下才进行。在终末肾衰竭时应选择肾脏移植,但此前应先行双侧患肾切除术,否则存在移植后免疫抑制剂诱发原患肾肿瘤快速生长的风险^[9]。上述侵入性治疗仍存在很多局限性,任何侵入性干预手段都可能导致肾功能损伤,手术或栓塞并未干预肿瘤的发病机制,无法延缓肿瘤的进展,一些 TSC 合并 AML 病灶无法手术切除或栓塞。

TSC 相关肾 AML 的发病机制是由于 TSC 基因失活导致 mTOR 信号传导通路上游的抑制性蛋白失活,mTOR 蛋白异常活化,细胞过度增殖和大量血管新生,在肾脏形成 AML^[10]。以雷帕霉素及依维莫司为代表的 mTOR 抑制剂可直接抑制 mTOR 活性,使肾血管平滑肌脂肪瘤停止增长或



A: 依维莫司治疗 3 个月后肿瘤体积变化; B: 对照组 3 个月后肿瘤体积变化

图 1 3 个月后肿瘤体积变化情况



A: 依维莫司治疗前双侧肾脏多发错构瘤, 肾脏形态严重失常; B: 依维莫司治疗 3 个月后双侧肾脏形态开始恢复, 肿瘤成分缩小明显

图 2 依维莫司治疗后肾脏出现重新“塑形”

体积缩小。研究表明,应用雷帕霉素后使肾 AML 体积缩小 38%~95%,可作为保留肾单位切除术的新辅助治疗^[11]。在一项多中心随机对照前瞻性临床研究(EXIST-2)中,79 例临床诊断为 TSC 相关 AML 患者接受了 6 个月的依维莫司药物治疗,42% 的依维莫司组患者肾脏 AML 病灶体积缩小 >50%,而对照组为 0;对照组的中位疾病无进展时间为 11.4 个月,而依维莫司组则超过 22 个月(研究结束时未到达)^[12]。在 EXIST-2 研究中,依维莫司的安全性良好,不良反应可耐受,与对照组相比口腔炎和粉刺样病变发病率较高,而仅有 4% 的患者因不良反应而终止治疗。

近年来的研究显示,TSC1 或 TSC2 基因的致病性突变可作为充分条件明确诊断 TSC 疾病,而 10%~25% 的 TSC 患者并不伴有 TSC1/2 基因突变,但仍可以通过临床症状明确诊断。EXIST-2 研究纳入的患者均为临床诊断病例,而本研究纳入了符合临床诊断或伴有 TSC1/2 基因突变的患者。在本研究中,依维莫司治疗 3 个月后,疾病控制率达到 100%,36% 的患者病灶体积缩小 >50%,而单纯基因诊断 TSC 者与伴有典型临床症状者对比,依维莫司的疗效无显著差异。初步的统计学分析显示,依维莫司治疗 TSC 相关 AML 的疗效与年龄、性别、基因突变位点及瘤体大小无显著相关性,而瘤体强化 CT 值为正值者与强化 CT 为负值和/或伴有中心液化坏死者对比,依维莫司的疗效存在差异。依维莫司最常见的治疗相关不良事件为口腔炎、口腔溃疡和鼻咽炎,无须治疗或经暂时性减量或停药后缓解。对于无症状但肿瘤连续生长且 >3 cm 的患者,新的诊疗指南推荐一线选择 mTOR 抑制剂治疗,选择性栓塞或肾部分切除术作为二线治疗选择^[13]。使用 mTOR 抑制剂可在 TSC 疾病早期控制肾 AML 生长,降低出血或肾衰竭风险。对于较大的肿瘤,mTOR 抑制剂治疗可以缩小肿瘤体积、减少肿瘤血供,或可争取到手术机会、降低手术风险、保留肾功能。我们在个别严重的肾脏形态失常病例中看到了经药物治疗后出现的肾脏重新塑形现象,值得进一步关注。本研究只是一个小样本观察,使研究结果存在局限性,下一步我们将开展多中心的前瞻性对照研究进一步证实依维莫司在 TSC 相关 AML 治疗中的临床价值。

综上所述,对于 TSC 合并 AML 的治疗,应根据肿瘤大小、生长和并发症情况的不同,选择肾部分切除术、高选择性动脉栓塞或者依维莫司单独或联合治疗。其治疗模式正在从过去被动等待和手术干预,向 mTOR 抑制剂及手术介入干预联合的治疗方式转变,mTOR 抑制剂已成为手术等常规治疗之外的重要选择。

[参考文献]

- 1 Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S. Tuberous sclerosis[J]. *Lancet*, 2008, 372(9639): 657—668.
 - 2 Henry J, Baskin Jr. The pathogenesis and imaging of the tuberous sclerosis complex [J]. *Pediatr Radiol*, 2008, 38(9): 936—952.
 - 3 郭刚, 蔡伟, 高江平, 等. 新辅助分子靶向治疗在肾细胞癌患者治疗中的临床应用研究[J]. *微创泌尿外科杂志*, 2013, 2(5): 347—350.
 - 4 Therasse P, Arbuck S G, Elizabeth E A, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(3): 205—216.
 - 5 Halpenny D, Snow A, McNeill G, et al. The radiological diagnosis and treatment of renal angiomyolipoma-current status[J]. *Clin Radiol*, 2010, 65(2): 99—108.
 - 6 Nelson C P, Sanda M G. Contemporary diagnosis and management of renal angiomyolipoma [J]. *J Urol*, 2002, 168(4 Pt 1): 1315—1325.
 - 7 Soulen M C, Faykus M H Jr, Shlansky-Goldberg R D, et al. Elective embolization for prevention of hemorrhage from renal angiomyolipomas [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 1994, 5(4): 587—591.
 - 8 Yamakado K, Tanaka N, Nakagawa T, et al. Renal angiomyolipoma: relationships between tumor size, aneurysm formation, and rupture[J]. *Radiology*, 2002, 225(1): 78—82.
 - 9 Siroky B J, Yin H, Bissler J J. Clinical and molecular insights into tuberous sclerosis complex renal disease [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(6): 839—852.
 - 10 Huang J, Manning B D. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth[J]. *Biochem J*, 2008, 412(2): 179—190.
 - 11 Staehler M, Sauter M, Helek A, et al. Nephron-sparing resection of angiomyolipoma after sirolimus pre-treatment in patients with tuberous sclerosis [J]. *Int Urol Nephrol*, 2012, 44(6): 1657—1661.
 - 12 Bissler J J, Kingswood J C, Radzikowska E, et al. Everolimus for angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangioleiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2013, 381(9869): 817—824.
 - 13 Krueger D A, Northrup H. Tuberous sclerosis complex surveillance and management: recommendations of the 2012 international tuberous sclerosis complex consensus conference [J]. *Pediatr Neurol*, 2013, 49(4): 255—226.
- (收稿日期:2016-04-18)
-
- (上接第 1095 页)
- 5 Gill I S, Kamoi K, Aron M, et al. 800 Laparoscopic partial nephrectomies: a single surgeon series [J]. *J Urol*, 2010, 183(1): 34—42.
 - 6 Nguyen M M, Gill I S. Halving ischemia time during laparoscopic partial nephrectomy [J]. *J Urol*, 2008, 179(2): 627—632.
 - 7 Gill I S, Patil M B, de Castro Abreu A L, et al. Zero ischemia anatomical partial nephrectomy: a novel approach [J]. *J Urol*, 2012, 187(3): 807—815.
 - 8 Choi S M, Choi D K, Kim T H, et al. A comparison of radiologic tumor volume and pathologic tumor volume in renal cell carcinoma (RCC) [J]. *PloS one*, 2015, 10(3): 1371—1379.
 - 9 Hung A J, Cai J, Simmons M N, et al. "Trifecta" in partial nephrectomy [J]. *J Urol*, 2013, 189(1): 36—42.
 - 10 Huang W C, Levey A S, Serio A M, et al. Chronic kidney disease after nephrectomy in patients with renal cortical tumours: a retrospective cohort study [J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(9): 735—740.
 - 11 Lane B R, Russo P, Uzzo R G, et al. Comparison of cold and warm ischemia during partial nephrectomy in 660 solitary kidneys reveals predominant role of non-modifiable factors in determining ultimate renal function [J]. *J Urol*, 2011, 185(2): 421—427.
 - 12 Thompson R H, Lane B R, Lohse C M, et al. Renal function after partial nephrectomy: effect of warm ischemia relative to quantity and quality of preserved kidney [J]. *Urology*, 2012, 79(2): 356—360.
- (收稿日期:2016-01-04)