

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.06.001

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.06.001>

· 论著 ·

FGFR 家族受体蛋白在纤维母细胞 / 肌纤维母细胞性肿瘤中的表达与鉴别诊断价值

郑仪云¹, 张倩^{1,2}, 杨成¹, 段裴¹, 熊东亮¹, 刘泰文¹, 娄丽萍¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所, 武汉 430030;

2. 华中科技大学同济医学院基础医学院病理学与病理生理学系, 武汉 430030)

[摘要] 目的: 成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)蛋白属于受体酪氨酸激酶家族, 含有4种受体亚型(FGFR1, 2, 3和4)。FGFR激活突变或者配体/受体过表达导致其持续激活与肿瘤的发生、发展、不良预后密切相关。目前, FGFR家族蛋白在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤的表达尚无研究报道。方法: 纳入2016—2019年华中科技大学同济医学院附属同济医院手术切除的罕见纤维母细胞/肌纤维母细胞性良、恶性肿瘤共89例, 包括17例孤立性纤维肿瘤、16例隆突性皮肤纤维肉瘤(dermatofibrosarcoma protuberans, DFSP), 22例侵袭性纤维瘤病, 27例未分化肉瘤以及7例结节性筋膜炎(nodular fasciitis, NF)。通过免疫组织化学的方法检测FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4蛋白质在组织中的表达水平, 通过Fisher's exact test统计分析其阳性率差异。结果: 未检测到FGFR2和FGFR4在上述纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中的表达。FGFR1高表达于孤立性纤维肿瘤(16/17, 94.1%)和DFSP(11/16, 68.8%), 而在NF和未分化肉瘤中表达均为阴性, FGFR1在孤立性纤维肿瘤、DFSP中表达阳性率与未分化肉瘤相比差异具有统计学意义($P < 0.0001$), 与侵袭性纤维瘤病相比亦具有统计学差异($P < 0.0001$)。FGFR3在上述纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中均有一定阳性率, 阳性率分别为孤立性纤维肿瘤47.1%(8/17)、DFSP 68.8%(11/16), 侵袭性纤维瘤病86.4%(19/22), 未分化肉瘤100%(27/27)以及NF 100%(7/7)。结论: 免疫组织化学检测FGFR蛋白质的表达有助于孤立性纤维肿瘤、DFSP与未分化肉瘤和侵袭性纤维瘤病的鉴别诊断。通过免疫组织化学检测FGFR蛋白质表达对于纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤患者靶向使用FGFR小分子抑制剂具有重要指导意义。

[关键词] 成纤维细胞生长因子受体; 纤维母细胞/肌纤维母细胞肿瘤; 孤立性纤维肿瘤; 隆突性皮肤纤维肉瘤; 侵袭性纤维瘤病; 未分化肉瘤

Expression and differential diagnosis value of FGFR family proteins in fibroblast/myofibroblast tumors

ZHENG Yiyun¹, ZHANG Qian^{1,2}, YANG Cheng¹, DUAN Pei¹, XIONG Dongliang¹, LIU Taiwen¹, LOU Liping¹

(1. Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030; 2. Department of Pathology and Pathophysiology, School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract **Objective:** Fibroblast growth factor receptors (FGFRs) belong to the receptor tyrosine kinase family (RTKs),

收稿日期 (Date of reception): 2019-07-12

通信作者 (Corresponding author): 娄丽萍, Email: louliping19@163.com

including four subtypes (FGFR1, 2, 3 and 4). FGFR mutation or overexpression lead to its continuous activation, which is closely related to tumorigenesis, tumor development and patient poor prognosis. However, up to now, the expression of FGFR family proteins in fibroblast/myofibroblast tumors has not been investigated. **Methods:** Eighty-nine cases of benign and malignant tumors from 2016 to 2019 were collected, including 17 cases of solitary fibrous tumor, 16 cases of dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP), 22 cases of aggressive fibromatosis, 27 cases of undifferentiated sarcomas and 7 cases of nodular fasciitis. The expression of FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4 protein was detected by immunohistochemistry (IHC), and the difference of positive rate was analyzed by Fisher's exact test. **Results:** No expression of FGFR2 or FGFR4 was detected. FGFR1 was highly expressed in solitary fibrous tumor (16/17, 94.1%) and DFSP (11/16, 68.8%), but negative in nodular fasciitis and undifferentiated sarcomas. The positive rate in either solitary fibrous tumor (16/17, 94.1%) or DFSP were significantly different from that in undifferentiated sarcomas and aggressive fibromatosis. The positive staining of FGFR3 was detected in solitary fibrous tumor (8/17, 94.1%), DFSP (11/16, 68.8%), aggressive fibromatosis (19/22, 86.4%), undifferentiated sarcomas (27/27, 100%) and nodular fasciitis (7/7, 100%), respectively. **Conclusion:** Immunohistochemical staining of FGFR could be helpful in the differential diagnosis of solitary fibrous tumor, DFSP, aggressive fibromatosis, and undifferentiated sarcomas. The detection of FGFR protein expression by immunohistochemistry is important for targeted therapy of FGFR inhibitors.

Keywords fibroblast growth factor receptors; fibroblast/myofibroblast tumor; solitary fibrous tumor; dermatofibrosarcoma protuberans; aggressive fibromatosis; undifferentiated sarcomas

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)通过与其特异性的成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptors, FGFR)结合调节包括损伤修复、血管生成、胚胎发育在内的多种生理过程^[1]。近年来国内外研究^[2-3]表明, FGFR可以作为肿瘤的驱动基因, 以“细胞自治”的方式激活促有丝分裂的生存信号, 增强肿瘤的侵袭和转移能力, 促进上皮间质转化, 促进血管生成。FGFR介导的信号通路对肿瘤维持其恶性生物学特征有重要意义。

FGFR属于受体酪氨酸激酶家族, 包括4种受体亚型(FGFR-1, 2, 3和4)。该受体家族成员的结构包括细胞外结合域, 跨膜域以及细胞内的酪氨酸激酶结合域^[4]。在病理条件下, FGF在Klotho和硫酸乙酰肝素糖蛋白(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)共同作用下形成复合体, 改变FGFR的构象, 最后导致胞内的酪氨酸激酶结合域自磷酸化并进一步激活下游信号通路, 其中细胞内MAPK信号通路与肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力紧密联系, PI3K/AKT信号通路则与肿瘤细胞的运动性和存活相关^[5]。近年来, FGFR靶向药物已经成为肿瘤靶向治疗领域的研究热点。目前, 国内外尚无FGFR家族蛋白在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中表达的研究报道, 小分子FGFR靶向药物亦尚未用于纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤的治疗。

1 材料与方法

1.1 材料

收集华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所2016年1月至2019年6月经组织形态学及免疫组织化学染色确诊的纤维母细胞/肌纤维母细胞性良、恶性肿瘤共89例, 诊断依据参照2013版WHO肿瘤分类^[6], 包括17例孤立性纤维肿瘤、16例隆突性皮肤纤维肉瘤(dermatofibrosarcoma protuberans, DFSP), 22例侵袭性纤维瘤病, 27例未分化肉瘤以及7例结节性筋膜炎(nodular fasciitis, NF)。

1.2 方法

标本经4%甲醛常规固定、包埋、切片及HE染色。免疫组织化学采用EnVision二步法, 所用一抗anti-FGFR1抗体(MSG10, ab824, 1:500), anti-FGFR2抗体(ab10648, 1:200), anti-FGFR3抗体[EPR2305(3), ab137084, 1:500], anti-FGFR4抗体(SB5, ab44971, 1:200)均购自美国Abcam公司。免疫组织化学结果的判读兼顾阳性染色的强度及百分比, 按照积分综合计量法评估。免疫组织化学染色强度按照阴性0分, 弱阳性1分, 中等强度2分, 强阳性3分。染色阳性区域全阴性计为0分, 1%~10%阳性为1分, 11%~50%阳

性为2分, >50%阳性为3分。最终评分为二者乘积, ≤1分者视为阴性^[7]。本研究经华中科技大学同济医学院附属同济医院医学伦理委员会批准。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行数据分析。组间比较采用Fisher's exact test检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

FGFR1和FGFR3的典型免疫组织化学染色结果如图1所示。在本研究中未检测到FGFR2和

FGFR4在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤表达。

FGFR1高表达于孤立性纤维肿瘤(16/17, 94.1%)和DFSP(11/16, 68.8%), 而在NF和未分化肉瘤中均为阴性, FGFR3在上述纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中均有一定阳性率, 阳性率分别为: 孤立性纤维肿瘤47.1%(8/17)、DFSP 68.8%(11/16)、侵袭性纤维瘤病86.4%(19/22)、未分化肉瘤100%(27/27)以及NF 100%(7/7), 结果见表1。

FGFR1在孤立性纤维肿瘤、DFSP中表达阳性率与未分化肉瘤相比差异具有统计学意义($P < 0.0001$), 与侵袭性纤维瘤病相比差异亦具有统计学意义($P = 0.0003$, 表2)。

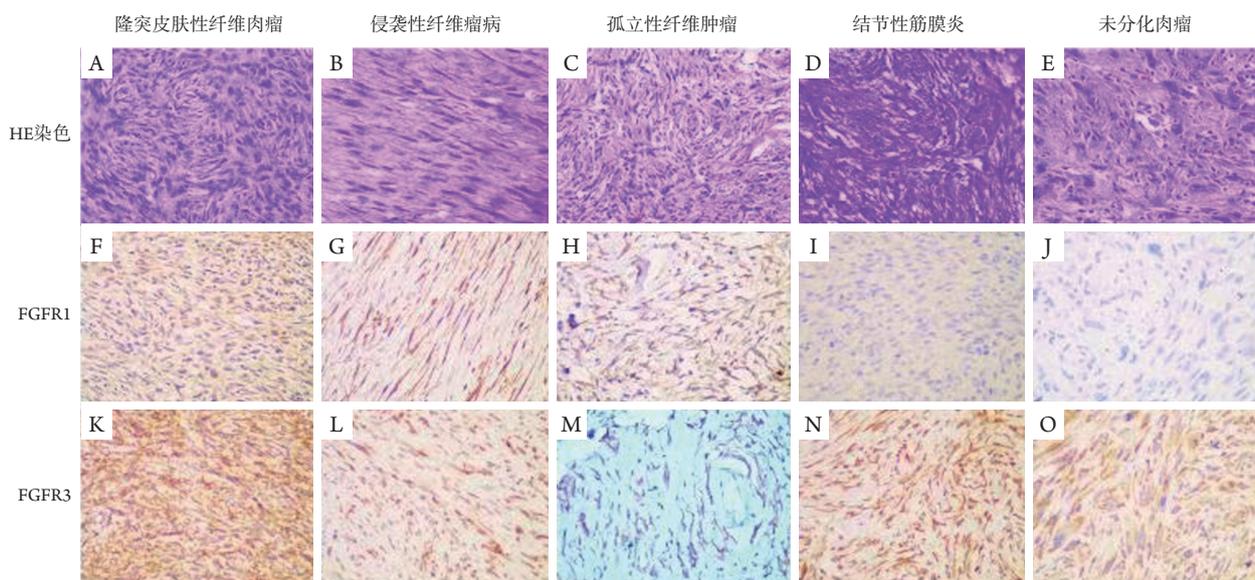


图1 隆突皮肤性纤维肉瘤、侵袭性纤维瘤病、孤立性纤维肿瘤、结节性筋膜炎和未分化肉瘤的典型HE染色(A~E, ×200), FGFR1免疫组织化学染色(F~J, ×200), FGFR3免疫组织化学染色(K~O, ×200)

Figure 1 Typical HE staining (A~E, ×200), immunohistochemical staining of FGFR1 (F~J, ×200), immunohistochemical staining of FGFR3 (K~O, ×200) in DFSP, aggressive fibromatosis, solitary fibrous tumor, nodular fasciitis and undifferentiated sarcomas

表1 纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中FGFR1和FGFR3的表达

Table 1 Expression of FGFR1 and FGFR3 in fibroblast/myofibroblast tumors

肿瘤类型	n	FGFR1/[例(%)]	FGFR3/[例(%)]
孤立性纤维肿瘤	17	16 (94.1)	8 (47.1)
隆突性皮肤纤维肉瘤	16	11 (68.8)	11 (68.8)
侵袭性纤维瘤病	22	2 (9.1)	19 (86.4)
结节性筋膜炎	7	0 (0.0)	7 (100.0)
未分化肉瘤	27	0 (0.0)	27 (100.0)

表2 FGFR1在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中的鉴别诊断价值

Table 2 Differential diagnostic value of FGFR1 in fibroblast/myofibroblast tumors

肿瘤类型	FGFR1 阴性	FGFR1 阳性
未分化肉瘤	27	0
隆突性皮肤纤维肉瘤	5*	11
孤立性纤维肿瘤	1*	16
侵袭性纤维瘤病	20* ^{&}	2

与未分化肉瘤相比, * $P < 0.0001$; 与隆突性皮肤纤维肉瘤相比, * $P = 0.0003$; 与孤立性纤维肿瘤相比, [&] $P < 0.0001$ 。

Compare with undifferentiated sarcoma, * $P < 0.0001$; compared with DSFP, * $P = 0.0003$; compared with solitary fibrous tumor, [&] $P < 0.0001$.

3 讨论

FGFR的基因突变和蛋白质异常高表达在多种软组织肿瘤和肉瘤中起到了关键的促肿瘤作用。骨肉瘤患者中常可检测到FGFR1, FGFR2和FGFR3基因突变, 而在新辅助化学治疗治疗好的患者中则均未检测到FGFR1基因的突变^[8]。此外, FGFR1-FOXO1融合基因常出现在横纹肌肉瘤中^[9]。另有研究^[10]显示75%的FRS2阳性的高级别脂肪肉瘤中可检测到FGFR/FRS2信号通路被过度激活。Ishigami等^[11]在皮肤纤维瘤(dermatofibroma, DF)的上皮细胞区域发现了FGFR3, FGF2和FGFR4的过表达, 但是未检出FGF1和FGF9表达。

纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤属于软组织肿瘤中较少见的间叶源性肿瘤, 对FGFR家族蛋白在软组织肿瘤中的研究较少。为了进一步研究FGFR蛋白在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤的表达与意义, 本研究采用免疫组织化学的方法探究FGFR家族蛋白在NF(良性)、侵袭性纤维瘤病(中间性, 局部侵袭型)、DFSP(中间性, 偶见转移型)、孤立性纤维肿瘤(中间性, 偶见转移型)、未分化肉瘤(恶性)等肿瘤中的表达情况, 分析探索FGFR蛋白质表达对上述肿瘤鉴别诊断的意义。现将上述几种疾病病变的组织学特点和鉴别诊断难点总结如下。

1)NF是一类主要发生于皮下的纤维增生性疾病, 少数病例可发生于肌肉或骨膜内。NF常表现为增生迅速的结节, 可导致压痛。该肿物由肥大的纤维母细胞组成, 其组织病理学特征为中心是

少细胞区或嗜酸性纤维素区, 周边细胞丰富。二者间为疏松黏液样区伴以大量增生的梭形细胞。梭形细胞大小不一, 形状不规则, 排列无方向性, 可呈席纹状。NF的诊断特征是散在的瘢痕疙瘩型胶原伴紧贴的梭形细胞^[12]。免疫组织化学检测结果显示: 梭形细胞Vimentin, Actin, SMA表达阳性, Desmin, CK, EMA, CD34及S-100表达均呈阴性。遗传学上, MYH9-USP6基因融合和重排可在75%~92%的患者中检测到^[13]。因此有观点认为NF可能是一种介于增生和真性肿瘤之间的过渡性瘤变。虽然NF有一定的病理组织学形态特征, 然而在细胞增殖活跃, 核分裂象多见或位置深在时, 极易被误诊为软组织肉瘤。USP6重排未见于侵袭性纤维瘤病等其他软组织肿瘤, 故FISH检测USP6重排有助于NF的鉴别诊断。

2)侵袭性纤维瘤病为常见于深部软组织的中间性纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤。侵袭性纤维瘤病具有局部侵袭能力, 然而极少转移, 其发病原因未知。在镜下观察可见肿瘤呈浸润性生长, 与周围组织界限不清, 肿瘤由束状或波浪状排列的梭形细胞组成, 其间分布交错排列的胶原纤维。细胞增殖较快的区域可见核分裂, 但没有病理性核分裂, 胶原纤维大量分泌的情况下可类似于瘢痕组织。少数发生在肠系膜和盆腔的病变间质可呈弥漫的黏液样变性, 此时与NF常常难以相互鉴别^[14-15]。

3)DFSP是发生于皮肤和皮下组织的低度恶性肿瘤, 具有侵袭性, 易复发, 但是罕见转移。然而若诊断不明确, 治疗处理不恰当也可导致严重后果, 甚至死亡, DFSP的确诊主要依赖病理组织学。DFSP肿瘤组织由车辐状、席纹状、或漩涡状排列的梭形细胞构成, 其旋涡中央由胶原纤维充填, 近漩涡中央的细胞短而粗大, 近漩涡边缘的细胞长而细。DFSP肿瘤细胞可见核分裂, 周围的肿瘤细胞可呈条索状浸润周围脂肪。DFSP免疫组织化学CD34弥漫阳性, SMA部分阳性, S-100部分阳性, Vimentin弥漫阳性^[16]。本研究发现FGFR1蛋白在DFSP呈高表达状态, 而FGFR1在NF和未分化肉瘤中表达均为阴性。通过免疫组织化学检测FGFR1蛋白表达将有助于DFSP与未分化肉瘤或NF的鉴别诊断。

4)孤立性纤维性肿瘤(solitary fibrous tumor, SFT)起源于表达CD34的树突状纤维母细胞, 较罕见。其组织结构复杂、细胞形态多样, 无特征构象, 可见短梭形、卵圆形或圆形细胞。胞质少, 染色质均匀, 核仁及异型不显著, 核分裂少见

(0~4/10 HPF)。免疫组织化学检测有助于SFT的诊断, SFT中CD34阳性率为85%~95%, 但无特异性。CD99和bcl-2阳性率分别为70%和75%, 但也无特异性。其中最具诊断意义的是STAT6, 其敏感性95.8%~100.0%, 特异性88.3%~100.0%^[17]。本研究发现: FGFR1在孤立性纤维肿瘤中阳性率为94.1%, 其作为诊断指标敏感性较CD99和Bcl-2更高, 但亦无特异性。

5)未分化肉瘤。这一类肿瘤又称为未能分类肿瘤, 该类肿瘤无明确的分化方向, 根据肿瘤细胞的镜下形态可分为多形性未分化肉瘤(即以往的多形性恶性纤维组织细胞瘤)、梭型细胞未分化肉瘤、圆细胞性未分化肉瘤和上皮样未分化肉瘤。本研究发现FGFR1在未分化肉瘤中表达均呈阴性, 这一结果有利于区分未分化肉瘤与其他FGFR1阳性肿瘤, 例如孤立性纤维肿瘤和隆突皮肤性纤维肿瘤。

本研究旨在探讨FGFR1免疫组织化学检测对将孤立性纤维肿瘤、DFSP与未分化肉瘤或侵袭性纤维瘤病进行鉴别诊断的辅助作用, 有一定的局限性, 纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤的病例标本量有限, 研究的疾病范围也有所局限, 未来笔者将继续扩大样本量并纳入更多的纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤类型进一步深入研究。目前, 美国FDA共批准7类FGFR抑制剂类药物^[18], 主要用于治疗肝细胞癌、非小细胞肺癌、胃肠道间质瘤, 晚期肾细胞癌和胰腺神经内分泌肿瘤等。FGFR抑制剂目前多处于临床二期和三期研究中, 主要用于治疗非小细胞肺癌、黑色素瘤和复发性胶质母细胞瘤等^[19]。本研究中FGFR3表达的情况虽然对上述肿瘤的鉴别诊断并无明确意义, 但是在大多数纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中都存在较高的FGFR3表达, 这一结果为今后FGFR小分子靶向药物在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中的临床前研究和临床应用奠定了理论基础。

参考文献

- Xue WJ, Li MT, Chen L, et al. Recent developments and advances of FGFR as a potential target in cancer[J]. *Future Med Chem*, 2018, 10(17): 2109-2126.
- Porta R, Borea R, Coelho A, et al. FGFR a promising druggable target in cancer: Molecular biology and new drugs[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 113: 256-267.
- De Luca A, Frezzetti D, Gallo M, et al. FGFR-targeted therapeutics for

- the treatment of breast cancer[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2017, 26(3): 303-311.
- Ghedini GC, Ronca R, Presta M, et al. Future applications of FGF/FGFR inhibitors in cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(9): 861-872.
- Giacomini A, Chiodelli P, Matarazzo S, et al. Blocking the FGF/FGFR system as a "two-compartment" antiangiogenic/antitumor approach in cancer therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2016, 107: 172-185.
- Fletcher CD, Bridge JA, Hogendoorn PC. World Health Organization classification of soft tissue and bone tumours[M]. Lyon: IARC Press, 2013.
- Li J, Yang R, Dong Y, et al. Knockdown of FOXO3a induces epithelial-mesenchymal transition and promotes metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma by activation of the β -catenin/TCF4 pathway through SPRY2[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 38.
- Fernanda Amary M, Ye H, Berisha F, et al. Fibroblastic growth factor receptor 1 amplification in osteosarcoma is associated with poor response to neo-adjuvant chemotherapy[J]. *Cancer Med*, 2014, 3(4): 980-987.
- Liu J, Guzman MA, Pezanowski D, et al. FOXO1-FGFR1 fusion and amplification in a solid variant of alveolar rhabdomyosarcoma[J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(10): 1327-1335.
- Zhang K, Chu K, Wu X, et al. Amplification of FRS2 and activation of FGFR/FRS2 signaling pathway in high-grade liposarcoma[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(4): 1298-1307.
- Ishigami T, Hida Y, Matsudate Y, et al. The involvement of fibroblast growth factor receptor signaling pathways in dermatofibroma and dermatofibrosarcoma protuberans[J]. *J Med Invest*, 2013, 60(1-2): 106-113.
- Luna A, Molinari L, Bollea Garlatti LA, et al. Nodular fasciitis, a forgotten entity[J]. *Int J Dermatol*, 2019, 58(2): 190-193.
- Miyama A, Kuratsu S, Takenaka S, et al. Two case reports of intra-articular nodular fasciitis of the knee confirmed by MYH9-USP6 gene fusion expression[J]. *J Orthop Sci*, 2019, [Epub ahead of print].
- Bo N, Wang D, Wu B, et al. Analysis of β -catenin expression and exon 3 mutations in pediatric sporadic aggressive fibromatosis[J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2012, 15(3): 173-178.
- Duan M, Xing H, Wang K, et al. A large and aggressive fibromatosis in the axilla: a rare case report and review of the literature[J]. *Oncol Targets Ther*, 2018, 11: 3179-3184.
- Rutkowski P, Klimczak A, Ługowska I, et al. Long-term results of treatment of advanced dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP) with imatinib mesylate - The impact of fibrosarcomatous transformation[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2017, 43(6): 1134-1141.
- Wang Y, Zhang J, Liu Q, et al. Solitary fibrous tumor of the pineal region with delayed ectopic intracranial metastasis: A case report and review

- of the literature[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(21): e15737.
18. Kato H, Nakagama H. FGF receptors: cancer biology and therapeutics[J]. *Med Res Rev*, 2014, 34(2): 280-300.
19. Lim SH, Sun JM, Choi YL, et al. Efficacy and safety of dovitinib in pretreated patients with advanced squamous non-small cell lung cancer with FGFR1 amplification: A single-arm, phase 2 study[J]. *Cancer*, 2016, 122(19): 3024-3031.

本文引用: 郑仪云, 张倩, 杨成, 段裴, 熊东亮, 刘泰文, 娄丽萍. FGFR家族受体蛋白在纤维母细胞/肌纤维母细胞性肿瘤中的表达与鉴别诊断价值[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(6): 1343-1348. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.06.001

Cite this article as: ZHENG Yiyun, ZHANG Qian, YANG Cheng, DUAN Pei, XIONG Dongliang, LIU Taiwen, LOU Liping. Expression and differential diagnosis value of FGFR family proteins in fibroblast/myofibroblast tumors[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(6): 1343-1348. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.06.001