

(11):1941-1944.

[14] Tascioglu F, Kuzgun S, Armagan O, et al. Short-term effectiveness of ultrasound therapy in knee osteoarthritis[J]. J Int Med Res, 2010, 38(4):1233-1242.

[15] Loyola-Sánchez A, Richardson J, Beattie KA, et al. Effect of Low-Intensity pulsed ultrasound on the cartilage repair in People with mild to moderate knee osteoarthritis; a Double-Blinded, randomized, Placebo-Controlled pilot study[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2012, 93(1):35-42.

[16] Loyola Sánchez A, Ramirez Wakamatzu MA, Vazquez Zamudio J, et al. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on regeneration of joint cartilage in patients with second and third degree osteoarthritis of the knee[J]. Reumatol Clin, 2009, 5(4):163-167.

[17] Yang PF, Li D, Zhang SM, et al. Efficacy of ultrasound in the treatment of osteoarthritis of the knee[J]. Orthop Surg, 2011, 3(3):181-187.

[18] 杨鹏飞, 李东, 张世模, 等. 超声治疗膝骨关节炎的疗效分析[J]. 临床超声医学杂志, 2011, 13(5):296-300.

[19] 唐进, 黄良库, 李东, 等. 低频脉冲超声治疗膝骨关节炎疗效分析[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(23):2562-2564.

[20] Köybassi M, Borman P, Kocaoglu S, et al. The effect of additional therapeutic ultrasound in patients with primary hip osteoarthritis: a randomized placebo-controlled study[J]. Clin Rheumatol, 2010, 29(12):1387-1394.

[21] 何成松, 李涛, 杨大鉴, 等. 超声波联合非甾体抗炎药治疗膝关节炎的临床效果[J]. 中国康复, 2004, 19(4):226-227.

[22] 潘晓华, 何爽, 谢小青, 等. 玻璃酸钠与超声导入 Fastum 凝胶联合治疗膝骨性关节炎合并滑膜炎[J]. 中国康复, 2007, 22(2):110-111.

[23] Hochberg MC, Altman RD, April KT, et al. American college of rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012, 64(4):465-474.

(收稿日期:2013-03-18)

• 综 述 •

肿瘤靶向治疗的研究进展

王淑燕¹综述, 刘 妮^{2△}审校

(1. 清远市人民医院检验科, 广东清远 511518; 2. 中山大学附属第一医院, 广东广州 510080)

关键词: 肿瘤; 靶向治疗; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.039

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)15-2003-03

近 10 年来, 分子靶向药物用于肿瘤治疗取得突破性进展。与传统化疗的不同在于, 分子靶向治疗作用在肿瘤细胞的特定分子上, 而这些分子在正常的细胞几乎不表达。因此具有很好的特异性, 识别并杀伤一些微小病灶中的肿瘤细胞, 且对正常细胞伤害较小。据报道国内外已有十多种药物被批准用于临床肿瘤治疗。然而临床试验验证, 分子靶向治疗药物如小分子酪氨酸酶抑制剂和 EGFR 单克隆抗体的临床有效率仅在 10% 左右, 且很多研究显示分子靶向药物与化疗药合用并无明显效果^[1-4]。其可能的原因是所谓的药物只是通过阻断一个信号通路或抑制某种蛋白的功能来抑制肿瘤细胞的生长或增加肿瘤细胞的凋亡。然而大多数实体瘤都是多靶点、多信号环节的调控过程, 而不仅仅依赖于某一环节。因此, 开发新型的靶向抗癌药物成为必需。

1 多靶点抑制剂

由于大多数实体瘤都是多靶点多信号的调控过程, 抑制单一信号传导往往不足以遏制肿瘤的进展。临床试验结果显示, 多靶点抑制剂在治疗方面优于单靶点抑制剂, 多靶点联合阻断信号传导成了当今肿瘤治疗和药物开发研究方向。作为多靶点抑制剂 SU011248 能抑制 VEGF、血小板衍生生长因子受体 A(PDGFR-A) 等多条酪氨酸激酶通路, 临床试验中还用于对乳腺癌、肺癌、前列腺癌以及结肠癌等患者的治疗^[5]。ZD6474 (Vandetanib) 是能够同时阻断 EGFR、VEGF 和 RET 酪氨酸激酶多靶点药物, II 期临床研究证实其在治疗晚期乳腺癌、甲状腺癌、多发性骨髓瘤等, 患者生存时间明显改善, 是一个很有前

途的靶向药物, 目前正在积极进行 III 期研究^[6]。

2 抗体导向酶-前提药物疗法(ADEPT)

ADEPT 是近年来发展起来的肿瘤导向治疗的新途径。其基本思路是通过将特异性抗体与一种药物活化酶在体外交联形成偶联物, 导向输入到靶细胞部位, 然后在静脉注入无抗癌活性或低活性的前药, 相应的酶在靶部位将非活化型药物转为活化型, 作用于结合抗体的肿瘤细胞及邻近未与抗体结合的肿瘤细胞即所谓的旁观者效应, 从而实现肿瘤细胞的杀伤作用。理论上药物在到达靶部位之后显示活性, 解决了血循环中可能与脱落抗原的结合在肝肾堆积, 且大大提高了肿瘤组织内药物浓度的富集。Deckert 等^[7]构建了 CA 与结肠癌抗体 A33 单链抗体的融合蛋白, 体外证实能增加 5-FC 对表达 A33 的结肠癌细胞的毒性 300 倍。与预想的效果相同, ADEPT 弥补了单链抗体存在的缺陷, 发挥着更为强大的抗肿瘤功能。

3 基因修饰树突状细胞疗法

基因修饰免疫细胞即是通过基因转移技术将目的基因导入免疫细胞使其在细胞内表达, 然后将表达目的基因的细胞输入患者体内, 通过提高机体免疫力来增强机体对肿瘤细胞的识别和杀伤能力。树突状细胞(DC)是专职抗原递呈细胞(APC)之一, 能摄取抗原, 经加工、处理后将抗原信息传递给 T、B 淋巴细胞, 其区别于其他 APC 的最大特点是能够明显刺激初型 T 细胞增殖。由于 DC 的这些特点, 基因修饰树突状细胞(DC)介导的肿瘤治疗已成为肿瘤治疗研究的热门话题之一。

与前面讨论的几种分子靶向治疗不同, 由 DC 所激活的细

胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)能特异性识别并定位于肿瘤细胞的表面从而直接杀伤肿瘤细胞。其抑制肿瘤细胞生长的作用并不是通过阻断信号传导通路来实现。理论上讲,由 DC 激发的主动免疫具有更好的效果。通过 DC 治疗恶性黑色素瘤、肾癌和多发性骨髓瘤等临床 I 期和 II 期试验研究显示,这一疗法疗效颇佳。von Euw 等^[8]对 60 例恶性黑色素患者使用凋亡的肿瘤细胞冲击致敏的 DC 治疗的临床 I 期试验中发现,治疗过程中所有 60 例患者均没有表现出明显的对该药物的不良反应。而 Jeong 等^[9]利用小鼠洲 scC 细胞株 seevll 裂解物冲击致敏 DC 来治疗 SCCVn 实体瘤也取得了较好的疗效。这些研究结果均表明使用 DC 进行肿瘤免疫治疗的良好前景。

4 miRNA 及其抗肿瘤作用

最近的研究发现:miRNA 很可能是肿瘤易感基因的转录产物。miRNA 是一种短链 RNA 分子,由 19~24 个核苷酸(nt)组成。首先,多聚核苷酸初始转录产物即前体转录产物(Pri-miRNAs)在细胞核内由 Droscha(核糖核酸酶 III)剪切形成 60~110 nt 的发夹环结构,而后再在胞质中由 Dicer 酶切割成长约 22nt 的小分子 RNA,即成熟的 miRNA^[10]。

miRNA 参与组成核糖核蛋白复合体 RISC(即 RNA 诱导的沉默复合体,包括 dicer 酶及 Ago 家族蛋白等),成熟的 miRNA 在 RISC 引导下与互补的 mRNA 完全或不完全配对,降解靶 mRNA 或阻遏转录后翻译。RNA 干扰(RNAi)特异效应发生在 3 个水平:siRNA、shRNA 以及 miRNA。当发生不完全配对时,虽然使 mRNA 稳定而不被降解,但是阻碍了翻译,此为 miRNA 主要机制^[11]。

研究发现 miRNA 在正常细胞和肿瘤细胞中的表达情况相差甚大,显示 miRNA 可能与癌基因、抑癌基因、表观遗传学异常等起转录调控作用,而这一切均与 miRNA 表达异常相关^[12]。过表达的 miRNA 下调了癌基因的表达,例如在淋巴瘤细胞中 miR-17-miR-92 降低了肿瘤转录因子 E2F1 的水平;相反的,let-7 家族 miRNA 能抑制肺癌细胞中的 KRAS、NRAS、HMGA2 和 MYC 等癌基因则说明了 miRNA 水平降低促进了癌基因的表达。

miRNA 的异常也会促进肿瘤的侵袭和转移。体内和体外实验发现,miR-10b 上调会促进肿瘤侵袭和转移,甚至会促进非浸润性乳腺癌细胞转移^[13]。高表达的 miR-21 分子则通过间接上调 MMP 的表达,协同 miR-29c 和 miR335 表达下调使促转移基质蛋白、层黏连蛋白、胶原蛋白等蛋白的表达量增加,从而促进了细胞外基质的重构过程^[14]。

在肿瘤研究领域,一个非常重要的研究方向就是寻找能够预测肿瘤转移的分子标志物。研究表明 miRNA 可作为预测肿瘤转移的标志物。Wang 等^[15]发现肝癌患者约有 20 个具有特异性的 miRNA 组成的分子信号,可用来判断肝癌的血道转移。而 Rosenfeld 等^[16]利用芯片技术和实时 PCR 技术结合对 22 个来自不同肿瘤组织的样品(其中包括原发病灶样品和转移灶样品)的 400 份新鲜冰冻石蜡包埋处理的标本进行检查,发现了 48 种 miRNA 可作为判断肿瘤起源的标志物,且利用这些标志物对 131 个转移灶样品进行分析准确率高达 90% 以上。研究结果显示可以借助 miRNA 来判断肿瘤原发部位,在肿瘤早期阶段临床上尚未能判断转移时尽早发现肿瘤根源,对症治疗。

临床绝大部分肿瘤患者最终死于肿瘤转移,且相关数据显

示约 2/3 肿瘤患者在临床确诊时已经发生了远处转移。由于 miRNA 与肿瘤的转移密切相关,成为了肿瘤转移治疗中新的研究方向。

RNA 抑制主要是通过通过在实体瘤中使用拮抗剂(antagomir,即根据 microRNA 成熟体序列而设计,经过特殊标记与修饰的单链 RNA,专门用于抑制内源性 microRNA 的高效阻断剂)或反义 miRNA(anti miRNA)来抑制 miR-10b、miR-21、miR-146 家族、miR-155、miR-373 和 miR-520c 等分子的表达水平,或者使用模拟 miRNA(mimic miRNA)在胞内提高 miR-126、miR-148a、miR-206、miR-335 以及 miR-200 家族分子的表达水平都可以进行肿瘤干预的临床前实验^[17]。

5 肿瘤抑制基因

自 1988 年发现了第一个肿瘤转移抑制基因——NM23 基因以来,迄今据文献报道已发现了 23 种肿瘤抑制基因^[18]。广义上说,这些基因都有一个共同功能,即调控关键的信号通路。如 G 蛋白偶联受体信号通路、酪氨酸激酶受体信号通路、小 GTP 酶信号通路和 MAPK 信号通路等^[19]。

作为一个研究得较为透彻的肿瘤转移抑制基因,首先, NM23 具有组氨酸酶活性,能抑制 Ras 蛋白活性,导致 KSR1 蛋白降解,抑制了在很多肿瘤里都会表现出增强肿瘤细胞活力、移动能力及其他一些与转移相关能力的作用的 MAPK 通路。另外, NM23 蛋白还可以抑制促肿瘤转移基因的表达来发挥抑制肿瘤转移的作用。有学者尝试卵巢癌细胞转移瘤小鼠动物模型上实验使用腺病毒载体基因疗法来恢复 NM23 蛋白功能。将这些肿瘤细胞注入小鼠体内形成异种移植瘤后,再腹腔注射能表达 NM23 蛋白的腺病毒载体,使用该方法明显降低了小鼠肝转移概率,抑制率达到了 60%($P=0.01$)同时,小鼠的平均生存时间相较对照组明显增加,平均存活天数也多出 35 d($P<0.05$)^[20]。

迄今已经知道,有好几个肿瘤转移抑制基因都能对肿瘤细胞里的信号通路进行调控,表达这些信号通路的下游因子是否会增强肿瘤细胞的侵袭能力与转移能力,它们是不是也可以作为治疗靶点呢?最近有研究显示,上述这两个问题的答案可能都是肯定的,且研究已初步获得了有望在临床上发挥作用的药物作用靶点。

Horak 等^[21]通过对多种人体肿瘤细胞的基因芯片数据(源自肿瘤各个阶段基因表达下调的基因),在 MDA-MB-435 乳腺癌细胞中发现了受 NM23 蛋白调控的转录体,也就是候选基因。将 NM23 基因和 LPAR1 基因(受 NM23 基因调控的下游基因—溶血磷脂酶受体,也称 EDG2)共转染 1 个细胞观察体内形成肺内转移灶的能力。结果显示 LPAR1 基因表达水平增高不仅延长了静脉注射入实验动物体内 MDA-MB-435 乳腺癌细胞肺内的停滞时间,还恢复被共表达的 NM23 蛋白所抑制的肿瘤细胞活力。是否可以用 EGD 家族蛋白作为拮抗剂来治疗肿瘤的转移,譬如说使用 LPAR1 蛋白的拮抗剂 Ki16425 来防止肿瘤转移等^[22]。

另外,Raf 激酶抑制蛋白(RKIP,又称 PEBP1)可抑制常位抑移植到小鼠体内的 4C-2B 人前列腺癌细胞的转移。而曲古抑菌素 A(trichostatin A)能够诱导表达内源性的 RKIP 蛋白^[23]。这一发现提示可以用染色质修饰药物来诱导肿瘤转移抑制基因的表达,曲古抑菌素 A 有望成为一新型抗癌药。而 KISS1 基因的编码产物是一种至少能与 KISS1 R 或 GPR54 的

G 蛋白偶联受体相结合的分泌蛋白。有报道称 KISS1 蛋白能使散播的总量细胞处于休眠状态,即能阻止转移肿瘤细胞的克隆性增殖过程^[24]。Ohtaki 等^[25]发现通过渗透泵给患者注入 KISS1 蛋白衍生物肽段,可以明显抑制 KISS1 R 蛋白过表达的 B16-BL6 黑色素瘤细胞发生自发肺转移,与对照组相比,有效率高达 66% ($P < 0.01$)。与抑癌基因编码的蛋白能够抑制原发肿瘤发生不同的是,肿瘤转移抑制基因编码的蛋白能够在体内阻止或抑制肿瘤转移过程,但并不影响原发肿瘤的生长,通常都会在肿瘤进展过程中缺如,但不会在肿瘤细胞转化过程中缺如。

肿瘤转移现象是肿瘤高发病率和致死率的原因,越来越多的证据显示,肿瘤细胞其实在癌症早期就已经从原发病灶脱离并转移到别处去了。基于肿瘤抑制基因在肿瘤转移灶的形成过程中发挥的重要作用,笔者推测如果能够抑制基因的功能可能是一新的治疗肿瘤转移途径。

参考文献

- [1] Yan L, Hsu K, Beckman RA. Antibody-based therapy for solid tumors[J]. *Cancer J*, 2008, 14(3): 178-183.
- [2] Giusti RM, Shastri K, Pilaro AM, et al. U. S. Food and Drug Administration approval: panitumumab for epidermal growth factor receptor-expressing metastatic colorectal carcinoma with progression following fluoropyrimidine-, oxaliplatin-, and irinotecan-containing chemotherapy regimens[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(5): 1296-1302.
- [3] Baselga J, Albanell J, Ruiz A, et al. Phase II and tumor pharmacodynamic study of gefitinib in patients with advanced breast Cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(23): 5323-5333.
- [4] Zhang Y, Pastan I. High shed antigen levels within tumors; an additional barrier to immunoconjugate therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(24): 7981-7986.
- [5] Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM, et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. *JAMA*, 2006, 295(21): 2516-2524.
- [6] Brave SR, Odedra R, James NH, et al. Vandetanib inhibits both VEGFR-2 and EGFR signalling at clinically relevant drug levels in preclinical models of human Cancer [J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(1): 271-278.
- [7] Deckert PM, Renner C, Cohen LS, et al. A33scFv-cytosine deaminase: a recombinant protein construct for antibody-directed enzyme-prodrug therapy [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(6): 937-939.
- [8] von Euw EM, Barrio MM, Furman D, et al. A phase I clinical study of vaccination of melanoma patients with dendritic cells loaded with allogeneic apoptotic/necrotic melanoma cells; analysis of toxicity and immune response to the vaccine and of IL-10 -1082 promoter genotype as predictor of disease progression [J]. *J Transl Med*, 2008, 6: 6.
- [9] Jeong HS, Lee H, Ko Y, et al. Vaccinations with dendritic cells primed with apoptotic tumor cells can elicit preventive antitumor immunity in a poorly immunogenic animal model of squamous cell carcinoma [J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(9): 1588-1593.
- [10] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11): 857-866.
- [11] Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs; are the answers in sight? [J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(2): 102-114.
- [12] Lujambio A, Esteller M. CpG island hypermethylation of tumor suppressor microRNAs in human cancer [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(12): 1455-1459.
- [13] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast Cancer [J]. *Nature*, 2007, 449(7163): 682-688.
- [14] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines Cancer gene targets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(7): 2257-2261.
- [15] Nass D, Rosenwald S, Meiri E, et al. MiR-92b and miR-9/9* are specifically expressed in brain primary tumors and can be used to differentiate primary from metastatic brain tumors [J]. *Brain Pathol*, 2009, 19(3): 375-383.
- [16] Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, et al. MicroRNAs accurately identify Cancer tissue origin [J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(4): 462-469.
- [17] Tili E, Michaille JJ, Gandhi V, et al. miRNAs and their potential for use against Cancer and other diseases [J]. *Future Oncol*, 2007, 3(5): 521-537.
- [18] Stafford LJ, Vaidya KS, Danny RW. Metastasis suppressors genes in Cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(5): 874-891.
- [19] Steeg PS. Metastasis suppressors alter the signal transduction of Cancer cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(1): 55-63.
- [20] Li J, Zhou J, Chen G, et al. Inhibition of ovarian Cancer metastasis by adeno-associated virus-mediated gene transfer of nm23H1 in an orthotopic implantation model [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13(3): 266-272.
- [21] Horak CE, Mendoza A, Vega-Valle E, et al. Nm23-H1 suppresses metastasis by inhibiting expression of the lysophosphatidic acid receptor EDG2 [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(24): 11751-11759.
- [22] Ohta H, Sato K, Murata N, et al. Ki16425, a subtype-selective antagonist for EDG-family lysophosphatidic acid receptors [J]. *Mol Pharmacol*, 2003, 64(4): 994-1005.
- [23] Beach S, Tang H, Park S, et al. Snail is a repressor of RKIP transcription in metastatic prostate Cancer cells [J]. *Oncogene*, 2008, 27(15): 2243-2248.
- [24] Nash KT, Phadke PA, Navenot JM, et al. Requirement of KISS1 secretion for multiple organ metastasis suppression and maintenance of tumor dormancy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(4): 309-321.
- [25] Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor [J]. *Nature*, 2001, 411(6837): 613-617.

(收稿日期: 2013-01-28)