

基于胶质瘤分子分型的靶向治疗

韩硕 综述 张晓华 审校

上海交通大学医学院附属仁济医院神经外科,上海 200127

摘要:脑胶质瘤是颅内最常见的原发性肿瘤,手术全切率低,个体差异大,即使采取手术联合放化疗等综合治疗,仍无法解决高复发率的难题。随着胶质瘤基因测序的成熟以及临床试验的开展,以分子分型为基础的靶向个体化治疗胶质瘤逐渐得到认可。本文介绍了针对脑胶质瘤常见分子分型靶向治疗的作用机制,临床试验和局限性,以期临床和科研提供一定的参考价值。

关键词:胶质瘤;分子分型;靶向治疗

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.01.020

美国癌症基因组图谱计划(The Cancer Genome Atlas, TCGA)于2006年正式启动,选择胶质母细胞瘤、肺癌和卵巢癌为突破口,利用高通量测序技术,寻找诱发癌症的DNA序列。2年后,TCGA找到了胶质母细胞最重要的3条信号调节通路,即视网膜母细胞瘤蛋白肿瘤抑制因子通路、P53肿瘤抑制因子通路和磷脂酰肌醇3/蛋白激酶B信号通路。随着TCGA等数据库引领生物信息学的兴起,中国胶质瘤基因组图谱计划启动,并于2014年发布了中国胶质瘤分子指南,详细描述了11种分子标志物的背景及临床检测,为下一步设计靶向治疗提供了坚实的基础^[1]。本文参阅相关文献,对现有针对胶质瘤分子分型的靶向治疗作一综述。

1 靶向治疗的时代

过去主要通过形态学对胶质瘤进行病理分型,因而无法引入针对分子分型的靶向治疗。2016年WHO引入了分子诊断的新概念,重新定义胶质瘤的病理分型,迅速改变了医生对胶质瘤的认知,比如混合型胶质瘤如果有IDH突变和1p/19q缺失,应诊断为少突胶质细胞瘤,反之有IDH, ATRX和TP53突变则诊断为星形细胞瘤^[2]。与此同时,医生不再仅根据形态学选择化疗方案,而是根据分子分型选择个体化治疗方案,随着贝伐单抗、恩西地平等靶向药物的获批上市,靶向治疗的时代宣告来临。

2 胶质瘤的潜在治疗靶点

2.1 IDH 基因

异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)突变可产生2-羟戊二酸,竞争性抑制 α -酮戊二酸依赖性脯氨酸羟化酶,升高细胞内缺氧诱导因子-1 α ,诱导DNA甲基化,于2008年由Parsons等^[2]首次利用高通量测序技术发现。为了推广IDH基因检测,Valentina等^[3]研制出解吸电喷雾电离质谱分析法,通过检测2-羟戊二酸,3分钟即可判别IDH突变情况,敏感度和特异度均高于80%。与此同时,针对IDH基因的靶向治疗不断涌现,Kim^[4]研发出3-氟甲基乙醇,可通过靶向抑制IDH1 R132H,起到杀伤肿瘤细胞的效果。刚刚FDA批准上市的恩西地平,可逆性抑制IDH2突变产生2-羟戊二酸,在急性髓细胞性白血病中已取得成功。诺华公司的IDH1突变抑制剂IDH305,也进入神经胶质瘤的II期临床试验。Schumacher^[5]研发了一款针对IDH1突变蛋白的疫苗, IDH1突变蛋白会被表达组织相容复合物II的细胞递呈给CD4细胞,对存在突变的细胞产生特异杀伤。这款疫苗针对III-IV级神经胶质瘤的I期临床试验已于2015年6月完成招募,正在进行。另一个来自杜克大学的治疗II级胶质瘤的PEPIDH1M疫苗也已进入I期临床试验。

基金项目:国家自然科学基金(81471333)

收稿日期:2017-10-06;修回日期:2017-12-25

作者简介:韩硕(1993-),男,神经外科在读博士研究生,主要从事神经肿瘤的临床与基础研究。

通信作者:张晓华(1969-),男,教授、主任医师,博士生导师,主要从事神经肿瘤的临床与基础研究。Email:zxy1969@aliyun.com

2.2 MGMT 基因

O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O⁶-methyl-guanine-DNA-methyltransferase, MGMT) 是一种修复 O⁶-甲基鸟嘌呤烷的酶, 而替莫唑胺等烷化剂的作用机制是使 O⁶-甲基鸟嘌呤烷基化, 形成 DNA 交联, 从而杀死肿瘤细胞, 因而肿瘤表达 MGMT 是对烷化剂耐药的主要原因。MGMT 抑制剂 O⁶ 苄基鸟嘌呤作为卡氮芥增强剂已进入 III 期临床试验^[6], 原理是作为假底物与 MGMT 结合, 起到灭活真正底物的作用, 使肿瘤无法修复 O⁶-甲基鸟嘌呤。但结果显示 O⁶ 苄基鸟嘌呤对于新诊断胶质母细胞瘤并未改善生存期, 且增加了神经毒性。而且 Chen 等^[7] 认为肿瘤细胞可由于谷胱甘肽-S-转移酶活性增高, 而对 O⁶ 苄基鸟嘌呤和替莫唑胺耐药。虽然烷化剂的辅助药物研发受阻, 但新型烷化剂替莫唑胺脂相比替莫唑胺增加了药物脂溶性, 使药物进入瘤体内部的浓度增加, 对胶质瘤 LN229 细胞的诱导凋亡作用强于替莫唑胺, 且能克服替莫唑胺耐药^[8]。另外萝卜硫素能够下调 MGMT 蛋白表达, 联合替莫唑胺可增加其敏感性^[9]。但以上两种药物目前停留在体外试验阶段, 有待进一步开展临床试验。

2.3 EGFR 基因

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 基因编码一种酪氨酸激酶受体, 与配体结合后激活大鼠肉瘤蛋白/磷脂酰肌醇 3 通路, 最终激活底物雷帕霉素靶蛋白, 从而促进细胞增殖和能量合成。最常见的突变为截段突变, 即外显子 2-7 框内缺失形成的 EGFRVIII 重排, 不再绑定配体的短胞外区。主要见于原发性胶质母细胞瘤, 扩增和过表达随恶性程度增高而增高。针对 EGFR 通路已有尼妥珠单抗及其他靶向性替尼单抗, 尼妥珠单抗于 2004 年由美国食品药品监督管理局和欧洲药品管理局双重认证, 批准晚期胶质瘤的孤儿用药资格, III 期临床试验证实可有效延长无病进展期和总生存期^[10]。但一项随机双盲对照 II 期临床试验显示, 另一种抗 EGFR 单抗西妥昔单抗在复发高级别胶质瘤人群中较少获益, 不值得推广^[11]。酪氨酸激酶受体抑制剂进行了多次 III 期临床试验, 并不成功, 而且发现表达 KLHDC8A 基因可使胶质瘤对吉非替尼和埃罗替尼产生耐药^[12]。看到单抗和酪氨酸激酶受体抑制剂的局限性, 塞德斯公司研发出针对 EGFRVIII 重排的疫苗 Rindopepimut, III 期临床阶段 (NCT01480479) 已完成, 67% 接受 3 个

月以上疫苗注射的患者 EGFRVIII 重排被清除, 可有效延长总生存期 6 个月, 已进入 IV 期临床阶段^[13]。另外, Shir^[14] 在 Nature 发文显示, 体内注入反义 RNA 修复 VIII 重排, 可使胶质瘤缩小超过 40 倍。其他 RNA 如小干扰 RNA 通过介导转录后基因沉默, 可敲除 90% 目标 mRNA, 中位生存期延长 90%^[15]。MiRNA 可直接抑制 EGFR 受体转录, 下调蛋白激酶 B 信号表达, 在肝癌中已进入 I 期临床试验 (NCT01829971), 但目前的载体无法通过血脑屏障, 需要寻找其他合适的载体。

2.4 PTEN 基因

磷脂酶与张力蛋白同源物 (Phosphatase and tension homolog, PTEN) 通过抑制磷脂酰肌醇 2 磷酸磷酸化为磷脂酰肌醇 3 磷酸, 从而实现对磷脂酰肌醇 3/蛋白激酶 B 信号通路的负性调节, 促进细胞凋亡。基因突变、表观遗传沉默或非编码 RNA 调节可致 PTEN 纯合子缺失, 从而导致激酶 S6K1 激活, 诱发胶质瘤。Liu^[16] 发现 LY-2779964 靶向抑制 S6K1, 对 PTEN 纯合子缺失的肿瘤细胞产生细胞毒作用。Lee^[17] 发现罗格列酮选择性激活过氧化物酶增殖体活化受体 γ , 使其结合到 PTEN 启动子的结合位点, 上调 PTEN 表达, 并增强酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼的抗肿瘤作用。

2.5 P53 基因

P53 基因编码一种转录因子, 诱导缺陷细胞凋亡。P53 蛋白主要受鼠双微体蛋白 (murine double minute-2, MDM2) 的调控, MDM2 蛋白通过与 P53 反式激活结构域结合或催化 P53 蛋白泛素化降解, 使其失活, 缺陷细胞就可继续繁殖。Chene 等^[18] 根据 P53-MDM2 复合体结构, 设计了八肽类复合物, 无须进一步修饰, 即可穿入细胞, 激活肿瘤细胞中野生型 P53 蛋白活性。另外还有硫氧还蛋白、P53 蛋白的肽类似物等均通过阻碍 P53 和 MDM2 的相互作用治疗表达 MDM2 和野生型 P53 的胶质瘤, 但这类多肽及类似物容易被代谢, 利用率较低。另外一类非肽类小分子抑制剂 MI-77301, 结构类似于 P53, 可与 MDM2 牢牢结合, 竞争性抑制 P53 与 MDM2 的作用, 抑制肿瘤细胞生长, 生物利用度较高, 相比多肽类药物更有研究价值, 已进入 I 期临床试验阶段^[19]。

2.6 BRAF 基因

鼠类肉瘤病毒同源基因 B1 (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF), 编码一种丝/苏

氨酸特异性激酶,是丝裂原活化蛋白激酶通路的重要转录因子,参与细胞生长分化与凋亡。BRAF 基因 V600E 错义突变,在各级别胶质瘤中均可检测到。2011 年 BRAF V600E 抑制剂威罗菲尼的上市为胶质瘤带来了全新的治疗方式。Del 等^[20]通过威罗菲尼单药使一例儿童颈髓神经节细胞胶质瘤体积明显缩小。Chamberlain^[21] 回顾分析了 4 例复发的多形性黄色星形细胞瘤通过威罗菲尼治疗后总生存期延长至 8 个月,但出现关节炎、皮疹及畏光等不良作用。I/II 期临床试验(NCT01006980C)结果显示,另一种 BRAF V600E 抑制剂达拉菲尼对纳入的 32 例患者中,23 例均有应答,且肿瘤明显缩小,这项令人鼓舞的结果也推动了该药联合 MEK 抑制剂的 I/II 期临床试验,目前试验正在进行。

2.7 TERT 启动子突变

端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)启动子突变,可使肿瘤细胞获得无限增殖能力。端粒酶作为药物靶点有两个优势,一是很少在正常细胞表达,二是肿瘤细胞中端粒的长度远低于正常细胞,因而选择性抑制端粒酶活性可使肿瘤细胞比正常细胞更快死亡。核苷类逆转录酶抑制剂(ddG 和 AZT 等)通过和三磷酸单核苷酸竞争与端粒酶的结合位点发挥作用,在治疗 T 细胞白血病、甲状旁腺癌、食管癌等多种肿瘤中取得成功^[22]。BIBR1532 被认为是一种很有前景的端粒酶抑制剂,由德国勃林格公司研制,可分别与脱氧核糖核苷酸及 DNA 引物的位点相结合,并抑制端粒酶活性^[23]。GRN163L 于 2006 年底由杰龙公司申请开始临床试验,第一、二期临床选择在慢性粒细胞性白血病患者中进行,对实体肿瘤的临床试验最近刚刚开始^[24]。这类药物的缺点是 15% 恶性肿瘤细胞可通过端粒延长替代机制维持端粒长度,端粒酶抑制剂对这些肿瘤无效。

2.8 ATRX 基因

α -地中海贫血/智力低下综合症 X 染色体连锁基因(alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked, ATRX)编码解旋酶蛋白,通过端粒延长替代机制维持细胞端粒长度。发生于星形细胞瘤、继发性胶母,不发生在少突胶质细胞瘤,多伴有 IDH 和 TP53 突变,与 1p/19q 共缺失和 TERT 启动子突变排斥。AZ20 是首次报道体内有效的选择性 ATR 激酶抑制剂,可修复 ATRX 突变基因,恢复端粒功

能^[25]。目前针对 ATRX 基因的靶向药物较少,尚缺乏相关的临床试验。

3 靶向治疗的局限性

目前除 IDH 外,其余基因的免疫组化结果争议较大,需要焦磷酸测序和甲基化特异多聚酶链式反应,检测起来较为困难。另外由于胶质瘤内基因异质性的存在,即使表达一种基因的肿瘤细胞被消除,或一种信号传导通路被抑制,其他肿瘤细胞可继续增殖或通过其他信号传导通路增殖,这也是靶向药物存在耐药性的原因。相对来说,免疫治疗通过警告体内存在肿瘤,诱发免疫反应,从而有可能消灭所有肿瘤细胞。但是免疫治疗存在毒副作用大的缺陷,很多人无法耐受,对于这部分人群,靶向治疗可以缩小肿瘤,延长总生存期。

4 结语

综上所述,针对分子分型的靶向治疗为实现个体化治疗提供新的治疗思路,能够精确定位肿瘤突变基因并进行抑制,对正常细胞不产生明显的副作用。虽然靶向药物不可能杀死所有肿瘤细胞,但能够使肿瘤停止生长甚至缩小,尤其是在放疗无效的病人中起着不可替代的作用^[1]。随着二代基因检测技术的普及,测序成本已大大降低,基因测序正逐步走向普通大众,与此同时,针对不同靶点的各类靶向药物层出不穷,正逐渐成为特定人群的首选用药。

参 考 文 献

- [1] 中国脑胶质瘤协作组. 中国脑胶质瘤分子诊疗指南[J]. 中华神经外科杂志, 2014, 30(5): 523-527.
- [2] Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme [J]. Science, 2008, 321(5897): 1807-1812.
- [3] Pirro V, Alfaro CM, Jarmusch AK, et al. Intraoperative assessment of tumor margins during glioma resection by desorption electrospray ionization-mass spectrometry [J]. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017, 114(26): 6700-6705
- [4] Kim HJ, Bu YC, Keum YS. Identification of a New Selective Chemical Inhibitor of Mutant Isocitrate Dehydrogenase-1 [J]. J Cancer Prev, 2015, 20(1): 78-83.
- [5] Schumacher T, Bunse L, Pusch S, et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity [J]. Nature, 2014, 512(7514): 324-327.
- [6] Blumenthal DT, Rankin C, Stelzer KJ, et al. A Phase III study of radiation therapy (RT) and O⁶-benzylguanine + BCNU versus RT and BCNU alone and methylation status in

- newly diagnosed glioblastoma and gliosarcoma: Southwest Oncology Group (SWOG) study S0001 [J]. *Int J Clin Oncol*. 2015,20(4):650-658.
- [7] Chen XJ, Kai Z, Yong X, et al. Oncolytic adenovirus-expressed RNA interference of O⁶-methylguanine DNA methyltransferase activity may enhance the antitumor effects of temozolomide [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(5): 2201-2202.
- [8] 郭珊珊, 朱仲玲, 徐辉, 等. 替莫唑胺酯对脑胶质瘤的作用及其机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, (13): 1271-1275.
- [9] Lan F, Yang Y, Han J, et al. Sulforaphane reverses chemoresistance to temozolomide in glioblastoma cells by NF-kappaB-dependent pathway downregulating MGMT expression [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(2): 559-568.
- [10] Westphal M, Heese O, Steinbach JP, et al. A randomised, open label phase III trial with nimotuzumab, an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in the treatment of newly diagnosed adult glioblastoma [J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(4): 522-532.
- [11] Neyns B, Sadones J, Joosens E, et al. Stratified phase II trial of cetuximab in patients with recurrent high-grade glioma [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(9): 1596-1603.
- [12] Wykosky J, Mukasa A, Furnari F, et al. Escape from targeted inhibition: The dark side of kinase inhibitor therapy [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(9): 1661-1662.
- [13] Weller M, Butowski N, Tran DD, et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRVIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017,18(10):1373-1385.
- [14] Shir A, Levitzki A. Inhibition of glioma growth by tumor-specific activation of double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR [J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(9): 895-900.
- [15] Guo D, Wang B, Han F, et al. RNA interference therapy for glioblastoma [J]. *Expert Opin Biol Ther*. 2010, 10(6):927-936
- [16] Liu H, Feng X, Ennis KN, et al. Pharmacologic Targeting of S6K1 in PTEN-Deficient Neoplasia [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(9): 2088-2095.
- [17] Lee SY, Hur GY, Jung KH, et al. PPAR-gamma agonist increase gefitinib's antitumor activity through PTEN expression [J]. *Lung Cancer*, 2006, 51(3): 297-301.
- [18] Chène P, Fuchs J, Bohn J, et al. A small synthetic peptide, which inhibits the p53-hdm2 interaction, stimulates the p53 pathway in tumour cell lines 1 [J]. *J Mol Biol*, 2000, 299(1): 245-253
- [19] Zhao Y, Aguilar A, Bernard D, et al. Small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 protein-protein interaction (MDM2 Inhibitors) in clinical trials for cancer treatment [J]. *J Med Chem*, 2015, 58(3): 1038-1052.
- [20] del Bufalo F, Carai A, Figù-Talamanca L, et al. Response of recurrent BRAFV600E mutated ganglioglioma to Vemurafenib as single agent [J]. *J Trans Med*, 2014, 12(1): 356.
- [21] Chamberlain MC. Salvage therapy with BRAF inhibitors for recurrent pleomorphic xanthoastrocytoma: a retrospective case series [J]. *J Neurooncol*, 2013, 114(2): 237-240.
- [22] Wang H, Zhou J, He Q, et al. Azidothymidine inhibits cell growth and telomerase activity and induces DNA damage in human esophageal cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 4055-4060.
- [23] Zvereva MI, Zatsepin TS, Azhibek DM, et al. Oligonucleotide inhibitors of telomerase: prospects for anticancer therapy and diagnostics [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2015, 80(3): 251-259.
- [24] Balian V, Al-Talib Y. B50 A novel approach in the treatment of cancer: Targeting telomerase with imetelstat sodium (GRN163L). In: *Neri Cancer Conference*, 2013: 342-347.
- [25] Foote KM, Blades K, Cronin A, et al. Discovery of 4-{4-[(3R)-3-Methylmorpholin-4-yl]-6-[1-(methylsulfonyl)cyclopropyl]pyrimidin-2-yl}-1H-indole (AZ20): a potent and selective inhibitor of ATR protein kinase with monotherapy in vivo antitumor activity [J]. *J Med Chem*, 2013.56(5): 2125-2138.