

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.06.021

肿瘤靶向治疗的新思路

Potential novel ideas in targeted therapy for cancer

秦臻 综述; 苏定冯, 刘霞 审阅(第二军医大学药学院药理教研室, 药理学国家重点学科, 上海 200433)

[摘要] 与放、化疗相比, 肿瘤的靶向治疗具有较高的特异性和较低的不良反应, 因而受到了广泛的关注。传统的靶向药物或干扰肿瘤的分裂增殖, 或抑制癌细胞的侵袭转移, 或克服肿瘤耐药。近年来, 囊泡运输机制、DNA 损伤修复机制和免疫系统靶向药物等相关研究在不断升温。其中, 可通过囊泡运输进入成胶质瘤细胞内的化合物 Vacquinol-1 已在小鼠实验中验证了其对于肿瘤的杀伤作用。上述领域的细胞和分子生物学新突破, 揭示着肿瘤靶向治疗理念与技术渐臻成熟, 靶点类型也由传统的单一蛋白分子向信号转导通路的相互作用以及免疫微环境等整体协同效应的转变。

[关键词] 肿瘤; 靶向治疗; 细胞和分子生物学

[中图分类号] R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)06-0712-09

肿瘤靶向治疗, 是以肿瘤发病机制和癌细胞分子生物学研究为基础, 开展靶向性特异性治疗。与传统化疗和放疗相比, 靶向治疗因其特异性强、不良反应小而受到业界的青睐, 正成为肿瘤治疗的新宠。近年来, 全球科学家致力于探求新的靶点类型, 并研发出能特异性激活或抑制靶点的药物, 选择性地杀伤癌细胞, 而对正常组织损伤较轻或无损伤, 从而实现理想的抗肿瘤治疗的目的。

1 靶向囊泡运输机制

1.1 囊泡运输机制与 2013 诺贝尔奖

因发现囊泡运输机制, 三位科学家同获 2013 年度诺贝尔生理学或医学奖。其中, 托马斯·C·苏德霍夫致力于揭示信号如何引导囊泡释放被运输物。

“这将有助于肿瘤治疗”, 中科院研究员李培峰^[1]第一时间公开自己的论断: 相关蛋白有可能通过细胞内信号转导而在肿瘤的发生发展中发挥作用。虽然囊泡运输机制尚未成为肿瘤靶标研究的主流, 但值得关注的是, 在肿瘤靶向研究方面, 该机制具有无穷活力和应用前景, 并为广大科研工作者提供了全新的思路。

1.2 癌细胞“自爆”与囊泡运输

成胶质细胞瘤因其生长速度快, 平均生存期短, 一度被业界认定为最具威胁的脑肿瘤。瑞典卡罗林斯卡医学院的科研人员在 200 多种分子中筛选发现名为 Vacquinol-1 的化合物, 其可以导致成胶质细胞瘤的细胞膜破裂和癌细胞坏死。而该运输过程正是通过细胞内囊泡系统来完成, 这与 2013 年度诺贝尔医学或生理学奖的发现颇有异曲同工之妙。研究人

员让被植入人类胶质母细胞瘤细胞的小鼠连续摄取 5 天的 Vacquinol-1 片剂, 在动物实验中证实了该化合物的有效性^[2-3]。

2 靶向肿瘤细胞分裂增殖

肿瘤的发生发展与细胞的过度分裂增殖有关, 无限制的增殖是恶性癌细胞最主要的特征之一^[4]。

2.1 靶向蛋白酶

《科学-信号》(*Science Signaling*) 杂志刊文描述了雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 激酶的晶体结构, 探讨了该蛋白激酶和蛋白配体多位点序列分型 8(multilocus sequence typing 8, mLST8) 靶向结合的机制, 对细胞增殖的影响, 以及借助关键酶靶向技术开发抗肿瘤药物的可能性^[5]。傅向东^[6]教授研究发现, SR 蛋白特异激酶 1(SR-protein-specific kinase 1, SRPK1) 酶能够破坏细胞增殖的调控机制。大多数肿瘤的 SRPK1 过表达, 并已证实 SRPK1 抑制剂可用于治疗特定癌症。奇特的是, 对于正常表达 SRPK1 的癌症细胞, 抑制 SRPK1 表达反而会刺激癌症增殖生长, 促发癌症, 正可谓“过犹不及”。因此, SRPK1 酶的过多或过少表

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81273606)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81273606)

[作者简介] 秦臻(1990-), 男, 山东省泰安市人, 硕士生, 主要从事免疫药理和神经药理方面的研究, E-mail: qinzen1990gfs@126.com

[通信作者] 刘霞(Liu Xia, corresponding author), E-mail: lxfllyng@aliyun.com

达,都可能诱发癌症。

2.2 靶向微管与细胞分裂

当细胞分裂时,微管纺锤体充当 DNA 移动的轨道。如果在细胞分裂前未能重建微管形成的轨道,则细胞无法正常分裂,接缝(seam)结构便成为微管系统中关键的故障点。任何旨在影响微管结构稳定性的药物,都可以把微管接缝作为作用靶标^[7-8],进而干扰癌细胞分裂,控制肿瘤的发展。

2.3 靶向低氧与细胞增殖

细胞增殖需要大量耗氧,低氧既是影响恶性肿瘤预后的关键因素,也是发生恶性转化的起始原因之一。

低氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)是由低氧等因素诱导细胞产生的一种核蛋白,由亚单位 HIF-1 α 和 HIF-1 β 以异源二聚体的形式结合构成。在恶性肿瘤中,HIF-1 可通过调控靶基因来保护肿瘤细胞,促进肿瘤的恶性转化。细胞在有氧条件下,HIF-1 会快速降解;低氧环境中,HIF-1 α 生成速度加快,降解受阻,表达水平迅速升高,与 HIF-1 β 结合形成完整的 HIF-1 转录复合体,参与靶基因的转录^[9]。乳腺癌中,人类基因 rhomboid family-1 (RHBDF1)表达高度上升,该基因是低氧条件下调控癌细胞 HIF-1 α 稳定性的分子开关的重要组件,显示了 RHBDF1 成为肿瘤治疗新型靶点的潜力^[10]。HIF1 α 被认为在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)中过度激活,内质网跨膜蛋白肌醇酶的底物人类转录因子 X-盒结合蛋白 1(X-box binding protein 1, XBP1)通过控制 HIF1 α 通路促进 TNBC 的发展。XBP1 通过装配含 HIF1 α 的转录复合物,借助 RNA 聚合酶 II 调节靶标 HIF1 α 的表达,对 HIF1 α 转录程序进行控制^[11]。同样,过度活化的 HIF 可以调控低氧核蛋白 SPOP(speckle-type POZ protein)表达,而低氧微环境可以驱使过表达的 SPOP 蛋白在肾癌细胞质中积聚,从而加速细胞增殖,诱发肾癌^[12]。

癌细胞能够在实体瘤中的低氧条件下生存下来,即著名的沃伯格效应(Warburg effect)。泛素蛋白连接酶 E3 中的鼠双微体 2 蛋白(murine double minute 2, Mdm2)是 p53 的下游效应子,能够通过磷酸甘油酸变位酶(phosphoglycerate mutase, PGAM)的泛素化和降解,抑制沃伯格效应,调控 Mdm2 为干涉 PGAM 水平进而治疗癌症开辟了新的途径^[13]。乳酸脱氢酶-A(lactate dehydrogenase-A, LDH-A)是靶向葡萄糖代谢最后步骤的一种酶。癌细胞中 LDH-A 升高,肿瘤细胞得以摆脱氧气限制,而将大

多数的葡萄糖储存物转变为乳酸。葡萄糖产物不仅用于能量生产,而且可以加速细胞生长和增殖。因此,LDH-A 有潜力成为阻止癌细胞增殖的靶点^[14]。

2.4 靶向“饥饿”与细胞增殖

实体瘤内部缺少血液供应,致使氧气和养料匮乏,部分癌细胞进入休眠状态,一些治疗手段可能诱发休眠癌细胞再次分裂,引起肿瘤复发。所谓“饥饿”疗法,就是通过减少实体瘤内部的氧气和养料,杀死休眠癌细胞。为了模拟肿瘤三维状态,瑞典乌普萨拉大学 StigLinder 团队^[15]对上万种针对结肠癌细胞的药物进行筛选,发现了小分子候选药物 VLX600,并且 VLX600 能够与伊立替康(一种用来治疗小鼠结肠癌和减少肿瘤生长的药物)一起发挥作用。

杜克大学的新研究^[16]显示,血液中的铜能够协助细胞“呼吸”。阻断肿瘤对铜的摄取,致使血液中含铜量降低,从而协助细胞“呼吸”的功能降低,肿瘤的增殖生长便受到抑制,甚至“饿死”癌细胞。降低血液中含铜量的药物可用来应对 BRAF 基因突变引发的癌症,如恶性黑色素瘤。降低肝豆状核变性(Wilson disease)的铜水平的口服药,有望用于治疗黑色素瘤等由 BRAF 驱动癌症。

3 靶向 DNA 损伤修复系统

DNA 损伤反应(DNA damage response, DDR)是感知 DNA 损伤和激活反应途径的一种信号网络,其反应机制为通过中断细胞分裂修复受损的 DNA,从而稳定基因组^[17]。维持基因组 DNA 的稳定对于细胞存活和肿瘤抑制至关重要。特异靶向 DNA 损伤修复通路的关键分子也逐渐成为抗肿瘤药物研发的重要方向^[18]。

3.1 信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)与 EBV

STAT3 是信号转导与转录活化因子家族的重要成员。研究^[19-20]发现,STAT3 蛋白在大多数人类癌症中活跃表达,干扰细胞的抗癌机制,促进癌症发展。

STAT3 可以干扰细胞中先天性的抗肿瘤机制,而且可以破坏机体中名为 DNA 损伤效应的癌症抑制机制。采用致癌 Epstein-Barr 病毒(EBV)作为工具,感染血细胞,细胞会继续分裂,促进癌症发展。EBV 不仅感染后导致 DNA 损伤,而且它还能快速地“捕获”细胞蛋白 STAT3,启动连锁反应^[21]。

3.2 靶向抑制特异性酶,断裂 DNA 双链

由瑞典 5 所大学组成的创新团队^[22-23]发现,癌

细胞需要 MutT 同源酶 1 (MutT homolog-1, MTH1) 维持生存, 抑制该酶后, 氧化的核苷酸会掺入 DNA 双链中, 致使癌细胞 DNA 双链断裂。他们研究证实, 所有接受测试的癌肿瘤都需要 MTH1 酶维持生存, 而正常细胞则不需要 MTH1 酶, 其能特异性得到广泛认可。该团队合成了 MTH1 酶抑制剂, 并证实能够特异性杀死皮肤癌细胞。

先前的研究^[24]证实, 癌细胞往往会产生额外多的端粒酶使之不断地分裂繁殖。来自《科学》(Science)杂志的最新文章称, 端粒酶失活时, 癌细胞将启动端粒替代延长机制 (alternative lengthening of telomeres, ALT)。在癌症治疗中, 通过靶向端粒酶, 并以此为基础开发相应的抑制子, 有望成为肿瘤靶向治疗的新思路^[25]。

3.3 金属抗肿瘤药物阻止 DNA 复制

顺铂作为临床使用最广泛的化疗药物之一, 可以交联 DNA 导致双螺旋结构扭曲。此外, 科学家从肿瘤细胞裂解液中捕获和鉴定了与顺铂 1,2——交联 DNA 特异性相互作用的高迁移组蛋白质 1 (high mobility group box 1, HMGB1), 其能特异性识别顺铂损伤的 DNA, 阻止 DNA 的修复和复制^[26]。

3.4 解析 DNA 损伤修复机制

在多种内外因素的干扰下, DNA 的损伤时有发生, 而细胞在不断地进行修复。如果修复失败, DNA 便发生双链断裂 (double strand break, DSB)。由于没有模板可循, 断裂链的再次连接容易导致染色体易位和基因组重排, 而 DSB 修复的缺陷导致的基因组不稳定, 成为癌症发生的重要因素^[27]。

浙江大学的研究团队^[28]深入探究 DNA 修复机制, 率先纯化出 DNA 单链结合蛋白复合物 (senser of single-strand DNA, SOSS) (由亚基 SOSS-A, SOSS-B1/B2 和 SOSS-C 构成), 并进一步阐述了该复合体组装和发挥作用的结构基础。SOSS1 复合物识别单链 DNA (single-stranded DNA, ssDNA), 修复已断裂的 DNA 双链。

4 靶向肿瘤细胞侵袭转移

约 90% 以上的癌症患者死于癌转移^[29]。肿瘤侵袭和转移机制复杂, 其调控因素总结起来有蛋白靶标、靶向特异性酶、靶向整合素类分子、靶向泛素-蛋白酶体通路、靶向肿瘤新生血管生成、物理因素诱导、靶向肿瘤微环境、microRNAs、间质金属蛋白酶抑制剂等。

4.1 靶向关键靶蛋白

日本熊本大学研究小组^[30]发现, 人体细胞分泌

的 TLL1 (Tolloid-like protein 1) 酶具有遏制癌细胞转移的作用。特异性激活 TLL1 酶, 有望改善患者预后。

一项发表在《细胞》(Cell)杂志的研究称, 肝 X-β 受体是广泛存在于体细胞核中的蛋白靶标, 其能够控制有关基因编码的载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE), ApoE 既抑制癌细胞侵入新组织的能力, 也能抑制肿瘤“招募”血管的能力, 从而抑制癌细胞的侵袭转移。能够增加 ApoE 的水平药物 GW3965 可用于治疗携带黑色素瘤细胞的小鼠^[31]。

敲除一种具有去甲基化酶活性的包含 Jumonji 结构域的蛋白 JMJD6 (Jumonji domain containing protein 6), 可增强 p53 转录活性, 抑制结肠癌细胞的侵袭, 有望成为结肠癌治疗的靶标。北京大学尚永丰^[32]院士提议, 可将 JMJD6 作为侵袭性结肠癌的生物标志物。胎盘特异蛋白 8 (placenta special gene 8, PLAC8) 使结肠内壁正常细胞运动性增强, 在结肠癌扩散中发挥重要作用。结肠癌中如高水平表达 PLAC8, 肿瘤将更具侵袭性。开发抑制 PLAC8 活性的化学物质有望辅助治疗结肠癌^[33]。在《国际胃肠病学杂志》(Gastroenterology, IF 11.675) 发表的一篇文章^[34]发现, 在细胞系中转基因表达非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 3 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1, PTPN3) 基因, 可促进胆管癌细胞迁移。UBASH3B 编码的蛋白质在大多数侵袭性 TNBC 细胞系中过表达, 促进侵袭。敲除 TNBC 小鼠的 UBASH3B, 能够大幅提高小鼠的寿命, 并减少癌细胞转移的机会。UBASH3B 可能是一个潜在的药物靶标, 而且也可以用来作为生物标志物预测三阴乳腺癌的预后^[35]。

约翰霍普金斯大学研究人员^[36]探究癌细胞迁移必须的分子变化, 发现一种蛋白使细胞与邻近细胞分离, 并从正常乳腺组织游离出来, 而删除该蛋白不会引起预期的单细胞迁移。该蛋白以其独有特性被称为“维可牢蛋白 (vecro 蛋白)”。

Moore 的研究团队^[37]发现, 人附睾蛋白 4 (human epididymis protein 4, HE4) 能够增强卵巢癌细胞的侵袭性。研究人员设计了能够阻止 mRNA 转译为 HE4 蛋白的生物学药物, 分别在细胞和动物模型中对药物进行了测试, 结果证实其确能够减弱癌细胞的侵袭性。

近年来, 在大约 20% 的急性髓性白血病 (acute myelocytic leukemia, AML) 中发现了两种存在突变的代谢酶: 异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase, IDH1) 和 IDH2。由此提出, 突变的 IDH 蛋白可

做为 AML 的新分子治疗靶点^[38]。突变体选择性 IDH2 抑制剂由 Agios 公司研发,可靶向诱导肿瘤细胞分化。Ledford 等^[39]报告了有关靶向突变 IDH2 酶的药物的首批临床试验结果,题为“代谢异常产生肿瘤的希望”,10 名携带 IDH2 突变的急性髓性白血病患者中,除因感染 3 例退出外,7 例患者中 6 例对该药物有反应。该药物有望用于治疗 IDH2 突变的 AML 患者。癌细胞利用异常的代谢信号通路来获得其不断增殖所需的能量。阻断代谢信号通路的关键靶蛋白,代谢异常也许真的会产生肿瘤的希望。

孤儿核受体 NR4A1(nuclear receptor sub-family 4, group A, member 1)是 TGF- β 信号介导乳腺癌转移的关键因子。利用全基因组 cDNA 筛查技术,研究人员^[40]确定了核受体通过激活 TGF- β 信号促进了乳腺癌侵袭和转移。炎症细胞因子高度诱导 NR4A1 表达,诱发 TGF- β 介导的乳腺癌细胞迁移和侵袭。NR4A1 缺失后,TGF- β 诱导的上皮间质转化和转移遭到抑制,而 NR4A1 的少量异位表达则以 TGF- β 依赖性方式刺激转移。

4.2 靶向整合素类分子

整合素(integrin)是一类由 α 和 β 两条多肽链以非共价键结合而形成的跨膜异二聚体糖蛋白,是细胞黏附分子家族的重要成员。先前的研究证实,癌细胞通过整合素受体与环境交互作用。整合素受体发送信号进入细胞,当这些信号缺失时,这一过程被阻断,癌细胞不再生长和扩散,而是萎缩^[41]。

整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)是对细胞侵袭和转移过程至关重要的酶。LIMD2(LIM domain containing 2)蛋白可以驱动肿瘤扩散转移,可结合 ILK 的“口袋”,增进 ILK 的活性^[29]。

$\alpha v \beta 3$ -整合素蛋白质在血管内皮细胞中表达极高,然而 $\alpha v \beta 3$ -整合素靶向药物在脑癌中的 III 期临床试验以失败告终。该药物起初治疗有效,而在后续治疗中,整合素蛋白受体信号缺失,肿瘤便逃避治疗,因此准确把握靶向 $\beta 3$ -整合素的时机成为关键。研究人员据此拟定治疗方案,长期抑制 $\beta 3$ -整合素,可能帮助细胞逃脱 $\beta 3$ 整合素阻断,内皮细胞的整合素分子变化同时出现,取得了相对理想的疗效^[42]。需要特别关注的是,抑制整合素蛋白受体虽然能有效地抑制肿瘤的生长,但也可引起肿瘤细胞的重编程,可能实际上导致的是癌细胞转移增强,变得更加“气势汹汹”。靶向整合素类分子后, TNBC 细胞会失去上皮细胞的性状,运动性增强,扩散至全身^[43]。

4.3 靶向泛素-蛋白酶体通路

与基因转录水平的调控相比,蛋白降解调控作为转录后调控的形式之一可以保证细胞在接受外界刺激时迅速作出反应。泛素-蛋白酶体通路(ubiquitin-proteasome pathway, UPS)是真核细胞内依赖 ATP 的非溶酶体蛋白质降解通路,涉及一系列泛素相关酶促反应^[44]。

泛素 E3 连接酶 TRAF6 (TNF receptor-associated factor)调控天冬酰胺内肽酶(asparagine endopeptidase, AEP),进而影响肿瘤细胞的侵袭和转移。TRAF6 泛素修饰 AEP 后,诱导 HSP90 α 的表达,协助 AEP 蛋白进行分泌胞吐。靶向抑制 AEP 有望阻止肿瘤的侵袭和转移^[45],该研究成果发表于国际最权威的癌症研究信息源-美国《国家癌症研究所杂志》。

4.4 靶向血液循环系统

黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)是一种非受体蛋白酪氨酸激酶,在许多肿瘤中过表达,可通过多条信号通路调控细胞侵袭、迁移及凋亡等。并且 FAK 可以作为肿瘤预后因子,是潜在的抗肿瘤治疗靶点^[46]。而抑制内皮细胞中的 FAK 活性,能够阻止肿瘤细胞转移,说明 FAK 蛋白具有控制血管通透性和调节肿瘤转移的功能。针对这些功能研制的 FAK 抑制剂正在进行临床试验^[47]。新加坡国立大学 Keiko 团队^[48],采用原癌基因 RAS,将正常细胞转换成癌细胞后,表达 P53 基因的 Ras-转化细胞的侵袭和黏着斑的形成受到抑制^[49]。

4.5 物理因素诱导

Thomas Tuting 团队^[49]发现,UV 辐射通过诱导 HMGB1 的表达促进黑素瘤的转移。HMGB1 诱导周围组织炎症,而晒伤后的炎症反应促进了黑素瘤细胞沿着表面的血管迁移扩散。未来有望通过特异性地干扰炎症信号级联反应抑制黑色瘤细胞的表面迁移。

4.6 靶向肿瘤微环境

抑制 Smads 蛋白家族(drosophila mothers against decapentaplegic protein)连接区域的磷酸化,降低 TGF- β 诱导的甲状旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone-like hormone, PTHLH)表达水平,可阻碍乳腺癌的骨转移进程,为临床上治疗乳腺癌骨转移提供新思路^[50]。当病毒感染细胞时,正常细胞会被重新编程,细胞代谢被改变,以支持癌症的扩散。未来药物可能通过阻止病毒的侵袭,抑制肿瘤细胞的迁移^[51-52]。肿瘤微环境对肿瘤发生影响较大,其中基质细胞的基因改变会协助癌细胞扩散。激发成骨细胞中的 β -catenin 突变,足以引发急性髓性白血病

(acute myeloid leukemia, AML)。AML 患者中 β -catenin 信号作用增强的新发现, 将可能诠释白血病致病新机理^[53]。

4.7 新发现: 癌细胞扩散具有方向性

先前的假说认为, 癌细胞在机体中的扩散是漫无目的的, 即“随机游走”现象(random walk)。最近发现, 随机游走模型只局限于癌细胞在二维平面的运动形式, 不适用于机体内的三维空间, 3D 环境下的癌细胞移动更有方向性, 其移动轨迹约成直线, 被认为能更有效地到达血管^[54]。该研究采用的是纤维肉瘤细胞, 新模型对其他类型的癌症的适用性尚需进一步验证。

5 靶向微环境免疫系统

《科学》杂志公布了 2013 年度十大科学突破, 细胞免疫疗法荣登榜首^[55]。其中治疗的标靶并非肿瘤本身, 而是机体的免疫系统。免疫系统能够特异性杀伤肿瘤细胞, 并产生免疫记忆, 预防肿瘤复发。这种新的治疗能够激发 T 细胞等免疫细胞的清除功能, 防止肿瘤细胞的复发和转移, 被视为一种有前景的癌症治疗新模式^[56]。研究^[57]揭示了一种能够直接关闭或者开启机体免疫系统的通路, 可唤醒免疫系统杀死扩散癌细胞的能力。

5.1 新型 T 淋巴细胞

嵌合抗原受体分子(antigen receptor molecules, CAR)由识别肿瘤细胞表面抗原的抗体与活化的 T 细胞分子连接而成, 从而在体外修饰“武装”T 细胞, 形成嵌合抗原受体基因修饰的 T 淋巴细胞(chimeric antigen receptor-T lymphocyte, CAR-T)^[58]。该细胞治疗技术已成为免疫靶向肿瘤治疗的新热点。

另有报告^[59]称, T 淋巴细胞可以通过跨膜蛋白 Fas 发挥细胞毒性、免疫赦免和肿瘤监测的作用。T 细胞活化释放的生物活性 Fas 配体, 能够通过 Fas 信号传递促进黑素瘤和肺癌细胞的迁移。因此, 阻断 Fas 信号触发的癌症相关炎症, 可能是治疗乳腺癌的新策略。

5.2 自然杀伤(natural killer, NK)细胞

TAM 为受体酪氨酸激酶的一个亚家族, 因其由三个成员 Tyro3, Axl 和 Mer 组成, 故简称为 TAM 受体。研究^[60]证实, 通过靶向 TAM 受体的生物化学活性可以显著减少癌细胞的扩散。这一发现来源于对 NK 细胞的深入研究。在抵抗肿瘤进程中, NK 细胞能迅速发挥杀瘤效应和免疫监视作用^[61]。E3 泛素连接酶 Cbl-b(Casitas B cell lymphoma-b)充当 NK 细胞调控通道的重要组成部分, 通过 TAM 酪氨酸蛋

白激酶受体介导, 促使 NK 细胞更强地抑制原发肿瘤的生长和继发肿瘤的转移, 由此设计出小分子的 TAM 抑制子可以唤醒免疫系统杀灭扩散癌细胞的能力^[60]。

肿瘤细胞会通过表达高水平的转化生长因子- β (TGF- β)抑制 NK 细胞的活性。与此同时, TGF- β 诱导产生高水平的 miRNA-183, 抑制 DAP-12 的转录和翻译, 沉默肿瘤相关的 NK 细胞。靶向 TGF- β -miR183-DAP12 途径, 激活肺癌患者免疫系统, 有望成为杀死癌细胞的新方法^[62]。

5.3 表达肾素蛋白的免疫细胞

表达肾素的免疫细胞能触发骨髓的 B-细胞白血病。转录因子 RBP-J(recombination signal binding protein-J κ , RBP-J)为该信号通路的关键作用分子。当除去 RBP-J 时, 肾素阳性细胞小鼠将可能罹患 B-细胞白血病^[63]。

6 靶向肿瘤耐药

在现实临床工作中, 靶向治疗通常不能持续起效, 因为癌症在攻击下会逐渐适应, 并发展为耐受^[64]。科学家们正致力于改善药物的敏感性、开发新靶点药物, 以促进靶向药物在临床上的转化应用。

6.1 耐药生物标志物 CD61

大多数用于治疗肺癌、乳腺癌和胰腺癌的药物也会触发耐药, 最终刺激肿瘤生长。加州大学医学院圣地亚哥分校研究人员^[65]发现一种分子生物标志物 CD61, 其存在于耐药肿瘤细胞的表面, 可靶向肿瘤治疗的耐药机理。

6.2 整合素 $\alpha v \beta 3$ 与耐药

受体酪氨酸激酶抑制剂(receptor tyrosine kinase inhibitor, RTKI), 如厄洛替尼或拉帕替尼, 临床上已应用于标准癌症疗法中。整合素 $\alpha v \beta 3$ 表达和由此产生的 KRAS-RalB-NF- κB 通路都是肿瘤启动、生长、自我更新和耐药所必需的^[66]。 $\alpha v \beta 3$ -KRAS-RalB 复合物驱使肿瘤细胞产生干细胞特性, 且对于 EGFR 抑制剂发生耐药, 肿瘤细胞生存能力增强^[67]。这些发现不仅提示 $\alpha v \beta 3$ 可作为为肿瘤干细胞样特性的标志物, 还揭示了对 RTKI 引发耐药的治疗策略。

6.3 铂耐药与分子生物通路

UAF1(USP1-associated factor 1)是一个相对分子质量 80 000 的蛋白, 能调节 USP 亚家族复合物的活性。UAF1 通过其 WD40 结构域与 USPI 形成一个稳定的去泛素化酶(deubiquitinase, DUB)复合物——USP1-UAF1 复合体^[68]。庄志豪等^[69]研究发

现,该复合体是 DNA 损伤反应的关键调节因子,也是克服铂耐药的一个靶点。

跨损伤合成(translesion synthesis, TLS)是 DNA 损伤耐受机制的一种典型表现形式。该团队发现了一种新分子——ML323,可有效地抑制 USP1-UAF1 DUB 复合物的活性,破坏基本的 DNA 损伤耐受途径,抑制 TLS。因此,USP1-UAF1 DUB 复合物抑制剂联合用药可在一定程度上解除抗癌耐药性^[69]。

6.4 耐药与细胞自噬

自噬(autophagy)是指将靶蛋白或细胞器包裹到膜中,随后与溶酶体融合,溶解内含物的过程。在化疗或放疗过程中,一些癌细胞通过自体吞噬维持休眠状态来保护自己不受抗癌治疗的伤害,进而产生耐药。

催乳素(prolactin, PRL)是包括卵巢癌在内的许多癌症的强有力的生长因子。当 PRL 结合到其细胞膜受体 PRLR 上时,促癌信号通路随之激活。人催乳素受体(human prolactin receptor, hPRLR)拮抗剂 G129R 的轻微变异体可干扰催乳素与其受体之间的联系,会引发一连串的下游事件,将这一耐药机制转变为细胞自噬性死亡。加入自噬抑制剂可以逆转 G129R 的治疗效应^[70]。氯喹具有抑制癌细胞的自体吞噬的作用,然而,一项新研究表明,该作用在酸性环境中被抑制^[71]。因此,氯喹对于具有酸性特征的癌细胞患者缺乏疗效。

6.5 抗体靶向治疗耐药肿瘤

因可直接抑制肿瘤生长,抗体靶向治疗药物被广泛应用于癌症治疗,然而,此类药物的长期使用会导致肿瘤细胞对抗体的耐药^[72]。而在抗体上加载 I 型干扰素获得的融合性肿瘤抗体(Ab-IFN β)可以通过重新激活肿瘤微环境内的免疫机制、打破肿瘤免疫耐受状态。该研究成功建立了靶向及清除抗体耐药肿瘤的新一代抗体免疫疗法。Ab-IFN β 疗法首先直接靶向肿瘤内树突状细胞,进而重新活化细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)^[73]。Pallasch 等^[74]研究发现,环磷酰胺可使得复发性肿瘤对抗体治疗更加敏感,使得抗体靶向杀伤肿瘤展现出了更加广阔的应用前景。

6.6 肿瘤化疗耐药与瘦素高表达

阿伯丁大学研究人员对 150 多名食道癌患者进行测试^[75]发现,肿瘤一旦表达了较高水平的瘦素,即使患者生存率较高,对化疗的敏感性也会大大降低。相反,低瘦素水平对化疗更敏感。提示医生可以通过测量瘦素水平判定患者是否适用化疗,甚至可能做为新的药物治疗靶标。

6.7 耐药脑瘤与转录因子

麻省综合医院的基础科研人员^[76]发现,通过检测不同的转录因子可以区分出耐药的恶性肿瘤。研究人员首先通过一系列体外实验,鉴定了人类成胶质细胞瘤干细胞中表达水平较高的 19 个转录因子。最终确定了 4 种转录因子(POU3F2、SOX2、SALL2 和 OLIG2)能将已分化的肿瘤细胞重编程为成胶质细胞瘤干细胞。该研究有助于揭示耐药性肿瘤的遗传特性,从而开发新型靶向疗法。抑制转录因子靶向调节蛋白复合物的活性导致成胶质细胞瘤干细胞失去干细胞特性,渐趋死亡。对耐药性脑瘤的遗传特性的深入研究,旨在区分成胶质细胞瘤中的不同细胞亚群,将有助于新型靶向性疗法的开发。

6.8 纳米粒子系统克服耐药

新设计的纳米级药物传递系统可用来靶定特殊的癌细胞。纳米粒子簇(glycosaminoglycan particle nanoclusters gagomer, GAG)由脂肪构成并涂有多糖。癌细胞上的受体识别包裹在 GAG 中的糖分子,缓慢地将微小的化疗药物颗粒释放到癌细胞中。RNA 干扰实验^[77]证实,将化疗药物多柔比星(doxorubicin, DOX)填充入 GAG 能够克服肿瘤细胞的抗药性机制。

7 小 结

2014 年世界癌症日主题为“消除癌症误区(debunk the myths)”,旨在通过消除人们对癌症的错误认知,逐步实现对癌症的早发现、早诊断、早治疗^[78]。肿瘤靶向药物的研发为战胜癌症恶魔提供了新思路,为癌症患者的生存打开了“希望之窗”。2013 年,在美国食品药品监督管理局(FDA)获得批准的 27 个新分子实体(new molecular entity, NME)中,其中分子靶向抗癌药物就有 7 个。2014 Miami 乳腺癌大会^[79]上提出“靶向治疗基于新一代测序技术的联合激活突变,逐渐成为癌症患者最有前景的治疗方法”。伴随科技的迅猛发展,高新技术和设备广泛应用于肿瘤靶向药物的研发和临床靶向治疗之中,如新一代测序技术、新的分子标志物、新的影像学工具等,肿瘤靶向治疗的理论和技术将不断完善,新的靶标将不断涌现,并迅速转化应用于临床,造福人类健康。

[参 考 文 献]

- [1] 吴佳坤. 中科院专家解读诺贝尔医学奖,有助于寻找肿瘤治疗靶点[N/OL]. 中国科技网, 2013-10-11(1) [2014-03-15]. <http://http://digitalpaper.stdaily.com/>.

- [2] Kitambi SS, Toledo EM, Usoskin D, et al. Vulnerability of glioblastoma cells to catastrophic vacuolization and death induced by a small molecule [J]. *Cell*, 2014, 157(2): 313-328.
- [3] Vaux DL. Cell death and cancer [M]//Hao Wu. *Cell Death*. New York: Springer New York, 2014: 121-134.
- [4] Tsai RYL, McKay RDG. A nucleolar mechanism controlling cell proliferation in stem cells and cancer cells [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(23): 2991-3003.
- [5] Smerdon SJ. A year in structural signaling: MTOR – the PI3K of the bunch? [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(315): pe6.
- [6] Wang P, Zhou Z, Hu A, et al. Both decreased and increased SRPK1 levels promote cancer by interfering with PHLPP-mediated dephosphorylation of Akt [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 378-391.
- [7] Hayward D, Metz J, Pellacani C, et al. Synergy between multiple microtubule-generating pathways confers robustness to centrosome-driven mitotic spindle formation [J]. *Dev Cell*, 2014, 28(1): 81-93.
- [8] Katsuki M, Drummond DR, Cross RA. Ectopic A-lattice seams destabilize microtubules [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3094.
- [9] Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine [J]. *Cell*, 2012, 148(3): 399-408.
- [10] Zhou Z, Liu F, Zhang ZS, et al. Human rhomboid family-1 suppresses oxygen-independent degradation of hypoxia-inducible factor-1 α in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(10): 2719-2730.
- [11] Chen X, Iliopoulos D, Zhang Q, et al. XBP1 promotes triple-negative breast cancer by controlling the HIF1 (agr) pathway [J]. *Nature*, 2014, 508(7494): 103-107.
- [12] Li G, Ci W, Karmakar S, et al. SPOP promotes tumorigenesis by acting as a key regulatory hub in kidney cancer [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(4): 455-468.
- [13] Mikawa T, Maruyama T, Okamoto K, et al. Senescence-inducing stress promotes proteolysis of phosphoglycerate mutase via ubiquitin ligase Mdm2 [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(5): 729-745.
- [14] Xie H, Hanai J, Ren JG, et al. Targeting lactate dehydrogenase-a inhibits tumorigenesis and tumor progression in mouse models of lung cancer and impacts tumor-initiating cells [J]. *Cell Metab*, 2014, 19(5): 795-809.
- [15] Zhang X, Fryknäs M, Herlund E, et al. Induction of mitochondrial dysfunction as a strategy for targeting tumour cells in metabolically compromised microenvironments [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3295.
- [16] Brady DC, Crowe MS, Turski ML, et al. Copper is required for oncogenic BRAF signalling and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2014, 509(7501): 492-496.
- [17] Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: Making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 179-204.
- [18] Polo SE, Jackson SP. Dynamics of DNA damage response proteins at DNA breaks: A focus on protein modifications [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(5): 409-433.
- [19] Cascio S, D'Andrea A, Ferla R, et al. MiR-20b modulates VEGF expression by targeting HIF-1 α and STAT3 in MCF-7 breast cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 224(1): 242-249.
- [20] Su F, Ren F, Rong Y, et al. Protein tyrosine phosphatase Meg2 dephosphorylates signal transducer and activator of transcription 3 and suppresses tumor growth in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(2): R38.
- [21] Koganti S, Hui-Yuen J, McAllister S, et al. STAT3 interrupts ATR-Chk1 signaling to allow oncovirus-mediated cell proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(13): 4946-4951.
- [22] Gad H, Koolmeister T, Jemth AS, et al. MTH1 inhibition eradicates cancer by preventing sanitation of the dNTP pool [J]. *Nature*, 2014, 508(7495): 215-221.
- [23] Huber KVM, Salah E, Radic B, et al. Stereospecific targeting of MTH1 by (S)-crizotinib as an anticancer strategy [J]. *Nature*, 2014, 508(7495): 222-227.
- [24] Shay JW. *Telomerase as a target for cancer therapeutics* [M]//New York: Springer New York, 2010: 231-249.
- [25] O'Sullivan RJ, Arnoult N, Lackner DH, et al. Rapid induction of alternative lengthening of telomeres by depletion of the histone chaperone ASF1 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(2): 167-174.
- [26] Du Z, Luo Q, Yang L, et al. Mass spectrometric proteomics reveals that nuclear protein positive cofactor PC4 selectively binds to cross-linked DNA by a trans-platinum anticancer complex [J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(8): 2948-2951.
- [27] Wan L, Han J, Liu T, et al. Scaffolding protein SPIDR/KIAA0146 connects the Bloom syndrome helicase with homologous recombination repair [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(26): 10646-10651.
- [28] Ren W, Chen H, Sun Q, et al. Structural basis of SOSS1 complex assembly and recognition of ssDNA [J]. *Cell Rep*, 2014, 6(6): 982-991.
- [29] Peng H, Talebzadeh-Farooji M, Osborne MJ, et al. LIMD2 is a small LIM-only protein overexpressed in metastatic lesions that regulates cell motility and tumor progression by directly binding to and activating the integrin-linked kinase [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5): 1390-1403.
- [30] Kadomatsu T, Endo M, Miyata K, et al. Diverse roles of ANGPTL2 in physiology and pathophysiology [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(5): 245-254.
- [31] Pencheva N, Buss CG, Posada J, et al. Broad-spectrum therapeutic suppression of metastatic melanoma through nuclear hormone receptor activation [J]. *Cell*, 2014, 156(5): 986-1001.
- [32] Wang F, He L, Huangyang P, et al. JMJD6 promotes colon carcinogenesis through negative regulation of p53 by hydroxylation [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(3): e1001819.
- [33] Li C, Ma H, Wang Y, et al. Excess PLAC8 promotes an unconventional ERK2-dependent EMT in colon cancer [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(5): 2172-2187.
- [34] Gao Q, Zhao YJ, Wang XY, et al. Activating mutations in PTPN3 promote cholangiocarcinoma cell proliferation and migration and are associated with tumor recurrence in patients [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(5): 1397-1407.
- [35] Lee ST, Feng M, Wei Y, et al. Protein tyrosine phosphatase UBASH3B is overexpressed in triple-negative breast cancer and

- promotes invasion and metastasis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(27): 11121-11126.
- [36] Shamir ER, Pappalardo E, Jorgens DM, et al. Twist1-induced dissemination preserves epithelial identity and requires E-cadherin [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(5): 839-856.
- [37] Moore RG, Hill EK, Horan T, et al. HE4 (WFDC2) gene over-expression promotes ovarian tumor growth [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 3574.
- [38] Kats LM, Reschke M, Taulli R, et al. Proto-oncogenic role of mutant IDH2 in leukemia initiation and maintenance [J]. *Cell Stem cell*, 2014, 14(3):329-341.
- [39] Ledford H. Metabolic quirks yield tumour hope [J]. *Nature*, 2014, 508(7495): 158-159.
- [40] Zhou F, Drabsch Y, Dekker TJ, et al. Nuclear receptor NR4A1 promotes breast cancer invasion and metastasis by activating TGF- β signalling [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3388.
- [41] Pan D, Schmieder AH, Wang K, et al. Anti-angiogenesis therapy in the Vx2 rabbit cancer model with a lipase-cleavable Sn 2 taxane phospholipid prodrug using $\alpha(v)\beta_3$ -targeted theranostic nanoparticles [J]. *Theranostics*, 2014, 4(6): 565-578.
- [42] Steri V, Ellison TS, Gontarczyk AM, et al. Acute depletion of endothelial β_3 -integrin transiently inhibits tumor growth and angiogenesis in mice [J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 79-91.
- [43] Truong HH, Xiong J, Ghotra VPS, et al. β_1 integrin inhibition elicits a prometastatic switch through the TGF β -miR-200-ZEB network in E-cadherin-positive triple-negative breast cancer [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(312): ra15.
- [44] Hoeller D, Dikic I. Targeting the ubiquitin system in cancer therapy [J]. *Nature*, 2009, 458(7237): 438-444.
- [45] Ernst A, Avvakumov G, Tong J, et al. A strategy for modulation of enzymes in the ubiquitin system [J]. *Science*, 2013, 339(6119): 590-595.
- [46] Chan KT, Cortesio CL, Huttenlocher A. FAK alters invadopodia and focal adhesion composition and dynamics to regulate breast cancer invasion [J]. *J Cell Biol*, 2009, 185(2): 357-370.
- [47] Jean C, Chen XL, Nam JO, et al. Inhibition of endothelial FAK activity prevents tumor metastasis by enhancing barrier function [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(2): 247-263.
- [48] Yamauchi S, Hou YY, Guo AK, et al. p53-mediated activation of the mitochondrial protease Htra2/Omi prevents cell invasion [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(7): 1191-1207.
- [49] Bald T, Quast T, Landsberg J, et al. Ultraviolet-radiation-induced inflammation promotes angiogenesis and metastasis in melanoma [J]. *Nature*, 2014, 507(7490):109-113.
- [50] Lokody I. Tumour microenvironment: A β -catenin mutation in osteoblasts induces leukaemia [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(3): 154-155.
- [51] Wang Y, Lei R, Zhuang X, et al. DLC1-dependent parathyroid hormone-like hormone inhibition suppresses breast cancer bone metastasis [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(4): 1646-1659.
- [52] Thai M, Graham NA, Braas D, et al. Adenovirus E4ORF1-induced MYC activation promotes host cell anabolic glucose metabolism and virus replication [J]. *Cell Metab*, 2014, 19(4): 694-701.
- [53] Kode A, Manavalan JS, Mosialou I, et al. Leukaemogenesis induced by an activating (bcr)-catenin mutation in osteoblasts [J]. *Nature*, 2014, 506(7487):240-244.
- [54] Wu PH, Giri A, Sun SX, et al. Three-dimensional cell migration does not follow a random walk [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(11): 3949-3954.
- [55] Frankel JC. Breakthrough of the year 2013 [J]. *Science*, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- [56] Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer: A clinical path to effective cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(4): 299-308.
- [57] Koorella C, Nair JR, Murray ME, et al. Novel regulation of CD80/CD86-induced phosphatidylinositol 3-kinase signaling by NOTCH1 protein in interleukin-6 and indoleamine 2,3-dioxygenase production by dendritic cells [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(11): 7747-7762.
- [58] Zhang G, Wang L, Cui H, et al. Anti-melanoma activity of T cells redirected with a TCR-like chimeric antigen receptor [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 3571.
- [59] Liu Q, Tan Q, Zheng Y, et al. Blockade of Fas signaling in breast cancer cells suppresses tumor growth and metastasis via disruption of Fas signaling-initiated cancer-related inflammation [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(16): 11522-11535.
- [60] Paolino M, Choidas A, Wallner S, et al. The E3 ligase Cbl-b and TAM receptors regulate cancer metastasis via natural killer cells [J]. *Nature*, 2014, 507(7493): 508-512.
- [61] Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells [J]. *Science*, 2011, 331(6013): 44-49.
- [62] Donatelli SS, Zhou JM, Gilvary DL, et al. TGF- β -inducible microRNA-183 silences tumor-associated natural killer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(11): 4203-4208.
- [63] Belyea BC, Xu F, Pentz ES, et al. Identification of renin progenitors in the mouse bone marrow that give rise to B-cell leukaemia [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3273.
- [64] Hanahan D. Rethinking the war on cancer [J]. *Lancet*, 2014, 383(9916): 558-563.
- [65] Li C, Peart N, Xuan Z, et al. PMA induces SnoN proteolysis and CD61 expression through an autocrine mechanism [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(7): 1369-1378.
- [66] Seguin L, Kato S, Franovic A, et al. An integrin β_3 -KRAS-RalB complex drives tumour stemness and resistance to EGFR inhibition [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(5): 457-468.
- [67] Kiberstis P, Roberts L. A race still unfinished [J]. *Science*, 2014, 343(6178): 1451-1451.
- [68] Cohn MA, Kee Y, Haas W, et al. UAF1 is a subunit of multiple deubiquitinating enzyme complexes [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(8): 5343-5351.
- [69] Liang Q, Dexheimer TS, Zhang P, et al. A selective USP1-UAF1 inhibitor links deubiquitination to DNA damage responses [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(4): 298-304.
- [70] Wen Y, Zand B, Ozpolat B, et al. Antagonism of tumoral prolactin

- receptor promotes autophagy-related cell death [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(2): 488-500.
- [71] Abdel-Aziz AK, Shouman S, El-Demerdash E, et al. Chloroquine synergizes sunitinib cytotoxicity via modulating autophagic, apoptotic and angiogenic machineries [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 217: 28-40.
- [72] Guo C, Kosarek-Stancel JN, Tang TS, et al. Y-family DNA polymerases in mammalian cells [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(14): 2363-2381.
- [73] Yang X, Zhang X, Fu ML, et al. Targeting the tumor microenvironment with interferon- β bridges innate and adaptive immune responses [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 37-48.
- [74] Pallasch CP, Leskov I, Braun CJ, et al. Sensitizing protective tumor microenvironments to antibody-mediated therapy [J]. *Cell*, 2014, 156(3): 590-602.
- [75] Bain GH, Collie-Duguid E, Murray GI, et al. Tumour expression of leptin is associated with chemotherapy resistance and therapy-independent prognosis in gastro-oesophageal adenocarcinomas [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(6): 1525-1534.
- [76] Suvà ML, Rheinbay E, Gillespie SM, et al. Reconstructing and reprogramming the tumor-propagating potential of glioblastoma stem-like cells [J]. *Cell*, 2014, 157(3): 580-594.
- [77] Cohen K, Emmanuel R, Kisin-Finfer E, et al. Modulation of drug resistance in ovarian adenocarcinoma using chemotherapy entrapped in hyaluronan-grafted nanoparticle clusters [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(3): 2183-2195.
- [78] 张文燕. WHO 发布新版世界癌症报告: 癌症风暴席卷全球 [EB/OL]. (2014-02-04) [2014-05-10]. <http://www.h-ceo.com/article/read/2131/2131.html>.
- [79] Chmielecki J, Meyerson M. DNA sequencing of cancer: What have we learned? [J]. *Annu Rev Med*, 2014, 65: 63-79.
- [收稿日期] 2014-05-29 [修回日期] 2014-12-02
[本文编辑] 黄静怡

· 科技动态 ·

以不依赖于抗体类别的方式用 CD80 和 PD-L2 表达对记忆性 B 细胞分群

抗原初次免疫后, 初始 B 细胞能发育为记忆性 B 细胞(memorability B cell, MBC), 以便在再次免疫时迅速完成类别转换, 成为抗体形成细胞(antibody-forming cell, AFC), 介导快速有效的二次免疫应答。那么 MBC 是如何维持自我更新和终极分化能力的呢? 这些功能是否由不同的 MBC 亚群分别执行的? 以往的研究显示, 在再次免疫应答时, MBC 表面表达的 BCR 类别决定 MBC 的功能分化, 但来自耶鲁大学的 Zuccarino-Catania 和 Sadanand 教授利用 CD80 和程序性死亡配体 2(programmed death ligand2, PD-L2) 对 MBC 进行分群并对分析其功能特征, 取得了令人瞩目的新发现, 研究论文发表在今年 7 月份出版的 *Nature Immunology* 杂志上。

根据 MBC 所表达的 BCR 类别可将其分为 IgM + MBC 和 IgG + MBC, 前者可以产生新的生发中心(germinal center, GC), 而后者则可分化为 AFC。该研究采用基因芯片检测, 根据 CD80 和 PD-L2 在 MBC 表面的表达情况将 MBC 分为 CD80-PD-L2- 'double-negative' (DN); CD80 + PD-L2 + 'double-positive' (DP); CD80-PD-L2 + 'single-positive' (SP) 三个亚群。DN MBC 具有类似初始 B 细胞的表型功能, 而 DP MBC 则具有类似记忆 B 细胞的表型功能。

为了明确 MBC 各亚群的功能分工, 作者假设, 在再次活化后 DP MBC 可快速分化产生新的 AFC 来发挥效应功能, 而 DN MBC 可形成新的 GC 从而维持自我更新。为了证明这一假设, 作者首先分选 4-羟基-3-硝基苯乙酰(4-hydroxy-3-nitrophenyl acetyl, NP) 特异性的 IgG1- 或 IgM- 的 DP MBC, DN MBC, SP MBC, 并将这些细胞分别回输入无识别 NP 的 B 细胞的受体小鼠, 再进行抗原二次免疫, 3.5 d 后酶联免疫斑点实验检测发现, IgG1- DP 和 DN MBC 均能产生较多的 NP 特异性的 AFC, 且在此过程中, 抗原特异性记忆 T 细胞也发挥作用。为了明确是哪种 MBC 细胞亚群依赖于这种 T 细胞来发生应答, 采用 anti-CD4 清除受体鼠体内的 CD4⁺ T 细胞, 重复上述实验, 结果发现 IgM- MBC 分化为 IgG1⁺ AFC 的过程并不需要抗原特异性记忆 T 细胞辅助, 说明抗原特异性记忆 T 细胞并不能改变 MBC 亚群的功能特性。IgM + 和 IgG + MBC 需要 T 细胞辅助来形成 IgG1⁺ AFC, T 细胞还能促进 IgM + AFC 细胞的数量扩增。与此同时, IgG1- DP MBC 还可反馈促进记忆 T 细胞的扩增。作者又检测了在再次免疫应答发生时 MBC 产生 GC 的能力, 回输细胞 10.5 d 后, IgG1- SP, IgM- SP 和 IgM + DN MBC 均可形成 GC, 表明 GC 的形成并不依赖于记忆细胞表面表达的抗体类别。并且, 在二次应答后期(细胞回输后 10.5 d) IgG1⁺ DN MBC 成为 IgG1⁺ AFC 的主要来源。通过转录组数据分析发现, 相比 DP MBC, DN MBC 的细胞周期相关分子的基因[如细胞分裂周期蛋白 20(cell division cycle 20, Cdc20), (minichromosome maintenance complex component 5, Mcm5), Polo 样激酶 1(polo-like kinase 1, Plk1)] 表达量更高, 说明 DN MBC 更倾向于增殖, 形成 GC, 而 DP MBC 则更易向 AFC 进行分化。

该研究依据 CD80 和 PD-L2 的表达来对 MBC 进行分群, 而不采用过去常用的抗体类别分类法, 更加清晰地区分了不同 MBC 亚群的功能特性, 促进人们对 MBC 的分群和功能的认识。此外, 研究还证明了 CD80 和 PD-L2 的表达情况可以决定 MBC 的分化方向, 这一发现为 MBC 的异质性研究、亚群分化以及临床疫苗的设计提供了新方向和新思路。

[王秦兰 摘译, 鲍嫣 审阅. Zuccarino-Catania GV, Sadanand S, Weisel FJ, et al. *Nature Immunology*, 2014, 15(7): 631-637.]