

The Progress of Antitumor Interstitial Treatment Strategy of Malignant Ovarian Cancer*

Zhenchao Guo, Tianzhu Zhang[#], Ning Gu

School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Jiangsu Key Laboratory of Biological Materials and Devices, Nanjing
Email: guozhenchao@126.com, [#]zhangtianzhulq@sina.com

Received: Nov. 1st, 2013; revised: Nov. 28th, 2013; accepted: Dec. 4th, 2013

Copyright © 2013 Zhenchao Guo *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. In accordance of the Creative Commons Attribution License all Copyrights © 2013 are reserved for Hans and the owner of the intellectual property Zhenchao Guo *et al.* All Copyright © 2013 are guarded by law and by Hans as a guardian.

Abstract: More than 80% of the patients with ovarian cancer chemotherapy relapse due to drug resistance, which makes the highest ovarian cancer mortality rates among the gynecologic malignancies. Compared with the highly heterogeneous tumor cell differentiation, tumor stroma cells have genetic stability, and it is unlikely to produce acquired mutations and lead to drug resistance. In view of the treatment strategies for tumor interstitium, ovarian cancer is reviewed in this paper. At the same time, we pointed out the direction for reducing toxicity, preventing the cancer recurrence and metastasis, improving the survival rate in the treatment of gynecologic malignancies.

Keywords: Ovarian Cancer; Chemotherapy Resistance; Tumor Interstitium; Survival Rate

恶性卵巢癌抗肿瘤间质治疗策略研究进展*

郭振超, 张天柱[#], 顾宁

东南大学生物科学与医学工程学院, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京
Email: guozhenchao@126.com, [#]zhangtianzhulq@sina.com

收稿日期: 2013年11月1日; 修回日期: 2013年11月28日; 录用日期: 2013年12月4日

摘要: 超过80%的卵巢癌患者对化疗药物出现耐药性而复发, 使得卵巢癌死亡率居妇科恶性肿瘤之首。与肿瘤细胞分化高度异质性相比, 肿瘤间质细胞遗传性稳定, 不大可能产生获得性突变而导致抗药性。本文综述了卵巢癌针对肿瘤间质的治疗策略, 为恶性妇科肿瘤治疗降低毒副作用、防止复发和转移, 进一步提高生存率指明了方向。

关键词: 卵巢癌; 化疗耐药; 肿瘤间质; 生存率

1. 引言

卵巢癌是女性生殖系统常见的三大恶性肿瘤之一, 死亡率居妇科恶性肿瘤之首, 严重威胁妇女的生存

和健康^[1]。因为发病比较隐蔽, 许多卵巢癌被诊断时已是晚期, 导致病人生存率下降。目前卵巢癌的常规治疗主要包括肿瘤细胞减灭术、紫杉醇类和铂类的联合化疗等^[2]。虽然在开始化疗时, 这些药物对超过80%的病人有效, 但最终还是因为癌细胞对化疗药物出现耐药性而复发^[3], 使得卵巢癌患者总的五年生存

*基金项目: 国家重大科学研究计划项目(No.2011CB933503); 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-09-0298); 苏州应用基础研究项目(SYJ201003); 国家重大科学仪器专项(2011YQ03013403)。

[#]通讯作者。

率仅为 15%~30%。

近 10 年来其患病率呈明显上升趋势,而死亡率并无明显改善。K Stalberg 等^[4]研究表明,大约 65 年来卵巢癌的发病率达到了顶峰,与之相关的并发症实验组较对照组并没有因为早发现 3 个月而有明显的减少,死亡率也接近相同。早发现的价值,在于必须得到有效治疗。因此,探索治疗卵巢癌的新途径,已成为进一步提高卵巢癌患者生存率的关键。

卵巢癌细胞分化差异较大,这表明,卵巢癌是个高度异质性的肿瘤细胞实体。在病理分期中 I、II、III 和 IV 患者的 5 年生存期分别是 89%、58%、24% 和 12%^[5]。卵巢癌肿瘤细胞与肿瘤细胞之间的其它细胞、基质以及血管等成分统称为肿瘤间质。肿瘤间质是肿瘤微环境中除肿瘤细胞外的所有成分,是肿瘤细胞获得恶性表型演化的基础,与肿瘤治疗耐药、复发有关^[6]。与肿瘤细胞相比,肿瘤间质内的免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞以及其它细胞、基质等成分的遗传相对稳定,获得突变而导致抗药性的可能性较小。因此,针对恶性卵巢癌肿瘤间质的治疗可能是一条有效途径^[7]。

2. 激活恶性卵巢癌肿瘤间质免疫的治疗

肿瘤患者免疫治疗的最大障碍是免疫抑制状态,改善患者免疫状态提高肿瘤间质中免疫成分的活化水平是免疫治疗的关键。单克隆抗体治疗和 T 细胞治疗的被动免疫治疗,已取得进展。直接激活患者自身的免疫系统的主动免疫治疗,如治疗性的肿瘤疫苗,正在探索中。

单抗药物如利妥昔单抗;抗肿瘤单抗偶联物或称免疫偶联物(Immunoconjugate)由单抗与有治疗作用的物质(如放射性核素毒素和药物等)两部分构成。单抗药剂及抗肿瘤单抗偶联物针对的靶点通常为细胞表面的疾病相关抗原或特定的受体。Sunghoon Kim 等^[8]研究了卵巢癌患者的蛋白质组寻找针对肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。结果发现用于免疫抗原预测的不同二维凝胶电泳(2D-DITA)是检测自身抗体的有力工具,受压力诱导的磷酸蛋白的自身抗体(STIP-1)是潜在的卵巢癌生物标志物。Ines Beyrer 等^[9]通过给乳腺癌患者输入造血干细胞,控制肿瘤间质产生松弛素导致细胞外基质降解,提高了单抗赫赛汀的治疗效果。单

抗治疗受到肿瘤医生的肯定。

用于细胞的过继免疫(ACI)的抗肿瘤效应细胞主要有:肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)、淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)、细胞毒性 T 细胞(CTL)等。肿瘤抗原特异性 CTL 是肿瘤靶向治疗最为理想的免疫效应细胞。效应 T 细胞的产生主要依赖于特异性肿瘤抗原的刺激、细胞因子和共刺激分子的作用等。要清除患者体内的内源性淋巴细胞,使 T 细胞进入到肿瘤中去。

Rangaiah Shashidharamurthy 等^[10]指出树突细胞(DC)是功能最强的 APC,能够诱导特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)生成。应用肿瘤相关抗原或抗原多肽体外冲击致敏 DC,回输或免疫接种于载瘤宿主,可诱发特异性 CTL 的抗肿瘤免疫反应。DC 与肿瘤的发生、发展有着密切关系,大部分实体瘤内浸润的 DC 数量多则患者预后好。有效的抗肿瘤免疫反应的核心是产生以 CD8⁺T 细胞为主体的细胞免疫应答。

肿瘤通过多种方式创造出一个免疫抑制的环境,包括 T 细胞和 APC 的失能及 Treg 的诱导作用。通过细胞因子激活 T 细胞可以提高抗肿瘤效应。IL-2、IL-12 和 IFN- α 已经用于改善间质环境促进免疫细胞对肿瘤的识别^[11]。IL-2、IL-12 和 INF- α 单独或联合用于针对肿瘤间质的治疗。

肿瘤干细胞疫苗,通过补体依赖性细胞毒性及细胞毒性 T 淋巴细胞直接靶向作用于肿瘤干细胞,诱导体液及细胞免疫反应,产生保护性抗肿瘤免疫。Ning 等^[12]证实肿瘤干细胞具有很强的免疫原性,能够有效刺激机体产生保护性抗肿瘤免疫;肿瘤干细胞免疫小鼠的血清中含有高滴度抗体,能够结合并裂解肿瘤干细胞;在体外实验中,来自肿瘤干细胞免疫小鼠的外周血或者脾脏的细胞毒性 T 淋巴细胞能够杀伤肿瘤干细胞。卵巢癌肿瘤干细胞因其增殖活性不强对化疗不敏感,而免疫治疗并不以增殖活性为目标,致力于以卵巢癌表型为 CD44⁺CD117⁺的肿瘤干细胞^[13]特异性抗原的疫苗开发很有意义。

3. 抗恶性卵巢癌肿瘤血管生成治疗

Asmaa E El-Kenawi 等^[14]指出新血管的形成,是供应氧气和营养使肿瘤生长增殖的先决条件。血管生成过程可能导致肿瘤进展、入侵和转移,被公认为是

肿瘤预后的一项指标。因此,肿瘤血管生成与否已成为提高临床治疗的相关性评价的重要标准^[15]。血管生成抑制剂分为直接抑制剂,抑制目标血管内皮细胞增长;或间接抑制剂,防止表达或阻碍血管生成^[16]。后者类扩展了对癌基因包括有针对性的治疗、传统的化疗药物和针对微环境的其他肿瘤细胞。血管生成抑制剂可作为单药治疗或使用结合其他抗癌药物。血管生成抑制剂具有广泛的治疗作用目标,对各种肿瘤具有普适性^[17]。

肿瘤的生长与肿瘤血管的形成密不可分。抗肿瘤血管治疗的目的就是阻断血管生成信号。这可以通过抑制血管生成因子(VEGF)或受体来实现^[18]。抗 VEGF 的贝伐珠单抗是日前最为成熟的抗血管生成药物。贝伐珠单抗单独使用可以显著抑制多种肿瘤的生长^[19]。2004 年,贝伐珠单抗被美国 FDA 批准为治疗肿瘤的第一个抗血管药物。抗血管生成药物也可以与化疗协同使用提高疗效,如伊立替康与 5-氟尿嘧啶。

抗表皮生长因子受体的西妥昔单抗和帕尼单抗及小分子酪氨酸激酶抑制剂 TKIs 也有抗血管生成的效果。

干扰素 α 是一个免疫调节的细胞因子,它可以下调前血管源性分子,因此也被用于抗肿瘤血管治疗。干扰素 α 具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用,有增强免疫对病毒感染细胞的免疫杀伤活性。干扰素 α 还能增强巨噬细胞的吞噬功能和细胞毒活性^[20]。

4. 抗恶性卵巢癌肿瘤细胞外基质降解的治疗

G S Wong 等^[21]指出胞外基质蛋白质被归类为非结构性基质蛋白家族,调节各种各样的生物学过程。这些蛋白质表达动态及其细胞功能高度依赖于来自局部环境的变化。最近的研究表明 ECM 蛋白质在肿瘤微环境中发挥关键作用,诱导肿瘤细胞或肿瘤基质组建,胞外基质蛋白质启动下游信号事件,导致扩散、入侵、基质改造和在其他器官传播发生癌前转移。ECM 蛋白质在微环境中扮演不同的角色影响肿瘤进展,是肿瘤微环境的治疗目标^[22]。

肿瘤细胞首先从原发部位脱落,黏附、降解和侵入 ECM^[23],而后侵入血管或淋巴管壁,在血管和淋巴循环内转运,然后,肿瘤细胞的外渗又需要对基底

膜和 ECM 进行降解^[24]。在这些基质结构改变中,ECM 的降解是至关重要的^[25],其中 MMPs 和尿激酶纤溶酶原激活物(uPA)在 ECM 的降解中起重要作用^[26]。

多种抑制 MMPs 表达和功能的手段已在 III 期临床实验。如氧肟酸盐、二磷酸盐、四环素类和组织金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)可阻断 MMPs 的活性。体外和动物实验证明了 MMPs 合成抑制剂的有效性。

uPA 将纤溶酶原转化为纤溶酶,而后可以直接或间接活化其它蛋白酶来降解某些 ECM 蛋白,如胶原 IV,层黏连蛋白和纤维结合素。uPA 的受体 uPAR (CD87)和抑制剂、以及纤溶酶原活化因子抑制剂 1(PA1)^[27],参与调解正常和病理下的细胞迁移、组织降解和血管发生。如中和抗体,可溶性受体,催化失活的 uPA 片段和合成肽类/拟肽类药物,siRNA 和 DNA 酶^[28]。研究发现,选择性靶向抑制 uPA/uPAR 的治疗未伴有严重的副作用。最近,一种 uPA 衍生的多肽 A6,单独或联合其它治疗时,在动物模型中减少了肿瘤的生长、转移、血管发生^[29]。在卵巢癌患者中进行 I 期试验,证明其安全性,并显示出一些疗效。

5. 抗恶性卵巢癌肿瘤相关成纤维细胞的治疗

Min Liu 等^[30]指出肿瘤间质发生过程中起着重要的作用,因为它调节发展、分化和增殖的上皮细胞。肿瘤间质包细胞外基质(ECM)和细胞成分如成纤维细胞、免疫和炎症细胞、血管等。成纤维细胞,负责合成、沉积、ECM 重塑和调节上皮分化^[31]。在临床肿瘤治疗中人们发现癌细胞的基因突变伴有恶性晚期肿瘤形成,却无视结构异常并且复杂的基质性质的改变^[32]。纤维或结缔组织“粘连形成”通常会出现癌症。

肿瘤间质的主要成分肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)存在于肿瘤细胞邻近,促进肿瘤的发生和发展。CAF 能够将机体中的免疫细胞招募至肿瘤部位促进肿瘤生长^[33]。癌细胞可诱导正常的皮肤成纤维细胞表达促炎性因子。近年来,CAF 作为一种肿瘤靶向治疗的靶标备受关注^[34]。

成纤维细胞活化蛋白 α (FAP α)是特异性表达于 CAF 表面的一种丝氨酸蛋白酶,参与 ECM 的降解,在肿瘤基质的降解和重建中发挥着重要作用。成纤维细胞活化蛋白 α 过表达与对外外源性生长因子的依赖

性降低, 肿瘤生长、侵袭, 血管形成和转移的增强相关。

FAP α 单克隆抗体 F19(尼妥珠单抗), 是我国第一个用于治疗恶性肿瘤的功能性单抗药物。单克隆抗体是针对特异抗原产生的特异纯化抗体, 它具有高度专一性, 能够特异性针对肿瘤细胞进行靶向治疗, 从分子水平逆转肿瘤细胞的恶性生物学行为, 因而有“生物导弹”之称。该类药物具有靶向性强、特异性高和毒副作用低等特点, 并能增强放、化疗的治疗效果, 代表着肿瘤治疗领域的最新发展方向。

6. 结语

妇女一生罹患卵巢癌的风险为 1/70。卵巢癌的死亡率之所以高于其他妇科肿瘤, 在于 75% 的患者就诊时已属晚期^[35]。近 30 年, 虽然采用了新型化疗方案、有力的支持治疗以及彻底的肿瘤细胞减灭术, 患者的平均生存时间有所提高, 但晚期患者的绝对治愈率却没有明显提高。肿瘤分期与其预后密切相关^[36]。防止癌前病变将会是人类控制恶性肿瘤的一个重要战略措施^[37]。同时对于已是晚期且对化疗耐药的低分化患者, 针对恶性卵巢癌肿瘤间质遗传稳定的特点进行有选择地靶向治疗^[38], 降低药物毒副作用, 防止复发和转移, 进一步提高生存率具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] 张桂荣, 翟云起, 杜少敏, 等 (2003) 卵巢上皮癌治疗及预后影响因素研究. *肿瘤学杂志*, **2**, 68-70.
- [2] Teng, P.-N., Wang, G., et al. (2014) Identification of candidate circulating cisplatin-resistant biomarkers from epithelial ovarian carcinoma cell secretomes. *British Journal of Cancer*, **110**, 123-132.
- [3] 减荣余, 张志毅, 李子庭, 等 (2001) 晚期上皮性卵巢癌的预后影响因素. *复旦学报(医学科学版)*, **1**, 46-47.
- [4] Stalberg, K., Svensson, T., et al. (2012) Evaluation of prevalent and incident ovarian cancer co-morbidity. *British Journal of Cancer*, **106**, 1860-1865.
- [5] 何义富, 孙玉蓓, 陈健, 等 (2009) 腹腔内应用重组人血管内皮抑制素联合氟尿嘧啶治疗恶性腹水的初步探讨. *临床肿瘤学杂志*, **3**, 252.
- [6] Marcucci, F., Bellone, M., et al. (2013) Pushing tumor cells towards a malignant phenotype: Stimuli from the microenvironment, intercellular communications and alternative roads. *International Journal of Cancer*, **1**, 1-12.
- [7] Junttila, M.R., de Sauvage, F.J. (2013) Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*, **19**, 346-354.
- [8] Kim, S., Cho, H.B., et al. (2010) Autoantibodies against Stress-Induced Phosphoprotein-1 as a Novel Biomarker Candidate for Ovarian Cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, **49**, 585-595.
- [9] Beyer, I., Li, Z., et al. (2011) Controlled Extracellular Matrix Degradation in Breast Cancer Tumors Improves Therapy by Trastuzumab. *Molecular Therapy*, **3**, 479-489.
- [10] Shashidharamurthy, R., Bozeman, E.N., et al. (2012) Immunotherapeutic Strategies for Cancer Treatment: A Novel Protein-Transfer Approach for Cancer Vaccine Development. *Medicinal Research Reviews*, **6**, 1197-1219.
- [11] Bukovsky, A. (2011) Immune Maintenance of Self in Morphostasis of Distinct Tissues, Tumour Growth and Regenerative Medicine. *Scandinavian Journal of Immunology*, **73**, 159-189.
- [12] Ning, N., Pan, Q., Zheng, F., et al. (2012) Cancer stemcell vaccination confers significant antitumor immunity. *Cancer Research*, **7**, 18-53.
- [13] Luo, L., Zeng, J., Liang, B., et al. (2011) Ovarian cancer cells with the CD117 phenotype are highly tumorigenic and are related to chemotherapy outcome. *Experimental and Molecular Pathology*, **2**, 596-602.
- [14] El-Kenawi, A.E. and El-Remessy, A.B. (2013) Angiogenesis inhibitors in cancer therapy: mechanistic perspective on classification and treatment rationales. *British Journal of Pharmacology*, **170**, 712-729.
- [15] Buegry, D., Wenz, F., et al. (2012) Tumor-platelet interaction in solid tumors. *International Journal of Cancer*, **130**, 2747-2760.
- [16] Koyanagi, T. and Suzuki, Y. (2013) In Vivo delivery of siRNA targeting vasohibin-2 decreases tumor angiogenesis and suppresses tumor growth in ovarian cancer. *Cancer Science*, **12**, 1705-1710.
- [17] Wu, F.T.H., Stefanini, M.O., et al. (2010) A systems biology perspective on sVEGFR1: its biological function, pathogenic role and therapeutic use. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **3**, 528-552.
- [18] McKeage, M.J. and Baguley, B.C. (2010) Disrupting Established Tumor Blood Vessels. *Cancer*, **15**, 1859-1866.
- [19] Khalid, B., et al. (1998) Absence of Host Plasminogen Activator Inhibitor 1 Prevents Cancer Invasion and Vascularization. *Nature Medicine*, **8**, 923-928.
- [20] Hanna, E., Quick, J. and Libutti, S.K. (2009) The tumor micro-environment: A novel target for cancer therapy. *Oral Diseases*, **1**, 8-17.
- [21] Wong, G.S. and Rustgi, A.K. (2013) Matricellular proteins: priming the tumour microenvironment for cancer development and metastasis. *British Journal of Cancer*, **108**, 755-761.
- [22] Akerman, S., Fisher, M., et al. (2013) Influence of soluble or matrix-bound isoforms of vascular endothelial growth factor-A on tumor response to vascular-targeted strategies. *International Journal of Cancer*, **133**, 2563-2576.
- [23] Provenzano, P.P. and Hingorani, S.R. (2013) Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer. *British Journal of Cancer*, **108**, 1-8.
- [24] Mueller, M.M. and Fuening, N.E. (2004) Friend or foe-bipolar effect of the tumor stroma in cancer. *Nature Reviews Cancer*, **11**, 839-849.
- [25] Anton, K. and Glod, J. (2009) Targeting the tumor stroma in cancer therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **2**, 185-191.
- [26] Mani, T., Wang, F., et al. (2013) Small-molecule inhibition of the uPAR, uPA interaction: Synthesis, biochemical, cellular, in vivo pharmacokinetics and efficacy studies in breast cancer metastasis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry, Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **21**, 2145-2155.
- [27] Nordengren, J., Pilka, R., Noskova, V., et al. (2004) Differential localization and expression of urokinase plasminogen activator (uPA), its receptor (uPAR), and its inhibitor (PAI-1) mRNA and protein in endometrial tissue during the menstrual cycle. *Molecular Human Reproduction*, **9**, 655-663.
- [28] Hofmeister, V., Schrama, D. and Becker, J.C. (2008) Anti-cancer therapy targeting the tumor stroma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **1**, 1-17.
- [29] Blansfield, J.A., Caragaciam, D., Alexander, H.R., et al. (2008) Combining agents that target the tumor microenvironment im-

- proves the efficacy of anticancer therapy. *Clinical Cancer Research*, **1**, 270-280.
- [30] Liu, M., Xu, J., et al. (2011) Tangled Fibroblasts in Tumor-Stroma interactions. *International Journal of Cancer*, **129**, 1795-1805.
- [31] Mitra, S., Stemke-Hale, K., et al. (2012) Interactions between tumor cells and microenvironment in breast cancer: A new opportunity for targeted therapy. *Cancer Science*, **3**, 400-407.
- [32] Kosaka, N., Ogawa, M., et al. (2010) Semiquantitative assessment of the microdistribution of fluorescence-labeled monoclonal antibody in small peritoneal disseminations of ovarian cancer. *Cancer Science*, **3**, 820-825.
- [33] Kenny, H.A., Krausz, T., Yamada, S.D. and Lengyel, E. (2007) Use of a novel 3D culture model to elucidate the role of mesothelial cells, fibroblasts and extra-cellular matrices on adhesion and invasion of ovarian cancer cells to the omentum. *International Journal of Cancer*, **121**, 1463-1472 .
- [34] Kato, M. and Nakagama, H. (2014) FGF Receptors: Cancer Biology and Therapeutics. *Medicinal Research Reviews*, **2**, 280-300.
- [35] 王纯燕, 李联昆, 祁秀峪, 等 (2000) 卵巢正常大小的原发性卵巢上皮性癌综合征的临床特点与预后影响因素. *中华妇产科杂志*, **2**, 420.
- [36] 张蓉, 吴令英, 章文华, 等 (2003) 年轻妇女卵巢上皮细胞癌预后因素分析. *中华肿瘤杂志*, **25**, 264-266.
- [37] 李孟达, 李玉洁 (2004) 影响上皮性卵巢癌远期疗效的因素分析. *癌症*, **11**, 1306-1311.
- [38] Zhang, Y., Xu, B., et al. (2012) The ovarian cancer-derived secretory/releasing proteome: A repertoire of tumor markers. *Proteomics*, **12**, 1883-1891.