

国外研究新进展(三)

杨柳



简介:杨柳,女。医学博士、博士后,浙江省人民医院科研部副主任,浙江省人民医院肿瘤内科副主任医师,副研究员,中国医药教育协会腹部肿瘤专业委员会常委,中国遗传协会国际交流委员会委员,中国抗癌协会胰腺癌专业委员会青年委员会委员,浙江省抗癌协会肿瘤靶向与细胞治疗专业委员会委员,国际肿瘤基因组协作组(ICGC)成员,中国肿瘤基因组协作组(CCGC)成员。从事消化道肿瘤的内科综合治疗、消化道肿瘤基础及转化研究。主持国家级课题 3 项、省部级课题 2 项、厅级课题 1 项,发表 SCI 收录论文十余篇,研究成果获浙江省科学技术进步奖二等奖一项、浙江省医药卫生科技奖一等奖一项。

1 嵌合抗原受体 T 细胞诱导复发难治性慢性淋巴细胞白血病的持续缓解

多次复发或难治性慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 患者预后不良。嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的 T 细胞可通过靶向 CD19, 诱导难治性恶性 B 淋巴细胞肿瘤患者的持续缓解, 改善传统疗法的低完全反应率。在之前的研究中, 我们阐述了 3 例难治性 CLL 患者使用 CAR T 治疗后的初步结果。该研究将阐述前期实验中 14 例复发难治性 CLL 患者使用 CAR T 细胞治疗的最终结果。将携带 CD19 结合位点的 CAR (CTL019) 慢病毒载体转染到自体 T 细胞中, 以 $0.14 \times 10^8 \sim 11 \times 10^8$ 剂量的 CTL019 细胞 (中位数 1.6×10^8 个细胞) 输注到复发难治性 CLL 患者中。监测患者血液循环中 CTL019 T 细胞的毒性、反应、扩增和持续性。这些预处理的 CLL 患者的总体反应率为 8/14 (57%), 其中 1 个完全缓解 (CR), 4 个部分缓解 (PR)。CAR T 细胞的体内扩增与临床反应相关, 并且 CAR T 细胞可在 CR 患者中持续存在并连续 4 年保持功能。CR 患者中没有出现复发情况。所有治疗有效的患者都出现 B 细胞发育不全并患有细胞因子释放综合征, 与 T 细胞增殖的反应一致。在 CR 患者的检查中没有发现微小残留病灶, 这表明 CART 治疗可根除晚期 CLL 患者的病灶。[Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia[J]. *Sci Transl Med*,

2015, 7(303):303ra139.]

2 基因工程改造的鼠伤寒沙门菌分泌异源鞭毛蛋白改善癌症免疫治疗

我们发现一种新的癌症免疫疗法, 将无毒的鼠伤寒沙门菌菌株进行基因工程改造使其在肿瘤组织中分泌创伤弧菌鞭毛蛋白 B (FlaB) 治疗肿瘤。基因工程改造后细菌分泌的 FlaB 可有效抑制小鼠模型中肿瘤的生长和转移并延长其生存期。对比 TLR5 阴性的结肠癌细胞系结果, 我们发现 FlaB 介导的肿瘤抑制依赖于细菌定植, 并与肿瘤微环境中 TLR5 介导的宿主反应相关。在 TLR4/MyD88 敲除小鼠中, 这些治疗是完全无效的, 但在 TLR5 敲除小鼠中部分有效, 表明 TLR4 信号传导是细菌分泌 FlaB 蛋白抑制肿瘤的必要条件, 而 TLR5 信号传导可增强肿瘤的抑制反应。基因工程改造的沙门菌在肿瘤微环境中定植, 经过 TLR4 信号诱导大量的免疫细胞如单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞的浸润。随后定植的沙门菌分泌 FlaB 导致肿瘤内 M1 型的巨噬细胞功能激活, 并使 M1 和 M2 之间的相互抑制活动减少。总之, 这些发现证明无毒的肿瘤靶向细菌可释放多种 TLR 配体用作癌症的免疫治疗。[Two-step enhanced cancer immunotherapy with engineered *Salmonella typhimurium* secreting heterologous flagellin [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(376): eaak9537.]

3 癌转移的关键研究突破

“癌症再次复发, 生长, 现在这是它的新家”-伊丽莎

doi:10.12056/j.issn.1006-2785.2017.39.15.20171502

作者单位: 310014 杭州, 浙江省人民医院科研部

白·爱德华兹在她的书《韧性》中回忆道。手术、放疗和化疗后,她本以为癌症已经消失,但癌症又复发了。

癌症是如何找到一处新家,变为转移性恶性肿瘤的呢?答案很简单:这个是复杂的过程。随着癌症的形成和发展,一些癌细胞设法从原发性肿瘤扩散出来,穿过循环系统,并浸润和定居在远端器官中,最终形成临床可检测的癌转移。正是由于癌转移过程的复杂性,以及技术和实验上的瓶颈,目前系统地研究癌转移并不容易,转移性癌症仍然主要是不可治愈和致命性的。不过随着更多的病理生理相关的疾病模型的出现和技术的进步,如成像和单细胞测序技术,近期的研究也逐渐开始描绘出了一个更清晰的图像。

在成功切除原发性肿瘤后,为何某些患者的癌症会变为转移性癌症呢?答案可能与转移性扩散的时间有关。此前来自几种肿瘤类型的数据分析表明,癌症扩散可以发生在癌症发展的较早时期,这与传统的观点大相径庭,而且这种早期扩散的作用机制,至今科学家们也不是很清楚。

去年 Nature 上发表的 2 篇论文提供了关于乳腺癌如何发生的重要线索:研究人员发现即使在肿瘤发展之前,具有特定分子变化的乳腺癌细胞也可以扩散到器官,长时间的保持沉默,然后被唤醒,形成侵袭性的、致命的乳腺癌转移。第一项研究指出乳腺癌细胞中的两个变化—一个开启癌基因和一个关闭抑癌因子,可激发细胞从乳腺组织迁移到肺部和身体的其他部分。在那里,细胞保持安静,直到一个生长开关被激活,并在肺部开始出现转移。第二项研究则研究了乳腺癌的早期阶段,包括 DCIS(导管原位癌,一种非侵入性的乳腺病变),因为接受治疗的 DCIS 女性有 2%~3%死于癌转移,但却从没有发展出原发肿瘤。这种现象最好的解释是,早期转移发生在 DCIS 之前或其发展的时候。

在癌转移的许多步临床表征中,器官肿瘤转移灶克隆形成(organ colonization)可能是最限速的,因为大多数达到新器官的癌细胞还不能在新的微环境中存活,其中一部分会进入休眠状态。

今年的两个研究组从不同的角度剖析了转移定殖的新机制,来自西班牙研究人员通过一种被称作蛋白 CD36 的标志物鉴定出转移起始细胞(metastasis-initiating cell, MIC)。这种在肿瘤细胞膜中发现的蛋白负责摄取脂肪酸,CD36 活性和对脂质代谢的依赖性可将转移起始细胞与其他肿瘤细胞区分开来。研究人员在来自具有不同侵袭性程度的口腔癌患者的样品中发现转移性 CD36⁺细胞。在分析的口腔癌中,少量的细胞经发现

具有启动转移的能力。让不会发生转移的肿瘤表达 CD36 使得它们产生转移性。而且研究人员也证实 CD36 对转移的影响在黑色素瘤细胞和乳腺癌细胞是一样的。类似地,对患者样品的统计学分析结果揭示出卵巢癌、膀胱癌和肺癌转移也是依赖于 CD36。这项研究在免疫抑制小鼠和具有完整免疫系统的小鼠体内证实了阻断 CD36 蛋白的抗转移效应。所有的测试结果都取得类似的结果。当给这些小鼠接种肿瘤细胞时,抑制 CD36 会完全清除它们的转移潜力。此外,注射阻断 CD36 的抗体到已建立转移瘤的小鼠体内会导致 20% 的小鼠完全清除转移瘤,而对其他的小鼠而言,它们的转移病灶数量和它们的大小发生 80%~90% 的显著下降。

在另一项研究中,Sanger 研究院的研究人员借助敲除了单个基因的多种基因工程小鼠对肿瘤转移过程进行了研究。他们筛选了 810 个基因在其中发现了 23 个促进或抑制皮肤肿瘤细胞向肺部扩散的基因。从中研究人员共发现 23 个参与癌细胞转移调控的基因,并且证明靶向其中一个基因—Spns2 能够显著抑制肿瘤扩散。研究指出,移除 Spns2 基因会引起最显著的变化,可以大大抑制肿瘤向肺部的扩散。随后研究人员又检测了该基因对其他癌症扩散的作用,包括结肠癌,肺癌和乳腺癌,并发现敲除 Spns2 也会抑制这几种癌症的转移。笔者认为,Spns2 基因的缺失会导致肿瘤转移灶的形成受到显著抑制,因此该基因代表了一个新的药物靶点。研究发现缺失 Spns2 基因的小鼠其免疫细胞的比例也不同于正常小鼠,似乎该基因的缺失会促进免疫系统清除癌细胞。靶向该基因的药物或许可以帮助抑制或阻止癌细胞向身体其他部位的扩散。Nature 最新论文发现 23 个癌转移基因:靶向一个减少 3/4 癌转移。

这两项研究都为了验证提出的理论进行了体内实验证明,表明 CD36 和 SIP1-SPNS2 axis 可以作为对抗癌转移治疗的潜在药物靶标。而且这两项研究也都指出了脂质在癌转移中至今未被充分发现的作用。未来对这些具有多种生理功能的物质展开研究,也许将能找到控制癌症转移的新方法。

此外,去年年底比利时鲁汶天主教大学的著名科学家 Peter Carmeliet 教授研究组也提出了癌症转移研究的新观点:他们发现癌细胞扩增到机体其它部位的过程需要一种特殊的血管——淋巴管(lymphatic vessels),而脂肪在其中扮演了重要的角色。这将为研发限制癌细胞淋巴管脂肪利用的新治疗方法铺平道路。这篇最新文章从淋巴管入手,可以说是另辟蹊径。淋巴管不同于血管,前者需要更多的脂肪/脂肪酸,利用药物阻止淋巴管对

脂肪的利用能限制淋巴管的生长,这是首次针对淋巴管营养物质利用的研究成果。[Metastasis: Slipping Control [J]. Cell, 2017, 168 (4):547-549. doi: 10.1016/j.cell.2017.01.033.]

4 Exodisc 对特定大小的纳米级胞外囊泡的快速有效分离及分析

细胞外囊泡(EV)是来源于细胞的纳米级囊泡,携带来源于细胞的核酸和蛋白质。EV作为生物标志物在多种疾病(包括癌症)中表现出的巨大潜力。有效的分离和检测方法是探索EV在临床中应用和理解其生物学功能的前提条件。该研究发明了一种快速、无需标记、高度灵敏的方法——在实验室放置2个纳米过滤器(Exodisc)进行EV的分离和定量。生物样品诸如细胞培养上清液(CCS)或癌症患者尿液,可使用离心微流体系统在30min内实现EV的完全自动化富集,富集的EV>在20~600nm左右。纳米粒子跟踪分析定量测试实验证实Exodisc对CCS中EV的富集率>95%。此外,从此方法收集的EV中提取的mRNA浓度高于金标准超速离心法100倍。对膀胱癌患者尿液中分离的EV进行酶联免疫吸附测定,结果显示高水平的CD9和CD81表达,表明该方法可检测尿液中EV来源的生物标志物以及在临床癌症诊断中的潜在作用。[Exodisc for Rapid, Size-Selective, and Efficient Isolation and Analysis of Nanoscale Extracellular Vesicles from Biological Samples [J]. ACS Nano, 2017, 11(2):1360-1370.]

5 肺功能和慢性阻塞性肺疾病的全基因组关联分析识别新基因位点和潜在的药物靶标

慢性阻塞性肺疾病(COPD)的特征在于肺功能降低,并且是世界范围内导致死亡的第三大病因。通过对英国生物银行48943个个体的肺功能极值分布的全基因组关联分析,以及95375个个体的随访,我们发现了43个全新的与肺功能相关的基因变异位点。通过综合这些遗传信息可以计算出每个人患上COPD的风险。研究结果显示,根据遗传因素划分出的高危人群患上COPD的风险是低危人群的3.7倍。97个基因突变富集在发育、弹性纤维和表观遗传调节途径中。这些COPD和哮喘的基因突变位点(肌醇磷酸酯代谢途径和CHRM3的基因)可能成为药物和化合物的开发靶点,也可能成为其他临床适应证的潜在药物靶点。[Genome-wide association analyses for lung function and chronic obstructive pulmonary disease identify new loci and potential druggable targets[J]. Nat Genet, 2017, 49(3):416-

425. doi: 10.1038/ng.3787. Epub 2017 Feb 6.]

6 表观基因组中增强子突变导致结直肠癌的发生

基因突变不仅会增加人体患癌症的风险,基因增强子元件突变也可能导致癌症发生。该研究对42个基因背景不同的结直肠癌样品(CRC)进行了表观遗传学增强子的分析。将正常的结肠隐窝上皮作为对照,发现在一系列肿瘤样品中,增强子不断激活或失活。CRC中反复激活的增强子,大多数都是超级增强子的组分,这些组分被来源于染色质的AP-1和黏附蛋白复合体占据。许多增强子激活已知的致癌基因,因此针对这些位点我们可通过药物抑制或基因编辑来延缓CRC的进展。近一半的GWAS CRC风险位点集中于反复激活的增强子上。研究结果表明增强子反复突变会导致一个共有的异常转录活动激活,其是CRC增殖及存活的一个关键转录过程。[Hotspots of aberrant enhancer activity punctuate the colorectal cancer epigenome[J]. Nat Commun, 2017, 8:14400. doi: 10.1038/ncomms14400.]

7 去泛素化酶在癌症干细胞信号网络和治疗耐药中的作用

肿瘤由高度异质的细胞群组成,其中只有一小部分干细胞样细胞具有在体内复发的能力。这些罕见的癌症干细胞(CSCs)被认为是“坏种子”,是导致肿瘤起始、进展、转移、复发和治疗耐药的原因。CSC靶向治疗被认为是根治癌症的更好的方法。研究者已证明去泛素化酶(DUB)在维持泛素化和去泛素化之间的平衡中起重要作用,两者之间的平衡有利于控制蛋白质质量以及维持内环境的稳态。DUB的功能障碍或失调会导致一系列的疾病,甚至是正常组织的恶性转化。尽管大量证据表明DUB抑制剂在癌症治疗中主要靶向肿瘤组织,但其不良反应如毒性和耐药性仍是难以解决的问题。该研究回顾了泛素蛋白酶体系统(UPS)的概念和CSCs相关的固定肿瘤标志物,总结了CSC相关因素和信号通路,并重点关注CSCs中DUB的功能;同时还阐明了DUB抑制剂在CSC靶向治疗中的应用和挑战;最后研究还讨论了癌症干细胞分级的复杂性,并认为CSCs和非CSCs的联合治疗应该是一个理想的选择。[The bad seed gardener: Deubiquitinases in the cancer stem-cell signaling network and therapeutic resistance[J]. Pharmacol Ther, 2017, 172: 127-138.]

(收稿日期:2017-03-09)

(本文编辑:严玮雯)