

# 现代神经肿瘤学研究新世纪十年进展

杨学军

【关键词】 中枢神经系统肿瘤； 综述

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2010.01.013

综观神经肿瘤学研究新世纪的 10 年历程,分子生物学的迅速拓展以前所未有的广度和深度变革了神经肿瘤学基础研究和临床研究的所有领域。当 2003 年 4 月 14 日国际人类基因组测序组织(International Human Genome Sequencing Consortium)正式宣布人类基因组测序工作完成,生命科学由此从揭示基因组序列步入以在整体水平上研究基因组功能为中心的后基因组时代。神经肿瘤学研究也在肿瘤基因组研究的基础上,展开了转录组、表观基因组、蛋白组及代谢组的研究。随着中枢神经系统肿瘤分子遗传学(genetics)和表观遗传学(epigenetics)认识的提高,促进了肿瘤分子流行病学、分子病理学等新兴学科的建立,揭示了中枢神经系统肿瘤发生、存活、增殖、侵袭和血管形成的分子机制,开发了各种分子靶向治疗药物并迅速在临床试验中得到检验<sup>[1]</sup>。肿瘤干细胞的发现丰富了以往对肿瘤发生机制的认识,也为肿瘤治疗提出了新的模式<sup>[2]</sup>。在临床研究领域,以循证医学为基础而制订的诊断与治疗指南使中枢神经系统肿瘤的临床诊断和综合治疗有章可循;多中心参与的临床试验为评价各种治疗方案的安全性和疗效提供了平台;功能影像学 and 皮质电刺激等医学技术,支撑了中枢神经系统肿瘤外科手术的微侵袭理念,实现了脑功能区肿瘤的安全切除。

## 一、中枢神经系统肿瘤的分子流行病学

中枢神经系统肿瘤分子流行病学的研究目标是:通过精心设计大样本的流行病学调查,研究基因与环境、基因与基因的相互作用;研究基因多态性与生物功能的相关性及与 DNA 修复表型之间的关系;通过研究数据的整合建立中枢神经系统肿瘤

风险预测模型;应用分子标志对中枢神经系统肿瘤进行更具均一性的分类和分型<sup>[3]</sup>。

迄今,高剂量的离子照射和罹患遗传神经肿瘤综合征是中枢神经系统肿瘤发病仅能完全肯定的危险因素。但有上述确定病因的中枢神经系统肿瘤仅占全部病例中的极少部分。目前认为,中枢神经系统肿瘤为多因素致病,涉及环境暴露和遗传易感性。中枢神经系统肿瘤遗传易感性的分子流行病学调查,首先是通过遗传神经肿瘤综合征、家族聚集发病的中枢神经系统肿瘤、染色体异常和连锁分析获知的。目前所知与中枢神经系统肿瘤发病有关的高外显率的遗传学异常包括:*NF1* 基因、*p53* 基因、*MMR* 基因、*APC* 基因突变,以及少见的 *PTEN*、*p16(INK4A)/p14(ARF)* 和 *CDK4* 基因突变。但这些高外显率的种系突变实际上仅占中枢神经系统肿瘤发病总危险(overall risk)的少部分。高通量的全基因组分析已经提示,许多单核苷酸多态性(SNPs)为中枢神经系统肿瘤发病的低危险因素。这些基因多态性涉及 DNA 损伤修复、细胞周期、代谢和炎症等多种信号转导通路,其中 DNA 损伤修复和炎症信号转导通路,尤其是 DNA 双链断裂修复(DSBR)亚通路可能在胶质瘤的发生过程中起重要作用<sup>[3]</sup>。分子流行病学认为,中枢神经系统肿瘤发生的起始遗传学事件为 DNA 损伤修复与凋亡基因突变,随后细胞周期调控和血管形成基因发生体细胞突变。有多发肿瘤家族史的患者和早发儿童中枢神经系统肿瘤患者一般经历此类肿瘤转化步骤。但大多数中枢神经系统肿瘤的发病为未知的体细胞突变,环境暴露因素和遗传易感性之间相互作用导致 DNA 损伤叠加,并导致肿瘤性转化。目前环境暴露因素和遗传易感性之间的剂量与生物效应关系尚无法准确估算;环境暴露的不均一性和遗传易感性与肿瘤发生类型之间的对应关系也需要

进行研究,这有助于认识种系基因多态性及其相关功能<sup>[3]</sup>。随着以微阵列(microarray)技术为基础的基因表达、比较基因组杂交、甲基化分析和微小RNA(miRNA)检测等高通量和高解析度的分子生物学方法的建立,结合DNA测序可以在未来帮助我们识别中枢神经系统肿瘤发病的特异性遗传易感性位点,建立可以预测中枢神经系统肿瘤发病风险的遗传病因学。

## 二、脑肿瘤的分子表观遗传学

表观遗传学的研究已经成为基因组测序之后的人类基因组重大研究方向之一。表观遗传学是与遗传学相对应的概念,系指基于非基因序列改变所致的基因表达水平变化,构成了基因(DNA序列)和表型(由基因表达和环境因素所决定)之间的关键信息界面。真核细胞中存在着一个由DNA甲基化、组蛋白结构修饰和微小RNA系统组成的表观遗传修饰网络,动态调控具有组织和细胞特异性的基因表达模式。中枢神经系统肿瘤表观遗传学的目的为:(1)了解中枢神经系统肿瘤的生物学。(2)识别新的生物学标志。(3)发现新的治疗靶点<sup>[4]</sup>。中枢神经系统肿瘤的表观遗传学改变包括:(1)伴随抑癌基因沉默的CpG岛(CGI)高甲基化。(2)伴随原癌基因异常激活的基因特异性低甲基化。(3)基因组广泛低甲基化所致基因组印迹缺失(LOI)。(4)组蛋白变体位置的改变和组蛋白修饰的改变。对原发性胶质母细胞瘤的研究显示,基因组广泛低甲基化的发生率高达80%,其中约20%患者基因组甲基化水平低于正常脑组织甲基化水平的50%。基因组广泛低甲基化严重的原发性胶质母细胞瘤,其肿瘤细胞增殖最为活跃<sup>[4]</sup>。在胶质瘤中也常出现位点特异性的高甲基化,多数发生在CpG岛启动子区。发生CpG岛启动子高甲基化的基因,与胶质瘤的发生与发展相关,包括细胞DNA损伤修复、细胞周期调控、细胞凋亡、血管形成、肿瘤侵袭和药物抵抗<sup>[5]</sup>。有研究发现,不同胶质瘤亚型和不同肿瘤级别的DNA甲基化异常表现不同。与原发性胶质母细胞瘤相比,继发性胶质母细胞瘤启动子甲基化的总体发生频率更高。胶质瘤复发也具有特定的甲基化标志,如半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-8(caspase-8)启动子的甲基化与胶质母细胞瘤复发有关<sup>[4]</sup>。启动子高甲基化可调节胶质母细胞瘤对药物和放射治疗的敏感性,了解最多的当属O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(MGMT)<sup>[4]</sup>。MGMT基因启动子甲基化导

致的转录沉默存在于胶质瘤、淋巴瘤、乳腺癌、前列腺癌和视网膜母细胞瘤等多种人类肿瘤细胞中。MGMT启动子甲基化的胶质母细胞瘤对烷化剂包括替莫唑胺的治疗敏感,患者生存期延长。

miRNA是长度为21~25个核苷酸的小型非编码RNA,也是新近发现的表观遗传学调控机制之一。miRNA的成熟过程与同样是非编码小干扰RNA(siRNA)的生成过程相似,经过Dicer酶酶切后pre-miRNA降解成约为22个核苷酸的单链RNA,形成成熟的miRNA;后者能够识别特定的目标mRNA的3'UTR区域,并在转录后水平通过促进靶mRNA的降解和(或)抑制翻译过程而发挥负调控基因表达的作用。在恶性胶质瘤中发现数量较多的一致表达下调的miRNA,并发现miR-128b与表皮生长因子受体(EGFR)表达水平呈负相关;在恶性胶质瘤中miR-21表达水平上调对张力蛋白同源性磷酸酶(PTEN)的表达起负性调控作用,反义miR-21可使肿瘤细胞增殖能力下降并诱导其发生凋亡<sup>[6]</sup>。与基因突变不同的是,表观遗传学变化中的启动子甲基化状态和组蛋白乙酰化状态,理论上是可以药物处理或影响进食而改变的。针对表观遗传学的治疗已在临床试验中成为药物靶点,如DNA甲基转移酶(DNMT)抑制剂5-氮杂胞苷(5-aza-C)和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂异羟肟酸(SAHA, vorinostat),但仅HDAC抑制剂用于胶质母细胞瘤的治疗。目前,表观遗传学治疗的靶向特异性问题仍未解决。首先,在正常细胞中原本需要DNA甲基化或组蛋白去乙酰化的基因,可能被DNMT和HDAC抑制剂意外激活;第二,肿瘤基因组同时兼具高甲基化和低甲基化的特点,应用DNMT和HDAC抑制剂可以使沉默的抑癌基因通过去甲基化而重新表达,也同样会使癌基因低甲基化而激活。解决这些问题可能还需要对表观遗传学的调控机制有更深入的了解<sup>[4]</sup>。表观遗传学和遗传学在特定基因、信号转导通路和染色体结构域内是存在相互作用的;下一代测序技术,将同时了解基因组和表观基因组的情况,更综合地理解遗传学和表观遗传学对中枢神经系统肿瘤起源的作用。通过微阵列技术,可以在胶质瘤中进行筛选,通过启动子的高甲基化识别新的抑癌基因,或通过DNA去甲基化药物处理肿瘤细胞来发现抑癌基因。未来需要进一步明确:是什么原因引起胶质瘤的表观遗传学变化?胶质瘤的表观遗传学改变是否如同遗传学改变,具有肿

瘤亚型和肿瘤级别特异性,并可以预测肿瘤的侵袭、肿瘤对治疗的反应和患者生存期?

三、中枢神经系统肿瘤的信号转导通路、血管形成和侵袭的分子机制

1. 中枢神经系统肿瘤的信号转导通路 胶质瘤本质上是一种多基因异常疾病,由于多数原癌基因和抑癌基因属于信号转导通路中的重要成分,因此肿瘤细胞通过激活或增强一种和(或)多种原癌基因的表达、发生抑癌基因的突变/缺失,从而逃避正常生长机制的控制,使肿瘤细胞自主增殖和侵袭,进而出现恶性表型。毫无疑问,生长因子信号对细胞生长、细胞分裂和细胞死亡进行精密地调控。在多种肿瘤包括恶性胶质瘤中,生长因子受体基因扩增或突变,可以激活生长因子信号转导通路或阻止下游效应分子的负性调控,造成生长因子信号网络的持续激活。表皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、血小板源性生长因子(PDGF)和肝细胞生长因子(HGF)在恶性胶质瘤组织中表达水平也上调。在恶性胶质瘤中,表皮生长因子受体扩增或突变是最常见的受体酪氨酸激酶(RTK)的改变;约50%的胶质母细胞瘤表达一种胞外区缺失的EGFRv III变异体。当扩增的表皮生长因子受体与其配体结合而激活或无需与配体结合的EGFRv III持续自身激活,则胞内区酪氨酸残基自磷酸化转为活性形式,导致激酶级联反应,通过多途径促进细胞无控性增殖及恶性转化<sup>[7]</sup>。酪氨酸激酶下游的PI<sub>3</sub>K/AKT/mTOR通路、Ras/MAPK/CDK/Rb通路在恶性胶质瘤的发生、增殖、凋亡抑制、侵袭和血管形成过程中起核心作用。(1)PI<sub>3</sub>K/AKT/mTOR信号转导通路:此为表皮生长因子受体下游作用的靶通路之一<sup>[8]</sup>。磷脂酰肌醇3-激酶(PI<sub>3</sub>K)在功能上起承上启下的“桥梁”作用,负责将生长因子等的刺激性信号由细胞膜转导至细胞质,使丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT)发生磷酸化而上调该通路的活性。AKT下游通路则涉及细胞周期调控、凋亡启动、血管形成、端粒酶活性、细胞侵袭性和转录水平调节等诸多方面,在恶性肿瘤的进展过程中发挥着重要的作用。AKT通过磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)丝氨酸的第448(Ser-448)位点而激活雷帕霉素靶蛋白、提高mRNA的翻译效率,从而增加一系列与细胞生长和分化相关蛋白质的表达、促进肿瘤的发生。(2)Ras/MAPK/CDK/Rb信号转导通路:亦为酪氨酸激酶下游作用的靶通路<sup>[9]</sup>。Ras蛋白是鸟苷酸结

合蛋白家族成员,对三磷酸鸟苷(GTP)和二磷酸鸟苷(GDP)具有高度亲和力,并具有同源性三磷酸鸟苷酶的活性,具有“分子开关”的作用。当表皮生长因子等生长因子信号与细胞膜受体相结合,激活受体酪氨酸蛋白激酶,进而通过一系列酶促反应催化细胞膜上底物Ras蛋白由无活性的二磷酸鸟苷结合状态转变为有活性的Ras-GTP形式。Ras蛋白主要以三磷酸鸟苷依赖性方式与丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶Raf1相互作用,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路。c-Raf1为Ras信号进入MAPK通路的桥梁,承担了MAPK激酶的激酶功能。经活化的c-Raf1选择性地磷酸化并激活MAPK激酶,胞质中一部分被激活的MAPK激酶进入细胞核,最终通过核转录因子的磷酸化作用来调节基因表达,发挥对细胞增殖与分化的作用。此外,Ras蛋白还可以通过PI<sub>3</sub>K/AKT信号转导通路和Ral鸟苷酸交换因子(GEF)/Ral通路,在细胞生存、细胞骨架调节和转录等多种层面发挥调控作用。

除上述信号转导通路之外,Wnt通路、Notch通路、Hedgehog通路等也与胶质瘤的发生与发展密切相关。各条细胞信号转导通路之间均不是孤立存在的,其必然通过多种交互作用机制参与其他信号转导通路的调节。迄今为止,对胶质瘤信号转导通路的作用及调节机制尚未完全知晓,仍需进一步研究诸多信号转导通路之间的联系及相互协同作用机制、基因转录的调控网络、表观遗传学对信号转导通路的调控机制等。

2. 中枢神经系统肿瘤血管形成的分子机制 恶性胶质瘤是体内供血最丰富的肿瘤之一,血管形成对肿瘤的生长、浸润、转移等具有重要作用。肿瘤发生和发展过程中,缺氧和遗传学改变所调控的促血管形成和抗血管形成因子的表达形成了“血管生成开关”<sup>[10,11]</sup>。肿瘤血管形成最有力的激活因素是缺氧。缺氧诱导因子-1(HIF-1)/VEGF通路可使内皮细胞增殖和迁移;缺氧诱导因子非依赖性通路如小胶质细胞对缺氧的反应,导致IL-8的表达而促进肿瘤血管形成。缺氧不仅激活促血管形成通路,还可下调抗血管形成通路,形成有利于肿瘤血管形成的条件。恶性胶质瘤的遗传不稳定性,也可不依赖于缺氧,通过PI<sub>3</sub>K和MAPK通路,激活缺氧诱导因子而促进肿瘤血管的形成。肿瘤的新生血管不仅可从相邻血管生芽、增殖、迁移而形成,而且也可募集骨髓基质微环境产生的内皮祖细胞(EPCs)参

与。目前已分离和纯化 20 余种促血管形成因子和 10 余种抗血管形成因子。促血管形成因子主要有血管内皮生长因子、酸性及碱性纤维母细胞生长因子(aFGF;bFGF)、转化生长因子(TGF)、血小板源性生长因子、表皮生长因子、血管生成素(angiotenin)、胎盘生长因子(PIGF)、IL-8、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等。内源性抗血管形成抑制因子主要包括:血管抑素(angiotatin)、内皮抑素(endostatin)、凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1)、组织金属蛋白酶抑制剂(TIMP)、血小板因子 4(PF4)、干扰素 $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )、IL-10、可溶性血管内皮生长因子受体(sFlt-1 或 sVEGFR-1)、可溶性 Tie-2(sTie-2)等<sup>[10,11]</sup>。恶性胶质瘤血管在结构与功能上不同于正常血管,主要表现在:肿瘤细胞可与内皮细胞相嵌合(血管形成拟态);平滑肌细胞、周细胞排列紊乱;肿瘤血管呈高度扩张及高渗透性;丧失血管的稳定性,可出现微出血或血管结构崩溃;肿瘤血管在空间分布上不均匀。胶质瘤血管结构与功能的异常促进肿瘤细胞缺氧、产生脑水肿及其临床后果,并使化疗药物的运送减少。研究还发现,恶性胶质瘤所形成的异常肿瘤血管产生的血管小生境容纳着胶质瘤干细胞<sup>[11]</sup>。

3. 脑肿瘤侵袭的分子机制 胶质瘤细胞发生侵袭需要 4 个基本步骤<sup>[11]</sup>:(1)侵袭行为的肿瘤细胞脱离肿瘤实体。这一过程涉及钙黏附蛋白(cadherin)介导的细胞连接失稳定和破坏、神经细胞黏附分子表达水平下调和 CD44 裂解。(2)肿瘤细胞黏附于细胞外基质(ECM)。最常见的使胶质瘤细胞黏附于细胞外基质的分子是整合素(integrin),尤其是 $\alpha$ 、 $\beta$ 。许多恶性胶质瘤所表达的因子都可以调控整合素的表达。胶质瘤细胞表达的尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)可以上调 $\alpha$ 、 $\beta$ 的表达水平;胶质瘤细胞还表达局部黏着斑激酶(FAK),一种非受体的胞质酪氨酸激酶,可以增加人类丝化增强子 1(enhancer of filamentation 1)的磷酸化,从而刺激血小板源性生长因子介导的胶质瘤细胞通过整合素黏附于细胞外基质。(3)细胞外基质的降解。基质金属蛋白酶(MMPs)对细胞外基质的降解是恶性胶质瘤侵袭行为的重要步骤。在胶质瘤细胞所表达的侵袭介导因子中,以 MMP-2 和 MMP-9 侵袭性最强。核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、CD95、胰岛素样生长因子结合蛋白-2(IGFBP-2)、c-Met 等参与调控基质金属蛋白酶的表达。溶酶体酶 B(cathepsin-B)也是细胞外基质降解的重要介导因子。(4)细胞运动和收

缩。胞质的介导因子如肌球蛋白 II(myosin II)的 A 和 B 异构体可以改变胶质瘤细胞形态,形成胞质突起,使胞体爆发前向运动。神经干细胞的迁移同样需要这 4 个步骤。许多调控胶质瘤细胞侵袭的因子,也同样可调节神经干细胞的迁移。

#### 四、中枢神经系统肿瘤的分子靶向治疗

恶性胶质瘤增殖活跃、血管形成丰富和高度侵袭特性是其难以治愈的重要原因。恶性胶质瘤的分子靶向治疗策略也主要针对其上述生物学行为中关键的介导分子和信号转导通路。

1. 以细胞表面的生长因子受体作为靶点 针对生长因子受体的靶向治疗即阻断经酪氨酸激酶级联反应介导的信号转导通路。(1)以表皮生长因子受体为抑制靶点:表皮生长因子受体小分子抑制剂包括埃罗替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、拉帕替尼(lapatinib),以及可以同时抑制表皮生长因子受体和血管内皮生长因子受体的 AEE788;表皮生长因子受体单克隆抗体西妥昔单抗(cetuximab)为人/鼠嵌合的 IgG 抗体,通过在细胞外与其相结合,阻断配体表表皮生长因子和肿瘤坏死因子 $\alpha$ 与表皮生长因子受体结合及经受体酪氨酸激酶介导的信号转导。(2)以血管内皮生长因子受体为抑制靶点:贝伐单抗(bvacizumab, avastin)是针对血管内皮生长因子的人源化单克隆抗体(IgG1),可与血管内皮生长因子结合而阻断其生物活性;2004 年,获得美国食品与药品管理局(FDA)批准用于抗肿瘤血管形成治疗,2010 年 2 月将在全球上市。VEGF-Trap 是将 VEGFR-1 和 VEGFR-2 胞外域融合蛋白结合至 IgG 的 Fc 片段的可溶性受体,可以“诱骗”结合循环中的血管内皮生长因子,阻断其与细胞膜受体结合,抑制肿瘤新生血管的形成。血管内皮生长因子受体小分子抑制剂包括伊马替尼(imatinid, STI571),可抑制 PDGFR- $\alpha$ 、PDGFR- $\beta$  和 C-kit;瓦他拉尼(vatalanib)如 PTK-787 和 ZK-222584,为 VEGFR1-3 抑制剂;西地尼布(cediranib)为一种 VEGFR-2/PDGFR- $\beta$  和 C-kit 酪氨酸激酶抑制剂;凡德他尼(vandetanib)如 ZD6474,为 VEGFR-2/EGFR 和转化中重排(rearranged during transfection, RET)酪氨酸激酶抑制剂;舒尼替尼(sunitinib malate, SU11248)为多种酪氨酸激酶靶点小分子抑制剂。多数血管内皮生长因子受体小分子抑制剂在临床 II 期试验中未取得令人信服的结果<sup>[12-14]</sup>。(3)以纤维母细胞生长因子受体为抑制靶点:业已证实,FGF/FGFR 信号

转导通路抑制剂 thalidomide 和 lenalidomide, 以及干扰素 $\alpha$ 和干扰素 $\beta$ 对恶性胶质瘤疗效欠佳<sup>[13]</sup>。目前正在研制纤维母细胞生长因子受体酪氨酸激酶的小分子抑制剂 TKI-258 和 XL-999, 它们可能更具特异性, 有望减少毒性反应并增加疗效<sup>[12-14]</sup>。(4) 以血小板源性生长因子受体为抑制靶点: 经研究证实, 采用血小板源性生长因子受体小分子抑制剂伊马替尼单药治疗复发性恶性胶质瘤无效<sup>[13]</sup>。

2. 蛋白激酶 C 通路抑制剂 enzastaurin 中期评价未显示该药对恶性胶质瘤有效。

3. PI<sub>3</sub>K/AKT/mTOR 信号转导通路靶向治疗 主要药物包括以雷帕霉素靶蛋白为主的靶点小分子抑制剂如雷帕霉素 [(rapamycin), 又名西罗莫司 (sirolimus)] 及其衍生物西罗莫司脂化物 (temsirolimus)、依维莫司 (everolimus) 和 Deforolimus (AP23573) 等。

4. Ras/MAPK/CDK/Rb 信号转导通路靶向治疗

(1) 以 Ras 蛋白为抑制靶点: 抑制 Ras 蛋白的法尼基化修饰, 阻断 Ras 蛋白定位于细胞膜内侧。替吡法尼 (tipifarnib) 和洛那法尼 (lonafarnib) 均是法尼基转移酶抑制剂。(2) 以 Raf 蛋白为抑制靶点: 阻断 Ras 信号进入 MAPK 通路。索拉非尼 (sorafenib) 为多种酪氨酸激酶抑制剂, 可以通过抑制 Raf 及其下游信号转导通路直接抑制肿瘤生长; 另外, 它还可以通过抑制血管内皮生长因子受体和血小板源性生长因子受体而阻断肿瘤新生血管的形成, 间接抑制肿瘤细胞的生长<sup>[8,15]</sup>。

5. 以整合素为抑制靶点 西仑吉肽 (cilengitide) 可以竞争性拮抗整合素 $\alpha_3\beta_3$ 和 $\alpha_5\beta_3$ 的受体<sup>[15]</sup>, 临床试验证实安全, 可使复发胶质瘤患者的中位生存期延长至 10 个月。进一步评价西仑吉肽的治疗效果, 还应检测药物化疗后肿瘤边缘的组织标本, 证实其对肿瘤侵袭的抑制效应, 但在患者身上获取这样的标本尚有一定困难。

恶性胶质瘤的靶向治疗是全新的治疗理念, 近年来针对不同靶分子开发出许多靶向治疗药物。迄今为止, 比较明确的疗效是针对抗肿瘤血管形成的靶向治疗。贝伐单抗在恶性胶质瘤中显示了抗肿瘤生长作用, 而且还具有改善血-脑屏障、抗水肿和类固醇激素节省效应; 抗肿瘤血管形成的靶向治疗可以产生“血管正常化时间窗”, 促进化疗药物在肿瘤组织内的分布, 加强肿瘤细胞氧合程度, 促进恶性胶质瘤对细胞毒性药物和放射治疗的敏感

性。但抗血管形成治疗也存在一些有待解决的问题, 例如抗肿瘤血管形成治疗可以增加肿瘤细胞的侵袭能力、其他促血管形成旁路的激活可导致肿瘤血管再形成和肿瘤对治疗的假反应等<sup>[10]</sup>。新型脑功能成像方法可能利于更可靠的判定抗肿瘤血管形成治疗的效果, 循环和组织生物学标志的确认有助于预示抗肿瘤血管形成治疗的效果并及时发现治疗抵抗和治疗过程中出现的肿瘤进展。虽然有大量的分子靶向治疗药物被开发并迅速转化为临床应用, 但大多数药物的临床试验结果并未达到预期的目的。已有的临床试验结果带给我们的启示, 值得认真思考<sup>[16,17]</sup>: (1) 在靶向治疗中必须明确关键的信号介导分子是否被抑制? 是否靶分子所处的信号转导通路通过其他抵抗机制仍能够被激活? 如何设计联合分子靶向治疗? (2) 在传统的药物化疗过程中, 细胞毒性药物的最大耐受剂量可以作为有效药物使用剂量的指导, 而靶向治疗药物需要研发新的评价方法, 以便确定靶向药物剂量是否能够有效地抑制靶分子。(3) 细胞信号转导通路不是简单地从一个分子线性传递给另一个分子, 而是一个十分复杂的相互作用网络, 通过交互应答和内稳定反馈环路, 可对药物治疗反应产生极为明显的影响。(4) 肿瘤细胞具有遗传不稳定性, 肿瘤患者接受细胞毒性药物和放射治疗时, 有可能加速基因突变的发生。当肿瘤细胞接受分子靶向治疗时, 肿瘤细胞是否也会经历巨大的选择性压力, 包括出现 RTK 抑制剂耐药性突变?

五、中枢神经系统肿瘤干细胞特性为肿瘤转化及其治疗提供了新的信息

中枢神经系统肿瘤干细胞 (TSCs) 的发现也是近 10 年来神经肿瘤学研究的又一重要进展。继从实体肿瘤分离出肿瘤干细胞后, 2003 年, 在髓母细胞瘤和胶质母细胞瘤中也发现了一小群具有自我更新、无限增殖潜能和部分分化能力等干细胞样生物学特征的特殊中枢神经系统肿瘤细胞<sup>[2]</sup>。进一步研究发现, 中枢神经系统肿瘤干细胞具有与普通肿瘤细胞不同的细胞生物学和分子遗传学特征, 与维持肿瘤生长、侵袭和复发高度相关, 而且对放射治疗和化疗药物具有较强的抵抗性。中枢神经系统肿瘤干细胞与神经干细胞具有许多相似之处。胶质瘤干细胞与神经干细胞一样, 均具有自我更新能力, 表达细胞表面抗原 CD133 和神经干细胞标志巢蛋白 (nestin), 能够分化为神经元和胶质细胞; 在胶

质瘤细胞自身和周围支持细胞释放的分子信号作用下,两种细胞类型均可被吸引到相同的肿瘤小生境。中枢神经系统肿瘤干细胞与神经干细胞的不同之处在于,从遗传学角度中枢神经系统肿瘤干细胞可能具有癌基因的激活和抑癌基因的失活;从表观遗传学角度,表观遗传学的异常赋予特定类型的中枢神经系统肿瘤干细胞具有区别于其他中枢神经系统肿瘤干细胞或正常神经干细胞的干性特点和生物学行为<sup>[18,19]</sup>。

神经干细胞高度的迁移特性使人联想到恶性胶质瘤的侵袭性。已经证实,神经干细胞对胶质瘤具有趋向性。将神经干细胞与胶质瘤细胞一起注射到啮齿类动物的脑组织中,神经干细胞迅速长距离迁移,追踪周围的胶质瘤细胞;注射到肿瘤对侧的神经干细胞亦可越过中线向肿瘤侧迁移;注射到外周血液循环中的神经干细胞也可以向颅内胶质瘤迁移。更进一步研究发现,胶质瘤细胞可以引导脑室室管膜下区的内源性神经干细胞向肿瘤灶迁移。提示:神经干细胞可以作为胶质瘤治疗的细胞载体,携带药物和(或)基因,包括自杀基因、免疫调节因子基因、促凋亡基因,靶向破坏肿瘤细胞,尤其是外科手术和神经影像学检查均不能发现的具有侵袭性和迁移性的胶质瘤细胞<sup>[2]</sup>。尽管已在啮齿类动物实验中获得充分的证据,说明神经干细胞具有向胶质瘤的趋向性,目前仍在进一步证实这一现象是否也可发生于人脑。明确神经干细胞和肿瘤干细胞迁移的分子调控机制也是重要的研究课题,藉此可以开发抑制肿瘤干细胞迁移能力的药物,降低恶性胶质瘤的侵袭性。已经发现的引导神经干细胞向胶质瘤迁移的调控分子包括细胞表面的趋化因子受体 CXCR3 和 CXCR4。对其他细胞因子的研究也提示存在作用于神经干细胞向胶质瘤的趋向性,如人生长激素、干细胞因子(SCF)、尿激酶纤溶酶原激活物和血管内皮生长因子。

## 六、中枢神经系统肿瘤临床规范化治疗研究

1. 脑功能区肿瘤的手术切除 已知用经典的解剖学标准预测脑功能区是不准确的。中枢神经系统肿瘤患者存在个体脑皮质构筑差异,相同脑功能不仅局限于一个脑区,还可能分散于不同脑叶;肿瘤所致脑结构的扭曲变形可使脑功能区移位或代偿、神经传导束推移或破坏;外科手术切除肿瘤后,脑结构和功能可以重塑。近 10 年来,随着对中枢神经系统肿瘤术区解剖、生理和功能理解程度的提

高,脑功能区肿瘤手术已由单纯解剖模式向个体化解剖-功能模式转化。在功能成像、运动和语言功能区术中皮质刺激(intra-operative cortical stimulation mapping)、术中唤醒麻醉、神经电生理监测等技术的指导下,脑功能区肿瘤可实现安全切除<sup>[20]</sup>。近 10 年来,影像学技术的高速发展对中枢神经系统肿瘤的临床诊断和治疗起到了极大的推动作用。功能磁共振成像(fMRI)能够无创伤地对脑功能区进行准确定位、提供脑细胞损伤、局部动态血流灌注及病灶区生化代谢信息,对明确病灶与脑功能区之间的解剖关系、肿瘤定性诊断、浸润情况和预后判断等均有价值<sup>[21]</sup>,主要包括扩散加权成像(DWI)、灌注成像(PWI)、血氧水平依赖性功能磁共振成像(BOLD-fMRI)及磁共振波谱成像(MRSI)分析。正电子发射计算机断层扫描(PET-CT)实现了分子影像与解剖影像的同机融合,通过视觉、听觉、肢体运动和思维活动等方面的刺激,可以无创、直观、精确地对大脑皮质功能进行定位,并以血流或代谢图像形式显示出来。脑磁图(MEG)的无创脑功能区成像是通过脑磁图诱发磁场(evoked magnetic field)与 MRI 影像整合技术得以实现的,可以在 MRI 图像上明确标记大脑皮质的主要功能区,为制订手术方案、避免功能区损伤提供依据,包括体感诱发磁场(SEFs)、运动诱发磁场(MEFs)、听觉诱发磁场(AEFs)、视觉诱发磁场(VEFs),以及语言中枢的诱发定位。功能成像技术的应用和发展有助于手术前规划脑功能区肿瘤的手术方案,但仍不能提供术中精确及实时的信息,也不能替代脑功能区手术中直接的皮质刺激。未来应用功能和结构融合图像进行手术实时导航和术中实时影像学指导,将会最大限度地降低病残率,进一步提高手术的安全性。

2. 临床诊断与治疗标准化 中枢神经系统肿瘤的临床诊断与治疗须遵守规范化程序,方能尽量避免治疗过度、治疗不足及治疗错误<sup>[22]</sup>。以循证医学为依据制订的《国立综合癌症网络(NCCN)神经系统肿瘤临床实践指南》(指南)不仅是美国中枢神经系统肿瘤领域临床决策的标准,也已成为全球临床实践中应用最为广泛的指南。该指南依据最新的循证医学证据每年进行更新,为临床医师提供最前沿的诊断与治疗方案。其他不同国家或地区也制订了类似的指南,如英国国家癌症合作中心制订的《提高脑肿瘤和其他中枢神经系统肿瘤患者结局的指南》、《加拿大胶质母细胞瘤治疗推荐》等。

2009 年,中国神经肿瘤专家密切合作制订了“中国中枢神经系统恶性胶质瘤诊断与治疗共识”,并在为尽早制订出增加循证医学证据的指南而努力。外科手术切除联合放射治疗和药物化疗仍是不同版本中枢神经系统肿瘤治疗指南所坚持的总原则。替莫唑胺(TMZ)的临床应用是近 10 年来恶性胶质瘤患者药物化疗的最大进展。继 1998 年获得美国食品与药品管理局批准用于治疗复发性胶质母细胞瘤及间变性星形细胞瘤之后,2005 年替莫唑胺联合放射治疗获得批准治疗新诊断的胶质母细胞瘤。目前对于新诊断的胶质母细胞瘤推荐的辅助治疗方案为:放射治疗( $2\text{ Gy} \times 30$ )与替莫唑胺口服( $75\text{ mg/m}^2$ , 1 次/d)同步治疗 6 周,于放射治疗间隔 4 周后给予替莫唑胺  $150 \sim 200\text{ mg/m}^2$  口服, 1 次/d, 每 28 d 的前 5 d 给药,共治疗 6 个疗程。这一治疗方案显著延长了新诊断胶质母细胞瘤患者的总生存期和无进展生存期,并具有长期生存获益<sup>[23,24]</sup>。药物化疗方案的个体化是恶性肿瘤药物治疗的必然方向,目前主要通过检测恶性胶质瘤药物化疗相关分子和染色体 1p/19q 杂合性缺失,来指导化疗方案的制订。MGMT 高活性或在肿瘤细胞中呈高表达、MGMT 启动子呈非甲基化状态,均预示肿瘤对烷化剂如替莫唑胺耐药;肿瘤细胞内 DNA 拓扑异构酶 II (Topo II) 低表达提示对鬼臼碱类如替尼泊甙耐药; P-糖蛋白(P-gp)、谷胱甘肽/谷胱甘肽 S 转移酶高表达可能会产生肿瘤交叉耐药现象。肿瘤细胞原代培养及体外药物敏感试验也可对临床用药起到筛选作用<sup>[23,24]</sup>。节律化疗(metronomic chemotherapy)亦称抗血管形成化疗(antiangiogenic chemotherapy),是化疗的新理念,指连续、规律、低剂量给予细胞毒性药物的治疗方案,可以通过降低内皮细胞增殖,而兼具抑制肿瘤血管形成作用<sup>[25]</sup>。在恶性胶质瘤局部治疗技术上的进展主要包括两个方面,其一为:以卡莫司汀缓释膜片为代表的局部缓释性细胞毒药物已用于复发和新发恶性胶质瘤的治疗<sup>[23]</sup>;其二为:增强对流的药物递送方式,使药物以恒定的速率和浓度向肿瘤组织输注,从而增加药物在肿瘤局部的分布<sup>[26]</sup>。放射治疗是中枢神经系统肿瘤的重要治疗技术,包括二维或三维适形放射治疗(3D-CRT)、调强放射治疗(IMRT)、影像指导放射治疗、立体定向放射外科和重粒子治疗<sup>[27]</sup>。3D-CRT 高剂量区分布的形状在三维空间方向上与肿瘤靶区(包括瘤体和亚临床病灶)的形状一致;在

3D-CRT 基础上采用计算机三维逆向治疗计划(inverse planning)和三维影像重建技术,通过改变靶区内的射线强度,使靶区内的任何区域均能得到理想的均匀照射剂量,同时将重要器官所受照射剂量限制在可耐受的范围内,令靶区外紧邻的正常组织受照射剂量降到最低,是为 IMRT。一般认为,如果靶区的位置、范围与常规放射治疗时一致,且所得到的有效生物剂量相同,则 IMRT 的肿瘤控制率与 3D-CRT 相似。只有当需明显提高肿瘤照射剂量或降低组织损伤时,才能显示出 IMRT 的优越性。目前 IMRT 仍存在治疗费用高和技术尚需完善的问题。个体化预测中枢神经系统恶性肿瘤放射治疗的敏感性,迄今尚缺乏可靠的预测指标。

3. 分子靶向治疗给临床带来的新问题 当同步放射治疗和药物化疗方案,以及抗血管形成的分子靶向治疗应用于临床以来,出现了疗效判定的新问题,需要进一步研究。目前,患者生存状态、生存期和影像学检查所反映的肿瘤消长仍是判断疗效的主要指标。中枢神经系统肿瘤对治疗的影像学反应,一般依据 Macdonald 标准进行判断,亦即对强化肿瘤部分进行定量检测。 $T_1\text{WI}$  增强扫描可反映高级别中枢神经系统肿瘤的内皮细胞增殖情况,提示血-脑屏障破坏和血管渗漏程度,但它并不能等同于肿瘤实体影像,亦不具有肿瘤特异性,在梗死、炎症、坏死等病灶也存在。依据  $T_1\text{WI}$  增强扫描评价疗效时,应谨防对肿瘤假性进展和假性治疗反应的误判。胶质瘤综合治疗过程因脑组织损害、坏死而出现毛细血管通透性增高和血-脑屏障破坏均可使  $T_1\text{WI}$  出现对比增强,易被误判为肿瘤进展,尤其当其出现在放射治疗和药物化疗同时进行的患者的影像学表现中<sup>[28]</sup>;而治疗过程中如使用类固醇激素或内皮细胞生长因子抑制剂等,由于减少了异常的血管渗漏而出现  $T_1\text{WI}$  对比增强降低,呈假性治疗反应,尤其易出现在抗血管形成的靶向治疗中<sup>[28,29]</sup>。功能影像学的开发和生物学标志的找寻可能有助于我们在治疗过程中实时动态监测患者对治疗的反应、准确判定疗效并及时调整治疗方案。

新世纪的前 10 年弹指一挥间,现今又站在了下一个 10 年的起点,共同展望未来 10 年里神经肿瘤学的发展。首先,高通量的基因组和表观基因组的联合研究,会进一步揭示中枢神经系统肿瘤的遗传学和表观遗传学改变,并据此细化中枢神经系统肿瘤的分子亚型与组织学表现、临床特点、治疗反应

和预后的对应关系;从归纳中枢神经系统肿瘤遗传学和表观遗传学改变的一般规律,走向掌握个体肿瘤的遗传学信息(genetic profile)和表观遗传学信息(epigenetic profile)<sup>[30]</sup>;根据肿瘤患者自身的基因遗传学和表观遗传学信息,实现个体化治疗;分子靶向治疗从单靶点抑制发展到多靶点治疗,期待更深入地理解靶向治疗中细胞信号通路的交互应答和旁路激活,开发生物学标志,建立可靠的靶向治疗评价方法。中枢神经系统肿瘤的免疫治疗、基因治疗、溶肿瘤病毒治疗仍延续了20世纪90年代的研究路线,尽管也取得了进步,但迄今未能走向常规临床治疗,期待下一个10年能够取得突破性进展。

### 参 考 文 献

- [1] Berger MS, Chang SM. Current perspectives on neuro-oncology. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:425-426.
- [2] Oh MC, Lim DA. Novel treatment strategies for malignant gliomas using neural stem cells. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:458-464.
- [3] Gu J, Liu Y, Kyritsis AP, et al. Molecular epidemiology of primary brain tumors. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:427-435.
- [4] Nagarajan RP, Costello JF. Molecular epigenetics and genetics in neuro-oncology. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:436-446.
- [5] Nagarajan RP, Costello JF. Epigenetic mechanisms in glioblastoma multiforme. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19:188-197.
- [6] Turner JD, Williamson R, Almefty KK, et al. The many roles of microRNAs in brain tumor biology. *Neurosurg Focus*, 2010, 28: E3.
- [7] Gan HK, Kaye AH, Luwor RB. The EGFR VIII variant in glioblastoma multiforme. *J Clin Neurosci*, 2009, 16:748-754.
- [8] Guillard S, Clarke PA, Te Poele R, et al. Molecular pharmacology of phosphatidylinositol 3 - kinase inhibition in human glioma. *Cell Cycle*, 2009, 8:443-453.
- [9] Jeuken J, van den Broecke C, Gijzen S, et al. RAS/RAF pathway activation in gliomas: the result of copy number gains rather than activating mutations. *Acta Neuropathol*, 2007, 114: 121-133.
- [10] Wong ML, Prawira A, Kaye AH, et al. Tumour angiogenesis: its mechanism and therapeutic implications in malignant gliomas. *J Clin Neurosci*, 2009, 16:1119-1130.
- [11] Tate MC, Aghi MK. Biology of angiogenesis and invasion in glioma. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:447-457.
- [12] Shibuya M. Brain angiogenesis in developmental and pathological processes: therapeutic aspects of vascular endothelial growth factor. *FEBS J*, 2009, 276:4636-4643.
- [13] Chi AS, Norden AD, Wen PY. Antiangiogenic strategies for treatment of malignant gliomas. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:513-526.
- [14] Argyriou AA, Giannopoulou E, Kalofonos HP. Angiogenesis and anti - angiogenic molecularly targeted therapies in malignant gliomas. *Oncology*, 2009, 77:1-11.
- [15] Mercer RW, Tyler MA, Ulasov IV, et al. Targeted therapies for malignant glioma: progress and potential. *BioDrugs*, 2009, 23:25-35.
- [16] Huang TT, Sarkaria SM, Cloughesy TF, et al. Targeted therapy for malignant glioma patients: lessons learned and the road ahead. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:500-512.
- [17] Yamanaka R, Saya H. Molecularly targeted therapies for glioma. *Ann Neurol*, 2009, 66:717-729.
- [18] Xie Z. Brain tumor stem cells. *Neurochem Res*, 2009, 34:2055-2066.
- [19] Zaidi HA, Kosztowski T, DiMeco F, et al. Origins and clinical implications of the brain tumor stem cell hypothesis. *J Neurooncol*, 2009, 93:49-60.
- [20] Sanai N, Berger MS. Operative techniques for gliomas and the value of extent of resection. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:478-486.
- [21] Cha S. Neuroimaging in neuro - oncology. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:465-477.
- [22] Olson JJ, Fadul CE, Brat DJ, et al. Management of newly diagnosed glioblastoma: guidelines development, value and application. *J Neurooncol*, 2009, 93:1-23.
- [23] Salvati M, D'Elia A, Formichella AI, et al. Insights into pharmacotherapy of malignant glioma in adults. *Expert Opin Pharmacother*, 2009, 10:2279-2290.
- [24] Villano JL, Seery TE, Bressler LR. Temozolomide in malignant gliomas: current use and future targets. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64:647-655.
- [25] Samuel DP, Wen PY, Kieran MW. Antiangiogenic (metronomic) chemotherapy for brain tumors: current and future perspectives. *Expert Opin Investig Drugs*, 2009, 18:973-983.
- [26] Debinski W, Tatter SB. Convection - enhanced delivery for the treatment of brain tumors. *Expert Rev Neurother*, 2009, 9:1519-1527.
- [27] Khuntia D, Tomé WA, Mehta MP. Radiation techniques in neuro-oncology. *Neurotherapeutics*, 2009, 6:487-499.
- [28] Alexiou GA, Tsiouris S, Kyritsis AP, et al. Glioma recurrence versus radiation necrosis: accuracy of current imaging modalities. *J Neurooncol*, 2009, 95:1-11.
- [29] Clarke JL, Chang S. Pseudoprogression and pseudoresponse: challenges in brain tumor imaging. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2009, 9:241-246.
- [30] Mladkova N, Chakravarti A. Molecular profiling in glioblastoma: prelude to personalized treatment. *Curr Oncol Rep*, 2009, 11:53-61.

(收稿日期:2010-01-24)

## · 专题小词典 ·

### 中英文对照名词词汇(九)

脑组织氧分压 brain tissue oxygen pressure(PbrO<sub>2</sub>)  
 内膜切除术治疗高危患者  
 Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy(SAPPHIRE)

内皮发育蛋白-1 developmental endothelial locus-1(Del-1)  
 内皮细胞白细胞黏附分子  
 endothelial leukocyte adhesion molecule(ELAM)