

# 肿瘤异质性与分子靶向药物治疗效果不佳的相关性研究进展\*

梁 杰<sup>1</sup>, 刘 柱<sup>1</sup>, 杨盼盼<sup>2</sup>综述, 王彤敏<sup>1△</sup>审校

(1. 云南省第一人民医院普外二科, 昆明 650032; 2. 昆明理工大学临床医学院, 昆明 650504)

**[摘要]** 近年研究提示肿瘤并不是由相同的肿瘤细胞构成的瘤体, 而是由肿瘤细胞亚群构成的多克隆性(或异质性)新生物。在疾病进程中, 肿瘤在空间和时间上均处于不断变化的状态。许多研究已经提示肿瘤原发灶细胞之间及原发灶与转移灶之间有着明显的基因学、形态学及功能上的多样性。在肿瘤疾病的治疗过程中, 虽然分子靶向治疗已被应用于临床实践中, 但对于未经筛选的患者治疗效果仍不理想。肿瘤分子靶向治疗的选择依赖分子病理学的检查, 但由于肿瘤具有异质性, 导致病理学检查无法涵盖肿瘤的全部信息, 因而通过病理学方法决定分子靶向治疗药物的应用不一定能取得预期效果。本篇综述将讨论肿瘤的异质性及肿瘤分子靶向治疗失败之间存在的关联性。

**[关键词]** 肿瘤异质性; 分子病理学; 分子靶向治疗

**[中图法分类号]** R730.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2019)02-0313-04

近年研究显示, 肿瘤是由肿瘤细胞亚群构成的多克隆性(或异质性)新生物, 其在空间和时间上均处于不断变化的状态。在肿瘤疾病的治疗过程中, 虽然分子靶向治疗已被广泛应用, 但更多依赖分子病理学检查, 且由于肿瘤异质性, 导致病理学检查无法涵盖肿瘤的全部信息, 因而通过病理学方法决定分子靶向治疗药物的应用便不一定能取得预期效果。现对肿瘤的异质性及肿瘤分子靶向治疗失败之间存在的关联性进行综述。

## 1 肿瘤的异质性

**1.1 异质性起源假说** 自从 1976 年 NOWELL<sup>[1]</sup> 提出肿瘤发展的概念, 越来越多的研究提示肿瘤并非由单一细胞群体所组成, 而是随着时间逐渐演化出不同的肿瘤亚群。肿瘤异质性是一个广泛的概念, 可粗略地分为时间异质性、空间异质性、结构异质性、细胞异质性、蛋白异质性、基因异质性、功能异质性等<sup>[2]</sup>。目前针对肿瘤细胞异质性的发生原因存在两种假说, 即肿瘤干细胞假说和克隆发展模型假说<sup>[3]</sup>。两种假说都认为肿瘤起源于获得多次分子学转变的单细胞, 后发展出无限的增殖潜能, 且都认为微环境对肿瘤的构成有一定的影响。然而, 这两个理论仍然存在一些基本的差异, 见表 1。

肿瘤干细胞假说认为肿瘤的异质性由突变导致, 且肿瘤细胞的组成是具有阶级层次的。克隆发展模型假说认为肿瘤内部异质性的出现就像生物受到自然选择的结果一样, 它们之间并不存在等级分明的体系。更为重要的差别是, 肿瘤干细胞假说认为只有小部分的肿瘤细胞能够推动肿瘤的进程并导致肿瘤产

生可遗传的耐药性。而对于克隆发展模型来说, 肿瘤疾病的进程是根据达尔文进化论的原则来发展, 肿瘤细胞系发展成耐药株的能力取决于细胞群的形态、突变率(即基因的不稳定性)、增殖率及肿瘤局部微环境施加的选择压力(如外界治疗)<sup>[4]</sup>。

**1.2 肿瘤体的异质性** 肿瘤的异质性可归因于遗传、表观遗传及一些非遗传的因素所导致, 如针对肿瘤局部微环境的适应性应答, 或是信号转导通路的变动。在针对肿瘤的大规模并行测序(MPS)、FISH、免疫组织化学分析等研究已经提示, 肾透明细胞癌、乳腺癌、慢性淋巴细胞型白血病、胃癌及结直肠癌等多种肿瘤均表现出空间异质性和时间异质性<sup>[5-12]</sup>。

表 1 肿瘤干细胞假说和肿瘤克隆发展模型

	肿瘤干细胞假说	肿瘤克隆模型
肿瘤起源细胞	肿瘤干细胞	任何细胞
肿瘤细胞组成	细胞间具有阶级性	随机组成
肿瘤进展	由肿瘤内存在的小部分干细胞驱动肿瘤进程	在各种选择压力下表现最适应的肿瘤细胞亚群驱动肿瘤进程
异质性产生的来源	各种偏离正常路径的变异或突变	由选择压力造就的表观遗传突变和遗传突变
异型性的种类	最初被认为主要是表型的异质性, 但最近的研究表明肿瘤内干细胞之间也存在基因层面的异质性	基因型及表型异质性
治疗耐受的来源	肿瘤干细胞	肿瘤微环境选择出包含特别遗传突变或表观遗传突变的耐药肿瘤亚克隆群

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81160370, 81760292); 云南省应用基础研究-昆医联合专项(2011FB219)。 作者简介: 梁杰(1993-), 研究员, 硕士, 主要从事胃肠肿瘤免疫研究。 △ 通信作者, E-mail: tongmin420@163.com。

**1.2.1 空间异质性** 肿瘤的空间异质性表现在肿瘤原发灶内或原发灶与转移灶之间。国外有研究小组通过对两例原发性及其转移性肾癌的多区域进行基因测序,确定了 63%~69% 的突变基因,但并不是在每个肿瘤区域均可检测到这些突变,在肿瘤体的不同部位,一些抑癌基因表现出相差巨大的失活突变率,在肿瘤内不同的区域,可以同时检测到代表预后良好或预后差的基因表达<sup>[13]</sup>。在肿瘤原发灶与转移灶之间同样存在空间异质性,DUPONT 等<sup>[14]</sup>在对乳腺癌研究过程中发现,PIK3CA 基因突变可能在乳腺癌原发灶和相应的转移灶之间也并不一致。VAKIANI 等<sup>[15]</sup>在对结直肠肿瘤的研究中发现,TP53 基因的突变率在原发灶与转移灶之间呈现稳步上升趋势,其在结直肠原发灶腺癌的突变率为 8%,而在转移灶中的突变率则上升到 53%。CHEN 等<sup>[16]</sup>在对肺腺癌原发灶和其转移灶的 EGFR 突变体的研究中也发现,两者间的不一致率为 13.9%,由此提示大多数肿瘤均存在空间异质性,因此根据原发肿瘤中的相关基因表达情况来治疗转移灶可能并不是最佳的方法。

**1.2.2 时间异质性** 肿瘤的时间异质性表现为肿瘤的多克隆性质会随时间发展,呈现出明显的动态性。SHAH 等<sup>[9]</sup>对 1 例晚期侵袭性乳腺癌进行基因组测序,结果提示转移灶中存在 19 组最初诊断时并不存在的非同义基因突变。HOEFNAGEL 等<sup>[17]</sup>在乳腺癌细胞表面受体的研究中发现,很大比例的乳腺癌患者中的雌激素受体、孕激素受体、人表皮生长因子受体-2(EGFR-2)会发生转变,雌激素受体 $\alpha$ 和孕激素受体的转化主要是从阳性转为阴性,而 EGFR-2 转化则表现出既可由阴性转化为阳性,也可从阳性转化为阴性,这些肿瘤异质性的表现可能导致患者的治疗抵抗及无效的药物应用。这些研究提示肿瘤并非一成不变,而是会随着时间发展,表现出不同的生物特性。

## 2 分子靶向药物应用

**2.1 靶向药物实施靶点的检测** 目前临床上肿瘤的分子靶向治疗依赖分子病理诊断<sup>[18]</sup>。而分子靶向药物治疗位点的检测主要包含以下几个方面:免疫组织化学法、FISH、CISH、PCR 扩增技术、基因序列测定及分析,在肿瘤组织病理学检查过程中,无论应用何种分子病理分析手段,均需对肿瘤局部组织进行切片,由于肿瘤具有空间及时间异质性的特点,肿瘤局部组织的切片将会造成其他肿瘤分子病理信息的遗漏,导致分子靶向治疗的选择并不能针对患者体内全部肿瘤细胞,并且可能造成部分肿瘤细胞亚群获得更大的生存及扩张的机会,进而导致分子靶向治疗药物的抵抗和失败,见图 1。

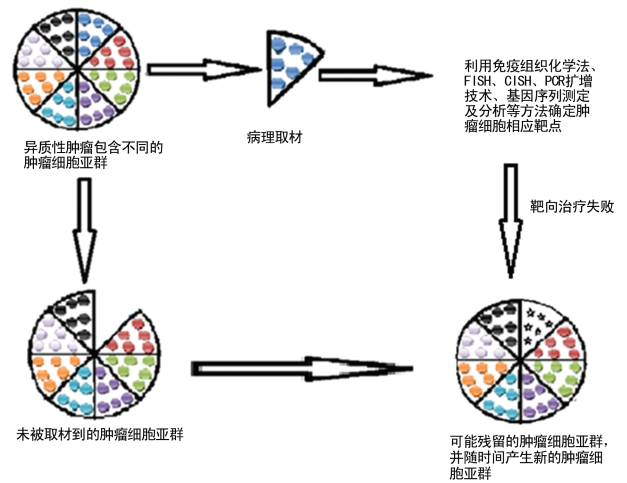


图 1 靶向药物实施靶点的检测

**2.2 肿瘤分子靶向药物治疗情况** 随着曲妥珠单抗的临床应用,开启了针对晚期肿瘤分子靶向治疗的新时代。分子靶向治疗主要是针对恶性肿瘤细胞内外各种信号转导通路进行干预,从而抑制肿瘤细胞的生长、分化等,以提高临床治疗效果。目前针对肿瘤的靶向治疗位点主要从酪氨酸激酶受体(ErbB)家族、抗血管生成及其相关的细胞内外信号通路等方面入手,但大多靶向治疗未能明显地改善晚期肿瘤患者的生存期。靶向治疗在某些肿瘤患者临床应用中提示,虽然在早期应用具有良好效果,但在后期应用过程中,会逐渐出现肿瘤耐药性或药物抵抗等问题。多个靶点靶向治疗的联合应用也只能是延缓肿瘤耐药的发生时间而已,对改善肿瘤的总生存期仍然很不理想。

**2.2.1 酪氨酸激酶受体家族抑制剂** 酪氨酸激酶受体家族由 4 个酪氨酸激酶受体组成,分别是 ErbB1(HER1 或 EGFR),ErbB2(HER2 或 neu),ErbB3 和 ErbB4<sup>[19-20]</sup>。

EGFR 在与相应配体结合后活化,继而激活一系列下游信号转导途径,包括 RAS/RAF/MAP 激酶和 PI3K/Akt/mTOR 信号网。每条信号通路在肿瘤细胞的增殖、生长、存活、活动和组织浸润方面均发挥着至关重要的作用<sup>[20-21]</sup>。在临床应用上皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)的过程中发现,一部分患者虽最初检测出 EGFR 突变阳性,但表现出对抑制剂无效,而大部分初治有效的患者随着治疗时间的延长对 TKIs 发生了耐药,其中针对 HER2 的抑制剂,如曲妥珠单抗在 HER2 阳性的胃癌及乳腺癌患者中的应用取得了一定的成功。尽管在 HER2 强阳性的晚期胃癌、乳腺癌患者中,应用 HER2 单克隆抗体具有明显生存优势,但随时间流逝,耐药性的肿瘤细胞亚群便会逐渐出现,从而严重影响肿瘤患者后续治疗效果,缩短患者的总体生存期。同样在肺腺癌的相关研究中,以 EGFR-TKIs 为代表的靶向药物在肺

腺癌治疗中取得了较大进展,推动了肿瘤个体化治疗的发展。但耐药问题的出现严重影响了治疗效果,成为当前肺腺癌 EGFR 靶向治疗面临的主要难题。以上结果提示在分子靶向药物的应用过程中,肿瘤细胞会随着分子靶向药物的应用而发展,进而影响后续治疗效果。

**2.2.2 PI3K 相关激酶家族抑制剂** 磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(PKB/AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路在细胞的许多活动(如细胞生长增殖、运动、自噬、凋亡血管生成的过程)中起重要作用,它是人类癌症最常见的活化信号通路之一<sup>[22]</sup>。目前,针对 PI3K/Akt/mTOR 通路抗癌药物可分为 PI3K 抑制剂、mTOR 抑制剂、PI3K/mTOR 抑制剂和 Akt 抑制剂。MATULONIS 等<sup>[23]</sup>在研究 PI3K 抑制剂 XL147 在子宫内膜癌中的治疗效果时,通过一项 II 期临床试验发现,XL147 在晚期或复发性子宫内膜癌的治疗中抗肿瘤作用较弱。mTOR 属于 PI3K 相关激酶家族,mTOR 磷酸化是胃癌预后差的 因素。依维莫司可以阻止 mTOR 调节的下游信号 p70S6K 和 4E-BP1 的磷酸化,导致细胞分裂 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期停止<sup>[24]</sup>。然而,一项 III 期临床(GRANITE-1)研究表明依维莫司对晚期胃癌无明显疗效(总体生存时间:5.4 个月 vs. 4.3 个月, $P=0.124$ ;无瘤生存时间:1.7 个月 vs. 1.4 个月)<sup>[25]</sup>。DE 等<sup>[26]</sup>在对肺癌肿瘤基因突变的研究中报道,针对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制剂的应用可观察到非 Akt 或 mTOR 依赖的 PI3K 信号旁路的代偿性激活,从而失去对下游效应分子原有的抑制作用,甚至产生其他不利影响。以上研究提示,肿瘤的时间异质性和空间异质性均会明显影响肿瘤的整体治疗效果。

**2.2.3 抗血管生成靶向治疗** 肿瘤的血管生成是从预先存在的血管基础上逐渐多步骤形成的。血管内皮生长因子(VEGF)介导的信号转导在血管的生成和血管通透性方面发挥着重要的作用。除了这些作用外,在肿瘤发生、转移等方面也有一定作用<sup>[27]</sup>。在对于 VEGF 的靶向治疗中,存在两种不同的方案:(1)用抗 VEGF 单克隆抗体,如贝伐单抗,抑制 VEGF 的促血管生成作用;(2)采用酪氨酸激酶抑制剂(TKIs,如 apatinib)或 VEGF 受体的单克隆抗体(如 ramucirumab)抑制 VEGF 受体的功能,以及在中国开发的另一种抗血管生成药物-重组人血管内皮抑制素。根据国际用于评估贝伐单抗在晚期胃癌病人中受益度的 III 期临床试验“AVAGAST”的研究在顺铂/卡培他滨联合化疗方案中加入贝伐单抗后,患者的肿瘤无进展生存期仅得到轻微的改善(6.7 个月 vs. 5.3 个月),且无总体生存期获益(12.1 个月 vs. 10.1 个月)<sup>[28]</sup>。

回顾这些临床试验,与目前标准治疗方法比较,

各种分子靶向药物单药治疗未能表现出更好的生存获益。这些令人失望的研究结果可能存在以下原因:(1)肿瘤具有异质性,在取材确定相应治疗靶点时并不能获取肿瘤的全分子学信息;(2)在疾病进程中,大多数恶性肿瘤都存在分子学水平的多种突变及冗余信号通路的激活,并产生耐药肿瘤细胞亚群,从而导致疾病的进一步发展。

### 3 结 论

传统认为肿瘤是由相同的突变体细胞构成的单克隆细胞群,肿瘤细胞具有相同的畸变染色体或基因及同工酶,因而认为通过肿瘤的活检即能获得有关肿瘤的全面信息<sup>[18]</sup>。但越来越多的研究正在揭露肿瘤具有异质性这一客观事实<sup>[5-12]</sup>,且在疾病进程中,肿瘤的异质性会进一步扩大<sup>[15]</sup>,由于肿瘤的异质性,病理学检测并不能获取与治疗相关的肿瘤的全部生物学信息,使得分子靶向药物治疗失败。肿瘤克隆亚群的分型的早期发现仍存在很大挑战。随着高通量基因测序技术的发展,可能会使得肿瘤实现个体化诊断、分型,并帮助制订个体化的治疗方案,以期达到更好的生存获益及精准医疗的目的。

### 参考文献

- [1] NOWELL P C. The clonal evolution of tumor cell populations[J]. *Science*,1976,194(4260):23-28.
- [2] ALMENDRO V, MARUSYK A, POLYAK K. Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer[J]. *Annu Rev Pathol*,2013,8:277-302.
- [3] SHACKLETON M, QUINTANA E, FEARON E R, et al. Heterogeneity in cancer; cancer stem cells versus clonal evolution[J]. *Cell*,2009,138(5):822-829.
- [4] TURNER N C, REIS-FILHO J S. Genetic heterogeneity and cancer drug resistance[J]. *Lancet Oncol*,2012,13(4):E178-185.
- [5] GERLINGER M, ROWAN A J, HORSWELL S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing[J]. *N Engl J Med*,2012,366(10):883-892.
- [6] DIEGO C, JAMES N, ROHAN G, et al. Modeling the subclonal evolution of cancer cell populations[J]. *Cancer Res*,2018,78(3):830-839.
- [7] DING L, ELLIS M J, LI S, et al. Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft[J]. *Nature*,2010,464(7291):999-1005.
- [8] NAVIN N, KENDALL J, TROGE J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing[J]. *Nature*,2011,472(7341):90-94.
- [9] SHAH S P, MORIN R, KHATTRA J, et al. Mutational evolution in a lobular breast tumour profiled at single nucleotide resolution[J]. *Nature*,2009,461(7265):809-813.

- [10] SHAH S P, ROTH A, GOYA R, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers[J]. *Nature*, 2012, 486(7403):395-399.
- [11] BURGER J A, LANDAU D A. Clonal evolution in patients with chronic lymphocytic leukaemia developing resistance to BTK inhibition[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11589.
- [12] FUSCO N, BOSARI S. HER2 aberrations and heterogeneity in cancers of the digestive system; Implications for pathologists and gastroenterologists[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(35):7926-7937.
- [13] GERLINGER M, ROWAN A J, HORSWELL S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(10):883-892.
- [14] DUPONT J J, LAENKHOLM A V, KNOOP A, et al. PIK3CA mutations may be discordant between primary and corresponding metastatic disease in breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(4):667-677.
- [15] VAKIANI E, JANAKIRAMAN M, SHEN R, et al. Comparative genomic analysis of primary versus metastatic colorectal carcinomas[J]. *J Clin Oncol*, 2012; 30(24):2956-2962.
- [16] CHEN Z Y, ZHONG W Z, ZHANG X C, et al. EGFR mutation heterogeneity and the mixed response to EGFR tyrosine kinase inhibitors of lung adenocarcinomas[J]. *Oncologist*, 2012, 17(7):978-985.
- [17] HOEFNAGEL L D, VAN DE VIJVER M J, VAN SLOOTEN H J, et al. Receptor conversion in distant breast cancer metastases[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(5):R75.
- [18] COUZIN J. Pharmacogenomics. Cancer sharpshooters rely on DNA tests for a better aim[J]. *Science*, 2004, 305(5688):1222-1223.
- [19] KAJITANI T, MAKIYAMA A, ARITA S, et al. Anti-epidermal growth factor receptor antibody readministration in chemorefractory metastatic colorectal cancer[J]. *Anti-cancer Res*, 2017, 37(11):6459-6468.
- [20] KADIOGLU O, CAO J, SAEED M E, et al. Targeting epidermal growth factor receptors and downstream signaling pathways in cancer by phytochemicals[J]. *Target Oncol*, 2015, 10:337-353.
- [21] CERESA B P, PETERSON J L. Cell and molecular biology of epidermal growth factor receptor[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2014, 313:145-178.
- [22] HUSSEINZADEH N, HUSSEINZADEH H D. mTOR inhibitors and their clinical application in cervical, endometrial and ovarian cancers: a critical review[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133(2):375-381.
- [23] MATULONIS U, VERGOTE I, BACKES F, et al. Phase II study of the PI3K inhibitor pilaralisib (SAR245408; XL147) in patients with advanced or recurrent endometrial carcinoma[J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(2):246-253.
- [24] ALVARADO Y, MITA M M, VEMULAPALLI S, et al. Clinical activity of mammalian target of rapamycin inhibitors in solid tumors[J]. *Target Oncol*, 2011, 6(2):69-94.
- [25] OHTSU A, AJANI J A, BAI Y X, et al. Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31):3935-3943.
- [26] DE MARCO C, LAUDANNA C, RINALDO N, et al. Specific gene expression signatures induced by the multiple oncogenic alterations that occur within the PTEN/PI3K/AKT pathway in lung cancer[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0178865.
- [27] KOUTRAS A, KOTOULA V, FOUNTZILAS G. Prognostic and predictive role of vascular endothelial growth factor polymorphisms in breast cancer[J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(1):79-94.
- [28] OHTSU A, SHAH M A, VAN CUTSEM E, et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(30):3968-3976.

(收稿日期:2018-08-22 修回日期:2018-10-06)

(上接第 300 页)

- intrahepatic cholangiocarcinoma development[J]. *Hepatology*, 2013, 58(5):1857-1859.
- [9] ZENDER S, NICKELEIT I, WUESTEFELD T, et al. A critical role for notch signaling in the formation of cholangiocellular carcinomas[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(6):784-795.
- [10] ZHANG G, GAO X, SONG Y K, et al. Hydroporation as the mechanism of hydrodynamic delivery[J]. *Gene Ther*, 2004, 11(8):675-682.
- [11] AMMAR I, IZSVÁK Z, IVICS Z. The sleeping beauty transposon toolbox[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 859:229-240.

(收稿日期:2018-05-18 修回日期:2018-08-21)