

卵巢癌铂类耐药标志物的研究进展

林贵玲,徐丛剑

(复旦大学附属妇产科医院,上海 200011)

摘要:卵巢癌是女性三大恶性肿瘤之一,其死亡率位于妇科癌症之首。铂类联合紫杉醇是卵巢癌术后一线化疗方案,但约 75%晚期患者对铂类药物耐药。铂类耐药标志物能预测患者对铂类药物的反应,指导卵巢癌患者治疗药物的选择。本篇综述按靶前、靶点、靶后和靶外标志物四个方面对近几年的卵巢癌铂类耐药标志物的研究成果进行归纳并简单阐述其相应的耐药机制。

关键词:卵巢肿瘤;化疗耐药;铂类耐药;生物标志物

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2018)12-0944-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2018.12.A009

Research Progress on Markers of Platinum Resistance in Ovarian Cancer

LIN Gui-ling, XU Cong-jian

(Obstetrics and Gynecology Hospital of Fudan University, Shanghai 200011, China)

Abstract: Ovarian cancer is one of the most common malignancies in women and its mortality rate is the highest among gynecological cancers. Platinum and paclitaxel combination chemotherapy is the first-line postoperative regimen for ovarian cancer, but about 75% of advanced patients are resistant to platinum drugs. Drug resistance markers can predict the response to platinum-based chemotherapy and will contribute to selecting therapeutic drugs for patients with ovarian cancer. This review summarizes the researches on platinum-resistant markers of ovarian cancer in recent years, including pre-target, on-target, post-target and off-target markers, and also describes the corresponding mechanisms briefly.

Key words: ovarian neoplasms; chemoresistance; platinum resistance; biomarker

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,发病率居第3位。每年全球大约有24万卵巢癌新发病例和15万死亡病例,是妇科恶性肿瘤的最常见死亡原因^[1]。在疾病早期,由于其症状隐匿,约75%病例于晚期才被发现和诊断。目前卵巢癌的标准治疗是瘤体减灭术和化疗,一线化疗药物为卡铂和紫杉醇^[2]。虽然手术和化疗两者联合常能使60%~80%肿瘤完全缓解,但约60%的患者会出现复发,约50%会出现耐药^[3]。卵巢癌化疗耐药是由多基因、多因素共同作用的结果。若用药前便能预测患者对铂类的反应,识别原发性铂类耐药和继发性铂类耐药的患者,有

助于指导患者的个体化治疗。相关研究表明许多生物标志物与卵巢癌铂类反应密切相关,具有预测卵巢癌对铂类治疗反应的潜力^[4]。现从以下四个方面对近几年卵巢癌铂类耐药生物标志物的成果进行总结:①靶前标志物:参与铂类和DNA分子结合前的耐药机制的分子;②靶点标志物:影响铂类与DNA分子相互作用的分子;③靶后标志物:铂类诱导DNA损伤后致死信号通路相关分子;④靶外标志物:目前未证明与铂类发挥细胞毒性相关的分子。

1 卵巢癌铂类耐药的生物标志物

1.1 靶前标志物

膜转运蛋白、胞内ATP合酶和胞内亲核分子能

收稿日期:2018-07-06;修回日期:2018-09-11

基金项目:国家重点研发计划(2016YFC1303100)

通讯作者:徐丛剑, E-mail: xucongjian@fudan.edu.cn

影响细胞内铂类浓度,是影响铂类发挥毒性作用的第一步。其中铜转运蛋白^[5]、P-糖蛋白^[6]和谷胱甘肽S-转移酶^[7]等都被证实是铂类化疗耐药的靶前标志物。按照作用机制可分为以下两大类:

1.1.1 减少铂类药物在细胞内积累

铜转运蛋白(copper transporter receptor,CTR)和ATP结合盒(ATP-binding cassette,ABC)家族是细胞摄取铂类药物最主要的膜转运蛋白,其中铜转运蛋白1(CTR1)被认为可以促进细胞内铂类药物蓄积,而铜转运蛋白2(CTR2)、P-糖蛋白、多药耐药蛋白MRP1和MRP3被认为通过减少铂类药物在细胞内积累而诱导铂类耐药。ATP合酶中的铜转运p-型腺苷三磷酸酶1(ATP7A)和铜转运p-型腺苷三磷酸酶2(ATP7B)也被发现能减少铂类药物在细胞内积累,ATP7A和ATP7B表达升高的卵巢癌患者对铂类化疗效果不理想。Sun等^[5]提取已发表的12篇论文和包括癌症基因组图谱(TCGA)在内8个数据库对CTR1、CTR2、ATP7A和ATP7B与铂类治疗反应(TR)进行敏感性分析,结果表明CTR1升高预示着肿瘤患者对化疗敏感。Lopez等^[8]通过比较卵巢癌、良性卵巢癌肿瘤和正常卵巢癌组织中的表达与顺铂耐药的关系,结果显示P-糖蛋白、多药耐药蛋白MRP1和MRP3促进顺铂的排出,介导顺铂耐药。

1.1.2 胞内的亲核分子与铂类结合发挥铂类隔离剂作用

胞内亲核分子GSH、金属硫蛋白、谷胱甘肽S-转移酶、S-谷氨酰半胱氨酸合成酶水平升高能使铂类药物失活从而介导铂耐药,齐新颖等^[7]的研究表明谷胱甘肽S-转移酶升高可作为预测卵巢癌铂类耐药和患者不良预后的重要指标。

1.2 靶点标志物

核苷酸切除修复(nucleotide excision repair,NER)、同源重组修复(homologous recombination repair,HRR)和错配修复(mismatch repair,MMR)是卵巢癌铂耐药的研究热点,其中核苷酸切除修复交叉互补组1(ERCC1)的表达、BRCA1/2突变和PMS2的频繁缺失被认为是卵巢癌铂类耐药的靶点标志物。按照作用机制可分为以下三类:

1.2.1 修复铂类药物引起的DNA大块损伤

在NER中,核苷酸切除修复交叉互补组1(ERCC1)是修复铂类药物与DNA分子结合形成的

DNA加合物的关键分子。Kuhlmann等^[9]研究了血液循环肿瘤细胞(circulating tumor cells,CTC)中ERCC1的表达与卵巢癌患者预后和铂耐药的关系,结果发现ERCC1阳性CTC是初诊卵巢癌铂类耐药的独立预测因子($P=0.010$),该研究还表明原发肿瘤组织中的ERCC1表达既不能预测铂类耐药也不能预测预后,而血液中的ERCC1(+)CTC可用于预测初诊卵巢癌的铂类耐药性。

1.2.2 修复铂类药物引起的链内或链间DNA加合物

约20%的高级别浆液性卵巢癌中存在BRCA1/2突变。BRCA1/2是HRR系统重要的调控基因。肿瘤细胞HRR障碍后无法修复铂类导致的DNA损伤,从而对铂类的反应增强。因此BRCA1/2突变可以用来预测卵巢癌患者的铂敏感反应^[10]。聚ADP-核糖聚合酶-1[Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1,PARP-1]是碱基切除修复(base-excision repair,BER)的关键因子。同时阻断HRR和BER可使化疗药物对肿瘤细胞产生合成性致死,所以对BRCA1/2突变的患者使用PARP抑制剂可以使肿瘤细胞对化疗的敏感度增加。BRCA1/2二次突变使得HRR恢复,从而让原先对铂类和PARP抑制剂敏感的BRCA1/2突变卵巢癌对铂类耐药^[11]。Mukhopadhyay等^[12]的研究表明BRCA1/2突变卵巢癌患者对PARP抑制剂的药物反应比野生型强1000倍,而且在于不同BRCA1/2突变状态中的卵巢癌,PARP抑制剂的敏感度不同。BRCA1/2纯合突变比杂合子对PARP抑制剂敏感度高,可能是由于纯合突变完全丧失HRR功能而杂合状态保留有一个正常的等位基因,具有一定的HRR功能。Maxwell等^[13]和Lheureux等^[14]的研究都表明BRCA1/2纯合突变的卵巢癌患者对DNA损伤剂和PARP抑制剂的敏感性比杂合子高,因而BRCA1/2的突变具有预测患者对DNA损伤剂和PARP抑制剂敏感的能力。除了BRCA1/2突变外,其他导致HRR障碍的因素也有同样的预测能力(如BRCA1/2表观遗传性失活和其他参与调节HRR的基因突变)。把BRCA1/2突变、BRCA1/2表观遗传性失活和其他参与调节HRR的基因突变统称BRCAness,BRCAness能更加准确地预测患者对DNA损伤剂和PARP抑制剂的敏感反应^[15]。

1.2.3 修复铂类药物引起的DNA碱基错配

错配修复能纠正铂类药物诱导的DNA碱基错

配,这一过程涉及 *MLH1*、*PMS2*、*MSH2* 及 *MSH6* 四个关键基因。在铂耐药卵巢癌中 *MLH1*、*PMS2*、*MSH2* 及 *MSH6* 常常发生突变^[16]。*MLH1*、*PMS2*、*MSH2* 或 *MSH6* 突变导致两个或两个以上的微卫星标记不稳定称为高度微卫星不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)。MSI-H 的卵巢癌患者对免疫检查点抑制剂 PD-1 和 PD-L1 敏感^[17]。

1.3 靶后标志物

p53 和 MAPK 信号通路是铂类药物诱导 DNA 损伤后传递致死信号的主要通路,阻断 p53 通路、MAPK 通路以及抑制 Ras-MAPK 途径的 miR-634 被证明为卵巢癌铂类耐药的靶后标志物。Song 等^[18]研究了顺铂诱导细胞凋亡相关的信号传导通路,结果表明 p53 通路和 ERK1/2 的活化与顺铂诱导的细胞凋亡显著相关。van Jaarsveld 等^[19]的研究也表明抑制 Ras-MAPK 途径促进卵巢癌顺铂耐药。miR-634 通过抑制 Ras-MAPK 途径降低卵巢癌细胞对铂类的敏感度,因此高水平的 miR-634 是卵巢癌铂类耐药的靶后标志。

除上述外,还有其他通路被认为和铂类耐药有关,上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)就是其中之一^[20]。双特异性酪氨酸调节激酶 2 (dual-specificity tyrosine-regulated kinase 2, DYRK2) 能负调节 EMT 的关键因子 Snail, Yamaguchi 等^[21]的研究发现 DYRK2 表达下降促进卵巢癌铂类耐药,低水平的 DYRK2 可作为铂类耐药的靶后标志物。NF- κ B 信号通路和转化生长因子 β 信号通路同样被证明与卵巢癌铂类耐药有关, Teschendorff 等^[22]通过对 946 例卵巢癌中 HOX 转录物反义 RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)的异位与铂类耐药的关系进行评估,结果表明 HOTAIR 通过减少 I κ B α (NF- κ B 抑制剂)来调节 NF- κ B 的活化, HOTAIR 的异位表达是卡铂敏感的靶后标记。Tomao 等^[23]的研究证明 miR-181a 通过下调 SMAD 家族成员 7(SMAD7)激活转化生长因子 β 信号通路促进卵巢癌铂类耐药,高水平的 miR-181a 可以具有卵巢癌铂类耐药的能力。

1.4 靶外标志物

许多与铂类药物发挥细胞毒性机制无关的分子也被证明是卵巢癌铂类耐药标志物。

1.4.1 肿瘤干细胞(CSCs)相关靶外标志物

肿瘤干细胞标志物 CD44 分子就是化疗耐药的

研究热点之一, Pylvas-Eerola 等^[24]的研究表明化疗前 CD44 表达阳性与卵巢癌新辅助化疗铂类耐药相关,铂类耐药卵巢癌患者化疗后 CD44 表达比治疗前高, CD44 的高表达是卵巢癌铂类耐药的靶外标志物。Ffrench 等^[25]根据是否表达 CD10 和醛脱氢酶(ALDH)对卵巢癌 CSCs 进行分组,发现 CD10(-)和 ALDH(-)的 CSC 与化疗耐药密切相关,它具有预测化疗耐药的潜力。金属蛋白酶-10(MMP10)也表达于癌症干细胞样细胞(CSCs)/癌症启动细胞(CICs)中, Mariya 等^[26]通过敲除 *MMP10* 基因和过表达 *MMP10* 基因评估了 *MMP10* 与卵巢癌患者铂类耐药的关系,结果显示 *MMP10* 有助于卵巢癌铂耐药的维持, *MMP10* 高表达是铂耐药的标志。

1.4.2 胞外基质相关靶外标志物

Zhang 等^[27]通过测定血小板生长因子 D(PDGF-D)在卵巢癌组织中的表达并进行统计分析,结论表明 PDGF-D 过表达是铂类化疗耐药的独立预测因子。而 Masoumi-Moghaddam 等^[28]也卵巢癌组织中血管内皮生长因子(VEGF)的表达状态具有独立预测化疗反应和总体生存的潜力。ADAMTS 家族是一类整合于细胞外基质或游离于血浆中的基质金属蛋白酶亚家族, Liu 等^[29]对 512 例卵巢癌患者进行全外显子组测序发现 ADAMTS 家族和铂类化疗的敏感性显著相关。ADAMTS 突变的卵巢癌患者具有更高的全基因组突变率和化疗敏感度,它有助于预测卵巢癌患者的铂类化疗反应。随后他们又分析了 ADAMTS1、6、8、9、15、16、18 和 L1 突变与对铂类更高敏感性的关系,结果显示 *ADAMTS16* 突变对铂类敏感性更好^[30]。

2 小 结

铂类是卵巢癌化疗的基石,但卵巢癌患者对铂类药物的敏感度存在异质性,对铂类耐药的卵巢癌患者预后极差。目前临床上还无法预测卵巢癌患者对铂类药物的反应,这导致许多对铂类耐药的卵巢癌患者不断进行试验化疗,既延误病情又带来不必要的药物毒副作用。因此,在化疗前有效预测及监测是否铂类耐药至关重要。上述所归纳的卵巢癌铂类耐药的标志物,有望将来应用于临床上指导卵巢癌患者的治疗。这些成果也有待进一步在患者原代肿

瘤组织的肿瘤移植模型 (patient-derived xenograft, PDX)中进行临床前试验、在人群进行临床试验,从而走向临床应用,指导患者的个体化治疗。卵巢癌化疗耐药生物标志物可能与化疗耐药的产生有关,了解耐药标志物在耐药中发挥作用,有助于我们进一步深入研究耐药机制,找出卵巢癌化疗耐药的重要靶点并克服化疗耐药。

参考文献:

- [1] Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer[J]. *Nature*, 2013, 500(7463):415-421.
- [2] Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, et al. Ovarian cancer [J]. *Lancet*, 2014, 384(9951):1376-1388.
- [3] Shin DH, Kwon GS. Pre-clinical evaluation of a thymosensitive gel containing epothilone B and mTOR/Hsp90 targeted agents in an ovarian tumor model [J]. *J Control Release*, 2017, 268:176-183.
- [4] El BK, Amrani M, Kandhro AH, et al. Prediction of therapy response in ovarian cancer: where are we now? [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2017, 54(4):233-266.
- [5] Sun S, Cai J, Yang Q, et al. The association between copper transporters and the prognosis of cancer patients undergoing chemotherapy: a meta-analysis of literatures and datasets [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9):16036-16051.
- [6] Sedlakova I, Laco J, Tosner J, et al. Expression of ATP-binding cassette proteins Pgp, MRP1, and MRP3 in malignant and benign ovarian lesions [J]. *Klin Onkol*, 2016, 29(5):358-363.
- [7] Qi XY, Yang FZ, Wang N, et al. The relationship between expression of LRP and GST- π and chemoresistance and prognosis of ovarian cancer [J]. *Journal of Chinese Physician*, 2015, 9(2):1372-1375. [齐新颖, 杨凤桢, 王娜, 等. LRP、GST- π 表达与卵巢癌化疗耐药及预后的关系 [J]. *中国医师杂志*, 2015, 9(2):1372-1375.]
- [8] Lopez J, Banerjee S, Kaye SB. New developments in the treatment of ovarian cancer—future perspectives [J]. *Ann Oncol*, 2013(suppl_10):x69-x76.
- [9] Kuhlmann JD, Wimberger P, Bankfalvi A, et al. ERCC1-positive circulating tumor cells in the blood of ovarian cancer patients as a predictive biomarker for platinum resistance [J]. *Clin Chem*, 2014, 60(10):1282-1289.
- [10] Zhong Q, Peng HL, Zhao X, et al. Effects of BRCA1- and BRCA2-related mutations on ovarian and breast cancer survival: a meta-analysis [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(1):211-220.
- [11] Kondrashova O, Nguyen M, Shield-Artin K, et al. Secondary somatic mutations restoring RAD51C and RAD51D associated with acquired resistance to the PARP inhibitor rucaparib in high-grade ovarian carcinoma [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(9):984-998.
- [12] Mukhopadhyay A, Curtin N, Plummer R, et al. PARP inhibitors and epithelial ovarian cancer: an approach to targeted chemotherapy and personalised medicine [J]. *BJOG*, 2011, 118(4):429-432.
- [13] Maxwell KN, Wubbenhorst B, Wenz BM, et al. BRCA locus-specific loss of heterozygosity in germline BRCA1 and BRCA2 carriers [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):319.
- [14] Lheureux S, Bruce JP, Burnier JV, et al. Somatic BRCA1/2 recovery as a resistance mechanism after exceptional response to Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(11):1240-1249.
- [15] Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer [J]. *Nature*, 2015, 521(7553):489-494.
- [16] Jia J, Wang Z, Cai J, et al. PMS2 expression in epithelial ovarian cancer is posttranslationally regulated by Akt and essential for platinum-induced apoptosis [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3):3059-3069.
- [17] Xiao X, Dong D, He W, et al. Mismatch repair deficiency is associated with MSI phenotype, increased tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in immune cells in ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 149(1):146-154.
- [18] Song H, Wei M, Liu W, et al. Cisplatin induced apoptosis of ovarian cancer A2780s cells by activation of ERK/p53/PUMA signals [J]. *Histol Histopathol*, 2018, 33(1):73-79.
- [19] van Jaarsveld MT, van Kuijk PF, Boersma AW, et al. miR-634 restores drug sensitivity in resistant ovarian cancer cells by targeting the Ras-MAPK pathway [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14:196.
- [20] Shilnikova K, Piao MJ, Kang KA, et al. Shikonin induces mitochondria-mediated apoptosis and attenuates epithelial-mesenchymal transition in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4):5417-5424.
- [21] Yamaguchi N, Mimoto R, Yanaihara N, et al. DYRK2 regulates epithelial-mesenchymal-transition and chemosensitivity through Snail degradation in ovarian serous adenocarcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(8):5913-5923.
- [22] Teschendorff AE, Lee SH, Jones A, et al. HOTAIR and its surrogate DNA methylation signature indicate carboplatin

- resistance in ovarian cancer[J]. *Genome Med*, 2015, 7: 108.
- [23] Tomao F, O'Incalci M, Biagioli E, et al. Restoring platinum sensitivity in recurrent ovarian cancer by extending the platinum-free interval: myth of reality? [J]. *Cancer*, 2017, 123(18): 3450–3459.
- [24] Pylvas-Eerola M, Liakka A, Puistola U, et al. Cancer stem cell properties as factors predictive of chemoresistance in neoadjuvantly-treated patients with ovarian cancer[J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(7): 3425–3431.
- [25] Ffrench B, Gasch C, Hokamp K, et al. CD10(-)/ALDH(-) cells are the sole cisplatin-resistant component of a novel ovarian cancer stem cell hierarchy[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3128.
- [26] Mariya T, Hirohashi Y, Torigoe T, et al. Matrix metalloproteinase-10 regulates stemness of ovarian cancer stem-like cells by activation of canonical Wnt signaling and can be a target of chemotherapy-resistant ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 26806–26822.
- [27] Zhang M, Liu T, Xia B, et al. Platelet-derived growth factor D is a prognostic biomarker and is associated with platinum resistance in epithelial ovarian cancer [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2018, 28(2): 323–331.
- [28] Masoumi-Moghaddam S, Amini A, Wei AQ, et al. Vascular endothelial growth factor expression correlates with serum CA125 and represents a useful tool in prediction of refractoriness to platinum-based chemotherapy and ascites formation in epithelial ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 28491–28501.
- [29] Liu Y, Yasukawa M, Chen K, et al. Association of somatic mutations of ADAMTS genes with chemotherapy sensitivity and survival in high-grade serous ovarian carcinoma[J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1(4): 486–494.
- [30] Yasukawa M, Liu Y, Hu L, et al. ADAMTS16 mutations sensitize ovarian cancer cells to platinum-based chemotherapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(51): 88410–88420.

坚决贯彻执行《发表学术论文“五不准”》规定

为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,抵制学术不端行为,端正学风,维护风清气正的良好学术生态环境,重申和明确科技人员在发表学术论文过程中的科学道德行为规范,中国科协、教育部、科技部、卫生计生委、中科院、工程院和自然科学基金委共同研究制定并联合下发了《发表学术论文“五不准”》的通知。

(1)不准由“第三方”代写论文。科技工作者应自己完成论文撰写,坚决抵制“第三方”提供论文代写服务。

(2)不准由“第三方”代投论文。科技工作者应学习、掌握学术期刊投稿程序,亲自完成提交论文、回应评审意见的全过程,坚决抵制“第三方”提供论文代投服务。

(3)不准由“第三方”对论文内容进行修改。论文作者委托“第三方”进行论文语言润色,应基于作者完成的论文原稿,且仅限于对语言表达方式的完善,坚决抵制以语言润色的名义修改论文的实质内容。

(4)不准提供虚假同行评议人信息。科技工作者在学术期刊发表论文如需推荐同行评议人,应确保所提供的评议人姓名、联系方式等信息真实可靠,坚决抵制同行评议环节的任何弄虚作假行为。

(5)不准违反论文署名规范。所有论文署名作者应事先审阅并同意署名发表论文,并对论文内容负有知情同意的责任;论文起草人必须事先征求署名作者对论文全文的意见并征得其署名同意。论文署名的每一位作者都必须对论文有实质性学术贡献,坚决抵制无实质性学术贡献者在论文上署名。

希望广大科技工作者、读者和作者,以及本刊编委、审稿专家和有关工作人员都应加强学术道德自律,共同努力,捍卫学术尊严,维护良好学风。