

DOI: 10.13376/j.cbls/2014116

文章编号: 1004-0374(2014)08-0814-09

肾细胞癌基因组学研究推动靶向治疗发展

张 蒙¹, 杨泽雨¹, 谢良富¹, 蔡志明^{1*}, 吴 松^{1,2*}

(1 安徽医科大学深圳市第二人民医院临床医学院, 深圳 518000; 2 中山大学中山医学院, 广州 510080)

摘 要: 肾细胞癌(简称肾癌)是肾肿瘤的最主要类型,也是死亡率最高的泌尿系肿瘤之一。对于晚期肾癌患者来说,治疗方法非常局限。要想找到针对肾癌的特异性治疗方案,需要对肾癌的生物学基础有着深入的理解。旨在回顾多年来肾癌基因组学的研究进展,从组学方面分析、解释肾癌的生物学基础,找到治疗靶点,实现针对肾癌患者的特异性治疗,从而推动科学研究向临床实践的转换。

关键词: 肾细胞癌;基因组学;测序;靶向治疗

中图分类号: R730.59; R737.11 **文献标志码:** A

Progression of genomic research of renal cell carcinoma propels the development of targeted therapy

ZHANG Meng¹, YANG Ze-Yu¹, XIE Liang-Fu¹, CAI Zhi-Ming^{1*}, WU Song^{1,2*}

(1 Clinical Medical College, Shenzhen Second People's Hospital, Anhui Medical University, Shenzhen 518000, China;
2 Zhongshan School of Medicine, Sun-Yet-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Renal cell carcinoma (RCC), which belongs to a major class of renal tumors, is one of the most fatal urological cancers. Further, few effective treatments are available to patients at an advanced stage. To find a specific treatment for RCC requires a better understanding of the biology of RCC. We performed an overview of genomics research of RCC to analyze and interpret the biology of RCC and find the therapy targets, thus propelling the conversion of scientific research to clinical practice via delivering specific treatment to RCC patients.

Key words: renal cell carcinoma; genomics; sequencing; targeted therapy

肾细胞癌(简称肾癌)是起源于肾实质的泌尿系统恶性肿瘤,占肾恶性肿瘤的80%~90%。调查表明,肾癌在我国泌尿生殖系统肿瘤中占第二位,仅次于膀胱肿瘤,占成人恶性肿瘤的2%~3%,占小儿恶性肿瘤的20%左右^[1]。与世界部分国家和地区肾癌发病率资料相比较,我国肾癌发病率在世界上处于较低水平,但从1988年以来,肾癌的发病率有逐年上升的趋势,应该引起足够重视^[2]。肾癌有多种亚型,大约85%为透明细胞类型,而乳头状、嫌色细胞型、贝里尼导管(收集管)型肾癌相对少见。肾癌的早期诊断手段缺乏,正因为如此,确诊时约20%以上的患者已经发生了转移,而且经过手术的患者中,也会有20%~30%的患者发生进一步系统性转移。尽管如此,手术切除仍是临床上治疗肾癌

最有效的方法^[3]。肾癌晚期患者对放疗和化疗的敏感度很低。只有10%~15%的患者会对免疫治疗有反应,而且免疫治疗往往还会带来很严重的副作用。通过对肾癌基因组学的研究,获取更多的遗传资料,推动靶向治疗的发展。

1 肾癌基因组学研究

癌症是细胞内一组或者多组基因突变导致的多

收稿日期: 2014-02-19; 修回日期: 2014-04-04

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2014CB745200); 国家自然科学基金项目(81301740); 深圳基础研究项目(JCYJ20130401114928183, JCYJ-20130401114715714)

*通信作者: E-mail: 547349961@qq.com(蔡志明); doctor-wusong@126.com(吴松)

基因紊乱的疾病, 基因的改变可以导致细胞周期紊乱, 导致细胞的过度增殖。肾癌遗传分子缺陷的发生广泛而复杂, 从单一 DNA 突变到大型染色体缺陷不等。对基因的探索已经持续了近一个世纪, 在该过程中, 基因测序技术不断发展, 这将为揭示致癌机制提供更多可选择的方式。在不同癌症中 (包括肾癌) 发现了一些过度表达的基因。这些基因可分为两类: 抑癌基因, 如 *P53* (与细胞周期调节相关, 能够诱导细胞凋亡, 约在 50% 的人类癌症中存在)、*P16* (与细胞周期调节相关); 致癌基因, 如 *MYC* (参与细胞增殖) 等。一些已知的其他癌基因, 如大鼠肉瘤基因 (rat sarcoma, *RAS*)、肿瘤蛋白 53 (tumour protein p53, *TP53*)、视网膜母细胞瘤 (retinal blastoma, *RB*)、细胞周期依赖性激酶抑制基因 (cyclin-dependent kinase inhibitor, *CDKN2A*)、磷酸酶基因 (mutated in multiple advanced cancers 1, *MMAC1*, *PTEN*)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, *EGFR*) 和人类表皮生长因子受体 II (human epidermal growth factor receptor 2, *ERBB2*) 等在上皮性肿瘤往往会呈现过度表达或者突变状态, 但在肾癌中往往很少见^[4]。通常的基因组学研究是将基因组学分为 3 块, 包括 DNA (DNA 拷贝数改变、变异或重排)、转录组 (基因或 miRNA 表达改变) 和表观基因组 (DNA 甲基化和组蛋白修饰) 的改变^[5]。下面将从这三个方面来回顾近些年来肾癌基因组学研究的进展。

2 肾癌DNA测序主要策略及测序进展

2.1 肾癌的传统定位克隆和家族性研究

近年来, 肾癌基因的研究取得了非常大的进步, 利用传统的定位克隆技术发现了遗传性肾癌综合征发展过程中的一些重要的突变。遗传性肾癌综合征主要有: 希佩尔-林道综合征 (von Hippel-Lindau syndrome, VHL 综合征)、遗传性乳头状肾癌 (hereditary papillary renal cell carcinoma, HPRC)、遗传性平滑肌瘤病肾癌 (hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer, HLRCC)、比尔特-霍格-杜贝综合征 (Birt-Hogg-Dubé syndrome, BHD 综合征) 和家族性肾癌 (familial renal cell carcinoma, familial RCC)。这些综合征的发病均与 3 号染色体的易位相关^[6]。同时还发现, VHL 综合征基因 (von Hippel-Lindau gene, *VHL*) 和受体酪氨酸激酶基因 (*MET* or *MNNG HOS transforming gene*, *c-MET*) 通过体细胞突变参与特定的散发性肾癌亚型的形成。在冰岛, Gudbjartsson 等^[7]通过对

肾癌患者进行 44 年的随访, 发现 58% 患者家属 (某些情况下也存在于远房表亲) 也有肾癌的发生, 这从某种程度上说明肾癌存在低外显率的易感基因。遗传性肾癌的研究将从另一个角度向我们解释肾癌的发病机制。然而, 定位克隆研究需要规模大、特征显著的家族性肾癌样本, 这些极大限制了该技术的发展。

2.2 肾癌的全基因组关联研究(genome wide association study, GWAS)

GWAS 相比桑格测序 (Sanger) 要显得更经济且拥有更高的输出量。利用这种技术, 能够对肾癌进行针对性研究。GWAS 采用高通量技术, 对成百上千的单核苷酸多态性进行测试, 并将其与临床信息、可测量特征结合起来, 进行综合性分析。1996 年, Risch 和 Merikangas 就提出了利用全基因组关联途径来研究复杂性疾病。2005 年, 首例 GWAS 研究报告标志着人类复杂疾病遗传学研究一个新时代的开始。Purdue 等^[8]通过 GWAS 研究发现了 6 个与肾癌发病密切相关的变异体 (rs11894252、rs7579899、rs675859a2、rs9839909、rs7105934、rs4765623); 还发现内皮 PAS 区域蛋白 1 基因 (endothelial PAS domain protein 1, *EPAS1*) 定位在染色体 2p21 上, 编码缺氧诱导因子-2 α (hypoxia inducible factor, HIF-2 α), 是 VHL-HIF 信号通路的核心部分, 是肾癌发病的重要原因之一。在接下来的研究中, Han 等^[9]对染色体 2p21 上的 120 kb 的区域进行了精确定位分析, 发现了另外 3 种新的变异 (rs9679290、rs4953346、rs1261-7313)。2012 年, Wu 等^[10]发现了与 1, 4, 5-三磷酸肌醇受体 (inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 2, *ITPR2*) 高度相关的两个新变异体 (rs718314 和 rs1049380)。此外, 还发现 *ITPR2* 基因定位在染色体 12p11.23 上, 是新发现的肾癌易感位点。与相邻正常肾组织相比, 肾癌细胞中的 *ITPR2* 处于显著下调状态; 虽然肾癌与 *ITPR2* 的关系并不明确, 但是 *ITPR2* 中的 rs718314 与腰臀比有着密切的关系, 而肥胖也是影响肾癌发生的危险因素之一。在 2014 年进行的 GWAS 研究中, 首次提供证据表明, 变异体 rs7105934 与非裔美国人 RCC 易感相关^[11]。GWAS 能够识别出肿瘤中大多数的突变位点, 但是还是很难描述出肿瘤突变的机制, 不能排除是否是在选择研究对象过程中产生的假阴性或者假阳性结果。

2.3 肾癌的外显子组测序

外显子组测序能识别出蛋白质编码基因的突

变,包括错义突变、无义突变、剪接位点突变和缺失或缺失突变等。虽然外显子测序有一定的局限性,如不能完全覆盖更多的感兴趣区域,标识重复突变,标识无效的拷贝数及非编码区的变异等,但它还是能够根据变异的分布特点,迅速地识别出任一简单DNA样本中的蛋白质编码区的变异。75%的散发性肾透明细胞癌(sporadic renal clear cell carcinoma)中存在*VHL*基因失活,而在另一组ccRCC(clear cell renal cell carcinoma)患者中染色体3p上的*VHL*基因失活,但并未发现该基因突变或甲基化^[12-13]。近年来通过外显子测序技术,发现了一些重要的基因突变,特别是染色体3p上可能存在更多的ccRCC抑制基因,如组蛋白甲基转移酶(SET domain containing protein 2, *STED2*)、BRCA1相关蛋白-1(BRCA1-associated protein 1, BRCA1, *BAP1*)和染色质重构复合体蛋白(polybromo-1, *PBRM1*)等^[14]。很明显,这些基因编码的蛋白质参与组蛋白及染色质的调节过程,它们均为常见的表观遗传调控方式。此外,*PBRM1*和*STED2*基因均位于3号染色体短臂,接近*VHL*基因编码位点。*PBRM1*位于3p21染色体上并编码BAF180蛋白,这种蛋白参与控制DNA转换到染色质的过程。*SETD2*是一种组蛋白甲基转移酶,参与组蛋白的修饰过程。2012年,Guo等^[15]进行的ccRCC全外显子组测序研究进一步证实了前人的结论,同时发现12个先前未发现的高频突变;这些高频突变大多发生在泛素介导蛋白质降解途径(ubiquitin-mediated proteolysis pathway, UMPP)中,同时UMPP的改变与肿瘤中HIF1- α 和HIF2- α 的高表达密切相关($P1 = 0.01$, $P2 = 0.04$)。

2.4 肾癌的全基因组测序

通过使用全基因组测序技术,可以全面了解包括核苷酸置换、结构重组、拷贝数改变等在内的基因组的变化。以前通过Sanger测序很难获取全部基因组的信息,这种技术的特点是运行成本高、输出量低、阅读能力长和准确率高,高成本低输出量限制了它的推广应用。尽管如此,Wu等^[16]利用Sanger测序完成了302例泌尿生殖系肿瘤的测序工作,并发现了高频突变基因*TERT*,该基因在肾癌中的突变频率达到8.3%(2/24)。

2005年,在研究人员共同努力下,第二代测序技术应运而生,这种测序技术不仅降低了测序成本,输出量以较前有了较大的提高,使得全基因组数据的获取变得更加方便。2008年,在Ley等^[17]的努力下,第一例关于急性髓系白血病的全基因组

测序完成了。此后,在国际癌症基因组联盟(The International Cancer Genome Consortium, ICGC)计划支持下,几家研究机构相继对ccRCC和乳头状肾癌进行了全基因组测序研究报道,这些研究对揭示肾癌的发病机制具有重要作用。研究人员评价道:“全基因组测序通过对基因组进行不带偏见的调查,以及它能够探测到在常规检测中经常遗漏的结构性变异株,从而避开了常规候选基因测试的局限性。随着全基因组测序费用的降低,它会成为检测易患癌基因中的变异体的首选方法。”

2.5 肾癌的单细胞测序

单细胞测序方法能准确定量一个单细胞核中基因拷贝数目。由于癌细胞中基因组部分缺失或者扩增,从而引起关键基因的缺失,或者表达过量,干扰正常细胞生长,因此,利用这种方法就能分析基因拷贝数目的变化,找出突变位点,从而诊断肿瘤。理想的测序需要高质量、适合的样本。然而,临床中收集的肿瘤样本很少是单纯的肿瘤组织,还包含成纤维细胞、内皮细胞、淋巴细胞、巨噬细胞等其他类型的细胞,测序的结果往往也是混合细胞测序的结果,不能完全代表肿瘤细胞的遗传信息。此外,肿瘤本身也包含不同的细胞系,拥有高度的异质性,具有独特的遗传特性^[18]。对单个肿瘤细胞进行单细胞测序,能够很好地规避其他混杂细胞的影响。2011年,Navin等^[19]通过在乳腺癌组织中提取的单个细胞进行低覆盖率的测序,来对比不同区域单个细胞之间DNA拷贝数的变化规律。为了探索肿瘤内特异性的遗传信息,华大基因研究所的研究人员对ccRCC患者的肿瘤组织和相邻的正常组织中单个细胞进行了单细胞外显子测序,发现肿瘤细胞中不含其他的克隆系,同时还发现不同个体中的等位基因有不同的突变谱^[20]。肾癌是一种异质性很强的肿瘤,所以在执行靶向治疗的过程中,需要对每个肾癌患者肿瘤组织进行详细测序,找出异质性信息,匹配出特异性的突变靶点及关联的通道,并予以特定的治疗。此外,这项研究进一步验证了,在ccRCC中与染色质重塑有关的4个关键基因的存在,即桥粒联结蛋白(neuroblast differentiation-associated protein, *AHNAK*)、精神发育迟滞相关蛋白(slit-robo GTP activated protein 3, *SRGAP3*)、帕金森病相关蛋白(leucine-rich repeat kinase, *LRRK2*)和泛素特异肽酶6(ubiquitin specific protease, *USP6*),可以进一步推测*AHNAK*基因与HIF的关系^[15]。肿瘤的演化过程是复杂的,单细胞基因组学的研究使人们能够认

识癌细胞进化过程的更多细节, 实现癌症的超早期诊断和治疗的实时监测, 借此了解癌症的形成、扩散, 为癌症的治疗提供更多的信息, 进而推动靶向治疗的发展。

3 肾癌的转录组测序

转录组 (transcriptome) 广义上指某一生理条件下, 细胞内所有转录产物的集合, 包括信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、核糖体 RNA (ribosome RNA, rRNA)、转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 及非编码 RNA (non-coding RNA)。通过肿瘤组织的转录组测序技术可以获得肿瘤细胞在某一功能状态下所能转录出来的所有 RNA 的总和。Zhou 等^[21]通过深度测序技术对 ccRCC 中的 mRNAs 和 miRNAs (microRNAs, miRNAs) 进行了综合分析, 找出了在 ccRCC 发生中起到关键作用的 56 个未知 miRNA, 这些 miRNA 基因群定位在染色体 Xq27.3 上; 同时还发现 76.7% 的患者 (38/50) 中, 该基因群是处于低表达状态。此外, 利用全基因组基因表达分析和 TargetScan 数据库技术, 研究人员发现 miRNA-138 在肾癌转移和浸润过程中起到重要作用, 通过作用于其靶向蛋白——波形蛋白, 可以起到肿瘤抑制作用^[22]。然而, 转录组测序成本较高, 灵敏度局限于基因的转录水平。即使使用最先进的深度测序技术, 还是很难找出致癌基因中的变异体。

据推测, miRNA 调节着人类三分之一的基因。miRNA 通过形成 RNA 沉默诱导复合物与靶 mRNA 结合等, 抑制 mRNA 的翻译过程, 最终或者诱导 mRNA 的裂解^[23]。Calin 等^[24]研究表明, 超过一半的 miRNA 基因定位在肿瘤相关基因组区域或脆性位点。在很多肿瘤中都能发现异常表达的 miRNA, 其中部分为致癌基因, 部分为抑癌基因, 与细胞增殖、细胞凋亡、血管生成、浸润和转移有关。此外, 还发现 miRNA 可以用于靶向治疗药物临床应用的药效评估^[25]。通过各种测序技术, 检测出在肾癌中大量异常表达的 miRNA (表 1)^[26-36]。

4 肾癌的表现基因组研究

4.1 肾癌的表现遗传调控

表现遗传学是指可遗传的由非 DNA 序列改变引起的基因表达的改变。表现遗传学包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、组蛋白修饰、miRNA 调控等, 这些修饰作用在染色质重塑、基因调控等过程中起到重要作用。肿瘤中表现遗传学的改变主要体现在

两方面: 修饰基因的异常表达和表观遗传模式的改变^[37]。通过表观遗传机制的改变, 可以调控肿瘤相关基因的表达状态 (激活或失活)。此外, 阵列技术和第二代测序技术在染色质重塑和 DNA 甲基化过程的应用, 改变了以往对染色质状态、核小体定位的认识, 更加明确了这些改变在疾病发生发展过程中的作用^[38]。

4.1.1 DNA 甲基化

DNA 甲基化是一种常见的表观遗传修饰类型, 在基因转录过程中起到重要的调节作用。全基因组低甲基化与染色体不稳定性密切相关, 而抑癌基因调控区异常甲基化与转录抑制密切相关^[39]。Hoffmann 和 Schulz^[40]研究表明, DNA 低甲基化标记物与肿瘤进展和转移过程密切相关, 这对肿瘤的临床分类和预后判断有着重要意义。同时, 启动子区域甲基化和转录沉默是抑制抑癌基因表达的主要表观遗传机制^[41]。相关报道表明, 随着阵列技术 (如功能表观遗传筛查研究等) 的应用, 肾癌基因组中抑癌基因异常甲基化状态的识别过程变得更加容易, 如肿瘤组织中 *RPRM* (represso, TP53 dependant G2 arrest mediator)、*PDLIM* (PDZ and LIM domain)、*COL14A1* (collagen, type XIV, $\alpha 1$)、*GREM1* (gremlin 1)、*COL15A1* (collagen, type XV, $\alpha 1$)、*HSPB7* (heat shock protein β -7) 等基因的甲基化频率异常增高^[42-44]。

4.1.2 组蛋白修饰和染色质重塑

组蛋白修饰和染色质重塑是表观遗传调控机制的重要组成部分, 在基因组的功能调节中发挥重要作用, 通常包括核苷酸的化学修饰和组蛋白修饰。通过修饰作用可以抑制转录的发生或激活相应事件诱导基因表达的改变。乙酰化、甲基化、磷酸化和必需氨基酸泛素化等的共价作用是发生修饰的主要方式。目前认为发生在 ccRCC 中的 H3K27 去甲基化酶 KDM6A 的失活突变是组蛋白去甲基化酶作为人类癌症基因的最早证据^[45]。高通量测序研究如靶向测序等证实了肾癌中发现的突变与组蛋白修饰及染色质重塑有着密切的关系。这些发现证明了表观遗传调控在 ccRCC 的发病过程中起着重要作用 (如 VHL 通路失活等)。这个发现为肾癌靶向治疗提供了新的方向。

5 靶向治疗

当前的测序技术为肿瘤基因组学的研究做出了巨大的贡献, 极大地推动了靶向治疗的发展。当前靶向治疗主要针对的靶点有血管内皮生长因子

表1 肾癌中异常表达的miRNA

miRNA	引用文献	miRNA	引用文献	miRNA	引用文献
hsa-miR-122	26	hsa-miR-424	26	hsa-miR-30c	26
hsa-miR-122a	26	hsa-miR-489	26	hsa-miR-362-5p	26
hsa-miR-125a-3p	26	hsa-miR-505	26	hsa-miR-363	26
hsa-miR-126	26	hsa-miR-590-5p	26	hsa-miR-368	26
hsa-miR-142-5p	26	hsa-miR-629	26	hsa-miR-375	26
hsa-miR-151-3p	26	hsa-miR-7	26	hsa-miR-376b	26
hsa-miR-151-5p	26	hsa-miR-7-1*	26	hsa-miR-378	26
hsa-miR-140-5p	26	hsa-miR-7f	26	hsa-miR-379	26
hsa-miR-17	26	hsa-miR-885-5p	26	hsa-miR-381	26
hsa-miR-185	26	hsa-miR-1	26	hsa-miR-411	26
hsa-miR-18a	26	hsa-miR-10a	26	hsa-miR-429	26
hsa-miR-193a	26	hsa-miR-10a*	26	hsa-miR-432	26
hsa-miR-19a	26	hsa-miR-1201	26	hsa-miR-500	26
hsa-miR-19b	26	hsa-miR-124a	26	hsa-miR-500*	26
hsa-miR-20a	26	hsa-miR-123a	26	hsa-miR-501-5p	26
hsa-miR-20b	26	hsa-miR-123b	26	hsa-miR-502	26
hsa-miR-21	26	hsa-miR-134	26	hsa-miR-509-3p	26
hsa-miR-224	26	hsa-miR-135a	26	hsa-miR-506	26
hsa-miR-27a	26	hsa-miR-138	26	hsa-miR-183	26
hsa-miR-28	26	hsa-miR-141	26	hsa-miR-502-3p	26
hsa-miR-29c	26	hsa-miR-149*	26	hsa-miR-1826	26
hsa-miR-301a	26	hsa-miR-150	26	hsa-miR-101	27
hsa-miR-238-3p	26	hsa-miR-214	26	hsa-miR-106a	28
hsa-miR-29b	26	hsa-miR-1285	26	hsa-miR-106b	28
hsa-miR-239-5p	26	hsa-miR-30a-3p	26	hsa-miR-34a	28
hsa-miR-340	26	hsa-miR-26a	26	hsa-miR-34b	28
hsa-miR-342-3p	26	hsa-miR-30a-5p	26	hsa-miR-1271	29
hsa-miR-184	26	hsa-miR-373*	26	hsa-miR-130b	30
hsa-miR-187	26	hsa-miR-361-3p	26	hsa-miR-15a	30
hsa-miR-191	26	hsa-miR-648	26	hsa-miR-584	31
hsa-miR-199a-3p	26	hsa-miR-660	26	hsa-miR-205	32
hsa-miR-199b	26	hsa-miR-720	26	hsa-miR-29a	32
hsa-miR-200a	26	hsa-miR-891a	26	hsa-miR-355	33
hsa-miR-200b	26	hsa-miR-936	26	Hsa-miR-218	33
hsa-miR-200b*	26	hsa-miR-542-3p	26	hsa-miR-532-5p	34
hsa-miR-200c	26	hsa-miR-509-5p	26	hsa-miR-210	35
hsa-miR-203	26	hsa-miR-510	26	hsa-miR-215	36
hsa-miR-204	26	hsa-miR-513a-5p	26		
hsa-miR-182	26	hsa-miR-514	26		

注: hsa-miR (human serum albumin-microRNA): 人血清白蛋白微小RNA

(vascular endothelial growth factor, VEGF) 及其受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR) 和雷帕霉素靶蛋白受体 (mammalian target of rapamycin, mTOR)^[46]。过去 5 年间, 肾癌治疗取得了一定的进展, 特别是美国食品及药品管理局 (FDA) 通过了一些针对进展期肾癌的靶向药物, 如舒尼替尼、索拉

非尼、替西罗莫司等, 拉开了肾癌靶向治疗的序幕^[47]。经过努力, 靶向治疗药物得到了迅速的发展, 各种针对肾癌靶向通路及靶点蛋白的药物已经用于临床治疗中或者正处于临床试验阶段 (表 2)^[47]。此外, 除了上述提到的三个靶向治疗的靶点之外, 程序性死亡分子 -1 (programmed death-1, PD-1)、组蛋白去

表2 靶向药物的研究进展

靶向药物阶段	靶点	药名	潜在治疗对象
当前可用 (FDA批准的)	受体酪氨酸激酶(c-Kit) 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR) 血小板衍生生长因子(PDGF) Raf蛋白激酶(Raf) 血管内皮生长因子(VEGF)	索拉非尼; 舒尼替尼; 帕唑帕尼; 阿西替尼 替西罗莫司; 依维莫司 索拉非尼; 舒尼替尼; 帕唑帕尼; 阿西替尼 索拉非尼 索拉非尼; 舒尼替尼; 贝伐单抗; 帕唑帕尼; 阿西替尼	晚期或转移性肾癌等 晚期肾癌、乳腺癌等 晚期或转移性肾癌等 晚期或转移性肾癌等 晚期或转移性肾癌等
临床试验阶段	成纤维细胞生长因子(FGF) 蛋白激酶B (AKT) 血管紧张素II(Angiotensin II) 碳酸酐酶(CA9) 酪氨酸激酶受体(c-MET) 趋化因子受体(CXCR4) γ -促分泌酶抑制剂(γ -secretase) 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)	多韦替尼(第三阶段) MK2206 (第二阶段) PF-04856884 (CVX-060; 第二阶段) E7070 (第二阶段) ARQ197 (第二阶段) LY2510924 (第二阶段) R04929097 (第二阶段) 伏立诺他(第二阶段); 恩替诺特(第二阶段); PCI-24781 (第一阶段) 埃坡霉素B (第二阶段) BMS-936558 (第二阶段); CT-011 (第二阶段); BMS-936559 (第一阶段) BEZ235 (第二阶段); GDC-0980 (第一阶段) 硼替佐米(第二阶段) CX-4945 (第一阶段) KPT-330 (第一阶段) IMGN853 (第一阶段) AFP-464 ELR510444 GW6471	肝癌、乳腺癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、肾癌 非小细胞肺癌等 肾癌、胶质母细胞等 转移性的黑色素瘤、视网膜母细胞瘤等 非小细胞肺癌、肝癌、肾癌、胆管癌等 小细胞肺癌、晚期肾癌等 结合吉西他滨治疗晚期实体肿瘤 软组织肿瘤、血液系统恶性肿瘤 对紫杉类耐药、复发以及不敏感肿瘤(转移性乳腺癌等) 非小细胞肺癌、黑色素瘤、肾癌 肺癌、肝癌等 多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤等 — 复发或难治的头部和颈部鳞状细胞癌等 卵巢癌、非小细胞肺癌等叶酸分泌过多实体肿瘤等 乳腺癌和肾癌等 肾透明细胞癌 脂质调节、脂肪生成和血糖控制, 较少肾癌发病的可能
临床前试验阶段	过氧化物酶增殖体激活受体 α (PPAR α)	GW6471	肾透明细胞癌

注: c-Kit (v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog); 受体酪氨酸激酶; mTOR (mammalian target of rapamycin); 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; PDGF (platelet-derived growth factor); 血小板衍生生长因子; VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor); 血管内皮生长因子受体; FGF (fibroblast growth factor); 成纤维细胞生长因子; AngII (angiotensin II); 血管紧张素II; CA9 (carbonic anhydrase9); 碳酸酐酶9; CXCR4 (chemokine (C-X-C motif) receptor 4); 趋化因子受体; γ -secretase; γ -促分泌酶抑制剂; HDAC (histone deacetylase); 组蛋白去乙酰化酶; PD-1 (programmed death factor-1); 程序性死亡因子; PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase); 磷脂酰肌醇-3-羟激酶; CRMI (chromosome region maintenance 1); 出核因子; FOLR1 (folate receptor1); 叶酸受体1; AHR (aryl hydrocarbon receptor); 芳香烃受体; HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1); 缺氧诱导因子-1; PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptors α); 过氧化物酶增殖体激活受体 α

乙酰化酶类 (histone deacetylase, HDAC)、出核因子 (chromosome region maintenance 1, CRM1)、过氧化酶体增殖体激活受体- α (peroxisome proliferator activated receptor, PPAR- α) 将会是下一步研究的方向^[47]。研究发现, 部分患者对酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 具有耐药性^[48]。这种耐药性的产生一方面可能是由于肿瘤本身针对药物治疗过程诱导产生的突变如脱失靶点、选择性耐药克隆、突变导致肿瘤细胞生存相关信号转导通路激活; 另一方面也有可能是肿瘤预先已经存在相应

的突变^[49]。Gerlinger 等^[50]通过对 4 例转移性肾癌患者的肿瘤组织进行术前、术后多靶点取样, 进行多样本多范围测序, 结果发现单纯点穿刺活检测出的突变只占到全部样本突变的 2/3。肾癌异质性很强, 以单纯穿刺测序结果为基础的靶向治疗具有一定的局限性。靶向药物存在耐药, 肿瘤本身的异质性, 这些都成为肾癌靶向治疗发展的限制因素。研究人员通过长期探索, 采用多途径联合靶向药物治疗肾癌 (表 3), 并取得了一定的进展^[51]。

技术水平的提升给靶向治疗带来更多的希望。

表3 靶向药物在上尿路肿瘤中的联合应用

靶点	药物	药物分级
EGFR	吉非替尼	二线药物
	吉非替尼+化疗	一线药物
	埃罗替尼	新型辅助药物
HER2	吉西他滨/顺铂+西妥昔单抗	一线药物
	西妥昔单抗+紫杉醇	二线药物
	吉西他滨/卡铂+曲妥单抗	一线药物
	曲妥单抗+化疗	一线药物
EGFR+HER2	DN24-02辅助治疗与观察	辅助药物
	拉帕替尼维持与安慰剂作用	一线药物
FGFR3+VEGFR VEGFR	拉帕替尼	二线药物
	多韦替尼	二线药物
	舒尼替尼	一线药物
	舒尼替尼	二线药物
	吉西他滨/顺铂+舒尼替尼	二线药物
	舒尼替尼的维持与安慰剂作用	一线药物
	舒尼替尼	一线药物
	舒尼替尼	二线药物
	帕唑帕尼	二线药物
	帕唑帕尼+紫杉醇	二线药物
VEGFR+EGFR	吉西他滨/顺铂+贝伐单抗	一线药物
	多西他赛+凡德他尼	二线药物
mTOR	依维莫司	二线药物
HSP27	吉西他滨/顺铂+OGX-427	一线药物
	多西他赛+OGX-427	二线药物

注: EGFR (epidermal growth factor receptor): 表皮生长因子受体; HER2 (human epidermal growth factor receptor-2): 人类表皮生长因子受体-2; FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3): 成纤维细胞生长因子受体-3; VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor): 血管内皮生长因子受体; mTOR (mammalian target of rapamycin): 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; HSP27 (human heat shock protein 27): 热休克蛋白-27

液体活检技术新发现, 核分子成像技术的应用 (提供原发肿瘤信息和转移情况等) 联合靶向测序技术, 找出肿瘤异质性信息及耐药机制, 根据突变位点, 确定治疗靶点, 并给予针对性的靶向药物治疗。必

要时, 联合手术、术后康复等治疗手段, 缓解患者心理压力, 从真正意义上达到临床缓解、延长患者有效生存时间等效果。这也是未来会大力发展的个性化癌症医学。

[参 考 文 献]

- [1] 赵振威, 李延江. 肾细胞癌流行病学研究进展. 山东医药杂志, 2013, 53(7): 95-7
- [2] 马建辉, 李鸣, 张思维, 等. 中国部分市县肾癌及泌尿系其他恶性肿瘤发病趋势比较研究. 中华泌尿外科杂志, 2013, 30(8): 511-4
- [3] Heidenreich A. Operative treatment of renal cell carcinoma. *Urologe A*, 2011, 50 Suppl 1: 208-15
- [4] Dalgliesh GL, Furge K, Greenman C, et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature*, 2010, 463(7279): 360-3
- [5] Dienstmann R, Rodon J, Barretina J, et al. Genomic medicine frontier in human solid tumors: prospects and challenges. *J Clin Oncol*, 2013, 31(15): 1874-84
- [6] Allory Y, Culine S, de la Taille A. Kidney cancer pathology in the new context of targeted therapy. *Pathobiology*, 2011, 78(2): 90-8
- [7] Gudbjartsson T, Jonasdottir TJ, Thoroddsen A, et al. A population-based familial aggregation analysis indicates genetic contribution in a majority of renal cell carcinomas. *Int J Cancer*, 2002, 100(4): 476-9
- [8] Purdue MP, Johansson M, Zelenika D, et al. Genome-wide association study of renal cell carcinoma identifies two susceptibility loci on 2p21 and 11q13.3. *Nat Genet*, 2011, 43(1): 60-5
- [9] Han SS, Yeager M, Moore LE, et al. The chromosome 2p21 region harbors a complex genetic architecture for association with risk for renal cell carcinoma. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(5): 1190-200
- [10] Wu X, Scelo G, Purdue MP, et al. A genome-wide association study identifies a novel susceptibility locus for renal cell carcinoma on 12p11.23. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(2): 456-62
- [11] Purdue MP, Ye Y, Wang Z, et al. A genome-wide association study of renal cell carcinoma among African Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(1): 209-14
- [12] Herman JG, Latif F, Weng Y, et al. Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(21): 9700-4
- [13] Beroukhi R, Brunet JP, Di Napoli A, et al. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-hippel lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res*, 2009, 69(11): 4674-81
- [14] Ibragimova I, Maradeo ME, Dulaimi E, et al. Aberrant promoter hypermethylation of *PBRM1*, *BAP1*, *SETD2*, *KDM6A* and other chromatin-modifying genes is absent or rare in clear cell RCC. *Epigenetics*, 2013, 8(5): 486-93
- [15] Guo G, Gui Y, Gao S, et al. Frequent mutations of genes encoding ubiquitin-mediated proteolysis pathway components in clear cell renal cell carcinoma. *Nat Genet*, 2012, 44(1): 17-9
- [16] Wu S, Huang P, Li C, et al. Telomerase reverse transcriptase gene promoter mutations help discern the origin of urogenital tumors: a genomic and molecular study. *Eur Urol*, 2014, 65(2): 274-7
- [17] Ley TJ, Mardis ER, Ding L, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature*, 2008, 456(7218): 66-72
- [18] Navin N, Krasnitz A, Rodgers L, et al. Inferring tumor progression from genomic heterogeneity. *Genome Res*, 2010, 20(1): 68-80
- [19] Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. *Nature*, 2011, 472(7341): 90-4
- [20] Xu X, Hou Y, Yin X, et al. Single-cell exome sequencing reveals single-nucleotide mutation characteristics of a kidney tumor. *Cell*, 2012, 148(5): 886-95
- [21] Zhou L, Chen J, Li Z, et al. Integrated profiling of microRNAs and mRNAs: microRNAs located on Xq27.3 associate with clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15224
- [22] Yamasaki T, Seki N, Yamada Y, et al. Tumor suppressive microRNA138 contributes to cell migration and invasion through its targeting of vimentin in renal cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2012, 41(3): 805-17
- [23] Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Curr Genomics*, 2010, 11(7): 537-61
- [24] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 2999-3004
- [25] Prior C, Perez-Gracia JL, Garcia-Donas J, et al. Identification of tissue microRNAs predictive of sunitinib activity in patients with metastatic renal cell carcinoma. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86263
- [26] White NM, Bui A, Mejia-Guerrero S, et al. Dysregulation of kallikrein-related peptidases in renal cell carcinoma: potential targets of miRNAs. *Biol Chem*, 2010, 391(4): 411-23
- [27] Sakurai T, Bilim VN, Ugolkov AV, et al. The enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), a potential therapeutic target, is regulated by miR-101 in renal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 422(4): 607-14
- [28] Seliger B, Jasinski S, Dressler SP, et al. Linkage of microRNA and proteome-based profiling data sets: a perspective for the prioritization of candidate biomarkers in renal cell carcinoma? *J Proteome Res*, 2011, 10(1): 191-9
- [29] Maurel M, Jalvy S, Ladeiro Y, et al. A functional screening identifies five microRNAs controlling glypican-3: role of miR-1271 down-regulation in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, 57(1): 195-204
- [30] 张春鸿, 方潇碧, 林森, 等. Hsa-miR-15a/16-1靶向抑制 Bcl-2基因对鼻咽癌CNE-2细胞的抑制作用. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2011, (10): 516-20
- [31] Ueno K, Hirata H, Shahryari V, et al. Tumour suppressor microRNA-584 directly targets oncogene Rock-1 and decreases invasion ability in human clear cell renal cell carcinoma. *Br J Cancer*, 2011, 104(2): 308-15
- [32] Majid S, Saini S, Dar AA, et al. MicroRNA-205 inhibits Src-mediated oncogenic pathways in renal cancer. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2611-21

- [33] White NM, Bao TT, Grigull J, et al. miRNA profiling for clear cell renal cell carcinoma: biomarker discovery and identification of potential controls and consequences of miRNA dysregulation. *J Urol*, 2011, 186(3): 1077-83
- [34] Kitago M, Martinez SR, Nakamura T, et al. Regulation of RUNX3 tumor suppressor gene expression in cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 2988-94
- [35] Nakada C, Tsukamoto Y, Matsuura K, et al. Overexpression of miR-210, a downstream target of HIF1 α , causes centrosome amplification in renal carcinoma cells. *J Pathol*, 2011, 224(2): 280-8
- [36] White NM, Khella HW, Grigull J, et al. miRNA profiling in metastatic renal cell carcinoma reveals a tumour-suppressor effect for miR-215. *Br J Cancer*, 2011, 105(11): 1741-9
- [37] Ellis L, Atadja PW, Johnstone RW. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(6): 1409-20
- [38] Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(10): 726-34
- [39] Daniel FI, Cherubini K, Yurgel LS, et al. The role of epigenetic transcription repression and DNA methyltransferases in cancer. *Cancer*, 2011, 117(4): 677-87
- [40] Hoffmann MJ, Schulz WA. Causes and consequences of DNA hypomethylation in human cancer. *Biochem Cell Biol*, 2005, 83(3): 296-321
- [41] Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*, 2008, 358(11): 1148-59
- [42] Morris MR, Ricketts C, Gentle D, et al. Identification of candidate tumour suppressor genes frequently methylated in renal cell carcinoma. *Oncogene*, 2010, 29(14): 2104-17
- [43] Morris MR, Ricketts CJ, Gentle D, et al. Genome-wide methylation analysis identifies epigenetically inactivated candidate tumour suppressor genes in renal cell carcinoma. *Oncogene*, 2011, 30(12): 1390-401
- [44] Lin J, Deng Z, Tanikawa C, et al. Downregulation of the tumor suppressor HSPB7, involved in the p53 pathway, in renal cell carcinoma by hypermethylation. *Int J Oncol*, 2014, 44(5): 1490-8
- [45] van Haaften G, Dalgliesh GL, Davies H, et al. Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer. *Nat Genet*, 2009, 41(5): 521-3
- [46] Singer EA, Gupta GN, Srinivasan R. Update on targeted therapies for clear cell renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol*, 2011, 23(3): 283-9
- [47] Wettersten HI, Weiss RH. Potential biofluid markers and treatment targets for renal cell carcinoma. *Nat Rev Urol*, 2013, 10(6): 336-44
- [48] Huang D, Ding Y, Li Y, et al. Sunitinib acts primarily on tumor endothelium rather than tumor cells to inhibit the growth of renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 2010, 70(3): 1053-62
- [49] Pao W, Miller VA, Politi KA, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*, 2005, 2(3): e73
- [50] Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med*, 2012, 366(10): 883-92
- [51] Bellmunt J, Teh BT, Tortora G, et al. Molecular targets on the horizon for kidney and urothelial cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(10): 557-70