

DNA 错配修复基因在 CRPC 精准治疗的临床应用进展

王勇 综述,牛远杰 审校

(天津医科大学第二医院泌尿外科,天津市泌尿外科研究所,天津 300211)

摘要 前列腺癌是一种常见的男性泌尿生殖系统恶性肿瘤,严重威胁男性健康。前列腺癌经过初期的雄激素剥夺治疗后会进展为去势抵抗性前列腺癌。去势抵抗性前列腺癌的异质性也决定了其治疗的复杂性。随着第二代测序技术的发展和运用,去势抵抗性前列腺癌的治疗也进入了精准时代。DNA 错配修复基因在去势抵抗性前列腺癌的发病中起重要作用。以多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶(PARP)抑制剂、免疫检查点抑制剂为基础的精准治疗为存在 DNA 错配修复基因缺陷的去势抵抗性前列腺癌患者的治疗带来了新的希望。

关键词 DNA 错配修复基因;去势抵抗性前列腺癌;精准治疗

中图分类号 R737.25

文献标志码 A

前列腺癌目前居全球男性肿瘤发病率的第2位^[1]。中国前列腺癌的发病率近年来呈逐年升高趋势,目前居男性肿瘤发病率的第6位^[2]。雄激素剥夺治疗(androgen deprivation therapy, ADT)是晚期前列腺癌患者的重要治疗方案,但经过18~24个月的治疗,大部分患者进展为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[3]。前列腺癌发生、发展的遗传因素复杂,存在显著的肿瘤异质性,特别是进入CRPC阶段,肿瘤在基因组、表观遗传学等分子水平上存在很大的差异,这种差异导致了CRPC患者对药物治疗的反应及效果不一致。目前研究显示CRPC的形成机制包括:(1)雄激素受体(AR)相关机制(AR基因扩增及突变、AR剪切变体、AR共调节因子的异常表达和功能异常、AR翻译后修饰的异常、AR信号通路的旁路激活及肾上腺雄激素和肿瘤内雄激素的合成)。(2)肿瘤干细胞机制。(3)治疗诱导的神经内分泌性改变^[4]。随着检测技术的进步,DNA错配修复基因在CRPC形成中的作用越来越受重视。

1 DNA 错配修复基因与 CRPC

随着第二代测序技术(next generation sequencing, NGS)的发展及在肿瘤临床诊疗中的广泛的应用,前列腺癌的治疗进入精准治疗时代。精准诊治

策略也使越来越多的患者受益。基因检测有助于评估患者预后,对疾病进展风险分层;提示治疗药物的敏感性,协助制定治疗方案;同时,完善我国前列腺癌患者的基因突变谱及相关特征;理解与CRPC进展相关的分子机制,帮助寻找治疗及新药开发的靶点^[5-6]。

DNA 错配修复通路主要参与维持基因稳定性,从而防止变异基因传递给后代,同时扮演着抑制肿瘤的作用。mCRPC患者检测到DNA错配修复基因缺陷,如乳腺癌1/2号基因(breast cancer 1/2, BRCA1/2)和共济失调毛细血管扩张突变基因(ataxia telangiectasia-mutated, ATM)的改变,以及错配修复(mis-match repair, MMR)途径基因(MLH1或MSH2)的高突变^[7-8]。BRCA1/2突变是mCRPC患者DNA错配修复基因缺陷最常见的类型。Pritchard等^[9]研究发现,82例CRPC患者中存在16个DNA错配修复基因,共84个突变位点的胚系突变,占总人数的11.8%;其中,最常见的突变位点是BRCA2,此外,还有ATM、细胞周期检查点激酶2基因(checkpoint kinase2, CHEK2)、BRCA1、重组酶RAD51D(DNA repair RAD51-like protein D)和乳腺癌易感基因相关蛋白2(partner and localizer of BRCA2, PALB2)等相关基因的突变。一项国内的对DNA修复基因缺陷的研究中纳入316例前列腺癌患者。研究发现,9.8%的前列腺癌患者存在DNA同源重组修复基因缺陷,包括6.33%的受试者携带BRCA2和0.63%的受试者携带BRCA1及0.63%的受试者携带ATM基因胚系致病变异^[10]。对2019例前列腺癌患者(61例BRCA2突变携带者、18例BRCA1突变携带者及1940例

基金项目 国家自然科学基金面上项目资助(81872078);天津市自然科学基金面上项目资助(18JCYBJC26700);天津医科大学第二医院临床研究项目资助(ChiCTR1900024895)

作者简介 王勇(1981-),男,副主任医师、副教授,博士,研究方向:去势抵抗性前列腺癌的分型治疗;通信作者:牛远杰, E-mail:niuyuan-jie9317@163.com。

未携带突变者)进行分析研究发现,BRCA1/2 突变与前列腺癌的侵袭性增强、淋巴结受累及远处转移增多有相关性,且 BRCA1/2 突变患者的中位总生存期明显缩短^[11]。BRCA1/2 胚系突变在前列腺癌的发生、发展中起一定的作用。随着疾病进展,部分患者出现体细胞的 BRCA1/2 突变。患者一旦发生 BRCA1/2 突变,其疾病进展及发生其他侵袭性疾病的风险也会更高,预后不良^[12]。

2 相关的精准治疗药物临床应用

2.1 多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly ADP-Ribose polymerase, PARP) 抑制剂 提到 PARP 抑制剂就涉及一个重要的概念“协同致死”。Calvin Bridges 于 100 多年前在黑腹果蝇实验中观察到协同致死效应这一现象。研究发现,如果一个细胞或生物体中,两个基因有一个缺陷,几乎对其无重大影响;如果两个基因同时发生突变,则会引发致死性的后果。协同致死作用是机体依赖的一种重要特性,如在肿瘤细胞中,当一个基因变异时,如抑癌基因突变,不影响肿瘤细胞的生存。通过寻找可能产生协同作用的第二个基因,并通过药物将其抑制,则会导致肿瘤细胞死亡,但正常的细胞不受影响。因此,协同致死可以选择性的作用于癌细胞,而避免对正常细胞的杀伤。

PARP 在细胞单链 DNA 断裂修复中起重要作用。抑制 PARP 会使细胞损伤的单链 DNA 积累并可能导致 DNA 双链断裂。双链 DNA 断裂是通过同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)进行修复,涉及的重要蛋白质包括 BRCA1 和 BRCA2。在 HRR 缺陷的肿瘤细胞中,通过非同源末端连接进行替代性 DNA 修复,这是一种低保真修复途径,最终会导致细胞死亡。当细胞 DNA 因各种原因(如辐射、氧化剂或化疗药物等)导致损伤时,PARP-1 的锌指结构迅速识别并结合至 DNA 损伤处,PARP-1 自身发生共价修饰,形成有活性的同型二聚体,进一步催化 β -NAD⁺ 转化成为尼克酰胺和 ADP 核糖,然后以 ADP 核糖为底物合成聚腺苷二磷酸核糖(PAR),使组蛋白及 PARP-1 自身等多种核受体蛋白发生聚 ADP 核糖基化而改变其功能,引发染色体松弛,然后 PAR 被聚腺苷二磷酸核糖水解酶裂解,使 PARP-1 从损伤部位游离,从而促进 DNA 修复酶及 XRCC1 和 DNA 连接酶 III 等修复因子与损伤部位的结合,修复损伤 DNA^[13-15]。携带 BRCA 突变的肿瘤细胞出现 HR 缺陷,PARP 抑制和 BRCA 功能异常会产生协同致死作用,从而造成双链 DNA 的断裂,导致肿瘤细胞死亡。

相关的药物临床试验 TOPARP-A 旨在评估奥拉帕利对 mCRPC 患者的疗效。研究结果显示,奥拉帕利在非选择人群中的抗肿瘤活性,总体反应率为 33%,在携带 DNA 同源重组修复相关基因突变人群中反应率为 88%。在上述试验基础上, TOPARP-B 研究进一步评估奥拉帕利在 DNA 同源重组修复相关基因异常 mCRPC 患者不同基因突变亚组中的疗效,结果显示,BRCA1/2 突变组反应率最高(83.3%),其次是 PALB2 突变组(57.1%)、ATM 突变组(36.8%)及细胞周期蛋白依赖性激酶 12(cyclin dependent kinase 12, CDK12)突变组(25.0%)。基于 TOPARP 等研究中单药奥拉帕利用于 BRCA1/2 或 PALB2 基因突变的 mCRPC 治疗取得良好的效果,2016 年 1 月 FDA 授予奥拉帕利突破性疗法资格^[16-17]。

尼拉帕利是另一种对 PARP1/2 DNA 修复聚合酶具有高选择性的 PARP 抑制剂。近期 FDA 授予尼拉帕利为携带 BRCA1/2 突变的 mCRPC 治疗的突破性疗法,GALAHAD 研究对尼拉帕利在内分泌治疗和多西他赛治疗失败后双等位基因 DNA 修复通路缺陷(包括 BRCA1/2、ATM、FANCA、PALB2、CHEK2、BRIP1 或 DAC2)的 mCRPC 患者中的安全性和有效性进行分析。结果显示,相对于非 BRCA1/2 基因突变组,尼拉帕利明显提高 BRCA1/2 基因突变组的完全缓解率(63% vs. 17%)及部分缓解率(41% vs. 9%),提高中位影像学无进展生存期(8.2个月 vs. 5.3个月)^[18]。

TOPARP-A 研究中,奥拉帕利单一疗法对 HRR 基因突变的 mCRPC 患者的疗效得到肯定。另外有研究显示,奥拉帕利与阿比特龙的协同作用可能导致患者处于临床的 DNA 错配修复基因突变状态,从而治疗受益。这一双重协同作用模式的基础首先是 PARP 参与雄激素受体依赖性转录,而 PARP 抑制则削弱了这一过程。另外,雄激素受体调节 DNA 修复基因的转录。因此,抑制雄激素会减弱 HRR,产生所谓的 BRCAness 表型,该表型容易受到 PARP 抑制^[19]。尼拉帕利联合阿比特龙与阿比特龙用于 mCRPC 的一线治疗的 III 期临床研究 MAGNITUDE 也正在进行中,其目标患者人群相对于 GALAHAD 研究也更为广泛。

2.2 免疫检查点抑制剂 免疫检查点中的程序性死亡受体-1(programmed cell death-1, PD-1)表达于 T 细胞表面和初级 B 细胞表面,调节细胞的分化和凋亡。PD-1 的配体有两种,分别是程序性死亡配体(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)(B7-H1)和 PD-L2(B7-DC)。PD-1 主要表达于活化的 T 细

胞、B细胞、巨噬细胞,以及内皮细胞和上皮细胞。PD-L1在头颈部肿瘤、肺癌、消化道肿瘤、泌尿系统肿瘤以及白血病等中表达。肿瘤微环境可以诱导肿瘤细胞表达PD-L1。肿瘤中的PD-L1与T细胞上的PD-1相互作用,抑制T细胞介导的有效抗肿瘤免疫应答。此外,PD-1/PD-L1相互作用诱导T细胞凋亡^[20-22]。

相对于正常前列腺细胞,前列腺癌细胞中PD-L1表达增多,且前列腺肿瘤微环境中的CD8⁺T细胞高表达PD-1^[23-24]。目前相关临床试验显示PD-1/PD-L1抑制剂在前列腺癌中有实际的临床意义,特别是对于基于二代基因测序发现存在高微卫星不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)或错配修复缺陷(mismatch repair-deficient, dMMR)的患者是潜在获益人群。携带上述基因突变的患者往往具有较高的总体基因突变数量。目前,免疫检查点抑制剂存在的问题是适用人群的选择及疗效和不良反应的评估^[25-26]。国内的相关研究纳入316例前列腺癌患者,研究结果显示携带MSH6、MSH2基因胚系致病变异的患者比例均为0.63%,未发现携带MLH1、PMS2基因胚系致病变异患者^[12]。

KEYNOTE-199研究中显示Pembrolizumab对携带BRCA1/2或ATM基因突变mCRPC患者的疾病控制率为22%^[27]。KEYNOTE-028研究证实Pembrolizumab治疗后患者的中位无进展生存时间及中位生存期分别为3.5个月和7.9个月,且对于晚期的PD-L1阳性的前列腺癌患者是很好的选择^[28]。2017年,Pembrolizumab被FDA批准用于治疗在MMR中具有突变和(或)在肿瘤中表现出MSI的前列腺癌,推荐在使用或排除其他可用的有效治疗(如sipuleucel-T、阿比特龙、恩扎卢胺、多西他赛、卡巴他赛、镭-223等)之后,可考虑使用Pembrolizumab。PD-1/PD-L1抑制剂主要的不良反应为体内激活的T细胞引起的炎性组织损伤,主要表现为腹泻、结肠炎、皮疹、瘙痒、肝炎、垂体炎和甲状腺炎等^[29]。

3 其他

mCRPC患者之间和患者内的基因组存在很高的异质性。迄今为止mCRPC治疗还没有纳入分型治疗。国内外针对CRPC的分型治疗仍处于临床研究阶段,其重点是探索CRPC治疗方式选择及预后的标志物,例如AR的剪切变体、AR信号调节因子、AR翻译后修饰的异常及AR信号通路的旁路激活在去势抵抗性前列腺癌发病中的作用的研究。血液活检中发现AR-V7阳性的患者对阿比特龙

及恩扎卢胺的治疗效果不佳,但不影响多西他赛的疗效^[30-33]。研究显示,转移性前列腺癌中最常见的突变基因是TP53、PTEN以及RB1。针对mCRPC活检组织的全外显子组和转录组测序发现TP53、PTEN以及RB1的突变在CRPC中明显富集,这证实前列腺癌中抑癌基因功能的丧失在促进疾病的侵袭性生物学中起着关键作用^[34]。mCRPC组织中AR、TP53、PI3K/Akt信号转导通路、Wnt信号转导通路、细胞周期通路及MAPK信号转导通路的突变在肿瘤进展中起重要作用。但是,由于药物研发及相关靶向药物在前列腺癌临床应用中的证据有限,对上述基因突变检测的意义仍有待进一步确认。此外,CRPC患者合并前列腺导管内癌的情况下,对多西他赛治疗疗效差^[35]。携带同源重组修复基因突变可能提示对铂类化疗敏感^[17]。

CRPC是前列腺癌的一个重要阶段,CRPC的治疗是前列腺癌治疗的难点。在高通量测序结果指导下,随着研究的深入,将为CRPC的治疗提供更多的理论依据,CRPC患者将会得到个体化、精准、有效的治疗方式,从而延长患者生命,提高患者的生活质量。虽然将精准治疗转化为有效的临床决策仍有很长的一段路要走,但是CRPC精准治疗及个体化治疗是未来发展的趋势且前景光明。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394
- [2] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115
- [3] James N D, Spears M R, Clarke N W, et al. Survival with newly diagnosed metastatic prostate cancer in the "Docetaxel Era": data from 917 patients in the control arm of the STAMPEDE trial (MRC PR08, CRUK/06/019)[J]. Eur Urol, 2015, 67(6):1028
- [4] 王淮,温思萌,朱识森,等. 去势抵抗性前列腺癌的病因学分型研究和临床精准医疗实践探索[J]. 临床外科杂志, 2017, 25(7): 551
- [5] Hovelson D H, Tomlins S. The role of next-generation sequencing in castration-resistant prostate cancer treatment[J]. Cancer J, 2016, 22(5): 357
- [6] 中国临床肿瘤学会肿瘤标志物专家委员会. 中国肿瘤驱动基因分析联盟. 二代测序技术在肿瘤精准医学诊断中的应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(26):2057
- [7] Beltran H, Yelensky R, Frampton G M, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity[J]. Eur Urol, 2013, 63(5):920
- [8] Robinson D, Van Allen E M, Wu Y M, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer[J]. Cell, 2015, 161(5):1215
- [9] Pitchard C C, Mateo J, Walsh M F, et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer[J]. N Engl J Med,

- 2016, 375(5): 443
- [10] Wei Y, Wu J, Gu W, et al. Germline DNA repair gene mutation landscape in Chinese prostate cancer patients[J]. *Eur Urol*, 2019, 76(3):280
- [11] Castro E, Goh C, Olmos D, et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(14):1748
- [12] Mateo J, Boysen G, Barbieri C E, et al. DNA repair in prostate cancer: biology and clinical implications[J]. *Eur Urol*, 2017, 71(3):417
- [13] Krishnakumar R, Kraus W L. The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(1):8
- [14] Rouleau M, Patel A, Hendzel M J, et al. PARP inhibition: PARP1 and beyond[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(4):293
- [15] Schreiber V, Dantzer F, Ame J C, et al. Poly(ADP-ribose): novel functions for an old molecule[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(7):517
- [16] Goodall J, Mateo J, Yuan W, et al. Circulating cell-free DNA to guide prostate cancer treatment with PARP inhibition[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(9):1006
- [17] Mateo J, Carreira S, Sandhu S, et al. DNA-Repair defects and olaparib in metastatic prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(18): 1697
- [18] Smith M, Sandhu S, Kelly W, et al. Pre-specified interim analysis of GALAHAD: a Phase 2 study of niraparib in patients (pts) with metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC) and biallelic DNA-repair gene defects. ESMO 2019 Congress[C]. *Annals of Oncology*, 2019, 30 (Suppl 5): v851
- [19] Clarke N, Wiechno P, Alekseev B, et al. Olaparib combined with abiraterone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(7):975
- [20] Ni J M, Ni A P. Landscape of PD-1/PD-L1 regulation and targeted immunotherapy[J]. *Chin Med Sci J*, 2018, 33(3):174
- [21] Zhang J, Dang F, Ren J, et al. Biochemical aspects of PD-L1 regulation in cancer immunotherapy[J]. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43(12): 1014
- [22] Weng Y M, Peng M, Hu M X, et al. Clinical and molecular characteristics associated with the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors for solid tumors: a meta-analysis[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:7529
- [23] Sfanos K S, Bruno T C, Meeker A K, et al. Human prostate-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are oligoclonal and PD-1^{hi}[J]. *Prostate*, 2009, 69(15): 1694
- [24] Massari F, Ciccarese C, Calio A, et al. Magnitude of PD-1, PD-L1 and T lymphocyte expression on tissue from castration-resistant prostate adenocarcinoma: an exploratory analysis[J]. *Target Oncol*, 2016, 11(3):345
- [25] Graff J N, Alumkal J J, Drake C G, et al. Early evidence of anti-PD-1 activity in enzalutamide-resistant prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(33):52810
- [26] Abida W, Cheng M L, Armenia J, et al. Analysis of the prevalence of microsatellite instability in prostate cancer and response to immune checkpoint blockade[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(4): 471
- [27] Rexer H, Graefen M, Merseburger A, et al. Phase II study of pembrolizumab (MK-3475) in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (KEYNOTE-199)-study AP 93/16 of the AUO[J]. *Urologe A*, 2017, 56(11): 1471
- [28] Hansen A R, Massard C, Ott P A, et al. Pembrolizumab for advanced prostate adenocarcinoma: findings of the KEYNOTE-028 study[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(8):1807
- [29] Yeku O, Slovin S F. Immune therapy for prostate cancer[J]. *Cancer J*, 2016, 22(5): 334
- [30] Antonarakis E S, Lu C, Wang H, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(11):1028
- [31] Nakazawa M, Antonarakis E S, Luo J. Androgen receptor splice variants in the era of enzalutamide and abiraterone[J]. *Horm Cancer*, 2014, 5(5): 265
- [32] Beltran H, Prandi D, Mosquera J M, et al. Divergent clonal evolution of castration-resistant neuroendocrine prostate cancer[J]. *Nat Med*, 2016, 22(3): 298
- [33] Beltran H, Rickman D S, Park K, et al. Molecular characterization of neuroendocrine prostate cancer and identification of new drug targets[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(6): 487
- [34] Armenia J, Wankowicz S, Liu D, et al. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer[J]. *Nat Genet*, 2018, 50(5): 645
- [35] Zhao T, Liao B, Yao J, et al. Is there any prognostic impact of intraductal carcinoma of prostate in initial diagnosed aggressively metastatic prostate cancer?[J]. *Prostate*, 2015, 75(3): 225

(2020-03-19 收稿)