

## · 综述 ·

## 透明质酸及其相关因子在胰腺癌方面的研究进展

郭晓倩, 姚玮艳

(上海交通大学医学院附属瑞金医院消化内科, 上海 200025)

关键词: 胰腺癌; 透明质酸; 透明质酸酶; 透明质酸受体; 药物递送

中图分类号: R735.9 文献标志码: C 文章编号: 1673-6087(2023)04-0305-04

DOI: 10.16138/j.1673-6087.2023.04.020

胰腺癌是一种隐匿性强且恶性程度极高的肿瘤, 5 年生存率低于 8%<sup>[1]</sup>。只有小部分 (11%) 胰腺癌患者在肿瘤早期和局部期被诊断, 大多数 (52%) 患者在胰腺癌被诊断时已发生了远处器官转移<sup>[2]</sup>。目前胰腺癌在诊断上, 缺乏理想的高特异性诊断标志物及影像学检查; 在治疗上, 手术治疗成功率低, 放疗缺乏敏感性, 联合化疗预后差。近年来, 研究者们逐渐将目光投向肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 以寻求新的诊治思路。TME 指肿瘤在发展中所处的局部生物环境, 包括肿瘤细胞、基质细胞及细胞外基质 (extracellular matrices, ECM) 等<sup>[3]</sup>。与其他实体瘤对比, 胰腺肿瘤间质致密, 病灶内部低灌注和缺氧, 因此, 靶向基质屏障是研究者热衷的研究方向。透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 作为肿瘤 ECM 中的主要成分, 不仅参与形成致密的间质, 还有显著的促纤维化反应<sup>[4]</sup>。同正常胰腺组织相比, HA 在胰腺癌间质中的含量更丰富<sup>[5]</sup>, 可通过与细胞表面 HA 受体, 如 CD44、HA 介导运动的受体 (receptor for HA-mediated motility, RHAMM) 等特异性结合, 调节细胞生长、增殖和迁移, 尤其在肿瘤细胞的侵袭和转移中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。因此, HA 及其相关因子在胰腺癌的诊断和治疗上有广泛的应用前景。

## HA 的概述

HA 是 ECM 中较重要的大分子之一, 是由重复的 ( $\beta$ , 1-4) 葡萄糖醛酸及 ( $\beta$ , 1-3)-N-乙酰葡萄糖胺二糖组成的线性分子<sup>[7]</sup>。有文献报道, 根据分子量大小, 20 个单糖长度或更短的 HA 称为 HA 寡糖 (HA oligosaccharides, oHA); 分子量超过  $1 \times 10^6$  U 称为高分子量 HA (high molecular weight HA, HMWHA), 介于两者之间的称为低分子量 HA (low molecular weight HA, LMWHA)<sup>[8]</sup>。HA 由 HA 合成酶 (hyaluronan synthase, HAS) 家族成员合成, 分别为 HAS1、HAS2 及 HAS3。而降解 HA 的是 HA 酶 (hyaluronidase, HYAL) 家族, 有 6 种不同的 HYAL (HYAL-1, -2, -3, -4, -P1, -PH20), HYAL 可将 HA 裂解成 LMWHA 片段, 这些片段再进一步被细胞内吞、内化, 并被其他酶降解<sup>[9]</sup>。在人体内, HA 的含量及存在形式主要受 HAS2、HYAL1 调节。相关研究表明, HA 的生理功能依

赖于其分子大小, HMWHA 具有抗血管生成、抗增殖和免疫抑制特性, 而 LMWHA 能够诱导炎症、血管生成和增殖, 并具有免疫刺激功能<sup>[10]</sup>。

## HA 及其相关因子在 TME 的作用

HA 作为 ECM 的重要组成部分, 在肿瘤的各个阶段, 从发生、进展、转移到化疗耐药发挥重要作用。虽然 HA 看似结构简单, 但其在 TME 中的作用机制非常复杂。不同分子量的 HA 通过与细胞表面的特异性受体, 如 CD44、RHAMM 等结合, 激活下游信号、转导级联反应等促进多种恶性肿瘤细胞生长、增殖、转移和耐药性的形成<sup>[11]</sup>。近年研究<sup>[12]</sup>发现, HA-CD44 相互作用协调激活多种微 RNA (microRNA, miRNA) (如 miR-21、miR-302 和 miR-10b 等) 和各种信号调节因子, 促进肿瘤细胞特异性行为, 如肿瘤转移、进展和化疗耐药; 而且, 这些由 HA-CD44 激活的各种 miRNA 以及信号调节因子 [如蛋白激酶 C $\epsilon$  (protein kinase C $\epsilon$ , PKC $\epsilon$ )、c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)、c-Src、Nanog、信号转导及转录激活因子 3 (signal transduction and activator of transcription 3, Stat-3)、c-Jun、八聚体结合转录因子 4 (octamer-binding protein 4, Oct4)、性别决定区 Y 框蛋白 2 (sex determining region Y-box 2, SOX2) 和 Twist], 未来有望成为新的肿瘤诊断和预后标志物<sup>[13]</sup>。

## HA 及其相关因子作为诊断胰腺癌的手段

目前, 胰腺癌的诊断“金标准”是病理活组织检查 (活检)。糖类抗原 199 (carbohydrate antigen 199, CA199) 等肿瘤标志物及影像学检查可作为诊断胰腺癌的辅助手段, 然而均缺乏高敏感性和特异性。Franklin 等<sup>[14]</sup>研究发现, 血清样品中的 HA 含量与胰腺癌的预后不良相关, 且术前血清 HA > 27 kU 是术后生存期较短的独立预测指标。郝一等<sup>[15]</sup>研究发现在胰腺癌患者血浆中, 甲基化 HYAL2 含量较丰富, 且其诊断胰腺癌的灵敏度、特异度较高。血浆甲基化 HYAL2 联合 CA199 检测有助于胰腺癌的诊断。Choi 等<sup>[16]</sup>发现, 在胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 中, RHAMM 家族中的 RHAMMB 与 PDAC 患者的低生存期相

关,尤其在胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumor,PNET)肝转移模型中显著上调,可作为胰腺癌检测和判断预后的生物标志物。Li等<sup>[15]</sup>尝试在HA上引入疏水性过氧化氢响应型羧酞亚胺-硼酸盐荧光团,使其成为具有CD44靶向能力的过氧化氢响应纳米探针,其不仅能特异性识别CD44蛋白高表达的胰腺癌细胞,而且能够半定量检测循环肿瘤细胞中的过氧化氢含量,可作为肿瘤临床评价和治疗的重要指标。Qi等<sup>[16]</sup>开发了一种HA与近红外荧光(near-infrared fluorescence,NIRF)染料耦联的结合物,能强化胰腺肿瘤显像,与健康胰腺相比,结合物使肿瘤显像增强14倍,可识别肿瘤边缘和微小的隐匿性转移,在肿瘤切除过程中能提供实时指导。

### 以HA为靶点治疗胰腺癌

HA在肿瘤间质中的沉积增加,形成不流动的凝胶-液相,引起血管塌陷,提高间质流体压力,除了增加组织硬度外,还会压迫瘤内血管,导致肿瘤病灶内部低灌注和缺氧。低灌注可显著减少肿瘤内化疗药物的输送,降低化疗药物疗效;而缺氧可使肿瘤细胞具有生存优势,诱导激活相关的肿瘤通路增强其侵袭、浸润和转移能力<sup>[17]</sup>。最新研究发现,HA作为TME中含量丰富的碳水化合物聚合物,其潜在作用可能是为胰腺肿瘤供给营养物质,在营养限制的条件下为胰腺癌生长代谢提供重要来源<sup>[18]</sup>。此外,近年来,越来越多试验设计利用HYAL降解瘤内HA的特性,在临床前和早期临床研究中验证其抗肿瘤活性。

Tansi等<sup>[19]</sup>研究发现HYAL在小鼠异位胰腺癌模型中,能促进磁性纳米材料渗透到肿瘤基质中,增强磁热疗法的效能,具有根除胰腺癌等许多实体瘤的潜能。Provenzano等<sup>[20]</sup>研究发现,在小鼠模型中使用聚乙二醇重组人HYALPH20(pegvorhyaluronidase alfa,PEGPH20)降解HA,可促进塌陷的肿瘤血管重新扩张,并促进吉西他滨(gemcitabine,Gem)释放。结果显示Gem与PEGPH20联合应用有协同作用,显著抑制了肿瘤生长,提高了动物生存期。一项I期临床试验评估了PEGPH20联合Gem的安全性和耐受性,结果显示PEGPH20联合Gem具有良好的耐受性,对晚期胰腺癌患者,特别是高HA水平的肿瘤患者有治疗益处。高HA水平患者的中位无进展生存(progression-free survival,PFS)期和总生存(overall survival,OS)期分别为7.2个月和13个月,低HA水平患者的中位PFS期和OS期分别为3.5个月和5.7个月<sup>[21]</sup>。在一项名为HALO 202的II期临床试验研究中,研究者将PEGPH20与白蛋白-紫杉醇(Nab-paclitaxel,Nab-P)+Gem方案联合使用。该研究将研究对象随机分为2组:一组患者使用PEGPH20联合Nab-P+Gem组(100例),另一组和单独使用Nab-P+Gem组(160例)2组。结果显示PEGPH20联合治疗增加了患者的中位PSF期(6.0个月比5.3个月, $P=0.045$ )。特别是在高水平HA的胰腺癌患者中(占入组患者的34%),PEGPH20联合治疗组的中位PFS期显著增加(9.2个月比5.2个月, $P=0.048$ )<sup>[22]</sup>。总

之,PEGPH20是第一种在临床中证明其有效性的基质靶向性药物。

在一项美国西南肿瘤协作组(Southwest Oncology Collaborative Group, SWOG)S1313的I/II期临床试验中,研究评估了PEGPH20和改良FOLFIRINOX方案(奥沙利铂+伊立替康+5-氟尿嘧啶+亚叶酸钙)对转移性胰腺癌患者的疗效,结果表明PEGPH20可能对OS有不利影响[风险比(hazard ratio,HR)=0.48]<sup>[23]</sup>。在一项HALO-109-301的III期随机、双盲、多中心临床试验中,比较了PEGPH20联合紫杉醇+Gem与单用紫杉醇+Gem治疗晚期胰腺癌患者的疗效。500例入组患者均有高水平HA。但是,该临床试验因试验组OS期低于对照组[11.2个月比11.5个月,优势比(odd ratio,OR)=1.00, $P=0.096$ ]而宣布提前终止,试验组PFS期和OS期无改善<sup>[24]</sup>。

然而,化疗不是胰腺癌的唯一治疗选择,PEGPH20与免疫治疗或放疗的联合治疗胰腺癌正处于试验阶段,尚未得到确切临床评估。Seki等<sup>[25]</sup>已在小鼠异种移植模型中将PEGPH20与放疗联合使用,结果显示其明显改善小鼠生存时间。未来需要确定PEGPH20的使用时机、优化治疗方案以及进一步探索分子生物学机制,研究微环境和癌细胞之间的复杂关系<sup>[17]</sup>。

### HA载药治疗胰腺癌

近年有研究因HA多样的缀合修饰性、良好的稳定性、特异的靶向性、较低的免疫原性等优点,将HA应用于抗肿瘤药物传递系统,作为重要的抗肿瘤药物载体,提高抗肿瘤药物的传递效率<sup>[26]</sup>。胰腺癌细胞CD44等受体过度表达,HA可与之特异性结合,利用HA高度靶向CD44受体这一特点制备肿瘤靶向药物。

Kale等<sup>[27]</sup>利用聚L-精氨酸(pArg)和HA合成了一种纳米复合物(polyarginine-hyaluronic acid ionic nanocomplexes, pArg-HA iNC),胰腺癌细胞系对其有高摄取率,且该复合物与Gem联合对胰腺癌细胞系具有显著的协同作用,这为抗癌策略开辟新的方向<sup>[27]</sup>。Hu等<sup>[28]</sup>制备了一种用HA包覆的阳离子白蛋白纳米颗粒(HA coated cationic albumin nanoparticle, HNP),同时包裹雷公藤红素(celastrol, CLT)(从雷公藤中提取的一种五环三萜类化合物)和1-甲基色氨酸(1-methyl tryptophan, 1-MT),通过药物递送,诱导T淋巴细胞活化,加强对肿瘤细胞的免疫监视和抑癌作用。结果显示,药物可选择性地积聚在移植胰腺肿瘤和原位胰腺肿瘤部位。HNP递送MT和CLT,可逆转肿瘤免疫抑制微环境,提高抗肿瘤疗效。Serri等<sup>[29]</sup>研究用HA装饰聚乳酸-乙醇酸的可生物降解纳米颗粒(nanoparticle, NP),装载Gem和槲皮素(quercetin, QCT),该药与未修饰HA的NP药物相比,可提高胰腺癌细胞摄取并降低细胞毒性。Farag等<sup>[30]</sup>制备了HA缀合的二甲双胍-磷脂复合物(HA-metformin phospholipid sonocomplex, HA-MPS),与单用二甲双胍相比,优化后的HA-MPS具有更良好的亲脂性和靶向性。Tang等<sup>[30]</sup>开发了一

种 HA 功能化、pH 敏感的脂质体(lipoplatin, PSL) (HA-PSL) 对 Gem 耐药的胰腺癌细胞进行 Gem 药物递送, 结果表明 HA-PSL 的双重细胞内递送方法可以提高细胞摄取且降低体外细胞毒性。Comert Onder 等<sup>[31]</sup>研究发现, HA 及其共聚物形式 HA:SuC 纳米粒是有效药物载体, 在体外胰腺癌细胞模型中能输送高度疏水的癌症药物延伸因子 2 (elongation factor 2, EF2) 激酶抑制剂。Etman 等<sup>[32]</sup>开发了一种以乳铁蛋白/HA 双层包覆的奎纳克林(一种被重新定位用于治疗癌症的抗疟疾药物) 作为胰腺癌靶向控释可生物降解的纳米药物。结果显示其抗癌活性强, 抑制胰腺癌细胞迁移和侵袭, 且对主要器官没有毒性。Parayath 等<sup>[33]</sup>制备了一种 HA-聚乙烯亚胺/聚乙二醇 (HA-polyethylenimine/ polyethylene glycol, HA-PEI/PEG) 纳米颗粒包裹的 miRNA-125b, 使其对胰腺癌中肿瘤相关巨噬细胞有复极作用, 结果证实 miRNA-125b 的 HA-PEI/PEG 纳米颗粒可以转染胰腺组织中肿瘤相关的巨噬细胞, 使肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 从原肿瘤驱动 M2 表型重新编程为抗肿瘤 M1 表型, 这可能对 PDAC 的免疫治疗有影响。

综上所述, 胰腺癌是一种高度异质性的肿瘤, 其中含有丰富的细胞间质。目前, 虽然肿瘤间质中 HA 及其相关因子的研究已开展, 但是胰腺癌细胞 TME 成分、结构复杂, 尚无完整的理论体系将这些研究整合起来用于胰腺癌的诊治。一方面, 需要进一步探索不同分子量 HA 的作用机制以及调节 HA 合成及降解的相关酶家族在胰腺癌发生、发展中的作用机制; 另一方面, 对 PEGPH20 相关临床试验的失败及去间质治疗理念进一步总结反思。并且在胰腺癌的纳米药物递送、肿瘤诊断生物标志物方面, 探索 HA 更广泛的应用前景。未来, 研究者们有望以 HA 及其相关因子为切入点, 研究胰腺癌 TME, 以期投入临床实践并改善胰腺癌患者预后。

#### [参考文献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Mundry CS, Eberle KC, Singh PK, et al. Local and systemic immunosuppression in pancreatic cancer: targeting the stalwarts in tumor's arsenal[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020, 1874(1): 188387.
- [3] Polani F, Grierson PM, Lim KH. Stroma-targeting strategies in pancreatic cancer: past lessons, challenges and prospects[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(18): 2105-2121.
- [4] van Mackelenbergh MG, Stroes CI, Spijker R, et al. Clinical trials targeting the stroma in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(5): 588.
- [5] 解添淞, 马晓茜, 童彤, 等. 应用 CT 纹理分析评价胰腺癌透明质酸含量[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(3): 224-230.
- [6] Tahkola K, Ahtiainen M, Mecklin JP, et al. Stromal hyaluronan accumulation is associated with low immune response and poor prognosis in pancreatic cancer[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 12216.
- [7] Caon I, Bartolini B, Parnigoni A, et al. Revisiting the hallmarks of cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 62: 9-19.
- [8] Cyphert JM, Trempus CS, Garantzotis S. Size matters: molecular weight specificity of hyaluronan effects in cell biology[J]. Int J Cell Biol, 2015, 2015: 563818.
- [9] Garantzotis S, Savani RC. Hyaluronan biology: a complex balancing act of structure, function, location and context[J]. Matrix Biol, 2019, 78-79: 1-10.
- [10] Tavianatou AG, Caon I, Franchi M, et al. Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer[J]. FEBS J, 2019, 286(15): 2883-2908.
- [11] Bourguignon LY. Matrix hyaluronan promotes specific microRNA upregulation leading to drug resistance and tumor progression[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(4): 517.
- [12] Franklin O, Billing O, Öhlund D, et al. Novel prognostic markers within the CD44-stromal ligand network in pancreatic cancer[J]. J Pathol Clin Res, 2019, 5(2): 130-141.
- [13] 郝一, 张煦, 李红超, 等. 血浆甲基化透明质酸酶-2 检测对胰腺癌的诊断效能[J]. 山东医药, 2018, 58(31): 9-12.
- [14] Choi S, Wang D, Chen X, et al. Function and clinical relevance of RHAMM isoforms in pancreatic tumor progression[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 92.
- [15] Li C, Wang J, Lu X, et al. Hydrogen peroxide-response nanoprobe for CD44-targeted circulating tumor cell detection and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> analysis [J]. Biomaterials, 2020, 255: 120071.
- [16] Qi B, Crawford AJ, Wojtynek NE, et al. Tuned near infrared fluorescent hyaluronic acid conjugates for delivery to pancreatic cancer for intraoperative imaging[J]. Theranostics, 2020, 10(8): 3413-3429.
- [17] Hakim N, Patel R, Devoe C, et al. Why HALO 301 failed and implications for treatment of pancreatic cancer [J]. Pancreas (Fairfax), 2019, 3(1): e1-e4.
- [18] Kim PK, Halbrook CJ, Kerk SA, et al. Hyaluronic acid fuels pancreatic cancer cell growth[J]. Elife, 2021, 10: e62645.
- [19] Tansi FL, Fröbel F, Maduabuchi WO, et al. Effect of matrix-modulating enzymes on the cellular uptake of magnetic nanoparticles and on magnetic hyperthermia treatment of pancreatic cancer models *in vivo*[J]. Nano-materials (Basel), 2021, 11(2): 438.
- [20] Provenzano PP, Cuevas C, Chang AE, et al. Enzymatic

- targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cancer cell*, 2012, 21(3): 418-429.
- [21] Infante JR, Korn RL, Rosen LS, et al. Phase 1 trials of PEGylated recombinant human hyaluronidase PH20 in patients with advanced solid tumours[J]. *Br J Cancer*, 2018, 118(2):153-161.
- [22] Hingorani SR, Zheng L, Bullock AJ, et al. HALO 202: randomized phase II study of PEGPH20 plus nab-paclitaxel/gemcitabine *versus* nab-paclitaxel/gemcitabine in patients with untreated, metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(4): 359-366.
- [23] Ramanathan RK, McDonough SL, Philip PA, et al. Phase I B/II randomized study of FOLFIRINOX plus pegylated recombinant human hyaluronidase *versus* FOLFIRINOX alone in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: SWOG S1313[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(13): 1062-1069.
- [24] Van Cutsem E, Tempero MA, Sigal D, et al. Randomized phase III trial of pegvorhyaluronidase alfa with nab-paclitaxel plus gemcitabine for patients with hyaluronan-high metastatic pancreatic adenocarcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(27): 3185-3194.
- [25] Seki T, Saida Y, Kishimoto S, et al. PEGPH20, a PEGylated human hyaluronidase, induces radiosensitization by reoxygenation in pancreatic cancer xenografts[J]. *Neoplasia*, 2022, 30 :100793.
- [26] Farag MM, Abd El Malak NS, Yehia SA, et al. Hyaluronic acid conjugated metformin-phospholipid sonocomplex[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1005-1019.
- [27] Kale NR, Dutta D, Carstens W, et al. Functional applications of polyarginine-hyaluronic acid-based electrostatic complexes[J]. *Bioelectricity*, 2020, 2(2): 158-166.
- [28] Hu Y, Chen X, Xu Y, et al. Hierarchical assembly of hyaluronan coated albumin nanoparticles for pancreatic cancer chemimmunotherapy[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(35): 16476-16487.
- [29] Serri C, Quagliariello V, Iaffaioli RV, et al. Combination therapy for the treatment of pancreatic cancer through hyaluronic acid-decorated nanoparticles loaded with quercetin and gemcitabine[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4959-4969.
- [30] Tang M, Svirskis D, Leung E, et al. Can intracellular drug delivery using hyaluronic acid functionalised pH-sensitive liposomes overcome gemcitabine resistance in pancreatic cancer?[J]. *J Control Release*, 2019, 305: 89-100.
- [31] Comert Onder F, Sagbas Suner S, Sahiner N, et al. Delivery of small molecule EF2 kinase inhibitor for breast and pancreatic cancer cells using hyaluronic acid based nanogels[J]. *Pharm Res*, 2020, 37(3): 63.
- [32] Etman SM, Abdallah OY, Mehanna RA, et al. Lactoferrin/hyaluronic acid double-coated lignosulfonate nanoparticles of quinacrine as a controlled release biodegradable nanomedicine targeting pancreatic cancer[J]. *Int J Pharm*, 2020, 578: 119097.
- [33] Parayath NN, Hong BV, Mackenzie GG, et al. Hyaluronic acid nanoparticle-encapsulated microRNA-125b repolarizes tumor-associated macrophages in pancreatic cancer [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2021, 16(25): 2291-2303.

(收稿日期:2022-06-05)

(本文编辑:田 甜)