

唑来膦酸在乳腺癌中抗肿瘤作用的研究进展

于海宁,钱 诚

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院,黑龙江 哈尔滨 150081)

摘 要:唑来膦酸(ZOL)是第三代双膦酸盐类药物的典型代表,在已上市的双膦酸盐类药物中应用最广泛、综合疗效最好,现已作为乳腺癌骨转移的常规治疗药物。多项临床前研究及临床研究已证实,唑来膦酸对肿瘤细胞有直接或间接的抑制作用,联合其他辅助治疗(化疗和内分泌治疗)可发挥协同作用,对改善乳腺癌患者术后生存、抑制复发及转移具有重要作用,本文就上述研究进展作一综述。

关键词:乳腺肿瘤;唑来膦酸;抗肿瘤药物

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2017)06-0460-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.06.A009

Research Progress in Antitumor Effects of Zoledronic Acid in Breast Cancer

YU Hai-ning, QIAN Cheng

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: Zoledronic acid (ZOL) is the third generation of bisphosphonates, it is used as the standard therapy for bone metastases in breast cancer and shows excellent therapeutic effect. Several preclinical and clinical studies indicate that ZOL can inhibit tumor cells directly or indirectly, exert synergistic effect with chemotherapy and endocrine therapy. ZOL can significantly reduce cancer recurrence and metastasis, and improve postoperative survival of breast cancer patients. This article reviews the research progress on the antitumor of zoledronic acid in breast cancer.

Key words: breast neoplasms; zoledronic acid; antitumor drug

乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤之一,全球范围内每年新发病例约 140 万^[1]。2015 年中国乳腺癌新发病例约 27.2 万例,死亡病例约 7.0 万例^[2]。骨骼为晚期乳腺癌常见的侵犯部位,转移性乳腺癌患者中约有 80% 合并骨转移,治疗乳腺癌骨转移迫在眉睫^[3]。双膦酸盐类药物是一类能够与含钙结晶体高度亲和的人工合成药物^[4]。目前,双膦酸盐已被批准作为阻止乳腺癌骨转移所致骨相关事件的标准治疗药物^[5]。第一代双膦酸盐类药物包括依替膦酸和氯屈膦酸;第二代包括帕米膦酸和阿仑膦酸;第三代则包括唑来膦酸、伊班膦酸和利塞膦酸等。双膦酸盐由于其强大的抗骨吸收作用,在临床上主要用于治疗代谢性骨病,如骨质疏松、Paget 骨病、多发性骨髓瘤以

及实体瘤的骨转移等^[6]。与其他同类药物相比,唑来膦酸具有疗效高、用药剂量小、给药途径方便和安全性高等特点。近年来,多项研究表明,唑来膦酸对乳腺癌、卵巢癌、骨肉瘤和前列腺癌等实体瘤及多发性骨髓瘤有呈剂量相关的抗肿瘤作用^[7]。随着唑来膦酸在临床上的广泛应用,其抗肿瘤作用及相关机制越发成为研究热点,本文将就其抗乳腺癌作用的研究进展作一综述。

1 唑来膦酸抗乳腺癌作用的临床前研究

1.1 唑来膦酸改变骨髓微环境

唑来膦酸在骨髓微环境中,能够对成骨细胞、巨噬细胞、骨髓来源抑制细胞以及间充质干细胞发挥抑制作用^[8,9]。间充质干细胞具有分泌趋化因子和白

收稿日期:2016-09-12;修回日期:2016-11-22

基金项目:黑龙江省教育厅海外学人科研资助项目(1253HQ002)

通讯作者:钱 诚, E-mail: Qiancheng@ems.hrbmu.edu.cn

细胞介素-6的能力,两者能够促进乳腺癌细胞侵袭和迁移。Gallo等^[10]在体外研究中证实,唑来膦酸能够显著降低间充质干细胞的迁移和分泌能力,从而抑制乳腺癌细胞的侵袭。

1.2 唑来膦酸抑制乳腺癌细胞侵袭和增殖

研究发现,肿瘤相关的巨噬细胞能够促进癌细胞的侵袭^[11]。Rietkötter等^[11]将巨噬细胞与乳腺癌MCF-7细胞共培养并加入1 μ mol/L唑来膦酸,96h后检测MCF-7细胞的侵袭率。结果证实,唑来膦酸能够显著降低巨噬细胞诱导的MCF-7细胞的侵袭性。在Jiang等^[12]的研究中发现,将不同剂量的唑来膦酸加入人乳腺癌MDA-MD-432细胞中,随着唑来膦酸剂量的增加和时间的推移,细胞增殖水平明显受到抑制,而无唑来膦酸组细胞增殖迅速。表明唑来膦酸对肿瘤细胞具有显著的增殖抑制作用。

1.3 唑来膦酸抑制血管生成

Misso等^[13]研究发现,将人乳腺癌CG5细胞接种于无胸腺的裸鼠并建立移植瘤模型,使用唑来膦酸20 μ g处理小鼠,结果显示,唑来膦酸能够在基质胶塞试验中抑制基质胶内血管生成,并且对CG5移植瘤体的生长和瘤体内新血管的生成发挥抑制作用。Tsai等^[14]发现,使用低剂量(30mg/kg)及高剂量(100mg/kg)的唑来膦酸处理小鼠后,毛细血管的密度在低剂量肿瘤组织低于高剂量肿瘤组织。进一步研究发现,使用高剂量唑来膦酸处理的小鼠组织中,表现出内皮祖样细胞的调动受损和血管内皮生长因子活性水平降低。由此表明唑来膦酸具有抑制新生血管的作用。

1.4 唑来膦酸增强内分泌治疗的疗效

体外研究证实,唑来膦酸可以增加内分泌治疗的效果^[15]。激素受体阳性的乳腺癌细胞每24h应用来曲唑(100nmol/L)、唑来膦酸(10 μ mol/L)、来曲唑同时联合唑来膦酸、来曲唑序贯唑来膦酸进行观察。结果显示,来曲唑同时或序贯唑来膦酸诱导乳腺癌细胞凋亡水平与单独使用每种药物相比有显著提高,证实了唑来膦酸具有协同诱导乳腺癌细胞凋亡的作用。

1.5 唑来膦酸对细胞毒性药物的协同作用

研究表明,唑来膦酸可使细胞毒性药物对肿瘤的抑制效果增强,具有协同和附加作用。Ottewell等^[16]将

人乳腺癌MDA-MB-436细胞接种于雌性MF1裸鼠建立的移植瘤模型,在第7天对小鼠分别注射唑来膦酸、0.9%氯化钠注射液、多柔比星、唑来膦酸注射24h后序贯注射多柔比星、多柔比星注射24h序贯注射唑来膦酸、多柔比星同时联合注射唑来膦酸(共6组);所有组小鼠每周注射1次药物,持续6周。结果发现,多柔比星注射24h后序贯注射唑来膦酸和多柔比星同时联合注射唑来膦酸这2组抑制肿瘤生长效果显著,多柔比星注射24h后序贯注射唑来膦酸组肿瘤几乎完全停止生长,其余各组均未发现明显抗肿瘤效果,这说明化疗后使用唑来膦酸能发挥显著的抗肿瘤作用。

1.6 唑来膦酸通过免疫调节发挥抗肿瘤作用

$\gamma\delta$ T细胞被认为是介于获得性与天然免疫之间的特殊免疫细胞类型,在机体抗感染、自身免疫疾病及抗肿瘤等过程中起重要作用。Santini等^[17]将4mg唑来膦酸溶于100ml生理盐水中,对23例乳腺癌术后的患者进行单次给药,每间隔一段时间检测外周血细胞数量。结果发现,经唑来膦酸治疗后,外周血中幼稚型和中心记忆型 $\gamma\delta$ T细胞数量较正常值明显减少,提示唑来膦酸能够诱导 $\gamma\delta$ T细胞亚型的迁移和重新分布。此外,在唑来膦酸治疗的第56天和第90天,效应记忆型 $\gamma\delta$ T细胞在外周血中明显减少。该细胞分布在病变部位,能够产生 γ 干扰素,是对肿瘤发挥作用最有效的细胞。证实唑来膦酸能够活化效应细胞亚群,刺激其迁移到周围组织中发挥作用。Vg9Vd2 T细胞是 $\gamma\delta$ T细胞的亚群,具有抗肿瘤活性,Benzaïd等^[18]进一步研究发现,唑来膦酸可以活化该细胞并诱导其增殖发挥潜在抗肿瘤作用。

唑来膦酸既可以通过抑制肿瘤细胞粘附^[19]、侵袭^[11]、增殖^[12]和诱导细胞凋亡^[15,20]发挥直接的抗肿瘤作用,也可以通过增加细胞毒性药物的作用效果^[16,21]、抗血管生成^[22]以及免疫调节^[17,18]等机制间接发挥抗肿瘤作用。

2 唑来膦酸抗肿瘤作用的临床研究

唑来膦酸联合新辅助化疗降低复发(neo-adjuvant zoledronic acid to reduce recurrence,AZURE)试验,是第一个在唑来膦酸联合新辅助化疗患者中,探

究唑来膦酸抗肿瘤作用的随机对照试验。该试验将3360例Ⅱ和Ⅲ期乳腺癌患者根据是否加用唑来膦酸分为联合治疗组和非联合治疗组。中位随访时间为59个月,结果表明两组患者的无病生存(disease free survival,DFS)和总生存(overall survival,OS)无显著差异。在新辅助化疗组的205例患者中,将病理估计的残余肿瘤最大直径(residual invasive tumour size, RITS)作为主要研究终点,病理完全缓解率(pathological complete response,pCR)和腋窝淋巴结受累作为次要研究终点。结果表明,加用唑来膦酸的联合用药组RITS明显小于非联合用药组(15.5mm vs 27.4mm),提示唑来膦酸联合新辅助化疗对治疗乳腺癌有协同作用^[23]。对于绝经5年以上的患者,数据表明辅助化疗联合唑来膦酸组的无侵袭性疾病生存(invasive disease free survival,IDFS)为78.2%,高于非联合治疗组的71.0%($P=0.02$)^[23]。后期的研究数据表明,在辅助治疗中加入唑来膦酸不能使总体人群生存受益。但在绝经5年以上的患者中,联合唑来膦酸组的IDFS仍有显著改善^[24]。雌激素水平越低,唑来膦酸的这种协同作用越高效^[24-26]。

奥地利乳腺癌和结直肠癌研究小组(Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group)开展的ABCSG-12试验是观察内分泌治疗联合唑来膦酸对绝经前期雌激素反应型乳腺癌患者治疗效果的Ⅲ期随机临床试验。将DFS作为首要研究终点;OS和无复发生存作为次要研究终点。以戈舍瑞林(3.6mg/28d)随机加用他莫昔芬(20mg/d)或阿那曲唑(1mg/d)联合或不联合唑来膦酸(4mg/6个月,持续3年)将1803例患者随机分为4组。48个月和62个月随访发现,加用唑来膦酸后患者的DFS显著提高,疾病复发风险显著降低^[26]。最新的94.4个月的随访结果分析得出,加用唑来膦酸可将患者的DFS和OS分别提高3.4%和2.2%,DFS时间显著延长;对于雌激素反应型乳腺癌患者,唑来膦酸联合内分泌治疗能够增加其治疗效果,并能保持长期生存受益^[27]。与此同时,加用唑来膦酸组患者的局部复发(25例 vs 40例)和远处转移(58例 vs 67例)数量均有减少,提示唑来膦酸的抗肿瘤活性不仅仅局限于骨,潜在的机制可能由于唑来膦酸抑制骨髓中残留的肿瘤细胞,使其向局部组织和对侧乳腺侵犯的时间延长^[28]。ABCSG-12试验中年龄亚组结果分析表明,对 ≤ 40 岁患者,

唑来膦酸没有降低相关疾病复发风险,而年龄 >40 岁患者疾病复发风险显著降低^[29]。这一结果同AZURE试验结果相似,表明低雌激素水平可能是唑来膦酸发挥潜在抗肿瘤作用的重要因素^[27,29,30]。

择泰—弗隆辅助协同试验(Zometa-Femara Adjuvant Synergy Trial,ZO-FAST)旨在评估唑来膦酸(择泰)对绝经后激素受体阳性的乳腺癌患者服用来曲唑(弗隆)治疗所致骨丢失的防护作用。该试验将1065例患者以来曲唑(2.5mg/d)同时或延迟加用唑来膦酸(4mg/6个月)为标准分为同时治疗组和延迟治疗组,首要研究终点是在1年后腰椎骨密度改变;次要研究终点为DFS和OS。随访60个月发现,同时治疗组相比延迟治疗组DFS相对危险度降低34%,这一数据较36个月随访时的41%有所降低;局部复发(0.9% vs 2.3%)和远处转移(5.5% vs 7.7%)也明显降低^[31,32]。延迟治疗组中,联合唑来膦酸较单独使用内分泌治疗更能提高患者的DFS^[33]。这些结果表明,起始应用唑来膦酸治疗优于延迟应用唑来膦酸治疗,唑来膦酸不仅可以降低复发风险,且对内分泌治疗有协同作用,并能够使乳腺癌患者保持长期生存受益。

NEOZOTAC试验旨在评估乳腺癌患者在新辅助治疗过程中加入唑来膦酸是否获益。该试验以Ⅱ或Ⅲ期Her-2阴性乳腺癌患者应用多西他赛+阿霉素+环磷酰胺方案是否联合使用唑来膦酸分为两组。结果表明,联合使用唑来膦酸治疗组与对照组相比,pCR率和临床有效率并没有提高^[34]。Kroep等^[30]将4个随机临床试验进行了荟萃分析,证实乳腺癌患者在新辅助化疗中加入唑来膦酸不能提升pCR率,结果与NEOZOTAC试验一致。但数据提示,对已绝经患者使用唑来膦酸可能使化疗的效果得到增强,还需要进一步的临床试验来探究证实。早期乳腺癌试验协作组在对18766例乳腺癌患者进行荟萃分析后证实:在早期绝经后乳腺癌患者中,辅助双膦酸盐治疗可以显著降低复发率、骨转移风险和乳腺癌死亡率,对改善乳腺癌生存发挥重大作用。因此,绝经后乳腺癌患者辅助唑来膦酸治疗可以降低骨转移,改善预后^[24,33]。

AZURE试验证实,绝经5年以上的乳腺癌患者,辅助化疗联合使用唑来膦酸可以明显改善患者的DFS和OS;ABCSG-12试验表明,唑来膦酸联合

内分泌治疗能降低雌激素反应型乳腺癌患者的局部复发和远处转移风险,并能保持长期生存受益;这2项试验得出的结论相似,即生殖激素水平的高低与唑来膦酸的抗乳腺癌作用密切相关。ZO-FAST试验进一步证实了唑来膦酸与内分泌治疗药物联合对乳腺癌患者的协同作用。早期乳腺癌试验协作组证实,对于早期绝经后乳腺癌患者,辅助唑来膦酸治疗可以显著改善预后。

3 结 语

唑来膦酸已经成为乳腺癌治疗的一个重要的组成部分。除了在防治骨丢失和降低骨相关事件中发挥作用外,大量证据证实了唑来膦酸的抗肿瘤作用,并且与内分泌治疗和化疗具有协同作用。目前的研究结果支持绝经后乳腺癌患者在辅助治疗中联合唑来膦酸能够生存受益,但是将唑来膦酸作为乳腺癌辅助或新辅助治疗的常规药物尚无充足的证据。此外,唑来膦酸确切的抗肿瘤机制(特别是绝经后女性患者)、适宜人群、安全性、用药剂量及用药时机等众多问题仍然需要进一步的研究,这也是今后将要关注和研究的方向。

参考文献:

- [1] Siegel R,Naishadham D,Jemal A. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin,2013,63(1):11-30.
- [2] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [3] Coleman RE. Adjuvant bisphosphonates in breast cancer: Are we witnessing the emergence of a new therapeutic strategy?[J]. Eur J Cancer,2009,45(11):1909-1915.
- [4] Huang C,Wang SY,Weng XS. Progress of bisphosphonates in clinical application [J]. Journal of Practical Orthopaedic,2016,22(1):39-42.[黄诚,王诗尧,翁习生. 双膦酸盐类药物在临床应用中的进展[J]. 实用骨科杂志,2016,22(1):39-42.]
- [5] Santini D,Stumbo L,Spoto C,et al. Bisphosphonates as anticancer agents in early breast cancer:preclinical and clinical evidence[J]. Breast Cancer Res,2015,17(1):1-7.
- [6] Qiu JD,Li R,Wang JD. Advances in antitumor effects of zoledronic acid in breast cancer[J]. Academic Journal of Chinese PLA Medical School,2015,36(6):634-636.[邱镜

- 丹,李荣,王建东. 唑来膦酸在乳腺癌中抗肿瘤作用的研究进展[J]. 解放军医学院学报,2015,36(6):634-636.]
- [7] Qiao JJ,Zhang Y. Progress of zoledronic acid on antiangiogenesis effects [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment,2014,41(1):79-82.[乔京京,张阳. 唑来膦酸抗肿瘤血管生成作用研究进展[J]. 肿瘤防治研究,2014,41(1):79-82.]
- [8] Roelofs AJ,Thompson K,Ebeto FH,et al. Bisphosphonates;molecular mechanisms of action and effects on bone cells,monocytes and macrophages[J]. Curr Pharm Des,2010,16(27):2950-2960.
- [9] Karnoub AE,Dash AB,Vo AP,et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis[J]. Nature,2007,449(7162):557-563.
- [10] Gallo M,De Luca A,Lamura L,et al. Zoledronic acid blocks the interaction between mesenchymal stem cells and breast cancer cells:implications for adjuvant therapy of breast cancer[J]. Ann Oncol,2012,23(3):597-604.
- [11] Rietkötter E,Menck K,Bleckmann A,et al. Zoledronic acid inhibits macrophage/microglia-assisted breast cancer cell invasion[J]. Oncotarget,2013,4(9):1449-1460.
- [12] Jiang P,Zhang P,Mukthavaram R,et al. Anti-cancer effects of nitrogen-containing bisphosphonates on human cancer cells[J]. Oncotarget,2016,36(7):57932-57942.
- [13] Misso G,Porru M,Stoppacciaro A,et al. Evaluation of the in vitro and in vivo antiangiogenic effects of denosumab and zoledronic acid[J]. Cancer Biol Ther,2012,13(14):1491-1500.
- [14] Tsai SH,Huang PH,Chang WC,et al. Zoledronate inhibits ischemia-induced neovascularization by impairing the mobilization and function of endothelial progenitor cells[J]. PLoS One,2012,7(7):e41065.
- [15] Neville-Webbe HL,Coleman RE,Holen I. Combined effects of the bisphosphonate,zoledronic acid and the aromatase inhibitor letrozole on breast cancer cells in vitro: evidence of synergistic interaction[J]. Br J Cancer,2010,102(6):1010-1017.
- [16] Ottewell PD,Monkkonen H,Jones M,et al. Antitumor effects of doxorubicin followed by zoledronic acid in a mouse model of breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst,2008,100(16):1167-1178.
- [17] Santini D,Martini F,Fratto ME,et al. In vivo effects of zoledronic acid on peripheral gamma/delta T lymphocytes in early breast cancer patients[J]. Cancer Immunol Immunother,2009,58(1):31-38.
- [18] Benzaïd I,Mönkkönen H,Stresing V,et al. High phospho-antigen levels in bisphosphonate-treated human breast tu-

- mors promote Vγ9Vδ2 t-cell chemotaxis and cytotoxicity in vivo[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(13):4562–4572.
- [19] Zekri J, Mansour M, Karim SM. The anti-tumour effects of zoledronic acid[J]. *Bone Oncol*, 2014, 3(1):25–35.
- [20] Tamura T, Shomori K, Nakabayashi M, et al. Zoledronic acid, a third-generation bisphosphonate, inhibits cellular growth and induces apoptosis in oral carcinoma cell lines [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(4):1139–1143.
- [21] Hattori Y, Shibuya K, Kojima K, et al. Zoledronic acid enhances antitumor efficacy of liposomal doxorubicin [J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(1):211–219.
- [22] Chen H, Wang CS, Li M, et al. A novel angiogenesis model for screening anti-angiogenic compounds: the chorioallantoic membrane/ feather bud assay[J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(1):71–79.
- [23] Coleman RE, Marshall H, Cameron D, et al. Breast-cancer adjuvant therapy with zoledronic acid [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(15):1396–1405.
- [24] Coleman R, Cameron D, Dodwell D, et al. Adjuvant zoledronic acid in patients with early breast cancer: final efficacy analysis of the AZURE (BIG 01/04) randomised open-label phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(9):997–1006.
- [25] Gnant M. Zoledronic acid in breast cancer: latest findings and interpretations[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2011, 3(6):293–301.
- [26] Gnant M, Mlineritsch B, Stoeger H, et al. Adjuvant endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal women with early stage breast cancer: 62-month follow-up from the ABCSG-12 randomised trial[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(7):631–641.
- [27] Gnant M, Mlineritsch B, Stoeger H, et al. Zoledronic acid combined with adjuvant endocrine therapy of tamoxifen versus anastrozol plus ovarian function suppression in premenopausal early breast cancer: final analysis of the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group Trial 12 [J]. *Ann Oncol*, 2014, 26(2):313–320.
- [28] Gnant M, Clezardin P. Direct and indirect anticancer activity of bisphosphonates: a brief review of published literature[J]. *Cancer Treat Rev*, 2011, 38(5):407–415.
- [29] Paterson AH, Anderson SJ, Lembersky BC, et al. Oral clodronate for adjuvant treatment of operable breast cancer (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol B-34): a multicentre, placebo-controlled, randomised trial[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(7):734–742.
- [30] Kroep JR, Charehbili A, Coleman RE, et al. Effects of neoadjuvant chemotherapy with or without zoledronic acid on pathological response: a meta-analysis of randomised trials[J]. *Eur J Oncol*, 2015, 54(54):57–63.
- [31] Eidtmann H, de Boer R, Bundred N, et al. Efficacy of zoledronic acid in postmenopausal women with early breast cancer receiving adjuvant letrozole: 36-month results of the ZO-FAST study [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(11):2188–2194.
- [32] Coleman R, de Boer R, Eidtmann H, et al. Zoledronic acid (zoledronate) for postmenopausal women with early breast cancer receiving adjuvant letrozole (ZO-FAST study): final 60-month results[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(2):398–405.
- [33] Group EBCTC. Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials [J]. *Lancet*, 2015, 386(10001):1353–1361.
- [34] Charehbili A, Vand VS, Smit VT, et al. Addition of zoledronic acid to neoadjuvant chemotherapy does not enhance tumor response in patients with HER2-negative stage II/III breast cancer: the NEOZOTAC trial (BOOG 2010-01)[J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(5):998–1004.

关于开具版面费发票提供税号的通知

由于营改增的实施,从2016年5月起,本刊的版面费发票改为国税发票,如您的版面费发票抬头为贵单位名称,需提供贵单位的税号或组织机构代码证号,请您在百忙中,向贵单位财务部门咨询一下!并在本刊投稿网站作者版面费登记栏中,完善税号登记信息,以便本刊开具发票;如果您的版面费发票抬头是个人,则不需税号。谢谢合作!