



符立梧, 教授, 博士研究生导师。中山大学肿瘤防治中心职代会常设委员会主任, 抗癌药物研究室主任, 伦理委员会副主任。广东省药理学学会肿瘤药理专业委员会和广东省抗癌协会抗肿瘤药物专业委员会荣誉主任委员。Acta Pharm Sin B、Drug Resist Update、Cancer Commun、Am J Cancer Res、Mol Pharmacol等国内外30多种杂志编委。先后主持国家自然科学基金联合重点项目和面上项目、863项目、973课题、国家科技重大专项课题等科研项目多项, 相关研究成果发表在Cancer Res、Mol Cancer、Adv Sci、Signal Transduct Target Ther、Drug Resist Updat、Nat Commun、Acta Pharm Sin B等国际知名期刊。获得首届中国药理学学会-Servier奖、中国抗癌协会科技成果一等奖、广东省科技进步奖一等奖(自然科学类)、教育部科技进步二等奖、广东省丁颖奖、广东省特支计划领军人才和第一批广东省医学领军人才。

肿瘤耐药机制及其干预策略的新进展

王芳¹ 付凯¹ 潘灿¹ 朱双丽¹ 李思佳¹ 兰月录¹ 杨启红^{1,2} 符立梧^{1*}

(¹华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省鼻咽癌诊治研究重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060; ²深圳市龙华区人民医院, 深圳 518109)

摘要 肿瘤细胞产生耐药性是治疗失败的主要原因之一。导致肿瘤原发性或获得性治疗耐药的机制包括肿瘤负荷、肿瘤异质性、物理屏障、免疫系统与肿瘤微环境等, 这些机制可以单独或联合作用, 通过各种信号转导途径介导肿瘤耐药。如何判定不同类型肿瘤细胞对不同治疗药物产生耐药的主要机制, 并制定精准高效的干预策略是当前肿瘤药物治疗领域亟需解决的关键问题。该文系统地阐述了肿瘤耐药机制及其应对策略的相关研究进展, 旨在为肿瘤耐药的预防或采取有针对性的干预措施提供新的思路。

关键词 肿瘤; 药物治疗; 耐药机制; 干预策略

New Mechanisms and Intervention Strategies to Overcome Drug Resistance in Cancer

WANG Fang¹, FU Kai¹, PAN Can¹, ZHU Shuangli¹, LI Sijia¹, LAN Yuelu¹, YANG Qihong^{1,2}, FU Liwu^{1*}

(¹State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Key Laboratory of Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis and Therapy, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China; ²People's Hospital of Longhua, Shenzhen 518109, China)

Abstract Drug resistance is the leading cause of treatment failure in cancer. The mechanisms leading to both primary and acquired resistance are complex and dynamic, including tumor burden, tumor heterogeneity, phys-

收稿日期: 2024-12-11

接受日期: 2025-01-13

广东省基础与应用基础研究基金(批准号: 2023B1515130009)和广州市科技计划重点项目(批准号: 2023B03J0029)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87343163, E-mail: fulw@mail.sysu.edu.cn

Received: December 11, 2024

Accepted: January 13, 2025

This work was supported by the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (Grant No.2023B1515130009) and the Key Project of Science Technology Program of Guangzhou (Grant No.2023B03J0029)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87343163, E-mail: fulw@mail.sysu.edu.cn

ical barriers, immune system and tumor microenvironment, etc. These mechanisms can act alone or in combination, contributing to cancer drug resistance through different signaling pathways. The key challenges in overcoming drug resistance are investigating the main mechanisms and developing effective intervention strategies. In this paper, the latest research progress on the mechanisms of cancer drug resistance and therapeutic strategies are systematically reviewed, and potential future directions are also suggested.

Keywords tumor; pharmacotherapy; drug resistance mechanism; coping strategies

耐药几乎存在于所有类型的肿瘤和所有抗癌药物中,是肿瘤治疗面临的重大挑战。肿瘤耐药是宿主、肿瘤细胞、免疫系统与肿瘤微环境共同作用的结果。耐药的机制复杂且处于动态变化中,微环境的改变、肿瘤细胞在治疗压力下发生基因突变等诸多复杂的因素都可能诱发耐药,不同的影响因素可以同时发生在单个肿瘤中。深入阐明肿瘤药物治疗的耐药机制、探索克服耐药的应对策略是实现肿瘤精准治疗,提高治疗效果的当务之急。

本文将从肿瘤内药物蓄积减少、药物灭活、基因突变、代偿通路激活、细胞死亡方式、DNA损伤

修复和表观遗传学改变、肿瘤可塑性以及肿瘤微环境八个方面详细阐述当前肿瘤耐药机制及应对策略的相关研究进展。此外,基于免疫治疗的机制和免疫微环境的复杂性及功能多样性,我们对免疫治疗的抵抗机制及干预进行了单独的阐述(图1)。

1 肿瘤内药物蓄积减少

1.1 药物外排增加

ATP结合盒转运蛋白家族(ATP binding cassette transporters, ABC转运泵)能将已进入细胞的外源性物质从胞内泵出胞外,是介导肿瘤细胞多药耐药

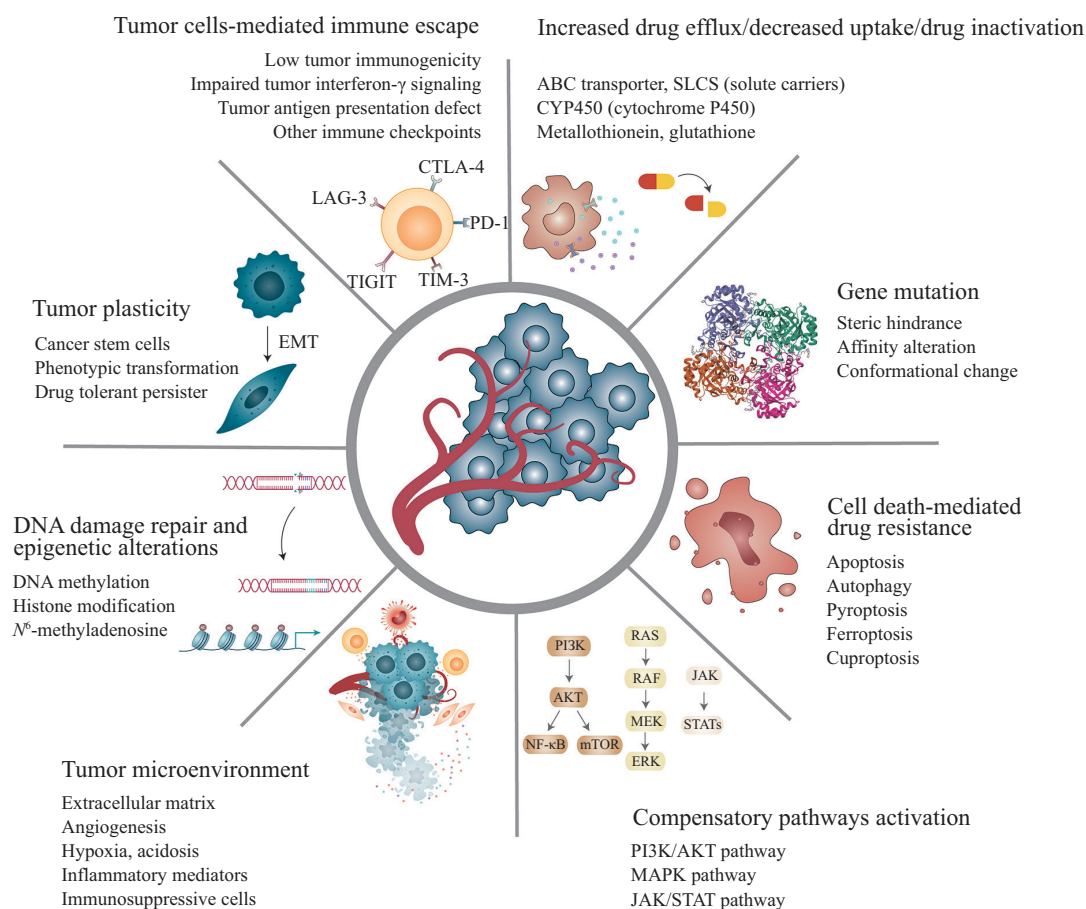


图1 肿瘤耐药潜在机制

Fig.1 Potential mechanisms of tumor drug resistance

(multidrug resistance, MDR)的主要原因。ABC转运泵利用ATP水解产生的能量将药物逆浓度地排出胞外,使其在细胞内积累减少,因而产生抗药性^[1-2]。MOELLER团队^[3]应用低温电子显微镜成功解析了由两个不同的蛋白质亚基组成的ABC出口复合物的八个高分辨率构象和转运过程的各个阶段。中国科学技术大学研究人员利用单颗粒冷冻电镜技术解析了人类超长链脂酰辅酶A转运蛋白ABCD1和多药耐药蛋白ABCC2的无配基结合、底物结合以及ATP结合三种不同构象的蛋白质结构^[4]。上述新近研究为ABC转运蛋白的功能研究及其抑制剂的研发提供了重要的结构基础。

我们团队研究发现化疗药物可通过上调耐药细胞中Rab8B表达引起膜微粒释放增加并促进敏感细胞中Rab5调控的膜微粒再循环,促进ABCB1的细胞间转移,使敏感细胞获得功能性“暂时”耐药表型以逃避化疗杀伤。从外泌体的分泌调控、内吞及再循环等方面研究化疗药物促进ABCB1细胞间转移的分子机制,为解释肿瘤细胞瞬时获得暂时耐药性,逃避化疗杀伤提出一种新理论,为预防与克服其介导的多药耐药提供新思路和新策略^[5]。

1.2 药物摄取减少

细胞膜上的另一个转运蛋白超家族溶质转运蛋白(solute carriers, SLCs)主要介导各种溶质(如葡萄糖、氨基酸和脂类)的膜运输并维持细胞内环境稳定^[6]。研究报道甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、8-氮杂鸟嘌呤和顺铂等借助SLCs进入细胞内发挥药效,而肿瘤细胞可通过抑制SLCs的表达,减少药物摄取^[7]。

此外,SLCs的突变也与化疗药物的耐药息息相关。SLC介导的抗癌药物转运涉及抗叶酸类药物甲氨蝶呤,其中SLC19A1优先介导还原型叶酸及其衍生物的转运,在体外对抗叶酸耐药的癌细胞系中检测到SLC19A1功能丧失突变,证实其与临床耐药有关^[8-10]。SLC28家族是转运核苷类药物的载体蛋白,功能基因组研究表明,SLC28A1的常见遗传变异可能导致抗癌核苷类似物的全身和细胞内水平发生变化^[11]。以上研究表明,SLCs表达受到抑制或功能突变均会使药物摄取减少,影响抗癌药物的敏感性。

1.3 干预策略

开发MDR逆转剂,与传统抗癌药物联合应用,恢复MDR细胞对传统抗癌药物的敏感性是克服MDR的主要策略。但目前已开发的MDR逆转剂均

因严重的毒副作用,未能应用于临床。

此外,目前已研究出多种策略降低由药物蓄积减少引发的耐药。例如,利用RNAi或CRISPR/Cas9等技术降低或沉默ABC转运蛋白的表达可以有效减少其介导的药物外排^[12]。另外,多项研究已证实联合新的药物递送策略如新型双药协同递送纳米系统、化疗药物酶/光双控定点递送和缓释系统及双纳米粒子系统等均可有效克服肿瘤化疗耐药^[13-15]。而且,国家纳米科学中心研发了一种具有双响应性Pt(IV)/Ru(II)的双功能聚合物(PolyPt/Ru),有效克服了顺铂耐药^[16]。这些研究为将来的临床应用提供了新的方向。

2 药物灭活

许多抗肿瘤药物必须经过代谢活化才能发挥作用,而肿瘤细胞则可以通过减少药物活化产生抗药性。例如,阿糖胞苷体内代谢的限速酶脱氧胞苷激酶表达或功能异常均可诱导耐药^[17]。细胞色素P450 3A4酶(CYP3A4)和尿苷二磷酸葡萄糖醛糖基转移酶1A,都参与了伊立替康无活性代谢产物的形成,使其代谢易于受到环境和遗传因素的影响^[18]。谷胱甘肽和金属硫蛋白等可以与进入细胞内的铂类药物形成加合物,从而导致铂的失活^[19]。

3 基因突变

肿瘤突变负荷和异质性是靶向药物最常见的耐药机制。全基因组测序结果显示,与亲代细胞相比,靶向药物治疗后的肿瘤细胞基因突变频率更高^[20]。

3.1 空间位阻

靶向激酶的“看门突变”(gatekeeper mutation)是最常见的获得性耐药机制,比如伊马替尼作用靶点BCR-ABL T315I突变。ABL第315位氨基酸由小而亲水的苏氨酸突变为大而亲脂的异亮氨酸,致使伊马替尼与靶点结合的空间位阻增加,亲和力降低^[21]。ALK L1196M突变位于ATP结合域的底部,突变后形成空间位阻,影响药物与靶点结合,是克唑替尼耐药的重要突变^[22]。FGFR2第564氨基酸由结构较小的缬氨酸突变为结构更大的苯丙氨酸、异亮氨酸或亮氨酸,可以导致泛FGFR抑制剂耐药^[23-26]。

3.2 亲和力改变

部分靶点药物通过竞争辅因子或底物发挥作

用,当目标蛋白与辅因子或底物之间的亲和力增强,耐药性就随之产生。典型代表EGFR T790M突变增加了EGFR与ATP之间的亲和力,导致了药物活性显著降低^[25]。此外,FGFR2其他位点如N549、K658以及E565等发生突变,可以导致靶蛋白和药物竞争性底物的亲和力增加从而使肿瘤细胞对FGFR2抑制剂产生耐药性^[24]。

3.3 构象变化

BCR-ABL Y253C和E255K/V等突变破坏了蛋白质的非活性构象,从而导致“II型”抑制剂结合的非活性蛋白质构象不稳定而耐药。该类突变主要发生在激酶的“P环”^[27]。ALK基因突变引起的“P环”构象改变是第一/二代抑制剂耐药的常见突变,如塞瑞替尼治疗失败后常见的F1174C/L/V突变^[28]。除管家残基区(L1196M)突变外,ALK基因的其他耐药突变散布在激酶结构域的各个区域,包括溶剂前沿(G1202R、D1203N及L1198F)、ATP结合区(G1269A)和 α C-螺旋N末端(I151Tins、L1152R和C1156Y)。溶剂前沿G1202R突变导致的构象变化使ALK抑制剂与结合袋之间的快速解离,是第二代ALK抑制剂治疗后最常见的继发耐药机制;L1198F突变导致蛋白ATP结合位点的构象变化使得肿瘤细胞对劳拉替尼耐药^[29]。此外,在奥希替尼治疗耐药的患者中也检测到EGFR溶剂前沿突变EGFR G796S/R、C797S/G和L792F/H^[30]。

3.4 干预策略

针对基因突变引起耐药的问题,干预策略主要包括药物结构优化、设计共价抑制剂和别构抑制剂,以及非经典结合模式、蛋白水解靶向嵌合体 and 靶向多位点等新型药物的研发。

通过分析突变蛋白与小分子共晶结构,在原有小分子上优化化合物结构,设计筛选新的克服耐药的化合物^[31]。其中最具有代表性的例子是二代和三代ALK-TKIs的开发。二代赛瑞替尼可以限制ALK野生型和突变型复合物中P环的构象改变,对除G1202R及F1174C耐药突变外的多数耐药突变有明显疗效。三代劳拉替尼可以克服包括G1202R在内的多种ALK耐药突变。多项研究已证实克唑替尼序贯ALK-TKIs的治疗模式可使转移性非小细胞肺癌患者的总生存期达7年以上^[32]。

设计不同结合模式的抑制剂也是克服靶向药物耐药的有效策略之一。共价抑制剂可通过利用靶蛋白活性口袋中的亲核氨基酸残基与小分子抑制剂

中的亲电基团形成共价键^[31]。如三代EGFR-TKI奥西替尼通过不可逆的共价结合于EGFR C797位点,克服了T790M突变产生的耐药。靶向ABL激酶别构位点肉豆蔻酸口袋的抑制剂阿西米尼可以有效地抑制ABL T315I突变激酶活性,克服肿瘤对ATP竞争性抑制剂伊马替尼等产生的耐药性^[33]。

随着药物化学和化学生物学的创新,其他一些新型化合物的研发也为克服基因突变导致的靶向治疗耐药带来了新的希望。四代EGFR-TKI BLU-945是苯胺喹唑啉衍生物,在苯胺基团上引入了氟和甲氧基以提高结合能力,可以克服EGFR C797S突变导致的奥西替尼耐药^[34]。基于天然产物Sanglifehrin A改造而来的化合物RMC-4998和RMC-6291可通过与亲环蛋白A结合,形成对KRAS具有高亲和力的二元复合物,作用于活性状态的KRAS G12C蛋白,抑制其下游信号通路的活化^[35]。新型小分子化合物RMC-7977,通过与KRAS蛋白结合形成可逆的三元复合物,对携带KRAS G12X突变的癌症模型表现出显著的抗肿瘤活性^[35]。

4 代偿通路激活

除了靶向耐药突变外,癌细胞还可以通过药物靶点上游或下游的功能获得突变或通过平行信号通路的激活产生耐药^[36]。

4.1 下游途径激活

以EGFR为例,其下游信号通路PI3K/AKT和RAS/RAF/MEK/ERK等的持续激活可引起耐药。EGFR抑制剂治疗的肺癌中出现BRAF突变可导致耐药。此外,多项研究已证实MAPK再激活可能是KRAS G12C耐药的重要原因^[37-38]。BRAF下游MEK激酶(MAP2K1/2)的突变激活是接受BRAF抑制剂治疗后黑色素瘤患者耐药的常见机制。

4.2 上游激活

致癌信号的上游激活可以通过超激活途径中的通量来降低下游抑制的效力。例如BRAF抑制剂治疗黑色素瘤后出现NRAS突变或NF1缺失导致RAS-MAPK信号通路重新激活^[39]。

4.3 平行旁路激活

为了维持细胞存活和增殖,肿瘤细胞还可以激活替代的致癌途径。MET扩增是在一/二代EGFR-TKI获得性耐药分子机制中,除T790M外最重要的机制之一,发生率为5%~20%。7%~15%一线使用奥

希替尼的NSCLC患者也可发生MET扩增而导致耐药。MET扩增或重排同样可导致劳拉替尼的耐药,发生率超过20%。AWAD等^[38]的研究表明在接受Adagrasib单一疗法治的KRAS G12C突变肿瘤患者的肿瘤组织样本中同样检测到了MET扩增。

4.4 干预策略

药物联用策略利用非重叠耐药谱和合成致死原则,不但能克服单药耐药,还能增强药物的总体疗效。PARP抑制剂和铂类化疗药物联合使用治疗BRCA1/2突变的卵巢癌或乳腺癌可以发挥协同作用效果^[40]。此外,同一靶点不同结合模式的联合用药也可以克服耐药,如BCR-ABL激酶的ATP结合位点抑制剂达沙替尼与其变构抑制剂阿西米尼联合应用可显著克服达沙替尼的耐药问题^[41]。

联合应用靶向代偿活化通路的抑制剂可以克服代偿通路活化导致的耐药,比如联合使用MET抑制剂和EGFR-TKI可克服MET介导的第三代EGFR-TKI获得性耐药^[42]。基于EGFR信号的反馈激活在维持致癌信号和限制FGFR抑制后的细胞死亡方面具有重要作用,联合使用EGFR抑制剂以提高FGFR2阳性肝内胆管癌患者的初始应答率,并扩大获得性FGFRi耐药性患者的临床受益^[43]。

新型药物的研发也是克服靶向治疗耐药的重要手段之一。例如新型可逆性三元复合物RAS抑制剂RMC-7977,它可以广泛抑制突变型及野生型KRAS、NRAS和HRAS,还能有效抑制那些因RAS信号通路恢复而对KRAS(G12C)抑制剂产生耐药性的肿瘤的生长^[35,44]。我们课题组通过对海洋来源的300多种新化合物进行体外抗癌活性筛选,经过多次、大量的结构改造,发现新型氮杂苯并[f]萘衍生物PBA2,具有较为广谱的激酶抑制活性,体内外均可有效阻断胃癌细胞VEGFR2及其下游Akt和Erk通路,表现出显著的抗血管生成作用和抗肿瘤活性^[45]。另外,PBA2能够下调CBP表达并抑制GSK3 β ,增强 β -catenin/p300信号通路活性,对表达野生型和T315I突变BCR-ABL的CMLs均有很好的生长抑制和诱导分化的作用^[46]。

5 细胞死亡介导的耐药

调节性细胞死亡(regulated cell death, RCD)包括凋亡(apoptosis)、焦亡(pyroptosis)、坏死性凋亡(necroptosis)和铁死亡(ferroptosis)等,发生过程中不

同的致死程序异常与肿瘤的进展和治疗反应性均密切相关。

5.1 凋亡

凋亡相关蛋白的异常表达可导致药物耐药,如Bcl-2家族的抗凋亡成员与凋亡抑制蛋白家族过表达可通过抑制细胞凋亡信号而产生耐药。miRNA、lncRNA和表观遗传修饰如DNA甲基化、组蛋白修饰等均可通过调控凋亡相关基因的表达影响肿瘤对化疗药物的敏感性^[47]。

最近,GRETEN团队^[48]发现化疗诱导的结直肠癌肿瘤细胞死亡会释放ATP激活P2X4,导致mTOR激活,促进周围肿瘤细胞的存活及5-FU耐药。华中科技大学同济医院张必翔团队^[49]发现14-3-3 σ 通过激活EGFR依赖的ERK1/2信号通路促进肝癌细胞的失巢凋亡抵抗而介导耐药。

5.2 铁死亡

铁死亡是铁依赖的脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡,越来越多的研究表明铁死亡抵抗是肿瘤耐药的重要影响因素^[50-52]。

SLC7A11作为铁死亡最关键的上游调节因子之一,与多种肿瘤耐药相关。SLC7A11介导的GSH水平升高可降低胶质瘤细胞对替莫唑胺的敏感性,使黑色素瘤对BRAF抑制剂耐药。三阴性乳腺癌患者中,eIF2 α /ATF4轴上调SLC7A11的表达,促进GSH合成,而eIF2 α 去磷酸化可以显著恢复细胞对顺铂和多柔比星的敏感性。抑制SLC7A11可以有效增强肠癌和膀胱癌对顺铂的敏感性^[53]。南开大学陈佳团队^[54]研究发现LGR4依赖性Wnt信号通过转录上调SLC7A11导致结直肠癌化疗耐药。复旦大学董琼珠团队^[55]发现MER原癌基因酪氨酸激酶(MER proto-oncogene tyrosine kinase, MERTK)家族分子MerTK通过上调SLC7A11表达抑制肿瘤细胞铁死亡,在HCC微环境中招募髓系抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)诱导免疫抑制性微环境的形成,介导抗PD-L1治疗耐药。

5.3 焦亡

细胞焦亡,即细胞炎性坏死,是一种依赖于Gasdermin家族蛋白形成膜孔的细胞程序性死亡方式。邵峰院士团队^[56]发现细胞焦亡的重要蛋白GSDME(DFNA5)在化疗药物诱导的细胞焦亡和毒副作用中发挥关键作用。最近,广东省人民医院李勇团队^[57]发现环状RNA circPDIA3直接与GSDME-

C结构域结合,通过阻断ZDHHC3和ZDHHC17的GSDME-C结构域棕榈酰化抑制焦亡,诱导结直肠癌细胞对奥沙利铂耐药。我们中心柳娜团队^[58]研究发现PJA1通过抑制GSDME介导的焦亡促进鼻咽癌多西紫杉醇耐药。

此外,细胞焦亡和肿瘤免疫以及免疫治疗之间有密切的关系。哈佛医学院LIEBERMAN团队^[59]发现来自杀伤细胞的颗粒酶B能够直接切割GSDME,激活癌细胞焦亡,通过焦亡激活抗肿瘤的免疫反应,抑制肿瘤生长。北京大学刘志博团队^[60]通过新型生物正交体系同样揭示了细胞焦亡的抗肿瘤免疫功能。他们的研究揭示少部分的肿瘤细胞发生焦亡就可以激活很强的T细胞介导的抗肿瘤免疫反应。

5.4 自噬

自噬是一种细胞自我消化、循环利用胞内成分的程序性死亡,其在癌症耐药中发挥双重功能。北京大学人民医院燕太强团队^[61]发现COP9信号体亚基3与转录因子FOXO3形成正反馈环路激活自噬促进骨肉瘤顺铂耐药。华中科技大学王桂华团队^[62]发现IL-6以JAK2信号依赖的方式激活自噬并促进结直肠癌化疗抗性。我们中心林俊忠团队^[63]发现糖酵解诱导的高组蛋白乳酸化水平上调RUBCNL的转录增强自噬,促进了结直肠癌细胞的存活和贝伐珠单抗耐药。

5.5 干预策略

针对细胞死亡方式介导的耐药,目前的研究主要集中在开发靶向耐药关键分子的新型抑制剂和通过联合治疗克服耐药两个方面。这些新型的抑制剂包括Bcl-2家族特异性抑制剂、靶向LGR4的单克隆抗体、线粒体靶向DHODH抑制剂以及小分子GSDMD激动剂DMB等,它们在临床前研究中均表现出优异的治疗效果,且部分已经进入了临床试验阶段^[50,54,64]。

6 DNA损伤修复和表观遗传学改变

多种化疗药物通过诱导DNA损伤来杀死肿瘤细胞,肿瘤细胞则通过增强碱基切除修复和错配修复功能,修复DNA损伤,导致化疗耐药。另外,DNA损伤应答还可引发一系列表观遗传改变,通过DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA、染色质重塑以及RNA修饰等参与调控肿瘤耐药。

6.1 DNA甲基化

DNA甲基化在肿瘤耐药中具有重要作用。在肿瘤发生的早期阶段,DNA去甲基化会激活相关基因,

增强DNA修复能力,引发耐药。例如,在胶质母细胞瘤中,USP1高表达使O⁶-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶基因启动子发生去甲基化,肿瘤细胞的DNA损伤修复能力增强,导致替莫唑胺耐药^[65]。在肿瘤获得性耐药的过程中,参与细胞死亡反应基因的DNA甲基化也会诱导耐药^[66]。此外,DNA甲基化还可通过抑制PD-L1的表达从而降低肿瘤细胞对免疫治疗的反应^[67]。

6.2 组蛋白修饰

肿瘤细胞可以通过组蛋白修饰(乙酰化、甲基化、乳酸化和磷酸化等)对化疗药物产生耐药。组蛋白乙酰转移酶1高表达可增强前列腺癌对恩杂鲁胺以及胰腺癌对吉西他滨的耐药性^[68-69]。组蛋白去乙酰化酶1/2/6(HDAC1/2/6)诱导的转录因子去乙酰化可通过促进肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)样细胞增殖,增强胶质母细胞瘤对替莫唑胺的耐药性^[70]。泛素特异性肽酶10与HDAC6结合,使HDAC6发生去泛素化进而增加其稳定性,导致p53缺失的非小细胞肺癌对顺铂耐药^[71]。

组蛋白甲基转移酶与耐药密切相关,lnc ELFN1-AS1/EZH2/DNMT3a轴介导的骨髓嗜病毒整合位点1下调可促进结直肠癌对奥沙利铂耐药^[72]。组蛋白去甲基化酶参与肿瘤细胞干性维持和诱导化疗耐药性。例如,赖氨酸特异性去甲基化酶4C过表达可激活乙醛脱氢酶1家族成员A3(ALDH1A3)转录,促进胃癌干细胞的干性和化疗耐药性^[73]。

组蛋白乳酸化修饰在多种化疗耐药肿瘤患者中均显著上调。南方医科大学郭洪波团队^[74]发现组蛋白H3K9乳酸化(H3K9la)通过降低MLH1表达水平,抑制错配修复,导致胶质母细胞瘤对替莫唑胺耐药。在肝癌中,乳酸化驱动的IGF2BP3介导的丝氨酸代谢重编程和RNA m⁶A修饰可诱导Lenvatinib耐药^[75]。此外,组蛋白H3K18乳酸化(H3K18la)通过上调YY1/YBX1的表达促进了膀胱癌的顺铂耐药^[76]。

6.3 非编码RNA

由miRNA和lncRNA组成的非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)也会介导肿瘤耐药性的产生。miRNA通过靶向凋亡相关基因通路影响药物诱导的细胞凋亡^[77]。lncRNA的失调通过抑制细胞凋亡、激活保护性自噬、增强药物外排、诱导EMT和增强CSC的干性等机制诱导耐药^[78]。在结直肠癌中,EZH2-DNMT3a在lncRNA ELFN1-AS1的帮助下定位MEIS1的启动子以抑制其转录,诱导奥沙利铂耐

药^[72]。此外, lncRNA还可通过募集或靶向参与DNA甲基化的酶包括DNA甲基转移酶和TET双加氧酶等的表达调控肿瘤耐药^[79]。

6.4 RNA修饰

*N*⁶-甲基腺苷修饰(*N*⁶-methyladenosine, m⁶A)可通过上调药物转运蛋白促进药物外排、影响药物代谢酶的活性、修饰药物靶点等机制介导耐药。此外, m⁶A修饰还可通过参与DNA损伤修复、细胞凋亡、自噬、肿瘤免疫微环境形成、细胞干性和外泌体非编码RNA表达等途径调控耐药^[80]。

中国医科大学赵成海团队^[81]发现m⁶A修饰结合蛋白YTHDF1以METTL14依赖的方式调节E2F8 mRNA的稳定性, 促进DNA损伤修复, 诱导乳腺癌细胞对阿霉素、顺铂以及奥拉帕利耐药。此外, RNA特异性腺苷脱氨酶1介导的SCD1 RNA A-to-I修饰可增强胃癌细胞的干性, 诱导胃癌化疗耐药^[82]。NF-κB信号激活, 上调N4-乙酰胞苷相关基因N-乙酰转移酶10的表达, 促进DNA损伤修复, 增强膀胱癌细胞对顺铂耐药^[83]。

6.5 干预策略

目前已研发出多种针对DNA甲基化的小分子抑制剂, 其中DNMT抑制剂阿扎胞苷、SGI-110、地西他滨等已进入临床试验。针对HAT开发小分子抑制剂有望成为逆转癌症耐药的有效手段, 比如CBP/P300抑制剂CCS1477已在进行I/II期临床研究^[84]。近期, 我们中心徐瑞华团队^[85]创新性地提出了信迪利单抗与西达本胺(HDAC抑制剂)联合或不联合贝伐珠单抗的三药联合方案治疗MSS/pMMR结直肠癌患者, 显著延长了患者中位生存期。

针对ncRNA介导的耐药, 肿瘤抑制ncRNA的激活或者致癌ncRNA的失活是恢复抗肿瘤药物敏感性的关键。靶向METTL3、FTO、WTAP、YTHDF1等m⁶A相关调节因子或酶活性的药物表现出克服肺癌、肝癌、结直肠癌和膀胱癌耐药的巨大潜力。此外, RNA m⁶A修饰蛋白的抑制剂和激活剂的开发亦有望为克服肿瘤耐药提供新的治疗策略^[80]。

7 可塑性介导的耐药

肿瘤细胞可塑性在癌症发生发展、转移和治疗耐药性等过程中均发挥了重要的调控作用。肿瘤细胞通过去分化、转分化以及上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等不同的可

塑性模式获得不同的表型参与耐药性的产生。

7.1 肿瘤干细胞

CSC是一类致癌能力强、能够自我更新、多向分化的肿瘤细胞, 被认为是导致肿瘤复发转移和耐药的关键因素。放化疗主要杀伤增殖细胞, CSC可以通过休眠避免免疫杀伤, 抵抗放化疗, 导致耐药^[86]。南开大学刘林团队^[87]发现处于休眠状态的结直肠癌CSC端粒较短, 端粒酶活性低, 在特定条件CSC可以重塑为增殖活性强且端粒较长的上皮细胞, 进而导致肿瘤耐药与复发转移。我们课题组发现RNA聚合酶II转录调节物12(mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12, MED12)在肿瘤干性维持和稳态中起重要作用。在上皮性卵巢癌中, MED12结合到*EGFR*启动子的22 bp至773 bp区间并激活*EGFR*的转录, 调控上皮性卵巢癌细胞的休眠与复发。*MED12*敲除的卵巢癌细胞体内无法成瘤, 对紫杉醇、吉西他滨、拓扑替康等的化疗敏感性降低^[88]。

7.2 表型转换

表型转换(也被称为“细胞可塑性”)是多种细胞形态之间的变化, 它是一种独立于药物靶向途径之外的耐药机制, 与多种癌症的靶向治疗耐药有关。小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)转化是NSCLC靶向耐药的重要机制之一^[89]。VARMUS团队^[90]揭示了Myc激活是推动肺泡II型(alveolar type 2, AT2)细胞和肺神经内分泌细胞向SCLC转化的关键。河南省肿瘤医院王启鸣团队^[91]发现常染色质组蛋白赖氨酸甲基转移酶2(EHMT2)以酶活性依赖的方式参与SCLC转化及其介导的EGFR-TKI耐药。中国科学院季红斌团队^[92]发现KRAS G12C抑制剂耐药性的产生与Δ*Np63*驱动的肺腺癌向肺鳞癌的转分化相关。

EMT是一种可逆的细胞去分化过程, 包括上皮、部分EMT和间质细胞状态。CHRISTOFORI团队^[93]研究发现无论是完全EMT还是部分EMT, 这两种乳腺癌细胞都会促进耐药性的产生。DNA甲基化驱动的EMT过程也会诱导耐药发生, 具体表现为上皮基因启动子高甲基化、间质基因启动子低甲基化^[94]。BLANPAIN团队^[95]发现编码原黏连蛋白的*EAT1*基因缺失会促进混合EMT表型, 导致肿瘤干性和转移能力的增高, 对EGFR和MEK抑制剂产生抗性。

7.3 DTP细胞

耐药持久性(drug tolerant persister, DTP)是指在

化疗和靶向治疗过程中,癌细胞通过进入可逆的缓慢增殖状态以逃避凋亡,其发生过程涉及转录、表观遗传重编程和代谢重编程等机制^[96]。REHMAN等^[97]发现结直肠癌细胞在化疗的刺激下,会进入缓慢分裂的滞留DTP状态,通过自噬维持在没有营养物质情况下的生存,且所有癌细胞均有成为DTP的能力。清华大学胡泽平团队^[98]发现EGFR-TKI处理后NSCLC细胞通过YAP调控乙酰胆碱生物合成进而调节DTP细胞的形成。

7.4 干预策略

通过靶向CSCs标志物的上游来抑制细胞干性,可以逆转CSC的耐药性。小分子化合物Z839878730通过破坏KK-LC-1与FAT1结合,重新激活Hippo通路,降低三阴性乳腺癌ALDH⁺细胞的干性和活力,进而抑制肿瘤生长^[99]。我们团队发现二代EGFR-TKI抑制剂阿法替尼可通过提高DNMTs酶活性引起ABCG2的启动子甲基化程度升高,导致ABCG2表达水平降低,靶向杀灭肿瘤干细胞^[100]。我们还发现阿帕替尼、坦度替尼等TKIs除了具有较强的逆转ABC转运泵介导的多药耐药的作用外,还能增强化疗对肿瘤干细胞的杀灭作用^[101-103]。

针对表型转化,应用选择性抑制剂抑制EHMT2可恢复肺癌转化细胞系对TKIs的敏感性^[91]。此外,近期研究发现阻断netrin-1可以抑制EMT,基于此开发的治疗性单克隆抗体NP137联合传统化疗药物可以增强化疗敏感性,为临床用药提供了新方向^[104-105]。

针对DTP状态癌细胞,BRIEN团队^[97]发现使用细胞自噬抑制剂,DTP癌细胞可以被化疗轻松杀死。胡泽平团队^[98]确认了一种新的治疗策略——使用EGFR-TKI联合靶向ACh/M3R的药物darifenin,减少DTP的产生来治疗EGFR TKI耐药NSCLC患者。

8 肿瘤微环境介导的耐药

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)由免疫细胞、间质细胞以及非细胞成分等组成^[47,106]。TME通过复杂的作用机制参与调控肿瘤细胞的生长和耐药。

8.1 肿瘤相关成纤维细胞

肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是TME中最丰富的细胞类型之一,是肿瘤基质中各种细胞通讯作用的中心。一方面,CAFs通过分泌细胞因子、释放外泌体等增强肿瘤细胞耐

药性。例如,CAFs分泌的细胞因子SDF-1通过上调胰腺癌SATB-1的表达促进肿瘤的进展和吉西他滨耐药^[107]。CAFs来源的富含miR-423-5p的外泌体可通过TGF- β 途径抑制前列腺癌GREM2的表达增强对紫杉烷的抗性^[108]。另一方面,CAFs还可通过与其他TME组分相互作用增强肿瘤细胞的耐药性。在肝细胞癌中,CAFs和SPP1⁺巨噬细胞形成免疫屏障,阻碍CD8⁺ T细胞等免疫细胞的浸润,介导HCC对免疫治疗耐受^[109]。此外,CAFs导致的ECM沉积硬化可形成物理屏障,使外周血管血流量减少,阻碍化疗和免疫治疗药物到达肿瘤部位^[110]。

不同CAFs亚群具有高度的异质性,其功能和作用机制也具有很大的差异。例如,剑桥诺华生物医学研究所ENGELMAN团队^[111]发现三种影响NSCLC患者靶向治疗效果的CAFs亚型:HGF和FGF7高表达的CAF对NSCLC具有强大的保护作用(使患者对TKIs的治疗反应较差),FGF7高表达的CAF对肿瘤的保护作用比较温和,而HGF和FGF7均低表达的CAF对肿瘤基本无影响。这表明CAFs在TME中的复杂性和多样性。

8.2 肿瘤相关巨噬细胞

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是TME的重要组成部分。TAMs介导化疗耐药的机制包括调节肿瘤细胞凋亡、调节自噬、参与EMT以及代谢物与化疗药竞争等^[112]。梁后杰团队^[113]通过代谢组学分析发现,TAMs释放腐胺并通过JNK-caspase-3途径诱导结直肠癌对5-Fu耐药。曹雪涛团队^[114]证明M2样TAMs通过葡萄糖摄取促进了溶酶体组织蛋白酶B的O-糖基化修饰和分泌,进一步促进了肿瘤转移和化疗耐药。

8.3 其他细胞组分

髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)由未成熟的单核细胞和中性粒细胞组成,可抑制T细胞、自然杀伤细胞和树突状细胞等多种免疫细胞的功能,在创造免疫抑制性的TME、介导肿瘤耐药中起着至关重要的作用^[115]。比如,郑州大学张毅团队^[116]发现MDSCs特异性过表达的GPR84通过抑制PD-L1的降解驱动了CD8⁺ T细胞的免疫抑制,介导了食管癌对PD-1抗体治疗的耐受。此外,TME中的脂肪细胞可通过改变代谢、药代动力学、免疫细胞功能、血管功能和药物分布等诱导肿瘤细胞耐药^[117]。

8.4 非细胞成分

TME的非细胞成分同样对耐药有着重要的影响。缺氧是癌细胞耐药的关键因素之一。肿瘤细胞生长过快引起氧消耗增多及弥散距离增加,导致TME的相对缺氧,而缺氧激活的HIF-1将进一步通过凋亡、自噬、DNA损伤、线粒体活性和药物外排等机制使肿瘤对常规疗法产生耐药性^[118]。肿瘤糖酵解升高导致乳酸堆积,形成“酸性TME”,促使肿瘤对部分弱碱性化疗药物产生耐药性^[119]。TME中存在的多种细胞因子也和耐药密切相关。例如IL-6可通过激活JAK/STAT3、PI3K/Akt、Ras-MAPK等信号通路抑制肿瘤细胞凋亡,介导乳腺癌、肺癌和前列腺癌等对治疗耐药^[120]。另外,我们课题组发现外泌体介导的野生型EGFR的胞间转移可以导致奥西替尼耐药。具体机制为奥西替尼可以通过上调RAB17蛋白的表达促进富含野生型EGFR外泌体的形成和分泌,而EGFR突变细胞则利用网格蛋白介导的内吞作用摄取野生型EGFR外泌体对奥西替尼耐药^[121]。

8.5 干预策略

选择性消除促肿瘤CAFs亚群或逆转其促肿瘤活性。例如王红霞团队^[122]在鉴定乳腺癌成纤维细胞耐药新亚群“TSPAN8+myCAFs”的研究中证实联合抗TSPAN8抗体和SIRT6激活剂MDL-800可有效克服化疗耐药。苏士成团队^[123]发现CD16⁺CAF介导的CD16/SYK/VAV2/RhoA/ROCK/MLC2/MRTF-A途径激活诱导结缔组织增生,导致曲妥珠单抗耐药的关键分子为VAV2,而抑制VAV2的表达可以有效减少肿瘤纤维增生,增强了肿瘤对曲妥珠单抗的敏感性。

减少TAMs的募集或将其重编程为M1表型。TAMs的靶点主要包括CSF-1R、CCL、CD40、TLR、PI3K γ 、CD47等^[124]。例如张燕团队^[125]发现CSF-1R抑制剂通过抑制CXCL12/CXCR4信号轴减少TAMs募集,增加了前列腺癌对多西他赛治疗的敏感性。有研究报道CD47-SIRP α 抑制剂Evorpacept在临床前模型中促进了M2型TAMs向M1型转变,增强了CD8⁺T细胞介导的抗肿瘤免疫,Evorpacept在实体瘤I期临床试验中也显示出令人鼓舞的初始联合治疗活性^[126]。

9 免疫治疗耐药机制

9.1 肿瘤免疫原性低

肿瘤免疫原性是指肿瘤产生的抗原性物质引

起宿主免疫反应的能力。肿瘤细胞往往存在基因突变,能够产生肿瘤新抗原。肿瘤新抗原作为肿瘤免疫治疗的有效靶点,与肿瘤突变负荷和微卫星不稳定性相关^[127]。肿瘤突变负荷高和微卫星高度不稳定的肿瘤能够产生更多的肿瘤新抗原,引起较强的免疫应答,因此对免疫治疗的反应性更好。相反,肿瘤突变负荷低和微卫星稳定的肿瘤由于免疫原性低,难以被免疫系统识别,对免疫治疗效果差。

9.2 肿瘤干扰素 γ 信号受损

肿瘤抗原引起的T细胞免疫应答促进肿瘤微环境中干扰素 γ (interferon γ , IFN γ)的分泌,IFN γ 与肿瘤细胞上的受体结合,激活JAK-STAT通路,诱导肿瘤细胞PD-L1的表达。当破坏IFN γ 信号时,肿瘤细胞表面的PD-L1减少,降低了抗PD1/PD-L1抗体的疗效。一项研究对PD-1耐药的黑色素瘤病人进行了全外显子组测序,结果表明一部分患者存在耐药相关的基因突变,包括Janus激酶1(JAK1)或Janus激酶2(JAK2)基因,JAK1或JAK2突变使肿瘤细胞对IFN γ 不敏感,IFN γ 受体信号受损造成肿瘤逃避抗肿瘤免疫,降低了免疫治疗的效果^[128]。另一项研究也证实肿瘤细胞出现JAK1/2突变后会降低PD-L1的表达水平,从而对PD-1/PD-L1抑制剂反应欠佳^[129]。

9.3 肿瘤下调MHC-I表达

肿瘤细胞下调其表面的主要组织相容性复合体I(major histocompatibility complex I, MHC-I),减弱抗原提呈能力,从而逃避T细胞的杀伤。多个分子参与了MHC-I类抗原提呈过程,包括TAP1、TAP2, B2M等。B2M基因编码抗原提呈蛋白 β 2-微球蛋白,B2M突变导致肿瘤细胞MHC-I的表达丧失,破坏了肿瘤抗原呈递,从而降低了免疫治疗的效果^[128,130]。最近,王俊团队^[131]的研究揭示了SUSD6和TMEM127介导MHC-I降解的新机制,当SUSD6缺失时,细胞膜表面的MHC-I表达水平增加,可促进AML和实体肿瘤中T细胞介导的免疫监视。此外,刘小乐团队^[132]应用双标记CRISPR筛选技术发现TRAF3敲除特异地提高了MHC-I的表达,靶向TRAF3将有助于提升病人对免疫检查点抑制剂的效果。

9.4 免疫检查点

除了PD1/PD-L1和CTLA-4外,近年来也陆续发现了其他免疫检查点,包括TIM3、LAG3、TIGIT和VISTA等。淋巴细胞活化基因3(lymphocyte activation gene-3, LAG3)、T细胞免疫球蛋白和含有-3

结构域黏蛋白(T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, TIM-3)在实体瘤中是比较广泛存在的免疫检查点。LAG-3与CD4有同源结构,可以和CD4竞争性结合MHC-II,减弱MHC-II介导的抗原提呈效果,从而导致免疫抑制^[133]。TIM-3是产生IFN- γ 的效应T细胞的抑制性受体,最近一项研究显示,具有终末耗竭表型的TIM-3⁺CD8⁺ T细胞在血液系统恶性肿瘤中仍保留功能活性,这部分细胞代表了血液肿瘤免疫治疗的潜在靶点^[134]。目前,针对这些免疫检查点已开发了多个药物,部分药物已进入临床试验。

9.5 其他机制

我们课题组基于部分结外NK/T细胞淋巴瘤(ENKTL)患者接受GM-CSF治疗后出现疾病进展的临床问题,发现GM-CSF可通过JAK2/STAT5通路促进PD-L1过表达,介导ENKTL细胞免疫逃逸,促进疾病进展^[135]。在结直肠癌患者中,我们发现炎症相关分子A20高表达会导致免疫细胞浸润不良,与肿瘤免疫反应密切相关。其调控机制为A20高表达通过上调STC1的表达来阻断巨噬细胞的“eat me”信号,促进结直肠癌的免疫逃逸^[136]。此外,我们课题组还阐明了酒精介导T细胞功能障碍以促进CRC免疫逃逸的新机制。发现乙醛脱氢酶(ALDH2)通过与PD-L1胞内段结合,抑制E3泛素连接酶Speckle型POZ蛋白(SPOP)介导的蛋白酶体途径从而稳定PD-L1的表达,抑制杀伤T细胞在肿瘤组织的浸润^[137]。

9.6 干预策略

9.6.1 联合其他免疫治疗 肿瘤细胞能通过各种机制实现免疫逃逸,因此免疫治疗单药使用往往收效甚微,需要联合应用才能发挥更大的作用。一项III期临床试验证明,相比于单独使用伊匹单抗(抗CTLA4抗体),纳武单抗(抗PD-1抗体)联合伊匹单抗能显著提高黑色素瘤患者的五年生存率(52% vs 26%)。然而,联合治疗组出现治疗相关副作用的比例也显著增加(59% vs 23%),这可能是两种药物副作用叠加的原因^[138]。在这种情况下,可以考虑先使用抗PD-1治疗,再使用抗CTLA4治疗,这种序贯疗法可能有助于在维持疗效的同时降低显著毒性。

瑞拉利单抗是FDA批准的首款LAG-3抗体,LAG-3由此成为了继CTLA-4和PD-1之后第三个应用于临床的免疫检查点,LAG-3抗体和PD-1抗体的联合应用已在多个癌症类型中进行研究。瑞拉利单

抗联合纳武单抗显著提高了晚期黑色素瘤患者的生存率,这项研究也促进了FDA加速批准该组合方案用于治疗转移性黑色素瘤^[139]。CITYSCAPE研究证实与阿替利珠单抗(PD-L1抗体)单药治疗相比,阿替利珠单抗联合替瑞利尤单抗(TIGIT抗体)能显著延长非小细胞肺癌患者的无进展生存期^[140]。基于该研究,FDA已批准替瑞利尤单抗用于治疗非小细胞肺癌患者。

9.6.2 联合化学治疗 某些化疗药物能够促进肿瘤细胞死亡后的抗原释放和抗原提呈,诱导免疫原性细胞死亡,使免疫“冷肿瘤”变为免疫“热肿瘤”从而刺激T细胞介导的抗肿瘤免疫,增强免疫治疗效果。例如,纳武利尤单抗联合铂类化疗被批准用于非小细胞肺癌的新辅助治疗;阿特珠单抗联合白蛋白结合型紫杉醇治疗晚期/转移性三阴性乳腺癌。

本中心徐瑞华团队^[141]证实,与标准一线化疗相比,特瑞普利单抗(抗PD-1抗体)联合紫杉醇+顺铂显著提高了晚期食管鳞状细胞癌患者一年无进展生存期(27.8% vs 6.1%)和一年总生存期(66.0% vs 43.7%)的比例。而且,相对于标准化疗,特瑞普利单抗联合化疗并未显著增加患者的不良反应。我们课题组发现联合MMC可显著改善PD-L1抑制剂在非小细胞肺癌中的治疗效果。其机制为MMC通过激活ERK通路活化c-Jun招募其共辅助因子STAT3,进而结合到PD-L1启动子上促进PD-L1转录。ERK通路同时也活化了p65介导的MHC-I类分子抗原的转录,促进了肿瘤组织淋巴细胞的浸润和活化,为ICI的联合治疗提供了新思路^[142]。

9.6.3 联合放射治疗 与化学治疗类似,放射治疗也能引起肿瘤的免疫原性细胞死亡,但是相比于化疗作用于全身,产生局部作用的放疗会引起较少的不良反应。目前,免疫治疗联合放疗已成为癌症治疗研究领域的热点之一。GEMSTONE-301研究报道了舒格利单抗(PD-L1抗体)联合同步或序贯放疗治疗局部晚期,不可切除的III期非小细胞肺癌患者的结果。该研究证实,在同步或序贯放疗治疗后未进展的这类病人中使用舒格利单抗能够显著延长患者的无进展生存期(9.0个月 vs 5.8个月)^[143]。放疗和同步放化疗是鼻咽癌的标准治疗方法,但是PD-1抗体在鼻咽癌中的作用尚不明确。本中心马骏团队^[144]报道了诱导-同步放化疗伴或不伴信迪利单抗(PD-1抗体)在局部晚期鼻咽癌中的抗肿瘤效果。

结果表明,与标准放化疗相比,加用了信迪利单抗的患者具有更高的无进展生存率(86% vs 76%),尽管使用PD-1抗体的患者产生更多的副作用(74% vs 65%)。

9.6.4 联合靶向治疗 目前,多项临床试验研究抗PD1/PD-L1抗体联合靶向药物治疗癌症患者的疗效,靶向药物包括血管生成抑制剂(VEGF/VEGFR抑制剂)、PARP抑制剂、PI3K抑制剂、CDK4/6抑制剂、BRAF抑制剂、MEK抑制剂和BTK抑制剂等,其中免疫检查点抑制剂联合抗血管生成治疗取得了显著效果。FDA已批准帕博利珠单抗+仑伐替尼用于治疗子宫内膜癌、帕博利珠单抗+阿昔替尼治疗肾癌、阿替利珠单抗+贝伐单抗治疗肝细胞癌等。

本中心徐瑞华团队^[85]报道了在信迪利单抗(抗PD1抗体)和西达本胺(组蛋白去乙酰化酶抑制剂)的基础上,加用贝伐珠单抗(抗VEGF抗体)显著提高了MSS/pMMR结肠癌患者的总体反应率(44.0% vs 13.0%),并显著延长了患者的无进展生存期(7.3个月 vs 1.5个月)。我们课题组发现ERK抑制剂PD0325901体内外均可显著增强PD-1抗体对非小细胞肺癌的治疗效果,其机制是抑制NSCLC细胞中PD-L1的表达,增加T细胞浸润和功能,从而提高免疫治疗效果^[145]。

10 总结与展望

肿瘤耐药机制复杂,受到肿瘤细胞、免疫细胞、肿瘤微环境和信号转导介质之间多种相互作用的影响。本文从肿瘤内药物蓄积减少、药物灭活、基因突变、代偿通路激活、细胞死亡方式、DNA损伤修复和表观遗传学改变、肿瘤可塑性、肿瘤微环境以及免疫治疗的耐药机制及应对策略方面进行了详尽的阐述。在临床实践中,肿瘤患者耐药可能并不是上述单一的某个方面,耐药机制错综复杂,需要综合评估肿瘤驱动因素、转录图谱和微环境特征等影响因素,并结合药物的可及性及依赖性制定个性化的治疗方案,提高肿瘤的治愈率。由此可见,全面了解肿瘤的耐药机制对提高肿瘤的治愈率至关重要。

目前,除了针对耐药突变靶点研发的新一代抑制剂之外,联合治疗策略也是延缓或逆转免疫耐药最重要最有效的措施。比如靶向治疗联合实现基因特异性合成致死、药物特异性合成致死、致癌信号的双重阻断等,免疫治疗联合化疗或靶向治疗、过继细胞疗法的联合治疗、细胞因子的联合治疗、溶

瘤病毒的联合治疗和癌症疫苗的联合治疗等。未来期望通过借助人工智能、以CRISPR-CAS9为基础的高通量功能缺失基因筛选技术(loss-of-function genetic screen)、利用FDA批准上市药物及处于临床研究的化合物进行药物文库的高通量筛选等技术设计新的合理高效的药物组合策略,实现对肿瘤的长期控制。借助液体活检技术包括ctDNA、cfDNA和CTCs等动态监测评估治疗疗效,及时发现耐药,判断耐药机制,实现对耐药的早期监测和精确监控。联合多组学技术包括基因组学、表观基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、影像组学等构建肿瘤耐药产生的依赖性图谱,实现对耐药机制的多层次分析。

参考文献 (References)

- [1] MIURA K, KINOCHI M, ISHIDA K, et al. 5-fu metabolism in cancer and orally-administrable 5-fu drugs [J]. *Cancers*, 2010, 2(3): 1717-30.
- [2] EMRAN T B, SHAHRIAR A, MAHMUD A R, et al. Multidrug resistance in cancer: understanding molecular mechanisms, immunoprevention and therapeutic approaches [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 891652.
- [3] HOFMANN S, JANULIENE D, MEHDIPOUR A R, et al. Conformation space of a heterodimeric ABC exporter under turnover conditions [J]. *Nature*, 2019, 571(7766): 580-3.
- [4] CHEN Z P, XU D, WANG L, et al. Structural basis of substrate recognition and translocation by human very long-chain fatty acid transporter ABCD1 [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3299.
- [5] WANG X, QIAO D, CHEN L, et al. Chemotherapeutic drugs stimulate the release and recycling of extracellular vesicles to assist cancer cells in developing an urgent chemoresistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 182.
- [6] ZHANG Y, ZHANG Y, SUN K, et al. The SLC transporter in nutrient and metabolic sensing, regulation, and drug development [J]. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(1): 1-13.
- [7] GOLDMAN I D. Membrane transport of chemotherapeutics and drug resistance: beyond the ABC family of exporters to the role of carrier-mediated processes [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(1): 4-6.
- [8] WONG S C, PROEFKE S A, BHUSHAN A, et al. Isolation of human cDNAs that restore methotrexate sensitivity and reduced folate carrier activity in methotrexate transport-defective Chinese hamster ovary cells [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(29): 17468-75.
- [9] HUANG Y, SADÉE W. Membrane transporters and channels in chemoresistance and -sensitivity of tumor cells [J]. *Cancer Lett*, 2006, 239(2): 168-82.
- [10] GIFFORD A J, HABER M, WITT T L, et al. Role of the E45K-reduced folate carrier gene mutation in methotrexate resistance in human leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2002, 16(12): 2379-87.
- [11] GRAY J H, MANGRAVITE L M, OWEN R P, et al. Functional and genetic diversity in the concentrative nucleoside transporter, CNT1, in human populations [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65(3):

- 512-9.
- [12] TIASH S, CHOWDHURY E H. siRNAs targeting multidrug transporter genes sensitise breast tumour to doxorubicin in a syngeneic mouse model [J]. *J Drug Target*, 2019, 27(3): 325-37.
- [13] GONG J, SHI T, LIU J, et al. Dual-drug codelivery nanosystems: An emerging approach for overcoming cancer multidrug resistance [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114505.
- [14] WANG A, FANG J, FENG Y, et al. MMP-2 and upconverted UV dual-mediated drug sequential delivery and on-site immobilization for enhanced multidrug-resistant cancer therapy [J]. *Science China Chemistry*, 2023, 66(8): 2317-28.
- [15] GUO D, JI X, XIE H, et al. Targeted reprogramming of vitamin B(3) metabolism as a nanotherapeutic strategy towards chemoresistant cancers [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(36): e2301257.
- [16] ZENG X, WANG Y, HAN J, et al. Fighting against drug-resistant tumors using a dual-responsive Pt(IV)/Ru (II) bimetallic polymer [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(43): e2004766.
- [17] LEI Z N, TIAN Q, TENG Q X, et al. Understanding and targeting resistance mechanisms in cancer [J]. *MedComm*, 2023, 4(3): e265.
- [18] XU Y, VILLALONA-CALERO M A. Irinotecan: mechanisms of tumor resistance and novel strategies for modulating its activity [J]. *Ann Oncol*, 2002, 13(12): 1841-51.
- [19] MEIJER C, MULDER N H, TIMMER-BOSSCHA H, et al. Relationship of cellular glutathione to the cytotoxicity and resistance of seven platinum compounds [J]. *Cancer Res*, 1992, 52(24): 6885-9.
- [20] CIPPONI A, GOODE D L, BEDO J, et al. MTOR signaling orchestrates stress-induced mutagenesis, facilitating adaptive evolution in cancer [J]. *Science*, 2020, 368(6495): 1127-31.
- [21] LIU J, ZHANG Y, HUANG H, et al. Recent advances in Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors for overriding T315I mutation [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2021, 97(3): 649-64.
- [22] ELSHATLAWY M, SAMPSON J, CLARKE K, et al. EML4-ALK biology and drug resistance in non-small cell lung cancer: a new phase of discoveries [J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(6): 950-63.
- [23] VOGEL A, SEGATTO O, STENZINGER A, et al. FGFR2 inhibition in cholangiocarcinoma [J]. *Annual review of medicine*, 2023, 74: 293-306.
- [24] CHEN H, MA J, LI W, et al. A molecular brake in the kinase hinge region regulates the activity of receptor tyrosine kinases [J]. *Molecular cell*, 2007, 27(5): 717-30.
- [25] ZALAQUETT Z, CATHERINE RITA HACHEM M, KASSIS Y, et al. Acquired resistance mechanisms to osimertinib: the constant battle [J]. *Cancer Treat Rev*, 2023, 116: 102557.
- [26] KATOH M, LORIOT Y, BRANDI G, et al. FGFR-targeted therapeutics: clinical activity, mechanisms of resistance and new directions [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(4): 312-29.
- [27] CANG S, LIU D. P-loop mutations and novel therapeutic approaches for imatinib failures in chronic myeloid leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2008, 1: 15.
- [28] HE M Y, LI W K, MEILER J, et al. Insight on mutation-induced resistance to anaplastic lymphoma kinase inhibitor ceritinib from molecular dynamics simulations [J]. *Biopolymers*, 2019, 110(2): e23257.
- [29] LI J, SUN R, WU Y, et al. L1198F mutation resensitizes crizotinib to ALK by altering the conformation of inhibitor and ATP binding sites [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 482.
- [30] OU S I, CUI J, SCHROCK A B, et al. Emergence of novel and dominant acquired EGFR solvent-front mutations at Gly796 (G796S/R) together with C797S/R and L792F/H mutations in one EGFR (L858R/T790M) NSCLC patient who progressed on osimertinib [J]. *Lung Cancer*, 2017, 108: 228-31.
- [31] PISA R, KAPOOR T M. Chemical strategies to overcome resistance against targeted anticancer therapeutics [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(8): 817-25.
- [32] PENG L, ZHU L, SUN Y, et al. Targeting ALK rearrangements in NSCLC: current state of the Art [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 863461.
- [33] YEUNG D T, SHANMUGANATHAN N, HUGHES T P. Asciminib: a new therapeutic option in chronic-phase CML with treatment failure [J]. *Blood*, 2022, 139(24): 3474-9.
- [34] WESTOVER D, ZUGAZAGOITIA J, CHO B C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first- and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(suppl_1): i10-i9.
- [35] WASKO U N, JIANG J, DALTON T C, et al. Tumour-selective activity of RAS-GTP inhibition in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2024, 629(8013): 927-36.
- [36] YANG Y, LI S, WANG Y, et al. Protein tyrosine kinase inhibitor resistance in malignant tumors: molecular mechanisms and future perspective [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 329.
- [37] TANAKA N, LIN J J, LI C, et al. Clinical acquired resistance to KRAS(G12C) inhibition through a novel KRAS switch-II pocket mutation and polyclonal alterations converging on RAS-MAPK reactivation [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(8): 1913-22.
- [38] AWAD M M, LIU S, RYBKIN, II, et al. Acquired resistance to KRAS(G12C) inhibition in cancer [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(25): 2382-93.
- [39] DULGAR O, KUTUK T, EROGLU Z. Mechanisms of Resistance to BRAF-Targeted melanoma therapies [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2021, 22(1): 1-10.
- [40] LORD C J, ASHWORTH A. PARP inhibitors: synthetic lethality in the clinic [J]. *Science*, 2017, 355(6330): 1152-8.
- [41] ORUGANTI B, LINDAHL E, YANG J, et al. Allosteric enhancement of the BCR-Abl1 kinase inhibition activity of nilotinib by cobinding of asciminib [J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(8): 102238.
- [42] SEQUIST L V, HAN J Y, AHN M J, et al. Osimertinib plus savolitinib in patients with EGFR mutation-positive, MET-amplified, non-small-cell lung cancer after progression on EGFR tyrosine kinase inhibitors: interim results from a multicentre, open-label, phase 1b study [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(3): 373-86.
- [43] WU Q, ZHEN Y, SHI L, et al. EGFR inhibition potentiates fgfr inhibitor therapy and overcomes resistance in FGFR2 fusion-positive cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(5): 1378-95.
- [44] HOLDERFIELD M, LEE B J, JIANG J, et al. Concurrent inhibition of oncogenic and wild-type RAS-GTP for cancer therapy [J]. *Nature*, 2024, 629(8013): 919-26.
- [45] FANG X, XIE H, LUO M, et al. PBA2 exhibits potent anti-tumor activity via suppression of VEGFR2 mediated-cell proliferation and angiogenesis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 150: 131-40.
- [46] YANG K, FU K, ZHANG H, et al. PBA2, a novel inhibitor of the

- β -catenin/CBP pathway, eradicates chronic myeloid leukemia including BCR-ABL T315I mutation [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 209.
- [47] HAIDER T, PANDEY V, BANJARE N, et al. Drug resistance in cancer: mechanisms and tackling strategies [J]. *Pharmacol Rep*, 2020, 72(5): 1125-51.
- [48] SCHMITT M, CETECI F, GUPTA J, et al. Colon tumour cell death causes mTOR dependence by paracrine P2X4 stimulation [J]. *Nature*, 2022, 612(7939): 347-53.
- [49] SONG J, LIU Y, LIU F, et al. The 14-3-3 σ protein promotes HCC anoikis resistance by inhibiting EGFR degradation and thereby activating the EGFR-dependent ERK1/2 signaling pathway [J]. *Theranostics*, 2021, 11(3): 996-1015.
- [50] ZHAN M, DING Y, HUANG S, et al. Lysyl oxidase-like 3 restrains mitochondrial ferroptosis to promote liver cancer chemoresistance by stabilizing dihydroorotate dehydrogenase [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3123.
- [51] QI R, BAI Y, LI K, et al. Cancer-associated fibroblasts suppress ferroptosis and induce gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells by secreting exosome-derived ACSL4-targeting miRNAs [J]. *Drug Resist Updat*, 2023, 68: 100960.
- [52] ZHANG H L, HU B X, YE Z P, et al. TRPML1 triggers ferroptosis defense and is a potential therapeutic target in AKT-hyperactivated cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16(753): eadk0330.
- [53] YADAV P, SHARMA P, SUNDARAM S, et al. SLC7A11/xCT is a target of miR-5096 and its restoration partially rescues miR-5096-mediated ferroptosis and anti-tumor effects in human breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2021, 522: 211-24.
- [54] ZHENG H, LIU J, CHENG Q, et al. Targeted activation of ferroptosis in colorectal cancer via LGR4 targeting overcomes acquired drug resistance [J]. *Nat Cancer*, 2024, 5(4): 572-89.
- [55] WANG S, ZHU L, LI T, et al. Disruption of MerTK increases the efficacy of checkpoint inhibitor by enhancing ferroptosis and immune response in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(2): 101415.
- [56] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.
- [57] LIN J, LYU Z, FENG H, et al. CircPDIA3/miR-449a/XBP1 feedback loop curbs pyroptosis by inhibiting palmitoylation of the GSDME-C domain to induce chemoresistance of colorectal cancer [J]. *Drug Resist Updat*, 2024, 76: 101097.
- [58] HUANG S Y, GONG S, ZHAO Y, et al. PJA1-mediated suppression of pyroptosis as a driver of docetaxel resistance in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5300.
- [59] ZHANG Z, ZHANG Y, XIA S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415-20.
- [60] WANG Q, WANG Y, DING J, et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 421-6.
- [61] NIU J, YAN T, GUO W, et al. The COPS3-FOXO3 positive feedback loop regulates autophagy to promote cisplatin resistance in osteosarcoma [J]. *Autophagy*, 2023, 19(6): 1693-710.
- [62] HU F, SONG D, YAN Y, et al. IL-6 regulates autophagy and chemotherapy resistance by promoting BECN1 phosphorylation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3651.
- [63] LI W, ZHOU C, YU L, et al. Tumor-derived lactate promotes resistance to bevacizumab treatment by facilitating autophagy enhancer protein RUBCNL expression through histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la) in colorectal cancer [J]. *Autophagy*, 2024, 20(1): 114-30.
- [64] FONTANA P, DU G, ZHANG Y, et al. Small-molecule GSDMD agonism in tumors stimulates antitumor immunity without toxicity [J]. *Cell*, 2024, 187(22): 6165-81.e22.
- [65] LIU J, WANG K, ZHU Q, et al. USP19 regulates DNA methylation damage repair and confers temozolomide resistance through MGMT stabilization [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(4): e14711.
- [66] OHATA Y, SHIMADA S, AKIYAMA Y, et al. Acquired resistance with epigenetic alterations under long-term antiangiogenic therapy for hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(6): 1155-65.
- [67] EMRAN A A, CHATTERJEE A, RODGER E J, et al. Targeting DNA methylation and EZH2 activity to overcome melanoma resistance to immunotherapy [J]. *Trends Immunol*, 2019, 40(4): 328-44.
- [68] SUN Y, REN D, ZHOU Y, et al. Histone acetyltransferase 1 promotes gemcitabine resistance by regulating the PVT1/EZH2 complex in pancreatic cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 878.
- [69] HONG Z, XIANG Z, ZHANG P, et al. Histone acetyltransferase 1 upregulates androgen receptor expression to modulate CRPC cell resistance to enzalutamide [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(7): e495.
- [70] YANG W B, HSU C C, HSU T I, et al. Increased activation of HDAC1/2/6 and Sp1 underlies therapeutic resistance and tumor growth in glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(10): 1439-51.
- [71] HU C, ZHANG M, MOSES N, et al. The USP10-HDAC6 axis confers cisplatin resistance in non-small cell lung cancer lacking wild-type p53 [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 328.
- [72] LI Y, GAN Y, LIU J, et al. Downregulation of MEIS1 mediated by ELFN1-AS1/EZH2/DNMT3a axis promotes tumorigenesis and oxaliplatin resistance in colorectal cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 87.
- [73] LANG T, XU J, ZHOU L, et al. Disruption of KDM4C-ALDH1A3 feed-forward loop inhibits stemness, tumorigenesis and chemoresistance of gastric cancer stem cells [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 336.
- [74] YUE Q, WANG Z, SHEN Y, et al. Histone H3K9 lactylation confers temozolomide resistance in glioblastoma via LUC7L2-mediated MLH1 intron retention [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(19): e2309290.
- [75] LU Y, ZHU J, ZHANG Y, et al. Lactylation-driven IGF2BP3-mediated serine metabolism reprogramming and RNA m6A-modification promotes lenvatinib resistance in HCC [J]. *Adv Sci*, 2024: e2401399.
- [76] LI F, ZHANG H, HUANG Y, et al. Single-cell transcriptome analysis reveals the association between histone lactylation and cisplatin resistance in bladder cancer [J]. *Drug Resist Updat*, 2024, 73: 101059.
- [77] NAJAFI F, KELAYE S K, KAZEMI B, et al. The role of miRNA-424 and miR-631 in various cancers: Focusing on drug resistance and sensitivity [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 239: 154130.

- [78] ZHOU X, AO X, JIA Z, et al. Non-coding RNA in cancer drug resistance: underlying mechanisms and clinical applications [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 951864.
- [79] FANG S, GAO H, TONG Y, et al. Long noncoding RNA-HOTAIR affects chemoresistance by regulating HOXA1 methylation in small cell lung cancer cells [J]. *Lab Invest*, 2016, 96(1): 60-8.
- [80] LIU Z, ZOU H, DANG Q, et al. Biological and pharmacological roles of m6A modifications in cancer drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 220.
- [81] SUN Y, DONG D, XIA Y, et al. YTHDF1 promotes breast cancer cell growth, DNA damage repair and chemoresistance [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 230.
- [82] WONG T L, LOH J J, LU S, et al. ADAR1-mediated RNA editing of SCD1 drives drug resistance and self-renewal in gastric cancer [J]. *Nat Commun*, 2023, 14: 2861.
- [83] XIE R, CHENG L, HUANG M, et al. NAT10 drives cisplatin chemoresistance by enhancing ac4C-associated DNA repair in bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2023, 83(10): 1666-83.
- [84] HUANG M, HUANG J, ZHENG Y, et al. Histone acetyltransferase inhibitors: an overview in synthesis, structure-activity relationship and molecular mechanism [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 178: 259-86.
- [85] WANG F, JIN Y, WANG M, et al. Combined anti-PD-1, HDAC inhibitor and anti-VEGF for MSS/pMMR colorectal cancer: a randomized phase 2 trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(4): 1035-43.
- [86] MALLADI S, MACALINAO D G, JIN X, et al. Metastatic latency and immune evasion through autocrine inhibition of WNT [J]. *Cell*, 2016, 165(1): 45-60.
- [87] WANG H, GONG P, CHEN T, et al. Colorectal cancer stem cell states uncovered by simultaneous single-cell analysis of transcriptome and telomeres [J]. *Adv Sci*, 2021, 8(8): 2004320.
- [88] LUO X L, DENG C C, SU X D, et al. Loss of MED12 induces tumor dormancy in human epithelial ovarian cancer via down-regulation of EGFR [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 3532-43.
- [89] OSER M G, NIEDERST M J, SEQUIST L V, et al. Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(4): e165-72.
- [90] GARDNER E E, EARLIE E M, LI K, et al. Lineage-specific intolerance to oncogenic drivers restricts histological transformation [J]. *Science*, 2024, 383(6683): eadj1415.
- [91] YANG C, MA S, ZHANG J, et al. EHMT2-mediated transcriptional reprogramming drives neuroendocrine transformation in non-small cell lung cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(23): e2317790121.
- [92] TONG X, PATEL A S, KIM E, et al. Adeno-to-squamous transition drives resistance to KRAS inhibition in LKB1 mutant lung cancer [J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(3): 413-28, e7.
- [93] LÜND F, SUGIYAMA N, BILL R, et al. Distinct contributions of partial and full EMT to breast cancer malignancy [J]. *Developmental Cell*, 2021, 56(23): 3203-21, e11.
- [94] GALLE E, THIENPONT B, CAPPUYNS S, et al. DNA methylation-driven EMT is a common mechanism of resistance to various therapeutic agents in cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1): 27.
- [95] PASTUSHENKO I, MAURI F, SONG Y, et al. Fat1 deletion promotes hybrid EMT state, tumour stemness and metastasis [J]. *Nature*, 2021, 589(7842): 448-55.
- [96] PU Y, LI L, PENG H, et al. Drug-tolerant persister cells in cancer: the cutting edges and future directions [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(11): 799-813.
- [97] REHMAN S K, HAYNES J, COLLIGNON E, et al. Colorectal cancer cells enter a diapause-like DTP state to survive chemotherapy [J]. *Cell*, 2021, 184(1): 226-42, e21.
- [98] NIE M, CHEN N, PANG H, et al. Targeting acetylcholine signaling modulates persistent drug tolerance in EGFR-mutant lung cancer and impedes tumor relapse [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(20): e160152.
- [99] BU J, ZHANG Y, WU S, et al. KK-LC-1 as a therapeutic target to eliminate ALDH⁺ stem cells in triple negative breast cancer [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2602.
- [100] WANG X K, HE J H, XU J H, et al. Afatinib enhances the efficacy of conventional chemotherapeutic agents by eradicating cancer stem-like cells [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(16): 4431-45.
- [101] TONG X Z, WANG F, LIANG S, et al. Apatinib (YN968D1) enhances the efficacy of conventional chemotherapeutic drugs in side population cells and ABCB1-overexpressing leukemia cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(5): 586-97.
- [102] MI Y J, LIANG Y J, HUANG H B, et al. Apatinib (YN968D1) reverses multidrug resistance by inhibiting the efflux function of multiple ATP-binding cassette transporters [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(20): 7981-91.
- [103] ZHAO X Q, DAI C L, OHNUMA S, et al. Tandutinib (MLN518/CT53518) targeted to stem-like cells by inhibiting the function of ATP-binding cassette subfamily G member 2 [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 49(3): 441-50.
- [104] CASSIER P A, NAVARIDAS R, BELLINA M, et al. Netrin-1 blockade inhibits tumour growth and EMT features in endometrial cancer [J]. *Nature*, 2023, 620(7973): 409-16.
- [105] LENGEND J, PASTUSHENKO I, VANUYTVEN S, et al. Pharmacological targeting of netrin-1 inhibits EMT in cancer [J]. *Nature*, 2023, 620(7973): 402-8.
- [106] BAGHBAN R, ROSHANGAR L, JAHANBAN-ESFAHLAN R, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 59.
- [107] WEI L, YE H, LI G, et al. Cancer-associated fibroblasts promote progression and gemcitabine resistance via the SDF-1/SATB-1 pathway in pancreatic cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1065.
- [108] SHAN G, GU J, ZHOU D, et al. Cancer-associated fibroblast-secreted exosomal miR-423-5p promotes chemotherapy resistance in prostate cancer by targeting GREM2 through the TGF- β signaling pathway [J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(11): 1809-22.
- [109] LIU Y, XUN Z, MA K, et al. Identification of a tumour immune barrier in the HCC microenvironment that determines the efficacy of immunotherapy [J]. *J Hepatol*, 2023, 78(4): 770-82.
- [110] HOSEIN A N, BREKKEN R A, MAITRA A. Pancreatic cancer stroma: an update on therapeutic targeting strategies [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 487-505.
- [111] HU H, PIOTROWSKA Z, HARE P J, et al. Three subtypes of lung cancer fibroblasts define distinct therapeutic paradigms [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(11): 1531-47, e10.
- [112] LI S, SHENG J, ZHANG D, et al. Targeting tumor-associated macrophages to reverse antitumor drug resistance [J]. *Aging*,

- 2024, 16(11): 10165-96.
- [113] ZHANG X, CHEN Y, HAO L, et al. Macrophages induce resistance to 5-fluorouracil chemotherapy in colorectal cancer through the release of putrescine [J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(2): 305-13.
- [114] SHI Q, SHEN Q, LIU Y, et al. Increased glucose metabolism in TAMs fuels O-GlcNAcylation of lysosomal Cathepsin B to promote cancer metastasis and chemoresistance [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(10): 1207-22, e10.
- [115] WU Y, YI M, NIU M, et al. Myeloid-derived suppressor cells: an emerging target for anticancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 184.
- [116] QIN G, LIU S, LIU J, et al. Overcoming resistance to immunotherapy by targeting GPR84 in myeloid-derived suppressor cells [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 164.
- [117] CAO Y. Adipocyte and lipid metabolism in cancer drug resistance [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(8): 3006-17.
- [118] JING X, YANG F, SHAO C, et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 157.
- [119] WOJTKOWIAK J W, VERDUZCO D, SCHRAMM K J, et al. Drug resistance and cellular adaptation to tumor acidic pH microenvironment [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(6): 2032-8.
- [120] MORIN P J. Drug resistance and the microenvironment: nature and nurture [J]. *Drug Resist Updat*, 2003, 6(4): 169-72.
- [121] WU S, LUO M, TO K K W, et al. Intercellular transfer of exosomal wild type EGFR triggers osimertinib resistance in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 17.
- [122] FAN G, YU B, TANG L, et al. TSPAN8⁺ myofibroblastic cancer-associated fibroblasts promote chemoresistance in patients with breast cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16(741): eadg5705.
- [123] LIU X, LU Y, HUANG J, et al. CD16⁺ fibroblasts foster a trastuzumab-refractory microenvironment that is reversed by VAV2 inhibition [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(11): 1341-57, e13.
- [124] WANG S, WANG J, CHEN Z, et al. Targeting M2-like tumor-associated macrophages is a potential therapeutic approach to overcome antitumor drug resistance [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2024, 8(1): 31.
- [125] GUAN W, LI F, ZHAO Z, et al. Tumor-associated macrophage promotes the survival of cancer cells upon docetaxel chemotherapy via the CSF1/CSF1R-CXCL12/CXCR4 Axis in castration-resistant prostate cancer [J]. *Genes*, 2021, 12(5): 773.
- [126] KAUDER S E, KUO T C, HARRABI O, et al. ALX148 blocks CD47 and enhances innate and adaptive antitumor immunity with a favorable safety profile [J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201832.
- [127] KALBASI A, RIBAS A. Tumour-intrinsic resistance to immune checkpoint blockade [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1): 25-39.
- [128] ZARETSKY J M, GARCIA-DIAZ A, SHIN D S, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 819-29.
- [129] SHIN D S, ZARETSKY J M, ESCUIN-ORDINAS H, et al. Primary resistance to PD-1 blockade mediated by JAK1/2 mutations [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(2): 188-201.
- [130] SADE-FELDMAN M, JIAO Y J, CHEN J H, et al. Resistance to checkpoint blockade therapy through inactivation of antigen presentation [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1136.
- [131] CHEN X, LU Q, ZHOU H, et al. A membrane-associated MHC-I inhibitory axis for cancer immune evasion [J]. *Cell*, 2023, 186(18): 3903-20, e21.
- [132] GU S S, ZHANG W, WANG X, et al. Therapeutically increasing MHC-I expression potentiates immune checkpoint blockade [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(6): 1524-41.
- [133] WANG J, SANMAMED M F, DATAR I, et al. Fibrinogen-like Protein 1 is a major immune inhibitory ligand of LAG-3 [J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 334-47, e12.
- [134] MINNIE S A, WALTNER O G, ZHANG P, et al. TIM-3⁺ CD8 T cells with a terminally exhausted phenotype retain functional capacity in hematological malignancies [J]. *Sci Immunol*, 2024, 9(94): eadg1094.
- [135] RONG Q X, WANG F, GUO Z X, et al. GM-CSF mediates immune evasion via upregulation of PD-L1 expression in extranodal natural killer/T cell lymphoma [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 80.
- [136] LUO M, WANG X, WU S, et al. A20 promotes colorectal cancer immune evasion by upregulating STC1 expression to block "eat-me" signal [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 312.
- [137] ZHANG H, XIA Y, WANG F, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 mediates alcohol-induced colorectal cancer immune escape through stabilizing PD-L1 expression [J]. *Adv Sci*, 2021, 8(10): 2003404.
- [138] LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(16): 1535-46.
- [139] TAWBI H A, SCHADENDORF D, LIPSON E J, et al. Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in untreated advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(1): 24-34.
- [140] CHO B C, ABREU D R, HUSSEIN M, et al. Tiragolumab plus atezolizumab versus placebo plus atezolizumab as a first-line treatment for PD-L1-selected non-small-cell lung cancer (CITYSCAPE): primary and follow-up analyses of a randomised, double-blind, phase 2 study [J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(6): 781-92.
- [141] WANG Z X, CUI C, YAO J, et al. Toripalimab plus chemotherapy in treatment-naïve, advanced esophageal squamous cell carcinoma (JUPITER-06): a multi-center phase 3 trial [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(3): 277-88, e3.
- [142] LUO M, WANG F, ZHANG H, et al. Mitomycin C enhanced the efficacy of PD-L1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 141.
- [143] ZHOU Q, CHEN M, JIANG O, et al. Sugemalimab versus placebo after concurrent or sequential chemoradiotherapy in patients with locally advanced, unresectable, stage III non-small-cell lung cancer in China (GEMSTONE-301): interim results of a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(2): 209-19.
- [144] LIU X, ZHANG Y, YANG K Y, et al. Induction-concurrent chemoradiotherapy with or without sintilimab in patients with locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma in China (CONTINUUM): a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2024, 403(10445): 2720-31.
- [145] LUO M, XIA Y, WANG F, et al. PD0325901, an ERK inhibitor, enhances the efficacy of PD-1 inhibitor in non-small cell lung carcinoma [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(10): 3120-33.