

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.27.048

肿瘤治疗电场研究进展*

董曦文^{1,2} 刘文博³ 康国创⁴ 王 廷⁵ 闫小龙¹ 卢 强^{1△}

(1 第四军医大学唐都医院胸腔外科 陕西 西安 710038; 2 第四军医大学学员旅六队 陕西 西安 710032;

3 第四军医大学西京医院神经外科 陕西 西安 710032; 4 咸阳市武功县人民医院神经外科 陕西 咸阳 712200;

5 第四军医大学西京医院血管内分泌外科 陕西 西安 710032)

摘要:随着交流电场在医学领域的研究和应用逐步深入,研究人员发现低强度(1-2 V/cm)、中频(100-200 kHz)交流电场对肿瘤具有良好的治疗作用,此类电场也因此被称为肿瘤治疗电场(Tumor Treating Fields, TTFields)。研究表明 TTFields 对体外培养的肿瘤细胞具有干扰有丝分裂,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤的生长作用;同时 TTFields 相关临床研究显示出 TTFields 对多种肿瘤的增殖和转移都发挥了抑制作用。而将 TTFields 与化疗药物联合应用作为二线方案治疗肿瘤,也被证明十分可行。更重要的是,无论是单独应用还是联合使用,TTFields 产生的副作用与传统放疗、化疗手段相比甚小,患者生存质量也极大提高。本文就肿瘤治疗电场的相关机制以及临床前、临床研究进展做一综述。

关键词:肿瘤治疗;交流电场;有丝分裂;细胞凋亡

中图分类号:R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)27-5377-03

Progresses and Perspectives of Tumor Treating Fields*

DONG Xi-wen^{1,2}, LIU Wen-bo³, KANG Guo-chuang⁴, WANG Ting⁵, YAN Xiao-long¹, LU Qiang^{1△}

(1 Department of Thoracic Surgery, TangDu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Team Six, Brigade of Cadet, the Forth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Neurosurgery, Xijing Institute of Clinical Neuroscience, Xijing Hospital, the Forth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 4 Department of Neurosurgery, Wu Gong Hospital, Xianyang, Shaanxi, 712200, China)

ABSTRACT: With further study and utilization of the alternating fields, researchers have discovered that Tumor Treating Fields (TTFields), which are low intensity(1-2 V/cm), intermediate frequency(100-200 kHz) alternating electric fields, possess the ability to treat cancers. By analyzing results of pre-clinical researches, we have found that TTFields can inhibit mitosis and proliferation of cancer cells and induce apoptosis to the cancer cells. Meanwhile, many clinical researches have shown that TTFields could possibly reduce the proliferation and metastasis of different cancers. Additionally, TTFields, combined with chemical drugs, are also proved to be effective to be used as a second-line treatment. Most importantly, whether we use TTFields as a mono-therapy or a accompany of other treatments, the side effects of certain therapy are very mild, compared with traditional radiotherapy or chemotherapy. Thus, we write a review to summarize the possible mechanism and the results of the pre-clinical and clinical researches.

Key words: Tumor Treatment; Alternating Electric Fields; Mitosis; Apoptosis

Chinese Library Classification: R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)27-5377-03

前言

交流电场在多年前已被应用在诊断、科研以及疾病治疗等多个医学领域。依其不同频率和强度不同,电场具有不同的电生理特性(见表1)。极低频率交流电场(频率低于1 kHz)可以使细胞产生去极化,并最终导致动作电位^[1,2],故被用来刺激肌肉和神经的生物电活动。频率较高的交流电场可以更好的穿透细胞,其总体效应是在细胞膜平衡电位基础上产生超去极化,这种效应导致整合的刺激但不能产生动作电位。频率高于

10 MHz 的交流电场对真核细胞膜产生的电生理效应将导致电解质的极化并最终对组织产生热效应^[3,4]。频率介于10 kHz和1 MHz之间的中频交流电则既不会导致纯粹的去极化也不会产生严重的介电消耗,换句话说,既不会兴奋肌肉或神经,(在强度够低时)也不会对组织产生严重热效应。此类电场之前被认为对细胞没有产生生物学效应^[5-7],然而,近期发现,此类电场(即 TTFields)具有干扰有丝分裂的特性并有可能导致分裂细胞的死亡的潜能。目前已经发现,在低强度(<2 V/cm)以及中频(介于100-300 kHz之间)交流电场中,肿瘤细胞的生长

* 基金项目:陕西省自然科学基金(2012JM4022);唐都医院科技创新发展基金(2012CXTS005);唐都医院骨干人才资助基金

作者简介:董曦文,男,本科,主要从事癌症相关治疗方法的相关研究,电话:13279260989, E-mail:dongxiwen@gmail.com

△通讯作者:卢强,男,博士,硕士生导师,副主任医师副教授,主要从事食管癌及肺癌发病及治疗研究,电话:86-29-84717544,

E-mail:luqiang@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-03-14 接受日期:2014-04-12)

受到显著抑制。

表 1 不同频率的交流电场在医学领域的应用

Table 1 Alternating electric fields of different frequency used in medicine

Frequency	Biological activity	Application
<1 kHz	Membrane depolarization	Defibrillators, fracture healing
100-300 kHz	Mitotic arrest and apoptosis	Tumor Treating Fields
1->10 MHz	Dielectric polarization	Diathermy

1 TTFields 抑制癌细胞分裂的机制

细胞内都含带电分子(如 DNA 和蛋白质),它们会依据所处交流电场的方向和密度而发生振荡。如果电场是均匀的,那么间断地向相反方向的作用力会导致带电分子平行于电场方向的运动。当电场频率足够高,如达到 TTFields 的电场频率,这些分子运动会减慢。对于偶极子来讲,因为其分子的带电极性和阳极是分离的,它便会与电场方向相匹配,并保持位置不变。包括偶极子在内的所有带电分子,在不均匀的交流电场中则都会向电场密度高的方向运动。在非分裂细胞中,电场基本上是均匀的,因此,带电分子和偶极子所受的净电场力几乎不产生运动。与之不同,非均匀电场中电场力则会使极性分子向高电场密度的方向运动,这个过程被称作双向电泳^[89]。在有丝分裂末期,由于分裂沟分割两个子细胞,形成狭窄的细胞质连接,在连接部位附近电场是不均匀的,便会对极性分子产生上述作用。

1.1 有丝分裂纺锤体形成的停止

纺锤体在有丝分裂中的作用是将复制后的子染色体平均分配到两个子细胞中。这一过程中,微小的极性分子—微管蛋白聚合成条状亚单位延伸到细胞中央排列的遗传物质内,并与染色体结合。根据之前的描述,在没有进行有丝分裂的细胞中,尽管电场是均匀的,但微管亚单位会根据电场方向而平行排列。有限仿真元研究显示,作用于细胞亚单位上的电场力阻止它们到达实现聚合所需的排列方向,故有丝分裂会发生异常的长时间停止^[90]。微管蛋白因受到足够强的电场力而导致聚合障碍将引起微管形成受阻。这一过程通常发生于细胞有丝分裂间期,进而引起细胞发生碎裂。

1.2 有丝分裂沟的破坏

所有细胞都会发生纺锤体形成障碍。度过有丝分裂中期的细胞,其细胞膜将开始发生缢裂,并将两个子染色体牵拉到细胞两极。在有丝分裂最后一步(即胞质的分裂过程中),分裂沟最终形成,并将两个细胞最终完全分开。而这个狭窄的细胞膜连接处将产生一个与非分裂细胞截然不同的沙漏样非均匀电场。在胞质分裂过程中,电场密度最高的位置位于狭窄部位的中心位置。在此情况下,集中的场强将导致所有电荷和偶极子受到单向电场力的作用而向分裂沟发生移动。有限仿真元研究显示,在 TTFields 治疗过程中,细胞内极性分子和偶极子因受到足够强的电场力的影响而朝向分裂沟移动。这将导致细胞内结构的紊乱,产生细胞破坏效应。

2 TTFields 的临床前研究

许多临床前离体试验已经证明了 TTFields 可以有效地阻碍细胞增殖,并对肿瘤细胞具有破坏作用^[10,11]。针对 TTFields 的作用效果,目前已经进行了包括黑色素瘤、神经胶质细胞瘤、肺癌、前列腺癌和乳腺癌在内的多种、多系细胞测试。在所有测试中,TTFields 连续应用 24-72 小时后,与对照组和非复制组(进行 TTFields 处理的幼年仓鼠肾脏细胞(BHK))相比,肿瘤细胞增殖程度都被极大地减弱。对某些细胞系而言,TTFields 存在发挥最大限度增值抑制作用的最佳频率,并依据细胞体积和尺寸不同而不同(见表 2)^[11]。在微速摄影显微镜下,肿瘤细胞有丝分裂时程显著延长,同时在分裂沟形成时发生细胞破坏。大部分经过 TTFields 处理的肿瘤细胞在进行有丝分裂的过程中形态发生显著异常,这一现象的与 TTFields 抑制纺锤体形成有关。形态学研究证实,这些分裂形态异常的肿瘤细胞与经过纺锤体形成抑制剂(如紫杉醇)处理的肿瘤细胞形态相似。进一步研究表明 TTFields 与不同的化疗方案联合使用可获得附加或协同效应^[12]。

表 2 针对实验细胞系的最适 TTFields 频率

Table 2 Optimal TTFields frequency for tested cell lines

Cell line	Optimal frequency(kHz)
B16F1(mouse melanoma)	120
AA8(Chinese hamster ovary)	150
VX-2(rabbit kidney)	150
MCF-7(human breast)	150
MDA-MB-231(human breast)	150
F-98(rat glioma)	200
U-87(human glioma)	200
U-118(human glioma)	200

与此同时,TTFields 可导致培养的细胞长轴沿电场方向排列。这可能是因为当细胞分裂的轴线与外加电场方向一致时细胞受到的电场力最大。这也表明,TTFields 对有丝分裂细胞的影响程度与细胞分裂方向同电场方向的夹角大小有关。

此外,TTFields 在小鼠、大鼠和兔等多种动物模型中都显示出抑制肿瘤增长的作用^[10,11]。研究人员将肿瘤细胞系植入实验动物体内用以测试在体实验中 TTFields 最有效的频率和强度。TTFields 处理组的实验动物解剖与对照组动物相比,其肿瘤的尺寸显著缩小。两组动物肿瘤邻近区域温度相比并未有明显差异。在体实验验证了通过非侵入性的绝缘电极将电场施加在目标区域的可行性。尽管单方向施加 TTFields 时对肿瘤生长的抑制作用并没有统计学意义,但是当双向或三向交叉施加电场时,则会产生有统计学意义的抑制作用^[11]。在体肿瘤模型试验也显示出针对不同种类肿瘤细胞,TTFields 存在能够产生最有效抑制的特定频率,这一特性与离体试验相似。同时,在动物进行 TTFields 处理一段时间后检测实验动物生命体征、心电图、全血计数、化学和凝血指标,并未发现异常,之后的病理学检查也未发现与治疗相关的病变。

对发生转移的黑色瘤小鼠模型和发生转移的肾癌兔模型进行治疗的研究显示,TTFields 治疗减少了转移瘤的扩散,

其机制可能是 TTFields 对转移瘤增殖产生抑制,导致肿瘤转移能力受限,另外对于原发灶肿瘤的控制也对减少转移瘤扩散发挥作用^[13]。

3 TTFields 的临床研究

将 TTFields 应用于患者之前,试验通过对一位接受颅脑手术的志愿者进行脑部有限元网络模拟与测量,测试了 TTFields 应用的可行性。结果显示 TTFields 通过使用表面电极可有效地作用于大脑组织。TTFields 首先在十名复发的恶性胶质母细胞瘤 (GBM) 患者身上进行了测试。患者并未联合使用化疗方案,因此 TTFields 是唯一施加的抗肿瘤措施。两对贴在病人皮肤上的绝缘电极通过连接到一个便携的 TTFields 发生装置上对肿瘤施加电场。电场发生装置平均每天 18 小时连续产生两个相互垂直的强度在 1-2 V/cm 之间、频率为 200 kHz 的交流电场。实验结果显示,患者疾病的中位进展间期延长至 26.1 周,疾病无进展中位生存期延长至 6 个月 (与历史对照相比延长一半),中位生存期延长至超过 62 周^[14]。同时,在合计 280 周的治疗期内,没有发生与治疗相关的严重副作用。唯一的治疗相关副作用是皮肤接触电极胶而导致的轻到中度的接触性皮炎,而这一现象也可以通过常规治疗得到控制。

这些早期的研究结果直接促成了 TTFields 治疗与标准化疗方案疗效进行对比的三期临床试验。试验样本为 237 名复发的恶性胶质瘤患者^[14,15]。实验中,患者先前接受的手术次数或化疗疗程次数不受限制。他们被随机分配到 TTFields 组和标准化疗组。其中,TTFields 组仅使用 TTFields 作为单一治疗而不附加其他抗肿瘤治疗,标准化疗组则依据内科医生的意见给予标准化疗方案 (BSCh)。TTFields 以平均每天作用 20 小时的方案进行治疗,患者均表现出较好依从性。两组病人基本状况较平衡,两组中位年龄均为 54 岁,中位卡氏评分 (KPS) 为 80%。平均治疗时间 TTFields 组为 4.4 个月,BSCh 组为 2.3 个月。结果显示,185 名按照 TTFields 方案治疗的患者的生存期获益具有统计学意义。TTFields 组中位生存时间为 7.8 个月,而 BSCh 组仅为 6.1 个月。此外,处于较好生存预期水平的患者 (KPS ≥ 80%, 年龄 ≤ 60 岁) 接受 TTFields 显示出更高的生存获益 (中位生存期为 8.8 个月,而 BSCh 组仅为 6.6 个月; 样本数为 110 人)。这些结果显示 TTFields 在这种预后较差的疾病中,作为单一治疗方案的疗效与目前最佳化疗方案或支持治疗方案疗效至少应是相同的。值得注意的是,使用 TTFields 治疗的患者生活质量相比于应用 BSCh 治疗者大大提高。与 TTFields 治疗相关的副作用是仍然小部分患者在皮肤与电极接触处发生轻至中度接触性皮炎。相比之下,BSCh 组的毒副作用则更加明显。

此外,Pless^[16]等人,还以 TTFields 联合培美曲塞作为二线治疗方案,进行了一期、二期单组临床研究,研究对象为高级别 (III B、IV 期) 一线治疗方案无效的非小细胞肺癌 (NSCLC)。依据临床前期相关实验数据,TTFields 电极被安放在胸部和上腹部,TTFields 发生设备产生 150 kHz 的交流电场。41 名接受治疗的患者当中,有 7 名 (17.1%) 为鳞状细胞癌,有 30 名 (73%) 临床分期为 IV 期。患者每日平均治疗时间为 11.2 小时,且耐受性较好。在累计超过 720 周的治疗过程中,没有因使用 TTFields 而产生严重副作用的案例。该类疾病的中位无恶化生

存期为 22 周,而经 TTFields 治疗的肺和肝脏肿瘤的疾病无恶化生存期 (也就是处于接受 TTFields 时间窗内而最初的研究停止) 为 28 周,显著优于其他治疗方式。此发现具有重大意义,我们可以假设这是相同病人在 TTFields 区域得到更好局部控制的特殊效应。TTFields 组中位生存期为 13.8 个月,一年存活率为 57%。有 6 名 (14.6%) 患者出现影像学上的缓解,16 名 (39%) 患者病情稳定。这一结果显示 TTFields 应用的广阔的前景,同时与只接受培美曲塞作为二线治疗的历史实验结果相比有明显优势^[17]。此外,涉及 TTFields 的仅有的副作用仍然仅是轻至中度皮肤反应。

4 总结与展望

TTFields 的离体和在体实验均显示了其对肿瘤细胞增殖的抑制作用和对肿瘤细胞的破坏作用。我们已知其中涉及了两种机制:一是产生电场力干扰微管亚单位的正常聚合进而阻止了纺锤体的形成;二是在胞质分裂过程的分裂沟处由 TTFields 产生的非均匀电场使带电分子受到单向力的作用并使之向分裂沟移动。

在临床前研究方面,暴露于 TTFields 下的肿瘤细胞的死亡原因是研究热点之一。其相关机制主要是 TTFields 可诱导肿瘤细胞凋亡^[18],募集免疫细胞,改变免疫细胞和肿瘤细胞之间的相互作用^[13]以及改变肿瘤细胞结构等。此外,因 TTFields 对所培养肿瘤细胞的抑制作用具有频率依赖性,故对于不同肿瘤细胞,人们应使用特定频率以达到最大的增殖抑制效应^[11]。在未来,临床前试验可以使用患者肿瘤的细胞学或病理学标本进行体外测试以寻找最适合病人的个体化频率。

在临床研究方面,针对复发性恶性胶质母细胞瘤病人的三期临床试验和高度恶性的非小细胞肺癌病人的二期临床试验都为我们使用合理使用 TTFields 提供了宝贵经验^[16]。值得注意的是,由于标准化疗通常有巨大的毒性,而生物靶向治疗则通常仅对那些携带特定变异,表达特定蛋白的肿瘤亚群起作用,而研究对象中的胶质母细胞瘤也如许多其他肿瘤一样,包含许多不同的基因型^[19],所以很难找到一种化疗方案对所有类型的肿瘤 (至少是大部分肿瘤患者) 都有效。然而,TTFields 则不受细胞表面表达的受体或其他肿瘤生物学标记的限制独立的发挥作用。因为有丝分裂没有其他可替代的机制,故肿瘤细胞很可能无法对 TTFields 产生抗性。此外,TTFields 临床应用的另一大特点是毒副作用小,患者依从性高。同时,治疗时使用非侵入性表面电极产生的直接电流阻断了离子流^[20]并减少正常细胞死亡从而降低了皮肤损害,使持续性治疗成为可能。在相关实验性研究中,TTFields 应用于四名因乳腺肿瘤或黑色素瘤而导致皮肤损害的患者身上,并被证明是安全的、患者可耐受的^[20]。此外,就 TTFields 联合治疗来讲,TTFields 联合化疗可以提高化疗药物的有效性和敏感性^[12]。因 TTFields 本身无毒性,这种协同作用可以用来获得更高的反应性,也可减少化疗强度造福于那些无法耐受全剂量化疗的患者。

总之,TTFields 不论是用作单独方案治疗还是与其他方案联合治疗,都在多次临床试验中获得良好疗效,并表现出其无毒害的特点。因此,对于罹患不同类型的恶性肿瘤患者,TTFields 可被视为有效的治疗方法。 (下转第 5386 页)

- [13] Nolan-Stevaurox, Lau J, Truitt ML, et al. GLI1 is regulated through Smoothened-independent mechanisms in neoplastic pancreatic ducts and mediates PDAC cell survival and transformation [J]. *Genes Dev*, 2009, 23:24-36
- [14] Lauth M, Bergstrom A, Shimokawa T, et al. DYRK1B-dependent autocrine-to-paracrine shift of Hedgehog signaling by mutant RAS[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17:718-725
- [15] Beauchamp E, Bulut G, Abaan O, et al. GLI1 is a direct transcriptional target of EWS-FLI1 oncoprotein[J]. *Biol Chem*, 2009, 284:9074-9082
- [16] Kasai K, Inaguma S, Yoneyama A, et al. SCL/TAL1 interrupting locus derepresses GLI1 from the negative control of Suppressor of fused in pancreatic cancer cell[J]. *Cancer Res*, 2008, 68:7723-7729
- [17] Schnidar H, Ebert M, Klingler S, et al. Epidermal growth factor receptor signaling synergizes with Hedgehog/GLI in oncogenic transformation via activation of the MEK/ERK/JUN pathway [J]. *Cancer Res*, 2009, 69:1284-1292
- [18] Flora A, Klisch TJ, Schuster G, et al. Deletion of Atoh1 disrupts Sonic hedgehog signaling in the developing cerebellum and prevents medulloblastoma[J]. *Science*, 2009, 326:1424-1427
- [19] Han YG, Kim HJ, Dlugosz AA, et al. Dual and opposing roles of primary cilia in medulloblastoma development [J]. *Nat Med*, 2009, 15:1062-1065
- [20] Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: functions and mechanisms [J]. *Genes Dev*, 2008, 22:2454-2472

(上接第 5379 页)

参考文献(References)

- [1] Bronzino, Joseph D. The biomedical engineering handbook, 1st edn [M]. Boca Raton: CRC Press, 1995: 2862
- [2] Bronzino, Joseph D. The biomedical engineering handbook, 2nd edn [M]. Boca Raton: CRC Press, 2000: 2862
- [3] Elson E. Biologic effects of radiofrequency and microwave fields: in vivo and in vitro experimental results [M]. Boca Raton, CRC Press, 1995:1417-1423
- [4] Chou C K. Radiofrequency hyperthermia in cancer therapy [M]. Boca Raton: CRC Press, 1995:1424-1430
- [5] Sowers A E. Characterization of electric field-induced fusion in erythrocyte ghost membranes[J]. *J Cell Biol*, 1984, 99(6):1989-1996
- [6] Takashima S, Schwan H P. Alignment of microscopic particles in electric fields and its biological implications [J]. *Biophys J*, 1985, 47(4):513-518
- [7] Maier H. Electrorotation of colloidal particles and cells depends on surface charge[J]. *Biophys J*, 1997, 73(3):1617-1626
- [8] Clague D S, Wheeler E K. Dielectrophoretic manipulation of macromolecules: the electric field [J]. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 2001, 64(2 Pt 2):026605
- [9] Gonzalez C F, Remcho V T. Harnessing dielectric forces for separations of cells, fine particles and macromolecules [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1079(1-2):59-68
- [10] Kirson E D, Gurvich Z, Schneiderman R, et al. Disruption of cancer cell replication by alternating electric fields [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(9):3288-3295
- [11] Kirson E D, Dbaly V, Tovarys F, et al. Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(24):10152-10157
- [12] Kirson E D, Schneiderman R S, Dbaly V, et al. Chemotherapeutic treatment efficacy and sensitivity are increased by adjuvant alternating electric fields (TTFields) [J]. *BMC Med Phys*, 2009, 9:1
- [13] Kirson E D, Giladi M, Gurvich Z, et al. Alternating electric fields (TTFields) inhibit metastatic spread of solid tumors to the lungs[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(7):633-640
- [14] Stupp R, Wong E T, Kanner A A, et al. NovoTTF-100A versus physician's choice chemotherapy in recurrent glioblastoma: a randomised phase III trial of a novel treatment modality [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(14):2192-2202
- [15] Ram Z, Gutin P H, Stupp R. Subgroup and quality of life analyses of the phase III clinical trial of NovoTTF-100A versus best standard chemotherapy for recurrent glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12(Suppl 4):iv36-iv57
- [16] Pless M, Droege C, Roger von Moos, et al. A phase I/II trial of Tumor Treating Fields (TTFields) therapy in combination with pemetrexed for advanced non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2013, 81(3):445-450
- [17] Hanna N, Shepherd F A, Fossella F V, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(9):1589-1597
- [18] Sjöström S, Andersson U, Liu Y, et al. Genetic variations in EGF and EGFR and glioblastoma outcome [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12(8):815-821
- [19] Burnette R R, Ongpipattanakul B. Characterization of the pore transport properties and tissue alteration of excised human skin during iontophoresis[J]. *J Pharm Sci*, 1988, 77(2):132-137
- [20] Salzberg M, Kirson E, Palti Y, et al. A pilot study with very low-intensity, intermediate-frequency electric fields in patients with locally advanced and/or metastatic solid tumors [J]. *Onkologie*, 2008, 31(7):362-365