

· 述评 ·

# 脑胶质瘤免疫治疗与电场治疗的前沿进展

刘博涵 彭大钊 陈彦坤 胡慧敏

100070 北京市神经外科研究所 首都医科大学附属北京天坛医院分子神经病理室

通信作者: 胡慧敏, Email: huhm\_bjni@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.01.002

**【摘要】** 脑胶质瘤是最常见的原发性颅内恶性肿瘤。由于脑胶质瘤的遗传学变异较强,患者个体差异大,并且进展过程中不易产生新突变和新抗原,因此靶向治疗的研究进程较其他肿瘤遇到了更多阻碍。免疫治疗和电场治疗是癌症治疗的新型理念,阶段性的突破极大地推动了脑胶质瘤研究领域的发展。本文对近年来脑胶质瘤治疗的新发现和新进展进行概述,以期为未来临床治疗脑胶质瘤提供参考。

**【关键词】** 神经胶质瘤; 免疫治疗; 电场治疗; 临床试验; 综述

**基金项目:** 国家自然科学基金(81972816, 82372782, 82341048); 国家蛋白质科学基础设施(北京)北大分中心开放课题(KF-202301)

**Research progress in immunotherapy and tumor-treating fields for gliomas** Liu Bohan, Peng Dazhao, Chen Yankun, Hu Huimin

Molecular Neuropathology Unit, Beijing Neurosurgical Institute, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China

Corresponding author: Hu Huimin, Email: huhm\_bjni@163.com

**【Abstract】** Glioma is the most common primary intracranial malignant tumor. Due to the strong genetic variation and significant individual differences among patients, as well as the difficulty in generating new mutations and antigens during the progression of glioblastoma, the research progress of targeted therapy has encountered more obstacles compared to other tumors. Immunotherapy and tumor-treating fields (TTF) are new concepts in cancer treatment, and their phased breakthroughs have greatly inspired the field of glioma research. This article provides an overview of the new discoveries and advances in the treatment of gliomas in recent years, to provide reference for future clinical treatment of gliomas.

**【Key words】** Glioma; Immunotherapy; Tumor-treating fields; Clinical trials; Review

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81972816, 82372782, 82341048), the Open Research Fund of the National Center for Protein Sciences at Peking University in Beijing (KF-202301)

脑胶质瘤是最常见的原发性CNS恶性肿瘤,WHO将其分为I~IV级,其中恶性程度最高的IV级胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)占原发性恶性脑肿瘤的48.6%。近些年来,学者们对GBM进行了大量研究,发现其预后仍然不容乐观,经传统治疗后中位生存期约为15个月<sup>[1]</sup>。脑胶质瘤在进展过程中编码基因的突变较少,属于冷肿瘤,而瘤内遗传学变异的异质性较强,这一特征导致脑胶质瘤容易产生对化疗的抵抗与免疫逃逸<sup>[2]</sup>。目前,通过对脑胶质瘤基因组学的深入研究,对脑胶质瘤起源和进展中的关键驱动型基因变异进行探索,在传统的手术联合化疗的基础上,靶向治疗、免疫治疗<sup>[3]</sup>和电场治疗(tumor-treating fields, TTF)<sup>[4]</sup>已逐渐成为脑

胶质瘤的新型疗法。免疫治疗是目前新兴的一种肿瘤治疗思路,在多种恶性肿瘤中取得了显著的临床疗效,如肺癌<sup>[5]</sup>、乳腺癌<sup>[6]</sup>等。同时,免疫治疗在脑胶质瘤的研究领域中也备受关注,在多项临床试验中初见成效。然而,目前免疫治疗仍存在困难与挑战,比如脑胶质瘤的微环境存在免疫抑制性,药物无法有效激活免疫反应,另外免疫药物的血脑屏障透过率低也是需要解决的问题<sup>[7-8]</sup>。近年来,基因组测序技术的革新加深了学者们对脑胶质瘤免疫调节机制的了解,为免疫治疗的进展带来了新的机遇,由此诞生了众多免疫治疗的新思路。TTF是一种针对肿瘤的无创物理疗法,其使用低中频率的电场非侵袭性地干扰肿瘤细胞的有丝分裂过程,从而抑制

肿瘤细胞存活。随着学者们对脑胶质瘤生长机制的不断研究,进一步认识了TTF的抑癌原理,为癌症疗法的改进提供了理论基础。同时,有临床试验表明,TTF可作为治疗脑胶质瘤的有效措施,并具有极大的临床潜力<sup>[9]</sup>。故本文对近年来脑胶质瘤治疗的新发现和新进展进行概述,以期对未来临床治疗脑胶质瘤提供参考。

### 一、脑胶质瘤的免疫治疗

脑胶质瘤具有免疫抑制性质,肿瘤细胞中表达的免疫调节因子通过限制抗原呈递、降低免疫细胞活性破坏微环境稳态,促使肿瘤产生免疫逃逸。因此,研究脑胶质瘤形成免疫抑制与逃逸的机制可以为免疫治疗提供生物学理论基础,并有助于开辟新的思路。

1. 免疫检查点程序性死亡配体1(programmed death ligand-1, PD-L1)抑制剂: PD-L1是一个与程序性死亡相关的免疫检查点分子,其激活能够抑制T细胞活性,并参与介导癌细胞的免疫逃逸。免疫治疗的策略之一是阻止肿瘤细胞上的PD-L1与T细胞上的程序性死亡受体1(programmed death-1, PD-1)相互作用<sup>[10-11]</sup>。近年来,PD-L1抑制剂在黑色素瘤与非小细胞肺癌的临床治疗中效果十分显著<sup>[12-13]</sup>,并在脑胶质瘤中也进行了研究和尝试。在脑胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)原位移植小鼠模型中,相较于单纯使用自然杀伤(natural killer, NK)细胞治疗肿瘤,敲除PD-1联合NK细胞治疗组的小鼠中位生存期显著延长,表明抑制PD-1可以加强NK细胞对肿瘤的毒性作用<sup>[14]</sup>。另外,PD-L1抑制剂与放疗联用较单独应用时可明显延长小鼠生存期<sup>[15]</sup>。

然而,当对PD-L1进行临床试验时,结果却不尽如人意。在一项涉及369例复发GBM患者的III期临床试验中,使用抗PD-1单克隆抗体纳武单抗(nivolumab)与贝伐珠单抗的患者的中位生存期无显著区别,均为10个月左右,而前者的无进展生存期更短<sup>[16]</sup>。另一项包含40例复发GBM患者的I期临床试验中,单独应用纳武单抗组仅有3例患者达到部分缓解,纳武单抗联合细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)免疫检查点抑制剂伊匹单抗(ipilimumab)进行治疗的患者耐受性更差<sup>[17]</sup>。在另一种抗PD-1单克隆抗体派姆单抗(pembrolizumab)治疗复发性高级别脑胶质瘤患者的临床试验中,用药组患者的中位生存期仅有4个月<sup>[18]</sup>。综合考虑上述临床失败的案例,PD-L1相关药物的临床试验失败可能与患

者缺乏引导免疫检查点阻断的生物标志物(immune checkpoint blockade, ICB)有关<sup>[19]</sup>。在不同研究报告中,脑胶质瘤患者的PD-L1表达水平具有很大的个体差异性,差异为6.1%~88.0%<sup>[20]</sup>。另一原因可能与肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)有关,TMB会增加新抗原的数量并诱导产生强大的抗肿瘤反应。然而GBM患者的基因突变率较低,这可能会导致肿瘤细胞对免疫检查点抑制剂的应答较弱<sup>[21]</sup>。在一项包含66例GBM患者的临床试验中,对使用PD-1抑制剂治疗的患者进行基因组学和转录组学分析,在无应答患者中,与免疫抑制表达特征相关的磷酸酯酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)突变显著富集;而在应答患者中,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路变化显著<sup>[10]</sup>,表明抗PD-1免疫治疗在GBM中的临床反应与特异性基因突变及免疫表达特征有关。这些基因突变反映了治疗期间免疫治疗对肿瘤克隆进化的影响。另外,由于GBM是易出现T细胞功能缺陷和T细胞耗竭的肿瘤,耗竭T细胞表现出明显的表观遗传特征,这可能导致出现对免疫治疗的不良反应。T细胞耗竭的发生是一个复杂的过程,目前考虑主要是抑制性受体如PD-1、CTLA-4、T细胞免疫球蛋白黏蛋白3(T cell immunoglobulin and mucin domain protein 3, TIM-3)表达增加导致。细胞因子IL-2、TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 的生成下降也会导致T细胞的增殖能力下降。因此,单一的免疫检查点抑制剂可能无法逆转T细胞耗竭状态<sup>[22]</sup>。

2. 树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗: DC疫苗是由抗原呈递细胞组成的疫苗,能够引发人体产生有效免疫应答<sup>[23]</sup>。自体DC可以在体外装载特定肿瘤相关肽作为抗原,或使用肿瘤裂解物(autologous tumor lysate, ATL),然后再植入患者体内,能够更有效地激活细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)并增强抗肿瘤反应。使用ATL被证明具有更高的患者适应性<sup>[23-24]</sup>。一种多抗原DC疫苗ICT-107包含6个抗原表位,分别为黑色素瘤相关抗原1(melanoma-associated antigen 1, MAGE1)、黑色素瘤相关抗原2(melanoma-associated antigen 2, MAGE2)、酪氨酸酶相关蛋白2(tyrosinase-related protein 2, TRP-2)、gp100、人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)和IL-13Ra2。I期临床试验证实了其对人体安全,无明显不良反应,并可显著延长GBM患者的总生存

期和无进展生存期(progression free survival, PFS),患者中位生存期为38.4个月。其中,PFS和总生存期的增加与MAGE1和AIM-2的表达量相关<sup>[25]</sup>。在另外一项针对ICT-107的Ⅱ期临床试验中,该药物的人体耐受性良好,未出现明显不良事件。GBM患者的PFS显著改善,生活质量得以维持,其中HLA-A2阳性患者对ICT-107具有更高的免疫应答,治疗效果更佳<sup>[26]</sup>。DC疫苗目前仍处于早期的临床试验阶段,较高的安全性是DC疫苗的一大优点。联合应用其他疗法有望为脑胶质瘤的治疗带来希望,但仍需对临床疗效进一步优化。

3. 嵌合抗原受体T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞疗法: CAR-T细胞是由一种基因转导的免疫球蛋白T细胞受体分子组成,特异性识别肿瘤细胞抗原并激活T细胞,赋予T细胞肿瘤靶向性,达到杀死癌细胞的效果<sup>[27]</sup>。CAR由胞外结构域和胞内结构域两部分组成,胞外结构域起到识别肿瘤表面抗原的作用;胞内结构域为CD3等共刺激分子组成的细胞内T细胞信号域,用于在外结构域识别并结合抗原后永久保存激活信号<sup>[28-29]</sup>。针对脑胶质瘤的不同表型,已经开发出第多种靶向CAR,如IL13R $\alpha$ 2、HER2及EGFRvⅢ<sup>[19]</sup>。IL13R $\alpha$ 2CAR-T细胞已经开发出第二代疗法,即使用CD137作为共刺激分子。GBM小鼠模型验证实验表明,该第二代疗法相较于第一代疗法具有更好的抗肿瘤功效和药效持久性<sup>[30]</sup>。在原位异种移植小鼠模型中注射HER2 CAR-T细胞,可使肿瘤体积减小、IFN- $\gamma$ 和IL-2等炎性因子分泌增加。Ⅰ期临床试验表明,HER2 CAR-T细胞具有良好的人体耐受性与临床疗效<sup>[31]</sup>。在一项包含10例EGFRvⅢ阳性的复发GBM患者的临床试验中,输注EGFRvⅢ CAR-T细胞呈现出良好的安全性。在细胞输注的前2周,CAR-T可以有效地转运到脑肿瘤中,但在2周后,外周血液中的EGFRvⅢ CAR-T细胞水平下降,1个月后已完全检测不到,反映该治疗效果缺乏持久性。另外,学者认为CAR-T细胞可能激活了肿瘤的免疫抑制机制,导致肿瘤微环境变得更具免疫抑制性,因此,多种免疫抑制分子(如IDO1、PD-L1)的表达量增加。这可能是EGFRvⅢ CAR-T细胞引发的一种代偿性免疫反应,同时也表明CAR-T细胞与免疫检查点抑制剂之间可能存在协同作用<sup>[32]</sup>。目前,CAR-T细胞疗法仍然面临诸多考验,抗原逃逸所引发的肿瘤耐药可能是主要的难题。各项试验在注射CAR-T细胞后均出现不同程度的目标抗原丢失、免疫抑制因

子上调,这说明单分子靶点可能不足以应对肿瘤的高度异质性。

4. 溶瘤病毒: 溶瘤病毒是一种利用感染病毒破坏癌细胞的免疫疗法。溶瘤病毒既可以破坏癌细胞的复制,也可以通过基因改造杀死肿瘤细胞,然后激发适应性抗肿瘤免疫反应。当被感染的癌细胞破坏溶解时,会释放出新的传染性的病毒颗粒,继而破坏剩余的肿瘤细胞。这种治疗策略可以突破肿瘤对微环境的束缚,引发强烈的免疫反应<sup>[3]</sup>。溶瘤病毒的临床试验可最早追溯到2005年,H101溶瘤病毒用于治疗头颈癌<sup>[33]</sup>。在2015年一种转基因单纯疱疹病毒T-VEC被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗转移性黑色素瘤<sup>[34]</sup>。DNX-2401是一种溶瘤腺病毒,联合放疗治疗恶性脑胶质瘤的动物模型效果良好<sup>[35]</sup>。在一项包含37例复发恶性脑胶质瘤患者的Ⅰ期临床试验中,瘤内注射DNX-2401可显著延长生存期,并诱导肿瘤细胞中的免疫原性细胞死亡,表明DNX-2401可能具有免疫介导的抗肿瘤作用<sup>[36]</sup>。PSVRIP0是一种改良的脊髓灰质炎病毒,具有CD155趋向性。这种溶瘤病毒可以破坏先天抗病毒干扰素反应,导致病毒在细胞中的广泛繁殖,进而有效唤醒抗肿瘤免疫系统<sup>[37]</sup>。2012—2017年的一项包含61例复发WHOⅣ级脑胶质瘤患者的临床试验中,瘤内注射PVSRIPO组的复发GBM(rGBM)患者在24个月和36个月的总生存率为21%,而对照组的24个月和36个月生存率分别为14%和4%<sup>[38]</sup>。虽然已有研究证实了溶瘤病毒在脑胶质瘤治疗中的安全性和有效性,然而对溶瘤病毒的治疗方案进行标准化仍需要大量前期研究。

5. CAR-NK细胞疗法: NK细胞来源于CD34<sup>+</sup>淋巴细胞,是一种先天免疫效应细胞,具有细胞毒性和免疫调节双重功能。NK细胞表面有众多激活性受体,能够精准攻击和清除异常细胞,并调节机体免疫状态。因此,NK细胞已经成为对抗恶性肿瘤的同种异体候选细胞。与CAR-T细胞相比,CAR-NK具备多种优点。研究表明,CAR-NK不会引起移植抗宿主病或细胞因子再释放综合征,并且降低了因CAR靶向抗原丢失而引发耐药的风险<sup>[38]</sup>。在一项临床研究中,NK-92细胞系特异性表达erbb2CAR细胞具有强大的抗肿瘤活性,并有助于显著延长GBM小鼠的生存期<sup>[39]</sup>。然而,由于NK-92具有诱导出现染色体异常和恶性转化的风险,在输注患者之前需要辐照处理,作为防止细胞永久植入的安全措施。

另外,由于原代NK细胞难以分离、纯化和转染,有研究使用人类诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化NK细胞,并经过CAR修饰后也显示出体内抗肿瘤活性<sup>[40]</sup>。因此,iPSCs-NK细胞有望为新型CAR-NK提供有效细胞来源。

6. 巨噬细胞: 脑胶质瘤中的肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophages, TAMs)浸润主要以免疫抑制性M2巨噬细胞为主,形成免疫抑制微环境,促进脑胶质瘤的进展。与肿瘤细胞不同,脑胶质瘤微环境中的TAMs在基因方面保持稳定,这为靶向TAMs的治疗策略提供了机会<sup>[41]</sup>。在小鼠脑胶质瘤模型中,局部消融TAMs可减小肿瘤大小并延长生存期。此外,通过诱导TAMs表型转化,增加TAMs向抗肿瘤的M1型极化可能会消除免疫抑制,削弱其促肿瘤功能并引发细胞毒性T淋巴细胞免疫<sup>[42]</sup>。由于TAMs依赖于集落刺激因子(colony-stimulating factor, CSF)进行分化和存活,在小鼠GBM模型中应用CSF-1抑制剂BLZ945可显著减少M2型极化,并显著抑制肿瘤生长<sup>[43]</sup>。在复发性肿瘤中,CSF-1抑制剂与PI3K抑制剂联用可显著延长生存期<sup>[44]</sup>。PLX3397是另一种CSF-1抑制剂,具有良好的血脑屏障透过率。在一项包含37例rGBM患者的II期临床试验中,PLX3397的人体耐受性良好,但是治疗效果并不显著,将来还需探索与其他药物联用时的疗效<sup>[45]</sup>。TAMs在脑胶质瘤微环境中扮演重要的角色,与肿瘤免疫抑制和细胞迁移相关,并且在脑胶质瘤中促进血管生成。目前,TAMs抑制治疗策略仅在小鼠模型中进行评估,还未进行大规模临床试验。但是,以TAMs为靶点的免疫治疗策略具有一定的潜力,还需深入了解脑胶质瘤与TAMs的相关性,为临床试验提供切实证据。

## 二、脑胶质瘤的TTF

TTF是一种新型非侵入性的肿瘤治疗方式,采用一种便携式的治疗设备在皮肤上粘贴电场贴片产生电场,使用低强度(1~3 V/cm)、中频(100~300 kHz)的交流电场对肿瘤细胞的生长起到抑制作用。目前,已有临床试验表明,TTF的疗效与治疗时间有关,每天应用不少于18 h可显著提高脑胶质瘤患者的生存率<sup>[46]</sup>。同时,疗效也受电场强度和电场频率的影响,提升强度可显著抑制肿瘤细胞增殖。不同肿瘤适用的电场频率不同,在脑胶质瘤患者的临床试验中发现,200 kHz可作为治疗的最佳频率<sup>[47]</sup>。不同的电场频率具有不同的生物学效应,低频电场(<1 kHz)会影响细胞膜极化,使神经元细

胞的动作电位放电,出现对神经、心脏和肌肉的电刺激;高频电场(>500 kHz)会使细胞内的带电分子或极性分子震动,分子间摩擦的动能转化为热量使组织温度升高。射频肿瘤消融术就是基于这种作用原理,使肿瘤及周围组织出现凝固坏死,但是为了防止对正常脑组织损伤需要更精准的定位。中频电场(100~500 kHz)的分子交替速度快,不会刺激神经肌肉放电,相较于高频电场更加安全,不足以产生足够的热能影响组织的温度,对正常脑组织有较好的保护作用<sup>[48]</sup>。TTF可明显抑制多种肿瘤细胞的生长,如肺癌、乳腺癌、前列腺癌和脑胶质瘤<sup>[49]</sup>。早期的研究发现,TTF通过抑制纺锤体形成、减少微管聚合干扰肿瘤细胞的有丝分裂进程。姐妹染色单体在纺锤体纤维上的附着和微管蛋白异源二聚体的稳定性都受电场强度的影响,TTF降低了微管蛋白和总微管蛋白之间的比例,阻碍纺锤体的正常组装<sup>[50-51]</sup>。另一种说法是,TTF会使细胞膜电位和离子通道出现异常,导致Ca<sup>2+</sup>流入细胞内,从而减少微管聚合<sup>[52]</sup>。对TTF抗肿瘤机制的长期研究揭示,除了抗有丝分裂作用之外,TTF还对许多其他生物学过程有影响,如DNA损伤、细胞自噬、细胞迁移、细胞膜渗透性和免疫反应<sup>[53]</sup>。

1. TTF对DNA损伤的影响: TTF已被证实可以增加脑胶质瘤细胞系对放疗的敏感性,在放疗前使用TTF可减缓放射诱导DNA损伤的修复,降低脑胶质瘤细胞系的存活率。TTF会引起染色单体类型畸变和DNA损伤标志物 $\gamma$ H2AX的聚集,并减缓电离辐射诱导的DNA双链断裂的修复<sup>[54]</sup>。在非小细胞肺癌患者的治疗中,放疗前后使用TTF均可以降低细胞存活率。放疗前使用TTF的细胞毒性更大,并且多种编码DNA修复的蛋白BRCA1、MLH1、MRE11A、FANCM、ATRIP和FANCD2都显著下调。与单独应用TTF相比,TTF联合放疗组中脑胶质瘤细胞的 $\gamma$ H2AX表达显著升高。以上结果表明,TTF通过减弱肿瘤的DNA损伤修复能力增加肿瘤对放疗的敏感性<sup>[55]</sup>。这项发现可能对TTF在临床中的应用时机产生影响,在放疗前应用可能会优化整体疗效。在小鼠模型中,顺铂联合TTF后出现 $\gamma$ H2AX的聚集,表明TTF可以增强顺铂的DNA损伤效果<sup>[56]</sup>,这表明TTF可以增强DNA损伤和复制应激相关药物的疗效。TTF可以诱导DNA形成DNAR环,这是一种复制应激的标志,可能起到抑癌作用,但也会出现基因组的不稳定,导致肿瘤易出现耐药性<sup>[57]</sup>。经过TTF长期治疗的脑胶质瘤患者会出现mTOR突变或CDKN2A缺失,从而出现肿瘤对替莫唑胺耐药<sup>[58]</sup>。

2. TTF对细胞自噬的影响:自噬在肿瘤的起源和生长过程的不同阶段扮演不同的角色,在癌症的早期阶段,自噬的上调通常表现出抑癌作用;在癌症的晚期,自噬激活与肿瘤的生长和治疗抵抗相关<sup>[59]</sup>。使用TTF处理后的肿瘤细胞出现自噬相关基因的表达上调,并出现如细胞体积增加、形成双膜自噬体、内质网扩张等自噬相关特性<sup>[60-61]</sup>。当细胞发生自噬时,微管相关蛋白轻链3胞浆型(LC3- I)通过自噬相关蛋白7(autophagy-related protein 7, ATG7)脂化后变为自噬体膜型(LC3- II),并形成自噬囊泡。经TTF处理后的子细胞相较于有丝分裂前,LC3- II的表达显著升高,这表明TTF诱发的自噬与有丝分裂异常相关<sup>[62]</sup>。在生物学机制方面,TTF可能通过多种途径诱导自噬。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是一种自噬的正调节因子,肿瘤细胞经TTF处理后AMPK表达显著上调<sup>[62]</sup>。AKT2是另一种自噬相关调节因子,TTF处理后表达水平降低,可能的原因是TTF诱导肿瘤细胞表达miR-29b,可以起到抑制AKT2表达的作用<sup>[60]</sup>。目前尚不清楚自噬是TTF的细胞毒性作用的一部分,还是TTF的一种耐药机制。有研究表明,抑制自噬可以增强TTF对肿瘤细胞的杀伤作用,自噬相关信号通路的表达上调可能会引起患者对TTF耐受<sup>[62]</sup>。因此,抑制自噬有可能成为提高TTF疗效的关键因素,自噬影响TTF促细胞存活或死亡的调节机制值得进一步研究。

3. TTF对细胞迁移能力的影响:GBM向健康脑组织的侵袭和迁移能力很强,抑制这种特性可以减缓肿瘤进展。目前,学者们已经在脑胶质瘤细胞系中对TTF抑制迁移的能力进行了研究。细胞划痕实验和Transwell实验可以证明,TTF能显著减少脑胶质瘤细胞的迁移和侵袭<sup>[61, 63]</sup>;同时,通过共聚焦显微镜观察细胞的形态变化,发现细胞核内肌动蛋白出现异常积累。有研究证实,TTF可以减少细胞分散和降低细胞运动速度,进而影响细胞迁移和侵袭。与对照组细胞相比,TTF后的GBM细胞系出现细胞分散减少,迁移速度降低,较弱的细胞运动性会影响细胞侵袭的强度<sup>[64]</sup>。另外,TTF处理后的细胞转录组测序发现,TTF可能是通过下调脑胶质瘤细胞中的NF- $\kappa$ B、MAPK和PI3K/AKT通路介导抗迁移作用。在体外内皮细胞成管实验中,发现TTF可以降低血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 $\alpha$ 的表达,抑制血管内皮细胞生长,减

少新生血管的形成,以阻断脑胶质瘤的侵袭和迁移进程<sup>[63]</sup>。

4. TTF增加细胞膜通透性:大分子通过膜蛋白介导,以被动或主动运输的方式进行跨膜运输,小分子和离子通过细胞膜表面的小孔直接扩散穿过<sup>[65]</sup>。有研究通过扫描电镜观察TTF处理后的脑胶质瘤细胞,发现细胞膜孔的数量增多,孔径显著增大[TTF处理组:(240.6 $\pm$ 91.7)nm<sup>2</sup>;对照组:(129.8 $\pm$ 31.9)nm<sup>2</sup>];且这种现象仅出现于肿瘤细胞中,未出现于在正常成纤维细胞系中。另外,细胞膜特性的改变是可逆的,在停止TTF处理后24h恢复正常<sup>[66]</sup>。有学者通过小鼠体内实验表明TTF会破坏紧密连接蛋白(claudin-5)和细胞质辅助蛋白(ZO-1),从而干扰血脑屏障的完整性<sup>[67]</sup>。在另一项研究中,大鼠的体内实验证明,TTF会增加血管中免疫球蛋白IgG的透过率,增加了造影剂在脑内的通透性<sup>[68]</sup>。这些研究结果证实TTF对细胞膜的生理特性存在影响,也提示TTF可能会增加药物的血脑屏障通过率,增加药物对肿瘤细胞的渗透,这可能是TTF增加化疗药物敏感性的作用机制。

5. TTF对免疫微环境的影响:在2009年的一项对兔VX-2肿瘤模型(兔间变表皮鳞癌)进行TTF治疗的研究中,首次提出TTF可刺激抗肿瘤免疫作用。与对照组相比,TTF对腹部肿瘤有显著的治疗效果,在转移性肿瘤中CD45<sup>+</sup>细胞的数量增多,并表现出更多的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞浸润<sup>[69]</sup>,这可能表明TTF具有改变肿瘤免疫微环境的生物学机制。经TTF处理后,肿瘤细胞的钙网蛋白、ATP和免疫原性细胞死亡标志物的表达升高,这可能是导致免疫原性细胞有丝分裂异常的驱动因素<sup>[61]</sup>。TTF疗法使诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的mRNA和蛋白质水平均上调,iNOS是一种炎性细胞刺激巨噬细胞产生的毒性反应标志物,具有调节多种免疫细胞的功能<sup>[70]</sup>。经过TTF处理后,小鼠巨噬细胞中的IL- $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 表达水平显著升高,表明TTF可能会诱导巨噬细胞向促炎表型转变。此外,相较于对照组,对共培养的肿瘤与巨噬细胞进行TTF处理后,肿瘤细胞活性显著降低,这证实了TTF可以激活巨噬细胞的抗肿瘤免疫反应<sup>[71]</sup>。

6. TTF的临床试验进展:2004年TTF的临床试验(EF-07)对20例原发或复发GBM患者进行治疗,确认了应用TTF治疗GBM的安全性。随后在2006年开展的包含237例复发性GBM患者的III期临床试验(EF-11)<sup>[72]</sup>中,单独应用TTF治疗的患者与单独

应用化疗的患者相比,总生存期和PFS均无明显区别(6.6与6.0个月、2.2与2.1个月)。但TTF组不良反应发生率明显降低,并且患者的生活质量明显改善,这表明TTF与化疗在治疗复发性GBM方面的疗效相近。随后在2014年完成了一项包含466例原发性GBM患者的临床试验(EF-14)<sup>[68]</sup>,以TTF联合替莫唑胺作为治疗方案,相较于229例单独应用替莫唑胺的患者,TTF联合替莫唑胺组的PFS和总生存期显著提高(6.7与4.0个月、20.9与16.0个月),并且患者存活率明显提高(43%与29%)。在2023年世界肺癌大会上,Novocure的一项会议报告公布了TTF联合免疫治疗转移性非小细胞肺癌临床试验的数据,即LUNAR试验(Novocure Highlights Use of tumor treating fields therapy in treatment of Non-small cell lung cancer, September 8, 2023),该临床试验包含276例铂类疗法失败的晚期非小细胞肺癌患者。在PD-L1肿瘤细胞阳性表达率 $\geq 1\%$ 的患者中,应用TTF+免疫治疗联合治疗的中位总生存期为23.6个月,而单用免疫检查点抑制剂的患者仅有10.5个月。另外,对于TTF+免疫治疗联合疗法,PD-L1的表达增加与生存改善相关。这项研究的初步结果表明TTF与免疫治疗的联合疗法具有很大的潜力,同时也为脑胶质瘤提供了研究方向。TTF的临床试验表明这是一种安全有效的疗法,不良反应少是其一大优点,试验中仅有部分患者出现皮疹,这可能是皮肤对电极片过敏所导致,在局部给予类固醇软膏后均可缓解。另外,TTF也存在明显的局限性,高昂的费用是不能达到广泛应用的关键原因。但随着市场的扩大,技术的成熟,这项问题有可能会得到解决。TTF的另一个缺点是,患者需要具有极高的依从性。临床一般建议每天佩戴不少于18h,并且要随身携带设备和电源,将使患者的生活质量面临巨大挑战<sup>[68]</sup>。

### 三、总结与展望

免疫治疗与TTF均为新型肿瘤治疗方式,目前被FDA批准用于多种肿瘤类型。临床前研究显示,2种方法对肿瘤细胞的抑制作用具有多重下游机制。TTF对血脑屏障和细胞膜通透性的影响可能会增强免疫药物的疗效,因此联合应用可能取得更佳的疗效。同时,TTF刺激抗肿瘤免疫作用,促进免疫微环境变化,也会产生更多免疫治疗靶点。

随着对脑胶质瘤发病与进展的认识逐渐加深,多种新型疗法的理念被广泛认同。然而,在临床试验阶段,各种治疗的新方法或新方案没有达到预期效果。在未来脑胶质瘤疗法的研发领域,针对脑胶质

瘤不同于其他肿瘤的特性,可能需要尝试多种治疗方式的联合应用,解决血脑屏障对药物疗效的限制,真正实现对不同分子表型脑胶质瘤的精准治疗<sup>[31]</sup>。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 论文构思与设计、撰写为刘博涵,文献整理为彭大钊,论文修订为陈彦坤、胡慧敏

### 参 考 文 献

- [1] Khasraw M, Fujita Y, Lee-Chang C, et al. New approaches to glioblastoma[J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 279-292. DOI: 10.1146/annurev-med-042420-102102.
- [2] D'Alessio A, Proietti G, Sica G, et al. Pathological and molecular features of glioblastoma and its peritumoral tissue[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4): 469. DOI: 10.3390/cancers11040469.
- [3] Lim M, Xia Y, Bettegowda C, et al. Current state of immunotherapy for glioblastoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(7): 422-442. DOI: 10.1038/s41571-018-0003-5.
- [4] Xu S, Luo C, Chen D, et al. circMMD reduction following tumor treating fields inhibits glioblastoma progression through FUBP1/FIR/DVL1 and miR-15b-5p/FZD6 signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 64. DOI: 10.1186/s13046-023-02642-z.
- [5] Passaro A, Brahmer J, Antonia S, et al. Managing resistance to immune checkpoint inhibitors in lung cancer: treatment and novel strategies[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(6): 598-610. DOI: 10.1200/JCO.21.01845.
- [6] Hammerl D, Smid M, Timmermans AM, et al. Breast cancer genomics and immuno-oncological markers to guide immune therapies[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(Pt 2): 178-188. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.11.003.
- [7] Grabowski MM, Sankey EW, Ryan KJ, et al. Immune suppression in gliomas[J]. *J Neurooncol*, 2021, 151(1): 3-12. DOI: 10.1007/s11060-020-03483-y.
- [8] Sabbagh A, Beccaria K, Ling X, et al. Opening of the blood-brain barrier using low-intensity pulsed ultrasound enhances responses to immunotherapy in preclinical glioma models[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(15): 4325-4337. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3760.
- [9] Rominiyi O, Vanderlinden A, Clenton SJ, et al. Tumour treating fields therapy for glioblastoma: current advances and future directions[J]. *Br J Cancer*, 2021, 124(4): 697-709. DOI: 10.1038/s41416-020-01136-5.
- [10] Zhao J, Chen AX, Gartrell RD, et al. Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma[J]. *Nat Med*, 2019, 25(3): 462-469. DOI: 10.1038/s41591-019-0349-y.
- [11] Doroshow DB, Bhalla S, Beasley MB, et al. PD-L1 as a biomarker of response to immune-checkpoint inhibitors[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(6): 345-362. DOI: 10.1038/s41571-021-00473-5.
- [12] Nishijima TF, Shachar SS, Nyrop KA, et al. Safety and tolerability of PD-1/PD-L1 inhibitors compared with chemotherapy in patients with advanced cancer: a Meta-analysis[J]. *Oncologist*, 2017, 22(4): 470-479. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0419.
- [13] Chen Y, Gao M, Huang Z, et al. SBRT combined with PD-1/PD-L1 inhibitors in NSCLC treatment: a focus on the mechanisms,

- advances, and future challenges[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 105. DOI: 10.1186/s13045-020-00940-z.
- [14] Huang BY, Zhan YP, Zong WJ, et al. The PD-1/B7-H1 pathway modulates the natural killer cells versus mouse glioma stem cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134715. DOI: 10.1371/journal.pone.0134715.
- [15] Zeng J, See AP, Phallen J, et al. Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2013, 86(2): 343-349. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2012.12.025.
- [16] Reardon DA, Brandes AA, Omuro A, et al. Effect of nivolumab vs bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: the CheckMate 143 phase 3 randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(7): 1003-1010. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.1024.
- [17] Omuro A, Vlahovic G, Lim M, et al. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of CheckMate 143[J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(5): 674-686. DOI: 10.1093/neuonc/nox208.
- [18] Reiss SN, Yerram P, Modelevsky L, et al. Retrospective review of safety and efficacy of programmed cell death-1 inhibitors in refractory high grade gliomas[J]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5(1): 99. DOI: 10.1186/s40425-017-0302-x.
- [19] Wang H, Xu T, Huang Q, et al. Immunotherapy for malignant glioma: current status and future directions[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41(2): 123-138. DOI: 10.1016/j.tips.2019.12.003.
- [20] Vimalathas G, Kristensen BW. Expression, prognostic significance and therapeutic implications of PD-L1 in gliomas[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2022, 48(1): e12767. DOI: 10.1111/nan.12767.
- [21] Arrieta VA, Dmello C, McGrail DJ, et al. Immune checkpoint blockade in glioblastoma: from tumor heterogeneity to personalized treatment[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(2): e163447. DOI: 10.1172/JCI163447.
- [22] Watowich MB, Gilbert MR, Larion M. T cell exhaustion in malignant gliomas[J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(4): 270-292. DOI: 10.1016/j.trecan.2022.12.008.
- [23] Weller M, Roth P, Preusser M, et al. Vaccine-based immunotherapeutic approaches to gliomas and beyond[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(6): 363-374. DOI: 10.1038/nrneurol.2017.64.
- [24] Yan Y, Zeng S, Gong Z, et al. Clinical implication of cellular vaccine in glioma: current advances and future prospects[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 257. DOI: 10.1186/s13046-020-01778-6.
- [25] Phuphanich S, Wheeler CJ, Rudnick JD, et al. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(1): 125-135. DOI: 10.1007/s00262-012-1319-0.
- [26] Wen PY, Reardon DA, Armstrong TS, et al. A randomized double-blind placebo-controlled phase II trial of dendritic cell vaccine ICT-107 in newly diagnosed patients with glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(19): 5799-5807. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0261.
- [27] Lin YJ, Mashouf LA, Lim M. CAR T cell therapy in primary brain tumors: current investigations and the future[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 817296. DOI: 10.3389/fimmu.2022.817296.
- [28] Xu S, Tang L, Li X, et al. Immunotherapy for glioma: current management and future application[J]. *Cancer Lett*, 2020, 476: 1-12. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.02.002.
- [29] Chandran SS, Klebanoff CA. T cell receptor-based cancer immunotherapy: emerging efficacy and pathways of resistance[J]. *Immunol Rev*, 2019, 290(1): 127-147. DOI: 10.1111/imr.12772.
- [30] Bagley SJ, Desai AS, Linette GP, et al. CAR T-cell therapy for glioblastoma: recent clinical advances and future challenges[J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(11): 1429-1438. DOI: 10.1093/neuonc/nyo032.
- [31] Ahmed N, Salsman VS, Kew Y, et al. HER2-specific T cells target primary glioblastoma stem cells and induce regression of autologous experimental tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2): 474-485. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1322.
- [32] Johnson LA, Scholler J, Ohkuri T, et al. Rational development and characterization of humanized anti-EGFR variant III chimeric antigen receptor T cells for glioblastoma[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(275): 275ra22. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa4963.
- [33] Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98(5): 298-300. DOI: 10.1093/jnci/djj111.
- [34] Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(25): 2780-2788. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.3377.
- [35] Lamfers ML, Grill J, Dirven CM, et al. Potential of the conditionally replicative adenovirus Ad5-Delta24RGD in the treatment of malignant gliomas and its enhanced effect with radiotherapy[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(20): 5736-5742.
- [36] Lang FF, Conrad C, Gomez-Manzano C, et al. Phase I study of DNX-2401 (Delta-24-RGD) oncolytic adenovirus: replication and immunotherapeutic effects in recurrent malignant glioma[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(14): 1419-1427. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.8219.
- [37] Walton RW, Brown MC, Sacco MT, et al. Engineered oncolytic poliovirus PVSRIPO subverts MDA5-dependent innate immune responses in cancer cells[J]. *J Virol*, 2018, 92(19): e00879-00818. DOI: 10.1128/JVI.00879-18.
- [38] Desjardins A, Gromeier M, Herndon JE 2nd, et al. Recurrent glioblastoma treated with recombinant poliovirus[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(2): 150-161. DOI: 10.1056/NEJMoa1716435.
- [39] Zhang C, Burger MC, Jennewein L, et al. ErbB2/HER2-specific NK cells for targeted therapy of glioblastoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 108(5): djv375. DOI: 10.1093/jnci/djv375.
- [40] Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS, et al. Human iPSC-derived natural killer cells engineered with chimeric antigen receptors enhance anti-tumor activity[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2): 181-192.e5. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.002.
- [41] Chen L, Yuan W, Chen Z, et al. Vasoactive intestinal peptide represses activation of tumor-associated macrophages in gastric cancer via regulation of TNF  $\alpha$ , IL-6, IL-12 and iNOS[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(4): 1361-1370. DOI: 10.3892/ijo.2015.3126.
- [42] Aldape K, Brindle KM, Chesler L, et al. Challenges to curing primary brain tumours[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(8): 509-520. DOI: 10.1038/s41571-019-0177-5.
- [43] Pyonteck SM, Akkari L, Schuhmacher AJ, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1264-1272. DOI: 10.1038/nm.3337.

- [44] Quail DF, Bowman RL, Akkari L, et al. The tumor microenvironment underlies acquired resistance to CSF-1R inhibition in gliomas[J]. *Science*, 2016, 352(6288): aad3018. DOI: 10.1126/science.aad3018.
- [45] Butowski N, Colman H, De Groot JF, et al. Orally administered colony stimulating factor 1 receptor inhibitor PLX3397 in recurrent glioblastoma: an Ivy Foundation Early Phase Clinical Trials Consortium phase II study[J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(4): 557-564. DOI: 10.1093/neuonc/nov245.
- [46] Toms SA, Kim CY, Nicholas G, et al. Increased compliance with tumor treating fields therapy is prognostic for improved survival in the treatment of glioblastoma: a subgroup analysis of the EF-14 phase III trial[J]. *J Neurooncol*, 2019, 141(2): 467-473. DOI: 10.1007/s11060-018-03057-z.
- [47] Kirson ED, 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. DOI: 10.1073/pnas.0702916104.
- [48] Davies AM, Weinberg U, Palti Y. Tumor treating fields: a new frontier in cancer therapy[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1291: 86-95. DOI: 10.1111/nyas.12112.
- [49] Vergote I, Macarulla T, Hirsch FR, et al. Tumor treating fields (TTFields) therapy concomitant with taxanes for cancer treatment[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(3): 636. DOI: 10.3390/cancers15030636.
- [50] Giladi M, Schneiderman RS, Voloshin T, et al. Mitotic spindle disruption by alternating electric fields leads to improper chromosome segregation and mitotic catastrophe in cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 18046. DOI: 10.1038/srep18046.
- [51] Timmons JJ, Preto J, Tuszynski JA, et al. Tubulin's response to external electric fields by molecular dynamics simulations[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0202141. DOI: 10.1371/journal.pone.0202141.
- [52] Li X, Yang F, Rubinsky B. A theoretical study on the biophysical mechanisms by which tumor treating fields affect tumor cells during mitosis[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2020, 67(9): 2594-2602. DOI: 10.1109/TBME.2020.2965883.
- [53] Moser JC, Salvador E, Deniz K, et al. The mechanisms of action of tumor treating fields[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(20): 3650-3658. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-22-0887.
- [54] Kim EH, Kim YH, Song HS, et al. Biological effect of an alternating electric field on cell proliferation and synergistic antimetastatic effect in combination with ionizing radiation[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 62267-62279. DOI: 10.18632/oncotarget.11407.
- [55] Karanam NK, Srinivasan K, Ding L, et al. Tumor-treating fields elicit a conditional vulnerability to ionizing radiation via the downregulation of BRCA1 signaling and reduced DNA double-strand break repair capacity in non-small cell lung cancer cell lines[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2711. DOI: 10.1038/cddis.2017.136.
- [56] Mumblat H, Martinez-Conde A, Braten O, et al. Tumor Treating Fields (TTFields) downregulate the Fanconi Anemia-BRCA pathway and increase the efficacy of chemotherapy in malignant pleural mesothelioma preclinical models[J]. *Lung Cancer*, 2021, 160: 99-110. DOI: 10.1016/j.lungcan.2021.08.011.
- [57] Karanam NK, Ding L, Aroumougame A, et al. Tumor treating fields cause replication stress and interfere with DNA replication fork maintenance: implications for cancer therapy[J]. *Transl Res*, 2020, 217: 33-46. DOI: 10.1016/j.trsl.2019.10.003.
- [58] Robins HI, Nguyen HN, Field A, et al. Molecular evolution of a glioblastoma controlled with tumor treating fields and concomitant temozolomide[J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 451. DOI: 10.3389/fonc.2018.00451.
- [59] White E. The role for autophagy in cancer[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 42-46. DOI: 10.1172/JCI73941.
- [60] Kim EH, Jo Y, Sai S, et al. Tumor-treating fields induce autophagy by blocking the Akt2/miR29b axis in glioblastoma cells[J]. *Oncogene*, 2019, 38(39): 6630-6646. DOI: 10.1038/s41388-019-0882-7.
- [61] Silginer M, Weller M, Stupp R, et al. Biological activity of tumor-treating fields in preclinical glioma models[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(4): e2753. DOI: 10.1038/cddis.2017.171.
- [62] Shteingauz A, Porat Y, Voloshin T, et al. AMPK-dependent autophagy upregulation serves as a survival mechanism in response to Tumor Treating Fields (TTFields) [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1074. DOI: 10.1038/s41419-018-1085-9.
- [63] Kim EH, Song HS, Yoo SH, et al. Tumor treating fields inhibit glioblastoma cell migration, invasion and angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65125-65136. DOI: 10.18632/oncotarget.11372.
- [64] Voloshin T, Schneiderman RS, Volodin A, et al. Tumor treating fields (TTFields) hinder cancer cell motility through regulation of microtubule and actin dynamics[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(10): 3016. DOI: 10.3390/cancers12103016.
- [65] Szachowicz-Petelska B, Figaszewski Z, Lewandowski W. Mechanisms of transport across cell membranes of complexes contained in antitumor drugs[J]. *Int J Pharm*, 2001, 222(2): 169-182. DOI: 10.1016/s0378-5173(01)00713-x.
- [66] Chang E, Patel CB, Pohling C, et al. Tumor treating fields increases membrane permeability in glioblastoma cells[J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4: 113. DOI: 10.1038/s41420-018-0130-x.
- [67] Salvador E, Kessler AF, Domröse D, et al. Tumor Treating Fields (TTFields) reversibly permeabilize the blood-brain barrier in vitro and in vivo[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(10): 1348. DOI: 10.3390/biom12101348.
- [68] Stupp R, Taillibert S, Kanner A, et al. Effect of tumor-treating fields plus maintenance temozolomide vs maintenance temozolomide alone on survival in patients with glioblastoma: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2017, 318(23): 2306-2316. DOI: 10.1001/jama.2017.18718.
- [69] Kirson ED, 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. DOI: 10.1007/s10585-009-9262-y.
- [70] MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function[J]. *Annu Rev Immunol*, 1997, 15: 323-350. DOI: 10.1146/annurev.immunol.15.1.323.
- [71] Park JI, Song KH, Jung SY, et al. Tumor-treating fields induce RAW264.7 macrophage activation via NK- $\kappa$ B/MAPK signaling pathways[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18: 1533033819868225. DOI: 10.1177/1533033819868225.
- [72] Stupp R, Wong ET, Kanner AA, 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. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.04.011.

(收稿日期: 2023-09-02)

(本文编辑: 王影)